

KOSHA GUIDE

H - 165 - 2021

디클로로메탄의 생물학적 노출지표 물질
분석에 관한 기술지침

2021. 10.

한국산업안전보건공단

안전보건기술지침의 개요

○ 제정자: 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 박정근

○ 제정 경과

- 2015년 9월 산업의학분야 제정위원회 심의(제정)
- 2021년 8월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(법령 및 규격 최신화)

○ 관련규격 및 자료

- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 근로자 건강진단 실무지침: 제1권 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 II - 디메틸포름아미드 등 유기용제 13종. 보건분야-연구자료 연구원 2010-64-881. 2010

○ 관련법규·규칙·고시 등

- 산업안전보건법 시행규칙 [별표 24] 특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)
- 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시)
- 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 「근로자건강진단 실무지침」 제1권 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349

○ 기술지침의 적용 및 문의

- 이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지(www.kosha.or.kr)의 안전보건기술지침 소관분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
- 동 지침 내에서 인용된 관련규격 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자: 2021년 10월

제정자: 한국산업안전보건공단 이사장

디클로로메탄의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침

1. 목 적

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조(특수건강진단) 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조(특수건강진단 등의 검사항목 및 실시방법 등) 별표 24, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 디클로로메탄에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 생물학적 노출지표 물질의 분석 방법을 제시함을 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 지침은 법, 시행규칙 및 고용노동부고시에 따라 실시하는 근로자 건강진단 중 디클로로메탄에 노출되는 근로자의 생물학적 노출평가에 적용한다.

3. 정 의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

(가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료로부터 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물이나 생화학적 변화산물 등을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도나 건강영향 가능성 등을 평가하는 것을 말한다.

(나) “생물학적 노출지표 물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 체내 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.

(2) 그밖에 용어의 뜻은 이 지침에서 특별히 규정하는 경우를 제외하고는 산업안전보건법, 같은 법 시행령, 같은 법 시행규칙 및 「산업안전보건기준에 관한 규칙」에서 정하는 바에 따른다

4. 분석장비

분석 장비는 자외가시부 분광광도계 (Ultraviolet/visible spectrophotometer; UV/VIS Spectrophotometer)를 사용한다.

5. 분석방법

(1) 분석 원리

디클로로메탄의 생체내 대사물질(일산화탄소)과의 결합에서 기인한 혈액 중 카복시헤모글로빈이 축적되면 중추신경계 및 심혈관계 독성을 나타낼 수 있으므로 혈액 중 카복시헤모글로빈을 자외가시부 분광광도계로 분석한다.

(2) 시료의 채취

(가) 시료채취 시기

혈액 시료는 당일 작업종료 2 시간 전부터 작업종료 사이에 채취한다.

(나) 시료채취 요령

- ① 근로자의 정맥혈을 EDTA(Ethylenediaminetetraacetic acid) 또는 헤파린이 미리 처리된 튜브와 1 회용 주사기 또는 진공 채혈관을 이용하여 2 mL 이상 채취하여 밀봉한다.
- ② 채취한 시료는 시료 채취 용기에 밀봉하여 채취 후 1시간 이내에 분석하며 분석 전까지 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다.

(3) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 헤파린 또는 EDTA 처리된 채혈관
- ② 용량플라스크 50 mL, 100 mL, 1,000 mL

- ③ 마이크로피펫 10~100 μL , 100~1,000 μL
- ④ 피펫 1~5 mL
- ⑤ 유리 시험관 10 mL
- ⑥ 석영 cell
- ⑦ 롤러 믹서
- ⑧ 화학 저울

(나) 시약

- ① 제1인산칼륨(KH_2PO_4)
- ② 제2인산칼륨(K_2HPO_4)
- ③ 차아황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)
- ④ 탈이온수(18 $\text{M}\Omega/\text{cm}$ 이상)

(다) 주의 사항

- ① 채취한 시료는 채취 후 1시간 이내에 분석한다.
- ② 박테리아의 작용을 억제하기 위해서 전혈에 플루오르화나트륨을 넣은 후 분석 전까지 4 $^{\circ}\text{C}$ 암실에서 보관한다.
- ③ 헤모글로빈의 스펙트럼은 pH의 영향이 크므로 pH 6.5를 유지하도록 한다.

(라) 간섭물질

- ① 카복시헤모글로빈 농도가 낮은 경우(20% 미만), 전형적인 카복시헤모글로빈 스펙트럼을 얻을 수 없다.
- ② 황 이온이 있을 경우, 황화헤모글로빈이 생성되어 UV/VIS 흡수에 간섭을 일으키므로 분석값이 실제값보다 적어질 수 있다(황화헤모글로빈이 환원제인 차아황산나트륨에 의해 R-Hb로 환원되지 않기 때문이다).

(4) 시약 조제

(가) 인산칼륨 완충용액

제1인산칼륨과 제2인산칼륨이 각각 0.1 mol/L가 되도록 수용액을 조제하여 pH 6.85 완충용액을 만들어 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 보관한다.

(나) 용혈액(Hemolyzing solution)

인산칼륨 완충용액을 탈이온수로 10배 희석하고 일주일마다 제조한다.

(다) 카복시헤모글로빈 희석액(CO-Hb diluting solution)

20 mL 인산칼륨 완충용액에 25 mg 차아황산나트륨을 넣어 만든다(1.25 g/L). 이 용액은 사용 직전에 만든다.

(5) 시료 전처리

(가) 시험관에 용혈액 3 mL를 넣고 여기에 전혈을 25 μ L를 첨가하여 두세번 뒤집어서 혼합한 후 5분간 반응시킨다.

(나) 다른 시험관에 카복시헤모글로빈 희석액 4.6 mL를 넣고, (가)의 반응에서 혼합시킨 용액 0.4 mL를 취하여 첨가한 후 가볍게 몇 번 뒤집어 혼합하고, 10분간 상온에 둔다.

(다) 420 nm와 432 nm에서 흡광도를 읽는다(대조 셀에는 카복시헤모글로빈 희석액만을 넣어서 측정한다).

(6) 분율 계산

혈액 중에서 카복시헤모글로빈의 분율을 S_{CO} 로 나타내고 다음과 같이 계산한다.

$$S_{CO} = \frac{1 - (A_R \times F_1)}{A_R(F_2 - F_1) - F_3 + 1}$$

A_R : 카복시헤모글로빈 희석액을 넣어 측정한 표본의 A_{420}/A_{432} 의 비율

F_1 : 헤모글로빈의 A_{432}/A_{420} 의 비율 = 1.333

F_2 : CO의 A_{432}/Hb 의 A_{420} 의 비율 = 0.4787

F_3 : CO의 A_{420}/Hb 의 A_{420} 의 비율 = 1.9939

(7) 생물학적 노출평가 기준

혈액 중 카복시헤모글로빈 3.5%