KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE

KOSHA GUIDE
기술지원규정

생물학적 노출지표물질 (유기화합물_1차 검사항목) 분석에 관한 기술지원규정
E-M-6-2026

한국산업안전보건공단

기술지원규정은 산업안전보건기준에 관한 규칙 등 산업안전보건법령의 요구사항을 이행하는데 참고하거나 사업장 안전·보건 수준향상에 필요한 기술적 권고 규정임

기술지원규정의 개요

○ 제정자 : 국립창원대학교 산학협력단

○ 제·개정 경과
- 2025년 12월 보건·위생분야 전문위원회 심의(제정)
- 2026년 1월 표준제정위원회 본위원회 심의(제정)

○ 관련 규격 및 자료

- WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical exposure in the workplace Guidelines Vol 1. 1996
- ACGIH: Documentation of the TLVs and BEIs. 7th ed.
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 Ⅰ: 크실렌 등 유기용제 16종 연구원. 2010
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석 방법 연구 Ⅱ: 디메틸포름아미드 등 유기용제 13종. 보건분야-연구자료 연구원. 2010
- NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), 4th and 5th Edition.

○ 관련 법규·규칙·고시 등

- 산업안전보건법 제130조(특수건강진단 등)
- 산업안전보건법 제135조(특수건강진단기관)
- 산업안전보건법 시행규칙[별표 24] 특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)
- 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시)
- 고용노동부고시 제2025-21호(근로자 건강진단 실시기준)
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 근로자건강진단 실무지침. 2024

○ 기술지원규정의 적용 및 문의

- 이 기술지원규정에 대한 의견 또는 문의는 산업안전포털 홈페이지(portal.kosha.or.kr)의 기술지원규정(KOSHA GUIDE) 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
- 동 규정 내에서 인용된 관련규격 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2026년 1월 30일
제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

목 차

1. 목적 ····· 1

2. 적용 범위 ····· 1

3. 용어의 정의 ····· 1

4. 유기화합물 중 1차 검사항목 유해물질명 및 해당 지표물질명 ····· 2

5. 유기화합물 분석법 (공통) ····· 3

5.1 소변 중 유기화합물 정량 분석법 ····· 3

5.2 혈액 중 유기화합물 정량 분석법 ····· 5

6. 1차 생물학적 노출지표물질별 분석 방법 ····· 5

6.1 소변 중 1차 검사항목 ····· 5

6.1.1 1,2-디클로로프로판[소변] ····· 5

6.1.2 N-메틸포름아미드[소변] ····· 8

6.1.3 메틸마뇨산[소변] ····· 12

6.1.4 삼염화초산[소변] ····· 17

6.1.5 o-크레졸[소변] ····· 22

6.1.6 2,5-헥산디온[소변] ····· 29

6.2 혈액 중 1차 검사항목 ····· 36

6.2.1 메트헤모글로빈[혈액] ····· 36

생물학적 노출지표물질(유기화합물_1차 검사항목) 분석에 관한 기술지원규정

1. 목 적

이 규정은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조(특수건강진단) 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조 별표 24(특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)), 산업안전보건법 제135조(특수건강진단기관) 4항, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2025-21호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 유기화합물에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 생물학적 노출지표물질 분석 방법의 제시를 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 규정은 법, 시행규칙 및 고용노동부 고시에 따른 근로자 건강진단 중 유기화합물에 대한 생물학적 노출평가 가운데 1차 검사항목으로 선정된 노출지표물질에 적용한다.

3. 용어의 정의

(1) 이 규정에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

(가) “생물학적 노출평가(Biological Exposure Assessment)”란 혈액, 소변 등 생체시료를 채취하여 유해물질이나 그 대사산물, 혹은 이로 인한 생화학적 변화 지표를 정량적으로 분석함으로써, 해당 물질의 체내 흡수 수준(Internal Dose)과 잠재적 건강영향을 평가하는 것을 말한다.

(나) “생물학적 노출지표물질(Biomarker of Exposure)”이란 생물학적 노출평가에서 개인의 체내 흡수 정도를 반영하는 물질로, 유해물질 그 자체, 그 대사산물 또는 이로 인해 유발된 생화학적 변화 산물을 말한다.

(다) “생물학적 노출기준값(Biological Limit Value)”이란 일주일에 40시간 작업하는 근로자가 고용노동부 고시에서 제시하는 작업환경 노출 기준 정도의 수준에 노출될 때 혈액 및 소변 중에서 검출되는 지표 물질의 농도를 의미하며, 건강보호를 목적으로 제시되는 참고치(reference value)이다.

(라) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나는 자료 분석값의 변동 크기를 나타낸다. 이 경우 같은 조건에서 측정했을 때 일어나는 우연오차(Random error)에 의한 분산(Dispersion)의 정도를 측정값의 변이계수(Coefficient of variation)로 표시한다.

(마) “정확도(Accuracy)”란 분석치가 참값에 접근한 정도를 의미한다. 다만, 인증표준물질이 있는 경우는 상대오차로 표시하고, 인증표준물질이 없는 경우는 시료에 첨가한 값으로부터 구한 평균회수율로 표시한다.

(바) “검출한계(Limit of detection: LOD)”란 공시료 신호값(Blank signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(Signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 의미한다. 측정된 신호값이 공시료에서 나타나는 신호값의 통계적 변동성(표준편차)보다 3배 이상 클 경우 이를 유의미한 검출로 간주하는 것이 일반적이다.

(2) 그 밖에 이 규정에서 사용하는 용어의 정의는 특별한 규정이 있는 경우를 제외하고는 산업안전보건법, 같은 법 시행령, 같은 법 시행규칙 및 산업안전보건기준에 관한 규칙에서 정하는 바에 따른다.

4. 유기화합물 중 1차 검사항목 유해물질명 및 해당 지표물질명

(1) 이 규정에서는 분석자의 편의를 위해 ‘생물학적 노출지표물질명’을 기준으로 하여 분석방법을 제시한다.

(2) 특수건강진단의 검사항목은 대상이 되는 근로자 모두가 반드시 받아야 하는 최소한의 ‘1차 검사항목’과 1차 검사항목의 검사 결과, 평가가 곤란하여 감별해야 할 질환이 있다고 판단 될 때 추가로 실시하는 ‘2차 검사항목’으로 구분된다.

(3) 유기화합물 중 1차 생물학적 노출지표물질(Biomarer of Exposure)의 분석 방법은 근로자건강진단 실무지침<표1>에 따른다.

<표1> 유기화합물 중 '생물학적 노출지표물질명의 노출기준값 및 검사방법'[1차 항목]

구분	번호*	유해 물질명	시료채취		지표 물질명	권장분석법	검사값	표시단위
			종류	시기			노출기준	
1차	7	p-니트로아닐린	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%
	8	p-니트로클로로벤젠	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%
	9	디니트로톨루엔	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%
	10	N,N-디메틸아닐린	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%
	12	N,N-디메틸아세트아미드	소변	당일	N-메틸아세트아미드**	GC-NPD	30	mg/g crea
	13	디메틸포름아미드	소변	당일	N-메틸포름아미드	GC-NPD	15	mg/L
	22	1,2-디클로로프로판	소변	당일	1,2-디클로로프로판	GC-ECD	180	μg/L
	34	메틸클로로포름	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	10	mg/L
			소변	주말	총삼염화에탄올**	GC-ECD	30	mg/L
	59	아닐린 및 그 동종체	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%
	71	에틸렌 글리콜 디니트레이트	혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%
	85	크실렌	소변	당일	메틸마뇨산	HPLC-UVD, GC-FID	1.5	g/g crea.
	91	톨루엔	소변	당일	o-크레졸	HS. GC-FID	0.8	mg/g crea
	96	트리클로로에틸렌	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	15	mg/L
	98	퍼클로로에틸렌	소변	주말	삼염화초산	GC-ECD	3.5	mg/L
	106	n-헥산	소변	당일	2,5-헥산디온	GC-FID	5	mg/L

* 번호 : 산업안전보건법 시행규칙 [별표 24] 특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목상의 번호
** 산업안전보건공단의 공식적인 분석법의 부재로 해당 기술지원규정에는 분석법을 제시하지 않음.

5. 유기화합물 분석법(공통)

5.1 소변 중 유기화합물 정량 분석법

(1) 표준용액

(가) 표준용액 조제를 위한 희석용 소변

유기화합물에 노출되지 않은 정상인 소변을 채취하여 냉동 보관한다. 냉동한 소변을 상온에서 녹이고, 여과지를 사용하여 여과한 후, 여액을 표준용액 조제를 위한 희석용

소변으로 사용한다. 단, 사용 이전에 미리 소변을 분석하여 유기화합물이 없는 것을 확인한 소변을 표준용액 조제에 사용한다.

(나) 표준물질의 농도

검량선에 사용되는 표준물질의 농도는 시료 결과가 검량선 범위에 들어가도록 5개 정도의 표준용액으로 정할 수 있다.

(2) 농도계산

(가) 농도계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고 시료의 피크 면적 또는 내부물질의 피크 면적(내부표준물질이 있는 경우)으로 보정한 값을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, y=ax+b의 회귀방정식에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 지표물질의 농도를 구한다.

(나) 소변 중 크레아티닌 보정

농도값을 크레아티닌으로 보정하여 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다. 소변 중 생물학적 노출평가 지표물질 보정에 사용하는 크레아티닌 농도는 0.3~3.4 g/L 범위이며, 크레아티닌 농도가 이 범위를 벗어난 소변은 비정상으로 간주하여 다시 채취한다.

(3) 정밀도, 정확도, 검출한계로 제시한 값은 분석 조건에 따라 달라질 수 있으므로, 참고로 활용할 수 있다.

(4) 검출한계 산출방법

(가) 검량선에 의한 표준용액의 농도와 면적간의 회귀식을 구하고 이 회귀식의 표준오차와 기울기를 이용하여 검출한계를 산출한다.

$$LOD = 3 \times \frac{\sqrt{\frac{\Sigma(Y_{ei} - Y_i)^2}{N-2}}}{b}$$

Y_{ei}: 회귀식에 의해 구한 각 시료량에 대한 반응값
Y_i: 각 시료량에 대한 반응값

N: 표준용액 시료 수
b: 회귀방정식의 x계수

(나) S/N 비 3은 배경 반응값(Noise, N)의 3배인 시료 반응값(Signal, S)을 나타내는 농도를 검출한계로 한다.

5.2 혈액 중 유기화합물 정량 분석법

유기화합물 중 혈액 중 1차 생물학적 노출지표물질(Biomarer of Exposure)은 메트헤모글로빈만 해당된다.(관련 내용 참조)

6. 1차 생물학적 노출지표 물질별 분석방법

6.1 소변 중 1차 검사항목

6.1.1 1,2-디클로로프로판[소변]

1,2-디클로로프로판[소변]

(유해물질 : 1,2-디클로로프로판)

분자식 :	$C_3H_6C_{l2}$	**분자량 :**	113	**비 중 :**	1.155	**CAS No.**	78-87-5
노출 기준값 :	180 μg/L						
분석 개요 :	1,2-디클로로프로판은 흡입 및 경구 노출 시 몸에 빠르고 광범위하게 흡수되고 소변 및 호기를 통해서 배출된다. 소변 중 1,2-디클로로프로판(1,2-Dichloropro-panepropane)을 헤드스페이스 고상미량추출 가스크로마토그래프 질량분석검출기(Headspace soild phase micro extraction gas chromatograph mass spectro-metric detector / HS SPME GC-MS)로 분석한다.						
시료 채취 :	▪ 소변 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다. ▪ 채취 용기는 밀봉이 가능한 것을 사용하고, 시료는 10 mL이상 채취하며, 휘발성 성분의 손실을 최소화하기 위해 용기 상부(용기의 90% 이상)까지 시료를 가득 채운다. ▪ 채취한 시료를 밀봉하여 4 ℃(2~8 ℃)를 유지한 상태로 이동하고 보관하며, 채취 후 5일 이내에 분석한다.						

분석장비 :	**헤드스페이스 고상미량추출 가스크로마토그래프 질량분석검출기 [HS SPME GC-MS]**

시약	기구
▪ 1,2-디클로로프로판(1,2-Dichloropropane-ropane) ▪ 플루오르벤젠(Fluorobenzene) ▪ 염화나트륨(Sodium chloride) ▪ 3차 정제수	▪ 용량플라스크 10 mL, 100mL ▪ 마이크로피펫 10-1,000 µL ▪ 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL ▪ 롤러믹서(Roller mixer)

시약조제

[표준용액]

1. 1,2-디클로로프로판 0.1 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
2. 표준용액 원액을 1 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1 mg/L의 표준용액을 만든다. 1 mg/L의 표준용액을 각각 0.5, 1.0, 1.5, 2 mL를 취하고, 이를 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 50, 100, 150, 200 µg/L의 검량선용 표준용액을 만든다. 희석용 소변을 공시료로 사용한다.

[내부표준용액]

1. 플루오르벤젠 0.1 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L의 내부표준용액을 만든다. 이것을 내부표준용액 원액으로 한다.
2. 내부표준용액 원액을 1 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1 mg/L의 내부표준용액을 만든다.

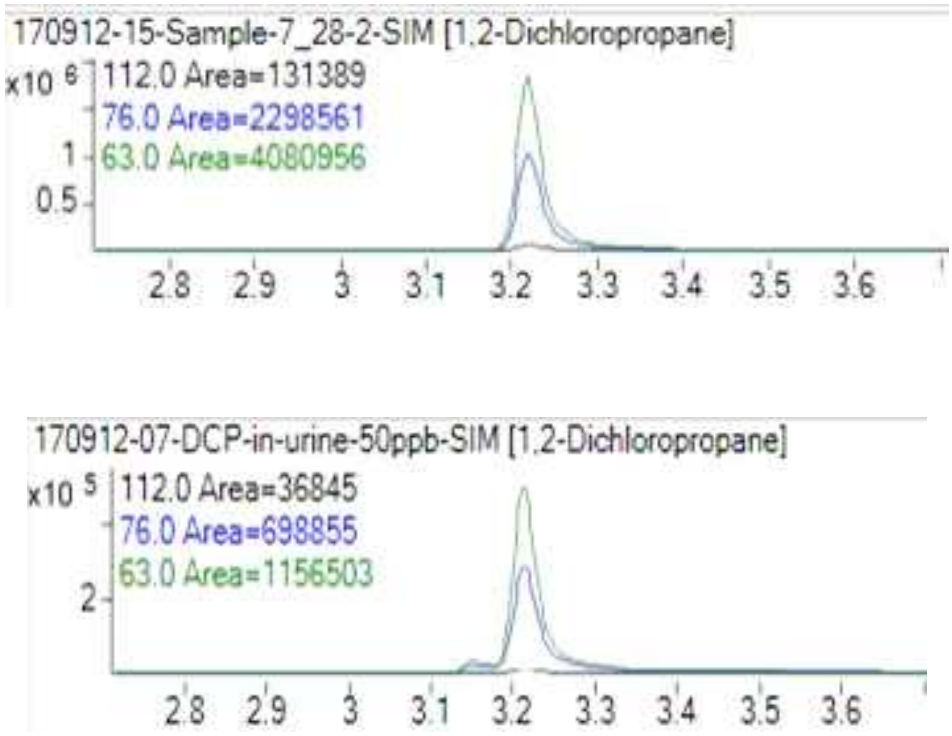
시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 롤러믹서로 3분간 잘 섞어준다.
2. 염화나트륨 약 1 g을 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고 여기에 내부표준용액 0.1 mL와 표준용액 또는 시료 2 mL를 취하여 넣은 후 바로 마개를 닫아 밀봉하여 분석에 사용한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계
▪ **컬럼** : HP-5MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm 막 두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ **오븐 온도** : 40 ℃(5 min)→10 ℃/min → 250 ℃(5 min) ▪ **주입구 온도** : 280 ℃ ▪ **컬럼 유속** : 헬륨 1 mL/분 ▪ **분할주입비율** : 1/10 ▪ **헤드스페이스 조건** ① 온도 : - 오븐 : 50 ℃	▪ **정밀도/정확도 :** 정보 없음. ▪ **검출한계 :** 0.3 µg/L(S/N 비 3)

- 탈착 : 280 ℃ ② 가열시간 : 10분 ③ SPME fiber : 50/30 μm DVB/ Carboxen/PDMS ▪ **검출 방식** : 이온선택분석(SIM : Selected Ion Monitoring) - 1,2-디클로로프로판 검출이온(M/Z) : 63, 76, 112 - 플루오르벤젠 검출이온 (M/Z): 96, 95, 69 (내부표준물질)	

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 1> 1,2-디클로로프로판의 질량분석 크로마토그램

농도계산

y=ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 1,2-디클로로프로판의 농도(μg/L)를 구한다.

· 참고문헌

- 정경숙 등, 1,2-디클로로프로판 (1,2-dichloropropane) 등 세척제 취급 실태조사 및 건강모니터링 체계 구축, 산업안전보건연구원, 2017-연구원-1058, 2017.

6.1.2 N-메틸포름아미드[소변]

N-메틸포름아미드[소변]

(유해물질 : 디메틸포름아미드)

분자식 : C_2H_5NO **분자량 :** 59.06475 **비 중 :** 1.01 **CAS No.:** 123-39-7

노출기준값 : 15 mg/L

분석 개요 : 디메틸포름아미드는 소변을 통해서 극히 일부(0.5%)가 디메틸포름아미드로 배설되고 22% 정도가 N-메틸포름아미드(N-methylformanide, NMF)로 배설된다.
소변 중 NMF는 디메틸포름아미드 노출에 대한 특이성이 크므로 이를 질소화합물에 대한 선택성이 높고 검출 감도가 높은 기체크로마토그래프-질소인검출기(Gas chromatography-Nitrogen phosphorous detector, GC-NPD)로 분석하거나 일반적으로 사용하는 기체크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID) 로 분석한다.

시료 채취 :
- 소변 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료를 밀봉하여 4 ℃(2~8 ℃)를 유지한 상태로 이동하고 보관하며, 채취 후 5일 이내에 분석한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 ℃이하에서 보관한다.

분석장비 :	가스크로마토그래프 질소인검출기 [GC-NPD]
시약	기구
▪ N-메틸포름아미드(N-methylformanide) ▪ 메탄올(Methanol) : HPLC용 ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 100 - 1,000 µL ▪ 용량플라스크 10 mL ▪ GC용 바이알 ▪ 원심분리시험관 ▪ 파스퇴르 피펫 ▪ 원심분리기 ▪ 롤러믹서(Roller mixer)
시약조제	
[표준용액] 1. NMF 100 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다. 2. 표준용액 원액 0.1 mL를 10 mL 용량플라스크에서 넣고 3차 정제수로 표선을 채워 100 mg/L의 표준용액을 조제한다. 3. 위 표준용액 0.5, 1, 2, 3, 4 mL를 취하여 10 mL 용량플라스크에서 옮기고 희석용 소변으로	

표선을 채워 5, 10, 20, 30, 40 mg/L의 검량선용 표준용액을 조제한다. 이때 희석용 소변을 공시료로 한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준 후, 각각 0.5 mL씩 마개달린 시험관에 취하고 메탄올 0.5 mL를 가한다.
2. 시료를 흔들어 섞은 후 3분 동안 원심분리(3,000 rpm)를 하여 파스퇴르 피펫으로 위층을 취하고 이를 GC용 바이알에 담아 GC에 주입한다.

분석 조건

- **컬럼** : DB-FFAP(30 m x 0.25 mm, 0.25 μm 막 두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼
- **오븐 온도** : 140 ℃
- **주입구 온도** : 250 ℃
- **검출기 온도** : 250 ℃
- **컬럼유속** : 1.0mL/분
- **분할주입비율** : 1/10
- **주입량** : 1uL

정밀도 / 정확도 / 검출한계

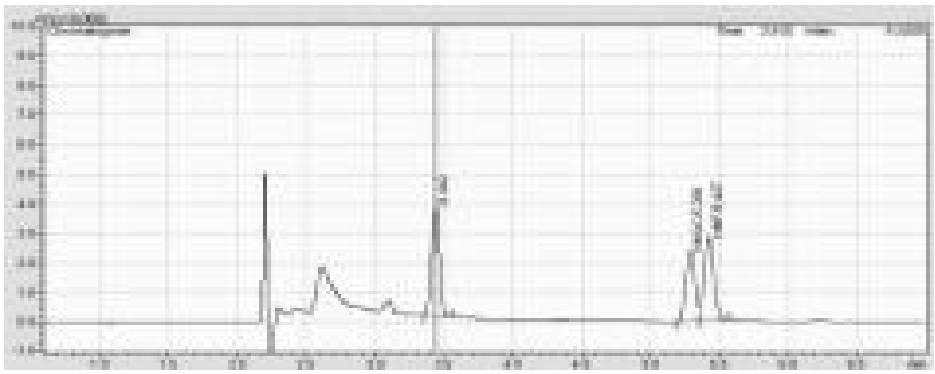
- **정밀도 / 정확도**

	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
NMF	5.0	2.2	103.4
	15.0	2.0	100.8
	30.0	4.0	99.4

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함.

- **검출한계** : 1.7 mg/L(S/N 비 3)

분석 결과 크로마토그램 예시 (2)



<그림 2> NMF 15 mg/L를 첨가한 소변시료의 GC-NPD 크로마토그램

농도계산

y=ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 NMF의 농도(mg/L)를 구한다.

분석장비 :	가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [GC-FID]

시약	기구
▪ N-메틸포름아미드(N-methylformanide) ▪ 메탄올(Methanol)_(HPLC용)	▪ 마이크로 피펫 100-1,000 μL ▪ 용량플라스크 10 mL

▪ 3차 정제수	▪ GC용 바이알 ▪ 원심분리 ▪ 마개달린 시험관 ▪ 파스퇴르 피펫 ▪ 원심분리기

시약조제

[표준용액]

1. NMF 100 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
2. 표준용액 원액 0.1 mL를 10 mL 용량플라스크에서 넣고 3차 정제수로 표선을 채워 100 mg/L의 표준용액을 조제한다.
3. 위 표준용액 0.5, 1, 2, 3, 4 mL를 취하여 10 mL 용량플라스크에서 옮기고 희석용 소변으로 표선을 채워 5, 10, 20, 30, 40 mg/L의 검량선용 표준용액을 조제한다. 이때 희석용 소변을 공시료로 한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서로 잘 섞어준 후, 각각 0.5 mL씩 원심분리 시험관에 취하고 메탄올 1 mL를 가한다.
2. 시료를 흔들어 섞은 후 3분 동안 원심분리(3,000 rpm)를하여 파스퇴르 피펫으로 위층을 취하고 이를 GC용 바이알에 담아 GC에 주입한다.

분석 조건

- **컬럼** : DB-FFAP(30 m x 0.25 mm, 0.25 μm 막 두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼
- **오븐 온도** : 60 ℃ - (20 ℃/분) - 200 ℃ (1분)
- **주입구 온도** : 250 ℃
- **검출기 온도**: 250 ℃
- **컬럼 유속** : 1.0mL/분
- **분할주입비율** : 1/10
- **주입량** : 3uL

정밀도 / 정확도 / 검출한계

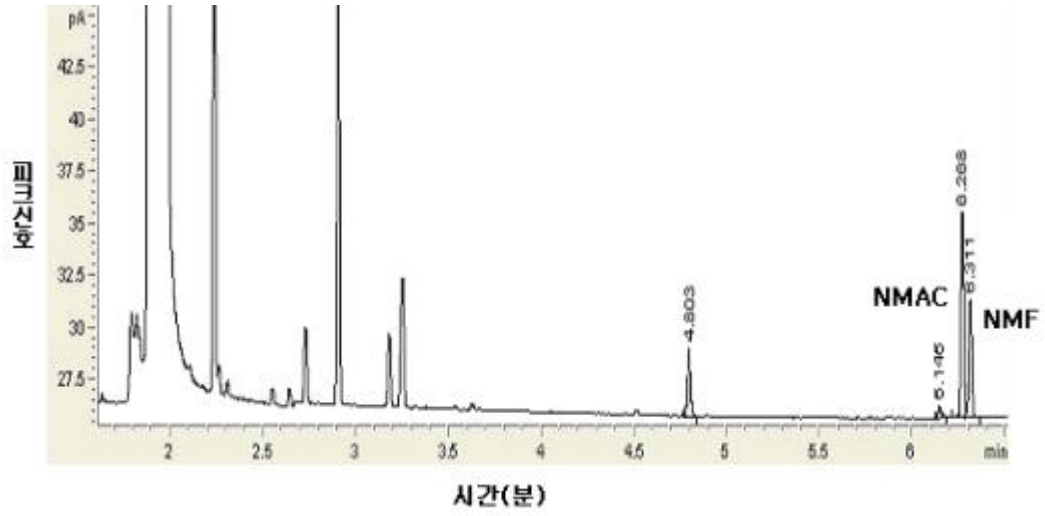
- **정밀도/ 정확도**

	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
NMF	5.0	2.2	103.4
	15.0	2.0	100.8
	30.0	4.0	99.4

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함.

- **검출한계 :** 2.2 mg/L(S/N 비 3)

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 3> NMF 20 mg/L를 첨가한 소변 시료의 GC-FID 크로마토그램

농도계산

y=ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 NMF의 농도(mg/L)를 구한다.

6.1.3 메틸마뇨산[소변]

메틸마뇨산[소변]

(유해물질 : 크실렌)

o-메틸마뇨산(2-Methy hippuric acid)							
분자식:	$C_{10}H_{11}NO_3$	**분자량 :**	193.20	**비 중 :**	자료 없음	**CAS No.:**	42013-20-7
m-메틸마뇨산(3-Methy hippuric acid)							
분자식 :	$C_{10}H_{11}NO_3$	**분자량 :**	193.20	**비 중 :**	자료 없음	**CAS No.:**	27115-49-7
p-메틸마뇨산(4-Methy hippuric acid)							
분자식 :	$C_{10}H_{11}NO_3$	**분자량 :**	193.20	**비 중 :**	자료 없음	**CAS No.:**	27115-50-0

노출기준 값 : 1.5 g/g크레아티닌

분석 개요 : 크실렌은 호흡기와 피부 경로로 흡수되며 작업장에서는 주로 호흡기를 통해 흡수된다. 크실렌은 o(오쏘)-, m(메타)-, p(파라)-크실렌의 세 가지 이성질체가 혼합되어 있으며, 흡수된 크실렌 양의 95% 정도가 o-, m-, p-메틸마뇨산(metyl hippruic acid)으로 대사되어 소변으로 배설된다. 소변 중 o-, m-, p-메틸마뇨산을 유기화합물로 추출한 뒤 휘발성 유도체를 만들어 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID)로 분석하거나 소변을 이동상으로 희석한 후 고성능 액체크로마토그래프 자외선 검출기(High performance liquid chromatograph-ultraviolet detector, HPLC-UVD)로 분석한다.

시료 채취 :

- 소변 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료를 밀봉하여 4 ℃(2~8 ℃)를 유지한 상태로 이동하고 보관하며, 채취 후 5일 이내에 분석한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 ℃이하에서 보관한다.

분석장비 :	**가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [GC-FID]**
시약	**기구**
▪ o-메틸마뇨산(2-Methy hippuric acid) ▪ m-메틸마뇨산(3-Methy hippuric acid) ▪ p-메틸마뇨산(4-Methy hippuric acid) ▪ 헵타데카노인산(Heptadecanoic acid) ▪ 에틸아세테이트(Ethyl acetate) ▪ 클로로포름(Chloroform) ▪ 염산(Hydrochloric acid) ▪ 3차 정제수	▪ 용량플라스크 10 mL, 100 mL ▪ 마이크로 피펫 100-1,000 µL ▪ 마개달린 시험관 ▪ 가스크로마토그래피(GC)용 바이알 2 mL ▪ 항온수조(Water bath) ▪ 원심분리기 ▪ 롤러믹서(Roller mixer)

시약조제

[표준용액]

1. 메틸마뇨산 이성질체 각 0.05 g을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 총 1.5 g/L의 표준용액을 만든다. 이때 메틸마뇨산 이성질체의 농도는 각각 0.5 g/L이다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
2. 표준용액 원액을 2, 4, 6, 8 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 메틸마뇨산 이성질체의 총 농도는 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 g/L가 되도록 제조하고, 1.5 g/L의 표준용액을 포함하여 검량선용 표준용액한다. 이때 각 메틸마뇨산 이성질체의 농도는 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 g/L이다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[내부표준용액]

헵타데카노인산 10 mg을 10 mL 메탄올에 녹여 1 g/L의 내부표준용액을 만든다.

[유도체화 시약 조제]

진한 염산(함량 35 %, 비중 1.18) 5 mL를 100 mL의 메탄올에 녹여 GC용 유도체화 시약을 만든다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 혈액 롤러믹서에서 잘 섞어준다.
2. 표준용액 및 시료를 0.5 mL에 3차 정제수 0.5 mL를 가하고 내부표준물질 100 µL를 첨가한다.
3. 여기에 0.5 N 염산용액 200 µL와 2 mL의 에틸아세테이트를 첨가한 다음 20분 흔들어 주고 3,000 rpm으로 4분간 원심분리하여 유기층을 추출한다.
4. 잔사에 유도체화 시약 1 mL를 넣고 마개를 한 후 60 ℃에서 40분 반응시킨다. 반응액을 상온으로 냉각시킨 후 3차 정제수 2 mL와 클로로포름 1 mL를 첨가하고 20분간 잘 흔들어 준 후 3,000 rpm에서 4분간 원심분리한다.
5. 클로로포름 층을 피펫으로 취하여 GC용 바이알에 옮겨 검액으로 한다.

분석 조건

- **컬럼** : Rtx-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼.
- **오븐 온도:** 100 ℃(1min) → 20 ℃/min → 240 ℃(2min)
- **주입구 온도** : 240 ℃
- **검출기 온도** : 250 ℃
- **컬럼 유속:** 1 mL/min
- **분할주입비율**: 1/10

정확도 / 정밀도 / 검출한계

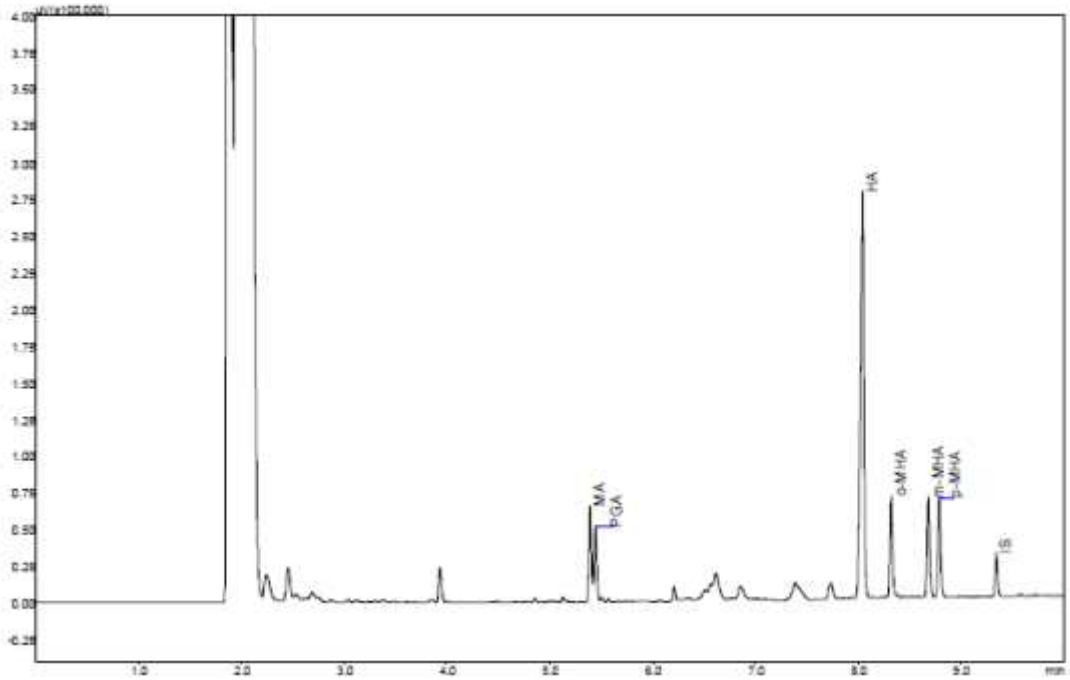
- **정밀도/정확도 :**

	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
o-메틸 마뇨산	25	1.6	120
	250	1.7	98
m-메틸 마뇨산	25	4.3	99
	250	2.3	96
p-메틸 마뇨산	25	3.4	109
	250	2.2	97

* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함

	▪ **검출한계 :** - 소변 중 o-메틸마뇨산 0.4 mg/L - 소변 중 m-메틸마뇨산 1.0 mg/L - 소변 중 p-메틸마뇨산 0.9 mg/L

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 4> 소변 중 메틸마뇨산(o-, m-, p-메틸마뇨산[MHA])의 GC-FID 크로마토그램

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 메틸마뇨산 이성질체의 농도(g/L)를 각각 구한다. 3종의 이성질체의 농도를 합한 값을 크레아티닌으로 보정하여(g/g 크레아티닌) 크실렌의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

분석장비 :	**고성능 액체크로마토그래프 자외선검출기[HPLC-UVD]**

시약	기구
▪ o-메틸마뇨산(2-methyl hippuric acid) ▪ m-메틸마뇨산(3-methyl hippuric acid) ▪ p-메틸마뇨산(4-methyl hippuric acid) ▪ 인산2수소화칼륨(KH_2PO_4) (Potassium hydrosulfide) ▪ 인산(Phosphoric acid) ▪ 초산(Acetic acid) ▪ 테트라하이드로퓨란(Tetra hydroufran)	▪ 용량플라스크 10 mL, 100 mL ▪ 마이크로 피펫 100-1,000 µL ▪ 마개달린 시험관 ▪ 주사기 2 mL ▪ 멤브레인필터 0.45 µm ▪ 롤러믹서(Roller mixer) ▪ pH미터

_HPLC급
- 아세토니트릴(Acetonitrile)_HPLC급
- 3차 정제수

시약조제

[표준용액]

1. 메틸마뇨산 이성질체 각 0.05 g을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 총 1.5 g/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
2. 표준용액 원액을 2, 4, 6, 8 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 메틸마뇨산 이성질체의 총 농도는 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 g/L가 되도록 제조하고 1.5 g/L의 표준용액을 포함하여 검량선용 표준용액으로 한다. 이때 각 메틸마뇨산 이성질체의 농도는 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 g/L이다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[이동상]

1. 0.3% 초산을 포함한 0.01 M 인산2수소화칼륨 용액에 인산을 가하여 pH 2.5로 조정하여 인산완충용액를 조제한다.
2. 인산완충용액, 테트라하이드로퓨란, 아세토니트릴을 87:5:8의 부피비로 혼합한 용액을 이동상으로 한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 소변 시료를 롤러믹서로 3분 정도 잘 섞어준다.
2. 표준용액 및 시료 200 µL를 취한 후, 3차 정제수로 10배 희석한다.
3. 희석액을 0.45 µm 멤브레인 필터로 여과하여 시료를 준비한다.

분석 조건

- **컬럼** : C_{18} (150 mm × 4.6 mm, 입경 5 µm) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼.
- **이동상** : 인산완충용액, 테트라하이드로퓨란, 아세토니트릴 87:5:8(v/v/v)
- **유속** : 1.2 mL/min
- **검출기** : 자외선검출기(225 nm)

정확도 / 정밀도 / 검출한계

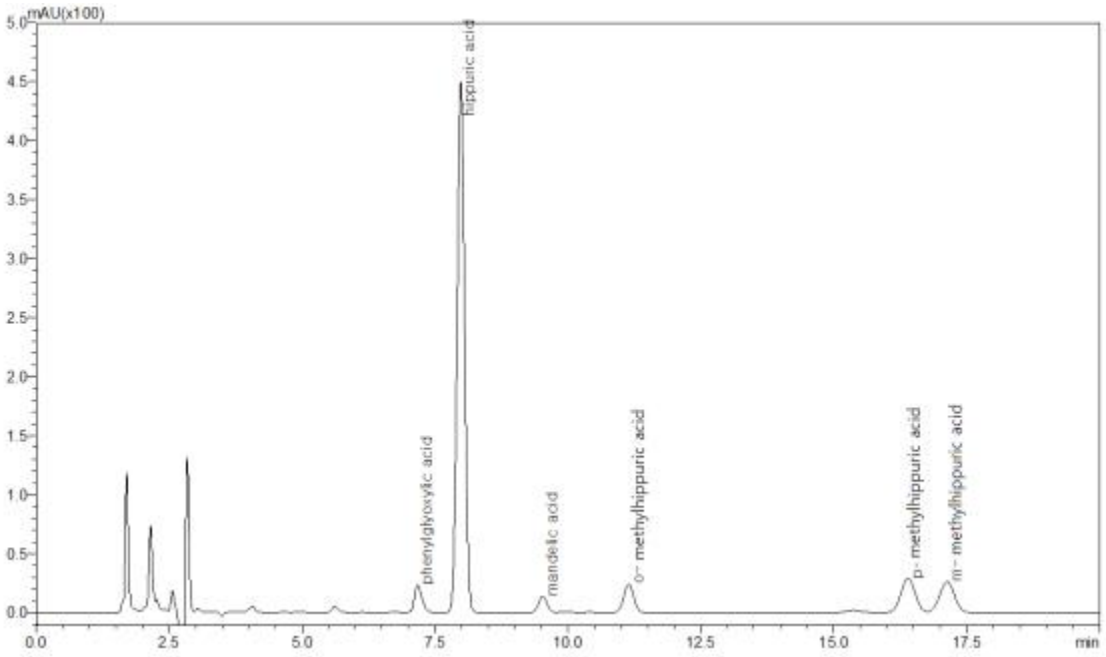
- **정밀도/정확도**

	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
o-메틸 마뇨산	25	3.2	102
	250	0.8	100
m-메틸 마뇨산	25	3.0	101
	250	0.9	101
p-메틸 마뇨산	25	1.2	101
	250	1.5	100

* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함

- **검출한계 :**
  - 소변 중 o-메틸마뇨산 0.8 mg/L
  - 소변 중 m-메틸마뇨산 0.7 mg/L
  - 소변 중 p-메틸마뇨산 0.3 mg/L

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 5> 소변 중 메틸마뇨산(o-, m-, p-메틸마뇨산)의 HPLC-UVD 크로마토그램

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 메틸마뇨산 이성질체의 농도(g/L)를 각각 구한다. 3 종의 이성질체의 농도를 합한 값을 크레아티닌으로 보정하여(g/g 크레아티닌) 크실렌의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

6.1.4 삼염화초산[소변]

삼염화초산[소변]

(유해물질 : 트리클로로에틸렌,메틸클로로포름,퍼클로로에틸렌)

분자식 : $C_2HCl_3O_2$ **분자량 :** 163.39 **비 중 :** 1.629 **CAS No.:** 76-03-9

노출기준값 :
- 15 mg/L(트리클로로에틸렌)
- 10 mg/L(메틸클로로포름)
- 3.5 mg/L(퍼클로로에틸렌)

분석 개요 : 트리클로로에틸렌(Trichloroethylene, TCE)은 인체에 흡수된 후 간에서 대사되어 소변을 통해 배설된다. 주요 대사산물로는 삼염화초산(Trichloroaceticacid, TCA, 약 18 %)과 삼염화에탄올(Trichloroethanol, TCEt, 약 33 %)이 있으며, 이들은 체내에서 유리형 또는 포합체 형태로 존재한다. 삼염화초산은 휘발성이 없으므로 유도체화하여 휘발성으로 만든 후 GC에 주입하고, 분자중의 염소를 민감하게 검출하는 전자포획검출기(Electron capture detector)로 삼염화초산과 삼염화에탄올을 검출한다. 소변 중 삼염화초산(Trichloroacetic acid), TCA)을 트리클로로에틸렌의 생물학적 노출지표물질로 이용한다.

메틸클로로포름과 퍼클로로에틸렌은 주로 호흡기를 통해 흡수되며, 체내에 흡수된 메틸클로로포름과 퍼클로로에틸렌의 대부분은 호기를 통해 배출된다. 흡수된 메틸클로로포름과 퍼클로로에틸렌 양의 1~2 %가 삼염화초산으로 대사되어 소변으로 배설된다. 소변 시료 중 비휘발성인 삼염화초산을 휘발성 유도체로 만들어 유기용제로 추출한 후 가스크로마토그래프 전자포획검출기(Gas chromatograph electron capture detector, GC-ECD)로 분석한다.

시료 채취 :
- 소변 시료는 주말 또는 연속 4-5일간의 연속작업의 작업 종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료를 밀봉하여 4 ℃(2~8 ℃)를 유지한 상태로 이동하고 보관하며, 채취 후 5일 이내에 분석한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 ℃이하에서 보관한다.

분석장비 :	가스크로마토그래프 전자포획검출기 [GC-ECD]
시약	기구
▪ 삼염화초산(trichloroacetic acid) ▪ o-디클로로벤젠(o-dichlorobenzene) ▪ 황산(Sulfuric acid) ▪ 노말헥산(n-hexane) ▪ 메탄올(Methanol) ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 10-1,000 μL ▪ 용량플라스크 10, 20, 50 mL ▪ 마개달린 시험관 ▪ 가스크로마토그래피 GC용 바이알 2 mL ▪ 항온수조(Water bath) ▪ 볼텍스믹서 (vortex mixer)

	▪ 원심분리기 ▪ 롤러믹서(Roller mixer)

시약 조제

[표준용액]

1. 삼염화초산 10 mg을 20 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 500 mg/L의 표준용액 원액을 만든다.
2. 표준용액 원액을 10 mL 취하여 50 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수으로 표선을 채워 100 mg/L 용액을 만들고 이를 1, 3, 5, 10, 15 mL 취하여 50 mL 용량플라스크에 옮기고 희석용 소변으로 표선을 채워 2, 6, 10, 20, 30 mg/L의 검량선용 표준용액을 제조한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[내부표준용액]

1. o-디클로로벤젠 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮긴 후 메탄올을 1 mL를 가하여 혼합하고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000mg/L의 용액을 만들고 이를 내부표준용액 원액으로 한다.
2. 내부표준용액 원액을 0.3 mL 취하여 50 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 o-디클로로벤젠 6 mg/L 용액을 조제하고 이를 내부표준용액으로 사용한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다.
2. 표준용액 및 시료 500 µL를 취하여 마개달린 시험관에 옮기고 내부표준용액 500 µL, 황산 500 µL, 메탄올 250 µL를 가한다.
3. 시험관에 마개를 하여 끓는 물(100 ℃)에 시료가 담긴 부분이 잠기도록 담가 15 분 반응시킨 후, 상온에서 식힌다.
4. 추출용매로 노말헥산을 각 시험관에 2 mL씩 넣는다. 1분간 볼텍스믹서(vortex mixer)에서 잘 섞은 후, 3분 동안 원심분리(3,000 rpm)하여 위쪽의 헥산층을 취하여 바이알에 옮겨 GC에 주입한다.

분석 조건

- **컬럼** : DB-WAX(30 m × 0.25 mm, 0.25 µm 막 두께의 컬럼) 또는 그 이상의 분리능을 가진 컬럼
- **오븐 온도** : 70 ℃(2 분)→(10 ℃/분 승온) → 130 ℃(1 분)
- **주입구 온도** : 250 ℃
- **검출기 온도** : 250 ℃
- **유속** : 2 mL/min
- **분할주입비(split ratio)** : 100:1
- **주입량** : 1 µL

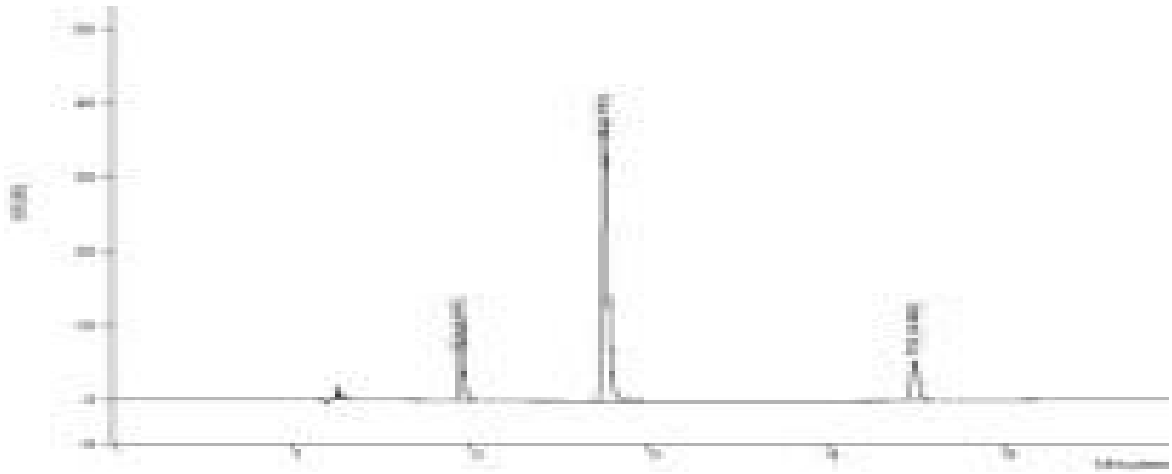
정밀도/정확도/검출한계

- **정밀도 / 정확도 :**

	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
삼염화초산	2.5	3.7	98
	5.0	1.0	105
	10.0	1.4	102
	20.0	1.4	95

*같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함

- **검출한계 :** 0.6 mg/L(S/N 비 3)

분석 결과 크로마토그램 예시

<그림 6> 삼염화초산(TCA)의 GC-ECD 크로마토그램 (5 mg/L의 표준시약을 첨가한 소변시료)
농도계산
y=ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 삼염화초산(TCA)의 농도(mg/L)를 구한다

분석장비 :	헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석검출기 [HS GC-MS]
시약	**기구**
▪ 삼염화초산(Trichloroacetic acid) ▪ 황산수소나트륨(Sodium hydrogensulfate) ▪ 황산나트륨(Sodium hydrogensulfate) ▪ 메탄올(Methanol) ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 100-1,000 µL ▪ 용량플라스크 10 mL ▪ 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL ▪ 롤러믹서(Roller mixer)
시약 조제	
[표준용액] 1. 삼염화초산 10 mg을 20 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 각각 500 mg/L의 표준용액 원액을 만든다. 2. 표준용액 원액을 10 mL 취하여 50 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수으로 표선을 채워 100 mg/L 용액을 만들고 이를 1, 3, 5, 10, 15 mL 취하여 50 mL 용량플라스크에 옮기고 희석용 소변으로 표선을 채워 2, 6, 10, 20, 30 mg/L의 검량선용 표준용액을 제조한다. 희석용 소변을 공시료로 한다. **[포화용액]** 황산나트륨 30 g 이상을 3차 정제수 100 mL에 녹여 황산나트륨 포화용액을 만든다.	
시료 및 표준용액 전처리	

[방법 1]

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서로 잘 섞어준 후 0.3 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.3 g, 황산나트륨 포화용액 0.1 mL, 메탄올 0.1 mL를 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다. (<그림 7>의 시료 전처리 방법).

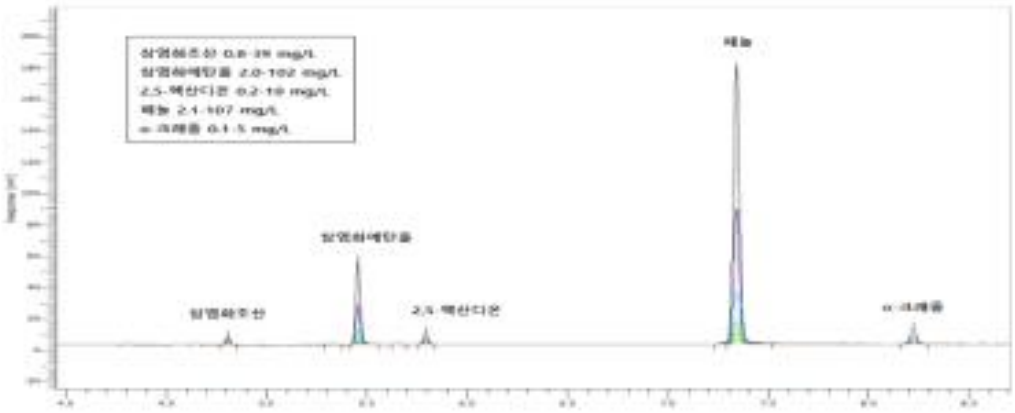
[방법 2]

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서로 잘 섞어준 후 0.2 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.5 g, 메탄올 0.01 mL를 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다. (<그림 8>의 시료 전처리방법).

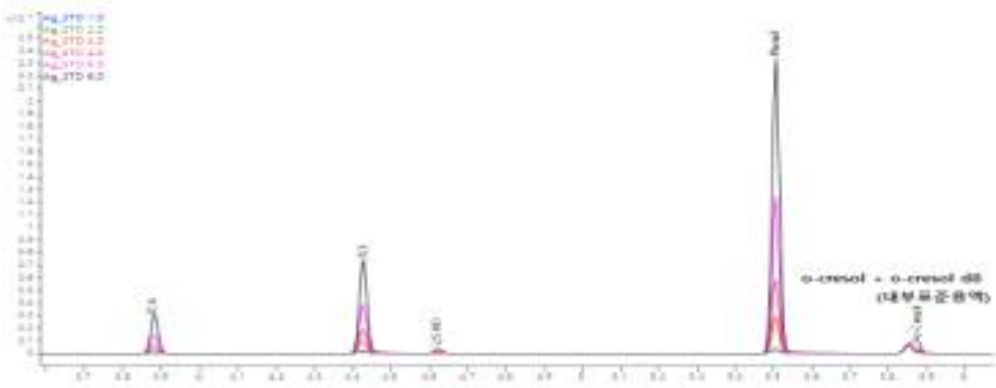
분석 조건[1]	정밀도/정확도/검출한계
▪ **컬럼 :** DB-1701 (30 m x 0.25 mm, 2.5 μm 막 두께의 컬럼) 또는 동등이상의 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ **오븐 온도** : 60 ℃(2분) → (20℃/분) → 120 ℃(1분) → (25℃/분) →220 ℃(1분), 총 11분 ▪ **주입구 온도** : 220 ℃ ▪ **검출기 온도** : 230 ℃ ▪ **컬럼 유속**: 1.0 mL/분 ▪ **분할주입비율**: 1/10 ▪ **주입량**: 1 μL ▪ **헤드스페이스 조건** ① **온도 :** - 오븐 : 115 ℃ - 주입관 : 170 ℃ - 연결관 : 180℃ ② **시간 :** - 가열 60min(진탕) - 가압 : 60 sec - 주입 : 6 sec ▪ **압력 :** 40 psi ▪ **검출방식** : 이온선택분석 (SIM : Selected Ion Monitoring) - 삼염화초산 검출이온(M/Z): 117, 119, 59	▪ **정밀도 / 정확도 :** 자료없음 ▪ **검출한계 :** 자료없음
분석 조건[2]	
▪ **컬럼 :** 1701 (30 m x 0.25 mm ID, 2.5 μm 막두께) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼.	

▪ **오븐 온도** : 60 ℃(1분) →(20℃/분) → 180 ℃(1분)→260℃(3분), 총 10분 ▪ **헤드스페이스 조건** : 시료 오븐 100 ℃ (60분 가열)	

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 7> 소변 중 삼염화초산 (TCA)의 HS GC-MS 크로마토그램(분석조건 [1])



<그림 8> 소변 중 삼염화초산 (TCA)의 HS GC-MS 크로마토그램(분석 조건 [2])

농도계산

y=ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 삼염화초산의 농도(mg/L)를 구한다.

· 참고문헌

- 생물학적 노출평가 표준시료 개발(3)-톨루엔의 생물학적 노출평가를 위한 소변 중 o-크레졸. 2018-연구원-832. 2018.

6.1.5 o-크레졸[소변]

o-크레졸[소변]
(유해물질 : 톨루엔)

분자식 :	$CH_3C_4H_3OH$	**분자량 :**	108.14	**비 중 :**	1.027(o)	**CAS No.:**	95-48-7

노출기준값 : 0.8mg/g 크레아티닌

분석 개요 : 톨루엔은 체내로 흡수된 후 80 %가 마뇨산으로 대사되며, 1 % 미만의 적은 양이 o-크레졸(o-cresol)로 대사되어 황산과 글루쿠론산 결합체로 소변으로 배출된다. 소변 중 결합체의 형태로 존재하는 o-크레졸을 염산 산성조건에서 가수분해시켜 유리형으로 만든 후, 유기용제로 추출하고 기체크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID), 헤드스페이스 기체크로마토그래프(Headspace gas chromatograph, HS GC), 헤드스페이스 기체크로마토그래프질량분석기(Headspace gas chromatograph-mass spectrome-tric detector, HS GC-MS)으로 분석한다.

시료 채취
- 소변 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4℃(2~8℃)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 ℃이하에서 보관한다.

분석장비 :	**가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기 [GC-FID]**
시약	**기구**
▪ o-크레졸(o-cresol) ▪ 이소프로필 에테르(Isopropyl ether) 또는 클로로포름(Chloroform) ▪ 염산(Hydrochloric acid) ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 100-1,000 μL ▪ 용량플라스크 10 mL ▪ 파스퇴르 피펫 ▪ 마개달린 시험관 ▪ 항온수조(Water bath) ▪ 원심분리기 ▪ 롤러믹서(Roller mixer)
시약 조제	
[표준용액] 1. o-크레졸 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다. 이를 표준용액 원액으로 한다. 2. 표준용액 원액을 0.1 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mL씩 취하여 10 mL 용량플라스	

크에서 희석용 소변으로 희석하여 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L 의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준 후, 별도의 시험관에 2 mL씩 취한다.
2. 진한염산(함량 35 %, 비중 1.18) 1mL를 가하고 100 ℃에서 30분간 가수분해시킨다.
3. 시험관을 식히고 이소프로필에테르 또는 클로로포름 1 mL를 가한 후, 손으로 잘 흔들고 3,000rpm에 서 8분간 원심분리시킨다.
4. 유기층을 파스퇴르 피펫으로 취하여 가스크로마토그래프용 검액으로 한다.

분석 조건

- **컬럼 :** DB-624 (60 m x 0.25 mm, 1.4μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼.
- **오븐 온도** : 120 ℃(1분) → 15 ℃/분 → 250 ℃(2분)
- **주입구 온도**: 250 ℃
- **검출기 온도**: 250 ℃
- **컬럼 유속**: 1.2 mL/분
- **분할주입비율**: 1/5
- **주입량**: 1 μL

정확도 / 정밀도 / 검출한계

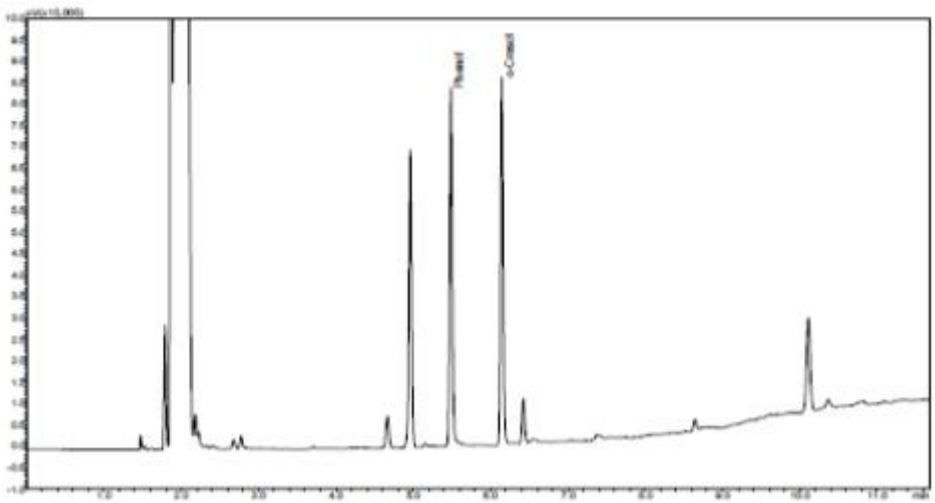
- **정밀도 / 정확도 :**

	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
o-크레졸	0.5	3.5	105.7
	5.0	2.0	107.0

* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함

- **검출한계 :** 0.1mg/L(S/N 비 3)

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 9> o-크레졸의 GC-FID 크로마토그램

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 o-크레졸의 농도(mg/L)를 구한다. o-크레졸의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여(mg/g 크레아티닌) 톨루엔의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

분석장비 :	헤드스페이스 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [HS GC-FID]

시약	기구
▪ o-크레졸(o-cresol) ▪ 황산수소나트륨(Sodium hydrogensulfate) ▪ 황산나트륨(Sodium sulfate) ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 100-1,000 µL ▪ 용량플라스크 10 mL ▪ 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL ▪ 롤러믹서(Roller mixer)

시약 조제

[표준용액]

1. o-크레졸 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다. 이를 표준용액 원액으로 한다.
2. 표준용액 원액을 0.1 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mL씩 취하여 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L 의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[포화용액]

황산나트륨 30 g 이상을 3차 정제수 100 mL에 녹여 황산나트륨 포화용액을 만든다.

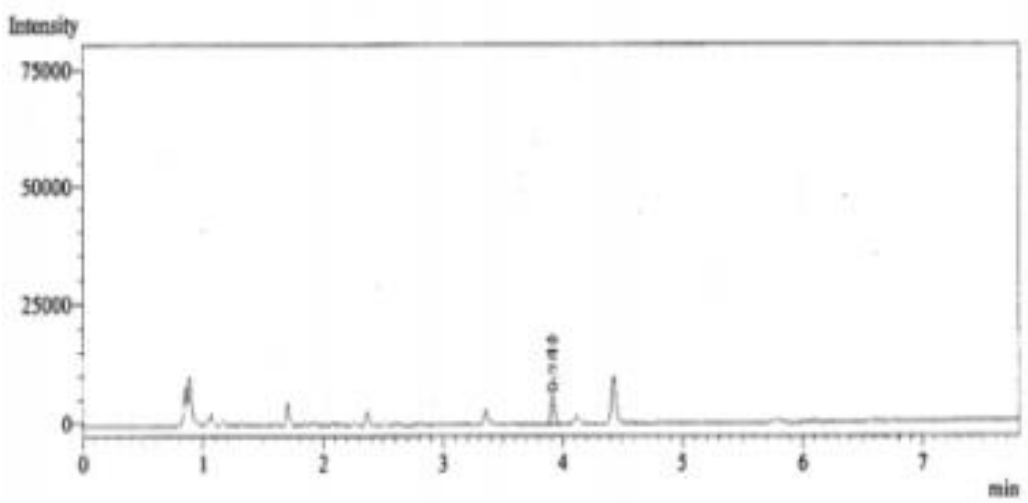
시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서(Roller mixer)로 잘 섞어준다.
2. 표준용액 및 시료를 0.3 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.3 g, 황산나트륨 포화용액 0.1 mL, 메탄올 0.1 mL를 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다. 삼염화초산을 o-크레졸과 같이 분석하지 않으면 메탄올은 추가하지 않는다.

분석 조건	정확도 / 정밀도 / 검출한계
▪ **컬럼 :** ZB-1701(30 m x 0.25 mm, 2.5µm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. ▪ **오븐 온도 :** 90 ℃(1분) → (20 ℃/분) → 120 ℃(2분) → (6 ℃/분)→ 124 ℃ → (45 ℃/분) → 220 ℃(0.5분), 총 7.8분 ▪ **주입구 온도**: 250 ℃ ▪ **검출기 온도**: 250 ℃ ▪ **헤드스페이스 조건** ① 시료오븐 : 115 ℃(60분가열, 진탕) ② 주입관 : 170 ℃ ③ 연결관 : 180 ℃	▪ **정밀도 / 정확도 :** 자료없음 ▪ **검출한계 :** 자료없음

④ 압력평형 : 0.5분 ⑤ 가압 : 0.5분 ⑥ 가압 평형 : 0.1분 ⑦ 주입 : 1분 ⑧ 니들 세척 : 10분	

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 10> 소변 중 o-크레졸의 HS GC-FID 크로마토그램

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 o-크레졸의 농도(mg/L)를 구한다. o-크레졸의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여(mg/g 크레아티닌) 톨루엔의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

분석장비 :	헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석검출기 [HS GC-MS]

시약	기구
▪ o-크레졸(o-cresol) ▪ o-크레졸 D8 ▪ 황산수소나트륨(Sodium hydrogensulfate) ▪ 황산나트륨(Sodium hydrogensulfate) ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 100-1,000 µL ▪ 용량플라스크 10 mL ▪ 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL ▪ 롤러믹서(Roller mixer)

시약 조제

[표준용액]

1. o-크레졸 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다. 이를 표준용액 원액으로 한다.
2. 표준용액 원액을 0.1 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mL씩 취하여 10 mL 용량플라스

크에서 희석용 소변으로 희석하여 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L 의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[포화용액]

황산나트륨 30 g 이상을 3차 정제수 100 mL에 녹여 황산나트륨 포화용액을 만든다.

시료 및 표준용액 전처리

[방법 1]

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서로 잘 섞어준 후 0.3 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.3 g, 황산나트륨 포화용액 0.1 mL를 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다.(<그림 11>의 시료 전처리방법).

[방법2]

2. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서로 잘 섞어준 후 0.2 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 내부표준시약(o-크레졸 D_8 1 mg/L) 0.2 mL, 황산수소나트륨 0.5 g을 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다. (<그림 12>의 시료 전처리방법)

분석 조건[1]

- **컬럼 :** DB-1701 (30 m x 0.25 mm, 2.5 μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼.
- **오븐 온도 :** 60 ℃(2분) → (20℃/분) → 120 ℃(1분) → (25℃/분)→ 220 ℃(1분), 총 11분
- **주입구 온도** : 220 ℃
- **검출기 온도** : 230 ℃
- **컬럼 유속**: 1.0 mL/분
- **분할주입비율**: 1/10
- **주입량**: 1 μL
- **헤드스페이스 조건**
  - ① 온도 :
    - 오븐 : 115 ℃
    - 주입관 : 170 ℃
    - 연결관 : 180℃
  - ② 시간 :
    - 가열 60min(진탕)
    - 가압 : 60 sec
    - 주입 : 6 sec
- **압력 :** 40 psi

정확도 / 정밀도 / 검출한계

- **정밀도 :**

	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*
o-크레졸	0.1	3.5
	2.0	2.0

* 같은 농도의 시료를 10개 분석한 결과로부터 구함

- **정확도 :**

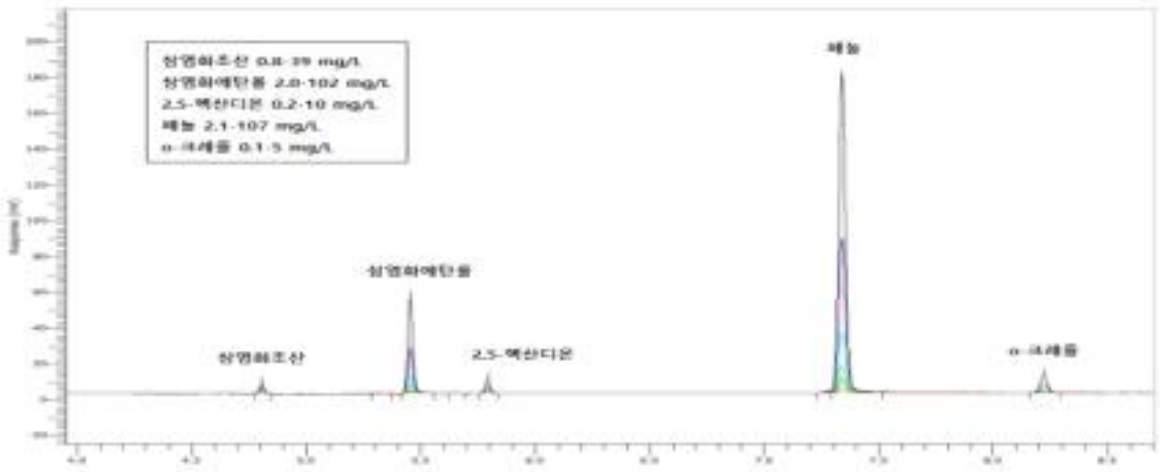
	농도(mg/L)	정확도 회수율(%)*
o-크레졸	0.2	105.7
	2.4	107.0

* 같은 농도의 시료를 10개 분석한 결과로부터 구함

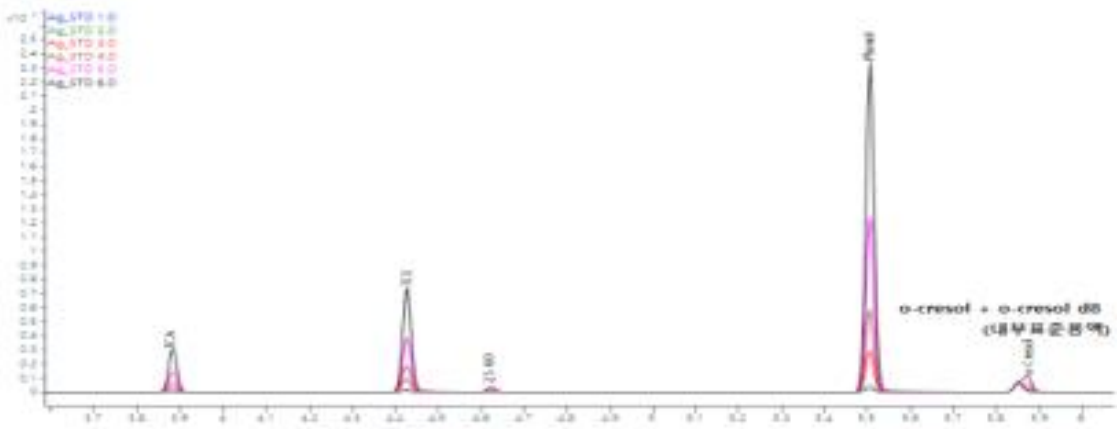
- **검출한계 :** 0.01mg/L(S/N 비 3)

▪ **검출방식** : 이온선택분석 (SIM : Selected Ion Monitoring) - o-크레졸 검출이온(M/Z) : 108, 107, 79	
분석 조건[2]	
▪ **컬럼 :** 1701 (30 m x 0.25 mm, 2.5 μm 막 두께의 컬럼) 또는 동등이상의 컬럼 ▪ **오븐 온도** : 60 ℃(1분) →(20℃/분) → 180 ℃(1분)→ 260℃(3분), ▪ 총 10분 ▪ **헤드스페이스 조건 :** 시료 오븐 100 ℃(60분 가열)	

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 11> 소변 중 o-크레졸의 HS GC-MS 크로마토그램(분석 조건 [1])



<그림 12> 소변 중 o-크레졸의 HS GC-MS 크로마토그램(분석 조건 [2])

농도계산
[방법1] y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 o-크레졸의 농도(mg/L)를 구한다. o-크레졸의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여 (mg/g 크레아티닌) 톨루엔의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다. **[방법2]** y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 o-크레졸의 농도(mg/L)를 구한다. o-크레졸의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여(mg/g 크레아티닌) 톨루엔의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다

· 참고문헌

- 조수헌, 임용현, 김선민, 권호장, 하미나, 한상환. 가스크로마토그라피를 이용한 요중 마뇨산 측정시 새로운 시료 전처리 방법의 검증. 대한산업의학회지 1995;7(1):58-62
- 생물학적 노출평가 표준시료 개발(3)-톨루엔의 생물학적 노출평가를 위한 소변 중 o-크레졸. 2018-연구원-832. 2018.

6.1.6 2,5-헥산디온[소변]

2,5-헥산디온[소변]

(유해물질 : n-hexane[1])

분자식 : $C_6H_{10}O_2$ **분자량 :** 114.14 **비 중 :** 0.973 **CAS No.:** 110-13-4

노출기준값 : 5 mg/L

분석 개요 : n-헥산은 체내에 흡수된 후 15% 이하가 2,5-헥산디온(2,5-hexanedione)으로 대사되어 소변으로 배출되며 소변 시료로부터 추출한 후, 불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID) 또는 질량분석기(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)를 이용하여 분석하며, 시료 주입은 직접주입 또는 헤드스페이스(HS) 방식으로 분석한다.

다만, n-헥산의 생물학적 노출평가 지표물질인 2,5-헥산디온은 메틸부틸 케톤의 지표물질로도 규정되어 있어, n-헥산에 단독으로 노출된 경우에 한하여 지표물질 분석 결과를 반영한다.

시료 채취 :
- 소변시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 ℃(2~8 ℃)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 ℃이하에서 보관한다.

분석장비 :	가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [GC-FID]
시약	**기구**
▪ 2,5-헥산디온(2,5-hexanedione) ▪ 사이클로헥사논(Cyclohexanone) ▪ 염산(Hydrochloric acid) ▪ 클로로포름(Chloroform) ▪ 3차 정제수	▪ 용량플라스크 10mL, 100 mL ▪ 마이크로 피펫 10-100, 200-2,000 μL ▪ 파스퇴르 피펫 ▪ 마개달린 시험관 ▪ 원심분리기 ▪ GC용 바이알 ▪ 항온수조(Water bath) ▪ 롤러믹서(Roller mixer)
시약 조제	
[표준용액] 1. 2,5-헥산디온 10 mg를 10 mL 용량플라스크에 옮기고 정확히 무게를 측정한 후 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L 표준용액을 만든다. 1,000 mg/L 표준용액을 1 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 표준용액을 만든다.	

1) 1차 검사항목 N-헥산의 생물학적 노출지표물질은 2차 검사항목 메틸 n-부틸 케톤과 동일함.

이것을 표준용액 원액으로 한다.

2. 표준용액 원액을 각각 1, 4, 7 mL씩 3개의 10 mL의 용량플라스크에 분취하고 희석용 소변으로 희석하여 1, 4, 7 mg/L가 되도록 제조한다. 10 mg/L 표준용액은 희석 과정 없이 중간 표준용액을 그대로 사용한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[내부표준용액]

1. 내부표준물질인 사이클로헥사논 6 µL를 10 mL 용량플라스크에 취하고 정확히 무게를 잰 후 클로로포름으로 표선을 맞추어 약 600 mg/L 용액을 조제한다.
2. 600 mg/L의 사이클로헥사논 클로로포름 용액을 다시 클로로포름으로 100배 희석하여 6 mg/L의 농도로 만들고 이를 성분 물질의 추출에 사용한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다.
2. 표준용액 및 시료을 각각 1 mL 씩 취하여 마개가 달린 시험관에 옮긴다.
3. 진한 염산(함량 35 %, 비중 1.18) 0.1 mL를 가하고 100 ℃에서 30분 가열하여 가수분해한 후 식힌다.
4. 사이클로헥사논(내부표준물질)이 첨가된 클로로포름 1 mL를 가하여 30초 이상 모든 시료를 동일한 시간 동안 흔들어 추출하고, 3,000 rpm 이상에서 4분 이상 원심분리하여 유기용제과 수층을 분리한다.
5. 위층의 수층과 경계면의 찌꺼기를 파스퇴르 피펫으로 제거한 후, 새 파스퇴르 피펫으로 남은 클로로포름 층을 취하여 GC용 바이알에 옮겨 분석용 시료로 한다.

분석 조건

- **컬럼** : OV-1 (25 m x 0.32 mm, 0.52µm 막두께의 컬럼)또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼
- **오븐 온도 :** 40 ℃ (1분)→(20 ℃/분)→ 120 ℃→(40℃/분)→220℃(2분)
- **주입구 온도** : 250℃
- **검출기 온도** : 250℃
- **컬럼 유속** : 1.0 mL/min
- **분할주입비(Split ratio)** : 시료 주입 시 미분할(Splitless) 모드 혹은 3:1 → 시료 주입 후 30초부터 50:1
- **주입량** : 3 µL

정밀도 / 정확도 / 검출한계

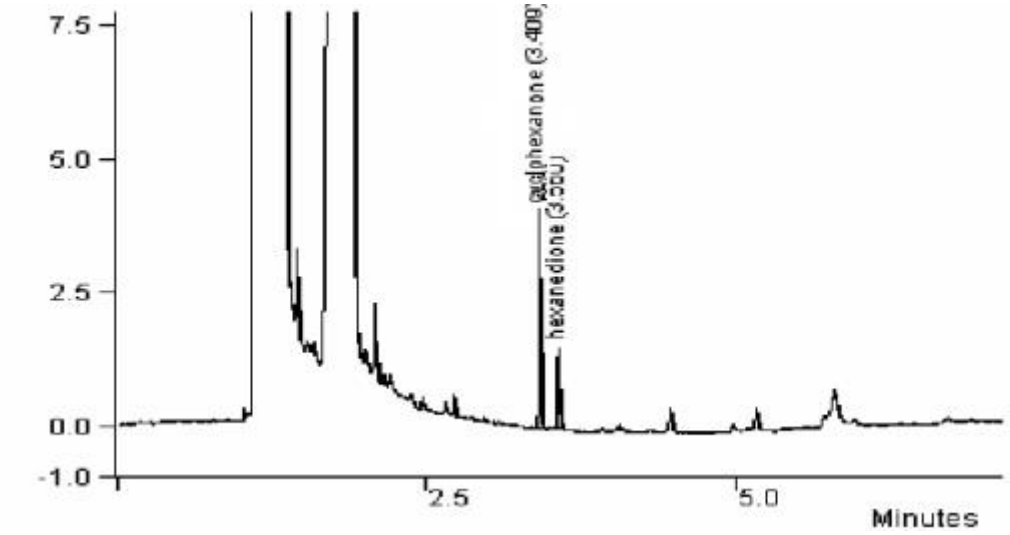
- **정밀도 / 정확도**

	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
2,5-헥산디온	2.9	3.2	101.
	4.8	2.3	99.
	7.6	0.5	101

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함

- **검출한계** : 0.44 mg/L(S/N 비 3)

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 13> 소변 중 2,5-헥산디온 의 GC-FID 크로마토그램
(2,5-헥산디온 2 mg/L 주입)

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 2,5-헥산디온의 농도(mg/L)를 구한다.

분석장비 :	헤드스페이스 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기[HS GC-FID]

시약	기구
▪ 2,5-헥산디온(2,5-hexanedione) ▪ 황산수소나트륨(Sodium hydrogensulfate) ▪ 황산나트륨(Sodium hydrogensulfate) ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 100-1,000 µL ▪ 용량플라스크 10 mL ▪ 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL ▪ 롤러믹서(Roller mixer)

시약 조제

[표준용액]

1. 2,5-헥산디온 10 mg를 10 mL 용량플라스크에 옮기고 정확히 무게를 측정한 후 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L 표준용액을 만든다. 1,000 mg/L 표준용액을 1 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 표준용액을 만든다.
2. 표준용액 원액을 각각 1, 4, 7, 10 mL 취하고 이를 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 1, 4, 7, 10 mg/L의 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[포화용액]

황산나트륨 30 g 이상을 3차 정제수 100 mL에 녹여 황산나트륨 포화용액을 만든다.

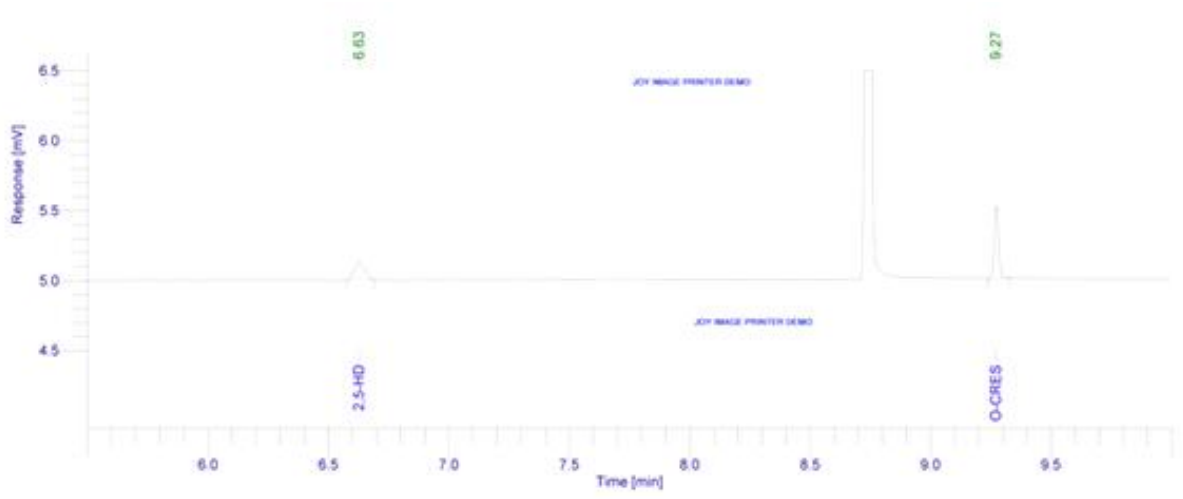
시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다.

2. 표준용액 및 시료 0.3 mL 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.3 g, 황산나트륨 포화용액 0.1 mL를 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다.

분석 조건	정확도 / 정밀도 / 검출한계
▪ **컬럼:** ZB-1701(30 m x 0.25 mm, 2.5 μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. ▪ **오븐 온도 :** 90 ℃(1분) → (20 ℃/분) → 120 ℃(2분) → (6 ℃/분) → 124 ℃→ (45 ℃/분) → 220 ℃(0.5분), 총 7.8분 ▪ **주입구 온도:** 250 ℃ ▪ **검출기 온도:** 250 ℃ ▪ **헤드스페이스 조건** ① 시료 오븐 : 115 ℃(60분가열, 진탕) ② 주입관 : 170 ℃ ③ 연결관 : 180 ℃ ④ 압력 평형 0.5분 ⑤ 가압 : 0.5분 ⑥ 가압 평형 : 0.1분 ⑦ 주입 : 1분 ⑧ 니들 세척 : 10분	▪ **정밀도 / 정확도 :** 자료없음 ▪ **검출한계 :** 자료없음

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 14> 소변 중 2,5-헥산디온 의 HS GC-FID 크로마토그램

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)를 대입하여 시료 중 포함

된 2,5-헥산디온의 농도(mg/L)를 구한다.

분석장비 :	헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석검출기 [HS GC-MS]

시약	기구
▪ 2,5-헥산디온(2,5-hexanedione) ▪ 황산수소나트륨(Sodium hydrogensulfate) ▪ 황산나트륨(Sodium sulfate) ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 100-1,000 µL ▪ 용량플라스크 10 mL ▪ 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL ▪ 롤러믹서(Roller mixer)

시약 조제

[표준용액]

1. 2,5-헥산디온 10 mg를 10 mL 용량플라스크에 옮기고 정확히 무게를 측정한 후 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L 표준용액을 만든다. 1,000 mg/L 표준용액을 1 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
2. 표준용액 원액을 각각 1, 4, 7 mL씩 3개의 10 mL의 용량플라스크에 분취하고 희석용 소변으로 희석하여 1, 4, 7 mg/L가 되도록 제조한다. 10 mg/L 표준용액은 희석 과정 없이 중간 표준용액을 그대로 사용한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[포화용액]

황산나트륨 30 g 이상을 3차 정제수 100 mL에 녹여 황산나트륨 포화용액을 만든다.

시료 및 표준용액 전처리

[방법 1]

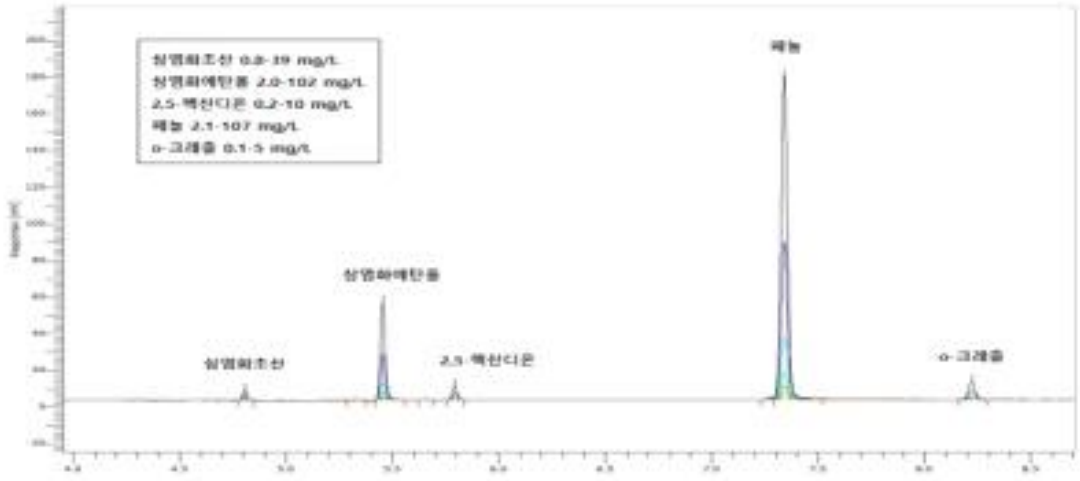
1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다.
2. 0.3 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.3 g, 황산나트륨 포화용액 0.1 mL 를 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다. (<그림 15>의 시료 전처리방법).

[방법2]

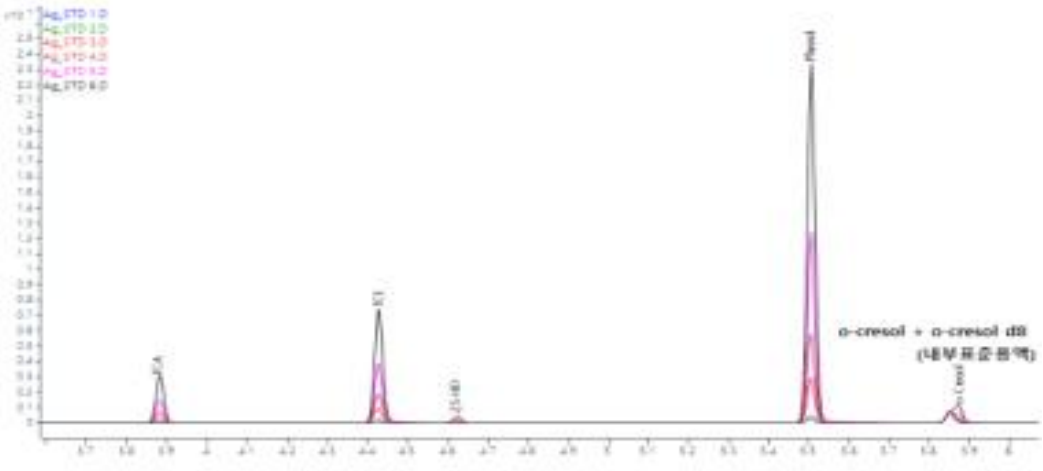
1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다.
2. 0.2 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.5 g 를 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다.(<그림 16>의 시료 전처리 방법).

분석 조건[1]	정확도 / 정밀도 / 검출한계
▪ **컬럼** : DB-1701 (30 m x 0.25 mm, 2.5 µm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ **오븐 온도** : 60 ℃(2분) → (20 ℃/분) → 120 ℃(1분) → (25 ℃/분) →	▪ **정밀도 / 정확도** : 자료없음 ▪ **검출한계** : 자료없음

220 ℃(1분), 총 11분 ▪ **주입구 온도** : 220 ℃ ▪ **검출기 온도** : 230 ℃ ▪ **컬럼 유속**: 1.0 mL/분 ▪ **분할주입비율**: 1/10 ▪ **주입량**: 1 μL ▪ **헤드스페이스 조건** **① 온도 :** - 오븐 : 115 ℃ - 주입관 : 170 ℃ - 연결관 : 180 ℃ **② 시간 :** - 가열 60 min(진탕) - 가압 : 60 sec - 주입 : 6 sec ▪ **압력 :** 40 psi ▪ **검출방식** : 이온선택분석 (SIM : Selected Ion Monitoring) - 2,5헥산디온 검출이온(M/Z) : 71, 99, 114	
분석 조건[2]	
▪ **컬럼 :** 1701 (30 m x 0.25 mm ID, 2.5 μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. ▪ **오븐 온도**: 60 ℃(1분) → (20 ℃/분) → 180 ℃(1분) → 260 ℃(3분), 총 10분 ▪ **헤드스페이스 조건 :** 시료 오븐 100 ℃ (60분 가열)	
분석 결과 크로마토그램 예시	



<그림 15> 2,5-헥산디온의 HS GC-MS 크로마토그램(분석 조건 [1])



<그림 16> 2,5-헥산디온의 HS GC-MS 크로마토그램(분석 조건 [2])

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 2,5-헥산디온 농도(mg/L)를 구한다.

· 참고문헌

- 생물학적 노출평가 표준시료 개발(3)-톨루엔의 생물학적 노출평가를 위한 소변 중 o-크레졸. 2018-연구원-832. 2018.

6.2 혈액 중 제1차 검사항목

6.2.1 메트헤모글로빈[혈액]

메트헤모글로빈 [혈액]

(유해물질 : p-니트로아닐린, p-니트로크로로벤젠, 디니트로톨루엔, 디메틸아닐린, 아닐린과 그 동족체, 에틸렌글리콜 디니트레이트 [2])

분자식 : 자료 없음 **분자량 :** 자료 없음 **비 중 :** 자료 없음 **CAS No.:** 자료 없음

노출기준값 : 1.5 %

분석 개요 : p-니트로아닐린 등(p-니트로아닐린, p-니트로클로로벤젠, 디니트로톨루엔, 디메틸아닐린, 아닐린과 그 동족체, 에틸렌 글리콜 디니트레이트)은 체내에 흡수된 후 혈액 중의 헤모글로빈에 결합된 철을 2가에서 3가로 산화시킴으로써 헤모글로빈을 메트헤모글로빈으로 전환시킨다. 혈액 중 메트헤모글로빈(methemoglobin, met - Hb)을 자외가시부 분광광도계(Ultraviolet/visible spectrophotometer; UV/VIS Spectrophotometer)로 분석한다. 단, 혈액가스분석기는 해당 원리를 포함하고 있으므로 동일한 분석 방법으로 간주할 수 있다.

시료 채취 :
- 혈액 시료 채취는 하루 중 어느 때나 가능하다.
- 근로자의 정맥혈을 EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid) 함유 채혈관, 또는 헤파린(Heparin) 처리된 튜브와 일회용 주사기 또는 진공채혈관을 이용하여 2 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 1시간 이내에 분석하며, 분석 전까지 4 ℃(2~8 ℃)에서 보관한다.

분석장비 :	자외가시부 분광광도계 [UV/VIS]
시약	기구
▪ 제1인산칼륨(KH_2PO_4) (Potassium Phosphate, Monobasic) ▪ 제2인산칼륨(K_2HPO_4) ▪ (Potassium Phosphate, Dibasic) ▪ 페리시안화칼륨[$K_3Fe(CN)_6$] (Potassium ferricyanide) ▪ 시안화칼륨(Potassium Cyanide) ▪ 3차 정제수	▪ 헤파린 또는 EDTA 처리된 채혈관 ▪ 용량플라스크 10 ,100, 500 mL ▪ 마이크로피펫 100-1,000 mL ▪ 유리 시험관 10 mL ▪ 석영 cell ▪ 롤러믹서(Roller mixer) ▪ 원심분리기 ▪ 전자저울

2) 1차 유해물질 p-니트로아닐린, p-니트로크로로벤젠, 디니트로톨루엔, 디메틸아닐린, 아닐린과 그 동족체, 에틸렌글리콜 디니트레이트의 생물학적 노출지표(BEI)는 혈액 중 메트헤모글로빈으로 동일함.

시약조제
[인산 완충용액] 50mL 용량플라스크에 제1인산칼륨 652 mg, 제2인산칼륨 475 mg을 넣고 3차 정제수로 표선을 맞추어 인산 완충용액을 조제한다. **[페리시안화칼륨 용액]** 10mL 용량플라스크에 페리시안화칼륨 2 g을 넣고 3차 정제수로 표선을 맞추어 20 % 페리시안화칼륨 용액을 조제한다. **[시안화칼륨 용액]** 1. 10 mL 용량플라스크에 시안화칼륨 0.5 g을 넣고 3차 정제수로 표선을 맞추어 5 % 시안화칼륨 용액을 조제한다. 2. 시안화칼륨은 맹독성 물질이므로 취급에 주의하고, 취급할 때는 보호안경, 장갑, 마스크를 착용한 후 후드에서 작업한다.
시료 및 표준용액 전처리
1. 모든 시료는 거품이 발생하지 않도록 40분간 롤러믹서로 균질화시킨다. 2. 10 mL 시험관에 혈액 0.1 mL와 3차 정제수 3.9 mL를 넣고 혼합하여 용혈시킨 후 인산완충용액 4.0 mL를 가하여 혼합한다. 3. 10분간 방치 후 3,000 rpm에서 4분간 원심분리한다. 4. 상층액을 두 개의 석영 cell에 3 mL씩 넣고 이 중 한 cell에만 페리시안화칼륨 용액 0.1 mL를 가하여 혼합한다. 혼합하여 2분 후 630 nm에서 3차 정제수를 공시료로 측정한 흡광도를 Aa와 Ba로 기록한다. 5. 측정한 후의 석영 cell에 시안화칼륨 용액을 0.1 mL씩 첨가한 후 혼합하여 5분 후 다시 측정한다. 이 때의 흡광도를 Ab와 Bb로 기록한다.
농도계산
1. 측정한 값으로부터 다음과 같이 메트헤모글로빈의 농도를 계산한다. met-Hb(%) = 100 x (Aa-Ba/Ab-Bb) 2. Aa-Ba : 순수한 시료의 메트헤모글로빈 흡광도 Ab-Bb : 순수한 총 헤모글로빈의 흡광도

기술지원규정 개정 이력

□ 제정일 : 2026. 1. 30.

○ 제정자 : 국립창원대학교 산학협력단

○ 제정사유 :

- 유해화학물질의 종류(유기화합물)에 따라 통·폐합 진행
- 근로자 건강진단 실무지침 분류 반영된 산업안전보건법 내용을 반영하고 사업장에서 실질적으로 사용할 수 있는 내용으로 최신화 필요

관리번호	기술지원규정명	정비유형
E-M-6-2026	생물학적 노출지표물질(유기화합물_1차 검사항목) 분석에 관한 기술지원규정	통폐합(제정)
H-8-2023	톨루엔의 생물학적노출지표물질 분석에 관한 기술지침	통폐합(폐지)
H-14-2021	디메틸포름아미드의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침	
H-20-2023	트리클로로에틸렌의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침	
H-139-2021	노말헥산의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침	
H-143-2021	p-니트로아닐린생물학적 노출 평가 분석 방법에 관한 지침	
H-144-2021	에틸렌글라이콜모노에틸에테르의 생물학적 노출 평가 분석 방법에 관한 지침	
H-167-2021	퍼클로로에틸렌의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침	
H-168-2021	크실렌의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침	
H-210-2020	1,2-디클로로프로판의 생물학적 노출지표 물질분석 기술지침	

○ 주요 제정내용

- 생물학적 노출지표물질명 및 시료 종류 기준으로 분류
- 유해물질 별도 표기및 유해물질명 기준의 노출 기준값 및 검사방법 [표]로 작성
- 분석개요, 분석장비, 분석원리를 분석개요로 통합
- 근로자건강진단 실무지침의 기준으로 재작성
- 분석방법을 통일된 [표]양식으로 작성
- 정밀도, 정확도, 검출한계 통합 표기
- 시료채취시기 및 종류, 노출기준 및 단위 최신화 반영

KOSHA GUIDE
기술지원규정

·규정번호 : E-M-6-2026
·심　　의 : 산업안전보건표준제정위원회
·공 표 일 : 2026. 1. 30.