

KOSHA GUIDE

E - M - 7 - 2026

생물학적 노출지표물질(유기화합물_2차 및 권장 검사항목) 분석에 관한 기술지원규정

2026. 1.

한국산업안전보건공단

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

기술지원규정의 개요

- 제정자 : 국립창원대학교 산학협력단
- 제 · 개정경과
 - 2025년 12월 보건·위생분야 전문위원회 심의(제정)
 - 2026년 1월 표준제정위원회 본위원회 심의(제정)
- 관련 규격 및 자료
 - 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 분석방법 연구 II: 디메틸포름아미드 등 유기용제 13종. 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 2차 및 권장 검사항목 유해물질명 및 해당 지표물질명	2
5. 유기화합물 분석법 (공통)	4
5.1 소변 중 유기화합물 정량 분석법	4
5.2 혈액 중 유기화합물 정량 분석법	5
6. 2차 생물학적 노출지표 물질별 분석 방법	7
6.1 소변 중 2차 검사항목	7
6.1.1 메탄올[소변]	7
6.1.2 뮈콘산(t,t-뮈콘산)[소변]	11
6.1.3 아세톤[소변]	14
6.1.4 2-에톡시초산[소변]	16
6.1.5 총 클로로카테콜(4-클로로카테콜)[소변]	19
6.1.6 페놀[소변]	22
6.1.7 1-하이드록시파이렌[소변]	26
6.1.8 2,5-헥산디온[소변]	29
6.2 혈액 중 2차 검사항목	36
6.2.1 메트헤모글로빈[혈액]	36
6.2.2 벤젠[혈액]	38
6.2.3 카복시헤모글로빈[혈액]	41
7. 권장 생물학적 노출지표 물질별 분석 방법	43
7.1 소변 중 권장 검사항목	43

7.1.1 만델릭산+페닐글리옥실산[소변]	43
7.1.2 TTCA[소변]	48
7.1.3 S-페닐머캅토산[소변]	51
7.2 혈액 중 권장 검사항목	56
7.2.1 톨루엔[혈액]	56

생물학적 노출지표물질 (유기화합물_2차 및권장 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 2차 검사 및 권장 검사 항목으로 선정된 노출지표 물질에 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, 건강 보호를 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, 인증표준 물질이 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 관한규칙에서 정하는 바에 따른다.

4. 유기화합물 중 2차 및 권장 검사항목 유해물질명 및 해당 지표물질명

- (1) 이 규정에서는 분석자의 편의를 위해 ‘생물학적 노출지표물질명’을 기준으로 하여 분석 방법을 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(Biomarker of Exposure)의 분석 방법은 근로자건강진단 실무지침<표1>에 따른다.

<표1> 유기화합물 중 ‘생물학적 노출지표물질명의 노출기준값 및 검사방법’[2차 및 권장항목]

구 분	번호*	유해물질		시료채취		지표물질명	권장분석법	검사값	표시단위
				종류	시기			노출 기준	
2차	11	p-디메틸아미노아조벤젠		혈액	수시	메트헤모글로빈	혈액가스분석	1.5	%
	18	디클로로메탄		혈액	당일	카복시헤모글로빈	혈액가스분석	3.5	%
	26	메탄올		소변	당일	메탄올	HS GC-FID	15	mg/L
	29	메틸 n-부틸 케톤		소변	당일	2, 5-헥산디온	GC-FID	5	mg/L
	31	메틸 에틸 케톤		소변	당일	메틸에틸케톤***	HS GC-FID	2	mg/L
	32	메틸 이소부틸 케톤		소변	당일	메틸이소부틸케톤***	HS GC-FID	2	mg/g crea
	41	벤젠	0.5 ppm기준	소변	당일	뮤콘산	HPLC-UVD	500	μg/g crea
			10 ppm 기준	혈액	당일	벤젠	HS GC-MSD	5	μg/L
				소변	당일	페놀	GC-FID	50	mg/g crea
	61	아세톤		소변	당일	아세톤	HS GC-FID	80	mg/L
	66	2-에톡시에탄올		소변	주말	2-에톡시초산	GC-FID	100	mg/g crea
	81	이소프로필알코올		혈액	당일	아세톤***	HS GC-FID	50	mg/L
				소변			HS GC-FID	50	mg/L
	83	콜타르		소변	당일	1-하이드록시파이렌	HPLC-FD	4.6	μg/L
	87	클로로벤젠		소변	당일	총 클로로카테콜	HPLC-UVD	150	mg/g crea
	99	페놀		소변	당일	페놀	GC-FID	250	mg/g crea
	100	펜타클로로페놀		혈액	당일	유리펜타클로로페놀	HPLC-UVD	5	mg/L
	11	일산화탄소		혈액	당일**	카복시헤모글로빈	혈액가스분석	3.5	%
				호기		일산화탄소	일산화탄소 측정기	20	ppm
권 장	41	벤젠(0.5 ppm기준)		소변	당일	S-페닐머캅토산	GC-MSD	25	μg/g crea
	54	스티렌		소변	당일	만델릭산 + 페닐글리옥실산	HPLC-UVD GC-FID	600	mg/g crea.
				소변	당일	스티렌***	HS GC-FID	40	μg/L
	82	이황화탄소		소변	당일	TTCA	HPLC-UV D	0.5	mg/g crea
	91	톨루엔(50 ppm기준)		혈액	당일	톨루엔	HS GC-FID	0.05	mg/L
	98	퍼클로로에틸렌		혈액	주말	퍼클로로에틸렌***	HS GC-FID	0.5	mg/L

* 번호 : 산업안전보건법 시행규칙 [별표 24] 특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목상의 번호

** 혈액 : 노출 작업 종료 후 10-15분 이내에 채취, 호기 : 노출 작업 종료 후 10-15분 이내, 호기 검사

*** 산업안전보건공단의 공식적인 분석법의 부재로 해당 기술지원규정에는 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 표준용액을 정할 수 있다.

(2) 농도계산

(가) 농도계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고 시료의 피크 면적 또는 내부표준물질의 피크 면적(내부표준물질이 있는 경우)으로 보정한 값을 세로 (y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y=ax+b$ 의 회귀방정식에 시료의 피크 면적을 대입하여 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.

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

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

(1) 표준용액

(가) 표준용액 조제를 위한 회석용 용액

3차 정제수를 사용한다. 사용 이전에 미리 3차 정제수를 분석하여 유기화합물이 없는 것을 확인한 후 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 내부표준물질의 피크 면적(내부표준물질이 있는 경우)으로 보정한 값을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y=ax+b$ 의 회귀방정식에 시료의 피크 면적을 대입하여 지표물질의 농도를 구한다.

(나) 가스 분석의 농도 계산

혈액 검사 항목의 전처리 방법에 따라 각 항목에 맞는 농도 계산 방법을 따른다.

(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.

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

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.

6. 2차 생물학적 노출지표 물질별 분석방법

6.1 소변 중 2차 검사항목

6.1.1 메탄올[소변]

메탄올[소변] (유해물질 : 메탄올)

분자식 : CH₃OH 분자량 : 32.0 비 중 : 0.807 CAS No : 67-56-1

노출기준값 : 15 mg/L

분석 개요 : 메탄올은 작업 중 호흡기를 통해 주로 흡수되며, 흡수된 메탄올(Methanol) 중 10%가 변화되지 않고 소변으로 빠르게 배출되므로(반감기 1.5~2시간) 소변 중에 존재하는 메탄올을 헤드스페이스 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출 (Head-space gas chromatograph-flame ionization detector, HS GC-FID)나, 헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석검출기(Headspace gas chromatograph mass spectrometric detector, HS GC-MS)로 분석한다.

시료 채취 :

- 소변 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업 종료 시까지 채취한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 것을 사용하고, 시료는 10 mL 이상 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 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [HS GC-FID]	
시약		기구
▪ 메탄올(Methanol) ▪ 염화나트륨(Sodium chloride) ▪ 3차 정제수		▪ 용량플라스크 10mL, 100 mL ▪ 마이크로피펫 100-1,000 μL, 1000-5,000 μL ▪ 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL ▪ 롤러믹서(Roller mixer)
시약조제		
[표준용액]		
1. 메탄올 0.1 g을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다. 2. 표준용액 원액을 10 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 100 mg/L의 표준용액을 만든다. 100 mg/L의 표준용액을 각각 0.5, 1, 2, 3 mL 취하여 이를		

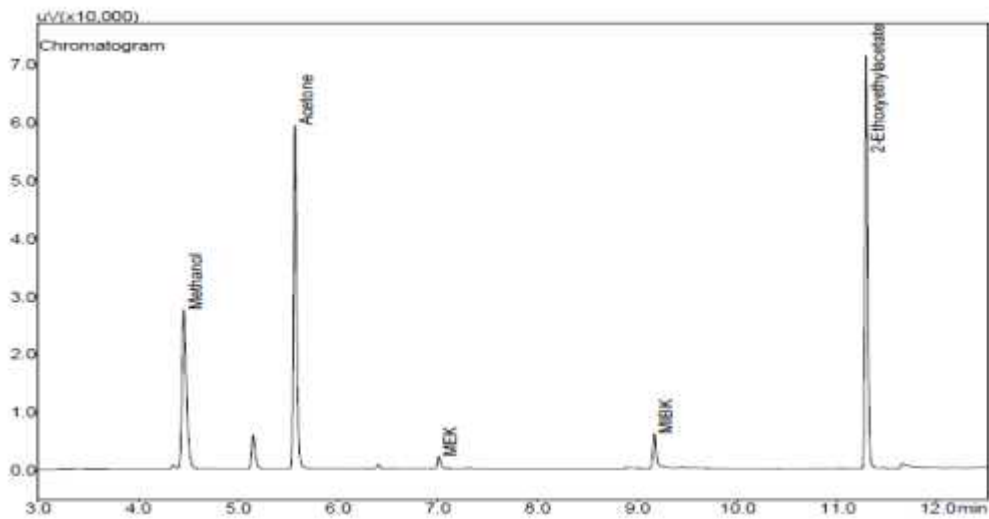
10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 5, 10, 20, 30 mg/L의 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 롤러믹서로 3분간 잘 섞어준다.
2. 염화나트륨 약 1 g을 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고 여기에 표준용액 및 시료 2 mL를 취하여 넣는다.
3. 바이알을 밀봉한 후 헤드스페이스 GC용 검액으로 한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계												
▪ 컬럼 : Rtx-624 (60 m × 0.25 mm, 1.4 μm 막 두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ 오븐 온도 : 40 ℃(1분) → 15 ℃/분 → 240 ℃(1분) ▪ 주입구 온도 : 230 ℃ ▪ 검출기 온도 : 260 ℃ ▪ 컬럼 유속 : 2 mL/분 ▪ 분할주입비율 : 1/10 ▪ 헤드스페이스 조건 ① 온도 : - 시료 : 70 ℃ - 주입관 : 150 ℃ - 밸브 : 150 ℃ ② 가열시간 : 10분 ③ 시료주입량 : 1 mL	▪ 정밀도 / 정확도<table><tr><th></th><th>농도(mg/L)</th><th>정밀도 변이계수(%)*</th><th>정확도 회수율(%)*</th></tr><tr><td>메틸</td><td>5</td><td>5.6</td><td>98.8</td></tr><tr><td>알코올</td><td>25</td><td>4.5</td><td>96.8</td></tr></table> * 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함. ▪ 검출한계 : 0.3 mg/L(S/N 비 3)		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*	메틸	5	5.6	98.8	알코올	25	4.5	96.8
	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*										
메틸	5	5.6	98.8										
알코올	25	4.5	96.8										

분석 결과 크로마토그램 예시



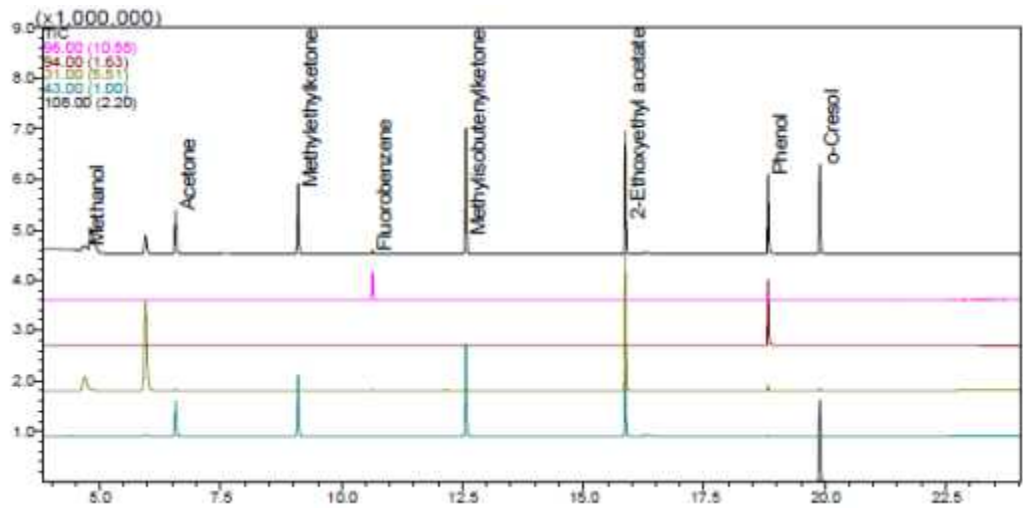
<그림 1> 소변 중 메탄올의 GC-FID 크로마토그램

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

분석장비 :	헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석검출기 [HS GC-MS]								
시약	기구								
- 메탄올(Methanol) - 염화나트륨(Sodium chloride) 3차 정제수	- 용량플라스크 10mL, 100 mL - 마이크로피펫 100 - 1,000 μL, 1000-5,000 μL - 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL - 롤러믹서(Roller mixer)								
시약조제									
[표준용액] - 메탄올 0.1 g을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다. - 표준용액 원액을 10 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 100 mg/L의 표준용액을 만든다. 100 mg/L의 표준용액을 각각 0.5, 1, 2, 3 mL 취하여 이를 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 5, 10, 20, 30 mg/L의 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.									
시료 및 표준용액 전처리									
- 표준용액 및 시료를 롤러믹서로 3분간 잘 섞어준다. - 염화나트륨 약 1 g을 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고 여기에 표준용액 및 시료 2 mL를 취하여 넣는다. - 바이알을 밀봉하여 헤드스페이스 GC 분석용 시료로 한다.									
분석 조건	정밀도/정확도/검출한계								
- 컬럼 : Rtx-624 (60 m $\times$ 0.25 mm, 1.4 μm 막 두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 - 오븐 온도 : 40 $^{\circ}$C (1분) $\rightarrow$ 15 $^{\circ}$C/분 $\rightarrow$ 240 $^{\circ}$C (1분) - 주입구 온도 : 230 $^{\circ}$C - 검출기 온도 : 260 $^{\circ}$C - 컬럼 유속 : 2 mL/분 - 분할주입비율 : 1/10 - 헤드스페이스 조건 ① 온도 : - 시료 : 70 $^{\circ}$C - 주입관 : 150 $^{\circ}$C - 밸브 : 150 $^{\circ}$C	<table> <tr> <th colspan="2">정밀도/ 정확도</th></tr> <tr> <th>농도(mg/L)</th><th>정밀도 변이계수(%)*</th></tr> <tr> <td>1</td><td>20.7</td></tr> <tr> <td>10</td><td>8.5</td></tr> </table> * 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함. 검출한계 : 0.16 mg/L(S/N 비 3)	정밀도/ 정확도		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	1	20.7	10	8.5
정밀도/ 정확도									
농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*								
1	20.7								
10	8.5								

② 가열시간 : 10분 ③ 시료주입량 : 1 mL ■ 검출방식 : 이온선택분석 (SIM : Selected Ion Monitoring) - 메탄올 검출이온(M/Z) : 31	
---	--

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 2> 소변 중 메탄올의 HS GC-MS 크로마토그램

농도계산

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

6.1.2 뮈콘산[소변]

뮈콘산(t,t-뮈콘산)[소변]

(유해물질 : 벤젠)

분자식 : $C_6H_6O_4$ 분자량 : 142.11 비 중 : 자료없음 CAS No.: 3588-17-8

노출기준값 : 500 $\mu\text{g/g}$ 크레아티닌

분석 개요 : 벤젠은 체내로 흡수된 후 벤젠 노출량의 1.9 %가 t,t-뮈콘산(trans, trans - muconic acid)으로 대사되어 소변에서 검출된다. 소변 중 t,t-뮈콘산은 0.25 ppm까지의 벤젠 노출을 반영하는 노출지표로, 자외선 검출기 파장 264 nm에서 가장 흡수 강도가 크므로 이 파장에서 t,t-뮈콘산을 검출한다. 소변 시료중의 t,t-뮈콘산을 고상추출(Solid phase extraction) 카트리지로 분리하고 농축하여 고성능 액체크로마토그래프-자외선검출기(High performance liquid chromatograph-ultraviolet detector, HPLC-UV)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 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 $^{\circ}\text{C}$ (2~8 $^{\circ}\text{C}$)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 $^{\circ}\text{C}$ 이하에서 보관한다.

분석장비 :	고성능 액체크로마토그래프-자외선검출기 [HPLC-UV]	
	시약	기구
	▪ t,t-뮈콘산(trans, trans-muconic acid) ▪ 제2인산칼륨(K_2HPO_4) (Dipotassium Phosphate) ▪ 제1인산칼륨(KH_2PO_4) (Potassium Phosphate, Monobasic) ▪ 인산(Phosphoric acid) ▪ 초산(Acetic acid) ▪ 메탄올(Methanol)_HPLC용 ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 100 - 1,000 μL, 1000-5,000 μL ▪ 용량 플라스크 10 mL, 100 mL , 1,000 mL ▪ 고상추출(SPE) 카트리지(강음이온 교환수지 (SAX) 100 mg) ▪ 용매여과장치 ▪ HPLC용 바이알 ▪ 롤러믹서(Roller mixer) ▪ 여과막
시약조제		
[표준용액] 1. t,t-뮈콘산 표준시약 5 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 50 mg/L의 표준용액을 조제한다. 2. 50 mg/L의 표준용액을 20 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다.		

3. 표준용액 원액을 0.1, 0.5, 1, 3, 5 mL를 취하여 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 뮈콘산 0.1, 0.5, 1, 3, 5 mg/L의 표준용액을 조제하여 검량선을 작성한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[고상추출용 초산 수용액]

초산 100 mL와 3차 정제수 900 mL를 혼합하여 10 % 초산 1,000 mL를 조제한다. 10 % 초산 1 mL를 1,000 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 0.1 % 초산을 조제한다.

[시료 희석용 인산완충용액 (pH 7.4)]

제1인산칼륨 1.179 g과 제2인산칼륨 4.303 g을 정확하게 달아 1,000 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수 100 mL를 넣고 교반하여 녹인 다음, 3차 정제수로 1,000 mL 표선을 맞춘다.

[이동상(pH 2.5)]

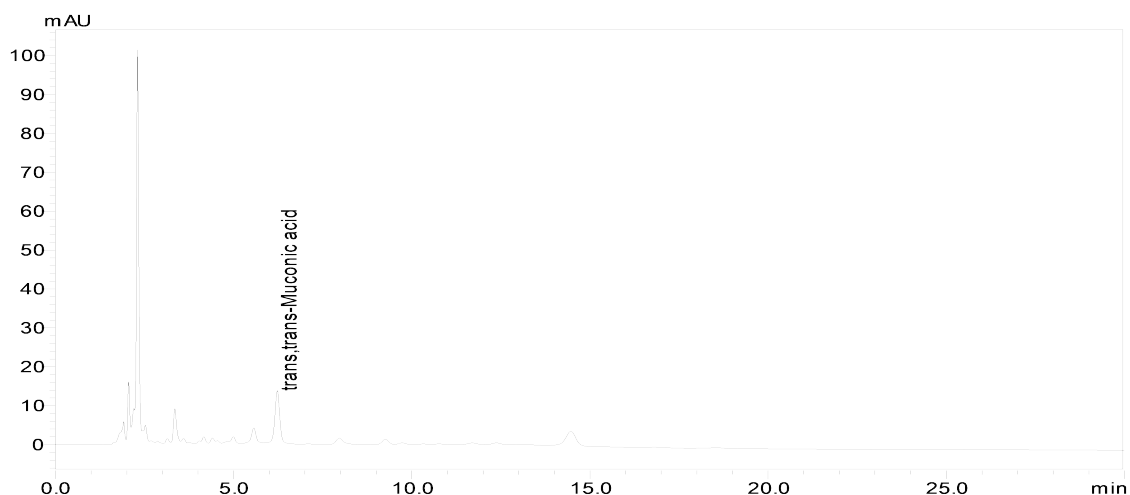
제2인산칼륨 약 1.4 g을 1,000 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수를 가하여 흔들어 녹인다. 3차 정제수로 표선을 채워 10 mM 인산 완충용액을 만들고 여기에 인산 850 µL를 가한다. 조제한 수용액을 0.45 µm 여과막을 이용하여 여과한 여액을 탈기한 후 이동상으로 사용한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 고상추출 카트리지(Solid phase extraction)에 메탄올 1 mL를 3회, 0.1 % 초산 1 mL를 3회 통과시켜 활성화시킨다.
2. 표준용액 및 시료를 물리믹서로 3분간 잘 섞어준 후, 500 µL에 인산완충용액(pH 7.4) 300 µL를 넣고 혼합한 후, 카트리지에 주입한다. 소변 시료가 카트리지에 모두 스며들 때까지 그대로 방치한다.
3. 0. % 초산 1 mL를 가하여 카트리지를 세척한다.
4. 10 % 초산 1 mL를 2회 가하여 용리시킨 여액에 3차 정제수를 가하여 최종 부피를 3 mL로 맞춘 후 잘 섞고 HPLC 바이알에 옮겨 분석용 검액으로 한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계			
▪ 컬럼 : Capcell Pak MF Ph-1 SG 80 (150 mm × 4.6 mm, 입경 5 μm) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. ▪ 이동상 : 10 mM 제2인산칼륨 수용액1,000 mL + 인산 850 μL ▪ 유속 : 0.5 mL/min ▪ 시료 주입량 : 50 μL ▪ 검출기 : 자외선검출기(264 nm)	▪ 정밀도 / 정확도			
		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
	t,t-	0.5	3.6	100.6
	뮤콘산	5.0	3.4	99.7
	* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.			
	▪ 검출한계 : 0.02 mg/L (S/N 비 3)			

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 3> 소변 시료 중 t,t-뮤콘산의 HPLC-UV 크로마토그램

농도계산

$y=ax+b$ 의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 t,t-뮤콘산의 농도(mg/L)를 구한다. t,t-뮤콘산의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여(mg/g 크레아티닌) 벤젠의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

· 비 고

- 0.5 ppm 미만의 벤젠 노출 시에는 t,t-뮤콘산이 지표로 부적절함
- 베리, 통조림이나 가공식품 중 sorbic acid가 소변 중 t,t-뮤콘산을 증가시킴(500, 700 µg/g 크레아티닌까지 검출)
- 비흡연자의 t,t-뮤콘산 최고값이 500 µg/g 크레아티닌(평균 100 µg/g 크레아티닌)
- 흡연자 중 흡입하는 벤젠이 t,t-뮤콘산을 1,300 µg/g 크레아티닌까지 증가시킴 (평균 300 µg/g 크레아티닌)

· 참고문헌

- Tranfo G, Paci E, Sisto R, Pigni D. Validation of an HPLC/MS/MS method with isotopic dilution for quantitative determination of trans,trans-muconic acid in urine samples of workers exposed to low benzene concentrations. Journal of Chromatography B. 2008;867:26 - 31
- Urinary Trans, Trans-Muconic acid is Not a Reliable Biomarker of Low-level Environmental and Occupational Benzene Exposures saf Health Work. 2016 Oct 13;8(2):220-225
- BIOMEDICAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCES 19, 292-296 (2006)
- Journal of Chromatography B Volume 818, Issue 2, 25 April 2005, Pages 277-283
- Separations 2016, 3(2), 14

6.1.3 아세톤[소변]

아세톤[소변]

(유해물질 : 아세톤)

분자식 : C_3H_6O 분자량 : 58.08 비 중 : 0.78998 CAS No.: 67-64-1

노출기준값 : 80 mg/L

분석 개요 : 아세톤은 호흡기가 주된 흡수 경로이다. 노출 경로에 상관없이 주된 배설 경로는 호흡기이며, 흡수된 아세톤(Acetone) 중 변화하지 않은 아세톤이 소변으로 배출되므로(1차 반감기 3시간 이하, 2차 반감기 3.5시간) 소변 중에 존재하는 아세톤을 헤드스페이스 가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Headspace gas chromatograph flame ionization detector, HS GC-FID)로 분석한다.

시료 채취 :

- 소변 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 것을 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취하며, 휘발성 성분의 손실을 최소화하기 위해 용기 상부(용기의 90 % 이상)까지 시료를 가득 채운다.
- 채취한 시료를 밀봉하여 4 °C(2~8 °C)를 유지한 상태로 이동하고 보관하며, 채취 후 5일 이내에 분석한다.

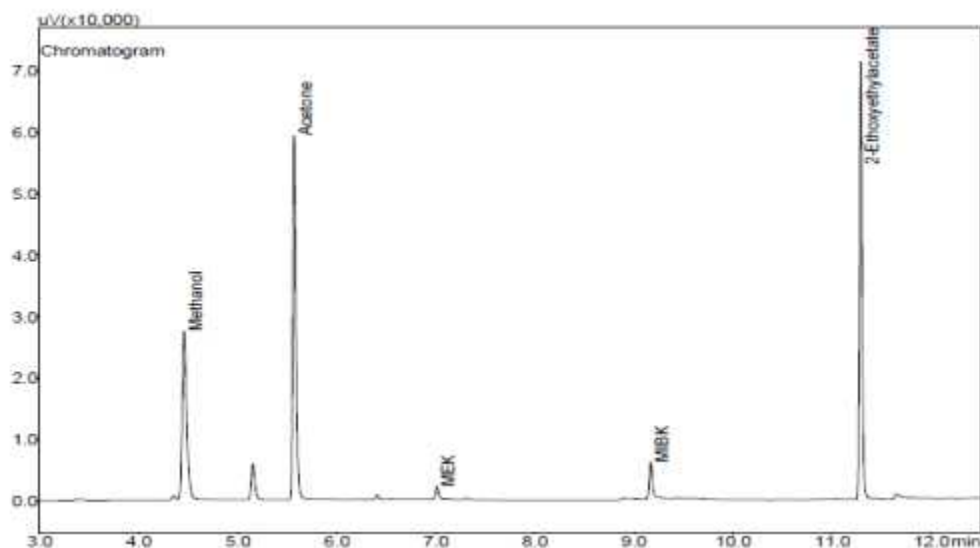
분석장비 :	헤드스페이스 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [HS GC-FID]
시약	기구
■ 아세톤(Acetone) ■ 염화나트륨(Sodium chloride) ■ 3차 정제수	■ 용량플라스크 10 mL, 100 mL ■ 마이크로피펫 100 - 1,000 μL, 1000-5,000 μL ■ 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL ■ 롤러믹서(Roller mixer)
■ 시약조제	
[표준용액] 1. 아세톤 0.5 g을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 5,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다. 2. 표준용액 원액을 10 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 500 mg/L의 표준용액을 만든다. 500 mg/L의 표준용액을 각각 0.5, 1, 2, 3 mL 취하여 이를 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 25, 50, 100, 150 mg/L의 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.	
시료 및 표준용액 전처리	
1. 표준용액 및 시료를 롤러믹서로 3분간 잘 섞어준다. 2. 염화나트륨 약 1 g을 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고 여기에 표준용액 및 시료 2 mL를	

취하여 넣는다.

3. 바이알을 밀봉한 후 헤드스페이스 GC용 검액으로 한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계											
- 컬럼 : Rtx-624 (60 m × 0.25 mm, 1.4 μm 막 두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. - 오븐 온도 : 40 ℃(1분) → 15 ℃/분 → 240 ℃(1분) - 주입구 온도 : 230 ℃ - 검출기 온도 : 260 ℃ - 컬럼 유속 : 2 mL/분 - 분할주입비율 : 1/10 - 헤드스페이스 조건 ① 온도 : - 시료 : 70 ℃ - 주입관 : 150 ℃ - 밸브 : 150 ℃ ② 가열시간 : 10분 ③ 시료주입량 : 1 mL	- 정밀도/정확도<table><tr><th></th><th>농도(mg/L)</th><th>정밀도 변이계수(%)*</th><th>정확도 회수율(%)*</th></tr><tr><td rowspan="2">아세톤</td><td>50</td><td>7.2</td><td>97.2</td></tr><tr><td>100</td><td>6.8</td><td>99.2</td></tr></table> * 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함. - 검출한계 : 3.7 mg/L(S/N 비 3)		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*	아세톤	50	7.2	97.2	100	6.8	99.2
	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*									
아세톤	50	7.2	97.2									
	100	6.8	99.2									

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 4> 소변 중 아세톤의 HS GC-FID 크로마토그램

농도계산

$y=ax+b$ 의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 아세톤의 농도(mg/L)를 구한다.

6.1.4 2-에톡시초산[소변]

2-에톡시 초산[소변] (유해물질 : 2-에톡시에탄올)

분자식 : $C_4H_8O_3$	분자량 : 104.10	비 중 : 1.107	CAS No.: 627-03-2
-------------------	--------------	-------------	-------------------

노출기준값 : 100 mg/g 크레아티닌

분석 개요 : 2-에톡시 에탄올(2-Ethoxyethanol)은 체내에 흡수된 후 35 %가 2-에톡시초산(2-Ethoxyacetic acid)으로 대사되어 소변으로 배출되며, 소변 중 2-에톡시 초산을 추출하여 가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID)로 분석한다.

시료 채취 :

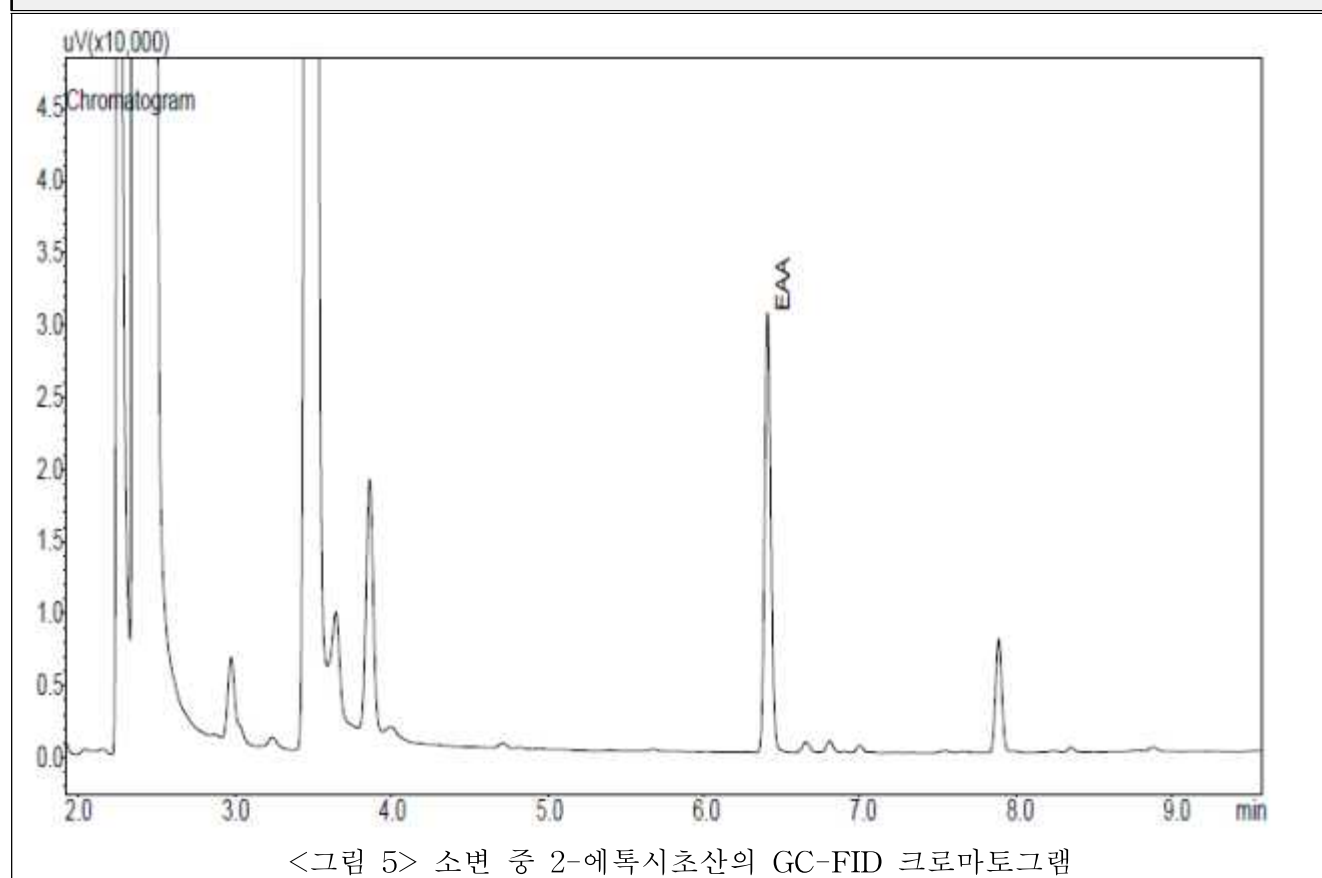
- 소변 시료는 주말 또는 연속 4-5일간의 연속작업의 작업 종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 °C이하에서 보관한다.

분석장비 :		가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [GC-FID]	
시약		기구	
2-에톡시초산(2-ethoxyacetic acid,EAA) - 염산(Hydrochloric acid) - 이소프로필 알콜(Isopropyl alcohol) - 디클로로메탄(Methylene chloride) - 트리메틸실릴디아조메탄(trimethylsilyl-diazomethane) : 2 M 헥산 용액 2-퓨로산(2-furoic acid) : 0.5 g/L 3차 정제수		- 용량플라스크 10 mL, 1,000 mL - 마이크로 피펫 20-200 μL, 1,000-5,000 μL - 바이알 4 mL - 롤러믹서(Roller mixer) - 원심분리기	
시약조제			
[표준용액 조제] 1. 2-에톡시초산 1 g을 1,000 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워, 표준용액 원액을 조제한다. 2. 표준용액 원액을 각각 0.5, 1, 2, 3 mL 취하고, 이를 10 mL 용량플라스크에 희석용 소변으로 희석하여 50, 100, 200, 300 mg/L의 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.			
시료 및 표준용액 전처리			

1. 표준용액 및 시료를 볼러믹서로 3분간 잘 섞어준다.
2. 표준용액 또는 시료를 2 mL 취한 후, 4 mL 바이알에 옮기고 0.5 g/L의 2-푸로산(내부표준 물질) 0.2 mL를 첨가한다.
3. 진한 염산(함량 35 %, 비중 1.18) 0.2 mL, 디클로로메탄/이소프로필 알콜(2:1, V/V) 2 mL를 첨가한 후, 원심분리한다.
4. 아래 층 1 mL을 취하여 vial에 옮긴 후, 트리메틸실릴디아조메탄 50 μ L를 첨가한 후 GC-FID용 분석 시료로 한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계												
▪ 컬럼 : Stabilwax-DB (30 m × 0.53 mm, 1.0 μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. ▪ 오븐 온도 : 50 ℃(1분) → 10 ℃/분 → 130 ℃(2분) → 50 ℃/분 → 180 ℃(5분) ▪ 주입구 온도 : 250 ℃ ▪ 검출기 온도 : 250 ℃ ▪ 컬럼 유속 : 1.0 mL/min ▪ 분할주입비(Split ratio) : 10:1 ▪ 주입량 : 1 μL	▪ 정밀도 /정확도 :<table><tr><th></th><th>농도(mg/L)</th><th>정밀도 변이계수(%)*</th><th>정확도 회수율(%)*</th></tr><tr><td>2-에톡</td><td>100</td><td>0.5</td><td>100</td></tr><tr><td>시초산</td><td>200</td><td>0.5</td><td>100</td></tr></table> * 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함. ▪ 검출한계 : 1.8 mg/L		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*	2-에톡	100	0.5	100	시초산	200	0.5	100
	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*										
2-에톡	100	0.5	100										
시초산	200	0.5	100										

분석 결과 크로마토그램 예시



농도계산
$y = ax + b$의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 2-에톡시초산의 농도(mg/L)를 구한다. 2-에톡시초산의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여 2-에톡시초산의 농도(mg/g 크레아티닌)로 2-에톡시에탄올의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

6.1.5 총 클로로카테콜(4-클로로카테콜)[소변]

총 클로로카테콜(4-클로로카테콜)[소변]

(유해물질 : 클로로벤젠)

분자식 : $C_6H_5ClO_2$ 분자량 : 144.56 비 중 : 자료 없음 CAS No.: 2138-22-9

노출기준값 : 150 mg/g 크레아티닌

분석 개요 : 클로로벤젠은 체내로 흡수된 후 소변 중으로 47 %가 4-클로로카테콜(4-Chlorocatechol)로 배출되며, 대부분 황산이나 글루쿠론산과 포함된 결합체로 배설된다. 효소반응을 이용하여 소변 중 4-클로로카테콜 결합체를 유리형 4-클로로카테콜로 만들고 이를 고성능 액체크로마토그래프-자외선검출기(High performance liquid chromatograph - ultraviolet detector, HPLC-UVD)로 분석한 소변 중 총 클로로카테콜 값을 클로로벤젠 생물학적 노출평가에 이용한다.

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 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 °C 이하에서 보관한다.

분석장비 :	고성능액체크로마토그래프-자외선검출기 [HPLC-UVD]	
	시약	기구
	▪ 4-클로로카테콜(4-Chlorocatechol) ▪ β-글루쿠로니다제(β-Glucuronidase) ▪ 설패타제(Sulfatase): 2150 unit 또는 이와 동등한 것 ▪ 초산나트륨(Sodium acetate) ▪ 제1인산칼륨(KH_2PO_4) (Potassium Phosphate, Monobasic) ▪ 초산(Acetic acid) ▪ 인산(Phosphoric acid) ▪ 메탄올(Methanol)_HPLC용 ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 10-100 μL, 100-1,000 μL ▪ 용량 플라스크 10 mL, 100 mL, 1,000 mL ▪ HPLC용 바이알 ▪ 원심분리기 ▪ 인큐베이터 ▪ pH미터 ▪ 롤러믹서(Roller mixer) ▪ 원심분리기 ▪ 여과막
시약조제		
[표준용액] 1. 4-클로로카테콜 표준시약 100 mg을 10 mL 용량 플라스크에 넣고 메탄올로 표선을 채워 10,000 mg/L 표준용액을 조제한다. 2. 10,000 mg/L 표준용액을 각각 50, 100, 200, 300 μL 취하여 10 mL 용량 플라스크에 넣고 희석용 소변으로		

표선을 채워 50, 100, 200, 300 mg/L의 검량선용 표준용액을 조제한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[초산 완충용액]

- 0.2 M 초산 수용액 : 1.2 g의 초산을 3차 정제수에 넣어 100 mL로 만든다.
- 0.2 M 초산나트륨 수용액 : 1.64 g의 초산나트륨을 3차 정제수에 녹여 100 mL로 만든다.
- pH 5 완충용액 : 0.2 M 초산 수용액 32 %와 0.2 M 초산나트륨 수용액 68 %를 섞는다.

[이동상]

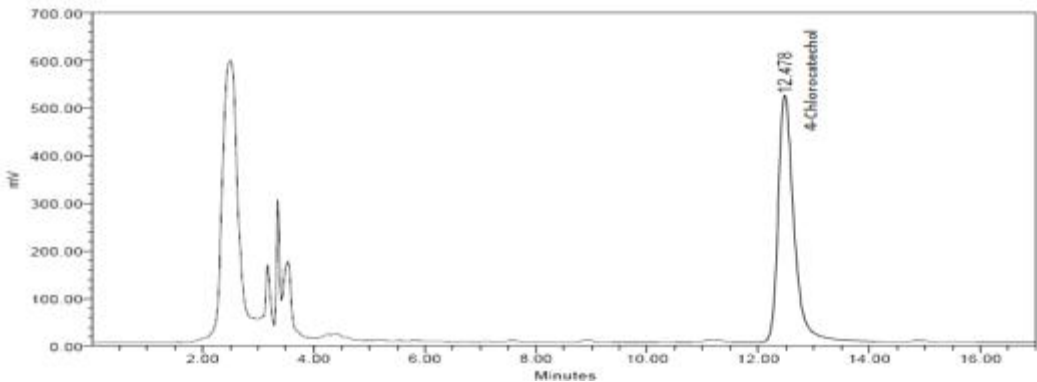
20 mM 제1인산칼륨 수용액과 아세트니트릴을 3:1 부피비로 혼합하고 인산을 가하여 pH미터를 사용하여 pH를 3.6으로 맞춘 후, 0.45 µm 여과막을 통과시켜 여과한다.

시료 및 표준용액 전처리

- 표준용액 및 시료를 3분간 볼러믹서로 잘 섞어준다.
- 표준용액 및 시료 100 µL에 0.2 M 초산 완충용액(pH 5.0) 300 µL를 넣은 다음, β-글루크로니다제와 설파타제를 각각 50 µL 넣어 섞는다.
- 위의 혼합 용액을 37 °C 인큐베이터에서 2시간 배양한다.
- 배양한 용액에 메탄올을 1.5 mL 넣고 혼합한 후 원심분리한다. (3,000 rpm, 5분).
- 원심분리 후 상층액을 취해 HPLC 바이알에 옮기고 20 µL를 HPLC에 주입하여 분석한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계			
- 컬럼 : C₁₈ 컬럼 (150 mm × 4.6 mm, 입경 5 μm) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. - 유속 : 0.7 mL/분 - 시료 주입량 : 20 μL - 검출기 : 자외선검출기(280 nm)	정밀도 /정확도 :			
		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
	4-	50	1.27	100.76±1.28
	클로로	100	6.13	93.56±5.74
	카테콜	300	4.54	90.16±4.07
* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.				
	검출 한계 : 17.1 mg/L(S/N 비 3)			

분석 결과 크로마토그램 예시 (2)



<그림 6> HPLC-UVD 크로마토그램

(300 mg/L의 4-클로로카테콜을 첨가한 소변시료)
농도계산
y=ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 4-클로로카테콜의 농도(mg/L)를 구한다. 4-클로로카테콜의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여 (mg/g 크레아티닌) 클로로벤젠의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

· 참고문헌

-
- Knecht U, Woitowitz HJ, Human toxicokinetics of inhaled monochlorobenzene: latest experimental findings regarding re-evaluation of the biological tolerance value. Int Arch Occup Environ Health 2000;73:543-54
 - Ogata M, Taguchi T, Hirota N, et al. Quantitation of urinary chlorobenzene metabolites by HPLC: concentrations of 4-chlorocatechol and chlorophenols in urine and of chlorobenzene in biological specimens of subjects exposed to chlorobenzene. Int Arch Occup Environ Health 1991;63:121-8
 - American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Chlorobenzene. IN: Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. 2010
 - Occupational Safety and Health Administration. Evaluation guidelines for air sampling methods utilizing chromatographic analysis
-

6.1.6 페놀[소변]

페놀[소변] (유해물질 : 페놀)

분자식 : C_6H_6O 분자량 : 94.1124 비 중 : 1.07 CAS No.: 108-95-2

노출기준값 : 250 mg/g 크레아티닌

분석 개요 : 페놀은 흡입, 경구, 피부 등을 통하여 흡수되며, 흡수된 페놀(Phenol)은 신속히 소변으로 배설되므로 이를 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID)나 헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석기(Headspace gas chromatograph mass spectrometer, HS GC-MS)로 분석한다. 단, 페놀과 o-페닐페놀이 검출되는 시간이 거의 유사하기 때문에 o-페닐페놀이 공존하는 경우 페놀 분석 결과가 과대 평가될 수 있다.

벤젠의 경우 작업환경 노출기준에 10 ppm(1999년)이 0.5 ppm으로 강화되어 10 ppm 기준의 벤젠 노출지표인 소변 중 페놀은 사용하지 않으려는 경향이 있다.

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 °C (2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온 바이알에 옮겨 영하 20 °C 이하에서 보관한다.

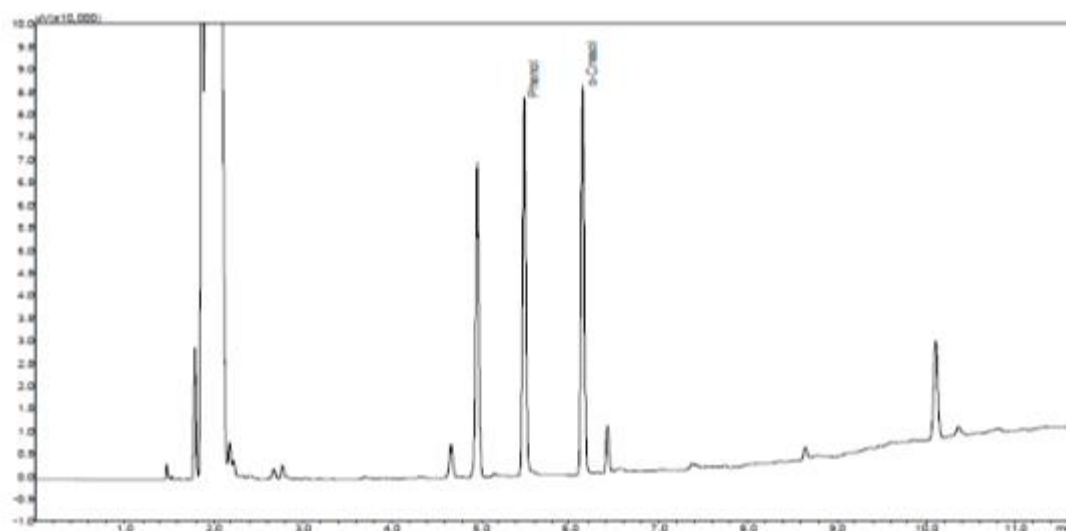
분석장비 :	가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [GC-FID]
시약	기구
▪ 페놀(Phenol) ▪ 이소프로필 에테르(Isopropyl ether) ▪ 염산(Hydrochloric acid) ▪ 3차 정제수	▪ 용량플라스크 10 mL, 100 mL ▪ 마이크로 피펫 20-200 μL, 1,000-5,000 μL ▪ 마개달린 시험관 10 mL ▪ 항온수조(Water bath) ▪ 가스크로마토그래프(GC)용 바이알 2mL ▪ 롤러믹서(Roller mixer) ▪ 원심분리기
시약조제	
[표준용액] 1. 페놀 100 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다. 2. 표준용액 원액을 각각 0.1, 0.5, 1, 2, 3 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고 희석용 소변으로 채워 10, 50, 100, 200, 300 mg/L가 되도록 제조하여 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.	

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준 후, 1 mL를 취하여 마개달린 시험관에 옮긴다.
2. 3차 정제수 4 mL, 진한 염산(함량 35 %, 비중 1.18) 1 mL를 가하고 마개를 닫은 후 100 °C 항온수조에서 30분간 가수분해시킨다.
3. 시험관을 상온의 물로 식히고 이소프로필 에테르 1 mL를 가한 후 손으로 잘 흔든 후 3,000 rpm에서 8분간 원심분리한다.
4. 에테르 층을 피펫으로 취하여 GC용 바이알에 옮겨 검액으로 한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계											
▪ 컬럼 : Rtx-624 (60 m × 0.53 mm, 3.0 μm 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	▪ 정밀도/ 정확도 <table><thead><tr><th></th><th>농도(mg/L)</th><th>정밀도 변이계수(%)*</th><th>정확도 회수율(%)*</th></tr></thead><tbody><tr><td rowspan="2">페놀</td><td>10</td><td>2.5</td><td>86.4</td></tr><tr><td>100</td><td>3.5</td><td>95.7</td></tr></tbody></table> * 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함. ▪ 검출한계 : 0.2 mg/L		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*	페놀	10	2.5	86.4	100	3.5	95.7
	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*									
페놀	10	2.5	86.4									
	100	3.5	95.7									

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 7> 소변 중 페놀의 GC-FID 크로마토그램

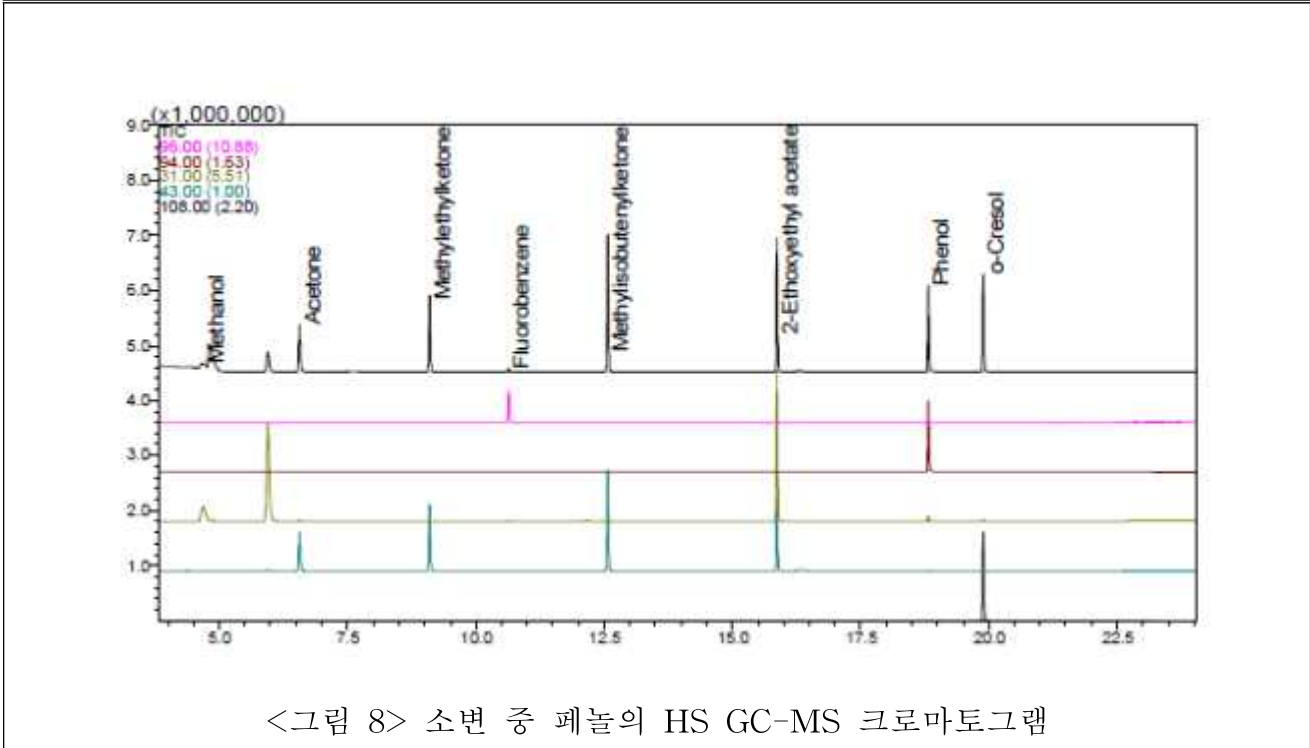
농도계산

$y = ax + b$ 의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 페놀(mg/L)을 구한다. 페놀의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여 (mg/g 크레아티닌) 페놀의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

분석장비 :		헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석기[HS GC-MS]												
시약		기구												
페놀(Phenol) 플루오로벤젠(Fluorobenzene) 염화나트륨(Sodium chloride) 페놀-d5(Phenol-d5) 3차 정제수		용량플라스크 10mL, 100 mL 마이크로 피펫 10-100 μL, 100 - 1,000 μL 헤드스페이스 GC용 바이알 롤러믹서(Roller mixer)												
시약조제														
[표준용액]														
1. 페놀 100 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다. 2. 표준용액 원액을 각각 0.1, 0.5, 1, 2, 3 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고 희석용 소변으로 채워 10, 50, 100, 200, 300 mg/L가 되도록 제조하여 검량선용 표준용액으로 한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.														
[내부표준용액]														
Phenol-d5 10 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 100 mg/L 내부 표준용액을 만든다.														
시료 및 표준용액 전처리														
1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다. 2. 헤드스페이스 GC용 바이알에 3차 정제수 1.8 mL에 표준용액 및 시료 0.2 mL를 넣고, 염화나트륨(NaCl) 1.2 g을 첨가한다. 3. 100 mg/L Phenol-d5 (I.S.) 10 μL를 첨가하고 밀봉한 후 3분간 잘 섞어준 후 분석한다.														
분석 조건		정밀도/정확도/검출한계												
컬럼 : Rtx-624 (60 m × 0.25 mm, 1.4 μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. 오븐 온도 : 35 ℃(3분) → 10 ℃/분 → 230 ℃(5분) 주입구 온도 : 230 ℃ 검출기 온도 : 220 ℃ 컬럼 유속 : 2 mL/분 분할주입비율 : 1/10 헤드스페이스 조건 ① 온도 : - 시료 : 60 ℃ - 주입관 : 150 ℃ - 밸브 : 150 ℃		정밀도 /정확도 : <table><tr><td></td><td>농도(mg/L)</td><td>정밀도 변이계수(%)*</td><td>정확도 회수율(%)*</td></tr><tr><td rowspan="2">페놀</td><td>1</td><td>7.1</td><td>81.3</td></tr><tr><td>10</td><td>6.7</td><td>91.9</td></tr></table> * 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함. 검출한계 : 0.06 mg/L(S/N 비 3)			농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*	페놀	1	7.1	81.3	10	6.7	91.9
	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*											
페놀	1	7.1	81.3											
	10	6.7	91.9											

② 가열시간 : 30분 ③ 시료주입량 : 1 mL ■ 검출방식 : 이온선택분석 (SIM : Selected Ion Monitoring) - 페놀 검출이온(M/Z) : 94, 66 - Phenol-d5 검출이온(M/Z) : 99 (내부표준물질)	
--	--

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 8> 소변 중 페놀의 HS GC-MS 크로마토그램

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 페놀(mg/L)를 구한다. 페놀의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여 (mg/g 크레아티닌) 페놀의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

6.1.7 1-하이드록시파이렌[소변]

1-하이드록시파이렌[소변]

(유해물질 : 콜타르)

분자식 : $C_{16}H_{10}O$	분자량 : 218.25	비 중 : 1.36	CAS No.: 5315-79-7
-----------------------	--------------	------------	--------------------

노출기준값 : 4.6 $\mu\text{g/L}$

분석 개요 : 콜타르는 다환방향족 탄화수소(Polycyclic aromatic hydrocabons, PAHs)를 함유한 혼합물로, 이들은 체내로 흡수된 후 대부분 1-하이드록시파이렌(1-Hydroxy-pyrene)으로 대사된다. 소변 중으로 배출되는 1-하이드록시파이렌은 75-90 %가 글루쿠론산과 포합된 결합체로 존재하며 일부는 포합되지 않은 형태로 배출된다. 소변 중 존재하는 결합형 1-하이드록시파이렌을 효소반응을 이용하여 모두 유리형으로 만든 후, C_{18} 고상 카트리지로 1-하이드록시파이렌을 분리하고 농축하여 고성능 액체크로마토그래프-형광검출기(High performance liquid chromatograph-fluorecence detector, HPLC-FD)로 분석한다.

시료 채취 :

- 소변시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 한다.
- 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- 시료 중의 다환방향족 탄화수소는 태양광에 의해 분해되므로 일주일 이상 보관할 경우에는 시료 500 mL를 염산으로 pH를 2.0 정도로 조절한 후, 갈색병에 넣거나 차광하여 밀봉하고 영하 20 $^{\circ}\text{C}$ 이하에 보관한다.

분석장비 :	고성능액체크로마토그래프-형광검출기[HPLC-FD]	
시약	기구	
▪ 1-하이드록시파이렌(1-Hydroxypyrene) ▪ β-글루쿠로니다제(β-Glucuronidase) ▪ 설��파타제(Sulfatase) 2,150 unit 또는 동등한 것 ▪ 빙초산(Glacial acetic acid) ▪ 염산(Hydrochloric acid) ▪ 수산화나트륨(Sodium hydroxide) ▪ 메탄올(Methanol)_HPLC용 ▪ 3차 정제수	▪ 마이크로 피펫 10-100 μL, 100 - 1,000 μL ▪ 용량 플라스크 10 mL, 100 mL, 1,000 mL ▪ 마개달린 시험관 50 mL ▪ 고상추출(Solid phase extraction, SPE) 카트리지(C_{18}, 500 mg) ▪ HPLC용 바이알 ▪ 원심분리기 ▪ 인큐베이터 ▪ pH미터 ▪ 항온수조 ▪ 롤러믹서(Roller mixer) ▪ 알루미늄 호일 ▪ 비커 ▪ 여과막	

시약조제

[표준용액]

- 1-하이드록시파이렌 표준시약 10 mg을 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올로 표선을 채워 100 mg/L 표준용액 원액을 조제한다. 조제한 표준용액 원액은 플라스틱 용기에 옮겨 영하 18 °C에 보관하며 2주에 한 번씩 조제한다.
- 표준용액 원액을 10 µL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 100 µg/L 표준용액을 조제하고 이를 희석용 소변으로 희석하여 2, 4, 6, 8, 10 µg/L의 검량선용 표준용액을 조제한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

[2 M 수산화나트륨]

8 g의 수산화나트륨을 비커에 달아 약 50 mL의 3차 정제수를 가하여 잘 녹인 후, 100 mL 용량플라스크에 옮기고 표선까지 3차 정제수를 채운다.

[0.1 M 아세트이트 완충액]

약 400 mL의 3차 정제수를 1,000 mL 용량플라스크에 넣고 5.7 mL의 빙초산을 가하고 2 M 수산화나트륨 용액으로 pH미터를 이용해 pH를 5.0으로 맞춘 후, 3차 정제수로 표선을 채운다.

[1 N 염산]

1,000 mL 용량플라스크에 3차 정제수를 500 mL 넣은 후, 여기에 진한 염산 88.5 mL(함량 35 %, 비중 1.18)를 가하고 다시 3차 정제수로 표선을 채운다.

[이동상]

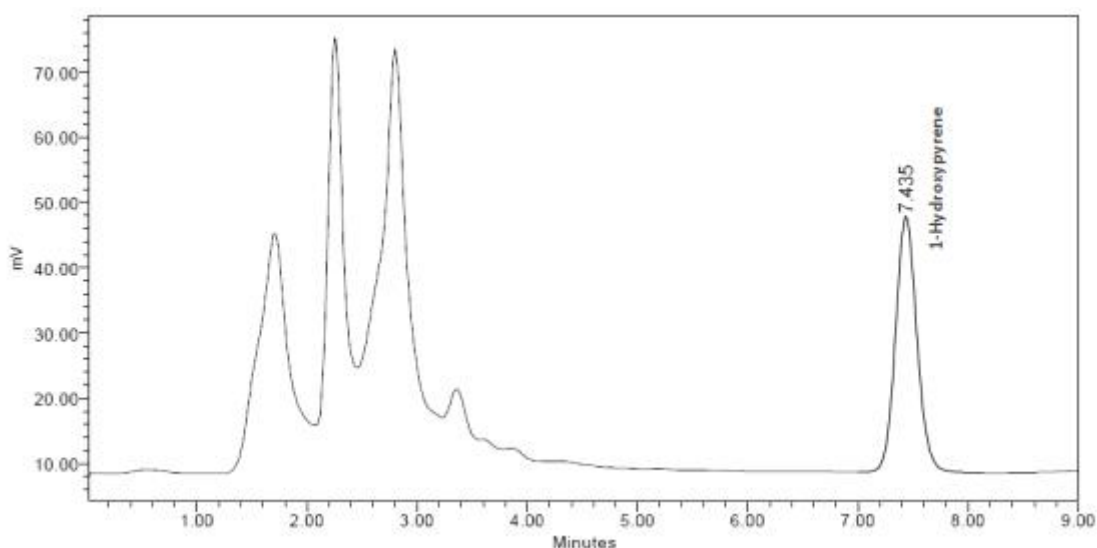
메탄올과 3차 정제수를 8 : 2 부피비로 혼합한 후 0.45 µm 여과막을 통과시켜 여과한다.

시료 및 표준용액 전처리

- 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다.
- 표준용액 및 시료 10 mL를 50 mL의 시험관에 옮기고, 1 N 염산으로 pH 5.0으로 맞춘다. 여기에 0.1 M 아세트이트 완충액을 가하여 최종량을 30 mL로 하고 이 용액을 흔들어 섞는다.
- β-글루쿠론산 분해효소 용액과 설과타제를 각각 20 µL를 가하고 37 °C로 항온수조에서 16시간 이상 가수분해시킨다.
- 카트리지에 메탄올 5 mL를 1 mL/min 유속으로 통과시킨 후, 다시 같은 유속으로 10 mL 3차 정제수를 이용하여 카트리지를 세척한다.
- 활성화된 카트리지에 가수분해된 표준용액 및 시료를 통과시킨 다음, 시료가 카트리지에 모두 흡수될 때까지 방치한다. 그리고 3 mL 3차 정제수, 50 %의 메탄올 3 mL를 통과시켜 카트리지를 세척한다.
- 메탄올 3 mL로 1-하이드록시파이렌을 추출하고 추출액을 HPLC 바이알에 옮겨 분석한다. 남은 시료는 알루미늄 호일로 싸서 -7 °C에서 보관한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계			
- 컬럼 : C₁₈ 컬럼 (150 mm × 46 mm, 입경 5 μm) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. - 파장 : 여기/방출(Exitation/emission) 파장은 242 nm/388 nm - 유속 : 0.8 mL/min - 주입량 : 20 μL	정밀도 /정확도 :			
		농도(μg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
	1-하이	2	4.04	100.49±4.06
	드록시	4	8.16	106.58±8.69
	파이렌	10	6.79	92.28±6.26
	* 같은 농도의 시료를 5회 분석한 결과로부터 구함			
검출 한계 : 0.05 μg/L(S/N 비 3)				

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 9> HPLC-FD 크로마토그램
(10 μg/L의 1-하이드록시파이렌을 첨가한 소변시료)

농도계산

y=ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 1-하이드록시파이렌 농도(μg/L)를 구한다.

· 참고문헌

- Shahtaheri SJ, Ibrahimi L, Golbabaei F, et al. Optimization of sample preparation for 1-hydroxypyrene as a major biomarker of exposure to PAHs prior to HPLC. Anal Bioanal Chem 2006;35(1):33-41
- Han IK, Duan X, Zhang L, et al. 1-Hydroxypyrene concentration in first morning voids and 24-h composite urine: intra- and inter-individual comparisons. Journal of exposure science and environmental epidemiology 2008;18:477-485

6.1.8 2,5-헥산디온[소변]

2,5-헥산디온[소변]

(유해물질 : 메틸부틸케톤¹⁾)

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

노출기준값 : 5 mg/L

분석 개요 : 메틸부틸케톤은 주로 호흡기를 통해 흡수되며 피부로도 흡수될 수 있다. 체내에 흡수된 메틸부틸케톤 중 15 % 이하가 2,5-헥산디온(2,5-hexanedione)으로 대사되어 소변 중으로 배설되므로 소변 중 2,5-헥산디온을 가수분해하고 유기용제로 추출하여 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID)나 헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석기(Headspace gas chromatograph mass spectrometer, HS GC-MS)로 분석한다. 다만, 메틸부틸케톤의 생물학적 노출평가 지표물질인 2,5-헥산디온은 n-헥산의 지표물질로도 규정되어 있어, 메틸부틸케톤에 단독으로 노출된 경우에 한하여 지표물질 분석결과를 반영한다.

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 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 °C이하에서 보관한다.

분석장비 :	가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [GC-FID]
시약	기구
■ 2,5-헥산디온(2,5-hexanedione) ■ 사이클로헥사논(Cyclohexanone) ■ 염산(Hydrochloric acid) ■ 클로로포름(Chloroform) ■ 3차 정제수	■ 용량플라스크 50, 100 mL ■ 마이크로 피펫 20-200 μL, 1,000-5,000 μL ■ 마개달린 시험관 ■ 가스크로마토그래피용 바이알 2 mL ■ 파스퇴르 피펫 ■ 원심분리기 ■ 항온수조(Water bath) ■ 롤러믹서(Roller mixer)
시약조제	
[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.	

1) 2차 검사항목 메틸 n-부틸 케톤의 생물학적 노출지표물질은 1차 검사항목 n-헥산과 동일함.

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.

[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.

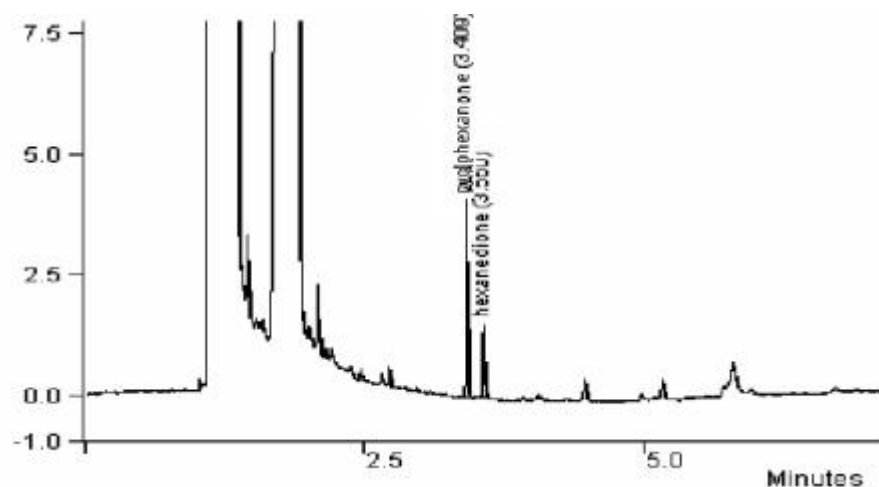
시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준 후, 각각 1 mL씩 취하여 시험관에 옮긴다.
2. 진한 염산(함량 35 %, 비중 1.18) 0.1 mL를 가하고 100 °C에서 30분간 가열한 후 식힌다.
3. 사이클로헥사논(내부표준물질)이 첨가된 클로로포름 1 mL를 가하여 30초 이상 모든 시료를 동일한 시간 동안 흔들어 추출하고 3,000 rpm 이상에서 8분 이상 원심분리하여 유기용제와 수층을 분리한다.
4. 위층의 수층과 경계면의 찌꺼기를 파스퇴르 피펫으로 제거한 후 새 파스퇴르 피펫으로 남은 클로로포름 층을 취하여 GC용 바이알에 옮겨 분석한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계			
▪ 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			
		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
	2,5-	2.9	3.2	101
	헥산	4.8	2.3	99
	디온	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 10> 소변 중 2,5-헥산디온 의 GC-FID 크로마토그램
(2,5-헥산디온 2 mg/L 주입)

농도계산

$y = ax + b$ 의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 2,5-헥산디온 농도를 구한다.

분석장비 : 헤드스페이스 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기[HS GC-FID]

시약

- 2,5-헥산디온(2,5-hexanedione)
- 황산수소나트륨(Sodium hydrogensulfate)
- 황산나트륨(Sodium hydrogensulfate)
- 3차 정제수

기구

- 마이크로 피펫 100-1,000 μ L
- 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.

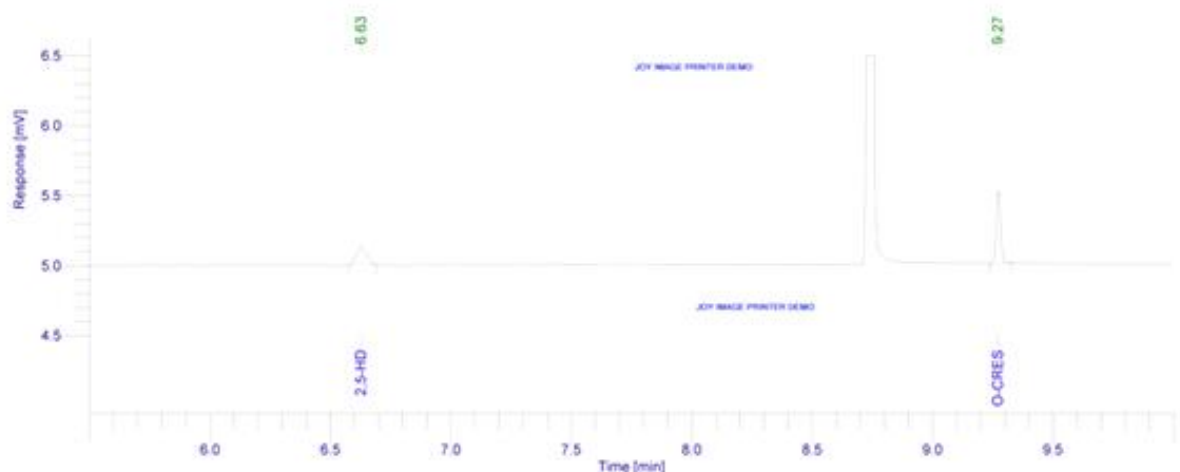
시료 및 표준용액 전처리

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 $^{\circ}$C(1분) $\rightarrow$ (20 $^{\circ}$C/분) $\rightarrow$ 120 $^{\circ}$C(2분) $\rightarrow$ (6 $^{\circ}$C/분) $\rightarrow$ 124 $^{\circ}$C $\rightarrow$ (45 $^{\circ}$C/분) $\rightarrow$ 220 $^{\circ}$C(0.5분), 총 7.8분 - 주입구 온도: 250 $^{\circ}$C - 검출기 온도: 250 $^{\circ}$C - 헤드스페이스 조건 ① 시료 오븐: 115 $^{\circ}$C(60분가열, 진탕) ② 주입관: 170 $^{\circ}$C ③ 연결관: 180 $^{\circ}$C ④ 압력평형 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

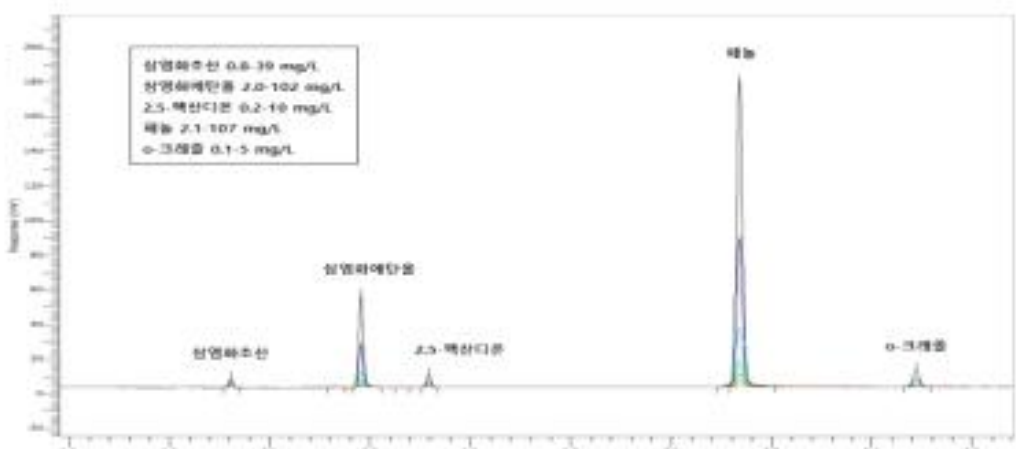


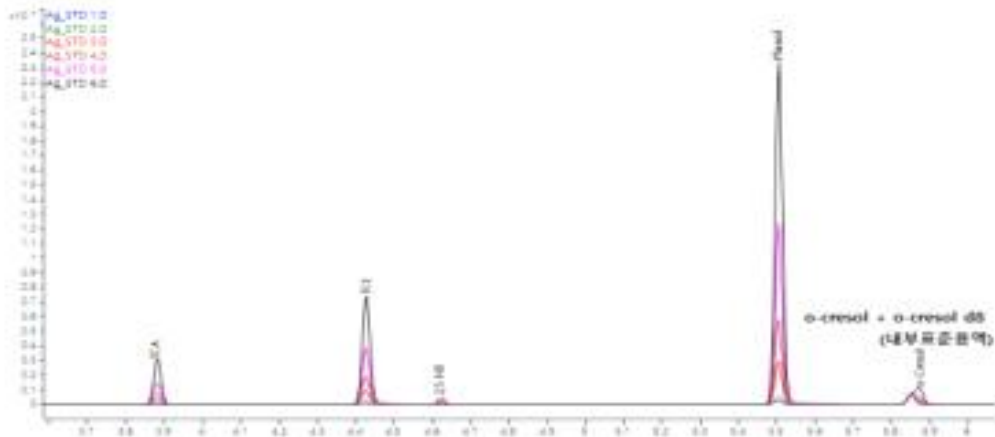
<그림 14> 소변 중 2,5-헥산디온 의 HS GC-FID 크로마토그램

농도계산

$y = ax + b$ 의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 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 20-200 μL, 1,000-5,000 μL - 용량플라스크 10 mL - 헤드스페이스 GC용 바이알 20 mL - 롤리믹서(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, 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	
[방법 1] 1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤리믹서에서 잘 섞어준다. 2. 표준용액 및 시료를 0.3 mL 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 11>의 시료 전처리방법). [방법2] 1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤리믹서에서 잘 섞어준다. 2 표준용액 및 시료를 0.2 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.5 g 를 가한 후 헤드스페이스 GC용 바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다.(<그림 12>의 시료 전처리방법).	
분석 조건[1]	정확도 / 정밀도 / 검출한계
- 컬럼 : DB-1701 (30 m x 0.25 mm, 2.5 μ m 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 - 오븐 온도 : 60 $^{\circ}$C(2분) $\rightarrow$ (20 $^{\circ}$C/분) $\rightarrow$ 120 $^{\circ}$C(1분) $\rightarrow$ (25 $^{\circ}$C/분) $\rightarrow$ 220 $^{\circ}$C(1분), 총 11분	- 정밀도 / 정확도 : 자료없음 - 검출한계 : 자료없음

▪ 주입구 온도 : 220 ℃ ▪ 검출기 온도 : 230 ℃ ▪ 컬럼유속: 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) - 2,5-헥산디온 검출이온(M/Z) : 99, 71, 114	
분석 조건[2]	
▪ 컬럼 : 1701 (30 m x 0.25 mm, 2.5 μm 막 두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ 오븐 온도 : 60 ℃(1분) $\rightarrow$ (20 ℃/분) $\rightarrow$ 180 ℃(1분) $\rightarrow$ 260 ℃(3분), 총 10분 ▪ 헤드스페이스 조건 : 시료 오븐 100 ℃ (60분 가열)	
분석 결과 크로마토그램 예시	
 <그림 11> 2,5-헥산디온의 HS GC-MS 크로마토그램(분석 조건 [1])	



<그림 12> 2,5-헥산디온의 HS GC-MS 크로마토그램(분석 조건 [2])

농도계산

$y = ax + b$ 의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)을 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 2차 검사항목

6.2.1 메트헤모글로빈[혈액]

메트헤모글로빈[혈액]

(유해물질 : p-디메틸아미노아조벤젠)

분자식 : 자료없음 분자량 : 자료없음 비 중 : 자료없음 CAS No.: 자료없음

노출기준값 : 1.5 %

분석 개요 : p-디메틸아미노아조벤젠의 아조기로 인해 메트헤모글로빈 혈증이 발생할 수 있으므로 혈액 중 메트헤모글로빈(Methemoglobin, met Hb)을 자외가시부 분광광도계(Ultraviolet/visible spectrophotometer; UV/VIS)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, 시료는 용기의 2 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료는 시료 채취 용기에 밀봉하여 채취 후 1시간 이내에 분석하며 분석 전까지 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다.

분석장비 :	자외가시부 분광광도계 [UV/VIS]	
시약		기구
- 제1인산칼륨(KH_2PO_4) (Potassium Phosphate, Monobasic) - 제2인산칼륨(K_2HPO_4) (Potassium Phosphate, Dibasic) - 페리시안화칼륨[$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (Potassiumferricyanide) - 시안화칼륨(Potassium Cyanide) 3차 정제수		- 용량플라스크 10, 100, 500 mL - 마이크로피펫 100 - 1,000 mL - 유리 시험관 10 mL - 석영 cell - 롤러 믹서(Roller mixer) - 원심분리기 - 전자저울
시약조제		
[인산 완충용액] 50 mL 용량플라스크에 제1인산칼륨 652 mg, 제2인산칼륨 475 mg을 넣고 3차 정제수로 표선을 맞추어 인산 완충용액을 조제한다. [페리시안화칼륨 용액] 10 mL 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 롤러 믹서로 균질화시킨다.
2. 10 mL 시험관에 혈액 0.1 mL와 3차 정제수 3.9 mL를 넣고 혼합하여 용혈시킨 후 인산 완충용액 4.0 mL를 가하여 혼합한다.
3. 10분간 방치 후 3,000 rpm에서 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 5 분 후 다시 측정한다. 이 때의 흡광도를 Ab와 Bb로 기록한다.

농도계산

1. 측정한 값으로부터 다음과 같이 메트헤모글로빈의 농도를 계산한다.

$$\text{metHb}(\%) = 100 \times (\text{Aa}-\text{Ba}/\text{Ab}-\text{Bb})$$
2. Aa-Ba : 순수한 시료의 메트헤모글로빈 흡광도
 Ab-Bb : 순수한 총 헤모글로빈의 흡광도

6.2.2 벤젠[혈액]

벤젠[혈액] (유해물질 : 벤젠)

분자식 : C ₆ H ₆	분자량 : 78.12	비 중 : 0.879	CAS No.: 71-43-2
-------------------------------------	-------------	-------------	------------------

노출기준값 : 5 µg/L

분석 개요 : 벤젠은 체내로 흡수된 후 빠르게 지방 조직으로 이동하여, 혈액에 남아있는 벤젠 (Benzene)은 노출 후 10-15분, 40-60분, 16-20시간이 지나면서 반씩 감소한다. 혈액 중의 벤젠은 벤젠 노출을 반영하는 민감한 지표로, 헤드스페이스 기체크로마토 그래프(Headspace gas chromatograph-flame ionization detector, HS GC-FID) 을 이용해 분석한다. 밀폐된 바이알에 시료를 넣고 적당한 온도를 유지하여 액체상과 기체상(헤드스페이스)에 존재하는 벤젠이 상평형(Phase equilibrium)을 이루게 한 후, 헤드스페이스 기체 일정량(보통 1 mL)을 기체크로마토그래프에 주입하여 분석한다.

시료 채취 :

- 혈액 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 근로자의 정맥혈을 EDTA(Ethylenediaminetetraacetic acid)-함유 채혈관 또는 헤파린(Heparin) 처리된 튜브와 일회용 주사기 또는 진공채혈관을 이용하여, 시료는 4mL 또는 용기의 90 % 이상 채취한다.
- 채취한 시료를 밀봉하여 4 ℃(2~8 ℃)를 유지한 상태로 이동하고 보관하며, 채취 후 5일 이내에 분석한다.

분석장비 :		헤드스페이스 기체크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [HS GC-FID]	
시약		기구	
■ 벤젠(Benzene) ■ 이소부틸알코올(Isobutyl alcohol) ■ 구연산나트륨(Sodium citrate) ■ D-글루코즈(D-Glucose) ■ 구연산(Citric acid) ■ 3차 정제수		■ 마이크로 피펫 10-100 μL, 100-1,000 μL ■ 용량플라스크 10 mL 50 mL 100 mL ■ 헤드스페이스 GC용 바이알 ■ 롤러믹서(Roller mixer)	
시약조제			
[표준용액]			
1. 벤젠 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다. 표준용액 조제에 사용하는 3차 정제수는 미리 분석하여 벤젠이 없는 것을 확인한다. 2. 표준용액 원액을 100 μL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 용액을 만든다. 10 mg/L 용액을 200 μL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 200 μg/L 용액을 만든다. 이 용액을 50, 250, 500, 750, 1000 μL씩 취하여			

10 mL 용량플라스크에서 3차 정제수로 희석하고, 1, 5, 10, 15, 20 µg/L의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 3차 정제수를 공시료로 한다.

[내부표준용액]

1. 이소부탄을 10 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 100 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 100 µL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1 mg/L 내부표준용액을 조제한다.
2. 1 mg/L 내부표준용액을 1,000 µL 취하여 50 mL 용량플라스크에서 3차 정제수로 희석하여 20 µg/L의 내부표준용액을 조제한다.

[구연산 D-글루코즈 용액]

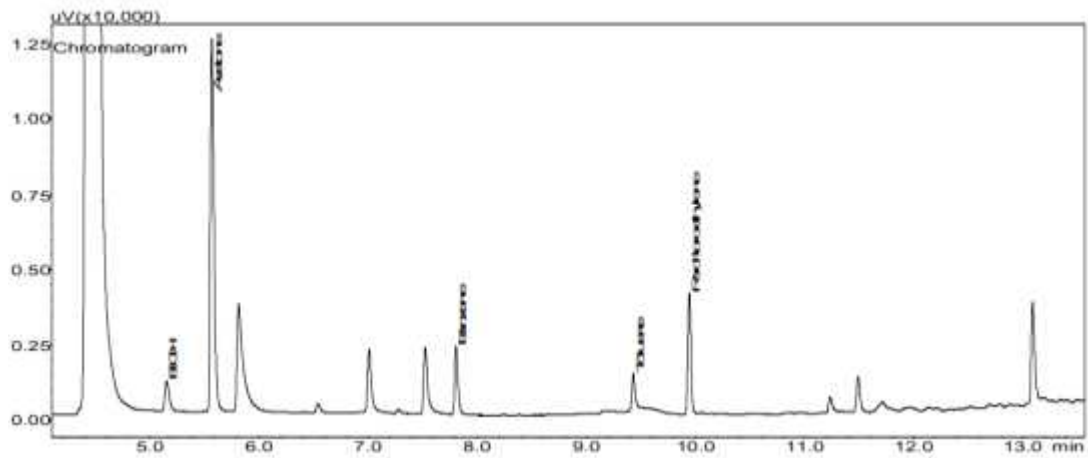
구연산 0.48 g, 구연산나트륨 1.32 g, D-글루코즈 1.47 g을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 구연산 D-글루코즈 용액을 조제한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 볼러믹서에서 잘 섞어준 후 1 mL를 취하여 헤드스페이스 GC 용 바이알에 옮긴다.
2. 내부표준용액 0.5 mL, 구연산 D-글루코즈 용액 0.5 mL를 가하고 마개를 닫아 5분간 잘 섞어준 후 헤드스페이스 GC 분석 시료로 한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계		
▪ 컬럼 : DB-624 (60 m x 0.25 mm, 1.4 μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ 오븐 온도 : 40 ℃(1분) → 15 ℃/분 → 240 ℃(1분) ▪ 주입구 온도 : 250 ℃ ▪ 검출기 온도 : 250 ℃ ▪ 컬럼 유속 : 2 mL/분 ▪ 분할주입비율 : 비분할, 0.5 분 후 분할 주입비 1/20 ▪ 주입량 : 1 μL ▪ 헤드스페이스 조건 - 온도 : 시료 오븐 70 ℃ 주입관 150 ℃ - 시간 : 가열 10분 가압 10초 주입 30초	▪ 정밀도 / 정확도		
	농도(μg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
	5	3.2	98.2
	벤젠 10.0	3.0	93.5
	* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.		
▪ 검출한계 : 0.5 μg/L(S/N 비 3)			

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 13> 혈액 중 벤젠의 HS GC-FID 크로마토그램

농도계산

$y = ax + b$ 의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 벤젠의 농도(mg/L)를 구한다.

6.2.3 카복시헤모글로빈[혈액]

카복시헤모글로빈[혈액]

(유해물질 : 디클로로메탄)

분자식 : 자료없음 분자량 : 자료없음 비 중 : 자료없음 CAS No.: 자료없음

노출기준값: 3.5 %

분석 개요 : 디클로로메탄은 체내에서 일산화탄소(CO)로 대사되어 카복시헤모글로빈(Carboxyhemoglobin, COHb)을 형성한다. 혈액 중 카복시헤모글로빈이 축적되면 중추신경계 및 심혈관계 독성을 유발할 수 있으므로, 자외선-가시광선 분광광도계(Ultraviolet/visible spectrophotometer; UV/VIS)를 이용하여 혈중 농도를 분석한다. 단, 혈액가스분석기는 해당 원리를 포함하고 있으므로 동일한 분석 방법으로 간주할 수 있다.

낮은 농도(20 % 미만)의 카복시헤모글로빈은 명확한 스펙트럼을 얻기 어려워 분석 오차가 발생할 수 있다. 황 이온의 간섭 또한 주의해야 하는데, 이는 환원제로 제거되지 않는 황화헤모글로빈(Sulfhemoglobin)을 생성하여 분석값을 실제보다 낮게 만들기 때문이다.

시료 채취 :

- 혈액 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 근로자의 정맥혈을 EDTA(Ethylenediaminetetraacetic acid)-함유 채혈관 또는 헤파린(Heparin) 처리된 튜브와 일회용 주사기 또는 진공채혈관을 이용하여, 2 mL 이상 채취한다.
- 채취한 시료는 시료 채취 용기에 밀봉하여 채취 후 1시간 이내에 분석하며 분석 전까지 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다.

분석장비 :	자외가시부 분광광도계 [UV/VIS]	
시약		기구
- 제1인산칼륨(KH_2PO_4) (Potassium Phosphate, Monobasic) - 제2인산칼륨(K_2HPO_4) (Potassium Phosphate, Dibasic) - 차아황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) 3차 정제수		- 헤파린 또는 EDTA 처리된 채혈관 - 용량플라스크 50 mL, 100 mL, 1,000 mL - 마이크로 피펫 10–100 μL, 100–1,000 μL - 유리 시험관 10 mL - 석영 cell - 롤러 믹서(Roller mixer) - 전자저울
시약조제		
[인산칼륨 완충용액] 제1인산칼륨 13.6 g과 제2인산칼륨 17.4 g으로 각각 0.1 mol/L가 되도록 수용액을 조제하여 pH 6.85 완충용액을 만들어 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 보관한다.		

[용혈액(Hemolyzing solution)]

인산칼륨 완충용액을 3차 정제수로 10배 희석하고 일주일마다 제조한다.

[카복시헤모글로빈 희석액(CO-Hb diluting solution)]

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

시료 및 표준용액 전처리

1. 모든 시료는 거품이 발생하지 않도록 40분간 롤러 믹서로 균질화 시킨다.
2. 시험관에 용혈액 3 mL를 넣고 여기에 전혈을 25 μ L를 첨가하여 두세번 뒤집어서 혼합한 후 5분간 반응시킨다.
3. 다른 시험관에 카복시헤모글로빈 희석액 4.6 mL를 넣고, (1)의 반응에서 혼합시킨 용액 0.4 mL를 취하여 첨가한 후 가볍게 몇 번 뒤집어 혼합하고, 10분간 상온에 둔다.
4. 420 nm와 432 nm에서 흡광도를 읽는다(대조 셀에는 카복시헤모글로빈 희석액만을 넣어서 측정한다).

농도계산

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. 권장 검사항목

7.1 소변 중 권장 검사항목

7.1.1 만델릭산+페닐글리옥실산[소변]

만델릭산+페닐글리옥실산[소변]

(유해물질 : 스티렌)

만델릭산			
분자식 : $C_8H_8O_3$	분자량 : 152.15	비 중 : 1.30	CAS No.: 91-64-2
페닐글리옥실산			
분자식 : $C_8H_6O_3$	분자량 : 150.13	비 중 : 자료없음	CAS No.: 611-73-4
노출기준값 : 600 mg/g 크레아티닌(만델산 + 페닐글리옥실산)			
분석 개요 : 스티렌은 호흡기와 피부 경로로 흡수되며 작업장에서는 주로 호흡기를 통한다. 8시간 노출 중 흡수된 스티렌 양의 85 % 정도가 만델산(Mandelic acid)으로 소변에 배설되며 10 % 정도는 페닐글리옥실산(Phenylglyoxylic acid)으로 소변을 통해 배설된다. 만델산과 페닐글리옥실산을 합한 값이 각각의 값보다 스티렌 노출을 더 잘 반영하므로 이들 두 성분을 합한 값을 스티렌의 생물학적 노출지표로 사용한다. 소변 중 만델산과 페닐글리옥실산을 유기용제로 추출한 뒤 휘발성 유도체를 만들어 가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID)로 분석하거나, 이동상으로 희석한 후 고성능 액체크로마토그래프-자외선검출기(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 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 °C 이하에서 보관한다.			
분석장비 :	가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [GC-FID]		
시약	기구		
- 만델산(Mandelic acid) - 페닐글리옥실산(Phenylglyoxylic acid) - 헵타데카노인산(Heptadecanoic acid) - 에틸아세테이트(Ethyl acetate)	- 용량플라스크 10 mL, 100 mL - 마이크로 피펫 20-200 μL, 100-1,000 μL - 마개달린 시험관 - 가스크로마토그래피(GC)용 바이알 2 mL		

- 클로로포름(Chloroform) - 염산(Hydrochloric acid) - 메탄올(Methanol) 3차 정제수	- 파스퇴르 피펫 - 롤러믹서(Roller mixer) - 원심분리기
시약조제	
[유도체화 시약] 진한 염산(함량 35 %, 비중 1.18) 5 mL를 100 mL의 메탄올에 녹여 GC용 유도체화 시약을 만든다. [표준용액] 1. 만델산, 페닐글리옥실산 각각 50 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 총 1,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다. 2. 표준용액 원액을 1, 3, 5, 7, 9 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 두 용액이 총 100, 300, 500, 700, 900 mg/L가 되도록 제조하여 검량선용 표준용액으로 하며, 이는 만델산, 페닐글리옥실산 각각 50, 150, 250, 350, 450 mg/L 농도이다. 희석용 소변을 공시료로 한다. [내부표준용액] 헵타데카노인산 10 mg을 10 mL 메탄올에 녹여 1 g/L의 내부표준용액을 만든다.	
시료 및 표준용액 전처리	
- 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다. - 표준용액 및 시료를 0.5 mL에 3차 정제수 0.5 mL를 가하고 내부표준물질 100 µL를 첨가한다. - 여기에 0.5 N 염산용액 200 µL와 2 mL의 에틸아세테이트를 첨가한 다음 20분 흔들어 주고 3,000 rpm으로 4분간 원심분리하여 유기층을 추출한다. - 추출한 유기층을 새 시험관에 옮기고 파스퇴르 피펫으로 에틸아세테이트를 제거한 나머지 시료에 유도체화 시약 1 mL를 넣고 마개를 한 후 60 °C에서 40분 반응시킨다. 반응액을 상온으로 냉각시킨 후 3차 정제수 2 mL와 클로로포름 1 mL를 첨가하고 20분간 잘 흔들어 준 후 3,000 rpm에서 4분간 원심분리한다. - 클로로포름층을 피펫으로 취하여 GC용 바이알에 옮겨 검액으로 한다.	
분석 조건	정밀도/정확도/검출한계
- 컬럼 : Rtx-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm 막 두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 - 오븐 온도 : 100 °C(1분) → 20 °C/분 → 240 °C(2분) - 주입구 온도 : 240 °C - 검출기 온도 : 250 °C - 컬럼 유속 : 1 mL/분 - 분할주입비율 : 1/10	정밀도 / 정확도 :

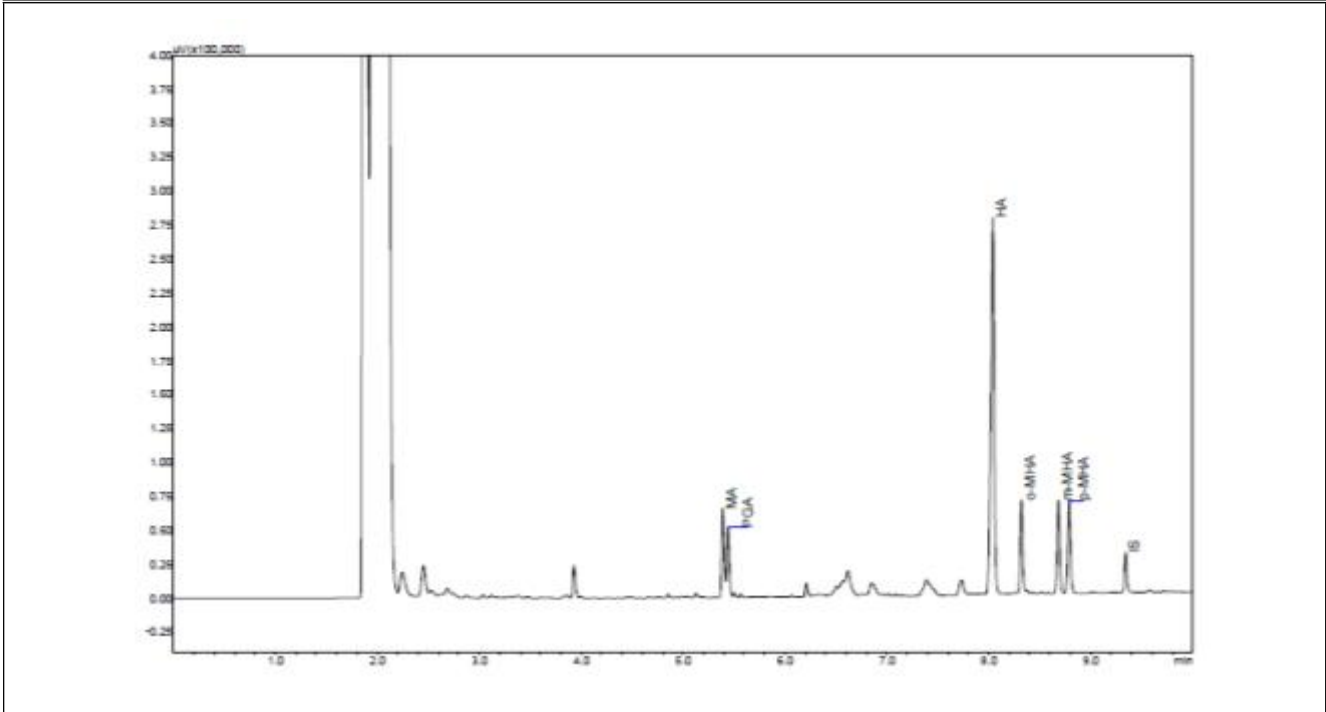
	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
만델산	25	3.8	104.6
	250	2.1	91.1
페닐 글리옥 실산	25	1.4	115.5
	250	2.1	116.0

* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.

■ 검출한계

- 소변 중 만델산 0.9 mg/L(S/N 비3)
- 소변 중 페닐글리옥실산 0.4 mg/L(S/N 비3)

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림14> 소변 중 만델산(MA), 페닐글리옥실산(PGA)의 GC-FID 크로마토그램

농도계산

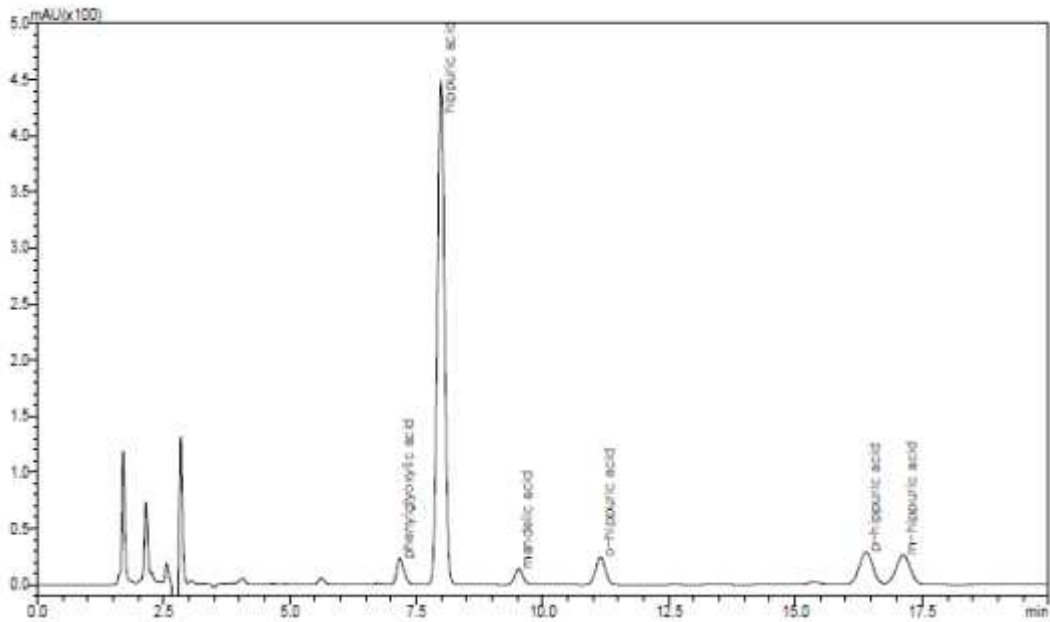
y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 만델산과 페닐글리옥실산의 농도(mg/L)를 각각 구한다. 만델산과 페닐글리옥실산의 농도를 합한 값을 크레아티닌으로 보정하여(mg/g 크레아티닌) 스티렌의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

분석장비 :	고성능 액체크로마토그래프 자외선검출기[HPLC-UV]
--------	-------------------------------

시약	기구															
- 만델산(Mandelic acid) - 페닐글리옥실산(Phenylglyoxylic acid) - 인산2수소화칼륨(KH2PO4) (Potassiumhydrosulfide) - 인산(Phosphoric acid) - 초산(Acetic acid) - 테트라하이드로퓨란(Tetrahydrofuran) _HPLC급 - 아세토니트릴(Acetonitrile)_HPLC급 3차 정제수	- 용량플라스크 10 mL, 100 mL - 마이크로피펫 20-200μL, 100-1,000 μL - 마개달린 시험관 - 주사기 2 mL - 멤브레인필터 0.45 μm															
시약조제																
[표준용액] 1. 만델산, 페닐글리옥실산 각각 50 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 총 1,000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이때 만델산, 페닐글리옥실산의 농도는 각각 500 mg/L 이다. 이것을 표준용액 원액으로 한다. 2. 표준용액 원액을 1, 3, 5, 7, 9 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에서 희석용 소변으로 희석하여 두 용액이 총 100, 300, 500, 700, 900 mg/L가 되도록 제조하여 검량선용 표준용액으로 하며, 이때 만델산, 페닐글리옥실산의 농도는 각각 50, 150, 250, 350, 450 mg/L 이다. 희석용 소변을 공시료로 한다. [이동상] 1. 0.3 % 초산을 포함한 0.01 M 인산2수소화칼륨 용액에 인산을 가하여 pH 2.5로 조정하여 인산완충용액을 조제한다. 2. 인산완충용액, 테트라하이드로퓨란, 아세토니트릴을 87:5:8의 부피비로 혼합한 용액을 이동상으로 한다.																
시료 및 표준용액 전처리																
1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤러믹서에서 잘 섞어준다. 2. 표준용액 및 시료 200 μL를 취한 후, 3차 정제수로 10배 희석한다. 3. 희석액을 0.45 μm 멤브레인필터로 여과하여 시료를 준비한다.																
분석 조건	정밀도/정확도/검출한계															
- 컬럼 : C18, (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/분	정밀도 /정확도 : <table><tr><th></th><th>농도(mg/L)</th><th>정밀도 변이계수(%)*</th><th>정확도 회수율(%)*</th></tr><tr><td rowspan="2">만델산</td><td>25</td><td>2.7</td><td>102.1</td></tr><tr><td>250</td><td>0.9</td><td>99.9</td></tr><tr><td>페닐</td><td>25</td><td>3.8</td><td>101.2</td></tr></table>		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*	만델산	25	2.7	102.1	250	0.9	99.9	페닐	25	3.8	101.2
	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*													
만델산	25	2.7	102.1													
	250	0.9	99.9													
페닐	25	3.8	101.2													

■ 검출기 : 자외선검출기(225 nm)				
	클리옥	250	0.8	99.8
	실산			
	* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.			
	■ 검출한계 :			
	- 소변 중 만델산 0.7 mg/L			
	- 소변 중 페닐클리옥실산 0.9 mg/L(S/N 비3)			

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 15> 소변 시료 중 만델산, 페닐글리옥실산의 HPLC-UVD 크로마토그램

농도계산

y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 만델산과 페닐글리옥실산의 농도(mg/L)를 각각 구한다. 만델산과 페닐글리옥실산의 농도를 합한 값을 크레아티닌으로 보정하여(mg/g 크레아티닌) 스티렌의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

· 참고문헌

-<http://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-53.pdf>

7.1.2 TTCA[소변]

TTCA[소변]

(유해물질 : 이황화탄소)

분자식 : $C_4H_5NO_2S_2$ 분자량 : 163.21 비 중 : 자료없음 CAS No.: 20933-67-9

노출기준값 : 0.5 mg/g 크레아티닌

분석 개요 : 이황화탄소는 흡입, 피부, 그리고 경구로서 광범위하게 흡수되며, 흡수된 이황화탄소 중 약 6 %가 TTCA(2-Thiothiazolidine-4-carboxylic acid)로 배설되므로 이를 고성능 액체크로마토그래프와 자외선검출기(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 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 °C이하에서 보관한다.

분석장비 :	액체크로마토그래프 자외선검출기[HPLC-UVD]	
시약		기구
▪ TTCA(2-Thiothiazolidine-4-carboxylic acid) ▪ 염화나트륨(Sodium chloride) ▪ 5 N 염산(Hydrochloric acid) ▪ 초산(Acetic acid) ▪ 디에틸에테르(Diethyl ether) ▪ 메탄올(Methanol) ▪ 아세토니트릴(Acetonitrile) ▪ 빙초산(Glacial acetic acid) ▪ 3차 정제수		▪ 용량플라스크 10 mL, 100 mL, 1,000 mL ▪ 마개달린 시험관 ▪ 마이크로 피펫 100-1,000 μL ▪ 질소 농축기 ▪ 볼텍스 믹서 ▪ 원심분리기 ▪ 롤러믹서(Roller mixer)
시약조제		
[표준용액] 1. TTCA 10 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 100 mg/L의 표준용액 원액을 만든다. 2. 위 100 mg/L 표준용액 원액 10 mL를 정확히 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L의 중간 표준용액을 만든다. 3. 10 mg/L 중간 표준용액을 각각 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 1.0 mL씩 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고, 희석용 소변으로 표선을 채워 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 1.0 mg/L의 검량선용 표준용액을 만든다. 희석용 소변을 공시료로 사용한다.		

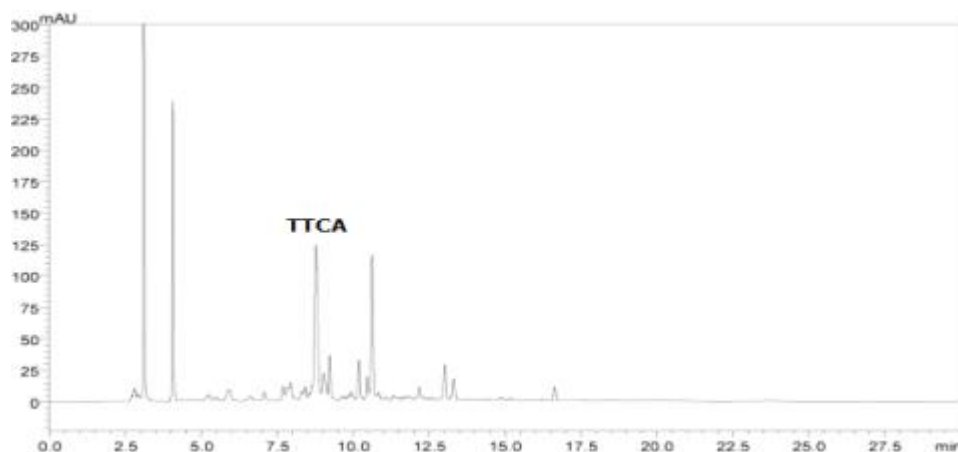
[이동상]

1. 아세트니트릴을 이동상 A로 사용한다.
2. 약 500 mL의 3차 정제수를 1,000 mL 용량플라스크에 넣고 약 6.0 mL의 빙초산을 가해 표산을 맞춰 제조한 0.1 M 초산(pH 3.0)을 이동상 B로 사용한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 롤리믹서에서 잘 섞어준다.
2. 표준용액 및 시료 1 mL를 15 mL 마개 딸린 시험관에 취한다.
3. 포화 염화나트륨용액 250 μ L를 첨가한 후 5 N 염산(함량 35 %, 비중 1.18) 50 μ L를 가한다.
4. 롤리믹서에서 약 1분간 섞은 후 4 mL의 디에틸에테르를 가하고 다시 1분간 잘 섞는다.
5. 혼합액은 3,000 rpm 에서 10분간 원심분리 한다.
6. 피펫을 사용하여 분리된 에테르 층 2 mL을 취하여 뚜껑 있는 바이알에 옮긴다.
7. 질소농축기에서 30 $^{\circ}$ C 로 증발 건조시킨 후, 잔사를 1 mL 메탄올/물(50 : 50)에 녹여 HPLC 용 검액으로 한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계			
- 컬럼 : C18, (150 mm × 4.6 mm, 입경 5 μm) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼. - 이동상 : A 아세트니트릴 / B 0.1 M 초산 (pH 3.0) - 유속 : 1.0 mL/분 - 시료 주입량 : 20 μL - 검출기 : 자외선검출기(275 nm)	정밀도 /정확도 :			
		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*
	TTCA	25	4.0	88.4
		10	2.5	86.0
	* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.			
검출한계 : 0.08 mg/L				

분석 결과 크로마토그램 예시

<그림 16> 소변 중 TTCA의 HPLC-UVD 크로마토그램

농도계산
y= ax+b의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 면적(시료면적)을 대입하여 시료중 포함된 TTCA의 농도(mg/L)를 구한다. TTCA의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여 (mg/g 크레아티닌) 시료 중 포함된 이황화탄소의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

7.1.3 S-페닐머캅토산[소변]

S-페닐머캅토산[소변]

(유해물질 : 벤젠(0.5ppm기준))

분자식 : $C_{11}H_{13}NO_3S$ 분자량 : 239.29 비 중 : 1.28 CAS No.: 4775-80-8

노출기준값 : 25 µg/g 크레아티닌

분석 개요 : 벤젠 노출량의 0.05 % 정도가 S-페닐머캅토산(S-phenylmercapturic acid)으로 대사되어 소변으로 배설된다. S-페닐머캅토산은 tt-뮤콘산보다 더 민감하고 특이적인 벤젠 노출 지표이다. 소변 중의 S-페닐머캅토산을 고성능 액체크로마토그래프 질량분석기(High performance liquid chromatograph mass-spectrometer, HPLC -MS)를 사용하여 검출하거나, S-페닐머캅토산을 유기용제로 추출한 후 휘발성 유도체를 만들어 기체크로마토그래프-질량분석검출기(Gas chromatograph mass spectrometer, GC-MS)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 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 °C 이하에서 보관한다.

분석장비 :		가스크로마토그래프 질량분석검출기[GC-MS]	
시약		기구	
▪ S-페닐머캅토산(S-phenylmercapturic acid) ▪ 헵타데카논산(Heptadecanoic acid) ▪ 염산(Hydrochloric acid) ▪ 에틸아세테이트(Ethly acetate) ▪ 클로로포름(Chloroform) ▪ 메탄올(Methanol)_HPLC급 ▪ 3차 정제수		▪ 마이크로 피펫 100 - 1,000 μL ▪ 용량플라스크 100 mL 1,000 mL ▪ 마개달린 시험관 10 mL ▪ 시료증발농축기 ▪ 원심분리기 ▪ 롤러믹서(Roller mixer) ▪ pH미터	
시약조제			
[표준용액] 1. S-페닐머캅토산 10 mg을 정밀하게 달아 1,000 mL 용량 플라스크에 넣고 10 mL의 2 M 염산 (함량 35 %, 비중 1.18) 용액을 가하여 용해시키고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 표준용액 원액을 만든다. 2. 표준용액 원액을 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 희석용 소변으로 표선을 채워 10, 30, 50, 70, 100 μg/L의 표준용액을 조제한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.			

[내부 표준용액]

헵타데카논산 약 10 mg을 정밀하게 재서 25 mL 용량 플라스크에 넣고 메탄올로 표선을 채워 0.4 mg/L 용액을 조제한다.

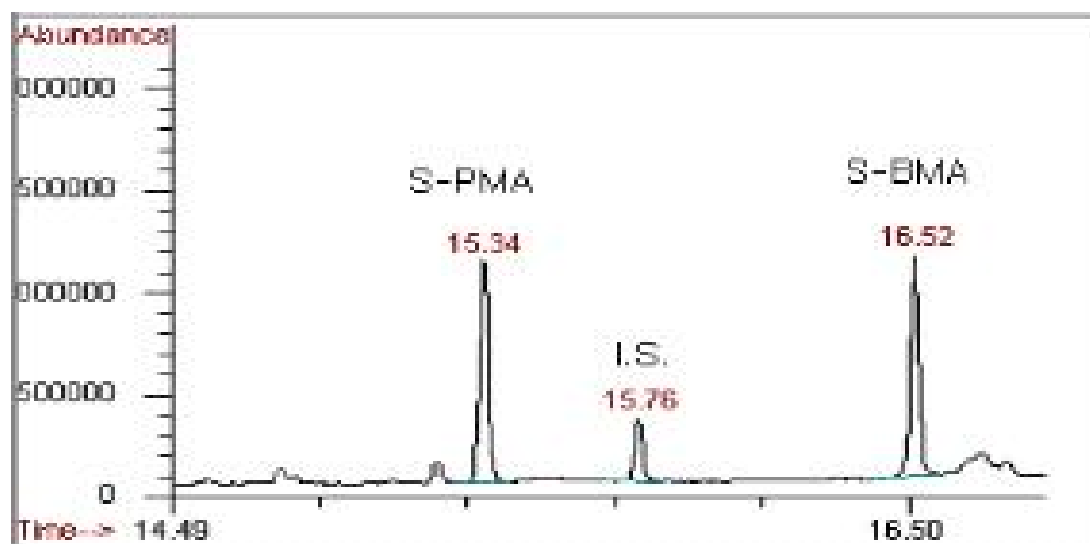
[유도체화 시약]

진한 염산(함량 35 %, 비중 1.18) 5 mL를 100 mL의 메탄올에 가해 기체크로마토그래피용 유도체화 시약을 조제한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 소변시료는 채취 후, 진한 염산을 1 mL/100 mL 의 농도가 되게 가하여 소변의 pH가 2.0 이하가 되게 한다.
2. 표준용액 및 소변 시료를 볼러믹서로 잘 섞어준 후, 1 mL를 취한다.
3. 0.2 mL의 내부표준용액을 가한 후, 2 mL의 에틸아세테이트를 첨가한 다음 20분간 흔들어서 주고 3,000 rpm으로 4분간 원심분리하여 유기층을 추출한다.
4. 추출한 유기층은 시료증발농축장치에서 50 ℃로 가온하며 유기용매를 증발, 건조시킨 다음, 유도체화시약을 1 mL 가하여 녹인 후 60 ℃에서 40분간 반응시킨다.
5. 반응이 끝난 용액에 클로로포름 1 mL와 3차 정제수 2 mL를 가하여 20분간 흔들어서 추출한 후, 원심분리기에서 3,000 rpm으로 4분간 원심분리하여 수층과 클로로포름 층을 분리하고 수층을 먼저 제거한 후, 클로로포름 층을 기체크로마토그래프에 주입한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계																		
▪ 컬럼 : HP-5MS(30 m x 0.25 mm, 0.25 μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ 오븐 온도 : 80 ℃(1분) → 10 ℃/분 → 240 ℃(6분) ▪ 주입구 온도 : 250 ℃ ▪ 검출기 온도 : 250 ℃ ▪ 유속 : 0.9 mL/min ▪ 분할주입비율 : 비분할, 0.5 분 후 분할주입 비 1/20 ▪ 주입량 : 3 μL ▪ 검출 방식 : 이온선택분석(SIM : Selected Ion Monitoring) - S-페닐머캅토산 검출이온(M/Z) : 253, 194 - S-페닐머캅토산 dwell time : 20 msec	▪ 정밀도<table><tr><th></th><th>농도(μg/L)</th><th>변이계수(%)*</th></tr><tr><td>S-페닐머캅</td><td>10</td><td>3.5</td></tr><tr><td>토산</td><td>100</td><td>2.5</td></tr></table> ▪ 정확도<table><tr><th></th><th>농도(μg/L)</th><th>회수율(%)*</th></tr><tr><td>S-페닐머캅</td><td>19.8</td><td>109</td></tr><tr><td>토산</td><td>77.1</td><td>106</td></tr></table> ▪ 검출한계 : 3.6 μg/L(S/N 비 3)		농도(μg/L)	변이계수(%)*	S-페닐머캅	10	3.5	토산	100	2.5		농도(μg/L)	회수율(%)*	S-페닐머캅	19.8	109	토산	77.1	106
	농도(μg/L)	변이계수(%)*																	
S-페닐머캅	10	3.5																	
토산	100	2.5																	
	농도(μg/L)	회수율(%)*																	
S-페닐머캅	19.8	109																	
토산	77.1	106																	
분석 결과 크로마토그램 예시																			



<그림 17> 소변 중 S-페닐머캅토산의 GC-MS 크로마토그램

농도계산

$y = ax + b$ 의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적비(시료 면적/내부표준물질 면적)를 대입하여 시료 중 포함된 S-페닐머캅토산의 농도($\mu\text{g/L}$)를 구한다. S-페닐머캅토산의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여($\mu\text{g/g}$ 크레아티닌) 벤젠의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

분석장비 :

고성능액체크로마토그래프 질량분석기[HPLC-MS]

시약

기구

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> S-페닐머캅토산(S-phenylmercapturic acid) 포름산(Formic acid) 아세토니트릴(Acetomitrile) (HPLC용) 3차 정제수 | <ul style="list-style-type: none"> 마이크로 피펫 100-1,000 μL 용량플라스크 100 mL, 1,000 mL 시험관 5 mL 주사기 2 mL 멤브레인필터 0.45 μm 롤러믹서 (Roller mixer) |
|--|--|

시약조제

[표준용액]

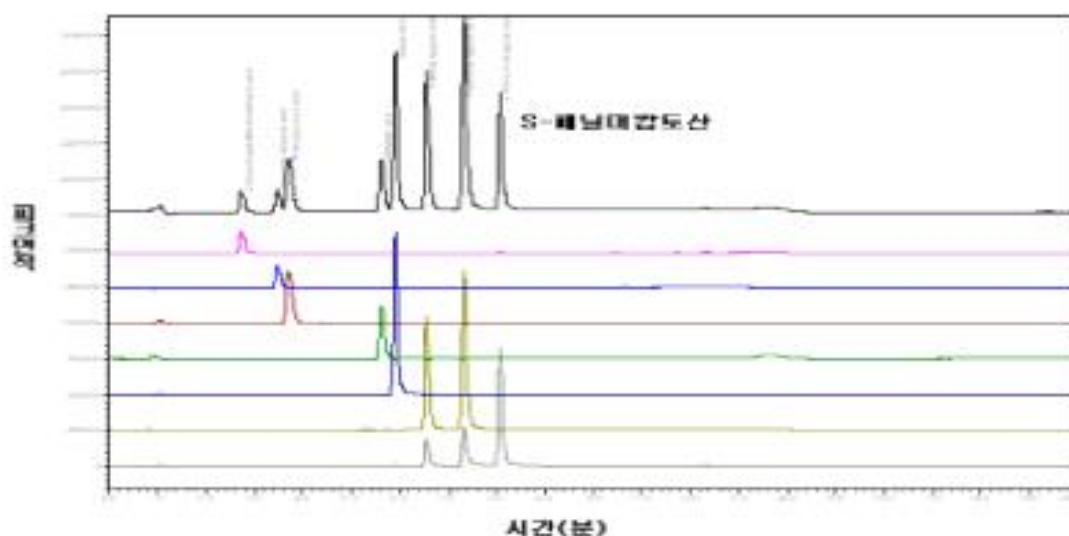
- S-페닐머캅토산 10 mg을 정밀하게 달아 1,000 mL 용량 플라스크에 넣고 10 mL의 2 M 염산 (함량 35 %, 비중 1.18) 용액을 가하여 용해시키고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 표준용액 원액을 만든다.
- 표준용액 원액을 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 희석용 소변으로 표선을 채워 10, 30, 50, 70, 100 $\mu\text{g/L}$ 의 표준용액을 조제한다. 희석용 소변을 공시료로 한다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 3분간 볼러믹서에서 잘 섞어준다.
2. 시료 100 μ L를 취한 후, 3차 정제수로 100배 희석한다.
3. 희석액을 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과하여 시료를 준비한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계												
▪ 컬럼 : C₁₈ 컬럼(75 mm × 2.0 mm, 입경 3 μm) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ 이동상 : ① A 용액 : 0.1 % 포름산 ② B 용액 : HPLC용 아세트니트릴 ③ 농도 구배 프로그램(Gradient Program) B 용액 0 - 0.2분(5 %) 0.21 - 10분(5 → 50 %) 10.01 - 12분(50 %) 12.01 - 20분(5 %) ▪ 유속 : 0.2 mL/min ▪ 검출기 : 질량분석기 ① 이온화 방법 : 전자분무법(음이온 검출) ② 검출 방법: 이온선택분석(SIM : Selected Ion Monitoring) ③ S-페닐머캅토산 검출이온(m/z) : 238	▪ 정밀도 / 정확도<table><tr><th></th><th>농도(μg/L)</th><th>정밀도 변이계수(%)*</th><th>정확도 회수율(%)*</th></tr><tr><td>S-페닐머</td><td>50</td><td>6.0</td><td>96.7</td></tr><tr><td>캅토산</td><td>500</td><td>2.5</td><td>99.6</td></tr></table> * 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함. ▪ 검출한계 : 5 μg/L(S/N 비 3)		농도(μg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*	S-페닐머	50	6.0	96.7	캅토산	500	2.5	99.6
	농도(μg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*										
S-페닐머	50	6.0	96.7										
캅토산	500	2.5	99.6										

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 18> 소변 중 S-페닐머캅토산의 HPLC-MS 크로마토그램

농도계산
$y = ax + b$의 검량선에 분석하고자 하는 물질의 피크 면적(시료 면적)을 대입하여 시료 중 포함된 S-페닐머캅토산의 농도($\mu\text{g/L}$)를 구한다. S-페닐머캅토산의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여 ($\mu\text{g/g}$ 크레아티닌) 벤젠의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

7.2 혈액 중 권장 검사항목

7.2.1 톨루엔[혈액]

톨루엔[혈액]

(유해물질 : 톨루엔)

분자식 : $C_6H_5CH_3$ 분자량 : 92.14 비 중 : 0.8667 CAS No.: 108-88-3

노출기준값 : 0.05 mg/L

분석 개요 : 톨루엔은 체내로 흡수된 후 빠르게 지방 조직으로 이동하여, 혈액에 남아있는 톨루엔은 노출 후 15분마다 반씩 감소한다. 혈액 중의 톨루엔(Toluene)은 톨루엔 노출을 반영하는 민감한 지표로, 톨루엔 노출 1시간 내에 검출되며, 이를 헤드스페이스 가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Headspace gas chromatograph-flame ionization detector, HS GC-FID)을 이용해 분석한다. 밀폐된 바이알에 시료를 넣고 적당한 온도를 유지하여 액체상과 기체상(헤드스페이스)에 존재하는 톨루엔이 상평형(Phase equilibrium)을 이루게 한 후, 헤드스페이스 기체 일정량 (1 mL)을 기체크로마토그래프에 주입하여 분석한다.

시료 채취 :

- 혈액 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 시까지 채취한다.
- 근로자의 정맥혈을 EDTA(Ethylenediaminetetraacetic acid)-함유 채혈관 또는 헤파린(Heparin) 처리된 튜브와 일회용 주사기 또는 진공채혈관을 이용하여, 시료는 4mL 또는 용기의 90 % 이상 채취한다.
- 채취한 시료를 밀봉하여 4 ℃(2~8 ℃)를 유지한 상태로 이동하고 보관하며, 채취 후 5일 이내에 분석한다.

분석장비 :	헤드스페이스 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기 [HS GC-FID]	
시약		기구
▪ 톨루엔(Toluene) ▪ 이소부틸알코올(Isobutyl alcohol) ▪ 구연산나트륨(Sodium citrate) ▪ D-글루코즈(D-Glucose) ▪ 구연산(Citric acid) ▪ 3차 정제수		▪ 마이크로 피펫 10-100 μL, 100-1,000 μL ▪ 용량플라스크 10 mL, 50 mL, 100 mL ▪ 헤드스페이스 GC용 바이알 ▪ 롤러믹서(Roller mixer)
시약조제		
[표준용액]		
1. 톨루엔 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L 표준용액 원액을 조제한다. 표준용액 조제에 사용하는 3차 정제수는 미리 분석하여 톨루엔이 없는 것을 확인한다.		

2. 표준용액 원액을 100 μL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 0.01, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 mL씩 취하여 10 mL 용량플라스크에서 3차 정제수로 희석하여 10, 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g/L}$ 의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 3차 정제수를 공시료로 한다.

[내부표준용액]

1. 이소부틸알코올 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 1,000 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 100 μL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 10 mg/L 내부표준용액을 조제한다.
2. 10 mg/L 내부표준용액을 500 μL 취하여 50 mL 용량플라스크에서 3차 정제수로 희석하여 100 mg/L의 내부표준용액을 조제한다.

[구연산 D-글루코즈 용액]

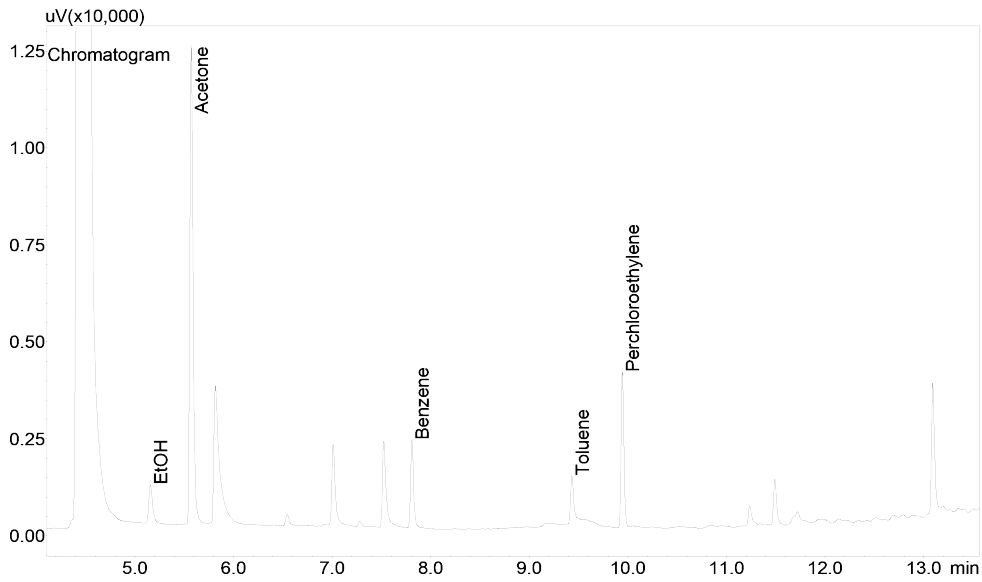
구연산 0.48 g, 구연산나트륨 1.32 g, D-글루코즈 1.47 g을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 정제수로 표선을 채워 구연산 D-글루코즈 용액을 만든다.

시료 및 표준용액 전처리

1. 표준용액 및 시료를 물러믹서로 3분간 잘 섞어준 후 1 mL를 취하여 헤드스페이스 GC용 바이알에 옮긴다.
2. 내부표준용액 0.5 mL, 구연산 D-글루코즈 용액 0.5 mL를 가하고 마개를 닫아 5분간 잘 섞어준 후 헤드스페이스 GC 분석 시료로 한다.

분석 조건	정밀도/정확도/검출한계											
▪ 컬럼 : DB-624 (60 m x 0.25 mm, 1.4 μm 막두께의 컬럼) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼 ▪ 오븐 온도 : 40 ℃(1분) → 15 ℃/분 → 240 ℃(1분) ▪ 주입구 온도 : 250 ℃ ▪ 검출기 온도 : 250 ℃ ▪ 컬럼 유속 : 1.2 mL/분 ▪ 분할주입비율 : 비분할, 0.5분 후 분할 주입비 1/20 ▪ 주입량 : 1 μL ▪ 헤드스페이스 조건 ① 온도 : - 시료 오븐 : 70 ℃ - 주입관 : 150 ℃ ② 시간 : 가열 10분 가압 10초 주입 30초	▪ 정밀도/ 정확도<table><tr><th></th><th>농도(mg/L)</th><th>정밀도 변이계수(%)*</th><th>정확도 회수율(%)*</th></tr><tr><td rowspan="2">톨루엔</td><td>0.5</td><td>6.5</td><td>103.0</td></tr><tr><td>5.0</td><td>2.8</td><td>100.4</td></tr></table> * 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함. ▪ 검출한계 : 0.03 mg/L (S/N 비 3)		농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*	톨루엔	0.5	6.5	103.0	5.0	2.8	100.4
	농도(mg/L)	정밀도 변이계수(%)*	정확도 회수율(%)*									
톨루엔	0.5	6.5	103.0									
	5.0	2.8	100.4									

분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 19> 혈액 중 톨루엔의 HS GC-FID 크로마토그램

농도계산

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

· 참고문헌

- WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical exposure in the workplace Guidelines Vol 1. 1996

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-7-2026	생물학적 노출지표물질(유기화합물_2차 및 권장 검사항목) 분석에 관한 기술지원규정	통폐합(개정)
H-12-2021	콜타르의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침	통폐합(폐지)
H-13-2020	클로로벤젠의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침	
H-18-2021	펜타클로로페놀의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침	
H-19-2023	벤젠의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침	
H-146-2021	페놀의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침	
H-154-2021	메틸알코올의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침	
H-164-2021	파라디메틸아미노아조벤젠의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침	
H-165-2021	디클로로메탄의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침	
H-166-2021	메틸부틸케톤의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침	
H-179-2016	아세톤의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침	
H-151-2021	스티렌의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침	
H-153-2021	이황화탄소의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침	

○ 주요 제정내용

- 생물학적 노출지표물질명 및 시료 종류 기준으로 분류
- 유해물질 별도 표기 및 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