

KOSHA GUIDE

H - 146 - 2021

페놀의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한
기술지침

2021. 10.

한 국 산 업 안 전 보 건 공 단

안전보건기술지침의 개요

- 제정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 고경선
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영
- 개정 경과
 - 2014년 11월 산업의학분야 제정위원회 심의
 - 2021년 8월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(법령 및 규격 최신화)
- 관련규격 및 자료
 - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 근로자 건강진단 실무지침: 제1권 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349
 - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 I : 크실렌 등 유기용제 16종. 보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880. 2010
- 관련법규·규칙·고시 등
 - 산업안전보건법 시행규칙 [별표 24] 특수건강진단·배치전건강진단·수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)
 - 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시)
 - 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)
 - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 「근로자건강진단 실무지침」 제1권 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349
- 기술지침의 적용 및 문의

이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지(<http://kosha.or.kr>) 안전보건기술지침 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2021년 10월

제정자 : 한국산업안전보건공단 이사장

폐놀의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침 제안 개요

I. 개정 이유

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

II. 개정(안)의 주요내용

- 소변 중 폐놀의 헤드스페이스 가스크로마토그래피법 분석을 위한 시료 및 표준 용액 전처리 및 분석방법 등에 대해 기술함
- 산업안전보건법 시행규칙 제206조 관련 별표 24에서 폐놀의 생물학적 노출지표 검사에 대한 분석지침 반영

III. 관련 법규정 및 규격

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

IV. 제정위원회 심의개요

- 제 안 자 : 산업안전보건연구원 이미영
- 심 의 일 : 2014년 11월 18일
- 참석인원 : 재적위원 14명 중 8명 참석
- 심의결과 : 제출안에 동의함

페놀의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침

1. 목 적

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

2. 적용범위

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

3. 정 의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

- (가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료로부터 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물이나 생화학적 변화산물 등을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도나 건강영향 가능성 등을 평가하는 것을 말한다.
- (나) “생물학적 노출지표 물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 체내 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.
- (다) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나는 자료분석치의 변동크기가 얼마나 되는가를 나타낸다. 이 경우 같은 조건에서 측정했을 때 일어나는 우연오차(Random error)에 의한 분산(Dispersion)의 정도를 측정값의 변이계수(Coefficient of variation)로 표시한다.

(라) “정확도(Accuracy)”란 분석치가 참값에 얼마나 접근하였는지를 수치로 표현한 것이다. 다만, 인증표준물질이 있는 경우는 상대오차로 표시하고, 인증표준물질이 없는 경우는 시료에 첨가한 값으로부터 구한 평균회수율로 표시한다.

(마) “검출한계(Limit of detection: LOD)”란 공시료 신호값(Blank signal, background signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(Signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 말한다. 이 경우 가장 널리 사용하는 공시료 신호값과의 차이가 공시료 신호값 표준편차의 3배인 경우로 한다.

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

4. 분석장비

분석장비는 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID) 또는 헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석기(Headspace gas chromatograph mass spectrometer, HS GC-MS)를 사용한다.

5. 분석방법

5.1 분석 원리 및 시료채취

(1) 분석 원리

페놀은 흡입, 경구, 피부 등을 통하여 흡수되며, 흡수된 페놀은 신속히 소변으로 배설되므로 이를 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기나 헤드스페이스 가스크로마토그래프 질량분석기로 분석한다. 단, 페놀과 o-페닐페놀이 검출되는 시간이 거의 유사하기 때문에 o-페닐페놀이 공존하는 경우 페놀 분석 결과가 과대평가될 수 있다.

(2) 시료의 채취

(가) 시료 채취 시기

시료는 당일 작업종료 2 시간 전부터 작업종료 사이에 채취한다.

(나) 시료 채취 요령

- ① 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- ② 채취한 시료는 시료 채취 용기에 밀봉하여 채취 후 5일 이전에 분석하면 4 ℃(2~8 ℃)에서 냉장 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우에는 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 -20 ℃이하에서 냉동 보관한다.

5.2 가스크로마토그래피 불꽃이온화검출법

(1) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 용량플라스크 100 mL
- ② 용량플라스크 10 mL
- ③ 자동피펫 200-1,000 μ L
- ④ 마개달린 시험관 10 mL
- ⑤ 수욕조(Water bath)
- ⑥ 가스크로마토그래프(GC)용 바이알 2mL

(나) 시약

- ① 페놀
- ② 이소프로필 에테르(Isopropyl ether)
- ③ 염산
- ④ 탈이온수(18 M Ω /cm 이상)

(2) 시약 조제

(가) 표준용액

- ① 페놀 100 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 1000

mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.

- ② 표준용액 원액을 각각 2, 4, 6, 8, 10 mL 취하여 20, 40, 60, 80, 100 mg/L가 되도록 제조하여 검량선용 표준용액으로 한다. 증류수를 공시료로 한다.

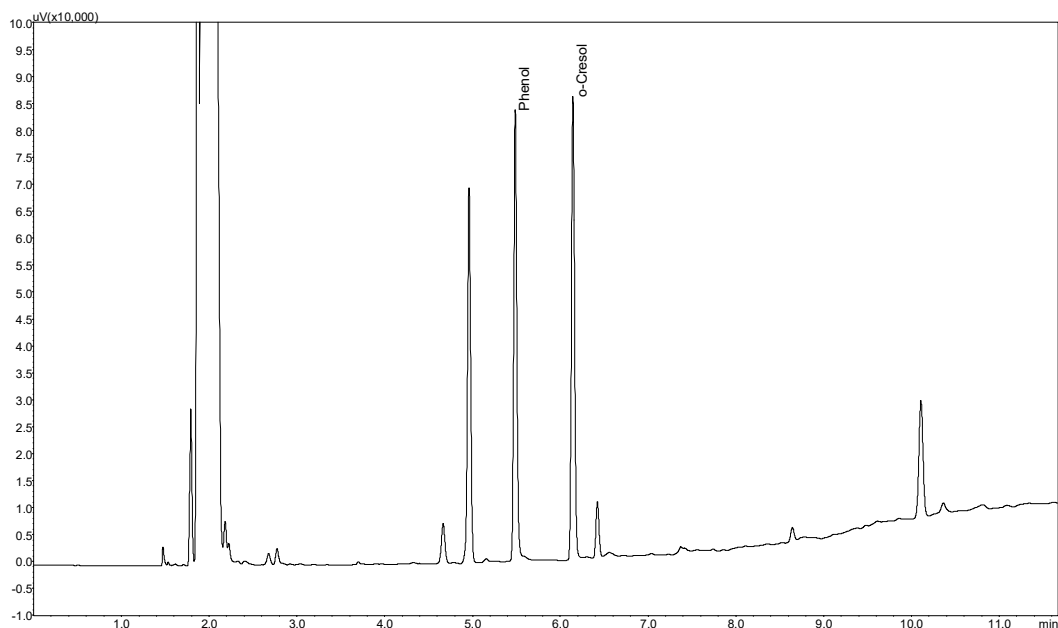
(3) 시료 전처리

- (가) 소변을 3분간 잘 섞어준 후 1 mL를 취하여 마개달린 시험관에 옮긴다.
 (나) 증류수 4 mL, 진한 염산 1 mL를 가하고 마개를 닫은 후 100 °C 수욕조에서 30분간 가수분해시킨다.
 (다) 시험관을 상온의 물로 식히고 이소프로필 에테르(isopropyl ether) 1 mL를 가한 후 손으로 잘 흔든 후 3,000 rpm에서 8분간 원심분리한다.
 (라) 에테르 층을 피펫으로 취하여 GC용 바이알에 옮겨 검액으로 한다.

(4) 가스크로마토그래프 분석 조건

- (가) 컬럼 : Rtx-624 60 m × 0.53 mm, 3.0 μm 필름두께의 컬럼,
 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼.
 (나) 온도조건 : 오븐 120 °C(1분) → 15 °C/분 → 250 °C(2분)
 주입구 250 °C
 검출기 250 °C
 (다) 컬럼 유속 : 1.2 mL/분
 (라) 분할주입비율 : 1/5
 (마) 검출기 : 불꽃이온화검출기

(5) 분석 결과 크로마토그램



[그림 1] 소변 중 페놀의 GC 크로마토그램

(6) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, 내부표준물질의 면적에 대한 페놀 피크 면적의 상대적 비를 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y = ax + b$ 의 회귀방정식을 통해 페놀의 농도(mg/L)를 구한다. 검량선에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 페놀의 농도를 계산한다.

(7) 생물학적 노출 평가 기준

(가) 기준값 : 250 mg/g 크레아티닌

(나) 소변 중 크레아티닌 농도

소변 중 생물학적 노출평가지표물질 보정에 사용하는 크레아티닌 농도는 0.3 ~ 3.4 g/L 범위이며, 크레아티닌 농도가 이 범위를 벗어난 소변은 비정상적으로 간주하여 다시 채취한다.

(8) 정밀도(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

10, 100 mg/L 농도 수준에서 변이계수 2.5, 3.5%

(9) 정확도(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

10 ~ 100 mg/L 농도 수준에서 회수율 91.4%

(10) 검출한계(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

(가) 검출한계

0.2 mg/L

(나) 산출방법

검량선에 의한 표준용액의 농도와 면적간의 회귀식을 구하고 이 회귀식의 표준 오차와 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

5.2 헤드스페이스 가스크로마토그래피 질량분석법

(1) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 용량플라스크 100 mL 3 개
- ② 용량플라스크 10 mL 6 개

KOSHA GUIDE
H - 146 - 2021

- ③ 자동피펫 10-100 μL
- ④ 자동피펫 200-1000 μL
- ⑤ 헤드스페이스 GC 바이알

(나) 시약

- ① 페놀($d_4^{20} = 0.792$)
- ② 플루오로벤젠($d_4^{25} = 1.020$)
- ③ 탈이온수(18 M Ω /cm 이상)

(2) 시약 조제

(가) 표준용액

- ① 페놀 100 mg을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 증류수로 표선을 채워 1000 mg/L의 표준용액을 만든다. 이것을 표준용액 원액으로 한다.
- ② 표준용액 원액을 각각 1, 5 mL 취하고 이를 100 mL 용량플라스크에서 희석하여 표준용액을 10, 50 mg/L로 제조한다. 이 중 10 mg/L의 표준용액을 각각 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 mL를 취하여, 10 mL 용량플라스크에 옮기고 증류수로 표선을 채워 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 mg/L의 검량선용 표준용액으로 한다. 증류수를 공시료로 한다.

(나) 내부표준용액

플루오로벤젠 100 mg(0.098 mL)을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 증류수로 표선을 채워 1000 mg/L 내부표준용액을 만든다.

(3) 시료 전처리

(가) 시료(소변)를 교반기로 3 분 정도 잘 섞어준다.

(나) 헤드스페이스 바이알에 증류수 1.8 mL에 표준용액 및 시료 0.2 mL를 넣고, 염화나트륨(NaCl) 1.2 g을 첨가한다.

(다) 1000 mg/L 플루오로벤젠(I.S.) 10 μL 를 첨가하고 밀봉한 후 3분간 잘 섞어준 후 분석한다.

(4) 헤드스페이스 가스크로마토그래프 분석 조건

(가) 컬럼 : Rtx-624 60 m × 0.25 mm, 1.4 μm 필름두께의 컬럼,
또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼.

(나) 온도조건 : 오븐 35 °C(3분) → 10 °C/분 → 230 °C(5분)
 주입구 230 °C
 이온원 220 °C

(다) 컬럼 유속 : 2 mL/분

(라) 분할주입비율 : 1/10

(마) 검출 방식(Acquisition mode) : SIM(m/e 94)

(바) 헤드스페이스 조건

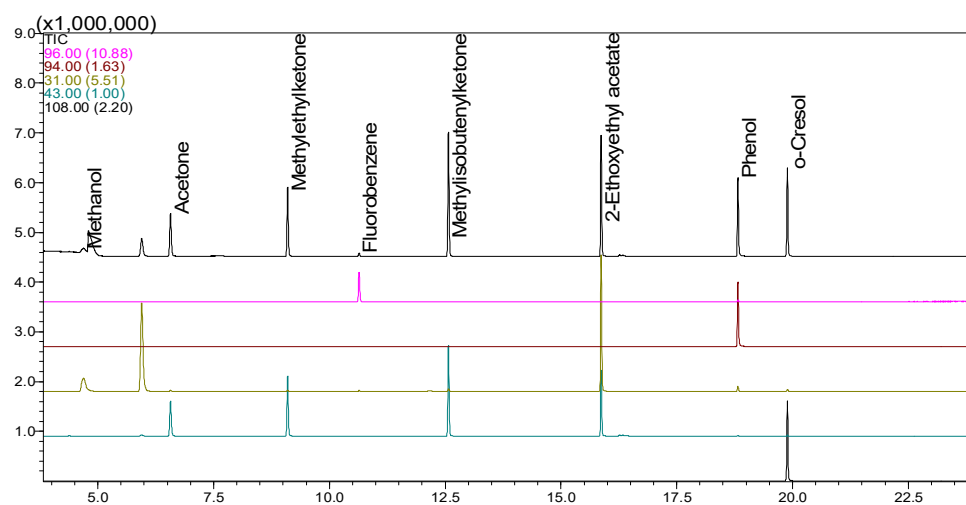
① 온도

- 시료 : 60 °C
- 주입관 : 150 °C
- Valve : 150 °C

② 가열시간 : 30분

③ 시료주입량 : 1 mL

(5) 분석 결과 크로마토그램



[그림 1] 소변 중 페놀의 HSS-GC/MS 크로마토그램

(6) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, 내부표준물질의 면적에 대한 페놀 피크 면적의 상대적 비를 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y = ax + b$ 의 회귀방정식을 통해 페놀의 농도(mg/L)를 구한다. 검량선에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 페놀의 농도를 계산한다.

(7) 생물학적 노출 평가 기준

(가) 기준값 : 250 mg/g 크레아티닌

(나) 소변 중 크레아티닌 농도

소변 중 생물학적 노출평가지표물질 보정에 사용하는 크레아티닌 농도는 0.3 ~ 3.4 g/L 범위이며, 크레아티닌 농도가 이 범위를 벗어난 소변은 비정상적으로 간주하여 다시 채취한다.

(8) 정밀도(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

1, 10 mg/L 농도 수준에서 변이계수 7.1, 6.7%

(9) 정확도(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

1 ~ 10 mg/L 농도 수준에서 회수율 86.6%

(10) 검출한계(보건분야-연구자료 연구원 2010-64-880 자료 예시)

(가) 검출한계

0.06 mg/L(S/N 비 3)

(나) 산출방법

검량선에 의한 표준용액의 농도와 면적간의 회귀식을 구하고 이 회귀식의 표준

KOSHA GUIDE
H - 146 - 2021

오차와 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