

KOSHA GUIDE

H - 139 - 2021

노말렉산의 생물학적노출지표물질 분석에 관한  
기술지침

2021. 10.

한 국 산 업 안 전 보 건 공 단

## 안전보건기술지침의 개요

- 제정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영
- 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영

### ○ 제·개정 경과

- 2009년 6월 KOSHA Code 산업의학분야 제정위원회 심의
- 2009년 8월 KOSHA Code 총괄제정위원회 심의
- 2013년 6월 KOSHA Guide 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 II: 디메틸포름아미드 등 유기용제 13종. 보건분야-연구자료 연구원 2010-65-881. 2010
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists(ACGIH): Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Ed

### ○ 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)

### ○ 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

## n-헥산의 생물학적 노출지표물질 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 n-헥산에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 노출지표물질의 분석방법을 제시함을 목적으로 한다.

### 2. 적용범위

이 지침은 법, 시행규칙 및 고용노동부고시에 따라 실시하는 근로자 건강진단 중 n-헥산에 노출되는 근로자의 생물학적 노출 평가에 적용한다. 다만, n-헥산의 생물학적 노출평가 지표물질인 2,5-헥산디온은 메틸부틸케톤의 지표물질로도 규정되어 있어, n-헥산에 단독으로 노출된 경우에 한하여 지표물질 분석결과를 반영한다.

### 3. 용어의 정의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

- (가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료로부터 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물, 또는 생화학적 변화산물 등을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도 또는 건강영향 가능성 등을 평가하는 것을 말한다.
- (나) “생물학적 노출지표물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 생체 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.
- (다) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나

는 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 접근하였는가 하는 수치상의 표현이다. 다만, 인증표준물질이 있는 경우는 상대오차로 표시되고, 인증표준물질이 없는 경우는 시료에 첨가한 값으로부터 구한 평균회수율로 표시한다.
- (마) “검출한계(Limit of detection: LOD)”란 공시료 신호값(Blank signal 또는 background signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(Signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 말한다. 이 경우 가장 널리 쓰이는 대로 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)를 사용한다.

#### 5. 분석방법

##### (1) 분석 원리

n-헥산은 체내에 흡수된 후 15% 이하가 2,5-헥산디온(2,5-hexanedione)으로 대사되어 소변으로 배출되며, 소변 중 2,5-헥산디온을 추출하여 GC-FID로 분석한다.

##### (2) 시료의 채취

##### (가) 시료채취 시기

시료는 당일 작업종료 2 시간 전부터 작업종료 직후 사이에 채취한다.

(나) 시료채취 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 °C (2 - 8 °C)에서 냉장 보관한다. 단, 분석까지 보관 시간이 5일 이상 걸리는 경우에는 -20 °C 이하에서 냉동 보관한다.

(3) 기구 및 시약

(가) 용량플라스크 100 mL 2개, 10 mL 4개

(나) 자동피펫 10~100, 200~1000  $\mu$ L

(다) 파스퇴르피펫

(라) 마개달린 시험관 5 mL

(마) 2,5-헥산디온( $d_4^{20} = 0.970$ )

(바) 사이클로헥사논( $d_4^{20} = 0.948$ )

(사) 진한 염산

(아) 클로로포름

(자) 탈이온수(18 M $\Omega$ /cm 이상)

(4) 시약 조제

(가) 표준용액

- ① 2,5-헥산디온 103  $\mu$ L를 100 mL 용량플라스크에 옮기고 정확히 무게를 측정 한 후 3차 증류수로 표선을 채워 1000 mg/L 표준용액을 만든다. 1000 mg/L 표준용액을 1 mL 취하여 100 mL 용량플라스크에 옮기고 3차 증류수로 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 희석하여 1, 4, 7, 10 mg/L의 검량선용 표준용액으로 한다. 이 4가지 농도의 표준용액을 검량선용 표준용액으로 한다. 3차 증류수를 공시료(blank)로 한다.

(나) 내부표준용액

- ① 내부표준물질인 사이클로헥사논 6  $\mu\text{L}$ 를 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.

#### (5) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 시료 및 표준용액을 각각 1 mL씩 취하여 마개가 달린 시험관에 옮긴다.

(나) 진한 염산 0.1 mL를 가하고 100  $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 가열하여 가수분해한 후 식힌다.

(다) 사이클로헥사논(내부표준물질)이 첨가된 클로로포름 1 mL를 가하여 30초 이상 모든 시료를 동일한 시간 동안 흔들어 추출하고, 1500 rpm 이상에서 4분 이상 원심분리하여 유기용제와 수층을 분리한다.

(라) 위층의 수층과 경계면의 찌꺼기를 파스퇴르피펫으로 제거한 후, 새 파스퇴르 피펫으로 남은 클로로포름층을 취하여 GC용 바이알에 옮겨 분석용 검액으로 한다.

#### (6) 가스크로마토그래프 분석 조건

(가) 컬럼 OV-1 25 m x 0.32 mm ID x 0.52  $\mu\text{m}$  film thickness

(나) 온도

- 주입부 250 $^{\circ}\text{C}$
- 검출기 250 $^{\circ}\text{C}$
- 컬럼 오븐 40 $^{\circ}\text{C}$ (1분) - (20 $^{\circ}\text{C}$ /분) - 120 $^{\circ}\text{C}$  - (40 $^{\circ}\text{C}$ /분) - 220 $^{\circ}\text{C}$ (2분)

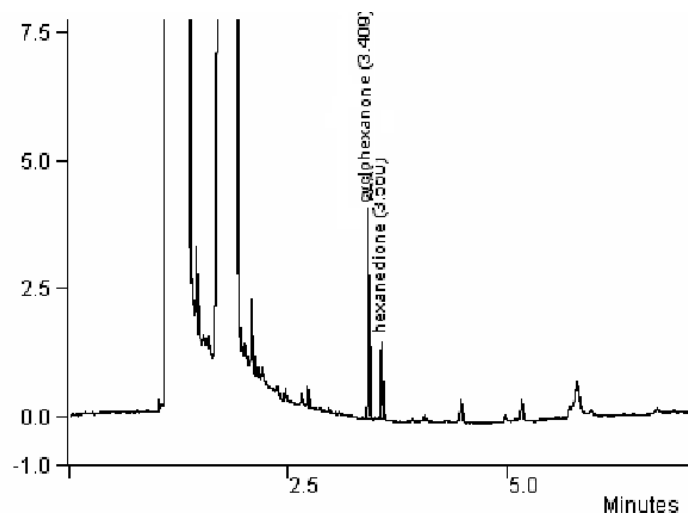
(다) 컬럼 유속 : 1.0 mL/min

(라) 분할주입비(Split ratio) : 시료 주입 시 미분할(Splitless) 모드 혹은 3:1  
-> 시료 주입 후 30초부터 50:1

(마) 주입량 : 3  $\mu\text{L}$

(바) 검출기 : 불꽃이온화 검출기(FID)

(7) 분석 결과 크로마토그램



[그림 1] 소변 중 마노산의 HPLC-UVD 크로마토그램  
(2,5-헥산디온 2 mg/L 주입)

(8) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고, 내부표준물질의 면적에 대한 2,5-헥산디온 피크 면적의 상대적 비를 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고,  $y = ax + b$ 의 회귀방정식을 통해 2,5-헥산디온의 농도(mg/L)를 구한다. 검량선에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 2,5-헥산디온의 농도를 계산한다.

(9) 생물학적 노출 평가 기준

(가) 기준값 : 5 mg/L

(10) 정밀도

1.1 - 9.8 mg/L 범위에서 변이계수 1 - 5%

(11) 정확도

KOSHA GUIDE
H - 139 - 2021

1 - 10 mg/L 농도 범위에서 회수율 98 - 110%

(12) 검출 한계

(가) 검출한계

0.44 mg/L(S/N 비 3)

(나) 산출방법

$LOD = 3 \times SD/b$

(LOD : 검출한계, SD : 표준편차,  $b$  : 검량선의 회귀방정식 기울기)

표준용액 농도 범위 중 중간값을 대상으로 실시하며, 선정된 농도를 5 회 이상 반복 측정하여 구한다.