

KOSHA GUIDE

H - 8 - 2023

# 톨루엔의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침

2023. 8.

한국산업안전보건공단

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

## 안전보건기술지침의 개요

- 작성자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 양정선
- 개정자 : (1차) 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영  
(2차) 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영  
(3차) 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영  
(4차) 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 박종수  
(5차) 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영  
(6차) 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영  
(7차) 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영
- 제 · 개정 경과
  - 1998년 10월 KOSHA Code 산업의학분야 제정위원회 심의(제정)
  - 2007년 8월 KOSHA Code 산업의학분야 제정위원회 심의(1차 개정)
  - 2010년 10월 KOSHA GUIDE 산업의학분야 제정위원회 심의(2차 개정)
  - 2011년 6월 KOSHA GUIDE 산업의학분야 제정위원회 심의(3차 개정)
  - 2017년 6월 KOSHA GUIDE 산업의학분야 제정위원회 심의(4차 개정)
  - 2019년 11월 KOSHA GUIDE 산업의학분야 제정위원회 심의(5차 개정)
  - 2021년 8월 KOSHA GUIDE 산업의학분야 제정위원회 심의(6차 개정)
  - 2023년 7월 산업의학분야 산업안전·보건표준제정위원회 심의(7차 개정)
- 관련규격 및 자료
  - WHO/HPR/OCH, Biological monitoring of chemical exposure in the workplace Guidelines Vol 1. 1996
  - American Conference of Governmental Industrial Hygienists(ACGIH): Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Ed
  - 조수현, 임용현, 김선민, 권호장, 하미나, 한상환. 가스크로마토그래피를 이용한 요충 마노산 측정시 새로운 시료 전처리 방법의 검증. 대한산업의학회지 1995;7(1):58-62
  - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 I: 크실렌 등 유기용제 16종. 연구원 2010-64-880. 2010
  - 생물학적 노출평가 표준시료 개발(3)-톨루엔의 생물학적 노출평가를 위한 소변 중 o-크레졸. 2018-연구원-832. 2018.
- 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 특수 건강진단 개요. 2022-산업안전보건연구원-777
- 안전보건기술지침의 적용 및 문의
  - 이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지([www.kosha.or.kr](http://www.kosha.or.kr))의 안전보건기술지침 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
  - 동 지침 내에서 인용된 관련규격 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2023년 8월 24일

제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

## 목 차

1. 목적	1
2. 적용범위	1
3. 용어의 정의	1
4. 분석개요	2
5. 분석방법	2
5.1 소변 중 오르소-크레졸	2
5.2 혈액 중 톨루엔	11

# 톨루엔의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침

## 1. 목 적

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조(특수건강진단) 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조 별표 24(특수건강진단·배치전 건강진단·수시건강진단의 검사항목(제206조 관련)), 산업안전보건법 제135조(특수건강진단기관) 4항, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 톨루엔에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 생물학적 노출지표물질 분석 방법의 제시를 목적으로 한다.

## 2. 적용범위

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

## 3. 용어의 정의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

(가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료 중 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물이나 생화학적 변화산물 분석값을 이용한, 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도나 건강영향 가능성 등의 평가를 의미한다.

(나) “생물학적 노출지표물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 생체 흡수 정도를 반영하는 물질로 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.

(다) “생물학적 노출기준값”이란 일주일에 40시간 작업하는 근로자가 고용노동부고시에서 제시하는 작업환경 노출기준 정도의 수준에 노출될 때 혈액 및 소변 중에서 검출되는 생물학적 노출지표물질의 값이다.

(라) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나는 자료분석치의 변동의 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, background signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(Signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 의미한다. 이 경우 가장 널리 사용하는 공시료 신호값과의 차이가 공시료 신호값 표준편차의 3배인 경우로 한다.

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

## 4. 분석개요

소변 중 오르소-크레졸(o-크레졸), 전혈 중 톨루엔을 분석하며, 분석장비는 고성능 액체크로마토그래프-자외선검출기(High performance liquid chromatograph-ultraviolet detector, HPLC-UVD), 기체크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID), 헤드스페이스 기체크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Headspace gas chromatograph-flame ionization detector, HS GC-FID)를 사용한다.

## 5. 분석방법

### 5.1 소변 중 오르소-크레졸

#### 5.1.1 분석원리 및 시료채취

##### (1) 분석원리

톨루엔은 체내로 흡수된 후 80 %가 마뇨산으로 대사되며, 1 % 미만의 적은 양이 오르소-크레졸로 대사되어 황산과 글루쿠론산 결합체로 소변으로 배출된다. 소변 중 결합체의 형태로 존재하는 오르소-크레졸을 염산 산성 조건에서 가수분해시켜 유리형으로 만든 후, 유기용제로 추출하고 기체크로마토그래프-불꽃이온화검출기로 분석한다.

## (2) 시료채취

### (가) 시료채취 시기

소변 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 사이에 채취한다.

### (나) 시료채취 요령

- ① 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- ② 채취한 시료 용기를 밀봉하고 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리면 시료를 냉동보관용 저온바이알에 옮겨 영하 20 °C 이하에서 보관한다.

## 5.1.2 가스크로마토그래피 불꽃이온화검출법

### (1) 기구 및 시약

#### (가) 기구

- ① 자동피펫 100-1000 µL
- ② 용량플라스크 10 mL 6 개
- ③ 파스퇴르피펫
- ④ 마개달린 시험관 5 mL

#### (나) 시약

- ① 오르소-크레졸(o-크레졸)
- ② 이소프로필 에테르
- ③ 염산
- ④ 탈이온수(18 MΩ/cm 이상)

### (2) 시약 조제

#### (가) 표준용액 조제를 위한 희석용 소변

톨루엔에 노출되지 않은 정상인 소변을 채취하여 냉동 보관한다. 냉동한 소변을 상온에서 녹이고, 여과지를 사용하여 여과한 후 여액을 표준용액 조제를 위한 회석용 소변으로 사용한다. 단, 사용 이전에 미리 소변을 분석하여 소변 중 o-크레졸이 없는 것을 확인한 소변을 표준용액 조제에 사용한다.

#### (나) 표준용액

- ① o-크레졸 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 증류수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다. 이를 표준용액 원액으로 한다.
- ② 표준용액 원액을 500  $\mu$ L 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 50 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 0.02, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3 mL씩 취하여 10 mL 용량플라스크에서 탈이온수로 회석하여 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L 의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 공시료로 한다.

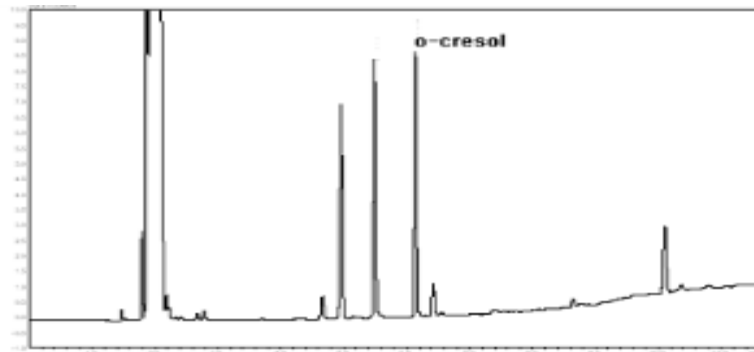
#### (3) 시료 및 표준용액 전처리

- (가) 소변 또는 표준용액을 3분간 잘 섞어준 후 2 mL를 취하여 마개달린 시험관에 옮긴다.
- (나) 진한 염산 1 mL를 가하고 100  $^{\circ}$ C에서 30분간 가수분해시킨다.
- (다) 시험관을 식히고 이소프로필에테르 또는 클로로포름 1 mL를 가한 후, 손으로 잘 흔들고 3000 rpm에서 8분간 원심분리시킨다.
- (라) 유기층을 파스퇴르피펫으로 취하여 가스크로마토그래프용 검액으로 한다.

#### (4) 기체크로마토그래프 분석 조건

- (가) 컬럼 : DB-624 (60 m x 0.25 mm ID, 1.4  $\mu$ m 막) 또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼
- (나) 온도조건 : 오븐 120  $^{\circ}$ C(1분)  $\rightarrow$  15  $^{\circ}$ C/분  $\rightarrow$  250  $^{\circ}$ C(2분)  
주입구 250  $^{\circ}$ C  
검출기 250  $^{\circ}$ C
- (다) 컬럼 유속 : 1.2 mL/분
- (라) 분할주입비율 : 1/5
- (마) 주입량 : 1  $\mu$ L
- (바) 검출기 : 불꽃이온화검출기

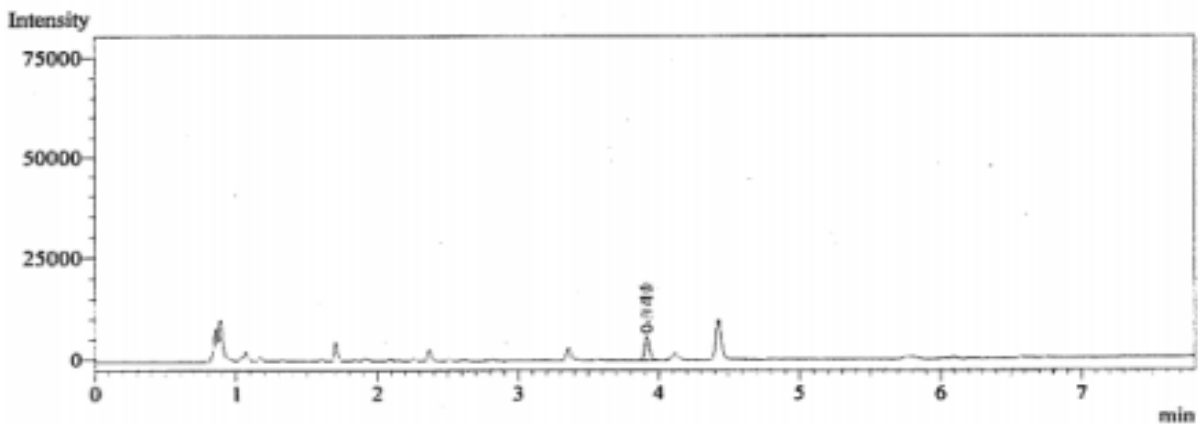
## (5) 분석 결과 크로마토그램 예시



&lt;그림 1&gt; o-크레졸의 GC-FID 크로마토그램

## (6) 농도 계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x) 축으로 하고 시료의 피크 면적을 내부 표준물질의 피크 면적으로 보정한 값을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고,  $y = ax + b$ 의 회귀방정식에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 o-크레졸의 농도(mg/L)를 구한다. o-크레졸의 농도값을 크레아티닌으로 보정하여(mg/g 크레아티닌) 톨루엔의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.



&lt;그림 2&gt; 소변 중 o-크레졸의 HS GC-FID 크로마토그램

(가) 컬럼: ZB-1701(30 m x 0.25 mm ID, 2.5  $\mu$ m 막두께)

(나) 컬럼온도: 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

(다) 헤드스페이스: 시료 오븐 115  $^{\circ}$ C(60분 가열, 진탕), 주입관 170  $^{\circ}$ C, 연결관 180  $^{\circ}$ C, 압력평형 0.5분, 가압 0.5분, 가압 평형 0.1분, 주입 1분, 니들 세척 10분



## (7) 생물학적 노출기준

(가) 기준값 : 0.8 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 다시 채취한다.

## (8) 정밀도

예)

	농도(mg/L)	변이계수(%)*
o-크레졸	0.5	3.5
	5.0	2.0

\* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.

## (9) 정확도

예)

	농도(mg/L)	회수율(%)*
o-크레졸	0.5	105.7
	5.0	107.0

\* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.

## (10) 검출한계

(가) 검출한계

예) 소변 중 오르소-크레졸 0.1 mg/L(S/N 비 3)

(나) 산출방법

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

### 5.1.3 헤드스페이스 가스크로마토그래피 질량분석검출법

#### (1) 기구 및 시약

##### (가) 기구

- ① 자동피펫 10-200  $\mu$ L, 100-1000  $\mu$ L
- ② 용량플라스크 10 mL 6 개
- ③ 헤드스페이스바이알 20 mL

##### (나) 시약

- ① 오르소-크레졸(o-크레졸)
- ② 황산수소나트륨
- ③ 황산나트륨
- ④ 탈이온수(18 M $\Omega$ /cm 이상)

#### (2) 시약 조제

##### (가) 표준용액 조제를 위한 희석용 소변

톨루엔에 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 소변 중 o-크레졸이 없는 것을 확인한 소변을 표준용액 조제에 사용한다.

##### (나) 표준용액

- ① o-크레졸 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 증류수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다. 이를 표준용액 원액으로 한다.

- ② 표준용액 원액을 500  $\mu$ L 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 50 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 0.02, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3 mL씩 취하여 10 mL 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L 의 용액을 만들어 검량선용 표준용액으로 한다. 탈이온수를 공시료로 한다.

(다) 황산나트륨 포화용액

황산나트륨 30 g 이상을 탈이온수 100 mL에 녹여 황산나트륨 포화용액을 만든다.

(3) 시료 및 표준용액 전처리

- (가) 표준용액 또는 시료를 3분간 잘 섞어준 후 0.3 mL를 취하여 헤드스페이스바이알에 옮기고, 황산수소나트륨 0.3 g, 황산나트륨 포화용액 0.1 mL, 메탄올 0.1 mL를 가한 후 헤드스페이스바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다. 삼염화초산을 o-크레졸과 같이 분석하지 않으면 메탄올은 추가하지 않는다(<그림 2>의 시료 전처리 방법).

- (나) 표준용액 또는 시료를 3분간 잘 섞어준 후 0.2 mL를 취하여 헤드스페이스바이알에 옮기고, 내부표준시약(o-크레졸 D<sub>8</sub> 1 mg/L) 0.2 mL, 황산수소나트륨 0.5 g, 메탄올 0.01 mL를 가한 후 헤드스페이스바이알 마개를 닫아 분석용 시료를 만든다. 삼염화초산을 o-크레졸과 같이 분석하지 않으면 메탄올은 추가하지 않는다(<그림 3, 4>의 시료 전처리 방법).

(4) 기체크로마토그래프 분석 조건

- (가) 컬럼 : DB-1701 (30 m x 0.25 mm ID, 2.5  $\mu$ m 막두께)

또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼

- (나) 온도 : 컬럼 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

주입구 220  $^{\circ}$ C

검출기 230  $^{\circ}$ C

- (다) 컬럼 유속 : 1.0 mL/분

- (라) 분할주입비율 : 1/10

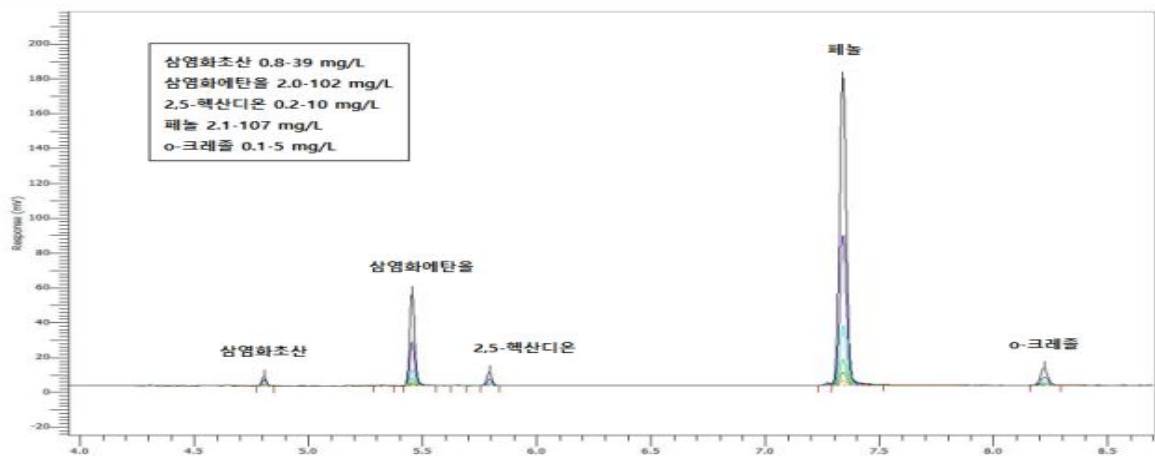
- (마) 검출기 : 질량분석검출기

검출이온 108(이온선택분석)

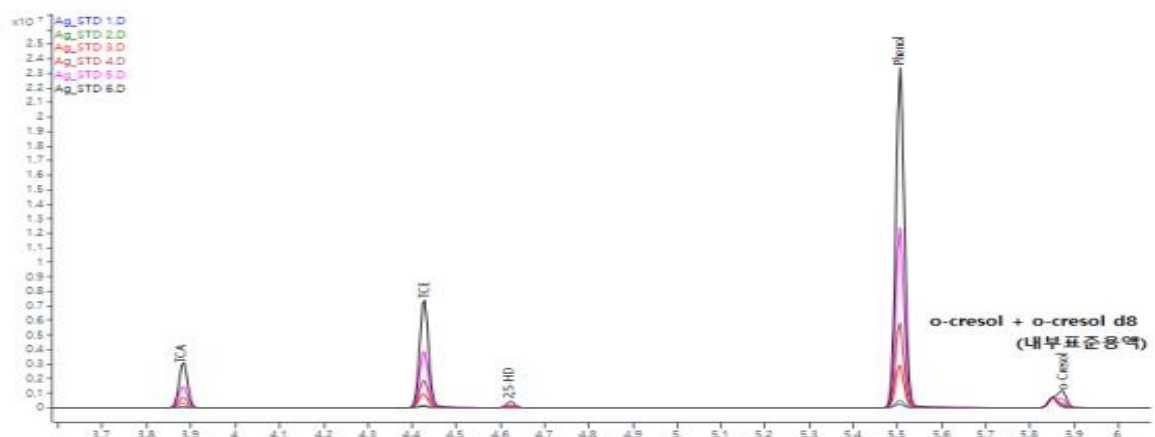
(바) 헤드스페이스 조건

- ① 온도: 시료오븐 115 °C  
주 입 관 170 °C  
연 결 관 180 °C
- ② 시간: 가열 60분(진탕)  
가압 60초  
주입 6초
- ③ 압력: 40 psi

(5) 분석 결과 크로마토그램 예시

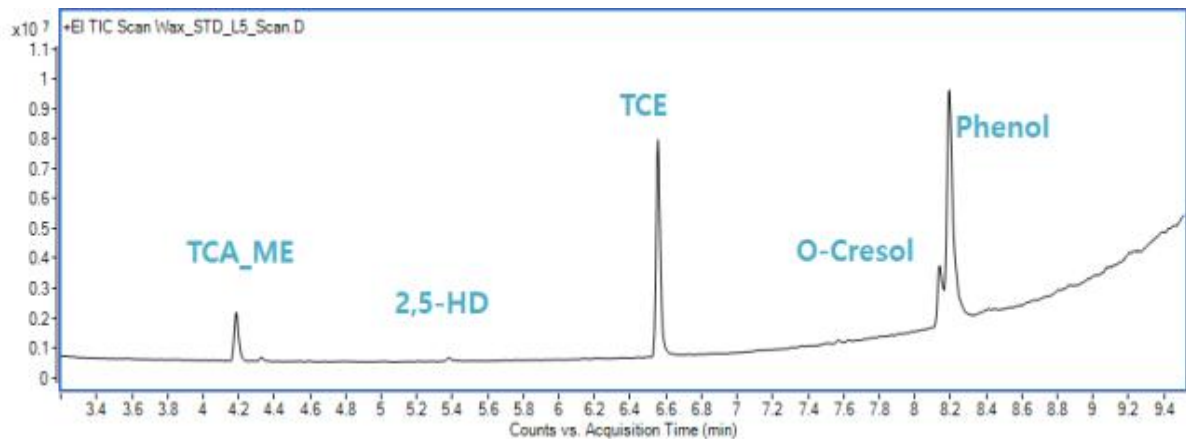


<그림 3> 소변 중 o-크레졸의 HS GC-MS 크로마토그램 1



<그림 4> 소변 중 o-크레졸의 HS GC-MS 크로마토그램 2-1

- (가) 컬럼: 1701 (30 m x 0.25 mm ID, 2.5 µm 막두께)
- (나) 컬럼온도: 60 °C(1분)→20 °C/분→180 °C(1분), 260 °C(3분), 총 10분
- (다) 헤드스페이스: 시료 오븐 100 °C(60분 가열)



<그림 5> 소변 중 o-크레졸의 HS GC-MS 크로마토그램 2-2

컬럼: Innnowax (30 m x 0.25 mm ID, 2.5  $\mu$ m 막두께)

#### (6) 농도계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고 시료의 피크 면적을 내부 표준물질의 피크 면적으로 보정한 값을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고,  $y = ax + b$ 의 회귀방정식에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 o-크레졸의 농도(mg/L)를 구한다.

#### (7) 생물학적 노출기준

(가) 기준값 : 0.8 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 다시 채취한다.

#### (8) 정밀도

예)

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

\* 같은 농도의 시료를 10개 분석한 결과로부터 구함.

## (9) 정확도

예)

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

\* 같은 농도의 시료를 10개 분석한 결과로부터 구함.

## (10) 검출한계

## (가) 검출한계

예) 소변 중 오르소-크레졸 0.01 mg/L(S/N 비 3)

## (나) 산출방법

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

## 5.2 혈액 중 톨루엔

## 5.2.1 분석원리 및 시료채취

## (1) 분석원리

톨루엔은 체내로 흡수된 후 빠르게 지방 조직으로 이동하여, 혈액에 남아있는 톨루엔은 노출 후 15분마다 반씩 감소한다. 혈액 중의 톨루엔은 톨루엔 노출을 반영하는 민감한 지표로, 톨루엔 노출 1시간 내에 검출되며, 이를 헤드스페이스 가스크로마토그래피법을 이용해 분석한다. 밀폐된 바이알에 시료를 넣고 적당한 온도를 유지하여 액체상과 기체상(헤드스페이스)에 존재

하는 톨루엔이 상평형(Phase equilibrium)을 이루게 한 후, 헤드스페이스 기체 일정량 (1 mL)을 기체크로마토그래프에 주입하여 분석한다.

## (2) 시료채취

### (가) 시료채취 시기

혈액 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 사이에 채취한다.

### (나) 시료채취 요령

- ① 근로자의 정맥혈을 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 또는 헤파린 처리된 튜브와 일회용 주사기 또는 진공채혈관을 이용하여 채취한다. 채취 용기는 유리 용기를 사용하고, 시료는 용기의 90 % 이상 채취한다.
- ② 채취한 시료는 바로 4 °C(2~8 °C)에서 보관하고, 채취 후 5일 이내에 분석한다.

## 5.2.2 헤드스페이스 가스크로마토그래피 불꽃이온화검출법

### (1) 기구 및 시약

#### (가) 기구

- ① 자동피펫 10-100 µL, 100-1000 µL
- ② 용량플라스크 100 mL 1 개, 50 mL 1 개, 10 mL 6 개
- ③ 헤드스페이스 GC 바이알

#### (나) 시약

- ① 톨루엔
- ② 이소부탄올
- ③ 구연산나트륨
- ④ 텍스트로즈
- ⑤ 구연산
- ⑥ 탈이온수(18 MΩ/cm 이상)

### (2) 시약 조제

#### (가) 표준용액

- ① 톨루엔 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 증류수로 표선을 채워 1,000 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다. 표준 용액 조제에 사용하는 탈이온수는 미리 분석하여 톨루엔이 없는 것을 확인한다.

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

(나) 내부표준용액

- ① 이소부탄올 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 증류수로 표선을 채워 1,000 mg/L 용액을 만든다. 이 용액을 100  $\mu\text{L}$  취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 10 mg/L 내부표준용액을 조제한다.
- ② 10 mg/L 내부표준용액을 500  $\mu\text{L}$  취하여 50 mL 용량플라스크에서 탈이온수로 희석하여 100 mg/L의 내부 표준용액을 조제한다.

(다) 구연산 텍스트로즈 용액

구연산 0.48 g, 구연산나트륨 1.32 g, 텍스트로즈 1.47 g을 100 mL 용량플라스크에 옮기고 탈이온수로 표선을 채워 구연산 텍스트로즈 용액을 만든다.

(3) 시료 및 표준용액 전처리

- (가) 시료 또는 표준용액을 3분간 혈액혼합기에서 잘 섞어준 후 1 mL를 취하여 헤드스페이스 GC 바이알에 옮긴다.
- (나) 내부표준용액 0.5 mL, 구연산 텍스트로즈 용액 0.5 mL를 가하고 마개를 닫아 5분간 잘 섞어준 후 헤드스페이스 GC 분석 시료로 한다.

(4) 헤드스페이스 기체크로마토그래프 분석 조건

- (가) 컬럼 : DB-624 (60 m x 0.25 mm ID, 1.4  $\mu\text{m}$  막)  
또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼
- (나) 온도조건 : 오븐 40  $^{\circ}\text{C}$ (1분)  $\rightarrow$  15  $^{\circ}\text{C}/\text{분} \rightarrow$  240  $^{\circ}\text{C}$ (1분)  
주입구 250  $^{\circ}\text{C}$   
검출기 250  $^{\circ}\text{C}$
- (다) 컬럼 유속 : 1.2 mL/분
- (라) 분할주입비율 : 비분할, 0.5 분 후 분할주입비 1/20
- (마) 주입량 : 1  $\mu\text{L}$
- (바) 검출기 : 불꽃이온화검출기
- (사) 헤드스페이스 조건



① 온도 : 시료 오븐 70 °C

주입관 150 °C

② 시간 : 가열 10분

가압 10초

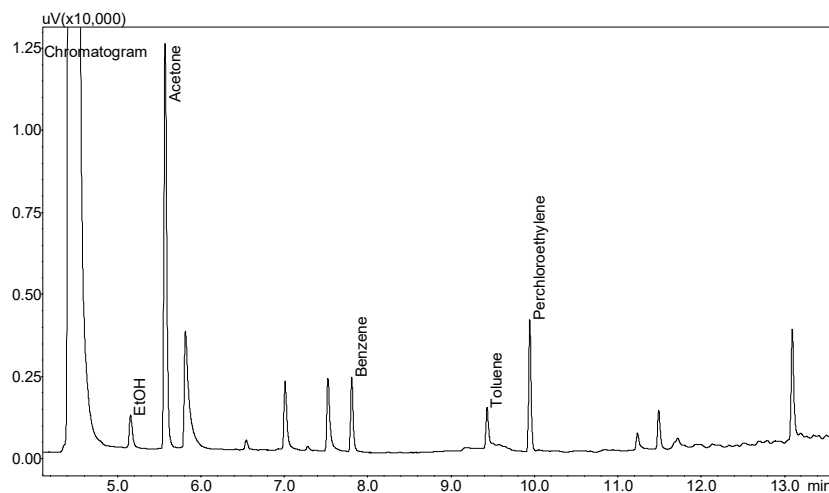
주입 30초

(아) 일반 오븐을 사용하는 경우

① 헤드스페이스 자동 주입장치가 없는 경우, 시료를 일반 오븐을 사용하여 가온하고 기체크로마토그래프에 주입한다. 이때, 먼저 주입되는 시료와 나중에 주입되는 시료간의 가온 시간의 차이가 있으면 안 되므로 주의를 요한다.

② 주입 시 사용하는 주사기는 가스가 새지 않는 주사기(Gas tight syringe)를 사용하며, 주입 전 시료와 함께 오븐에서 가온한 후 사용한다.

(5) 분석 결과 크로마토그램 예시



<그림 6> 혈액 중 톨루엔의 HS GC-FID 크로마토그램

(6) 농도계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고 시료의 피크 면적을 내부 표준물질의 피크 면적으로 보정한 값을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고,  $y = ax + b$ 의 회귀방정식에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 톨루엔의 농도(mg/L)를 구한다.

## (7) 생물학적 노출기준

- 기준값 : 0.05 mg/L

## (8) 정밀도

예)

	농도(mg/L)	변이계수(%)*
톨루엔	0.5	6.5
	5.0	2.8

\* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.

## (9) 정확도

예)

	농도(mg/L)	회수율(%)*
톨루엔	0.5	103.0
	5.0	100.4

\* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.

## (10) 검출한계

## (가) 검출한계

예) 혈액 중 톨루엔 0.03 mg/L(S/N 비 3)

## (나) 산출방법

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

## 지침 개정 이력

### □ 개정일 : 2019.11.30.

- 개정자 : 산업안전보건연구원 이미영
- 개정사유 : 톨루엔의 생물학적 노출지표 노출기준 변경  
(근로자건강진단 실무지침 개정 내용)
- 주요 개정내용
  - 소변 중 o-크레졸 노출기준을 0.8 mg/L로 변경
  - 혈액 중 톨루엔 노출기준을 1 mg/L로 변경
  - 표준용액 조제를 위한 시약의 부피 단위 삭제
  - 분석 조건 일부 변경

### □ 개정일 : 2021. 10.

- 개정자 : 산업안전보건연구원 이미영
- 개정사유 : 톨루엔의 생물학적 노출지표 변경  
(근로자건강진단 실무지침 개정 내용)  
산업안전보건법 개정으로 관련 규정 변경 내용 반영
- 주요 개정내용
  - 소변 중 마뇨산 삭제
  - 소변 중 o-크레졸 분석방법 추가  
: 헤드스페이스 가스크로마토그래피/질량분석 검출법
  - 관련법규, 규칙 개정 사항 반영

### □ 개정일 : 2023. 8. 24.

- 개정자 : 산업안전보건연구원 이미영
- 개정사유 : 톨루엔의 생물학적 노출지표 변경  
(근로자건강진단 실무지침 개정 내용)  
산업안전보건법 개정으로 관련 규정 변경 내용 반영
- 주요 개정내용
  - 5.1.3 헤드스페이스 가스크로마토그래피 질량분석검출법(소변 중 o-크레졸 분석 방법) 추가  
: 분석장비 제조사마다 최적 분석 조건이 달라, 각 장비의 분석 조건과 크로마토그램 예시를 추가하고 수정함.
  - 본문과 제목의 물질, 분석방법 표기 추가  
예) o-크레졸, 헤드스페이스 전처리 방법 등