

KOSHA GUIDE

H - 18 - 2021

펜타클로로페놀의 생물학적 노출지표물질  
분석에 관한 기술지침

2021. 10.

한국산업안전보건공단

## 안전보건기술지침의 개요

- 작성자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 유계묵
- 1차 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영
- 제·개정 경과
  - 2011년 6월 KOSHA Guide 산업의학분야 제정위원회 심의(제정)
  - 2017년 6월 KOSHA Guide 산업의학분야 제정위원회 심의(1차 개정)
  - 2021년 8월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(법령 및 규격 최신화)
- 관련규격 및 자료
  - American Conference of Governmental Industrial Hygienists(ACGIH): Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Ed
  - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원, 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 II: 디메틸포름아미드 등 유기용제 13종, 보건분야-연구자료 연구원 2010-65-881, 2010
  - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원, 근로자 건강진단 실무지침: 제1권 특수건강진단의 개요, 2020-산업안전보건연구원-349, 2020
- 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, 2020-산업안전보건연구원-349, 2020
- 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

제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

## 펜타클로로페놀의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침

### 1. 목적

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조(특수건강진단) 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조(특수건강진단 등의 검사항목 및 실시 방법 등) 별표 24, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 펜타클로로페놀에 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 펜타클로로페놀에 노출되는 근로자의 생물학적 노출평가에 적용한다.

### 3. 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 흡수정도를 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 변이 계수(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, 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) 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. 분석개요

소변 중 펜타클로로페놀을 분석하며, 분석장비는 고성능액체크로마토그래프-자외선검출기(High performance liquid chromatograph-ultraviolet detector, HPLC-UVD)를 사용한다.

#### 5. 분석방법

##### 5.1 소변 중 펜타클로로페놀

###### 5.1.1 분석원리 및 시료채취

###### (1) 분석원리

펜타클로로페놀은 체내로 흡수된 후 70-78%가 대사되지 않은 채로 소변으로 배설된다. 소변 시료중의 펜타클로로페놀을 C<sub>18</sub> 고상 카트리지로 분리하고 농축하여

HPLC-UVD로 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 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 °C이하에서 보관한다.

### 5.1.2 고성능액체크로마토그래피 자외선검출법

(1) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 자동피펫 10 - 100  $\mu$ L, 100 - 1000  $\mu$ L
- ② 10 mL 용량 플라스크 6 개
- ③ 고상 추출 카트리지(C<sub>18</sub>)
- ④ HPLC용 바이알
- ⑤ 혈액혼합기

(나) 시약

- ① 펜타클로로페놀
- ② 2,3,5,6-테트라클로로페놀
- ③ 초산
- ④ 메탄올(HPLC용)
- ⑤ 탈이온수(18 M $\Omega$ /cm 이상)

## (2) 시약 조제

## (가) 표준용액 조제를 위한 희석용 소변

펜타클로로페놀에 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 펜타클로로페놀이 없는 것을 확인한 소변을 표준용액 조제에 사용한다.

## (나) 표준용액

- ① 펜타클로로페놀 표준시약 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 메탄올로 표선까지 채워 1,000 mg/L 농도의 표준용액 원액을 조제한다. 표준용액 원액 1 mL를 취해 10 mL 용량플라스크에 옮기고 희석용 소변으로 표선을 채워 100 mg/L 표준용액을 조제한다.
- ② 100 mg/L 표준용액을 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 mL 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 메탄올을 플라스크의 표선까지 채워 1, 3, 5, 7 mg/L의 검량선용 표준용액을 조제한다.

## (다) 내부표준용액

2,3,5,6-테트라클로로페놀 10 mg을 10 mL 용량플라스크에 옮기고 메탄올로 표선까지 채워 1,000 mg/L 농도의 내부표준용액 원액을 조제한다. 그 다음 내부표준용액 원액과 메탄올을 1:150의 부피비로 혼합하여 추출용액을 조제한다.

## (라) 이동상

이동상은 메탄올:탈이온수:초산 = 75:25:0.1(v/v)의 비율로 혼합하여 조제한다.

## (3) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 고상 추출 카트리지를 메탄올 3 mL와 탈이온수 3 mL에 각각 통과시켜 활성화시킨다.

(나) 소변시료 또는 표준용액을 3분간 혈액혼합기에서 잘 섞은 후, 활성화된 카트리지에 1.5 mL를 가하여 시료가 카트리지를 모두 통과할 때까지 방치한다.

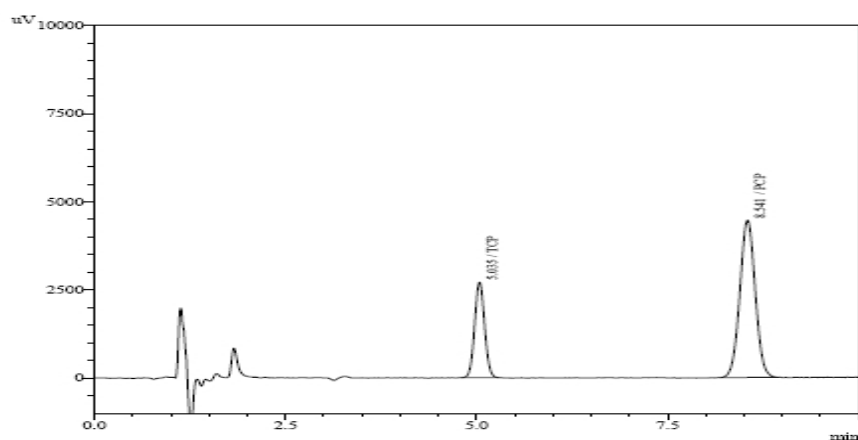
(다) 다시 카트리지에 20%의 메탄올 0.5 mL를 통과시킨다.

(라) 카트리지에 추출용액 1.5 mL를 통과시켜 나온 용액 1 mL를 HPLC 바이알에 옮겨 분석한다.

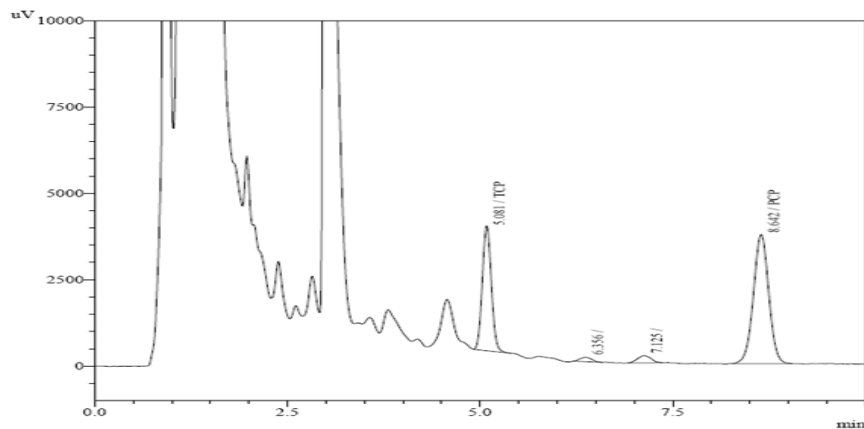
#### (4) 고성능 액체크로마토그래프 분석 조건

- (가) 컬럼 : C<sub>18</sub> 컬럼(150 mm × 4.6 mm, 입경 5 μm)  
또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼
- (나) 이동상 : 메탄올, 탈이온수, 초산 75:25:0.1(v/v/v)
- (다) 유속 : 1.5 mL/min
- (라) 주입량 : 20 μL
- (마) 검출기 : 자외선검출기(254nm)

#### (5) 분석 결과 크로마토그램 예시



[그림 1] 펜타클로로페놀 10 mg/L 표준용액의 HPLC-UV 크로마토그램



[그림 2] 펜타클로로페놀 10 mg/L 첨가 소변시료의 HPLC-UV 크로마토그램

#### (6) 농도계산

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

#### (7) 생물학적 노출기준

(가) 기준값 : 2 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 비정상으로 간주하여 다시 채취한다.



(8) 정밀도 (예)

	농도(mg/L)	변이계수(%) <sup>*</sup>
펜타클로로페놀	1.0	7.9
	10.0	13.2

\* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.

(9) 정확도 (예)

	농도(mg/L)	회수율(%) <sup>*</sup>
펜타클로로페놀	1.0	108.0
	10.0	100.8

\* 같은 농도의 시료를 7개 분석한 결과로부터 구함.

(10) 검출 한계

(가) 검출 한계

예) 소변 중 펜타클로로페놀 0.25 mg/L(S/N 비 3)<sup>1)</sup>

(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

$b$ : 회귀방정식의 x계수

1) 배경 반응값(noise, N)의 3배인 시료 반응값(signal, S)을 나타내는 농도를 검출한계로 함.