

Application News

No. SSK-LCMS-2503

LC-UV를 이용한 유기용제의 생물학적 노출지표물질 6종 동시분석

Simultaneous Determination of Six Biological Exposure Indices of Organic Solvents by LC-UV

사용자 활용 포인트

- ◆ 특수건강진단 대상 유기용제 노출지표물질인 Mandelic acid, Phenylglyoxylic acid, Hippuric acid, 그리고 o-, m-, p-Methylhippuric acid 6 종에 대해 정성 및 정량 분석을 동시에 수행할 수 있다.
- ◆ 간단한 시료 전처리와 짧은 분석 시간으로 보건관리 실무자들이 분석 시스템에 쉽게 적용할 수 있다.

■ 서론

‘산업안전보건법’에 따르면, 근로자 건강진단은 일반질병 및 직업성 질환 예방, 그리고 작업 및 환경으로부터 근로자의 건강을 보호·유지하는 데 목적이 있습니다. 특히 특수건강진단은 ‘산업안전보건법 시행규칙 별표 22’에 따라, 화학물질·금속류 등 180종의 유해인자에 노출되는 근로자를 대상으로 주기적으로 실시되며, 유해물질 노출 여부를 객관적으로 평가하는 중요한 제도이다.

KOSHA Guide는 한국산업안전보건공단(KOSHA)에서 발간하는 산업안전보건 기술 지침서로, 작업환경 측정, 유해물질 관리, 노출기준, 시료 채취 및 분석 방법을 표준화하여 제공한다. 이 지침서는 사업장 내 근로자 건강 보호와 안전 확보를 위한 핵심 자료로 활용되고 있다.

KOSHA Guide에 따르면, 스티렌은 주로 호흡기와 피부를 통해 체내에 흡수되며, 흡수된 스티렌의 약 85 %는 Mandelic acid로, 약 10 %는 Phenylglyoxylic acid로 대사되어 소변으로 배설된다. 이 때문에 두 대사물의 합이 스티렌의 생물학적 노출지표로 사용된다.¹⁾ 크실렌의 경우, 체내 흡수 후 약 95 %가 대사되어 o-, m-, p-Methylhippuric acid 형태로 소변을 통해 배설되며, 이들 이성질체는 크실렌 노출지표로 활용된다.²⁾ 또, 톨루엔은 체내에서 약 80 %가 Hippuric acid로 대사되어 배설되지만, 이 물질은 음식 섭취 등 외부 요인에 의해서도 생성될 수 있어 특이성이 다소 낮은 지표로 간주된다.³⁾ 그럼에도 불구하고, Hippuric acid는 오랜 기간 생물학적 지표로 활용되어 왔으며, 분석이 용이하다는 장점으로 일부 기관에서 참고용 분석 항목으로 사용되고 있다.

이러한 배경을 바탕으로, 이 뉴스레터에서는 KOSHA Guide를 참고하여 유기용제의 생물학적 노출지표로 사용되는 Mandelic acid, Phenylglyoxylic acid, Hippuric acid, 그리고 Methylhippuric acid 이성질체(o-, m-, p-)의 동시분석법을 소개하고자 한다.

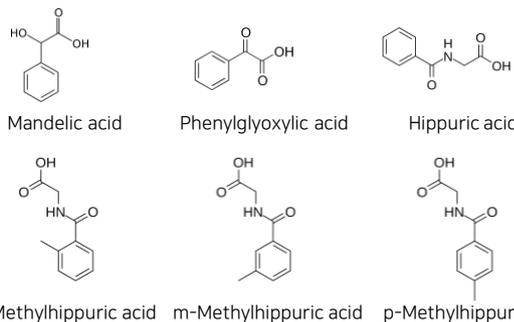


그림 1. 유기용제의 생물학적 노출지표물질 6종의 구조

■ 시료 전처리

분석법의 밸리데이션을 위해 직선성, 정확도, 정밀도, 회수율을 평가하였으며, 대상 표준물질은 Sigma-Aldrich사에서 구매하여 사용하였다.

밸리데이션을 위한 시료는 분석 항목에 따라 증류수 또는 인공소변에 6종의 혼합표준용액을 첨가하여 각 농도 수준에 맞게 준비하였다. 이후 각 시료에서 200 µL를 취해 증류수로 10 배 희석한 뒤, 0.45 µm PVDF 멤브레인 필터로 여과하여 분석에 사용하였다.

■ 기기 분석 조건

표 1. 분석 조건

Shimadzu Nexera XR System	
Column	Shim-pack GIST C18 (2.1x150 mm, 3 µm)
Mobile phase	0.01 M KH ₂ PO ₄ in 0.3% acetic acid with 85% phosphate acid to pH 2.5:THF:ACN=87:5:8
Flow rate	0.3 mL/min
Oven Temp	30 °C
Injection volume	10 µL
Detector	UV Detector (SPD-40V, 225 nm)

■ 크로마토그램

표 1에 제시한 조건으로 분석을 수행하였으며, 크로마토그램은 그림 2와 같다. 유기용제 생물학적 노출지표 6 성분이 모두 11분 이내에 분리되었으며, 공시료(증류수, 인공소변)에 의한 영향은 없는 것으로 확인되었다.

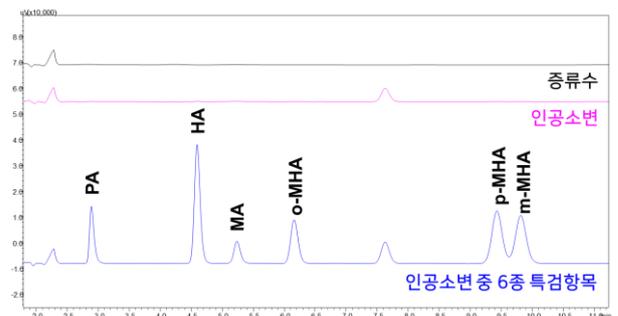


그림 2. 증류수, 인공소변 공시료 및 유기용제의 생물학적 노출지표물질 6종(50 µg/mL)의 크로마토그램

■ 직선성

표준용액을 증류수로 희석하여 KOSHA Guide에서 제시한 검량선 농도 범위를 포함하는 7 개의 표준용액, (5, 10, 20, 50, 100, 200, 500) µg/mL를 조제하였으며, 이를 이용하여 검량선을 작성하였다. 그 결과, 그림 3과 같이 Mandelic acid, Phenylglyoxylic acid, Hippuric acid, 그리고 o-, m-, p-Methylhippuric acid 모든 대상 성분에 대해서 결정계수(R²) 0.999 이상으로 매우 우수한 직선성을 보이는 것으로 나타났다.

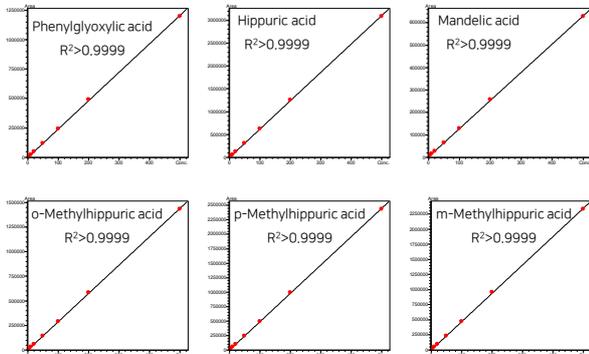


그림 3. 특수건강진단 항목 6 종의 검량선

■ 정확도 및 정밀도

정확도 및 정밀도 평가를 위해 표준용액을 증류수로 희석하여 저농도(10 µg/mL), 중농도(50 µg/mL), 고농도(200 µg/mL)로 조제하였으며, 각 농도별로 7 회 반복 분석하여 피크 면적을 기준으로 정확도와 정밀도를 평가하였다. 분석 결과, 정확도는 (99.2~102.1) %, 정밀도는 0.81 % 이내로 매우 우수한 수준을 보였습니다(표 2, 표 3).

표 2. 정확도 결과

정확도(%), n=7			
성분명	저농도 (10 µg/mL)	중농도 (50 µg/mL)	고농도 (200 µg/mL)
Phenylglyoxylic acid	99.6	100.1	101.8
Hippuric acid	99.9	99.4	101.2
Mandelic acid	102.1	99.3	101.3
o-Methylhippuric acid	100.1	99.3	101.2
p-Methylhippuric acid	100.3	99.7	101.3
m-Methylhippuric acid	100.1	99.2	101.1

표 3. 정밀도 결과

정밀도(%), n=7			
성분명	저농도 (10 µg/mL)	중농도 (50 µg/mL)	고농도 (200 µg/mL)
Phenylglyoxylic acid	0.26	0.12	0.10
Hippuric acid	0.05	0.18	0.10
Mandelic acid	0.81	0.74	0.07
o-Methylhippuric acid	0.08	0.19	0.04
p-Methylhippuric acid	0.10	0.24	0.08
m-Methylhippuric acid	0.42	0.19	0.19

■ 회수율

회수율 평가는 표준원액을 인공소변에 첨가하여 저농도(10 µg/mL), 중농도(50 µg/mL), 고농도(200 µg/mL)로 시료를 조제한 후, 각 농도별로 7 회 반복 분석하여 피크 면적을 기준으로 회수율을 확인하였다. 분석 결과, 회수율은 (92.7~99.8) %로 전 농도 구간에서 양호한 수준을 나타냈다(표 4).

표 4. 회수율 결과

회수율(%), n=7			
성분명	저농도 (10 µg/mL)	중농도 (50 µg/mL)	고농도 (200 µg/mL)
Phenylglyoxylic acid	97.2	97.8	92.7
Hippuric acid	97.9	99.4	95.7
Mandelic acid	89.4	99.5	96.2
o-Methylhippuric acid	98	99.5	95.8
p-Methylhippuric acid	98.8	99.8	96
m-Methylhippuric acid	98.4	99.4	95.6

■ 결론

Shimadzu Nexera XR 시스템을 이용하여 유기용제의 생물학적 노출지표로 활용되는 6종 성분에 대한 동시분석을 수행하였다. 본 분석법은 직선성, 정확성, 정밀성, 회수율에 대한 밸리데이션을 통해 신뢰성을 확인하였으며, 검량선 농도 범위는 (5~500) ng/mL 구간에서 결정계수(R²)가 0.999 이상으로 매우 우수한 직선성을 보였다. 표준용액의 정확성은 (99.2~102.1) %, 정밀성은 0.81% 이내, 인공소변 중 회수율은 (92.7~99.8) %로 모두 우수한 결과를 나타냈다.

■ 참고자료

- 1) 스티렌의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침 (H-151-2021)
- 2) 크실렌의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침 (H-168-2021)
- 3) 톨루엔의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침 (H-8-2023)