

Application News

Gas chromatograph Mass Spectrometer, HS-20 NX, GCMS-QP2020 NX

HS-GC/MS를 이용한 소변 중 특수건강진단 항목 7종의 동시 분석

No. SSK-GCMS-2504

Simultaneous Analysis of Seven Special Health Examination Items in Urine using HS-GC/MS

■ 서론

산업안전보건법 제130조(특수건강진단 등)에 따라, 유해인자에 노출되는 업무에 종사하는 근로자는 유해인자별로 정해진 시기와 주기에 따라 특수건강진단을 반드시 실시해야 한다. 이는 해외의 Medical Surveillance 또는 Occupational Health Surveillance 라는 제도와 유사하며, 직업성 질환 예방을 위해 근로자의 건강을 정기적으로 모니터링하는 제도이다. 근로자의 노출 정도를 정확히 평가하기 위해서는 공기 중 환경농도 측정과 체내 흡수를 반영하는 생물학적 노출지표 측정이 함께 이루어져야 한다.

한국산업안전보건공단(Korea Occupational Safety and Health Agency, KOSHA)의 「2024년 근로자 건강진단 실무지침」에 따르면 노출 지표물질은 필수 여부에 따라 1차, 2차로 구분된다. 1차는 필수 항목이며, 2차 지표물질은 필요 시 추가되는 검사항목이다. 본 연구에서는 소변 시료를 대상으로 1차·2차 유해 유기화합물의 생물학적 노출지표 중 HS-GC/MS로의 분석 적합성을 고려하여 최종 7개의 분석 대상 성분을 선정하였다(표 1). 이를 통해 근로자의 체내 흡수정도를 보다 정확하게 평가할 수 있다.

본 뉴스레터에서는 선정된 생물학적 노출지표의 분석을 위해 분석 대상 시료 전처리과정의 복잡하지 않은 Headspace 방식의 전처리를 이용해 분석효율을 높이하고자 하였다. 이에 Shimadzu 자동 전처리 시스템 HS-20 NX와 GCMS-QP2020 NX를 이용해 인공 소변을 중 생물학적 노출지표 7 성분을 분석한 결과를 소개한다.



그림 1. HS-20 NX + GCMS-QP2020 NX

■ 장비 및 분석조건

본 뉴스레터에서는 선별된 분석대상 성분 7종의 다성분 동시 분석을 위해 Shimadzu 사의 HS-20 NX + GCMS-QP2020 NX를 이용하여 분석하였다(그림 1). 자세한 기기 분석 조건은 표 2에 분석 물질 정보 및 물질의 SIM 분석 조건은 표 3에 나타내었다.

표 1. 유해 유기화합물 및 생물학적 노출 지표와 노출 기준

생물학적 노출지표	유해 유기화합물	기준 검사값	
		노출기준	표시단위
Acetone	Acetone ^{2차}	80	mg/L
	isopropyl alcohol ^{2차}	50	mg/L
Methyl ethyl ketone (MEK)	MEK ^{2차}	2	mg/L
Methyl isobutyl ketone (MIBK)	MIBK ^{2차}	2	mg/g crea
	Methyl chloroform ^{1차}	10	mg/L
Trichloroacetic acid (TCA)	Trichloroethylene ^{1차}	15	mg/L
	Perchloroethylene ^{1차}	3.5	mg/L
2,5-Hexanedione	n-Hexane ^{1차}	5	mg/L
	2-Hexanone ^{2차}	5	mg/L
Phenol	Phenol ^{2차}	250	mg/g crea
o-Cresol	Toluene ^{1차}	0.8	mg/g crea

^{1차} 1차 지표물질

^{2차} 2차 지표물질

표 2. 기기분석 조건

Headspace System	HS-20 NX
Measurement Mode	: Loop
Oven Temp.	: 115 °C
Equilibrating Time	: 60 min
Sample Line Temp.	: 170 °C
Transfer Line Temp.	: 180 °C
Shaking Level	: Level 5
Injection Time	: 0.5 min
GC-MS System	GCMS-QP2020 NX
Carrier Gas	: He (99.999%)
Flow Control Mode	: Constant linear velocity
Liner Velocity	: 36.1 cm/s
Injector Temp.	: 250 °C
Injection Mode	: Split (10:1)
Column Flow	: 2.0 mL/min
Analytical Column	: SH-1701 (30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 µm)
Column Temp.	: 40 °C (2 min) → 30 °C/min → 250 °C (3 min)
Ionization Method	: EI Mode
Ion Source Temp.	: 200 °C
Interface Temp.	: 300 °C
Acquisition Mode	: SIM mode (Table 2)

표 3. 분석 물질 정보 및 분석 성분의 SIM 조건 및 검량선의 농도

분석성분	머무름 시간 (min)	정량이온 (m/z)	정성이온(m/z)	검량선의 농도 (μg/mL)				
				1	2	3	4	5
Acetone	5.073	43	42, 58	2	5	10	20	40
MEK	6.214	43	57, 72	0.2	0.5	1	2	4
MIBK	7.612	43	57, 58	2	5	10	20	40
TCA-Me	9.033	59	117, 119	2	5	10	20	40
2,5-Hexanedione	9.344	43	71, 99	0.5	1.25	2.5	5	10
Phenol	9.850	94	65, 66	2	5	10	20	40
o-Cresol	10.302	108	79, 107	0.2	0.5	1	2	4

■ 재료 및 방법

분석 대상 성분 선정

생물학적 노출지표 7성분에 해당하는 대상 유해 유기화합물은 총 11종으로 표 1에 제시하였다. 이들은 인체에 미치는 유해 정도에 따라 노출기준이 상이하므로, 동시분석 시에는 해당 노출 기준을 참고하여 분석 대상 성분의 검량선의 분석 농도를 각각 달리 설정하였다.

표준원액 제조

Phenol 및 o-Cresol을 제외한 5종의 분석 성분은 약 10 mg의 표준물질을 정용 플라스크에 넣고, 10 mL의 증류수로 정용하여 이를 표준원액(1,000 μg/mL)으로 사용하였다. 한편, Phenol과 o-Cresol은 메탄올에 녹여진 5,000, 1,000 μg/mL 농도의 용액을 구매하여 이용하였다.

혼합 표준원액 제조 (Level 6)

각각의 표준원액을 이용해 표 4의 분취량 대로 개별 표준원액을 분취하여 10 mL 정용 플라스크에 넣고 증류수로 정용하여 검량선의 level 5의 2배수의 혼합 표준원액(Level 6)을 만들었다.

표준용액 준비

혼합 표준원액 (Level 6)을 증류수를 단계 희석하여 Level 1 – 5를 제조 한 뒤, 이를 증류수 기반 표준용액(Solvent standard, STD)으로 사용하였다.

한편, 인공 소변 기반 표준 용액(Matrix matched standard, MMSTD)은 혼합 표준원액 (Level 6) 5 mL와 인공 소변 5 mL를 혼합해 Level 5를 만들었다. 이를 증류수 : 인공 소변 = 1 : 1 (v/v) 용액을 이용해 단계 희석하여 Level 1 – 5를 제조하였다.

각각 5개의 서로 다른 농도의 증류수 및 인공 소변 기반 표준 용액은 0.3 mL 분취하여 시료 조제와 같은 식으로 전처리하여 분석에 이용하였다.

표 4. 혼합표준원액 (Level 6) 제조에 사용된 성분별 개별 표준원액 분취량

분석 성분	분취량 (μL)	목표 농도 (μg/mL)
Acetone	800	80
MEK	80	8
MIBK	80	80
TCA-Me	800	80
2,5-Hexanedione	200	20
Phenol	160	80
o-Cresol	80	8

소변 시료의 전처리 방법

22 mL 헤드스페이스 바이알에 황산수소나트륨(NaHSO₄)을 1 g 넣고, TCA 분석용 유도체화 시약 메탄올 30 μL를 첨가하였다. 이 바이알에 표준용액 및 소변 시료를 0.3 mL을 분취하여 넣고 밀봉하여 분석 시료로 이용하였다.

매트릭스 효과 (Matrix effect)

매트릭스 효과는 인공 소변 기반의 표준물질(Matrix matched standard)을 이용해 작성한 검량선의 기울기와 증류수 기반 (Solvent standard)의 표준물질을 이용해 작성한 검량선의 기울기를 비교하여 계산하였다. 그래프의 기울기가 클수록 매트릭스에 의해 유도된 신호의 증강을 나타내고, 기울기가 작을수록 신호 억제 나타낸다. 매트릭스 효과(Matrix effect)는 식 1을 사용하여 계산하였다.

(Slope of MMSTD calibration
Matrix effect (%) = $\frac{- \text{Slope of STD calibration}}{\text{Slope of STD calibration}} \times 100$ (식 1)

회수율 시험

분석법의 정확도와 정밀도 평가를 위해 Level 2, 3, 4에 해당하는 농도가 최종 농도가 되게 인공 소변에 처리한 후 전처리 방법대로 회수율 시험을 수행하였다. 각 농도별 3반복 분석을 수행했으며, 분석 대상 성분의 평균 회수율로 분석법의 정확도(Accuracy)를 평가하였고, 해당 평균 회수율 간 상대표준편차(%RSD)를 이용해 분석법의 정밀도(Precision)를 평가하였다.

■ 결과

매트릭스 효과

매트릭스 효과 확인을 위해 증류수 기반 표준물질과 인공 소변 기반 표준물질을 이용해 분석 성분 별 농도대비 피크 면적의 검량선을 작성하였다(그림 2). 식 1을 이용해 계산된 각 성분 별 매트릭스 효과를 표 5에 나타내었다. 그림 2와 표 5에서 확인할 수 있듯, 가장 낮은 수준의 매트릭스 효과를 보이는 성분은 acetone으로 5.4%로 미미한 수준으로 확인되었다. 반면, o-Cresol은 75.4%로 수준의 높은 매트릭스 효과를 보였다. 이에 분석 대상 성분의 정량에서는 매트릭스의 영향을 반영하여 보정된 인공 소변 기반 표준용액을 사용하여 분석에 이용하였다.

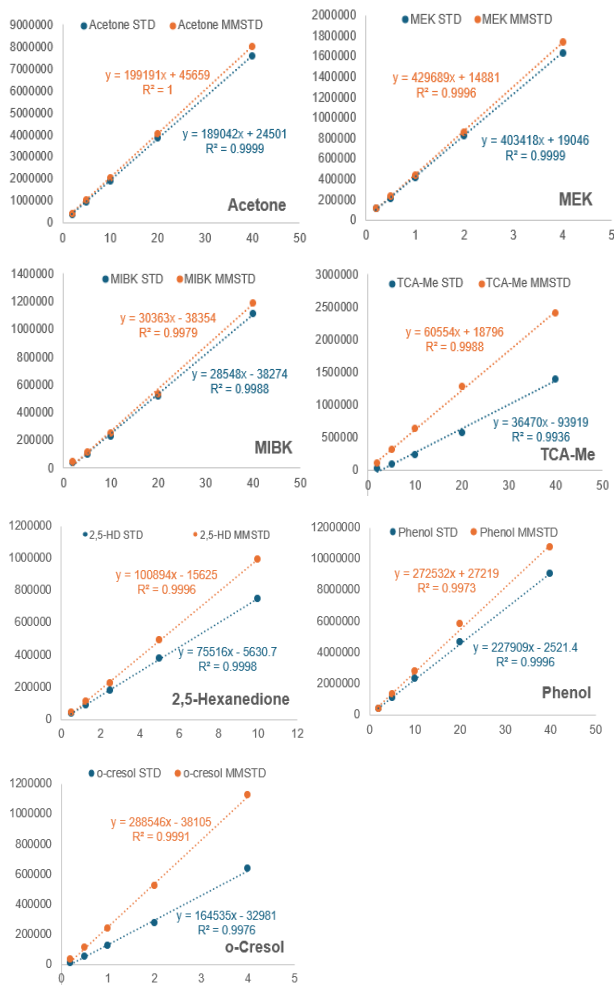


그림 2. 성분 별 증류수 및 인공 소변 기반 표준물질의 검량선

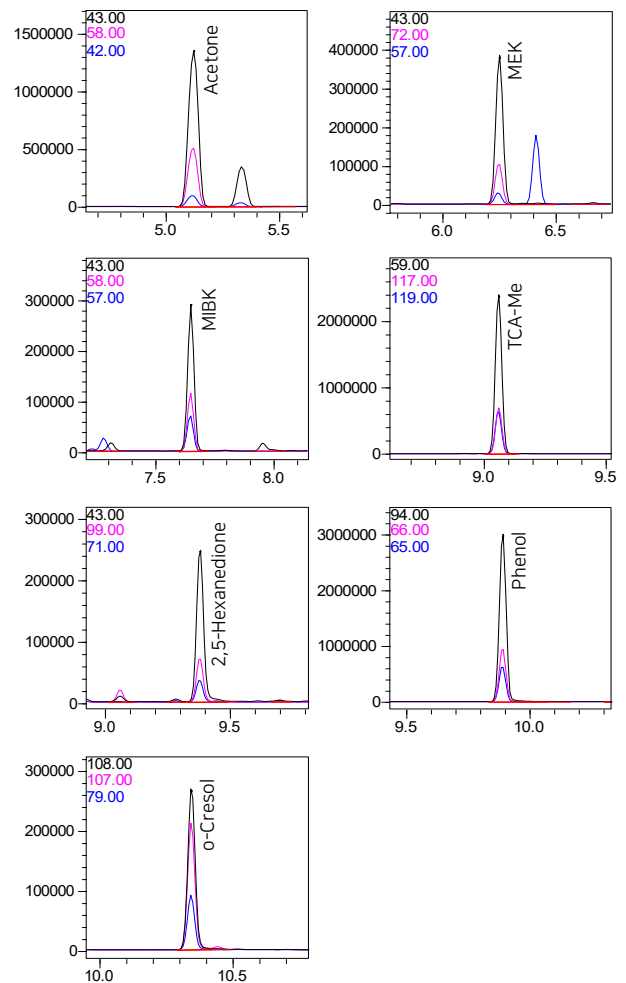


그림 3. 분석 대상 성분의 분석 크로마토그램 (Level 4)

표 5. 성분 별 매트릭스 효과

분석성분	검량선의 기울기		매트릭스 효과 (%)
	MMSTD	STD	
Acetone	199,191	189,042	5.4
MEK	429,689	403,418	6.5
MIBK	30,363	28,548	6.4
TCA-Me	60,554	36,470	66.0
2,5-Hexanedione	100,894	75,516	33.6
Phenol	272,532	227,909	19.6
o-Cresol	288,546	164,535	75.4

검량선

그림 2의 성분별 증류수 및 인공 소변 기반의 표준물질을 통한 검량선을 작성한 결과에서 알 수 있듯, 분석대상 성분 7종의 모든 검량선의 결정계수 (r^2)가 0.99 이상으로 분석법의 직선성이 양호한 수준임을 확인하였다. 또한, 검량선 작성에 사용된 분석 데이터 중 Level 4 농도에서의 대표 크로마토그램을 그림 3에서 확인 할 수 있다.

회수율 시험

회수율 시험은 서로 다른 세개의 농도 수준에서 3반복 수행하였다. 표 6과 같이 모든 분석 대상물질의 회수율은 일반적으로 허용 가능한 수치인 80 - 120% 범위 내에 있었으며, RSD는 10% 이하로 나타났다. 이에 분석법의 정확도와 정밀도가 양호한 수준으로 확인되었다. 다만, 2,5-hexanedione의 중농도와 고농도 수준에서 다소 높은 RSD(8.3%)가 관찰되었다. 이전 연구에서 본 성분은 Headspace 분석 시 오븐 온도가 100℃일 때 가장 우수한 정확도와 정밀도를 보이는 것으로 확인되었다². 그러나 본 연구에서는 동시분석으로 인해 Headspace의 오븐 온도를 115℃로 설정하였으며, 이로 인해 2,5-Hexanedione의 휘발성에 대한 신호 변동이 상대적으로 크게 영향을 받은 것으로 판단되었다.

표 6. 분석 대상 성분의 회수율 시험 결과 (n=3)

분석성분	회수율 (%)			RSD (%)		
	저	중	고	저	중	고
Acetone	96.3	97.3	98.4	3.1	7.9	3.6
MEK	97.5	89.9	93.0	4.6	3.9	1.4
MIBK	93.9	81.2	85.3	2.7	4.4	1.5
TCA-Me	87.6	100.6	106.5	5.8	3.8	1.0
2,5-Hexanedione	94.2	92.8	101.0	4.2	8.3	8.5
Phenol	89.7	102.0	107.9	1.1	2.7	2.9
o-Cresol	97.3	95.0	97.6	2.3	2.5	1.3

■ 결론

본 뉴스레터에서는 특수건강진단 항목 11종에 해당하는 생물학적 노출지표물질 7종의 정량분석을 위해 Shimadzu 사의 HS-20 NX 을 이용하여 전처리 한 뒤 GCMS-QP2020 NX 장비로 분석하였다 . 분석 결과, 인공 소변 기반 표준물질을 이용한 검량선에서 모든 성분의 결정계수(r^2)는 0.99 이상으로 우수한 직선성을 확인하였다. 또한 서로 다른 세 농도 수준에서 3회 반복 회수율 시험을 수행 한결과, 회수율은 81.2 - 107.9%, RSD는 1.0 - 8.5% 로 나타나 분석법의 정확도와 정밀도가 모두 우수함을 확인하였다. 이에 본 분석법은 향후 작업환경 관리 및 직업성 질환 예방 연구의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

■ 참고문헌

- 1) 2024년_근로자건강진단_실무지침(제1~3권)
<https://oshri.kosha.or.kr/kosha/report/notice.do?mode=download&articleNo=453788&attachNo=260041>
- 2) HS-GC/FID를 이용한 특수건강 진단항목 3 종 동시 분석
Application No. SSK-GC-2302

SSK-GCMS-2504



Shimadzu Corporation
www.shimadzu.com/an/
Shimadzu Scientific Korea
www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Not available in the USA, Canada, and China.
This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. Company names, products/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation, its subsidiaries or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.

Copyright © 2025 SHIMADZU group. All rights reserved.