

Application News

Gas chromatograph, GC-2030 Nexis, HS-20NX

HS-GC-FID를 이용한 소변 중 특수 건강 진단 항목 7종의 동시분석

No. SSK-GC-2501

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

■ 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 Surveillance라는 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 생물학적 노출 지표는 필수 여부에 따라 1차 및 2차로 구분된다. 1차는 필수 항목이며, 2차 지표물질은 필요 시 추가되는 검사항목이다. 생물학적 노출지표 측정을 통해 근로자의 개개인의 유해물질의 체내 흡수정도를 보다 정확하게 평가할 수 있다.

이전 연구¹에서는 HS-20NX + GCMS-QP2050을 이용해 1차·2차 유해 유기화합물의 생물학적 노출지표 중 기기 분석 적합성을 고려하여 7종(표 1)을 선정하여 분석하였다. 그 결과, 분석법의 직선성, 회수율 평가를 통한 정확성 및 정확도가 모두 우수한 것으로 확인되었다.

본 연구에서는 해당 생물학적 노출지표 7 성분에 대해 HS-20NX와 GC-2030 Nexis를 이용해 분석하였다. 소변 시료의 전처리에는 Shimadzu 자동 전처리 시스템인 HS-20NX를 사용하여 이전 연구와 동일하게 수행함으로써 분석의 간편성과 작업 효율성을 확보하였다. 특히 FID(Flame Ionization Detector)를 사용하는 GC-2030 Nexis를 도입함으로써 기존 GC-MS 기반 방법 대비 HS-GC-FID 분석의 활용 가능성을 검토하고자 하였다.

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
Trichloroacetic acid (TCA)	Methyl chloroform ^{1차}	10	mg/L
	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



그림 1. HS-20 NX + GC-2030 Nexis

■ 장비 및 분석조건

본 뉴스레터에서는 선별된 분석대상 성분 7종의 다성분 동시 분석을 위해 Shimadzu 사의 HS-20NX + GC-2030 Nexis를 이용하여 분석하였다(그림 1). 자세한 기기 분석 조건은 표 2에 나타내었다.

표 2. 기기분석 조건

Headspace System	HS-20NX
Measurement Mode	: Loop
Oven Temp.	: 115 °C
Equilibrating Time	: 50 min
Sample Line Temp.	: 170 °C
Transfer Line Temp.	: 180 °C
Shaking Level	: Level 5
Injection Time	: 0.1 min
GC-MS System	GC-2030 Nexis
Detector	: FID (flame ionization detector)
Carrier Gas	: He (99.999%)
Flow Control Mode	: Constant linear velocity
Liner Velocity	: 31.9 cm/s
Injection Mode	: Split (5:1)
Column Flow	: 2.0 mL/min
Analytical Column	: SH-I-624Sil MS (60 m x 0.25 mm, 1.4 µm)
Column Temp.	: 40 °C (2 min) → 30 °C/min → 250 °C (4 min)
Detector Temp.	: 260 °C
Makeup Gas	: He (24 mL/min)
H2 / Air flow	: 32 / 200 mL/min

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

분석성분	머무름 시간 (min)	검량선의 농도 (µg/mL)				
		1	2	3	4	5
Acetone	5.541	2	5	10	20	40
MEK	6.697	0.2	0.5	1	2	4
MIBK	8.119	2	5	10	20	40
TCA-Me	9.566	2	5	10	20	40
2,5-Hexanedione	9.896	0.5	1.25	2.5	5	10
Phenol	10.430	2	5	10	20	40
<i>o</i> -Cresol	10.914	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 표준물질들을 정용 플라스크에 넣은 뒤, 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.

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
<i>o</i> -Cresol	80	8

표준용액 준비

혼합 표준원액 (Level 6)을 증류수를 단계 희석하여 표 3에 해당하는 농도대로 Level 1 - 5를 제조 한 뒤, 이를 표준용액(Solvent standard, STD)으로 사용하였다. 각각 5개의 서로 다른 농도의 표준 용액은 0.3 mL 분취하여 시료 조제와 같은 식으로 전처리하여 기기 분석에 이용하였다.

소변 시료의 전처리 방법

22 mL 헤드스페이스 바이알에 황산수소나트륨(NaHSO_4)을 1 g 넣고, TCA 분석용 유도체화 시약 메탄올 30 µL를 첨가하였다(그림 2). 이 바이알에 표준용액 및 소변 시료를 0.3 mL을 분취하여 넣고 밀봉하여 분석 시료로 이용하였다.

회수율 시험

분석법의 정확도와 정밀도 평가를 위해 Level 2 (저농도, Low recovery, LR), Level 3 (중농도, Medium recovery, MR), Level 4

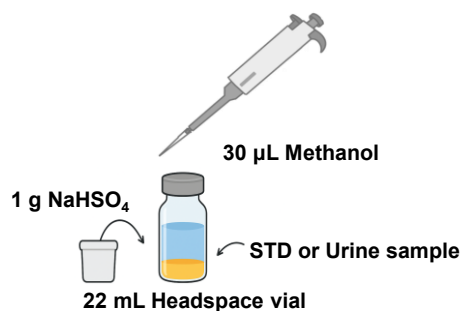


그림 2. 소변시료의 전처리 방법

(고농도, High Recovery, HR)에 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

검량선

그림 3의 성분 별 표준물질의 검량선을 작성한 결과에서 알 수 있듯이 분석대상 성분 7종의 모든 검량선의 결정계수 (r^2)가 0.99 이상으로 분석법의 직선성이 양호한 수준임을 확인하였다. 또한 그림 4에 7종의 크로마토그램을 나타내었다. 다만, Phenol의 경우 다른 성분들보다 농도 대비 기기 감도가 우수해 우측에 단독으로 축소 스케일의 크로마토그램을 중복 표기하였다.

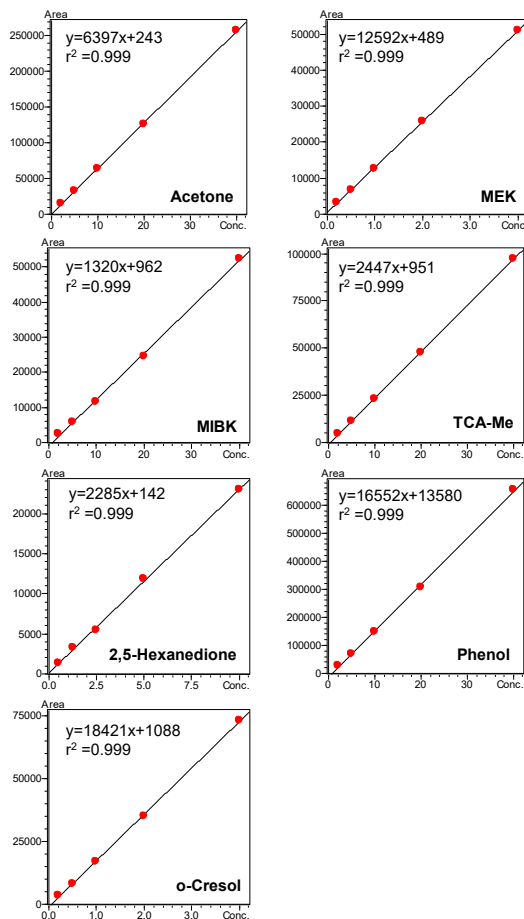


그림 3. 성분 별 표준물질의 검량선

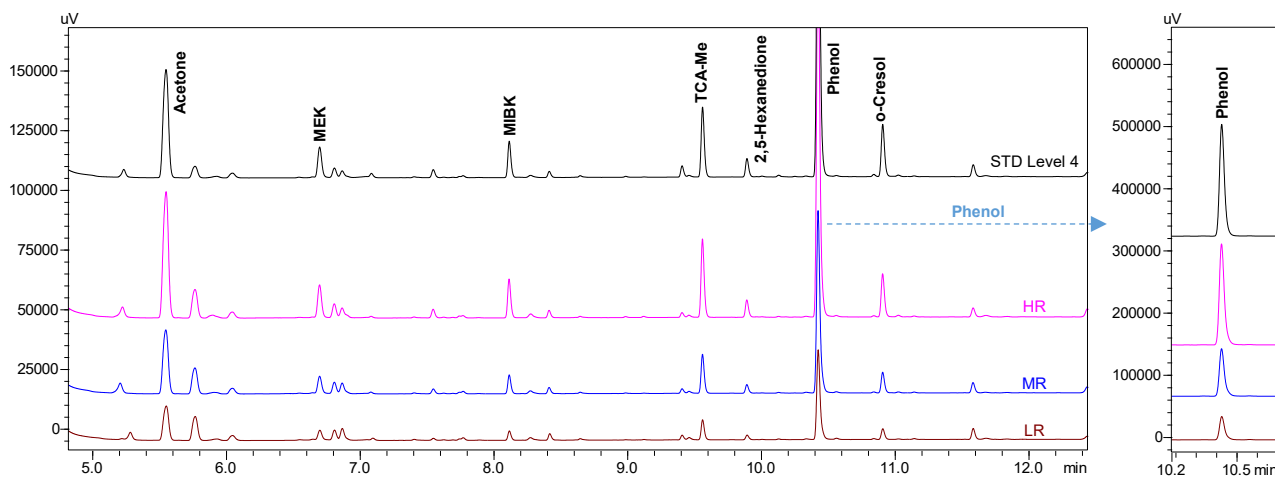


그림 4. 7종 동시 분석 크로마토그램 및 Phenol 피크의 단독 크로마토그램

정확도 및 정밀도

서로 다른 세 개의 농도 수준에서 회수율 시험을 3 반복 수행하여 시험법의 정확도와 정밀도를 평가하였다(표 6). 분석성분의 회수율은 일반적으로 허용 가능한 수치인 80 ~ 120% 범위이고 상대표준 편차도 모두 6.3% 이내로 나타나 시험법의 정확도와 정밀도가 우수한 것으로 확인되었다. 다만, acetone은 LR 수준에서 119%로 상대적으로 높은 회수율을 보였다. 이는 무처리 인공 소변에서 약 0.5 µg/mL 수준의 acetone으로 추정되는 피크가 검출되어 저농도 구간의 회수율 결과에 영향을 미친 것으로 판단되었다.

표 6. 분석 대상 성분의 회수율 시험 결과 (n=3)

분석성분	회수율 (%)			RSD (%)		
	저	중	고	저	중	고
Acetone	119.6	116.7	115.1	1.2	0.1	0.8
MEK	116.2	109.2	107.5	3.7	0.3	0.9
MIBK	112.5	103.7	104.4	2.7	0.2	1.1
TCA-Me	120.9	111.8	111.9	2.8	0.8	1.8
2,5-Hexanedione	105.4	97.2	99.2	2.8	6.3	2.8
Phenol	98.8	90.2	90.7	1.1	2.7	2.9
o-Cresol	90.7	80.0	81.2	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 FID가 장착된 GC-2030 Nexis 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 수행한결과, 회수율은 80.0~ 119.6 %, RSD는 0.1 ~ 6.3 %로 나타나 분석법의 정확도와 정밀도가 모두 우수함을 확인하였다. 이를 통해 이전 연구 HS-GC/MS로 수행했던 결과와 부합하는 수준으로 확인되어 해당 분석법이 HS-GC-FID 기반에서도 충분히 재현 가능함을 확인할 수 있었다.

■ 참고문헌

- 2024년_근로자건강진단_실무지침 (제1~3권)
<https://oshri.kosha.or.kr/kosha/report/notice.do?mode=download&articleNo=453788&attachNo=260041>
- HS-GC/MS를 이용한 소변 중 특수 건강 진단 항목 7종의 동시분석 No. SSK-GCMS-2504