

본 분석기법을 소개하고자 하는 목적은 유해인자별 작업환경측정 및 특수건강진단 시료 분석에 맞는 구체적인 분석결과를 제시함으로써 산업보건관련 유관기관에 실질적인 도움을 주고자 함입니다.

기체 크로마토그래프를 이용한 요증 총페놀 분석법

대한산업보건협회 산업보건연구소
오미순, 김강운, 최호춘

1. 서론

페놀은 체내에 들어가면 간장에서 대사되어 페닐글루크론산(phenyl glucuronide, PhG), 페닐황산(phenyl sulphate, PhS) 및 미량의 유리페놀 형태로 요증으로 배설된다. 그 비율은 페놀의 노출량에 따라 다르다. 고농도의 페놀 노출시에는 페닐황산의 경로는 포화가 되고, 페닐글루크론산이 주요 배설경로가 된다. 이들 페놀 결합물(conjugated compound) 및 유리페놀을 합한 총페놀은 생물학적 모니터링에 이용될 수 있다(페놀 결합물은 가수분해한 후 페놀로 측정한다).

또한 벤젠은 체내에 들어가면 일단 산화되어 페놀로 되고, 페닐글루크론산 및 페닐황산으로 대사되어

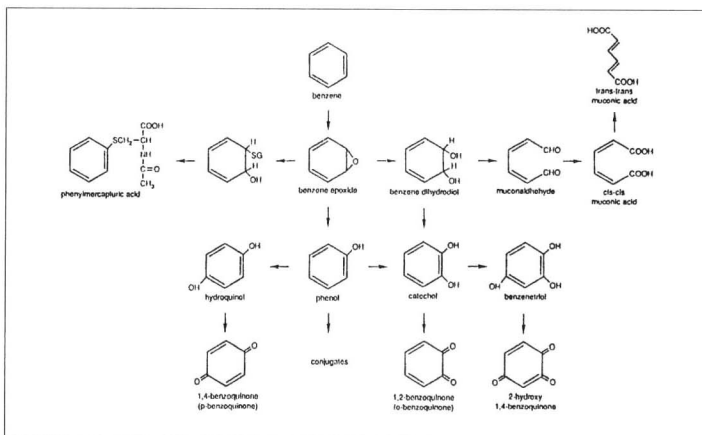


그림 1. Benzene의 대사경로

요중으로 배설된다. 상술한 폐놀과 마찬가지로 총폐놀은 생물학적 모니터링에 이용될 수 있다. 단 벤젠의 허용농도는 저하경향이 있으며 따라서 허용농도에 해당되는 요중 총폐놀의 농도도 낮아지므로 요중 폐놀에 의한 모니터링에 어려움이 많다. 폐놀은 마노산과 마찬가지로 정상인의 요중에서도 배설된다. 폐놀은 단백질의 대사산물이기도 하여 요중 폐놀 농도는 식품에 의해서도 영향을 받을 수 있다(그림 1).

요중 총폐놀은 벤젠과 폐놀에 노출된 근로자의 생물학적인 지표로서 활용되고 있는 항목이다(표 1, 2).

표 1. 벤젠의 생물학적인 폭로지수인 요중 총폐놀량

지 표	측정시간	생물학적 폭로지수	비 고
우리나라(노동부)		100 mg/l	
BEI (ACGIH, 1996)	작업종료후	50 mg/g creatinine	대조농도, 비특이적
WHO		약 100 mg/l	80 mg/m ³ 에 8시간 노출
		약 50 mg/l	32 mg/m ³ 에 8시간 노출
		25 mg/l 이상	벤젠에 노출되었음
		10 mg/l 이하	벤젠에 노출되지 않았음
NIOSH		45 mg/g creatinine	잠정최고 허용치

표 2. 폐놀의 생물학적인 폭로지수인 요중 총폐놀량

지 표	측정시간	생물학적 폭로지수	비 고
우리나라(노동부)		100 mg/l	
BEI (ACGIH, 1996)	작업종료후	250 mg/g creatinine	대조농도
BAT (DFG, 1993)	작업종료후	300 mg/l	
NIOSH		4.5~20.7 mg/g creatinine	비직업성 노출
		300 mg/g creatinine	잠정적 정상치

직업적으로 벤젠이나 폐놀에 노출된 적이 없는 정상인의 요중 폐놀농도는 20mg/l를 넘지 않는 것으로 알려져 있다(Lauwerys & Hoet, 1993). Ogata와 Taguchi(1988)는 노출력이 없는 정상인의 요중 폐놀농도는 15mg/l라고 하였다.

본 분석기법에서는 기존의 요중 총폐놀의 분석방법으로써 유기용매를 이용하여 추출한 후 기체크로마토그래프-불꽃원자화 검출기(gas chromatograph with flame ionization detector)에 의한 방법을 이용하였다.

2. 실험방법

유기용매로 추출한 후 GC로 분석(액체-액체 추출법)

이 방법은 특수건강진단 시료, 즉 요중 페닐글루크론산(phenyl glucuronide, PhG), 페닐황산(phenyl sulphate, PhS) 및 미량의 유리페놀 등 총페놀 정량시 절대 필요한 분석방법이다.

분석전처리

- ① 표준용액, 표준물 첨가료 및 페놀 노출근로자의 요를 각 5ml씩 test tube에 취한다.
- ② perchloric acid 2ml를 가한다.
- ③ 마개를 느슨하게 막고 95°C 수욕조에서 2시간 가열한다.
- ④ 페놀의 phenyl glucuronide 및 phenyl sulphate를 가수분해하여 유리페놀이 되게 한다.
- ⑤ 방냉한 후 diisopropyl ether 1ml 가하여 1분 동안 추출한다.
- ⑥ 원심분리(3000 rpm, 5 min)한 시료의 유기층(상층) 2μl를 취해 GC에 주입한다.

※ stock solution은 5mg phenol/ml (1% HCl)로 했으며 표준용액의 농도수준은 0, 50, 100, 150 mg/l로 했다. GC(G-3000, Hitachi, Japan)에서의 분석조건은 표 3과 같다.

표 3. 요중 총페놀분석에 있어서의 GC 분석조건

Analytical parameter	
Column :	AT-1(0.25 mm × 30m × 0.25 μ)
Detector :	FID
Range :	10 ⁹
Temperature:	Injector : 230°C
	Detector : 250°C
	Oven : 100°C
Gas flows :	N ₂ : 0.8 kg/cm ³
	H ₂ : 1.2 kg/cm ³
	Air : 0.8 kg/cm ³
	He : 1kg/cm ³ (make up)
Injection volumn :	2 μl
Split ratio :	20 : 1

3. 결과 및 고찰

액체-액체 추출법에 의한 요중 총페놀분석

액체-액체 추출법에 의한 요중 페놀의 크로마토그램은 그림 2, 3, 4, 5와 같다. 추출용매인 diisopropyl ether의 머무름 시간(retention time)은 2.46분 근처였으며, phenol의 머무름 시간은 4.38분대였다.

용기용매(diisopropyl ether)에 의한 액체-액체 추출법에 의한 요는 5배 농축된 시료로써, 요에 페놀표준

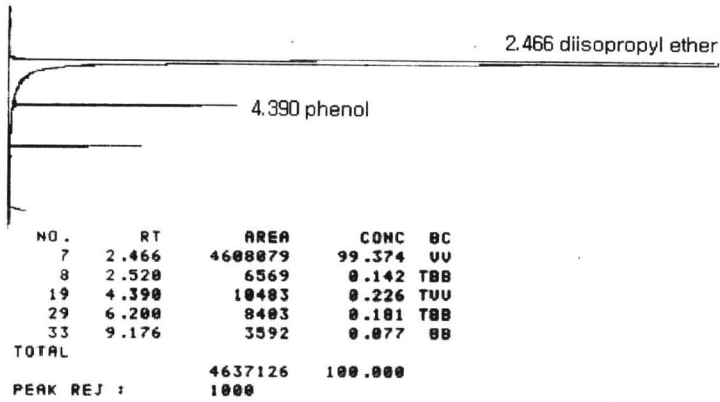


그림 2. 표준물이 첨가되지 않은 정상인 요(Addition 0).

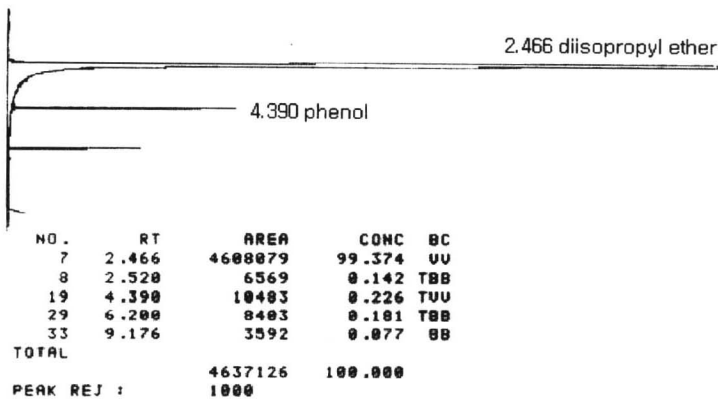


그림 3. phenol 50 mg/l 의 표준물 첨가노(Addition 1).

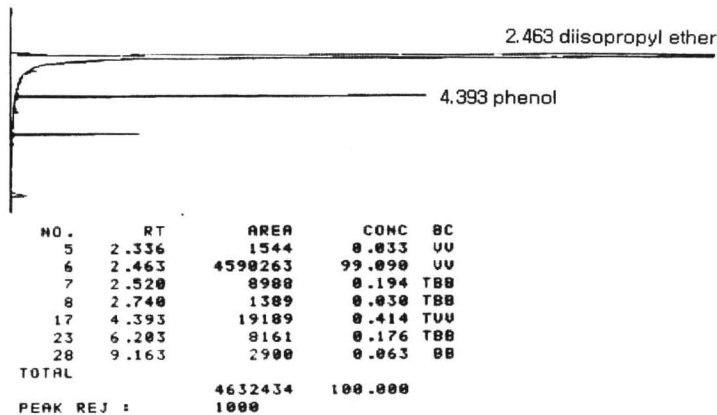


그림 4. phenol 100mg/l 의 표준물 첨가노(Addition 2).

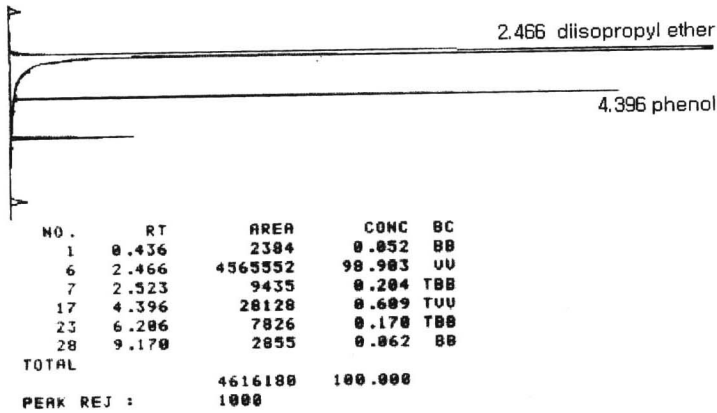


그림 5. phenol 150mg/l 의 표준물 첨가노(Addition 3).

용액을 첨가한 후 계산한 회수율은 평균 87.2%였고, 변이계수는 2.03%로 안정된 결과를 보였다(표 4). 정상인의 요중 총페놀 농도는 표준검량곡선에 의한 결과 11.1mg/l 였으며, 표준물 첨가법에 의한 페놀 농도는 11.7 mg/l 였다.

표 4. 액체-액체 추출법에 의한 표준용액 및 표준물 첨가노 분석결과

	conc.(mg/l)	Standard solution(area)	Standard addition(area)	Recovery(%)
STD 1	0	0	2213	
STD 2	50	9477	10483	84.9
STD 3	100	20072	19189	87.5
STD 4	150	28685	28128	89.2
				87.2±1.77 (C.V. = 2.03%)
		Y=193.3X+61.0(r=0.9993) Y=172.9X+2035.6(r=0.9998)		

AIHA(1988)의 Quality assurance manual for industrial hygiene chemistry에 의한 검출한계값은 5.23 mg/l 였다(표 5).

표 5. 용매추출에 의한 페놀의 검출한계

측정회수	농도(mg/l)	Area
1	100	19125
2	100	19891
3	100	19243
Mean ± SD		19420 ± 337
Standard calibration curve	Y=193.3X+61.0(r=0.9993)	
LOD*	5.23	

LOD* = 3S/b(S : standard deviation b: slope, AIHA, 1988)

액체-액체 추출법은 강산과 수욕조에서의 가수분해로 인해 phenyl glucuronide 및 phenyl sulphate가 유리페놀이 되도록 한 후 분석이 행해지므로 총페놀을 정량할 수 있는 방법으로 적당하다고 생각된다.

4. 결 론

요중 총페놀 분석법으로 유기용매에 의한 액체-액체 추출법은 정상인치도 정확한 미량 정량분석이 가능하다. 이때 분석의 검출한계는 5.23 mg/l 였으며, 표준용액에 의한 검량곡선의 방정식은 $Y=193.3X+61.0$ ($r=0.9993$), 표준물 첨가법에 의한 검량곡선의 방정식은 $Y=172.9X+2035.6$ ($r=0.9998$)였다. 각각의 검량곡선에 의한 정상인의 요중 총페놀 농도는 11.1 mg/l , 11.7 mg/l 로 차이가 없는 것으로 나타나, 굳이 표준물 첨가법에 의한 검량곡선을 작성할 필요가 없는 것으로 나타났다.

5. 참고문헌

1. 정규철. 산업중독편람. 신광출판사. 1995.
2. 특수건강진단기술협의회, 작업환경측정기술협의회. 유기용제건강진단의 길잡이. 1995. 268-276
3. ACGIH. TLVs and BEIs. 1996.
4. ACGIH. Documentation of TLVs and BEIs. 1991.
5. AIHA. Quality assurance manual for industrial hygiene chemistry. 1988. the Analytical Chemistry Committee of the American Industrial Hygiene Association.
6. Baselt RC. Biological Monitoring Methods for Industrial Chemicals. Biomedical Publications, USA. 1980: 37-42
7. International Sorbent Technology Ltd-3010 1996
8. International Sorbent Technology Ltd-3011 1996
9. Lauwerys RR, Hoet P. Industrial chemical exposure-Guidelines for biological monitoring. Lewis publishers Florida. 1993. 108-116, 240-242.
10. Ogata M, Taguchi T. Significance of urinary phenyl sulphate and phenyl glucuronide as indices of exposure to phenol. Int Arch Occup Environ Health. 1986: 58: 197-202
11. Ogata M, Taguchi T. Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated high performance liquid chromatography. Int Arch Occup Environ Health. 1988: 61: 131-140