

KOSHA GUIDE

H - 166 - 2021

메틸부틸케톤의 생물학적 노출지표 물질
분석에 관한 기술지침

2021. 10.

한국산업안전보건공단

안전보건기술지침의 개요

○ 제정자: 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 박정근

○ 제정 경과

- 2015년 9월 산업의학분야 제정위원회 심의(제정)
- 2021년 8월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(법령 및 규격 최신화)

○ 관련규격 및 자료

- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 근로자 건강진단 실무지침: 제1권 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349
- 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 II: 디메틸포름아미드 등 유기용제 13종. 보건분야-연구자료 연구원 2010-65-881. 2010

○ 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 특수건강진단 개요. 2020-산업안전보건연구원-349

○ 기술지침의 적용 및 문의

- 이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지(www.kosha.or.kr)의 안전보건기술지침 소관분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.
- 동 지침 내에서 인용된 관련규격 및 자료, 법규 등에 관하여 최근 개정본이 있을 경우에는 해당 개정본의 내용을 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2021년 10월

제정자 : 한국산업안전보건공단 이사장

메틸부틸케톤의 생물학적 노출지표 물질 분석에 관한 기술지침

1. 목 적

이 지침은 산업안전보건법(이하 “법”이라고 한다) 제130조(특수건강진단) 및 같은 법 시행규칙(이하 “시행규칙”이라고 한다) 제206조(특수건강진단 등의 검사항목 및 실시방법 등) 별표 24, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 메틸부틸케톤에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 생물학적 노출지표 물질의 분석 방법을 제시함을 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 지침은 법, 시행규칙 및 고용노동부고시에 따라 실시하는 근로자 건강진단 중 메틸부틸케톤에 노출되는 근로자의 생물학적 노출평가에 적용한다. 다만, 메틸부틸케톤의 생물학적 노출평가 지표물질인 2,5-헥산디온은 n-헥산의 지표물질로도 규정되어 있어, 메틸부틸케톤에 단독으로 노출된 경우에 한하여 지표물질 분석결과를 반영한다.

3. 정 의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

- (가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료로부터 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물이나 생화학적 변화산물 등을 분석하여 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도나 건강영향 가능성 등을 평가하는 것을 말한다.
- (나) “생물학적 노출지표 물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 체내 흡수정도를 반영하는 물질로서 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.

- (다) “정밀도(Precision)”란 일정한 물질에 대하여 반복측정·분석을 했을 때 나타나는 자료분석치의 변동크기가 얼마나 되는가를 나타낸다. 이 경우 같은 조건에서 측정했을 때 일어나는 우연오차(Random error)에 의한 분산(Dispersion)의 정도를 측정값의 변이계수(Coefficient of variation)로 표시한다.
- (라) “정확도(Accuracy)”란 분석치가 참값에 얼마나 접근하였는지를 수치로 표현한 것이다. 다만, 인증표준물질이 있는 경우는 상대오차로 표시하고, 인증표준물질이 없는 경우는 시료에 첨가한 값으로부터 구한 평균회수율로 표시한다.
- (마) “검출한계(Limit of detection: LOD)”란 공시료 신호값(Blank signal, background signal)과 통계적으로 유의하게 다른 신호값(Signal)을 나타낼 수 있는 최소의 농도를 말한다. 이 경우 가장 널리 사용하는 공시료 신호값과의 차이가 공시료 신호값 표준편차의 3배인 경우로 한다.
- (2) 그밖에 용어의 뜻은 이 지침에서 특별히 규정하는 경우를 제외하고는 산업안전보건법, 같은 법 시행령, 같은 법 시행규칙 및 「산업안전보건기준에 관한 규칙」에서 정하는 바에 따른다.

4. 분석장비

분석장비는 가스크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Gas chromatograph-flame ionization detector, GC-FID)를 사용한다.

5. 분석방법

(1) 분석 원리

메틸부틸케톤은 주로 호흡기를 통해 흡수되며 피부로도 흡수될 수 있다. 체내에 흡수된 메틸부틸케톤 중 15% 이하가 2,5-헥산디온으로 대사되어 소변 중으로 배설되므로 소변 중 2,5-헥산디온을 가수분해하고 유기용제로 추출하여 가스크로마토그래프 불꽃이온화검출기로 분석한다.

(2) 시료의 채취

(가) 시료 채취 시기

소변 시료는 당일 작업종료 2 시간 전부터 작업종료 사이에 채취한다.

(나) 시료 채취 요령

- ① 채취 용기는 밀봉이 가능한 용기를 사용하고, 시료는 10 mL 이상 채취한다.
- ② 채취한 시료는 시료 채취 용기에 밀봉하여 채취 후 5일 이전에 분석하며 4 °C(2~8 °C)에서 보관한다. 단, 분석까지 보관 기간이 5일 이상 걸리는 경우에는 시료를 저온바이알에 옮겨 -20 °C 이하에서 보관한다.

(3) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 용량플라스크 50, 100 mL
- ② 피펫 1, 2, 3, 4, 5 mL
- ③ 테플론막 마개 유리시험관 5 mL
- ④ 가스크로마토그래피용 바이알 2 mL
- ⑤ 파스퇴르 피펫
- ⑥ 원심분리기
- ⑦ 항온수조(Water bath)

(나) 시약

- ① 2,5-헥산디온
- ② 사이클로헥사논(내부표준물질)
- ③ 진한 염산
- ④ 클로로포름
- ⑤ 탈이온수(18 MΩ/cm 이상)

(4) 시약 조제

(가) 회석용 소변

메틸부틸케톤에 노출되지 않은 정상인 소변을 채취하여 냉동고에 보관한다. 냉동한 소변을 상온에서 녹이고, 여과지를 사용하여 여과한 후 여액을 표준용액 조제를 위한 회석용 소변으로 사용한다. 사용 이전에 미리 소변을 분석하여 소변 중 2,5-헥산디온이 없는 것을 확인한다.

(나) 표준용액

- ① 2,5-헥산디온 1 mL를 100 mL 용량플라스크에 넣어 탈이온수로 표선을 채워 95 mg/L의 표준용액을 만든다. 이를 표준원액으로 한다.
- ② 위 표준원액 1 mL를 100 mL 용량플라스크에 넣어 회석용 소변으로 표선을 채워 95 mg/L의 표준용액을 만든다.
- ③ 표준용액을 0.5, 1, 2, 3, 4 mL를 취하여 50 mL 용량플라스크에 옮기고 회석용 소변으로 표선을 채워 0.95, 1.90, 3.80, 5.70, 7.60 mg/L의 검량선용 표준용액을 만든다. 회석용 소변을 공시료로 한다.

(5) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 표준용액 및 시료를 각각 1 mL씩 취하여 시험관에 옮긴다.

(나) 진한 염산 0.1 mL를 가하고 100 °C에서 30분간 가열한 후 식힌다.

(다) 내부표준물질인 사이클로헥사논이 10 mg/L 농도로 첨가된 클로로포름 1 mL를 가하여 30초 이상 모든 시료를 동일한 시간 동안 흔들어 추출하고 2000 rpm 이상에서 8분 이상 원심분리하여 유기용제와 수층을 분리한다.

(라) 위층의 수층과 경계면의 찌꺼기를 파스퇴르 피펫으로 제거한 후 새 파스퇴르 피펫으로 남은 클로로포름층을 취하여 GC용 바이알에 옮겨 분석한다.

(6) 가스크로마토그래프 분석 조건

(가) 컬럼: DB-1 60 m × 0.25 mm, 1 μm 막 두께의 컬럼,
또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼

(나) 온도조건: 오븐 50 °C(1min) → 20 °C/min → 120 °C(10min) →
40 °C/min → 220 °C(1min)

주입구 250 °C

검출기(FID) 250 °C

(다) 컬럼 유속: 2 mL/min

(라) 분할주입비율: 1/10

(마) 검출기: 불꽃이온화검출기

(7) 분석 결과 크로마토그램

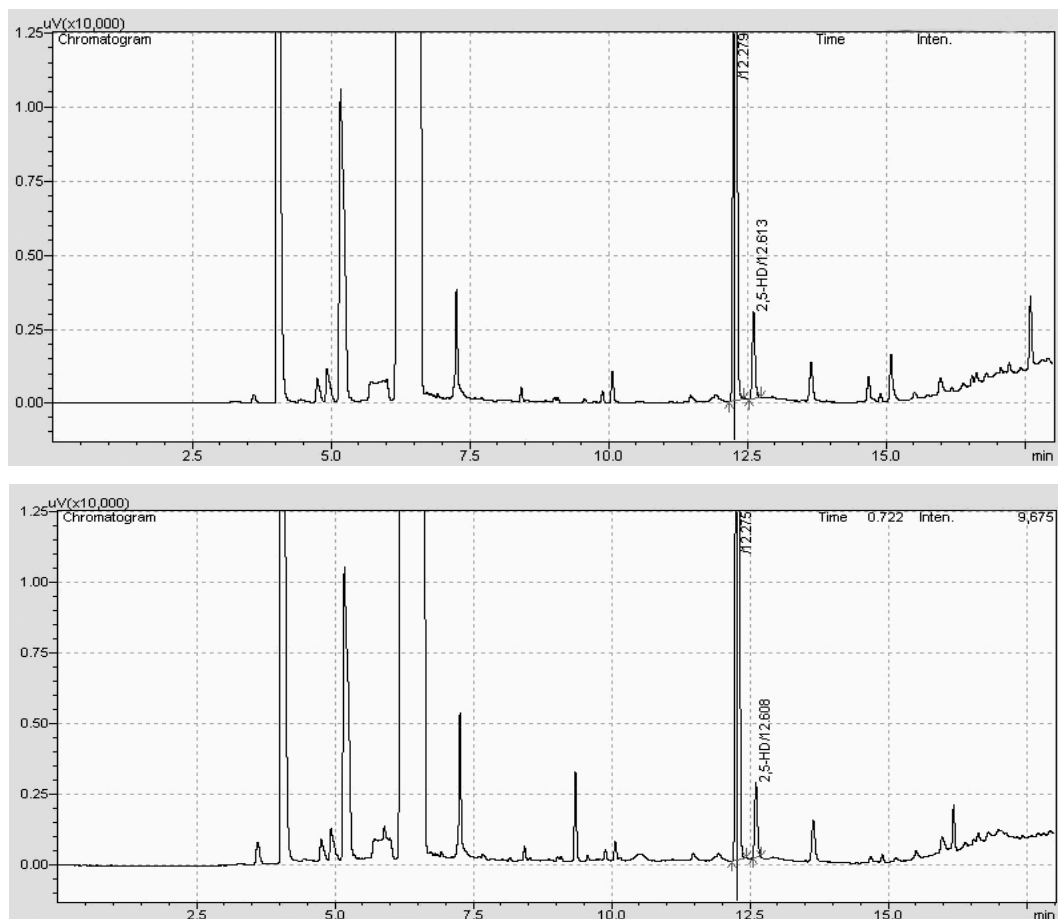


그림 1. 2,5-헥산디온(2,5-HD)의 GC-FID 크로마토그램

(위: 5.70 mg/L의 2,5-헥산디온 표준용액

아래: 4.75 mg/L의 2,5-헥산디온을 첨가한 소변시료)

(8) 농도 계산

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 2,5-헥산디온 농도를 구한 후 크레아티닌으로 보정하여(mg/g크레아티닌) 메틸부틸케톤의 생물학적 노출평가 결과값을 계산한다.

(9) 생물학적 노출평가 기준

(가) 기준값: 소변 중 2,5-헥산디온 5 mg/g크레아티닌

(나) 소변 중 크레아티닌 농도

소변 중 생물학적 노출평가 지표물질 보정에 사용하는 크레아티닌 농도는 0.3 ~ 3.4 g/L 범위이며, 크레아티닌 농도가 이 범위를 벗어난 소변은 비정상적으로 간주하여 다시 채취한다.

(10) 정밀도(예)

	농도(mg/L)	변이계수*
1	2.9	3.2
2	4.8	2.3
3	7.6	0.5

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함

(11) 정확도(예)

	농도(mg/L)	회수율*
1	2.9	101
2	4.8	99
3	7.6	101

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함

(12) 검출한계

(가) 검출한계

예) 소변 중 2,5-헥산디온 0.3 mg/L

(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