

KOSHA GUIDE

H - 14 - 2021

디메틸포름아미드의
생물학적노출지표물질 분석에 관한
기술지침

2021. 10.

한국산업안전보건공단

안전보건기술지침의 개요

- 작성자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 정윤경
- 1차 개정자 : 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원 이미영
- 제 · 개정 경과
 - 2011년 6월 KOSHA Guide 산업의학분야 제정위원회 심의(제정)
 - 2017년 6월 KOSHA Guide 산업의학분야 제정위원회 심의(1차 개정)
 - 2021년 8월 산업의학분야 표준제정위원회 심의(법령 및 규격 최신화)
- 관련규격 및 자료
 - American Conference of Governmental Industrial Hygienists(ACGIH): Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Ed
 - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 생물학적 노출평가 기준 및 분석방법 연구 II: 디메틸포름아미드 등 유기용제 13종. 보건분야-연구자료 연구원 2010-65-881. 2010
 - 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원. 근로자 건강진단 실무지침: 제1권 특수건강진단의 개요. 2020-산업안전보건연구원-349. 2020
- 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. 2020
- 기술지침의 적용 및 문의

이 기술지침에 대한 의견 또는 문의는 한국산업안전보건공단 홈페이지(<http://kosha.or.kr>) 안전보건기술지침 소관 분야별 문의처 안내를 참고하시기 바랍니다.

공표일자 : 2021년 10월

제 정 자 : 한국산업안전보건공단 이사장

디메틸포름아미드의 생물학적 노출지표물질 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 실시 방법 등) 별표 24, 고용노동부고시 제2020-61호(특수건강진단기관의 정도관리에 관한 고시) 및 고용노동부고시 제2020-60호(근로자 건강진단 실시기준)에 따라 디메틸포름아미드에 노출된 근로자의 생물학적 노출평가와 관련된 생물학적 노출지표물질 분석 방법의 제시를 목적으로 한다.

2. 적용범위

이 지침은 법, 시행규칙 및 고용노동부고시에 따라 실시하는 근로자 건강진단 중 디메틸포름아미드에 노출되는 근로자의 생물학적 노출평가에 적용한다.

3. 정 의

(1) 이 지침에서 사용하는 용어의 뜻은 다음과 같다.

(가) “생물학적 노출평가”란 혈액, 소변 등 생체시료 중 유해물질 자체 또는 유해물질의 대사산물이나 생화학적 변화산물 분석값을 이용한, 유해물질 노출에 의한 체내 흡수정도나 건강영향 가능성 등의 평가를 의미한다.

(나) “생물학적 노출지표물질”이란 생물학적 노출평가를 실시함에 있어 생체 흡수정도를 반영하는 물질로 유해물질 자체나 그 대사산물, 생화학적 변화물 등을 말한다.

(다) “생물학적 노출기준값”이란 일주일에 40시간 작업하는 근로자가 고용노동부고시에서 제시하는 작업환경 노출기준 정도의 수준에 노출될 때 혈액 및 소변 중에서 검출되는 생물학적 노출지표물질의 값이다.

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

4. 분석개요

소변 중 엔메틸포름아미드를 분석하며, 분석장비는 기체크로마토그래프-질소인검출기(Gas chromatograph - nitrogen phosphorous detector, GC-NPD), 기체크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Gas chromatograph - flame ionization detector, GC-FID)를 사용한다.

5. 분석방법

5.1 소변 중 엔메틸포름아미드(N-Methylformamide, NMF)

5.1.1 분석원리 및 시료채취

(1) 분석원리

디메틸포름아미드는 소변을 통해서 극히 일부(0.5%)가 디메틸포름아미드로 배설되고 22% 정도가 엔메틸포름아미드(N-methylformamide, NMF)로 배설된다. 소변

중 NMF는 디메틸포름아미드 노출에 대한 특이성이 크므로 이를 질소화합물에 대한 선택성이 높고 검출 감도가 높은 기체크로마토그래프-질소인검출기로 분석하거나 일반적으로 사용하는 기체크로마토그래프-불꽃이온화검출기로 분석한다.

(2) 시료의 채취

(가) 시료채취 시기

소변 시료는 당일 작업종료 2시간 전부터 작업종료 사이에 채취한다.

(나) 시료채취 요령

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

5.1.2 기체크로마토그래피 질소인검출법

(1) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 자동 피펫 100 - 1000 μ L, 눈금피펫 5 mL 1 개
- ② 용량플라스크 10 mL 7 개
- ③ GC용 바이알
- ④ 원심분리시험관
- ⑤ 파스퇴르피펫
- ⑥ 원심분리기

(나) 시약

- ① 엔메틸포름아미드(NMF)
- ② 메탄올(HPLC용)
- ③ 탈이온수(18 M Ω /cm 이상)

(2) 시약 조제

(가) 표준용액 조제를 위한 희석용 소변

디메틸포름아미드에 노출되지 않은 정상인 소변을 채취하여 냉동 보관한다. 냉동한 소변을 상온에서 녹이고, 여과지를 사용하여 여과한 후, 여액을 표준용액 조제를 위한 희석용 소변으로 사용한다. 단, 사용 이전에 미리 소변을 분석하여 소변 중 NMF가 없는 것을 확인한 소변을 표준용액 조제에 사용한다.

(나) 표준용액

- ① 무게를 아는 10 mL 용량플라스크에 NMF 표준시약 100 μ L를 넣고 무게를 잰다. 잰 무게에서 용량플라스크의 무게를 빼어 NMF의 무게를 계산한다. 탈이온수로 용량플라스크의 표선을 채워 약 9,500 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다.
- ② 표준용액 원액 100 μ L를 10 mL 용량플라스크에서 넣고 희석용 소변으로 표선을 채워 95 mg/L의 표준용액을 조제한다.
- ③ 위 표준용액 0.5, 1, 2.5, 3.5, 5 mL를 취하여 10 mL 용량플라스크에서 옮기고 희석용 소변으로 표선을 채워 4.8, 9.5, 23.8, 33.3, 47.5 mg/L의 검량선용 표준용액을 조제한다. 이때 희석용 소변을 공시료로 한다.

(3) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 표준용액 및 시료를 3분간 혈액혼합기에서 잘 섞어준 후, 각각 0.5 mL씩 원심 분리 시험관에 취하고 메탄올 0.5 mL를 가한다.

(나) 시료를 흔들어 섞은 후 원심분리(2000 rpm, 3분)하여 파스퇴르 피펫으로 위층을 취하고 이를 GC용 바이알에 담아 GC에 주입한다.

(4) 기체크로마토그래프 분석 조건

(가) 컬럼 : DB-FFAP(30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m 막 두께)

또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼

(나) 온도조건 : 오븐 140 $^{\circ}$ C

주입구 250 $^{\circ}$ C

검출기 250 °C

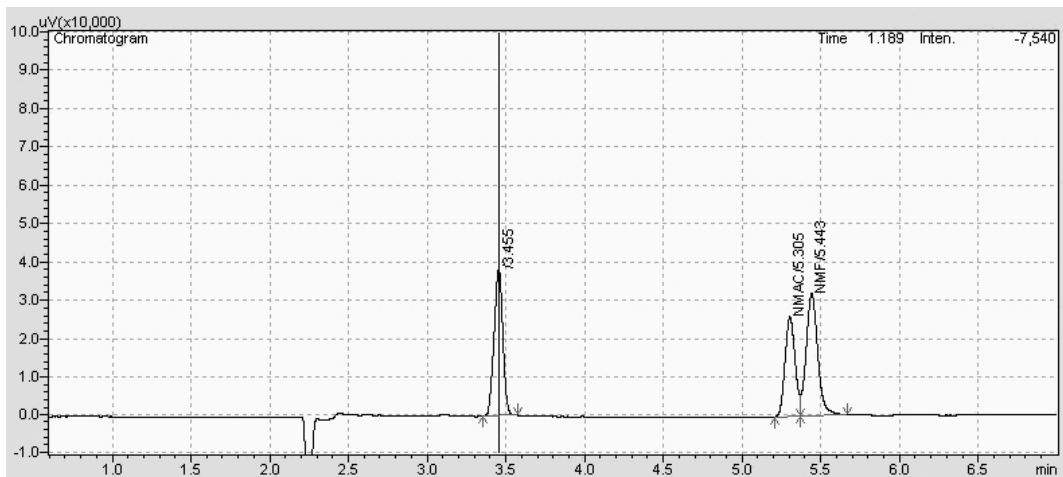
(다) 컬럼 유속 : 1.0 mL/분

(라) 분할주입비율 : 1/10

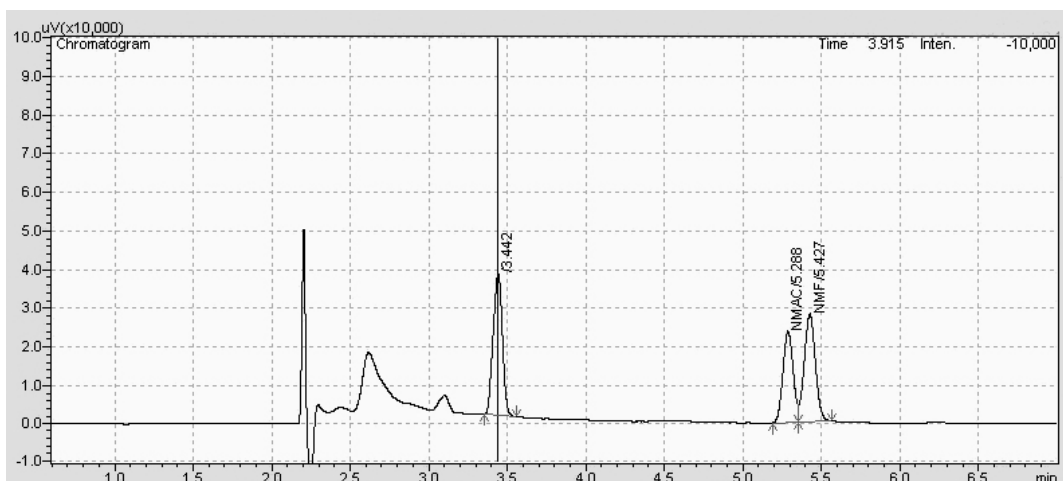
(마) 주입량 : 1 µL

(바) 검출기 : 질소인검출기(NPD)

(5) 분석 결과 크로마토그램 예시



[그림 1] NMF 20 mg/L를 첨가한 표준용액의 GC-NPD 크로마토그램



[그림 2] NMF 15 mg/L를 첨가한 소변시료의 GC-NPD 크로마토그램

(6) 농도계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고 시료의 피크 면적을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y=ax+b$ 의 회귀방정식에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 NMF의 농도(mg/L)를 구한다.

(7) 생물학적 노출기준

- 기준값 : 15 mg/L

(8) 정밀도(예)

	농도(mg/L)	변이계수(%)*
NMF	5.0	2.2
	15.0	2.0
	30.0	4.0

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함.

(9) 정확도(예)

	농도(mg/L)	회수율(%)*
NMF	5.0	103.4
	15.0	100.8
	30.0	99.4

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함.

(10) 검출한계

(가) 검출한계

예) 소변 중 NMF 1.7 mg/L(S/N 비 3)¹⁾

(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

5.1.3 기체크로마토그래피 불꽃이온화검출법

(1) 기구 및 시약

(가) 기구

- ① 자동 피펫 100 - 1000 μ L, 눈금피펫 5 mL 1 개
- ② 용량플라스크 10 mL 7 개
- ③ GC용 바이알
- ④ 원심분리시험관
- ⑤ 파스퇴르피펫
- ⑥ 원심분리기

(나) 시약

- ① 엔메틸포름아미드(NMF)
- ② 메탄올(HPLC용)
- ③ 탈이온수(18 M Ω /cm 이상)

1) 배경 반응값(noise, N)의 3배인 시료 반응값(signal, S)을 나타내는 농도를 검출한계로 함.

(2) 시약 조제

(가) 표준용액 조제를 위한 희석용 소변

디메틸포름아미드에 노출되지 않은 정상인 소변을 채취하여 냉동 보관한다. 냉동한 소변을 상온에서 녹이고, 여과지를 사용하여 여과한 후, 여액을 표준용액 조제를 위한 희석용 소변으로 사용한다. 단, 사용 이전에 미리 소변을 분석하여 소변 중 NMF가 없는 것을 확인한 소변을 표준용액 조제에 사용한다.

(나) 표준용액

- ① 무게를 아는 10 mL 용량플라스크에 NMF 표준시약 100 μ L를 넣고 무게를 잰다. 잰 무게에서 용량플라스크의 무게를 빼어 NMF의 무게를 계산한다. 탈이온수로 용량플라스크의 표선을 채워 약 9,500 mg/L의 표준용액 원액을 조제한다.
- ② 표준용액 원액 100 μ L를 10 mL 용량플라스크에서 넣고 희석용 소변으로 표선을 채워 95 mg/L의 표준용액을 조제한다.
- ③ 위 표준용액 0.5, 1, 2.5, 3.5, 5 mL를 취하여 10 mL 용량플라스크에서 옮기고 희석용 소변으로 표선을 채워 4.8, 9.5, 23.8, 33.3, 47.5 mg/L의 검량선용 표준용액을 조제한다. 이때 희석용 소변을 공시료로 한다.

(3) 시료 및 표준용액 전처리

(가) 표준용액 및 시료를 3분간 혈액혼합기에서 잘 섞어준 후, 각각 0.5 mL씩 원심 분리 시험관에 취하고 메탄올 1 mL를 가한다.

(나) 시료를 흔들어 섞은 후 원심분리(2000 rpm, 3분)하여 파스퇴르 피펫으로 위층을 취하고 이를 GC용 바이알에 담아 GC에 주입한다.

(4) 기체크로마토그래프 분석 조건

(가) 컬럼 : DB-FFAP(30 m \times 0.25 mm ID, 0.25 μ m 막 두께)

또는 이와 동등한 수준으로 분리가 가능한 컬럼

(나) 온도조건 : 오븐 60 $^{\circ}$ C - 20 $^{\circ}$ C/분 - 200 $^{\circ}$ C(1분)

주입구 250 °C

검출기 250 °C

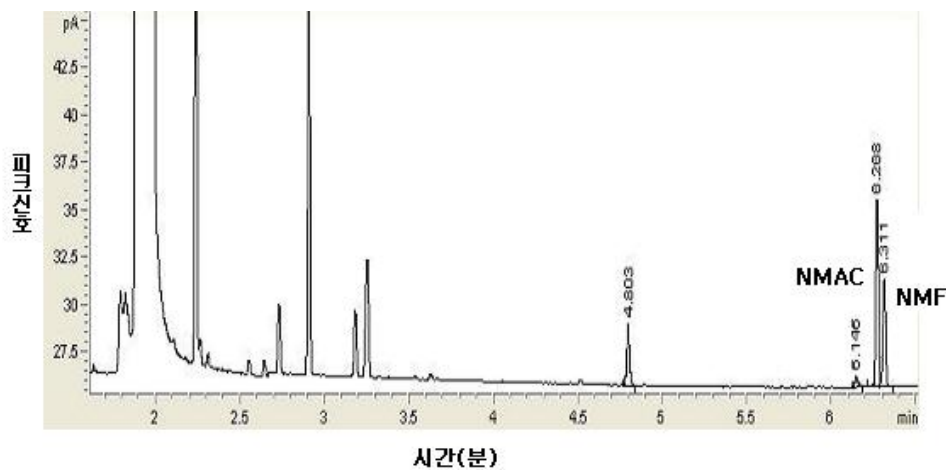
(다) 컬럼 유속 : 1.0 mL/분

(라) 분할주입비율 : 1/10

(마) 주입량 : 3 µL

(바) 검출기 : 불꽃이온화검출기

(5) 분석 결과 크로마토그램 예시



[그림 3] NMF 20 mg/L를 첨가한 소변 시료의 GC-FID 크로마토그램

(6) 농도계산

검량선용 표준용액의 농도를 가로(x)축으로 하고 시료의 피크 면적을 세로(y)축으로 하여 검량선을 작성하고, $y=ax+b$ 의 회귀방정식에 시료의 피크 면적을 대입하여 시료 중 포함된 NMF의 농도(mg/L)를 구한다.

(7) 생물학적 노출기준

- 기준값 : 15 mg/L

(8) 정밀도(예)

	농도(mg/L)	변이계수(%)*
NMF	5.0	2.2
	15.0	2.0
	30.0	4.0

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함.

(9) 정확도(예)

	농도(mg/L)	회수율(%)*
NMF	5.0	103.4
	15.0	100.8
	30.0	99.4

* 같은 농도의 시료를 5개 분석한 결과로부터 구함.

(10) 검출한계

(가) 검출한계

예) 소변 중 NMF 2.2 mg/L(S/N 비 3)²⁾

(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

2) 배경 반응값(noise, N)의 3배인 시료 반응값(signal, S)을 나타내는 농도를 검출한계로 함.