

Validation of urinary N-methylacetamide reference material for proficiency test

Mi-Young Lee[★]

Korea Occupational and Health Agency, Industrial Safety and Health Research Institute, Ulsan 681-230, Korea

(Received November 18, 2014; Revised December 8, 2014; Accepted December 8, 2014)

숙련도시험을 위한 소변 중 N-메틸아세트아미드 표준시료 검증

이 미 영[★]

한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원

(2014. 11. 18. 접수, 2014. 12. 8. 수정, 2014. 12. 8. 승인)

Abstract: The author assessed the availability of urine reference material for proficiency test provided for laboratories in occupational health. N-methylacetamide is the biomarker of exposure to N,N-dimethyl acetamide, which was used as the substitute for hepatotoxic N,N-dimethylformamide (DMF). N-methylacetamide (NMAC) urine samples of 3 different levels covering the 0.2~2 times of the exposure limit were tested. Stability test up to 180 days (0, 7, 30, 60, 180 days) at 4 different temperatures (-60, -20, 5, 25 °C) and homogeneity test were performed for these samples. New analytical condition by GC/MSD using SIM mode (m/z 58, 59) and DB-624 column was investigated for better selectivity, sensitivity and resolution. Urinary NMAC samples showed good homogeneity for 3 levels. These samples also showed good stability up to 180 days. The data of stability and homogeneity of urinary DMAC confirmed the basis of including this item into Korean proficiency test for occupational health laboratories since 2008.

요 약: 근로자 건강진단 실무지침 상의 필수 검사항목 항목 중, N-메틸아세트아미드의 소변 표준시료를 제조하여 그 신뢰도를 확인하고자 하였다. DB-624 컬럼을 사용한 GC/MSD 분석 방법에 의해 기존 분석 컬럼보다 우수한 분리능과 선택성으로 N-메틸아세트아미드를 분석하였다. -60, -20, 5, 25 °C에서 5-50 mg/L의 농도 범위의 소변 중 N-메틸아세트아미드의 안정성을 6 개월 보관 시점까지 검토한 결과 모든 보관 조건에서 안정하였으며, 각 시료에 대한 균질성 검사 결과도 양호하였다. 이상의 결과로부터 유리형 NMAC를 첨가하는 방법으로 제조한 소변 중 NMAC 표준시료가 분석정도관리용으로 실용화하기에 적합한 균질성과 장기간 보관 시의 안정성을 모두 만족시킴을 확인하였고, 2008년부터 분석정도관리 표준시료로 활용하였다.

Key words: reference material, urinary N-methylacetamide, proficiency test, biological monitoring

[★] Corresponding author

Phone : +82-(0)52-703-0873 Fax : +82-(0)52-703-0335

E-mail : cookmom@kosha.or.kr

1. 서 론

표준물질(RM, reference material)은 “측정기기의 교정, 측정방법의 평가 또는 물질의 특성치를 결정하는데 기준으로 사용하는 것으로, 하나 이상의 특성치가 충분히 확정되어 있는 균질한 소재 또는 물질”로 정의된다.^{1,2} 표준물질의 정규적인 사용은 유효하고 신뢰할 수 있는 측정의 기초가 되며, 부정확한 측정에 뒤따르는 비용과 위험을 절감하게 해준다. 실험실적으로는 ISO/IEC 17025 [General requirements for the competence of testing and calibration laboratories], 시험 및 교정 기관의 자격에 대해 일반 요구사항³에서 표준물질의 사용에 대해 여러 번 언급되고 있다.³ 현대 세계에서는 다른 국가, 다른 실험실에서 나온 측정결과를 서로 비교할 수 있어야 하고 그 기초로 표준물질의 중요성이 점차 강조되어 왔다. 산업과 과학 분야에서 표준물질의 중요성은 점점 높아지고 있으며, 국내에서도 환경, 재료 분야에서 숙련도 시험을 위한 표준시료 개발 및 적용에 대한 연구가 이루어진 바 있다.^{4,5}

불확도가 작은 표준물질일수록 제조하여 검증하는데 많은 시간과 비용이 소요되며, 따라서 가격도 상승한다. 불확도가 작은 1차 표준물질은 측정 불확도 평가, 장비 교정 등에 사용되며 일상적인 내부정도관리와 측정법 확인에는 자체 또는 일상용 표준물질을 사용하는 것이 경제적이다.⁶

지금까지 우리나라의 산업보건 분야 생물학적 모니터링용 표준물질 개발은 1995년에 산업안전보건연구원에서 특수건강진단 분석정도관리를 주관하게 되면서 소변 중 마노산과 혈중 납 표준시료가 시작으로,⁷ 이후 특수건강진단 분석정도관리를 계속하면서 추가 항목들이 개발되었다(Table 1). 그러나 노동부 고시 근로자건강진단 실무지침에 제시된 필수 노출지표물질은 유기화합물 8종 9항목, 금속류 3종 3항목, 가스상 물질류 1종 2항목으로 모두 12종 14항목이 규정되어 있고 선택지표물질이 금속류 8종 11항목, 유

기화합물 17종 18항목, 산 및 알칼리류 2종 2항목, 가스류 1종 1항목 등 28종 32항목이 규정되어 있는 것과 비교하면⁸ 아직 많은 분석 항목에 대한 표준물질이 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 근로자건강진단 실무지침에 제시된 생물학적 노출지표검사 항목이면서 아직 표준물질이 개발되지 않은 항목에 대한 표준물질을 개발하고자 하였다. 특히, 필수 노출지표물질이면서 아직 표준물질이 개발되어 있지 않은 N,N-디메틸아세트아미드(N,N-dimethyl acetamide, 이하 DMAC)의 노출지표인 소변 중 N-메틸아세트아미드(N-methyl acetamide, 이하 NMAC)를 선정하여 개발을 진행하였다. 개발한 표준물질은 실험실간 비교를 통한 외부정도관리 및 실험실의 일상적인 분석시 내부정도관리를 위해 사용되는 것을 목적으로 하였다. 이 시료는 자체 또는 일상용 표준물질(In-house or working reference material)에 해당하며, 정확한 불확도 계산과 기준값 설정보다는 균질성과 안정성 입증에 중점이 주어진다.

본 연구에서는 근로자 건강진단 실무지침 상의 필수 검사항목 항목 중, 아직 국내 표준시료가 개발되어 있지 않아 시료 분석의 정확도를 확인하지 못하고 있는 항목인 N-메틸아세트아미드의 소변 표준시료를 자체 개발하고자 하였다. N-메틸아세트아미드를 포함한 표준시료를 제조하고, 이 시료가 정도관리에 사용하기에 적합한 안정성과 균질성을 가지고 있음을 증명하는 것이 본 연구의 목적이다. 개발한 N-메틸아세트아미드의 소변 표준시료를 향후 국내 특수검진기관 분석정도관리에 응용함으로써 이 항목에 대한 국내 산업보건 관련 분석실험실의 분석 숙련도를 향상시키는 데 기여하고자 하였다.

2. 연구방법

2.1. 표준시료 제조

직업적으로 N,N-디메틸아세트아미드를 비롯한 유해

Table 1. History of reference material development for biological monitoring by OSHRI

Year	Organic item	Inorganic item
1995	Hippuric acid in urine	Lead in blood
1996	Mandelic acid in urine Methylhippuric acid in urine	Cadmium in blood
1997	Phenylglyoxylic acid in urine	Manganese in blood
1999	N-methylformamide in urine	Mercury in urine
2000	Trichloroacetic acid and trichloroethanol in urine	-
2003	Muconic acid in urine	-
2004	2,5-hexanedione in urine	Cadmium in urine

Table 2. Planning of new reference sample

Chemical	Biological marker	Biological exposure index	Target concentration
N-methylacetamide in urine	N-methylacetamide in urine	30 mg/g creatinine	5 mg/L 20 mg/L 50 mg/L

*The unit of practical guide for workers' health examination is described as mg/g creatinine. Target concentration is based on the assumption that creatinine concentration is 1 g/L.

화학물질에 노출되지 않는 일반 사무직종의 근로자의 소변으로부터 균질한 소변 풀(pool)을 기존에 확립되어 있는 방법에 따라^{7,9} 준비하고, 여기에 유리형 지표 물질 N-메틸아세트아미드(NMAC)를 첨가하여 표준시료를 제조하였다. 정량 분석에 대한 방해물질 영향을 검토하기 위하여 N,N-디메틸포름아미드의 대사 산물인 N-메틸포름아미드(NMF)도 함께 첨가하였다.

균질성 시험을 위해 시료를 소분할 시료용기의 부피는 이후에 실제로 표준물질로 사용하기 위한 시료용기의 부피보다 커서는 안된다.^{10,11} 국내 특수건강진단 분석정도관리에 적용시 사용하는 시료용기의 부피가 1.8 mL임을 고려하여, 여기서는 부피 1.2 mL의 용기를 사용하였다.

고용노동부 고시 근로자건강진단 실무지침을 참조하여, 생물학적 노출지표 노출기준값의 0.2-2 배 범위에서 첨가량을 결정하였다(Table 2).

2.1.1. 표준 시료 제조를 위한 소변 전처리

직업적으로 N,N-디메틸아세트아미드에 노출되지 않은 근로자의 소변 1 L에 sodium azide를 1 g 가하여 sodium azide의 농도가 0.1%가 되도록 하였다. 소변에 초산을 가하여 pH를 5.5로 조정 후 초저온 냉동고에 보관하였다. 얼린 소변을 해동하여 8 µm 여과지(Whatman grade 2V, 미국)를 통과시켜 침전물을 제거한 후 다시 초저온 냉동고에 보관하였다. 이를 다시 해동하여 여과하는 과정을 2번 더 반복한 후, 이 소변을 0.45 µm membrane filter로 여과한 여액을 이용하여 표준 시료를 제조하였다.

2.1.2. 소변 중 NMAC 및 NMF

NMAC 약 260 µL와 NMF 약 140 µL를 취하여 10 mL 용량플라스크에 옮기고 정확한 질량을 측정 후 탈이온수로 표선을 채워 NMAC 및 NMF 표준용액 원액을 만들었다. 이 용액을 소변 풀(blank urine) 120 mL에 0.24 mL 가하여 NMAC와 NMF가 각각 약 50 mg/L, 25 mg/L 수준으로 첨가된 소변 풀을 제조하

였다(Table 2). Blank urine과 spiked urine을 혼합하여 NMAC와 NMF가 첨가된 소변시료를 각각 80 mL씩 제조하였다.

2.2. 표준시료 검증

2.2.1. 균질성 시험

소분 단위간 변이(between-unit variation)와 분석법 변이(analytical method variation) 사이에 통계적으로 유의한 차이가 없다면 각 소분 단위간에 균질하다고 판단할 수 있다.^{10,11} 본 연구에서는 10 개 바이알을 취하여 2 회씩 반복 분석하고 95% 신뢰수준에서 균질성을 평가하였다

2.2.2. 안정성 시험

보관 온도와 기간에 따른 안정성을 평가하기 위하여 제조한 표준시료를 25 °C, 5 °C, -20 °C, -60 °C에서 각각 총 180 일간 보관하면서 제조 직후의 시료의 분석값과 7, 30, 90, 180일 경과 후 시료의 분석값을 비교하였다. 본 연구에서는 조건 당 3 개 시료를 취하여 분석하고 95% 신뢰수준에서 안정성을 평가하였다.

2.3. 분석 방법

2.3.1. 시약 및 장비

지표물질을 첨가할 균질한 바탕(blank) 소변 풀(pool)은 기존에 확립되어 있는 방법에 따라 준비하였다(양정선, 1995). 제조된 시료는 Simport사(캐나다)의 sterile cryovial에 소분하여 보관하였다.

N-메틸아세트아미드 표준시약(99+%, mp 27 °C, d 0.957), N-메틸포름아미드 표준시약(99%, mp -40 °C, d 1.011)은 Aldrich사(미국)의 특급시약을 사용하였고, 시료 전처리용 메탄올은 Merck사(미국)의 크로마토그라피급 용매를 사용하였다. 탈이온수는 Millipore사(미국)의 Milli-RO와 Milli-Q water system으로 실험실에서 제조하여 사용하였다.

시료 희석 및 여과를 위해 cluster tube(Corning사, 미국), 96-well 여과장치(Varian사, 미국)를 사용하였으

며, 여과용 filter plate는 0.45 μm 규격이었다. 시약 이동 및 시료 혼합에는 8-channel pipette(Vistalab사, 미국)을 사용하였다. 시료 분석용 바이알에 conical insert (Agilent사, 미국)을 삽입하여 소량의 시료를 GC에 주입하도록 하였다.

분석에 사용한 장비는 Hewlett-Packard사(미국)의 6890 Series GC/HP-5973 가스크로마토그래프-질량분석검출기이며, 시료의 분석을 위해 HP-INNOWAX 컬럼(길이 60 m, 내경 0.32 mm, 막두께 0.15 μm) 및 J&W Scientific Inc.사(미국)의 DB-624 컬럼(길이 60 m, 내경 0.25 mm, 막두께 1.40 μm)을 사용하였다. 이동상은 99.9999%의 초고순도 헬륨을 사용하였다.

2.3.2. 표준용액 제조

NMAC 약 30 mg과 NMF 약 30 mg을 정밀하게 칭량하여 10 mL 용량플라스크에 넣은 후 탈이온수로 표선을 채워 NMAC 약 3000 mg/L, NMF 약 3000 mg/L 표준용액을 만들고 이것을 표준용액 원액으로 하였다.

표준용액 원액 0.5 mL를 취해 20 mL 용량플라스크에 넣고 탈이온수로 표선을 채워 NMAC 약 75 mg/L, NMF 약 75 mg/L 표준용액을 만들었다. 이것을 다시 탈이온수로 1/10, 3/10, 5/10 희석하여 NMAC 및 NMF 약 7.5, 22.5, 37.5 용액을 만들었다. 공시료는 탈이온수로 하였다.

2.3.3. 시료 전처리

표준용액 및 시료를 3분간 잘 섞어준 후 8-channel pipette을 사용하여 cluster tube에 메탄올 450 μL 를 넣고, 시료 50 μL 를 가하였다. 8-channel pipette 혼합 모드를 이용하여 시료를 혼합한 후, 그대로 96-well 필터 카트리지로 이동하였다. 96-Well 여과 장치를 이용하여 시료를 0.45 μm 여과판을 통과시킨 후, GC 시료용 2 mL vial에 conical insert를 넣고 여기에 시료를 옮겨 마개를 하고 GC에 주입하였다.

2.3.4. 분석 조건

GC-MSD에 DB-624 컬럼을 설치하여 NMAC와 NMF를 분석하였다. 주입부와 질량분석기 히터 온도를 250도로 설정하였고, 컬럼 온도는 100 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2분 유지하고 분당 20 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도로 200 $^{\circ}\text{C}$ 까지 상승시킨 후 200 $^{\circ}\text{C}$ 에서 3분 유지하였다. 다시 분당 20 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도로 220 $^{\circ}\text{C}$ 까지 상승시킨 후 220 $^{\circ}\text{C}$ 에서 6분 유지하였다. HP-INNOWAX 컬럼을 사용한 경우는 컬럼 온도를 40 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2분 유지하고 분당 20 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도

로 220 $^{\circ}\text{C}$ 까지 상승시킨 후 다시 3분 유지하였다. 컬럼 유속은 0.9 mL/분으로 일정하게 유지하였다. 검액을 1 μL 주입하였고, 주입 모드는 split 모드에서 split ratio를 100:1로 하였으며, 1 회 분석에 소요된 시간은 17 분이였다. 질량분석 검출기는 SIM(selective ion monitoring) 모드로 설정하였고 NMAC와 NMF로부터 생성된 m/z 58, 59의 fragment ion만을 선택적으로 검출하여 두 성분을 분석하였다.

2.4. 속련도 시험

본 연구 결과의 표준 시료 균질성과 안정성 자료를 근거로 NMAC 표준 시료를 국내 노출 기준인 30±15 mg/L 범위 내 농도로 제조하여 2008년부터 산업안전보건연구원에서 실시하는 특수건강진단 분석정도 관리 신청기관에 배부하여 소변 중 NMAC 분석 속련도 시험을 실시하였다. 적합 범위는 분석 기관의 평균 값을 중심으로 표준 편차의 3 배 이내로 설정하였다.

3. 연구결과

3.1. 분석 조건 설정

소변 중에 공존하는 방해물질에 의한 영향을 배제하고, 성분 검출을 선택적으로 수행하고자 질량분석검출기를 이용하여 소변 중 NMAC를 검출하였다.

컬럼의 온도 구배는 기존의 유기용제 분석용 조건을 적용하여 DB-624 60 m 컬럼을 사용하여 100 $^{\circ}\text{C}$ 에서 220 $^{\circ}\text{C}$ 까지 온도를 상승시키는 조건을 적용하였다. 주입구와 검출기의 온도는 250 $^{\circ}\text{C}$ 로 유지하여 시료가 충분히 기화될 수 있도록 하였다.

GC/MSD 분석 스펙트럼을 Fig. 1에 나타내었다. m/z 30-300 범위에서 scan 방식으로 각 성분의 스펙트럼을

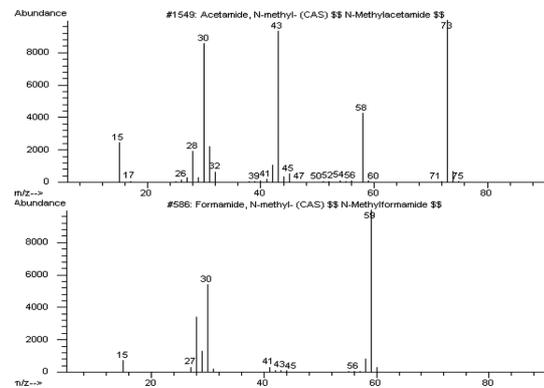


Fig. 1. Mass spectrum of NMAC and NMF.

얻은 후 SIM (selective ion monitoring) 방식으로 각 성분 특이적인 값을 선택하여 분석함으로써 분석 감도를 최대한 높였다. NMF의 분자이온 피크인 m/z 59와 NMAC의 fragment 피크인 m/z 58의 두 값을 검출 대상으로 하였다. NMAC의 분자이온 피크는 m/z 73으로, 이 m/z 값에서 더 고감도로 NMAC가 검출될 것이 기대되었으나, 이 이온 크로마토그램에서는 방해 물질로 인해 안정한 베이스라인을 얻을 수 없어, NMAC에 해당하는 피크만이 선택적으로 검출되는 m/z 58 fragment를 검출 대상으로 하였다.

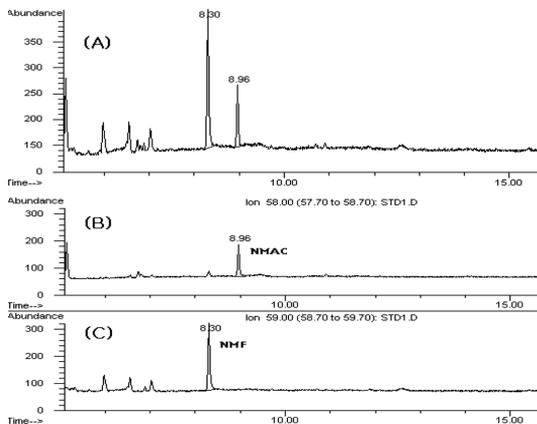


Fig. 2. Mass chromatogram of standard solution. (A) m/z 58, 59, (B) m/z 58, (C) m/z 59 (NMAC 3.4 mg/L, NMF 3.5 mg/L, 1 μ L injection)

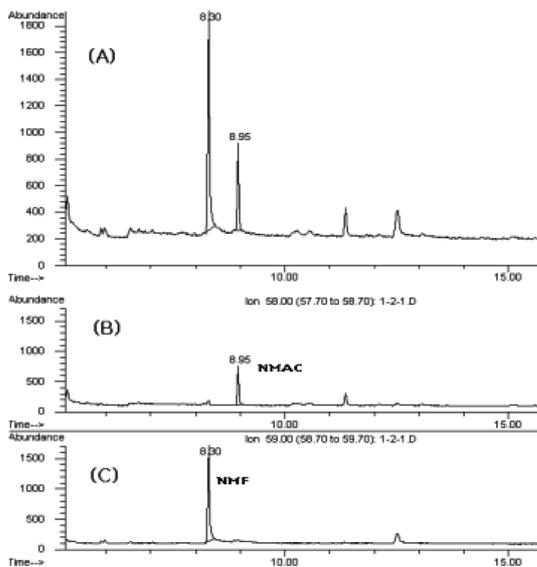


Fig. 3. Mass chromatogram of urine sample. (A) m/z 58, 59, (B) m/z 58, (C) m/z 59

Fig. 2와 Fig. 3에 SIM 방식에 의하여 각 성분의 피크를 나타낸 표준 용액과 소변 표준 시료의 크로마토그램을 실었다. m/z 58, 59를 모두 표시한 SIM 크로마토그램에서는 각 m/z 값에 해당하는 크로마토그램의 baseline이 겹쳐 피크의 구분이 명확하지 않았기 때문에 각 이온 크로마토그램을 따로 표시하여 적절한 결과를 정량에 이용하였다.

질량분석기에 과량의 시료가 유입되어 ion source를 오염시키는 것을 방지하고 소변 시료 중의 수용성 성분을 제거하기 위한 목적으로 소변 시료를 메탄올로 20 배 희석하였고, 메탄올 희석과정에서 생성되거나 이미 존재하는 불용성 성분 및 침전을 제거하기 위하여 0.45 μ m 여과막을 통과시킨 여액을 검액으로 사용하였다. Split ratio는 100:1을 적용하였으며, 분석 감도는 100:1의 split ratio에서도 0.6 mg/L의 NMAC가 검출될 만큼 양호하였다. 표준 용액의 크로마토그램으로부터 noise와 성분 피크의 높이를 측정하여 검출 한계를 구한 결과, S/N비를 3으로 하였을 때의 검출 한계는 0.6 mg/L (1 μ L 중 0.6 ng)이었고, 정량 한계는 S/N비를 10으로 한 경우 2.1 mg/L (1 μ L 중 2.1 ng)이었다. 현재 농도보다 더 미량의 시료를 검출하고자 하는 경우, 희석용 메탄올의 양을 줄여 희석 배율을 줄이거나 split ratio를 줄임으로서 보다 많은 양의 시료가 유입되도록 하면 현재 조건보다 미량의 성분을 검출하는 것이 가능하다.

NMF는 이 연구에서 사용한 분석 조건에서 8.30분에 검출되었고, NMAC는 8.96분에서 검출되어 두 성분의 용리 시간 차이가 0.6분으로, 두 성분의 피크가 뚜렷이 분리되어 HP-INNOWAX 컬럼을 사용한 경우

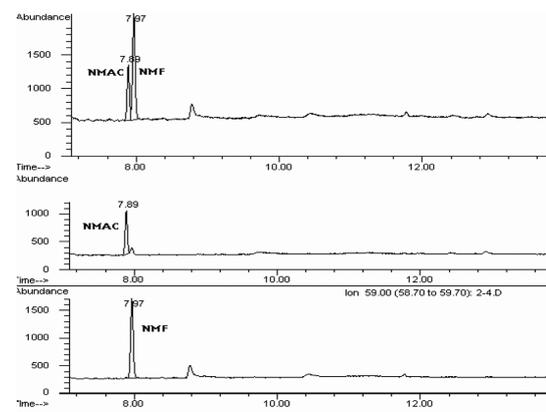


Fig. 4. Mass chromatogram of NMAC and NMF separated in HP-INNOWAX column.

일어날 수 있는 피크의 중복이 전혀 관찰되지 않았다 (Fig. 2, Fig. 4). NMAC 표준용액 3.4-67.5 mg/L 범위에서 표준용액 검량선의 상관계수는 0.9996으로 양호한 직선성을 나타내었다.

독일 국제정도관리 시료 중 NMF의 회수율로부터 구한 소변 중 NMF 분석의 정확도는 3.9-40.9 mg/L의 농도 범위에서 99-112%였다. 소변 중 NMAC는 소변 풀에 NMAC를 첨가한 시료의 회수율로부터 분석의 정확도를 구하였으며, 5-30 mg/L의 농도 범위에서 102-103%의 정확도를 나타내었다.

3.2. 표준시료의 균질성 평가

각 항목에 대해 농도별로 10 개의 시료에 대한 2 회 반복 분석 결과를 이용하여 구한 F값을 기준 F값과 비교하여 균질성을 평가하였다. 시료의 분석값으로부터 산출한 F값이 기준 F값인 3.020보다 작으면 균질하다고 말할 수 있는데, Table 3의 결과로부터, 제조한 3 종의 시료는 모두 균질함을 알 수 있었다. Fig. 5 -Fig. 7에 세 농도의 표준시료 안정성 시험 결과를 나타내었다. 각 분석 결과와 표준값의 차이를 도시하였으며, 참고로 평균값 ±15%의 구분선을 점선으로 표시하였다.

3.3. 표준시료의 안정성 평가

각 항목에 대해 농도별로 3개의 시료에 대한 분석

Table 3. Homogeneity test of NMAC in urine

Item_level	Average (mg/L)	F
NMAC-1	4.99	1.906
NMAC-2	18.9	2.749
NMAC-3	48.8	1.553

*As $F < F\text{-crit } 95\%$, the sample was homogeneous at 95% confidence level($F\text{-crit } 95\% : 3.02$)

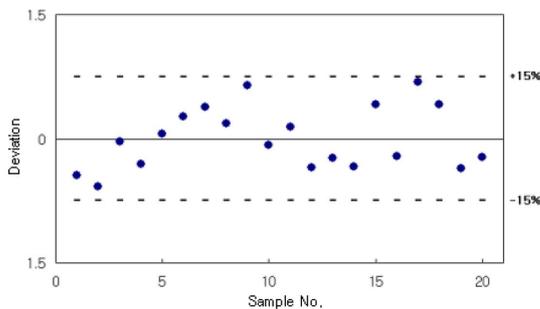


Fig. 5. Homogeneous test of NMAC reference sample 1 (No. of sample:20).

결과로부터 구한 $R_T \pm U_{RT}$ 범위에 1.00 이 포함되면 95% 신뢰수준에서 C_{Tm} 이 C_{refm} 과 유의하게 다르지 않으며, 따라서 주어진 조건 아래 유의한 변화가 없이 안정하다고 볼 수 있다. Fig. 8부터 Fig. 10에 각 농도 범위에서 안정성 시험 결과의 평균값과 표준편차 범위를 도시하였다. 모든 시료가 안정하다고 평가하였으며, Table 4 및 Fig. 8부터 Fig. 10에 나타난 바와 같이 제조한 3 종의 시료는 모두 180일 보관 시점까지 안정하였다. 실제로 특수건강진단 분석정도관리 시료는 우송에 4 일 미만이 소요되며, 각 기관에서는 시료

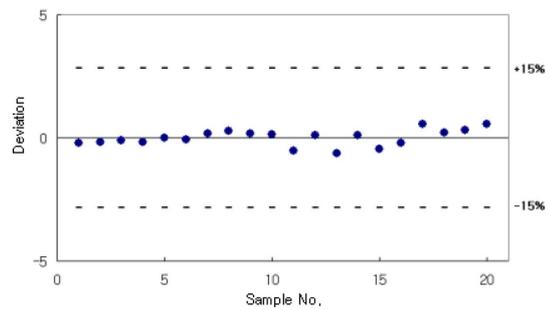


Fig. 6. Homogeneous test of NMAC reference sample 2 (No. of sample:20).

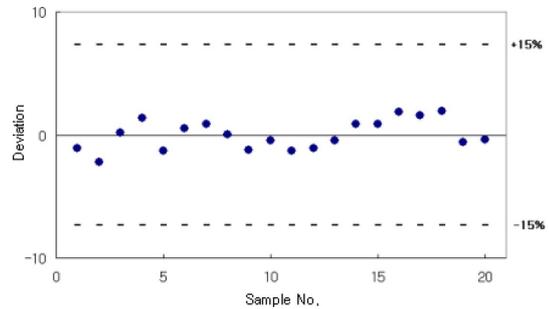


Fig. 7. Homogeneous test of NMAC reference sample 3 (No. of sample:20).

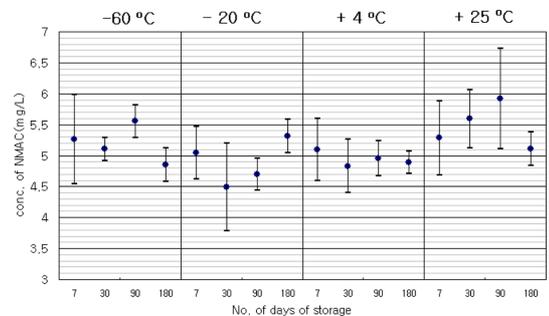


Fig. 8. Stability test of NMAC reference sample 1 (No. of sample:3)

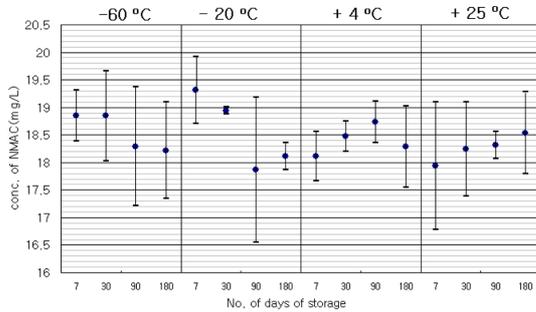


Fig. 9. Stability test of NMAC reference sample 2 (No. of sample:3).

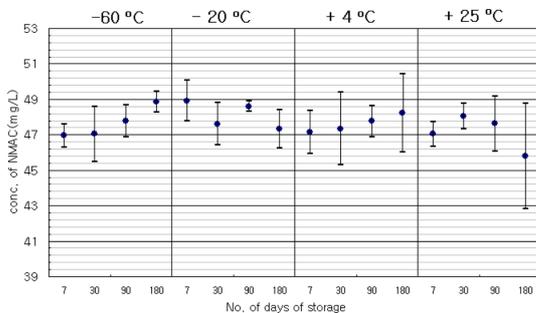


Fig. 10. Stability test of NMAC reference sample 3 (No. of sample:3).

Table 4. Stability test for NMAC in urine

Test condition	Level 1 Range ($R_T \pm U_{RT}$)	Level 2 Range ($R_T \pm U_{RT}$)	Level 3 Range ($R_T \pm U_{RT}$)
25 °C, 7 days	0.84-1.28	0.89-1.04	0.88-1.08
25 °C, 30 days	0.91-1.33	0.92-1.04	0.90-1.11
25 °C, 90 days	0.91-1.46	0.96-1.01	0.89-1.10
25 °C, 180 days	0.85-1.20	0.94-1.05	0.84-1.08
5 °C, 7 days	0.82-1.22	0.94-1.01	0.88-1.09
5 °C, 30 days	0.78-1.15	0.97-1.02	0.88-1.10
5 °C, 90 days	0.82-1.16	0.97-1.04	0.90-1.10
5 °C, 180 days	0.82-1.14	0.93-1.04	0.89-1.12
-20 °C, 7 days	0.82-1.20	0.99-1.09	0.92-1.13
-20 °C, 30 days	0.68-1.12	1.00-1.04	0.89-1.10
-20 °C, 90 days	0.78-1.10	0.87-1.05	0.92-1.12
-20 °C, 180 days	0.88-1.24	0.95-1.00	0.89-1.09
-60 °C, 7 days	0.81-1.30	0.98-1.05	0.88-1.08
-60 °C, 30 days	0.85-1.19	0.96-1.07	0.88-1.09
-60 °C, 90 days	0.93-1.30	0.91-1.06	0.90-1.10
-60 °C, 180 days	0.81-1.14	0.92-1.04	0.92-1.13

를 받으면 즉시 냉장 혹은 냉동 보관하도록 권고하고 있으므로, 이상의 결과는 분석 전까지 시료가 안정성

을 유지한다는 것을 나타내었다.

3.4. 숙련도 시험

2008년 전반기와 후반기 특수건강진단 분석정도관리에 자율 항목으로 NMAC를 추가하여 숙련도 시험을 실시하였다. NMAC 분석을 신청한 기관은 전반기는 9 개소, 후반기는 12 개소였으며, 전반기는 1 개소, 후반기는 2 개소에서 부적합한 결과를 제출하여 각각 89%, 83%의 적합률을 나타내어 이들 기관의 NMAC 분석에 대한 신뢰도를 확인할 수 있었다.

4. 결 론

근로자 건강진단 실무지침에 필수물질로 등재되어 있으나 아직까지 그 생물학적 노출평가를 위한 표준 시료를 국내에서 구할 수 없었던 N,N-디메틸아세트아미드를 생체 시료 표준물질 개발의 우선 대상물질로 선정하였다. N,N-디메틸아세트아미드의 노출 평가를 위한 생물학적 노출지표로서 그 대사 산물인 N-메틸아세트아미드가 지정되어 있어, N-메틸아세트아미드를 첨가하여 생물학적 노출지표 표준시료를 제조하였다. 본 연구에서는 고감도, 고분리능의 N-메틸아세트아미드 분석 방법을 확립하였으며, 시간과 보관 조건의 변화에 대한 안정성과 동일한 시료 간의 균질성을 확인하였다.

향후 국내 산업보건 실험실의 노출 평가 능력을 확인하기 위한 생체 시료 분석정도관리 항목에 소변 중 N-메틸아세트아미드를 추가하여 운영함으로써 본 연구 결과를 특수검진기관 분석정도관리 사업에 활용하였다. 본 연구에서 표준시료로서의 필수 조건을 만족함을 증명한 표준시료는 N,N-디메틸아세트아미드의 생물학적 노출 평가 능력을 증명하고자 하는 실험실의 숙련도 시험을 통해 N-메틸아세트아미드에 대한 분석 능력의 신뢰성 확인 및 향상에 기여하였다.

References

1. ISO Reference materials - General and statistical principles for certification: ISO Guide 35: 2006 : International Organization for Standardization (2006).
2. Korea research institute of standards and science <http://crm.kriss.re.kr/>(2007).
3. ISO General requirements for the competence of testing and calibration laboratories: ISO/IEC 17025: Inter-

- national Organization for Standardization. (1999).
4. H. Lim, J. Ryu, S. Choi, A. Choi, H. Jung, J. Ryu, H. Kim and S. Jang, *Anal. Sci. Technol.*, **22**(5), 369-375 (2009).
 5. C.-H. Jung, D.-W. Park, S.-M. Kim and E.-C. Yu, *Anal. Sci. Technol.*, **22**(1), 82-91 (2009).
 6. EA The selection and use of reference materials: EA-4/14 (rev.00): European co-operation for Accreditation. (2003).
 7. J.-S. Yang, Proficiency test program for biological samples for biological monitoring, Korea safety and health agency (1995).
 8. Practical guide for health examination of workers. Korea safety and health agency. Ministry of labour (2013).
 9. J.-S. Yang, D. H. Sohn, M.-Y. Lee, S.-K. Kang, Preparation method of reference material for analysis of metabolite of organic solvents in urine. Patent No. 165621, Korean Intellectual Property Office (1998).
 10. R. Lawn, P. Roper, G. Holcombe, B. Stuart, Low-cost QC laboratory reference materials - Investigation of cost-effective production procedures: LGC/VAM/2001/009: LGC (2001).
 11. R. Lawn, P. Roper, G. Holcombe and B. Stuart, Application notes for the production of low-cost quality control matrix reference materials: LGC/VAM/2001/010: VAM (2001).