

고성능액체크로마토그래피를 이용한 하이드라진의 분석

대한산업보건협회 산업보건환경연구원 / 홍 좌 령 · 최 호 춘

서론

하이드라진(CAS No. 302-01-2)은 암모니아 냄새의 맑은 무색 액체이다. 또한, 독성이 매우 강하고 불안정하여 자연 발화가 일어날 수 있다. 하이드라진류에는 하이드라진을 포함하여 1,1-dimethylhydrazine, 1,2-dimethylhydrazine과 같이 여러 종류가 있다.

하이드라진은 주로 기포제로 사용되고, 중합반응의 전구물질, 로켓의 추진 연료 등으로 사용되어진다. 또한 비 전극 니켈 도금 공정의 환원제, 우레탄 중합 반응 시의 사슬 확장제, 반응성 폐기물에서 플루토늄 추출 시 환원제 및 보일러의 물에 대한 산소제거제, 기타 여러 발포제(예, isobutyronitrile)의 생산, 약품(예, 항결핵제)의 생산 등에 사용되어 진다(정규철, 1995).

명적일 가능성이 있으며, 급성 노출될 경우는, 코 및 목을 자극하고 일시적으로 실명할 수 있다. 또한 피부와 점막을 몹시 자극하며, 이밖에 경련, 간독성 및 용혈작용을 일으키며 동물에 대한 발암작용이 있다고 보고하였다(NIOSH, 1988).

하이드라진에 대한 인체 발암성 연구에 따르면, 국제암연구소(International agency for research cancer, IARC)에서는 하이드라진을 Group 2B, 인간 발암성 가능 물질(Possibly carcinogenic to humans) 규정하였고, 미국정부산업위생전문가협회(American Conference of Governmental Industrial Hygienist, ACGIH)에서는 하이드라진의 Threshold Limit Value(TLV)를 0.01 ppm으로 설정하고, 동물에게 발암물질 A3로 규정하고 있다(AGGIH, 2010).

하이드라진을 흡입하거나 피부 접촉시 치

우리나라는 하이드라진의 노출기준을

0.05 ppm으로 설정하고 1B, 실험동물에서 발암성 증거가 충분히 있거나, 실험동물과 사람 모두에서 제한된 발암성 증거가 있는 물질로 규정하고 있다(고용노동부, 2010).

따라서 작업장 하이드라진 농도의 정확한 측정과 분석, 그 대책이 절실히 요구되고 있음을 알 수 있다.

현재까지 보고된 하이드라진의 측정 및 분석방법에는 비색법(colorimetric analysis), 분광광도계법(spectrophotometer), 가스크로마토그래피법(gas chromatographic analysis), 고성능액체크로마토그래피법(high performance liquid chromatographic analysis) 등이 있다.

이 중 우리나라에서 가장 많이 사용되고 있는 방법은 미국산업보건연구원(National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH)에서 권고하고 있는 임핀저를 이용하는 분광광도계법이며, KOSHA Code에서도 이 방법을 하이드라진의 주 분석방법으로 제시하고 있다.

이 방법은 액체포집법이어서 매우 불편할 뿐만 아니라 분석시 메틸하이드라진이나 다른 종류의 하이드라진에 의한 간섭현상으로 정확한 결과를 낼 수 없다는 단점이 있다(NIOSH, 1994).

또한, 현재 많은 기관에서 하이드라진을 개인시료 대신 지역시료로 대체하여 실제

하이드라진에 노출되는 작업자의 정확한 노출량을 평가할 수 없는 실정이다.

하이드라진을 사용하는 공정 특성상 반응조나 보일러에 시료를 주입하고 뚜껑을 닫기 때문에 하이드라진이 외부에 노출될 가능성은 희박하며, 제조 공정 또한 플랜트 공정이기 때문에 다량의 하이드라진이 노출될 확률은 거의 없기 때문에(한돈희, 2005) 흡광광도계를 이용한 분석은 다른 분석 장비보다 정확도 및 정밀도가 떨어져 낮은 농도의 하이드라진을 평가하기에 어려움이 있다.

미국산업보건청(Occupational Safety and Health Administration, OSHA)에서는 황산이 코팅된 2장의 여과지(37mm-Glass fiber filter)로 하이드라진을 채취하고 benzaldehyde과 반응하여 생성된 유도체 화합물 benzalazine을 고성능액체크로마토그래피(HPLC/UV)로 정량하는 방법(OSHA Method 108, 1997)을 제시하였다.

이 방법은 낮은 농도의 하이드라진에 대해서도 시료 채취 효율, 회수율, 탈착효율에 대한 검증 결과, 거의 모든 효율면에서 100%를 나타내어 하이드라진의 시료 채취 및 분석방법으로 가장 적합한 것으로 판단하였다.

따라서 본 연구에서는 OSHA Method

〈표 1〉 HPLC Condition

Column	Nova-Pak® C18 4um, 3.9×150mm column, Waters
Injection volume	5.0 uL
Mobile phase	Acetonitrile : water (67:33), 1 mL/min
Detection	UV, 300 nm
Retention time	6.9 min

108번을 기본으로 하여 분석법을 검증하기 위해 회수율, 정밀도 실험을 수행하였고, 본 연구 결과를 통해 실제 작업환경 중 하이드라진의 정확한 노출 평가를 위한 방법을 제시하고자 한다.

실험방법

1. 표준용액 및 탈착물 검정용 시료 제조

OSHA Method #108 방법에 따라 황산이 코팅된 2장의 여과지(37mm-Glass fiber filter)로 하이드라진을 채취하고 0.1M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /0.05M EDTA disodium 용액으로 여과지를 용출하여 benzaldehyde과 반응하여 생성된 유도체 화합물 benzalzone를 고성능액체크로마토그래피(HPLC/UV)로 정량하였고 시약, 분석조건 및 실험방법은 아래와 같다.

1) 시약

- Hydrazine monohydrate(80%, d

=1.027)

- benzaldehyde
- sodium phosphate
- EDTA disodium
- Phosphoric acid

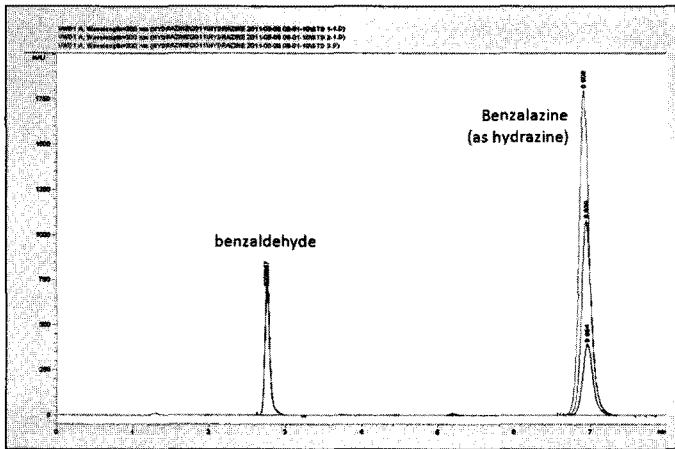
- 용출액 : 0.1M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /0.05M EDTA disodium (pH 3.5 with H_3PO_4)

- 유도체화 용액 : 1.0 mL benzaldehyde in 100 mL acetonitrile

2) 표준 용액 제조

표준 용액의 농도수준은 공기 중 시료를 240 L 채취하였을 때를 기준으로 하이드라진의 노출기준 0.05 ppm의 0.2(2.88 ug/sample), 0.4(5.76 ug/sample), 0.8(11.52 ug/sample), 1.6(23.04 ug/sample)배 TLV 수준으로 네 농도를 제조하였다.

표준 용액의 전처리는 하이드라진 원액 4, 10, 20 uL를 1 mL 용출액(0.1M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /0.05M EDTA disodium)에 넣고 0.5 mL 유도체화 용액(1.0 mL benzaldehyde in 100 mL acetonitrile)와 반



〈그림 1〉 하이드라진의 크로마토그램

〈표 2〉 하이드라진의 표준용액의 양 및 피크 면적값

Standard	Hydrazine(ug)	Peak area
STD 1	0.000	0
STD 2	3.286	1437842
STD 3	6.573	2947576
STD 4	13.146	5895152
STD 5	26.292	11358952

응시켜 제조하였다.

3) 탈착률 실험

탈착률 실험을 위한 시료는 공기 중 시료를 240 L 채취했을 때를 가정하여 하이드라진의 0.1(1.44 ug/sample), 0.3(4.33 ug/sample), 0.6(8.64 ug/sample), 0.9 (12.96 ug/sample), 1.2(17.28 ug/sample)배 TLV 수준으로 총 5개의 탈착 시료를 제조하였다.

하이드라진을 원액을 메탄올로 10배 희석

하여 그 용액을 황산이 코팅된 필터에 18, 53, 105, 158, 210 uL씩 각각 주입하였다.

4) 시료 전처리

- 필터는 테스트튜브에 옮겨 담고 5 mL 용출액을 넣고 교반기에서 30분간 흔들어 준다.

- 2000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 1 mL를 취하여 유도체화 용액 0.5 mL와 반응시킨다.

- 충분히 흔들어 준 후 상온에서 30분간 방치 후 분석한다.

2. HPLC/UVD 분석 조건

하이드라진이 흡착된 필터는 용출액(0.1M NaH₂PO₄ · H₂O/0.05M EDTA disodium)으로 용출한 뒤 유도체화

용액(1.0 mL benzaldehyde in 100 mL acetonitrile)과 반응시켜 benzalazine을 생성하여 HPLC를 이용하여 정량하였다.

결과

1. 하이드라진의 표준 검량 곡선, 검출한계 및 정량한계

〈그림 1〉은 OSHA Method #108번으로

하이드라진을 분석한 크로마토그램을 나타낸 것으로, 2.7분에는 유도체화 반응 후 남은 benzaldehyde의 피크이고 6.9분대에 검출된 피크가 유도체화된 하이드라진 피크(Benzalazine)이다.

검출한계 및 정량한계 실험을 위해 하이드라진의 가장 낮은 농도인 공시료를 포함하여 5개의 시료를 제조하여 분석하였으며, 이때 사용한 표준용액의 농도 및 이를 분석한 크로마토그램의 피크면적 값은 <표 2>와 같다.

실험을 통해 농도와 면적간의 회귀방정식을 구하고 이 회귀방정식의 표준오차 값과 기울기 값을 이용하여 검출한계(LOD, Limit of detection)와 정량한계(LOQ, Limit of quantitation)를 구하였다.

LOD 값은 0.047 ug/시료이고 정량한계는 검출한계 값의 3.33배인 0.154 ug/시료로 계산되었다. <그림 2>는 HPLC를 이용한 하이드라진의 검량곡선을 나타낸 것이다.

2. 정확도 평가

정확도 평가를 위해 실시한 탈착효율 검정은 하이드라진을 각 농도 수준별로 5개씩 조제하여 하룻밤 정도 실온에서 방치한 후 유도체 반응 후 생성된 benzalazine의 분석을 실시하였다. <표 3>은 회수율 결과를 나타낸 것이다.

HPLC를 이용하여 하이드라진을 분석한 결과 1.44 mg/시료의 농도 수준에서 평균 회수율은 98.1%(범위 : 94.4-103.2%), 4.32 mg/시료 농도 수준에서 평균 회수율은 98.5%(범위 : 92.8-101.6%), 8.64 mg/시료의 농도 수준에서 평균 회수율은 102.5%(범위 : 97.8-104.6%), 12.96 mg/시료의 농도 수준에서 평균 회수율은 98.3%(범위 : 96.0-99.8%), 17.28 mg/시료의 농도 수준에서 평균 회수율은 100.4%(99.2-102.6%)로 나타났다. 5개 농도수준에서의 전체 평균 회수율은 99.6%로 높은 효율을 나타내었다.

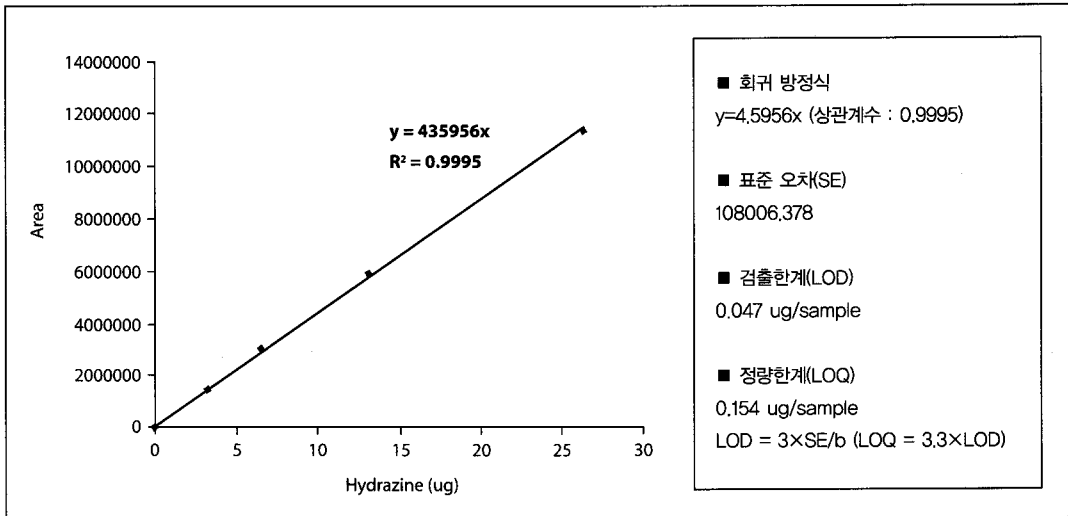
3. 정밀도 평가

정밀도 평가에서는 정확도 평가와 같은 방법으로 서로 다른 5개의 농도에서 5회 반복 분석을 통해 반복 분석시 나타나는 분석값의 차이가 어느 정도 되는지를 평가하여 정밀도를 평가하였다.

정밀도 평가결과, 각 농도 수준에 대한 변이계수는 3.9, 3.4, 2.7, 1.5, 1.3%로 나타났으며, 5개 농도 수준 전체의 변이계수는 2.6%로 평가되었다<표 4>.

고찰

하이드라진의 기체는 피부로 잘 흡수되지 않으나(McDougal et al, 1986) 피부, 위장



〈그림 2〉 Calibration curve for Hydrazine

〈표 3〉 화수율 실험 결과

n.	Sample 1 1.44 mg	Sample 2 4.32 mg	Sample 3 8.64 mg	Sample 4 12.96 mg	Sample 5 17.28 mg
1	96.8%	98.7%	103.2%	99.0%	99.9%
2	100.8%	100.3%	104.6%	97.9%	99.7%
3	94.4%	92.8%	102.6%	98.9%	99.2%
4	95.2%	99.2%	104.5%	96.0%	102.6%
5	103.2%	101.6%	97.8%	99.8%	100.4%
Mean	98.1% ± 0.038	98.5% ± 0.034	102.5% ± 0.028	98.3% ± 0.014	100.4% ± 0.013
Total Mean	99.6%				

관, 폐(Reinhardt, Britelli, 1981)로 빠르게 흡수되는 물질로 흡입이나 피부 접촉시 치명적일 수 있으며, 호흡기도 화상, 눈 화상 경련, 간 이상, 중추신경계 장애, 신장 이상, 동물실험 결과 발암성이 의심 된다.

Sotaniemi(1971)는 직업상 6개월 이상

하이드라진에 피부와 호흡기로 노출되었을 경우, 결막염, 손 떨림, 무기력 및 폐와 간 손상이 일어났으며, 하이드라진에 노출된 지 21일안에 사망한 사례를 보고하였다.

또한 하이드라진은 5 종류의 급성 간염을 유발시키는 원인으로도 알려져 있으며(Corsi, Valentini, 1983), 6 종류의 폐부종을

〈표 4〉 정밀도 평가 결과

	Concentration (ug/L)				
	1.44	4.32	8.64	12.96	17.28
1회	615221	1845663	3561678	5531134	7381759
2회	571277	1751497	3649472	5589151	7263091
3회	621499	1864497	3728993	5599768	7427192
4회	577555	1732664	3637765	5557035	7413398
5회	583832	1751497	3474179	5394303	7207042
평균	593877	1789164	3610417	5534278	7338496
표준편차	22894	61027	96527	82796	97871
변이계수 (%)	3.9	3.4	2.7	1.5	1.3

일으킨다고 알려져 있다(Frierson, 1965).

하이드라진은 크게 직업병을 유발하거나 발암물질이 아니기 때문에 국내에서 하이드라진에 대해 이슈화된 적이 없고 이에 관한 조사나 연구가 부족한 실정이다. 다만 한돈희 등이 하이드라진의 노출기준 개정에 관한 연구가 보고되었을 뿐이다(한돈희 등, 2005).

동물 발암성에 대한 물질의 독성은 인간에게도 배제할 수 없기 때문에 하이드라진에 노출되는 작업자에 대한 정확한 노출평가가 필요하고, 이에 따른 측정 및 분석 방법이 강구되어야 한다.

현재 우리나라 대부분의 작업환경측정기관에서는 하이드라진을 분석하는 방법으로 액체포집법을 이용한 분광광도계 분석법(NIOSH, 1994)을 주로 사용하고 있다.

이 방법은 개인 시료로 채취할 경우 작업자가 불편해 하거나 흡수액 유실 등의 샘플링이 불편하다는 큰 단점이 있기 때문에 주로 액체채취법은 지역 측정 시료 자료로 이용되고 있다. 또한 분광광도계가 고성능액체크로마토그래피법에 비해 분석 감도가 낮고, 여러 가지 방해물질이 작용하여 낮은 농도의 하이드라진 분석이나 정밀 분석을 수행하기에는 한계점이 있다.

산업위생 분야에서는 시료 채취 장치가 작고 가벼워야 하고, 정교하고 정확한 분석 방법을 이용함과 동시에 비용은 저렴해야 한다. 지금까지 하이드라진을 분석하기 위해 개발된 많은 방법 중 미국 산업보건청에서 제시한 고체시료채취법을 이용한 고성능액체크로마토그래피(HPLC/UV)로 정량하는 방법(OSHA Method 108, 1997)에 대해 본 연구소에서 검증 실험을 실시하였다.

이 방법은 낮은 농도의 하이dra진에 대해서도 시료 채취 효율, 회수율, 탈착효율에 대한 검증 결과 거의 모든 효율면에서 100%를 나타내어 하이dra진의 시료 채취 및 분석방법으로 가장 적합한 것으로 판단하였다.

또한 한돈희 등(2005)의 연구 결과에 따르면 하이dra진의 취급 사업장 및 공정 대부분의 시료에서 하이dra진 농도는 검출한계 이하이고 검출 이상인 시료의 수는 36개 중 11개에 불과하였다.

하이dra진의 대다수 사업장의 농도수준이 미량이기 때문에 기기적 검출한계에 의해 분광광도계로 분석시 한계점을 보이며, 하이dra진이 검출된 작업장 내 노출 농도는 0.0035-0.3834 ppm으로 분광광도계의 검출한계 보다 낮은 농도들이 많기 때문에 정확한 평가가 이루어질 수 없다. 액체채취법을 이용한 지역시료의 측정만으로는 하이dra진에 노출되는 작업자의 정확한 노출량 평가는 어렵다.

따라서 하이dra진에 노출되는 작업자의 정확한 작업환경측정을 위해 고체시료채취법을 이용한 고성능액체크로마토그래피법을 이용한 분석이 이루어져야 하며, 작업자

의 건강보호라는 궁극적인 목적을 위해 보다 정확한 기기의 선택이 필요할 것으로 판단된다.

결론

고성능액체크로마토그래피를 이용한 하이dra진의 분석 결과는 아래와 같다.

1. HPLC를 이용하여 하이dra진을 분석하였을 때, 검출한계는 0.047 ug/sample이었으며, 정량한계는 0.154 ug/sample이었다.
2. 정확도 평가를 위해 실시한 탈착효율 검정 실험에서 하이dra진의 회수율은 98.1-102.5%의 범위로 높은 회수율을 나타내었다.
3. 정밀도 평가에서는 각 농도 수준에 대한 변이계수는 1.3-3.9%의 범위로 5개 농도 수준 전체 변이계수는 2.6%로 평가되었다.

저농도의 하이dra진의 정확한 측정 및 분석을 위해 측정 방법이 간단하고 분석 감도가 우수한 HPLC 분석법을 이용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다. ☺

참고 문헌

1. 한국산업안전보건공단: Korea Occupational Safety and Health Association(KOSHA) Code A-1-102, 2006.
2. 정규철. 산업중독편람. 신광출판사. 서울, 1995:480-482
3. 노동부. 화학물질 노출기준 개정 연구-하이드라진, 2005.
4. National Institute of Occupational Safety and Health(NIOSH) : Method 3503. In NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards and Other Databases. Cincinnati, Ohio: NIOSH, 2000
5. OSHA Analytical Methods Manual, U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration; OSHA Salt Lake Technical Center: Salt Lake City, UT, 1990; Method 108 : Hydrazine
6. OSHA Analytical Methods Manual, U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration; OSHA Salt Lake Technical Center: Salt Lake City, UT, 1980; Method 20 : Hydrazine
7. HSE Method 86, Hydrazine in Air. HSE Occupational Medicine and Hygiene Laboratory, 1997
8. Sugg, H.J., L.J. Luskus and J.K. Herman. A field procedure for sampling and analysis of low concentrations of hydrazine in air. Am, Ind. Hyg. Assoc. J., 1980, 41, 879-883
9. McDougal, N.N., George, M.E. Dermal absorption of hydrazine vapors in rats. Toxicologist . 6:243. 1986