한국산업위생학회지 제 10 권 제 2 호
Korean Ind. Hyg. Assoc. J
Vol. 10, No. 2. Nov., 2000

헤모글로빈 부가체를 이용한 염료제조 근로자의 노출평가

아주대학교 산업의학과[1], 연세대학교 의과대학 산업보건연구소[2]
장규엽[1] · 이경종[1] · 김치년[2] · 윤영식[2] · 노재훈[2]†

-Abstract-

Biological monitoring of dye manufacturing workers by hemoglobin adducts.

Kyuyeub Jhang[1] · Keungjong Lee[1] · Chinyon Kim[2] · youngshik Yoon[2] · Jaehoon Roh[2]†
Ajou University Depertment of Occupational Health[1]
Institute for Occupational Health , Yonsei University College of medicine[2]

This study was performed to investigate monoacetylbenzidine(MABZ) and benzidine(BZ) hemoglobin adducts among workers who worked at benzidine based dye manufacturing company, and exposed by benzidine and benzidine based dye. The hemoglobin adducts were compared with work environment assessment result for evaluating the usefulness of biological monitoring

The mean BZ hemoglobin adducts among the first synthesis worker's hemoglobin adducts were 40.69 ㎍BZ/g Hb and those of dry and packing workers were 22.14 ㎍BZ/g Hb. The mean of MABZ hemoglobin adducts among 1st synthesis workers were 255.84 ㎍MABZ/g Hb, dispersion worker's hemoglobin adducts were 76.17 ㎍ MABZ/g Hb and synthesis worker's hemoglogin adducts were 28.66 ㎍MABZ/g Hb. Work environment assessment results during past 3 years were 0.0065 ㎎/㎥ and 0.5659 ㎎/㎥ of benzidine based dye concentration in ambient air of drying and packing only.

Dye producing process was categorized by the possibility of exposure to benzidine and benzidine based dye. BZ and MABZ hemoglobin adducts were 19.55 ㎍BZ/g Hb, 119.80 ㎍MABZ/g Hb among workers who exposed by benzidine dihydrochloride and 16.32 ㎍BZ/g Hb, 316.56 ㎍ MABZ/g Hb among workers who exposed by benzidine based dye. BZ hemoglobin adducts were not detected among control group and MABZ hemoglobin adducts were 5.33 ㎍MABZ/g Hb. The differences between control and other exposed group was statistically significant. But there was no statistically significant differences between benzidine dihydrochloride exposed process and benzidine based dye exposed group.

BZ and MABZ hemoglobin adducts were 2.23 ㎍ BZ/g Hb, 76.17 ㎍MABZ/g Hb and 3.46 ug BZ/g Hb, 21.33 ㎍MABZ/g Hb. So hemoglobin adducts of MABZ were 5~30 time higher than those of BZ($P<0.003$).

Above results indicate that work environment assessment didn't detected benzidine and benzidine based dye in ambient air but biological monitoring detected those of hemoglobin adducts.

Two group's hemoglobin adducts exposed benzidine dihydrochloride and benzidine based dye were high level but wasn't statistically significant and those were not detected in control group.

Key Word : Benzidine, Monoacetylbenzidine, Benzidine dihydrochloride, Benzidine based dye, Hemoglobin adduct

접수일 : 2000년 9월 4일, 채택일 : 2000년 10월 15일
† 교신저자 : 서울 서대문구 신촌동 134번지 연세의대 산업보건연구원
Tel) 02-361-53543, E-mail) jhroh@yumc.yousei.ac.kr

Ⅰ. 서 론

벤지딘 (benzidine, 이하 BZ)은 발암성 물질(A1)로 널리 알려져 있으며 방광암을 유발하는 물질로 오래 전부터 연구 보고되어 왔다 (Case 등, 1954; Zavon 등, 1973; Doll와 Peto, 1981; Meigs 등, 1986; Bi, 1992; Bulbulyan 등, 1995). 이러한 BZ의 발암성 때문에 우리 나라 노동부와 미국 산업위생협의회 (American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH)에서는 노출기준 없이 발암성 물질(A1)로 설정하고 있다 (노동부, 1998; ACGIH, 1999). 염료 제조 사업장에서 근무한 근로자를 대상으로 역학조사를 실시한 결과 전체 127건의 사망사례 중에서 aniline 4건, BZ 10건 2-naphthylamine 26건의 방광암 발생 사례가 나타났다 (Case 등, 1954; Matanoski 등, 1981). 국제암연구기관 (International Agency for Research on Cancer, IARC)에서도 Benzidine-based dyes 종류인 Direct Black 38, Direct Blue 6 그리고 Direct Blue 95 등을 발암성물질로 분류하고 있다 (IARC, 1985).

BZ은 피부흡수 가능물질로 알려져 있으며 흰쥐 피부를 이용한 BZ 흡수에 관한 연구에서도 이러한 내용이 증명되었다 (Shah 와 Guthrie, 1983; 이지현 등, 1997). 직접 아조염료 (Direct azo dye)의 경우도 동물실험에서 Direct Blue 6과 Direct Black 38 (이하 DB38)이 피부로 흡수되어 BZ 및 대사물질이 소변으로 배설된다는 것이 확인되었다 (Van Duuren, 1980). 흰쥐의 적출간 관류법을 이용하여 벤지딘 및 DB38의 대사를 관찰한 결과 대사물질로 모노아세틸벤지딘 (monoacetylbenzidine, 이하 MABZ)과 디아세틸벤지딘 (diacetylbenzidine, 이하 DABZ)이 확인 되었으며 (원종욱 등, 1996; 배문주 등, 1996) 벤지딘계 염료 제조 사업장의 근로자들의 소변에서도 같은 대사물질이 검출되었다 (Meal 등, 1981; Carl 등, 1982; Dewan 등, 1988; 노재훈 등, 1995; 노재훈 등, 1996; 염혜경 등, 1998).

유기물질에 대한 생화학적 노출량 평가에는 일반적으로 많이 이용하는 요중 대사물질의 측정 그리고 발암성 물질의 생체 모니터링으로 주로 이용하는 DNA adduct와 헤모글로빈 부가체(Hemoglobin adduct)등이 있다 (Pereira, 1993; 노재훈 등, 1998). 최근에 방향족 아민류에 노출된 근로자들에 대한 생물학적 모니터링을 헤모글로빈 부가체를 이용한 연구가 있었다. 미국 뉴욕의 고무화학제조공장 근로자를 대상으로 aromatic amine에 노출된 근로자들에서 aniline, 2-naphthylamine, o-toluidine 그리고 4-aminobiphenyl과 같은 방향족 아민류와 헤모글로빈이 결합된 부가체를 검출하였다 (Ward 등, 1996). 그러나 인종간에 N-acetylation의 차이가 있기 때문에 aromatic amines에 노출된 근로자를 대상으로 Hb을 이용한 생물학적 모니터링을 실시할 때에는 외국의 경우와 다소 차이가 있을것이므로 국내 근로자를 대상으로한 연구가 필요하다.

하지만 우리나라에서 벤지딘계 염료는 작업환경측정과 특수건강진단 시행시에 단순히 분진으로 취급되고 있어 근로자들의 벤지딘계 염료분진에 대한 노출평가가 정확히 이루어지고 있지 않은 실정이다. 더욱이 염료제조 공장은 다품종 주문생산으로 가동되고 있기 때문에 1년에 2회 실행되고 있는 작업환경평가만으로는 근로자들이 어느 정도의 유해물질에 노출되고 있는지 정확히 평가하기 어려운 실정이다. 이에 장기간 노출평가에 장점이 있는 Hb-adduct를 이용한 염료제조 근로자의 생물학적 모니터링은 그 활용도가 매우 높다.

따라서 본 연구에서는 벤지딘 및 벤지딘계 염료 제조 공장의 근로자를 대상으로 벤지딘 염산염과 벤지딘계 염료분진에 노출되는 근로자의 혈액에서 벤지딘과 모노아세틸벤지딘의 헤모글로빈 부가체를 분석하여 작업환경평가 자료와 비교평가하여 생물학적 모니터링이 노출 지표로서 유용한지를 밝히려고 한다. 구체적인 목적으로는

첫째, 작업환경평가 자료와 헤모글로빈 부가체 형성양상을 비교하고

둘째, 노출형태에 따른 공정간의 헤모글로빈 부가체 형성의 차이를 비교한다.

Ⅱ. 실험 대상 및 방법

1. 연구대상

연구 대상은 1999년 5월 현재 인천지역 염료공장에 6개월 이상 근무하고 있는 작업자 71명을 대상으로 하였으며 혈액 시료는 정기 건강검진시에 임상실험을 하고 남은 혈액(약 5cc)을 사용하였으며 각 근로자의 개인신상정보(성별, 나이, 근무년수 등)는 검진 기록부의 자료를 참조하였다.

2. 실험재료 및 기기

본 실험에 사용된 증류수는 Milli Q plus (Model 67120, Millipore SA, France)로 제조하여 사용하였다. 표준시약으로 benzidine (Sigma, St. Louis, Missouri)을 사용하였으며 BZ의 대사물질인 MABZ은 합성을 하였다 (Birner 등, 1988).

그 외 시약으로는 EDTA (Sigma, St. Louis, Missouri), Ether (Duksan, Ansan, Korea), Lithium chloride (Sigma, St. Louis, Missouri), Sodium dodecylsulfate (Research Organics Inc, Cleveland, Ohio), Methanol (HPLC grade, Duksan, Ansan, Korea), Water (HPLC grade, Duksan, Ansan, Korea), Ethanol (Duksan, Ansan, Korea) 등을 사용하였다.

3. 공기중 BZ 및 염료분진의 포집 및 분석

1) 벤지딘의 시료포집 및 분석방법

개인시료 포집기를 이용하여 염료제조 근로자의 벤지딘 및 염료분진의 노출 농도를 측정하였다. 시료포집 및 분석은 미국국립산업안전보건연구소 (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH)의 공정시험법 Method No. 5509, 5013에 준하여 실시하였다 (NIOSH, 1984).

벤지딘 염산염의 시료 채취는 직경 13 mm의 유리섬유필터 (glass fiber A/F, SKC)를 폴리프로필렌 재질의 카세트 (2-section, polypropylene, SKC)에 넣고 0.2 L/min으로 6시간 이상 포집하였다. 시료채취 후 즉시 밀봉하여 벤지딘 시료는 드라이 아이스로 냉동 상태로 실험실로 운반하였다. 벤지딘채취 시료 탈착은 triethylamine in methanol을 넣어 간헐적으로 흔들어 주었고, 원심분리하여 여과 후 고성능 액체크로마토그래피 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)로 분석하였다. Table 1의 조건으로 분석한 크로마토그램은 Figure 1과 같다.

2) 벤지딘계 염료분진의 시료포집 및 분석

벤지딘계 염료분진의 시료채취는 테프론 재질의 필터 (37 mm PTFE, 5㎛, Gelman Sciences)를 카세트 (3-section, polystyrene, SKC)에 연결하여 1.5 L/min으로 6시간 이상 포집하였다.

벤지딘계 염료분진이 포집된 필터와 증류수를 비

Table 1. Operating conditions of high performance liquid chromatography for benzidine & benzidine based dye

Description	Conditions
Column	Polymer C18 (4.6 mm×25 cm, 10㎛
Mobile phase	Methanol : 0.01 M ammonium acetate (40:60)
Flow rate	1.0 ml/min
Detector	UV detector 280 nm (0.02 AUFS)
Inject volume	20 ㎕
Column temperature	40 ℃

이커에 넣고 초음파 처리후 환원제를 가하여 방치하고 필터로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. Table 1의 조건으로 분석한 크로마토그램은 Figure 1.과 같다.

4. 헤모글로빈 부가체 전처리

헤파린으로 처리한 혈액을 1,000 g로 5분간 원심분리하여 혈장과 혈구 세포를 분리하였다. 혈구세포와 동일한 부피의 0.9% NaCl 용액을 첨가하여 재 부상시키는 세척을 3회 반복하였다. 세척한 혈구에 pH 7.5, 10-4 M 에틸렌디아민 테트라아세테이트 (ethylenediamine tetraacetate, EDTA)를 혈구 부피의 4배 정도 첨가하여 충분히 흔들어 준 후 4,000 g로 5분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 분리한 상등액 부피의 4배 에탄올을 넣어 헤모글로빈을 응고시킨 후 다시 원심분리로 헤모글로빈을 회수하여 에탄올 : 증류수 (8:2), 에탄올 (96%), 에탄올 : 에테르 (1:3) 그리고 에테르 (100%)를 순서대로 10ml씩 가하여 세척 후 침전물은 모아서 감압 건조기에서 하루 동안 완전히 건조시킨 후 무게를 칭량하고 분석하기 전까지 -75℃에 저장하여 보관하였다 (Sabbioni와 Neumann, 1990).

건조된 헤모글로빈 일정량을 취하여 0.05% SDS (sodium dodecyl sulfate solution, SDS) 용액 10 ml로 녹인다. 이 용액에 1 N NaOH 1ml를 가하고 실온에서 1시간 동안 흔들어서 염기 가수분해를 한 후 헤모글로빈에서 분리된 시료에 buffer를 넣어서 pH 8로 맞추었다.

메탄올(methanol) 5ml와 증류수 10ml를 1 ml/min의 속도로 흘려 C18 Sep-pak Cartridge (Waters, Milford, Massachusetts)를 활성화하고 pH 8로 조절한 시료를 분당 1 ml의 속도로 통과시킨 후 증류수 10 ml를 다시 통과시켜 수용성 불순물을 제거하였다. 위 과정을 끝낸 C18 Sep-pak 앞에 PVDF 0.45 ㎛ 필터 (Whatman, San Centre, Singapore)를 부착하고 메탄올 1.5 ml를 정확히 취하여 분석 대상물질들을 용출시킨 후 고성능 액체크로마토그래프-전기화학 검출기 (Elcetrochemical detector)로 분석하였다.

5. 벤지딘 및 모노아세틸벤지딘의 분석

1) 모노아세틸벤지딘의 합성

표준 물질로 사용할 MABZ의 합성은 Birner와 Neumann (1988)의 합성법을 참조하여 실시하였다.

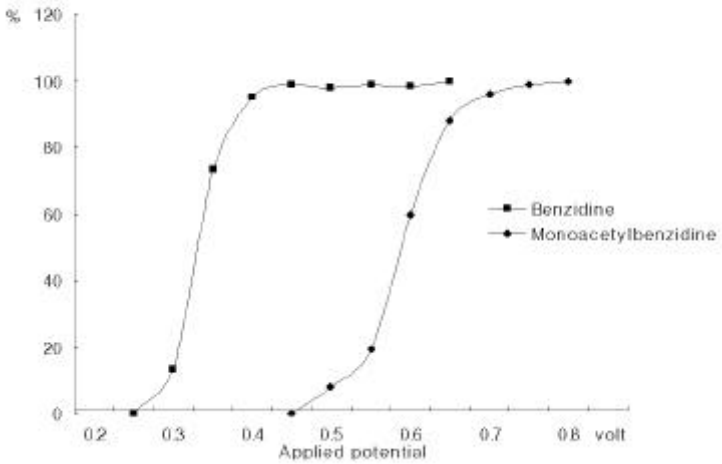

Figure 1. Voltammogram of benzidine & monoacetylbenzidine

실온에서 에테르 (Duksan, Ansan, Korea)에 BZ를 녹인 후 결정이 생기는 순간까지 교반하면서 무수초산을 가하였다. 반응이 끝난 후 용액을 여과하여 침전물을 완전 분리하고 분리된 침전물을 에테르로 수회 세척한 후 건조시켰다.

합성된 물질을 메탄올에 다시 용해하고 얇은 막 크로마토그래피 (thin layer chromatography, silicagel 60F-254, Merk,)를 이용하여 미반응 BZ와 DABZ를 분리하였다. 얇은 막 크로마토그래피의 전개액은 에틸아세테이트 (Sigma, St. Louis, Missouri)를 사용하였으며 BZ, MABZ 그리고 DABZ의 전개율은 각각 0.75, 0.59, 0.40으로 확인되었다.

2) BZ 및 MABZ 분석

BZ 및 MABZ에 대한 전기화학 검출기의 분석감도를 높이기 위하여 Table 2의 분석조건으로 voltammogram을 작성하였다 (Figure 2). BZ와 MABZ에 적합한 전위값 (potential value)으로 각각 0.65 V, 0.75 V를 구하였다. 전위값을 0.65 V와 0.75 V로 설정하고 Table 2.의 조건으로 분석한 크로마토그램은 Figure 3과 같다. 검출한계 (NIOSH, 1995)는 BZ는 1.82ng/ml 이었고 MABZ는 1.54ng/ml 이었다.

Table 2. Operating condition of high performance liquid chromatography for hemoglobin adduct

Description	Condition
Column	HAISIL HL C18, 5 ㎛, 250×4.6 ㎜ (Higgins Analytical, Mountain View, California)
Column temperature	35 ℃
Mobile phase	0.2% Lithium chloride : Methanol (70 : 30)
Flow rate	1.1 ml/min
Detector	Electrochemical detector (potential 0.75V, 0.65 V)
Injection Volume	20 ㎕

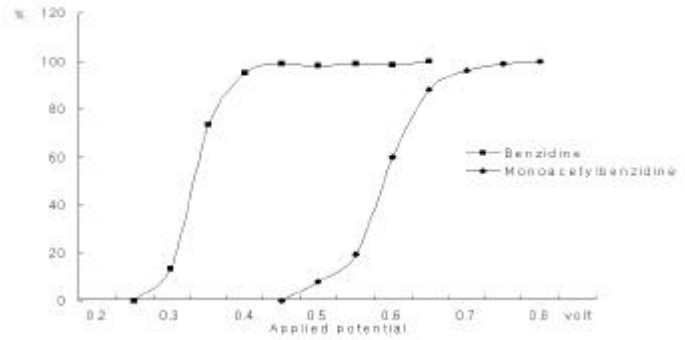

Figure 2. Voltammogram of benzidine & monoacetylbenzidine

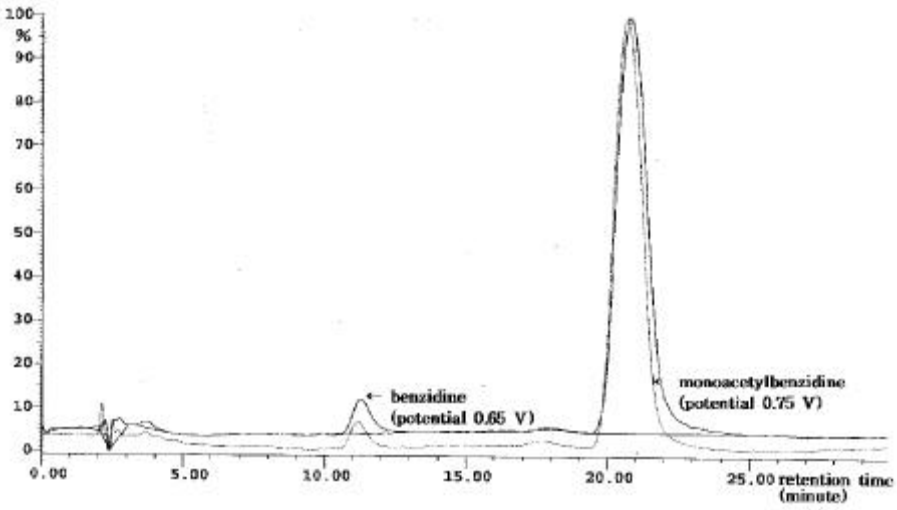

Figure 3. Chromatogram of benzidine & monoacetylbenzidine

6. 통계학적 분석

벤지딘 염산염 제조 공정을 부서별로 세분하여 헤모글로빈 부가체가 그룹간에 차이가 있는지 알아보고, 벤지딘 노출을 기준으로 공정을 크게 원료투입 그룹, 건조, 포장그룹, 기타로 분류하여 그룹간 차이가 있는지 알아보기 위해 비모수 통계법인 Wilcoxon rank-sum test를 시행하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. 부서별 작업환경 특성

본 연구의 대상은 경인지역 염료제조 공장으로 1일 3교대의 작업형태를 갖고 있으며 노출 유해물질로는 벤지딘외 니트로벤젠, 메틸알코올, 포름알데히드, 벤지딘 염산염, 알파나프틸아민 등 다양한 화학물질에 노출되고 있다.

벤지딘계 염료 제조 공장의 공정흐름은 다음과 같다. 원료 칭량을 한 후 반응조에 원료를 투입하여 반응특성에 따라 디아조화반응과 커플링 반응을 진행시킨다. 반응이 완료된 후 염석제를 가하여 염료를 침전시키고 여과과정을 마친 후 비산방지제를 넣고 건조시킨다. 건조된 염료는 분쇄 후 발색조건을 맞추기 위해 여러종류의 염료를 혼합한 후 포장을 하게 된다.

합성실에서 취급하는 주요 물질로는 벤지딘 염산염, o-톨리딘염산염, 디아니시딘, 알파나프틸아민 그리고 빙초산 등이며, 신반응실에서는 황산, 염산, 브롬아민산, 가성소다, 페닐하이드라진, 트리메틸아민 등이었다. 구반응실에서 사용하는 물질로는 가성소다, 염산, CNC, $NaNO_2$, CBL 등을 사용하였고, 분산실에서 취급하는 물질로는 아닐린, 염산, 가성소다이었다. 각 부서에서 사용하는 물질명과 사용량을 조사하여 Table 3에 요약하였다.

Table 3. The list of raw materials & consumption at each part

Part A[1]		Part B		Part C		Part D	
CNC	152)	Aniline	0.1	Benzidine dihydrochloride	10	H2SO4	11
HCl	50	HCl	0.	o-tolidine dihydrochloride	0.7	Phenylhydrazine	1
NaNO2	25	NaOH	0.1	α-naphthylamine	1.5	Trimethylamine	5
NaOH	2			dianicidine	0.5	HCl	6
CBL	2.5			phenol	1	NaOH	8
				MeOH	6	NaNO2	20
				HCHO	6	CNC	3
				HCl	20		

1), Part A: 1st synthesis, Part B: disperse , Part C: synthesis , Part D: 2nd synthesis; 2), amount of consumption (ton)

2. 벤지딘 염산염 및 벤지딘계 염료분진 제조공정의 개인시료포집 노출평가

벤지딘 염산염 제조 공장에서 공정별로 벤지딘의 호흡기 농도를 알아보기 위해 최근 3년간 작업환경 측정 결과서에 기록된 분석결과를 정리하였다 (Table 4).

염료제조 공장은 원료투입, 디아조화 반응, 커플링 반응의 합성공정과 건조, 분쇄, 포장의 사상공정으로 크게 구분되어 있다. 구반응실 (1st synthesis; Part A), 분산실 (disprese; Part B), 합성실 (synthesis; Part C), 신반응실 (2nd synthesis; D)을 원료투입 및 합성공정으로 주로 벤지딘 염산염을 취급 및 사용하며, 사상실 (1st drying and packing room; Part E), 신사상실 (2nd drying and packing; Part F)은 염료를 취급하는 공정이다.

BZ 및 벤지딘 염산염 분석결과는 96년과 97년 그리고 99년 모두 불검출 이었으며, 염료분진 결과는 97년 상, 하반기에 각각 0.0065 ㎎/㎥, 0.5659 ㎎/㎥의 결과를 보였다.

Table 4. Concentration of benzidine based dye in three year

	Part A	Part B	Part C	Part D	Part E	Part F	Part G[5)]
96_1st[1)]	-	-	-	-	-[3)]	-	-
96_2nd[2)]	-	-	-	-	-	-	-
97_1st	-	-	-	-	0.0065[4)]	-	-
97_2nd	-	-	-	-	0.5659	-	-
99_1st	-	-	-	-	-	-	-
99_2nd	-	-	-	-	-	-	-

1), The former half-year; 2), The latter half-year; 3), not detected; 4), mean concentration(㎎/㎥); 5), Part A: 1st synthesis, Part B: disperse , Part C: synthesis , Part D: 2nd synthesis; Part E: 1st drying and packing room, Part F: 2nd drying and packing, Part G: repair department

Table 5. Conce ntration of hemoglobin adduct benzidine & monoaceylbenzidine

	Part A3)	Part B	Part C	Part D	Part E	Part F	Part G
No of worker	18	8	10	9	15	7	4
BZ	40.69±66.851)	2.23±0.67	0.53±1.58	3.46±1.31	22.14±20.0	2.75±0.29	ND4)
	ND-199.892)	ND-3.34	ND-5.29	ND-5.34	ND-54.92	ND-3.10	
MABZ	255.84±667.1	76.17±97.8	28.66±31.8	21.33±21.9	391.41±970.5	17.02±5.9	5.33±0.4
	ND-65.36	ND-141.9	ND-73.71	ND-5.34	ND-773.6	ND-22.95	ND-5.74

1), Mean±SD (μg/g Hb); 2), concentration range; 3), Part A: 1st synthesis, Part B: disperse , Part C: synthesis, Part D: 2nd synthesis; Part E: 1st drying and packing room, Part F: 2nd drying and packing, Part G: repair department; 4), Not detected

3. BZ 와 MABZ 헤모글로빈 부가체 평가

각 세부 공정에서 검출된 헤모글로빈 부가체 검출량은 Table 5와 같다. 벤지딘계 염료 비노출부서인 공작실에서는 4명의 근로자에서 헤모글로빈 부가체 검사를 하였다. 실험결과 BZ 헤모글로빈 부가체는 검출되지 않았으나 MABZ 헤모글로빈 부가체는 평균 5.33 μg MABZ/g Hb의 결과를 보였다.

또한 벤지딘계 염료분진 노출부서인 사상실과 신사상실에서 22.14μg BZ/g Hb, 2.75μg BZ/g Hb의 BZ 헤모글로빈 부가체가 검출되었으며, BZ 대사물질인 MABZ는 각각 391.41μg MABZ/g Hb, 17.02μg MABZ/g Hb였다.

구반응실에서 BZ 헤모글로빈 부가체는 타 부서에 비해 평균 40.69 μg BZ/g Hb의 높은 결과를 보였으며 MABZ는 구반응실과 사상실에서 각각 255.84 μg MABZ/g Hb, 391.45 μg MABZ/g Hb로 높게 나타났다.

각 부서별로 BZ와 MABZ의 P value가 각각 0.205, 0.817로 통계학적으로 유의한 차이는 없었으며, 공작실(Part G)에서는 BZ헤모글로빈 부가체가 검출이 되지않았다.

Figure 4는 각 공정에서 검출된 BZ와 MABZ 헤모

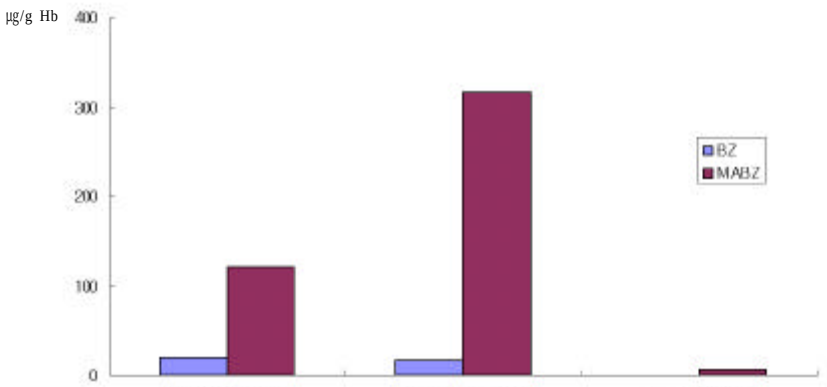

Figure 4. Concentration of benzidine & monoacetylbenzidine hemoglobin adduct of working process

글로빈 부가체 검출량이다. BZ의 대사산물인 MABZ의 검출량이 BZ의 검출량보다 통계적으로 유의한 차이로 높았다(P< 0.003).

4. 노출형태에 따른 헤모글로빈 부가체 형성량 비교

염료제조 공정을 벤지딘계 염료를 중심으로 분류를 하면 원료투입 및 반응공정, 건조, 파쇄 및 포장공정, 그리고 비노출부서등 3그룹으로 구분 할 수 있다. 공기 중 측정결과 건조 및 포장공정에서 평균 0.28 mg/m3의 벤지딘계 염료분진이 측정되었으나 그 외 다른 노출 그룹에서는 불검출 되었고, 헤모글로빈 부가체 분석결과는 원료투입 공정에서 BZ는 평균 19.55 μg/g Hb, MABZ 는 119.80 μg/g Hb이었다. 건조 및 포장 부분에서의 노출결과는 BZ가 16.32 μg/g Hb, MABZ는 928.58 μg/g Hb이었다 (Table 6).

원료투입 그룹과 건조, 포장 그룹은 BZ와 MABZ 헤모글로빈의 농도는 유의한 차이가 없었으며 (p=0.82, 0.27) 비노출부서 근로자에서는 BZ가 검출되지 않았다.

Ⅳ. 고 찰

1992년을 기준으로 우리나라의 벤지딘 염산염을 제조하거나 취급하는 사업장의 현황을 살펴보면 22개소의 사업장 중 최초의 가동일이 45년대가 1개소, 60년대가 2개소, 70년대가 9개소 그리고 80년대 이후가 10개소이다. 이중 벤지딘 및 디클로로 벤지딘 염산염을 제조하는 사업장은 3개소이고, 사용하는 곳은 약 20여개소이다. 산업안전보건법 제 37조의 제조등의 금지조항에서 벤지딘과 벤지딘을 함유한 물질은 연구 목적 외에는 사용을 금지하고 있다 (노동부, 2000).

우리나라는 1950년부터 황화염료인 국방색 및 흑색염료를 생산한 것이 유기합성염료 생산의 시초가 되어 현재까지 벤지딘 및 벤지딘계 염료를 취급하고 있으며 프랑스, 인도, 폴란드와 함께 벤지딘 및 벤지딘계 염료의 생산국으로 알려져 있다 (Meal 등, 1981). 벤지딘에 의한 암발생 잠복기간이 30여년 정도로 추정되어 현재 우리나라에서의 벤지딘계 염료의 제도 및 사용기간이 암발생 시기와 비슷하여 이

Table 6. Concentration of benzidine based dye, benzidine and monoacetylbenzidine in working area & hemoglobin adduct of working process

	No. of workers	Working area (mg/m^3)	Hemoglobin adduct (ug/g Hb)	
		benzidine based dye	BZ	MABZ
Input & Synthesis1)	45	-2)	19.55±49.573)	119.80±425.26
Drying & Packing	22	0.28±0.39	16.32±19.99	316.56±928.58
Not exposed	4	-	-	5.33±0.58
				p< 0.0034)

1), Synthesis include Part A: 1st synthesis, Part B: disperse , Part C: synthesis , Part D: 2nd synthesis;

2), Not detected; 3), concentration mean; 4), p value

분야에 종사하는 근로자들의 암발생 가능성이 배제할 수 없다. 이러한 이유로 벤지딘과 벤지딘계 염료의 독성발현 및 생체내 대사의 상호연관성에 대하여 많은 연구가 있어왔다.

헤모글로빈 부가체를 이용한 생물학적 모니터링이 ethylene oxide (Farmer 등, 1986; Tornquist 등, 1986), propylene oxide (Osteman-Golkars 등, 1984), acrylamide (Bailey 등, 1986), vinyl chloride (Osteman-Golkars 등, 1977), benzo(a)pyrene (Skipper 등, 1989; Weston 등, 1989) 등에 활용되고 있다. 실제로 적혈구내 헤모글로빈 부가체의 분석은 체내로 흡수된 양도 제시하지만 개인의 대사형태 특성도 평가를 할 수 있기 때문에 유용성이 매우 높다 (Neumann 등, 1993). 또한 헤모글로빈 부가체는 연속적인 노출에 의하여 누적되는 성질이 있어 1회 노출에 의해 부가체 검출이 어려운 소량의 노출이라도 10일간 연속해서 노출되면 부가체에 대한 정량분석이 가능하다 (Pereira와 Chang, 1981).

헤모글로빈 부가체를 이용한 생물학적 모니터링의 장점은 첫째, 혈액 채취가 쉽고 반복적으로 얻을 수 있다는 것이며 둘째, 헤모글로빈은 혈액내에 무게 비로 약 10 15%로 함유되어 있어 분석의 재현성을 높일 수 있다. 셋째, 체내에서 순환되고 있는 혈중 헤모글로빈 부가체는 매우 안정된 상태이기 때문에 혈구세포 수명과 같다 (Pereira, 1993). 이러한 이유로 요중 대사물질을 분석하는 것보다 헤모글로빈 부가체를 활용하는 것이 유용하다 (Pereira 와 Chang, 1981; Sabbioni 와 Neumann, 1990; Riffelmann 등, 1995).

벤지딘계 염료는 아조성분 (azo compound)과 커플링 (coupling)하는 방법으로 합성을 한다 (김치년, 1995). 이러한 염료는 실온에서 비휘발성이며 매우 안정한 형태이다. 체내에 흡수되었을 때, 대사과정은 BZ과는 다르게 체내에 흡수되어 우선 아조 환원반응을 거쳐 BZ으로 분해된 후 N-hydroxylation과 N-acetylation을 거친다. 특히 근로자들이 음주 습관으로 자주 접하는 에탄올은 산화과정을 억제하거나 유도하며 (Neis 등, 1985) 방향족 아민과 함께 존재하면 N-acetylation을 상승시키는 역할도 한다 (Sevensson 등, 1993).

벤지딘계 염료분진이 암발생의 위험성이 있다는 동물실험 결과들이 있고 (National Cancer Institute, 1978), 또 다른 실험 연구에서는 BZ을 투여했을 때보다 염료분진을 투여했을 때 발암성물질인 4-aminobiphenyl이 더 많이 검출되어 발암성의 위험도가 높다는 것을 간접적으로 설명하여 주고 있다 (Birner 등, 1988; Birner 등, 1990; Cerniglia 등, 1986).

최근 3년간의 작업환경측정 결과를 분석한 결과, 벤지딘 염산염이 유해인자로 구분되어 있는 작업부서에서도 대부분이 불검출 결과를 나타냈다. 이는 염료제조 사업장이 주문생산으로 생산활동이 이루어지고 있기 때문에 근로자들은 낮은 농도에서 간헐적으로 노출되고 있다고 볼 수 있다. 현 작업환경측정은 1년에 2회로 상반기, 하반기 측정을 한다. 그러나 측정할 때마다 벤지딘 및 벤지딘계 염료를 주로 생산한다고 할 수 없기 때문에 때론 유해 취급물질 작업부서 이지만 측정시에 작업이 없어서 불검출 결과를 낼 수도 있다. 이와같은 이유로 인하여 본 연구결과 조사된 벤지딘계 염료 분진농도가 Table 4와 같이 나타났다고 생각된다.

사상실과 같이 벤지딘계 염료분진이 유해인자로 분류된 작업부서 근로자의 경우 작업환경측정에서는 3종 기타분진으로 분류하고 있으며, 특수건강진단에도 분진 취급자로 분류하고 있어 많은 문제점을 내포하고 있다.

97년 사상실 염료분진 농도는 0.0065mg/m3, 0.5659 mg/m3로 나타났으며(Table 4) 염료분진 노출기준 10mg/m3 이하로 평가되었다. 본 연구결과에서 벤지딘 헤모글로빈 부가체가 검출된 점으로 미루어 보아 (Table 5) 발암물질인 벤지딘에 노출위험이 전혀 없다고 말할 수 없다. 또한, 벤지딘 염산염 노출부서 보다 오히려 염료를 건조시키고 파쇄, 혼합 및 포장을 하는 사상실에서 22.14 ug/g Hb BZ로 높은 농도의 헤모글로빈 부가체가 형성된 것을 볼 수 있다. 이러한 결과는 1978년 미국의 국립 암 연구소 (National

Cancer Institute, NCI)에서 동물실험을 통하여 벤지딘 자체보다 벤지딘계 염료가 암 발생의 위험도면에서 높을 수 있다고 한 연구결과와 일치하였다. 또한 많은 연구들에서 벤지딘계 염료가 벤지딘으로 대사된다고 보고하고 있기 때문에 벤지딘계 염료를 취급하는 근로자에 대해서 호흡기 위치의 개인시료포집방법 (Personal air sampling)만으로 노출평가를 하는 것은 문제가 있어 생물학적 모니터링과 함께 평가가 이루어져야 한다고 생각한다.

벤지딘계 염료 노출 근로자들을 대상으로 헤모글로빈 부가체 검사를 한 결과 BZ 헤모글로빈 부가체와 MABZ 헤모글로빈 부가체가 형성된 것을 확인하였다. 본 실험결과 MABZ 헤모글로빈 부가체가 BZ 헤모글로빈 부가체 보다 5배에서 40배까지 검출량의 차이가 있어 MABZ 헤모글로빈 부가체가 많이 형성된 것을 증명하였다. 이들 결과는 BZ에 노출이 되면서 체내에서 대사과정을 거쳐 MABZ가 형성된 것으로 노재훈 등(1995; 1996)의 연구와 같은 결과를 보인 것으로 근로자를 대상으로 생물학적 모니터링을 실시할 때는 벤지딘 부가체 보다는 모노아세틸벤지딘 분석결과를 제시하는 것이 좀더 정확한 평가가 될 것으로 여겨진다. Hsu 등(1996)에 의하면 모노아세틸벤지딘은 벤지딘이 방광암을 유발시키는데 벤지딘의 활성 산물로 간주되며, 디아세틸벤지딘은 종양 활성을 감소시키는 무독화 산물로 간주된다고 밝히고 있다.본 연구의 제한점으로 헤모글로빈의 양은 성별이나 연령, 생활환경, 채혈방법에 따라 차이가 있을 수 있으며, 시간에 따라 오전에는 높고 오후부터 낮아지기 시작해서 수면 중에는 가장 낮은 헤모글로빈 양을 나타낸다는 것이다. 또한 과격한 운동을 하면 헤모글로빈의 수준이 20% 증가한다 (이귀영, 1986). 따라서 정확한 헤모글로빈 부가체 평가를 위해서는 설문조사를 통하여 개인 근로자들의 생활습관, 음주, 흡연, 연령, 성별 등의 변수들을 조사하여 연구결과에 반영하는 것이 필요하다.

최근 우리나라 염료제조 공장은 주문생산 등에 의하여 생산 활동이 일정하게 이루어지지 않은 실정이다. BZ이나 염료분진과 같이 저 농도로 장기간 노출되며 또한 피부흡수가 가능한 발암성 물질이기 때문에 공기 시료를 이용한 작업환경측정만으로는 노출평가가 불충분하다. 그러나 헤모글로빈 부가체의 경우는 체내에서 누적효과가 있다는 보고가 있다 (Segerback 등, 1978; Pereira 와 Chang, 1981). 아조계 염료인 Direct Red 46과 아조계 안료인 Yellow 17을 Wistar 흰쥐에 투여하고 24시간 후에 헤모글로빈 부가체가 매우 낮은 농도로 검출되었으며 특히 발암성이 적은 Yellow 17 안료에서 매우 낮은 농도로 검출되었다 (Zwirner-Baier 와 Neumann, 1994). BZ과 3,3´-dichlorobenzidine을 각각 0.2 mmol 용량으로 Wistar 흰쥐에 경구투여하고 24시간 후에 헤모글로빈 부가체를 측정한 결과 발암성이 적은 3,3´-dichlorobenzidine을 투여한 경우는 BZ을 투여한 경우보다 헤모글로빈 부가체 매우 적게 형성되었다 (Zwirner-Baier 와 Neumann, 1998). 이것은 헤모글로빈 부가체가 혈장 단백질 부가체보다 독성학적인 의미가 더 있다는 것을 간접적으로 설명해주는 것으로 평가할 수 있다.

그러므로 벤지딘 및 벤지딘계 염료공장 근로자와 같이 간헐적으로 노출되는 근로자들을 대상으로 노출평가를 할 때는 작업환경 측정과 더불어 헤모글로빈 부가체를 이용한 생물학적 모니터링을 병행하도록 하여야 할 것이다.

V. 결 론

본 연구에서는 벤지딘 및 벤지딘계 염료 제조 공장의 근로자를 대상으로 작업종료시 근로자의 혈액을 채취하였다. 벤지딘과 모노아세틸벤지딘의 헤모글로빈 부가체를 가수분해하여 HPLC로 분석하였고 작업환경측정 자료와 비교하여 생물학적 모니터링의 노출 지표로서 유용한지를 평가하였다.

1. 벤지딘 및 벤지딘계 염료분진 노출근로자를 대상

으로 헤로글로빈 부가체를 분석한 결과에서, 대부분의 공정에서 BZ 헤모글로빈 부가체 및 MABZ 헤모글로빈 부가체를 검출되었다. 그러나 동일 작업장의 3년간 작업환경측정결과 자료와 비교했을 때 다른 작업부서는 모두 불검출이었으나 사상실 부서만 평균 염료분진 농도 0.0065 mg/m3 와 0.5659 mg/m3 으로 나타났다.

2. 염료제조 공정을 벤지딘 및 벤지딘계 염료분진 노출을 중심으로 분류했을 때 비노출 그룹과는 유의한 차이가 있었으나($P<0.00$) 벤지딘 염산염 노출 공정과 염료분진 노출공정사이에는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.
3. 헤모글로빈 부가체 검출결과는 BZ 와 MABZ가 각각 2.23 ug/g Hb일 때 76.17 ug/g Hb, 3.46 ug/g Hb와 21.33 ug/g Hb이었으며, BZ 보다는 대사물질인 MABZ가 통계학적으로 유의한 차이로 높게 검출되었다 $P<0.003$.

본 연구의 결과를 종합해 보면 작업환경측정결과 공기중 벤지딘 및 벤지딘계 염료는 검출되지 않았으나 헤모글로빈 부가체 분석결과 벤지딘계 염료분진에 노출되고 있음을 확인하였고 벤지딘 염산염과 벤지딘계 염료분진 노출 그룹의 헤모글로빈 부가체 농도는 유의한 차이는 없었으며, BZ와 MABZ 헤모글로빈 부가체 농도는 통계학적으로 유의한 차이를 보였다($p=0.003$).

그러므로 벤지딘이나 벤지딘계 염료에 노출되는 근로자의 노출량을 평가함에 있어 헤모글로빈 부가체를 이용한 생물학적 모니터링을 병행함으로써 정확한 노출평가를 할 수 있음을 증명하였다.

REFERENCES

김치년. 벤지딘 등 아민류의 유해성과 측정방법. 한국산업안전공단 (교육자료 위생 95-1-2); 1995

노동부. 유해물질의 허용농도,(노동부고시 제 97-65호). 노동부;1998

노동부. 산업안전보건법; 2000

노재훈, 김치년, 김현수 등. 벤지딘계 염료제조 사업장 근로자의 벤지딘 폭로. 대한산업의학회지 1995; 7(2): 103-109

노재훈, 원종욱, 김치년 등. 벤지딘계 염료(Direct Black 38)의 요 중 대사물질에 관한 연구. 한국산업위생학회지 1996; 6(1): 156-164

노재훈, 이진헌, Talaska G. 발암 물질의 생체 모니터링. 군자출판사; 1998. p.1 5

배문주, 노재훈, 조영봉 등. 흰쥐의 적출 간 관류법을 이용한 벤지딘 대사에 관한 연구. 산업위생학회지 1996; 6(1): 28-37.

원종욱, 노재훈, 박윤정 등. 흰쥐 적출간 관류법을 이용한 벤지딘계 염료 Direct Black 38의 대사. 대한산업의학회지 1996; 8(1): 59-65

염혜경, 송재석, 김치년 등. 벤지딘 염산염 및 염료제조 근로자 들의 피부노출 평가. 대한산업의학회지 1998; 10(1): 83-93

이귀영. 임상화학검사. 여문각; 1986. p.175 178

이지현, 염혜경, 김치년 등. 흰쥐 피부를 이용한 벤지딘의 피부투과에 대한 연구. 대한산업의학회지 1997; 9(3): 430-438

ACGIH. Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for 1998: Cincinnati: ACGIH; 1999

Anthony HM. Industrial Exposure in patients with carcinoma of bladder. J Soc Occup Med 1974; 24: 110

Badawi AF, Hirvonen A, Bell DA et al. Role of aromatic amine acetyltransferase, NAT1 and NAT2, in carcinogen-DNA adduct formation in the human urinary bladder. Cancer Res 1995; 15(55): 5230-5237

Babu SR, Lakshmi VM, Huang GP et al. Glucuronide conjugates of 4-aminobiphenyl and its

n-hydroxy metabolites. Biochem Pharmacol 1996; 51: 1679-1685

Bailey E, Farmer PB, Bird I, Lamb JH, Peal JA. Monitoring exposure to acrylamide by the determination of S-(2-carboxyethyl) cysteine in hydrolyzed hemoglobin by gas chromatography-mass spectrometry. Anal Biochem 1986; 157: 241-248

Bi W. Mortality and incidence of bladder cancer in benzidine exposed workers in China. Am J Ind Med 1992; 21: 481-489

Birner G, Neumann HG. Biomonitoring of aromatic amines Ⅱ: Hemoglobin binding of monocyclic aromatic amines. Arch Toxicol 1988; 62: 110-115

Birner G, Albrecht W, Neutmann HG. Biomonitoring of aromatic amines III : Hemoglobin binding of benzidine and some benzidine congeners. Arch Toxicol 1990; 64: 97-102

Bois FY, Krowech G, Zeise L. Modeling human interindividual variability in metabolism and risk: the example of 4-aminobiphenyl. Risk Analysis 1995; 15(2): 205-213

Bulbulyan MA, Figgs LW, Zahm SH et al. Cancer incidence and mortality among beta-naphthylamine and benzidine dye workers in Moscow. Int J Epidemiol 1995; 24(2): 266-275

Carl E, Cerniglia J, Freeman P et al. Metabolism of benzidine and benzidine-congener based dyes by human, monkey and rat intestinal bacteria. Biochem Biophysi Res Comm 1982; 107(4): 1224-1229

Case RAM, Hosker MW, McDonald DB et al. Tumors of the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. Br J Ind Med 1954; 11: 75-104

Cerniglia CE. Mutagenic activation of the benzidine-based dye Direct Black 38 by human intestinal microflora. Mutation Research 1986; 175:11-16

Dewan A, Jani JP, Patel JS, Gandhi DN, Variya MR, Ghodasara NB. Benzidine and its acetylated metabolites in the urine of workers exposed to Direct Black 38. Arch Environ Health 1988; 43(4):269-271

Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst 1981; 66: 1191-1308

Farmer PB, Bailey E, Gorf SM, Tornqvist M, Osterman-Golkar S, Kautiainen A, Lewis-Enright DP. Monitoring human exposure to ethylene oxide by the determination of hemoglobin adducts using gas chromatography-mass spectrometry. Carcinogenesis 1986; 7: 637-640

Genin VA. Formation of blastogenic diphenylamino derivatives as a result of the metabolism of direct azo dyes. Vapor Onkol 1977;23:50

Hein DW. Acetylator genotype and arylamine-induced carcinogenesis. Biochim Biophys Acta 1988; 948: 37-66

Hsu FF, Lakshmi V, Rothman N, Bhatnager VK, Hayes RB, Kashyap R, Parikh DJ, Turk J, Zenser T, Davis B. Determination of benzidine, N-acetylbenzidine, and N,N'-diacetylbenzidine in human urine by capillary gas chromatography /negative ion chemical ionization mass spectrometry. Anal Biochem 1996; 234: 183-189

IARC, Lyon, France. Tobacco Smoking, IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer Vol 38; 1985

Joachim F, Burrell A, Anderson J. Mutagenicity

of azo dyes in the salmonella/microsome assay using in vitro and in vivo activation. Mutation Research 1985;156:131-138

Kennelly JC, Hertzog PJ, Martin CN. The release of 4,4'-diaminophenyls from azo dyes in the rat. Carcinogenesis 1982;3:947-951

LaBella FS, Queen G. Subanesthetic concentrations of durgs inhibit cytochrome P450-mediated metabolism of aniline. Eur J Pharmacol 1995; 293: 231-235

Lakshmi VM, Zenser TV, Davis BB. Rat liver cytochrome P450 metabolism of N-acetylbenzidine and N,N'-diacetylbenzidine. Am Soci Pharmacol Experi Thera 1997; 25(4): 481-488.

Lakshmi VM, Zenser NT, Hsu FF, Mattammal MB, Zenser TV, Davis BB. NADPH-dependent oxidation of benzidine by rat liver. Carcinogenesis 1996; 17(9): 1941-1947

Lang NP. Acetylation as an indicator of risk. Environ Health Persp 1997 June; 105(4): 763-766. Martin CN, Kennelly JC. Rat liver microsomal azoreductase activity on four azo-dyes derived from benzidine, 3,3'-dimethylbenzidine or 3,3'-dimethoxybenzidine. Carcinogenesis 1981;2:307-312

Matanoski GM, Elliott EA. Bladder cancer epidemiology. Epidemiol Rev 1981 ; :203-229

Meal PF, Cocker J, Wilson HK, Gilmour JM. Search for benzidine and its metabolites in urine of workers weighing benzidine-derived dyes. Brit J Ind Med 1981;38:191-193

Meigs JW, Marrett LD, Ulrich FU, Flannery JT. Bladder tumor incidence among workers exposed to benzidine: a thirty-year follow-up. JNCI 1986; 76(1): 1-8

Neis JM, Brommelstroet BW, Van Gemert PJ. Roelofs HM, Henderson PT. Influence of ethanol induction on the metabolic activation of genotoxic agents by isolated rat hepatocytes. Arch Toxicol 1985; 57: 217-221

Neumann HG, Birner G, Kowallik P, Schutze D, Zwirner-Baier I. Hemoglobin adducts of N-substituted aryl compounds in exposure control and risk assessment. Environ Health Persp 1993; 99: 65-69

Murase T. Nine case of bladder cancer occuring in occupational dye users. Hiinyokika Kiyo 1985; 31:1459

National Cancer Institute. 13-week subchronic toxicity studies of direct blue 6, direct black 38, and direct brown 95 dyes. DHEW Publication, No. 78-1358; 1978

NIOSH. Benzidine derived dyes. Current intelligence bulletin 24. NIOSH; 1980

NIOSH. Guidelines for Air Sampling and Analytical Method Development and Evaluation: Cincinnati: Ohio; 1995. p. 65 66

Osterman-Golkar S, Hultmark D, Segerback D, Calleman CJ, Gothe R, Ehrenberg L, Wachtmeister CA. Alkylation of DNA and protein in mice exposed to vinyl chloride. Biochem Biophys Res Commun 1977; 7: 259-266

Osterman-Golkar S, Bailey E, Farmer PB, Gorf SM, Rickard J. Monitoring exposure to propylene oxide through the determination of hemoglobin alkylation. Scand J Work Environ Health 1984; 10: 99-102

Pereira MA, Chang LW. Binding of chemical carcinogens and mutagens to rat hemoglobin. Chem Biol Interact 1981; 33: 301-305

Pereira MA. Hemoglobin binding as a dose

monitor for human exposure to carcinogens and mutagens. In: Que Hee SS, editor. Biological monitoring: An introduction. New York: Van Nostrand Reinhold, 1993: 332-338

Riffelmann M, Muller G, Schmieding W, Popp W, Norpoth K. Biomonitoring of urinary aromatic amines and arylamine hemoglobin adducts in exposed workers and nonexposed control persons. Int Arch Occup Environ Health 1995; 68: 36-43

Sabbioni G, Neumann HG. Biomonitoring of arylamines: hemoglobin adducts of urea and carbamate pesticides. Carcinogenesis 1990; 11(1): 111-115

Segerback D, Calleman CJ, Ehrenberg L, Lofroth G, Osterman-Golkar S. Evaluation of genetic risks of alkylated amino acids in hemoglobin as a measure of the dose after treatment of mice with methyl methansulfonate. Mutat Res 1978; 49: 71-82

Sevensson CK, Ware JA. Effect of solvents on rat liver cytosolic acetylCoA: arylamine N-acetyltransferase activity in vitro. Res Com Chem path Pharmacol 1993; 79(1): 21-124

Shah PV, Guthrie FE. Dermal absorption of benzidine derivatives in rats. Bull Environ Contam Toxicol 1983; 31: 73-78

Skipper PL, Naylor S, Gan LS, Day BW, Pastorelli R, Tannenbaum SR. Origin of tetrahydrotetrols derived from human hemoglobin adducts of benzo[a]pyrene. Chem Res Toxicol 1989; 2: 280-281

Stillwell WG, Kidd LCR, Wishnok JS, Tannenbaum SR, Sinha R. Urinary excretion of unmetabolized and phase II conjugates of 2-amino-1-methyl -6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine and 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f] quinoxaline in humans: relationship to cytochrome P4501A2 and n-acetyltransferase activity. Cancer Res 1997; 3457-3464

Stanley LA, Coroneos E, Cuff R, Hickman D, Ward A, Sim E. Immunochemical detection of arylamine N-acetyltransferase in normal and neoplastic bladder. J Histochem Cytochem 1996; 44(9): 1059-1067

Tornquist M, Osterman-Golkar S, Kautiainen A, Jensen S, Farmer PB, Ehrenberg L. Tissue doses of ethylene oxide in cigarette smokers determination from adduct levels in hemoglobin. Carcinogenesis 1986; 7: 1519-1521

Van Duuren BL. Carcinogenicity of hair dye components. J Environ Pathol Toxicol 1980; 3(4): 237-251

Ward EM, Sabbioni G, DeBord DG, Teass AW, Brown KK, Talaska GG, Roberts DR, Ruder AM, Streicher RP. Monitoring of aromatic amine exposures in workers at a chemical plant with a known bladder cancer excess. Journal of the National Cancer Institute 1996; 88(15):1046-52

Wenfang BI, Hayes RB, Peiwen F. Mortality and incidence of bladder cancer in benzidine exposed workers in China. Am J Ind Med 1992; 21: 481-489

Weston A, Rowe ML, Manchester DK, Farmer PB, Mann DL, Harris CC. Fluorescence and mass spectral evidence for the formation of benzo(a) pyrene anti-diol-epoxide-DNA and hemoglobin adducts in human. Carcinogenesis 1989; 10: 251-257

Windmill KF, McKinnon RA, Zhu X, Gaedigk A, Grant DM, McManus ME. The role of xenobiotic metabolizing enzymes in arylamine toxicity and carcinogenesis: functional and localization studies.

Mutat Res 1997; 376: 153-160

Zwirner-Baier I, Neumann HG. Biomonitoring of aromatic amines Ⅳ: use of hemoglobin adducts to demonstrate the bioavailability of cleavage products from diarylide azo pigments in vivo. Arch Toxicol 1994; 68: 8-14

Zwirner-Baier I, Neumann HG. Biomonitoring of aromatic amines Ⅴ: Acetylation and deacetylation in the metabolic activaton of aromatic amines as determined by hemoglobin binding. Arch Toxicol 1998; 72: 499-504

Zavon MR, Hoegg U, Bingham E. Benzidine exposure as a cause of bladder tumors. Arch Environ Health 1973; 27: 1-7