

## 저농도 벤젠노출 평가를 위한 요중 *trans, trans*-muconic acid의 유용성

오현철<sup>1)</sup> · 김치년 · 원종욱 · 김현수 · 김형렬 · 노재훈<sup>†</sup>

연세대학교 의과대학 산업보건연구소 · 연세대학교 보건대학원 산업보건학과<sup>1)</sup>

### Availability of *trans, trans*-muconic acid as a biomarker for exposure to low concentrations of benzene

Hyun-Cheol Oh<sup>1)</sup> · Chi-Nyon Kim · Jong-Uk Won · Hyun-Soo Kim · Hyoung-Ryoul Kim · Jaehoon Roh<sup>†</sup>

Institute for Occupational Health, College of Medicine, Yonsei University  
Yonsei University, Graduate School of Public Health, Department of Occupational Health<sup>1)</sup>

The purpose of this study was to assess the availability of urinary *trans, trans*-muconic acid (t,t-MA) as a biomarker for low levels exposure to benzene. The airborne concentration of benzene was measured by personal air sampler and was determined by GC/FID. Urinary t,t-MA was determined in 40 urine samples collected from 20 workers in the petrochemical industry and from 20 control with no occupational exposure to benzene. In exposed group, the urine samples were collected at the beginning and end of the work shift. The concentrations of t,t-MA in urine were determined by HPLC/UV. The individual whole-shift concentrations of benzene in the exposed group ranged from undetectable to 0.99ppm with an average of  $0.16 \pm 0.22$  ppm (geometric mean, 0.046(0.12)ppm). The average urinary t,t-MA levels for the control and exposed group were  $19.67 \pm 18.88 \mu\text{g/g}$

creatinine (geometric mean, 12.44(2.90)) and  $199.01 \pm 64.76 \mu\text{g/g}$  creatinine (geometric mean, 189.27(1.39)), respectively. Significantly higher urinary t,t-MA levels were observed among the exposed workers. Statistically significant correlation was found between t,t-MA concentrations in end-of-shift samples and airborne benzene concentrations ( $r=0.63$ ,  $p<0.01$ ). According to the multiple regression analysis, no significant correlation existed between urinary t,t-MA level and any demographical characteristics. These data support the availability of urinary t,t-MA as a biomarker of low levels of benzene exposure ( $< 1$  ppm).

**Key Words:** *trans, trans*-muconic acid, biomarker, benzene, low concentrations

### I. 서론

벤젠( $\text{C}_6\text{H}_6$ , CAS No. 71-43-2)은 벤젠고리만으로 이루어져 있는 기본적인 방향족 탄화수소화합물이며 화합반응의 기본적인 물질로서 화학공업에서 널리 이용되고

있다. 벤젠은 대표적인 유기용제로서 다양하게 사용되었으나 그 독성이 알려지면서 그 사용이 줄어들고 있다(ACGIH, 2001). 최근에는 합성유기화합물이나 플라스틱 제품의 원료로서 사용되는데 현재 벤젠의 85%이상은 스타이렌, 페놀과 사이

클로 헥산의 원료로 이용된다. 또 다른 산업용 용도로는 합성세제, 발화물 및 약물 제제 생산에 쓰인다(염용태, 1993). 또한 벤젠은 가솔린이나 디젤연료에 함유되어 있는데 미국에서 생산되는 가솔린은 평균 1-3%의 벤젠을 함유하고 있으며 그 외의 지역에서 생산되는 연료에는 이보다 높은 5%에서 많게는 30%에 달하는 벤젠이 포함되어 있다(ACGIH, 2001). 그러므로 이

접수일: 2004년 7월 2일, 채택일: 2004년 8월 18일

† 교신저자: 노재훈(서울시 서대문구 신촌동 134번지, 연세대학교 의과대학 산업보건연구소  
Tel: 02-361-5354, E-mail: jhroh@yumc.yonsei.ac.kr)

를 통한 일반인들의 비직업적 및 환경적 벤젠노출에 대해서도 관심이 필요하다.

벤젠은 증기 상태로 흡입하거나 피부접촉으로 흡수되는데 급성 노출시 중추신경을 억제하고 만성적으로 노출되면 조혈장기를 억제하며 백혈병과 다발성 골수종 등의 혈액학적 질환을 유발하는 것이 밝혀져 있다. 이러한 독성 때문에 미국 산업위생협회의(American Conference of Governmental Industrial Hygienist, ACGIH)에서는 확인된 발암성 물질(A1)로 정하고 8시간 시간가중 평균 노출기준(TLV-TWA)을 0.5ppm, 단시간 노출기준을 2.5ppm으로 권고하였다. 우리나라의 경우 8시간 시간가중 노출기준을 10 ppm으로 오랜 기간 적용하였다가 2002년부터 1ppm으로 노출기준을 강화하였다(노동부, 2002).

최근 산업안전보건연구원의 연구결과(산업안전보건연구원, 2000)에서는 조사사업장 대부분에서 1ppm미만으로 관리되고 있었으며 10%에서만 1ppm을 초과하였다. 그러나 이러한 낮은 농도의 벤젠에 노출되더라도 장기간 노출시 조혈기계 질환발생이 증가하는데 Rinsky 등(1987)은 벤젠 누적노출량이 40ppm·년 이상인 경우 백혈병 발생 위험률이 3배 이상 증가된다고 하였다. 우리나라의 경우에도 벤젠과 관련된 혈액질환으로 인정된 사례 중 사후 역학조사에서 벤젠농도를 측정할 경우 기중 벤젠농도는 1-2ppm 수준이었다. 이렇게 낮은 농도에서도 조혈기계의 악성질환 발병이 가능하므로 낮은 농도의 벤젠노출을 평가할 수 있는 방법이 필요하다.

벤젠의 경우 피부흡수가 가능하므로 통합적인 노출을 평가하기 위한 생물학적 모니터링이 유용한 방법인데 일반적으로 생물학적 모니터링분야에서 벤젠의 대사산물로 사용되는 표지들은 페놀, S-phenylmercapturic acid(SPMA), trans,trans-muconic acid(t,t-MA) 등이 있다. 초기에 사용된 페놀의 경우 호흡기를 통한 노출이 5ppm(16mg/m<sup>3</sup>)이상의 농도에서만 유용하고 그 이하의 농도에서는 음식물 등을 통한 섭취 등에 의해 영향을 받아 저농도의 노출지표로는 적절치 않다(Dor 등,

1999). Ducos 등(1990; 1992), Lauwerys 등(1994), Ruppert 등(1997)은 저농도의 벤젠노출을 평가하는 표지로 t,t-MA를 제안하였고, Ghittori 등(1995)은 저농도의 벤젠노출을 평가하기 위해 요중 페놀은 사용할 수 없으며 SPMA, t,t-MA, 요중 벤젠 등을 적절한 생물학적 노출지표로 제안하였다. 이러한 SPMA와 t,t-MA에 대한 비교연구들이 시행되어 저농도에서 좋은 노출지표로서 제시되었고 SPMA가 좀더 정확한 노출지표로서 제안되었다(Boogaard와 van Sittert, 1995; 1996; Popp 등 1994). 국내에서도 방신희 등(1996)이 공기 중 벤젠농도가 평균 1ppm 미만인 경우에서 요중 SPMA가 상관계수 0.80의 상관성을 갖는 유용한 노출지표로 제안한 바 있고, 안선희 등(2003)은 저농도의 벤젠노출시 노출군과 비노출군 간에 t,t-MA 농도가 의미 있게 차이가 있어 저농도 노출지표로서의 의미가 있다는 것을 언급하였다. 1965년까지 ACGIH에서는 벤젠의 생물학적 노출지표를 작업종료 후 요중 페놀 50mg/g creatinine로 사용하였으나 1997년에는 SPMA 0.025mg/g creatinine으로 새롭게 바뀌었다. 현재 ACGIH(2003)에서는 벤젠의 노출기준 0.5ppm, 벤젠의 생물학적 노출지표로서 요중 SPMA 25μg/g creatinine과 t,t-MA 500μg/g creatinine를 제시하고 있다. 우리나라의 경우 벤젠의 생물학적 노출지표는 특수건강진단에 선택항목으로 되어 있고, 벤젠 노출기준 1ppm에서 요중 t,t-MA 2mg/l, SPMA 45μg/g creatinine으로 제시하고 있다(한국산업안전공단, 2000).

이에 본 연구는 우리나라 근로자들을 대상으로 저농도의 벤젠노출을 평가하기 위한 생물학적 표지로서 t,t-MA의 유용성을 알아보고자 하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구 대상

전남 여수시 소재 L화학공장에서 에틸렌과 벤젠을 사용하여 Styrene monomer (SM)를 생산하는 공정에 근무하는 근로

자 20명을 대상으로 하였으며 대조군으로 서울과 일산지역에 거주 및 근무하면서 직업적으로 벤젠에 노출된 적이 없었던 20명을 설정하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) 시료 포집

본 연구는 작업시간동안 기중 시료를 포집하여 벤젠, 에틸벤젠, 톨루엔 등을 분석하였으며, 소변시료는 작업시작 전 및 작업종료 직후 채취하여 요중 t,t-MA를 분석하였다.

연구 대상 근로자들을 대상으로 나이, 근무 연수, 작업시간, 흡연여부, 음주여부, 식사종류, 기왕질환 및 복용 약물, 운동습관 등 일반적 특성을 설문지를 사용하여 조사하였다.

#### 2) 분석 방법

##### (1) 기중 벤젠 농도 측정

공기중 벤젠농도의 측정방법은 미국 국립산업안전보건연구소의 1501분석방법(NIOSH, 1984)을 이용하여 시행하였다. 대상 근로자 20명에게 개인용 공기 포집기를 착용시켜 포집하였으며 포집매체는 activated coconut charcoal 50/100mg을 포함한 고체포집방법을 사용하여 포집유속 0.02L/min으로 1회 360분 동안 포집하였다.

탈착 방법은 활성탄관 앞뒤 층을 분리하여 이황화탄소 1ml를 각각 첨가하고 30분간 정치한 후 분석하였으며 시료농도 계산 시에 탈착율을 보정하였다.

표준원액은 벤젠, 에틸벤젠, 톨루엔을 이황화탄소 10ml에 일정량을 함께 첨가하여 사용하였으며, 표준원액은 혼합된 표준원액을 이황화탄소로 일정농도의 5개 종류로 희석 조제하여 사용하였다.

탈착율은 활성탄관에 일정농도로 조제한 혼합표준원액을 미량주사기로 주입한 후 측정시료와 함께 벤젠, 에틸벤젠, 톨루엔을 분석하고 탈착율을 보정하였다.

유해물질의 분석은 가스크로마토그래프/불꽃 이온화 검출기(Gas Chromato-

Table 1. 벤젠 분석을 위한 GC/FID의 조건

구 분	분 석 조 건
Column	FID, HP-FFAP(60mX0.53mmX2.0 $\mu$ m)
Injection temp.	200 $^{\circ}$ C
Detector temp.	250 $^{\circ}$ C
Oven temp.	Initial temp 40 $^{\circ}$ C Rate 3 $^{\circ}$ C/min Final temp 150 $^{\circ}$ C
Column flow	N2 6.52 ml/min
auxiliary+column flow	N2 30.9 ml/min
H2 flow	30 ml/min
Air flow	320 ml/min
split vent	115.4 ml/min

graphy/Flame Ionization Detection, GC/FID)를 이용하였다(표 1).

### (2) 요증 t,t-MA의 분석

t,t-MA분석은 안선희 등(2003)이 제시한 방법을 사용하였으며 정량은 고성능 액체 크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)를 사용하였다(표 2). 표준용액 및 회수를 시료는 t,t-MA(98% Aldrich) 50 mg을 100ml 용량 플라스크에 옮기고 에탄올 5ml를 가하여 녹인 후 1% 초산으로 표선을 채워 50mg/l의 표준용액을 만들었다. 50mg/l의 표준용액을 5ml 취하여 50ml 용량플라스크에 옮기고 1% 초산으로 표선을 채워 5mg/l의 표준용액을 만들었다. 이를 표준용액 원액으로 하여 0.1, 0.5, 1.0mg/l의 세 농도의 표준용액을 만들었다.

시료 전처리에는 표준용액과 소변시료를 1% 초산으로 20배 희석한 후 희석한 시료를 HPLC autosampler를 이용하여 10 $\mu$ l 주입하여 분석하였다.

요증 대사산물의 분석농도를 보정하기 위하여 요증 creatinine을 분석하였다. 요증 creatinine의 정량분석은 소변을 증류수

로 10배 희석하여 여과한 후 고성능 액체 크로마토그래피/자외선 검출기로 분석하였다.

### 3. 통계학적 분석방법

기중 벤젠의 농도 및 요증 t,t-MA 농도를 산술 평균과 기하평균으로 표시하고 작업 전, 후의 요증 t,t-MA의 농도를 비교하기 위한 paired t-test를 시행하였다. 기중 벤젠농도와 요증 t,t-MA 간의 상관관계 수(r)를 계산하여 상관성을 조사하고 단순 회귀방정식을 구하였다. 대조군과 노출군 간의 요증 t,t-MA농도를 비교하고 t-test를 통해 통계학적 유의성을 검증하였다. 근로자들의 일반적 특성이 벤젠노출에 의한 대사산물 배설에 미치는 영향을 알아보기 위해 다중 회귀분석을 시행하였다. 모든 통계적 방법은 SAS version 8.01 통계 프로그램을 이용하여 시행하였다.

## III. 결 과

### 1. 일반적 특성

연구 대상자들에게서 공기 중 시료 및 소변시료 채취 시 설문지를 통하여 일반적인 특성들을 조사하였다. 조사 항목은 성별, 나이, 근무기간, 주요 업무내용, 취급물질, 현장 근무시간, 흡연상태, 음주상태, 작업 시 음식 섭취, 약물 복용유무 및 약물의 종류, 전일 음주 여부, 금일 작업 간에 커피음용여부, 평상시 규칙적인 운동유무, 기왕 질환력 등을 조사하였다.

대상자들은 모두 남자 근로자로 동일한 공정에 종사하고 취급물질도 같았다. 조사항목 중 작업 중 섭취음식으로는 땅콩, 주스, 박카스, 음료수 등이 각각 1인씩이었다. 복용약물여부는 비타민 2명, 건강식품 2명, 위장관계 약물 1명 등이었다. 기왕 질환력은 요로결석이 1명에서 있었다.

연령은 최저 30세에서 최고 43세로 평균 연령은 38.3세였으며 근무 연수는 최소 6년에서 최고 16년으로 평균 13.4년을 근무하였다. 측정당일 근무시간은 최소 6시간에서 최고 13시간까지 평균 8.6시간이었다(표 3)

대조군의 경우 평균 연령은 38.9세(최저 32세에서 최고 49세)였으며 평상시 약물을 복용하는 사람은 모두 5명으로 고혈압관련 약물 및 영양제 1명, 비타민제 1명, 영양제 2명, 전립선 기능 개선제 1명 등이었으며, 기왕질환은 고혈압 1명, 결핵 2명 등이었다.

일반적인 특성을 나타내는 변수들은 두 군 간에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

### 2. 기중 벤젠의 농도

실험대상 노출군중 6명에서 벤젠이 검출되지 않았다. 본 측정방법의 검출 한계는 0.0022ppm이었으며 통계학적 분석과정에서는 검출되지 않은 경우에는 검출한계치를 적용하였다. 기중 벤젠의 농도 범위는 불검출된 경우부터 0.99ppm까지이며 산술평균은 0.16 $\pm$ 0.22ppm, 기하평균

Table 2. *trans,trans*-muconic acid 분석을 위한 HPLC/UVD의 조건

구 분	분 석 조 건
Column	ALTECH Alirma C18, 4.6X250mm
Mobile phase	10mM KH2PO4(pH 3.0): acetonitrile(90:10)
Flow rate	0.6 ml/min
Wave length	259 nm
Injection volume	10 $\mu$ l

Table 3. 일반적 특성

변 수	구분	노출군(%)	대조군(%)	P값
연령(세)		38.3± 2.7 <sup>‡</sup>	38.9± 4.5 <sup>‡</sup>	0.59
흡연여부	흡 연 비흡연	12(60) 8(40)	8(40) 12(60)	0.34
음주	한 다 안한다	16(80) 4(20)	13(65) 7(35)	0.48
복용 약물	있 다 없 다	5(25) 15(75)	5(25) 15(75)	1.00
전일 음주여부	했 다 안했다	7(35) 13(65)	8(40) 12(60)	1.00
작업 중 커피음용	음용안함 음용함	10(50) 10(50)	7(35) 13(65)	0.52
규칙적 운동	시행함 시행하지 않음	8(40) 12(60)	5(25) 15(75)	0.50

<sup>‡</sup>, 평균± 표준편차

은 0.046±0.12ppm이었다. 다른 유해물질의 경우 에틸벤젠은 10명에서 검출되지 않았으며 검출된 예에서는 최저 0.07에서 최고 1.2ppm까지 검출되어 노출기준(100 ppm)과는 현저한 차이를 보였다. 톨루엔의 경우에는 한 명에서만 0.09ppm이 검출되었고 그 외에는 검출되지 않았다.

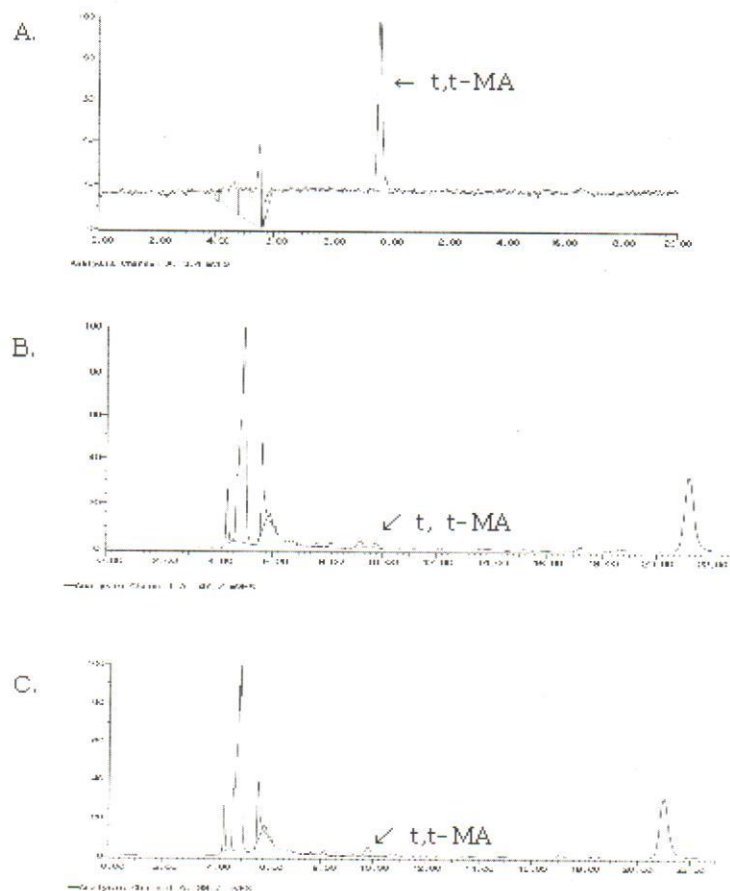
### 3. 요중 t,t-MA의 농도

#### 1) t,t-MA의 크로마토그램

표준용액 및 소변시료를 전처리하여 분석한 결과 아래와 같은 크로마토그램을 얻었으며 표준용액을 사용한 경우 9.68분대에 t,t-MA가 검출되었고 근로자의 소변시료를 분석한 경우에는 9.78분대에 검출되었다. 동일한 소변시료에 표준물질을 첨가하여 분석한 크로마토그램상 9.81분대에 검출되었고 소변시료만 분석하였을 때보다 면적이 증가하였으며(그림 1) 검출한계치는 1μg/l이었다.

#### 2) 대조군과 노출군의 요중 t,t-MA의 농도 비교

대조군과 노출군에서 측정된 작업 후 요중 t,t-MA농도를 크레아티닌 보정을 시행하여 표 5와 같은 결과를 얻었고 이는



A : 표준물질의 크로마토그램, B : 소변시료의 크로마토그램  
C : 표준물질을 첨가한 소변시료

Fig 1. t,t-MA의 크로마토그램.

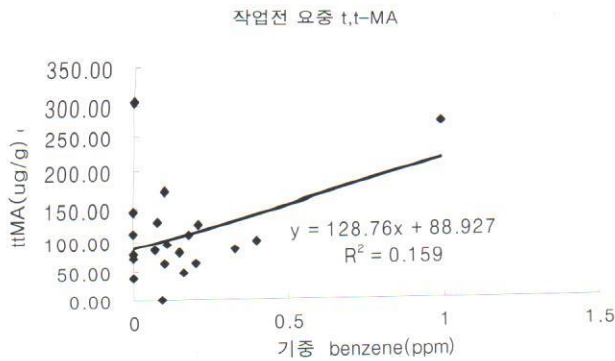


Fig 2. 기중 벤젠농도와 작업 전 t,t-MA 농도와의 상관성

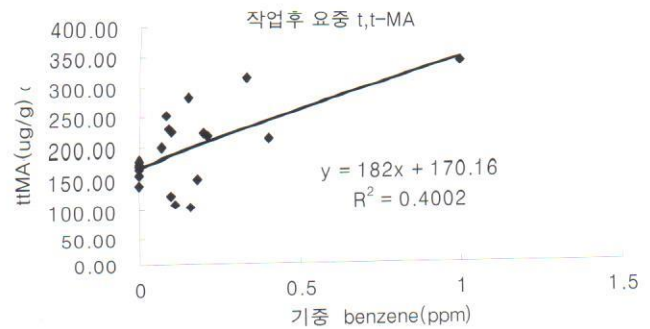


Fig 3. 기중 벤젠 농도와 작업 후 t,t-MA 농도와의 상관성

통계학적으로 유의한 차이를 보였다.

### 3) 기중 벤젠과 요증 t,t-MA간의 상관성 분석

노출군을 대상으로 기중 벤젠농도와 요증 t,t-MA의 농도간에 상관분석을 시행하였으며 작업 전 t,t-MA농도와의 상관관계수  $r=0.40(p=0.08)$ 로 유의한 상관관계가 없었으나, 작업 후 농도와의 상관관계수  $r=0.63(p<0.01)$ 의 상관성을 보였다. 기중 벤젠농도와 작업 후 요증 t,t-MA농도와의  $y=182x+170.16$ 의 선형회귀 방정식을 산출하였다(그림 2, 3).

### 4) 작업 후 요증 t,t-MA농도와 일반적인 특성과의 다중회귀분석

노출군에서 요증 t,t-MA농도에 영향을 미칠 수 있는 연구 대상자의 나이, 흡연,

전날 음주 여부, 약물 복용여부, 작업 중 커피 음용여부, 규칙적인 운동 등 일반적인 특성들과 연구에서 주요한 변수로 설정한 기중 벤젠농도, 작업 전 t,t-MA농도 등을 다중회귀분석을 통해 분석하였다.

다중회귀분석결과는 작업 후 요증 t,t-MA의 농도와 기중 벤젠농도가 높은 관련성을 보였으나 통계학적으로 유의한 상관성을 보이지 않았으며( $p=0.06$ ) 다른 변수들도 통계학적으로 유의한 관련성이 없었다(표 4).

일반적 특성 중 주요변수들에 대해 그 영향을 개별적으로 분석하기 위해 주요 변수인 흡연, 음주, 전일 음주여부, 약물 복용여부, 작업 중 커피음용, 규칙적인 운동여부 등을 독립변수로 하고 작업 후 요증 t,t-MA의 농도를 종속변수로 하여 t-test를 이용한 단변량 분석을 시행하였다. 시

행결과 이 변수들과 요증 t,t-MA농도 간에는 통계학적으로 유의한 상관성이 없었다(표 5).

## IV. 고 찰

벤젠에 의한 조혈기계장애로 악성혈액 질환이 발생하는 것이 여러 연구들에서 밝혀졌다. 최근에는 백혈구나 적혈구계통 이외에도 혈소판의 수를 감소시키는 경향이 있는 것으로 연구되어(Wiwanitkit 등, 2004) 조혈기계 전반에 장애를 초래하는 것으로 여겨진다. 또한 1-2ppm정도의 적은 량의 벤젠노출에도 조혈기계 질환이 발생할 수 있으며(산업안전보건연구원, 2000) 이러한 근거로 벤젠에 대한 직업적 노출을 엄격하게 규제하여 왔다. 최근 국

Table 4. 작업 후 요증 t,t-MA 농도와 일반적인 특성들과의 다중회귀분석

변 수	구 분	Parameter Estimate	Standard Error	P값
기중 벤젠농도		292.22	135.75	0.06
작업 전 t,t-MA		0.23	0.40	0.58
근무연수		14.12	15.33	0.38
당일작업시간		3.32	21.51	0.88
연령		2.96	12.32	0.82
흡연	(흡연=0)	25.44	47.05	0.60
약물복용	(없다=0)	18.78	43.93	0.68
음주	(마신다=0)	33.73	61.08	0.60
전일 음주여부	(안마심=0)	53.62	56.96	0.37
작업중 커피음용	(안마심=0)	-22.36	48.32	0.66
규칙적 운동	(시행하지않음=0)	-1.36	49.30	0.98
$R^2$		0.64		
Adj- $R^2$		0.14		

Table 5. 작업 후 요중 t,t-MA 농도와 일반적 특성들간의 단변량 분석

변 수	구 분	평 균	표준편차	p 값
흡 연	흡 연 비흡연	182.52	60.43	0.17
		223.74	66.93	
음 주	마신다 안마신다	200.35	64.40	0.86
		193.62	76.00	
전일음주	했다 하지않음	195.62	38.04	0.86
		200.82	76.86	
약물복용	있다 없다	181.73	45.41	0.45
		206.41	71.69	
커 피	음용하지않음 음용함	215.41	67.23	0.27
		182.61	61.13	
운 동	시행한다 시행하지않음	208.92	68.51	0.59
		192.40	64.33	

내에서도 벤젠 노출기준을 시간가중 평균치를 기준으로 1ppm으로 낮추어 적용하고 있다.

벤젠은 흡입, 피부접촉, 소화기를 통한 섭취의 세 가지 경로를 통하여 인체 내로 흡수되는 데 주로 흡입에 의해 흡수가 일어나며 섭취에 의한 경우는 가장 적다. 인체 피부를 이용한 실험에서 피부를 통한 흡수는 벤젠농도에 관계없이 대개 0.2% 정도로 일정한 것으로 알려져 있다(Panev 등, 2002). 흡수된 벤젠의 대사에 관한 자료들은 대개 호흡기를 통한 노출에 관한 연구에서 얻어 진 것이다. 체내에 유입된 벤젠은 cytochrome P450이 관여하는 여러 효소들(cytochrome P450-dependent mixed-function oxidase enzymes)에 의해 대사과정을 거치게 된다. Cytochrome P450은 모든 조직에 존재하지만 주로 간장에 분포하기 때문에 벤젠 대사는 일차적으로 간장에서 일어난다(U.S. Department of Health and Human services, 1997). 우선적으로 간장의 cytochrome P-450 2E1(CYP2E1)에 의하여 산화과정이 빠르게 진행되어 epoxide(benzene oxide)를 형성한다. Valentine 등(1996)에 의하면 이러한 CYP2E1의 기능부전이 있는 실험동물에서 소변 내 벤젠대사산물들이 상대적으로 적은 농도가 존재함을 보여 벤젠대사과정에 CYP2E1이 중요한 역할을 함을 증명하였다. 그 후 benzene oxide는 그 oxepin 형과

평형상태를 유지하면서 세 가지 경로의 대사과정을 거친다. 첫번째 경로는 ring-hydroxylated metabolites로 페놀, hydroquinone, catechol이 생성되는 것이다. 또한 이 두 물질의 산화과정으로 생성되는 1,2,4-trihydroxybenzene이 포함되며 sulfates와 glucuronides의 포함체 형태로 소변으로 배설된다. 두 번째 과정은 ring-opening과정을 거쳐 trans,trans-muconaldehyde를 형성하고 이 물질이 산화되어 trans, trans-muconic acid와 6-hydroxy-trans, trans-2,4-hexadienoic acid를 형성하는 것이다. 세 번째 경로를 통한 대사산물들은 추가적인 해독작용인 glutathione과 포함되는 과정을 거쳐 형성되는 pre-phenylmercapturic acid와 phenyl mercapturic acid 등이다.

벤젠 노출을 평가하는 방법으로는 생물학적 모니터링이 유용한 것으로 알려져 시행되어 왔으며, 산업안전보건법(2003)에서는 생물학적 노출지표로 혈중 벤젠, 요중 페놀, 요중 SPMA, 알카리포스파타제, 요중 t,t-MA(작업 종료 시 채취)를 권고하고 있다. 현재 대부분의 사업장에서 벤젠의 노출농도가 1ppm이하로 관리되고 있는 상황에서는 과거에 일반적으로 사용되던 페놀은 더 이상 생물학적 노출지표로서 기능을 할 수 없으며 저농도 벤젠 노출에 적당한 생물학적 노출지표로서 SPMA와 t,t-MA가 사용되어 왔다. SPMA

는 현재 ACGIH에서 벤젠에 대한 생물학적 노출지표로 사용되고 있으며 일반적으로 흡입된 벤젠의 약 0.11%가 이 물질의 형태로 소변으로 배설된다(van Sittert 등, 1993). 또한 이 물질의 반감기는 9시간이고 0.5ppm이상의 벤젠노출에서는 체내에 축적되는 것으로 알려져 있다(Boogaard와 van Sittert, 1996). t,t-MA의 경우 흡입된 벤젠의 약 1에서 4%정도가 이를 통해 배설되며 체내 반감기는 5시간이다(Boogaard와 Van Sittert, 1995). 이러한 비율은 3-600mg/m<sup>3</sup>의 노출범위에서 적용되며 0.1ppm이하의 저 농도에서는 7에서 58% 정도를 반영한다(Yu와 Weisel, 1996).

최근의 연구(Melikian 등, 2002)에서는 흡수된 벤젠이 생체 내 변환과정을 거쳐 SPMA로 0.005에서 0.3%정도 전환되고 t,t-MA로는 0.6에서 20%까지 전환되는 것으로 보고하였으며 이러한 비율은 벤젠 농도가 높아질수록 감소하였다.

공기 중 벤젠농도와 생물학적 노출지표들 간의 상관성을 비교한 연구에서 Popp 등(1994)은 상관계수가 SPMA, t,t-MA, 혈중 벤젠이 각각 0.81, 0.54, 0.44라고 보고하였다. 또한 0.01에서 0.05ppm의 저농도 벤젠노출에서도 SPMA가 0.63, t,t-MA가 0.56, 요중 벤젠이 0.54의 상관계수를 보여 SPMA가 가장 높은 상관성을 갖는 물질로 제시되었고 세 가지 물질들은 저농도 벤젠 노출의 좋은 지표들로 제시되었

다(Ghittori 등, 1995). 그러나 국내에서는 이러한 생물학적 노출지표들에 대한 연구가 적었으며 특히 1ppm이하의 저농도 벤젠노출에 대한 t,t-MA가 유용한 생물학적 노출지표가 될 수 있는 지에 대한 연구가 매우 부족한 실정이다.

Inoue 등(1989)이 신발 및 페인트 제조 공장의 벤젠노출 근로자들을 대상으로 한 연구에서 요중 t,t-MA가 노출 벤젠의 시간가중 평균치(TWA)와 선형의 상관성을 보고하였으며 그 후 급성 벤젠 노출에 대한 생물학적 지표로서 소변내 t,t-MA에 대한 여러 연구들이 이루어져 왔다(Ducos 등, 1990; 1992; Lee 등, 1993; Melikian 등, 1993; 1994). t,t-MA는 독성 물질은 아니나 그 전구물질인 mucoaldehyde가 백혈병 유발과정에 관여하므로 이의 측정은 노출에 대한 평가뿐 아니라 그 독성까지도 반영한다고 할 수 있다(Dor 등, 1999). t,t-MA는 페놀에 비해 일반 인구집단에서 소변내 기본농도가 낮아 민감도가 높으나 비직업적 노출군에서 소변내 농도는 0.016에서 0.26 mg/g creatinine로 매우 다양한 결과를 보였다(표 7).

t,t-MA는 5시간이라는 비교적 짧은 반감기를 보이며 또한 소변으로의 배설이 노출 후 6시간에서 9시간 사이에 최고치를 보이므로 시료 채취 시 이를 고려하여야 한다(Yu와 Weisel, 1996).

요중 t,t-MA는 흡수된 벤젠량 이외에도 흡연, 톨루엔, 음식 등에 의해 영향을 받는데 가장 주요한 요소는 흡연상태이며 특히 기중 벤젠 농도가 낮을수록 그 영향은 증가한다(Lauwerys 등, 1994; Ghittori 등, 1995). 또한 벤젠과 함께 톨루엔에 동시에 노출되는 경우 벤젠대사에 영향을 주어 대사산물의 배설에 변화를 주며(문종국 등, 2002) 소변내의 muconic acid의 배설을 억제하는 것으로 알려져 있다(Brondeau 등, 1992; Inoue 등, 1989). 식품보존제로 다양하게 사용되는 sorbic acid는 대사과정을 거쳐 t,t-MA를 형성하여 소변내 t,t-MA의 농도를 증가시킨다. sorbic acid는 치즈나 훈제 생선, 통조림 식품, 과자나 유제품, 무알콜 음료, 맥주, 과일 주스, 포도주 등에 함유되어 있다

(Cocco 등, 2003; Ruppert 등, 1997). Ruppert 등(1997)은 비흡연자를 대상으로 하루 500mg의 sorbic acid를 투여하여 평균 0.12%가 요중 t,t-MA로 배설된다고 보고하였다. Marrubini 등(2002)도 실험동물(Sprague-Dawley rat)을 이용한 연구에서 벤젠과 함께 투여된 sorbic acid가 t,t-MA 배설을 증가시키는 것으로 보고하였다. 다만 8mg/kg의 용량을 투여한 경우에는 대조군과 벤젠 노출군에서 요중 t,t-MA 배설에 영향을 주지 않았고 50mg/kg이상의 용량을 투여한 경우에 요중 t,t-MA의 배설을 증가시키는 것으로 나타났다. 그러므로 결과를 평가할 때 이러한 점을 고려하여야 한다.

본 연구는 벤젠취급 화학공장을 대상으로 하였으며 이 공정은 에틸벤젠 제조공정과 SM제조공정으로 구분되며 먼저 고온의 상태에서 염화알루미늄 및 염화수소 촉매 하에서 에틸렌과 과량의 벤젠을 반응시켜 에틸벤젠을 함유하는 알킬화 반응액을 생산하고 이 반응액에서 에틸벤젠을 분리한다. 이 에틸벤젠을 고온의 스팀과 함께 탈수소 촉매가 충전된 고정성 반응기에 투입하여 탈수소화 반응을 통해 탈수소화합물을 생산한 후 여기서 SM을 분리하며 부산물로 톨루엔과 벤젠 등이 분리된다. 이 과정에서 벤젠이 누출될 수 있으며 shut down(가동중단)기간동안 기구들을 해체하는 과정에서 일부 잔존되어 있던 벤젠에 노출될 수 있다. 노출군의 벤젠 노출정도는 불검출에서 0.99ppm으로 모두 1ppm이하로 검출되어 노출기준 이하의 노출을 보이고 있음을 알 수 있었다. 그러나 한 명에서 노출기준에 근접한 경우가 관찰되어 보호구 착용 등 개인적 보호대책이 필요하다고 사료된다. 1ppm 미만의 저농도 벤젠노출을 평가하는데 있어서 t,t-MA의 유용성여부를 알아보기 위하여 작업 전, 후의 요중 t,t-MA의 농도와 대조군과 노출군의 t,t-MA의 농도를 비교한 결과 작업 후 요중 t,t-MA의 농도가 유의하게 증가하였으며 대조군의 t,t-MA농도와도 유의한 차이를 보였다( $p < 0.01$ ). 또한 기중 벤젠농도와와의 상관관계수는  $r=0.63$  ( $p < 0.01$ )으로 통계학적으로 유의한 상관

관계를 보여 1ppm이하의 저농도의 벤젠노출을 평가하는데 유의한 생물학적 표지라고 할 수 있다. 이번 연구에서 검출된 대조군의 요중 t,t-MA수준은 기존의 연구 결과들(표 7)과 비교해 볼 때 낮은 수준을 보였는데 이는 대조군의 경우 실내에서 근무하는 자들을 대상으로 하였는데 조사대상자들의 거주지 및 근무지가 공장지역과 분리되어 있었고 최근 실내에서는 흡연이 금지되는 등 요중 t,t-MA배설을 증가시킬 수 있는 요인들이 적었던 것이 요인으로 여겨졌다.

요중 t,t-MA의 농도에 영향을 주는 요인으로 많은 연구에서 증명되었던 흡연에 의한 효과는 이번 연구에서는 관찰되지 않았다. 이는 연구의 대상군수가 적고 설문지를 통한 조사이므로 좀더 세밀한 흡연습관이나 측정당일 흡연 등이 고려되지 못하였던 것이 요인으로 사료되었다.

또한 많은 양의 toluene에 함께 노출시 벤젠대사에 영향을 미쳐 t,t-MA의 배설을 억제하는 것으로 알려져 있는데 본 연구에서는 toluene을 함께 측정하였으나 한 예에서만 0.09ppm이 검출되어 연구결과에는 영향을 주지 않았다.

식품중에 함유되어 있는 sorbic acid가 생체내에서 t,t-MA로 전환되어 흡수된 벤젠량과 t,t-MA합성간의 관련성을 변화시킬 수 있으나 이번 연구에서는 이러한 점을 고려하지 못하였는데 sorbic acid가 식품첨가제로 매우 폭 넓게 사용되고 있어 그 섭취정도를 정확하게 평가할 수 없었다. 다만 대조군과 노출군에서 sorbic acid 섭취량에 상이한 차이가 없을 것으로 추정되었고, Marrubini 등(2002)의 연구에서는 많은 양(50mg/kg)을 섭취한 경우에 t,t-MA배설에 영향을 주는 것으로 나타났으며, Cocco 등(2003)의 연구에서는 평균 sorbic acid섭취가 평균 0.33ppm이었으며 이러한 농도에서는 요중 t,t-MA배설에 영향을 주지는 않는 것으로 보고한 바 있어 연구결과에 큰 영향을 주었을 개연성이 적다고 판단되었다. 그러나 Ruppert 등(1997)은 기존 연구들을 토대로 하루 sorbic acid 섭취량이 6-30mg정도로 이는 소변으로 하루 0.008-0.045mg(0.005-0.03

mg/g creatinine) 정도의 t,t-MA를 배설한다고 하였다. 이러한 양은 비노출군에서 비흡연자 배설량의 10-50%, 흡연자에서는 5-25%에 해당하는 것으로 sorbic acid 섭취정도가 실험결과에 영향을 줄 가능성이 높음을 보여주고 있어 이러한 음식을

통한 sorbic acid섭취를 정량화하여 평가하는 연구가 필요할 것이다.

본 연구의 제한점으로는 연구 대상군의 수가 적어 연구결과에 여러 변수들의 영향이 편향되어 나타날 수 있으며 대조군으로 선정된 집단이 지역적, 직업적으로

유사한 특성을 갖고 있어 일반적인 인구 집단을 대표하는 비노출군과 차이가 있을 수 있다. 또한 흡연량을 정량적으로 반영할 수 있는 표지(요중 cotinine 등)를 같이 측정하여 비교하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

Table 6. 요중 trans,trans-Muconic acid의 수준

대 상	공기중 벤젠농도(mg/m <sup>3</sup> )	요중 t,t-MA 농도(mg/g creat)	연구자
비노출군 노출군	14	0.27(0.21) 6.2(3.1)	Bechtold 등, 1991;1993
비노출군 노출군	<0.03 3.2	0.41(P95) 1.4	Lauwerys 등, 1994
비노출군 start 비노출군 end 노출군 start 노출군 end	<1 2.6(3.1)	0.4(0.57) 0.69(0.39) 0.62(0.61) 1.28(1.14)	Popp 등, 1994
대조군 NF 대조군 F 노출군 start 노출군 end	3.26	0.037(0.016) 0.058(0.013) 0.23 0.87	Boogaard 등, 1995
대조군 NF 대조군 F		0.06(0.04) 0.23(0.14)	Ghittori 등, 1995
비노출군 노출군, 저농도 중간농도 고농도	<3.17 3.2-16 >16	0.11(0.07) 0.36(0.22) 4.59(5.9) 20.89(11.3)	Ong 등, 1995
NF F		0.054(0.017) 0.09(0.035)	Ruppert 등, 1995
대조군 노출군, 저농도 고농도	0.045 0.03-0.08 >0.8	0.14(0.07) 0.10(0.03) 0.63(0.04)	Ong 등, 1996
대조군 NF 노출군		0.162 0.297(0.37)	Gobba 등, 1997
NF F		0.065 0.13	Ruppert 등, 1997
대조군 노출군		0.12(0.03) 4.00(12.49)	Wiwanitkit 등, 2001
비노출군 노출군, 노출군,	≤1ppm 1-5ppm 5-15ppm	0.26(0.27) 0.96(1.16) 4.1(3.39) 9.3(6.29)	Melikian 등, 2002
NF F 여자 남자		0.016(0.005)(GM) 0.038(0.004) 0.029(0.005) 0.012(0.004)	Cocco 등, 2003
대조군 노출군		0.08(0.03) 0.56(0.65)	Wiwanitkit 등, 2003

NF : non-smoker, F: smoker, start: start of work-shift, end: end of work-shift, GM: geometric mean, ( ): standard deviation

\* Dor 등(1999)에서 일부 재인용

## VI. 결 론

국내 근로자들을 대상으로 저농도의 벤젠노출을 평가하기 위한 요중 *trans,trans*-muconic acid의 유용성을 알아보고자 하였으며 연구대상은 벤젠취급 화학공장의 근로자 20명을 대상으로 하였고 직업적으로 벤젠에 노출되지 않았던 20명을 대조군으로 선정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1ppm이하의 저농도 벤젠에 노출된 노출군의 작업종료 후 요중 *t,t*-MA의 평균과 기하평균 농도는 각각  $199.01 \pm 64.76$ ,  $189.27 \pm 1.39 \mu\text{g/g creatinine}$ 이었으며 대조군의 요중 *t,t*-MA농도는 각각  $19.67 \pm 18.88$ ,  $12.44 \pm 2.90 \mu\text{g/g creatinine}$ 로 두 집단 간에 통계학적으로 유의한 차이를 보였다. 기중 벤젠농도와 작업종료 후 요중 *t,t*-MA 농도 간에는 유의한 상관관계를 보여 요중 *t,t*-MA는 국내 근로자들에게도 저농도 벤젠노출을 평가하기 위한 유용한 생물학적 표지로 사용될 수 있다고 사료된다.

## REFERENCES

- 노동부. 화학물질 및 물리적 인자의 노출 기준(고시 제2002-8호). 2002
- 노동부. 산업안전보건법. 2003
- 문종국, 김치연, 노재훈. 흰쥐에서 톨루엔이 요중 벤젠 대사 물질인 phenol과 S-phenylmercapturic acid배설에 미치는 영향. 대한산업의학회지 2002; 14(2): 143-153
- 방신희, 김광중, 염용태. 벤젠 노출 근로자의 생물학적 모니터링 지표로서의 요중 S-phenylmercapturic Acid에 관한 연구. 한국산업위생학회지 1996; 6(2): 272-280
- 산업안전보건연구원. 유해물질 노출근로자의 건강영향에 대한 연구(III); 벤젠 노출 근로자에 대하여, 2000 연구보고서. 2000
- 안선희, 김강운, 박남규, 신정아, 이동범, 등. 저농도 벤젠 노출 근로자의 요중 페놀 및 뮤코닉 산 농도. 산업보건 2003; 182: 21-30
- 염용태 역. 화학물질의 독성/방향족 탄화수소화합물들: 벤젠. 산업보건 1993; 12: 53-56
- 한국산업안전공단. 근로자 건강진단 실무 지침. 2000
- ACGIH. Documentation of the TLVs and BEIs 7th edition. 2001
- ACGIH. TLVs and BEIs. 2003
- Boogaard PJ, van Sittert NJ. Biological monitoring of exposure to benzene: a comparison between S-phenylmercapturic acid, *trans,trans*-muconic acid, and phenol. Occup Environ Med 1995; 52: 611-620
- Boogaard PJ, van Sittert NJ. Suitability of S-phenylmercapturic acid and *trans,trans*-muconic acid as biomarkers for exposure to low concentrations of benzene. Environ Health Perspect 1996; 104 (Suppl 6): 1151-7
- Brondeau MT, Ducos P, Gaudin R, Morel G, Bonnet P, de Ceaurriz J. Evaluation of the interaction of benzene and toluene on the urinary excretion of *t,t*-muconic acid in rats. Toxicol Lett 1992; 62(2-3): 311-6
- Cocco P, Tocco MG, Ibba A, Scano L, Ennas MG, Flore C, Randaccio FS. *trans,trans*-muconic acid in relation to environmental exposure to benzene. Int Arch Occup Environ Health 2003; 76: 456-460
- Dor F, Dab W, Empereur-Bissonnet P, Zmirou D. Validity of Biomarkers in Environmental Health Studies: The Case of PAHs and Benzene. Crit Rev Toxicol 1999; 29(2): 129-168
- Ducos P, Gaudin R, Robert A, Francin JM, Maire C. Improvement in HPLC analysis of urinary *trans,trans*-muconic acid, a promising substitute for phenol in assessment of benzene exposure. Int Arch Occup Environ Health 1990; 62(7): 529-34
- Ducos P, Gaudin R, Bel J, Maire C, Francin JM, Robert A, Wild P. *trans,trans*-muconic acid, a reliable biological indicator for the detection of individual benzene exposure down to the ppm level. Int Arch Occup Environ Health 1992; 64(5): 309-13
- Ghittori S, Maestri L, Fiorentino ML, Imbriani M. Evaluation of occupational exposure to benzene by urinalysis. Int Arch Occup Environ Health 1995; 67: 195-200
- Inoue O, Seiji K, Nakatsuka H, Watanabe T, Yin SN, Li GL, Cai SX, Jin C, Ikeda M. urinary *t,t*-muconic acid as an indicator of exposure to benzene. Br J Ind Med 1989; 46(2): 122-7
- Lauwerys RR, Buchelt JP, Andrien F. Muconic acid in urine: a reliable indicator of occupational exposure to benzene. Am J Ind Med 1994; 21: 749-757
- Lee BL, New AL, Kow PW, Ong HY, Shi CY, Ong CN. Urinary *trans,trans*-muconic acid determined by liquid chromatography: application in biologic monitoring of benzene exposure. Clin Chem 1993; 39(9): 1788-92
- Marrubini G, Coccini T, Maestri L, Manzo L. Effect of sorbic acid administration on urinary *trans,trans*-muconic acid excretion in rats exposed to low levels of benzene. Food Chem Toxicol 2002; 40(12): 1799-806
- Melikian AA, Prahalad AK, Hoffmann D. Urinary *trans,trans*-muconic acid as an indicator of exposure to benzene in cigarette smokers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1993; 2(1): 47-51
- Melikian AA, Prahalad AK, Secker-Walker RH. Comparison of the level of the urinary benzene metabolite *trans,trans*-muconic acid in smokers and non-smokers, and the effects of pregnancy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1994; 3(3): 239-44

- Melikian AA, Qu Q, Shore R, Li G, Li H, Jin X, Cohen B, Chen L, Li Y, Yin S, Mu R, Zhang X, Wang Y. Personal exposure to different level of benzene and its relationship to the urinary metabolites S-phenylmercapturic acid and trans, trans-muconic acid. *J Chromatogr B* 2002; 778: 211-221
- National Institute for Occupational Safety and Health(NIOSH). NIOSH manual of analytical method(method 1501). 1984
- Ong CN, Kok PW, Lee BL, Shi CY, Ong HY, Chia KS, Lee CS, Luo XW. Evaluation of biomarkers for occupational exposure to benzene. *Occup Environ Med* 1995; 52(8):528-33
- Ong CN, Kok PW, Ong HY, Shi CY, Lee BL, Phoon WH, Tan KT. Biomarkers of exposure to low concentrations of benzene: a field assessment. *Occup Environ Med* 1996; 53(5): 328-33
- Panev T, Popov T, Georgieva T, Chohadjieva D. Assessment of the correlation between exposure to benzene and urinary excretion of t,t-muconic acid in workers from a petrochemical plant. *Int Arch Occup Environ Health* 2002; 75(Suppl): S97-S100
- Popp W, Rauscher D, Muller G, Angerer J, Norpoth K. Concentrations of benzene in blood and S-phenylmercapturic acid and t,t-muconic acid in urine in car mechanics. *Int Arch Occup Environ Health* 1994; 66: 1-6
- Rinsky RA, Smith AB, Hornung R, Filloon TG, Young RJ, Okun AH, Landrigan PJ. Benzene and leukemia. An epidemiologic risk asseecement. *N Engl J Med* 1987; 316(17): 1044-50
- Ruppert T, Scherer G, Tricker AR, Adlkofer F. trans,trans-Muconic acid as a biomarker of non-occupational environmental exposure to benzene. *Int Arch Occup Environ Health* 1997; 69: 247-251
- U.S. Department of Health and Human services. Toxicological profile for benzene. 1997
- Valentine JL, Lee SS, Seaton MJ, Asgharian B, Farris G, Corton JC, Gonzalez FJ, Medinsky MA. Reduction of benzene metabolism and toxicity in mice that lack CYP2E1 expression, *Toxicol Appl Pharmacol* 1996; 141(1): 205-13
- van Sittert NJ, Boogaard PJ, Beulink GD. Application of the urinary S-phenylmercapturic acid as a biomaker for low level of exposure to benzene in industry. *Brit J Ind M* 1993; 50: 460-469
- Wiwanitkit V, Suwansaksri J, Nasuan P. Urine trans,trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure in gas station attendants in Bangkok, Thailand. *Ann Clin Lab Sci* 2001; 31(4): 399-401
- Wiwanitkit V, Suwansaksri J, Neramitraram P, Praneesrisawasdi P. A note on urinary trans,trans-muconic acid level among Thai press workers. *Biomarkers* 2003; 8(3-4): 339-42
- Wiwanitkit V, Suwansaksri J, Soogarun S. The urine trans,trans- muconic acid biomarker and platelet count in a sample of subjects with benzene exposure. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004; 10(1): 73-6
- Yu R, Weisel CP. Measurement of the urinary benzene metabolite trans,trans-muconic acid from benzene exposure in humans. *J Toxicol Environ Health* 1996; 48(5): 453-77