

흰쥐에서 에탄올이 요중 벤젠 대사 물질인 phenol과 S-phenylmercapturic acid 배설에 미치는 영향

김치년·노재훈[‡]

연세대학교 의과대학 산업보건연구소

Effect of ethanol on phenol and S-phenylmercapturic acid excretion as urinary metabolites of benzene in rats

Chi-Nyon Kim · Jaehoon Roh[‡]

Institute for Occupational Health, College of medicine, Yonsei University

This study was conducted to provide accurate biological monitoring for workers who were exposed to benzene and ethanol pre-exposed condition. For the purpose of this study, an animal experiment was conducted to evaluate the effects of pretreatment of ethanol, which are known to affect metabolism of xenobiotics, on the excretion of urinary phenol and S-phenylmercapturic acid (SPMA) in the rats administered benzene.

The following concentrations of solvents were administered orally to Sprague-Dawley rats: Benzene was administered 2.26 mg/kg body weight (equal concentration to 2.5 ppm, TLV-STEL in USA) and 9.02 mg/kg body weight (equal concentration to 10 ppm, OEL-TWA in Korea). As well, 1g/kg body weight ethanol was pretreated. Hydrolyzed phenol and SPMA were analyzed by gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID) and gas chromatography-mass selective detector (GS-MSD). The quantitative amount of the urinary metabolites was expressed by calibration of creatinine.

The concentration of phenol and SPMA decreased markedly at the initial phase in the ethanol pre-treated group compared with the control group and the concentration was slightly increased with elapsed time. This phenomenon was remarkable for the concentration of 2.26 mg/kg than 9.02

mg/kg of benzene administration. The total excreted amount of phenol and SPMA in urine decreased in the ethanol pretreated group compared with the control group and this phenomenon was remarkable for the concentration of 9.02 mg/kg in the control group. Urinary phenol excretion was more increased in 2.02 mg/kg benzene and pre-ethanol administered group compared with the benzene-only administered group. The urinary excretion of phenol and SPMA was delayed in the case of the ethanol pretreated group, and these effects are dependent on the amount of benzene administration.

Benzene metabolism was suppressed by ethanol, and as a result, the excretion of phenol and SPMA as a urine metabolites of benzene was delayed. This result will have applications in the interpreted of results from future biological monitoring of drunken workers. It's should not underestimated that the importance of carefully interpreting the results of biological monitoring data when workers are exposed to pre-ethanol consumption before work.

Key Words: Benzene, Ethanol, Phenol, S-phenylmercapturic acid, Biological monitoring, Exposure assessment of benzene

I. 서론

벤젠(benzene)은 과거에는 주로 용제로

사용되었지만 최근에는 화학실험실과 페인트, 접착제, 페인트 제거제의 원료로 이용하고 있다(Gilman 등, 1985). 근로자들

이 벤젠에 장기간 노출되면 재생 불량성 빈혈(Medinsky 등, 1994)이나 백혈병(Aksoy 등, 1974)과 같은 조혈기 장애가 나타나고 고농도의 벤젠은 흰쥐의 골수세포에 세포유전학적 독성도 일으킨다(노재훈 등, 1988).

미국 산업위생협회의(American Con-

* 본 연구는 2001년도 연세대학교 산업보건연구소 연구비 지원에 의해 이루어진 것임.

접수일 : 2002년 7월 20일, 채택일 : 2002년 8월 7일

‡ 교신저자 : 노재훈(서울 서대문구 신촌동 134번지 연세의대 산업보건연구소

Tel : 02-361-5354, Fax : 02-392-8622, E-mail : jhroh@yumc.yonsei.ac.kr)

ference of Governmental Industrial Hygienist, ACGIH)에서는 벤젠을 확인된 발암성물질(A1)로 정하고 8시간 시간가중평균 노출기준(TLV-TWA)은 0.5 ppm, 단시간 노출기준(TLV-STEL)은 2.5 ppm으로 권고하고 있다(ACGIH, 2002). 우리나라의 경우 현재는 8시간 시간가중평균 노출기준을 10 ppm 그리고 단시간 노출기준을 30 ppm으로 규정하고 있지만(노동부, 1998) 2003년 7월 1일부터 8시간 시간가중평균 노출기준은 1ppm으로 강화할 예정이다(노동부, 2002).

우리나라의 특수건강진단 검사항목에서 벤젠의 생물학적 지표로 일반적으로 사용하고 있는 요중 페놀(노동부, 1997)은 벤젠의 기중농도가 5 ppm 이상인 경우에만 비 노출군 보다 분명하게 높게 나타나며(Dor 등, 1999) 벤젠 노출농도가 10 ppm 또는 그 이상의 농도에서 생물학적 지표로 적당하다고 알려져 있다(Boogaard 등, 1996). 따라서 벤젠의 8시간 시간가중평균 노출기준이 1ppm으로 적용될 때는 벤젠에 대한 생물학적 노출지표로 일반적으로 사용하고 있는 요중 페놀을 사용하는 것은 많은 문제점이 수반된다.

벤젠은 체내에 유입되면 hepatic cytochrome P-450(CYP450) 2E1에 의하여 빠르게 산화된 후(Lindstrom 등, 1997) ring-hydroxylation, ring-open 반응 그리고 glutathione과의 포함반응으로 서로 다른 대사과정을 거친다(Nedelcheva 등, 1999; Sukhodub와 Padalko, 1999). 생물학적 모니터링분야에서 벤젠의 요중 대사물질로 사용하는 일반적인 지표들은 phenol, SPMA(S-phenylmercapturic acid) 그리고 trans, trans-muonic acid이다. Glutathione 과 포함체를 형성하여 생성된 SPMA는 낮은 농도의 벤젠 노출에서도 용량-반응의 타당성이 높아 생물학적 지표로 적당하다고 알려져 있다(Dor 등, 1999). 공기 중 벤젠농도와 생물학적 지표들의 상관계수는 SPMA가 0.81, trans, trans-muonic acid는 0.54 그리고 혈중 벤젠은 0.44이다(Popp 등, 1994). 또한 저농도의 벤젠 노출(0.01-0.5 ppm)에서도 SPMA가 0.63, trans, trans-muonic acid는 0.56 그리고 요중 벤

젠은 0.54로 기중 벤젠 농도와의 상관성은 SPMA가 가장 높았다(Ghittori 등, 1995).

SPMA는 흡연(Dor 등, 1999)과 톨루엔 동시노출에 영향을 받는다(문종국 등, 2002). 에탄올의 경우도 급성 또는 만성으로 노출될 때 벤젠 대사에 미치는 영향이 서로 다를 수 있다. 그 이유는 만성적으로 노출되면 CYP 450이 60% 증가하고(Hetu 등, 1981) 급성적으로 노출되면 glutathione 농도가 감소한다(McDonald 등, 1977). 그러므로 에탄올에 노출되면 glutathione과 포함해서 생성되는 SPMA의 배설량이 감소될 가능성이 있다.

따라서 벤젠노출량을 추정하기 위한 생물학적 모니터링을 실시하기 위해서는 근로자들의 음주습관으로 자주 접하는 에탄올이 요중 대사산물의 배설량에 어떠한 영향을 주는지 평가하는 것이 필요하다. 그러나 기존에 발표된 연구들은 벤젠 노출농도에 따라 용량-반응 관계가 좋은 생물학적 지표를 찾아내거나(Mederios 등, 1997) 요중 대사물질 분석에 관한 연구들이 대부분이다(Einig 등, 1996; Angeror 등, 1998). 본 연구는 요중 대사물질을 이용한 생물학적 모니터링으로 노출평가를 정확하게 실시하기 위하여 벤젠 노출에 의해 형성된 SPMA와 페놀이 소변으로 배설하는데 에탄올이 어떠한 영향을 주는지 흰쥐를 이용하여 벤젠 투여후 시간경과에 따라 배설량의 변화를 관찰하였다.

II. 대상 및 방법

1. 실험대상 선정 및 투여용량 설정

실험동물은 230±10 g인 수컷 Sprague-

Dawley 계통의 흰쥐를 대상으로 실험군당 흰쥐 6마리로 하여 모두 30마리를 사용하였다(표 1). 벤젠의 경구투여 용량은 미국 산업위생협의회에서 권고하는 단시간 노출기준인 2.5 ppm(ACGIH, 2002)과 우리나라의 8시간 시간가중평균 노출기준인 10 ppm(노동부, 1988)을 흰쥐의 호흡량(Guyton, 1947), 체중 그리고 유기용제의 체내 흡수율(Dean, 1978)을 고려하여 2.5 ppm은 2.26 mg/kg body weight, 10 ppm은 9.02 mg/kg body weight로 환산하였다(문종국 등, 2002). 에탄올의 전처리 투여 용량은 어린 쥐의 경구 LD₅₀인 10.6 g/kg body weight의 1/10에 해당하는 1 g/kg body weight로 결정하였다(Verschueren, 1983). 에탄올의 전처리는 증류수로 희석하여 벤젠을 투여하기 24시간 전에 경구 투여하였으며 벤젠은 corn oil로 희석하여 투여하였다.

흰쥐를 대소변 분리가 가능한 metabolism cage에 넣고 벤젠을 투여하기 24시간 전부터 소변을 채취하여 유기용제 투여전 소변으로 사용하였으며 벤젠 투여 후 3시간 간격으로 30시간까지 각각 소변을 채취하였다.

2. 실험 방법

페놀 분석을 위한 전처리 및 분석(Kawai와 Horiguchi, 1979)은 소변 0.5 ml를 취하여 탈이온수 2 ml와 진한 염산 0.5 ml를 가하고 100 °C에서 30 분간 가수분해시킨 후 상온으로 식히고 isopropyl ether 1.5 ml로 추출하여 GC-FID로 분석을 하였다(표 2). SPMA의 전처리 및 분석(Angeror 등, 1998)은 소변에 내부표준물질 용액(o-phthalic acid)을 가한 후 ethyl acetate로 추출한 후 디아조메탄으로 1 시

Table 1. Experimental groups and doses of benzene and ethanol administered

Reagents and doses(mg/kg)	Number of rats
Control	6
Benzene 2.26	6
Benzene 2.26 + Ethanol1000	6
Benzene 9.02	6
Benzene 9.02 + Ethanol1000	6
Total	30

간 동안 메틸화를 하여 GC/MSD를 이용하여 selected ion monitoring (SIM) mode로 분석을 하였다(표 3). 디아조메탄은 합성하여 사용하였다(Bore와 Backer, 1950). 요 중 페놀과 SPMA의 소변농도를 보정하기 위한 크레이티닌분석은 고성능액체크로마토그래프/자외선검출기(High Performance Liquid Chromatograph/Ultraviolet Detector, Gilson, France, 이하 HPLC/UVD)를 이용하였다.

벤젠 단독 투여군과 에탄올 전처치군간의 시간별 요중 SPMA와 페놀의 농도가 차이가 있는가를 검정하기 위하여 Wilcoxon signed rank test를 실시하였다. 모든 자료분석은 SAS 통계 패키지를 이용하였다.

III. 결 과

1. 에탄올이 요중 페놀의 배설에 미치는 영향

벤젠을 2.26 mg/kg과 9.02 mg/kg으로 각 단독 투여한 군 그리고 에탄올 1,000 mg/kg을 전처치한 군들의 요중 페놀 배설을 각각 비교하였다(표 4) (그림 1).

벤젠 2.26 mg/kg 투여용량의 경우 벤젠 단독투여군의 최고농도는 투여 후 3시간에서 32.76 mg/kg이었으며 에탄올 전처치

Table 2. Operating condition of gas chromatograph-flame ionization detector for phenol

Descriptions	Conditions
Instrument	HP 6890 series plus
Detector	Flame ionization detector
Column	Ultra-2(30m × 0.32mm ID × 0.3 μm, HP, USA)
Temperature	Injection port : 250 °C Detector : 250 °C Column oven : 180 °C
Carrier gas	N2, 1 ml/min
Injection volume	1.0 μl
Split ratio	5 : 1

Table 3. Operating condition of gas chromatograph-mass selective detector for methylated S-phenylmercapturic acid

Descriptions	Conditions
Instrument	HP 5890 series II - HP 5972
Detector	HP 5972 mass selective detector
SIM mode	o-Phthalic acid : 163, 194, 92 SPMA : 194, 135, 123, 89
Column	Carbowax 20M(25m × 0.32mm ID × 0.3 μm, HP, USA)
Temperature	Injection port : 250 °C Detector : 280 °C Column oven : 120 °C for 3min 7 °C/min → 220 °C for 13min
Carrier gas	He 1.0 ml/min
Injection volume	1.0 μl
Split ratio	Splitless mode

군에서는 요중 페놀 최고 농도가 투여후 6시간에서 20.23 mg/g creatinine이었다. 벤젠 단독투여군은 투여후 3시간과 21시간에서 요중 페놀 농도가 에탄올 전처치군보다 유의하게 높았으나(P<0.01) 전반적으로 큰 차이는 보이지 않았다.

벤젠 9.02 mg/kg 투여용량의 에탄올 전처치군에서는 최고 요중 페놀 농도가 투여후 3시간에서 30.67 mg/g creatinine이었으며 벤젠 단독 투여군에서도 최고 농도 도달이 3시간이었다. 벤젠 단독 투여군은 투여후 3시간에서 12시간까지 요중 페놀

Table 4. Concentration of urinary phenol by ethanol pretreatment 24 hr before benzene administration

Time	Control	Benzene 2.26 mg/kg	Benzene 2.26 mg/kg + Ethanol 1000 mg/kg	Benzene 9.02 mg/kg	Benzene 9.02 mg/kg + Ethanol 1000 mg/kg
0 hr	2.62±0.49	4.69±2.00	2.98±0.38	2.41±0.38	2.86±0.63
3 hrs	6.74±1.10	37.26±5.63*	17.28±7.73	68.54±4.78†	30.67±10.51
6 hrs	2.82±0.60	16.40±3.15	20.23±6.47	45.99±2.66†	12.56±3.38
9 hrs	3.04±0.59	13.17±5.36	7.45±1.03	22.69±1.98†	11.51±3.90
12 hrs	5.86±0.53	4.00±0.47	7.06±2.14	9.96±1.32‡	7.97±1.94
15 hrs	2.86±0.63	1.98±0.61	4.45±3.48	3.70±0.11‡	7.05±0.93
18 hrs	3.55±0.42	3.73±0.67	3.28±3.13	3.57±0.31‡	4.95±0.11
21 hrs	3.18±0.40	3.37±1.10*	2.65±1.22	2.68±0.28‡	4.71±0.15
24 hrs	1.87±0.46	4.17±1.32	3.16±0.59	1.90±0.21‡	4.30±0.19
27 hrs	2.01±0.25	2.15±0.45	2.16±0.71	1.69±0.11‡	3.42±0.49
30 hrs	2.41±0.38	3.00±1.01	2.15±0.53	2.03±0.16‡	2.83±0.18

*, P<0.01 by Wilcoxon signed rank test for benzene(2.26 mg/kg) and benzene(2.26 mg/kg) + ethanol(1000 mg/kg)
 †, P<0.01; ‡, P<0.05 by Wilcoxon signed rank test for benzene(9.02 mg/kg) and benzene(9.02 mg/kg) + ethanol(1000 mg/kg)
 Unit: mg/g creatinine, Mean±SD (N=6)

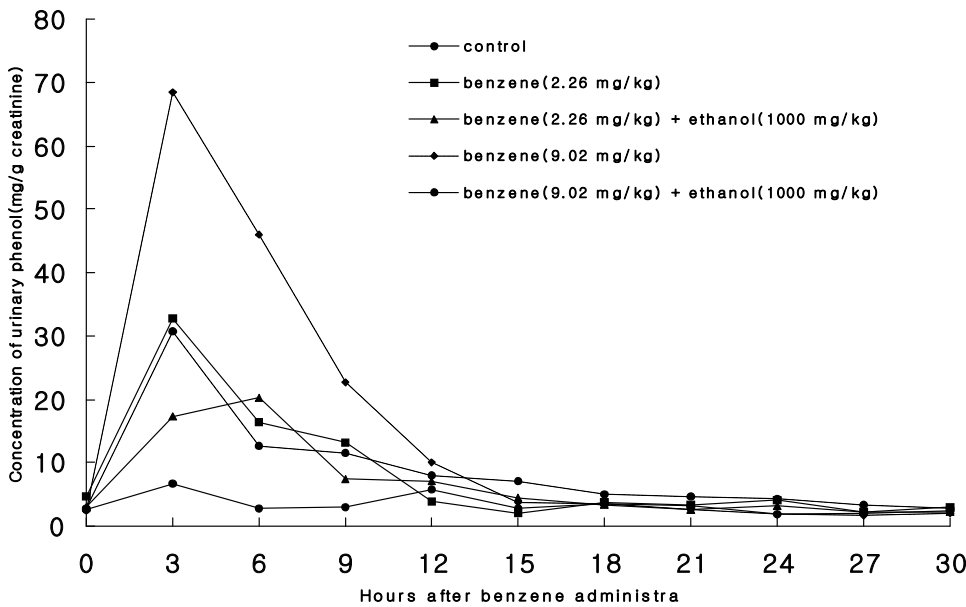


Figure 1. Concentration of urinary phenol after benzene or benzene-ethanol administration

농도가 에탄올 전처치군보다 유의하게 높았으며 ($P < 0.05$) 그후 15시간에서 30시간까지는 벤젠 단독 투여군 보다 에탄올 전처치군의 요중 페놀 배설농도가 통계적으로 유의하게 높았다 ($P < 0.01$). 에탄올이 요중 페놀의 배설을 지연시키는 효과는 벤젠 투여용량 2.26 mg/kg에서보다 9.02 mg/kg에서 확실하게 나타났다.

벤젠과 에탄올을 전처치한 군을 경구 투여한후 시간 경과에 따라 나타난 요중 페놀의 누적 배설량은 그림 2와 같다. 벤젠 9.02 mg/kg 투여에서는 에탄올 전처치군이 벤젠 단독 투여군에 비하여 요중으로 배설되는 페놀 총량이 감소하였다. 그러나 2.02 mg/kg에서는 에탄올 전처치군과 벤젠 단독 투여군에서 큰 차이가 없었다(그림2).

2. 에탄올이 요중 S-phenylmercapturic acid의 배설에 미치는 영향

벤젠을 2.26 mg/kg과 9.02 mg/kg으로 각각 단독 투여한 군과 이들 용량에 에탄올을 1,000 mg/kg으로 전처리한 군의 요중 SPMA의 배설

양상을 투여후 시간경과에 따라 비교하였다(표 5) (그림 3).

벤젠 2.26 mg/kg을 투여한 군의 에탄올을 전처치한 군을 살펴보면 단독 투여군과 같은 투여후 3시간에서 요중 SPMA 최고 농도가 4.32 mg/g creatinine이었다. 벤젠 투여량 2.26 mg/kg에서는 투여후 9시간에서 요중 페놀 농도가 에탄올 전처치군보다 벤젠 단독 투여군에서 유의하게 높았으나 ($P < 0.05$) 전반적으로 큰 차이는

보이지 않았다.

벤젠 투여량이 9.02 mg/kg에서는 최고 SPMA 농도가 단독 투여한 경우는 6시간에 나타났고 에탄올을 전처치한 경우는 9시간에서 11.71 mg/g creatinine이었다. 벤젠 투여량 9.02 mg/kg에서는 투여후 3시간, 6시간에서 요중 SPMA 농도가 에탄올 전처치군보다 벤젠 단독 투여군에서 유의하게 높았으며 ($P < 0.01$) 그후 9시간 그리고 21시간에서 30시간까지는 벤젠 단독 투여군 보다 에탄올 전처치군의 요중 SPMA 배설농도가 통계적으로 유의하게 높았다 ($P < 0.01$). SPMA의 배설을 에탄올이 지연시키는 효과는 벤젠 투여용량 2.26 mg/kg에서보다 9.02mg/kg에서 확실하게 나타났다.

벤젠 단독투여 및 에탄올 전처치군의 벤젠 투여후 시간 경과에 따라 나타난 요중 SPMA의 누적 배설량은 그림 4와 같다. 에탄올 전처치군은 벤젠의 단독 투여군에 비하여 비하여 SPMA가 요중으로 배설되는 총량이 감소하였다. 이러한 에탄올에 의한 SPMA의 감소량은 벤젠의 투여 용량 9.02 mg/kg에서 투여 용량 2.26 mg/kg보다 확실하게 나타났다.

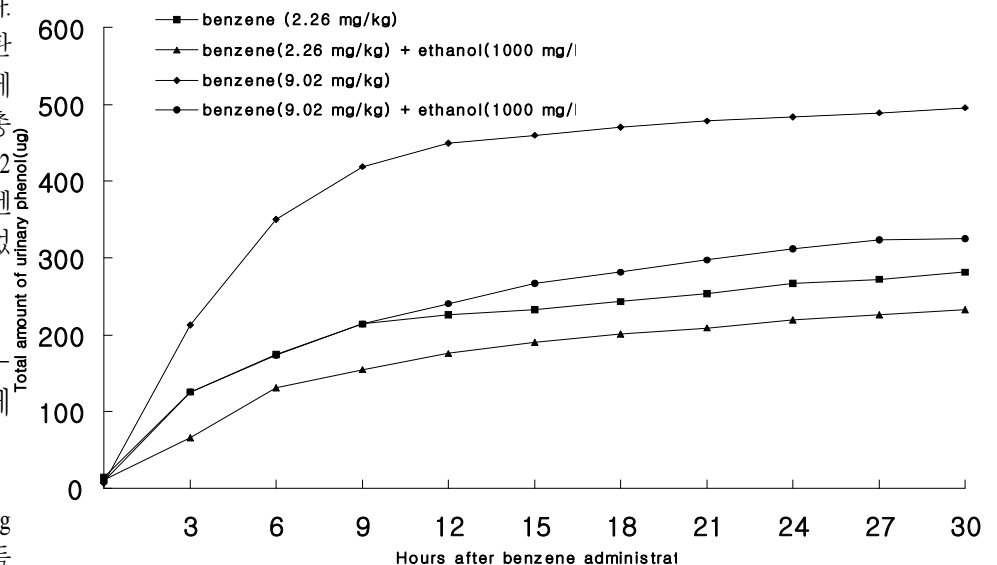


Figure 2. Cumulative excretion amounts of urinary phenol after benzene or benzene-ethanol administration

Table 5. Concentration of urinary S-phenylmercapturic acid by ethanol pretreatment 24 hr before benzene administration

Time	Control	Benzene 2.26 mg/kg	Benzene 2.26 mg/kg + Ethanol 1000 mg/kg	Benzene 9.02 mg/kg	Benzene 9.02 mg/kg + Ethanol 1000 mg/kg
0 hr	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
3 hrs	N.D	5.45±1.19	4.32±0.44	2.32±0.81 [†]	0.58±0.72
6 hrs	N.D	4.16±2.38	4.04±0.64	12.27±4.06 [†]	4.82±1.67
9 hrs	N.D	1.50±0.68*	0.72±0.30	3.28±1.04 [†]	11.71±7.43
12 hrs	N.D	0.75±0.33	0.50±0.12	1.56±0.46	2.09±1.80
15 hrs	N.D	0.32±0.07	0.25±0.12	0.38±0.12	1.36±0.96
18 hrs	N.D	0.13±0.03	0.07±0.06	0.10±0.03	0.94±0.77
21 hrs	N.D	0.10±0.01	0.13±0.10	0.02±0.02 [†]	0.36±0.22
24 hrs	N.D	0.09±0.01	0.07±0.06	0.01±0.01 [†]	0.43±0.51
27 hrs	N.D	0.09±0.01	0.15±0.12	0.01±0.01 [†]	0.44±0.44
30 hrs	N.D	0.13±0.04	0.22±0.11	0.01±0.02 [†]	0.48±0.22

* P<0.05 by Wilcoxon signed rank test for benzene(2.26 mg/kg) and benzene(2.26 mg/kg) + ethanol(1000 mg/kg)

†, P<0.01 by Wilcoxon signed rank test for Bz 9.02mg/kg and Bz 9.02mg/kg+Tol 106.42mg/kg

Unit: mg/g creatinine, Mean±SD (N=6), N.D: not detected

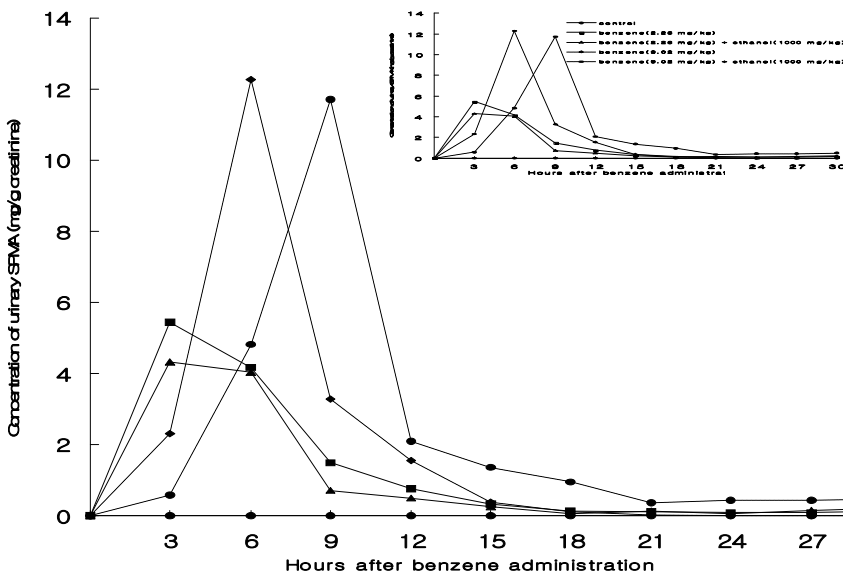


Figure 3. Concentration of urinary S-phenylmercapturic acid after benzene or benzene-ethanol administration

IV. 고 찰

벤젠은 독성이 매우 높아 최근에 와서는 근로자들에 대한 노출기준이 엄격해지는 경향이 있으며 이에 따라 정확한 노출 평가에 대한 관심이 고조되고 있다. 벤젠은 피부흡수 가능 물질이므로(노동부, 1998; ACGIH, 2002) 생물학적 모니터링을 이용한 노출평가가 필요하다. 실제로 근로자들이 작업장에서 벤젠에 노출될 때는 단일 물질로 노출되는 경우는 거의 없으며 다른 물질들과 함께 노출되는 경우가

대부분이다. 그러나 현재 벤젠에 대한 생물학적 지표로 사용하는 페놀과 SPMA가 벤젠 이외의 물질에 의하여 어떠한 영향을 받는지 평가한 연구는 미흡하다.

벤젠이 체내에 흡입되면 1차적으로 산화과정을 거치고 요중 페놀과 SPMA가 생성되기 때문에 두 물질의 생성과정 초기는 같은 대사 경로이다. 이때의 산화과정은 CYP 450 2E1에 의하여 벤젠이 benzene oxide와 benzene oxepin으로 빠르게 전환된다(Lindstrom 등, 1997). 이후의 페놀 생성기전은 benzene oxide의 자연적

인 재배열에 의하여 이루어지고 포합체 형태로 소변에 배설되기 때문에(Kenyon 등, 1998) 페놀 생성에 영향을 크게 주는 인자는 벤젠의 산화과정에 관여하는 CYP 450 2E1의 활성도이다. SPMA는 benzene oxide의 형태에서 glutathione과 포합체를 형성하여 배설되기 때문에(Dor 등, 1999; Nedelcheva 등, 1999) SPMA의 생성에 영향을 주는 인자는 산화과정에 관여하는 CYP 450 2E1와 glutathione 농도이다.

에탄올이 벤젠 대사물질인 요중 페놀과 SPMA의 생성에 영향을 미친 결과를 살펴보면, 벤젠을 2.26 mg/kg으로 단독 투여한 군에서는 요중 SPMA와 페놀이 3시간에서 가장 높은 농도를 보였지만 에탄올 전처치군에서는 요중 페놀은 6시간에서 최고 농도가 나타나 늦어졌지만 요중 SPMA는 단독 투여군과 같은 시간인 3시간에서 최고 농도가 나타났다. 벤젠 9.02 mg/kg 단독 투여 군인 경우 요중 페놀은 3시간, 요중 SPMA는 6시간에 최고 농도였고 에탄올을 전처치한 군은 요중 페놀이 단독 투여군과 같은 3시간, 요중 SPMA는 단독 투여군보다 3시간 늦은 9시간에서 최고 농도가 나타났다. 본 연구의 에탄올에 의한 요중 페놀의 농도 감소는 Starek 등(1991)과 같은 양상을 보였다. 에탄올의 영향은 에탄올의 노출 형태에 따라서 다르게 나타난다. 에탄올을 장기

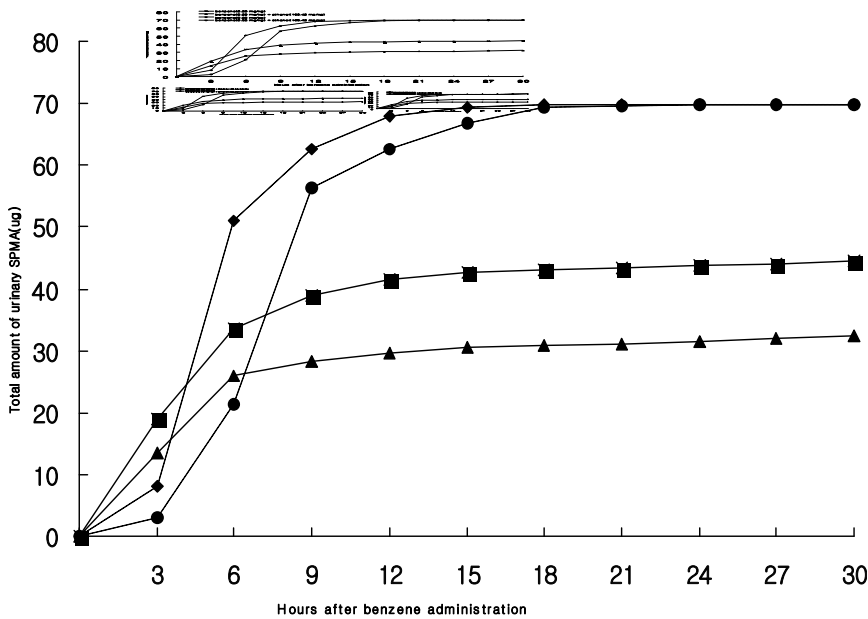


Figure 4. Cumulative excretion amounts of urinary S-phenylmercapturic acid after benzene or benzene-ethanol administration

간 섭취하면 CYP 450이 증가하지만(Hetu 등, 1981) 본 연구에서는 에탄올을 1회 경구 투여하였으므로 CYP 450이 억제되고 glutathione 농도가 감소되어(McDonald 등, 1977) 요중 페놀과 SPMA의 최고 농도시간이 늦어졌고 반감기도 지연되었다.

벤젠 투여량 2.26 mg/kg에서는 요중으로 배설되는 총량이 에탄올을 전처치한 군과 벤젠 단독 투여군에 큰 차이는 없었으나 9.02 mg/kg에서는 에탄올 전처치군의 요중으로 배설되는 페놀 총량의 감소가 확실하게 나타났다. 이것은 요중 페놀이 벤젠의 노출 없는 경우에도 많은 양이 배설되기 때문에 나타나는 현상으로 사료된다(Boogaard 등, 1996). 에탄올 전처치군의 요중 SPMA의 배설 총량감소는 벤젠 투여 2.26 mg/kg과 9.02 mg/kg에서 크게 감소하여 요중 페놀과는 약간의 차이가 있었다. 이러한 결과는 벤젠을 본 연구와 같은 용량으로 투여하고 톨루엔의 동시 노출 효과를 관찰한 결과(문중국 등, 2002)와 유사하였다.

벤젠의 기중농도가 5 ppm 이상인 경우에만 비 노출군 보다 분명하게 높게 나타나고(Dor 등, 1999) 벤젠 노출농도가 10 ppm 또는 그 이상의 농도에서 생물학적

지표로 적당하다고 알려져 있는(Boogaard 등, 1996) 요중 페놀을 이용하여 노출평가를 실시할 때 에탄올의 영향은 고농도 노출에서만 잘 나타날 것이다. 또한 낮은 농도의 벤젠 노출에서도 용량반응의 타당성이 높아 생물학적 지표로 적당하다고 알려져 있는(Boogaard 등, 1996; Dor 등, 1999) SPMA의 경우는 에탄올의 영향이 벤젠의 노출농도에 상관없이 명확할 것이다. 에탄올에 의한 요중 페놀과 SPMA의 누적 배설량의 감소는 벤젠 대사 억제에 의한 영향으로 볼 수 있다. 그러나 벤젠의 독성 및 대사의 정확한 기전을 파악하기 위해서 요중 페놀과 SPMA로 대사되지 않은 벤젠에 대한 연구가 필요하다.

본 연구의 제한점은 근로자들의 음주습관이 동일하지 않기 때문에 본 연구의 에탄올에 대한 요중 벤젠 대사물질들의 영향을 직접적으로 근로자들을 대상으로 하는 생물학적모니터링의 자료로 활용하기는 어렵다. 앞으로의 연구에서는 음주습관에 따른 요중 페놀과 SPMA 배설의 차이를 확인할 필요가 있으며 최근 미국 산업위생협회의에서 권고하고 있는 생물학적 지표인 trans, trans-muconic acid

(ACGIH, 2002)도 음식물과 흡연 등에 많은 간섭을 받으므로(Dor 등, 1999) 이 분야에 대한 충분한 연구가 이루어져야 한다.

V. 결 론

벤젠 노출 근로자들이 음주로 에탄올에 대한 영향을 받는 상태에서 생물학적 모니터링을 실시할 때 정확한 노출평가가 이루어지도록 벤젠 노출에 의해 형성된 SPMA와 페놀이 소변으로 배설하는데 에탄올이 어떠한 영향을 주는지 흰쥐를 이용하여 벤젠 투여후 시간경과에 따라 배설량의 변화를 관찰하였다. 벤젠은 미국 산업위생협회의에서 권고하는 단시간 노출기준인 2.5 ppm에 해당하는 2.26 mg/kg body weight와 우리 나라의 8시간 시간가중평균 노출기준인 10 ppm에 해당하는 9.02 mg/kg body weight의 용량으로 경구 투여하였다. 동시 투여하는 톨루엔은 우리 나라의 8시간 시간가중평균 노출기준인 100 ppm에 해당하는 106.42 mg/kg body weight와 에탄올 전처치는 1 g/kg body weight로 결정하였다. 경구투여후 시간대별로 요중 벤젠 대사물질인 SPMA와 페놀을 가스크로마토그래피와 질량분석기로 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 에탄올을 전처치한 군의 요중 페놀과 SPMA의 배설농도가 벤젠 단독 투여군에 비하여 경구 투여후 초기에 크게 감소하였다가 시간 경과에 따라 배설농도가 약간 높아졌다. 이러한 현상은 2.26 mg/kg에서 투여 용량 9.02 mg/kg 보다 뚜렷하였다.
2. 에탄올을 전처치한 군의 요중 페놀 및 SPMA의 배설 총량이 벤젠 단독 투여군에 비하여 감소하였으며 이러한 현상은 벤젠 9.02 mg/kg에서 뚜렷하였다. 벤젠 2.02 mg/kg에서는 9.02 mg/kg 투여군과 다르게 에탄올 전처치군이 벤젠 단독 투여군에 비하여 오히려 요중 페놀 배설량이 약간 증가하였다. 이상의 결과를 종합하면 에탄올이 벤젠

의 요증 대사물질인 페놀과 SPMA의 배설을 감소 시켰음을 알 수 있다. 따라서 이러한 결과는 산업장에서 근무하는 벤젠 노출 근로자들을 대상으로 생물학적모니터링을 실시할 때 작업 전에 음주를 섭취했다면 분석 결과가 실제보다 낮은 수준으로 평가될 수 있어 이에 대한 주의가 필요하다.

REFERENCES

- 노동부. 산업안전보건법 시행규칙. 1997
- 노동부. 화학물질 및 물리적 인자의 노출 기준 (고시 제97-65호). 1998
- 노동부. 화학물질 및 물리적 인자의 노출 기준 (고시 제2002-8호). 2002
- 노재훈, 신동천, 박정균, 문영한, 정호근. 단시간 허용농도의 toluene이 benzene 대사에 미치는 영향. *예방의학회지* 1988;21(1):152-162
- 문중국, 김치년, 노재훈. 흰쥐에서 요증 벤젠 대사 물질인 phenol과 S-phenylmercapturic acid 배설에 미치는 영향. *대한산업의학회지* 2002;14(2):143-153
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Threshold limit values and biological exposure indices. ACGIH, Cincinnati, OH, 2002
- Aksoy M, Erdem S, Dincol T, Hepyuksel T, Dincol G. Chronic exposure to benzene as a possible contributory etiologic factor in Hodgkin's disease. *Blut* 1974; 28:293-298
- Angerer J, Schildbath M, Kramer A. Gas chromatographic method for the simultaneous determination of s-p-toluymercapturic acid and s-phenylmercapturic acid in human urine. *J Anal toxicol* 1998;211-214
- Boogaard PJ, van Sittert NJ. Suitability of S-phenyl mercapturic acid and trans-trans-muconic acid as biomarkers for exposure to low concentrations of benzene. *Environ Health Perspect* 1996; 104:1151-1157
- Bore THJ, Backer HJ. Diazomethane. *Org Synth* 1950;30:16
- Dean Bj. Genetic toxicology of benzene, toluene, xylene and phenols. *Mutation Res* 1978;47:75-97
- Dor P, 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
- Einig T, Dunemann L, Dehnen W. Sensitive gas chromatographic method for determination of mercapturic acids in human urine. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1996;687:379-385
- Gilman AG, Goodman LA, Gilman A. The Goodman and Gilman's pharmacological basis of therapeutics, 7th ed. New York MacMillan Publishing Co 1985
- Ghittori S, Maestri L, Fioretino ML, Imbriani M. Evaluation of occupational exposure to benzene by urinalysis. *Int Arch Occup Environ Health* 1995;67: 195-200
- Guyton AC. Management of the respiratory volumes of laboratory animals. *Am J Physiol* 1947;150:70-77
- Hetu C, Yelle L, Joly J. Influence of ethanol on hepatic glutathione content and on the activity of glutathione s-transferases and epoxide hydrase in the rat. *Drug Metabolism and Disposition* 1981;10: 246-250
- Kawai T, Horiguchi S. On the amount of phenol normally excreted in the urine in male japanese. *Jap J Ind Health* 1979;21:376-377
- Kenyon EM, Seaton MJ, Himmelstein MW, Asgharian B, Medinsky MA. Influence of gender and acetone pretreatment on benzene metabolism in mice exposed by nose-only inhalation. *J Toxicol Environ Health* 1998;55(6):421-43
- Lindstrom AB, Yeowell-O'Connell K, Waidyanatha S, Golding BT, Tornero-Velez R, Rappaport SM. Measurement of benzene oxide in blood of rats following administration of benzene. *Carcinogenesis* 1997;18(8): 1637-1641
- McDonald CM, Dow J, Moore JR. A possible protective role for sulphhydryl compounds in acute alcoholic liver injury. *Biochem Pharmacol* 1977; 26(16):1529-1951
- Medeiros AM, Bird MG, Witz G. Potential biomarkers of benzene exposure. *J Toxicol Environ Health* 1997;51(6): 519-539
- Medinsky MA, Schlosser PM, Bond JA. Critical issues in benzene and metabolism: the effect of interactions with other organic chemicals on risk assessment. *Environ Health Perspect* 1994;102 suppl:119-124
- Nedelcheva V, Gut I, Soucek P, Tichavska B, Tynkova L, Marz J, Guengerich FP, Ingelman-Sundberg M. Metabolism of benzen in human liver microsomes : individual variations in relation to CYP2E1 expression. *Arch Toxicol* 1999;73(1):33-40
- Popp W, Rauscher D, Muller G, Angerer J, Norpoth K. Concentrations of benzene in blood and S-penylmercapturic acid and t,t-muconic acid in urine in mechanics. *Int Arch Occup Environ Health* 1994;66:1-6
- Starek A, Dobrzanska-Tatarczuch L, Lepiaz W. Modification of metabolism and toxicity of benzene by ethanol in pregnant rats. *Folia Med Cracov* 1991; 32(3-4):275-287
- Sukhodub AL, Padalko VI. Age-dependent changes in rat liver microsomal membrane structure and functions under benzene treatment. *Mechanisms of Aging and Development* 1999; 106(3):273-82
- Verschueren K. Handbook of Environmental Data of Organic Chemicals. 2nd ed. New York, Van Nostrand Reinhold, 1983