

흰쥐 적출간 관류법을 이용한 벤지딘계 염료 Direct Black 38의 대사

연세대학교 의과대학 산업보건연구소

원종욱 · 노재훈 · 김춘성 · 박윤정 · 김치년

— Abstract —

The Metabolism of Benzidine-based Dye Direct Black 38 in the Isolated Perfused Rat Liver

Jong-Uk Won, Jaehoon Roh, Chunsung Kim,
Younjung Park, Chi-Nyun Kim

Institute for Occupational Health, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Direct Black 38, a kind of benzidine-based azo dye, is widely used as a dye for fabric, leather, cotton, cellulosic material, paper, wool, silk, and so on. Benzidine-based azo dyes are proven as a mutagen and linked to bladder cancer. In 1978, National Institute for Occupational Safety and Health recommended that three widely used benzidine-based dyes (Direct Black 38, Direct Blue 6, and Direct Brown 95) should be treated as carcinogens.

In this experiment, metabolism of the benzidine-based dye, Direct Black 38 was examined by using an isolated liver perfusion system. To measure the metabolites of Direct Black 38, 8.0 μM , 30.5 μM and 63.3 μM of Direct Black 38 was added into the recirculating perfusate of the isolated perfused rat liver. Samples were collected at 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120 minute. They were treated with sep-pak and methanol, and the metabolites were detected and quantified with high performance liquid chromatography (HPLC). Residual non-reactive dye in the perfusate and liver was reduced to benzidine and then analyzed by HPLC.

Detected metabolites of Direct Black 38 were benzidine, N-acetylbenzidine, and N,N'-diacetylbenzidine. The average concentration of benzidine was 0.1 μM and this concentration was maintained throughout the experimental period. The average concentration of N-acetylbenzidine was 0.22 μM and took the same pattern of benzidine. When 30.5 μM of

Direct Black 38 was added to the perfusate, only N,N'-diacetylbenzidine increased slightly with time.

From the above results we suggest that only small amount of Direct Black 38 might be metabolized to benzidine regardless of the amount of the Direct Black 38. There are some possible explanations. The liver was damaged during the preparation. And the function of the perfused liver decreased rapidly because adsorbing of dye. The benzidine, acetylbenzidine and diacetylbenzidine metabolized to other metabolites were not detected in this experiment.

Key Words : Isolated liver perfusion, Direct Black 38, Benzidine, N-acetylbenzidine, N,N'-diacetylbenzidine

I. 서 론

Direct Black 38은 벤지딘계 염료의 일종으로, 직접 염료(direct dye)로 분류된다. Direct Black 38은 직물, 가죽, 면화, 셀룰로스성 천연섬유와 재생섬유, 종이, 울, 비단, 플라스틱, 아세테이트와 나일론, 레이온 등의 염색물로 사용되며, 목재 염색이나 생물학적 물질의 염색에도 이용된다. 또한 수성 잉크를 생산하는데 이용되고, 모발의 염색약 제조에 사용되고, 미술가들도 사용하고 있다(Keith와 Walters, 1992).

Direct Black 38 제조의 주성분인 벤지딘(benzidine)의 발암성에 대해서는 1895년 독일의 Rehn(1895)이 한 공장의 염료 취급 근로자들에게서 3명의 방광암을 보고하였으며, 이후 많은 연구들을 토대로 영국(1968년)과 일본(1971년)이 벤지딘의 사용을 금지하였으며, 미국은 1974년부터 미국산업안전보건청(Occupational Safety and Health Administration, 이하 OSHA)에서 벤지딘에 대한 폭로허용농도(permissible exposure limit, FEL)없이 인체 발암물질로 취급하고 있으며 무게 또는 용량으로 0.1% 정도를 함유하고 있는 벤지딘에 대해서 엄중히 통제하고 있다(Rom, 1992). 우리 나라에서도 허용농도 규정없이 발암성 물질로 규정하여 사용을 통제하고 있다(노동부, 1991).

벤지딘이 발암성 물질이어서 벤지딘을 기본으로 하여 제조되는 벤지딘계 염료에 대해서도 발암 가능성이 제기되었다. Yoshida등(1971)은 염색 공장의 근로자들에게서 방광암의 발생이 염색공들에게서 6.8배 증가한 것을 보고하였다. 또한 소련의 Genin은 벤지

딘계 아조 염료를 생산하는 공장의 기록을 조사하여 직접 아조 염료에 폭로되는 것이 암발생 가능성이 있다고 하였다(NIOSH, 1980). 1978년 미국 국립산업안전보건연구소(National Institute for Occupational Safety and Health, 이하 NIOSH)와 국립암연구소(National Cancer Institute, NCI)는, 흰 쥐의 아급성독성 실험 결과, 대조군에 비해 발암성이 높았고, 염료 폭로 근로자들의 소변에서 벤지딘이 검출되는 것을 근거로 널리 사용되고 있던 3가지 벤지딘계 염료(Direct Black 38, Direct Blue 6, Direct Brown 95)에 대해서 발암성 물질처럼 다룰 것을 권고 하였다(NIOSH, 1980).

Direct Black 38은 장내 세균에 의하여 아조 결합이 환원되면서 벤지딘, 모노아세틸 벤지딘(monoacetyl benzidine), 디아세틸벤지딘(diacetyl benzidine), 4-아미노비페닐(4-aminobiphenyl) 등으로 대사되는 것으로 알려져 있다(Manning 등, 1985; Chung 등, 1992). 또한 Dewan 등(1988)과 Charie 등(1990)이 각각 Direct Black 38에 폭로된 근로자의 뇨를 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, 이하 HPLC)를 이용하여 요중 대사 물질인 벤지딘, 모노아세틸벤지딘, 디아세틸벤지딘을 확인하였으며, 뇨중 생물학적 모니터링의 지표로 디아세틸벤지딘을 제안한바 있다.

Lynn등(1983)이 흰쥐의 적출간을 이용하여 벤지딘의 대사를 정량적으로 밝힌바 있지만 벤지딘계 염료에 대해서는 대사에 관한 정량적인 연구가 없었다. 벤지딘계 염료에 대해서는 가능한 최소량을 이용할 것으로 규정되어 있어 폭로 허용량을 결정하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

국내의 연구는 활발하지 않아서 노재훈 등(1995)은 벤지딘계염료를 제조하는 사업장 근로자를 대상으로 벤지딘 폭로량과 혈액 및 요중의 벤지딘량을 측정하였고, 김수현(1995)은 벤지딘과 Direct Black 38을 흰쥐에 경구 투여하여 혈중 대사물질을 확인하였고, 배문주(1995)는 흰쥐의 적출간을 이용하여 벤지딘의 대사물질을 정량적으로 연구하였다.

본 연구에서는 흰쥐의 적출간에 생리적 버퍼 용액을 관류시켜 생체와 같은 조건을 유지토록 하며 벤지딘계 염료 중 많이 사용되고 있는 Direct Black 38을 관류액에 첨가하여 간에서의 대사양상을 살펴보고자 한다.

구체적인 연구목적은 다음과 같다.

첫째, 벤지딘계 염료 Direct Black 38이 흰쥐의 간에서 벤지딘으로 대사되는지 여부를 확인하고,

둘째, Direct Black 38이 벤지딘으로 대사된다면 그 시간적인 변화와 대사물이 나타나는 양상을 알아본다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

실험동물은 생후 8주에서 10주 사이의 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 이용하였으며, 체중은 250 ± 10 g 이었다. 본 실험에 사용한 시약은 분석용 특급 시약을 사용하였으며, 아세토니트릴 등의 용매는 크로마토그래피용으로 초음파 처리한 후 사용하였다. 시판이 안되는 아세틸 벤지딘 표준 물질은 Birner 등(1990)의 방법을 변형하여 합성하였고, Direct Black 38은 경인양행 실험실에서 구입하였다.

표준 물질로 사용하기 위하여 합성한 아세틸벤지딘은 다른 벤지딘동족체와 분리하기 위하여 옅은 마크로마토그래피를 이용하여 전개시킨 후 파장 264 nm의 자외선등으로 확인하였다.

2. 실험방법

흰쥐는 꼬리 정맥에 헤파린(heparin, 1000U) 1.5 cc를 투여하여 혈액이 응고되지 않게 하고, 복부 정중선 절개를 한 후, 간동맥, 간문맥의 분지들과 담도를 결찰하였다. 간문맥을 박리한 후 24G angioneedle을 삽입한 후 결찰하여 이곳을 통해서 관류액을 투입하고, 하대정맥을 신장정맥 위 부분에서 절단하여 관류액이 흘러나오게 하였다. 상대정맥과 대동맥을 결찰하고, 복강의 간지지 구조물을 제거한 후 간을 적출하였다. 간과 관류장치간의 평형을 유지하기 위하여 30분간의 평형시간을 두었고, 간에 잔류 혈액이 없는 것을 확인하고 적출된 간을 삼각 플라스크로 옮긴 후 Direct Black 38 용액을 관류액에 첨가한후 0분의 시료를 채취하고, 간에 관류시켰다. 간효소의 활성도(enzyme activity)를 고려하여 염료를 관류시킨 시간을 10, 20, 30, 60, 90, 120분에 시료를 채취하였다. 이때 사용한 관류액의 조성은 Table 1과 같다.

Direct Black 38의 폭로허용도가 없기 때문에 이 염료를 사용하고 있는 사업장의 작업환경 측정에서 얻은 작업장내 폭로 농도는 비산방지제 등을 제외하면 약 0.8 μM 이었다. 본 연구에서는 이를 고려하여 0.8 μM 과 8.0 μM , 30.5 μM , 66.3 μM 을 투여하였다.

Table 1. Components in Krebs-Ringer bicarbonate buffer solution

Components	Concentration
NaCl	118 mM
KCl	5.0 mM
CaCl ₂	2.5 mM
KH ₂ PO ₄	1.2 mM
NaHCO ₃	2.5 mM
MgSO ₄	1.2 mM
Glucose	5.0 mM
Bovine serum albumin	0.1 %

Table 2. High performance liquid chromatography conditions for detection of Direct Black 38 metabolites

Description	Condition
Column	C18(4.6×250 mm, 10 μm)
Mobile phase	Metanol : 0.01 M ammonium acetate = 50:50
Flow rate	1.0 ml/min
Detector	Ultraviolet detector at 287 nm(0.01AUFS)
Column temperature	35 °C
Injection volume	20 μl

Direct Black 38의 대사물질 분석은 시료 12ml 를 온도 100 °C의 물에서 30분간 증탕 후, 5000 rpm에서 30분 동안 원심분리한 후 Sep-pak으로 처리한후 메탈올을 이용하여 시료를 용출하여 분석 하였다. 관류액 내에 미반응 Direct Black 38은 NIOSH방법 5013에 따라 염료의 아조 결합을 벤지딘으로 환원시켜 분석하였다(Peter, 1984). 시료 분석은 고성능액체크로마토그래피를 이용하였고, 분석조건은 Table 2와 같았다.

III. 결 과

1. 투여 농도별 염료의 대사

Direct Black 38을 각각 0.8 μM , 8.0 μM , 30.5 μM , 63.3 μM 의 농도로 투여하였다. 0.8 μM

을 투여한 군에서는 실험의 전과정을 걸쳐 벤지딘이 나 그 대사물이 검출되지 않았다. 나머지 3개농도에 서 모두 관류 시작 전(0 분)의 관류액에서는 벤지딘 이나 그 대사 물질들이 검출되 않았다(Table 3). 3 개 농도에서 모두 10분 때부터 대사물이 검출되기 시작하였으며 시간에 따라 조금씩 증가하다가 감소 하는 양상을 보였지만 뚜렷한 변화 양상은 찾을 수 없었다. Direct Black 38의 대사물 가운데 벤지딘 은 평균적으로 염료 8.0 μM 투여시 0.1029 μM , 30.5 μM 투여시 0.1750 μM , 63.3 μM 투여시 0.1086 μM 이 검출되었으며, 아세틸 벤지딘의 경우 각각 0.2362 μM , 0.2934 μM , 0.2827 μM , 디아 세틸벤지딘은 염료를 8.0 μM 투여했을 때는 검출되 않았으며, 30.5 μM 과 63.3 μM 투여시 각각 0.2298 μM , 0.1667 μM 이 검출되어 투여 염료량에

Table 3. Concentrations of BZ, ABZ, and DABZ in perfusate (unit; μM)

Conc. *	Metabolite	Time						
		0	10	20	30	60	90	120
8.0	BZ	N. D.	0.1060	0.0993	0.0998	0.1073	0.1015	0.0979
	ABZ	N. D.	0.2769	0.2612	0.2243	0.2316	0.2373	0.2352
	DABZ	N. D.	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
30.5	BZ	N. D.	0.1381	0.1624	0.1692	0.2366	0.2495	0.1807
	ABZ	N. D.	0.2668	0.2738	0.2833	0.3072	0.3035	0.3505
	DABZ	N. D.	0.0307	0.2018	0.2577	0.2734	0.44496	0.1031
63.3	BZ	N. D.	0.1004	0.1111	0.1050	0.1089	0.1083	0.1099
	ABZ	N. D.	0.2698	0.3081	0.2894	0.2908	0.2759	0.2697
	DABZ	N. D.	0.1654	0.1901	0.2838	0.1680	0.1338	0.1534

BZ, benzidine; ABZ, N-acetylbenzidine; DAZE, N,N'-diacetylbenzidine
N. D.; not-detectable, * Concentration of Direct Black 38 in perfusate

Table 4. Concentrations of residual Direct Black 38 and metabolites after 120 minute in liver and perfusate

Materials	unit; $\mu\text{mole}(\%)$	
	Sample added 30.5 μM of DB38	Sample added 63.3 μM of DB38
Non-reactive dye in perfusate	2.235 (38.07)	6.343 (50.10)
Non-reactive dye in liver	3.638 (59.55)	6.212 (49.06)
Benzidine in perfusate	0.036 (0.17)	0.022 (0.17)
Acetylbenzidine in perfusate	0.070 (1.15)	0.054 (0.43)
Diacetylbenzidine in perfusate	0.021 (0.34)	0.031 (0.24)
Total	6.109 (99.7)	12.663 (100.0)

DB38; Direct Black 38

대해서는 큰 차이를 보이지 않았다. 대사 물질별 검출량은 대체로 아세틸벤지딘이 제일 많은 양이 검출되었고, 디아세틸벤지딘과 벤지딘이 다음으로 검출되었다(Table 3).

2. 잔류염료

잔류염료양은 시간에 따라 점차 감소하는 경향을 보였고, 이런 경향은 농도별로 일정한 양상을 보였다(Figure 1). 120분 이후, 간을 균질화하여 환원시킨 결과 미반응 염료를 30.5 μM 의 경우 투여량의 59.55%, 63.3 μM 을 투여했을 때 49.06%가 간에 남아 있었다(Table 4).

고찰

Direct Black 38은 벤지딘을 주원료로 제조되는 아민성 아조 염료의 일종이다. 벤지딘의 발암성에 대해서는 이미 1920년대에는 A급 발암물질로 세계 각국에서 제조 또는 사용이 금지되고 있다. 벤지딘을 기본으로 해서 제조되는 벤지딘계 염료의 발암성이 1970년대부터 끊임없이 제기되고 있었다. 1970년대 초반에는 염료가 대사된다기보다는 벤지딘계 염료의 제조과정 가운데 미반응 벤지딘이 불순물로 염료에 섞여 있어 발암성을 나타낸다고 하였다(Levine 등, 1982). 1970년대 미국의 조사에 따르면 수입되는 벤지딘계 염료는 물론이고 미국내에서 생산되는 벤지딘계 염료에서도 적게는 1 ppm 에서 많게는 224 ppm까지 벤지딘이 불순물로 포함되어

있어서 더욱 이를 뒷받침하고 있다(NIOSH, 1980). 그러나 최근에는 미국은 물론 세계각국에서 벤지딘이 포함된 물질의 제조 및 수입을 엄격히 규제하고 있고, 우리 나라에서도 벤지딘과 벤지딘 염은 제조 및 수입이 금지되어 있고, 디클로로벤지딘과 그 염 및 벤지딘 염산염도 중량비 1% 이상의 것은 사용허가를 받아야 한다(노동부 1993). 이러한 엄격한 조치들로 인해 벤지딘 불순물에 의한 발암성 문제는 많이 해소된 것으로 생각된다.

Direct Black 38의 표준분석 방법은 염료를 벤지딘으로 환원시키는 것으로 NIOSH에서 제안한 방법을 이용한다(Peter, 1984). 본연구에서도 이 방법을 이용하였는데 염료를 넣어 혼합한 관류액을 관류시키기 전에 고성능액체크로마토그래피로 분석한 결과 벤지딘이나 그 대사물은 전혀 검출되지 않았다. 따라서 본 실험에 사용된 염료에는 벤지딘 불순물이 없었다고 판단하는데는 무리가 없을 것으로 생각된다.

많은 종류의 벤지딘계 염료에 대해서 살모넬라 균주 등을 이용한 돌연변이원성이 조사되었는데, 그 가운데 Direct Black 38이 돌연변이원성을 많이 나타내는 염료 가운데 하나였다(Chung 등, 1983; Gregory 등 1981; Martin 등 1981; Bos 등, 1980; Lazear, 1978). 이 연구들은 Direct Black 38이 보이는 돌연변이원성이 염료가 벤지딘으로 분해되어 생기는 것으로 생각했으며 벤지딘계 염료가 벤지딘으로 대사될 것이라는 생각을 갖게 했다.

벤지딘계 염료는 화학적인 방법으로 환원시키면 염료의 종류에 따라 다소의 차이는 있지만 대부분 벤지딘으로 분해된다. 인간을 포함한 포유류의 체내에는 각종 환원 효소가 있는데, 이중 환원적 반응을 일으키는 가장 중요한 효소는 간의 cytochrome P-450계열의 환원 효소이며, 일부 장내 세균도 환원시킬 수 있다고 한다(Cerniglia 등, 1982; 1986). Martin 등(1981)은 Direct Black 38이 간에서 벤지딘으로 환원되는 것을 보였다. 이에 반해 Chung 등(1992)은 방대한 양의 문헌 고찰을 통해서 장내 세균을 방향족 아민의 아조 결합을 환원시킬 수 있으며, 그들은 간에서 일어나는 환원 보다 더 중요한 역할을 한다고 주장하였다. 그러나 대부분의 연구가 생체 실험이 아닌, 간의 마이크로솜 효소를 이용하거나 장내 세균을 이용한 것이었다.

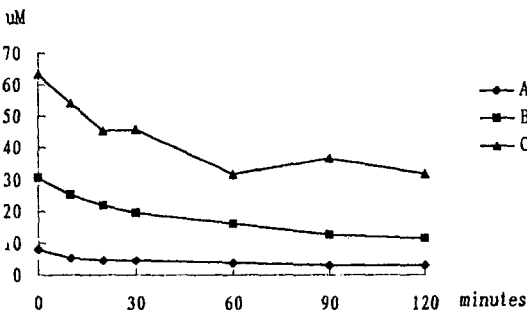


Fig 1. Concentration of residual Direct Black 38 in perfusate

- A; perfusate add 8.0 μM of Direct Black 38
- B; perfusate add 3.05 μM of Direct Black 38
- C; perfusate add 63.3 μM of Direct Black 38

벤지딘계 염료의 환원성 대사가 장내 세균에 의해 더 많이 이루어진다고 해도, 현재 문제가 되고 있는 것은 산업용으로 사용하고 있는 것이고, 산업장에서는 대부분 호흡기와 피부를 통해서 흡수되기 때문에 장내세균에 의한 대사와 더불어 간의 대사 또한 큰 의미가 있다고 하겠다.

본 연구에는 관류액과 염료를 넣고 관류시킨지 10분 때부터 염료의 대사물인 벤지딘, 아세틸벤지딘, 디아세틸벤지딘이 나타났다. Table 3에서 보여주고 있는 것처럼 벤지딘과 아세틸벤지딘은 시간이 경과해도 농도에 큰 변화를 보이지 않았다. 디아세틸벤지딘의 경우 일정한 양상을 보여주지는 않았지만 30.5 μ M과 63.3 μ M의 Direct Black 38을 투여한 경우에는 약간 증가되었다가 감소하는 양상을 보였다. 대사되는 정도를 보면 투여한 염료의 농도에 크게 영향 받지않고 대사물의 농도는 거의 비슷한 정도로 검출되었다. 관류를 시작하지 10분 후 농도별 벤지딘 양이 각각 0.1060 μ M, 0.1318 μ M, 0.1004 μ M이었고, 30분에는 0.0998 μ M, 0.1692 μ M, 0.1050 μ M, 120분에는 0.0979 μ M, 0.1807 μ M, 0.1099 μ M로 30.5 μ M의 염료를 투여한 군에서만 벤지딘으로 대사된 양이 다소 증가되었지만 8.0 μ M 투여군과 63.3 μ M 투여군은 염료가 벤지딘으로 대사된 양이 거의 비슷했다.

Manning 등(1985)이 시행한 인간의 장내세균에 의한 Direct Black 38의 대사에 대한 정량적인 연구에서 Direct Black 38은 장내 세균에 의해서 벤지딘, 아세틸벤지딘, 디아세틸벤지딘, 4-amino-biphenyl 등의 대사물을 확인하였고, 24시간 동안 배양하였을 때 벤지딘은 39.15%, 4-아미노비페닐 0.96%, 디아세틸벤지딘 0.52%, 아세틸벤지딘 0.34%가 대사되어 생산 된다고 하였다. 본 연구에서는 30.5 μ M을 기준으로 보면 투여 염료량의 0.3% 정도가 벤지딘으로 대사되었다. 그러나 Table 4에서 보는 것같이 간과 관류액 내에 남아 있는 미반응 염료가 97.5%인 것을 고려하면 대사된 벤지딘량은 Manning 등(1985)의 결과와 비슷하다고 할 수있다.

본 실험의 결과를 보면 Direct Black 38의 대사는 투여한 양에 크게 영향을 받지 않고, 소량만이 대사되는 것으로 보인다. 시간이 경과되어도 벤지딘이나 벤지딘대사물이 증가되지 않는 이유는 간이 제

기능을 하지 못한 것으로 생각된다. 간이 기능을 못한 것은 간을 적출하고, 관류시키는 동안 간이 손상을 받았을 가능성이 있다. 또한 다량의 염료가 간에 흡착되어 간기능이 급속하게 저하되었거나 정지되어 초기에 대사가 이루어진 이후에는 염료의 대사가 진행되지 않았을 수 있다(Table 3). 이번 연구의 제한점은 첫째, 벤지딘의 대사물은 benzidine-glucuronide, N-hydroxy-diacetylbenzidine 등 20여종으로 알려져 있는데 이들 가운데 대표적인 3가지 대사물에 대해서만 검출한 것이고, 둘째, 검출한계의 문제로 더 낮은 농도의 염료를 투여해서 실험하지 못한다는 점이다. 실제로 연구 결과에는 포함시키지 않았지만 작업환경측정에서 얻어진 자료를 토대로 근로자의 실제 폭로량인 0.8 μ M을 투여했을 때 어떤 물질도 검출하지 못했다. 이런 제한점을 바탕으로 앞으로의 연구는 방사선 동위원소 등을 이용하여 발암성을 일으키는 중요한 대사물인 글로크로나이드 화합물 등의 대사에 대한 연구가 있어야 하고, 기도나 피부를 통해서 흡수된 벤지딘계 염료가 간에서 대사되어 벤지딘으로 대사될 수 있는 염료의 최소량을 확인하는 작업이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서는 벤지딘계 염료인 Direct Black 38이 간에서 대사되는 양상을 보기 위하여 흰쥐의 적출간을 이용하여 관류 실험을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 투여한 염료에서는 벤지딘을 검출할 수 없었다.

둘째, Direct Black 38의 대사물은 벤지딘, 아세틸벤지딘, 디아세틸벤지딘이었으며, 관류 시작 10분 후부터 관류액에서 검출되었다.

셋째, Direct Black 38의 대사물은 시간이 경과하여도 일정한 양만큼 검출되었다.

넷째, 대사물인 벤지딘, 아세틸벤지딘, 디아세틸벤지딘의 총량은 Direct Black 38의 투여 농도에 따른 차이를 보이지 않았다.

다섯째, 간과 관류액에 잔존하는 미반응 Direct Black 38은 투여량의 97% 이상이었다.

이상의 결과를 통해서 Direct Black 38은 간에서

투여량에 관계없이 소량만이 대사된다고 추정된다.

앞으로는 방사선 동위원소를 이용하여 보다 정확하게 정량적 실험이 이루어져야 하고, 벤지딘으로 대사되는 최소의 염료량을 파악하기 위한 실험이 있어야 할 것이다. 또한 Direct Black 38 외의 다른 벤지딘계 염료에 대해서도 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

김수현, 벤지딘과 벤지딘계 염료 다이렉트 블랙 38을 경구 투여한 흰쥐 혈중의 대사물질에 관한 연구. 연세대학교 보건대학원 석사논문, 1995

노동부, 유해물질의 허용농도: 노동부 고시 제 91-21호, 노동부, 1991.

노동부, 산업안전보건법시행령, 제 29조, 제 30조, 1993.

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

배문주, 적출 간 관류법을 이용한 흰쥐에서의 벤지딘 대사에 관한 연구. 연세대학교 보건대학원 석사논문, 1995

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

Bos RP, Brouns RM, Doorn R, Theuws JL, Henderson PT. The appearance of mutagen in urine of rats after the administration of benzidine and some other aromatic amine. Toxicology 1980;16(2):113-122.

Cerniglia CE, Freeman JP, Franklin W, Park LD Memetabolism of azo dyes derived from bezidine, 3,3'-dimethylbezidine and 3,3'-dimethoxybezidine to potentially carcinogenic aromatic amines by intestinal bacteria. Carcinogenesis 1982;3:1255-1260.

Cerniglia CE, Zhuo Z, Manning BW, Federle TW, Heflich RH. Mutagenic activation of the bezidine-based dye Direct Black 38 by human intestinal microflora. Mutation Res 1986;175:11-16

Chung KT. The significance of azo reduction in the mutagenesis and carcinogenesis of azo dyes. Mutation Res 1983;114:269-281.

chung KT, Stevens SE Jr, Cerniglia CE. The

reduction of azo dyes by the intestinal microflora. Critical Review in Microbiology 1992;18(3):175-190.

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. AEH 1988;43:269-271.

Gregory AR, Elliott J, Kluge P. Aimes testing of Direct Black 38 parallels carcinogenicity testing. J Appl Toxicol 1981;1(6): 308-313.

Keith LH, Walters DB. The national toxicology program's chemical data compendium. Lodon, Lewis publishers, 1992, Vol VII. pp.590-591.

Lazear EJ, Louie SC. Mutagenicity of some congeners of bezidine in the Salmonella typhimurium assay system. Cancer letters 1978;4(1):21-25.

Levine RA, Oller WL, Nony CR, Bowman MC. Benzidine-congener-based azO dyes: Assays for purity and residues from dosed rats. J Analytic Toxicol 1982;6(4):157-63.

Lynn RK, Garvie-Gould C, Milam DF, Scott KF, Eastman CL, Rodgers RM. Metabolism of the human carcinogen, benzidine, in the isolated perfused rat liver. Drug Metabolism and Disposition 1983;11(2):109-114.

Manning BW, Cerniglia CE, Federle TW. Metabolism of the Benzidine-based azo dye Direct Black 38 by human intestinal microbiota. Appl Environ Microb 1985;(1):10-15.

Martin CN, Kennelly JC. Rat liver microsomal azo reductase activity on four azo dyes derived from benzidine, 3,3'-dimethylbenzidine or 3,3'-dimethoxybenzidine Carcinogen-esis 1981;2:307-312.

NIOSH. Special occupational hazard review for benzidine-based dyes. Cincinnati, OH. 1980

Peter M. NIOSH manual of analytic methods. 3rd ed., US Department of Health and Human Services, 1984.

Rehn L. Blasengeschwuste bine fuchs in azbeitem. Arch Klin chr 1985;50:588-600.

Rom WH. Environmental and occupational medicine. London : Little Brown and Company, 1992, pp. 1359-1361.

Yoshida O, Harada T, Miyagawa M, Kato T. Bladder cancer in workers the dyeing industry. Igaku No Ayumi 1971;79:421-422.