

노출평가를 위한 BEI의 근거

# BENZENE(4)

연세대학교 보건대학원 교수 / 김치년

CAS 번호 : 71-43-2

동의어: Benzol; Phenyl hydride

분자식(Molecular formula): C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>

BEI 권고

분석대상물질	시료채취	BEI	Notation
소변 중 S-Phenylmercapturic acid	작업 종료 후	25 µg/g creatinine	B
소변 중 t,t-Muconic acid in urine	작업 종료 후	500 µg/g creatinine	B

## 소변 중 S-PHENYLMERCAPTURIC ACID(S-PMA)

이 글에서, 소변시료에 대한 분석방법상의 단위는 항상 µg/L으로 표시하였고, 직업적 노출에 대한 평가는 µg/g creatinine의 단위로 제시하였다. 후자에서 사용하는 µg/g creatinine의 단위는 소변 배설의 변동 영향을 줄이기 위해 사용하였다. 그리고 크레아틴 농도는 1 g/L로 가정하였고 따라서 농도 변환을 위해 1 µg/L는 1 µg/g creatinine과 같다고 가정하였다.

### 분석방법(Analytical Methods)

소변 중 S-phenylmercapturic acid(S-PMA)의 평가를 위해서는 적절한 민감도가 요구되어 정교한 분석방법이 필요하다. 벤젠에 노출된 사람과 비노출된 사람들의 소변으로 배설되는 S-PMA의 평가에는 고성능액체크로마토그래피(HPLC)<sup>2),3)</sup>와 GC-MS 방법<sup>4),5),6),7)</sup>이 활용되어왔다.

Maestri 등<sup>3)</sup>이 설명한 HPLC 방법은 매우 복잡하여 일반적인 실험실에서 사용하기에는 적합하지 않다. 검출한계는 0.5 µg/L이고, S-PMA의 회수율은 90%이며, 변동계수(CV)는 3.8%이다.

GC-MS를 이용한 정량분석이 선호되는데 그 이유는 민감도와 특이도가 높은 방법이기 때문이다.

검출한계는 내부표준물질로 S-benzylmercapturic acid를 이용할 때 1~5  $\mu\text{g/L}$  urine이다. 검출한계는 소변매체의 영향(matrix effects), 이온 선택 검출기의 조건(ion selection detector) 그리고 분석자의 경험에 의해 변동될 수 있다.<sup>5)</sup> 이전 연구와 동일한 연구진들의 최근 연구에 의하면, 내부표준물질로 중수소로 치환된 S-(pentadeuterophenyl)-mercapturic acid를 사용하였다. 이 내부표준물질을 사용하는 경우 검출한계는 1  $\mu\text{g/L}$ 이다.<sup>6)</sup> 재현성 분석의 변이계수는 각각 13.1과 50.1  $\mu\text{g/L}$ 의 농도에서 2.5%와 3.5%이다.

독일의 'Analysis of Hazardous Substances in Biological Materials' 위원회<sup>7)</sup>에서는 GC-MS 분석 시 S-pfluorophenylmercapturic acid를 내부표준물질로 사용하는 것을 권고하고 있으며 이때 검출한계는 1  $\mu\text{g/L}$  urine이다. ACGIH에서는 GC-MS 방법을 권고하고 있다.

## 소변 시료채취 및 저장(Sampling and Storage)

소변 시료는 폴리에틸렌 병에 근무가 끝나는 시점에서 채취하고 염산을 가하여 pH2로 산성화시켜야 한다. 소변 중 S-PMA의 안전성 연구에서, 4 °C로 소변을 저장하면 최소 한 달 동안 S-PMA 농도가 변하지 않는 것으로 평가하였다.<sup>8)</sup>

## 비직업적 노출에서의 S-PMA의 농도

HPLC로 벤젠에 직업적으로 노출되지 않은 흡연자들을 분석한 결과, 평균 9.4±5.9  $\mu\text{g/g}$  creatinine이었고 비흡연자는 1.5±1.2  $\mu\text{g/g}$  creatinine으로 보고되었다.<sup>1), 3)</sup> van Sittert 등<sup>5)</sup>의 연구에 따르면 흡연과 비흡연자들의 대조군에서는 소변 중 S-PMA농도가 대부분 1~5  $\mu\text{g/L}$ 로 검출한계 이하였다. 분석법이 향상된 GC-MS 방법으로 분석한 경우<sup>6)</sup>, 평균 S-PMA 농도가 38명의 비흡연자에서 1.99±0.29  $\mu\text{g/g}$  creatinine이었고 14명의 흡연자에서는 3.61±0.57  $\mu\text{g/g}$  creatinine이었다. 38명의 비흡연자 중 20명과 모든 흡연자의 소변에서는 S-PMA가 검출 가능한 농도로 평가되었다.

## Kinetics

폐로 흡수된 벤젠 중 S-PMA 형태로 소변으로 배설되는 비율은 0.05%와 0.29%(평균 0.11%)이었다. 이러한 배설률은 연속적으로 근무하기 전과 후에 수집된 소변시료의 S-PMA 농도로 계산되었다.<sup>5), 6)</sup>

Stommel 등<sup>4)</sup>은 약 0.9%의 높은 변환을 발견하였다. 대부분의 근로자에게서는 S-PMA는 single phase로 배설되지만, 몇몇 근로자에게서는 bi-phasic 배설이 발견되었고 가장 높은 S-PMA 농도는 근무 후에 채취된 소변시료에서 검출되었다.

몇몇 근로자들에서 가장 높은 S-PMA 농도는 다음 근무 시작 시점에서 발견되었다. 이러한 차이는 근로자들의 벤젠 피부노출이나 toxicokinetics의 개인 차이로 추정하였다. 소변의 평균 배설반감기는 9시간이다[표준편차(SD) = 4.5시간]. 몇몇 근로자들에게는 배설의 반감기가 45시간(SD=4시간)으로 평가되었다. 벤젠 노출의 반감기로부터 일부 S-PMA(16~30%)는 다음 근무 시작시점에서 채취한 소변시료에서도 검출되었다.<sup>9)</sup>

## 소변 중 S-PMA 정량값에 미치는 요인들

### 분석방법 및 시료채취 요인

화학물질의 분석결과는 분석절차에 달려있기 때문에 분석법의 선택이 중요하다. S-PMA의 GC-MS분석은 적절한 민감도가 요구되고 검출한계는 1 µg/L urine이다. 배설의 kinetics를 살펴보면 시료채취 시간이 노출의 정량평가에 중요하다는 것을 알 수 있다. S-PMA는 작업장에서 존재하지 않기 때문에 소변시료 채취 시의 오염을 피하기 위한 특별한 주의는 필요하지 않다.

### 노출

생물학적 S-PMA 농도에 영향을 주는 요인으로는 피부노출, toxicokinetics의 개인적 차이, 흡연 등이 있다. Boogaard와 van Sittert<sup>6)</sup>은 S-PMA의 형성이 벤젠 이외의 다른 방향족 탄화수소계의 동시노출로도 영향을 받을 수 있다고 추정하였다.

## 소변 중 S-PMA 평가의 타당성

벤젠의 노출과 신장에서의 S-PMA 배설 간의 관련성은 현장 연구(field study)에서 평가되어 왔다. 통제된 실험실과 시뮬레이션 연구는 유용하지 않다. 공기 중 벤젠 농도와 작업종료 후 소변시료의 S-PMA 농도와는 상당한 관련성이 관찰되었다.<sup>1), 4), 5), 6), 9)</sup>

van Sittert 등<sup>5)</sup> 은 12개의 개별 연구에서 생물학적 지표(biomarker)로 S-PMA의 타당성을 증명하였다. 화학공장, 정제공장, 천연가스 설비에서 생산과 유지 작업을 하는 동안 벤젠에 잠재적으로 노출된 근로자들에 대한 연구가 1989년에 시작되었다. 1 ppm 벤젠의 8시간 노출은  $46 \mu\text{g S-PMA/g creatinine}$ [95% 신뢰도(CI) =  $41\sim 50 \mu\text{g/g creatinine}$ ]에 일치하였다. 연구자들은 이 방법이 민감도가 있고 벤젠의 시간가중평균 0.3 ppm의 노출에서도 평가가 가능하다고 제안하였다. 공기 중 벤젠 농도 0.5 ppm(TLV-TWA)에서의 노출은 소변 중 S-PMA 배설이  $25 \mu\text{g/g creatinine}$ 과 일치한다고 보고하였다.

동일 연구자들은 t,t-MA와 S-PMA의 인자를 포함한 유사한 연구를 수행하였다.<sup>6)</sup> 소변 중 S-PMA의 인자는 더욱 신뢰도가 있고 민감한 분석법으로 사용되어 왔다. 분석법을 비교하기 위해, 4개국의 작업장 8개소에서 12건의 연구를 1992년부터 1994년까지 천연가스 생산설치, 정제공장, 화학공장에서, 제조 및 유지보수를 하는 동안 벤젠에 잠재적으로 노출된 근로자들을 대상으로 수행하였다. 작업 종료 후 채취한 소변시료에서 t,t-MA와 S-PMA 농도 간의 연관성이 높게 나타났고 이런 변수들과 공기 중 벤젠 농도 사이에서도 높은 연관성을 보였다. 벤젠에 시간가중평균농도(TWA) 1 ppm으로 8시간동안 노출된 근로자들에 대해, 작업종료 후 소변에서 평균농도는  $47 \mu\text{g S-PMA/g creatinine}$ 으로 계산되었다. 이 수준은 이전 연구의 결과와 유사하게 평가되었다.

따라서 벤젠의 TLV-TWA 0.5 ppm 노출에 부합되는 소변 중 S-PMA 농도는  $25 \mu\text{g/g creatinine}$ 이다. 이 연구에서 벤젠 노출을 감지하기 위한 S-PMA의 적용 가능성은, 벤젠 농도가 0.3 ppm으로 낮게 확인되었다. 저자들은 소변 중 S-PMA가 높은 특이도를 보이고 배설 반감기가 길기 때문에 소변 중 t,t-muconic acid(t,t-MA)보다 더 신뢰성이 있고 민감한 생물학적 지표라고 제안하였다. 

#### 참고문헌

1. Ghittori, S.; Maestri, L.; Fiorentino, M.L.; Imbriani, M.: Evaluation of Occupational Exposure to Benzene by Urine Analysis. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 67:195-200 (1995).
2. Jongeneelen, F.J.; Dirven, H.A.A.M.; Leijdekkers, C.M.; Henderson, P.T.: S-Phenyl-N-acetylcysteine in Urine of Rats and Workers after Exposure to Benzene. *J. Anal. Toxicol.* 11:110-114 (1987).
3. Maestri, L.; Ghittori, S.; Grignani, E.; et al.: Measurement in Humans of Benzene Metabolite Urinary S-Phenylmercapturic Acid (S-PMA) with HPLC (Italian). *Med. Lav.* 84:55-65 (1993).
4. Stommel, P.; Muller, G.; Stucker, W.; et al.: Determination of S-Phenylmercapturic Acid in the Urine An Improvement in the Biological Monitoring of Benzene Exposure. *Carcinogenesis* 10:279-282 (1989).
5. van Sittert, N.J.; Boogaard, P.J.; Beulink, G.D.J.: Application of the Urinary S-Phenylmercapturic Acid Test as a Biomarker for Low Levels of Exposure to Benzene in Industry. *Br. J. Ind. Med.* 50(5):460-469 (1993).
6. Boogaard, P.J.; van Sittert, N.J.: Biological Monitoring of Exposure to Benzene: A Comparison Between SPhenylmercapturic Acid, trans,trans-Muconic acid, and Phenol. *Occup. Environ. Med.* 52:611-620 (1995).
7. Angerer, J.; Schaller, K.H. (Eds): S-Phenylmercapturic Acid. In: *Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials*, Vol. 5, pp. 143-162. DFG -German Research Foundation, VCH - Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany (1996).