

화학공장 실내 작업장에서의 유해물질 평가를 위한 VOC 분석법과 자주달개비 미세핵 분석법의 비교

허귀석* · 이재환[†] · 신해식^{***}

김진규^{**} · 이영엽 · 이대운[†] · 이진홍^{***}

*한국표준과학연구원 물질량표준부 연세대학교 화학과,
^{**}충남대학교 환경공학과, [†]한국원자력연구소, ^{***}전주대학교 자연과학부
(2002. 12. 18 접수, 2003. 1. 8 승인)

The Comparison of Volatile Organic Compounds (VOCs) Analysis and *Tradescantia* Micronucleus (Trad-MCN) Bioassay for Evaluation of Hazardous Materials in Chemical Workplace Field

Gwi Suk Heo^{*}, Jae-Hwan Lee[†], Hae Shik Shin^{***}

Jin Kyu Kim^{**}, Young Yup Lee^{***}, Dai Woon Lee[†] and Jin Hong Lee^{***}

Division of Chemical Metrology and Materials Evaluation, Korea Research
Institute of Standards and Science, P.O. Box 102, Yusong, Taejeon, 305-600, Korea,

(Received Dec. 18, 2002, Accepted Jan. 8, 2003)

요약 : 본 연구는 화학공장의 실내작업장에서 화학적/생물학적 모니터링 방법을 동시에 이용하여 유해물질의 존재를 평가하고자 하였다. 실내작업장의 VOCs 분석을 위하여 Tenax TA 400 mg이 충전된 흡착관을 이용하여 시료 채취하였다. 채취한 시료는 가스크로마토그래피/질량분석법 (GC/MS)으로 분석하였다. 동시에 유해성 평가를 위해 *Tradescantia* BNL 4430 클론을 실내 작업장에 노출시켰다. GC/MS 분석결과 trichloroethylene, toluene, ethylbenzene, xylenes, styrene, trimethylbenzene과 같은 다양한 VOC가 검출되는 것으로 나타났다. 자주달개비 미세핵 (Trad-MCN) 분석결과 실내 작업장의 다양한 유해물질에 의한 생성률 증가가 뚜렷하게 나타났다. 실외에서는 자연적 발생범위에 해당하는 미세핵 생성률을 보였다. 결론적으로, *Tradescantia* 미세핵 생성률의 결과로 보아 화학공장 실내 작업장의 휘발성물질은 근로자들에게 만성적으로 건강에 위해를 끼칠 것으로 판단된다. 화학적 모니터링과 생물학적 유해성 평가방법을 병행함으로써 실내 작업장에서 유해물질을 평가하는데 있어 매우 효과적인 것으로 나타났다.

Abstract : This research examined the presence of hazardous materials in chemical workplace field using an integrated chemical/biological monitoring. Chemical workplace field air for volatile organic compounds (VOCs) analysis was collected using a collection tube packed with Tenax TA adsorbent 400 mg. Workplace field air samples were analyzed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Simultaneously, *Tradescantia* BNL 4430 clone was exposed *in situ* to monitor hazardous

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)42-868-5350 Fax : +82+(0)42-868-5042

E-mail : heo@kriss.re.kr

materials in chemical workplace field. GC/MS analysis showed the presence of various VOCs such as trichloroethylene, toluene, ethylbenzene, (*m,p,o*)-xylenes, styrene, 1,3,5-trimethylbenzene, and 1,2,4-trimethylbenzene. The results showed that *in situ* monitoring of VOCs with the *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) assay gave positive results in chemical workplace field and negative response at outdoor air. In conclusion, inhalation of these field air by workers may affect chronic damage to their health by inducing micronuclei formation in *Tradescantia* pollen mother cells. The combination of chemical/biological monitoring is very effective to evaluate hazardous materials in workplace field and can be alternatively used for screening hazardous materials.

Key words : VOCs, GC/MS, Tenax TA, workplace, *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN)

1. 서 론

대기 중, 특히 교통량이 밀집된 지역에서 검출되는 벤젠 (benzene)과 벤조 알파피렌 (benzo α -pyrene)과 같은 휘발성 유기화합물 (Volatile Organic Compounds, 이하 VOCs)과 니켈 (nickel), 크로뮴 (chromium)과 같은 무기화합물은 돌연변이원 및 발암물질로 잘 알려져 있으며[1], 현재 인류가 실내 공간에서 보내는 활동시간이 70 % 이상을 차지하고 있어 이러한 VOCs가 신체 건강에 미치는 영향에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있는 실정이다[2]. 이러한 노력의 일환으로 미국 환경청 (US EPA)에서는 대기 중 유해물질로 밝혀져 있는 40가지의 VOCs화합물을 지정 분류하여 관리하여 오고 있다. 대기 중 VOCs의 분석은 주로 캐니스터 (canister)를 이용한 용기 채취법으로 시료 채취하여 저온농축 방법을 통해 GC/MS로 분석하는 US EPA TO-14방법[3]과 다양한 흡착제를 충전시킨 흡착관을 이용하여 시료 채취 한 후 저온농축 방법을 통해 GC/MS로 분석하는 US EPA TO-17 방법[4]이 현재 시행되고 있다. 현재의 이러한 대상성분의 분석적 접근은 대상성분을 현장에서 곧 바로 시료 채취하여 on-line 방법을 통해 분석하거나 또는 채취된 시료를 실험실로 가져와 off-line으로 분석하는 방법을 통해 특정지역의 대상성분의 농도를 결정하고 그 농도에 따른 의미를 부여하고 있는 실정이다.

최근, 다양한 환경오염물질을 유발하는 곳에서의 특정 대상성분의 시료채취와 더불어 특정 대상성분에 노출되면 민감한 반응을 보이는 자주달개비 (이하, *Tradescantia*) 식물체를 같은 시료채취 공간에 노출시켜서 행하는 일련의 생물학적 biomonitoring 시스템을

이용한 시료채취방법이 많이 소개되고 있다. 현재까지 알려진 생물학적인 분석법 200여 가지 중에 *Tradescantia* 식물체의 진핵세포재료는 대기[5,6], 수질 [7], 폐기물 침출수[8], 그리고 토양[9]의 돌연변이원 및 발암원을 검출하는데 직접적으로 적용할 수 있다. 1960년대 후반에 개발된 자주달개비 수술털 분석법 (*Tradescantia* Stamen Hair Assay Method; 이하, Trad-SHM)과 1970년대 후반에 개발된 자주달개비 미세핵 분석법 (*Tradescantia*-Micronucleus Assay Method; 이하 Trad-MCN)은 현장실험과 실험실 실험에 폭넓게 사용되고 있다. Trad-SHM 방법은 자주달개비 수술털 (stamen hair)의 선단 세포는 분열능력이 있어서 발생 또는 분열과정 중 돌연변이원에 노출되면 쉽게 체세포 돌연변이를 일으킨다. 꽃색의 표현형이 자주색으로 꽃차례의 발생 또는 수술털 세포의 분열과정 중에 돌연변이원이나 발암원에 노출될 경우 꽃색에 있어서의 우성인자가 존재하는 부분의 염색체 결실이 일어나서 상동염색체 상에 존재하는 열성형질이 발현되어 꽃잎과 수술털의 전체 또는 일부분이 분홍빛을 띠게 된다. 더욱 심한 경우는 상동염색체의 양쪽 모두가 결실되어 색소발현능력이 소실됨에 따라 무색의 수술털 세포가 생기기도 하며 때로는 선단세포의 분열능력상실로 인한 수술털 세포수 감소로 인해 수술털이 비정상적으로 짧아지는 경우에도 나타난다. Trad-SHM 방법은 분홍돌연변이의 분석기간이 오래 걸리는 단점을 지니고 있다. Trad-MCN 방법은 자주달개비의 꽃가루 모세포는 감수분열 초기에는 돌연변이원에 매우 민감하게 영향을 받는다고 알려져 있고[10,11], 감수분열중인 꽃가루 모세포의 염색체는 동일개체의 분열중인 체세포 염색체보

다도 돌연변이원에 훨씬 민감하다는 사실이 잘 알려져 있다[12]. 특히, 방사선, 돌연변이원, 발암원의 연구와 관련하여 자주달개비를 감수분열 전기 I 초기에 맞추어 시행하고 난 후 분열중인 염색체에 대한 적당한 회복시간을 부여하면, 무동원체 염색체 조각 (acentric fragment)이나 점착성 염색체 복합부위 (sticky chromosome complex)가 감수분열 말기의 4분자 염색체 (tetrads) 시기에 미세핵으로 남게 되며, 이를 count하여 돌연변이도를 표현하는 방법이 Trad-MCN assay라 하여 염색체 손상 연구에 이용되기 시작하였다[10,11]. 한편, Trad-MCN 방법을 이용하여 발암원과 돌연변이원을 포함한 140가지의 실험결과와 독성 실험인 Ames test와 비교하여 67 %의 적합성을 보이는 것으로 나타났다[13]. Ames test를 이용한 동물의 골수세포는 일반적으로 실험결과에 대한 데이터의 변동폭이 큰 반면, *Tradescantia*를 이용한 식물세포의 경우는 실험결과에 대한 데이터의 변동폭이 상대적으로 작고, 방사선을 비롯한 다양한 돌연변이원에 뚜렷한 선량·용량·반응 관계를 나타낸다는 장점과 함께, 식물체의 실험 중 돌연변이원을 검색하는 데 가장 민감한 것으로 알려져 있다[5,14,15,16,17]. 따라서, Trad-MCN 방법은 다양한 종류의 물리·화학적 물질에 대해 매우 민감하고, 신속하고 경제적인 방법으로, 감수분열중인 꽃가루 모세포에서 동시성을 가진 핵분열은 감수분열의 초기단계에서 돌연변이원에 의해 염색체 손상을 일으켜 4분자 염색체에서 미세핵을 밝힐 수 있다는 점, 그리고 실험 결과를 1~2일 내로 얻을 수 있는 장점을 가지고 있다. 최근 Trad-MCN 방법은 특정 지역에 거주하고 있는 사람들의 건강 위해도 평가의 목적으로 사용되고 있고 점점 이 방법의 활용도가 증가되고 있는 실정이다[18]. 이미, 고무를 제조하는 산업현장에서 Trad-MCN 방법과 화학적 분석방법을 동시에 측정된 유전독성 평가연구에서 Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)과 N-nitrosodimethylamine과 그 외 0.5 μm 이하의 지름을 갖는 입자상에 의한 노출로 인해 이들 화학물질에 의한 돌연변이원을 보이는 것으로 조사되었다[19]. 그 외 도시폐기물 소각로 주변에서 거리에 따른 노출정도의 평가[20], 교통량이 많은 도심지역과 터널에서의 노출 평가[16], 음료수를 저장하는 PET 병의 추출액에 의한 노출평가[21], 라돈 노출에 의한 평가[22], 오존 노출에 의한 평가[23], 그리고 매립지에서 흘러나온 침출액을 *Tradescantia* 식물체에 의한 노출평가[24]와 더불어 화

학적 분석을 동시에 수행하여 다양한 환경에서의 돌연변이원을 밝히려는 연구가 매우 활발히 진행되고 있다. 최근 한 연구에 의하면 Trad-MCN 방법이 가스상의 오염물질을 평가하기에 더 신뢰성이 있고 적합한 것으로 보고되었다[23].

최근 고무를 생산하는 공장의 실내 작업자를 대상으로 발암 위해도에 대한 역학조사 결과 근로자들에게 방광암과 폐암, 후두암, 그리고 백혈병 등이 증가된다고 보고되었다. 비록 이런 역학조사가 화학물질의 노출로 인한 발암 위해도가 증가된다고 하는 정확한 메커니즘은 부족하지만, 1,3-butadiene, acetonitrile, styrene, vinyl chloride, ethylene oxide, nitrosamine, PAH와 같은 다양한 화학물질을 사용하는 고무공장의 근로자들에게 역학조사의 결과 외에도 생체실험 (*in vivo*)과 시험관 실험 (*in vitro*) 모두에서 돌연변이원과 발암성이 유발된다고 보고된 바 있다[19].

지금까지의 대기 환경 중의 공기질 모니터링은 환경오염이 상대적으로 심한 공업지역과 대도시 주변 및 산업장에서의 화학적 분석이 주를 이루었으나, 화학제품을 생산하는 실내 작업장 내의 현장에서 오염물질에 의한 *Tradescantia* 식물체의 biomonitoring과 화학적 분석을 동시에 측정된 연구사례는 거의 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 청주의 공단지역에 위치한 화학공장을 대상으로 실내 작업환경중 발생하는 화학적 분석을 통하여 VOCs의 종류와 오염정도를 파악하고, 동시에 유해물질에 대한 위해성 평가의 한 방법으로서 Trad-MCN 방법을 이용하여 작업장에서의 노출시간에 따른 *Tradescantia*의 미세핵 생성률을 조사하고자 하였다.

2. 실험 및 방법

2.1 재료

화학공장의 작업장으로부터 발생하는 휘발성유기화합물의 정성 및 정량을 위한 가스상 표준물질로는 미국 Scott Specialty Gases사에서 제조한 1 ppm 농도에 상응하는 가스상 표준물질을 구입하여 사용하였다. 기체상 표준물질은 모두 40 종류의 휘발성유기화합물이 혼합되어 있으며, 이는 US EPA TO-14방법에서의 규제대상물질로 알려져 있다. Table 1에 본 연구에서 사용한 40 종류의 TO-14 표준 혼합물질의 물리·화학적 성질에 대한 상세한 목록을 나타내었다.

Table 1. Lists of target VOCs in this study

No.	Compounds	Formula	CAS No.	m.w (g/mol)	b.p (°C)
1	Dichlorodifluoromethane	CCl ₂ F ₂	75-71-8	120.91	-29.8
2	Chloromethane	CH ₃ Cl	74-87-3	50.49	-24.2
3	1,2-dichloro-1,1,2,2-tetrafluoromethane	ClCF ₂ CClF ₂	76-14-2	170.93	4.1
4	Vinyl chloride	H ₂ C=CHCl	75-01-4	62.50	-13.4
5	Bromomethane	CH ₃ Br	74-83-9	94.94	3.6
6	Chloroethane	C ₂ H ₅ Cl	75-00-3	64.52	12.3
7	Trichlorofluoromethane	CCl ₃ F	75-69-4	137.38	23.7
8	1,1-Dichloroethylene	H ₂ C=CCl ₂	75-35-4	96.95	31.7
9	Methylene chloride	CH ₂ Cl ₂	75-09-2	84.94	39.8
10	1,1,2-Trichloro-1,2,2-ttrifluoromethane	CF ₂ ClCCl ₂ F	76-13-1	187.38	47.7
11	1,1-Dichloroethane	ClCH ₂ CH ₂ Cl	75-34-3	98.96	57-59
12	cis-1,2-Dichloroethylene	ClCH=CHCl	156-59-2	96.94	60
13	Chloroform	CHCl ₃	67-66-3	119.38	61
14	1,2-Dichloroethane	ClCH ₂ CH ₂ Cl	107-06-2	98.96	83
15	1,1,1-Trichloroethane	CH ₃ CCl ₃	71-55-6	133.41	74-76
16	Benzene	C ₆ H ₆	71-43-2	78.11	80
17	Carbon tetrachloride	CCl ₄	56-23-5	153.82	76-77
18	1,2-Dichloropropane	CH ₃ CH(Cl)CH ₂ Cl	78-87-5	112.99	95-96
19	Trichloroethylene	ClCH=CCl ₂	79-01-6	131.39	86.7
20	cis-1,3-Dichloropropene	ClCH ₂ CH=CHCl	10061-01-5	110.97	97-112
21	trans-1,3-Dichloropropene	ClCH ₂ CH=CHCl	10061-02-6	110.97	97-112
22	1,1,2-Trichloroethane	ClCH ₂ CHCl ₂	71-55-6	133.41	110-115
23	Toluene	C ₆ H ₅ CH ₃	108-88-3	92.14	110.6
24	1,2-dibromoethane	BrCH ₂ CH ₂ Br	124-48-1	187.88	119-120
25	Tetrachloroethylene	Cl ₂ C=CCl ₂	106-93-4	165.83	131.3
26	Chlorobenzene	C ₆ H ₅ Cl	108-90-7	112.56	132
27	Ethylbenzene	C ₆ H ₅ C ₂ H ₅	100-41-4	106.17	136
28	m-Xylene	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	108-38-3	106.17	138-139
29	p-Xylene	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	106-42-3	106.17	138
30	Styrene	C ₆ H ₅ CH=CH ₂	100-42-5	104.15	145-146
31	1,1,2,2-Tetrachloroethane	Cl ₂ CHCHCl ₂	79-34-5	167.85	147
32	o-Xylene	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	95-47-6	106.17	143-145
33	1,3,5-Trimethylbenzene	C ₆ H ₃ (CH ₃) ₃	108-67-8	120.20	162-164
34	1,2,4-Trimethylbenzene	C ₆ H ₃ (CH ₃) ₃	95-63-6	120.20	168
35	Benzyl chloride				
36	1,3-Dichlorobenzene	C ₆ H ₄ Cl ₂	541-73-1	147.00	172-173
37	1,2-Dichlorobenzene	C ₆ H ₄ Cl ₂	95-50-1	147.00	180
38	1,4-Dichlorobenzene	C ₆ H ₄ Cl ₂	106-46-7	147.00	173
39	1,2,4-Trichlorobenzene	C ₆ H ₃ Cl ₃	120-82-1	181.45	214
40	Hexachlorobutadiene	Cl ₂ C=CClCCl=CCl ₂	87-68-3	260.76	210-220

작업장에서의 흡착관을 이용한 시료채취용 흡착제는 대상성분에 대한 흡착능과 탈착능이 각 분석성분마다 크게 차이가 나고, 공기시료중의 수분함량에 따라서 흡착효율이 달라지므로 적당한 흡착제를 선택하는 것이 우선 중요하며, 통상적으로 많이 사용되고 있는 Tenax는 diphenyl-p-phenylene oxide (DPPO)를 주성분으로 하는 반-결정 polymer로 이루어진 다공성을 가진 고분자

계통의 흡착제로 상대적으로 높은 열 안정성과 C₇~C₂₆ 범위에 해당하는 탄화수소에 대해 뛰어난 흡착능과 탈착능, 그리고 수분에 대한 소수성을 가지고 있어 다양한 범위의 화합물의 시료채취에 주로 사용되고 있는 장점을 지니고 있어, 본 연구에서는 화학공장의 실내 작업장에서 VOCs를 채취하기 흡착관에 400 mg의 Tenax TA가 충전된 흡착관을 사용하였다. 실험용 식물체는

방사선에 민감하게 반응하면서도 자연적 돌연 변이율 (intrinsic mutation rate)이 낮은 *Tradescantia* BNL 4430 클론을 사용하였다. 2002년 8월 15일부터 9월 14일까지 4주간 생장한 식물체로부터 15개 정도의 꽃봉오리를 가지고 있는 꽃차례를 절취한 다음 15개의 꽃차례를 하나의 실험군으로 사용하였다.

2.2. 시료 채취

작업장에서의 시료채취는 비닐하우스용 비닐을 제조하는 국내 공단지역의 특정회사를 선정하여 실내 작업 공간에서 400 mg의 Tenax TA 흡착제가 충전된 스테인레스 스틸 흡착관 (90 mm × 6.35 mm O.D., Perkin-Elmer, UK)으로 일정 유속으로 설정된 펌프로 active sampling 하였다. 흡착관의 시료채취 시간은 2시간으로 설정하고 채취 유속은 70 mL/min으로 설정하여 채취 부피는 약 8 L 채취하였다. 시료 채취 시작 전 · 후의 유속의 변화는 10% 이내로 유지되어 시료 채취에 의한 정밀도는 양호하였다. 시료채취 장소는 3군데를 선정하였으며 그 기준은 제조과정 중 농도가 높게 배출될 것으로 판단되는 실내 작업장의 2군데를 선정 (제조라인 site #6과 7)하고, 나머지 한 군데는 실내 작업장의 공기가 외기로 환기되는 건물의 옥상을 선정하여 시료 채취하였다. 작업장의 실내 온도는 실온, 상대습도는 55%로 유지되었다. 실내 작업장과 외기에서 화학적 분석을 위한 흡착관을 이용한 시료채취와 *Tradescantia* 식물체를 이용한 생물학적 biomonitoring을 동시에 수행하였다. 실험용 식물체는 온실에서 생육된 *Tradescantia* Brookhaven National Laboratory (BNL) 4430 클론을 절취하여 실내 작업장에서 2시간, 6시간, 그리고 9시간동안 노출하였다. 노출 후 24시간의 회복시간을 부여한 다음 고정, 저장하였다. 화학적 분석을 위해 시료채취가 끝난 흡착관은 테플론 재질의 brass Swagelok screw cap으로 막고 미리 세척한 유리병에 보관하여 실험실로 운반하였으며, biomonitoring을 위해 노출시킨 *Tradescantia* 식물체는 증류수로 세척한 바스에 담아 실외 공기에 의한 오염을 방지하였다.

2.3. 시료의 화학적 분석

Tenax TA가 400 mg 충전된 시료가 흡착된 흡착관을 열탈착 하기 위한 자동 열탈착 장치 (ATD 400, Perkin-Elmer, UK)는 최대 50개의 시료에 대해 자동으로 분석할 수 있는 장점을 가지고 있으며, 열탈착 과

정은 이동상 기체 (헬륨)를 이용하여 흡착제가 충전된 흡착튜브에 열을 가하여 1차적으로 흡착제에 채취된 기체상 성분들을 탈착 시킨다 (1차 탈착). 이 때 탈착된 기체상 성분들은 -30 °C로 유지되고 있는 저온응축 트랩 (cold trap)에 다시 재 흡착하는 일련의 농축과정을 거치며, 일정시간동안 농축이 이루어지면 다시 빠른 시간 내에 고온의 열을 가하여 2차로 기체상 성분들을 탈착 시킨다 (2차 탈착). 이 때 탈착된 휘발성 유기화합물들은 transfer line을 통하여 모세관 컬럼 (capillary column)이 연결된 GC로 운반되어 최종적으로 분석과정이 진행된다. 분석 컬럼은 SPB-1 (60 m × 0.32 mm × 1 μm, J&W Supelco)을 사용하였고, 컬럼 오븐의 온도프로그래밍은 초기 40 °C에서 5분간 유지한 후, 분당 5 °C씩 승온하여 180 °C로 올린 후 다시 분당 10 °C씩 승온하여 최종온도를 250 °C까지 올려 5 분간 유지하면서 분석과정을 수행하였으며, 이 때 사용한 GC는 Finnigan GCQ (GC/MSD)를 이용하여 시료 분석하였다. 실내 작업장 시료의 정성 및 정량을 위해서 질량분석기 (MS)가 장착된 Finnigan GCQ (GC)를 이용하여 분석을 수행하였다. 전자이온화 (EI) 모드에서 70 eV로 시료를 이온화하였고, 이동상 기체는 헬륨을 사용하였다. 자세한 분석조건은 Table 2에 상세하게 나타내었다.

작업장 시료의 정량을 위한 표준물질의 검량선 작성은 US EPA TO-14 방법에서 규정하고 있는 40가지의 VOC 표준혼합 가스 (Scott Specialty Gases, USA) 1 ppm 농도에 상응하는 표준물질을 사용하였다. ATD 400에서 열탈착 시켜 깨끗한 흡착관을 표준물질 제조용 흡착관에 연결하고, VOC 표준물질이 함유된 실린더에 질량유량계 (mass flow controller)를 연결하고 일정한 유량으로 조절하여 각 흡착관 마다 흡착되는 표준물질의 부피를 달리하여 흡착시켰다. 작업장에서의 시료의 정량을 위한 표준물질의 검량선 범위는 88 ~ 2000 ng 으로 흡착관을 제조 후, GC/MS로 분석하여 흡착량을 달리한 변화에 대한 피크면적의 크기로 검량선을 작성 하였다. 검량선 범위에 대한 직선성의 결정계수 (r^2)는 0.99 이상의 양호한 직선성을 보였다. 또한, 표준물질의 재현성 평가를 위한 7번 반복분석에 대한 상대표준편차는 몇 가지 화합물을 제외하고는 10% 이내의 재현성을 나타내었으며, 4번 반복 분석한 각 표준물질의 머무름 시간의 평균 상대표준편차는 0.04%로 분석에 따른 각 표준물질의 머무름 시간은 매우 일정한 것으로 나타났다.

Table 2. Operating conditions of ATD 400 thermal desorber and GC/MS

Thermal desorption system (ATD-400, Perkin Elmer, UK)	
Parameter	Value
Tube desorption temp.	300 °C
Tube desorption time	10 min
Valve temp.	175 °C
Cold trap temp.	-30 °C
Cold trap desorption temp.	320 °C
Cold trap desorption time	5 min
Transfer line temp. (from ATD to GC)	175 °C
ATD Head pressure	11.5 psi
Desorption flow	50 ml/min
Inlet split flow	Splitless
Outlet split flow	10 ml/min
Adsorbent (collection tube)	Tenax TA 400 mg (60/80 mesh)
Adsorbent (cold trap)	Tenax TA
GC/MSD (GCQ GC/MSD, Finnigan, USA)	
Column	SPB-1 (Supelco, 60 m, 0.32 mm, 1 μm)
Column flow	1 ml/min
Initial temp.	40 °C (5 min)
Final temp.	250 °C (2 min)
Ramp rate	40 °C (5 min), 7 °C/min to 180 °C, 10 °C/min to 250 °C
Detector	MSD (type : ion trap)
Ion source temp.	190 °C
Transfer line temp. (from GC to MS)	200 °C
Mass range	45 ~ 350 amu
Ionization mode	EI (Electron ionization) mode

2.4. Trad-MCN Assay (자주달개비 미세핵 분석)

2.4.1 꽃차례 배양

실외 대기조건과 실내 작업장에서 노출시킨 꽃차례 군은 Hougland No. 2 solution 6배 희석액[25]에 담겨서 성장상 내에서 배양하였다. 노출 후 고정액에 들어가기까지 24시간의 배양기간 동안 기포발생기를 이용하여 폭기를 실시하였다. 배양시간은 명기 14시간 동안은 20 °C, 습도 80%, 조도는 293 μE/m²/sec로 조광은 대형메달램프, 형광등을 보조광원으로 사용하였다. 암기는 10시간, 20 °C, 상대습도 80%를 유지하였다.

2.4.2 자주달개비 미세핵의 분석

꽃가루 모세포에 생성된 미세핵 분석은 Ma[26]의 절차를 따랐다. 실내 작업장의 노출이 끝난 시료는 Hougland No. 2 solution 6배 희석액에 위치하고 성장상 내에서 24시간의 분열 염색체 회복시간이 경과 후, 분석용 꽃차례를 aceto-alcohol (1:3)로 고정시켰다. 고정액에 위치하여 24시간 후 70% 에탄올에 담가 4 °C에 저장하였다. 미세핵을 현미경으로 검사하기 위한 프레파라트의 제작은 aceto-carmine squash method[26]를 따랐다. 전처리가 끝난 후 실험군별로 5~10개의 슬라이드 프레파라트를 제작하고, 광학현미경 (Nikon)의 배율을 400배로 하여 생성된 미세핵을 count하였다. 하나의 프레파라트에서 약 300개 이상의 4분자 염색체를 현미경으로 검사하여 100개의 사분자 염색체당 미세핵 숫자 (MCN / 100 tetrads)로 환산하여 결과를 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

실내 작업장내 두 곳 (Site #6과 #7)에서의 유해물질로 분류된 VOCs의 농도분포를 조사하기 위하여 Tenax TA 흡착제가 400 mg 충전된 흡착관을 이용하여 2시간 동안 시료채취 한 후 화학적 분석결과를 사전에 조사한 결과를 Table 3에 나타내었다. 비닐제품을 제조하는 작업장내에서 검출된 VOCs는 US EPA TO-14 방법에서 정하고 있는 40가지 VOCs 중 9개 화합물이 검출되는 것으로 조사되었다 (Fig. 1).

그 중, toluene의 농도가 site #6과 7 모두에서 가장 높게 나타났다. Site #6에서 톨루엔의 농도는 1368.3 ug/m³, site #7에서는 1946.6 ug/m³으로 일반 대기환경에서 저농도 ppb 수준으로 검출되는 농도보다 수백 배 높게 배출되는 것으로 나타났다. 그리고, 쥐와 사람에게 대한 발암성 시험에서 암을 유발시키는 것으로 보고된 trichloroethylene은 site #6과 7에서 각각 4.2 ug/m³과 2.1 ug/m³을 보였다. 그 외 ethylbenzene, m,p,o-xylene, styrene, 1,3,5-trimethylbenzene, 그리고 1,2,4-trimethylbenzene 화합물들은 실내 작업장의 site #6과 7 그리고 외기 수준 모두 비슷한 농도 수준으로 검출되는 것으로 나타났다. Fig. 2와 Table 3에 실내 작업장의 site #6과 7, 그리고 외기에서 검출된 각각의 VOC의 농도 (ug/m³)를 요약하여 나타내었다.

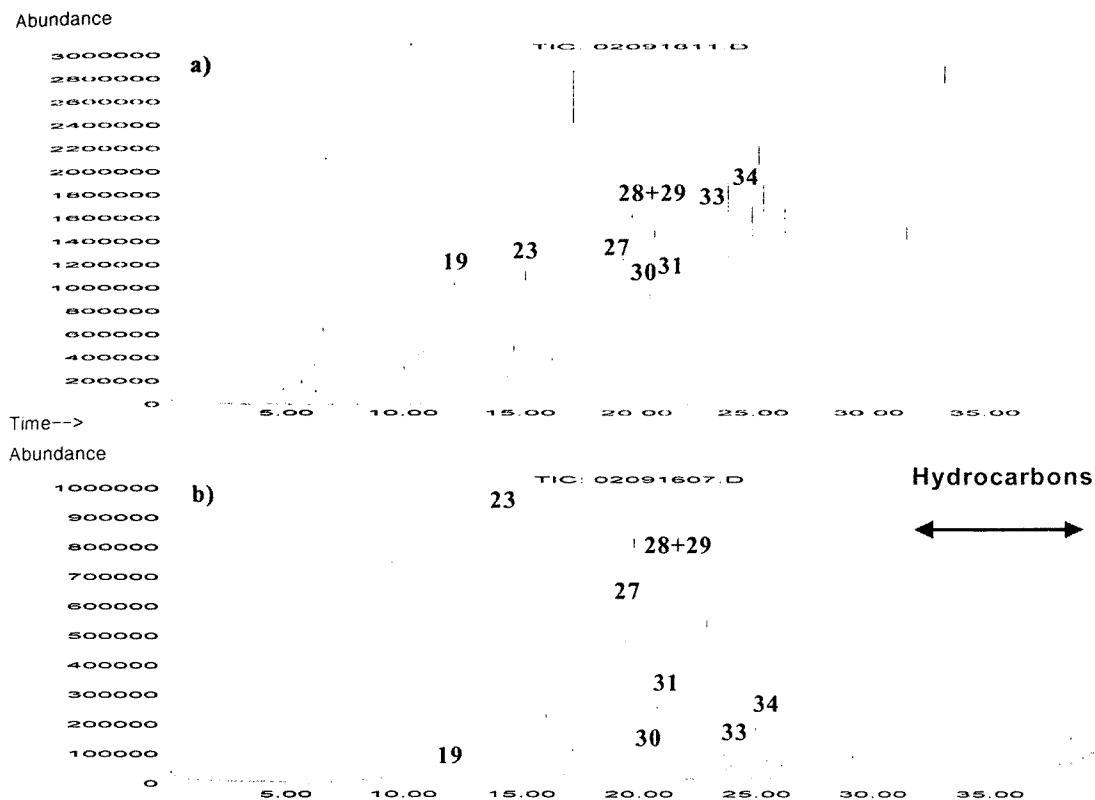


Fig. 1. GC/MS chromatograms; a) EPA TO-14 mixture standard gases, b) detected VOCs from real sample. Peak numbers correspond to the numbers indicated in Table 1.

Table 3. The detected VOCs from the chemical workplace field based on the GC/MS analysis using collection tube packed with Tenax TA adsorbent

Detected VOCs	VOCs concentration (ug/m3) for 2 hour sampling (n=2)		
	Outdoor	Site #6	Site #7
Trichloroethylene	1.9 ± 0.2	4.2 ± 0.5	2.1 ± 0.2
Toluene	340.1 ± 25.6	1368.3 ± 99.5	1946.6 ± 146.3
Ethylbenzene	4.4 ± 0.4	12.0 ± 0.5	12.1 ± 0.4
m,p-Xylene	5.4 ± 0.5	10.2 ± 0.2	13.5 ± 0.2
Styrene	1.6 ± 0.2	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2
o-Xylene	3.8 ± 0.4	7.3 ± 0.7	10.1 ± 0.2
1,3,5-Trimethylbenzene	1.3 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.1
1,2,4-Trimethylbenzene	1.5 ± 0.1	3.9 ± 0.1	3.3 ± 0.1

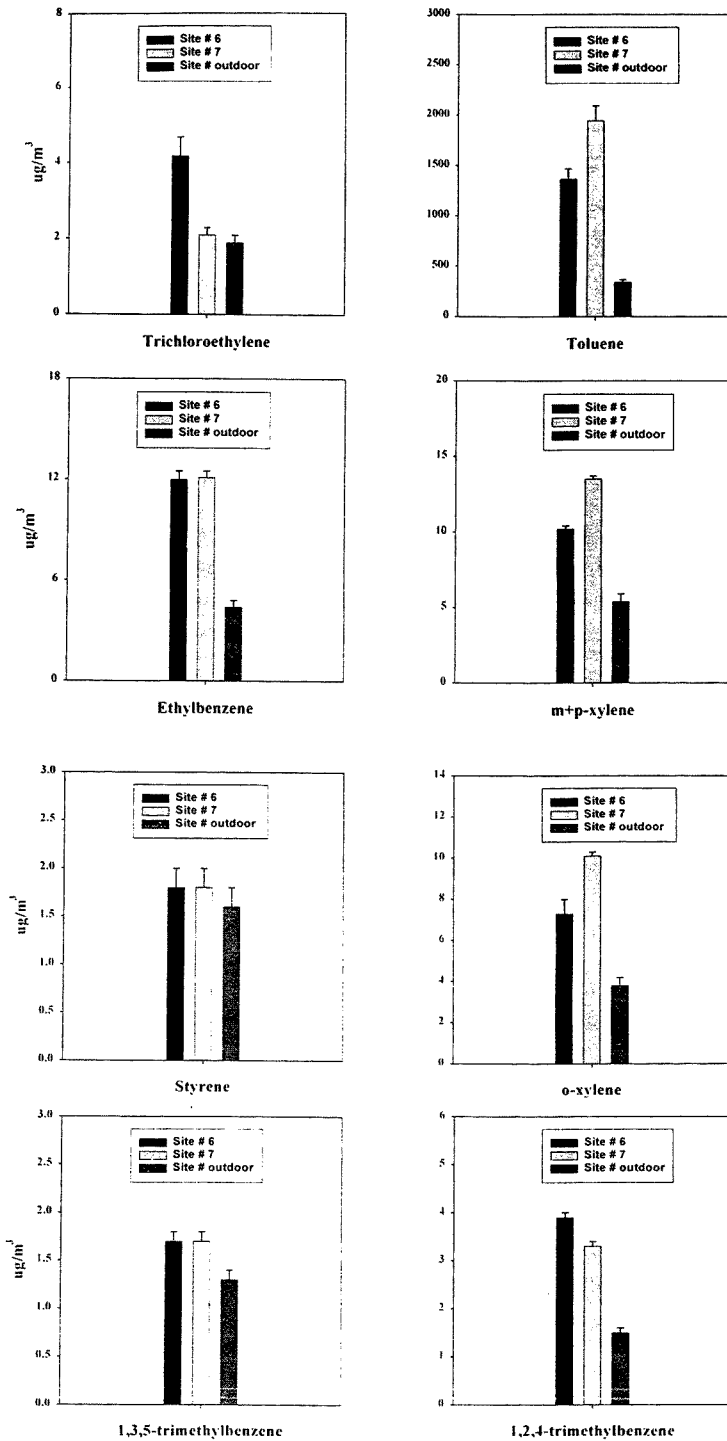


Fig. 2. Detected amounts of VOCs for 2 hour collection period in chemical workplace field and outdoor.

Fig. 3과 4 그리고 Table 4에 *Tradescantia* 식물체의 노출에 의한 미세핵 생성률의 결과를 나타내었다. 화학공장의 실내 작업장에서 노출한 *Tradescantia* 꽃가루 모세포의 미세핵분석법을 통한 분석결과 외기 중에 노출한 대조군과 실내 작업환경 중에 노출한 처리 실험군은 유의성 있는 차이를 보이는 것으로 나타났다. Fig. 3에 실내작업장의 site #6에서 시간에 따른 자주달개비 미세핵 생성률의 변화를 나타내었다. 실외대기에서의 노출 시간에 대한 대조군의 경우는 2.8~2.9 MCN/100 tetrads를 나타내었다 (Table 4). 이는 자연상태에서 *Tradescantia* 미세핵의 자연적 생성률은 최대 4 MCN/100 tetrads로 이 값은 꽃가루 모세포 미세핵의 자연적인 생성률 범위에 해당되는 것으로 볼 수 있다[28].

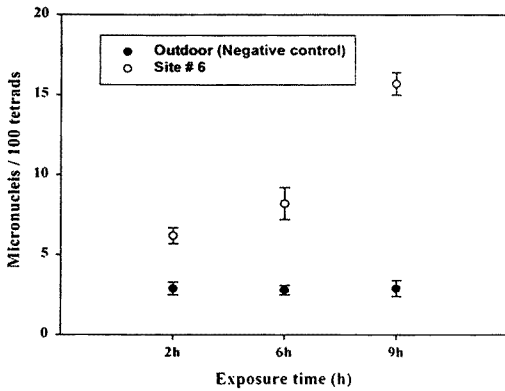


Fig. 3. Mean values and standard deviations of the micronuclei obtained in pollen mother cells of *Tradescantia* after exposed to different hours in chemical workplace field.

반면, 실내 작업장의 site #6의 2시간, 6시간, 그리고 9시간의 노출군에서 자주달개비의 미세핵 생성률은 각각 6.2 ± 0.5 , 8.2 ± 1.0 , 그리고 15.7 ± 0.8 MCN/100 tetrads (Fig. 3과 Table 4)로 실외 대기조건보다 2.1~5.4배 높게 나타나는 것으로 조사되었다. 이는 Site #6의 노출위치가 외부의 영향이 적으며, 실내 작업장의 영향을 충분히 반영할 수 있는 안정된 장소로 실내작업장에서 발생하는 휘발성 유기화합물에 의한 영향을 충분히 반영한 결과로 판단된다[27]. Fig. 4에는 실내작업장의 site #7에서 시간에 따른 노출에 의한 *Tradescantia* 미세핵 생성률을 나타내었다.

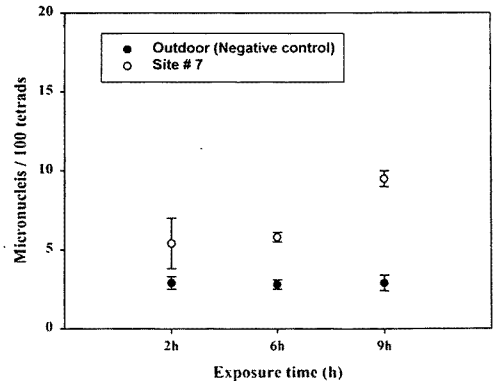


Fig. 4. Mean values and standard deviations of the micronuclei obtained in pollen mother cells of *Tradescantia* after exposed to different hours in chemical workplace field.

Table 4. Results of on site monitoring with the Trad-MCN bioassay in the chemical workplace field air

Sampling site	MCN/100 tetrads (mean \pm s.d) (n=5)		
	Exposed time (h) of <i>Tradescantia</i> at chemical workplace field		
	2h	6h	9h
Outdoor (Negative control)	2.9 \pm 0.4	2.8 \pm 0.3	2.9 \pm 0.5
Site #6	6.2 \pm 0.5	8.2 \pm 1.0	15.7 \pm 0.8
Site #7	5.4 \pm 1.6	5.8 \pm 0.3	9.5 \pm 0.5

Site #7의 실내작업장은 site #6에서 나타난 *Tradescantia* 미세핵 생성률보다 상대적으로 약간 낮은 값을 나타내었다. Site #7에서 2시간, 6시간, 그리고 9시간 동안 나타난 *Tradescantia* 미세핵 생성률은 각각 5.4 ± 1.6 , 5.8 ± 0.3 , 그리고 9.5 ± 0.5 MCN/100 tetrads로 실외 대기 조건보다 1.9~3.3배 높게 나타나는 것으로 조사되었다. 실내작업장의 두 지역 모두에서 실외 대기조건과 비교하여 *Tradescantia* 미세핵 생성률이 site #7의 2시간 노출군만을 제외한 모든 처리군에서 유의성 있게 증가하였다. Fig. 4의 site #7의 2시간에 대한 노출군의 표준

편차가 높고 유의성이 나타나지 않은 이유는 2시간에 대한 화학적 사전조사에서는 site #7의 VOCs 농도 (toluene의 농도를 중심으로)가 높게 나타났음에도 불구하고 2, 6, 9시간 노출에 따른 *Tradescantia* 식물체의 미세핵 생성물은 site #6에서 더 높은 것으로 나타났는데, 이는 흡착관의 시료채취가 갖는 작업장 공기의 강제적인 시료채취방법과는 달리 *Tradescantia* 식물체의 작업장 공기의 노출정도는 정적인 상태에서 노출되므로 전반적으로 공기의 왜류가 적은 site #6에서 노출빈도가 더 커지게 되어 *Tradescantia* 미세핵 생성물은 반대로 site #7에서 다소 낮게 나타난 것으로 사료된다. Site #6과 7은 같은 실내 작업장으로 서로 10 m 간격을 두고 있고, 제품의 제작되는 동안 방출되는 화학물질을 환기하기 위한 환기장치가 가동되고 있었다. 또한 제조공장의 출입구에서 5 m 떨어진 위치에 site #7이 위치하고, 출입구에서 12 m 떨어진 안쪽의 실내공간에 site #6이 위치하고 있어 전반적으로 출입구 안쪽에 위치하고 있는 site #6보다는 출입구에서 가까운 site #7이 실외 공기에 의한 희석에 의한 영향을 더 많이 받기 때문에 미세핵 생성물은 오히려 site #6에서 더 높게 나타난 것으로 사료된다. 작업장에서의 VOCs의 허용 한계치 (Threshold Limit Values, 이하, TLV)는 8시간 작업을 기준으로 하였을 때, toluene과 xylene은 100 ppm, styrene은 50 ppm으로 각각 규정하고 있으며 본 연구의 화학공장의 실내 작업장에서 가장 높게 검출된 toluene의 농도는 1368.3~1946.6 ug/m³ (2시간 측정에 대한 값)으로 이를 ppm 농도로 환산하면 0.36~0.52 ppm 수준으로 작업장 환경의 기준 TLV 보다는 매우 낮은 수준으로 나타났지만, 실내작업장에서의 biomonitoring을 이용한 *Tradescantia* 식물체의 Trad-MCN 방법의 미세핵 생성물과 화학적 분석의 측정값을 볼 때 장기간 노출시 작업장내의 근로자들에게 유해한 인자로 작용할 것으로 판단된다. 또한, site #7에서의 toluene의 농도가 site #6보다 높게 나타남에도 불구하고 *Tradescantia* 미세핵 생성물은 오히려 site #6에서 높게 나타났는데, 이는 비록 저농도로 존재하고 있지만 발암성을 유발하는 trichloroethylene의 농도가 site #6에서 2배 가량 큰 농도로 검출되는 것으로 나타나, *Tradescantia* 미세핵 생성물이 site #6에서 높게 나타난 원인은 toluene에 의한 영향보다는 발암성 시험에서 암을 유발하는 것으로 알려진 trichloroethylene에 의한 영향을 더 많이 받기 때문인 것으로 사료된다.

4. 결 론

1. 화학공장의 실내작업장에서 US EPA TO-14 방법에서 규정한 40가지의 유해물질 VOCs 중 총 9종류의 VOC가 검출되었으며, 농도범위는 site #6에서 1.7~1368.3 ug/m³ (ppb 범위로 0.3~363.1 ppb에 해당), site #7에서 1.7~1946.6 ug/m³ (ppb 범위로 0.3~516.5 ppb에 해당)로 나타났다. Trad-MCN 방법에 의한 site #6에서의 시간별 노출시간 (2시간, 6시간, 9시간)에 대한 *Tradescantia* 미세핵 생성물은 각각 6.2 ± 0.5 , 8.2 ± 1.0 , 그리고 15.7 ± 0.8 MCN/100 tetrads로 노출시간의 증가에 따른 *Tradescantia* 미세핵 생성물의 상관계수 (r) 값은 0.92, site #7에서는 각각 5.4 ± 1.6 , 5.8 ± 0.3 , 그리고 9.5 ± 0.5 MCN/100 tetrads로 노출시간의 증가에 따른 *Tradescantia* 미세핵 생성물의 상관계수 (r) 값은 0.87로 노출시간의 증가에 따라 실내 작업장의 두 곳 모두 *Tradescantia* 미세핵 생성물이 증가하는 반면, 실외 조건 (외기)에서 노출한 대조군의 경우 *Tradescantia* 미세핵 생성물은 일반 대기환경 수준의 농도에 해당하는 2.9 ± 0.4 MCN/100 tetrads 수준으로, 이는 자연적인 미세핵 생성물에 해당하는 것으로 나타났다.

2. 화학공장의 실내 작업장에서의 VOCs의 화학적 측정분석결과 site #7에서 toluene의 농도가 site #6에서 보다 높게 검출되었음에도 불구하고 *Tradescantia* 미세핵 생성물은 오히려 site #6에서 높게 나타났다. 이는 저농도로 존재하고 있지만 발암성을 유발하는 trichloroethylene의 농도가 site #6에서 2배 가량 큰 농도로 검출되는 것으로 나타나, *Tradescantia* 미세핵 생성물이 toluene에 의한 영향보다는 trichloroethylene에 의한 영향을 더 많이 받아 *Tradescantia* 미세핵 생성물이 증가하는 것으로 판단된다.

3. 실내공간에서의 화학적 측정결과와 biomonitoring을 이용한 *Tradescantia* 미세핵 생성물 결과 실내 작업장에서 장기간 노출시 작업 근로자들에게 유해한 인자로 작용할 것으로 사료된다.

4. 화학공장의 실내 작업장에서의 Tenax TA가 충전된 흡착관/GC/MS방법을 이용한 화학적 분석과 동시에 biomonitoring을 이용한 Trad-MCN 방법을 통해 실내 작업장에서의 유해물질 VOCs 및 유해물질에 의한 *Tradescantia* 미세핵 생성물을 쉽게 screening 할 수 있었다.

참고 문헌

1. Schnelle, J., Wolf, K., Frank, G., Hietel, B., Gebefugi, I., Kettrup, A., *Analyst*, **121**, 1301-1304 (1996)
2. Jones, A.P. *Atmos. Environ.*, **33**, 4535-4564 (1999)
3. US EPA/625/R-96/010b, Method TO-14A, Second Edition, (1997)
4. US EPA/625/R-96/010b, Method TO-17, Second Edition, (1997)
5. Steinkellner, H., Mun-Sick, K., Helma, C., Ecker, S., Ma, T.H., Horak, O., Kundi, M., Kanschmuller, S., *Environ. Mol. Mutagen.* **31**, 183-191 (1998)
6. Batalha, J.R.F., Guimaraes, E.T., Lobo, E.T., Lichtenfels, A.J.F.C., Deur, T., Cavalho, H.A., Alves, E.S., Domingos, G.S., Rodrigues, G.S., Saldiva, P.H.N., *Mutat. Res.* **426**, 229-232 (1999)
7. Yang, K.L., Lo, J.G., *Analytical Science*, **13**, 337-342 (1997)
8. Cabrera, G.L., Rodriguez, D.M.G., Maruri, A.B., *Mutat. Res.* **426**, 201-206 (1999)
9. Knasmuller, S., Gottmann, E., Steinkellner, H., Fomin, A., Pickl, C., Paschke, A., God, R., Kundi, M., *Mutat. Res.* **420**, 37-48 (1998)
10. Ma, T.H., *Mutat. Res.* **64**, 307-313 (1979)
11. Ma, T.H., Kentos, G.Jr., Anderson, V.A., *Environ. Exp. Bot.* **20**, 169-174 (1980)
12. Sax, K., *Genetics*, **23**, 494-516 (1983)
13. Ma, T.H., Harris, M.M., Anderson, A.A., Ahmed, I., Mohammad, K., Bare, J.L., Lin, G., *Mutat. Res.* 157-167 (1984)
14. Gill, B.S., Sandhu, S.S., *Mutat. Res.* **270**, 65-69 (1992)
15. Grover, I.S., Phingra, A.K., Neeta, A., Ladhar, S.S., *Wiley-Liss, New York*, 91-106 (1990)
16. Monarca, S., Zanardin, A., Feretti, D., Resola, S., Marchetti, R., Manfredi, S., Nardi, G., *Toulouse, France*, 101, (1997)
17. Sadowska, A., Iyugers, E., Narkiewicz, M., Pawelczak, A., Lata, B., *European Journal of Cancer Prevention*, **3**, 69-78 (1994)
18. Monarca, S., Feretti, D., Zanardini, A., Falistocco, E., Nardi, G., *Mutat. Res.*, **426**, 189-192 (1999)
19. Monarca, S., Feretti, D., Zanardini, A., Moretti, M., Villarini, M., Spiegelhalder, B., Zerbini, I., Gelatti, U., Lebbolo, E., *Mutat. Res.*, **490**, 159-169 (2001)
20. Fomin, A., Hafner, C., *Mutat. Res.*, **414**, 139-148 (1998)
21. Biscardi, D., Monarca, S., Fusco, R.D., Senatore, F., Poli, P., Buschini, A., Rossi, C., Zani, C., *The Science of the Total Environment* (2002) in press
22. V-Pietrini, R., F-Márquez, A.R., Meneses, M.A., Tavera, L., Balcázar, M., López, L., G-Arroyo, S., *Mutat. Res.*, **426**, 215-219 (1999)
23. Rodrigues, G.S., Madkour, S.A., Weinstein, L.H., *Environmental and Experimental Botany*, **36**, 45-50 (1996)
24. Cabrera, G.L., Rodriguez, D.M.G., *Mutat. Res.* **426**, 207-210 (1999)
25. Conger, A., *Proc. Florida State Horticultural Society*, **77**, 3-6 (1964)
26. Ma, T.H., *Environ. Health Prospect*, **37**, 85-90 (1981)
27. Arutyunyan, R.M., Pogosyan, V.S., Simonyan, E.H., Atoyans, A.L., Djigardjian, E.M., *Mutat. Res.* **426**, 117-120 (1999)
28. J.K., Kim., H.S., Sung., S.H., Hyun., J. Kor. Assoc. *Radiat. Prot.* **24**, 187-192 (1999)