

생물학적 분석을 통한 HBr의 연소 독성에 관한 연구

조남욱[†] · 신현준 · 이인구 · 오은하*

[†]한국건설기술연구원

*네오딘의학연구소

(2012년 9월 20일 접수 ; 2012년 12월 23일 수정 ; 2012년 12월 24일 채택)

A Study for Bioassay on the HBr Combustion Toxicity

[†]Nam-Wook Cho · Hyun-Joon Shin · In-Ku Lee · Eun-Ha Oh*

[†]*Korea Institute of Construction Technology*

**NeoDIN Medical Insitute, 133-170, Seoul*

(Received September 20, 2012 ; Revised December 23, 2012 ; Accepted December 24, 2012)

요약 : 고분자물질의 사용으로 인한 건축 재료의 다변화에 따라 화재 시 발생하는 연소가스 또한 다양해지고 있다. 그중 HBr은 NES 713과 BS 6853, FTP Code Part 2에서 연소 가스의 독성 평가 시 측정되는 독성가스이다. 특히 산업안전물질보건자료(MSDS)에서는 HBr가스를 흡입할 경우 화상을 일으키며 호흡부전, 두통 등을 유발시킬 수 있고 50ppm의 HBr가스에 노출된 사람은 생명과 건강에 즉시 영향을 받을 수 있는 매우 유독한 연소가스이다. 본 논문에서는 HBr 표준가스에 노출된 동물의 운동성 측정실험인 가스유해성 시험 및 HBr가스에 노출된 마우스의 생물학적 검사 결과를 비교 분석하여 HBr의 연소 독성에 관한 연구를 수행하였다.

주제어 : 브롬화수소, 병리학적 관찰, 연소 독성, 흡입독성, 연소가스.

Abstract : Due to the use of polymeric materials in construction materials, the fire combustion gases that occur in the fire are various. The one of combustion gases, HBr is measured to evaluate the toxicity of the combustion gases in the FTP Code Part 2, Standard NES 713 and Standard BS 6853. According to the MSDS, Inhalation of HBr gas especially cause burn, respiratory dysfunction, headache, etc. The people who are exposed to 50ppm of HBr gas, very irritant gas may also frequently result in both immediate death and post-exposure deaths due to pulmonary complications. In this paper, we conduct a research on the combustion toxicity of HBr gas hazardous test which is motility measurement of the mice exposed to the HBr standard gas comparing the biological analysis result.

Keywords : HBr, Pathological Observation, Combustion Toxicity, DNA damage, comet assay.

[†]주저자 (E-mail : waoeh@neodin.com)

1. 서 론

최근에 건축 재료가 다양화됨에 따라 화재 시 발생하는 연소가스의 종류도 다양하게 발생하고 있다. 합성수지의 연소로 인해 발생하는 할로젠계 가스들(HBr, HCl, HF 등)은 특히 치명적인 독성가스로서 NES713과 BS6853, ISO13344에서 독성 평가 진행을 위해 측정되는 가스들로 제시되고 있다[1~4]. 산업안전물질보건자료(MSDS)에서 HBr의 경우 사람이 흡입할 경우 화상을 일으키며 호흡 부전 및 두통 등을 유발시킬 수 있는 것으로 보고되고 있다. 특히 일정시간 동안 50ppm의 HBr가스를 흡입 시 생명과 건강에 즉각적인 영향을 줄 수 있다. 국내 건축법에서는 연소 독성평가를 위해서 건축 마감 재료의 난연 성능평가 제도를 운영하고 있으며 KS F2271를 통해 가스유해성 평가를 수행한다. 최근 분석장비(FT-IR)를 활용한 연소 독성가스의 정성·정량 분석에 관한 연구가 수행되었다[5~7]. 그러나 가스유해성 시험과 연소 독성평가의 경우 화재에서 발생하는 가스의 인체에 대한 생물학적 위험도 분석에는 매우 제한적이었다.

외국에 연구 사례에서는 실험실에서 배양된 인간 폐 세포를 사용하여 복합 재료의 인비트로(in-vitro) 화재 연기 독성 평가에 대한 대체 방법이 연구되었으며 가스 측정방법을 이용하여 연소가스가 인체에 미치는 영향에 대해 연구가 진행되었다[8~11].

본 논문에서는 화재에서 발생될 수 있는 가스 중 HBr 표준 가스(12.2ppm, 56.8ppm, 105ppm, 200ppm, 601ppm)를 사용하여 실험용 마우스에 직접 노출시키는 가스 유해성 시험(KS F2271)을 진행하였고 독성가스에 노출에 노출된 마우스를 해부하여 생물학적 검사(혈액검사, 혈액생화학검사, DNA손상검사)를 진행하였다. 생물학적 검사와 가스 유해성 시험 결과의 비교를 통하여 HBr 가스가 마우스에 미치는 영향을 분석하였다. 본 연구는 한국건설기술연구원의 동물실험윤리위원회 승인을 거쳐 수행하였다.

2. 실험

2.1. 가스유해성 시험

현재 건축법에서는 건축물 마감 재료의 난연 성능평가를 건축법 제43조, 동 시행령 제61조 및

‘건축물의 피난 방화 등의 기준에 관한 규칙’ 제24조에서 건축물의 마감 재료에 대한 용도 및 규모별 적용 대상과 성능기준을 정하고 있다[12~13].

KS F2271의 가스유해성 시험은 시험체에 가열을 시작하여 발생된 가스에 노출된 시험용 마우스가 행동을 정지할 때까지의 행동정지시간을 측정하는 시험이다. 시험시간 15분간 8마리의 마우스의 행동시간을 측정하여 8마리의 평균행동정지시간이 9분 이상이 되면 적합한 것으로 한다. 본 실험에서는 실제 시험체의 가열에 의한 연소가스 노출이 아닌 5가지 농도의 표준가스를 직접 피검 상자에 주입하여 각 농도에 반응하는 마우스의 행동을 측정하고 실험동물 해부를 통한 생물학적 분석을 시도하였다.

2.2. HBr의 일반독성 연구

HBr가스는 상온 상태에서 비휘발성 기체로, 습도 높은 공기와 접촉하면 수소산을 형성하기 시작한다. 물에 잘 녹으며, 298K에서 물에 용해하면 물 중량의 68.85%가 수소산화한 후 포화상태가 된다. 전체 무게의 47.38%가 용해된 브롬화수소로 구성된 물은 126 °C에서 끓는 공비 혼합물(azeotrope)이 되는데, 용해된 브로민화 수소의 비율이 더 낮을 경우 H₂O는 브로민화수소의 함유량이 47.38%에 이를 때까지 100 °C에서 계속 증발한다.

한국산업안전공단에서 발행하는 MSDS에 따르면 HBr은 사람에게서 부식성, 피부괴사 및 점막 자극이 보고된바 있다. 또한 흰쥐의 흡입 시험에서 비갑개골의 괴사와 섬유괴사를 일으켰으며, 사람에게서는 코와 상기도 자극, 기관지 폐렴, 급성 폐부종 등의 위험을 보이는 것으로 기재되어있다[14].

유럽연합은 유럽연합위험규정에서 매우 심각한 화상의 원인과 호흡기에 심각한 영향을 위험성을 가지는 물질로 규정하고 있다[13].

다양한 화재 기준에서 HBr의 판정기준은 Table 1과 같다.

2.3. 마우스의 병리학적 관찰

병리학이란 병의 원인, 발생, 결과 및 변화 등에 관한 학문으로써 본 논문에서는 HBr의 표준가스에 노출된 실험용 마우스에 장기 손상 여부 및 정도의 파악을 목적으로 표적 장기를 적출하여 병리학적 관찰을 진행하였다. Fig. 1. 은 실험

용 마우스를 해부하여 관찰한 주요 장기의 사진이다.

Table 1. Limit of HBr

Standard	Limit value
LC ₅₀ (4hour LC ₅₀)	1430ppm
OSHA	2267.995kg
FTP Code	600ppm
NES 713	150ppm
BS 6853 Annex B2	20g/m ²
ISO 13344 (30min LC ₅₀)	3800ppm

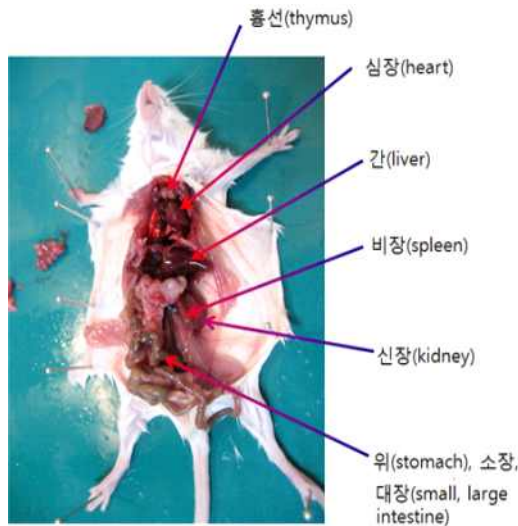


Fig. 1. Dissection of mouse.

모든 동물을 부검하여 1차 육안 관찰을 하였으며, 폐, 신장, 간, 심장, 비장 등의 장기를 적출하여 각각의 중량을 측정한 후, 10% 중성 포르말린 용액에 고정 보관하고 장기조직 중 폐는 병리조직학적 검사를 하였다. 해부된 조직을 고정시킨 후 검체 제작은 조직에 대하여 일정한 두께로 삭정한 다음, 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매하고 2~3 μ m 두께로 박절하여 조직 절편을 제작한 후, H&E(Hematoxylin & Eosin) 염색을 실시하였다. 완성된 조직 검체는 광학현미경(Olympus BX50, Olympus Optical)으로 관

찰하였으며, 관찰한 조직에 대하여는 광학현미경에 부착된 디지털 카메라(Olympus DP70, Olympus Optical)를 이용해 사진 촬영하였다.

2.4. 혈액 검사

실험동물에 대해 시험물질 노출 종료 하루 전 절식 시켰으며, 부검 전 실험동물을 CO₂ 질식시켜 개복하고 복대동맥으로부터 채혈하였다. 혈액 검체는 혈액 응고방지제로 EDTA-2K가 들어있는 CBC 채혈병에 채집하였으며, 자동혈구 계수기(Sysmex F-820)를 이용 백혈구수 (white blood cell or leukocyte count, WBC), 적혈구수 (red blood cell or erythrocyte count, RBC), 혈색소 농도 (hemoglobin concentration, HGB), 적혈구용적 (hematocrit, HCT), 평균 적혈구 용적 (mean corpuscular volume, MCV), 평균 혈색소량 (mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균 혈색소농도 (mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC), 혈소판수 (platelet or thrombocyte count), 적혈구 분포대 (RBC distribution width, RDW), 혈소판 분포대 (platelet distribution width, PDW), 평균 혈소판 용적 (mean platelet volume, MPV) 등의 항목에 관하여 측정하였다.

2.5. 혈액 생화학 검사

혈액학적 검사를 실시한 동물에 대하여 혈액 생화학적 검사를 실시하였다. 복대동맥으로부터 채혈된 혈액을 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 혈청을 혈액생화학분석기 (TBA20-FR)를 이용 TP (total protein), Albumin, TBIL (total bilirubin), GLU (glucose), BUN (blood urea nitrogen), CRTN (creatinine), GOT (glutamic oxalacetic trans- aminase), GPT (glutamic pyruvic trans- aminase), ALP (alkaline phosphatase), LDH (lactate dehydrogenase), TCHO (total cholesterol), Phosphorus등의 항목을 측정하였다.

2.6. Comet Assay를 통한 DNA 손상분석

최근 산업장에서 사용되어지는 유해물질에 대한 유전독성 연구는 활발히 이뤄지는 분야 중의 하나로 동물이나 박테리아에 유해물질을 투여하여 그 독성을 검사하는 소핵검사나 Ames test가 있으며, 사람을 대상으로 한 방법은 염색체 이상, 자매염색체 교환, Ames test 등이 있다. 그

러나 이러한 방법들은 실험이 복잡하거나(염색체 이상), 슬라이드에서 판독할 때 개인적인 차이가 많이 나타나거나(자매염색체교환), 사람에게는 적용하기 힘들거나(소핵), 변이원성의 선별 검사 수준(Ames test)이라는 한계들을 가지고 있다. 그 이후 개발된 단세포 전기영동법(single cell gel electrophoresis)은 DNA 손상을 정량화할 수 있는 비교적 간편한 방법이며 유전독성 연구에 많이 적용되고 있다(류재천 등, 1997). 이 방법은 Fig. 2에서와 같이 분석결과 나타나는 모양이 혜성의 모습과 같아 Comet assay 라고도 부르며, Microgel Electrophoresis assay 라고도 부른다.

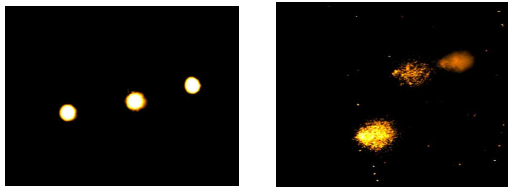


Fig. 2. Comet assay for the lymphocyte in acute inhalation of gases.

측정방법으로는 동물로부터 1ml의 채혈 후 즉시 림프구를 분리하여 단세포전기영동시험에 사용하였다. 혈액 0.5ml을 15ml의 코니칼 튜브에 옮긴 후, 동량의 PBS 버퍼액으로 희석한 후, 이를 2ml의 Ficoll-Paque를 이용하여 림프구를 분리하고, PBS 버퍼액으로 세정 후 약 $2 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 개가 되도록 희석 또는 농축하였다. 슬라이드에 NMP 아가로스 $50 \mu\text{l}$ 를 도포·말린 후, NMP 아가로스 $100 \mu\text{l}$ 를 도포·건조시킨다. 그리고 림프구 $50 \mu\text{l}$ 와 1% LMP 아가로스 $50 \mu\text{l}$ 을 섞어 도포하여 건조하고, 0.5% LMP 아가로스를 도포하고 말린다. pH 10인 용해완충액에 넣어 1시간 30분 동안 담갔다가 꺼내서 pH 13의 풀림완충액에 20분간 담근다. 슬라이드를 25V, 300mA로 20분간 전기영동 후 중성 버퍼액에 세번 세척한다. 슬라이드는 각 샘플에 대하여 두 개씩 작성하였으며, 에티디움 브로마이드로 형광 염색하여 515-560nm의 필터와 590nm 필터를 이용하여 형광현미경 하에서 이미지 분석 프로그램(Komet 4.0)을 이용하여 슬라이드 당 50개의 세포로부터 Tail DAN, Tail Extent Moment, Olive tail moment 값을 측정하였다.

이중 Olive 등에 의해 제안된 Olive tail

moment는 Komet program이 제공하는 tail parameter 중에서 일반적으로 가장 많이 사용하는 값이다.

3. 결과 및 고찰

시험은 HBr 표준 가스를 사용하여 진행하였으며 가스의 농도는 12.2ppm, 56.8ppm, 105ppm, 200ppm, 601ppm을 대상으로 진행하였다. 마우스의 해부를 통하여 병리학적 관찰을 하였고, 혈액을 통하여 혈액검사, 혈액생화학검사, Comet assay를 수행하였다.

3.1. 가스유해성 시험 결과

가스유해성 시험 결과는 Table 2와 같다. Air balance로 제조된 HBr의 표준가스 농도 12.2ppm, 56.8ppm, 105ppm, 200ppm, 601ppm의 표준행동정지시간은 각각 14분 53초 15분, 14분 58초, 14분 53초, 15분으로 나타났다. 모든 HBr 가스가 기준 시간인 9분을 넘어 위험하지 않은 것으로 나타났다. 하지만 특이사항으로 105ppm 이상에서의 농도에서 mouse의 흥분상태를 관찰하였다. 그러나 가스유해성 시험은 각 농도에 따른 단순한 행동정지시간을 측정하며 세포 단위의 장기 손상을 관찰할 수 없는 한계를 가진다.

Table 2. Result of HBr Gas Test

Conc. (ppm)	Average deed stopping time (min, s)	Remark
12.2	14, 59	
56.8	15, 00	
105	14, 58	Central excitatory state
200	14, 53	Central excitatory state
601	15, 00	Central excitatory state

3.2. 마우스의 병리학적 관찰 결과

HBr 가스에 노출된 실험군은 601ppm의 고농도의 경우를 대상으로 병리학적 관찰을 수행하였다.

병리학적 관찰 결과는 Fig. 3과 같다. 실험용

마우스의 장기는 총 6개 기관(심장(Heart), 간(Liver), 폐(Lung), 비장(Spleen), 신장(Kidney), 흉선(Thymus))을 선정하여 관찰하였다. 관찰 결과 모든 장기에서 증혈 및 울혈, 세포괴사 거대세포 등의 이상형상이 발생한 것으로 나타났다.

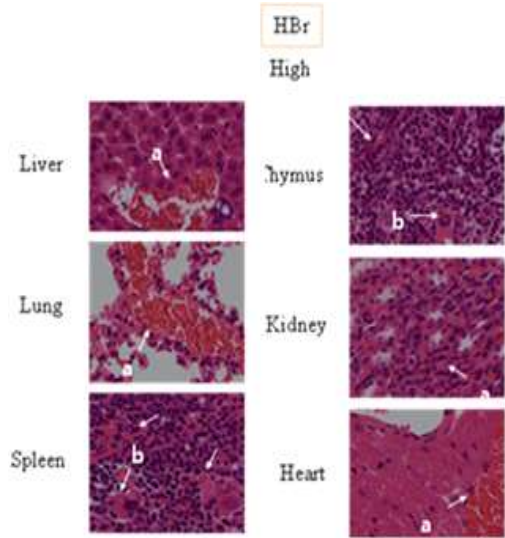


Fig. 3. Histopathological findings for the tissue in acute inhalation of high dose gases.

3.3. 혈액 검사 결과

HBr의 혈액 검사 결과는 Table 3과 같다. Reference range는 실험용 마우스의 정상치 범위이며 이를 기준으로 정상 여부를 판단하였다.

검사 결과 WBC(백혈구)는 기준값에 근접한 수치를 보였으나, 12.2ppm의 농도에서만 정상범위내에서 가장 높은 수치로 측정되었다.

또한 Hematocrit와 MCHC의 수치가 정상범주를 벗어나는 값을 나타내는 것으로 측정되었다. 하지만 농도의 변화에 따른 경향성이 발견되지는 않았다. 이를 통하여 미량의 HBr에도 Hematocrit와 MCHC가 영향을 받아 정상범주보다 높아지나 농도에 의한 변화는 크지 않은 것으로 분석되었다.

Table 3. Hematological Values of Female Mice Exposed to HBr Gas

Parameters	Reference range	HBr concentration (mg/m ³)				
		12.2	56.8	105	200	601
WBC (10 ⁹ /L)	1.8-10.7	4.15 ± 1.25	1.46 ± 1.25	1.58 ± 1.45	2.03 ± 1.32	1.75 ± 1.61
RBC (10 ¹² /L)	6.36-9.42	8.29 ± 0.25	7.31 ± 0.36	7.77 ± 0.45	8.37 ± 0.35	8.11 ± 0.55
Hemoglobin (g/dl)	11.0-15.1	12.7 ± 0.45	11.3 ± 0.45	11.7 ± 0.95	12.5 ± 0.66	12.2 ± 0.75
Hematocrit (%)	35.1-45.4	50.3 ± 1.67	43.4 ± 1.66	46.7 ± 1.35	48.4 ± 1.12	48.7 ± 1.62
MCV (fl)	45.4-60.3	60.7 ± 2.35	59.4 ± 2.12	60.1 ± 2.33	57.8 ± 2.52	60.0 ± 2.38
MCH (pg)	14.1-19.3	15.3 ± 0.54	15.5 ± 0.32	15.0 ± 0.48	15.0 ± 0.58	15.0 ± 0.45
MCHC (g/dl)	30.2-34.2	25.2 ± 1.75	26.0 ± 0.65	25.0 ± 0.54	25.9 ± 1.80	25.0 ± 1.68
Platelet (10 ⁹ /L)	592-2972	1430 ± 35.3	1341 ± 52.5	1368 ± 54.1	1465 ± 62.5	1593 ± 78.3
Segment (%)	6.6-38.9	5.7 ± 1.45	8.6 ± 1.85	8.1 ± 1.25	8.9 ± 1.85	9.8 ± 1.99
Lymphocyte (%)	55.8-91.6	88.2 ± 1.36	88.2 ± 1.25	88.1 ± 2.21	87.1 ± 2.35	88.2 ± 2.36
Monocyte (%)	0.0-7.5	3.6 ± 0.78	3.2 ± 0.65	3.8 ± 0.32	3.4 ± 0.42	2.0 ± 0.38
Eosinophil (%)	0.0-3.9	1.9 ± 1.52	-	-	-	-
Basophil (%)	0.0-2.0	0.6 ± 0.02	-	-	-	-

3.4. 혈액 생화학 검사

HBr의 혈액 생화학 검사 결과는 Table 4와 같다. Reference range는 기존 정상치 범위이며 이를 기준으로 정상 여부를 판단하였다.

Bilirubin, GPT(Glutamic Pyruvic Transaminase), ALP, LDH, Cholesterol, Phosphorus, Triglyceride의 검사 결과 정상범주 이외의 수치가 측정되었으나 농도의 변화에 따른 경향성은 파악되지 않았다. 특히 LDH, GOT, GPT는 간 조직세포의 손상을 나타내는 지표로써 간 조직에 손상이 발생하였음을 확인할 수 있다.

Table 4. Serum Biochemistry in Female Mice Exposed to HBr Gas

Parameters	Reference range	HBr concentration (mg/m ³)				
		12.2	56.8	105	200	601
WBC (10 ⁹ /L)	1.8-10.7	1.20 ± 1.98	4.15 ± 1.25**	1.46 ± 1.25	1.58 ± 1.45	2.03 ± 1.32
RBC (10 ¹² /L)	6.36-9.42	9.04 ± 0.35	8.29 ± 0.25	7.31 ± 0.36	7.77 ± 0.45	8.37 ± 0.35
Hemoglobin (g/dl)	11.0-15.1	14.20 ± 0.45	12.7 ± 0.45	11.3 ± 0.45	11.7 ± 0.95	12.5 ± 0.66
Hematocrit (%)	35.1-45.4	60.1 ± 1.44	50.3 ± 1.67	43.4 ± 1.66	46.7 ± 1.35	48.4 ± 1.12
MCV (fl)	45.4-60.3	63.0 ± 2.54	60.7 ± 2.35	59.4 ± 2.12	60.1 ± 2.33	57.8 ± 2.52
MCH (pg)	14.1-19.3	14.9 ± 0.92	15.3 ± 0.54	15.5 ± 0.32	15.0 ± 0.48	15.0 ± 0.58
MCHC (g/dl)	30.2-34.2	23.6 ± 0.94	25.2 ± 1.75	26.0 ± 0.65	25.0 ± 0.54	25.9 ± 1.80
Platelet (10 ⁹ /L)	592-2972	1264 ± 59.64	1430 ± 35.25	1341 ± 52.45	1368 ± 54.12	1465 ± 62.52
Segment (%)	6.6-38.9	9.6 ± 1.88	5.7 ± 1.45	8.6 ± 1.85	8.1 ± 1.25	8.9 ± 1.85
Lymphocyte (%)	55.8-91.6	81.4 ± 3.03	88.2 ± 1.36	88.2 ± 1.25	88.1 ± 2.21	87.1 ± 2.35
Monocyte (%)	0.0-7.5	5.3 ± 0.78	3.6 ± 0.78	3.2 ± 0.65	3.8 ± 0.32	3.4 ± 0.42
Eosinophil (%)	0.0-3.9	3.1 ± 1.42	1.9 ± 1.52	-	-	-
Basophil (%)	0.0-2.0	0.6 ± 0.02	0.6 ± 0.02	-	-	-

3.5. Comet Assay 결과

이번 연구에서는 혈액 중 lymphocyte의 Comet assay를 진행하였다.

HBr의 Comet Assay 결과는 Table 5 와 Fig. 4 HBr의 경우 Comet Assay 결과는 농도가 높아짐에 따라 DNA손상이 커짐을 보여주는데 반해, 평균행동정지시간결과는 농도가 높아짐에 따른 경향성이 없이 오르내리다 가장 높은 농도인 601ppm에서는 가장 높은 결과를 보였다. 이 결과는 평균행동정지시간을 통해서 판별할 수 없는 독성에 의한 손상을 Comet Assay 분석을

통해 정량화할 수 있음을 보여준다.

Table 5. DNA Damage in Mice Blood After Exposed of HBr Gas

가스종	농도 (mg/m ³)	Olive tail moment	
		mean	SD
HBr	12.2	2.296	0.878
	56.8	3.500	1.629
	105	3.658	0.946
	200	5.703	2.534
	601	6.290	1.835

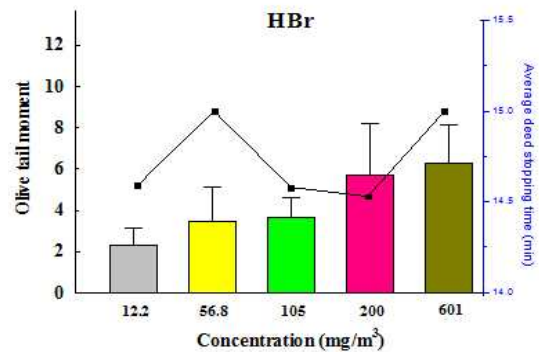


Fig. 4. Cross-analysis of HBr experimental results.

4. 결론

본 논문에서는 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 가스유해성 시험 결과 12.2ppm, 56.8ppm, 105ppm, 200ppm, 601ppm에서 기준 시간인 9분을 넘어 적합한 것으로 (위험하지 않은 것으로) 나타났다.
2. 병리학적 관찰 결과 HBr 실험군의 경우 6개 기관 (심장(Heart), 간(Liver), 폐(Lung), 비장(Spleen), 신장(Kidney), 흉선(Thymus))에서 세포 변화 및 이상 조건이 나타났다.
3. 혈액 검사와 혈액 생화학검사 결과 GPT(Glutamic Pyruvic Trans-aminase), ALP, LDH 등의 지표에서 정상범주 이외의 수치가 측정되어 이상이 발생하였음을 확인

할 수 있었다.

4. Comet Assay 결과는 가스유해성시험 결과와 다르게 농도가 높아짐에 따라 DNA 손상이 커지는 것을 확인할 수 있었다.
5. 가스유해성 시험에서는 모든 농도에서 판정기준인 9분 이상의 결과로 HBr의 모든 농도에서 적합한 것으로 판정되었지만, 병리학적 관찰과 혈액검사, 혈액생화학검사, Comet Assay의 분석결과 세포 조직 및 장기에 손상으로 농도에 따른 DNA의 단계별 손상을 관찰하였다. 이는 가스유해성 시험만으로는 화재 발생 시 유해 가스 흡입이 초래한 장기 손상 정도 및 DNA손상 정도의 측정이 불가능함을 보여주며, 본 연구를 통해 화재에서 발생될 수 있는 HBr가스의 생물학적 위험도에 대한 정량적인 평가 데이터를 확보할 수 있었다. 향후 화재 시 발생되는 다른 독성가스에 대한 연구도 필요할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. BS 6853:1999 Code of Practice for Fire Precautions in the Design and Construction of Passenger Carrying Trains.
2. NES 713, Determination of the Toxicity Index of the Products of Combustion From Small Specimens of Materials. Issue **03**, (1985).
3. ISO 13344 : 2004 “Estimation of the Lethal Toxic Potency of Fire Effluents”.
4. FTP Code, International Code for Appoication of Fire Test Procedures, *Res.MSC* 61(67).
5. Nam-Wook Cho, “A Comparative Study on Toxic Gas Index and Stop Time of Mouse Activity”, *Korea Institute of Fire Science & Engineering*, **25**, 4 (2011).
6. Sung-su Kim, “A Research for Assessment Fire Toxic Gas of Construction Material Using FT-IR and FED” *Korea Institute of Fire Science & Engineering*, **25**, 6 (2011).

7. Nam-Wook Cho, A Study on Toxicity Bio-markers of a Mouse using Combustion Gas SO2 Generated from Fire, *Korea Safety Mangement & Science*, **14(1)**, 43(2012).
8. F. Lestari, A.R. Green, G. Chattopadhyay, A.J. Hayes “An Alternative Method for Fire Smoke Toxicity Assessment using Human Lung Cells” *Fire Safety Journal* **41**, 605 (2006).
9. F. Lestari, A.J. Hayes, A.R. Green, G. Chattopadhyay “An Alternative Method for in Vitro Fire Smoke Toxicity Assessment of Polymers and Composites using Human Lung Cells” *Fire and Materials*. **35**, 411 (2011).
10. Luis A. Ferrari, Miriam G. Arado, Leda Giannuzzi, Guido Mastrantonio, Manuel A. Guatelli, Hydrogen Cyanide and Carbon Monoxide in Blood of Convicted Dead, *Forensic Science Intemational* **121**, 140 (2001).
11. K.T. Paul, T.R. Hull, K. Lebek, A.A. Stec, Fire Smoke Toxicity The Effect of Nitrogen Oxides, *Fire Safety Journal* **43**, 243 (2008).
12. KS F 2271 : 2006 “Test Method of Built-in Materials and Structure of Flame-retardant Of Buildings”.
13. Ministry of Land, Transport and Maritime Affairs (2011). “Gosi 2011-39. Flame-retardant Standard of Finish Materials of Building”.
14. Korea Occupational Safety Agency : MSDS.
15. Risk Phrases “Directive 67/548/EEC”.