한국산업위생학회지 제11권 제1호(2001년 5월)
J Korean Soc Occup Environ Hyg 2001;11(1):26-33

수용성 6가크롬을 흡입 노출 시킨 랫드의 체액과 적혈구중 크롬간의 관련성 연구

김광종† · 김현영[1] · 윤수종 · 이은일

고려대학교 의과대학 예방의학교실 및 환경의학연구소, 한국산업안전공단 산업안전보건연구원 산업화학물질센터[1]

Relationship between Chromium Concentration in Male Rats Fluids and Erythrocytes after Inhalation Exposure of Soluble Hexavalent Chromium Compound

Kwang-Jong Kim · Hyun-Young Kim[1] · Soo-Jong Yoon · Eun-Il Lee

Dept. of Preventive Medicine and Institute for Occupational and Environmetal Heath, College of Medicine, Korea University, Industrial Chemicals Research Center, Industrial Sofety and Health Research Institute, KOSHA, Taejon1

The goal of this study was to evaluate the relationship between ambient hexavalent chromium concentration and the concentration of the chromium in whole blood, plasma, erythrocytes, and its urinary excretion of male rats after inhalation exposure of sodium chromate during 1, 2, and 3 weeks.

1. Differences of mean chromium concentration in urine, whole blood, erythorocytes, and plasma of male rats exposed to sodium chromate by exposure level were statistically significance, respectively.

2. At low and high exposure groups, differences of mean chromium concentration in urine, whole blood, erythrocytes, and plasma of male rats by duration of inhalation exposure were statistically significance, respectively.

3. Ratio of whole blood chromium to plasma chromium increased with the increased duration of inhalation exposure of sodium chromate.

4. Ambient hexavalent chromium was positively and strongly correlated with in erythrocyte chromium, and also erythrocyte chromium was strongly correlated with in whole blood chromium.

In conclusion, this study showed that chromium in erythrocyte increased with the increased exposure level and exposure duration, therefore this study suggests that chromium in erythrocytes is a good biological exposure index of the internal dose from exposure to soluble hexavalent chromium compound.

Key Words : Hexavalent chromium, Inhalation exposure, Erythrocytes, Internal dose

I. 서 론

6가크롬 화합물은 산업현장에서 크롬도금작업, 크롬산염제조, 특수강철용접, 크롬안료제조, 그리고 크롬이 함유된 분무 페인트 작업등에서 다양하게 사용되고 있는 물질이다(Ladou, 1997).

직업적으로 취급하는 크롬화합물의 종류는 주로 금속크롬, 3가크롬 및 6가크롬 화합물 등이며 이중 수용성 6가크롬화합물은 인체 내에서 쉽게 흡수되어 여러 독성 작용을 유발시키는 것으로 알려져 있다. 즉 직업적으로 6가크롬에 노출된 근로자에서 피부궤양, 알러지성 피부염, 비중격 천공등이 발생되며 만성적인 노출시에는 폐암을 유발시키며(WHO, 1988;

접수일 : 2001년 4월 7일, 채택일 : 2001년 4월 26일
† 교신처자 : 김광종(서울 성북구 안암동 5가 126-1, 고려대학교 의과대학 예방의학교실
Tel : 02-920-6169, E-mail : KKJO@korea.ac.kr)

Langard 등, 1990), 최근에는 유전독성과 생식독성을 유발시키는 물질로 보고되고 있다(IARC, 1990; Von Burg 와 Liu, 1993).

우리나라 노동부(1998)는 공기중 수용성 6가크롬의 노출기준을 0.05 ㎎/㎥로 정하였고 미국 국립산업안전보건연구원(National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH, 1994)에서는 0.001 ㎎/㎥를 노출기준으로 제시하였고 "인체에서 암을 유발시키는 물질"인 "A_1"으로 분류하고 있다. 따라서 직업적으로 6가크롬에 노출된 근로자의 건강보호를 위해서는 각별한 예방관리 대책이 필요하다.

크롬에 노출된 근로자의 체내에 흡수된 크롬량은 크롬화합물의 체내 침입경로, 공기중농도, 크롬의 원자가, 체내에서의 용해성 정도, 입자의 크기 등에 의하여 영향을 받는다.

인체에서 크롬 노출로 인한 관련된 위험성의 주요 침입경로는 호흡기로 흡입되는 것이며 체내에 흡입된 크롬의 산화상태가 혈액 내에서 크롬의 이동상태를 결정하는 요인이다. 크롬화합물의 생물학적 노출 평가에 이용되어 왔던 요중 및 혈액중 크롬은 크롬의 체내 부하에 대한 유해성 평가보다는 3가크롬 및 6가크롬 노출의 구별없이 최근의 총 크롬의 노출량을 반영하며 직업적으로 6가크롬에 노출된 근로자의 생물학적 노출을 평가하는데 부적합하다는 것이 지적되고 있다(Lukanova 등, 1996; Harzdorf와 Lewalter, 1997; Mikshe와 Lewalter, 1997).

수용성 6가크롬화합물을 실험동물의 호흡기관 내에 투여한 결과에서 체내의 혈액순환계통에 들어온 6가크롬은 적혈구의 세포막을 빠르게 통과하며 세포 내에서 세포 구성물과 결합되어 환원되어지며 이들 결합물질은 가역적으로 세포 밖으로 이동할 수 없기 때문에 적혈구와 함께 존재하게된다. 따라서 적혈구에서 6가크롬 노출로 인한 체내 부하량 평가가 제시되고 있으며(Wiegand, 1985; Alexander와 Aaseth, 1995), 요중 및 혈액 중 크롬보다 긴 노출기간의 체내 흡수량의 반영을 제시 하고있다(Mikshe와 Lewalter, 1997).

미국산업위생전문가협의회(ACGIH, 2001)에서는 수용성 6가크롬 노출로 인한 생물학적 노출지표(Biological Exposure Indices, BEI)로서 요중 크롬농도만을 제시하고 있다. 또한 외국의 경우 실험동물을 이용하여 6가크롬 노출로 의한 생물학적 노출 지표의 개발의 연구에 있어서 대부분이 침입경로를 피하조직이나 기관지 내로 투여방법을 이용하고 있으나 이들 투여 방법보다는 작업현장에서 흡입 노출이 크롬 노출 보다 적절한 방법이라 생각된다.

이에 본 연구의 목적은 수용성 6가크롬을 수컷랫드에 흡입노출 시킨후 공기중 6가크롬 및 호흡성 크롬과 전혈중, 적혈구중, 혈장중 그리고 요중 크롬 농도간의 상호 관계를 규명하고 6가크롬 노출의 체내 부하량의 생물학적 노출지표로서의 적혈구중 크롬의 유용성을 평가 하고자 하였다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 시험물질 및 실험동물

시험물질인 수용성 6가크롬인 크롬산나트륨($Na_2CrO_4 \cdot 4H_2O$, 순도 98%이상)은 일본 순전화학(주)에서 구입한 시약용 1급(Lot No. A013438501)을 사용하였고, 대조물질은 Hepa filter를 통과시켜 정화된 청정 공기를 사용하였다.

실험동물은 수컷 랫드 10주령의 특정병원체 부재동물(Specific Pathogen Free, SPF)인 Sprague-Dawley(SD) rats를 대한동물실험센터에서 분양 받아 barrier system의 동물실에서 1주간 순화시킨 후 건강하고 발육 양호한 동물을 사용하였다. 실험동물은 크롬산나트륨 흡입노출 실험에 대조군, 6가크롬의 저농도군, 고농도군으로 구분하여 각 군별 15마리씩 총 45마리를 사용하였다.

2. 실험동물의 사육환경

동물실에서 순화시킨 후 체중을 지표로 하여 대상군 별 체중 편차가 최소화 되도록 실험군을 분리하였고 1단계의 대조군, 2단계의 저농도군, 3단계의 고농도군으로 분리한 후 3대의 흡입챔버(inhalation chamber)내 5연식 금망 케이지를 사용하여 대상군별로 수용하고 정화된 청정공기를 이용, 온도 22±2℃, 상대습도 35-60%, 환기회수 11-12/시간, 압력 -9~-11 mmAq (음압), 조명 150 - 300 Lux로 12시간 (오전 9시-오후9시) 실험하였고 사료는 실험동물용 멸균사료(제일제당 주식회사)를 사용하였고, 음용수는 멸균 정제수를 자동급수로 하여 자유로이 섭취토록 하였다.

단, 사료공급의 경우 시험물질 노출시간에는 공급하지 않았으며 시험물질 노출 종료 후 사료를 공급하여 자유로이 섭취토록 하였다.

3. 실험방법

1) 시험물질의 노출방법 및 공기중 6가크롬농도

내부용적 1㎥의 흡입챔버 (Model No. SIS-20RG, SIBATA Co, LTD Japan)와 미스트 발생장치 등을 이용하여 전신노출 시켰다.

시험군별 크롬의 목표농도 설정은 Cohen 등(1998)의 실험방법에 근거하여 랫드에서 매일 크롬 축적이 인간에서 6가크롬의 노출기준인 0.05 ㎎/㎥ 수준에서 매일 축적된 것과 유사한 수치로 계산된 0.36 ㎎/㎥를 기준으로 저농도 노출군의 목표농도는 이 노출기준의 1/2배인 0.18㎎/㎥, 고농도 노출군은 이 노출기준의 2배인 0.72㎎/㎥로 설정하였다.

시험물질의 흡입노출방법은 mist generator(Model No. VG-4R, SIBATA Co., LTA, Japan)를 이용하여 크롬산나트륨을 증류수에 용해시켜서 분사시킨 후 청정공기와 일정농도로 혼합하여 흡입 챔버내로 공급하였으며 실험동물에 전신노출 시켰다. 노출시간은 1일 6시간, 주 5일 동안이었고, 노출기간은 1주, 2주, 3주간 동안 구분하여 흡입노출 시켰다.

시험물질을 흡입노출 시키는 동안 각 대상군별 흡입 챔버내의 환경조건인 온도, 습도, 압력, 환기량은 챔버내 부착된

센서와 환경제어장치(Model No. ICS-20RG, SIBATA Co. LTD, Japan)를 이용 30분에 1회 측정하고 이를 자동 기록되게 하였다.

시험물질의 공기중 6가크롬 측정은 PVC filter(pore size 5.0㎛, 37mm)를 개인 시료채취기(Gilian, USA)에 부착하여 흡입챔버내의 랫드의 호흡기 위치에서 평균 유속 1.5 ℓ/min으로 4시간 동안 공기중 시료를 채취하였다.

호흡성 6가크롬 농도 측정은 marple personal cascade impactor(Model 296, Anderson Sampler, Inc., U.S.A)에 여과지인 mylar substrate(Anderson Stock #C-290-MY, Anderson Sampler, Inc., U.S.A)를 이용하여 평균유속 1.5 ℓ/min으로 챔버 내의 랫드의 호흡기 위치에서 4시간 동안 공기중 시료를 채취하였다.

크롬입자의 크기 분포는 대수확률 그래프(log-probability graph)에 표시하여 질량중위직경(mass median diameter, MMD)와 기하표준편차(geometric standard deviation)를 구했다. 즉 크롬입자의 평균직경은 누적 농도비 50%에 해당되는 크기로 하였고 크롬입자 직경의 기하표준편차는 평균직경을 누적 농도비 15.9%에 해당되는 크기로 나누어서 구하였다. 크롬입자의 크기별 농도는 총6가크롬 농도와 호흡성농도로 구분하여 환산하였다. 호흡성 농도는 Hinds(1986)가 구한 방법을 이용하였다. 그 관계식으로부터 Appendix의 컬럼(1)의 각 단계별 하한(lower), 중위(mid), 상한(upper)크기별 유효한계직경에 따른 포집효율을 컬럼 (2)와 같이 구한 다음 컬럼 (3)의 크롬입자의 평균 호흡성농도를 아래의 Simpson's rule에 의해 산출하였다.(Appendix1).

$$RF = \frac{(RFll + 4RF_{mp} + RF_{ul})}{6}$$

위의 식에서 RF는 시료채취기 각 단계별로 호흡성(RF=respirable fraction) 크기의 포집효율을 말하는 것이며, ll은 각 단계에서 채취될 수 있는 크롬입자의 유효한계직경 중 하한 크기한계(lower limit, ll)이고 ul은 상한 크기한계(upper limit, ul)이며 mp는 하한과 상한 크기한계의 중간이다.

PVC여과지와 mylar substrate에 채취된 여과지에서 6가크롬 농도의 분석은 Wang 등 (1997, 1999)이 새로 개발한 분석방법인 ultrasonication and strong anion exchange solid phase extraction method에 의하여 실시하였다.

즉, 공기중에서 채취된 시료를 15㎖ 플라스틱 원심분리관에 옮겨서 10㎖ 0.05M$(NH_4)_2$ SO_4/0.05M NH_4OH(pH8) 완충용액 10㎖를 첨가한 후 실온(<40℃)에서 30분동안 초음파세척기에서 분해시켰다. 초음파 분해 후 상등액의 3㎖를 strong anion-exchange 카트리지에 넣었다. 3㎖증류수로 세척한 후 6가크롬은 유속 2㎖/min에서 0.5M $(NH_4)2SO4$/0.1M NH_4OH (pH8) 완충용액 3㎖씩 3회 첨가한 9㎖에서 용리시켰다. 분리시킨 후 용출액을 37% HCl용액 100㎕를 첨가하여 산성화시켰다. 여기에 20mM diphenylcarbazide 2㎖를 첨가한 후 형성된 6가크롬 복합체를 540nm에서 uv-visible spectrophotometer (Ceil 3000, England)로 측정하였다.

2) 전혈, 적혈구 및 혈장중 크롬농도 측정

수컷 랫드에서 채혈한 전혈 3㎖는 10㎖ vaccutainer tube (헤파린처리된 튜브)에 옮겨서 전혈중 크롬농도 측정에 이용하였고, 나머지 전혈 2.5㎖를 5㎖ 원심분리관에 1㎖ saline 용액으로 희석하고 조심스럽게 혼합시키고 1,200 rpm에서 5분동안 원심분리 시켰다. 원심분리 후 상등액 2㎖는 다른 원심분리관에 옮겨서 혈장중 크롬농도 측정에 이용하였다. 다시 적혈구를 2.5㎖ saline 용액으로 혼합하여 완전히 세척하고 이어서 상기한 방법으로 원심분리시킨 후 상등액을 제거하였다. 동일한 과정을 5회 실시한 후 상등액을 버리고 2.5㎖의 증류수를 첨가 한 후 적혈구중 크롬측정 시료로 사용하였다. 적혈구중 크롬농도 측정은 1.25% $(NH_4)_2HPO_4$와 1% Triton X-100으로 조제한 희석액 600㎕와 1%HNO_3 200㎕를 취하여 여기에 적혈구 시료 200㎕를 혼합한 후 바탕보정장치와 자동시료 주입장치가 부착된 흑연로 원자흡수분광 광도계(GF-AAS, SIMAA 6000, German)로 분석하였다.

GF-AAS는 건조 3단계 [1단계 : 50~80℃ (40초), 2단계 : 80~120℃ (10초), 3단계 : 120~400℃ (30초)], 회화 3단계 [1단계 : 400~600℃ (40초), 2단계 : 600℃(10초), 3단계: 700℃(5초)], 원자화단계 2,900℃ (5초)로 온도 프로그램을 설정하였으며 분석파장은 357.9nm로 분석하였다.

표준용액 조제는 Cr 1000rpm 원액을 1% HNO_3로 희석하여 0.5, 1.0, 1.5㎍/dℓ 표준 용액을 만들었다.

전혈 및 혈장중 크롬농도 측정은 상기한 방법과 동일하게 실시하였다.

3. 요중 크롬농도

요 시료는 흡입노출 종료 후 약 15㎖를 채취하여 이중 4㎖를 취하여 농질산 2㎖을 주입한 후 microwave oven에서 유기물질을 완전히 분해시켰다. 산처리된 시료 0.2㎖를 10% 질산 200㎕와 1% Triton X-100 600㎕에 잘 혼합한 후 적혈구중의 분석방법과 동일한 기기와 온도 프로그램 조건, 파장으로 분석하였다.

표준용액 조제는 Cr 1000ppm 원액을 1% HNO_3로 희석하여 4, 8, 16, 24㎍/ ℓ 표준용액을 만들었다. 요중크롬 농도는 요중 크레아틴으로 보정하여 ㎍/g creatinine으로 표시하였다.

요중크레아틴은 요시료를 원심분리 시킨 후 상등액을 생화학분석기 (Olympus AU 400, Japan)를 이용하여 Jaffe method로 분석하였다.

4. 자료처리 방법

모든 자료에 관한 통계분석은 SPSS 윈도우용 버전 10.0 프로그램을 이용하였다. 각 측정자료에 대한 정규 분포성을 검정한 결과 대수 정규 분포성을 보인 경우에는 기하평균, 기하표준 편차로 표시하였다. 실험 대상군의 측정치에 대한 평균치간의 차이에 대한 유의성 검정은 t-test, ANOVA검정을 이용하여 비교하였다. 또한 전혈중 크롬, 적혈구중 크롬 등의 생물학적 노출지표들의 변수등과 공기중 6가크롬농도, 호흡성 크롬농도간의 관련성은 상관계수를 산출하였다.

Ⅲ. 실험결과

1. 흡입챔버내 공기중 6가크롬농도

흡입 챔버내 공기중 6가크롬농도를 측정한 결과는 Table 1, 2와 같다.

크롬산나트륨을 흡입 노출시킨 흡입챔버내 저농도 노출군의 공기중 6가크롬농도의 기하평균은 0.166 ㎎/㎥이었고 노출기간별 공기중 6가크롬농도의 평균치간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 고농도 노출군의 공기중 6가크롬농도의 기하평균은 0.794 ㎎/㎥이었으며 노출기간별 평균치간에는 역시 유의한 차이가 없었다.

Marple personal cascade impactor를 이용하여 측정한 공기중 호흡성 6가크롬농도는 저농도군에서 기하평균 0.166㎎/㎥, 고농도에서는 기하평균 0.794㎎이었으며 저농도군과 고농도군에서 총 6가크롬농도에 대한 호흡성 6가크롬농도의 백분율은 각각 93.3, 89.1%로 나타났다. 또한 흡입챔버내 크롬산나트륨의 공기중 크롬입자의 질량중위직경(mass median diameter)은 2.26㎛으로 나타났다.

Table 1. Airborne hexavalent chromium concentration in inhalation chamber exposed to sodium chromate

Exposure duration (week)	No. of sample	Sodium chromate(㎎/㎥)			
		Low exposure		High exposure	
		GM(GSD)	Median	GM	Median
1	5	0.151(1.15)	0.147	0.813(1.32)	0.855
2	5	0.148(1.35)	0.154	0.776(1.32)	0.741
3	5	0.155(1.26)	0.147	0.794(1.32)	0.897
Total	15	0.166(1.20)	0.177	0.794(1.29)	0.855
p-value*		0.452	-	0.959	

GM(GSD) : Geometric Mean(Gometric Standard Deviation)
* : ANOVA test

Table 2. Comparative with mean concentration of airborne total hexavalent chromium and respirable chromium concentration

Exposure Level	(1) Total hexavalent(㎎/㎥)		(2) Respirable(㎎/㎥)		(2)/(1)
	GM	GSD	GM	GSD	(%)
Sodium chromate					
Low exposure	0.178	1.18	0.166	1.18	93.3
High exposure	0.891	1.02	0.794	1.02	89.1
p-value*	0.000		0.000		

Note : Mass median diameter(MMD) was 2.26㎛ and GSD was 2.14.
GM(GSD) : Geometric Mean(Geometric Standard Deviation)

2. 6가크롬의 노출수준별 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중크롬농도 비교

수컷 랫드에 크롬산나트륨을 흡입노출시킨 후 노출수준별 요중, 전혈, 적혈구, 그리고 혈장중 크롬농도를 비교한 결과는 Table 3과 같다. 크롬산나트륨을 흡입 노출시킨 랫드의 요중 크롬농도의 기하평균은 대조군, 저농도군, 고농도군에서 각각 34.95(1.95), 122.92(1.82), 710.39(1.45)㎍/gcreati- nine이었고 대조군보다 각각 3.5, 20.3배 높게 나타났으며 세 군간의 요중 크롬농도의 평균치는 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

전혈중 크롬농도의 기하평균은 대조군, 저농도군, 고농도군에서 각각 0.34(1.70), 23.81(1.35), 229.13(1.26)㎍/ℓ이었고 세 대상군간의 전혈중 크롬농도의 평균치간에는 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

적혈구중크롬농도의 기하평균은 대조군, 저농도군, 고농도군에서 각각 0.51(1.26), 36.19(1.45), 368.98(1.26) ㎍/ℓ이었고 세 군간의 적혈구중 크롬농도의 평균치간에는 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

혈장중 크롬농도의 기하평균은 대조군, 저농도군, 고농도군에서 각각 0.02(1.55), 8.29(1.26), 64.19(1.20) ㎍/ℓ이었고 세 군간의 혈장 중 크롬농도의 평균치간에는 역시 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

Table 3. Mean chromium concentration in urine, whole blood, erythrocytes, plasma, of male rats exposed to sodium chromate by chromium exposure group

GM(GSD)

Sample	Exposure group			P-value*
	Control (n=15)	Low exposure (n=15)	High exposure (n=15)	
Urine(㎍/g creatinine)	34.95(1.95)	122.92(1.82)	710.39(1.45)	0.000
Whole blood(㎍/l)	0.34(1.70)	23.81(1.35)	229.13(1.26)	0.000
Erythrocytes(㎍/l)	0.51(1.26)	36.19(1.45)	368.98(1.26)	0.000
Plasma(㎍/l)	0.02(1.55)	8.29(1.29)	64.19(1.20)	0.000

GM(GSD) : Geometric Mean(Geometric Standard Deviation)
*ANOVA test

3. 6가크롬 흡입노출기간별 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중 크롬농도비교

크롬산나트륨을 저농도로 1, 2, 3주간 흡입노출시킨 후 노출기간별 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중 크롬농도의 평균치를 비교한 결과는 Table 4와 같다. 즉, 크롬산나트륨을 저농도로 흡입노출시킨 1, 2, 3주 후에 요중 크롬농도의 기하평균은 1주일군에서 58.25㎍/g creatinine이었으나 3주군에서는 163.42㎍/g creatinine으로 나타나 노출기간이 증가할수록 요중 크롬농도는 높게 나타났다. 전혈, 적혈구, 혈장중 크롬농도는 6가크롬 노출기간이 길수록 역시 증가하였으며 이들 평균치간에는 통계

Table 4. Mean chromium concentration in urine, whole blood, erythrocytes, plasma of male rats low exposed to sodium chromate by inhalation exposure duration

GM(GSD)

Sample	Exposure duration (week)				P-value*
	before exposure (n=15)	1 (n=5)	2 (n=5)	3 (n=5)	
Urine(μg/g creatinine)	34.95(0.99)	58.25(1.38)	62.30(1.23)	163.42(1.07)	0.000
Whole blood(μg/l)	0.34(1.70)	19.87(1.20)	24.23(1.17)	28.03(1.58)	0.000
Erythrocytes(μg/l)	0.51(1.26)	27.78(1.26)	36.80(1.20)	46.36(1.66)	0.000
Plasma(μg/l)	0.02(1.55)	8.35(1.15)	6.90(1.12)	9.87(1.35)	0.000

GM(GSD) : Geometric Mean(Geometric Standard Deviation)
*ANOVA test

Table 5. Mean chromium concentration in urine, whole blood, erythrocytes, plasma of male rats high exposed to sodium chromate by inhalation exposure duration

GM(GSD)

Sample	Exposure duration (week)				P-value*
	before exposure (n=15)	1 (n=5)	2 (n=5)	3 (n=5)	
Urine(μg/g creatinine)	34.95(2.00)	934.76(1.05)	385.74(1.10)	840.43(1.10)	0.000
Whole blood(μg/l)	0.34(1.70)	175.07(1.10)	255.21(1.12)	269.22(1.17)	0.000
Erythrocytes(μg/l)	0.51(1.26)	273.59(1.15)	419.08(1.10)	437.93(1.15)	0.000
Plasma(μg/l)	0.02(1.55)	66.09(1.15)	62.69(1.26)	63.11(1.26)	0.000

GM(GSD) : Geometric Mean(Geometric Standard Deviation)
*ANOVA test

적으로 유의한 차이가 있었다.

크롬산나트륨을 고농도로 1, 2, 3주간 흡입 노출시킨 후 요중, 전혈, 적혈구, 그리고 혈장중 크롬 농도를 비교한 결과는 Table 5와 같다.

요중 크롬농도는 노출 1주군에서 가장 높은 평균치를 보였으며 2, 3주군에서는 1주군보다 낮은 수치를 보였으며, 전혈중 및 적혈구중 크롬농도는 노출 3주간에서 가장 높은 수치를 보였으며 이들 크롬농도는 크롬 노출기간이 길수록 높은 증가를 보였으며 혈장크롬농도는 노출 1주군에서 가장 높은 평균치를 보였으며 노출 2, 3주군에서는 유사한 평균치를 보였다.

크롬산나트륨을 흡입 노출시킨 후 혈액내에서 6가크롬의 분포 양상을 규명하기 위하여 혈장 크롬농도에 대한 전혈중 크롬농도의 비를 산출한 결과는 Table 6과 같다. 저농도로 1주, 2주, 3주군 흡입노출시킨 후 이들 비는 노출 1주일 후에서 2.39이었으나 2주, 3주군에서는 3.0이상의 높은 비를 보였다. 또한 고농도로 1주, 2주, 3주간 흡입노출 시킨 후 이들비는 1주군에서 2.63이었으나 2주, 3주군에서는 각각 4.13, 4.47로 역시 노출기간이 길수록 점차적인 증가를 보였다.

4. 공기중 6가크롬농도와 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중크롬간의 상관관계

크롬산나트륨을 흡입 노출시킨 후 공기중 6가크롬농도 및 호흡성크롬농도와 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중 크롬농도간의 상관관계를 분석한 결과는 Table 7과 같다.

즉 크롬산나트륨을 노출시킨 대상군에서 공기중 6가크롬 농도와 적혈구중 크롬농도간에는 상관계수 0.946으로 높은 상관 관계를 보였으며 전혈, 혈장, 요중크롬농도와도 상관계수 0.85이상을 보여 높은 상관성을 보였다.

호흡성 크롬농도와 적혈구중 크롬농도간에도 상관계수 0.952를 나타냈으며 혈장, 전혈, 요중 크롬농도와도 상관계수

Table 6. Ratio of whole blood chromium to plasma chromium of male rats low and high exposed to sodium chromate by inhalation exposure duration

Mean±SD

Exposure group	Exposure duration(week)			p-value*
	1 (n=5)	2 (n=5)	3 (n=5)	
Low exposure	2.39(0.26)	3.53(0.35)	3.12(1.47)	0.013
High exposure	2.63(0.33)	4.13(0.74)	4.47(1.68)	0.020

*ANOVA test

Table 7. Correlation coefficient matrix between selected study variables of exposed to sodium chromate

	Log Cr-A	Log Cr-R	Log Cr-U	Log Cr-B	Log Cr-E	Log Cr-P
Log Cr-A	1.000					
Log Cr-R	0.960**	1.000				
Log Cr-U	0.874**	0.916**	1.000			
Log Cr-B	0.942**	0.961**	0.903**	1.000		
Log Cr-E	0.946**	0.952**	0.902**	0.990**	1.000	
Log Cr-P	0.937**	0.981**	0.922**	0.963**	0.963**	1.000

Log Cr-A : Log hexavalent chromium in air(mg/m^3)
Log Cr-R : Log respirable hexavalent chromium in air(mg/m^3)
Log Cr-U : Log Cr in urine(μg/g creatinine)
Log Cr-B : Log Cr in whole blood(μg/l)
Log Cr-E : Log Cr in erythrocyte(μg/l)
Log Cr-P : Log Cr in plasma(μg/l)
** : $P < 0.01$

0.90이상을 보여 높은 상관성을 나타냈다.

적혈구중 크롬농도와 전혈중 크롬농도 간에는 상관계수 0.990으로 가장 높은 상관성을 보였으며 혈장, 요중 크롬농도와는 상관 계수 0.90 이상을 보여 역시 높은 상관성을 나타냈다.

Ⅳ. 고 찰

크롬노출로인한 주요 건강문제는 크롬화합물의 입자성물질이나 미스트 형태인 용해성 크롬화합물이며 크롬화합물의 장기간 노출로 인한 주요 건강 유해성은 폐암과 위장관계통 암의 위험성 증가이다.

크롬화합물에 대한 발암성 평가의 중요한 변수로서 크롬 화합물의 산화상태, 크롬의 용해성, 체내 침입경로 등을 제시하였다(Hansen과 Stern, 1985).

6가크롬화합물은 인간에서 발암성 물질로 알려져 있어 실제 유해성(real risk)평가를 위한 생물학적 노출 모니터링에 관한 연구가 근래에 와서 활발히 진행되고 있다(Gao,1993; Finley등, 1996; Lukanova 등, 1996).

본 연구는 수컷렛드를 이용하여 산업현장에서 공기중 6가크롬 노출의 주요 침입경로인 흡입노출을 적용하여 인간에서 수용성 6가크롬의 노출기준인 0.05 ㎎/㎥ 수준에서 매일 축적된 것과 유사한 수치인 0.36 ㎎/㎥을 실험동물의 노출기준으로 설정하여 (Cohen등, 1998) 이 노출기준의 1/2배를 저농도군, 이 노출기준의 2배를 고농도군으로 정하여 실험하였다. 본 실험에 사용한 크롬산나트륨의 흡입 노출된 입자의 질량 중위직경은 2.26㎛이었으며 저농도군과 고농도군 총 6가크롬농도에 대한 호흡성 6가크롬농도의 백분율은 평균 90.0% 이상을 보였다.

Bragt등(1991)은 6가크롬화합물의 수용성 상태에 따른 요중, 혈액중 크롬농도 분포에 관한 연구에서 크롬산나트륨을 수컷렛드에 흡입노출시켰으며 이물질 입자의 95%가 1.5~4.2㎛ 입자크기이었고 모든 입자는 6㎛ 이하의 직경을 나타냈다고하여 본 결과와 유사한 조건을 나타내고 있다.

본 연구에서 6가크롬의 비노출 대조군, 저농도군, 고농도군으로 구분하여 수컷렛드 의 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중 크롬농도의 평균치를 비교한 결과 각 노출수준에서 이들 평균치는 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈으며 또한 고농도군은 역시 저농도군에 비하여 유의한 차이를 보여 수컷랫드의 체액 및 적혈구에서 크롬농도는 외부 노출량을 반영하는 것으로 생각된다. 또한 6가 크롬의 저농도 및 고농도 노출군에서 노출 1주, 2주, 3주간으로 구분하여 노출기간에 따른 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중 크롬농도의 평균치를 비교한 결과에서 각 평균치들은 노출전 보다 현저한 크롬농도의 증가를 보였 음은 물론 6가크롬의 흡입노출기간이 길수록 점차적으로 증가하여 수컷렛드의 체액 및 적혈구중 크롬농도의 변화는 동일 6가크롬농도 수준에서 노출기간 의존성이 있음을 알 수 있었다.

Bragt등(1991)은 크롬산나트륨을 4일동안 흡입노출 시킨 후 요중 및 전혈중 크롬농도는 각각 노출기간동안 빠른 속도로 증가하였음을 보고하였으며 WHO(1996)에서는 공기중 6가크롬농도가 높을수록 적혈구중 크롬농도는 증가하였음을 제시하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다.

크롬산나트륨을 저농도, 고농도로 1주, 2주, 3주간 흡입노출 시킨후 수컷렛드의 혈액 내에서 크롬농도의 분포 양상을 파악하고자 혈장크롬농도에 대한 전혈중 크롬농도의 비를 산출한 결과에서 1주간 저농도 노출군에서는 2.4이었으나 2주, 3주간 저농도 노출 군에서는 3.0 이상으로 높게 나타났으며 고 농도 노출군에서는 저농도 노출군보다 혈장 크롬농도에 대한 전혈중 크롬농도 비가 4.0이상으로 높게 나타났으며 역시 노출기간 이 높을수록 증가하였다. 적혈구와 혈장내에서 6가크롬과 3가크롬의 분포는 혈장크롬농도에 대한 전혈중크롬농도의 비를 이용하여 평가되며 이 수치는 직업적으로 여러 형태의 크롬 화합물 노출의 편리한 지표로서 사용될 수 있음을 제시하고 있다(Gao등, 1993).

수용성 6가크롬의 공기중 농도 및 호흡성 크롬농도와 적혈구중 크롬농도간의 상관계수는 0.95로 매우 높은 상관성을 보였으며 적혈구크롬농도와 요중, 전혈, 혈장중 크롬농도간에도 상관계수 0.90이상의 높은 상관관계가 있음이 본 결과에서 나타났다. 6가크롬화합물은 폐를 통하여 체내에 침입되며 적혈구의 수명(대략 110일) 동안 적혈구내에 축적되며 6가크롬을 함유한 미스트나 입자상물질의 흡입은 인간에서 주요 직업적 노출경로이기 때문에 RBC중 크롬 함량은 수용성 6가크롬화합물의 체내 부하량을 나타내는 생물학적 지표로서 이용 가능하다.

그러나 요중, 혈액중 크롬농도는 크롬의 원자가 형태와 관계없이 전반적인 크롬 화합물의 최근 체내 흡수량을 나타내고 있어 6가크롬의 발암성, 유전독성, 생식독성등의 독성 영향을 고려해 볼 때 현재 크롬중독 진단을 위한 특수 건강진단 실시 검사 항목중(노동부, 1997) 적혈구중 크롬농도의 검사의 필요성을 제안한다.

Ⅴ. 결 론

크롬산나트륨을 수컷렛드에 저농도, 고농도 로 1주, 2주, 3주간 흡입노출 시킨 후 공기중 6가크롬농도 및 호흡성크롬농도와 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중 크롬농도간의 관련성을 분석하고자 공기중 6가크롬, 호흡성크롬농도, 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중의 크롬농도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 공기중 6가크롬의 노출 수준별 요중, 전혈, 적혈구, 혈장중 크롬농도의 평균치 간에는 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

2. 공기중 6가크롬의 저농도 및 고농도 노출대상군에서 노출기간별 요중, 전혈, 적혈중, 혈중중 크롬농도의 평균치간에는 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

3. 공기중 6가크롬의 저농도 및 고농도 노출대상군에서 노출기간별 혈장중 크롬농도에 대한 전혈중 크롬농도의 비는 노

출기간이 길수록 높게 나타났다.

4. 적혈구중 크롬농도와 공기중 6가크롬농도, 호흡성크롬농도간의 상관계수는 각각 0.946, 0.952로 높은 상관관계가 있었으며 전혈중 크롬농도와는 0.990로 가장 높은 상관성을 보였다.

이상의 결과에서 수용성 6가크롬화합물의 노출량과 노출기간에 따라 적혈구중 크롬 농도는 증가하였으며 따라서 적혈구중 크롬 농도가 6가크롬의 흡입 노출에 대한 체내 부하량의 생물학적 노출지표로서의 유용한 지표임을 제시한다.

REFERENCES

노동부. 산업안전보건법규집. 노동부; 1997

노동부. 유해물질의 허용농도(노동부고시 제97-65호). 노동부, 1998

AGGIH; Threshold limit values for chemical substances and physical agents, biological exposure indices, ACGIH, Cincinnati, OH; 2001

Alexander J, Aaseth J. Uptake of chromium in human red blood cells and isolated rat liver cells: The role of the anion carrier. Analyst 1995;120:931 -933

Bragt PC, Van Dura EA. Toxicokinetics of hexavalent chromium in the rat after intratracheal administration of chromates of different solubilities. Ann Occup Hyg 1983;27:315-322

Cohen MD, Zelikoff JT, Chen LC, Schlesinger RB. Immunotoxicologic effects of inhaled chromium: Role of particle solubility and co-exposure to ozone. Toxicology and Applied Pharmacology 1998;152:30-40

Finley BL, Scot Pk, Norton RL, Gargas ML, Paustenbach DJ. Urinary chromium concentration in humans following ingestion of safe doses of hexavalent and trivalent chromium: implication for biomonitoring. J Toxicol Environ Health 1996;48: 479-499

Gao M, Braithwaite RA, Brown SS. Monitoring of total chromium in rat fluids and lymphocytes following intratracheal administration of soluble trivalent or hexavalent chromium compound. Human and Experimental Toxicology 1993;12:377-382

Hansen k, Stern RM. Welding fume and chromium compounds in cell transformation assay. J Appl Toxicol 1985; 5: 306~314

Harzdorf C, Lowalter J. Analytical methodology for biological monitoring of chromium. Regul Toxico and pharmaco 1997;26:586-593

Hinds, W.C., W.V. Liu, and J. Froines. Particle Bounce in a Personal Cascade Impactor: A Field Evaluation. Am Ind Hyg Assoc J 1985;46:517

International Agency for Research on Cancer. Chromium, nikel and welding. IARC Manoger. Eval Carcinogen. Risk.Hum.1990.49.Lyon;IARC Scientific pablications

Ladou J. Occupationa and Environmental Medicine. Sanfrancisco: Pentice-Hall, Inter- national, Inc.;1997

Langard S. Andersen A, Ravnestad J. Incidence cancer among ferrochromium and ferosilicon workers and extended observation period. Br J Ind Med 1990;47: 14-19

Lukanova A, Toniolo P, Ihitkovich A, Nikalova V, Panev T, Popov T, Taioli E, Costa M. Occupational exposure to Cr(VI) : Comparison with between chromium levels in lymphocytes, erythrocytes, and urine. Int Arch Occup Environ Health 1996;6939-44

Miksche LW, Lewalter J. : Health surveillance and biological effect monitoring for chromium exposed workers. Regul Toxicol and Pharmaco 1997;26:94-99

NIOSH. NIOSH Manual of analytical Methods, 6th Edition, DHHS(NIOSH) Publication. Cincinnati, Ohio. NIOSH, 1994.

Von Burg R., Liu D. Chromium and hexavalent chromium. J Appl Toxicol 1993; 13: 225-230

Wang J, Ashley K, Kennedy ER, Neumsister C. Determination of hexvalent chromium in industrial hygiene samples using ultrasonic extraction and flow injection analysis. Analyst 1997; 122:1307-1312

Wang J, Ashley K, Marlow D. Field method for the determination of hexavalent chromium by ultrasonication and strong anion-exchange solid-phase extraction. Anal Chem 1999; 71: 1027-1032

WHO. Biological monitoring chemical exposure in the workplace. International program on Chemical safety(IPCS), Geneva: WHO; 1996

Wiegand HJ. Fast uptake kinetics in vitro of chromium(VI) by red blood cells of man and rat. Arch Toxicol 1985;57: 31-34

World Health organization. Environmental health Criteria 61. Chromium. Geneva: WHO; 1988

Appendix(1)

Appendix 1. ACGIH definition of respirable mass fraction by particle size

Stage	(1) Size Range (㎛)			(2) Respirable Fracion (%)			Average Respirable Fraction (3)
	Lower	Mid	Upper	Lower	Mid	Upper	
1	21	35.5	50	0	0	0	0
2	15	18	21	0	0	0	0
3	10	12.5	15	0	0	0	0
4	6	8	10	30.5	6.4	-17.7	0.0642
5	3.5	4.75	6	60.7	45.6	30.5	0.4562
6	2	2.75	3.5	78.8	69.7	60.7	0.6974
7	0.9	1.45	2	92.0	85.4	78.8	0.8541
8	0.5	0.8	0.9	96.9	93.3	92.0	0.9446
Backup	0.25	0.38	0.5	99.9	98.3	96.9	0.9838