구조활성 상관관계(QSAR) 방법을 이용한 혼합물질의 유해성 예측 평가 연구(II)

– 그라비아인쇄업에서 취급하는 혼합물질 중심 –

○ 연구책임자 : 김기웅 / ○ 연구기간 : 2014.1.1~11.30 / ○ 등록번호 : 2014-연구원-1128

제공/산업안전보건연구원

그라비아인쇄업에서는 주성분으로 ethyl acetate(EA), isopropyl alcohol(IPA), methylethyl ketone(MEK), toluene(TOL)과 xylene(XYL) 등을 취급하고 있으며, 그 외에도 다양한 화학물질들을 혼합물질 상태로 취급하고 있어서 근로자의 건강장해 위험이 매우 높은 업종 중의 하나이다. 그럼에도 불구하고 혼합물질에 의한 건강장해를 평가하고 예측하는 연구는 이루어지고 있지 않다.

이에 본 연구는 그라비아인쇄업에서 취급하는 화학물질의 상태(단일과 혼합물질)에 따라 변화되는 물리·화학적 특성과 반수영향농도(half maximal effective concentration, EC_{50})를 분석하고, 분석된 결과를 변수로 하여 QSAR 방법으로 혼합물질에 대한 독성을 예측하고자 하였다.

연구대상 물질은 그라비아인쇄업에서 주성분으로 사용하고 있는 EA, IPA, MEK, TOL과 XYL의 혼합비율에 따라 변화되는 물리·화학적 특성과 반수영향농도(half maximal effective concentration, EC_{50}) 등을 측정하여 독성을 예측하였다.

1. 공기 중 화학물질의 노출 농도

작업장 내의 공기 중 화학물질의 노출 농도는 미국국립산업안전보건연구소(National Institute of Occupational Safety and Health , NIOSH)에서 추천하는 공정시험법1501(NIOSH, 2003)과 2500(NIOSH, 1996)에 따라 분석하였다.

2. 물리·화학적 특성 실험

(1) 끓는 점: 한국표준규격 시험분석법(2007) 「KS M 1071-2」

(2) 비중: 한국표준규격 시험분석법(1997) 「KS M 0004」

(3) 증기압: 한국표준규격 시험분석법(2003) 「KS M ISO 3007」

(4) 인화점: 한국표준규격 시험분석법(2008) 「KS M 2010」

3. 반수영향농도(EC_{50})

배양액을 제거한 후 CCK-8 assay kit(Woongbee, Seoul, Korea)를 사용하여 DMEM 배양액에 1/10로 희석하여 처리한 후 37℃ incubator에서 1시간 30분 배양하여 생성된 formazan을 450 nm에서 흡광도를 측정하여 EC_{50}을 구하였다.

연구 결과는 다음과 같다.

1) 공기 중 화학물질의 노출 농도

페인트제조업 사업장 중 A 사업장에서 확인된 취급물질은 EA, TOL과 XYL이었으며, 이들 물질의 노출농도는 각각 3.4±5.1 ppm(EA), 12.7±16.1 ppm (TOL)과 12.6±19.1 ppm(XYL)으로 고용노동부의 TWA 기준 이하 수준으로 측정되었다.

B사업장의 경우에는 EA 노출수준이 20.6±19.9 ppm, IPA는 3.2±2.6 ppm, MEK는 20.6±33.1 ppm 그리고 TOL과 XYL은 각각 26.5±32.2와 21.5±21.8 ppm으로 측정되었다. 그라비아인쇄업 사업장 중 1개 사업장에서 IPA와 XYL이 검출되지 않았고 기타의 사업장에서는 EA, IPA, MEK, TOL과 XYL이 측정되었다.

2) 실험군별 물리·화학적 특성 비교

단일물질의 TOL과 XYL의 끓는 점은 각각 110.0과 139.2℃이었는데, 이들 물질이 다른 화학물질과 혼합되면서 끓는 점이 유의하게 낮아졌으며($p<0.01$), 단일물질의 EA는 기타의 물질과 혼합되면서 비중이 통계적으로 유의하게 낮아졌다($p<0.01$). rVP는 TOL과 XYL이 단일물질에서보다 EA, IPA, MEK와 혼합되면서 유의하게 높아졌으며($p<0.01$), 인화점은 EA와 MEK가 음의 값을 가지고 있기 때문에 이들 물질과 기타의 물질이 혼합되면서 낮아지는 결과를 보였다.

3) 세포생존율 및 EC_{50}

HepG2 세포는 단일물질보다 혼합물질 처리군에서 세포의 괴사가 많았으며 세포괴사는MEK 〈 TOL 〈 XYL 순으로 나타났고 이들 3가지 물질이 혼합된 경우에 현저한 세포괴사가 관찰되었다. H4IIE 세포에서도 HepG2 세포와 비슷한 결과를 보였는데, HepG2 세포에서보다 XYL이 혼합된 실험군에서 현저한 세포괴사가 관찰되었다.

HepG2 세포의 경우, 단일물질처리군의 EC_{50} 값은 EA가 4.427 ㎖/100 ㎖, IPA는 4.341 ㎖/100 ㎖, MEK는 2.505 ㎖/100 ㎖, TOL과 XYL은 각각 0.792와 0.146 ㎖/100 ㎖로 측정되었다. EC_{50} 값의 크기는 에스테계(EA) 〉 알코올계(IPA) 〉 ketone체(MEK) 〉 방향족탄화수소계(TOL 〉 XYL)순이었다.

단일물질보다 혼합물질에서 EC_{50} 값이 낮은 것으로 측정되었으며 차이는 각각의 단일물질의 EC_{50} 값에 의존적이었다. H4IIE 세포의 경우에도 EA(3.468 ㎖/100 ㎖)와 IPA(4.408 ㎖/100 ㎖)를 제외하고는 EC_{50} 값의 차이를 보였으며 HepG2 세포와 비슷한 결과를 보였다.

4) QSAR 회귀 모델

회귀 모델에 이용된 표현자 중에 모델의 최적화에 영향을 주는 표현자를 파악하기 위하여 leave-many-out(LMO)방법으로 5묶음(5 fold) 교차 검증을 실시한 결과, 대부분 적합성 검증의 기준이 되는 Q2=0.5보다 낮은 0.2046-0.5348로 분석되었다.

그 중에 EA+IPA+MEK+TOL+XYL 혼합물질군에서 Q2=0.5348의 적합도를 보였다. Q2값이 0.5348인 EA+IPA+MEK+TOL+XYL 실험군의 선형회귀식은 y=3.2646+0.9377×EA+0.6932×IPA-0.7215×MEK-2.6982×TOL-3.8778×XYL로서 MEK, TOL과 XYL의 농도가 증가할수록 EC_{50}이 감소하는 것으로 나타났다.

물리·화학적 특성에 있어서 비중과 인하점 선택조합에서 Q2는 0.1805이었고 끓는 점, 증기압과 인화점, 그리고 끓는 점, 비중, 증기압과 인화점 선택조합에서 각각 0.5730과 0.5126의 Q2 값을 보여 적합성 검증의 기준이 되는 Q2=0.5를 초과하는 것으로 분석되었다. 물리·화학적 특성별 선형 회귀식에서 나타난 결과에서는 끓는 점과 비중은 EC_{50}을 감소시키는 반면, 증기압과 인화점은 EC_{50}을 증가시키는 것으로 나타났다.

본 연구결과는 안전관리자와 보건관리자의 산업안전보건 관련 교육에 활용하여 그라비아인쇄업 근로자의 건강보호에 활용할 수 있을 것으로 판단된다.