

SD Rats를 이용 1-hexene의 흡입독성 연구

김현영*, 임철홍, 정용현, 이권섭, 이성배, 이준연, 한정희, 전윤석, 이용묵

한국산업안전공단 산업안전보건연구원 산업화학물질연구센터

Study on Inhalation Toxicity of 1-Hexene in SD Rats

Hyeon-Yeong Kim*, Cheol-Hong Lim, Yong-Hyun Chung,
Kwon-Seob Lee, Sung-Bae Lee, Jun-Yeon Lee, Jung-Hee Han,
Youn-Seok Jheon and Yong-Mook Lee

Center for Occupational Toxicology, Occupational Safety & Health Research Institute,
Korea Occupational Safety & Health Agency

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the acute (4 hours) and repeated-dose (6 hours a day, 5 days a week, 4 weeks) toxic effects of 1-hexene on Sprague-Dawley (SD) rats which were treated by inhalation. The results were as follows;

I. The median lethal concentration (LC₅₀) was estimated 52,694 ppm (confidence limit 95%; 49,494~55,447 ppm) in acute inhalation. Abnormal clinical signs related to the 1-Hexene were not observed with the acute inhalation dose. Gross findings of necropsy revealed on evidence of specific toxicity related to the 1-hexene.

II. By repeated inhalation exposure the body weight of male were more or less reduced by the dose of 2,500 ppm and 5,000 ppm compared with control group. However there were no significant variation hematology and blood biochemistry for the exposed rats compared with the control rats. Abnormal clinical signs and gross findings of necropsy related to the 1-hexene were not shown.

In conclusion when we exposed 1-hexene to SD rats for 4 weeks, 5 days per week, 6 hours per day, the Lowest observed effect level (LOEL) was over 2,500 ppm and Non observed effect level (NOEL) was below 500 ppm

Key words : Inhalation Toxicity, Acute Inhalation, Repeated Inhalation, 1-Hexene, Organic Solvents

서 론

1. 연구배경

최근 OECD를 포함 선진국을 중심으로 사용량이 많고, 취급자 수가 많으며, 강한 독성이 예측되

나 유해성시험 자료가 없거나 부족한 물질들에 대하여 유해성 평가작업을 추진해가고 있다. 국내에서도 환경부를 중심으로 유해성 평가작업을 수행할 수 있는 제도를 마련하여 화학물질 유해성 평가 우선 순위에 있어 유통량이 많고, 취급 근로자수가 많으나, 독성자료가 없거나 부족한 물질을 대상으로 하고 있으며 (한국화학연구소, 1997), 산업보건분야에서도 흡입독성 (Millischer *et al.*, 1995; Kohyama *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 1999; 김현영 등.

* To whom correspondence should be addressed.
Tel: 042-863-8183, E-mail: K89135@kosha.net

1999, 2000; 김광종 등, 2001)과 피부독성 연구(Grandjean, 1990; Lim *et al.*, 2000)가 활발히 진행 중에 있다.

따라서 본 연구는 화학물질을 취급하는 산업현장에서는 휘발성이 강하여 사람에게 노출되기 쉽고, 유해성 평가자료가 부족하며 노출기준이 설정되어 있지 않은 1-Hexene을 시험물질로 하였다.

1-Hexene은 1996년도 국내 유통량 순위 240위(5000톤/년 이상)로 취급근로자수에 관한 자료는 없었으나 휘발성이 강하고 흡입독성 자료와 노출기준이 설정되어 있지 않아(화학연구소, 1997) 근로자 흡입시 건강에 미치는 영향을 예측하고 작업환경관리를 위한 동물실험의 유해성 평가 자료로 제공하고자 하였다.

1-Hexene (CAS No. 592-41-6)은 1-hexylene, butylethylene, α -hexene 등으로 명명되며, 분자식은 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH} : \text{CH}_2$ (C_6H_{12}), 분자량 84.16, 증기압 310 mmHg (38°C)의 휘발성이 강한 무색 액체이다. 융점은 -139.8°C , 비점 63.55°C , 비중 0.673이며, 특히 인화점 -15°F (-26°C)로 화재 위험성이 높은 물질이다. 증기밀도는 3.0 (공기=1), 물에는 불용성이며, 알코올, 에테르, 벤젠, 클로로포름 등의 유기용매에 가용성으로 잘 섞인다(Cadogan *et al.*, 1996; Baker, 2001).

노출기준은 국내에는 없으나 미국의 경우 30 ppm (ACGIH, 1998)으로 되어 있으며 증기압이 강하여 38°C 대기 중에서 포화되었을 약 29만 ppm 까지 형성될수 있는 고농도 급성폭로가 가능한 물질이다. 주요 용도는 세정제, 합성수지 중간체, 연고제, 향료, 향수, 염료, 합성 수지의 제조와 고분자의 변형제(Baumann, 1997), 고분자합성 촉매제(Naughton & Drago, 1995) 등으로 사용된다.

독성연구 관련 자료들을 보면 주요 유해성으로 피부흡수가 용이하고 눈에 자극적이며 IARC에서는 비발암성 물질로 분류되어 있고(Baker, 2001), 흡입에 의한 잠재적 건강영향으로는 단기간 노출시 자극, 구토, 호흡곤란, 피부변색 등이 있으며 장기간 노출에 대한 유해성은 연구되어 있지 않다. 또한 국소적 독성영향으로는 흡입, 피부, 눈 부위에 자극성이 있고 표적장기로는 중추 신경계로 보고되어 있다(MDL Information System Inc., 2000). 또한 1-Hexene은 P450에 의한 간장효소 작용에 관여하는 물질로 밝혀져 있으며 P450에 대한 산

화효소작용의 메카니즘 연구(Cinzia Chiappe *et al.*, 1998)와 핵산을 이용한 고분자 중합시의 촉매에 영향(J. F. Vega *et al.*, 1999; Kyung-Jun Chu *et al.*, 1999; Yoshitaka Yamaguchi *et al.*, 1999) 등으로 유기제품 합성에 관한 사용연구는 많으나 흡입독성 연구를 포함 반복투여 독성에 관한 연구 자료는 극히 제한적이었다. 이와 유사한 n-Hexane의 경우 마취작용과 다발성 신경장애, 하지지각장애, 말초 및 중추신경 장애(Yamamura, 1989; Patty *et al.*, 1999) 등이 있으며 28,400 ppm에서 강한 마취작용과 34,000~43,000 ppm에서 2시간 폭로시 신경마비와 더불어 사망했다(Lararew, 1999)고 보고되었다.

따라서 본 연구는 SD Rats를 이용 1-Hexene을 4시간 단 회 투여에 의한 급성흡입시험과 1일 6시간, 주 5일 4주간 흡입 노출에 의한 실험동물의 임상적, 혈액 및 혈액생화학적, 병리조직학적으로 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험물질 및 실험동물

시험물질인 1-hexene은 ACROS ORGANICS에서 구입한 1급 시약(Lot No. A013438501)을 사용하였으며 대조물질은 HEPA filter 및 공기조화기를 통과시켜 정화된 청정 공기를 사용하였다.

실험동물은 급성은 6주령, 반복투여는 5주령의 특정병원체 부재동물(Specific Pathogen Free, SPF) Sprague-Dawley (SD) Rats를 대한동물실험센터에서 분양 받아 barrier system의 동물 사육실에서 급성은 4주간(실험일정관련), 반복투여는 1주간 순화시킨 후 건강하고 발육 양호한 동물을 사용하였다. 군분리시 실험동물의 체중은 급성흡입독성의 경우 수컷은 343.1 ± 2.85 g, 암컷은 238.1 ± 3.06 g이었으며, 반복투여 흡입실험의 경우 수컷은 179.1 ± 7.05 g, 암컷은 137.4 ± 5.39 g이었다.

2. 동물관리 및 사육환경

순화 후 체중을 지표로 하여 폭로군 별 체중 편차가 최소화 되도록 실험 군을 분리하고, 1 대조군 3 폭로군(급성의 경우 4 폭로군)으로 한 후 4대의

흡입챔버내 5연식 철망 케이지를 사용하여 군별, 동물별로 각각 개별 수용하고 정화된 청정공기(분진농도 Class 10,000 이하)를 이용 온도 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 20\%$, 환기횟수 11~12회/시간, 압력 $-9 \sim -11 \text{ mmHg}$ (음압), 조명 150~300 Lux로 12시간(오전 9시~오후 9시)으로 한 barrier system의 사육환경에서 사육하였으며, 사료는 실험동물용 멸균사료(제일제당 주식회사)를, 음수는 멸균정제수를 자동급수로 하여 자유로이 섭취토록 하였다. 단, 사료공급의 경우시험물질 폭로시간에는 공급하지 않았으며 시험물질 폭로 종료 후 사료를 공급하여 자유로이 섭취토록 하였다.

3. 시험물질 폭로방법

시험물질의 폭로는 Fig. 1과 같이 내부용적 1 m^3 의 흡입챔버(Model No. SIS-20RG, SIBATA Co., LTD, Japan)와 유기용제 가스발생장치 등을 이용하였다. 시험 군별 폭로농도는 문헌조사 및 예비실험을 통하여 급성 흡입독성시험 농도를 설정하고, 이의 시험 결과를 통하여 반복투여 흡입독성 농도를 설정하였다.

시험물질의 폭로방법은 gas generator(Model No. VG-4R, SIBATA Co., LTD, Japan)를 이용 시험물질을 기화시킨 후 일정량을 청정공기와 혼합하여 설정농도로 조절한 후 흡입 챔버내로 공급 실험동물에 전신 폭로 시켰다.

4. 흡입챔버내 환경 Monitoring

시험물질 폭로 중 각 군별 흡입 챔버내의 환경

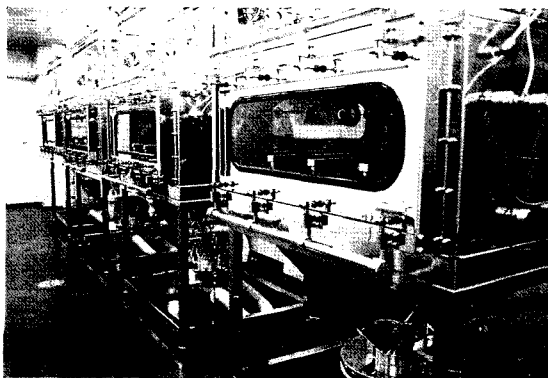


Fig. 1. Inhalating exposure chamber (whole-body type).

조건들을 monitoring하였다. 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 농도는 자동 sampling 장치가 부착된 G.C.(Model No. GCS-14PFFS, SHIMADZU, Japan)를 이용 폭로기간 중 15분 간격으로 1회씩 monitoring하였으며 G.C.의 분석조건은 아래와 같다.

【G.C.의 분석조건】

Detector : FID (Flame Ionization Detector)

Column : Silicon DC-200 15% Chromosorb (AW-DMCS),

mesh : 80/100, length : 0.5 m

Detector temp. : 150°C

Oven temp. : 100°C

Injection temp. : 150°C

Injection Volume : Gas Sample 1 ml

5. 시험방법

1) 급성흡입독성

실험동물은 대조군과 폭로군으로 구분하고, 폭로군은 시험물질의 폭로농도별 4단계로 암, 수 각 5마리를 한 군으로 대조군을 포함 5단계, 총 50마리를 사용하였다.

농도설정은 관련 참고문헌(Cadogan *et al.*, 1996; Lararew, 1999 등; Baker, 2001)과 예비실험을 통하여 치사농도에 가까운 농도(30,000~50,000 ppm)를 기준으로 하였다.

폭로 중 흡입챔버별 시험물질의 농도를 측정된 결과는 Table 1과 같았으며, 설정치에 근접한($\pm 6.79\%$ 이내) 범위로 나타났다. 농도는 폭로 시작 30분 후부터 목표농도에 도달되었으며 노출시간(4시간) 종료 30분 후에는 5% 이하로 제거되었다.

시험물질 투여 후 14일 관찰기간은 매일 1회 이상 실험동물에 대한 생사 유무 및 운동성, 일반증상 등의 임상적 관찰을 하였으며 시험기간 중 사망동물과 관찰기간 종료 후 모든 동물에 대해 부검하고 간장, 폐장, 신장, 생식기 등을 중심으로 육안적 병리검사를 하였다.

또한 관찰기간 내 사망 동물과 생존 동물의 수를 이용 용량반응(Dose-Response) 프로그램에 의

Table 1. Concentration of 1-hexene by exposure* groups

Groups	Concentration (ppm)			Mean \pm SD
	Establishment	Upper	Lower	
Group 1	40,000	41,397.7	39,152.8	39,873.9 \pm 886.53
Group 2	52,000	52,998.6	47,932.5	51,744.2 \pm 1380.66
Group 3	56,000	60,250.3	53,918.3	56,380.1 \pm 1838.83
Group 4	59,000	65,164.7	46,295.0	58,813.1 \pm 5593.48

*exposure of whole-body

한 과반수치사농도 LC₅₀ (Lethal concentration of 50 percent kill)을 산출하였다.

2) 반복투여 흡입독성

실험동물은 암, 수 각 10마리를 한 군으로, 대조군과 저농도 (1,250 ppm), 중농도 (2,500 ppm), 고농도 (5,000 ppm)의 폭로군으로 구성하고, 시험물질 폭로군은 1일 6시간, 주 5일, 4주간 반복투여 하였다.

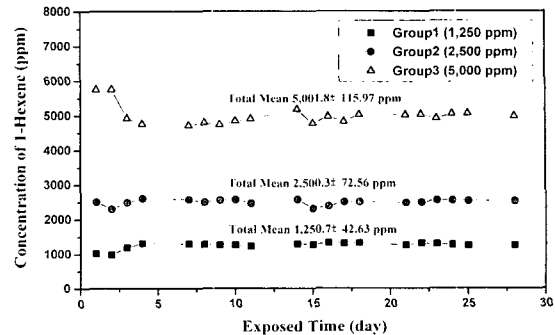
챔버내 온도는 22.5~23.28°C이었으며 습도는 43.8~45.5%, 그리고 압력은 (음압) 9.2~10.2 mmH₂O이었다. 그리고 환기량은 196.7~201.0 l/min으로 흡입챔버내 용량이 1,000l (1 m³)를 감안하면 시간당 환기 횟수는 11.80~12.06회로 온도, 습도, 압력 등을 포함하여 각각 실험동물 사육 환경조건에 부합하였다.

폭로 중 각 투여군의 흡입챔버 내 시험물질 농도를 일일 평균치와 폭로기간 중 총 평균 농도 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 측정된 결과는 설정치의 $\pm 3.41 \sim \pm 2.32\%$ 이내의 범위에서 시험물질이 실험동물에 투여되었음을 알 수 있었으며, 실험동물의 검사항목은 아래와 같다.

(1) 실험동물의 임상증상

검역 및 순화기간은 매일 1회 모든 동물에 대해 관찰하고, 폭로기간은 매일 폭로개시전 생사의 유무와 폭로종료 후 운동성, 외관, 일반증상 등에 대해 관찰하였다.

(2) 체중측정

**Fig. 2.** Changes of Concentration in inhalation chamber (whole-body type) during the experiment.

동물도입과 순화 종료 후 군 분리시 체중을 측정하고, 폭로기간 중에는 주 2회에 걸쳐 모든 동물에 대해 체중을 측정하였다.

(3) 사료 섭취량 측정

시험물질 폭로기간 중 주 2회에 걸쳐 모든 동물에 대해 개별적 사료 섭취량을 측정하였다.

(4) 병리학적 검사

① 혈액 및 생화학적 검사

실험동물에 대해 시험물질 폭로 종료 하루 전 절식시켰으며, 부검시 복대동맥에서 혈액을 채취하여 백혈구 (WBC), 적혈구 (RBC), 헤모글로빈, Hematocrit, 평균적혈구용적 (MCV), 평균 적혈구 혈색소량 (MCH), 평균 적혈구 혈색소농도 (MCHC), 적혈구 입자 분포 폭 (RDW), 혈소판, 평균 혈소판 용적 (MPV) 등을 혈구계수기 (Sysmex F-820)를 이용하여 측정하고, 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST), 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT), 알카린 포스파타제 (ALP), Glucose, 요소질소 (BUN), 단백질, 콜레스테롤, 크리아티닌, 총 빌리루빈 등을 혈액생화학분석기 (TBA20FR, Japan)로 측정하였다.

② 육안검사

시험물질 폭로 종료 후 대조군과 폭로군의 모든 동물(암, 수 각 40마리)에 대하여 에틸 에테르로 마취시켜 복대동맥에서 채혈한 후 육안적으로 흉선, 부신, 정소(난소), 심장, 폐장, 신장, 비장, 간장, 뇌, 피부 등의 장기를 검사하였다.

③ 장기중량 측정

육안적 검사 후 모든 동물에 대해 부신, 정소(난소), 심장, 폐장, 신장, 비장, 간장, 뇌 등의 장기

조직에 대해 각각의 중량을 측정하고 이를 군별로 평균한 후 대조군을 기준으로 하여 비교 분석하였다.

④ 현미경 검사

각 장기별 육안검사 후 뇌, 폐, 간장, 신장, 정소(난소), 비장, 부신, 흉선 등의 장기를 적출하여 각각의 중량을 측정한 후, 10% 중성 포르말린 용액에 고정하였다. 장기조직은 파라핀에 포매하고 헤마톡시린과 에오신 및 파스-헤마톡시린 염색을 하여 광학현미경에 의한 병리조직학적 검사를 하였다.

기타 시험방법에 있어서는 OECD Guidelines for Testing of Chemicals (1981)의 repeated inhalation toxicity (Chapter 4, No.412) 시험법을 참고하였다.

6. 통계처리

동물의 체중, 사료 섭취량, 장기별 무게, 혈액검사, 뇨검사 등은 Paired-t test로 분석하였으며, 예비검정에서는 5% (p<0.05)의 신뢰한계로 검정하고, 최종검정에서는 1% (p<0.01), 0.1% (p<0.001)의 신뢰한계로서 대조군과 폭로군의 유의성을 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 급성흡입독성

1) 실험동물의 임상증상

시험물질 폭로시 실험동물은 1시간 이내에 대부분 활동성 저하, 운동실조 현상을 보였다.

폭로시간의 경과(1군은 20분, 2군 15분, 3군 15분, 4군 10분 후)에 따라 전신 경련(convulsions)을 보였으며, 그 후(1군 3.5시간, 2군 40, 3군 30분, 4

군 20분 경과 후) 운동량이 없고 충격음(Chamber 두드림)이나 95 dB(A) 수준에도 무반응 현상을 나타내었다. 시험물질 폭로종료 후 1군은 모두 생존하였으나, 2군은 폭로시작 1시간 30분 경과 후 수컷 1레가 폐사하였고 폭로종료 후 암컷 2레, 수컷 1레가 추가로 폐사하였다. 3군은 폭로시작 50분에 수컷 1레가 폐사하고 폭로종료 후 암컷 4레, 수컷 1레가 추가로 폐사하였다. 4군은 폭로 50분에 수컷1레, 암컷 1레가 폐사하고 폭로종료 후 나머지 동물도 폐사(100%) 하였다. 그러나 폭로 종료 후 생존동물은 1시간 경과 후 모두 활동성을 회복하였다.

생존동물은 14일 관찰기간동안 사망례가 없었으며, 활동성을 회복하여 대조군을 기준으로 특이한 임상적 증상은 관찰되지 않았다.

2) 반수치사농도 (LC₅₀)

시험물질 폭로 및 관찰기간 종료후 각 군별 실험동물의 생존 결과를 Table 2에 나타내었다.

이를 spss프로그램을 이용 폭로농도(ppm)와 사망률(%)을 Probit method에 의한 통계처리 결과 Fig. 3과 같이 나타났으며 1-hexene에 의한 SD Rat의 반수치사농도(4시간, SD Rat) LC₅₀은 52,694 ppm (95% 신뢰한계; 49,494~55,447 ppm)으로 산출되었다. 문헌조사 결과 n-hexane의 경우 LD50 (rat)는 28,710 mg/kg (Duluth, 1971), LC₅₀ (rat, 4Hr)는 48,000 ppm (Paloalto, 1976)이었다. 또한 Berlin G (1929)의 연구자료에 의하면 LCL₀ (mouse)는 120,000 mg/m³이었으며 행동의 마비와 함께 폐, 흉부 등 호흡기 장애를 동반하여 폐사 결과를 보였다고 보고하였다. Lararew 등 (1999)이 연구한 자료에 의하면 28,400 ppm에서 마취작용과, Patty 등 (1999)이 보고한 n-hexane의 급성흡입독성 34,000~43,000 ppm보다 높게 나타나 이를 기준

Table 2. Estimation of rats lethal concentration (4 hours) of 1-hexene

Exposure groups	Concentration (Mean ± SD)	No. of animal		No. of death			Total mortality (%)
		male	female	male	female	(total)	
Control	0.0 ± 0.00	5	5	0	0	0	0
Group 1	39,873.9 ± 886.53	5	5	0	0	0	0
Group 2	51,744.2 ± 1380.66	5	5	2	2	(4)	40
Group 3	56,380.1 ± 1838.83	5	5	2	4	(6)	60
Group 4	58,813.1 ± 5593.48	5	5	5	5	(10)	100

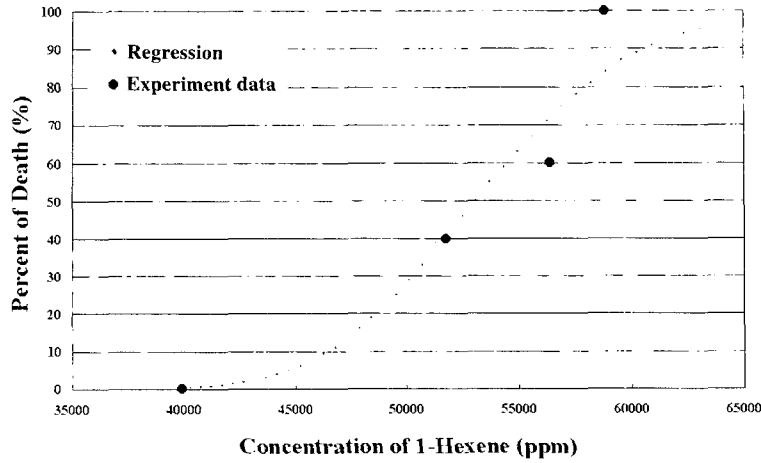


Fig. 3. Dose-mortality Curve of 1-hexene.

할 때 1-hexene의 치사농도는 n-hexane 보다 낮게 평가되었다.

3) 병리학적 검사

관찰기간 경과 후(사망동물은 사망시) 생존동물에 대해 에틸 에테르로 마취시켜 부검하고 병리학적 검사를 하였다. 육안적 관찰에서 호흡기의 피부점막 손상이나 각 장기별 특이적 이상증상은 관찰되지 않았다.

2. 반복투여 흡입독성

1) 실험동물의 임상증상

시험물질 폭로개시 1시간 이상 경과시 동물의 활동성 저하와 운동실조 등의 임상증상이 관찰되었으나, 일일폭로(일일 6시간) 종료 1시간 경과 후에는 원상태로 회복되었으며, 투여 기간중 동물의 사망례와 시험물질에 기인된 특이한 임상증상은 관찰되지 않았다.

문헌조사에 의하면 1-hexene의 증기는 눈과 피부에 자극적이며 흡입시 중추신경계에 영향을 미쳐 운동성 저하 등이 있음이 보고되어 있으며(MDL, 2000), Mouse를 이용한 1,000 ppm 흡입시험에서 1일 6시간 13주 반복노출 결과 운동신경의 저하를 보인다고(NIH, 1991) 보고되었다.

그러나 본 연구에서는 시험물질 노출기간에는 활동성 저하를 볼 수 있었으나 운동실조 등 특이

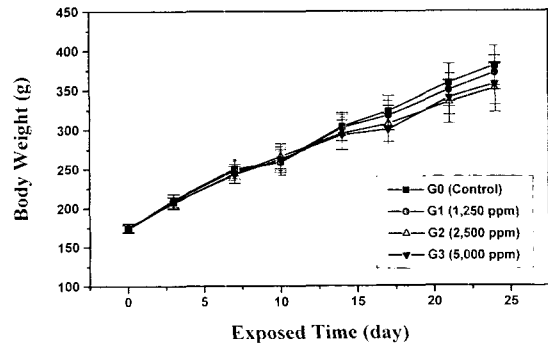


Fig. 4. Changes of body weight in male Sprague Dawley rats inhaled 1-hexene during the experiment.

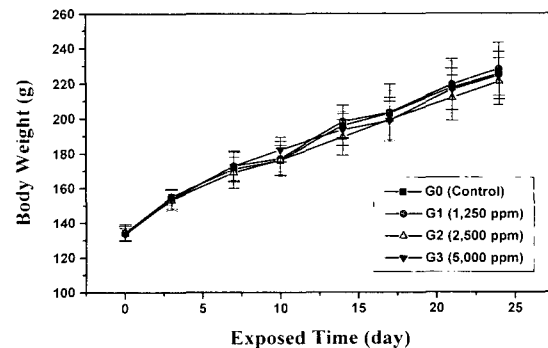


Fig. 5. Changes of body weight in female Sprague Dawley rats inhaled 1-hexene during the experiment.

한 증상은 관찰되지 않았다. 이는 실험동물의 종과 노출조건에 의한 차로 볼 수 있으며 특히 본 연구는 4주 반복투여로 시험물질 노출기간의 차가 큰 것에서 기인될 수 있을 것이다.

2) 동물의 체중변화

폭로기간 중 암, 수 동물의 체중을 주 2회(화요일, 금요일) 측정하고 폭로 일정별 일일 체중 변화량은 Figs. 4, 5와 같이 나타났다.

폭로기간 중 체중의 변화를 대조군과 비교하였으나, 큰 차이를 보이지 않았다. 수컷의 경우 2군(2,500 ppm)의 경우가 다른 군에 비하여 체중이 감소하는 결과를 볼 수 있었고 암컷의 경우에도 비슷한 결과를 볼 수 있었다. 그러나 통계적 유의차는 보이지 않았다.

3) 사료섭취량

폭로기간 중 암, 수 동물의 사료 섭취량을 동물체중과 같이 주 2회 측정하고 투여기간 중 시험물질 폭로군별 동물 1마리당 하루 사료 섭취량(g)의 총 평균은 수컷의 경우 대조군 30.2±3.15, 1군 30.1±2.33, 2군 28.1±3.41, 3군은 29.3±3.96이었으며, 암컷의 경우 대조군 21.8±7.26, 1군 19.8±4.99, 2군 19.3±5.10, 3군은 20.9±2.71로 측정되어 대조군을 기준으로 한 폭로군에서의 사료 섭취량은 다소 감소하였으나 통계적 유의차는 보이지 않았다.

4) 병리학적 검사

(1) 부검소견

1-Hexene의 폭로 종료 후 모든 동물에 대하여

Table 3. Relative organ weight* of male and female Sprague Dawley rats after 1-Hexene inhalation** for 4 weeks

		Unit : %			
Sex	Organ	Group 0 (Control)	Group 1 (1,250 ppm)	Group 2 (2,500 ppm)	Group 3 (5,000 ppm)
Male	Thymus	0.17±0.03	0.16±0.01	0.17±0.02	0.16±0.04
	Adrenal R	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
	Adrenal L	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
	Testis R	0.47±0.05	0.47±0.03	0.49±0.04	0.48±0.04
	Testis L	0.47±0.06	0.48±0.04	0.49±0.04	0.50±0.05
	Heart	0.33±0.02	0.34±0.02	0.35±0.04	0.34±0.03
	Lung R	0.27±0.03	0.26±0.02	0.27±0.04	0.26±0.03
	Lung L	0.14±0.01	0.14±0.01	0.15±0.02	0.14±0.02
	Kidney R	0.41±0.03	0.39±0.03	0.39±0.03	0.41±0.06
	Kidney L	0.41±0.03	0.39±0.02	0.39±0.03	0.40±0.05
	Spleen	0.22±0.02	0.22±0.02	0.23±0.03	0.22±0.02
	Liver	3.29±0.17	3.30±0.30	3.31±0.38	3.29±0.37
	Brain	0.54±0.04	0.54±0.05	0.59±0.07	0.58±0.03*
Female	Thymus	0.21±0.03	0.21±0.03	0.22±0.04	0.21±0.04
	Adrenal R	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
	Adrenal L	0.02±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.01±0.00*
	Ovary R	0.04±0.01	0.04±0.01	0.03±0.00	0.04±0.01
	Ovary L	0.04±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.00
	Heart	0.37±0.03	0.35±0.02	0.37±0.03	0.36±0.02
	Lung R	0.33±0.02	0.33±0.03	0.32±0.01	0.31±0.02*
	Lung L	0.17±0.01	0.17±0.02	0.17±0.01	0.17±0.01
	Kidney R	0.39±0.03	0.42±0.02*	0.41±0.03*	0.42±0.03*
	Kidney L	0.37±0.02	0.39±0.05	0.40±0.03*	0.41±0.03**
	Spleen	0.23±0.03	0.24±0.02	0.24±0.04	0.23±0.03
	Liver	3.27±0.2	3.28±0.35	3.22±0.26	3.28±0.34
	Brain	0.86±0.04	0.84±0.1	0.87±0.11	0.85±0.09

All values are expressed as mean±SD.

Significant differences as compared with control : * p<0.05, ** p<0.01

* Wet weight

** whole-body exposure

ethyl ether로 마취시켜 부검하고 육안적 관찰결과 대조군과 비교하여 투여군의 영양상태, 피모, 피부, 점막의 변화와 색소침착, 황달, 부종, 출혈, 폐양 등의 증상이나 기형, 유착 현상과 복수나 흉수의 저류 등 특이한 병변은 관찰되지 않았으며, 피부나 호흡기, 폐장, 간장 등 각 장기 등에서도 흡입물질에 의한 특이한 소견은 발견되지 않았다.

(2) 장기중량

부검 후 장기를 적출하여 무게를 측정하고 각 폭로 농도 군별, 각 장기별 평균 무게 (절대중량)를 암·수로 구분하여 이를 동물 체중 100g당 해당하는 장기무게 (% 상대 장기중량)로 환산하여 Table 3에 나타내었다.

상대 장기중량은 수컷에서는 5,000 ppm 노출군의 뇌에서 유의한 증가($p < 0.05$)를 보였으나 다른 장기에서는 유의한 변화가 없었다. 암컷에서는 5,000 ppm 노출군의 정소와 폐에서 유의한 감소($p < 0.05$)를 보였으며, 신장의 1,250 ppm, 2,500 ppm, 5,000 ppm 노출군에서 유의한 증가($p < 0.05$)를 보였으며, 신장의 2,500 ppm 노출군 ($p < 0.05$), 5,000 ppm 노출군 ($p < 0.01$)에서 유의한 증가를 보였다.

(3) 혈액 및 생화학적 검사

혈액검사 결과를 Table 4에 나타내었다. 수컷의 WBC는 5,000 ppm 노출군에서 유의한 감소 ($p < 0.05$)를 보였으나, 이는 부검시 마취와 관련된 변화로 확인되었으며 정상범위내의 변화로 판단되었다. RBC는 1,250 ppm, 2,500 ppm 노출군에서 유의한 증가 ($p < 0.05$)를 보였으나 정상범위내의 변화로 판단되었다. HCT는 1,250 ppm, 2,500 ppm 노출군에서 유의한 증가 ($p < 0.05$)를 보였으나 수치는 정상범위 내였다. MCHC도 2,500 ppm ($p < 0.05$), 5,000 ppm 노출군 ($p < 0.01$)에서 유의한 감소를 보였으나 정상범위 내였으며 HGB, MCV, MCH, PLT 등은 유의한 변화가 없었다. Female의 경우에 있어서 WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT 등은 유의한 변화를 발견할 수 없었다.

그러나 NIH(1991) 보고 자료에 의하면 1일 6시간 1,000 ppm에서 13주간 반복 투여시 WBC 및 RBC의 감소가 있었다는 보고가 있었는데 본 연구에서는 수컷의 경우 WBC의 감소는 보였으나 RBC의 경우 농도 의존적이지는 않았고 일부(저, 중농도) 소폭 증가하는 경향을 보였으며 변화의

Table 4. Hematological results in male and female Sprague Dawley rats after 1-Hexene inhalation for 4 weeks

Sex	Items	Group 0 (Control)	Group 1 (1,250 ppm)	Group 2 (2,500 ppm)	Group 3 (5,000 ppm)
Male	WBC	8.3±2.43	8.4±3.34	8.4±2.15	6.0±2.93*
	RBC	7.3±0.35	7.6±0.59*	7.7±0.48*	7.6±0.45
	HGB	14.3±0.59	14.6±0.63	14.7±0.88	14.6±0.67
	HCT	43.3±2.26	45.0±2.48*	45.7±2.83*	45.7±2.84
	MCV	59.2±2.91	59.1±2.03	59.7±2.76	60.4±2.08
	MCH	19.5±0.86	19.2±0.83	19.3±0.94	19.3±0.66
	MCHC	33.0±0.78	32.4±0.79	32.3±0.53*	32.0±0.80**
	PLT	1118.0±229.84	1204.8±152.48	1149.2±129.41	1184.0±162.29
Female	WBC	5.5±2.15	5.0±1.79	5.4±2.38	5.4±1.80
	RBC	7.6±0.26	7.4±0.30	7.4±0.44	7.4±0.60
	HGB	14.9±0.55	14.5±0.56	14.8±0.48	14.6±1.12
	HCT	43.8±1.78	43.2±3.59	43.3±2.41	43.7±3.21
	MCV	57.6±1.51	58.0±3.86	58.5±3.19	59.0±2.91
	MCH	19.6±0.67	19.6±0.70	20.0±0.79	19.7±0.62
	MCHC	34.0±0.71	33.8±1.79	34.2±1.59	33.4±1.42
	PLT	1260.4±161.76	1286.3±163.64	1253.1±106.06	1052.1±372.59

All values are expressed as mean ± SD.

Significant differences as compared with control: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

WBC, white blood cell count ($10^3/\text{mm}^3$); RBC, red blood cell count ($10^6/\text{mm}^3$); HGB, hemoglobin (g/dl); HCT, hematocrit (%); MCV, mean corpuscular volume (μ^3); MCH, mean corpuscular hemoglobin (pg); MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration (%); PLT, platelet ($10^3/\mu^3$).

Table 5. Biochemical serum values in male and female Sprague Dawley rats after 1-Hexene inhalation for 4 weeks

Sex	Items	Group 0 (Control)	Group 1 (1,250 ppm)	Group 2 (2,500 ppm)	Group 3 (5,000 ppm)
Male	TP	5.5±0.49	5.0±0.60*	5.3±0.44*	5.6±0.30
	BUN	10.6±1.06	10.4±1.81	12.2±1.78**	12.1±1.10**
	CRTN	0.6±0.13	0.5±0.10*	0.6±0.05	0.6±0.05
	TBIL	0.2±0.03	0.2±0.00	0.2±0.03	0.2±0.00
	ALT	22.4±6.31	22.4±10.91	26.0±4.92	26.0±4.59*
	AST	117.0±17.39	108.7±28.66	112.6±18.97	124.7±25.67
	ALP	563.6±82.87	475.7±137.39	491.3±95.53	484.5±111.01**
	GLU	115.5±23.73	105.4±22.27	111.3±19.14	101.8±17.98
Female	TCHO	52.0±7.35	53.0±6.36	55.7±7.33	60.0±7.01*
	TP	5.5±0.33	5.4±0.35	5.6±0.55	5.7±0.23
	BUN	13.0±1.75	11.7±1.41	13.3±2.22	11.5±2.04
	CRTN	0.6±0.11	0.6±0.07	0.5±0.06	0.6±0.04
	TBIL	0.2±0.00	0.2±0.04	0.2±0.05	0.2±0.09
	ALT	16.2±4.80	16.3±6.41	18.9±2.77	20.8±3.16
	AST	99.1±13.06	104.9±23.67	105.9±22.2	99.6±16.61
	ALP	289.0±93.16	269.7±67.00	267.8±32.49	320.8±38.13
	GLU	99.9±17.10	92.3±11.59	84.6±10.42	111.4±24.53
	TCHO	75.7±8.12	68.9±12.05	68.8±10.33	70.7±11.01

All values are expressed as mean±SD.

Significant differences as compared with control : * p<0.05; ** p<0.01.

TP, total protein (g/dl); BUN, urea nitrogen in blood (mg/dl); CRTN, creatinine (mg/dl); TBIL, total bilirubin (mg/dl); GPT, glutamic pyruvic transferase (μ l); GOT, glutamic oxaloacetic transaminase (μ l); ALT, alanine aminotransferase (μ l); AST, aspartate aminotransferase (IU/l); ALP, alkaline phosphatase (IU/l); GLU, glucose (mg/dl); TCHO, total cholesterol (mg/dl).

정도가 유의성 있는 것으로는 판단되지 않았다.

혈액생화학적 검사들 Table 5에 나타내었다. 수컷의 TP는 1,250 ppm, 2,500 ppm 노출군에서 유의한 감소 ($p<0.05$)를, BUN은 2,500 ppm, 5,000 ppm 노출군에서 유의한 증가 ($p<0.01$)를, CRTN도 1,250 ppm 노출군에서 유의한 감소 ($p<0.05$)를, T-CHO는 5,000 ppm 노출군에서 유의한 증가 ($p<0.05$)를 보였으나 이들 측정치는 모두 정상범위내의 변화로 판단되었다. ALT는 5,000 ppm 투여군에서 유의한 증가 ($p<0.05$)를 보였으나 정상범위내의 변화로 판단되었다. ALP는 5,000 ppm 노출군에서 유의한 감소 ($p<0.01$)를 보였으나 정상범위내의 변화로 판단되었다. T-BIL, GLU, AST에서는 유의한 변화가 없었다. 암컷의 CRTN은 2,500 ppm, 5,000 ppm 노출군에서 유의한 변화 ($p<0.05$)가, GLU는 2,500 ppm 노출군에서 유의한 감소 ($p<0.05$)를, ALT는 2,500 ppm, 5,000 ppm 노출군에서 유의한 증가 ($p<0.05$)를 보였으나 정상범위내의 변화로 판단되었다. TP, BUN, T-BIL, T-CHO, AST, ALP 등은 유의한 변화가 없었다.

(4) 병리조직학적 검사

대조군을 포함한 모든 동물의 각 장기에 대해 광학현미경을 이용 병리조직검사를 하였으나, 시험물질 투여에 의한 농도 의존적 병리학적 변화는 없었다. 단, 대조군 1례와 2,500 ppm 노출군 1례, 그리고 5,000 ppm 노출군 1례에서 정소내의 germ cell disappearance가 보였으며, 2,500 ppm 노출군 1례에서 정소 상체내 sperm aggregation이 보였으나 이는 시험물질에 의한 농도 의존적 영향으로 나타나지 않았으며 대조군을 포함 간헐적 관찰에 따라 개체 특이성으로 판단되었다.

따라서 병리조직검사 결과 노출기간 등 시험조건에 대한 차이성은 있으나 NIH(1991) 자료와 동일하게 시험물질 노출에 의한 병리조직학적으로 특이한 변화는 관찰되지 않았다. 그러나 MDL(2000)에서 밝힌 자극이나 중추신경 억제 작용에 의한 특이한 행동변화는 본 연구에서는 관찰되지 않았으며 이는 시험물질의 노출농도와 노출기간에 따른 차이로 해석하였다.

결 론

SD rats를 이용 1-hexene을 시험물질로하여 4시간 단 회 전신평로에 의한 급성흡입독성과 1일 6시간, 주 5일, 4주간 반복투여에 의한 흡입독성시험을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 4시간 전신평로에 의한 급성흡입 독성시험에서의 시험물질 폭로 후 생존동물에는 특이한 임상적 소견은 관찰되지 않았으며 사망 및 생존 동물에 의한 반수치사농도(LC₅₀)를 산출한 결과는 52,694 ppm (95% 신뢰한계; 49,494 ~ 55,447 ppm)이었다.

2. 반복투여 흡입독성시험에서는 시험물질 투여 기간 중 실험동물의 외관 및 활동성, 안구자극, 호흡이상 등의 특이적 이상 증상은 관찰되지 않았으며, 수컷의 2,500 ppm군과 5,000 ppm군에서 체중 및 사료 섭취량이 대조군에 비해 다소 저하 경향을 보였으나 통계적 유의차는 없었다. 병리학 적 검사결과에서는 5,000 ppm 수컷군에서 뇌와 암컷군의 신장 무게증가 증가하는 경향(p<0.01 ~ p<0.05)을 보였고, 5,000 ppm의 암컷군에서는 폐장의 무게감소경향(p<0.05)을 보였다. 그러나 혈액 및 생화학적 검사와 병리조직학적 검사에서는 대조군을 기준으로 하여 시험물질 노출군에 있어서 특이한 이상적 병변은 없었다.

따라서 본 연구에서는 1-Hexene을 rats에 1일 6시간, 주 5일 4주간 흡입노출시 생체에 미치는 최소영향농도(LOEL)는 2,500 ppm 이상이었으며 무영향농도(NOEL)는 500 ppm 이하로 평가되었다.

참 고 문 헌

김광중, 김현영, 윤수중, 이은일. 수용성 6가 크롬을 흡입 노출시킨 랫드의 체액과 적혈구중 크롬간의 관련성 연구. 한국산업위생학회지 2001; 11(1):26-33.

김현영, 윤효인, 이성배, 장범수, 정재황 등. Rats를 이용한 Iso-butylalcohol의 아만성 흡입독성 연구. 한국산업 위생학회지 1999; 9(2):66-78.

김현영, 유일재, 임철홍, 정용현, 맹승희 등. 랫드를 이용한 할로젠 화합물의 흡입독성 연구. 한국산업위생학회지 2000; 10(2):109-123.

정현욱, 강명규, 나춘기, 이성희. 독성학 개론. 동화기술. 1996; 227-231.

한국화학연구소. 기존화학물질의 안전성평가 계획수립. 1997.

한국환경독성학회. OECD 가입에 따른 화학산업계의 대처방안. 1997.

ACGIH, Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents, 1998.

Baker JT, MSDS Number H2740, Mullinckrodt Baker, INC., 2001.

Baumann R, Davis WM, and Schrock RR. Synthesis of Titanium and Zirconium Complexes That contain the Tridentate diamido Ligand, $[(t-Bu-d_6)N-o-C_6H_4)_2O]^{2-}$ ([NON]²⁻) and the Living Polymerization of 1-Hexene by Activated [NON]ZrMe₂. J. Am. Chem. Soc. 1997; 119:3830-3831.

Berlin G. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv fuer Experimentelle pathologie und Pharmakologie. NSAPCC 1929; 143:223.

Cadogan JIG *et al.* Dictionary of organic compounds : CHAPMAN & HALL, 6th Ed. vol. 4; 1996. p. 3523.

Chiappe C, Ruberies AD, Amato G and Gervasi PG. Stereochemistry of the Biotransformation of 1-Hexene and 2-Methyl-1-hexene with Rat Liver Microsomes and Purified P450s of Rats and Humans, Chem. Res. Toxicol. 1998; 11:1487-1493.

Chu KJ, Shan CLP, Soares JBP and Penlidis A. Copolymerization of ethylene and 1-hexene with in-situ supported Et[Ind]₂ZrCl₂. Macromol. Chem. Phys. 1999; 200(10):2372-2376.

Duluth. Toxicology and Applied Pharmacology. Academic press INC. 1971; 19(1):699.

Grandjean P. Percutaneous Absorption, Skin Penetration, Hazardous Chemicals at Work 1990. p. 3-34.

Hori H, Tanaka I, Ohnishi A, Inoue N and Akiyama T. A New Generator for Producing Propylene Oxide Vapor in Inhalation Toxicity Studies. J. Uoeh 1986; 8(2):169-176.

International Register of Potentially Toxic Chemicals (IRPTC), Databank, 1994.

Kim HY, Chung YH, Yi KH, Kim JG and Yu IJ. LC₅₀ of 2-Bromopropane. Industrial Health Short Communications 1996; 34:403-407.

Kim HY, Chung YH, Jeong JH, Lee YM, Sur GS *et al.* Acute and Repeated Inhalation Toxicity of 1-Bromopropane in SD rats. J. Occup. Health 1999; 41:121-128.

Kohyama N, Tanaka I, Tomita M and Kudo M. Preparation and Characteristics of Standard Reference Samples of

- Fibrous Minerals for Biological Experiments. *Industrial Health* 1997; 35 : 415-432.
- Lararew NW. Naunyn-Schemiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacolo 1999; 143 : 223.
- Lim CH and Yu IJ. Non-polar Solvent (toluene and styrene) enhance methanol skin absorption. *J. Toxicol. Pub. Health* 2000 *in press*.
- MDL Information System Inc., MSDS, 2000.
- Millischer RJ, Rooij CG, Rush GM, Farr CH, Ben-Dyke R *et al.* Evaluation of the Genotoxicity Potential and Chronic Inhalation Toxicity of 1,1-Dichloro-1-fluoroethane (HCFC-141b). *Fd Chem. Toxic.* 1995; 33(6) : 491-500.
- Mori K, Kaido M, Fujishiro K, Inoue N, Koide O *et al.* Dose dependent effects of inhaled ethylene oxide on spermatogenesis in rats. *British J. Indu. Med* 1991; 48 : 270-274.
- Naughton MJ and Drago RS. Supported Homogeneous Film Catalysts. *J. Catalysis* 1995; 155 : 383-389.
- NIH, National Toxicology Program Technical Report Series 1991; 206 : 3121.
- OECD. OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Chapter 4, 1981; No. 403.
- Palo Alto. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. Annual Reviews Inc. 1982; 22 : 145.
- Patty FA *et al.* U.S. Bur. Mines. Rep. Invest. 1998; No.2979
- Vega JF, Fernandez M, Santanar a A, Muñoz-Escalona A and Lafuente P. Rheological criteria to characterize metallocene catalyzed polyethylenes. *Macromol. Chem. Phys.* 1999; 200(10) : 2257-2268.
- Yamaguchi Y, Suzuki N, Fries A, Mise T, Koshino H *et al.* Stereospecific polymerization of 1-hexene catalyzed by ansa-metallocene/methylaluminumoxane systems under high pressures. *J. Poly. Sci. Part A-Poly. Chem.* 1999; 37(3) : 283-292.
- Yamamura Y. *Folia. Psychiatr. Neurol. Jpn.* 1988; 23 : 45.