

## F344 랫드를 이용한 이황화메틸의 아급성 흡입독성연구

김현영\* · 이성배 · 한정희 · 정용현 · 김형진<sup>1</sup> · 신진영<sup>2</sup> · 신동호<sup>2</sup> · 김종춘<sup>2</sup> · 이용득

산업안전보건연구원 산업화학물질연구센터, <sup>1</sup>한국생명공학연구원, <sup>2</sup>전남대학교 수의과대학

Received October 26, 2004 / Accepted November 29, 2004

**Subacute Inhalation Toxicity Study of Dimethyl Disulfide in F344 Rats.** Hyeon-Yeong Kim\*, Sung-Bae Lee, Jung-Hee Han, Yong-Hyun Chung, Hyoung-Chin Kim<sup>1</sup>, Jin-Young Shin<sup>2</sup>, Dong-Ho Shin<sup>2</sup>, Jong-Choon Kim<sup>2</sup> and Young-Mook Lee. *Industrial Chemicals Research Center, Industrial Safety and Health Research Institute, Korea Industrial Safety Corporation, Daejeon 305-380, Korea, <sup>1</sup>Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea, <sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwang-Ju 500-757, Korea* – The purpose of this study was to investigate the potential subacute toxicity of dimethyl disulfide by 3 weeks inhalation in F344 rats. The test article, dimethyl disulfide was exposed by inhalation to male and female rats at dose levels of 0, 5, 25, or 125 ppm/6 hrs/day for 3 weeks. Five rats/sex/group were sacrificed on day 4 after the initiation of treatment, while 5 rats/sex/group were sacrificed at the end of treatment period. During the test period, clinical signs, mortality, body weights, food consumption, hematology, serum biochemistry, and gross findings were examined. Slight decreases in body weight gain were noted in both sexes of the highest dose group in a dose dependent manner but were only statistically different from the control animals in males of the group. A slight non-significant reduction in food consumption were also noted in the both sexes of the highest dose group. There were no adverse effects on mortality, clinical signs, hematology, serum biochemistry, and necropsy findings at any dose tested. Based on these results, it was concluded that the 3 weeks repeated dose of dimethyl disulfide by inhalation resulted in suppressed body weight gain and decreased food consumption at 125 ppm of both sexes. In the present experimental conditions, the target organ was not determined in rats. The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was considered to be 25 ppm/6 hrs/day for both sexes.

**Key words** – Dimethyl disulfide, inhalation toxicity, no-observed-adverse-effect level, rats

산업과 과학기술이 발전함에 따라 화학물질의 종류와 사용량은 크게 증가하고 있다. 현재 전 세계적으로 약 1,200만 종의 화학물질이 존재하고, 그 중 10만여종 이상이 상업적으로 생산·판매되고 있으며, 매년 2천여 종의 새로운 화학물질이 개발되어 상품화되는 것으로 알려져 있다. 현대사회에서 이러한 화학물질은 매우 중요한 역할을 하는 반면 유해화학물질의 경우, 작업환경에서의 근로자나 제품 사용자에게 있어 유해적 영향이나 건강장해를 일으키기도 하며, 때로는 생태계 전반에 심각한 부작용을 유발하기도 한다[5,7,10,14]. 산업현장에서는 독성이 정확하게 판명되지 않은 새로운 유기용매나 원료 화학물질을 사용함으로써 기존에 보고되지 않은 새로운 유형의 중독사고가 증가하고 있는 실정이다. 1995년 양산 L 전자회사의 남여 근로자에서 발생한 무정자증(azoospermia)과 무월경증(amenorrhoea), 빈혈(anemia) 등의 산업재해는 반도체 세정제로 사용했던 2-bromopropane이 원인물질인 것으로 확인된 바 있어[12,13,16], 산업현장에서 화학물질의 노출에 의한 근로자의 안전성 문제가 국가적 관심사로 부각되고 있다. 특히, 휘발성이 강하거나 비산되

기 쉬운 독성화학물질은 국민건강에 대한 위해성이 높고, 환경에 악영향을 끼칠 가능성이 높기 때문에 이들 물질들에 대해서는 산업안전보건법이나 유해화학물질관리법에서 별도 지정하여 제조, 사용, 취급 및 관리에 대한 규정을 통해 엄격히 관리되고 있다.

황화계 악취물질들은 황이 함유된 화학물질을 취급하는 각종 산업 현장이나 석유화학단지(석유 함유 불순물), 각종 환경처리 기초시설이나 하수, 폐수 및 대기 처리시설의 환경정화장치, 생활폐기물 등에서 주로 발생한다. 특히, 황화수소( $H_2S$ ), 메틸메르캅탄( $CH_3SH$ ), 황화메틸( $(CH_3)_2S$ ), 이황화메틸( $(CH_3)_2S_2$ ) 등은 대표적인 악취물질로 유독가스의 지표로 알려져 있어 대기 중으로의 배출은 엄격히 규제되고 있다[4,8,17,20].

이황화메틸(dimethyl disulfide)은 석유화학물질의 정제 및 제조과정에서의 부산물, 펄프제조공장이나 쓰레기 처리장, 수산식품 제조공장, 분뇨 처리장 등에서 발생하는 휘발성 액체로서, OECD (organisation for economic cooperation and development)에서는 대량생산화학물질(high production volume, HPV) 5,000종 중 1343번으로 등재되어 있으나 2003년 12월까지 대량생산화학물질 위해성평가(screening information data set, SIDS) 물질에는 포함되어 있지 않고 있

### \*Corresponding author

Tel : +82-42-863-8183, Fax : +82-42-863-8361

E-mail : k89135@kosha.net

다. 2003년 말 현재 미국 NTP (national toxicology program)에서는 본 시험물질에 대한 복귀돌연변이시험의 결과는 음성으로 판정하고 있으나, 흡입독성시험을 포함한 다른 독성 시험에 대한 결과는 매우 제한적으로 보고되어 있다. 랫드에서의 경구 반수치사량(median lethal dose, LD<sub>50</sub>)은 190 mg/kg이며, 경구 섭취시 위장관계를 자극하고, 폐로 흡인되어 폐부종과 폐렴을 유발한다[1]. 토끼에서 경피적용시 LD<sub>50</sub>은 2,000 mg/kg 이상이며, 액체나 증기형태로 눈이나 피부에 접촉하게 되면 심한 자극성을 나타내고, 피부를 통해서 흡수가 된다. 흡입독성 시험에서는 랫드 반수치사농도(median lethal concentration, LC<sub>50</sub>)가 805 ppm/4 hrs로서, 혈떡거림과 기침, 천속 호흡, 입과 인후 및 폐의 화상을 유발하며, 단기적인 반복 흡입 노출시, 안구와 코 및 호흡기도에 자극성과 체중 감소, 적혈구수 및 일부 혈액생화학치의 변화, 그리고 코의 조직학적 변화를 유발한다고 한다[1]. 상기한 바와 같이 이황화메틸에 대한 독성학적 영향에 관한 연구는 미미한 실정으로 장기적 노출에 의한 독성과 무해용량 및 표적장기 등에 대한 보고는 거의 없으며, 일일허용섭취량도 설정되어 있지 않은 것으로 알려져 있다. 최근에는 본 물질의 생산량 및 사용량이 증가하고 있어, 위해성은 크게 증가하고 있는 실정이다. 따라서 국민건강보호와 관련 산업체 근로자들의 안전사고 예방 및 사고 발생시 신속한 원인규명과 대책수립 등을 위해서는 반복노출에 의한 생체영향과 특성을 조사하고, 확실 중독량과 무해용량(no observed adverse effect level, NOAEL) 및 표적장기(target organ)를 규명하는 연구가 시급하다.

본 시험은 독성물질국가관리사업(Korea National Toxicology Program, KNTF)의 일환으로 수행한 이황화메틸의 90일간 반복 흡입독성시험에서 21일간 반복 흡입노출에 의해 유발된 아급성독성 영향을 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시험동물 및 사육환경

본 시험에서는 5주령의 특정병원체 부재(specific pathogen free, SPF) F344 랫드를 Charles River Japan에서 분양받아 1주일간의 순화 및 검역을 거친 뒤 건강하다고 판단된 것을 선발하여 시험에 공시하였다. 순화 후 측정된 체중을 기준으로 하여 군별 체중 편차가 최소화 되도록 각 군에 무작위로 분배하였다. 차폐시설(barrier system)내의 동물실에 설치된 4대의 흡입챔버(inhalation chamber)를 대조군과 저용량군, 중간용량군 및 고용량군으로 구분하여 사용하였고, 5연식 스테인레스 철망케이지에 동물을 개체별로 수용하였다. 사육 조건은 온도 22±3℃, 상대습도 50±20% (단, 시험물질 투여시는 제외), 환기회수 12~15회/시간, 조명 150~300 Lux로 12시간(인공조명, 오전 8시~오후 8시)으로 하였으며, 사료는 실험동물용 멸균사료 LabDiet 5002 (PMI Nutrition, USA)를,

물은 자외선 유수 살균기로 소독시킨 상수도수를 자유롭게 섭취토록 하였다.

### 시험물질

시험물질인 이황화메틸은 Merck사에서 구입한 시약용 1급(Lot No. S36367344)을 가스발생기로 기화시켜 사용하였으며, 대조물질은 Hepa filter 및 온습도 조절을 통해 정화된 청정공기를 사용하였다.

### 시험물질 노출 및 환경모니터링

시험물질의 노출은 사람에서의 주요 노출경로인 흡입경로로 하였으며, 내부용적 1 m<sup>3</sup>의 흡입챔버(Sibata Co., Japan)와 흡입시험시설을 이용하여 전신노출에 의한 흡입노출로 하였다. 시험물질은 gas generator (Sibata Co., Japan)를 이용하여 가열(40℃) 기화시킨 후 일정량을 청정공기와 혼합하여 설정농도로 조절한 후 흡입챔버 내로 공급하여 실험동물에 전신 노출시켰다. 시험물질 노출 중 각 군별 흡입챔버 내의 온도, 습도, 압력, 환기량은 챔버 내에 부착된 센서와 환경제어장치(Sibata Co., Japan)를 이용하여 30분에 1회씩 측정하였고, 시험물질의 농도는 자동 sampling 장치가 부착된 가스분광기(gas chromatography, Shimadzu, Japan)를 이용하여 노출 기간(6시간/1일)중 15분에 1회씩 확인하였다. 시험기간 중 측정된 결과는 설정치의 ±5% 이내의 범위에서 실험동물에 투여되었음을 확인하였다.

### 시험군의 구성 및 용량설정 근거

용량설정을 위한 예비시험에서 0, 33, 100 및 300 ppm의 농도로 2주간 반복 흡입노출한 결과, 수컷에서는 300 ppm 용량에서 체중증가의 억제와 사료섭취량의 감소가 관찰되었고, 암컷에서는 33 ppm 이상에서 체중증가의 억제와 100 ppm 이상에서 사료섭취량의 감소를 유발하였다. 따라서 2주간 반복 노출에 의한 이황화메틸의 무해용량(no-observed-adverse-effect level)은 수컷의 경우 100 ppm이고, 암컷의 경우 33 ppm 이하인 것으로 나타났다. 상기 결과를 근거로 하여 본 시험에서는 독성조건이 나타나지 않는 무해 용량과 명확한 독성조건이 나타나는 확실중독량을 산출하기 위해 최저용량은 5 ppm/6 hrs/day로 설정하였고, 공비 5를 적용하여 25 및 125 ppm/6 hrs/day의 중용량 및 최고용량과 부형제대조군(vehicle control)을 추가하였다. 각 시험군당 동물수는 암수 각각 20마리로 하였고, 투여개시 후 4일 및 21일째에 각 군당 암수 5마리씩을 부검하였다.

### 일반증상 및 사망의 관찰

검역 및 순화기간에는 매일 1회씩 모든 동물에 대해 관찰하였고, 시험물질 노출기간에는 매일 투여 전과 후에 1회씩 일반증상 및 사망의 유무에 관하여 관찰하였다. 단, 이상 증

상이 발현되면 증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 개체별로 기록하였다.

#### 체중측정

동물 입수시와 순화 종료 후 시험군 분리시에 체중을 측정하였고, 시험기간 중에는 주 1회 이상 개체별로 측정하였다.

#### 사료섭취량 측정

사료 섭취량은 주 1회씩 측정하였다. 체중측정일에 정량을 급여하고 익일에 잔량을 측정하여 개체별 일일 사료섭취량(g/rat/day)을 산출하였고, 이를 이용하여 군별 마리당 일일 평균 사료섭취량으로 환산하였다.

#### 부검

투여 개시 후 4일 및 21일째에 각 군당 암수 5마리씩을 sodium pentobarbital (중외제약, 서울)으로 경마취한 후 부검하여 모든 주요 장기 및 조직의 이상유무를 육안적으로 관찰하였다.

#### 혈액학적 검사

투여 개시 후 4일 및 21일째에 각 군당 암수 5마리씩을 하룻밤 절식시키고, 익일 오전에 부검하여 후대정맥으로부터 채혈하였다. 혈액검체는 혈액 응고방지제로 EDTA-2K가 들어 있는 CBC 채혈병에 채집하였으며, 자동혈구 계수기(Hemavet 850, CDC Technology, USA)를 이용하여 백혈구수(white blood cell, WBC), 적혈구수(red blood cell, RBC), 혈색소농도(hemoglobin concentration, HGB), 적혈구용적(hematocrit, HCT), 평균 적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균 적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균 적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 혈소판수(platelet or thrombocyte count, PLT), 적혈구 분포대(RBC distribution width, RDW) 및 평균 혈소판용적(mean platelet volume, MPV)을 측정하였다.

#### 혈청생화학적 검사

부검시 후대정맥으로부터 채혈된 혈액을 혈청분리관(Iatron Laboratoies, Inc., Japan)에 넣고 15분간 상온에 방치하였다가 2,800 rpm으로 10 분간 원심분리하였다. 얻어진 혈청은 -80℃의 저온 냉동기에 분석할 때까지 보관하였다. 혈청생화학분석기(TBA20-FR, Toshiba Co., Japan)를 이용하여 AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), 총단백질(total protein), BUN (blood urea nitrogen), 크레아티닌(creatinine), 혈당(glucose), 총빌리루빈(total bilirubin), 총콜레스테롤(total cholesterol), ALP (alkaline phosphatase) 및 LDH (lactate dehydrogenase) 항목에 대해서 분석하였다.

#### 통계학적 분석

시험자료에 대한 통계분석은 GraphPad InStat v. 3.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA)을 이용하여 실시하였다. 시험결과는 가능한 한 평균값과 표준편차로 표기하였으며, 체중과 사료섭취량, 혈액학치 및 혈액생화학치는 일원배치분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시한 후 유의성이 인정되면 군간 차이를 조사하기 위해 Dunnett 다중비교법[6]으로 유의차를 조사하였다. 전체적으로 검정의 유의수준은 1% 혹은 5%에서 검사하였다.

## 결 과

#### 일반증상 및 사망률

21일간의 시험기간 중 암수동물의 일반증상을 관찰한 결과, 시험물질의 노출에 기인된 일반증상이나 사망동물은 관찰되지 않았다.

#### 체중변화

시험기간 중 암수동물의 체중변화는 Table 1에 요약하였다. 수컷동물의 경우, 125 ppm 군에서 투여개시 후 3일째의 체중이 부형제대조군에 비해 통계학적 유의성은 인정되지 않았으나 투여 전 체중에 비해 감소하였고, 투여개시 후 13일 및 20일째의 체중은 부형제대조군에 비해 각각 통계학적으로 유의성 있게 감소하였다. 암컷은 125 ppm 군에서 투여개시 후 3일째의 체중이 대조군에 비해 통계학적 유의성은 인정되지 않았으나 투여 전 체중에 비해 감소하였으며, 투여개시 후 13일 및 20일째의 체중은 부형제대조군에 비해 통계학적 유의성은 인정되지 않았으나 약 10%의 체중감소를 나타내었다.

#### 사료섭취량

사료섭취량측정 결과(Fig. 1), 수컷동물은 대조군과 5, 25 및 125 ppm 군의 순으로 마리당 일일평균  $17.1 \pm 2.56$ ,  $16.8 \pm 2.96$ ,  $14.4 \pm 2.36$  및  $15.2 \pm 2.74$  g을 섭취하였고, 암컷동물은 마리당 일일평균  $11.5 \pm 1.47$ ,  $11.4 \pm 1.78$ ,  $10.9 \pm 1.85$  및  $10.2 \pm 1.36$  g을 섭취하였다. 시험물질 투여군의 섭취량은 대조군에 비해 통계학적 유의차는 인정되지 않았지만 암수 모두 최용량군에서의 섭취량이 감소경향을 나타내었다.

#### 육안적 부검소견

투여개시 후 4일 및 21일째에 각 군당 암수 5마리씩을 부검하여 육안적으로 관찰한 결과, 시험물질의 투여에 기인된 어떠한 이상소견도 인정되지 않았다.

#### 4일째 부검군의 혈액 및 혈청생화학적 소견

4일째 부검군의 혈액학적검사 결과, 수컷 5 ppm 군에서

Table 1. Body weight changes in male and female rats exposed to dimethyl disulfide for 21 days

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	5	25	125
<i>Male</i>				
Day 0 (n=10) <sup>a</sup>	141.1±10.52 <sup>b</sup>	141.3±8.85	138.6±9.35	141.1±10.49
Day 3 (n=10)	147.7±10.44	143.9±8.85	140.5±7.89	137.6±9.89
Day 6 (n=5)	161.8±11.25	157.7±9.92	152.9±9.30	149.2±12.46
Day 13 (n=5)	183.9±14.82	175.9±10.34	168.5±8.09	160.5±14.96*
Day 20 (n=5)	198.3±16.77	193.6±10.67	182.9±8.17	172.7±16.42*
<i>Female</i>				
Day 0 (n=10)	110.7±7.67	110.6±7.97	114.7±4.71	111.8±8.57
Day 3 (n=10)	115.0±8.41	112.0±8.23	113.2±8.87	108.6±8.58
Day 6 (n=5)	121.1±8.16	118.6±8.74	119.1±8.63	114.4±8.03
Day 13 (n=5)	128.7±8.27	127.1±8.39	125.4±7.02	118.8±7.92
Day 20 (n=5)	137.8±10.67	136.5±9.00	133.1±8.31	123.9±8.56

<sup>a</sup>Number of animals in parentheses.

<sup>b</sup>Values are presented as mean±SD (g).

\*Indicates significant difference at P<0.05 level when compared with the control group.

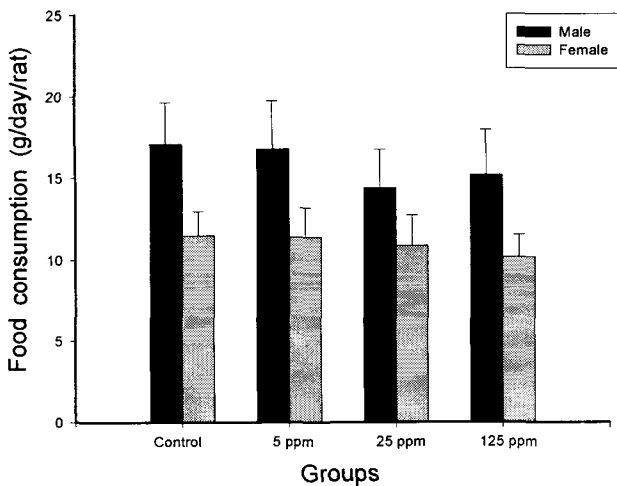


Fig. 1. Daily mean food consumption of male and female rats exposed to dimethyl disulfide for 21 days.

적혈구수와 적혈구 용적이 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였고, 수컷 25 ppm 군에서 혈색소량이 유의성있게 감소하였다(Table 2). 4일째 부검군의 혈청생화학검사 결과, 수컷동물에서는 25 ppm 군에서 ALT가 대조군에 비해 유의성있게 증가하였고, 125 ppm 군에서는 혈중요소질소와 AST, ALT, 및 LDH가 대조군에 비해 각각 유의성있게 감소하였다(Table 3). 한편, 암컷동물에서는 모든 투여군에서 어떠한 혈액 및 혈청생화학치의 이상도 관찰되지 않았다.

**21일째 부검군의 혈액 및 혈청생화학적 소견**

21일째에 부검한 암수동물의 혈액학적검사 결과, 암수 모두 대조군과 투여군간에 통계학적으로 유의성있는 혈액학적 변화는 인정되지 않았다(Tables 4 및 5). 혈청생화학검사 결

과, 수컷 투여군에서는 대조군과 비교하여 어떠한 혈청생화학치의 변화도 인정되지 않았으나 암컷 5 ppm 군에서는 크레아티닌 수치가 부형제대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 증가하였다(Table 6).

**고 찰**

본 시험은 이황화메틸의 반복 흡입노출에 의한 아급성 독성을 평가하기 위해 암수 랫드에게 0, 5, 25 및 125 ppm 용량으로 21일간 반복 노출하고, 일반증상과 체중, 사료섭취량, 혈액치, 혈청생화학치 및 부검소견을 관찰하였다. 시험결과, 랫드에 있어서 이황화메틸의 아급성 흡입노출은 체중증가의 억제와 사료섭취량의 감소를 유발하지만, 혈액 및 혈청생화학치에는 어떠한 변화도 유발하지 않는 것으로 나타났다.

일반증상 관찰 결과, 125 ppm 이하의 농도에서 21일간 반복 흡입노출은 암수동물의 일반증상에 어떠한 영향도 끼치지 않는 것으로 나타났다. 이전 연구결과에 따르면, 랫드에 1회 흡입노출시 LC<sub>50</sub>는 805 ppm/4 hrs로서 혈떡거림과 기침, 짧은 호흡, 입과 인후 및 폐의 화상을 유발한다고 한다 [19]. 상기 결과와 본 시험 결과간의 이러한 명백한 차이는 노출용량의 차이가 가장 큰 원인으로 사료된다.

체중측정시 암수 125 ppm 군에서 관찰된 체중증가의 억제 또는 체중감소는 명확한 용량의존성을 나타내었고, 또한 암수 공히 일치하는 것으로 보아 시험물질의 투여에 기인된 것으로 사료된다. 이전 연구에 따르면, 본 시험물질과 유사한 황화계 악취물질인 메틸메르캡탄을 랫드에게 0, 2, 17 및 57 ppm으로 13주간 반복 흡입 노출한 결과, 17 ppm 이하 용량에서는 어떠한 독성소견도 유발되지 않았으나 57 ppm 용량에서는 현저한 체중감소(약 15%)가 초래되었다고 한다[19].

Table 2. Hematological findings in male rats exposed to dimethyl disulfide for 4 days

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	5	25	125
RBC ( $\times 10^{12}/l$ )	8.05 $\pm$ 0.37 <sup>a)</sup>	6.96 $\pm$ 0.22*	7.50 $\pm$ 0.51	7.53 $\pm$ 0.82
Hemoglobin (g/dl)	14.26 $\pm$ 0.50	13.80 $\pm$ 0.36	13.30 $\pm$ 0.54*	14.08 $\pm$ 0.40
Hematocrit (%)	45.48 $\pm$ 1.81	39.02 $\pm$ 1.77*	42.20 $\pm$ 2.90	41.84 $\pm$ 4.64
MCV (fl)	56.54 $\pm$ 0.34	56.04 $\pm$ 1.02	56.20 $\pm$ 0.25	55.54 $\pm$ 0.40
MCH (pg)	17.72 $\pm$ 0.83	19.84 $\pm$ 0.84	17.80 $\pm$ 1.93	18.88 $\pm$ 1.99
MCHC (g/dl)	31.36 $\pm$ 1.36	35.40 $\pm$ 1.94	31.60 $\pm$ 3.44	33.94 $\pm$ 3.60
Platelet ( $\times 10^9/l$ )	721.6 $\pm$ 34.8	664.4 $\pm$ 89.37	630.6 $\pm$ 46.08	604.6 $\pm$ 83.18
RDW (%)	15.24 $\pm$ 0.39	15.12 $\pm$ 0.40	15.50 $\pm$ 0.20	15.30 $\pm$ 0.40
WBC ( $\times 10^9/l$ )	4.74 $\pm$ 0.66	4.35 $\pm$ 0.72	4.30 $\pm$ 0.23	3.75 $\pm$ 0.48
Neutrophils ( $\times 10^9/l$ )	0.78 $\pm$ 0.16	0.73 $\pm$ 0.24	0.70 $\pm$ 0.16	0.65 $\pm$ 0.15
Lymphocytes ( $\times 10^9/l$ )	3.84 $\pm$ 0.53	3.47 $\pm$ 0.45	3.40 $\pm$ 0.25	3.00 $\pm$ 0.47
Monocytes ( $\times 10^9/l$ )	0.12 $\pm$ 0.06	0.14 $\pm$ 0.07	0.10 $\pm$ 0.05	0.09 $\pm$ 0.03
Eosinophils ( $\times 10^9/l$ )	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.01
Basophils ( $\times 10^9/l$ )	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00

<sup>a</sup> Values are presented as mean  $\pm$  SD (n=5).

\* Indicates significant difference at P<0.05 level when compared with the control group.

RBC, red blood cells; WBC, white blood cells; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width.

Table 3. Serum biochemical findings in male rats exposed to dimethyl disulfide for 4 days

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	5	25	125
TP (g/dl)	5.89 $\pm$ 0.15 <sup>a)</sup>	5.69 $\pm$ 0.22	5.77 $\pm$ 0.19	5.80 $\pm$ 0.41
ALB (g/dl)	4.00 $\pm$ 0.10	3.86 $\pm$ 0.17	3.86 $\pm$ 0.15	4.04 $\pm$ 0.17
BUN (mg/dl)	23.14 $\pm$ 1.76	20.80 $\pm$ 2.11	19.94 $\pm$ 2.02	18.84 $\pm$ 1.87*
CRTN (mg/dl)	0.62 $\pm$ 0.05	0.56 $\pm$ 0.06	0.62 $\pm$ 0.05	0.68 $\pm$ 0.08
T-BIL (mg/dl)	0.37 $\pm$ 0.09	0.35 $\pm$ 0.06	0.36 $\pm$ 0.05	0.38 $\pm$ 0.07
AST (IU/l)	126.40 $\pm$ 9.76	125.60 $\pm$ 4.28	125.80 $\pm$ 10.04	101.60 $\pm$ 4.67**
ALT (IU/l)	39.60 $\pm$ 2.07	44.20 $\pm$ 3.90	45.60 $\pm$ 2.30*	33.40 $\pm$ 1.52**
LDH (IU/l)	2585.6 $\pm$ 616.6	2302.6 $\pm$ 417.2	2496.8 $\pm$ 357.2	1633.6 $\pm$ 377.3*
ALP (IU/l)	939.8 $\pm$ 40.51	877.4 $\pm$ 84.47	858.0 $\pm$ 50.55	818.8 $\pm$ 105.5
GLU (mg/l)	108.20 $\pm$ 9.94	114.60 $\pm$ 13.80	101.80 $\pm$ 3.19	125.60 $\pm$ 11.19
T-CHO (mg/dl)	43.20 $\pm$ 2.78	42.80 $\pm$ 2.59	45.60 $\pm$ 2.70	48.60 $\pm$ 4.72

<sup>a</sup> Values are presented as mean  $\pm$  SD (n=5).

\* Indicates significant difference at P<0.05 level when compared with the control group.

\*\* Indicates significant difference at P<0.01 level when compared with the control group.

TP, total protein; ALB, albumin; BUN, blood urea nitrogen; CRTN, creatinine; T-BIL, total bilirubin; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; GLU, glucose; T-CHO, total cholesterol.

일반적으로 이황화메틸 등의 용제에 노출시 안구나 상부기도의 점막자극과 표피장벽의 투과성증진에 따른 흡수촉진으로 주로 중추신경계나 간장, 신장, 호흡기, 피부 등에 부작용을 초래하게 된다[3,18]. 본 시험에서는 이황화메틸의 무해용량을 산출하기 위해 상대적으로 저독성용량으로 랫드에게 반복노출한 결과, 체중에서는 명확한 독성영향이 인정되었으나 실질장기의 손상과 관련된 독성학적 변화는 인정되지 않았다. 화학물질의 일반독성 평가시, 체중의 변화는 독성영향에 대한 민감한 표지자로서 잘 알려져 있다[2,11].

사료섭취량 측정결과, 중용량 및 고용량군에서의 사료섭취량이 대조군에 비해 통계학적 유의차는 인정되지 않았지만 감소경향을 나타내었다. 사료섭취량의 감소는 체중증가의 억제와 일치하는 소견으로서 이황화메틸의 투여가 식욕부진(anorexia)을 초래하고, 이로 인해 체중증가의 억제를 유발한 것으로 사료된다.

혈액학적 검사시, 4일째 부검군의 수컷 5 ppm 군에서 관찰된 적혈구수와 적혈구 용적의 감소, 그리고 수컷 25 ppm 군에서 관찰된 혈색소의 감소는 용량상관성이 인정되지 않

Table 4. Hematological findings in male rats exposed to dimethyl disulfide for 21 days

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	5	25	125
RBC ( $\times 10^{12}/l$ )	7.99 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	8.23 $\pm$ 0.29	8.20 $\pm$ 0.28	8.38 $\pm$ 0.42
Hemoglobin (g/dl)	14.16 $\pm$ 0.24	14.82 $\pm$ 0.49	13.80 $\pm$ 0.26	14.04 $\pm$ 0.67
Hematocrit (%)	41.60 $\pm$ 1.28	43.26 $\pm$ 1.19	42.80 $\pm$ 1.14	43.18 $\pm$ 2.22
MCV (fl)	52.08 $\pm$ 0.74	52.58 $\pm$ 0.55	52.40 $\pm$ 1.43	51.52 $\pm$ 0.99
MCH (pg)	17.76 $\pm$ 0.58	18.04 $\pm$ 0.84	16.90 $\pm$ 0.82	16.78 $\pm$ 0.67
MCHC (g/dl)	34.08 $\pm$ 1.23	34.28 $\pm$ 1.46	32.30 $\pm$ 1.14	32.52 $\pm$ 1.00
Platelet ( $\times 10^9/l$ )	638.8 $\pm$ 86.1	635.2 $\pm$ 34.1	638.0 $\pm$ 54.9	582.4 $\pm$ 29.0
RDW (%)	14.28 $\pm$ 0.56	14.66 $\pm$ 0.20	14.70 $\pm$ 0.38	15.06 $\pm$ 0.54
WBC ( $\times 10^9/l$ )	3.84 $\pm$ 0.71	3.96 $\pm$ 1.10	3.80 $\pm$ 0.41	3.51 $\pm$ 0.35
Neutrophils ( $\times 10^9/l$ )	0.63 $\pm$ 0.23	0.58 $\pm$ 0.30	0.50 $\pm$ 0.12	0.55 $\pm$ 0.14
Lymphocytes ( $\times 10^9/l$ )	3.14 $\pm$ 0.55	3.30 $\pm$ 0.74	3.30 $\pm$ 0.45	2.91 $\pm$ 0.34
Monocytes ( $\times 10^9/l$ )	0.06 $\pm$ 0.04	0.08 $\pm$ 0.06	0.10 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.03
Eosinophils ( $\times 10^9/l$ )	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Basophils ( $\times 10^9/l$ )	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00

<sup>a</sup> Values are presented as mean  $\pm$  SD (n=5).

RBC, red blood cells; WBC, white blood cells; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width.

Table 5. Hematological findings in female rats exposed to dimethyl disulfide for 21 days

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	5	25	125
RBC ( $\times 10^{12}/l$ )	8.15 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	8.02 $\pm$ 0.54	8.12 $\pm$ 0.69	7.77 $\pm$ 0.43
Hemoglobin (g/dl)	14.60 $\pm$ 0.25	14.26 $\pm$ 0.49	14.70 $\pm$ 1.11	14.30 $\pm$ 0.92
Hematocrit (%)	45.42 $\pm$ 1.57	45.24 $\pm$ 2.53	45.18 $\pm$ 3.95	42.68 $\pm$ 2.47
MCV (fl)	55.70 $\pm$ 1.15	56.38 $\pm$ 0.77	55.62 $\pm$ 0.47	54.94 $\pm$ 0.99
MCH (pg)	17.92 $\pm$ 0.68	17.82 $\pm$ 1.11	18.18 $\pm$ 1.38	18.40 $\pm$ 1.24
MCHC (g/dl)	32.18 $\pm$ 1.30	31.60 $\pm$ 1.66	32.62 $\pm$ 2.32	33.56 $\pm$ 2.39
Platelet ( $\times 10^9/l$ )	574.4 $\pm$ 23.5	564.0 $\pm$ 45.7	570.0 $\pm$ 84.5	525.6 $\pm$ 52.0
RDW (%)	15.02 $\pm$ 0.04	15.30 $\pm$ 0.29	14.82 $\pm$ 0.59	15.08 $\pm$ 0.54
WBC ( $\times 10^9/l$ )	2.96 $\pm$ 0.51	3.09 $\pm$ 0.51	3.58 $\pm$ 0.22	2.58 $\pm$ 0.12
Neutrophils ( $\times 10^9/l$ )	0.56 $\pm$ 0.20	0.46 $\pm$ 0.12	0.63 $\pm$ 0.23	0.49 $\pm$ 0.10
Lymphocytes ( $\times 10^9/l$ )	2.34 $\pm$ 0.33	2.55 $\pm$ 0.42	2.83 $\pm$ 0.30	2.02 $\pm$ 0.13
Monocytes ( $\times 10^9/l$ )	0.04 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.02
Eosinophils ( $\times 10^9/l$ )	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.01	0.00 $\pm$ 0.00
Basophils ( $\times 10^9/l$ )	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00

<sup>a</sup> Values are presented as mean  $\pm$  SD (n=5).

RBC, red blood cells; WBC, white blood cells; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width.

았고, 또한 랫드에서 관찰되는 정상범위내의 변화[9,21]여서 시험물질의 투여와는 관련이 없는 우발적인 소견(incidental finding)으로 사료된다. 혈청생화학 검사시, 4일째 부검군의 수컷 25 ppm 군에서 관찰된 ALT의 증가와 수컷 125 ppm 군에서 관찰된 AST와 ALT 및 LDH의 감소 역시 용량상관성이 결핍되어 시험물질의 투여와는 관련성이 없는 우발적 변화로 판단된다. 혈중요소질소는 크레아티닌과 함께 신기능을 평가하는 중요한 생물학적 표지자로서 신기능 손상시 혈중 농도가 증가하는 것으로 잘 알려져 있다[15]. 본 시험의 경우, 4일째 부검군의 수컷 125 ppm 군에서 혈중요소질소의

농도가 감소하였는데, 이는 독성학적으로 의미없는 소견으로 판단된다. 투여개시 후 21일째에 암컷 5 ppm 군에서 관찰된 크레아티닌의 증가는 용량상관성이 인정되지 않았고, 또한 관련된 다른 항목에서의 일치되는 변화도 관찰되지 않아 우발적인 소견으로 판단된다.

본 시험의 독성평가물질인 이황화메틸은 최근 생산량 및 사용량이 증가하고 있어, 사람에게 대한 위해성은 크게 증가하고 있는 실정이나 독성학적 평가는 매우 제한적으로 수행되었다. 특히, 흡입노출에 의한 독성학적 영향은 단기 노출에 의한 급성독성만 보고되었을 뿐 반복노출에 의한 아급성독

Table 6. Serum biochemical findings in female rats exposed to dimethyl disulfide for 21 days

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	5	25	125
TP (g/dl)	6.56 ± 0.40a	6.74 ± 0.57	6.74 ± 0.26	6.35 ± 0.18
ALB (g/dl)	4.32 ± 0.24	4.44 ± 0.34	4.48 ± 0.11	4.22 ± 0.11
BUN (mg/dl)	26.64 ± 1.23	27.46 ± 3.33	27.10 ± 3.63	25.34 ± 2.94
CRTN (mg/dl)	0.84 ± 0.09	0.96 ± 0.06*	0.94 ± 0.06	0.90 ± 0.00
T-BIL (mg/dl)	0.47 ± 0.11	0.59 ± 0.16	0.55 ± 0.06	0.47 ± 0.07
AST (IU/l)	154.40 ± 27.84	163.00 ± 12.39	155.20 ± 12.15	145.00 ± 8.52
ALT (IU/l)	43.00 ± 5.34	43.00 ± 7.91	43.00 ± 4.30	38.80 ± 4.21
LDH (IU/l)	2838.6 ± 630.3	3217.6 ± 316.3	2773.4 ± 666.7	2479.8 ± 283.0
ALP (IU/l)	627.8 ± 55.75	638.8 ± 52.73	678.2 ± 91.51	561.0 ± 41.58
GLU (mg/l)	102.00 ± 3.00	109.60 ± 10.07	101.40 ± 19.57	112.00 ± 15.75
T-CHO (mg/dl)	74.20 ± 4.76	74.20 ± 18.70	73.80 ± 5.07	72.00 ± 4.12

<sup>a</sup> Values are presented as mean ± SD (n=5).

\* Indicates significant difference at P<0.05 level when compared with the control group.

TP, total protein; ALB, albumin; BUN, blood urea nitrogen; CRTN, creatinine; T-BIL, total bilirubin; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; GLU, glucose; T-CHO, total cholesterol.

성이나 만성독성에 대해서는 전혀 알려져 있지 않다. 따라서, 본 시험에서 얻어진 21일간의 반복 흡입독성시험결과는 이 황화메틸의 유해성 평가자료로서 뿐만 아니라 산업현장에서 작업환경 관리를 위한 노출기준 설정의 기초자료로서 유용하게 이용될 것으로 판단된다.

## 요 약

이황화메틸의 반복 흡입노출에 의한 아급성 독성 잠재력을 평가하기 위해 암수 랫드에게 0, 5, 25 및 125 ppm 용량으로 21일간 반복 흡입노출하고, 일반증상과 체중, 사료섭취량, 혈액치, 혈청생화학치 및 부검소견을 관찰하였다. 시험결과, 랫드에게 이황화메틸을 3주간 반복 흡입노출하면 125 ppm의 농도에서 체중증가의 억제와 사료섭취량의 감소를 유발하나, 혈액 및 혈청생화학치에는 어떠한 이상도 유발하지 않는 것으로 나타났다. 본 시험 조건하에서 이황화메틸의 표적장기는 관찰되지 않았으며, 무해용량은 암수 모두 25 ppm으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청의 2004년도 독성물질 국가관리체계 구축사업의 수탁연구로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. ATOPINA Chemicals, Inc. 2003. Dimethyl disulfide: Material Safety Data Sheet. Available from <http://www.e-organicchemicals.com/thio>.
2. Bailey, S. A., R. H. Zidell and R. W. Perry. 2004. Relationships between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical endpoint? *Toxicol. Pathol.* **32**, 448-466.
3. Baker, E. L. 1994. A review of recent research on health effects of human occupational exposure to organic solvents. A critical review. *J. Occup. Med.*, **36**, 1079-92.
4. Chung, Y. C., C. Huang and C. P. Tseng. 2001. Biological elimination of H<sub>2</sub>S and NH<sub>3</sub> from waste gases by biofilter packed with immobilized heterotrophic bacteria. *Chemosphere*, **43**, 1043-1050.
5. Colborn, T., D. Dumanoski and J. P. Myers. 1996. *Our Stolen Future. Are we threatening our fertility, intelligence and survival? A scientific detective story.* pp. 1-385, Penguin Book USA, New York, USA.
6. Dunnett, C. W. 1964. New tables for multiple comparisons with a control. *Biometrics*, **20**, 482-491.
7. Guillette, L. J. Jr. and E. A. Guillette. 1996. Environmental contaminants and reproductive abnormalities in wildlife: implications for public health? *Toxicol. Ind. Health*, **12**, 537-550.
8. Jappinen, P., J. Kangas, L. Silakoski and H. Savolainen. 1993. Volatile metabolites in occupational exposure to organic sulfur compounds. *Arch. Toxicol.*, **67**, 104-106.
9. Kang, B. H., H. Y. Son, C. S. Ha, H. S. Lee and S. W. Song. 1995. Reference values of hematology and serum chemistry in Ktc: Sprague-Dawley rats. *Korean J. Lab. Anim. Sci.*, **11**, 141-145.
10. Kim, H. Y., J. H. Jeong, Y. H. Chung, Y. M. Lee and K. S. Sur. 1998. Study on the acute and sub-acute inhalation toxicity of 1-bromopropane in SD rats. *Korean Ind. Hyg. Assoc. J.*, **8**, 272-288
11. Kim, J. C., B. H. Kang, C. C. Shin, Y. B. Kim, H. S. Lee, C. Y. Kim, J. Han, K. S. Kim, D. W. Chung and M. K.

1. ATOPINA Chemicals, Inc. 2003. Dimethyl disulfide: Material Safety Data Sheet. Available from <http://www.

- Chung. 2002. Subchronic toxicity of plant sterol esters administered by gavage to Sprague-Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.*, **40**, 1569-1580.
12. Kim, J. C., S. H. Kim, D. H. Shin, T. H. Ahn, H. C. Kim, Y. B. Kim, C. J. Jiang, J. Han and M. K. Chung. 2004. Effects of prenatal exposure to the environmental pollutant 2-bromopropane on embryo-fetal development in rats. *Toxicology*, **196**, 77-86.
  13. Kim, Y., K. Jung, T. Hwang, G. Jung, H. Kim, J. Park, J. Kim, J. Park, D. Park, S. Park, K. Choi and Y. Moon. 1996. Hematopoietic and reproductive hazards of Korean electronic workers exposed to solvents containing 2-bromopropane. *Scan. J. Work Environ. Health*, **22**, 387-391.
  14. Kim, Y. S., W. W. Choi and M. C. Kim. 1998. Association of daily mortality and air pollutant in Korean industrial areas. *J. Korean Soc. Health Stat.*, **23**, 124-136.
  15. Loeb, W. F. and F. W. Quimby. 1999. *The Clinical Chemistry of Laboratory Animals*. pp. 1-753, 2nd eds. Taylor & Francis, Philadelphia, USA.
  16. Park, J. S., Y. H. Kim, D. W. Park, K. S. Choi, S. H. Park and Y. H. Moon. 1997. An outbreak of hematopoietic and reproductive disorders due to solvents containing 2-bromopropane in an electronic factory, South Korea: epidemiological survey. *J. Occup. Health*, **39**, 138-143.
  17. Pohle, H. and R. Kliche. 1996. Emission of odors from composting of biological waste. *Zentralbl. Hyg. Umweltmed*, **199**, 38-50.
  18. Schenker, M. B. and J. A. Jacobs. 1996. Respiratory effects of organic solvent exposure. *Tuber. Lung Dis.*, **77**, 4-18.
  19. Tansy, M. F., F. M. Kendall, J. Fantasia, W. E. Landin, R. Oberly and W. Sherman. 1981. Acute and subchronic toxicity studies of rats exposed to vapors of methyl mercaptan and other reduced-sulfur compounds. *J. Toxicol. Environ. Health*, **8**, 71-88.
  20. Wilkins, K. 1997. Gaseous organic emissions from various types of household waste. *Ann. Agric. Environ. Med.*, **4**, 87-89.
  21. Wolford, S. T., R. A. Schroer, F. X. Gohs, P. P. Gallo, M. Brodeck, H. B. Falk and F. R. Ruhren. 1986. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J. Toxicol. Environ. Health*, **18**, 161-188.