

## 2-부탄티올의 SD Rats를 이용한 아만성 흡입독성연구

김현영<sup>†</sup> · 이성배 · 임철홍 · 조해원 · 강민구 · 이준연\*

한국산업안전공단 산업안전보건연구원, \*한국화학시험연구원

### A Study on the Subchronic Inhalation Toxicity of 2-Butanethiol Using SD Rats

Hyeon-Yeong Kim<sup>†</sup> · Sung-Bae Lee · Cheol-Hong Lim · Hae-Won Cho · Min-Gu Kang · \*Jun-Yeon Lee

Occupational Safety & Health Research Institute, Korea Occupational Safety & Health Agency,  
\*Korea Testing & Research Institute

With the 2-Butanethiol, which is an unidentified inhalation toxic material, acute inhalation toxicity was tested with SD rats. The LC<sub>50</sub> was evaluated to be 2,500 ppm (9.22 mg/L) or higher which falls under the criteria of acute toxicity Category 3 (500<LC<sub>50</sub><2,500 ppm) in the Industrial Safety and Health Act.

In the subchronical inhalation toxicity test by 0, 25, 100, and 400 ppm, 6 hours a day, 5 days a week, for 13 weeks repeated exposure, though no death or particular clinical presentation was observed, in the female 25 and 400 ppm group, including weight change, and in each concentration group including 400 ppm, change of feed rate, eye stimulation, motility change in male group, and lesions in blood and blood biochemical were observed. In the internal organs weight, 25, 100, and 400 ppm groups in male and 400 ppm group in female showed significant (p<0.05) changes in kidney, liver, thymus, and lung. In the pathological tissue test, severe cortical tubular hyaline

droplets were observed in the male 400 ppm group, and all male rats of 400 ppm group and 2 female individuals showed tubular degeneration/regeneration accompanied with pigmentation, showing that the target organs of inhalation exposure of 2-Butanethiol are spleen, kidney, nasal cavity, and adrenal. Through the tests, the NOEL of 2-Butanethiol was evaluated to be 25 ppm (0.092 mg/L) or less for both male and female.

**Key Words** : 2-Butanethiol, Inhalation Toxicity, LC<sub>50</sub>, GHS, NOEL.

접수일 : 2007년 5월 22일, 채택일 : 2007년 7월 5일

† 교신저자 : 김현영 (대전광역시 유성구 문지동 104-8번지,

Tel : 042-869-0341, Fax : 042-863-9001, E-mail : kk3843@yahoo.co.kr)

## I. 서론

본 연구는 산업안전보건법 제39조 “유해인자의 관리” 및 “화학물질에 의한 근로자 건강장해예방 사업”의 일환으로 독성 미확인 물질에 대하여 실험동물을 이용 흡입노출에 의한 독성시험을 통하여 근로자 건강장해 예측 및 유해성을 평가하고 이를 토대로 화학물질 취급 근로자의 건강장해 예방을 위해 작업환경 관리를 위한 노출기준설정 및 화학물질분류의 기초 자료를 제공하기 위하여 연구되었다. 시험 대상물질은 사용량이 많으며 휘발이나 비산이 쉽고, 독성이 강하게 예측되거나 유해성 정보가 없거나 부족한 물질에 대해 독성자료 확보를 통하여 유해성을 확인하고 MSDS의 자료를 제공하며 건강장해 발생시 이의 관련성 원인 규명자료로 활용하고자 하였으며, 이를 위하여 시험자료의 신뢰도를 높이기 위하여 시험방법은 GLP (Good Laboratory Practice) 규정을 적용하고자 하였으며, 시험물질로는 휘발성이 강하고, 악취 및 자극적 냄새가 심하며 독성이 강하게 예측되는 흡입독성 미확인의 2-Butanethiol을 시험물질로 하였다. 2-Butanethiol (sec-Butyl Mercaptan)은 황화수소 (H<sub>2</sub>S), 메틸메르캅탄 (CH<sub>3</sub>SH), 황화메틸 [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S], 이황화메틸 [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>] 등과 함께 대표적인 악취물질로 1996년 여수 및 울산 석유화학단지에서 발생한 환경오염 및 악취에 의한 두통 등 원인물질의 일부로 알려져 있으나 생체에 미치는 흡입독성을 포함 유해성 평가 자료는 매우 한정적이다. 2-Butanethiol에 대한 문헌조사 결과 2-Butanethiol (sec-Butyl Mercaptan)에 대한 문헌조사 결과 CAS No. 513-53-1의 CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH(SH)CH<sub>3</sub> 구조식을 가지는 분자량 90.19, 비중 0.8299 (17 °C)인 무색 투명액체로, 스킨크의 불쾌한 자극적인 냄새를 가지고 있다. 물에는 거의 불용이고 알콜이나 Ether 에는 매우 잘 섞이며, 인화점 -23 °C로 화재위험성이 강하며, 끓는점 84-85 °C, 증기압 25 °C에서 80.71 mmHg, 증기밀도 3.11 (Air = 1), 옥탄올/물 분배계수 log Kow = 2.18 (est), 어는점 -140.14 °C의 특성을 가지고 있다 (Quincy, MA., 1997; U.S Department of Transportation, 2000; O'Neil, M.J. (ed.), Merck Index, 2001; Lewis, R.J. Sr, 2001; US EPA, 2003). 또한 흡입시 구토, 호흡곤란, 중추신경 마비 및 억제작용과 장기 흡입시 폐부종의 영향이 있으며, 급성흡입독성의 치사농도 LC<sub>50</sub>는 4,020 ppm (rats)으로 나타나 있으며 (US EPA, 2003), 흡입에 의한 대사물은 CO와 무기유산염, 주요 사용 용도로는 용제, 살충제, 반응촉진제, 촉매활성 조정제, 부취제 (도시 Gas leak indicator), 황화물 합성 중간체 등으로 알려져 있다 (Bronstein AC, 1994; WHO, 2000; US EPA, 2003; HSDB, 2006; 한국산업안전공단 물질안전보건정보자료, 2006). 국내외적으로 작업환경 노출기준은 없으나 대기환경 노출기준 (메르캅탄 기준)으로 우리나라의 경우 공업지역은 0.004 ppm, 기타

지역은 0.002 ppm이며 국내 생산량은 31톤/년, 제조 사업장수는 3개소, 취급근로자수 13명 (한국산업안전공단 작업환경 실태조사, 2004)으로 직접제조 및 취급근로자 수는 적으나 석유화학물의 부산물 또는 불순물로 다량 함유되어 있어 노출근로자는 다수로 예측된다. 그러나 독성을 중심으로 한 사람에 대한 영향이나 실험동물을 이용한 장기노출에 의한 흡입독성 평가 자료는 매우 한정적이었다.

따라서 이의 흡입독성을 규명하기 위하여 실험동물에 2-Butanethiol를 반복 전신노출하는 OECD Guideline for Testing of Chemicals (1996, 2004)와 국립환경과학원 (2006)의 급성 및 90일 아만성 흡입독성시험법을 중심으로 유해성을 평가하였다. SD Rats를 이용 시험물질을 4시간 단회 전신 노출하는 급성흡입독성시험과 1일 6시간, 주 5일, 13주간 연속 전신 반복노출 하는 아만성 흡입독성시험을 통하여 실험동물의 사망 유무와 임상증상, 체중변화, 운동성 변화, 혈액 및 혈액 생화학적검사, 부검소견, 장기중량 및 병리조직검사 등의 검사를 통하여 시험물질이 실험동물의 생체에 미치는 영향을 검사하고 유해성을 평가하여 흡입시 사람에게 미치는 영향을 예측하고 근로자 건강장해 예방을 위하여 물질안전보건자료 (MSDS)의 제공과 노출기준설정 및 유해물질 분류의 독성학적 기초 자료를 제공함을 목적으로 하였다.

## II. 연구방법

### 1. 실험재료

#### 1) 실험동물 및 사육환경

미생물 또는 세균에 의한 감염성 병원체 등 특정병원체 부재 (specific pathogen free, SPF)의 S.D. (Sprague-Dawley) Rat (급성독성 8주령, 아만성독성 7주령)를 사용하였으며 청정사육 시설에 설치된 4세트의 전신노출형 흡입챔버 (inhalation chamber; Sibata Co; Japan)와 가스발생기(Sibata Co; Japan) 및 모니터링 시험 장비 (Model No. ICS-20RG 및 GCS-14PFFS, Shimadzu, Japan)를 이용 시험물질을 실험동물에 전신 노출시켰다. 실험동물은 대조군과 노출군으로 구분하였고, 5연식 스테인리스 철망케이지에 실험동물을 개체별로 수용하였으며, 사육환경은 온도 22±3 °C, 상대습도 50±20 %, 환기회수 12~15회/시간, 조명 150~300 Lux로 12시간, 사료는 실험동물용 멸균사료 LabDiet 5002 (PMI Nutrition, USA)를, 급수는 상수도수를 삼투압 정수 및 자외선 살균기로 소독시킨 음용수를 자유롭게 섭취토록 하였다. 단, 사료는 시험물질 노출 시간에는 시험물질의 사료 내 흡수를 막기 위해 공급하지 않았다.

2) 시험물질

시험물질은 2-부탄티올 (2-Butanethiol)로 TCI Tokyo Chemical Industry Co. LTD.에서 제조한 시약용 1급 (Lot No. xx249)을 유기용제 가스발생기로 기화시킨 후 청정공기와 혼합 조성비를 일정하게 하였으며 대조물질은 HEPA filter 및 온, 습도 조절장치를 통해 정화된 청정공기를 사용하였고, 노출군은 시험농도별로 청정공기와 시험물질 발생가스를 일정 비율 혼합하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험동물의 군 구성 및 노출농도와 노출방법

급성흡입독성시험의 경우 8주령의 SD rats 암컷을 이용 각 군별 5마리로 하여 OECD (2004)규정에 의거 시험농도를 0, 100, 500, 2,500 ppm으로 4시간 연속 단회 노출하였으며, 아만성 흡입독성시험의 경우 급성흡입독성시험의 결과와 OECD (1996) 규정에 의거 7주령의 SD Rats를 이용 암, 수 각 10마리로 하여 0, 25, 100, 400 ppm의 4군으로 구성하여 흡입챔버 (Sibata Co; Japan)에 수용하고 1일 6시간, 주 5일, 13주간 시험 물질을 gas generator (Sibata Co; Japan)를 이용 전신반복노출 시켰다. 시험농도의 설정은 OECD(2004) 규정과 급성흡입독성시험을 통하여 저 농도는 독성의 영향이 나타나지 않을 농

Table 1. Concentration of 2-Butanethiol by exposure groups for acute subchronic inhalation

Groups	Concentration (ppm)			
	Establishment	Upper	Lower	Mean $\pm$ SD
Acute Inhalation Exposure Groups(only one exposure for 4 hr)				
100 ppm	112.4	105.7	105.7	107.96 $\pm$ 1.99
500 ppm	516.5	491.3	491.3	501.03 $\pm$ 5.84
2,500 ppm	2,523.0	2,432.7	2,432.7	2,497.42 $\pm$ 24.59
Subchronic Inhalation Exposure Groups(6 hr exposure/day, 5 days/week, for 13 weeks)				
Control	0	0	0	0.0 $\pm$ 0.00
25 ppm	25	31.16	21.20	25.1 $\pm$ 1.44
100 ppm	100	108.88	85.50	99.6 $\pm$ 3.78
400 ppm	400	518.11	331.10	403.4 $\pm$ 32.75

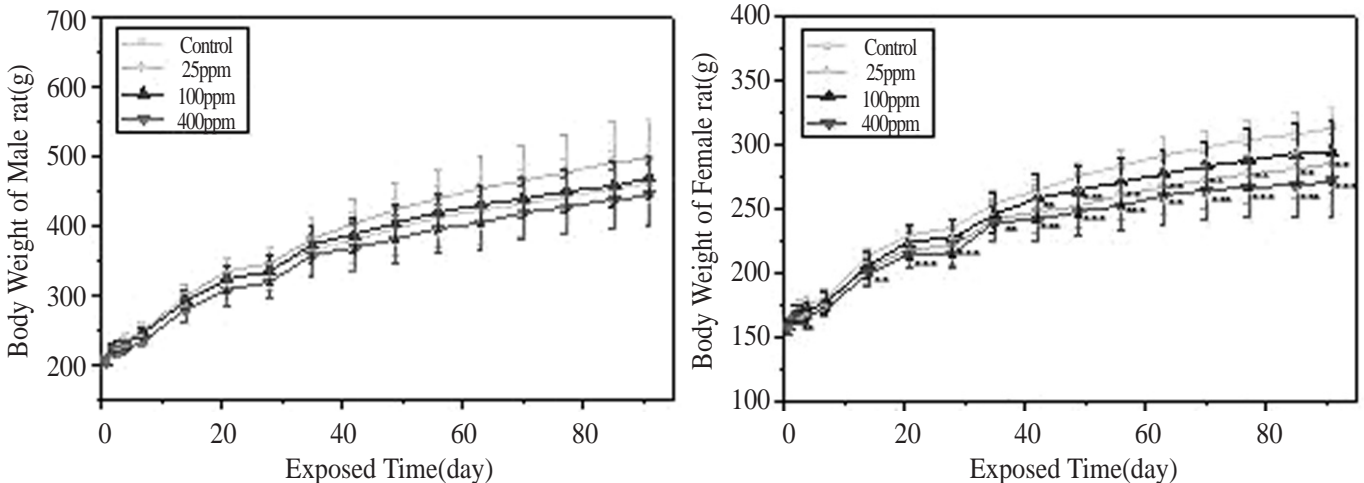


Figure 1. Changes of body weight in Subchronic inhalation exposure groups(6 hr exposure/day, 5 days/week, for 13 weeks)  
(Significant differences as compared with female control: \*\*p<0.01., \*\*\*p<0.001)

도로 설정하고, 고농도는 확실영향농도로 예측하여 설정하였으며, 동물종과 성별, 수량의 선택은 독성시험 자료가 풍부한 SD rat로 선정하고 성별의 차이와 농도 군별 영향을 통계적으로 확인할 수 있도록 암, 수 각 10마리로 하였으며, 시험기간 중 2-Butanethiol의 노출농도 측정결과는 Table 1과 같았다.

2) 실험동물의 임상관찰

검역 및 순화기간은 매일 1회 모든 동물의 일반증상에 대하여, 노출기간에는 노출 전후의 생사의 유무, 외관, 운동성, 출혈, 호흡이상 등 일반증상에 대하여 관찰하였다. 단, 급성흡입독성시험의 경우 검역 및 순화기간은 매일 1회, 시험물질 노출(4시간) 및 관찰기간(2주간)에 대해 임상관찰을 하였다.

3) 체중변화 측정

급성흡입독성시험의 경우 실험동물 입수와 군 분리시, 시험물질 노출개시일 및 노출 후 14일까지는 매일 측정하였으며, 아만성 흡입독성시험의 경우는 실험동물 입수와 군 분리시, 시험물질 노출개시일 및 노출 후 7일까지는 매일, 7일 이후에는 주 1회 측정하였다.

4) 운동성 검사

아만성 흡입독성시험에서 시험물질 노출에 의한 각 시험군의 암·수 동물의 운동성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 시험방법은 미국 EPA의 “OPPTS 870.6200, Neurotoxicity screening battery”를 참고하여 운동능력 측정 장치 (Activity Monitoring System; Sibata, Japan)를 이용 시험물질 노출 종료 1주일 전 동물케이지에 적외선 감시 장치를 부착 실험동물의 움직임을 계수하여 이를 적산 기록되게 하고 이를 대조군과

각 노출군 별 운동성의 변화를 비교 평가하였다.

5) 혈액 및 혈액생화학 검사

아만성 흡입독성시험군의 혈액 및 혈액생화학적 검사를 위해 부검 채혈 전에 하룻밤 절식시킨 실험동물을 CO<sub>2</sub>로 마취한 후 복대동맥으로부터 채혈한 혈액 중 약 2ml의 혈액은 EDTA가 함유된 CBC bottle(EDTA 3K, Sewon Medical)에 취하여 혈구자동측정기(ADVIA 120 Hematology system, Bayer Health Care, UK)로 WBC, RBC 등의 혈액학적 검사와 혈액을 원심 분리(3,000 rpm, 10분)한 후 혈청을 취하여 혈청자동분석기(Hitachi7060, Japan)와 전해질분석기(Bayer 644 Na/K/Cl analyzer, US)를 이용하여 혈액생화학적 검사를 하였다.

6) 장기중량 측정과 병리검사

아만성 흡입독성시험군의 시험물질 노출 종료 후 생존동물에 대해 CO<sub>2</sub> 마취 하에 개복하여 복대동맥으로부터 채혈하고 기관지, 폐장 신장, 간장, 부신, 뇌, 심장, 대장, 소장, 난소, 췌장, 피부, 비장, 위, 고환 등에 대해 육안적 검사와 폐장, 신장, 간장, 고환, 뇌, 심장 등에 대해 장기중량을 측정하였다. 그리고 병리조직 검사 대상 장기는 10% 중성 포르말린 용액에 고정하였으며 염색표본은 고정된 장기를 삭정, 파라핀 포매, 박절 및 H&E 염색과정을 거쳐 조직표본을 제작하여 검정하였다.

3. 실험결과의 통계처리

시험자료의 통계처리 및 표기에 있어 실험동물의 체중, 장기별 무게는 평균과 표준편차로 표기하고 다중비교평가로 대조군과 폭로군의 유의성을 확인하였다. 또한 혈액검사는

Table 2. Activity counts of subchronic inhalation exposure groups(6hr exposure/day, 5 days/week, for 13 weeks)

Parameters	2-Butanethiol (ppm)			
	0	25	100	400
Male Mean ± SD	14988.6 ± 2602.89	18097.8 ± 3729.31	17890.8 ± 1890.62	19155.4 ± 1564.32*
Female Mean ± SD	23884.6 ± 6590.86	22863.2 ± 6920.89	21262.0 ± 3165.63	25510.4 ± 9155.05

Sensor Unit: EA  
Significant differences as compared with control : \* p < 0.05

Sigmastat의 일원배치분산분석에서 실시하였으며 유의성이 인정된 자료는 Dunnett 다중비교법을 이용하였고 통계학적 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였다.

### III. 연구결과

#### 1. 실험동물의 임상증상

Table 3. Hematological values of subchronic inhalation exposure groups(6 hr exposure/day, 5 days/week, for 13 weeks)

Item	Control	25ppm	100ppm	400ppm
Male				
WBC	7.22 ± 1.43	6.91 ± 2.23	7.47 ± 1.49	6.60 ± 1.26
RBC	9.21 ± 0.55	9.15 ± 0.32	9.10 ± 0.33	8.46 ± 0.40*
HGB	15.96 ± 0.54	15.82 ± 0.46	15.95 ± 0.49	15.11 ± 0.64*
HCT	45.06 ± 2.55	44.06 ± 1.53	44.56 ± 1.61	42.22 ± 2.39*
MCV	48.95 ± 1.51	48.18 ± 1.42	48.97 ± 1.15	49.88 ± 1.40
MCH	17.36 ± 0.75	17.29 ± 0.42	17.55 ± 0.54	17.87 ± 35.81
MCHC	35.48 ± 1.13	35.94 ± 0.82	35.81 ± 0.70	35.81 ± 0.74
RDW	13.19 ± 0.91	13.67 ± 1.01	13.12 ± 0.47	12.50 ± 0.53
HDW	3.13 ± 0.26	3.41 ± 0.36*	3.15 ± 0.17	2.96 ± 0.018
PLT	1167.8 ± 154.88	1085.9 ± 75.83	1063.3 ± 100.15	1132.8 ± 211.73
MPV	6.37 ± 0.49	6.43 ± 0.55	6.29 ± 0.40	6.38 ± 0.59
Female				
WBC	4.80 ± 1.19	5.69 ± 1.43	5.85 ± 2.34	6.59 ± 2.98
RBC	8.78 ± 0.36	8.80 ± 0.33	8.72 ± 0.21	7.58 ± 0.49*
HGB	16.47 ± 0.57	16.23 ± 0.57	16.27 ± 0.47	14.33 ± 1.47*
HCT	45.48 ± 1.41	45.38 ± 1.55	45.17 ± 1.76	40.54 ± 3.48*
MCV	51.84 ± 1.17	51.55 ± 0.94	51.77 ± 1.15	53.42 ± 1.59*
MCH	18.76 ± 0.34	18.45 ± 0.41	118.66 ± 0.34	18.88 ± 0.95
MCHC	36.18 ± 0.47	35.78 ± 0.59	36.04 ± 0.69	35.32 ± 0.86*
RDW	11.45 ± 0.31	11.57 ± 0.34	11.47 ± 0.30	11.47 ± 1.39
HDW	2.73 ± 0.12	2.81 ± 0.29	2.72 ± 0.13	2.66 ± 0.36
PLT	1263.8 ± 128.66	1230.6 ± 152.82	1084.5 ± 129.72	1239.2 ± 403.24
MPV	6.41 ± 0.34	6.50 ± 0.51	6.39 ± 0.57	6.72 ± 0.81

All values are expressed as mean ± SD.

Significant differences as compared with control : \*  $p < 0.05$  with Dunnett's t- test

WBC, white blood cell count ( $10^3/mm^3$ ); RBC, red blood cell count ( $10^6/mm^3$ ); HGB, hemoglobin (g/dl); HCT, hematocrit (%); MCV, mean corpuscular volume ( $\mu^2$ ); MCH, mean corpuscular hemoglobin (pg); MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration (%); RDW, red cell distribution width (%); HDW, hemoglobin distribution width (%); PLT, platelet ( $10^3/\mu^2$ ); MPV, mean platelet volume(fl)

급성흡입독성시험 및 아만성 흡입독성시험에서 급성흡입 독성시험의 2,500 ppm 노출군을 포함 시험물질의 노출에 의한 사망 동물은 없었으며, 대조군에 비해 시험물질 노출군의 특이적 이상증상 (탈모, 운동성 변화, 호흡 및 배설물 이상 등)은 없었다.

급성흡입독성시험에서는 시험물질 노출 후 2주간 관찰기 간 중 시험물질 노출에 의한 유의성 있는 특이한 체중변화는 없었으나, 아만성 흡입독성시험의 경우 시험물질 노출기간 중 암·수 동물의 체중을 측정된 결과 Figure 1과 같았다. 대조군과 비교하여 수컷군 25 ppm군의 경우 약간의 체중증가 경향을 보였나 유의성이 없었다. 그러나 암컷의 경우 400

2. 동물의 체중변화

Table 4. Serum biochemical values of subchronic inhalation exposure gorups(6 hr exposure/ day , 5 day/ week, for 13 weeks)

Item	Control	25ppm	100ppm	400ppm
Male				
TP	6.64 ±0.31	6.82 ±0.30	6.89 ±0.36	6.93 ±0.52
T-BIL	0.034 ±0.01	0.038 ±0.01	0.041 ±0.01	0.04 ±0.01
ALP	302.3 ±76.52	313.6 ±55.56	317.3 ±53.31	306.8 ±71.70
AST	75.6 ±16.45	76.5 ±23.14	69.1 ±8.27	65.9 ±6.44
ALT	50.9 ±19.89	51.6 ±19.95	43.1 ±7.77	34.2 ±3.88 *
RTN	0.62 ±0.04	0.64 ±0.05	0.66 ±0.05	0.65 ±0.08
BUN	16.99 ±14.8	19.35 ±3.23*	18.96 ±2.00	19.04 ±1.27
T-CHO	72.4 ±8.92	84.2 ±13.80	80.4 ±11.86	71.2 ±9.91
Glucose	225.2 ±40.93	209.8 ±31.48	212.1 ±32.90	223.8 ±40.27
LDH	371.2±217.67	323.6 ±142.94	242.4 ±134.77	382.2 ±229.16
Famale				
TP	7.54 ±0.28	7.38 ±0.30	7.25 ±0.25	7.35 ±0.47
T-BIL	0.033 ±0.01	0.043 ±0.00*	0.044 ±0.01*	0.05 ±0.02
ALP	189.7 ±98.05	216.6 ±81.05	203.9 ±60.41	182.4 ±57.88
AST	97.2 ±30.69	93.9 ±23.95	96.8 ±49.70	85.8 ±36.82
ALT	65.3 ±24.26	62.6 ±16.80	52.9 ±18.18	40.2 ±11.03 *
RTN	0.63 ±0.05	0.61 ±0.06	0.65 ±0.05	0.60 ±0.05
BUN	16.83 ±2.04	17.51 ±2.38	17.94 ±2.28	17.06 ±2.31
T-CHO	115.5 ±11.70	104.5 ±11.94	104.8 ±16.39	104.4 ±13.41
Glucose	173.3 ±27.20	181.0 ±30.22	209.8 ±35.18	196.4 ±40.45
LDH	359.6 ±195.40	375.9 ±208.35	320.9 ±155.29	288.0 ±162.82

All values are expressed as mean ± SD.

Significant differences as compared with control : \* p < 0.05 with Dunnett's t- test

TP, total protein (mg/dℓ); T-BIL, total bilirubin (mg/dℓ); ALP, alkaline phophatase (u/L); AST, aspartate aminotransferase (u/L); ALT, alanine aminotransferase (u/L); CRTN, Creatinine (mg/dℓ); BUN, urea nitrogen in blood (mg/dℓ); T-CHO, total cholesterol (m<sup>mol</sup>/ℓ); Clucose (mg/dℓ); LDH, lactate dehydroginase (u/L).

ppm군의 경우 시험물질 노출 3일째, 25 ppm군의 경우 노출 28일째부터 대조군과 비교하여 통계적으로 유의성 있게 ( $p < 0.01, p < 0.001$ ) 체중의 감소 경향을 보였다.

### 3. 운동성변화

아만성 흡입독성시험에서 시험물질 노출에 의한 각 시험군의 암·수 동물의 운동성에 미치는 영향의 측정결과를

Table 2에 나타내었다. 암·수 400 ppm 노출군에서 대조군에 비해 운동량의 증가 경향이 있었으며, 특히 수컷군의 경우 농도 의존성과 400 ppm군에서는 통계적 유의성 ( $p < 0.05$ )이 있었다.

### 4. 혈액 및 혈액생화학적 검사

아만성 흡입독성시험에서 시험물질 노출 후 부검하여 혈

**Table 5. Relative organ weights of subchronic inhalation exposure groups (6 hr exposure/day, 5 day/week, for 13 weeks)**

Organ	Control	25ppm	100ppm	400ppm
Male				
Liver	2.90 ± 0.13	3.04 ± 0.26*	3.09 ± 0.21*	3.45 ± 0.22*
Kidney L	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.34 ± 0.04*
Kidney R	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.35 ± 0.04*
Spleen	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.02
Testis L	0.42 ± 0.04	0.40 ± 0.04	0.40 ± 0.04	0.41 ± 0.12
Testis R	0.39 ± 0.07	0.39 ± 0.04	0.38 ± 0.07	0.40 ± 0.12
Brain	0.51 ± 0.05	0.48 ± 0.04	0.50 ± 0.03	0.53 ± 0.06
Lung	0.38 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.33 ± 0.07	0.39 ± 0.03
Heart	0.28 ± 0.03	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.03
Thymus	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.08 ± 0.03
Female				
Liver	2.96 ± 0.20	3.04 ± 0.26	2.93 ± 0.23	3.01 ± 1.07
Kidney L	0.31 ± 0.02	0.32 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.33 ± 0.02
Kidney R	0.31 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.33 ± 0.04	0.35 ± 0.02*
Spleen	0.19 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.08
Testis L	0.025 ± 0.004	0.026 ± 0.005	0.022 ± 0.005	0.023 ± 0.003
Testis R	0.021 ± 0.005	0.024 ± 0.006	0.022 ± 0.005	0.025 ± 0.004
Brain	0.74 ± 0.04	0.78 ± 0.05	0.78 ± 0.06	0.83 ± 0.06*
Lung	0.46 ± 0.04	0.51 ± 0.03	0.53 ± 0.11	0.54 ± 0.06*
Heart	0.33 ± 0.03	0.34 ± 0.01	0.35 ± 0.03	0.36 ± 0.03*
Thymus	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.02

Unit: gram

All values expressed as mean ± SD

Significant differences as compared with control : \*  $P < 0.05$  with Dunnett's t-test

액을 검사한 결과 Table 3에서와 같이 수컷 25 ppm 노출군에서 HDW의 증가, 100 ppm 노출군에서 neutrophil 백분율, lymphocyte 백분율 증가, 400 ppm 노출군에서 RBC, Hemoglobin, HCT의 감소 등 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 ( $p < 0.05$ ) 결과를 보였다. 또한 암컷 400 ppm 노출군에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 ( $p < 0.05$ ) eosinophil 백분율 감소, RBC, Hemoglobin, HCT, HCHC의 감소, MCV의 증가를 보였다 (Table 3). 이들 수치는 주로 빈혈로 의심되는 변화로써 최고 노출군인 400 ppm군에서 확연히 나타났다.

또한 혈액생화학적 검사결과 수컷 25 ppm 노출군의 BUN 증가, 400 ppm 노출군의 ALT감소를 보였으며 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 ( $p < 0.05$ ) 차이를 보였다 (Table 4). 암컷 25 ppm 노출군의 Total bilirubin증가, 100 ppm 노출군의 Total bilirubin증가, 400 ppm 노출군의 ALT감소를 보였으며, 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 ( $p < 0.05$ ) 차이를 보였다 (Table 4).

### 5. 부검소견 및 장기중량 검사

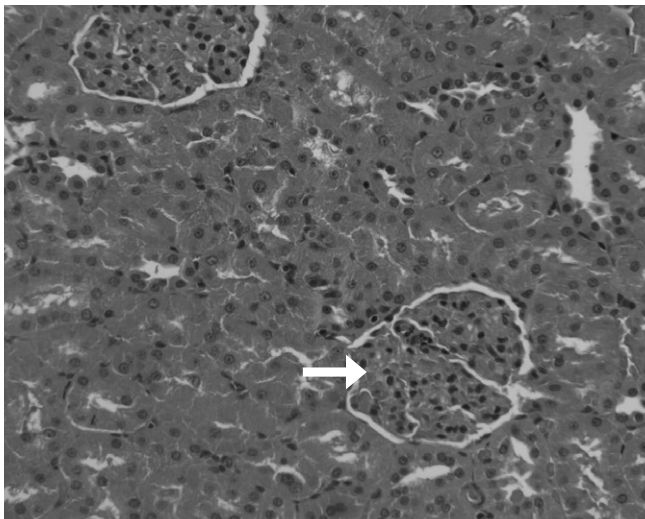


Figure 2. Cortical tubular hyaline droplet of kidney in male 400 ppm subchronic inhalation exposure group

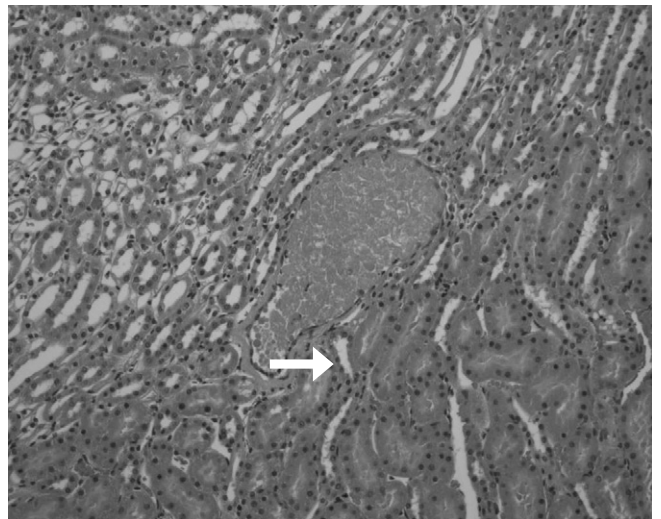


Figure 3. Medullary tubular casts of kidney in male 400 ppm subchronic inhalation exposure group

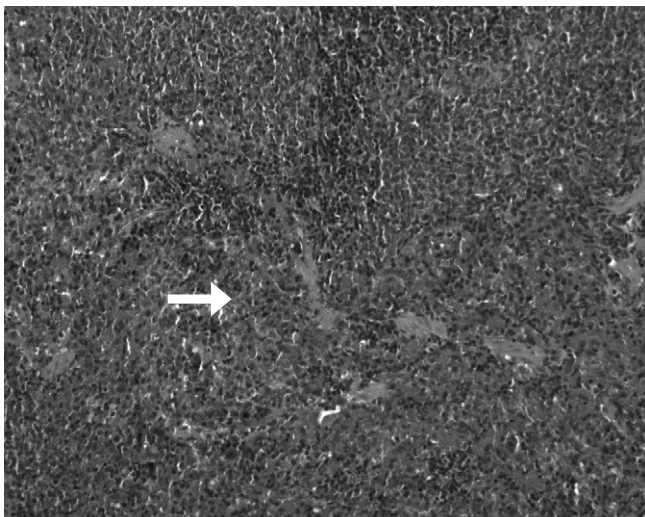


Figure 4. Extra medullary hematopoiesis of spleen in male 400 ppm subchronic inhalation exposure group

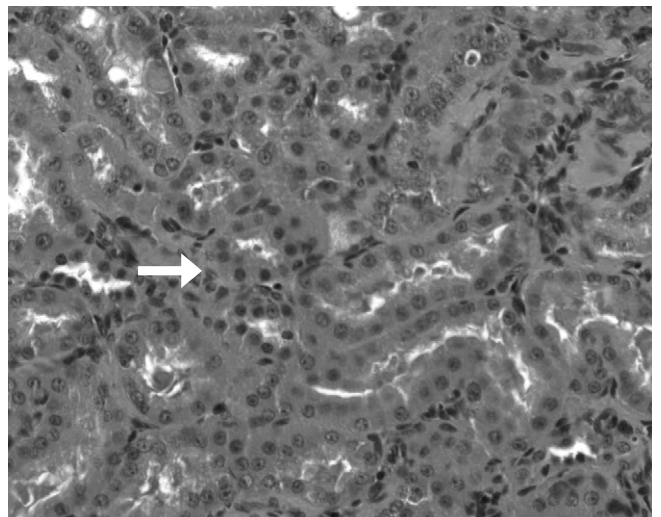


Figure 5. Tubular degeneration/regeneration with pigment of kidney in male 400 ppm subchronic inhalation exposure group



## IV. 고찰

급성흡입독성시험에서 시험물질 노출 및 관찰기간 종료 후 생존동물에 대해 부검하고 장기외관을 확인한 결과 복강 및 흉강장기에서 특이한 이상증상은 관찰되지 않아 조직병리학적 소견관찰을 위한 슬라이드는 제작하지 않았으며, 아만성 흡입독성시험에서는 시험물질 노출 후 부검하여 육안적 부검관찰 결과 수컷 100 ppm 노출군에서 우측 정소의 microorchidia가 1례, 400 ppm 노출군에서는 우측 정소의 microorchidia가 1례, 부고환의 위축소견이 관찰되었으며, 암컷에서는 대조군에서 간의 수포형성 1례와 400 ppm 노출군에서 비장과 부신의 종대 및 비장, 지방, 부신, 위, 간, 횡격막이 유착된 소견이 1례 관찰되었다.

또한 대조군과 노출군에 대한 각각의 장기중량 측정 결과를 Table 5에 나타내었으며 평가결과 수컷 25 ppm, 100 ppm, 400 ppm 노출군 모두에서 간장무게가 증가 ( $p<0.05$ )하였으며, 수컷 400 ppm 노출군의 경우 좌, 우측 신장무게 증가와 유의성이 인정되었다( $p<0.05$ ). 또한 암컷의 경우 400 ppm 노출군에서 우측신장, 뇌, 폐, 심장의 무게가 증가 ( $p<0.05$ )하였다.

### 6. 병리조직검사

아만성 흡입독성시험에서 대조군 및 노출군의 각 장기에 대해 조직병리학적 검사결과 수컷 대조군과 400 ppm군의 부신 모두에서 대조군과 비교하여 cortical vacuolation의 빈도와 병변의 정도가 증가되었으며, 수컷과 암컷 모두 비장의 extramedullary hemopoiesis와 hemosiderosis가 관찰되어 대조군과 비교하여 유의한 병변을 보여주었다[Figure 4 참조]. 신장의 경우 심한 cortical tubular hyaline droplets이 수컷의 400 ppm군에서 관찰되었고[Figure 2 참조], 400 ppm군의 모든 수컷과 암컷 2개체에서 색소를 동반한 tubular degeneration/regeneration이 관찰되었으며[Figure 5 참조], minimal grade의 간질성 염증세포가 400 ppm군의 모든 수컷동물과 암컷 몇몇 개체에서 관찰되었다. 그 외에 이행성 상피염증세포, 신장의 medullary tubular casts[Figure 3 참조], medullary mineralization, tubular pigmentation, cortical mineralization이 관찰되었다. 비장의 경우 수컷과 암컷동물 모두에서 대조군과 비교하여 extramedullary hemopoiesis와 hemosiderosis의 빈도와 병변의 정도가 증가되었으며 [Figure 5 참조], 비장의 경우 수컷 400 ppm군에서 10례 중 4례가 후구상피세포에서 호산성 봉입체가 관찰되었다. 그 외에 관찰된 소견은 시험물질에 의한 독성학적 중요성은 없는 것으로 판단되었다. 본 병리검사 소견을 토대로 시험물질의 노출에 의한 병리조직의 병변을 보인 장기는 비장, 신장, 비장, 으로 평가되었다.

2-Butanethio에 대한 독성연구 관련 문헌조사 결과 Bingham E (2001)는 랫드에 경구투여한 후 증상을 관찰한 결과 운동실조와 체중 감소를 보였고, 토끼 눈에 점적 주입시킨 결과 2일간 격렬한 통증과 염증을 일으키는 물질로 보고하였으며, O'Donoghue J.L (1985)는 급성 신경독성과 콜린에스테라아제 억제에 영향을 주었다는 보고가 있다. 또한 Clayton G.D와 Clayton FE (1981)는 랫드 내 복막의 LD<sub>50</sub>근처의 농도에서 중추신경 계통에 영향을 주며 콜린에스테라아제 억제가 일어난다는 매우 제한적 연구보고 자료가 있었다.

따라서 본 연구에서는 이의 흡입독성을 규명하기 위하여 2-Butanethiol을 SD Rat를 이용 0, 100, 500, 2,500 ppm의 4시간 단회 노출하는 급성흡입독성시험과 1일 6시간 주5일, 13주간 0, 25, 100, 400 ppm의 반복 노출하는 아만성 흡입독성시험으로 시험물질이 생체에 미치는 영향과 유해성을 평가를 위해 OECD Test Guideline (1996)과, 식품의약품안전청 (의약품등의 독성시험기준, 고시 제1999-61호), 국립환경과학원 (화학물질유해성시험연구기관의 지정 등에 관한규정, 고시 제2006-4호) 및 EPA의 NPT 독성시험법을 참고하였다.

결과에서와 같이 급성흡입독성시험에서 2,500 ppm까지의 사망 레는 없어 LC<sub>50</sub>은 2,500 ppm이상으로 판단하였으며 14일 관찰기간 중 특이적 임상증상은 관찰되지 않았다. 따라서 참고문헌 (US EPA, 2003)을 토대로 LC<sub>50</sub>은 2,500-5,000 ppm으로 예측하였다.

아만성 흡입독성시험에서도 특이적 임상소견은 없었으나 시험물질의 노출농도에 의존적으로 체중의 감소가 있었으며 암컷의 경우 25와 400 ppm군에서 통계적 유의성 ( $p<0.01$ )이 인정되어 시험물질에 의한 영향으로 판단되었으며, 2-Butanethiol을 수컷군에 비해 암컷군에 영향이 강하게 나타나는 것으로 판단되었으며, 경구 투여에 의한 Bingham E (2001) 연구결과 체중감소의 유사한 결과를 나타내었다.

또한 운동능 시험에서 암컷군의 경우 400 ppm군에서 운동량의 증가를 보였으나 통계적 유의성은 없었으며, 수컷의 경우 농도 의존적 운동량의 증가와 400 ppm군에서는 통계적 유의성 ( $p<0.05$ )이 인정되었다. 이는 시험물질의 자극성과 신경계의 자극 등에 의한 불안정의 영향으로 운동량의 증가 결과로 판단되었으며 특히 Table 2의 결과와 같이 본 시험물질인 2-Butanethiol은 암컷에서 보다 수컷에 더욱 영향을 미치는 것으로 평가되었다.

혈액학적 검사에서는 수컷과 암컷에서 RBC, Hemoglobin, HCT, HCHC감소, MCV증가를 보였으며, 이들 수치는 주로 조혈계의 이상으로 의심되는 변화로써 최고 노출군인

400ppm군에서 확연히 나타난다. 또한 상기 결과를 조직병리학적 소견을 통해 확인한 결과 비장의 골수와 조혈 및 hemosiderosis가 대조군에 비하여 증가한 점으로 보아 시험물질에 의한 영향(강진석 등, 2001)으로 판단되었으며, 혈청생화학적 검사결과 암, 수 공통적으로 400 ppm 노출군의 ALT 수치가 대조군보다 낮은 수치를 보이고 있으나 간장의 조직병리 소견은 특별한 이상을 보이지 않았다.

부검 소견으로 수컷에서는 100 ppm 노출군과 400 ppm 노출군에서 우측 정소의 microorchidia가 각각 1례씩 관찰되었으나 개체차이인 것으로 조직병리검사결과 확인되었으며, 장기중량 측정 결과 노출군 모두에서 간장무게가 증가( $p<0.05$ )하였으나 조직병리학적 검사결과 특별한 증상은 없었기에 개체차이에 의한 것으로 판단되었으며, 수컷 400 ppm 노출군의 좌, 우측 신장무게 증가( $p<0.05$ )는 생화학수치 중에서 Na과 Cl 이온의 증감과 연관성을 가질 것 이라고 판단되었다. 암컷의 경우 400 ppm 노출군의 경우 우측신장, 뇌, 폐, 심장의 무게가 증가( $p<0.05$ )하였는데 이는 수컷과는 다른 결과이며 조직병리학적 검사결과 신장병변이 확인되었으며 특히 수컷의 신장에서 심한 cortical tubular hyaline droplets이 관찰되어 신장이 표적장기임을 시사하였다.

또한 조직병리검사결과 수컷 대조군과 400 ppm군의 부신 모두에서 대조군과 비교하여 cortical vacuolation의 빈도와 병변의 정도가 증가되었으며, 수컷과 암컷 모두 비장의 extramedullary hemopoiesis와 hemosiderosis가 관찰되어 대조군과 비교하여 유의한 병변을 보여주었으며, 그 외에 이행성 상피염증세포, medullary tubular proteinaceous casts, medullary mineralization, tubular pigmentation, cortical mineralization이 관찰되었다. 비장의 경우 수컷과 암컷동물 모두에서 대조군과 비교하여 extramedullary hemopoiesis와 hemosiderosis의 빈도와 병변의 정도가 증가되었다. 비장의 경우 수컷 400 ppm군에서 후구상피세포에서 호산성 붕입체가 관찰되었다. 특히 신장의 경우 심한 cortical tubular hyaline droplets이 수컷의 400 ppm군에서 관찰되었고, 400 ppm군의 모든 수컷과 암컷 2개체에서 색소를 동반한 tubular degeneration/regeneration이 관찰되었으며, minimal grade의 간질성 염증세포가 400 ppm군의 모든 수컷동물과 암컷 몇몇 개체에서 관찰되었으며 장기중량 변화에서도 농도의 의존적 영향을 보여 본 시험물질은 신장에 대한 독성 작용이 있음이 확인되었으며, 2-Butanethiol의 흡입노출에 의한 병리조직의 이상 소견을 보인 장기는 비장, 신장, 비강으로 나타났다.

## V. 결론

흡입독성 미확인 물질인 2-Butanethiol을 시험물질로 하여 SD Rat를 이용 급성흡입독성시험에 의한 반수치사농도(LC<sub>50</sub>)는 2,500 ppm (9.22mg/L)이상으로 평가되었으며 이는 노동부 고시 제2006-36호 (2006) 화학물질의 분류표시 및 물질안전보건자료에 관한기준의 유해물질 분류기준 급성독성물질 3 (500<LC<sub>50</sub>≤2,500 ppm) 이상의 물질에 해당되었다.

또한 0, 25, 100, 400 ppm, 일일 6시간, 주 5일, 13주 반복 노출한 아만성 흡입독성시험에서는 사망 례와 특이한 임상소견은 없었으나 암컷 25 및 400 ppm군에서 체중의 유의성( $p<0.01$ , 0.001) 있는 저하를 포함 400 ppm군을 포함 각 농도에서 사료섭취량 변화, 안 자극, 수컷군의 운동성변화, 혈액 및 혈액생화학적 병변이 있었으며, 장기중량에서도 수컷의 경우 25, 100, 400 ppm군과 암컷의 400 ppm군에서 신장, 간장, 흉선, 폐장 등에서 유의성( $p<0.05$ ) 있는 변화가 있었으며, 병리조직 검사에서 신장의 경우 심한 cortical tubular hyaline droplets이 수컷의 400 ppm군에서 관찰되었고, 400 ppm군의 모든 수컷과 암컷 2개체에서 색소를 동반한 tubular degeneration/regeneration이 관찰되는 등 병리조직학적 검사를 통하여 2-Butanethiol의 흡입노출에 의한 영향 장기는 비장, 신장, 비강으로 나타났으며 상기 검사결과를 종합할 때 아만성 흡입독성시험에서의 무영향농도 (NOEL)는 암·수 모두 25 ppm (0.092 mg/L)이하로 판단되었다.

## REFERENCES

- 강진석, 남기택, 박인승, 안병우, 양기화 등. 독성병리학 도감. 청구문화사; 2001. (80-81쪽)
- 노동부 : 화학물질의 분류·표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준, 노동부 고시 제 2006-36호. 2006.
- 국립환경과학원 : 화학물질유해성시험연구기관의 지정 등에 관한 규정, 국립환경연구원고시 제2006-4호. 2006.
- 식품의약품안전청 : 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품 안전청 고시1999-61호. 1999.
- 한국산업안전공단 : 작업환경 실태조사. 2004.
- 한국산업안전공단 : 물질안전보건정보자료. 2006.

- Bingham, E, Cohnsen, B, Powell, CH. Patty's Toxicology, Volumes 7 5th ed. John Wiley & Sons. New York, N.Y.; 2001.p.699-700
- Bronstein, A.C., P.L. Currence. Emergency Care for Hazardous Materials Exposure. 2nd ed. St. Louis: MO. Mosby Lifeline; 1994.p.433-34
- Clayton, G. D. and F. E. Clayton (eds.). Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. Volume 2A, 2B, 2C. Toxicology. 3rd ed. New York: John Wiley Sons; 1981-1982. p.2076
- Hazardous Substances Data Bank (HSDB). a database of the National Library of Medicine's TOXNET system (<http://toxnet.nlm.nih.gov>); on August 16, 2006.
- Lewis, R.J. Sr. Hawley's Condensed Chemical Dictionary 14th Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York, NY; 2001.p.170
- O'Donoghue, J.L. (ed.). Neurotoxicity of Industrial and Commercial Chemicals. Volume I. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc.; 1985.p.79
- OECD. OECD Guideline for Testing of Chemicals, TG 413, Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day Study. Paris, France; 1996.
- OECD. OECD guideline for Testing of chemicals Draft proposal for a new guideline : Acute Inhalation Toxicity - Fixed Concentration Procedure; 2004.
- O'Neil, M.J. (ed.). The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 13th Ed., Whitehouse Station, NJ: Merck and Co. Inc.; 2001.p.266
- Quincy, MA. Fire Protection Guide to Hazardous Materials. 12 ed. National Fire Protection Association, 1997,p.325-329
- U.S. Department of Transportation. 2000 Emergency Response Guidebook. RSPA P 5800. 8 Edition. Washington, D.C: U.S. Government Printing Office; 2000.p121-130
- US EPA. Estimation Program Interface (EPI) Suite. Ver.3.11. June 10, 2003.
- WHO. Food Additive Series 44: Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Simple Aliphatic and Aromatic Sulfides and Thiols. 2000.