

Methyl formate의 랫드를 이용한 급성 및 아만성 흡입독성 평가

김현영*, 이성배, 한정희, 강민구, 양정선

산업안전보건연구원 화학물질안전보건센터

Acute and Subchronic Inhalation Toxicity Evaluation of Methyl Formate in Rats

Hyeon-Yeong Kim*, Sung-Bae Lee, Jeong-Hee Han, Min-Gu Kang
and Jeong-Sun Yang

Chemical Safety & Health Research Center, Occupational Safety & Health Research Institute

ABSTRACT

We performed the tests of acute and subchronic inhalation toxicity of methyl formate, which has limited toxicological data in spite of its widespread use and enhanced hazard consequent on its high volatility. The median lethal concentration (LC₅₀) was evaluated to be above 5,000 ppm (12.27 mg/L).

In the test with subchronic inhalation, there are no deaths, but with reduction of body weight, food intake, organ weight by exposure to 400 (0.98 mg/L) and 1,600 (3.92 mg/L) ppm, dose-dependently. There were statistical differences in some hematological and blood biochemical parameters as compared to control (e.g. neutrophil and lymphocyte in the 1,600 ppm group, calcium and A/G in 1,600 ppm group).

Methyl formate under the exposure of 1,600 ppm showed the respiratory findings with nasal, it was confirmed that the chemical has respiratory hazard with 1,600 ppm inhalation exposure, induces nasal epithelial atrophy, olfactory cell degeneration/regeneration and the contraction of olfactory cells, etc.

According to the notification with Ministry of Labor (No. 2009-68) for classification, labeling and MSDS of chemicals, it is suggested for methyl formate to be classified as category 4 in acute (10.0 < category 4 ≤ 20.0 mg/L), category 2 (0.2 < concentration ≤ 1.0 mg/L/6h, 90 days) in specific target organ-repeated exposure.

Key words : Methyl formate, Inhalation toxicity, LC₅₀

서 론

접수일: 2010년 5월 25일, 채택일: 2010년 6월 24일

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-42-869-0341, Fax: +82-42-863-9001

E-mail: kk3843@yahoo.co.kr

산업현장에는 다양한 소비자의 요구에 따라 수 많은 제품이 생산되고 있으며 사용되는 원료와 방법 또한 다양하다. 특히 화학제품의 경우 원료와

제조 공법에 따라 사용에 편리한 제품들이 생산되지만 제조 과정에서 공정상의 문제점이나 취급부주의에 의해 유해물질이 작업환경 내로 확산되어 근로자에 노출될 경우 건강장해를 유발하는 경우도 있다. 이 중에는 순간 고 농도 노출에 의한 급성 중독에 의한 사망이나 저 농도 장기노출에 의한 만성 중독으로 하여 생체에 다양한 영향을 초래할 수 있어 이의 예방 차원에서 독성미확인 물질에 대한 유해성을 평가하고 독성이 강할 경우 유해성의 분류 및 관리방법, 노출기준 설정 등을 통해 노출을 최소화 하고 적절한 작업환경관리 및 취급 방안을 제시하여 근로자의 건강장해를 예방하는 조치들이 강구되어지고 있다. 2008년 CAS (Chemical Abstracts Service)에 따르면 세계 유통화학물질의 수는 24만종 이상이며 (CAS, 2008), 국내에서도 2만 5천여 종이 유통되고, 연간 1,000톤 이상 물질도 866종에 이르고 있으나 (환경부, 2007a) 발암성, 만성독성 등 유해성이 명확히 규명된 물질은 10% 수준인 2,600여 종으로 매우 한정적이다. 따라서 산업현장에서 독성미확인 물질을 취급하는 근로자의 건강장해 예방을 위하여 산업안전보건법 제39조 “유해인자의 관리 등”에 의거 유해화학물질로 인한 근로자 건강장해 예방을 위해 유해인자의 분류 및 관리와 작업환경 노출기준의 설정 등 유해성평가가 필요한 물질이나 변이원성, 흡입독성, 생식독성, 발암성 등 근로자의 건강장해 발생이 의심되는 유해인자나 사회적 물의를 일으키는 등 유해위험성 평가가 필요한 물질 (김현영 등, 2006; 노동부, 2009)에 대해 흡입독성을 검토 하였다. 이를 위해 국내 사용량과 취급 근로자수가 많은 화학물질 (박희찬, 2007, 환경부, 2007a)을 중심으로 조사하였으며, 휘발이나 비산이 쉬워 취급부주의시 호흡기나 피부로 흡수되기 쉬우며, 유해성이 예측되나 흡입독성 시험자료가 없는 물질을 우선하여 유해성평가 자료가 확보되어야 한다.

이의 일환으로 선정된 시험 대상물질은 methyl formate (Cas No. 107-31-3)로 methyl methanoate 또는 formic acid, methyl ester로 명명되기도 하는 무색의 액체이며, 20°C에서 증기압이 476 mmHg로 (포화증기의 경우 385,000 ppm에 해당) 휘발성이 매우 강하여 유기물질의 용제와 냉동제, 담배 잎과 농작물의 살충제, 훈증제 등으로 사용되며 (後藤 稯, 1994), 국내에는 2만 톤이 유통되고 있는 것으로

보고되고 있다 (박희찬, 2007). 문헌조사 결과 methyl formate의 급성흡입독성의 치사농도 LC₅₀은 5,200 g/m³ (rat)이며, 인체에 미치는 영향으로는 흡입시 중추신경계 억제, 메스꺼움, 호흡곤란, 졸음, 시력감퇴 증상과 피부 및 눈에 자극증상이 나타나며, 섭취 경우 구토, 위경련, 어지러움, 시각장애 등이 나타날 수 있으며 (British Toxicology, 1984; Boorman *et al.*, 1990; 後藤 稯, 1994; 한국산업안전보건공단, 2009), 체내 흡수의 경우 메탄올과 포름산 (formic acid)으로 가수분해 되어 포름알데히드로 전환되기도 하며, 이러한 과정에서 형성된 대사산물은 체내에서 독성학적 작용을 유발하는 것으로 알려져 있다 (Peng *et al.*, 1995; Nihlén and Droz, 2000; OEHHA, 2008). 또한 methyl formate는 dimethyl-ethylamine (DMEA)의 생산에 쓰이는데, DMEA를 다루는 작업자들 사이에서 시각장애와 호흡기 자극이 발생하는 사례도 보고되었으며, methyl formate의 체내 대사산물 중 하나인 포름산의 경우 비강 호흡상피의 편평세포화생 및 후각세포의 변성, 중추신경계 영향 등이 일부 알려져 있으나 (Thompson, 1992; Nihlén and Droz, 2000; 한국산업안전보건공단, 2009) methyl formate 노출시 생체에 미치는 영향농도, 노출기간 별 영향 평가에 대한 자료는 매우 한정적이었다. 따라서 본 시험물질에 대하여 SD rats를 이용 OECD (2004, 2008) Guideline for Testing of Chemicals 규정에 준한 급성 및 아만성흡입독성시험을 통하여 생체에 미치는 영향을 평가하여 독성미확인 물질에 대한 안전보건자료 (MSDS)의 확보와 유해인자의 분류를 위한 유해성 평가 자료 제공으로 methyl formate 취급 근로자의 건강장해 예방에 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육환경

실험동물은 SLC Japan에서 생산된 6주령의 특정 병원체 부재 SPF (specific pathogen free)의 S.D. (Sprague-Dawley) Rat를 주식회사 중앙실험동물에서 구입하여 청정사육시설 (barrier system)의 검역실에서 1주간 순화 후 흡입챔버 (inhalation chamber) 내에서 가스발생 및 모니터링 시험 장비를 이용하여 시험물질을 실험동물에 노출시켰다. 실험동물은

대조군과 시험물질 노출군으로 구분하였고, 5연식 스테인레스 철망케이지에 실험동물을 개체별로 수용하였다. 환경은 온도 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 20\%$ (단, 시험물질 노출시는 제외), 환기회수 12~15회/시간, 조명 150~300Lux로 12시간으로 하였으며, 사료는 실험동물용 멸균사료 LabDiet 5002 (PMI Nutrition, USA)를, 급수는 상수도수를 삼투압정수 및 자외선 살균기로 소독시킨 음용수를 자유롭게 섭취토록 하였다.

2. 시험물질

시험물질은 methyl formate로 Acros Organics (USA)에서 구입한 1급(Lot # A0263360) 시약을 사용하였으며 대조물질은 Hepa filter 및 운습도 조절을 통해 정화된 청정공기를 사용하고 시험물질 노출군은 가스발생기(Model No. VG-4R, SIBATA Co., LTD, Japan)를 이용 시험물질을 기화시킨 후 시험농도별로 청정공기와 일정 비율로 혼합하여 실험동물이 수용된 각 흡입챔버(Model No. SIS-20RG, SIBATA Co., LTD, Japan)에 공급하였다

3. 시험군의 구성

Rats를 이용 methyl formate의 노출을 위한 시험군의 구성은 급성흡입독성시험군과 아만성흡입독성시험군으로 나누었으며, 급성흡입독성시험의 경우 암컷 실험동물을 이용 각 군별 5마리로 하여 500, 2,500, 5,000 ppm군으로 4시간 단회 노출하고, 아만성흡입독성시험의 경우 대조군과 100, 400 및 1,600 ppm의 4군으로 구성, 각 시험군당 암, 수 각 10마리로 하여 시험물질을 1일 6시간, 주 5일, 13주간 전신 반복노출 토록 구성하였다.

4. 시험물질의 노출농도 설정

시험물질의 노출농도 설정에 있어 급성흡입독성시험의 경우 노동부고시 제2009-68호(2009)에 따라 화학물질의 급성독성 분류기준(100~20,000 ppm)을 참고, 시험 가능 최대 농도로 하여 500, 2,500, 5,000 ppm으로 설정하였으며(100 ppm은 치사농도 이하로 생략), 아만성흡입독성시험의 경우는 급성흡입독성시험에서 나타난 치사농도 및 임상소견의 결과와 다른 연구자의 문헌(後藤 稠, 1994; Peng *et al.*, 1995; Nihlén and Droz, 2004; OEHHA, 2008)을

참고하여 고농도군은 확실영향 예측농도, 저농도군은 무영향농도(NOEL) 또는 무유해영향농도(NOAEL) 예측 농도로 하여 0, 100, 400, 1,600 ppm으로 설정하였다.

5. 급성 및 아만성흡입독성시험 방법

시험방법과 실험항목은 국립환경과학원 「화학물질유해성시험연구기관의 지정 등에 관한 규정, 2004」, OECD 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals 2004, 2008」의 시험방법에 의거 시험물질 노출에 의한 실험동물의 생사 유무와 임상증상, 체중변화, 사료섭취량변화, 안검사, 혈액학적 및 혈액생화학적검사, 병리조직검사 등을 실시했다.

혈액학적검사의 경우 시험물질 노출(13주간) 완료 후 복대동맥으로부터 채혈한 혈액을 자동혈액분석기(ADVIA 2120, SIEMENS, USA)를 이용하여 분석하고, 또한 혈액생화학적검사를 위해 채혈한 혈액의 일부를 3,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 얻은 혈청은 AU400 자동생화학분석기(Olympus, Japan)로, 전해질은 전해질 분석기(RAPIDCHEM 744 Analyzer, SIEMENS, USA)를 활용하여 측정하였다.

시험기간 중 시험물질 노출농도는 급성흡입독성시험의 경우 노출기간(4시간, 단회) 500 ppm 노출군의 경우 504.2 ± 22.38 ppm, 2,500 ppm 노출군은 $2,515.8 \pm 23.20$ ppm, 그리고 5,000 ppm 노출군은 $5,024.6 \pm 39.35$ ppm으로 측정되었으며, 아만성흡입독성시험의 시험물질 노출농도 측정결과는 Fig. 1과 같았다.

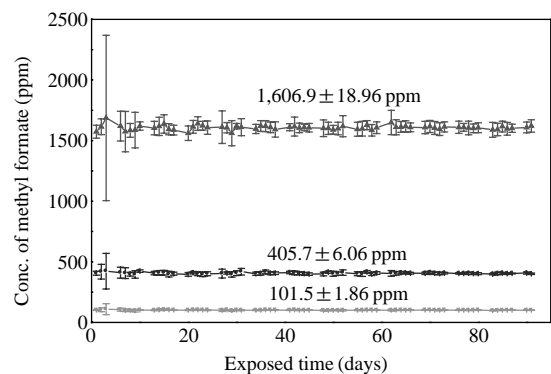


Fig. 1. Changes of concentration in inhalation chambers.

6. 통계처리

시험군 간의 비교에는 모수적인 다중비교(parametric multiple comparison procedures) 혹은 비모수적인 다중비교(non-parametric multiple comparison procedures)를 사용하였으며, 통계학적 분석은 통계 패키지인 SPSS 10.1K를 이용하여 실시하였다. 혈액학적검사, 혈액생화학적검사 및 장기중량은 one-way ANOVA test로 그 유의성을 평가하였으며 p값(p-value)이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였으며, 정규성을 가정하고 Levene test로 등분산성을 검정하여 등분산인 경우 모수적 방법인 분산분석으로 집단 간 평균의 차이를 검정하였다. 사후분석으로 등분산일 경우에는 Duncan을 사용하였고, 등분산을 가정하지 않을 경우에는 Dunnett T3를 사용하였다.

결 과

1. 급성흡입독성

Methyl formate를 시험물질로 하여 SD rat에 500, 2,500 그리고 5,000 ppm으로 4시간 단회 전신노출시험결과 노출기간 중 실험동물의 활동성이 둔화되었고 2,500, 5,000 ppm군의 경우 익일 체중의 500 ppm군에 비해 저하경향을 보였으나 특이한 임상증상은 없었으며 시험물질 노출 종료 후 2일째 활동성과 체중이 정상적으로 회복되었으며, 14일 관찰기간까지 사망동물이나 특이한 이상 증상은 관찰되지 않았다. 또한 관찰기간 종료 후 부검하여 육안적 검사 결과 폐장, 간장, 복강, 흉강 등 각 장기에서도 특이적 이상소견은 없었다.

따라서 본 시험물질의 반수치사농도(LC₅₀)는 5,000 ppm(12.27 mg/L) 이상으로 평가되었다.

2. 아만성흡입독성

1) 임상증상

Methyl formate의 13주간 노출기간 중 사망동물은 없었으며 대조군을 기준으로 1,600 ppm군에서 체중 및 사료섭취량 저하는 있었으나 외관, 호흡, 배설물, 활동성 등에 대한 관찰결과 시험물질 노출에 따른 특이적 임상소견은 관찰되지 않았다.

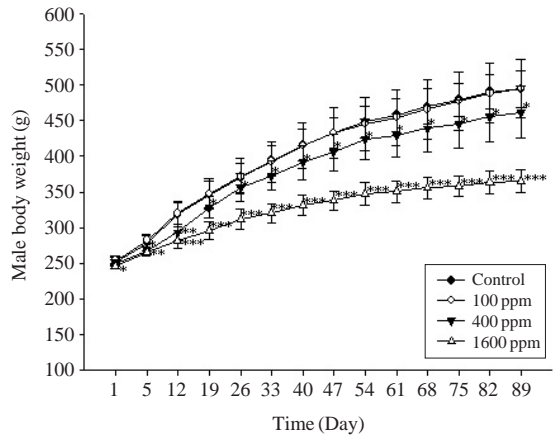


Fig. 2. Changes of body weight in male rats exposed to methyl formate for 13 weeks. Significant differences as compared with control: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

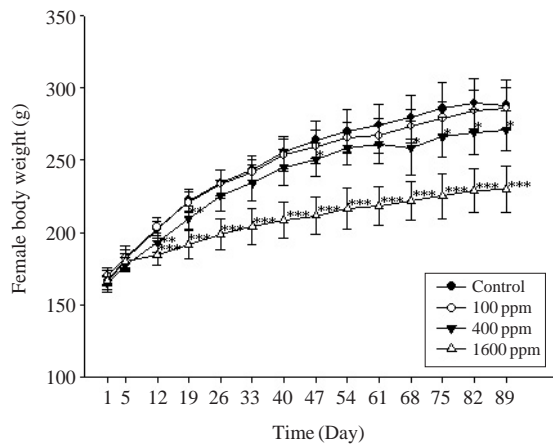


Fig. 3. Changes of body weight in female rats exposed to methyl formate for 13 weeks. Significant differences as compared with control: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

2) 체중변화 및 사료섭취량

Methyl formate 노출기간 중 암·수 동물의 체중변화를 측정된 결과 Figs. 2, 3에서와 같이 대조군과 비교하여 100 ppm군에서는 특이적 영향이 없었으나 400, 1,600 ppm군에서는 암·수 모두 대조군에 비해 통계적으로 유의성(p<0.05, p<0.001) 있는 체중 감소를 보였으며, 100 ppm군에서는 대조군에 비

Table 1. Hematological results in male SD rats after inhaled methyl formate for 13 weeks

Items	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
WBC	4.61±0.83	4.98±1.04	4.56±1.83	3.17±0.47**
RBC	9.27±0.38	9.34±0.29	9.24±0.29	9.15±0.29**
HGB	15.09±0.36	15.07±0.52	14.84±0.42	15.06±0.34
HCT	44.95±1.50	44.30±1.52	43.84±0.95	44.22±1.26
MCV	48.50±0.92	47.40±0.62**	47.49±0.94*	48.34±0.77
MCH	16.30±0.39	16.15±0.45	16.08±0.44	16.47±0.33
MCHC	33.59±0.62	34.05±0.69	33.86±0.61	34.07±0.49
RDW	12.45±0.53	12.98±0.80	13.07±0.97	12.26±0.49
PLT	880.80±85.04	921.50±120.83	923.10±69.63	826.80±87.71
MPV	6.50±0.26	6.36±0.24	6.38±0.40	6.49±0.44
HDW	2.58±0.17	2.82±0.31	2.77±0.26	2.65±0.18
RET	1.84±0.24	1.89±0.27	1.91±0.28	1.47±0.19**
NEU	17.49±3.26	19.66±4.58	21.37±4.78	23.73±4.53**
LYM	78.64±3.72	76.10±4.63	74.77±5.02	71.65±4.09**
MONO	1.74±0.52	2.06±0.62	1.78±0.45	1.87±0.43
EOS	1.37±0.47	1.31±0.39	1.36±0.37	1.98±0.58**
BASO	0.16±0.11	0.13±0.08	0.12±0.08	0.13±0.09
LUC	0.63±0.23	0.73±0.36	0.62±0.21	0.64±0.28

All values are expressed as mean±SD. ***/** Represents a significant difference at $p<0.05/p<0.01$ level compared with the vehicle control. 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 (%); RDW, red blood cell distribution width (%); PLT, platelet ($10^3/\mu^3$); MPV, mean platelet volume (fL); HDW, Hb conc. distribution width (g/dL); RET, Reticulocyte (%); NEU, Neutrophil (%); LYM, Lymphocyte (%); MONO, Monocyte (%); EOS, Eosinophil(%); BASO, basophil (%); LUC, large unstained cell (%).

교하여 통계적인 유의차는 나타나지 않았다.

사료섭취량의 경우 methyl formate 노출기간 중 100 ppm군은 대조군에 비해 특이적 영향이 없었으나 400 ppm군의 경우 부분적 섭취량 저하의 경향을 보였으며, 1,600 ppm군의 경우는 암·수 실험동물 모두 통계적으로 유의한 ($p<0.001$) 사료섭취량 저하를 보였다.

3) 안 검사

Methyl formate의 시험물질 노출 마지막 주(12주째)에 각 군당 암, 수 5마리에 대해 안구의 시진 및 촉진검사와 각막현미경, 안저 카메라 등을 이용 안와 주위, 안검 등 각 부위의 형태학적 변화, 혼탁이나 혈관신생 등을 관찰한 결과 수컷 대조군 1례와 1,600 ppm군 2례에서 각막혼탁과 암컷 대조군 1례에서 백내장이, 암컷 대조군 1례와 1,600 ppm군 한례에서 각막혼탁이 관찰되어 시험물질에 의한 농도 의존성이나 노출에 의한 영향의 특이성은 관찰되지 않아 동물의 개체특이성으로 판단되었다.

4) 혈액검사 결과

혈액학적 검사 결과 Table 1과 같이 수컷 100 ppm 노출군 및 400 ppm 노출군의 MCV는 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며 ($p<0.01$ 및 $p<0.05$), 1,600 ppm 노출군의 RBC, RET, WBC 및 LYM은 대조군에 비해 유의한 감소를 나타낸 반면 ($p<0.01$), NEU 및 EOS는 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다 ($p<0.01$).

또한 암컷군의 경우 Table 2와 같이 400 ppm 노출군에서 EOS는 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며 ($p<0.05$), 1,600 ppm 노출군에서 Platelet 및 LYM은 대조군에 비해 유의한 감소를 나타낸 반면 ($p<0.01$), NEU 및 MONO는 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다 ($p<0.01$).

혈액생화학적 검사 결과에서는 Table 3과 같이 수컷군의 경우 100 ppm 노출군의 Cl^- 는 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으며 ($p<0.05$), 400 ppm 노출군의 TG는 대조군에 비해 유의한 감소를 나타낸 반면 ($p<0.05$), Cl^- 는 대조군에 비해 유의한 증가를 보였고 ($p<0.05$), 1,600 ppm 노출군에서 TG, PRO

Table 2. Hematological results in female SD rats after inhaled methyl formate for 13 weeks

Items	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
WBC	8.37±0.21	8.58±0.18	8.32±0.27	8.55±0.28
RBC	42.56±1.19	43.60±0.99	42.14±1.17	43.80±1.00
HGB	14.86±0.31	15.28±0.26	14.69±0.45	15.19±0.36
HCT	50.85±0.78	50.84±0.92	50.67±0.68	51.26±0.85
MCV	17.77±0.34	17.82±0.46	17.67±0.38	17.78±0.33
MCH	34.95±0.49	35.08±0.61	34.83±0.40	34.69±0.29
MCHC	11.03±0.29	10.97±0.47	11.07±0.50	11.19±0.44
RDW	2.42±0.14	2.45±0.22	2.44±0.12	2.45±0.15
PLT	1.59±0.21	1.67±0.28	1.82±0.26	1.37±0.16
MPV	985.30±87.39	952.10±98.02	1035.20±50.27	792.67±96.21**
HDW	6.84±0.31	6.84±0.28	6.70±0.35	6.79±0.32
RET	3.86±0.86	4.26±1.25	3.95±0.93	3.04±0.73
NEU	14.65±2.53	16.87±3.80	17.03±3.06	19.83±2.60**
LYM	80.81±2.69	78.58±3.86	78.77±3.04	75.02±2.61**
MONO	1.52±0.57	1.79±0.41	1.68±0.51	2.32±0.54**
EOS	2.12±0.50	1.88±0.39	1.54±0.47*	1.96±0.34
BASO	0.14±0.07	0.19±0.09	0.20±0.09	0.13±0.07
LUC	0.73±0.33	0.72±0.18	0.75±0.18	0.74±0.30

All values are expressed as mean ± SD. */** Represents a significant difference at $p < 0.05$ / $p < 0.01$ level compared with the vehicle control. 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 (%); RDW, red blood cell distribution width (%); PLT, platelet ($10^3/\mu^3$); MPV, mean platelet volume (fL); HDW, Hb conc. distribution width (g/dL); RET, Reticulocyte (%); NEU, Neutrophil (%); LYM, Lymphocyte (%); MONO, Monocyte (%); EOS, Eosinophil (%); BASO, basophil (%); LUC, large unstained cell (%).

및 Ca^{2+} 는 대조군에 비해 유의한 감소를 나타낸 반면 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$), A/G 및 Cl^- 는 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다 ($p < 0.05$).

또한 암컷군의 경우 Table 4와 같이 400 ppm 노출군의 CHO, PRO 및 Na^+ 는 대조군에 비해 유의하게 감소하였고 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$), 암컷 1,600 ppm군의 CHO, PRO, ALB, CRE, Ca^{2+} , BUN 및 Na^+ 는 대조군에 비해 유의한 감소를 나타낸 반면 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$), ALP 및 A/G는 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다 ($p < 0.01$).

5) 부검소견

13주간 시험물질 노출 종료 후 생존동물에 대해 부검하여 육안적 관찰결과 좌/우 폐의 발적(redness)이 암·수 모두에서 관찰되었다. 또한 수컷동물에서는 흉선 및 비장의 왜소(decrease in size), 간장 중간엽의 황색막결절(hepatodiaphragmatic nodule), 간장의 황색 융기소(yellowish elevated focus), 하악림프절의 증대(enlargement) 및 발적이 관찰되었으며, 암컷동물에서는 폐장 소견 외에 자궁의 맑은 액체저류(retention of clear fluid)가 확인되었다.

수컷 대조군에서는 폐의 발적이 5례, 흉선의 왜소 및 간장의 황색막결절이 각각 1례, 수컷 100 ppm 노출군에서는 폐의 발적이 6례, 하악림프절의 증대가 1례, 400 ppm 노출군에서는 폐의 발적이 5례, 간장의 황색 융기소 및 하악림프절의 증대와 발적이 각각 1례씩, 1,600 ppm 노출군에서는 폐의 발적이 6례, 흉선의 왜소 및 비장의 왜소가 각각 1례씩 관찰되었다.

또한 암컷 대조군에서는 폐의 발적이 2례, 100 ppm 노출군에서는 폐의 발적이 2례, 자궁의 맑은 액체저류가 1례, 400 ppm 및 1,600 ppm 노출군에서는 폐의 발적이 3례가 관찰되었다.

6) 장기중량 소견

부검 후 각 장기를 적출하여 각 군별, 개체별 무게를 측정된 결과 Table 5와 같이 수컷 400 ppm 노출군은 심장 및 폐(좌엽)의 절대중량이 대조군에 비해 유의한 중량 감소, ($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$), 1,600 ppm 노출군은 흉선, 우측 신장, 심장, 폐(좌엽/우엽), 간장 및 비장의 절대중량이 대조군에 비해 유의하게 감소 ($p < 0.01$), 부신(좌/우), 고환(좌/우), 신장

Table 3. Biochemical serum values in male SD rats after inhaled methyl formate for 13 weeks

Items	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
AST	81.85 ± 21.25	80.77 ± 17.42	75.37 ± 19.06	72.54 ± 14.55
ALT	42.92 ± 6.24	41.03 ± 7.01	41.90 ± 12.79	42.44 ± 5.87
ALP	152.54 ± 47.43	163.90 ± 39.79	134.78 ± 26.06	208.10 ± 54.26
BUN	15.76 ± 1.50	15.06 ± 2.29	14.43 ± 1.33	13.95 ± 1.70
CRE	0.50 ± 0.04	0.51 ± 0.04	0.50 ± 0.03	0.49 ± 0.03
GLU	189.65 ± 30.17	186.79 ± 19.42	177.71 ± 32.22	202.75 ± 33.35
CHO	75.70 ± 19.43	73.40 ± 14.43	68.50 ± 18.51	67.30 ± 11.93
TP	6.28 ± 0.25	6.16 ± 0.26	6.07 ± 0.29	5.92 ± 0.21**
CPK	149.30 ± 78.00	197.20 ± 143.86	128.00 ± 75.48	106.40 ± 85.36
ALB	3.19 ± 0.12	3.09 ± 0.11	3.07 ± 0.14	3.10 ± 0.08
TG	86.90 ± 28.70	94.00 ± 25.21	70.40 ± 24.60*	48.00 ± 8.81**
Ca ²⁺	10.05 ± 0.32	9.88 ± 0.31	9.71 ± 0.20	9.51 ± 0.26*
IP	5.75 ± 0.69	5.53 ± 0.47	5.26 ± 0.74	5.48 ± 0.63
A/G	1.04 ± 0.03	1.02 ± 0.08	1.03 ± 0.05	1.10 ± 0.05*
LDH	481.06 ± 310.02	777.80 ± 646.02	443.27 ± 313.08	420.35 ± 423.25
Na ⁺	142.35 ± 1.83	142.23 ± 1.55	141.90 ± 1.20	140.88 ± 0.60
K ⁺	4.71 ± 0.43	4.60 ± 0.17	4.54 ± 0.29	4.55 ± 0.20
Cl ⁻	103.48 ± 1.73	104.83 ± 1.18*	105.80 ± 0.98**	104.80 ± 1.28*
r-GT	0.50 ± 0.22	0.46 ± 0.16	0.45 ± 0.16	0.40 ± 0.21
T-BIL	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.01

All values are expressed as mean ± SD. ***/** Represents a significant difference at $p < 0.05$ / $p < 0.01$ level compared with the vehicle control. AST, aspartate aminotransferase (U/L); ALT, alanine aminotransferase (U/L); ALP, alkaline phosphatase (U/L); BUN, urea nitrogen in blood (mg/dL); CRE, Creatinine (mg/dL); GLU, glucose (mg/dL); CHO, total cholesterol (mmol/L); TP, total protein (g/dL); CPK, creatine phosphokinase (U/L); ALB, Albumin (g/dL); TG, Triglyceride (mg/dL); Ca²⁺, calcium ion (mg/dL); IP, inorganic phosphorus (mg/dL); A/G, albumin/globulin ratio; LDH, lactate dehydrogenase (μ L); Na⁺, sodium ion (mmol/dL); K⁺, potassium ion (mmol/dL); Cl⁻, chloride ion (mmol/dL); r-GT, r-Glutamyl transferase(U/L); T-BIL, total bilirubin (mg/dL).

(좌/우), 심장, 폐 (좌엽/우엽) 및 뇌의 상대중량이 대조군에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.01$).

또한 암컷군의 경우 Table 6과 같이 400 ppm 노출군은 우측 부신 및 간장의 절대중량이 대조군에 비해 중량의 유의한 감소($p < 0.05$)를, 좌측 난소, 우측 부신 및 뇌의 상대중량이 대조군에 비해 유의하게 증가하였고($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$), 1,600 ppm 노출군은 좌측 부신(좌/우)의 절대중량이 대조군에 비해 유의하게 증가한 반면($p < 0.01$ 및 $p < 0.05$), 흉선, 심장, 간장 및 비장의 절대중량이 대조군에 비해 유의하게 감소하였고($p < 0.01$), 1,600 ppm 노출군의 상대중량에서는 부신(좌/우), 신장(좌/우), 심장, 폐(좌/우) 및 뇌가 대조군에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.01$).

7) 병리조직학적 검사

Methyl formate의 13주간 반복 흡입노출에 따른 호흡기를 중심으로 한 생체에 미치는 영향을 검사하

였다. 조직병리학적 검사 결과 주요소견으로 Figs. 4~9와 같이 암, 수 모두 비강에서는 호흡상피위축(atrophy, respiratory epithelium), 슬잔세포과형성(Hyper-plasia, goblet cell), 비루관염중세포침윤(inflammatory cell infiltrate, naso-lacrimal duct), 후각세포변성/재생(olfactory degeneration/regeneration), 후각세포위축(olfactory atrophy) 및 호흡상피편평세포화생(metaplasia, squamous cell, respiratory epithelium) 등이 관찰되었으며, 후두에서는 피열연골내측면의 편평세포과형성(Hyperplasia, squamous cell, medial aspect of arytenoid cartilage), 염증세포침윤 및 림프구과형성(hyperplasia, lymphoid)이 관찰되었다.

특히 Fig. 5와 같이 수컷 비강 앞쪽부분의 호흡상피위축은 1,600 ppm 노출군에서만 3레가 관찰되었으며, 슬잔세포과형성은 대조군, 100 ppm 노출군, 400 ppm 노출군 및 1,600 ppm 노출군 순으로 1레, 3레, 2레 및 7레가 각각 관찰되었다. 수컷 비강 중간

Table 4. Biochemical serum values in female SD rats after inhaled methyl formate for 13 weeks

Items	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
AST	92.27 ± 33.96	106.04 ± 62.87	80.29 ± 21.57	80.46 ± 19.60
ALT	53.53 ± 23.84	55.59 ± 35.99	43.28 ± 9.93	36.08 ± 7.41
ALP	62.56 ± 8.05	74.30 ± 19.83	82.10 ± 35.99	106.71 ± 29.59**
BUN	15.19 ± 2.61	15.20 ± 1.94	14.86 ± 1.87	12.82 ± 1.62*
CRE	0.52 ± 0.02	0.52 ± 0.04	0.52 ± 0.03	0.47 ± 0.02**
GLU	161.54 ± 11.85	174.93 ± 23.10	179.07 ± 27.94	169.48 ± 23.07
CHO	97.30 ± 15.62	99.10 ± 8.95	81.70 ± 13.71**	73.00 ± 9.12**
PRO	6.56 ± 0.29	6.61 ± 0.19	6.25 ± 0.23*	5.79 ± 0.39**
CPK	102.60 ± 66.37	104.70 ± 52.49	86.50 ± 44.36	74.10 ± 46.34
ALB	3.43 ± 0.16	3.41 ± 0.17	3.32 ± 0.13	3.12 ± 0.18**
TG	51.30 ± 13.31	51.10 ± 12.31	46.40 ± 20.21	38.00 ± 11.11
Ca ²⁺	10.01 ± 0.33	10.02 ± 0.22	9.85 ± 0.24	9.30 ± 0.30**
IP	4.97 ± 0.60	4.88 ± 0.46	4.98 ± 0.57	5.25 ± 0.43
A/G	1.10 ± 0.04	1.07 ± 0.08	1.13 ± 0.05	1.17 ± 0.05**
LDH	390.29 ± 296.02	413.56 ± 278.24	369.86 ± 276.47	434.04 ± 318.70
Na ²⁺	141.35 ± 1.26	140.40 ± 1.46	139.79 ± 1.39*	139.70 ± 1.02*
K ⁺	4.63 ± 0.29	4.63 ± 0.35	4.64 ± 0.19	4.39 ± 0.16
Cl ⁻	105.77 ± 1.42	105.57 ± 1.38	106.10 ± 1.61	105.84 ± 1.60
r-GT	0.99 ± 0.38	1.28 ± 1.27	0.84 ± 0.27	0.96 ± 0.24
T-BIL	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.02

All values are expressed as mean ± SD. *** Represents a significant difference at $p < 0.05$ / $p < 0.01$ level compared with the vehicle control. AST, aspartate aminotransferase (U/L); ALT, alanine aminotransferase (U/L); ALP, alkaline phosphatase (U/L); BUN, urea nitrogen in blood (mg/dL); CRE, Creatinine (mg/dL); GLU, glucose (mg/dL); CHO, total cholesterol (mmol/L); TP, total protein (g/dL); CPK, creatine phosphokinase (U/L); ALB, Albumin (g/dL); TG, Triglyceride (mg/dL); Ca²⁺, calcium ion (mg/dL); IP, inorganic phosphorus (mg/dL); A/G, albumin/globulin ratio; LDH, lactate dehydrogenase (μ /L); Na⁺, sodium ion (mmol/dL); K⁺, potassium ion (mmol/dL); Cl⁻, chloride ion (mmol/dL); r-GT, r-Glutamyl transferase(U/L); T-BIL, total bilirubin (mg/dL).

Table 5. Relative organ weights of male rats after inhaled methyl formate for 13 weeks

Organ weight (g)	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
Body weight ^{a)}	472.23 ± 26.60	473.91 ± 39.44	440.79 ± 36.37*	349.61 ± 16.77**
Adrenal grand-left	0.0059 ± 0.0009	0.0059 ± 0.0007	0.0063 ± 0.0008	0.0084 ± 0.001**
Adrenal grand-right	0.0054 ± 0.0009	0.0056 ± 0.0009	0.0063 ± 0.0009	0.0085 ± 0.001**
Thymus	0.0705 ± 0.0165	0.0751 ± 0.0141	0.0715 ± 0.0104	0.0626 ± 0.0127
Testis-left	0.3738 ± 0.0308	0.3622 ± 0.0272	0.3783 ± 0.0499	0.4627 ± 0.048**
Testis-right	0.3700 ± 0.0331	0.3616 ± 0.0250	0.3712 ± 0.0548	0.4512 ± 0.049**
Kidney-left	0.3062 ± 0.0169	0.3084 ± 0.0236	0.3154 ± 0.0148	0.3741 ± 0.0437**
Kidney-right	0.3059 ± 0.0169	0.3094 ± 0.0198	0.3069 ± 0.0199	0.3642 ± 0.0485**
Heart	0.2760 ± 0.0184	0.2711 ± 0.0120	0.2687 ± 0.0139	0.2955 ± 0.0184**
Lung-left	0.1039 ± 0.0059	0.1016 ± 0.0055	0.1036 ± 0.0078	0.1208 ± 0.0045**
Lung-right	0.2081 ± 0.0119	0.2122 ± 0.0194	0.2115 ± 0.0151	0.2486 ± 0.0110**
Brain	0.4447 ± 0.0322	0.4529 ± 0.0417	0.4711 ± 0.0446	0.5826 ± 0.020**
Liver	2.7564 ± 0.1838	2.7735 ± 0.1295	2.7644 ± 0.2159	2.8226 ± 0.1169
Spleen	0.1483 ± 0.0170	0.1500 ± 0.0221	0.1523 ± 0.0127	0.1345 ± 0.0106

^{a)}Represents body weights right before necropsy, after fasting. *** Represents a significant difference at $p < 0.05$ / $p < 0.01$ level compared with the vehicle control.

부분은 Fig. 7과 같이 후각세포변성/재생은 모든 위축 및 술잔세포과형성은 1,600 ppm 노출군에서 각 1,600 ppm 노출군 동물에서 관찰되었으며, 후각세포 각 6례 및 5례가 관찰되어 다른 시험군에 비해 높

Table 6. Relative organ weights of female rats after inhaled methyl formate for 13 weeks

Organ weight (g)	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
Body weight ^{a)}	274.00 ± 16.32	272.60 ± 15.25	254.73 ± 11.97**	217.46 ± 14.16**
Ovary-left	0.0132 ± 0.0017	0.0132 ± 0.0024	0.0156 ± 0.0029*	0.0151 ± 0.0020
Ovary-right	0.0130 ± 0.0025	0.0142 ± 0.0016	0.0150 ± 0.0027	0.0145 ± 0.0031
Adrenal grand-left	0.0117 ± 0.0021	0.0117 ± 0.0008	0.0135 ± 0.0024	0.0185 ± 0.0023**
Adrenal grand-right	0.0116 ± 0.0022	0.0126 ± 0.0012	0.0150 ± 0.003**	0.0185 ± 0.002**
Thymus	0.1184 ± 0.0181	0.1165 ± 0.0137	0.1215 ± 0.0231	0.0969 ± 0.0111*
Kidney-left	0.3271 ± 0.0159	0.3421 ± 0.0229	0.3474 ± 0.0282	0.3903 ± 0.027**
Kidney-right	0.3285 ± 0.0166	0.3410 ± 0.0204	0.3452 ± 0.0238	0.3794 ± 0.022**
Heart	0.3059 ± 0.0160	0.3169 ± 0.0123	0.3195 ± 0.0246	0.3359 ± 0.0248**
Lung-left	0.1383 ± 0.0106	0.1459 ± 0.0098	0.1457 ± 0.0096	0.1641 ± 0.007**
Lung-right	0.2845 ± 0.0298	0.2912 ± 0.0156	0.2999 ± 0.0173	0.3207 ± 0.0186**
Brain	0.7194 ± 0.0295	0.7387 ± 0.0481	0.7826 ± 0.0401*	0.8835 ± 0.072**
Liver	2.5412 ± 0.1897	2.5638 ± 0.1564	2.5395 ± 0.1681	2.5783 ± 0.1815
Spleen	0.1739 ± 0.0103	0.1792 ± 0.0095	0.1828 ± 0.0182	0.1684 ± 0.0168

^{a)}Represents body weights right before necropsy, after fasting. **/*** Represents a significant difference at $p < 0.05/p < 0.01$ level compared with the vehicle control.



Fig. 4. No remarkable lesion/nasal cavity (level I). Control group, male. H & E

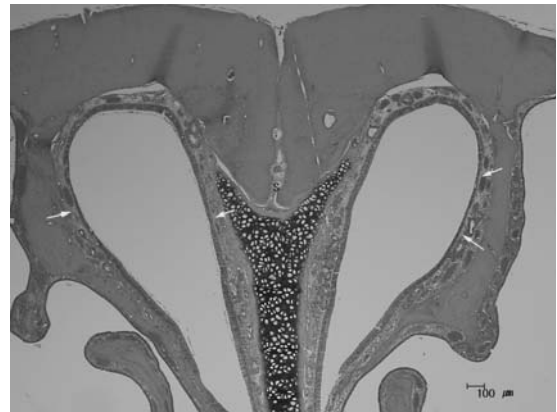


Fig. 5. Atrophy, respiratory epithelium (arrows)/nasal cavity (level I). 1,600 ppm, male. H & E

은 빈도로 나타났다. 그리고 비강 뒤쪽부분은 Fig. 9와 같이 후각세포변성/재생은 1,600 ppm 노출군에서만 6례 관찰되었고 비강 뒤쪽부분 인두관의 술잔세포과형성은 대조군 및 100 ppm 노출군에서 각각 1례 관찰되었으며, 400 ppm 및 1,600 ppm 노출군에서 각각 4례 및 6례가 확인되었다.

또한 암컷군의 경우도 Fig. 5와 같이 호흡상피위축은 1,600 ppm 노출군에서 4례, 술잔세포과형성은 대조군, 100 ppm 노출군, 400 ppm 노출군 및 1,600 ppm 노출군 순으로 1례, 3례, 6례 및 7례가 각각 확인되었으며, 비강 중간부분은 Fig. 7과 같이 후각세

포변성/재생은 모든 1,600 ppm 노출군 동물에서 관찰되었고 후각세포위축 및 술잔세포과형성은 1,600 ppm 노출군에서 각각 6례가 관찰되어 다른 시험군보다 높거나 점차 증가하는 경향으로 나타났다. 암컷 비강 뒤쪽부분은 후각세포변성/재생은 Fig. 9와 같이 1,600 ppm 노출군에서 7례 관찰되었고 인두관의 술잔세포과형성은 대조군 및 100 ppm 노출군에서 각각 1례 관찰되었으며, 400 ppm 및 1,600 ppm 노출군에서 각각 5례 및 9례 관찰되었다.

그러나 기관에서는 염증세포침윤 외에 기관상피세포의 변성과 관련된 소견은 관찰되지 않았으며



Fig. 6. No remarkable lesion/nasal cavity (level II). Control group, female. H & E



Fig. 8. No remarkable lesion/nasal cavity (level III). Control group, Female. H & E



Fig. 7. Olfactory atrophy & olfactory degeneration/regeneration (arrows)/nasal cavity (level II). 1,600 ppm, male. H & E

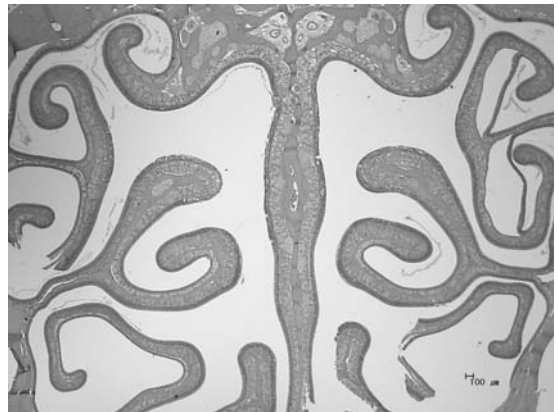


Fig. 9. Olfactory atrophy & olfactory degeneration/regeneration (arrows)/nasal cavity (level III). 1,600 ppm female. H & E

폐장에서는 간질성폐렴 (interstitial pneumonia), 염증 세포침윤, 포말대식세포집적 (aggregate, foamy macrophage), 혈관 무기질 침착 (vascular mineralization), 골화생 (osseous metaplasia) 및 허탈 (collapse)이 관찰되었으나, 모든 시험군에 걸쳐 뚜렷한 차이 없이 크게 확인되었다.

상기 장기 외에 부신, 자궁, 신장, 간장, 비장, 췌장, 심장, 갑상선, 위, 소장, 대장, 안구, 골수 등에서도 조직병리학적 변화가 일부 산발적으로 관찰되었으나, 노출 농도 의존적이지 않아 시험물질 관련성이 없는 것으로 판단하였다.

고 찰

본 연구에서 사용된 시험물질 methyl formate는 알코올 냄새가 나는 무색 액체이며, 끓는점은 32°C, 녹는점은 -99.8°C이며, 인화점은 -19°C, 폭발한계는 4~23 (공기 부피%)로 휘발성과 화재위험성이 강한 물질이다. 증기압은 20°C에서 476 mmHg, 작업 환경 노출기준 TWA는 100 ppm (後藤 稠, 1994; 노동부, 2009; 한국산업안전보건공단, 2009)으로 흡입 시 자극증상 및 중추신경계통 억제를 유발하며 피부에 접촉시 자극적이고, 섭취시 구토, 위경련 등이

나타날 수 있는 물질로 알려져 있으나(British Toxicology, 1984; Boorman *et al.*, 1990; 後藤 稠, 1994) 생체에 미치는 노출 농도나 노출기간에 따른 유해성 연구는 매우 한정적이다. 특히 methyl formate는 dimethyl-ethylamine (DMEA)의 생산에 쓰이는데, DMEA를 다루는 작업자들 사이에서 시작장애와 호흡기 자극이 발생하는 사례와 본 물질을 접하는 사람들의 위해성 문제가 논의되고 있어(Nihlén and Droz, 2000) 이의 정량적 독성규명을 위해 실험동물 SD rats에 methyl formate를 1일 6시간, 주 5일, 13주간 반복 흡입노출시험을 통하여 생체에 미치는 영향 및 유해성을 규명하고자 하였다.

본 연구결과 급성흡입독성시험에서 최고농도인 5,000 ppm에서 사망동물이 없어 반수치사농도 LC₅₀는 5,000 ppm (12.27 mg/L) 이상으로 평가되어 이는 노동부고시 2009-68호 “화학물질의 분류 표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준(노동부, 2009)”에서 유해물질 분류 급성독성 구분 4(10.0 < 구분 4 ≤ 20.0 mg/L) 또는 그 이상에 해당되어 독성이 대체로 낮은 물질로 판단되었다.

13주 반복노출시험에서는 특이적 임상소견은 없었으나 체중변화에 있어 암·수 동물 모두 대조군과 비교하여 400 ppm군 및 1,600 ppm군에서 통계적으로 유의성($p < 0.01$, $p < 0.001$) 있는 감소를 보였으며 100 ppm군에서는 통계적 유의차가 없어 시험물질 methyl formate의 영향에 기인한 것으로 판단되었으며, 사료섭취량에서도 100 ppm군에서는 영향이 없었으나 암, 수 모두 대조군에 비해 400 ppm군 및 1,600 ppm군에서 통계적으로 유의성($p < 0.01$, $p < 0.001$) 있는 감소를 보여 이는 참고문헌(後藤 稠, 1994; Nihlén and Droz, 2000; 한국산업안전보건공단, 2009)에서와 같이 시험물질에 의한 자극과 메스꺼움 등 스트레스의 영향으로 섭취량이 줄어든 것으로 사료된다.

혈액학적 검사 결과, 대조군에 비해 PLT, WBC, TG, ALP 등 유의성($p < 0.05$, $p < 0.01$) 있는 증가 또는 감소가 확인되었으나 이는 이미 알려져 있는 생리학적인 정상범위 내에 포함되거나 다른 관련 인자들의 변화를 동반하지 않는 우발적인 변화로 판단되어 시험물질에 의한 변화와는 관계가 없는 것으로 판단하였다(강부현 등, 1995; Giknis and Clifford, 2006). 예외적으로 수컷 1,600 ppm 노출군에서 WBC 및 LYM는 감소한 반면, NEU는 증가하였으

며, 암컷도 수컷과 동일하게 관찰되었다. 이는 일반적으로 총백혈구 및 림프구의 감소 및 호중구의 증가는 감염성 질병 외에도 전신적인 스트레스 또는 스테로이드성 물질의 투여로 발생할 수 있는 변화 중 하나로 알려져 있다(강정부 등, 2000). 본 시험에서는 대조군과 비교하여 시험물질 노출군 동물의 절식체중이 감소하였으며, 조직병리학적으로 1,600 ppm 노출군에서만 관찰되는 심한 염증성 변화가 확인되지 않았으므로 위의 혈액학적 변화는 시험물질의 노출과 관련된 스트레스성 반응으로 사료되었으며 이러한 영향은 시험물질의 노출농도가 증가할수록 보다 심해지는 경향을 나타내었다.

혈액생화학적 검사 결과, 대조군에 비해 유의성이 확인된 대부분의 변화는 혈액학적 검사와 마찬가지로 생리학적인 정상범위에 포함되거나 다른 관련 인자들의 변화를 동반하지 않아 시험물질에 의한 변화가 아닌 것으로 판단하였다(강부현 등, 1995; Giknis and Clifford, 2006). 단, 암수 400 ppm 및 1,600 ppm 노출군에서 TG, PRO 또는 ALB의 감소는 동물의 영양 상태에 따라 변동할 수 있는 항목으로 400 ppm 및 1,600 ppm 노출군 동물의 절식체중이 대조군에 비해 유의하게 감소하여 서로 관련성이 있는 변화로 판단되었다.

부검 후 각 장기의 육안적 소견에서 폐의 발적은 암, 수 시험군 모두에서 가장 빈번하게 관찰된 소견으로 시험물질 노출군 뿐 아니라 대조군에서도 유사한 빈도로 관찰되었는데, 이는 조직병리학적으로 간질성 폐렴에 동반하여 나타난 것으로 확인되어 시험물질과는 직접적인 관련이 없는 것으로 판단하였으며, 장기중량에 있어 400 ppm 노출군 및 1,600 ppm 노출군의 상대중량의 유의적인 증가는 대부분 각 해당 시험군의 절식체중이 감소하여 발생한 결과로 확인하였다. 암수 1,600 ppm 노출군에서 흉선 및 비장 절대중량의 감소 및 암컷 1,600 ppm 노출군에서 부신 절대중량의 증가는 시험물질에 노출된 동물의 스트레스성 요인에 의한 변화로 판단하였으며, 혈액학적 검사에서 백혈구 수치의 변동과도 관련이 있는 것으로 사료되었다.

조직병리학적 검사 결과, 시험물질의 노출과 관련된 주목할 만한 소견은 상부호흡기계통의 비강에서 확인되었다. 비강은 호흡기계통에서 흡입손상에 노출되는 첫 번째 구조이기 때문에 유발성 병변이 공통적으로 나타나게 된다(강진석 등, 2001).

비강에서 methyl formate의 노출과 관련된 직접적인 조직병리학적 소견은 비강 앞쪽부분의 호흡상피위축, 중간 및 뒤쪽부분의 후각세포변성/재생 및 후각세포위축이었으며, 암, 수 모두 1,600 ppm 노출군에서 높게 관찰되었다. 미국 National Toxicology Program (NTP)의 연구에 의하면, methyl formate의 체내 대사산물 중 하나인 포름산을 F344 랫드에 13주간 흡입하여 독성학적 평가를 실시한 결과, 비강 호흡상피의 편평세포화생 및 후각세포의 변성이 관찰된 바 있다(Thompson, 1992)는 보고와 유사한 결과를 보였다. 그리고 후두에서 외인성 물질에 의한 병리학적 변화는 대개 비특이적이고 제한적인 변화를 보이는데 주요 병변발생 부위로는 후두개의 기저부(base of the epiglottis), 피열연골의 내측면 및 복측오목(ventral pouch)의 앞쪽 및 외측부위이며, 일반적인 조직병리학적 변화로는 정상적인 입방 또는 섬모상피세포의 괴사, 과형성 및 편평세포화생이 있는데(Jones *et al.*, 1996), 본 시험의 암, 수 동물에서 관찰되었던 후두의 피열연골내측면의 편평세포과형성은 시험물질에 의한 변화이지만, 그 정도가 미약하거나 농도 의존적이지 못해 독성학적 의미(Kittle, Ruehl-Fehlert *et al.*, 2004)는 부족하였다.

상기 연구 결과를 토대로 methyl formate는 아만성흡입독성시험에서 암, 수 모두 400 ppm (0.98 mg/L) 노출군 이상에서 체중 및 사료섭취량의 변화, 혈액학적 및 혈액생화학적변화, 장기중량변화, 병리조직검사에서 시험물질에 의한 영향농도로 나타났으며 표적 장기는 비강, 후두를 중심으로 한 호흡기였다. 이는 노동부고시 2009-68호 “화학물질의 분류 표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준(노동부, 2009)”에서 “특정표적장기 독성-반복 노출” 기준의 구분 2 (흡입 < 흰쥐 > 증기; 0.2 < 농도 < 1.0)에 해당되는 유해물질로 분류되었으며, 그 외 폐장, 간장, 심장, 신장을 비롯한 각 장기별 이상소견은 발생 빈도가 약하거나 대조군 및 시험물질 노출군 모두에서 산발적으로 관찰되어 농도 의존성이 없거나 시험물질에 의한 변화가 아닌 것으로(강정부 등, 2000; Giknis and Clifford, 2006) 판단하였다.

결 론

산업현장에서 사용량이 많고 휘발성이 강하여 취

급부주의시 건강장해의 우려가 있으나 유해성 평가자료가 부족한 methyl formate를 시험물질로 하여 SD rats를 이용 OECD test guideline에 의거 4시간 단회노출의 급성흡입독성시험과 0, 100, 400, 1,600 ppm으로 일일 6시간, 주 5일, 13주간 전신 반복노출의 아만성흡입독성시험을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 급성흡입독성시험에서 최고 노출농도인 5,000 ppm에서 사망동물이 없었으며 반수치사농도 LC₅₀는 5,000 ppm (12.27 mg/L) 이상으로 평가되었다. 이는 노동부고시 제2009-68호 “화학물질의 분류 표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준(노동부, 2009)”에서 유해물질 분류 급성독성 구분 4 (10.0 < 구분 4 ≤ 20.0 mg/L) 또는 그 이상의 유해물질에 해당되었다.

2. 아만성흡입독성시험 결과 대조군을 기준으로 400, 1,600 ppm의 노출군 암, 수 모두에서 사망 동물은 없었으나 methyl formate노출에 의한 영향으로 체중 및 사료섭취량의 감소, 장기중량, 혈액학적 및 혈액생화학적 검사에서 WBC, RBC, MPV, ALP 등이 농도 의존적이며 통계적으로 유의성 있는 변화가 있었으며, 병리조직검사에서 1,600 ppm의 고농도군에서 비강의 호흡상피위축, 후각세포변성/재생 및 후각세포위축 유발 등 호흡기 미치는 영향 물질로 확인되었다.

3. 따라서 아만성흡입독성시험결과에서는 400 ppm (0.98 mg/L) 이상 노출군에서 독성학적 영향이 나타나 노동부 고시 “제2009-68호(노동부, 2009)”의 “특정표적장기 독성-반복노출” 기준에 의거 구분 2 (0.2 < 농도 ≤ 1.0 mg/L/6h, 90 days) 물질에 해당되었다.

참 고 문 헌

- 강부현, 손화영, 하창수, 이현숙, 송시환. Sprague-Dawley 랫드의 혈액학·혈액생화학치의 자료분석, 한국실험동물학회지 1995; 11: 141-145.
- 강정부, 권오덕, 김덕환, 김 두, 나기정. 수의임상병리, 기전 연구사 2000.
- 강진석, 남기택, 박인승, 안병우, 양기화, 윤창용, 이국경, 장동덕, 제정환, 홍충만. 독성병리학 도감, 청구문화사 2001; 80-81.
- 국립환경과학원. 화학물질유해성시험연구기관의 지정 등에

- 관한 규정 2004.
- 김현영, 이성배, 강민구, 송시환. 메틸사이클로hex산의 흡입 독성과 유해성 평가, 한국환경독성학회 2006; 21(2): 173-184.
- 노동부. 노동부고시 제2008-26 화학물질 및 물리적인자의 노출기준 2009; 26-27.
- 노동부. 노동부고시 제2009-68호 화학물질의 분류·표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준 2009.
- 박희찬. 유해·위험성 평가를 위한 우선 평가대상 물질 목록작성 연구, 산업안전보건연구원 2007.
- 한국산업안전보건공단. 물질안전보건자료(MSDS), 한국산업안전보건공단 2009.
- 환경부. 제3차 화학물질 유통량조사 최종보고서 2007a.
- 後藤 稠. 産業中毒便覽, 醫療藥出版(株) 1994; 893-894.
- Boorman GA, Eustis SL, Elwell MR, Montgomery CA, Jr. and Mackenzie WF. Pathology of the Fischer rat, Academic Press 1990.
- British Toxicology Society Working Party on Toxicity. A new approach to the classification of substances and preparations on the basis of their acute toxicity, Human Toxicol 1984; 3(2): 85-92.
- CAS (Chemical Abstracts Service; Adivision of the American Chemical Society). 2008.8. Available from: <http://www.cas.org/index.html>.
- Giknis MLA and Clifford CB. Clinical Laboratory Parameter for CrI : CD (SD) Rats, Charles River Laboratories 2006.
- Jones TC, Mohr U and Hunt RD. Respiratory system, Springer 1996.
- Kittel B, Ruehl-Fehlert C, Morawietz G, Klapwijk J, Elwell MR, Lenz B, O'Sullivan MG, Roth DR, Wadsworth PF. RITA Group and NACAD Group. Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice-Part 2, Exp Toxicol Pathol 2004; 55(6): 413-431.
- Nihlén A and Droz PO. Toxicokinetic modelling of methyl formate exposure and implications for biological monitoring, Int Arch Occup Environ Health 2000; 73(7): 479-487.
- OECD. OECD Guideline for Testing of Chemicals: 403 Acute Inhalation Toxicity, 2008.
- OECD. OECD Guideline for Testing of Chemicals: 413 Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day study, 2004.
- OEHHA. Health effects of exposure to methyl formate, a chemical petitioned for exemption from VOC rules. Memorandum to the Air Resources Board from the Office of Environmental Health Hazard Assessment, Available on-line at 2008: <http://www.arb.ca.gov/research/reactivity/methyl-formate-letter.pdf>.
- Peng HM, Raner GM, Vaz AD and Coon MJ. Oxidative cleavage of esters and amides to carbonyl products by cytochrome P450, Arch Biochem Biophys 1995; 318(2): 333-339.
- Thompson M. NTP technical report on toxicity studies of formic acid: Administered by inhalation to F344/N rats and B6C3F1 mice, National Toxicology Program 1992.