

벤조피렌의 급성독성 수준에 따른 관리적 방안 연구

김미나 · 이승길* · 이용식** · 조삼래*** · 김덕현†

한국산업기술대학교 생명화학공학과, *장안대학교 환경보건과, **한국환경시험연구원,
***한국화학물질관리협회

A Study on the Management of benzo[a]pyrene according to the Level of Acute Toxicity

Mina Kim, Seungkil Lee*, Yongsik Lee**, Samrae Cho***, and Dukhyun Kim†

Department of Chemical Engineering & Biotechnology, Korea Polytechnic University, Siheung-si, Korea

*Department of Environment and Public Health, Jangan University, Seoul, Korea

**Korea Testing and Research Institute for Environment, Seoul, Korea

***Korea Chemical Management Association, Seoul, Korea

ABSTRACT

Objectives: This study was carried out to determine LD₅₀ of benzo[a]pyrene to decide the possibility to designate them as toxic substance on the Act on the Registration and Evaluation, etc. of Chemical Substances, and to suggest that they should be managed in what level on the Chemical Control Act.

Methods: Based on the result of a preliminary study, 300 mg/kg was set as the middle dose. A highest dose of 2,000 mg/kg and a lowest dose of 50 mg/kg were selected based on the OECD TG 423. Benzo[a]pyrene was orally administered once to female and male SD rats at dose levels of 50, 300, 2,000 mg/kg (body weight). All animals were monitored daily for clinical signs and mortality over 14 days. Also testicular spermatid count, motility and etc. were examined as well.

Results: Under the condition of this experiment, LD₅₀ of benzo[a]pyrene was assumed to be >2,000 mg/kg. In the lesion according to autopsy, there were no specific symptoms in the control and experimental groups. At 2,000 mg/kg, a decrease in the sperm motility was observed. Benzo[a]pyrene should be designated to be toxic substance as the material assumed to be reproduction-toxicity on the Act on the Registration and Evaluation, etc. of Chemicals. Therefore we should abide by legal procedures determined by Chemicals Control Act in treating it.

Conclusion: Considering the significant result that sperm motility in the experimental group was inferior to that in the reference group, we suggest that benzo[a]pyrene be designated as a toxic substance.

Keywords: Benzo[a]pyrene, acute toxicity, act on the registration and evaluation, etc of chemicals, chemicals control act

I. 서론

수많은 대기오염 유해물질 중에서도 다환방향족탄화수소류(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 이하

PAHs)는 물에 대한 용해도가 낮고 유기용매에 대한 용해도가 큰 물질로서 증기압이 비교적 낮아 입자상 물질에 흡착되어 인체에 흡수된다.¹⁾ PAHs 중 일부는 암과 돌연변이를 유발하는 동시에 산업체와 같은

†Corresponding author: 2121 Jeongwang-dong, Siheung-si, Gyeonggi-do, Korea, Tel: +82-10-8231-1842, E-mail: manakim@nate.com

Received: 27 February 2018, Revised: 06 April 2018, Accepted: 20 April 2018

특정된 작업환경뿐만 아니라 일반대중이 쉽게 노출되는 실내의 공기 중 어디에나 널리 분포되어 있을 수 있어 다른 발암성 물질에 비해 상대적으로 더 많은 연구의 대상이 되어 왔다.²⁾ 하지만 오래 전부터 발암물질로 알려져 왔음에도 불구하고 아직까지 환경대기 중 PAHs에 대한 위해도는 정확하게 평가되지 못하고 있는 실정이다.³⁾ 이는 환경 대기 중에 존재하는 PAHs에 노출될 때 나타나는 증상과 PAHs 그룹 내 어떠한 특정 화합물이 인체에 치명적인 영향을 유발하는지에 관한 정확한 자료가 부족하기 때문이다. PAHs의 지시종인 벤조피렌은 19세기 후반 석유와 석탄 정제 공장에서 근무하는 근로자의 피부암 발병률이 높게 나타나면서부터 관심이 집중되었다.⁴⁾ 벤조피렌은 PAHs 그룹에 속하는 황색의 결정성 고체로 300~600°C 사이 온도에서 불완전연소 생성되기 때문에 오염원은 매우 다양하다. 주로 콜타르, 자동차 배출가스(특히 디젤엔진), 담배연기에 존재하고, 환경오염 등으로 인해 농산물, 어패류 등 조리·가공하지 않은 식품에도 벤조피렌이 존재하고, 식품의 조리·가공 시 식품의 주성분인 탄수화물, 단백질, 지질 등이 분해되어 생성되기도 한다.⁵⁾ 환경부는 국민건강 및 환경을 보호하는 것을 목적으로 '화학물질등록 및 평가 등에 관한 법률(이하 화평법)'을 2013년 5월 최초 제정하여 2015년 1월 1일부터 시행하고 있다. 화평법에서는 국민건강과 환경보호의 목적을 달성하기 위하여 화학물질 등록, 화학물질 및 유해화학물질 함유제품의 유해성·위해성에 관한 심사·평가, 유해화학물질 지정에 관한 사항을 규정, 화학물질에 대한 정보를 생산·활용하도록 하고 있다.⁶⁾ 화평법 제9조에 따라 기존화학물질 중에서 국내 유통량과 유해성 또는 위해성에 관한 정보를 고려하여 환경부령으로 정하는 바에 따라 평가위원회의 심의를 거쳐 등록대상기준화학물질로 지정·고시하였다. 화평법 제10조에 의하면 연간 1톤 이상 신규화학물질 또는 등록대상기준화학물질은 시행규칙 제5조에 따라 화학물질 정보, 용도, 물리화학적 특성자료, 유해성 자료, 분류 및 표시에 관한 자료, 위해성에 관한 자료 등의 서류를 첨부하여 제조 또는 수입하기 전에 등록을 하여야 한다. 특히 화학물질의 물리적·화학적 특성 및 유해성에 관한 자료를 생산·제출 시에는 톤 수에 따라 시험항목을 정하고 있다. 환경부에서는 동일한 등록대상기준화학물질을 등록하여야

하는 경우 물질별 협의체를 구성하여 공동제출자료를 생산, 공유하고 이에 대한 비용을 분담 할 수 있도록 법에서 정하고 있는데⁷⁾ '18년 1월 31일 기준으로 510종 중 343개 물질에 대해서 공동등록 협의체 대표자가 선정 완료되었다. 이들 343개 물질을 살펴보면 톨루엔, 자일렌, 페놀 등 사용량과 유통량이 많은 물질이 대부분이며, 이러한 물질들은 유해성에 대한 자료도 비교적 쉽게 확인이 가능하다. 하지만 본 연구대상물질인 벤조피렌은 343개 공동등록 물질에 포함되지 않았는데, 이는 국내 사용량과 유통량이 많지 않을뿐더러 유해성에 대한 자료도 충분하지 않기 때문일 것이라고 판단되어진다. 또한, 화평법 상 화학물질의 등록지원을 위해 국립환경과학원 및 한국환경공단에서는 소유하고 있는 유해성 시험자료의 목록을 공개하고 이 자료를 이용할 경우 사용료를 지불하도록 하고 있지만 벤조피렌은 이에 포함되어 있지 않다. 따라서 화평법의 화학물질 등록을 위해서는 산업체에서 유해성 시험자료를 생산하여야 하며, 유해성 시험자료의 생산은 기업체에 부담을 줄 수 있다. 주요 방향족탄화수소류 중 벤젠은 IARC 'Group 1'로 지정 관리되고 있는 물질이면서도 급성독성(경구)은 LD₅₀ 930 mg/kg, 급성독성(경피) LD₅₀ >8,260 mg/kg, 급성독성(흡입) LC₅₀ >44.5 mg/L (4 시간)으로 급성독성은 그리 유독하지 않다. 이러한 정보는 발암성뿐만 아니라 급성독성, 유전독성 및 염색체 이상 등 다양한 분야의 유해성이 제공되어야 한다는 것을 의미한다고 할 수 있다. 하지만 2018년 기준 환경부의 화학물질정보시스템 및 화학물질안전관리정보시스템의 벤조피렌 독성학적 자료를 확인하면 IARC 등의 발암성 및 유전독성 분류 이외에 아직 각 분야별 독성 정보가 확보되어 있지 않고⁸⁾(화학물질안전관리정보시스템, 2018), 생명과학 및 의료기술의 발전에도 불구하고 벤조피렌 노출 등에 의한 신체 기능장애, 성장지연 및 발달장애 등과 같은 질병의 원인과 인과관계를 정확히 규명하지 못하고 있다.⁹⁾ 이에 본 연구를 통해 벤조피렌의 급성독성(경구)의 유해성 자료를 확보하고, 이를 바탕으로 화평법 상의 유독물질로 지정 가능 여부를 판단하고, 화학물질관리법(이하 '화관법') 상 어떠한 수준으로 관리되어야 하는지에 대해 제안하고자 본 연구를 시행하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

시험물질은 순도 99%, Sigma-Aldrich사의 Benzo[a]pyrene (CAS No. 50-32-8) 표준시약을 사용하였으며, 유효기간은 2022년 6월 14일까지였다. 시험종은 (주)오리엔트바이오로부터 분양 받은 Sprague-Dawley계통의 랫트로 5주령 된 수컷 20마리, 암컷 20마리를 입수하여 투여개시 시 약 6주령 동물을 사용하였다. Sprague-Dawley 계통은 다양한 종류의 화학물질 독성을 평가하는데 널리 사용되고 있으며, 풍부한 시험기초 자료가 있으므로 본 시험의 실험동물로 선택하였다.

2. 연구 방법

본 연구는 벤조피렌을 암·수 랫트에 단회 경구투여 한 후 발현되는 급성독성을 조사하기 위해 실시하였으며, 국립환경과학원 고시 제2017-4호 화학물질의 시험방법에 관한 규정 제5장 제18항(급성경구독성시험, OECD TG423)에 따라 수행하였다. 본 시험계획서는 고려대학교 IACUC 심의[KOREA-2016-0157]를 통과하였으며, 동물보호 표준작업지침서에 따라 동물에 대한 일반적인 복지를 실시하였다. 또한, 실험동물복지법에 따라 동물의 고통과 통증을 최대한 예방할 수 있는 의약적 조치를 취하였다. 부형제는 corn oil을 사용하였다. 예비실험결과와 화학물질의 분류·표지에 관한 국제 조화시스템(Globally Harmonized System of classification and labelling of chemicals, 이하 GHS)기준을 참고하여 급성독성시험 농도를 설정하였으며, 최종시험 농도는 암, 수컷 동일하게 0, 50, 300 mg/kg 및 2,000 mg/kg으로 설정하였다. 시험물질은 고용량군의 시험물질을 칭량하여 부형제에 용해시킨 후 단계 희석하여 사용하였다. 모든 시험동물을 대상으로 측정 및 관찰을 실시하였으며, 1일 2회 동물의 사망 및 빈사 상태를 관찰하였다. 사망률, 빈사, 외관 및 행동 변화 등을 포함하는 일반증상을 관찰하고, 날짜와 시간, 지속정도 등을 기록하였다. 계획 도살되는 동물을 CO₂ 흡입을 통해 마취 후 후대정맥과 복대동맥을 절단하여 방혈 치사시켜 육안적으로 복강 및 흉강의 비정상 유무를 관찰하였고, 육안소견이 관찰된 장기는 적절한 고정액에 고정 한 후 조직병리학적 검사를 실시하였다.

조직병리학적 검사결과는 식품의약품안전처 등에서 GLP인증을 받은 기관에서 수행하였으며, 인증항목은 조직병리 및 분석항목이었다. 암·수컷 부형제 대조군과 최고 용량군의 동물에 대하여 뇌, 간, 비장, 심장, 폐, 전립선, 신장, 고환, 부고환, 위, 자궁 및 난소 조직을 적출하여 10% 중성 완충 포르말린액에 고정하였다. 고환과 부고환은 Bouin's액에 약 24~72시간 고정 후 70% 에탄올로 옮겼다. 폐는 포르말린을 주입하여 고정하였다. 수컷 부형제 대조군과 최고 용량군의 동물에 대한 모든 생존동물, 사망 후 발견된 동물, 빈사동물의 위 장기에 대하여 조직표본을 만들고 hematoxylin & eosin으로 염색 후 병리조직학적 검사를 실시하였다. 수컷 랫트를 이용한 정자운동성 검사는 채취 정액 일부를 markler sperm counting chamber를 이용하여 정자 수를 측정하였으며, 정자의 운동성은 microscopy를 사용하였다. 또한, 정자의 기형율은 정액을 슬라이드 상에 도말하여 hematoxylineosin 염색을 실시하여 조사하였다. 에스트로겐 및 테스토스테론 농도는 ELISA 방법으로 측정하였다. 시험자료의 분석은 SAS/STAT를 이용하여 통계적으로 분석하였으며, 군간 비교는 다중비교분석을 실시하였다. 데이터는 Bartlett's Test를 이용하여 등분산 검정을 실시한 후 등분산된 데이터는 일원배치분산분석(ANOVA)으로 검정하고, 군간차이는 Dunnett's Test로 분석하였다. 등분산되지 않은 데이터는 Kruskal-Wallis Test로 분석하고, 투여군과 대조군 간의 차이는 Dunn's Rank Sum Test로 분석하였다.

III. 연구결과

1. 벤조피렌 급성독성(경구) LD₅₀ 값

1.1. 급성독성 수준 결과

벤조피렌의 랫트에 의한 급성독성시험 결과는 Table 1과 같다. 벤조피렌에 24시간 동안 랫트를 노출시킨 결과 모든 농도에서 100% 생존하였으므로 LD₅₀ > 2,000 mg/kg으로 추정되었다. 즉, 랫트를 이용한 벤조피렌 단회 경구 투여 독성시험결과 사망률에는 대조군을 포함한 모든 노출군의 랫트에서 시험물질 노출에 의한 특이적인 사망은 관찰되지 않았다. 농도별 노출 종료 후 1일, 3일, 7일 및 2주차에서 모두 사망이 발생하지 않았다(Table 1).

Table 1. The mortality of male and female rats treated with Benzo[a]pyrene (number of rats in each group=5)

Phase Group (M/F)	Treatment Day of Phase								Final Mortality	
	≤1 Days		≤3 Days		≤7 Days		≤15 Days		male	female
	male	female	male	female	male	female	male	female		
Control*	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	0/5
T1 [†]	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	0/5
T2 [‡]	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	0/5
T3 [§]	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	0/5

*Control: 0 mg/kg/day

[†]T1: 50 mg/kg/day[‡]T2: 300 mg/kg/day[§]T3: 2,000 mg/kg/day

1.2. 부검에 따른 소견 결과

암·수컷 랫트를 이용한 벤조피렌 단회 경구 투여 독성 시험결과 부검에 따른 육안검사 중 병변은 대조군 및 50, 300 mg/kg 및 2,000 mg/kg 실험군에서 특이적인 증상은 없었으며, 복강 및 흉강에서도 대조군 및 실험군에서 특이적인 소견은 발생하지 않았다. 다만 수컷 랫트의 현미경적 소견에서 Basophilic tubules, cast, cyst 및 mononuclear cell infiltration 등이 관찰되었는데 이는 설치류에서 자연발생적으로 관찰될 수 있는 소견이며, Basophilic tubules는 세뇨관 상피세포가 호염기성 세포질 특징을 띄며, 세뇨관의 재생을 나타내는 것이고, 일부 신장 세뇨관에서 호염기성으로 관찰되는 것은 정상적인 background으로 관찰되는 변화로 추정된다. Cast는 세뇨관 내강에 호산성 물질이 차 있는 특징을 띄며, 해당 개체에서는 일부 세뇨관에 약한 정도로 관찰되었다. Cyst는 세뇨관 내강이 확장되어 있는 특징을 띄며, 일부 세뇨관에서 관찰되는 cysts는 선천적으로 발생될 수 있는 소견이다. Mononuclear cell infiltration는 단핵세포가 신장 간질 또는 혈관주위에 침윤되어 있는 소견으로 신장에서 흔히 관찰되는 소견이다. 즉, 연구결과 신장에서 관찰된 소견 모두 정도가 약한 것으로 대조군과 실험군에서 비슷한 빈도로 관찰되었다. 연구를 수행한 수컷 랫트의 주요 장기 중 뇌, 신장, 폐 및 비장 등의 무게는 대조군과 벤조피렌을 투여한 실험군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 간 및 심장의 경우 대조군과 실험군 50, 300 mg/kg 및 2,000 mg/kg의 농도로 투여한 군에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$). 생식기계인 고환과 부고환의 무게는 대조군과 실험군간의 유의한

차이는 없었으나, 벤조피렌 2,000 mg/kg 실험군에서 전립선의 평균 무게가 대조군보다 낮아 통계학적으로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$).

1.3. 정자 운동성과 호르몬 검사 결과

수컷 랫트를 이용한 벤조피렌 단회 경구 투여 독성 시험결과 정자 운동성은 실험군에서의 정자운동성 비율이 대조군의 정자운동성 비율보다 감소하는 경향을 보였으며, 이는 벤조피렌을 투여한 집단에서 정자 운동성이 둔해진다고 할 수 있다. 즉, 5% 유의 수준에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$). 고환과 부고환에서의 정자수는 고환의 경우 대조군보다 실험군에서 다소 줄어드는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 부고환의 경우 오히려 대조군에서 다소 증가하였지만 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 정자의 기형율은 대조군과 실험군간의 유의한 차이는 없었으며, 암·수컷 호르몬 검사 결과 에스트로겐의 경우 대조군과 실험군간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았고, 테스토스테론의 경우도 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

2. 벤조피렌 관리적 방안 제시

2.1. 화평법에서의 유독물질 지정

시중에 유통되는 화학물질이 유해성이 있는 것으로 확인될 경우 정부는 그 내용을 공표하여 국민에게 알리고 건강상의 피해가 발생하지 않도록 해야 한다. 화평법 제18조에 따르면 국내에서 제조·수입되는 화학물질에 대하여 유해성 또는 위해성을 평가하고 그 결과에 따라 유해성이 있는 경우에는 유독물

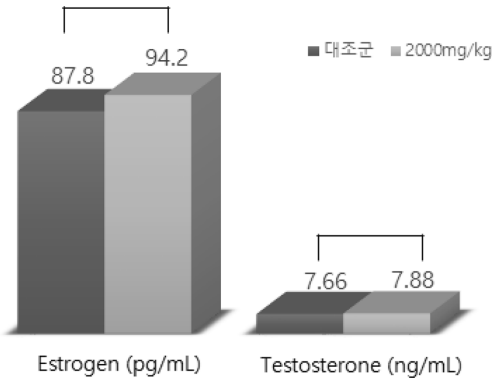


Fig. 1. Comparison of estrogen and testosterone treated with Benzo[a]pyrene

질, 위해성이 있는 경우에는 제한물질 또는 금지물질로 지정·고시하고 있다. 본 실험에서 랫트에 의한 벤조피렌의 급성독성 결과는 LD₅₀ >2,000 mg/kg으로 측정되어 경구 노출로 인한 치사적 영향은 GHS의 기준에 따라 구분 5로 분류 할 수 있으며 이는 비교적 낮은 급성 독성을 가지지만 일정한 특정상황 하에서는 민감한 인구에 유해를 일으킬 수 있음을 의미한다. 단, 국내는 GHS 급성독성 구분 5를 분류하고 있지 않다. 본 연구의 경구 노출로 인해 정자 운동성이 대조군에 비해 실험군이 떨어진다는 유의한 결과는 정상적인 수정에 참여할 수 있는 정자의 비율이 감소한다고 할 수 있으며 이는 생식에 영향을 줄 수 있음을 의미한다. 그러므로 벤조피렌은 화평법 시행령 별표 1 유독물질의 지정 기준에 따라 유독물질로 지정되어야 한다고 판단되며, 국제적으로 IARC (GROUP 1), NTP (R), ACGIH (A2) 등에서도 벤조피렌을 발암물질로 관리하고 있기 때문에 화평법에서의 유독물질로 지정·고시하여야 한다.

2.2. 화학물질관리법(이하 ‘화관법’)에서의 안전관리
벤조피렌의 위해성이 추가로 확인되고 유독물질로

지정되면 인체나 환경 노출 방지를 위한 관리가 필요하다. 첫째, 벤조피렌을 직접 취급 또는 사용하는 자에게는 유해성 및 취급시 주의사항 등에 대한 정보가 제공되어야 한다. 이를 위해서는 화관법 제 16조에 따라 벤조피렌의 용기·포장, 보관·저장시설이나 취급현장에 명칭, 그림문자, 신호어, 유해위험문구 등의 표시를 하여 취급 및 사용자가 안전하게 취급하도록 하여야 한다. 둘째, 벤조피렌이 취급시설로부터 유출 또는 누출이 일어나지 않도록 해야 한다. 화관법 제24조는 유해화학물질 안전관리를 위하여 유해화학물질 취급시설의 배치·설치·관리기준을 규정하고 영업자로 하여금 준수하게 하고 있으므로 벤조피렌에 대해서도 이 규정의 기준에 맞는 취급시설에서 취급하도록 해야 할 것이다. 셋째, 만약 화학사고가 발생하여 벤조피렌이 취급시설로부터 사업장 밖으로 유출·누출될 경우에 대비하여야 한다. 이를 위해서는 벤조피렌 취급시설에 대하여 화관법 제23조에 따라 장외영향평가를 실시하고 사업장 밖의 사람이나 환경에 미치는 영향이 최소화되도록 안전성 확보방안을 마련하고 실시하여야 한다. 넷째, 벤조피렌을 취급하는 영업자에 대해서는 이를 체계적이고 안전하게 관리하도록 의무를 부여하여야 한다. 화관법 제 28조는 유해화학물질 영업자에 대하여 시설·장비, 기술인력 등을 갖추어 영업허가를 받아 취급하도록 규정하고 있으므로 벤조피렌 영업자에 대해서도 이 규정에 따라 영업허가를 받은 후 영업활동을 하도록 하여야 한다.¹⁰⁾

IV. 고찰 및 결론

급성독성은 실험동물에 화학물질을 1회 또는 반복 투여하였을 때 짧은 기간에 빠르게 나타나는 독성으로 흡입독성은 4시간, 경구 및 경피독성은 24시간 후에 반수 치사량으로 평가하는 독성시험이다. 반수치사량 LD₅₀ (50% Lethal Dose)은 검체를 시험동물에

Table 2. Sperm analysis of male rats treated with Benzo[a]pyrene

	Sperm head count (×10 ⁶ /testis)	Sperm Motility (%)	Sperm Abnormality (%)
Control (0 mg/kg)	243.6±4.7	80.2±5.3	3.2±2.0
T1 (50 mg/kg)	226.8±38.1	78.6±13.8	4.5±4.2
T2 (300 mg/kg)	204.8±20.9	77.2±27.9	3.0±2.3
T3 (2,000 mg/kg)	213.7±14.8	76.9±3.8	3.8±0.8

1회 투여하였을 때 시험동물의 반수가 죽는 투여량 시험동물의 체중 kg 당 mg으로 나타내고, 그 값이 적을수록 독성이 강하다고 할 수 있다. 환경부는 화평법 제3조 관련 별표 1 '유독물질의 지정기준'을 통해 '가. 설치류에 대한 급성 경구독성의 지정기준 $LD_{50} \leq 300 \text{ mg/kg}$ '인 화학물질을 유독물질로 지정관리하고 있다. 이 기준과 비교해 본다면 본 연구에서 도출된 급성 경구독성 $LD_{50} > 2,000 \text{ mg/kg}$ 은 벤조피렌에 의한 급성적인 영향은 유해하지 않다고 설명할 수 있다. 안전보건공단의 벤조피렌 MSDS를 살펴보면 벤조피렌 급성 경구독성 $LD_{50} 50\sim 1600 \text{ mg/kg}$ (실험종 Mouse, EHC 202, 1998, NITE)으로 제시되고 있지만, 이는 제공된 참고문헌을 확인해 본 결과 Mouse의 경구와 복강 노출로 인한 $LD_{50} > 1,600 \text{ mg/kg}$ 이었으며,¹¹⁾ Rat의 피하노출로 인한 LD_{50} 은 50 mg/kg 이었다.¹²⁾ 이러한 결과들은 본 실험의 실험종 또는 노출경로가 다르기 때문에 직접적인 비교가 어렵다고 할 수 있다. 또한 식품의약품안전처에서 제공하고 있는 마우스에 복강주사를 하여 도출된 $LD_{50} 250 \text{ mg/kg}$ (년도 미상, IPCS)의 자료도 IPCS를 확인해 본 결과 mouse에 복강으로 노출시켰을 때 approx. 250 mg/kg ¹³⁾로 조사되었으며, 이 또한 실험종과 노출경로가 다르기 때문에 직접적인 비교가 어렵다. 실험결과는 실험종의 차이, OECD Test Guide 적용여부, GLP 여부 등의 다양한 조건에 따라 독성 수준의 차이가 발생할 수 있는데 본 연구의 급성 경구독성 $LD_{50} > 2,000 \text{ mg/kg}$ 은 랫트에 의한 OECD TG 423 적용 데이터로 그 신뢰성이 높다고 할 수 있다.

뇌, 신장, 폐 및 비장 등의 장기에서는 대조군 및 실험군 간의 차이는 발생하지 않았다. 수컷의 경우 간 및 심장에서 대조군과 실험군간의 통계적 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 또한, 고환과 부고환의 무게는 대조군과 실험군간 통계적 유의한 차이는 없었으나 전립선의 경우 $2,000 \text{ mg/kg}$ 실험군에서 대조군보다 낮아 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). 벤조피렌을 단회 투여하여 장기에서 대조군과 실험군간의 통계적 유의한 차이가 있는 연구결과와 비교해 보면 2001년 Maurice 등의 연구에서 수컷 100, 600 mg/kg 및 1,000 mg/kg에서 간의 무게 증가가 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이를 보였고, 같은 연구 암컷 600 mg/kg 및 1,000 mg/kg에서 대조군과 실험군간의 통계적 유의

한 차이($p < 0.05$)를 보였으나, 그 외 다른 어떤 장기도 무게 변화가 나타나지 않았다.¹⁴⁾ 벤조피렌 50, 300 mg/kg 및 2,000 mg/kg 투여 실험군에서 부검에 따른 병변, 복강 및 흉강에서의 특이적인 증상이 발견되지 않았으나, 수컷의 현미경적 관찰 결과 신장에서 Basophilic tubules, cast, cyst 및 mononuclear cell infiltration 등이 관찰되었다. 일부 신장 세뇨관의 호염기성, 세뇨관 내강 확장 및 신장단핵세포가 신장 기질 또는 혈관 주위에 침윤되어 있는 것은 신장에서 흔히 관찰되는 것으로 설치류에서 자연발생적으로 관찰될 수 있는 특징이다. 또한 일부 개체 세뇨관 내강에 호산성 물질이 차 있는 것이 관찰되었으나 매우 약한 정도였다. 즉 본 연구에서 관찰된 모든 결과는 발생빈도와 정도를 고려할 때 모두 정도가 약한 것으로 시험물질과 연관성이 없는 것으로 생각되며, 비슷한 주령의 랫트에서 관찰되는 자연발생 또는 우발적인 것으로 추정된다. 최근까지 발표되는 연구결과는 벤조피렌이 CYP1A1 발현을 유도시켜 더 강력한 독성물질인 벤조피렌 대사체 7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide(BPDE)를 생성시킨다고 보고되고 있는데 2008년 Cho는 C57BL/6 수컷 마우스에 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg의 벤조피렌을 6주간 경구 투여하여 CYP1A1 단백질 발현 증가를 확인하기도 하였다. 벤조피렌의 대사체인 BPDE는 DNA adduct를 생성시켜 체내 암 발생을 유도할 뿐만 아니라 세포 내 활성산소를 증가시켜 세포괴사를 유도할 뿐만 아니라 세포 내 활성산소를 증가시켜 세포괴사를 유도시킨다고 알려져 있다. 수컷 랫트의 실험군에서의 정자운동성 비율이 대조군의 정자운동성 비율보다 감소하는 경향을 보였으며, 이는 벤조피렌을 투여한 집단에서 정자 운동성이 둔해진다고 할 수 있다. 즉, 5% 유의수준에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). 정자수도 대조군보다 감소하는 경향을 보였으나, 통계학적으로 유의하지는 않았고, 정자의 기형을 역시 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 또한 호르몬 검사 결과 에스트로겐 및 테스토스테론의 경우도 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 이러한 연구 결과는 2008년 Cho의 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg의 벤조피렌 노출 결과 부처(부모세대)의 정자 운동성이 대조군에 비해 처리군에서 감소하는 경향을 보이고, 고농도 처리군에서 유의적으로 감

소한다는 결과와 유사하다고 할 수 있다. 또한 2009년 Kim의 연구에서는 4주령 된 수컷 rat에 0.01, 10 mg/kg을 6주간 투여 한 결과 벤조피렌의 노출이 정자의 생존율에는 영향을 끼치지 못하는 못하였으나 정자의 운동성과 수정능을 저하시켰으며,¹⁵⁾ 이는 후세대 정자에까지 영향을 미쳤다고 한 결과와도 유사하다고 할 수 있다.

환경부는 화학물질의 등록, 화학물질 및 유해화학물질 함유제품의 유해성·위해성에 관한 심사평가, 유해화학물질 지정에 관한 사항을 규정하고, 화학물질에 대한 정보를 생산 활용하도록 함으로써 국민건강 및 환경을 보호하는 것을 목적으로 하고 있는 화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률을 제정·관리하고 있다. 이 법의 목적에 따라 본 연구에서 도출된 경구 노출로 인해 정자운동성이 대조군에 비해 실험군이 떨어진다는 유의한 결과는 정상적인 수정에 참여할 수 있는 정자의 비율이 감소한다고 할 수 있으므로 화평법 제3조 관련 별표 1 ‘유독물질의 지정기준’ ‘차. 생식독성 2) 사람에게 성적기능, 생식능력이나 발육에 악영향을 주는 것으로 추정할 만한 동물시험 증거가 있는 물질’에 포함된다고 할 수 있으며, 국제적으로도 발암물질로 관리하고 있으므로 유독물질로 지정되어야 한다고 판단된다.

References

1. Moon CS. Dietary intake and venous blood concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in low-level exposure. *J Environ Health Sci*, 2012; 38(5): 386-392
2. Menzie CA, Potocki BB, Santonato J. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Envir Sci Technol* 1992(26): 1278-1284
3. Phillips DH. Fifty years of benzo[a]pyrene. *Nature*. 1983(303): 468-472
4. Kim O, Song YH, Lee JH. The estimation of benzo(a)pyrene emission from combustion in the Seosan area. *J Environ Health Sci*, 2017; 43(1): 55-63
5. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. vol. 35. polynuclear aromatic compounds. part. 4. bitumens, coal-tars and derived products, shale-oils and soots. 1987
6. Yoon CS, Ham SH, Park JH, Kim SJ, Lee SA, Lee KS, Park DU, Comparison between the chemical management contents of law pertaining to the Ministry of environment and the Ministry of the employment and labor. *J Environ Health Sci*, 2014; 40(5): 331-345
7. Ministry of Environment. Act on the Registration and Evaluation, Etc of Chemicals; 2016
8. National Institute of Chemical Safety. Korea Information System for Chemical Safety Management (KISChem, <http://kischem.nier.go.kr>)
9. Cho YH. The role of polycyclic aromatic hydrocarbons in epigenetic multi-transgenerational reproductive problems. Ministry of food and drug safety.; 2008. p. 51
10. Ministry of Environment. Chemicals control Act.; 2017
11. Awogi T & Sato T (1989) Micronucleus test with benzo[a]pyrene using a single peroral administration and intraperitoneal injection in males of the MS/Ae and CDI-1 mouse strains. *Mutat Res*, 223: 353-356
12. Montizaan GK, Kramers PGH, Janus JA & Posthumus R (1989) Integrated criteria document PAH: Effects of 10 selected compounds. Appendix to Report No. 758474011. Bilthoven, National Institute of Public Health and Environmental Protection, 180 pp (Re-publication in March 1989 of addendum to Report No. 758447007
13. Salamone MF (1981) Toxicity of 41 carcinogens and noncarcinogenic analogs. In: De Serres FJ & Ashby J ed. Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international collaborative programme. Amsterdam, Elsevier North-Holland, pp 682-685 (Progress in Mutation Research, Volume 1).
14. Maurice EK, Frank I, Aramandla R. Acute and subchronic oral toxicities of benzo[a]pyrene in F-344 rats. *Toxicological Sciences* 2001(61): 382-388
15. Kim CM. Epigenetic actions of Benzo[a]pyrene on transgenerational effect in reproduction. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation. 2009