



## 랫드에서 이황화메틸의 2주 반복투여 흡입독성연구

김종춘<sup>1</sup> · 신진영<sup>1</sup> · 신동호<sup>1</sup> · 김성호<sup>1</sup> · 이성배<sup>2</sup> · 한정희<sup>2</sup> · 정용현<sup>2</sup> · 김현영<sup>2</sup> · 박승춘<sup>3</sup>

<sup>1</sup>전남대학교 수의과대학, <sup>2</sup>산업안전보건연구원 산업화학물질연구센터, <sup>3</sup>경북대학교 수의과대학

## Two-Week Repeated Inhalation Toxicity Study of Dimethyl Disulfide in Rats

Jong-Choon Kim<sup>1</sup>, Jin-Young Shin<sup>1</sup>, Dong-Ho Shin<sup>1</sup>, Sung-Ho Kim<sup>1</sup>, Sung-Bae Lee<sup>2</sup>,  
Jung-Hee Han<sup>2</sup>, Yong-Hyun Chung<sup>2</sup>, Hyeon-Yeung Kim<sup>2</sup> and Seung-Chun Park<sup>3</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757

<sup>2</sup>Industrial Safety and Health Research Institute,

Korea Industrial Safety Corporation, Daejeon 305-380

<sup>3</sup>College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received June 25, 2004; Accepted August 23, 2004

**ABSTRACT.** The present study was carried out to investigate the potential toxicity of dimethyl disulfide by a 2-week inhalation in F344 rats. The test article, dimethyl disulfide, was exposed by inhalation to male and female rats at dose levels of 0, 33, 100, or 300 ppm/6 hrs/day for 2 weeks. At the end of treatment period, all males and females were sacrificed. During the test period, clinical signs, mortality, body weights, food consumption, hematology, serum biochemistry, and gross findings were examined. The mean body weights of the male 300 ppm group and the female 33 ppm or higher dose groups were significantly lower than those of the control group, respectively. The mean food consumption at male 300 ppm and female 100 and 300 ppm were significantly decreased compared with the controls. Some treatment-related serum biochemical changes, including decreased alkaline phosphatase at male 300 ppm and female 100 and 300 ppm, reduced total bilirubin at male 300 ppm, and decreased alanine aminotransferase at female 300 ppm, were observed in a dose-dependent manner, but these findings were considered to be of no toxicological significance. There were no adverse effects on mortality, clinical signs, hematology, and necropsy findings in any treatment group. Based on these results, it was concluded that the 2-week repeated dose of dimethyl disulfide by inhalation resulted in suppressed body weight gain and decreased food consumption at the dose of male 300 ppm and suppressed or reduced body weight gain and decreased food consumption at the dose of female 33 ppm or higher. In the present experimental conditions, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was considered to be 100 ppm/6 hrs/day for male rats and below 33 ppm/6 hrs/day for female rats.

**Keywords:** Dimethyl disulfide, Inhalation toxicity, No-observed-adverse-effect level, Rats.

### 서 론

산업사회의 발달과 함께 화학물질의 개발 및 사용량은 비약적으로 증가하고 있다. 현재 10만종 이상의 화학물질

이 개발되어 사용되고 있고, 매년 8,000~10,000개의 신규 화학물질들이 등록되고 있다. 이러한 화학물질은 산업사회에서 매우 중요한 역할을 하는 반면 유해화학물질의 경우, 작업환경에서의 근로자나 제품 사용자에게 있어 유해적 영향이나 건강장해를 일으키기도 하며, 때로는 생태계 전반에 심각한 부작용을 유발하기도 한다(Colborn *et al.*, 1996; 정과 이, 1996; 김 등, 1998). 산업현장에서는 독성이 정확하게 판명되지 않은 새로운 유기용매나 원료 화

Correspondence to: Jong-Choon Kim, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea  
E-mail: [toxkim@chonnam.ac.kr](mailto:toxkim@chonnam.ac.kr)

학물질을 사용함으로써 기존에 보고되지 않은 새로운 유형의 중독사고가 증가하고 있는 실정이다. 최근, 양산 LG 전자의 남여 근로자에서 발생한 무정자증(azoospermia)과 무월경증(amenorrhoea) 및 빈혈(anemia) 등의 산업재해는 반도체 세정제로 사용했던 2-bromopropane이 원인물질인 것으로 확인된 바 있어(Kim *et al.*, 1996, 2004; Park *et al.*, 1997), 산업현장에서 화학물질의 노출에 의한 근로자의 안전성 문제가 국가적 관심사로 부각되고 있다. 특히 휘발성이 강하거나 비산되기 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(Jappinen *et al.*, 1993; Pohle and Kliche, 1996; Wilkins, 1997; Chung *et al.*, 2001).

이황화메틸(dimethyl disulfide, DMDS)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 있다. 2003년 말 현재 미국 NTP(national toxicology program)에서는 본 시험물질에 대한 복귀돌연변이시험의 결과는 음성으로 판정하고 있으나, 흡입독성시험을 포함한 다른 독성시험에 대한 결과는 매우 제한적으로 보고되어 있다. 랫드에서의 경구 반수치사량( $LD_{50}$ )은 190 mg/kg이며, 경구 섭취시 위장관계를 자극하고, 폐로 흡인되어 폐부종과 폐렴을 유발한다. 토끼에서 경피적용시 반수치사량은 2,000 mg/kg 이상이며, 액체나 증기형태로 눈이나 피부에 접촉하게 되면 심한 자극성을 나타내고, 피부를 통해서 흡수가 된다(ELF Atochem North America, 1985). 흡입독성 시험에서는 랫드 반수치사농도(median lethal concentration,  $LC_{50}$ )가 805 ppm/4 hrs로서, 혈떡거름과 기침, 천속 호흡, 입과 인후 및 폐의 화상을 유발하며, 단기

적인 반복 흡입 노출시, 안구와 코 및 호흡기도에 자극성과 체중감소, 적혈구수 및 일부 혈액생화학치의 변화, 그리고 코에서 조직학적 변화를 유발한다고 한다(ATOPINA Chemicals, 2003). 상기한 바와 같이 이황화메틸에 대한 독성학적 영향은 극히 제한적으로 알려져 있을 뿐, 장기적 노출에 의한 독성과 무해용량 및 표적장기 등에 대해서는 보고된 바가 없으며 일일허용섭취량도 설정되어 있지 않은 실정이다. 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, 확실중독량과 무해용량(no-observed-adverse-effect level, NOAEL) 및 표적장기(target organ)를 규명하는 연구가 시급하다.

본 2주 반복투여 흡입독성시험은 독성물질국가관리사업(Korea National Toxicology Program, KNTF)의 일환으로 인체 위해성이 높은 이황화메틸의 안전성 및 작업환경에서의 노출기준설정 등에 대한 기초자료를 확보하고, 또한 아만성 독성시험의 용량설정근거로 활용하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 사육환경

본 시험에서는 4주령의 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 철망케이지(220W × 750L × 180H mm)에 개체별로 수용하였다. 사육조건은 온도  $22 \pm 3^\circ C$ , 상대습도  $50 \pm 20\%$ (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 dimethyl disulfide는 Merck사에서 구입한 시약용 1급(Lot No. S36367344)을 가스발생기로 기화시켜 사용하였으며, 대조물질은 Hepa filter 및 온습도

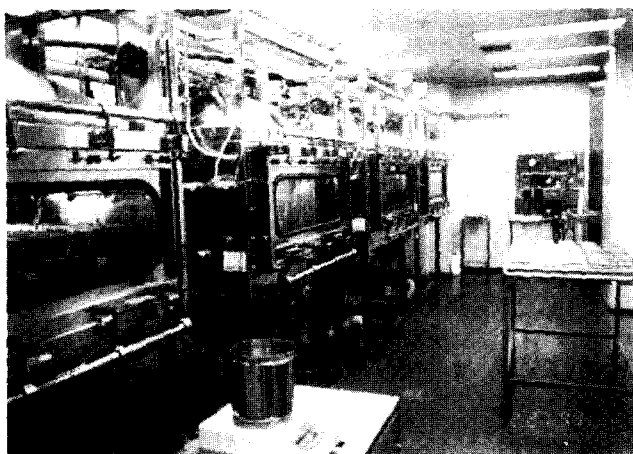


Fig. 1. Picture of inhalation chamber facility.

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(Fig. 1). 시험물질은 gas generator (Sibata Co., Japan)를 이용하여 가열(40°C) 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 챔버내에 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  $\pm 5\%$  이내(저용량군,  $33.0 \pm 1.03$  ppm; 중간용량군,  $100.7 \pm 3.29$  ppm; 고용량군,  $299.5 \pm 9.46$  ppm)의 범위에서 실험동물에 투여되었음을 나타내었다.

#### 시험군의 구성 및 용량설정 근거

시험군은 대조군과 저용량군(33 ppm), 중간용량군(100 ppm) 및 고용량군(300 ppm)의 4개 시험군으로 구성하여 군당 암수 각각 5마리씩, 총 40마리를 시험에 사용하였다. 이황화메틸의 랫드 흡입 반수치사농도는 805 ppm/4 hrs로 알려져 있으나, 반복노출에 대한 독성정보는 알려진 것이 없다. 본 시험물질과 유사물질인 메틸메르캅탄은 반수치사농도가 675 ppm이고, 13주간의 아만성 흡입노출 시 2 및 17 ppm에서는 어떠한 독성소견도 인정되지 않았으나 57 ppm에서 유의성있는 체중감소가 관찰되었다고 한다(Tansy *et al.*, 1981). 상기한 연구결과에 기초하

여, 2주 반복 노출시 충분히 독성이 나타날 것으로 예상되는 300 ppm을 고용량으로 설정하고, 공비 3을 적용하여 100 및 33 ppm의 중간 및 저용량을 추가하였다.

#### 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 증상이 발생되면 증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 개체별로 기록하였다.

#### 체중측정

동물입수시와 순화 종료 후 군분리시에 체중을 측정하였고, 시험기간 중에는 주 2회씩 개체별로 측정하였다.

#### 사료섭취량 측정

사료 섭취량은 주 1회씩 측정하였으며, 측정 방법은 체중 측정일에 사료의 정량을 급여하고 익일에 잔량을 측정하여, 개체별 일일 평균 섭취량(g/rat/day)으로 산출하였다.

#### 부검

14일간의 반복 흡입노출 후 모든 암수동물을 CO<sub>2</sub> 경마취하에서 부검하여 모든 주요 장기 및 조직의 이상유무를 육안적으로 관찰하였다.

#### 혈액학적 검사

모든 암수동물에 대해서 시험물질의 노출종료 후 하룻밤을 절식시키고, 익일 오전에 CO<sub>2</sub> 경마취하에서 개복하여 후대정맥으로부터 채혈하였다. 혈액검체는 혈액 응고 방지제로 EDTA-2K가 들어있는 CBC 채혈병에 채집하였으며, 자동혈구 계수기(Hemavet 850, CDC Technology, USA)를 이용하여 백혈구수(white blood cell or leukocyte count, WBC), 적혈구수(red blood cell or erythrocyte count, RBC), 혈색소농도(hemoglobin concentration, HGB), 적혈구용적(hematocrit, HCT), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(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

**Table 1.** Body weight changes in male and female rats treated with dimethyl disulfide for 2 weeks (n=5)

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	33	100	300
<b>Male</b>				
Day 1	105.2 ± 1.91 <sup>a)</sup>	103.0 ± 2.86	103.8 ± 4.28	104.6 ± 1.64
Day 4	129.7 ± 6.24	131.2 ± 3.87	129.6 ± 3.87	122.1 ± 2.36
Day 7	140.9 ± 7.63	139.6 ± 3.02	137.4 ± 4.30	123.5 ± 2.33**
Day 11	157.2 ± 9.08	159.3 ± 3.00	155.3 ± 4.31	140.6 ± 2.31**
Day 14	163.3 ± 9.75	164.7 ± 2.39	160.7 ± 4.15	144.3 ± 2.16**
<b>Female</b>				
Day 1	78.8 ± 1.26	77.7 ± 1.59	78.3 ± 0.92	78.9 ± 1.48
Day 4	101.6 ± 2.20	97.8 ± 1.41**	96.8 ± 1.00**	91.2 ± 1.57**
Day 7	107.3 ± 2.65	102.4 ± 1.01**	99.6 ± 1.24**	89.7 ± 1.77**
Day 11	117.1 ± 2.60	112.1 ± 2.47**	108.6 ± 1.18**	99.6 ± 1.53**
Day 14	121.4 ± 2.92	115.4 ± 2.23**	110.3 ± 1.01**	99.9 ± 1.14**

<sup>a)</sup>Values are presented as means ± SD (g).

\*\*Significant difference at P<0.01 level compared with the control group.

(Iatron Laboratories, Inc., Japan)에 넣고 15분간 상온에 방치하였다가 2,800 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 얻어진 혈청은 -80°C의 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 SAS program(Statistical Analysis System Institute Inc., 1997)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(1964)으로 유의차를 조사하였다. 전체적으로 검정의 유의수준은 1% 혹은 5%에서 검사하였다.

## 결 과

#### 일반증상 및 사망률

일반증상 관찰 결과, 시험기간 중 시험물질의 폭로에 기인된 일반증상이나 사망동물은 관찰되지 않았다(자료미제시).

#### 체중변화

체중측정 결과, 수컷에서는 300 ppm 용량군에서 투여

개시 후 7일째부터 시험종료시까지의 체중이 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였다(Table 1). 암컷의 경우, 모든 용량군에서 투여개시 후 4일째부터 시험종료시까지의 체중이 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였다.

#### 사료섭취량

사료섭취량 측정 결과, 수컷에서는 300 ppm 용량군에서 투여개시 후 7일째의 섭취량이 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다(Table 2). 암컷에서는 300 ppm 용량군에서 투여개시 후 7일째부터, 그리고 100 ppm 용량군에서는 투여개시 후 14일째의 섭취량이 대조군에 비해 각각 통계학적으로 유의성있게 감소하였다.

#### 혈액학치

투여개시 후 14일째에 모든 동물을 부검하여 혈액학치를 분석한 결과, 수컷동물에서는 각 시험군간에 통계학적인

**Table 2.** Food consumption in male and female rats treated with dimethyl disulfide for 2 weeks (n=5)

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	33	100	300
<b>Male</b>				
Day 7	15.1 ± 2.6 <sup>a)</sup>	14.2 ± 0.7	13.0 ± 1.1	11.7 ± 1.3*
Day 14	16.4 ± 2.1	16.2 ± 1.1	14.8 ± 1.2	13.4 ± 0.6*
<b>Female</b>				
Day 7	12.0 ± 0.9	10.5 ± 0.7	10.4 ± 1.0	8.6 ± 1.5**
Day 14	12.7 ± 1.2	11.9 ± 1.0	10.0 ± 0.8**	9.2 ± 0.6**

<sup>a)</sup>Values are presented as means ± SD (g).

\*Significant difference at P<0.05 level compared with the control group.

\*\*Significant difference at P<0.01 level compared with the control group.

**Table 3.** Hematological findings in male rats treated with dimethyl disulfide for 2 weeks (n=5)

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	33	100	300
WBC ( $\times 10^9/l$ )	6.00 $\pm$ 1.328 <sup>a)</sup>	6.80 $\pm$ 0.812	6.70 $\pm$ 0.576	6.76 $\pm$ 0.809
RBC ( $\times 10^{12}/l$ )	7.43 $\pm$ 0.291	7.34 $\pm$ 0.431	7.40 $\pm$ 0.615	7.00 $\pm$ 0.242
Hemoglobin (g/dl)	14.42 $\pm$ 0.540	14.90 $\pm$ 0.636	14.90 $\pm$ 0.518	14.32 $\pm$ 0.773
Hematocrit (%)	36.48 $\pm$ 1.139	36.26 $\pm$ 2.230	35.9 $\pm$ 3.173	33.84 $\pm$ 1.305
MCV (fl)	49.10 $\pm$ 0.731	49.40 $\pm$ 0.354	48.80 $\pm$ 0.891	48.34 $\pm$ 0.586
MCH (pg)	19.42 $\pm$ 0.597	20.30 $\pm$ 1.061	20.40 $\pm$ 1.483	20.50 $\pm$ 1.690
MCHC (g/dl)	39.56 $\pm$ 1.479	41.18 $\pm$ 2.156	41.80 $\pm$ 3.168	42.42 $\pm$ 3.459
RDW (%)	16.42 $\pm$ 0.602	16.14 $\pm$ 0.720	16.20 $\pm$ 0.438	16.04 $\pm$ 0.270
Platelet ( $\times 10^9/l$ )	697.6 $\pm$ 206.26	810.2 $\pm$ 87.35	782.2 $\pm$ 29.15	727.8 $\pm$ 20.68
MPV (fl)	5.44 $\pm$ 0.592	5.44 $\pm$ 0.230	5.60 $\pm$ 0.217	5.68 $\pm$ 0.217

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

<sup>a)</sup>Values are presented as means  $\pm$  SD.

**Table 4.** Hematological findings in female rats treated with dimethyl disulfide for 2 weeks (n=5)

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	33	100	300
WBC ( $\times 10^9/l$ )	5.78 $\pm$ 0.556 <sup>a)</sup>	6.55 $\pm$ 0.989	5.90 $\pm$ 0.623	6.11 $\pm$ 0.565
RBC ( $\times 10^{12}/l$ )	7.21 $\pm$ 0.723	7.37 $\pm$ 0.513	7.40 $\pm$ 0.659	7.25 $\pm$ 0.894
Hemoglobin (g/dl)	15.92 $\pm$ 0.554	15.50 $\pm$ 0.274	15.60 $\pm$ 0.991	14.88 $\pm$ 0.396
Hematocrit (%)	37.66 $\pm$ 4.128	38.24 $\pm$ 2.557	36.9 $\pm$ 3.178	36.06 $\pm$ 4.706
MCV (fl)	52.20 $\pm$ 1.007	51.92 $\pm$ 0.691	50.30 $\pm$ 0.770**	49.70 $\pm$ 0.693**
MCH (pg)	22.22 $\pm$ 1.642	21.12 $\pm$ 1.228	21.20 $\pm$ 1.072	20.74 $\pm$ 2.115
MCHC (g/dl)	42.58 $\pm$ 3.545	40.62 $\pm$ 2.384	42.20 $\pm$ 1.888	41.72 $\pm$ 4.457
RDW (%)	17.12 $\pm$ 0.286	17.54 $\pm$ 0.643	17.20 $\pm$ 0.573	17.24 $\pm$ 0.439
Platelet ( $\times 10^9/l$ )	746.8 $\pm$ 57.12	778.4 $\pm$ 93.23	701.2 $\pm$ 87.79	785.0 $\pm$ 80.25
MPV (fl)	5.86 $\pm$ 0.185	5.72 $\pm$ 0.110	5.80 $\pm$ 0.217	5.86 $\pm$ 0.219

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

<sup>a)</sup>Values are presented as means  $\pm$  SD.

\*\*Significant difference at P<0.01 level compared with the control group.

**Table 5.** Serum biochemical findings in male rats treated with dimethyl disulfide for 2 weeks (n=5)

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	33	100	300
Aspartate aminotransferase (IU/l)	128.0 $\pm$ 16.78 <sup>a)</sup>	110.4 $\pm$ 12.58	113.8 $\pm$ 10.31	106.4 $\pm$ 11.06
Alanine aminotransferase (IU/l)	37.2 $\pm$ 3.27	35.0 $\pm$ 1.41	32.8 $\pm$ 2.39	40.2 $\pm$ 7.79
Alkaline phosphatase (mg/l)	587 $\pm$ 32.4	613 $\pm$ 59.1	569 $\pm$ 31.7	496 $\pm$ 33.2*
Blood urea nitrogen (mg/dl)	17.8 $\pm$ 1.87	17.5 $\pm$ 0.86	16.7 $\pm$ 1.06	16.7 $\pm$ 0.66
Creatinine (mg/dl)	0.56 $\pm$ 0.055	0.56 $\pm$ 0.055	0.56 $\pm$ 0.055	0.58 $\pm$ 0.045
Glucose (mg/dl)	117.0 $\pm$ 22.66	116.6 $\pm$ 20.56	108.6 $\pm$ 5.13	127.2 $\pm$ 12.62
Total cholesterol (mg/dl)	49.6 $\pm$ 1.34	48.4 $\pm$ 2.51	48.2 $\pm$ 4.87	49.0 $\pm$ 2.92
Total bilirubin (mg/dl)	0.50 $\pm$ 0.190	0.33 $\pm$ 0.100	0.31 $\pm$ 0.061	0.29 $\pm$ 0.023*
Total protein (g/dl)	6.27 $\pm$ 0.107	5.84 $\pm$ 0.647	6.12 $\pm$ 0.254	6.27 $\pm$ 0.124
Lactic dehydrogenase (IU/dl)	2819 $\pm$ 649.2	2131 $\pm$ 550.0	2486 $\pm$ 483.6	1991 $\pm$ 165.2

<sup>a)</sup>Values are presented as means  $\pm$  SD.

\*Significant difference at P<0.05 level compared with the control group.

차이는 인정되지 않았다(Table 3). 반면, 암컷에서는 100 및 300 ppm 용량군의 평균적혈구용적(MCV)이 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였다(Table 4).

#### 혈청생화학치

투여개시 후 14일째에 모든 동물을 부검하여 혈청생화학치를 분석한 결과, 수컷 300 ppm 용량군에서 총 빌리

**Table 6.** Serum biochemical findings in female rats treated with dimethyl disulfide for 2 weeks (n=5)

Parameters	Dimethyl disulfide (ppm)			
	0	33	100	300
Aspartate aminotransferase (IU/l)	105.4 ± 3.91 <sup>a)</sup>	103.4 ± 4.10	102.4 ± 4.67	96.6 ± 6.43
Alanine aminotransferase (IU/l)	35.6 ± 2.30	32.4 ± 2.88	32.0 ± 2.24	28.6 ± 1.82**
Alkaline phosphatase (mg/l)	557 ± 14.7	531 ± 31.1	511 ± 18.4*	434 ± 21.9**
Blood urea nitrogen (mg/dl)	21.0 ± 1.04	21.2 ± 2.30	19.2 ± 1.33	19.3 ± 0.67
Creatinine (mg/dl)	0.60 ± 0.00	0.60 ± 0.00	0.58 ± 0.045	0.56 ± 0.055
Glucose (mg/dl)	124.4 ± 11.08	106.6 ± 8.12	113.6 ± 15.79	116.4 ± 9.89
Total cholesterol (mg/dl)	80.0 ± 1.87	79.6 ± 7.13	74.6 ± 3.65	75.2 ± 9.42
Total bilirubin (mg/dl)	0.53 ± 0.136	0.43 ± 0.112	0.45 ± 0.079	0.46 ± 0.050
Total protein (g/dl)	6.34 ± 0.281	6.11 ± 0.254	5.97 ± 0.430	5.93 ± 0.196
Lactic dehydrogenase (IU/dl)	1588 ± 216.2	1698 ± 221.4	1517 ± 301.7	1559 ± 244.1

<sup>a)</sup>Values are presented as means ± SD.

\*Significant difference at P<0.05 level compared with the control group.

\*\*Significant difference at P<0.01 level compared with the control group.

루빈과 ALP가 대조군의 결과에 비해 각각 통계학적으로 유의성있게 감소하였다(Table 5). 암컷동물에서는 100 ppm 용량군에서 ALP가 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였고, 300 ppm 용량군에서는 ALT와 ALP가 각각 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였다(Table 6).

#### 부검소견

투여개시 후 14일째에 부검한 동물의 육안적 부검소견을 관찰한 결과, 암수 모든 동물에서 어떠한 이상소견도 인정되지 않았다(자료 미제시).

## 고 찰

본 시험은 이황화메틸의 반복 흡입노출에 의한 독성잠재력을 평가하기 위해 암수 랫드에게 0, 33, 100 및 300 ppm 용량으로 2주간 노출하고, 일반증상, 체중, 사료섭취량, 혈액치, 혈청생화학치 및 부검소견을 관찰하였다. 시험결과, 랫드에 있어서 이황화메틸의 반복 흡입노출은 체중증가의 억제 또는 감소와 사료섭취량의 감소를 유발하는 것으로 나타났다.

일반증상을 관찰한 결과, 300 ppm 이하의 농도에서 2주간 반복 흡입노출은 암수동물의 일반증상에 어떠한 영향도 끼치지 않는 것으로 나타났다. 이전 연구결과에 따르면, 랫드에 단회 흡입노출시 반수치사농도(LC<sub>50</sub>)는 805 ppm/4 hrs로서 혈떡거름과 기침, 짧은 호흡, 입과 인후 및 폐의 화상을 유발한다고 하였다(Tansy *et al.*, 1981). 상기 결과와 본 시험 결과간의 이러한 명백한 차이는 노출용량의 차이가 가장 큰 원인으로 사료된다.

체중측정시 수컷 300 ppm 용량군과 암컷 모든 용량군에서 관찰된 체중증가의 억제 또는 감소는 명확한 용량의

존성을 나타내었고, 또한 암수 공히 일치하는 것으로 보아 시험물질의 투여에 기인된 것으로 사료된다. 이전 연구에 따르면, 본 시험물질과 유사한 황화계 악취물질인 메틸테르캅탄을 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(Tansy *et al.*, 1981). 상기 연구결과는 본 시험에서의 연구결과와 일치하는 소견으로서 황화계 화합물의 노출이 체중증가의 억제를 유발하고, 고농도 노출시에는 체중감소를 유발하는 것을 나타낸다. 화학물질의 일반독성 평가시, 체중의 변화는 독성영향에 대한 민감한 표지자로서 잘 알려져 있다(Kim *et al.*, 2002).

수컷 300 ppm 용량군과 암컷 100 ppm 이상 용량군에서 관찰된 사료섭취량의 감소 역시 용량의존적으로 감소하였고, 암수 일치하는 것으로 보아 시험물질의 투여에 기인된 것으로 판단된다. 즉, 랫드에서 황화계악취물질인 이황화메틸의 노출은 식욕부진(anorexia)을 초래하고, 이로 인해 체중증가의 억제를 유발하는 것으로 사료된다.

혈액검사시 암컷 100 ppm 이상 용량군에서 관찰된 평균적혈구용적의 감소는 비록 통계학적 유의성이 인정되었으나 감소정도가 매우 미약(3.6~4.8%)하였고, 랫드에서 관찰되는 정상범위내의 변화여서 독성학적으로 중요하지 않은 변화로 판단된다(Wolford *et al.*, 1986; Kang *et al.*, 1995). 또한, 적혈구와 관련된 다른 항목에서는 어떠한 유의한 변화도 관찰되지 않아 우발적인 소견(incidental finding)으로 사료된다. 한편, 이황화메틸을 닭에게 경구적으로 급여하면, 일주일 후부터 다리 허약과 입모, 혼수 및 빈혈을 나타내며, 적혈구수와 혈색소 농도의 감소와 함께 대부분의 적혈구내에서 Heinz body가 관찰된다고 하였다(Maxwell, 1981). 본 시험의 경우, 상기 연구결과와는

달리 명백한 독성용량에서도 적혈구와 관련된 항목에서 특이적인 변화를 관찰할 수가 없었다. 상기 연구와 본 시험에서 얻어진 연구결과와의 차이는 사용된 실험동물과 투여용량, 투여경로 등의 차이에 기인된 것으로 사료된다.

총 빌리루빈은 혈색소(hemoglobin)가 파괴된 물질로서 간세포의 기능이나 담도의 상태, 용혈, 폐쇄성 황달 등을 진단하는 주요 지표로 이용된다. 급만성 용혈성빈혈이나 담석증, 담관염, 췌장암 및 각종 간질환시에 증가하게 되며, 임상적 의의는 없으나 재생불량성 빈혈이나 철결핍성 빈혈시에는 다소 감소하게 된다. 수컷 300 ppm 용량군에서 관찰된 총 빌리루빈의 감소는 용량의존적으로 감소하였고, 또한 감소정도도 현저(48%)하였기 때문에 시험물질의 투여에 기인된 것으로 판단된다. 그러나 본 시험군에서의 적혈구수는 대조군에 비해 매우 미약(약 5.8%)하게 감소하였고, 혈색소 또한 대조군과 차이가 인정되지 않았기 때문에 독성학적 중요성은 없는 것으로 판단된다. ALP는 간, 신장, 소장, 골조직, 태반 등에 많이 존재하며, 담석증이나 폐쇄성 황달, 급만성 간염, 간암, 골격계 질환, 악성종양 시에 증가한다. 본 시험의 수컷 100 ppm 용량군과 암컷 100 및 300 ppm 용량군에서 관찰된 ALP의 감소는 암수 공히 용량의존적으로 감소한 것으로 보아 시험물질의 투여와 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다. 그러나 ALP의 감소는 임상적 의의가 없기 때문에 본 시험에서 관찰된 ALP의 감소 역시 독성학적인 중요성은 없는 것으로 판단된다. ALT는 주로 간에 존재하는 효소로 신장이나 골격근육에도 소량 존재하며, 급만성 간염이나 담낭염, 담관염, 간암 질환시 이들 조직들의 파괴로 혈청 효소치가 증가하게 된다. 본 시험의 암컷 300 ppm 용량군에서 관찰된 ALT의 감소는 용량의존적으로 관찰되었고, 관련 효소인 ALP의 감소도 동반된 것으로 보아 시험물질의 투여에 기인된 소견으로 판단된다. 그러나 ALT 감소 역시, 독성학적 변화와는 관련이 없는 소견으로 판단된다. 혈청생화학 검사에서 관찰된 총빌리루빈과 ALP 및 ALT의 감소는 사료섭취량의 감소에 의한 기초대사의 감소에 기인된 소견으로 사료되지만 명확한 감소원인을 밝히기 위해서는 추가 연구가 필요하다. 계획도살시 관찰된 부검 소견은 300 ppm 이하의 농도에서 2주간의 반복 흡입 노출은 어떠한 육안적 이상소견도 유발하지 않는다는 것을 보여준다.

결론적으로 랫드에게 이황화메틸을 2주간 반복 흡입 노출한 결과, 수컷에서는 300 ppm 용량에서 체중증가의 억제와 사료섭취량의 감소를 유발하였고, 암컷에서는 33 ppm 이상에서 체중증가의 억제 또는 감소, 100 ppm 이상에서 사료섭취량의 감소를 유발하였다. 본 시험조건 하에서 이황화메틸의 무해용량(no-observed-adverse-effect

level)은 수컷의 경우 100 ppm이고, 암컷의 경우 33 ppm 이하인 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청의 2004년도 독성물질 국가관리체계구축사업으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 김윤신, 최원욱, 김무채 (1998): 공단지역 대기오염과 일별 사망자 수와의 연관성에 관한 연구. 한국보건통계학회지, **23**, 124-136.
- 정용, 이종태 (1996): 대기오염의 건강위해성 평가 및 관리. 화학세계, **35**, 14-19.
- ATOPINA Chemicals, Inc. (2003): Dimethyl disulfide: Material Safety Data Sheet. Available from <<http://www.e-organic-chemicals.com/thio>>.
- Chung, Y.C., Huang, C. and Tseng, C.P. (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.
- Colborn, T., Dumanoski, D. and Myers, J.P. (1996): Our Stolen Future. Are we threatening our fertility, intelligence and survival? A scientific detective story. Dutton, USA.
- Dunnett, C.W. (1964): New tables for multiple comparisons with a control. *Biometrics*, **20**, 482-491.
- ELF Atochem North America Inc. (1985): Initial submission: local tolerance tests in the rabbit using dimethyl disulfide with cover letter dated 092992. OTS0572030.
- Jappinen, P., Kangas, J., Silakoski, L. and Savolainen, H. (1993): Volatile metabolites in occupational exposure to organic sulfur compounds. *Arch. Toxicol.*, **67**, 104-106.
- Kang, B.H., Son, H.Y., Ha, C.S., Lee, H.S. and Song, S.W. (1995). Reference values of hematology and serum chemistry in Ktc: Sprague-Dawley rats (Korean). *Korean J. Lab. Ani. Sci.*, **11**, 141-145.
- Kim, J.C., Kang, B.H., Shin, C.C., Kim, Y.B., Lee, H.S., Kim, C.Y., Han, J., Kim, K.S., Chung, D.W. and Chung, M.K. (2002): Subchronic toxicity of plant sterol esters administered by gavage to Sprague-Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.*, **40**, 1569-1580.
- Kim, J.C., Kim, S.H., Shin, D.H., Ahn, T.H., Kim, H.C., Kim, Y.B., Jiang, C.J., Han, J. and Chung, M.K. (2004): Effects of prenatal exposure to the environmental pollutant 2-bromopropane on embryo-fetal development in rats. *Toxicology*, **196**, 77-86.
- Kim, Y., Jun.g, K., Hwang, T., Jung, G., Kim, H., Park, J., Kim, J., Park, J., Park, D., Park, S., Choi, K. and Moon, Y. (1996): Hematopoietic and reproductive hazards of Korean electronic workers exposed to solvents containing 2-bromopropane. *Scan. J. Work Environ. Health*, **22**, 387-391.
- Maxwell, M.H. (1981): Production of Heinz body anaemia in the domestic fowl after ingestion of dimethyl disulphide: a

- haematological and ultrastructural study. *Res. Vet. Sci.*, **30**, 233-238.
- Park, J.S., Kim, Y.H., Park, D.W., Choi, K.S., Park, S.H. and Moon, Y.H. (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.
- Pohle, H. and Kliche, R. (1996): Emission of odors from composting of biological waste. *Zentralbl. Hyg. Umweltmed*, **199**, 38-50.
- SAS Institute, Inc, (1997): SAS/STAT Software: Changes and Enhancements Through Release 6.12. SAS Institute, NC, USA.
- Tansy, M.F., Kendall, F.M., Fantasia, J., Landin, W.E., Oberly, R. and Sherman, W. (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.
- Wilkins, K. (1997): Gaseous organic emissions from various types of household waste. *Ann. Agric. Environ. Med.*, **4**, 87-89.
- Wolford, S.T., Schroer, R.A., Gohs, F.X., Gallo, P.P., Brodeck, M., Falk, H.B. and Ruhren, F.R. (1986). Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J. Toxicol. Environ. Health*, **18**, 161-188.