



아급성흡입독성시험을 이용한 3-Methylpentane의 GHS 분류 · 표시

†정용현 · 한정희 · 신서호

산업안전보건연구원

(2016년 4월 4일 접수, 2016년 11월 20일 수정, 2016년 11월 21일 채택)

A Study on GHS Classification of 3-Methylpentane by Subacute Inhalation Toxicity

†Yong Hyun Chung · Jeong Hee Han · Seo Ho Shin

Occupational Safety and Health Research Institute, Korea Occupational Safety and Health Agency

(Received April 4, 2016; Revised November 20, 2016; Accepted November 21, 2016)

요약

본 연구는 3-methylpentane에 대한 흡입유해성을 평가하여 국제연합에서 정하는 화학물질의 분류 및 표시에 관한 세계조화시스템(Globally harmonized system, GHS)지침 및 고용노동부고시 제2013-37호에 따른 3-methylpentane의 화학물질 분류 · 표시 자료를 생산하기 위하여 OECD 화학물질 시험가이드라인 아급성흡입독성시험 TG 412(Subacute inhalation toxicity) 시험법에 따라 수행하였다. 본 연구를 위하여 6주령의 랫드(Rat)를 도입하여 1주간 순화시킨 후 암수 각각 대조군 5마리, 저농도군(284 ppm) 5마리, 중농도군(1,135 ppm) 5마리, 고농도군(4,540 ppm) 5마리 등으로 균을 구성하여 일일 6시간, 주 5일, 4주 동안 시험물질을 랫드에 전신으로 노출시켰다. 시험물질 노출을 종료하고 2주 후 시험동물을 희생하여 시험물질에 의한 시험동물의 영향을 평가하였다. 사료섭취량 변화, 체중 변화, 임상관찰, 혈액검사, 부검 소견, 장기무게 측정, 조직병리검사 등 모든 시험결과에서 시험물질에 의한 영향은 나타나지 않아 3-methylpentane의 무유해영향농도는 암수 모두 4,540 ppm 이상으로 판단되어 세계조화시스템(GHS) 지침 및 고용노동부고시 제2013-37호(화학물질의 분류 표시 및 물질안전보건에 관한 기준)의 특정표적장기독성(반복노출) 구분 표시 물질에 해당하지 않은 물질로 판단되었다.

Abstract - Objectives : The purpose of this study was to obtain information regarding Globally Harmonized System(GHS) classification and health hazards that may result from a 4 weeks inhalation exposure of 3-Methylpentane in Sprague-Dawley rats.

Methods : The testing method was conducted in accordance with OECD guidelines for the testing of chemicals No. 412(Subacute Inhalation Toxicity). The Rats were divided into 4 groups(5 male and 5 female rats in each group) and exposed to 0 ppm, 284 ppm, 1,135 ppm, 4,540 ppm 3-Methylpentane in each exposure chamber for 6 h/day, 5 days/week, for 4 weeks. After two weeks, the test animals were autopsied and carried out blood test and biochemical tests and histopathological examination. We used PRISTIMA (Toxicology data management system) to confirm the system and to have confidence of the raw data.

Results : No death and particular clinical presentation including weight change and change of feed rate was observed. Relationship between dose, gender and response was also not significantly changed in hematologic examination, biochemical examination of blood and blood coagulation time. The histopathologic lesions caused by the test substance did not appear.

Conclusions : NOAEL(No Observable Adverse Effect Level) of 3-Methylpentane is more than 4,540 ppm in male group and female group and the Ministry of Employment and Labor Guidance Announcement No.

†Corresponding author:ch935@kosha.net

Copyright © 2017 by The Korean Institute of Gas

2013-37(criteria for the classification marks and Safety of Chemicals) Specific target organ toxicity(repeated exposure) was determined with a substance that is not the separator material.

Key words : 3-Methylpentane, NOAEL, Subacute inhalation toxicity

I. 서 론

3-Methylpentane (CAS No. 96-14-0, diethylmethyl methane, C₆H₁₄)은 헥산(Hexane)의 이성질체(Isomers)로 원유(Petroleum)나 천연가스(Natural gas)에서 자연 발생할 수 있는 무색의 액체이다[1, 2, 3]. 산업안전보건공단의 물질안전보건자료에 의하면 3-Methylpentane의 분자량은 86.18이고 증기압은 190 mmHg (25℃)이며 비중은 0.664(20℃)이다[4]. 용제(Solvent)나 유기합성(Organic synthesis)에 사용되고, 카본블랙(Carbon black)의 원료물질, 윤활제(Lubricant)로도 사용된다[5, 6]. 폴리올레핀(Polyolefins)이나 인조가죽(Synthetic rubbers) 제조 시에 작업 환경에 유출될 수 있다[5, 6].

우리나라 고용노동부고시(제2013-38호 화학물질 및 물리적 인자의 노출기준)에는 3-methylpentane에 관한 노출기준이 별도로 있지 않고 헥산 및 다른 이성체(Hexane, Isomers)로 노출기준이 제시되어 있다. 헥산 및 다른 이성체의 8 시간 시간가중평균(Time weighted average, TWA)은 500 ppm(1800 mg/m³)이며 단시간노출기준(Short-term exposure limit, STEL)은 1,000 ppm(3,600 mg/m³)이다[7]. 1991년 미국정부 산업위생전문가협회(American conference of governmental industrial hygienists, ACGIH)는 5% 미만 n-hexane을 함유한 혼합물과 헥산 이성질체(Hexane isomers)의 8 시간 시간가중평균(TWA)을 500 ppm (1,760 mg/m³)으로 정하였으며 중추신경억제 예방을 위하여 단시간노출기준(STEL)은 1,000 ppm으로 권고하고 있다[8].

본 연구는 고용노동부고시 제2013-38호에서 헥산의 이성질체로 분류되어 관리되고 있는 3-methylpentane에 대한 4주 반복 흡입독성시험을 수행하여 3-methylpentane에 대한 유해성을 평가하고 국제연합의 화학물질의 분류 및 표시에 관한 세계조화시스템(Globally harmonized system, GHS)지침 및 고용노동부고시 제2013-37호에 따른 3-methylpentane의 화학물질 분류 · 표시 및 물질안전보건자료에 관한 기초 자료를 생산하기 위하여 수행하였다[9].

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

시험물질 3-methylpentane은 Sigma-Aldrich(Batch NO. MKBV3123V)에서 구입하여 조사대상 시료의 구성성분 및 함유량 분석을 위해 원액시료 2mℓ를 가스 크로마토그래프-질량분석기(Gas chromatography-mass selective detector, Hewlett Packard 5973N, USA; Agilent 5973N MSD, USA)를 이용하여 scan mode에 의한 정성분석을 실시하여 시료 내 화학물질의 구성성분을 확인 하였으며, gas chromatography와 FID (Hewlett packard 7890 plus, USA)를 이용하여 함유량(%)에 대한 정량분석을 실시하여 3-methylpentane이 99% 이상으로 구성된 물질임을 확인하고 사용하였다. 대조물질은 헤파필터(Hepa filter)로 정화된 청정 공기를 사용하였다.

2. 노출농도 설정

본 연구의 시험농도를 결정하기 위하여 시험물질 3-methylpentane을 Sprague-Dawley 랫드(암 · 수 각 5마리)에 570 ppm, 2,850 ppm 그리고 5,700 ppm으로 4시간 1회 노출시키고 14일 동안 관찰하였다. 모든 시험동물에서 특이한 증상은 관찰되지 않아 시험물질의 반수치사농도(LC50)는 5,700 ppm(20.0 mg/L)이상으로 평가되었다. 이러한 예비시험 결과와 고용노동부고시 제2013-37호(화학물질의 분류 표시 및 물질안전보건에 관한 기준) 건강 유해성 특정표적장기독성(반복노출) 구분 기준 중 독성이 약한 구분 2(0.2 mg/L/6h <농도 ≤ 1.0 mg/L/6h)의 흡입(원위) 증기 기준값의 범위를 고려하여, 3-methylpentane 1 mg/L(284 ppm)을 저농도군(284 ppm)으로 설정하고 저농도군의 4배수를 중농도군(1,135 ppm)로 하고, 중농도군의 4배수를 고농도군(4,540 ppm)으로 설정하였다.

3. 시험방법

본 시험은 경제협력개발기구(Organization for economic co-operation and development, OECD)의 화학물질 테스트 가이드라인 412에 따라 Sprague-Dawley 랫드에 1일 6시간, 주 5일, 4주간 전신으로 노출시켰다 [10].

1) 시험동물 및 사육환경

시험동물은 SLC Japan에서 생산된 6주령의 특정병원체 부재 SPF(Specific pathogen free)의 Sprague-Dawley 랫드를 도입하여 1주간 순화시킨 후 시험군은 암수 각각 5마리씩 대조군(0 ppm), 저농도군(284 ppm), 중농도군(1,135 ppm), 고농도군(4,540 ppm)으로 군을 구성하여 4대의 흡입챔버(내부용적: 1 m³, Model No. SIS-20RG, SIBATA Co., LTD, Japan) 내의 철망케이지(W750 mm × L220 mm × H180 mm)에 개별 수용하였다.

사육환경은 온도 22±3°C, 상대습도 50±20%, 환기회수 12~15회/시간, 조명(150~300 Lux)은 12시간 주기를 유지하였다. 사료는 실험동물용 멸균사료 Picolab Rodent Diet 5053 (LabDiet, USA)을 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 음용수는 미세 여과기와 자외선 살균기가 부착된 음용수 여과기(Model No. WFU-25, SIBATA Co., Japan)를 이용하여 정화된 상수도를 자유섭취 시켰다.

2) 흡입챔버 환경 모니터링

시험물질 노출은 가스발생기(Model No. VG-4R, SIBATA Co., LTD, Japan)로 시험물질을 기화시킨 후 시험농도별로 청정공기와 일정 비율로 혼합하여 각 흡입챔버에 공급하였다. 챔버 내 온도, 습도, 압력, 환기량은 챔버 내 부착된 센서와 환경제어장치(Model No. ICS-20RG, SIBATA Co., LTD, Japan)를 이용하여 30분에 1회씩 측정하였다. 시험물질의 농도는 자동샘플링장치가 부착된 가스크로마토그래프(Gas chromatography, Model No. GCS-14PFFS, SHIMADZU, Japan)로 폭로기간 중 15분 간격으로 1회씩 모니터링을 하였다. 시험물질 농도 모니터링을 위한 표준 가스로는 Ri-gas사에서 제조한 3농도의 3-methylpentane (102 ppm ± 2%, 3032 ppm ± 2%, 6017 ppm ± 2%)을 사용하였다.

3) 시험 항목

(1) 임상증상, 사료섭취량, 체중 변화

시험기간 중 매일 1회 시험동물의 생사 유무와 외관, 운동성, 출혈, 호흡이상 등 일반증상의 변화를 관찰하였다.

사료섭취량은 주 1회 측정하였으며, 사육 상자별로 측정 일에 정량을 급여하고 익일에 남은 양을 측정하여 개체별 일일 사료섭취량(g/rat/day)을 계산하였다.

체중측정은 입수와 균분리 시에 하였으며, 시험물질 노출개시일 이후에는 초기 2주간은 주 2회, 후기 2주간은 주 1회 측정하였다. 시험물질 노출을 중지한 후 2주간은 주 1회 측정하였다.

(2) 혈구, 혈액생화학검사 및 혈액응고시간검사

혈구검사는 시험물질 노출을 종료한 후에 에어레인(Isoflurane, Ilsung Pham, Korea)을 사용하여 시험동물을 마취한 후에 복대동맥에서 채혈하여 자동혈액분석기(Hemavet 850, Drew Scientific, USA)로 혈구수를 측정하였다. 응고방지제로는 EDTA를 사용하였다. 혈액생화학검사는 혈액생화학분석기(Hitachi 7180, Japan)로 검사하였다. 전해질은 전해질분석기(DRI-CHEM 800, FUJI, Japan)로 측정하였다. 혈액응고시간검사는 채혈한 혈액을 sodium citrate로 처리하여 혈액응고검사기(ACL7000, Beckman; KCL-MAI-76-01, USA)를 사용하여 측정하였다.

(3) 장기중량 측정 및 조직병리검사

시험물질 노출을 종료한 후에 각 시험동물을 부검하여 각 장기별로 외부소견을 관찰하고, 장기중량을 측정하였다. 적출한 장기는 hematoxylin & eosin으로 염색하여 광학현미경으로 검정하였다.

4. 통계분석

시험결과 자료의 통계 분석은 PRISTIMA 통계 프로그램을 이용하였다. 시험동물의 체중, 사료 섭취량, 혈액학적검사, 혈액 생화학적 검사 및 장기중량에 대하여는 일원 배치분산 분석을 유의수준 $\alpha=0.05$ 로 검정하였다. 일원배치 분산분석의 검정결과가 $p<0.05$ 인 경우에는 군들 간에 유의한 차이가 있으므로 대조군과 노출군의 다중비교법인 Dunnett's t-test를 실시하여 시험군 간의 유의차를 확인하였다.

III. 연구결과

1. 흡입챔버 내 환경과 노출농도

4주간 시험물질 투여기간 중 온도는 20.1~24.1°C, 상대습도 51~63.3%, 압력 -9.4~-11 mmH₂O이었으며, 환기량은 201.8~211.2 ℓ/min으로 흡입챔버 내 용적 1,000 ℓ (1 m³)을 감안하면 시간당 환기 회수가 12.1~12.7회였다.

시험기간 중 각 노출군의 흡입챔버 내 시험물질의 평균농도(ppm)는 저농도군 278.1 ± 5.8, 중농도군 1,108.6 ± 29.9, 고농도군 4,390.4 ± 93.9로 나타났다 (Fig. 1).

2. 임상증상, 사료섭취량, 체중변화

시험물질 3-methylpentane을 4주간 노출시키면서 각 시험군의 시험동물에 대하여 임상관찰을 실시한 결과, 시험물질에 의한 특이한 변화는 없었다. 사료섭취량, 체중변화 등을 측정된 결과, 암컷 10일차 저농도

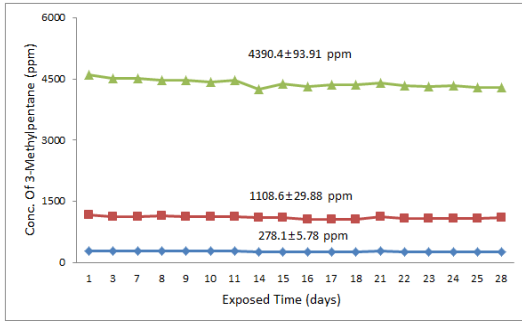


Fig. 1. Changes of 3-methylpentane concentration in inhalation chamber during the experiment.

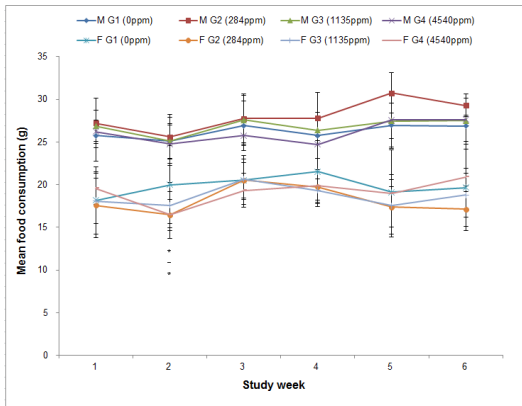


Fig. 2. Changes of food consumption(Mean ± S.D) of male and female rats in the 4 weeks inhalation toxicity study of the 3-methylpentane with 2 weeks recovery period.

* Significantly different from vehicle control at P < 0.05 (female G2, G4).

군과 고농도군에서 일시적으로 유의한 사료섭취감소가 나타났으나 모든 시험기간 동안 체중의 변화는 없었다. 시험물질 노출을 종료하고 2주간의 회복기간에서도 시험물질에 의한 특이한 임상변화는 없었으며 사료섭취량, 체중변화 등을 측정한 결과에서도 시험물질에 의한 유의한 변화는 없었다(Fig. 2, 3).

3. 혈구, 혈액생화학검사

시험물질에 4주간 노출시키고 2주 후 각 시험군에 대한 혈액학적 검사, 혈액생화학검사를 한 결과, 암컷 고농도군의 헤마토크리트(Hematocrit)와 저농도군

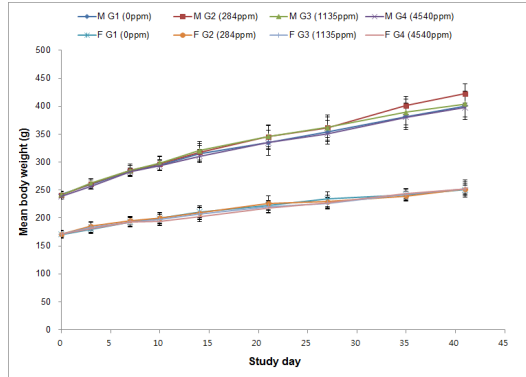


Fig. 3. Changes of body weight(Mean ± S.D) of male and female rats in the 4 weeks inhalation toxicity study of the 3-methylpentane with 2 weeks recovery period.

과 고농도군의 총콜레스테롤(Total cholesterol)이 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였으나 모두 정상범위 내의 변화로 판단되었다. 그 외의 다른 혈액 및 혈액생화학검사 항목에서는 시험물질에 의한 유의한 변화는 없었다. 수컷에서는 모든 시험군에서 시험물질에 의한 유의한 변화는 없었다(Table 1, 2, 3, 4).

4. 부검 및 장기중량

시험물질에 4주간 노출시키고 2주 후 시험동물을 부검하여 관찰한 결과, 중농도군 수컷 1마리에서 고환의 위축이 보였으나 다른 시험동물에서는 시험물질에 의한 특이한 부검소견은 나타나지 않았다.

암수 모든 시험군에 대하여 장기 중량검사를 하였으나 시험물질에 의한 유의한 상대장기무게(Relative organ weights) 변화는 없었다.

5. 조직병리학적 검사

(1) 수컷(Male)

시험물질에 4주간 노출시키고 2주 후 부검한 수컷 각 시험군의 간, 비장, 부신, 침샘, 근육, 척수, 좌골신경, 흉선, 갑상선, 부갑상선, 기관, 식도, 혀, 대뇌, 소뇌, 뇌하수체, 고환, 부고환, 전립선, 응고선, 정낭, 피부, 심장, 대동맥, 췌장, 위, 대퇴골, 방광, 비장, 림프절, 하드리아선, 안구 등에 대한 조직병리검사에서 시험물질에 의한 병변이 나타나지 않았다.

부검 시 중농도군 1마리에서 관찰된 위축된 고환에 대한 조직병리검사 결과에서는 좌측 고환 내 정자세포 소실 및 변성이 중등도(Moderate)로 나타났으며, 고농도군 1마리에서 신장의 간질조직에 염증세포침윤이 미약하게(Minimum) 관찰되었다.

Table 1. Hematological values of male rats exposed to 3-methylpentane for 4 weeks followed by 2-week recovery period

Tests	Groups (ppm)			
	G1 (0) N=5	G2 (284) N=5	G3 (1,135) N=5	G4 (4,540) N=5
WBC	4.368 ± 0.509	5.140 ± 0.971	4.860 ± 0.725	4.316 ± 1.493
NE %	1.324 ± 0.436	1.634 ± 0.329	1.628 ± 0.435	1.490 ± 0.485
LYM %	2.928 ± 0.576	3.298 ± 0.777	3.036 ± 0.385	2.678 ± 0.988
MONO%	0.10 ± 0.046	0.19 ± 0.08	0.18 ± 0.07	0.14 ± 0.04
EOS %	0.016 ± 0.021	0.020 ± 0.007	0.012 ± 0.008	0.006 ± 0.005
BASO %	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.002 ± 0.004	0.000 ± 0.000
RBC	9.550 ± 0.413	9.080 ± 0.429	9.026 ± 0.329	9.154 ± 0.262
HGB	15.56 ± 0.45	15.52 ± 0.67	15.16 ± 0.69	15.46 ± 0.45
HCT	43.56 ± 1.81	41.92 ± 2.03	41.14 ± 2.76	41.82 ± 1.41
MCV	45.720 ± 3.534	46.180 ± 1.424	45.560 ± 1.513	45.700 ± 0.624
MCH	16.34 ± 0.96	17.10 ± 0.46	16.78 ± 0.24	16.90 ± 0.47
MCHC	35.740 ± 1.006	37.040 ± 0.635	36.900 ± 0.794	36.960 ± 0.730
RDW	16.6 ± 0.5	16.8 ± 0.8	17.6 ± 1.3	16.4 ± 0.5
PLT	889.600 ± 51.282	935.000 ± 98.861	1015.400 ± 92.735	1008.200 ± 52.361
MPV	5.580 ± 0.228	5.680 ± 0.295	5.240 ± 0.336	5.680 ± 0.521
PT	24.0 ± 2.0	24.6 ± 1.3	24.2 ± 1.3	24.0 ± 1.4
APTT	22.4 ± 2.7	23.4 ± 2.2	22.8 ± 1.6	24.4 ± 1.1

All values are expressed as mean ± standard deviation

WBC, white blood cell count($10^3/\mu\text{l}$); NE, neutrophil(%); LYM, lymphocyte(%); MONO, monocyte(%); EOS, eosinophil(%); BASO, basophil(%); RBC, red blood cell count($10^6/\mu\text{l}$); HGB, hemoglobin(g/dl); HCT, hematocrit(%); MCV, mean corpuscular volume; MCH(pg), mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration(g/dl); RDW, RBC distribution width(%); PDW, platelet distribution width(%); RETI, reticulocyte(%); PLT, platelet($10^3/\mu\text{l}$); MPV(fL), Mean platelet volume(fL); .PT, prothrombin time(sec); APTT, Activated Partial Thromboplastin Time(sec)

Table 2. Hematological values of female rats exposed to 3-methylpentane for 4 weeks followed by 2-week recovery period

Tests	Groups (ppm)			
	G1 (0) N=5	G2 (284) N=5	G3 (1,135) N=5	G4 (4,540) N=5
WBC	3.576 ± 0.776	4.276 ± 0.792	4.800 ± 0.836	5.680+ ± 0.990
NE %	1.032 ± 0.356	0.984 ± 0.128	1.278 ± 0.232	1.702+ ± 0.331
LYM %	2.310 ± 0.458	3.084 ± 0.733	3.286 ± 0.645	3.696+ ± 0.626
MONO %	0.22 ± 0.10	0.20 ± 0.04	0.22 ± 0.06	0.27 ± 0.07
EOS %	0.010 ± 0.007	0.010 ± 0.007	0.016 ± 0.017	0.018 ± 0.008
BASO %	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
RBC	8.672 ± 0.280	8.678 ± 0.271	8.644 ± 0.143	8.632 ± 0.404
HGB	16.20 ± 0.55	16.34 ± 0.55	16.22 ± 0.29	15.70 ± 0.21
HCT	45.50 ± 0.93	44.84 ± 1.66	44.44 ± 0.50	42.98+ ± 0.66
MCV	52.520 ± 2.389	51.660 ± 0.950	51.420 ± 1.134	49.860 ± 1.828
MCH	18.68 ± 0.49	18.84 ± 0.25	18.76 ± 0.09	18.22 ± 0.64
MCHC	35.600 ± 1.306	36.440 ± 0.808	36.500 ± 0.843	36.560 ± 0.451
RDW	14.8 ± 0.4	15.6 ± 0.9	15.4 ± 0.5	15.0 ± 0.0
PLT	985.000 ± 52.659	984.000 ± 47.812	1062.800 ± 6.261	1019.800 ± 114.587
MPV	5.580 ± 0.249	5.620 ± 0.192	5.600 ± 0.274	5.480 ± 0.466
PT	21.6 ± 2.1	23.0 ± 2.9	23.0 ± 3.4	22.8 ± 2.9
APTT	19.4 ± 1.1	20.4 ± 1.3	19.2 ± 0.8	20.4 ± 0.9

All values are expressed as mean ± standard deviation

+ = Dunnett LSD Test Significant at the 0.01 level

WBC, white blood cell count(103/μl); NE, neutrophil(%); LYM, lymphocyte(%); MONO, monocyte(%); EOS; eosinophil(%); BASO, basophil(%); RBC, red blood cell count(106/μl); HGB, hemoglobin(g/dl); HCT, hematocrit(%); MCV, mean corpuscular volume; MCH(pg), mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration(g/dl); RDW, RBC distribution width(%); PDW, platelet distribution width(%); RETI, reticulocyte(%); PLT, platelet(103/μl); MPV(fL), Mean platelet volume(fL); .PT, prothrombin time(sec); APTT, Activated Partial Thromboplastin Time(sec)

Table 3. Serum biochemical values of male rats exposed to 3-methylpentane for 4 weeks followed by 2-week recovery period

Tests	Groups (ppm)			
	G1 (0) N=5	G2 (284) N=5	G3 (1,135) N=5	G4 (4,540) N=5
TP	6.1 ± 0.2	6.1 ± 0.3	6.2 ± 0.4	6.5 ± 0.2
ALB	3.920 ± 0.084	3.840 ± 0.195	11.320 ± 16.592	4.000 ± 0.071
BUN	15.7 ± 1.9	16.3 ± 1.0	16.5 ± 1.3	17.0 ± 2.1
CREA	0.5400 ± 0.0548	0.5400 ± 0.0548	0.5400 ± 0.0548	0.5600 ± 0.0548
TBIL	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
ALT	117.200 ± 35.829	113.800 ± 25.607	135.400 ± 44.100	108.800 ± 18.794
AST	41.4 ± 3.6	42.8 ± 6.3	48.6 ± 11.5	48.6 ± 9.1
LDH	2576.8 ± 876.4	2458.2 ± 1041.2	2686.8 ± 906.9	1973.0 ± 617.4
ALP	464.4 ± 68.7	487.0 ± 68.0	529.8 ± 114.6	487.2 ± 54.9
GLU	135.8 ± 6.2	135.8 ± 12.3	138.4 ± 22.1	134.0 ± 17.8
TCHO	59.8 ± 11.2	60.6 ± 14.4	61.6 ± 6.7	70.4 ± 13.1
TG	33.6 ± 8.2	33.4 ± 7.2	37.0 ± 6.7	37.0 ± 17.3
CPK	959.6 ± 369.1	811.6 ± 352.7	896.0 ± 334.8	652.6 ± 174.9
Ca ²⁺	9.9 ± 0.3	9.8 ± 0.5	9.8 ± 0.4	10.1 ± 0.3
IP	7.3 ± 0.8	7.4 ± 0.7	7.2 ± 1.1	7.9 ± 1.2
Na ⁺	147.2 ± 1.3	146.6 ± 1.3	146.0 ± 1.6	146.4 ± 0.9
K ⁺	2.7 ± 0.1	2.6 ± 0.10	2.7 ± 0.2	3.1 ± 0.4
Cl ⁻	92.0 ± 1.4	92.6 ± 0.5	94.2 ± 1.6	92.0 ± 2.1

All values are expressed as mean ± standard deviation

TP, total protein(g/dl); ALB, albumin(g/dl); BUN, urea nitrogen in blood(mg/dl); CREA, Creatinine(mg/dl); TBIL, total bilirubin (mg/dl); ALT, alanine aminotransferase(IU/l); AST, aspartate aminotransferase(IU/l); LDH, lactate dehydrogenase(IU/l); ALP, alkaline phosphatase(IU/l); GLU, glucose(mg/dl); TCHO, total cholesterol(mg/dl); TG, Triglyceride(mg/dl); CPK, Creatine phosphokinase(IU/l); Ca²⁺(IU/l), IP, Inorganic phosphorus(mg/dl).Na⁺ (mmol/l),K⁺(mmol/l), Cl⁻(mmol/l)

Table 4. Serum biochemical values of female rats exposed to 3-methylpentane for 4 weeks followed by 2-week recovery period

Tests	Groups (ppm)			
	G1 (0) N=5	G2 (284) N=5	G3 (1,135) N=5	G4 (4,540) N=5
TP	7.0 ± 0.3	6.7 ± 0.2	6.7 ± 0.3	6.5 ± 0.2
ALB	4.340 ± 0.167	4.260 ± 0.230	4.260 ± 0.182	4.160 ± 0.195
BUN	17.8 ± 0.9	16.4 ± 1.4	17.0 ± 3.0	18.6 ± 2.6
CREA	0.5000 ± 0.0000	0.5000 ± 0.0707	0.5200 ± 0.0447	0.5200 ± 0.0447
TBIL	0.1 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
ALT	361.600 ± 433.726	121.600 ± 15.518	129.600 ± 24.265	122.200 ± 50.356
AST	68.2 ± 42.8	42.8 ± 7.5	44.8 ± 7.4	43.8 ± 13.40
LDH	1637.0 ± 556.3	2030.0 ± 836.6	2028.2 ± 842.2	1889.6 ± 1043.7
ALP	291.6 ± 23.6	286.0 ± 68.2	271.8 ± 88.1	282.6 ± 28.5
GLU	140.4 ± 20.1	150.6 ± 11.0	155.0 ± 11.4	157.2 ± 34.1
TCHO	99.4 ± 6.8	78.0* ± 11.9	93.8 ± 7.8	81.2* ± 15.2
TG	13.6 ± 1.7	16.0 ± 4.1	16.4 ± 1.8	20.0 ± 6.3
CPK	601.4 ± 198.2	777.2 ± 348.1	751.0 ± 320.3	625.2 ± 314.9
Ca ²⁺	10.3 ± 0.3	10.1 ± 0.4	10.3 ± 0.2	10.1 ± 0.2
IP	7.9 ± 0.4	8.4 ± 0.7	8.0 ± 0.3	8.2 ± 0.4
Na ⁺	146.6 ± 1.8	147.0 ± 0.7	145.0 ± 0.7	145.4 ± 1.8
K ⁺	2.6 ± 0.2	2.6 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.6 ± 0.1
Cl ⁻	88.6 ± 1.3	87.2 ± 1.3	87.4 ± 1.8	88.6 ± 1.9

All values are expressed as mean ± standard deviation

* = Dunnett LSD Test Significant at the 0.05 level

TP, total protein(g/dl); ALB, albumin(g/dl); BUN, urea nitrogen in blood(mg/dl); CREA, Creatinine(mg/dl); TBIL, total bilirubin (mg/dl); ALT, alanine aminotransferase(IU/l); AST, aspartate aminotransferase(IU/l); LDH, lactate dehydrogenase(IU/l); ALP, alkaline phosphatase(IU/l); GLU, glucose(mg/dl); TCHO, total cholesterol(mg/dl); TG, Triglyceride(mg/dl); CPK, Creatine phosphokinase(IU/l); Ca²⁺(IU/l), IP, Inorganic phosphorus(mg/dl).Na⁺ (mmol/l),K⁺(mmol/l), Cl⁻(mmol/l)

Table 5. Relative organ weights of male rats exposed to 3-methylpentane for 4 weeks followed by 2-week recovery period

	Groups (ppm)			
	G1 (0) N=5	G2 (284) N=5	G3 (1,135) N=5	G4 (4,540) N=5
TBW(g)	374.74 ± 22.32	395.34 ± 17.33	379.00 ± 21.28	374.00 ± 19.55
Adrenal gland L	0.0079 ± 0.0009	0.0074 ± 0.0005	0.0069 ± 0.0010	0.0073 ± 0.0006
Brain	0.5475 ± 0.0298	0.5272 ± 0.0128	0.5279 ± 0.0294	0.5551 ± 0.0274
Heart	0.2987 ± 0.0143	0.3052 ± 0.0121	0.3318 ± 0.0474	0.3221 ± 0.0158
Kidney L	0.3128 ± 0.0147	0.3183 ± 0.3183	0.3038 ± 0.0216	0.3250 ± 0.0231
Liver	2.5637 ± 0.1007	2.6083 ± 0.0828	2.5996 ± 0.1557	2.6769 ± 0.1586
Spleen	0.1743 ± 0.0174	0.1769 ± 0.0207	0.1582 ± 0.0332	0.1717 ± 0.0236
Lung	0.3483 ± 0.0176	0.3489 ± 0.0168	0.3300 ± 0.0268	0.3488 ± 0.0104
Testis L	0.4004 ± 0.1141	0.4533 ± 0.0416	0.3694 ± 0.0963	0.4557 ± 0.0395
Thymus	0.1192 ± 0.0204	0.1010 ± 0.0107	0.1202 ± 0.0192	0.1252 ± 0.0090

Relative organ weights = organ weight to terminal body weights, TBW = terminal body weights, L= Left
All values are expressed as mean ± standard deviation

Table 6. Relative organ weights of female rats exposed to 3-methylpentane for 4 weeks followed by 2-week recovery period

	Groups (ppm)			
	G1 (0) N=5	G2 (284) N=5	G3 (1,135) N=5	G4 (4,540) N=5
TBW(g)	229.42 ± 8.26	230.66 ± 11.64	233.44 ± 15.41	232.08 ± 7.22
Adrenal gland L	0.0159 ± 0.0018	0.0145 ± 0.0016	0.0138 ± 0.0033	0.0135 ± 0.0028
Brain	0.8277 ± 0.0578	0.8408 ± 0.0390	0.8512 ± 0.0523	0.7656 ± 0.1905
Heart	0.3773 ± 0.0226	0.3749 ± 0.0218	0.3778 ± 0.0170	0.3711 ± 0.0146
Kidney L	0.3438 ± 0.0388	0.3563 ± 0.0260	0.3607 ± 0.0092	0.3563 ± 0.0161
Liver	2.7342 ± 0.1015	2.6145 ± 0.1615	2.6691 ± 2.6691	2.7535 ± 2.753
Ovaries	0.0184 ± 0.0051	0.0224 ± 0.0049	0.0211 ± 0.0019	0.0186 ± 0.0032
Spleen	0.2070 ± 0.0093	0.2037 ± 0.0067	0.1880 ± 0.0174	0.2054 ± 0.0141
Lung	0.4653 ± 0.0168	0.4391 ± 0.0249	0.4526 ± 0.0209	0.4634 ± 0.0179
Thymus	0.1430 ± 0.0262	0.1586 ± 0.0190	0.1385 ± 0.0151	0.1520 ± 0.1520

Relative organ weights = organ weight to terminal body weights, TBW = terminal body weights, L= Left
All values are expressed as mean ± standard deviation

(2) 암컷(Female)

시험물질에 4주간 노출시키고 2주 후 부검한 암컷 각 시험군의 간, 신장, 비장, 부신, 침샘, 근육, 척수, 좌골신경, 흉선, 갑상선, 부갑상선, 기관, 식도, 혀, 대뇌, 소뇌, 뇌하수체, 난소, 질, 자궁, 피부, 심장, 대동맥, 췌장, 위, 대퇴골, 방광, 비장, 림프절, 하드리아선, 안구 등에 대한 조직병리검사결과에서 시험물질에 의한 병변이 나타나지 않았다.

암컷 시험동물에 대한 조직병리검사 결과에서 신장의 피질과 수질 경계 부위에 무기질 침착이 고농도군 2마리에서 미약하게(Minimum) 나타나났으나 대조군에서도 2마리에서 미약하게 나타났다. 고농도군 1마리에서 폐의 간질조직에 염증세포침윤이 미약하게 관찰되었다.

IV. 고 찰

본 연구의 시험물질로 사용된 3-methylpentane은 핵산의 이성질체이다. 핵산은 탄소수 6개의 알칸계 탄화수소로 n-hexane, 2-methylpentane, 3-methylpentane, methylcyclopentane, 2,2-dimethyl butane, 2,3-dimethylbutane 등의 이성질체가 있다. 핵산의 이성질체에 대한 유전독성 시험결과를 살펴보면 n-hexane, 3-methylpentane, methylcyclopentane, 2-methylpentane 등이 함유된 상업용 핵산 0.014 ~ 0.42 μ l를 Chinese hamster ovary(CHO) 세포에 노출시켜 염색체 이상시험을 한 결과 음성으로 나타났으며, Sprague-Dawley 랫드 각 군당 900 ppm, 3000 ppm, 9000 ppm으로 일일 6시간씩 5일간 연속 노출시킨 후 골수를 관찰한 결과에서도 이상세포의 증가는 관찰되지 않았다[11].

신경독성을 일으키는 것으로 알려진 핵산의 이성질체인 n-hexane은 사람이나 동물에서 diketone 2,5-hexanedione으로 대사되어 말초신경계 손상을 일으키지만[11, 12, 13], 3-methylpentane은 랫드의 말초신경계 손상을 유발하지 않고 생체 내에서 3-methyl-2-pentanol과 3-methyl-3-pentanol로 대사된다[12, 14, 15]. n-hexane이 없는 mixed hexane isomers를 500 ppm으로 1일 22시간, 6개월간 랫드에 노출시킨 시험에서 신경독성은 나타나지 않았다고 하였다[16].

Methyl n-butyl ketone, 2,5-hexanedione 등 헥사카본(Hexacarbon) 화합물이 n-hexane에서 나타나는 신경독성이 나타나므로 같은 헥사카본 화합물인 2-methylpentane, 3-methylpentane, methylcyclopentane 등도 신경독성이 나타날 것으로 예측되어 수컷 랫드(Wistar) 꼬리의 신경전도속도(Nerve conduction velocity)를 측정하였다. n-hexane은 지속적으로 신경전

도속도가 줄었지만, 2-methylpentane, 3-methylpentane, methylcyclopentane 등은 대조군에 비하여 유의한 신경독성을 나타냈으나 n-hexane에 비하여 심한 증상을 나타내지는 않았다[17].

2-Methylpentane을 랫드에 290 ppm, 1,160 ppm, 4,640 ppm 등의 농도로 일일 6시간, 주 5일, 13주 반복 노출한 결과, 사망 레와 특이한 임상소견은 없었으며, 안검사, 체중변화, 사료섭취량에서도 특이한 변화가 관찰되지 않았다. 노검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학 적 검사, 혈액응고시간검사 등에서도 농도의존적으로 나타나는 유의한 변화는 없었다[18]. 본 연구에서도 3-methylpentane을 랫드에 일일 6시간, 주 5일, 4주간 노출하고 2주간 관찰한 결과, 시험기간 중 시험동물의 사망 레와 특이한 임상소견은 없었으며, 체중변화, 사료섭취량도 특이한 변화가 관찰되지 않았다. 혈액 및 혈액생화학 검사에서 암컷 고농도군의 헤마토크리트(Hematocrit)와 암컷 저농도군과 고농도군에서 총콜레스테롤(Total cholesterol)이 유의한 감소를 보였으나 모두 정상범위 내의 변화로 판단되었다[19].

본 연구에서 시험군에 대한 육안 검사 결과, 중농도 시험동물 수컷 1마리에서 교환 위축이 나타나서 교환 조직을 관찰한 결과, 교환의 정세관 내 정자세포의 변성과 손실이 약하게 나타났지만 개체 특이성으로 판단되었다. 본 연구에서 암컷 고농도군 2마리와 암컷 대조군 2마리의 신장에서 미네랄 침착이 미약하게 나타나으나 미네랄 침착은 암컷 랫드에서 자주 나타나는 자연발생 현상으로 알려져 있다[20]. 본 연구에서 고농도군 수컷 1마리의 신장과 대조군 암컷 1마리의 폐에서 염증세포의 침윤이 미약하게 나타났으나 이러한 병변은 실험동물에서 흔히 자발적으로 관찰되는 병변으로[21] 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단되었다. 이상의 연구결과로 3-methylpentane의 무유해 영향농도(No observable adverse effect level, NOAEL)는 본 연구의 최고 노출 농도인 4,540 ppm이상으로 판단되었다.

본 연구는 근로자들에게 화학물질의 위험유해성에 관한 분류와 표시의 통일된 시스템을 제공하기 위하여 GHS 지침 및 고용노동부고시(2013-37호)에서 제시하고 있는 화학물질 분류 · 표시를 위하여 수행되었다. 고용노동부 고시 2013-37호에는 건강 유해성 특정 표적장기독성(반복노출) 물질 구분기준을 독성이 강한 구분 1과 독성이 약한 구분 2로 분류하고 있다. 본 연구에서는 3-methylpentane 예비시험 결과 시험물질의 반수치사농도(LC50) 5,700 ppm(20.0 mg/L)이상과 고용노동부 고시(2013-37호) 건강 유해성 특정 표적장기독성(반복노출) 물질 구분기준 구분 2의 농도를 고려하여 시험을 수행하였으나 모든 시험농도에서 시

험물질에 의한 시험동물의 영향은 나타나지 않았다. 이러한 시험결과로 3-methylpentane은 보통 수준 용량의 반복 노출 동물시험에서 나타나는 증대한 독성조건을 근거로 사람의 건강에 유해할 가능성이 있다고 추정되는 구분 2보다 독성이 낮은 물질로 판단되었다.

V. 결 론

랫드에 3-methylpentane을 284 ppm, 1,135 ppm, 4,540 ppm의 농도로 일일 6시간씩 주 5일간 4주 동안 노출시키고 2주 후 관찰한 결과, 3-methylpentane의 무유해영향농도는 압수 모두 4,540 ppm이상으로 판단되어, 세계조화시스템(GHS) 지침 및 고용노동부고시 제2013-37호(화학물질의 분류 표시 및 물질안전보건에 관한 기준)의 특정표적장기독성(반복노출) 구분 표시 물질에 해당하지 않은 물질로 판단되었다.

REFERENCES

- [1] Bingham, E., Cohrssen, B., Powell, C., *Patty's Toxicology Volumes 1-9*, 5th ed., John Wiley & Sons, New York, 4-43, (2001)
- [2] Graedel, T.E., *Chemical Compounds In The Atmosphere*, Academic Press, New York, 57, (1978)
- [3] Riddick, J.A., Bunger, W.B., Sakano, T.K., *Techniques of Chemistry 4th ed., Volume II. Organic Solvents*. John Wiley and Sons, New York, 96, (1985)
- [4] Korea Occupational Safety and Health Agency, *MSDS (CAS No. 96-14-0)*, (2015)
- [5] Lewis, R.J. Sr, *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, 14th ed., John Wiley & Sons, New York, 743, (2001)
- [6] Greisbaum, K., *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 7th ed., John Wiley & Sons, (2005).
- [7] Ministry of Employment and Labor (MoEL), *Exposure limits for chemical substances and physical Agents*, MoEL Public Notice No. 2013-38, (2013)
- [8] American Conference of Governmental Industrial Hygienists, *Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices*, 6th ed., Cincinnati, OH: ACGIH, (1991)
- [9] Ministry of Employment and Labor (MoEL), *Criteria for the classification marks and material safety data sheets of chemicals*, MoEL Public Notice No. 2013-37, (2013)
- [10] OECD, *OECD guideline for Testing of chemicals : 412 Subacute Inhalation Toxicity: 28-day study*, (2009)
- [11] Daughtrey, WC, Putman, D.L., Duffy, J, Soiefer, A.I., Kirwin, C.J., Curcio, L.N., Keenan, T.H., "Cytogenetic studies on commercial hexane solvent", *J Appl Toxicol.*, 14(3), 161-165, (1994)
- [12] Frontali, N., Amantini, M.C., Spagnolo, A, Guarcini, A.M., Saltari, M.C., et al., "Experimental neurotoxicity and urinary metabolites of the C5-C7 aliphatic hydrocarbons used as glue solvents in shoe manufacture". *Clin. Toxicol.*, 18(12), 1357-1367, (1981)
- [13] Spencer, P.S., Schaumburg, H.H., "Central-peripheral distal axonopathy-the pathology of dyingback polyneuropathies. *Prog. Neuro-pathol.* 3, 253-295, (1976)
- [14] Perbellini, L., Brugnone, F., and Faggionato, G., "Urinary excretion of the metabolites of n-hexane and its isomers during occupational exposure", *Br J Ind Med.*, 38(1), 20-26, (1981)
- [15] Kawai, T., Mizunuma, K., Yasugi, T., Horiguchi, S., Iguchi, H., et al., "Monitoring of exposure to methylpentanes by diffusive sampling and urine analysis for alcoholic metabolites", *Occup And Environ Med.*, 52(11), 757-763, (1995)
- [16] Egan, G., Spencer, P., Schaumburg, H., Murray, K.J., Bischoff, M., et al., "n-Hexane 'free' hexane mixture fails to produce nervous system damage", *Neurotoxicology*, 1(3), 515-524, (1980)
- [17] Ono, Y., Takeuchi, Y., Hisanaga, N., "A comparative study on the toxicity of n-hexane and its isomers on the peripheral nerve", *Int Arch Occup Environ Health*, 48(3), 289-294, (1981)
- [18] Chung, Y.H., Lim, C.H., Han, J.H., "A study on subchronic inhalation toxicity of 2-Methylpentane", *J of Korean Soc of Occup Environ Hyg.*, 24(2), 169-181, (2014)
- [19] Kang, B.H., Son, H.Y., Ha, C.S., Lee, H.S., Song, S.W., "Reference values of hematology and serum chemistry in Ktc : Sprague-Dawley Rats", *Korean J. of Lab. Ani. Sci.*, 11(2), 141-145, (1995)

- [20] Gary, A.B., Scot, L.E., Michael, R.E., Charles, AM. Jr., William, F.M., *Pathology of the Fischer rat*, Academicpress INC, San Diego, 132-134, (1993)
- [21] NTP (National Toxicology Program), <http://ntp.niehs.nih.gov/nnl/index.htm>, *Nonneoplastic lesion atlas - A guide for standardizing terminology in toxicologic pathology for rodents*, (2016)