



2019년
시험보고서

SD 랫드를 이용한 Sodium nitrate의 급성흡입독성시험

산업재해예방

안전보건공단

산업안전보건연구원



요 약 문

본 시험은 Sodium nitrate의 급성흡입독성을 확인하기 위하여 SD 랫드를 이용하여 5mg/L의 노출농도로 암·수 각 3마리에 4시간동안 비부노출시켰다. 노출시간 동안 챔버내 환경 및 시험물질의 농도를 측정하였고, 챔버내 시험물질의 입경분포를 측정하였다. 노출 종료 후 14일간 일반증상관찰, 체중측정 및 육안적 관찰을 실시하였다.

노출시간 동안 챔버내 Sodium nitrate의 평균농도는 5.091 mg/L였고, 시험물질 발생 중 에어로졸의 MMAD(Mass Median Aerodynamic Diameter)는 2.662 μm 였고, GSD(Geometric Standard Deviation)는 1.719이었다.

5 mg/L 노출군의 수컷 1개체에서 기관지 림프절 종대가 관찰되었고, 그 외의 모든 실험동물에서 비정상적인 일반증상, 체중변화 및 부검소견은 관찰되지 않았다.

이상의 결과로부터 Sodium nitrate는 화학물질의 분류·표시 국제조화 시스템 (Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals, GHS) 및 물질안전보건자료에 관한 기준에 따라 급성독성 구분 외(LC50 > 5.0 mg/L)에 해당되었다.

중심단어 : Sodium nitrate, GHS, 랫드, 급성흡입독성, 비부노출

차 례

요약문	2
I. 서론	6
1. 시험배경	6
2. 시험목적	7
II. 시험방법	8
1. 시험물질	8
2. 노출	8
3. 챔버 및 챔버내 환경	8
4. 노출 측정/평가 항목	9
5. 시험계	9
6. 동물실 및 사육관리	10
7. 사료, 음용수 및 깔짚	10
8. 시험설계	10
9. 관찰 및 측정	11
10. 자료 분석	11
III. 시험결과	12
1. 챔버 내 시험물질의 농도 및 입경분포	12
2. 일반증상	12
3. 체중변화	12
4. 부검소견	12
IV. 고찰 및 결론	13
참고문헌	14

그림 차례

[그림 1] 입경분포	16
[그림 2] 체중 변화	17

표 차 례

<표 1> 챔버 내 환경조건	19
<표 2> 입경분포	20
<표 3> 명목농도	21
<표 4> 분석농도	22
<표 5> 일반증상	23
<표 6> 체중변화	24
<표 7> 부검소견	25

I. 서론

1. 시험배경

질소는 모든 생명체에 필수적이다. 지구 대기의 대부분은 질소로 만들어졌다. 그러나 식물과 동물은 이러한 가스 형태로 사용할 수 없다. 먼저 질산염(nitrate)과 아질산염(nitrite)으로 변환돼야한다. 이것은 질소 순환을 통해 이루어지며 토양과 식물 뿌리의 미생물은 우리가 호흡하는 공기의 질소를 질산염과 아질산염으로 변환한다.

질산염이 모든 식물과 동물의 삶에 필수적이지만 과도한 노출은 건강에 심각한 부작용을 줄 수 있다. 질산염은 타액, 위 및 내장의 박테리아에 의해 아질산염으로 전환되며, 주로 독성을 일으키는 것은 아질산염이다.

질산염 나트륨(sodium nitrate, CAS No. 7631-99-4)은 NaNO_3 의 화합물이다. 알칼리 금속 질산염은 일반적인 질산염인 질산 칼륨과 구별하기 위해 칠레 질산염 (칠레에서 역사적으로 채굴된 대규모 침전물)이라고도 한다. 미네랄 형태로 nitratine, nitratite 또는 soda niter라고도 한다.¹⁾

산업적으로 아질산염의 주된 용도는 유기 질소 화합물을 생산하는 것이다. 아민을 디아조 화합물로 전환시키는 시약으로, 디아조 염료와 같은 많은 염료의 주요 전구체입니다. 니트로소 화합물은 아질산염으로부터 생산되고 이들은 고무 산업에서 사용된다.²⁾ 그리고 인산염 처리 및 탈색을 위한 다양한 야금 분야에서 사용된다. 아질산염은 효과적인 부식 억제제이며 산업용 그리스의 첨가제,³⁾ 폐쇄 루프 냉각 시스템의 수용액 및 열전달 매체로서의 용융 상태로 사용된다.⁴⁾

의약품으로 아질산염은 시안화물 중독에 효율적인 약물⁵⁾이므로 세계 보건 기구(WHO)의 필수 의약품 목록에 있다.⁶⁾ 티오 황산나트륨과 함께 사용된다.⁷⁾

식품첨가제로 아질산염을 소금에 첨가하면 육류는 붉은색과 분홍색을 띠며 햄, 베이컨, 핫도그 및 볼로냐와 같은 경화육과 관련이 있다.⁸⁾

아질산염은 적혈구(헤모글로빈)의 철분 성분을 산화시켜 산소를 운반 할 수 없게 한다. 결과적인 상태를 메트헤모글로빈 혈증(methemoglobinemia)이라고 하며,

산소 부족은 피부의 창백한 청회색의 특징 뒤에 있다. 메트 헤모글로빈 혈증의 중증도는 영향을 받는 적혈구의 비율에 비례한다. 백분율이 높을수록 증상이 더욱 심각 해지고 환자가 더 파란색으로 나타난다.

고혈압 또는 심장병이 있는 사람을 위해 처방된 질산염 약물은 혈관을 확장시켜 혈액을 통과하는 혈액에 대한 저항을 완화시킨다. 그러나 이러한 장점은 질산염과 아질산염이 부작용을 일으키는 두 번째 중요한 메커니즘이다. 혈관이 과도하게 팽창하면 위험한 혈압 강하가 발생할 수 있다.

아질산염은 박테리아의 성장을 막을 수 있지만 동물과 인간에게는 많은 독성이 있다. 랫드에서 아질산염 나트륨의 LD₅₀은 180 mg/kg이고 사람의 LD₀₁은 71 mg/kg이다. 이는 65 kg의 사람이 4.6 g 이상을 섭취해야 사망 할 수 있음을 의미한다.⁹⁾ 그러나, 현재 질산염에 대한 유해성 자료가 부족하여 취급 노동자의 건강보호를 위해 질산염 나트륨에 대한 유해성 자료가 요구되고 있다. 특히 흡입노출을 통한 유해성 자료를 생산하기 위하여 이에 대한 연구를 수행하였다.

2. 시험목적

본 시험은 SD 랫드를 이용하여 시험물질인 Sodium nitrate의 급성흡입노출 시 나타나는 독성을 확인하기 위하여 실시하였다.

II. 시험방법

1. 시험물질

본 시험에 사용된 시험물질인 Sodium nitrate은 흰색 결정의 99.5% 순도의 물질을 사용했다.

2. 노출

2.1. 노출방법

분진발생장치(Dust Generator, Topas, Germany)에 넣은 후 청정공기를 주입하여 시험물질을 비산시켰다. 비산된 시험물질은 청정공기를 혼합하여 설정된 농도로 비부노출 흡입챔버내에 공급하였다.

2.2. 노출경로 선택 이유

Sodium nitrate는 이를 취급하는 작업장에서 노동자에게 흡입으로 노출되어 건강에 영향을 줄 수 있는 산업화학 물질이다. 따라서 본 시험은 작업장 노동자의 건강장애 예방을 위한 유해성·위험성 평가자료를 확보하기 위하여 노동자의 주 노출경로인 호흡기를 노출경로로 선택하였다.

3. 챔버 및 챔버 내 환경

항 목	범 위
온도(°C)	22 ± 3
습도(%)	50 ± 20
이산화탄소농도(ppm)	≤ 10000
산소농도(%)	> 19
차압(Pascal)	≤ -40

4. 노출 측정/평가 항목

4.1. 명목농도

명목농도는 Sodium nitrate의 사용량을 비부노출 흡입챔버에 공급한 희석 공기의 비로 계산하여 구하였다.

4.2. 분석농도

분석농도는 비부노출 흡입챔버내 실험동물의 호흡영역에서 시험물질 노출시간 동안 개인시료포집기(Airchek XR 5000, SKC Inc., USA)를 이용하여 25 mm glass fiber filter에 3회 포집하여 포집 전·후 필터 무게를 칭량하여 질량농도를 산출하였다.

$$\text{분석농도(mg/L)} = \frac{\text{포집 후 필터무게(mg)} - \text{포집 전 필터무게(mg)}}{\text{에어샘플러 유량(L/min)} \times \text{포집시간(min)}}$$

4.3. 챔버내 환경측정

흡입챔버 내 환경은 흡입챔버 통합관리 프로그램(ITC Manager, HCTM Co. Ltd., Korea)을 이용하여 30분 간격으로 측정하여 확인하였다.

4.4. 입경분포

노출시간 동안 Cascade Impactor를 이용하여 MMAD(Mass Median Aerodynamic Diameter) 및 GSD (Geometric Standard Deviation)를 확인하였다.

5. 시험계

계통 및 종	SD 랫드 (SPF: Specific Pathogen Free)
사용동물수	6 마리(수컷 3 마리, 암컷 3 마리)
주령범위	7주령에 입수하였으며, 투여개시 시 8주령
체중범위	첫 투여 시 전체 평균 체중의 ±20% 내외 동물 사용
공급원	중앙실험동물(06762 서울특별시 서초구 바우뫼로7길 7 건빌딩 5층)
생산원	Japan SLC(3371-8 Kotoh-cho, Hamamatsu, Shizuoka Prefecture 431-1103)
개체식별	Color marking, Cage card

6. 동물실 및 사육관리

검역, 순화 및 노출 후 관찰기간 동안에는 3마리 이하로 폴리설폰케이지 (W310×L500× H200 mm)에서 사육하였고, 노출시에는 비부노출 흡입시험용 튜브에 수용하여 시험물질에 노출시켰다. 동물실 환경은 온도 22±3°C, 상대습도 50±20 %, 조명은 12시간 단위의 명암 주기, 조도 150~300 Lux, 환기회수 10~15회/시간을 유지 하였다.

7. 사료, 음용수 및 깔짚

사료는 감마선이 조사된 실험동물용 고품사료(Teklad Certified Irradiated Global 18% Protein Rodent Diet 2918C, ENVIGO, Inc., U.S.A.)를 자유 급여하였다. 사료의 적정성은 공급업체로부터 검사성적서를 받아 확인하였다.

물은 미세여과기와 자외선 유수살균장치를 통과한 상수도수를 자유 급여하였다. 실험동물에게 공급되는 물은 년 1회 (주신성생명환경연구원에서 검사하여 적정성을 확인하였다.

순화 및 관찰기간 중 사용된 실험동물용 깔짚(LASbedding PG2, PG3, poplar granulate, LASvendi GmbH, Germany)은 고압증기 멸균하여 사용하였으며, 오염 물질에 대한 분석은 공급처로부터 제공받아 이상이 없음을 확인하였다.

8. 시험설계

8.1. 노출기간

시험물질의 노출은 G1군만 단회 4시간동안 실시하였다.

8.2. 구성 및 노출농도

Group	Phase	Concentration(mg/L)	Sex	No. of Animals	Animal ID
G1	1st	5	Male	3	1 - 3
			Female	3	13 - 15

8.3. 노출농도 설정이유

ECHA의 독성정보에 따르면 급성경구독성시험에서 랫드의 LD₅₀값이 2000 mg/kg 이상으로 확인되었다.¹⁰⁾ 이러한 결과를 바탕으로 시험책임자의 판단하에 5 mg/L를 노출 개시농도로 설정하였다.

9. 관찰 및 측정

9.1. 일반증상 관찰

순화기간동안에는 매일 1회 일반증상을 관찰하였다. 노출 당일에는 노출 전, 노출 후 0.5 및 1 시간에 일반증상 및 사망 유·무를 관찰하였으며, 노출 후 1일부터 14일까지 매일 1회 일반증상을 관찰하였다.

9.2. 체중 측정

동물의 체중은 입수시, 군분리시, 노출 당일, 노출 후 1, 3, 7 및 14 일에 측정하였다.

9.3. 부검

관찰기간 종료 후 모든 생존동물에 대해서는 isoflurane로 흡입 마취하에 복대정·동맥을 절단하여 방혈 치사한 후 부검을 실시하였다. 부검시 외관상 비정상 유·무를 상세히 관찰하고 복강, 흉강 및 두개강, 내부장기의 비정상 유·무를 관찰하였다.

10. 자료 분석

시험기간 중 수집된 자료는 최종보고서에 개체별로 나타내었다.

Ⅲ. 시험결과

1. 챔버내 시험물질의 농도 및 입경분포

노출시간 동안 Sodium nitrate의 평균농도는 5.091 ± 0.540 mg/L로 측정되었고, 시험물질 발생 중 에어로졸의 MMAD(Mass Median Aerodynamic Diameter)는 $2.662 \mu\text{m}$ 로 측정되었으며, GSD(Geometric Standard Deviation)는 1.719로 측정되었다.

2. 일반증상

시험물질에 노출된 모든 동물에서 비정상적인 일반증상이 관찰된 개체는 없었다.

3. 체중변화

시험물질 노출군에서 정상적인 체중 증가가 관찰되었다.

4. 부검소견

G1군 수컷 1개체에서 기관지 림프절 종대(Trachobronchial lymph node Enlargement)가 관찰되었으나, 그 외의 모든 개체에서는 육안소견이 관찰되지 않았다.

IV. 고찰 및 결론

본 시험은 SD 랫드에 5 mg/L의 노출농도로 암·수 각 3마리에 4시간동안 비부노출 후 14일간 사망 유·무, 일반증상, 체중변화를 관찰하였고 관찰기간 종료시에는 부검을 실시하여 전신의 장기·조직에 대하여 상세한 육안검사를 실시하였다.

노출시간 동안 챔버내 시험물질의 평균농도는 5.091 mg/L로 측정되어 흡입시험 규정($\leq 20\%$)에 부합되었다. 설정농도(Nominal Concentration) 52.471 mg/L로 측정되었다. 시험물질 발생 중 에어로졸의 공기역학중량평균지름인 MMAD(Mass Median Aerodynamic Diameter)는 $2.662\mu\text{m}$, 기하표준편차인 GSD(Geometric Standard Deviation)는 1.719로 확인되어 흡입시험 규정($1\sim 4\ \mu\text{m}$, 표준편차 1.5~3.0)에 부합되는 것으로 확인되었다.

5 mg/L의 농도로 시험물질에 노출 된 모든 실험동물에서 비정상적인 일반증상, 체중감소는 관찰되지 않았으며, 관찰기관 종료 후 부검결과 5 mg/L 군의 수컷 1 개체에서 기관지 림프절 종대가 관찰되었지만 그 외의 실험동물에서는 부검소견이 발견되지 않았다.

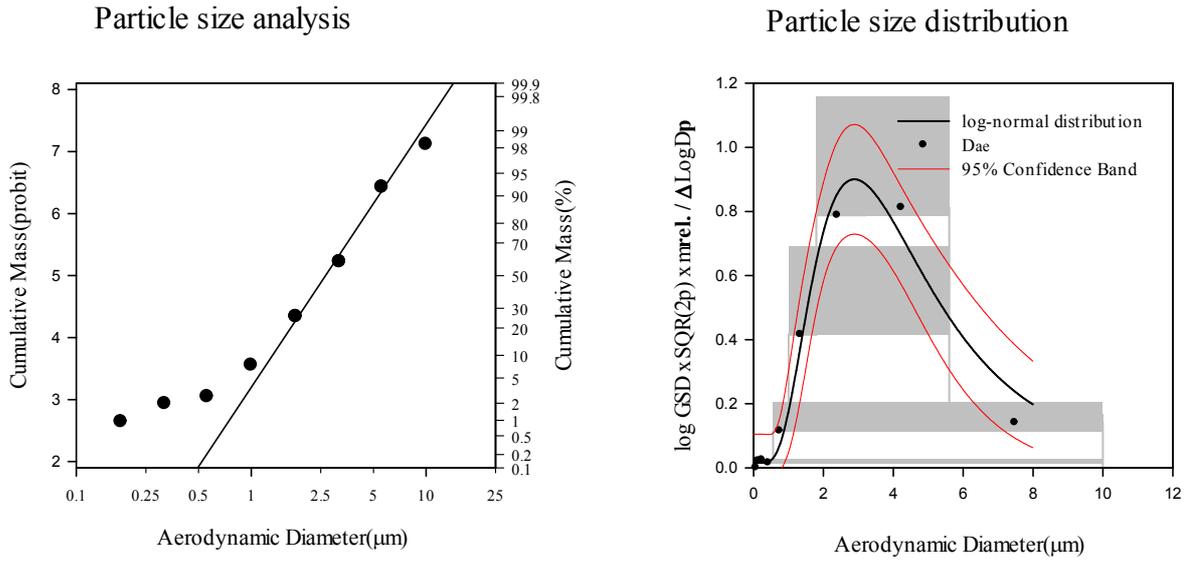
이러한 결과로부터 Sodium nitrate는 화학물질의 분류·표시 국제조화 시스템 (Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals, GHS) 및 물질안전보건자료에 관한 기준에 따라 급성독성 구분 외($\text{LC}_{50} > 5.0\ \text{mg/L}$)에 해당되었다.

참고문헌

- 1) Lerfall, Jørgen; Østerlie, Marianne (1 February 2011). "Use of sodium nitrite in salt-curing of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) – Impact on product quality". *Food Chemistry*. 124 (3): 759–766.
- 2) Wolfgang Laue, Michael Thiemann, Erich Scheibler, Karl Wilhelm Wiegand "Nitrates and Nitrites" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2002, Wiley-VCH, Weinheim.doi:10.1002/14356007.a17_265. Article Online Posting Date: 15 June 2000.
- 3) Krakhmalev, S. I.; Vorotnikova, V. A.; Ten, N. V.; Taranova, N. V. (1984). "Determination of sodium nitrite in complex sodium oils". *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 20 (12): 612–613.
- 4) "Sodium Nitrite". *General Chemical*. Retrieved 28 September 2012.
- 5) "WHO Model List of Essential Medicines" (PDF). *World Health Organization*. April 2015. Retrieved 25 September 2016.
- 6) "Sodium Nitrite an overview | ScienceDirect Topics". *www.sciencedirect.com*. Retrieved 28 January 2019.
- 7) WHO Model Formulary 2008 (PDF). *World Health Organization*. 2009. pp. 65–66. ISBN 9789241547659. Retrieved 8 January 2017.
- 8) ""Meat Pigment Chemistry", taken from IFT Mini-Experiments in Food Science Series" (PDF).
- 9) http://msds.chem.ox.ac.uk/SO/sodium_nitrite.html
- 10) "Sodium Nitrate Registration Dossier - Echa." (2018년 11월 12일). *ECHA*. 2018년 9월 21일 수정, <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15423>.

그림

[그림 1] 입경분포

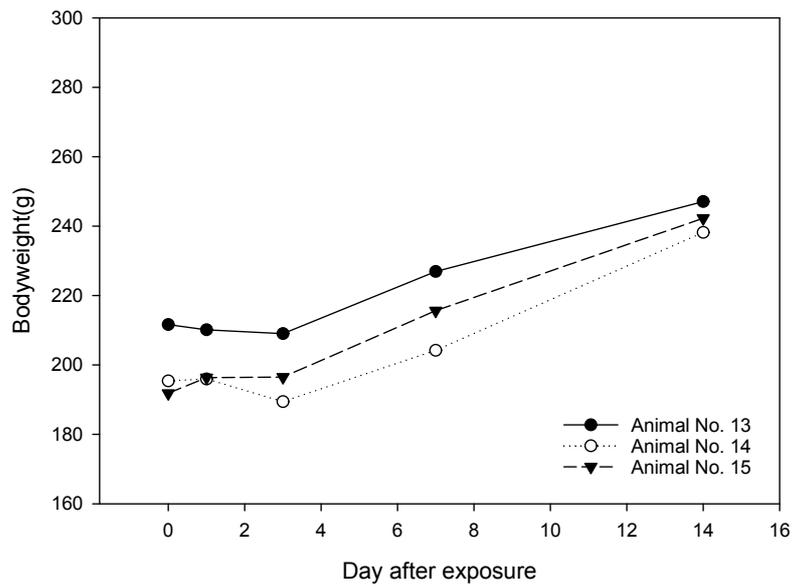
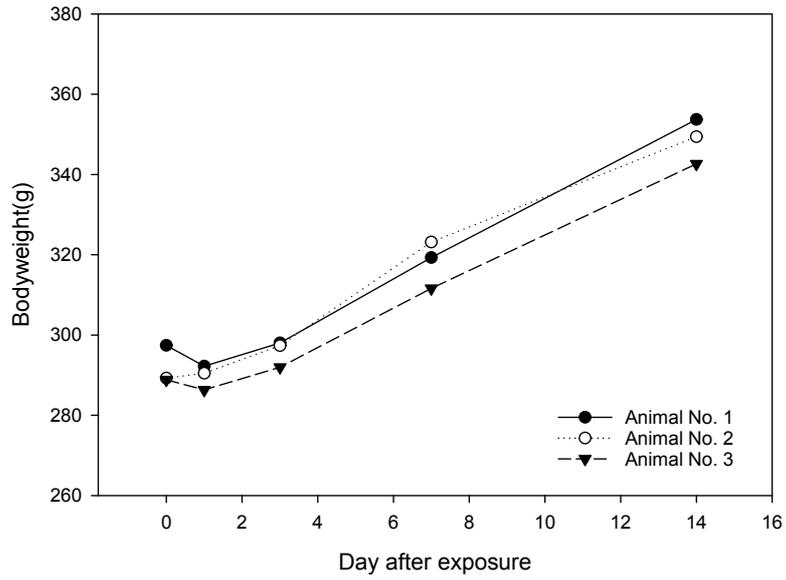


Mass Media Aerodynamic Diameter(MMAD) = 2.662 μm

Geometric Standard Deviation(GSD) = 1.719

[그림 2] 체중변화

Female



표

<표 1> 챔버 내 환경조건

Group	Concentration (mg/L)	Time	Temperature (°C)	Relative Humidity (%)	O ₂ (%)	CO ₂ (ppm)	Differential pressure (Pascal)
G1	5	11:00	24.02	43.77	20.41	435.66	-67.45
		11:30	24.27	43.36	20.06	448.34	-66.69
		12:00	24.27	43.36	20.73	432.36	-67.94
		12:30	24.27	43.88	20.05	423.47	-67.33
		13:00	24.27	45.11	20.77	428.93	-67.31
		13:30	24.27	46.35	20.70	435.64	-67.55
		14:00	24.14	47.99	20.69	445.81	-67.62
		14:30	24.02	45.83	20.67	454.50	-64.49
		Mean	24.19	44.96	20.51	438.09	-67.05
		SD.	0.11	1.67	0.30	10.53	1.09

<표 2> 입경분포

Stage	Effective cutoff diameter (μm)	G1(5mg/L)	
		% of total particles captured	Cumulative(%)*
1	0.56	0.000	0.000
2	0.10	0.916	0.000
3	0.18	1.017	0.916
4	0.32	0.610	1.933
5	0.56	4.883	2.543
6	1.00	18.006	7.426
7	1.80	33.367	25.432
8	3.20	33.469	58.800
9	5.60	6.002	92.269
10	10.00	1.729	98.271
	MMAD(μm)		2.662
	GSD		1.719

*Percent of particles smaller than corresponding effective cuntoff diameter.

<표 3> 명목농도

Group (mg/L)	Amount consumed (g)	Generation time (min)	Air flow rate (L/min)	Nominal concentration (mg/L air)*
G1 (5)	340.01	240	27	52.471

*Nominal concentration (mg/L) = Amount Consumed/Air Flow Rate

<표 4> 분석농도

Group (mg/L)	Sample number	Amount collected (mg)	Air flow sampled (L/min)	Collection time (min)	Chamber concentration (mg/L)
G1 (5)	1	8.57	1.500	1	5.713
	2	7.22	1.500	1	4.813
	3	7.12	1.500	1	4.747
	Mean	7.64	1.500	1	5.091
	SD.	0.81	0.000	-	0.540

<표 5> 일반증상

Group (mg/L)	Sex	Animal ID	Clinical signs	Hours after exposure		Days after exposure			
				0.5	1	1	2	3	4-14*
G1 (5)	Male	1	No abnormality detected	+	+	+	+	+	+
		2	No abnormality detected	+	+	+	+	+	+
		3	No abnormality detected	+	+	+	+	+	+
	Female	13	No abnormality detected	+	+	+	+	+	+
		14	No abnormality detected	+	+	+	+	+	+
		15	No abnormality detected	+	+	+	+	+	+

* = There was no change in clinical signs observed from 4 to 14 days

<표 6> 체중변화

Group (mg/L)	Sex	Animal ID	Day after exposure(g)				
			0	1	3	7	14
G1 (5)	Male	1	297.42	292.22	298.02	319.28	353.69
		2	289.24	290.45	297.34	323.15	349.39
		3	288.84	286.31	291.94	311.61	342.63
	Female	13	211.62	210.11	209.01	226.91	247.08
		14	195.38	195.92	189.40	204.18	238.19
		15	191.81	196.34	196.49	215.63	242.24

<표 7> 부검소견

Group (mg/L)	Sex	Animal ID	Findings	Sacrificed day
G1 (5)	Male	1	Tracheobronchial lymph Node - Enlargement	14
		2	NGF	14
		3	NGF	14
	Female	13	NGF	14
		14	NGF	14
		15	NGF	14

* If Gross finding is normal, note "NGF(No Gross Finding)"

참 여 진

시 험 기 관 : 산업안전보건연구원 산업화학연구실

시험책임자 : 서 동 석 (연구위원, 흡입독성연구센터)

시 험 물 질 : 이 도 연 (연구원, 흡입독성연구센터)

동 물 관 리 : 서 동 석 (연구위원, 흡입독성연구센터)

흡 입 노 출 : 김 태 현 (연구원, 흡입독성연구센터)

박 가 영 (연구원, 흡입독성연구센터)

병리책임자 : 조 은 상 (연구위원, 흡입독성연구센터)

자 료 보 관 : 권 부 현 (연구위원, 흡입독성연구센터)

시 험 기 간

2018. 06. 26. ~ 2018. 12. 04.

본 시험보고서의 내용은 연구책임자의 개인적 견해이며, 우리 연구원의 공식견해와 다를 수도 있음을 알려드립니다.

산업안전보건연구원장

SD 랫드를 이용한 Sodium nitrate의 급성흡입독성시험

2019-연구원-598

발 행 일 : 2019년 09월 27일

발 행 인 : 산업안전보건연구원 원장 고재철

시험책임자 : 서동석

발 행 처 : 안전보건공단 산업안전보건연구원

주 소 : (34122)대전광역시 유성구 엑스포로339번길 30

전 화 : (042)869-8518

F A X : (042)869-8691

Homepage : <http://oshri.kosha.or.kr>
