

Aquatic pollution monitoring by "In vitro" approaches

Seung-Min Oh, Mi-Young Kim, Shin-jung Park, Byung-Woo Ham,
Dae-Hyun Kim, Ja-Min Koo, and Kyu-Hyuck Chung

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University
Suwon, Kyonggi-Do, 440-746, Korea

Investigation of environmental pollution has been achieved using whole animals. However, current dimensions of environmental researches and their inherent complexity require that relatively inexpensive and simple laboratory procedures are developed to make possible the screening of large numbers of sites and samples. At this point, "in vitro" microbioassay has been highlighted. The purpose of this study is to evaluate the water pollution using cytotoxicity, E-screen assay and EROD-microbioassay. EROD-microbioassay was focused to detect PAHs, PCBs and dioxinlike components in the samples and E-screen assay to xenoestrogens. These methods were optimized and validated for the sensitive and quantitative determination of total toxic effects of the river water samples. These was executed in RTG-2 and BF-2 (cytotoxicity); MCF7-BUS (E-screen assay); RTH-149 and H4IIE (EROD-microbioassay). In addition EROD-microbioassay was compared with mammalian and fish cell line.

Gab stream and Mankyung river were selected for this study. 50L of river water was absorbed using XAD-2 resin column. Pollutants adsorbed to the XAD-2 resin were extracted by elution with methanol. Total toxic effects of extracts were determined by cytotoxicity, E-screen assay and EROD- microbioassay. All water sample showed cytotoxicity, estrogenicity and EROD activity. Toxic response was quantified as toxic equivalence.

구두발표(), 포스터발표(0)

<책임연구자>

성명 : 정규혁

주소 : 경기도 수원시 장안구 천천동 300 성균관대학교 (440-330)

연락처 : 전화(031-290-7714), 팩스(031-292-8800), E-mail(khchung@skku.ac.kr)

Risk Perception towards environmental problems in Korea

DC Shin¹, CY Park², YW Lim³, YS Kim, EA Chang, KS Kwon

¹*Dept. of Preventive Medicine, College of medicine, yonsei Univ.*

²*Dept. of Health Policy and Management, Graduate School
of Health Science and management, yonsei Univ*

³*Dept. of Environmental Health, Seonam Univ
Institute for Environmental Research, Yonsei Univ*

This study is to investigate the risk perception towards major environmental problems and its gap among various social groups in Korea. Several questionnaire surveys were conducted to laymen, environmental experts, governmental officials, journalists, and NGO members during the March and April 2000. Risk perceptions toward 10 items on air pollution, 5 items on water pollution, and 11 items on other pollutions were rated with the need to regulate each problem, knowledge, attitude, and controllability of them. Total number of response is about 1,803 including 773 laymen, 353 experts, 390 governmental officials, 111 journalists, and 176 NGO members. Using the data, the state of risk perception analyzed to identify the similarity and difference among five groups. In addition, the factors associated with the variability were examined to identify the determinants of the risk perception. In these factors, controllability, familiarity, level of knowledge, political view, cultural predisposition, and socio-demographic characteristics were involved. By recognizing the potential divergences and areas of agreement in perceived risk among different groups, the risk communication is emerging as an important research subject to develop policies in the field of environmental health.

구두발표 (), 포스터발표 ()

<책임연구자>

성 명 : 신 동 천

주 소 : 연세대학교 의과대학 종합관 630호 환경공해연구소

연락처 : 전화 (02-361-5361), 팩스 (02-392-0239), E-mail(dshin5@yumc.yonsei.ac.kr)

기체크로마토그래피/질량분석기에 의한 수질, 저질 및 토양시료 중
Benzophenone 및 4-Nitrotoluene의 정량분석

Quantitative Analysis of Benzophenone and 4-Nitrotoluene in Water, Sediment and
Soil Samples by Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Hee-Kyung Rhee, Oh-Seung Kwon and Jae-Chun Ryu

Toxicology Lab., Korea Institute of Science and Technology, P.O.Box 131, Cheongryang,
Seoul 130-650, Korea

The benzophenone (BP) and 4-nitrotoluene (4-NT) classified as endocrine disrupting chemicals were determined in water, sediment and soil. The modified SPEED98 method for water samples and ultrasonic extraction of US EPA (method 3550B) method for sediment and soil samples were used for the analysis of BP and 4-NT. *n*-Hexane was used for the extraction of BP and 4-NT in the water, sediment and soil samples. 2 μ l of the concentrated solution (0.3 ml of final volume) was applied to GC/MSD. The retention time of BP and 4-NT was 11.12 and 7.75 min, respectively. The detection limits of BP were 10 ng/L for water samples, and 0.25 ng/g and 1 ng/g for sediment and soils. For 4-NT, detection limits were 5 ng/L for water samples and 1 ng/g for sediment and soil samples. Coefficient of variation (CV)% of within day and day-to-day on the BP and of 4-NT was ranged from 7.2 to 31.2% and from 2.5 to 21.0 % and from 7.0 to 20.8 %, respectively. As a result, BP concentrations were ranged from 24.4 ng/L to 53.6 ng/L at 7 sites of water samples and from 0.52 ng/g to 0.70 ng/g at 2 sites of soil samples, which were higher than those of water and soil blanks. 4-NT was not detected in water, sediment and soil samples.

구두발표 (), 포스터 발표 (○)

<책임연구자>

성 명 : 류 재 천

주 소 : 서울특별시 성북구 하월곡동 39-1

연락처 : 전화 (02-958-5070), 팩스 (02-958-5059), E-mail (ryujc@kist.re.kr)

조선소에서 발생하는 Fume 및 근로자 요중 Bisphenol-A 분석에 관한 연구

박준호 · 최홍순 · 유주송 · 조영봉

연세대학교 보건과학대학 환경공학과

Analysis of Bisphenol-A in worker urine and fume of the ship yard

Jun Ho Park · Hong Soon Choi · Ju Song Yun · Young Bong Cho

Department of Environmental Engineering & Health, College of Health Science, Yonsei University

조선업에서 사용하고 있는 epoxy paint로 코팅된 강판의 용접, 절단 및 곡직 작업시 유해물질이 함유된 흡과 가스가 발생된다. 이런 흡에는 epoxy resin의 열분해 산물인 Bisphenol-A와 같은 내분비계 교란물질이 함유될 수 있다.

따라서 본 연구에서는 모 조선소에서 epoxy paint로 코팅된 강판의 용접, 절단 및 곡직 작업시 흡중 함유된 유해물질의 농도를 호흡영역에서 분석하기 위해 personal air sampler에 glass fiber filter를 부착하여 흡을 포집한 후 흡 중량, Bisphenol-A양을 분석하고 아울러 작업자의 요중 Bisphenol-A의 농도를 분석하여 기중 흡 농도와의 상관성을 평가하고자 하였다.

Bisphenol-A의 주 대사과정은 phenolic hydroxyl group이 glucuronic acid와 conjugation 되어 BPA-glucuronide로 대부분 대사되어 요중으로 배설된다. 따라서 요중 Bisphenol-A의 농도를 평가하기 위해서 작업 종료시 채취한 요 10ml를 3000rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액 8 ml에 1N HCl 1ml를 첨가하여 microwave를 이용하여 100℃에서 20분간 가수분해반응을 시킨 후 고성능 액체크로마토그래피(Gilson, France)로 정량분석하였고, glass fiber filter에 포집된 흡중 Bisphenol-A는 acetone 2ml로 추출한 후 고성능 액체크로마토그래피로 정량분석하였다. 이들의 정성적 분석을 위해서 기체크로마토그래피/질량선택적분석제(Varian Star 3400/saturn2000)를 이용하였다.

흡중(n=16) Bisphenol-A의 농도는 maximum 229.85ng/mg, minimum 5.7ng/mg, average 61.89ng/mg 였다. 흡 중량과 흡중 Bisphenol-A 양 두 변수간에 상관관계가 존재하는지를 파악하기 위해 SAS를 이용하여 상관분석을 해본 결과 상관계수 $r = 0.193$ 로 약한 양적 선형관계를 보여주었다.

요중(n=99) Bisphenol-A의 농도는 maximum 987.09ng/mg(creatinine), minimum 1.095ng/mg(creatinine), average 95.83 ng/mg(creatinine) 였다.

대조군의 요중 Bisphenol-A의 평균 농도(n=18)는 23.93 ng/mg(creatinine)였다. 조선소 작업자들의 요에서 일반인들보다 평균 4배 이상의 Bisphenol-A가 검출되었다. 또한 모든 요 시료중 Bisphenol-A 대사 물질의 free form은 검출되지 않았다. 흡중 Bisphenol-A양과 요중 Bisphenol-A양 두 변수간의 상관분석을 해본 결과 상관계수 $r = -0.179$ 의 약한 음적 선형관계를 보여 주었다.

구두 발표(), 포스터발표(0)

<책임연구자>

성명 : 박준호

주소 : 강원 원주시 흥업면 매지리 234 연세대학교 보건관 317호

연락처 : 033)760-2198, fax: 033)763-5224, email : jhopar@hanmail.net

수환경 평가를 위한 기법으로서 어류군집을 이용한 생물보존지수
 An Index of Biological Integrity (IBI) as a Tool For Evaluation of Water
 Environments Using Fish Communities

Kwang-Guk An*, Dong-Hyuk Yeom, Sung Kyu Lee

*Environmental Toxicology Research Team, Korea Research Institute of Chemical
 Technology, Taejon 305-606, Korea*

The Index of Biological Integrity (IBI) using fish assemblages was assessed during May November 1999 in Keum-Ho River, Korea and compared with the Qualitative Habitat Evaluation Index (QHEI). Overall IBI values ranged 13 - 37 and averaged 23 ($n = 25$, std. error = 1.16), indicating a "Poor" or "Very Poor" condition according to the modified criteria of Karr (1981) and U.S. EPA (1993). Values of mean IBI declined at the rate of 0.22 km⁻¹ ($r^2 = 0.91$, $p < 0.05$) along the longitudinal distance from the upstream to the downstream and was a function of QHEI ($r^2 = 0.998$, $p < 0.001$). Overall data suggest that reduced IBI values in the down-stream sites were attributed to a combined effect of water pollution and habitat degradations, resulting in increased relative abundance of abnormal (3%) and tolerant fish species (88%).

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성명 : 안 광 국

주소 : 대전광역시 유성구 장동 100번지 한국 화학연구소 환경독성팀 (305-600)

연락처: 전화 (042-860-7345), 팩스 (042-860-7399), E-mail (kgan@pado.kRICT.re.kr)

우리나라 농민의 Chlorpyrifos 피부 노출에 의한 피부 위해성 평가

정경미^{1,*}, 이효민², 홍진태², 김진화³, 이선희², 이용욱¹

서울대학교 보건대학원¹, 국립독성연구소², 농촌진흥청³

Chlorpyrifos는 우리나라에서 비교적 많이 사용되는 유기인계 살충제로서, 피부를 통한 흡수가 용이하여 피부 질환과 관련된 살충제로 알려져 있으나 이에 대한 위해성 평가는 부족한 실정이다. 본 연구에서는 우리나라 농민들의 농약 살포시 일반적인 노출패턴을 고려한 chlorpyrifos 피부 노출 평가를 실시하고, 동물 피부 자극 실험을 실시하여 얻어진 자료를 토대로 용량-반응평가를 수행하여 현 노출의 위해성 여부를 판단하고자 하였다. 우리나라 농민들을 대상으로 간접측정법을 이용하여 얻어진 인체패취측정자료(강태선, 1999)와 노출 시나리오별(반팔상의, 긴팔하의 기준으로 보호구 착용여부) 체표면적 (3900 cm², 2040 cm², 400 cm²), 노출시간, 농약살포방법(고속 승용식 방제기 이용, 직접 분무식 방법) 등을 고려하여 급성 인체 노출량을 계산하였다. 피부 노출 평가 수행을 위하여 쓰여진 수식은, 피부흡수량($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) = (노출량 \times 노출표면적 \times 피부투과계수 \times 노출시간 \times 노출횟수 \times 전환계수)/체중을 사용하였으며, 피부투과계수는 $\log K_p = -2.72 + 0.71\log K_{ow} - 0.0061 MW$ 을 활용하여 얻은 $K_p=0.039 \text{ cm}/\text{hr}$ 를 이용하였다. 피부자극이 일어나지 않는 피부 노출 허용수준 설정을 위하여 토끼를 대상으로 5일간, 4가지 용량 10 mg/cm², 50 mg/cm², 100 mg/cm², 250 mg/cm²의 피부 자극 실험을 실시하였고, 구해진 용량-반응 자료와 Bench_C program의 Weibull model을 활용하여 NOAEL에 상응하는 benchmark dose(BMD₅)를 구하였다. 계산된 인체 노출량은 60kg 성인을 기준으로 하였을 때 고속 승용식 방제기 이용시에는 0.185 ~ 0.742 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$, 직접 분무식 방법에서는 1.11 ~ 4.56 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 였로 추정되어졌으며, BMD₅ 142.16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 과 불확실성계수 50(from animal to human 5, human variability 10)을 고려하여 acuteRfD값 2.84 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 을 산출하였다. 이러한 결과를 토대로 구해진 위험지수는 고속 승용식 방제기 이용시 0.07 ~ 0.26, 직접 분무식 살포시 0.39 ~ 1.61 로서 우리나라 농민들이 chlorpyrifos 직접 분무식 살포로 인한 피부 자극 발생이 나타날 수 있을 것으로 판단되어졌다. 본 연구는 급성 노출에 대한 단기 평가 결과로서 만성적인 노출 영향 평가를 위한 보다 세부적인 노출 평가가 수행되어야 할 것으로 생각되어진다.

구두발표(), 포스터발표(○)

<책임연구자>

성 명 :

주 소 :

연락처:

**Toxicant-induced Anoxia Stably Enhances a Neutral Form of
Mg²⁺-dependent Sphingomyelinase Activity in 293 Human Embryonic
Kidney Cell**

Sung Yun Jung and Dae Kyong Kim*

*Department of Environmental and Health Chemistry, College of Pharmacy, Chung-Ang
University, 221 Huksuk-dong, Dongjak-ku, Seoul 156-756, South Korea*

Recent evidence indicates that "sphingomyelin (SM) signaling pathway" exists: in response to heterogeneous influences, SM hydrolyzed, liberating ceramide. Ceramide can influence diverse cellular processes, including cell differentiation, proliferation, protein trafficking and apoptosis as a lipid-derived second messenger. Each of these processes has important implications for environmental toxicant-induced cell injury. Toxicant-induced anoxia depleting intracellular ATP and subsequently restoring it, which mimics reperfusion of ischemic or anoxic cells, is known to induce cell death. However, the precise biochemical mechanism of chemical anoxia-induced cell death remains poorly understood. In the present study, we examined the involvement of the SMase activation in chemical anoxia-induced human embryonic kidney cell (293 cell) death. As a chemical anoxia model, we depleted ATP in 293 cells by exposing them cyanide plus 2-deoxyglucose for 40 min. ATP restoration was then accomplished by re-exposure of cells to dextrose. Following a 5 min-ATP depletion, a time-dependent increase in an intracellular level of ceramide was observed with a concurrent decrease in SM. It is also suggested that the chemical anoxia-induced ceramide accumulation may be due to the stable activation of a membrane-associated, Mg²⁺-dependent, and neutral pH optimum SMase. The time-dependent activation of the SMase was induced with a concomitant cell death as observed in LDH release and DNA fragmentation. Here also we propose phosphorylation of the SMase as a possible mechanism of the stable enhancement in the SMase activity.

구두발표(), 포스터발표(○)

<책임연구자>

성명: 김대경

주소: 서울 동작구 흑석동 221 (우: 156-756)

연락처: 전화: 02-820-5610, 팩스: 02-825-7920, E-mail: dkkim@cau.ac.kr

Chemical Hypoxia Activates *De novo* Synthesis Pathway of Ceramide in SH-SY5Y Human Neuroblastoma Cells

Mi Sun Kang, and Dae Kyong Kim

*Department of Environmental & Health Chemistry, College of Pharmacy,
Chung-Ang University, Seoul Korea*

Ceramide has been implicated to be a second messenger in the cell signaling pathway involved in a variety of cellular responses ranging from cell differentiation, cell cycle arrest, cellular senescence, apoptosis to cell survival and cell proliferation in a number of cells. However, there is little information of a role of ceramide in apoptosis in hypoxic injury known to induce necrotic cell death. Ceramide generation was measured in SH-SY5Y cells metabolically labeled with [3H]serine after exposure to chemical hypoxia induced by cobalt chloride. Chemical hypoxia resulted in a rapid increase in ceramide production prior to any evidence of cell death in SH-SY5Y cells. The inhibitor of ceramide synthase, fumonisin B1, provided a marked protection against chemical hypoxia-induced enhancement of ceramide and cell death. Cobalt chloride also upregulated hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) known to stimulate the transcription of several genes during hypoxic injury. SH-SY5Y cells exposed to cobalt chloride provoked apoptosis followed by elevation of ceramide levels, but did not induce a concurrent decrease in sphingomyelin. Addition of exogenous C6-ceramide also induced apoptosis in SH-SY5Y cells with concurrent induction of HIF-1 α . These results suggest that hypoxia may induce neuronal apoptosis through *de novo* synthesis pathway of ceramide, which upregulate HIF-1 α .

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명: 김 대 경

주 소: 서울 동작구 흑석동 221 (우: 156-756)

연락처: 전화 (02-820-5610), 팩스(02-825-7920), E-mail (dkkim@cau.ac.kr)

수계환경 위해성 평가를 위한 면역학적 평가방법의 응용:
 갑천과 만경강 상·하류의 위해성 평가

Application of Immunological risk assessment method for evaluating risk levels
 of Gabchun and Mankyung river up and down streams.

심 규 정, 정 세 영

경희대학교 약학대학 위생화학교실

산업 하폐수의 불완전한 처리, 유해 폐기물의 방치, 농약의 지속적 사용 등은 토양을 오염 시킴과 동시에 지하수와 지표수의 수질을 악화시킨다. 특히 폐기물 매립지에서 발생하는 침출수에는 유독성 물질들이 고농도로 존재하기 때문에 이러한 침출수가 인근 하천등으로 유입되게 되면 하천 생태계에 심각한 악영향을 끼치게 된다. 또한 독성물질에 의해 오염된 수자원을 음용수나 농업용수등으로 사용하게 되면 국민의 보건과 건강에 치명적이라는 사실이 이미 많은 연구사례로부터 잘 알려져 있다. 그러므로 하천 수질 관리를 위해서는 수질오염원으로부터의 유입이 예상되는 독성 물질들을 관리하고 배출 규제를 하여서 독성물질들에 의한 수질오염을 방지하는 한편, 현재의 하천 오염과 그의 환경독성 수준을 평가해야만 한다.

그러나, 현재의 수질(또는 수 환경) 평가 항목들, 즉, 생화학적 산소요구량(BOD), 화학적 산소요구량(COD), 부유물질의 총량(TSS), 총질소의 양(TN), 그리고 몇몇 종류의 독성화학물질의 농도 등 제한된 항목의 측정만으로는 완전한, 또는 근접한 수준의 환경독성을 평가하기가 매우 어렵다. 그렇기 때문에 환경오염의 원인물질들에 대한 환경독성을 정확히 평가하는 방법이 필요하며, 수질오염 상황에 알맞은 환경독성 평가 방법의 선택이 요구되고 있다.

이들 환경독성 평가방법 중 어류 또는 포유류의 면역계에 대한 영향을 평가하는 방법은 아직 미개척 분야이며, 본 연구에서는 이점에 착안하여 면역세포 중 가장 중요한 생체 방어기능을 담당하고 있는 macrophage에 대한 수질오염물질의 독성정도를 평가해 보고자 하였다.

어류와 흰쥐로부터 분리한 macrophage가 오염된 물에 노출되었을 때 phagocytosis 능이 얼마나 sensitive하게 저하되는가, 또, 확립된 실험계를 사용하여 실제 오염된 하천수의 어류, 포유류 면역기능에 대한 영향을 정확히 평가할 수 있는가를 분석하는데 주력하였으며 이를 토대로 갑천 및 만경강 상·하류의 오염정도 및 시기적 변화에 따른 오염상황을 파악하고자 하였다.

어류로는 국내하천에 가장 널리 분포하며 오염원 수중에서도 비교적 잘 견디는 붕어 (*Carassius auratus*)의 macrophage를 사용하여 붕어의 면역계에 대한 영향을 보았다. 또한 붕어 채취를 실시한 동일 하천의 동일 site에서 물 sample을 채취하여 이를 흰쥐에서 분리한 macrophage에 처리하여 면역력 감소정도를 측정 비교하였다.

구두발표(), 포스터발표 (0)

<책임연구자>

성 명: 정 세 영

주 소: 서울 동대문구 회기동 1 경희대학교 약학대학 약학과

연락처: 전화 (02-961-9198), 팩스 (02-961-0371), E-mail (sychoung@khu.ac.kr)

**Protection effect of antioxidants by γ -radiation in ICR mouse
spleen & splenic lymphocytes**

Chun KJ¹, Kim JK¹, Kim BH

¹*Korea Atomic Energy Research Institute
College of Pharmacy, Chung Nam National University*

Radiation have detrimental effects on the various tissues in mammals and can result in the death of them. Among others, spleen is one of the important tissues since it can have a pivotal role in immune function. This study deals with the radiation protection effect of the pretreatment of antioxidants on the morphological changes or DNA damage in mouse spleens by γ -radiation. Four week old male mice(ICR strain) were irradiated with 6.5Gy or 18Gy of γ -ray for a morphological study on spleen tissue and with 3.5Gy of γ -ray for radiation-induced DNA damage in splenic lymphocytes and were sacrificed 3 days later. Spleen were taken for morphological examination after Hematoxylin-Eosin(H-E) staining and for DNA damage examination by a Comet assay. Morphological results indicated that all spleen tissues by γ -radiation showed some changes such as an increase of white pulp and red pulp and obscurity of marginal zone compared with those of the non-irradiated group. Little or no damage was found in the spleen tissue of the mice treated with ascorbic acid, cysteine and tocopherol before 6.5Gy irradiation. In addition, the tail moment of DNA single-strand breaks in the splenic lymphocytes were evaluated by the comet assay. The treatment of the antioxidants reduced the tail moment in the comets compared with that of the irradiated control group. This result indicates that antioxidants like ascorbic acid and cysteine have radioprotective effects on splenic lymphocyte DNA when assessed by the comet assay.

구두발표(), 포스터발표(○)

<책임연구자>

성 명 :

주 소 :

연락처:

Screening of natural product inhibitors on the UV phototoxicity by Chlorpromazine

HJ Kim, KH An, BH Kim

College of Pharmacy, Chungnam National University

Phototoxicity induces a cutaneous photoirritation, which is an inflammatory nonimmunological skin reaction after contact with a photoreactive compound and exposure to UV. Phototoxicity is increasingly observed as a side effect associated with the use of both cosmetics and systemic drugs. In this work, 15 natural products - *M. arvensis*, *Z. jujuba*, *X. stramonium*, *C. obtusifolia*, *P. persica*, *E. officinalis*, *L. platyphylla*, *P. amurense*, yeast, *L. chinense*, *M. bombycis*, *P. suffruticosa*, *G. glabra*, *P. tenuifolia*, *S. acutum* - known to contain antiinflammatory effect were screened whether they have phototoxicity inhibitory effects or not by two methods - RBC photohemolysis test by Kahans *et al* and yeast growth inhibition test with *Candida albicans*. Chlorpromazine was used as a phototoxicity inducer and UVA and UVB were irradiated respectively. Samples were obtained by the process of 80 % methanol extraction and then concentration under vacuum. And we made these concentration powder with freeze-dryer at $-50\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -60\text{ }^{\circ}\text{C}$. In RBC photohemolysis all samples reduces photohemolysis compared with control and in yeast growth inhibition test, *Xanthinum stramonium* and *Morus bombycis* showed the inhibitory effect in that the diameters were reduced compared with that of the control in the case of UVA and when UVB was irradiated, *P.persica* and *E. officinalis* showed the inhibitory effect.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성명 :

주소 :

연락처:

Effects of 4-Nonylphenol on *Cyp1a-1* gene expression

Kim, Ji Young., Choi, Chul Yung and Jeong, Hye Gwang

Department of Pharmacy, Chosun University, Kwangju, 501-759.

4-Nonylphenol (NP) is a degradation product of a widely used non-ionic surfactant group, alkylphenol polyethoxylates that are mainly found as an intermediate in the chemical manufacturing industry. NP is used for example to label tax-favored light fuel oil, as an preservative agent in the tanning industry, in pesticide formulations and it has been shown to possess estrogenic properties. In the present study, we investigated the effect of NP on TCDD-inducible P450 1A1 gene expression in mouse hepatoma Hepa-1c1c7 cells. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced cytochrome P450 1A1-specific 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity was markedly reduced in the concomitant treatment of TCDD and NP in a dose dependent manner. The NP alone did not affected the activity of *Cyp1a-1*-specific EROD. Treatment with tamoxifen, an antiestrogen that acts through the estrogen receptor did not affect the suppressive effects of NP on TCDD-induced EROD activity. TCDD-induced P450 1A1 mRNA level was also markedly suppressed in the concomitant treatment of TCDD and NP. Transient transfection assay using dioxin-response element (DRE)-linked luciferase revealed that NP reduced transformation of the aryl hydrocarbons (Ah) receptor to a form capable of specifically binding to the DRE sequence in the promoter of the P450 1A1. These results suggest the down regulation of the *Cyp1a-1* gene expression by NP in Hepa-1c1c7 cells might be antagonism of the DRE binding potential of nuclear Ah receptor but not through estradiol receptor.

구두발표 (), 포스터발표 (0)

<책임연구자>

성 명: 정 혜 광

주 소: 광주시 동구 서석동 375 (우:501-759) 조선대학교 약학대학

연락처: 전화&팩스 (062-230-6639), E-Mail (hgjeong@chosun.ac.kr)

**Transcriptional assay 와 comet assay에 의한 dibutyl phthalate의
에스트로젠 활성과 내분비 장애성에 관한 연구**

Studies on estrogenicity and endocrine disrupting activity of
dibutyl phthalate by transcriptional and comet assay

Hyung-Tae Kim^{1,2}, Young-Gyu Chai², Jae-Chun Ryu¹

¹Toxicology Laboratory, Korea Institute of Science and Technology, Seoul, Korea

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, Hanyang University, Korea

A wide range of phthalates have been produced for use as plasticizers and softeners in many synthetic products. Among phthalate esters, Di-n-butyl-phthalate (DBP) may act as xenoestrogens or antiandrogens. Also, DBP was reported to be genotoxic on human mucosa. To elucidate the relationship between endocrine disrupting activity and DNA damage of phthalate esters, DBP was studied by yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay and single cell gel electrophoresis. We have used a yeast-based assay to assess the interactions of DBP with the estrogen, androgen, and progesterone receptors. DBP ranging from 10^{-16} to 10^{-11} M was active in the estrogen receptor assay, but it did not show the effect on β -galactosidase activity in the progesterone and the androgen receptor assays. Also, to determine whether DBP induces DNA strand breakage, single cell gel electrophoresis (comet assay) was performed using mouse lymphoma L5178Y cell lines. The induction of strand breaks by DBP was not significantly different from control. In these assays, we found that DBP do not induce DNA single strand breakage in the single cell gel electrophoresis but have estrogenic activity in the gene transcription assay of yeast-based steroid hormone receptor.

구두발표 (), 포스터 발표 (○)

<책임연구자>

성 명: 류 재 천

주 소: 서울 성북구 하월곡동 39-1 한국과학기술연구원 생체대사연구센터

연락처: 전화 (02-958-5080), 팩스 (02-958-5059), E-mail (ryujc@kist.re.kr)

**cDNA microarray 와 E-screening assay를 이용한 MCF7 세포에서
dibutyl phthalate의 유전자 발현 양상과 에스트로젠 활성**
Gene expression profile and estrogenicity of dibutyl phthalate
in MCF7 cells using cDNA microarray and E-screening assay

Hyung-Tae Kim, Jae-Chun Ryu

Toxicology Laboratory, Korea Institute of Science and Technology, Seoul, Korea

Various phthalate compounds are used as softeners and plasticizers in a wide range of plastic materials. Since these substances are not limited to the original products, but enter the environment, they have become widespread environmental pollutants, thus leading to a variety of phthalates that possibly threaten the public health. Among phthalate esters, dibutyl phthalate (DBP) is reported to have estrogenic activity. To elucidate estrogenic activity of DBP, it was studied by E-screen test and cDNA microarrays in MCF7 human breast cancer cells. The E-screen test uses estrogen-sensitive human breast MCF7 cells and compares the cell yield achieved after 6 days of culture in the medium supplemented with 5% charcoal-dextran stripped fetal bovine serum (FBS) with diverse concentrations of 17β -estradiol and DBP. 17β -estradiol of 10^{-8} M and DBP of 10^{-7} M were active in the E-Screen test. Based on the established doses, we compared the pattern of gene expression with the cDNA microarray. It showed some of variation in gene expression patterns among MCF7 cells treated with 17β -estradiol and DBP.

구두발표 (), 포스터 발표 (○)

<책임연구자>

성 명: 류 재 천

주 소: 서울 성북구 하월곡동 39-1 한국과학기술연구원 생체대사연구센터

연락처: 전화 (02-958-5080), 팩스 (02-958-5059), E-mail (ryujc@kist.re.kr)

환경호르몬 물질 연구 I :
Alkylphenolic Compounds의 E-Screen Assay

A Study on Endocrine Disruptors I :
E-Screen Assay of Alkylphenolic Compounds

Hyo-Joung Park^{1,2}, Ho-Ja Lee², Jea-Chun Ryu¹

¹Toxicology Laboratory, Korea Institute of Science and Technology, Seoul, 136-605, Korea

²Department of Biology, Kyunghee University, Seoul, Korea

It has been hypothesized that environmental estrogens may play roles in the increasing incidence of breast cancer, testicular cancer, and another problems of the reproductive systems. Alkylphenols which are widely used as plastic additives and surfactants have been shown to induce estrogenic responses. We tested 6 alkylphenolic compounds by E-screen assay. E-screen assay is suitable for large-scale screening of suspected endocrine disrupting chemicals. The method introduced by Soto *et al.* is based on proliferative activity of MCF-7 estrogen sensitive human breast cancer cell line. This quantitative cell proliferation assay of MCF-7 cells was performed in the absence and presence of 17 β -estradiol (negative and positive control), and at the range of various concentrations (10⁻¹⁴-10⁻⁵M) of alkylphenolic chemicals. Cell proliferation yields positive control increased up to six-eight fold over those of negative control cells after 144-hr incubation. A significant increase in the proliferation levels of the tested alkylphenolic chemicals except for AP-6(isocyanic acid-chlorophenol) and AP-11(4-tet-octylphenol) which are increased at 10⁻⁸M and 10⁻¹⁰M respectively. Based on their relative proliferation efficiency (RPE), the chemical into three groups. Group 1 includes AP-1(4-butylphenol), AP-9(p-nitrophenol) which shows <50% of RPE; Group 2 includes AP-3(4-chlorophenol), AP-4(cyclohexanol), AP-5(2,4-dinitrophenol), AP-6(isocyanic acid-chlorophenol), AP-8(α -naphthol), AP-11(4-tet-octylphenol) which shows 50-100% of RPE; Group 3 includes AP-2(4-chloro-3,5-dimethylphenol), AP-7(4-4'-isopropylidenedi-phenol), AP-10(p-nonyl phenol) which shows >100% of RPE. The most potent estrogenic chemical in group 3 was able to stimulate these biological response to the similar extent as 17 β -estradiol itself albeit at a 10⁴ fold greater concentration than 17 β -estradiol

구두발표(), 포스터 발표(0)

<책임연구자>

성명 : 류재천

주소 : 서울시 성북구 하월곡동 39-1, 136-791

연락처 : 전화(02-958-5070), 팩스(02-958-5059), E-mail(ryujc@kistmail.kist.re.kr)

환경호르몬 물질 연구 II :
합성 Plasticizer의 E-Screen Assay
 A Study on Endocrine Disruptors II :
 E-screen assay of Newly synthesized plasticizer

Hyo-Joung Park^{1,2}, Kyung-Ho Yoo², Jea-Chun Ryu¹

¹*Toxicology Laboratory, Korea Institute of Science and Technology, Seoul, 136-605, Korea*

²*Medicinal Chemistry Research Center,*

Korea Institute of Science and Technology, Seoul, 136-605, Korea

It is well known that environmental estrogens may play an important role in the increasing incidence of breast cancer, testicular cancer, and another problems of the reproductive systems. We tested newly synthesized plasticizer by E-screen assay. E-screen assay is suitable for large-scale screening of suspected endocrine disrupting chemicals. The method introduced by *Soto et al.* is based on proliferative activity of MCF-7 estrogen sensitive human breast cancer cell line. This quantitative cell proliferation assay of MCF-7 cells was performed in the absence and presence of 17β -estradiol (negative and positive control), and at the range of various concentrations (10^{-14} - 10^{-5} M) of newly synthesized plasticizer. Cell proliferation yields positive control increased up to six-eight fold over those of negative control cells after 144-hr incubation. Among the newly synthesized plasticizer, KH005(10^{-11} - 10^{-9} M), KH008(10^{-13} - 10^{-5} M), KH010(10^{-14} - 10^{-6} M) and KH011(10^{-9} - 10^{-5} M) appear to possess estrogenic activity about 2-6 fold. And KH001(10^{-7} - 10^{-5} M) showed weak estrogenicity (1-2 fold). The most potent estrogenic chemical was KH 008(10^{-13} - 10^{-5} M), which was able to stimulate these biological responses to the similar extent as 17β -estradiol itself, albeit at a 10^5 -fold greater concentration than 17β -estradiol. KH001(10^{-14} - 10^{-5} M) exhibited very weak estrogenicity. Further study such as molding capacity for the development of new plasticizer is undergoing.

구두발표(), 포스터 발표(0)

<책임연구자>

성 명 : 류 재 천

주 소 : 서울시 성북구 하월곡동 39-1, 136-791

연락처 : 전화(02-958-5070), 팩스(02-958-5059), E-mail(ryujc@kistmail.kist.re.kr)

에탄올 전투여가 카드뮴 유발 간독성에 미치는 영향

Effect of Ethanol Pretreatment on Cadmium-induced Hepatotoxicity in Rats

정기화, 정춘식, 송금란, 주경미*

덕성여자대학교 약학대학

현대산업의 발달로 중금속의 사용량이 많아져 작업장 내에서의 직접중독 외에도 대기 및 수질오염의 생물학적인 먹이사슬을 통하여 간접중독의 기회가 늘어나고 있다. 또한 최근 간질환의 발병률과 관계가 깊은 ethanol의 소비가 증가되고 있어, ethanol 섭취와 동시에 중금속에 직접, 간접으로 노출되는 기회가 점차 증가하고 있다. 특히 cadmium은 반감기가 길어 체내에 흡수되면 간, 고환 및 신장 등의 조직에 축적되고 골대사장애를 일으켜 골격변형과 사지골격이상을 초래한다.

Cadmium은 생체내 흡수되어 여러 효소의 functional group과 치환하여 효소를 불활성화시키고 sulfhydryl기를 가진 단백질과 결합하므로 glutathione 함량을 감소시키고 과산화지질을 생성하여 세포손상을 일으킨다. Cadmium에 노출되면 생체내에서는 metallothionein이 유도되어 cadmium과 결합하고 항산화 기전이 작용하여 cadmium 독성으로부터 세포를 보호한다.

Ethanol은 cytochrome P450 IIE1을 유도하여 free radical을 생성하고 lipid peroxidation을 통하여 세포독성을 일으킨다. Ethanol이 흡수되면 생체 내에서는 speroxide dismutase와 catalase 등의 항산화효소와 glutathione 대사계를 통한 항산화 방어기전이 작용을 하는데 특히 ethanol을 반복 투여하는 경우 glutathione 대사계에 의한 항산화작용은 지속적이어야 한다.

따라서 cadmium에 의한 간대사 및 독성은 ethanol의 전투여 방법에 따라 다르게 발현될 것이 예측되므로 ethanol과 cadmium을 병용 투여하였을 때 ethanol의 투여량 및 투여기간에 따라 달라지는 체내 방어기전의 차이를 규명하여 cadmium에 의한 간독성이 어떻게 변화되는가를 밝혀보고자 본 연구를 수행하였다.

Ethanol을 1회(5g/kg) 및 반복(2.5g/kg, 4 weeks) 전투여하고 CdCl₂ 3mg/kg를 복강내 투여한 후, 각 군에 대하여 혈액 생화학적인 분석을 하고 간조직의 효소 함량의 변화를 측정하여 간조직의 산화적 손상정도와 이를 방어하는 항산화기전을 살펴보고 간조직의 병리학적인 변화를 관찰하여 산화적 stress와 apoptosis와의 상관성을 분석하였다.

구두발표(), 포스터 발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 주경미

주 소 : 서울시 도봉구 쌍문동 419 덕성여자대학교 약학대학 위생약학연구소

연락처 : 전화 (02-901-8383), FAX(02-901-8386), E-mail (lih00jkm@hotmail.com)

Carbofuran이 임파구 분열능 및 사이토카인 분비능에 미치는 영향
Effects of carbofuran on the splenocyte proliferation and cytokine production
in C57BL/6 male mice

Jeon, S. D., Chae, S. H., So, D. S., Lee, K. S., Kang, D. H.,
 Han., H. Y., and Moon, C. K.

서울대학교 약학대학 위생화학 교실

Carbofuran is one of the widely used pesticides in Korea and other countries. Its toxicities have been intensively investigated, but the systemic evaluation on the immunotoxicity of this pesticide has not yet been conducted. Our present study is a part of systemic approach to elucidate the mechanisms of carbofuran-induced immunotoxicity.

Delayed type hypersensitivity was suppressed by intraperitoneal administration of carbofuran (0.075, 0.15, and 0.3 mg/kg bw), which indicated that carbofuran suppressed cell mediated immunity in mice. Exposure of mice to carbofuran also suppressed proliferation of splenocytes responding to Con A and alloantigen. The suppression mechanisms were investigated utilizing T cells exposed to carbofuran in vitro. Pre-incubation of normal splenic T cells with carbofuran (100-1000 μ M) resulted in the suppression of Con A induced T cell proliferation and IL-2 production. Exogenous addition of rIL-2 could not significantly restore the suppressed T cell proliferation responding to Con A. In addition, rIL-2 induced proliferation of resting T cells was also significantly suppressed by carbofuran pre-treatment.

The results suggest that carbofuran induced suppression of cell mediated immune responses might be based, at least in part, on its suppressive effects on T cell functions.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 문 창 규

주 소 : 서울시 관악구 신림동 산 56-1 서울대학교 약학대학 29동 303호

연락처 : 전화 (880-7843), 팩스 (884-4580), E-mail (moonck@snu.ac.kr)

Carbofuran이 대식세포의 기능에 미치는 영향

Effects of carbofuran on the functions of macrophages in C57BL/6 male mice

Jeon, S. D., Chae, S. H., So, D. S., Lee, K. S., Jeon, S. M., Ju, J. H., and Moon, C. K.

서울대학교 약학대학 위생화학 교실

To elucidate the mechanisms of carbofuran-induced suppression of cell mediated immune responses in C57BL/6 male mice, we investigated if carbofuran suppresses functions of peritoneal macrophages. Intraperitoneal administration of carbofuran (0.075, 0.15, and 0.3 mg/kg bw) significantly suppressed IFN- γ induced generation of nitric oxide (NO) in peritoneal macrophages. This result indicates that carbofuran suppresses effector functions of macrophages resulting in the suppression of cell mediated immunity in mice.

To see if carbofuran directly suppress the function of macrophages, we examined the function of macrophages after pre-incubation of peritoneal macrophages obtained from normal C57BL/6 male mice with carbofuran (10, 50, 100, 500, 1000 μ M) for 4 hr. Normal splenic T cells proliferated responding to Con A in the presence of carbofuran-treated macrophages significantly less than in the presence of carbofuran-untreated control macrophages. The suppressed proliferation of T cells in the presence of carbofuran-treated macrophages was completely restored by addition of rIL-2 into cultures, but not by rIL-1. These results indicate that carbofuran also suppresses the accessory functions of macrophages to support proliferation of T cells.

The present study suggests that carbofuran might inhibit the accessory functions as well as effector functions of macrophages resulting in the suppression of cell mediated immune responses in mice.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성명 : 문 창 규

주소 : 서울시 관악구 신림동 산 56-1 서울대학교 약학대학 29동 303호

연락처 : 전화 (880-7843), 팩스 (884-4580), E-mail (moonck@snu.ac.kr)

A study on gonadal development toxicity of Arsenic with Crucian carp

S.S. Nam, C.W. Lee, J.S. Ryu, E.R. Park, K.C. Nam, H.I. Rhu, J.G. Na and K. Park

*National Institute of Environmental Research, Env. Res. Complex, Kyungseo-dong, Seo-gu,
Incheon, 404-170, Korea*

Arsenic is on EPA's priority list of suspect endocrine disrupting chemicals(EDCs). Some arsenic substances increase in concentration, or bioaccumulate, in living organisms as they breath contaminated air, drink contaminated water, or eat contaminated food. These chemicals can become concentrated in tissues and internal organs of animals and humans. The concentration of arsenic found in fish tissues is expected to be somewhat higher than the average concentration of arsenic in the water from which the fish is taken. Blood serum testosterone levels (in males) and estradiol levels(in females) were most severely suppressed in those animals where arsenic exposure began *in utero*. Both sexes in this group showed a 25% suppression in prepubertal growth (as measured by weight). Arsenic is also reported as being able to damage the developing fetus and it should be handled as a potential teratogenic agent since some arsenic compounds are known teratogens.

The purpose of this study was to determine the effects of arsenic, which is suspected EDCs, on the gonadal development of fish. The crucian carp(*Caracius auratus*, 6.0-10.0cm, 8.8-13.0g) were treated with 0.5mg/L and 3.0mg/L(higher) As_2O_3 for 14 days and each treatment group consists of 10 crucian carps. The weight, body length, and GSI were examined and internal organs were fixed in bouin solution for histological studies. After fixation, specimens were dehydrated in graded series of ethanol, and embedded in paraffin. Serial sections were cut and stained with hematoxylin and eosin for examination by light microscopy with focus on histological abnormalities of the gonad.

Fish survival during exposure was at or near 100% in control group and treatment group. After the exposure the mean weight of higher treatment group was decreased about 30% and the mean GSI was one third of the mean GSI of the control group. The ovaries of As-exposed crucian carp had a preponderance of primary follicles with a few secondary follicles. Ovaries of females exposed to higher concentrations of arsenic contained many immature follicles and atretic follicles, with significant differences found between primary follicles and other stages of follicular development in fish exposed to 0.5mg/L and control fish. However the different developmental stages of oocytes were observed in control group and a lot of mature ovarian follicles could be found. In this study, the results indicated that arsenic suppressed the gonadal development in crucian carp.

구두발표 (), 포스터발표 (○)

<책임연구자>

성 명 : 박 광 식

주 소 : 인천시 서구 경서동 종합환경연구단지

연락처 : 전화 (032-560-7070), 팩스 (032-568-2037), E-mail(envipark@hanmail.net)

내분비계장애물질 노출 잉어에서의 Vitellogenin 발현 및 특성 연구

박응로, 이철우, 최필선, 남규찬, 남성숙, 류홍일, 나진균, 박광식

국립환경연구원, 인천광역시 서구 경서동 종합환경연구단지

최근 내분비계장애물질의 위해성 평가를 위한 시험법 개발에 관한 연구가 국제적 이슈로 등장함에 따라 OECD 전문가 회의에서도 성분화, vitellogenin 유도, 혈중 성호르몬 농도 등을 테스트 가이드라인에 추가하기 위해 논의하고 있다. 이 중 수컷 어류에서 분비되는 vitellogenin은 내분비계장애물질에 의해 특이적으로 유도되는 분자마커라 할 수 있으며 최근 많은 연구자들의 연구대상이 되어 무지개송어, 발톱개구리, 집시나방, 조류 등에서 vitellogenin의 유전자가 밝혀져 있다. 본 연구에서는 내분비계장애물질로 알려진 bisphenol A에 노출시킨 수컷 어류로부터 RT-PCR법을 이용하여 vitellogenin 유전자를 클로닝하고 이러한 cDNA 단편을 이용하여 내분비계장애물질에 대한 어류의 잠재적 위해성을 평가하고자 하였다.

시험에는 국내 서식 어류인 잉어 수컷을 사용하였으며(체중 20~30g) bisphenol A를 시험물질로 하였다. 노출농도 0, 0.6, 1.2, 2.3, 4.7mg/L 및 노출기간을 0, 1, 2, 4, 7, 14일로 정하여 반지수식으로 노출시켰으며, 양성대조군으로 0.2mg/L의 17 β -estradiol을 사용하였다. Trizol 방법을 이용하여 노출된 어류의 간에서 total RNA를 추출한 후 RT-PCR을 수행하였다.

RT-PCR 수행 결과 E2 처리군과 시험물질 처리군에서 1,200bp 크기의 band가 검출되었다. 이 DNA 단편은 기 보고된 무지개송어의 vitellogenin mRNA(1,262bp)와 유사한 크기로서 vitellogenin mRNA에서 유래한 것으로 추정되며, 시간과 처리농도에 따른 용량반응평가에서도 처리농도가 높아질수록, 처리기간이 길어질수록 발현량이 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과를 종합하면 bisphenol A에 의해 유도된 mRNA는 vitellogenin mRNA인 것으로 추정되며 RT-PCR법으로 환경 중 내분비계장애물질의 잠재적위해성을 평가할 수 있음을 보여주었다.

구두발표 (), 포스터발표 (○)

<책임연구자>

성 명 : 박 광 식

주 소 : 인천시 서구 경서동 종합환경연구단지

연락처 : 전화 (032-560-7070), 팩스 (032-568-2037), E-mail(envipark@hanmail.net)

Xenopus laevis에서 vitellogenin을 생체지표로 이용한 에스트로젠 및 프탈레이트 영향 검색

박용로, 이철우, 남규찬, 남성숙, 류홍일, 나진균, 박광식

국립환경연구원, 인천광역시 서구 경서동 종합환경연구단지

내분비계장애물질이 환경중으로 방출되는 양은 극미량이지만 이들 대부분은 지용성 물질이라 환경중에서 매우 안정하며 먹이사슬을 통해 체내에 축적되는 특징이 있다. 실제로 우리나라의 호수와 강에 서식하는 참개구리의 체내에서 최대 301 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 DEHP(diethylhexyl phthalate)가 검출되었다는 조사 결과가 최근에 발표되었다("내분비계장애물질에 의한 생태영향조사 보고서", 2000. 7, 국립환경연구원). 본 연구에서는 DEHP를 시험물질로 하여 양서류의 내분비계장애물질의 영향에 대해 조사하고 vitellogenin mRNA의 발현을 조사함으로써 개구리에서 내분비계장애물질의 영향 검토를 위한 biomarker를 개발하고자 하였다.

본 시험에는 완전히 성장한 발톱개구리(*Xenopus laevis*) 수컷을 사용하였으며(체중 50.9 \pm 5.8g) 시험물질을 50 μl 의 에탄올에 녹여 lymph sac에 주사하였다. 실험 개체의 체중 1kg 당 DEHP 300 μg , DEHP 300mg, E2(17 β -estradiol) 300 μg 을 주사한 것을 처리군으로 하고, 96시간이 지난 후 시험 개체의 간에서 total RNA를 추출하여 RT-PCR을 수행하였다. 또한 간, 정소, 신장을 절취하여 Bouin 고정 후 hematoxylin & eosin으로 염색하여 조직학적 변화 유무를 관찰하였다.

RT-PCR 수행 결과, E2 처리군과 DEHP 300mg/kg 처리군에서 DNA band가 검출되었다. 검출된 band는 기 보고된 것과 같은 529bp의 크기의 단편으로서, vitellogenin mRNA가 증폭된 것으로 판단된다. 그러나 DEHP를 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 농도로 처리한 경우, 용매만을 처리한 경우와 대조군에서는 DNA 단편이 검출되지 않았다. 한편 조직학적 변화를 조사한 결과, E2 처리군의 신장 조직에서 친에오신성 물질이 소량 증가하는 결과를 보여주었다. 이 결과는 무지개송어에 에스트로젠을 처리한 경우, 단백질의 비정상적인 생성으로 신장에서 친에오신성 물질이 증가한다는 기존의 보고와 일치하였다.

이상의 결과에서 E2의 96시간 처리에도 vitellogenin mRNA가 효과적으로 유도됨을 알 수 있었다. 본 실험에 사용한 프라이머가 국내에 서식하는 개구리에도 적용될 수 있는지는 검토되어야 하겠지만 RT-PCR법을 이용한 vitellogenin mRNA의 검출방법은 양서류에서 내분비계장애물질의 오염도를 모니터링하는데 좋은 지표가 될 수 있을 것으로 판단된다. 한편 국내산 참개구리에서 검출된 DEHP 수준에서는 vitellogenin mRNA가 유도되지 않고 이 보다 1,000배나 높은 300 mg/kg에서 매우 미약한 수준의 band가 검출된 점으로 보아, DEHP 단독 오염에 의한 내분비계장애효과는 그리 크지 않을 것으로 추정된다. 그러나 DEHP가 다른 물질과 혼재함으로써 나타날 수 있는 상승효과와 장기간 노출시 발생할 수 있는 영향, vitellogenin 유도가 아닌 다른 관점에서 발생할 수 있는 내분비계장애효과 등에 대해서는 아직 조사된 바가 없으므로 이에 대한 다각적인 연구가 수행될 때까지는 국내산 개구리의 DEHP 오염 결과에 관심을 기울여야 할 것이다.

구두발표 (), 포스터발표 (○)

<책임연구자>

성명 : 박광식

주소 : 인천시 서구 경서동 종합환경연구단지

연락처 : 전화 (032-560-7070), 팩스 (032-560-7059), E-mail(envipark@hanmail.net)

조선소에서 발생하는 에어로졸 중 유기주석에 의한 인근지역의 토양오염에 관한 연구

A study on the Tin in soil at the near place
of the shipyard by painting aerosol

유 철, 이은정,¹안준영, 조영봉

연세대학교 산업환경학과

¹건국대학교 환경공학과

우리나라의 조선사업은 세계적인 수준으로 발전하였고, 그 결과 현재에는 연간 선박수주와 선박수리부분에서 세계 정상을 차지하고 있다. 이런 조선사업의 규모와 같이 조선소에서는 선박 건조에 필수적인 많은 양의 방오도료를 사용하고 있으며 그 주성분은 여러 가지 생식기 장애를 일으키는 셀루솔브계 유기용제와 함께 유기주석인 Bis(tributyltin) oxide(TBTO)와 tributyltin fluoride(TBTF)를 함유하고 있고 이런 주석을 함유한 방오도료의 사용량은 D 조선소의 경우 연간 273.4톤에 이르며 그중 TBTO와 TBTF의 양은 31.6톤이 된다. 하지만 우리나라의 경우 셀루솔브계 유기용제의 심각성은 이미 널리 알려져 그 피해를 최소화하기 위하여 많은 연구가 진행 중이지만 함께 함유되어 있는 유기주석의 연구는 아직 미약한 실정이다. 이에 유기주석에 의한 조선소 주변의 주석오염 실태를 조사하고, 그 인접지역의 유기주석에 노출된 사람의 소변을 회수하여 소변중의 주석함유량을 조사하여 유기주석으로 인한 오염실태를 파악하고 더 나아가 그 심각성을 알리는 것을 그 목표로 한다.

토양오염실태를 조사하기 위하여 조선소를 중심으로 약 5km의 거리를 그 대상지역으로 선정하여 그 중 주민밀집지역 35개 지역을 선정하였고 우리나라 환경부의 토양공정시험방법에 의하여 토양시료를 채취하였다. 그리고 토양시료는 풍건세토로 만들어 EPA SW-846의 Method 3051에 의하여 microwave oven을 이용하여 용출하였고, 이 시료를 PerkinElmer의 원자흡광광도계 AAnalyst 800을 사용하여 분석하였다. 인접지역에서 폭로된 사람의 urine도 동종의 분석기계를 사용하여 분석하였다.

분석결과 토양중 주석함유량은 대조군으로 선정한 다른 시료에 비하여 오염이 심각한 지역은 약 500배까지 높은 지역도 있었으며, 거리별로 보면 배출원지역에서 1.5km 지역의 토양오염이 심각한 것으로 조사되었다. 그리고 소변을 통한 유기주석의 오염을 보면 대조군인 경우에는 0.151 $\mu\text{g/g}$ creatinine 이었으나, 폭로된 사람들의 소변중에서는 0.322~6.787 $\mu\text{g/g}$ creatinine 로 분석되어 오염의 심각성을 보여주고 있다. 분석기계인 AA의 특성을 보면 주석의 MDL(Method Detection Limit)은 0.135 $\mu\text{g/l}$ 로 계산되었다.

본 연구결과 조선소의 방오도료중 유기주석은 작업 특성상 옥외작업장에서 작업이 이루어지고 있어 인근지역으로의 유기주석의 오염 확산을 확인할 수 있었으며, 이에 대한 대책과 관련된 연구가 시급히 이루어져야 할 것이다.

구두발표(), 포스터발표()

<책임연구자>

성 명 : 유 철

주 소 : 우편번호 220-090, 강원도 원주시 흥업면 매지리 연세대학교 산업환경학과

연락처 : 전화 (033-760-2839, 017-209-4285), E-mail (s7424@hanmail.net)

대기 중 Benzene, Toluene, Xylene에 폭로된 사람의 Urine중 생체대사물질인 Phenol류 분석에 관한 연구

Analysis of Phenols in urine as the metabolites
of Benzene, Toluene and Xylene in the air

유철, 이은정, 윤주송, 한영선, 조영봉

연세대학교 산업환경학과

대기중의 benzene, toluene, xylene의 농도는 경제발전과 더불어 증가한 차량 때문에 지속적인 증가추세를 보이고 있다. 이런 대기중의 benzene, toluene, xylene이 인체내로 유입될 경우 그 대사 산물로는 지금까지 hippuric acids가 많이 사용되었으나, hippuric acid류는 보통 사람에게서도 다량이 배설되는 문제점을 가지고 있어, 본 연구는 고체상 추출법을 이용한 phenol류(phenol, o-, m, p-cresol, o-, m, p-xyleneol)의 동시 분석과 BTX의 생물학적 지표로의 사용 가능성 여부를 확인하고자 한다.

고체상 추출법을 이용하기 위하여 사전실험으로 mesh별 탈착율과 탈착용매별 탈착율을 확인하였고, 생체대사물질로서의 urine 중의 phenol류는 XAD-2를 이용한 농축을 통하여 GC/PDHID를 사용하여 분석하였으며, phenol류의 분석에서 GC/FID와 GC/PDHID를 비교하여 최적의 분석조건을 정립하였으며, 교통혼잡지역의 대기중 benzene, toluene, xylene의 농도와 동일지역에서 대기중 benzene, toluene, xylene에 폭로된 사람의 urine중 Phenol류를 분석하였다.

연구결과, XAD-2 resin을 사용하여 mesh별(70~100 mesh와 100~140 mesh) 탈착율 비교에서는 70~100 mesh가 phenol 101.4 ± 2.01 , o-cresol 96.62 ± 1.08 , p-cresol 99.22 ± 2.23 , o-xyleneol 104.55 ± 2.50 와 p-xyleneol 103.96 ± 2.06 의 높은 탈착율을 보였다. 용매별(methanol, acetone, isopropyl alcohol, acetonitrile)로 탈착율을 확인한 결과 methanol을 용매로 사용할 경우, phenol 100.80 ± 2.54 , o-cresol 97.92 ± 3.06 , p-cresol 98.04 ± 1.48 , o-Xyleneol 104.04 ± 3.04 와, p-Xyleneol 103.01 ± 3.39 로 가장 높은 탈착율을 보였다. 농축실험은 5배 농축과 10배 농축을 실험하여 그 결과는 10배 농축시 Phenol에서 102.82 ± 2.25 , o-Cresol에서 99.63 ± 2.74 , p-Cresol에서 100.69 ± 2.79 , o-Xyleneol에서 100.29 ± 3.65 , p-Xyleneol에서 103.19 ± 5.15 로 농축됨을 확인하였다. 분석기기의 감도비교에서는 GC/PDHID에서 phenol류의 LOD(Limit of Detection)가 $0.0776 \sim 0.3920$ ppm으로 GC/FID보다 매우 낮은 농도로 나타났다.

교통혼잡지역의 사람들과 대조군의 소변에서의 Phenol류 농도를 free form과 conjugate form으로 비교(T-Test)한 결과 free form에서는 phenol의 p-value가 0.0135로 두 집단간에 유의한 차이를 보이고 있으며, conjugate form에서는 phenol, o-cresol과 p-cresol의 p-value가 각각 0.0025, 0.0499와 0.0455로 두 집단의 뚜렷한 차이를 볼 수 있었다.

본 연구결과 Benzene, Toluene, Xylene의 대사물질인 phenol류를 고체상 추출법을 이용하여 농축하여 저농도까지 분석할 수 있음을 확인하였고, 기존의 hippuric acid와 같이 phenol류도 biological index로 활용할 수 있을 것이다.

구두발표(), 포스터발표()

<책임연구자>

성명 : 유철

주소 : 우편번호 220-090, 강원도 원주시 흥업면 매지리 연세대학교 산업환경학과

연락처 : 전화 (033-760-2839, 017-209-4285), E-mail (s7424@hanmail.net)

한국에 자생하는 식물의 중금속 자연함유량에 관한 연구

Studies on Natural Heavy metal Contents in Wild Plants of Korea

이 기 태 · 김 형 을 · 최 한 수

경희대학교 생물학과

식물에게 흡수된 중금속은 식물 자체의 생육에 큰 피해를 줄뿐만 아니라, 식물체를 소비하는 생물체 내에 축적되어 악영향을 주는 경우가 많다. 우리 나라에서는 오염지역을 중심으로 한 오염도가 측정되어 보고되고 있으나, 자연적으로 식물체내에 함유하는 중금속에 관한 기초 연구는 보고된 바가 적어 중금속 오염도를 비교 분석하기 어렵다. 본 연구는 인위적인 요인에 의하여 발생하는 중금속오염에 대한 연구의 일환으로서, 생태계를 순환하는 중금속의 전이 모형을 이해하기 위하여 선행되어야 할 필요가 있는 자연환경 내에서의 식물 중금속 함량에 관한 조사이다.

식물체의 중금속 자연함유량을 조사하기 위하여 청정지역으로 여겨지는 광덕산, 오대산, 한라산, 및 동만도 4곳을 조사지로 설정하여, 식물체를 채집한 후 ICP를 이용하여 Al, As, Cd, Cr, Cu, Pb, Fe 및 Zn 함유량을 분석하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

청정지역에서 채집한 식물체의 중금속 함유량은 Al은 0.519~921.4ppm, As는 0~4.180ppm, Cd는 0~0.313ppm, Cr은 0.001~3.007ppm, Cu는 0~1.997ppm, Fe는 0.0363~216.700ppm, Pb는 0~2.660ppm 및 Zn은 0.002~86.400ppm으로 나타났으며, 토양내의 중금속 함유량의 경우 Al은 627.440~1039.000, As는 0~7.905ppm, Cd는 0.002~0.159ppm, Cr은 0.142~2.490ppm, Cu는 0.424~0.994ppm, Fe는 96.990~1880.000ppm, Pb는 1.0500~7.531ppm 및 Zn은 5.474~7.720ppm으로 나타났다.

목본과 초본 식물의 중금속 함량을 비교해 본 결과 대체적으로 초본이 중금속을 더 많이 함유하고 있는 경향을 보였다. 초본의 경우 지상부 보다는 지하부에 더 많이 중금속을 축적하며, 목본의 경우 줄기보다는 잎에 더 많은 중금속을 축적하는 경향이 있으나, 중금속 종류에 따라 다양한 차이를 보인다. 또한, 조사지역별 중금속 함유량 차이는 거의 나타나지 않았다.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 이 기 태

주 소 : 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 생물학과

연락처: 전화 (02-961-0720), 팩스 (02-963-9339), E-mail (rhiekt@nms.kyunghee.ac.kr)

식물체내의 중금속 자연함유량과 생리적 요인의 관계에 관한 연구
Studies on Relationship between Heavy Metal Contents and Physiological Factors

이 기 태 · 최 한 수

경희대학교 생물학과

식물체 내에서의 중금속은 생리적으로 중요한 기능을 수행하여 효소의 Cofactor로 부착되어 기질과 효소가 결합할 경우 촉매작용을 원활히 이루게 한다거나, 에너지를 생산하기 위한 전자 전달계의 중요한 전자수용체로 작용하기 위하여 필수적인 중요한 기능에 적합한 중금속을 유지하기 위하여 식물은 환경의 여건에 따라 생리적 활성에 필요한 양 이상으로도 체내에 축적할 수 있다. 식물체의 생리적 요인과 중금속 함유량간의 관계를 알아보기 위하여 4종의 식물(*Geum japonicum*, *Symplocarpus renifolius*, *Artemisia princeps* and *Erigeron annuus*)을 각 20개체씩 채집하여, 생중량, 건중량, 엽록소함량 및 함수량을 측정 한 후, ICP를 이용하여 식물체내의 중금속 함량을 측정 한 후 상호관계를 비교 분석하였다.

중금속 함유량은 대체적으로 *Symplocarpus renifolius*에서 높게 나타났으나 종간 차이가 심하며 중금속 별로도 다양한 차이를 나타내었다. 생중량은 *Geum japonicum*에서 Cu와 유의한 상관관계를 가지며, *Artemisia princeps*에서 Zn과 상관관계가 나타났다. 엽록소 함량의 경우 *Artemisia princeps*에서 Cd 및 Zn와 상관관계가, *Erigeron annuus*에서 Cu와 Zn, 그리고 *Symplocarpus renifolius*에서 Zn과 상관 관계가 나타났다.

함수량의 경우 *Geum japonicum*에서 Al, As 및 Zn에서 유의한 상관관계가 나타나며, *Symplocarpus renifolius*에서 Cu 및 Zn, *Artemisia princeps*에서 Zn과 유의한 상관관계가 나타난다. 식물의 함수량에 관한 Zn 및 Cu의 회귀로 보아 중금속은 식물의 초본에서 함수량이 많아 생리적 대사에 대한 외적 반응이 비교적 빠르다고 할 수 있는 쑥(*Artemisia princeps*) 및 앓은부채(*Symplocarpus renifolius*)과의 유의한 관계로 부각되어 이를 더욱 연구할 필요가 있다고 판단한다.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 이 기 태

주 소 : 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 생물학과

연락처: 전화 (02-961-0720), 팩스 (02-963-9339), E-mail (rhiekt@nms.kyunghee.ac.kr)

도시 내의 식물의 중금속 함유량에 관한 연구 Studies on Heavy Metal Contents of Civic Plants

이 기 태 · 김 형 을 · 최 한 수

경희대학교 생물학과

인위적인 요인으로 식물체의 환경이 변화했을 때 이들 식물체의 내적 변화에 관련한 연구는 환경요인의 위해성을 연구하는데 중요한 자료가 될 것이다. 도시지역은 과밀한 인구나 상대적으로 발생하는 인위적인 활동, 즉 교통수단의 빈번한 사용 등으로 도시의 특성에 따라 여러 가지 다양한 환경변화를 유발할 수 있다. 따라서 다양한 도시의 지역 특성에 따른 식물체내의 중금속함량 연구는 환경오염에 대한 또 다른 지표로 활용될 수 있다.

본 연구는 서울의 지역을 교통량의 빈도 및 양, 인구의 밀도 등을 근거로 하여 가로수를 포함한 수종의 식물체내에 축적되어 있는 중금속의 함유량을 비교하여 중금속의 오염 정도에 대한 상대적 비교를 교통량과 인간활동을 지역적으로 구분하였다.

도시지역에서 채집한 식물체의 중금속 함유량은 Al은 1.351~673.740ppm, As는 0~1.221ppm, Cd는 0~0.103ppm, Cr은 0.031~1.748ppm, Cu는 0.238~4.035ppm, Fe는 2.839~984.330ppm, Pb는 0.121~33.340ppm 및 Zn은 0.460~186.060ppm으로 나타나 이전의 연구 결과보다는 높게 나타났다. 지역별 비교에 있어서 교통량이 많은 자유로 및 천호사거리에서 서식하는 식물이 경희대학교 서울캠퍼스에 서식하는 식물체 보다 더 높은 중금속 함유량을 가지며, 이는 중금속 종류에 따라 다소 차이를 보였다.

서울지역 가로수 2종, 은행나무와 양버즘나무를 대상으로 한 결과에서는 가로수 중 중금속 함유량이 천호사거리 - 잠실사거리 - 둔촌아파트 - 올림픽공원 순으로 나타났으며, 이는 자동차 운행에 따라 직접적으로 발생하는 중금속 종류의 흡수 뿐 아니라 배기 가스에 의한 대기 오염을 통해 토양의 산성화가 유발되어 토양내의 중금속 활성을 높인 결과에 의해서 대부분의 중금속 이온들이 식물체내로 다량 흡수되어지는 기작으로 생각되어진다. 가로수로 많이 식수되는 양버즘나무와 은행나무의 중금속함유량 비교에서 두 종간에 유의한 차이를 보인 As, Cu 및 Zn은 은행나무에서 더 높게 검출되었다. 또한 지형적 차이에서 기인된다고 여겨지는 결과로서 자유로 주변의 식물은 Al과 Fe이, 천호동 주변의 식물에서는 As와 Cr이 높게 검출되었다.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 이 기 태

주 소 : 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 생물학과

연락처: 전화 (02-961-0720), 팩스 (02-963-9339), E-mail (rhiekt@nms.kyunghee.ac.kr)

FETAX와 Microtox 기법에 의한 Carbofuran 및 분해산물의 환경독성 평가

황인영, 이순애, 정홍배, 이성규¹, 고선근²

인제대학교 환경학과

¹한국화학연구소 환경독성팀

²호남대학교 생명과학과

Carbofuran(2,3-Dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranol N-methylcarbamate) 및 주 분해산물인 2,3-Dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranol에 대한 환경독성을 FETAX와 Microtox기법으로 평가하였다. FETAX(Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus*)란 남아프리카 발톱개구리(*Xenopus laevis*)의 embryo를 이용하여 96시간 동안 시험물질에 노출시킨 후 발생하는 기형율을 판정하는 시험기법이다. 또한 Microtox는 미생물 배양액에 독성물질을 첨가시킨 후 감소되는 미생물 발광량을 비교하여 해당물질의 상대적 독성을 평가하는 기법이다. FETAX 시험에 의한 Teratogenic Index(기형성 지수, 96-hr LC50/96-hr EC50)가 1.5보다 높을 때, 해당 시험물질이 최기형성을 갖고 있다고 판단하게 된다. Carbofuran과 주 분해산물의 LC50는 각각 43.41ppm과 160.099ppm이었으며 총체적 기형발생 EC50는 각각 0.11ppm, 7.583ppm으로 Carbofuran이 대사체보다 18.5배 높은 TI값을 나타내었다. 한편 4일간 배양된 embryos의 부위별 기형상태 특징으로는 Ventral tail flexure와 Edema, Pigment 이상이 현저하게 나타난 점이며, 이러한 결과는 주 분해산물에 비해 Carbofuran이 강력한 최기형성 물질임을 의미하고 있다. 이와 병행하여 수행한 Microtox 독성시험의 Carbofuran EC50@30min은 12.05ppm으로 일반적 농약의 독성수준을 나타내었다. 즉, Carbofuran은 발광성 미생물보다 frog embryo에 대해 예민하게 반응하는 것으로 판단된다.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 황 인 영

주 소 : 경상남도 김해시 어방동 인제대학교 환경시스템학부

연락처 : 전화 (055-320-3253), 팩스 (055-334-7092), E-mail (iyhwang@ijnrc.ac.kr)

SPMD용 olive oil과 triolein의 PCP 생물농축성 비교

문성환, 황인영

인제대학교 환경학과

생물농축(Bioconcentration)이란 생물체가 어떤 화학 물질에 노출되었을 때 물질의 물리화학적 특성과 생물체 세포막의 특성에 의하여 해당 물질이 생물 체내로 직접 이동되는 농축 현상을 말한다. 일반적으로 오염 현장에서의 생물농축연구는 자연생물을 대상으로 이루어져 왔으나, 실험생물의 개체간 성별, 나이, 환경, 등의 여러 변수들로 인하여 표준화시키기 난이하였다. 더욱이 생물의 생존에 큰 영향을 주는 오염현장에서는 생물농축 실험자체가 곤란한 경우가 많다. 이에 비하여 인위적 생물 농축장치(Semi-Permeable Membrane Device, SPMD)는 환경 및 생물개체의 변화를 배제할 수 있는 대체기법으로 사용할 수 있다. 생물이 서식하기 어려운 환경에서의 유해화학물질 오염도 평가에 활용하기 위한 SPMD의 농축능력을 개선하는 과정의 일환으로, 본 실험에서는 실내 연속 순환 장치를 이용한 생물농축용 막과 충전재 선정을 위한 기초 연구를 수행하였다. Pentachlorophenol(PCP)를 농축대상 물질로 한 실험에서는 80 μ m 두께의 low density polyethylene(LDPE)이 50 μ m의 막보다 SPMD 농축용 막으로 적절한 것으로 나타났다. 일반적으로 SPMD생물농축시험에서 사용되는 충전재인 triolein과 비교하여, olive oil 및 octanol의 PCP 농축효율을 비교한 결과, olive oil 과 octanol의 농축 효율성이 triolein에 비해 월등히 높은 것을 알 수 있었다.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성명 : 황인영

주소 : 경상남도 김해시 어방동 인제대학교 환경시스템학부

연락처 : 전화 (055-320-3253), 팩스 (055-334-7092), E-mail (iyhwang@ijnc.ac.kr)

생태위해성 예보체계의 개발 II
- 화학분석 및 미생물 이용 복귀돌연변이 시험을 지표로 하여

권정환, 이현걸¹, 김 균, 김용화

한국화학연구소 안전성연구센터 환경독성팀/¹독성2팀

화학물질의 수계중 노출에 따른 생태위해성 예보체계를 확립하고자 국내 하천을 대상으로 수질분석과 화학물질에 대한 동정을 수행하였고, 미생물 복귀돌연변이시험(Ames test)을 지표로 하여 생물분석을 실시하였다.

수계조사는 국내 2개 하천을 대상으로 상류와 하류지점으로 나누어 각각 2개 지점을 2000년 5월부터 10월까지 1.5개월 간격으로 하천수를 채취하여 GC-FID profiling을 통한 pattern분석, GC/MS에 의한 물질의 동정을 실시하였고, 동일한 시료에 대해서 미생물 복귀돌연변이(Ames) 시험을 실시하였다. 복귀돌연변이 시험균주로는 *Salmonella typhimurium* TA98을 사용하였으며, 하천수 143ml 해당량/plate를 최고농도로 하고 공비 2로서 1 혹은 3 단계 농도군을 시험하였다.

GC-FID의 profiling pattern은 A하천과 B하천 모두 상류에 비해서 하류에서 많은 peak를 나타냈으며, 강수량이 적은 5월 시료에서 가장 많은 peak가 검출되었다. 미생물 복귀돌연변이 시험 결과, A하천의 하류의 5월과 6월 시료에서 대조군과 비교해서 유의한 돌연변이를 일으키는 변이원성 물질이 존재하는 것으로 확인되었다.

GC/MS 동정결과 hexadecanoic acid, 9-hexadecenoic acid, octadecanoic acid, 9-octadecenoic acid 등의 carboxylic acids류, diethyl phthalate, dibutyl phthalate, di-(ethylhexyl)-phthalate 등의 가소제류, Butachlor 등의 농약, 그 외에 triphenylphosphine oxide 등의 물질이 2회 이상 90%이상의 matching quality로 검출되었다.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 김 용 화

주 소 : 대전광역시 유성구 장동 100

연락처 : 전화 (042-860-7490), 팩스 (042-860-7399), E-mail (kimyh@kriict.re.kr)

EUSES모형을 이용한 Phthalates류 화학물질의 환경중에서의 초기 위해도 평가

김 은희*, 권 정환, 김 균, 김 용화

한국화학연구소 환경독성연구팀

화학물질의 위해성 평가(Risk Assessment)는 화학물질의 관리를 위해 중요한 요소이자 방법론으로 정착되어 가고 있다. 특히, 연구 대상 우선순위 물질을 결정하거나 특정 시간적 공간적 범위내에서 위험 예상 물질을 스크리닝하기 위해서는, 기존의 자료를 가지고 위해성 평가 프로그램을 사용하는 것이 바람직하다고 사료된다.

이에 본 연구에서는 일부 국내 하천에서 미량이지만 검출되고 있는, 가소제 Phthalate류에 대하여 EUSES (European Uniform System for Evaluation of Substances)모형을 이용하여 환경중에서의 노출에 대한 초기 위해도를 평가하였다.

대상화학물질은 우리나라에서 사용되는 Phthalate류와 사용량을 기초로 환경호르몬물질로 추정되고 있는 Dihexyl phthalate, Dibutyl phthalate, Butyl benzyl phthalate를 포함한 8개 화학물질을 선정하였다. 이 화학물질들의 물리·화학적 성질과 환경자료를 통하여 노출량(PEC: Predicted Exposure Concentration)을 예측하고, 화학물질의 독성자료를 이용하여 무영향농도(PNEC: Predicted No Effect Concentration)를 예측하여 노출량/무영향농도의 값인, RCR(Risk Characterization Ratio)를 제시하여 환경중에서의 위해도를 나타내었다. EUSES 모형을 이용한 위해도 평가는 환경부분에서만 수행하였으며, 규모는 국부적인 평가(Local Assessment)와 지역적인 평가(Regional Assessment)로 하였다.

모델수행 결과 지역적 규모의 위해성 평가의 경우 대상 화학물질의 사용량에 따라 환경위험도가 큰 것으로 나타났으나, 국부적인 규모의 위해도 평가는 수환경에서 Dihexyl phthalate, Dibutyl phthalate, Butyl benzyl phthalate, Diisononyl phthalate의 순으로 RCR 값이 1 보다 큰 수치를 나타내었다. 이는 화학물질의 환경중의 독성 및 화학물질이 생산과 가공되는 지역 그리고 폐수가 배출되는 지점에서의 오염물질의 관리가 보다 중요함을 나타내는 것으로 평가된다. 따라서 대상 화학물질의 환경으로의 노출이 우려되는 지역에 대하여 지속적인 환경적 Monitoring 작업과 규제가 필요하다고 사료된다.

구두발표(), 포스터발표(○)

<책임연구자>

성 명 : 김 용 화

주 소 : 대전광역시 유성구 장동 100

연락처 : 전화 (042-860-7490), 팩스 (042-860-7399), E-mail (kimyh@kriect.re.kr)

Slow-stirring 방법에 의한 옥탄올/물 분배계수의 측정

Determination of Octanol/Water Partition Coefficient Using Slow-Stirring Method

김 균*, 이봉재, 김용화

한국화학연구소 환경독성연구팀

옥탄올/물 분배계수 측정법으로 OECD 지침서에는 flask-shaking 방법과 HPLC를 이용한 측정법이 제시되어 있으나, flask-shaking 방법은 log Kow가 5.5 이상인 소수성 물질의 측정은 추출과정이 어렵고, 측정치의 정확도가 떨어지는 제한성이 있고, HPLC estimation 방법은 HPLC로 분석이 가능한 물질에만 적용할 수 있는 제한성이 있다. 따라서 이와 같은 소수성 물질 분배계수 측정방법의 제한성을 극복하기 위한 연구가 진행되어 왔고, 그 일환으로 OECD에서는 slow-stirring 방법에 의한 분배계수 측정 자료를 비교하기 위한 ring test를 추진하였고, 본 연구팀에서는 4개 물질을 대상으로 slow-stirring 방법에 의한 분배계수 측정을 수행하였다.

1,2,3,4-Tetrachlorobenzene의 log Kow는 4.73 ± 0.04 로, 문헌치 4.63과는 유사한 결과를 보였고, PCB #209의 log Kow도 7.90 ± 0.11 로 문헌치 7.73과 유사한 결과를 보였다. 그러나 hexachlorobenzene의 log Kow는 5.41 ± 0.07 로 문헌치 log Kow = 5.73과는 0.32 정도의 차이를 보였고, p,p-DDT의 log Kow는 6.04 ± 0.04 로 문헌치 6.91과는 다소 큰 차이가 있었다.

이와 같은 실험 결과로 볼 때 분배계수 치가 높은 소수성 물질의 분배계수 측정은 slow-stirring 방법을 사용하는 것이 분석의 용이성 및 다량 시료의 확보 측면에서 flask-shaking 방법보다 유리한 것으로 판단되었고, 추후 OECD ring test 결과와 비교하여 자료의 정확도를 확인하고자 하며, flask-shaking 방법과의 비교 실험을 확대할 예정이다.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 김 용 화

주 소 : 대전광역시 유성구 장동 100

연락처 : 전화 (042-860-7490), 팩스 (042-860-7399), E-mail (kimyh@kriict.re.kr)

Kinetics of Benzo(a)pyrene-related Biomarkers

천선아, 이병무

성균관대학교 약학대학 독성학연구실

Kinetics of biomarkers have been investigated in animals treated with benzo(a)pyrene, known as an environmental disrupting chemical as well as carcinogen. DNA, protein, and lipid adducts were measured in tissues during the course of study. DNA adduct was short in half-life, but protein and lipid adducts were relatively longer in their half-lives because they didn't have repair function. The lipid adduct was shown to be more sensitive than any other biomarker.

These data suggest that information on kinetics of biomarkers should be considered importantly when the exposure assessment was needed.

구두발표 (), 포스터발표 (○)

<책임연구자>

성 명 : 이 병 무

주 소 : 경기도 수원시 장안구 천천동 300 성균관대학교 약학대학 독성학연구실

연락처 : 전화 (031-290-7708), 팩스 (031-290-7728), E-mail (bmlee@skku.ac.kr)

Benzo(a)pyrene-diol-epoxide-I Diacylglycerol (BPDE-I-DNA) Adduct Formation

박요안, 이병무

성균관대학교 약학대학 독성학연구실

We previously reported that benzo(a)pyrene-diol-epoxide-I (BPDE-I) formed adducts with lipids, especially triglyceride (Carcinogenesis, 21:629-632, 2000). To further investigate BPDE-I-lipid adducts, diacylglycerol (DAG) was reacted in vitro with BPDE-I. When the reaction mixture of DAG and BPDE-I was applied to thin layer chromatography (TLC), a new spot (green color) was detected under U.V. light and was identified as a DAG-BPDE-I adduct. This new adduct was also detectable in animal tissues after i.p. administration BP. The formation of DAG-BPDE-I adduct was persistent for 126 days after treatment. These data suggest that BPDE-I-DAG should be a potential biomarker of carcinogen (benzo(a)pyrene) exposure and could be applied to cancer risk assessment.

구두발표 (), 포스터발표 (○)

<책임연구자>

성명 : 이 병 무

주소 : 경기도 수원시 장안구 천천동 300 성균관대학교 약학대학 독성학연구실

연락처 : 전화 (031-290-7708), 팩스 (031-290-7728), E-mail (bmlee@skku.ac.kr)

Analysis of Benzo(a)pyrene and Bisphenol(A) in Lakes

이병무, 박요안, 박송자¹, 정명훈

성균관대학교 약학대학 독성학연구실
¹KIST, 생체대사 연구센터, 서울시 성북구 하월곡동

경기도내 소재 백운호수 및 일월저수지에서 환경호르몬의 일종인 benzo(a)pyrene 및 bisphenol A에 대하여 분석 연구하였다. 2000년 6 ~ 8월 사이에 3번에 걸쳐 1호수당 4개 지점에서 시료를 채취하였다. 상기 환경호르몬과 수온 및 pH를 측정한 결과 비스페놀 A (3.31 ± 6.24)는 백운호소에서 높게 검출되었으나, 벤조피렌 (3.08 ± 0.68)은 일월저수지에서 높게 검출되었다.

pH (7.18~7.22) 및 수온 ($26 \sim 29^{\circ}\text{C}$)은 일월저수지에서 훨씬 높게 기록되었다. 상기 환경호르몬에 관한 자료는 향후 저수지 및 호수의 환경오염관리에 기초자료로서 유용하게 사용될 것으로 기대된다.

경기도 일부 호수 및 저수지에서의 환경호르몬의 검출은 앞으로 지표수관리 대책차원에서 환경호르몬 (내분비장애물질)의 기준치 설정 및 정기적 모니터링 제도가 요구됨을 시사하고 있다.

구두발표 (), 포스터발표 (○)

<책임연구자>

성명 : 이 병 무

주소 : 경기도 수원시 장안구 천천동 300 성균관대학교 약학대학 독성학연구실

연락처 : 전화 (031-290-7708), 팩스 (031-290-7728), E-mail (bmlee@skku.ac.kr)

인과 구리가 *Anabaena flos-aquae*(Cyanophyceae)의 성장에 미치는 영향

Effect of phosphorous and copper on the growth of *Anabaena flos-aquae*

이기태 · 김수정 · 류지원

경희대학교 생물학과

부영양화의 주원인인 인과, 조류의 성장에 주요한 환경요인이며 조류의 과다성장 정도에 따라 그 성상이 다른 수생환경의 pH는 수질조건의 변화에 큰 영향을 주는 조류의 성장과 함께 중요한 조절요인이 되고 있다. 이러한 부영양화에 의한 조류 증식을 제어하기 위하여 황산동(CuSO₄) 등을 이용하기도 하지만 이차오염의 문제와 함께 수생환경의 조성을 크게 변화시킬 수 있기 때문에 수생생태계의 유지에 대하여 그 적용이 어렵다. 구리는 효소의 활성화에 중요한 물질이기도 하지만 소량으로 조류의 성장을 저해하는 물질 중의 하나로써 필요량 이상 투입될 경우 막의 활성을 저해하는 물질로 알려져 미생물의 생육을 억제하는 물질로 사용되어왔다.

본 연구에서는 비교적 수생환경에서 안정하며 수생생태계의 교란정도에 대한 정도가 낮은 구리염류를 이용하여 수질저하에 관련한 남조류의 일종인 *Anabaena flos-aquae*의 성장에 미치는 영향을 알아보며, 이와 함께 조류 성장에 영향을 미치는 영양염류 중의 하나인 인과 pH에 대한 영향을 알아보았다.

일반적으로 고체구리의 적용으로 미량의 구리의 양에 대하여 남조류는 각 처리군에 있어 강한 성장억제효과를 보였으며, 이중 배지 내 구리의 농도가 0.01 mg/ml에서도 성장의 억제를 보이는 것으로 나타났다. 인에 대한 효과는 구리가 나타내는 효과에 비해 큰 유의성을 갖지 못하는 것으로 나타났다

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성명 : 이 기 태

주소 : 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 생물학과

연락처: 전화 (02-961-0720), 팩스 (02-963-9339), E-mail (rhiekt@nms.kyunghee.ac.kr)

**Effect of Methylglyoxal with Phosphorus and pH on the Growth of
Scenedesmus acutus(Chlorophyceae)**

인과 pH에 의한 Methylglyoxal이 *Scenedesmus acutus*의 성장에 미치는 영향

Kitae RHIE · Soo Jeong KIM

Department of Biology, Kyung Hee University

Effects of various concentrations methylglyoxal(MG) with pH on the growth of green algae *Scenedesmus acutus* treated with phosphorus were studied. To analyze the effect of MG on physiological changes of algal growth, include the changes of cell numbers, protein and chlorophyll content as a structural aspects of physiological changes, and photosynthetic rate and phosphate uptake as a functional aspects of physiological changes were measured at different concentration of phosphorous at pH 5.0 and 7.0.

The mean cell number of algae treated with pH 7.0 in basic cultures is higher than those of algae with other treatment at early stage of growth, while the mean cell number of algae treated pH 5.0 was recovered at later phase of growth. The cell division of algae treated with high concentration of phosphorus was lowered but it was stimulated by low concentration of MG. Specific Growth Rate(SGR) of MG-treated algae was higher than those of algae without MG-treatment, which means MG enhance cell division of algae.

The protein content was the most sensitive variable among others against those measured growth factors in algae. The mean algal protein content was decreased with relatively high proton, phosphorus and MG. A 1.0 mM of MG-treatment in algal culture enhanced chlorophyll synthesis after log phase of cell growth. There was similar patterns of MG effect with the change of chlorophyll content in algal photosynthetic rate. The stimulatory effect of MG on photosynthesis was maintained until late phase of algal growth in media with high concentration of phosphorus. As long as phosphorus in media are supported with enough level, MG was considered as a stimulatory factor on photosynthetic rate with 0.5 - 1.0 mM. Through all stages of cell growth, the high rate of phosphorous uptake was observed when the algae were treated with pH 7.0, MG or high concentration of phosphorous.

There were significances of single or multiple factors include pH, MG and phosphorous on algal physiological changes include cell division, protein and chlorophyll contents, photosynthetic activities, which needed further specified research in this area.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성명 : 이 기 태

주소 : 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 생물학과

연락처: 전화 (02-961-0720), 팩스 (02-963-9339), E-mail (rhiekt@nms.kyunghee.ac.kr)

Determination of estrogenic activities of various chemicals using ERE-Luc reporter gene assay and E-screening assay

Y.W. Kim, K.A. Oh and Y.Y. Sheen

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul, Korea

To establish the rapid and easy-to-perform methods to screen estrogenic activity of many compounds, we determined 5'-ERE-regulated transactivation and cell proliferation in MCF-7 cells by luciferase assay and SRB assay, respectively. MCF-7 stable cells which are stably transfected with pERE-Luc were treated with many chemicals and then luciferase activity were determined. Estradiol (E2) and synthetic estrogen, diethylstilbesterol (DES) were induced luciferase activity in dose dependent manner and their induced activities were decreased by tamoxifen (Tam) treatment. Phenolic compounds, such as octyl phenol (OP), nonyl phenol (NP), biphenol (BP), also induced the luciferase activity in dose dependent manner. Curcumin-derivatives, such as SB118, SB123, induced the luciferase activity and Tam treatment decreased SB118- and SB123-induced luciferase activities. Other curcumin-derivative, SB100, didn't induce the luciferase activity, but inhibited OP-, NP- and BP-induced luciferase activity. Over than 30 flavonoids were tested in this system, and isoflavone, such as biochanin A, daidzein, genistein, showed higher luciferase activity than others. Resveratrol driven from red wine induced the luciferase activity in dose dependent manner. To determine cell proliferative effect of chemicals, SRB assay was performed. E2 and DES increased the SRB readings 20-30 folds over that of control, and their activities were blocked by Tam treatment. 29 Flavonoids and 5 curcumin derivatives were tested in this system, but only 7 compounds elicited the significant cell proliferative effect. Their 17β -estradiol equivalent concentrations (EEQs) were calculated as a concentration of 17β -estradiol that resulted in the same SRB reading of test compound from the dose response curve. These data show that these methods are valuable tools for screening estrogenic activity of chemical.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성명 : 신 윤 용

주소 : 이화여자대학교 약학대학

연락처:

Effects of 3MC and DBP on the expression of CYP1A1, AhR, c-fos and GST in monkey

Kyeong W. Lee, Kazuo Asaoka and Yhun Y. Sheen

*College of Pharmacy, Ewha University, Seoul 120-750, Korea,
The Primate Research Institute of Kyoto University, Inuyama, Japan.*

In order to understand the mechanism of the regulation of drug metabolizing enzyme gene expression, we have studied the induction of CYP1A1 and GST α , μ , π enzymes in monkey that is treated with 3-methylcholanthrene (3MC) and dibutylphthalate (DBP). The mRNA levels were measured by RT-PCR and enzymatic activity was measured via EROD in brain, intestine and liver. And the copy number of CYP1A1 per 3/20 μ g was measured by competitive PCR. In the case of adult monkey, treatment with 3MC induced CYP1A1 mRNA in brain by 2-fold, in intestine by 11-fold and in liver by 10-fold respectively. And the treatment with DBP induced CYP1A1 mRNA. GST μ was not induced by the treatment with 3MC and DBP. GST α was not induced by the treatment with 3MC and DBP in liver and brain, but it was induced in intestine (1.5-fold). GST π was slightly induced by the treatment with 3MC and DBP in brain, intestine and liver. In the case of fetus monkey, the basal levels of fetus CYP1A1 mRNA and GSTs mRNA were low in comparison to adult monkey and as the age of monkey increased, the basal levels of CYP1A1 mRNA and GSTs mRNA were also increased. The treatment with 3MC induced CYP1A1 mRNA in brain and liver, but it didn't significantly induce CYP1A1 mRNA in intestine. GST μ and GST α was not induced by the treatment with 3MC and DBP. GST π was slightly induced by the treatment with 3MC and DBP. The copy number of CYP1A1 per RT product of 3/20 μ g total RNA was about 1×10^6 in the 3MC-treated liver, 5×10^4 in control liver, 5×10^3 in 3MC-treated intestine and 1×10^3 in 3MC-treated brain. The treatment with 3MC inhibited AhR mRNA in liver, intestine and brain. The copy number of CYP1A1 per RT product of 3/20 μ g total RNA was about 5×10^4 in the control liver and brain, about 5×10^3 in control intestine.

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성명 : 신윤용

주소 : 이화여자대학교 약학대학

연락처:

Assessing the Estrogenic activity of Flavonoid Using ERE-Luc Reporter gene assay system

K.E. Joung , Y.Y. Sheen

College of pharmacy, Ewha womans University, Seoul, Korea

Flavonoids are naturally occurring in all plant families and can be isolated from most plant tissues, including leaves, stems, roots, flowers, and seeds. Many flavonoids share with steroidal estrogen the ability to bind to the estrogen receptor and mediate transcription of estrogen responsive gene.

The present study was initiated to systematically examine a large series of plant flavonoids in order to evaluate their estrogenic potentials and determine the structural requirements for their estrogenic activity as well as to validate the ERE-Luc reporter gene assay system.

There are a number of in vitro assays to screen estrogenic substance. These assays include competitive binding assay, cell proliferative assay (E-screen), yeast-based screen assay, ER-mediated reporter gene assay. In the present work, we used MCF-7 cell line stably transfected with the *pERE-Luc* plasmid, which consist of three ERE (estrogen responsive element) regulating expression of an enhanced luciferase reporter gene construct. ERE is core sequence within regulatory regions of estrogen-responsive gene.

Using this cell line, we have tested the estrogenic activity of many flavonoids. 17β -estradiol and flavonoids were induced luciferase activity in dose dependent manner. Based on dose-response curve, we calculated EC_{50} and EEQ (17β -estradiol equivalent concentration). Among them,

soybean isoflavonoid genistein showed most potent transcription activity. Genistein's EC_{50} is 2.546×10^{-6} and EEQ is 5.035×10^{-4} .

구두발표(), 포스터발표(o)

<책임연구자>

성 명 : 신 윤 용

주 소 : 이화여자대학교 약학대학

연락처 :