

환경호르몬 Benzo(a)pyrene 및 Bisphenol A의 경기도 일부호소에서 오염실태 및 위해성 평가 방안

박요안 · 박송자¹ · 이병무*

성균관대학교 약학대학 독성학/약물동력학 연구실

¹KIST, 생체대사 연구센터, 서울시 성북구 하월곡동

Analysis of Benzo(a)pyrene and Bisphenol A in Lakes of Kyonggi-Do Province

Yo An Park, Song Ja Park¹, and Byung Mu Lee*

Division of Toxicology/Pharmacokinetics, College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, South Korea

¹Bioanalysis and Biotransformation Research Center, KIST, Seoul, South Korea

(Received May 3, 2003 / Accepted May 31, 2003)

ABSTRACT : Benzo(a)pyrene and bisphenol A have been classified as endocrine disrupting chemicals (EDCs), which have been of concern in toxicology and environmental sciences. Benzo(a)pyrene and bisphenol A were monitored by HPLC or GC-MS in Baekwoon and Ilwirl lakes of Kyonggi-Do province to investigate contamination levels of EDCs. During the period between June, 2000 and August, 2000, water samples were collected from four different sites of each lake once per month. Contamination levels of benzo(a)pyrene were 3.27~4.25 ppb in Ilwirl lake and 2.00~2.33 ppb in Baekwoon lake, respectively. Bisphenol A levels were detected with the range of 0.33~7.94 and 0.43~4.71 for Baekwoon lake and Ilwirl lake, respectively. pH levels were higher in Ilwirl lake than in Baekwoon lake, where the contamination was relatively lower. These data suggest that lakes in Kyonggi-Do province could be contaminated with EDCs and be subjected to the routine monitoring and water quality control.

Key words : Benzo(a)pyrene, bisphenol A, endocrine disrupting chemicals, lake, contamination

서 론

내분비계 장애 물질(Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs)은 체내의 항상성 유지와 발달 과정을 조절하는 생체 내 호르몬의 생산, 분비, 이동, 대사, 결합작용 및 배설을 간섭하는 외인성 물질로 미국 환경 보호청(EPA)는 (Kavlock *et al.*, 1996) 정의하고 있으며, OECD는 내분비 기능에 변화를 일으켜 생체 또는 그 자손의 건강에 위대한 영향 (Shioda *et al.*, 2000)을 나타내는 외인성 물질로 정의하고 있다.

내분비계기관이란 ① 체내의 항상성 유지(영양, 대사, 분비 활동, 수분과 염의 균형유지) ② 외부 자극에 대한 반응 ③ 성장, 발육, 생식에 대한 조절 ④ 체내 에너지 생산, 이용, 저장 등에 관여하는 각종 호르몬을 생산, 분비하는 기관으로서 선(gland), 호르몬, 표적세포(target cell)로 구성되어 있다. 내

분비선에서 생산된 호르몬은 혈액을 통해 체내를 순환하며 표적이 되는 각 세포, 조직에 정보 및 명령을 전달하여 성장 및 발육, 암수분화 등에 관여한다. 또한, 모든 척추동물(어류에서 포유류까지)은 내분비계를 가지고 있으며, 각기 유사한 호르몬을 분비하고 있다.

내분비계 장애물질은 일반적으로 합성 화학물질로서 물질의 종류에 따라 교란시키는 호르몬의 종류 및 교란방법이 서로 다르다(Turner *et al.*, 1997). 그러나 많은 물질 중 명확하게 내분비계 장애물질로 밝혀진 것은 극히 일부뿐이며, 일부 물질이 잠재적 위험성이 있는 것으로 알려져 있다. 내분비계 장애물질의 특성은 쉽게 분해되지 않고 안정하여 환경 혹은 생체 내에 지속적으로 수년간 남기도 하며 인체 등 생물체의 지방 및 조직에 농축되는 성질이 있다. 환경호르몬의 영향은 성체보다는 배아, 태아기에 더 큰 영향을 미칠 수 있으며 환경호르몬에 노출된 성체가 아닌 후손에서 뚜렷하며 노출시점이 영향의 특성과 위해를 결정하는 데 중요하다. 피해 사례는 어류, 조류, 포유류의 생식력 감소; 동물의 부화

*To whom correspondence should be addressed

을 감소; 출산시 기형률 증가; 새, 포유류 수컷의 탈남성화와 여성화; 새, 포유류의 면역계통이상; 인간의 신체적, 행동적, 정신적 저해; 전세계 인류의 정자수가 50년전에 비해서 50%로 감소됨; 남성의 고환암이 50년전에 비해서 3배로 늘었으며 전립선암은 2배로 증가하고 있다(Tyler *et al.*, 1998).

현재까지 확인된 환경호르몬의 종류는 각 기관마다 다르나, 세계야생동물보호기금 목록(World Wild Life Fund List)에서 67종, 일본 후생성에서 143종, 미국 일리노이주에서 73종의 화학물질을 환경호르몬으로 규정하고 있다(미국은 주에 따라 규제물질의 종류가 다양하다). 그러나 앞으로 그 숫자가 얼마나 더 늘어날지는 아직 예측할 수 없는 상태이다.

최근 문제가 되는 내분비교란물질(Environmental endocrine disruptors, EED)중 우리 주변에서 흔히 접할 수 있는 대표적인 물질은 benzo(a)pyrene, bisphenol-A(Takao *et al.*, 1999), endosulfan, mancozeb, methomyl, 플라스틱 가소제(DEHP)(Eagon *et al.*, 1994) 등이 있다. 이러한 합성화학물질들이 인체에 흡수될 경우 매우 다양한 독성학적 효과를 갖는다는 사실은 DDT의 예를 통해 오래 전부터 알려져 왔다. 그러나 이제까지의 독성학적 연구에서 많이 다루어지지 않은 성기의 기형, 생식기능의 저하, 행동의 변화 등이 이들의 내분비 교란작용에 의한 것이라는 것이 알려져 더 주목을 받게 된 것이다(Barthold *et al.*, 1999). 폐기물 소각장 및 매립장, 화학공장, 그리고 농축산업 시설에 의해 배출된 이들 화학물질은 먼저 대기, 수질, 토양 환경을 오염시키고 생태계의 먹이 사슬을 거쳐 수백만 배로 농축되어 오염된 지역의 물고기, 쇠고기, 돼지고기, 닭고기 등의 지방질에 축적된다(Nilsson, 2000). 또한 식품을 포장하기 위해서 사용되는 플라스틱 등 합성재료에서 화학물질이 용출되어 음식을 오염시킴으로써 인체에 흡수되기도 한다. 따라서 다양한 오염원에 의해 생태계 유지에 중요한 역할을 하는 호소 및 저수지에 오염될 가능성이 매우 높으나 아직 국내에서는 이에 대한 관심이 미미할 뿐만 아니라 오염실태에 대한 연구가 제대로 되고있지 못한 실정에 있다. 본 연구에서는 EDCs의 중요성과 현실적 문제점을 고려하여 경기도내의 일부호소(일월, 백운호소)에서 일부 EDCs의 오염실태 및 위해성평가방안을 검토하고 이에 대한 향후 대책을 제안하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

조사대상

조사대상 중 백운호소는 의왕시 학의동에 위치해 있으며 제방길이가 253 m 담수면적이 60여ha로 1953년 9월 준공을 본 인공호소이다. 호소의 북동쪽에 청계산, 남동쪽에 백

운산, 서쪽에 모락산이 있고 세 산이 만나는 곳에 약 25만 평의 평지가 있는데 그 중 11만평이 백운호소이다. 백운호소는 원래 안양과 평촌지역에 농업용수를 대는 저수지였다. 하지만 평촌이 신도시로 개발되면서 주위의 농토가 없어지게 되자 호소라는 이름을 가지고 유원지로 탈바꿈하게 되었다. 인공호소로 처음 생겨났을 때에는 낚시를 즐기는 사람들이 대부분이었으나 이 호소가 유원지화되면서 낚시보다는 행락객들로 더 붐비고 있다. 앞으로 의왕시에서는 백운호소를 중심으로 하여 도시공원을 조성할 계획이어서 백운호소를 이용하는 이용객들은 더욱 더 늘어날 것이다. 일월호소는 울천동 남쪽 끝에 위치한 저수지이다. 북쪽으로는 성균관 대학교 자연 과학 캠퍼스가 위치하고 있으며, 동남쪽에는 여기산 공원 및 서호가 있으며, 동쪽 및 남쪽으로 대단위 택지 개발 사업이 진행 중에 있다. 저수지 북쪽으로 울전천이 유입되며, 이 저수지에서 시작된 일월천이 남서쪽으로 흘러가 황구지천으로 유입된다. 저수량은 29.9만톤이며, 유역 면적이 277ha, 만수 면적은 18.0ha이다. 예전에는 광주군 일왕면과 수원군 반월면의 경계 지점으로서 두 지역의 농업 용수로 사용되었다.

시료채취

경기도내에 있는 일월 및 백운저수지의 각 저수지당 대표할 수 있는 4개 지점에서 1지점당 월 1회씩(6월 28일, 7월 14일, 8월 16일) 채취회수는 3회 시료 채취(3~4 l)하였다. 시료를 채우기 전에 시료로 3회 이상 씻은 차광이 가능한 갈색병 용기에 가능한 한 공기와의 접촉이 없도록 가득 채워 4°C 이하의 저온냉장고에서 분석하기 전까지 보관하였다. 수온 및 pH는 현장에서 측정하였고 환경호르몬 항목은 실험실로 운반하여 측정하였다.

수온 및 수소이온농도

KSB 5316 유리제 수온 막대 온도계를 이용하여 채취현장에서 수중에 직접 담근 상태에서 일정온도가 유지되도록 충분한 시간이 경과한 다음 온도계의 눈금을 직접 읽는다. pH 미터의 유리전극은 미리 물에 수 시간이상 담그어 둔다. 전원을 넣어 5분이상 경과후에 쓴다. 검출부는 물로 잘 씻고 부착한 물은 여지 등으로 가볍게 닦아낸다. 다음에 검액에 담그어 측정값을 읽는다.

HPLC-fluorescence detector를 이용한 benzo(a)pyrene 분석방법

Distilled water(D.W., 50 ml)와 dichloromethane(DCM, 25 ml)을 충분히 vortex한 후 DCM 층을 분리하기 위해 2,500 rpm, 10분 동안 원심분리 시켰다. DCM 층을 분리하여 N₂ gas로 날려준 후 1 ml의 D.W.을 더하여 녹이고 HPLC에 주

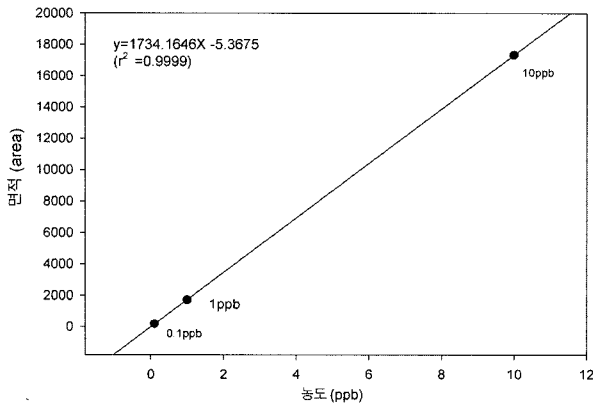


Fig. 1. Calibration curve for benzo(a)pyrene concentration determined by HPLC.

입하였다. 표준물질은 Sigma(St. Louis, MO, U.S.A.)의 benzo(a)pyrene를 tetrahydrofuran에 녹여 0.1 ppb, 1 ppb 및 10 ppb의 농도로 하여 표준곡선(Fig. 1)을 정했다. 표준시료와 호소의 샘플(시료)을 분석하기 위해 HPLC는 Waters사의 LC-module I system(Millipore, Milford, MA, U.S.A.)을 이용했다. 분석조건으로 이동상은 acetonitrile:D.W.를 75:25의 비율로 하였으며 주입량은 10 µl로 했다. 그리고 run time은 35 분, 유속은 1.0 ml/min로 하였으며 컬럼은 Supecasil LC-18의 5 µm ODS을 이용하였다(Kim et al., 2000). 형광검출기는 Jasco FP-920을 이용하여 emission과 excitation을 각각 425 nm와 360 nm로하여 측정하였다.

GC-MS를 이용한 bisphenol-A 분석방법

Bisphenol A은 Fig. 2 의 방법으로 분리하였다. 기기분석 조건으로 분석컬럼은 Ultra-2(25 m×0.2 mm I.D.×0.33 µm,

Table 1. 오븐의 온도프로그램

Initial temp.	Initial time	Rate	Final temp.	Final time
100°C	0 min	10°C/min	300°C	0 min

Table 2. Selected ion by SIM mode

Group	Time	Selected Ion
1	13.0 min	73, 207, 357, 372
2	16.5 min	326, 325, 77

Table 3. Bisphenol A 분석의 표준곡선의 profile

Compound	Selected Ion	t _R (min)	Concentration range (ng/ml)	y = ax + b			MDL (ng/ml)
				a	b	r ²	
Bisphenol-A	357	15.62	0.01 - 10.0	0.5185	-0.0582	0.9995	0.01

MDL : Method Detection Limit

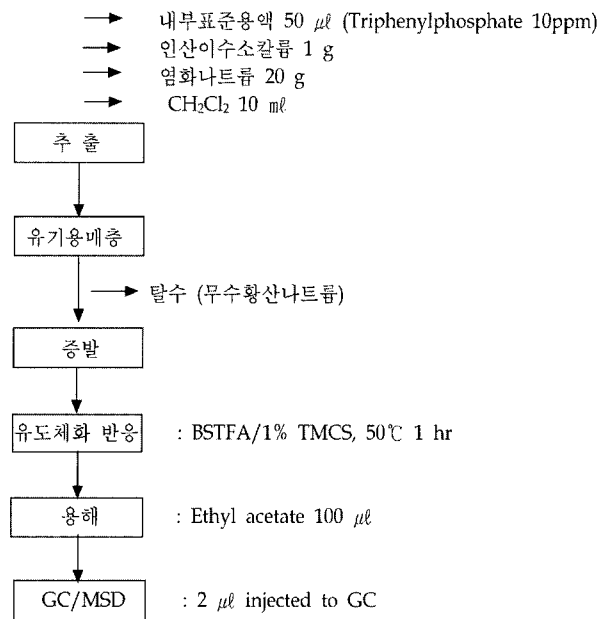


Fig. 2. Sample preparation procedure for Bisphenol-A.

film thickness)을 이용하고 carrier gas로서 He을 0.7 ml/min으로 조절했다. Purge 시간은 0.5 min으로 했으며 주입구의 온도는 250°C이었고 transfer line의 온도는 280°C로 하였다. Solvent delay는 13 min으로 했으며 run time은 20 min으로 했다. 오븐의 온도프로그램은 Table 1에 나타난 것과 같고 SIM mode에 대해서는 Table 2에 나타내었다. Table 3에는 Bisphenol-A의 검량곡선에 관한 식을 나타내었다.

결과 및 고찰

본 연구는 백운 및 일월 호소의 일정지점에서 시료를 채취하여 연구방법에 의해 pH에 따른 환경 호르몬 (benzo(a)pyrene, bisphenol-A)을 측정하였다. 수온은 수중의 용존산소량과 관계가 있다. 채취 때의 수온은 시험할 때의 수온과 큰 차이가 있을 수 있으며, 채수대 녹아 있던 성분 등이 수온의 변화에 따라 이화학적 변화를 일으킬 수 있기 때문에 중요하다. 수온은 Table 4과 같으며 6월보다는 8월에 일월호소와 백운호소의 수온이 증가하였고 수온차는 평균 2°C이상 일월호소가 높게 측정되었으며 최고 28°C을 보였다. 수중이온농

Table 4. 일월호소 및 백운호소의 날짜별 온도

날짜	일월호소	백운호소
6 월 18 일	26°C	24°C
7 월 14 일	27°C	25°C
8 월 16 일	28°C	25°C
평균	27 ± 1°C	24.67 ± 0.58°C
최고	28°C	25°C

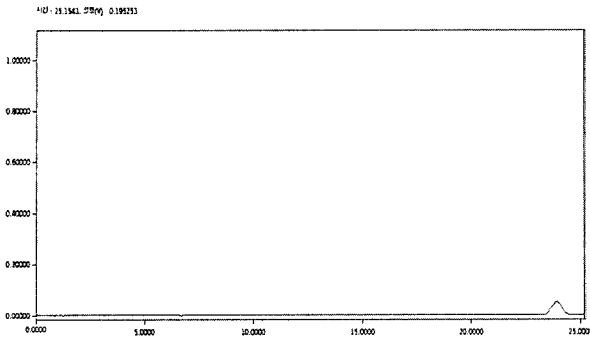


Fig. 3. Benzo(a)pyrene standard (1ppb).

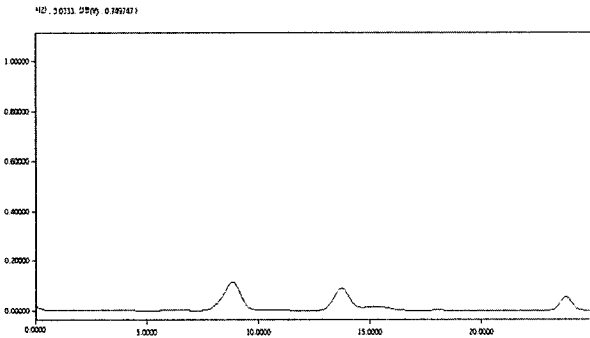


Fig. 4. 일월호소 시료에서의 benzo(a)pyrene의 농도.

도 (pH)는 수중에서 일어나는 모든 화학 및 생화학적 수질 변화에 대한 지표로서 수질환경보전법에 의한 호소의 수질환경 기준은 pH 6.5~8.5이다. Table 5에 나타난 것과 같이 모든 지점에서 pH는 환경기준에 적합하였으나 7월중 가장 높게 측정되었으며 특히 일월호소의 7월 평균은 8.65로서 기준을 벗어났다. 조류농도가 높을 때는 주간에 많은 CO₂를 흡수하여 pH 값이 높아지는 경향이 있는 것으로 보고되어

Table 5. 일월호소 및 백운호소의 날짜별 pH

호소	날짜	1 지점	2 지점	3 지점	4 지점	평균
일월호소	6 월 18 일	7.30	8.08	8.13	7.83	7.84 ± 0.38
	7 월 14 일	7.38	9.15	9.15	8.93	8.65 ± 0.86
	8 월 16 일	7.18	7.18	7.22	7.12	7.17 ± 0.04
백운호소	6 월 18 일	6.87	7.13	6.87	6.78	6.91 ± 0.15
	7 월 14 일	7.69	7.42	7.54	7.52	7.54 ± 0.11
	8 월 16 일	6.75	6.74	6.84	6.63	6.74 ± 0.09

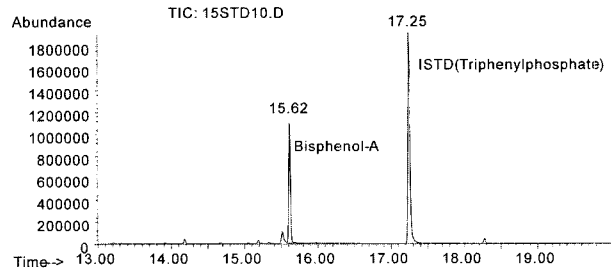


Fig. 5. TIC of Standard Bisphenol-A-TMS derivative.

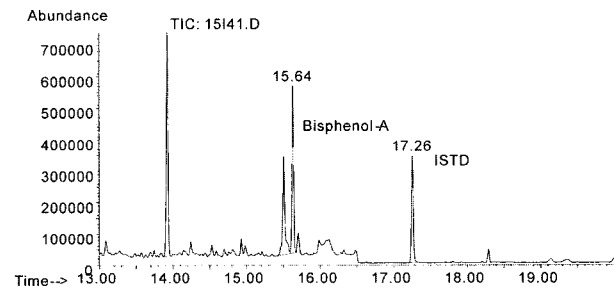


Fig. 6. TIC of Extract from Ilworl lake sample.

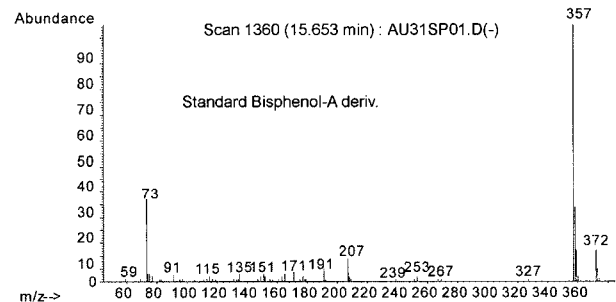


Fig. 7. GC/Mass Spectrum of Standard Bisphenol-A-TMS derivative.

있으며, 일월호소의 높은 pH는 이와 같은 영향 때문으로 판단된다. Figures 3과 4는 benzo(a)pyrene 표준물질의 HPLC profile과 시료에서의 검출을 나타낸 자료이며, Figures 5-8은 bisphenol-A의 유도체 및 시료에서의 GC-MS 분석방법에 의한 검출자료이다. 분석자료와 연구결과에서 pH 분석 자료는 Table 5에, benzo(a)pyrene농도는 Fig. 9, 그리고

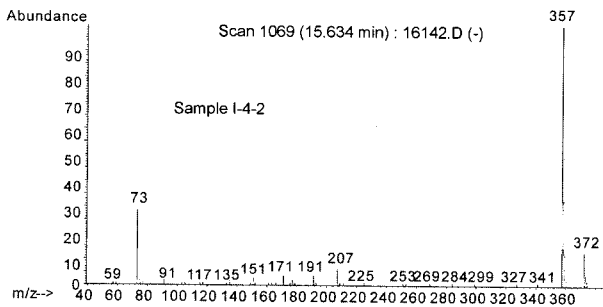


Fig. 8. GC/Mass Spectrum of Bisphenol-A for Ilwirl lake sample I-4-2.

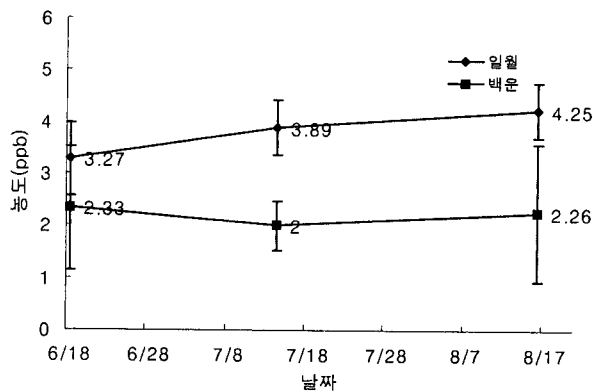


Fig. 9. 일월 및 백운호소의 Benzo(a)pyrene의 날짜별 농도.

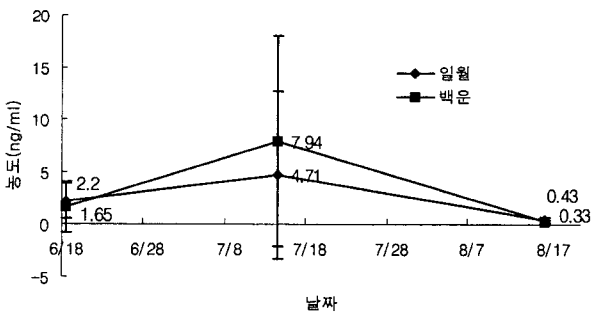


Fig. 10. 일월 및 백운호소의 Bisphenol-A의 날짜별 농도.

bisphenol A에 관한 분석자료는 Fig. 10에 도식되어 있다.

Benzo(a)pyrene 및 bisphenol-A는 일월 및 백운호소 모두에서 검출되었으며, 개략적으로 백운호소에서의 검출농도는 일월호소에서의 검출농도보다 낮았다(특히, benzo(a)pyrene). Bisphenol-A의 경우는 일월과 백운호소에서 7월중 가장 높게 측정되었다. 이는 경기도 내의 호소 및 저수지가 다른 환경호르몬에 의한 오염이 예측된다고 하겠다. 그러나 오염치의 수준이 생태계 및 인체에 어떠한 영향을 미칠 수 있는지는 현재 기준치가 설정되지 않은 상태이므로 예측하기란 어

렵다. 향후, 이 자료의 현실적인 해석을 위해 좀 더 포괄적인 연구가 추가적으로 더 진행되어야 할 것이다.

이에 따라 경기도 내 다른 호소에 대한 포괄적인 환경호르몬의 정기적인 모니터링이 요구되며, 호소의 오염도에 기초한 인체예상 노출량을 산출하여 인체 위해성 평가 및 생태계의 환경 위해성 평가가 체계적으로 시행되어야 할 것이다. 우선 백운 및 일월호소의 수질 및 오염도에 맞게 현재의 호소의 용도에 문제점이 없나를 재검토하여야 하며, 상기 환경호르몬의 오염원을 파악하여 이에 대한 현실적인 대처방안도 강구되어야 할 것이다. 현재의 분석자료는 여름철의 오염도를 단편으로 보여주는 것으로 앞으로 월별 분석치를 토대로 오염도의 계절적 추이 및 영향을 연구하는 것이 바람직 할 것이다.

참고문헌

Barthold, J.S., Kryger, J.V., Derusha, A.M., Duel, B.P., Jednak, R. and Skafar, D.F. (1999): Effects of an environmental endocrine disruptor on fetal development, estrogen receptor(alpha) and epidermal growth factor receptor expression in the porcine male genital tract. *J. Urol.*, **162**: 864-871.

Eagon, P.K., Chandar, N., Epley, M.J., Elm, M.S., Brady, E.P. and Rao, K.N. (1994): Di(2-ethylhexyl)phthalate-induced changes in liver estrogen metabolism and hyperplasia. *Int. J. Cancer*, **58**: 736-743.

Kavlock, R.J., Daston, G.P., DeRosa, C., Fenner-Crisp, P., Gray, L.E., Kaattari, S., Lucier, G., Luster, M., Mac, M.J., Maczka, C., Miller, R., Moore, J., Rolland, R., Scott, G., Sheehan, D.M., Sinks, T. and Tilson, H.A. (1996): Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ. Health Perspect.*, **104**: 715-740.

Kim, H.S., Kwack, S.J. and Lee, B.M. (2000): Lipid peroxidation, antioxidant enzymes, and benzo(a)pyrene-quinones in the blood of rats treated with benzo(a)pyrene. *Chem. Biol. Interact.*, **127**: 139-150.

Nilsson, R. (2000): Endocrine modulators in the food chain and environment. *Toxicol. Pathol.*, **28**: 420-431.

Shioda, T. and Wakabayashi, M. (2000): Effects of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, **40**: 239-243.

Takao, T., Nanamiya, W., Nagano, I., Asaba, K., Kawabata, K. and Hashimoto, K. (1999): Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. *Life Sci.*, **65**: 2351-2357.

Turner, K.J. and Sharpe, R.M. (1997): Environmental oestrogens-present understanding. *Rev. Reprod.*, **2**: 69-73.

Tyler, C.R., Jobling, S. and Sumpter, J.P. (1998): Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. *Crit. Rev. Toxicol.*, **28**: 319-361.