

환경 중 유전독성물질 검색을 위한 자주달개비
생물검정 기법의 적용연구

**Biomonitoring the Genotoxicity of Environmental Pollutants
Using the *Tradescantia* Bioassay**

Abstract

Higher plants can be valuable genetic assay systems for monitoring environmental pollutants and evaluating their biological toxicity. Two assays are considered ideal for *in situ* monitoring and testing of soil, airborne and aqueous mutagenic agents; the *Tradescantia* stamen hair assay for somatic cell mutations and the *Tradescantia* micronucleus assay for chromosome aberrations. Both assays can be used for *in vivo* and *in vitro* testing of mutagens. Since higher plant systems are now recognized as excellent indicators and have unique advantages over *in situ* monitoring and screening, higher plant systems could be accepted by regulatory authorities as an alternative first-tier assay system for the detection of possible genetic damages resulting from the pollutants or chemicals used and produced by industrial sectors. It has been concluded that potential mutagen and carcinogen such as the heavy metals among indoor air particulates, volatile compounds in the working places, soil, and water pollutants contribute to the overall health risk. This contribution can be considerable under certain circumstances. It is therefore important to identify the level of genotoxic activity in the environment and to relate it to the biomarkers of a health risk in humans. The results from the higher plant bioassays could make a significant contribution to assessing the risks of pollutants and protecting the public from agents that can cause mutation and/or cancer. The plant bioassays, which are relatively inexpensive and easy to handle, are recommended for the scientists who are interested in monitoring pollutants and evaluating their environmental toxicity to living organisms.

Key words: Bioassay, *Tradescantia*, Environmental monitoring, Health risk

I. 서론

산업의 급속한 발달로, 인류는 경제 성장에 따른 풍요로움과 안락함, 그리고 편리함 등 많은 혜택을 누림과 동시에 수 많은 화학물질로 환경오염을 유발하고 있다. 인간에게 유용한 화학물질은 때로는 인간의 의도와 달리 환경오염을 유발하여 생태계의 순환과정에서 장기간 잔류하거나 생물체에 농축되어 인간을 포함한 생태계의 질서를 위협하고 있다. 따라서 환경오염물질의 유전독성을 파악하고, 인간 및 생태계의 안전성을 확보하는 것은 환경을 비롯하여 인간의 생존차원 이상의 중요성을 갖는다. 생태계의 다양한 생물들은 환경오염으로 인하여 유해한 환경오염물질에 지속적으로 노출되고 있다. 생태계의 생물체는 환경오염으로 인한 영향이 표면화되기 이전에 그 증상들이 감지될 수 있는 중요한 지표가 되고 동시에 인류와 공존하도록 보존하여야 할 대상이다

생태계는 생산자와 소비자 사이의 동적인 균형상태를 이루고 있다. 생태계의 다양한 생물들은 환경으로 유입되는 다량의 화학물질에 노출되어 인체 위해성이 표면화되기 이전에 그 증상들이 감지될 수 있는 중요한 지표가 된다[1]. 환경 중 유전독성물질로 인하여 인간을 포함한 생물체는 유해물질의 직·간접적 영향을 받게 된다. 생태계의 대기, 수질, 토양에 존재하는 유전독성물질에 노출된 생물체는 외견상 정상인 것으로 보일 수 있지만 개체 내부적으로는 세포수준 또는 분자수준의 손상을 포함하고 있게 되며 경우에 따라서는 바람직하지 못한 방향의 개체 돌연변이를 일으키기도 한다.

생물검정 기법은 화학물질과 여러 복합화합물의 독성 및 환경영향평가 방법으로 미국 EPA, 독일 환경부 및 OECD 국가들이 국가차원의 표준 guideline을 만들어 왔다. 생물검정 기법은 일반적인 분석 결과로부터 얻을 수 없는 위해화합물이 생명체에 미치는 복잡한 생태적 영향을 예측하는데 중요한 생물학적 정보를 제공할 수 있는 장점이 있다. 또한 화학적인 분석 자료와의 조합 (battery)을 통하여 새로운 개념의 생태평가기법으로서 그 중요성이 더욱 높아지고 있는 실정이다[2].

식물체를 이용한 생물검정 기법은 인간의 건강에 유해한 환경오염물질의 유전독성을 검색하는데 민감한 것으로 알려져 있으며 생물학적 시스템 (biological system), 생리적인 변화 (physiological change), 유전적 말단점 (genetic endpoint)에 이르는 다양한 생물학적 영향에 대한 정보를 얻을 수 있다[3]. Ames test나 umu -test와 같이 박테리아를 이용한 화학물질의 생물검정 기법 이용되고 있으며, 이와 더불어, 최근에는 생태계 안정성 및 환경 위해도 평가를 위한 환경 모니터링에 민감한 고등식물이 활용되고 있다[4].

1) 자주달개비 (*Tradescantia*)

자주달개비는 전세계에 걸쳐 분포하는 초본성 식물이다. 식물체의 초장은 보통 50 cm 이하로, 분류학상 달개비과 (Family Commelinaceae)의 자주달개비속 (*Tradescantia*)에 속해 있으며, 꽃이 피고 열매가 맺히는 현화식물이다. 정상적인 생육이 유지되는 최적조건은 기온 18℃, 일조시간 14시간/일, 상대습도는 60-85%이다. 자주달개비는 잎을 따라 평행한 잎맥을

갖으며 꽃대는 대부분 두개의 가지로 갈라져 취산화서를 이룬다. 꽃차례 내의 꽃봉오리는 가장 어린것이 바닥에 자리한 나선상의 배열을 이루며, 때로는 미성숙 꽃봉오리는 포엽에 가려서 보이지 않는 경우도 있다. 한 꽃차례는 8~12개의 꽃봉오리로 구성되며 가장 바깥쪽에 위치한 가장 큰 것부터 약 24시간 간격을 두고 개화한다. 각 꽃봉오리에는 포자를 형성할 발생중인 세포를 포함한 6개의 약 (anther)이 수술대 (stamen)에 달려 있다. 각각의 수술대에는 20~35개의 단세포가 일렬로 연결된 털이 있는 데 그 숫자는 50~120개이다.

2) 자주달개비 수술털 분홍돌연변이 분석법 (Trad-SHM)

자주달개비의 체세포내에 존재하는 염색체가 비교적 크기 때문에 세포유전학적 실험대상 식물체로서 다양한 장점을 지니고 있다. 자주달개비는 종마다 핵형과 생장특징이 각기 다르다. 동일종이라도 배수성 (polyploidy), 구조적 교잡 (structural hybrid) 및 부가적 B 염색체 (super-numerary B chromosome)의 존재여부에 따라 변이를 나타낸다. 자주달개비 수술털 (stamen hair)의 선단세포는 분열능력이 있어서 발생 또는 분열과정 중에 돌연변이원을 포함한 방사선이나 발암원에 노출될 경우 꽃색에 있어서의 우성인자가 존재하는 부분의 염색체 결실 (chromosome deletion)이 일어나서 상동염색체상에 존재하는 열성형질이 발현되어 꽃잎과 수술털의 전체 또는 일부분이 분홍빛을 띠게 된다. 더욱 심한 경우는 상동염색체의 양쪽 모두가 결실되어 색소발현능력이 소실됨에 따라 무색이 수술털 세포가 생기기도 하며 때로는 선단세포의 분열능력상실로 인한 수술털 세포수 감소로 인해 수술털이 비정상적으로 짧아지는 경우도 있다.

3) 자주달개비 미세핵 분석법 (Trad-MCN)

자주달개비의 꽃가루모세포는 감수분열 초기에는 방사선에 매우 민감하게 영향을 받는다 [5]. 특히, 감수분열중인 화분모세포의 염색체는 동일개체의 분열중인 체세포 염색체보다도 훨씬 방사선에 민감하다는 사실이 잘 알려져 있다. 염색체 손상에 따른 산물인 무동원체 염색체 조각 (acentric fragment)이나 점착성 염색체 복합부위 (sticky chromosome complex)가 감수분열의 4분자 염색체 (tetrad)시기에 미세핵으로 남게 된다. 이것을 이용한 분석과정을 일명 Trad-MCN assay라 하여 돌연변이 유발물질이나 방사선에 의한 염색체 손상 연구에 이용되기 시작하였다[5]. 자주달개비 미세핵분석법을 이용하여 발암원과 돌연변이원을 포함한 140가지의 실험결과는 Ames test와 비교하여 67%의 적합성을 보이는 것으로 나타났다.

4) 대기오염

자주달개비 미세핵분석법은 도시폐기물 소각로[6]와 매립지 배출관으로부터 배출되는 가스상 배출물질의 돌연변이원에 대한 노출을 감시하여 위험성을 예측하였다. 가스상 물질과 함께 대기 중에 부유하는 입자상물질에 포함된 변이원성의 물질에 대한 감지에도 활용되고 있다. Trad-MCN은 심각하게 오염된 산업지역이나 도시지역 또는 주간 실내환경에 대한 오

염을 평가하는데 적합하다는 결론을 얻었다. 대기오염지역의 노출은 풍속과 풍향의 날씨조건에 따라 통계적으로 돌연변이 빈도의 유의성에 차이를 유발한다.

5) 수질오염

Trad-MCN 실험의 신속성과 단순성은 다양한 수질시료, 예를 들면, 산업배출수, 표류수와 매립지 침출수, 해수와 해양 오염, 지하수, 음용수[7] 등의 연구에 응용되고 있다. 환경중 유전독성물질의 현장평가를 위하여 Trad-MCN은 수질오염의 유전독성을 평가하는데 많은 장점을 가지고 있다. 시료에서 생물학적 영향에 대한 검지는 대부분 화학적인 기준으로 결정하였다. 반면에 화합물의 손실과 화학적인 변화를 초래할 수 있는 복잡한 농도절차에 대한 생략은 자주달개비 시스템의 중요한 특성이다.

6) 토양오염

유해폐기물 매립지역에서 발생하는 토양을 비롯한 침출수와 같은 혼합물은 복합적인 영향을 나타내기 때문에 현장평가를 수행할 필요가 있다. 환경시료 중 오염물질에 대한 평가의 도구로서 Trad-MCN 분석법은 유해한 폐기물매립지의 토양에 대한 생물학적 개선 측정법의 평가에서 유용성이 입증되었다[8]. Trad-MCN 분석법은 엄밀하게 비교할 대상 시료들간에 차이를 검색할 수 있는 민감한 분석법이다.

II. 본 론

현대인은 하루 24시간 중 80% 이상을 실내 공간인 사무실, 작업장, 지하철, 지하상가 등에서 생활하고 있어 실내공간의 환경오염문제에 대한 관심이 지속적으로 증가하고 있는 실정이다. 일반적으로 실내공기의 지표로 이산화탄소가 사용되고 있으나 발암성 혹은 변이원성 원인물질로 부유먼지가 주요한 원인으로 알려져 있다. 부유먼지는 총 부유먼지 (TSP: Total Suspended Particulate matter)의 중량농도와 이화학적 특성을 중점적으로 연구하여 왔다. 최근 들어 미세입자인 PM10 (Particulate Matter: 입경10 μm 이하의 입자), PM2.5 (입경2.5 μm 이하의 입자) 등에 대한 연구가 활성화되고 있다. 이는 미세입자가 총 부유먼지에 비해 표면적이 상대적으로 큼으로 유해성 금속이나 가스상 오염물질의 흡착이 용이하고, 호흡기를 통해 위해성 오염물질이 폐에 침착되어 폐암 등의 질병을 유발시킬 가능성이 높기 때문이다.

1. 지하철에 부유하는 총부유먼지 (TSP)

지하철의 지하생활권은 폐쇄적 공간이라는 특수한 인위적 환경으로써 다수인이 이용, 왕래함에 따라, 각종 유해물질이 내부에서 발생하거나 외기에서 유입된다. 또한 부적절한 환기 시스템에 의해 심각한 실내공기오염문제도 야기되고 있다. 그러나 우리나라의 경우 지하철역의 깨끗한 공기질을 달성하기 위한 기초연구가 미진한 형편이다. 특히, 먼지는 지하철역의

주요한 오염물질로서 눈, 코 등의 점막에 영향을 미치며 호흡기 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다. 지하철역 내의 미세먼지와 거대먼지는 시멘트, 철분, 토양, 자동차, 연소 및 해염 오염물질로 구성된 복합적인 혼합물질이다. 다양한 오염원으로부터 발생된 지하철역의 먼지에는 니켈, 크롬, 방사성 핵종과 같은 무기물질 또는 벤조피렌, 벤젠과 같은 유기물질을 포함한 돌연변이원 물질과 발암원 물질을 포함하고 있다. 먼지 중에 포함된 유전독성물질은 포유동물에게 있어 돌연변이원으로 인간에게는 종양을 유발할 수 있음을 예측할 수 있다[9]. 대기오염과 관련된 인체영향연구는 많은 연구가 이루어진 반면 실내환경 중 지하철역내에 존재하는 먼지에 대한 생물학적 위해도 평가는 미흡하였다. 따라서 본 연구에서는 지하철역의 입구와 대합실 승강장에 존재하는 총 부유먼지를 채취하여 총 부유먼지에 존재하는 유전독성물질의 복합적인 영향을 평가하기 위하여 자주달개비 생물검정 기법을 적용하였다.

1) 연구방법

실험용 식물체는 방사선에 민감하게 반응하면서도 자발돌연변이율 (intrinsic mutation rate)이 낮은 *Tradescantia* 4430 클론을 사용하였다. 화서를 절취하여 24시간 동안 실험실 조건에 순치 시킨 다음 15개의 화서를 하나의 실험군으로 사용하였다. 신도립, 서울대입구, 시청, 신촌지하철역의 입구, 대합실, 승강장에서 총부유먼지 (total suspended particulates)를 포집하였다. 총부유먼지의 여지 중 1/4만을 취하여 잘게 썰어 증류수를 넣은 후 24시간 동안 진탕하였다. 진탕한 후 액을 여과하여 자주달개비의 분홍돌연변이와 미세핵 관찰을 위하여 자주달개비의 절취화서를 침지한 상태에서 폭기를 하면서 24시간동안 노출하였다. 대조 실험군 (positive control)으로 방사선을 조사하여 공시재료의 반응성을 확인하였다. 방사선 조사가 끝난 시료는 양액에 침지하여 생육상 내에서 약 24~30 시간의 분열 염색체 회복시간이 경과 후, 분석용 화서를 aceto-alcohol (1:3)로 고정시켰다. 고정액에 침지하여 24시간 후 70%에탄올에 담구어 4℃에 저장하였다. 미세핵 검경을 위한 프레파라트의 제작은 aceto-carmin squash method'에 따랐다. 전처리가 끝난 후 실험군별로 15~18개의 슬라이드 프레파라트를 제작하고, 광학현미경 (Nikon)하에서 배율 400배로 검경하여 미세핵을 계수하였다. 하나의 프레파라트에서 약 300개 이상의 4분자염색체를 검경하여 100 사분자 염색체당 미세핵 숫자로서 각 실험조건별 미세핵 생성률로 환산하였다. 분석결과에 대한 통계 처리는 Duncans test에 의해 분석하였다.

2) 연구결과

자주달개비의 돌연변이원에 대한 민감성을 확인하기 위하여 방사선을 돌연변이원으로 이용하여 미세핵을 유발하였다. 자주달개비 미세핵생성률은 방사선량의 증가에 따라 점차 증가하는 양상을 나타냈으나, 50 cGy 이상의 다소 높은 선량영역에서는 MCN 생성률의 변이가 매우 크게 나타나서 선량-반응 관계에 따른 통계적인 유의성이 없었다 (Figure. 1).

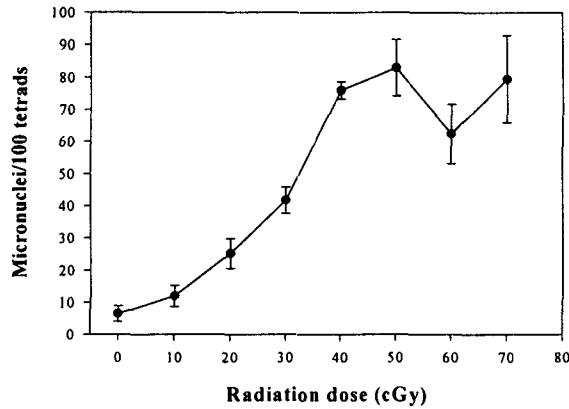


Figure. 1. Dose-response relationship of MCN frequencies in the pollen mother cells of *Tradescantia* 4430.

미세핵 빈도는 100개의 사분자 염색체당 5.27부터 10.13까지 유의성 있게 증가하는 경향을 나타내었다 (Table 1). 대조군의 경우 미세핵의 수는 3.13 ± 0.25 를 기록하였다. 지하철의 총부유먼지에는 자주달개비의 염색체손상 유발물질이 포함되어 있음을 확인하였다. 입자상 물질의 최종 처리농도는 $0.7 \sim 1.4$ (mg/ℓ)이었다. 지하철역 또는 위치에 따라 농도가 뚜렷한 차이가 없는 것으로 보아 미세핵의 빈도에 확연한 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

대조군과 실험군 Duncan's test에 의해 통계분석을 하였다. 대조군과 지하철 역사내 총부유먼지에 의한 세포핵에 대한 손상은 모두 유의성 있는 차이를 나타내었다. 각각의 역마다 지하철입구, 대합실 승강장 중 승강장의 총부유먼지가 세포핵에 대한 손상이 가장 유의하게 높은 것으로 분석되었다. 서울대입구와 시청역의 경우 지하철입구와 대합실의 유의성 있는 차이는 대합실의 총부유먼지의 세포핵에 대한 손상이 지하철입구보다 상대적으로 적은 것으로 분석되었다. 신도림, 서울대입구, 시청, 신촌의 각각의 역에서 신도림은 승강장, 서울대입구는 지하철입구, 시청은 지하철입구, 신촌은 승강장이 세포핵에 대한 손상이 높은 것으로 나타났다.

자주달개비 미세핵분석법을 이용한 결과 모든 실험군에서 양성을 결과를 나타내었다. 염색체의 변이를 확인하는 미세핵 분석법이 체세포의 변이를 의미하는 수술털 돌연변이보다 유의한 결과를 보였다. 이러한 결과는 자주달개비를 이용한 두가지의 유전자 손상 및 염색체 이상에 관한 분석법 중 자주달개비의 화분모세포를 이용한 미세핵분석법이 돌연변이원에 민감하다는 것을 확인할 수 있었으며[10] 또한 입자상 물질에 포함된 유해물질이 이를 흡입한 지하철 이용객들에게 유전적인 손상을 유발시켜 건강에 영향을 미칠 수 있음을 시사한다.

Table 1. *Tradescantia* micronucleus frequencies induced by particulate extracts Collected from Seoul subway stations. The values with the same letters are not significantly different within each column at the 0.05 level (Duncan's test).

Site	Extraction (mg/l)	MCN/100 tetrads (means \pm SE)
Negative control	Water	3.13 \pm 0.25
Shindorim - 1	Water (1.1)	7.27 \pm 0.43
Shindorim - 2	Water (1.4)	8.53 \pm 0.47
Shindorim - 3	Water (1.3)	10.13 \pm 0.37
Seoul nat' univ - 1	Water (0.8)	7.93 \pm 0.48
Seoul nat' univ - 2	Water (0.8)	6.0 \pm 0.35
Seoul nat' univ - 3	Water (1.3)	6.60 \pm 0.54
City Hall - 1	Water (0.7)	9.80 \pm 0.65
City Hall - 2	Water (0.9)	5.27 \pm 0.27
City Hall - 3	Water (1.2)	8.07 \pm 0.36
Shinchon - 1	Water (0.7)	8.27 \pm 0.55
Shinchon - 2	Water (1.4)	7.87 \pm 0.40
Shinchon - 3	Water (1.1)	9.87 \pm 0.62

1, Entrance 2, Waiting room 3, Platform

For each treatment, 1500 tetrads were scored.

2. 실내 작업장에 부유하는 호흡성 먼지

실내작업장에서는 유해물질을 다량으로 사용하거나 농축된 상태로 사용하므로 근로자들이 납, 수은, 니켈, 카드뮴, 먼지 등 발암물질이나 인체 유해물질에 쉽게 노출됨으로써 건강을 크게 위협을 받고 있다. 또한 기술개발에 따라 새로운 오염물질이 발생하는 것도 예상할 수 있다. 따라서 작업종사자의 피해는 직접적 또는 계속적인 만큼 그 영향이 직업병과 노동재해에 결부될 수 있을 것으로 판단된다. 실내작업자의 경우 발암물질과 유해물질이 포함된 각종 먼지를 흡입하기 때문에 폐에 섬유증식을 일으키거나 폐기능을 저하시키는 직업병을 겪기도 한다. 유리규산의 흡입에 의한 규폐증은 그 대표적인 예로서 폐결핵과 합병률이 높게 나타난다. 일산화탄소, 아황산가스, 이황화탄소, 이산화탄소 등의 유독가스에 의한 중독과 납, 수은, 니켈, 크롬, 아연 등의 무기금속에 의한 중독이 특수 작업환경 하에서 발생하기도 하고, 종종 직업병으로서 문제가 되기도 한다. 최근 실내작업 환경과 관련된 관리대상 물질의 오염실태는 주로 양적인 측면에서 파악되고 있지만 발암성 평가와 관련된 연구는 매우 미흡한 실정이다. 따라서 실내 작업환경의 관리를 위해서는 발암물질의 종류에 대한 화학적 분석 및 생물학적 평가가 병행되어야 한다. 실내작업환경의 총 먼지 중 발암 또는 돌연변이

원성 물질에 민감한 식물체를 이용한 실내오염물질의 생물학적 영향평가는 인체 위해성에 관한 추정을 가능케 할 뿐 아니라 실내오염물질의 관리 대책을 제시할 수 있다는 점에서 중요한 의미를 갖는다. 본 연구에서는 방사선 및 환경 중에 포함된 돌연변이 유발물질의 지표 식물로 널리 이용되고 있는 자주달개비 (*Tradescantia* clone 4430)를 이용하여 작업환경 중에 발생하는 입자상 물질 중 총 먼지에 포함되어 있는 중금속물질에 의한 생물학적 영향을 밝히고자 하였다.

1) 연구방법

온실에서 생육된 T-4430 식물체로부터 10개 정도의 꽃봉오리를 가지고 있는 꽃차례를 절취하여 24시간 동안 실험실의 성장상 내에서 명기 14시간 동안 온도 22℃, 습도 70%, 조도는 293 E/m²/sec로, 암기는 10시간, 온도 20℃, 상대습도 70%의 조건에 순치를 시킨 다음 10~12개의 꽃차례를 하나의 실험군으로 사용하였다. 청주공단지역의 섬유공장과 고무 공장 그리고 근거리의 반도체 공장의 각각의 실내작업장 근로자 5명에게 개인시료포집기 (BASIC-5, A.P.BUCK, Inc.)를 8시간 동안 착용하게 하여 실내 작업장에 존재하는 총 먼지 시료를 채취하였다. 일일 근로시간 9시간 이상 근로를 하면서 실내작업환경에서 8시간 이상을 보내는 근로자를 대상으로 하여 개인시료포집기 (personal air monitor)를 착용시킨 다음 8시간 동안 총 먼지를 채취하였다. 본 연구에서는 인체유해성분에 대한 노출조건과 유사하도록 유기용매를 이용하지 않고 여과지에 채취된 총 먼지 중 수용성의 성분만을 대상으로 자주달개비의 절취 화서를 24 시간 동안 침지하였다. 호흡성 먼지 추출물에 노출이 끝난 실험군은 양액에 침지하여 생육상 내에서 약 24~30 시간의 분열 염색체 회복시간이 경과한 다음 분석용 꽃차례를 acetic acid - ethanol (1:3)로 고정시켰다. 고정액에 침지한 후 24시간이 지난 후 다시 70% 에탄올에 침지하여 냉장 저장하였다. 전처리가 끝난 후 실험군별로 5~10개의 슬라이드 프레파라트를 제작하고, 광학현미경 (Nikon)하에서 배율 400배로 검경하여 미세핵을 계수하였다.

2) 연구결과

본 연구에서 실내작업환경 중의 총 먼지를 분석한 결과 섬유공장과 고무공장에서 크롬의 농도가 가장 높았으며, 특히, 반도체공장에서는 니켈의 농도가 다른 중금속의 농도에 비하여 상대적으로 높게 존재하는 것으로 나타났다. 용매를 증류수로 하였다는 점을 감안할 때 다른 유기용매를 사용하여 추출하였을 때는 더욱 더 높은 농도를 나타낼 것으로 예상된다. 섬유공장과 고무공장에서 자주달개비의 염색체이상 (chromosome aberrations) 실험에 다른 유해성 중금속에 비하여 크롬이 가장 큰 영향을 미칠 것으로 예상되었으며, 반도체 공장의 경우에는 크롬, 납, 망간, 아연의 영향도 있겠지만 니켈의 영향이 보다 지배적인 것으로 판단되었다. 또한, 실내작업환경 중 총 먼지내의 유해 중금속의 종류와 농도 분포는 작업환경마다 서로 다르게 나타남을 알 수 있었다.

대조군과 실험군 각각의 15개 프레파라트에 대하여 프레파라트당 300개의 사분자염색체

를 계수하였다. 300개의 사분자염색체당 미세핵의 수를 100개의 사분자염색체당 미세핵의 수로 환산하여 대조군과 실험군을 Dunnett의 *t-test*에 의해 통계분석을 하였다. 대조군의 미세핵 생성률 2.57 ± 0.43 MCN/100 tetrads을 섬유공장 4.67 ± 0.35 MCN/100 tetrads ($p < 0.01$), 고무공장 5.73 ± 0.81 MCN/100 tetrads ($p < 0.01$), 반도체공장 15.6 ± 2.58 MCN/100 tetrads ($p < 0.001$)을 유발하였으며, 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내었다 (Figure. 2). 특히 반도체 공장의 경우 미세핵 생성률의 유의성은 대조군과 비교하였을 때 더욱 더 두드러진 돌연변이를 보이는 것으로 나타났다.

본 연구에서 화학적 분석과 자주달개비의 미세핵 분석결과를 결합하여 인체에 유해한 발암원으로 알려진 중금속의 농도분석과 염색체변이를 이용한 복합기법은 매우 유용한 것으로 나타났다. 또한 자주달개비를 이용한 생물학적 감시기법인 미세핵 분석법 (Trad-MCN)은 실내작업환경 중 돌연변이원에 대한 현장감시 및 유형별 구별이 가능한 장점을 지니고 있다. 앞으로 실내작업장의 돌연변이 유발원에 대한 근본적인 규명이 계속 필요하며, 본 연구의 자주달개비를 이용한 미세핵 분석방법의 결과를 볼 때 실내작업장 환경에서 노동자의 안전을 위하여 개인보호구 및 장치가 필요할 것으로 판단되며 유해물질의 노출에 대한 다양한 대비가 요구될 것으로 생각된다. 자주달개비 미세핵 분석법은 비교적 단순하며, 신속한 분석방법으로 결과를 1~2일 내로 얻을 수 있는 장점을 지니므로 본 실험을 통하여 확립된 실험 절차는 작업환경 중에 포함된 가스상·입자상 물질의 돌연변이원에 대한 생물학적 평가방법으로 유용하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

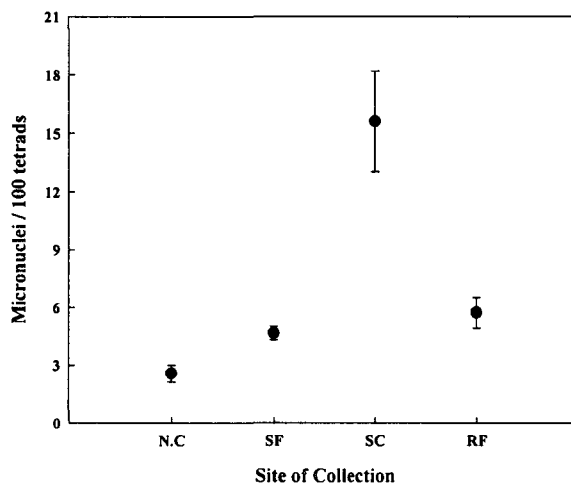


Figure. 2. Effects of particulates collected from job sites on the micronucleus frequencies in *Tradescantia* pollen mother cells. N.C; negative control, SF; Synthetic Fiber Factory ($p < 0.01$), RF; Rubber Factory ($p < 0.01$), SC; Semiconductor Factory ($p < 0.001$).

3. 실내작업장에서 발생하는 휘발성 유기화합물

최근 공기 중의 금속성분과 휘발성 유기화합물질 (volatile organic compounds)은 도시환경에서 중요한 발암성 물질이거나 만성 또는 급성의 건강장해를 일으킴으로서 공중보건상 나쁜 영향을 미치는 것으로 조사되고 있다. 특히 실내 환경에서는 에너지비용증가에 따른 환기를 감소로 인하여 유기화합물질에 장기간 폭로됨으로써 발생하는 건강영향에 대한 연구가 진행되고 있다. 휘발성유기화합물질은 빌딩증후군 (sick building syndrome-SBS)의 원인 물질로 추정되며, 점막자극 두통, 구역질 및 현기증과 같은 증상을 일으키는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 화학공장의 실내작업환경을 대상으로 하여 휘발성유기화합물질 중 독성물질로 알려진 trichloroethylene, toluene, ethylbenzene, xylenes, styrene, trimethylbenzene을 중심으로 하여 유해물질을 평가하고자하였으며, 동시에 생물학적 위해성 평가방법을 조합(battery)하여 실내 작업장에서 유해물질을 평가하고자 하였다.

1) 연구방법

화학공장의 작업장으로부터 발생하는 휘발성유기화합물의 정성 및 정량을 위한 가스상 표준물질로는 미국 Scott Specialty Gases사에서 제조한 1 ppm 농도에 상응하는 가스상 표준물질을 구입하여 사용하였다. 기체상 표준물질은 모두 40 종류의 휘발성유기화합물이 혼합되어 있으며, 이는 US EPA TO-14방법에서의 규제대상물질로 알려져 있다. 본 연구에서는 화학공장의 실내 작업장에서 VOCs를 채취하기 흡착관에 400 mg의 Tenax TA가 충전된 흡착관을 사용하였다. 실험용 식물체는 방사선에 민감하게 반응하면서도 자연적 돌연 변이율 (intrinsic mutation rate)이 낮은 *Tradescantia* clone 4430을 사용하였다. 흡착관의 시료채취 시간은 2시간으로 설정하고 채취 유속은 70 mL/min으로 설정하여 채취 부피는 약 8L 채취하였다. 시료 채취 시작 전·후의 유속의 변화는 10% 이내로 유지되어 시료 채취에 의한 정밀도는 양호하였다. 시료채취 장소는 3군데를 선정하였으며 그 기준은 제조과정 중 농도가 높게 배출될 것으로 판단되는 실내 작업장의 2군데를 선정 (제조라인 site #6과 7)하고, 나머지 한 군데는 실내 작업장의 공기가 외기로 환기되는 건물의 옥상을 선정하여 시료 채취하였다. 실내 작업장과 외기에서 화학적 분석을 위한 흡착관을 이용한 시료채취와 *Tradescantia* 식물체를 이용한 생물학적 biomonitoring을 동시에 수행하였다. 실험용 식물체는 온실에서 생육된 *Tradescantia* clone 4430을 절취하여 실내 작업장에서 2시간, 6시간, 그리고 9시간동안 노출하였다. 노출 후 24시간의 회복시간을 부여한 다음 고정, 저장하였다. 화학적 분석을 위해 시료채취가 끝난 흡착관은 테플론 재질의 brass Swagelok screw cap으로 막고 미리 세척한 유리병에 보관하여 실험실로 운반하였으며, biomonitoring을 위해 노출시킨 *Tradescantia* 식물체는 증류수로 세척한 박스에 담아 실외 공기에 의한 오염을 방지하였다.

2) 연구결과

실내 작업장 시료의 정성 및 정량을 위해서 질량분석기(MS)가 장착된 Finnigan GCQ

(GC)를 이용하여 분석을 수행하였다. 전자이온화 (EI) 모드에서 70 eV로 시료를 이온화하였고, 이동상 기체로는 헬륨을 사용하였다.

Table 3.1. VOCs identified at chemical workplace field air and detection range ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

Detected VOCs	Site 1	Site 2	Site 3
Trichloroethylene	$2.1 \pm 0.2^\dagger$	4.2 ± 0.5	1.9 ± 0.2
Toluene	1946.6 ± 146.3	1368.3 ± 99.5	340.1 ± 25.6
Ethylbenzene	12.1 ± 0.4	12.0 ± 0.5	4.4 ± 0.4
<i>m,p</i> -xylene	13.5 ± 0.2	10.2 ± 0.2	5.4 ± 0.5
Styrene	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2	1.6 ± 0.2
<i>o</i> -xylene	10.1 ± 0.1	7.3 ± 0.7	3.8 ± 0.4
1,3,5-trimethylbenzene	1.7 ± 0.11	7 ± 0.11	3 ± 0.11 ,
2,4-trimethylbenzene	3.3 ± 0.13	9 ± 0.11	5 ± 0.1

† , Values represents mean \pm S.D

toluene의 농도가 site 1과 2 모두에서 가장 높게 나타났다. Site 2에서 톨루엔의 농도는 $1368.3 \text{ g}/\text{m}^3$ site 1에서는 $1946.6 \text{ g}/\text{m}^3$ 으로 일반 대기환경에서 저농도 ppb 수준으로 검출되는 농도보다 수백 배 높게 배출되는 것으로 나타났다. 그리고, 쥐와 사람에 대한 발암성 시험에서 암을 유발시키는 것으로 보고된 trichloroethylene은 site 1과 2에서 각각 $4.2 \text{ g}/\text{m}^3$ 과 $2.1 \text{ g}/\text{m}^3$ 을 보였다. 그 외 ethylbenzene, *m,p,o*-xylene, styrene, 1,3,5-trimethylbenzene, 그리고 1,2,4-trimethylbenzene 화합물들은 실내 작업장의 site 1과 2 그리고 외기 수준 모두 비슷한 농도 수준으로 검출되는 것으로 나타났다. Table 3.1.에 실내 작업장의 site 1과 2, 그리고 외기에서 검출된 각각의 VOC의 농도 (g/m^3)를 요약하여 나타내었다.

Table 3.2. Frequency of micronuclei in *Tradescantia* inflorescences exposed *in situ* to the workplace field and outdoor air. The values with the same letters are not significantly different within each column at the 0.05 level (Duncan's test).

Exposure sites	Exposure (h)	MCN / 100 tetrads
Site 1 (workplace)	2	6.13 ± 0.48 [†]
	6	8.20 ± 1.02
	9	15.67 ± 0.73
Site 2 (workpalce)	2	5.40 ± 1.60 [‡]
	6	5.80 ± 0.31
	9	9.53 ± 0.45
Negative control (outdoor)	2	2.93 ± 0.43
	6	2.80 ± 0.25
	9	2.87 ± 0.53

[†] ,Values represents means ± S.E.

[‡] , not significant

Table 3.2.에 *Tradescantia* 식물체의 노출에 의한 미세핵 생성률의 결과를 나타내었다. 화학공장의 실내 작업장에서 노출한 *Tradescantia* 꽃가루 모세포의 미세핵분석법을 통한 Duncans test의 분석결과 외기 중에 노출한 대조군과 실내 작업환경 중에 노출한 처리 실험군은 모두 유의성 있는 차이를 보이는 것으로 나타났다. 통계분석결과를 통하여 노출시간을 2시간으로 하였을 때는 6시간과 유의성이 나타나지 않을 수도 있기 때문에 (Site 1, Site 2), 6시간의 노출군과 9시간의 노출과는 통계적으로 유의한 결과를 통계분석을 통하여 확인하였다. 휘발성 유기화합물의 노출처리는 6시간 이상의 노출이 타당함을 확인하였다 (Table 3.2.).

실내공간에서의 화학적 측정결과와 biomonitoring을 이용한 *Tradescantia* 미세핵 생성률 결과 실내 작업장에서 장기간 노출시 작업 근로자들에게 유해한 인자로 작용할 것으로 사료된다. 화학공장의 실내 작업장에서의 Tenax TA가 충전된 흡착관/GC/MS방법을 이용한 화학적 분석과 동시에 biomonitoring을 이용한 Trad-MCN 방법을 통해 실내 작업장에서의 유해물질 VOCs 및 유해물질에 의한 *Tradescantia* 미세핵 생성률을 쉽게 관찰 할 수 있었다.

자주달개비의 생물검정 기법은 시료를 농축 시킬 필요가 없으며, 복합적인 화합물의 시료에 대하여 *in vivo* 실험과 *in situ*에 집중적으로 활용되고 있다. 자주달개비 생물검정 기법은 *in vitro*에서 검출할 수 없는 중급속의 화합물뿐만 아니라 다양한 오염물질이 함유된 화학물질과 농약을 포함한 직접적으로 영향을 미치는 다양한 화합물에 적합하다. 자주달개비 식물체는 유전독성물질에 민감성이 탁월하며, 환경오염물질의 감시에 적극적으로 활용되고 있다. 특히, 다양한 매체에 존재하는 유전독성물질의 검색을 위하여 자주달개비 식물체에

관한 연구가 활발이 적용되고 있다. 추정되는 환경오염물질 시료에 있는 유전독성물질의 존재에 대한 검색도구로서 자주달개비 식물체의 생물검정 기법을 활용하고 있다.

과거 30년에 걸쳐 오염물질에 대한 정확성은 ppb수준에 이르렀으며, 해로운 원소의 양은 정부와 일반대중에게 위해성물질의 관리에 자신감을 부여하였다. 그러나 다양한 오염물질이 복합된 혼합물로 존재하기 때문에 잘못된 판단이었음을 인정하여야만 했다. 생태계에 대한 독성의 영향은 각각의 원소가 아니라 혼합물의 복잡한 생화학적인 반응의 결과이다. 화학약품의 복합물은 상호작용과 길항작용과 같은 생화학적인 상호반응에 의하여 다르게 작용할 뿐만 아니라 다른 환경하에서 다른 생물학적인 시스템과 재반응한다. 과거 30년 동안에 또는 그 이상부터 오염물질이 환경으로 방출되어왔고, 수많은 해로운 폐기물매립지는 곳곳에서 매립되지 않았고, 대부분의 생물학적인 연구는 단일 주성분에 대한 순수한 화학약품의 독성에 초점을 맞추어 왔다. 또한 대부분의 종양은 복합적인 혼합물에 의하여 유발될 수 있음을 간과해서는 안될 것이다. 일반 국민이 생활환의 환경에서 혼합물의 생물학적인 영향에 관심을 갖는다면 오염현장에서 수행된 생물학적 평가결과는 유용한 자료로 활용될 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Ma, T.H., Application of quick and simple plant bioassays to assess the genotoxicity of environmental pollutants—detection of potential health hazards of air, water and soil contaminants, in: G.H Degen, J.P. Seler, P. Bentley (Eds.), Proceedings of 1994 EUROTOX Congress, Springer, 420-433 (1994).
2. Kim, J. K., Shin, H.S., J-H, Lee, J.J., and Lee, J.H., Genotoxic effects of volatile organic compounds in a chemical factory as evaluated by the *Tradescantia* micronucleus assay and by chemical analysis. *Mutat. Res., Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 541(1-2): 55-61 (2003).
3. W.F. Grant, Higher plant assays for the detection of genotoxicity in air polluted environments, *Ecosystem Health*, (1998).
4. F.J. de Settes (E.d.), Environmental monitoring for genotoxicity with plant systems, *Mutat. Res.*, 310: 1-266 (1994).
5. Hellawell, J. M., Biological indicators of freshwater pollution and environmental management, 52-53, Elsevier, New York, (1986).
6. Ma, T.H, Xu, C., Liao, S., Jeong, B.S., and Leatherwood, R., *In situ* monitoring of gaseous emission from a municipal incinerator using *Tradescantia* micronucleus and *Tradescantia* stamen hair mutation bioassays, In *Ecotoxicology and Environmental Chemistry-A Global Perspective*. pp.304, Society of Environmental Toxicology and

Chemistry, Lisbon, Portugal. (1993).

7. Helma, C., Knasmuller, S., Schulte-Hermann, R., and Ma, T. H., Clastogenicity of two water chlorination byproducts in the *Tradescantia*-micronucleus assay. *Environ. Mol. Mutagen.*, 23 (Suppl. 23): 25 (1994).
8. Baud-Grasset, S., Baud-Grasset, F., Bifulco, J.M., Meier, J. R., and Ma, T. H., Reduction of genotoxicity of a creosote-contaminated soil after fungal treatment determined by the *Tradescantia* micronucleus test, *Mutat. Res.*, 303: 77-82 (1993).
9. Ma, T. H., Micronuclei induced by X-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of *Tradescantia* - A promising mutagen test system, *Mut. Res.*, 64: 307-313 (1979).
10. Steinkellner, H., Mun-Sick, K., Helma, C., Ecker, S., Ma, T.H., Horak, O., Kundi, M and Knasmuller, S., Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassay, *Environ. Mol. Mutagen.*, 31: 183-191 (1998).