

OF2) Yeast Two-Hybride assay와 Photobacterium test을 이용한 매립지 침출수의 독성과 에스트로젠성에 관한 연구

박지영¹, 한상국¹, Fujio SHIRAISHI²

¹목포해양대학교 해양시스템 공학부, ²일본국립환경연구소

1. 서 론

1980년대 이후 우리나라는 경제 성장으로 인한 인구증가, 산업화, 도시화가 급속도로 진행되어 폐기물의 양적인 증가와 함께 질적 다양화를 가져와 폐기물 침출수의 문제가 심화되고 있다. 현재 이용되고 있는 침출수 처리 방법으로서 소각, 퇴적비화, 열분해, RDF 등 각종 폐기물 처리 기술이 개발되고 있지만 최종 처분 방법으로는 매립방법을 사용하고 있다(김종향 등, 2001).

매립장에서 발생하는 침출수의 수질은 매립 폐기물의 종류, 매립지의 지질학적 특성, 매립 연한 등에 따라 매우 복잡한 양상을 나타낸다. 또한 침출수에는 유해 중금속, 유기화합물, 난분해성 물질들을 함유하고 있어 수질 오염, 토양오염 등의 환경오염을 야기 시킨다.

하지만 매립지 침출수의 환경에 미치는 영향에 관한 연구는 대부분 화학 분석적 형태로 접근하고 있어 그들의 독성 및 환경호르몬성 영향에 대한 생물학적 연구는 미흡하다.

따라서 본 연구는 전국매립지 중 수도권(생활폐기물 50%, 사업장폐기물 16%, 건설폐기물 34%), 울산(생활폐기물, 소각재), 대구(생활폐기물 70%, 사업장 폐기물 25%, 소각재 5%)의 세 매립지에서 침출수를 채수하여 Photobacterium를 이용하여 독성도와 일본국립환경연구소의 Fujio SHIRAISHI에 의해 개량화된 Yeast Two-hybride Based Assay로 침출수에 대한 에스트로젠성 알아 보고자 한다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 추출·농축

본 실험실에서는 2005년 6월에 채수한 수도권, 울산, 대구 매립지의 침출수를 사용하였다. 침출 원수를 sep-pak을 이용하여 1L을 통수 시킨 sep-pak 컬럼에 Dichloromethane 3ml를 통수 시켜 질소 pugging한다. Hexane과 Dichloromethane의 비를 3:1로 한 용액을 1ml를 질소 pugging하여 건조한다.

2.2. Yeast two-hybride assay과 PB(Photobacterium) toxicity test

Yeast two-hybride assay는 단백질 간의 상호 작용을 알아보는 시험 방법으로 hER과 mER의 yeast을 이용하여 에스트로젠성을 알아보는 방법이고 PB test는 Photobacterium을

이용하여 독성도를 평가하는 방법으로 두 시험 방법은 다음과 같다.

건조한 sample을 DMSO 50ul로 용해 시켜 20ul를 소 시험관에 넣고, SD배지 480ul를 주입하여 희석한다. 2% DMSO 배지를 96 well plate의 맨 윗줄을 제외한 곳에 60ul씩 주입한다. 맨 윗줄에는 100% 배지를 60ul씩 주입한 후 시료를 60ul씩 주입한 후 단계별로 60ul씩 주입한다. 균주가 들어있는 배지를 60ul씩 주입한다. 96 well plate을 30°C에서 4hr 배양한 후 zymolyase와 Reaction buffer 을 혼합한 용액을 80ul씩 넣어 37°C에서 1hr 배양한 후 Luminosence로 측정한다.

3. 결과 및 고찰

수도권, 울산, 대구의 침출수에 대한 독성도 값을 Fig.1에 나타내었다. 수도권, 울산, 대구의 독성도 값은 각각 2.2, 1.9, 145로 세 지점 중 대구에서 가장 높게 나타났다. 또한 침출수에 대한 에스트로젠성을 일반적으로 natural hormones에 반응성이 좋은 hER과 industrial hormones에 반응성이 좋은 mER로 나누어 Fig.2에 나타내었다. 울산 지역은 hER 값과 mER값이 각각 3.2ppt, 200ppt로 채취 지점 중 가장 높았다. 특히, 이 지역은 타 지역에 비해서 mER 값이 hER값에 비해 70배 이상 높게 나타난 것으로 보아 에스트로젠성이 natural hormones 보다는 industrial hormones에 의한 것임을 알 수 있었다. 특히, 대구지점에서 독성도는 높게 나타난 반면 에스트로젠성은 낮은 값을 나타내는 것으로 보아 호르몬 영향을 억제하는 antagonist chemical의 존재 가능성이 시사된다.

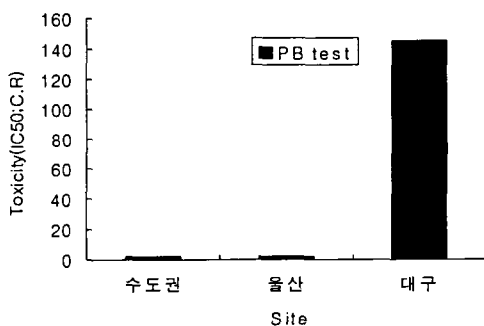


Fig. 1. Toxicity of landfill leachate by PB test (C.R;Concentrated Ratio)

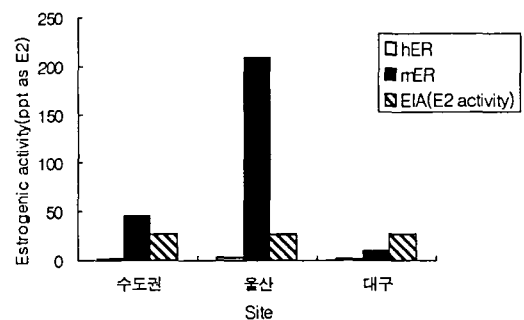


Fig. 2. Estrogenic activity of landfill leachate by hERa and mERa yeast assay.

4. 요약

전국매립지 중 수도권, 울산, 대구 세 매립지의 침출수를 채수하여 Photobacterium을 이용한 독성 test와 Yeast Two-hybride Based Assay을 이용하여 에스트로젠성을 측정하였다. 독성도 값은 대구에서 145로 가장 높은 값을 나타냈다. 에스트로젠성은 울산이 hER 3.2ppt, mER 210ppt로 가장 높게 나타났으며, 채수지점 모두 industrial hormones에 반응성이 좋은 mER 값이 높게 나타났다. 특히 대구지점은 독성도 값은 높으나 에스트로젠성은 낮

은 값을 나타내는 것으로 보아 호르몬 영향을 억제하는 antagonist chemicaldml 존재 가능성이 시사된다.

참 고 문 헌

김종향, 이명희, 2001, 매립경과에 따른 침출수의 유기물 특성, 대한환경공학회, 23, 3, pp. 517-522

Fujio SHIRAISHI, Hiroaki SHIRAISHI, Jun-ichi NISHIKAWA, Tsutomu NISHIHARA, Masatoshi MORITA, 2000, Development of a Simple Operational Estrogenicity Assay System using the Yeast Two-Hybride System, Journal of Enviromental Chemistry, 10, 1, pp.57-64