

PC7) 전남지역 하·폐수처리장 방류수중의 유기오염물질 분포특성과 그들의 독성 평가

이문희, 한상국

목포해양대학교 해양시스템공학과 해양환경공학전공

1. 서 론

하수처리장은 생활하수 및 산업폐수를 처리하여 하천 및 연안 해역으로 방류함으로써 수환경을 보호하는 사회기반시설이다(김시준 등, 2003). 오늘날 산업 활동의 다변화로 인하여 생농축성과 난분해성이 강한 유기화합물질의 발생량이 증가하고 있다. 이러한 오염물질들은 현재 각 하수처리장에서 운전하고 있는 생물학적 공정으로 생분해되지 않아서 유기염소계 화학물질, 페놀화학물질, 계면활성제, 농약등과 같은 독성물질들이 방류수를 통해 인간과 수생태계에 노출되어 심각한 영향을 초래하고 있다(조영옥 등, 2001). 특히 이러한 난분해성 유기화합물질은 유해하며, 미량으로도 돌연변이나 암을 유발시키고 생태계에서 생농축(bioaccumulation)이 될 수 있다(나진성 등, 2005). 그러나 현재 국내에서는 처리방류수에 대한 생물학적 독성평가 연구가 미진한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 전남지역의 하수처리장중 하수성상이 각기 다른 9곳을 선정하여 유기화합물질의 분포특성과 그들의 세포독성을 평가하였고 상호결과를 비교 검토하였다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1. 시료와 추출농축

본 실험에 사용된 시료는 A(표준활성오니법, 600,000m³/d), B(표준활성오니법, 120,000m³/d), C(표준활성오니법, 22,500m³/d), D(회전원판접촉법, 11,000m³/d), E(회전원판접촉법, 11,000m³/d)의 생활하수처리장의 방류수, F(장기폭기법, 600m³/d), G(표준활성오니법, 1,300m³/d), H(표준활성오니법, 1,200m³/d), I(표준활성오니법, 750m³/d)의 농공단지폐수처리장의 방류수를 sep-pak C18 column에 2ℓ 통수 시키고 methanol, hexane, dichloromethane 20 ml로 추출한 후 5ml로 감압 농축한다. 그 후 질소 pugging하여 DMSO 2ml로 농축하고 실험 이용 전까지 -20℃에 보관한다.

2.2. XTT assay

세포수가 10⁴ cell/well가 되게 하여 96well plate에 seeding한다. Well에 세포 주입 24시간 후 배지를 교환하고 sample을 주입한다. 24시간 동안 5% CO₂ 37℃ incubator에서 배양하고 XTT reagent를 well당 50μl씩 주입한다. 2시간 동안 5% CO₂ 37℃ incubator에서 배양하고 ELISA(490nm-690nm)로 측정한다.

2.3. SRB assay

세포수가 10^4 cell/well가 되게 하여 96well plate에 seeding한다. Well에 세포 주입 24시간 후 배지를 교환하고 sample을 주입한다. 세포 고정을 위해 10% TCA를 well당 $100\mu\text{l}$ 씩 주입하여 고정시키고 수돗물로 5회 이상 세척한다. 완전건조 후 0.4% SRB를 well당 $100\mu\text{l}$ 씩 주입하고 실온에서 30분간 염색시킨다. 염색 후 1% acetic acid로 세척하고 완전건조 시킨다. 건조 후 well당 $100\mu\text{l}$ 씩 10mM Tris buffer를 주입하여 세포를 용출시키고 ELISA (565nm-690nm)로 측정한다.

3. 결과 및 고찰

시료를 채취해 GC/MS를 이용한 다성분동시분석 결과 phenol, aliphatic compounds, polycyclic compounds, phthalate, pesticides, aromatic amines, benzens, nitro compounds이 주요 유기오염물질로 검출이 되었다. 특히 이들 중 생활하수는 다종류의 유기오염물질이 검출된 A지점이 농공폐수에서는 CH화합물과 농약류가 고농도로 검출된 F지점의 오염이 심각하게 나타났다. 각 지점들에 대한 세포독성 결과를 TU값(Toxic Units= $100/EC_{50}$)로 나타내어 화학분석에 의해 얻어진 결과와의 상관관계를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1을 통해 다종의 유기오염물질이 고농도로 검출된 지점에서의 TU값이 높게 나타남을 알 수 있다. 또한 세포독성 실험에서 대사활성효과(metabolic activation)를 보기 위해 생활하수와 농공폐수 중에서 가장 높은 TU값을 나타낸 A지점과 F지점의 시료를 methanol, hexane, dichloromethane fraction 별로 나눈 후 S9 mixture를 첨가하여 세포독성 실험을 하였다 (Fig. 2). 생활하수의 시료에서는 S9 mixture에 의한 대사활성에 따른 세포독성의 영향이 크

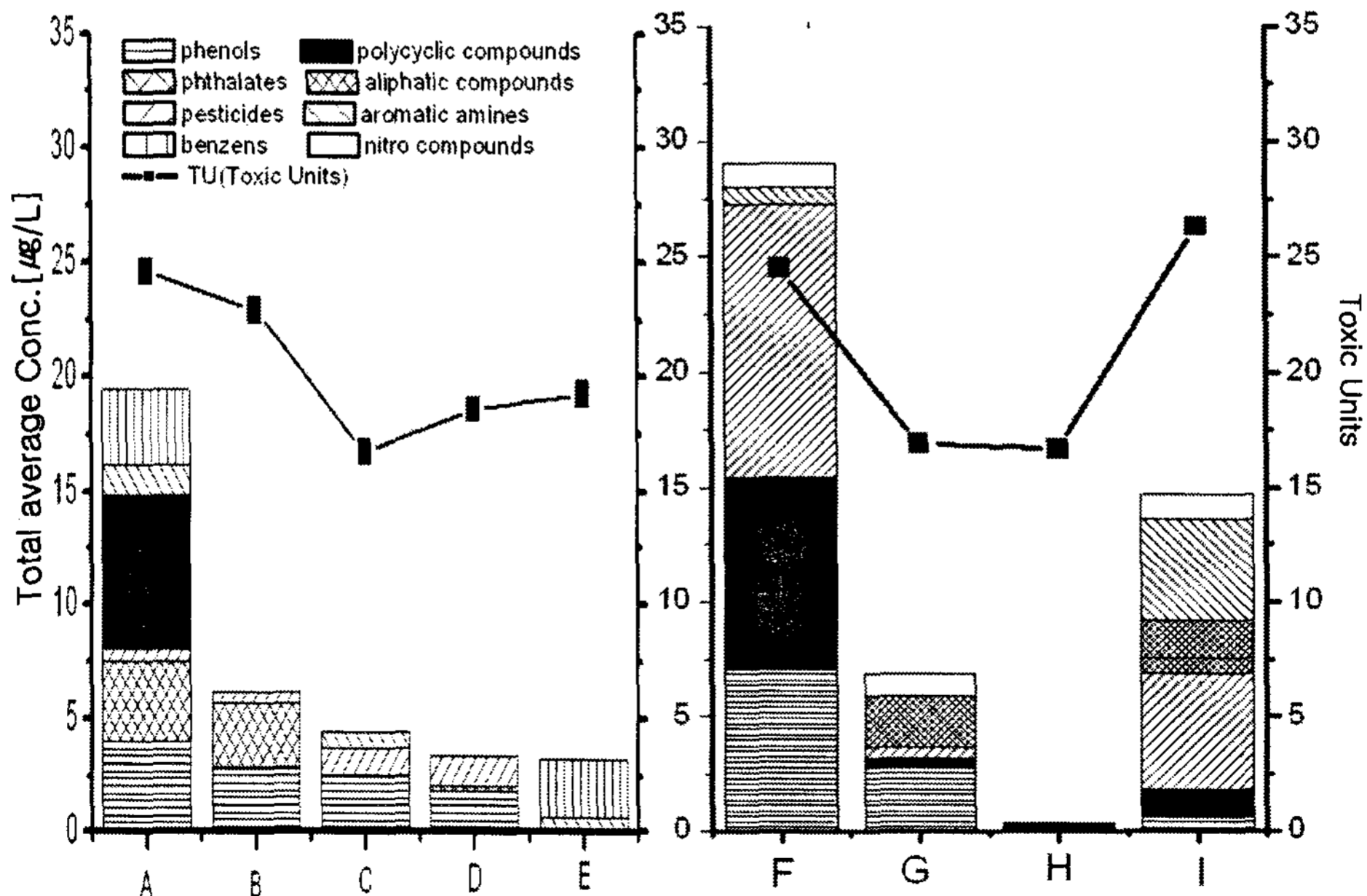


Fig. 1. 화학분석 결과와 *in vitro* bio-assay를 통한 세포독성(TU)의 상관관계(n=4).

게 나타나지 않았지만, 농공폐수의 시료에서는 hexane과 dichloromethane의 fraction에서 S9 mixture에 의한 대사활성에 따라 세포독성이 크게 나타났다. 이는 hexane과 dichloromethane의 fraction에 추출된 분자량이 크며 소수성이고 난분해성인 유기오염물질들이 S9 mixture에 의해 세포내에서 대사활성으로 S9 mixture가 미첨가된 결과에 비해 세포독성이 크게 나타난 것이다.

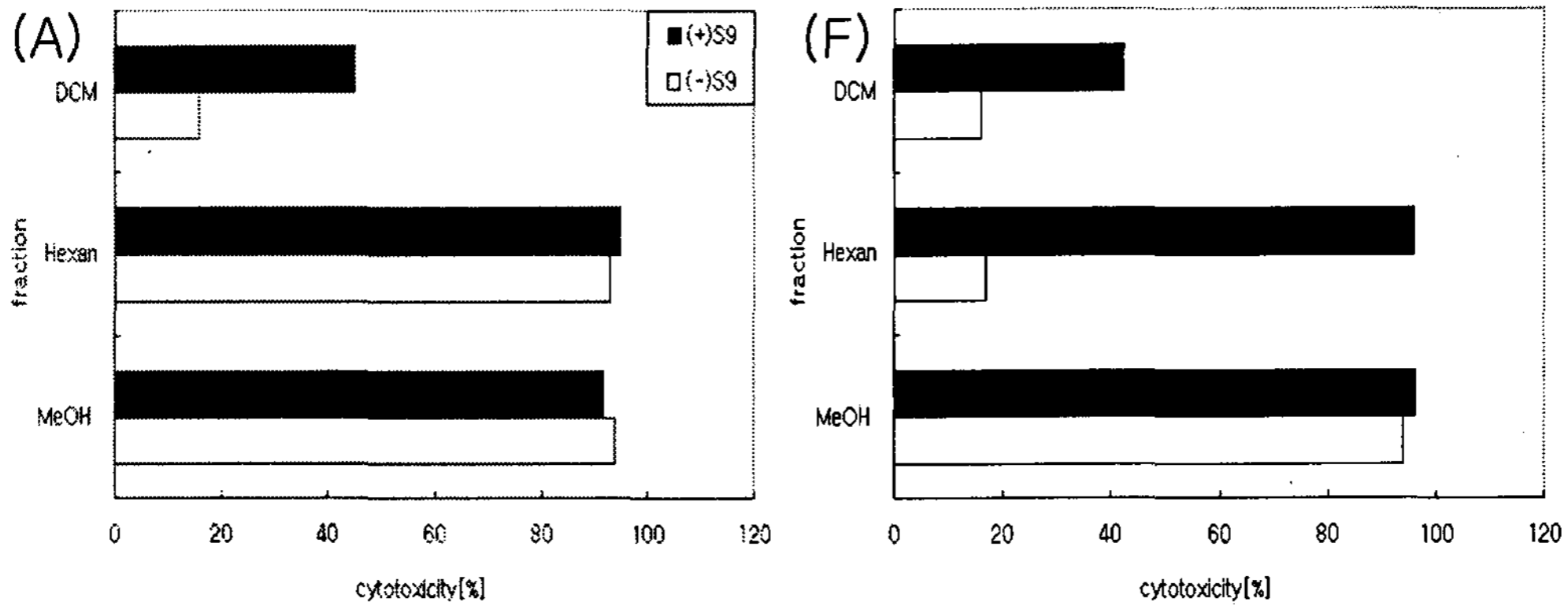


Fig. 2. A지점과 F지점에서의 대사활성(S9 mixture)에 따른 세포독성(n=4)
(MeOH: methanol, Hexane: hexane, DCM: dichloromethane, A: 생활하수처리장 방류수, F: 농공단지폐수처리장 방류수)

4. 요약

생활하수처리장과 농공단지폐수처리장 방류수의 화학분석과 *in vitro* bio-assay를 통한 세포독성의 결과를 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 다성분 동시분석법을 통해 다양한 성상을 가진 9곳의 방류수에서는 phenol, aliphatic compounds, polycyclic compounds, phthalate, pesticides, aromatic amines, benzens, nitro compounds이 주요오염물질로 검출이 되었다.

2) 세포독성을 나타내는 TU값이 생활하수에서는 화학분석에 결과 다종고농도의 유기오염물질이 검출된 A지점과 농공폐수의 F지점에서 높게 나타났다. 즉, 화학분석결과와 *in vitro* bio-assay에 의한 상관관계를 유추해 볼 수 있다.

3) S9 mixture에 따른 대사활성으로 난분해성, 소수성 유기오염물질에 대한 세포독성에 악영향을 미침을 알 수 있다.

참 고 문 헌

김시준, 김정숙, 2003, ELISA와 에스트로젠수용체 결합시험에 의한 하수처리의 에스트로젠 활성분석, 대한환경공학회, 25(4), pp.495 ~ 499
조영옥, 원성연, 김병균, 서인석, 전항배, 이상일, 2001, 공단지역의 하수처리장 유입수 독성도 조사, 대한환경공학회, 23(6), pp.931 ~ 939

나진성, 김상돈, 안광국, 장남익, 2005, 폐수처리장의 전 방류수 독성 평가 및 방류수 배출하천의 생지표도 영향분석, 대한환경공학회, 27(4), pp.353~361.

K.P. Putnam, D.W. Bombick, D.J. Doolittle, 2002, Evaluation of eight *in vitro* assays for assessing the cytotoxicity of cigarette smoke condensate, Toxicology in vitro, 16, 599~60