

해상 유류 유출 사고 후, 유류 해양 오염에 따른 주요 해산 어·패류내 PAHs 추적

황인영, 박정규¹, 박관하², 김정삼³, 정홍배, 배철한

인제대학교 환경시스템학부, ¹한국환경정책·평가연구원,
²군산대학교 해양생명과학부, ³경북대학교 동물공학과

PAHs Accumulation in Various Marine Organisms by the Marine Pollution after Oil Spill Accidents

In-Young Hwang, Jeong-Gue Park¹, Kwan-Ha Park²,
Jong-Sang Kim³, Hong-Bae Jung and Chul-Han Bae

Inje University, ¹Korea Environment Institute,
²Kunsan National University, ³Kyungpook National University

ABSTRACT

Marine organisms such as fish (*Sebastes schlegeli*) and mussels were cultured in sea water tanks placed at Dukpo area which was contaminated by the two oil spill accidents. Results showed that PAHs concentrations in fish tissue were higher than in fish liver. This was explained by the cytochrome P450 1A induction in fish liver after PAHs exposure. Other studies showed that higher PAHs levels were detected in mussels cultures in oil contaminated area than in control site. From these results, we concluded that Dukpo area is still polluted by oil including PAHs and it takes a long time to recover of oil contamination after the oil spill accidents.

Key words : PAHs, mussels, fish, bioaccumulation, oil spill

서 론

산업화에 따라 날로 증가하고 있는 다양한 해양사고는 선박의 유류가 해양생태계로 유출되는 주요 원인 중 하나이다. 유출된 유류는 인위적 방제 처리 또는 자연적 풍화과정에 의해서 일부 제거되나, 해저 바닥에 가라앉은 나머지 유류 성분은 사고 발생 후 수 년 동안 지속적으로 해저층에 널리 확산됨이 확인되었다(Clark, 1989). 또한 조건대로 이동한 유류 성분은 지표면 이하로 스며들게 되어 그 지역에 서식하는 어패류를 포함

한 인근 해양 생태계에 악영향을 미치게 된다.

특히 유류의 주요성분중 하나인 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)는 소수성 (hydrophobic)이어서 유출 후 해양내로 분산되었다가 해저층으로 쉽게 흡착, 침적한다. 퇴적물로 침적된 PAHs는 분해가 어렵고 먹이사슬을 통해 생물축적 (bioaccumulation)되는 성질을 가지며, 노출된 생태계내 생물체에게 발암, 돌연변이, 기형 등의 악영향을 미친다 (Varanasi, 1989; Baumard *et al.*, 1998). 비교적 PAHs 대사능력과 이동성이 좋은 어류에 비해, 저서층이나 조건대에 서식하는 패류는 소량의 PAHs에 노출되어도 낮은 대사능력과 높

은 생체축적에 의해 심각한 피해를 입게된다. 또한 유류사고로 인한 해양오염은 PAHs에 오염된 해산물을 식용으로 하는 인간의 건강까지도 위협하고 있다(Lehr and Jerina, 1977).

우리나라의 여수, 여천지역의 해양생태계는 1995년 7월 23일 발생한 씨프린스호 사고와 같은 해 11월 17일 발생한 호남 사파이어호의 사고로 인해 PAHs의 영향을 많이 받았을 것으로 추정되는 지역이다. 특히, 씨프린스호 좌초 사고시 유류 오염도가 가장 높았던 여수시 남면 연도리 덕포 해안의 경우 여러 차례에 걸친 방제 처리에도 불구하고 여전히 유류 성분이 잔존하고 있음이 확인되었다(Fig. 1) (한국해양연구소, 1997).

본 연구에서는 해상 유류 유출 사고로 인해 오염되었던 연도 덕포만에 잔존하는 PAHs의 생물영향을 평가하기 위해서 오염되지 않은 어패류를 사고 해역에 인위적으로 노출시켰다. 해안가에 육상 간이 수조를 설치하고 조사대상 해역의 해수를 연속 순환시키는 방식으로 생물체를 사육하였으며, 일정기간 노출 후 생물체내에 농축된 PAHs의 종류와 양을 분석하였다. 이 연구결과를 통해 어패류에서의 PAHs의 생물학적 농축 및 잔류 현황을 파악하고 오염 지역내에서 생산되는 수산물의 농축 가능성을 예측하여 유류 유출 사고의 장기간에 걸친 만성적인 환경 독성을 규명하고자 하였다. 또한 본 연구를 통하여 해안가 현장 노출 실험 방식의 가능성을 타진해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 수조를 이용한 어패류내 PAHs농축 실험

1) 현장 간이 수조 설치와 운용

실험 대상지역은 유류사고로 오염이 가장 심하다고 판단된 덕포 지역을, 대조구로는 두문포 지역을 각각 선정하였다(Fig. 1). 연구 대상 정점인 덕포에(Fig. 2)와 같이 육상 간이 수조를 설치하고, 전기 모터로 양수하여 조사 정점의 해수를 연속 공급하였다. 수조에 유류 노출 경력이 전무한 어·패류를 이식하고, 8주간 배양하며 일정 시간 별로 각종 시료를 채취하였다. 채취된 각 시료들은 분석하기 전까지 적절한 방법에 의해 보관하였다. 한편, 대조구로 선정한 두문포에서도 동일한

시험을 행하였고, 시간 경과에 따라서 각종 시료를 채집하여 전처리 후 보관하였다.

2) 시험 대상 생물종

현장 간이 수조에 배양하였던 생물종들은 오염되지 않은 지역에서 서식된 어류 1종(조피볼락)과 패류 3종(담치, 전복, 굴)이었다. 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)은 조사 해역에서 주로 양식되고 있는 어종들 가운데 수층이나 바닥층에 서식하는 대표적 생물종이라 유류오염으로 인한 영향을 파악하기에 적합한 종으로 사료되어 시험대상 생물종으로 선정하였다. 패류중 담치(홍합과, Mytilidae)는 전세계적으로 해양 오염 현황 조사 평가시에 주로 사용되는 생물종이며, 전복(전복과, Haliotidae)과 참굴(*Crassostrea gigas*)은 조사 해역에서 자연적으로 생산되고 있는 주요 식용 수산 생물의 대표 종이였다.

현장 간이수조에 생물종을 투입한 시기는 덕포의 경우 어류는 '98년 5월 14일, 패류는 '98년 4월 14일에 각각 투입하였고, 두문포의 경우 어패류 모두 '98년 3월 21이 투입하였다. 각각 생물종

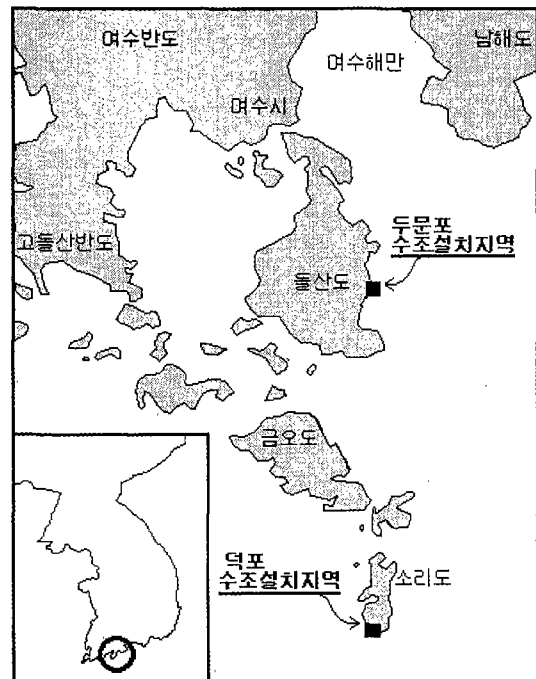


Fig. 1. 덕포, 두문포 수조시험 위치도.

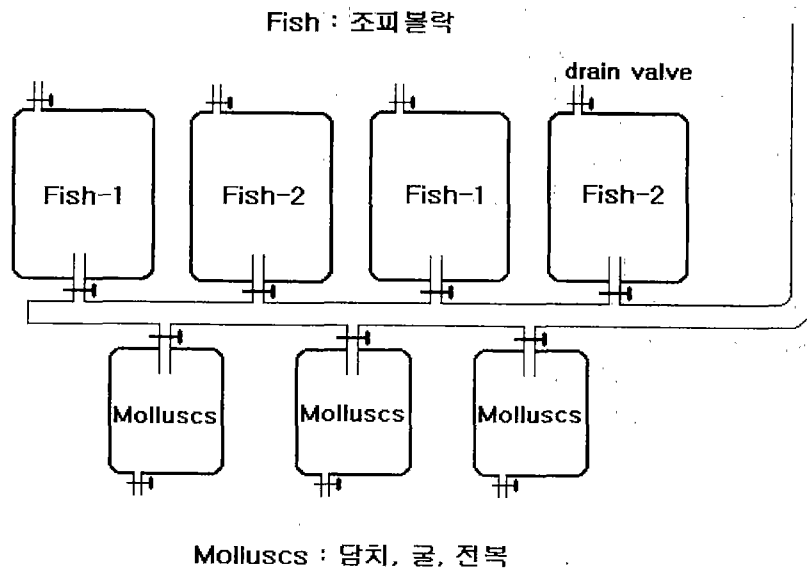


Fig. 2. 간이 수조 배치도.

을 투입한 이후 4주, 8주 되는 시기에 시료를 채취하여 PAHs 종류 및 농도를 분석하였다.

3) 주요 채취 시료

○어류 간 : 채혈 후, 간장손상을 막기 위해서 적출하여 바로 액체 질소 속에 담겨 순간 동결시켰다. 간장의 이화학적 분석이 완료되는 시점까지 시료를 액체 질소 속에 보관하였다.

○어류 육질부 : 실험동물의 내장, 두부, 꼬리 등을 모두 제거하고, 근육만을 알루미늄 호일에 싸서 액체 질소로 급속 냉동시킨 후 -20°C에서 보관하였다.

○패류 육질부 : 실험동물(담치, 참굴, 전복)들을 수조에서 꺼내어 패각을 제거하고 육질부위만 액체 질소로 급속 냉동하였으며, 분석이 완료되는 시점까지 -20°C에서 보관하였다.

2. 시료내 PAHs 추출과 HPLC을 이용한 분석

1) 생물 시료내 PAHs의 추출

생물 시료를 씻고 무게를 측정한 후 세질하였다. 시료를 H₂O-methanol (1 : 9) 혼합액 30 ml당 KOH 3.37 g이 들어있는 둥근 플라스크에 2 : 3의 비율로 넣고 4시간 동안 수욕상에서 환류하였다. 용액을 식힌 후 H₂O-methanol 혼합액 40 ml를 가

해 separatory funnel에 넣고 cyclohexane 80 ml를 가해 격렬히 흔들고 cyclohexane층을 취하였다. 다시 cyclohexane을 80 ml씩 넣고 2회 추출하여 합쳤다. 회수된 cyclohexane에 H₂O-methanol (5 : 5) 혼합액 40 ml를 가해 흔든 다음 cyclohexane층을 다시 회수하였다. 소형 유리 column의 아래쪽을 glass wool로 막고 무수 Na₂SO₄ 2 g을 충전한 후 cyclohexane층을 통과시켜 수분을 제거하였다. 그 후 Rotary evaporator로 50°C 감압 조건에서 1~2 ml로 농축하였다.

2) 생물 시료의 clean-up

Silica gel (70~230 mesh, Sigma)에 15%의 증류수를 가하여 혼합하고 cyclohexane 100 ml를 가해 녹였다. Column chromatography용 column의 하부를 glass wool로 막고 Silica gel을 충전하였다. Cyclohexane으로 3회 Silica gel을 세척하고 농축된 cyclohexane 시료를 Silica gel 상부에 조심스럽게 loading 하였다. Cyclohexane 100 ml로 PAHs를 유출시켜 Rotary evaporator로 1~2 ml로 농축하였다. Nitrogen blow로 용매를 완전히 날린 후 acetonitrile 1 ml에 녹여서 HPLC column에 주입하여 분석하였다.

3) HPLC를 이용한 분석

PAHs는 fluorescence detector를 사용하여 분석하였다. Mobile phase를 흘리기 위해 2개의 Waters 510 HPLC pump를 사용하였으며 시료는 U6K manual injector로 10~50 µl Supelco LC-PAH column (5 µm, 30 cm) 내로 주입하여 분리하였다. 분리를 위해 25분에 걸쳐 40%부터 100%에 달하는 acetonitrile로 직선상의 농도변화를 Waters Automated Gradient Controller (Model 680)를 사용하여 걸었으며 검출에는 Waters 474 Scanning fluorescence detector에 시간별로 다른 파장을 설정하였고 피크의 크기는 Waters 746 Data Module로 면적을 계산하였다.

4) PAHs의 HPLC 분석 조건

Table 1. PAHs 분석을 위한 HPLC용 Fluorescence 운용 조건 (Time은 필요에 따라 변동시킴)

Time (min)	Gain	λ_{ex}	λ_{em}	PAHs detected
0~22.30	10	270	323	1. Naphthalene 2. Acenaphthylene 3. Fluorene
22.3~25.0	100	248	374	4. Phenanthrene 5. Anthracene 6. Fluoranthene
25.0~33.0	100	270	400	7. Pyrene 8. Benzo (a)anthracene 9. Chrysene 10. Benzo (a)fluoranthene 11. Benzo (k)fluoranthene
33.0~42.30	100	290	418	12. Benzo (a)pyrene 13. Dibenzo (a, h)anthracene 14. Benzo (g, h, i)perlyrene
42.30~	1000	270	490	15. Indeno (1, 2, 3-cd)pyrene

5) Standard PAHs mixture의 chromatogram

상기 분석 조건에서 총 15종의 PAHs standard mixture를 투입하였으며, 투입량은 다음 Table 3과 같다.

결과 및 고찰

유류오염지역인 덕포의 수조에서 8주간에 걸쳐

Table 2. PAHs 분석을 위한 HPLC 용매 이송조건

Time (min)	Flow (ml/min)	%A	%B	Curve
0	1.5	100	0	None
5	1.5	100	0	Linear
30	1.5	0	100	
40	1.5	0	100	None

Table 3. HPLC를 이용한 분석에 사용된 PAHs 표준 물질

번호	물질	column에 주입한 양 (ng)
1	Naphthalene	10
2	Acenaphthylene	10
3	Fluorene	1
4	Phenanthrene	0.5
5	Anthracene	0.5
6	Fluoranthene	10
7	Pyrene	0.5
8	Benzo (a)anthracene	0.5
9	Chrysene	0.5
10	Benzo (a)fluoranthene	1
11	Benzo (k)fluoranthene	0.5
12	Benzo (a)pyrene	0.5
13	Dibenzo (a, h)anthracene	1
14	Benzo (g, h, i)perlyrene	1
15	Indeno (1, 2, 3-cd)pyrene	0.5

Table 4. 덕포지역 어류에서의 PAHs 잔류농도

	Total PAHs (µg/kg)	
	근육	간
0주	0	0
4주	0.57	0
8주	*7.86	0

* 8주 근육의 경우 Pyrene 7.86 µg/kg임

사용된 조피볼락의 총 PAHs 농도를 분석한 결과, 근육조직 내에서 4주차 0.57 µg/kg, 8주차 7.86 µg/kg가 각각 검출되었다 (Table 4). 4주차 근육내 농도에 비해 8주차에는 농도가 거의 10배 이상 증가하여, 노출기간에 따라 축적되는 PAHs의 양이 급격히 변화함을 확인하였다. 근육에서 검출된 PAHs는 4주차 시료에서는 anthracene과 benzo (a)anthracene 두 종류였으며 8주차 시료에서는 대부분이 pyrene으로 확인되었다.

한편 동일 어류의 간 조직내에서는 0주, 4주, 8주에 걸쳐 PAHs가 전혀 검출되지 않았다 (Table

4). 이러한 결과는 PAHs에 노출된 어류의 간에서는 Cytochrome P450 1A 등의 효소가 생성되고 이들 효소에 의해 PAHs가 활발히 대사·배출되어, 간에 잔류된 PAHs의 양이 근육에 비해 상대적으로 적은 것으로 추정된다 (Aas *et al.*, 2000). 또한 이 연구결과는 어류의 경우 비록 PAHs가 함유된 해수에 노출되어도 낮은 농도 수준에서의 노출이라면 체내에 농축 또는 잔류되기가 어렵다는 것을 나타내고 있다.

덕포와 두문포 현장간이수조에 8주간 사육시킨 3종의 패류 육질에서의 PAHs 농도를 측정된 결과, 담치, 전복, 굴 모두에서 PAHs가 검출되었다 (Figs. 3~8). 그러나 대조구인 두문포 지역에서보다 덕포 간이수조에서 사육된 모든 종류의 패류에서 상대적으로 높은 농도의 PAHs가 검출되었다. 이는 Fig. 9에서 더욱 명확히 나타나는데, Fig. 9는 덕포와 두문포지역에서 사육된 3종의 패류에서 검출된 PAHs의 총 농도를 표시한 결과이다. 이와 같은 연구결과는 1995년 덕포지역에서 발생한 유류오염사고 이후 3년이 지난 1998년까지도 인근 해역의 환경오염이 매우 심각함을 확인시켜 준다. 또한 외국의 여러 연구결과에서도 유류사고로 인해 유발된 해양환경오염은 회복되는데 매우

오랜 시간이 걸리며, 서식하는 생물종에게 장기간 악영향을 미친다는 것이 확인된 바 있다 (Saxton *et al.*, 1993; Yakoob *et al.*, 1994).

한편 같은 지역에서 사육되었다 할지라도 생물종에 따라 검출된 PAHs의 종류가 다르게 나타났다. 덕포 간이수조에서 사육된 담치와 굴의 경우 naphthalene, acenaphthylene, fluoranthene, pyrene 등 주로 분자량이 작은 종류가 발견된 데 비해, 전복에서는 benzo (g, h, l)perylene 등 비교적 분자량이 큰 물질이 검출되었다. 일반적으로 PHAs의 생물농축은 먹이에 포함된 PAHs 농도와 생분해능 (生分解能, biotransformation capacity)에 따라 좌우된다. 이 중 생분해능은 먹이사슬의 상위단계에 있는 생물이 하위단계에 있는 생물에 비해 크며, 생분해능이 큰 물질일수록 체내에 축적된 PAHs를 빨리 분해하기 때문에 상대적으로 분자량이 작은 PAHs가 검출된다 (Broman *et al.*, 1990; Leonards *et al.*, 1997; Baumard *et al.*, 1998). 본 실험의 대상생물종인 담치, 굴, 전복은 같은 먹이사슬 단계에 속하기 때문에 검출된 PAHs 종류의 차이를 생분해능에 의한 것이라고 단정지을 수는 없다. 그러나 패류가 섭취하는 먹이의 차이와 함께 생물종간의 서로 다른 생분해능이 일부 작용

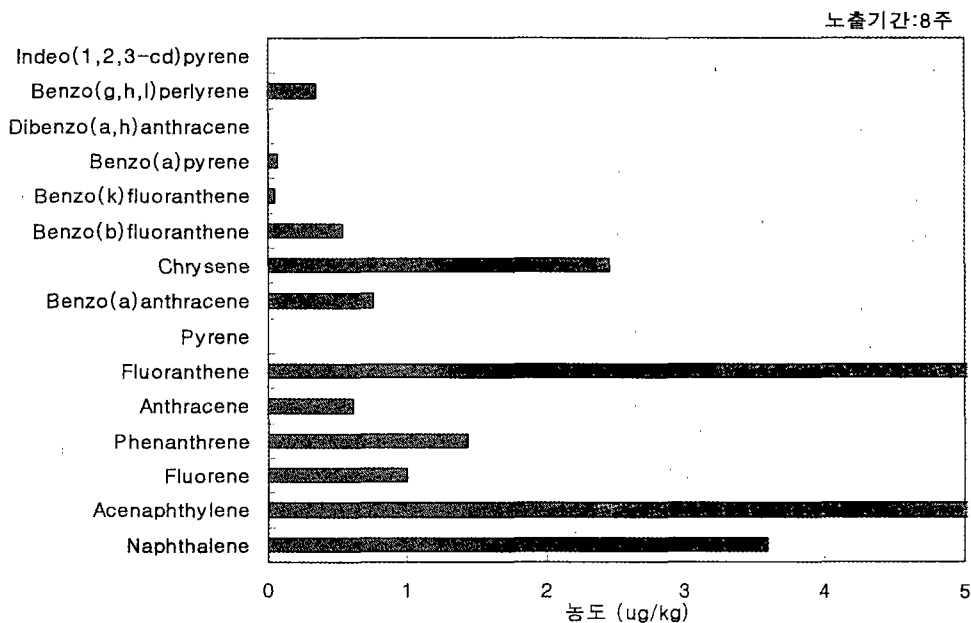


Fig. 3. 덕포 간이 수조에서 사육한 담치 육질 부위에 농축된 PAHs 농도.

했을 것으로 추정되므로, 향후 이에 대한 추가적인 연구가 요구된다.

한편 Fig. 10은 덕포 간이수조에서 사육된 닭치,

굴, 전복에서의 PAHs 수준을 4주, 8주로 각각 나누어서 조사한 결과이다. 3종의 패류 모두에서 8주간 노출된 시료에서 높은 수준의 PAHs가 검출

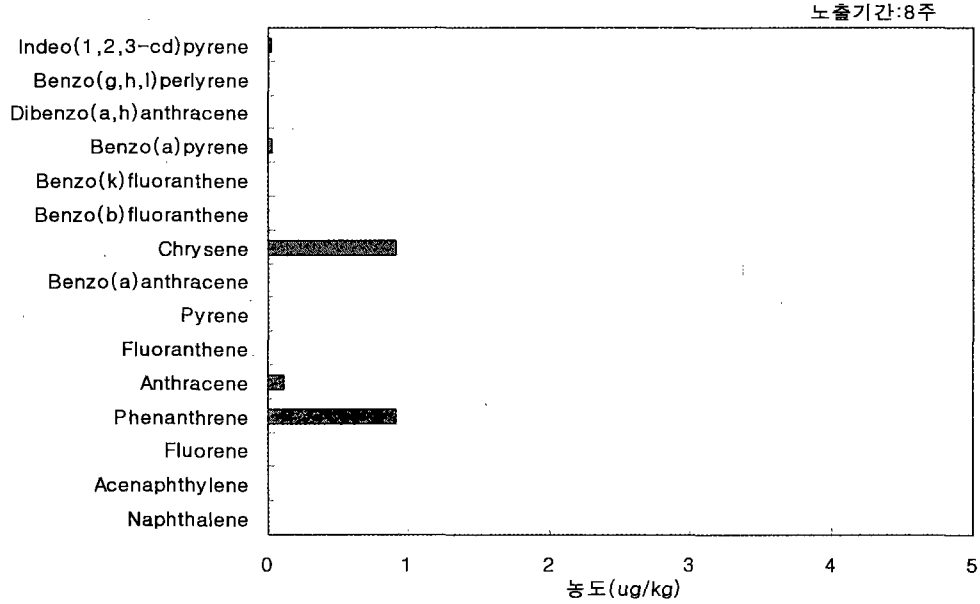


Fig. 4. 두문포 간이 수조에서 사육한 닭치 육질 부위에 농축된 PAHs 농도.

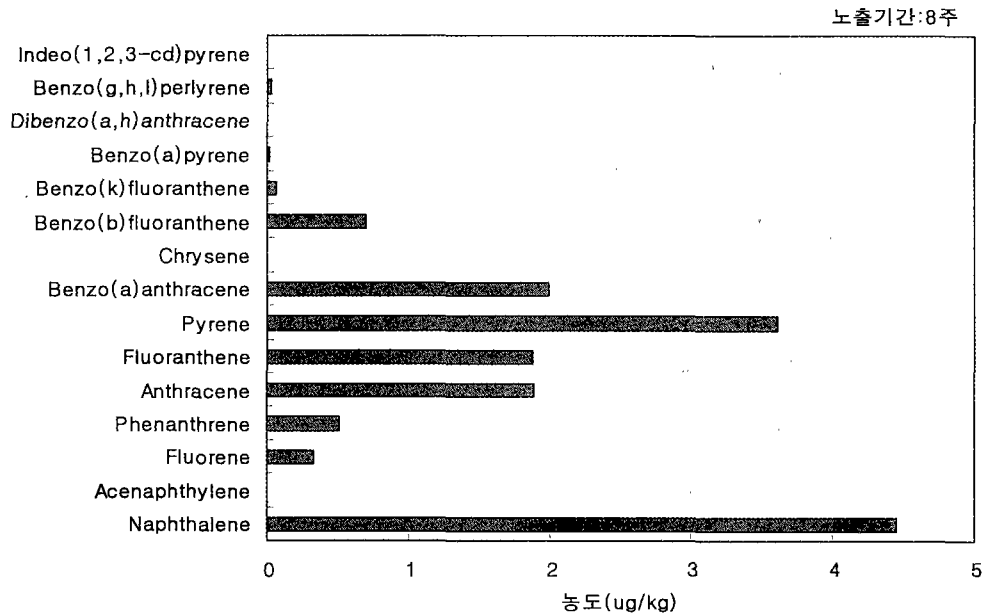


Fig. 5. 덕포 간이 수조에서 사육한 닭 육질 부위에 농축된 PAHs 농도.

되었으며, 특히 4주간 노출된 생물중에 비해 8주 차 담치에서는 약 5배, 전복에서는 3배 이상의 높은 PAHs 수준이 확인되었다. PAHs의 여러 화합

물은 생물농축지수 (Bioconcentration Factor, BCF) 가 각각 다르며, 주요 물질별 BCF의 크기는 fluo-
 ranthene > pyrene > anthracene > fluorene 등으로

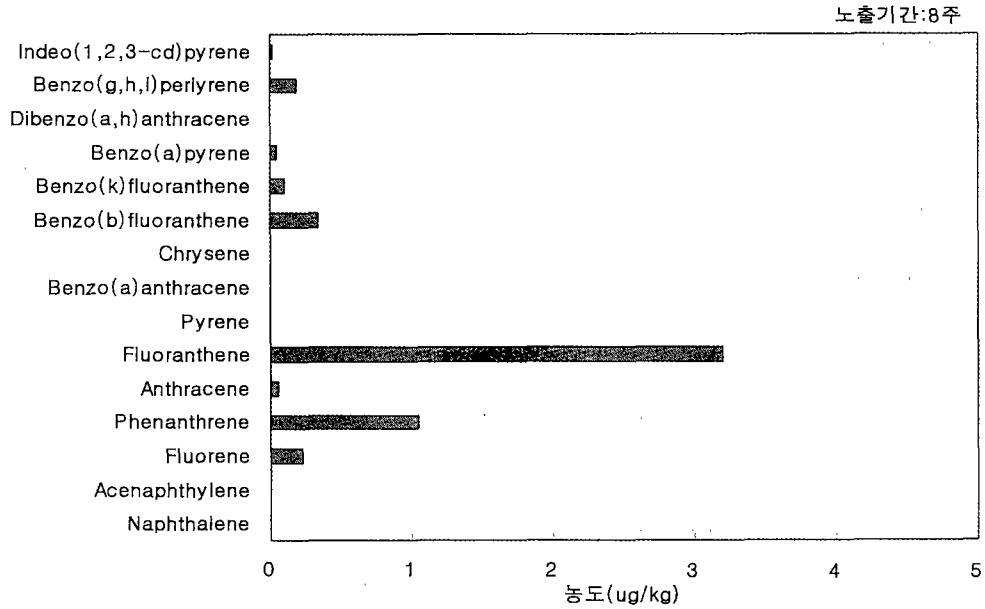


Fig. 6. 두문포 간이 수조에서 사육한 굴 육질 부위에 농축된 PAHs 농도.

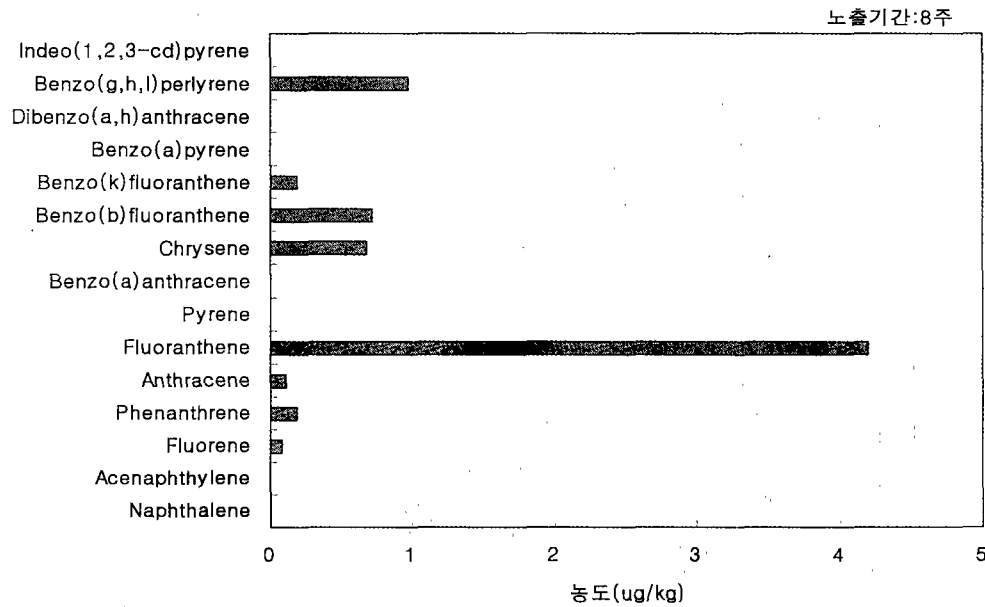


Fig. 7. 덕포 간이 수조에서 사육한 전복 육질 부위에 농축된 PAHs 농도.

알려져 있다 (Sheedy *et al.*, 1998). 본 실험 대상종인 3종의 패류에서 노출기간에 따른 PAHs의 증가속도가 다른 이유는 앞에서 언급한 생물종마다

다 다른 생분해능과 함께 먹이에 포함된 BCF가 서로 다른 PAHs에 의한 것으로 의심된다.

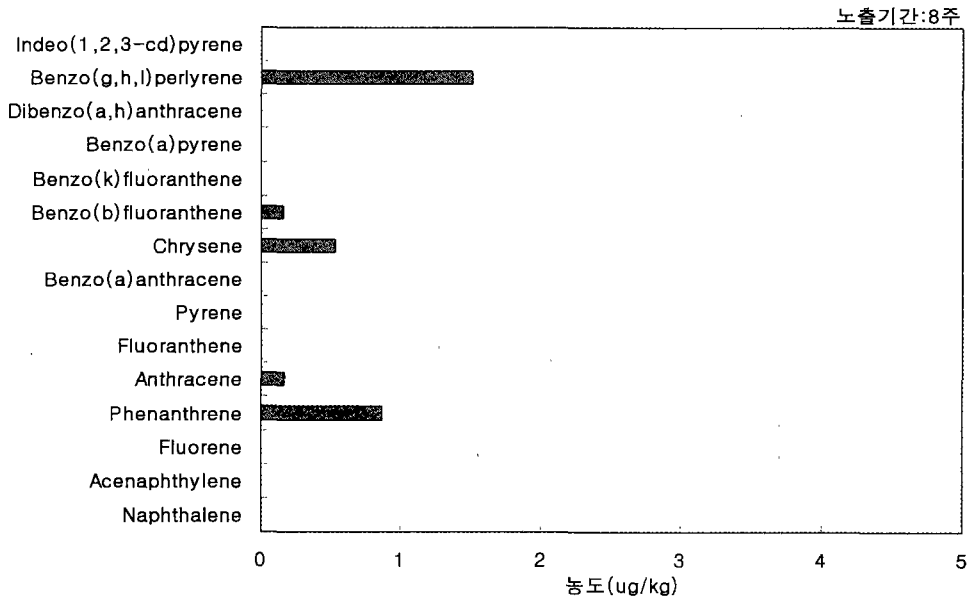


Fig. 8. 두문포 간이 수조에서 사육한 전복 육질 부위에 농축된 PAHs 농도.

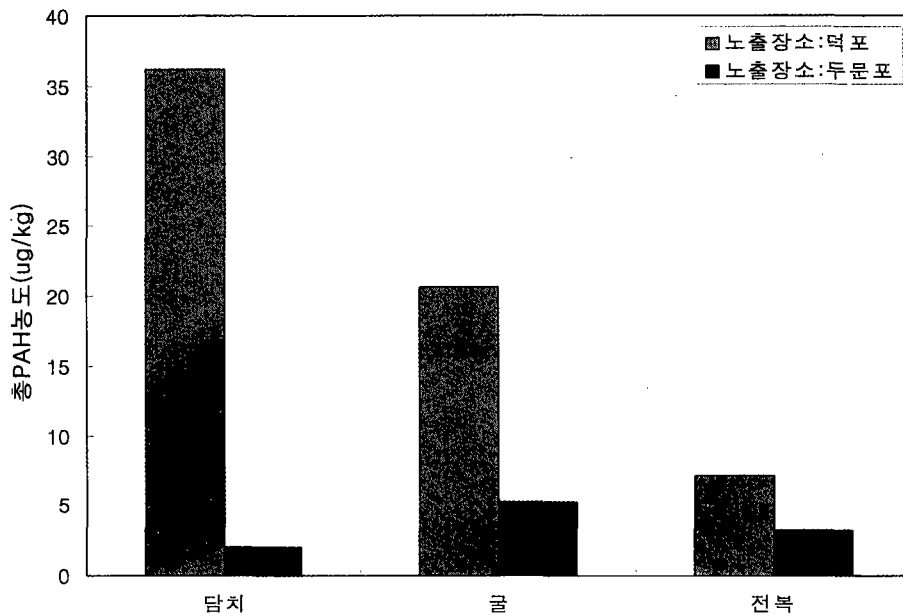


Fig. 9. 덕포, 두문포 간이 수조에서 8주간 사육한 생물체내 농축된 총 PAHs 농도.

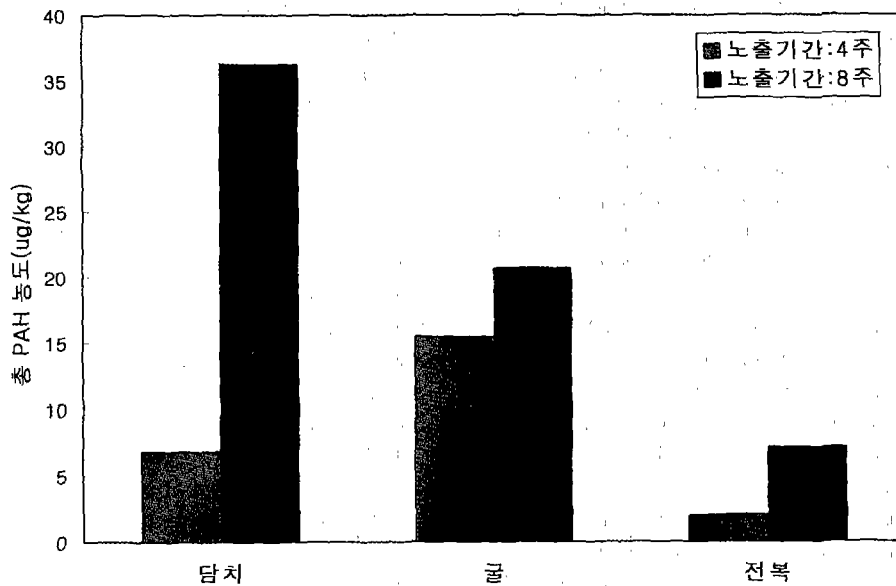


Fig. 10. 덕포 간이 수조에서 4, 8주간 사육한 생물체내 농축된 총 PAHs 농도.

요약 및 결론

1. 유류오염지역에서 사육된 어류의 근육과 간에서의 PAHs를 분석한 결과, 대부분의 PAHs가 근육에 축적됨을 확인하였다. 간에서는 PAHs 노출에 따라 Cytochrome p450 1A와 같은 효소가 생성되어 PAHs를 빠르게 대사함으로써 축적되는 양이 근육에 비해 적은 것으로 추정된다.

2. 담치, 굴, 전복 등 3종의 패류를 덕포와 두문포 현장간이수조에서 사육한 결과 모든 시료에서 PAHs가 검출되었다. 그러나 대조구인 두문포보다는 유류오염지역인 덕포의 패류에서 상대적으로 높은 농도의 PAHs가 분석되어, 유류사고가 발생한 지 3년이 지난 후에도 아직도 덕포지역의 해양은 심각하게 오염되어 있음을 확인하였다.

3. 동일지역에서 서식된 패류라 할지라도, 각 생물종마다 축적된 PAHs의 종류가 달랐으며, 이는 생분해능과 먹이의 차이에 의해 발생된 것으로 추정된다. 또한 PAHs는 노출기간에 비례하여 생물체내에 축적되었으며, 이는 PAHs의 종류별로 서로 다른 BCF(생물농축지수)에 의해 기인된 것으로 추정된다.

이와 같은 연구 결과로부터 유류사고가 발생한

후 오염을 저감하기 위해 다양한 사후처리를 함에도 불구하고 오염해역의 생태계는 쉽게 회복되지 않으며, 오랜 기간동안 인근 생태계에 서식하는 패류에 상당한 수준의 PAHs가 축적되어 이를 식용으로 섭취하는 인간의 건강에 악영향을 미칠 가능성이 있음을 확인하였다. 또한, 국내에서 처음으로 시도하게된 오염 현장 노출 시험 기법, 즉, 육상 간이 수조 노출 방식은 향후 이와 유사한 시험에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

육상 간이 수조 시설 관리 및 생물 사육을 담당 하였던 김민규, 이순애, 이은경, 이지나, 김소정, 류태권, 문성환, 정진애 등에게 감사드립니다. 또한 본 연구가 원활히 진행되도록 많은 도움을 주신 LG-Caltex 정유사, 여수시민단체, 그리고 서울대 이종협 박사에게 감사드립니다.

참 고 문 헌

한국해양연구소, 여수·여천 유류오염 사고지역의 환경 현황조사, 1997.

- Aas E, Baussant T, Balk L, Liewenberg B and Andersen OK. PAH metabolites in bile, cytochrome P4501A and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil exposure; a laboratory experiment with Atlantic cod. *Aquatic Toxicology*, 51 : 241–258, 2000.
- Baumard P, Buszinski H, Michon Q, Garrigues P, Burgeot T and Bellocq J. Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean sea from mussel and sediment records. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 47 : 77–90, 1998.
- Baumard P, Buszinski H, Garrigues P, Sorbe JC, Burgeot T and Bellocq J. Concentrations of PAHs (polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level. *Marine Pollution Bulletin* 36(12) : 951–960, 1998.
- Broman D, Naf C, Lundbergh I and Zebuhr Y. An in situ study of the distribution, biotransformation and flux of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in an aquatic food chain (seston *Mytilus edulis* L., *Somateria mollissima* L.) from the Baltic : an ecotoxicological perspective. *Environ. Toxicol. Chem.* 9 : 429–442, 1990.
- Leonards PEG, Zierikzee Y, Brinkman UA, Cofino WP, Van Straalen NM and Van Hattum B. The selective dietary accumulation of planar polychlorinated biphenyls in the otter (*Lutra lutra*). *Environ. Toxicol. Chem.* 16 : 1807–1815, 1997.
- Lehr RE and Jerina DM. Metabolic activation of polycyclic hydrocarbons, *Archives of Toxicology* 39 : 1–6, 1977.
- Saxton WL, Newton RT, Rorberg J, Sutton J and Johnson LE. Polycyclic aromatic hydrocarbons in seafood from the Gulf of Alaska following a major crude oil spill. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51(4) : 515–518, 1993.
- Sheedy BR, Mattson VR, Cox JS, Kosian PA, Phipps GL and Ankley GT. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons by the freshwater Oligochaete *Lumbricus variegatus*. *Chemosphere* 36(15) : 3061–3070, 1998.
- Varanasi U. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1989.
- Yakoob SN, Saeed T and Al-hashash H. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fish; Exposure assessment for Kuwaiti consumers after the Gulf oil spill of 1991. *Environ. Int.* 20(2) : 221–227, 1994.