

폐플라스틱 재활용을 위한 열분해공정 파생물질의 간독성 평가

신혜순

덕성여자대학교 약학대학

Hepatotoxicity Assessment of Derived Product from Pyrolysis System for Waste Plastic Recycling

Hea Soon Shin

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

ABSTRACT

Recently, waste plastic recycling technology is transforming from incineration system to pyrolysis gasification system which can derive the resources from environmental waste and charge no more environmental burden to nature. The present study was carried out to investigate the potential acute toxicity of derived product of pyrolysis gasification system for recycling of waste plastic by a single oral dose in Sprague-Dawley Rats. In order to evaluate the hepatotoxic effects of derived product of pyrolysis gasification system, activities of serum transaminase were measured in rats.

No related changes in survivals, clinical signs and the ratio of the liver to body weights of rats were monitored. The results showed that the single oral administration of material of pyrolysis system for recycling of waste plastic did not induce any toxic effect at orally single dose level of 0 and 100, 200, 400, 800 mg/kg body weight in rats. We could not find out any significant toxicity induced by single oral administration of material of pyrolysis system for recycling of waste plastic.

Key words : pyrolysis gasification system, waste plastic recycling treatment

서론

NIMBY현상 등으로 매립지 확보가 곤란하고 특히, 농업용 폐플라스틱과 같은 특정 폐기물의 경우에는 대부분이 그대로 버려져 농작물의 성장을 방해할 뿐만 아니라 토양중에 수분과 공기의 유통을 방해하고 유용한 미생물의 번식을 저해하는 등으

로 토양을 황폐화시켜 농업생산성이 크게 저하된다. 또한 지하수를 오염시키고 강이나 바다로 흘러가 수중 생태계를 파괴하는 주범이 되기도 한다 (Ambrus, 1986; Wolf, 1992; Tomoko, 1995; Turcani, 1999). 통계청의 발표에 의하면 2001년에 농업용 폐플라스틱은 121,000 ton (51%)이 수거되었고 117,000 ton (49%)이 방치되었다. 그러나 이러한 폐기물 중에는 국내에 부존자원이 전혀없는 자원이 될만한 물질들을 포함하고 있어 재활용이 가능한 물질들을 분리해냄으로써 친환경적 자원화에 기여할 수 있다 (Ambrus, 1986; Lee, 1991).

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-2-901-8498, E-mail: hsshin@duksung.ac.kr

페플라스틱을 재활용하여 자원화 할 수 있고 소각재로 인한 매립지난과 국토오염을 방지할 수 있다는 장점때문에 1988년 이후부터 우리나라도 직접소각방식에서 환경부하를 발생시키지 않는 열분해 (pyrolysis) 가스화 용융기법이 시도되고 있다. 소각 잔사의 발생이 적으므로 2차 공해물질의 발생량이 적고 폐열의 이용이 보다 용이하다는 장점이 있으나, 폭발위험성이 있고 타르의 생성으로 가스 유도관이 막히는 문제가 지적되고 있다. 이러한 단점을 개선하고자 건류(dry distillation) 과정을 거쳐 저산소 속에서 고온(500~1,000°C)으로 가열하고 수소, 메탄, 일산화탄소, 이산화탄소로 가스화되며 물질들을 회수하는 유기성 폐기물의 용융공정을 도입하였다. 이 공정에서 재생된 재활용제품은 하수관이나 건설재료로 재활용이 가능해지며 최근들어 페타이어나 폐합성수지류의 처리에 이용되고 있는 방식이다 (Lu, 1980; Ho, 1986; Martin, 1991; Stahlberg, 1994).

열분해 용융가스화 시스템은 농업폐기물로 인한 토양오염과 내분비 장애물질 배출문제에 대한 대책마련에 기여할 수 있다고 판단되나 친환경 물질 생산산업에 대한 생물학적 영향측면에서의 평가가 필수적으로 요구된다. 그 중에서 중요한 연구분야 중 하나가 페플라스틱과 열분해 용융가스화 파생물질의 유해성 비교분석 및 생체에 대한 위해성평가 등을 시험하여 사용가능성을 확인해야만 한다 (Plaa, 1982; Ratheiser, 1991). 즉, 페플라스틱을 처리하는 과정에서 파생되는 물질과 재활용 재생품에 대한 잔류농약 시험분석 등 인체 유해성에 대한 연구를 들 수 있다. 본 연구에서는 페플라스틱을 재활용하기 위한 열분해 용융공정에서 생성된 재생품의 생체 유해성을 평가하기 위한 일차적인 연구로서 단회 경구 독성 시험을 시행하였고 간병변을 평가하는 지표로서 혈청중 GOT 및 GPT의 활성을 사염화탄소를 비교독성물질로 사용하여 측정하였다.

재료 및 방법

1. 시험물질

시료는 CDFA (California Department of Food and Agriculture)에서 사용하는 다성분 동시추출법을

수정하여 추출 정제하였다. 시료를 잘게 썰어서 50 g을 취하여 500 mL 플라스크에 넣고 아세토니트릴 300 mL를 가하여 ultrasonic cleaner에서 30분간 추출한 다음 다시 아세토니트릴 100 mL로 세척하였다. 여액을 500 mL separating funnel에 옮기고 증류수 200 mL와 E & K filter로 NaCl 50 g을 넣은 유리병에 여과한 다음 잘 흔들어 방치하였다. *n*-hexane 100 mL와 50 mL로 2회 추출하여 유기용매 층과 물 층이 분리되면 추출한 *n*-hexane 층을 합하여 무수 Na₂SO₄로 수분을 제거하고 rotary vacuum evaporator로 50°C 수욕 상에서 증발 농축하여 정제하였다 (Lee, 1991).

2. 시험동물

4주령 체중 200~230 g Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 (주)대한바이오링크로부터 공급받아 군당 6마리 이하로 수용하였다. 실온에서 1주일 이상 사육하여 실험실 환경에 적응시킨 뒤 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 실험에 사용하였다. 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용하여 군 분리를 실시하였다. 사료는 실험동물용 고품사료를 자유 섭취시켰으며 물은 충분히 공급하였다.

3. 간 중량/체중측정 및 일반증상 관찰

예비실험을 통하여 설정한 최고 용량군의 시험 물질을 olive oil에 현탁하여 조제하였고, 이를 다시 단계별로 희석하면서 아래 용량으로 조제하였다. 투여량은 최고 용량을 800 mg/kg으로 하고 공비 2의 간격으로 아래의 4용량 400, 200, 100 mg/kg을 설정하였다. 시험물질의 투여는 하룻밤 절식시킨 흰쥐에게 단회 경구투여 하였으며 용량은 투여 당일 측정된 체중을 기준으로 산출하였다.

시험동물의 체중을 측정한 다음 해부하여 간의 중량을 측정하고 간 중량/체중(g/g)의 비를 산출하였다. 간장은 전체를 절취한 후 0.9% 생리식염수로 잔여 혈액을 완전히 제거한 뒤에 여과지로 생리식염수를 모두 흡수시키고 무게를 측정하였다. 모든 시험 동물에 대하여 투여 일에는 투여후 6시간 동안 매 시간, 투여 익일부터 14일까지는 매일 1회 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다. 14일간 일반상태의 변화와 중독증상,

사망동물의 유무 및 시험물질에 의해 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였다.

4. 혈청 transaminase 활성 측정

웅성 흰쥐에 olive oil만을 투여하여 정상대조군으로 하였고, 급성 간 독성을 유도한 비교대조군은 사염화탄소를 olive oil (0.4 mL/kg)에 희석하여 Towner 등과 같은 복강 내 투여 방법으로 급성 간 장애를 유발시켰고, 18시간가량 절식시킨 후 치사하였다(Towner, 2000). 혈청중 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase) 활성도 측정방법은 사염화탄소 투여 18시간 후에 실험동물을 치사시킨 후 복부 정중선을 약간 오른쪽으로 절개하여 심장에서 채혈한 뒤, 4°C에서 30분 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 영동제약 kit를 사용하여 혈청 중의 GOT 및 GPT의 활성변화를 Reitman-Frankel의 방법에 의하여 측정하였다(Reitman, 1957).

5. 조직병리학적 검사

시험 종료 후 모든 시험 동물군의 간장을 10% 중성 완충 포르말린액에 고정하였다. 고정된 조직을 파라핀 포매과정을 거쳐 microtome을 이용하여 4 µm 두께의 조직절편을 제작한 다음 Masson's Trichrome 염색과 Hematoxylin과 Eosin 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

6. 통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차로 나타내었고, 각 군 간의 비교는 Student's *t*-test를 사용하였으며, 대조군과 비교하여 *p*값이 5% 미만일 때를 통계학적 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

생체 간 독성의 평가방법으로는 간 병변의 표면적인 변화상태 관찰을 비롯하여 시험동물의 체중과 간 중량의 변화를 비교 측정하여 알아보는 것이 가능하다. 또한 간조직의 손상정도는 간으로부터 혈액으로 방출된 효소활성도를 측정하는 것이

가장 유용한 방법이다. 간 세포의 괴사나 간 조직의 파괴 및 간암의 진행 정도에 따라 혈청 GOT나 GPT 등의 효소활성도 측정치는 상승하게 되며 높은 효소활성도를 나타내고 병변의 지표가 된다. 독성비교물질로서 사염화탄소는 cytochrome P450에 의해 독성이 강한 대사물이 되어 결국 간 세포의 지질과산화물을 일으키고 중심정맥 주위에 간 세포의 지방변성 및 괴사를 촉진하여 간 장애를 유발한다. 이러한 대사물이 간 microsome의 막단백과 강하게 결합하여 막의 지질과산화 반응을 촉진하여 장애를 일으킴으로써, 단백질 합성을 억제하고 혈중으로 GOT와 GPT를 유리시켜 혈청의 transaminase 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다 (Sheweita, 2001).

1. 간 중량/체중 및 일반증상 변화

모든 시험동물의 체중은 시험물질 투여개시 전과 투여 후 1, 3, 7 및 14일에 측정하였다. 체중변화를 관찰한 결과, 최저용량인 100 mg/kg 투여군의 시험동물은 전 시험기간동안 정상적인 체중증가를 나타내었다. 반면, 800 mg/kg 이상 고용량투여군의 시험동물에서는 투여 후 1일째의 체중이 최저용량군에 비해 체중증가의 억제가 나타났으며, 투여 후 2일째부터는 정상적인 체중증가가 관찰되었다. 시험 종료 후 치사하여 간장중량을 측정한 결과, Table 1에 나타난 바와 같이 시험물질을 0, 100, 200, 400 및 800 mg/kg 용량으로 경구투여시 사염화탄소를 투여한 대조군은 체중과 간중량이 크게 증가하였으나 재활용 재생품 투여군과 폐플라스틱 물질 투여군 사이에서는 유의할 만한 체중비 차이를 나타내지 않았다. 폐플라스틱 물질 800 mg/kg 투여군의 간 중량 6.62 g에 비하여 재활용 재생품 800 mg/kg 투여군은 간 중량 6.32 g으로 정상대조군 5.89 g과 유사한 정도의 결과를 나타내었다.

일반증상의 관찰시 시험물질의 투여에 기인한 이상 증상은 자발운동저하 (decrease of locomotor activity), 호흡수 감소 (decreased respiration rate), 유루 (lacrimation) 및 복외위 (prone position)였으며, 100 mg/kg 이상 투여군의 동물에서 투여당일에만 용량의존적으로 관찰되었고, 생존동물의 경우 투여 익일부터는 이상 소견이 관찰되지 않았다. 모든 시험 동물에 대하여 투여일에는 투여후 6시간 동안

Table 1. The effects of recycling product or waste plastic on the body and liver weight changes in rats

Treatment Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Liver weight (g)	Body/ Liver wt.	
Untreated	285.5±6.56 [#]	5.89±1.81 [#]	2.06±3.76	
CCl ₄	286.6±4.23*	7.24±4.11*	2.52±1.35*	
Waste plastic	100	280.4±9.28	6.75±4.40	2.43±3.52
	200	276.8±0.67	6.29±7.60	2.27±4.11
	400	278.3±3.43	6.66±5.68	2.58±2.88*
	800	276.7±0.21*	6.32±7.32*	2.28±4.49
Recycling product	100	281.0±9.22	6.75±1.40	2.47±2.59
	200	277.3±3.73	6.50±4.35	2.45±3.53
	400	282.9±9.8	6.75±4.21	2.39±4.78
	800	279.3±3.69*	6.62±5.04*	2.36±3.92

[#] The results presented are mean ± S.E. (n = 6).

* Significantly different from the untreated group (p < 0.01).

매 시간, 투여 익일부터 14일까지는 매일 1회 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다. 14일간 일반상태의 변화와 중독증상, 사망동물의 유무 및 시험물질에 의해 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였다. 시험종료후 모든 생존동물을 경추탈골법으로 처사시킨 후 회복하여 육안적으로 모든 내부장기의 이상유무를 관찰하였다.

시험물질 경구투여 후 14일째에 실시한 시험동물의 부검시 모든 투여군의 동물에서 어떠한 이상소견도 관찰되지 않았다. 재활용 재생품의 경구투여에 의한 독성을 관찰하기 위하여 100, 200, 400 및 800 mg/kg 용량으로 군당 6 마리씩의 흰쥐에게 1회 경구투여한 후 14일간의 사망률, 일반증상, 체중변화를 관찰하였다. 사망동물은 100 mg/kg 이상 투여군에서 투여 후부터 시험종료시까지 관찰되지 않았다. 일반증상을 관찰한 결과 100 mg/kg 이상의 투여군에서 투여당일에만 일시적으로 자발운동저하, 호흡수 감소, 유루 및 복외위 등의 전신적인 독성소견들이 용량의존적으로 나타난 것으로 보아 시험물질의 투여에 기인된 독성증상으로 사료된다.

2. 혈청 transaminase 변화

간으로부터 혈액으로 방출된 효소의 활성측정은 간 손상 연구에 있어서 가장 유용한 방법 중의 하나이다. 특히, 혈청 중 GPT 및 GOT의 활성상승은

간 손상으로 인한 간 세포의 괴사와 간 조직의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타내는 것이므로 간 세포의 변성 및 괴사의 지표가 된다 (McCay, 1984).

Fig. 1과 Fig. 2의 그래프는 폐플라스틱 및 재활용 재생품의 간독성을 평가하기 위하여 시험물질을 0, 100, 200, 400 및 800 mg/kg 용량으로 경구투여한 후 혈청내 간장 손상지표인 GOT와 GPT를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다. 오른쪽에 표시한 폐플라스틱물질 투여군에 비교하여 왼쪽에 표시한 재활용 재생품 투여군의 혈청 GOT와 GPT 활성도 수치가 100 mg/kg 용량군 이상에서 저하된 결과를 나타내었다. 이러한 결과들은 폐플라스틱 성분을 투여한 시험군보다 재활용 재생품 성분을

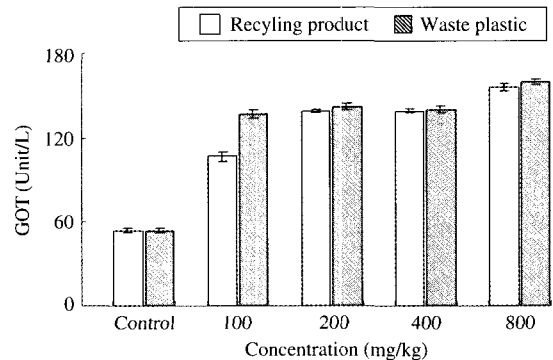


Fig. 1. Effect of recycling product or waste plastic on the serum GOT activities in rats. The results presented are means ± S.D. (n = 6).

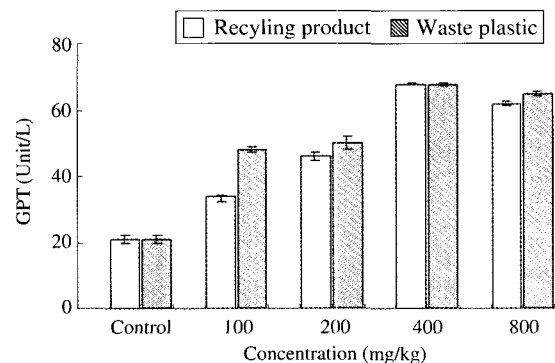


Fig. 2. Effect of recycling product or waste plastic on the serum GPT activities in rats. The results presented are means ± S.D. (n = 6).

투여한 시험군의 외부독성물질 투여에 의한 생체 독성의 영향과 생체에 가해진 스트레스 강도가 작았음을 의미하는 것이다.

Fig. 1에 나타낸 바와 같이 즉, GOT 활성은 사염화탄소를 투여하지 않는 정상군은 52.4 ± 2.63 unit/L 인 것에 비하여, 사염화탄소 투여로 간독성이 유발된 대조군은 178.61 ± 9.25 unit/L로써 약 3.4배가 증가하였다. 혈청생화학 수치가 어떠한 처치도 하지 않은 정상군에 비하여 유의성있게 증가하여 간장해가 유발되었음을 확인하였다. 재활용 재생품을 0, 100, 200, 400 및 800 mg/kg 용량으로 경구투여시 경미한 차이로 폐플라스틱 물질 투여군보다 GOT 활성증가를 저하시킨 결과를 나타내었다. GPT 활성도 측정 결과에서도 사염화탄소 투여로 인하여 증가된 GPT 활성은 정상군이 26.8 ± 1.81 unit/L 인 것에 비해 사염화탄소의 투여로 간독성이 유발된 대조군은 176.9 ± 4.11 unit/L로 약 6.6배 증가하였다. 재활용 재생품을 0, 100, 200, 400 및 800 mg/kg 용량으로 경구투여시 모든 폐플라스틱 물질 투여군보다 GPT 증가수치를 감소시킨 효과를 나타내었

다(Fig. 2).

3. 조직병리학적 변화

Fig. 3의 조직 병리학적 검사결과와 사진에서 보이는 바와 같이, 어떠한 처치도 하지 않은 정상군에 비교하여 CCl₄를 투여하여 간독성을 유발시킨 대조군은 염증과 출혈 및 apoptotic 괴사 등 복합증상을 보이며, 폐플라스틱물질 투여군은 간조직의 경화가 보이고 출혈증상이 관찰되는 반면, 재활용 재생품군은 경미한 손상을 보일 뿐 정상 간조직과 유사한 상태가 관찰되었다.

이상과 같은 결과로 볼때, 폐플라스틱물질 및 재활용 재생품 성분을 100 mg/kg 이상 투여군의 암수 동물에서 투여 후 1일째에 관찰된 일시적인 체중 증가의 억제 또한 시험물질의 투여에 기인된 독성 영향으로 사료되며, 체중증가의 억제 역시 투여후 2일째부터는 나타나지 않았다. 투여 후 2일째부터는 일반증상의 관찰결과에서 어떠한 독성소견도 인정되지 않은 것으로 보아 본 시험물질의 단회 경구 투여로 인한 폐플라스틱물질 투여군 및 재활

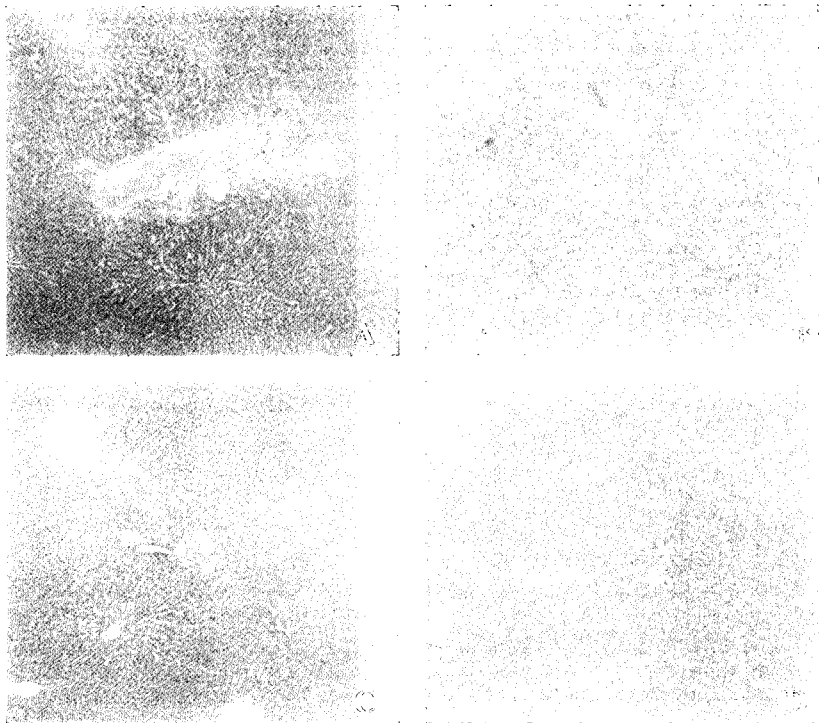


Fig. 3. Histopathology of liver after treatment with [A] CCl₄, [B] untreated, [C] waste plastic, [D] recycling product (H & E × 400).

용 재생품군의 급성독성은 발견되지 않았다. 한편, 시험동물의 부검시 모든 투여군의 시험동물 내부 장기에서 어떠한 독성소견도 인정되지 않았으며 경미한 차이를 보이는 간장조직 검경결과로 보아 본 시험물질의 단회 투여로 인한 폐플라스틱물질 투여군 및 재활용 재생품군의 급성독성은 없는 것으로 사료된다. 또한, 시험동물에 있어서 폐플라스틱 및 재활용 재생품의 단회 경구투여 결과는 자발운동저하, 호흡수 감소, 유루, 복외위, 체중의 증가 억제 및 특이적인 일반증상 소견은 관찰되지 않음을 확인하였다.

현재 재활용 재생품의 위해성 연구로서 폐플라스틱물질과 재활용 재생품의 정확한 조성분석과 농약표준품 결과를 보충하는 한편 재활용 재생품의 잔류농약 검사와 잔류량 검사를 시행하는 등 계속적인 연구를 진행하고 있다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 덕성여자대학교 연구비지원에 의해 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Ambrus A. Application of multiresidue procedures in pesticides residues Analysis, *Pure & Appl. Chem.* 1986; 58 (7): 1035-1062.
- Agius L, Meredith EJ and Sherratt HS. Stereospecificity of the inhibition by etomoxir of fatty acid and cholesterol synthesis in isolated rat hepatocytes, *Biochem. Pharmacol.* 1991; 9: 1717-1720.
- Blanchette-Mackie EJ, Dwyer NK and Amende LA. Cytochemical studies of lipid metabolism: immunological probes for lipidprotein lipase and cholesterol, *Am. J. Anat.* 1989; 185: 255-263.
- Towner RA, Hashimoto H and Summers PH. Non-invasive in vivo magnetic resonance imaging assessment of acute aflatoxin B₁ hepatotoxicity in rats, *Biochim Biophys. Acta*, 2000; 1475: 314-320.
- Collier GR, Traianedes K, Macaulay SL and O'Dea K. Effect of fatty acid oxidation inhibition on glucose metabolism in diabetic rats, *Horm. Metab. Res.* 1993; 25: 9-12.
- Ho W, Tutwiler GF, Cottrell SC, Morgans DJ, Tarhan O and Mohrnacher RJ. Alkylglycidic acids: potential new hypoglycemic agents, *J. Med. Chem.* 1986; 29: 2184-2190.
- Lu AYH and Miwa GT. Molecular properties and biological functions of microsomal epoxides hydrolase, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1980; 20: 513-521.
- Martin C, Odeon M, Cohen R and Beylot M. Mechanisms of the glucose lowering effect of a carnitine palmitoyl transferase inhibitor in normal and diabetic rats, *Metabolism* 1991; 40: 420-427.
- McCay PB, Lai EK, Poyer JL, Dubose CM and Jansen EG. Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism, *J Biol. chem.* 1984; 259: 2135-2143.
- Plaa GL and Hewitt WR. Principles and methods of toxicology, Raben Press. 1982; pp. 404-445.
- Ratheiser K, Schneeweiss B, Waldhausl W, Fasching P, Korn A, Nowotny P, Rohac M and Wolf HP. Inhibition by etomoxir of carnitine palmitoyltransferase I reduces hepatic glucose productuin and plasma lipids in non-insulin-dependent diabetes mellitus, *Metabolism* 1991; 40: 1185-1190.
- Reitman S and Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.* 1957; 28: 56-60.
- S Mark Lee, Michael L Papathakis, Hsiao-Ming C Feng, Gray F Hunter and Joyce E Carr. Multipesticide residue method for fruit and vegetables, *Fresenius J. Anal. Chem.* 1991; 339: 376-383.
- Sheweita SA, Abd El-Gagar M and Bastawy M. Carbon tetrachloride-induced changes in the activity of phase II drug-metabolizing enzyme in the liver of male rat role of oxidants, *Toxicology* 2001; 165: 217-224.
- Stahlberg R and Feuerriegel U. Thermoselect-energy and raw materials recovery, part 1: process foundation for the continuous utilization of waste, *Chem. Technik* 1994; 46: 257-266.
- Tomoko Itoyama. Simple and rapid systemic determination of various pesticides in brown rice by gas chromatography, 1995; 36(4): 516-524.
- Turcani M and Rupp H. Modification of left ventricular hypertrophy by chronic etomixir treatment, *Br. J. Pharmacol.* 1999; 126: 501-507.
- Wolf H P. Possible new therapeutic approach in diabetes mellitus by inhibition of carnitine palmitoyltransferase 1(CPT1), *Horm. Metab. Res. Suppl.* 1992; 26: 62-67.