

# 조피볼락 (*Sebastes schlegeli*)에서 다환성방향족탄화수소 fluoranthene의 축적과 배설

박 관 하

군산대학교 수산생명의학과

## Accumulation and Depuration of Fluoranthene, a Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, in Rockfish *Sebastes schlegeli*

Kwan Ha Park

Department of Aquatic Life Medicine, Kunsan National University

### ABSTRACT

Rockfish *Sebastes schlegeli* was exposed to fluoranthene, a ubiquitous polycyclic aromatic hydrocarbon, at 1 and 10 µg/L for 4 weeks followed by depuration period of 8 weeks. Although the fluoranthene in the plasma reached only 1.8~1.9 times seawater concentration, it was 6.5~15.7 times higher in the liver, spleen and bile indicating efficient accumulation in the lipid-containing body tissues. When the exposed fish were then maintained in clean water, rapid fluoranthene decline occurred in the initial 2 weeks followed by a rather slow phase. This result suggests that fluoranthene accumulates efficiently provided the existence in the culture medium, but the contaminant disappears rapidly once the chemical source is removed. The fluoranthene residue in fish tissues may be a good indicator for recent PAHs exposure.

**Key words :** rockfish, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), fluoranthene, HPLC-fluorescence detection

### 서 론

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)는 인간 활동에 필수적으로 수반되는 석유화학물질의 소비와 유출, 가정 및 공장폐기물 방출, 우천시의 육상 유입수 등에 함유되어 있어 수계로 직접 유입되는 오염물질 (Neff, 1985)이다. 또한 수계에 존재하는 PAHs의 상당량(약 22%)은 대기중의 낙진을 통해서도 이루어진다고 추정 (Eisler, 1987)하고 있다. 모

든 PAHs는 지용성이 강해 위장관계에서 신속히 흡수되어 지방을 함유한 조직에 축적되는 경향이 있으며 수생생물에 대한 독성은 분자량이 작을수록 강하게 나타난다 (Eisler, 1987).

PAHs 화합물의 생물내 축적이나 배설에 대한 연구는 등각류 (Van Hattum and Cid Montanes, 1999), 파리붙이류 (Bell *et al.*, 2004), 환형동물 (Ma *et al.*, 1995; Selck *et al.*, 2003), 담치류 (Elder and Dresler, 1988; Richardson *et al.*, 2005), 게 (Nakata *et al.*, 2003), 어류 (Spacie *et al.*, 1983; Jonsson *et al.*, 2004) 등 다양한 수생생물을 대상으로 수행되어 왔다. 일반적으로 PAHs 농축경향은 분자량의 크기 및 *n*-octanol/water partition coefficient와 양의 상관관계

※ To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-63-469-1885, Fax: +82-63-463-9493,  
E-mail: khpark@kunsan.ac.kr

가 있으나, 배설속도는 반대로 이들 변수가 높을수록 느린 것으로 알려져 있다.

PAHs가 어류에서 암 (Baumann, 1998), 간장손상 (Chang *et al.*, 1998), 염증성 상피손상 (Oris and Giesy, 1985), 방어기능저하 (Hutchison *et al.*, 2003) 등을 유발하고 있으며 어류에서의 PAHs의 노출경력은 조직중의 농도 (Page *et al.*, 2004)나 약물대사 효소의 증가 (Stegeman and Hahn, 1994) 등 직·간접적 지표를 측정함으로써 평가하고 있다. 그러나 어류는 오염현장에서 도피하는 능력이 비교적 뛰어나기 때문에 다른 이동성이 작은 생물종과는 달리 오염물질에 의한 노출을 회피할 수 있어서 (Purdy, 1989) PAHs의 축적이나 배설에 관한 연구는 어류 이외의 동물종에서 주로 행하여지고 있다.

본 연구에서는 다른 PAHs들 보다 해양환경에서 빈번히 발견되는 물질인 fluoranthene (Hoffman *et al.*, 1984)을 낮은 농도로 사용하여 4주 동안 노출시 나타나는 축적 및 신선한 해수로 옮긴 뒤 관찰되는 배설양상을 검토하고자 하였다. 시험어류로는 아직 PAHs의 영향이나 흡수 및 소실에 관한 정보가 전혀 없지만, 우리나라의 인공 어류양식산업에서 중요한 위치를 점하고 있을 뿐 아니라 근해에서 많이 서식하고 있는 조피볼락에 장기간 노출시킨 후 어떤 속도로 체내 농도가 변화하는가를 평가하였다.

## 연구 방법

### 1. 실험생물

충남 보령지역의 치어양식장에서 구입한 조피볼락 (*Sebastes schlegeli*, 체중: 60~90 g)을 사용하여 실험하였다. 15°C로 유지한 유리수조 (90 L)에 해수를 넣고 어류를 5마리씩 수용하여 폭기하면서 사육하였다. 실험수는 매일 전체의 1/4량을 신선한 해수로 교환하였다. 실험기간 중 배합사료 (Purina Korea)를 체중의 3% 정도로 급여하였다. Fluoranthene (TCI, Tokyo, Japan)을 acetone에 높은 농도로 용해한 후 사육해수에 가해 2개의 농도, 즉 1 및 10 µg/L의 농도가 되도록 조절하였다. 어류를 시험농도에 4주간 노출시킨 뒤 fluoranthene을 함유하지 않은 신선한 해수로 바꾸어 6주간 사육하면서 정

해진 싯점에 어류를 포획하여 MS-222 (50 mg/L)로 마취하고 혈액, 간장, 비장 및 담즙을 분리하였다. 혈액은 heparin 처리된 주사기로 미부혈관으로 혈액을 채취, 원심분리 (3,500 × g, 2°C, 30분) 후 혈장을 분석에 사용하였다. 시험기간 중 광에 의한 fluoranthene의 파괴를 최소화하기 위해 검은 비닐막으로 수조를 가렸다.

### 2. Fluoranthene의 추출

Fluoranthene을 추출하기 위한 방법은 James (1986) 및 Lawrence (1986)의 방법을 일부 변형하여 사용하였다. 즉, 조직 시료는 잘게 세절한 후, 또 혈장과 담즙은 그대로 H<sub>2</sub>O: methanol (1:9) 혼액 30 mL에 KOH 3.37 g을 가하여 4시간동안 환류시켜 비누화 (saponification)하였다. 이 시료를 실온에서 4시간 방치하고 20% methanol 40 mL을 가하여 분액여두에 넣어 cyclohexane 80 mL로 2회 fluoranthene을 추출하였다. 추출액을 1~2 mL가 되도록 rotary evaporator로 농축한 뒤 20 g의 silica gel이 충전된 column에 loading하여 불순물을 흡착함으로써 clean-up과정을 거쳤다. Clean-up을 위해 시료가 흡착된 column을 cyclohexane 100 mL로 유출시켜 유출액을 rotary evaporator로 1~2 mL까지 농축한 다음 N<sub>2</sub> blow로 완전히 건조시켰다. 시료에 acetonitrile 1 mL를 가하여 녹인 후 HPLC분석에 사용하였다.

### 3. HPLC-fluorescence detection을 이용한 fluoranthene의 분석

HPLC를 이용한 분석에는 Young-Lin Solvent Delivery System (M930 model, 영린기기), Waters Fluorescence Detector (474 model), Supelco PAH column (C<sub>14</sub> reversed phase, 15 cm × 4.6 mm, 5 µm), Young-Lin column heater (CTS30 model), Reodyne manual injector (loop 50 µL)로 구성되었다. Detector는 excitation 270 nm, emission 400 nm로 설정하였으며, mobile phase는 유속 1.5 mL/min으로 A (acetonitrile: water, 1:2)로 부터 B (100% acetonitrile)까지를 35분에 걸쳐 linear하게 증가시키는 gradient로 column을 40°C로 유지하면서 유출시켰다. 이 분석법에 의한 fluoranthene의 detection limit은 0.2 µg/L였다.

## 결과 및 고찰

### 1. Fluoranthene의 4주 노출에 의한 조직 중의 축적성

Fluoranthene을 1 µg/L의 농도로 노출시켰을 때 혈장에서는 2주에 이미 최고농도에 도달하였으며 4주 후의 농도도 2주와 같았다(Fig. 1). 이 현상은 높은 노출농도인 10 µg/L에서도 동일하게 나타났다(Fig. 2). 따라서 노출농도에 상관없이 4주 후에는 혈장 농도가 평형상태에 도달한 것으로 판단된다. 한편 간장과 비장의 경우에는 2주보다는 4주 후의 평균농도가 더 증가하는 경향이 있어서 4주에도 혈장 농도가 평형상태에 아직 도달하지 않은 듯하다. 한편, 담즙에서는 1 µg/L에서는 4주 후에 2주보다 더욱 증가하였지만 10 µg/L에서는 더 증가하지 않았다.

해수중의 화학물질 농도에 대비한 조직 중의 농도는 화학물질이 조직 중에 축적되는 효율을 지시하는 지표이다. Fluoranthene을 4주간 노출한 후에 혈장 중의 농도는 1 µg/L와 10 µg/L에서 공통적으로 해수농도의 2배가 이하의 농도에 도달하였다(Table 1). 그러나 간장과 비장에서는 모두 해수의 10이상의 농도에 도달해 상당한 축적성이 있음을 시사한다. 담즙에서의 농도는 간장과 비장의 농도보다는 낮았지만 해수농도의 6.5배 이상에 달하였다.

PAHs로 오염된 환경에서 채취한 담치(Baumard *et al.*, 1999), 어류(Page *et al.*, 2004), 환형동물(Selck *et al.*, 2003) 등에서 여러 종류의 PAHs들이 검출되며, 그 중에서도 fluoranthene의 농도는 다른 PAHs들보다 농도가 높다고 보고하고 있다. 이는 본 연구에서 발견된 조직중의 높은 농도, 특히 간

장 및 비장의 경우와 동일한 맥락의 결과로 판단된다.

PAHs 들은 비교적 신속히 어류에 의해 대사되기 때문에 높은 지용성에서 예상되는 것 보다는 축적성이 낮다(Varanasi *et al.*, 1989). 이 연구에서도 담즙 중의 fluoranthene의 농도가 간장이나 비장에서 보다 낮게 측정되었다. 이는 어류에서 PAHs는 상당히 효율적으로 배설되며, 어류 담즙에서 발견되는 PAHs의 상당부분은 이미 대사를 통해 화학적 변화가 나타난 형태(hydroxylated PAHs)이기 때문(Escartin and Porte, 1999)에 parent form의 fluoranthene만을 분석한 이 연구에서는 담즙 fluoranthene의 농도는 상대적으로 낮았을 것으로 생각된다.

### 2. Fluoranthene의 8주 동안의 배설

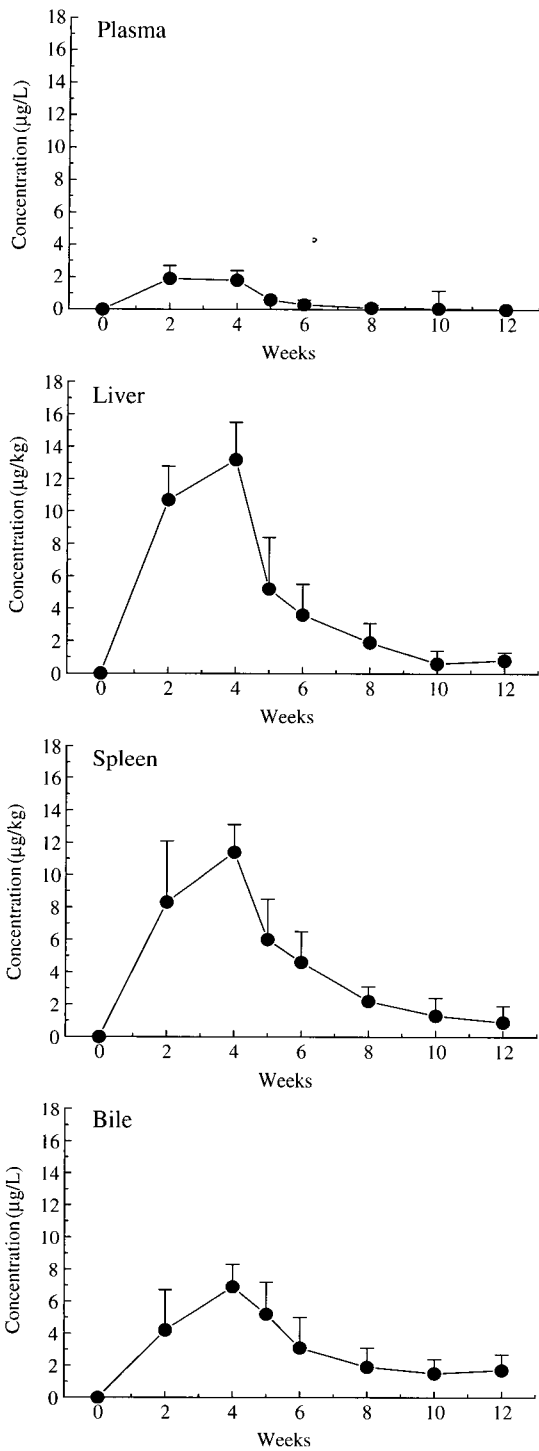
4주 동안 축적된 fluoranthene은 깨끗한 해수에서 신속히 소실되기 시작하였으며, 모든 조직에서 신선한 해수로 교체한지 1주만에 처음의 50% 정도의 수준으로 급격히 감소하였으며, 그 이후에는 감소속도가 점점 줄어드는 경향을 보여주었다. 또한 그 감소형태는 1 µg/L (Fig. 1)의 노출과 10 µg/L (Fig. 2) 노출의 경우 거의 유사한 경향을 보여주고 있다. 이는 10 µg/L의 노출의 결과 얻어지는 조직 중의 농도수준은까지는 어체가 충분히 배설할 능력이 있음을 의미한다.

각 장기별로 8주간의 소실정도를 비교하기 위한 지표로서 초기농도 대비 8주후농도( $C_{\text{initial}} : C_{8\text{week}}$ )을 계산하였을 때 혈장, 간장 및 비장에서는 초기농도의 1/10 이하의 수준으로 노출농도에 관계없이 감소함을 발견하였다(Table 1). 그러나 담즙에서는 그 초기의 20~30% 정도의 감소밖에 없어 소실효율이 담즙에는 낮은 것이 발견된다. 이는 아마도

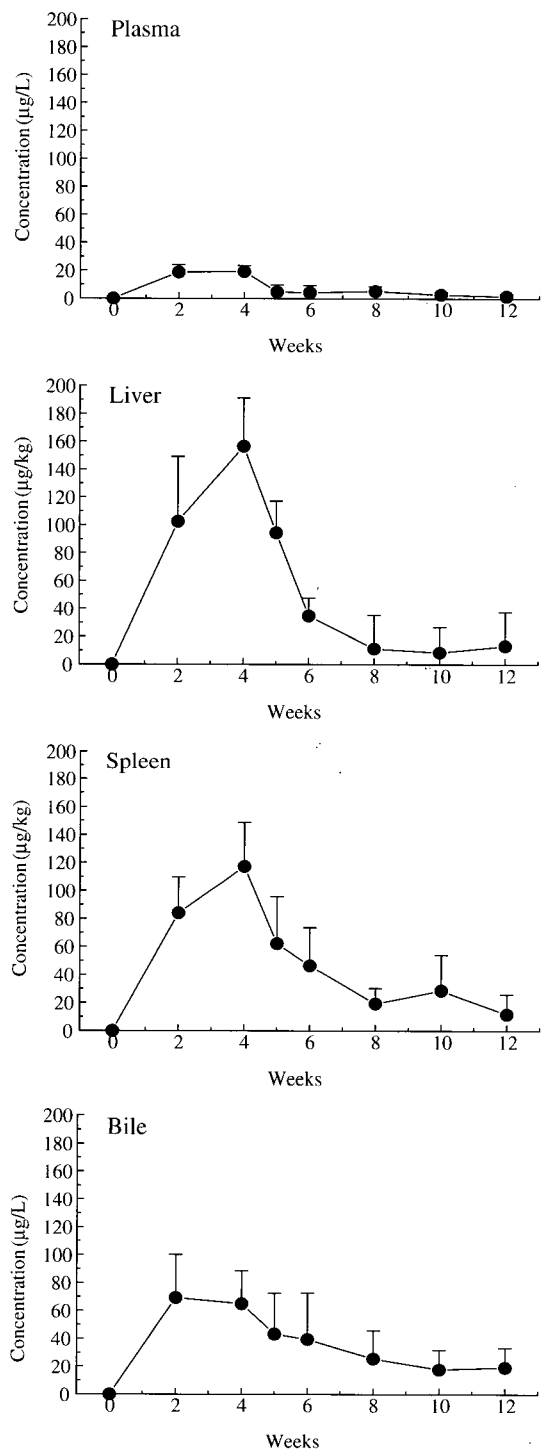
**Table 1.** Bioconcentration factor (tissue:water ratio after exposure) and depuration efficiency ( $C_{\text{initial}} : C_{8\text{week}}$ ) of fluoranthene in 4 week concentration-8 week depuration study design

	Fluoranthene exposure (µg/L)	Tissue			
		Plasma	Liver	Spleen	Bile
Bioconcentration factor	1	1.8±0.6	13.2±2.3	11.4±1.7	6.9±1.4
	10	1.9±0.4	15.7±3.5	11.7±3.1	6.5±2.4
Depuration efficiency	1	∞*	16.5±4.4	12.7±3.1	4.1±1.7
	10	12.0±3.4	11.9±4.2	10.0±2.8	3.4±0.6

\*Fluoranthene was not detected after 8-week depuration Mean±S.E.M. of 5 fish.



**Fig. 1.** Fluoranthene concentration of tissue exposed at 1 µg/L for 4 weeks followed by 8-week depuration period. Mean ± S.E.M. of 5 fish.



**Fig. 2.** Fluoranthene concentration of tissue exposed at 10 µg/L for 4 weeks followed by 8-week depuration period. Mean ± S.E.M. of 5 fish.

조피볼락에서 담즙이 fluoranthene의 주 배설경로이기 때문에 조직으로부터 배설을 위해 이동하는 fluoranthene과 그 대사물이 담즙으로 쇄도하기 때문에 나타나는 현상이 아닌가 생각한다. 조피볼락에서 PAHs의 배설경로에 대해서는 연구된 바가 없지만, 몇몇 어종에서는 간장을 통한 담즙으로의 배설이 중요한 소실경로(Varanasi *et al.*, 1989)로 밝혀져 있다.

## 결 론

환경중에서 흔히 발견되는 다환성방향족탄화수소(PAHs)의 하나인 fluoranthene을 1 및 10 µg/L의 농도로 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)에 4주간 노출하여 체내에 축적시킨 뒤에 깨끗한 해수에서 8주간 유지하면서 농도소실이 일어나는 양상을 관찰하였다. 4주간 fluoranthene 농축과정에서 혈장 중 농도는 해수중의 농도의 1.8~1.9배 정도로 밖에 상승하지 않았으나 간장, 비장 및 담즙중의 농도는 6.5~15.7배로 증가하였다. 이는 어체 조직내로 fluoranthene이 잘 축적되는 것을 의미한다. 깨끗한 해수에서 처음 2주간은 체내 농도가 현저히 감소하였으며 그 후에는 느린 양상으로 감소하였다. 이 결과를 보면 fluoranthene이 해수내에 존재하는 동안에는 축적이 잘 일어나지만 일단 fluoranthene이 환경에서 사라지게 되면 신속하게 체내에서 제거됨을 시사한다. 따라서 어체 조직에서 측정되는 fluoranthene은 비교적 최근에 PAHs류 물질에 노출되었음을 의미한다.

## 감사의 글

이 논문은 2005년 군산대학교 수산과학연구소에서 출연한 학술연구비에 의하여 연구되었음.

## 참 고 문 헌

- Baumard P, Będzinski H, Garrigues P, Narbonne JF, Burgeot T, Michel X and Bellocq J. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp.) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability, *Nar Environ Res* 1999; 47: 415-439.
- Baumann PC. Epizootics of cancer in fish associated with genotoxins in sediment and water, *Mut Res* 1998; 411: 227-233.
- Bell HE, Liber K, Call DJ and Ankley GT. Evaluation of bioaccumulation and photo-induced toxicity of fluoranthene in larval and adult life-stages of *Chironomus tentans*, *Arch Environ Contam Toxicol* 2004; 47: 297-303.
- Chang S, Zdanowicz VS and Murchelando RA. Association between liver lesion in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) and sediment chemical contaminants from north-east United States estuaries, *ICES J Mar Sci* 1998; 55: 954-969.
- Elder JF and Dresler PV. Accumulation and bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in a nearshore estuarine environment near Pensacola (Florida) creosote contamination site, *Environ Poll* 1988; 49: 117-132.
- Eisler R. Polycyclic aromatic hydrocarbon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synopsis review. US Fish Wildl Ser Biol Rep 1987; 85, Washington, D.C., USA.
- Escartin E and Porte C. Hydroxylated PAHs in bile of deep-sea fish: relationship with xenobiotic metabolizing enzymes, *Environ Sci Technol* 1999; 33: 2710-2714.
- Hoffman EJ, Mills GL, Latimer JS and Quinn JG. Urban runoff as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons to coastal waters, *Environ Sci Technol* 1984; 18: 580-587.
- Hutchison TH, Field MD and Manning MJ. Evaluation of non-specific immune function in dab, *Limanda limanda* L., following short-term exposure to sediments contaminated with polyaromatic hydrocarbons and/or polychlorinated biphenyls, *Mar Environ Res* 2003; 55: 193-202.
- James FL. Determination of nanogram/kilogram levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods by HPLC with fluorescence detection, *Int J Environ Anal Chem* 1986; 24: 113-131.
- Jonsson G, Bechmann RK, Bamber SD and Baussant T. Bioconcentration, biotransformation, and elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sheehed minnows (*Cyprinodon variegatus*) exposed to contaminated seawater, *Environ Toxicol Chem* 2004; 23: 1538-1548.
- Lawrence JF and Das BS. Determination of nanogram/kilogram levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods by HPLC with fluorescence detection, *Int J Environ Anal Chem* 1986; 24: 113-131.
- Ma WC, Immerzeel J and Bott J. Earthworm and food inte-

Baumard P, Będzinski H, Garrigues P, Narbonne JF, Burgeot T, Michel X and Bellocq J. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp.) in different marine environments in relation with sediment

- reactions on bioaccumulation and disappearance in soil of polycyclic aromatic hydrocarbons: studies on phenanthrene and fluoranthene, *Ecotox Environ Saf* 1995; 32: 226–232.
- Nakata H, Sakai Y, Miyawaki T and Takemura A. Bioaccumulation and toxic potencies of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in tidal flat and coastal ecosystem of the Ariake Sea, Japan, *Environ Sci Technol* 2003; 37: 3513–3521.
- Neff JM. Polycyclic aromatic hydrocarbons. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology* (GM Rand and SR Petrocelli eds.) 1985; pp. 416–454, Taylor & Francis, Bristol, PA.
- Oris JT and Giesy JP. The photo-enhanced toxicity of anthracene to juvenile sunfish (*Lepomis* spp.), *Aquat Toxicol* 1985; 6: 133–146.
- Page DS, Huggett RJ, Stegeman JJ, Parker KR, Woodin B, Brown JS and Bence AE. Polycyclic aromatic hydrocarbon sources related to biomarker levels in fish from Prince Williams Sound and the Gulf of Alaska, *Environ Sci Technol* 2004; 38: 4928–4936.
- Purdy JE. The effects of brief exposure to aromatic hydrocarbons on feeding and avoidance behaviour in coho salmon, *Oncorhynchus tshawytscha kisutch*, *J Fish Biol* 1989; 34: 621–629.
- Richardson BJ, Tse ES, DE Luca–Abbot BS, Martin M and Lam PK. Uptake and depuration of PAHs and chlorine pesticide by semi-permeable membrane device (SPMDs) and green-lipped mussel (*Perna viridis*), *Mar Poll Bull* 2005; 19: 234–250.
- Selck H, Palmqvist A and Forbes VE. Uptake, depuration, and toxicity of dissolved and sediment-bound fluoranthene in the polychaete, *Capitella* sp. I. *Environ Toxicol Chem* 2003; 22: 2354–2363.
- Spacie A, Landrum PF and Liversee GJ. Uptake, depuration, and biotransformation of anthracene and benzo[a]pyrene in bluegill sunfish, *Ecotoxicol Environ Saf* 1983; 7: 330–341.
- Stegeman JJ and Hahn ME. Biochemistry and molecular biology of monooxygenases: current perspectives on forms, functions, and regulation of cytochrome P450 in aquatic species. In: Malin DC and Ostrander GK eds. *Aquatic Toxicology: molecular, biochemical, and cellular perspectives*, 1994; CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 87–206.
- Van Hattum B and Cid Montanes JF. Toxicokinetics and bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in freshwater isopods, *Environ Sci Technol* 1999; 33: 2409–2417.
- Varanasi U, Stein JE and Nishimoto M. *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbon in the aquatic environment*, 1989. CRC Uniscience series, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.