

## 광양만퇴적물에서의 에스트로겐 활성분포 특성

한상국<sup>†</sup> · 박지영

목포해양대학교 해양시스템공학부 해양환경공학전공

## Distributive Characterization of Estrogenic Activity in Sediments from Gwangyang Bay, Korea

Sang-Kuk Han<sup>†</sup> and Ji-Young Park

Department of Marine Environmental Engineering, Faculty of Ocean System Engineering,  
Mokpo National Maritime University, Chukkyo, Mokpo 530-729, Korea

### 요 약

본 연구는 E-screen assay를 이용해서 광양만 연안해역 퇴적물의 에스트로겐 활성분포를 정량적으로 평가하고 화학 분석 결과와 비교 검토하고자 하였다. 가장 높은 에스트로겐 활성을 보인 지점은 산업단지과 섬진강 유입구에 인접한 G6, G8 이었다. E-screen assay로 얻어진 이러한 결과는 다성분 동시분석 결과와도 일치하였다. 특히 GY6, GY8 지점의 RPE는 90% 이상으로 강한 에스트로겐 작용을 나타내어 full agonist 지점으로 확인되었다. 또한 이들 지점은 EEQ가 각각 35.6 ng/g, 14.6 ng/g로 타 지점에 비해 낮아 에스트로겐 활성 효능이 상대적으로 높을 것으로 판단된다. 이러한 결과로부터, 산업단지와 섬진강 유역에 인접한 지점들을 광양만 연안 해역의 내분비계 교란 물질의 유입원으로 추정할 수 있다. 한편, 에스트로겐 활성도와 화학오염물질과의 비교결과는 상관성이 없는 것으로 나타났다.

**Abstract** – In this study, we tried to quantitatively study the distribution of estrogenic activity in sediment from Gwangyang Bay by E-screen assay. Besides, we compared the estrogenic activity and the concentration of chemical pollutants. The highest estrogenic activity was recorded at the stations(GY6 and GY8) close to industrial complex and the river mouth of Seomjin. These results obtained from the E-screen assay similar to those of simultaneous analytical detection of 310 chemicals. In particular, GY6 and GY8 sites are confirmed as the full agonist sites because of their RPE values were over 90% having strong estrogenic effect. Also, their EEQ(Estradiol Equivalency Quantity) values are 35.6 ng/g and 14.6 ng/g, low than that of other sites, and these results suggests that have relatively high estrogenic efficiency in Gwangyang Bay. From these results, we can estimate that the stations close to industrial complex and the river mouth of Seomjin are major sources of endocrine disrupter in Gwangyang Bay. On the other hand, when we tried to compare the endocrine disrupter activity and COD<sub>Mn</sub> value, that is not correlated.

**Keywords:** Quantitative assessment(정량평가), Simultaneous determination(다성분 동시분석법), endocrine activity(에스트로겐활성), E-screen assay, Gwangyang Bay(광양만)

### 1. 서 론

광양만 연안 해역은 강 하구를 통한 풍부한 영양물질의 유입으로 인해 각종 어류들의 좋은 서식환경 조건을 갖추고 있다(조 등 [2004]). 그러나 1960년대 중반 이후 정부의 산업 활성화 정책에 의한 각종 산업단지 (여천산업단지, 광양제철소, 울촌공업단지 등)가 광양만 연안에 조성되었고 인구유입에 의한 주거단지가 급격히 증

가되었다. 오늘날, 이러한 산업시설 및 주거단지로부터 하·폐수 및 자가 오염물질의 유입이 증가되어 이 지역의 오염이 심화되었고 따라서 어장환경 악화로 수산업의 악영향 등이 보고된 바 있다(김 등[2001], 조 등[1994]). 광양만 연안 해역은 반 폐쇄적인 만으로서 유기오염물질이 유입되면 저층으로 침전될 가능성이 높고 장시간 수체에 체류하면서 연안 해역에 악영향을 주게 된다(한국해양연구소[2000]), 환경부[2000]). 우리는 서남해 연안 해역(한 등 [2005a])과 광양만 연안 해역(한 등[2006])에서의 화학물질의 분포

<sup>†</sup>Corresponding author: skhan@mmu.ac.kr

특성에 관한 연구를 통해서 농약화학물질(특히 살충제)과 CH, CHO(N)류의 유기물질들, diethyl phthalate등과 같은 내분비계장애물질들이 이 지역에서 주기적으로 관찰된다고 보고한바 있다. 또한, 조 등[2004]은 이지역에서의 비스페놀 A의 분포특성에 관한 연구를 통해서 이러한 화학물질들의 존재를 보고하였다. 광양만 연안 해역에 존재하는 이러한 물질들은 매우 안정하여 광화학적·생물학적 분해가 용이하지 않고 해양생태계에 잔류 축적되어 미량존재 시에도 해양생물 및 그것을 섭취하는 인간에게 악 영향을 미칠 가능성이 높다.

이러한 화학분석적 조사는 환경에 존재하는 유기오염물질을 검출과 환경매체의 오염정도를 파악하는데 활용 가능하지만 독성영향 등 생물학적인 해석에는 한계가 있다. 반면, 생물학적 평가방법(bioassay)은 환경매체에 대한 독성효과를 생물학적 반응성으로 검토하는 방법으로, 분자수준의 생화학적 변화를 감지하여 정량화함으로써 환경매체의 독성영향을 조기에 민감하게 파악할 수 있는 장점을 가지고 있다. 따라서, 생물학적 평가법을 이용하여 환경매체의 독성도를 파악하고 화학분석 결과와의 상관성을 검토하는 것이 안전한 환경을 관리하기 위해서 필요하다.

생물학적 분석방법 중에서 내분비계교란 물질 검출법은 배양세포를 이용한 *in vitro*법과 어류, 양서류 등의 생물개체를 이용한 *in vivo*법으로 구분할 수 있다. 다중다수의 화학물질이 존재하는 환경을 대상으로 내분비계교란 작용을 분석 검토하기 위해선 정성적으로 신속하게 분석할 수 있는 방법이 우선되기 때문에 USEPA에서는 배양세포를 이용한 *in vitro*법을 우선단계 평가법으로 권장하고 있다(USEPA[1998]). 이중, 여성유방암 유래 MCF-7세포는 에스트로겐 수용체를 가지고 있으며 다른 여성유방암 유래세포(ZR-75-1, T-47-D)보다 에스트로겐 유사작용성 물질의 첨가에 의해 세포증식이 더욱 촉진되어 그 감도의 우수성이 입증되었다(Soto 등[1995]). 또한, Villalobos 등[1995]의 보고에 의하면, MCF-7의 stock세포 중에서도 에스트로겐 유사작용성 물질에 가장 민감한 반응을 보인 것은 MCF-7(Bus cell)세포였으며, Soto 등[1995]은 MCF-7 세포를 이용하여 에스트로겐 활성을 검증하기 위해 세포 증식실험법(E-screen assay)을 개발하였다. 또한, 국내에서는 Han[2002] 등도 MCF-7(Bus cell)세포를 이용한 E-screen assay법을 확립하여 농약의 에스트로겐 유사작용성에 대한 결과를 발표하였다.

본 연구에서는 광양만 퇴적물의 생물학적 독성정도 및 분포를 평가하기 위하여 E-screen assay를 이용하여 에스트로겐 활성도를 조사하였으며, 다성분 동시분석결과와의 상관성도 검토하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1 시료채취 지점 및 기간

시료채취지점을 Fig. 1에 나타내었다. 광양시는 중화학공업이 발달된 도시이며 석유화학 및 철강업이 주요산업이다. 대부분의 공장이 반 폐쇄성인 광양만 연안에 위치하고 있어서 화학물질 및 영양염류에 의한 오염이 심각하다(조성렬 등[1997], 김성수 등

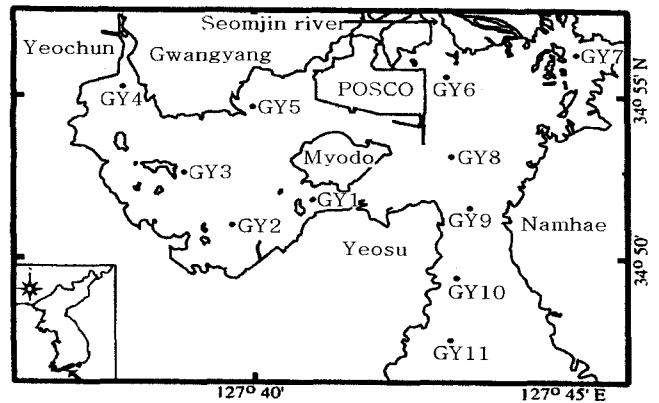


Fig. 1. Sampling sites at Gwangyang Bay.

[1998]). E-screen assay와 유기화학물질의 분석을 위한 대상 시료는 여천 산단 부근과 광양항, 그리고 남해에서 총 11개 지점을 선정하여 2004년 9월, 12월과 2005년 3월, 6월에 각각 퇴적물을 채취하여 분석하였다.

시료채취는 중력식 코아채니기를 이용하여 표층퇴적물(0~5)을 채취하였으며, 세척된 300 mL 유리용기에 넣어 밀봉한 후 ice box에 담아 연구실로 운반하였으며 분석 전까지 4에서 차광상태로 보관하였다. 그 시료는 1주일 이내에 추출 및 농축하여 실험에 이용하였다.

### 2.2 화학분석(다성분 동시분석법)

다성분 동시분석법은 본 연구실에서 확립하여 한 등에 의해 발표된 방법을 따랐다(한 등[2005b]). 또한, COD<sub>Mn</sub>은 수질공정시험법을 이용하였다.

#### 2.2.1 표준시료

310종 화학물질의 표준시료(standard solution)는 일본 북구주환경연구센터 Kadokami박사로부터 제공받아 적정 농도로 희석하여 사용하였다. 표준 시료들은 사용하기 전까지 4 차광 상태에서 보관하였다.

#### 2.2.2 시료전처리

퇴적물 시료 10 g을 취해 methanol 30 mL을 넣고 초음파 추출을 한 후 원심분리하고 상등액을 100 mL 분액깔때기로 옮기는 조작을 2회 반복하였다. 여기에 포화 n-hexane 30 mL를 넣고 흔든 후 methanol층을 미리 준비한 5% NaCl 수용액 200 mL를 넣어둔 분액깔때기에 넣고 dichloromethane 50mL를 더해 추출하는 조작을 2회 반복하고 추출액을 혼합하였다. 분리한 dichloromethane 층을 적당량의 무수황산나트륨(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)을 넣어 탈수 시킨 후 KD 농축기로 휘발 농축하였다. 마지막으로 1mL hexane층으로 농축한 후 정확한 정량분석을 위하여 내부표준물질(internal standard) 5종(4-chlorotoluene-d<sub>4</sub>, naphthalene-d<sub>8</sub>, biphenyl-d<sub>10</sub>, phenanthrene-d<sub>10</sub>, perylene-d<sub>12</sub>)을 첨가하였다. 본 실험에 사용한 기기는 Varian사의 Star 3400CX gas chromatography에 연결된 Saturn 2000 mass detector를 사용하였으며, GC/MS 분석조건은 Table 1과 같다.

**Table 1.** GC/MS conditions for determining the target chemicals

GC/MS Model	Varian GC 3400 CX
Carrier gas	He (99.999 %)
Column	J&W DB-5MS (5% phenyl-95% methylsilicone) fused silica capillary column (30 m × 0.25 μm i.d. × 0.25 film)
Detector	Saturn 2000 MS
GC	
Injector temp	250°C
Transfer line	280°C
Oven temp	50°C for 1 min, 8°C/min to 300°C, 300°C for 8 min
Injection method	splitless, 2 min for purge off time
MS	
Ionization mode	Electron Impact (EI mode)
Scan rate(m/z)	45-500 amu
Background mass	44
Mass defect	0-50/100 amu

### 2.3 E-screen assay

MCF-7 세포(Bus cell)는 E-screen assay를 개발한 Soto 연구실에서 제공받아 5% Fetal Bovine Serum(FBS)가 함유된 Dulbecco's Modification of Eagle's Medium(DMEM)배지를 이용하여 5% CO<sub>2</sub>, 37 배양기에서 배양하였다. DMEM배지와 phenol red free DMEM배지, 그리고 FBS는 Gibco BRL사에서 구입하였다. β-Estradiol-17-acetate(E<sub>2</sub>)와 농약을 포함한 60종의 실험대상 화학물질, dimethylsulfoxide (DMSO), 그리고 일반적으로 실험에 이용된 화학물질들은 Sigma사(미국)와 Aldrich사(미국)에서 구입하였다.

#### 2.3.1 실험방법

##### 1) 시료 전처리

KD농축기로 휘발 농축하기까지의 전처리과정은 화학분석용 시료전처리법과 동일하게 수행하였다. 농축 시킨 후 질소가스로 용매를 완전히 제거시키고 DMSO 1mL로 용매 치환하여 실험 이용 전까지 -30에서 보관 하였다.

##### 2) Charcoal-Dextran처리

혈청 중에 함유된 세포증식인자를 제거하기 위하여 다음과 같은 처리를 하였다.

뚜껑이 있는 유리원심튜브에 (혈청량 × 1.1)mL의 증류수를 넣고, 수면의 위치에 정확히 표시를 해둔 후, 증류수를 버린다. 표시 지점 용량에 대한 5% 활성탄(Sigma, USA)을 첨가하여 표시된 지점까지 증류수를 넣고 상하로 뒤집으면서 잘 흔들어서 활성탄을 분산시킨 후, 원심 분리한다(250 rpm, 2분). 이를 3회 이상 반복하여 활성탄 부유입자를 제거한다. 표시지점 용량에 대한 0.5% Dextran를 넣고 표시지점까지 증류수를 넣은 후 위아래로 뒤집어 활성탄을 분산시켜 원심 분리한다(600 rpm, 5분). 상층액을 흡인 제거한 후, 혈청을 넣고 기포발생이 안되도록 서서히 교반해서 활성탄을 분산시킨다. 이를 shaking water bath에서 37, 60분간 배양한 후, 원심 분리한다(3000 rpm, 20분). 상층액을 스포이드로 흡

인·제거하여 다른 유리원심튜브에 분주한 후, 또다시 원심 분리한다(3000 rpm, 20분). 이 과정을 2회 반복하여 얻어진 상층액을 0.45 μm filter와 0.2 μm filter로 여과 멸균한다. 10 mL용 유리원심튜브에 4-5 mL정도 분주한 후 -20°C에서 보관하고 실험시 상온에서 해동한 후, phenol red free배지에 Charcoal-Dextran처리혈청을 5% 첨가하여 E-screen assay에 이용한다.

#### 2.3.2 E-screen assay

96 well plate(Falcon, Non-pyrogenic)에 세포를 분주하기 전일에 시험에 사용될 세포의 배지(5% Charcoal-Dextran처리 혈청배지: CDFBS)를 교환해준다. 그리고, 실험 당일에 세포가 들어 있는 25 cm<sup>2</sup> 플라스크내 배지를 흡인제거하고 PBS완충액으로 1회 세정한 후, 0.25%트립신 용액을 플라스크당 500 μL를 첨가하여 MCF-7세포가 플라스크 바닥에서 떨어져 나오면(1~2분 정도), 동일 플라스크에 배지 5 mL을 넣어서 피펫팅한다. 배지를 15 mL 원심튜브(FALCON)에 이동시켜서 원심(1000 rpm, 4, 5분)하여 상층액을 aspirator로 흡인·제거한다. 세포가 남아 있는 원심튜브에 배지를 넣고 피펫팅하여 세포를 단일화한 후, 세포수를 계측한다. 5 × 10<sup>3</sup>cells/well로 96 well plate(Falcon, Non-pyrogenic)에 세포를 분주(well당 배지량은 100 μL)한다. 96 well plate를 천천히 흔들어서 세포를 균일하게 분산시키고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 배양기에서 24 시간 배양한 후, well에 들어 있는 배지를 흡인·제거한다. DMSO로 시험물질의 농도를 조절하여 희석한 후 CDFBS가 들어있는 well에 각 농도별로 첨가한다. 이때, 음성대조물질인 DMSO의 최종농도가 0.5%가 되도록 한다. 시료가 첨가된 96 well plate를 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 배양기에서 6일간(144시간) 배양하고 6일 후, Sulforhodamine-B(SRB) assay로 세포계측을 한다. SRB assay는 Han 등[2000]에 의해 제시된 실험방법을 이용하였다.

#### 2.4.5 결과해석

에스트로겐 활성도를 평가하기 위한 해석은 아래와 같은 Schiliro 등[2004]의 방법을 따랐다.

1) E-screen assay의 기본적인 종말점은 시료첨가에 의한 호르몬제거배지에서의 세포수 증가이다. 세포의 증식효과(proliferative effect : PE)를 아래의 식으로 구하였다.

$$PE = (\max \text{ cell number})_{\text{sample}} / (\text{cell number})_{\text{negative control}}$$

Negative control은 0.5% DMSO포함 CDFBS에서의 cell proliferation을 의미한다.

2) Positive control (17β-estradiol, E<sub>2</sub>)과의 상대비교에 의한 세포증식효과(relative PE: RPE) 값으로서 에스트로겐 활성도를 검토하여 full agonist (RPE = 100%)와 partial agonist (RPE < 100%)로 구분하였다.

$$RPE \% = 100 \times [(PE-1)_{\text{sample}} / (PE-1)_{E_2}]$$

3) 에스트로겐 등가량(Estradiol equivalency quantity: EEQ)으로 세포증식효능(cell proliferative efficiency)을 평가하였다. 이때 사용된 EC<sub>50</sub>은 50% PE에서의 시료농도 또는 희석양이다.

$$EEQ = (EC_{50})_{E2} / (EC_{50})_{sample}$$

시료의 PE와 EEQ는 용량반응곡선을 통해서 E2의 것과 비교하여 산출하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 광양만 퇴적물에서의 에스트로겐 용량반응곡선(Dose-response curve)

표준시료인 E2와 2005년 6월 광양만 퇴적물에서의 에스트로겐 용량반응곡선을 Fig. 2에 나타내었다. E2는 농도 의존적으로 세포수가 증식되었으며 5 nM에서 최고점을 기록하였다. 2005년 6월 광양만 퇴적물의 에스트로겐 활성도 검토 결과, GY1, 2, 3, 7 지점을 제외한 모든 지점에서 세포수가 용량 의존적으로 증가되었고 특히, GY6 지점은 표준시료 E2의 5 nM의 세포수와 거의 동일한 결과를 보였다. 이러한 결과는 GY6 지점의 에스트로겐 활성 효과가 E2의 에스트로겐 활성효과와 유사하다는 것을 시사한다. 우리는 시료채취 시기별로 광양만 연안해역의 모든 지점을 대상으로 용량반응곡선을 검토하여 E2의 결과와 비교함으로써 이 지역의 에스트로겐활성을 정량적으로 평가하였다.

#### 3.2 광양만 퇴적물의 에스트로겐 활성평가

광양만 연안의 11개 지점에서 퇴적물을 채취하여 E-screen assay로 에스트로겐 활성을 분석한 결과, 지점별, 시기별로 다양한 결과가 도출되었다. Table 2에 에스트로겐 활성 값들을 각 지점별, 시기별로 표시하였다.

##### 3.2.1 광양만 퇴적물의 에스트로겐 활성효과 (RPE)

모든 광양만 퇴적물의 세포증식효과를 상대비율로 구하여 분석한 결과, RPE값의 범위는 NPE ~ 100%로 다양하였다. 2004년 9월 시료의 RPE값은 NPE ~ 41.1%로 관찰되었고 지점별로 보면 각각 20.0%와 41.1%로 partial agonist로서의 작용을 보인 GY6 지점과 GY8 지점을 제외하면 모든 지점에서 에스트로겐 활성효과는 관찰되지 않았다. 또한, 2004년 12월 시료에서의 에스트로겐

활성효과도 2004년 9월의 결과와 유사하였다. 각각 13.3%와 15.0%로 분석된 GY6 지점과 GY8 지점에서만 미약한 에스트로겐 활성 효과가 보였다. 2005년 3월 시료의 RPE값은 NPE~20.0%의 범위로 나타났으며 2004년 9월, 12월의 결과와 마찬가지로 지점별로 큰 차이는 나타나지 않았다. 2005년 6월 시료의 RPE값은 GY1 ~ 3 지점과 GY7 지점을 제외한 모든 지점에서 74.0% ~ 100%로 타 시기의 RPE값보다 높았다.

특히, GY5, 6, 8, 9 지점들은 RPE값이 90% 이상으로서 E2의 RPE값에 비해 유의적인 차이가 보이지 않는 강한 에스트로겐 작용을 나타내어 full agonist로서의 작용성이 의심되는 지점이다. 또한, GY4, 10, 11 지점은 RPE값이 각각 74.0%, 85.0%, 74%로 관찰되어 이 지점들에서 partial agonist의 작용 가능성이 높을 것으로 판단된다. 이러한 결과로부터, 시료채취시기와 상관없이 에스트로겐활성 효과가 높을 것으로 판단되는 지점은 GY6과 GY8 지점이었으며 이들 지점은 광양만 연안해역중에서 담수유입에 의한 육상기원 오염인자의 영향을 가장 많이 받고 있기 때문에 판단된다(윤양호 등[1996], 강 훈 등[2006]). 또한, 이들 지점으로부터 멀어질수록 에스트로겐활성 효과는 감소되는 것으로 나타났다. 그리고 채취시기별로 보면, 채취지점과 상관없이 2005년 6월 채취 시료의 거의 모든 지점에서 높은 RPE값을 보였다. 한편 광양만의 COD값이 갈수기(1월)에 비해 우수기(7월)에 더욱 높다는 결과(김은영 등[2004])와 여름철에 농약류 등이 섬진강을 통해서 광양만으로 유입된다는 보고(Jeon 등[1990], Park 등[2006])등에 의해서 광양만 퇴적물의 에스트로겐 활성은 육상에서 유입되는 오염물질에 기인하며 주로 여름철에 그 활성이 높아 질 것으로 판단된다.

##### 3.2.2 광양만퇴적물의 에스트로겐 활성효능평가(EEQ)

시료채취 시기별로 각 지점의 EEQ값을 살펴본 결과, 2004년 9월에 GY4, 6, 8, 9 지점에서 EEQ값이 관찰되었으며 특히, GY9 지점은 10.1 ng/g로 타 지점에 비해 가장 낮은 농도로 이 지점에서 에스트로겐 활성효능이 높을 것으로 판단된다. 2004년 12월 시료에서는 GY5, 6 지점에서 각각 50 ng/g, 36 ng/g로 관찰되었고 2005년 3월에는 GY8 지점에서만 18.5 ng/g의 값으로 나타났다. 그러나 2005년 6월 시료에서의 EEQ값은 GY1, 2, 3, 7 지점

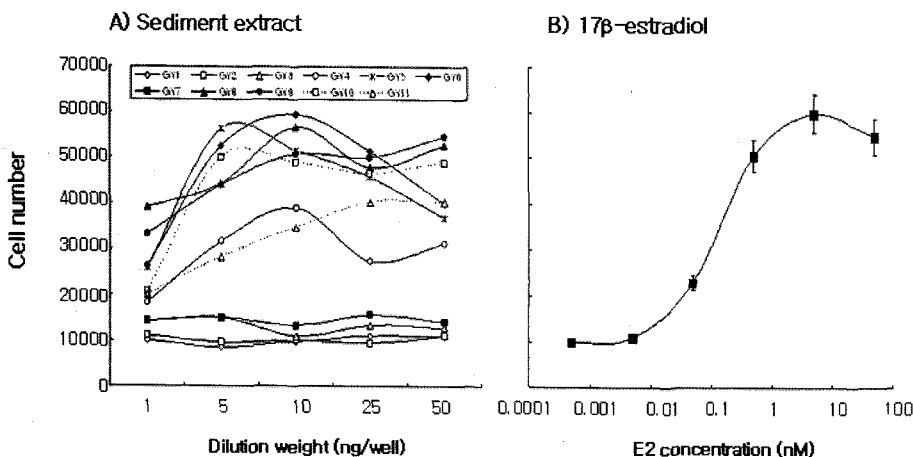


Fig. 2. Dose-response curve of sediment extracts and 17β-estradiol (E2) (n=4).

**Table 2.** Estrogenic activity at each sampling sites

Sample	PE of Sample	PE of E2	RPE% of Sample	EC <sub>50</sub> of E2 (pmol/L)	EC <sub>50</sub> (g/g) of sample	EEQ (ng/g) of sample
04' Sep.	GY 1	1.4	NPE		-	-
	GY 2	1.6	NPE		-	-
	GY 3	1.5	NPE		-	-
	GY 4	1.4	7.3		1.6	23.1
	GY 5	2.0	2.7		NC	NC
	GY 6	1.6	20.0	36	1.7	21.2
	GY 7	1.2	NPE		-	-
	GY 8	3.3	41.1		0.6	60.0
	GY 9	1.4	1.7		3.3	10.1
	GY 10	1.2	10.6		NC	NC
	GY 11	1.6	3.7		NC	NC
04'Dec.	GY 1	1.0	NPE		-	-
	GY 2	1.1	3.6		NC	NC
	GY 3	1.2	6.6		NC	NC
	GY 4	1.1	4.6		NC	NC
	GY 5	1.1	2.2		0.7	50.0
	GY 6	1.4	13.3	35	1.0	36.0
	GY 7	1.3	10.0		NC	NC
	GY 8	1.5	15.0		NC	NC
	GY 9	0.7	NPE		-	-
	GY 10	0.7	NPE		-	-
	GY 11	1.0	NPE		-	-
05'March	GY 1	1.3	8.5		NC	NC
	GY 2	1.6	20.0		NC	NC
	GY 3	1.6	20.0		NC	NC
	GY 4	1.2	6.9		NC	NC
	GY 5	1.2	6.7		NC	NC
	GY 6	1.0	1.0	37	NC	NC
	GY 7	1.2	6.0		NC	NC
	GY 8	1.5	15.0		2.0	18.5
	GY 9	1.1	1.5		NC	NC
	GY 10	0.7	NPE		-	-
	GY 11	0.7	NPE		-	-
05' Jun.	GY 1	0.8	NPE		-	-
	GY 2	0.8	NPE		-	-
	GY 3	1.1	3.7		NC	NC
	GY 4	2.9	74.0		1.8	17.8
	GY 5	3.6	93.0		2.0	16.0
	GY 6	3.9	100.0	32	0.9	35.6
	GY 7	1.1	3.7		NC	NC
	GY 8	3.6	93.0		2.2	14.6
	GY 9	3.5	90.0		0.6	53.0
	GY 10	3.3	85.0		0.7	75.7
	GY 11	2.9	74.0		0.6	53.0

GY: Gwangyang Bay, NPE: No proliferative effect, NC: Not Calculated, PE:  $PE = (\max \text{ cell number})_{\text{sample}} / (\text{cell number})_{\text{negative control}}$ , E2: 17 $\beta$ -estradiol, RPE:  $100 \times [(PE-1)_{\text{sample}} / (PE-1)_{E2}]$ , EC<sub>50</sub>: sample concentration or dilute volume at 50% PE, EEQ :  $(EC_{50})_{E2} / (EC_{50})_{\text{sample}}$

에서만 결정되지 않았으며 이들 지점을 제외한 모든 곳에서 관찰되었다. 특히, GY4, 5, 8 지점에서의 EEQ값은 각각 17.8 ng/g, 16.0 ng/g, 14.6 ng/g로 가장 낮게 나타났고 RPE값도 높게 관찰되었다. 따라서 광양만 전체지역 중에서 이들 지역이 에스트로젠 활

성효능이 가장 높을 것으로 판단된다. 그러나 전체시료 분석결과에 의하면 RPE값과 EEQ값과의 상관성은 없었으며 이러한 결과는 퇴적물에 존재하는 화학물질들 중에서 에스트로젠 활성효능은 좋지만 활성효과는 높지 않은 물질들이 포함되어 있기 때문으로

**Table 3.** Kinds of compounds detected at each sampling sites in 2004

Compound types	Sites		Sep.											Dec.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Aliphatic compounds	2	2	2	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	
Polycyclic compounds	4	2	3	1	1	5	0	8	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	3	0	0	0	0	
Phenols	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	3	1	0	1	0	1	0	0	0	0	
Aromatic amines	0	0	1	6	0	2	1	2	0	0	1	2	0	1	0	0	2	1	0	0	0	0	0	
Pesticides	3	2	0	1	3	5	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	
Total No.	9	6	6	9	7	12	1	14	2	0	1	2	0	5	4	0	10	2	4	0	0	0	0	

판단된다. 한편 Oh 등[2000]은 하천수 퇴적물의 EEQ값을 산출하여 금호강 3.27 pg/g, 만경강 10.60 pg/g로 보고하였다. 우리의 결과를 이들과 비교해 보면 연안 해역 퇴적물에서의 에스트로겐 활성효능은 일반 하천수 퇴적물에서의 것보다 상당히 낮은 것으로 판단된다. 본 연구에서 얻어진 RPE값과 EEQ값으로부터 광양만 연안해역중 광양산업단지와 섬진강의 영향을 가장 많이 받고 있는 GY4, 5, 6, 8 지점이 에스트로겐 활성 가능성이 가장 높을 것으로 판단된다. 또한 채취시기별로는 2005년 6월에 거의 모든 채취지점에서 에스트로겐 활성이 높게 나타났지만 계절적 상관성을 도출하기 위해서는 더 많은 자료가 축적되어야 할 것으로 사료된다.

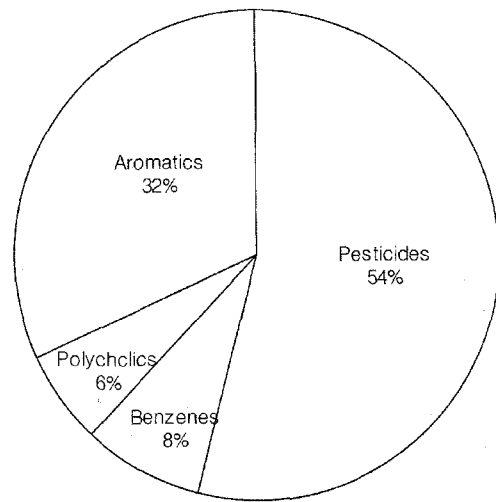
**3.3 화학분석 결과**

**3.3.1 광양만 퇴적층에 존재하는 유기오염물질의 화학적 특성**

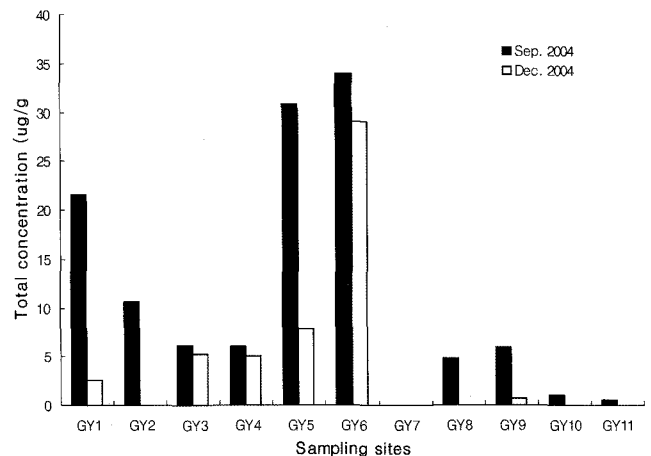
광양만 연안의 11개 지점에서 퇴적물을 채취하여 다성분 동시 분석법으로 분석한 결과 지점별, 시기별로 다양한 유기오염물질이 검출되었다. Table 3에서 각 지점별, 시기별로 검출된 유기오염물질의 분류와 수를 나타내었다. 광양만 퇴적물에서 주로 검출된 유기오염물질은 CH, CHN(O)의 화학적 구조특성을 가지고 있는 물질과 농약류로 관찰되었다. 이러한 결과는 한 등[2005b]이 발표한 서남해 연안해역에서의 유기오염물질 분포와도 일치한다. 광양만 연안 해역 중 2004년 9월에 GY6, 8 지점에서 각각 12, 14종, 12월에 GY6 지점에서 10종으로 가장 많은 화학물질종이 관찰되었고 주로 농약물질(54%)과 방향족물질(32%)이 분포하였다(Fig. 3). 이들 지점은 에스트로겐 활성평가 결과에서도 RPE값이 가장 높고 EEQ값은 상대적으로 낮게 나타난 곳으로서 이들 물질 중들에 의한 에스트로겐 활성유발 가능성이 타 지점에 비해 높을 것으로 판단된다.

**3.3.2 광양만 퇴적물중의 유기오염물질에 대한 총량적 평가**

광양만 퇴적물에서 검출된 유기오염물질의 총 농도변화를 지점별, 시기별로 분류하여 Fig. 4에 나타내었다. 9월 시료에서는 GY7 지점을 제외한 모든 채취지점에서 오염물질들이 관찰되었고 총 농도범위는 ND ~ 36.50 µg/g 이었으며 여천산단, 광양제철, 그리고 담수유입 영향을 덜 받는 GY7 지점 및 이러한 오염원들로부터 거리상 떨어져 있는 GY9, 10, 11 지점에서의 총 농도 값은 상대적으로 저농도로 분석되었다. 반면에 육상하천과 인접된 지점(GY6) 및 산업단지와 가까운 GY1, 2, 3, 4, 5 지점에서 유기오염물질의 총 농도 값이 고농도로 관찰되었다. 또한, 전체적으로 9월의 총 농도가 12월의 것보다 높게 분석되었다. 동시기에 동일지역을 대상



**Fig. 3.** Distribution of organic pollutants amount obtained from sediment in GY6 (Sep. 2004).



**Fig. 4.** Total concentration detected at each sampling sites (GY; Gwangyang Bay).

으로 검토한 에스트로겐 활성평가에서는 GY1, 2, 3 지점에서 에스트로겐 활성이 관찰되지 않았으나 GY6 지점은 분석시기와 상관없이 가장 높은 에스트로겐 활성을 보였다. 이러한 결과로부터 동시다성분 분석법에 의한 화학분석결과와 에스트로겐 활성과의 상관성은 없는 것으로 판단된다( $r = 0.143, p > 0.05$ ). 다만, 모든 채취지점 중 GY6 지점은 에스트로겐 활성도가 가장 높고 화학분석 결과 다환방향족과 농약물질이 다중 고농도로 검출되어 폐수

처리공정에서부터 이러한 물질들을 관리하고 광양만내 유입을 철저히 차단하여 내분비계교란물질로부터 이 지역의 생태 안전성을 확보해야 할 것이다.

우리는 2004년 9월, 12월에 광양만 연안 해역 11개 지점의 COD<sub>Mn</sub>을 분석하여 E-screen assay에 의해서 도출된 PE와의 상관성을 검토하였고 그 결과 PE와 COD<sub>Mn</sub>과의 상관계수는 0.202 ( $p > 0.05$ )로 나타났다. 이 결과로부터 COD<sub>Mn</sub>결과는 동시다성분 화학물질 분석결과와 마찬가지로 에스트로겐 활성을 나타내는 지표로 활용할 수 없음을 알게 되었다.

#### 4. 결 론

광양만 연안해역의 퇴적물에 대해서 E-screen assay와 동시다성분 화학분석을 이용하여 이 지역의 내분비계교란성을 조사한 결과, 에스트로겐 활성은 광양산업단지와 섬진강에 인접하고 있는 GY6, 8 지점에서 가장 높고 민감하게 반응하였으며 이 지점으로부터 거리가 멀어질수록 그 활성은 감소되었다. 동시다성분 화학분석 결과에서도 GY6 지점은 타 지점에 비해 오염물질의 총 농도가 높았지만 전체적으로 에스트로겐 활성과의 상관성은 없는 것으로 나타났다. 다만 GY6 지점의 다성분 동시분석 결과를 분석해보면 농약물질과 방향족물질이 총 농도의 대부분을 차지하고 있기 때문에 이들 물질에 의해 에스트로겐 활성도가 증가하는 것으로 판단된다.

#### 감사의 글

이 논문은 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구(과제번호 : R05-2003-000-11436-0)입니다. 이에 대하여 감사드립니다.

#### 참고문헌

- [1] 조은섭, 최용규, 2005, "남서해역의 해성 적조생물 *Cochlodinium polykrikodes* Margalef 모니터링을 위한 환경특성과 식물플랑크톤 군집 동태", 한국환경과학회지, 14(2), 177-184.
- [2] 김성우, 김윤신, 전준민, 2001, "여천공단내 실내·외 미세먼진 중의 화학원소 농도 및 발생원 추정에 관한 연구", 대한환경공학회지, 23(2), 305-317.
- [3] 조현서, 유영석, 이규형, 1994, "가막만 수질 및 저질 환경의 계절적 변동 특성", 여수수산대학교 수산과학연구소 연구 논문, 3, 21-33.
- [4] 한국해양연구소, 2000, "해양환경 관측 및 개선을 위한 기반 기술연구", BSPE 00787-00-1297-1, 54-60.
- [5] 환경부, 2000, "내분비계 장애물질 조사연구사업 결과보고서", 76-88.
- [6] 한상국, 박지영, 이문희, 2005a, "서남해 연안해역의 유기오염물질 분포특성에 관한 연구", 한국환경과학회지, 14(6), 597-603.
- [7] 한상국, 박지영, 2006, "광양만 저질에서의 미량오염물질 분포특성에 관한 연구", 한국환경과학회지, 15(7), 643-651.
- [8] 조현서, 김용욱, 신태선, Horiguchi, T., 2004, "광양만 주변 해역의 표층퇴적물 중 Bisphenol A의 오염에 관한 연구", 한국해양환경공학회지, 7(2), 104-110.
- [9] USEPA, 1998, "Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee final draft report", Washington D.C., 17-18.
- [10] Soto, A.M., Sonnenschein, C., Chung, K.L., Fernandez, M.F., Olea, N. and Serrano, F.O., 1995, "The E-Screen assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants", Environ Health Perspect, 103, 113-122.
- [11] Villalobos, M., Olea, N., Brotons, J.A., Olea-Serrano, M.F., Ruiz de Almodovar, J.M. and Pedraza, V., 1995, "The E-screen assay: A comparison of different MCF-7 cell stocks", Environ Health Perspect, 103, 844-850.
- [12] Han, S.K., Han, S.Y., Moon, H.J., Kim, H.S., Lee, D.H., Kim, S.H., Kim, T.S. and Park, K.L., 2000, "Study on estrogenic activities of phthalate esters using E-screen assay and competitive binding assay", J. Toxicol. Pub. Health, 16(2), 141-146.
- [13] 조성렬, 김충래, 박순달, 김학성, 1997, "총 질소 분석방법의 비료", 한국수질보전학회지, 13(1), 43-49.
- [14] 김성수, 고우진, 조영조, 이필용, 전경압, 1998, "1996년 여름철 남해 표층수의 이상 저염수 현상과 영양염류의 분포 특성", 한국해양학회지, 3(3), 165-169.
- [15] 한상국, 박지영, 이종삼, 2005b, "남해 연안 해역에 있어서 미량유기오염물질의 정량적 평가", 한국해양환경공학회지, 8(4), 213-219.
- [16] Shiliro, T., Pignata, C., Fea, E. and Gilli, G., 2004, "Toxicity and estrogenic activity of a wastewater treatment plant in Northern Italy", Arch. Environ. Contam. Toxicol., 47, 456-462.
- [17] 윤상호, 김성아, 1996, "남해연안해역에 있어서 식물플랑크톤 군집의 계절변동 특성과 기초생산 1. 가막만 여수해만의 수질환경과 식물색소량 분포특성", 한국환경과학회지, 5(3), 347-360.
- [18] 강 훈, 김종구, 2006, "생태계모형을 이용한 가막만 해역의 환경용량 산정", 한국환경과학회지, 15(10), 951-960.
- [19] 김은영, 정홍호, 정호승, 조환익, 황주찬, 최상원, 2004, "광양만으로 유입하는 하천하구에서의 이화학적 특성 -우수기 직후 유입하천에 따른 영향-", 한국환경과학회지, 13(9), 789-798.
- [20] Jeon, D.-S. and Yang J.-S., 1990, "Determination of organophosphorus pesticides in Suncheon Bay", J. Oceano. Soc. Korea, 25, 21-25.
- [21] Park, M.-O. and Park J.-S., 2006, "GC-MS Analysis of Organophosphorus pesticide residue in Seawater from the Kwangyang Bay, Korea, J. Environ. Sci., 15(4), 293-304.
- [22] Oh, S.-M., Choung, S.-Y., Sheen, Y.-Y. and Chung, K.-H., 2000, "Quantitative assessment of estrogenic activity in the water environment of Korea by the E-screen assay", The Science of the Total Environment, 161-169.

2007년 1월 23일 원고접수

2007년 5월 4일 수정본 채택