

체지방 조직 및 초유중에 잔류되어 있는 다이옥신 함유도에 관한 연구

김연제* · 이선영 · 한순영* · 박귀례* · 김광섭* · 양규환* · 김은경** · 김명수

한국과학기술연구원 도핑컨트롤센터, *식품 의약품 안전청 국립 독성 연구소,

**충북과학대 생명정보학과

(2001. 6. 12. 접수)

The Concentrations and TEQ Levels of PCDFs and PCDDs in Human Adipose Tissue and First Breast Milk of Korean

Yunje Kim*, Sun Young Lee, Han Soon Young*, Park Kui Lea*,

Kil Kwang Sup*, Yang Kyu Hwan*, Kim Eun Kyung** and Myungsoo Kim

Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology, P.O.BOX 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea

*National Institute of Toxicological Research,

Korea Food and Drug Administration, 5 Nokbun-Dong, Eunpyung Gu, Seoul 122-704, Korea

**Department of Biotechnology & Bioinformatics Chungbuk Provincial University of Science and Technology,

Okchon, Chungbuk 373-800, Korea

(Received June 12, 2001)

요 약 : 우리 나라 사람들의 체지방 조직과 초유중에서, 다이옥신의 잔류 농도를 HRGC/HRMS를 이용하여 동위원소희석법으로 측정하였다. 체지방 조직 시료는 서울에 있는 모병원에서 채취하였으며, 체지방 조직에서의 PCDFs의 총농도와 TEQ 농도는 각각 5.812 pg/g, 1.485 pgTEQ/g 이었고, PCDDs의 총농도와 TEQ 농도는 각각 26.648 pg/g, 1.176 pgTEQ/g 이었다. 서울대학 병원으로부터 받은 산모 20명의 초유에 함유된 다이옥신의 잔류농도는 PCDFs의 총 농도가 7.019 pg/mL, TEQ 농도로 환산하면 0.177 pgTEQ/mL이었고, PCDDs의 총 농도와 TEQ 농도는 각각 14.224 pg/mL, 0.693 pgTEQ/mL이었다. 체지방 조직과 모유에서의 다이옥신 이성질체들의 분포는 PCDDs가 PCDFs보다 상대적으로 높게 나타났으며, 그 중 OCDD가 가장 높은 농도로 포함되어 있다.

Abstract : The concentrations and TEQ levels of PCDFs/PCDDs in human adipose tissue and first breast milk were analyzed by high resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometry. The human adipose tissue samples measured in this study have been collected at hospital in Seoul. The total concentration and TEQ level of PCDFs were showed 5.812 pg/g and 1.485 pgTEQ/g. The total concentration and TEQ level of PCDDs were showed 26.648 pg/g and 1.176 pgTEQ/g, respectively. This paper also reported dioxin levels in 20 breast milks of Korean mothers from hospital in Seoul National University. Total concentrations and TEQ levels of PCDFs were showed 7.019 pg/mL and 0.177 pgTEQ/mL, respectively. Total concentrations and TEQ levels of PCDDs were showed 14.224 pg/mL and 0.693 pgTEQ/mL, respectively. According to the contribution of dioxin congeners in samples, PCDDs was higher than PCDFs. And OCDD had the highest concentration.

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-958-5060 Fax : +82-(0)2-958-5059

E-mail : yjkim@kist.re.kr

Key words : dioxin, PCDD/PCDF, human adipose tissue, first breast milk

1. 서 론

다이옥신은 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (2,3,7,8-TCDD) 을 지칭하며, 일반적으로 dibenzo-p-dioxin과 dibenzofuran의 염소 유도체들을 다이옥신이라 한다. 치환된 염소의 숫자와 위치에 따라 polychlorinated dibenzo-p-dioxin (PCDDs)은 75종, polychlorinated dibenzofuran (PCDFs)은 135종으로 총 210종의 이성질체가 존재하며, 이 중 2,3,7,8 위치에 염소가 위치한 이성질체가 가장 독성이 강한 것으로 알려져 있다. 다이옥신은 화학 합성의 부산물로서 생성될 뿐만 아니라, 화석 연료를 연소시킬 때에도 발생되어 대기를 통하여 자연계에 확산되고 있으며, 제지공장에서 표백시 사용하는 염소에 의해서도 생성되어 환경을 오염시키고 있다.

다이옥신은 대기와 토양, 저질, 하천 등에 미량으로 널리 분포하고 있으며 안정한 물리화학적 성질로 인해 체내에 축적되기 쉬워 이로 인한 면역독성 및 발암성, 기형성, 내분비계 장애 등의 강한 독성을 갖는 것이 동물 실험을 통해 보고되었다.^{1,2} 또한 인간에 대한 다이옥신의 노출 평가가 다양한 방면에서 시도되었는데 최근에는 인간의 혈액이나 신체 조직 등에 포함되어 있는 다이옥신을 직접 측정함으로써 이들이 미치는 독성이 연구되고 있다.

1980년대 초기에 Gross 등에 의해 처음으로 인간의 체지방 조직에 함유되어 있는 다이옥신에 대한 연구가 수행되었는데, 베트남전에서 Agent Orange에 노출된 퇴역 미군들을 그 대상으로 하였다.³ 이 외에도 다른 산업화된 지역에서 인간의 체조직에 관한 연구결과가 발표되어졌다.^{4,5}

또한 모유는 수유를 통해 영유아에게 노출될 수 있으므로 여러 나라에서 중요한 관심을 가지고 연구하고 있다.⁶ 모유에 잔류하고 있는 상대적으로 높은 농도의 다이옥신 때문에 최근 여러 해 동안 모유를 먹는 아기들을 대상으로 위해성 평가에 많은 관심이 모아지고 있다.⁷ 그러나 다이옥신류에 대한 노출 평가가 아직 국제적으로 일치되어 있지 않아 각 국가나 기관에 따라 내용일일섭취량 (tolerable daily intake)이 많은 차이를 보이고 있다. 지속적인 모니터링을 통해 다이옥신의

노출에 따른 인체 유해 영향을 평가하는 데 있어 합리적인 기준을 확립 할 필요가 있다.

우리 나라의 경우 소각로에 의한 다이옥신의 대기 오염이 문제시되면서 환경⁸에 대한 관심이 높아지고 이에 대한 연구가 많이 진행되고 있지만, 인체 시료에 대한 직접적인 연구는 아직 미흡한 실정이다. 본 연구에서는 우리 나라 사람들의 체지방 조직과 모유에 포함된 다이옥신을 분석함으로써 다이옥신의 잔류실태와 노출정도를 파악하고자하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료

체지방 조직시료는 사람의 복부에서 채취한 것으로 서울에 위치한 모병원에서 받았으며, 모유 시료는 서울대학교 병원에서 채취하여 받았다. 두 종류의 시료 모두 받는 즉시 -20℃ 냉장고에 보관하였다가 분석 전에 녹여서 사용하였다.

2.2. 분석물질

다이옥신 이성질체 중에서 독성이 강한 것으로 알려진 2,3,7,8 치환체들 17종에 대해 시험하였다. PCDDs 7종과 PCDFs 10종을 Table 1에 나타내었다.

Table 1. 2,3,7,8-Substituted congeners of dioxins

Compounds	
Furan	2,3,7,8-TCDF
	1,2,3,7,8-PeCDF
	2,3,4,7,8-PeCDF
	1,2,3,4,7,8-HxCDF
	1,2,3,6,7,8-HxCDF
	1,2,3,7,8,9-HxCDF
	2,3,4,6,7,8-HxCDF
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF
	OCDF
Dioxin	2,3,7,8-TCDD
	1,2,3,7,8-PeCDD
	1,2,3,4,7,8-HxCDD
	1,2,3,6,7,8-HxCDD
	1,2,3,7,8,9-HxCDD
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD
	OCDD

2.2. 표준물질 및 시약

검량선 작성 표준물질로 EDF-9999 Method 1613 calibration solutions과 $^{13}\text{C}_6$ 이 표시된 PCDDs 7종과 PCDFs 10종의 내부 표준 물질을 Cambridge Isotope Laboratories (Andover, Massachusetts)사에서 구입하여 사용하였다. 분석중에 사용된 용매와 무수 황산나트륨은 모두 J.T.Baker (Phillipsburg, NJ, U.S.A)사에서, 실리카 컬럼과 florisil 컬럼은 Waters, Ireland에서 만든 Sep-Pak[®] 제품을 구입하여 사용하였다. 황산과 에탄올은 Merck (Darmstadt, Germany)사에서, KOH와 formic acid, sodium chloride는 Junsei Chemical Co. (Tokyo, Japan)사에서, sodium oxalate는 Kanto Chemical Co., INC (Tokyo, Japan)에서, 벤젠은 Wako (Osaka, Japan)의 제품을 사용하였다. 정제용 실리카, 알루미늄, 활성탄 컬럼은 Fluid Management Systems (Watertown, MA, U.S.A)사의 다이옥신 분석용을 사용하였다.

2.3. 분석방법

생체 시료에서의 다이옥신 분석을 위한 시료 전처리는 US EPA Method 1613과 미국 Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Laboratory Protocol을 약간 변형하여 17종의 2,3,7,8 치환 이성체에 대한 연구가 진행되었다.

체지방 조직의 분석은 사람의 복부에서 채취한 체지방 조직을 2 g 취하여 30% KOH 용액으로 24시간 분해시킨 후 무수 황산나트륨을 가해 잘 혼합한 후 내부표준물질을 첨가하여, 헥산으로 추출한 후 실리카 컬럼과 Florisil 컬럼을 통과시킨다. 잔사를 진한 황산과 20% KOH용액으로 산/염기 추출을 한 후, 세정 및 탈수과정을 거쳐 컬럼 정제를 실시하였다. 실리카, 알루미늄, 활성탄 컬럼을 거쳐 톨루엔으로 다이옥신을 추출하고 이 톨루엔을 증발 건조 후 recovery 용액으로 make up하여 기기에 주입하여 분석한다.

모유 시료 분석은 시료를 10 mL 취해 내부 표준 물질을 넣고 잘 흔들어 준 후 10분 간 방치시킨 다음, sodium oxalate, formic acid, ethanol, sodium chloride를 가해 잘 흔들어 digestion 시킨다. 이것을 헥산으로 추출하여 rotary evaporator에서 농축시켜, florisil 컬럼을 통과 시키고, 체지방 조직에서와 같은 방법으로 산/염기 추출과 컬럼 정제를 실시하였다. 실리카, 알루미늄, 활성탄 컬럼을 거쳐 톨루엔으로 다이옥신을 추출하고 이 톨루엔을 증발 건조 후 recovery 용액으로 make up

하여 기기에 주입하여 분석한다.

체지방 조직과 모유에 포함되어 있는 다이옥신 분석을 위한 HRGC/HRMS의 조건을 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Operation conditions for HRGC/HRMS

GC	HP 5890 Series II
Column	Ultra-2 (5% phenylmethyl silicone)
Oven temperature program	Injection temp. : 300°C Initial temp. : 100°C Initial time : 2 min Rate 1 : 10°C/min Final temp. 1 : 200°C Rate 2 : 3°C/min Final temp. 2 : 310°C Final time : 15 min Transfer line temp. : 280°C
Injection method	Splitless
MS	Finnigan 95S Resolution : ca. 10,000 Ion current : 1.00 mA Electron voltage : 50 eV Accelerating voltage : ca. 5 kV Ion source temp. : 250°C

2.4. 정성 및 정량분석

17종의 다이옥신에 대한 정성확인인 분자량 M과 M+2 또는 M+4의 이온 크기비가 99% 신뢰구간에 들어오면 정성 확인된 것으로 생각하고, carbon 13 labeled 내부표준물질에 의하여 정량하였다. 정량된 값은 TEQ 값으로 환산되었다. 검량선은 Cambridge Isotope Laboratories 의 EDF-9999 Method 1613 calibration solutions를 이용하여 작성하였고, 2,3,7,8-TCDD의 경우 0.5-200 ng/mL 농도 범위에서, OCDD와 OCDF의 경우는 5.0-2000 ng/mL 농도 범위에서 작성하였다. 매일의 기기상태는 CS1를 이용하여 점검하였다.

각 이성질체들의 mass spectrum은 Fig.1에 나타내었다. 정량분석을 위해 Multiple Ion Detection (MID) 방법을 사용하였으며, 각각의 이성질체에 대해 M+와M+2 또는 M+2와 M+4와 같이 이온 세기가 높은 2개 이온의 질량을 선택하였다. TCDF는 303.9016/305.8987, TCDD는 319.8965/321.8936, PeCDF는 339.8597/341.8567, PeCDD는 355.8546/357.8516, HxCDF는 373.8208/ 375.8178, HxCDD는 389.8157/391.8127, HpCDF는 407.7818/409.7789,

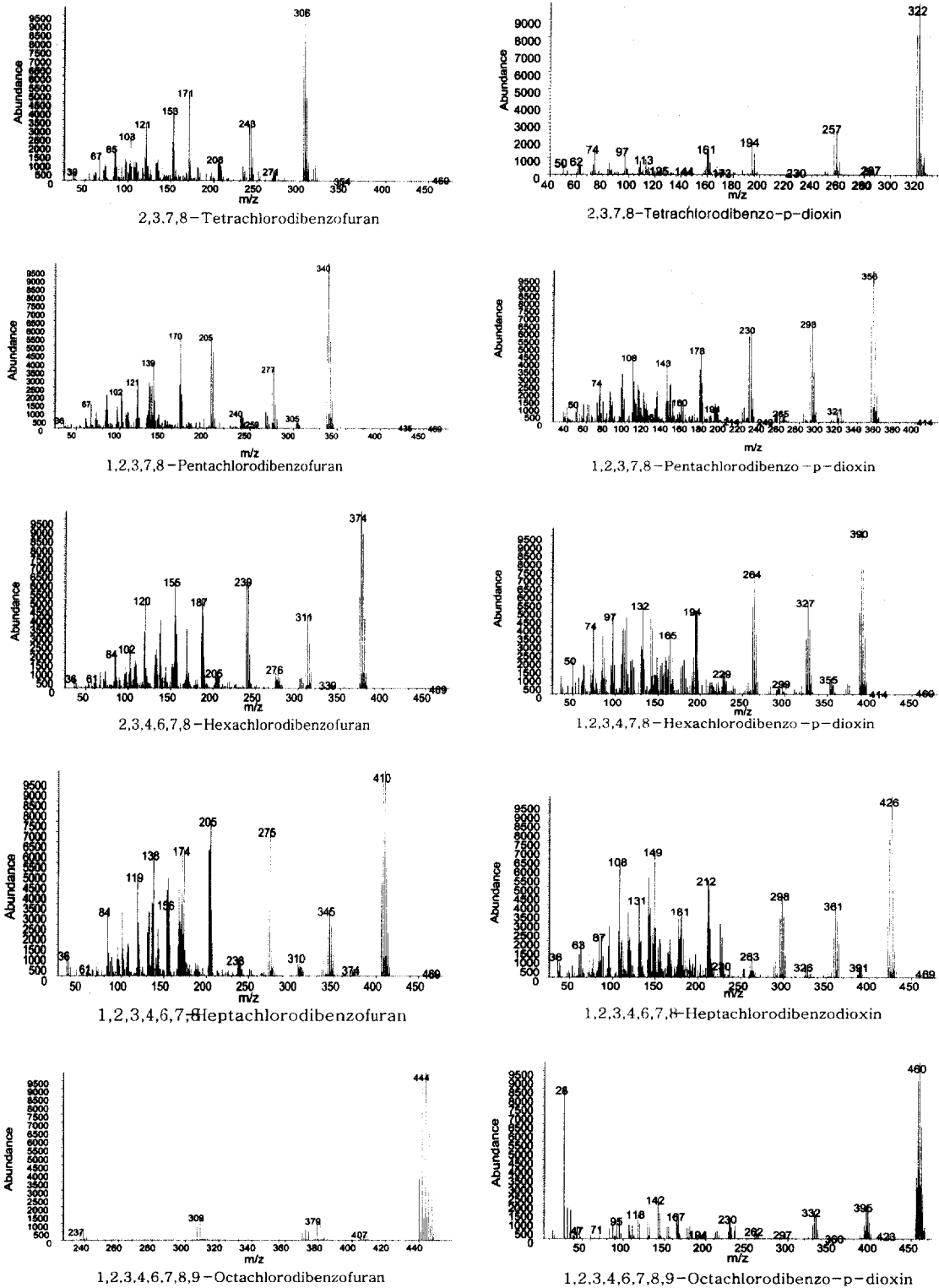


Fig. 1. Mass spectra of PCDFs/PCDDs.

HpCDD는 423.7766/425.7737, OCDF는 441.7428/443.7399, OCDD는 457.7377/459.7348를 선택하였다.

3. 결과 및 고찰

표준 물질의 머무름 시간과 일치되는 봉우리로 PCDDs 및 PCDFs를 검출하고 2.4에 설명된 방법에 따라 정량분석하였다. 회수율은 체지방 조직의 경우 TCDD/F가 104-105%, PeCDDs/Fs가 95-105%, HxCDDs/Fs가 90-129%, HpCDDs/Fs가 90-122%, OCDD/F가 99% 이었다.

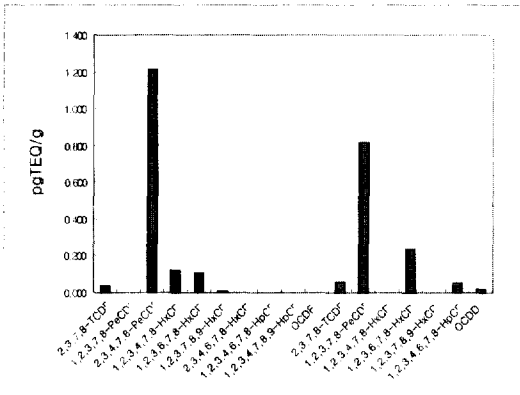


Fig. 2. The total TEQ values of PCDFs and PCDDs in human adipose tissue.

인간의 체지방 조직에서 검출된 PCDFs의 평균 농도는 0-2.420 pg/g의 범위였고, 이것을 TEQ 농도로 환산하면 0-1.210 pgTEQ/g의 범위였다. PCDFs의 총농도는 5.812 pg/g, TEQ 농도로는, 1.485 pgTEQ/g이었다. PCDDs의 평균 농도는 0-17.321 pg/g의 범위였고, TEQ 농도로는 0-0.816 pgTEQ/g의 범위였다. PCDDs의 총농도는 26.648 pgTEQ/g이고, TEQ 농도로 바꾸면 1.176 pgTEQ/g이었다. Fig. 2는 체지방 조직에 함유되어 있는 PCDFs와 PCDDs의 TEQ농도값을 그래프로 나타내었다. 다이옥신 이성질체들의 분포 패턴을 살펴보면 PCDDs가 PCDFs보다 비율이 높고, PCDFs에서는 2,3,4,7,8-PeCDF가, PCDDs에서는 OCDD가 가장 높은 농도를 나타냈으나 TEQ값에 차이가 있어 OCDD의 경우 상대적으로 다이옥신의 독성에 커다란 영향을 미치지 않는다. 일본⁴의 경우 체지방 조직에 함유된 총 PCDDs/PCDFs의 농도는 450.8 pg/g으로 본 연구에서

의 결과보다 높은 값을 나타내었으나 염소가 많이 치환된 화합물일수록 높은 농도 분포를 보이고 특히 OCDD에서 가장 높은 농도를 나타내는 등 다이옥신 이성질체들의 분포가 본 연구에서의 결과와 비슷한 경향을 보여주었다. 이것은 일본과 우리나라의 비교적 비슷한 식습관에 기인한 것이라 사료된다. Fig. 3은 각 이성질체 분포 특성을 TEQ 농도로 나타내었다.

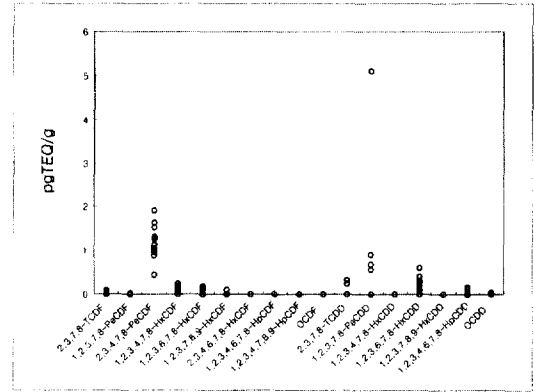


Fig. 3. The distribution of TEQ values of PCDFs and PCDDs in human adipose tissue.

모유 시료의 경우에는 회수율이 TCDD/F가 75-87%, PeCDDs/Fs가 80-94%, HxCDDs/Fs가 76-98%, HpCDDs/Fs가 87-102%, OCDD/F가 78% 로 체지방 조직의 경우에 비해 낮은 회수율을 나타내었다. 우리 나라 산모의 초유에서 PCDFs의 평균 농도는 0-4.696 pg/mL의 범위였고 이것을 TEQ 농도로 환산하면 0-0.059 pgTEQ/mL의 범위를 나타내었다. PCDFs의 총농도와 TEQ 농도는 각각 7.019 pg/mL, 0.177 pgTEQ/mL이었다. 초유의 PCDDs의 평균 농도는 0-8.389 pg/mL이었고, 평균 TEQ 농도는 0-0.330 pgTEQ/mL이었다. PCDDs의 총농도는 14.224 pg/mL이고 TEQ 농도로는 0.693 pgTEQ/mL이었다. 다이옥신의 각 이성질체들의 분포를 Fig. 4과 Fig. 5에 나타내었는데, PCDDs가 PCDFs보다 높은 비율로 분포하고 있어 체지방 조직에서의 분석 결과와 유사한 경향을 보여주고 있다.

외국의 연구 결과들을 살펴보면 모유의 경우 총 PCDDs/PCDFs가 프랑스가 6.5-34.3 pg/g(1998-9), 독일이 5.6-87.1 pg/g(1988), 일본이 230.6 pg/g(1999) 인데,^{9,13} 이것은 지방 함량을 기준으로 계산된 값으로 서울에 살고 있는 산모들의 다이옥신 농도가 상대적으로 낮음을 알 수 있다.

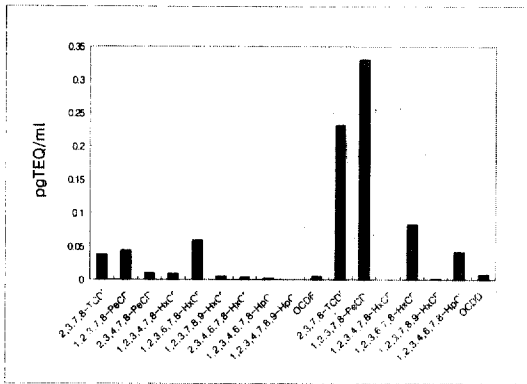


Fig. 4. The total TEQ values of PCDFs and PCDDs in breast milk.

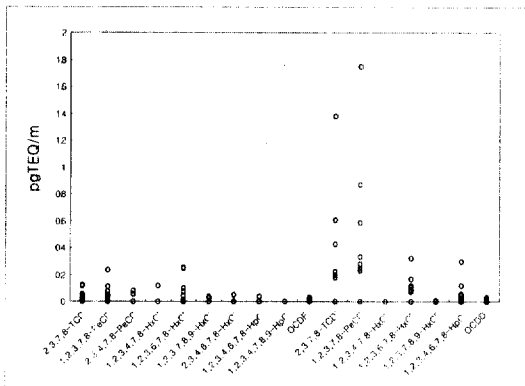


Fig. 5. The distributions of TEQ values of PCDFs and PCDDs in breast milk.

그러나 체지방에 대한 연구 결과는 서울의 한 지역에 국한된 것이고, 더욱 신뢰성 있는 결과를 얻기 위해서는 더 많은 시료를 대상으로 연구가 이루어져야 할 것이다. 모유에 관한 연구 역시 서울 한 지역에서 만 초산, 재산의 구분 없이 초유만으로 진행되었다. 우리 나라 모유에 대한 위해도 평가를 내리기 위해서는, 출산 후 시간 경과에 따른 다이옥신의 잔류 농도 변화와 초산과 재산간의 잔류 농도 차이, 각 도시별

다이옥신 이성질체의 분포 등, 좀 더 많은 시료를 모니터링하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

4. 참고 문헌

1. J. Huff, *Chemosphere*, **25**, 173-176 (1992)
2. R. D. Hinsdill, D. L. Couch and R. S. Speirs, *Environ. Pathol. Toxicol.*, **4**, 401-412 (1980)
3. M. L. Gross, J. O. Lay, Jr., P. A. Lyon, D. Lippstreu, N. Kangas, R. L. Harless, S. E. Taylor and A. E. Dupuy, Jr., *Environ. Res.*, **33**, 261 (1984)
4. H. Thoma, W. Mucke and G. Kauert, *Chemosphere*, **20**, 433-442 (1990)
5. G. L. LeBel, D. T. Williams, F. M. Benoit and M. Goddard, *Chemosphere*, **21**, 1465-1475 (1990)
6. L. G. M. Th. Tuinstra, M. Huisman and E. R. Boersma, *Chemosphere*, **29**, 2267 (1994)
7. D. Neubert, *Xenobiotica*, **18**, 45-58 (1988)
8. 신선경, 정영희, 이재인, *한국분석과학회지*, **12**, 540-549 (1999)
9. H. Hirakawa, T. Matsueda, T. Iida, M. Nakamura, T. Nagata and J. Nagayama, *Organohalogen Compounds*, **21**, 419-423 (1994)
10. N. Frery, A. Deloraine, F. Dor, A. Zeghnoun and F. Rouviere, *Organohalogen Compounds*, **48**, 47-50 (2000)
11. A. Schecter, O. Papke, P. Furst and J. J. Ryan, *Organohalogen Compounds*, **33**, 473-478 (1997)
12. T. Iida, H. Hirakawa, T. Matsueda, R. Nakagawa, T. Hori and J. Nagayama, *Organohalogen Compounds*, **44**, 123-128 (1999)
13. T. Kashimoto, K. Takayama, M. Mimura, H. Miyata, Y. Murakami and H. Matsumoto, *Chemosphere*, **19**, 921-926 (1989)