

물속 휘발성 유기화합물이 염색체 돌연변이에 미치는 영향

정규생 · 이채용¹ · 신현길² · 이기남³ · 정재열^{3*} · 이종영⁴

경북대학교 대학원 보건학과, 1: 포천중문의과대학 구미차병원 산업의학과, 2: 한동대학교 생물식품공학부,
3: 원광대학교 한의학전문대학원 제3외학과, 4: 경북대학교 의과대학 예방의학교실

Genotoxic Effects of Volatile Organic Compounds in Water

Kyu Saeng Jung, Chae Yong Lee¹, Heuyn Kil Shin², Ki Nam Lee³, Jae Yeal Jeung^{3*}, Jong Young Lee⁴

Graduate School of Public Health, Kyungpook National University,

1: Department of Occupational & Environmental Medicine, Kumi CHA Medical Center, College of Medicine Pochon CHA University,

2: School of Bioscience and Food Technology, Handong University,

3: Department of The 3rd Medicine, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University,

4: Department of Preventive Medicine, School of Medicine, Kyungpook National University

For determination of the genotoxicity of VOCs(Volatile Organic Compounds) in water, in vitro Comet assay was performed using 3T3 cells. The selected 5 VOCs; Trichloroethylene(TCE), Tetrachloroethylene(PCE), Carbontetrachloride (CteC), Dichloromethane(DCM) and Chlorofrom(Chl) and mixed solvent(Mix), are the test items for drinking water quality. Author analyzed the genotoxicity of these solvents through their tail length (TL) values. Mix, PCE, Chl, TCE in order had cytotoxicity at the highest concentration, and CCl₄ and DCM had no cytotoxic effect. TCE, CCl₄, Chl, PCE, Mix, DCM had genotoxicity, Chl, PCE, Mix had both cytotoxicity and genotoxicity simultaneously. Cytotoxic effect of mixed organic solvents, compared with that of single component, at each concentration, was influenced by the synergistic effect of the interaction of each organic component.

Key words : Genotoxicity, Volatile Organic Compounds, Comet Assay, Cytotoxicity, Water Quality, 3T3 Cell

서 론

WHO에 의하면 물 속에는 2,000여종의 화학물질 등이 존재 하며 또한 미국 EPA에서 5개 주의 음용수에 존재하는 유기물질 등을 확인한 결과 1,152종이었다고 한다¹⁾. 수질오염에 의한 생태 계와 건강장애 현상은 세계 곳곳에서 대두되고 있으며 대개 만성적으로 그 원인과 증세가 다양하고 비특이적이다. 세탁제로 사용하고 있는 trichloroethylene(TCE) 5갈론의 양이 불법적으로 방류되어 약 5만 가구가 살고 있는 에디슨 벨리(미국, 뉴저지)의 지하 식수원을 오염시킨 사건이 1972년에 발생하여 1986년까지 거의 모든 우물에서 TCE가 검출되었으며, 영국 남부지방 해안지역 하구에서 클로로포름 등 131종의 Volatile Organic Compounds (VOCs)를 조사한 결과 최저 10에서 최고 50,000µg/ℓ 로 다양하게 검출되었다²⁾. 우리나라에서도 1990년도에 발생한 정수의 trihalomethane(THM) 문제와 1991년 낙동강 페놀사건 등 수질

의 이상 현상들이 발생하였다³⁾. 음료수와 하천수 중에 TCE, perchloroethylene(PCE) 등 VOC가 미량 검출되었고^{4,7)}, 하수 처리 전후의 비교 분석과 VOC 제거방법 등 많은 연구가 수행되었다⁸⁻¹⁰⁾. 우리나라에서는 휘발성 유기화합물(VOCs)을 탄화수소류 중 레이드 증기압이 0.13kPa(또는 1.5 psi) 이상인 석유화학제품, 유기용제, 기타 물질로 대기환경보전법에 정한 것을 말하며 이러한 물질들은 다른 유기용제 보다 휘발성이 강하고 용해력과 세정력이 우수하여 반도체, 자동차, 섬유산업, 도료, 접착제, 세탁업 등 다양하게 사용되고 있다. VOC 중 지방족 탄화수소(할로젠) 화합물로는 chloroform, carbon tetrachloride, dichloromethane, trichloroethylene 등 많은 종류가 있으며 일반적으로 VOCs의 대부분은 발암 가능성 물질들이다. 최근 선진국에서 조사된 자료에 의하면 미량 존재하면서도 발암성이나 만성중독을 유발시키는 화학물질에 의한 하천수의 오염이 현실적으로 예상되고 있으며 종래의 물리화학적인 수질 기준으로는 음용수의 안전성 확보에 어려움이 많은 실정이다. 수질 중에는 농약, 유해 화학물질, 중금속 등 다양한 종류가 복합적으로 존재할 수 있어 화학분석 결과만으로는 예측되는 독성과 생물학적 검정 결과와는 크게 차이가

* 교신저자 : 정재열, 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의학전문대학원

E-mail : jaeyeal@wonkwang.ac.kr Tel : 063-850-6941

· 접수: 2002/06/21 · 수정: 2002/08/12 · 채택 : 2002/09/17

있기 때문에 복합물질의 독성평가 시에는 생물학적 검정방법의 도입이 필요하리라 생각된다^{11,12}. 물 속에는 미량의 유해 화학물질들이 존재하고 있어 외국에서는 오래 전부터 수질의 안전성 확보를 위하여 생물학적인 검정으로서 Ames test를 이용하여 수질을 평가하여 왔다. 수돗물, 지하수, 강물, 호수, 산업폐수 등을 Ames test로 많은 연구보고를 하였으며¹³⁻¹⁷, 다른 유전독성 평가를 위한 변이원성 실험으로서 물고기의 소핵실험 등도 있었다¹⁸. 국내 연구로는 수돗물, 산업폐수, 강물 등에 대한 연구를 Ames test로 실시한 적이 있었다^{11,19,20}. 그러나 포유동물 배양세포를 이용하여 DNA의 손상 정도를 계량화 할 수 있는 방법 중 단세포 전기영동법(Single Cell Gel electrophoresis, SCGE) 일명 Comet assay로 조사 연구된 사례는 찾아보기 힘든 실정이다. 외국에서는 Comet assay로 돌연변이와 관련된 여러 가지 물질을 검색하고²¹, DNA 손상과 복구에 관련된 유전독성학분야와^{22,23} 환경오염에 대한 biomonitoring 등에 광범위하게 연구되고 있다^{24,25}. 국내 연구로는 의약품 등의 안전성 검토를 위한 유전독성 실험²⁶, 김치의 유산균들이 항 유전독성효과²⁷ 등에 이용되고 있으나 수질환경 분야에서는 이 방법으로 연구보고 된바 없다. 이 연구에서는 물의 질적 안전성을 높이고 효율적인 관리를 위하여 Comet assay로 물 속의 VOC가 포유동물 배양세포의 DNA 돌연변이에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 시료

실험에 사용한 시료 VOC는 물 속에서 비교적 반감기가 길고 생태계와 인체에 미치는 영향이 비교적 많은 것을 대상으로 하였고 실험용액은 최저농도를 기준으로 하여 공비는 3으로 6단계로 희석한 후 각 농도별로 조제하였으며, 또한 상호작용을 관찰하기 위하여 5종의 VOC를 동일용량으로 혼합하였다(Table 1).

Table 1. Physical and Chemical properties of VOCs.

Chemical	Chemical formula	CAS No	Molecular weight	Boiling temp (°C)	Melting temp (°C)	Specific Gravity	Solubility in water (g/l)	Vapor Press (25°C:kPa)
DCM	CH ₂ Cl ₂	75-09-2	84.9	39.75	-95.0	1.325	2.0	58.40
Chl	CHCl ₃	67-66-3	119.38	61.2	-63.2	1.484	8.0	25.60
CteC	CCl ₄	56-23-5	153.8	76.72	-22.92	1.594	0.785	15.36
TCE	C ₂ HCl ₃	79-01-6	131.40	86.7	-86.4	1.464	1.10	10.30
PCE	C ₂ Cl ₄	127-18-4	165.85	121.2	-23.4	1.623	0.15	2.48

DCM: dichloromethane, Chl: chloroform, CteC: carbon tetrachloride, TCE: Trichloroethylene, PCE: tetrachloroethylene.

2) 시약 및 기기

세포의 배양을 위해 사용된 DMEM, RPMI-1640, calf serum(CS), foetal bovine serum(FBS), L-glutamic acid 등은 Gibco BRL 사, penicillin G, streptomycin sulfate, MTT용 시약, Histopaque 1077, low melting point agarose(LMA) 및 normal melting point agarose(NMA)는 Sigma 사, cell culture dish, 96 well titer plate 등은 Cornig 사, MWCO 3,500 dialysis tube는

Spectrum TKL 사, glutathione S-transferase(GST) 측정용 시약인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)은 Aldrich 사, DNA 형광염색 시약 YOYO-1은 Molecular probes 사, Comet assay용 slide glass는 ERIE scientific 사, cover glass는 Superior 사, 전기영동 kit는 Hoefer 사, Proteinase K는 Amresco 사, Sepharose 4B, CM Sepharose, Sephdex G-25, G-50 및 전기영동용 low molecular weight(LMW), 단백질 크기 marker는 Pharmacia LKB 사, silica gel은 Merck 사 그리고 DMSO, N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)는 Fluka 사, VOCs 표준물질은 Library와 Supelco 사 제품을 사용하였다.

3) 세포주

ATCC number: CCL-92, Mouse embryo 기원의 3T3-Swiss albino (mouse fibroblasts) 세포주의 배양을 위해 열처리된 CS가 10% 첨가된 DMEM 배지에서 직경 9cm의 조직배양 접시에서 37°C, 5% CO₂를 유지하는 습윤배양기(Lab-line Instruments, S.A)로 배양하였다.

2. 실험 방법- 시험관내 유전독성

1) 3T3 세포에서 유전독성 검사

시험관내 유전독성 실험을 위해 사용된 3T3 세포는 매 세포계대시에 직경 3cm의 둥근 조직 배양접시에 8×10⁴cell/plate로 분주하여 72시간 동안 배양하였다. 2일 후 PBS 완충용액으로 세척하고 37°C에서 30분간 배양시켰다. 배양이 끝남과 동시에 즉시 PBS 완충용액으로 철저히 세척하고 PBS 완충용액에 녹인 농도가 0.12µg/ml의 Proteinase K 용액 100µl를 처리하여 세포들을 조직배양 접시로부터 완전히 떼어낸 후, 세포배양액 1ml를 가하여 세포들을 현탁시켜 Eppendorf tube로 옮겼다. 세포현탁액을 1,000rpm에서 5분간 원심분리하고 상층액은 버린 뒤 300µl의 complete media를 넣어 재현탁시켜 실험에 사용하였다.

2) Pre-Coated Agarose Gel Slide의 준비

PBS 완충용액에 녹아있는 0.5% NMA 용액을 전자레인지로 데운 후, 항온수조에서 50°C로 유지하였다. Fully frosted slide glass(70×25mm)의 서리가 슬어있는 면에 NMA 용액 35µl를 깔아서 건조시킨 후, 다시 80µl를 cover glass에 균일하게 깔고 덮은 뒤 얼음이 들어있는 평평한 stainless box위에 5분간 놓아 굳혔다. 만들어진 pre-coated agarose gel slide는 습기가 있는 slide 보관함에 실험 전까지 보관하였다.

3) Cell Agarose Embedding

세포의 agarose gel 용액 내에 embedding, lysis 및 전기영동 등은 Singh의 방법에 따라서 실시하였으며²⁸ 그 방법은 그림 1에 제시하였다. 원심분리에 의하여 남겨진 처리 구별 세포 pellet은 항온수조에서 40°C로 유지되던 PBS 완충용액에 녹아 있는 0.75% LMA용액 80µl로 현탁시켰고 신속하게 pre-coated agarose gel slide 위로 micropipet으로 옮긴 후 cover slide을 사용하여 그 세포 현탁액이 골고루 분산되게 덮은 뒤 얼음이 차있는 평평한 stainless box 위에 놓아 굳혔다. 5분 후 cover slide를 제거하고 세포가 깔린 gel 위에 다시 0.75% LMA용액 80µl를 깐 후 Cover slide를 덮고 즉시 stainless box 위에 놓아 다시 5분간 굳

했다. 다음 Cover slide를 벗겨내고 냉장 보관중인 alkali lysis 용액(2.5M NaCl, 10mM Tris, 100mM Na₂EDTA, 1%(V/V) Triton X-100, 1N NaOH pH 10.0)에 1시간 동안 침수시켜 핵채만 제외하고 세포 내 모든 성분을 용해시켰다.

4) Electrophoresis

1시간동안 lysis용액에 침수시킨 모든 slide들은 수평상 전기영동판 위에 각각의 slide를 서로 밀착되게 깔았으며 전기영동용 완충용액(300mM NaOH, 1mM Na₂EDTA, pH 13.0)으로 slide 표면 위 0.7cm까지 채운 후 DNA를 unwinding 시키기 위하여 20분간 평형 시간을 주었다. 전기영동은 25V/300mA로 고정하여 20분간 실시하였다. 전기영동 후 각각의 slide는 중성화 완충용액으로 충분히 세척하였고 처리군별로 DNA 손상 정도를 살펴보기 위하여 형광염색 시약 YOYO-1(10 μ g/ml) 80 μ l로 염색하였다.

5) Comet Emage Analysis

염색된 slide는 200W mercury lamp(Osram, Germany)가 부착된 형광현미경(CSB-FEL, China)에서 200배로 관찰하였으며 CCD camera(COHU, U.S.A)를 통해서 보내진 각각의 세포핵의 image는 comet image analyzing system(perceptive instrument, U.K.)이 설치된 컴퓨터에서 분석하였다. 각각의 세포에서 DNA의 손상정도는 slide당 50개의 cell로 tail length를 분석함으로써 정량화 하였다.

결 과

농도별로 제조한 VOC를 3T3 Cell에 일정시간 동안 처리하여 comet assay로 DNA의 손상을 분석한 결과는 그림 1에서 부터 그림 6까지 제시하였다. DCM의 저농도(18 μ g/ml)에서 평균 TL값 24.7 \pm 5.49와 최고농도(4,420 μ g/ml)의 평균 TL값 29.17 \pm 12.17은 음성대조군의 평균 TL값 20.68 \pm 8.41보다 각각 19%, 41%가 증가하여 DNA 손상효과가 있는 것으로 관찰되었다. Viability는 처리군별로 음성대조군과 차이가 없었다(Fig. 1).

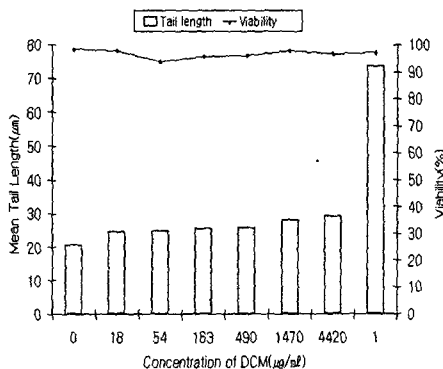


Fig. 1. Effect of DCM on DNA tail length and Viability of 3T3 Cell in the Comet Assay: TL Mean \pm SD of 50 Cells/Data point.

CteC의 고농도(1,620 μ g/ml)에서 평균 TL값 30.00 \pm 13.99과 최고 농도의 평균 TL값 54.67 \pm 14.21은 음성대조군의 평균 TL값보

다 각각 43%, 160% 증가하였다. Viability는 음성대조군의 98.2%와 차이를 보이지 않아 세포독성을 나타내지 않았다(Fig. 2).

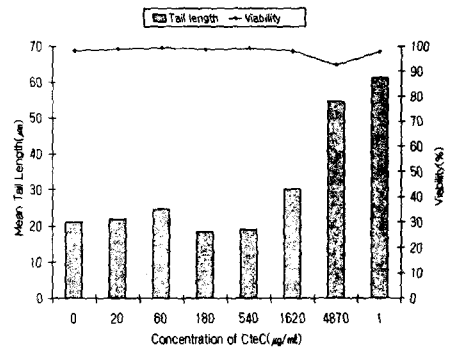


Fig. 2. Effect of CteC on DNA Tail Length and Viability of 3T3 Cell in the Comet Assay: TL mean \pm SD of 50 Cells/Data Point.

Chl의 최고농도(4,823 μ g/ml)의 평균 TL값 54.58 \pm 0.41은 음성대조군의 TL값 23.89 \pm 11.47보다 128% 증가되어 DNA의 손상효과가 관찰되었다. Viability는 최고농도에서 5.6%로 현저하게 감소되어 심한 세포독성효과를 관찰하였다(Fig. 3).

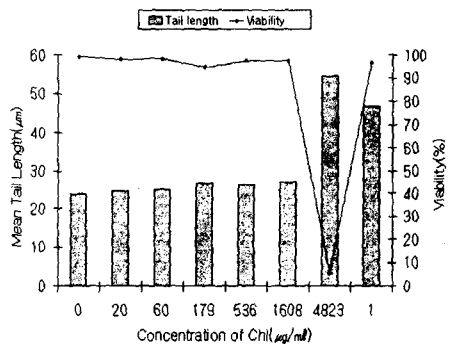


Fig. 3. Effect of Chl on DNA Tail Length and Viability of 3T3 Cell in the Comet Assay: TL Mean \pm SD of 50 Cells/Data Point.

TCE 최고농도(4,870 μ g/ml)의 평균 TL값 37.98 \pm 21.56은 음성대조의 평균 TL값보다 2배 증가하여 DNA의 심한 손상효과가 관찰되었다. Viability는 전체적으로 차이가 없었다(Fig. 4).

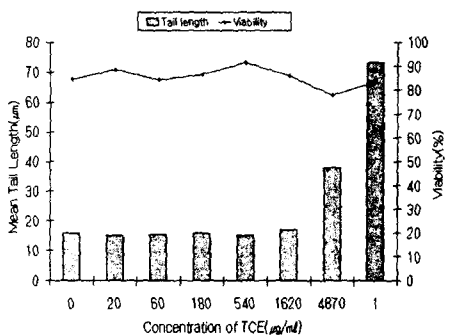


Fig. 4. Effect of TCE on DNA Tail Length and Viability of 3T3 Cell in the Comet Assay: TL Mean \pm SD of 50 Cells/Data Point.

PCE의 저농도(22 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 평균 TL값 22.07 \pm 7.84는 음성 대조군의 평균 TL값 16.79 \pm 2.37보다 31% 증가하였으며, 최고농도(5410 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 평균 TL값은 32.83 \pm 8.60으로 음성대조군의 평균 TL값보다 95%가 증가되어 DNA의 손상효과가 관찰되었다. 최고 농도에서 viability는 세포손상이 심하여 계산할 수 없었다(Fig. 5).

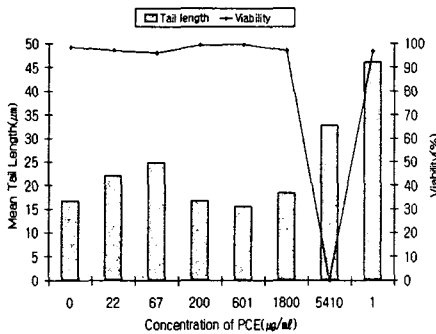


Fig. 5. Effect of PCE on DNA Tail Length and Viability of 3T3 Cell in the Comet Assay: TL Mean \pm SD of 50 Cells Per Data Point.

VOCs(5종)를 각 농도별로 혼합한 용액을 처리군별로 공비 3으로 희석하여 실험한 결과, 고농도(812 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 및 최고농도(2439 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 세포독성 효과가 관찰되었고, 고농도(812 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 및 최고농도(2439 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 평균 TL값이 음성대조군의 TL값보다 상승되어 DNA의 손상 효과가 관찰되었다(Fig. 6).

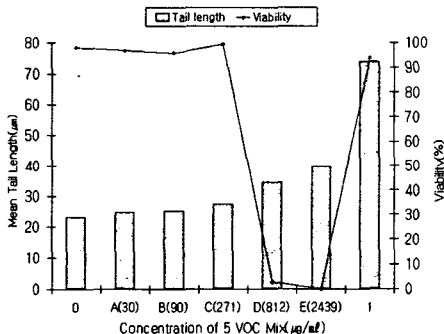


Fig. 6. Effect of Mixa on DNA Tail Length and Viability of 3T3 Cell in the Comet Assay: TL Mean \pm SD of 50 Cells/Data Point. a, each of dose of ① C_2HCl_3 487 μg , ② C_2Cl_4 541 μg , ③ CCl_4 487 μg , ④ CH_2Cl_2 442 μg ⑤ CHCl_3 482 μg was mixed in 1 ml of HBSS buffer. A : ①6.0 ②6.7 ③6.0 ④5.4 ⑤5.97, B : ①18.0 ②20.0 ③18.0 ④16.4 ⑤17.9, C : ①54.1 ②60.1 ③54.1 ④49.1 ⑤53.6, D : ①162.3 ②180.3 ③162.3 ④147.3 ⑤160.7, E : ①487.0 ②541.0 ③487.0 ④442 ⑤ 482

고찰

Comet assay로 DNA에 strand break, adducts, chromosome aberration, cross link 및 sister chromatid exchanges(SCE), micronucleus 등을 일으키는 유전독성물질을 검색하는데 유용한 방법으로 형광염색시약을 이용하여 DNA를 염색하여 형광현미경으로 단시간에 직접 관찰할 수 있으며 여러 화학물질의 세포 독성, 돌연변이 유발성 및 항돌연변이원성을 검색할 수 있는 방법이다²⁹⁻³². 특히 이 방법은 미생물이 아닌 고등동물의 세포를 이

용하므로 미생물과 고등동물간의 유전적 그리고 생리적인 큰 차이를 보완할 수 있으며 따라서 돌연변이 물질을 검색할 때는 고등동물세포 유전자의 손상 및 방어 그리고 복귀와 같은 현상을 측정함에 있어 비교적 정확한 방법이 될 수 있다^{20,33-35}. Singh²⁸, Tice 등¹⁶)은 DNA 손상지표로서 Comet assay의 TL로 평가하였다. 실험의 재현성과 민감도를 평가하기 위하여 양성대조군과 음성대조군의 Tail length(TL) 값을 비교 분석한 결과 양성대조군에서 DNA 손상정도가 심한 것으로 관찰되었다. DCM은 세포독성 효과는 없었으나, 고농도는 물론 처리농도 490 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 DNA 손상효과를 나타내었다. WHO Water guidelines에서도 이 연구와 같이 포유동물 세포에서는 동일한 결과를 제시하였다³⁷. CteC의 고농도에서 심한 DNA의 손상효과를 나타내었으나, 세포독성 효과는 나타나지 않았다. Agurell 등³⁸)은 시험관내 실험에서 최고용량으로 처리한 후 약간의 DNA 손상효과가 있는 것으로 보고하여, 이 연구와 일치하였다. 그러나 Suzuki 등³⁹)은 생쥐의 말초혈액 세포로 소핵절편 실험에서 DNA 손상 효과가 검출되지 않았다고 하였다. Chl의 최고농도에서 DNA 손상 효과와 심한 세포독성 효과가 있었다. Suzuki 등³⁹)은 세포독성이 있는 것으로 관찰되었으나 DNA 손상효과는 없는 것으로 보고하여 이 연구와 상이하였다. TCE의 최고농도에서 세포독성효과와 DNA 손상효과가 관찰되었다. 또한 Fahrig 등⁴⁰)은 생쥐위암세포에서 세포독성효과는 있었고, 유전독성효과는 미미하게 나타난 것으로 보고하여, 이 연구와 유사한 양상을 보였다. PCE는 최고농도에서 강력한 세포독성 효과를 나타내었으며, 저농도와 고농도에서 모두 TL값이 증가하여 DNA 손상효과가 있는 것으로 관찰되었다. 그러나 Hartmann과 Speit⁴¹)는 고농도의 PCE에서 활성도와 상관없이 시험관내 검사에서 강력한 세포독성 효과가 있음에도 불구하고 유전독성은 없는 것으로 보고하여, 이 연구와 상이하였다. 혼합한 VOC의 고농도 및 최고농도에서 심한 세포독성 효과를 나타내었으며, 또한 DNA 손상효과도 관찰되었다. 이는 각 용제의 동일한 농도에서 세포독성 효과와 비교하면 양상의 차이가 있으므로, 추후 혼합 물질의 상호 작용에 대한 연구는 별도로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과로 보아 세포독성 효과가 있는 것으로는 Mix, PCE, TCE, Chl 이었으며, 세포독성 효과가 없는 것은 CteC, DCM이었다. DNA 손상효과는 PCE, DCM, CteC, Chl, TCE 5가지와 혼합물에서 모두 관찰되었다. 저농도에서 TL이 연장된 것은 PCE와 DCM이었다. 유전독성이 저농도에서부터 나타난다면, 현재의 수질기준에 대한 고려를 해야 할 것이다. 이 실험에서 처리된 저농도 수준이 각각 22 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 18 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이므로 먹는 물, 생활용수, 농업용수의 기준과 비교하면 약 2000배 이상 높은 수준에서 관찰된 것이다. 그러나 이 연구의 저농도가 비록 현재의 수질기준과는 현격한 차이가 있다고 해도, 더 낮은 농도에서 유전독성 평가의 필요성은 제시하는 것으로 생각된다. 저농도에서 유전독성을 보인 두 물질 중, DCM은 다른 연구와 유사한 결과를 보였으나, PCE는 선행연구와 다른 양상을 보였다. PCE에 대한 상이한 양상은, 실험재료에서 선행연구는 WBC를 이용하였고 이 연구는 mouse cell을 이용하였다는 차이를 통해 부분적인 설명

은 가능할 것으로 생각되지만, 추후의 연구가 필요한 부분이다. 나머지 물질 중, TCE는 기존 결과와 유사한 결과를 보였고 Chl은 기존결과와 상이한 결과를 보였다. 그러나 이 두 가지 물질들이 유전독성을 보인 것은 모두 최고농도에서 세포독성을 보인 상태이었기 때문에, 그 결과를 단정하기는 어려운 부분이 있을 것으로 생각된다. 혼합물질의 상호작용을 관찰하고자 하였으나, 관찰된 결과로는 그 여부를 관찰하기는 어려운 것으로 생각된다. 현재 먹는 물 수질기준에 TCE 등 총47개 항목을 규정하고 있으나 WHO에서는 122개 항목을 규정하고 있어 아직도 기준 항목이 적은 실정이며 향후 산업의 발달, 새로운 화학물질의 생산과 사용 등 여건의 변화에 따라 점차 기준항목을 늘려나가야 할 것이다. 각종 수질의 허용기준을 설정할 때에는 중금속, 잔류농약, 미량 유기화합물질 등 개개 물질의 안전성 평가와 더불어 혼합물질에 대해서도 종합적인 안전성 평가가 필요하리라 사료되며, DNA 손상을 측정 할 수 있는 다른 분석법과 객관적인 평가가 요구되며 인체의 각 기관세포를 이용하여 유전독성 시험을 시행하는 것이 보다 정확한 평가가 되리라 사료된다.

결 론

물 속의 VOC가 포유동물 배양세포(3T3)에 미치는 영향을 평가하기 위하여 먹는 물의 기준 항목 중 Trichloroethylene(TCE), Tetrachloroethylene(PCE), Carbon tetrachloride(CteC), Dichloromethane (DCM), Chlorofrom(Chl) 등 5종을 대상으로 수질기준에 따라 조제하여 실험에 사용하였다. DNA 손상정도를 평가하기 위하여 단세포 전기영동법(Single Cell Gel Electrophoresis; SCGE), 일명 comet assay로 분석하였으며 평가 지표로는 Tail length (TL)의 값으로 처리군과 음성대조군을 비교 분석하였다. 세포독성 효과가 있는 것으로는 Mix, PCE, TCE, Chl이었으며, 세포독성 효과가 없는 것은 CteC, DCM으로 관찰되었다. DNA 손상효과가 있는 것으로는 PCE, DCM, CteC, Chl, TCE, Mix였다. 저농도에서도 유전독성을 보인 물질은 PCE와 DCM으로서, 이 연구의 저농도가 비록 현재의 수질기준과는 현격한 차이가 있다고 해도, 수질기준의 농도에서 유전독성 평가의 필요성은 제시하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 김오식, 정세영, 유일제, 최병기, 정명규, 이종화: 환경독성학. 진리탐구, 서울, 쪽 361-364, 1998.
2. Bianchi, A. P., Varney, M. S.: Voltalic Organic Compounds in the surface. waters of a british estuary. Part 1. Occurrence, distribution and variation. *Wat. Res.* 32(2):532-370, 1998.
3. 강제향: 오존활성탄 공정에 의한 낙동강 지표수의 미량 오염 물질 제거. 박사학위 논문. 영남대학교대학원, 1992.
4. 이선영, 박갑성: 대구지역 식수의 휘발성 유기화합물질(VOCs) 오염. 수질보전학회지, 145-151, 1991.
5. 정철수: 낙동강 중류지역 휘발성 유기오염물질의 실태에 관한 연구. 석사학위논문, 영남대학교 환경대학원, 1995.
6. 김용혜: 금오강 본류와 지류에서의 휘발성 유기화합물질 농도. 석사학위논문, 경북대학교, 1997.
7. 이강혁, 오조교, 권경안, 정종필, 박대근, 송희일, 임준래: 지하수 중 VOCs 함유량에 관한 조사연구. 경기도 보건환경연구원보, 11:145-150, 1998.
8. 권승미, 길혜각, 조기찬, 한선규, 배경석, 신재영: 휘발성 유기물질의 처리효율에 관한 연구. 서울특별시 보건환경연구원보, 33:277-283, 1997.
9. 유재정: 대구지역 하수처리장 유입수 및 유출수의 휘발성 유기화합물질 농도. 석사학위논문, 경북대학교, 1998.
10. 김종오, Daniel P.Y. Chang, 이우범: 하수처리장에서 휘발성 유기화합물의 flux. *대한환경공학회지*, 22(1):91-101, 2000.
11. 이성규, 심점순, 김용화, 노정구: 어류, *Daphnia* 및 조류와 Ames' Test를 이용한 산업폐수의 환경독성 및 유전독성 평가. *J. KSWPRC.* 7:100-109, 1991.
12. 박지인, 유춘만, 위인선: 음용수의 변이원성에 관한 조사 연구. *한국환경위생학회지.* 24(2):68-73, 1998.
13. Lippincott, R.L., Ibrahim, E.A., Louis, J.B., Atherholt, T.B and Suffer, I.H.: Continuous liquid-liquid extraction for the preparation of chlorinated water samples for the Ames bioassay. *Wat. Re.* 24(6):709-716, 1990.
14. Vargas, V.M.F., Guidobone, R.[R., Jordao, C., Henriques, J.A.P.: Use of two short-term tests to evaluate the genotoxicity of river water treated with different concentration /extraction procedures, *mutation research*, 343:31-52, 1995.
15. Filipic, M. : Mutagenicity and toxicity of water extracts from the Sora river. *mutation research*, 342:1-8, 1995.
16. White, P.A., Rasmussen, J.B.: The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. *Mutation Research*, 410:223-236, 1998.
17. Liu, Q., Jiao, Q.C., Huang, X.M., Jiang, J.P., Cui, S.Q., Yao, G.H., Jiang, Z.R., Zhao, H. K., and Wang, N.Y.: Genotoxicity of drinking water from Chao Lake. *environmental research section*, 80:127-131 1999.
18. Meier, J.R.: Genotoxic activity of organic chemicals in drinking water, *Mutation research*, 19:211-214, 1988.
19. 이순화, 박영규, 이철희: 변이원성을 이용한 낙동강중류 수계의 수질평가, *국제환경문제 심포지움*. 147-171, 1998.
20. 박종흡:한국산 겨우살이 알카로이드와 저분자 분획의 세포독성 및 항유전자 독성. 박사학위논문, 건국대학교대학원, 2000.
21. Miyamae, Y., Zaizen, K., Ohara, K., Mine, Y., Sasaki, Y.F.: Detection of DNA lesion induced by chemical mutagens by the single cell gel electrophoresis(Comet) assay. 1. Relationship between the onset of DNA damage and characteristics of mutagens, 393:99-106, 1997.
22. Buschfort, G., Hueller, M. R., Seeber, S., Raiewsky, M.F., and Thomale, J.: DNA repair profiles of normal and

- leukemic human lymphocytes functional analysis at the single cell. *Cancer Research*, 57:651-658, 1997.
23. Logan, I.D., and Barnett, Y.A.: A comparison between the application of DNA damage with in X-ray irradiated human whole blood. *Biochemical Society Transaction*, 26;86, 1998.
 24. Clement, C. Ralph, S. Petras, M.: Genotoxicity of detect herbicides in *Rena catesbeiana* tadpole using the alkaline single gel electrophoresis(comet) assay. *Environ, Mol, Mutagen*, 29: 277-288, 1997.
 25. Rolph, S. and Petras. M : Genotoxicity monitoring of small bodies of water using two species of tadpoles and alkaline single cell gel(comet) assay. *Environ. Mol. Mutagen*. 29: 418-430, 1997.
 26. 식품의약품안전청: 의약품 등의 독성시험기준 해설서. 국립 독성 연구소, 69-107, 1999.
 27. 최준원, 박종흠, 최옥병, 신현길: 김치로부터 분리된 유산균주들의 *in vitro* 항유전독성 효과. *한국식품과학회지*, 31(4): 1071-1076, 1999.
 28. Singh. N.P., and Stephens R.E.: Microgel electrophoresis : Sensitivity, Mechanisms, and DNA electrostretching, *Mutation Research*, 237:167-175, 1990.
 29. 류재천, 김현두, 서영록, 김경만: DNA damage와 Apoptosis 를 정량화하는 단세포 전기영동법. *한국환경성독연변이. 발암원학회지*, 17(2):71-77, 1997.
 30. Merk, O., and Speit, G.: Detection of Crosslinks with the Comet Assay in relationship to Genotoxicity and Cytotoxicity. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 33:167-172, 1999.
 31. Mckelvey-Martin, V.J., Gree, M.H.L., Schmejer, P., Pool-Jobel, B.L., Meo, M.P. De and Collins: The single cell gel electrophoresis assay(Comet assay): A European review. *Mutation Research*, 288:47-63, 1993.
 32. Cotelle S., Ferard J.F.: Comet Assay in Genetic Ecotoxicology; A Review of Environmental Molecular Mutagenesis, 34: 246-255, 1999.
 33. 임흥빈, 이영구, 이동욱, 김용태 : Ames test와 SCE에서의 Positive Control에 의한 유전독성 연구. *담배인삼연구소*, 1997.
 34. Fairbairn, D.W., Olive, P.L., and O'Neill, K.L.: The comet assay: a comprehensive review. *Mutation Research*. 339:37-59, 1995.
 35. Hellman B., Bostrom H.V.: The concepts of tail moment and tail inertia in the single cell gel electrophoresis assay. *Mutation research*, 336:123-131, 1995.
 36. Tice, R.R., Andrews, P.W., and Singh, N.P.: The single cell gel assay : a sensitive technique for evaluating intercellular differences in DNA damage and repair. *Basic Life Sci*, 53:291-301, 1990.
 37. World Health Organization: Guidelines for drinking water quality(vol 2), 1996.
 38. Agurell, E., Hamreby, A.M., Palm, L.J.M., Rylander, G., and Westman, A.: Comparison of effects induced *in vivo* by carbon tetrachloride, 1-ethyl-1-nitrosourea and methyl methane sulphonate using the alkaline comet assay. *mutagenesis*, 13(1):67-73, 1998.
 39. Suzuki, H., Hirano, N., Watanabe, C., Tarumoto, Y.: Carbon tetrachloride dose not induce micronucleus in either mouse bone marrow or peripheral blood. *mutation research* 394:77-80, 1997.
 40. Fahrig, R., Madle, S., Baumann, H.: Genetic toxicology of trichloroethylene (TCE). *Mutation research*, 1995;340:1-36.
 41. Hartmann, A., Speit, G.: Genotoxic effects of chemicals in the single cell gel(SCG) test with human blood cells in relation to the induction of sister chromatid exchanges (SCE), 346,49-56, 1995.