

Nonylphenol과 Bisphenol A의 지렁이 독성시험 및 토양 중 생태 위해성평가

이철우*, 박수영, 윤준현, 최경희, 정영희, 김현미

국립환경과학원 환경노출평가과

Risk Assessment of Soil through Earthworm Toxicity Test of Nonylphenol and Bisphenol A

Chulwoo Lee*, Soo-Young Park, Junheon Yun, Kyunghee Choi,
Younghee Chung and Hyun-Mi Kim

Environmental Exposure Assessment Divison, National Institute of Environmental Research,
Kyungseo-dong Seo-gu, Incheon 404-708, Korea

ABSTRACT

Earthworm (*Eisenia fetida*) acute toxicity test was carried out and ecological risk assessment in soil was performed with national monitoring data. 14 day-LC₅₀ of nonylphenol and bisphenol A were 288.1 mg/kg and 90.1 mg/kg, respectively. And NOECs of nonylphenol and bisphenol A were 250 mg/kg and 50 mg/kg, respectively. Significant weight decrement was appeared at 70 mg/kg of bisphenol A, however, nonylphenol at concentrations tested did not severe adverse effect on the weight decrement.

The environmental monitoring has been carrying out by NIER since 1999. Exposure levels of nonylphenol in soil were ND~10.55 µg/kg and those of bisphenol A were ND~15.50 µg/kg in National Monitoring data which had been performed from 2000 to 2004. The measured soil exposure level was applied to evaluate the environmental risk assessment. The values of PNEC for bisphenol A and nonylphenol were determined as 0.5 mg/kg and 2.5 mg/kg, respectively using the safety factors which were suggested in EU and OECD. The values of HQ (PEC/PNEC) were determined to be below 1 for bisphenol A and nonylphenol when the maximum exposure levels for bisphenol A (15.50 µg/kg) and nonylphenol (10.55 µg/kg) were applied. Conclusively, the environmental risk assessment of bisphenol A and nonylphenol was not critical in soil.

Key words : earthworm, acute toxicity, nonylphenol, bisphenol A, risk assessment

서 론

Nonylphenol과 bisphenol A는 대표적인 내분비계장애물질 (endocrine disruptors)로 알려져 있으며

현재까지도 지속적인 관심의 대상이 되고있는 물질들이다. 이들 물질은 EPA 뿐만 아니라 WWF에서 제시한 내분비계장애물질 목록에 포함된 바 있으며, 에스트로젠 호르몬 성질 (estrogenic potency)을 지니고 있어 생식호르몬계의 장애를 유발하는 것으로 알려져 있다 (Ren *et al.*, 1997). Nonylphenol은 세제 (detergents), 유화제 (emulsifiers), 오일 첨가

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-32-560-7238, E-mail: leecwoo@me.go.kr

제, 살충제, 제초제 등을 위한 비이온성 계면활성제 (non-ionic detergent)로 사용되는 nonylphenol ethoxylates의 중간 분해산물이다. 따라서 nonylphenol의 에스트로젠 유사성질에 따른 독성, 친지질성에 따른 생능축성에 의해 유럽의 국가에서는 가정 및 산업에서 alkylphenol ethoxylate의 세제로서의 사용을 규제하고 있다 (Renner, 1997). Nonylphenol은 오수 처리과정에서 슬러지 (sludge)에 다량 함유될 수 있으며, 이러한 슬러지 가운데 일부는 토양개선을 위해 재활용될 수 있어 nonylphenol에 의해 토양이 오염될 수 있는 문제점을 안고 있다 (Hawrelak *et al.*, 1999; Environment Canada, 2002). 일부 조사에 따르면 캐나다에서 dry-weight sludge에서 nonylphenol을 조사한 결과, 8.4~850 mg/kg 범위로 다량 검출된 사례가 있었다 (Lee and Peart, 1995; Lee *et al.*, 1997; Bennie *et al.*, 1998).

Bisphenol A (BPA)는 주로 식품이나 음료수 캔의 코팅물질에 사용되는 에폭시 (epoxy), 폴리카보네이트 (polycarbonate)와 부식방지 불포화 polyester-styrene resin을 만드는데 사용되는 물질이며, 자극성 및 과민성 물질로서 생식독성 및 기형 유발 가능성이 높은 물질로 알려져 있다. 또한 BPA는 에스트로젠과 유사한 phenol-ring 구조를 가지고 있어 에스트로젠 수용체 (estrogen receptor)에 대한 친화도는 비록 17 β -estradiol보다 200배 정도 약하지만 다른 화학물질에 비해 매우 강력해 에스트로젠 유사물질로 알려져 있다 (Borras *et al.*, 1996; Singleton *et al.*, 2004). 산업화가 확산됨에 따라 BPA의 사용량은 세계적으로 증가하는 추세이며, 환경부 통계자료에 따르면 2002년에는 국내사용량이 연간 192,024톤으로 보고된 바 있다. BPA는 다양한 생활용품 플라스틱의 성분인 polycarbonate로부터 용출될 수 있으며, 이외에도 polycarbonate는 캔의 성분이 되기도 하여 음료수 또는 음식물로 오염될 수 있는 위험성도 존재하고 있다. BPA 역시 nonylphenol과 마찬가지로 직접적으로 토양에 유입될 가능성은 거의 희박하다. 가능성 있는 경로는 슬러지를 통한 유입 또는 대기 중으로부터 강우 등에 의한 이동인데 이중 슬러지를 통한 토양으로의 유입 가능성이 높다고 할 수 있다 (European Union Risk Assessment Report, 2003). 그러나 BPA는 nonylphenol과는 달리 polycarbonate, epoxy 수지를 다량 사용하는 산업용 폐수 또는 PVC류 폐

기물 처리과정에서 배출될 수 있으며, 이를 통한 슬러지는 복토 또는 매립 등에 의해 토양으로 오염될 가능성이 있다.

지렁이 (earthworm)는 토양에서 유기물을 분해하고, 그 배설물이 식물에 영양분을 공급함과 동시에 토양의 구조를 향상시킨다는 측면에서 매우 중요성이 높은 생물이다. 또한 이러한 토양에 서식하는 대표적 생물체인 지렁이에 대해서는 OECD를 비롯한 각국에서 환경오염물질이 토양 생물군에 미치는 영향을 평가하는 측면에서 관심이 점차 증가하고 있으며, 따라서 국내에서도 지렁이를 이용한 독성 및 위해성평가 연구에 보다 많은 관심과 연구가 필요한 상황이다. 지렁이는 토양에서 화학물질의 독성을 평가하기 위한 매우 유용한 지표생물로서 시험에 사용하기에 매우 적절한 생물학적 특성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다 (Neuhauser *et al.*, 1985; Susana *et al.*, 2005; Maria *et al.*, 2005). 유럽연합 (EU)과 OECD는 지렁이를 생태독성 시험의 주요 공시생물로 이미 채택하였으며, 그 이유는 환경오염 평가를 위해 실험실 조건에서 독성시험을 수행하는데 있어 시험생물로 적절하기 때문이다. 지렁이 가운데 OECD에서는 *Eisenia fetida* 종을 공시생물로 제시하고 있는데 본 지렁이 종은 화학물질에 대한 감수성이 비교적 높고 생활사가 짧아 부화 후 7~8주 정도 지나면 성체가 된다. 이 외에도 번식률이 높고 사육이 용이하여 독성시험 생물로 국제적으로 널리 사용되고 있다 (OECD guidelines, 1984). 본 연구에서는 nonylphenol과 bisphenol A를 대상으로 지렁이에 대한 급성독성시험을 실시하였으며, 이와 더불어 그동안 조사된 바 있는 토양환경 중의 잔류농도와 비교함으로써 이들 물질에 대한 토양에서의 기초적인 생태 위해성평가를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험종

시험종은 OECD 공시종인 지렁이 (Earthworm, *Eisenia fetida*)를 사용하였으며, 시험은 사육온도 20 \pm 2°C와 400~800 Lux의 광조건에서 사육한 건 강한 개체를 대상으로 실시하였다.

2. 시험물질의 조제

지렁이 급성독성시험을 위한 대상물질은 nonylphenol (CAS No. 104-40-5, Aldrich Co.)과 bisphenol A (CAS No. 80-05-7, Sigma Co.)를 사용하였다. 시험물질은 비수용성인 관계로 acetone을 용매로 사용하여 stock solution을 조제하였으며, 이를 재차 희석하여 시험에 사용하였다. 노출농도는 예비시험을 거쳐 반수치사농도를 포함할 수 있는 범위를 예상하여 설정하였으며, 따라서 Nonylphenol의 경우는 250.0, 275.0, 302.5, 332.8 및 366.0 mg/kg (공비 1.1)의 농도(nominal concentration)를 설정하였고, bisphenol A의 경우는 50.0, 70.0, 98.0, 137.2 및 192.1 mg/kg (공비 1.4)의 농도로 하여 시험을 실시하였다.

3. 인공토양의 조제

인공토양은 Sphagnum peat : Kaolin clay : 산업용 모래를 1 : 2 : 7의 비율(건조중)로 조제하여 사용하였다. 인공토양의 각 성분 가운데 Sphagnum peat는 pH 5.5~6.0으로 분말상으로 건조된 것, Kaolin clay는 kaolinite 함량이 30% 이상인 것, 산업용 모래는 입경 50~200 micron인 모래가 50% 이상을 차지하는 것을 사용하였다. 인공토양의 조성성분들을 비율에 맞추어 정확히 측량한 후 pH를 6.0 ± 0.5 가 되도록 CaCO_3 를 일정량 가하여 소형믹서기를 사용하여 혼합하여 조제하였다.

4. 시험물질의 처리

각 처리군 별로 유리수조(15×14 cm)에 미리 페어둔 모래 100g을 넣고 농도별로 조제된 시험물질 5 mL을 모래위에 고르게 뿌린 다음 용매를 휘발시킨 후 인공토양을 추가로 넣어 모래와 혼합하였다. 대조군의 경우에는 모래 100g이 담긴 유리수조에 아세트 용매 5 mL을 고르게 뿌리고 휘발시킨 후 시험군과 동일한 방법으로 인공토양을 혼합하였다.

5. 급성독성시험

지렁이 급성독성시험은 OECD 시험지침에 제시된 방법에 준하여 실시하였다(OECD guidelines, 1984; 국립환경연구원고시, 1998). 농도별로 조제된 시험군 당 10마리의 지렁이를 처리하였으며, 각 시

험군은 4개의 반복수를 두었다. 노출은 14일 동안 실시하였으며, 치사율은 7일과 14일 2회 관찰하였고 노출개시 전과 종료 후에 체중을 측정함으로써 시험기간 동안의 체중변화를 조사하였다. 인공토양의 수분유지를 위해 플라스틱 필름을 사용해 수조를 밀봉하였으며, 필름에는 공기구멍을 내어 통기가 되도록 하였다. pH와 수분함량 측정은 시험개시 전과 시험 종료 후에 2회 실시하였다. 반수치사농도(LC50)는 100% 치사농도와 0% 치사농도 사이에 치사농도가 2개 이상인 경우에는 probit법을 사용하였으며, 2개 미만인 경우에는 moving-average angle법을 사용하여 산출하였다. 반수치사농도 외에 무영향관찰농도(NOEC, No Observed Effect)를 산출하였다.

6. 토양 중 생태 위해성평가

지렁이 독성시험 결과를 이용한 위해성평가는 원칙적으로 유럽연합의 환경위해성평가 지침에 준하여 수행하였다. 본 연구에서의 급성독성 시험값(NOEC)을 통해 예측무영향농도(PNEC, Predicted No Effect Concentration)를 결정하였으며, 노출평가 자료는 국립환경과학원에서 수행중인 “내분비계장애물질의 환경 중 잔류실태 조사” 결과를 토대로 하였다. 최종적으로 PNEC 값과 노출값을 비교하는 위해도 결정 과정을 수행하였다.

결과 및 고찰

1. 지렁이 급성독성시험

급성독성시험 결과, 지렁이에서 bisphenol A의 급성독성이 nonylphenol보다 비교적 높은 것으로 나타났다. Nonylphenol의 반수치사농도(LC50)는 7일 경과 후 350.7 mg/kg 이었고(95% 신뢰한계는 340.7~365.0 mg/kg), 14일 후에는 288.1 mg/kg(95% 신뢰한계는 282.7~293.6 mg/kg)를 나타내었다. 한편, 치사율에 대한 무영향관찰농도(NOEC)는 7일 후에 275.0 mg/kg(치사율 0%)이었으며, 14일 후에는 NOEC 값이 250.0 mg/kg을 나타내었다. 한편 7일까지는 100% 치사가 나타나는 시험군은 없었으나 14일 후에 100%의 치사율을 나타내는 농도는 366.0 mg/kg이었다(Table 1).

Table 1. Earthworm (*Eisenia fetida*) acute toxicity of nonylphenol

Conc. (mg/kg)	No. of earthworm	No. of dead earthworm		Mean weight (mg)		Weight decrement
		7 days	14 days	7 days	14 days	
Control	40	0	0	363.4±47.5	331.6±47.0	8.8%
250.0	40	0	0	391.0±60.2	350.4±63.2	10.4%
275.0	40	0	11	363.1±52.8	330.7±49.5	8.9%
302.5	40	5	31	371.6±53.8	355.5±52.6	4.3%
332.8	40	15	39	379.0±54.4	-	-
366.0	40	24	40	354.4±48.8	-	-

Table 2. Earthworm (*Eisenia fetida*) acute toxicity of bisphenol A

Conc. (mg/kg)	No. of earthworm	No. of dead earthworm		Mean weight (mg)		Weight decrement
		7 days	14 days	7 days	14 days	
Control	40	0	0	363.4±47.5	331.6±47.0	8.8%
50.0	40	0	0	377.8±59.2	363.4±64.0	3.8%
70.0	40	1	11	372.6±51.4	363.4±47.9	12.1%
98.0	40	5	22	372.0±48.1	316.1±43.1	15.0%
137.2	40	12	37	357.4±43.4	356.7±19.0	0.2%
192.1	40	30	40	367.2±58.1	-	-

Bisphenol A의 지령이에 대한 LC50은 155.6 mg/kg (7일)과 90.1 mg/kg (14일)로 각각 나타났으며, 95% 신뢰한계는 전자의 경우 142.1~174.6 mg/kg, 후자의 경우 83.6~97.0 mg/kg로 나타났다. 치사율이 0%인 NOEC 값은 7일 및 14일 모두 50.0 mg/kg으로 나타났으며, 100% 치사율을 나타내는 농도는 7일까지는 없었으나 14일 후 192.1 mg/kg 농도에서 모든 개체가 사망하였다(Table 2).

인공토양의 지나친 pH 및 수분의 변화는 시험물질 이외의 독성을 야기할 수 있기 때문에 측정해야 할 매우 중요한 항목이다. 따라서 두 가지 물질에 대한 독성시험 시작 및 종료 후의 pH 변화를 조사한 결과, 인공토양의 pH는 시험시작 전 평균 6.31에서 시험 종료 후 6.45로 0.14 증가하였으나 이는 지령이에 독성을 유발하지 않는 범위였다. 한편, 인공토양의 수분은 nonylphenol 시험군의 경우 시험 종료시 약 5% 감소(시험시작 33.5~36.1% 범위에서 종료시 29.9~31.1%)하였으며, bisphenol A에서는 평균 4.5% (시험시작 33.5~36.1%, 시험종료시 28.6~31.7%) 감소함으로써 수분의 변화 역시 독성을 유발할 수 있는 요인으로 작용하지 않았다. 노출기간 동안 치사율과 더불어 체중변화를 조사하였는데 nonylphenol의 경우, 시험시작 전 평

균체중은 370.4±53.8 mg (n = 240)이었으며 시험 후 체중 감소율은 대조군에서 8.8%, 250.0 mg/kg 처리군에서 10.4%, 275.0 mg/kg 처리군에서 8.9%, 302.5 mg/kg 처리군에서 4.3% 감소하였다(Fig. 1). 따라서 nonylphenol의 경우에는 시험물질의 농도 증가에 따른 유의한 체중 감소는 관찰되지 않았다. 한편, bisphenol A의 경우는 노출 전 평균체중이 368.4±51.5 mg (n = 240)이었으며, 시험 후 체중 감소율은 대조군에서 8.8%, 50.0 mg/kg 처리군에서 3.8%, 70.0 mg/kg 처리군에서 12.1%, 98.0 mg/kg 처리군에서 15%의 감소를 나타냈다. 따라서 체중감소가 두드러지기 시작한 노출농도는 70.0 mg/kg으로 나타났으나 이는 치사율의 NOEC 값보다는 높았으며, LC50 (14일)인 90.1 mg/kg보다는 낮은 값을 나타내었다. 137.2 mg/kg 이상의 bisphenol A 농도에서는 사망개체가 많아 체중 감소의 여부를 판단하기가 어려웠다(Fig. 1).

2. 토양 중의 노출실태

Nonylphenol과 bisphenol A의 육지로의 유입은 수계로의 유입원에 비해 매우 제한적인 것으로 알려져 있다. 예를 들면 이들 물질의 토양으로의 유

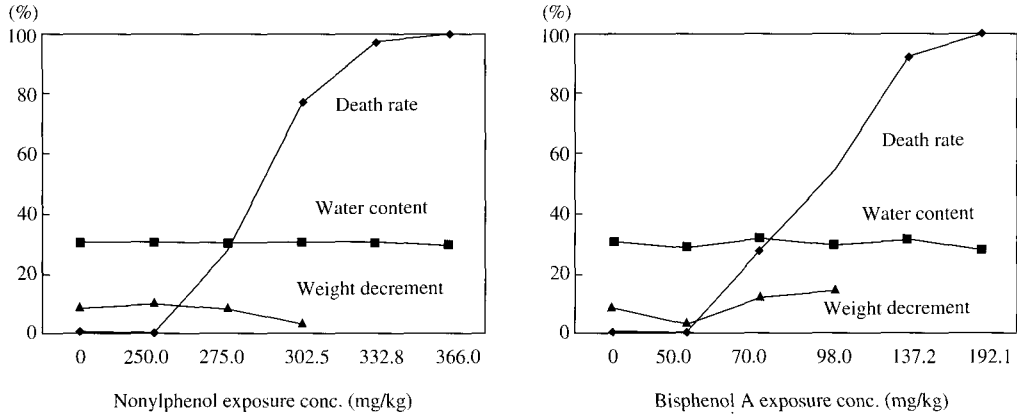


Fig. 1. Death rates, weight decrement and water content in control and exposure group of nonylphenol and bisphenol A. Acute toxicity test was carried out for 14 days.

입은 처리된 슬러지(sludge)로 부터 토양으로의 이동, 농약 등의 살포에 따른 토양오염 등을 들 수 있다. Nonylphenol (log KOW 4,48)과 bisphenol A (log KOW 3,18)는 모두 지용성 (lipophilic) 물질로서 하수 또는 폐기물 처리과정에서 슬러지에 포함될 수 있으며, 만일 슬러지가 토양에 버려지거나 복토 등에 의해 이들 물질들은 토양으로 유입될 수 있는 것이다. 한편, 슬러지가 매립되어 버려진다고 해도 nonylphenol과 bisphenol A가 슬러지에 다량 포함되어 있었다면 매립지역 역시 이들 물질에 오염될 수 있으며, 강우 또는 침출수에 의해 토양으로부터 하천으로 유입될 가능성을 배제할 수 없다.

국립환경과학원은 1999년도부터 매년 내분비계 장애물질의 국내 잔류실태에 대한 모니터링을 실시하고 있으며, 그 가운데는 nonylphenol과 bisphenol A가 조사항목으로 포함되어 있다. 그러나 이들 물질의 조사 지점은 오염지역을 대상으로 한 것이 아니고 전국적 모니터링에 중점을 둔 것으로 일반적으로 슬러지 또는 슬러지를 복토한 토양이나 매립지역에서 검출되는 수치보다 낮게 나타났다. 현재까지 6차례의 모니터링을 실시하였는데 조사지점에 대한 검출 범위를 Table 3에 나타내었다. 검출율로 볼 때는 조사지역 대부분에서 검출되었으며, 검출범위는 nonylphenol의 경우 조사 시작 후 현재까지 ND~10.55 µg/kg이었으며, bisphenol의 경우는 ND~54.1 µg/kg이었다. 한편, 2000~2004년 동안 조사에서는 두 물질 모두 모든 조사지점에서 20

Table 3. Concentrations of nonylphenol and bisphenol A in soil

Year	Nonylphenol (µg/kg)	Bisphenol A (µg/kg)
2004	ND (< 0.5 ¹⁾) ~ 10.55 (66% ²⁾)	ND ~ 15.50 (39%)
2003	ND (< 0.5) ~ 3.6 (85%)	ND (< 0.5) ~ 1.9 (9%)
2002	ND (< 0.5) ~ 6.4 (89%)	ND (< 0.5) ~ 1.9 (29%)
2001	ND (< 0.5) ~ 7.4 (80%)	ND (< 0.5) ~ 2.4 (83%)
2000	ND (< 0.5) ~ 13.0 (91%)	ND (< 0.5) ~ 6.9 (83%)
1999	-	ND (0.5) ~ 54.1 (54%)

¹⁾Detection limit.

²⁾Detection rate (No. of detected sites/No. of monitoring sites)

*The environmental monitoring has been carrying out in Environmental exposure assessment division, NIER since 1999

µg/kg을 넘지 않았다.

과거 캐나다의 조사 결과에 의하면, sludge-amended soil에서 nonylphenol이 2.72 mg/kg인 mg 수준으로 검출되었으며, municipal WWTPs 슬러지에서 조사한 결과로는 8.4~850 mg/kg 수준으로 다량 검출됨으로써 일반 토양에서 보다는 슬러지 또는 슬러지로 복토한 토양에서 높은 수준으로 검출될 수 있음을 알 수 있었다 (Environment Canada, 2002). 그러나 우리나라의 경우는 현재까지 하수처리 과정의 슬러지 또는 슬러지를 혼합한 토양에서 모니터링한 데이터가 축적되어 있지 않음으로써 본 잔류실태조사에서의 지점인 일반 토양에서의 결과와 그 차이를 직접 비교하기는 불가능하였다.

3. 토양에서의 생태 위해성평가

지렁이 급성독성 자료는 위해성평가에 활용시 육상생태독성에 해당되나 PNEC값 산정을 위한 평가계수는 수서생태독성평가에서의 평가계수 산정 방법에 준해서 산출하였다. 일반적으로 생태 위해성평가에 활용되는 독성자료는 크게 급성독성과 만성독성으로 나눌 수 있다. 본 연구에서 생산한 자료는 급성독성 데이터로서 위해도 산출에 적용할 독성값은 체중감소율에 비해 치사정도가 민감하게 나타남에 따라 치사율에 대한 NOEC값을 토대로 하였다. 지렁이 등 토양에 서식하는 생물종을 이용한 독성자료는 상대적으로 수생생물에서의 데이터에 비해 부족한 편이다. 또한 본 연구에서는 유럽연합과 OECD의 평가계수 지침을 토대로 평가계수를 산정하고 이를 통해 PNEC값을 도출하였다. Nonylphenol의 경우 14일 동안 NOEC 값(치사율)은 250.0 mg/kg, biphenol A의 경우는 14일 NOEC 값이 50.0 mg/kg으로 각각 나타났으며, 평가계수는 지렁이를 포함한 토양생물에 대해서는 이들 물질에 대한 만성독성 자료가 거의 존재하지 않음에 따라 급성독성 자료만을 토대로 하여 100을 적용하였다. 그 결과 PNEC 값은 nonylphenol의 경우 2.5 mg/kg, bisphenol A의 경우는 0.5 mg/kg로 산출할 수 있었다. 한편 본 연구에서는 산출된 PNEC 값과 더불어 위해도 산출의 필수적인 요소인 환경 중 노출수준은 앞장에서 나타낸 바와 같이 “내분비계장애물질의 환경중 잔류실태 조사” 결과를 토대로 하였다. 본 지렁이 급성독성시험을 통한 PNEC값에 비해 일반토양에서의 노출수준은 매우 낮았으며, 2000년 이후 조사지점의 토양 중 nonylphenol과 bisphenol A의 최대 검출값(Nonylphenol 10.55 µg/kg, bisphenol A 15.50 µg/kg)을 적용했을 경우, 이들 물질에 대한 위해도는 1 이하로 낮게 나타났다. 더욱이 토양생물에 대한 독성자료가 부족하기 때문에 평가계수를 극히 보수적인 수준인 1,000을 적용했을 때도 조사지점에서의 위해도는 1 이하로 나타났다. 한편 조사지점 토양으로의 nonylphenol과 bisphenol A의 유입경로가 불확실하고 토양에서의 PEC 산출방법이 정립되어 있지 않은 관계로 위해도는 PEC 값이 아닌 토양 중 실제 검출농도로 산출하였으며, 현재까지 조사기간 동안 최대검출 지점에서 위해도가 1 이하이므로 각

지점에 대한 위해도는 산출하지 않았다.

Nonylphenol과 bisphenol A는 내분비계장애물질로서 실질적 위해성평가에 있어서는 기존 화학물질에 적용하는 위해성평가 이외에도 내분비계 장애에 대한 위해성평가의 적용이 필요하다. 내분비계장애물질에 대한 여러 연구가 진행되고 있음에도 불구하고 현재 환경 중 특정 화학물질의 농도가 인간에게 내분비계장애 영향을 준다는 위해성평가 결과는 아직 찾아볼 수 없다. 내분비계장애물질의 영향은 연령에 따라 달라지며, 용량에 의하여 영향이 증가하는 경향을 가진 일반적인 화학물질과 다른 용량-반응 곡선을 나타내기 때문에 이러한 화학물질의 위해성평가를 위해서는 새로운 접근방법이 필요하다. 현재 수질에서의 내분비계장애물질에 대한 생태 위해성평가를 위한 독성값은 주로 어류독성시험을 통해 얻어지는데 대표적인 시험으로 반생애 시험 (partial life-cycle test), 전생애 시험 (full life-cycle test)을 들 수 있으며, 그 종말점 (end-points)으로서는 성장, 생식, 기형 등에 대한 영향이 대표적이다 (OECD, 2000). 최근에는 비텔로제닌 등 생체지표를 이용한 독성자료를 위해성평가에 적용하고자 하는 연구들이 진행되고 있다. 그러나 지렁이, 식물 등 육상서식 생물에 대한 독성시험은 폭이 넓지 못하며 특히 내분비계 독성과 관련된 시험방법은 거의 없는 실정이다. 현재 지렁이를 이용해 내분비계장애 영향을 측정할 수 있는 가장 가능성 있는 시험은 지렁이 생식독성시험 (Earthworm reproduction test)을 들 수 있다. 과거 Krogh 등 (1997)에 의한 지렁이 생식독성시험자료는 OECD 공시종은 아니지만 *Apporectodea caliginosa* 종의 지렁이에서 nonylphenol에 의한 생식독성시험 결과, EC10이 3.44 mg/kg, EC50이 13.7 mg/kg으로 나타났는데 이들 독성값을 활용해 PNEC 값을 산출하더라도 nonylphenol과 bisphenol A의 국내 토양 실태조사자료 측정값에 대해서는 위해도가 1을 넘지 못하였다. 한편 bisphenol A의 경우는 지렁이에 대한 신뢰성 있는 국내·외 생식독성 자료가 존재하지 않기 때문에 본 논문에서는 이러한 독성값을 적용하지 않았다. 본 연구의 위해도 산출시에는 지렁이 급성독성시험값을 적용해 보았으나, 향후 내분비계장애물질의 경우에는 OECD 시험종인 *Eisenia fetida*을 대상으로 한 생식독성시험 자료들을 생산하고 이를 활용해 위해성

평가를 실시할 예정이다. 아울러 민감한 생체지표의 개발을 통해 내분비계 장애에 적합한 위해성 평가방법을 정립해 나가야 할 필요성도 있다. 한편 외국의 경우는 일반 토양에서 뿐만 아니라 슬러지 등 오염원에 대한 모니터링이 이루어지고 있으며, 일반토양에서는 잔류성이 미미하다라도 슬러지 등에서는 mg/kg 단위로 검출되는 경우가 종종 있으므로 이들 폐수 또는 폐기물 처리시 발생하는 슬러지가 복토되거나 매립되는 지역은 nonylphenol 또는 bisphenol A의 위해도가 높은 경우가 있을 수 있다(Rogers *et al.*, 1986). 국내의 경우도 비록 일반 토양에서는 이들 물질에 대한 위해도가 현저히 낮은 수준이지만 향후에는 이런 오염원 또는 주변지역에 대한 모니터링 자료를 확보함으로써 오염원에 대한 노출 및 위해성평가를 실시하고, 이를 통해 토양으로의 오염방지에 대한 관리대책을 마련해 나가야 할 것으로 판단된다.

결 론

Nonylphenol과 bisphenol A에 대한 지렁이 급성 독성시험을 실시하고 국내 잔류실태조사결과를 통해 생태위해성평가를 실시하였다. 급성독성시험 결과, 지렁이에서 bisphenol A의 급성독성이 nonylphenol보다 비교적 높은 것으로 나타났는데 nonylphenol의 반수치사농도(LC50, 14일)는 288.1 mg/kg, 관찰무영향농도(NOEC)는 250.0 mg/kg으로 나타났으며, bisphenol A의 경우는 LC50이 90.1 mg/kg, NOEC값은 50.0 mg/kg으로 산출되었다. 한편, nonylphenol에서는 시험물질의 농도 증가에 따른 유의한 체중 감소는 관찰되지 않았으며, bisphenol A에서는 체중감소가 두드러지게 나타난 농도가 70.0 mg/kg으로 나타났다. 이들 물질의 국내 토양 중 노출수준은 국립환경과학원에서 실시하고 있는 “내분비계장애물질 환경중 잔류실태 조사” 결과를 토대로 하였는데 2000~2004년 동안 조사결과에서는 두 물질 모두 모든 토양 조사지점에서 20 µg/kg을 넘지 않았다. 위해도 산출을 위한 환경 중 노출수준은 PEC값이 아닌 토양 중 실제 검출농도로 산출하였다. 본 연구에서는 유럽연합(EU)과 OECD의 평가계수 지침으로 토대로 평가계수를 산정하고 이를 통해 예측무영향농도(PNEC)값을 도출하

였다. 독성값은 급성독성 NOEC값을 사용하였으며, 평가계수를 100으로 적용했을 때 PNEC값은 nonylphenol과 bisphenol A에서 각각 2.5 mg/kg 및 0.5 mg/kg로 산출되었다. 본 지렁이 독성시험을 통한 PNEC값에 비해 일반토양에서의 노출수준은 매우 낮았으며, nonylphenol과 bisphenol A의 최대 검출값을 나타낸 지점(Nonylphenol 10.55 µg/kg, bisphenol A 15.50 µg/kg)을 적용했을 경우, 이들 물질에 대한 위해도는 1 이하로 낮게 나타남에 따라 국내 일반 토양에서의 이들 물질의 위해도는 낮은 수준이었다. 한편 외국의 경우는 일반 토양에서 뿐만 아니라 슬러지 등 오염원에 대한 모니터링이 이루어지고 있으며, 일반토양에서는 잔류성이 미미하다라도 슬러지 등에서는 mg/kg 단위로 검출되는 경우가 종종 있으므로 이들 폐수 또는 폐기물 처리시 발생하는 슬러지가 복토되거나 매립되는 지역은 nonylphenol 또는 bisphenol A의 위해도가 높은 경우가 있을 수 있다. 국내의 경우도 일반 토양에서는 이들 물질에 대한 위해도가 현저히 낮은 수준이지만 향후에는 이런 오염원을 중심으로 한 모니터링 자료와 보다 민감한 독성자료를 통한 토양 오염의 노출 및 위해성평가의 실시가 필요하다고 판단된다.

감사의 글

본 논문의 실험에 협조해 주신 한국화학시험연구원 안전성평가팀에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 국립환경연구원고시 제1998-41호, “화학물질유해성시험 연구기관의 지정에 관한 규정”(1998년 12월 23일).
- Bennie DT, Sullivan CA, Lee H-B and Maguire RJ. Alkylphenol polyethoxylate metabolites in Canadian sewage treatment plant waste streams, *Water Qual Res J Can* 1998; 33: 231-252.
- Borras M, Laios I, Khissiin AE, Seo H-S, Lempereur F, Legros N and Leclercq G. Estrogenic and antiestrogenic regulation of the half-life of covalently labeled estrogen receptor in MCF-7 breast cancer cells, *J steroid Biochem Molec Biol* 1996; 57: 203-213.
- Environment Canada. Canadian environmental quality guide-

- lines for nonylphenol and its ethoxylates (water, sediment and soil), Science-Based Solutions, August 2002; Report No. 1-3: 10-38.
- European Union Risk Assessment Report. 4, 4'-isopropylidenediphenol (bisphenol A), EC Joint Research Center 2003; 37: 42-93.
- Hawrelak M, Bennett E and Metcalf C. The environmental fate of the primary degradation products of alkylphenol ethoxylate surfactants in recycled paper sludge, *Chemosphere*; 39: 745-752.
- Krogh PH, Holmstrup M, Jensen J and Peterson SO. Ecotoxicological assessment of sewage sludge in agricultural soil. Denmark, Danish Environmental Protection Agency 1997; Report No 69: 53.
- Lee H-B and Peart TE. Determination of 4-nonylphenol in effluent and sludge from sewage treatment plants, *Anal Chem* 1995; 67: 1976-1980.
- Lee H-B, Peart TE, Bennie DT and Maguire RJ. Determination of nonylphenol polyethoxylates and their carboxylic acid metabolites in sewage treatment plant sludge by supercritical carbon dioxide extraction. *J Chromatogr* 1997; 785: 385-394.
- María DF, Ekain C, María MV, Arantzazu U, Mar B, Javier P and José VT. Ecological risk assessment of contaminated soils through direct toxicity assessment, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2005, 62: 174-184.
- Neuhauser EF, Loehr RC, Malecki MR, Milligan DL and Durkin PR. Toxicity of selected organic chemicals to the earthworm *Eisenia fetida*, *J Environ Qual* 1985; 14: 383-388.
- OECD. Draft report from the 2nd OECD expert consultation on Endocrine Disruptors Testing in Fish (EDF2), Tokyo, 15-16th March 2000, Test Guidelines Programme, Endocrine Disruptors Testing and Assessment Task Force.
- OECD guidelines for the testing of chemicals 207, "Earthworm, acute toxicity tests" (4 April 1984).
- Ren L, Marquardt MA and Lech JJ. Estrogenic effects of nonylphenol on pS2, ER and MUC1 gene expression in human breast cancer cells MCF-7, *Chemco-Biological Interactions* 1997; 104: 55-64.
- Renner R. European bans on surfactants trigger transatlantic debate, *Env. Sci. and Tech* 1997; 31: 316-320.
- Rogers IH, Birtwell IK and Kruzynski GM. Organic extractables in municipal waste water, Vancouver, British Columbia, *Water Pollut Res J Can* 1986; 21: 187-204.
- Singleton DW, Feng Y, Chen Y, Busch SJ, Lee AV, Puga A and Khan SA. Bisphenol A and estradiol exert novel gene regulation in human MCF-7 derived breast cancer cells, *Molecular and Cellular Endocrinology* 2004; 221: 47-55.
- Susana L, Amadeu M and Antonio JA. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination, *Environmental Pollution* 2005; 138: 121-131.