

제 2 차 년 도  
연 차 보 고 서

---

# 突然變異原性を指標로 한 大氣浮遊粉塵의 評價

The Evaluation of Airborne Particulates with  
Mutagenic Activity as a Carcinogenic Indicator

---

연 구 기 관

서울특별시 보건환경연구원

과 학 기 술 처

# 제 출 문

## 과 학 기 술 처 장 관 귀 하

본 보고서를 "돌연변이원성을 지표로 한 부유분진의 평가에 관한 연구" 과제의 2차년도 연차보고서로 제출합니다.

1991. 7. 20

주 관 연구 기관 명	:	서울특별시 보건환경연구원
총괄연구책임자	:	박 성 배
책임연구원	:	박 상 현
"	:	유 영 식
"	:	김 민 영
선임연구원	:	오 수 경
"	:	최 병 현
연구원	:	강 희 근
"	:	채 영 주
"	:	여 인 학
"	:	이 상 철
"	:	길 예 경

## 요 약 문

### 1. 제목

돌연변이원성을 지표로 한 대기부유분진의 평가

### 2. 연구개발의 목적 및 중요성

환경인자가 인체의 발암에 크게 기여하며 대기오염도 환경발암의 주요인자의 하나로서 주목되고 있다.

도시지역의 폐암발생율은 급속히 증가하고 있으나 이의 대기오염의 영향에 대한 연구의 거의 없는 실정이다.

특히 유기물질의 연소에 의해 생성되는 Benzo(a)pyrene 등의 PAH와 그 유도체는 Promutagen, Carcinogen으로서 강한 활성을 나타내고 있으며 NitroPAH는 가장 강력한 Direct 변이원성과 발암성을 나타내고 있다.

복합오염물질로서의 대기부유분진의 유기추출물에 대해서 돌연변이원성을 지표로 한 발암성의 평가 및 유해물질 검색과 농도분포를 정기적으로 장기간에 걸쳐 조사연구하는 일은 국민보건향상의 관점에서 볼때 매우 중요함과 동시에 시급한 일이라 할 수 있다.

### 3. 연구개발내용 및 범위

서울지역의 5개 주요지점에서 Roots meter로 교정한 High Volume Air Sampler를 이용하여 1년간 매주 수요일 오전10시부터 익일 오전10시까지 24시간 동안 석영화이바필터(20X25cm)상에 포집된 부유분진에 대하여 대기오염과 발암성을 규명하기 위한 연구를 수행하였는바 그의 세부내용은 다음과 같다.

첫째, 추출용매선정과 추출방법확정등 시료조제기술 확립

둘째, 대사활성화를 위한 S-9 mix의 조제와 돌연변이원성시험

셋째, 주거, 상업, 공업, 녹지, 전원 및 청정지역등 변이원성의 지역특성 규명

넷째, 대기부유분진 채취와 다환방향족탄화수소류 (PAH) 및 Nitroarene 성분분석과 회수율 확인

다섯째, 대기부유분진에 대한 변이원성의 일간 및 계절변동 확인

여섯째, PAH와 변이원성의 상관성 규명등이 주요내용으로 연구를 수행하였다. 즉, 부유입자상물질에서 추출한 유기물에 대하여 돌연변이원성을 조사하고 화학분석을 통한 발암물질의 검색을 실시함으로써 도시지역 대기부유분진의 양과 질의 양면에서 종합적으로 평가할 수 있는 결과를 얻는 것이며 또한 생물학적 및 화학적 분석을 위한 Monitoring의 규격화방법을 검토하였다.

#### 4. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

- 가. 변이원성을 지표로 한 환경부유분진의 생물학적 및 화학적 분석의 Routine화 실현됨으로서 모든지역에서 이들 물질에 대한 Monitoring이 가능하여짐
- 나. 부유분진의 입도별 PAH 및 Nitroarene 농도규명 및 변이원성 강도가 파악됨으로 control방법과 기준설정이 가능하여짐
- 다. PAH 와 Diesel차량의 배기가스 나트로화반응물질의 동태파악이 가능하여짐
- 라. 대기오염물질중 부유분진에 함유되어 있는 발암물질의 배출원 추적이 가능하여 효율적인 규제가 가능하므로써 국민보건향상에 기여할 것임

The Evaluation of Airborne particulates with Mutagenic  
Activity as a Carcinogenic Indicator

\*Sung-Bae Park, \*Sang-Hyun Park, \*\*Young-Sik Yoo, \*Min-Young Kim,  
\*Byung-Hyun Choi, \*Soo-Kyung Oh, \*Hee-Gon Kang, \*Young-Zoo Chae,  
\*In-Hak Yeo, \*Sang-Chil Lee, \*Hye-Kyung Kil

\* Seoul Metropolitan Government of Institute of Health and  
Environment, 202-3 Yang Jae Dong SochoGu, Seoul, 137-130

\*\* Department of Environmental Science and Technology, Seoul  
Health Junior College, Sungnam City, 461-250

**SUMMARY**

Organic extracts of airborne particulates collected at 5 locations in Seoul were analyzed for mutagenicity using Ame's Salmone-lla typhimurium assay system. Samples were taken every week over a period of 1 year (Jul. '89-Jun. '90). With the standard high-volume technique, particulate matter was collected on quartz fiber filters during 24hrs about 2,000m<sup>3</sup> of air. After ultrasonic extraction with benzene-ethanol and evaporation to dryness, the residue was dissolved in dimethyl sulfoxide. Each samples was tested on two strains, TA98 and TA100 by the pre-incubation method in the absence and presence of S-9 mix.

Total average concentration of airborne particulates in Seoul is 281.3µg/m<sup>3</sup>. Due to yellow sand phenomena, the highest concentration was shown during March and April.

Extracted organic pollutants from airborne particulates consist of 10-60% by weight March and April.

The mutagenicity during Jul. Aug. and Sep. was about 20 revertants/m<sup>3</sup>.air toward TA98 and TA100 whether S-9 mix was added or nor and during Nov. and Dec. it was 35 - 90 revertants/m<sup>3</sup>.air which is typical urban distribution pattern.



In the 1-year-period study in Seoul, the mutagenicity toward TA98 and in the absence of S-9 mix, has higher value than that toward TA100 and in the presence of S-9 mix which suggests mutagen of frameshift type or aromatic nitro compound is major component than that of base-pair substitution type or polycyclic aromatic hydrocarbon in airborne particulate organic pollutants in Seoul.

## CONTENTS

Summary

Introduction -----	1
Materials and Methods -----	5
1. Collection of Airborne particulates -----	5
2. Pretreatment method of samples -----	7
3. Mutagenicity assay -----	8
4. Induction of rat-liver anzyme and preparation of S-9 mix -----	11
5. Chemical assay -----	11
Results and Discussion -----	20
1. Airborne particulates concentrations in ambient air -----	20
2. Concentrations of organic matters extracted from airborne particulates -----	27
3. Mutagenic activity of urban air pollutants -----	29
4. Summing up on airborne particulate of urban area-----	40
5. Examination on the analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons -----	45
6. Examination on the analysis of nitrated polynuclear aromatic hydrocarbons -----	56
7. Heavy metals and Water soluble matter -----	62
Conclusions -----	73
References -----	76

# 목 차

제 1 장	서 론	.....	1
제 2 장	실험 방법	.....	5
제 1 절	대기부유분진 채취	.....	5
1.	채취지점	.....	5
1)	광화문	.....	5
2)	광암리	.....	6
3)	구로동	.....	6
4)	방이동	.....	6
5)	한남동	.....	6
2.	채취시간	.....	7
3.	채취방법	.....	7
4.	포집부유분진의 평가	.....	7
제 2 절	시료준비	.....	7
1.	추출용매	.....	7
2.	추출방법	.....	8
제 3 절	돌연변이원성 시험	.....	8
1.	시험균주	.....	8
2.	시험균주의 특성 check	.....	8
1)	histidine 요구성	.....	9
2)	막변이 rfa 특성	.....	9
3)	약제내성인자 R-factor plasmic의 유무	.....	9
4)	자외선감수성	.....	9



3.	시험균주의 보관	9
4.	변이원성시험방법	9
	1) minimal glucose agar medium	10
	2) 시험방법	10
제 4 절	대사활성화 시험을 위한 S-9 mix의 조제	11
1.	S-9 의 조제	11
2.	S-9 mix의 조제	11
제 5 절	화 학 분 석	11
1.	시료준비 및 분획	11
	1) 유기물 추출 및 보존	11
	2) 분획방법	11
	(1) Liquid-liquid partition	11
	(2) Column chromatography	13
	(3) Thin-layer chromatography	13
2.	다환방향족탄화수소의 분석	14
3.	Nitro화 방향족탄화수소의 분석	16
	1) 시료의 준비	16
	2) Silica gel chromatography	16
	3) nitro방향족화합물의 amino방향족화합물로의 환원	17
	4) 고속액체chromatography(HPLC) 및 형광검지기의 측정조건	17
4.	금속류와 ion의 검출	18
	1) 시료의 전처리	18
	2) 중금속의 분석	19
	3) 이온류의 분석 조건	19

제 3 장	실험결과 및 고찰	20
제 1 절	대기부유분진 농도	20
1.	광화분	20
2.	광암리	20
3.	구로동	20
4.	방이동	24
5.	한남동	24
제 2 절	부유분진으로 부터 추출한 유기물 농도	27
제 3 절	돌연변이원성	29
1.	서울시 5개 측정점 포집부유분진의 돌연변이원성	30
2.	화학분석을 위한 시료분획물의 돌연변이원성	37
1)	Liquid-liquid partition에 의한 돌연변이원성	37
2)	Column chromatography 분획물의 돌연변이원성	38
3)	Thin-layer chromatography 분획물의 돌연변이원성	39
제 4 절	서울지역 대기부유분진에 대한 총괄	40
1.	경시변화	40
2.	지역특성	42
3.	서울과 타국도시의 돌연변이원성의 비교	44
제 5 절	다환방향족탄화수소의 분석에 대한 검토	45
1.	포집방법에 관한 검토	46
2.	시료보존방법에 관한 검토	49
3.	추출방법과 용매에 관한 검토	50
4.	분리분석방법에 관한 검토	51
제 6 절	Nitro화 방향족탄화수소의 분석에 대한 검토	56
1.	1-aminopyrene 및 3-aminofluoranthene의 고속액체 chromatography	56

2. 방향족 nitro화합물의 amino화 환원 .....	57
3. 실제시료에의 첨가와 그 회수율 .....	58
4. 환경시료의 분석 .....	59
제 7 절 중금속류 및 이온성분 농도 .....	62
제 4 장 결 론 .....	73
참 고 문 헌 .....	76

## 제 1 장 서 론

대기오염과 폐암의 발생에 관한 역학적 제연구<sup>1-10)</sup>, 대기부유분진추출물과 관련물질에 대한 발암실험<sup>11-13)</sup>, 그리고 대기중에 함유되어 있는 발암성 및 돌연변이원성물질들의 정성 및 정량에 관한 연구결과로<sup>14-17)</sup> 부터 대기오염이 폐암 발생에 관여하고 있다는 사실은 의심할 여지가 없다.

그러나 폐암발생에 대한 대기오염의 기여에 관하여서는, 발암관련물질들의 오염상태가 충분하고도 상세히 조사되어 있지 못한 까닭으로 현재로서는 명백하다고 할 수 없다. 따라서 발암관련물질에 의한 대기오염의 실태를, 발생원을 포함하여 환경대기를 상세히 조사하는 일은, 대기오염에 대한 대책의 강구 및 대기오염과 폐암발생과의 관련을 규명하기 위한 기초로서 매우 중요하다.

종래로부터, 대기중에 발암관련물질의 화학적 분석은 통상 2-3종류의 것에 대하여 실시되어 왔다. 대기중에는 수많은 종류의 발암관련물질들이 각기 미량으로 존재하고 있다. 따라서 과거의 조사연구에서는 측정대상물질에 관하여서는 오염상태가 명백해 졌지만, 그밖의 발암관련 물질의 오염상태에 관하여서는 아무런 정보도 얻을 수 없었다. 이에 반하여 생물학계측, 특히 Ames에 의한 돌연변이원성시험은 대기중에 함유되어 있는 발암관련물질들의 작용을 전체적으로 계측하는데 대단히 유효하다.<sup>8-25)</sup> 따라서 돌연변이원성 시험은 대기오염의 해석을 위하여, 화학분석과는 다른 관점에서 유익한 정보를 제공하여 줄 것으로 기대된다.

대기중의 발암물질은 가스, 증기상태의 것과 입자상태의 것으로 대별된다. 현재까지 검출된 대기중의 발암물질에 대하여 화학구조에 따라 분류하고 각분류에 속하는 대표적인 발암물질을 Table 1에 표시하였다. 가스, 증기상태의 발암물질중 formaldehyde등의 aldehyde류와 유기할로겐화합물의 사용은 그 질과 양에서 증가 경향에 있으며, 따라서 각종 환경 매체의 당해 물질에 의한 오염이 문제시 되고 있다. 특히 trichloroethane, trichloro-



Table 1. Classification of carcinogens in ambient air

Classification	Typical carcinogn
Gas, Fume aromatic hydrocarbon	benzene
aldehydes	formaldehyde, acetaldehyde
nitro compounds	2-nitropropane, 4-nitrobiphenyl, 2-notrofluorene
nitrosoamines	N-notrosodimethylamine, N-nitrosomethylethylamine, N-nitrosodiethylamine
organic halogen compounds	vinyl chloride, CCl <sub>4</sub> , chloroform, trichloroethylene, tetrachloroethylene, 1,2-dichloroethane, methylchloride, methyl bromide, methyl iodide, ethylenediiodide
Particulates heavy metals	Cr, Ni, As, Cd, Sb, Be
mineral	asbestos
ploynuclear aromatic hydrocarbons	benzo(a)pyrene, chrysene, methylchrysene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene, benzo(j)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, dibenzo(a,h)anthracene, dibenzo(a,h)pyrene, dibenzo(a,e)pyrene
aromatic epoxide	benzo(a)pyrene-4,5-oxide
azaheterocyclic hydrocarbons	benzo(c)acrydine, dibenzo(a,h)acrydine, dibenzo(a,j)acrydine, carbasol
aromatic nitro compounds	4-nitrobiphenyl, 2-nitrofluorene, 2,7-dinitrofluorene, 1-nitropyrene, 4-nitropyrene, 1,3-dinitropyrene, 1,6-dinitropyrene, 1,8-dinitropyrene
nitrosoamines	N-nitrosopiperidine, N-nitrosomorpholine, N-nitrosornicotine
heterocyclic amines	Trp-P-1, Trp-P-2
organic halogen compounds	DDT, $\alpha$ -HCH, PCB, PBB, 2,3,7,8-TCDD, chlorodibenzofurane



ethylene 및 tetrachloroethylene의 개인폭로에 미치는 환경매체의 기여는 공기 99.1%, 식사 0.8%, 음료수 0.1%라는 <sup>26)</sup> 보고로부터 추측할 수 있는 바와 같이 공기의 기여도가 압도적이다. 따라서 저비점 유기할로겐화합물에서의 경기도(經氣道)피폭실태의 정확한 파악은 금후 점점 더 중요하여 지리라 추측된다.

한편 입자상물질중에는 다환방향족탄화수소(PAH) 및 그의 epoxide, quinone화합물, nitroarene, Azarene등 다양한 화학물질이 함유되어 있어, 폐암유발이 추정된다.<sup>27)</sup> 특히 유기물질의 연소과정에서 생성되는 benzo(a)-pyrene등의 PAH와 그 유도체는 promutagen, carcinogen으로서 강력한 활성을 나타내고 있을 뿐 아니라, 대기중에서 NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, PAN등과의 nitro반응에 의하여 용이하게 2차적으로 생성되는 transforming products로서의 nitro방향족탄화수소는 가장 강력한 direct 변이원성과 발암성을 나타내고 있다.

이와같은 유해물질은, 급속한 경제성장과 공업화과정에 있는 우리나라에서도 다량의 연료소비로 인하여 대기중에 다량 방출되어 존재하고 있음이 유추되며, 최근의 교통량의 대폭증가, 특히 diesel 차량의 증가로 인한 도시지역에서의 대기중의 입자상물질은 그 양에 있어서 뿐만아니라 질에서도 상당한 인체영향을 미칠것이라고 추정된다.

발암성시험은 mouse, rat등의 실험동물을 이용하는 것이 원칙이나, 소요시간과 경비면에서 난점이 많아, screening수법을 필요로 한다. 현재 발암물질검색의 screening수법으로 많이 이용되고 있는 돌연변이원성시험은 암세포 발현의 2단계학설의 initiation단계로 지지를 받고 있으며, 발암성시험과 그 결과에 있어서 정성적 및 정량적으로 매우 높은 상관관계가 있음이 보고되고 있다. 또, 기존 발암물질의 대부분은 세균이나 배양세포등을 이용하는 short term bioassay에서 돌연변이를 유발하는 mutagen으로 확인되었으며 대기오염물질과 같은 복합오염물질에 대해서도 응용 가능한 장점을 소유하고 있다.

본 연구에서는 대기오염과 발암성을 규명하기 위한 연구의 일환으로 서울지역을 대상으로 대기중의 부유입자상물질을 채취하여 그로부터 추출한 유기물에 대하여 돌연변이원성을 조사하고, 화학분석을 통한 발암물질의 검색을 실시함으로써, 도시지역의 대기 부유분진의 양과 질의 양면에서 종합적으로 평가할 수 있는 결과와 생물학적 및 화학적분석을 위한 monitoring의 규격화 방법을 얻었기에 보고한다.

## 제 2 장 실험 방법

### 제 1 절 대기부유분진의 채취

1. 채취지점 : 서울특별시에 설치된 monitoring station 5 개소에서 채취하였다. (Fig. 1)

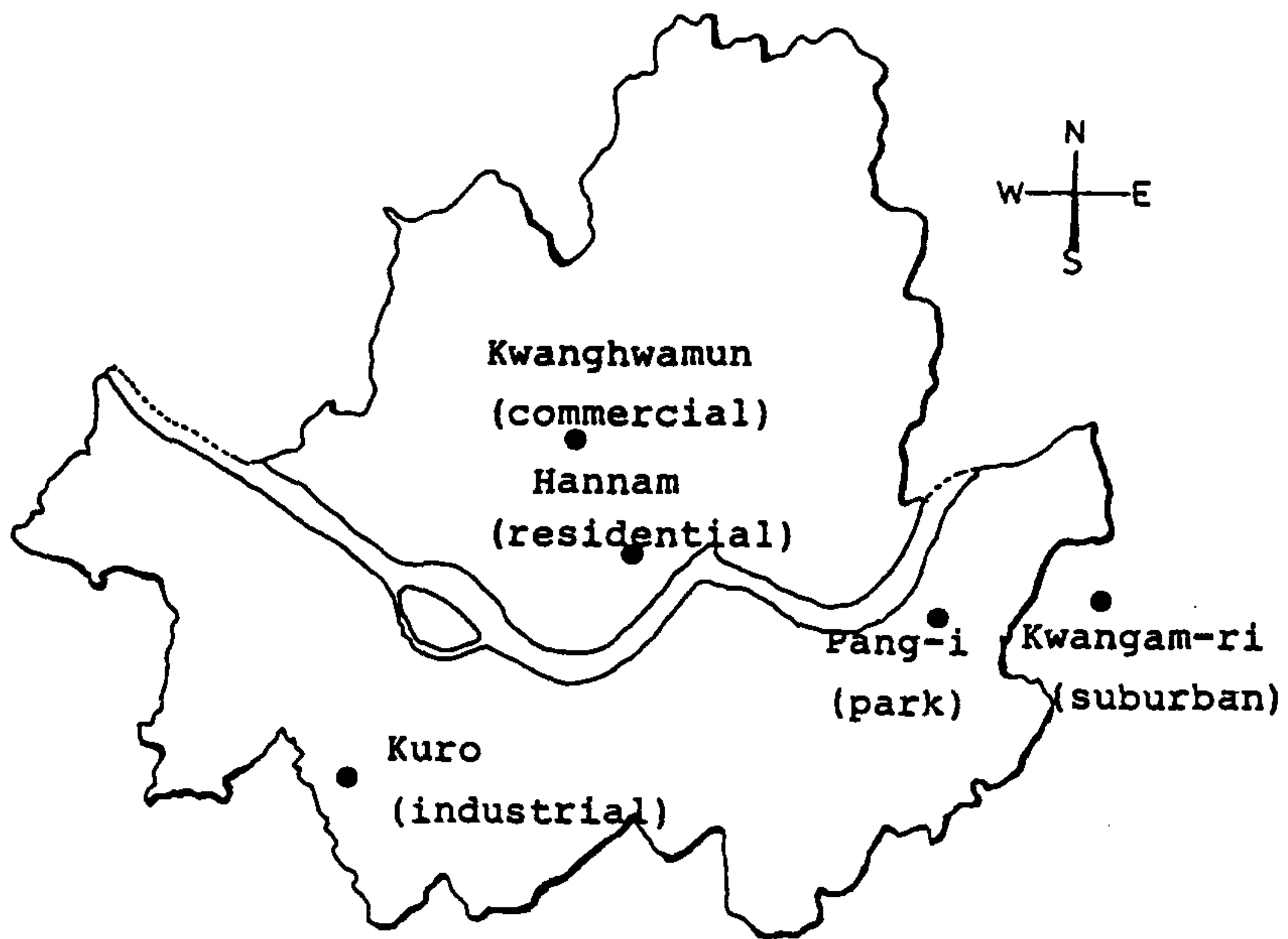


Fig. 1 Sampling sites in Seoul area

각채취지점의 위치 및 주변환경의 개요는 다음과 같다.

- 1) 광화문 : 서울의 도시형성과 발달은 4대문의 중심인 광화문을 기점으로 이루어졌으며, 서울시의 정중심지점인 광화문파출소 옥상에서 채취하였다. 도로상가지역인 이곳은 1일 자동차 통행량이 가장 많은 교차로 지역중의 하나로 분진발생원으로는 대부분 자동차에 의존하며, 기타 사무실 빌딩의 동기난방 및 정동, 신문로, 효자동등 인접 주거지역의 먼오염원을 들 수 있다.

- 2) **광암리** : 경기도 광주군 서부면 광암리의 서울시 팔당수원 지내에서 채취하였다. 이곳은 서울도심으로부터 동남동측 18.2Km에 위치한 suburban area로서, 약 3 Km서측에 주택지가 밀집하고 있어, 발생원 으로서는 각 가정으로부터의 먼오염원과 서북측 에 위치하고 있는 한강의하천풍에 의하여 타지 역의분진이 이동함을 예측할 수 있다.
- 3) **구로동** : 남북으로 형성된 구로공단 중심부에 위치한 정 수장내에서 채취하였다. 동측으로 주거지역이 비교적 넓게 분포되어 있고 인근에 시흥으로 연 결되는 국도와 남부순환도로가 위치하고 있어, 공장 및 주거와 더불어 자동차 배출가스가 발생 원으로 추정된다.
- 4) **방이동** : 강서구 방이동 올림픽공원내의 수변편익시설에 서 채취하였다. 이곳은 녹지지역으로서 1.5Km 서북측에 한강이 위치하고 있고, 공원 주위에는 도로를 경계로 대단위 주거지역이 밀집하여 있 고 1.5Km 동측에는 개발 제한 구역이 설정되어 경작지와 수림이 위치하고 있어 비교적 청정한 지역으로 인정되나 부근 도로의 차량통행량은 매년 증가추세에 있으며 환경대기중의 오존농도 는 가장 높은 지역중의 하나이다.
- 5) **한남동** : 현 한강관리사업소(구 서울특별시 보건환경연구 원)내에서 채취하였다. 이곳은 남산공원의 자연 녹지지역과 이태원 및 한남동의 상업지구가 인

접하고 있으며, 경부고속도로와 강남지역으로 연결되는 한남대로 및 남산 1호터널의 한남동측 출구가 인접하고 있으며, 특히 한남대교는 한강 교량중 가장 교통량이 많은 교량으로서 자동차 배출가스의 영향을 가장 많이 받는 곳으로 추정된다.

2. 채취시간 : 각 채취점에 대해서 매주 수요일 오전10시부터 익일 오전 10시까지 24시간 동안 채취하였다. 단 우천시는 익일에 실시하였다.
3. 채취방법 : Roots meter로 유량고정한 High Volume Air Sampler(R.A.C제)를 이용하여 quartz fiber filter(20X25cm)상에  $1.2\sim 1.7\text{m}^3/\text{min}$ 로 포집하였다.
4. 포집부유분진의 평량 : 정확한 분진량을 측정하기 위하여 filter는 채취전과 후에 각기  $20\text{ }^\circ\text{C}$ , 50%의 상대습도조건하에서 48시간 방치후 평량하였고, 시료는 유기물추출 직전까지  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 의 냉동고에 보존하였다.

## 제 2·절 시료의 준비

포집 부유분진으로 부터의 유기물추출은 다음과 같이 행하였다.

1. 추출용매 : 전년도 연구와 동일한 용매로 benzene-ethanol을 4:1로 혼합하여 추출용매로 하였다.



2. 추출방법 : 초음파추출을 이용하였다. 즉 삼각플라스크에 용매 60ml와, 분진 포집filter를 적당한 크기로 잘라 넣은 다음 15min간 초음파조사(Nihonseiki, 28KHz)하여 추출하였다. 추출물은 동양여지(No.5C)로 여과한 후, Rotary evaporator로 32~35 °C에서 감압 농축하였다. 그 후 desiccator 내에 용매취가 감지되지 않을 때까지 방치한 후 추출유기물을 평량하고, 각기 용도에 따라 적당량 분취하여 dimethylsulfoxide(DMSO, Baxter제 spectrum급)에 용해한 후 -20 °C 냉동고에 보존하였다.

### 제 3 절 돌연변이원성시험

#### 1. 시험균주

Salmonella typhimurium TA100 및 TA98(his<sup>-</sup>)를 이용하였다. 이 균주는 각기 base-pair substitution 및 frameshift type의 mutagen 검출에 대응하며, 균주 특성으로는 histidine 합성불능막변이 rfa로 세포벽 리포다당류합성결실로 인한 시료검체의 투과성을 높인점, uvrB유전자의 결실로 자외선 감수성이 높은 특성을 소유하고 있다.

또, 약제내성인자 R-factor plasmid pKM 101을 주입함으로써 암피실린내성이 있어 mutagen 검출감도가 높은 균주이다.

#### 2. 시험균주의 특성 check

2개월에 한번씩 다음의 방법에 의하여 균주특성을 조사하여 selection 하였다.

1) histidine 요구성

0.5 mM의 histidine 첨가와 첨가하지 않은 minimal glucose agar medium plate 상에 전배양된 균현탁액을 streak 하여 37 °C에 48시간 배양후 균생육의 유무를 확인한다.

2) 막변이 rfa 특성

crystal violet (1mg/ml)용액 10 $\mu$ l를 함침시킨 filter disc를, 시험균주를 overlay시킨 영양 agar medium plate의 중앙에 위치시킨 후 37 °C 24시간 배양후, 균생육저지원의 유무를 확인한다.

3) 약제내성인자 R-factor plasmid의 유무

ampicilline용액(80mg/ml) 10 $\mu$ l를 상기 2)와 동일하게 한다.

4) 자외선감수성

0.5 mM의 histidine 포함 minimal glucose agar medium 상에 균현탁액을 streak 한후, 10W의 자외선 Lamp하 25cm 거리에서 4분간 조사하여, 37 °C, 48시간 배양한 후, 균생육의 유무를 확인한다.

3. 시험균주의 보관

nutrient broth medium에서 전배양된 균현탁액 8ml에 DMSO 0.7ml를 혼합하여 플라스틱제 소시료병에 0.2ml씩 분주하여 -80 °C 초저온조에 동결보존하였다.

4. 변이원성시험방법

Ames의 방법을 일부 개량한 pre-incubation법으로 실시하였다.

1) minimal glucose agar medium

Vogel-Bonner E medium (2g citric acid monohydrate, 10g  $K_2HPO_4$ , 3.5g  $Na(NH_4)HPO_4 \cdot 4H_2O$ , 0.2g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 를 증류수 100ml에 용해하여 고압증기멸균)에 glucose를 2%, Bacto-agar를 1.5% 첨가하여 고압증기멸균후 plate( $\phi$  90mm, 높이 15mm의 7선조사멸균 플라스틱제품)에 30ml씩 분주하여 자외선 Lamp부착 멸균상자에서 20시간 이상 방치하여 건조시켰다.

2) 시험방법

0.5mM의 histidine 수용액 (0.45 $\mu$ m filter로 여과멸균)을 10% 첨가한 overlay용 0.6% soft agar(0.5% NaCl포함)를 43 °C로 유지한다. 다음 전배양 (0.8g nutrient broth, 0.5g NaCl을 증류수 100ml에 용해하여 고압증기멸균하여 그 10ml에 동결보존한 균현탁액의 소량을 접종하여 37 °C, 15시간 shaking 배양)에 의하여 대수 증식기에 달한 균현탁액( $1 \sim 2 \times 10^9$  cell/ml) 0.1ml와 M/10인산완충액액(pH 7.4) 또는, S9 mix 0.5ml를 상기의 soft agar 2ml에 가하고 소정농도의 시료용액 0.1ml를 부여하여 혼합한 후, minimal glucose agar medium plate상에 균일하게 overlay하여 고화시킨다. 37 °C, 2일간 배양후 생육된 revertant colony를 계수하고, 시료 1농도당 plate 2장의 colony수를 평균하여 plate당의 revertant colony수로 하였다.

#### 제 4 절 대사활성화시험을 위한 S-9 mix의 조제

##### 1. S-9 의 조제

Ames의 방법에 준하여 Sprague-Dawley계 rat(♂)에 Aroclor 1254(SUPELCO 제)를 체중 1Kg당 500mg 복강내 1회 투여하고, 5일 후에 간장을 적출하여 염화칼륨 수용액을 가하여 homogenize한 후 9000g로 원심분리한 상등분획 (S-9)을 3ml씩분주하여 assay 직전까지  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 동결보존하였다.

##### 2. S-9 mix의 조제

S-9 분획 3ml, 염화마그네슘(0.4M) 및 염화칼슘(1.65M)의 수용액 0.6ml, glucose-6-인산수용액 (1M)0.15ml, NADPH 수용액(0.1M) 1.2ml, NADH 수용액 (0.1M) 1.2ml, 0.2M의 인산완충용액(pH 7.4)15ml에 증류수를 가하여 30ml로 하였다.

#### 제 5 절 화학 분석

##### 1. 시료의 준비 및 분획

Fig 2에 시료의 준비 및 분획과정을 나타내었다.

##### 1) 유기물 추출 및 보존

돌연변이원성시험을 위한 시료준비와 동일한 방법으로 유기물을 추출하여 감압농축, 건조한 후  $-20^{\circ}\text{C}$ 냉동고에 분획직전까지 보존하였다.

##### 2) 분획 방법

##### (1) Liquid-Liquid partition

준비된 유기물 시료의 일부를 Teranishi의 방법<sup>21)</sup>에 준하여 산성분획, 염기성분획, 중성분획으로 나누고 ether을 증발 건조한 후 각 분획의 일부를 시료 농도 5mg/ml가 되도록 DMSO에 용해하였다.

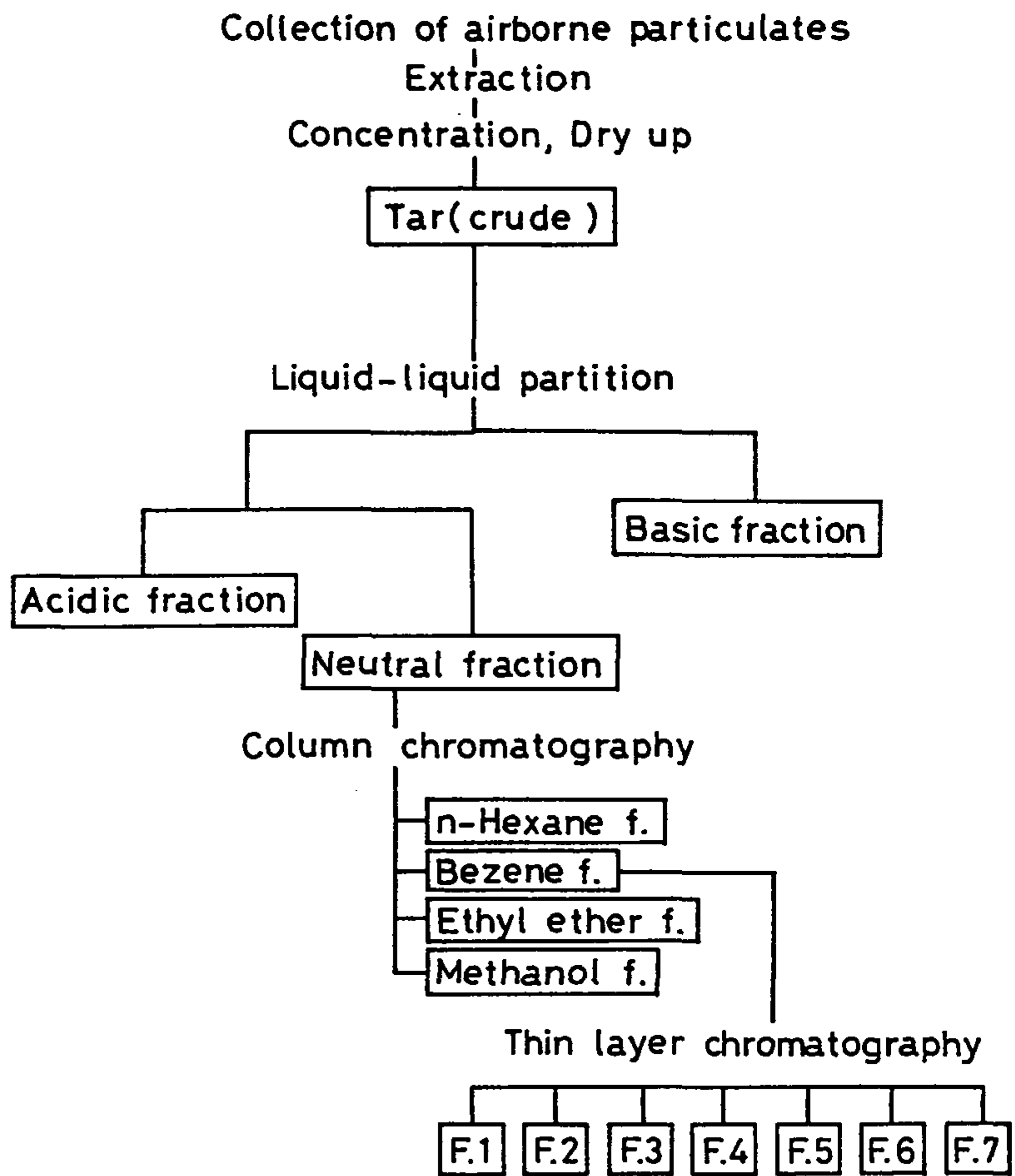


Fig. 2 Scheme of the sample preparation



(2) Column chromatography

위에서 분획된 3개의 분획중에서 중성분획에 대하여 역시 Teranichi의 방법<sup>21)</sup>에 따라 silica gel에 의한 column chromatography로 분획하였다. column( $\phi$  1cm)은 n-hexane에 현탁한 silica gel(200mesh Merck제, 130 °C에서 3시간 활성화)을 10cm 높이까지 충전한 것을 사용하였다. 용출조건은 먼저 n-hexane 100ml로 N1분획을, 다음으로 benzene 100ml로 N2분획을, ether 150ml로 N3분획을 용출하였다. 최후로 잔여 유기물을 용출하기 위하여 methanol 150ml로 Residue분획을 얻었다.

(3) Thin-layer chromatography

상기 column chromatography에서 분획된 N2분획물에 대하여 Daisey의 방법<sup>31)</sup>에 따라 acetyl화 cellulose(28%, Wako pure chemical제)를 이용한 2층 1차원 thin-layer chromatography로 분획하였다. acetyl화 cellulose는 미리 ether로 세척하여 ether용출물을 제거한후, ethanol에 현탁하여 plate를 작성하고, 40 °C, 30분간 건조한 것을 사용하였다. thin-layer상에 N2분획물을 spot한후, n-propanol: acetone: 증류수(2:1:1)로 이루어진 전개용매로 6시간 전개하였다. 전개후 자외선조사를 행하여 형광spot에 대응하는 7개 분획으로 나누어, Rf치가 작은 쪽에서부터 F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7으로 분리하였

다. thin-layer로 부터 micro scraper로 긁어 모은 각 분획의 acetyl화 cellulose를 1시간동안 ether을 용매로 초음파추출하였다. ether추출액은 evaporator로 농축 건조한 후 DMSO 1ml를 가하여 용해 -20 °C에서 보존하였다.

## 2. 다환방향족탄화수소의 분석

1) Quartz fiber filter상에 포집한 입자상물질을, 초음파추출장치를 이용하여 benzene:ethanol(4:1)로 15분간 추출한 후 evaporator로 감압농축하여 얻은 유기물에 대하여 Silicagel column chromatography와 2층 1차원 thin-layer chromatography로 분획한 후 분광형광광도법으로 분석하였다.

2) HPLC장치로는, Perkin-Elmer LC235형 고속액체 chromatography를 이용하였다. 형광검출기로는 Perkin Elmer Ls-5B형 분광형광광도계를 이용하고, 여기광 및 형광의 band폭은 10nm로 설정하였다. 분리분석용 column으로는 Nucleosil 7C<sub>18</sub>을 균일하게 충전한 Guard column(φ4.6mmX30mm)와 분석column(φ4.6mmX250mm)을 직렬로 연결한 것을 사용하였다. 대기부유분진중의 발암관련 PAH는 다음의 6종류를 분석대상으로 하였다.

benzo(a)pyrene, benzo(k)fluoranthene, Chrysene(이상 carcinogen), pyrene, benzo(e)pyrene, benzo(ghi)perylene(이상 발암 promotor), 대기부유분진이 포집된 filter로 부터 stainless제 belt punch로 직경 40mm의 원

형filter 2장을 잘라내어, ethanol 2ml, benzene 8ml를 넣은 비이커속에 1cm 정도의 폭으로 작게 자른 filter를 넣고, filter에 부착한 기포를 제거한 다음, 초음파발생기(28KHz)내에서 15분간씩 2회추출하였다. 추출액을 300rpm으로 15분간 원심침전처리후, 상등액 3ml를 다른 원심침전관에 옮긴다음, 5% NaOH수용액 4ml를 가하였다. 이것을 Labo-mixer로 약 1분간 격렬히 shaking한 후 3000rpm으로 15분간 원심분리하여 그 상층(benzene층)액을 HPLC 검액으로 하였다. HPLC에 의한 분리분석은, 이동상으로 acetonitrile:H<sub>2</sub>O(8:2, v/v)를 이용하였고, 유량 1.0ml/min, column온도 45 °C로 하였으며, 각 PAH의 검출은 Table 2에 표시한 것과 같은 여기형광파장으로 실시하였다.

Table 2. Wavelengths for fluorometric detection and detection limit of PAHs

PAHs	ex(nm)	em(nm)	detection limit(pg)
Pyrene	340	395	3.88
Chrysene	272	364	11.61
benzo(e)pyrene	335	379	19.65
benzo(k)fluoranthene	370	406	6.75
benzo(a)pyrene	370	406	2.44
benzo(ghi)perylene	370	406	5.83

### 3. Nitro화 방향족탄화수소의 분석

#### 1) 시료의 준비

각 측정점에서 포집된 부유분진시료중에서 random하게 선택하여 혼합한 후, benzene-ethanol(4:1, v/v)로 초음파 추출하여 얻은 유기물로 부터 용매제거후, 실온하에서 초음파진탕기를 이용하여, n-hexane-methylene chloride(65:35, v/v)로 재추출을 2회 시행하였다.(이 조작으로 benzene-ethanol 용매가용성의 고극성물질 및 무기물질이 제거된다.) 재추출액을 갈색시험관중에서 40~50 °C에서 질소기류하에서 증발건조하였다.

#### 2) Silica gel chromatography에 의한 분리 정제

지방족, 방향족탄화수소 및 약간의 고극성탄화수소와 다환방향족탄화수소, 방향족nitro화합물을 분리하기 위하여 silica gel column으로 3개 fraction으로 분리하였다. silica gel 10g을 n-hexane에 현탁하여 column충전한 후, 그 상부에 약 1g의 silica gel을 흡착시킨 3조작에 의하여 얻은 시료를 소량의 n-hexane으로 적층하였다, n-hexane 20ml, benzene 50ml 및 benzene-ethanol(1:1) 30 ml의 용출용매를 차례대로 1.5ml/min의 유속으로 용출하여 3종으로 분리하였다. 방향족 nitro화합물 및 다환방향족화합물을 포함하는 benzene분획을 K.D농축기로 질소분위기하에서 감압농축한 후, 질소기류로 40~50 °C에서 잔여용매를 제거한 다음, benzene 1ml에 용해하였다.



3) nitro방향족화합물의 amino방향족화합물로의 환원

액체 chromatography로 분리, 형광검지기로 nitro방향족화합물을 검출, 정량분석하기 위하여는 nitro방향족화합물을 형광이 더욱 강한 amino방향족화합물로 변환할 필요가 있다. 전항의 benzene시료용액을 실온하에서 4ml의 환원시약용액[methanol:H<sub>2</sub>O(1:1,v/v) 100ml에 수소화붕소나트륨(Yoneyama약품제 특급시약)2.0g을 용해한 후, 0.05% 염화제2동(Yoneyama약품제 특급시약, 1수수염)2.0ml을 가하여 조제]으로 1일 처리하였다. 환원처리후, benzene층을 반응혼합액으로 부터 분리하여, 수용액층을 benzene 1ml로 2회 추출하였다. 두 benzene층을 합하여 40 °C 질소기류하에서 용매를 제거한 후 acetonitrile 0.5ml에 용해한것을 시료용액으로 하였다.

4) 고속액체chromatography(HPLC) 및 형광검지기의 측정조건

HPLC는 Shimazu LC-3A, 형광검지기는 Shimazu RF-500 LC를 이용하였다. column은 pre-column으로 4cmX3.2mm RP-18 미립자 column을, main column으로는 25cmX4.6mm Zorbax ODS(Dupont사제)를 사용하였다. 1-aminopyrene, 6-aminobenzo(a)pyrene, 3-aminofluoranthene을 분석할 경우는 이동상으로서 acetonitrile:H<sub>2</sub>O(65:35,v/v, 암모니아수용액으로 pH8로 조정)를 사용하였고, 유속은 1.0ml/min으로 하였다. 각 화합물에 대한 형광검지기의 Excitation 및 Emission파장은 Table 3과 같다.



Table 3. HPLC-fluorescence Analysis of Amino-PAH<sup>a</sup> and PAH<sup>b</sup>

Compound	T <sub>R</sub> min	Detection		Minimum Detection Limit pg/injection
		Excit. nm	Emiss. nm	
1-Aminopyrene	14.0	365	430	10
3-Aminofluoranthene	13.2	415	518	230
6-Aminobenzo(a)pyrene	23.6	430	498	250
Pyrene	10.8	325	389	95
Benzo(a)pyrene	19.2	383	430	80

a. Retention times using acetonitrile-water 65:35 (pH 8).

b. Retention times using acetonitrile-water 90:10

#### 4. 금속류와 ion의 검출

##### 1) 시료의 전처리

시료제조법으로는 질산-과산화수소법을 이용하였다. 시료가 부착된 여지를 belt punch로서 전체의 약 22%를 펀치한 후 이를 ceramic 가위로서 적당한 크기로 자른 후 질산용액(1→2) 30ml 및 과산화수소 5ml를 가하여 1시간 온화하게 가열 후 No.5B 여지로서 여과하여, 여액을 Hot plate상에서 증발건고 직전까지 가열농축하고 질산용액(1→50)을 가하여 정확히 25ml로 하여 시료액으로 하였다

이온류분석을 위하여는 전체 여지의 약 8%를 취하여 적당한 크기로 자른 후에 125ml round bottom flask에 D.W

50ml와 함께 넣고 환류냉각관을 붙여 3시간 가열후 냉각  
여과하여 정확히 100ml로 하여 시료액으로 하였다.

2) 중금속의 분석

polarized zeeman atomic absorption spectrophotometer(Hitachi Model Z-8100)을 써서 Pb, Fe, Mn, Zn, Cd, Ni, Co, Cu등은 pre-mix burner를 이용하였으며 V은 High temperature burner를 이용하여 분석하였다.

3) 이온류의 분석 조건

Ion chromatography (Dionex 4000i)를 이용하여  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^-$ 를 분석하였는 바 분석조건은 다음과 같았다.

Anion micro membrane	:	AMMS
Anion separator column	:	HPIC-AS4A
Flow rate	:	2.0ml/min
Injection volume	:	50 $\mu$ l
Eluent	:	1.8mM Na CO 1.7mM NaHCO
Regenerant	:	25mN H SO
Detector	:	Conductivity

## 제 3 장 실험결과 및 고찰

### 제 1 절 대기부유분진 농도

대기중에는  $0.01\mu\text{m}$ 에서 수십  $\mu\text{m}$ 에 이르는 대소 여러입자가 부유하고 있어, 호흡에 의하여 인간의 폐내에 침투하고 있다. 따라서 대기부유분진이 인체에 미치는 영향을 평가하기 위하여는 우선 부유분진의 농도를 파악할 필요가 있으며, 국가에서도 대기환경보전법에 부유분진에 대한 환경기준치(장기기준치 : 연간평균치  $150\mu\text{g}/\text{m}^3$ , air이하, 단기기준 : 24시간평균치  $300\mu\text{g}/\text{m}^3$ , air이하)를 설정하고 있다.

서울지역 5개소에서 high-volume air sampler로 포집한 대기부유분진의 월평균농도를 지역별로 Fig. 3~Fig 7.의 상단에 나타내었다. 각 측정지점에서의 부유분진농도의 지역특성은 다음과 같다.

#### 1. 광화문

Fig 3.의 상단에 표시한 것과 같이 연간 평균치는  $318\mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 전측정점중 분진농도가 가장 높은 지역이었다. 전월에 걸쳐 장기기준치  $150\mu\text{g}/\text{m}^3$ 를 초과하였고, 90년 10월과 12월 및 91년은 1, 2, 3, 4월은 단기기준치  $300\mu\text{g}/\text{m}^3$ 를 상회하였다.

#### 2. 광암리

Fig 4.의 상단에 표시한 이지역의 분진농도를 보면 6월에서 10월까지는  $150\mu\text{g}/\text{m}^3$ 전후의 비교적 낮은 농도를 나타내었고, 11월부터는 점점 상승하는 분포를 나타내었다. 연간평균농도는  $259\mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 5개 측정점중에서 가장 낮은 농도치를 나타내었다.

#### 3. 구로동

Fig 5.의 상단에 표시한 바와 같이 연평균농도는  $238\mu\text{g}/\text{m}^3$ 이었고, 11월에  $400\mu\text{g}/\text{m}^3$ 의 최고치를 나타내었다. 12월부터 4월까지  $300\mu\text{g}/\text{m}^3$ 전후로 큰 변동은 나타나지 않았다.

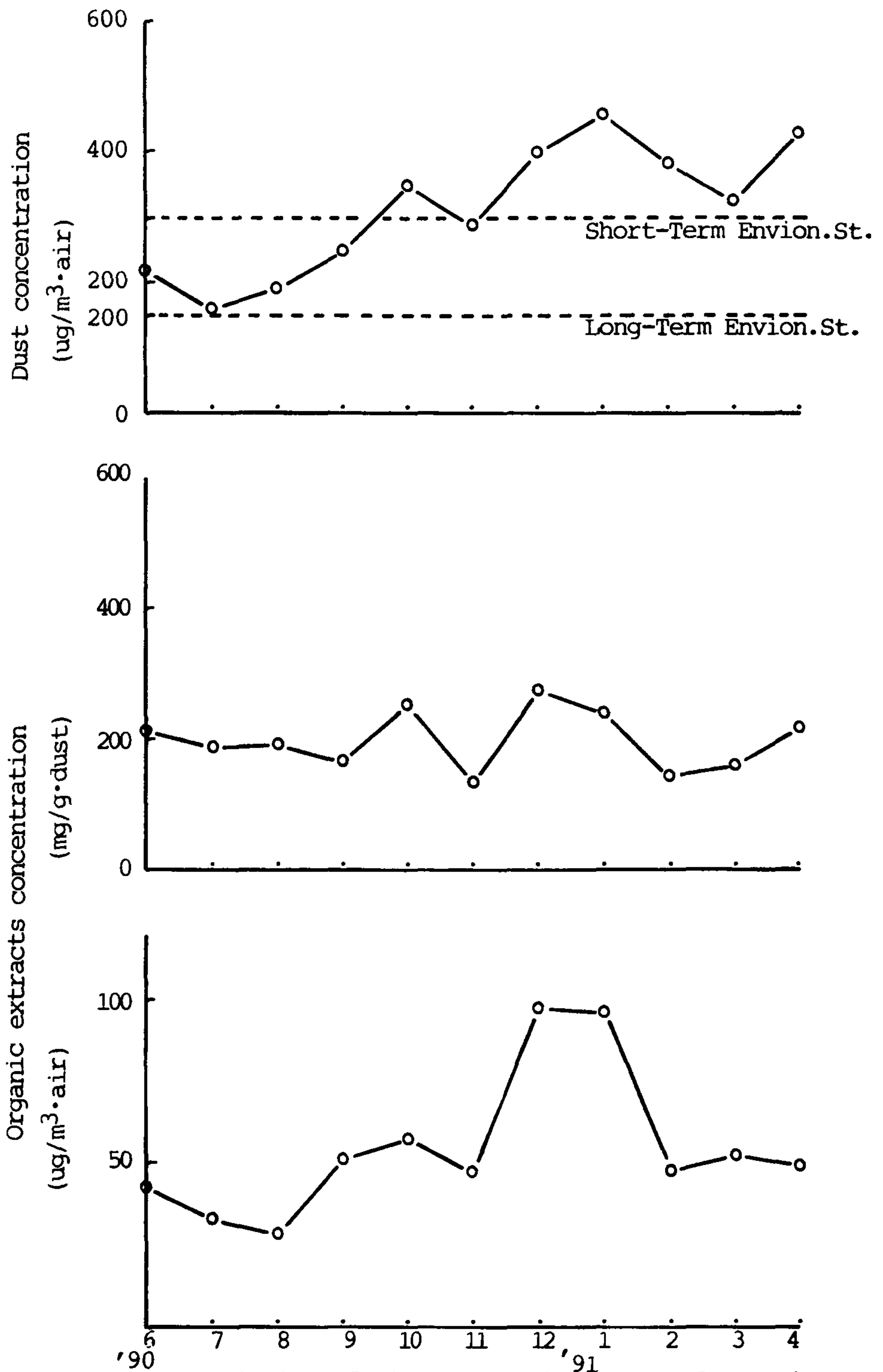


Fig. 3. Monthly variation of airborne particulates and organic extracts content at sampling site, Kwanghwamoon.

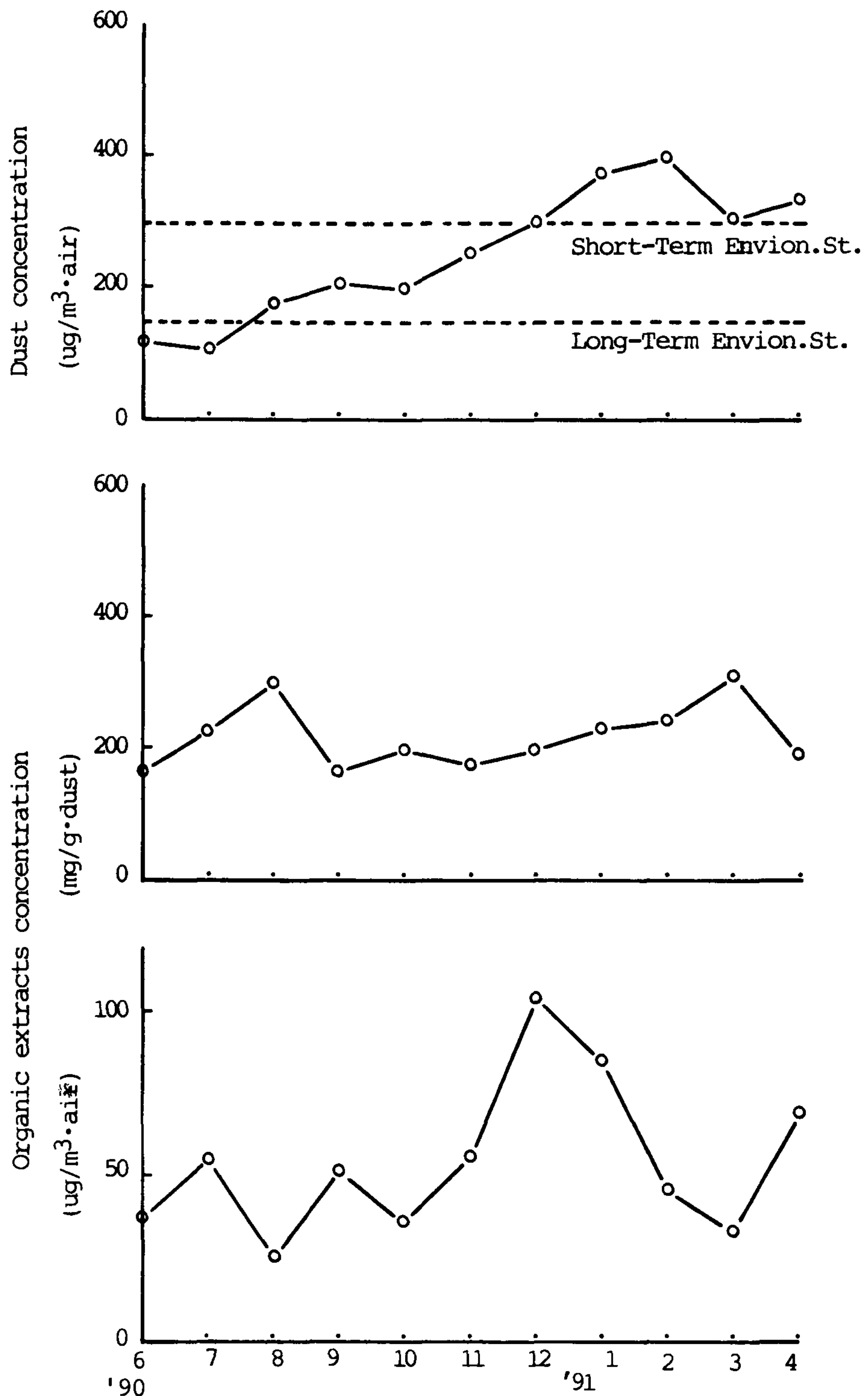


Fig. 4. Monthly variation of airborne particulates and organic extracts content at sampling site, Kwangam-ri.



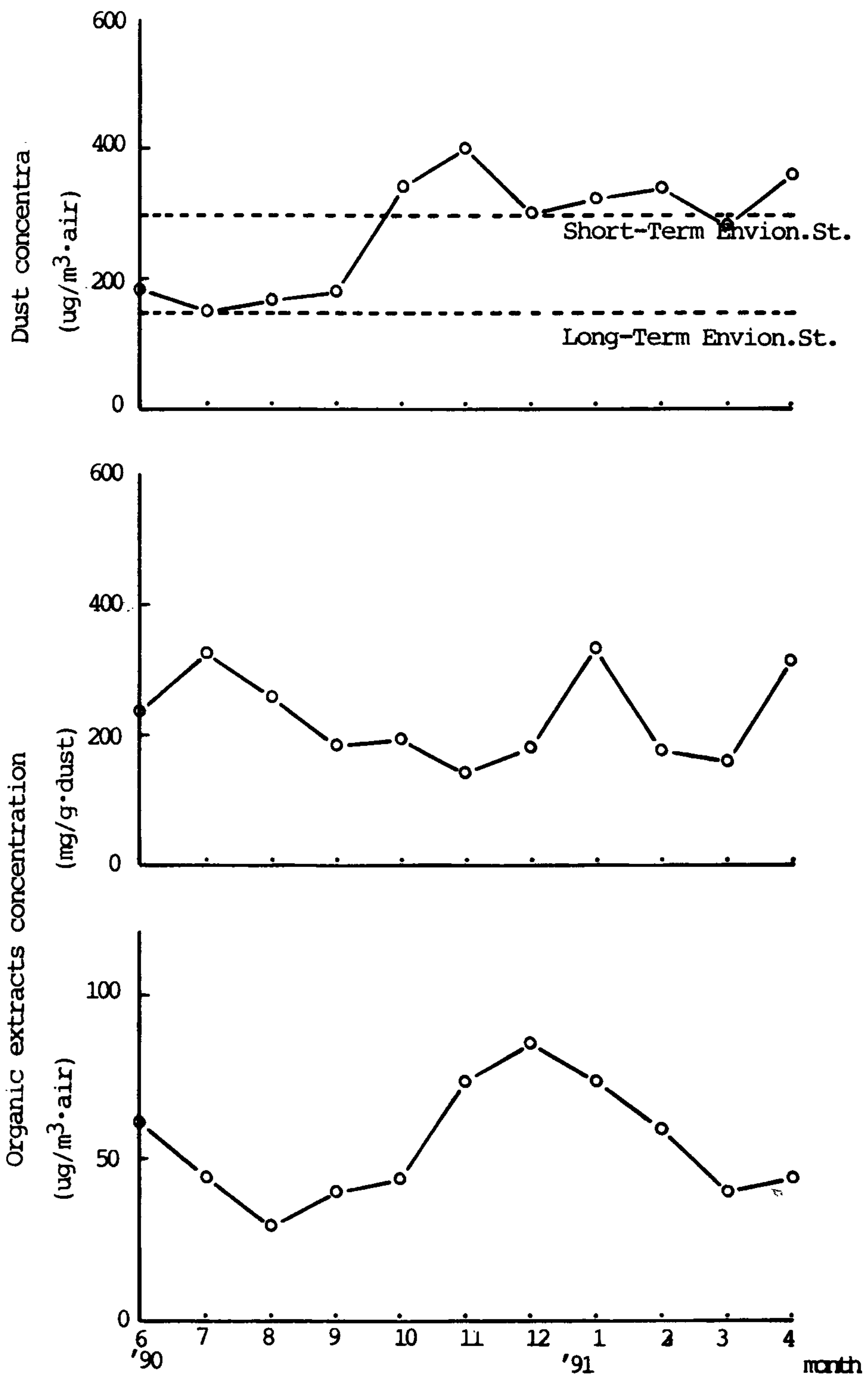


Fig. 5. Monthly variation of airborne particulates and organic extracts content at sampling site, Kuro-dong.

#### 4. 방이동

Fig 6.의 상단에 표시한 바와 같이 6, 7, 8, 9월의 하절기에는  $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$  전후의 비교적 낮은 농도이었으나, 10월 이후로는  $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$  전후의 농도치로 연간을 통하여 가을, 겨울, 봄철이 여름철의 약 2배의 분진농도를 나타내었다.

#### 5. 한남동

Fig 7.의 상단에 표시한 바와같이, 방이동과 유사한 패턴을 나타내고 있으나, 하절기 이후에는  $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 의 높은 농도치를 나타내었다. 연평균치는  $312 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 전측정점중 2번째로 높은 부유분진 농도를 나타내었다.

이상 5개 측정지점을 총평균하여 서울지역의 부유분진농도의 경시변화를 Fig. 8의 상단에 나타내었다.

전체적으로 볼때 6, 7, 8월의 하절기에 저농도( $115 \sim 211 \mu\text{g}/\text{m}^3 \text{air}$ ), 12, 1, 2월의 동절기에 고농도( $341 \sim 374 \mu\text{g}/\text{m}^3 \text{air}$ )를 나타내는 전형적인 도시형의 부유분진 농도분포(인구의 과밀과 겨울철의 가정난방을 위한 화석연료의 사용량의 증가)를 나타내었다. 각 측정점 공히  $400 \mu\text{g}/\text{m}^3 \text{air}$  전후의 최고농도를 나타낸 4월은 황사현상(4월초순 발생)의 기여에 의한 것으로 추정된다.

5개 채취지점의 부유분진 연평균농도는 광화문>한남동>구로동>방이동>광암리의 순으로,  $318 \sim 259 \mu\text{g}/\text{m}^3 \text{air}$ 의 좁은 농도범위였고, 연간 총평균 부유분진농도는  $287 \mu\text{g}/\text{m}^3 \text{air}$ 이었다.

광화문과 한남동이 타지역에 비해 높은 농도로 나타난 것은 자동차 통행량에 의한 것으로 추정되나, 현재의 서울지역의 교통량은 지역간의 커다란 차이가 없으리라 추정되어, 부유분진의 지역간 농도차가 적게 나타난 것으로 사료된다.

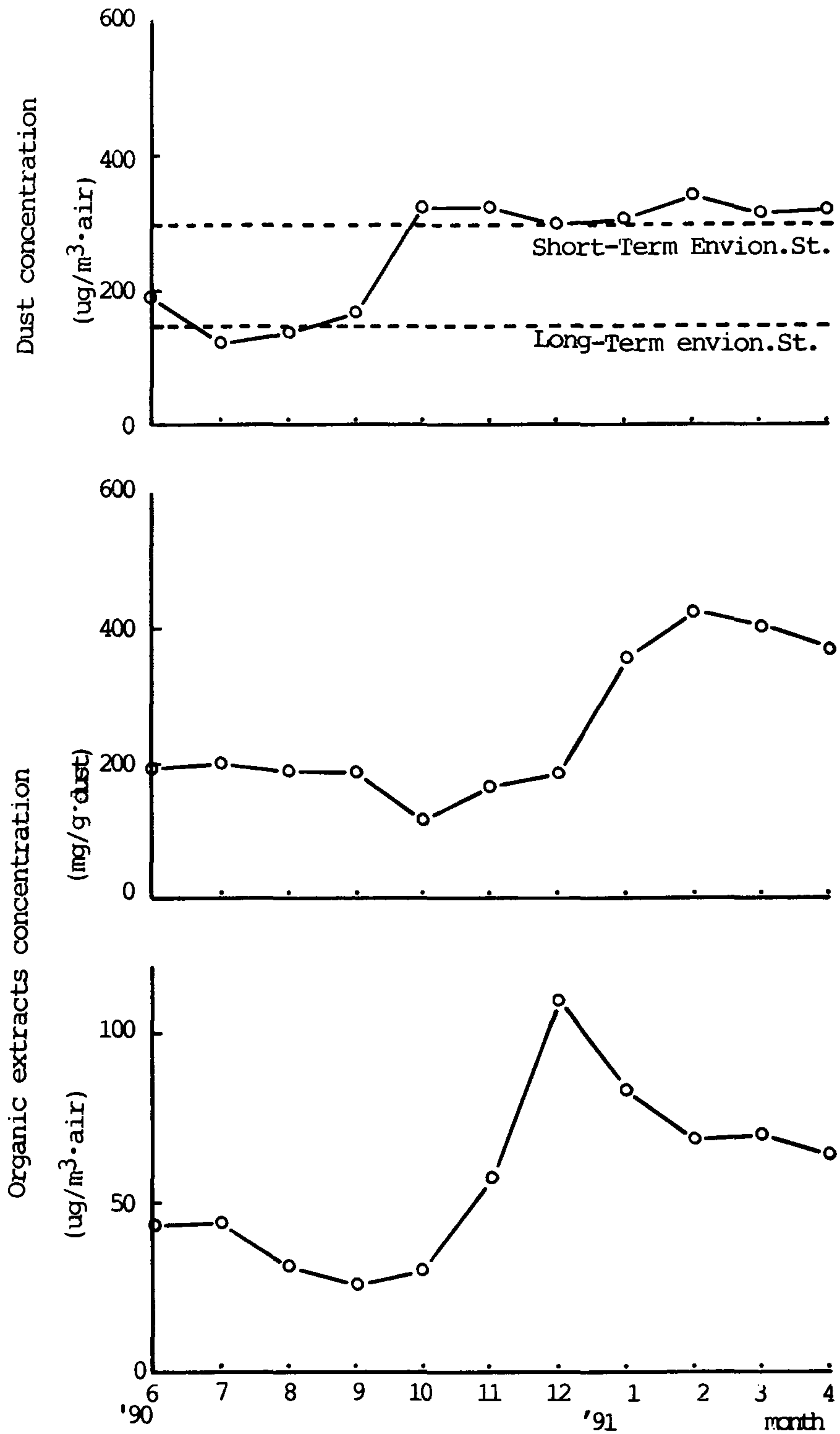


Fig. 6. Monthly variation of airborne particulates and organic extracts content at sampling site, Pang-i.

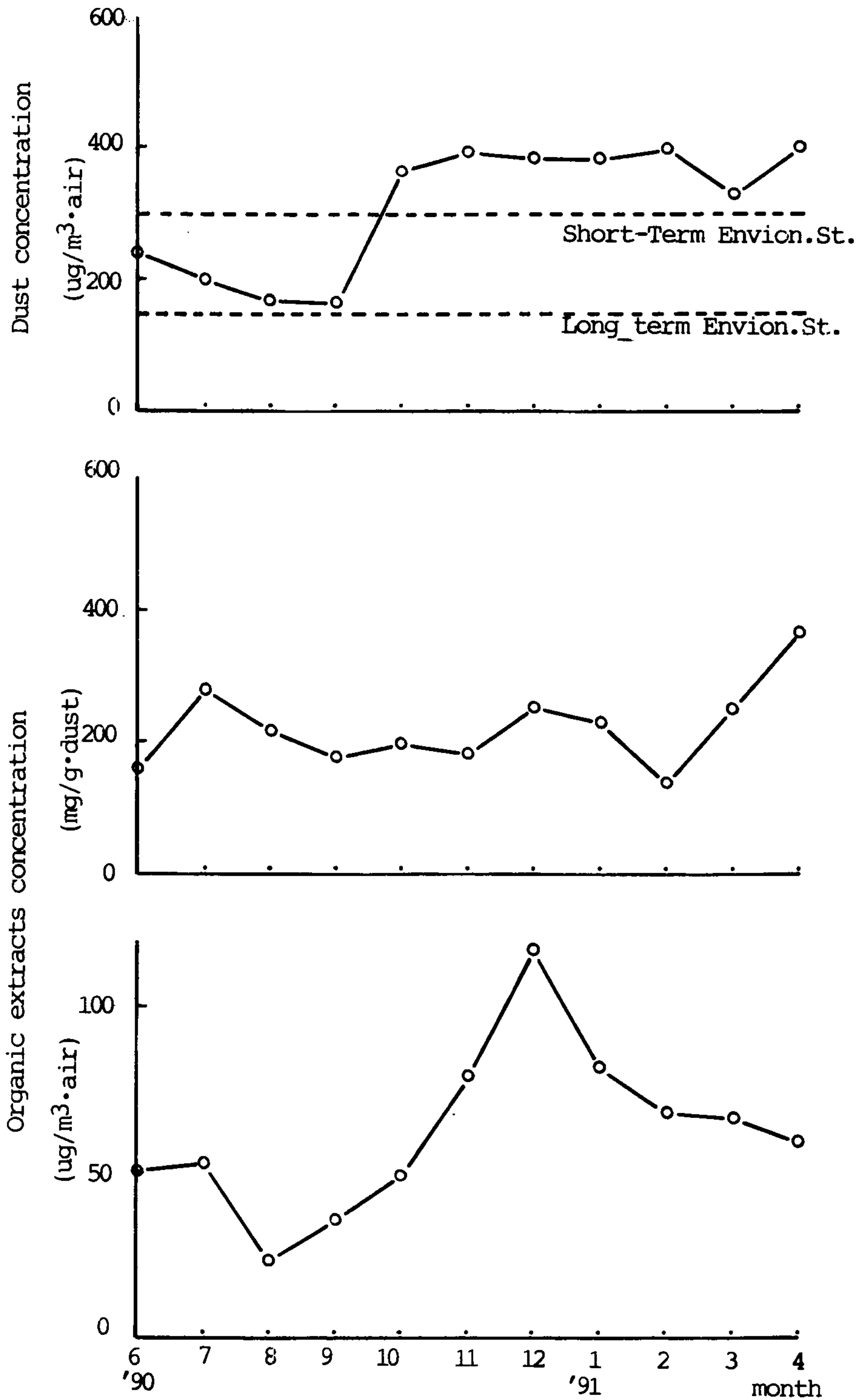


Fig. 7. Monthly variation of airborne particulates and organic extracts content at sampling site, Hannam-dong.

## 제 2 절 부유분진으로 부터 추출한 유기물 농도

각 측정점에서 포집한 부유분진으로 부터, 추출용매 benzene-ethanol(4:1)로 15분간 초음파추출하여 얻은 유기물의 월평균농도를 mg/g.dust 및  $\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$  단위로 하여 Fig. 3~ 7의 중단 및 하단에 각기 나타내었다.

먼저, 분진 1g당의 추출유기물량은 전체적으로 최저치 115mg, 최고치 428mg으로 10~40% 범위였고 평균치는 231mg으로 23%에 달하였다. 지역별 연평균치는 부유분진농도가 비교적 낮았던 방이동 및 광암리가 각기 255 및 237mg, 구로동이 236mg, 부유분진농도가 높았던 한남동과 광화문이 각기 225 와 201mg으로 낮은 유기물농도치를 나타내어 부유분진농도순서의 거의 역순으로 나타났다. 이는 비교적 분진농도가 높은 지역의 분진에는 연소생성물등의 유기물보다는 토사등의 비교적 무기물로 조성된 비산분진이 다량 포함되어 있음을 시사한다. 자동차통행량이 비교적 많은 곳으로 추정되는 광화문, 한남동은 자동차배출물의 기여 이외에 자동차통행으로 일어나는 비산분진 또는 도시지역의 특수풍에 의한 비산분진의 영향으로 이러한 결과가 나타났음이 추정된다. 특히 황사현상으로 부유분진농도가 거의 최고치를 나타냈던 4월의 분진으로 부터 추출된 유기물량은 225mg/g.dust로 총평균치인 231mg/g.dust를 하회하였다. 이는 황사현상으로 인한 분진에는 비교적 유기물함량이 낮음을 의미한다.

추출유기물량의 경월변화를 Fig. 3~7의 중단에서 관찰하면 방이동의 1, 2, 3, 4월에서 나타난 40% 전후의 농도치를 제외하고는 지역별로 또는 월별로 커다란 변동은 없었다. Fig. 8의 중단에 서울 5개지역에 대한 평균유기물량의 경월변화를 나타내었다. 전체적으로 18~26%의 범위로 특기할 만한 변화는 없었다.



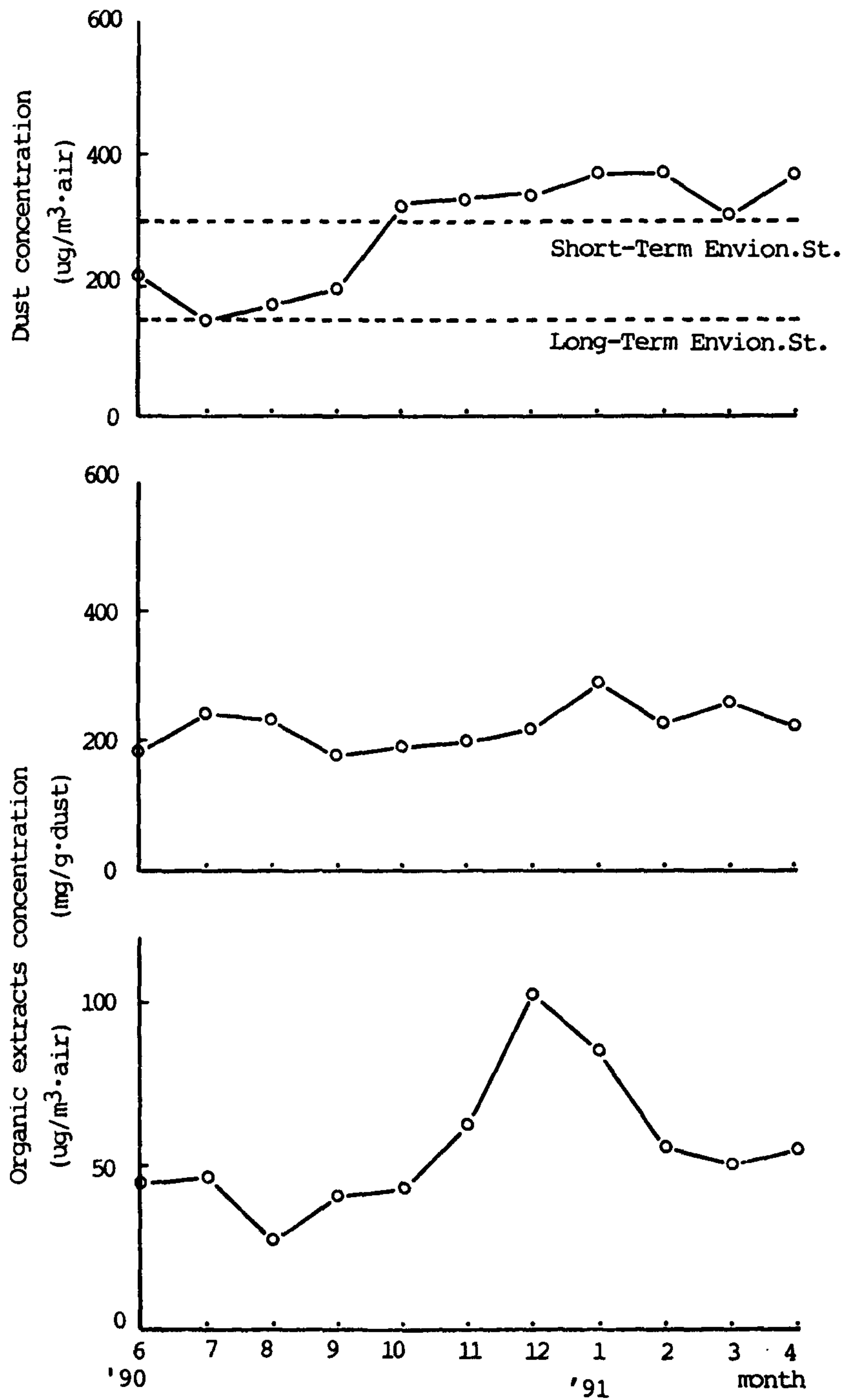


Fig. 8. Monthly variation of airborne particulates and organic extracts content at sampling site, Total average.

한편, 부유분진농도에 분진의 단위중량당의 추출유기물농도를 가미하여  $\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 단위로 환산하여, 나타낸 Fig. 3~7의 하단을 관찰하면, 한남동이  $60\mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 가장 높았고, 광암리와 구로동이  $54\mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 낮게 나타났지만 지역간 차이는 나타나지 않았다.

경월변화는 각 측정지점 공히 12월이  $86\sim 113\mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 가장 높았고, 하절기인 8월이  $23\sim 30\mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 가장 낮아 동절기가 하절기의 약 4배에 달하고 있음을 알 수 있었다. 이는 동절기의 화석연료 사용량의 증가로 인한 유기물량의 증가를 입증하고 있다고 추정된다. Fig. 8의 하단에 나타낸 서울의 5개 지역 평균 유기물농도( $\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ )를 보면 동절기(11, 12, 1월)가  $63\sim 103$ 으로 하절기(6, 7, 8, 9월)의  $28\sim 47$ 에 비해 약 2.5배 높게 나타났다.

### 제 3 절 돌연변이원성

시험균주는 *Salmonella typhimurium* TA 98 및 TA 100을 이용하였고 이는 각기 DNA에 base-pair의 부가 또는 결실을 초래하는 mutagen (frameshift type) 및 base-pair의 치환을 초래하는 mutagen(base-pair substitution type)을 검출하는 감수성이 높은 균주이다.

또, mutagen에는 metabolism을 거쳐 돌연변이를 일으키는 Promutagen과 metabolism을 거치지 않고 직접적으로 변이를 일으키는 direct-acting mutagen으로 구별할 수 있는데, 대기부유분진으로부터 추출된 유기화합물중의 대표적인 예로는 발암물질로 잘 알려진 benzo(a)pyrene등의 다환방향족탄화수소는 전자에 해당되고, nitropyrene등의 nitro화방향족탄화수소는 후자에 해당하며, 이는 각기 assay에서 S-9 mix의 첨가와 비첨가로 구분 검출된다.

1. 서울시 5개 측정점 포집부유분진의 돌연변이원성

서울 5개 측정점에서 포집한 대기부유분진의 유기추출물에 대해 돌연변이원성시험결과를, 각 지역별로 또 군주별 및 S-9 mix 첨가계와 비첨가계로 구분하여, Fig. 9~18에 표시하였다.

Fig.9~18에 나타난 수치(revertants/m<sup>3</sup>air)는, plate당 유도된 revertant수에서 Spontaneous revertant수의 평균치(S-9 mix 비첨가의 계에서는 TA 98이 18, TA 100은 136, S-9 mix 첨가의 계에서는 TA 98이 22, TA 100은 152)를 뺀 나머지 값은 평균하여 공기 1m<sup>3</sup>당의 revertant수로 환산하여 표시하였다.

TA 98군주에 대하여 S-9 mix 첨가의 계와 비첨가의 계를 동시에, 지역별로 나타난 Fig. 9~13에서 나타난 바와 같이, 광화문, 한남동, 구로동에서는 TA 98, S-9 mix의 첨가유무에 관계없이 동절기가 높고, 하절기가 낮은 전형적인 도시형 분포의 명확한 계절 변동이 나타났는데 비해서, 광암리와 방이동은 커다란 변동은 나타나지 않았다. 또 S-9 mix첨가의 계와 비첨가의 계를 비교하면, 전반적으로 S-9 mix의 비첨가계가 첨가계에 비하여 높은 변이원성활성을 나타내었다. 이는 자동차 특히 diesel 자동차 배출물의 기여에 의한 것으로 nitro화 방향족화합물등의 direct-acting mutagen이 분진중에 다량함유되어 있음을 시사하고 있다. 그러나 구로동에서 만은 4월을 제외한 전월에 걸쳐서 S-9 mix첨가의 계가 약간 높게 나타났고, 이는 각 공장의 연소공정예의 배출에 의한 것으로 사려된다.

지역간의 변이원활성을 비교하여 보면 S-9 mix 비첨가의 계에서는 한남동>광화문>방이동>구로동>광암리의 순이었고, S-9 mix 첨가의 계에서는 구로동>한남동>광화문>방이동>광암리의 순으로

이 또한 발생원의 기여가 서로 다름을 나타내는 것으로 사려된다.

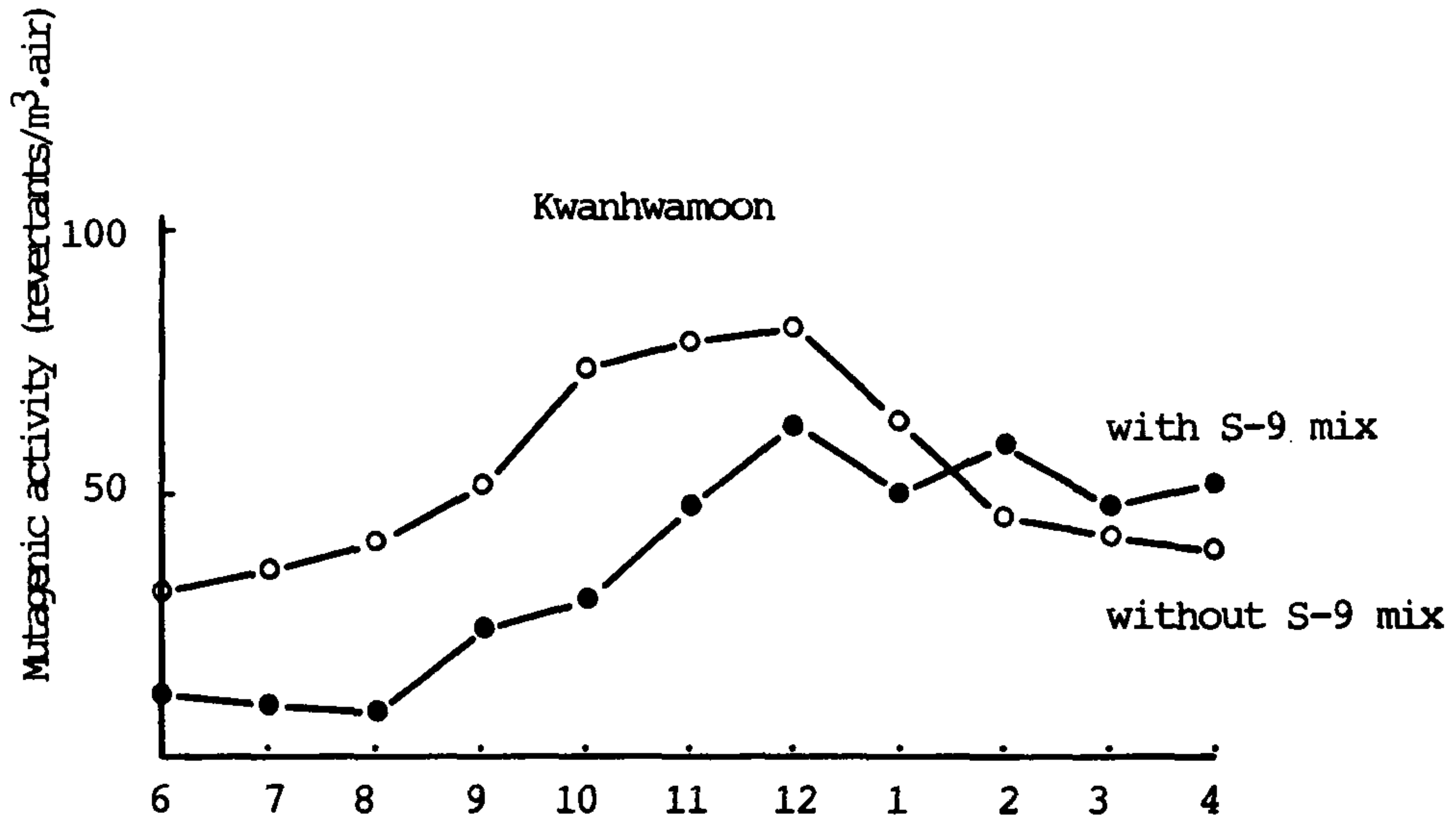


Fig. 9. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Kwanghwamoon in *S. typhimurium* TA 98 with and without S-9 mix.

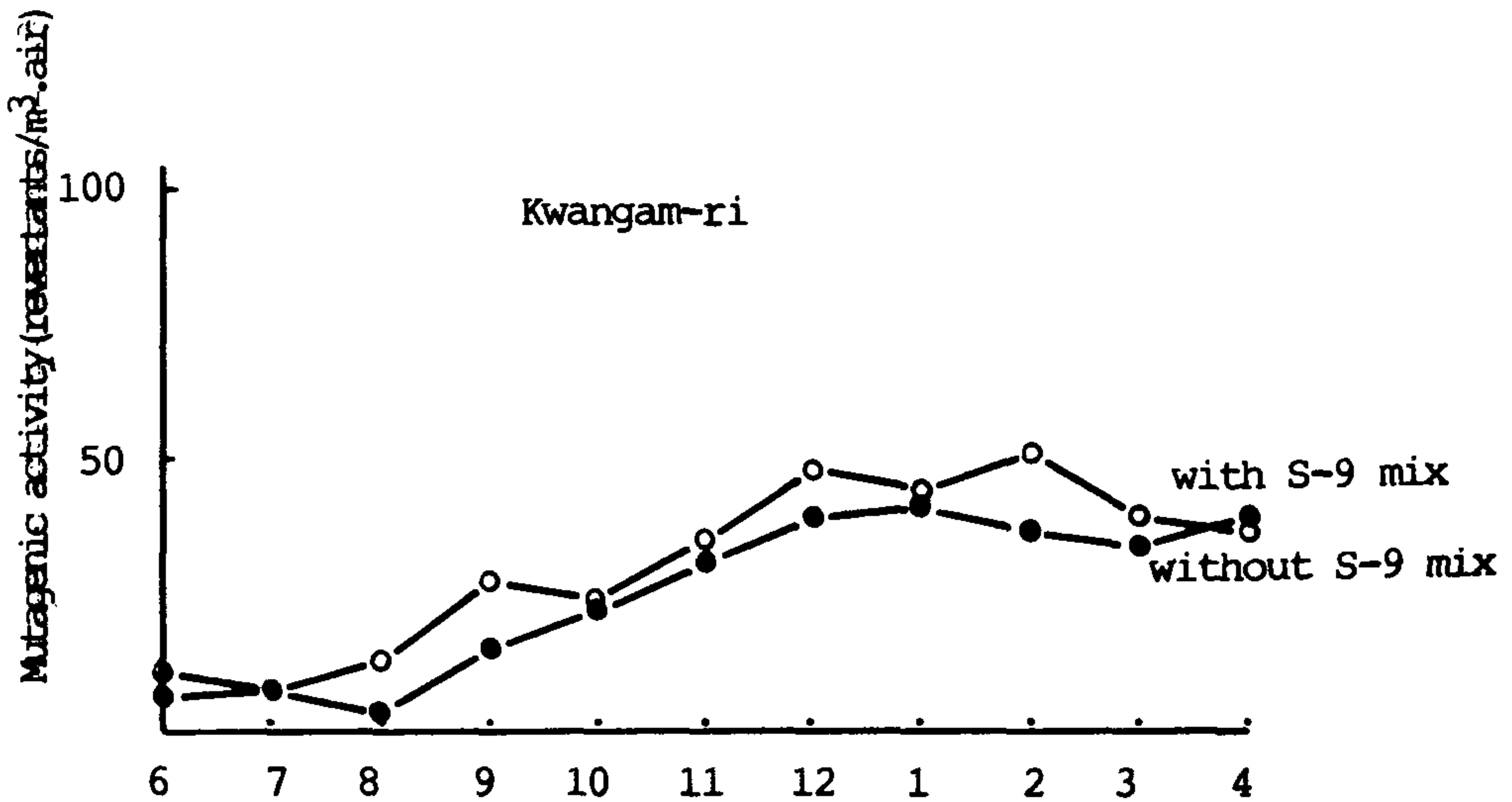


Fig. 10. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Kwangam-ri in *S. typhimurium* TA 98 with and without S-9 mix.

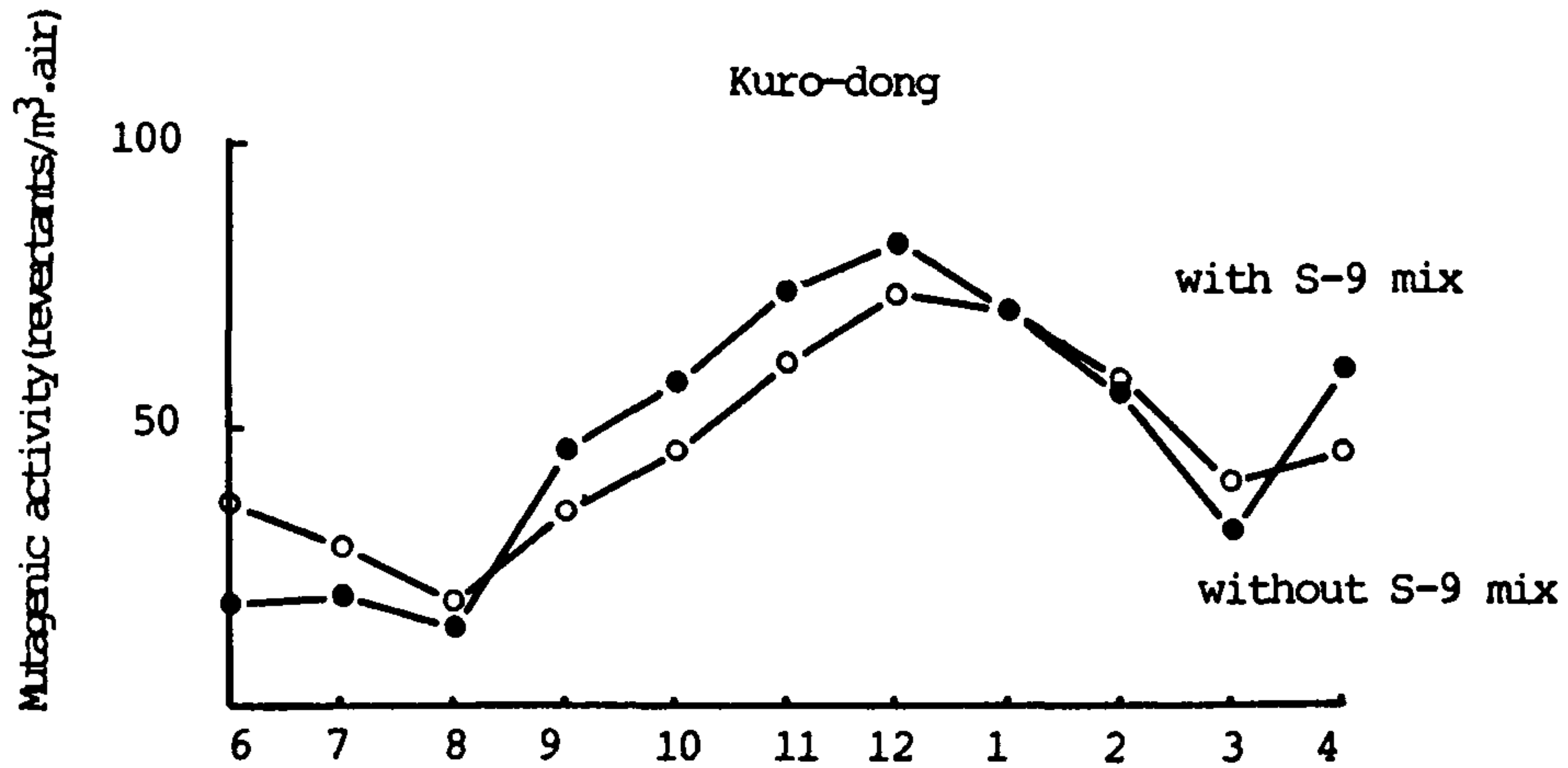


Fig. 11. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Kuro-dong in *S. typhimurium* TA 98 with and without S-9 mix.

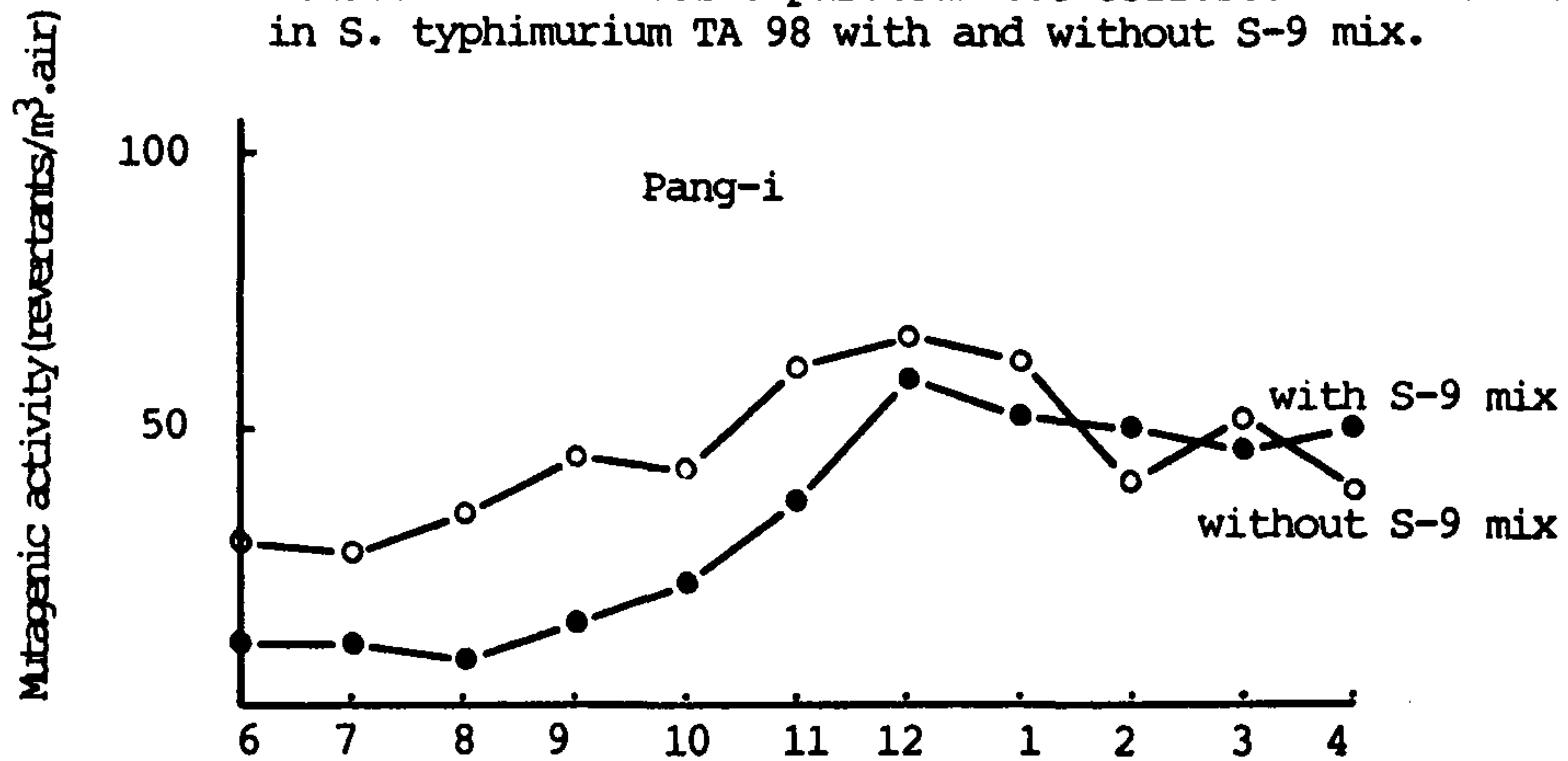


Fig. 12. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Pang-i in *S. typhimurium* TA 98 with and without S-9 mix.

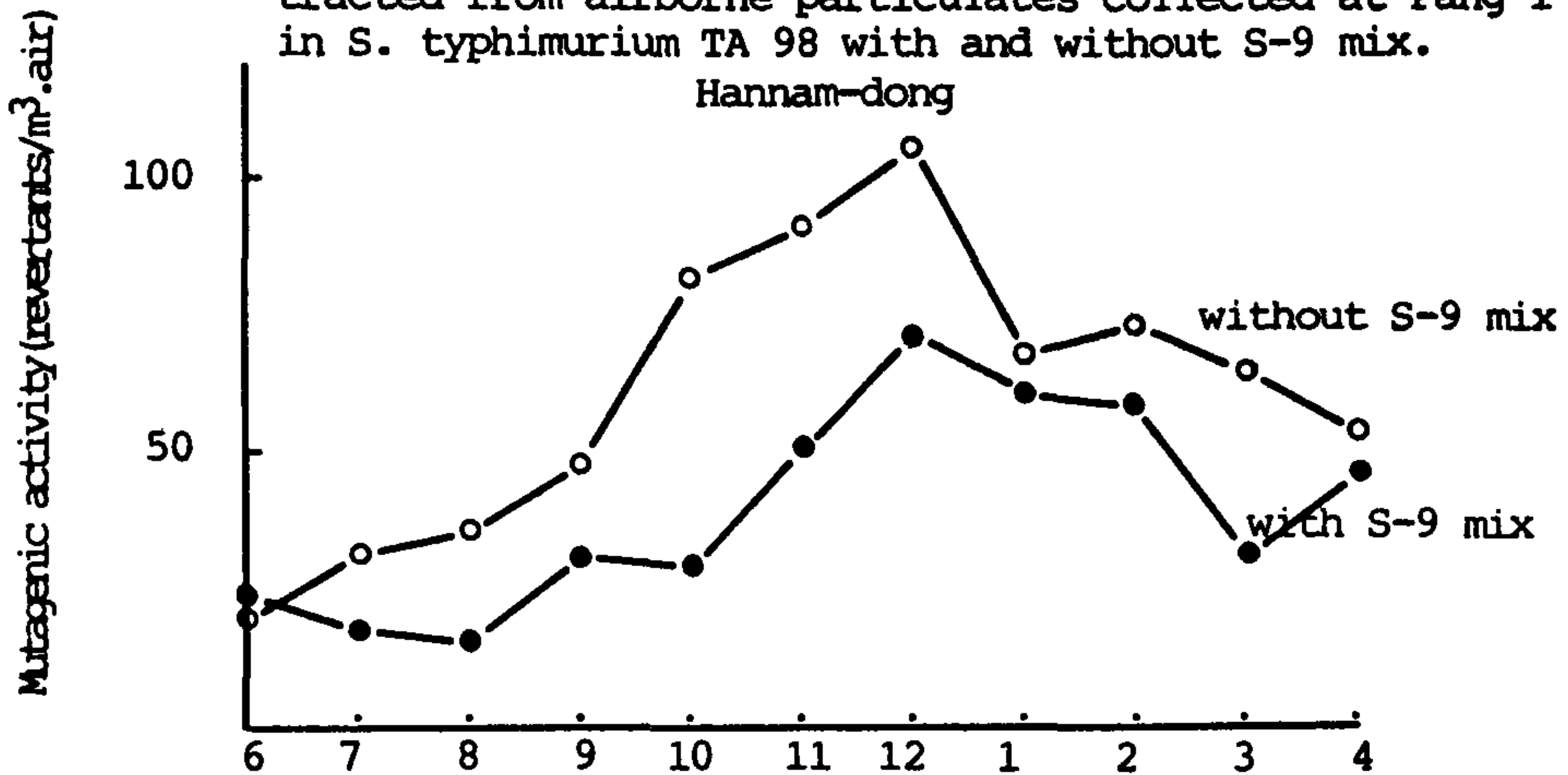


Fig. 13. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Hannam-dong in *S. typhimurium* TA 98 with and without S-9 mix.



한편, Fig. 14~18 에서 나타난 바와 같이, TA 100 균주에 대하여는, 12, 1월의 동절기에는 S-9 mix 비첨가의 계가 높은 변이원활성을 나타냈으나 그밖의 계절에는 유사한 변이원활성을 나타내었다. 지역간 변이원활성을 비교하여 보면, S-9 mix 비첨가의 계에서는 한남동>구로동>방이동>광암리>광화문의 순이었고, S-9 mix 첨가의 계에서는 한남동>구로동>방이동>광화문>광암리의 순으로, S-9 mix 첨가의 유무에 관계없이 한남동이 가장 높은 변이원활성을 보였다.

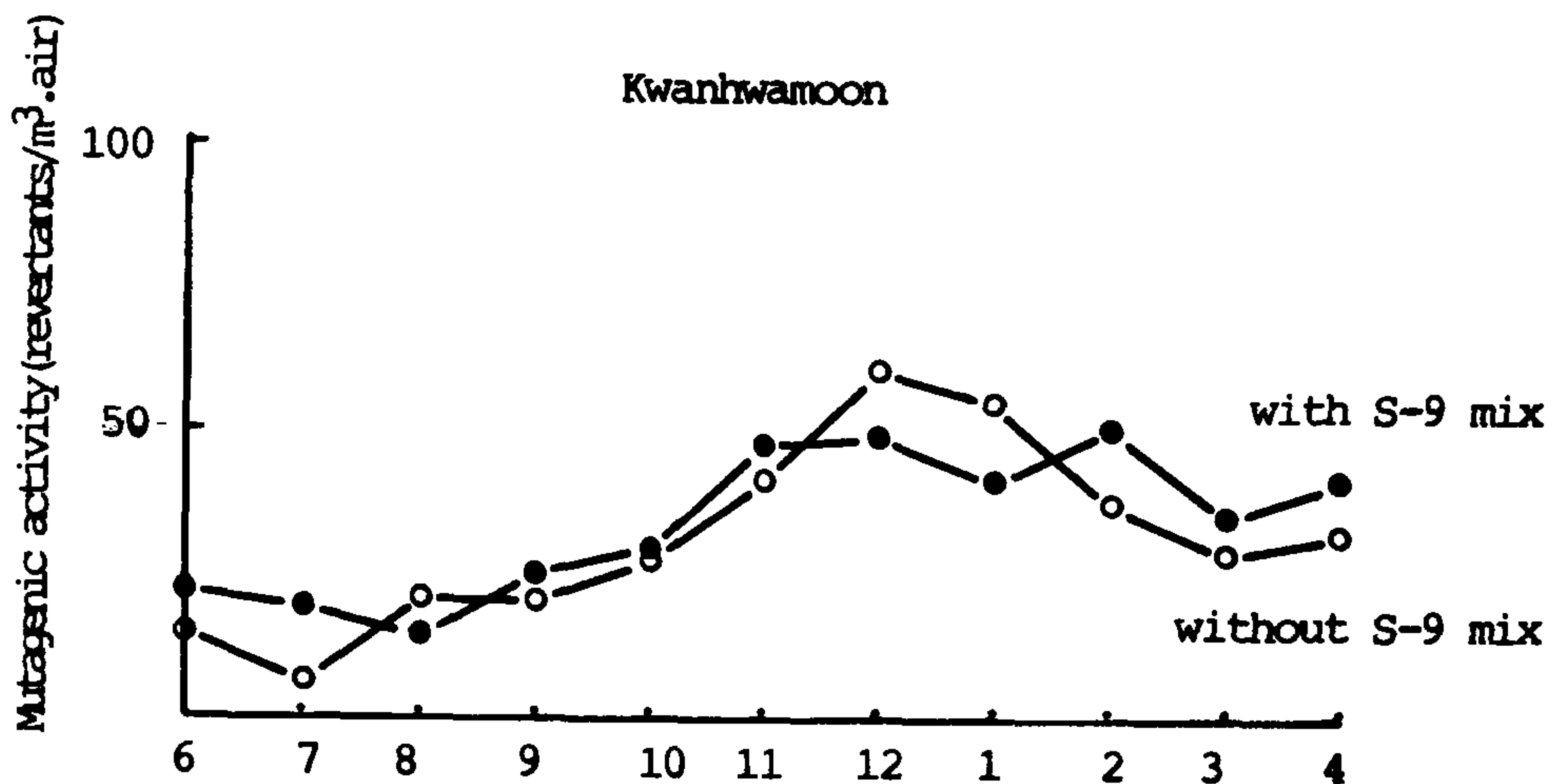


Fig. 14. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Kwanghwamoon in *S. typhimurium* TA 100 with and without S-9 mix.

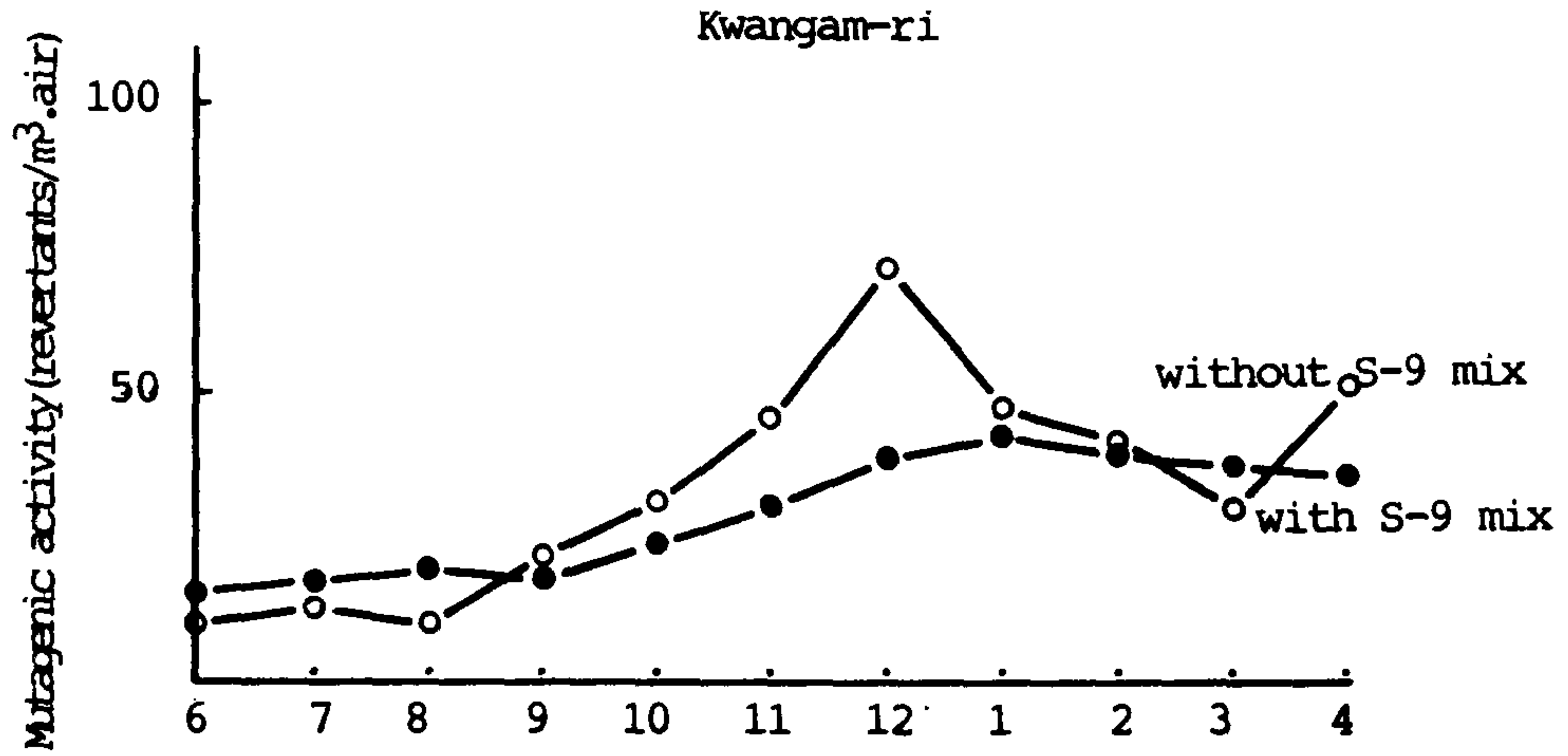


Fig. 15. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Kwangam-ri in *S. typhimurium* TA 100 with and without S-9 mix.

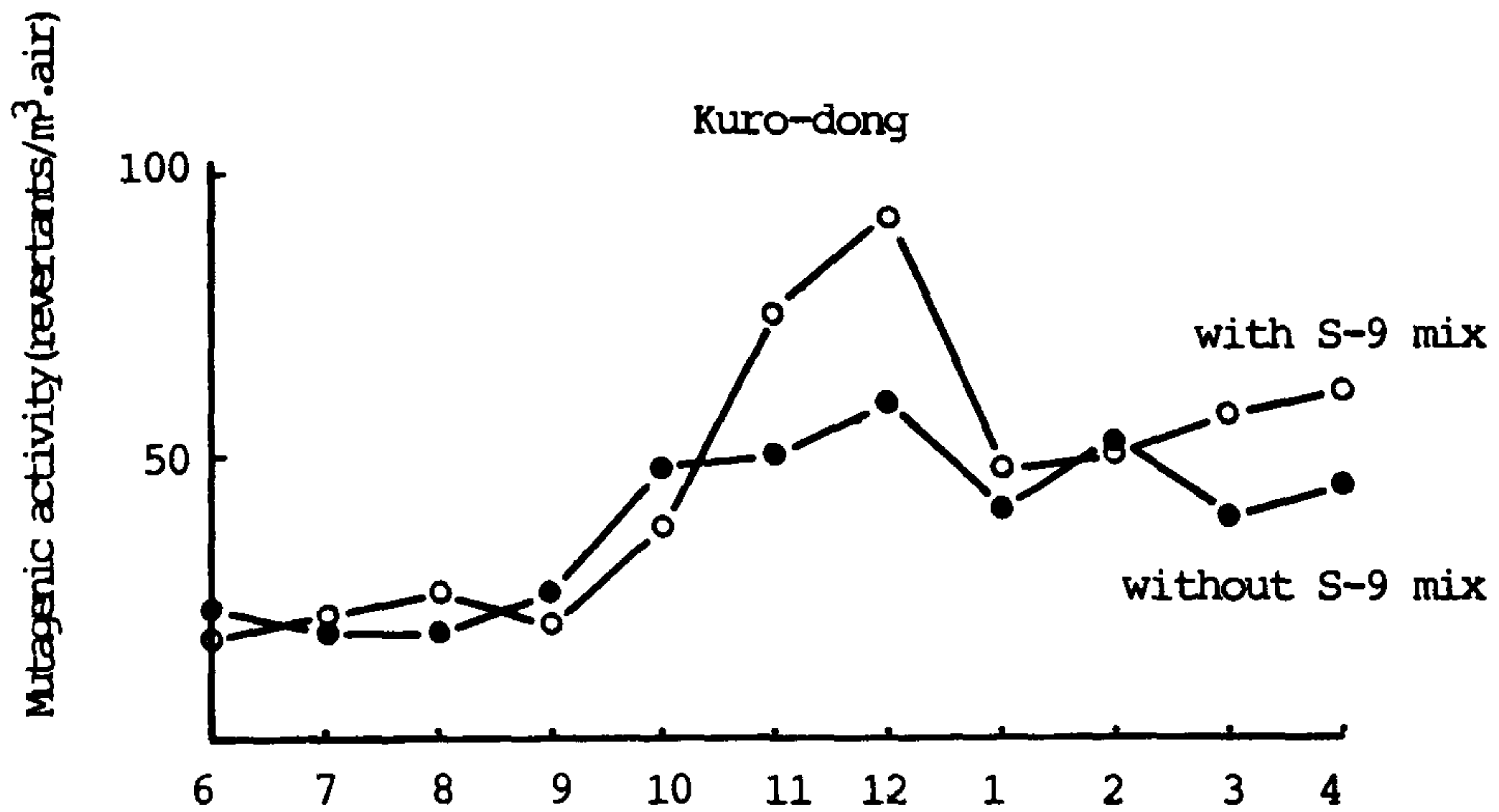


Fig. 16. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Kuro-dong in *S. typhimurium* TA 100 with and without S-9 mix.

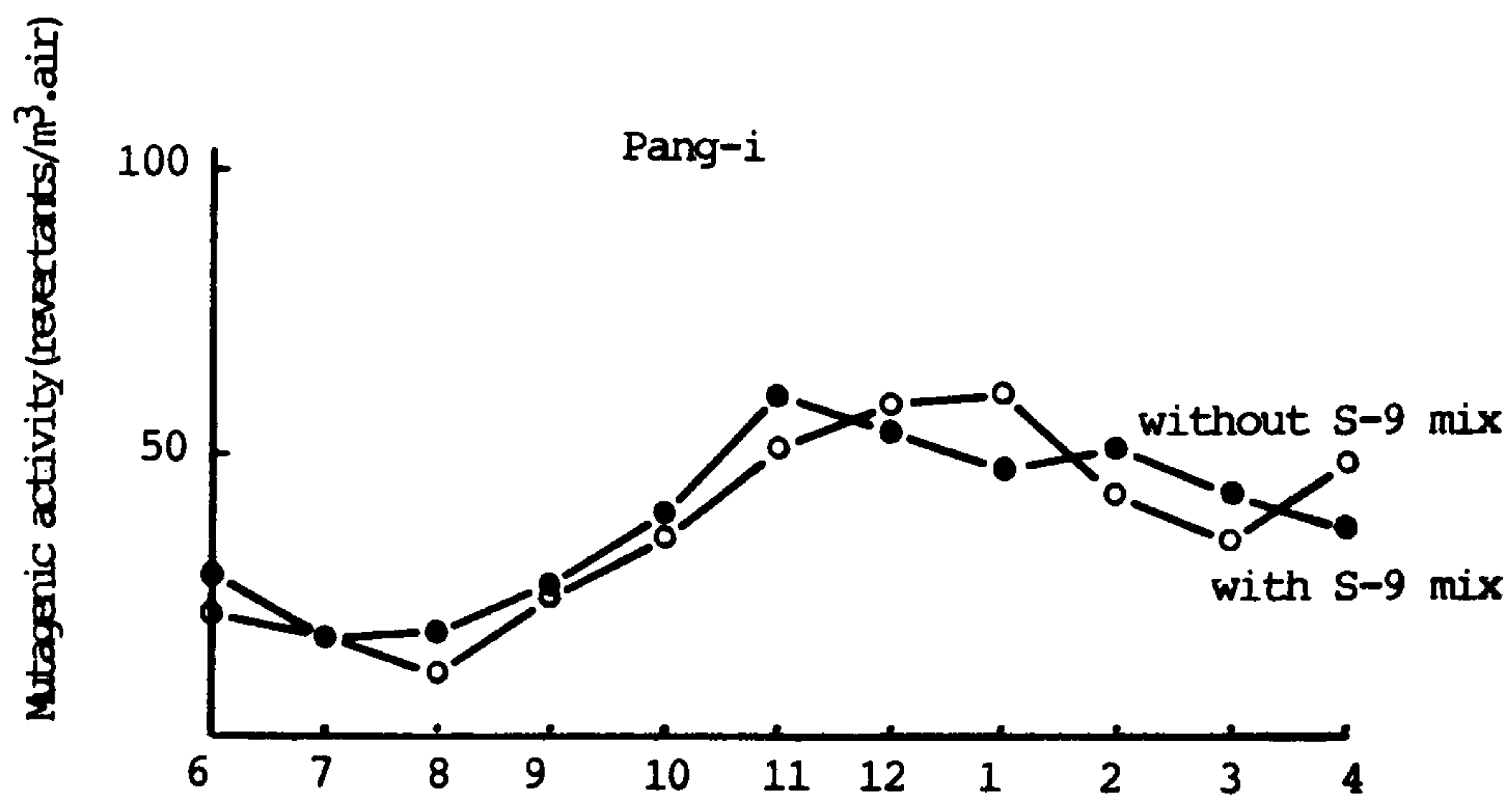


Fig. 17. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Pang-i in *S. typhimurium* TA 100 with and without S-9 mix.

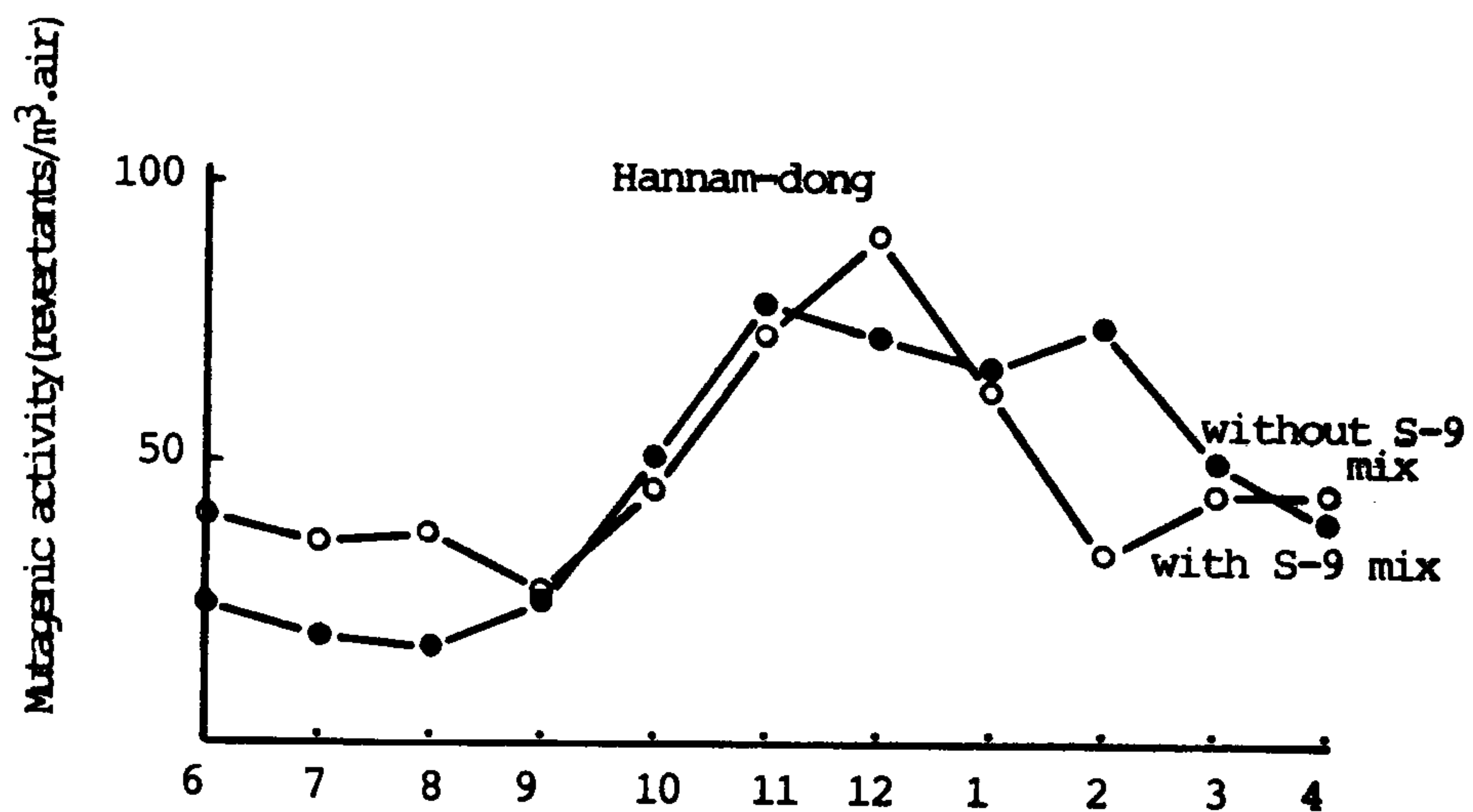


Fig. 18. Monthly variation of mutagenicity of organic matters extracted from airborne particulates collected at Hannam-dong in *S. typhimurium* TA 100 with and without S-9 mix.

Fig. 19에, 서울 5개 측정점의 변이원활성 평균치를 근주와 S-9 mix 첨가의 유무별로 나타내었다. 근주와 S-9 mix 첨가의 유무에 관계 없이 12월을 정점으로 한 겨울철이 가장 활성도를 나타내었다.

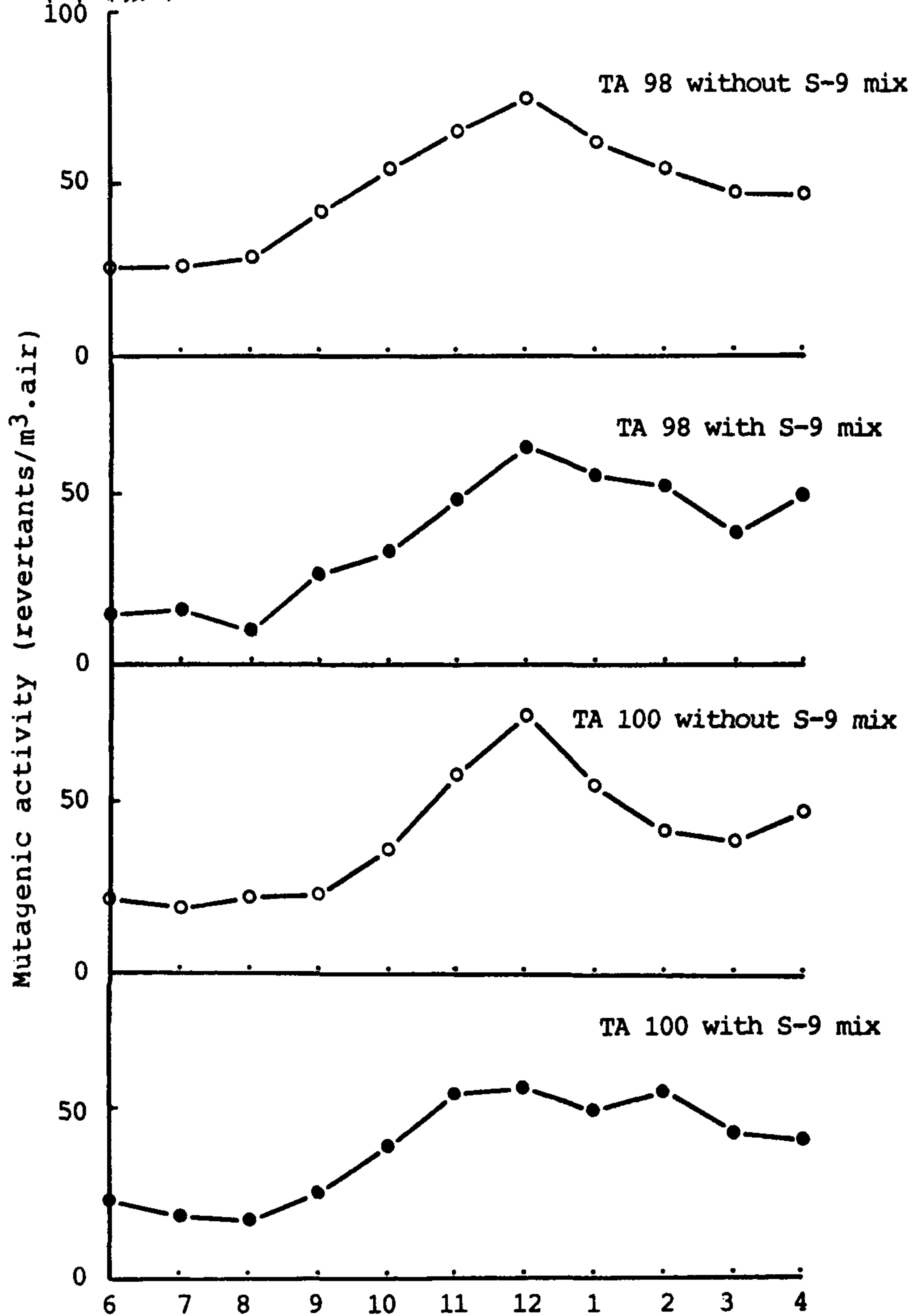


Fig. 19. Monthly variation of average value of mutagenicity per m<sup>3</sup>, air at 5 sampling sites in Seoul.

2. 화학분석을 위한 시료분획물의 돌연변이원성

1) Liquid-liquid partition에 의한 분획물의 돌연변이원성

Table 4 에 Liquid-liquid partition에 의한 3분획물, 즉, 산성, 중성, 염기성분획물에 대한 돌연변이원성시험 결과를 나타내었다.

Table 4. Mutagenicity of 3 fractions derived from crude tar by liquid-liquid partition(strain:TA 98)

Fraction	Weight(%)	Revertants/100 $\mu$ g		Contribution(%)	
		S9-	S9+	S9-	S9+
Crude	100	219	116	100	100
Acidic	25.6	124	69	14.5	15.2
Neutral	41.9	126	112	24.1	40.5
Basic	5.9	374	202	10.1	10.3
Recovery	73.4			48.7	66.0

각 분획물의 중량은 중성이 41.9%, 산성이 25.6%, 염기성 5.9%로 총회수율은 전체의 73.4%이었다. 각 분획물 100 $\mu$ g당의 돌연변이원성은, TA 98균주에 대하여 S-9 mix비첨가계에서 염기성이 374 revertants/100 $\mu$ g으로 가장 높았고, 산성과 중성은 각기 124와 126이었다. S-9 mix첨가의 계에서는 역시 염기성이 202로 가장 높았고 중성이 112, 산성이 69의 순이었다. 그러나 분획물의 중량을 가미하여 환산한 기여율로 보면, S-9 mix 첨가의 유무에 관계없이 중성이 각기 24.1% 및 40.5%로 가장 높았고, 다음이 산성으로 14.5% 및 15.2% 염기성이



10.1% 및 10.3%의 손이었다. 전체 돌연변이원성에 대한 3분획물의 기여율의 합은 S-9 mix 비첨가의 계에서 48.7%, 첨가의 계에서는 66.0%로 손실율이 비교적 많았다. 이는 돌연변이원성을 나타내는 화합물들이 복합물로 존재할 경우 상호간 antagonistic effect를 나타낸다는 보고가 있는 바와 같이 complex에 의한 손실인지, 또는 분획조작시의 손실인지는 현재로는 추정 불가능하다.

## 2) column chromatography 분획물의 돌연변이원성

상기 Liquid-liquid partition에 의한 3분획물중, 다환방향족화합물 및 방향족 nitro화합물을 함유하고 있는 것으로 알려져 있는 중성분획물에 대하여 Silica gel chromatography로 4개의 용출성분을 얻었다. 이 4개 fraction에 대하여 돌연변이원성 시험한 결과를 Table 5에 표시하였다.

Table 5. Mutagenicity of 4 fractions derived from neutral fraction by silica gel column chromatography (strain:TA 98)

Fraction	Weight(%)	Revertants/100 $\mu$ g		Contribution(%)	
		S9-	S9+	S9-	S9+
Neutral f.	100	126	112	100	100
Hexane f.	28.1	15	45	3.3	10.5
Benzene f.	21.7	2	282	0.3	54.6
Ether f.	21.4	14	24	2.4	4.6
Methanol f.	11.5	48	49	4.4	5.0
Recovery	82.7			10.4	74.7

3) Thin-layer chromatography 분획물의 돌연변이원성

상기 column chromatography 분획물중 benzene용출성분에 대하여 TLC분획한 결과 7개의 분획을 얻었다. 각 분획물의 Rf 치와 표준물질 perylene, benzo(ghi)perylene, benzo(a)pyrene의 용출패턴을 Fig. 20에 나타내었다.

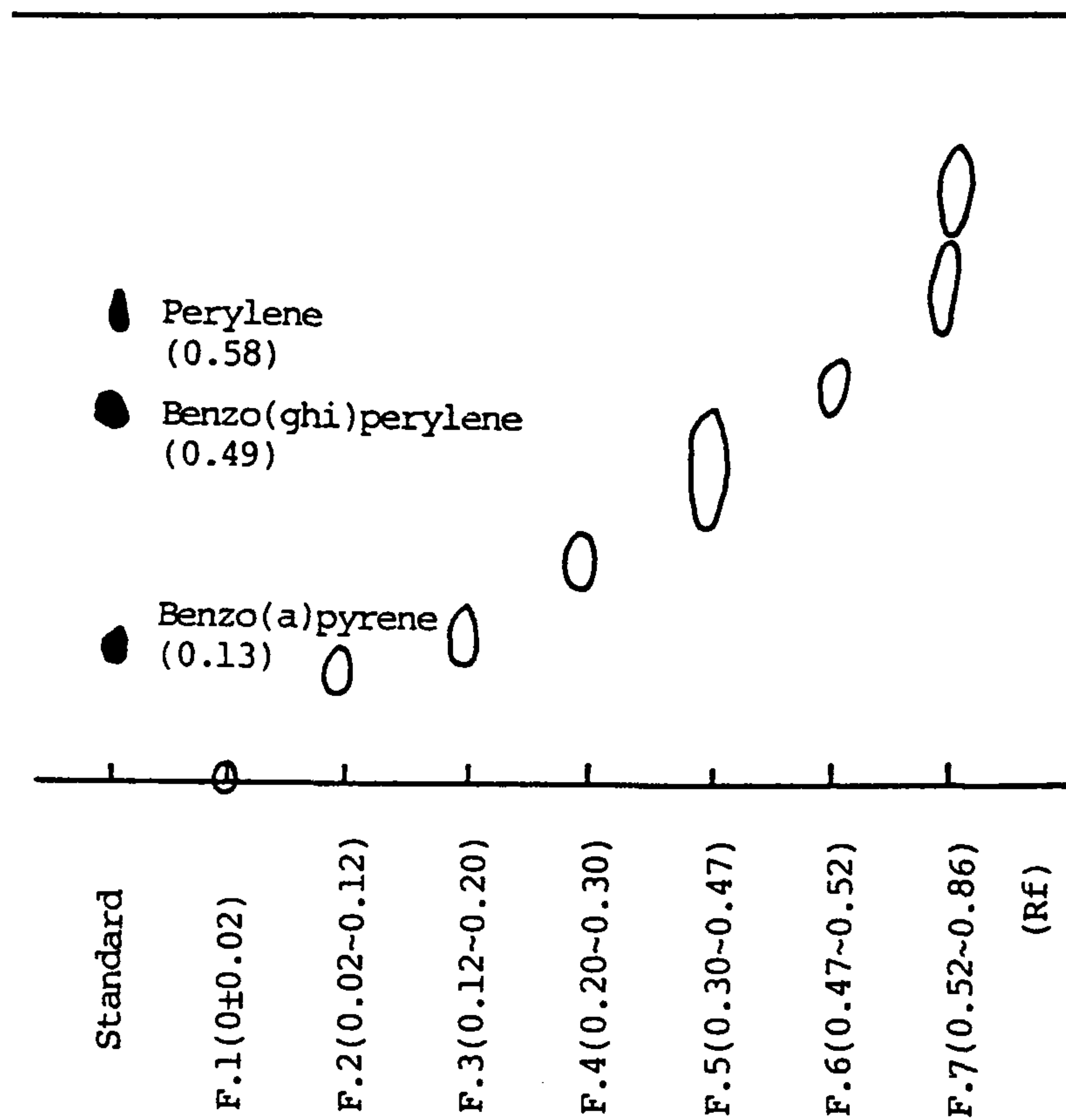


Fig. 20. Thin layer chromatography of Benzene eluates and standards

또, 7개의 용출물의 돌연변이원성 시험결과를 Table 6에 나타내었다. Rf치 0.47~0.52 의 6번째 fraction이 TA 98 균주에 대하여, S-9 mix 비첨가시는 256 revertants/100 $\mu$ g, S-9 mix 첨가시는 332 revertants/100 $\mu$ g으로 최고의 변이원 활성치를 나타내었다.

Table 6. Mutagenicity of 7 fractions derived Benzene fraction by thin layer chromatography (strain:TA 98)

Fraction No.	Rf value	Revertants/100 $\mu$ g	
		S9-	S9+
F. 1	0.00 $\pm$ 0.02	44	56
F. 2	0.02 $\pm$ 0.12	34	60
F. 3	0.12 $\pm$ 0.20	34	30
F. 4	0.20 $\pm$ 0.30	56	62
F. 5	0.30 $\pm$ 0.47	88	132
F. 6	0.47 $\pm$ 0.52	256	332
F. 7	0.52 $\pm$ 0.86	112	106

#### 제 4 절 서울지역의 대기부유분진에 대한 총괄

##### 1. 경시변화

Fig. 8에 각기 서울지역 5개 측정점에서 1년간 포집한 부유분진농도의 총평균치와 부유분진으로 부터 추출한 유기물농도의 총평균치의 경월변화를 나타내었다. 부유분진농도의 월평균치는 151~374 $\mu$ g/m<sup>3</sup>air의 범위이었고, 총평균치는 287 $\mu$ g/m<sup>3</sup>air이었다. 6, 7, 8월의 하절기에 저농도(151~211 $\mu$ g/m<sup>3</sup>air)를, 12, 1, 2월의 동절기에 고농도(341~374 $\mu$ g/m<sup>3</sup>air)를 나타내는 전형적인 도시형의 부유분진 농도분포를 나타내었다. 황사현상의 기여에 의한

것으로 추정되는 4월의 평균치는  $370 \mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 로 가장 높은 부유분진농도를 보이는 특징을 나타내었다.

부유분진으로 부터 추출한 유기물 농도를 분진단위중량당으로 볼때, 6월과 9월이 최저치로 약 18%, 1월이 약 28%로 최고치를 나타내었으나 연간을 통하여 명확한 경시변동은 없었다. 연간 총평균치는 약 23%이었다.

한편, 공기  $1\text{m}^3$ 당으로 환산하여 유기물농도를 나타내면 11, 12, 1월의 동절기가  $63 \sim 103 \mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 로 6, 7, 8, 9월의 하절기의  $28 \sim 47 \mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 에 비해 약 2.5배 높은 분포를 나타내, 동절기의 화석연료 사용증가로 인함을 반영하는 결과이었다.

한편, 돌연변이원 활성의 경월변화를 Fig.19에 나타낸 바와 같이, 군주와 S-9 mix의 첨가에 관계없이 12월을 정점으로 한 겨울철이 가장 높았고, 그 다음 봄철, 가을철의 순이 였고, 여름철에는 가장 낮은 활성도를 나타내었다.

변이원활성의 총평균치는 TA 98 군주의 경우, S-9 mix 비첨가의 계에서 48, 첨가의 계에서 37이었고, TA 100 군주의 경우, S-9 mix 비첨가의 계에서 40, 첨가의 계에서 38로 전체적으로 보아 TA 98이 TA 100에 비해, S-9 mix 비첨가의 계가 S-9 mix의 계에 비해 약간 높은 변이원활성을 나타내었다. 이는 서울지역의 대기부유분진중에는 frameshift type의 mutagen 및 metabolism을 거치지 않는 direct-acting mutagen이, base-pair substitution type의 mutagen 및 metabolism을 거친후 변이원성을 나타내는 promutagen 보다 상대적으로 다량 함유되어 있을 가능성을 시사하고 있다.



## 2. 지역특성

Fig. 21에 각지역별로 부유분진 및 추출유기물의 연간평균농도를 나타내었다.

부유분진 농도는 광화문>한남동>구로동>방이동>광암리의 순이었고, 농도범위는  $259 \sim 318 \mu\text{g}/\text{m}^3.\text{air}$ , 총평균치는  $287 \mu\text{g}/\text{m}^3.\text{air}$ 이었다. 분진 1g당의 추출유기물량의 연간평균치는, 부유분진농도가 비교적 낮았던 방이동 및 광암리가 각기 255 및 237mg, 구로동이 236mg, 부유분진농도가 높았던 한남동 및 광화문이 각기 225 및 201mg으로 상대적으로 낮은 유기물농도치를 나타내어, 부유분진농도 순서의 거의 역순으로 나타났다.

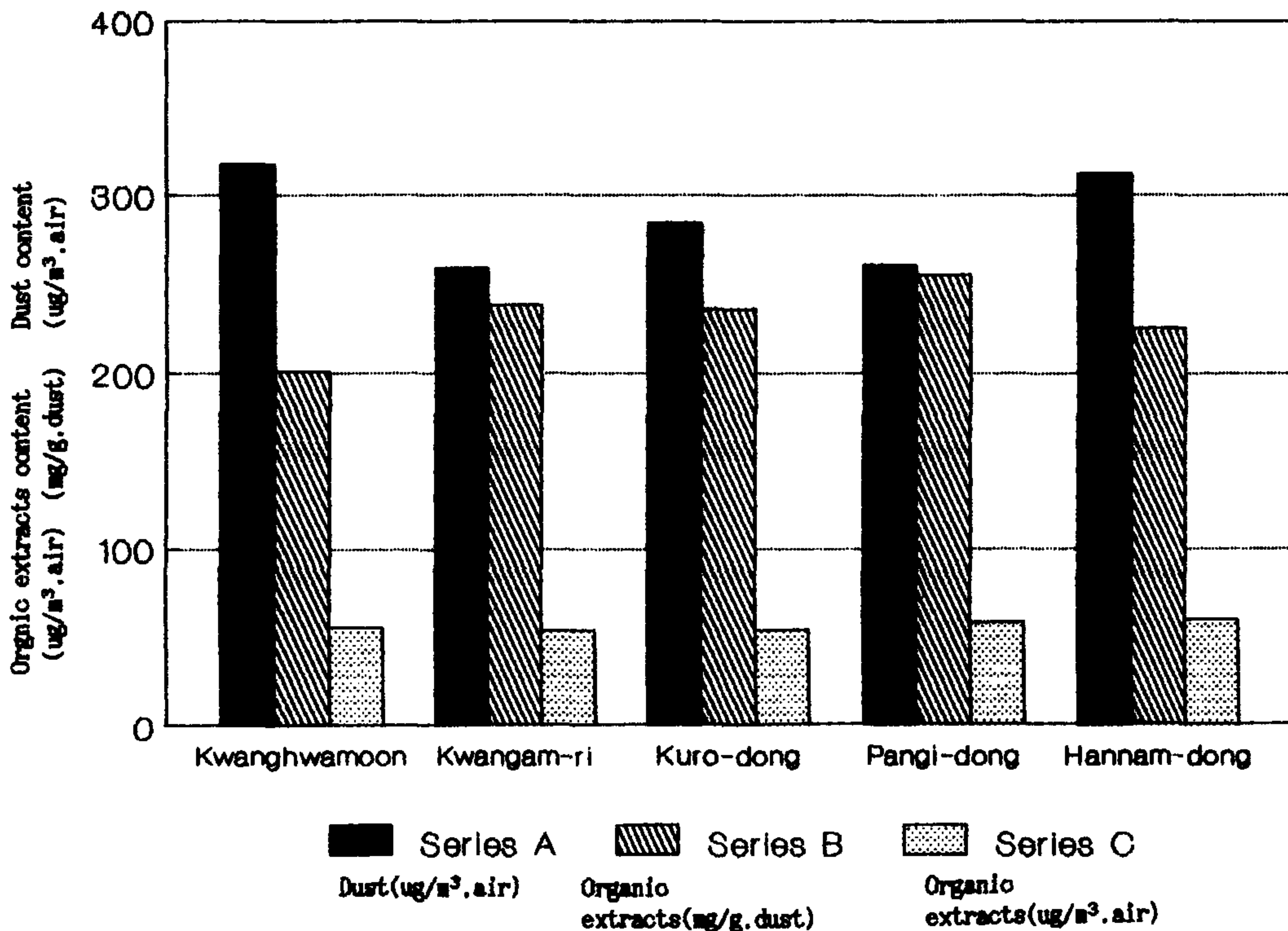


Fig.21 Differences of contents of dust and organic extracts by sampling site in Seoul area



한편, 공기 1m<sup>3</sup>당의 유기물농도는 54~60 $\mu$ g/m<sup>3</sup>air로 지역간 차이는 나타나지 않았다. 각 지역별로 돌연변이원 활성(revertants/m.air)을 Fig. 22에 나타내었다.

TA 98군주의 경우, S-9 mix비첨가의 계에서는 한남동이 61의 최고치를 나타내어, 최저치 31인 광암리의 약 2 배의 활성도를 나타내었다. S-9 mix첨가의 계에서는 구로동>한남동>광화문>방이동>광암리의 순으로 활성범위는 26~40이었다. TA 100군주의 경우, S-9 mix 비첨가의 계에서는 활성범위 32~49로 지역간 차는 크게 나타나지 않았고, S-9 mix 첨가의 계에는 한남동이 최고치를 나타내어, 최저치 29를 나타낸 광암리의 약 2배에 가까운 활성도를 나타내었다.

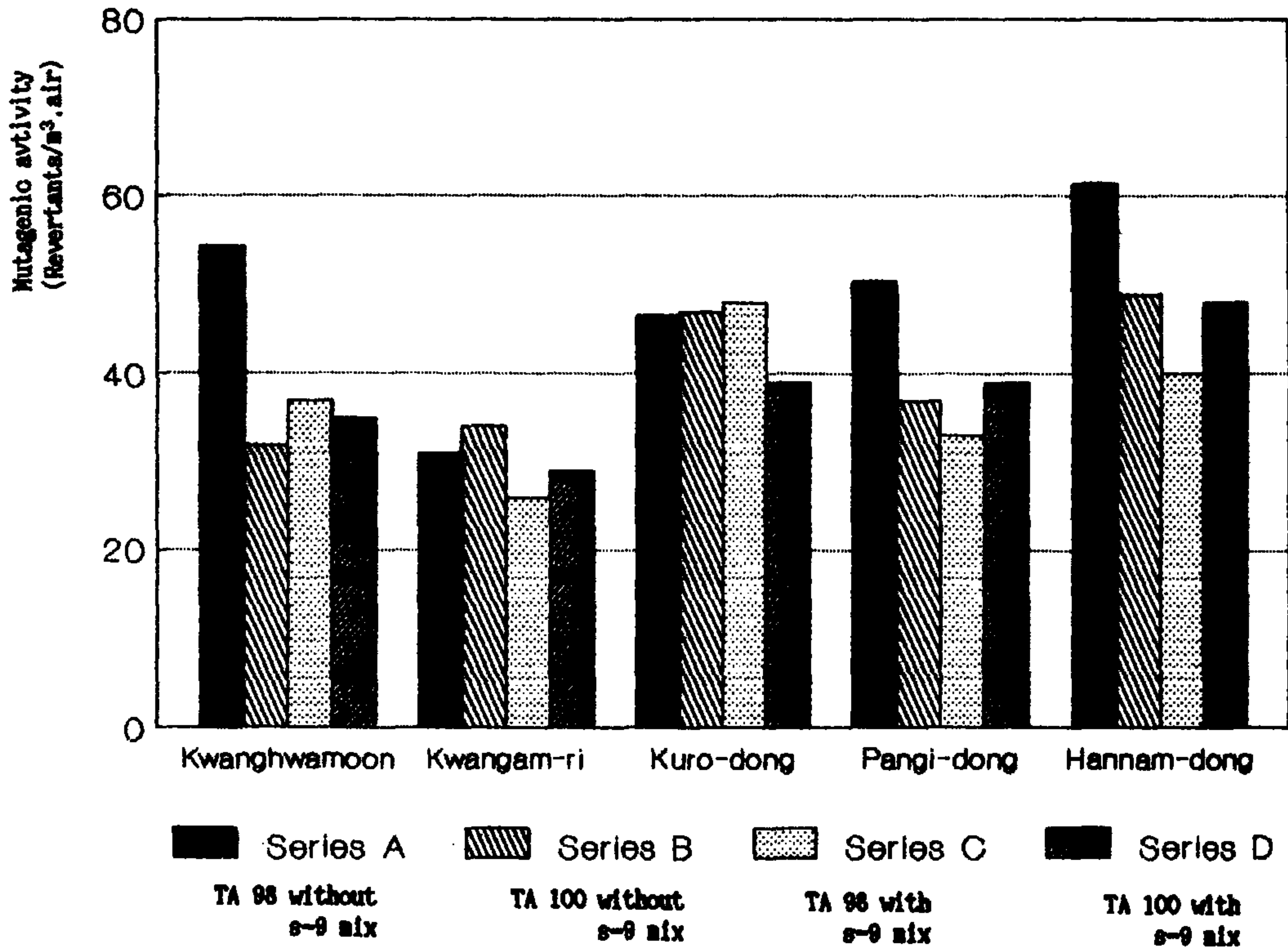


Fig. 22 Differences of mutagenic activity by sampling site in Seoul area

### 3. 서울과 타국도시의 돌연변이원성의 비교

Table 7에 타국도시의 부유분진의 돌연변이원성과 서울을 비교하기 위하여 기 발표된 문헌<sup>24,25,33,40,41,42)</sup>으로 부터 인용하여 나타내었다.

부유분진의 포집방법, 유기물추출용매와 추출방법의 상이성을 무시하고 단순히 비교하면, 가장 낮게 나타난 노르웨이의 수도 Oslo에 비해서, Seoul이 TA 98균주의 경우 S-9 mix 첨가의 계에서 5~8배, S-9 mix 첨가의 계에서 3~8배로 높은 변이원성 활성을 나타내었다. 기타 미국의 Los Angeles나 일본의 Tokyo 보다는 약간 높았고 중국의 Beijing과는 거의 유사하였다.

Table 7. International comparsion of mutagenicity of urban airborne particulates

Strain : TA 98

Wagenigen(Netherland)	Revertants/m. air		Author(Year)
	without S-9 mix	with S-9 mix	
Oslo(Norway)	2.3~12	2.1~10	M.Moller (1979)
LosAngeles(U..S.A)	10 ~60	60 ~80	J.N.Pitts (1980)
Wagenigen(Netherland)	3.5~22.4	—	G.M Alink (1979)
Beijing(China)	18 ~75	20 ~58	A.P.Wang (1982)
Tokyo(Japan)	29.9	15.5	T.Nishimura(1981)
Osaka(Japan)	42	22	K.Kuroda (1982)
Seoul(Korea)	40	37	(1990~1991)
	(10~93)	(6~82)	G.M Alink (1979)

## 제 5 절 다환방향족탄화수소의 분석에 대한 검토

대기중에 존재하는 다환방향족탄화수소(이하 PAH로 생략함)의 분석 방법은, 원칙적으로 대기부유분진의 포집, 포집물로부터의 PAH의 추출, 추출물로부터의 PAH의 분리 및 정성, 정량의 4 단계 기본조작으로 이루어진다. 종래로부터 이러한 각 기본조작에 대하여 여러 기술이 개발되어 있고, 각연구자는 목적에 따라 이러한 기술들을 조합한 분석방법으로 PAH분석을 실시하여 왔다. 그러나 현재까지는 분석기술등에 대한 충분한 검토 없이 PAH를 분석한 경우도 있다. 따라서대기중의 benzo-(a)pyrene(이하 BaP로 생략함)등의 PAH의 분석데이터를 평가할 경우, 어느 분석방법으로 측정되었는가, 데이터의 재현성에 대하여는 어떠한 주의가 치루어졌는지에 관하여서도 충분한 유의가 필요하다. PAH측정치는 포집, 추출, 분리, 정성, 정량의 각 분석조작에 이용한 수법이외에, 시료의 보존방법에 의하여도 측정치의 변동 가능성이 있다. 따라서 본연구에서는, BaP등의 PAH측정방법에 대하여 검토하였고, Table 8 에서 분석방법의 분류를 나타내었다.

Table 8. Classification of PAH analyzing methods

1. High volume air sampler	1. Soxhlet	1. Liquid-liquid partition	1. Spectrophotometry
2. Middle volume air sampler	2. Ultrasonication	2. Column chromatography	2. Spectrofluorometry
3. Low volume air sampler	3. Vacuum sublimation	3. Paper chromatography	3. FID(GC)
4. Andersen air sampler	4. Thin-layer plate	4. TLC	4. ECD(GC)
5. High volume Andersen air sampler		5. Multi-band TLC	5. GC-MS
6. CPS air sampler		6. GC	6. U.V. Absorption (HPLC)
7. High volume air sampler + urethane foam		7. Capillary GC	7. Fluorescence (HPLC)
8. Cooling-filter		8. HPLC	
9. Cooling-filter-Tenax GC			

1. 포집방법에 관한 검토

대기부유분진의 포집의 대부분은 High-column air sampler에 의한다. High-volume air sampler의 여과재로는 glass fiber filter, quartz fiber filter, teflon coated glass fiber filter 및 teflon filter 등이 있으나, 가장 많이 이용되고 있는 것은 glass fiber filter와 quartz fiber filter이다. Table 9 는 대기중의 BaP포집에 glass fiber filter와 quartz fiber filter를 사용한 경우, BaP측정치에 미치는 영향을 조사한 결과를 표시한 것이다.

Table 9. Comparison of benzo(a)pyrene content in airborne particulates between glass fiber filter and quartz fiber filter on which collected.

Sample No.	benzo(a)pyrene content (ng/m <sup>3</sup> .air)	
	Glass fiber filter	quartz fiber filter
1	1.44	1.48
2	1.91	1.89
3	2.16	2.32
4	5.39	6.14
5	2.80	2.70
6	0.93	1.08
7	3.52	3.68
8	4.17	4.32
9	2.03	2.05
10	1.64	1.58



본 조사에서는, 동일 채취장소에 각기 glass fiber filter와 quartz fiber filter를 장착한 High-volume air sampler를 나란히 설치한 후 동일시각에 동일시간 동안 대기부유분진을 포집하여, 부유분진에 함유되어 있는 BaP를 초음파추출-2층 1차원 thin-layer chromatography-분광형광광도법으로 측정하였다.

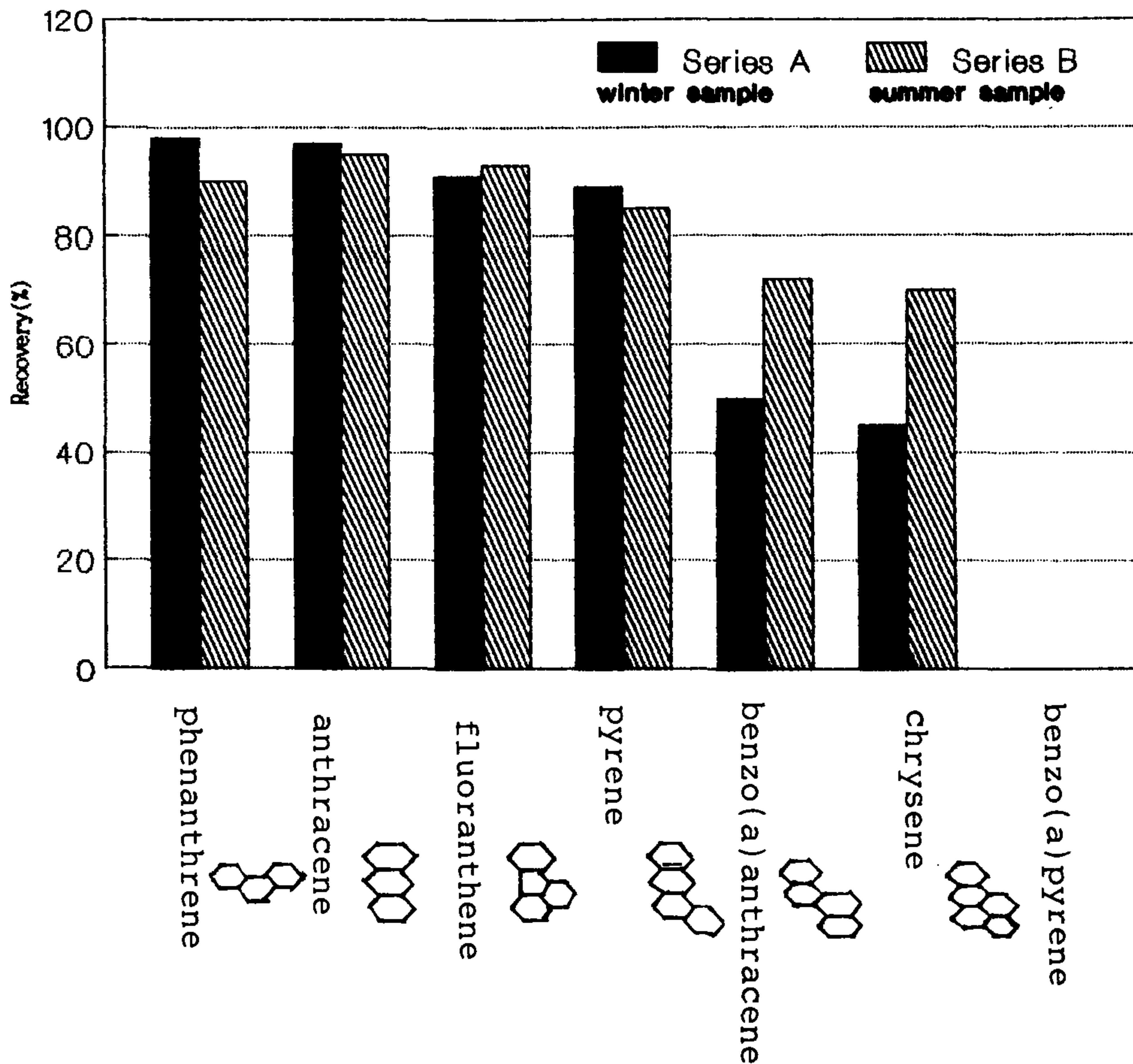
Table 9로 부터 quartz fiber filter가 glass fiber filter에 비해, BaP측정치가 약간 높게 나타났지만, 거의 모든 data에서 양 filter에 의한 BaP측정치가 일치하고 있음을 알 수 있다.

BaP측정치는 대기단위체적당의 BaP증량으로 나타내었다. 이러한 단위로 표시한 BaP등의 PAH측정치를 논할 경우, 사용된포집 filter가 quartz fiber filter인가 glass fiber filter인가에 따라서 측정치에 약간의 오차가 생길 수 있다. 이는 glass fiber filter가 대기중의 SO<sub>2</sub>를 흡착하여 filter상에서 SO<sub>2</sub>로 산화되기 때문에, 분진증량이 quartz fiber filter에 비해 약간 증가하는 때문으로 추정된다. 이러한 현상은, 연료소모량이 높음에 따라 대기중의 SO<sub>2</sub> 농도가 높은 겨울철에 더욱 현저하게 나타난다. 따라서 대기중의 PAH포집에는 glass fiber filter에 비해 quartz fiber filter가 양호함이 추정되었다.

PAH포집에 관한 다음의 문제점은, filter 포집법으로는 저위(低位)의 PAH포집효율이 반드시 양호하지 못한 점을 들 수 있다.

Fig. 23은 quartz fiber filter뒤에 polyurethane foam을 직렬로 장착하여, High-volume air sampler로 24시간 대기를 흡인하여 PAH를 포집한후, polyurethane foam에서 검출된 PAH를 전체의 PAH에 대한 비율로 나타낸 것이다.





**Fig. 23 Average percentage of recovered PAH found on polyurethane foam used to back up quartz high volume filters**

축합3환계의 phenanthrene이나 anthracene, 축합4환계의 fluo-  
 ranthene과 pyrene의 대부분은 glass fiber filter는 물론 quartz  
 fiber filter로는 포집불가능한 점, 축합4환계의 benzo(a)anthr-  
 acene이나 chrysene도 통상 약 50% 정도 밖에 포집할 수 없는 점  
 을 알 수 있다. 단 BaP만은 quartz fiber filter에 전량 포집되  
 었음을 알 수 있다.

이와같이 filter에 의한 PAH포집율은 기온이 낮은 겨울철에 높고, 기온이 높은 여름에 낮음을 예측할 수 있다. 따라서, 측정4단계 이하의 PAH측정치를 평가할 경우에는 측정시기(포집시의 기온)에 유의하여야 한다. 그러나 측정5단계 이상의 PAH의 filter에 의한 포집율은 비교적 양호하다 할 수 있다.

PAH는 승화성(昇華性)이므로, 전술한 바와 같이 기온의 상승과 함께 일단 filter에 포집된 PAH중의 일부가 재휘산(再揮散)되어 filter에의 포집효율을 저하시킨다. 때문에 재휘산이 일어나기 쉬운 측정관수가 적은 저위의 PAH를 포집할 경우에는 quartz fiber filter의 후방에 polyurethane foam이나, Tenax GC등을 직렬로 연결한 시료포집계가 구성되어야 한다. 단, 이경우에 polyurethane foam이나 Tenax GC에는 분석방해물질이 비교적 다량 함유되어 있으므로, 사용전에 이들에 대한 제거가 필수적으로 요구된다.

## 2. 시료의 보존방법에 관한 검토

본진시료중 PAH는 보존조건에 따라 상당량 감소되는 것으로 나타났다. Table 10에 대기부유분진을 포집한 직후에 분석한 값과 1년간 실온에 방치한 후 분석한 값을 비교하여 나타내었다.

Table 10. Comparison of hydrocarbon content of air solids before and after storage for 1 year

Hydrocarbon	Concentration of hydrocarbons( $\mu$ g per g smoke)		
	Analyzed immediately after collection	Analyzed 1 year after collection	Loss(%)
Fluoranthene	225	18	92
Pyrene	328	38	88
Benzo(a)pyrene	111	76	32
Benzo(e)pyrene	71	55	23
Anthracene	70	55	21
Benzo(ghi)perylene	252	226	10
Coroene	142	140	1

축합환수가 적은 PAH 일수록 손실율이 현저함을 알 수 있었다. BaP의 손실은 32%에 달하였다. 따라서, 분진시료 채취후 분석할 때까지의 시료보존방법으로는  $-20^{\circ}\text{C}$  이하의 냉암소에 보존해야 할 것이다. 실제로 본 연구원에서는 모든 시료에 대하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 의 냉동실에 보존하여 분석시에 거의 손실이 나타나지 않았다. 이러한 사실은, 대기분진시료의 안정성에 대하여 충분한 검토가 이루어지지 않았던 과거의 data를 해석할 경우, 시료의 보존상태에 대해서도 충분히 유의해야만 된다는 사실을 시사하고 있다.

### 3. 추출방법과 용매에 관한 검토

전년도 1차년도 연구에서 밝혀진 바와 같이 돌연변이원성을 측정하기 위한 대기부유분진으로 부터의 유기물추출방법으로는 초음파추출법이 Soxhlet추출법에 비해, 추출효율면이나, 돌연변이원성의 성적에서의 차이가 없는 점, 또 추출시간의 단축, 사용용매량의 저감, 추출중에 새로운 물질의 생성이 없는 점등 여러 장점을 나타내고 있었고, 추출용매로는 benzene-ethanol(4:1, v/v)이 타용매에 비해 유효한 용매로 인정되었다.

대기부유분진에 함유되어 있는 PAH의 추출은, 주로 Soxhlet추출법, 초음파추출법, 진공승화추출법등이 알려져 있으며, 일부이기는 하나 thin-layer plate상에서의 직접추출법이 이용되고 있다 Soxhlet 추출법은 과거로 부터 일반적으로 이용되어 왔으며, 추출용매로는 cyclohexane, benzene, dichloromethane, benzene-ethanol(4:1, v/v)등 여러 용매가 이용되어 왔다.

<sup>45)</sup> Swarin 등은 Diesel 자동차 배출분진중의 BaP추출에 대한 용매의 영향을 조사한 결과, 추출시간 3시간(환류회수 60회)의 경우, benzene-ethanol(4:1, v/v)의 BaP추출효율은 92.6~99.5%로 매우



양호하였으나, dichloromethane의 BaP추출효율은 benzene-ethanol의 그것에 비해 약 60~70%정도, cyclohexane은 약 40%정도에 지나지 않았다고 보고하고 있다. 추출방법으로는 통상 Soxhlet 추출법이 가장 많이 이용되어 왔으나 추출시간이 8~24시간으로, 새로운 형광물질의 용출이 인정되지 않을 때까지 추출을 계속해야 되는 단점이 있는 반면, 추출효율은 상당히 높은 것으로 인정었다. 그러나, Soxhlet 추출법에서는 극성유기화합물이 추출도중 변질 우려가 있으므로, 이러한 물질을 분석할 경우에는 충분히 유의할 필요가 있다.

따라서, 본 연구에서는 i) 추출시간의 단축, ii) 추출용매 사용량의 저감, iii) 추출시에 화학변화가 일어나기 어려운 점, iv) 추출효율이 일반적으로 높은 점등의 이점을 가지고 있는 초음파추출법 및 추출용매로서 benzene-ethanol(4:1,v/v)을 이용하여 실시하였다.

#### 4. 분리분석 방법에 관한 검토

PAH의 분석은, 1970년대까지는 column chromatography-분광광도법 또는 분광형광광도법에 의한 분석이 주류를 이루었다. column chromatography에서의 흡착제로는 알루미나 또는 실리카 겔을 이용하는 흡착형의 것이 다음되어 왔다. 그러나, 흡착형 column chromatography에서의 흡착제의 활성도가 PAH의 분리에 막대한 영향을 미친다. 또 column의 충전은 각 연구자가 자기자신의 손으로 직접 실시하므로, 분리능에서도 개인차가 나타나기 쉽다. 더욱이, 흡착형 column chromatography에서는, 각 PAH가 거의 분자량의 순서에 의하여 용출되기 때문에, 동일 또는 유사한 분자량의 PAH들은 서로 중합되어 용출된다. 따라서 각 PAH를 각기 분리하여 분취

하고자 하면 회수율의 저하가 나타나고, 반대로 회수율을 높이려  
면 PAH의 상호분리가 불량하게 되는 결점이 있다. 따라서, 현재  
column chromatography는 주로, PAH를 다른 분석방해성분과 분리  
하기 위한 clean-up으로서 이용되고 있다.

한편, 분광광도법은 흡광성을 가지고 있는 물질 전부를 검출,  
정량할 수 있는 이점을 가지고 있는 반면, 검출특이성면에서는  
뒤떨어진다, 때문에 column chromatography로 용출되는 각 fract-  
ion중에 함유되어 있는 분석대상 PAH를, 특정의 흡수파장으로 흡  
광도를 측정하여 정량(peak높이법)하는 법은 일반적으로 + 오차를  
생성하기 쉽다. 따라서, 이러한 오차를 가능한 한 줄이기 위하여  
base line법이 이용되고 있다. 또, 분광형광광도법은 흡광광도법  
에 비하여 PAH분석에 대한 감도가 현저히 높고, 검출특이성도 양  
호하다, 그러나, BaP를 형광peak로 정량할 경우, column chromato-  
graphy에서 통상 BaP와 동시에 용출되는 benzo(k)fluoranthene이  
비교적 큰 + 의 오차를 생성시킴이 알려져 있다. 이 오차는, 대부  
분의 PAH혼재물의 분석 방해를 배제할 수 있는 narrow base line  
법을 이용하여도 제거불가능하다. 이러한 BaP와 benzo(k)fluoran-  
thene혼합물에 대하여서는, excitation spectrum을 이용한 정확한  
PAH측정법이 알려져 있으나, 본 연구에서는 검토하지 못하였다.

본 연구에서는, 부유분진으로부터 추출한 유기물을 silica  
gel column chromatography로 분획한 후 최근 가장 많이 이용되고  
있는, 2층 1차원 thin-layer chromatography-분광형광광도법으로  
검토하였으며, 분광형광광도법에 의한 BaP의 정량에는 narrow  
base line법을 이용하였다. Table 11에 상기분석법에 의하여 측정  
된 BaP회수율을 나타내었다.



Table 11. Recovery of benzo(a)pyrene(BaP) from air-suspended particulates by the present method.

Sample	BaP analysed(ng)		Recovery of BaP	
	Particulates (A)	A + 200ng of Bap (B)	B-A (ng)	$\frac{B-A}{200} \times 100$ (%)
1	122	329	198	99.0
2	68	264	196	98.0
3	62	260	198	99.0
4	88	287	199	99.5
5	81	280	199	99.5
6	74	273	199	99.5
7	198	392	194	97.0
8	298	504	206	103.0
9	118	323	205	102.5
10	370	571	201	100.5
			Mean	99.8
			S.D.**	1.75

\* Two samples were obtained by cutting out with a belt punch (47mm in diameter) a neighbouring portion of glass fiber filter(20X25cm) collected air-suspended particulates. One of the two samples was used as sample A. Sample B was obtained by adsorbing uniformly 200ng of BaP on the another sample.

\*\* S.D. : Standard Deviation

BaP회수율은 평균 99.8%, 변동계수 1.75%로 양호한 성적을 나타내었다. 그밖에, 최근 널리 이용되기 시작한 PAH분석방법으로는 분광형광광도계를 검출기로 이용한 고속액체 chromatography(HPLC)가 있다. 이 분석방법은 분석시간으로 볼때 1시간이내로 비교적 짧으며 검출감도도 높으며 재현성도 양호하여, 금후 PAH의 routine분석의 주류를 이룰 것으로 예상되나, 본 연구에서는 아직 검토 단계중이다.

Table 12는 본 연구에서 분석된 결과의 한 예로서, 대기부유분진으로부터의 초음파추출물을 둘로 나누어, 그 하나에 PAH를 spike한 후, 양시료를 분석, PAH회수율을 구한 결과를 나타낸 것이다.

BaP를 비롯한 PAH 10종류에 대하여 회수율 99.2~107%, 변동계수 2.0~5.9%로 비교적 양호한 성적을 나타내었다.

Table 12. Recovery of polynuclear aromatic hydrocarbons from the extract of particulates.

Compound	Recovery * (%)	C.V **
Fluoranthene	103	4.9
Pyrene	102	3.9
Chrysene	101	4.0
Benzo(e)pyrene	107	3.7
Perylene	103	2.9
Benzo(k)fluoranthene	102	5.9
Benzo(a)pyrene	99.2	5.0
Benzo(ghi)perylene	103	3.9
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	102	2.0
Coronene	100	5.0

\* Average of 19 runs

\*\* C.V. : coefficient of variation(%)

Table 13은 역시, 대기부유분진시료를 둘로 나누어, 각기 HPLC법과 2층 1차원 thin-layer chromatography-분광형광광도법으로 분석하여 양분석시간의 회귀식을 구한 결과를 표시한 것이다.

Table에 나타난 바와 같이 양분석방법은, pyrene, chrysene, perylene, BaP, benzo(ghi)perylene의 5개 PAH의 경우에서, 모두 상관계수 0.989 ~ 1.000에 이르는 양호한 상관성을 나타내어, 어느 분석방법을 선택하더라도 그 결과는 상호간에 비교검토의 대상의 가능성을 시사하였다.

Table 13. Correlation between the determined values by the proposed method and the conventional method.

Compound	Equation of regression line	Correlation coefficient
Pyrene	$y * = 1.09 X ** - 39.5$	0.999
Chrysene	$y = 1.06 X + 0.199$	1.00
Perylene	$y = 0.950 X + 1.99$	0.999
Benzo(a)perylene	$y = 1.02 X + 0.286$	1.00
Benzo(ghi)perylene	$y = 0.938 X + 4.89$	0.989

\* y : determined value by HPLC

\*\* X : determined value by the conventional method one-dimensional dual band thin-layer chromatography/spectrofluorometry.

그밖에, 대기시료의 일부는 gas chromatography로 분리하는 방법도 알려져있다. 본 연구에서는 thin-layer chromatography로는 BaP와 benzo(e)pyrene등의 이성체나 분자량이 접근한 PAH의 상호 분리가 충분히 이루어지지 않았으며, 분광형광광도법에 의한 검출 감도가 충분할 정도로 양호하다고 판단되지 않았기 때문에 환경시료로서의 routine 분석으로는 현단계로서는 적합하지 못하였다. 최근 고온에 대응하는 capillary column의 등장으로 PAH의 분리가 양호하여졌으며, 또 질량분석계와의 병용으로 감도 또는 검출능이 현저히 증대 개선되고, 그중에서도 특히 capillary-gas chromatography 질량분석법(GC-MS)<sup>46)</sup>은 검출수법의 다양화와 함께 유용성이 증가일로에 있어, 급후 환경시료의 PAH다성분분석방법으로 널리 이용되리라 예상된다. 본연구에서는 계속하여 이 새로운 방법에 대하여 검토를 실시하고 있다.

## 제 6 절 Nitro화 방향족탄화수소의 분석에 대한 검토

### 1. 1-aminopyrene 및 3-aminofluoranthene의 고속액체chromatography

Fig. 24 및 Fig. 25에, 각기 1-aminopyrene 및 3-aminofluoranthene외 3종의 다른 PAH를 공존시킨 표준액을, 적합 excitation/emission 파장으로 분석한 HPLC chromatogram의 결과를 나타내었다.

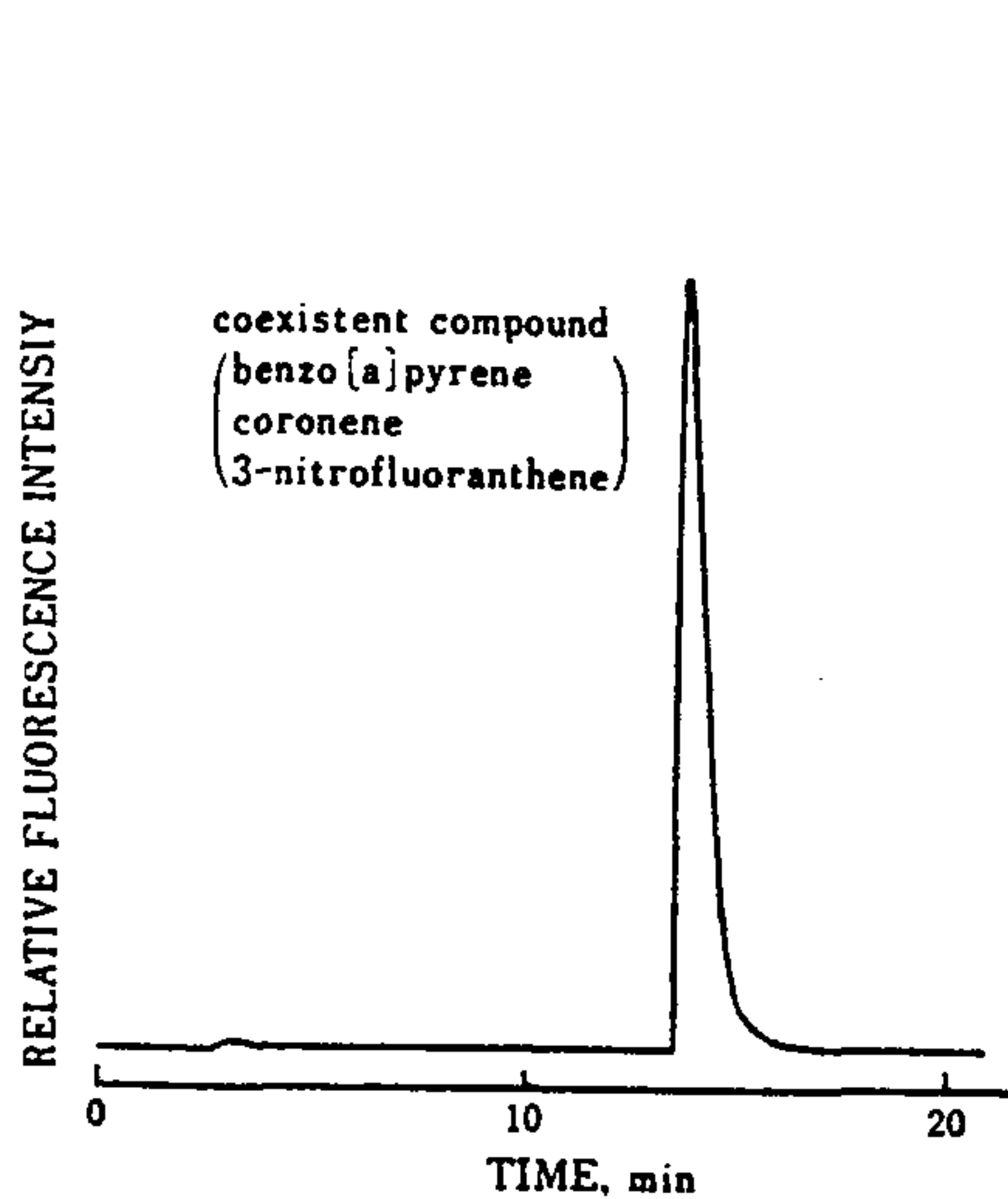


Fig. 24 HPLC chromatogram of a 1-Nitropyrene standard sample after treatment with a reducing agent to convert nitro-PAH to amino-PAH. Chromatographic conditions: Zorbax, ODS column, 65 : 35 (v/v) acetonitrile-water (pH 8), flow rate 1.0ml/min Fluorescence Detector.....excitation 365nm, emission 430nm

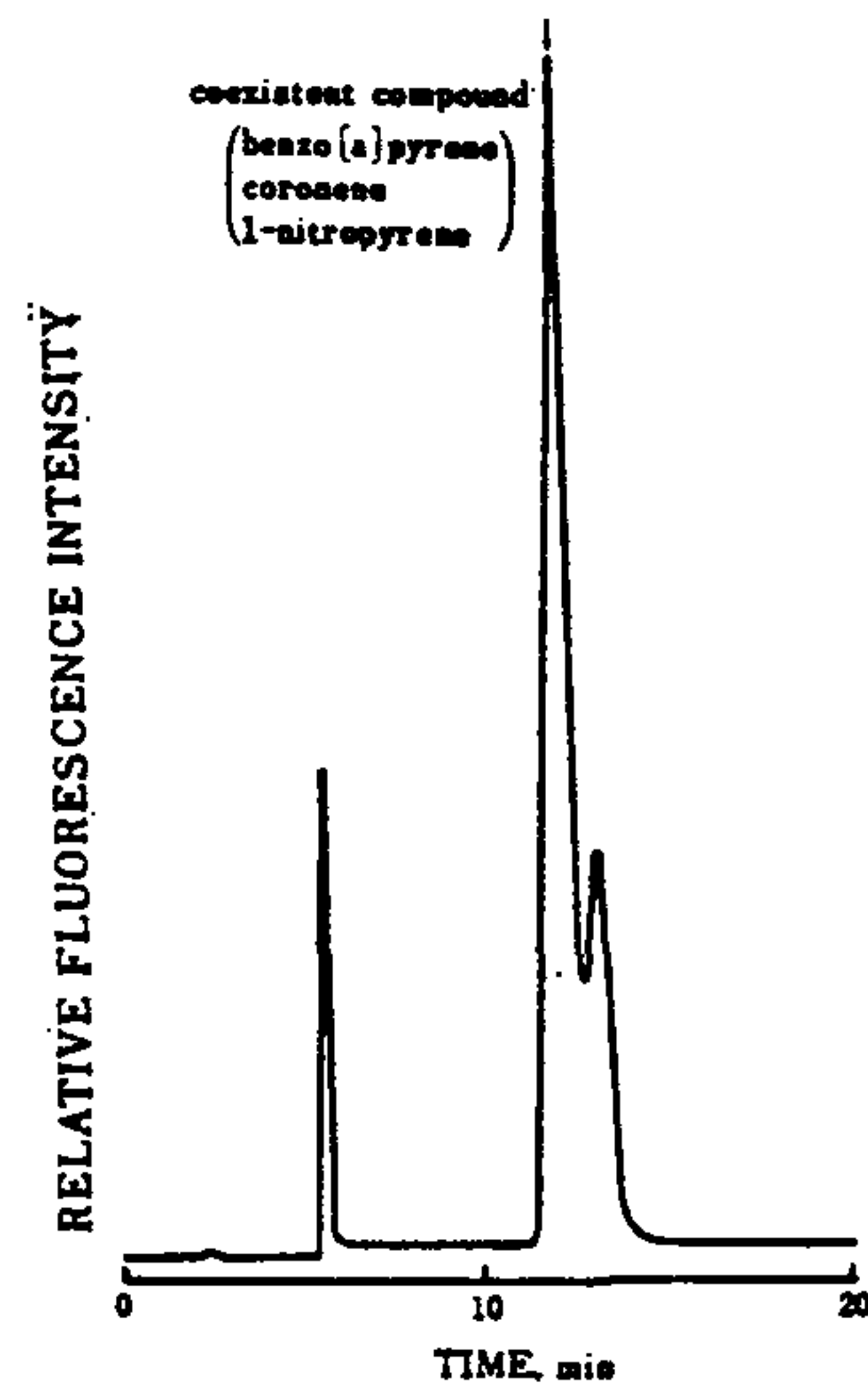


Fig. 25 HPLC chromatogram of a 3-Nitrofluoranthene standard after treatment with a reducing agent to convert nitro-PAH to amino-PAH. Chromatographic conditions: Zorbax ODS column, 65 : 35 (v/v) acetonitrile-water (pH 8), flow rate 1.0ml/min Fluorescence Detector excitation 415 nm, emission 518 nm

Fig. 25의 가장 높은 peak가 3-aminofluoranthene이다. 이 분석조건하에서는 오른쪽에 1-aminopyrene의 peak가 인접하여 나타나 있지만, 식별 가능할 정도로 분리되어 있어, 환경시료중에 함유되어 있는 3-aminofluoranthene은 검출가능한 것으로 나타났다.

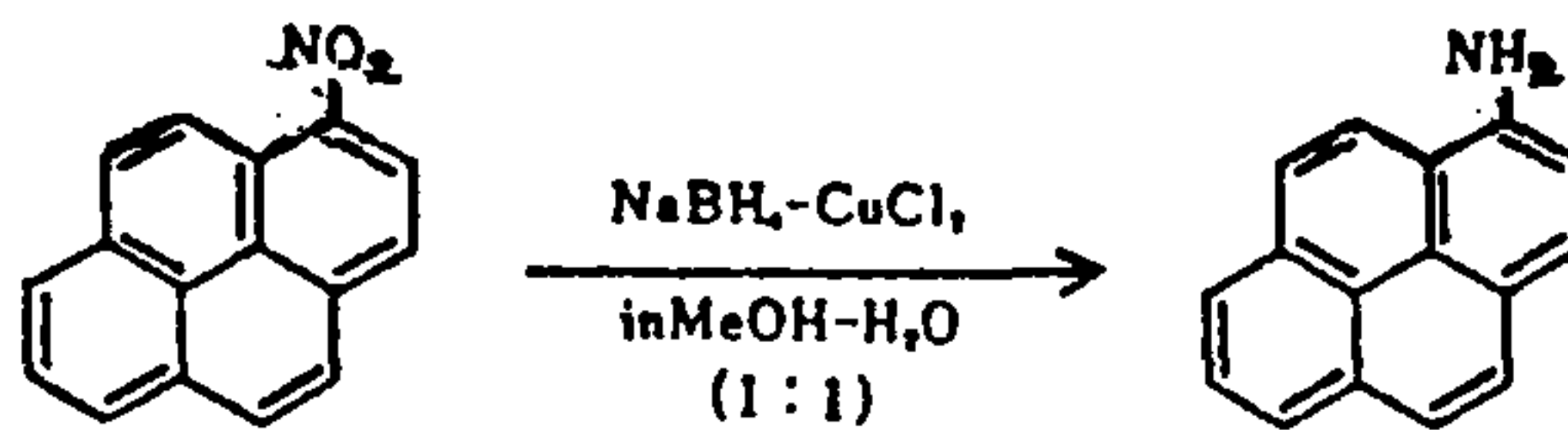
Fig. 24에 표시한 1-aminopyrene의 분석조건하에서는 3-aminofluoranthene이나 그 밖의 PAH 공존화합물의 peak는 1-aminopyrene의 peak와는 인접하지 않고 분리되었으므로 본 분석조건하에서 1-aminopyrene의 분석정량이 가능함을 시사하였다. 따라서 방향족 nitro화합물의 amino화가 하나의 검토step으로서 중요하다.



2. 방향족 nitro화합물의 amino화 환원

nitro화합물의 환원법에는, 아연-염화칼슘<sup>47)</sup> 및 아연-염산계<sup>48)</sup>를 이용하는 방법이 일반적이지만, 최근 보고<sup>49,50)</sup>된 수소화붕소나트륨-천이금속을 이용하는 방법을 택하였다. 즉, 본실험에서는 수소화붕소산나트륨-염화제2동에 의하여 l-nitropyrene를 l-aminopyrene으로 환원시도하고, 환원율을 검토하였다. Table 14에 benzo(a)-pyrene, coronene, 3-nitrofluoranthene공존하에서, l-nitropyrene(시료농도 유사 level)에, 수소화붕소나트륨 78mg(2m mol)-염화제2동 0.16mg(1.2 $\mu$ mol)을 작용시킨 경우의 각기의 환원율을 표시하였다.

Table 14. Yields of l-Aminopyrene from l-Nitropyrene in standard solution with the NaBH<sub>4</sub>-CuCl system (coexist compound : benzo(a)pyrene, coronene, 3-nitro fluoranthene)



quantity of l-Nitropyrene ( $\mu$ g)	l-Aminopyrene determined ( $\mu$ g)	yield of reduction product (%)
0.20	0.21	105
0.40	0.43	108
0.80	0.82	103
1.00	1.06	106
1.06	1.63	102
3.00	2.99	100
4.00	4.20	105
6.00	5.80	97
8.00	7.3	91
12.00	10.2	85



Table 14에서 알 수 있듯이, 1-nitropyrene의 절대량이 8 $\mu$ g 정도까지 상승하면, 환원율의 저하가 약간 관찰되지만, 실제의 환경시료에서의 1-nitropyrene의 양은 5 $\mu$ g 정도를 하회하므로 본 환원조건은 충분히 가능함을 시사하고 있다.

또, 상기의 반응조건에서, 1-nitropyrene을 환원시킨후, HPLC에의 주입량에 대한 형광강도면적을 plot한 검량선(Fig. 26)의 직선성으로 부터, 실제환경중의 1-nitropyrene정량화를 검토하였다. Fig. 27에 나타낸 바와 같이, 0~60ng의 범위내에서의 1-aminopyrene의 검량은 타당성이 있음을 확인할 수 있다. 이상의 사실로 볼때, 환경시료중의 1-nitropyrene의 정량에는 상기의 환원법을 적용시킬 수 있음이 시사되었다.

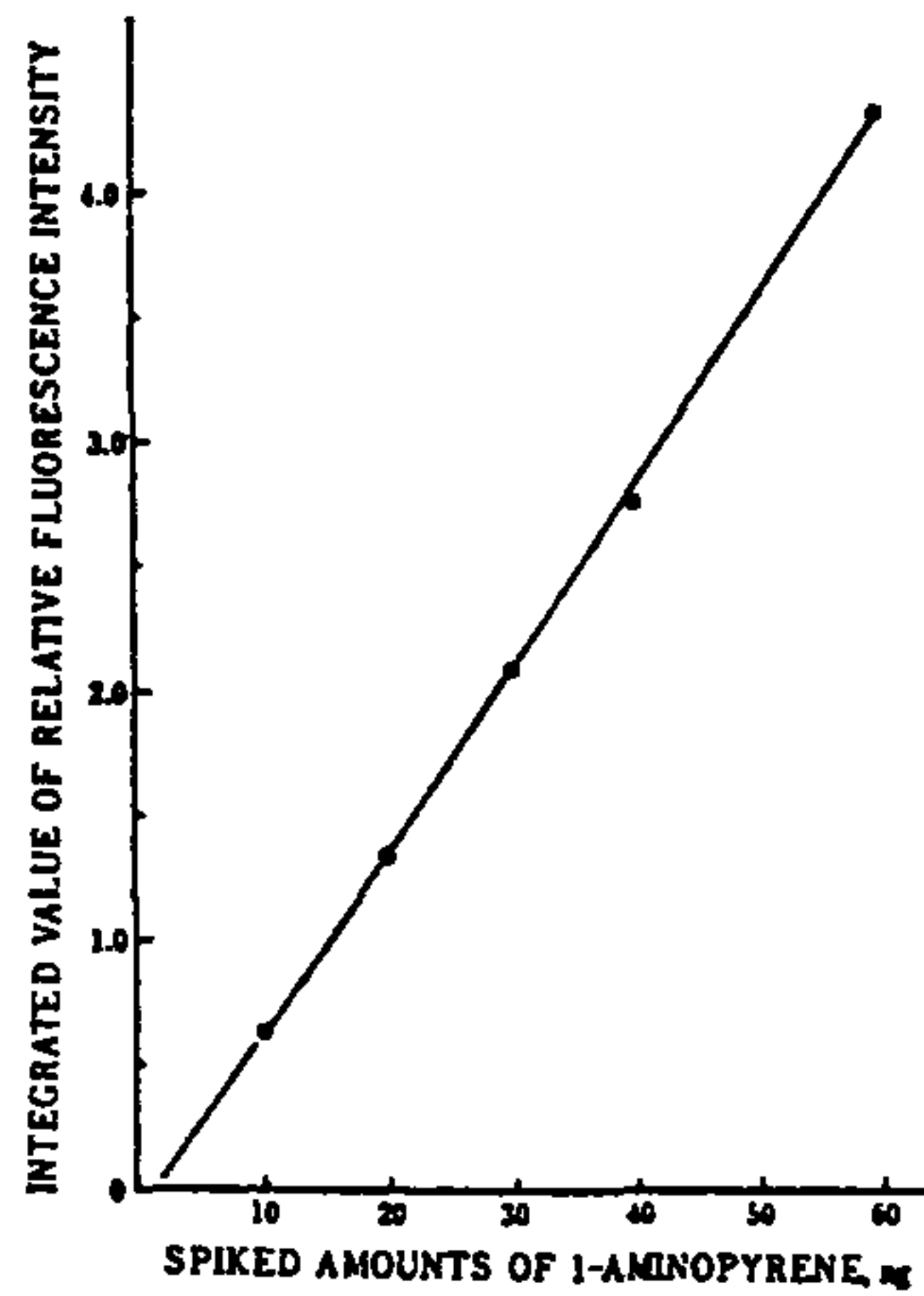


Fig. 26 Calibration curve of 1-Aminopyrene. Chromatographic conditions as in Fig. 24

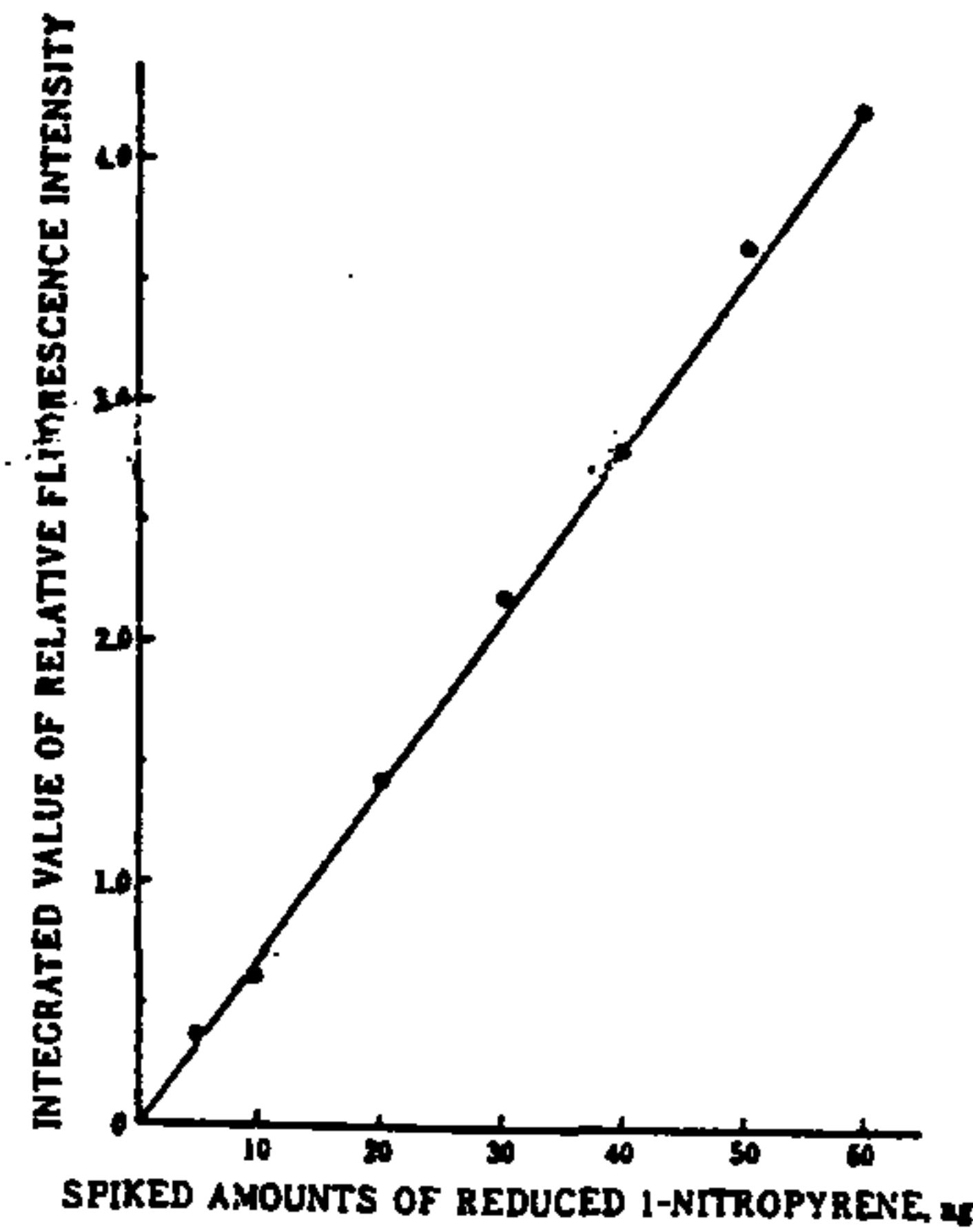


Fig. 27 Calibration curve of 1-Nitropyrene after treatment with a reducing agent to convert nitro-PAH to amino-PAH. Chromatographic conditions as in Fig. 24

### 3. 실제시료에의 첨가와 그 회수율

대기부유분진으로 부터 추출한 유기물시료(4종)에 적당량의 1-nitropyrene을 첨가한 후, 첨가회수실험을 실시한 결과를 Table 15에 나타내었다. 환원율을 고려하여, 1-nitropyrene의 benzene표준용액을 환원처리한 것을 기준으로 한 경우, 평균회수율은

Table 15. Recovery of 1-Nitropyrene through the whole Procedure in spiked samples

Sample	1-Nitropyrene (ng/μl)			1-Nitropyrene Determined (ng/μl)	Recovery (%) Added to Airborne Particulate extract
	Original	Added	Total		
A	0.19	0.10	0.29	0.28	90
B	0.25	0.40	0.65	0.60	83
C	0.34	0.50	0.84	0.98	112
D	0.52	2.00	2.52	2.72	110

100%를 나타내어, 1-nitropyrene에 관한 한, 극히 양호한 결과를 얻었다. 초음파 추출에 의한 대기부유분진중의 1-nitropyrene의 추출효율에 대하여는, benzene-ethanol(4:1, v/v)로 30분 추출한 후의 잔사를 다시 benzene등의 용매로 재추출하여 분석하였으나, 동일분석조건하에서는 검출되지 않았다. 따라서, benzene-ethanol (4:1, v/v) 30분간의 초음파추출에 의하여, 본 분석방법에 의한 농도범위에서는 충분한 추출이 이루어졌음이 시사되었다.

#### 4. 환경시료의 분석

대기부유분진으로부터 추출한 유기물시료에 대하여, 상기 분석 방법을 적용하여 얻은 HPLC chromatogram을 각 방향족 amino화합물별로 Fig. 28에 나타내었다.

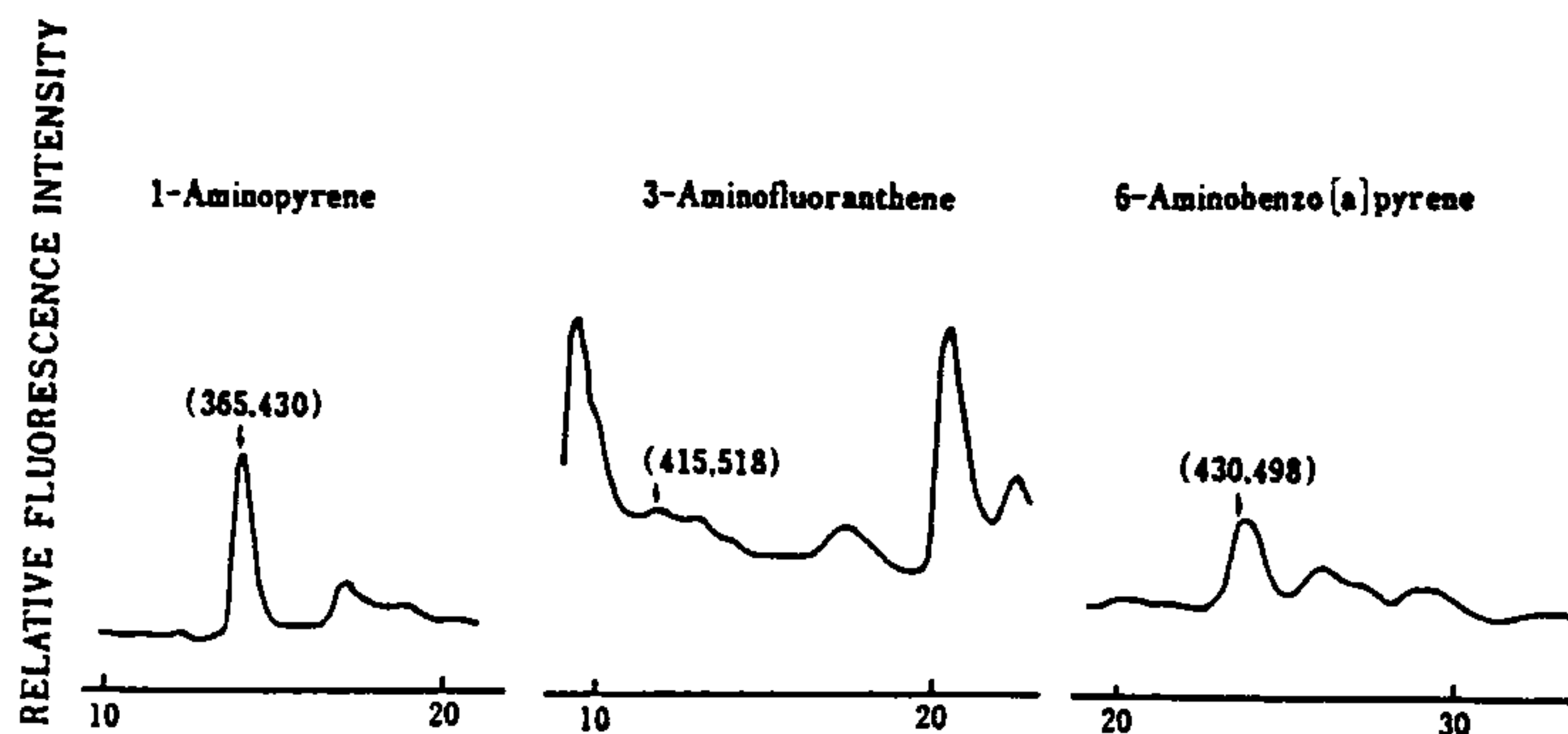


Fig. 28. HPLC chromatograms of ambient airborne particulate extract samples after treatment with reducing agents to convert nitro-PAH to amino-PAH at wavelengths selected for optimum analysis. Chromatographic conditions: Zorbax ODS column, 65 : 35 (v/v) acetonitrile-water (pH 8), flow rate 1.0ml/min. The time scale in minutes and the fluorescence wavelengths (excitation in nm, emission in nm) used are shown for each chromatogram.

Fig. 28로 부터, 1-aminopyrene 및 6-aminobenzo(a)pyrene에 대해서는, 다른 화합물과의 분리도 명확하고 peak의 형태도 만족할 만한 결과가 얻어져, 검출이 용이함을 시사하고 있다. 한편 3-aminofluoranthene에 대해서는 다음의 원인에 의하여 본 분석법에 의한 정량은 곤란한 것으로 시사되었다.

- i) 타공존화합물(특히 1-animopyrene)에 의한 방해가 크다.
- ii) 3-animofluoranthene 자체의 검출한계가 높다.(1-animopyrene의 32배)
- iii) 환경시료중 3-nitrofluoranthene 함유량이 1-nitropyrene 등에 비하여 극히 낮다.

따라서, 환경시료중의 3-nitrofluoranthene의 분석, 정량에 관해서는 금후 검토를 계속하여 유효한 방법의 개발을 필요로 한다. 본 실험에서 측정된 대기부유분진중의 1-nitropyrene, pyrene, benzo(a)pyrene농도를 Table 16에 표시하였다.

Table 16. 1-Nitropyrene, Pyrene, Benzo(a)pyrene contents of airborne particulate samples

Sample	Content(ng/mg.dust)		
	1-nitropyrene	pyrene	benzo(a)pyrene
a	2.6	—	68.9
b	1.4	69.6	54.0
c	0.8	89.5	49.5
d	1.7	69.1	38.8

이 결과는, 대기부유분진에 대하여 측정된 <sup>48,51)</sup>본현의 측정결과와 매우 유사하였다.

일반적으로, nitro방향족탄화수소 화합물의 분석에는 FID(수소염이온화검출기)<sup>51)</sup>, ECD(전자포획형검출)<sup>48)</sup>, FTD(열이온검출기) 또는 MS(전자충격질량분석계)<sup>52,53,54)</sup>, NICIMS(음이온화학이온화질량분석계)등을 검지시스템으로 한 gas chromatography(주로 Splitless capillary gas chromatography)를 이용한 방법이 실시되고 있다. 그러나, nitro 화합물은 열적으로 불안정(분해반응)하므로, 여러 process를 포함하는 gas chromatography에 의한 분석은 상당한 오차와 검출한계가 높게 나타날 우려가 있다. 따라서, gas chromatography를 이용하지 않고, 시료를 직접 질량분석장치에 도입하는 방법(질량분해 이온속도에너지 분석법<sup>55)</sup>, 4중극질량분석계를 이용하는 linked scan<sup>56)</sup>이나 직접prob 고분해능질량분석법<sup>55,56)</sup>등이 특수한 분석으로 시도되고 있어, lng레벨의 nitropyrene의 검출이 보고되고 있다. 그러나, 이러한 분석법은 특별한 시설이 필요하며, 또 특수한 해석기술을 요하는 방법이다. 게다가 검출물질의 파괴를 가져오는 분석법이다.

본 연구에서 시도한, 새로운 nitro방향족화합물의 정성(보다 높은 돌연변이원활성구조의 물질 검색)을 위해서 필요한 적절한 분리와 분석기능을 갖춘 HPLC방법의 검토는 의미 깊은 것으로 사려된다. 이러한 관점에서, HPLC와 형광검지기를 분석수단으로, nitro방향족화합물을 amino화합물로 변환하여 정량하는 Gibson<sup>57)</sup>법을 이용하여, 대기환경시료에의 적용을 시도, 흥미있는 결과를 얻었다.

또, 대기부유분진종의 1-nitropyrene 존재량은, benzo(a)pyrene량의 40~50분의 1정도이나, 돌연변이원활성은 약 400배정도에 달하는 보고<sup>56)</sup> 등이 있어, 금후 대기부유분진종의 routine적인



감시도 필요하여 질 것이다. 종래로 부터 문제시 되어온, 다환방향족탄화수소는 그 자체의 영향도 중요하지만, 최근 benzo(a)pyrene, pyrene, perylene 및 fluoranthene 등의 다환방향족탄화수소가 질소산화물과 반응하여, 다환방향족nitro화합물이 생성된다는 보고가<sup>53,58,59,60)</sup> 잇따르고 있다.

방향족nitro화합물의 문제는 돌연변이원성, 발암성등, 보다 만성적이며, 보다 본질적인 영향으로서의 질소산화물의 문제로 발전되어 온 것을 뒷받침하고 있다. 따라서, 방향족nitro화합물은 금후 여러 각도에서 대처하여, 신뢰도 높은 측정법이 요구 될 것이다. 예를 들면 체내흡수율이 높은 submicron입자중의 nitro화합물의 양이나, 여러 조건하에서의 질소산화물—다환방향족화합물—에 의한 nitro화합물의 생성을 추적하는 경우에도 극미량이며 보다 정밀하고 신속한 측정법의 검토는 금후의 연구 과제로 중요한 위치를 차지할 것으로 예측된다.

## 제 7 절 중금속류 및 이온성분 농도

대기부유분진의 화학조성을 안다는 것은 그의 발생원이나 동태를 파악할 수 있다는 면에서 중요하며 또한 부유분진의 보다 합리적인 발생원 대책을 행하기 위하여는 그의 발생원과 환경농도와의 관계를 밝힐 필요가 있다.

공기단위체적당의 각 화학성분함량을 춘하추동 계절별로 나누어 표시하면 Fig. 29 및 Fig 30과 같다.

환경대기중 Pb, Mn, Zn, Co, V 등의 농도는 춘하기에 낮고 추동기에 높게 나타났다. Pb의 경우 농도가 낮은 춘하기는 지역간의 농도차가 큰 반면 추동기에는 매우 낮게 나타났다. 광화문, 한남동 및 구로동이



# Pb

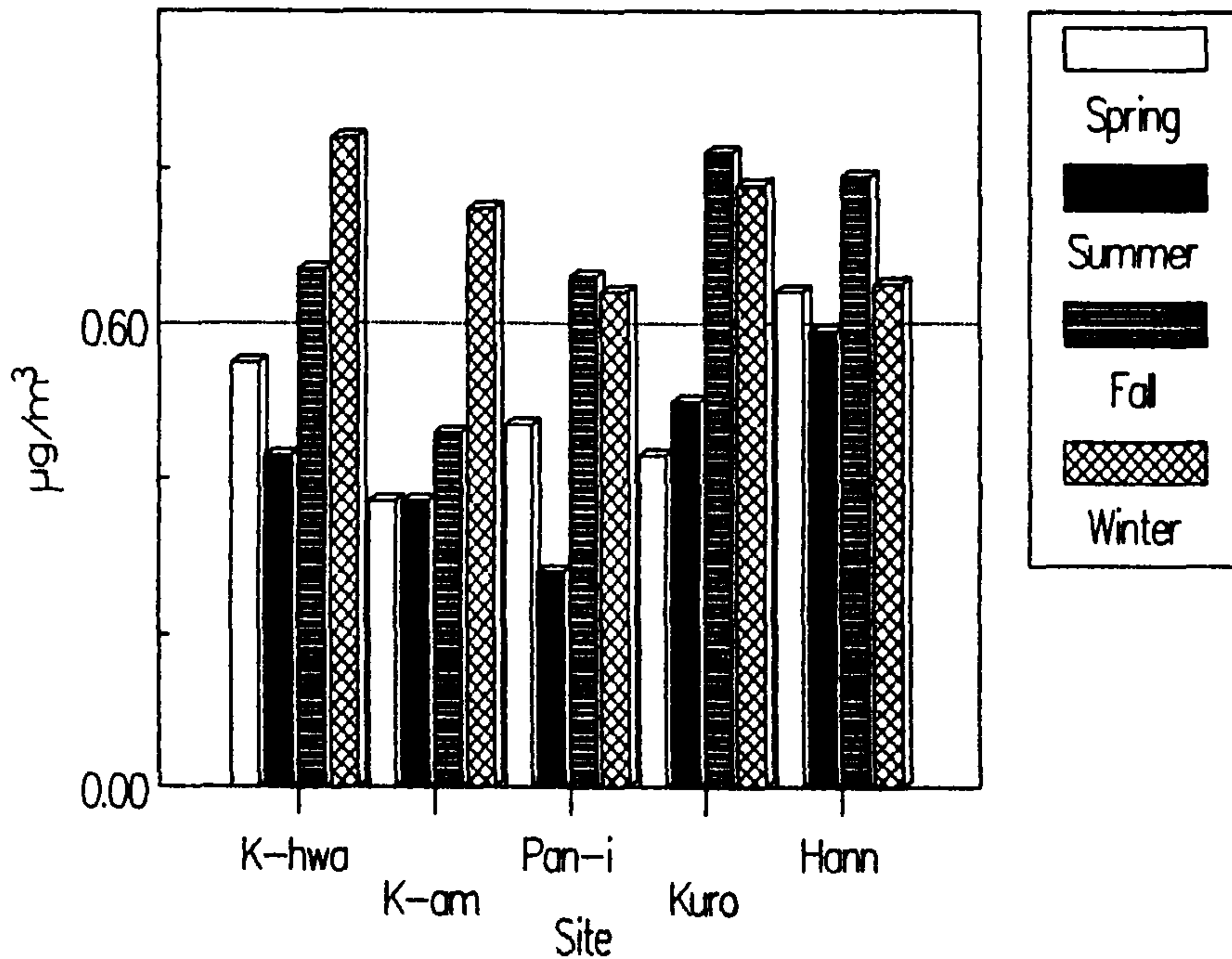


Fig. 29. Seasonal variation of lead concentrations at each sampling site

방이동과 광암리 보다 높게 나타나 source의 영향을 크게 받는 것으로 사료된다. 이들 원소들의 일부분은 토양기원이나 지표면에서의 비교적 큰 입자로서 발생할 수도 있으나, 그의 대부분은 연소과정에서 발생하는 것으로 그 원인은 동절기의 난방과 차량배기가스의 영향과 함께 계절에 따른 대기의 안정도등과도 밀접한 관련이 있는 것으로 판단된다.

또한, 공업지역인 구로지역은 타지역에 비하여 Co와 V농도가 매우 높고, V의 경우 가장 낮은 농도를 나타낸 하절기에 비하여 동절기는 2.6배~4.7배의 매우 높은 계절변동을 나타내고 있었다. 철과 구리의 농도는 조사된 측정항목중 가장 낮은 계절변동 및 지역차를 나타내어 지표면이나 토양기원등 자연적인 source로 부터의 기여가 큼을 추정케 한다. 다만 Cu의 경우 광암리에서 계절적으로 약 2배의 차이를 나타내고 있었다. PAH와 함께 이들 중금속의 source가 토양기원이나 지표

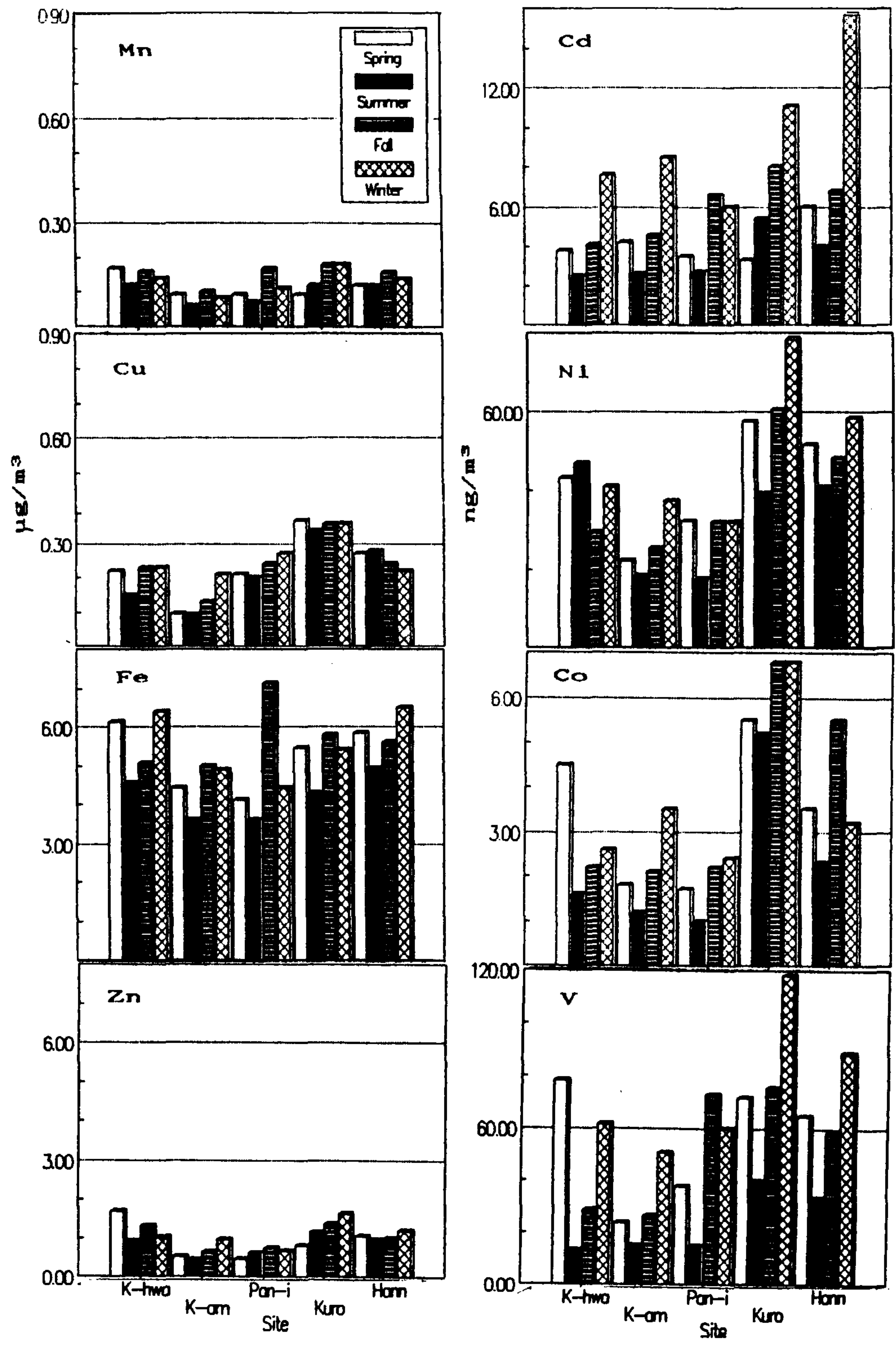


Fig. 30 . Seasonal variation of various heavy metal concentrations at each sampling site

면인지 아니면 연소시설이나 이동오염원, 공장등에서 유래한 것인지의 여부를 파악하는 것은 매우 중요한 일로서 이에 관한 입도별 함량조사는 명년도에 실시할 예정이다.

환경정책기본법 시행령 제2조에 규정한 대기환경기준에서 Pb(납)은  $1.5\mu\text{g}/\text{m}^3$  3개월 이하로 되어 있으며 3개월 평균치가 환경기준을 초과하고 있는 곳은 없었으나 24시간 평균치로서  $1.5\mu\text{g}/\text{m}^3$ 을 초과한 경우는 광화문 5회, 구로 3회, 한남, 방이에서 각각 1회로 나타나고 있다. 따라서, 이에 대한 증장기적인 대책이 시급히 입안 시행되어야 하리라고 본다.

입자물 구성하는 성분중 20~30%를 차지하는 이온성분중에서  $\text{SO}_4^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^-$  등의 이온성분은 그의 대부분이 가스에서 입자변환에 의한 2차 생성물질이라고 생각되며, 강수의 산성화나 시정의 악화등 환경이나 인체에 부여하는 영향이 크고, 따라서 이들 이온성분의 농도를 파악하는 것은 대기오염대책을 강구한다는 면에서 극히 중요하다.

입자상물질중 이온성분농도의 경월변동은 Fig. 31~Fig. 35와 같다.

전체음이온 농도는 동기에 높고, 하기에 낮은 계절변동을 나타내고 있으나, 이러한 계절변동은 질산이온과 황산이온에 비하여 염소이온이 크게 나타났다. 즉 여름철의 염소이온은 평균농도로  $0.6\sim 1.8\mu\text{g}/\text{m}^3$  인데 비하여 겨울철은  $2.13\sim 7.62\mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 지역에 따라 3.4배에서 9.5배 까지 계절차를 나타내었다. 질산이온의 경우는 가장 낮은 농도를 나타낸 여름철에  $5.82\sim 7.37\mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 지역차가 염소이온에 비하여 매우 적으며, 가장 높은 계절인 겨울철이  $8.09\sim 13.86\mu\text{g}/\text{m}^3$ 을 나타내어, 계절적인 변화폭도 적음을 알 수 있다. 그러나, 황산이온은 여름과 가을철이 낮고 겨울과 봄이 다소 높은 양상으로 나타났다. 즉 여름부터 가을철에는  $10.11\sim 20.81\mu\text{g}/\text{m}^3$ 이 있으며, 겨울부터 봄철에는  $12.73\sim 27.19\mu\text{g}/\text{m}^3$ 을 나타내었다.

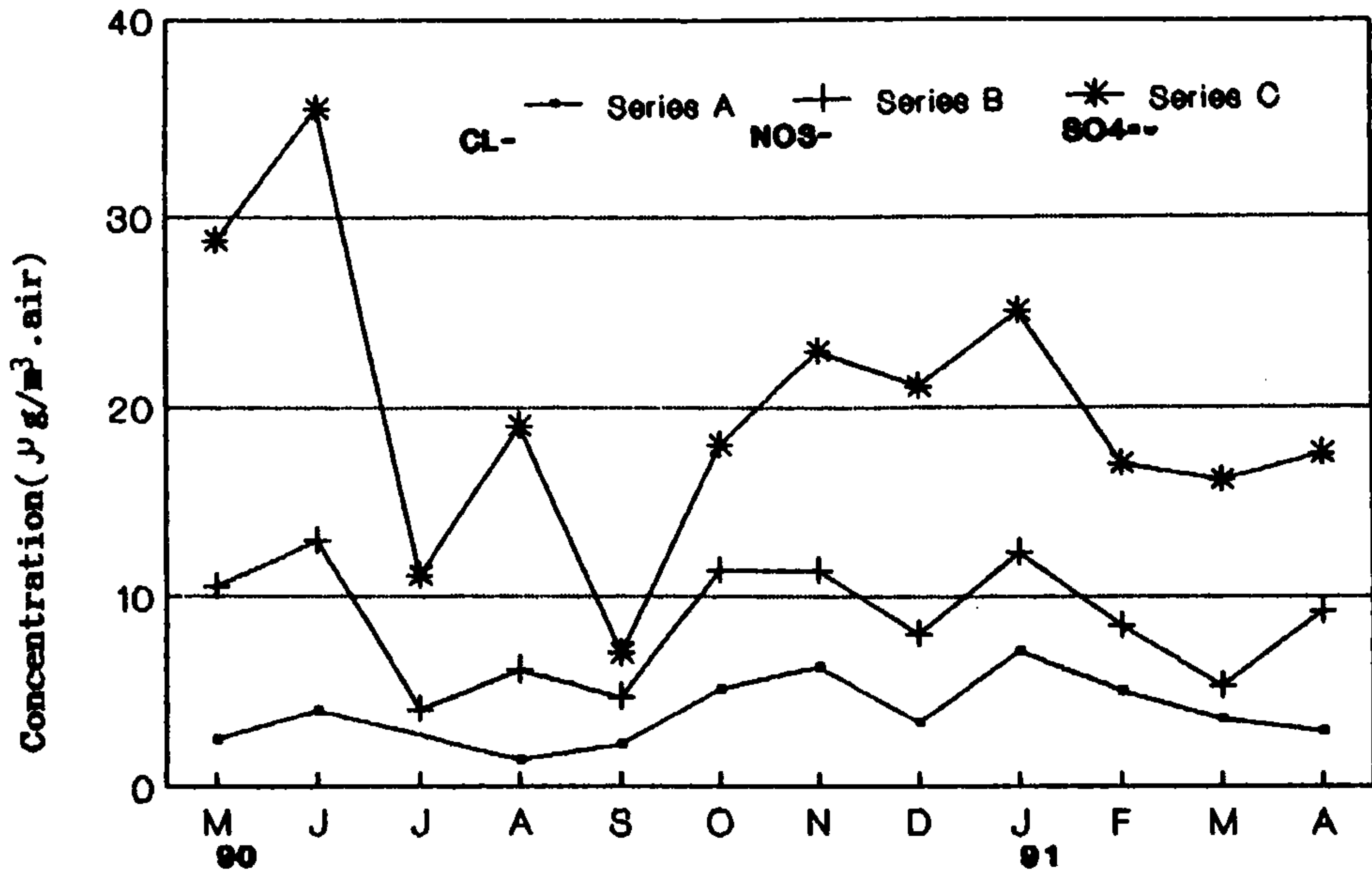


Fig. 31. Monthly variation of chloride, nitrate and sulfate ion concentration at Kwangan-ri.

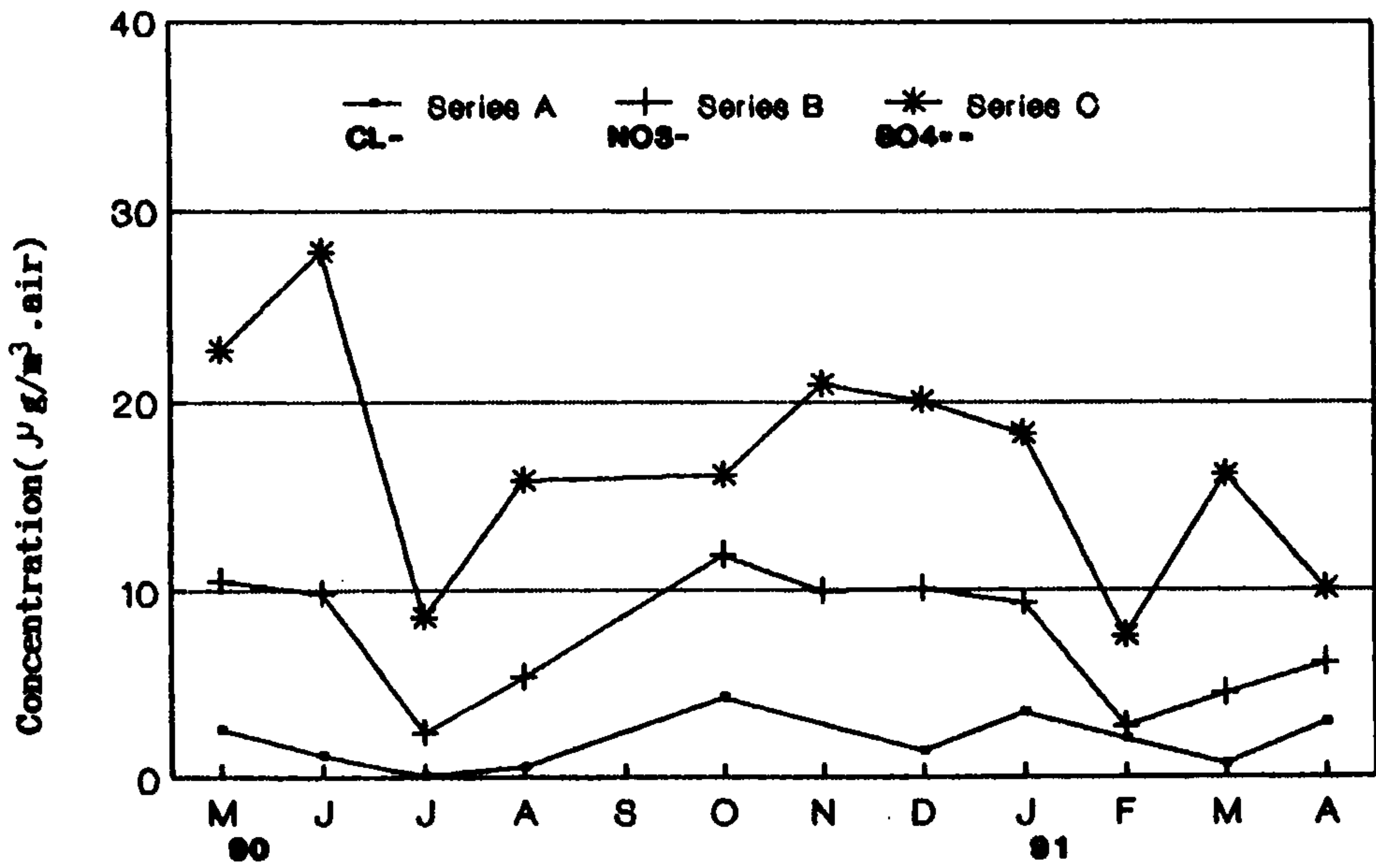


Fig. 32. Monthly variation of chloride, nitrate and sulfate ion concentration at Kuro-dong.



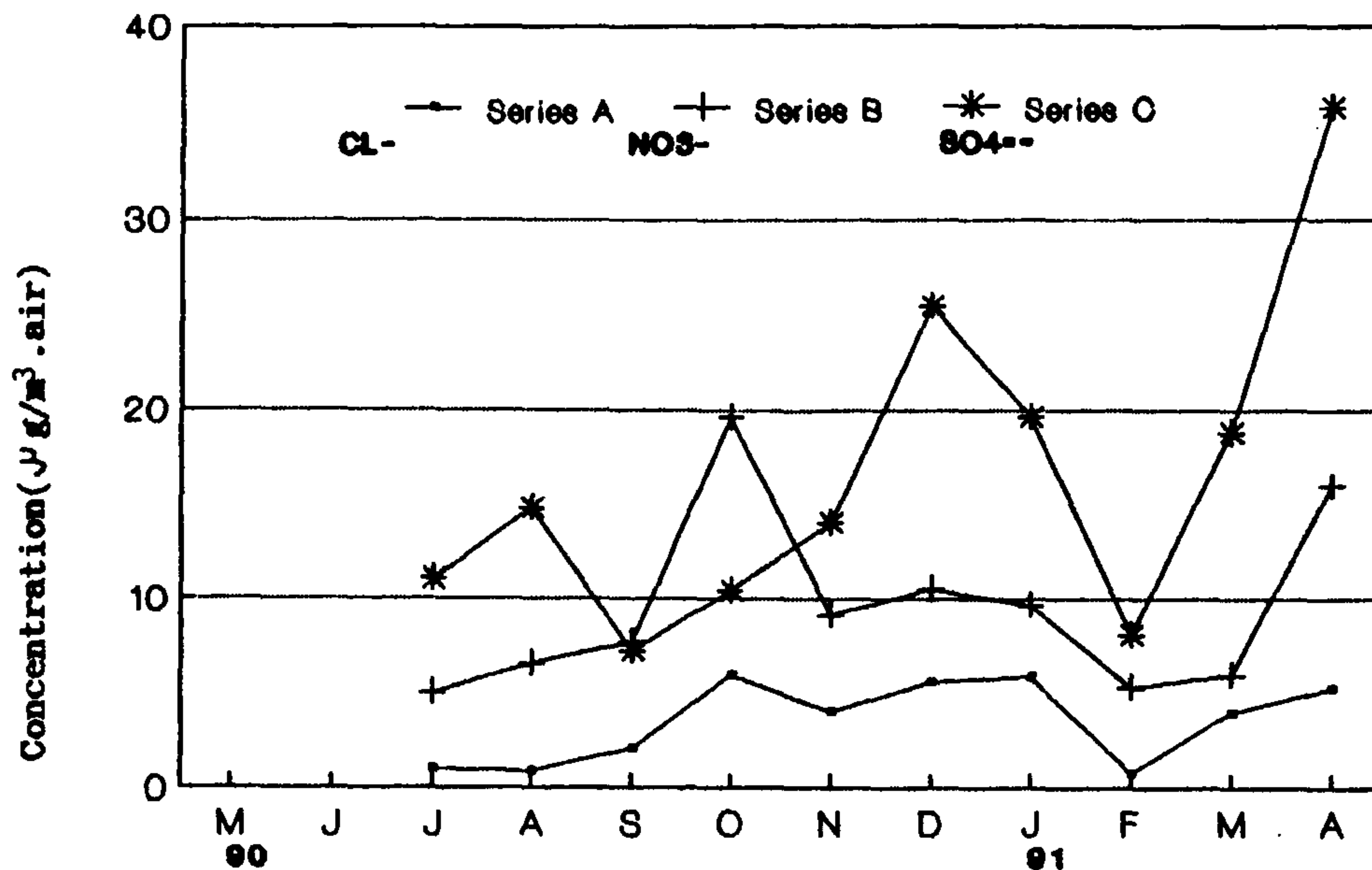


Fig. 33. Monthly variation of chloride, nitrate and sulfate ion concentration at Kwanghwamoon.

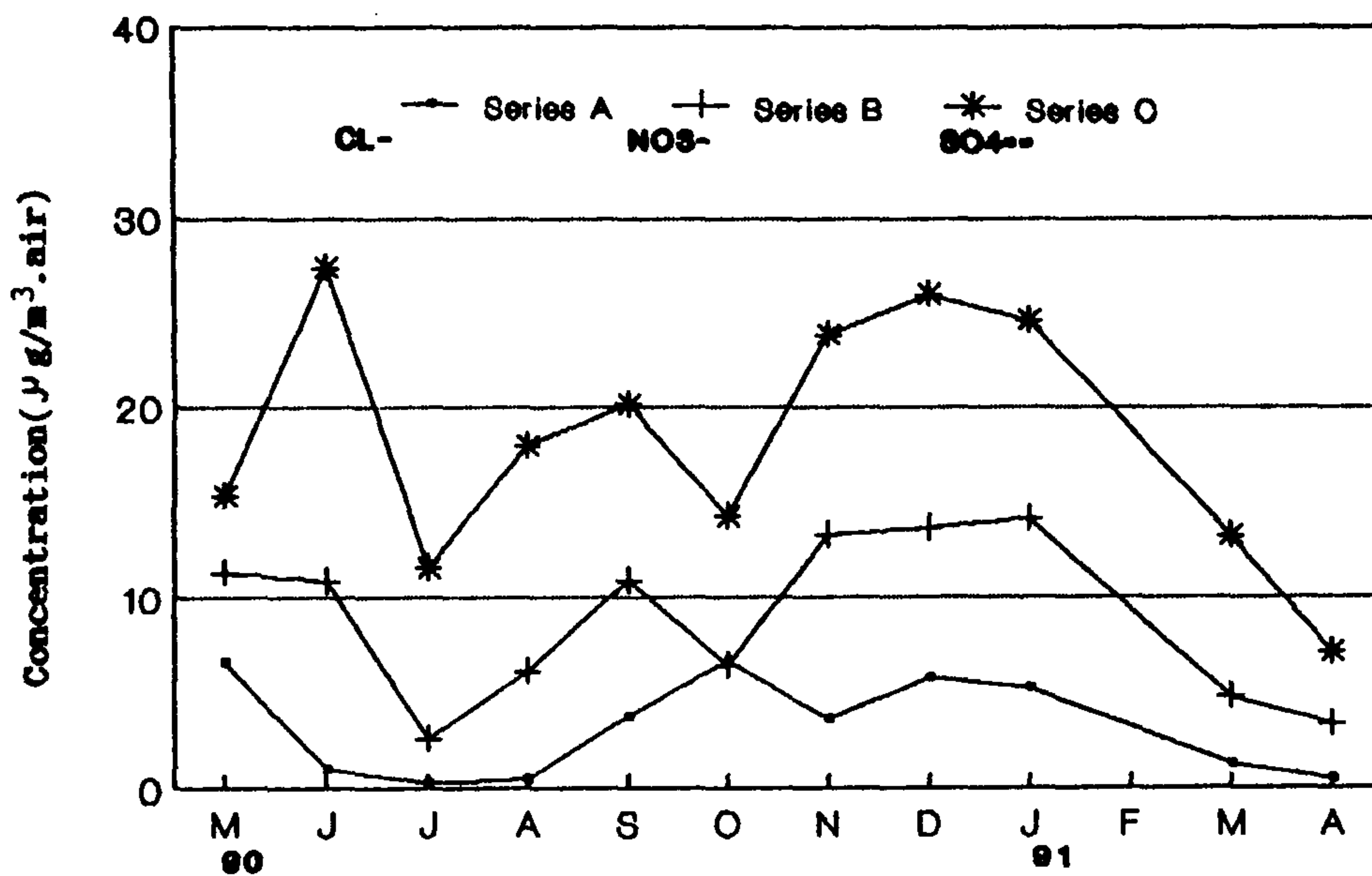


Fig. 34. Monthly variation of chloride, nitrate and sulfate ion concentration at Pangi-dong.



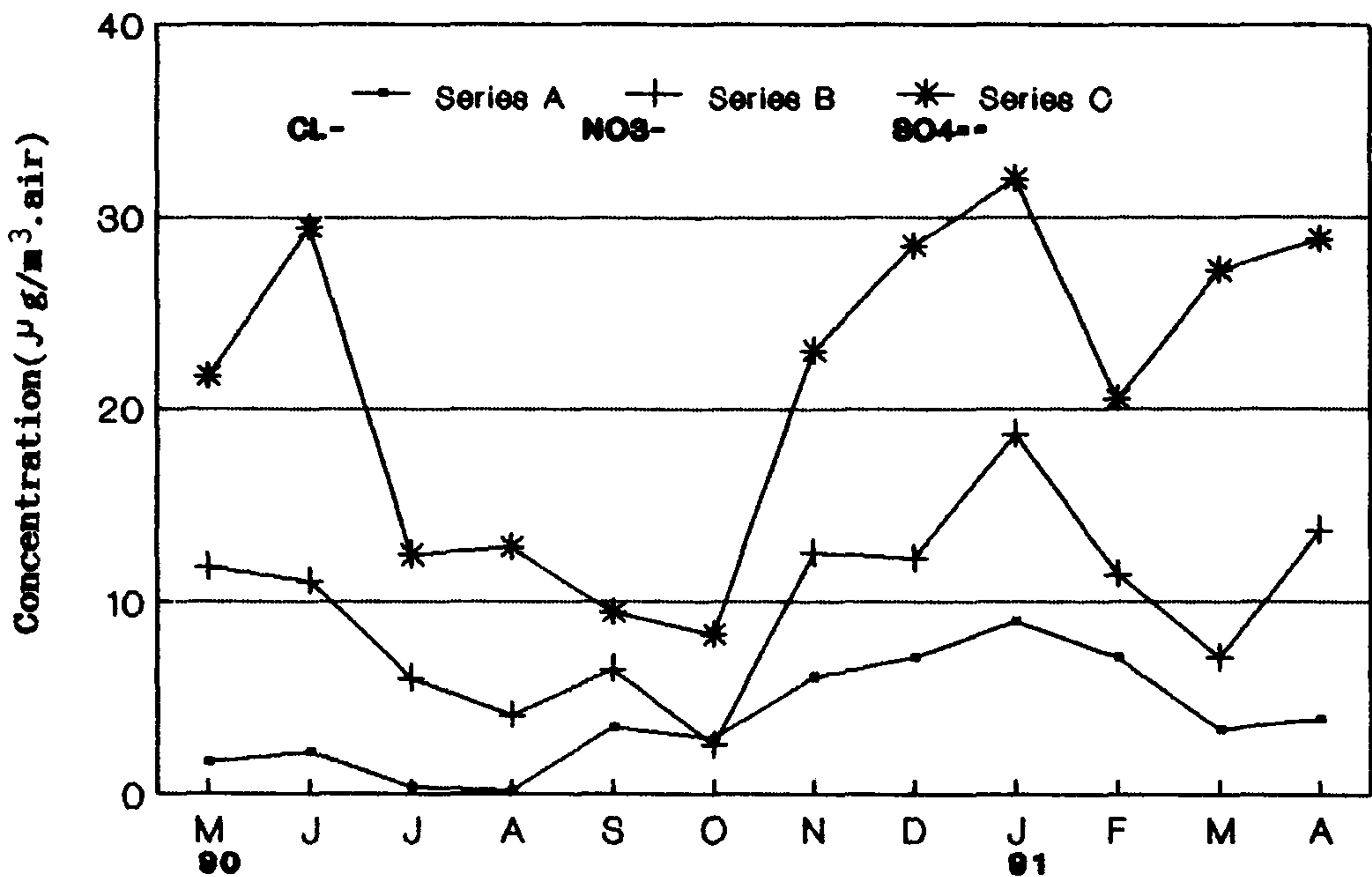
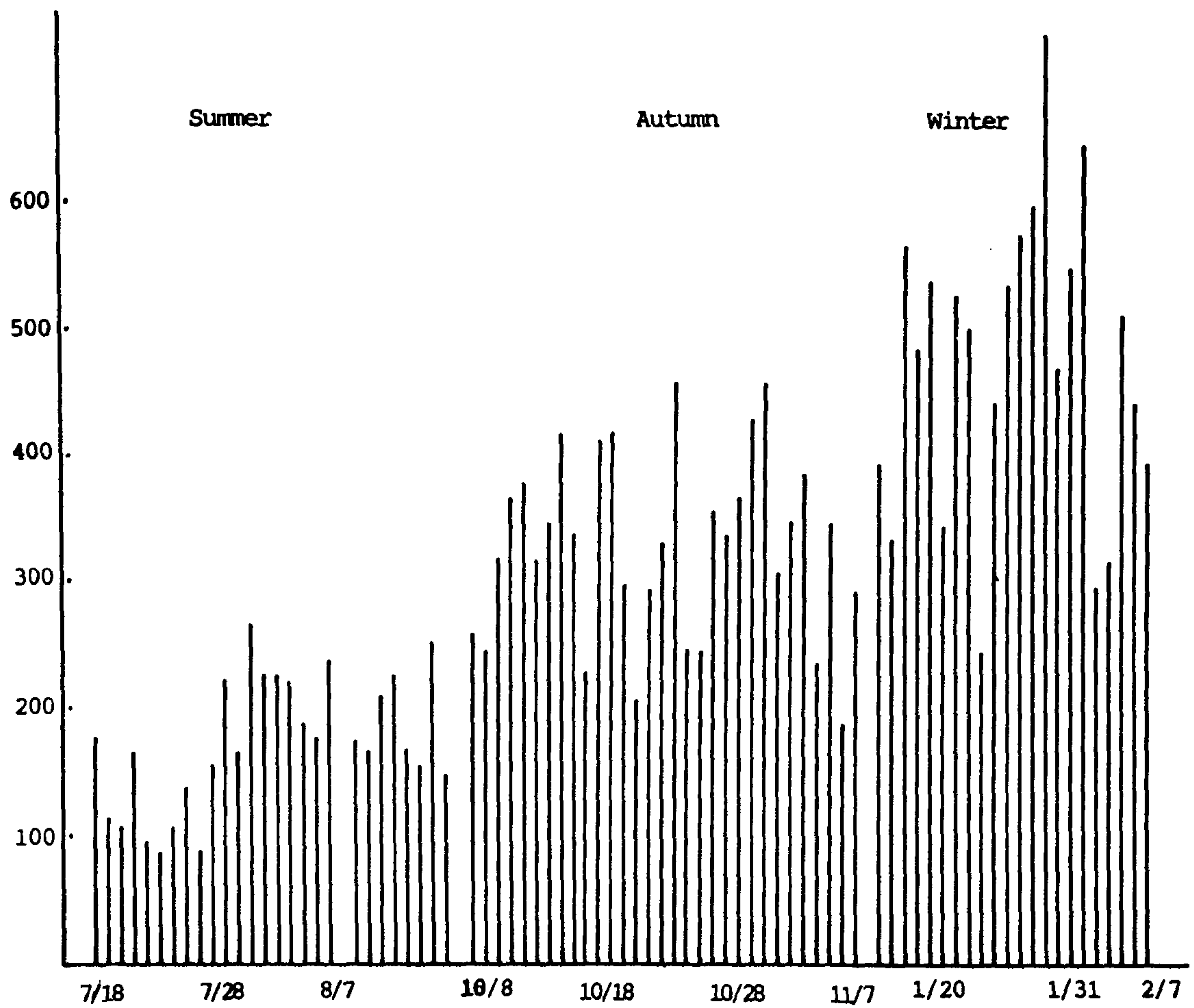


Fig.35 . Monthly variation of chloride, nitrate and sulfate ion concentration at Hannam-dong.

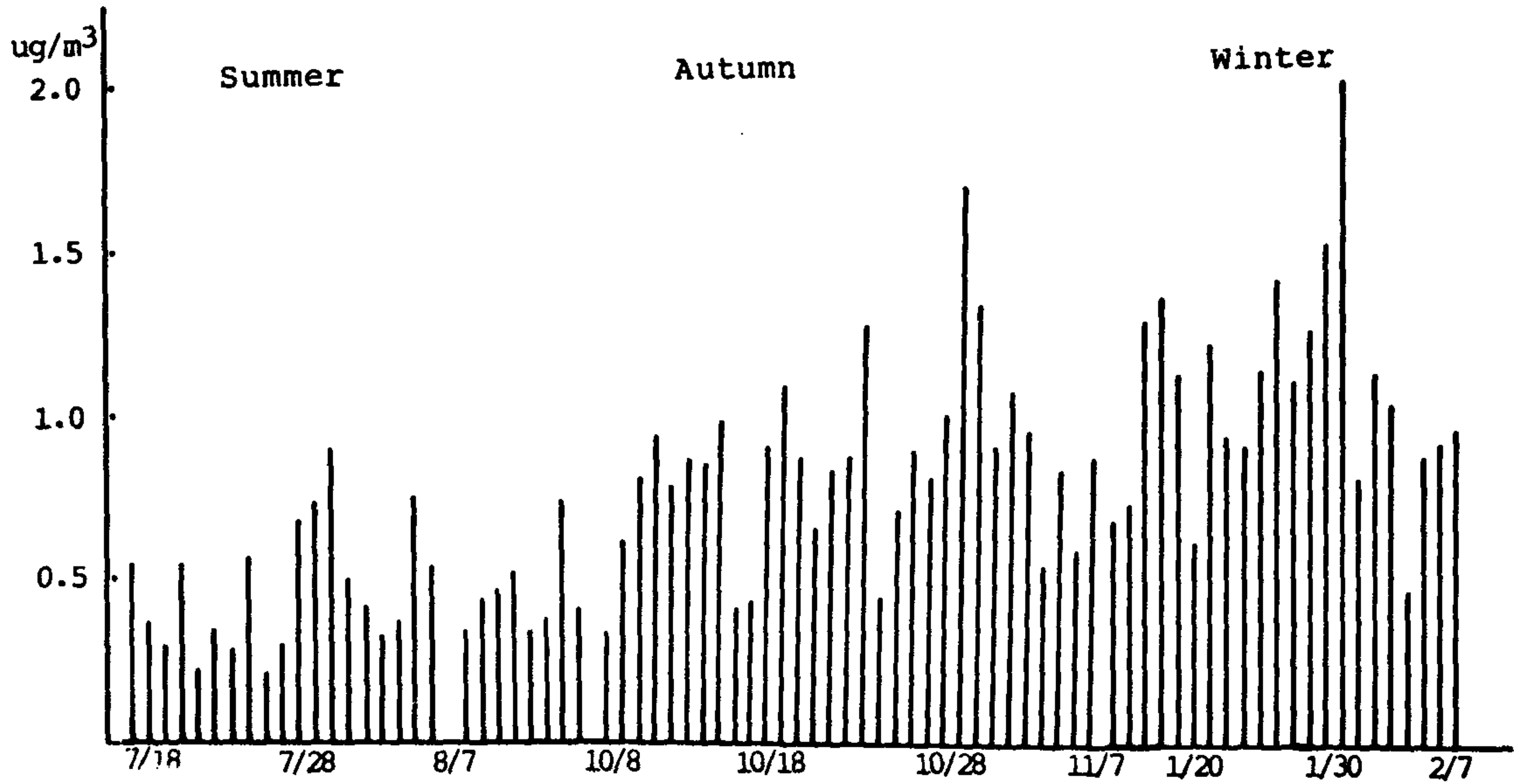
특히 광화문의 경우는 여름, 가을철에 비하여 겨울, 봄철에는 예는 약 2배의 농도로 나타났다. 대기중의 이온성분을 측정하는 경우 2차 생성기원의 이온성분의 입도별분포는 계절변동이 크다는 것이 보고<sup>61,62)</sup> 되고있으므로, 단기적인 측정은 의미가 없고, 장기적인 조사가 필요하다고 생각된다.

Fig. 36~38은 광화문지역에서 계절별로 1개월간씩 계속측정한 TSP, Pb, 황산이온의 경일변동의 pattern을 각각 나타낸 것이다.

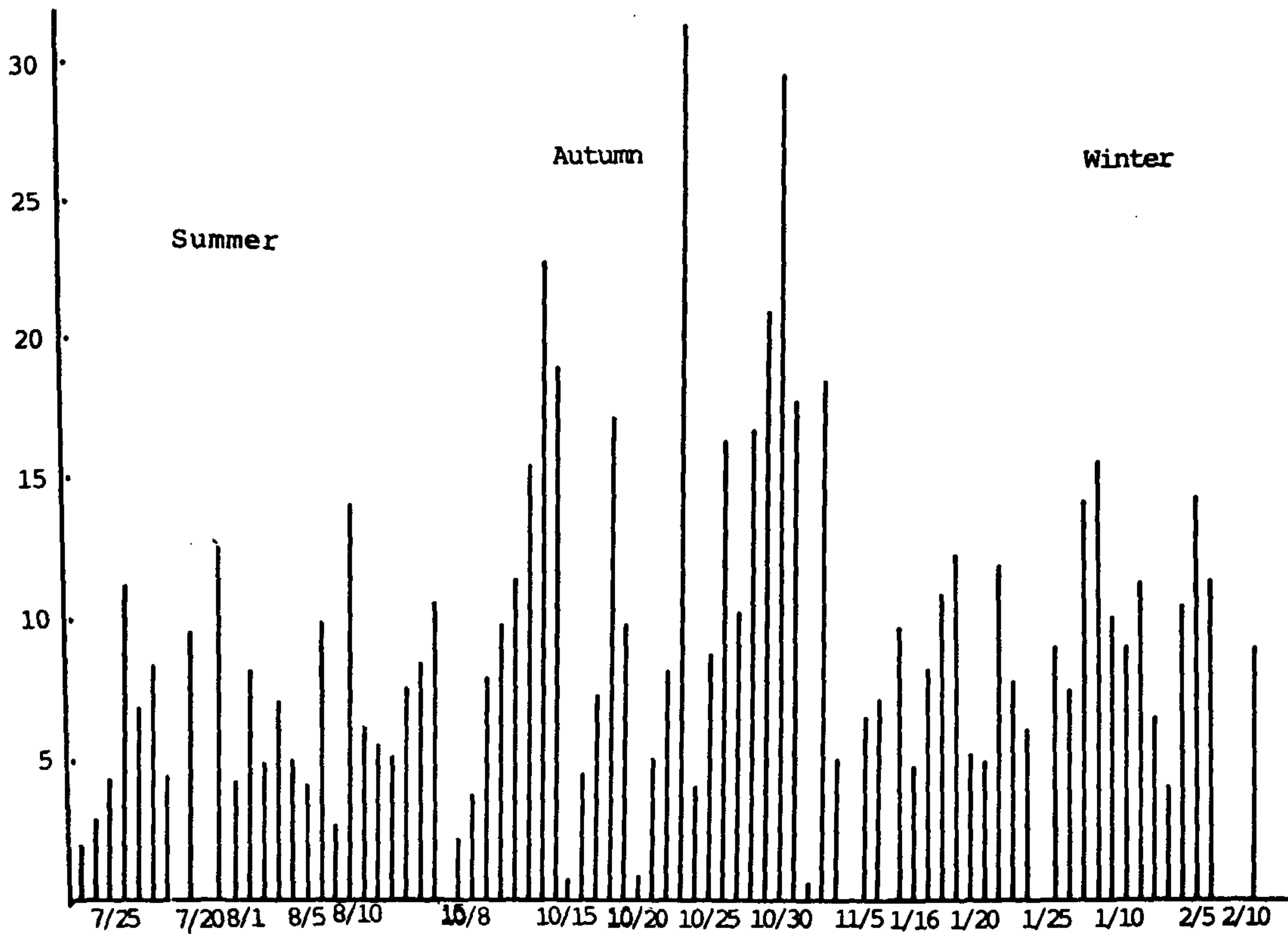
부유분진의 농도는 앞에서 언급한 바와 같이 겨울>가을>여름>의 순서와 같으며 변동계수는 여름이 28.8%로 가장 높았고, 가을철이 22.2%로 가장 낮은 변동폭을 나타내었다.



**Fig. 36.** Diurnal variation of total suspended particulate concentration in ambient air at Kwanghwa moon.



**Fig. 37. Diurnal variation of Lead contents in ambient air at Kwanghwamoon.**



**Fig. 38. Diurnal variation of nitrate contents in ambient air at Kwanghwamoon.**

Pb 농도의 변동계수는 여름철이 37.8%로 가장 높았고, 겨울철이 31.9%로 가장 낮아 TSP와는 정반대의 pattern을 나타내었으며, 변동폭도 TSP 보다는 큰 것으로 나타났다.

질산이온 농도의 변동계수는 가을이 68.1%, 여름이 49.5%, 겨울이 34.1%로 계절간 변동계수는 매우 큰 차이가 있었으며, 가을과 겨울철의 농도는 각각  $10.8 \pm 7.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ,  $9.50 \pm 3.24 \mu\text{g}/\text{m}^3$  으로 비슷한 수준인데 비하여 여름철은  $6.70 \pm 33.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$  으로 다소 낮았다.

광화문과 광암리 2개 지역에서 각 성분간의 상관계수를 구한 것이 Table 17이다.

광화문에 TSP와 Pb사이에서 상관계수 0.8이상으로 높은 상관성을 나타낸 반면 광암리에는 0.4384로 5% 유의수준에서 상관성을 나타내었고, TSP와 Fe 사이는 이와 반대되는 현상으로 나타나, 이는 배출원의 영향을 강하게 추정케 하는 부분이다. 광화문에서는 Ni과 타성분, Zn과 타성분간에 상관성이 없거나 적었으며, 광암리에서는 Pb, Cu 그리고 Zn과 다른성분 사이에서 상관성이 없거나 적었다.

또 하나의 두지역간의 특징은, 염소이온과 다른 성분과의 상관성에 있다. 광화문은 이들 성분상호간에 상관성이 높는데 비하여, 광암리에서는 거의 없는 것으로 나타났다. 이는 시료채취 지점 주변의 오염원 분포와 풍향등에 따른 오염원의 영향으로 추정된다.

Table 17. Correlation coefficients between Heavy metal compounds and water soluble matters.  
(Kwanghwamoon/Kwangam-ri)

	TSP	Pb	Fe	Mn	Cd	Ni	Cu	Co	Zn	V	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	
Heavy metal	TSP	0.4384*	0.8807**	0.5777**	0.8525**	0.8835**	-0.3400	0.8820**	0.5315**	0.9293**	0.1706	0.6751**	0.5452**	
	Pb	0.8029**		0.3003	0.1040	0.4813**	0.4820**	-0.1986	0.3582	0.0777	0.3971*	0.3745*	0.3398	0.2223
	Fe	0.6846**	0.5819**		0.6478**	0.6792**	0.8108**	-0.2038	0.8540**	0.2682	0.7809**	0.0951	0.5230**	0.4610*
	Mn	0.5183**	0.5960**	0.6874**		0.4638**	0.5896**	-0.1018	0.5836**	0.2037	0.5421**	0.0194	0.2536	0.0941
	Cd	0.7716**	0.8733**	0.5461**	0.5109**		0.8872**	-0.3405	0.7014**	0.4819**	0.8261**	0.2606	0.6474**	0.4663*
	Ni	-0.0145	0.2183	0.0840	0.2380	0.2520		-0.3850*	0.8046**	0.3667*	0.8834**	0.1194	0.6387**	0.4430*
	Cu	0.7511**	0.8162**	0.6741**	0.7403**	0.7852**	0.2726		-0.1114	-0.4129*	-0.4870**	-0.0585	-0.2009	-0.2408
	Co	0.5677**	0.5048**	0.4049*	0.3914*	0.4973**	0.3499*	0.6132**		0.3402	0.8310**	0.0989	0.6746**	0.4776*
	Zn	0.3383	0.2944	0.4451*	0.5554**	0.2198	0.0536	0.3548*	0.2905		0.8896**	-0.0647	0.2900	0.2597
	V	0.8684**	0.8538*	0.4863*	0.5362**	0.8708**	0.1800	0.7219**	0.4951*	0.4905*		0.0428	0.6082**	0.4961*
Water soluble matter	Cl <sup>-</sup>	0.7987**	0.7206**	0.6583**	0.5087*	0.6988**	0.4461*	0.7569**	0.4311*	0.2950	0.8024**		0.2565	0.1396
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.5567**	0.6577**	0.3972	0.4488*	0.7116**	0.5597**	0.7310**	0.2940	0.1299	0.7732**	0.6360**		0.7978**
	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0.6210**	0.4861*	0.5366**	0.3682	0.5088*	0.3422	0.4096	0.5770**	0.2303	0.3299	0.4948*	0.0973	

\*P<0.05, \*\*P<0.01



## 제 4 장 결 론

서울지역 5개 측정점(광화문, 광암리, 구로동, 방이동, 한남동)에서 1990년 6월부터 1991년 5월까지 1년간 매주 수요일부터 목요일까지 24시간, High volume air sampler를 이용하여 대기부유분진을 포집한 후, 유기물을 추출하여 Salmonella typhimurium TA 98 및 TA 100에 대한 돌연변이원성을 측정하였다. 또, 돌연변이원성 기여물질의 검색을 위하여 화학분석을 시도, 다환방향족탄화수소와 Nitro방향족탄화수소의 검출에 대한 검토를 하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 대기부유분진의 월평균농도( $\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ )는 112~464의 범위에 있었고, 총평균치는 287로서, 전측정회수의 58%가 단기환경기준치  $300\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 를 초과하였다. 계절변동은 6, 7, 8월의 하절기에 저농도( $151\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ ), 12, 1, 2월의 동절기에 고농도( $341\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ )를 나타내는 전형적인 도시형분포였으며, 황사현상의 기여로 인한 4월의 평균치는  $370\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 로 가장 높은 부유분진농도를 보이는 특징이 나타났다.

지역별 부유분진농도는 광화문>한남동>구로동>방이동>광암리의 순으로 높았고, 이는 자동차 통행량과 밀접한 관계를 갖고 있음이 시사되었다.

2. 부유분진으로부터 추출한 유기물농도는 단위중량의 분진에 대하여 18~28%의 범위였고, 평균은 23%이었다.

공기 1㎥당의 유기물농도는 11, 12, 1월의 동절기가  $63\sim 103\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 로 6, 7, 8, 9월의 하절기의  $28\sim 47\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 에 비하여 약 2.5배 높은 농도를 나타내어, 동절기의 화석연료사용량의 증가를 반영하는 결과이었다.

지역별 유기물농도는 부유분진농도의 역순으로 나타났다. 황사 현상으로 부유분진농도가 최고치를 나타냈던 4월의 분진으로부터는 22%의 유기물이 추출되어 연간 평균치를 하회하는 낮은 값이다.

3. 돌연변이원활성의 총평균치는 TA 98군주의 경우, S-9 mix 비첨가의 계에서 48, 첨가의 계에서 37이었고, TA 100군주의 경우, 전자는 40, 후자는 38로, TA 98이 TA 100에 비하여 S-9 mix 비첨가의 계가 첨가의 계에 비해 약간 높은 활성을 나타내었다. 이는 서울지역의 대기부유분진중에는 frameshift type의 mutagen 및 direct-acting type의 mutagen이, base-pair substitution type의 mutagen 및 promutagen보다 상대적으로 다량함유되어 있을 가능성을 시사하였다.

돌연변이원활성의 계절변동은 겨울>봄>가을>여름의 순으로, 난방을 위한 화석연료사용량의 증가로 인함이 시사되었다. 지역별로는 한남동이 가장 높아, 가장 낮게 나타난 광암리에 비하여 약 2배의 활성도를 나타내었다.

4. 유기추출물을 분석한 결과, liquid-liquid partition에서는 증성분획물이 가장 높은 변이원활성을 나타내었고, 증성분획물에 대한 Silica gel column chromatography에서는, benzene용출물이 가장 높은 변이원활성을 나타내었다. benzene용출물에 대하여 thin-layer chromatography 한 결과 6번째 fraction( $R_f : 0.47 \sim 0.52$ )이 TA 98군주에서 S-9 mix 첨가의 유무에 관계없이 가장 높은 변이원활성을 나타내었다.

5. 대기부유분진중의 유기물중 돌연변이원활성의 기여도가 높은 다환방향족탄화수소 분석을 위하여는, High volume air sampler에 의한 quartz fiber filter상에 포집하는 방법이 가장 유효하였고, 축

합환수가 4 이하인 PAH에 대하여는 quartz fiber filter에 이어 Urethane foam을 직렬로 연결하여야 포집 가능한 것으로 나타났다.

포집시료는 휘산성이 높은 성분의 손실을 방지하기 위하여  $-20^{\circ}\text{C}$  이하의 냉암소에 보존할 필요가 있었다.

상기 분획물에 대하여 분광형광광도법으로 benzo(a)pyrene을 분석정량한 결과 회수율 99.8% 변동계수 1.75%로 양호한 결과를 얻었다.

6. 부유분진중 극미량으로 존재하면서 최고의 변이원활성, 발암성을 나타내는 방향족nitro화합물에 대하여 수소화붕소나트륨-염화제 2등으로 amino로 환원하여 HPLC 및 형광검지기로 분석정량하는 방법을 검토한 결과 실제 농도 측정에 적용가능함이 시사되었다. 즉, 부유분진 1mg당 0.01ng 이상의 1-nitropyrene 및 6-nitrobenzo(a)-pyrene의 정량에는 유효한 방법이었으나, 3-nitrofluoranthene의 정량에는 검출한계가 미치지 못 하였다.

7. 부유입자단위중량당의 각 화학성분함량중 Pb, Mn, Cd, V, Co등은 추동기에 춘하기보다 매우 높게 나타났는 바 그 원인은 추동기의 난방과 차량배기가스의 영향으로 사료되며, Fe, Ni 및 Zn은 하절기에 다소 낮고 다른 계절에는 그다지 큰 변동을 하지 않고 있으며, Cu는 가을철이 다른 계절보다도 높게 나타났다. Pb의 경우, 광화문, 한남동 및 구로동이 방이동과 광암리보다 높게 나타났으며 지역간 편차는 여름철이 가장 크게 나타났다.

입자의 구성성분중 20~30%를 차지하는 전이온성분농도는 동기에 높고, 하기에 낮은 계절변동을 나타내었다.



## 참고문헌

- 1) Kennaway, E.L., Waller, R. E.: Studies of cancer of the lung : Cancer and the lung(J.clemensen, eds.), Acta Un. Int. Cancer, Paris, Council for International Organization of Medical Sciences, 59~64 (1953)
- 2) Haenzel,W., Loveland, D.B. and Sirken, M.G.: Lung cancer mortality as related residence and smoking histories, I. White males, J. Natl. Cancer Inst., 28:947~1001(1962)
- 3) Carnow, B. W. and Meier, P. : Air Pollution and Pulmonary Cancer, Arch. Enviorn. Health, 27:207~218(1973)
- 4) Hoffman,D. Wynder, E.L.: Chemical carcinogens, ACS monography 173: 324~365, American Chemical Society, Washington, D.C.(1976)
- 5) Inoue, R., Okamoto, E., Hirayama, O., Sugita, T. : Lung Cancer and Air pollution, J. Japan Public Health, 20:207~213(1973)
- 6) Takemoto,K.: Lung disease by air pollution, J. Japan Soc. Air. Pollut. 10:763~769(1976)
- 7) Menk, H.R., Casagrande, J.T. and Henderson, B.E. : Industrial air pollution : Possible effect on lung cancer, Science, 183:210~212 (1974)
- 8) Shimizu, T.: Lung cancer mortality and air pollution in Osaka : J. Japan Soc. Air Pollut. 10:779~783(1976)
- 9) Shimizu, T., Tominaga, S., Nakagawa, N. and Ishikuro, T. : Epidemiological study on the lung cancer, J. Japan Soc. Air Pollut. 14: 324~333(1979)
- 10) Imai,M., Yoshida,K., Kasama,K.Kitabatake,M., Tamita,Y. and oOshima, H. : Air pollution and lung cancer, J. Japan Hygiene 35:493~498(1980)
- 11) Epstein, S. S., Joshi, S., Andr ea, J., Mantel, N., Sawicki, S., Stanlay, T. and Tabor, E. C. : Carcinogenicity of organic particulates Pollutants in Urban air after administration of trace quantities to neonatal mice, Nature, 212:1305~1307(1966)
- 12) Asahima, S., Andrea, J., Carmel,A., Arnold, E., Bishop, Y., Toshi, S., Coffin, D. and Epstein, S. S. : Carcinogenicity of organic fractions of particulate pollutants collected in New York City and administrated subcutaneously in infant mice, Cancer Res.,32:2263~2268(1972)
- 13) Hoffmann, D., Wynder, E. L. : Organic particulate pollutants, Chemical analysis and bioassays for carcinogenicity, In, Air Pollution, Vol. II, The Effects of Air Pollution(A.C. Stern, eds.), Academic Press, 316~455(1977)



- 14) Japan Science and Technique Information Center : Review of atmospheric carcinogen : polycyclic aromatic hydrocarbons, Tokyo, Japan (1980)
- 15) IARC : Polynuclear Aromatic C'ompounds, Part I, IARC Monographs Vol. 32, Lyon, France(1983)
- 16) IARC : Polynuclear Aromatic C'ompounds, Part II, IARC Monographs Vol. 33, Lyon, France(1984)
- 17) IARC : Air pollution and cancer in man, IARC Publication No.16 (1977)
- 18) Goto, S., Kato, Y., Orii, A., Tanaka, K., Hisamatsu, Y. and Matsushita, H. : Daily variation of mutagenicity of airborne particulates, J. Japan Soc. Air Pollut. 17:295~303(1982)
- 19) Kitamori, S., Horikawa, K., Kataoka, K. and Tokiwa, H. : Mutagenic activity of air pollutants in urban area, J. Japan Public Health, 29:37~42(1982)
- 20) Ooe, T. : The study of the mutagenicity of tar in airborne particulates, J. Japan Public Health, 29:261~272(1982)
- 21) Teranishi, K., Hamada, K. and Watanabe, H. : Mutagenicity in Salmonella typhimurium mutants of the benzene-soluble organic matter derived from airborne particulate matter and its five fractions, Mutation Res., 56:273~280(1978)
- 22) Tokiwa, H., Kitmoto, S., Takahashi, K. and Ohnishi, Y.: Mutagenic and chemical assay of extracts of airborne particulates, Mutation Res. 77:99~108(1980)
- 23) Fukino, H., Mimura, S., Inoue, K. and Yamane, Y. : mutagenicity of airborne particles, Mutation Res., 102:237~247(1982)
- 24) Moller, M. and Alfheim, I.: Mutagenicity and PAH-analysis of airborne particulate matter, Atmos. Environ., 14:83~88(1980)
- 25) Alink, G.M., Smit, H.A., van Houdt, J.J., Kolkman, J.R. and Boleij, J.S.M. : Mutagenic activity of airborne particulates at non-industrial locations, Mutation Res., 116:21~34(1983)
- 26) Goto, S., Kawai, A., Yonekawa, T. and Matsushita, H. : Ultrasonic extraction method-A technique for mutagenicity monitoring of airborne particulates, J. Japan Soc. Air Pollut. 17:53~57(1982)
- 27) Hughes, T.J., Pellizzari, E., Little, L., Sparacino, C and Kolber A.: Ambient air pollutant: Collection, chemical characterization and mutagenicity testing. mutation Res.76 : 51-83 (1980)

- 28) Yoo, Y. S. : Mutagenic and antimutagenic activities of flavoring agents used in foodstuffs. The J. of the Osaka City Medical Center. 34 : 267-288 (1985)
- 29) McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E. and Ames, B.N. : Detection of Carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. Proc. Natl. Acad Sci. USA 72 : 5135-5139 (1975)
- 30) Purchase, I.F.H., Longstaff, E., Ashby, J., Styles, J.A., Anderson, D., Lefevre, P.A and Westwood, F.R. : Evaluation of six short term tests for detecting organic chemical carcinogens and recommendations for their use. Nature 264 : 624-627 (1976)
- 31) Sugimura, T., Sato, S., Nagao, M., Yahagi, T., Matsushima, T., Seino, Y., Takeuchi, M. and Kawachi, T. : Overlapping of carcinogens and mutagens. In P.N. Magee et al. [ed.], Fundamentals in cancer prevention, 191-215, University of Tokyo Press, Tokyo/University Park Press, Baltimore (1976)
- 32) Kuroda, K., Haruki, K. and Yoo, Y.S. : Cytotoxicity and mutagenicity of airborne particulates. Annual Rep. of Osaka city Inst. of Public Health and Environ. Scis. 48: 41-44 (1986)
- 33) Kuroda, K., Yoo, Y.S., Yoshikura, T. and Oka, M. : Mutagenicity of airborne particulates. Annual Rep. of Osaka city Inst. of Public Health and Environ. Scis. 46: 31-35 (1984)
- 34) Kim, M.Y., Kang, H.G., Lee, W.J., Lee, S.C., Chang, B.H. and Park, S.H. : Studies on meteorological factors and other air pollutants influence upon ozone concentration and its behaviour. Report of S.I.H.E., 24:222-271(1988)
- 35) Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. : Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. Mutation Res. 31: 347-364 (1975)
- 36) Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T. and Sugimura, T. : Mutagenicities of N-nitrosoamines of Salmonella. Mutation Res. 48: 121-130 (1977)
- 37) Maron, D.M. and Ames, B.N. : Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Res. 113:173-215 (1983)
- 38) Kuroda, K. and Yoo, Y.S. : mutagenicity tests. Seikatsu Eisei 26: 286-290 (1982)
- 39) Daisey, J.M. and Leyko, M.A. : Thin-layer gas chromatographic method for the determination of polycyclic aromatic and aliphatic hydrocarbons in airborne particulate matter, Analytical chemistry, 51, 24-26(1976)



- 40) Pitts, J.N., Grosjean, D. and Mischke, T.M.: mutagenic activity of airborne particulate organic pollutants. *Toxicology Letters*, 1: 65-70(1980)
- 41) Wang, A.P., Lee, M.S. and Warner, P.O.: Evidence for nitroaromatics as direct-acting mutagens of airborne particulates. *Chemosphere* 9: 83-87 (1982)
- 42) Nishimura, T., Goto, S. and Matsushita, H.: mutagenicity and benzo(a)pyrene contents in ambient particulates in Tokyo. *J. Japan Soc. Air Pollut.* 19: 228-238 (1981)
- 43) Haugen, A.D. and Peak, M.J.: Mixtures of polycyclic aromatic compounds inhibit mutagenesis in the Salmonella/microsome assay by inhibition of metabolic activation, *Mutation Res.* 116:257-269(1983)
- 44) Goto, S., Kawai, A., Takagi, Y., Endo, O., Murada, M. and Matsushida, H. : Effects of pyrene or benzo(a)pyrene on the mutagenicity of trinitrochlorobenzene or teranitrocarbazole. *J. Japan Soc. Air Pollut.* 18:496-507(1983)
- 45) Swarin, S.J. and Williams, R.L.: Liquid chromatographic determination of benzo(a)pyrene in diesel exhaust particulate, In *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, Chemistry and Biological Effects*, Bjorseth, A. and Dennis, A. J. eds. Battelle Press Columbus, Ohio, 771-790(1979)
- 46) Tabata, T., Sueta, S. and Shigemori, N. : Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne dust by glass capillary column gas chromatography and its computerized gas chromatography/mass spectrometry system. *J. Japan Soc. Air Pollut.* 13:58-66(1978)
- 47) Kuhn, W. E., *Org. Synth.*, II 447(193)
- 48) Morita, K., Fukamachi, K. and Tokiwa, H. : Determination of aromatic nitro compounds in air pollutants by gas chromatography. *Bunseki Kagaku*, 31:255-260(1982)
- 49) Satoh, T., Naoki, M., Nishiki, M., Inoue, Y. and Ooi, Y. : Selective reduction of aromatic nitro compounds with sodium borohydride-destannous chloride. *Chem. Pharm. Bull.*, 29:1443-1445(1981)
- 50) Nose, A. and Kudo, T. : Reduction with sodium borohydride transition metal salt. I reduction of aromatic nitro compounds with the sodium borohydride-nickelous chloride system. *Chem. Pharm. Bull.*, 29:1159-1161(1981)
- 51) Morita, K. and Fukamachi, K. : Determination of aromatic nitro compounds in air by gas chromatography. *Eisei Kagaku*. 27:169-174(1981)

- 52) Yu, M.L. and Hites, R.A. : Analysis of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel particles, *Anal.Chem.*, 54:265-271(1981)
- 53) Yergey, J.A., Risby, T.H. and Lestz, S.S. : Shemical characterization of arganic adsorbates on diesel particulate matter, *Anal.Chem.*, 54:354-357(1982)
- 54) Newton, D.L., Erickson, M.D., Tomer, K.B., Pelizart, E.D., Gentry, P. and Zweidingers, R. B. : Identification of nitroaromatics in diesel exhaust particulate using gas chromatography/negative ion chemical ionization mass spectrometry and other techniques, *Environ, Sci. Technol.*, 16:206-213(1982)
- 55) Schuetzle, D., Riley, T.L., Harvey, T.M. and Hunt, D.F.: Anlysis of nitrated ploycyclic aromatic hydrocarbons in diesel particles, *Anal. Chem.* 54:265-271(1982)
- 56) Schuetzle, D., Lee, F.S.C. and Prater, T.J. : The identification of polynuclear aromatic hydrocarbons(PAH) derivatives in mutagenic fractions of diesel engine emission particulates extracts, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 9:93-144(1981)
- 57) Gibson, T.L., Ricci, A.I. and Williams, R.L.: Measurement of polynuclear aromatic hydrocarbons, their derivatives and their reactivity in diesel automobile exhaust, In *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons:Chemical Analysis and Biolgical Fate*, Cooke,M. and Dennis, A.J. eds. Battele Press, Columbus, Ohio, 707-717(1981)
- 58) Pitt, J.N. Jr., Cauwenberghe, K.A.V., Grosjean, D., Schmid, J.P., Fitz, D.R., Belser Jr. W.L., Knudson, G.B. and Hynds, P.M.: Atmospheric reaction of polycyclic aromatic hydrocarbons : facile formation of mutagenic nitro derivatives, *Science*, 202:515-519(1978)
- 59) Pitts, J.N.Jr. and Phil, T.R.: *Soc. London, Ser, A.*, 290:551(1979)
- 60) Tokiwa, H., Nakagawa, R., Morita, K. and Ohnishi, Y.: Mutagenicity of nitro derivatives induced by exposure of nitro compounds to nitrogen dioxide, *Mutation Res.*, 104:17-23(1981)
- 61) Kadowaki, S. : Size distribution of atmospheric total aerosols, sulfate, ammonium and nitrate particulates in the Nagoya area, *Atmos. Environ.*, 10:39-43(1976)
- 62) Kadowaki, S.: Size distribution of chemical composition of atmospheric particulate nitrate in the Nagoya area, *ibid.*, 11:671-675(1977)