

수생생물을 이용한 유해물질의 독성평가에 관한 연구

한 의 정

국립환경연구원

Study on the Sensitivity of Aquatic Organisms to the Toxic Materials

Eui Jung Han

National Institute of Environmental Research

Abstract

Acute toxicity of heavy metals(Mercury, Cadmium, Lead, Chromium, and Copper), Organophosphorus insecticides(EPN, 2,4-D, and Parathion), and other chemicals(Arsenic, Cyanide, and Phenol) to *Daphnia magna*, and *Vibrio fischeri* was analyzed.

Daphnia magna to most toxic chemicals was most sensitive among test organisms and then *Daphnia magna* seems to be more useful in toxic test of water.

Daphnia magna was more sensitive to heavy metals than insecticides and other chemicals. The sensitivity of *Vibrio fischeri* to heavy metals was not so different from that to insecticides and the sensitivity to other chemicals was low.

Vibrio fischeri appears to be more sensitive to toxic chemicals than *Photobacterium phosphoreum*, which was compared as recorded values of *P. phosphoreum*.

Toxic chemicals were classified as Group 1 which had a high EC_{50} or LC_{50} value and the low increase rate of toxicity according to the increase of concentration, Group 2 which had a high EC_{50} or LC_{50} value and the high increase rate of toxicity, Group 3 which had a low EC_{50} or LC_{50} value and the high increase rate of toxicity, and Group 4 which had a low EC_{50} or LC_{50} value and the low increase rate of toxicity.

To *Daphnia magna*, Lead, Chromium, EPN, and Parathion were included in Group 1 :

Mercury and Copper in Group 2 : Arsenic and Cadmium in Group 3 : Cyanide, 2,4- D, and Phenol in Group 4.

To *Vibrio fischeri*, Lead, Chromium, 2,4- D, and Parathion were included in Group 1 : Mereumry, Cadmium, and Arsenic in Group 2 : Cyanide in Group 3 : EPN, Copper, and Phenol in Group 4.

I. 서 론

산업의 발달과 함께 산업의 다양화·복잡화로 인하여 수 많은 원료가 사용되고 있으며 그 부산물의 종류도 실로 헤아리기 힘들 정도로 생성되어 환경오염의 양상은 점점 복잡하고 다양해져 가고 있다. 이러한 추세에 따라 현재 세계적으로 약 천만종의 화학물질이 개발되어 널리 사용되고 있는 것만 하여도 10만 여종에 이르고 있으며 이러한 화학물질은 고유의 독성과 양에 따라 급성 또는 만성으로 환경에 악영향을 미치고 있다.

특히 하천이나 호소 등의 수질오염은 우리의 일상생활에 밀접하게 연관된 부분으로 오염정도 및 분포를 신속 정확하게 파악하는 것은 수질오염관리·대책수립에 필요한 것으로써 최근에는 원격탐사기법(Remote Sensing)에 의한 관측이나 수생생물을 이용한 생물검정(Bioassay)이 널리 이용되고 있다.

생물검정이란 어떤 물질의 시험생물에 대한 실험결과를 이의 기준 생물에 대한 결과와 비교함으로써 당해물질의 상대적인 강도를 결정하는 것으로 환경중에 있는 유해물질 및 그 화합물의 안전농도를 결정하는 것을 말한다. 이러한 유해물질에 의한 종합적인 위해성을 단지 화학적인 분석 자료에만 의존하기에는 문제가 있는 것으로 수 많은 단일 물질의 영향을 일일이 확인하기도 힘들 뿐더러 오염물질간의 화학반응으로 인하여 생성될 수 있는 새로운

물질의 영향은 더욱 강화될수도 있기 때문이다.

그러므로 화학분석에 우선하여 적당한 생물종을 선택하여 독성학적으로 관찰하는 생물시험(Biotest)이 실시되는데 시험생물로는 사육이 용이하며 세대교체 기간이 짧은 종으로서 독성에 민감하고 반응이 뚜렷한 종들을 이용한다.¹⁻³⁾

본 연구에서는 하천이나 호소 등 수계에 유입되는 미지의 각종 유해물질의 독성이 수생생물에 미치는 영향을 평가하기 위한 전 단계로서, 이미 알고 있는 물질에 의한 수생생물에의 영향을 파악하고 유해물질의 종류별 최적 공시생물의 제시를 목적으로 대상생물의 반응양상에 따른 민감성을 검토하였으며, 이는 수질보전 또는 생태계의 보전을 위한 생물검정에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

II. 시험재료 및 방법

1. 공시생물

공시생물은 먹이사슬의 각 단계에서 대표적인 생물로서 *Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*를 선택하였다. 이들 생물은 가장 큰 개체의 길이가 가장 작은 개체의 50%를 넘지 않는 크기가 거의 균일한 것을 사용하고 같은 연령(age group)의 것 혹은 같은 생활단계(life stage)의 것을 사용토록 하는 조건에 만족하는 것을 선별하여 실험하였다.⁴⁾

1) *Daphnia magna*

*Daphnia magna*는 부화직후의 유충이 0.8 mm 정도로 성충은 5-6mm에 이르며 생식은 유성생식과 무성생식을 되풀이하는 세대교번을 하는데 수명은 환경조건에 따라 차이가 있으나 평균 40-50일 생존한다.⁵⁾ 시험에 사용된 *Daphnia magna*는 독일보진성에서 분양받아 1년이상 계대배양한 것을 사용하였다.

2) *Vibrio fischeri*

유해물질의 평가시험에 사용되는 발광성 박테리아로는 ATCC(American Type Culture Collection)에서 제공되는 *Vibrio fischeri*와 *Photobacterium phosphoreum*을 비롯한 9종이 대개 사용되나⁶⁾ 금번 실험에서는 독일공업규격에 규정된 *Vibrio fischeri*를 사용하였다.⁷⁾

2. 대상유해물질

실험을 위한 대상유해물질은 중금속, 유기인계 농약 및 기타 유해물질로 대별하였다.

중금속으로는 수은, 카드뮴, 납, 6가크롬, 구리 등이 사용되었으며, 유기인계 농약으로는 EPN, 2,4-D, Parathion이 또한 기타 유해물질로는 비소, 시안 및 Phenol이 적용되었다.

수은, 카드뮴, 납, 6가크롬, 구리, 비소는 원자흡광분석용 표준원액을 희석하여 사용하였고, 시안은 환경오염공정시험법에 따라 조제하였다. 2,4-D 및 페놀은 분석용 특급 시약으로 조제하였으며, EPN은 96.5%의 원제를 적당량 취하여 같은 양의 아세톤에 용해시킨 후 다시 분산제를 몇 방울 가하였으며 Parathion은 97.1%의 원제를 적당량 취한 후 알코올에 녹이고 다시 분산제를 몇 방울 가하였다.

3. 시험방법

1) *Daphnia magna*

유해물질에 폭로시킨 *Daphnia magna*의 24시간 또는 48시간 후의 반수치사농도를 구하는 실험으로 그 결과는 통상 LC₅₀으로 표현된다.⁸⁾

희석수로 희석하여 log배율로 농도가 다른 시험물질을 25ml 비이커에 20ml씩 가하고 각 비이커당 24시간 미만된 *Daphnia magna* 5마리를 폭로시켰다. 24시간 후 비이커를 약하게 흔들어 15초 이상 움직이지 않으면 죽은 것으로 간주하여 그 결과를 기록하였으며 이 실험을 4회 반복하여 LC₅₀ 값을 산출하였다.

Table 1. Toxic materials used for test.

	Element	Compound
Heavy Metal	Mercury	HgCl ₂
	Cadmium	CdCl ₂
	Lead	Pb(NO ₃) ₂
	Chromium	K ₂ Cr ₂ O ₇
	Copper	CuCl ₂
Organo-phosphorus Insecticide	EPN	96.5%
	2,4-D	99%
	Parathion	97.1%
Others	Arsenic	As ₂ O ₃
	Cyanide	KCN
	Phenol	99%

2) *Vibrio fischeri*

발광 박테리아인 *Vibrio fischeri*에 대한 유해물질의 성장저해 작용을 발광량의 감소로 측정하는 것이 그 원리이며, DIN 38412 L34의 방법으로⁷⁾ 공인을 받은 LUMISTox system을 사용하였다.

*Vibrio fischeri*는 -18°C 이하로 냉동건조된 것을 pH7.0±0.2로 맞춘 2% NaCl 500

mℓ용액으로 희석하여 사용하였으며, 희석액의 pH 조정은 0.1N NaOH 또는 0.1N HCl로 하여 4°C의 냉장실에 보관한 것을 사용하였다.

5mℓ의 큐벳에 옮겨진 원시료나 희석된 시료를 incubator 상단에 희석배수가 작은 것에서 큰 것의 순서로 위치시켰으며, 그 희석배율은 다음과 같다.

1:1.5 1:2 1:3 1:4 1:6 1:8

1:12 1:16 1:24

활성화된 발광박테리아 현탁액 0.5mℓ를 취하여 측정큐벳에 넣어 온도조절부에 위치시키고 15분 후 측정부로 옮겨 측정하여 EC₅₀값을 구하였다.

III. 결과 및 고찰

1. *Daphnia magna*의 민감성

수생생물을 이용하여 유해물질의 독성, 특히 중금속에 대한 독성을 실험할 때에는 *Daphnia magna*가 가장 폭 넓게 사용되고 있는데⁹⁾, Anderson은 1940년대부터 여러 금속의 *Daphnia magna*에 대한 독성을 연구하였으며¹⁰⁾ Besch는 제초제 같이 미량의 유해물질이 존재할 때에는 *Daphnia magna* 같은 크기가 작은 생물을 시험에 이용하는 것이 좋다고 하였다.³⁾

*Daphnia magna*의 중금속에 대한 일반적 민감성을 검토하기 위하여 static test를 실시한 결과 수은의 LC₅₀값은 0.07mg/ℓ로 *Daphnia magna*에 대한 독성이 강한 것으로 나타났으며, 직접적인 비교는 곤란하나 Elnabarawy의 48시간 LC₅₀값인 0.01~0.06mg/ℓ보다는 다소 높은 농도 범위에 놓여 있었다.⁴⁾ 카드뮴과 6가크롬의 24시간 LC₅₀값이 각각 0.

73, 0.19mg/ℓ로 조사되어 역시 Elnabarawy의 48시간 LC₅₀값인 0.02~0.16mg/ℓ, 0.10~0.13mg/ℓ보다 다소 높은 범위에 있었다.¹¹⁾ 구리는 24시간 LC₅₀값이 0.08mg/ℓ로 나타나 EPA의 48시간 LC₅₀값인 0.06mg/ℓ를 약간 상회하였으며, 납의 LC₅₀값은 0.25mg/ℓ로 이는 EPA의 0.45mg/ℓ에 비해 다소 낮은 값이었다.²⁾

이런 결과를 각종 수질기준과 비교하여 보면, 사람의 건강보호를 위한 기준으로 설정하고 있는 카드뮴의 수질환경기준은 0.01mg/ℓ로서 24시간 LC₅₀값은 이보다 약 70배 높았으며, 6가크롬은 수질환경기준 0.05mg/ℓ의 4배 높은 값에서 LC₅₀값을 얻을 수 있었다. 구리의 LC₅₀값은 0.08mg/ℓ로 조사되어 수질환경보전법의 농수산물 재배제한기준인 0.01mg/ℓ보다는 다소 높으나 음용수 수질기준의 0.08배에 불과하여 이 실험으로 음용수 수질기준의 초과여부를 판단할 수 있으리라 보며, 납의 LC₅₀값은 0.25mg/ℓ로 조사되었는데 이 농도는 음용수 수질기준의 약 3배의 값이었다. 이러한 결과로 볼 때 농도상으로는 수은이 *Daphnia magna*에 대하여 독성을 가장 강하게 나타내고, 다음으로 구리가 강한 독성을 가지고 있음을 알 수 있었으며, 음용수 수질기준과 비교할 때 구리가 그 기준의 0.08배에 불과하여 구리에 대하여는 *Daphnia magna*를 통한 실험으로 음용수의 적합여부를 판단할 수 있을 것으로 사료되었다.

*Daphnia magna*의 치사율(mortality) M(%)과 대상물질의 농도 C(mg/ℓ)간의 관계는 다음과 같은 대수관계를 보이는데,

$$\text{Log}_e(M) = n \cdot \text{Log}_e(C) + k$$

이 식에서 모수 n 은 오염물질의 농도증가에 대한 사망율의 증가율을 의미하는 것이며, k 는 물질농도 $1\text{mg}/\ell$ 에 대한 사망율의 자연대수치를 의미하는 것이다. 따라서 k 가 크면 클수록 독성물질의 영향이 큰 것으로 볼 수 있으나 n 은 물질농도에 대한 사망율의 기울기로 나타나므로 두 모수를 같이 고려하여 독성영향의 특성을 파악할 수 있다.

실험에 적용된 중금속의 농도와 *Daphnia magna*의 치사율간에 나타난 관계식은 다음과 같다.

$$\text{Mercury} : \text{Log}(M) = 3.24 \cdot \text{Log}(C) + 12.72$$

$$\text{Cadmium} : \text{Log}(M) = 2.05 \cdot \text{Log}(C) + 4.55$$

$$\text{Lead} : \text{Log}(M) = 0.54 \cdot \text{Log}(C) + 4.67$$

$$\text{Chromium} : \text{Log}(M) = 0.44 \cdot \text{Log}(C) + 4.63$$

$$\text{Copper} : \text{Log}(M) = 3.32 \cdot \text{Log}(C) + 12.25$$

*Daphnia magna*에 대한 독성계수 n 의 값은 구리와 수은이 각각 3.32, 3.25로 농도증가에 따른 영향의 증가속도가 매우 컸으며, 다음은 카드뮴으로 2.05이었고 납과 크롬은 각각 0.54, 0.44로 낮았다. 즉 납과 크롬의 경우 LC_{50} 값은 각각 $0.25\text{mg}/\ell$ 와 $0.19\text{mg}/\ell$ 로 나타나나 독성계수 n 의 값이 낮아 LC_{10} 값은 $0.01\text{mg}/\ell$ 로서 다른 물질의 LC_{10} 값에 비해서도 더 낮았다. 즉 낮은 치사율의 범위에서는 크롬과 납에 대한 *Daphnia magna*의 민감도가 다른 물질에 비해 오히려 높게 나타남을 알 수 있다. 이에반해 수은은 $LC_{10} \sim LC_{50}$ 의 범위가 $0.04 \sim 0.07\text{mg}/\ell$, 구리는 $0.05 \sim 0.08\text{mg}/\ell$, 카드뮴은 $0.33 \sim 0.73\text{mg}/\ell$ 로 폭이 좁아 그 범위에서 농도의 경미한 증가가 치사율에 급속한 영향을 준다.

유기인계 농약에 대한 독성실험에서는 2,4-

D에 대한 *Daphnia magna*의 저항성이 가장 크게, Parathion에 대한 저항성이 EPN에 비해 다소 낮은 것으로 나타났다.

이들 각 물질에 대한 24시간 LC_{50} 값은 2,4-D가 $1.94\text{mg}/\ell$ 로 조사되었는데 이는 Thomas등의 $240\text{mg}/\ell$ 보다는 매우 낮은 값이며¹²⁾ WHO의 음용수 수질기준 $0.1\text{mg}/\ell$ 에 대략 부합하는 값이다.

Parathion의 24시간 LC_{50} 값은 $0.22\text{mg}/\ell$ 로 Amann등에 의한 물벼룩의 48시간 LC_{50} 값 $0.0046\text{mg}/\ell$ 에 비해 매우 높은 값으로 나타났다.¹³⁾ Parathion에 대한 우리나라 음용수 수질기준이 $0.06\text{mg}/\ell$ 이하인 것에 비하면 약 4배나 높은 값으로 LC_{30} 값에 해당하였다. EPN의 LC_{50} 값은 $0.36\text{mg}/\ell$ 로 Parathion에 비해 낮은 독성을 가진 것으로 조사되었다.

농약에 대한 치사율과 농도간의 관계식은 다음과 같이 나타났다.

$$\text{EPN} : \text{Log}(M) = 0.77 \cdot \text{Log}(C) + 4.69$$

$$\text{Parathion} : \text{Log}(M) = 0.51 \cdot \text{Log}(C) + 4.69$$

$$2,4-D : \text{Log}(M) = 0.49 \cdot \text{Log}(C) + 3.59$$

독성계수 n 의 값은 EPN이 0.77로 다소 높고, Parathion과 2,4-D는 각각 0.51 및 0.49로 비슷한 값을 보였다. Parathion의 $LC_{10} \sim LC_{50}$ 범위는 $0.01 \sim 0.22\text{mg}/\ell$, EPN은 $0.05 \sim 0.36\text{mg}/\ell$, 2,4-D는 $0.07 \sim 1.94\text{mg}/\ell$ 의 범위를 보였다.

기타 유해물질중 *Daphnia magna*에 대한 민감성 조사에서 비소의 LC_{50} 값은 $1.73\text{mg}/\ell$ 로 시안의 $4.95\text{mg}/\ell$ 보다도 낮고 페놀의 $39.93\text{mg}/\ell$ 보다는 훨씬 낮은 것으로 나타났다. 비소의 경우, Amann등에 의한 48시간 LC_{50} $1.7\text{mg}/\ell$ 와 거의 일치하였다.¹³⁾

비소와 시안은 독성이 강한 것으로 알려져 있는데 우리나라 수질환경기준과 음용수 수질 기준에는 시안은 검출되지 않아야 하며 비소는 0.05mg/ℓ 이하로 규정되어 있다. 비소의 LC₅₀값은 이러한 기준보다 매우 높은 것이며, 시안의 경우도 WHO의 음용수 수질기준 0.1 mg/ℓ에 비해 매우 높은 값이다.

페놀은 음용수 수질기준 0.005mg/ℓ보다 무려 8,000배나 높은 농도이지만 이취물질로서 문제가 되며 생물의 치사율에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다.

치사율과 농도간의 관계식은 다음과 같다.

Arsenic : $\text{Log}(M) = 2.93 \cdot \text{Log}(C) + 2.30$

Cyanide : $\text{Log}(M) = 0.83 \cdot \text{Log}(C) + 2.59$

Phenol : $\text{Log}(M) = 0.82 \cdot \text{Log}(C) + 0.89$

독성계수 n 의 값은 비소가 2.93으로 가장 컸고, 시안과 페놀은 각각 0.83, 0.82로 비슷한 값을 보였다. 비소의 LC₁₀~LC₅₀ 범위는 1.0~1.73mg/ℓ, 시안은 0.71~4.95mg/ℓ로서 LC₅₀으로서는 시안의 영향정도가 비소에 비해 낮게 평가되나, 0.1mg/ℓ 내외의 낮은 농도에서는 각각의 영향정도가 큰 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. 페놀의 LC₁₀~LC₅₀ 범위는 5.59~39.93mg/ℓ로 LC₅₀ 값도 높고 농도에 따른 치사율의 증가율은 낮았다.

2. *Vibrio fischeri*의 민감성

박테리아를 이용한 독성실험은 다른 수생생물을 이용한 실험에 비하여 요구되는 시간이 매우 짧으며³⁾ 경제적인 뿐 아니라 평가방법이 간단하고 재현성이 양호하며, 적은 양으로 검정이 가능하고 다른 수생생물보다 많은 수의 개체를 사용함으로써 통계학적인 장점도 갖고 있다.^{3,14)}

Table 2. LC₅₀ concentration and toxicity parameters of *Daphnia magna* to various toxic materials.

Materials	KDWQC (mg/ℓ)	Lethal conc.(mg/ℓ)		Toxicity parameters	
		LC10	LC50	n	k
Mercury	N.D.	0.04	0.07	3.25	12.72
Cadmium	<0.01	0.33	0.73	2.05	4.55
Lead	<0.1	0.01	0.25	0.54	4.67
Chromium	<0.05	0.01	0.19	0.44	4.63
Copper	<1	0.05	0.08	3.32	12.25
EPN	—	0.05	0.36	0.77	4.69
Parathion	<0.06	0.01	0.22	0.51	4.69
2,4-D	—	0.07	1.94	0.49	3.59
Arsenic	<0.05	1.00	1.73	2.93	2.30
Cyanide	N.D.	0.71	4.95	0.83	2.59
Phenol	<0.005	5.59	39.92	0.82	0.89

KDWQC : Korean Drinking Water Quality Criteria

본 실험에서 나타난 수은에 대한 *Vibrio fischeri*의 30분 EC₅₀값이 0.57mg/ℓ로 조사되었다. 이 실험에서 0.33mg/ℓ 이하에서는 30분 동안에 발광량의 감소가 10% 이내이었으나 0.48mg/ℓ 이상에서는 발광량의 감소가 증가하기 시작하여 0.67mg/ℓ에서는 대부분 90% 이상의 발광량 감소를 볼 수 있었다.

Elnabarawy는 다른 종류의 발광 박테리아인 *Photobacterium phosphoreum*을 이용한 실험에서 EC₅₀(5분)은 0.03~0.07mg/ℓ로 보고한 바 있다.¹¹⁾

카드뮴은 0.4~1.67mg/ℓ에서는 10%이내의 발광량 감소를 보였고, 30분 EC₅₀값은 4.65mg/ℓ로 나타났다. 또한 Thomas 등이 *Photobacterium phosphoreum*을 이용한 실험에서는 14mg/ℓ로 조사되어¹²⁾ 카드뮴에 대하여는 *Vibrio fischeri*가 *Photobacterium phosphoreum*보다 민감하게 반응함을 알 수 있었다. 그러나 카드뮴의 우리나라

음용수 수질기준 및 WHO 음용수 수질기준보다 매우 높은 농도에서 EC_{50} 값이 나타나 수은과 마찬가지로 음용수 적합여부 시험에는 적당치 않은 것으로 판단된다.

납의 *Vibrio fischeri*에 대한 영향은 0.31~0.83mg/l 사이에서 20%이내의 발광량 감소를 보였고 EC_{50} (30분)값은 1.77mg/l로 나타났다. *Photobacterium phosphoreum*의 EC_{50} (15분)값은 1.4mg/l로 보고되고 있어¹⁷⁾ 납에 대하여는 두 종의 발광박테리아가 서로 유사한 민감성을 나타내는 것으로 판단된다. 또한 납에 대한 우리나라 음용수 수질기준 0.1mg/l는 EC_{10} 에 상당하였다.

6가크롬은 0.31~1.67mg/l에서 10%이내의 발광량 감소를 보였고, 2.50mg/l에서부터 발광량의 감소가 증가하는 경향을 보였으며 *Vibrio fischeri*에 대한 EC_{50} (30분) 값은 4.22mg/l로 나타났다. *Photobacterium phosphoreum*을 이용한 실험에서는 15분 EC_{50} 값이 70~100mg/l로 조사된 바 있어¹¹⁾ *Vibrio fischeri*가 *Photobacterium phosphoreum*보다 6가크롬에 대하여 더 민감한 것으로 판단된다.

구리는 0.31mg/l~3.33mg/l에서는 10%내의 발광량 감소를, 5.0mg/l에서는 약 33%의 감소율을 보였으며 EC_{50} 값은 8.93mg/l로 나타났다. 이 값은 카드뮴, 6가크롬의 경우와는 달리 30분 EC_{50} 값이 0.3mg/l로 나타난 *Photobacterium phosphoreum*보다는 *Vibrio fischeri*의 민감성이 저조하였다.

본 실험에 사용된 중금속 중에서는 수은의 *Vibrio fischeri*에 대한 독성이 가장 강한 것으로 나타났고, 납이 그보다는 다소 약한 독성으로 작용하고 있음을 알 수 있었다. 그리고

카드뮴과 6가크롬이 유사한 독성을 보이며 구리는 수은에 비하여 약 16배나 독성이 약한 것으로 나타났다.

또한 전반적으로 *Vibrio fischeri*가 *Photobacterium phosphoreum*보다는 중금속에 대하여 민감한 반응을 나타내는 것으로 조사되었다.

중금속 농도 C(mg/l)와 발광량 감소 I(Inhibition, %)간의 관계식은 다음과 같이 나타났다.

$$\text{Mercury} : \text{Log}(I) = 4.14 \cdot \text{Log}(C) + 6.21$$

$$\text{Cadmium} : \text{Log}(I) = 2.73 \cdot \text{Log}(C) - 0.28$$

$$\text{Lead} : \text{Log}(I) = 0.61 \cdot \text{Log}(C) + 3.56$$

$$\text{Chromium} : \text{Log}(I) = 1.31 \cdot \text{Log}(C) + 2.03$$

$$\text{Copper} : \text{Log}(I) = 2.09 \cdot \text{Log}(C) - 0.12$$

$$(\text{Conc. range} : < 6.7 \text{mg/l})$$

$$: \text{Log}(I) = 0.49 \cdot \text{Log}(C) + 2.85$$

$$(\text{Conc. range} : > 6.7 \text{mg/l})$$

*Vibrio fischeri*에 대한 독성계수 n의 값은 수은이 4.14로 농도증가에 따른 영향의 증가속도가 급속하였으며, 다음은 카드뮴과 크롬으로 2.73, 1.31이었고 납은 0.61로 낮았다.

이에반해 구리는 6.7mg/l 이하의 농도에서는 독성계수 n의 값이 2.09로 농도증가에 따른 영향의 증가속도가 다소 급속하나, 6.7mg/l 이상의 농도에서는 0.49로 영향정도의 증가가 완만하였다.

납과 크롬의 EC_{50} 값은 각각 1.77mg/l, 4.22mg/l로 납의 EC_{50} 값은 수은에 비해 높고 크롬은 카드뮴과 비슷하나 독성계수 n의 값이 낮아 납의 EC_{10} 값은 0.13mg/l로서 수은의 EC_{10} 값 0.39mg/l에 비해서 낮게 나타났고, 크롬의 EC_{10} 값은 1.23mg/l로서 카드뮴의 EC_{10}

값 2.58mg/l 에 비해서 낮았다.

즉 낮은 치사율의 범위에서는 납과 크롬에 대한 *Vibrio fischeri*의 민감도가 다른 물질에 비해 오히려 높게 나타남을 알 수 있다.

EPN은 각 희석배율에 대한 *Vibrio fischeri* 발광량의 변화에서 4.5mg/l 까지에서는 발광량의 감소가 약 10%에 이르렀고 5.0mg/l 에서는 약 18%의 감소를 볼 수 있었다. 실험결과, *Vibrio fischeri*에 대한 EC₅₀ 값은 7.87mg/l 로 측정되었다.

2,4-D는 0.63mg/l 에서 약 15%의 발광량 감소를 볼 수 있었으며 2.05mg/l 에서 34%에 가까운 감소율을 나타내었는데 30분 EC₅₀ 값은 EPN보다 낮은 3.96mg/l 로 나타났다. 그리고 *Photobacterium phosphoreum*에 대한 30분 EC₅₀ 값은 128mg/l 로 조사된 바 있어¹²⁾ 2,4-D 대하여는 *Vibrio fischeri*가 더 예민하게 반응함을 알 수 있었다.

Parathion은 1.33mg/l 에서 현저한 발광량의 감소가 일어나기 시작하여 3.00mg/l 에서는 약 42%의 감소율을 나타내었는데 본 실험에서 *Vibrio fischeri*에 대한 30분 EC₅₀값은 3.31mg/l 로 나타나 *Photobacterium phosphoreum*의 농약에 대한 일반적인 EC₅₀ 값 8~128mg/l 보다¹²⁾ 훨씬 낮은 값을 얻었다. 이 농도는 음용수 수질기준 0.06mg/l 보다 약 60배나 높은 것이다.

이상의 결과에서 *Vibrio fischeri*에 대하여는 Parathion의 독성이 가장 강하고 2,4-D는 그보다 다소 약하며 EPN은 Parathion보다 약 2배나 독성이 약한 것으로 밝혀졌다. 따라서 같은 발광박테리아의 경우에 있어서도 농약의 영향을 스크리닝하기 위해서는 중금속과 마찬가지로 상대적으로 낮은 농도에서 반

응을 보이는 *Vibrio fischeri*를 이용하는 것이 *Photobacterium phosphoreum*를 이용하는 것보다 좋은 것으로 나타났다.

이상의 농약계통 물질의 농도에 따른 *Vibrio fischeri*의 발광량의 관계는 아래와 같다.

$$\text{EPN: } \text{Log}(I) = 2.45 \cdot \text{Log}(C) - 1.15$$

$$\text{Parathion: } \text{Log}(I) = 1.54 \cdot \text{Log}(C) + 2.54$$

(Conc. range: <2.0mg/l)

$$\text{: } \text{Log}(I) = 0.60 \cdot \text{Log}(C) + 3.20$$

(Conc. range: >2.0mg/l)

$$2,4-D \quad \text{: } \text{Log}(I) = 0.78 \cdot \text{Log}(C) + 2.83$$

독성계수 n 의 값은 EPN이 2.45로 가장 컸고, 2,4-D는 0.78로 낮았으며 Parathion의 경우는 2.0mg/l 이하의 농도에서는 1.54, 그 이상의 농도에서는 0.60으로 낮았다. Parathion의 EC₁₀~EC₅₀ 범위는 0.86~3.31mg/l, EPN은 4.08~7.87mg/l, 2,4-D는 0.51~3.96mg/l 로서, 1.0mg/l 이하의 낮은 농도에서는 2,4-D의 영향정도가 큰 것으로 나타났다.

비소는 0.31~2.05mg/l 에서 발광량의 저하가 10%이내였으나, 3.33mg/l 에서는 약 21%의 감소를 나타내었고 EC₅₀값은 4.88mg/l 로 조사되어 중금속과 함께 *Vibrio fischeri*에 대한 독성은 상대적으로 낮음을 알 수 있었다.

시안의 경우, 발광량의 감소가 뚜렷하여 *Vibrio fischeri*에 대한 30분 EC₅₀값은 6.79mg/l 으로 나타났으며 또한 *Photobacterium phosphoreum*에 대한 5분 EC₅₀은 그보다 낮은 2.8~3.5mg/l 로 보고되고 있다.¹¹⁾ 시안 역시 중금속과 마찬가지로 *Vibrio fischeri*에 대한 독성이 낮아 음용수 수질기

준에 비하여 매우 높은 농도에서 EC₅₀값이 관측되었다.

페놀은 1mg/l에서 약 10%의 발광량 감소가 있었으며 농도의 증가에 따른 발광량의 감소가 매우 유의성 있는 것으로 나타났다. *Vibrio fischeri*에 대한 EC₅₀는 16.94mg/l로 측정되었으며 *Photobacterium phosphoreum*에 대한 EC₅₀는 40.2mg/l로 조사되어¹⁵⁾ *Vibrio fischeri*가 페놀에 대하여는 *Photobacterium phosphoreum*보다 상대적으로 민감한 것으로 보인다. 이 농도는 음용수 수질기준의 0.005mg/l보다 무려 3,400배나 높은 것으로 *Vibrio fischeri*에 의한 음용수중 페놀의 감지는 부적절하였다.

이러한 결과로 볼 때 본 시험에 사용된 기타 유해물질중 비소가 시안보다 독성이 강하고 시안이 페놀보다 독성이 더 강함을 알 수 있었으며, 발광 박테리아 중에서도 *Vibrio fischeri*를 사용하는 것이 *Photobacterium phosphoreum*을 사용하는 것보다 더 좋음을 알 수 있었다.

각 물질의 농도와 발광량의 관계식은 다음과 같다.

Arsenic : $\text{Log}(I) = 0.24 \cdot \text{Log}(C) + 2.22$

(Conc. range : <3.3mg/l)

: $\text{Log}(I) = 3.69 \cdot \text{Log}(C) - 1.93$

(Conc. range : >3.3mg/l)

Cyanide : $\text{Log}(I) = 5.00 \cdot \text{Log}(C) - 2.91$

(Conc. range : <3.3mg/l)

: $\text{Log}(I) = 0.95 \cdot \text{Log}(C) + 2.09$

(Conc. range : >3.3mg/l)

Phenol : $\text{Log}(I) = 0.63 \cdot \text{Log}(C) + 2.13$

독성계수 n의 값은 3.3mg/l 이하의 농도에

서 시안이 5.00으로 가장 높았고, 다음은 3.3mg/l 이상의 농도에서 비소가 3.69, 페놀은 전체 농도범위에서 0.63으로 낮았다. 비소의 EC₁₀~EC₅₀ 범위는 1.44~4.88mg/l, 시안은 2.84~6.79mg/l, 페놀은 1.31~16.94mg/l로서, 1.5mg/l 내외의 낮은 농도에서는 페놀의 영향정도가 다른물질과 큰 차이를 보이지 않는다. 3.3mg/l의 농도에서 치사율은 비소가 10%내외이고 시안은 20%내외로 나타났다.

Table 3. EC₅₀ concentration and toxicity parameters of *Vibrio fischeri* to various toxic material.

Materials	Applicable concentration ranges (mg/l)	Effective c.(mg/l)		Toxicity parameters	
		EC10	EC50	n	k
Mercury		0.39	0.57	4.14	6.21
Cadmium		2.58	4.65	2.73	-0.28
Lead		0.13	1.77	0.61	3.56
Chromium		1.23	4.22	1.31	2.03
Copper	<6.7	3.18	8.93	2.09	-0.12
	>6.7			0.49	2.85
EPN		4.08	7.87	2.45	-1.12
Parathion	<2.0	0.86	3.31	1.54	2.54
	>2.0			0.60	3.20
2,4-D		0.51	3.96	0.78	2.83
Arsenic	<3.3	1.44	4.88	0.24	2.22
	>3.3			3.69	-1.93
Cyanide	<3.3	2.84	6.79	5.00	-2.91
	>3.3			0.95	2.09
Phenol		1.31	16.94	0.63	2.13

이상의 결과를 종합하면 본 실험에 사용된 유해물질 중에서 *Daphnia magna*에 대한 중금속의 LC₅₀값은 0.07~0.73mg/l의 범위에 있었고, 유기인계 농약은 0.22~1.94mg/l, 기타 유해물질은 1.73~39.93mg/l의 범위를 보

여, 시험물질중 중금속이 *Daphnia magna*에 독성을 가장 강하게 나타내었으며 기타 유해물질보다는 유기인계 농약에 대한 감수성이 더 큼을 알 수 있었다.

*Vibrio fischeri*에 대한 중금속의 EC₅₀값은 0.57~8.93mg/l, 유기인계 농약은 3.31~7.87mg/l, 기타 유해물질은 4.88~16.94mg/l의 범위를 보여, 역시 중금속이 *Vibrio fischeri*에 대하여 가장 독성을 강하게 나타내고 이어 유기인계 농약, 기타 유해물질의 순으로 독성을 나타냈다.

중금속에 대한 영향을 살펴보면, *Daphnia magna*에 대하여는 0.07~0.73mg/l의 범위의 LC₅₀값을 보였으며, *Vibrio fischeri*는 0.57~8.93mg/l의 EC₅₀값을 나타내어 *Daphnia magna*가 중금속에 대해 더 민감한 것으로 나타났다.

*Daphnia magna*에 대한 유기인계 농약의 LC₅₀값은 0.22~1.94mg/l의 범위로 나타났으며, *Vibrio fischeri*는 3.31~7.87mg/l의 범위에서 EC₅₀값이 나타났다. 그러므로 본 실험에 사용된 물질로 한정하는 경우, 유기인계 농약에 의한 수질오염의 정도로서 수생생물에 대한 영향을 조사할 때에도 *Daphnia magna*를 적용하는 것이 효과적인 것으로 밝혀졌다.

기타 유해물질의 수생생물에 대한 영향은 페놀을 제외하고는 대체로 *Daphnia magna*에서 큰 것으로 나타났으며, *Vibrio fischeri*에 대한 영향은 상대적으로 적었다.

대체로 유해물질에 대하여는 다른 수생생물보다는 *Daphnia magna*가 민감하게 반응하는 것으로 나타났는데 이러한 큰 민감성은 무엇보다도 아가미가 비교적 많은 양의 물을 접촉하고, 물이 창자를 통과하며, 또한 2분 동안

에 몸 속 물의 80%를 교환할 수 있는데서 그 이유를 찾아볼 수 있다.¹⁶⁾

*Daphnia magna*의 LC값을 국내 음용수 기준과 비교할 경우 LC₅₀으로 기준에 부합할 정도의 예민도를 보이는 항목은 구리 단일항목이었으나 LC₁₀을 기준한다면, 납, 크롬 및 구리가 기준이하의 농도로 나타나 수질기준의 적합여부를 점정할 때 기준치로 활용가능할 것으로 판단되었고, 기타 항목의 경우도 LC₁₀값은 음용수 기준에 상당히 접근하는 것으로 나타났다.

이에 반해 *Vibrio fischeri*의 EC값을 국내 음용수 기준과 비교할 경우에는 EC₁₀을 기준할 경우에 납 단일 항목만이 음용수 기준에 근접한 수준으로 나타났다.

*Daphnia magna*의 민감도에 대한 유해물질의 특이성을 그림으로 나타내면 Fig. 1과 같다.

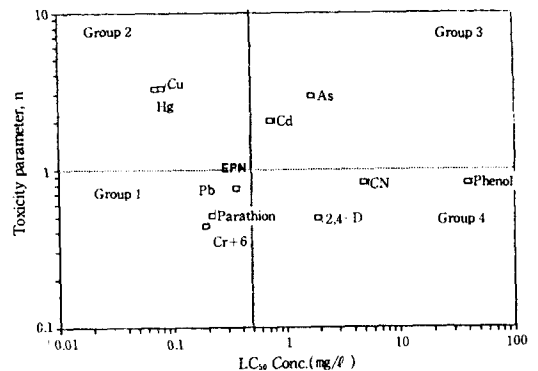


Fig. 1. LC₅₀ and toxicity parameter n of each toxic material for *Daphnia magna*.

즉 LC₅₀값과 독성특성의 모수 n을 기준으로 할 때, LC₅₀ 값이 낮아 민감도가 큰 반면 물질 농도 증가에 대한 독성의 증가율이 크지 않은 Group 1에 해당하는 물질은 납, 크롬, EPN,

Parathion으로 나타났으며, LC_{50} 값이 낮아 민감도가 클 뿐만 아니라 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 Group 2에 해당하는 물질은 구리와 수은이었고, LC_{50} 값이 높아 민감도가 약하나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 Group 3에 해당하는 물질은 카드뮴과 비소였으며, LC_{50} 값이 높아 민감도가 약하고 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 낮은 Group 4에 해당하는 물질은 시안과 2,4-D 및 페놀로 나타났다.

*Vibrio fischeri*의 민감도에 대한 유해물질의 특이성은 Fig. 2와 같다.

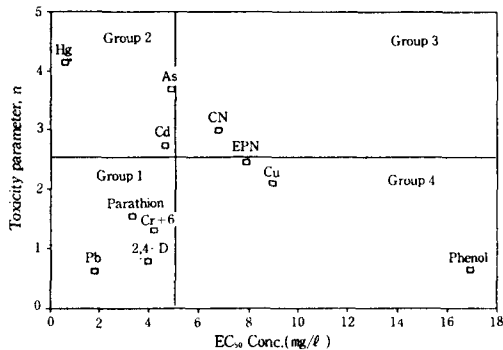


Fig. 2. EC_{50} and toxicity parameter n of each toxic material for *Vibrio fischeri*.

즉 EC_{50} 값과 독성특성의 모수 n 을 기준으로 할 때, EC_{50} 값이 낮아 민감도가 큰 반면 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 크지 않은 Group 1에 해당하는 물질은 납, 크롬, 2,4-D, Parathion으로 나타났으며, EC_{50} 값이 낮아 민감도가 클 뿐만 아니라 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 Group 2에 해당하는 물질은 수은, 비소 및 카드뮴이었고, EC_{50} 값이 높아 민감도가 약하나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 Group 3에 해당하는 물

질은 시안이였으며, EC_{50} 값이 높아 민감도가 약하고 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 낮은 Group 4에 해당하는 물질은 EPN, 구리 및 페놀로 나타났다. 페놀은 모든 생물종에 대해서 민감도가 특히 낮는데 취기상의 문제를 별도로 하고 독성영향만을 논한다면 수생생물에 대한 페놀의 영향은 크지 않은 것으로 판단된다.

수중생태계의 변화는 수생생물을 이용하여 유해물질에 가장 민감하게 반응하는 생물을 실험에 적용하여야 할 것이다. 그러나 Static test는 일정시간 후 생물의 치사율을 기준으로 그 영향을 판단하는 것이므로 생물의 일반적 특성 즉, 순간적인 유영성 또는 발광성의 변화로서 유해물질의 영향을 즉시 판단한다면 유해물질에 의한 수중생태계의 파괴를 조기에 확인할 수 있을 것이다.

유럽에서는 이미 이러한 방법을 이용하여 조기경보 수질모니터링 시스템을 널리 적용하고 있다. 따라서 수생생물을 이용한 Dynamic test로서 환경중의 유해물질을 스크리닝한다면 수중생태계의 혼란은 감소될 것이며, 또한 지속적으로 만성독성 실험이 수행되어 그 결과가 축적된다면 수중 생태계 보전에 기여하는 바가 클 것이다.

IV. 결 론

수생생물에 대한 유해물질의 영향을 파악하기 위하여 갑각류인 *Daphnia magna*, 박테리아인 *Vibrio fischeri*를 시험생물로 선정하고 이들에 대한 중금속(수은, 카드뮴, 납, 6가크롬, 구리), 유기인계 농약(EPN, Parathion, 2,4-D) 및 기타 유해물질로서 비소, 시안,

페놀의 영향을 LC_{50} 또는 EC_{50} 값으로 분석한 결과는 다음과 같다.

1) *Daphnia magna*에 대한 유기인계 농약의 LC_{50} 값은 0.22~1.94mg/l, 기타 유해물질은 1.73~39.92mg/l, 중금속은 0.07~0.73 mg/l의 범위를 보여 중금속의 독성영향이 큰 것으로 나타났다.

2) *Vibrio fischeri*에 대한 중금속의 EC_{50} 값은 0.57~8.93mg/l, 유기인계 농약은 3.31~7.87mg/l, 기타 유해물질은 4.88~16.94mg/l의 범위를 보여 중금속과 유기인계 농약은 비슷한 독성영향을, 기타 유해물질은 상대적으로 적게 영향을 미치는 것으로 판단된다.

3) 유해물질중 중금속 및 유기인계 농약에 대한 민감성을 비교하여 보면 *Daphnia magna*가 *Vibrio fischeri*에 비하여 민감하게 반응하였고, 이러한 경향은 기타 유해물질에 대하여도 동일한 결과로 나타났다.

4) *Daphnia magna*의 LC 값을 국내 음용수 기준과 비교할 경우 LC_{50} 으로 기준값에 부합하는 물질은 구리 단일항목이었으나 LC_{10} 을 기준한다면 납, 크롬 및 구리가 기준이하의 농도로 나타나, 수질기준의 적합여부를 검정할 때의 기준치로 활용가능할 것으로 판단되었다. 반면 *Vibrio fischeri*의 EC 값은 EC_{10} 을 기준할 경우에 납 단일 항목만이 음용수 기준에 근접한 수준으로 나타나 적용도가 상대적으로 낮은 것으로 판단되었다.

5) *Daphnia magna*에 대해 LC_{50} 값이 낮아 민감도가 크나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 크지 않은 물질은 납, 크롬, EPN, Parathion이며, LC_{50} 값이 낮아 민감도가 클 뿐만아니라 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 물질은 수은, 구리이고, LC_{50}

값이 높아 민감도가 약하나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 물질은 비소, 카드뮴이며, 민감도가 낮고 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 낮은 물질은 시안과 2,4-D 및 페놀로 나타났다.

6) *Vibrio fischeri*에 대해 EC_{50} 값이 낮아 민감도가 크나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 크지 않은 물질은 납, 크롬, 2,4-D, Parathion이며, EC_{50} 값이 낮아 민감도가 클 뿐만아니라 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 물질은 수은, 카드뮴 및 비소이며, 민감도가 약하나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 물질은 시안이고, 민감도가 낮고 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 낮은 물질은 EPN, 구리 및 페놀로 나타났다.

8) 페놀은 실험대상 생물종에 대해서 민감도가 특히 낮아 취기상의 문제를 제외하고 독성영향 측면에서 수생생물에 대한 영향은 크지 않은 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. 小泉清明 等：環境と生物指標 2.-水界編-, 日本生態學會 環境問題 専門委員會, 公出版株式會社, 1975
2. US EPA: Chemical/Biological Implications of Using Chlorine and Ozone for Disinfection, PB-270 694, 1977.
3. Besch. W.: Studien zum Gewässerschutz 2. Biotese in der Limnischen Toxikologie, Landesamt für Umweltschutz Baden-Württemberg, 1977.
4. APHA (American Public Health Association): Standard Methods for the Exami-

- nation of Water Wastewater, 17th, 1989.
5. US EPA : Methods for measuring the acute toxicity of effluent to freshwater and merine organisms, 3th edition, EPA -600/4-85-013, 1985.
 6. Thomas, J.M., et al : Characterization of Chemical Waste Site Contamination and Determination of its Extent Using Bioassays, Environmental Toxicology and Chemistry, 5, 487-501, 1986.
 7. DIN, DIN 38412 Teil 34 : Deutsche Einheitverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamuntersuchung, 1991.
 8. DIN, DIN 38412 Teil 30 : Deutsche Einheitverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamuntersuchung, 1989.
 9. Sheherban, E.P. : Toxicity of Some Heavy Metals for *Daphnia magna* Straus, as a Function of Temperature, Hydrobiol. J. 13, 75-80, 1979.
 10. Anderson, B.G. : The Apparent Thresholds of Toxicity to *Daphnia magna* for Chlorides of Various Metals When Added to Lake Erie Water, Transactions of the American Fisheries Society, 78, 96-113, 1948.
 11. Elnabarawy M.T. : Short-Term Microbial and Biochemical Assays for Assessing Chemical Toxicity, 1986.
 12. Thomas, J.M., et al : Characterization of Chemical Waste Site Contamination and Determination of its Extent Using Bioassays, Environmental Toxicology and Chemistry, 5, 487-501, 1986.
 13. Amann et al : Datenblätter zum Katalog wassergefährdender Stoffe, Kommission Bewertung wassergefährdender Stoffe, 1988.
 14. Bulich, A.A. : Toxicity Testing of Biomaterials and Medical Devices, Microtox Application Note, No. 107, Beckman Instruments, Carlsbad, Calif, 1983.
 15. Curtis et al : Evaluation of a Bacterial Bioluminescence Bioassay as a Method for Predicting Acute Toxicity of Organic Chemicals to Fish, Aquatic Toxicology, 15 Conferences, 1982.
 16. Lenhardt B., et al : Limnochemische und Limnobiologische Auswirkungen der Versauerung von Kalarmen Oberflächengewässern, Bayerisches Landesamt fuer Wasserwirtschaft, 1984.
 17. Sellers, et al : Toxicity Assessment of Binary Metal Mixtures Using Bioluminous Bacteria, 1984.