

해양생태독성평가를 위한 표준시험방법 개발에 관한 연구

박경수* · 이승민¹ · 한태준² · 이정석³

*안양대학교 해양생명공학과
¹국립수산과학원 서해수산연구소
²인천대학교 생물학과
³(주)네오엔비즈 환경안전연구소

Establishment of Standard Methods for Marine Ecotoxicological Test

GYUNG SOO PARK*, SEUNG MIN LEE¹, TAEJUN HAN² AND JUNG-SUK LEE³

*Department of Marine Biotechnology, Anyang University, Incheon 417-833, Korea

¹Marine Environment Division of West Sea Fisheries Research Institute, Incheon 400-421, Korea

²Department of Biology, University of Incheon, Incheon 402-749, Korea

³NeoEnBiz Co., Deawoo Technopark A-1306, Dodangdong, Bucheon, Kyeonggi-do 420-806, Republic of Korea

해양생태독성평가를 위한 공정시험방법으로서 해양생태계의 분해자, 기초생산자 및 소비자를 대표하는 6개 생물 군을 이용하여 각각의 생물에 대한 생태독성시험용 표준시험방법(standard methods)을 개발 또는 정립하였다. 본 시험방법은 미환경보호국, 국제기구 및 유럽국가의 표준시험방법을 참고하였으며, 독성시험에 사용되는 표준시험생물은 우리나라에 서식하는 해양성 또는 광염성 생물(euryhaline species)로 선정하였다. 각 시험방법은 표준시험생물의 배양 및 사육, 시험방법 및 과정, 시험의 재현성 및 적합도 기준 등을 포함한다. 표준시험생물은 총 9종으로서 해산 발광박테리아(*Vibrio fischeri*), 해산규조류(*Skeletonema costatum*), 녹조구멍갈파래(*Ulva pertusa*), 해산윤충류(*Brachionus plicatilis*), 저서요각류(*Tigriopus japonicus*), 저서단각류 2종(*Mandibulophoxus mai* and *Monocorophium acherusicum*) 및 어류 2종(*Oryzias latipes* and *Paralichthys olivaceus*)을 포함한다. 표준시험생물은 해양생태계의 기초생산자, 분해자 및 소비자를 대표하며, 생태독성 시험시 각 영양 단계별 최소 1종을 포함하는 총 3종의 “battery test”를 권장한다.

Six standard methods for marine ecotoxicological tests were established(or applied) using marine decomposer, primary producers and consumers. Development processes referred to the standard methods established by USEPA(United States Environmental Protection Agency), international organizations and European methods. However, the standard test species were selected among the domestic species generally found in the Korean waters and sediments. The test methods provide the culture/maintenance of test species, test methods, reproducibility and quality acceptance criteria etc. A total of nine test species were designated including bioluminescent bacteria(*Vibrio fischeri*), diatom(*Skeletonema costatum*), seaweed(*Ulva pertusa*), rotifer(*Brachionus plicatilis*), benthic copepod(*Tigriopus japonicus*), benthic amphipods(*Mandibulophoxus mai*, *Monocorophium acherusicum*), and fishes(*Oryzias latipes*, *Paralichthys olivaceus*). These test species represent the decomposer, primary producer and consumers in marine trophic system in Korean coastal ecosystems, and we recommend the “battery test” including at least one species from the each trophic level for marine ecotoxicological test.

Keywords: Standard Method, Marine Ecotoxicity, Test Species, *Vibrio fischeri*, *Skeletonema costatum*, *Ulva pertusa*, *Brachionus plicatilis*, *Tigriopus japonicus*, *Mandibulophoxus mai*, *Monocorophium acherusicum*, *Oryzias latipes*, *Paralichthys olivaceus*, Battery Test

서 론

생태독성시험은 물질의 유해성 평가 방법의 일환으로 기존의 화학적 분석에 의한 농도 개념의 평가에서 생물에 미치는 영향을 직·간접적으로 평가하여, 화학적 분석에서 간과될 수 있는 미지의 물

질이나 유해물질이 공존할 때 발생하는 독성 상승 또는 길항효과에 대하여 그 유해성을 통합적으로 평가할 수 있는 기능적 평가 방법의 일환이다(Rand and Petrocelli, 1985). 또한 Chapman(1989)에 의하여 제시된 “Sediment Quality TRIAD”에서 퇴적물의 품질 및 유해성 평가시 화학분석 및 군집평가와 더불어 생물검정(bioassay)을 이용한 평가 방법이 제시되면서 생태독성평가는 유해성 평가의 일환으로 중요시되는 학문적 분야가 되었다. 따라서 미국 및 유럽

*Corresponding author: gspark@anyang.ac.kr

국가를 비롯한 대부분의 국가가 각 나라의 실정에 적합한 다양한 독성시험방법을 개발하였으며, 이를 공정시험법으로 제정하여 유해물질의 평가에 이용하고 있다. 이와 같은 노력은 국제기구 및 미국을 중심으로 많은 시험방법이 개발되어 이용되고 있다. 대표적 기관으로는 국제표준화기구(ISO, International Standardization Organization), 경제협력개발기구(OECD, Organization for Economic Cooperation and Development), 미국재료시험협회(ASTM, American Society of Testing and Materials), 미국환경보호국(USEPA, United States Environmental Protection Agency), 미국공중보건협회(APHA, American Public Health Association), 유럽국가 및 뉴질랜드 등에서 각 기관의 목적에 따라 다양한 독성시험방법을 제시하고 있으며, 그중 수서생태독성시험법만 약 100종이다(APHA *et al.*, 1995; ASTM, 1996; ISO, 1995; NIWA, 1998; OECD; <http://oberon.sourceoecd.org>; USEPA, 2002).

그러나 이러한 시험방법은 주로 자국의 생태계를 고려하여 시험생물을 선정하고 또 그에 적합한 시험방법을 제시하므로 우리나라 해양생태계를 고려할 때 시험종 측면에서 부적합한 면이 있다. 따라서 우리나라 해양생태계를 고려하여 독성시험에 적합한 표준시험생물을 개발하고, 또한 각 시험생물에 적합한 생태독성시험방법을 개발 또는 정립하였다. 표준시험방법은 해양생태계를 대표하는 분해자, 기초생산자 및 소비자 그룹별로 개발하였으며, 각 시험생물별 독성시험방법을 설정하였다.

특히 각각의 시험방법은 해양생태계의 기초생산자, 소비자 및 분해자를 대표하여 개발되었으며, 해양생태독성시험시에는 반드시 각 생물군에 각 1종씩 최소 3종을 포함하는 “Battery Test”를 권장한다(USEPA, 2002). 이는 1종만을 이용하여 독성시험을 할 경우 간과될 수 있는 물질에 대한 통합평가가 불가능하기 때문이다.

상기 시험방법은 “건강한 해양생태계 구현에 따른 수산자원회복”이라는 국가적 패러다임의 변화와 부합하여 환경평가 및 물질의 유해성 평가 방법의 일환으로서 대중적 이용이 가능할 것으로 판단된다. 따라서 본 시험방법은 이를 뒷받침하는 학문적 기반과 실용적 방법을 제공하는데 기여할 것으로 생각된다.

재료 및 방법

본 실험에 이용된 각종 시험생물은 야외에서 채집하거나 또는 종자은행 및 타 실험실로부터 분양받아 6개월 이상 장기간 배양사육

하여 이용하였다. 발광박테리아는 동결 건조된 상용화된 제품을 이용하였으며, 해산규조류는 한국해양미제조류은행(Korea Marine Microalgae Culture Center)으로부터 분양받아 실험실에서 6개월 이상 계대 배양하였다. 윤충류 및 저서요각류는 강릉대학교 해양생명공학부 먹이생물연구실에서, 송사리는 한국화학연구원 안전성평가연구소 및 환경부 국립환경과학원에서 분양받아 실험실에서 최소 6개월 이상 사육하여 실험에 이용하였다. 이외에 녹조구멍갈과래 및 저서단각류는 야외에서 채집한 후 일정 조건의 실험실에서 사육하였다. 본 실험에 이용된 시험생물의 획득방법이나 사육/배양 조건 등은 본 특별호에서 제시된 시험생물별 독성시험 논문에 상세하게 제시되어 있다.

각 시험생물의 선정은 생태적 대표성과 시험생물의 취득 및 실험실 배양 등이 용이한 종을 우선 선정하였으며, 시험생물별 시험방법은 각 생물의 특성을 반영하여 선정하였다. 특히 실험 결과의 재현성(reproducibility)과 시험생물의 취득 용이성을 고려하였다. 또한 각 실험생물별로 시험 기준에 적합한지의 여부를 판정하는 “시험적합도기준(test acceptability criteria)”을 제시하였으며, 또한 시험생물의 민감도(sensitivity)를 검증하기 위하여 시험생물별 표준독성물질을 선정하여 각각에 대한 민감도 범위를 제시하였다.

마지막으로 독성 시험 후 발생하는 자료를 통계적으로 처리하여 무영향농도(NOEC, No Observed Effective Concentration), 최저영향농도(LOEC, Lowest Observed Effective Concentration), 반수치사(LC₅₀, Median Lethal Concentration) 또는 반수영향농도(EC₅₀, Median Effective Concentration) 및 신뢰구간 등을 계산하는 통계 처리방법을 제시하였다.

결 과

시험생물의 선정

표준시험생물의 선정은 각 시험생물별로 생태적 대표성과 생물취득의 용이성 등을 고려하여 선정하였다. 최종 표준시험종은 다양한 후보 시험종으로부터 선정되었으며, 그 선정 기준은 Table 1과 같다. 그러나 선정 기준이 매우 다양하고 각각의 선정 기준을 모두 만족하는 시험종을 찾기는 매우 어려운 실정이므로 각각의 선정 요소를 고려하여 가장 부합되는 생물을 최종 표준 시험종으로 선정하였다(Table 2).

시험종은 해양생태계의 영양학적 역할(trophic role)을 고려하여

Table 1. Selection criteria of standard test species for marine ecotoxicological test.

Parameters	Conditions
Availability	Test species must be supplied as needed from field collection, lab culture or commercial suppliers
Sensitivity	Sensitivity on pollutants must be high and consistent
Tolerance to abiotic factors	Wide tolerance to environmental conditions such as grain size, salinity and water temperatures etc
Route of exposure	Test species must have the inter-relationship with the exposed materials and also effectively reflect the toxicity of the test materials
Ecological relevance	Test species must have the ecological and economical importance
Geographic distribution	Wide spatial distribution
Standardized methodology	Test species must have the established standard method, otherwise, reference test and test acceptability criteria must be provided separately with experimental data.
Field validation	Ecotoxicity test results must reflect the chemical pollution and community structures in field
Life history	Test species must have the various life cycles which can be applied to estimate sublethal effect etc.

Table 2. Standard test species and endpoints for marine ecotoxicological test.

Trophic roles	Groups	Species name	Endpoints
Decomposer	Bacteria	<i>Vibrio fischeri</i>	Bioluminescence inhibition(EC ₅₀)
Primary Producer	Phytoplankton	<i>Skeletonema costatum</i>	Population growth inhibition(EC ₅₀)
	Seaweed	<i>Ulva pertusa</i>	Sporulation(EC ₅₀)
Consumer	Zooplankton/Benthos	<i>Brachionus plicatilis</i> / <i>Tigriopus japonicus</i>	Mortality(LC ₅₀) Population growth inhibition(EC ₅₀)
	Fish	<i>Paralichthys olivaceus</i> / <i>Oryzias latipes</i>	Mortality(LC ₅₀)
	Benthic amphipods	<i>Mandibulophoxus mai</i> / <i>Monocorophium acherusicum</i>	Mortality(LC ₅₀)

분해자, 기초생산자 및 소비자로 구분하여 각 영양단계에 최소 1종 이상을 포함하도록 선정하였다.

우선 분해자를 대표하여 세계적으로 많은 독성시험이 이루어진 해산발광박테리아인 *Vibrio fischeri*를 선정하였다. 본 종은 동결 건조된 상태나 배양중인 상태로 시험생물의 공급이 가능하며, 독성물질에 노출된 후 발광량의 변화를 이용하여 독성의 상대적 크기를 진단하는 시험기법이다. 발광량 측정기는 국산(N-tox Model, NeoenBiz, Korea) 및 외산(Microtox, SDI, USA)이 본 시험 목적에 개발되어 있고, 시험생물의 공급도 상시 가능하다.

해양의 기초생산자를 대표하는 식물플랑크톤 중에서는 국내 연안생태계의 대표종인 해산규조류, *Skeletonema costatum*을 선정하였다. 본 종은 우리나라 동서남해 연안에 널리 분포하는 종이며, 한국해양미세조류은행을 통하여 시험종을 공급 받을 수 있다. 또한 실험실에서 배양이 용이하고 국제표준기구(ISO)에서 생태독성 평가용 표준시험생물로 선정된 종이다. 또한 녹조구멍갈파래는 우리나라 동서남해안에 분포하는 대표적 해조류이며, 실험실에서 전 생활사를 배양하기는 불가능하나, 현장에서 상시 채취가 가능하고, 또한 채취한 염체를 실험실에서 2~3개월 정도 보관이 가능하므로 시험생물의 공급 측면에서 어려움이 없을 것으로 판단된다.

해양생태계의 1차 소비자인 동물플랑크톤 중에서는 해산윤충류인 *Brachionus plicatilis*를 선정하였다. 본 종은 우리나라 하구역에서 주로 발견되며, 염분에 대한 내성이 매우 광범위하다. 특히 실험실 배양이 용이하고 생활사가 다양하여, 다양한 endpoint를 설정할 수 있는 장점이 있다. 또한 저서요각류인 *Tigriopus japonicus*는 우리나라 연안의 대표적 저서성 1차 소비자로서 윤충류와 유사한 생활사를 가지고, 광염성이며, 실험실 배양이 용이한 장점이 있다.

해양 퇴적물 독성시험을 위해서는 저서단각류를 이용한 시험방법을 선정하였으며, 표준시험생물로는 *Mandibulophoxus mai*와 *Monocorophium acherusicum*을 선정하였다. *M. acherusicum*은 서남해안 일대의 다양한 입도에 서식하며, 본 연구를 통하여 실험실 사육 방법을 개발하여 상시 공급이 가능하다. 반면 *M. mai*는 아직 실험실 사육이 불가능하여, 현장 채집을 통하여 독성시험에 이용하여야 한다. 상기 생물은 퇴적물 독성 시험과 더불어 액상물질 독성 시험(water only test)도 가능하다.

해양생태계의 2차 소비자인 어류는 송사리(*Oryzias latipes*)와 넙치(*Paralichthys olivaceus*)를 표준시험생물로 선정하였다. 우선 송사리는 담수산 생물로 알려져 있으나, 서식환경이 담수에서 해수 및 염전에 이르는 매우 다양한 분포를 보인다. 또한 실험실에서 소규모 공간을 이용하여 사육이 가능하므로 광염성인 송사리를 시험생물로 선정하였다. 반면 넙치는 실험실에서 사육하기에는 그 크기 때문에 어려움이 있으나, 국내 연안 생태계의 주요 어종이며, 또한

국내 양식생물의 대표종으로서 넙치 종묘배양시설을 통하여 연중 시험생물의 공급이 가능하다.

시험방법의 선정

표준독성시험방법은 시험의 용이성 및 결과의 일관성을 우선적으로 고려하여 선정하였다(Table 2). 우선 해양성 발광박테리아를 이용한 시험은 독성물질에 노출된 발광박테리아가 15분 및 30분 후에 발광이 감소되는 정도를 endpoint로 설정하였다. 본 시험방법은 미국의 SDI(Strategic Diagnostic Inc, USA) 및 한국의 네오엔비즈에서 시험생물 및 발광측정기를 공급하고 있으며, 시험의 정확도 및 정밀도 등이 우수하여 국제적으로 통용되는 시험방법이다. 본 시험방법은 퇴적물 및 액상물질 독성 시험에 모두 적용 가능하며, 소량의 시료를 이용하여 단시간 내에 독성 유무를 검증할 수 있는 방법이다. 주로 독성물질의 screening test에 적용 가능한 시험방법이다.

해양생태계의 기초생산자를 이용한 시험 방법중 식물플랑크톤을 이용한 시험방법은 개체군성장저해율(population growth inhibition)을 endpoint로 설정하였다. 독성물질에 노출된 식물플랑크톤의 개체군이 72~96시간 후에 대조구에 비하여 개체군성장이 저해된 정도를 독성 평가에 이용하는 방법이다. 본 시험방법은 개체군 변화를 관찰하기 위하여 24시간 간격으로 식물플랑크톤 개체군의 세포수를 측정해야하는 번거로움이 있으나 단일종 시험이므로 염색소 농도를 형광측정기로 측정하거나 영상분석 장치가 부착된 현미경을 이용할 경우 세포수 변화를 관찰하기에 매우 용이하다. 또한 노출 시간이 72~96시간에 이르므로 식물플랑크톤의 세대기간(generation time)을 고려할 때 대상물질의 독성을 충분히 반영할 수 있다는 장점이 있다. 해조류를 이용한 독성시험은 해조류의 생식특성을 이용한 시험방법을 설정하였다. 표준시험생물인 녹조구멍갈파래는 생식시기에 염체에서 유주자(zospore)가 방출되며, 그 결과로 염체의 색깔이 변하게 된다. 따라서 독성물질에 노출된 염체의 색깔이 변화된 면적을 endpoint로 설정하였다. 시험방법은 일정 크기의 염체를 대상물질에 96시간 동안 노출한 후 염체의 색깔이 변화된 면적을 영상분석 시스템이나 현미경 또는 육안으로 관찰하여, 그 면적을 환산하여 대조구와 비교한다. 염체의 색깔에 변화가 없거나, 사멸하는 경우가 독성이 강하다.

해양생태계의 1차 소비자인 윤충류의 경우, 부화후 2시간 이내의 신생 개체(neonates)를 이용한 24시간 사망률과 포란한 개체를 이용한 48시간 개체군성장저해율을 endpoint로 설정하였다. 본 시험방법은 동일한 생물을 이용하여 급성 및 만성독성을 검증할 수 있다는 장점이 있다. 저서성 요각류를 이용한 시험은 배양중인 개체군중에서 일정크기(100~200 μm) 만을 체를 이용하여 선별한 후

48시간 사망률을 endpoint로 설정하였다. 따라서 해양의 1차 소비자 이용한 시험방법은 주로 초기생활사 단계를 이용한 시험방법으로 설정하였다.

해양퇴적물 독성시험방법으로는 저서성 단각류의 10일 사망률을 endpoint로 설정하였다. 본 시험방법은 현장에서 채취한 퇴적물내의 내서생물을 모두 제거한 후 시험생물 10개체씩을 시험구별로 10일 동안 노출하여 대상 물질의 독성을 검증하는 방법이다. 본 방법은 미환경보호국에서 개발된 시험방법을 참고하였으나 시험생물은 국내종으로 대체하였다. 본 시험방법은 노출기간이 10일에 이를 정도로 비교적 장기간의 시험방법이나 퇴적물내의 독성물질과 시험생물의 충분한 반응 시간을 고려하여 노출시간을 설정하였다.

어류를 이용한 독성시험방법은 자어의 7일 사망률을 endpoint로 설정하였다. 본 시험의 경우 자어를 대상물질에 노출하여 4일후부터 사망률이 급증하게 되며, 시험생물의 조기 사망이 이루어져 충분한 독성이 반영된 경우에는 시험기간을 단축할 수 있다.

상기 시험방법중 윤충류, 저서요각류 및 저서단각류의 사망 판정 여부는 5초 이상 움직임이 없는 경우를 사망으로 간주하며, 어류는 아가미의 운동이 전혀 없는 경우이다. 특히 저서단각류의 경우 노출 시험후 생존개체를 정상 퇴적물에 재노출하여 굴착하는지 여부를 관찰하여야 한다. 만약 재굴착이 이루어지지 않을 경우 사망한 개체로 간주한다.

시험결과의 타당성 및 일관성 검증

독성시험은 일반 화학분석 실험과 같이 결과의 정확성(accuracy)과 정밀성(precision)을 검증하여야 한다. 시험의 정밀도는 동일한 노출 농도에 대한 반복수를 두어 시험하므로서 검증할 수 있고, 정확도는 표준독성시험물질(reference materials)을 이용하여 검증한다. 따라서 각 시험생물별로 노출구에 대한 반복수는 3~5로 설정하였다. 실험농도구 내에서 반복구간 실험오차는 변동계수(CV%)=표준편차/평균*100) 기준으로 20% 이내이어야 한다. 또한 독성시험시에 대조구에 대한 시험 생물의 적합한 유지가 필수적이다. 따라서 사망률 시험의 경우 실험 완료시까지 보통의 경우 시험생물의 80~90% 이상이 생존하여야 하며, 개체군성장저해율 시험의 경우 식물플랑크톤은 시간당 개체군성장률, r=0.04 이상, 윤충류의 경우 일일당 r=0.7 이상이 되어야 한다. 또한 발광박테리아의 경우 노출 30분후에 자연발광변화율이 0.6~1.8 사이를 유지하여야 한다. 대조구에서 시험생물이 적절히 유지되었는지는 모든 시험에서 반드시 검증하여야 하며, 시험적합도기준(test acceptability criteria)에 미달할 경우 재실험을 원칙으로 한다.

또한 각 시험방법별 정확도를 검증하기 위하여 각 시험방법별로 표준시험물질을 선정하였으며, 각각의 물질별 민감도 허용 범위를

실험을 통하여 설정하였다. 표준시험물질은 각 시험생물에 가장 강한 독성을 보이는 물질과 기존의 실험을 통하여 많은 자료가 확보되어 있는 물질로 선정하였다. 표준시험물질을 이용한 독성 시험은 표준시험생물의 민감도를 검증하기 위한 수단이며, 모든 실험시 반드시 포함되어야 할 사항은 아니지만 시험생물별로 연간 2회 정도의 표준물질 독성시험을 수행하여 시험생물이 독성물질에 민감하게 반응하는지를 검증하여야 한다. 각각의 시험방법별 시험적합도 기준, 표준물질의 종류를 Table 3에 제시하였다. 본 기준은 각 시험법 별로 적용되는 대표적인 적합도 기준이며, 본 특별호에 포함된 각각의 시험방법에 좀더 상세한 적합도 기준이 제시되어 있다.

고 찰

본 연구 결과로 제시된 해양생태독성시험방법은 미환경보호국이나 국제기구에서 개발된 시험방법을 근거로 하였으나, 표준시험생물은 국내 서식 생물로 대체하여 별도로 개발 또는 설정된 시험방법이다. 따라서 시험생물의 전환에 따른 시험생물의 배양/사육, 시험방법 및 과정과 시험적합도기준 등은 시험생물에 적합하게 재설정하였으며, 모든 시험방법은 시험의 편이성과 일관성을 위하여 시험생물별로 차이는 있으나 Table 4에 제시된 정보가 기본적으로 제

Table 4. Summary of test conditions and test acceptability criteria for marine diatom *Skeletonema costatum*, growth inhibition toxicity tests.

Parameters	Test condition
Test type	static non-renewal
End point	population growth inhibition(EC ₅₀)
Test organism	<i>Skeletonema costatum</i>
Test duration	72 or 96 hr(72hr recommended)
Test temperature	25 °C±2 °C
Test salinity	20~35 psu(30 psu recommended)
Light quality	“cool white” fluorescent lighting
Light intensity	6000~10000Lux
Photoperiod	continuous
Test chamber size	50 ml test tube
Test solution volume	30 ml
Dilution water	natural or artificial seawater
Renewal of test solution	none
Aeration	none
Culture media	f/2
Initial cell density	5,000~10,000 cells/ml
Feeding regime	none
Cleaning	none
Test concentrations	five+control
Number of replicates per concentration	3~5
Sample volume required	1~2L depending on test volume
Test acceptability criterion	r=0.04/hr or greater growth rates in control

Table 3. Test acceptability criteria and standard reference materials for each test species.

Species name	Test acceptability	Standard reference materials
<i>Vibrio fischeri</i>	0.6~1.8 in bioluminescence changes	Zinc sulfate
<i>Skeletonema costatum</i>	r>0.04/h in control	Potassium dichromate
<i>Ulva pertusa</i>	80% or greater sporulation rate in control	Copper chloride
<i>Brachionus plicatilis</i> / <i>Tigriopus japonicus</i>	90% or greater survival rates in control/r>0.7/day in control	Copper or Cadmium
<i>Paralichthys olivaceus</i> / <i>Oryzias latipes</i>	80% or greater survival rates in control	Copper or Cadmium
<i>Mandibulophoxus mai</i> / <i>Monocorophium acherusicum</i>	80% or greater survival rates in control	Copper or Cadmium

Table 5. Scoring table for each standard method in terms of the availability.

Assessment parameters	Phyto-plankton	Zooplankton		fish		benthic amphipod		sea weed	bac-teria	aver-age
		rotifer	<i>Tigriopus</i>	medaka	flounder	<i>Ma</i>	<i>Mm</i>			
Species availability	10	10	9	8	5	10	7	7	10	8.4
Lab maintenance	10	10	10	10	5	10	5	7	10	8.6
Ecological importance	10	7	7	10	10	8	7	7	5	7.9
Sensitivity	8	5	6	6	7	6	7	8	9	6.9
Availability of International standard methods	10	10	7	9	7	10	9	7	10	8.8
Test procedures	8	9	9	7	6	8	8	10	10	8.3
Originality in test method	8	8	10	8	9	8	8	10	8	8.6
Test duration	8	10	10	7	7	6	6	8	10	8.0
Test cost	7	8	7	6	5	8	5	7	8	6.8
Institutional implementation	8	7	7	8	8	10	10	8	10	8.4
Total	87.0	84.0	82.0	79.0	69.0	84.0	72.0	79.0	90.0	80.7
Average	8.7	8.4	8.2	7.9	6.9	8.4	7.2	7.9	9.0	8.1

공된다. 각각의 시험방법을 시험중의 취득, 시험방법의 용이성, 시험비용 등을 고려하여 점수화한 결과, 비교적 효용성이 우수한 시험방법은 발광박테리아, 식물플랑크톤, 동물플랑크톤 및 저서성단각류(*M. achersicum*)로 나타났다(Table 5). 상기 시험방법은 시험생물의 취득이 용이하고 또한 시험방법이 비교적 간단한 특징을 갖는다. 반면 어류중 넙치를 이용한 시험방법이 가장 낮은 효용성을 보였다. 이는 시험종을 실험실에서 유지/관리가 어렵고 시험과정이 복잡한 측면이 고려되었다. 그러나 상기 6종의 시험방법은 시험의 난이도 및 종의 유용성을 고려하더라도 모든 시험 방법이 반드시 독성평가에 이용되어야 하며, 점수화된 자료가 시험방법의 필요성을 반영한 것은 아니다.

시험생물의 선정은 해양생태계의 분해자, 기초생산자 및 소비자를 대표하는 생물로 선정하였으며, 시험 대상 물질에 대하여 최소 3개 영양학적 역할군을 포함할 것을 권장한다. 특정 시험물질의 경우 시험생물의 종류에 따라서 그 영향이 간과될 수 있으므로 이에 대한 세심한 주의가 필요하다. 예로서 제초제와 같은 농약은 작물기작상 식물에 대한 영향이 상대적으로 크기 때문에, 동물플랑크톤이나 어류만으로 독성시험을 하는 경우, 독성이 낮게 평가될 수 있다. 따라서 대상물질의 독성시험시 기초생산자, 분해자 및 소비자를 각각 대표하는 최소 3개 생물군을 이용하여 독성시험을 수행해야 한다. 특히 본 시험법에서 제시하는 시험생물 이외에 다른 생물을 이용할 경우에는 시험생물의 분류체계, 채취 및 취득 과정에서부터 실험실 배양 또는 사육에 이르는 전 과정을 시험 결과에 반드시 포함하여야 한다. 또한 해당 생물군에 해당되는 표준시험법상의 표준독성시험물질을 이용하여 생물의 민감도 및 정밀도에 대한 기초 자료도 함께 제시함으로써 시험결과와 신뢰성을 확보하고, 또한 추가적인 표준시험생물로서의 등재도 가능하다. 해양생태독성 시험 결과는 국내 실정하에 적합한 한국해양독성 DB시스템을 구축하여 등재할 예정이다.

본 특별호에 출판된 논문은 연구 개발과정에서 논문으로 출간된 내용이 포함되어 있다. 대표적인 논문은 발광박테리아(Park *et al.*, 2005), 식물플랑크톤(박 등, 2005a), 저서성요각류(윤 등, 2006), 해조류(Han *et al.*, 2007), 어류(박 등, 2005b) 및 저서성 단각류(Lee *et al.*, 2005a, 2005b)에 대한 논문이 발표되었다. 본 특별호는 상기 논문을 모두 취합하고 또한 표준시험방법의 소개에 부합되게 재편

집하였고, 또한 기존 논문 출간 이후의 시험 자료를 분석하여 그 결과를 보충하여 작성하였다. 따라서 본 특별호 논문은 기존의 논문자료와 중복되는 측면은 있으나, 2002년부터 2006년까지 5년간에 걸쳐 개발한 해양생태독성시험방법을 일괄 정리하여, 특별호에 제시함으로써 일반 독자들의 이용 편의성을 고려하였다.

본 연구에서 개발된 표준시험방법은 개체 또는 개체군의 사망 및 성장의 변화를 바탕으로 한 시험방법이다. 따라서 본 시험방법은 분자생물학적 단계나, 군집 및 생태계를 이용한 좀더 포괄적인 독성시험방법이 누락되어 있다. 그러나 이러한 단계의 독성시험방법은 아직 세계적으로도 검증된 방법이 개발되지 않았다. 단 우리나라에서 분자생물학적 독성 검증 방법이나 해양인공생태계를 이용한 유해물질 독성평가 방법을 시도하고 있으므로 앞으로 5년 이내에 이 분야에 대한 가시적 성과가 있을 것으로 생각된다.

사 사

본 논문은 국립수산과학원(RP-2008-ME-024)과 농림수산식품부 수산특정연구개발사업 및 인천대학교 교내연구 지원에 의해 연구되었습니다. 본 연구를 위해 시험생물 취득 및 사육과정에 많은 도움을 주신 안전성평가연구소의 이성규 박사님, 국립환경과학원의 김상훈, 허인에 박사님, 구피팜의 최영민 사장님, 국립수산과학원 유해생물팀의 연구원께 감사드립니다. 특히 본 연구의 초기 단계에서 많은 조언과 도움을 주신 벨기에 Ghent University의 G. Persoone(현 MicroBioTests Inc, Belgium) 교수님께 감사드립니다. 또한 부족한 논문을 심사하여 주신 심사위원 여러분께 감사를 표합니다.

참고문헌

- 박경수, 이상희, 이승민, 윤성진, 박승윤, 2005a. 해양생태독성평가를 위한 표준시험생물로서의 식물플랑크톤에 관한 연구. 한국환경과학회지, **14**: 1129-1139.
- 박경수, 윤성진, 이승민, 김애향, 박승윤, 강덕영, 2005b. 해양생태독성평가를 위한 표준시험생물로서의 송사리 *Oryzias latipes*에 관한 연구. 환경생물학회지, **23**: 293-303.
- 윤성진, 박경수, 오정환, 박승윤, 2006. 저서성 해산 요각류 harpacticoid *Tigriopus japonicus* 유생을 이용한 해양생태독성

- 평가. 한국해양환경 공학회지, **9**: 160-167.
- Apha, Awwa and Wef, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC, USA.
- ASTM, 1996, Standard guide for acute toxicity test with rotifer *Brachionus*, American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA, USA.
- Chapman, P.M., 1989. Sediment Quality Triad Approach. In: Sediment Classification Methods Compendium edited by United States Environmental Protection Agency, Draft Final Report, PB 92231679, Chapter 9, pp. 27.
- Han, Y.S, G.S. Park, M.T. Brown, T.J. Han, 2007. Evaluating aquatic toxicity by visual inspection of thallus color in the green macroalga *Ulva*: testing a novel bioassay. Environmental Science & Technology, **41**: 3667-3671.
- ISO, 1995. Water quality - marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricorutum*. the International Organization for Standardization, ISO 10253, 7pp.
- Lee, J.S., K.T. Lee, D.H. Kim, C.K. Kim, J.H. Lee, K.H. Park and G.S. Park, 2005a. Application of indigenous benthic amphipods as sediment toxicity testing organisms. Ocean Science Journal, **40**: 17-24.
- Lee, J.S., K.T. Lee and G.S. Park, 2005b. Acute toxicity of heavy metals, tributyltin, ammonia and polycyclic aromatic hydrocarbons to benthic amphipod *Grandidierella japonica*. Ocean Science Journal, **40**: 61-66.
- NIWA, 1998, Marine Algae(*Dunaliella tertiolecta*) Chronic Toxicity Test Protocol, National Institute of Water and Atmospheric Research, New Zealand, 30pp.
- Park, G.S., C.S. Chung, S.H. Lee, G.H. Hong, S.H. Kim, S.Y. Park, S.J. Yoon, and S.M. Lee, 2005. Ecotoxicological evaluation of sewage sludge using bioluminescent marine bacteria and rotifer. Ocean Science Journal, **40**: 91-100.
- Rand, G.M. and S.R. Petrocelli, 1985. Fundamentals of Aquatic Toxicology, Hemisphere Publishing Corporation, Washington, 666pp.
- USEPA, 2002, Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms, United States Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC, USA.

2008년 4월 25일 원고접수

2008년 5월 13일 수정본 채택

담당편집위원: 이창훈