

〈Original article〉

해산로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 생존 및 개체군 성장률을 이용한 신방오도료(Zinc undecylenate)의 독성평가

황운기 · 최 훈 · 박윤호 · 박나영 · 장수정 · 이승민 · 최윤석 · 양준용 · 이주욱*

국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태위해평가센터

Toxicity Assessment of Antifouling Agent using the Survival and Population Growth Rate of Marine Rotifer, *Brachionus plicatilis*

Un-Ki Hwang, Hoon Choi, Yun-Ho Park, Na-Young Park, Soo-Jung Jang,
Seung Min Lee, Yun-Seok Choi, Joon-Yong Yang and Ju-Wook Lee*

Marine Ecological Risk Assessment Center, West Sea Fisheries Research Institute,
NIFS, Incheon 22383, Republic of Korea

Abstract - Toxicity assessment of antifouling agent, zinc undecylenate (ZU) has been investigated using the rate of survival and population growth in marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. The survival rate of *Brachionus plicatilis* was determined after 24 h of exposure to ZU and was not affected up to the maximum level of 100.0 mg L⁻¹ of ZU. The population growth rate (*r*) was determined after 72 h of exposure to ZU. It was observed that *r* in the controls (absence ZU) was greater than 0.5 but exhibited a sudden decrease with an increase in the concentration of ZU. ZU reduced *r* in a dose-dependent manner and a significant reduction occurred at a concentration greater than 12.5 mg L⁻¹. The 50% effective concentration (EC₅₀) value of *r* during ZU exposure was 26.4 mg L⁻¹, No-observed-effect-concentration (NOEC) was 6.3 mg L⁻¹ and Lowest-observed-effect-concentration (LOEC) was 12.5 mg L⁻¹, respectively. Based on the results, it is apparent that ZU concentration greater than 12.5 mg L⁻¹ exhibited a toxic effect on the *r* of zooplankton, *B. plicatilis* in natural ecosystems.

Keywords : rotifer, antifouling agent, zinc undecylenate, toxicity

서 론

방오도료는 선박의 선체에 부착 및 성장하는 해양생물을 억제하기 위해서 사용되는 물질로, 선체의 부식 및 연료 소비를 감소시켜주기 때문에 선박 운항에 매우 중요하다 (Fernandez-Alba 2002; Schultz 2007; Soroldoni *et al.* 2017). 방오도료로 가장 널리 알려져 있는 물질은 유기주석화합물

의 일종인 Tributyltin (TBT)로 방오능력이 대단히 뛰어났으나, 어패류 등에 농축되었을 경우 기형 및 Imposex를 유발시키는 내분비교란물질로 밝혀지면서, 2003년부터 국제해사기구(IMO)에서 단계적으로 제한하여 2008년에 사용을 전면 금지시켰다(Jacobson and Willingham 2000; Jung 2012; Lee *et al.* 2016). 이러한 TBT를 대체하기 위해 고농도의 아산화동(copper oxide)을 사용하였지만 유기주석화합물 보다 방오능력이 떨어져, 현재 Diuron, Igarol, Cu pyrithione (CP), Zinc pyrithione (ZP), Sea-nine 211 (SN), Zinc undecylenate

* Corresponding author: Ju-Wook Lee, Tel. 032-745-0684,
Fax. 032-745-0686, E-mail. lejuwook84@gmail.com

(ZU), Ziram, Zineb 등과 같은 신방오도로가 사용되고 있다 (Jung 2012; Shin *et al.* 2015).

신방오도로 중에 ZU는 일반적으로 이온화된 Undecylenate에 의한 항균작용을 이용하여, 피부 연고 및 헤르페스 바이러스 (herpes virus)를 살균하는 의약품으로 사용되는 물질이다 (Lin *et al.* 2006). ZU는 동물 피부 자극실험 (rabbit, guinea pig, mouse)에서 다른 아연화합물에 비해 생물영향이 적다고 알려져 있으나 (Lansdown 1991), 방오능 검사결과 미세조류 (*Navicula incerta*)의 성장률을 감소시켰으며, 파래 (*Ulva prolifera*) 포자의 운동성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 (Jung 2012). 또한, 이온화된 Zn은 증금속으로써 해산로티퍼 (*Brachionus plicatilis*)와 미세조류 (*Skeletonema costatum*)의 개체군 성장률에 영향을 미쳤고 (Hwang *et al.* 2014, 2016), 브라질 Patos lagoon 강의 퇴적물에서 분리한 방오도로 입자에서 Cu와 Zn이 가장 높게 검출되었다는 보고도 있다 (Soroldoni *et al.* 2017).

방오도로는 항구, 조선소, 어항 (fishing port) 등과 같은 해상활동이 두드러진 지역에서 높은 농도로 나타난다 (Lam *et al.* 2017). 우리나라 연안에서 부틸주석화합물을 제외한 신규방오도로의 평균 농도가 2006년 10.5 ng L^{-1} 에서 2009년 50.3 ng L^{-1} 로 약 5배 정도 농도가 증가하였으며, 2009년 근산지역에서 평균최대농도 215.18 ng L^{-1} 로 오염이 확대되고 있는 것으로 보고되었다 (Lee *et al.* 2011, 2015). 특히 양식장이 밀집해 있고 해안선이 복잡한 서해와 남해지역에서 신방오도로 농도의 증가가 두드러지며 (Lee *et al.* 2011), 이로 인해 양식생물의 체내 축적뿐만 아니라 직·간접적으로 이를 섭취하는 인류의 보건에도 심각한 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 해양생태계 내에서 1차 소비자이며, 해산 어류의 치어기 먹이생물인 해산로티퍼 (*B. plicatilis*)의 생존

및 개체군 성장률을 이용하여 ZU 독성에 의한 무영향농도 (No Observed Effective Concentration; NOEC), 최소영향농도 (Lowest Observed Effective Concentration; LOEC) 및 반수영향농도 (50% Effective Concentration)를 나타냈다. 이러한 연구결과는 신방오도로 물질의 생태안정성 평가를 위한 기준치 설정 및 다른 신방오도로 물질과의 독성치를 비교할 수 있는 유용한 자료로 활용될 것으로 판단된다.

재료 및 방법

1. 시험생물

시험생물 *B. plicatilis*는 서해수산연구소 해양생태위해평가센터 항온실에서 3개월 이상 계대배양하며 이용하였다. 배양액은 자연해수를 $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter로 여과 한 후에 멸균하여 사용하였고, 먹이생물로 *Chlorella vulgaris*를 하루에 한 번 공급하였다. 실험당일 계대배양중인 *B. plicatilis*에서 포란중인 성체 (amitic female)를 분리하고 2시간 이내 부화된 암컷 신생개체 (female neonate) 중 운동성이 활발한 neonate를 선별하여 시험에 사용하였다 (Fig. 1).

2. Zinc undecylenate 조성

시험에 사용된 Zinc undecylenate (Phenanthrene, Sigma-aldrich, USA)은 DMSO (Dimethylsulfoxide, Sigma-aldrich, USA)를 carrier solution으로 사용하여 $100,000 \text{ mg L}^{-1}$ 의 stock solution을 제작한 뒤, 멸균된 자연해수로 희석하여 사용하였다. 시험용액에 사용된 DMSO의 최대 농도는 0.1%로 *B. plicatilis*에서 독성이 나타나지 않는 농도로 사용하였다 (Gallardo *et al.* 1997). 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위

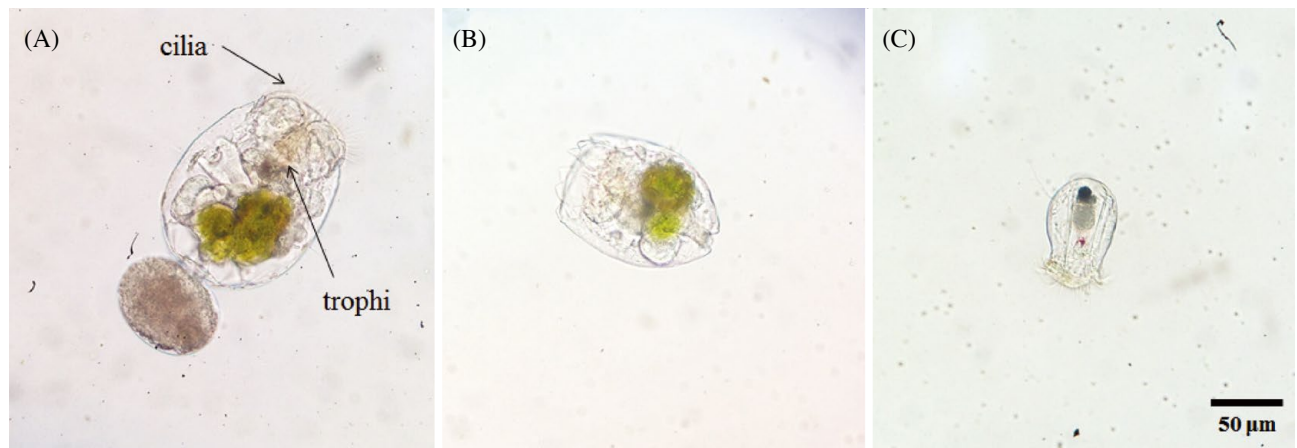


Fig. 1. The shape of an adult with egg (A), female neonate (B) and male neonate (C) of *B. plicatilis*.

Table 1. Culture condition of *B. plicatilis*.

Class	Condition
Culture type	Static non-renewal
Parameter	Survival rate (24 h) and population growth rate (72 h)
Temperature	25°C ± 1.0°C
Salinity	30 ± 0.5
Photoperiod	Darkness
Test volume	1 mL
Solution	Filtered (0.45 µm) and sterilized seawater
Feed organism	<i>Chlorella vulgaris</i> (2,000,000 cell mL ⁻¹)
Validity	> 90% survival rate, > 0.5 population growth rate

Table 2. Toxicity assessment using survival rates and population growth rates (*r*) in *B. plicatilis* exposed to zinc undecylenate (Unit: mg L⁻¹).

Toxicant	NOEC	LOEC	EC ₅₀	95% CI
Zinc undecylenate	Survival rates* <i>r</i> > 100 6.0	> 100 12.5	> 100 26.4	- 19.5-37.0

NOEC: No observed effective concentration, LOEC: Lowest observed effective concentration, EC₅₀: 50% Effective concentration, 95% CI: 95% Confidence limit, SR: Survival rates, PGR: Population growth rates, *: No effect of survival rate by Zinc undecylenate in 100 mg L⁻¹ limits.

하여 ZU의 농도는 0, 12.5, 25, 50, 100 mg L⁻¹으로 조성하였고, 개체군 성장률에 미치는 영향을 알아보기 위하여 농도를 0, 3.1, 6.3, 12.5, 25.0, 50.0 mg L⁻¹로 조성하였다. 개체군 성장률 시험의 농도 구간은 사전 예비실험을 바탕으로 설정하였고 생존율 시험의 최고농도는 개체군 성장률 대비 2배로 설정하였다.

3. 생존율

생존율 시험은 24-well plate에 시험용액을 농도별로 1 mL씩 6반복 실시하였다. 2h 이내 부화한 *B. plicatilis*의 neonate를 well 당 5개체씩 넣고 25 ± 1.0°C에서 24h 암 배양 한 뒤, 현미경을 이용하여 생존한 개체수를 계수하고 생존율을 계산하였다(Table 1). *B. plicatilis*의 생존 여부는 시험물질에 노출된 neonate의 수영 운동성 및 내부기관(섬모와 저작기)의 활성에 따라 판단하였고(Fig. 1), 대조구의 생존율이 90% 이상일 경우 유의한 시험결과로 사용하였다(ASTM 1991).

4. 개체군 성장률

개체군 성장률(*r*)은 24-well plate에 시험용액을 농도별로 1 mL씩 6반복 실시하였다. 먹이생물 *C. vulgaris*는 원심 분리하여 미세조류 배양액을 최대한 제거하여 사용하였고 각 실험구당 200만 cell mL⁻¹을 급여하였으며, 추가적인 *C. vulgaris*는 급여하지 않았다. *B. plicatilis*의 neonate를 well

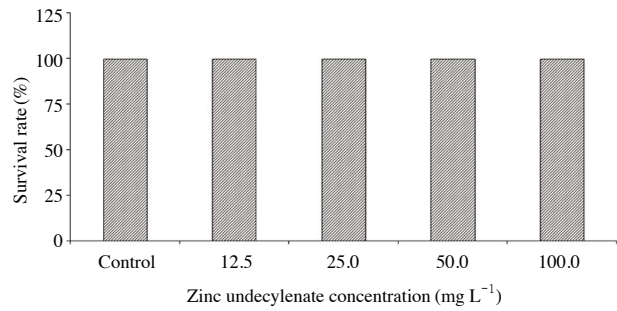


Fig. 2. The changes in the survival rates in *B. plicatilis* exposed to zinc undecylenate for 24 h.

당 5개체씩 넣고 25 ± 1.0°C에서 72 h 암 배양한 뒤(Jansen *et al.* 1994), 3% 포르말린으로 고정하고 현미경으로 모든 개체수를 계수하여 개체군 성장률을 계산하였다(Table 1). 개체군 성장률은 아래와 같은 상대성장률 계산식으로 도출하였고, 대조구의 개체군 성장률이 0.5 이상일 경우에 유의한 시험결과로 사용하였다(Lee *et al.* 2016).

$$r = (\ln N_d - \ln N_o) d^{-1}$$

r = 개체군 성장률, *N_d* = 날짜 *d*에서의 개체수,

N_o = 초기 개체수, *d* = 배양일

5. 통계분석

대조군과 실험군의 유의성 검정은 SigmaPlot software (SigmaPlot 2001, SPSS Inc., USA)의 Student's *t*-test로 비교하였으며 *p*가 0.05 이하인 것을 유의한 것으로 판단하였다. 생존율 및 개체군 성장률에 대한 반수영향농도(50% Effective Concentration; EC₅₀)와 95% 신뢰구간(95% Confidence Limit; 95% CI)은 Toxicalc 프로그램 (Toxicalc 5.0, Tidepool scientific software, USA)의 probit 통계법을 이용하여 분석하였다. 무영향농도 및 최소영향농도는 Toxicalc 프로그램의 Dunnett's test를 이용하여 분석하였다.

결 과

1. 생존율 변동

24h 동안 Zinc undecylenate (ZU)에 노출된 *B. plicatilis*의 생존율 변화를 Fig. 2에 나타냈다. 대조구의 생존율은 90% 이상으로 시험조건에 적합하였으며, ZU 농도가 증가해도 생존율에는 변화가 나타나지 않았으며, 실험 최고농도 100 mg L⁻¹에서도 변화가 없었다(Fig. 2).

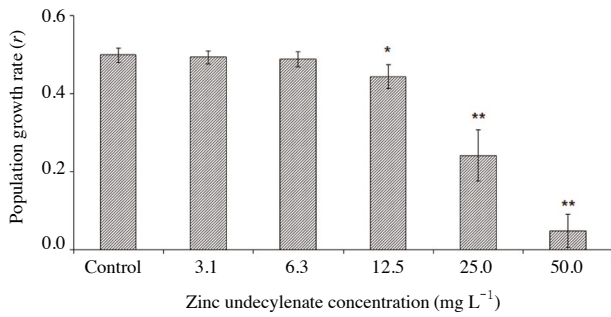


Fig. 3. The change in the population growth rates in the *B. plicatilis* exposed to zinc undecylenate for 72 h. Vertical bars represent the standard deviation of the mean for six times. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ for control.

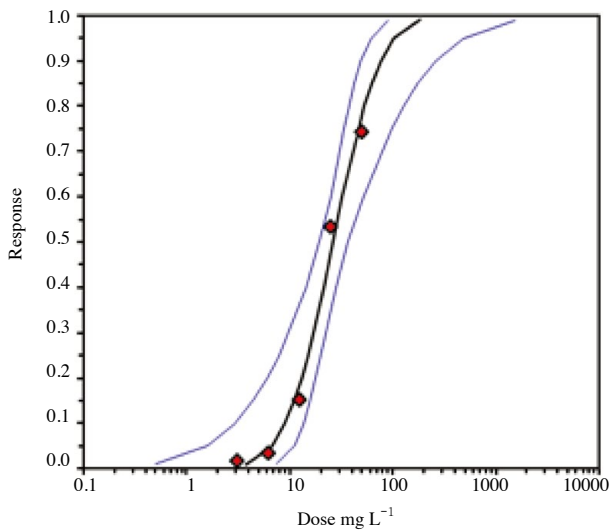


Fig. 4. Dose-response curve using the population growth rates of *B. plicatilis* exposed to zinc undecylenate for 72 h.

2. 개체군 성장률 변동

72 h 동안 ZU에 노출된 *B. plicatilis*의 개체군 성장률 변화를 Fig. 3에 나타냈으며, 대조구의 개체군 성장률은 0.5 이상으로 시험에 적합한 것으로 나타났다. 개체군 성장률은 6.3 mg L⁻¹ 이하의 농도구에서는 대조구와 유의한 차이가 없었지만, 12.5 mg L⁻¹에서 대조구와 비교해 11.0% (0.44 ± 0.03) 감소해, 유의적인 차이를 나타냈다 ($p < 0.05$). ZU의 농도가 증가 할수록 개체군 성장률은 감소해, 25.0 mg L⁻¹에서 대조구 대비 48.4% ($p < 0.01$)를 나타냈으며, 50.0 mg L⁻¹에서는 대조구 대비 90% (0.05 ± 0.04) 이상 감소하였다 ($p < 0.01$) (Fig. 3).

Table 3. Toxicity value (EC₅₀) of antifouling agents in algae.

Species	End point	Irgarol	Diuron	ZP*	CP*	SN*	Chlorothalonil	Reference
<i>Selenastrum capricornutum</i>	30 h EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	15.5 ± 2.7	-	-	-	0.003 ± 0.0003	42.4 ± 3.27	Fernandez-Alba et al. 2002
	72 h EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	0.0108 ± 0.0017	0.045 ± 0.0079	-	-	0.003 ± 0.0004	0.0068 ± 0.001	
Algae	<i>Skeletonema costatum</i>	-	-	1.6(1.3-2.7)	1.5(1.4-1.9)	-	-	
	<i>Tetraselmis tetrahele</i>	-	-	19(13-45)	12(10-19)	-	-	Onduka et al. 2010
	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	-	-	4.5(3.6-8.1)	3.2(2.6-4.2)	-	-	
	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	-	-	8.0(7.1-9.4)	7.3(6.7-8.0)	-	-	
<i>Nitzschia pungens</i>	96 h EC ₅₀ (µg L ⁻¹)	0.586 ± 0.825	6.640 ± 6.792	5.513 ± 1.358	4.908 ± 2.560	267.368 ± 38.269	360.963 ± 129.040	Jung et al. 2017
<i>Tisochrysis lutea</i> <i>Skeletonema marinoi</i> <i>Tetraselmis suecica</i>	96 h EC ₅₀ (µg L ⁻¹)	0.34 ± 0.05 0.85 ± 0.03 0.62 ± 0.04	3.73 ± 0.35 10.3 ± 0.80 4.20 ± 0.12	1.25 ± 0.07 1.98 ± 0.05 256 ± 18.1	1.21 ± 0.04 1.16 ± 0.02 18.0 ± 1.46	- - -	- - -	Dupraz et al. 2018

*ZP: Zinc pyrithione, CP: Copper pyrithione, SN: Sea nine 211

Table 4. Toxicity value (EC₅₀ or LC₅₀) of antifouling agents in Crustacean, fish, and bacteria.

Species	End point	Irgarol	Diuron	ZP*	CP*	SN*	Chlorothalonil	Reference
<i>Daphnia magna</i>	24 h EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	10 ± 1.8	-	-	-	0.008 ± 0.0015	0.07 ± 0.0139	Fernandez-Alba <i>et al.</i> 2002
	48 h EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	7.3 ± 1.24	8.6 ± 1.3	-	-	0.004 ± 0.0007	0.028 ± 0.005	
Crustacean	<i>Tigriopus japonicus</i>	-	-	280 (190-450)	2.3 (20-26)	-	-	Onduka <i>et al.</i> 2010
	<i>Heptacarpus futitirostris</i>	-	-	120	2.5	-	-	Mochida <i>et al.</i> 2006
	<i>Artemialarvae</i>	9.734 ± 2.268	30.573 ± 1.732	3.147 ± 0.187	0.319 ± 0.016	0.318 ± 0.092	2.683 ± 0.102	Jung <i>et al.</i> 2017
	<i>Oryzias latipes</i>	-	-	2.6-40	4.3-43.6	-	-	Yamada and Kakuno 2002; Madsen <i>et al.</i> 2000
Fish	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	25 (14-80)	74 (29-3684)	0.0084 (0.0066-0.011)	0.0076 (0.0052-0.014)	0.014 (0.011-0.017)	-	Okamura <i>et al.</i> 2000
		0.88 (0.46-1.3)	0.23 (0.0089-0.59)	0.0046 (0.00363-0.0057)	0.0013 (0.0003-0.0017)	0.014 (0.011-0.017)	-	
	<i>Fish cell CHSE-sp.</i>	100 <	52	0.18	0.10	2.6	-	
	<i>Pagrus major</i>	-	-	98.2 (60.5-159)	9.3 (8.1-10.7)	-	-	Onduka <i>et al.</i> 2010
Bacteria	<i>Vibrio fischeri</i>	-	-	-	-	0.036 ± 0.0047	-	Fernandez-Alba <i>et al.</i> 2002
		50.8 ± 7.8	-	-	-	0.012 ± 0.0013	-	

*ZP: Zinc pyrithione, CP: Copper pyrithione, SN: Sea nine 211

3. 생존 및 개체군 성장률을 이용한 독성평가

본 실험에서 시험최고 농도인 100 mg L^{-1} 에서도 생존율은 대조구와 비교하여 특별한 변화를 나타내지 않았으나, 개체군 성장률은 ZU 농도가 증가할수록 감소하는 농도 의존적인 결과를 나타냈다. 또한, ZU에 대한 개체군 성장률의 반응은 표준독성 반응으로 잘 알려진 Sigmoid 형태를 나타내 (Fig. 4), *B. plicatilis*의 개체군 성장률은 ZU와 같은 신방오도로 물질의 독성평가에 유용한 지표인 것으로 판단된다. 이들 실험결과를 이용한 ZU에 대한 개체군 성장률의 EC_{50} 은 $26.4 (19.5-37.0) \text{ mg L}^{-1}$, $NOEC$ 는 6.0 mg L^{-1} , $LOEC$ 는 12.5 mg L^{-1} 를 나타내었다 (Table 2).

고 찰

TBT로 대표되는 유기주석화합물을 이용한 방오도로는 해양생물에게 다양한 영향을 미치는 것으로 알려져 왔지만 (Barr *et al.* 2018), 특히 어패류에서 Imposex 현상, 기형, DNA 손상 등을 유발하는 것으로 잘 알려져 있다 (Jacobson and Willingham 2000; Jung 2012, Sousa *et al.* 2014). 이러한 이유로, TBT 사용으로 인한 오염 피해가 발생하지 않도록 하기 위하여 TBT를 대체할 수 있는 신방오도로를 사용해 오고 있다 (Sousa *et al.* 2014; Oliveira *et al.* 2017). 이론적으로 신방오도로는 환경에 악 영향을 미치지 않도록 독성이 없어야 하지만 (Zecher *et al.* 2018), biocide의 기능을 가져야 하는 특성상 현재 사용되는 신방오도로도 비표적 해양생물에게 독성을 나타내고 있다 (Jung *et al.* 2017). 현재 다양한 생물을 이용하여 신방오도로에 대한 생물독성평가가 수행되고 있지만 (Fernandez-Alba 2002; Kwok and Leung 2005; Bellas 2006; Ytreberg *et al.* 2010; Jung *et al.* 2017), 해양생물을 이용하여 ZU의 독성평가를 한 연구는 다른 신방오도로에 비해 거의 찾아볼 수 없다 (Tables 3, 4). 특히, 동물성플랑크톤으로 어류 치어기 먹이생물로서 중요한 역할을 담당하는 해산로티퍼 *B. plicatilis*를 사용한 연구는 전무하다. 스웨덴 해양국 (Swedish Maritime Administration)에서 허용한 친환경 방오도로 5개 (Mile light, Micron Eco, SSC-44, Legant H2000 및 Intersleek 700)에 노출된 조류 (*Ceramium tenuicorne*)와 갑각류 (*Nitocra spinipes*) 조차도 독성이 나타난 것을 미루어 보아 (Karlsson and Eklund 2004), ZU도 잠재적으로 해양생물에게 영향을 미칠 가능성이 있다.

본 연구결과, ZU에 72 h 노출된 *B. plicatilis*의 개체군 성장률은 ZU의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 감소하는 현상을 보였지만, 생존율은 노출 24 h 후 최고농도 (100 mg L^{-1})에서도 대조구와 유의한 차이를 나타내지 않았다. 개

체군 성장률이 생존율에 비하여 민감하게 나타나는 것은 노출시간의 증가와 더불어, 생존율보다 개체군 성장률이 독성에 민감하게 반응하는 것으로 설명할 수 있다 (Hwang *et al.* 2016; Lee *et al.* 2016). Garaventa *et al.* (2010)에 의하면 신방오도로 물질인 Zin pyrithione (ZP)의 경우에 노출시간이 24 h에서 48 h으로 길어지면, *B. plicatilis*와 같은 동물성플랑크톤의 생존율에 영향을 주는 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서 ZU에 대한 개체군 성장률의 반응은 표준독성 반응인 sigmoid 형태를 나타내, 개체군 성장률은 ZU와 같은 신방오도로 물질의 독성을 평가하기 위한 적절한 시험으로 판단된다.

ZU는 다른 방오도로 물질과 비교하여 플랑크톤류, 해조류, 박테리아와 같은 생물별 독성 범위가 다양하게 나타나는 것으로 보고하고 있다 (Jung 2012). 본 연구에서 ZU에 노출된 *B. plicatilis*는 100% 생존하여 LC_{50} 이 $>100 \text{ mg L}^{-1}$ 로 예측되는 것에 비해, *B. plicatilis*를 Cu pyrithione (CP)에 24 h 노출한 경우 LC_{50} 이 $24 \mu\text{g L}^{-1}$ (Li *et al.* 2014), ZP에 24 h 노출한 경우 LC_{50} 이 $0.07 \mu\text{g L}^{-1}$ 로 나타나 (Garaventa *et al.* 2010), ZU는 ZP와 CP에 비해 독성이 낮은 것으로 판단된다. 또한, ZU에 노출된 파래 (*Ulva prolifera*) 포자의 운동성도 ZU가 ZP보다 10,000배 이상 독성이 낮았으며 (Jung 2012), 구멍갈파래 (*Ulva pertusa*) 포자를 6일간 방오도로에 노출한 결과도 ZP와 CP가 독성이 큰 것으로 나타났다 (Shin *et al.* 2015). ZU는 전반적으로 항균작용이 뛰어나, 박테리아 (*Bacillus subtilis*)를 ZU에 노출한 결과 독성세기는 $ZP > Ziram > ZU > CP$ 순서로, ZU는 CP보다는 약 2배 독성이 높은 것으로 보고하고 있다 (Jung 2012). 이러한 결과를 종합하면, ZU는 동·식물플랑크톤 및 파래류에서 생물독성이 낮게 나타나, 전반적으로 다른 방오도로에 비해 독성이 낮다고 판단할 수 있지만, 상대적으로 박테리아에서 독성이 높게 나타나는 것을 알 수 있다. 선박의 보수, 청소 및 물리적인 충격에 의해 탈락된 방오도로 입자는 퇴적물에 축적되고, 축적된 방오도로가 지속적으로 유출되어 환경 내 방오도로의 농도를 증가시키고 있기 때문에 (Song *et al.* 2005; Soroldoni *et al.* 2017), ZU와 같이 상대적으로 낮은 독성이 예상되는 방오도로도 환경 내 농도가 지속적으로 증가할 수 있다는 점을 간과해서는 안 되며, 다양한 생물을 이용한 독성연구와 모니터링은 주기적으로 실시되어야 할 것이다.

본 연구에서는 ZU에 대한 *B. plicatilis* 생존율과 개체군 성장률의 연구결과를 바탕으로, 무영향농도 (NOEC), 최소영향농도 (LOEC) 및 반수영향농도 (EC_{50})을 도출하여 신방오도로물질의 독성을 평가하고자 하였으며, 이러한 결과는 해양환경 내에서 ZU의 기준치 설정 및 다른 신방오도로 사이의 독성치를 비교할 수 있는 유용한 자료로 활용될 것이다.

적 요

해산로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 생존 및 개체군 성장률(r)을 사용하여 Zinc undecylenate (ZU)에 대한 독성평가를 실시하였다. 24 h 동안 ZU에 노출된 *B. plicatilis*의 생존율은 실험 최고농도 100 mg L^{-1} 에서도 영향이 나타나지 않았으나, ZU에 72 h 노출된 개체군 성장률(r)은 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타내, 12.5 mg L^{-1} 에서 유의적인 감소를 나타냈고 최고농도 50.0 mg L^{-1} 에서 개체군 성장률이 90% 이상 감소되었다. ZU에 노출된 *B. plicatilis*의 개체군 성장률의 반수영향농도(EC_{50})값은 26.4 mg L^{-1} , 무영향농도(NOEC)는 6.3 mg L^{-1} , 최소영향농도(LOEC)는 12.5 mg L^{-1} 로 나타났다. 자연생태계 내에서 ZU 물질이 해수 중에서 12.5 mg L^{-1} 이상을 초과하여 나타낼 때 *B. plicatilis*와 같은 동물성플랑크톤의 개체군 성장률이 영향을 받을 것으로 판단되며, 이러한 연구결과는 신방오도료물질의 생태안정성 평가를 위한 기준치 설정 및 다른 방오도료물질과의 독성치를 비교할 수 있는 유용한 자료로 활용될 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 2018년도 국립수산과학원 경상과제 (R2018 029)연구비 지원으로 국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태위해평가센터에서 수행하였다.

REFERENCES

- ASTM. 1991. Standard guideline for acute toxicity tests with the rotifer *Brachionus* Annual Book of ASTM Standards. Vol 11.04 E1440. American Society for Testing and Materials. USA.
- Barr JM, JR Palmucci, OJ Lambert and PP Fong. 2018. Exposure to the antifouling chemical medetomidine slows development, reduces body mass, and delays metamorphosis in wood frog (*Lithobates sylvaticus*) tadpoles. Environ. Sci. Pollut. Res. 25:10630–10635.
- Bellas J. 2006. Comparative toxicity of alternative antifouling biocides on embryos and larvae of marine invertebrates. Sci. Total Environ. 367:573–585.
- Fernandez-Alba AR, MD Hernando, L Piedra and Y Chisti. 2002. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays. Anal. Chim. Acta 456:303–312.
- Garaventa F, C Gambardella, AD Fino, M Pittore and M Faimali. 2010. Swimming speed alteration of *Artemia* sp. and *Brachionus plicatilis* as a sub-lethal behavioural endpoint for ecotoxicological surveys. Ecotoxicology 19:512–519.
- Hwang UK, HM Ryu, JW Lee, SM Lee and HS Kang. 2014. Toxic effects of heavy metal (Cd, Cu, Zn) on population growth rate of the marine diatom (*Skeletonema costatum*). Korean J. Environ. Biol. 32:243–249.
- Hwang UK, HM Ryu, S Heo, SJ Jang, KW Lee and JW Lee. 2016. Effect of heavy metals on the survival and population growth rates of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. Korean J. Environ. Biol. 34:353–360.
- Jacobson AH and GL Willingham. 2000. Sea-nine antifoulant: an environmentally acceptable alternative to organotin antifoulants. Sci. Total Environ. 258:103–110.
- Janssen CR, G Persoone and TW Snell. 1994. Cyst-based toxicity tests. VIII. Short-chronic toxicity tests with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. Aquat. Toxicol. 28:243–258.
- Jung SM. 2012. Development of new antifouling systems based on nontoxic self-polishing copolymer coatings. Pukyong National University.
- Jung SM, JS Bae, SG Kang, JS Son, JH Jeon, HJ Lee, JY Jeon, M Sidharthan, SH Ryu and HW Shin. 2017. Acute toxicity of organic antifouling biocides to phytoplankton *Nitzschia pungens* and zooplankton *Artemia* larvae. Mar. Pollut. Bull. 124:811–818.
- Karlsson J and B Eklund. 2004. New biocide-free anti-fouling paints are toxic. Mar. Pollut. Bull. 49:456–464.
- Kwok KWH and KMY Leung. 2005. Toxicity of antifouling biocides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* (Crustacea, Copepoda): Effects of temperature and salinity. Mar. Pollut. Bull. 51:830–837.
- Lam NH, HH Jeong, SD Kang, DJ Kim, MJ Ju, T Horiguchi and HS Cho. 2017. Organotins and new antifouling biocides in water and sediments from three Korean Special Management Sea Areas following ten years of tributyltin regulation: Contamination profiles and risk assessment. Mar. Pollut. Bull. 121:302–312.
- Lansdown ABG. 1991. Interspecies variations in response to topical application of selected zinc compounds. Food Chem. Toxicol. 29:57–64.
- Lee JW, HM Ryu, S Heo and UK Hwang. 2016. Toxicity assessment of heavy metals (As, Cr and Pb) using the rates of survival and population growth in marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. Korean J. Environ. Biol. 34:193–200.
- Lee MR, UJ Kim, IS Lee, MC Choi and JE Oh. 2015. Assessment of organotin and tin-free antifouling paints contamination in the Korean coastal area. Mar. Pollut. Bull.

- 99:157–165.
- Lee SG, JW Chung, HS Won, DS Lee and YW Lee. 2011. Analysis of antifouling agents after regulation of tributyltin compounds in Korea. *J. Hazard. Mater.* 185:1318–1325.
- Lee YJ, JY Yang and YW Lim. 2016. Chemical Hazard and Management of Marine Environment. *Korean J. Hazard. Mater.* 4:65–71.
- Li AJ, PTY Leung, VWW Bao, AXL Yi and KMY Leung. 2014. Temperature-dependent toxicities of four common chemical pollutants to the marine medaka fish, copepod and rotifer. *Ecotoxicology* 23:1564–1573.
- Lin MC, HL Wu, HS Kou and SM Wu. 2006. Simple fluorimetric liquid chromatographic method for the analysis of undecylenic acid and zinc undecylenate in pharmaceutical preparations. *J. Chromatogr. A* 1119:264–269.
- Madsen T, L Samsøe-Petersen, K Gustavson and D Rasmussen. 2000. Ecotoxicological assessment of antifouling biocides and nonbiocidal antifouling paints. Environmental project report 531. Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen, Denmark.
- Mochida K, K Ito, H Harino, A Kakuno and K Fujii. 2006. Acute toxicity of antifouling biocides and joint toxicity with copper to red sea bream (*Pagrus major*) and toy shrimp (*Heptacarpus futilirostris*). *Environ. Toxicol. Chem.* 25:3058–3064.
- Okamura H, T Watanabe, I Aoyama and M Hasobe. 2002. Toxicity evaluation of new antifouling compounds using suspension-cultured fish cells. *Chemosphere* 46:945–951.
- Oliveira IB, KJ Groh, R Schonenberger, C Barroso, KV Thomas and MJF Suter. 2017. Toxicity of emerging antifouling biocides to non-target freshwater organisms from three trophic levels. *Aquat. Toxicol.* 191:164–174.
- Onduka T, K Mochida, H Harino, K Ito, A Kakuno and K Fujii. 2010. Toxicity of Metal Pyrithione Photodegradation Products to Marine Organisms with Indirect Evidence for Their Presence in Seawater. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 58:991–997.
- Schultz MP. 2007. Effects of coating roughness and biofouling on ship resistance and powering. *Biofouling* 23:331–341.
- Shin HW, SG Kang, JS Son, JH Jeon, HJ Lee, SM Jung and CM Smith. 2015. Evaluation of antifouling system of new antifouling agents using spores of the green alga, *Ulva pertusa* and diatom, *Nitzschia pungens*. *Korean J. Environ. Ecol.* 29:736–742.
- Song YC, JH Woo, SH Park and IS Kim. 2005. A study on the treatment of antifouling paint waste from shipyard. *Mar. Pollut. Bull.* 51:1048–1053.
- Soroldoni S, F Abreu, IB Castro, FA Duarte and GLL Pinho. 2017. Are antifouling paint particles a continuous source of toxic chemicals to the marine environment? *J. Hazard. Mater.* 330:76–82.
- Sousa ACA, MR Pastorinho, S Takahashi and S Tanabe. 2014. History on organotin compounds, from snails to humans. *Environ. Chem. Lett.* 12:117–137.
- Yamada H and A Kakuno. 2002. Present status of the development of alternative tributyltin-free antifouling paints and toxicity of new biocides to aquatic organisms. *Bull. Fish. Res. Agency* 6:56–72.
- Ytreberg E, J Karlsson and B Eklund. 2010. Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater. *Sci. Total Environ.* 408:2459–2466.
- Zecher K, VP Aitha, K Heuer, K Roland, M Fiedel and B Philipp. 2018. A multi-step approach for testing non-toxic amphiphilic antifouling coatings against marine microfouling at different levels of biological complexity. *J. Microbiol. Methods* 146:104–114.

Received: 6 August 2018

Revised: 7 September 2018

Revision accepted: 7 September 2018