

## 산업폐수의 독성평가와 독성물질의 탐색

한국화학연구소 이성규

### 1. 서 론

산업폐수는 산업활동의 부산물로서 발생되며, 가장 중요한 수질오염원으로 인식되고 있다. 그렇기때문에 산업폐수는 적절한 폐수처리시설을 거쳐서 폐수배출 기준에 맞추어 배출하도록 규제하고 있다. 그러나 산업폐수는 유입되는 폐수의 성상이 사용원료와 생산공정에 따라 그 양과 성분이 매우 다양하기 때문에, 처리되어져야 하는 화학물질의 종류뿐만 아니라, 처리과정에서 발생할 수 있는 분해산물도 다양하므로, 이러한 복합폐수를 단순히 화학적 지표에 의해 배출의 적합성을 판단하는 것은 수질관리의 편의성이라는 측면에서는 적절하다고 할 수 있겠다. 그러나 모든 산업계에서 새로운 화학물질의 생산, 소비가 급증하는 추세에 있고, 방류되는 폐수가 복합적이기 때문에, 이러한 방법에 의한 수질관리는 불합리하다고 사료되고, 이를 보완할 수 있는 방법의 적용이 절실하다고 할 수 있겠다. 이와 같은 맥락에서 단일 화학물질별 수질관리의 문제점과 이를 보완할 수 있는 방법에 대한 연구동향을 보면 1988년 Suntio 등<sup>1)</sup>은 pulp 제조공장 폐수에서 약 250종의 화학물질을 동정하였으며, 이들 개개 물질에 대한 자료만으로는 복합폐수의 동태와 영향을 정확하게 평가할 수 없기 때문에 새로운 평가방법의 도입이 필요하다고 하였다. 또한 Branson 등<sup>2)</sup>은 수질보호를 극대화하면서 수질 감시비용은 최소화시킬 수 있는 방안으로 화학적 및 생물학적 지표를 이용한 단계별 방류수 감시체제(Level A, B, C, D)의 도입을 주장한 바 있으며, Miller 등<sup>3)</sup>은 복합물질인 경우 화학적 분석결과 예측되는 독성과 생물학적 검정 결과와는 다르기 때문에 복합물질의 독성평가지에는 생물학적 검정 방법의 도입이 필요하다고 하였다. 또한 DeGraeve 와 Cooney<sup>4)</sup>, Knight 와 Waller<sup>5)</sup>는 물벼룩의 일종인 ceriodaphnia 를 방류수 만성독성 평가에 이용하였으며, Burton 등<sup>6)</sup>은 광산폐수가 유입되는 현장에서 물과 저질에 대해 화학적 분석결과와 생물지표인 미생물 활성과 ceriodaphnia 의 생육을 비교한 바, 환경독성학적 측면에서 이들 생물지표의 감수성과 유용성이 높다고 평가하였다. 그리고 이러한 환경독성학적 평가방법을 이용한 산업폐수 내 독성물질의 탐색과 폐수 처리시설의 처리효율 평가에 대해 Grande<sup>7)</sup>는 제지 및 pulp 폐수의 어류에 미치는 영향을 평가한 결과, 어류치사의 원인 물질이 sulfite waste liquor 임을 밝혔고, Parkhurst 등<sup>8)</sup> 및 Gasith 등<sup>9)</sup>은 Daphnia 를 이용한 독성실험을 통하여 산업폐수 중 독성을 나타내는 원인 물질의 탐색과 독성물질의 처리효과를 평가하였고, Pickering 등<sup>10)</sup>은 생물학

적 평가기법을 이용하여 염료공장 폐수처리 시설의 독성물질 제거효율을 평가하고, 이를 위한 독성평가 방법을 확립하기 위한 연구를 수행하였다. 또한 양질의 상수도 원수를 확보하고, 생태계 먹이연쇄를 통한 유해물질 (특히, 변이원성 물질)이 인간에게 유입되는 것을 예방하기 위하여 각종 산업폐수에 대해 유전독성학적 실험이 수행된 바, 1985년 McGeorge 등<sup>11)</sup>은 27개 산업폐수에 대해 Ames test 를 실시한 바 있고, Grizzle<sup>12)</sup>은 염소처리 폐수에 의해 메기의 구강내에 종양이 발현된 것을 발견하였고, Chiang 등<sup>13)</sup>은 34개 산업폐수 및 대기 시료에 대해 Ames test 를 실시하였다.

산업폐수에 관한 국내의 연구는 1968년부터 시작되어 오염 실태파악, 오염 저감 기술개발 및 관리측면에서의 종합대책 등 기술적 측면 및 행정관리적 측면에서의 연구가 활발하였으며, 수질오염과 관련된 생태 조사가 일부 수행되어 왔다<sup>14, 15, 16)</sup>. 산업폐수에 대한 독성학적인 접근은 환경연구원<sup>17)</sup>에서 공동폐수 처리장에서의 유입수 및 방류수에 대하여 Microtox 를 이용한 독성실험을 실시한 바 있으나, 수질관리면에서 산업폐수에 대한 체계적인 연구는 거의 없다고 할 수 있다. 이러한 관점에서 이 등<sup>18)</sup>은 국내 중요 배출업소의 방류수에 대해 환경독성 및 유전독성적인 평가를 실시하여 현행 폐수관리의 문제점을 밝힌 바 있다. 따라서 본 연구에서는 그동안의 연구 결과, 환경독성 및 유전독성이 높고, 현재의 처리방법으로는 배출기준을 맞추기 어려운 문제점을 가진 염료폐수를 대상으로 하여 독성원인 물질을 탐색하고, 전처리 과정에서 제거가능성, 처리시설의 효율제고를 위한 종합 처리 대책 등을 제시하고자 하였다.

## 2. 재료 및 실험방법

### 가. 폐수의 선정 및 시료채취

환경독성 및 유전독성이 있다고 알려져 있고, 현 폐수처리 공정으로는 현행의 폐수배출기준을 맞추기 어려운 염료제조공장의 폐수를 시험재료로 선정하였다. 특히 염·안료산업은 정밀화학산업에서 환경문제에 우선적으로 대책을 세워야 할 업종이므로<sup>19)</sup>, 이러한 폐수의 처리효율을 증진시키는 연구는 염·안료산업의 활성화 뿐만 아니라 염색폐수의 처리에도 곧바로 응용될 수 있을 것이다.

시료의 채취는 3회에 걸쳐, 생물학적 처리공정을 거친 폐수와, 이후 화학적 처리를 하여 최종 방류하는 방류수를 grab 식으로 채취하여 당일 연구실로 운반하여 4 °C 이하에서 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

### 나. 특성분석을 위한 시료조작

폐수가 가진 독성물질의 특성을 파악하기 위하여 미국 환경처의 방법<sup>20)</sup>에

따라 시료를 조작하여 시험용액을 준비하였다. Fig.1은 폐수의 독성특성을 알기위한 전체적인 조작의 흐름을 나타낸 것이고, Fig.2, Fig.3 및 Fig.4 는 각 단계별 조작을 구체적으로 나타낸 것이다. 그리고 산화제 환원실험 (oxidant reduction test)은  $LC_{50}$  값의 4배에 해당하는 농도( $4X-LC_{50}$ )에 다 환원제인  $Na_2S_2O_3$  200 mg/L 용액을 대조군, 1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.012 ml 씩 처리하여 공시한 *Daphnia* 의 반수치사 시간(LT 50s)을 구하였다.

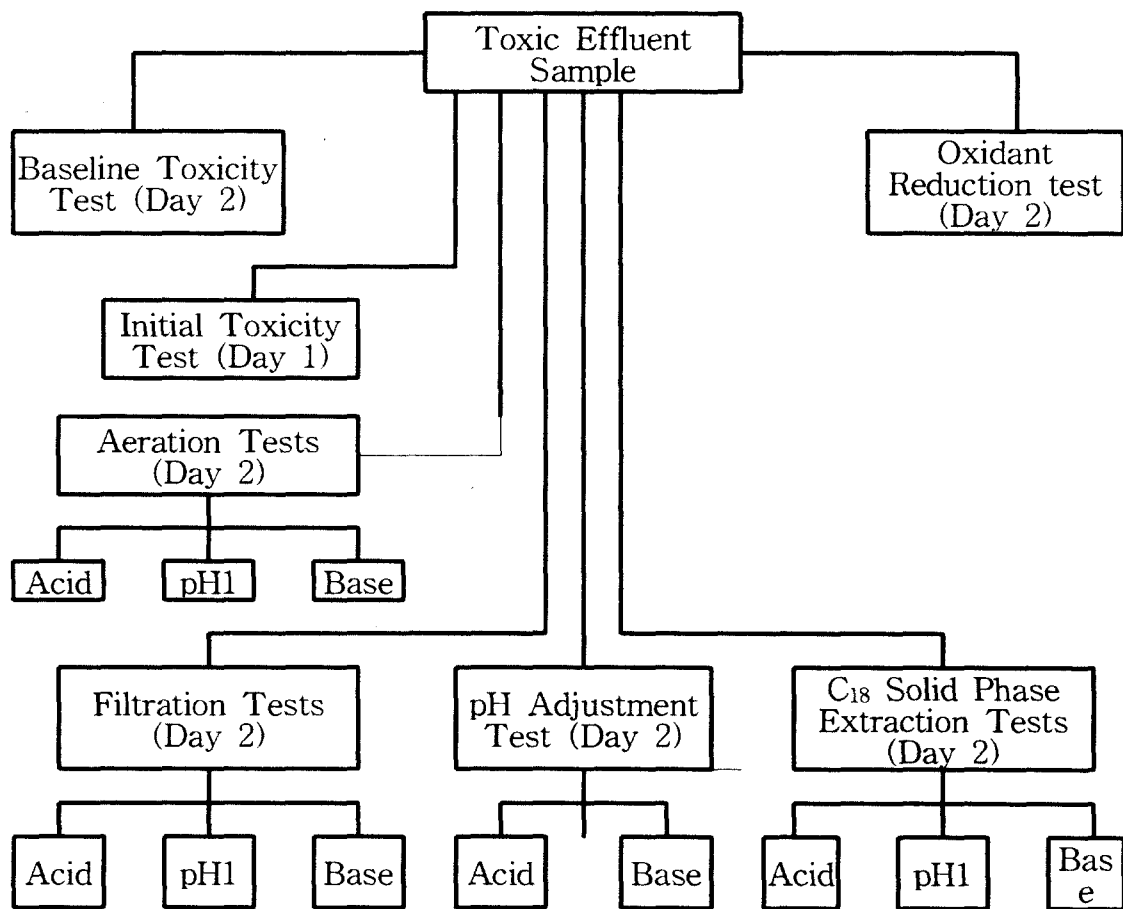


Figure 1. Overview of Phase I effluent characterization tests  
(Note: pH I stands for initial pH.)

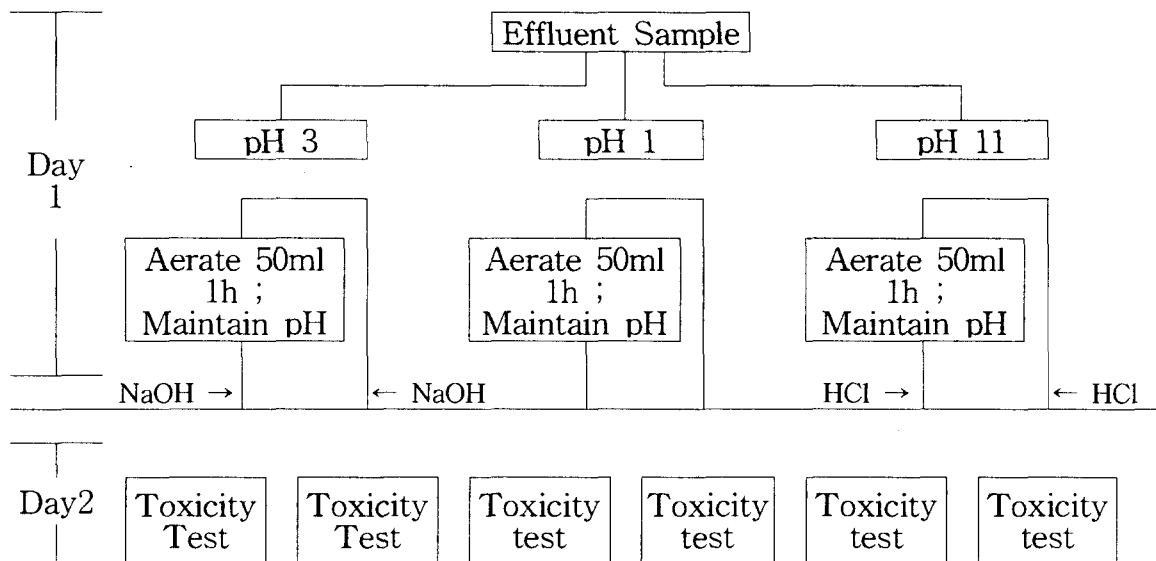


Figure 2. Diagram for preparing aeration test samples

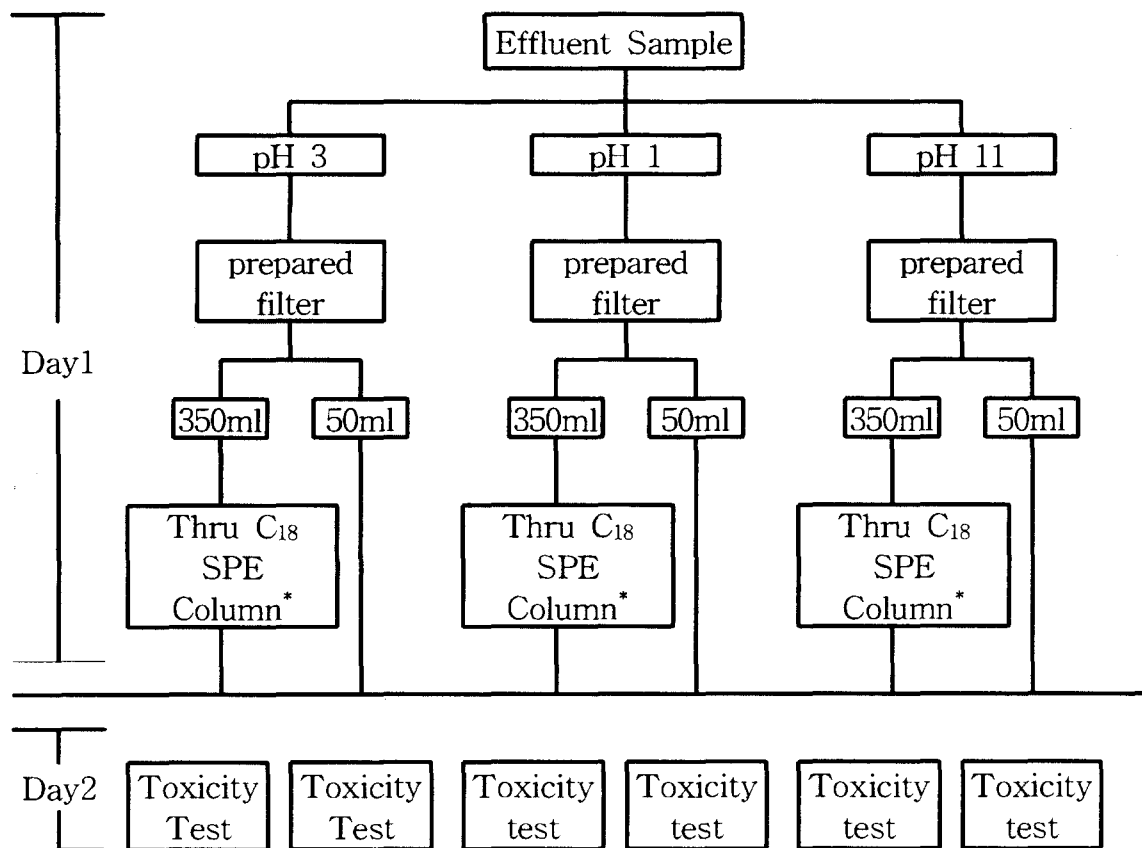


Figure 3. Overview of steps needed with the effluent for the filtration and C<sub>18</sub> SPE column tests

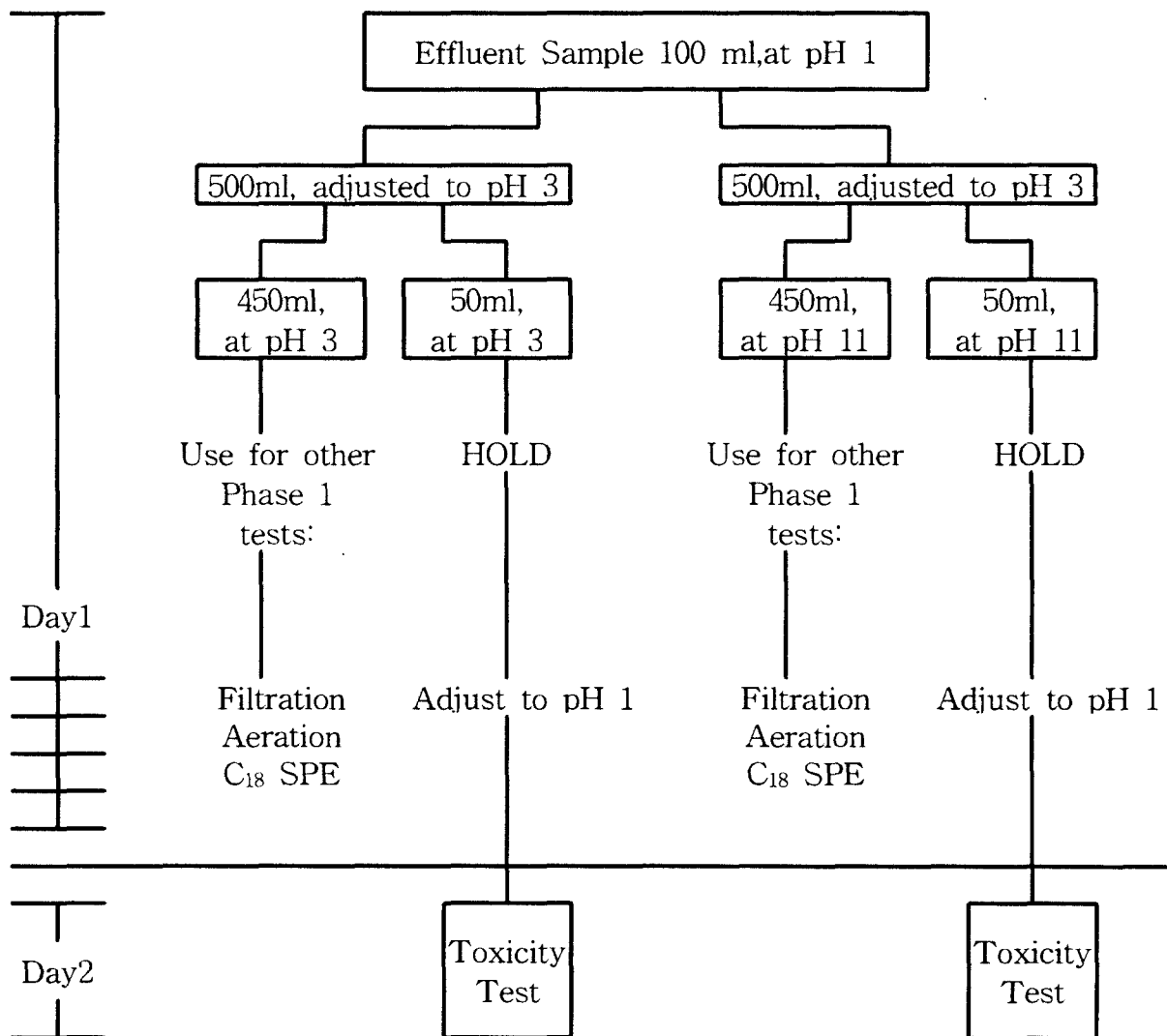


Figure 4. Flow chart for pH adjustment tests.

#### 다. 독성시험

##### 1) 환경독성시험

초기독성시험(initial toxicity test)과 각 시료에 대한 독성시험 및 그때의 기준독성시험(baseline toxicity test)에 사용한 공시동물은 본 연구실에서 계대사육중인 *Daphnia magna* 로 24시간 미만의 어린 물벼룩을 사용하였다.

사육용액은 미국 환경처<sup>21)</sup>의 방법에 따라 만들었고, 수온  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , 광조건 16시간, 암조건 8시간에서 사육하였다. 사육용액의 수질은 경도  $158 \text{ mg/L CaCO}_3$ , pH  $8.4 \sim 8.5$  이며, 먹이는 *Scenedesmus subspicatus* 를 순수배양하여 매일  $1 \times 10^5 \text{ cells/ml}$  의 비율로 공급하였다.

독성시험은 Coulter Counter 용 vial 에 시험용액(사육용액 + 시료)을 20

ml 넣고, 준비된 *Daphnia* 를 10마리씩 넣어준 후 뚜껑을 닫고,  $20\pm 1^\circ\text{C}$ 로 조절된 수조에 넣어 48시간 동안 노출시키면서, 24시간 마다 immobility 및 치사개체를 조사하였다. 결과는 moving-average-angle 법과 probit 법에 따라서 24시간  $\text{EC}_{50}$  값을 구하였다<sup>21)</sup>.

## 2) 유전독성시험

### 가) 시험균주

시험에 사용한 균주 *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100 은 국립보건안전연구원(서울특별시 은평구 녹번동)으로부터 입수하였다. 균주의 유지 및 형질확인등은 Maron and Ames<sup>22)</sup>의 방법에 준하여 실시하였다.

### 나) 대사활성제 (S-9 mix)의 조제

S-9 분획은 수컷 Sprague-Dawley 랫트 (체중 220 g 내외)로부터 Aroclor-1254A 를 효소유도제로 하여 조제하였으며 S-9 mix (protein 1.6 mg/ml)는 상기 S-9 분획과 시판 cofactor (WAKO 309-50611)를 혼합하여 아래의 조성으로 사용직전에 조제, 얼음에 채워 사용하였다.

MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	8	μmol
KCl	33	μmol
G-6-P	5	μmol
NADPH	4	μmol
NADH	4	μmol
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	100	μmol
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O		
S-9 분획	0.46	μmol
증류수	9.54	μmol

10 ml

### 다) 시료의 조제

염소처리 전, 후 시료는 시료 100 ml 을 취하여 NaCl 포화용액 10 ml 을 가한 후, 100 ml 의 dichloromethane (DCM)으로 2회 추출하여 N<sub>2</sub> 가스로 건조시킨 다음 dimethylsulfoxide (DMSO) 1.5 ml 에 녹여 여과(0.2 μm φ)한 것을 단계별로 희석하여 0.1 ml/plate 로 처리하였다. 이 때 최고농도는 1 x 였다.

pH 조절후 통기, 여과, C<sub>18</sub> SPE 칼럼등을 통과한 시료도 역시 시료 100 ml 을 취하여 위와 같은 과정을 거쳐 시험하였다. C<sub>18</sub> SPE 칼럼을 용출

시킨 시료의 조제는 C<sub>18</sub> SPE 칼럼을 acetone 10 ml 과 methanol 10 ml 을 차례로 통과시켜 용출시킨 후 N<sub>2</sub> 가스로 용매를 날려보낸 후, DMSO 1.5 ml 로 녹여 위와 같은 과정으로 처리하였다.

#### 라) 시험방법

시험물질의 처리는 각 농도군당 2 개의 플레이트를 사용, direct plate incorporation 방법으로 하였다. 고압증기 멸균한 top agar 를 45℃ 로 예열한 멸균 tube (Falcon #2054)에 2 ml 씩 분주한 다음 시험물질용액 100  $\mu$ l, S-9 mix (혹은 증류수) 500  $\mu$ l, 균배양액 100  $\mu$ l 를 top agar 에 혼합, 즉시 vortex mixer 로 2~3초간 진탕하여 minimal glucose agar plate 에 부어 여러방향으로 기울여 고루 퍼지게 하여 굳게 하였다. 음성대조군은 DMSO 100  $\mu$ l 를, 양성대조군은 양성대조물질 용액을 각각 100  $\mu$ l 가하여 같은 방법으로 실시하였다.

Top agar 가 굳으면 플레이트를 뒤집어 37 °C 에서 약 48시간 배양한 후 콜로니수를 계수하였다.

#### 마) 결과의 해석

각 군주에 있어서 2개의 플레이트 평균 콜로니 수가 음성대조군에 비해 2 배 이상일 때 양성으로, 2배 미만의 경우 음성으로 판정하였다. 이 때 1개 군주 이상에서 양성으로 나타나면 시험결과를 양성으로 판정하였다. 치사 효과는 콜로니수가 음성대조군에 비해 감소하거나 background lawn 이 없어지는 것으로 판단하였다.

### 라. 원인물질 탐색

#### 1) C<sub>18</sub> SPE 칼럼 Elution

*Daphnia* 에 대한 독성물질을 탐색하기 위하여 염소처리후 폐수 120 ml 을 취하여 pH 조절(I, 3, 11)여과/C<sub>18</sub> SPE 칼럼을 거친 후, C<sub>18</sub> SPE 칼럼에 흡착된 물질을 용출시켜 *Daphnia* 에 의한 독성시험과 원인물질분석을 시도하였다.

*Daphnia* 에 대한 독성시험은 C<sub>18</sub> SPE 칼럼을 acetone 및 methanol 로 용출시킨 뒤, N<sub>2</sub> 가스로 용매를 날려보낸 다음, *Daphnia* 사육수에 녹여서 독성시험을 하였다.

#### 2) 용액속의 잔류염소 농도 분석

1차 시료에 대해 pH 조절(I, 3, 11), 통기, 여과, C<sub>18</sub> SPE 칼럼 통과등의 조작을 한 후 잔류염소 농도를 측정하여, 독성값과 비교하였다. 잔류염소는 Solution Analyser (Cole-Parmer 5800-05)로 전극(Orion Residual Chlorine Electrode)을 이용하여 측정하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 염소처리 전,후의 폐수 특성 및 독성

차아염소산 처리전 폐수와 처리후 폐수의 COD, pH, 잔류염소 농도 및 독성시험 결과는 다음 Table 1 과 같다.

결과에 의하면 본 폐수는 생물학적 처리과정만으로는 COD 를 배출기준이하로 맞추기 어렵기 때문에 배출기준을 맞추기 위하여 다시 염소처리를 하여 방류하는 것을 확인할 수 있었으며, 따라서 잔류염소의 농도가 시료 채취시기에 따라 다소 차이는 있으나, 2.5 mg/L~12 mg/L 로 유지되었다.

폐수의 독성을 보면 염소처리후 폐수의 *Daphnia* 에 대한 독성(24 hr EC<sub>50</sub>)이 0.1%~3.1% 로 염소처리전에 비하여 약 23~500배 증가하였음을 알 수 있었고, Ames test 결과로 본 변이원성은 1차 시료의 경우 S-9 부재하에 시험하였을 때, 염소처리는 두 시험군주에 있어서 돌연변이를 증가시켰을 뿐 아니라 독성도 증가시켰다. 그러나 S-9 을 병행처리하였을 때에는 시험최고농도에서도 독성이 나타나지 않았으며, TA98 에서는 S-9 을 처리하지 않은 경우에 비해 콜로니 수가 현저히 증가하였다. TA100 의 경우 역시 염소처리는 돌연변이를 증가시켰으며 콜로니의 증가는 S-9 처리시에 더욱 현저하였다. 그러나 각 군주별로 S-9 병행처리시 염소처리의 영향을 보면, TA98 에서는 염소처리가 변이원성을 약간 감소시키는 경향이 나타났으나 TA100 에서는 오히려 증가시키는 경향이 나타났다. 그러나 두 군주에 공히 콜로니의 절대수는 염소처리 여부에 상관없이 S-9 부재시에 비해 현저히 크게 나타났다. 2차 시료의 경우도 1차 시료와 유사한 경향이 나타났다. 3차 시료는 1차 및 2차 시료에 비해 독성이 현저히 높아서, 변이원성이 독성효과에 의해 가려진 감은 있으나, 염소처리에 의한 콜로니 절대수의 증감추세는 동일하였다. 그러므로 염소처리한 최종방류수의 독성은 잔류된 염소 및 염소와 유기화학물질과의 반응물질에 의한 복합적인 작용에 의하여 수서생물독성 및 변이원성이 증가한다고 할 수 있겠다. 이러한 사실을 확인하기 위하여 염소의 *Daphnia* 에 대한 독성시험을 한 결과, 독성값(48hr EC<sub>50</sub>)이 0.037 mg/L (0.034~0.042 mg/L) 인데 반하여, 24시간 EC<sub>50</sub> 농도에서의 잔류염소 농도를 Table 1에서 계산해 보면, 0.012 mg/L(1차), 0.028 mg/L(2차), 0.28 mg/L(3차) 이므로 급성독성값과 비교해 볼 때 1차와 2차 시료는 잔류염소 농도로 폐수의 *Daphnia* 에 대한 독성을 어느정도 확인해 볼 수 있었으나, 3차 시료의 경우에는 잔류염소 단독의 영향보다는 염료중간체, 반응물질 등과의 상호작용에 의한 영향이 더 크게 작용했으리라 생각된다.



## 나. 특성분석 조작에 따른 독성변화

염소처리한 후의 최종방류수의 독성이 Table 1에서 보는 바와 같이 매우 높고, 변이원성이 증가하므로 그 독성원인 물질을 찾기 위한 첫단계로 그 물질의 이화학적 특성을 알기 위한 특성분석 조작을 하여 그 독성을 시험하였다.

### 1) 수서생물에 대한 독성

*D. magna* 에 대한 각 시료의 독성값과 대조군(baseline)의 독성값은 Table 2와 같다. 그리고 산화제에 대한 환원처리(oxidant-reduction test) 시험결과 구한 50% 치사시간(LT 50s)은 Table 3 과 같다. LC<sub>50</sub> 값은 1차 시료에서만 구할 수 있었고, 2차 및 3차 시료에서는 구하지 못하였다.

Table 2 는 폐수에 들어있는 독성물질을 찾기위한 제 1단계 과정으로 폐수의 pH 를 변화시킨 후, 통기, 여과, 여과후 C<sub>18</sub> SPE 칼럼 통과등의 과정을 거쳐 폐수의 독성변화 양상에 따라서 독성물질의 특성을 분석하고자 하였다.

일반적으로 pH는 화학물질의 용해도, 극성(polarity), 휘발성(volatility), 안정성(stability) 및 speciation에 영향을 주어 결국 그 화학물질의 생물 이용성 및 독성에 변화를 가져올 수 있다고 알려져 있지만, 본 폐수는 pH 조정(adjustment)에 의해 독성의 변화가 없었다. 또한 통기(aeration), 여과등의 처리에 있어서는 pH를 3 또는 11로 변화시켰을 때 독성이 다소 감소되었고, 특히 pH를 11로 조절하였을 때 독성감소가 컸다. 그렇지만 pH를 11로 조절한 후 여과 →C<sub>18</sub> SPE 칼럼을 통과시킨 후의 독성은 대조군의 독성(baseline toxicity)보다 36배(1차), 7배(3차) 정도 낮아졌고, 2차 시료의 경우는 거의 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다. 그리고 sodium thiosulfate 처리결과 (Table 3)를 보면 sodium thiosulfate를 처리하지 않은 경우, 처리한 *Daphnia* 의 50%가 치사되는데 걸리는 시간(LT 50)이 5.4시간인데 반하여, sodium thiosulfate 를 처리하면 처리량이 증가함에 따라 LT 50값도 길어져서 0.05ml을 처리한 경우는 48시간 이상으로 *Daphnia* 에 대한 독성이 거의 없어졌음을 알 수 있었다. 즉, 잔류염소 농도와 *Daphnia* 로 대표되는 환경생물에 대한 독성이 밀접한 관계가 있음을 확인 할 수 있었다. 이러한 사실을 구체적으로 확인하기 위하여 독성이 가장 높았던 1차 시료에 대해 pH조절, pH조절/통기, pH조절/여과, pH조절/여과/C<sub>18</sub>SPE 칼럼등의 조작을 한 후 잔류염소농도를 측정하고, 그 독성시험과의 상관관계를 조사한 바, 그 결과는 다음 Fig 6과 같다. 그림에서 보는 바와 같이 잔류염소 농도와 급성 독성값(EC<sub>50</sub>)과의 상관성이 매우 높음( $r^2=0.842$ )을 알 수 있었다.

따라서 이러한 결과들을 정리해 보면, 본 폐수의 독성은 pH를 3또는 11로

바꾼후 여과 → C<sub>18</sub> SPE칼럼을 통과시키면 여과 단일처리에 비하여 독성이 현저히 감소하며, 아울러 환원제인 sodium thiosulfate을 처리하면 역시 독성이 없어진다고 할 수 있겠다. 그러므로 본 폐수에서 독성을 나타내는 물질의 특성은 산화성이 있는 물질과, 비극성(non-polar)의 유기화학물질로 판단되므로 이 폐수의 성상, 처리과정 및 Table 1의 폐수특성으로 미루어 볼 때, 독성물질은 최종 염소처리과정에서 잔류된 염소와 이 염소와 반응한 폐수내의 염료중간체, 반응물질등 일 것으로 생각된다.

Table 2. Results of toxicity characterization tests using *Dapgnia magna* by effluent manipulation

Manipulations	Toxicity (24hr EC <sub>50</sub> , %)		
	1st.	2nd.	3rd.
pH Adjustment			
pH 3	6.1	37	5.2
pH 11	8.2	>100	16
Asration			
pH 1	1.8	41	3.0
pH 3	6.1	60	9.0
pH 11	9.3	92	16
Filtration			
pH 1	1.1	60	3.1
pH 3	6.1	60	5.4
pH 11	14	80	18
Filtration → C <sub>18</sub> SPE			
pH 1	1.3	60	15
pH 3	11	60	18
pH 11	47	>100	22
Baseline toxicity	1.3	32	3.1

Table 3. Time required to kill 50% of the *D.magna* (LT 50s) in the oxidant reduction test

Vol. of Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> solution added (ml)	LT 50s (hr)
0.0	5.4
0.012	7.1
0.025	22
0.05	>48

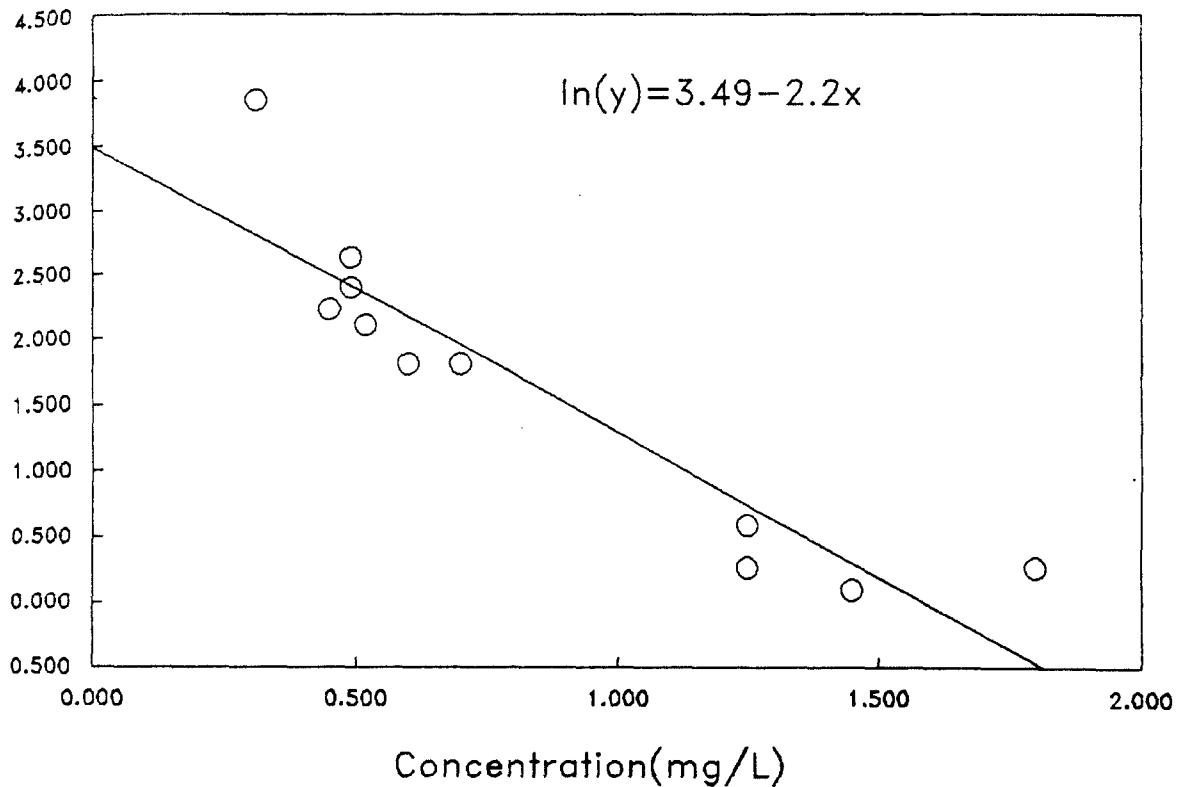


Figure 6. Relationships between the acute toxicity (24hr. EC50,%) to *D.magna* and the residual chlorine concentration (mg/L) in test solutions.

## 2) 돌연변이원성

염소처리한 후의 시료에 대해 pH 조절, pH 조절/통기, pH 조절/여과 등의 전처리 조작을 거친 후 DCM 으로 추출, 농축하여 변이원성 시험을 실시한 결과 (Table4-4)전반적으로 양성의 결과를 얻었으며, 3가지 전처리 조작은 시료의 변이원성에 큰 영향을 주지 않았다. 그러나 염소처리한 후의 시료를 pH 조절후 여과 (filtration)한 다음, C<sub>18</sub>SPE 칼럼을 통과 시킨 후 DCM으로 추출,농축하여 변이원성 시험을 실시한 결과, 대부분 시료에서 콜로니 수가 현저히 감소하여 거의 대조군 수준으로 떨어졌다. 그러므로 폐수에서 돌연 변이원성을 나타내는 물질은 비극성의 유기화학 물질로 추정된다.

#### 다. 원인물질 탐색

##### 1) Elution에 의한 독성물질 확인

결과(Table 2, Table 4)에서 확인하였듯이, 폐수의 pH를 조절 한 후 여과/C<sub>18</sub> SPE 칼럼을 통과시키면, 여과 단독처리보다 *Daphnia*에 대한 독성과 돌연변이원성이 크게 감소하였다. 즉 이러한 독성을 나타내는 물질이 C<sub>18</sub> SPE칼럼에 흡착되어 있을 것이다 라는 추론이 가능하다. 따라서 이 칼럼에 흡착되어 있는 물질을 actone 과 methanol로 유출시켜, *Daphnia*에 대한 독성과 돌연변이원성을 확인한 결과는 Table 5와 Table 6과 같다.

폐수의 *Daphnia*에 대한 독성은 여과/C<sub>18</sub> SPE칼럼처리에 의해 pH를 조절 하지 않은 경우(pH 1)는 약 3.6배, pH 3에서는 약 26배, pH 11에서는 약 44 배 독성이 감소하였기 때문에, 독성이 감소된 비율만큼 C<sub>18</sub> 칼럼에 독성 물질이 많이 흡착되어 있을 것으로 생각되었으나, 유출시험 결과는 이와 상반된 결과를 보였다. 즉 독성이 매우 높을 것으로 예상된 pH 11에서 독성이 매우 낮게 나왔는데, 이 이유는 C<sub>18</sub>에 흡착된 대부분의 물질이 물에 잘 녹지않는 물질이기 때문에 실제 생물이용성이 매우 낮아져서 생긴 결과로 판단되는데, 시험과정에서 pH 1에서 유출된 물질은 물에 잘 용해 되었으나, pH 3에서는 대부분의 물질이 물에 잘 녹지않아 유리면에 흡착 되어 있는 것이 관찰되었다. 따라서 유출시험에서의 독성시험도 용매를 다 날려보낸 다음, 소량의 유기용매로 재용해시켜 물에 잘 분산되도록 한 후 실시하여야 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

변이원성 시험결과는 Table 4에서 보듯이 Filtration/C<sub>18</sub> SPE 칼럼처리로 변이원성이 현저히 감소하여, 이때의 C<sub>18</sub> 칼럼을 용출시켜 시험해 본 결과, 예상한대로 변이원성이 크게 증가하는 결과를 얻었으며, TA100에서 보다 TA 98에서 콜로니의 증가가 더욱 현저하였다. 이러한 결과로 볼 때 생성된 변이원성 물질은 비극성의 유기화학 물질일 것으로 추측된다.

Table 4. Mutagenicity test of effluent using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA 100 -2nd & 3rd sample<sup>a)</sup>

Manipulations	Dose	TA98		TA100		
		-S9	+S9	-S9	+S9	
2nd sample						
Baseline	O	19	25	193	185	
	1/9	X	87	64	400	183
	1/3	X	233	152	866	278
	1	X	383	691	550	506
pH Adjustment						
pH 3	O	19	25	193	185	
	1/9	X	108	78	471	182
	1/3	X	301	268	984	215
	1	X	462	854	571	640
pH 11	O	19	25	193	185	
	1/9	X	56	72	300	196
	1/3	X	106	194	332	253
	1	X	446	644	798	476
Aeration						
pH 1	O	19	25	193	185	
	1/9	X	85	48	290	1461
	1/3	X	164	171	511	241
	1	X	540	506	929	388
pH 3	O	19	25	193	185	
	1/9	X	95	78	333	184
	1/3	X	320	217	828	233
	1	X	378	706	572	406
pH 11	O	19	25	193	185	
	1/9	X	59	65	257	138
	1/3	X	137	144	202	227
	1	X	526	502	405	231

(CONTINUED)

Manipulations	Dose	TA98		TA100		
		-S9	+S9	-S9	+S9	
Filtration						
pH 1	O	25	33	151	186	
	1/9 X	55	60	199	172	
	1/3 X	183	215	273	256	
	1 X	253	719	-b)	496	
pH 3	O	25	33	151	186	
	1/9 X	80	91	219	222	
	1/3 X	266	259	368	335	
	1 X	843	1067	814	513	
pH 11	O	25	33	151	186	
	1/9 X	71	74	388	185	
	1/3 X	333	256	1178	316	
	1 X	416	1176	1692	872	
Filtration → C <sub>18</sub> SPE						
pH 1	O	25	33	151	186	
	1/9 X	20	51	195	150	
	1/3 X	27	43	171	168	
	1 X	40	69	223	174	
pH 3	O	25	33	151	186	
	1/9 X	97	85	258	193	
	1/3 X	79	61	195	123	
	1 X	38	69	197	147	
pH 11	O	25	33	151	186	
	1/9 X	24	39	167	193	
	1/3 X	23	53	200	190	
	1 X	41	50	212	228	

(CONTINUED)

Manipulations	Dose	TA98		TA100		
		-S9	+S9	-S9	+S9	
3rd sample						
Baseline	O	14	25	65	73	
	1/9	X	82	52	578	74
	1/3	X	129	117	432	115
	1	X	K	311	K	384
pH Adjustment						
pH 3	O	14	25	65	73	
	1/9	X	51	44	256	70
	1/3	X	197	63	710	83
	1	X	248	274	K	180
pH 11	O	14	25	65	73	
	1/9	X	53	45	261	63
	1/3	X	139	100	882	89
	1	X	126	185	341	195
Aeration						
pH 1	O	14	25	65	73	
	1/9	X	63	36	325	81
	1/3	X	211	103	1077	118
	1	X	K	260	K	256
pH 3	O	14	25	65	73	
	1/9	X	53	45	176	65
	1/3	X	120	99	474	73
	1	X	135	261	K	133
pH 11	O	14	25	65	73	
	1/9	X	86	46	333	63
	1/3	X	206	108	866	120
	1	X	K	309	K	297

(CONTINUE)

Manipulations	Dose	TA98		TA100		
		-S9	+S9	-S9	+S9	
Filtration						
pH 1	O	14	25	65	73	
	1/9	X	98	56	504	
	1/3	X	247	112	808	
	1	X	K	255	K	
pH 3	O	14	25	65	73	
	1/9	X	52	39	153	
	1/3	X	100	81	410	
	1	X	222	223	1042	
pH 11	O	14	25	65	73	
	1/9	X	65	41	260	
	1/3	X	137	86	787	
	1	X	196	212	1131	
Filtration → C <sub>18</sub> SPE						
pH 1	O	14	25	65	73	
	1/9	X	22	35	62	
	1/3	X	24	27	86	
	1	X	29	39	153	
pH 3	O	14	25	65	73	
	1/9	X	16	25	81	
	1/3	X	23	23	91	
	1	X	33	25	114	
pH 11	O	14	25	65	73	
	1/9	X	11	47	56	
	1/3	X	15	28	70	
	1	X	19	30	81	
2AF	1 μg		375			
SA	1 μg			452		

a) Data are means of 2 plates.

K : killing effect

b) Data unavailable

2AF, 2-aminofluorene; SA, sodiyum azide



Table 5. Toxicity of the aliquot from filtration/C<sub>18</sub> SPE column manipulation and the elution from C<sub>18</sub> SPE column to *Daphnia magna*

	Toxicity (24hr EC <sub>50</sub> , %)	
	Aliquot	Elution
Filtration → C <sub>18</sub> SPE		
pH 1	6.2	9
pH 3	45	18
pH 11	74	60
Baseline toxicirt	1.7	

Table 6. Mutagenicity test of the elution from C<sub>18</sub> SPE column using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100<sup>a)</sup>

Manipulations	Dose	TA98		TA100	
		-S9	+S9	-S9	+S9
2nd sample					
Filtration → C <sub>18</sub> SPE					
pH 1	O	15	28	134	174
	1/9	X	52	45	141
	1/3	X	108	116	178
	1	X	287	280	321
pH 3	O	15	28	134	174
	1/9	X	49	43	185
	1/3	X	142	102	227
	1	X	353	215	473
pH 11	O	19	34	167	159
	1/9	X	48	51	146
	1/3	X	160	132	217
	1	X	427	447	396
Blank (C <sub>18</sub> column)	O	19	34	167	159
	1/9	X	23	38	123
	1/3	X	19	34	104
	1	X	26	37	109
2AF	1 μg		685		
SA	1 μg			634	

(CONTINUED)

Manipulations	Dose	TA98		TA100	
		-S9	+S9	-S9	+S9
3rd sample					
Filtration → C <sub>18</sub> SPE					
pH 1	O	14	25	65	73
	1/9 X	72	71	218	84
	1/3 X	201	138	631	143
	1 X	284	305	522	253
pH 3	O	14	25	65	73
	1/9 X	107	60	387	103
	1/3 X	195	159	934	199
	1 X	K	318	K	684
pH 11	O	14	25	65	73
	1/9 X	34	56	98	84
	1/3 X	73	103	215	154
	1 X	217	301	460	387
2AF	1μg				
SA	1μg				

a) Data are means of 2 plates.  
 2AF, 2-aminofluorene; SA, sodium azide  
 K : killing effect

#### 4. 결 론

염료폐수의 독성을 수서생물인 *Daphnia* 와 Ames test를 통하여 평가하고, 독성을 나타내는 원인물질의 특성을 파악코자 pH 조절,통기, 여과, 여과/C<sub>18</sub> SPE 칼럼 조작 및 oxidant-reduction 시험을 실시하였다. 연구결과 얻은 결론은 다음과 같다.

- 가. 폐수의 수서생물에 대한 독성은 차아염소산 처리에 의한 폐수속의 잔류 염소에 의하여 주로 발현되며, 그 외에 잔류염소와 폐수속의 유기화학 물질의 반응물질들도 관계하는 것으로 판단된다.
- 나. 염료폐수는 처리전에도 TA98에서 강한 양성을 나타냈고, 대사 활성계가 있는 경우 변이원성이 더 증가하였다. 염소처리후에는 TA100에서 변이원성이 증가하였으므로 base substitution type의 변이원성 물질이 증가하였다고 판단된다. 특성파악과정을 통해 예상되는 변이원성 물질은 비극성의 유기화학물질로 생각된다.
- 다. 독성유발 예상물질로 4종의 물질이 동정되었고, 그 외의 다수의 물질이

존재하는 것으로 확인되었으나, 독성과의 연관성은 아직 확인되지 않았다.

- 라. COD 및 색도를 낮추기 위한 산화제의 사용은 그 부작용을 고려하여 제한적으로 사용되어야 하고, 최종방류전에 적절하게 제거되어야 한다. 그러므로 본 폐수의 독성저감 전략은 upstream에서 활성오니의 활성을 저해하는 물질을 제거 또는 경감시켜, 전체 처리시스템의 효율을 증대시켜야 할 것이다.

## 참 고 문 헌

1. Suntio, L.R., W.Y. Shiu, and D.Mackey, A Review of the Nature and Properties of Chemicals Present in Pulp Mill Effluents. *Chemosphere*, 17 : 1249-1290. (1988)
2. Branson, E.R., E.N. Armentrout, W.M.Parker, C.V. Hall, L.V. Hall, and L.I. Bone, Effluent Monitoring Step by Step. *Environ. Sci. & Tech.*, 15 : 513-518. (1981)
3. Miller, W.E., S.A. Peterson, J.C. Greeme, and C.A. Callagan, comparative Toxicology of Laboratory Organisms for Assessing Hazardous Waste-Sits. *J. Environ. Qual.*, 14 : 569-574. (1985)
4. DeGraeve, G.M. and J.D. Cooney, Ceriodaphnia : An Update on Effluent Toxicity Testing and Reserch Needs. *Environ. Toxi. Chem.*, 6 : 331-333. (1987)
5. Knight, J. T. and W.T. Waller, Incorporating Daphnia magna into the Seven Day Ceriodaphnia Effluent Toxicity Test Method. *Environ, Toxi. Chem.*, 6 : 635-645. (1987)
6. Burton, G.A., Jr., D. Nimmo, D. Mdurphey, and F. Paynem Stream Profile Determinations Using Microbial Activity Assays and Ceriodaphnia. *Environ. Toxi. & Chem.*, 6 : 505-513. (1987)
7. Grande, M., Water Pollution Studies in the River Otra, Norway Effects of Pulp and paper Mill Wastes on Fish, *Int. j. Air Wat. Poll.*, 8 : 77-88. (1964)
8. Parkhurst, B.R., C.W. Gehrs, and I.B. Rubin, Value of Chemical Fractionation for Identifying the Toxic Componets of Complex Aqueous Effluents. *ASTM STP 667.*, 122-130. (1979)
9. Gasith, A., K.M. Job, L.L. Dickson, T.F. Parkerton, and S.A. Kaczmarek, Protocol for the Identification of Toxic Fractions in Ineustrial Wastewater Effluents. *ASTM 971.*, 204-215. (1988)
10. Pickering Q.H., G.M. Shaul, and K.A. Dostal, Acute and Chronic

- Toxicity to the Fathead Minnow, *Pimephales promelas*, of Effluents from a Treatment plant Receiving Dye and Pigment Processing Wastewater ASTM STP 891., 395-406. (1985)
11. McGeorge, L.J., J.B. Louis, T.B. Atherholt, and G. J. McGarrity, Mutagenicity Analyses of Industrial Effluents : Results and Considerations for Intergration into Water Pollution Control Programs. Environ. Sci. Res. 32 : 247-268. (CA 104 : 212622V) (1985)
  12. Grizzle, L.M, Black Bullhead ; An Indicator of the Presence of Chemical Carconogens, Water Chlorination : Chem., Environ. Impact Health Effect. Proc. Conf., 5th. ( CA vol. 104 : 115448K) (1984)
  13. Chiang, L. C., S.F. Chang, B.Y. Yeh, M.F. Cheng, and E.J. suh Preliminary Survey of Mutagenic Substances in Environmental Pollutants from Southern Taiwan, Kao-Hsiunng I. Hsueh K`o Hsueh Tsa Chih., 2 : 304-309. (CA 105 : 56090h) (1986)
  14. 심응기, 환경분야 연구논문 초록집 제 1집, 국립환경연구소. (1983)
  15. 심응기, 환경분야 연구논문 초록집 제 2집, 국립환경연구소. (1985)
  16. 이창기, 환경분야 연구논문 초록집 제 3집, 국립환경연구소. (1989)
  17. 국립환경연구원, 폐수의 공동처리시 효율화기법 개발에 관한 연구(I), 과학기술처. (1989)
  18. 이성규, 심점순, 김용화, 노정구, 어류, *Daphnia* 및 조류와 Ames' Test를 이용한 산업폐수의 환경 및 유전독성평가, 한국수질보전학회지 7(2), (1991)
  19. 한국정밀공업진흥회, 정밀화학 공업분야 환경공해 문제해결을 위한 기본 계획. (1992)
  20. U.S. EPA, Methods for Aquatic Toxicity Identification Evaluations, Phase I Toxicity Characteization Procedure, EPA/600/3-88/034.(1988)
  21. U.S. EPA, Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms(3rd. ed.), EPA/600/4-85/013.(1985)
  22. Maron D.M. and B.N. Ames : Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, Mutation Research 113 : 173-275. (1983)
  23. OECD, OECD Guideline for Testing of Chemicals. (1984)
  24. 환경처, 수질오염 공정시험방법, 환경처 고시 제 91-85호. (1991)