

# 15. PAHs와 TBT에 대한 동물플랑크톤의 반응

장풍국, 장민철, 이재도, 장만, 신경순  
한국해양연구원 남해연구소

## 요 약

인간이나 환경에 해로운 영향을 주는 지속성 유기오염물질의 독성을 동물플랑크톤 중 요각류를 대상으로 실험하였다. 실험에 사용된 요각류는 장목만에서 주로 가을에 많은 출현을 보인 *Acartia erythraea*와 늦가을부터 그 다음해 봄까지 우점하는 *A. omorii*였다. 지속성 유기오염물에 대한 요각류의 독성을 평가하기 위해 3가지의 실험을 실시하였다. 광양만에서 주로 나타나는 5가지 PAHs에 대한 *A. omorii*의 48h-LC50을 구하였고, 온도에 따른 Benzo(a)pyrene과 TBT의 독성의 변화를 Brine shrimp(*Artemia*)를 이용해 실험하였으며, PAHs 중에서 독성이 강한 Benzo(a)pyrene에 노출된 먹이를 섭취한 *A. erythraea*와 *A. omorii*의 egg production, hatching rate, fecal pellet의 변화를 측정하였다. *A. omorii*의 48h-LC50으로 조사된 결과 Fluoranthene과 Benzo(a)pyrene의 독성이 강하게 나타났다. 온도실험에서는 동일한 유해물질을 가지고 실험을 하더라도 온도의 변화에 따라 급격한 독성의 차이가 나타날 수 있고, 유해물질간에도 온도에 따라서 나타나는 독성에 대한 특성이 다르게 나타났다. Benzo(a)pyrene에 노출된 먹이는 요각류의 egg production, hatching rate, fecal pellet에 영향을 미치고 있으며, 특히 농도와 실험시간에 따른 부정적 영향들을 보였다.

## 서 론

현대 사회가 발전하면 할수록 수많은 유기화합물들이 환경 중으로 방출되고 있으며, 지금 현재에도 새로운 화학물질이 만들어져 환경 중에 노출되어 진다. 하지만 이러한 화학물질에 대해 장기간 노출에 대한 생물들의 영향이 대부분 밝혀지지 않고 있다. 이러한 물질 중에서 persistent organic pollutants(POPs)나 organotin이 인간이나 환경에 해로운 영향을 주는 것으로 알려져 있다. POPs는 지용성이기 때문에 생물농축이 일어나고, 반 휘발성이라 대기중에도 존재하고 토양이나 수중에도 존재하는 일반적인 특성이 있다(Knut, 2002). 이 중에서 PAHs와 TBT는 내분비장애물질로서 여러 가지 문제를 일으킨다고 보고되어지고 있다.

PAHs(polycyclic aromatic hydrocarbons)는 2가지 이상의 방향족 고리가 융합된 유기 화합물을 말한다. 실온에서 PAHs는 고체상태이며, 비점과 융점이 높으나 증기압이 낮고, 분자량의 증가에 따라 극히 낮은 수용해도를 나타내는 것이 일반적 성질이다. 이 물질은 자연상태에서 유래한 경우가 있으나 대부분은 인간의 경제활동의 결과로 나타나는 것으로 산업화된 대도시 부근 해역에서 사용한 유류물질의 부산물, 기름 유출 사고, 자동차배출가스, 담배연기 등에서 발견된다고 보고되고 있다. 또한 대기에 노출된 PAHs들은 대부분 소수성이라 물에 대한 친화도가 낮지만 낮은 해리 상수를 가지고 있어 수권에서 쉽게 유입된다(EPA, 1998). 또한 PAHs의 경우 지방 용해성이 높기 때문에 수생 생물이나 포유 동물 또는 인간의 장관에 매

우 용이하게 흡수되어 독성을 유발하는 것으로 알려져 있다. 특히 이러한 물질은 해양생물체에 노출되는 경우 생물의 PAHs의 농도가 주변의 해수 농도에 비해 100~10,000배 이상 높게 나타나는 생물농축(bioconcentration)이 일어나는 것으로 알려져 있다(황인영, 2000). 실제 광양만 퇴적물내의 간극수에서는 0~7 ppb인데 반해 담치류의 경우는 0.09~3.56 ppm, 대수리에서는 0.04~9.47 ppm의 범위로 나타난다는 보고가 있다(이중협, 1999). TBT(tributyltin)을 비롯한 유기주석화합물(organotin compounds)은 PVC 안정제, 각종플라스틱 첨가제, 상업용 촉매, 살충제, 살균제, 목재 보존제 등으로 널리 사용되고 있다. 특히 선박용 페인트 속에는 부착생물이 달라붙지 못하도록 부착방지제로서 첨가되어 있다. TBT는 1936년부터 상용화되어 현재까지 널리 사용되어 지고 있다. 특히 TBT의 경우 0.05 ng/l에서도 굴 유생의 성장저해 및 치사를 일으키고, 복조류에 대해서 암컷이 수컷화 되어지는 imposex를 일으키는 독성이 강한 물질로 알려져 있다. 전세계적으로 사용이 억제 및 금지되어지는 추세로 나가고 있지만, 아직 까지도 개발도상국에서 규제를 하고 있지 않으므로 이에 대한 영향이 나타나고 있다(Evans, 1996). 우리나라연안에서도 TBT에 대한 오염이 심각한 상태인데, 대부분의 연안지역의 항구에서 고동류에 imposex가 나타난다고 보고되고 있다(Shim, 2000). 이러한 물질들에 대한 독성 평가로서 생물을 이용하는 bioassay가 사용되어지고 있으며, 이러한 생물 중에 요각류를 이용한 다양한 시도가 이루어지고 있다(이, 2002). 본 연구는 해양생태계의 먹이 사슬에서 중요한 역할을 하는 동물플랑크톤 중에서도 70%이상을 차지하는 요각류를 이용해 해양생태계 내에 유입되는 이러한 유해물질에 대한 독성을 평가하고자 하였다.

## 재료 및 분석방법

본 연구는 3가지 실험을 통해서 PAHs와 TBT가 동물플랑크톤에 미치는 영향을 알아보았다. 1) 광양만에서 주로 나타나는 5가지 PAHs에 대한 *Acartia omorii*의 48h-LC50을 구하였다. 2) 온도에 따른 Benzo(a)pyrene과 TBT의 독성의 변화를 Brine shrimp(*Artemia*)를 이용해 실험하였다. 3) PAHs 중에서 독성이 강하고, 현재 문제시되고 있는 Benzo(a)pyrene에 노출된 먹이를 섭취한 *Acartia erythraea*와 *Acartia omorii*의 egg production, hatching rate, fecal pellet의 변화를 실험하였다.

첫 번째 실험은 배양기를 사용하여 온도를 실제 현장 온도인 7°C로 맞추고, 광주기는 12L:12D로 하였다. 멸균된 해수 100ml을 비이커에 넣은 다음 적당한 농도의 PAHs를 첨가하였다. 현장에서 채취한 살아있는 요각류를 저 배율의 광학현미경 하에서 신속하게 20마리 정도의 건강한 *A. omorii* 개체들을 분리하고, 이를 PAHs가 들어있는 비이커에 넣고 48h 경과 후 살아남은 개체의 수를 세었으며, 48h-LC50은 EPA의 통계처리 프로그램(EPA probit analysis program used for

calculating LC/EC values, version 1.5)을 사용해서 구하였다. 두 번째 실험은 Brine shrimp의 휴면포자를 부화시켜 부화한지 24h 이내의 유생을 가지고 10℃, 15℃ 그리고 20℃에 노출 시켜 48h-LC50을 구했으며, light::dark 주기는 16L:8D로 하였다. 세 번째 실험은 PAHs중에서 비교적 높은 carcinogenesis와 EDC (endocrine disruption chemical)를 일으키는 Benzo(a)pyrene을 가지고 농도구배를 주어 요각류에 대한 먹이 실험을 하였다. 요각류로는 장목만에서 가을에 우점을 나타내는 *Acartia erythraea*와 늦가을부터 그 다음해 봄까지 우점하는 *Acartia omorii*를 대상으로 하였다. 요각류의 먹이로는 규조류보다 먹이의 질이 더 좋은 것으로 알려진 와편모조류 중에서 *Heterocapsa triquetra*를 사용하였으며, 먹이의 농도는 3000cells/ml로 일정하게 주었다. 실험에 사용될 먹이에 대한 적당한 Benzo(a)pyrene의 농도를 구하기 위해 *H. triquetra*을 1ppm~5ppt의 농도구배를 주어 실험한 경과 100ppb에서는 활동성과 성장이 떨어지는 반면, 0.5ppb 이하에서는 활동성이나 성장률이 활발하였다. 본 실험에서는 *Acartia erythraea*의 경우 *H. triquetra*를 5ppb, 10ppb, 50ppb에 노출시켜서 실험을 하였으며, *A. omorii*의 경우는 0ppb, 1ppb, 10ppb, 30ppb에 노출시켜 실험을 하였다. *A. erythraea*의 실험 조건은 배양기를 사용하여 온도를 20℃로 맞추고, 광 주기는 12L:12D로 하였고, *Acartia omorii*는 배양기의 온도를 7℃로 맞추고, 12L:12D의 광 주기를 사용하였다. 실험은 30ml 용량의 petri dish를 사용하였으며, 여기에 3쌍의 요각류를 넣고 배양액은 실험기간동안(6일) 매일 교체하였다. 요각류의 egg production과 fecal pellets은 매일 관찰했으며, hatching rate은 48시간 후에 관찰하였다. *A. omorii*의 경우는 *A. erythraea*와 달리 처음 3일 동안은 Benzo(a)pyrene에 노출되지 않은 정상적인 먹이를 주었고 실험 4일부터 오염물에 노출된 먹이를 공급하였다.

## 결과 및 고찰

### PAHs에 대한 *Acartia omorii*에 대한 LC50

광양만에서 주로 발견되는 5종의 PAHs에 대한 *A. omorii*의 48h-LC50을 보면, Fluoranthene(19.20  $\mu\text{g}/\ell$ ), Benzo(a)pyrene(29.89  $\mu\text{g}/\ell$ ), Pyrene(48.22  $\mu\text{g}/\ell$ ), Anthracene(59.17  $\mu\text{g}/\ell$ ), Phenanthrene (315.8  $\mu\text{g}/\ell$ )을 순으로 나타냈다(Table 1). 실험에서 Fluoranthene이 가장 강한 독성을 나타냈는데, 이 물질의 경우 지금까지 독성 실험에 사용된 동물에서 발암성이 높지 않고, 내분비 장애 및 인체에서의 발암성이 낮은 것으로 보고되어지고 있다. 하지만 Benzo(a)pyrene의 경우는 독성에 대한 동물실험에서 발암성이 높게 나타나며, 인체에 대한 발암성이 아주 높고, 내분비장애를 일으키는 물질로 알려져 있는데, 본 실험에서도 강한 독성을 나타내었다. PAHs의 특성상 물에는 잘 녹지 않기 때문에 유기용매를 사용해서 실험을 실행해야 한다. EPA에서는 유기용매의 기준을 0.05%로 권장하고 있는데, 본 실험에서 사용한 유기용매는 0.05% DMSO이며, 이를 *A. omorii*에 노출시켰을 때

48h-LC50이 0.672%(5,316 mg/l)로 나타났다(이, 2001). 또한 0.05%의 DMSO를 *A. omorii*에 노출시켰을 때 정상과 유사한 경향을 나타냈다.

Table 1. PAHs에 대한 *A. omorii*의 48h-LC50.

Chemicals	LC50	단위	95% Confidence Limits	
			low	high
Fluoranthene	19.20	$\mu\text{g}/\ell$	14.40	24.96
Benzo(a)pyrene	29.89	$\mu\text{g}/\ell$	19.92	38.48
Anthracene	59.17	$\mu\text{g}/\ell$	48.37	73.96
Pyrene	48.22	$\mu\text{g}/\ell$	42.19	53.04
Phenanthrene	315.8	$\mu\text{g}/\ell$	170.3	454.4
DMSO	0.67	%	0.50	1.00

#### 온도에 대한 Brine shrimp의 LC50 변화

대부분 실험실 내에서의 독성 실험을 할 경우 20°C에 맞추어서 실험하도록 EPA에서 권장하고 있지만, 본 실험에서 사용한 해양 동물플랑크톤의 경우 배양하기가 어렵고, 또한 배양을 할 경우 독성에 대한 민감도가 떨어질 수도 있기 때문에 시료 현장에서 채취하여 독성을 실험하는 것이 용이하다고 사료된다. 현장의 시료를 사용할 경우 같은 종을 가지고 실험하더라도 그 때의 환경 조건에 따라서 다른 결과를 가지고 올 수 있기 때문에 기초 자료로서 온도에 따른 동물플랑크톤의 독성을 비교할 필요가 있다. 본 실험에서는 우선 Brine shrimp의 휴면포자를 부화시켜 24시간 안에 부화한 유생을 가지고 10°C, 15°C, 20°C에서 실험을 하였다. Benzo(a)pyrene의 경우 20°C에서의 독성이 가장 강하게 나타났고, 온도가 내려 갈수록 독성이 낮게 나타났다 (Table 2.). 특히 온도가 10°C가 될 경우 현저하게 독성이 감소하여 48h-LC50이 6.398ppm으로 나타났는데, 이는 20°C에서 24h-LC50(10.147ppb)과 단순히 농도로 비교하여도 약 600배 정도로 큰 차이가 났으며, 15°C의 경우의 24h-LC50(1.173ppm)과 비교하면 약 5배의 차이가 났다. 15°C와 20°C 사이의 독성을 비교해보면 약 100배의 LC50 차이를 나타냈다. TBT의 경우는 온도가 올라갈수록 독성이 강하게 나타나는 것은 B(a)p과 유사하지만 온도에 대한 민감도가 더 크게 나타났다(Table 3). 10°C에서의 48h-LC 50이 3.26ppm인데 반해서 15°C에서는 24h-LC50이 9.982ppb로서 약 300배 정도의 독성 차이가 나타났다. 15°C와 20°C에서의 독성도의 차이는 거의 없었다. Benzo(a)pyrene와 TBT에 대한 Brine shrimp의 LC50 값은 20°C에서 큰 차이를 보이지 않았지만 10°C에서는 약 2배 정도로 TBT의 독성이 Benzo(a)pyrene의 것

보다 강하게 나타났다. 그러나 15℃에서 TBT의 독성은 Benzo(a)pyrene의 것보다 무려 약 100배정도 더 강하게 나타났다. 두 물질의 농도에 대한 Brine shrimp의 사망률은 Fig. 1에 나타냈다.

Table 2. 온도에 따른 Benzo(a)pyrene대한 Brine shrimp의 LC50.

Temperature (°C)	Unit	Time(hour)	LC50	95% confidence limits	
				low	High
10	ppm	48h	6.398	4.643	9.983
15	ppb	24h	1173	825	1733
20	ppb	24h	10.147	6.162	12.123

Table 3 . 온도에 따른 TBT대한 Brine shrimp의 LC50.

Temperature (°C)	Unit	Time (hour)	LC50	95% confidence limits	
				low	High
10	ppm	48h	3.26	2.93	3.675
15	ppb	24h	9.982	8.184	11.786
20	ppb	24h	8.427	6.832	10.153

#### PAHs에 노출된 먹이를 섭취한 요각류의 생리적인 변화

장목만에서 서로 다른 시기에 우점적으로 출현하는 두 종의 요각류(*A. erythraea*, *A. omorii*)를 가지고 Benzo(a)pyrene에 노출되었던 먹이를 섭취할 경우 포식자의 생리적인 변화를 egg production, hatching rate 그리고 fecal pellets 을 가지고 추적하였다(Fig.2, Fig3). *A. erythraea*의 경우 50ppb에 노출된 먹이를 섭취했을 때, egg production은 시간이 지나 수록 값이 떨어지는 경향을 보였다.

또한 egg production은 Benzo(a)pyrene의 농도가 높아질수록 감소함을 보였다 (Fig. 3). Hatching rate와 fecal pellet도 Benzo(a)pyrene의 농도가 높을수록 낮아지는 경향을 보였다. Hatching rate는 5ppb에서 실험 2일 후부터 감소하는 경향을 보였고, 10과 50ppb에서는 실험 4일째를 제외하면 첫날 이후부터 급격히 감소함을

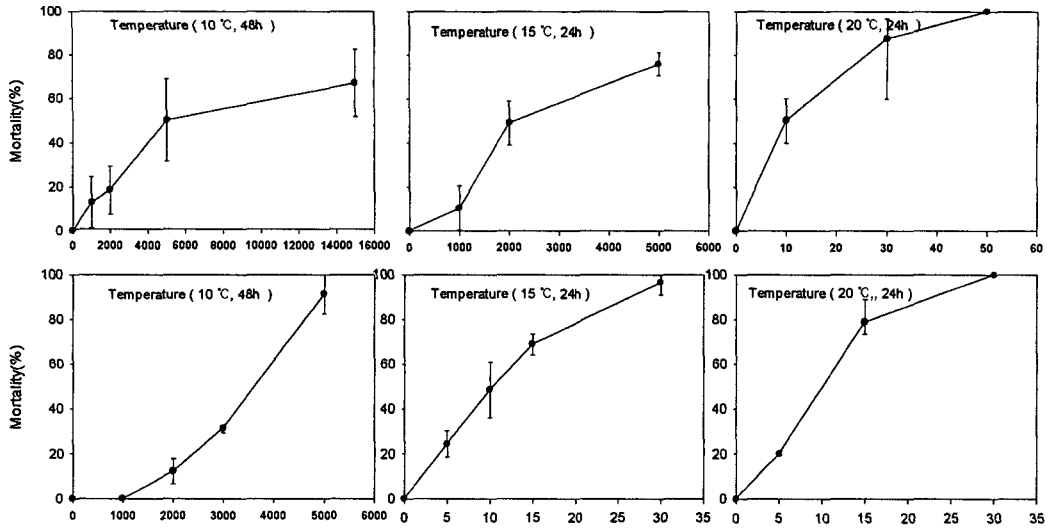


Fig 1. Benzo(a)pyrene과 TBT에 노출된 Brine shrimp의 온도별 사망률.

보였다. Fecal pellets은 5ppb와 10ppb 사이에서는 유사한 경향을 나타내었지만, 50ppb에서는 실험 첫날 이후부터 낮은 값을 나타내었다. 이는 50ppb에 노출된 *A. erythraea*가 먹이를 정상적으로 섭취할 수 없었고, 이로 인해 hatching rate와 egg production이 낮은 것으로 생각된다.

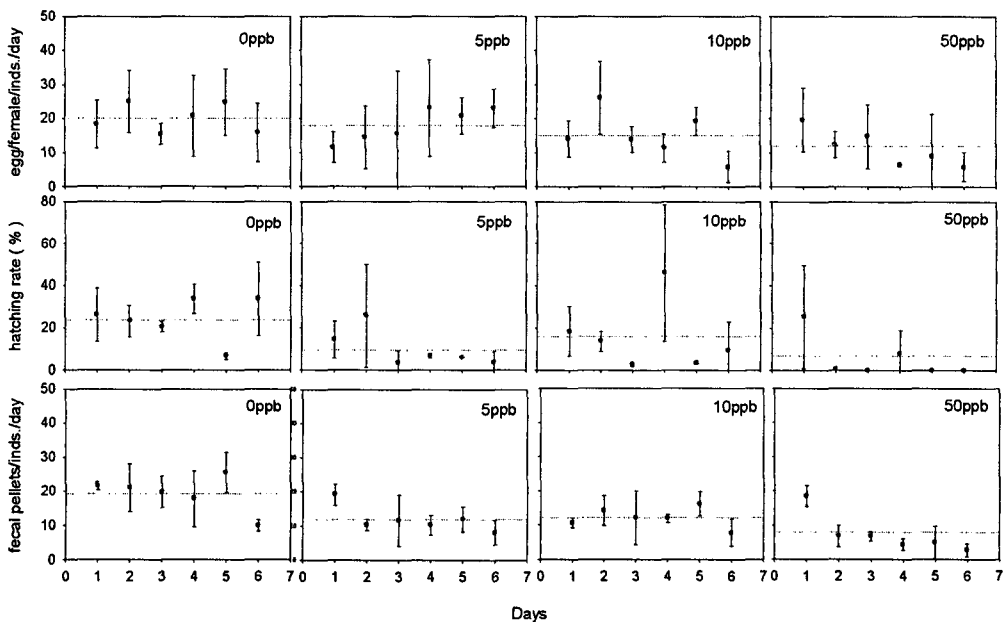


Fig. 2. Benzo(a)pyrene의 서로 다른 농도에서 시간경과에 따른 *Acartia erythraea*의 egg production, hatching rate, fecal pellets의 변화

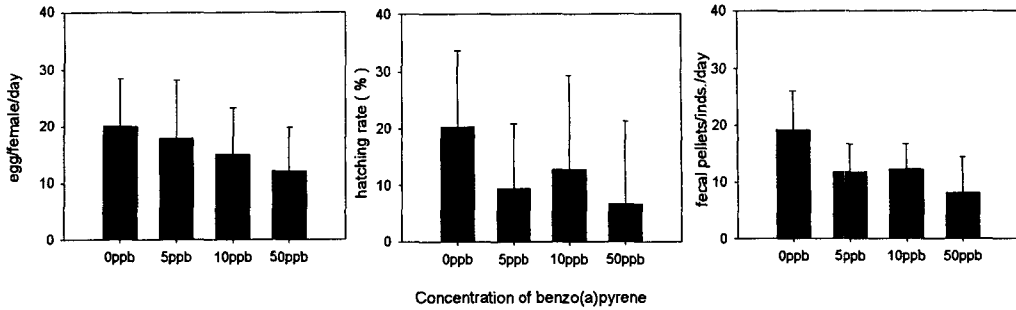


Fig. 3. Benzo(a)pyrene의 농도에 따른 *Acartia erythraea*의 egg production, hatching rate, fecal pellets의 변화

*A. omorii*의 egg production은 Benzo(a)pyrene 0ppb와 1ppb에서 비슷한 변화를 보였으며, 10ppb와 30ppb에서 시간이 지날수록 급격히 낮아졌다(Fig. 4). Hatching rate는 오염물의 영향을 받지 않은 실험구(0ppb)에서 처음 3일 동안 급격한 감소를 보인 후 4일부터 서서히 증가하다가 6일 이후 다시 감소하는 경향을 보였다. 그러나 오염물에 노출된 먹이를 섭취했던 실험구에서 hatching rate는 0ppb의 실험구와 다른 변화를 보였고, 10ppb와 30ppb에서 실험 3, 4일 이후부터 급격한 감소를 보였다. Fecal pellet은 egg production과 비슷하게 0ppb와 1ppb에서 비슷한 변화를 보였고, 10ppb와 30ppb에서 시간이 지날수록 감소하다가 5일 이후부터 다시 증가하는 경향을 보였다(Fig. 4). *A. omorii*가 오염되지 않은 정상적인 먹이를 섭취했던 기간과 오염물질에 노출되었던 먹이를 섭취했던 기간동안의 egg production, fecal pellet, hatching rate를 비교하였다 (Fig 5.). *A. omorii*는 오염물질에 노출되었던 먹이를 섭취했을 때 모든 조사항목은 영향을 받고있는 것으로 보였으며, 특히 오염물질의 낮은 농도보다 높은 농도에서 차이가 뚜렷하였다.

## 결 론

*Acartia omorii*에 대한 48h-LC50을 볼 때 각각의 PAHs에 대해 변별력이 있는 값들이 나타났다. 또한 다른 종에서도 일반적으로 Benzo(a)pyrene에 대한 독성이 강하게 나타나고, Pyrene에 대해서는 독성이 덜 민감한 것으로 나타났는데(황 2000, EPA 1998), 본 실험에서도 같은 결과를 보였다. 이는 *Acartia omorii*가 충분히 독성을 평가할 수 있는 생물로 이용할 수 있다는 것을 보여준다. 온도실험에서는 동일한 유해물질을 가지고 실험을 하더라도 온도의 변화에 따라 급격한 독성의 차이가 나타날 수 있고, 유해물질간에도 온도에 따라서 나타나는 독성에 대한 특성이 다르게 나타난다는 것을 보여준다. 먹이에 대한 실험의 경우, 몇 가지 경우에서는 편차가 심하게 나서 뚜렷한 경향을 나타내지는 않았다. 하지만 노출된 농도

가 높고, 노출된 시간이 길어질 수록 요각류의 생리적인 변화가 부정적인 경향을 나타냈다.

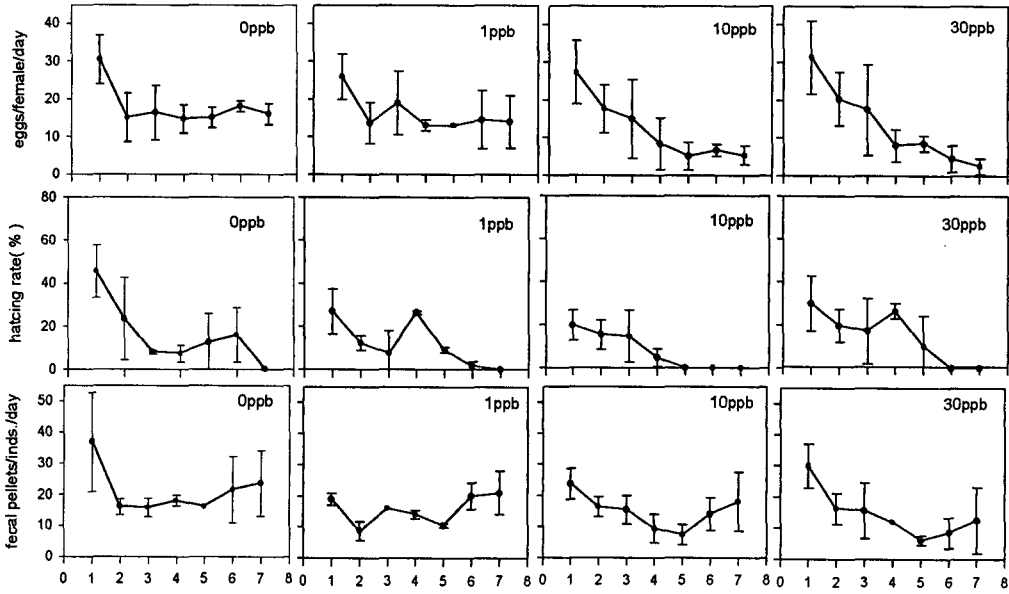


Fig. 4. Benzo(a)pyrene의 서로 다른 농도에서 시간경과에 따른 *Acartia omorii*의 egg production, hatching rate, fecal pellets의 변화

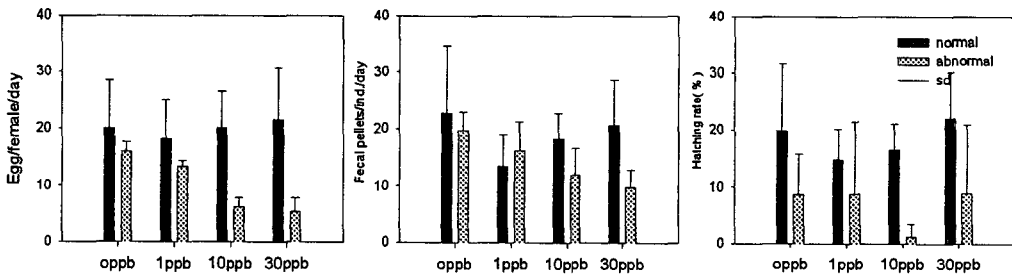


Fig. 5. 식물플랑크톤의 Benzo(a)pyrene 노출 유,무에 따른 *Acartia omorii*의 egg production, hatching rate, fecal pellets의 변화



## 참 고 문 헌

- 이성규, 2001. 환경오염물질 독성평가 기법에 관한 workshop. 난용성/휘발성 물질의 유해성 시험방법.
- 이원철, 송성준, 이재성, 2002. 해양 저서성 요각류의 다양성 연구 현황과 그 전망. *Korean J. Environ. Biol.* 20(1), pp 1-9.
- 이종협 외, 1999. 여수 여천 해양환경영향 조사 -제 2차연도 최종보고서, 서울대학교 환경 안전 연구소.
- 황인영 외, 2000. PAHs의 환경독성과 환경오염 실태-PAHs에 대한 해양오염-인제대학교 부설환경연구소 제 9회 심포지움, 환경연구노트 제9호, pp 42-58
- EPA, 1998, [http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc\\_202.htm](http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc_202.htm)
- Knut Breivik, Ruth Alcock. 2002. Emission impossible? The challenge of quantifying sources and releases of POPs into the environment, article in press. *Environmental International* 906.
- M. Sidharthan, Kim Shin Young, Lee Hoe Woul, Park Kwan Soon, Hyun Woung Shin. 2002. TBT toxicity on the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. *Mari. Poll. Bull.* 45. pp 177-180.
- S. M. Evans, M. Dawson, J. Day, C. L. J. Frid, M. E. Gill, L. A. Pattisina and J. Porter. 1995. Domestic waste and TBT pollution in coastal areas of Ambon island. *Mari. Poll. Bull.*, vol. 30, No.2, pp 109-115.
- Won Joon Shim, Sung Hyun Kahng, Sang Hee Hong, Nam Sook Kim, Seung Kyu Kim, Jae Hyung Shim, 2000, Imposex in the rook shell, *Thais clavigera*, as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea. *Mari. Enviro. reserch* 49, pp 435-451.