Rotifer (*Brachionus plicatilis*)의 생존율에 미치는 tributyltin (TBT)과 triphenyltin (TPT)의 독성

전중균* · 이미희 · 이지선 · 이경선[1] · 심원준[2] · 신영범[2] · 이수형[2]

강릉대학교 해양생명공학부/동해안해양생물자원연구센터 (EMBRC),
[1]日本國 長崎大學 海洋資源教育研究센터, [2]한국해양연구원 해양환경기후연구본부

Toxicity of TBT and TPT Compounds on the Survival of Rotifer (*Brachionus plicatilis*)

Joong-Kyun Jeon*, Mee-Hee Lee, Ji-Seon Lee, Kyoung-Seon Lee[1], Won-Joon Shim[2], Yeong-Beom Shin[2] and Soo-Hyung Lee[2]

EMBRC, Kangnung Nat'l University, Gangneung 210-702, Korea
[1]*Marine Research Institute, Nagasaki University, Nagasaki, Japan*
[2]*Korea Ocean Research & Development Institute, Ansan 425-170, Korea*

Abstract - **This study was conducted to evaluate the effect of organotin compounds on rotifer (*Brachionus plicatilis*), which is important as food organism of aqua-cultured fish and shellfish. To evaluate the toxicities of tributyltin compounds such as tributyltin chloride (TBTC), tributyltin oxide (TBTO), tributyltin acetate (TBTA) and tributyltin benzoate (TBTB), and triphenyltin compounds such as triphenyltin chloride (TPTC), triphenyltin fluoride (TPTF), triphenyltin hydroxide (TPTH), the survival rates of rotifer exposed to these compounds were measured as the 96 hr-LC_{50}. Exposed concentrations were from 0.5 to 8 bbp depending on compounds. Based on 96 hr-LC_{50} value, the order of toxicity in TBTs was TBTA (1.1 ppb) > TBTC (2.0) > TBTB (3.3) > TBTO (5.6), and that in TPTs was TPTF (1.0) ≥ TPTC (1.1) > TPTH (1.6). Triphenyltin compounds were slightly higher toxic than tributyltins. The toxicity is likely to depend on alkyl or aryl group other than halogen or the other substituted radicals.**

Key words : tributyltins, triphenyltins, rotifer, survival rate, 96 hr-LC_{50}

서 론

TBT (tributyltin)를 비롯한 유기주석화합물은 PVC 안정제, 각종 플라스틱 첨가제, 산업용 촉매, 살충제, 살균제, 목재보존제 등으로 널리 사용되었으며, 특히 선박용 방오도료에 부착생물이 달라붙지 못하도록 부착방지제로 첨가되었다. 부착방지제로 종래에는 산화 제1구리가 주로 쓰였으나 1970년대부터는 TBT의 뛰어난 부착방지 효과 때문에 널리 사용되어 왔으며, TBT는 선박뿐만 아니라 해양구조물이나 어망, 어구 등에 부착생물이 달라붙지 못하도록 사용되다가 비표적생물에 대한 강한 독성 때문에 지금은 많은 국가들이 사용을 금지하고 있다 (Fent 1996).

* Corresponding author: Joong-Kyun Jeon, Tel. 033-640-2412, Fax. 033-647-2410, E-mail. jkjeon@kangnung.ac.kr

선박 표면에서 해수로 용출되는 TBT는 굴에게 패각 기형을 유발시키고(Stephenson 1991), 또한 성장을 억제시키며(Lawler and Aldrich 1987), 홍합에서는 성장 속도를 감소시키기도 하고 유생의 폐사를 유발한다는 것이 밝혀졌다(Beaumont and Budd 1984). 한편 어류에서는 급성독성으로 시력상실 등을 일으키며, 복족류에서는 암컷이 수컷의 생식기관인 페니스를 가지는 임포섹스(imposex)를 일으킨다는 것도 밝혀졌다(Bryan and Gibbs 1986). 더욱이 TBT는 강한 독성뿐만 아니라 친유성(lipophilicity)의 성질을 가지고 있어 어패류 내에 누적 잔류성이 강하다.

해양에서 이들 오염물질은 해류에 의해 신속하게 전파되며 또한 먹이사슬을 통해서 해양생물의 체내에 농축되므로 먹이사슬의 하부에 위치하여 해양생태계의 기초생산을 담당하는 1차 생산자인 플랑크톤의 오염은 이들을 먹이로 하는 포식자 생물에게도 생리나 생존에 적지 않은 영향을 미칠 수밖에 없을 것이어서 직 · 간접적으로 생태계에 변화를 가져올 수 있다. 따라서 본 연구에서는 유용 해산동물의 유생단계에서 좋은 먹이생물로 쓰이는 동물플랑크톤인 rotifer를 대상으로 방오도료나 어망처리제 등으로 많이 사용되었고 지금도 우리나라 연안의 저질 중에서 검출되고 있는 유기주석화합물이 이들의 생존에 미치는 독성을 조사 · 비교하였다.

재료 및 방법

본 실험에서는 유기주석화합물로 TBT 계열의 TBTC (tributyltin chloride; 96%, Aldrich), TBTO (tributyltin oxide; 96%, Aldrich), TBTA (tributyltin acetate; Aldrich) 및 TBTB (tributyltin benzoate; 98%, Aldrich)와 TPT 계열의 TPTC (triphenyltin chloride; 95%, Aldrich), TPTF (triphenyltin fluoride; 98%, Aldrich), TPTH (triphenyltin hydroxide; Aldrich)를 사용하였으며, 이들을 녹이는데는 에탄올(Merck, Germany)을 사용하였다. 그리고 rotifer는 강릉대학교의 먹이생물연구실로부터 기수산의 내구란(L-type)을 입수하여 온도 · 습도 · 광도를 자동으로 조절하는 Diurnal Growth Chamber (MLR-350HT, Sanyo Co., Japan)에서 28°C로 4,000 lux의 광주기(24L)를 유지하면서 부화시킨 다음 실험에 사용하였으며 5일간의 노출 중에는 별도로 공기를 공급하지 않았다. 내구란의 부화와 사육을 위한 배지로는 여과 해수와 증류수를 2 : 1의 비율로 섞은 염수(25‰)를 사용하였다. Rotifer의 노출실험은 Costar® 6 well cell culture cluster (Corning Inc. U.S.A.)를 사용하여 각 well 당 5 ml의 배지를 넣고는 부화 후 경과시간이 비교적 일정한 갓 부화된 rotifer를 20개체씩 나누어 담은 다음에 에탄올로 녹인 노출시약을 첨가(0.1% 용량)하여 일정한 농도로 맞추어 실시하였다. 그리고 예비실험에서 rotifer는 7일 이상을 배지교환 없이도 생존이 가능하였으므로 rotifer가 위약한 상태에서 가능한 자극을 주지 않고자 노출실험 중에 배지 교환은 하지 않았다. TBTC와 TPTC, TPTF, TPTH의 노출농도는 1, 2, 4 및 6 ppb로 하였고 TBTO는 2, 4, 6 및 8 ppb로 하였으며 TBTA와 TBTB는 0.5, 1, 2 및 5 ppb로 설정하였다. 비교를 위해서는 25‰의 염수만을 넣어 사육한 대조구(control)와 대조구에 용매인 에탄올(0.1%)을 첨가한 sham구도 함께 설정하여 노출실험을 실시하였다. 노출 후에는 24시간 간격으로 해부현미경(Olympus, Japan)으로 rotifer의 생존을 검경하여 생존개체를 계수하였으며, 모든 실험구는 10 반복으로 실시하였다. 노출구간의 유의차 검정은 SPSS program의 Duncan's 다중검정으로 95% 수준으로 유의차 검정을 실행하였으며, 반수치사농도(median lethal concentration, LC_{50})는 Finney's probit analysis (1971) 방법으로 산출하였다.

결과 및 고찰

우선, TBTC에 노출시킨 rotifer의 경시적인 생존율 변화는 Fig. 1과 같다. 대조구와 sham구의 생존율은 노출 24시간째까지 처음과 거의 변함이 없다가 이후 감소하여 노출 120시간 후에는 각각 79.7%와 80.7%가 되었

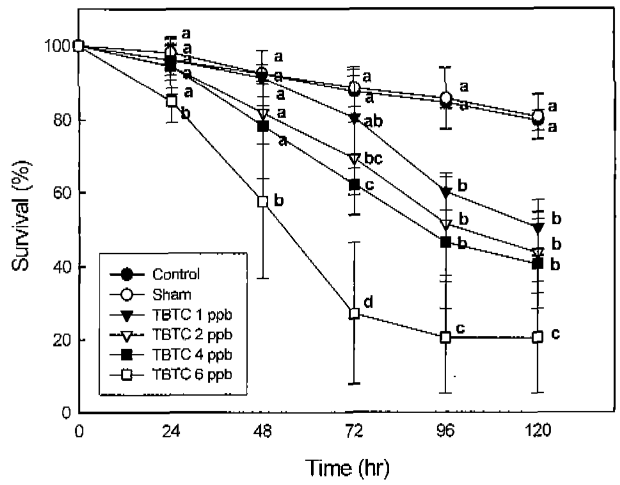

Fig. 1. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various TBTC concentration in 25‰ at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ($p > 0.05$).

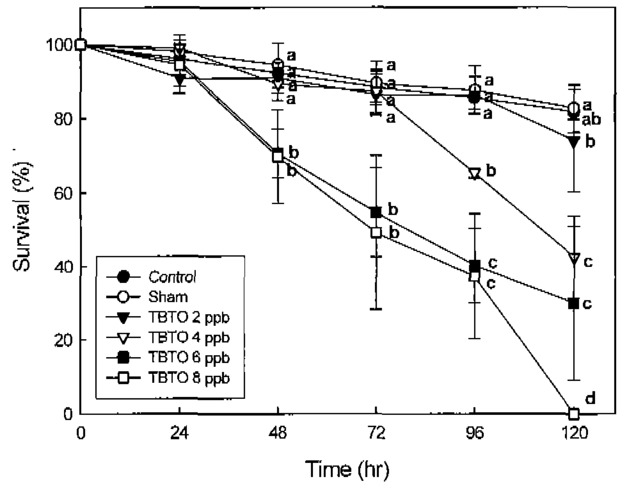

Fig. 2. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various TBTO concentration in 25‰ at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different (p > 0.05).

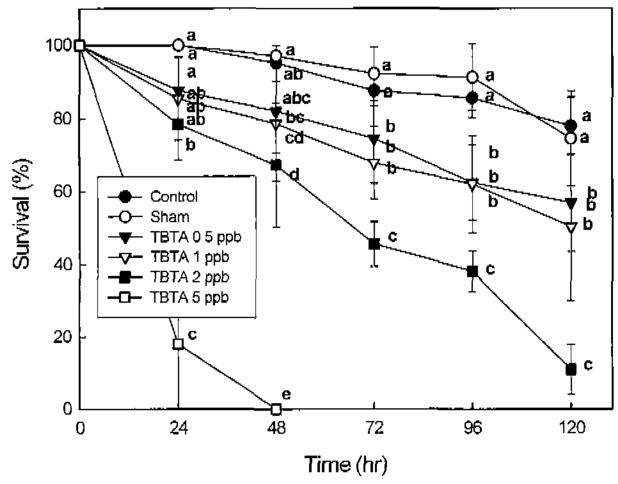

Fig. 3. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various TBTA concentration in 25‰ at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different (p > 0.05).

다. 그리고 1 ppb 노출구는 72시간까지 대조구나 sham 구와 유의적인 차이를 보이지 않다가 이후부터는 크게 감소하여 120시간 후에는 50%로 낮아졌으며, 가장 높은 농도인 6 ppb 노출구는 24시간 후부터 다른 노출구와 유의적인 차이를 보이기 시작하여 72시간 후에는 27%, 120시간 후에는 20%의 생존율을 보였다. 각 농도별 생존율을 토대로 구한 TBTC의 96시간-LC_{50} (96 hr-LC_{50})는 2.0 ppb였다.

TBTO에 의한 rotifer의 생존율 변화는 Fig. 2와 같다. 대조구와 sham구는 노출시간이 경과함에 따라 생존율이 다소 감소하여 120시간 후에는 각각 81.7%와 82.7%였다. 2 ppb 노출구는 96시간 후까지 대조구와 sham구의 생존율과 거의 차이가 없었고 120시간 후에는 74.1%가 되어 대조구와 차이를 보였고, 4 ppb 노출구의 경우도 72시간 후까지는 대조구나 sham구와 생존율이 유의적인 차이를 보이지 않다가 이후 급격히 감소하여 96시간 후에는 65.4%였고 120시간 후에는 42.8%에 불과하였다. 6 ppb 노출구와 8 ppb 노출구도 노출 2일 후부터 감소하여 96시간 후에는 각각 40.3%와 37.4%로 낮아졌으며 이후 120시간에는 8 ppb 노출구가 모두 폐사하였다. 이들 결과를 바탕으로 구한 TBTO의 96 hr-LC_{50}은 5.6 ppb였다.

TBTA의 노출이 경시적으로 rotifer의 생존율에 미치는 영향은 Fig. 3과 같다. 대조구와 sham구의 생존율은 시간 경과에 따라 감소하기는 하였어도 두 노출구간에는 차이가 없었으나, 0.5 ppb와 1 ppb 노출구는 꾸준히 감소하여 노출 120시간째에는 각각 58.2%, 50.3%가 되었다. 그러나 2 ppb 노출구는 24시간 후부터 대조구나 sham구와 차이를 보이면서 감소하여 96시간 후에는 38.2%로 낮아졌고 120시간 후에는 겨우 11.0%만이 생존하였다. 5 ppb 노출구도 노출 초기부터 급감하여 24시간 후에 18%로 낮아졌고 48시간 후에는 모두 폐사하였다. 이들 결과를 바탕으로 구한 TBTA의 96 hr-LC_{50}은 1.1 ppb였다.

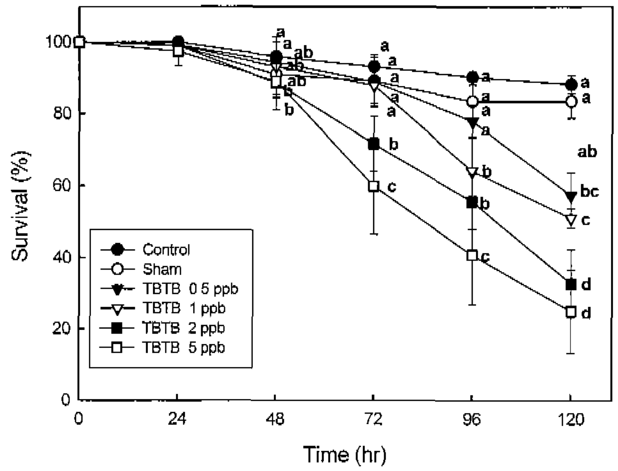

Fig. 4. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various TBTB concentration in 25‰ at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different (p > 0.05).

TBTB에 노출시킨 rotifer의 경시적인 생존율 변화는 Fig. 4와 같다. 0.5 ppb와 1.0 ppb 노출구의 생존율은 72

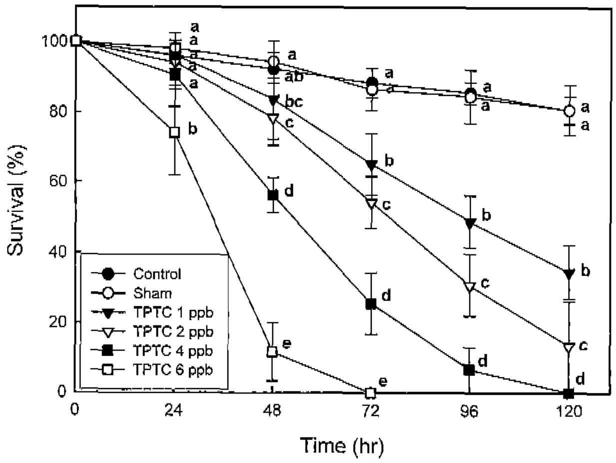

Fig. 5. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various TPTC concentration in 25‰ at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ($p > 0.05$).

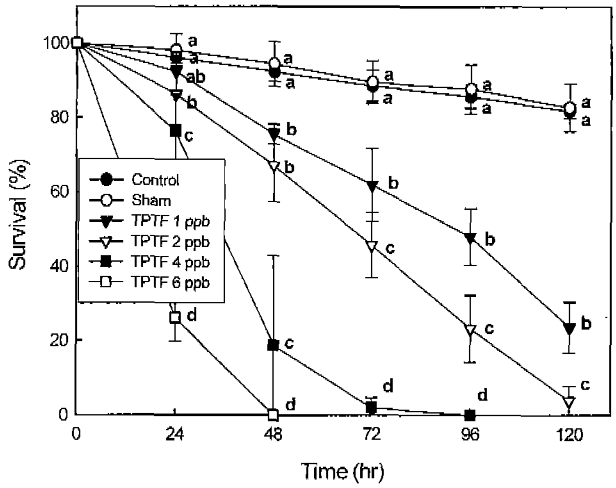

Fig. 6. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various TPTF concentration in 25‰ at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ($p > 0.05$).

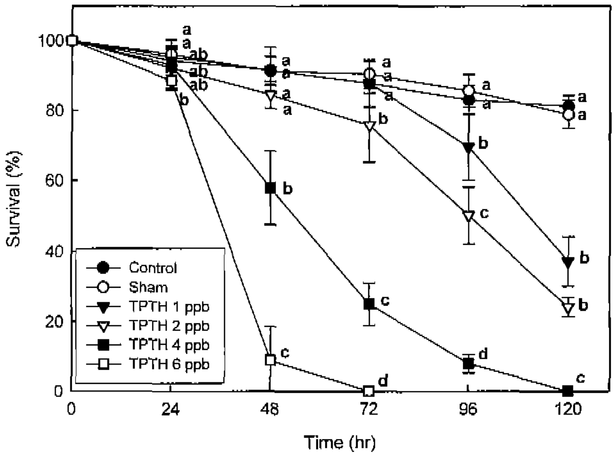

Fig. 7. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various TPTH concentration in 25‰ at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ($p > 0.05$).

시간까지 대조구나 sham구와 유의적인 차이가 없었고 120시간 후의 생존율은 각각 52.5%와 57.5%로 차이가 있었다. 그러나 2 ppb 노출구는 48시간 후부터 대조구나 sham구와 유의적인 차이가 생겼고 이후에는 더욱 차이를 보여 120시간 후에는 32.7%로 낮아졌으며, 5 ppb 노출구는 72시간 후부터 2 ppb 노출구와도 유의적인 차이를 보였고 120시간 후에는 생존율이 24.9%에 불과하였다. 이들 결과를 토대로 96 hr-LC_{50}을 구하면 3.3 ppb였다.

한편, TPT 화합물인 TPTC와 TPTF, TPTH에 각각 노출시킨 rotifer의 생존율 변화는 Figs. 5-7과 같다. 대조구와 sham구는 노출 5일 후에도 약 80%의 생존율을 유지하였고 두 노출구간에는 차이가 없었다. 그리고 Fig. 5와 같이 TPTC에 노출 시 rotifer의 생존율은 노출농도에 의존해서 줄었고, 가장 높은 농도인 6 ppb에서는 24시간만에 다른 노출구와 유의적인 차이를 보일 정도로 생존율이 낮아졌으며 이후 72시간 후에는 모두 폐사하였다. 이와 마찬가지로 TPTF의 경우에도 24시간 후에는 이미 2 ppb 이상의 노출구에서 유의적인 감소를 보였고 4 ppb와 6 ppb는 노출 72시간과 48시간 후에는 거의 폐사하였다(Fig. 6). TPTH의 경우에는 6 ppb 노출구가 48시간 후에 생존율이 10% 이하로 떨어졌고 72시간 후에는 모두 폐사하였다(Fig. 7). 이들 결과를 바탕으로 TPTC 및 TPTF, TPTH의 96 hr-LC_{50}을 분석하면 각각 1.1 ppb, 1.0 ppb, 1.6 ppb이었다.

화학물질의 독성을 평가하려고 플랑크톤을 활용하는 경우에는 노출 시 유영속도의 변화나 상하 이동과 같은 이상행동의 유무나 재생산력으로 판정하기도 하지만, 이들 방법으로는 독성의 정성적 판단은 가능하지만 독성 세기 등을 판정하기가 어려워 대개는 플랑크톤의 생존율 변화를 기준으로 독성을 판단하는 방법이 널리 이용되고 있다(Charoy and Janssen 1999; Kaiser and Niculescu 2001; Knops *et al.* 2001). 본 연구에서는 유기주석 화합물이 동물성플랑크톤인 rotifer에 미치는 영향을 조사하기 위하여 이들 화합물의 rotifer에 대한 독성을 살펴보았는데, 노출되어 죽은 개체의 분해물로 인한 배지

의 수질변화의 영향은 고려하지 않았고 단순히 생존율만으로 독성을 판단하였다. Rotifer에 미치는 독성을 96 hr-LC_{50}을 기준으로 하여 비교하면 TBTs 중에서는 TBTA (1.1 ppb)가 가장 강하였고 이어서 TBTC (2.0), TBTB (3.3), TBTO (5.6)의 순이었으며, TPTs 화합물에서는 TPTF (1.0), TPTC (1.1), TPTH (1.6)의 순이었다. 즉, TPT류가 전반적으로 TBT류에 비해 독성이 강하였으며, TPTs에서는 독성이 큰 차이를 보이지 않았으나 TBTs에서는 화합물간에 차이를 보여 TBTA와 TBTO는 5배 정도 차이가 있었다. 이처럼 유기주석화합물의 독성이 서로 다른 것은 화합물의 친지성이나 주석 원자의 분극성(polarizability)에 의존한다고 알려져 있다(Sun *et al.* 1997). 실제로 이들의 옥탄올-물 분배계수(octanol-water coefficiency, Kow)의 log값은 TBTC 3.1, TBTO 3.3, TPTF 3.4, TPTC 4.1로 보고되어 있다(Thompson *et al.* 1985).

해양플랑크톤은 생태계 내의 먹이사슬에서 상부에 위치하는 해양동물의 먹이가 되지만 이들에게 미치는 유기주석화합물의 독성에 관해서는 잘 알려져 있지 않다. 해양 요각류 *Acartia tonsa*에 TBT를 노출시키고 배지의 염분도를 18‰와 28‰로 달리하여 독성을 조사하였더니 48 hr-LC_{50}은 각각 0.47 및 0.24 $\mu g\ l^{-1}$로 28‰에서 2배 가량 더 높아 염분도에 따라 독성이 달라졌고, 유생의 발달은 1 ng l^{-1}으로도 저해되고 생존은 15~20 ng l^{-1}에서 영향을 받는다고 하였다(Kusk and Petersen 1997). Jak *et al.* (1998)의 보고에 따르면, TBT를 노출시킨 mescosm 연구에서 동물플랑크톤의 일종인 요각류(*Temora longicornis*)의 생체량(biomass)에 대한 EC_{50} 값은 0.15 $\mu g\ l^{-1}$라 하였다.

그러나 Tak and Kim (1999)은 rotifer의 TBT에 대한 48 hr-LC_{50}이 6.7 ng l^{-1}라고 하여 앞의 *A. tonsa*에 비해 40~80배나 낮았는데 이것이 생물종의 차이에 의한 것인지 또는 배양방법의 차이에 의한 것인지는 알 수 없다. 그리고 *Daphnia magna*를 TBT에 노출시키면 빛에 의한 행동이 비정상이 되며, LC_{50} (3.5~6 ppb)보다 10배 가량 낮은 농도(0.5 ppb)에 96~144시간 노출시켰더니 광주성(phototaxis)이 역전되어 나타났다고 하였다(Meador 1986). 우리나라 연안 해수중의 유기주석화합물의 농도(Sn base)를 TBT 이온 농도로 환산할 경우 오염이 심한 항구 및 조선소 주변을 포함하여 0.5 ppb 미만이다(MOMAF 1998). 하지만 본 연구에서 rotifer에 대한 유기주석화합물의 독성 실험은 폐사율을 기준으로 판단하였는데, 성장이나 생리적인 영향도 포함할 경우에는 ppb 이하의 수준에서 영향을 받는다는 기존 보고를 감안한다면, 유기주석화합물의 오염이 상대적으로 심한 조선소 주변이나 대도시 항구 해역에서는 플랑크톤의 발달과 성장도 지장을 받을 것이고 또한 행동생리적인 이상도 일어날 수 있을 것이므로 플랑크톤에 의한 기초생산력이나 또한 이를 먹이로 하는 어패류의 자원량도 간접적으로 영향을 받을 수 있을 것이다. 그리고 본 실험에서는 유기주석화합물의 독성에 대해서만 살펴보았지만 해양에는 여러 오염물질이 공존하고 있으므로 실제 해양에서의 영향을 조사하기 위해서는 복합 노출에 따른 영향도 앞으로 검토되어야 할 것이다. 그리고 오염물질이 해양생태계에 미치는 영향을 조사하기 위해서는 경제성이 있는 대형생물종 뿐 아니라 기초생산을 담당하는 플랑크톤처럼 먹이사슬의 하부에 위치하는 종에 대해서도 관심을 가질 필요가 있을 것이라 여겨진다.

적 요

유기주석화합물은 독성이 강하고 잔존력이 강하여 수계환경으로 유입되면 해양생태계에 오랫동안 영향을 미친다. 이들 화합물이 해양생물에 미치는 영향에 관해서는 어류나 패류 등의 산업적 가치가 큰 생물종을 대상으로 한 연구는 적지 않지만, 해양생태계에서 먹이사슬의 가장 하부에 위치하며 기초생산을 담당하는 플랑크톤류에 미치는 영향에 관해서는 잘 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 TBT류의 TBTC, TBTO, TBTA, TBTB를 비롯하여 TPT류의 TPTC, TPTF, TPTH가 기수산 rotifer의 생존에 미치는 독성(96 hr-LC_{50})을 조사·비교하였다. 그 결과, TBT류에서는 TBTA (1.1 ppb)가 가장 강하였고 TBTC (2.0), TBTB (3.3), TBTO (5.6)의 순이었으며, TPT류에서는 TPTF (1.0), TPTC (1.1), TPTH (1.6)의 순이었다. 이 결과는 TPT류가 전반적으로 TBT류에 비해 독성이 강하다는 것을 보여준다.

사 사

이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2001-001-H00065)에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Beaumont AR and MD Budd. 1984. High mortality of the larvae of the common mussel at low concentrations of tributyltin. Mar. Pollut. Bull. 15:402-405.

Bryan GW, PE Gibbs, LG Hummerstone and GR Burt. 1986. The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around South-West England: evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 66:611-640.

Charoy C and CR Janssen. 1999. The swimming behaviour of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress. II. Comparative sensitivity of various behavioural criteria. Chemosphere 38:3247-3260.

Fent K. 1996. Ecotoxicology of Organotin compounds. CRC Crit. Rev. Toxicol. 26:1-117.

Finney DJ. 1971. Probit Analysis. 3rd ed. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Jak RG, M Ceulemans, MCT Scholten and NM van Straalen. 1998. Effects of tributyltin on a coastal North Sea plankton community in enclosures. Environ. Toxicol. Chem. 17:1840-1847.

Kaiser KLE and SP Niculescu. 2001. Modeling acute toxicity of chemicals to *Daphnia magna*: A probabilistic neural network approach. Environ. Toxicol. Chem. 20:420-431.

Knops M, R Altenburger and H Segner. 2001. Alterations of physiological energetics, growth and reproduction of *Daphnia magna* under toxicant stress. Aquat. Toxicol. 53:79-90.

Kusk KO and S Petersen. 1977. Acute and chronic toxicity of tributyltin and linear alkylbenzene sulfonate to the marine copepod *Acartia tonsa*. Environ. Toxicol. Chem. 16:1629-1633.

Lawler IA and JC Aldrich. 1987. Sublethal effects of bis (tri-n-butyltin) oxide on *Crassostrea gigas* spat. Mar. Poll. Bull. 18:274-278.

Meador JP. 1986. An analysis of photobehavior of *Daphnia magna* exposed to tributyltin. Oceans '86 Conference Record: Science Engineering Adventure. Vol. 4. Organotin Symposium. pp. 1213-1218.

MOMAF (Ministry of Maritime Affairs and Fisheries). 1998. Studies on the TBT contamination in the marine environment of Korea. Technical Report. 210pp.

Stephenson M. 1991. A field bioassay approach to determining tributyltin toxicity to oysters in California. Mar. Environ. Res. 32:51-59.

Sun HW, GL Huang, SG Dai and TY Chen. 1997. A diparametric QSAR pattern for organotin compounds on rotifer *Brachionus plicatilis*. Toxicol. Environ. Chem. 60:75-85.

Tak KT and JK Kim. 1999. Acute toxicity of TBT influencing on the production of coastal olive flounder. Korean J. Life Sci. 9:333-340.

Thompson JA, MG Sheffer, RC Pierce, YK Chau, JJ Cooney, WP Cullen and RJ Maguire. 1985. Organotin compounds in the aquatic environment : Scientific criteria for assessing their effects on environmental quality. National Research Council Canada. 284pp.

Manuscript Received: February 11, 2003
Revision Accepted: April 22, 2003
Responsible Editorial Member: Don Chan Choi
(Yong-In Univ.)