

황복 (*Takifugu obscurus*)에 대한 중금속, 유기주석화합물 및 다환방향족탄화수소 (PAHs)의 급성 독성

이정석, 이규태*, 김동훈, 김진형¹, 한경남¹

(주)네오엔비즈 부설 환경안전연구소, ¹인하대학교 해양학과

Acute Toxicity of Dissolved Inorganic Metals, Organotins and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to Puffer Fish, *Takifugu obscurus*

Jung-Suk Lee, Kyu-Tae Lee*, Dong-Hoon Kim, Jin-Hyeong Kim¹ and Kyung-Nam Han¹

Institute of Environmental Protection and Safety, NeoEnBiz Co., 549-11 (Rm 201), Seoul 137-044, Korea

¹Department of Oceanography, Inha University, Incheon 402-751, Korea

ABSTRACT

We exposed juvenile puffer fish, *Takifugu obscurus* (30 days after hatching) to various aqueous pollutants including 4 kinds of inorganic metals (Ag, Cd, Cu and Hg), 2 organotin compounds (tributyltin [TBT] and triphenyltin [TPhT]) and 5 polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) compounds (chrysene, fluoranthene, naphthalene, phenanthrene and pyrene) to estimate median lethal concentrations (LC50s) of each pollutant after the 96-hour acute exposure. Among the inorganic metals, Hg (52 µg/L; 96-h LC50) was most toxic to test animals and followed by Ag (164 µg/L), Cu (440 µg/L) and Cd (1180 µg/L). Aqueous TBT was more toxic between the two organotins; the 96-h LC50 for TBT (5.1 µg/L) was 3 times lower than that of TPhT (17.3 µg/L). The acute toxicity of PAH compounds was highest for chrysene (1.5 µg/L; 96-h LC50) and decreased in the order of pyrene (65 µg/L) > fluoranthene (158 µg/L) > phenanthrene (432 µg/L) > naphthalene (8690 µg/L). The toxicity of PAH compounds was closely related to their physico-chemical characteristics such as K_{ow} and water solubility, and well explained by simple QSAR relationship. The sensitivity of puffer fish to various inorganic and organic pollutants was generally comparable to various fish species widely used as standard test species in previous studies and further evaluation should be conducted to develop adequate testing procedures for *T. obscurus* when used in various toxicity tests.

Key words : puffer fish, heavy metals, TBT, PAHs, toxicity

서 론

전세계적으로 급속한 산업화로 인해 담수, 기수

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-2-537-4616, E-mail: neoenbiz korea.com

및 연안 환경으로 유입되는 각종 유해물질의 종류와 양은 크게 증가하는 추세에 있다 (Clark, 2001). 각종 미량 금속과 유기 금속 그리고 유기화학물질 등을 포함한 다양한 오염 물질은 수생 환경에 서식하는 생물들의 생리활동과 성장, 생식에 위해를 가함으로써 개체군이 감소하고 군집 구조가 변화

하는 등 수생 생태계를 손상시키는 주요 원인의 하나로 등장하고 있다. 따라서 이에 대한 연구자들의 관심은 지속적으로 증가하는 추세에 있고, 오염물질의 생물학적 영향을 정량하는 다양한 생물검정 기술이 개발되어 수생 환경 오염의 생물학적 모니터링과 환경 위해도 평가에 활용되고 있다.

연안 환경에 유입된 미량 금속(trace metals) 중에서 특히 문제가 되는 Ag, Cd, Cu, Hg, Pb, Zn 등의 미량 금속은 모두 자연적으로 존재하는 물질로서 일정 농도 이하에서는 독성이 나타나지 않을 뿐만 아니라, 일부 미량 금속은 Cu나 Zn와 같이 생물체에 필수적인 영양소이다. 하지만 산업화 이후 지나치게 많은 양의 금속들이 수생 환경으로 유입되면서, 일부 생물들이 가진 무독화 능력의 한계를 초과하게 되었고, 결과적으로 많은 수생 생태계를 훼손하는 원인으로 주목 받게 되었다(Rainbow *et al.*, 1990). 국내 연안 환경에서도 산업시설이나 항만 부근에서 상당한 중금속 오염이 보고된 바 있다(Lee *et al.*, 1998; Kang *et al.*, 2000). 또한 금속의 한 종류인 주석(Sn)은 그 자체로서는 환경적인 문제를 크게 야기하지 않지만, 주석에 부틸기(butyl)나 페닐기(phenyl)와 같은 작용기가 결합된 유기주석화합물은 강한 생물학적 독성으로 인해 시설이나 선박 표면에 생물의 부착을 방지하는 방오도료나 biocide로 널리 활용될 수 있고, 그 상업적 이용 가치는 매우 큰 것으로 인식되어왔다(Bryan *et al.*, 1986; Shim *et al.*, 2000). 하지만 이러한 유기주석화합물은 극히 저농도에서도 일부 수생 생물의 생식 이상을 유발하는 내분비계 장애물질(endocrine disrupting chemical)로 알려져 우리 나라를 비롯한 많은 국가에서 사용을 제한하고 있다. 현재 상당한 수준의 유기주석화합물이 국내외의 연안 환경에 잔존하고 있어, 가장 문제가 되는 오염 물질의 하나로 분류되고 있다(Shim *et al.*, 2000).

다환방향족탄소수소(polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs)는 원유(crude oil) 등에 자연적으로 존재하는 물질이지만, 유기물이 연소하는 과정에서 생성되기도 하는 대표적인 지속성 유기 오염물질(persistent organic pollutants)이며 내분비계 장애물질의 하나이다. 이들은 주로 유류 사고, 폐수로 오염된 하천수나 대기를 통해 연안 환경으로 유입되어 국내외적으로 심각한 오염 문제를 일으키기도 한다. 국내에서도 항만이나 산업시설 부근 퇴적물

에서 유의할 만한 농도 수준의 PAH 화합물이 존재하고, 이에 따른 세포수준의 내분비계장애 영향이 관찰되었음이 보고된 바 있다(Koh *et al.*, 2001).

연안 환경에 유입된 미량금속이나 유기주석화합물, PAHs 등 지속성이 강한 유해 물질은 여러 경로를 통해 연안 생태계의 생물 체내로 흡수되어 해로운 영향을 미칠 수 있는 잠재성을 갖고 있다(Phillips, 1980). 따라서 선진국에서는 이미 오래전부터 각종 유해물질들로부터 연안 생태계의 주요 생물들을 보호하기 위한 노력과 관심을 기울여 생태적으로 또는 경제적으로 중요한 연안 생물에 대한 이들 오염물질의 급성 또는 만성 독성 영향을 체계적으로 조사하여왔고, 이렇게 축적된 많은 양의 독성 영향 자료는 해당 생물을 보호하는 관리 기준 뿐만 아니라, 생태계 전체의 보호를 위한 오염물질별 수질 기준 작성에 활용되고 있다(USEPA, 1991).

국내에서는 오염평가의 문제에 있어서 환경에 존재하는 유해물질의 양을 정량하여 비교하는 화학분석법이 많이 이용되어 왔기 때문에 현재로서는 기수역이나 연안 환경에 서식하는 생물에 대한 여러 유해물질의 독성을 평가하고 생물간 또는 물질간에 비교하는 연구가 많이 이루어지지 못한 것이 사실이다. 하지만 최근에는 연안 생태계의 훼손, 수산자원의 격감 그리고 내분비계장애물질에 대한 관심 증대로 인해 연안 환경의 유해 물질 오염에 대한 연구자들의 관심이 크게 증가하고 있으며, 생물학적 오염평가 방법론의 적용도 몇몇 연구에서 시도된 바 있다(Lee *et al.*, 1998; Kang *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2001a; Koh *et al.*, 2001). 그러나 아직까지 다양한 생물학적 수준에서의 독성 영향 평가 연구는 미진하며, 개체 수준의 환경독성영향을 파악하는 연구의 대상 생물이 미생물이나 조류 또는 크기가 작은 무척추동물을 주로 사용하고 있는 실정이다. 연안 어류에 대한 유해독성물질의 독성 연구는 넓치와 같은 일부 어종에 한정되어 수행되고 있어 보다 다양한 어종에 대한 독성연구가 필요하다(김 등, 1997; 탁과 김, 2001; 강 등, 2002).

연안 환경에는 다양한 유해물질들이 혼재하면서 오염에 민감한 종들부터 생태계로부터 사라지게 함으로써 군집의 종조성을 변화시키고 궁극적으로 연안 생태계 전체를 위협하고 있다. 따라서 이러한 주요 오염 물질들의 연안 오염 평가를 위한 독성 시험법의 개발이 시급하다. 연안 환경에서 어류는

생태적, 경제적 가치가 매우 높은 대표적인 생물군이다. 따라서 북미, 유럽 등의 선진국에서는 모든 화학물질에 대해서 다양한 담수산 및 해산 어류에 대한 독성 영향 정도를 파악하도록 의무화하고 있다(USEPA, 1991). 현재 국내에서도 농약 등 환경 유출이 많은 화학물질에 대해서 일부 담수산 어류에 대한 독성 시험이 이루어지고 있다(이 등, 1991). 하지만 아직까지 기수역이나 해양에 서식하는 어류에 대한 체계적인 독성 시험은 아직 개발 단계에 있다. 특히 기수 환경은 생물 다양성이 높고 생태적, 경제적 가치가 높은 생물들이 산란장이나 보육장으로 이용하는 등 보존가치가 높다. 현재 국내에서는 해산 어류에 대한 독성학적 연구는 넙치 등에 양식 가능한 일부 어종에 한정되어 이루어지고 있고, 기수역 어종을 비롯한 다양한 수생 생물에 대한 연구는 매우 제한적이다(최와 Kinane, 1994). 이는 연안 환경에서의 유해물질의 오염 문제에 대한 인식 부족과 함께 표준화된 독성 시험의 부재에서 한 원인을 찾을 수 있을 것이다. 유해물질 오염평가를 위한 독성 시험 기법을 개발하여 활용하기 위해서는 다양한 시험 생물의 주요 유해물질에 대한 민감도를 체계적으로 조사하고 비교하는 많은 체계적인 연구가 필요하다.

본 연구는 황복을 이용한 수질독성 시험법을 체계적으로 개발하기 위한 연구의 한 과정으로 수행되었다. 본 연구에서는 황복을 여러 농도의 미량 금속, 유기주석화합물 및 다환방향족탄화수소 등에 단기 노출 하면서 생존율을 조사하였고, 시간에 따른 반수 치사 농도(median lethal concentration; 이하 LC50)를 계산하여, 황복의 주요 오염물질에 대한 민감도와 기존 연구에서 조사된 여러 시험 어류들의 민감도와 비교하였다. 또한 실험결과를 이용하여 오염 물질의 물리화학적 특성과 황복에 대한 급성 독성 영향의 관계를 QSAR(quantitative structure activity relationship)의 관점에서 분석하였다.

재료 및 방법

1. 시험생물의 준비

다양한 유해 물질의 수질 독성을 평가하기 위한 실험 생물로서 자연산 친어로부터 얻어진 수정란에서 인공부화된 황복 자치어(일령 30일; 전장 1

cm)를 이용하였다. 부화된 자어는 3톤 FRP 수조에서 수온 20°C, 300 mL/min의 폭기와 0.5 회전/일의 환수조건에서, 크기에 따라 rotifer나 brine shrimp를 급이하여 사육하였다. 사육수의 염분은 초기 0 psu에서 매일 0.3 psu 씩 증가시켜 시험일에는 10 psu가 되도록 조절하였다.

2. 시험해수의 준비

본 연구에서는 충청남도 태안군 인하대학교 해양연구소 근해에서 채수한 자연 해수(32 psu)를 GF/F로 입자를 제거한 다음 증류수로 희석하여 제조한 10 psu의 염수에 4~5 농도의 중금속 4종(Ag, Cd, Cu, Hg), 유기주석화합물 2종(Tributyltin, Triphenyltin), 그리고 PAHs 5종(chrysene, fluoranthene, naphthalene, phenanthrene, pyrene)을 주입하여 황복 자치어를 이용한 급성 독성 시험에 이용하였다(Table 1). 실험 농도의 선택은 문헌을 통해 알려진 다른 어류의 급성 영향 농도를 고려하여 이루어졌고, PAHs의 경우 용해도(water solubility)를 넘지 않는 농도 범위하에서 일정 간격으로 농도를 선택하였다(Di Toro et al., 2000). 해수에 유해 물질을 주입(spiking)하는 방법은 알려진 프로토콜을 따랐다(ASTM, 1994). 표준 용액(stock solution)은 중금속의 경우 증류수에 적정량의 시약용 AgNO₃(순도 99.7%), CdCl₂(99%), CuSO₄(99%) 및 HgCl₂(99.5%; 금속 시약은 모두 J.T.Baker®)을 적정한 농도(100~1,000 mg/L)로 녹여 제조하였고, 유기주석화합물과 PAH 화합물은 tributyltin chloride(96%), triphenyltin chloride(95%), naphthalene(99%), phenanthrene(98%), fluoranthene(98%), pyrene(99%), chrysene(98%; 유기주석화합물과 PAH 화합물은 모두 Aldrich®)을 각각 메탄올에 적정한 농도(100~5,000 mg/L)로 녹여 제조하였다. 유기 오염 물질의 주입시 해수에 첨가된 메탄올의 농도가 0.5%를 넘지 않도록 하였다.

실험에는 두 종류의 대조구가 이용되었다. 하나의 대조구는 아무런 화학물질도 첨가하지 않은 음성대조구(negative control)였으며, 나머지는 메탄올을 0.5% 혼합한 메탄올 대조구였다. 무기 금속 독성 실험구의 경우 음성대조구와 생존율을 비교하였고, 유기주석화합물과 PAHs 실험구의 경우에는 메탄올 대조구와 생존율을 비교하였다.

Table 1. Concentration levels and 48- and 96-hour median lethal concentration (LC50; $\mu\text{g/L}$) of various chemicals in water media tested for puffer fish *Takifugu obscurus* in this study

Chemical type	Chemical name	Unit	Concentration	48-h LC50	96-h LC50
Heavy metals	Ag	$\mu\text{g/L}$	3, 10, 30, 100, 300	>300	164
	Cd	$\mu\text{g/L}$	100, 300, 1000, 3000, 10000	>10000	1180
	Cu	$\mu\text{g/L}$	30, 100, 300, 1000, 3000	550	440
	Hg	$\mu\text{g/L}$	3, 10, 30, 100, 300	138	52
Organotins	TBT	$\mu\text{g/L}$	0.1, 0.3, 1, 3, 10	5.1	5.1
	TPhT	$\mu\text{g/L}$	0.3, 1, 3, 10, 30	>30	17.3
PAHs ¹	CRS	$\mu\text{g/L}$	0.1, 0.2, 0.4, 1, 2,	>2	1.5
	FRT	$\mu\text{g/L}$	2.5, 10, 25, 100, 250	>250	158
	NPT	$\mu\text{g/L}$	250, 1000, 2500, 10000, 25000	7920	8690
	PNT	$\mu\text{g/L}$	3, 10, 30, 100, 300, 600, 1000	580	432
	PYR	$\mu\text{g/L}$	4.5, 15, 45, 135	>150	65

¹ Polycyclic aromatic hydrocarbons (CRS: chrysene; FRT: fluoranthene; NPT: naphthalene; PNT: phenanthrene; PYR: pyrene)

3. 시험 방법

황복 자치어는 대조구와 4~5개 농도의 유해물질로 오염된 시험구에서 96시간 동안 정수 교환 방식 (static renewal test)으로 배양되었다. 시험용기로는 500 mL의 시험수를 넣은 600 mL 유리비이커를 이용하였고, 시험수는 하루에 한 번씩 90%를 교환하였다. 각 실험구별로 반복수는 4개였고, 각 반복수별로 5개체의 황복 자치어를 할당하였다. 시험수의 온도는 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 염분은 10 ± 0.2 psu를 유지하였고, 폭기 (aeration)를 하지 않았지만 항상 80% 이상의 산소 포화도를 보였다. 또한 노출 기간 동안에는 먹이를 굶이지 않았다. 배양 기간 동안 12시간에서 24시간 간격으로 관찰하여 사망 개체를 개수하였다.

4. 자료 분석

각 실험 농도별 생존, 사망개체수를 이용하여 48시간과 96시간 반수치사농도 (LC50)를 계산하였다. 반수치사농도의 계산은 Probit 방법을 이용하였고, 자료의 분포가 정규성 (normality)을 벗어나는 경우에 한하여 Spearman-Kärber 방법을 이용하였다 (USEPA, 1991). 반수치사농도의 계산은 USEPA에서 제공하는 소프트웨어를 이용하여 수행하였다. 대조구와 실험구간의 생존율 또는 사망률의 유의한 차이를 검정하는 데는 student's t-test를 이용하였고, 유의수준 (α)은 0.05에서 검정하였다. 유기화

합물의 물질별 K_{ow} 와 용해도는 Irwin *et al.* (1998)이 제시하고 있는 값을 이용하였다.

결 과

1. 중금속의 독성

황복 자치어에 대한 Ag, Cd, Cu 그리고 Hg의 96-h LC50은 각각 164, 1180, 440, 52 $\mu\text{g/L}$ 로 $\text{Hg} > \text{Ag} > \text{Cu} > \text{Cd}$ 의 순으로 독성이 감소하였다 (Table 1; Fig. 1 a). 금속 오염물질 중에서 독성이 가장 크게 나타난 수는 300 $\mu\text{g/L}$ 에 노출된 황복 자치어의 경우 노출 된지 36 시간만에, 100 $\mu\text{g/L}$ 에서는 90 시간만에 모두 사망하였지만 30 $\mu\text{g/L}$ 에 노출된 개체들은 대조구와 비교하여 유의한 사망률을 보이지 않았다 (Fig. 2 a). 이에 따라 수은의 LC50 값은 노출 시간이 증가함에 따라 60 시간까지는 급속히 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 2 b). 수은에서와 마찬가지로 다른 금속 오염물질에 노출된 실험 생물의 생존율 역시 노출 농도와 노출 시간에 비례하여 감소하였고, LC50 값 역시 시간에 따라 감소하는 경향을 보여 각 금속에 대한 황복의 96-h LC50은 48-h LC50에 비하여 최대 10 배 이상 작아지는 경향을 보였다 (Table 1).

2. 유기주석화합물의 독성

유기주석화합물인 TBT나 TPhT의 황복에 대한

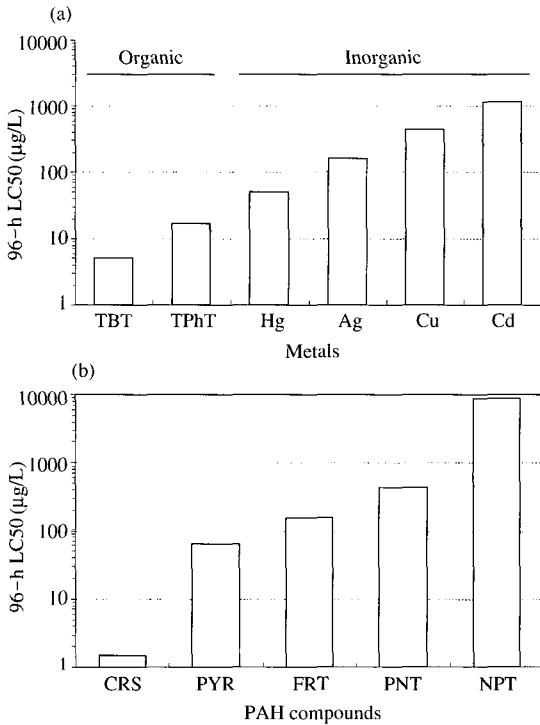


Fig. 1. Comparison of 96-h LC50 of (a) heavy metals and organotin, and (b) various PAH compounds (see Table 1 for abbreviation) for *Takifugu obscurus*.

급성 독성은 일반적인 무기 금속보다 상대적으로 큰 것으로 나타났다(Fig. 1a). 황복 자치어에 대한 TBT와 TPhT의 96-h LC50은 각각 5.1과 17.3 µg/L으로 TBT의 독성이 TPhT의 독성보다 상대적으로 큰 것으로 나타났다.

3. PAHs의 독성

다환방향족탄화수소(PAHs)에 속하는 chrysene, fluoranthene, naphthalene, phenanthrene 그리고 pyrene의 황복에 대한 96-h LC50은 각각 1.5, 158, 8690, 432 그리고 65 µg/L으로 상대적으로 chrysene의 독성이 가장 크고, naphthalene의 독성이 가장 적은 것으로 나타났다(Fig. 1b). 물농도로 환산한 96-h LC50 역시 naphthalene (68 µM), phenanthrene (2.5 µM), fluoranthene (0.78 µM), pyrene (0.32 µM), chrysene (0.007 µM)의 순서로 감소하였다.

PAHs에 노출된 황복 자치어의 생존율 역시 급

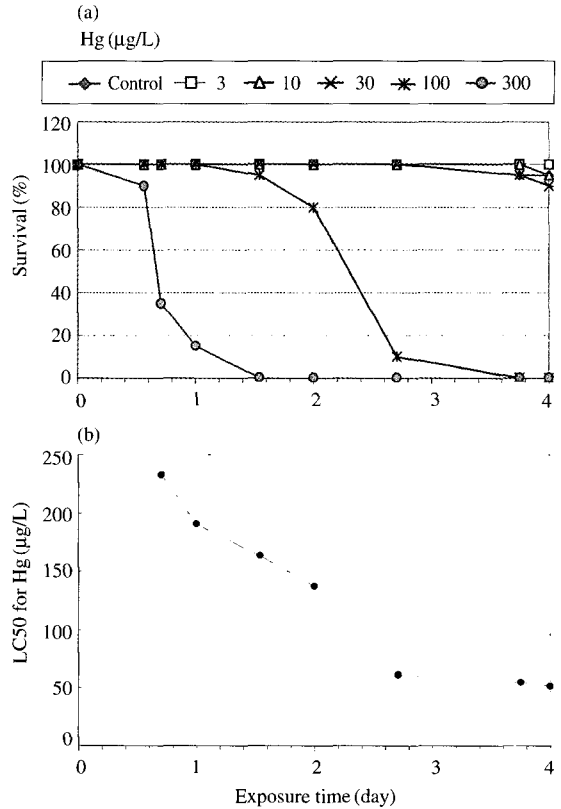


Fig. 2. (a) Survival rates of *Takifugu obscurus* incubated for four days in control and contaminated water media with various concentrations of dissolved Hg. (b) Variation of median lethal concentration (LC50) of Hg for *T. obscurus* as a factor of exposure time.

속원소에 노출되었을 때와 마찬가지로 농도와 노출 시간에 따라 감소하는 전형적인 경향을 보였다. 일례로 naphthalene의 경우 최고 농도인 25 mg/L에 노출된 개체들은 24시간 이내에 대부분 사망한 반면 10 mg/L에 노출된 개체들은 48시간 노출시까지 사망률이 증가하다가 이후에는 일정하게 유지되는 양상을 보였다. 이에 따라 노출 시간에 따른 LC50은 노출 시작 후 48시간까지 감소하다가 이후 일정해지는 특징을 보였다.

동일한 PAHs에 속하는 화학종들 간의 독성 영향의 차이는 각 화학종의 K_{ow} 값이나 물에 대한 용해도(water solubility)와 밀접한 관계가 있는 것으로 나타났다(Fig. 4). 본 연구에서 이용된 PAHs 중에서 chrysene은 가장 K_{ow} 값이 크고 물에 대한 용해도는 가장 작은 화학종으로 PAHs 중에서 가장

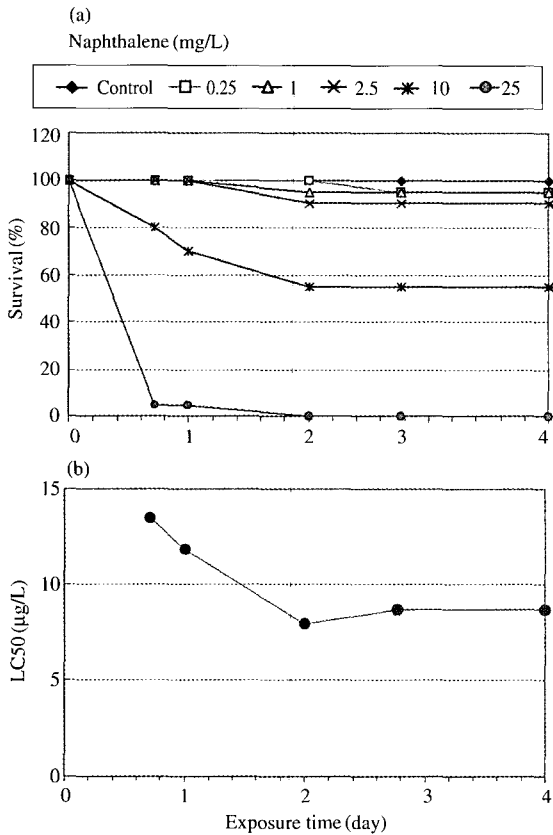


Fig. 3. (a) Survival rates of *Takifugu obscurus* incubated in control and spiked water media with various concentrations of dissolved Naphthalene for four days. (b) Variation of median lethal concentration (LC50) of Naphthalene for *T. obscurus* as a factor of exposure time.

독성이 큰 것으로 나타났다. 반대로 naphthalene은 K_{ow} 값이 작고 물에 대한 용해도는 큰 PAH 종류로서 독성은 상대적으로 약하였다 (Fig. 4). 한편 유기 주석화합물 TBT와 TPhT는 K_{ow} 는 naphthalene과 유사하고, 물에 대한 용해도는 fluoranthene이나 phenanthrene과 유사하지만 LC50은 이들 보다 수십에서 수천 배 이상 낮게 나타났다 (Fig. 4).

고 찰

1. 유해물질 민감도의 종간 비교

회유성 어류인 황복은 담수에서 산란을 하고, 자

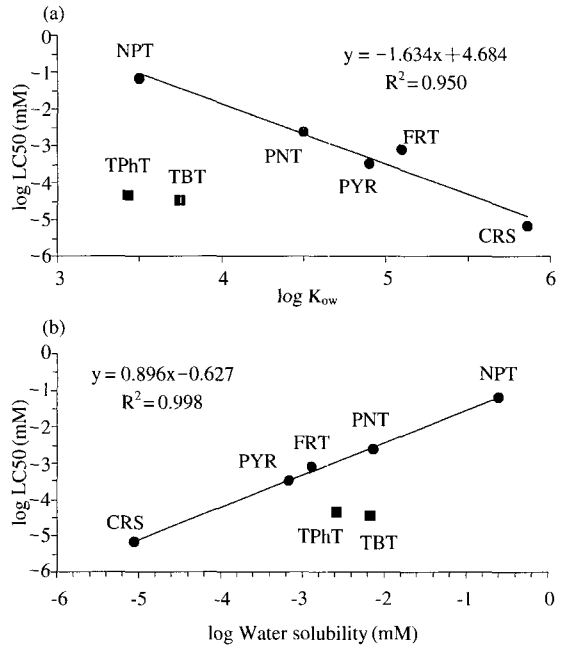


Fig. 4. Log-transformed 96-h LC50 (mM) for *Takifugu obscurus* as a function of (a) log-transformed K_{ow} and (b) log-transformed water solubility (mM) of PAH compounds and organotins. Solid lines in top and bottom panel indicate the regression equations between log-transformed K_{ow} or water solubility and log-transformed LC50 of PAH compounds (see Table I for abbreviation).

어 및 치어기에 기수역을 따라 연안으로 이동하여 생활사의 대부분은 연안 환경에서 보내는 것으로 알려져 있다. 따라서 육상 기원 오염물질의 주된 이동경로인 기수역의 오염은 황복의 개체군 증감에 매우 큰 영향을 미칠 수 있다.

본 논문에서는 황복과 다른 시험 어종의 민감도를 비교하기 위해서 기존 문헌에서 조사된 96 시간 급성독성 시험결과를 인용하여 Table 2에 제시하였다. 단, 기존 조사결과를 인용 시 일차적으로 자치어 (juvenile)를 대상으로 한 독성시험 결과를 인용하였고, 자치어에 대한 시험 결과가 없는 어종들 (대부분의 해산어)에 한하여 성어에 대한 시험 결과를 이용하였다. 어류에 대한 용존 오염물질의 독성은 생물종 (species)에 따라, 그리고 한 종 내에서도 환경 요인의 변화에 따라서 큰 범위에서 변화하는 것이 일반적이다 (Table 2). 타 어종들에서 보

Table 2. Comparison of 96-h LC50 ($\mu\text{g/L}$) of toxicants for various freshwater and saltwater fish species cited from literatures to those for *Takifugu obscurus* in the present study

Test water	Ag	Cd	Cu	Hg	TBT	TPhT	NPT	FRT	PNT	PYR	CRS
Fresh water											
<i>Pimephales promelas</i> ¹	7.8	4.4~3510	13~490	168	2.7	-	6600	212	-	-	-
<i>Oncorhynchus mykiss</i> ²	9.2~402	0.5~2600	890	16~193	1.5~6.9	37	1600	8	375	-	-
Salt water											
<i>Menidia menidia</i> ³	404	6400	191	-	-	-	-	-	108	-	-
<i>Paralichthys olivaceus</i> ⁴	-	28400	16100	280	3.5	-	-	-	-	-	-
<i>Mugil cephalus</i> ⁵	-	2550	2320	100	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sebastes schlegeli</i> ⁵	-	28700	180	10	-	-	-	-	-	-	-
<i>Takifugu obscurus</i> ⁶	164	1180	440	52	5.1	17.3	8690	158	432	65.4	1.5

¹ DeGraeve *et al.*, 1982; Ferguson and Hogstrand, 1998; Geiger *et al.*, 1990; Pickering *et al.*, 1977; Sherman *et al.*, 1987; Snarski and Olson, 1982; Spehar *et al.*, 1999; Suedel *et al.*, 1996

² Alabaster, 1969; Buhl *et al.*, 1991; Calamari *et al.*, 1973; Cusimano *et al.*, 1986; DeGraeve *et al.*, 1982; Hogstrand *et al.*, 1996; Martin *et al.*, 1989; Nebeker *et al.*, 1993; Pascoe *et al.*, 1986; Spehar *et al.*, 1999

³ Cardin, 1985; Roberts *et al.*, 1982; Spehar *et al.*, 1999

⁴ Choi *et al.*, 1994; Tak and Kim, 2001

⁵ Choi *et al.*, 1994

⁶ This study.

고된 기존 연구결과와 비교하여, 황복의 용존 중금속에 대한 민감도는 전반적으로 중간정도로 나타났다(Table 2). 담수산 어류인 *Pimephales promelas*와 *Oncorhynchus mykiss*는 표준 시험어종으로서 북미 등에서 매우 많은 독성 시험에 이용된바 있다. 특히 표준물질로서 많이 이용되는 Cd에 대해서 많은 연구 결과가 존재하는데 Cd에 대한 이들 종에 대한 Cd의 96-h LC50은 연구에 따라 수 ppb에서 수 ppm까지의 범위를 보이고 있다. 이처럼 비교적 넓은 범위의 독성 영향 농도를 보이는 것은 동일한 금속 농도에서도 물리화학적 환경조건(e.g. pH, hardness, salinity, temperature, complexing ligand 등)과 실험조건(e.g. static vs. flow-through) 그리고 생물조건(e.g. life-stage, body size, reproductive state) 등에 따라 독성 영향에 대한 결과가 변이를 보일 수 있기 때문이다. 특히 담수산 어종과 해산 어종에 대한 Cd 등 금속의 독성 영향 농도는 대체로 해산 어종에 있어서 높게 나타날 수 있는데 이는 염분 조건의 차이에 기인한다고 볼 수 있다. 즉, 염분이 증가하면 금속의 자유이온 활성도(free ion activity)가 감소하고 독성이 줄어들기 때문에 총농도로 표현된 독성 영향 농도는 커지게 되는 것이다.

최와 Kinae (1994)는 국내산 해산 어류인 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 송어(*Mugil cephalus*), 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)에 대한 Cd, Cr, Cu, Hg, Zn 등 미량 금속의 급성 독성 영향에 조사하여 보고한 바 있다. 이 연구 결과를 본 연구 결과와 비교하면, 황복은 넙치, 송어, 조피볼락보다 Cd에 민감하게 반응하는 것으로 볼 수 있고, Cu와 Hg에 대한 민감도는 넙치와 송어보다 높지만 조피볼락보다는 낮은 것으로 보인다(Table 2). 하지만 실험에 사용한 어종의 전장 크기가 다른 점 등 실험 조건 차이에 의한 영향이 있을 수 있다. 앞서 *P. promelas*와 *O. mykiss*의 경우에서 알 수 있듯이 보다 정확한 중간 비교는 동일한 환경 및 실험조건에서 수행된 시험 결과를 통해서 가능할 것으로 판단된다.

유기주석화합물인 TBT와 TPhT에 대한 독성 시험 결과는 일반 금속 오염물질과 비교해 상대적으로 중간 변이가 적게 나타났다(Table 2). TBT의 담수산 어종과 해산 어종에 대한 96-h LC50은 모두 수 $\mu\text{g/L}$ 내외에서 나타나는데, 국내산 넙치에서 조사된 TBT 96-h LC50도 3.5 $\mu\text{g/L}$ 였으며(탁과 김, 2001), 본 연구에서 조사된 황복의 TBT 96-h LC50 역시 5.1 $\mu\text{g/L}$ 로 유사한 값을 보였다. TBT와

함께 방오도로 많이 쓰이는 TPhT의 어류에 대한 독성은 TBT에 비해 상대적으로 연구된 바가 적었다. 담수산 어류인 *O. mykiss*에 대한 TPhT의 96-h LC50은 37 ppb로 황복의 17.3 µg/L보다 약 두 배 가량 높았다(Becker, 1992).

PAHs에 속하는 다섯 화합물의 어류에 대한 국내의 독성시험 연구결과는 금속의 독성시험 결과에 비해 보고된 바가 매우 적었다. 특히 pyrene과 chrysene에 대한 시험결과는 거의 찾아보기 어려운데 이는 이 두 물질의 물에 대한 최대 용해도가 각각 2와 135 µg/L에 지나지 않아 독성을 관찰할 수 있는 충분한 용존 농도 범위를 확보하기 어렵기 때문으로 보인다. 본 연구에서는 최대 용해도 이하로 설정된 농도범위 내에서 96h-LC50이 산출되어 결과에 이용할 수 있었다. 황복에 대한 naphthalene과 phenanthrene, fluoranthene의 96h-LC50은 대체로 *P. promelas*와 *O. mykiss*와 비교하여 유사한 값을 보였다. 하지만 국내산 어류에 대해서는 비교할 수 있는 PAH 급성독성 시험 자료가 거의 없었다.

2. 유기화합물 독성과 K_{ow} 의 관계

동일한 PAH에 속하는 5종의 화합물의 황복에 대한 독성은 각 화합물의 구조적인 특징과 밀접한 관련을 갖고 있었다. 본 연구에서 황복에 대한 급성독성영향농도와 각 화합물의 K_{ow} 값을 로그변환(log transformation)하여 비교한 결과(Fig. 4a)는 이러한 관련성을 뚜렷하게 보여주고 있는데, 여기서 K_{ow} 값은 물질의 octanol에 대한 용해도를 물에 대

한 용해도로 나눈 비율로서, 유기화합물의 친지질성에 대한 지수로서 흔히 이용된다. 즉 K_{ow} 값이 큰 화합물일수록 물보다는 octanol 또는 생체내 지질(lipid)에 더 많이 녹으려는 성질이 크므로, 흡수 속도도 빠르고 일단 흡수되면 지질에 저장되어 잘 배출되지 않는 특성을 갖는다. 일반적으로 PAH의 급성독성 기작은 공통적 기전독성인 narcosis에 의한 것으로 설명하고 있다(Escher and Hermens, 2002). 따라서 독성기작이 일정한 PAH 그룹의 여러 화학종들의 급성독성은 그 구조적 또는 화학적인 특성에 의해 일반적으로 설명가능한 narcotic 화합물에 대한 QSAR 모델로 설명되어왔다(Di Toro *et al.*, 2000). 본 연구에서 황복에 대한 5종의 PAH의 급성독성과 각 화합물의 K_{ow} 의 관계는 ' $\log [LC50] = -1.63 \times \log [K_{ow}] + 4.68$ '의 일정한 관계식으로 설명가능하였다. 본 연구의 실험결과와 이용가능한 기존 연구 결과를 모두 인용하여 계산된 PAH 독성의 QSAR 관계식을 Table 3에서 비교하였다. 황복에서 나타난 로그변환된 K_{ow} 와 LC50간의 회귀식의 기울기는 다른 생물들과 비교해 절대 값이 컸지만, Rainbow trout에서의 기울기와는 유사한 값을 보였다(Table 3). Di Toro *et al.*, (2000)에 따르면 narcosis에 의한 독성 영향과 K_{ow} 의 QSAR 관계식은 모두 -0.97 의 동일한 값을 가정하고 있다. 이는 모든 narcotic compounds의 K_{ow} 와 모든 수생생물의 생체내 축적량 관계가 동일하다는 가정 하에서 도출되었다. 하지만 황복과 다른 어종들에 대한 PAHs의 독성과 K_{ow} 의 관계식의 기울기는 일반적인 narcotic compounds에 대해 가정하는 기

Table 3. Comparison of QSAR relationships of acute toxicity of PAH compounds to various aquatic organisms

Species	No. of chemical	No. of data	QSAR equation	Ref.
<i>Takifugu obscurus</i>	5	5	$\log [LC50] = -1.6 \log [K_{ow}] + 4.7$ ($R^2 = 0.950$)	This study
<i>Pimephales promelas</i>	3	4	$\log [LC50] = -1.1 \log [K_{ow}] + 2.4$ ($R^2 = 0.890$)	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	3	3	$\log [LC50] = -1.5 \log [K_{ow}] + 3.5$ ($R^2 = 0.876$)	Di Toro <i>et al.</i> , (2000),
<i>Hyaella azteca</i>	4	4	$\log [LC50] = -1.3 \log [K_{ow}] + 2.8$ ($R^2 = 0.999$)	Lee <i>et al.</i> , (2001b)
<i>Daphnia magna</i>	6	19	$\log [LC50] = -1.2 \log [K_{ow}] + 2.7$ ($R^2 = 0.927$)	and References in Table 2
All species	7	39	$\log [LC50] = -1.3 \log [K_{ow}] + 3.1$ ($R^2 = 0.856$)	

올기(-0.97)보다 절대값이 0.1에서 0.6 이상 큰 것으로 나타나 PAHs에 속하는 화합물에 급성 노출된 생물이 narcosis 뿐만 아니라 PAHs의 특이적 독성(specific toxicity)에 의한 영향을 부가적으로 받는 것으로 해석할 수 있다. 따라서 PAHs의 급성 독성 예측 모델을 제시한 Di Toro et al. (2000)에서 가정된 바와 같이 PAHs의 독성 기작을 오직 narcosis에 의한 것으로 가정하고 있는 QSAR 모델은 좀더 보완될 필요가 있다.

QSAR 모델은 보다 많은 오염물질과 생물종에 대해 확대될 수 있으며 이를 통해 보다 효율적인 독성영향농도 예측이 가능할 것이다. 하지만 PAHs의 QSAR 모델을 작성하기 위한 연구자료는 아직 국내외적으로 매우 부족하며, 추가적인 연구를 통해 보다 정확하고 설명력있는 모델의 작성이 가능할 것으로 보이며, 작성된 모델은 수생환경 내 PAHs의 위해성 평가를 포함한 여러 분야에서 활용할 수 있을 것이다.

TBT와 TPhT는 강력한 biocide로 이용되는 만큼 그 생물학적 독성이 매우 강한 물질의 하나로 알려져 있다. 이들의 K_{ow} 는 3 내외로 naphthalene과 유사하지만 황복에 대한 독성은 수 천 배 이상 큰 것으로 나타났다. 이는 PAH와 TBT나 TPhT의 독성 기작의 차이에서 기인하는 것으로 보인다. PAH의 급성독성의 상당부분이 앞서 설명한 바와 같이 화합물들이 생체내 세포막의 기능을 교란하는 공통적 기전 독성에 주로 기인하는 것에 반하여, TBT나 TPhT는 보다 다양한 생리생화학적 과정을 통해 독성 영향을 미칠 수 있다. 대표적으로 triorganotin은 adenosine triphosphate (ATP) 합성에 관련된 효소 작용을 저해함으로써 세포내 에너지 대사를 방해하면서 음이온의 세포막 수송을 저해하는 등 여러 종류의 독성 기작을 갖고 있는 것으로 알려져 있다 (Hunziker et al., 2002). 이러한 특이적 영향은 일반적으로 공통적 기전 독성보다 훨씬 낮은 농도 수준에서 영향을 미치므로 비록 TBT와 TPhT의 친지방성 정도가 naphthalene과 유사한 수준임에도 불구하고, 황복의 치사를 일으키는 영향 농도는 수 천배 이상 낮게 나타난 것이다. 따라서 유해화학물질의 독성과 물리화학적 특성(K_{ow} 나 water solubility)과의 관계는 유사한 독성 기작을 갖고 있는 물질에 한해서는 유용하게 이용될 수 있지만, 대상 물질의 독성 기작이 상이한 물질에 대해서 일반화

할 수는 없다.

3. 독성평가 시험생물로서의 황복의 이용

본 연구를 통해 황복(*T. obscurus*)은 다음과 같은 급성독성 시험생물로서의 여러 적합성 조건에 부합하는지의 여부를 부분적으로 확인할 수 있었다. 시험생물로서의 적합성 조건에는 생태적·경제적 중요성, 채집·배양을 통한 공급의 용이성, 실험실 유지·관리의 용이성, 오염물질에 대한 반응과 민감도 등이 있으며 이러한 조건들이 만족되는 생물들에 대해서 수 많은 실험을 통해 적절한 시험법이 개발되어야만 표준 시험종으로서 인정받을 수 있다(ASTM, 1997). 본 연구에서는 황복을 이용한 급성독성 시험을 수행하면서, 이 생물종의 시험종으로서의 적합성을 다음과 같이 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 먼저 황복이 기수역과 연안 환경의 주요 오염물질에 대해 전형적인 용량-반응 관계(dose-response relationship)를 보이는지의 여부를 확인하였다. 실험 결과 황복은 오염 물질에 노출 시 오염 물질의 농도와 노출된 시간에 비례하여 증가하는 치사 독성 반응을 보여 이 조건을 만족하였고, 유해 물질에 의한 오염도 평가에 이용 가능성을 보였다. 또한 본 연구에서는 황복의 주요 오염 물질에 대한 민감도가 다른 표준 시험어종과 비교하여 지나치게 높거나 낮은지의 여부를 확인하였다. 비교 결과 황복의 중금속, PAHs, TBT 등에 대한 민감도는 대부분 타 표준 시험어종의 민감도 범위 내에 드는 것으로 나타났다. 황복은 실험실 유지와 충분한 수의 실험 개체의 공급이 가능하지만 아직까지는 실험 개체의 공급에 계절적인 제한이 존재하는 단점이 있다. 기존 결과에 따르면, 전장 5~45 mm의 황복 자치어는 매립지 침출수의 독성 영향 평가에 활용 가능하며 크기에 따른 치사 반응의 편차가 2 배 이하로 나타나, 성장에 따른 민감도 변이도 크지 않은 특성을 보였다(박 등, 2001). 향후 보다 많은 종류의 유해 오염물질과 배출수, 방류수 등 다양한 현장 시료에 대한 독성 영향 평가를 통해서 황복의 독성 시험종으로서의 활용이 가능할 것으로 보이며, 표준화된 시험법 개발을 통해서 연구 결과를 비교할 수 있는 기반을 마련하는 것은 시급히 해결해야 할 과제로 남아있다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부, 한국과학재단지정 인하대학교 서해연안환경연구센터의 지원을 통해 이루어졌습니다.

참 고 문 헌

- 강주찬, 환운기, 지정훈, 김성길, 김재원. 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어의 생존, 성장 및 산소소비에 미치는 수온의 만성적 독성, 한국어병학회지 2002; 15: 37-42.
- 김형수, 김홍윤, 진 평. 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어의 생존과 성장에 미치는 암모니아의 영향, 한국수산학회지 1997; 30: 488-495.
- 박 훈, 한경남, 김형선. 황복 *Takifugu obscurus* 자치어를 이용한 침출수 단기독성 연구, 한국해양학회지 바다 1999; 4: 298-304.
- 이성규, 심점순, 김용화, 노정구. 어류, *Daphnia* 및 조류와 Ames' Test를 이용한 산업폐수의 환경독성 및 유전독성 평가, 한국물환경학회 1991; 7: 100-109.
- 최문술, Kinac N. Micropollutants가 연안 생물에 미치는 독성효과에 관한 연구. I. 어류에 미치는 독성, 한국수산학회지 1994; 27: 529-534.
- 탁건태, 김중근. 넙치 생존과 성장에 미치는 TBT의 독성, 한국수산학회지 2001; 34: 103-108.
- Alabaster JS. Survival of Fish in 164 Herbicides, Insecticides, Fungicides, Wetting Agents and Miscellaneous Substances, Int.Pest Control 1969; 11 (2): 29-35.
- ASTM. Standard guide for conducting bioconcentration tests with fishes and saltwater bivalve mollusks (E 1002-94). American society for Testing and Materials, Philadelphia, USA, 1994.
- ASTM. Standard Guide for Selection of Resident Species as Test Organisms for Aquatic and Sediment Toxicity Tests (E1850-97). American society for Testing and Materials, Philadelphia, USA, 1997.
- Becker E. Ableitung von Qualitätszielen zum Schutz Oberirdischer Binnengewasser für Organozinnverbindungen: Dibutylzinnverbindungen, Tetrabutylzinn, Tributylzinnverbindungen, Triphenylzinnverbindungen. Umweltbundesamt, Entwurf für den BLAK QZ, Stand 1992; 26 (3).
- Bryan GW, Gibbs PE, Hummerstone LG and Burt GR. The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around South West England: Evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints, J. Mar. Biol. Ass. UK 1986; 66: 611-640.
- Buhl KJ and Hamilton SJ. Relative Sensitivity of Early Life Stages of Arctic Grayling, Coho Salmon, and Rainbow Trout to Nine Inorganics, Ecotoxicol.Environ.Saf. 1991; 22: 184-197.
- Calamari D and Marchetti R. The Toxicity of Mixtures of Metals and Surfactants to Rainbow Trout, Water Res. 1973; 7 (10): 1453-1464.
- Cardin JA. Results of Acute Toxicity Tests Conducted with Copper at ERL, Narragansett U.S.EPA, Narragansett, RI. 1985.
- Clark RB. Marine Pollution. Fifth Edition, Oxford University Press, New York, 2001; 230 pp.
- Cusimano RF, Brakke DF and Chapman GA. Effects of pH on the Toxicities of Cadmium, Copper, and Zinc to Steelhead Trout (*Salmo gairdneri*), Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1986; 43 (8): 1497-1503.
- DeGraeve GM, Elder RG, Woods DC and Bergman HL. Effects of Naphthalene and Benzene on Fathead Minnows and Rainbow Trout, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1982; 11 (4): 487-490.
- Di Toro DM, McGrath JA and Hansen DJ. Technical basis for narcotic chemicals and polycyclic aromatic hydrocarbon criteria. I. Water and tissue. Environ. Toxicol. Chem. 2000; 19: 1951-1970.
- Escher BI and Hermens JLM. Modes of action in ecotoxicology: Their role in body burdens, species sensitivity, QSARs, and mixture effects, Environ. Sci. Technol. 2002; 36: 4201-4217.
- Ferguson EA and Hogstrand C. Acute Silver Toxicity to Seawater-Acclimated Rainbow Trout: Influence of Salinity on Toxicity and Silver Speciation, Environ. Toxicol. Chem. 1998; 17 (4): 589-593.
- Geiger DL, Brooke LT and Call DJ. Acute Toxicities of Organic Chemicals to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). Center for Lake Superior Environmental Stud., Univ.of Wisconsin-Superior, Superior, WI 1990; 5, 1:332.
- Hogstrand C, Galvez F and Wood CM. Toxicity, Silver Accumulation and Metallothionein Induction in Freshwater Rainbow Trout During Exposure to Different Silver Salts, Environ. Toxicol. Chem. 1996; 15 (7): 1102-1108.
- Hunziker RW, Escher BI and Schwarzenbach RP. Acute toxicity of triorganotin compounds: Different specific effects on the energy metabolism and role of pH, Environ. Toxicol. Chem. 2002; 21: 1191-1197.
- Irwin RJ, VanMouwerik M, Stevens L, Seese M.D, and Basham W. Environmental Contaminants Encyclopedia. National Park Service, Water Resources Division, Fort

- Collins, Colorado. 1998.
- Kang SG, David A, Wright and Koh CH. Baseline metal concentration in the Asian periwinkle *Littorina brevicula* employed as a biomonitor to assess metal pollution in Korean coastal water, *Sci. Total Environ.* 2000; 263 (1-3, 18): 143-153.
- Koh CH, Kim GB, Maruya KA, Anderson JW, Jones JM and Kang SG. Induction of the P450 reporter gene system bioassay by polycyclic aromatic hydrocarbons in Ulsan Bay (South Korea) sediments, *Environ. Pollut.* 2001; 111 (3): 437-445.
- Koh CH, Kim GB, Maruya KA, Anderson JW, Jones JM and Kang SG. Induction of the P450 reporter gene system bioassay by polycyclic aromatic hydrocarbons in Ulsan Bay (South Korea) sediments, *Environ. Pollut.* 2001; 111 (3): 437-445.
- Lee KT, Tanabe S and Koh CH. Distribution of organochlorine pesticides in sediments from Kyeonggi Bay and nearby areas, Korea. *Environ. Pollut.* 2001a; 114: 207-213.
- Lee JH, Landrum PF, Field LJ and Koh C-H. Application of a spolycyclic aromatic hydrocarbon model and a Logistic regression model to sediment toxicity data based on a Species-specific, water-only $1c_{50}$ toxic unit for *Hyalella azteca*, *Environ. Toxicol. Chem.* 2001b; 20: 2102-2113.
- Lee KW, Kang HS and Lee SH. Trace elements in the Korean coastal environment, *Sci. Total Environ.* 1998; 214: 11-19.
- Martin RC, Dixon DG, Maguire RJ, Hodson PV and Tkacz RJ. Acute Toxicity, Uptake, Depuration and Tissue Distribution of Tri-n-Butyltin in Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* *Aquat. Toxicol.* 1989; 15 (1): 37-52.
- Nebeker AV, McAuliffe CK, Mshar R and Stevens DG. Toxicity of Silver to Steelhead and Rainbow Trout, Fathead Minnows and *Daphnia magna*, *Environ. Toxicol. Chem.* 1993; 2: 95-104.
- Pascoe D, Evans SA and Woodworth J. Heavy Metal Toxicity to Fish and the Influence of Water Hardness, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1986; 15 (5): 481-487.
- Phillips DJH. Quantitative aquatic biological indicators: their use to monitor trace metal and organochlorine pollution, Applied Science Publishers Ltd., London. 1980.
- Pickering QH, Brungs W and Gast M. Effect of Exposure Time and Copper Concentration on Reproduction of the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*), *Water Res.* 1977; 11 (12): 1079-1083.
- Rainbow PS, Phillips DJH and Depledge MH. The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates: a need for laboratory investigation of accumulation strategies, *Mar. Pollut. Bull.* 1990; 21: 321-324.
- Roberts MHJ, Warinner JE, Tsai CF, Wright D and Cronin LE. Comparison of Estuarine Species Sensitivities to Three Toxicants, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1982; 11 (6): 681-692.
- Sherman RE, Gloss SP and Lion LW. A Comparison of Toxicity Tests Conducted in the Laboratory and in Experimental Ponds Using Cadmium and the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*), *Water Res.* 1987; 21 (3): 317-323.
- Shim WJ, Kahng SH, Hong SH, Kim NS, Kim SK and Shim JH. Imosex in the rock shell, *Thais clavigera*, as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea, *Mar. Environ. Res.* 2000; 49 (5): 435-451.
- Snarski VM and Olson GF. Chronic Toxicity and Bioaccumulation of Mercuric Chloride in the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*), *Aquat. Toxicol.* 1982; 2: 143-156.
- Spehar RL, Poucher S, Brooke LT, Hansen DJ, Champlin D and Cox DA. Comparative Toxicity of Fluoranthene to Freshwater and Saltwater Species Under Fluorescent and Ultraviolet Light Arch, *Environ. Contam. Toxicol.* 1999; 37 (4): 496-502.
- Suedel BC, Deaver E and Rodgers Jr JH. Experimental Factors that may Affect Toxicity of Aqueous and Sediment-Bound Copper to Freshwater Organisms, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1996; 30 (1): 40-46.
- US Environmental Protection Agency. Technical support document water quality based toxic control. EPA/505/2-90-001. Washington DC, USA. 1991.