

물벼룩을 이용한 일부 염색폐수의 만성 수질독성 특성 연구

김영희 · 이민정 · 어수미¹ · 유남종² · 이홍근 · 최경호*

서울대학교 보건대학원 환경보건학과, ¹서울시 보건환경연구원, ²(주)일신종합환경

Chronic Toxicities of Effluents from Dye Industry using *Daphnia magna*

Younghee Kim, Minjung Lee, Soomi Eo¹, Namjong Yoo²,
Hongkeun Lee and Kyungho Choi*

Department of Environmental Health, Graduate School of Public Health, Seoul National University

¹Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment

²Ilshin Environmental Engineering Co., Ltd

Abstract – Recent studies indicated the utility of whole effluent assessment as a measure to control discharge of toxic effluents to receiving water in Korea. However, most studies have been focussed on acute lethal effects of toxic wastewater with little consideration of chronic sublethal impacts which are of growing concern in protecting aquatic ecosystem. We conducted acute and chronic toxicity tests with effluents discharged from five different dyeing plants in Gyeong-gi province using a marine bacterium *Vibrio fischeri* and a freshwater macroinvertebrate *Daphnia magna* to demonstrate the importance of assessing chronic sublethal effects. Various levels of acute and chronic toxicities were observed in many samples tested in this study. In 21-d chronic toxicity tests using *D. magna* all samples showed effects on reproduction and growth. Notable mortalities were also noted in three out of five effluents. The result of the Microtox assay indicated that acute microbial toxicity existed in effluents from two out of five plants and acute daphnid toxicity was observed in only one effluent. The result of this study clearly suggests chronic toxicity tests are more suitable to assess biological effects of effluents because it was shown from this study that even an effluent with no acute toxicity could cause chronically lethal and/or sublethal adverse effects on aquatic biota which may affect the population dynamics in aquatic ecosystem.

Key words : chronic toxicity, *Daphnia magna*, Microtox, whole effluent toxicity, dye industries

서 론

방류수에 의해 수계로 유출되는 오염물질은 산업 활

동에 쓰여진 화학물질, 생산 공정, 작업조건이나 방류수 처리시설의 운전 조건 등에 따라서 배출되는 오염물질의 종류와 농도가 매우 다양하게 나타난다. 방류수의 이러한 특성 때문에 최근에는 개별 화학물질의 수치적 농도규제로 오염물질 배출을 관리하는 것이 수서생물을 보호하기 위한 장치로서 충분하지 못하다는 지적 (Bardour

* Corresponding author: Kyungho Choi, Tel. 02-740-8898, Fax. 02-745-9104, E-mail. kyungho@snu.ac.kr

et al. 1996; Yoder and Rankin 1998; Choi et al. 2004; 김 등 2004)과 함께 수질독성시험을 포함한 수질오염물질 통합관리제도로 전환하고 있는 추세이다. 방류수에 포함된 모든 화학물질을 분석한다는 것은 사실상 용이하지 않다. 방류수 내의 모든 오염물질의 농도를 측정한다고 하더라도 오염물질 사이의 상호작용이 복잡하여 개별 오염물질에 의해 야기되는 독성의 단순한 합산으로 총독성영향을 추정하기도 어렵다 (Cleuvers 2002; Borgert et al. 2004). 특히 방류수에 포함되어 있는 수많은 오염물질 중 측정된 일부 오염물질의 농도만으로 실제 방류수시험 결과 관찰된 독성을 충분히 설명하기 어렵다 (OSPAR Commission 2000). 이러한 이유로 미국 환경보호청 (EPA)은 이미 수중생물을 대상으로 한 급·만성독성시험을 오염물질 배출규제수단으로 사용하고 있고 유럽의 여러 나라에서도 현재 시행하고 있는 급성독성시험 외에 만성영향을 포함하는 평가방법의 도입을 추진 중이다. 환경부에서 시행되고 있는 방류수 수질독성시험을 포함한 수질오염물질 관리방안에 관한 연구 (환경부 2002, 2003)도 우리나라에서 시행되고 있는 수질환경보전법에 규제기준이 설정되어 있는 오염물질의 종류가 29종 (수질환경보전법 시행규칙, 환경부령 제00153호)에 불과한 현실에 비추어볼 때 바람직한 일이라고 할 수 있다. 그러나 우리나라에서 시행된 대부분의 연구는 급성노출에 의한 영향을 평가하는데 집중되어 있고 (환경부 2002, 2003; Choi et al. 2004; 김 등 2004) 방류수의 만성노출에 의한 생태계에 미치는 잠재적 영향을 연구한 사례가 매우 드물다. 본 연구에서 사용하고자 하는 염색폐수는 국내 폐수방류량이 가장 많으며 (환경부 2003), 처리된 폐수에는 높은 농도의 BOD와 COD, SS, 중금속, 염료 등의 사용에 의한 VOC물질이 배출되기도 하나 화학적 처리 및 생물학적처리를 거치면서 대부분 제거되었고 방류수의 물벼룩급성독성도 거의 없는 것으로 보고되었다 (낙동강 수질검사소 1999). 본 연구에서 사용된 방류수내의 오염물질의 농도도 대부분 수질배출허용기준의 80% 이내였고 배출업체에 따른 오염물질의 농도변이도 크지 않았다 (김 등 2004). 그러나 대부분의 방류수가 24시간 연속 수계로 배출되는 특성을 고려하면 만성노출에 의한 방류수 독성시험으로 방류수의 환경영향을 파악하는 것이 더 타당하다고 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 만성노출에 의한 방류수 독성시험을 통해 염색폐수의 급성 및 만성독성영향의 발현경향을 알아보고 수질관리를 위한 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구대상

염색폐수의 생물독성시험을 위해 2004년 4월 한달 동안 경기도에 위치한 5곳의 염색폐수배출업소에서 최종 방류수를 채취하였다. 염색폐수배출업소는 염색폐수의 대표성을 확보하기 위해 가능한 한 다양한 제품생산업체와 배출다양성을 고려하여 선정하였다.

2. 연구방법

1) 시료수집

시료는 7일 간격으로 3회 채취하였으며 채취 즉시 저온용기에 보관하여 실험실로 이동하였고 시험기간 동안 시료는 4°C 이하로 냉장 보관하였다.

2) 생물독성시험

만성독성평가는 경제개발협력기구 (Organisation for Economic Co-operation and Development; OECD)의 화학시험가이드 (*Daphnia magna* Reproduction test, OECD 1998)를 기준으로 하였다. 시험농도범위는 예비시험에서 얻어진 결과를 바탕으로 산정하였으며 독성이 발견된 시료는 급성반수영향농도 (EC₅₀)의 5배 희석한 농도를 만성노출시험의 최고농도로 정하였고 희석하지 않은 시료 (방류수 100%)에서도 급성독성이 발견되지 않은 시료는 방류수 100%를 최고농도로 하여 만성노출시험을 수행하였다. 희석에 사용된 합성희석수 (MHW: Moderately Hard Water)는 중류수와 NaHCO₃, CaSO₄ · 2H₂O, MgSO₄ 및 KCl을 이용하여 미국 EPA의 지침 (US EPA 1991)에 따라 제조하였다.

*D. magna*는 서울대학교 보건대학원 환경독성학 실험실에서 배양한 코호트를 이용하였으며 생후 24시간 이내의 *D. magna* 총 60마리를 6개 농도군에 각 10마리씩 나누어 배치하였다. 반복처치군은 10개이며 50 mL의 시험수가 담긴 비이커에 각 1마리씩 나누어 21일간 노출시켰다. 실험수는 1주일에 3회 이상 교체하였고 시험기간 동안 시료는 4°C 이하로 냉장 보관하였고 가능한한 시료 채취 후 7일 이내에 사용하였다. 먹이는 1일 1회 공급함을 원칙으로 하였고 클로렐라와 YCT (Yeast: Cerophyl®: Tetramin® = 1:1:1)를 각각 시험시작 직후엔 30 µL개체⁻¹, 40 µL개체⁻¹로 공급하고 점진적으로 증가시켜 시험시작 후 5일 이후에는 120 µL개체⁻¹, 160 µL개체⁻¹의 양을 공급하였다. 최종관찰점은 치사율, 번식률, 성장저하이었으며, 이들은 각각 운동성소실, 평균산자수 (number of off-

springs per female), 시험 종료 후 체장으로 측정하였다.

급성독성시험은 해양미생물 (*Vibrio fischeri*)를 이용한 Microtox® 시험과 미국 EPA의 표준시험법에 의한 48시간 물벼룩 (*D. magna*) 급성독성시험을 실시하였다 (US EPA 1991).

시험의 유효성 (validity)을 확보하기 위해 시험기간동안 시험수의 DO, pH, 온도, 전기전도도의 노출기간 중 농도변화를 시험수 교체시마다 측정하여 독성물질 외의 영향요인을 확인하였고 대조군의 치사율이 20% 이상이거나 어미당 평균산자수가 60보다 작은 경우에는 재시험을 실시하는 것을 원칙으로 하였다 (US EPA 1991; OECD 1998). 시료의 유해오염물질에 대한 시험동물의 상대적인 민감도가 일정하게 유지되는지를 확인하기 위해 NaCl을 이용하여 표준지표독성시험 (Standard Reference Toxicity Test)을 수행하였다. 지표독성시험은 *D. magna* 급성독성시험과 동일한 방법으로 수행되었으며, 이 결과가 이전에 측정된 결과로부터 크게 벗어나지 않음 (>2S.D)을 확인하였다 (US EPA 1991).

3) 통계적 분석

독성평가를 위한 통계방법은 ToxStat (West Inc. Cheyenne, WY, USA)를 이용하였다. 치사에 대한 NOEC (No Observed Effect Concentration), LOEC (Low Observed Effect Concentration)를 구하기 위해 Fisher's Exact test를 사용하였다. 번식능력과 성장저하에 대한 NOEC, LOEC는 결과가 정규분포하는 경우 반복처치군의 수에 따라 Bonferroni 보정 t-Test나 Dunnett's Test를 이용하여 구하였다.

번식능력의 NOEC와 LOEC 산정 시에는 관찰된 자료 중 시험 종료 시점에 수컷으로 확인된 개체는 분석에서

제외하였다. EC₅₀, IC₂₅ (Inhibition concentration 25%)를 산출하기 위해서는 Probit test, Spearman-Kärber test 또는 Trimmed Spearman-Kärber test를 사용하였고 모든 통계 값에서 유의수준은 0.05로 하였다. 모수적, 비모수적 분석방법을 사용할 수 없는 경우에는 도식적인 방법 (Graphical method)을 이용하여 EC₅₀, IC₂₅를 산출하였다.

결과 및 고찰

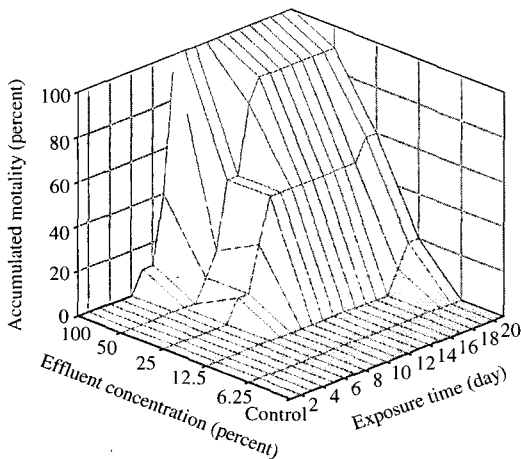
1. 생존에 미치는 영향

21일 노출 결과 5개 방류수 모두에서 치사가 관찰되었으나 통계적으로 유의한 (p>0.05) 반수치사농도를 얻을 수 있는 것은 시료 B, C, D였다. 이 중 B와 D시료는 48시간 급성노출시험에서 독성이 대부분 관찰되지 않았으나 만성노출시험에서는 시료 B의 EC₅₀는 21.8% (95%

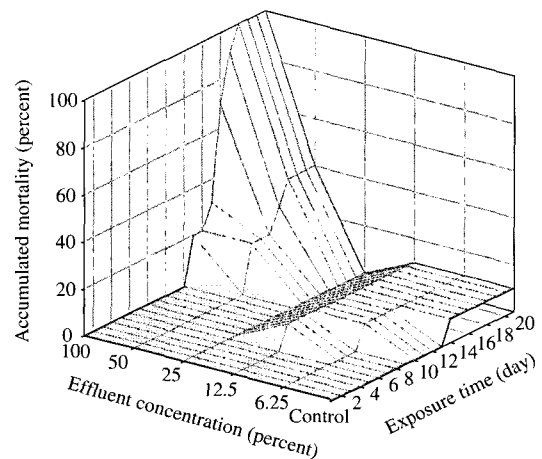
Table 1. Median Effective concentration (EC₅₀) of acute and chronic *Daphnia magna* toxicity test on survival observed from effluent samples from dye industry (Unit %)

	Effluent samples from plant				
	A	B	C	D	E
Microtox test EC ₅₀	>82	47.5 ^a	>82	>82	54.2 ^b
Acute Daphnid EC ₅₀	>100	75.7 ^c	25.3 ^b	>100	>100
Chronic Daphnid EC ₅₀	>100 (16.3~29.2)	21.8	4.4 (30.3~101.1)	55.4	>100

^a Average EC₅₀ in two out of three effluent samples from the given plants.
^b Average EC₅₀ of three effluent samples from the given plants.
^c EC₅₀ observed in one out of three effluent samples from the given plants. The value in parentheses are 95% confidence intervals.8.5



(a) Sample B



(b) Sample D

Fig. 1. Time dependant mortality in 21day *Daphnia magna* toxicity test.

신뢰구간 : 16.3~29.2), 시료 D는 55.4% (95% 신뢰구간 30.3~101.1)로 관찰되었다(Table 1).

시료 C는 급성영향농도의 약 1/5 수준인 방류수농도 약 4.4%에서 만성EC₅₀를 구할 수 있었다.

만성노출기간 동안 시간의 경과에 따라 관찰된 치사율의 변이는 Fig. 1과 같다. 방류수시료의 농도가 높을수록 독성발현의 시기가 빨랐고 저 농도에서도 시간이 경과함에 따라 치사율이 증가하였으며 대부분 급성노출(48시간 또는 96시간)기간 이후에 독성이 나타나기 시작했다. B시료의 경우 14일 노출결과와 21일 노출결과가 유사한 경향을 보였으나 D시료에서는 16일 이후에 독성이 급격하게 증가하는 것으로 나타났다. 14일 노출시험으로 21일 노출시험을 대체할 수 있음을 보여준 기존의 연구(Gersich 1990)와는 일치하지 않는 결과이다.

2. 번식에 미치는 영향

5개 시료 모두에서 독성이 관찰되었으며 특히 모든 독성시험에서 독성을 보이지 않았던 시료 A에서도 비교적 낮은 농도에서 IC₂₅가 산출되었다. 번식률에 대한 IC값 산출 시에는 시험 종료 후 수컷으로 분류된 개체는 대상에서 제외시켰으며, 치사율에 미치는 영향분석에서 통계적으로 유의하게 독성이 나타난 농도군도 평가

에 포함하지 않았다. 어미당 평균 산자수는 저농도의 방류수에서는 오히려 대조군에 비해 증가하는 경향을 보이다가 일정농도를 넘어서면서 급격하게 감소하였다.

21일 만성노출결과 IC₂₅를 보인 것은 시료 A, C와 E였고 각각의 농도는 39.8% (95% 신뢰구간: 20.8~51.8), 2.1% (95% 신뢰구간: 1.2~3.4), 26.9% (95% 신뢰구간: 22.4~30.6)였다. 시료 B와 D는 각각의 최고농도인 방류수의 12.5% 이하와 50% 이하에서 IC₂₅를 구할 수 없었고 오히려 대조군에 비해 산자수가 증가하는 경향을 보였다.

3. 성장에 미치는 영향

성장에 미치는 영향은 치사율이나 번식률에 미치는 영향보다는 독성이 약하게 관찰되었다. 시료 A를 제외한 모든 시료에서 성장IC₂₅를 산출할 수 없었다. 번식영향에서와 마찬가지로 대부분의 시료가 저농도 군에서는 대조군에 비해 양호한 성장을 보였지만 일정농도를 넘어서면 급격하게 성장에 영향을 받는 것으로 나타났다.

4. 염색폐수의 독성특성

급·만성 독성시험결과에 따르면 염색폐수의 독성은 동종의 방류수 사이에서도 매우 상이하게 나타났고 동일한 시료의 경우도 시험대상생물에 따라 서로 다른 결과를 보였다. 또한 같은 시료에서도 시료채취시기에 따라 동일 시험대상 생물에 대한 독성이 다르게 나타나는 등 매우 다양하였다. Table 3은 동일한 시료를 대상으로 실시한 생물독성시험의 결과를 요약하여 시험방법별로 비교한 것으로 미생물시험과 물벼룩시험에서 모두 급성 독성이 발현되지 않은 시료 A와 시료 D에서 만성독성이 관찰되었고 급성독성 시험방법 사이에서도 미생물을 대상으로 한 Microtox시험에서는 독성을 보이지 않았던 시료 C가 물벼룩급성독성시험에서는 독성을 보여 독성

Table 2. NOECs and LOECs in 21 day *Daphnia magna* toxicity test on effluent samples from dye industry (Unit %)

Endpoint	Effluent samples from plants					
	A	B	C	D	E	
Mortality	NOEC	>100	12.5	>5	50	>100
	LOEC	>100	25	>5	100	>100
Reproduction	NOEC	50	>12.5	2.5	>50	25
	LOEC	100	>12.5	5	>50	50
Growth	NOEC	25	>12.5	>5	>50	25
	LOEC	50	>12.5	>5	>50	50

Table 3. Summary results of each toxicity tests employed for effluent samples from dye industry

Endpoint	Sample A			Sample B			Sample C			Sample D			Sample E			
	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd	
Microtox test	Luminiscence	×	×	×	×	○	○	×	×	×	×	×	×	○	○	○
<i>D. magna</i> acute test	Mortality	×	×	×	×	○	×	○	○	○	×	×	×	×	×	×
<i>D. magna</i> chronic test	Mortality		×			○			○			○			×	
	Reproduction		○			○			○			○			○	
	Growth		○			○			○			○			○	

○ : toxic, × : non-toxic
 Toxicity is defined that toxicity was calculated or observed as one of following parameters in the tests:
 Microtox test: 5 mins or 15 mins
D. magna acute test: LOEC, EC₅₀
D. magna chronic test: LOEC, EC₅₀, IC₂₅.

발현의 차이를 나타내었다.

염색폐수의 독성영향에 대한 특성을 알아보기 위한 ACR (Acute to Chronic toxicity Ratio) 계산에서는 급성독성의 대푯값으로 EC_{50} 를, 만성독성의 대푯값으로는 MATC (Maximum Acceptable Toxicant Concentration)를 사용하였다.

물벼룩노출시험결과 급성독성시험과 만성독성시험에서 모두 독성이 발현된 것은 시료 B와 C뿐이므로 전형적인 ACR을 구하기는 어려웠고 다만 각 시료의 ACR만을 산정하였다. 급성독성의 EC_{50} 는 각 시험의 평균값을 적용하는 것을 원칙으로 하였으나 시료 B는 단 1회만 독성이 관찰되었기 때문에 이 값을 대푯값으로 하였다. 만성독성의 MATC값은 가장 민감하게 산정된 NOEC와 LOEC값의 기하평균을 사용하였다. 화학물질에 대한 독성대상생물들의 전형적인 ACR값은 10, 유기물질에 대해서는 12로 제시하고 있지만 (Kenega 1982) 시료 B와 C에 대해 산출된 ACR값은 각각 4, 7로 나타나 일반적으로 적용되는 수준보다 낮았다.

적 요

본 연구를 통한 결론은 다음과 같다.

5개의 염색폐수배출업소에서 각각 3회씩 채취한 최종 방류수를 대상으로 한 생물독성시험 결과 미생물독성시험에서는 B시료와 E시료에서 독성이 관찰되었고 급성물벼룩시험에서는 반수치사농도가 C시료에서만 관찰되어 염색폐수의 독성이 시험 생물종별로 다르게 나타날 수 있음을 제시하였다.

동일 생물종을 대상으로 실시한 급성 및 만성시험에서는 급성반수치사가 5개 방류수 중 C시료에서만 비교적 낮은 농도에서 관찰이 된 것에 비해 만성반수치사는 3개 방류수에서 나타났고 EC_{50} 도 급성영향의 1/2~1/5 수준에서 결정되었다. 특히 만성노출에 의한 생식 및 성장에 미치는 영향은 치사에 미치는 영향농도보다 더 낮은 농도에서 나타나는 경향을 보이고 있다. 따라서 방류수가 연속적으로 수계에 배출되는 특성을 고려하면 만성노출에 의한 영향을 평가하는 것이 중요한 의미를 갖는다.

한편 염색폐수의 경우 동일업종 또는 동일한 시료에서도 독성평가방법에 따라 서로 다른 정도의 독성이 관찰되는 등 독성발현이 매우 다양하게 나타났다. 그러므로 염색폐수가 수중생태계에 미치는 영향을 정확하게 파악하고 제어하기 위해서는 물고기나 조류 등 다른 영양단계에 있는 생물종에 미치는 영향 등의 연구가 요구된다.

참 고 문 헌

- 김영희, 이민정, 어수미, 최경호, 이흥근. 2004. 염색폐수의 수질독성시험을 이용한 한국의 수질배출허용기준 평가연구. 한국환경보건학회지. 30:185-190.
- 낙동강수질검사소. 1999. 염색폐수중의 난분해성물질 배출 특성 및 처리에 관한 연구(I). 국립환경연구원보. 21:435-448.
- 수질환경보전법 시행규칙, [http://www.moleg.go.kr/\(logged on April, 2004\)](http://www.moleg.go.kr/(logged on April, 2004)).
- 최경호. 1998. 도금공장의 폐수배출관리를 위한 생물학적 독성시험의 적용성 평가. 서울대학교 보건대학원 박사학위논문.
- 환경부. 2003. 공장폐수의 발생과 처리. 1-7.
- 환경부. 2002. 수질유해물질의 통합독성관리제도 도입방안 연구. 한국화학연구원부설 안전성평가 연구소. 1-25.
- 환경부. 2003. 수질유해물질의 통합독성관리제도 도입방안 연구(II). 한국화학연구원부설 안전성평가연구소. 43-65.
- Bardour M, J Gerrisen, G Griffity, R Frydenborg, E McCarron, J White and M Bastian. 1996. A Frame work for biological criteria for Florida streams using benthic macroinvertebrates. J. N. Am. Benthol. Soc. 15:185-211.
- Borgert JC, TF Quill, LS Mccarty and AM Mason. 2004. Can mode of action predict mixture toxicity for risk assessment? Toxicol. Appl. Pharmacol. 201:85-96.
- Choi K and P Meier. 2000. Implications of chemical-based effluent regulations in Assessing DNA damage in fathead minnows (*Pimephales promelas*) when exposed to metal plating wastewater. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 64: 716-722.
- Choi K, P Meier and M Zong. 2004. Relationship of chemical-based effluent regulations of Korea to aquatic toxicities to microbes, macroinvertebrates, and fish. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 72:1067-1074.
- Cleuvers M. 2002. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. Toxicol. Lett. 142:185-194.
- Dutka B and K Kwan. 1981. Comparison of three microbial toxicity screening tests with the Microtox test. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 27:753-757.
- Gersich FM and DP Milazzo. 1990. Evaluation of a 14-day static renewal toxicity test with *Daphnia magna* straus. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 19:72-76.
- Kenaga E. 1982. Predictability of chronic toxicity from acute toxicity chemicals in fish and aquatic invertebrates. Environ. Toxicol. Chem. 1:347-358.
- Organisation for Economic Co-operation and Development. 1998. OECD Guidelines for Testing of Chemicals (*Daphnia magna* Reproduction Test).

US EPA. Whole Effluent Toxicity. [http://cfpub1.epa.gov/npdes/wqbasepermitting/wet.cfm? program_id=2](http://cfpub1.epa.gov/npdes/wqbasepermitting/wet.cfm?program_id=2) (logged on April, 2004).

US Environmental Protection Agency. 1991. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving waters to Freshwater and Marine Organisms. 4th ed. edited by C. I. Weber. EPA-600/4-90/027.

Yoder C and E Rankin. 1998. The role of biological indicators

in a state water quality management process. Environ. Monit. Assess. 51:61-88.

Manuscript Received: January 31, 2005

Revision Accepted: April 11, 2005

Responsible Editorial Member: In Young Jung
(NIER)