

하수의 독성평가를 위한 표준독성시험법과 온도증가 단기독성평가법의 비교 평가

이상일 · 전병희^{†*} · 원성연^{**} · 김이정 · 김금용

충북대학교 공과대학 환경공학과 · *충북대학교 건설기술연구소 · **감사원

(2004년 11월 10일 접수, 2005년 2월 6일 채택)

Evaluation and Comparison with Standard 48 hr Acute Bioassay and High Temperature Rapid Toxicity Test for Sewage Toxicity Test

Sang-Ill Lee · Byong-Hee Jun^{†*} · Seung-Yeon Weon^{**} · Yi-Jung Kim · Keum-Yong Kim

Department of Environmental Engineering, Chungbuk National University

*Institute of Construction Technology, Chungbuk National University · **Board of Audit and Inspection

ABSTRACT : A new method, ToxTemp (TOXicity test based on TEMPerature control) using *Ceriodaphnia dubia* was applied to evaluate the toxicity of insecticide materials and compared with the standard 48 hr acute bioassay. BPMC, diazinon and fenitrothion may cause the inhibition to the biological process in sewage treatment plant and need to detect toxicity within short contact time. The ToxTemp method showed sensitive detection with more shorter contact of 1-1.5 hr time than that of the standard 48 hr acute bioassay. To evaluate toxicity of real wastewater/sewage, the inhibition rate of nitrification and oxygen uptake rate (OUR) using activated sludge, the standard 48hr acute bioassay and ToxTemp method using *C. dubia* were compared, respectively. On the basis of the inhibition rate of nitrification, the OUR test showed the less sensitive results at the relatively strong toxic sewage. On the other hands, the standard 48hr acute bioassay and ToxTemp method using *C. dubia* represented the toxicity of each wastewater/sewage with high sensitivity. Even the slightly low (about 1.5%) sensitivity, the ToxTemp method showed the high applicability to the real site of sewage treatment plant.

Key Words : *Ceriodaphnia Dubia*, Standard 48 hr Acute Bioassay, ToxTemp Method, Insecticide Toxicity, Sewage Toxicity

요약 : *Ceriodaphnia dubia*를 이용한 새로운 독성시험법인 온도증가 단기독성평가법(ToxTemp, TOXicity test based on TEMPerature control)을 이용하여 농약성분에 대한 민감도를 조사하였다. BPMC, Diazinon, Fenitrothion 등 하수의 생물학적 처리에 독성을 나타낼 수 있는 물질들에 대하여 기존의 실험방법인 표준 48시간 독성시험법과 비교했을 때 온도증가법은 1~1.5시간의 짧은 접촉시간에도 농약의 독성을 잘 감지할 수 있음을 알 수 있었다. 또한 중금속, 독성 유기화합물 그리고 농약성분을 비교, 평가했을 때 온도증가법은 1.25시간의 짧은 접촉시간 내에 48시간독성법의 결과와 높은 상관관계를 유지하며 독성을 감지하였다. 염색공단 폐수와 하수등 실험수에서의 독성평가능을 검토하기 위하여 활성슬러지를 이용한 질산화를, 산소이용율 (OUR)과 *C. dubia*를 이용한 표준 48시간 독성시험법, 온도증가법을 비교하였다. 그 결과 OUR을 이용한 평가에서는 비교적 높은 질산화를 저해도를 보인 원수에 대해서도 독성민감도가 낮아 현장적용에 한계를 나타낸 반면 *C. dubia*를 이용한 표준 48시간 독성시험법과 온도증가법은 각기 다른 수준의 독성에 대해 민감하게 차이를 보였으며, 이 두 방법은 질산화를 저해도와 좋은 상관관계를 보였다. 온도증가법은 표준 48시간 독성시험법에 비해 1.5% 정도 민감도가 떨어지지만 현장에서의 신속한 감지가 가능하다는 점에서 현장에서의 질산화 독성진단에 대한 적용가능성이 높음을 보여주었다.

주제어 : *Ceriodaphnia dubia*, 표준 48시간 독성시험법, 온도증가 단기독성평가법, 농약 독성, 하수 독성

1. 서 론

염색, 섬유, 피혁 및 화학 산업 폐수 등 고농도 유기물을 함유한 산업폐수의 주요 처리법으로 생물학적 공정이 주로 사용되고 있다. 그러나 이들 산업폐수 중에 독성물질이나 난분해성 유기물 등이 포함된 경우 생물학적 처리 공정에서 많은 문제를 야기할 수 있으므로 적절한 대책이 필요하다. 독성물질이 인체 및 생태계에 미치는 영향에 관한 연

구는 독성학뿐만 아니라 환경분야에서도 중요한 연구대상이 되나 독성물질의 독성도는 각 물질의 이온화 등에 따라 많은 차이가 있어 화학적 분석으로는 어려움이 많다. 따라서 비교적 손쉬운 독성도 측정방법으로서 생물을 이용한 bioassay법이 개발, 이용되고 있다. 그러나 독성물질이 인체에 미치는 영향을 측정하기 위해서는 인간과 생체구조가 비슷한 고등동물을 이용하여야 하나, 이는 시간과 경비가 많이 드는 등의 문제가 있다. 따라서 생활사(life cycle)가 짧고 배양과 관리가 용이한 미생물, 무척추 및 척추동물을 이용하여 독성물질의 독성도 여부를 측정하는 독성물질 screening법이 개발되었다.¹⁾ bioassay법은 어류,²⁾ 무척추 동

† Corresponding author

E-mail: bhjun@chungbuk.ac.kr

Tel: 043-261-3464

Fax: 043-272-2469

물, 미세조류³⁾ 및 원생동물 등의 생물을 이용하는 경우와 bacteria 등 미생물의 대사 또는 효소를 이용하는 방법⁴⁾ 등이 있다. 어류와 무척추 동물을 이용하는 경우는 치사율이나 움직임의 저해로 판정하고, 미세조류를 이용할 때는 성장저해로 측정한다.

독성물질을 검출하기 위해서 여러 박테리아를 이용한 분석법이 이용되기도 한다. Microtox라는 독성분석법은 해양 발광박테리아인 *Photobacterium phosphoreum*을 이용하여 독성물질이 발광기작을 저해하는 것을 기초로 한 것이며,⁵⁾ 폐수처리 유출수, 복합 산업폐수, 토양 추출물, 위생매립 및 유해 폐기물 침출수의 독성도를 측정하는데 널리 사용되어 왔다.⁶⁾ 독성물질은 박테리아 성장에 저해를 주게 되는데 이를 기초로 하여 독성도를 측정할 수도 있다.⁷⁾ 이 분석법은 박테리아의 성장을 흡광도로 측정하거나 또는 성장과 관계되는 ATP를 측정해서 박테리아의 성장상태를 측정하는 것이다.

질소순환에 있어서, 질산화반응은 독성물질에 가장 민감하게 반응하며, *Nitrosomonas*와 *Nitrobacter*의 저해에 근거한 독성조사법이 폐수의 독성을 측정하기 위해서 이용되어 왔다.⁸⁾ 질화 반응에 관여하는 미생물중 *Nitrosomonas*가 *Nitrobacter*보다 독성에 더 민감하다고 알려져 있다. 탄소순환에서 독성물질의 영향은 미생물의 호흡율의 방해를 측정함으로써 간편하게 검사된다. 미생물의 호흡율은 oxygen electrodes 또는 electrolytic respirometer를 이용하여 측정될 수 있다.⁹⁾

그러나 독성도를 측정할 때 장시간이 소요되거나 비용적 부담이 큰 경우 현장적용에 한계가 있으며, 이에 대한 대책으로서 물벼룩을 이용한 독성조사법이 제시되었다. 물벼룩을 이용한 급성독성 측정법은 24~48시간 독성에 노출시켜 생사를 구별하여 독성도를 측정할 수 있으나, 수환경변화에 대한 신속한 진단을 위해서는 좀더 짧은 시간내 독성을 감지할 필요가 있어, β -galactosidase in vivo inhibition에 근거를 둔 방법,¹⁰⁾ 섭생에 근거한 CerioFAST,^{11,12)} CAUST법¹³⁾ 등이 발표되었다. 그러나 CerioFAST와 CAUST법은 단가가 비싸며 숙련된 전문가의 도움을 필요로 한다는 단점을 가지고 있다.

최근에 물벼룩의 배양온도를 증가시킬 경우, 간단한 실험 장비와 전처리로서 단시간에 독성도를 측정할 수 있다는 연구결과가 보고되었다.¹⁴⁾ 본 연구에서는 중금속, 독성 유기화합물 그리고 농약성분에 대한 표준 48시간 독성시험과 온도증가 단기독성평가법을 비교, 평가하고 실제 염색공단 하·폐수를 이용하여 표준 48시간 독성시험법과 온도증가 단기독성평가법의 독성감지 특성을 비교, 검토하여 현장 적용가능성을 조사하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 대상생물과 배양조건

*Ceriodaphnia dubia*는 물벼룩이라고 불리는 담수무척추동

물 (freshwater invertebrate)이며, 형태학상 다른 *daphnia*와 비슷하나, 크기가 더 작고 세대가 짧다. 연못이나 호수에 사는 종이며 여러 연구자에 의하면, 핵발전소 근처처럼 일반적인 온도보다 더 따뜻한 물이나, 빈영양호에서 많이 발견되는 것으로 보고되고 있다.¹⁰⁾

배양액은 중수(moderately hard reconstituted water)로 조성되었으며 (Table 1), NaHCO₃, MgSO₄, 그리고 KCl은 100 배 농축하여 만들어 놓은 모액을 사용하였고 보존기간은 6 개월로 하였다. 배지는 24시간 이상 폭기된 배지로 주 2회 교환하였다. 배양 온도는 25±1°C로 유지하였고 충분한 공기의 주입을 위해 산기장치로 폭기시켰으며, 이때 0.45 μ membrane filter로 통과시켜 먼지의 유입을 막았고 이때 배지의 pH는 8.3±0.05이었다. 수표면은 산소가 녹아들어가 용이하게 산기관을 이용하여 약하게 폭기(공기방울수 1~2/sec)시켜주었다. 조명은 형광등으로 하여 낮을 16시간 밤은 8시간으로 낮과 밤의 주기를 고정하였다. *C. dubia*의 먹이는 미세조류(*Senedesmis sp.*)로 하였다. 미세조류는 665 nm에서 흡광도 1인 것을 기준으로 0.5 mL/L를 각각 매일 주입하였다.

2.2. 독성농약시료의 특성

농약류는 BPMC, Diazinon 및 Fenitrothion을 사용하였다. BPMC는 카바메이트계로써 벼의 흰등멸구·벼멸구·애멸구 등의 멸구과, 끝동매미충, 벼잎벌레 등의 방제제로 사용된다. Diazinon은 질소를 함유한 유기인계 살충제로 벼의 이화명나방·흰등멸구 및 끝동매미충, 배추의 토양처리에 의한 벼룩잎벌레 및 배추흰나비의 방제약제로 등록되어 있다. Fenitrothion은 유기인계 살충제로 접촉살충제로 특히 이화명나방에 대하여 방제효과가 높은 농약이다. 각각의 성분은 Table 2와 같다.

Table 1. Composition of stock solution for M4 media

A. Trace elements (2000-fold)	(mg/L)	B. Macro nutrients	(mg/L)
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	5,000	CaSO ₄ ·2H ₂ O	60
FeSO ₄ ·7H ₂ O	1991	MgSO ₄ ·7H ₂ O	60
H ₃ BO ₃	5,719	KCl	4
MnCl ₂ ·4H ₂ O	721	NaHCO ₃	96
LiCl	612		
RbCl	142	C. (1000-fold)	
SrCl ₂ ·6H ₂ O	304	Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	1000
NaBr	32	NaNO ₃	27.4
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	126	KH ₂ PO ₄	14.3
CuCl ₂ ·2H ₂ O	33	K ₂ HPO ₄	18.4
ZnCl ₂	26		
CoCl ₂ ·6H ₂ O	20	D. Vitamin (1000-fold)	
KI	6.5	Thiamine(HCl)	75
Na ₂ SeO ₃	4.38	Cyanocobalamine	1
NH ₄ VO ₃	1.15	Biotin	0.75

Table 2. Main composition of insecticides

Agricultural Chemical	Main composition	The rest composition
BPMC	2-Sec-butyl phenyl-methyl carbamate (50%)	Solvent etc. (50%)
Diazinon	O,O-diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl)phosphorothioate (34%)	Solvent etc. (66%)
Fenitrothion	O,O-dimethyl-O-(3-methyl-4-nitrophenyl) phosphorothioate (50%)	Solvent etc. (50%)

2.3. 실패수의 특성

경기도 J 하수처리장의 유입수를 이용하였다. 이 처리장에는 일반 하수와 염색공단폐수가 혼합되어 유입되고 있는데, 이 염색공단폐수에 있을 것으로 예상되는 독성물질인 중금속 및 유기 독성물질이 처리장 효율에 영향을 주고 있을 것으로 예상된다. 독성물질이 생물학적 하·폐수처리장에 유입되면 박테리아를 비롯한 미생물의 활성도를 저해하여 유기물 및 영양염류 처리효율과 침전효율이 저하되며 농축특성을 악화시키기도 한다. J 하수처리장의 경우 미생물의 상태는 양호하나 질산화가 저해되기 쉬운 문제점이 있으므로 중금속, 유기 독성물질의 영향에 대해 검토할 필요가 있었다. 본 연구에서는 독성조사법을 이용하여 처리장에 유입되는 하·폐수의 독성도를 측정함으로써 독성물질의 효과적인 관리와 하수처리장의 정상화를 이루는데 필요한 자료를 제공하고 이를 바탕으로 처리장의 원활한 유지 관리 및 효율 증대를 위한 대책을 강구하는데 이바지하고자 하였다.

2.4. 독성도 측정

2.4.1. 산소소모율 (Oxygen Uptake Rate, OUR)

농축질화균의 배양액으로부터 질화균을 채취하여 3회 이상 수세를 한 후 질화균의 농도를 일정하게 유지시킨 후 측정하고자하는 독성물질의 희석배수를 다르게 하여 독성 실험을 수행하였다. 기질 및 산소를 충분히 공급한 상태에서 300mL BOD병에 넣고 DO meter로 시간에 따른 용존 산소의 농도를 측정하여 산소소모율(Specific Oxygen Uptake Rate, SOUR)을 계산한다. 하수의 독성도 변화를 위해 원수를 희석하여 독성도가 0~90% 되는 희석 배수를 구하고 희석배수에 따른 독성도의 관계를 해석하여 IC₅₀(Inhibition concentration for 50% inhibition)을 구한다. 원수의 주입 농도에 따른 활성도의 변화관계는 sigmoid 형태이므로 IC₅₀을 구하기 위해서 각 주입농도에서 구한 inhibition 결과를 다음 식으로 변환하여 직선형태로 변환 후 최소자승법으로 최적 직선을 도출하여 IC₅₀을 구한다.

$$\gamma = \frac{\text{Inhibition}(\%)}{100 - \text{Inhibition}(\%)}$$

여기서 $\gamma = 1$ 인 경우가 50% inhibition을 주는 경우이고, 이 때의 독성물질 농도가 IC₅₀이다.

2.4.2. 질산화율

농축질화균의 배양액으로부터 질화균을 채취하여 3회 이상 수세를 한 후 질화균의 농도를 일정하게 유지시킨 후 측정하고자하는 원수의 희석배수를 다르게 하여 독성실험을 수행하였다. 기질 및 산소를 충분히 공급한 상태에서 암모니아 및 질산염의 변화율을 관찰하였다. 실험은 25℃에서 이루어 졌으며, 일정한 온도에 도달했을 때 기질(NH₄Cl)을 주입하고 일정시간 간격으로 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 Membrane filter로 채취 즉시 여과한 후 NH₄⁺-N, NO₂⁻-N 및 NO₃⁻-N를 측정하였다. 하수의 독성도 변화를 위해 원수를 희석하여 원수대비 0-90%되는 희석 배수를 구하고 희석배수에 따른 독성도의 관계를 해석하여 IC₅₀을 구한다. 계산은 OUR 실험결과와 같은 방법으로 하였다.

2.4.3. 표준 48시간 독성법

표준 48시간 급성독성실험은 한 개의 control(독성물질 함유하지 않은 기준)과 여러 개의 sample 독성농도로 구성된다. 원수의 농도를 희석배수에 따라 농도를 조절한 후 실험생물인 *C. dubia*의 유생(24시간 이하)을 각 test chamber에 10마리씩 넣고 48시간 접촉시킨다. 희석배수는 원수 대비 5~640배로 하였다. 48시간 경과 후 control과 각각의 원수 희석배수에 따른 시료에서 죽거나 움직이지 않는 *C. dubia*수를 세어 결과 값을 EPA에서 제안하는 컴퓨터 프로그램(probit method)에 입력하여 LC₅₀을 구한다. 실험온도는 25℃로 맞추주고 실험 중에 먹이는 주입하지 않았다.

2.4.4. 온도증가 단기독성평가법

온도증가 단기독성평가법은 표준 48시간 독성실험법과 같은 방법으로 실험하되, 항온수조에서 온도를 35.5℃로 조절을 한 후 폐수를 원수대비 5~320배로 희석을 하여 독성 실험을 하였다. 온도증가에 대한 이전 연구결과¹⁴⁾에서 배양 온도를 증가시키에 따라 *C. dubia*의 치사속도가 빨라짐을 보였다. 그러나 본 실험에 이용된 35.5℃에서는 노출시간 110분 이내에서는 *C. dubia*의 온도증가에 의한 폐사는 나타나지 않았고, 37℃에서 40분의 노출시간에 대조군이 전부 폐사하는 결과를 보였다. 따라서 본 연구에서는 *C. dubia*에 상당한 스트레스를 가하면서도 주어진 노출시간내에서는 폐사현상을 보이지 않는 조건인 35.5℃를 실험온도로 결정하였다. 원수의 농도를 희석배수에 따라 농도를 조절한 후 실험생물인 *C. dubia*의 유생을 각 test chamber에 10마리씩 넣고 각각 1시간 접촉시킨 후 사멸여부를 관찰한다. 나온 사멸수를 가지고 probit method로 계산하여 LC₅₀을 가지는 희석배수의 값을 나타내었다. 보다 구체적인 실험방법은 조 등¹⁴⁾의 논문에 자세히 서술되어 있다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 농약성분에 대한 온도증가 및 48시간 독성법 비교

카바메이트계 농약성분인 BPMC, 질소를 함유한 유기인

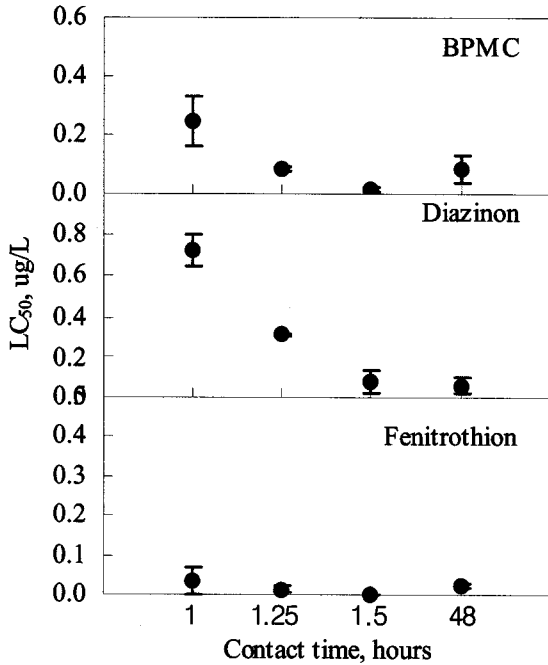


Fig. 1. Comparison of LC₅₀ on insecticides between the standard 48 hr acute bioassay (48 hr) and ToxTemp method (1, 1.25, 1.5 hr).

계 살충제인 Diazinon, Fenitrothion 등 하수의 생물학적 처리공정에서 독성을 나타낼 수 있는 물질들에 대한 표준 48 시간 급성독성법과 온도증가법으로 독성도를 측정된 것을 Fig. 1에 나타내었다(95% 신뢰구간). 본 연구에 이용된 농약성분들은 끓는점이 83~140℃이며 중성환경에서는 안정적이며 알칼리에서 가수분해되거나 100℃ 이상에서 산화되는 성질을 가지고 있다.¹⁵⁾ 따라서 실험에 적용된 온도나 배양액의 조성이 농약성분에 큰 변화를 가져온다고 예상되지는 않으며, 본 연구에서는 온도변화에 대한 농약성분 자체의 용해도나 이온화율의 변화에 대한 고찰은 연구내용에 포함되지 않았다. 농약별 독성도를 살펴보면, BPMC의 독성도는 1, 1.25, 1.5 hr의 접촉시간의 순서대로 LC₅₀이 평균 0.247, 0.082 및 0.016 μg/L로 나타나 점점 낮아져서 독성이 높아졌다. 48시간 독성 값인 0.083 μg/L과 비교하면 접촉시간이 1.25 hr에서 유사한 값을 나타냈다. Diazinon은 0.727(1 hr), 0.314(1.25 hr), 0.074(1.5 hr), 0.059 (48 hr) μg/L로 측정되었고, Fenitrothion은 0.037(1hr), 0.012(1.25hr), 0.002(1.5 hr), 0.023(48 hr) μg/L로 BPMC와 마찬가지로 접촉시간에 따라 독성이 높아졌다. 95% 신뢰구간을 비교하면 1.25 hr과 1.5 hr의 결과가 48 hr과 유사하게 나타남을 알 수 있었다. 측정된 독성물질 모두 접촉시간이 증가함에 따라 LC₅₀이 감소하여 보다 독성도가 높아지고 민감해 지는 것을 볼 수 있다. 1.5 hr의 접촉시간을 가진 일부 값은 48시간 독성법의 결과와 유사하거나 더 낮은 LC₅₀을 보이기도 했다.

3.2. 온도증가 단기독성평가법과 표준 48시간독성시험법의 비교

C. dubia를 이용한 온도증가법과 표준 48시간 독성법과

의 상호관계를 알아보기 위해 중금속, 독성 유기화합물 및 농약성분에 대한 LC₅₀을 비교하여 Fig. 2에 나타내었다. 사선은 표준 48시간 독성법의 값과 온도증가법이 같은 값을 가질 때 나타나는 실선이다. 온도증가형 독성법 중 접촉시간이 1 hr인 경우 실선에서 비교적 높은 수치를 보이고 사선의 위쪽에 위치하며, 1.25 hr은 실선과 거의 같이 값을 보여주고 있다. 1.5 hr의 경우 실선아래에 위치함을 알 수 있다. 따라서 본 연구결과 48 hr과 1.25 hr이 가장 유사한 결과 값을 보였으며 온도증가법을 이용하여 단시간에 48시간독성법과 같은 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다. 두 시험법에서 보여준 이러한 상관도는 온도증가에 의해 발생할 수 있는 독성물질 자체의 물리화학적 성질의 변화를 포함한 결과로서 같은 투여량에 대하여 유사한 독성도를 보이며 단지 검출시간을 크게 단축시킬 수 있는 특징을 보여주고 있다. 그리고 이것이 수계와 같이 유속이 빨라 체류시간이 짧은 하천의 독성도를 신속히 측정하는 것은 물론 일반 산업체 현장에서 방류되는 폐수의 독성도를 신속하게 측정하여 문제를 야기 시킬 수 있는 폐수나 하천에 대해 조속한 조치를 취할 수 있을 것으로 사료된다.

3.3. 실패수를 대상으로 한 질산화를 이용 독성평가

실험에 이용된 경기도의 J 하수처리장의 유입수는 일반 하수와 염색공단폐수가 혼합되어 유입되고 있다. 염색가공 공정에서 발생하는 염색폐수는 미생물 분해속도가 느린 염료와 Polyvinyl alcohol (PVA), Carboxy methyl cellulose (CMC), Ethylene glycol (EG) 등 각종 고분자 유기화합물 그리고 계면활성물질들이 혼재되어 있어 특정물질을 선별하여 독성도를 판단하는 것은 곤란하다.¹⁶⁾ 그러나 unspecific bacterial toxicity 평가법인 OUR, 질산화를 이용하여 여러 가지 물질이 혼재된 실패수의 독성을 총괄적으로 평가하는 것은 가능하다. 이 폐수에 있을 것으로 예상되는 독성물질인 중금속 및 유기 독성물질은 폐수처리효율에 크게 영향을 미칠 것으로 예상된다. 본 연구에서는 질화균이 독성물질에 노출되어 영향을 받게 되면 시간에 따른 용존산소의 이용률이 달라지는데 이 점을 이용하여 폐수의 독성도를 측정하였다.

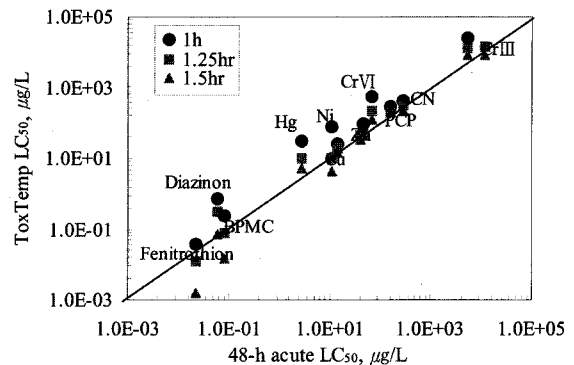


Fig. 2. LC₅₀ correlation of the standard 48 hr acute bioassay Test and ToxTemp method on heavy metals, organic compounds and insecticides.

실험은 공단폐수가 혼합되지 않은 하수 (A), 폐수가 혼합된 후 하수 (B), 염색공단폐수원수 (C)를 대상으로 질화균의 대사를 저하에 미치는 영향을 측정하여 Fig. 3에 나타내었다. (A)에서 암모니아의 소모율을 통해 질산화에 대한 독성효과를 보면 $\Gamma=1$ 일 때의 IC_{50} 값이 295.5%로 나타났다. 즉 하수중의 독성효과는 하수가 3배 정도 농축되었을 때 IC_{50} 에 해당하는 독성을 보여 질화균이 50%가 사멸하거나 활성이 떨어질 수 있음을 의미하는 것이다. 따라서 폐수가 혼합되지 않은 하수 중에는 독성 물질이 적게 함유되어 있음을 알 수 있다. 또한 이 시료에 존재하는 독성 물질의 양은 현장에서 질산화 물에는 영향을 없을 것으로 사료된다. 반면, 폐수가 혼합된 하수 (B)에서는 $\Gamma=1$ 일 때의 IC_{50} 값이 102.2%로 하수중에 폐수가 혼합된 후 50%의 저해율로 독성이 존재하는 것으로 사료되며 이에 따라 현장에서 질산화 율을 감소시키는 원인이 될 수 있다.

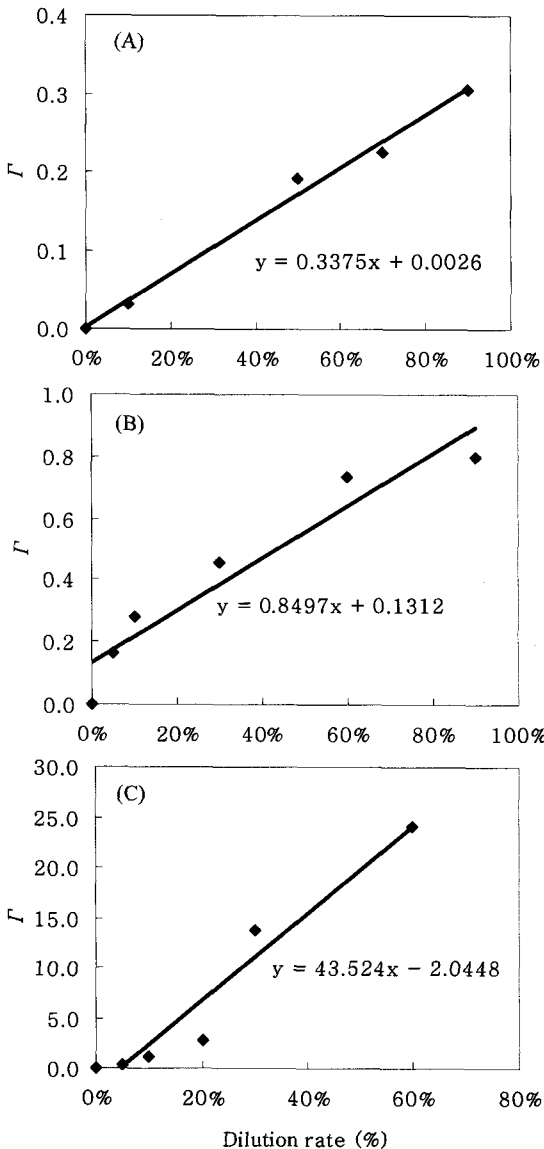


Fig. 3. Inhibition of nitrification rate at the different sewage/wastewater.

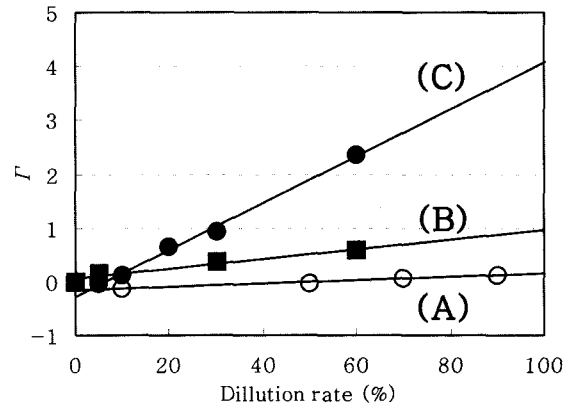


Fig. 4. Toxicity of wastewater on OUR test.

폐수자체의 독성을 나타내는 (C)의 결과에서는 $\Gamma=1$ 일 때의 IC_{50} 값이 7.0%로서 높은 수준의 독성을 함유하고 있음을 알 수 있으며 이 정도의 농도는 후속되는 공정에서 대부분의 질화균을 사멸시킬 것으로 사료되었다. 이런 실험 결과 각기 다른 조성을 가지는 (A), (B), (C)시료에 대한 질산화 독성정도를 파악할 수 있었으며 이후 OUR 실험 및 *C. dubia*를 이용한 실험에서의 대조군으로서 이용되었다.

3.4. 실패수를 대상으로 한 산소이용율(OUR)이용 독성 평가

질산화율 독성평가와 마찬가지로 OUR 실험에서는 산소 농도감소에 대한 저해정도로써 Γ 와 IC_{50} 을 평가할 수 있으며 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 그 결과 $\Gamma=1$ 일 때의 값인 IC_{50} 값이 독성도가 낮은 (A)시료에서는 367.5%, (B)시료에서는 103.9%, 강한 독성의 (C)시료에서는 29.0%로 나타나, 질산화 독성평가와 근사한 IC_{50} 값의 범위를 보여주고 있다.

그러나 중간정도의 다소 강한 질산화 독성을 보였던 (B) 시료의 경우 OUR 측정에서는 비교적 상태가 양호한 (A)시료와 큰 차이를 보이지 않음으로써 실제적으로 하수처리장에서의 독성감지 민감도에 한계가 있다는 것을 알 수 있다. 즉 질산화율을 절반으로 떨어뜨리는 독성을 가지고 있음에도 불구하고 (A)시료의 OUR과 비교했을 때 큰 기울기 차이를 보이지 않고, (A)와 (B)모두 매우 낮은 기울기를 보임으로써, OUR test 결과를 기준으로 현장에서의 독성을 평가하는 경우 독성이 낮은 정상상태와 독성상태를 민감하게 감지하기는 어렵다고 판단된다.

3.5. 실패수를 대상으로 한 온도증가 단기독성평가법과 표준독성시험법의 비교

*C. dubia*를 이용한 독성변화를 나타낸 Fig. 2의 결과를 보면 중금속, 독성 유기화합물 그리고 농약성분에 대해 수 $ng/L \sim mg/L$ 의 농도범위의 저농도에서도 높은 민감도를 나타냄을 알 수 있었다. 본 연구에서는 생물학적 처리공정에 독성을 나타낼 수 있는 중금속, 고분자 유기화합물이 혼재되어 일상적으로 배출되는 염색공단폐수를 대상으로 각 독

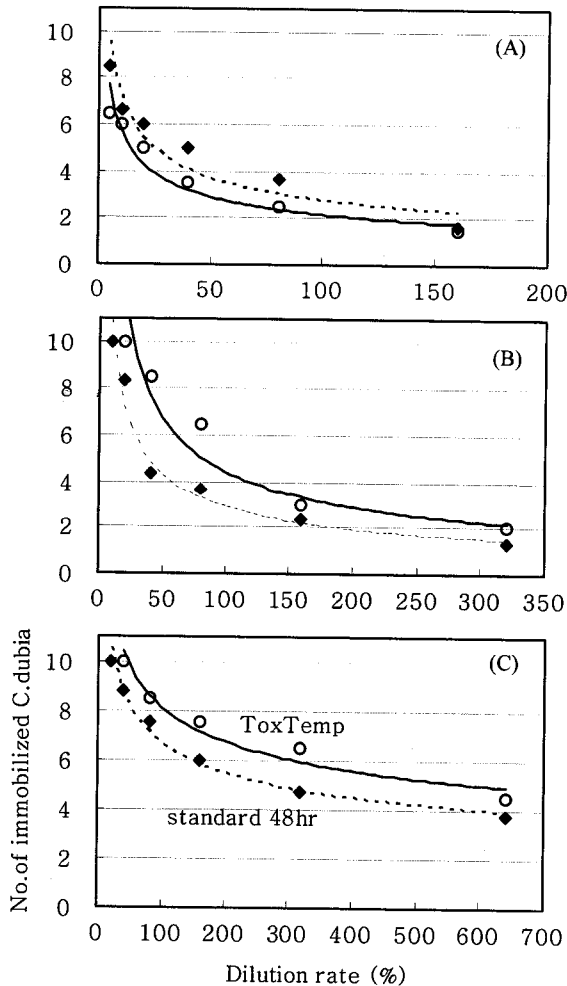


Fig. 5. Comparison of sensitivity between the standard 48 hr acute bioassay and ToxTemp method (1.25 hr).

성물질에 대한 효율성이 검증된 *C. dubia*를 이용하여 실패수의 총괄적 독성을 평가하고, 기존의 표준독성시험법과 온도증가 단기독성평가법의 결과와 비교하여 현장에서의 적용가능성을 검토하였다.

독성도가 낮았던 (A)시료에서 표준 48시간 독성시험의 경우(점선)를 보면 5배 희석의 경우 *C. dubia*가 9마리가 사멸하였고 160배까지 희석을 하였을 경우는 2마리 사멸하는 결과를 보였다. 표준 48시간 독성시험의 경우는 40배 희석한 경우에서 5마리가 사멸하는 결과를 보였다. 온도 증가형 1.25 hr 독성시험방법에서는 5배 희석의 경우 *C. dubia*가 7가 사멸을 했고 160배까지 희석을 했을 경우 2마리가 사멸하는 결과를 보였다. 온도 증가형의 경우는 20배 희석한 경우에서 5마리가 사멸하는 결과를 보였다. 이상의 실험을 통하여 표준 48시간 독성법 및 온도 증가형 급성독성법의 결과를 보면 LC₅₀값은 각각 희석배수로서 40배 및 20배일 때로 나타나 적은 독성이 있는 것으로 판명되었는데, 이 값을 %값으로 나타내면 표준 48시간 독성법과 온도증가형 급성 독성법에서 각각 4.63%, 7.21%로 나타났으며 시료의 독성도가 낮음을 알 수 있었다.

Table 3. Comparison of Toxicity on nitrification and Tox-Temp

Inhibition		Sample	A	B	C
Nitrification			295.50%	102.20%	7.00%
<i>C. dubia</i>	48 hr		4.63%	1.90%	1.03%
	1 hr		7.21%	3.51%	2.51%

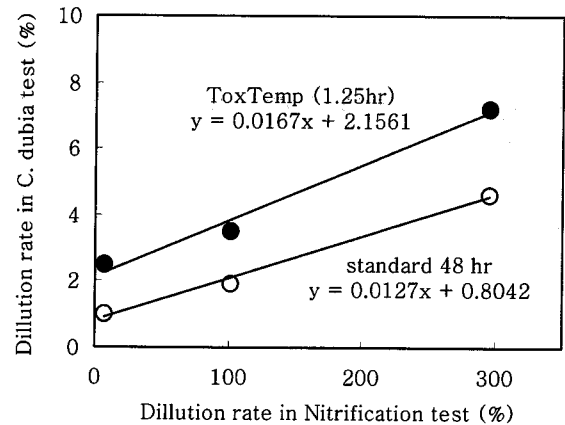


Fig. 6. Comparison of Toxicity between standard 48hr acute bioassay and ToxTemp method.

같은 방법으로 (B)시료에서는 LC₅₀값은 각각 희석배수로서 30배 및 80배일 때로 나타나 상대적으로 독성이 높은 것으로 판명되었으며, 물벼룩을 이용한 독성실험이 질산화를 이용한 독성실험에서보다 더 민감함을 알 수 있었다. (C)에서 LC₅₀값은 각각 희석배수로서 320배 및 640배일 때로 나타나 독성도가 높게 나타났다. 이러한 LC₅₀값의 희석배수를 %값으로 나타내면 표준 48시간 독성법은 1.03%이고, 온도증가형 급성 독성법은 2.51%이므로 상당히 적은 양에서도 독성도를 나타내고 있음을 알 수 있다. 이러한 실험결과를 질산화를 독성실험과 비교한 것을 Table 3에 나타내었다.

Fig. 6에서는 질산화율의 저해도를 기준으로 하여 *C. dubia*를 이용한 48시간 측정법과 개선된 단기측정법의 민감도를 비교하였다. 같은 성상의 폐수를 대상으로 하였을 때 활성슬러지를 이용한 OUR이나 질산화율 변화에 근거한 독성시험법과 *C. dubia*를 이용한 독성시험법은 높은 상관성을 보여 주고 있다. 그러나 독성에 대한 민감도는 차이가 나서, 각 실패수에서 질산화 저해율에 대한 IC₅₀에 해당하는 희석율이 7~295%일때 *C. dubia*를 이용한 두 독성시험법에서는 1~7%의 희석율로도 독성감지능력을 나타내어, *C. dubia*를 이용한 경우 질산화율보다 매우 높은 민감도를 나타낼을 알 수 있었다. 표준 48시간 독성법이 온도증가형 급성 독성법에 비해 1.5% 정도 민감도가 높은 결과를 나타내었지만, 양 분석법 모두 질산화 저해율과 비례하면서 높은 상관성을 보여주었으며 현장에서의 독성감지에 대한 적용가능성이 높다고 판단되었다.

4. 결 론

*Ceriodaphnia dubia*를 이용한 새로운 독성시험법인 온도증가 단기독성평가법 (ToxTemp, TOXcity test based on TEMPerature control)과 표준 48시간 독성평가법을 이용하여 증급속, 독성 유기화합물 그리고 농약성분에 대한 독성감지 능력을 평가하고 실패수에 대한 적용가능성을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1) BPMC, Diazinon, Fenitrothion 등 하수의 생물학적 처리에 독성을 나타낼 수 있는 물질들에 대하여 온도증가 단기독성평가법은 1~1.5시간의 짧은 접촉시간에도 기존의 실험방법인 표준 48시간 독성시험법과 유사한 독성도 결과를 보였다.

2) 표준독성시험법과 온도증가 단기독성평가법은 증급속, 독성 유기화합물, 농약 등 각각의 독성물질에 대하여 높은 상관도를 보이면서 독성을 감지할 수 있었으며 넓은 범위의 독성물질에 대한 적용가능성을 보여주었다.

3) 실패수에서의 독성평가를 검토하기 위하여 각기 다른 성상의 염색폐수를 이용하여 질산화율의 저해도를 기준으로 하여 산소이용율 (OUR)과 표준 48시간 독성시험법, 온도증가법을 비교한 결과 OUR을 이용한 평가에서는 비교적 높은 질산화를 저해도를 보인 원수에 대해서도 독성민감도가 낮아 현장적용에 한계가 있었다.

4) *C. dubia*를 이용한 표준 48시간 독성시험법과 온도증가 단기독성평가법은 서로 좋은 상관도를 보였으며 활성슬러지를 이용한 질산화에 의한 독성도평가와도 좋은 상관관계를 보였다. 결론적으로 온도증가 단기독성평가법은 표준 48시간 독성시험법과 유사한 독성감지능력을 유지하면서 현장에서의 신속한 감지가 가능하다는 점에서 하수처리장에서의 질산화 독성진단에 대한 적용가능성이 높다고 사료되었다.

사 사

본 연구는 학술진흥재단의 지원에 의해 수행되었으며(KRF-2003-050-D0001), 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Standard Practice for Conducting Acute Toxicity Tests with Fishes, Macroinvertebrates, and Amphibians. ASTM E-729-88, American Society for Testing Methods(1988).
2. Carins, J., Health, A. G., and Parker, B. C., "The effects of Temperature upon the Toxicity of Chemicals to Aquatic Organisms," *Hydrobiologia*, **47**(1975).
3. Blaise, C., van Coillie, R., Bermingham, N., and Cou-

- lombe, G., "Comparaison des Responses Toxiques de Trois Indicateurs Biologiques (Bacteris, Algues, Poissons) Exposes a des Effluents de Fabriques de Pates et Papiers," *Rev. Int. Sci. Eau.*, **3**, 9~17(1987).
4. Dutka, B. J. and Bitton, G., Eds, "Toxicity Testing using Microorganisms," **2** CRC Press, Boca Raton. FL(1986).
5. Bulich, A. A, "Use of Luminescent Bacteria for Determining Toxicity in Aquatic Environments," *Aquatic Toxicology*, Markings, L. L. and Kimerle, R. A., Eds. American Society for testing and Materials, Philadelphia, PA(1979).
6. Munkittrick, K. R., Power, E. A., and Sergy, G. A., "The Relative Sensitivity of Microtox, Daphnid, Rainbow trout and Fathesd Minnow Acute Lethality Tests," *Environ. Toxicol. Water Qual.*, **6**, 35~62(1991).
7. Alsop, G. M, Waggy, G. T., and Conway, R. A., "Bacterial Growth Inhibition Test," *J. Water Pollut. Control Fed.*, **52**, 2452~2456(1980).
8. Alleman, J. E, "Respiration-Based Evaluation of Nitrification Inhibition using Enriched Nitrosomonas Cultures," p. 642~650, in : Scholze, R. J., Smith, E. D., Bandy, J. T., Yu, Y. C., and Basilio, J. V., Eds., *Biotechnology for Degradation of Toxic Chemicals in Hazardous Waters Sites*. Noyes Data Corp. Park Ridge, NJ(1988).
9. King, E. F. and Dutka, B. J., "Respirometric Techniques," p. 75~112. in : Toxicity Testing using Microorganisms. Vol. 1. Bitton, G. and Dutka, B. J., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL(1986).
10. Jannsen, C. R. and Persoone, G., "Rapid toxicity Screening Tests for Aquatic Biota. I. Methodology and Experiments with Daphnia Magna," *Environ. Toxicol. Chem.*, **12**(4), 711~717(1993).
11. Rhodes, K, "A Rapid Acute Toxicity Test Based on Daphnid Feeding Behavior," M. S. Thesis, University of Florida, Gainesville, FL(1992).
12. Bitton, G., Rhodes, K., Koopman, B., and Cornejo, M., "Short-Term Toxicity Assay Based on Daphnid Feeding Behavior," *Water Environ. Res.*, **67**(3), 290~293(1995).
13. 이상일, 나은정, 서인석, "*Ceriodaphnia dubia*의 녹조류 섭생에 근거한 급성독성조사법," *대한환경공학회*, **16**(6), 755~760(1994).
14. 조영욱, 김이정, 박종호, 이상일, "온도증가를 이용한 단기 *Ceriodaphnia dubia* 독성시험법," *대한환경공학회*, **26**(3), 328~333(2004).
15. 윤채혁, "농약총람," 도서출판 한림(1996).
16. 박종용, 김정호, 임영택, "PACAS 공법에 의한 염색폐수의 처리," *대한환경공학회*, **13**(3), 175~184(1991).