

해양 플랑크톤 군집의 전기분해 염소소독 효과

강정훈^{1*} · 신경순¹ · 현봉길¹ · 장민철¹ · 김은찬² · 장 만¹

¹한국해양연구원 남해특성연구본부

²한국해양연구원 해양시스템안전연구소

The Electrochemical Chlorination for Marine Plankton Community Disinfection

Jung-Hoon Kang^{1*}, Kyoungsoon Shin¹, Bong-Gil Hyun¹, Min-Chul Jang¹,
Eun-Chan Kim² and Man Chang¹

¹Southern Coastal Environment Research Division, South Sea Institute, KORDI,
391, Changmokyun Koje-shi, Kyungnam, 656-830, Korea

²Maritime and Ocean Engineering Research Institute, KORDI, 171 Jang-dong
Yuseong, Daejeon, 305-343, Korea

요 약

전기분해 염소소독기로 처리한 결과가 국제해사기구의 협약에서 제시한 생물처리 기준(D-2 regulation)을 만족하는지 확인하기 위해 박테리아, 식물플랑크톤(10-50 μm) 및 동물플랑크톤(>50 μm)의 사멸효과를 확인하였다. 실험조건은 대조구와 잔류염소농도 10 ppm(Expt. 1)과 30 ppm(Expt. 2)을 실험구로 설정 하였고, 시험수를 23.8 m³/hr의 속도로 전기분해염소소독기에 통과시켰다. 시험수의 생물조건은 국제해사기구에서 작성된 선박 평형수 관리 장치의 승인을 위한 지침서에서 제시한 기준을 따랐다. 식물플랑크톤의 생사판별은 광학현미경, 형광현미경 및 형광측정기(Turner Designs 10-AU)를 이용하여 확인되었다. 두 농도 조건(10 ppm, 30 ppm)의 처리수에서 운동성이 있는 식물플랑크톤은 움직임이 나타나지 않았고, 형광현미경 하에서 엽록소 형광색이 적색에서 녹색으로 바뀌었으며, 형광값은 고농도(Expt. 1: 6.95, Expt. 2: 7.11)에서 0으로 바뀌었다. 이는 식물플랑크톤의 활성이 상실되어 모두 사멸되었음을 의미한다. 동물플랑크톤의 생사판별은 해부현미경하에서 부속지의 움직임을 토대로 결정되었다. 전기분해 염소소독기 처리 후 해양환경에서 채집되어 농축된 자연군집 동물플랑크톤은 모두 사멸되었으나, 일부 *Artemia*가 생존하였다. 그러나 각 잔류염소 농도조건인 암소에서 노출시킨 지 24시간 뒤에는 모든 동물플랑크톤이 사멸되었다. 박테리아는 Petrifilm plates(3M™)를 이용한 점종배양법으로 처리수의 총 세균, 대장균 군 및 대장균의 사멸효과를 확인한 결과, 군수가 전혀 관찰되지 않았다. 또한 각 염소농도 조건의 처리수에서 추가적으로 노출시킨 5일 동안 세 그룹의 생물에서 재성장이 나타나지 않았다. 본 연구결과는 세 그룹의 생물에 대한 전기분해염소소독기 처리결과가 국제해사기구에서 제정한 선박 평형수 배출기준을 만족시켰음을 보여주었다.

Abstract – To confirm whether or not the Electrochemical Disinfection System (EDS) meet with the D-2 regulation established by IMO (International Maritime Organization), the biological treatment efficacy of the EDS was assessed using three groups of natural marine plankton (bacteria, 10-50 μm and $\geq 50 \mu\text{m}$ sized organisms). Influent water was passed through the EDS under the flow velocity (23.8 m³/hr) and test design was consisted of control (no treatment) and experimental (10 ppm and 30 ppm) condition for total residual chlorine (TRC). And the biological condition of the influent water followed the standards established by the guidelines for the approval of ballast water management systems. The disinfection efficacy of the 10-50 μm sized organisms (phytoplankton) was assessed by three kinds of measurements using photomicroscope, epifluorescence microscope and fluorometer (Turner Designs 10-AU). After being passed through the EDS, all motile phytoplankton lost their motility under photomicroscope, the colour of chlorophyll fluorescence turned from red into green under epifluorescence, and the high chlorophyll fluorescence (Expt. 1: 6.95, Expt. 2: 7.11) detected by fluorometer decreased into value not detected. These results indicated phytoplankton community was totally killed after

*Corresponding author: jhkang@kordi.re.kr

electrochemical disinfection treatment. Survivorship of the larger organisms than 50 μm was determined based on the appendage's movement under a stereomicroscope. Natural assemblage collected from ambient seawater was killed shortly after being passed through the EDS, whereas some *Artemia* remained alive. However, no live *Artemia* was found after 24 hour further exposure to each TRC concentration (10 and 30 ppm) under darkness. After electrochemical treatment, the target bacteria such as aerobes, coliform and *Escherichia coli* were completely killed on the basis of CFU (colony forming unit) on Petrifilm plate (3 M™) after 48 hr incubation. Moreover, no regrowth was found in the three groups of plankton during five days under additional exposure to the treated water. These results indicated that the disinfection efficiency of the EDS on the three groups of plankton satisfy D-2 regulation.

Keywords: Biological efficacy(생물학적 사멸효율), Electrochemical disinfection system(전기분해염소소독기), bacteria(박테리아), phytoplankton(식물플랑크톤), zooplankton (동물플랑크톤)

1. 서 론

선박 평형수(ballast water)는 화물이 없는 선박의 평형과 안정을 유지하는데 필수적이다. 대형 상선의 평형수를 통해 수송된 다양한 종류의 생물들은 새로운 환경에 배출된 후 정착하여 해양생태계를 교란시키거나 잠재적인 위해를 끼치는 것으로 알려져 있다(Hayes and Sliwa [2003]). 선박의 수송기간이 길어지면, 그만큼 선박평형탱크안의 수온이 변화하고, 용존산소 및 먹이의 양이 감소하는 등 환경조건이 열악해져 대부분의 외래생물들이 죽지만, 내성이 강한 생물들은 살아남는 경우가 있다(Ruiz *et al.*[2000]). 이처럼 극한 환경에서 살아남은 생물이 타 해역에 배출된다면 생물침입 가능성은 매우 높아진다. 특히 유독성 식물플랑크톤이나 외래 무척추 생물이 타 해역에 유입 후 정착하면 해양 생태계 내 다양성을 변화시킬 뿐만 아니라(Lewis *et al.*[2003]), 천연 및 인공 패류 및 어류 양식장을 위협할 수도 있다(Sutherland *et al.* [2001]). 또한 대형 상선의 성능 향상에 의한 운항속도 증가 및 왕래 횟수의 증가는 평형수 탱크내의 생물들의 생존 가능성을 더욱 높여 타 해역에 정착 가능성을 높이는 또 다른 요인이 된다(Orsi and Ohtsuka[1999]).

선박 평형수에 의해 수송된 외래생물의 해양생태계 교란문제를 직시한 국제해사기구(IMO: International Maritime Organization)는 2004년 2월 선박의 평형수와 침전물의 통제 및 관리를 위한 국제협약을 완성 후 채택하였고, 상대국 항구에 배출될 선박 평형수 내의 생물 농도 기준(D-2 regulation)을 매우 엄격하게 조정하였다.

기존에는 외래종에 의한 해양생태계 교란을 감소시키기 위해 공해상에서 선박 평형수를 교환하는 환경 친화적인 방법이 선택되어 이용되었다(Zhang and Dickman[1999]; Dickman and Zhang[1999]). 그러나 제거 효율이 65%미만인 그쳐(Locke *et al.*[1993]; Levings *et al.*[2004]) 외래종 유입 가능성이 높다는 단점이 있고, 교환 장소가 항구에서 200해리 떨어진 공해상으로 정해져 있어 선박 안전 확보 문제가 남아있다. 따라서 D-2 regulation을 만족시키기 위해 생물들을 효과적으로 사멸시킬 수 있는 처리기술을 갖춘 장치의 개발이 시급하고도 불가피하게 되었다.

국제협약에 대응할 수 있는 기술 중 하나로서 해수 전해법을 부

유생물의 처리를 위한 적용기술로 검토한 예가 있고(윤 등[2005]), 차아염소산 나트륨(NaOCl)으로 적조 원인종 등을 실험적으로 제거한 예가 있다(Jeong *et al.*[2002]). 또한 환경에 배출된 이후 태양광 하에서 염화나트륨으로의 자연복원성이 탁월함이 밝혀졌다(윤 등[2005]). 활성물질로서 차아염소산 나트륨이 선박 평형수 처리기술로 인정받기 위해서는 국제해사기구의 지침서에 명시된 생물 농도 및 조성(composition)기준을 만족한 시험수(test seawater)를 차아염소산 나트륨을 처리기술로 갖춘 전기분해염소소독기로 처리한 결과가 생물처리조건(D-2 regulation)을 만족하여야 한다.

국제해사기구의 해양환경보호위원회(MEPC: Marine Environmental Protection Committee)에서는 선박 평형수 처리기술의 적합성을 확인하기 위해 처리될 시험수 내에 있어야 할 생물그룹으로 부유성 박테리아, 10-50 μm 크기 그룹(주로 식물플랑크톤), 그리고 >50 μm 크기 그룹(주로 동물플랑크톤)을 지정하였다. 그리고 국제해사기구에서 구축한 전 세계 항만 간 선박 평형수 감시 프로그램(GloBallast program)은 유독성 외편모조류의 영양세포(vegetative cells), 동물플랑크톤의 성체(adults)와 유생(larvae)을 주 감시대상 생물그룹으로 간주하고 있다. 2005년에 개최된 제 53차 해양환경보호위원회는 항만 혹은 연안역 해수 내에 존재하는 유해성 미세조류와 성체 동물플랑크톤이 선박 평형수 탱크를 통해 이동하는 것을 막기 위한 최선의 방법이 탱크로 유입되기 전에 100% 가까이 사멸시키는 것임을 주목하였다. 또한 선박성능의 향상으로 단축된 이동시간은 플랑크톤의 생존률을 높여 그만큼 살아있는 채로 타 해역에 배출될 가능성이 증가하므로, 식물플랑크톤의 영양세포와 동물플랑크톤 성체를 처리하는 과정은 중요하다. 그리고 시험수의 생물조건은 자연 상태의 플랑크톤 군집으로 맞추되, 특정 분류군의 지정 없이 세 개의 다른 문/과(phyla/divisions)에 속한 5종이 최소한 있어야 하는 기준을 만족시키면 된다. 만약 자연 상태의 플랑크톤 군집의 생물량이 낮아 기준농도를 만족시키기 어려운 경우, 선박평형수관리장치의 승인을 위한 지침(G-8)(Guidelines for the approval of ballast water management systems)에서 배양한 플랑크톤을 주입하여 기준을 맞추도록 제시하고 있다.

이러한 배경 하에 해수 전해법을 바탕으로 해수를 연속적으로 취수하며 차아염소산나트륨을 발생시켜 플랑크톤을 직접적으로 제

어하는 전기분해 염소소독기(EDS: electrochemical disinfection system)의 원형(prototype)이 개발되었고, 지침서에 따라 세 가지 크기 그룹의 부유성 플랑크톤을 대상으로 생물학적 처리 성능을 확인하였다. 또한 처리이후 5일의 시간이 경과한 뒤 플랑크톤 그룹별 재성장(regrowth)의 여부를 추가적으로 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 전기분해 염소 소독기

전기분해 염소소독기 시스템은 기본적으로 전극(electrode)과 정류기(rectifier)로 구성된 전기화학 반응기로 되어 있으며, 소독기내에서 전극(양극과 음극)을 통한 전류흐름에 의해 해수를 전기분해 한다(Fig. 1). 이 과정에서 차아염소이온(hypochlorous ion: OCl⁻), 하이드록실 라디칼(OH[•]) 등을 포함하는 활성물질이 생성된다. 본 시스템은 200 m³/hr 이상의 대용량 처리장치를 시험하기에 앞서, 동일한 성능의 축소된 장치로 사전실험을 하도록 한 국제해사기구의 방침을 따라 제작되었다. 본 시스템은 다단 전극으로 구성되어 있고, 격막펌프에 의해 시험수가 시스템을 통과하는 속도가 대략 30/sec가 되도록 설계되었다. 통과하는 속도는 격막펌프의 용량과 관련이 있으며, 결과적으로 한 시간 동안 23.8 m³의 해수가 시스템을 통과하게 된다. 안정적인 전원공급은 교류를 직류로 바꿔주는 정류기를 이용하였고, 정류기의 제원은 최대전압의 경우 0~6V, 최대전류는 0~200A, 역률은 0.99이며, 85~265V의 넓은 사용전압범위를 갖고 있다. 차아염소산 나트륨 농도가 10ppm을 나타냈을 때의 정류기 조건은 3.6V, 9.6A이었고, 30ppm 조건은 5.2V, 15.2A였다.

실험조건으로 설정된 두 개의 잔류염소농도 (TRC: total residual chlorine) 조건 (10 ppm, 30 ppm)은 사전 시험의 결과를 토대로 설정되었다. 본 실험에 사용된 전기분해 염소소독기의 초기모델(prototype)을 이용한 예비 시험 시, 세 개의 유속조건 (5, 10, 15 m³/hr)과 다섯 개(25, 50, 75, 100, 125)의 암페어(ampere) 조건의 실험결과 중 최적 살상능을 보인 농도를 기준으로 하였다. 잔류염소농도는 발색법(EPA 4500)을 원리로 하는 chlorine pocket photometer (HF scientific Inc.)를 이용하여 측정하였다.

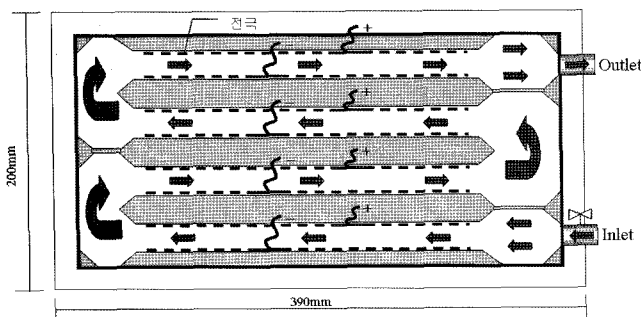


Fig. 1. Diagram of electrochemical disinfection system.

2.2 전기분해 염소소독실험

2.2.1 시험수 기준

2.2.1.1 정성 및 정량적 조건

국제해사기구의 53차 MEPC(Marine Environmental Protection Committee) 회의에서 생물처리기준(D-2 regulation) 적합여부를 확인하기 위한 시험수(influent water)의 기준을 마련하였다. 10~50 μm 크기 생물(주로 식물플랑크톤)의 기준은 종 조성의 경우 세 개의 다른 문/과(phyla/divisions)가 적어도 5종이 있어야 하며, 현존량(standing crop)은 10⁶~10⁷ cells/L의 범위 내에 있어야 한다. >50 μm 크기 생물(주로 동물플랑크톤)의 개체수는 10²~10³ individuals/L 범위 내에 있어야 하며, 세 개의 다른 문/과(phyla/divisions)가 적어도 5종이 있어야 한다. 중속영양성 박테리아(heterotrophic bacteria)는 mL당 최소 10⁴의 밀도 내에 존재하여야 한다.

2.2.2 시험수 준비

2.2.2.1 식물플랑크톤(10~50 μm)

한국해양연구원 남해연구소에 접해있는 장목만(Jangmok Bay)에서 시험수 현존량 조건을 만족시키기 위해 표준네트(망구직경: 45 cm, 망목크기: 20 μm)로 여러 번 예인하여 식물플랑크톤 시료를 농축하였다. 농축된 식물플랑크톤 현존량이 시험수 조건을 충족하는지 확인키 위해 광학현미경(Axioskop ZEISS Co.)하에서 계수하였다. 대조구(Control) 및 실험구 조건(Expt. 1: 10 ppm, Expt. 2: 30 ppm)의 실험 용기(20 L)내 현존량이 4.8×10⁶ ~ 1.4×10⁷ cells/L의 범위를 나타내 시험수 조건을 만족하였다.

2.2.2.2 동물플랑크톤(>50 μm)

동물플랑크톤 개체수의 시험수 조건을 만족시키기 위해 동물플랑크톤 채집네트(망구직경: 45 cm, 망목크기: 200 μm)를 이용하여 장목만에서 수 차례 네팅하여 시료를 농축하였다. 농축 후 시험수 조건 만족 여부를 확인하기 위해 해부현미경(Stemi SV11 ZEISS Co.) 하에서 동물플랑크톤의 개체수(abundance)를 계수하였다. 현장 동물플랑크톤 만으로 시험수 기준을 맞추는데 한계가 있어 인공 부화시킨 brine shrimp(*Artemia*)를 대조구 및 실험구(Expt. 1과 Expt. 2) 용기(20 L)에 추가로 넣었다. 대조구 및 실험구 내 개체수는 4×10² ~ 6×10² 개체/L의 범위를 나타내어 기준을 만족하였다.

2.2.2.3 박테리아

연안역에서 출현하는 박테리아 현존량은 대부분 10⁴ 이상의 밀도를 나타내어 시험수 기준에 만족하므로 별도의 농축과정 없이 실험에 적용하였다.

2.2.3 시료분석

2.2.3.1 식물플랑크톤(10~50 μm)

(1) 현존량 분석

식물플랑크톤 현존량 분석을 위해 해수를 폴리에틸렌 병(500 mL)에 담아 루골용액(Lugol solution)으로 고정하였다. 48시간 침전 후 상등액을 버린 후 남아있는 농축액에서 1 mL을 채취하여 Sedgwick-Rafter 계수판에 올려놓은 후 광학현미경(Microscope BHS, Olympus, Japan)하에서 계수하였다. 이때 식물플랑크톤의 정성 분석은 다음의 참고문헌을 참조하였다(Cupp[1977]; Dodge[1982]; Shim[1994];

Tomas[1997]).

(2) 생사판별

전기분해 염소소독기로 처리한 식물플랑크톤의 생사는 첫째, 형광측정기(Turner-designs 10-AU)를 이용한 형광측정, 둘째, 운동성(motility)을 지닌 식물플랑크톤의 운동성 유무, 셋째, 형광현미경을 이용한 엽록소 형광색 차이를 근거로 판단되었다. 이는 하나의 방법으로 모든 식물플랑크톤 종의 생사를 확인하기 어렵기 때문이다.

형광측정기로 생사판별 확인 시, 네 종의 식물플랑크톤 *Cylindrotheca closterium*, *Prorocentrum micans*, *Akashiwo sanguinea* 및 *Scrippsiella* sp.의 세포수가 1 cells/mL 미만일 때 형광값이 모두 0을 나타낸 사실 실험 결과를 토대로 하여 측정값이 0 일 때 모두 사멸된 것으로 간주하였다.

운동성 유무로 식물플랑크톤의 생사판별을 하기 위해 농축된 시료에서 1 mL을 뽑아 Sedgwick-Rafter 계수판에 넣어 광학현미경(Axiokop ZEISS Co.하에서 운동성을 확인하였다. 농축시료는 시험수 및 처리수에서 각각 채수한 500 mL을 10 µm 메쉬에 걸러 얻었고, 생사판별한 식물플랑크톤의 현존량은 cells/mL로 표현하였다.

형광현미경을 이용하여 green filter하에서 식물플랑크톤 관찰시, 살아있는 엽록소는 적색을, 죽어있는 경우는 연두색을 띄거나 색을 띄지 않는 특성을 이용하여 생사판별을 하였다. 선박 평형수를 배출할 수 있는 처리기준은 반박 채취된 시료에서 10~50 µm 범위의 생물체의 평균 밀도가 mL 당 생존 현존량이 10 cells 미만을 나타낼 때이다.

전기분해 염소소독기로 처리 후 처리수를 최소 5일간 보존한 뒤 배출할 것을 규정한 국제해사기구의 협약에 근거하여 처리수를 5일 이상 암소에 보존하여 식물플랑크톤 형광값의 일일 변화를 측정하였다.

2.2.3.2 동물플랑크톤(>50 µm)

(1) 동물플랑크톤 중 동정 및 계수

동물플랑크톤 개체수 분석을 위해 전기분해 염소소독기를 통과하기 전과 후의 시료를 500 mL 씩 채집하여, 부드러운 체(망목크기: 50 µm)로 걸러 농축하였다. 농축된 시료를 Bogorov 계수판에 넣은 뒤 해부현미경(Stemi SV11 ZEISS Co.하에서 관찰하였다. 동물플랑크톤 동정 및 계수는 요각류의 경우 중 수준까지 하였고, 나머지는 분류군으로 구분하였다. 동물플랑크톤의 중 동정은 다음의 자료를 참고하였다(Yamaji[1984]; Chihara and Murano[1997]).

(2) 동물플랑크톤 생사판별

동물플랑크톤의 생사판별 기준은 부속지(appendage)의 운동성을 근거로 하였다. 해부현미경(Stemi SV11 ZEISS Co.하에서 관찰시 동물플랑크톤의 움직임이 거의 없는 경우 몸체가 온전한 형태인 플랑크톤에 한해서 5초 이상 움직임이 없을 때 추가적으로 뾰족한 침으로 자극하여 반응이 없으면 죽은 것으로 간주한다(APHA[1985]). 시험수 내의 살아있는 동물플랑크톤 만을 모두 계수하여 전체로 간주한 후, 이를 기준으로 처리수에서의 사망률을 구하였다. 선박 평형수를 배출할 수 있는 처리기준은 반박 채취된 시료에서 최소 크기가 50 µm 이상인 생물체의 생존 개체수가 m³

당 10개체 미만일 경우이다. 전기분해 염소소독기 처리 후 처리수를 5일 이상 암소에 보존하여 동물플랑크톤의 운동성을 근거로 한 생사판별을 매일 확인하였다.

2.2.3.3 박테리아

(1) 박테리아 수도

시험수 내 박테리아 수도를 계수하기 위해 폴리에틸렌 채집병(300 ml)에 시험수를 담은 후 중성포르말린으로 고정(최종농도 2~4%)하여 실험실로 운반하였다. 고정한 시료를 DAPI(6-diamidino-2-phenylindole) 염색법(Porter and Feig, [1980])에 따라 프레파라아트를 만들고 암 상태의 실온에서 5분 동안 방치 시킨 후, UV filter set(02-G356, FT395, LP420 and 15-BP546, FT580, LP590, Zeiss)를 사용하여 고배율(×1000)로 관찰하였다. 관찰시 10개 필드 이상을 계수하여 평균 수도를 구하고, 관찰한 수도가 300개 이상이 되도록 하였다.

(2) 박테리아 배양

Petrifilm plate(3M™)로 시험수와 처리수 내의 일반세균(aerobes), 대장균군(coliform) 및 대장균(*Escherichia coli*)을 배양하여 박테리아 처리효과를 확인하였다. 접종 및 모든 처리과정은 외부로부터의 감염이 배제된 clean bench에서 이루어졌다.

일반세균은 시험수와 처리수에서 시료를 1 mL씩 뽑아 기포발생 방지에 유의하며 Petrifilm plate에 도포한 후 상부필름을 부드럽게 위에서 아래로 덮고 누름판으로 눌러 겔(gel)화 된 후(약 30~62초 소요), 35 °C에서 배양하였다. 48시간 배양 후 육안으로 균수(colony)를 계수하고 사진촬영을 하였다. Petrifilm plate에 일반세균(aerobes)의 균수가 250개를 넘을 경우 한 개의 사각형 안에 있는 수를 세어 20을 곱하여 전체균수를 계산하였다.

대장균(*E. coli*)과 대장균 군(coliform)의 접종을 위해 10 mL의 시료를 여과한 여과지(0.2 µm membrane filter)를 사전에 준비하였다. 이후 Petrifilm plate에 여과지를 올려 상부필름을 덮은 뒤 35 °C의 조건에서 24시간 배양 한 후 콜로니를 계수하였다. 평형수 관리시스템 승인 지침에서 제시한 처리 기준은 대장균의 평균 밀도가 100 mL 당 250 cfu 미만인 경우이다. 처리 후 최소 5일간 보존한 뒤 배출할 것을 규정한 국제해사기구의 문건에 근거하여 처리수를 암소에 보존하여 매일 생사판별을 확인하였다.

3. 결 과

3.1 잔류염소농도

대조구 및 실험구의 시험수의 잔류염소농도는 0.05-0.08 ppm을 나타냈고, 대조구의 처리수에서만 0.09 ppm을 나타냈다. 반면 실험구 처리수인 Expt. 1에서 8.7 ppm을, Expt. 2에서는 26.6 ppm을 나타내어 전기분해를 수행한 것과 하지 않은 것의 차이가 명확하였다(Table 1). Expt. 1과 Expt. 2의 목표 차아염소산 나트륨 농도는 각각 10 ppm 및 30 ppm 이었으나, 목표한 농도에 비해 낮게 나타난 것은 해수 내에 유기물질(플랑크톤 등)이 높은 농도로 존재할 때 흔히 나타나는 현상으로 알려져 있다.

Table 1. Total residual chlorine (TRC) in the test and treated seawater of Control, Expt. 1 and Expt. 2.

Control		Expt. 1 (10 ppm)		Expt. 2 (30 ppm)	
Test water (ppm)	Treated water (ppm)	Test water (ppm)	Treated water (ppm)	Test water (ppm)	Treated water (ppm)
0.08	0.09	0.08	8.72	0.05	26.60

3.2 시험수 내 종 조성 및 개체수

3.2.1 식물플랑크톤(10~50 µm)

선박 평형수 관리시스템 승인 지침에 근거하여 실험을 위한 시험수 내 식물플랑크톤 군집은 현존량(standing crop)이 10⁶~10⁷ cells/L 범위에 있어야 하며, 최소 3개의 각기 다른 문(phyla)/과(division)를 구성하는 최소 5종(species)으로 구성되어 있어야 한다. 대조구에 농축된 식물플랑크톤 군집은 총 70종으로 구성되었고, 이 중에 규조류(diatoms)가 51종으로 구성되었고, 규질편모류(silicoflagellates)가 2종, 외편모류(dinoflagellates)가 17종으로 구성되었다. 실험을 위해 농축된 식물플랑크톤 군집은 Expt. 1(10 ppm)에서 총 121종으로 구성되었고, 이 중에 규조류가 87종으로 가장 많이 출현하였고, 외편모류가 31종, 그리고 규질편모류가 3종 출현하였다. 총 분류군은 6종류로 은편모조류(cryptomonads), 미소편모류(microflagellates) 및 유글레나류(euglenoids)가 대부분류되었다 (Table 2). Expt. 2(30 ppm) 실험의 경우는 총 121종이 출현하였고, 이 중에 규조류가 88종으로 가장 많았고, 외편모류가 30종, 규질편모류가 3종 출현하였다. 출현한 총 분류군은 역시 6종류로 은편모조류, 미소편모류 및 유글레나류가 대부분류되었다. 시험수(Control, Expt. 1, Expt. 2)내의 현존량이 모두 1×10⁶ cells/L 정도를 나타내 실험을 위한 식물플랑크톤 실험조건이 만족되었다(Table 2).

3.2.2 동물플랑크톤(>50 µm)

동물플랑크톤의 개체수는 10²~10³ 개체/L 범위 내에 있어야 하며, 최소 3개의 각기 다른 문(phyla)/과(division)에 해당하는 최소 5종(species)으로 구성되어야 한다는 시험수 기준을 만족시키기 위해 장목만에서 현장 동물플랑크톤을 농축하였다. 인위적으로 배양하여 주입시킨 *Artemia*를 포함하여 대조구 및 실험구에서 관찰된 분류군으로서 히드로충류(hydroids), 모악류(chaetognaths), 지각류(cladocerans)인 *Podon leuckarti*, 요각류(copepods), 저서성 요각류(harpacticoids), 십각류(decapods) 및 유생류(larvae)로 이루어져 있었다(Table 3). 이 중에 가장 다양하게 출현한 분류군은 요각류로서, 칼라노이드류가 5종, 싸이클로프스류 2종이 출현하였다. 동물플랑크톤 개체수는 대조구에서 3.0×10² 개체/L를, Expt. 1에서 평균 3.5×10² 개체/L를, Expt. 2에서 평균 3.6×10² 개체/L의 범위를 나타내 시험수 기준을 만족시켰다(Table 3).

3.3 살상능 결과

3.3.1 식물플랑크톤(10~50 µm)

3.3.1.1 운동성 파악을 통한 생사판별

시험수 내에 운동성을 나타낸 식물플랑크톤은 규조류의 경우 우상형 규조류(pennate diatoms)인 *Cylindrotheca closterium*과 *Pseudonitzschia seriata*가 관찰되었고, 외편모류에는 *Akashiwo sanguinea*

Table 2. Taxonomic groups and standing crops of phytoplankton observed in the test water.

Taxonomic groups	Species number			Standing crops (cells/L)		
	Control	Expt.1	Expt.2	Control	Expt.1	Expt.2
Chrysophyceae	2	3	3	2,083	3,799	1,715
Bacillariophyceae	51	87	88	955,208	810,720	691,632
Cryptophyceae	-	1	1	-	11,440	11,198
Euglenophyceae	-	1	1	-	2,893	2,867
Dinophyceae	17	31	30	17,708	19,484	11,208
Microflagellates	-	1	1	-	36,574	18,618
Sum (cells/L)				975,000	885,089	737,237

Table 3. Taxonomic groups and abundance of mesozooplankton observed in the test water.

Taxonomic groups	Species number			Abundance (individuals/L)		
	Control	Expt. 1	Expt. 2	Control	Expt. 1	Expt. 2
Hydroids	-	-	1	-	-	2
Cladocerans (<i>Podon leuckarti</i>)	-	1	1	-	13	17
Copepods	2	7	7	187	97	93
Harpacticoids	-	1	1	-	5	4
Larvae	2	4	4	91	40	41
<i>Artemia</i>	1	1	1	5	191	205
Chaetognaths	1	-	-	19	-	-
Sum (individuals/L)				302	345	360

Table 4. Differences in the motility of phytoplankton before and directly (~1 hour) after passage through the electrochemical disinfection system.

Unit : cells/L

Species list	Control		Expt. 1 (10 ppm)		Expt. 2 (30 ppm)	
	Test water	Treated water	Test water	Treated water	Test water	Treated water
Diatoms						
<i>Cylindrotheca closterium</i>	1,563	909	18,172	-	15,642	-
<i>Ditylum brightwellii</i>	0	0	389	-	672	-
<i>Pleurosigma</i> sp.	0	0	389	-	0	-
<i>Pseudo-nitzschia seriata</i>	1,042	1,364	14,375	-	35,274	-
<i>Rhizosolenia setigera</i>	3,125	1,818	7,513	-	0	-
Dinoflagellates						
<i>Alexandrium</i> sp.	0	0	691	-	1,728	-
<i>Akashiwo sanguinea</i>	0	0	4,101	-	1,344	-
<i>Ceratium furca</i>	1,042	455	2,245	-	2,760	-
<i>C. fusus</i>	2,083	909	3,281	-	696	-
<i>Ceratium</i> sp.	521	455	0	-	1,416	-
<i>Gonyaulax</i> sp.	0	0	0	-	1,080	-
<i>Protoperidinium</i> sp.	0	0	6,042	-	11,350	-

-indicates no motility found

Number means cells with motility

와 *Ceratium*, *Alexandrium*, *Gonyaulax* 및 *Protoperidinium* 속의 종들이 있었다. 앞서 언급된 종들이 활발한 운동성을 나타낸 반면, *Ditylum brightwellii*, *Pleurosigma* sp. 및 *Rhizosolenia setigera*의 규조류들은 상대적으로 운동성이 약했던 것으로 관찰되었다. 우상형 규조류의 운동패턴은 미끄러져 움직이는(sliding movement) 특징을 나타내고, 외편모류는 스스로 회전하며(rotating movement) 진행하는 특징을 나타냈다. 시험수를 전기분해 염소소독기에 통과시켜 처리한 해수에서 현미경 관찰을 위한 식물플랑크톤 시료를 두 번 반복 채집하였다. 처리수 내 시료를 관찰한 결과 위의 언급된 모든 종들의 움직임이 관찰되지 않았다(Table 4). 이와 반면 차아염소산 나트륨이 발생되지 않은 염소소독기를 통과한 대조구의 식물플랑크톤은 지속적인 움직임을 나타냈다(Table 4).

형광색 차이를 이용한 생사판별

전기분해 염소소독장치를 통과하기 전(시험수)과 후(처리수)에서의 식물플랑크톤을 형광현미경을 이용하여 관찰 및 촬영하였다. 현미경 관찰시 형광색을 뚜렷하게 띄는 식물플랑크톤을 대상으로 분석하였다. 규조류는 *Coscinodiscus* sp., *Chaetoceros* sp. 및 *Leptocylindrus danicus*을 분석하였고, 외편모류는 *Protoperidinium* sp.와 *Ceratium fusus*를 분석하였다(Fig. 2). 형광현미경의 시야를 녹색필터로 설정하여 관찰하였을 때 시험수 내의 모든 식물플랑크톤은 적색을 나타냈고, 소독장치로 처리한 후에는 연두색 혹은 탈색된 양상을 나타냈다(Fig. 2).

형광측정기를 통한 생사판별

현미경을 이용하여 식물플랑크톤의 생사판별 과정은 직접적이고 정확한 정보를 줄 수 있다는 장점이 있다. 그러나 현장에서는 신뢰할 수 있는 신속한 측정방법이 필요하므로, 식물플랑크톤의 형

광을 정량적으로 측정할 수 있는 형광측정기를 이용하였다. 전기분해 염소소독장치의 차아염소산나트륨을 생성시키지 않고 순환만 시킨 대조구의 경우, 잔류염소농도는 0.05~0.09 ppm의 범위를 나타냈고 형광값의 차이는 없었다(Table 5). 다만 5일 동안 시간의 경과와 함께 점차적인 감소가 관찰되었다.

전기분해 염소소독장치를 Expt. 1(10 ppm) 조건에 맞추어 시험수를 처리하였을 때 통과한 해수의 잔류염소농도는 8.7 ppm을 나타냈고, 시험수의 평균 형광값(6.95 FSU)은 0.06 FSU로 감소하였다. 차아염소산나트륨 농도가 목표농도(10 ppm)보다 낮게 나타난 이유는 해수 내에 플랑크톤 생물량이 높을 때 나타날 수 있는 현상이다. Expt. 2(30 ppm)의 조건에서는 처리해수 내 잔류염소농도가 26.6 ppm을 나타냈고, 시험수 내의 평균 형광값(7.11 FSU)이 0.03 FSU로 감소하였다. 처리 직후의 조건에서 나타난 형광값 0.06 FSU와 0.03 FSU는 암실에서 각 잔류염소 농도 하에서 노출된 지 하루째부터 0을 나타냈고, 이 값은 실험 종료 시 까지 이어졌다(Table 5).

3.3.2 동물플랑크톤(>50 µm)

차아염소산나트륨을 발생시키지 않고 염소소독장치에 대조구 시험수를 통과시킨 결과 35.3%의 사망률이 나타났고, 이는 고속(30 cm/sec)으로 통과하는 과정에 발생한 물리적인 충격에 의한 것으로 판단된다. Expt. 1(10 ppm) 조건을 조성하여 전기분해 염소소독장치를 가동시켜 통과한 후 나타난 동물플랑크톤의 사망률은 83%였고, Expt. 2(30 ppm)조건에서는 76%를 나타냈다. 생존율 17%(Expt. 1)와 24%(Expt. 2)는 모두 *Artemia*의 생존에 의한 결과이며, 현장에서 채집된 다른 동물플랑크톤은 모두 사망하였다. *Artemia*의 후속적인 사망여부를 확인하기 위하여 처리수를 암소에 6일간 보관하였다. 소독 장치 통과 후 6일간 매일 각 실험조건(Expt. 1, Expt. 2)에서 500 mL씩 두 번 샘플링(duplicates)하여 관찰되는 *Artemia*의

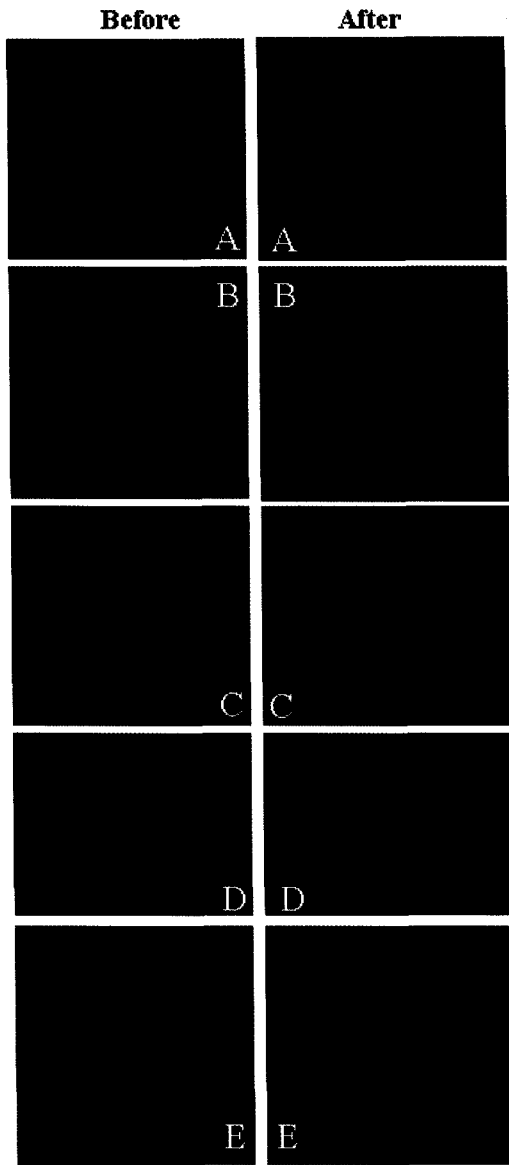


Fig. 2. Planktonic diatoms and dinoflagellates before and directly (~1 hour) after passage through the electrochemical disinfection system. (A: *Coscinodiscus* sp., B: *Chaetoceros* sp., C: *Protoperidinium* sp., D: *Ceratium fusus*, E: *Leptocylindrus danicus*).

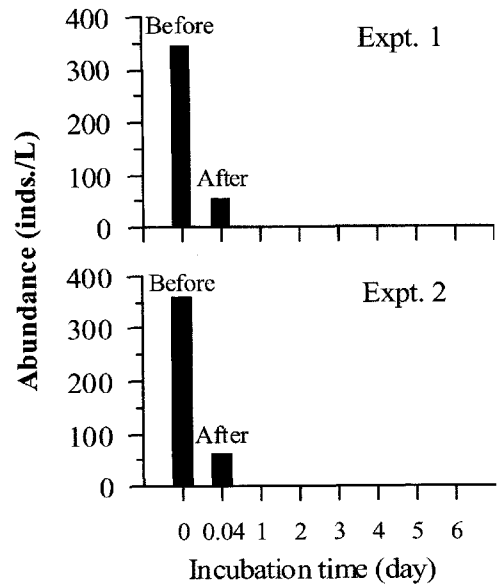


Fig. 3. Abundance of living *Artemia* before and after being passed through the electrochemical disinfection system.

생존여부를 확인하였다. 24시간 노출 뒤 채집한 시료를 현미경하에서 관찰한 결과 각 조건(Expt. 1과 Expt. 2)에서 각각 57 개체/L와 64 개체/L를 나타낸 *Artemia*가 모두 사망하였고, 이후 6일간 살아있는 동물플랑크톤은 관찰되지 않았다(Fig. 3).

3.3.3 박테리아

시험수 내의 종속영양 박테리아 현존량은 대조구와 실험구(10 ppm, 30 ppm) 조건에서 각각 234,688 cells/mL, 137,910 cells/mL, 126,719 cells/mL을 나타냈다. 따라서 처리 전 시험수 내 종속영양 박테리아 현존량이 10⁴ cells/mL 이상이 되어야 한다는 시험수 조건을 만족시켰다. 박테리아 생사판별은 일반세균, 대장균, 대장균 군을 대상으로 시험수와 처리수에서 채집된 시료에서 수행되었고, 48시간 배양을 통해 결정되었다. 처리실험(10 ppm과 30 ppm)을 위한 시험수에서 시료를 채취하여 접종 후 배양한 결과 대장균의 경우 0~2 CFU/mL의 범위를 나타냈고, 대장균군은 없었다. 반면 일반세균은 10 ppm 조건에서 1,440~2,200 CFU/mL의 범위를 나타냈고, 30 ppm 조건에서 2,450~2,700 CFU/mL의 범위로 높았다. 전기분해 염소소

Table 5. Temporal variations of phytoplankton fluorescence and total residual chlorine (TRC) under darkness after electrochemical disinfection treatment.

Time (day)	Test water						Treated water					
	Fluorescence (FSU)			TRC (ppm)			Fluorescence (FSU)			TRC (ppm)		
	Control	Expt. 1	Expt. 2	Control	Expt. 1	Expt. 2	Control	Expt. 1	Expt. 2	Control	Expt. 1	Expt. 2
0	14.33	6.95	7.11	0.06	0.08	0.05	16.13	0.06	0.03	0.09	8.72	26.60
1							10.83	0.00	0.00	0.07	7.05	17.58
2							10.77	0.00	0.00	0.07	5.56	18.35
3							8.97	0.00	0.00	0.06	5.87	16.85
4							7.18	0.00	0.00	0.04	4.97	15.78
5							5.55	0.00	0.00	0.05	4.78	14.76
6							5.37	0.00	0.00	0.05	4.76	15.02

FSU means fluorescence units

Table 6. Colony forming unit (CFU) of 48 hours incubated bacteria before and shortly after electrochemical disinfection treatment (Control, 10 ppm, 30 ppm).

Indicator microbes	Control		Expt. 1: 10 ppm		Expt. 2: 30 ppm	
	Test water (CFU)	Treated water (CFU)	Test water (CFU)	Treated water (CFU)	Test water (CFU)	Treated water (CFU)
<i>E. coli</i>	0	0	2	0	0.3	0
Aerobes	2,240	2,660	1,887	0	2,613	0
Coliform	0	0	0	0	0	0

독장치로 처리한 후에는 모든 조건에서 균주가 나타나지 않았다 (Table 6). 실험 후 처리수를 6일간 암소에 보관하여 두 실험농도 조건에서 매일 시료를 채취하여 배양실험을 하였고, 실험 종료 시 까지 어떤 균주도 출현하지 않았다. 대조구의 시험수에서는 대장균 및 대장균군은 나타나지 않았고, 일반세균의 경우 2,240 CFU/mL을 나타냈다. 대조구 처리수에서도 대장균 및 대장균군은 없었고, 일반세균만이 2,660 CFU/mL로 나타나 시험수와 차이가 없었다.

4. 토 의

전기분해 염소소독기(electrochemical disinfection system)로 수행한 본 실험결과는 시험수가 소독기 내부의 전극을 연속적으로 통과하면서 생성되는 차아염소산 나트륨(10 ppm, 30 ppm)에 처리되는 과정이 자연 상태의 박테리아, 식물플랑크톤 그리고 동물플랑크톤을 효과적으로 살상하였음을 보여주었다. 이 세 그룹의 미생물은 선박 평형수내에 존재하는 주된 구성성분(Drake *et al.* [2002])으로서, 잠재적인 침입종을 효과적으로 살상할 수 있어야 선박 평형수 처리 기술로 채택될 수 있다는 요건(Tamburri *et al.* [2002])에 부합된다. 다양한 그룹의 생물들을 살상하는 것은, 평형수에 존재하는 생물들을 완전히 제거하는 물리적 측면과 생물의 활성을 제거하는 생물학적인 측면 이외에, 처리 후 재생장(regrowth)이 없어야 함을 의미한다. 기존에 미생물을 소독하는데 사용된 활성물질은 염소로서 주로 음용수 내의 대장균(*E. coli*)을 살균하는데 효과적으로 사용되었으며, 최근에는 자외선(Ultraviolet)이 복합적으로 사용되고 있다(Watts and Linden[2007]). 역사적으로는 오존이 1800년대부터 사용되어 왔으나 물속에서 안정성이 떨어져 사용 빈도는 상대적으로 적은 편이다. 자외선을 적극적인 처리방법으로 도입하여 사용한 미국의 복합시스템(a hydrocyclone, self-cleaning screen and a UV treatment system)을 보면 해수내의 탁도가 증가할수록 박테리아의 재생장이 높게 나타나는 것이 보고되었다(Waite *et al.*[2003]). 1차 물리적 처리인 탈수와 자가 청결 필터(50 μ m)로는 박테리아가 걸리지 않기 때문에 전적으로 자외선 처리에 의존되는 시스템이다. 이때 대장균과 대장균 군 그룹이 효과적으로 처리되었으나, 그 효능은 18시간을 넘지 못했다. 이런 관점에서 본다면 미국의 복합시스템은 박테리아 그룹의 생물 처리 성능은 D-2 regulation을 만족시키지 못하는 것으로 판단된다. 반면 본 연구결과에서는 두 개의 차아염소산 나트륨 농도 조건(10, 30 ppm)에서 처리 직후 뿐만 아니라, 처리 후 5일 동안의 거치기

간 동안에 매일 점검하여 확인한 결과 일반세균, 대장균을 포함한 대장균군의 재생장이 관찰되지 않았다. 물론 Waite *et al.*[2003]이 실험에 이용한 해수 내 대장균 수가 USEPA기준인 35 cells/100 mL보다 훨씬 높은 2000 cells/mL의 조건이었고, 박테리아 계수에 적용한 Colilert 18[®] system 방법의 균수 검출방법의 낮은 민감도로 인한 오차의 가능성을 언급했다. 그러나 어떤 해역에서의 어떤 조건이든지 국제해사기구에서 제시하는 D-2 regulation에 부합되어야 한다는 문제는 여전히 남아있다.

Waite *et al.*(2003)이 언급한 바와 같이, 처리결과를 잘 대표할 수 있는 생사판별 방법 채택은 중요한 문제이다. 식물플랑크톤의 경우에도 예외가 아닌데, 현미경 하에서 관독(Cangelosi *et al.* [2007]) 하는 경우, 엽록소 농도를 근간으로 하는 경우(Perrins *et al.*[2006]), 그리고 ATP를 근간으로 하는(Waite *et al.*[2003])방법이 있다. 이 방법들은 처리기술 특성에 대한 식물플랑크톤의 다양한 반응을 근거로 선택된 것으로, 생물량 개념과 종 조성 및 현존량 개념이 혼용되어 있다. 이 중에 활성물질로 처리한 후 엽록소-a 구조가 phaeopigment로 변성되기까지 수 시간에서 수일이 걸리는 엽록소 특성 때문에, 엽록소 농도 추출 방법만으로 처리결과를 대표하는 것은 결과를 왜곡할 수 있다. ATP를 이용한 방법은 생사판별의 정보를 정확히 줄 수는 있으나 10-50 μ m 크기 범위 내에 식물플랑크톤 외에 원생동물이나 요각류 유생과 같은 동물플랑크톤이 존재하고 있어 때로는 구별이 쉽지 않다. 이 때문에 본 연구에서는 식물플랑크톤의 광학적 특성에 근거하여 독립영양성인 종을 판독하기 위해 자가 형광 autofluorescence) 변화를 형광 현미경(Pouneva [1997])과 형광측정기(Turner-Designs 10-AU)로 관독하였고, 타가 영양성이거나 움직임이 있는 종을 판독할 때 광학현미경을 이용하였다. 전기분해 염소소독기로 처리 직후 식물플랑크톤의 활성 및 움직임은 없었고, 이에 대한 재생장 가능성을 확인한 결과 5일간의 거치기간동안 재생장은 없었다.

물리적인 처리방법을 도입한 경우에 여과망에 의한 식물플랑크톤의 100% 제거는 이룰 수 없었고(Waite *et al.* [2003]), 25 μ m와 50 μ m의 여과망을 이용한 경우에는 미세조류(microalgae)의 제거는 탁월하였으나, 2차 처리단계가 필요함을 제안하였다(Cangelosi *et al.*[2007]). 또한 자외선을 처리기술로 내세운 Sutherland *et al.* [2001]의 경우, 처리 후 16일간의 배양기간 뒤에 식물플랑크톤의 재생장이 관측되었고, Waite *et al.*[2003]은 자외선 처리 방법이 미세조류 제거에 효과적이지 않음을 보고하였다. 이 실험들의 경우 모두 국제해사기구에서 제시한 시험수 조건이 아닌 자연 상태의

농도로 수행한 것이다. 시험 전 만족시켜야 하는 시험수 조건은 현존량(standing crop)이 $10^6 \sim 10^7$ cells/L의 범위이며, 이 값은 남해안 연안인 장목만에서의 계절별 식물플랑크톤 현존량 범위($10 \sim 619 \times 10^4$ cells/L)를 기준으로 일 년 중 가장 높은 값에 해당한다(한국해양연구원[2004]). 따라서 자외선을 이용하여 고농도의 기준생물들을 살아가는 세포가 10 cells/mL 미만 수준(D-2 regulation)으로 되게끔 하려면 자외선의 조사량을 증가($> 60 \text{ mW s cm}^{-2}$)시키거나 다른 처리방법을 찾아야 할 필요가 있다. 그러나 여전히 재성장을 억제하는 문제 해결 방안에 대한 기록은 없는 상태이다.

동물플랑크톤의 전기분해 염소소독기 처리 직후의 살상율은 박테리아와 식물플랑크톤과 달리, 10 ppm과 30 ppm 조건에서 각각 83%와 76%로 낮게 나타났다. 이 수치만 보면 평형수 교환방법(open-ocean and mid-ocean exchange method)의 결과와 큰 차이가 없다. 연안역에 출현하는 기수역 종들을 제거하는 효율은 선박 평형수 교환 후 67~86%였으며(Locke et al.[1993]), 예외적으로 87%를 나타낸 경우도 있으나(Zhang and Dickman [1999]), 대부분 비슷한 수준의 효율을 나타냈다(Levings et al.[2004]). 그러나 본 실험결과에서 17%와 24%의 생존율은 시험수 내 동물플랑크톤 군집 중 해양환경에서 직접 채집한 분류군이 모두 사망하고, 일부 살아남은 *Artemia*(brine shrimp)에 기인한 것이었다. 이 *Artemia*는 처리수를 거치시킨 지 24시간 경과한 뒤에 100% 사망하였고, 이후 5일 동안의 거치기간동안 회복되어 살아난 종은 없었다.

최근까지 보고된 동물플랑크톤의 위해 외래종은 이매패류(bivalve)와 복족류(gastropod)의 유생의 수송과 관련되어 있음이 보고되었다(Ruiz et al.[2000]). 이러한 측면에서 볼 때 본 실험 시 출현한 복족류 유생과 생물오손군집(biofouling community)으로서 잘 알려져 있는 따개비류의 유생들 및 저서성 요각류가 100% 사멸한 결과는 차아염소산나트륨 처리를 하였을 경우 외국으로의 수송가능성을 배제할 수 있음을 의미한다. 한편 주로 일본과 한국 근해에 출현하는 부유성 동물플랑크톤인 요각류 *Acartia omorii*가 북해에 도입된 결과가 발표되었고(Seuront, [2005]), 이는 *A. omorii*가 외국해역의 부유생태계에 영향을 끼칠 수 있는 외래종의 가능성을 보여준 결과이기도 하다. 이 종 또한 처리직후 100%사망한 것으로 나타나 외부 환경으로 유출될 가능성은 희박할 것으로 판단되었다.

본 실험결과에서 주목할 점으로서 소독기를 통과한 대조구 시료 내 동물플랑크톤의 사망률이 35.3%인 점이다. 본 실험 목적상 대조구의 의미는 없으나, 전기분해 장치를 가동하지 않은 상태에서 시험수만을 통과시켰을 때 나타날 수 있는 사망률을 보면 이 비율을 차지한 대부분의 생물군은 주로 요각류였고, 빠른 수류에 쉽게 손상을 받는 것으로 여겨졌다. 한편 전기분해 장치를 가동시킨 실험구 조건(10 ppm과 30 ppm)에서 관찰된 요각류 사체의 형태는 대조구와 달리 조각나 있는 형태가 종종 관찰되었다. 이로 보아 소독기 내에서 생성되는 차아염소산 나트륨 이외에 전극에서 발생하는 전위차의 영향도 플랑크톤 살상에 기여하는 것으로 판단되었다.

자외선으로 자연군집의 동물플랑크톤을 처리한 실험 결과는 특정 분류군에 국한되어 살상효과가 나타나거나 시험수 기준 이하의

낮은 개체수 조건의 경우에만 대부분 살상되었음을 나타냈다(Sutherland et al.[2001]; Waite et al.[2003]). 반면 시험수 조건에 준하는 높은 개체수 조건($10^2 \sim 10^3$ 개체/L)이나 모든 분류군을 제거할 수 있는지에 대한 결과는 아직 없으며, 오히려 미세망(50 μm)을 이용한 물리적 제거가 더 높은 효율을 나타냈다는 결과는 있다(Waite et al.[2003]; Tang et al.[2006]; Cangelosi et al.[2007]).

현재까지 각국에서 내놓은 처리방법 중 국제해사기구에 제출해 놓은 대표적인 시스템은 독일의 복합시스템(원심분리기, 필터 그리고 Peraclean)(Germany[2003])과 스웨덴의 자동청결여과장치와 고도산화처리기술(AOT: Advanced Oxidation Technology)로 구성된 복합시스템(Sweden[2003]), 그리고 일본의 충격 및 캐비테이션 방법을 이용한 시스템(special pipe처리+활성물질처리)이 있다. 살상효과는 독일의 복합시스템의 처리결과가 모든 생물그룹에 대해 100%로 나타나 본 연구결과와 동일하였다. 이에 반해 스웨덴에서 사용한 고도 산화 처리기술은 동물플랑크톤($>50 \mu\text{m}$)의 경우 99.7%, 식물플랑크톤(10-50 μm)은 99.5% 그리고 박테리아와 대장균은 99.9%의 사멸효율을 각각 나타내, 재성장의 가능성이 높은 것으로 나타났다. 이처럼 복합적 처리방법을 선호하는 이유는 기존에 사용된 방법들(평형수 교환, 여과, 열처리, 자외선 등)의 생물 살상효과가 100%를 나타내지 못했기 때문이다(Gregg and Hallegraef [2007]). 다른 국가에서 개발된 형식이 복합시스템인 반면, 본 실험은 물리적인 제거장치가 없고 전극장치에서 발생하는 전위차와 활성물질을 이용하여 생물처리기준(D-2 regulation)을 만족시켰다는데 차이점이 있다.

국제해사기구에서 직접적으로 고려하고 있지 않으나 간과할 수 없는 생물그룹으로서 유독성 미세조류의 포자(cyst)와 동물플랑크톤의 휴면란(diapause eggs)이 있다. 요각류(copepods), 지각류(cladocerans) 및 윤충류(rotifers)를 포함한 많은 동물플랑크톤 들은 생존에 부적합한 조건(빈산소, 갈수기, 낮거나 높은 수온 및 염분)에 반응하여 휴면란을 생산한다 (Bailey et al.[2004]). 이러한 특성은 생존의 가능성을 높이게 되는 중요한 기작이며, 환경 조건이 생존에 적합하게 되는 시기까지 견딜 수 있게 해준다. 이는 비단 동물플랑크톤 뿐만이 아니라 식물플랑크톤에게도 해당되는데, 유독 외편모류(toxic dinoflagellates)의 포자의 경우 선박 평형수 혹은 퇴적물 표면 또는 입자에 부착되어 일반적으로 출현한다(Hallegraef [1998]). 오랜 기간 동안 항해중인 선박의 평형탱크 내부 환경은 식물플랑크톤이나 동물플랑크톤이 포자 및 휴면란을 생산하도록 자극할 수 있는 조건이다. 이들이 퇴적물에 가라앉아 있다가 포자의 경우 성숙기를 거쳐 발아조건이 갖춰진 타 해역에 배출되면 예상치 못한 유독 미세조류의 대 발생이 나타나며, 호조건의 환경을 만나게 되면 휴면란에서 부화하여 생물 먹이망의 하부 구조에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 이유로 Gray et al.[2005]은 선박 평형수 탱크 내 퇴적물에 있는 무척추동물란(invertebrate eggs)을 사멸시키기 위해 차아염소산나트륨을 이용한 실험을 하였는데, 1000 mg/L로 처리한 경우 나타난 부화율이 11% 미만이었으며, 그 보다 낮은 농도로 갈수록 부화율이 점차 증가하였다. 이런 측면

에서 선박 평형수 탱크 내에 고농도의 활성물질이 잔존하는 것은 후속적으로 살아남을 수 있는 휴면란을 사멸시키는데 필수적인 과정으로 여겨진다. 그러나 1,000 ppm은 과도하게 높은 농도로서 탱크 내 부식문제를 야기할 뿐만 아니라 해양환경에 배출된 후 정상치로 감소하기까지 생태계 구성생물들에 악영향을 끼칠 것은 자명하다. 따라서 본 실험에서 플랑크톤을 효과적으로 사멸시킬 수 있으면서도 환경에 대한 영향을 최소화 할 수 있는 농도로서 10 ppm과 30 ppm을 설정한 것은 이와 같은 이유이며, 환경에 영향을 끼치는 정도를 줄이기 위한 처리방법을 개발하기 위한 노력이 여러 연구자들에 의해 진행 중에 있다(Tamburri *et al.*[2002]; Tang *et al.*[2006]).

활성물질이 포함된 처리수가 항구에 인접한 연안역 환경에 끼치는 위해성을 고려하는 것은 처리기술을 개발 하는 데에 있어서 또 다른 중요한 변수이다(Tamburri *et al.*[2002]). 차아염소산나트륨은 그 자체가 불안정하고 들뜬 상태이며, 자외선이 있는 곳에서 자연적으로 염화나트륨으로 복원되는 특징이 있다(Jeong *et al.*[2002]; 윤 등[2005]). 그러나 해양환경에 노출된 고농도의 차아염소산나트륨이 비검출 수준까지 감소하기까지 기존에 서식해있는 생물들이 영향을 받을 것은 자명하다. 따라서 배출하기 전에 차아염소산 나트륨을 중화(neutralization)시킬 필요가 있으며, 이에 대한 독성평가가 필요하다. 차아염소산나트륨 30 ppm을 생성시킨 후 중화제인 sodium thiosulfate($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)로 중화시킨 해수와 대조구로서 자연해수를 준비하여 어류노출실험을 수행하였다(Korea [2005]). 사용된 어류는 평균길이 9.98 cm와 평균무게 13.4 g인 감성돔이었으며, 24시간 동안 노출시킨 결과 사망률은 0%였다(Korea [2005]). 따라서 전기분해 염소소독기 방법을 적용하였을 경우, 배출하기 전 차아염소산나트륨을 중화시키는 것이 해양환경에 미칠 수 있는 위해성을 줄일 수 있는 한 방법으로 여겨졌다.

향후 선박 평형수를 매개로 한 외래종의 이동 억제제를 위한 처리대상을 국제해사기구에서 주목하는 세 가지 부유생물그룹 외에 어류, 해조류, 저서성 동물플랑크톤, 각종 휴면포자, 휴면란 및 부착생물 등으로 확대할 필요가 있다. 그 이유로 선박 평형수 탱크 바닥 퇴적물에서 다양한 분류군의 저서성 생물이 나타나며(Calton and Geller[1993]), 어류(Williams *et al.*[1988])뿐만 아니라, 선박 표면에 부착된 생물오손군집(ship hull biofouling) 또한 외래종 도입의 매개체로 알려져 있기 때문이다(Gollasch[2002]). 따라서 탱크 바닥 퇴적물과 선체 표면에서 생존하여 서식하고 있는 특정종들을 정의하고, 이 종들의 생태학적인 특성규명과 함께 제어방법이 개발되어야 할 것이다. 이는 관련분야 과학자들이 공통적으로 인식하고 있는 문제이며(유 등[2006]), 매년 국제해사기구에서 열리는 해양환경보호위원회에서 주요 의제로 다루어지고 있다.

요약하면, 국제해사기구 협약에서 제시한 생물조건을 만족한 시험수를 전기분해 염소소독기로 처리한 결과, 박테리아와 식물플랑크톤(10-50 μm)의 경우 두 농도 조건(10 ppm, 30 ppm)하에서 100% 사멸되었다. 반면 동물플랑크톤(>50 μm)의 경우 처리 직 후의 사망률이 83%와 76%에 그쳤으나, 처리수에 거치시킨 결과 24시간 뒤에 모두 사망하였다. 처리 이후 5일 동안의 거치기간 중 되살아

난 생물그룹은 없었으며, 잠재적으로 위해성을 지닌 플랑크톤인 외편모조류와 복족류와 따개비류의 유생이 100% 사멸되었다. 또한 처리수를 중화시켰을 때 배출이후 해양환경에 대한 잠재적 위해성을 배제할 수 있어 국제해사기구 협약에 명시된 선박 평형수 생물 처리 및 지침기준을 만족한 것으로 나타났다.

사 사

본 논문을 검토하여 주신 심사위원과 실험 및 분석을 도와주신 실험실 연구원들께 감사드립니다. 본 논문은 한국해양연구원의 “항만 환경위해도 평가기술 개발연구(PP07402)” 사업과 “외래생물 위해성 평가 및 밸러스트 수 생물실험(PM42700)” 사업의 지원으로 작성되었습니다.

참고문헌

- [1] 유정규, 송태윤, 홍현표, 정경미, 명철수, 2006, “한국에 입항한 선박 밸러스트 수에 존재하는 해양부유생물”, *Ocean and Polar Res.*, Vol. 28, 57-65.
- [2] 윤범상, 노준혁, 김광일, 박광석, 김홍락, 2005, “밸러스트 수 처리기술개발 I (해수전해법의 적용가능성 연구)”, 한국해양환경공학회지, 제8권 제4호, 174-178.
- [3] 한국해양연구원, 2004, “단주기 관측을 이용한 해양 환경변화에 따른 부유생태계 변화 연구”, 한국해양연구원, BSPE 88600-1698-3. pp. 53-88.
- [4] APHA(American Public Health Association), 1985, Standard methods for the examination of water and wastewater, Port City Press, 742-748.
- [5] Bailey, S.A., Duggan, I.C., Van Overdijk, C.D.A., Johengen, T.H., Reid, D.F. and Macisaac, H.J., 2004. “Salinity tolerance of diapausing eggs of freshwater zooplankton”, *Freshwater Biol.*, Vol. 49, 286-295.
- [6] Cangelosi, A.A., Mays, N.L., Balcer, M.D., Reavie, E.D., Reid, D.M., Sturtevant, R. and Gao, X., 2007. “The response of zooplankton and phytoplankton from the North American Great Lakes to filtration”, *Harmful Algae*, Vol. 6, 547-566.
- [7] Carlton, J.T. and Geller, J.B., 1993, “Ecological Roulette: The Global Transport of Nonindigenous Marine Organisms”, *Science*, Vol. 261, 78-82.
- [8] Chihara, M. and Murano, M., 1997, *An Illustrated Guide to Marine Plankton in Japan*, Tokai University Press.
- [9] Cupp, E.E., 1977, *Marine plankton Diatoms of the west coast of north America*, Otto Koeltz Science Publishers, Germany.
- [10] Dickman, M. and Zhang, F., 1999, “Mid-ocean exchange of container vessel ballast water. 2: Effects of vessel type in the transport of diatoms and dinoflagellates from Manzanillo”, Mexico, to Hong Kong, China, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 176, 253-262.
- [11] Dodge, J.D., 1982, *Marine Dinoflagellates of the British Isles*, Her Majesty's stationery office, London.
- [12] Drake, L.A., Ruiz, G.M., Galil, B.S., Mullady, T.L., Friedmann,

- D.O. and Dobbs, F.C., 2002, "Microbial ecology of ballast water during a transoceanic voyage and the effects of open-ocean exchange", *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 233, 13-20.
- [13] Germany, 2003, Marine Environmental Protection Committee (MEPC), Harmful Aquatic Organisms in ballast water, Documentation of Ballast Water Management Systems in Germany, submitted by Germany, MEPC 53/2/11.
- [14] Gollasch, S., 2002, "The importance of ship hull fouling as a vector of species introductions into the North Sea", *Biofouling*, Vol. 18, 105-121.
- [15] Gray, D.K., Duggan, I.C. and MacIsaac, H.J., 2005, "Can sodium hypochlorite reduce the risk of species introductions from diapausing invertebrate eggs in non-ballasted ships?", *Mar. Pollut. Bull.*, Vol. 52, 689-695.
- [16] Gregg, M.D. and Hallegraeff, G.M., 2007, "Efficacy of three commercially available ballast water biocides against vegetative microalgae, dinoflagellate cysts and bacteria", *Harmful Algae*, Vol. 6, 567-584.
- [17] Hallegraeff, G.M., 1998, "Transport of toxic dinoflagellates via ship's ballast water: bioeconomic risk assessment and efficacy of possible ballast water management strategies", *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 168, 297-309.
- [18] Hays, K.R. and Sliwa, C., 2003, "Identifying potential marine pests: a deductive approach applied to Australia", *Mar. Pollut. Bull.*, Vol. 46, 91-98.
- [19] Jeong, H.J., Kim, H.R., Kim, K.I., Kim, K.Y., Park, K.H., Kim, S.T., Yoo, Y.D., Song, J.Y., Kim, J.S., Seong, K.A., Yih, W.H., Pae, S.J., Lee, C.H., Huh, M.D. and Lee, S.H., 2002, "NaOCl produced by electrolysis of natural seawater as a potential method to control marine red-tide dinoflagellates", *Phycologia*, Vol. 41, No. 6, 643-656.
- [20] Korea, 2005, Marine Environmental Protection Committee (MEPC), Harmful Aquatic Organisms in ballast water, Application for basic approval of active substances used by Electro-Clean (Electrolytic disinfection) ballast water management system, submitted by the Republic of Korea, MEPC 53/2/11.
- [21] Levings, C.D., Cordell, J.R., Ong, S. and Piercey, G.E., 2004, "The origin and identity of invertebrate organisms being transported to Canada's Pacific coast by ballast water", *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Vol. 61, 1-11.
- [22] Lewis, P.N., Hewitt, C.L., Riddle, M. and McMinn, A., 2003, "Marine introductions in the Southern Ocean: an unrecognized hazard to biodiversity", *Mar. Pollut. Bull.*, Vol. 46, 213-223.
- [23] Locke, A., Reid, D.M., Van Leeuwen, H.C., Sprules, W.G. and Carlton, J.T., 1993, "Ballast water exchange as a means of controlling dispersal of freshwater organisms by ships", *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Vol. 50, 2086-2093.
- [24] Orsi, J.J. and Ohtsuka, S., 1999, "Introduction of the Asian copepods *Acartiella sinensis*, *Tortanus dextrilobatus* (Copepoda: Calanoida), and *Limnoithona tetraspina* (Copepoda: Cyclopoida) to the San Francisco Estuary", *California, USA, Plankton Biol. Ecol.*, Vol. 46, No. 2, 128-131.
- [25] Perrins, J.C., Cordell, J.R., Ferm, N.C., Grocock, J.L. and Herwig, R.P., 2006, "Mesocosm experiments for evaluating the biological efficacy of ozone treatment of marine ballast water", *Mar. Pollut. Bull.*, Vol. 52, 1756-1767.
- [26] Pouneva, I., 1997, "Evaluation of algal culture viability and physiological state by fluorescent microscopic methods", *Bulg. J. Plant Physiol.*, Vol. 23, 67-76.
- [27] Porter, K.G. and Feig, Y.S., 1980, "The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora", *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 25, 943-948.
- [28] Ruiz, G.M., Rawlings, T.K., Dobbs, F.C., Drake, L.A., Mullady, T., Huq, A. and Colwell, R.R., 2000, "Global spread of microorganisms by ships", *Nature*, Vol. 408, 49-50.
- [29] Seuront, L., 2005, "First record of the calanoid copepod *Acartia omorii* (Copepoda: Calanoida: Acartiidae) in the southern bight of the North Sea", *J. Plankton Res.*, Vol. 27, 1301-1306.
- [30] Shim J.-H., 1994, Korean Animal and Plant Picture Book, Volume 34, "Plants (Sea Phytoplankton)", Ministry of Education, Korea.
- [31] Sutherland, T.F., Levings, C.D., Elliott, C.C. and Hesse, W.W., 2001, "Effect of a ballast water treatment system on survivorship of natural populations of marine plankton", *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 210, 139-148.
- [32] Sweden, 2003, Marine Environmental Protection Committee (MEPC), Harmful Aquatic Organisms in ballast water, Information to be considered by the review group, submitted by Sweden, MEPC 53/2/6.
- [33] Tamburri, M.N., Wasson, K. and Matsuda, M., 2002, "Ballast water deoxygenation can prevent aquatic introductions while reducing ship corrosion", *Biological Conservation*, Vol. 103, 331-341.
- [34] Tang, Z., Butkus, M.A. and Xie, Y.F., 2006, "Crumb rubber filtration: A potential technology for ballast water treatment", *Mar. Environ. Res.*, Vol. 61, 410-423.
- [35] Tomas, C. R. (1997). Identifying marine phytoplankton. 858pp.
- [36] Watts, M.J. and Linden, K.G., 2007, "Chlorine photolysis and subsequent OH radical production during UV treatment of chlorinated water", *Water Res.*, Vol. 41, 2871-2878.
- [37] Waite, T.D., Kazumi, J., Lane, P.V.Z., Farmer, L.L., Smith, S.G., Smith, S.L., Hitchcock, G. and Capo, T.R., 2003, "Removal of natural populations of marine plankton by a large-scale ballast water treatment system", *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 258, 51-63.
- [38] Williams, R.J., Griffiths, F.B., Van der Wal, E.J. and Kelly, J., 1988, "Cargo vessel ballast water as a vector for the transport of non-indigenous marine species", *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, Vol. 26, 409-420.
- [39] Yamaji, I., 1984, Illustrations of the marine plankton of Japan. Hoikusha Publishing Co. Ltd., Japan.
- [40] Zhang, F. and Dickman, M., 1999, "Mid-ocean exchange of container vessel ballast water. I: Seasonal factors affecting the transport of harmful diatoms and dinoflagellates", *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 176, 243-251.

2006년 7월 1일 원고접수

2007년 8월 20일 수정본 채택