

## 내분비장애물질 Nonylphenol이 미세조류, 종속영양편모충, 동물플랑크톤의 개체군 성장에 미치는 영향

이주한<sup>1,2</sup> · 이해옥<sup>1</sup> · 김백호<sup>1</sup> · T. Katano<sup>1</sup> · 황수옥<sup>2</sup>  
김대현<sup>2</sup> · 한명수<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>한양대 생명과학과, <sup>2</sup>한국수자원공사 팔당권관리단)

Effects of Nonylphenol on the Population Growth of Algae, Heterotrophic Nanoflagellate and Zooplankton. Lee, Ju-Han<sup>1,2</sup>, Hae-Ok Lee<sup>1</sup>, Baik-Ho Kim<sup>1</sup>, Toshiya Katano<sup>1</sup>, Su-Ok Hwang<sup>2</sup>, Dae-Hyun Kim<sup>2</sup> and Myung-Soo Han<sup>1,\*</sup> (<sup>1</sup>Department of Life Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea; <sup>2</sup>Paltang Regional Office, Korea Water Resources Corporation, Gyeonggi 465-130, Korea)

Nonylphenol (NP) has been well known as a major substance of surfactant and/or estrogenic environmental hormone. We tested toxic effects of nonylphenol on the population growth and development of aquatic organism such as algae (*Microcystis aeruginosa*), heterotrophic nanoflagellate (*Diphyllia rotans*), micro- (*Brachionus calyciflorus*) and macro-zooplankton (*Daphnia magna*) among eutrophic water food-web constituents. Dosage of NP treatment were 4 to 5 grades, according to each organism's tolerance based on pre-experiments; algae (0.01, 0.05, 0.10, 1.00 mg L<sup>-1</sup>), *Diphyllia rotans* (0.5, 1, 2.5, 5, 10 µg L<sup>-1</sup>), *Brachionus calyciflorus* (0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 µg L<sup>-1</sup>), and *Daphnia magna* (0.5, 1, 5, 10, 50 µg L<sup>-1</sup>), respectively. Toxic effects were measured by the changes of biomass of each organism after NP treatment. All experiments were triplication. As suggested, the higher concentration of NP treatment, the stronger inhibited the population growth of all organisms tested. In view of toxicity, a variety of concentration of NP showed a significant growth inhibition to organism; algae to 0.05 mg L<sup>-1</sup>, *D. rotans* and *B. calyciflorus* to 1.0 µg L<sup>-1</sup>, and *D. magna* to 5.0 µg L<sup>-1</sup>, respectively. The EC<sub>50</sub> of each organism to the nonylphenol are as follows; *B. calyciflorus* (2.49 µg L<sup>-1</sup>), *D. rotans* (3.49 µg L<sup>-1</sup>), *D. magna* (7.61 µg L<sup>-1</sup>), and *M. aeruginosa* (47 µg L<sup>-1</sup>). NP toxic effects on the development of zooplankton like egg production showed some differences in treatment concentration between *Brachionus calyciflorus* (0.1~1NP µg L<sup>-1</sup>) and *Daphnia magna* (0.5~5 NP µg L<sup>-1</sup>). These results suggest that a strong growth inhibition of predator or grazer by the nonylphenol can stimulate the algal growth, or can play important role in evoking the nuisance algal bloom in eutrophic water with enough nutrients.

**Key words :** *Brachionus calyciflorus*, *Daphnia magna*, *Diphyllia rotans*, endocrine disrupting chemicals, *Microcystis aeruginosa*, nonylphenol, population growth, toxicity

\* Corresponding author: Tel: (02) 2220-0956, Fax: (02) 2296-1741, E-mail: hanms@hanyang.ac.kr

## 서 론

내분비장애물질(endocrine disrupting chemicals, EDC)은 내분비계를 갖는 다양한 수중동물의 이상발생, 생식기형, 정자수 감소 등 불임유발, 신경계와 면역계 이상, 심지어 암을 유발하는 물질로 알려지고 있으나 대부분의 연구는 폐류나 어류 등에 집중되어 있고(Gray and Metcalfe, 1997; Gimeno *et al.*, 1998; Schwaiger *et al.*, 2000; Yadetie and Male, 2002), 이보다 하등한 수중생물에 대한 연구는 빈약하다.

Nonylphenol (NP)은 계면활성제나 합성세제의 주된 원료로서 산화에틸렌(ethylene oxide)을 첨가 반응시켜 섬유직물의 염색가공 등에 광범위하게 이용되며(Sibley *et al.*, 2000), Alkylphenol polyethoxylates의 분해산물로 대표적인 Estrogenic hormone으로서 자연계 노출농도는 매년 증가 추세를 보이고 있다(Giger *et al.*, 1984; Chapin *et al.*, 1999). 미국과 유럽에서는 NP 규제농도를  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 로 규정하고 있으며(Renner, 1997), 국내에서도 최근 그 중요성을 인식하고 자연계 농도 측정 및 NP 동태에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다(Kim *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2004). 특히 이들은 수중 생태계 먹이망에 유입되어 생물학적 농축과정을 거치면서 수중생물은 물론 사람의 건강까지도 위협할 수 있기 때문에 정기적인 노출 농도의 모니터링은 물론 보다 다양한 생물에 대한 독성평가 역시 중요하다 하겠다(Li *et al.*, 2004).

수중생물에 대한 NP의 독성농도(LC<sub>50</sub>)는 플랑크톤 29~129  $\mu\text{g L}^{-1}$ (Hense *et al.*, 2005), 동물플랑크톤 65~85  $\mu\text{g L}^{-1}$ (Tanaka and Nakanishi, 2002), 무척추동물 20~3,000  $\mu\text{g L}^{-1}$ (Bettinetti *et al.*, 2002; Matozzo *et al.*, 2003), 어류 17~3,000  $\mu\text{g L}^{-1}$ (Kashiwada *et al.*, 2002; Matozzo *et al.*, 2003)로 넓은 범위를 갖는다. 자연계 NP 노출 농도 역시 선행연구들의 보고-국외(Naylor, 1992; Ahel *et al.*, 1994; Blackburn and Walddock, 1995), 국내(김, 2002a, b; 김 등, 2003; Li *et al.*, 2004) 역시 매우 폭 넓은 범위를 갖는다. 이러한 범위는 특히, 국내의 NP농도는 한강 23.2~187.6  $\mu\text{g L}^{-1}$ (Li *et al.*, 2004), 낙동강 25.1  $\mu\text{g L}^{-1}$ (김 등, 2003)으로 보고되었는데, 본 연구에 사용된 *Microcystis aeruginosa* (47  $\mu\text{g L}^{-1}$ )를 제외한 나머지 수중생물-Daphnia magna (7.61  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), *Diphyllleia rotans* (3.49  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), *Brachionus calyciflorus* (2.49  $\mu\text{g L}^{-1}$ )보다 훨씬 높은 수준으로서 자연수계에서 동물플랑크톤 및 편모충의 분포 및 성장에 결정적인 역할을 할 것으로 판단되었다.

수중생물에 미치는 NP의 독성영향은 주로 어류, 양서류, 복족류, 포유류 위주로 하는 일반독성, 발생 및 생식 독성에 관한 연구가 대부분이었으며(Mann and Bidwell, 2000; Amaral Mendes, 2002), 미세조류, 종속영양편모충, 동물플랑크톤과 같은 하등생물군을 대상으로 하는 연구는 매우 빈약한 편이다(Hense *et al.*, 2005). 일반적으로 수계는 매우 다양한 생물군의 복잡한 먹이관계가 형성되어 있기 때문에 특정생물군, 특히 고등생물(양성발생)만을 대상으로 하는 독성평가는 내분비장애물질이 생태계나 구성생물에 미치는 종합적인 독성영향을 정확하게 이해하기는 어렵다. 아울러 지금까지 환경으로 유입된 유해 화학물질이 어떠한 기작을 통하여 상위 또는 하위인자들에게 독성 영향을 주는 지에 대한 연구는 주로 중금속이나 농약류 등에 집중되어 왔다(Sugiura, 1996; Traunspurger *et al.*, 1996; 위 등, 2002). 수계에 노출된 유해 화학물질은 생물에게 직접 독성작용을 하거나 생분해가 어려운 물질들은 체내에 축적되고 이들은 다시 먹이사슬을 따라 상위단계의 고차 소비자에게 전달되는 이른바, 생물농축과정을 통하여 상위 소비자나 사람에게까지 그 독성을 전달하게 된다. 따라서 수중 내 NP농도가 하등생물군에 미치는 영향을 정확히 이해하는 일은 상위인자에 미치는 다양한 독성영향 못지않게 환경독성 및 생태학적으로도 매우 의미있다고 판단된다.

따라서 본 연구는 내분비장애물질 NP이 수중생태계, 특히 하등생물의 개체군 성장에 어떠한 영향을 주는지를 이해하기 위하여, 미세조류(*Microcystis aeruginosa*), 종속영양편모충(*Diphyllleia rotans*), 소형(*Brachionus calyciflorus*) 또는 대형동물플랑크톤(*Daphnia magna*)을 각각 1종 택하여, 다양한 농도로 제작된 NP를 각 배양계에 일정량 처리하고 각 개체군의 성장패턴을 조사하였다. 아울러, 무성생식과 유성생식을 동시에 하는 두 동물플랑크톤 *B. calyciflorus*와 *D. magna*를 대상으로 NP이 동물플랑크톤의 발생에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 내분비장애물질 Nonylphenol의 제조

본 연구에 사용된 내분비장애물질 nonylphenol (NP, C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O, Aldrich Inc., USA)은 stock solution (100 mg L<sup>-1</sup>)를 실험당일 제조하여 희석하여 사용하였다. EDs의 균질화를 위해 사용된 용매는 예비실험을 거쳐 독성효과가 적은 100% acetone을 이용하였다(Meregalli *et al.*, 2001; Kwak and Lee, 2004). 각 생물군에 NP의 투여농

도는 호수나 하천수에서 검출되는 농도를 고려하여 4단계로( $\times 1, \times 10, \times 100, \times 1,000$ ) 예비 실험을 거친 후 개체군에 따른 유효농도 범위를 설정하였으며, 대수기에 도달한 각 생물군에 처리한 후, 생물군의 성장이나 발생특성을 조사하였다.

**2. 유해남조 *Microcystis aeruginosa* 성장에 미치는 영향**

남조 *Microcystis aeruginosa* NIES 44는 일본국립환경연구소(NIES)에서 분양 받아 CB배지를 이용하여 (Table 1), 25~28°C, 40~80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 12:12 (Light:Dark) cycle, 150 rpm 조건으로 교반 배양하였다. 세포는 구형 또는 난형이고, 크기는 3~5  $\mu\text{m}$ 이며, 계대배양 동안 군체를 형성하지 않았다. NP의 독성실험은 조류밀도가  $1 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$  되도록 25 mm test tube에 CB배지를 20 mL씩 각각 분주하고 2 mL의 *M. aeruginosa* NIES 44를 접종한 다음 전술한 배양조건에서 배양하였다. NP처리하는 조류세포의 대수성장기(배양 11일째)에 NP농도를 0.01, 0.05, 0.10, 1.00  $\text{mg L}^{-1}$ 이 되도록 처리하고, 용매의 독성영향을 확인하기 위하여 최종농도 3.00  $\text{mg L}^{-1}$ 의 acetone이 되도록 처리하였다. NP의 독성효과를 확인하기 위하여, 교란물질 처리 이후 매일 동일한 시간에 배양제로부터 20  $\mu\text{L}$ 를 각각 채취하여 Lugol solution으로 고정

**Table 1.** Chemical composition of CB medium used for the culture of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*.

Chemicals	Content
Ca(NO <sub>3</sub> ) · 4H <sub>2</sub> O	15 mg
KNO <sub>3</sub>	10 mg
β-Na <sub>2</sub> glycerophosphate	5 mg
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	4 g
Vitamin B <sub>12</sub>	0.01 $\mu\text{g}$
Biotin	0.01 $\mu\text{g}$
Thiamine HCl	1 $\mu\text{g}$
PIV metals	0.3 mL
Distilled water	99.7 mL
pH	7.5
<hr/>	
PIV metals	
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	19.6 mg 100mL <sup>-1</sup>
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	3.6 mg 100mL <sup>-1</sup>
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	2.2 mg 100mL <sup>-1</sup>
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.4 mg 100mL <sup>-1</sup>
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.25 mg 100mL <sup>-1</sup>
Na <sub>2</sub> EDTA · 2H <sub>2</sub> O	100 mg 100mL <sup>-1</sup>

한 다음, 광학현미경 (Olympus, Japan) 400배 하에서 Haemocytometer로 계수하였다. 세포형태 변화는 동일 기종의 현미경 1,000배 하에서 검정하였으며, 모든 실험은 3회 반복 실시하였다.

**3. 편모충 *Diphyllleia rotans* 성장에 미치는 영향**

중속영양편모충 *Diphyllleia rotans* HYFJ0406-B1는 현재 본 연구실(한양대학교)에서 유지하고 있는 종으로 세포는 두 개의 편모를 갖고 세포크기는 15×20  $\mu\text{m}$ 로 무방향적 회전운동을 하며 ventral groove를 통해 먹이를 섭식하는 특징을 갖고 있다(Kim et al., 2006). 배양은 팔당호의 원수를 0.45  $\mu\text{m}$  GF/F filter로 여과한 후 사용하여, 25~28°C, 40~80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 12:12 (Light:Dark) cycle, 150 rpm으로 배양하였다. NP처리하는 실험당일 4단계 농도(0.5, 1, 2.5, 5, 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ )를 제작하여 대수성장기에 도달한 편모충 *D. rotans* ( $1 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ )에 접종한 후, 성장특성을 조사하였다. 편모충 계수는 배양제로부터 동일시간에 매일 1 mL씩 채취하여 Glutaraldehyde로 고정한 후, 광학현미경 (Olympus, Japan) 400배 하에서 계수하였으며, 형태변화는 광학현미경 (Olympus, Japan) 1,000배 하에서 관찰하였다. 모든 실험은 3회 반복 실시하였다.

**4. 소형동물플랑크톤 *Brachionus calyciflorus* 성장에 미치는 영향**

담수산 rotifer, *Brachionus calyciflorus*는 강릉대학교에서 분양 받아 빠른 성장을 하는 clone을 분리하기 위해 10개체의 female을 10일 동안 20 mL의 시험관에서 각각 배양한 후, 성장률이 가장 높은 clone을 선택하였다. 선택된 clone은 28°C에서 먹이로 *M. aeruginosa*를 공급하여 배양하였다. 배양은 탈염시킨 수돗물을 이용하여 내구관이 없는 것으로 28°C, 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 12L:12D 조건에서 실시하였으며, 실험 2일전부터 먹이를 공급하지 않았다. NP 독성실험은 실험당일 NP를 4단계 농도(0.1, 0.5, 1, 2.5, 5  $\mu\text{g L}^{-1}$ )로 제작하여, 대수기에 도달한 *B. calyciflorus* ( $1 \times 10^3 \text{ cells mg L}^{-1}$ )를 접종한 배양계에 동시에 넣고 배양한 후, 12시간 간격으로 *B. calyciflorus*의 현존량 변화를 조사하였다. NP에 의한 발생독성을 파악하기 위하여 male, female, amictic egg, mictic egg, dead cell 등으로 구분하여 해부현미경 (Carl Zeiss, German) 40배 하에서 계수하였다. 모든 실험은 NP를 넣지 않은 대

조균을 포함하여 3회 반복 실시하였다.

## 5. 대형동물플랑크톤 *Daphnia magna* 성장에 미치는 영향

담수산 물벼룩 *Daphnia magna*는 독일 BBE (biological biophysical engineering)사에서 분양 받아 팔당댐 원수를 여과하여 20°C, 40 µmol s<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup>, 12L:12D 조건에서 유지하였다. 유지 먹이로는 *M. aeruginosa*를 이용하였으며, 1주일 간격으로 배양수를 교체하였다. 실험은 탈염시킨 수돗물을 이용하여 내구란이 없는 것으로 rotifer와 동일한 조건에서 실시하였으며, 실험 2일전부터 먹이를 공급하지 않았다. NP 독성실험은 실험당일 NP를 4단계 농도(0.5, 1, 5, 10, 50 µg L<sup>-1</sup>)로 제작하여, 대수기에 도달한 *D. magna* (1 × 10<sup>3</sup> cells mL<sup>-1</sup>)를 접종한 배양계에 동시에 넣고 배양한 후, 12시간 간격으로 *D. magna*의 현존량 변화를 조사하였다. NP에 의한 발생독성을 파악하기 위하여 male, female, amictic egg, mictic egg, dead cell 등으로 구분하여 해부현미경 (Carl Zeiss, German) 40배 하에서 계수하였다. 모든 실험은 3회 반복 실시하였다.

## 6. 자료 분석

NP처리에 따른 독성효과를 분석하기 위하여 paired T-test를 실시하여 LOEC (Lowest-Observed-Effect-Concentration)를 결정하였으며 (p < 0.05, p < 0.01), 생물성장을 50%로 감소시키는 EC<sub>50</sub> (effective concentration)은 순간성장율 (instantaneous growth rates)과 회귀식 (regression analyses)을 통해 각각 산출하였다 (SPSS 12.0 for windows, 2003).

## 결 과

### 1. Nonylphenol이 조류 *Microcystis aeruginosa*의 성장에 미치는 영향

대수기 조류세포에 다양한 농도로 조절된 NP를 처리한 다음, 광학현미경 1,000배 하에서 관찰한 소견은 다음과 같다. 남조 *M. aeruginosa*에 NP처리 이후 농도에 따른 형태적 차이는 시간에 따라 세포 내 thylakoid membrane이 투명하게 변하며 세포벽의 손실로 인하여 세포 크기가 점차 작아지고, 세포내용물과 배양수의 차이가 없어지는 사멸과정을 보였다 (미발표). 또한 다양한 농도의 NP를 처리한 이후 조류의 성장은 0.01~0.1 mg L<sup>-1</sup>의 농

도에서는 대조군과 거의 유사하게 이루어졌으나, 1.0 mg L<sup>-1</sup>에서는 급격하게 세포수가 감소하여 배양 6일째에는 현미경 시야에서 관찰되지 않았다 (Fig. 1 upper). 조류 *M. aeruginosa*에 대한 LOEC는 50 µg L<sup>-1</sup>, 96 hr-EC<sub>50</sub>은 47 µg L<sup>-1</sup> (p < 0.05)로 각각 산정되었다.

### 2. Nonylphenol이 편모충 *Diphyllleia rotans*의 성장에 미치는 영향

다양한 농도의 NP (0.5, 1, 2.5, 5, 10 µg L<sup>-1</sup>)를 대수기의 편모충 *D. rotans*에 처리한 결과, 총 132시간 배양 동안 대조군은 logistic curve 패턴을 보였으나, 처리군에서는 LOEC (1.0 µg L<sup>-1</sup>)에서부터 농도증가에 비례하여 유의하게 성장억제를 보였고, 10 µg L<sup>-1</sup>에서는 24시간 이내에 완전 사멸하였다 (Fig. 1 lower). 또한 편모충에 대한

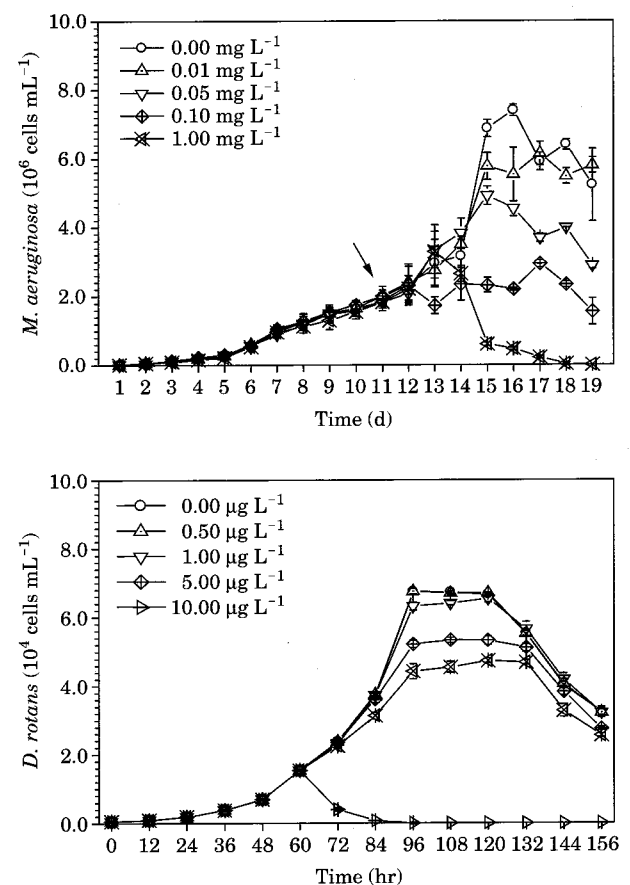


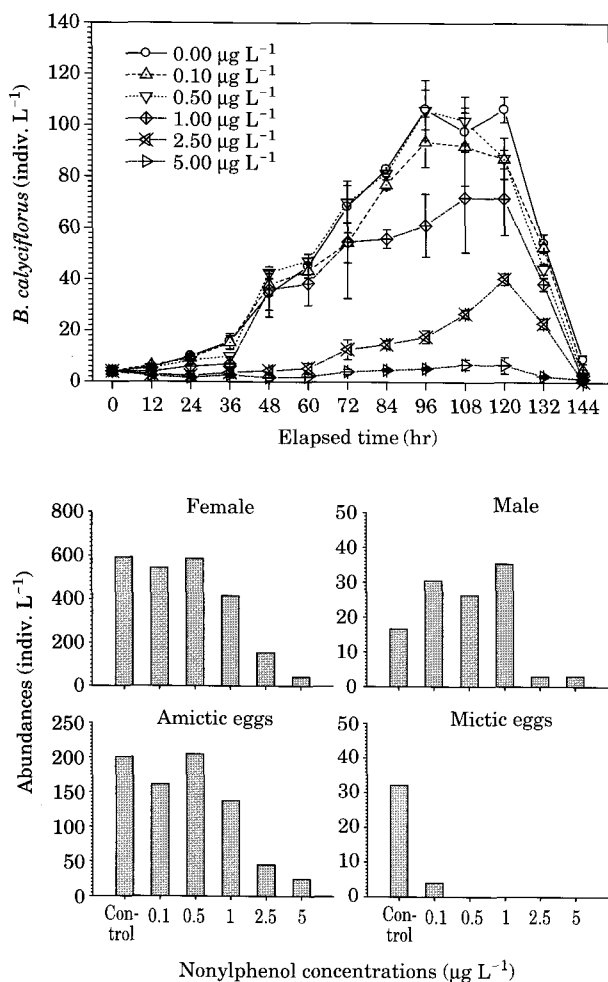
Fig. 1. Effects of nonylphenol (NP) with different concentration on the algal growth of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* at 10<sup>6</sup> cells mL<sup>-1</sup> (Upper) and HNF *Diphyllleia rotans* 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup> (Lower). Arrow in upper figure is the introduction time of chemical.

96 hr-EC<sub>50</sub>은 3.49 µg L<sup>-1</sup>로써 *M. aeruginosa*보다 10배 이상의 낮은 농도에서도 큰 영향을 받았다(Table 2). NP 처리에 따른 편모충의 형태변화는 LOEC 이상의 농도에서 머리부분에서의 세포질이 세포 밖으로 구멍을 통해 방출되어 투명하게 변하는 용해 (cell lysis) 현상을 보였다 (미발표).

### 3. Nonylphenol이 소형동물플랑크톤

#### *Brachionus calyciflorus*의 성장에 미치는 영향

대수기 *Brachionus calyciflorus*에 4단계 농도로 제조한 NP (0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 µg L<sup>-1</sup>)를 처리한 후 144시간 동



**Fig. 2.** Effects of nonylphenol (NP) on the growth of rotifer *Brachionus calyciflorus*. Upper: Growth inhibition of a rotifer *B. calyciflorus* with increase of NP concentration. Lower: Developmental inhibition of a rotifer *B. calyciflorus* with increase of NP concentration.

안 배양한 결과, 대조군은 편모충과 유사하게 logistic curve 패턴을 보였다. 처리군의 경우, LOEC (1.0 µg L<sup>-1</sup>)에서 농도증가에 따라 유의하게 성장 억제를 보였으며, 최고 농도인 5 µg L<sup>-1</sup>에서는 개체군이 완전히 사멸하지는 않았으나 거의 성장을 보이지 않았다(Fig. 2 upper). 한편, 2.5~5 µg L<sup>-1</sup> NP처리군에서는 male 형성이 극히 낮았고, 0.1~1 µg L<sup>-1</sup>에서는 male 형성이 대조구보다 많았음에도 불구하고 내구란이 형성되지 않았다(Fig. 2 lower). 또한 소형동물플랑크톤에 대한 96 hr-EC<sub>50</sub>은 2.49 µg L<sup>-1</sup>로써 대상생물군 중 가장 민감한 것으로 나타났다 (Table 2).

### 4. Nonylphenol이 대형동물플랑크톤

#### *Daphnia magna*의 성장에 미치는 영향

다양한 농도의 NP (0.5, 1, 5, 10, 50 µg L<sup>-1</sup>)을 대수기 *Daphnia magna*에 처리하고 144시간 동안 배양한 결과는 일반적인 logistic curve의 양상을 보였으나, 처리군의 경우, LOEC (5.0 µg L<sup>-1</sup>)에서부터 농도에 의존하여 유의하게 성장 억제를 보였고 10 µg L<sup>-1</sup>에서는 72시간 이내에 완전 사멸하였으며, 50 µg L<sup>-1</sup>에서는 48시간 만에 완전 사멸하였다(Fig. 3 upper). 한편, 10~50 µg L<sup>-1</sup>에서는 대조군에 비하여 뚜렷한 발생특성의 차이를 보이며, male과 immature female 형성이 이루어지지 않았다. 0.5~5 µg L<sup>-1</sup>에서는 비록 male과 immature female 형성이 일어났으나 내구란이 형성되지 않았다(Fig. 3 lower) 또한 *Daphnia magna*에 대한 96 hr-EC<sub>50</sub>은 7.61 µg L<sup>-1</sup>으로 전체적인 독성민감도는 *B. calyciflorus* (2.49 µg L<sup>-1</sup>) < *D. rotans* (3.49 µg L<sup>-1</sup>) < *D. magna* (7.61 µg L<sup>-1</sup>) < *M. aeruginosa* (47 µg L<sup>-1</sup>) 순으로 나타났다(Table 2).

## 고 찰

유해조류 *Microcystis aeruginosa*는 그들의 섭식자인 중속영양편모충 (*Diphyllia rotans*), 소형 (*Brachionus calyciflorus*) 또는 대형동물플랑크톤 (*Daphnia magna*)보다 NP에 대한 내성이 높았다. 이러한 결과는 Sibley et al. (2000)의 결과와 일치되며, 조류대발생이 증가된 영양물질 (N, P, Si)이나 환경요인(빛, 온도, 바람)에 의해서 유도된다는 단순한 해석보다 수계에 유입된 EDC가 먼저 식물플랑크톤의 섭식자인 동물플랑크톤이나 편모충을 억제함으로써 포식압 감소 및 포식자 소멸 과정(이 등, 2005)을 통해서도 유도될 수 있다는 점에서 EDC의 독

**Table 2.** LOEC and EC<sub>50</sub> for the algae (*Microcystis aeruginosa* NIES44), HNF(*Diphyllia rotans* Massart), zooplankton (*Brachionus calyciflorus* and *Daphnia magna*) based on actual estimated nonylphenol concentrations.

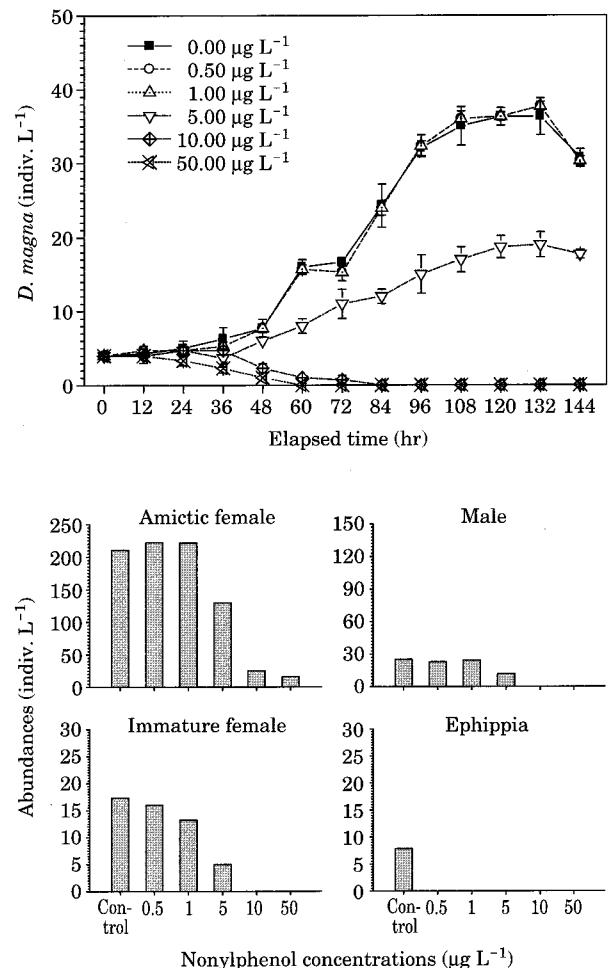
Kinds	LOEC ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
<i>Microcystis aeruginosa</i>	$\leq 50^*$	47.00
<i>Diphyllia rotans</i>	$\leq 1.0^{**}$	3.49
<i>Brachionus calyciflorus</i>	$\leq 1.0^{**}$	2.49
<i>Daphnia magna</i>	$\leq 5.0^{**}$	7.61
Water	6.8~190.8 ng L <sup>-1</sup>	
<sup>a</sup> Han river Creek water	3.6 $\mu\text{g L}^{-1}$	
Sediment	25.4~933.0 ng g <sup>-1</sup> dry wt.	

<sup>a</sup>Li et al. (2004)

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01

성이 동물수준의 성 기형이나 발생에 국한될 수 없다고 판단된다. 최근 살충제 pyrethroid가 이들의 섭식자 crustacean zooplankton을 억제함으로써 조류대발생이 유도될 수 있으며(Friberg-Jensen et al., 2003; Pavlic et al., 2005)는 NP와 유사한 계면활성제가 낮은 조류독성(EC<sub>50</sub> 350~8,500  $\mu\text{g L}^{-1}$ )을 갖는다고 보고하였는데, 이는 EDC의 증가가 높은 내성을 갖는 조류의 성장에는 큰 영향을 주지 않은 반면, 섭식자의 소멸을 유도함으로써 수중 내 조류발생의 원인으로 작용될 수 있는 가능성을 의미한다. 오늘날 조류발생의 원인중 대부분은 다른 종보다 높은 먹이경쟁이나 성장율을 갖는 종이라기 보다는 수계 내 화학물질에 대한 내성이 낮은 섭식자의 존재와 더불어 EDC에 대한 내성이 매우 높은 조류일 가능성을 예측할 수 있다. 예를 들어, 부영양화로 인하여 유해남조 *Microcystis aeruginosa*가 대발생하는 저수지에서 높은 밀도를 갖는 편모충 *Diphyllia rotans* (Kim et al., 2006)은 비록 소량이지만 NP와 같은 EDS가 지속적으로 수계에 유입된다면 *Microcystis* 대발생의 자연적 억제효과는 기대하기 어려울 것으로 예측된다. 또한 동물플랑크톤 발생계에 있어서 낮은 농도의 EDC (0.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  NP)에서도 *B. calyciflorus*와 *D. magna*의 male 및 immature female 형성은 유도되었으나 내구란 형성은 억제되었다. 결국 국내 자연계에서 검출되는 NP농도보다 매우 낮은 농도에서도 포식자의 사멸은 일어나기 때문에 이들의 수중농도를 면밀하게 파악한다면, 저수지나 하천에서 조류발생에 대한 예보나 감시활동 등에도 응용할 수 있을 것으로 판단된다.

지금까지 NP와 같은 EDC가 인간이나 가축에게 미치는 영향에 대해서는 정확하게 알려지지 않고 있다. 그러나 우리나라 수계 내 NP 농도는 sediment나 suspended



**Fig. 3.** Effects of nonylphenol (NP) on the growth of *Daphnia magna*. Upper: Growth inhibition of *D. magna* with increase of NP concentration. Lower: Developmental inhibition of *D. magna* with increase of NP concentration.

particle에서는 높은 수준까지 보고가 되고 있어(김, 2002a, b; Li et al., 2004), 이들이 인간과 가축 등에 미치는 잠재적 위험성은 매우 높다(Li et al., 2004). 자연계 NP 분포는 수환경의 다양한 요인-수온, 유속, 퇴적물 크기나 성상 등에 의해 결정되지만, 미세먹이망의 1차 생산자인 식물플랑크톤이 수중 내 EDCs를 흡수하여 동물이나 어류에 점차 농축되므로(Ishihara and Nakajima et al., 2003), 수중이나 퇴적물에서 검출되는 NP 농도만으로 설령 그 농도가 매우 낮거나 높음에 따라 인체나 가축에 미치는 영향을 예측하기는 쉽지 않다. 다만, 관련되는 생물 먹이망의 특성(숫자, 섭식율 등)에 의하여 결정되는 농축계수에 의해 결정될 수 있다. 따라서, 검출되는 EDC가 비록 소량일지라도 이들의 독성영향을 정확히

이해하기 위해서는 EDC가 유입되는 수중 생태계의 구조와 특성을 명확하게 이해할 필요가 있다. 특히, 특정산업체의 방류수에 대한 기준설정이나 방류지점에 대한 새로운 규정을 마련할 필요가 있다고 판단된다.

결론적으로 nonylphenol은 식물플랑크톤보다 섭식자인 중속영양편모충(*Diphyllia rotans*), 소형(*Brachionus calyciflorus*) 또는 대형동물플랑크톤(*Daphnia magna*)에 크게 민감하며, 특히 *B. calyciflorus*, *D. magna*의 유성생식을 억제하여 포식압의 감소를 통한 조류대발생의 원인인자로 작용될 가능성을 보였다.

## 적 요

계면활성제의 주된 원료이며 Estrogenic hormone으로 알려진 nonylphenol이 수중생태계 먹이망의 하등생물군 성장에 미치는 독성영향을 파악하고자, 배양중인 조류(*Microcystis aeruginosa*), 편모충(*Diphyllia rotans*), 소형(*Brachionus calyciflorus*) 및 대형동물플랑크톤(*Daphnia magna*)에 다양한 농도로 제작된 NP를 처리하고 각 개체군의 성장 및 동물플랑크톤 *B. calyciflorus*, *D. magna*의 발생특성을 각각 조사하였다. 예비실험을 통하여, 투여농도는 개체군에 따라 조류(0.01, 0.05, 0.10, 1.00 mg L<sup>-1</sup>), *Diphyllia rotans* (0.5, 1, 2.5, 5, 10 µg L<sup>-1</sup>), *Brachionus calyciflorus* (0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 mg L<sup>-1</sup>), *Daphnia magna* (0.5, 1, 5, 10, 50 µg L<sup>-1</sup>) 등으로 4~5단계 농도를 처리하였으며, 독성효과는 각 개체군의 현존량 변화로 산정하였으며 실험은 각각 3회씩 반복 실행하였다. 분석결과, 예상했던 것처럼 모든 개체군은 NP 농도가 증가할수록 강한 성장 억제를 보였다. 조류실험에서는 0.05 mg L<sup>-1</sup>, *D. rotans*와 *B. calyciflorus*는 공히 1.0 µg L<sup>-1</sup>, 대형동물플랑크톤 *D. magna*는 5.0 µg L<sup>-1</sup>에서부터 각각 유의한 성장억제를 보였다. Nonylphenol에 대한 각 개체군의 EC<sub>50</sub>은 *B. calyciflorus* (2.49 µg L<sup>-1</sup>) < *D. rotans* (3.49 µg L<sup>-1</sup>) < *D. magna* (7.61 µg L<sup>-1</sup>) < *M. aeruginosa* (47 µg L<sup>-1</sup>)의 순으로 나타나 NP에 대해 조류세포가 가장 강한 내성을 보인 반면 *B. calyciflorus*가 가장 약한 것으로 나타났다. 또한 동물플랑크톤의 발생에 있어서 *B. calyciflorus*는 NP농도(0.1~1 µg L<sup>-1</sup>), *D. magna*는 이보다 약간 높은 NP 농도(0.5~5 µg L<sup>-1</sup>)에서 공히 내구란이 형성되지 않았다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 조류섭식자인 편모충이나 동물플랑크톤은 모두 nonylphenol에 대하여 조류보다 내성이 극히 약하며 특히 발생계에 치명적인 영향을 받기 때문에 NP가 유입되는 수계에 있어

서 섭식자 소멸로 인한 식물플랑크톤 대발생의 인자로 작용할 수 있음을 시사해 주고 있다.

## 사 사

본 연구는 2005년도 중점연구소 과제(KRF-2002-005-C00022)의 지원에 의하여 수행되었음.

## 인 용 문 헌

- 김성철, 박정길, 조현서, 이대인. 2003. 낙동강 퇴적물의 Nonylphenol과 Bisphenol A 오염도 평가, 한국물환경학회지 **19**: 357-366.
- 김종훈. 2002a. 물 시료 중 Octylphenol, Nonylphenol, Di(2-ethylhexyl)phthalate의 연구, *Anal. Sci. and Technol.* **15**: 172-179.
- 김종훈. 2002b. 하수슬러지 중 Nonylphenol, Octylphenol, Di(2-ethylhexyl)phthalate의 연구, *Anal. Sci. & Technol.* **15**: 451-458.
- 위성욱, I. Yuhei, 조 경, 나명석, 이종빈. 2002. 수계 Microcosm을 이용한 도금폐수의 독성평가, 한국물환경학회지 **20**: 256-262.
- 이주환, 김백호, 한명수. 2005. 내분비교란물질이 유해조류의 성장에 미치는 영향, *육수지* **38**: 304-312.
- Ahel, M., W. Giger and C. Schaffner. 1994. Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-II. Occurrence and transformation in rivers. *Water Res.* **28**: 1143-1152.
- Amaral Mendes, J.J. 2002. The endocrine disrupters: a major medical challenge. *Food and Chem. Toxicol.* **40**: 781-788.
- Bettinetti, R., D. Cuccato, S. Galassi and A. Provini. 2002. Toxicity of 4-nonylphenol in spiked sediment to three populations of *Chironomus riparius*. *Chemosphere* **46**: 201-207.
- Blackburn, M.A. and M.J. Waldock. 1995. Concentrations of alkylphenols in rivers and estuaries in England and Wales. *Water Res.* **29**: 1623-1629.
- Chapin, R.E., J. Delaney, Y. Wang, L. Lanning, B. Davis, B. Collins, N. Mintz and G. Wolfe. 1999. The effects of 4-nonylphenol in rats: a multigeneration reproduction study. The effects of 4-nonylphenol in rate: a multigeneration reproduction study. *Toxicol. Sci.* **52**: 80-91.
- Friberg-Jensen, U., L. Wendt-Rasch, P. Woin and K. Christoffersen. 2003. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied

- under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquat. Toxicol.* **63**: 357-371.
- Giger, W., P.H. Brunne and C. Schaffner. 1984. 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. *Science* **225**: 623-625.
- Gimeno, S., H. Komen, A. Gerritsen and T. Bowmer. 1998. Feminization of young males of the common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during sexual differentiation. *Aquat. Toxicol.* **43**: 77-92.
- Gray, M.A. and C.D. Metcalfe. 1997. Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to p-nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.* **16**: 203-218.
- Hense, B.A., G. Welzl, G.F. Severin and K.W. Schramm. 2005. Nonylphenol induced changes in trophic web structure of plankton analysed by multivariate statistical approaches. *Aquat. Toxicol.* **73**: 190-209.
- Ishihara, K. and N. Nakajima. 2003. Improvement of marine environmental pollution using eco-system: decomposition and recovery of endocrine disrupting chemicals by marine phyto- and zooplanktons. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **23**: 419-424.
- Kashiwada, S., H. Ishikawa, N. Miyamoto, Y. Ohnishi and Y. Magara. 2002. Fish test for endocrine-disruption and estimation of water quality of Japanese rivers. *Water Res.* **36**: 2161-2166.
- Kim, B.R., S. Nakano, B.H. Kim and M.S. Han. 2006. Grazing and growth of the heterotrophic flagellate *Diphyllia rotans* on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquat. Microb. Ecol.* **45**: 163-170.
- Kim, J.S., D.L. Villeneuve, K. Kannan, K.T. Lee, S.A. Snyder, C.H. Koh and J.P. Giesy. 1999. Alkylphenols, polycyclic aromatic hydrocarbons, and organochlorines in sediment from Lake Shihwa, Korea: Instrumental and bioanalytical characterization. *Environ. Toxicol. Chem.* **18**: 2424-2432.
- Kwak, I.S. and W.C. Lee. 2004. Detecting point for ecological disruptions and developmental delay exposure to DEHP in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Kor. J. Environ. Biol.* **22**: 321-328.
- Li, D.H., M.S. Kim, W.J. Shin, U.H. Yim, J.R. Oh and Y.J. Kwon. 2004. Seasonal flux of nonylphenol in Han River, Korea. *Chemosphere* **56**: 1-6.
- Mann, R.M. and J.R. Bidwell. 2000. Application of the FETAX protocol to assess the developmental toxicity of nonylphenol ethoxylate to *Xenopus laevis* and two Australian frogs. *Aquat. Toxicol.* **51**: 19-29.
- Matozzo, V., M. Deppieri, V. Moschino and M.G. Marin. 2003. Evaluation of 4-nonylphenol toxicity in the clam *Tapes philippinarum*. *Environ. Res.* **91**: 179-185.
- Meregalli, G., L. Pluymers and F. Ollevier. 2001. Induction of mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to 4-n-nonylphenol. *Environ. Pollution.* **111**: 241-246.
- Naylor, C.G. 1992. Alkylphenol ethoxylates in the environment. *J. Offic. Anal. Chem. Soc.* **69**: 695-703.
- Pavli, Ž., Ž. Vidaković-Cifrek and D. Puntarić. 2005. Toxicity of surfactants to green microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Scenedesmus subspicatus* and to marine diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Skeletonema costatum*. *Chemosphere* **61**: 1061-1068.
- Renner, R. 1997. European bans on surfactant trigger transatlantic debate. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 316-320.
- Schwaiger, J., O.H. Spieser, C. Bauer, H. Ferling, U. Mallow, W. Kalbfus and R.D. Negele. 2000. Chronic toxicity of nonylphenol and ethinylestradiol: haematological and histopathological effects in juvenile Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquat. Toxicol.* **51**: 69-78.
- Sibley, P.K., K.R. Solomon, S. Mabury and J. Sall. 2000. Microcosm assessment of the environmental fate and biological effect of nonylphenol. *Guelph Turfgrass Institute. Annual Research Report.*
- Sugiura, K. 1996. The use of an aquatic microcosm for pollution effects assessment. *Water Res.* **30**: 1801-1812.
- Tanaka, Y. and J. Nakanishi. 2002. Chronic effects of p-nonylphenol on survival and reproduction of *Daphnia galeata*: multigenerational life table experiment. *Institute of Environ. Technol.* **17**: 487-492.
- Traunspurger, W., H. Schafer and A. Femde. 1996. Comparative investigation of the effect of herbicide on aquatic organism in single species tests and aquatic microcosms. *Chemosphere* **33**: 1129-1141.
- Yadete, F. and R. Male. 2002. Effects of 4-nonylphenol on gene expression of pituitary hormones in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquat. Toxicol.* **58**: 113-129.

(Manuscript received 7 June 2007,  
Revision accepted 28 August 2007)