

Octachlorostyrenes의 환경생물에 대한 급성독성 연구

김용석^{1,2} · 전용배¹ · 이대용¹ · 이주환¹ · 이규승² · 성하정^{3*}

¹한국화학시험연구원 환경독성팀, ²충남대학교 농업생명과학대학, ³호서대학교 융합기술연구소

(2009년 4월 23일 접수, 2009년 5월 21일 수리)

Acute Toxicity Studies of Octachlorostyrenes for Environment Organisms

Yong-Seok Kim^{1,2}, Yong-bae Jeon¹, Dae-Yong Lee¹, Jue-Hwan Lee¹, Kyu-Seung Lee² and Ha-Jung Sung^{3*}

¹Environment Toxicology Team, Korea Testing & Research Institute, ²Department of Bio-Industrial and Machinery, Chungnam National University, ³Institute of Fusion Technology, Hoseo University

Abstract

Octachlorostyrene (OCS) is a persistent and bioaccumulative toxic substance (PBTs). In this study, acute toxicity tests on algae, daphnia and fish for octachlorostyrene and its isomers were done to determine effective concentration (EC₅₀), Lethal concentration (LC₅₀), no observed effect concentration (NOEC) or lowest observed effect concentration (LOEC). As a result, NOEC on algae growth inhibition test for octachlorostyrene and 2-, 3-chlorostyrene was determined as 0.50 mg L⁻¹, and NOEC for 4-chlorostyrene was determined as 0.13 mg L⁻¹. NOEC on daphnia, acute immobilisation test for octachlorostyrene and 2-, 3-chlorostyrene was determined as 5.00 mg L⁻¹ and EC₅₀ for 4-chlorostyrene was determined as 2.128 mg L⁻¹. NOEC on *Oryzias Latipes*, acute toxicity test for octachlorostyrene was determined as 80.0 mg L⁻¹ and NOEC for 2-, 3-chlorostyrene was determined as 60.0 mg L⁻¹. LC₅₀ for 4-chlorostyrene was determined as 39.0 mg L⁻¹ (48h) and 22.6 mg L⁻¹ (96h).

Key words Octachlorostyrene, PBTs, EC₅₀, LC₅₀, NOEC, LOEC

서 론

PBTs(Persistent, Bioaccumulative and Toxic Substances)는 환경에서의 잔류성이 높아 쉽게 분해되지 않으며 먹이연쇄상의 생물상에 고농도로 축적될 뿐만 아니라 환경 및 인간에 대한 독성이 매우 높은 물질 군을 일컫는 말로서 기존의 POPs(Persistent Organic Pollutants) 개념을 보다 확장한 것으로 이해할 수 있다. 이들 물질은 각종 암을 비롯하여 생식기능장애, 신경계장애, 성장 및 발육부진 등 인체건강에 장애를 초래할 뿐만 아니라 환경 중에서의 생태독성(만성 및 발생독성)이 특히 강하여 성체뿐만 아니라 그 자손에까지 악영

향을 나타냄으로써 현존하는 생물계의 다양성을 위협하고 있다. PBTs는 대기, 수질, 토양으로 쉽게 이동하며 장거리 이동의 특성 때문에 현재 선진국을 비롯하여 OECD, UNEP 등 주요 국제기구는 이들 PBTs를 가장 중요한 환경현안의 하나로 인정하고 이에 대한 국제적인 관리시스템 구축을 위해 노력 중이다. PBT Chemicals 그룹에 속하는 화학물질은 UNEP에서 지정한 12개 POPs 물질 외에 alkyl lead, mercury, perfluorooctane sulfonate, octachlorostyrene 등 보다 다양한 형태의 잔류성/생물농축성/독성 화학물질을 포함하고 있으며 현재 미국 EPA는 생물농축성, 독성, 환경배출량 등을 고려하여 priority level을 분류하고 우선 level 1에 속하는 16종 즉, alkyl lead, benzopyrene, dioxine/furans, hexachlorobenzene, mercury and mercury compound, octachlorostyrene, PCBs,

*연락처 : Tel. +82-41-540-9631, Fax. +82-31-548-6231

E-mail: hjsung@hoseo.edu

농약의 일종인 aldrin/dieldrin, chlordane, endrin, DDT, heptachlor, mirex, toxaphene 등의 PBT 물질군의 목록을 제시하였다.

Octachlorostyrene은 환경에 대한 강한 독성이 특히 강해 미국에서는 제1관심대상물질목록에 등재되어 있다. Octachlorostyrene은 현재 까지 알려진 바로는 상업적으로 유통되거나 생산되는 화학물질은 아니다. 다만, dioxin과 마찬가지로 소각과정에서 탄소와 염소의 열반응으로 생성되는 것이 알려져 있고, 마그네슘 생산공정, 유기염소계 용매의 합성과정, 반도체 산업의 알루미늄제련(판금) 과정, 금속합금공정의 hexachloroethane에 의한 aluminum degassing, titanium의 chlorination, chlor-alkali 생산공정 등에서 생성되는 것이 알려졌다(Chu, S et al., 1982; Lunde et al., 1977). Octachlorostyrene은 화학구조상 hexachlorobenzene(HCB)와 유사하여 그 독성 또한 HCB와 유사할 것으로 추정하고 있다(Selden et al., 1999). Octachlorostyrene은 물에 대한 용해성이 매우 낮아 물속에 잔류하는 것보다는 저질이나 부유물질에 부착되는 경향이 있어 수계 생물중 저질에 서식하는 생물 종에 대한 유해작용이 나타나는 것은 필연적이라 할 수 있다. 캐나다의 조사결과에 따르면 온타리오주의 사르니아 지역에서는 산업단지로부터 배출된 것으로 추정되는 octachlorostyrene이 인근지역의 저질에 침적되어 어류에 생물농축된 것으로 조사되었다(Smith D.W., 1999). 미국의 조사결과에 따르면 채집된 어류에서의 검출 평균농도는 1.7 ng g^{-1} 의 수준이었으며 고농도 검출지역은 이보다 훨씬 높은 138 ng g^{-1} , 65.3 ng g^{-1} , 50.7 ng g^{-1} , 49.6 ng g^{-1} 정도로 검출된 곳도 있었다.

인체에 대한 검출사례로는 hexachlorobenzene을 사용하는 알루미늄 공장의 근로자 혈액에서 octachlorostyrene이 검출된 예가 보고 되었으며 직업과는 무관한 출산여성의 모유에서 검출된 사례도 보고되었다. 독일의 조사에 의하면 Schleswig-Hostein 거주지역 주민중 136인의 혈액으로부터 검출되었는데 이는 평균수준 1.5 ng L^{-1} 농도로 오염된 강물에 서식하는 오염된 물고기를 섭취한 결과인 것으로 판명되었다. 캐나다의 조사에 의하면 사람의 지방조직에서 검출된 사례는 전체 조사 인구의 8%정도에 달하였으며 캐나다인의 지방조직에는 평균 1 ng g^{-1} 수준으로 검출되었고 whole milk나 milk fat에서 검출된 사례도 다수 보고되었으며 조사사례의 7%정도가 오염된 것으로 보고되었다(Lommel, A., et al., 1992).

화학물질 위해성평가 지침서는 유해성확인(Hazard identification), 용량반응평가(Dose-response assessment), 노출평가(Exposure assessment) 및 위험도 결정(Risk characterization)

4단계를 위해성평가 과정으로 제시하고 있으며 이는 수질뿐만 아니라 토양 및 대기 등 모든 환경매체에 대해 적용할 수 있도록 구성되어 있다. 위해성평가 과정 중 유해성확인이란 평가대상 화학물질이 수계 또는 토양계에 서식하는 생물 종에 나타내는 독성을 평가하는 것이다. 그러나 아직까지 우리나라에는 octachlorostyrene의 위해성을 평가할 수 있는 생태독성자료가 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 국내 서식 생물종에 대해 외삽이 가능한 조류, 물벼룩 및 어류 등 먹이연쇄상의 생물 종에 대한 급성독성시험을 실시하여 환경위해성 평가에 필요한 제1단계 유해성확인(Hazard identification)의 기초자료를 확보하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

시험물질

본 연구에 사용된 octachlorostyrene, 2-chlorostyrene, 3-chlorostyrene 및 4-chlorostyrene은 일본 Wako사의 표준품(99.0%)을 구입하여 시험에 사용하였고 그 구조식은 Table 1과 같다.

담수조류에 대한 성장저해시험

시험생물

담수조류에 대한 성장저해시험에 사용된 시험종은 *Chlorella vulgaris*종으로서 한국화학연구원 안전성평가연구소에서 분양받아서 한국화학시험연구원 안전성평가본부 환경독성실험실에서 배양하였으며 이때 배양조건으로 온도와 조도는 각각 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $8000 \text{ lux} \pm 20\%$ 이었고, 회전용 incubator에서 100 rpm으로 shaking하며 배양하였다. 배양용 배지조성(Table 2)은 OECD에 추천하는 배지를 시험에 사용하였다.

시험방법

Chlorostyrene류에 대한 담수 조류성장저해시험은 OECD 시험물질 시험 가이드 라인(OECD 201, 1984)에 의해 시험을 수행하였다. 시험시작 일주일전에 시험조건과 동일한 조건에 전배양(pre-culture)을 하여 지수성장기에 도달한 조류를 시험에 사용하였다. Chlorostyrene의 담수조류성장저해시험에 앞서 용매에 대한 무영향농도를 산출하기 위해서 $10 \sim 50 \text{ mg L}^{-1}$ 농도에서 예비시험을 수행하였다.

*Chlorella vulgaris*의 배양은 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $8,000 \text{ lux} \pm 20\%$ 에서 100 rpm으로 72 시간 배양하였고, 시험시작 24, 48 그리고 72 시간 후에 현미경에서 hemocytometer를 이용하여

Table 1. Physicochemical properties of chlorostyrenes

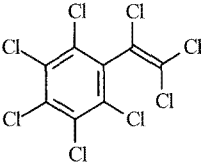
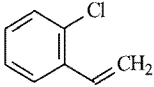
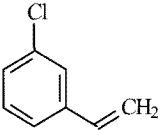
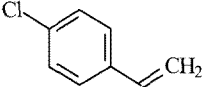
1. Octachlorostyrene		
Chemical Name	: Octachlorostyrene[pentachloro(trichloroethenyl)benzene]	
Molecular formula	: C ₈ Cl ₈ (379.71)	
Solubility	: In water 0.00174 mg L ⁻¹	
Vapour pressure	: 0.0018 Pa(25°C)	
2. <i>o</i> -chlorostyrene		
Chemical Name	: <i>o</i> -chlorostyrene(2-chloroethenylbenzene)	
Molecular formula	: C ₈ H ₇ Cl(138.59)	
Solubility	: Soluble in ether, acetone	
Vapour pressure	: 9.6×10 ⁻¹ mmHg(25°C)	
3. <i>m</i> -chlorostyrene		
Chemical Name	: <i>m</i> -chlorostyrene(3-chloroethenylbenzene)	
Molecular formula	: C ₈ H ₇ Cl(138.59)	
Solubility	: Insoluble in water Soluble in alcohol, ether, acetone	
Vapour pressure	: 0.981 mmHg(25°C)	
4. <i>p</i> -chlorostyrene		
Chemical Name	: <i>p</i> -chlorostyrene(4-chloroethenylbenzene)	
Molecular formula	: C ₈ H ₇ Cl(138.59)	
Solubility	: Insoluble in water Soluble in alcohol, ether, acetone	
Vapour pressure	: 0.816 mmHg(25°C)	

Table 2. The OECD TG 201 medium of green algae

Nutrient	Conc. in Stock solution (mg L ⁻¹)	Growth medium
Stock solution 1		
NH ₄ Cl	1,500	10 mL
MgCl ₂ ·6H ₂ O	1,200	10 mL
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1,800	10 mL
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,500	10 mL
KH ₂ PO ₄	160	10 mL
Stock solution 2		
FeCl ₃ ·6H ₂ O	64	1 mL
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	100	1 mL
Stock solution 3		
H ₃ BO ₃	185	1 mL
MnCl ₂ ·4H ₂ O	415	1 mL
ZnCl ₂	3	1 mL
CoCl ₂ ·6H ₂ O	1.5	1 mL
CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.01	1 mL
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	7	1 mL
Stock solution 4		
NaHCO ₃	50,000	1 mL
Deionized water		941 mL
pH	8.1	

cell 수를 조사하였다.

시험기간 동안 일정기간의 조류의 평균특이 성장율(average specific growth rate; μ)과 평균성장율에 대한 저해율(percent inhibition in average specific growth rate; % Ir)은 다음식에 의하여 구하였다.

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n - t_0}$$

N_0 : t_0 시간에서의 생물량(biomass)

N_n : t_n 시간에서의 생물량

$$\% Ir = \frac{\mu_c - \mu_t}{\mu_c} \times 100$$

μ_c : 대조군에서 특이 성장율의 평균값

μ_t : 처리군에서의 평균 성장율

담수무척추동물에 대한 급성유영저해시험

시험생물

담수무척추동물 급성유영저해시험에 사용된 시험종은 물벼룩(*Daphnia magna*)으로서 'U.S. EPA Toxic Substances Control Act Test Guideline'(1985년 9월 27일) 및 'OECD guideline 202'(2004)에 추천된 시험종이기 때문에 국내외적으로 비교할 수 있는 충분한 기초자료가 축적되어 있어 담수무

척추동물 급성유영저해시험의 시험종으로 널리 사용되고 있다. 물벼룩의 사육은 OECD guideline 202(2004)에 준하여 (Appendix 3) 한국화학시험연구원 안전성평가본부 환경독성 실험실에서 사육하였는데 사육조건은 온도 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 광조건 16시간, 암조건 8시간이었으며, 물벼룩의 먹이로는 *Chlorella vulgaris*를 순수배양하여 $1 \times 10^5 \sim 2.5 \times 10^6$ cells mL⁻¹의 농도로 공급하였다. 물벼룩의 사육수는 인공으로 조제하여 사육하였고, 사육수의 경도와 알카리도는 CaCO₃ 기준으로 각각 115.7~165.5와 110.3~118.6 mg L⁻¹이었다.

시험방법

담수무척추동물 급성유영저해시험은 'OECD guideline 202(2004)'에 준하여 시험을 실시하였다. 시험에 사용된 물벼룩은 생후 24 시간 미만의 어린개체를 사용하였다. 시험방법은 125 mL의 원형 유리 비이커에 사육수 100 mL를 채운 후 농도별로 시험물질을 처리하고 물벼룩을 10 마리씩 3 반복으로 하여 시험농도당 총 30 마리 물벼룩을 사용하였다. 예비시험에서 시험농도를 0.1, 1, 10, 및 100 mg L⁻¹로 설정하여 시험하였으며 노출방식은 지수식으로 하였고, 노출시간은 48 시간이었다. 시험기간중 산소공급은 하지 않았으며 용존산소의 농도가 포화농도의 60%이하로 떨어질 경우에 한하여 산소를 공급하였다. 시험물질의 조제는 octachlorostyrene이 물에 녹지 않는 관계로 dimethyl formamide 용매와 Tween® 80 계면활성제를 혼용하여 조제하였고, 이때 사용된 용매나 계면활성제와 시험용수를 음성대조구로 사용하였다.

시험물질 처리후 24, 48 시간에 물벼룩의 치사 및 유영저해를 받은 개체와 이상증상을 관찰하였다. 유영저해의 판정은 유리막대로 시험수를 저어준 후 약 15 초간 관찰하여 움직이지 않거나 정상적인 유영을 하지 못하는 개체는 영향을 받은 것으로 간주하였고, 독성증상은 육안으로 관찰하여 기록하였다. 시험기간 동안 시험용액의 pH, DO는 시험시작 전과 종료 시에 측정하였다. 또한 시험기간 중 수중에서 시험물질의 농도분석을 실시하였다.

시험결과는 probit(EPA version 1.5, Finney, 1971)법을 이용하여 24 시간과 48 시간의 EC₅₀값과 95% 신뢰한계를 구하였다. 또한 시험농도 중에서 영향이 없는 최고농도(NOEC)와 100% 영향을 나타낸 최저농도(LOEC)를 표시하였다.

담수어류에 대한 급성독성시험

시험생물

담수어류 급성독성시험에 사용되는 시험종은 송사리(*Oryzias*

latipes)로서 'OECD guideline 203'(1992년)에 명시된 급성어독성시험의 공시어종으로서 본 연구에 사용된 송사리는 한국화학시험연구원 안전성평가본부 환경독성실험실에서 채란 및 부화에 이르기까지 생육 전과정을 사육한 시험생물로서 그 사육조건은 온도 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 광조건 16시간, 암조건 8시간이었으며, 먹이로는 brine shrimp를 오전에 1회, Tetramin을 오후에 1회 공급하였다. 사육수는 지하수를 사용하였다.

시험방법

송사리에 대한 담수어류 급성어독성시험은 'OECD guideline 203(1992)'에 준하여 시험을 실시하였고, 예비시험에서 시험농도를 0.1, 1, 10, 및 100 mg L⁻¹로 설정하여 시험하였으며 노출방식은 지수식으로 하였고, 노출시간은 96 시간이었다. 시험기간 중 산소공급은 하지 않았으며 용존산소의 농도가 포화농도의 60%이하로 떨어질 경우에 한하여 산소를 공급하였다. 시험물질의 조제는 octachlorostyrene이 물에 녹지 않는 관계로 dimethyl formamide 용매와 Tween® 80 계면활성제를 1:2(v/v)로 혼용하여 조제하였고, 이때 사용된 용매나 계면활성제와 시험용수를 음성대조구로 사용하였다.

시험기간 중 관찰은 시험물질 처리후 24 시간마다 치사어와 독성증상을 관찰하여 기록하였고 치사한 개체는 즉시 제거하였다. 시험기간동안 시험용액의 pH와 DO를 측정하였고 시험물질의 수중 농도를 확인하기 위해서 농도 분석도 실시하였다. 시험결과의 분석은 probit(EPA version 1.5, Finney, 1971)법을 이용하여 48 시간과 96시간의 LC₅₀값과 95% 신뢰한계를 구하였다.

결과 및 고찰

담수조류에 대한 성장저해시험

Octachlorostyrene의 담수조류성장저해시험에 앞서 실시한 용매에 대한 무영향농도 산출시험결과는 Table 3과 같다. 시험결과 본시험에 사용된 용매는 dimethyl formamide:Tween80(1:2, v/v)를 사용하였으며, 시험농도 30 mg L⁻¹까지 무영향농도임을 확인하였고 이때 octachlorostyrene의 용해가능한 농도는 0.50 mg L⁻¹였다.

따라서 octachlorostyrene 및 그 이성질체인 2-, 3-, 4-chlorostyrene의 96 시간 담수조류 성장저해시험은 일정한 공비(0.5)를 적용하여 0.13, 0.25, 0.50 mg L⁻¹의 농도로 본 시험을 실시한 결과는 Table 4, 5, 6 및 7과 같다.

본시험의 최고농도(0.50 mg L⁻¹)에서 octachlorostyrene

Table 3. Test results of growth inhibition test on *Chlorella vulgaris* of solvent

Conc. (mg L ⁻¹)	Cell density (x10 ⁴ cell mL ⁻¹)					Inhibition rate (%)
	0 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs	
Control ^{a)}	2.05	5.50	17.25	49.18	68.45	-
10	2.08	6.80	20.88	53.05	74.93	-12.07
20	2.45	5.83	17.25	42.80	54.45	14.60
30	2.38	6.30	16.45	54.80	77.83	-9.27
40	2.20	6.80	14.38	34.38	52.13	25.32
50	2.30	4.95	10.95	26.50	48.93	40.58

^{a)} OECD guideline 201 (2006) M4 medium

Table 4. Test results of growth inhibition test on *Chlorella vulgaris* of octachlorostyrene

농도 (mg L ⁻¹)	Cell density (x10 ⁴ cell mL ⁻¹)					Inhibition rate (%)
	0 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs	
Control ^{a)}	1.88	6.00	17.55	37.80	57.13	-
Solvent ^{b)}	2.50	7.05	16.83	38.58	59.33	-0.01
0.13	2.55	6.88	19.83	42.58	62.13	-9.67
0.25	2.58	7.45	19.08	42.58	63.38	-10.11
0.50	2.68	6.83	17.55	42.88	64.88	-8.37

^{a)} OECD guideline 201 (2006) M4 medium

^{b)} Dimethyl formamide:Tween80 (1:2, v/v), 30 mg L⁻¹

Table 5. Test results of growth inhibition test on *Chlorella vulgaris* of 2-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Cell density (x10 ⁴ cell mL ⁻¹)					Inhibition rate (%)
	0 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs	
Control ^{a)}	1.88	6.00	17.55	37.80	57.13	-
Solvent ^{b)}	2.50	7.05	16.83	38.58	59.33	-0.01
0.13	2.45	7.75	21.83	42.25	61.33	-12.67
0.25	2.33	7.68	23.13	42.83	60.05	-14.59
0.50	2.18	7.70	20.58	43.38	61.80	-13.90

^{a)} OECD guideline 201 (2006) M4 medium

^{b)} Dimethyl formamide:Tween80 (1:2, v/v), 30 mg L⁻¹

Table 6. Test results of growth inhibition test on *Chlorella vulgaris* of 3-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Cell density (x10 ⁴ cell mL ⁻¹)					Inhibition rate (%)
	0hrs	24hrs	48hrs	72hrs	96hrs	
Control ^{a)}	2.25	6.63	21.70	46.70	64.95	-
Solvent ^{b)}	2.18	6.63	23.18	46.20	66.18	-1.86
0.13	2.83	7.25	23.63	48.75	69.68	-4.97
0.25	2.93	7.50	26.50	51.33	72.50	-11.76
0.50	2.68	6.43	25.50	47.00	71.13	-5.52

^{a)} OECD guideline 201 (2006) M4 medium

^{b)} Dimethyl formamide:Tween80 (1:2, v/v), 30 mg L⁻¹

Table 7. Test results of growth inhibition test on *Chlorella vulgaris* of 4-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Cell density (x10 ⁴ cell mL ⁻¹)					
	0hrs	24hrs	48hrs	72hrs	96hrs	Inhibition rate (%)
Control ^{a)}	2.25	6.63	21.70	46.70	64.95	-
Solvent ^{b)}	2.18	6.63	23.18	46.20	66.18	-1.86
0.13	2.20	6.25	21.55	45.05	62.13	3.42
0.25	2.25	6.80	21.95	40.30	61.75	7.60
0.50	2.00	5.43	20.58	40.50	64.50	7.90

^{a)} OECD guideline 201 (2006) M4 medium

^{b)} Dimethyl formamide:Tween80 (1:2, v/v), 30 mg L⁻¹

의 담수조류성장저해율은 -8.37%로서 시험기간인 96 시간 동안 성장저해를 관찰할 수 없었으므로 octachlorostyrene의 담수조류에 대한 무영향농도(96 hrs)를 0.50 mg L⁻¹로 산출하였다.

본시험의 최고농도(0.50 mg L⁻¹)에서 2-chlorostyrene의 담수조류성장저해율은 -13.90%로서 시험기간인 96 시간 동안 성장저해를 관찰할 수 없었으므로 2-chlorostyrene의 담수조류에 대한 무영향농도(96 hrs)를 0.50 mg L⁻¹로 산출하였다.

본시험의 최고농도(0.50 mg L⁻¹)에서 3-chlorostyrene의

담수조류성장저해율은 -5.52%로서 시험기간인 96 시간 동안 성장저해를 관찰할 수 없었으므로 3-chlorostyrene의 담수조류에 대한 무영향농도(96 hrs)를 0.50 mg L⁻¹로 산출하였다.

4-chlorostyrene의 예비시험의 결과, 0.13, 0.25 및 0.50 mg L⁻¹에서 3.42, 7.60 및 7.90%의 성장저해가 관찰되었으나 예비시험의 최고농도인 0.50 mg L⁻¹이상의 농도에서는 용매에 의한 성장저해가 나타나므로 더 이상의 시험수행이 불가능하였다. 따라서 예비시험의 결과를 토대로 통계처리한 결과 (유의수준 : 0.05, ANOVA), 0.50 mg L⁻¹농도에서 7.90%의 저해율이 나타났지만 유의성이 없었으므로 4-chlorostyrene의 담수조류에 대한 무영향농도(96 hrs)를 0.50 mg L⁻¹로 산출하였다.

Table 8. Test results of acute immobilization test on *Daphnia magna* of solvent (Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v)

Conc. (mg L ⁻¹)	Number of immobilize ^{a)}			
	2 hrs	24 hrs	48 hrs	Immobility (%)
300	0	0	0	0
600	0	0	0	0
1200	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 30 animals (10 animals/each vessel)

담수무척추동물(물벼룩)에 대한 유영저해시험

Chlorostyrene류의 담수무척추동물인 물벼룩에 대한 유영저해시험에 앞서 실시한 사용용매에 대한 무영향농도 산출시험 결과는 Table 8과 같다.

물벼룩의 용매에 대한 무영향농도를 산출한 결과 1,200 mg L⁻¹ (octachlorostyrene의 농도로 20 mg L⁻¹)로 산출되었고, 따라서 용매의 무영향농도와 Table 9에 나타난 octachlorostyrene

Table 9. Test results of acute immobilization test on *Daphnia magna* of range finding test

Conc. (mg L ⁻¹)	Number of immobilize ^{a)}			
	2 hrs	24 hrs	48 hrs	Immobility (%)
0.1	0	0	0	0
1.0	0	0	0	0
10.0	0	0	2	6.7
100.0	0	0	5	16.7
Control	0	0	0	0
Solvent control (6,000 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	2	6.7

^{a)} No. of tested animal : 30 animals (10 animals/each vessel)

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

의 물벼룩에 대한 유영저해시험의 예비시험결과로 볼 때 본 연구에서 octachlorostyrene의 물벼룩에 대한 EC₅₀값을 산출하는 것은 불가능하므로 octachlorostyrene 및 chlorostyrene류의 물벼룩에 대한 급성유영저해시험은 5 mg L⁻¹ 및 10 mg L⁻¹의 농도에서 무영향농도를 산출하는 시험을 실시한 결과, octachlorostyrene, 2-, 및 3-chlorostyrene의 무영향농도는 5 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹ 및 5 mg L⁻¹로 나타났다(Table 10, 11, 12).

하지만 4-chlorostyrene의 경우 5 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹ 두 농도에서 실시한 시험결과, 10 mg L⁻¹ 농도에서 48 시간에 100%의 유영저해를 나타냈으므로 0.500~5.243(공비 1.6)

mg L⁻¹에서 본시험을 실시하여 그 결과는 Table 13과 같다.

4-chlorostyrene의 물벼룩에 대한 유영저해 본시험 결과, EC₅₀값은 2.128 mg L⁻¹ 이었고, 95% 신뢰한계는 1.847 ~ 2.463 mg L⁻¹ 이었다. 또한 시험기간 중 실시한 수중에서 octachlorostyrene 및 chlorostyrene류의 분석결과는 86.6 ~ 93.8%의 농도를 유지하고 있음을 알 수 있었다(Table 14, 15).

Tarkpea 등은 6종의 chlorostyrene을 요각류(Nitocra spinipes)에 96 시간동안 처리하여 급성독성시험을 실시하였다. 요각류는 요각아강 copepoda에 속하는 갑각류의 총칭으로 시험결과 transhexachlorostyrene을 제외한 5종의 chlorostyrene의 LC₅₀

Table 10. Test results of acute immobilization test on *Daphnia magna* of octchlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Number of immobilize ^{a)}			
	2 hrs	24 hrs	48 hrs	Immobility (%)
5.0	0	0	0	0
Solvent control (300 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
10.0	0	0	9	30
Solvent control (600 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 30 animals (10 animals/each vessel)

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

Table 11. Test results of acute immobilization test on *Daphnia magna* of 2-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Number of immobilize ^{a)}			
	2hrs	24hrs	48hrs	Immobility (%)
5.0	0	0	0	0
Solvent control (300 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
10.0	0	0	0	0
Solvent control (600 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 30 animals (10 animals/each vessel)

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

Table 12. Test results of acute immobilization test on *Daphnia magna* of 3-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Number of immobilize ^{a)}			
	2hrs	24hrs	48hrs	Immobility (%)
5.0	0	0	0	0
Solvent control (300 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
10.0	0	0	2	6.7
Solvent control (600 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 30 animals (10 animals/each vessel)

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

Table 13. Test results of acute immobilization test on *Daphnia magna* of 4-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Number of immobilize ^{a)}			
	2hrs	24hrs	48hrs	Immobility (%)
0.500	0	0	0	0
0.800	0	2	2	6.7
1.280	0	5	7	23.4
2.048	0	11	11	36.7
3.277	11	21	22	73.3
5.243	23	30	30	100.0
Control	0	0	0	0
Solvent control(315 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 30 animals (10 animals/each vessel)

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

Table 14. Measured concentrations of octa, 2-, 3-chlorostyrene in test water

Test substance	5 mg L ⁻¹		10 mg L ⁻¹	
	2hrs	48hrs	2hrs	48hrs
Octachlorostyrene	4.38(87.6%) ^{a)}	4.69(93.8%)	8.27(82.7%)	8.10(81.0%)
2-chlorostyrene	4.48(89.6%)	4.35(87.0%)	8.09(70.9%)	8.37(83.7%)
3-chlorostyrene	4.49(89.8%)	4.54(90.8%)	8.19(81.9%)	8.30(83.0%)

^{a)} Recovery rate of chlorostyrenes in test water

값은 0.034~0.15 mg L⁻¹로 산출되었고 transhexachlorostyrene의 경우 다른 styrene류들과 달리 요각류에 대한 LC₅₀값이 10 mg L⁻¹로 독성이 낮은 것으로 나타났다(Tarkpea et al, 1985). 본 연구에서는 물벼룩에 대한 급성유영저해시험 결과 앞에서 설명했듯이 octachlorostyrene, 2-, 및 3-chlorostyrene의 무영향농도는 5 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹ 및 5 mg L⁻¹로 나타났고 4-chlorostyrene EC₅₀값은 2.128 mg L⁻¹로 나타나 4-chlorostyrene이 다른 chlorostyrene들에 비해 독성이 강한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 조류나 송사리 같은 다른 시험생물종에서도 비슷한 결과를 보였는데 이는 같은 골격을

가진 화합물이라도 치환기의 위치에 따라 독성정도의 차이가 있음을 보여주는 결과이다.

담수어류에 대한 급성독성시험

Octachlorostyrene의 담수어류인 송사리에 대한 급성어독성시험의 예비시험을 48 시간동안 실시한 결과는 Table 16과 같다.

Table 17에서 보는바와 같이 예비시험결과, 최고 처리농도 100 mg L⁻¹에서 48 시간에 10%의 치사율을 나타내었으므로 'OECD guideline 203(1992)'에 준하여 본시험을 실시

Table 15. Measured concentrations of 4-chlorostyrene in test water

Conc.(mg L ⁻¹)	4-chlorostyrene	
	2hrs	48hrs
0.500	0.44(88.0%) ^{a)}	0.44(88.0%)
0.800	0.75(93.8%)	0.73(91.3%)
1.280	1.15(89.8%)	1.16(90.6%)
2.048	1.86(90.8%)	1.87(91.3%)
3.277	3.01(91.9%)	2.89(88.2%)
5.243	4.60(87.7%)	4.69(89.5%)

^{a)} Recovery rate of chlorostyrenes in test water

Table 16. Test results of acute fish toxicity test on *oryzias latipes* of solvent (Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v)

Conc. (mg L ⁻¹)	Cumulative mortality (%) ^{a)}		
	2 hrs	24 hrs	48 hrs
3000	0	0	0
3600	0	0	0
4200	0	0	0
4800	0	0	0
5400	0	0	10
Control	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 10 animals

Table 17. Test results of acute fish toxicity test on *oryzias latipes* of range finding test

Conc. (mg L ⁻¹)	Cumulative mortality (%) ^{a)}		
	2hrs	24hrs	48hrs
0.1	0	0	0
1.0	0	0	0
10.0	0	0	0
100.0	0	0	1
Control	0	0	0
Solvent control (6,000 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	2

^{a)} No. of tested animal : 10 animals

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

하여야 하지만 Table 21에서 보는바와 같이 용매 대조구에서 시험물질 처리후 48 시간에 20%의 치사율을 나타내었으므로 100 mg L⁻¹ 농도에서 송사리의 치사는 octachlorostyrene의 독성보다는 용매와 계면활성제의 영향이라 판단되고, 따라서 본시험에 사용된 용매조건에서의 송사리에 대한 용매의 무영향농도를 산출한 결과 용매농도 4800 mg L⁻¹ 즉, 80 mg L⁻¹의 octachlorostyrene 농도에서 결과가 산출되었으므로 octachlorostyrene의 담수어류인 송사리에 대한 급성어독성시험의 결과는 80 mg L⁻¹ 이상을 octachlorostyrene의 담수어류인 송사리에 대한 무영향농도로 산출하였다(Table 18).

Table 18. Test results of acute fish toxicity test on *oryzias latipes* of octachlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Cumulative mortality (%) ^{a)}			
	24hrs	48hrs	72hrs	96hrs
60	0	0	0	0
Solvent control (3,600 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
80	0	0	0	0
Solvent control (4,800 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 10 animals

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

Table 19. Test results of acute fish toxicity test on *oryzias latipes* of 2-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Cumulative mortality (%) ^{a)}			
	24hrs	48hrs	72hrs	96hrs
60	0	0	0	0
Solvent control (3,600 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
80	0	20	100	100
Solvent control (4,800 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 10 animals

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

Table 20. Test results of acute fish toxicity test on *oryzias latipes* of 3-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Cumulative mortality (%) ^{a)}			
	24hrs	48hrs	72hrs	96hrs
60	0	0	0	0
Solvent control (3,600 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
80	0	0	20	20
Solvent control (4,800 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 10 animals

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

Table 21. Test results of acute fish toxicity test on *oryzies latipes* of 4-chlorostyrene

Conc. (mg L ⁻¹)	Cumulative mortality (%) ^{a)}			
	24hrs	48hrs	72hrs	96hrs
5	0	0	0	0
10	0	0	10	20
20	0	20	20	30
40	20	30	80	80
80	100	100	100	100
Solvent control (4,800 mg L ⁻¹) ^{b)}	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

^{a)} No. of tested animal : 10 animals

^{b)} Dimethyl formamide:Tween 80=1:2, v/v

Table 22. Test results of acute fish toxicity test on *oryzies latipes* of chlorostyrenes

Test substance	NOEC (mg L ⁻¹)	LC ₅₀ (mg L ⁻¹)	
		48hrs	96hrs
Octachlorostyrene	80	-	-
2-chlorostyrene	60	-	-
3-chlorostyrene	60	-	-
4-chlorostyrene	-	39.0 (28.4~54.9) ^{b)}	22.6 (16.0~32.2)
Solvent control	4800(80) ^{a)}	-	-

^{a)} Concentration of octachlorostyrene in NOEC of solvent

^{b)} 95% confidence interval

또한 octachlorostyrene의 급성어독성시험과 동시에 실시된 2-chlorostyrene 및 3-chlorostyrene 급성어독성시험 결과 두 물질 모두 60 mg L⁻¹ 이상을 송사리에 대한 무영향농도로 산출하였고(Table 19, 20), 4-chlorostyrene의 경우 5~80 mg L⁻¹의 농도 사이에서 본시험을 실시한 결과 4-chlorostyrene의 송사리에 대한 48 시간의 LC₅₀값은 39.003 mg L⁻¹이었고, 96 시간의 LC₅₀값은 22.615 mg L⁻¹로 산출되었다(Table 22).

급성어독성시험 기간중 실시한 수중에서 시험물질의 분석 결과 시험기간인 96 시간까지 약 87.3~95.0% 수준의 농도를 유지하고 있는 것으로 나타났다.

octachlorostyrene 및 그 이성질체에 대하여 수생생물을 이용한 생태독성시험 및 담수조류에 대한 성장저해시험결과 96 시간 노출시 무영향농도(NOEC)는 0.5 mg L⁻¹ 이상으로 산출되었다. 물벼룩류 급성유영저해시험으로는 EC₅₀값을 결정하지 못하였고 어류에 대한 급성독성시험결과 80 mg L⁻¹에서도 치사개체는 나타나지 않았으므로 LC₅₀값은 80 mg L⁻¹ 이상이라고 할 수 있다.

아직까지 국내를 비롯한 해외에서도 octachlorostyrene에 대한 생태독성결과를 발표한 보고서가 거의 없어 본 연

구에서 나타난 결과와 비교평가를 하기 어려운 점이 많지만 octachlorostyrene에 관한 기존에 발표된 보고서들은 octachlorostyrene의 독성에 대해 매우 우려하는 내용이 많았다. 본 연구에서는 환경생물종에 대한 독성시험을 실제 수행하였는데 그 결과 octachlorostyrene에 대한 수계독성의 경우, 급성독성은 강하게 나타나지 않았는데, 이는 물에 거의 녹지 않는 성질에 기인한 것으로 생각되며, 보다 정확한 유해성확인을 위하여는 환경생물종에 대한 만성독성이 실시되어야 할 것이다. 미국, 캐나다를 비롯한 유럽 여러나라에서 octachlorostyrene을 PBTs의 범주에 넣고 관리대상물질로서 관리시스템을 도입하고 있으므로 현재 우리나라도 지속적인 관심과 꾸준한 연구로 앞으로 닥쳐올지 모르는 octachlorostyrene의 위협으로부터 대처할 수 있는 방안을 마련해야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 환경부 차세대핵심환경기술개발사업의 일환으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

- Chu, I., Secours, V.E., Villeneuve, D.C., and Valli, V.E., (1982a) Acute and subacute toxicity of octachlorostyrene in the rat. *J. Toxicol. Environ. Health*, 10, 285~296.
- Finney, D.J. (1971) Estimation of the median effective dose, pp.19-47, In *Probit Analysis*. Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Lommel, A., H. Kruse, E. Muller, and O. Wassermann (1992) Organochlorine pesticides, OCS, and mercury in the blood of Elb River residents, Germany, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 22(1):14~20.
- Lunde, G., and Bjorseth, A. (1977) Human Blood Samples as Indicators of Occupational Exposure to Persistent Chlorinated Hydrocarbons, *Science of the Total Environment* 8:241~246.
- OECD (1984) OECD guidelines for the testing of chemicals No. 201 Alga, Growth Inhibition Test.
- OECD (1984) OECD guidelines for the testing of chemicals No. 202 *Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test and Reproduction Test.
- OECD (1992) OECD guidelines for the testing of chemicals No. 203 Fish, Acute Toxicity Test.
- OECD (1992) OECD guidelines for the testing of chemicals No. 210 Fish, Early-life Stage Toxicity Test.
- OECD (1998) OECD guidelines for the testing of chemicals No. 211 *Daphnia magna* Reproduction Test.
- Selden, A., Floderus, Y., Bodin, L.S., and Westberg, H.B. (1999) Stig Thunell Porphyrin Status in Aluminum Foundry Workers Exposed to Hexachlorobenzene and Octachlorostyrene, *Archives of Environmental Health*, 54, 4, 248~253.
- Smith D.W. (1999) A report to the Great Lakes Binational Toxics Strategy OCS Workgroup.
- Tarkpea, M., Hagen, I., Carlberg, G.E., Kolsaker, P., and Storflor, H. (1985) mutagenicity, acute toxicity, and bioaccumulation potential of six chlorinated styrene. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 35, 525~530.
- 환경부 (2004-2007) 'PBTs 규제관리기술로서의 Chlorostyrene 환경위해성평가'.

Octachlorostyrenes의 환경생물에 대한 급성독성 연구

김용석^{1,2} · 전용배¹ · 이대용¹ · 이주환¹ · 이규승² · 성하정^{3*}¹한국화학시험연구원 환경독성팀, ²충남대학교 농업생명과학대학, ³호서대학교 융합기술연구소

요 약 옥타클로르스티렌은 환경중에서 잔류성이 높고 분해되지 않아 고농도로 축적될 뿐만아니라 독성이 매우 높은 물질 군을 일컫는 PBTs(Persistent, Bioaccumulative and Toxic Substances) 화합물로서 분류된다. 본 연구에서는 PBTs 화합물 군에 속하는 옥타클로르스티렌과 그 이성체를 대상으로 환경위해성평가의 기초자료를 만들기 위하여 환경생물인 조류, 물벼룩 및 어류 등 먹이연쇄상의 생물종에 대해 급성독성시험을 통해 반수영향농도(EC₅₀, Effective Concentration), 반수치사농도(LC₅₀, Lethal Concentration), 최대무영향농도(NOEC, No Observed Effect Concentration) 또는 최소영향농도(LOEC, Lowest Observed Effect Concentration)등을 산출하였다. 그 결과 옥타클로르스티렌 및 2-, 3-chlorostyrene의 조류에 대한 성장저해 무영향농도는 0.5 mg L⁻¹로 산출되었고, 4-chlorostyrene의 조류에 대한 성장저해 무영향농도는 0.13 mg L⁻¹로 산출되었다. 담수무척추동물인 물벼룩에 대한 급성유영저해시험결과 옥타클로르스티렌 및 2-, 3-chlorostyrene의 무영향농도는 5 mg L⁻¹로 산출되었고, 4-chlorostyrene의 EC₅₀값은 2.128 mg L⁻¹로 산출되었다. 또한 담수어류인 송사리를 대상으로 실시한 급성어독성시험결과, 옥타클로르스티렌의 무영향농도는 80 mg L⁻¹, 2-, 3-chlorostyrene의 무영향농도는 60 mg L⁻¹로 산출되었고 4-chlorostyrene은 LC₅₀값은 39.0 mg L⁻¹(48 시간), 22.6 mg L⁻¹(96 시간)로 산출되었다.

색인어 옥타클로르스티렌, PBTs, EC₅₀, LC₅₀, NOEC, LOEC