

신규 살조물질인 Thiazolidinedione 유도체 (TD49)의 해양생태계에 대한 급성독성평가

임은채¹ · 신준재¹ · 박인택² · 한효경³ · 김시욱⁴ · 조 훈⁵ · 김성준^{2*}

¹전남대학교 바이오에너지 및 바이오소재협동과정, ²전남대학교 환경공학과,
³동국대학교 약학대학 약학과, ⁴조선대학교 환경공학과, ⁵조선대학교 응용화학소재공학과

Acute Toxicity Assessment of New Algicides, Thiazolidinedione Derivative (TD49) to Marine Ecosystem

Eun-Chae Yim¹, Jun-Jae Shin¹, In-Taek Park², Hyo-Kyung Han³,
Si-Wouk Kim⁴, Hoon Cho⁵, and Seong-Jun Kim^{2*}

¹Collaborate course of Bioenergy and Biomaterial, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

²Department of Environmental Engineering, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

³College of Pharmacy, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

⁴Department of Environmental Engineering, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

⁵Department of polymer science & Chemical Engineering, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract A thiazolidinedione derivative, TD49 with the highly selective algicide to red tide was newly synthesized and its acute toxicity was examined in order to evaluate the effect on aquatic ecosystems of coast. Major three species having important role in the food chain of marine ecosystem, such as *Skeletonema costatum* of microalgae, *Daphnia magna* of crustacea, *Paralichthys olivaceus* of flatfish fingerling were employed for the acute toxicity assessment. EC₅₀ or LC₅₀ as the assessment criterion was investigated to each specie, and NOEC (No Observed Effect Concentration) and PNEC (Predicted No Effect Concentration) from most sensitive specie to toxicity of TD49 were further calculated. EC₅₀ of *S. costatum* in 96-hour, EC₅₀ of *D. magna* in 48-hour, and LC₅₀ of *P. olivaceus* in 72-hour for TD49 were 0.34 μM, 0.68 μM, and 0.58 μM, respectively. NOEC from the results of *S. costatum* was estimated to be 0.20 μM and PNEC was estimated as 3.40 nM by applying factor value of 100 to EC₅₀ 0.34 μM of *S. costatum*. In addition, it was revealed that Solutol used as the dispersing agent of TD49 had very little toxic influence under the concentration range of 0~0.4 μM used in TD49 toxicity experiment. Although the estimated concentration of TD49 that will be sprayed onto the coastal field for the algicide is higher than NOEC value, it is considered that the spraying concentration would not be a considerable problem due to a dilution effect by tide at the opened coast.

Keywords: Acute toxicity, Algicides, Thiazolidinedione, NOEC, PNEC

서 론

우리나라에서는 연안 해역에서의 적조발생빈도가 잦아네

이로 인해 매년 심각한 수산피해를 야기하며 환경과 인간 건강에 위해를 끼치고 있다 [1]. 적조방제와 관련한 물리학적, 생물학적 적조구제기술 등에 많은 연구가 수행되었다 [2,3]. 현재 유해성 적조가 발생하면 적조를 구제하기 위해 황토 [4,5]나 점토 [6]를 살포하고 있다. 그러나 이러한 방법은 저서생물의 호흡이나 신진대사를 방해하는 2차적 문제를 일으킬 수 있다 [7,8]. 당 연구팀은 유해성 적조가 발생했을

*Corresponding author

Tel: +82-62-530-1864, Fax: +82-62-530-0864

e-mail: seongjun@chonnam.ac.kr

때 적조생물을 효과적으로 제거하면서 해양 생태계에 미치는 독성 영향을 최소화하고 2차 오염이 없는 환경 친화적 적조 방제기술 개발을 위한 연구를 수행하고 있다. 살조제 개발팀은 해양생태계에 독성이 약하고 유해조류, 즉 적조에 살조 특이성이 높은 살조제 개발에 초점을 맞추고 신규 살조제 TD49를 개발하였다 [9].

우리의 이전 연구에서는 신규 살조제 TD49의 수생태계에 미치는 독성영향을 평가하고자 ISO 표준방법으로 신규로 채택된 구멍갈파래를 이용한 독성평가를 실시하였다. 그러나 단일 종만을 평가하는 것으로 해양 생태계에 끼치는 독성 영향을 평가하는 것은 한계가 있다고 판단되어, 본 연구에서는 OECD 표준방법인 먹이사슬의 주요 3가지 생물종을 대상으로 하여 급성 독성을 평가하고자 한다. 본 연구의 생물노출평가에는 1차생산자의 대표적인 조류인 *Skeletonema costatum*, 중간단계인 갑각류 *Daphnia magna*, 최종단계인 어류 *Paralichthys olivaceus*에 대한 급성독성을 조사한다. 그리고 가장 예민한 생물종에 대한 관찰무영향농도 NOEC (No Observed Effect Concentration)를 도출하였다. 나아가 실험대상 생물 중 가장 민감한 종의 급성 독성값에 불확실성의 일정평가인자 (constant assessment factor)를 적용하여 예측무영향농도 PNEC (Predicted No Effect Concentration)를 도출 [10]하여 생태계의 다른 생물종에 대한 안정한 범위의 농도를 제시하고자 한다. 또한 도출된 실험결과를 토대로 이전 연구에서 단일종인 구멍갈파래의 급성독성평가 결과 [11]와의 비교평가를 통해 TD49의 해양생태계에 대한 독성도 예측의 신뢰성을 향상시키고자 한다.

재료 및 방법

살조물질 (TD49) 준비

TD49의 구조는 Fig. 1에 나타내었으며, 조선대학교 조훈 교수로부터 신규로 합성한 TD49를 제공받았다 [9]. TD49 (MW: 337.8)의 용해는 동국대학교 한효경교수가 개발한 방법 [9]에 따라 TD49 (MW: 337.8)와 분산제 Solutol® HS15 (MW: 960), (BASF, Ludwigshafen, Germany)를 함께 100% 에탄올에 완전히 용해시킨 후에, 용매는 상온에서 진공펌프를 이용하여 제거시킨다. 얻어진 고체 분산제는 spatula를 이용해서 긁어내고 12시간 동안 진공 하에서 완전히 건조시킨다. 이 건조물을 실험 시에 증류수를 넣고 초음파를 이용하여 재용해한 후 stock solution (296 μM)으로 사용하였다.

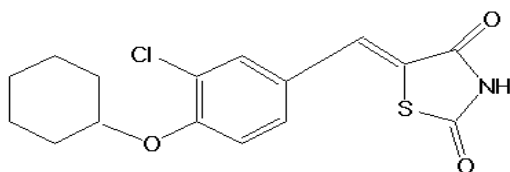


Fig. 1. Chemical structure of TD49.

TD49의 급성노출평가용 희석수는 *S. costatum*은 JM배지, *D. magna*는 M4배지, 넙치 치어에 대해서는 인공해수를 사용하였다.

*S. costatum*를 이용한 급성노출평가

실험 조건 및 평가항목

실험에 이용된 *S. costatum*은 OECD에서 지정한 대표 생물종이다.

초기 세포농도 (7.7×10^4 cells/mL), 광주기 (14 L/10 D), 온도 ($20 \pm 1^\circ\text{C}$), 습도 (80%)를 실험 기간 동안 유지하고, OD₇₅₀ nm, Chlorophyll a 및 세포수 (혈구 계산판)를 측정하였다. TD49와 그 분산제 Solutol을 각 농도별 (0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 μM) 3개씩 처리하여 ($n = 3$), EPA기준에 준하여 96시간 EC₅₀를 조사하였다. 각 농도별 희석수는 Guillard *et al.*가 제시한 실험방법에 의거 f/2배지 [12]를 이용하였다.

또한 실험 기간 동안 초기와 최종상태에서의 pH 및 온도를 모니터링하여 실험과정에서의 *S. costatum*에 대한 영향정도를 조사하였다.

Chlorophyll a 측정방법

시료 5 mL를 채취하여 neutral formalin으로 고정한 후 4 $^\circ\text{C}$, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 제거한다. 동량 5 mL의 90% acetone을 넣어 하룻밤 보관 후 다시 4 $^\circ\text{C}$, 12,000 rpm으로 10분간 원심 분리하고 상층액을 채취한 후 665, 645, 630 nm에서 색소의 흡광도를 측정한다. Parsons and Strickland [12]의 방법으로 계산하여 chlorophyll a 함유량을 구한다.

$$\text{Chl} - a [\text{mgm}^{-3}] = (11.6D_{665} - 1.31D_{645} - 0.14D_{630})Vl^{-1}V^{-1}$$

v: volume of acetone [mL].

l: cell (cuvette) length [cm].

V: volume of filtered water [l].

*D. magna*를 이용한 급성노출평가

물벼룩 (*Daphnia magna*)은 화학독성평가 연구원에서 분양 받아 이용하였으며 이는 OECD에서 지정한 대표 생물종이다. 생후 1일 미만의 *D. magna*를 10마리씩 100 mL 비커에 넣고 TD49 및 분산제인 Solutol을 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.8 μM 농도로 3개씩 처리한 후 24, 48시간의 생존 수를 파악한다. 각 농도별 희석수는 Elendt and Bias [14], Samel *et al.* [15]가 제시한 실험방법에 의거 M4배지를 이용하였다. 이때 움직임이 거의 없는 것도 죽은 것으로 간주한다. 48시간 EC₅₀를 독성평가 사용하였다. 실험 기간 동안 pH, 온도를 모니터링하였다.

어류를 이용한 급성노출평가

실험재료 및 사육환경

넙치 치어 *Paralichthys olivaceus*는 우리나라의 대표적인

양식어종으로 저서성이며, 다른 어종에 비하여 이동범위가 좁기 때문에 연안 또는 내만 지역에서 발생하는 적조 구제를 위해 살조제 살포시 직접적인 영향을 받을 가능성이 높은 것을 고려하여 본 실험에 이용하였다. 실험에 이용된 넙치 치어 (*P. olivaceus*)는 무안군 소재 육상 수조식 치어 부화장 (D수산)으로부터 분양받아 사용하였다. 넙치 치어는 평균 체중 0.23 g, 전장 3.27 cm로 부화 된지 약 60일이 경과된 상태로 실험실에서 2일간 순치시킨 후 실험에 이용하였다. 넙치 치어의 크기는 25~40 mm 고 중량은 0.7 ± 0.3 g 이며, 넙치 치어의 사육 환경은 온도 21~23°C, 사료량은 어체중 (습 중량)의 5%로 2회에 걸쳐서 나누어 공급하였고, 실험 기간 동안에는 먹이 공급을 중단하였다. 광주기는 12시간 조명, 12시간 무조명을 유지하였다. 실험에 사용된 해수는 해수염 (TetraMarine salt pro, United Pet Group, Inc)을 구입하여 증류수 1 L당 33 g을 넣어 제조하여 사용하였다.

어류 급성노출평가 실험 조건

해수는 한 수조에 3 L씩 사용하였으며, 실험 시 사용 된 개 체 수는 한 수조에 10마리, 처리농도 별로 3개의 수조를 설치 하여 살조제 TD49 및 그 분산제 Solutol에 대해 어류 급성 독성평가를 실시하였다. 예비실험을 바탕으로 0.1~1.6 μM의 범위에서 대조구를 포함하여 6개 농도구 (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 μM)를 3반복으로 설정하였다. 24시간마다 치사한 개체를 관찰하였으며, 급성독성의 결과로서 72시간 LC₅₀은 SPSS program으로 통계처리 하여 산출하였다. 또한 실험 기간 동안 수조의 타 환경인자인 pH, DO, 염분도 (ATAGO, S/Mill-E, Japan)의 변화를 측정하였다.

NOEC와 PNEC 도출

OECD지침에 따르면 화학물질이 나타내는 독성 등에 관한 영향평가에서 제한된 독성자료만이 얻어진다면, 생태 계에 대한 PNEC를 예측하기 위해 일정평가인자 (constant assessment factor)가 각 외삽단계에서 사용되는데, 적어도 조류, 갑각류, 어류를 포함하는 일련의 실험결과에서 구한 최소 급성 LC₅₀ 또는 EC₅₀에 있어서 일정평가인자 100을 적용 하여 PNEC 값을 도출한다 [10].

본 연구에서도 3종의 급성노출평가 결과 값을 이용하여 LC₅₀ 또는 EC₅₀을 계산하고 가장 민감한 종에 대해서는 NOEC를 도출하였다. 그리고 가장 민감한 종의 LC₅₀ 또는 EC₅₀ 값에 일정평가인자 100을 적용하여 PNEC를 예측하여 TD49의 해양환경에 대한 포괄적인 독성평가를 수행하였다.

결 과

S. costatum를 이용한 독성평가

농도 0.4 μM의 TD49에서 *S. costatum*의 세포 수의 증가 가 상당히 억제 되는 경향을 보이니 (Fig. 2), 그보다 더 낮

은 농도인 0.025~0.2 μM에서는 대조구와 비슷한 성장률을 보여 독성영향이 거의 없음을 알 수 있다. 이러한 경향은 750 nm의 흡광도와 chlorophyll a의 함량분석 (data not shown)에서도 비슷한 경향을 나타내었다. 이는 낮은 농도의 TD49가 *S. costatum*의 성장을 상당히 억제함을 알 수 있다.

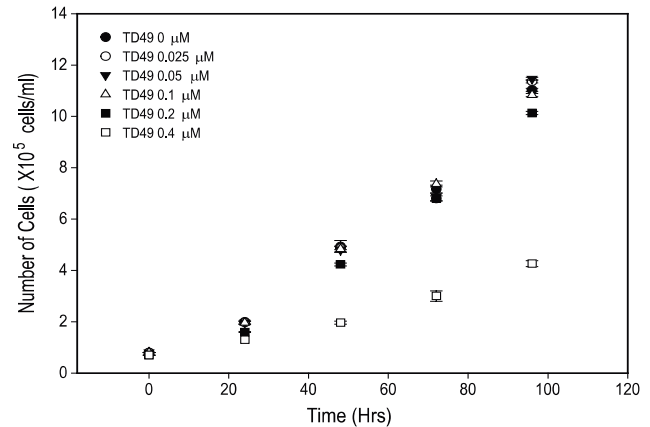


Fig. 2. Growth (cell number) of *S. costatum* exposed in various concentrations of TD49.

Solutol에서는 0.4 μM에서 48시간 경과시에 대조구보다 약간 낮은 성장률을 보이다 72시간 이후부터는 거의 비슷한 정도로 상승되었다. 또한 그 보다 더 낮은 농도 0.025~0.2 μM에서는 대조구와 비슷한 성장률을 보였다 (Fig. 3). 실험범 위내의 농도에서 Solutol은 *S. costatum*에 대해서 거의 독 성이 없음을 알 수 있다. 또한 Solutol은 750 nm 흡광도와 Chlorophyll a의 함량 분석에서도 *S. costatum*에 대해서 전혀 독성영향이 없음이 확인되어 (data not shown), EC₅₀ 계산 시 생략하였다.

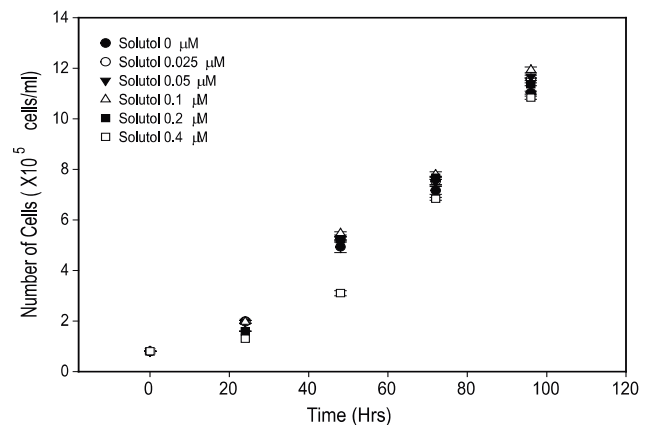


Fig. 3. Growth (cell number) of *S. costatum* exposed in various concentrations of Solutol.

*S. costatum*에 대해서 TD49의 세포수에 대한 96시간 EC₅₀을 도출한 결과 0.37 μM을 나타내었다 (Fig. 4). 또한 *S. costatum*에 대해 흡광도에 따른 96시간 EC₅₀은 0.38 μM

을 나타내었고, Chlorophyll a 함량에 따른 EC₅₀은 0.34 μM
을 나타내었다 (Fig. 4).

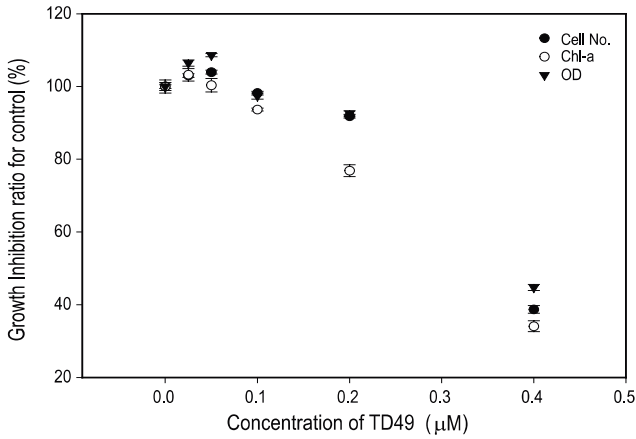


Fig. 4. EC₅₀ of TD49 at 96-h by cell number, chlorophyll a and optical density.

D. magna를 이용한 독성평가

*D. magna*는 먹이사슬의 1차 소비자 단계이면서 어류의 먹이가 되기에 위치상 매우 중요하다. *D. magna*의 시간경과에 따른 생존율을 대조구와 비교하여 조사한 결과 TD49의 경우 0.8~1.6 μM에서 급격하게 저하되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 5). 그러나 Solutol의 경우는 동 범위 내에서 거의 독성을 나타내지 않았다.

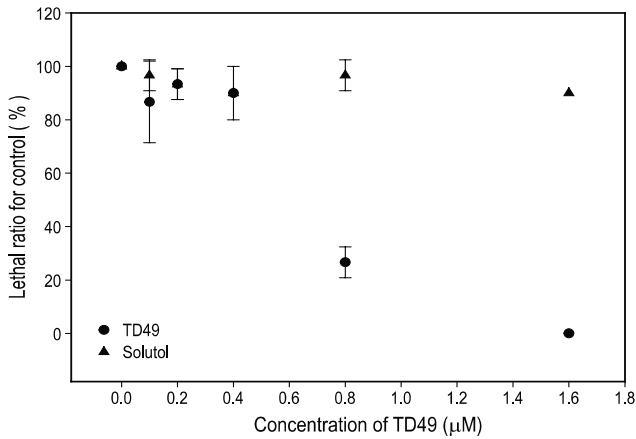


Fig. 5. Lethal ratio of *D. magna* in different concentrations of TD49.

*D. magna*의 치사율을 대조구에 대한 백분율로 나타낸 결과, TD49 농도의 증가에 따라 줄어드는 것을 확인 하였으나 분산제인 Solutol의 경우에는 거의 영향이 없음을 알 수 있다 (Fig. 5). 이때에 *D. magna*의 48시간 EC₅₀은 0.68 μM을 나타내었다. 이는 *S. costatum*에 대한 EC₅₀ 값 (0.34~0.38 μM) 보다 높게 나타났기에 TD49 독성에 대해 좀 더 강함을 알 수 있었다.

P. olivaceus를 이용한 독성평가

Fig. 6에 보이는 바와 같이, 넙치 치어 (*P. olivaceus*)에 대한 TD49의 LC₅₀은 0.582 μM로 계산되었다. 그러나 같은 농도 내에서의 Solutol의 독성은 치사율이 최대 10% 정도로 독성이 그다지 없음을 알 수 있었다. 넙치 치어의 TD49에 대한 LC₅₀ 값은 *D. magna*의 EC₅₀ 0.68 μM에 비해 보다 약간 낮아 넙치 치어가 물벼룩보다는 TD49독성에 민감하게 나타났다.

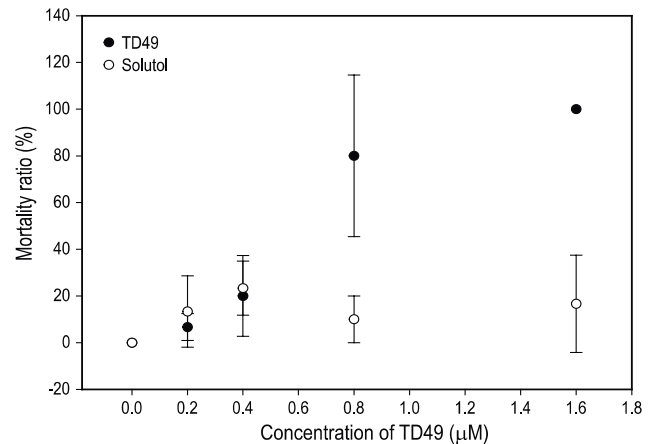


Fig. 6. Mortality ratio of *P. olivaceus* in various concentrations of TD49 at 48-h.

넙치 치어의 독성 평가 기간 동안 증발량과 염분도의 변화에 따른 영향을 고려하기 위해 지속적으로 관찰하였다. 그 결과 시간에 따른 증발량은 100~400 mL사이로 수조의 위치에 따른 증발량이 다르게 나타났다. 염분 농도는 TD49와 Solutol의 농도가 높아질수록 약간 높게 나타났다 (Fig. 7). 그러나 실험 결과를 고려할 때, 수조에서의 증발량과 염분 농도의 변화가 넙치 치어에 끼치는 영향은 거의 없는 것으로 판단된다.

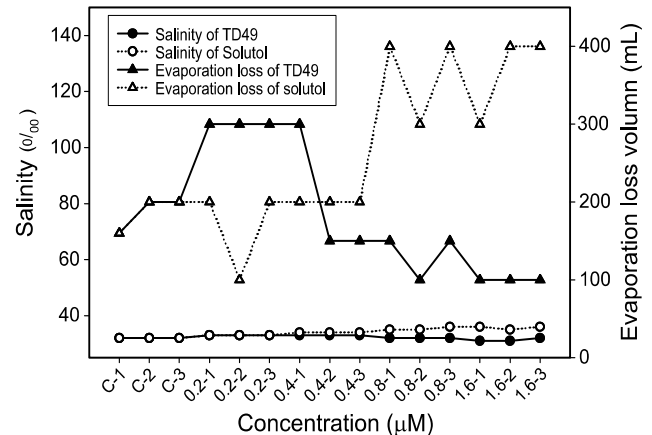


Fig. 7. Changes of evaporation loss and salinity in water tank during the exposure experiment of *P. olivaceus*.

NOEC, PNEC 및 종합적 독성평가

본 연구의 3종에 대한 급성 생물노출 독성평가 결과로부터, *S. costatum*에 대한 독성이 가장 민감하게 나타나, *S. costatum*의 독성치로부터 NOEC 값 0.20 μM 을 도출하였다. 그리고 가장 민감한 종인 *S. costatum*의 EC_{50} 값에 일정평가인자 100을 적용하여 PNEC를 계산한 결과, 3.40 nM로 예측되었다 (Table 1).

한편, TD49의 분산제인 Solutol은 TD49와 같은 농도 범위 내에서 전혀 독성을 나타내지 않았다.

Table 1. The values of EC_{50} or LC_{50} , NOEC and PNEC of TD49 obtained from the acute toxic assessment using *S. costatum*, *D. magna*, and *P. olivaceus*.

		EC_{50} or LC_{50} (μM)
<i>S. costatum</i>	TD49	0.34
<i>D. magna</i>	TD49	0.68
<i>P. olivaceus</i>	TD49	0.58
NOEC ^{a)} (μM)	Factor	PNEC ^{b)} (nM)
0.20	100	3.40

a) NOEC: No Observed Effect Concentration.

b) PNEC: Predicted No Effect Concentration.

고 찰

TD49의 *S. costatum*에 대한 급성독성은 96시간 EC_{50} 은 0.34~0.38 μM 를 나타내었다. 측정 방법에 따라서 급성 독성 값이 약간의 차이는 보이나 대체로 비슷한 범위 내에서 독성을 나타냄을 알 수 있으며 이는 세 가지 평가방법간의 상관성이 높음을 시사하고 본 연구의 실험결과도 비교적 높은 신뢰성을 갖는다고 평가할 수 있다.

TD49가 *S. costatum*에 대해 비교적 강하게 독성을 나타낸 것은 *S. costatum*가 해양생태계에서 1차생산자 중 가장 많은 비중을 차지하지만, 적조를 일으키는 적조성 플랑크톤과 세포의 구조 및 대사가 3종 중에서 가장 유사하기 때문으로 생각된다. 그러나 선행연구 [11]에서 구멍갈파래를 이용하는 평가에서는 Solutol에 대한 96시간 EC_{50} 이 1.70 μM 로서 비교적 강한 독성을 나타냈다. 같은 1차 생산자이지만 대상 생물종에 따라 그리고 독성물질에 따라 많이 상이함을 확인할 수 있었다. 따라서 여타의 급성독성평가 방법을 이용하여 추가적인 노출평가를 수행하여 급성독성평가의 신뢰성을 향상시킬 필요가 있다고 판단된다.

TD49의 NOEC 0.20 μM 와 PNEC 3.40 nM를 고려할 때, 실제로 가두리 양식장에 적조를 구제하기 하기 살조제 TD49를 1 μM 농도로 살포하는 경우 어떠한 독성이 예측되는지 예측할 수 있다. 예를 들어 수심 40 M의 가두리 양식장에 수심 5 M이내에서 적조가 대량 발생되고 있다. 이를 구제하기 위해서 TD49를 1 μM 농도를 수심 5 M에 적용하는 농도로 살포한 경우, 양식장의 비살포 수심 35 M에 의해 전체적

으로 8배 희석되며 0.13 μM 이 되어 NOEC 보다 낮은 농도가 된다. 또한 본 연구 결과는 실험실 내에서 폐쇄적인 상태에서 독성을 평가한 결과이나 개방상태의 현장에서는 바람과 조류에 의한 희석 등의 다양한 독성 저감 변수가 존재하기 때문에 독성효과가 실제로 더 낮아질 것으로 사료된다. 그러므로 TD49의 연안 생태계에서의 독성영향은 우려할 만큼의 독성을 끼치지 않을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 TD49의 PNEC 값이 3.40 nM로 평가되었으나, 이전에 수행한 단일 종의 구멍갈파래 EC_{50} 0.18 μM 에 불확실성 일정평가인자 1000을 적용한 결과 PNEC 0.18 nM로 예측하였다 [11]. 두 PNEC 값을 비교하면, 구멍갈파래를 이용한 경우가 약 18.7배 낮은 농도로 예측되어서 독성영향이 그만큼 강한 것으로 생각될 수 있지만, 그 차이는 불확실성의 차이로부터 유래한 값의 차이로 할 수 있다. 급성독성평가의 대상종을 민감한 종으로 더 확대하여 수행한다면 불확실성 인자값을 더 줄일 수 있기 때문에 PNEC 값을 더 높일 수 있게 된다. 즉 생태계에서의 실제독성을 더 정확히 예측할 수 있게 된다.

결 론

연안에 발생하는 유해적조에 대해 선택적 살조능력을 향상시키기 위해 신규로 합성된 Thiazolidinedione 유도체 TD49 살조물질이 해양생태계에 끼치는 독성 영향을 평가하고자 먹이사슬의 주요 3생물종: 미세조류인 *S. costatum*, 갑각류인 *D. magna*, 어류인 넙치 치어 *P. olivaceus*에 대한 생물노출 급성독성평가를 실시하였다. *S. costatum*에 대한 96시간 후의 EC_{50} 은 0.34~0.38 μM 이며, *D. magna*에 대한 48시간 EC_{50} 은 0.68 μM , 넙치 치어에 대한 72시간 LC_{50} 은 0.58 μM 이었다. 일련의 실험결과 세 종 가운데 가장 민감한 반응을 나타낸 *S. costatum*에 대한 결과로부터 도출한 NOEC는 0.20 μM 로 계산되었으며, *S. costatum*의 EC_{50} 값으로부터 PNEC 3.37 nM이 예측되었다. 한편 TD49에 포함된 분산제 Solutol의 독성은 TD49 살포적용 범위의 농도에서 독성영향이 거의 없는 것으로 나타났다. 한편 TD49의 분산제로 사용된 Solutol의 독성은 실제 살포 농도범위에서 거의 독성을 보이지 않았다. 만약 TD49의 현장 살조농도를 1 μM 로 실시한다면 NOEC 수준보다 훨씬 높아 생태계에 대한 독성영향이 큰 것으로 단순 예측되나, 실제 연안해역은 개방구조의 희석효과가 상당히 높기 때문에 연안생태계에 대한 독성은 그리 높지 않을 것으로 사료된다.

감 사

본 연구는 한국연구재단을 통해 교육과학기술부의 미래 유망 융합기술 파이오니어 사업으로부터 지원받아 수행되었습니다 (과제번호 M1071118001-08M1118-00110).

접수 : 2010년 10월 22일, 게재승인 : 2010년 12월 20일

REFERENCES

1. Jeong, J. H., H. J. Jin, C. H. Shon, K. H. Suh, and Y. K. Hong (2000) Algicidal activity of the seaweed *Corallina pilulifera* against red tide microalgae. *J. Appl. Phycol.* 12: 37-43.
2. Kurada, H., A. Shiroda, and S. R. Leno (1990) Abstract on study of techniques for prevention of red tide. *Fish. Agen.* 51-65.
3. Lawrence, J. E., A. M. Chan, and C. A. Suttle (2001) A novel virus (HaNIV) causes lysis of the toxic bloom-forming alga *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *J. Phycol.* 37: 216-222.
4. Na, G. H., W. J. Choi, and Y. Y. Chun (1996) A study on red tide control with loess suspension. *Kor. J. Aquacult.* 9: 239-245.
5. Choi, H. G., P. J. Kim, W. C. Lee, S. J. Yun, H. G. Kim, and H. J. Lee (1998) Removal efficiency of *Cochlodinium polykrikoids* by yellow loess. *J. Kor. Fish. Soc.* 31: 109-113.
6. Sun, X. X., J. K. Choi, and E. K. Kim (2004) A preliminary study on the mechanism of harmful algal bloom mitigation by use of sophorolipid treatment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 304: 35-49.
7. Rhoads, D. C. and D. K. Young (1970) The influence of deposit feeding organism on sediment stability and community trophic structure. *J. Mar. Res.* 28: 150-178.
8. Bricelj, V. M., and R. E. Malouf (1984) Influence of algal and suspended sediment concentrations on the feeding physiology of the hard clam *Mercenaria mercenaria*. *Mar. Biol.* 84: 155-165.
9. Lee, H. K., H. Cho, and H. K. Han (2010) Improved dissolution of poorly water soluble TD49, a novel algicidal agent, via the preparation of solid dispersion. *J. Pharm.* 40: 181-185.
10. Van Leeuwen, C. J., and J. L. M. Hermens (2001) *Risk Assessment of Chemicals: An Introduction*. pp. 326-327. Kluwer Academic Publishers, USA.
11. Yim, E. C., I. T. Park, H. K. Han, S. W. Kim, H. Cho, and S. J. Kim (2010) Acute toxicity assessment of new algicides of thiazolidinedione derivatives, TD53 and TD49 using *Ulva pertusa* Kjellman. *Kor. J. Environ. Health. Toxicol.* 25 in print.
12. Guillard, R. R. L. and D. Ryther (1962) Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8: 229-239.
13. Strickland, J. D. H., and T. R. Parsons (1968) *A practical handbook of seawater analysis*. p. 167. Bulletin 167 2nd ed., Fisheries Research Board of Canada, Canada.
14. Elendt, B. P. and Bias, W. R. (1990) Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing: effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. magna*. *Wat. Res.* 24: 1157-1167.
15. Samel, A., M. Ziegenfuss, C.E. Goulden, S. Banks, and K. N. Baer (1999) Culturing and bioassay testing of *Daphnia magna* using Elendt M4, Elendt M7, and COMBO media. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 43: 103-119.