

신규 살조물질인 Thiazolidinedione 유도체 (TD53)의 해양생태계에 대한 급성독성평가

임은채, 신준재, 박인택¹, 한효경², 김시욱³, 조훈⁴, 김성준^{1*}

Acute Toxicity Assessment of New Algicide, Thiazolidinedione Derivative (TD53) to Marine Ecosystem

Eun-Chae Yim, Jun-Jae Shin, In-Taek Park¹, Hyo-Kyung Han², Si-Wouk Kim³, Hoon Cho⁴, and Seong-Jun Kim^{1*}

접수: 2010년 12월 13일 / 게재승인: 2011년 1월 11일

© 2011 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract In order to perform an acute toxicity assessment of a new algicide, thiazolidinedione derivative (TD53) with enhanced solubility and lower toxicity to marine ecosystem, representative 3 organisms: plant plankton (*Skeletonema costatum*), animal plankton (*Daphnia magna*), fish (*Paralichthys olivaceus*) related in the food chain of marine ecosystem according to OECD standard methods were employed in the exposure experiment. The exposure assessment showed that EC₅₀ of *S. costatum* in 96-hour, EC₅₀ of *D. magna* in 48-hour and LC₅₀ of *P. olivaceus* in 72-hour for TD53 were 1.53 μ M, 0.61 μ M and 2.14 μ M respectively. NOEC (No Observed Effect Concentration) and PNEC (Predicted No Effect Concentration) were calculated to be 0.25 μ M and 6.10 nM, respectively from EC₅₀ of most

sensitive strain, *D. magna*. Comparing with the results of toxicity assessment previously performed by using *Ulva pertusa* Kjellman accepted as an ISO standard method, the values of PNEC showed 3.7 times lower toxicity in case of this study employing 3 organisms, indicating that if the organisms which are more representative and sensitive in marine ecosystem are further investigated, more accurately and validly predicted toxicity of TD53 could be applied in field.

Keywords: acute toxicity, algicides, thiazolidinedione, NOEC, PNEC

전남대학교 바이오에너지 및 바이오소재협동과정
Collaborate course of Bioenergy and Biomaterial, Chonnam National University

¹전남대학교 환경공학과

¹Dept. of Civil, Earth and Environmental Engineering, college of Engineering, Chonnam National University 300, Gwangju 500-757, Korea

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

e-mail: seongjun@jnu.ac.kr

²동국대학교 약학대학 약학과

²College of Pharmacy, Dongguk University, Seoul

³조선대학교 환경공학과

³Department of Environmental Engineering, Chosun University

⁴조선대학교 응용화학소재공학과

⁴Department of polymer science & Chemical Engineering, Chosun University

1. 서론

유해조류는 해마다 수생태계와 수산업에 심각한 문제를 초래하며 인간건강에 있어서도 피해를 주고 있다 [1]. 이러한 유해조류를 조절하기 위한 방법으로 황산구리 [2], 과산화수소 [3], 황도 [4,5]나 점토 [6], 바이러스 생물학 제제 [7]와 박테리아 [8]를 이용하는 방법에 관한 많은 연구가 수행되었다. 그러나 이러한 방법들은 잠재적으로 심각한 환경적인 문제를 초래할 수 있다. 당 연구팀은 해양 생태계에 미치는 독성 영향을 최소화하고 2차 오염이 없는 자연생태 조화형, 환경 친화적 적조 방제기술 개발을 위한 연구를 수행하고 있다. 살조제 개발팀은 해양생태계에 독성이 약하고 유해조류에 살조 특이성이 높은 살조제개발에 초점을 맞추었다. 신규 살조제 TD53은 선행 연구된 TD49 [9]와 마찬가지로 thiazolidinedione (TD)를 기본 골격으로 하고 있다. 본 연구팀에 의해 신규 개발된

살조물질 TD49의 경우 용해도가 매우 낮으며 독성이 강하게 작용하였기에 보다 용해도를 개선시키고 독성이 낮은 TD53이 조훈교수 연구팀에 의해 개발되었다 [10].

이전 연구에서는 신규 살조제 TD53의 수생태계에 미치는 독성영향을 평가하고자 ISO 표준방법으로 신규로 채택된 구멍갈파래를 이용한 독성평가를 실시하였다 [11]. 그러나 단일 종만을 평가하는 것으로 해양 생태계에 끼치는 독성영향을 평가하는 것은 한계가 있다고 판단되어 다양한 해양 생물종에 대한 급성독성 연구를 수행하여 보다 현실적인 독성영향을 평가하고자 하였다. 본 연구에서는 신규 개발된 TD53에 대해서 해양먹이사슬의 주요 3가지 생물종을 대상으로 급성노출 평가를 실시하고자 한다. 노출실험에는 해양 생태계의 먹이사슬을 대표하고 독성에 민감한 종으로 알려진, 미세조류 (*Skeletonema costatum*), 갑각류 (*Daphnia magna*), 어류 (*Paralichthys olivaceus*)의 3종을 이용하였다.

조류에 대한 급성독성평가 방법은 국제적 표준기구인 ISO, OECD, USEPA, ASTM [12-15] 등에 제시된 방법이 있는데, 본 연구에서는 대표조류로서 *Skeletonema costatum*을 이용하고 ISO [12]에서 지정한 96시간 성장저해시험 (growth inhibition test) 독성 평가 방법에 따라 수행하였다. *Daphnia magna*는 OECD, US EPA, ASTM 등 표준 시험법 [16-18]이 있으며 본 연구는 OECD [16] 시험 방법에 따라 24-48시간 동안 치사, 유영장애 독성시험 (mortality, immobilization toxicity test) 평가를 수행하였다. 어류에 대한 시험방법은 국제적으로 잘 확립되어있으며 대표적으로 OECD 시험방법 [19], US EPA 시험방법 [17] 등을 들 수 있고 시험종으로 오랜 기간 동안 연구가 이루어진 ASTM [20]에서 지정한 과량볼우럭 (bluegill sunfish), 무지개송어 (rainbow trout) 등이 있다. 그러나 본 연구에서는 우리나라 대표적인 양식어종으로 저서성이며 다른 어종에 비하여 이동범위가 좁기 때문에 적조 발생지역에 해당하는 연안 또는 내만 지역에서 서식하는 것을 고려하여 국내 연안에 서식하는 넙치 치어 (*Paralichthys olivaceus*)를 이용하여 72시간 치사독성시험 (mortality toxicity test)을 실시하였다.

그리고 급성독성평가 중 가장 예민한 종에 대한 관찰무영향농도 NOEC (No Observed Effect Concentration)를 도출하고 급성 독성값에 일정평가인자 (constant assessment factor)를 적용하여 예측무영향농도 PNEC (Predicted No Effect Concentration)를 도출 [21]하고 해양생태계의 다른 생물종에 대한 안정한 농도를 제시하고자 한다. 또한 선행 연구의 구멍갈파래의 독성평가 결과 [11]와의 비교 평가를 통해 본 연구의 3종 대표생물체를 이용한 급성독성평가의 타당성을 검토하고자 한다. 그리고 TD53이 해양 생태계에 끼치는 독성도에 대해 종합적으로 고찰하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 살조물질 (TD53) 준비

TD53의 구조는 Fig. 1에 나타내었으며, 조선대학교 조훈교수로부터 신규로 합성한 TD53을 제공받았다 [10]. 신규 살조제인 TD53 (MW: 303.38)은 증류수에 거의 녹지 않

으므로 용매인 DMSO (dimethyl sulfoxide)에 100 mL당 12 mg (396 μ M)을 넣어 제조하여 사용하였다.

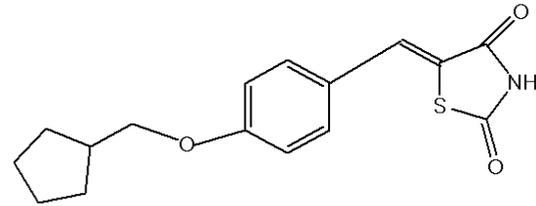


Fig. 1. Chemical structure of TD53.

2.2. *S. costatum*를 이용한 급성노출평가

2.2.1. 실험 조건 및 평가항목

실험에 이용된 *S. costatum*은 OECD에서 지정한 대표 생물종을 대상으로 하였다. 초기 세포농도 (7.7×10^4 cells/mL), 광주기 (14 h-light/10 h-day), $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 습도 80%를 실험 기간 동안 유지하고 OD₇₅₀ nm, chlorophyll a, 세포수 (혈구 계산판)를 계수한다. TD53과 그 용매 DMSO를 각 농도별 (0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 μ M) 3개씩 처리하여 (n = 3), EPA기준에 준하여 96시간 EC₅₀를 조사하였다. 각 농도별 희석수는 Guillard *et al.*가 제시한 실험방법에 의거 f/2배지 [22]를 이용하였다. 또한 실험 기간 동안 초기와 최종 상태에서의 pH 및 온도를 모니터링하여 실험과정에서의 *S. costatum*에 대한 영향정도를 조사하였다.

Table 1. The values of EC₅₀ or LC₅₀, NOEC and PNEC of TD53 obtained from the acute toxic assessment using *S. costatum*, *D. magna*, and *P. olivaceus*

| | EC ₅₀ or LC ₅₀ (μ M) | NOEC (μ M) | PNEC (nM) |
|---------------------|---|-----------------|-----------|
| <i>S. costatum</i> | 1.72 | | |
| <i>D. magna</i> | 0.61 | 0.25 | 6.10 |
| <i>P. olivaceus</i> | 2.14 | | |

2.2.2. Chlorophyll a 측정방법

배양시료 5 mL를 채취하여 neutral formalin으로 고정한 후 4 $^\circ\text{C}$, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 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 [23]의 방법으로 계산하여 Chlorophyll a 함유량을 구한다.

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

v - volume of acetone [mL]

l - cell (cuvette) length [cm]

V - volume of filtered water [l]

2.2.3. *D. magna*를 이용한 급성노출평가

물벼룩 (*Daphnia magna*)은 화학독성평가 연구원에서 분양 받아 이용하였으며 이는 OECD에서 지정한 대표 생물종이

다. 생후 1일 미만의 *D. magna*를 10마리씩 100 mL 비커에 넣고 TD53 및 DMSO를 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 μM 농도로 3개씩 처리한 후 24, 48시간의 생존 수를 파악하였다. 각 농도별 희석수는 Elendt and Bias [24], Samel et al. [25]가 제시한 실험방법에 의거 M4배지를 이용하였다. 이때 움직임이 거의 없는 것도 죽은 것으로 간주한다. 실험 기간 동안 pH, 온도를 모니터하여 살조제외의 주변인자의 영향을 검토하였다.

2.3. 어류를 이용한 급성노출평가

2.3.1. 실험재료 및 사육환경

넙치 치어 *Paralichthys olivaceus*는 우리나라의 대표적인 양식어종으로 저서성이며, 다른 어종에 비하여 이동범위가 좁기 때문에 연안 또는 내만 지역에서 발생하는 적조 구조를 위해 살조제 살포시 직접적인 영향을 받을 가능성이 높은 것을 고려하여 본 실험에 이용하였다. 실험에 이용된 넙치 치어 (*P. olivaceus*)는 전라남도 무안군 소재 육상 수조식 치어 부화장 (D수산)으로부터 분양받아 사용하였다. 넙치 치어는 평균 체중 0.53 g, 전장 4.14 cm로 부화 된지 약 70일이 경과된 상태로 실험실에서 2일간 순치시킨 후 실험에 이용하였다. 넙치의 크기는 37~46 mm고 중량은 0.7 ± 0.3 g이며, 넙치 치어의 사육 환경은 온도 21~23°C, 사료량은 어체중 (습중량)의 5%로 2회에 걸쳐서 나누어 공급하였고, 실험 기간 동안에는 먹이 공급을 중단하였다. 광주기는 12시간 조명, 12시간 무조명을 유지하였다. 실험에 사용된 해수는 증류수 1 L당 해수염 (TetraMarine salt pro, United Pet Group. Inc) 33 g을 넣어 제조한 인공해수를 사용하였다.

2.3.2. 어류 급성노출평가 실험 조건

해수는 한 수조에 3 L씩 사용하였으며, 실험 시 사용된 개체 수는 한 수조에 10마리, 처리농도별로 3개의 수조를 설치하여 살조제 TD53 및 용매인 DMSO에 대해 어류 급성 노출 평가를 실시하였다. 예비실험을 바탕으로 0.5~8.0 μM 의 범위에서 대조구를 포함하여 6개 농도구 (0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 μM)를 3반복으로 설정하였다. 24시간마다 치사한 개체를 관찰하였으며, 급성독성의 결과로서 72시간 LC₅₀은 SPSS program으로 통계처리 하여 산출하였다. 각 농도별 희석수는 인공해수를 이용하였다. 또한 실험 기간 동안 수조의 타 환경인자인 pH, DO, 염분도 (ATAGO, S/Mill-E, Japan), 자연 증발량의 변화를 측정하였다. 염분도와 자연 증발량변화는 Fig. 7에 나타냈으며 x축의 C는 대조구, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0은 TD53 및 DMSO의 각 농도를 나타내고 뒤의 1, 2, 3은 각 수조 번호를 나타낸다.

2.4. NOEC와 PNEC 도출

OECD지침에 따르면 화학물질이 나타내는 독성 등에 관한 영향평가에서 제한된 독성자료만이 얻어진다면, 생태계에 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 불확실성의 일정평가인자를 적용

하여 PNEC 값을 도출한다 [21].

본 연구에서는 3종의 급성노출평가 결과 값을 이용하여 LC₅₀ 또는 EC₅₀을 계산하고 가장 민감한 종에 대해서는 NOEC를 도출하였다. 그리고 가장 민감한 종의 LC₅₀ 또는 EC₅₀ 값에 노출평가에 2종이상 사용되었기 때문에 평가인자 100을 적용하여 PNEC 값을 도출한다.

3. 결과

3.1. S. costatum를 이용한 독성평가

TD53 농도 1.6, 3.2 μM 에서 *S. costatum*의 세포 수는 거의 사멸되어 증가하지 않았으나, 더 낮은 농도 0.2~0.8 μM 에서는 대조구와 비슷한 성장률을 보였으며 96시간에는 0.4, 0.8 μM 에서 약간 더 높은 성장률을 나타냈다 (Fig. 2). 750 nm 흡광도, chlorophyll a의 함량의 결과 (data not shown)에서도 세포수와 같은 비슷한 경향을 나타냈다.

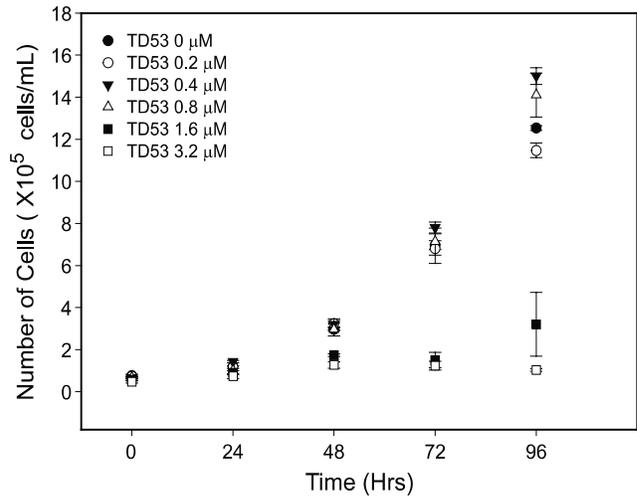


Fig. 2. Growth (cell number) of *S. costatum* exposed in various concentrations of TD53.

용매인 DMSO는 TD53실험에 용매로 사용되는 전 실험 농도에서 대조구보다 동등 이상의 세포 성장률을 보였다 (Fig. 3). 이는 본 농도에서의 DMSO는 *S. costatum*에 대해 전혀 독성이 없음을 시사한다. 이 결과는 흡광도 및 chlorophyll a의 함량에 의한 결과 (data not shown) 에서도 같은 경향을 나타내었다.

노출농도에 대한 성장 저해율을 Fig. 4와 같이 도표화하여 EC₅₀를 구하였다. TD53의 세포수에 대한 96시간 EC₅₀은 1.72 μM , 흡광도에 의한 96시간 EC₅₀은 1.89 μM , Chlorophyll a 함량에 의한 96시간 EC₅₀은 1.53 μM 을 나타내었다. *S. costatum*를 대상으로 3종류의 모니터방법에 의한 급성독성평가에서 96시간 EC₅₀은 1.53~1.89 μM 의 값을 나타내었다. 반면에 DMSO는 세포농도, 750 nm 흡광도 및 Chlorophyll a의 함량 분석에서 *S. costatum*에 대해서 전혀 독성영향이 없음이 확인되었으며 (data not shown), 그래서 EC₅₀은 도출되지 않았다.

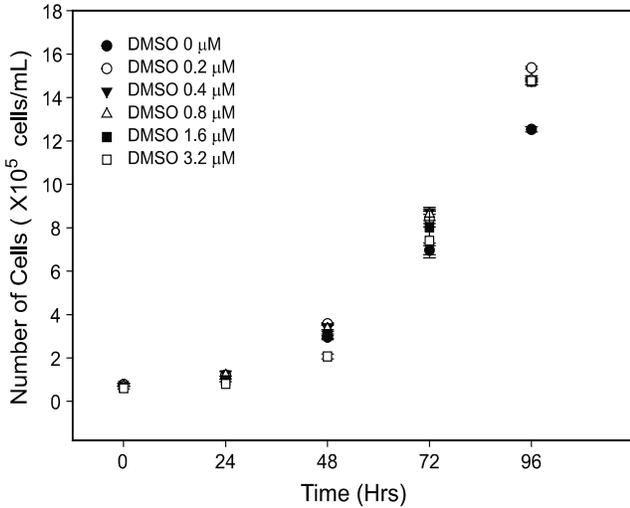


Fig. 3. Growth (cell number) of *S. costatum* exposed in various concentrations of DMSO.

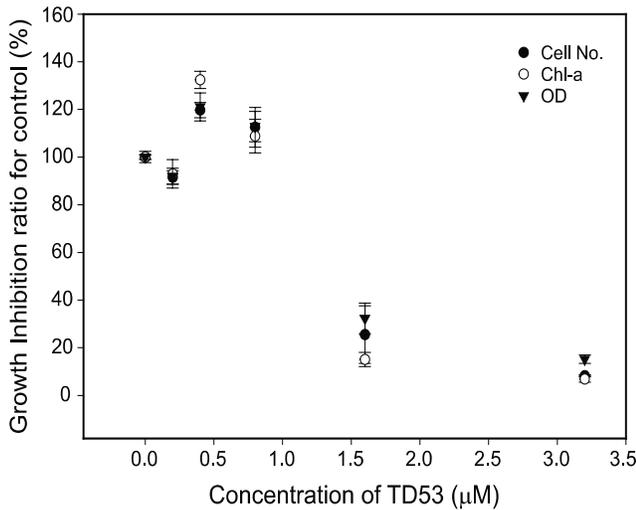


Fig. 4. EC₅₀ of TD53 at 96-h by cell number, chlorophyll a and optical density.

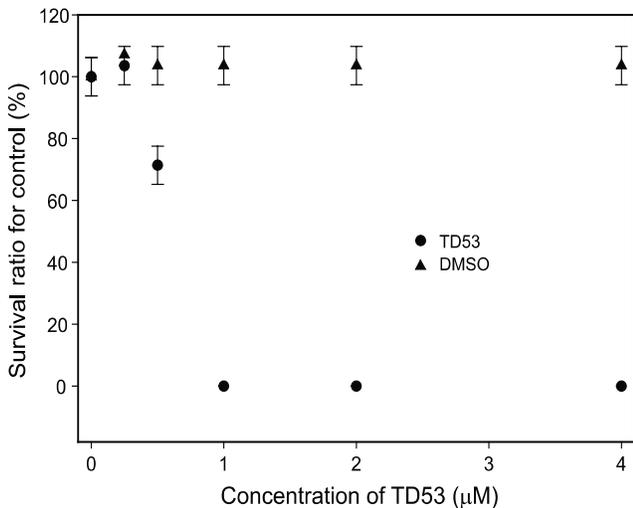


Fig. 5. Survival ratio of *D. magna* in different concentration of TD53.

3.2. *D. magna*를 이용한 독성평가

TD53의 *D. magna*에 대한 독성을 평가하기 위하여 24, 48시간에서의 사망 개체수 및 움직임이 없는 개체수를 조사한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 시간경과에 따른 치사율을 대조구와 비교할 때 0.5~4.0 μM에서 치사율이 높아졌다. *D. magna*에 대한 48시간에서 EC₅₀은 0.61 μM을 나타내었다. 이러한 결과는 *S. costatum*에 대한 EC₅₀값인 1.53~1.89 μM 보다 강한 독성 값이었다. 이는 TD53에 대해서 *D. magna*가 매우 민감하게 반응하는 것을 알 수 있다. 그러나 DMSO의 경우는 동 실험범위의 농도 내에서 *D. magna*에 대해 전혀 독성을 나타내지 않았다.

3.3. *P. olivaceus*를 이용한 독성평가

TD53 농도에 따른 넙치 치어 (*P. olivaceus*)의 72시간 치사율을 Fig. 6에 보이고 있다. 치어의 LC₅₀은 2.14 μM로 계산되어 다른 생물종에 비해 독성영향이 적었다. 한편 DMSO는 다른 생물종에 대해서 전혀 독성을 나타내지 않았으나 넙치 치어에 대해서는 72시간 LC₅₀이 2.79 μM로서 TD53과 거의 비슷한 정도의 강한 독성을 나타내 주목할 만한 결과라 할 수 있다.

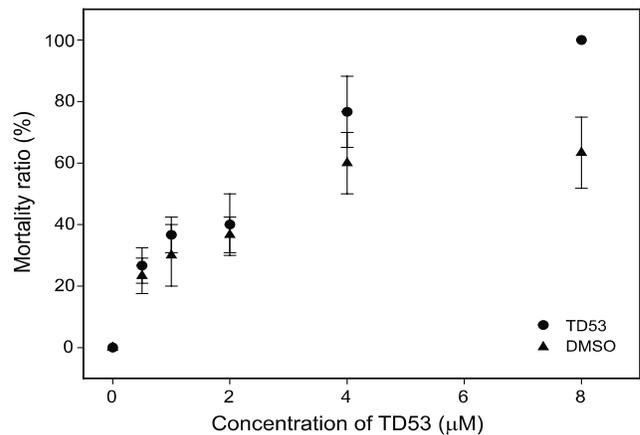


Fig. 6. Mortality ratio of *P. olivaceus* in various concentration of TD53 at 72-h.

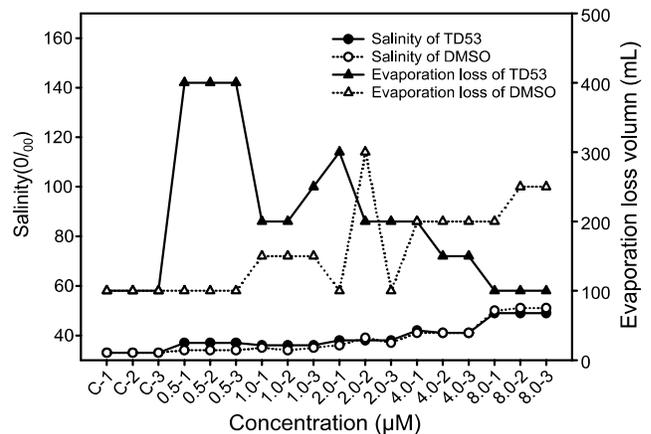


Fig. 7. Change of evaporation loss and salinity in water tank during the experimental period.

Fig. 7에 모니터기간 동안의 수조의 자연증발량과 염분도의 변화를 나타내었다. 자연 증발량은 수조의 농인 위치에 따라 100~400 mL의 증발량을 나타냈으며 염분도는 8.0 µM 실험군에서 가장 높은 53%로 일반 해수의 30%에 비해 56.6%의 비교적 높은 염분도를 나타내었다. 실험 초기의 염분도는 농도의 증가에 따라 상승하는 경향을 나타냈는데 대조구가 30%일 때 8.0 µM에서 45%로 1.5배 높은 염분도를 나타냈다. 이러한 결과는 TD53 및 DMSO에 동시에 나타난 것으로 보아 용매인 DMSO가 염분도 측정계에 화학적 영향을 미친 것이라 사료된다. 정확한 원인에 대해서는 좀 더 추가적인 검토가 필요하다고 생각된다.

3.4. NOEC, PNEC 도출 및 독성비교평가

본 연구의 노출 생물종 3종 가운데 가장 민감하게 반응한 *D. magna*에 대한 결과로부터 NOEC를 산출한 결과 0.25 µM로 나타났으며, *D. magna*의 EC₅₀ 0.61 µM값에 불확실성 평가인자 100을 적용하여 PNEC값을 도출한 결과 6.10 nM이었다. 또한 background의 독성영향을 파악하고자 DMSO를 TD53과 같은 농도 구간에서 살펴본 결과 *S. costatum*과 *D. magna*에 대해서는 독성 영향이 없는 것으로 나타났다. 그러나 넘치 치어에 대해서 72시간 LC₅₀은 2.79 µM로 높은 독성을 나타냈다.

선행연구에서 TD53의 구멍갈파래에 대한 96시간 EC₅₀은 1.65 µM, PNEC는 1.65 nM이었다 [11]. 본 연구의 3종의 생물종을 대상으로 하였을 경우, 단일종 평가보다 PNEC 기준으로 3.7배 독성이 낮게 평가되어, 불확실성이 더욱 감소된 보다 현실적인 독성예측치라 할 수 있다. 생물 대상종을 다양하게 할 경우 불확실성의 평가인자의 적용값이 작아지므로 이러한 결과를 나타낸 것으로 사료된다.

TD53의 용매인 DMSO는 구멍갈파래에 대해서 전혀 독성을 나타내지 않았으나, 다양한 생물종을 대상으로 급성독성평가를 실시한 결과 넘치 치어에 대해서 72시간 LC₅₀이 2.79 µM로서 비교적 강한 독성을 나타냈다. 이 결과로부터 대상 생물종에 따라 DMSO에 대한 독성이 다르게 작용하는 것을 알 수 있었다.

또한 본 연구를 통해 살조제에 따라 각 생물종에 반응하는 독성도가 상당히 상이함을 확인할 수 있었다. 따라서 생태계를 대표하는 다양한 민감한 생물종을 추가적으로 검토하여 급성독성평가의 신뢰성과 타당성을 확보할 필요가 있다고 판단된다.

4. 고찰

본 연구에서는 *D. magna*에서 EC₅₀이 0.61 µM로 TD53에 대해서 가장 민감하게 반응하였다. 이 결과는 선행 연구에서 TD49에 대한 독성을 평가했을 때와는 전혀 다른 결과였다. TD53이 *S. costatum*에 비해 *D. magna*에 대해서 민감하게 반응한 것은 주목할 만한 결과로서 식물성 플랑크톤과 동물성 플랑크톤의 생리적인 차이에 의한 것인지 확실하지 않지만, 넘치 치어에 대해서 DMSO가 높은 독성을 나타낸 바

이와 어떠한 관련성이 있지 않을까 추측의 여지가 있다.

DMSO는 *S. costatum* 및 *D. magna*에 대해서 전혀 독성을 나타내지 않았다. 오히려 *S. costatum*의 세포성장에 다소 양성적인 영향을 끼치고 있는 결과로부터 DMSO가 세포와 반응하는 화학적 메카니즘이 다소 차이가 있는 것으로 추측된다.

넘치 치어에 대한 TD53의 72시간 LC₅₀은 2.14 µM로서 다른 생물종에 비해 독성이 약하게 작용하였다. 이는 가장 높은 소비자 단계로서 독성에 대해 좀 더 둔하게 나타난 것으로 판단된다. 한편 DMSO는 넘치 치어에 대해서 TD53과 비슷한 정도의 강한 독성을 나타냈다. DMSO는 세포독성이 있어 대개 실험에서 0.1%의 농도로 제한하고 있다. 본 연구에서 TD53의 8.0 µM에 포함된 DMSO의 농도는 2%로 20배나 높은 값이다. 그러므로 DMSO가 넘치 치어에 세포 독성을 초래 하였을 것으로 생각된다. 그러므로 실제 해역에 살포를 할 경우 고농도의 원액을 만들어 희석수를 이용하여 농도를 낮추게 되면 DMSO의 영향은 크게 문제 되지 않을 것으로 생각된다. 공동연구팀에서 TD53의 경우 0.1~2 µM의 낮은 농도에서 유해 적조에 대한 뛰어난 살조능력이 있음을 확인하였다 [26]. 폐쇄연안이 아닌 개방된 연안 해역에 TD53을 0.1~2 µM 이상의 농도로 살포하더라도 바람과 조류에 의한 희석, 생물체 자체의 이동능력 등에 의해 해양 생물체에 미치는 영향은 그다지 크지 않을 것으로 사료된다.

5. 결론

용해도를 개선시킨 신규 살조물질 TD53의 해양생태계에 대한 급성독성 생물노출평가를 수행하기 위해, OECD 표준 방법인 먹이사슬의 대표적인 생물종 3종: 식물성플랑크톤 (*S. costatum*), 동물성플랑크톤 (*D. magna*), 어류 (*P. olivaceus*)를 이용하여 급성노출평가를 실시하였다. 그 결과 *S. costatum*의 96시간 EC₅₀은 1.72 µM이며, *D. magna*에 대한 48시간 EC₅₀은 0.61 µM, 어류의 넘치 치어에 대한 72시간 LC₅₀은 2.14 µM이었다. 가장 민감한 독성반응을 나타낸 *D. magna*에 대한 결과로부터 NOEC를 산출한 결과는 0.25 µM로 나타났으며, *D. magna*의 EC₅₀ 0.61 µM에 불확실성 평가인자 100을 적용하여 6.10 nM의 PNEC값을 도출 하였다. 이전에 수행한 신규 독성평가법인 구멍갈파래를 이용한 TD53의 독성분석치와 *D. magna*에 대한 PNEC결과를 비교하면, 본 연구의 3종을 대상으로 하여 PNEC를 도출 할 경우 예상독성치가 3.7배 감소한 것으로 나타났다. 대표 생물종의 다양성과 민감성을 더욱더 반영한다면 신규 살조물질들의 실제 독성을 보다 정확하게 반영할 수 있으리라 사료된다.

감사

본 연구는 한국연구재단을 통해 교육과학기술부의 미래융합 융합기술 파이오니어 사업으로부터 지원받아 수행되었다 (과제번호 M1071118001-08M1118-00110).

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. Steidinger, K. A. (1983) A re-evaluation of toxic dinoflagellate biology and ecology. *Prog. Phycol. Res.* 2: 147-188.
3. Ryu, H. Y., J. M. Shim, J. D. Bang, and C. Lee (1998) Experimental chemical treatments for the control of dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* in the land-based culture of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Kor. J. Aquacult.* 11: 285-294.
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 polykrikoides* 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. Garry, R. T., P. Hearing, and E. M. Cosper (1998) Characterization of a lytic virus infectious to the bloom-forming microalga *Aureococcus anophagefferens* (Plagophyceae). *J. Phycol.* 34: 616-621.
8. Kang, Y. K., S. Y. Cho, Y. H. Kang, T. Katano, E. C. Jin, D. S. Kong, and M. S. Han (2008) Isolation, identification and characterization of algicidal bacteria against *Stephanodiscus hantzschii* and *Peridinium bipes* for the control of freshwater winter algal blooms. *J. Appl. Phycol.* 20: 375-386.
9. Yim, E. C., J. J. Shin, I. T. Park, H. K. Han, S. W. Kim, H. Cho, and S. J. Kim (2010) Acute toxicity assessment of new algicides, thiazolidinedione derivative (TD49) to marine ecosystem. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 25: 527-532.
10. 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.
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 thiazolidinediones derivatives, TD53 and TD49 using *Ulva pertusa kjellman*. *Kor. J. Environ. Health. Toxicol.* 25:273-278.
12. ISO (1995) Water-marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*. the International Organization for Standardization, ISO 10253, 7pp.
13. OECD (1984) OECD Guideline for Testing of Chemicals 201: Alga, growth inhibition test. Paris.
14. US. Environmental Protection Agency (1985) Standard evaluation procedure: acute toxicity test for estuarine and marine organisms estuarine fish 96-hour acute toxicity. EPA-540r9-85-009. Office of Pesticide Programs, Washington, DC.201.
15. ASTM (1992) Standard guide for conducting static 96-h toxicity tests with microalgae. In American Society for Testing and Materials Annual Book of ASTM Standards, Vol. 11.04, pp. 874-885, E 1218-90. Philadelphia, PA.
16. OECD (2004) *Daphnia sp.* acute immobilization test. OECD test guideline 202. Organization for the Economic Cooperation and Development, Paris.
17. US. Environmental Protection Agency (2002) Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 5th ed. EPA-821-R-02-012.
18. ASTM (1993) Standard guide for conducting acute toxicity tests with fishes, macro invertebrates, and amphibians. Designation: E 729-88, Annual Book of ASTM Standards, Vol. 11.04, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
19. OECD (1992) Guideline 203 Fish, Acute Toxicity Test EU EU Guideline No C3 Growth inhibition test with algae. Off. J. Eur. Comm. L 383A, 179-186.
20. ASTM (2002) E729-96, Standard guide for conducting acute toxicity test materials with fishes, macro invertebrates, and amphibians.
21. Van Leeuwen, C. J., and J. L. M. Hermens (2001) *Risk Assessment of Chemicals: An Introduction*. pp. 326-327. Kluwer Academic Publishers, USA.
22. Guillard, R. R. L. and Ryther, D. (1962) Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8: 229-239.
23. 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.
24. Elendt, B. P. and W. R. Bias. (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.
25. 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.
26. Kim, Y. M., Y. Wu, T. U. Duong, G. S. Ghodake, S. W. Kim, E. S. Jin, and H. Cho (2010) Thiazolidinediones as a novel class of algicides against red tide harmful Algal Species. *Appl Biochem Biotechnol.* 162: 2273-2283.