

기술자료

국가환경시료은행의 표준운영절차 적용

김명진 · 이장호 · 최태영 · 한아름 · 송교홍 · 이유진 · 이종천

국립환경과학원 환경자원연구부 자연평가연구팀

(2012년 2월 2일 접수, 2012년 3월 5일 승인)

Application of SOPs (Standard Operating Procedures) in National Environmental Specimen Bank

**Myungjin Kim · Jangho Lee · Taeyoung Choi · Areum Han
· Kyohong Song · Eugene Lee · Jongchun Lee**

Ecosystem Assessment Division, Environmental Resources Research Department
National Institute of Environmental Research

(Manuscript received 2 February 2012; accepted 5 March 2012)

Abstract

Environmental specimen banks provide the baselines for the scientists and decision makers to do research using the past and present specimens to expect the possible contaminant implications of the future. Many chemicals that are considered harmless now but not found may be found and pose threats in the future. Collected specimens of animals and plants should be conserved without contamination for future analysis. To ensure the availability of samples for the retrospective analysis, the establishment and maintenance of specimen banks in the developing and developed nations has become absolutely necessary. National Environmental Specimen Bank (NESB) established at National Institute of Environmental Research (NIER) in 2009. For the application of NESB, several activities such as standard operating procedures (SOPs) development have been prepared. This study applied the guidelines for sampling and sample treatment of five environmental specimens which had been prepared from 2007 to 2009. The target species were shoots of red pine and Korean pine, leaves of Mongolian oak, eggs of domestic pigeon and muscles and livers of common carp. The NESB will enhance the quality of environmental assessment and environmental monitoring based on real time and retrospective analysis.

Keywords : Environmental Assessment, Retrospective Analysis, Environmental Monitoring

1. 서 론

1. 연구의 배경과 목적

환경시료은행(Environmental Specimen Banks)은 과거와 현재의 시료를 대상으로 과거 추이를 분석하여 미래의 오염 경향을 예측할 수 있는 기반을 제공한다. 또한 과거에 파악하지 못했던 오염물질을 체계적 저장을 통해 다시 확인할 수 있다. 예를 들어, 미라(mummy)를 통해서 세균 등을 확인하여 그 당시 질병을 유추할 수 있는 것과 같다. 인간 삶과 생활은 건강하게 기능하는 자연생태계, 즉 생물다양성의 보존에 달려있고(Rajvanshi *et al.*, 2011), 영향예측은 생물다양성 영향평가 연구의 핵심요소이다(Khera and Kumar, 2010). 따라서 다양한 생태와 환경에 대한 오염정도를 신뢰성 있게 분석하고 환경정책에 활용하기 위해서는 시료를 변질 없이 장기간 저장하고 오염물질 분석을 수행하는 환경시료은행의 안정적인 운영이 절대적으로 필요하다. 한국은 2009년 12월 건물 준공을 한 후 초저온 액체질소 탱크와 초저온 절연진공배관 등 내부시설 공사를 추진하면서 국가환경시료은행을 운영 중에 있다. 현재는 한국을 포함한 17개 국가에서 운영 또는 설립 중에 있으며, 그 수는 점점 늘어날 추세에 있다(국립환경과학원, 2010).

환경시료은행은 유전자은행이나 표본을 보관하는 은행과 달리 오염에 노출된 인간을 포함한 먹이사슬을 대표하고 오염상황을 잘 규명할 수 있는 종이나 매체를 선정하여 100~150년을 목표로 변질 없이 지속적으로 시료를 보관하는 역할을 한다. 장기간 보관 후 어느 시점에서 시료를 꺼내어 회고적 및 시계열 분석을 통해 시간적 변화를 체계적으로 파악하고 향후 영향을 예측할 수 있는 종합적인 환경영향평가의 선진된 도구라 볼 수 있다(김명진 외, 2008). 또한 국가환경시료은행을 통해서 개발사업 등의 사전, 사후 영향을 동식물의 오염농도치 등의 변화로 분석할 수 있는 기반도 제공될 수 있다.

본 연구의 목적은 국가환경시료은행 건립에 따라 환경시료를 체계적으로 채취하여 저장·활용하기

위해 2009년에 독일환경시료은행의 절차를 참고 및 분석하여 마련한 표준운영지침을 실제로 적용하고, 향후 보완 사항을 파악하는 데 있다.

2. 연구의 범위

본 연구는 소나무(*Pinus densiflora*)와 잣나무(*Pinus koraiensis*) 가지, 신갈나무(*Quercus mongolica*) 잎, 집비둘기(*Columba livia var. domestica*) 알, 잉어(*Cyprinus carpio*) 근육 등 5종의 육상 및 하천생태시료를 대상으로 하였으며, 각 환경시료별로 시료채취장소, 시료의 수, 채취시기와 빈도, 시료채취장비와 방법의 적용 결과 및 시료 생체별 측정결과를 고찰하였다. 마지막으로 초저온 상태의 운송·분쇄·저장 지침 적용 결과도 다루었다.

3. 국외 동향

지속적으로 증가하는 유해물질에 따른 환경과 생물의 오염은 국제적으로 시료은행의 필요성이 증대되는 요인이 되었으며(Kim *et al.*, 2009; Kubin *et al.*, 1997), 이 같은 개념에서 70년대 초 독일과 미국 학자들을 중심으로 영구적으로 시료를 보관할 수 있는 환경시료의 저장소(archive) 개념이 제안되었다(Becker and Wise, 2009). 1979년에 미국, 일본 및 독일에 환경시료은행이 설립되어 운영되기 시작했고(Becker *et al.*, 2006; Ruedel and Schroeter-Kermani, 2007; Shibata *et al.*, 2009), 현재 우리나라를 포함한 17개 국가에서 운영 또는 설립 중에 있다.

미국은 현재 해양환경시료은행(Marine ESB)으로 통합운영되고 있으며, 표준시료 제작과 인간의 간, 음식, 혈액과 홍합류, 굴, 어류 조직, 해양침전물 및 해양포유류 등의 시료를 보관하고 있다. 일본은 환경시료타임캡슐이라는 기관을 신설하여 멸종위기종 조직, 해양시료, 인체시료 등을 보관하고 있다. 독일의 경우, 생태시료(해양, 하천, 육상)는 환경시료은행에서 관리하고 있으며, 인체시료는 뮌스터대학에서 관리하고 있다(김명진 등, 2008).

본 연구의 운영지침 참고자료인 독일의 환경시료 채취 및 처리 지침을 보면, 독일가문비(*Picea abies*)와 구주소나무(*Pinus sylvestris*)는 40년생 이상의 수목, 15개체를 대상으로 수목당 일년생 가지 150g을 채취하는 것으로 되어 있다. 비둘기는 지점 당 25개 알, 총 375g을 목표로 하고 있다. 하천생태 시료는 브림(*Abramis brama*)과 얼룩무늬담치(*Dressenna polymorpha*)를 대상으로 하고 있으며, 브림은 산란기가 끝나는 8월~9월에 지점 당 20개체를 채취하고, 근육과 간을 적출하고, 혈액도 채취한다. 얼룩무늬담치도 산란기가 끝나는 9월~11월에 100개체를 채취한다(국립환경과학원, 2009).

저장 시료의 유기기분석은 저장할 당시에 실시하는 real-time monitoring과 장기간 보관 후 실시하는 retrospective monitoring (회고적 분석)으로 나뉜다. 회고적 분석은 유해 화학물질 규제와 같은 환경정책의 효과를 검증하는 주요 자료로 이용되고 있다(<http://www.umweltprbenbank.de>).

II. 연구방법

1. 채취시료 종류 및 처리방법

국가환경시료은행에서는 장기적으로 육상, 하천, 해양생태계에서 14개 종류의 시료와 인체시료를 보관할 계획을 수립하였다(Kim *et al.*, 2010). 이번 연구에서는 소나무와 잣나무 가지, 신갈나무 잎, 집비둘기 알, 잉어 근육 등 5종의 시료에 대한 채취지역 조사, 시료채취 및 처리를 2009년 작성한 지침(국립환경과학원, 2009)을 적용 및 보완하여 체계적으로 시료채취 개수, 채취시기, 채취빈도, 시료별 채취방법 등을 제시하고 시료를 저장하였다.

2. 시료 채취지역

기본적으로 4대강 수계를 중심으로 오염지역과 비오염지역으로 구분하여 조사하였다. 오염지역으로는 도시지역에 인접한 지역을 선정하였고, 비오염지역으로는 관리지역과 자연환경보전지역을 선정하였다. 소나무 3개 지역(설악산, 월악산, 관악

표 1. 시료채취 지역 및 시료종류(지점 수)

생태계	구분	조사지	시료종류(지점수)
육상 생태계	관리지역	축령산	잣나무 가지(1)
		연인산	신갈나무 잎(1)
	자연환경 보전지역	설악산	소나무 가지(1), 잣나무 가지(1)
		월악산	소나무 가지(1)
		지리산	신갈나무 잎(1)
	도시지역	함평공원	집비둘기 알(1)
		관악산	소나무 가지(1), 신갈나무 잎(1)
한강시민공원		집비둘기 알(3)	
하천 생태계	한강	잉어 근육(1)	
	금강	잉어 근육(1)	
	낙동강	잉어 근육(1)	
	영산강	잉어 근육(1)	
계			5종 16지점

산), 잣나무 2개 지역(축령산, 설악산), 신갈나무 3개 지역(연인산, 지리산, 관악산), 집비둘기 4개 지역(한강시민공원 3개 지구, 함평공원), 잉어 4개 지역(한강, 금강, 낙동강, 영산강)을 대상으로 시료를 채취 및 처리한 후 저장하였다(표 1).

3. 시료 운송 · 분쇄 · 저장 방법

지침의 운송, 분쇄, 저장의 표준운영절차에 따라 시험연구를 수행하였다. 시료의 운송을 위해 이동식 초저온용기를 이용하였고, 시험분쇄를 위해 소형 밀링기로 분쇄하였으며, 저장을 위해 질소탱크(-150℃, 600L, 1400L)와 전기냉동고(-80℃) 등을 이용하였다.

III. 연구결과 및 고찰

1. 소나무(*Pinus densiflora*)와 잣나무(*Pinus koraiensis*) 시료채취 및 처리

소나무의 경우 상록침엽수로 연중 태양 빛을 직접적으로 받을 수 있는 곳에 많이 분포하고 있으며, 겨울 동안의 오염도 측정이 가능하다. 잣나무는 소나무와 마찬가지로 겨울 동안의 오염 측정이 가능하며 우리나라에 가장 많이 분포하고 있는 조림수종이다(국립환경과학원, 2010).

1) 시료채취

(1) 채취장소의 선정

전체지역을 대표하는 시료를 채취하기 위해 여러 자료(지형도, 임상도, 생태자연도, 지질도, 토지이용도 등)들을 중첩, 분석하여 각 지역의 유형에 따라 상대적으로 균질한 지역을 선택한 후 각 지역의 크기에 비례하여 시료의 수를 정하였다.

소나무 가지를 채취한 관악산은 서울에 위치하여 도시지역에 인접한 지역으로 채취지역을 선정하였고, 설악산과 월악산은 자연환경보전지역을 대상으로 선정하였다.

잣나무 가지를 채취한 축령산은 경기도 가평에 위치하는 조림지로 도시에서 멀리 떨어져 있고, 공업지역과 이격되어 비오염지역을 대표하는 지역으로 선정하였고, 조림지와 비교를 위해 자연환경보전지역인 설악산을 조사지로 선정하였다. 향후 시료의 오염분석은 저장 후 수행될 예정이다.

(2) 개체의 선택과 시료 수

소나무 가지는 관악산 4개체, 월악산과 설악산

각각 8개체와 9개체의 수목에서 채취하였고, 잣나무 가지는 축령산 5개체, 설악산 7개체의 수목에서 채취하였다(그림 1).

설악산 2.5kg, 월악산 3.2kg 그리고 관악산에서 0.5kg의 소나무 가지를 채취하였고, 축령산 0.7kg, 설악산 1.6kg의 잣나무 가지를 채취하였다. 채취량은 독일의 경우처럼 인력과 장비가 구축이 되어 본격적으로 가동될 경우 모든 시료에 대해 1~2kg (20mL 바이알 10g 100~200개) 채취를 목표로 하지만, 이번 시험사업 시(2010~2012년)는 인력과 장비를 고려하여 채취하였다.

(3) 채취시기와 빈도

채취시기는 겨울 동안의 오염상태를 파악할 수 있고, 시료의 화학적 조성변화를 최소화하고 연생구분을 쉽게 하기 위해 신가지 발생 전후인 3~5월 경에 채취하였다. 본 연구에서 소나무는 3회, 잣나무는 2회에 걸쳐 채취하였다.



소나무 채취지역(월악산)



잣나무 채취지역(축령산)



신갈나무 채취지역(연인산)



비둘기알 채취지역(한강시민공원)



잉어 채취지역(금강)



잉어 채취지역(영산강)

그림 1. 시료 채취 모습

2) 시료채취 장비와 방법

채취과정과 시료채취를 위하여 수집한 모든 자료는 각 시료채취 야장에 기록하였다.

야외조사 장비로는 스테인리스 스틸 고지 전정가위, 스테인리스 스틸 용기, 핀셋, GPS, 카메라 등을 사용하였고, 그 외에 측정을 위해 저울, 줄자 등을 이용하였다. 최소한 상층의 4개 주가지로부터 직접 노출된 바깥쪽 가지를 채취하였고, 각각의 가지로부터 일년생 가지가 스테인리스 스틸 용기에 바로 떨어질 수 있도록 스테인리스 스틸 전정가위를 사용하여 제일 위쪽의 가지는 제외하고 잘라내었다. 채취된 시료는 액체질소로 냉각된 스테인리스 스틸 용기에 넣어 운송하였다.

3) 시료 생체량 측정

조사지역의 평균 수령은 소나무가 43년생, 잣나무가 52년생이었고, 평균 수고는 소나무가 8.9m, 잣나무가 18.3m이었다. 평균 흉고직경은 소나무와 잣나무가 각각 23.8cm, 50.2cm이었고, 평균 가지길이는 소나무가 4.3cm에서 5cm로 분포하였으며, 잣나무는 5.2cm에서 5.8cm로 나타났다. 25개 가지를 대상으로 생중량과 건중량을 측정하였다(표 2, 3).

소나무와 잣나무 가지의 시험연구 적용 결과, 수정·보완할 사항은 저장시료와 생태특성 파악 시료로 구분할 필요가 있다. 또한 채취의 어려움과 바깥쪽 수관 채취를 고려하여 수관의 위쪽에서 4~6개 가지를 채취하였다.

표 2. 소나무의 평균 생체량 특성(±: 표준편차, n: 개체수)

구분	가지길이(cm)	생중량(g)	건중량(g)
관악산(n=4)	5.0±1.8	1.9±1.2	0.8±0.4
설악산(n=9)	4.3±1.6	2.1±1.3	1.0±0.6
월악산(n=8)	4.8±1.7	1.7±1.3	0.8±0.6

표 3. 잣나무의 평균 생체량 특성(±: 표준편차, n: 개체수)

구분	가지길이(cm)	생중량(g)	건중량(g)
축령산(n=5)	5.2±2.5	5.2±1.7	2.1±0.8
설악산(n=7)	5.8±4.3	3.7±2.0	1.8±1.0

2. 신갈나무(*Quercus mongolica*) 시료채취 및 처리

신갈나무는 참나무과에 속하는 낙엽교목으로 우리나라의 활엽수림대에서 가장 넓은 분포를 보이고 있는 대표적인 활엽수종이다(이돈구 외, 1990). 신갈나무 군락은 해발 410~1,100m까지 다양하게 분포하며, 지형 구분으로 볼 때 계곡부에서 정상부까지 다양하게 분포하고 있다. 또한 도시숲 내 자생활엽수 중 대표적 수목인 신갈나무는 각 산림에서 일정 세력을 형성하고 있다(서울특별시, 2008). 낙엽활엽수의 잎을 통해서는 봄에서 채취시점까지의 환경만을 유추할 수 있으므로 전 기간에 걸친 환경을 대표하는 시료로 소나무 등 상록침엽수를 채취하여 이를 보완할 수 있다.

1) 시료채취

(1) 채취장소의 선정

신갈나무는 대부분 고지대에 위치하고 있어 도시 지역에서는 찾기가 쉽지 않다. 관악산의 신갈나무 군락의 경우에 바위도 많고, 등산객이 많아 답압이 심하였지만 넓게 분포하고 있고, 지리산은 해발고가 높은 지역에서 우점종을 차지하고 있는 지역에서 채취하였다. 연인산의 경우 경사가 완만한 곳에 넓게 분포하고 있어 적합한 채취지역으로 판단되나 군락의 대부분이 해발 700m 이상에 위치하여 접근성이 떨어지고, 수고가 높아서 수목정상부 채취전문가의 도움이 필요할 것으로 보인다.

(2) 개체의 선택과 시료 수

신갈나무 잎은 관악산 9개체, 지리산 6개체, 그리고 연인산 22개체의 수목에서 채취하였고 연인산 2.8kg, 지리산 1.3kg 그리고 관악산에서 1.1kg의 잎을 채취하였다(그림 1).

(3) 채취시기와 빈도

대체적으로 식물은 생육온도인 일평균 기온 5℃ 이상일 때까지 생육을 하고 그 이하가 되면 잎의 변색이 시작된다. 대체적으로 저지대에서는 9월 중순, 고지대에서는 8월 중순으로 일반적인 채취시기를

정해놓고, 지역적인 계절적 요인을 고려해 채취시기를 결정한다. 본 연구에서는 7월과 8월 총 2회에 걸쳐 채취하였다.

2) 시료채취 장비와 방법

야외조사 장비로는 스테인리스 스틸 고지 전정가위, 스테인리스 스틸 용기, 핀셋, GPS, 카메라 등을 사용하였고, 그 외에 측정을 위해 저울, 줄자 등을 이용하였다. 최소한 상층의 4개 가지로부터 직접 노출된 바깥쪽 잎을 채취하였고, 채취된 시료는 액체 질소로 냉각된 스테인리스 스틸 용기에 넣어 운송하였다. 야외조사 시 꼭 필요한 부분만 정리하여 시료 채취 야장을 1장으로 요약하여 만들었다(부록 별첨).

3) 시료 생체량 측정

신갈나무 시료를 이용하여 생육특성과 시료 생체량을 측정하였다. 조사된 수목의 평균 수령은 50년 이었고, 평균 수고는 약 13m이며, 평균 흉고직경은 31.6cm이었다. 수고가 높아 시료채취는 고지전정가위(3~5m)가 닿는 가장 높은 곳의 노출된 가지를 채취하였다. 조사된 37개체 신갈나무에서 임의로 선택한 25개 잎에 대해 생중량과 건중량을 측정하였고 그 결과는 표 4와 같다. 잎의 건중량은 실험실에서 엽병을 제거 후 0.1g눈금 저울로 측정하고 바로 건조기(80℃)에 넣고 약 2일 동안 무게가 안정될 때까지 건조시켰다. 조사된 잎의 생중량은 최대 41.3g, 최소 18.1g으로 평균 28g이었고, 건중량은 최대 15.4g, 최소 5.2g으로 평균 9.8g이었다. 수분함량은 평균 약 65%를 차지하고 있는 것으로 확인되었다(표 4).

표 4. 신갈나무의 평균 생체량 특성(±: 표준편차, n: 개체수)

구 분	생중량(g)	건중량(g)
관악산(n=9)	24.2±3.5	8.4±2.0
지리산 국립공원(n=6)	22.3±4.8	7.0±1.8
연인산 도립공원(n=22)	34.1±7.2	12.6±2.8

3. 집비둘기(*Columba livia* var. *domestica*) 시료채취 및 처리

도시지역을 중심으로 대기 중의 중금속오염을 받

영하는 동·식물종을 찾기 위한 연구가 진행되어 왔으며, 이러한 대기오염을 반영하는 동·식물들은 대기오염의 생물학적 지표로 이용할 수 있다. 그 중 대표적인 생물이 집비둘기로 알려져 있으며, 이미 많은 도시에서 대기오염의 모니터링에 이용되었다(김정수 외, 2001; 김정수 외, 2003; Nam and Lee, 2006; Johnson *et al.*, 1982).

1) 시료채취

(1) 채취장소의 선정

오염지역으로는 도심과 인접하거나 사람들의 왕래가 빈번한 한강시민공원에서 채취하였고, 비오염 지역으로는 도시지역인 함평공원 등 총 4개소에서 조사 채취하였다.

한강시민공원 가운데 잠실지구(3동), 양화지구(2동), 광나루지구(2동) 등 3지구에서 각각 12개, 8개, 1개의 비둘기 알을 채취하였다. 이 지역은 먹이가 충분하기 때문에 계속 산란이 가능한 것으로 보인다. 하지만 대체로 관리가 되지 않아 동지의 위생상태가 좋지 않았다.

함평공원은 공원 내 2동의 비둘기집이 설치되어 있었고, 12개의 알을 채취하였다. 주위에 논과 하천이 있어 비둘기의 먹이자원과 휴식공간이 충분한 것으로 판단되었고 공원이 면사무소 근방에 위치하여, 채취시 지자체의 협조를 얻기 쉬웠다.

종합한 결과 두 지역의 공통점은 모두 공원 내에 비둘기집이 위치하고 있고, 한강시민공원은 한강, 함평공원은 함평천을 접하고 있어 비둘기가 서식하기에 적합한 환경을 가지고 있다.

(2) 개체의 선택과 시료 수

독일의 지침을 토대로 한 채취지역을 대표하기 위해서는 적어도 25개 임의의 알을 수집해야 한다. 해당 평균적으로 약 15g의 무게를 가지기 때문에 전체는 약 375g 정도의 알 구성물 시료를 채취할 수 있다. 하지만 본 연구에서는 한강시민공원에서 총 21개 405g과 함평공원에서 총 12개 121g을 채취하였다(표 5). 이처럼 채취량이 기준에 못 미친 것은 조사 횟수가 적은 측면도 있지만, 집비둘기가 유

해양생동물로 지정되어 두 지역 모두 등지관리가 제대로 이루어지지 않아 번식등지 환경이 열악하여 매회 조사방문 시마다 충분한 양의 알을 수거할 수 없었던 것도 관련이 있다고 판단된다.

(3) 채취시기와 빈도

신선한 알을 얻으려면 번식이 활발한 봄철에 하는 것이 가장 좋다. 이를 반영하여 4월에 2회, 6월에 2회에 걸쳐 채취하였다.

2) 시료채취 장비와 방법

한강시민공원의 경우 한강사업본부의 협조로 고소작업차량을 사용하였고, 함평공원의 비둘기집은 비교적 낮게 설치되어 있어 사다리를 이용하였다.

알은 채취지점, 채취장소, 날짜를 기록한 후 이동과 저장을 위하여 냉장상자나 냉장고에 넣고 온도는 약 5℃를 유지하고 시료를 준비할 때까지 저장기간은 2주를 초과하지 아니하였다.

3) 시료 생체량 측정

한강시민공원과 함평공원에서 채취된 비둘기 알의 길이, 지름, 생중량 등의 생육특성을 기록하였다. 길이나 지름은 차이를 보이지 않았으나, 평균 생중량은 많게는 6g 정도 차이가 났다. 함평에서 채취한 알 중에 썩은 개체가 포함되어 편차가 큰 것으로 판단된다.

집비둘기 알의 시험연구 적용 결과, 채취시기의 경우 공원관리 직원에 사전조사를 통하여 대상지의 채취시기를 정하여야 좀 더 많은 알을 체계적으로 채취할 수 있을 것으로 보인다.

4. 잉어(*Cyprinus carpio*) 시료채취 및 처리

잉어는 한국산 담수 어류 중 대형종에 속하며 우리나라 하천 전역에 분포하는 종으로 식용으로 많이 사용하므로 인체 내의 중금속 이입과 환경독성학적 측면 등의 오염지표로 활용하고 있다.

1) 시료채취

(1) 채취장소의 선정

우리나라의 대표적인 4대강인 한강, 금강, 낙동

표 5. 공원별 집비둘기 알의 평균 생체량 특성(±: 표준편차, n: 개체수)

지역		길이(mm)	지름(mm)	생중량(g)
함평	함평공원(n=12)	38.01±1.2	27.83±0.4	11.04±3.9
서울한강 시민공원	잠실지구(n=12)	39.91±1.2	28.81±0.5	13.33±2.6
	양화지구(n=8)	39.52±1.3	29.01±0.5	16.18±2.4
	광나루지구(n=1)	39.88	28.21	17

강, 영산강을 대상으로 수질오염의 영향을 많이 받은 하류 지점에서 채취하였다(그림 1).

(2) 개체의 선택과 시료 수

한강, 금강, 낙동강 그리고 영산강에서 각각 3개체, 4개체, 3개체 그리고 5개체를 채취하였고, 각각 2kg, 1kg, 1kg 그리고 3.3kg의 근육을 적출하였다. 이번 연구를 통해 채취된 개체의 크기는 40~60cm 정도로 조사되었다.

(3) 채취시기와 빈도

산란시기를 피해 10월에 1회, 11월에 3회 등 총 4회에 걸쳐 채취하였다. 산란 시기는 환경조건에 따라 달라지므로 시기를 조절하였으며 적절한 양과 크기의 시료를 채취하기 위해 연 1~3회 채취가 필요하다.

2) 시료채취 장비와 방법

잉어의 채집에는 정치망, 자망, 투망 등을 사용하며, 가슴장화, 장갑, 채취어류 보관용기, 산소공급장치 등을 사용하였다. 그리고 시료채취 야장, 전자저울, 해부도구, 액체질소 및 저온보관 용기 등을 사용하였다.

채취 시료 용기와 장비의 세척은 전용 세제로 실험실의 세척기에서 처리하였고 사용한 용기 및 기타 장비는 약 130℃의 건조기에서 최소 1시간 이상 멸균하였다. 조사지점이 대부분 하류이기 때문에 조사지점의 특성상 포획도구는 주로 자망(망목 70×70mm~100×100mm, 길이 150~200m)을 사용하였다. 채집된 시료는 실험실까지 살려 운반하거나, 현장에서 혈액만 채취하고 얼음팩 또는 드라이아이스를 이용하여 냉장상태로 실험실로 운반하였다. 시료의 채취장소, 채취시기, 체중, 전장, 체

표 6. 지역별 잉어의 평균 생체량 특성(±: 표준편차, n: 개체수)

구분	한강(n=3)	금강(n=4)	낙동강(n=3)	영산강(n=5)
체중(kg)	2.6±0.9	1.3±0.6	0.8±0.2	2.3±1.1
전장(cm)	56.4±7.5	47±9	38.8±2.8	52.1±11
체장(cm)	48.3±5.9	39±7.7	33.1±2.7	44.4±10
근육(g)	683.4±125	346.6±77	241.9±20	655.7±172
간(g)	36.7±9.8	18.8±7.8	12.3±9.3	27.1±15.7
신장(g)	14.5±4.2	6.9±3.8	4.2±0.8	6.5±4
비장(g)	5.9±1.8	4±1.8	2±0.6	4.5±2.2

장, 연령 등을 측정·기록하였다. 근육시료와 간 시료는 비늘과 상피조직을 제거하고, 내장기관 및 내장지방 등을 제거한 후 근육과 간을 적출하였고, 헤파린 튜브에 들어 있는 혈액(5cc이상)을 원심분리기를 이용하여 4℃에서 10분 동안 원심분리시킨 후 혈장(약 1cc)을 추출하여 전기냉동고에 저장하였다.

3) 시료 생체량 측정

한강을 비롯한 각 강들의 하류지역에서 채취한 잉어의 생육특성은 표 6과 같다. 잉어의 평균 체중은 각각 2.6kg, 1.3kg, 0.8kg과 2.3kg이었고, 간의 평균 무게는 각각 36.7g, 18.8g, 12.3g, 27.1g이었다(표 6).

5. 초저온 상태의 운송, 분쇄 및 저장

초저온 상태의 생체시료 분쇄, 저장, 운송의 표준 운영절차는 국가환경시료은행에서 활용할 시설과 장비를 연계하여 독일 절차 2008-2009년도 자료(German ESB, 2008a, 2008b, 2009)를 참고하여 작성 및 적용하였다.

환경시료은행의 운송, 분쇄 및 저장작업은 -150℃ 이하에서 이루어졌으며, 표준운영절차에 의해 모든 작업의 처리 과정들을 진행하였다.

1) 운송

운송절차는 채취한 시료를 분쇄하여 바이알에 넣어 시료의 정보를 기록한 후 바이알을 분석하거나 저장을 위해 이동하는 모든 과정을 말한다. 운송 용기는 적어도 운송작업을 하기 이틀 전부터 적정 온도까지 냉각시키며, 시료는 액체질소와의 직접적인 접촉을 피하고 미리 냉각된 스테인리스 스틸 운송 용기에 저장하여 운송하였다(그림 2). 중형운송용기의 적용결과 액체질소 주입 시 약 25kg에 달하는 무게로 인해 이동성이 크게 떨어져 용량을 20L에서 5L로 축소하여 좀 더 가볍게 제작하였다.

표 7. 2010년 시료채취 및 처리 표준운영절차 활용 결과

구분	채취지역	연령, 개체수, 채취부위, 개체중량	시료 저장량 (kg)	채취시기의 빈도	시료채취 장비와 방법	시료 생체량 측정
소나무, 잣나무 가지	· 소나무 도시지역: 관악산, 자연환경보전지역: 설악산, 월악산 · 잣나무 관리지역: 축령산, 자연환경보전지역: 설악산	소나무는 30년생, 잣나무는 20년생 이상, 총 33개체, 수목 당 150g 이상의 일년생 가지 채취	· 소나무(6.2) · 잣나무(2.3)	신가지 발생 전후인 3-5월 소나무는 3회, 잣나무는 2회에 걸쳐 채취	스테인리스 스틸 고지 전장가위, 스테인리스 스틸 용기, 핀셋, GPS, 카메라, 저울, 줄자 등 상층의 4개 가지로부터 직접 노출된 바깥쪽에서 채취	임의로 선택한 25개 가지를(신갈나무는 잎)대상으로 생중량, 건조량 측정
신갈나무 잎	도시지역: 관악산, 자연환경보전지역: 연인산, 지리산	수목은 30년생 이상, 37개체, 수목 당 150g 이상의 잎 채취	5.2	잎이 변색되기 전인 8월 중순-9월 중순 본 연구에서는 7월, 8월 총 2회 걸쳐 채취	상층의 4개 가지로부터 직접 노출된 바깥쪽에서 채취	채취된 시료는 액체질소로 냉각
집비둘기 알	도시지역: 합평공원, 한강 시민공원	2개 지역에서 총 33개 알, 526g 채취	0.5	번식이 활발한 봄철, 4월 2회, 6월 2회	고소작업차량, 사다리, 휴대용 랜턴 등, 수거한 알은 폴리에틸렌 봉지에 넣고 냉장상태로 운반(5℃)	알의 길이, 지름, 생중량 등 측정
잉어 근육	우리나라 대표적인 4대강 한강, 금강, 낙동강, 영산강	체장 30cm 이상, 평균 체중 1~2kg, 총 15개체 채취	7.3	산란시기를 피해 10월 1회, 11월 3회	자망, 가슴장화, 장갑, 산소공급장치, 해부도구, 헤파린 튜브 등, 현장에서 혈액만 채취 냉장상태로 운반	체중, 전장, 체장, 근육, 간 등의 무게 측정

초저온 상태의 운송, 분쇄 및 저장 이동식 질소 용기(소형 5L)를 제작하여 적용. 1kg 이하의 시료는 소형분쇄기 이용하여 균질하게 분쇄. 2012년 하반기 초저온 대형분쇄기 활용 예정. 현재 1,400L 초저온 액체질소저장탱크 19대, 600L 2대, 액체질소 백업이 가능한 전기냉동고(-80℃)4기 작동중



중형 운송용기 분쇄된 잣나무 시료 액체질소탱크(-150℃)

그림 2. 초저온 상태의 시료 운반, 분쇄, 저장 모습

2) 분쇄

분쇄절차는 먼지 또는 기체상 물질에 의해 시료가 오염되는 것을 방지하기 위하여 청정실에서 이루어졌다. 청정실에서 냉동분쇄작업과 클린벤치 안에서 시료를 병에 넣는 작업을 하였고, 처리 시 시료의 온도가 올라가면 안 되기 때문에 사용 전에 모든 실험기구와 용기들은 반드시 액체질소를 이용하여 냉각시켰다. 수작업 분쇄는 미리 냉각시켜 놓은 텅스텐 카바이드 재질의 막자를 이용하여 잘게 분쇄하는 과정으로 이루어졌다(그림 2).

기기 분쇄는 소형분쇄기를 이용하여 실시하였다. 분쇄 시 급격한 온도변화로 인해 발생하는 뭉침 현상을 제거하기 위해 지르코늄 분쇄용기를 24시간 전에 액체질소로 냉각시켰다. 잣나무에 대해 다양한 크기의 지르코늄 분쇄구슬을 테스트한 결과, 직경 20mm 구슬을 사용하여 10분 동안 2회 반복했을 때 균질한 분쇄상태를 보였다. 최적의 조건을 알기 위해서 향후 입도분석기를 도입할 예정이다. 또한 2012년에 초저온 대형분쇄기가 도입되면, 대량의 분쇄를 용이하게 할 수 있을 것으로 기대된다.

3) 저장

분쇄된 시료(시료 당 약 1kg)는 초저온 전용 바이알에 10g씩 나누어 담은 뒤, 라벨마커기를 이용하여 일련번호를 정하고 각 바이알에 부착한다. 각각의 바이알은 저장시료와 분석시료로 나누어 질소탱크에 보관한다. 초저온 저장을 위하여 저장건물 및 실험실에는 공기 중에 증발된 질소의 축적을 방지하기 위하여 환기 조절 장치를 갖추었다.

국가환경시료은행은 현재 1,400L 초저온 액체질

소저장탱크 19대(그림 2)와 600L 2대, 액체질소 백업이 가능한 전기냉동고(-80℃) 4기도 작동중이다.

국가환경시료은행 내에는 액체질소저장탱크(-150℃)에 신갈나무 2개체, 전기냉동고(-80℃)에 소나무 시료 19개체 등 총 154개체, 냉동고(-20℃)에 느티나무 시료 7개체, 냉장실(5℃)에 비둘기 알 33개체 등 총 48개체가 저장중이고, 도입될 대형분쇄기를 이용하여 저장할 시료에 대해 초저온 분말로 분쇄한 후 바이알에 저장할 계획이다.

IV. 결론

본 연구에서 수행한 시료 채취 및 처리 표준운영절차 활용의 주요 결과는 다음과 같다.

시료 채취 및 처리지침 활용 결과, 침엽수 시료 채취는 조사 여건(가용 인력, 장비 및 현장 상황 등)이 충분히 양호하지 못해 1kg 미만으로 채취된 지역이 두 지역(관악산, 축령산)이 있었다. 향후 조사 계획 수립 시 목표량 달성이 가능하도록 인력, 장비, 조사 시간 계획을 수립하는 것이 중요하다. 집비둘기 알 채취의 경우는 25개 목표량을 달성하지 못했다. 조사 횟수가 적은 측면도 있지만, 유해야생동물로 지정되어 동지관리가 제대로 이루어지지 않아 번식동지 환경이 열악한 실정도 있었다. 따라서 향후 조사지역 재검토 및 비둘기 집 설치 등을 고려하는 것이 필요하다.

초저온 상태의 생태시료 운송, 저장, 분쇄에 대한 지침의 활용 결과, 오염을 최소화하기 위해서 이동식 질소 용기(소형, 중형)를 제작하여 적용하였고, 분쇄 시 급격한 온도변화로 인해 발생하는 뭉침 현

상을 제거하기 위해 지르코늄 분쇄용기를 24시간 전에 액체질소로 냉각시켰다. 또한 잣나무 시료에 대해 다양한 크기의 지르코늄 분쇄구슬을 테스트한 결과, 직경 20mm 구슬을 사용하여 10분 동안 2회 반복했을 때 균질한 분쇄상태를 보였다.

앞으로 국가환경시료은행의 안정적 운영을 통해 다양한 지역의 생태시료의 채취 및 처리를 실시하여 문제점을 체계적으로 보완 한 후 초저온 저장과 오염물질의 회고분석으로 환경오염을 평가하고, 이를 바탕으로 환경을 체계적으로 관리할 수 있는 기틀이 마련될 것으로 기대한다.

사 사

본 연구는 2010년 「국가환경시료은행 시료채취 및 처리 표준운영절차 활용 연구(I)」의 일환으로 수행되었습니다. 그리고 본 연구의 조사에 협조해 주신 국립공원관리공단, 서울특별시환경사업본부, 합평읍사무소에 감사드립니다.

참고문헌

국립환경과학원, 2009, 국가환경시료은행 표준운영체계 구축 연구(Ⅲ), NIER NO.2009-99-1155.

국립환경과학원, 2010, 국가환경시료은행 시료채취 및 처리 표준운영절차 활용 연구(I), NIER NO.2010-88-1263.

김명진, 유병호, 이석조, 이종천, 이철우, 2008, 환경시료은행의 국제적 동향 및 우리의 대응, 환경영향평가, 17(4), 232.

김정수, 한상희, 이두표, 구태희, 2001, 서울지역 집비둘기 *Columba livia*의 서식지별 중금속 오염, 한국생태학회지, 24(5), 303-307.

김정수, 이두표, 구태희, 2003, 서울지역에 서식하는 집비둘기 *Columba livia*의 깃털을 이용한 중금속오염 모니터링, 한국생태학회지, 26(3), 91-96.

서울특별시, 2008, 서울시 도시숲(산림) 생태계 조사 학술연구, GOVP1200947276.

이돈구, 김지홍, 조재창, 차동호, 1990, 참나무자원의 종합이용 개발에 관한 연구(III): 제2장 생태연구 편, 과학기술처, 449.

Becker, P. R., E. W., Gunter, C., Schlüter, Y., Shibata, and S. A., Wise, 2006, Environmental specimen banking, Journal of Environmental Monitoring, 8, 776-778.

Becker, P. R., and S. A., Wise, 2009, 30 Years of Progress in Environmental Specimen Banking, International Symposium on Environmental Specimen Bank.

German Environmental Specimen Bank, 2008a, Guideline for Pulverisation and Homogenisation of Environmental Samples by Cryomilling.

German Environmental Specimen Bank, 2008b, Guideline for Storage of Environmental Samples under Cryogenic Conditions.

German Environmental Specimen Bank, 2009, Guideline for Transporting Environmental Samples under Cryogenic Conditions.

Johnson, M. S., H., Pluck, M., Hutton, and G., Moore, 1982, Accumulation and renal effects of lead in urban populations of Feral Pigeons *Columbia livia*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 11, 761-767.

Kim, M. J., J. Y., Kim, Y. J., Cho, and B. H., Yoo, 2009, Environmental Specimen Bank and Ecosystem Assessment, Journal of Environmental Impact Assessment 18, 429-434.

Kim, M. J., T. Y., Choi, A. R., Han, J. W., Shin, and J. C., Lee, 2010, The National Environmental Specimen Bank in Korea:

- Establishment and Standard Operating Procedures, *Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry*, 4, 125-132.
- Khera, N., and A., Kumar, 2010, Inclusion of biodiversity in environmental impact assessments (EIA): a case study of selected EIA reports in India, *Impact Assessment and Project Appraisal*, 28(3), 189-200.
- Kubin, E., H., Lippo, J., Karhu, and J., Poikolainen, 1997, Environmental Specimen Banking of Nationwide Biomonitoring Samples in Finland, *Chemosphere*, 34, 1939-1944.
- Nam, D. H., and D. P., Lee, 2006, Reproductive effects of heavy metal accumulation on breeding feral pigeons (*Columba livia*), *Science of the Total Environment*, 366, 682-687.
- Ohi, G., H., Seki, K., Akiyama, and H., Yagyu, 1974, The pigeon, a sensor of lead pollution, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 12, 92-98.
- Rajvanshi, A., S., Brownlie, R., Slootweg, and R., Arora, 2011, Maximizing benefits for biodiversity: the potential of enhancement strategies in impact assessment, *Impact Assessment and Project Appraisal*, 29(3), 181-193.
- Rüedel, H., and C., Schroeter-Kermani, 2007, The Environmental Specimen Bank Program in Germany, *Proceeding of NIER International Seminar*, 67-90.
- Shibata, Y., A., Takeuchi, M., Yoshikane, T., Horiguchi, A., Tanaka, T., Uehiro, and T., Kuwana, 2009, Environmental Time Capsule Program, Today and Tomorrow: Biomonitoring and Specimen Banking at the National Institute for Environmental Studies, Japan, *International Symposium on Environmental Specimen Bank*.
<http://www.umweltprobenbank.de>

부록. 채취 준비와 채취를 위한 체크리스트 및 야장

시료채취 종류	신갈나무(<i>Quercus mongolica</i> Fischer)
채취 부위	상층의 자유롭게 노출된 수관부 최소 4개 가지의 엽병을 포함한 잎
채취 시료	30년 이상의 초우세목, 우세목 또는 준우세목
채취 개체수	최소 15개체 수목
채취 시기	8월 중순부터 9월 중순까지(잎의 변색 전)
채취 빈도	1년에 1번
야외조사 장비	<ul style="list-style-type: none"> - 채취 하는 동안 기록을 위한 시료채취 야장(채취 지점, 기상, 수목과 잎의 설명, 저장) - 여러 개의 스테인리스 스틸 전정가위 - 자른 가지를 담을 스테인리스 스틸 용기 - 뚜껑과 잠금장치가 있는 스테인리스 스틸 용기(3.5L 또는 5.5L, 수목 당 용기 1개) - 종이봉투와 스테인리스 스틸 용기에 라벨링 하기 위한 유성펜 - 생체 특성파악용 잎을 수집하기 위한 스테인리스 스틸 핀셋 - 종이봉투(수목 당 1 봉투) - 일회용 장갑 - 저울(0.1g 눈금의 최소 3kg 유효 범위) - 수고측정기 또는 직경 테이프 - 고도계 또는 수고측정 테이프 - 시료채취 시 시료오염 방지용 넓은 비닐 또는 테프론 시트 - 기록을 위한 카메라 - 스테인리스 스틸 용기의 수만큼 급속 냉동을 위한 냉동장치와 액체질소 기화가스 시료저장소
추후 진행까지 시료 보관	스테인리스 스틸 용기(3.5L 또는 5.5L), 종이봉투
시료 운송 및 임시 저장	급속 냉동과 액체질소 기화 가스에 시료를 저장하기 위한 냉각 장치
실험에 필요한 장비	<ul style="list-style-type: none"> - 생체 시료 특성파악을 위한 시료채취 데이터 시트 - 건조기(80℃) - 정밀 저울(0.01g 눈금)
시료 측정	수목 관련(시료채취 야장 참조) - 임분유형, 수간의 직경 및 수목의 높이 잎 관련 - 피해, 여러 가지 오염 25개 잎 - 잎의 건조량(0.01g 눈금)

국가환경시료은행				
시료채취 야장				
신갈나무(<i>Quercus mongolica</i> Fischer)				
채취 지역 :	기 온 :			
채취 일자 :	날 씨 :			
채취 시간 :	토양 온도 :			
수목 번호 :				
좌표(좌표계, Datum: WGS84(), Tokyo(), GRS80())				
경도 :				
위도 :				
고도 :	m	사면경사도 :		사면방향 :
흉고 직경(지상 1.3m) :		수고 :	m	
잎의 건조량 :	g, 임의로 선택한 25개 잎			
임분 유형 :	<input type="checkbox"/> 조밀한 임분 <input type="checkbox"/> 성긴 임분 <input type="checkbox"/> 독립적으로 분포한 나무		<input type="checkbox"/> 가장자리 임분 지역 <input type="checkbox"/> 숲통로 (forest aisle)	
스테인리스 스틸 용기 번호	용기 무게(g)	전체 무게(g)	시료 무게 (g)	비 고
참가자 :	책임자/기록자: _____ 참 여 기 관: _____ 외 부 조사원: _____			
채취 관련 특이사항 :				