

HNS 유출사고가 해양생물에 미치는 생물독성 영향평가 : HNO₃ 유출사고 대상

김태원*† · 김영윤** · 조소은** · 손민호** · 이문진*** · 오상우***

*, ** 해양생태기술연구소, *** 선박해양플랜트연구소

Marine Ecotoxicological Evaluation on HNS Spill Accident : Nitric Acid Spill Case Study

Tae-Won Kim*† · Young Ryun Kim** · So Eun Jo** · Min Ho Son** · Moonjin Lee*** · Sangwoo Oh***

*, ** Marine Eco-Technology Institute, Busan 48520, Korea

*** Korea Research Institute of Ships & Ocean Engineering, Daejeon 34103, Korea

요 약 : 본 연구에서는 대표적인 HNS 중 하나인 질산(HNO₃)의 유출사고가 해양생태계에 미치는 영향을 평가하고자, (1) 식물플랑크톤(*Skeletonema costatum*)을 이용한 성장저해시험, (2) 무척추 동물(*Brachionus plicatilis*, *Monocorophium acherusicum*), (3) 어류(*Cyprinodon variegatus*) 및 (4) 발광박테리아(*Vibrio fischeri*)를 이용한 급·만성 독성시험을 질산의 유출로 인한 (1) pH 변화와 사고 후 질산에서 해리된 (2) 질산염(NO₃⁻) 농도의 변화에 대해 각각 수행하였다. HNO₃를 이용한 pH 변화에 대한 독성시험 결과, *M. acherusicum*이 무영향농도(NOEC), 최저관찰영향농도(LOEC) 및 반수영향농도(72h-EC₅₀) 값이 각각 pH 7(0.3 mM), pH 5(1.1 mM) 및 pH 5.2(1.4 mM)로 가장 민감한 영향이 나타났다. NO₃⁻에 대한 독성시험의 결과, *B. plicatilis*의 만성독성시험(개체군 성장률시험)결과, NOEC, LOEC 및 96h-EC₅₀ 값이 각각 5.9 mM, 11.8 mM 및 32.6 mM로 가장 민감한 영향이 나타났다. 결론적으로 질산 유출사고로 인한 해양생물의 독성영향은 pH의 경우, 선박의 최단 인접지역을 제외하면 그 영향은 극히 미미할 것으로 판단되며 질산염의 경우, 해양생물의 생존 및 번식에 직접적으로 영향을 미칠 수 있을 정도의 농도는 일반적인 사고해역에 현실적으로 존재 할 수 없는 농도로 판단된다.

핵심용어 : 위험·유해물질, 질산, 질산염, 독성시험, 반수치사농도, 반수영향농도, 해양생물

Abstract : This study intends to evaluate the effect of nitric acid(HNO₃) spill accidents on the marine ecosystem, while HNO₃ is known as one of the typical HNS. For this purpose, we performed (1) the growth inhibition test by using phytoplankton(*Skeletonema costatum*), (2) acute and chronic toxicity test by using invertebrate(*Brachionus plicatilis* and *Monocorophium acherusicum*), (3) fish(*Cyprinodon variegatus*) and (4) bacteria(*Vibrio fischeri*). In these tests, we observed the (1) pH changes induced by the nitric acid spill and (2) changes in nitrate(NO₃⁻) concentration disassociated from nitric acid after the accident, respectively. The toxicity test result on pH changes induced by HNO₃ shows that the no observed effect concentration(NOEC), lowest observed effect concentration(LOEC) and 50% effect concentration(72h-EC₅₀) values of *M. acherusicum* are pH 7 (0.3 mM), pH 5(1.1 mM) and pH 5.2(1.4 mM), respectively, indicating that *M. acherusicum* is the most sensitive species. The chronic toxicity test (population growth rate test) on NO₃⁻ of *B. plicatilis* show that the NOEC, LOEC and 96h-EC₅₀ are 5.9 mM, 11.8 mM and 32.6 mM, respectively, indicating that *B. plicatilis* is the most sensitive species. In conclusion, toxic effect on the marine organism caused by the nitric acid spill accident is determined to be so slightly except for the most adjacent area of the ship in pH scale and such concentration of nitrate, to the extent of directly influencing the survival and reproduction of the marine organism, is determined practically not to be applicable in the typical accidents in the sea.

Key Words : HNS, Nitric acid, Nitrate, Toxicity test, LC₅₀, EC₅₀, Marine organism

† Corresponding Author : twkim@marine-eco.co.kr, 070-8630-7117

1. 서 론

산업기술의 발달과 함께 국가 간의 교역이 활발해 지면서 수송수단인 선박의 중요성 또한 커져왔다. 물적 교류의 양과 빈도가 증가함에 따라 위험·유해물질(HNS ; Hazardous and Noxious Substances)을 운송하는 선박의 유출사고로 인한 생태적, 경제적 및 인체 건강에 대한 부정적인 문제들이 빈번하게 발생하고 있다. 이에 따라 국제해사기구(IMO ; International Maritime Organization)에서는 기존의 기름오염사고 대비·대응 및 국제 협력에 관한 협약(OPRC ; International Convention on Oil Pollution Preparedness, Response and Co-operation, 1990)에 HNS를 포함하여 2000년 3월, 위험·유해물질 오염사고 대비·대응 및 협력에 관한 의정서(Protocol on Preparedness, Response and Co-operation to pollution Incidents by Hazardous and Noxious Substances, 2000)를 채택하였고, 발효요건의 충족에 따라 2007년 6월 14일에 국제적으로 발효되었다. 그러나 이에 대한 국내 대응체제는 아직 초기단계로 국내 연구나 정책이 미흡한 실정이다(Choi and Lee, 2009).

우리나라는 1,000여종의 HNS가 해상으로 운송되고 있으며, 산업 활동에 비례한 해상 운송량의 지속적인 증가와 함께 사고 위험성도 증가함에 따라 대형 HNS 오염사고 발생 시 범국가적 차원의 신속하고 효율적으로 대응할 수 있는 사고대응 체제 구축이 필요하게 되었다(Choi, 2002). 미국의 경우, HNS 사고발생 시 대응시스템의 일환으로 대응에 필요한 전문기술지원은 부처별 임무와 특성에 따라 국가기동타격대, 환경대응팀 및 과학기술지원팀 등으로 세분화하여 지원한다. 특히 환경대응팀은 사고대응 요원의 훈련, 시료채취 및 분석, HNS의 인체 및 환경위해성평가 등에 대한 전문기술을 지원한다(Choi and Lee, 2009). 반면 국내에서는 최근에 발생한 우이산호, 한양 에이스호 등 잇따른 HNS 사고의 환경대응과 관련하여 이러한 사고가 실질적으로 사고해역의 해양생물에게 미치는 영향을 평가하기 위한 기술이 미흡한 실정이다. HNS 유출사고가 미치는 해양환경영향과 관련한 과거 연구사례들은 주로 해양 수질 및 해저 퇴적물 등 일반적인 이화학적 방법에만 중점을 두었으며 실제 생물의 영향과 관련된 연구는 기존의 물질 데이터베이스의 생물 독성값을 활용하거나 특정 한 종을 이용한 실험적 접근방법이 유일하였다(Kim et al., 2014; Lee et al., 2013; Neuparth et al., 2013; Rocha et al., 2016).

따라서 본 연구에서는 HNS 유출사고 대응 체제 구축의 일환으로 최근 이스턴 브라이트호 및 한양 에이스호 사고의 사례를 바탕으로 대표적인 HNS 중 하나인 질산의 유출사고가 해양생물에게 미치는 정량적인 영향을 평가하기 위해 국내외로 표준화된 독성시험법을 선정하였고 실제 각 영양단

계를 대표하는 해양생물을 이용한 생물독성시험을 수행하여 실제 HNS 사고해역의 이화학적 모니터링에 국한된 현재의 대응시스템을 보완할 수 있는 대안으로써 활용하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 시험물질

질산(HNO_3)은 수중으로 유입되면 쉽게 이온화 되어 질산염(NO_3^-)을 형성하고 히드로늄이온(H_3O^+)을 형성한다. 또한 수중환경에서의 다량의 산 유출은 히드로늄이온의 농도가 증가함에 따라 수중 pH는 급격히 낮아지게 된다(Lee et al., 2013). 그러므로 본 연구에서는 질산(HNO_3) 유출사고 직후, 선박 인접해역의 pH 변화에 대한 생물독성 영향평가를 위해, HNO_3 (70%, Sigma-Aldrich)를 1 N 농도로 제조 후 모든 시험 용액을 pH 8(대조구), 7, 6, 5, 4 및 3으로 설정하였다. 또한 질산에서 해리된 질산염 농도변화에 대한 생물독성 영향평가를 위하여 질산나트륨(NaNO_3 , Sigma-Aldrich)을 시험물질로 이용하였고 농도범위설정시험 결과를 바탕으로 세부 농도를 설정하여 본 시험을 수행하였다(Table 1). 모든 시험에 이용된 해수는 오염되지 않은 자연해수를 망목 $1\ \mu\text{m}$ 의 C.P. 필터를 이용하여 여과한 후 121°C 에서 15분간 고압증기 멸균하여 이용하였다.

2.2 시험생물 및 시험방법

시험생물은 해양생태계(수계) 내의 각 영양단계를 대표하는 식물플랑크톤, 동물플랑크톤 및 어류의 분류군들에서 한 종씩을 선정하였으며 퇴적물 독성시험을 위해 발광박테리아와 저서성단각류를 각각 한 종씩 선택하였다. 시험생물은 모두 국제표준시험규격 및 국내 해양환경공정시험기준에 제시되어 있는 종들로서, 본 시험 수행 전 참조독성물질시험(Reference toxicant test)을 통하여 생물의 민감도가 시험에 적합함을 확인 후 이용하였다.

2.2.1 식물플랑크톤 성장저해시험

규조류, *Skeletonema costatum*은 해양생태계의 기초생산자로서 국제표준시험규격(ISO 10253, 2006)에 명시되어 있는 시험 종이다. 시험에 이용된 *S. costatum*은 미국의 UTEX (University of Texas at Austin, USA)에서 분양받은 것을 지속적으로 계대배양 하였고, 지수성장기의 *S. costatum*을 시험에 이용하기 위해 시험시작 3일 전에 본 시험과 동일한 조건에서 전배양(pre-culture)을 실시하였다. f2 배지(Sigma-Aldrich)를 첨가한 시험용액을 농도별로 제조한 후 100 mL씩 250 mL 삼각플라스크에 분주하였으며 대조구와 실험구는 모두 지수

Table 1. Concentrations of toxicity test on NO₃⁻

Species	Test type	End point	Test concentration of NO ₃ ⁻ (mM)
<i>Skeletonema costatum</i>	Growth inhibition	72h-EC ₅₀	0, 147, 235, 252, 276, 294
<i>Brachionus plicatilis</i>	Acute	24h-LC ₅₀	0, 59, 117, 235, 353, 471
	Chronic	96h-EC ₅₀	0, 2.9, 5.9, 11.8, 23.5, 47.0
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Acute	96h-LC ₅₀	0, 118, 147, 176, 206, 235
	Chronic	9d-LC ₅₀	0, 118, 147, 176, 206, 235
<i>Vibrio fischeri</i>	Acute	30min-EC ₅₀	0, 353, 471, 706, 824, 947, 1058
<i>Monocorophium acherusicum</i>	Acute	96h-LC ₅₀	0, 59, 118, 176, 235, 294

식으로 4 반복구를 두었다. 초기 접종밀도는 5,000 cells/mL가 되도록 하였으며, 진탕배양기(DS-SI220R, Dongseo Science Co., Ltd., Korea)를 이용하여 20±2°C, 6,000~10,000 lux 조도의 연속조명하에서 72시간 동안 배양하였다.

2.2.2 무척추동물 독성시험

윤충류, *Brachionus plicatilis*(로티퍼)는 전 세계적으로 분포하는 해양생태계의 1차 소비자로서, 국제표준시험규격(ASTM E1440-91, 2012)의 표준 시험종으로 제시되어 있다. 본 시험에 이용된 로티퍼의 휴면포자는 MicroBioTests Inc. (Belgium)에서 공급 받았으며 부화 후, 건강한 개체를 선별하여 시험에 이용하였다. 모든 대조구 및 실험구는 지수식으로 5 반복구를 두었으며, 각각 10개체의 유생을 micropipet을 이용하여 투입하였고 인큐베이터(JSCC-150, JSR Co., Ltd., Korea)를 이용하여 25±1°C, 연속 암기조건 하에서 24시간(급성독성시험) 및 96시간(만성독성시험) 동안 배양하였다.

2.2.3 어류 독성시험

어류, *Cyprinodon variegatus*(양두모치)는 해양생태계 내의 포식자로서, 국제표준시험규격(EPA-821-R-02-014, 2002)의 표준 시험종으로 제시되어 있다. 양두모치의 성체는 Aquatic Research Organisms (USA)에서 분양 받았으며, 수정 후 24시간 이내의 수정란을 시험에 이용하였다. 대조구와 실험구는 모두 3 반복구를 두었으며, 급·만성 모두 500 mL의 시험용액에 각각 10개체의 수정란을 투입하였고 반지수식으로 25±1°C, 550~1,000 lux의 조도로 명암주기 16:8 하에, 용존산소 농도가 4.0 mg/L 이상으로 유지되도록 96시간(급성독성시험) 및 9일(만성독성시험) 동안 배양하였다. 환수는 매 각각 48시간(급성) 및 24시간(만성)마다 시험용액의 80%를 실시하였다.

2.2.4 퇴적물 독성시험

발광박테리아, *Vibrio fischeri*는 해양생태계 거의 모든 영역에서 관찰되며 특히 저서환경 또는 심해에 많이 분포하는 것으로

알려져 있다(Lee et al., 2006). 저서성 단각류, *Monocorophium acherusicum*는 우리나라를 비롯하여 전 세계 해양에 널리 서식하는 저서생물 중 한 종으로 이 두 종은 국내 해양환경공정시험기준의 퇴적물 독성시험의 표준 시험종으로 제시되어 있다. 시험에 이용된 생물은 모두 NeoEnBiz Co. Ltd.(Korea)에서 공급 받았으며 발광박테리아 독성시험의 경우 건조된 발광박테리아를 활성화시켜 N-tox[®](NeoEnBiz Co. Ltd., Korea) 측정기기를 이용하여 30분간 발광도를 측정하였다.

저서성단각류 독성시험의 경우, 300~500 µm의 어린 개체를 이용하였고 대조구와 실험구는 모두 4 반복구로 두었으며 반지수식으로 20±1°C, 550~1,000 lux의 조도로 명암주기 16:8 하에, 용존산소 농도가 4.0 mg/L 이상으로 유지되도록 4일간 배양하였다.

2.2.5 통계 분석

NOEC(no observed effect concentration)와 LOEC(lowest observed effect concentration)의 산출을 위해서 *S. costatum*의 성장률, *B. plicatilis*의 생존율 및 개체군 성장률, *C. variegatus*의 생존율, *V. fischeri*의 발광율 및 *M. acherusicum*의 생존율의 결과를 이용하였다. 대조구와 실험구들 사이에 유의한 차이의 유무를 확인하기 위하여 ANOVA(analysis of variance)를 이용하였고 대조구와 유의한 차이가 나타나는 실험구 중 가장 낮은 농도를 LOEC, 차이가 나타나지 않는 가장 높은 농도를 NOEC로 나타내었다. ANOVA를 수행하기 위한 정규분포(normal distribution)의 검증은 Shapiro Wilk's test와 Komolgorov D test를 이용하였고 Bartlett's test로 자료의 동질성(homogeneity)을 검증하여 Dunnett's test를 이용한 유의수준 α=0.05에서 분석하였다. 정규분포를 따르지 않거나 동질성을 보이지 않는 경우 비모수 검정으로 Steel's many-one rank test를 이용하여 분석하였다. LC50(50% lethal concentration) 및 EC50(50% effect concentration)은 선형보간법(linear interpolation)을 이용하여 산출하였다. 모든 생물독성시험의 결과값에 대한 통계분석은 TOXCALC 5.0 program(Tidepool scientific software, USA)를 이용하였다.

Table 2. Result of reference toxicant tests

Species	Test type	Reference toxicant	Precision	Results	Reference
<i>Skeletonema costatum</i>	Growth inhibition	Potassium dichromate	72h-EC ₅₀ : 2.5±1.1 mg/L	2.3 mg/L	ISO 10253 (2006)
<i>Brachionus plicatilis</i>	Acute	Copper	24h-LC ₅₀ : 80±50 µg/L	70.7 µg/L	ASTM E1440-91 (2012)
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Acute	Potassium chloride (3,160 mg/L)	96h-LC ₅₀ : 42.5±11.1%	41.6%	EPA-821-B-01-04 (2001)
	Chronic	Potassium chloride (3,000 mg/L)	9d-LC ₅₀ : 57.0±12.7%	54.8%	EPA-821-B-01-04 (2001)
<i>Vibrio fischeri</i>	Acute	Zinc sulfate	30min-EC ₅₀ : 5.5±4.5 mg/L	6.8 mg/L	Korean standard method for marine environment
<i>Monocorophium acherusicum</i>	Acute	Cadmium chloride	96h-LC ₅₀ : 1.2±1.0 mg/L	0.9 mg/L	Korean standard method for marine environment

3. 결과 및 고찰

3.1 시험의 유효성

본 시험 수행 전 참조독성물질시험(Reference toxicant test)을 수행한 결과, 모든 생물의 민감도가 시험규격에서 제시하는 범위 내에 들어오는 것을 확인하였다(Table 2). 또한, 모든 생물독성시험은 항온항습 시스템 하에서 수행되었으며 시험기간 동안 각 시험규격에서 제시하는 환경조건(온도 범위, pH 변화 및 광조건 등)과 시험의 유효성을 판단하는 시험의 유효기준을 모두 만족하였다(Table 3).

3.2 pH 변화에 따른 독성시험

HNO₃를 이용한 pH 변화에 대한 독성시험 결과, 식물플랑크톤 성장저해시험을 제외한 모든 시험에서 시험기간 동안 pH의 변화는 초기에 설정한 값의 0.16±0.07로 유지되었지만 식물플랑크톤의 경우, 초기 pH 6의 실험구는 시험종료 시점에 8.8까지 상승하였으며 초기 pH 5의 실험구는 7.1까지 상승하였다. 이는 식물플랑크톤의 광합성 작용으로 인해 시험용액의 CO₂를 감소시켜 pH가 증가하는 현상이 나타난 것으로 판단된다(Lee et al., 2006). 저서성단각류, *M. acherusicum*이 NOEC, LOEC 및 72h-EC₅₀ 값이 각각 pH 7(0.3 mM, HNO₃) 6(1.1 mM) 및 pH 5.2(1.4 mM)로 가장 민감한 종으로 나타났다(Table 4). 다음으로 해양 생태계의 가장 낮은 영양단계인 식물플랑크톤이 pH에 민감한 영향을 보였으며 식물플랑크톤을 제외한 무척추동물, 어류 및 발광박테리아의 급·만성 독성시험 결과, 모두 pH 5 까지 독성영향을 보이지 않았다. 발광박테리아의 경우, Lee et al.(2006)의 pH 변화 독성실험의 결과, EC₅₀ 값이 pH 4.6~5.2로 나타나 본 연구에 비해 pH 변화에 더욱 민감하게 반응하는 것으로 나타났다. 또한 저서성단각류의 경우, EC₅₀ 값이 평균 pH 6.2로 발광박테리아에

비해 상대적으로 민감한 것으로 나타났으며 본 연구에서도 발광박테리아를 포함한 모든 시험생물 중 가장 민감한 영향을 나타냈다. 이 밖에도 해수의 인위적인 pH 감소에 따른 생물학적 연구에 대해서는 오래전부터 연구가 진행되어 왔다. 식물플랑크톤의 경우, 실험초기의 pH가 6.0~7.0 범위일 때 광합성 및 성장저해가 일어난다는 연구결과가 있으며(Knutzen, 1981) 이매페류인 *Pinctata fuscata*의 경우 초기 pH가 7.4~7.7 이하일 때 성장 및 생존에 독성영향을 나타낸다는 보고가 있다(Kuwatani and Nishii, 1969). pH에 대한 생물의 영향 정도는 생물종 또는 개체간의 회복능력에 따라 크게 달라질 수 있으며 일부 민감종의 경우 상당히 적은 pH 변화에 의해서도 독성영향이 나타날 수 있다(Knutzen, 1981).

그러나 일반적으로 자연해수(약 35 PSU)의 pH 범위는 7.8~8.2가 대부분이며 호기성 환경의 해수 pH가 7.6 이하로 내려가는 경우는 드물다(Knutzen, 1981). 질산 유출사고로 인하여 일시적으로 사고 선박주변의 pH가 감소하더라도 해수의 pH 완충능력과 확산에 의한 희석으로 pH는 짧은 시간 내에 정상적인 범위로 회복될 수 있으며 수서생물의 경우 세포내에 pH를 일정하게 유지할 수 있는 능력이 있으므로 산성화된 환경에 노출된다 하더라도 일정시간이 지나면 회복될 수 있다(Pörtner et al., 1998). 또한 질산은 기존의 다양한 환경위해성평가(Environmental Risk Assessment)방법 중 물질의 정성적 특성 나타내는 지표인 PBT(P ; persistency, B ; bioaccumulation, T ; toxicity)특성을 고려하였을 때, 지속성을 나타내는 수중에서의 반감기(half-life)가 30일로 기준이 되는 60일 초과하지 않아 지속성을 보이지 않았으며 생물 축적성을 나타내는 BCF(bioaccumulation factor)가 3.162 L/kg wet-wt로 기준이 되는 2,000 L/kg wet-wt를 초과하지 않아 생물 축적성을 보이지 않았다(EPI suite™, USEPA). 또한 생물독성을 나타내는 만성독성시험에서의 NOEC가 0.107 mg/L(*Daphnia magna*, ECOTOX)

HNS 유출사고가 해양생물에 미치는 생물독성 영향평가: HNO₃ 유출사고 대상

Table 3. Comparison with results in the control of the each test and criteria required by the standard guidelines for validity of the test (C.V.: coefficient variation; S.G.R.: specific growth rate; D.G.R.: daily growth rate)

Species	End point	Criteria	Value (in the control)	Results	
				pH test	Nitrate test
<i>Skeletonema costatum</i>	72h-EC ₅₀	Growth rate	> 0.9	1.5	1.5
		C.V. of S.G.R.	< 7%	3.5%	4.2%
		Mean C.V. of D.G.R.	< 35%	15.1%	7.0%
		pH change	< 1.0	0.9	0.9
<i>Brachionus plicatilis</i>	24h-LC ₅₀	Survival rate	> 90%	100%	100%
	96h-EC ₅₀	Growth inhibition rate	< 50%	1.4%	-5.7%
<i>Cyprinodon variegatus</i>	96h-LC ₅₀	Survival rate	> 80%	100%	100%
	9d-LC ₅₀	Survival rate	> 80%	100%	100%
<i>Vibrio fischeri</i>	30min-EC ₅₀	Luminescence rate	0.6 ~ 1.8	1.26	1.65
<i>Monocorophium acherusicum</i>	96h-LC ₅₀	Survival rate	> 90%	100%	100%

로 0.01 mg/L 이하로 검출되지 않아 독성을 보이지 않았다. 따라서 질산이 유출된 후 pH 변화에 의한 해양생물의 독성 영향은 사고 선박 최단 인접 해역을 제외하면 지속성, 생물 축적성등을 고려할 때 극히 미미할 것으로 생각된다.

3.3 NO₃⁻ 변화에 따른 독성시험

NO₃⁻에 대한 독성시험의 결과, *B. plicatilis*의 만성독성시험 (개체군 성장률시험)에서 NOEC, LOEC 및 96h-EC₅₀ 값이 각각 5.9 mM, 11.8 mM 및 32.6 mM로 가장 민감한 영향이 나타났다(Table 5). 시험 종말점을 생존률로 판단하는 *B. plicatilis*의 급성독성시험 결과와 비교하였을 때 민감도는 약 10배 가량 차이가 나는 것으로 나타났다. Buhl et al.(1993)과 Villarroel et al.(1999)은 무척추동물인 *Daphnia magna*의 만성독성시험의 번식능력이 생존능력보다 더 민감한 종말점이라고 보고하였으며, 본 연구 결과에서도 좋은 상이하지만 비슷한 결과를 보였다. 종 증식률은 첫 번째 새끼를 낳는 시기, 산자수

의 영향을 받기 때문에 이 두 변수가 변하게 되면 종 증식률 역시 민감하게 변하게 된다(Stearns, 1976).

그러나 *S. costatum*을 이용한 식물플랑크톤 성장저해시험 결과, pH 시험결과와 상이하게 독성영향이 발광박테리아를 제외한 모든 생물에 비해 가장 작게 나타났으며 이는 식물 플랑크톤의 광합성 및 성장에 있어 질산염을 영양염으로 소비하기 때문에(Lee et al., 2013) 높은 농도의 질산염에도 강한 내성을 보이는 것으로 추정된다.

이 밖에 어류 및 무척추동물의 경우 이전 연구결과와 비교해본 결과, 무척추동물, *D. magna*의 번식력을 종말점으로 설정한 만성독성시험에서 LOEC 값이 0.17~8.44 mM로 본 연구결과와 비슷한 결과를 보였으며 (Scott and Crunkilton, 2000) 생존률을 종말점으로 설정한 급성독성시험의 경우 *D. magna*와 *Lepomis macrochirus*의 LC₅₀값이 각각 70.4와 150.6 mM로 번식력에 비해 상대적으로 민감도가 매우 낮은 것을 확인할 수 있었다(Dowden and Bennett, 1965).

Table 4. Result of toxicity tests on pH change induced by HNO₃

Species	Test type	NOEC	LOEC	LC ₅₀ or EC ₅₀	
		pH (HNO ₃ , mM)		End point	pH (HNO ₃ , mM)
<i>Skeletonema costatum</i>	Growth inhibition	6 (1.17)	5 (2.20)	72h-EC ₅₀	5.0 (2.12)
<i>Brachionus plicatilis</i>	Acute	5 (2.79)	4 (3.70)	24h-LC ₅₀	4.5 (3.24)
	Chronic	5 (2.79)	4 (3.70)	96h-EC ₅₀	4.6 (3.17)
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Acute	5 (4.40)	4 (5.00)	96h-LC ₅₀	4.5 (4.70)
	Chronic	5 (4.40)	4 (5.00)	9d-LC ₅₀	4.5 (4.70)
<i>Vibrio fischeri</i>	Acute	5 (2.20)	4 (3.10)	30min-EC ₅₀	3.6 (6.40)
<i>Monocorophium acherusicum</i>	Acute	7 (0.30)	6 (1.10)	96h-LC ₅₀	5.2 (1.44)

Table 5. Result of toxicity tests on NO₃⁻ concentration change induced by NO₃⁻

Species	Test type	NOEC	LOEC	LC ₅₀ or EC ₅₀	
		NO ₃ ⁻ (mM)		End point	NO ₃ ⁻ (mM)
<i>Skeletonema costatum</i>	Growth inhibition	235	252	72h-EC ₅₀	268
<i>Brachionus plicatilis</i>	Acute	117	235	24h-LC ₅₀	303
	Chronic	5.9	11.8	96h-EC ₅₀	32.6
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Acute	118	147	96h-LC ₅₀	187
	Chronic	147	176	9d-LC ₅₀	197
<i>Vibrio fischeri</i>	Acute	471	706	30min-EC ₅₀	903
<i>Monocorophium acherusicum</i>	Chronic	118	176	96h-LC ₅₀	192

그러나 일반적으로 자연해수의 질산염 농도는 10 μM 미만으로 존재하며 한양 에이스호 사고가 일어난 울산 및 온산 연안의 사고이전 2010년부터 2014년까지 5년의 평균 질산염 농도는 1.87 μM 였다(국가해양환경정보통합시스템; www.meis.go.kr). 또한 2007년 이스턴브라이트호의 질산 화물선 침몰사고에서 사고 후 질산 이적 작업으로 인한 유출에 대하여 해양환경 조사가 이루어졌으며 질산염을 포함한 DIN(용존무기질소)의 경우 사고 및 이적작업 후 1.63~12.86 μM로 나타나 질산염의 농도가 높아졌다고 판단할 수 없었다(Kim et al., 2014). 그러나 실제 질산 유출 사고시, 주변 해역의 질산염의 농도는 실제 질산의 유출량, 사고해역의 환경(수심, 해류)등 많은 변수에 의해 조절되므로 본 연구 단계에서 영향의 유무를 판단하기에 어려움이 존재하지만 질산 유출사고가 일어난 후 질산에서 해리된 질산염이 사고해역에 확산되어 증가하더라도 실제 생물의 생존 및 번식능력에 미치는 영향농도까지 도달하기에는 현실적으로 불가능할 것으로 생각된다.

4. 결론

질산의 유출사고로 인한 pH 변화 및 질산염 농도에 따른 해양생물 독성시험 결과를 종합하면, pH 변화에 대해서는 저서성단각류가 EC₅₀값이 pH 5.2로 가장 민감한 영향을 보였으며 다음으로 가장 낮은 영양단계인 식물플랑크톤이 민감한 영향을 보였다. 하지만 본 시험결과와 이전 연구결과를 바탕으로 질산 유출사고로 인하여 일시적으로 해역의 pH가 감소하더라도 해수의 pH 완충능력, 확산에 의한 희석과 수서생물의 회복 능력 등을 고려하였을 때 pH변화에 의한 해양생물의 독성영향은 선박의 최단 인접지역을 제외하면 그 영향은 극히 미미할 것으로 판단된다. 또한 질산염의 경우, 무척추동물인 *B. plicatilis*의 만성독성(개체군 성장률)시험에서 LOEC 값이 11.8 mM로 가장 민감한 영향을 보였으며 식물플랑크톤은 발광박테리아를 제외한 모든 시험생물 중

장 큰 내성을 보였다. 본 시험결과와 이전 연구결과를 종합하였을 때 생물의 생존 및 번식에 직접적으로 영향을 미칠 수 있는 질산염 농도는 질산 유출사고가 발생하더라도 현실적으로 존재 할 수 없는 농도로 판단된다. 그러나 이러한 질산 유출사고가 일반적으로 해류의 유동이 존재하는 해역이 아닌 반 폐쇄성 만 등과 같은 좁은 해역에서 발생할 경우 그 영향은 상당할 것으로 예상되며 이에 대한 추가적인 해수의 유동 및 확산 모델과 같은 물리화학적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서 HNS 유출사고 대응 체제의 구축의 일환으로 수행한 HNS에 대한 해양생물독성시험은 실제 생물을 이용하여 정량적인 독성영향을 파악할 수 있다는 이점이 있으며 사고 해역의 이화학적 모니터링에 국한된 현재의 대응시스템을 보완할 수 있는 하나의 대안으로 생각된다. 또한 이러한 생물독성시험법은 다양한 사고유형 및 HNS의 종류에 따라 적절한 세부시험절차가 마련되어야 할 것이며 시험결과를 바탕으로 주요 HNS 해양생물독성 정보구축 및 나아가서는 환경위해성평가의 지표로도 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2015년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구(위험유해물질(HNS)사고 관리기술 개발)이다.

References

- [1] ASTM(2012), Standard Guide for Acute Toxicity Test with the Rotifer *Brachionus*, E-1440-91.
- [2] Buhl, K. J., S. J. Hamilton and J. C. Schmulbach(1993), Chronic toxicity of the bromoxynil formulation Buctril® to

- Daphnia magna* exposed continuously and intermittently, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 25, No. 2, pp. 152-159.
- [3] Choi, J.(2002), A comparative Study on Risk Management Systems for Hazardous and Noxious Substances at Sea, in Korea and USA, Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety, Vol. 8, No. 1, pp. 15-52.
- [4] Choi, J. W. and S. H. Lee(2009), Analysis on Response System in US for Chemicals Driven Marine Pollution Accidents and Korean Response Policy Plan, The Journal of the Korean Society of Marine Environment and Safety, Vol. 3, No. 15, pp. 205-212.
- [5] Dowden, B. F. and H. J. Bennett(1965), Toxicity of selected chemicals to certain animals, The Journal (Water Pollution Control Federation), Vol. 37, No. 9, pp. 1308-1316.
- [6] EPA(2001), Final Report: Inter-laboratory Variability Study of EPA Short-term Chronic and Acute Whole Effluent Toxicity Test Method. 1200 Pennsylvania Avenue NW Washington, DC 20460. EPA-821-B-01-004.
- [7] EPA(2002), Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and Estuarine Organisms. 1200 Pennsylvania Avenue NW Washington, DC 20460, EPA-821-R-02-014.
- [8] ISO 10253(2006), International Standard, Water Quality - Marine Algal Growth Inhibition Test with *Skeletonemacostatum* and *Phaeodactylumtricornutum*.
- [9] Kim, D. J., M. J. Ju, B. K. Min, S. Y. Kim and H. S. Cho(2014), Seawater environment and sediment quality around a sunken cargo-boat with nitric acid, Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety, pp. 121-124.
- [10] Knutzen, J.(1981), Effects of decreased pH on marine organisms, Marine Pollution Bulletin, Vol. 12, No. 1, pp. 25-29.
- [11] Kuwatani, Y. and T. Nishii(1969), Effects of pH of culture water on the growth of the Japanese pearl oyster, Bull. Jap. Soc. Fish. Oceanogr Vol. 35, No. 4, pp. 342-350.
- [12] Lee, J. S., K. T. Lee, C. K. Kim, G. H. Park and J. H. Lee(2006), Influence of Increase of Dissolved CO₂ Concentration on the Marine Organisms and Ecosystems, The Journal of Korean Society for Marine Environmental Engineering, Vol. 9, No. 4, pp. 243-252.
- [13] Lee, J. S., M. S. Jung, M. S. Cho, Y. S. Ahn, K. J. Kim, Y. S. Yoon, J. Yoon and K. S. Seok(2013), Review on detection analysis and environmental impacts for nitric acid spill response, The Journal of Hazardous Materials, Vol. 1, No. 2, pp. 25-30.
- [14] Neuparth, T., R. Capela, L. Rey-Salgueiro, S. M. Moreira, M. M. Santos and M. A. Reis-Henriques(2013), Simulation of a Hazardous and Noxious Substances (HNS) spill in the marine environment: Lethal and sublethal effects of acrylonitrile to the European seabass. Chemosphere, Vol. 93, No. 6, pp. 978-985.
- [15] Pörtner, H. O., A. Reipschläger and N. Heisler(1998), Base regulation, metabolism and energetics in *Sipunculus nudus* as a function of ambient carbon dioxide level, The Journal of experimental biology Vol. 201, No. 1, pp. 43-55.
- [16] Rocha, A. C. S., M. A. Reis-Henriques, V. Galhano, M. Ferreira and L. Guimarães(2016), Toxicity of seven priority hazardous and noxious substances (HNSs) to marine organisms: Current status, knowledge gaps and recommendations for future research, Science of The Total Environment, Vol. 542, Part A, pp. 728-749.
- [17] Scott, G. and R. L. Crunkilton(2000), Acute and chronic toxicity of nitrate to fathead minnows (*Pimephales promelas*), *Ceriodaphnia dubia*, and *Daphnia magna*, Environmental Toxicology and Chemistry Vol. 19, No. 12, pp. 2918-2922.
- [18] Stearns, S. C.(1976), Life-history tactics: a review of the ideas, Quarterly review of biology, Vol. 51, No. 1, pp. 3-47.
- [19] Villarroel, M. J., E. Sancho, M. D. Ferrando and M. Andreu(1999), Effect of an acaricide on the reproduction and survival of *Daphnia magna*, Bulletin of environmental contamination and toxicology Vol. 63, No. 2, pp. 167-173.

Received : 2015. 12. 04.

Revised : 2015. 12. 24.

Accepted : 2015. 12. 28.