

*Daphnia magna*와 *Euglena agilis*를 이용한 도금폐수 독성평가

이 정 아* · 박 다 경

경기대학교 환경에너지공학과

Toxic Effects of Metal Plating Wastewater on *Daphnia magna* and *Euglena agilis*

Junga Lee* and Da Kyung Park

Department of Environmental Energy Engineering, Kyonggi University, Suwon 16227, Korea

Abstract - The ecotoxicity tests for metal plating wastewater were conducted using *Daphnia magna* (*D. magna*) and *Euglena agilis* (*E. agilis*). Evaluation for sources of toxicity was performed by 1) Correlation analysis between the concentration of individual metals in the metal plating wastewater and the toxic effects on *D. magna*, 2) Toxicant identification evaluation methods including graduated pH method, EDTA procedure and sodium thiosulfate procedure, 3) Comparison of toxic effect value (EC₅₀ or LC₅₀) of individual metal on *D. magna* and its concentration in the metal plating wastewater. To evaluate the possibility of *E. agilis*, a Korean domestic organism, as a test model organism for metal plating waste water, *E. agilis* toxicity test was also assessed using on-line euglena ecotoxicity system (E-Tox system). Based on toxicant characterization test using *D. magna*, it was expected that SS, oxidants and heavy metals are responsible for toxicity of metal plating waste water. Especially Cu, Hg, and Ag were the major cationic metals that caused toxicity. *E. agilis* is less sensitive than *D. magna* based on the EC₅₀ value however it shows prompt response to toxic test substances. *E. agilis* shows even a significant effect on the cell swimming velocity within 2 min to toxic metal plating wastewater. Our study demonstrates that *E. agilis* test can be a putative ecotoxicity test for assessing the quality of metal plating waste water.

Key words : ecotoxicity, *Euglena agilis*, metal plating, wastewater, domestic organism

서 론

국내에서 유통되는 화학물질(약 41,000여종) 및 전 세계적으로 유통되는 화학물질(약 246,000여종), 그리고 새로 유입되는 신규 화학물질(매년 400여종) (Korea Ministry of environment 2009)이 증가하고 있다. 따라서 이와 같은 다양

한 화학 물질의 수계배출로 인한 생태 및 인체노출 가능성 역시 증가하고 있는 추세이다. 그러나 이 모든 화학물질에 대해 개별적인 기준 설정 및 관리는 현실적으로 불가능하다. 미국을 비롯한 선진국에서 수계로 배출되는 다양한 유해물질에 대해 지표생물을 이용하여 폐수의 독성을 평가하는 방법인 산업폐수 통합독성평가(Whole Effluent Toxicity Test)가 수질의 모니터링 수단으로 활용되고 있으며 우리나라 역시 수 생태계보호를 위해 2007년도 수질 및 수 생태계 보전에 관한 법률을 개정하고 2011년도에는 생태독성관리제도에

* Corresponding author: Junga Lee, Tel. 031-244-9755,
Fax. 031-244-9757, E-mail: leejunga@kyonggi.ac.kr

를 도입하여 운영하고 있다(Korea Ministry of environment 2009, 2011).

생태독성관리제도는 산업폐수를 대상으로 생물체에 미치는 급성영향정도를 파악하여 그에 따른 배출허용기준을 정하는 제도로 물벼룩(*Daphnia magna*)을 이용하여 실시되고 있다. *D. magna*은 높은 번식력, 짧은 생활사, 실험의 용이성, 독성물질에 대한 민감성 등의 장점으로 인해 생태독성시험에서 일반적으로 사용되는 발광박테리아, 조류, 어류, 수서곤충들에 비해 다양한 독성물질을 평가하는 데 사용되어 왔다(Kim et al. 2010). 그러나 국내 표준 생태독성 시험생물종인 *D. magna*는 외래 생물 종으로 국내 수계 관리에 적합한 국내 서식 종을 이용한 생태독성평가기법 개발이 요구되고 있다. 본 연구팀은 최근 국내 서식 종 유글레나(*Euglena agilis*)를 이용한 독성시험 기법을 보고한 바 있다(Lee et al. 2015). *E. agilis*는 체내에 엽록체를 가지고 광합성을 하는 식물성 특성과 탄소원으로 유기물을 이용하고 세포벽이 없으며 편모로 유영생활을 하는 동물성 특성을 동시에 가지고 있는 진핵 생물이다(Cramer and Myers 1952; Brochiero et al. 1984; Einicker-Lamas et al. 2002). *E. agilis* 독성시험은 독성물질에 반응하는 세포의 운동성 변화에 기인된 파라미터(velocity, motility, compactness)를 이용하여 독성의 유무를 판단하는 측정법으로 국내 서식 종을 이용한 독성평가기법이라는 장점 외에 시험물질에 대한 세포의 반응시간이 발광박테리아보다 짧다는 장점이 있다(Lee et al. 2015).

산업폐수는 산업 활동에 수반되어 발생하는 폐수로써 오염물질의 종류와 농도가 제각각 다르며, 중금속 등의 유해물질을 함유하고 있는 경우가 많다. 따라서 국내의 폐수 배출시설은 유사업종별로 묶어 82개의 배출시설로 분류하여 각각 배출시설별로 일일 폐수 발생량을 기준으로 1~5종 사업장으로 구분하여 관리하고, 배출허용기준을 청정지역, 가지역, 나 지역, 특례지역의 4가지로 구분하여 적용하고 있다(Lee and Lee 2014). 도금폐수 역시 중금속 등 다량의 독성물질을 함유하고 있어 문제시되는 폐수로 생태독성 적용 대상 및 배출허용기준에 기준적용대상 35개 업종에 포함되어 있으며 2016년부터 생태독성 기준이 TU (Toxic Unit)4에서 TU (Toxic Unit)2로 강화되었다.

국내의 도금시설 폐수배출업소는 현재 약 1,955개소로 추정되며 폐수발생량은 $58,000 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ 로 국내 폐수 발생량 총량이 $5,269,000 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ 의 1.1% 비율로 총 발생량은 비교적 적다(National Institute of Environmental Research 2013). 그러나 도금폐수는 크롬, 아연, 시안 화합물, 구리, 카드뮴, 아연, 니켈 등과 같은 인체에 해로운 중금속을 함유하고 있다(Chung 2013). 비록 다양한 처리 공정을 통하여 이와 같은 독성물질의 처리가 가능하지만, 이론에 의한 결과 예측과 실

제 처리율이 다른 경우가 많아 기대한 만큼의 효과적인 처리가 어려울 수 있다. 또한 대부분의 도금시설이 조합의 형태로 공동 폐수처리장을 운영하고 있어 다양한 중금속이 포함되어 있고 폐수처리 시 효율성이 저하될 경우 수계에 더 많은 영향을 미치게 된다(Cho et al. 1995). 수계에 노출된 미처리된 중금속은 여러 경로를 통해 생물체에 흡입된 후 흡수 및 축적을 통해 생물체에 독성을 야기하거나 형태 및 생리적으로 변화를 끼칠 수도 있고 궁극적으로 먹이사슬의 축적에 의해 인간의 건강에도 심각한 영향을 야기할 수 있다(Lee et al. 2008). 따라서 도금폐수가 생태계에 미치는 영향을 평가하고 위험을 예측하여 사전에 예방하는 것이 중요하다.

본 연구는 경기도 안산 도금폐수 처리시설에서 시료를 취수하여 국내 표준 시험 생물종 *D. magna*를 이용하여 24시간 급성생태독성을 측정하였다. 단계적 pH, 중금속, 산화제 실험, 그리고 목적물질에 대한 독성영향 비교 등을 통하여 원인물질 탐색평가를 수행하였다. 또한 *D. magna* 독성과 중금속농도와의 상관관계 분석을 통하여 독성영향에 기여하는 분석항목을 도출하였다. 마지막으로 *E. agilis*를 이용한 생태독성을 측정하여 도금폐수 시료에 대한 *E. agilis* 시험법의 적용 가능성을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 시료 채취

시료는 경기도 반월공단 도금시설 폐수처리 공정에서 2015년 3월과 8월, 2회에 걸쳐 총 4종의 시료를 채취하였다. 시료 1과 2는 3월에 채취한 1차 처리 수와 방류수이며 시료 3과 4는 8월에 채취한 1차 처리 수와 방류수이다. 채취한 시료는 4L 갈색 유리병에 담아 4°C 차광상태에서 보관하였다. *D. magna* 생태 독성시험과 *E. agilis* 시험은 시료 채취 후 48시간 이내 수행하였고 그 외 모든 실험은 시료 채취 후 7일 이내 실시하였다.

2. 시료 분석방법

시료의 이화학적 분석을 위해 pH (Thermo Orion Star, thermo Fisher Scientific inc., Beverly, USA), 전기전도도 (HANNA HI 8733, Camlab Ltd, Cambridge, UK), 염도 (SER. NO 802447, PAT PEND, Japan), 그리고 경도 (HANNA HI 96736, Camlab Ltd, Cambridge, UK)를 측정하였다. 중금속류는 수질오염공정시험법(Korea Ministry of environment. 2008)에 따라 유도결합플라즈마 발광도(ICP,

Inductively Coupled Plasma)법과 이온 크로마토그래피(IC, Ion Chromatography)법을 이용하여 분석하였다.

3. *D. magna* 배양법

본 실험에서 사용된 시험생물종 *D. magna*는 국립환경과학원에서 분양을 받았으며 배양조건은 온도 $21 \pm 1^\circ\text{C}$, 광 조건 명 : 암 = 16 : 8 (800 Lux)로 유지하였다. *D. magna* 배양액은 US-EPA와 환경부 규격에 따라 제조하였으며 증류수 1 L에 염화칼륨(KCl) 8 mg, 황산마그네슘(MgSO_4) 120 mg, 황산칼슘 이수화물($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 120 mg, 탄산수소나트륨(NaHCO_3) 192 mg을 섞은 후 24시간 정도 통기 시켰다(USEPA 2002; Korea Ministry of environment 2009). 배양액의 pH는 7.6~8.0, 경도는 $160 \sim 180 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, 알칼리도는 $110 \sim 120 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ 를 유지시켰다. *D. magna*의 먹이로는 YCT (Yeast, Cerophyll, Trout chow)와 green algae (chlorella)를 이틀에 한 번씩 공급하였다(Kim *et al.* 2014).

4. *D. magna* 생태독성

*D. magna*에 대한 독성영향은 US-EPA와 환경부에서 제시하는 급성독성 평가시험법에 따라 수행하였다(USEPA 2002; Korea Ministry of environment 2008). 시험시료는 2 L 무균 채수병에 담긴 도금폐수를 3번 크게 흔들어서 섞은 후 상등 수를 사용하였다. 시료의 농도는 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%에서 총 5단계의 농도에서 실험을 실시하였다. 준비된 시료는 50 mL의 비이커 4개에 각각 50 mL씩 넣은 후 생후 24시간 미만의 어린 개체(neonate) 5마리를 넣어 배양조건과 같은 조건에서 24시간 노출 시켰다. 중크롬산칼륨($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)을 표준시료로 모든 시험은 4반복으로 수행되었다. 실험 후 각 neonate의 유영저해와 죽음을 판단하여 그 결과를 토대로 Trimmed Spearman-Kärber Method를 이용하여 시험생물의 50%가 유영저해를 일으키는 농도인 EC_{50} 을 도출하였다. 이 결과로부터 생태독성값(TU, Toxic Unit)은 $100/\text{EC}_{50}$ 으로 계산하였다. 단, 100% 시료에서 *D. magna*의 0~10%에 영향이 있을 경우에는 TU를 0으로 하고, *D. magna*의 10~49% 영향이 있을 경우에는 $0.02 \times$ 영향받은 퍼센트로 TU를 계산하였다(Korea Ministry of environment 2008).

5. 독성원인물질탐색

(TIE, Toxicity Identification Evaluation)

독성원인물질탐색은 단계적 pH 실험, SS실험, 중금속 실험, 산화제 실험을 실시한 후 원 시료의 독성시험 결과와 비

교하였다. 원 시료 실험(Baseline Toxicity Test)은 시료에 어떠한 처리도 하지 않은 상태로 *D. magna* 독성시험을 수행하였다. 단계적 pH 실험(Graduated pH Test)은 HCl과 NaOH를 이용하여 시료의 pH를 6, 7, 8이 되도록 맞춘 뒤 이 시료에 대하여 *D. magna* 독성시험을 수행하였다. SS 실험(Filtration Test)은 시료를 GF/C필터(GF/C 47 mm ϕ Circles, WhatmanTM, US)를 이용하여 입자상 독성물질을 제거한 뒤 이 시료를 사용하여 *D. magna* 독성시험을 수행하였다. 중금속 실험(EDTA Chelation Test)은 시료에 EDTA (disodium salt EDTA, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_2\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1.5 g을 증류수 100 mL에 녹인 후(EDTA 용액) 원 시료 98 mL에 EDTA 용액을 0.2 mL 넣어 최종농도가 $\text{EDTA } 30 \text{ mg L}^{-1}$ 이 되도록 섞은 후 24시간 이상 반응시킨 후 이 시료를 사용하여 *D. magna* 독성시험을 수행하였다. 산화제 실험(Oxidant Reduction Test)은 시료 100 mL에 티오황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_7$) 50 mg을 넣어 최종 티오황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_7$) 농도가 500 mg L^{-1} 이 되도록 섞은 후 24시간 이상 반응시킨 후 이 시료에 대하여 *D. magna* 독성시험을 수행하였다. 노출시간은 24시간, 표준시료는 중크롬산칼륨($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)을 사용하였고 모든 시험은 4반복으로 수행되었다.

6. 상관관계분석

D. magna 생태독성에 기여하는 중금속 항목을 알아보기 위하여 *D. magna* 독성과 시료 내 각 중금속 농도와의 상관관계를 MINITAB 통계프로그램을 이용하여 분석하였다. 상관계수 r-value는 두 항목 간의 상관 정도를 나타냈으며, p-value는 인자의 유의성에 관련된 지표로써 0.05보다 작으면 해당 인자가 결과에 유의성을 띠는 것으로 판단하였다.

7. *E. agilis* 세포반응 시험

본 실험에 이용된 *E. agilis*는 인천대학교 수서독성 생리생태학 실험실에서 초기 분양받은 후 sodium acetate가 포함된 mineral medium 배양액(Starr 1971)의 pH를 6으로 조정 후 조도 2800 Lux, 온도 $24 \pm 1^\circ\text{C}$, 광주기 16 : 8(light : dark)의 비율로 유지하며 배양하였다(Lee *et al.* 2015). 세포반응 시험은 새로 개발 제작된 *E. agilis* 실시간 모니터링 장비(E-Tox, (주)마이크로디지털)를 이용하여 *E. agilis*의 운동성 파라미터(velocity)를 측정하였다. E-Tox ((주)마이크로디지털)의 측정방식은 간략하게 다음과 같다. 대조군과 실험군에 노출된 *E. agilis*를 CCD (Charge coupled device) 카메라로 촬영하여(1초에 5번, 총 2분) 이미지화한다. 화면 속 세포에 대한 인식과정 후 대상 세포에 대해 연속된 화면을 비교함으로써 세포의 운동성 반응을 계산한다. *E. agilis*의 초당

Table 1. The physicochemical components of metal plating wastewater samples^a

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Standard
pH	8.96	7.48	8.11	8.21	5.8-8.6
Conductivity (mS cm ⁻¹)	21.7	23.2	23.8	21.8	None
Salinity (‰)	1.5	1.4	1.2	1.2	None
Hardness (mg L ⁻¹ as CaCO ₃)	150	140	165	175	None
Pb	0.0023	<0.001	0.0929	0.0335	0.5
Cd	0.0019	0.0006	0.0030	0.0042	0.1
Total Cr	0.084	0.031	0.0259	0.0569	2
Fe	0.098	0.072	0.0780	0.4610	10
Mn	0.013	0.016	0.0066	0.0055	10
Cu	0.161	0.252	0.3110	0.2690	3
Zn	0.025	0.03	0.0528	0.0384	5
As	0.018	<0.00008	0.04500	0.04900	0.25
Cr(VI)	0.112633	0.030268	0.0608	<DL	0.5
Hg	0.0000517	0.000106	0.0118	<DL	0.005
Se	0.168	0.038	0.0210	<DL	1
Ag	0.0007	0.00009	0.3550	0.0586	None

^aConcentration in mg L⁻¹, unless otherwise noted

세포 속도를 다음과 같은 식 (Tahedi and Häder 2001)을 이용하여 계산 후 대조군과 실험군의 총 120초 동안의 평균속도를 비교한다.

$$\text{Velocity} = \frac{d}{\Delta t} \times fs$$

d = 벡터의 길이 (1째 화면과 5째 화면의 세포거리, x축상의 이동거리와 y축상의 이동거리)

$$d = \sqrt{\Delta x^2 + \Delta y^2}$$

Δt: 1째 화면과, 5째 화면의 시간 차이

결과 및 고찰

1. 도금폐수 일반수질 항목 및 중금속 분석결과

각 시료의 일반적 이화학적 분석 및 중금속 함량을 측정 한 결과를 Table 1에 나타내었다. 시료의 pH는 7.48~8.96 수준으로 시료 1은 배출허용기준(5.8~8.6)을 초과한 것으로 나타났다. 전기전도도, 염도, 그리고 경도는 각각 21.7~23.8 mS cm⁻¹, 1.2~1.5‰와 140~175 mg CaCO₃ L⁻¹ 수준으로 4종의 시료가 유사하였다. 각 시료에서 검출된 중금속 Pb, Cd, Total Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, As, 6가, Se의 농도는 수질오염 배출허용기준을 모두 충족시켰다. Hg은 시료 1, 2, 4는 수질 오염배출허용기준을 충족시켰지만 시료 3의 경우 0.0118 mg L⁻¹으로 배출허용기준(0.005 mg L⁻¹)보다 약 2.36배 높았다. Ag는 0.00009~0.3555 mg L⁻¹으로 현재 배출허용기준이 정

Table 2. The EC₅₀ values of metal plating wastewater samples derived from *D. magna* test.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
EC ₅₀ (%)	2.33	70.71	0.12	35.36
TU	42.92	1.41	833.33	2.82

해져 있지 않은 중금속 항목이다.

2. *D. magna*를 이용한 생태독성

각 시료에 대해 *D. magna*를 이용한 생태독성실험을 수행한 결과를 Table 2에 나타내었다. 시료의 EC₅₀은 각각 2.33% (시료 1), 70.71% (시료 2), 0.12% (시료 3), 35.36% (시료 4)로 측정되었다. 생태독성실험을 통해 도출된 EC₅₀ 결과로부터 생태 독성 값(Toxic Unit, TU = 100/EC₅₀)을 산출한 결과 시료 1과 3의 독성 값은 각각 TU 42.9와 TU 833.3로 배출허용기준을 크게 초과하였다. 방류수 시료인 시료 2와 4의 독성 값은 각각 TU1.4와 TU4로 실험을 수행한 2015년 생태독성시험을 기준으로 배출허용기준(TU4 이하)을 충족시켰다. 2016년도부터 배출허용기준(TU2 이하)이 강화된바 시료 4의 경우 기준을 만족시키기 위해 독성원인물질 탐색과정을 통해 독성저감이 필요할 것으로 판단된다.

3. 독성 원인 물질 탐색

독성원인물질군을 규명하기 위해 각 시료를 대상으로 단계적 pH test, SS test, 중금속 test, 산화제 test를 실시한 뒤 원시료의 독성영향과 비교하였다(Table 3, USEPA 1991).

Table 3. Half maximal effective concentration (EC₅₀) and Toxic Unit (TU) derived from *D. magna* test.

		Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	
Baseline toxicity test	EC ₅₀ (%)	2.33	70.71	0.12	35.36	
	TU	42.9	1.4	833.3	2.8	
Graduated pH test	pH 6	EC ₅₀ (%)	3.35	70.71	0.36	35.36
		TU	29.9	1.4	277.8	2.8
	pH 7	EC ₅₀ (%)	3.13	70.71	0.36	35.36
		TU	32.0	1.4	277.8	2.8
	pH 8	EC ₅₀ (%)	2.54	70.71	0.36	40.61
		TU	39.4	1.4	277.8	2.5
Filtration test	EC ₅₀ (%)	3.13	70.71	0.22	35.36	
	TU	32.0	1.4	454.5	2.8	
EDTA addition test	EC ₅₀ (%)	2.54	75.17	0.42	46.25	
	TU	39.4	1.3	238.1	2.2	
Sodium thiosulfate addition test	EC ₅₀ (%)	13.4	73.49	17.68	46.25	
	TU	7.5	1.4	5.7	2.2	

단계적 pH 실험은 pH 조건에 따라 독성이 달라지는 화합물 그룹의 독성 여부 판단을 위해 실시하였다. 암모니아의 경우 pH가 증가할수록 독성 또한 증가하는 반면에 황화수소와 중금속의 경우 pH 증가 시 독성이 감소한다. 그러므로 pH가 감소할수록 독성이 감소할 경우는 독성의 원인물질 그룹으로 암모니아로 판단할 수 있으며 pH가 증가할수록 독성이 감소할 경우에는 독성의 원인물질 그룹으로 황화수소와 중금속을 판단할 수 있다. 시료 내에 입자상으로 존재하는 독성물질의 영향을 알아보기 위해 시료를 GF/C 필터를 이용하여 입자상 독성물질을 제거한 뒤 이 시료를 사용하여 *D. magna* 배지로 희석하여 실험하였다. 시료의 독성 원인 물질이 중금속에 기인한지 알아보기 위해 중금속실험을 실시하였다. EDTA는 시료에 중금속과 착 화합물을 형성하므로 EDTA로 처리한 시료에서 독성이 감소하였을 경우 감소된 독성의 정도만큼 EDTA와 중금속 흡착에 따른 중금속에 의한 독성이 제거 되었다고 판단할 수 있다. 시료의 독성원인 물질이 산화제 특히 염소에 기인한 것인지 판단하기 위해 산화제 실험을 실시하였다. 티오황산나트륨을 처리한 시료에서 독성이 감소하였을 경우 감소된 독성의 정도만큼 티오황산나트륨의 산화력만큼 산화제 독성이 제거 되었다고 판단할 수 있다.

시료 1의 원 시료 TU는 42.9였으나 pH가 6, 7, 8로 맞춘 시료의 TU는 각각 29.9, 32.0, 39.4로 pH가 올라감에 따라 독성이 증가되었다. SS, 중금속, 산화제 Test 결과 TU가 각각 32.0, 39.4, 7.5로 독성 도가 SS 제거에 의해 약 1.3배, 중금속 제거에 의해 약 1.1배 산화제 제거로 인해 약 5.7배 감소하였다. 원인물질탐색 실험결과 시료 1의 독성원인물질 군

은 SS, 중금속, 산화제로 예상되었으며 독성기여도는 산화제 > 중금속 > SS 순으로 나타났다.

시료 2의 원 시료 TU는 1.4로 방류수 허용기준을 만족시켰으며 단계적 pH Test, SS, 중금속, 그리고 산화제 Test 결과 독성도의 차이가 없었다.

시료 3의 원 시료 TU는 833.3이었으나 pH를 6, 7, 8로 맞춘 시료의 TU가 모두 277.8로 독성 값이 약 3배 감소되었다. SS, 중금속, 산화제 Test 결과 TU가 454.5, 238.1, 5.7로 독성 값이 SS 제거에 의해 약 1.8배, 중금속 제거에 의해 약 3.5배 감소하였으며 특히 산화 제거로 인해 독성 값이 약 146.2배 감소하였다. 시료 중 가장 독성이 높은 시료 3의 독성원인물질 군은 SS, 중금속, 산화제로 예상되었으며 독성기여도는 산화제 > 중금속 > SS 순으로 나타났다.

시료 4의 원 시료 TU는 2.8이었으며 단계적 pH Test 결과 pH 6, 7, 8에서 각각 2.8, 2.8, 2.5로 약간 감소하였거나 변화가 없었다. SS제거 시료 역시 독성 도의 변화가 없었으나 중금속과 산화제 제거 시료는 동일하게 TU가 2.2로 각각 약 1.3배씩 감소하였다. 시료 4의 독성원인물질그룹은 중금속, 산화제로 예상되고 독성기여도는 중금속과 산화제가 동일한 것으로 나타났다.

중금속과 착 화합물을 형성 EDTA는 Al, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni, St, Zn 등과는 강한 결합력을 가지고 있으나 Hg와는 결합력이 비교적 약하다(Stumm and Morgan 1981). 산화제 제거에 효과적인 티오황산나트륨은 Cd, Cu, Ag, Hg와 강한 결합력이 있어(Martell and Smith 1981) 산화제 테스트로 인해 방류수의 독성이 감소한 경우 시료내 금속이온과 티오황산나트륨 이온의 결합력에 의한 것으로 예측한

Table 4. Correlation between the toxic effect on *D. magna* and the individual metal concentration in metal plating wastewater.

		Pb	Cd	Total Cr	Fe	Mn	Cu	Zn	As	Cr(VI)	Hg	Se	Ag
TU	r	0.928	0.243	-0.553	-0.367	-0.476	0.626	0.873	0.483	0.182	0.999	-0.271	0.982
	p	0.072	0.757	0.447	0.633	0.524	0.374	0.127	0.517	0.818	0.027	0.729	0.018

r: coefficient of correlation: In general, the value indicating the degree of correlation between the two items

p: Significant coefficients: p < considered two items that significantly affected if 0.05

다(Giles and Danell 1983). 따라서 EDTA 실험과 산화제 실험은 중금속 독성의 원인물질그룹의 세부화를 위해 상호 비교 평가 해야 할 항목이다. 원인물질 탐색평가 결과 시료 2, 시료 3, 시료 4의 경우 중금속과 산화제 제거에 모두 독성이 감소한 것으로 미루어 중금속 중 Cu, Cd, 그리고 Hg이 원인 물질로 추정되었다.

4. 상관관계 분석

독성영향에 가장 크게 기여하는 분석 항목을 도출하기 위하여 도금폐수가 *D. magna* 미치는 영향과 도금폐수 시료 내 개별 중금속 농도와 상관관계를 분석하였다. 그 결과 *D. magna* 생태독성도(TU)와 상관관계가 높은 중금속은 Hg ($r=0.999$), Ag ($r=0.982$)로 나타났다($p < 0.05$) (Table 4).

D. magna 독성을 야기하는 시료 내 중금속 개별 원인물질을 탐색하기 위해 중금속 개별 물질에 대한 *D. magna*의 영향(EC_{50}/LC_{50})과 시료 내의 개별 중금속 농도를 비교하였다. 시료 내 Cd, Mn, Pb, Se, Zn의 농도는 개별 물질에 대한 *D. magna* EC_{50} (LC_{50})보다 낮았으나 상관관계 분석을 통해 원인물질로 예상되었던 Ag는 시료 3과 시료 4에서 EC_{50} 보다 높게 검출되었다(Table 5). 원인물질 탐색시험을 통해 독성 영향물질로 추정되었던 Cu는 모든 시료에서 개별 물질에 대한 *D. magna* EC_{50} (LC_{50})보다 높게 검출되었으며 상관관계 분석과 원인물질 탐색시험을 통해 독성영향물질로 추정되었던 Hg은 시료 3에서 *D. magna* EC_{50} (LC_{50})보다 높게 검출되었다. 따라서 부유물질(SS)과 산화제 이외 시료 1은 Cu, 시료 3은 Cu, Hg, Ag 그리고 시료 4는 Cu, Ag이 *D. magna* 독성을 야기하는 원인물질로 판단된다. 방류수 시료인 시료 4의 경우 배출허용기준(TU2)을 만족시키기 위해서 산화제와 중금속(Cu, Ag)에 대한 추가처리가 필요할 것으로 판단된다.

5. *E. agilis* 세포반응실험

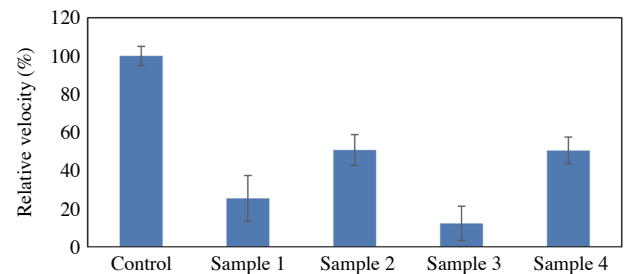
도금폐수 시료에 대한 *E. agilis* 시험법 적용 가능성을 평가하기 위하여 동일시료에 대해 *E. agilis* 실시간 생태독성 모니터링 장비를 이용하여 독성시험을 수행하였다. 독성도

Table 5. Half maximal effective concentration (EC_{50}) of metals to *D. magna*.

	<i>Daphnia magna</i> (48 hr) LC_{50} ($mg L^{-1}$)
Ag	0.0015 ¹⁾
Cd	0.065 ²⁾
Cu	0.0098 ²⁾
Mn	9.8 ²⁾
Pb	4.4 ³⁾
Se	0.43 ¹⁾
Hg	0.0006 ⁴⁾
Zn	0.1 ²⁾

¹⁾LeBlanc GA 1980, ²⁾Biesinger KE. and Glenn M Christensen 1972,

³⁾Mount DI and TJ Norberg 1984, ⁴⁾Park DK and HK Bae 2011

**Fig. 1.** Effects of metal plating wastewater on swimming velocity of *E. agilis* after 2 min exposure.

는 시료 농도에 따른 *E. agilis*의 반응 이미지를 운동성 파라미터값으로 변환 후 EC_{50} 을 산출하여 비교하였다. *E. agilis* 세포의 평균 이동속도(swimming velocity)는 도금폐수 시료의 농도 의존적으로 감소하였다. 원시료에 대한 영향만을 고려할 때 대조군에 비해 *E. agilis* 세포 이동속도는 시료 1이 74.57%, 시료 2가 49.24%, 시료 3은 87.70%, 그리고 시료 4는 49.50% 감소하였다(Fig. 1). 도금폐수의 독성은 EC_{50} (*E. agilis*, velocity, 2 min)을 기준으로 시료 3 > 시료 1 > 시료 4 > 시료 2 순으로 *D. magna*와 유사한 독성순위를 나타냈다. 도금폐수에 대한 *E. agilis* 시험의 TU값은 각각 2.9(S1), 1.9(S2), 2.6(S3), 2.1(S4)로 *D. magna* 시험보다 상대적으로 독성 민감도는 낮았으나 *D. magna* 시험 기준을 충족시키지 못하는 시료에는 TU2 이상으로, 기준을 만족하는 시료에는

TU2 이하로 측정되었다. 이와 같은 결과는 중금속 개별물질에 대한 *E. agilis*의 독성민감도(세포 운동반응성 EC₅₀ 기준)가 *D. magna*에 비해 낮은 것에 기인한 것으로 보여진다 (in press). 또한 독성이 높은 도금폐수 시료에 대해 *E. agilis*가 신속하게 독성반응을 나타내는 것으로 미루어 세포의 운동속도와 같은 cell movement parameter를 종말점으로 *E. agilis* 독성시험을 수행할 경우 세포의 반응시간이 짧아 실시간 모니터링에 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 판단된다.

국내 수질을 평가하고 관리하기 위해서 생물체를 이용한 수용체 중심의 통합적 독성시험의 적용은 적절하나 생물 종마다 동일 화학물질에 대한 독성반응은 생물 종 고유의 방어시스템에 따라 달라진다. 또한 생체 내 독성반응은 독성물질들의 협동작용이나 길항작용에 의해 독성이 증가할 수도 또는 감소할 수도 있다. 따라서 향후 단일종이 아닌 국내 서식 종을 포함한 다양한 생물 종을 이용한 생태독성시험이 수행되어야 함은 물론 도금폐수 내 다양한 중금속의 상호작용에 의해 유발되는 독성 예측 및 독성 메커니즘을 규명하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

적 요

본 연구에서는 경기도 안산 도금폐수 처리시설에서 총 4개 시료를 대상으로 국내 생태독성시험 표준 생물 종인 *D. magna*와 국내서식 종 *E. agilis*를 이용한 생태독성을 수행하였다. 시료에 대한 독성원인물질 탐색은 *D. magna* 급성 독성시험법을 이용하여 1) 시료 내 개별 중금속 농도와 시료의 독성영향과의 상관분석, 2) 원인물질탐색 실험(단계적 pH, SS, 중금속, 산화제 Test), 3) 중금속 목적물질에 대한 독성영향 농도와 시료 내 목적물질의 농도와의 비교 등을 통해 평가하였다. 도금폐수 시료에 대한 *E. agilis* 시험법의 적용 가능성 평가는 *E. agilis* 실시간 생태독성 모니터링장비(E-Tox 시스템)를 이용하여 수행하였다. *D. magna* 시험 결과, 시료의 독성원인물질군은 부유물질(SS), 산화제 그리고 중금속으로 예측되었으며 개별 중금속 원인물질은 Cu, Hg, Ag로 판단되었다. *E. agilis*는 *D. magna*에 비해 독성 민감도는 높지 않으나 *D. magna*에 독성영향을 나타내는 도금폐수 시료에 신속하고 민감하게 반응하였다. 본 연구의 결과 *D. magna*를 이용한 단계별 독성원인물질 탐색평가과정은 생태독성기준을 초과하는 도금폐수 시료에 대한 독성 원인물질을 파악하는데 효과적으로 나타났다. 또한 *E-agilis* 시험은 향후 도금폐수의 수질을 실시간으로 모니터링 하는데 적용 가능 할 것으로 판단된다.

사 사

본 논문은 환경부 “글로벌탑 환경기술개발사업”으로 지원 (과제번호: GT-11-B-01-015-0) 받아 수행한 연구입니다.

REFERENCES

- Biesinger KE and Glenn M. Christensen. 1972. Effects of Various Metals on Survival, Growth, Reproduction, and Metabolism of *Daphnia magna*. J. Fish. Res. Board Can. 29:1691-1700.
- Brochiero E, J Bonaly and JC Mestre. 1984. Toxic action of hexavalent chromium on *Euglena gracilis* cells strain Z grown under heterotrophic conditions. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 13:603-608.
- Cramer M and J Myers. 1952. Growth and photosynthetic characteristics of *Euglena gracilis*. Arch Microbiol. 17:384-402.
- Cho SH, JC Lee and YC Chung. 1995. Treatment of Metal Plating Wastewater by Polysulfide. J. Korean Soc. Environ. Eng. 17:845-853.
- Chung HJ. 2013. A study on the Removal of Cyanide and Heavy Metals in Plating Wastewater. Jour. Water Treat. 21:47-57.
- Einicker-Lamas M, GA Mezian, TB Fernandes, FLS Silva, F Guerra, K Miranda, M Attias and MM Oliveira. 2002. *Euglena gracilis* as a model for the study of Cu²⁺ and Zn²⁺ toxicity and accumulation in eukaryotic cells. Environ. Pollut. 120:779-786.
- Giles MA and R Danell. 1983. Water dechlorination by activated carbon, ultraviolet radiation and sodium sulphite: A comparison of treatment systems suitable for fish culture. Water Res. 17:667-676.
- Kim DW, SH YU, SW Chang and JA Lee. 2014. Ecotoxicity Assessment of Leachate from Disposal Site for Foot-and-Mouth Disease Carcasses. KGES 15:5-11.
- Kim SY, NN Yoon, HS Ji, SM Han, DM Kwon and KS Lee. 2010. Characteristics of Ecotoxicity in Industrial Effluent using *Daphnia magna*. The Annual Report of Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment. 20:131-142.
- Korea Ministry of environment. 2008. Official test methods of water quality.
- Korea Ministry of environment. 2009. Ecotoxicological system Manual work.
- Korea Ministry of environment. 2011. Official Test Methods of water quality Acute Toxicity Test Method of the *Daphnia*

- magna* Straus.
- LeBlanc GA. 1980 Acute Toxicity of Priority Pollutants to Water Flea (*Daphnia magna*). Bull. Environm. Contam. Toxicol. 24:684-691.
- Lee JA, SW Chang, JT Kim and DW Kim. 2015. Toxic Effects of 5 Organic Solvents on *Euglena agilis*. Korean J. Environ. Biol. 33:45-52.
- Lee JC, YM Lee and IJ Kang. 2008. The Treatment of Heavy Metal-cyanide Complexes Wastewater by Zn^{+2}/Fe^{+2} Ion and Coprecipitation in Practical Plant(II). J. Korean Soc. Environ. Eng. 30:524-533.
- Lee SH and HS Lee. 2014. Comparison between Ecotoxicity using *Daphnia magna* and Physiochemical Analyses of Industrial Effluent. J. Environ. Sci. Int. 23:1269-1275.
- Martell AE and RM Smith. 1982. Critical Stability Constants. Volume 4.
- Mount DI and TJ Norberg. 1984. A seven-day Life-cycle Cladoceran Toxicity Test. Environ. Toxicol. Chem. 3:425-434.
- National Institute of Environmental Research. 2013. Generation and treatment of waste water plant.
- Park DK and HK Bae. 2011. Acute Toxicity Test for Wastewater from Several Drainage Canals and Discharges Using *Daphnia magna*. J. Environ. Sci. Int. 20:811-818.
- Starr RC. 1971. The culture collection of algae at Indiana University. J. Phycol. 7:350-362.
- Stumm W and JJ Morgan. 1981. Aquatic chemistry: an introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters. John Wiley & Sons.
- Tahedl H and DP Häder. 2001. Automated biomonitoring using real time movement analysis of *Euglena gracilis*. Ecotox. Environ. Safe. 48:161-169.
- US Environmental Protection Agency. 1991. Methods for aquatic toxicity identification evaluations phase I toxicity characterization procedures second edition.
- US Environmental Protection Agency. 2002. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.

Received: 10 May 2016

Revised: 23 June 2016

Revision accepted: 23 June 2016