

Euglena 운동성 측정장치를 이용한 생태독성평가

이 정 아^{1,2,*} · 김 경 남³ · 박 다 경¹

¹경기대학교 환경에너지공학과, ²피치(PEACH), ³(주)마이크로디지털

Ecotoxicity Test Using *E. agilis* Biomonitoring System

Junga Lee^{1,2,*}, Kyung Nam Kim³ and Da Kyung Park¹

¹Department of Environmental Energy Engineering, Kyonggi University, Suwon 16227, Korea

²PEACH, 308 Business Incubator Center, Kyonggi University, Suwon 16229, Korea

³MICRODIGITAL CO., LTD, A-101 Korea Bio Park B/D, Seongnam 13488, Korea

Abstract - The toxic responses of flagellate *Euglena agilis* Carter to 8 heavy metals (Ag, Cd, Cr (VI), Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) were measured using *E. agilis* system (E-Tox), an automated biomonitoring system. The E-Tox measures cell movement parameters, such as velocity, motility, and forms of the cells, as biological endpoints. EC₅₀ values from the *E. agilis* biomonitoring test were compared with the literature data from the tests with *Daphnia magna*, *Vibrio fischeri* and *Euglena gracilis*. Measurement of the *E. agilis* movement behavior and *D. magna* acute toxicity test were also conducted for the wastewater samples. *E. agilis* is less sensitive than *D. magna* but is comparable to or more sensitive than *V. fischeri* and *E. gracilis* for the heavy metals tested in this study. *E. agilis* shows prompt changes of these parameters for the toxic metal plating wastewater. Major advantages of the E-tox are automatic, easy to handle and fast ecotoxicity monitoring system compared to other biological test systems. These results imply that *E. agilis* biomonitoring test using E-Tox can be a putative ecotoxicity test as a good early warning tool for the monitoring of toxic wastewater.

Key words : ecotoxicity, cell movement, metal plating, wastewater, domestic organism

서 론

산업이 발달하고 생활 수준이 향상됨에 따라 화학물질의 사용 및 유통이 크게 증가하고 있다. 특히 산업활동과 더불어 발생하는 산업폐수는 화학물질의 종류와 농도가 제각각 다르며, 중금속을 비롯한 다양한 환경오염물질을 함유하고 있는 경우가 많다. 이와 같은 화학물질은 수중생물에 해로운 영향을 유발할 뿐만 아니라 궁극적으로 인체건강에도 영향

을 미칠 수 있다. 그동안 산업폐수의 수질은 이화학적 분석에 근거한 개별물질에 대한 방류허용기준으로 관리되어 왔으나 화학물질의 종류별로 오염도를 분석하기에는 비용, 시간, 기술, 인력 등의 측면에서 현실적으로 많은 어려움이 수반된다. 따라서 수계로 배출되는 다양한 유해물질에 대한 위험을 극복하고자 미국을 비롯한 유럽의 여러 국가들은 지표생물을 이용하여 폐수의 독성을 평가하는 방법인 산업폐수 통합독성평가(Whole Effluent Toxicity Test)가 수질의 모니터링 수단으로 활용되고 있다(USEPA 2002). 우리나라 역시 수 생태계보호를 위해 2007년도 수질 및 수 생태계 보전에 관한 법률을 개정하고 2011년도에는 생태독성관리제도를

* 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 생물감시를 통해 독성물질의 방류를 규제하기 위한 법으로 물벼룩에 미치는 급성 영향 정도를 파악하여 그에 따른 배출허용기준을 정하는 제도이다. 그러나 표준 시험생물 종인 *Daphnia magna*는 외래종으로 국내 서식 생물 중 발굴 및 국내 서식 종을 이용한 생태독성평가기법 개발이 요구되고 있다. 현재 주로 사용하고 있는 수생태 독성평가는 현장관리자가 직접 시료를 채취하여 독성평가를 수행하고 있어 시험분석 시 시험자의 숙련도에 따른 결과의 차이 등으로 정확한 분석 데이터를 얻는 데 어려움이 있다. 또한 시험 생물 종에 따라 상이하나 일반적으로 생리적 활성 변화 또는 성장영향 등의 측정은 수 시간(*D. magna*, 24시간)에서 수일(*Pseudokirchneriella subcapitata*, 96시간) 후에나 독성 영향을 판단할 수 있어 실시간으로 수질을 관리하기에는 많은 단점이 있다. 따라서 국내 수계 관리에 적합하고 수질의 체계적 관리가 가능하며 실시간으로 모니터링이 용이한 자동화된 독성평가 시스템개발이 필요하다.

유글레나는 체내에 엽록체를 가지고 광합성을 하는 식물적 특성과 탄소 원으로 유기물을 이용하고 세포벽이 없으며 편모로 유영생활을 하는 원생동물의 편모충류에 해당하는 동물적 특성을 동시에 가지고 있는 진핵생물이다(Cramer and Myers 1952; Brochiero *et al.* 1984; Einicker-Lamas *et al.* 2002). 유글레나는 세포의 생리적 특성 변화와 세포의 성장저해를 그리고 세포 운동성 변화 등 다양한 종말점을 이용한 독성평가가 가능하다. 유글레나(*Euglena gracilis*)는 빛(light)과 중력(gravity)에 대해 운동성 반응을 나타내고 있으며(Häder 1987, 1991) 특히 중력에 대한 일정한 방향성(gravitaxis)은 화학물질에 대한 독성을 측정하는 민감한 지표가 될 수 있음이 보고되었다(Stallwitz and Häder 1994; Tahedl and Häder 1999). *E. gracilis*의 중력에 대한 방향성 뿐만 아니라 이동 속도, 움직임, 그리고 세포 형태 등 동물적 특성을 이용한 독성반응 측정기법이 개발된 이래 다양한 유해화학물질 및 환경시료에 대해 독성평가가 수행되고 있으며 도출된 결과를 기반으로 *E. gracilis*가 수생태 독성평가에 적합한 시험법으로 제안되고 있다(Tahedl and Häder 1999, 2001; Einicker-Lamas *et al.* 2002; Azizullah and Richter 2012). 본 연구팀은 최근 수행한 국내 서식 종 유글레나(*Euglena agilis*)를 이용한 독성 시험법 개발을 위한 기초연구 및 유기용매에 대한 영향평가를 통해 *E. agilis* 역시 운동성 변화에 기인된 변수(velocity, motility)가 신속하고 효과적인 독성평가 지표가 될 수 있을 것으로 판단하였다(Lee *et al.* 2015). 따라서 *E. agilis*의 운동성 변수(velocity, motility,

alignment, r-value, upward, compactness)를 자동으로 측정하여 정량화하는 장비인 *E. agilis* 모니터링 시스템(E-Tox)을 이용하여 생태독성 평가의 도구로서 *E. agilis* 운동성 시험(*E. agilis* biomonitoring test)의 적용 가능성을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 시료 채취

축산폐수 시료는 전라북도 B 분뇨처리장에서 도금폐수 시료는 경기도 A 도금시설 폐수처리 공정에서 각각 2015년 7월과 8월에 취수하였다. 채취한 시료는 4 L 갈색 유리병에 담아 4°C 차광상태에서 보관하였다. *D. magna* 생태독성시험과 *E. agilis* 시험은 시료 채취 후 48시간 이내 수행하였고 그 외 모든 실험은 시료 채취 후 7일 이내 실시하였다.

2. *E. agilis*의 배양

본 실험에 이용된 *E. agilis*는 인천대학교 수서독성 생리생태학 실험실에서 분양받아 사용하였다. *E. agilis*는 sodium acetate가 포함된 배양액(pH 6) (Starr 1971; Lee *et al.* 2015)에 초기 접종한 후 2800 Lux, 24±1°C, 광 주기 16:8(명:암) 조건하에서 배양하였다. 시험은 배양 후 최소한 7일 이상된 *E. agilis*(약 1.5×10^5 cells mL⁻¹)를 이용하여 수행하였다.

3. E-Tox 시스템 측정원리

E-Tox는 시험생물 종인 유글레나(*E. agilis*)의 움직임을 기반으로 세포의 운동성 변수를 측정하는 장치로 Tahedl and Häder에 의해 고안된 *E. agilis* 자동화 기기의 측정원리(Tahedl and Häder 2001)를 기본으로 적용하였으며 간략한 과정은 다음과 같다. 증류수 또는 시료에 노출된 *E. agilis*를 CCD (Charge coupled device) 카메라로 촬영하여(1초에 5번, 총 2분) 화면을 이미지화한다. 화면 속 세포에 대한 인식 과정 후 대상 세포에 대해 연속된 화면을 비교함으로써 세포의 운동성 반응을 계산한다(Fig. 1). E-Tox가 측정하는 *E. agilis* 운동성 변수는 다음과 같다. Velocity는 대상 세포들의 평균속도를 나타낸다. Motility는 대상 세포들 중 활동성 있는 세포의 백분율을 나타낸다. Compactness는 세포의 형태를 나타내는 값으로 세포의 길이와 폭의 비(값이 작을수록 구형)를 나타낸다. Upward는 대상 세포들 중 위로 움직이는 세포의 백분율을 낸다. 각 운동성 변수는 다음과 같은 계산식(Tahedl and Häder 2001; Lee *et al.* 2015)을 이용하여 산출한다.

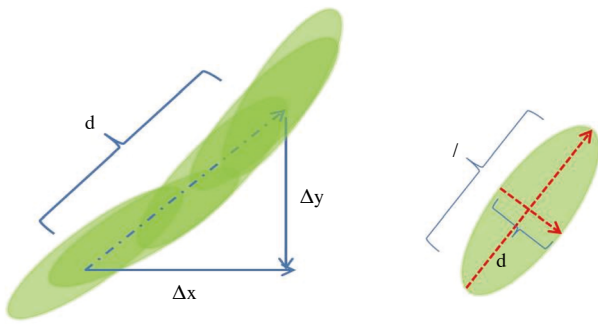


Fig. 1. The movement vector of each object is defined between the center of gravity of each object in the first and the fifth frame.

Table 1. Heavy metals tested in this study.

Chemicals	CAS number	Concentration (mg L ⁻¹)
Ag	7440-22-4	0.125~2.0
Cd	7440-43-9	0.25~4.0
Cu	7440-50-8	3.125~50
Pb	7439-92-1	5.0~80
Ni	7440-02-0	1.25~80
Hg	7439-97-6	0.03~2.5
Zn	7440-66-6	5.0~80
Cr	7789-00-6	0.25~4.0

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

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

$$\text{Motility} = \frac{n_s}{n} \times 100\%$$

n_s: velocity > v_s인 벡터의 수

n: 모든 벡터의 수

v_s: 활동적으로 움직이는 세포와 활동성이 없거나 바닥으로 가라 앉은 유글레나를 구별하는 최소한의 속도

$$\text{Upward} = \frac{n_0}{n_s} \times 100\%$$

n_s: velocity > v_s인 벡터의 수

n₀: 0° ≤ α ≤ 180°인 벡터의 수

벡터의 수

v_s: 활동적으로 움직이는 세포와 활동성이 없거나 바닥으로 가라 앉은 유글레나를 구별하는 최소한의 속도

$$\text{Compactness} = \frac{l}{d}$$

l: 유글레나 길이

d: 유글레나의 폭

4. D. magna test

24시간 급성 물벼룩 독성시험은 US-EPA와 환경부에서 제시하는 시험법에 따라 수행하였다(USEPA 2002; Korea Ministry of environment 2011). 농도별로 준비된 시료 (50 mL)에 생후 24시간 미만의 어린 개체 (5마리)를 넣어 21 ± 1°C, 광 조건 명:암 = 16:8 (800 Lux)에서 시험을 실시하였다. 표준 독성시료는 중크롬산칼륨 (K₂Cr₂O₇)을 이용하여 수행하였고 모든 시험은 4반복으로 실시하였다. 시료에 노출된 어린 개체의 유영저해를 판단 후 Trimmed Spearman-Kärber method를 이용하여 시험생물의 50%에 영향을 미치는 농도 (EC₅₀)를 도출하였고 이 결과로부터 Toxic Unit (100/EC₅₀)를 산출하였다.

5. E. agilis 시스템을 이용한 독성평가

1) 단일 독성 원 영향 분석

환경유해 화학물질에 대한 생태독성측정 수단으로 *E. agilis* 운동성 시험의 적용 가능성을 평가하고자 중금속 8종 (은(Ag), 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 크롬(Cr), 수은(Hg), 니켈(Ni), 납(Pb), 아연(Zn) 등)을 대상으로 농도별 *E. agilis* 운동성 반응을 측정하였다. 각 시험물질에 대해 농도별로 산출된 평균 운동성 반응 값을 이용하여 각 운동성 변수에 대한 EC₅₀ (반수영향농도)를 산출하였다. 시험물질에 대한 *E. agilis* 운동성 시험의 독성민감도는 기존 생태독성 시험의 문헌상 자료의 결과 (*D. magna*, *V. fischeri*, 그리고 *E. gracilis*)와 비교하여 평가하였다. 시험물질 및 시험농도의 범위는 Table 1에 나타내었다.

2) 현장시료에 대한 영향분석

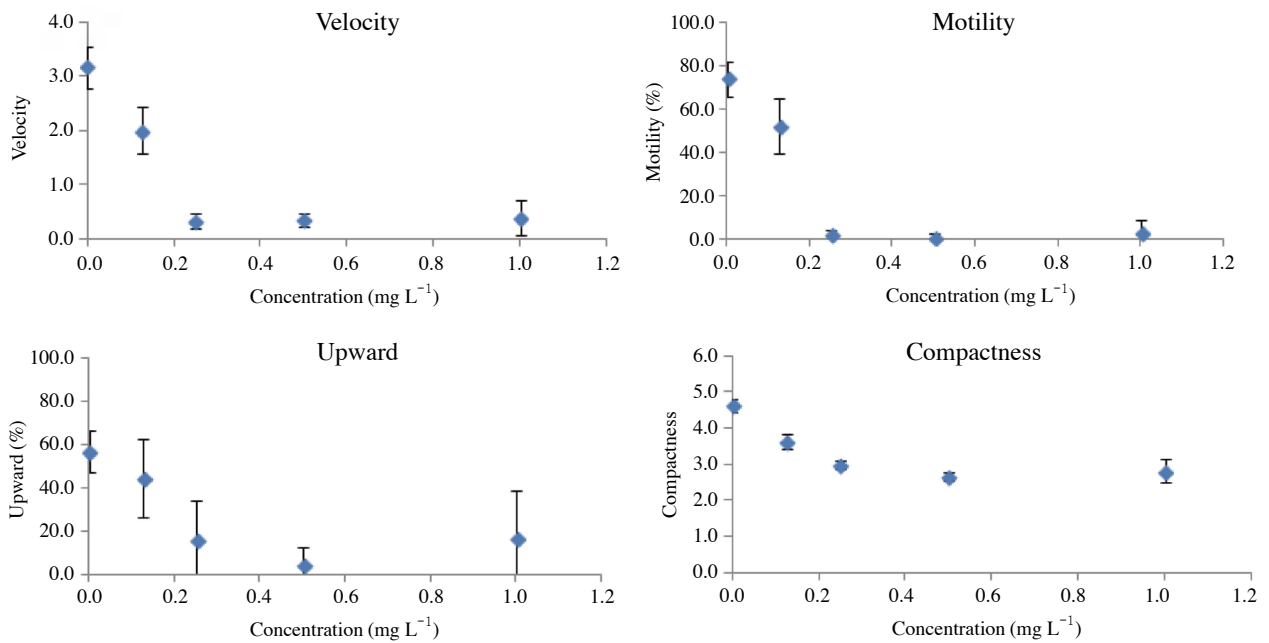
생태독성 모니터링 장비로서 E-Tox의 현장적용 가능성을 평가하기 위하여 축산폐수 처리 방류수, 도금폐수 처리 방류수, 그리고 도금폐수 1차 처리수를 대상으로 생태독성 모니터링 장치 시스템 (E-Tox)을 이용하여 *E. agilis* 운동성 평가와 *D. magna* 급성독성 평가를 수행하여 비교하였다.

6. 통계처리

대조군과 실험군의 유의성 검정은 students t-test로 비교하였고 SAS 통계프로그램을 이용하여 95% 신뢰구간을 포함한 EC₅₀을 분석하였으며 모든 통계 값에서 유의 수준은 0.05

Table 2. Estimation of EC₅₀ values of 8 heavy metals with 95% confidence intervals to *E. agilis*.

Chemicals	Velocity (mg L ⁻¹)			Motility (mg L ⁻¹)		
	EC ₅₀	Confidence intervals (95%)		EC ₅₀	Confidence intervals (95%)	
		Upper	Lower		Upper	Lower
Ag	0.14	0.12	0.16	0.14	0.13	0.16
Cd	4.41	3.98	5.36	3.75	2.97	4.69
Cr(VI)	4.14	3.91	5.27	3.97	3.62	4.07
Cu	11.51	9.13	14.46	9.57	8.16	10.93
Hg	0.19	0.16	0.24	0.19	0.13	0.24
Ni	73.25	63.63	76.28	68.17	58.82	67.51
Pb	34.75	27.56	42.23	43.63	30.91	50.41
Zn	51.67	43.51	61.11	48.83	41.01	58.30

**Fig. 2.** Concentration-response for the *Euglena agilis* movement parameters (velocity, motility, upward and compactness) by silver treatment.

이하 ($p < 0.05$)로 하였다.

결과 및 고찰

1. 단일독성 원에 대한 *E. agilis* 영향 분석

단일독성 원에 대한 *E. agilis*의 영향을 분석하기 위해 총 8종의 중금속, 은(Ag), 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 크롬(Cr), 수은(Hg), 니켈(Ni), 납(Pb), 아연(Zn)에 대한 *E. agilis*의 반응을 측정 후 각 물질의 농도별 평균 반응 값을 이용하여 *E. agilis* 운동성 변수에 대한 EC₅₀을 산출하였다. 중금속 시료 노출에 의해 1개 이상의 *E. agilis*의 운동성 반응 변화가 농

도 의존적으로 측정되었으며 산출된 *E. agilis*의 운동성 변수의 EC₅₀ (95% 신뢰구간 포함)을 Table 2에 나타내었다.

E. agilis 운동성 변수의 평균 EC₅₀을 기준으로 낮은 농도에 유의한 반응을 나타내는 변수를 민감한 반응이라고 규정하였을 때, 은(Ag)에 대한 *E. agilis* 운동성 변수는 velocity와 motility로 분석되었다. 은(Ag)에 대한 농도별 *E. agilis* 운동성 변수의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 카드뮴(Cd)을 비롯한 구리(Cu), 크롬(Cr), 수은(Hg), 니켈(Ni), 납(Pb), 아연(Zn) 역시 motility와 velocity가 민감한 변수로 분석되었다.

E. agilis 운동성 시험의 시험물질에 대한 민감도를 평가하기 위해 독성 원 영향 평가에 사용된 8개의 중금속 중 *E. agilis*는 평균 EC₅₀ (velocity 또는 motility)을 기준으로 비교

Table 3. Acute toxicity of 8 metals to *Euglena agilis*, *Daphnia magna*, *Vibrio fischeri* and *Euglena gracilis*.

Chemicals	E-Tox system <i>Euglena agilis</i> (2 min)		<i>Daphnia magna</i> (24, 48 hr)		<i>Vibrio fischeri</i> (5, 15, 30 min)		<i>Euglena gracilis</i> (3 min)	
	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)		LC ₅₀ (mg L ⁻¹)		EC ₅₀ (mg L ⁻¹)		EC ₅₀ (mg L ⁻¹) ⁹⁾	
Ag	0.14	Velocity Motility	0.0015 ¹⁾	48 h			0.54	r-value
Cd	3.75	Motility	0.065 ²⁾	48 h	18.8 ¹²⁾	15 m		
Cr(VI)	3.97	Motility	0.42 ¹⁰⁾	24 h	70~100 ⁶⁾ 7.83 ⁸⁾	5 m 30 m	27.8	r-value
Cu	9.57	Motility	0.059 ¹¹⁾	24 h	1.2~20 ⁴⁾ 34.4 ⁵⁾	5 m 30 m	4.0	Compactness
Hg	0.19	Velocity Motility			0.05 ¹²⁾	30 m		
Ni	68.17	Motility	0.51 ²⁾	48 h	25.2~410 ⁷⁾	5 m	7.9	Velocity
Pb	34.75	Velocity	4.4 ³⁾	48 h	0.85 ⁴⁾	30 m	40.1	Motility
Zn	48.83	Motility	0.1 ²⁾	48 h	2~49 ⁶⁾ 26.3 ⁵⁾	5 m 30 m	164	Motility

¹⁾LeBlanc 1980, ²⁾Biesinger and Christensen 1972, ³⁾Mount and Norberg 1984, ⁴⁾Kaiser and Palabrica 1991, ⁵⁾GmbH 1997, ⁶⁾Munkittrick *et al.* 1991, ⁷⁾Blaise *et al.* 1994, ⁸⁾Backhaus *et al.* 1997, ⁹⁾Tahedl and Häder 2001, ¹⁰⁾Vinot and Larpent 1984, ¹¹⁾Tusseau-Vuillemin *et al.* 2004, ¹²⁾Hao *et al.* 1995.

하였다 (Table 3). 시험물질에 대한 독성이 Ag ≈ Hg > Cd ≈ Cr(IV) > Cu > Pb > Zn > Ni 순으로 *E. agilis* 운동성 시험은 (Ag)과 수은(Hg)에 대한 민감도가 가장 높으며 아연(Zn)과 니켈(Ni)에 대한 민감도는 낮은 것으로 나타났다. 동일 시험물질에 대한 생태독성 생물 종 및 시험법 간의 독성 민감도를 비교하기 위해 중금속 시험물질에 대한 *E. agilis* 운동성 시험 EC₅₀과 기존 생태독성 실험으로부터 도출된 EC₅₀ (문헌상 자료)을 비교하였다. *E. agilis*는 비록 유의한 운동성 변수가 *E. gracilis*와 일치하지는 않았으나 독성민감도는 전반적으로 유사하였다. 특히 6가 크롬(Cr(IV))과 아연(Zn)에 대해 *E. agilis*의 독성 민감도가 *E. gracilis*보다 약 5~7배 높았다. 이와 같은 결과는 생물 종의 차이 또는 시료 노출 시간 그리고 사용된 운동성 반응 측정장비의 차이에서 기인된 것으로 판단된다. *E. agilis* 운동성 시험은 *D. magna* 급성독성 시험과 비교할 때 시험물질에 대한 독성 민감도가 전반적으로 낮았다. 그러나 수은(Hg)과 납(Pb)을 제외한 모든 시험물질에 대해 *V. fischeri*보다는 민감한 것으로 나타났다. 특히 카드뮴(Cd)과 6가 크롬(Cr(IV))에 대해서는 *E. agilis*가 *V. fischeri*보다 약 6배, 아연(Zn)과 니켈(Ni)은 약 1.5~2배 정도 민감하게 반응하는 것으로 측정되었다.

2. 현장시료 적용 평가

현장시료에 대한 E-Tox시스템의 적용 가능성을 평가하기

위해 축산폐수 방류수, 도금폐수 방류수, 그리고 도금폐수 1차 처리수에 대하여 *D. magna* 유영저해 시험과 *E. agilis* 운동성 시험을 수행하여 비교하였다. 물벼룩 24시간 급성독성시험 결과 축산폐수 방류수, 도금폐수 방류수, 그리고 도금폐수 1차 처리수의 TU는 각각 0.0, 2.4, 그리고 42.2로 도금폐수 1차 처리수의 독성이 가장 높았다. 축산폐수 방류수에 노출된 *E. agilis*의 운동성 반응 패턴은 대조군과 유사한 반면 도금폐수 방류수는 평균 이동속도(velocity)와 움직임(motility)이 대조군에 비해 각각 28.2%와 9.8% 감소하였으며 도금폐수 1차 처리수에 노출된 *E. agilis*는 세포의 평균 이동속도(velocity)와 움직임(motility)이 대조군에 비해 약 89.9%와 98.0% 감소하였으며 compactness 역시 9.6% 감소하였다 (Fig. 3). 이와 같은 결과는 *D. magna*에 무 영향을 나타낸 축산폐수 방류수는 *E. agilis*의 운동성 변화를 유발하지 않았으나, *D. magna*에 급성독성을 유발한 도금폐수 1차 처리수는 *E. agilis*의 운동성 역시 저해하였음을 나타낸다.

동일 시험물질 및 동일 시료에 대해 적용된 생태독성 시험생물 종 및 시험법에 따라 독성영향 및 정도가 상이한 경우도 있다. 따라서 수질을 관리하고 생태계의 위해성을 평가하고 예측하기 위해서 다양한 생물 종을 적용하여 평가하는 것이 바람직하다.

Microtox test는 적은 양의 시료(1 mL 이하)로 신속하게(5~30분) 독성시험을 수행할 수 있다는 장점이 있으나 시험생물인 *V. fischeri*는 해양성 발광박테리아로 분석 시 시료

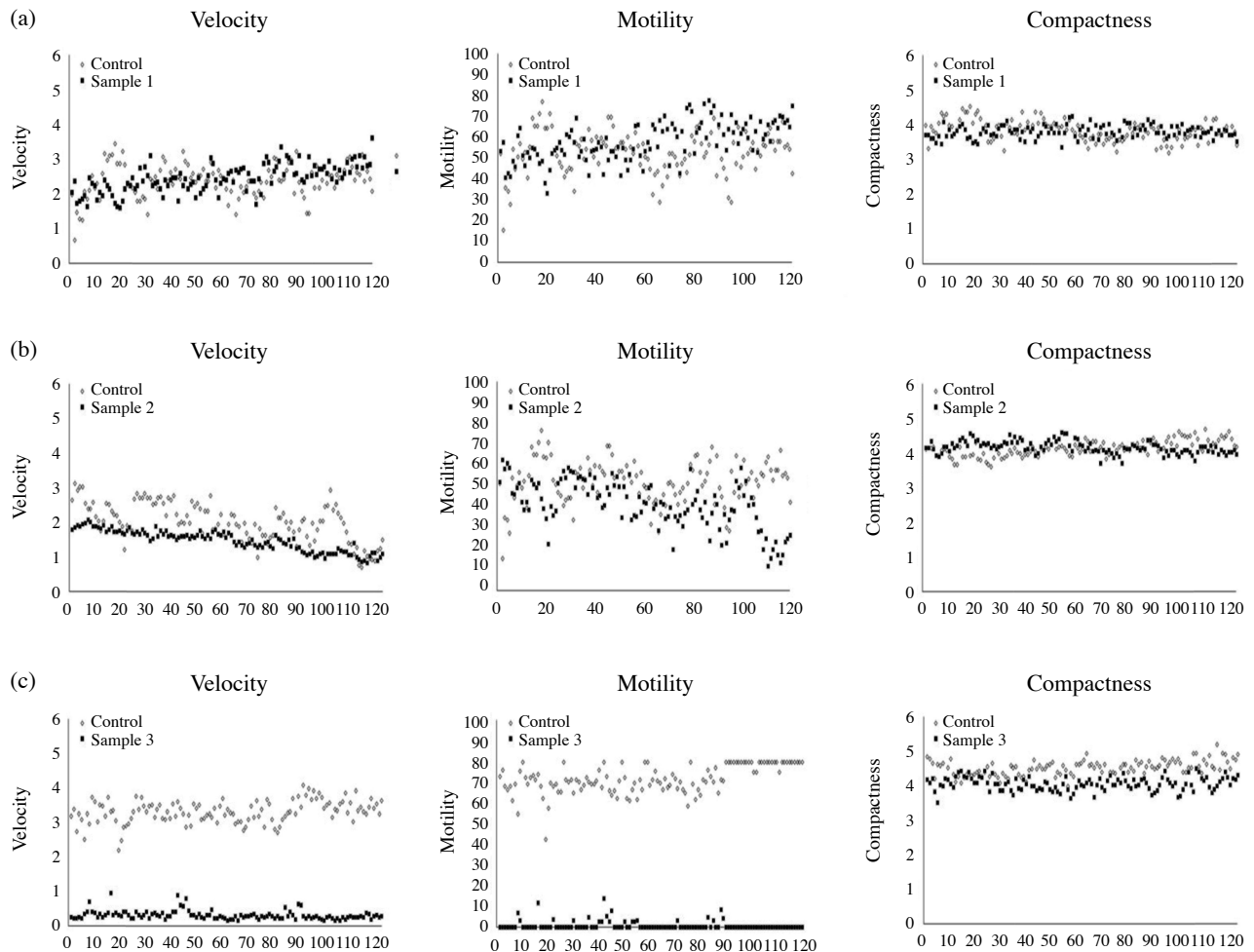


Fig. 3. The movement patterns of *E. agilis* treated with (a) effluent from livestock wastewater treatment plant, (b) effluent from metal plating wastewater treatment plant, or (c) metal plating wastewater during a tracking period of 2 min.

에 OAS (osmotic adjusting solution)을 첨가해야 하며 구입 시 가격이 비싸고 시험생물을 활성화 후 3시간 이내 시험을 완료해야 하는 단점이 있어 자동분석기에 적용 시 관리에 어려움이 있다. *D. magna* 급성 독성시험은 US-EPA와 OECD의 표준 시험 종을 이용한 국제적으로 통용되는 시험법이라는 장점이 있다. 그러나 국내 서식하지 않는 외래종으로 분석 후 국내 수계에 유입되지 않도록 특별한 관리가 필요하고 24시간 후이나 독성의 유무를 인지할 수 있으며 자동분석기에 적용 시 시험생물을 다루기 어렵다는 단점이 있다. 이에 반해 E-Tox 시스템을 이용한 *E. agilis* 운동성 시험은 시료 노출 기간(2분) 및 독성영향 인지 시간(5분 이내), 자동화된 시스템을 이용하여 적은 시료(100 μ L 이하)에 대해 다양한 종말점(movement parameters)을 신속하게 평가할 수 있다. 따라서 E-Tox 시스템을 이용한 *E. agilis* 운동성 반응시험은 자동으로 신속하게 독성분석이 가능하여 실시간으로 수질을

평가하고 생태독성을 모니터링 하는데 적용 가능성이 있을 것으로 판단된다. 향후 다양한 현장시료를 대상으로 분석한 자료를 축적하고 *D. magna* 생태시험과의 상관관계 분석 및 독성원인 물질탐색시험 분석법이 개발된다면 생태 위해성을 예측하는 시험법으로 활용 가능성이 있을 것으로 판단된다.

적 요

*Euglena agilis*의 운동성 반응을 자동으로 측정하는 장치인 *E. agilis* 시스템(E-Tox)을 이용하여 8종의 중금속(Ag, Cd, Cr(VI), Cu, Hg, Ni, Pb, Zn)에 대한 독성시험을 실시하였다. *E. agilis* 운동성 시험(biomonitoring test)으로부터 도출된 EC₅₀과 문헌상의 자료 조사를 얻은 기존 생태독성 시험 생물 종들(*D. magna*, *V. fischeri*, 그리고 *E. gracilis*)의

EC₅₀을 비교하여 시험물질에 대한 *E. agilis*의 독성 민감도를 평가하였다. 또한 축산폐수 방류수, 도금폐수 방류수, 도금폐수 1차 처리 시료에 대해 *D. magna* 급성 독성시험과 *E. agilis* 운동성 반응 시험을 수행 후 TU를 비교하여 *E. agilis* 운동성 시험의 현장 적용 가능성을 평가하였다. *E. agilis*는 시험 중금속에 대해 *D. magna*보다 독성민감도가 전반적으로 낮았으나 *V. fischeri* 또는 *E. gracilis*와 유사하거나 좀 더 민감하였다. *E. agilis*는 *D. magna* test로 유독성으로 판명된 도금폐수 1차 처리수에 대해 신속한 독성반응을 나타내었다. E-Tox 시스템은 기존의 생태독성시험장비에 비해 빠르고 작동이 간편한 자동화 기기라는 장점이 있다. 본 연구의 결과 E-Tox 시스템을 이용한 *E. agilis* 운동성 시험은 향후 독성폐수에 대한 조기경보를 위한 생태독성시험법으로 적용될 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

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

REFERENCES

- Azizullah A, P Richter, M Jamil and DP Häder. 2012. Chronic toxicity of a laundry detergent to the freshwater flagellate *Euglena gracilis*. *Ecotoxicology* 21:1957-1964.
- Backhaus T, K Froehner, R Altenburger and LH Grimme. 1997. Toxicity testing with *Vibrio fischeri*: A comparison between the long term (24 h) and the short term (30 min) bioassay. *Chemosphere* 35:2925-2938.
- Biesinger Kenneth E and GM Christensen. 1972. Effects of Various Metals on Survival, Growth, Reproduction, and Metabolism of *Daphnia magna*.
- Blaise C, R Forghani, R Legault, J Guzzo and MS Dubow. 1994. A bacterial toxicity assay performed with microplates, microluminometry and Microtox reagent. *BioTechniques* 16:932-937.
- 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.
- 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.
- Häder DP. 1987. Polarotaxis, gravitaxis and vertical phototaxis in the green flagellate, *Euglena gracilis*. *Arch. Microbiol.* 147:179-183.
- Häder DP. 1991. Phototaxis and Gravitaxis in *Euglena gracilis*. *NATO ADV SCI I A-LIF.* 211:203-221.
- Hao OJ., C-F Lin, F-T Jeng and C-J Shih. 1995. A review of microtox test and its applications. *Toxicol. Environ. Chem.* 52:57-76.
- Kaiser KLE and VS Palabrica. 1991. Photobacterium phosphoreum toxicity data index. *Water Qual. Res. J. Can.* 26:361-431.
- 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*). *B. Environ. Contam. Tox.* 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.
- Mount DI and TJ Norberg. 1984. A seven-day Life-cycle Cladoceran Toxicity Test. *Environ. Toxicol. Chem.* 3:425-434.
- Munkittrick KR, EA Power and GA Sergy. 1991. The relative sensitivity of microtox®, daphnid, rainbow trout, and fathead minnow acute lethality tests. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 6:35-62.
- Reference list of chemicals for the LUMISTox luminating bacteria test (Referenzliste Chemikalien für den LUMISTox Leuchtbakterientest).1997. Dr. Bruno Lange GmbH, Berlin. Germany.
- Stallwitz Elke and Donat-P. Häder. 1994. Effects of heavy metals on motility and gravitactic orientation of the flagellate, *Euglena gracilis*. *Eur. J. Protistol.* 30:18-24.
- Starr RC. 1971. The culture collection of algae at Indiana University. *J. Phycol.* 7:350-362.
- Tahedi H and DP Häder. 1999. Fast examination of water quality using the automatic biotest ECOTOX based on the movement behavior of a freshwater flagellate. *Water Res.* 33:426-432.
- Tahedi H and DP Häder. 2001. Automated biomonitoring using real time movement analysis of *Euglena gracilis*. *Ecotox. Environ. Safe.* 48:161-169.
- Tahedi H and DP Häder. 2001. Automated biomonitoring using real time movement analysis of *Euglena gracilis*. *Ecotox*

- Environ. Safe. 48:161-169.
- Tusseau-Vuillemin M-H, R Gilbin, E Bakkaus and J Garric. 2004. Performance of diffusion gradient in thin films to evaluate the toxic fraction of copper to *Daphnia magna*. Environ Toxicol. 23:2154-2161.
- US Environmental Protection Agency. 2002. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.
- Vinot H and JP Larpent. 1984. Water pollution by uranium ore treatment works. Hydrobiologia 112:125-129.

Received: 18 May 2016

Revised: 24 June 2016

Revision accepted: 24 June 2016