

윤충류 *Brachionus plicatilis*와 저서성 요각류 *Tigriopus japonicus*의 초기생활사에 미치는 슬래그 추출액의 생태 영향

윤성진**

* 한국해양과학기술원 울릉도·독도해양과학기지

Ecological Effects of Slag Extracts on the Initial Life Cycle of the Rotifer *Brachionus plicatilis* and Benthic Copepod *Tigriopus japonicus*

Sung-Jin Yoon**

* Ulleungdo-Dokdo Ocean Science Station, Korea Institute of Ocean Science & Technology 40205, Korea

요 약 : 본 연구는 해양에서 1차 소비자 단계인 윤충류 *Brachionus plicatilis*와 저서성 요각류 *Tigriopus japonicus*의 초기생활사에 미치는 탈인슬래그와 제강슬래그 추출액의 생태 영향을 평가하기 위하여 해양생태독성평가를 실시하였다. 슬래그 추출액에 대한 스크린 테스트 결과, 추출액의 pH는 높은 알칼리성(pH 8.89-12.16)이었으며, 숙성 전과 후 추출액에 대한 독성 반응은 실험생물에 따라 뚜렷하게 구분되었다. 숙성 전 슬래그의 경우, pH 비제어 시료에 대한 *B. plicatilis* 신생개체의 반수치사농도는 제강슬래그(63.8%)가 탈인슬래그(20.8%)보다 높은 것으로 나타났으며, *T. japonicus* 유생의 반수치사농도는 탈인슬래그와 제강슬래그에서 각각 35.3%와 36.0%로 비슷하였다. 그러나 pH를 제어한 경우, 숙성 전과 후 추출한 시료에 대한 *T. japonicus* 유생의 독성은 *B. plicatilis* 신생개체와는 다르게 노출물질 특성에 따라 뚜렷하게 구분되었다. 결론적으로 숙성 후 슬래그는 상대적으로 안정된 상태를 유지할 수 있으며, pH 비제어 환경조건 하에서도 반복 추출을 통해 해양환경에 미치는 영향이 적은 것으로 판단된다. 본 연구를 통해 슬래그와 같이 기계적으로 활성화 된 시료의 해양생태독성평가방법은 강우나 풍화로 인한 유해물질의 해양 유입을 차단할 수 있는 아이디어를 제공할 수 있을 것이다.

핵심용어 : 해양생태계 영향, 슬래그 추출물, 초기생활사, 해양생태독성평가, 1차 소비자

Abstract : In this study, the marine ecological impacts of dephosphorized slag and steel slag on the initial life cycle of the rotifer *Brachionus plicatilis* and benthic copepod *Tigriopus japonicus* (in marine trophic structure as a first consumer) exposure to slag extracts have been considered using a marine ecotoxicological assessment. In the results of a screen test on slag extracts, the pH of an undiluted solution was measured to have high alkalinity (pH 8.89-12.16), but a toxic reaction to this undiluted solution before and after aging was divided according to test species. For non-aged slag, the toxic effect (LC_{50}) of neonate on *B. plicatilis* was seen to be severe with dephosphorized slag (20.8%) than steel slag (63.8%) with under pH-uncontrolled conditions. The toxic values of dephosphorized and steel slag were estimated to be 35.3% and 36.0%, respectively, for nauplius with *T. japonicus*. However, the toxicity of slag extracts before and after aging were different for *T. japonicus* than for *B. plicatilis* based on the characteristics of the test materials, with pH-controlled conditions. In conclusion, the results of this study suggest that slag can be relatively stable after aging and may not be likely to influence marine environments, even given repetitive extracting under pH-uncontrolled conditions. This study confirms that a marine ecotoxicological assessment method applied to mechanically activated samples can give an idea of the resistance a marine environment has against the introduction of hazardous materials due to precipitation and weathering.

Key Words : Marine ecological impact, Slag extract, Initial life cycle, Marine ecotoxicological assessment, First consumer

1. 서 론

슬래그는 제조 공법에 따른 성상의 변화가 심해 과거에는 활용도가 낮은 것으로 평가되어 왔으나 최근 들어 재활

용 및 친환경적 활용방안을 위한 연구가 수행되었다(Kim, 2002; Chaurand et al., 2007; Park, 2011). 특히 제강슬래그는 산업 재활용 분야 및 친환경적 소재로서 모르타르, 매립 및 구조물 제작 등에 활용되고 있으며(Motz and Geiseler, 2001; Hwang and Kim, 2008), 폐수처리, 토양의 산성화, 중금

† Corresponding Author : sjyon@kiost.ac.kr, 054-791-8404

속과 같은 오염물질 및 유해생물을 제거하기 위한 산업분야에서도 활용되고 있다(Kim and Park, 2000; Chang et al., 2001; Kim et al., 2002; Park et al., 2002; Kim et al., 2003; Lee and Lee, 2005; Cha et al., 2006).

한편 슬래그의 해양 투기로 인한 해양환경 및 생태계의 긍정적/부정적 효과는 물질의 성상, 생물의 종류, 연구목적 및 연구방법의 차이에 따라 해석이 판이하게 다르기 때문에 논쟁이 되어 왔다(Lee et al., 1999; Kim et al., 2005; Lee et al., 2008a). 예를 들면 슬래그는 대부분 입자나 고형물질 형태로 생성되어 보관소에 야적된 후 자연 상태에서 장기간 보관되는데, 이때 발생하는 슬래그 추출액은 다량의 유해성 금속원소가 함유되어 있으며, 수소이온농도(pH)가 높아 강알칼리성을 띠는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2008b). 이에 Chung et al.(1996)은 보관기간 중 슬래그에서 발생하는 가스, 분진, 강알칼리성 폐수 등이 해양으로 유입되어 해양오염이나 수중 생태계를 파괴시킬 수 있는 부가적인 오염의 가능성에 대한 예측 연구의 필요성을 제시하였다.

슬래그 추출액에 대한 위해성 여부는 화학적 분석 방법을 통해 강알칼리 성상을 띠는 금속원소 및 기타 유해물질에 대한 각 성분별 농도를 측정하여 수질기준과 비교하는 전통적인 평가방법을 적용하였다(Kang et al., 2001; Bae et al., 2002). 그러나 기존의 분석방법은 증류수를 이용하는 용출규제 시험 평가에만 국한되어 있었기 때문에 해양으로 배출되어 독성을 유발하는 슬래그 추출액 및 알칼리성 성분을 띠는 금속원소의 용출 가능성에 대한 평가는 일부에만 한정되어 있었다(Lee and Lee, 2005).

해양으로 유입되는 다양한 물질에 대한 생물의 위해성 평가는 해양생태독성평가 방법을 사용하는데, 국내외 생태독성평가기법은 생산자, 소비자, 분해자의 먹이사슬 단계를 고려한 표준 실험생물과 실험방법을 개발하여 적용하고 있다(ASTM, 1996; NIWA, 1998; USEPA, 2002; Park et al., 2008). 해양에서 일차소비자이며 어류의 주요 먹이원인 윤충류(*Brachionus plicatilis*) 신생개체(neonate)와 저서성 요각류(*Tigriopus japonicus*) 유생(nauplius)은 유해성 물질의 수중 환경노출에 따른 생물 영향을 평가하기 위하여 미환경보호국(USEPA) 및 국제기구에서 표준 시험생물로 사용되고 있으며(ASTM, 1996; USEPA, 2002), 국내에서도 해양생태독성평가 공정시험법 개발을 위한 표준 시험생물로서 상기 두 종에 대한 실험방법을 개발하여 다양한 유해물질에 대한 독성평가를 수행하였다(Yoon et al. 2006).

해양에서 슬래그의 친환경적 사용 가능성을 규명하기 위해서는 슬래그로부터 용출되는 물질에 대한 위해성 평가가 선행되어야 할 필요가 있다. 일부 연구에서 슬래그는 대기에 장기간 숙성(aging)된 경우 pH 감소, 중금속 또는 다양

한 유해물질의 농도가 감소하는 것으로 보고된 바 있으나 슬래그 추출액이 해양으로 유입되어 해양환경이나 생태계에 미치는 영향을 평가한 연구는 거의 이루어지지 않았다(Shanmuganathan et al., 2008). 이에 본 연구는 기 개발된 해양생태독성평가방법을 적용하여 슬래그가 숙성되는 과정에서 발생하는 액상 추출물질이 해양의 1차 소비자에 미치는 생태 영향을 파악하기 위하여 숙성 전과 후 슬래그 추출액에 대한 실험생물의 생태독성평가를 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

본 연구에 사용된 시료는 입자형태의 고탄 탈인슬래그(dephosphorized slag)와 제강슬래그(steel slag)이며, 현장에서 발생한 각각의 슬래그 시료를 10 kg씩 채취한 후 4°C 이하 저온상태를 유지하여 실험실로 운반하였다. 운반된 슬래그는 5 kg씩 나누어 숙성 전과 후 실험에 사용하였는데, 숙성 후 시료는 20 L 용기에 넣어 실험실 내 그늘진 공간에서 통기하며 100일 동안 숙성시켰다. 추출실험을 위해 슬래그는 해양환경공정시험기준(MOF, 2013)을 참고하여 200 µm 망목을 통과한 슬래그만 이용하였으며, 슬래그와 해수(염분 30.5 psu)를 1:10(W:V 또는 V:V) 비율로 혼합하여 상온, 상압에서 진탕회수가 분당 약 200회, 진폭 4~5 cm인 진탕기를 사용하여 12시간 이상 shaking한 후 5,000 rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 원심 분리된 시료는 바닥에 쌓인 입자가 부유하지 않도록 조심스럽게 상등액만 취하여 투명한 유리 용기에 넣은 후 실험 전까지 4°C 이하에서 저온 보관하였다.

2.2 실험생물 배양 및 유지

실험생물로 사용된 *B. plicatilis* 신생개체와 *T. japonicus* 유생은 독성에 대한 민감도가 비교적 높고 반복실험 시 재현성이 높기 때문에 일부 국가에서는 해양생태독성평가용 표준 실험생물로 이용되고 있다(Barka et al., 2001; Kwok and Leung, 2005).

실험생물은 수온 21.5~22.5°C, 염분 30.0~33.0 psu 범위의 해수를 이용하여 항온실 내에서 배양하였으며, 배양용수는 자연해수를 모래 및 카본으로 여과한 후 0.45 µm filter paper로 재여과하여 사용하였다. 먹이생물은 *B. plicatilis* 신생개체의 경우, 해수에서 순치 배양된 해산녹조류 *Chlorella vulgaris*를 1.0~2.0×10⁵ cell/mL씩 공급하였으며, *T. japonicus* 유생은 식물플랑크톤 중 해산녹조류(*Tetraselmis suecica*, 4.0~6.0×10⁵ cell/mL)와 착편모조류(*Isochrysis galbana*, 7.0~9.0×10⁵ cell/mL)를 2:1 부피 비율로 혼합하여 1일 2회 공급하였다.

2.2 표준독성물질에 대한 실험생물의 독성 비교 실험

표준독성물질 실험은 황산구리(CuSO₄)를 사용하였으며, *B. plicatilis* 신생개체는 ASTM(1996) 실험방법을 참고하였고, *T. japonicus* 유생은 Yoon et al.(2006)의 해양생태독성평가 방법을 적용하였으며, 실험조건과 관련된 사항은 Table 1에 수록하였다.

B. plicatilis 신생개체에 대한 독성 실험은 내구란으로부터 부화한 후 2시간 이내의 개체를 사용하였으며, 황산구리 농도를 0.0~5.0 mg/L 농도 범위에서 대조구를 포함한 총 6개 농도(0, 0.31, 0.63, 1.25, 2.5, 5.0 mL)를 설정하여 22.5±0.5 °C 수온을 유지하며, 15 mL 유리용기에 10개체씩 넣고 24시간 동안 수행하였다. 실험 시 광주기는 12시간 주야 주기를 유지하였다. *T. japonicus* 유생의 표준 독성물질 실험은 알에서 부화한 후 2일 이내의 유생(100~200 µm 크기)을 취하여 20개체씩 실험용기에 넣고 48시간 동안 실험하였다. 실험용기는 6-well plate에서 수행하였으며, 수온은 21.1±1.0 °C를 유지하였다. 광주기는 12시간 주야 주기를 유지하였다. 황산구리 농도는 0.0~10.0 mg/L 농도 범위에서 대조구를 포함한 총 6개의 농도(0, 0.63, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 mL)를 설정하였다.

황산구리에 대한 실험생물의 민감도 비교 실험은 각각의 실험농도별로 3개의 반복구를 배치하여 실시하였으며, 실험초기 및 종료 후 생존 개체수를 계수하여 사망률로 환산하였다. 생물의 사망 여부는 해부현미경(Olympus SZ61)으로 검경하여 구분하였는데, 실험용기 내에서 10초 동안 움직이지 않는 경우 사망한 것으로 판단하였다.

2.3 슬래그 추출액을 이용한 screen test

슬래그 추출액에 대한 독성 평가(screen test)는 USEPA (2002)의 프로토콜을 적용하여 pH 제어실험을 병행하였으며, 숙성 전과 후 탈인슬래그와 제강슬래그 등 총 4개 시료를 대상으로 실시하였다. 슬래그 추출액의 성분은 Table 1에서 제시한 바와 같이 슬래그 종류별로 차이를 보였는데, pH는 8.98~12.16 범위로 일반해수보다 높게 분석되었으며, 염분은 29.78~32.18 psu 범위였다. 각각의 슬래그 추출액에서 측정된 pH와 염분은 숙성 전 제강슬래그에서 12.16과 32.18 psu로 가장 높았으며, 숙성 후 탈인슬래그 추출액에서 8.98과 29.78 psu의 낮은 값을 보였다.

Table 2. Properties of the slag types

Parameter	Type	Aged		Non-aged	
		DPS*	SS**	DPS	SS
pH		8.98	9.72	11.68	12.16
Salinity (psu)		29.78	30.38	30.81	32.18

DPS*: Dephosphorized slag; SS**: Steel slag

슬래그 추출액의 screen test를 실시한 결과 염분은 해수에서 측정되는 농도 범위로서 염분에 대한 생물의 스트레스 반응은 관찰되지 않았다. 그러나 pH는 8.98~12.16 범위로서 시료의 알칼리성 성분이 높은 것으로 조사되었다. 특히 숙성 전 추출액의 pH 농도가 높게 측정되었는데, 높은 pH 값은 실험생물의 대사활동 및 생존에 영향을 줄 수 있

Table 1. Summary of test conditions for standard toxicity and slag acute toxicity test with rotifer *Brachionus plicatilis* and the benthic copepod *Tigropus japonicus*

Test parameters	<i>Tigropus japonicus</i>	<i>Brachionus plicatilis</i>
Test type	static (non-renewal)	static (non-renewal)
Test duration (h)	48	24
Age of test animals (h)	< 48 (nauplius)	< 2 (neonates)
Endpoint	mortality	mortality
Temperature (°C)	21.1±1.0	22.5±0.5
Photoperiod (Light : Darkness)	12L : 12D	24D
Test chamber volume (mL)	20	15
Test solution volume (mL)	10	5
Number of replicates (n)	3	3
Number of animals (n)	20	10
Test solution aeration	none	none
Feeding regime	none	none
Test acceptability criteria	> 90% survival at control	> 90% survival at control

윤충류 *Brachinus plicatilis*와 저서성 요각류 *Tigriopus japonicus*의 초기생활사에 미치는 슬래그 추출액의 생태 영향

으며, 시료 내 포함된 물질과 상승작용을 하여 독성효과를 극대화 할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 슬래그 추출액에 대한 screen test를 수행할 때 pH 비제어 시료(pH uncontrolled sample)와 제어 시료(pH controlled sample)에 대한 생태독성의 민감도 차이를 비교하였다. 실험은 추출액에 노출된 생물의 사망률을 측정값(endpoint)으로 하여 *B. plicatilis* 신생개체는 24시간, *T. japonicus* 유생은 48시간 동안 수행하였다.

2.4 슬래그 추출액의 희석농도별 해양생태독성평가

해양생태독성평가는 슬래그 추출액을 최고 농도(100.0%)로 설정한 후 이를 순차적으로 희석하여 대조구를 포함한 6개 농도(0, 6.3, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0%)를 조제하였다. 독성평가는 처리구 농도별로 3개의 반복구를 두었으며, *B. plicatilis* 신생개체는 24시간, *T. japonicus* 유생은 48시간 동안 실시하였다. 또한 screen test에서 독성반응이 나타난 추출액에 대해서는 pH를 7.7~8.0 수준으로 조절하여 pH 조절 전과 후 슬래그 추출액의 농도별 독성 영향을 비교하였다. 슬래그 추출액의 농도별 독성실험은 표준 독성물질 실험방법과 동일한 조건에서 수행하였다. 실험결과는 각각의 시료 농도별 사망률로 나타내었다.

2.4 통계처리

표준독성물질 및 슬래그 추출액 농도별 실험생물의 사망률에 대한 유의성 검증은 SPSS 프로그램(SPSS 10, SPSS Inc., USA)을 이용한 분산분석(ANOVA) 방법으로 분석하였으며, 표준독성물질 및 슬래그 용출 시료에 대한 반수치사농도(lethal concentration, LC₅₀), 무영향농도(no observed effective concentration, NOEC) 및 최저영향농도(lowest observed effective concentration, LOEC) 값은 USEPA(2002)에서 제시한 통계처리 절차에 따라 분석하였는데, 시료의 독성 농도는 Toxcalc 5.0 (Toxcalc 5.0, Tidepool Scientific Software, USA) 프로그램을 사용하여 Dunnett's test와 Maximum likelihood probit analysis 과정을 거쳐 산출하였다.

3. 결과

3.1 표준독성물질 노출에 따른 실험생물의 독성 비교

B. plicatilis 신생개체와 *T. japonicus* 유생의 황산구리에 대한 독성 영향은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 *B. plicatilis* 신생개체의 경우 0.31 mg/L 보다 높은 농도에서 사망률이 급격히 증가하였으며, *T. japonicus* 유생은 5.00 mg/L 이상의 농도에서 사망 개체가 증가하였다. 한편 황산구리에 대한 24시간 *B. plicatilis* 신생개체의 LC₅₀ 값은 0.32 mg/L(95% CI: 0.17~0.43 mg/L)로 산출되었으며, *T. japonicus* 유생의 48-h LC₅₀ 값

은 2.72 mg/L(95% CI: 2.25~3.20 mg/L)로 분석되었다. 실험생물에 대한 황산구리의 NOEC와 LOEC는 *B. plicatilis* 신생개체의 경우 각각 0.32 mg/L 농도 이하로 분석되었으며, *T. japonicus* 유생은 각각 0.63 mg/L와 1.25 mg/L로 산출되었다 (Table 3).

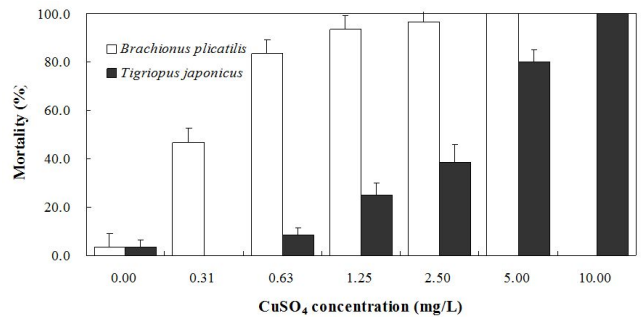


Fig. 1. Mortality of *Brachionus plicatilis* (neonates) and *Tigriopus japonicus* (nauplius) exposed to CuSO₄.

Table 3. Toxicological estimations for *Brachionus plicatilis* (neonate) and *Tigriopus japonicus* (nauplius) exposed CuSO₄

Species	Concentration (mg/L)				
	Range	LC ₅₀	95% CI	NOEC	LOEC
<i>Brachionus plicatilis</i>	0.0-5.0	0.32	0.17-0.43	<0.32	0.32
<i>Tigriopus japonicus</i>	0.0-10.0	2.72	2.25-3.20	0.63	1.25

3.2 슬래그 추출액 노출에 따른 실험생물의 독성 영향

슬래그 추출액에 대한 독성은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 pH 비제어 시료에서 *B. plicatilis* 신생개체와 저서성 *T. japonicus* 유생 모두 숙성 전 탈인슬래그와 제강슬래그 추출액에서 100% 사망하였다. 한편 대조구와 숙성 후 탈인슬래그 시료의 사망률은 10.0% 이하로 산출되어 독성이 거의 없는 것으로 분석되었으며, 숙성 후 제강슬래그 추출액에 대한 두 실험생물의 사망률은 20.0~40.0% 범위로 산출되었다.

한편 pH 제어 시료는 실험생물 모두 대조구와 숙성 후 탈인슬래그 추출액에서는 사망률이 10% 이하였으며, 그 외 시료에서는 *B. plicatilis* 신생개체의 경우 모든 처리구에서 10.0% 이하의 사망률 분포를 보여 독성이 거의 없는 것으로 분석되었다. 저서성 *T. japonicus* 유생은 숙성 전 탈인슬래그에서 모든 개체가 사망하였으며, 숙성 전 제강슬래그 시료에서 80.0%, 숙성 후 제강슬래그 추출액에서는 40.0% 이상 사망하였다.

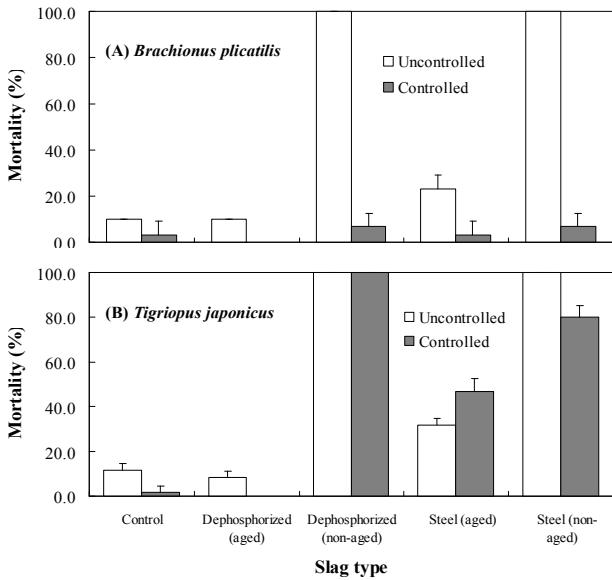


Fig. 2. Mortality of *Brachionus plicatilis* (neonates) and *Tigriopus japonicus* (nauplius) exposed to the various slag types before and after pH control.

3.3 슬래그 추출액의 희석농도별 독성 영향

슬래그 추출액에 대한 농도별 독성실험은 Figs. 3~5에서 보는 바와 같이 pH 제어 시료와 비제어 시료로 구분하여 수행하였다. *B. plicatilis* 신생개체의 경우, screen test에서 pH 제어 시료에 대한 독성 반응이 관찰되지 않아 본 실험에서는 pH 비제어 시료의 농도별 생태독성 평가만 수행하였다.

B. plicatilis 신생개체에 대한 독성 영향 평가는 pH 7.85~11.93 구간에서 실시하였는데, *B. plicatilis* 신생개체의 사망률은 숙성 전 탈인슬래그 처리구의 농도가 50.0%에 도달하였을 때 60% 이상 증가하였으며(Fig. 3A), 제강슬래그 추출액은 숙성 전 100.0% 농도에서 모든 개체가 사망하였다(Fig. 3B). 또한 숙성 후 제강슬래그 추출액에 노출된 *B. plicatilis* 신생개체의 사망률은 100.0% 농도에서 40% 이하의 약한 독성반응을 보였다(Fig. 3C). 본 실험에서 슬래그 추출액에 대한 *B. plicatilis* 신생개체의 사망 개체는 시료의 농도와 pH가 높을수록 증가하였다.

T. japonicus 유생에 대한 슬래그 추출액의 독성 반응은 pH 농도에 따라 큰 차이를 보였는데, 탈인슬래그 추출액은 숙성 전 농도가 높을수록 pH와 사망률은 증가하였다(Fig. 4A). 이와 같은 결과는 숙성 전과 후에 채취한 제강슬래그 추출액에서도 유사하게 관찰되었는데, *T. japonicus* 유생은 숙성 전 제강슬래그 추출액의 농도가 50.0%일 때 실험 개체의 80%가 사망하였으며, 100.0% pH 처리구에서는 100%

사망하였다(Fig. 4B). 또한 pH 7.88~9.60 구간에서 숙성 후 제강슬래그 추출액에 대한 사망률은 50.0% 시료 농도에서 40~50%, 100.0% 농도에서는 실험개체의 80~90%가 사망하였다(Fig. 4C).

대조구 및 각각의 농도별 처리구의 pH를 7.75~7.97 범위로 제어한 경우, *T. japonicus* 유생의 사망률은 Fig. 5에서 보는 바와 같이 숙성 전 탈인슬래그 추출액의 경우 50.0% 농도까지 20% 가량 사망하였으며(Fig. 5A), 숙성 전 시료에는 50.0% 농도에서 40% 이하로 산출되었다(Fig. 5B). 또한 숙성 후 제강슬래그 추출액에서 *T. japonicus* 유생의 사망률은 50.0% 농도에서 20% 이하로 산출되었으며, 100.0% 농도에서는 75% 가량 사망하였다(Fig. 5C). 본 연구에서 pH 제어 시료의 경우 100.0% 농도에서는 숙성 전 탈인슬래그와 제강슬래그 추출액에서 모든 개체가 사망하였으며, 숙성 후 제강슬래그 추출액은 pH를 제어한 경우 실험개체의 사망률이 감소하였다.

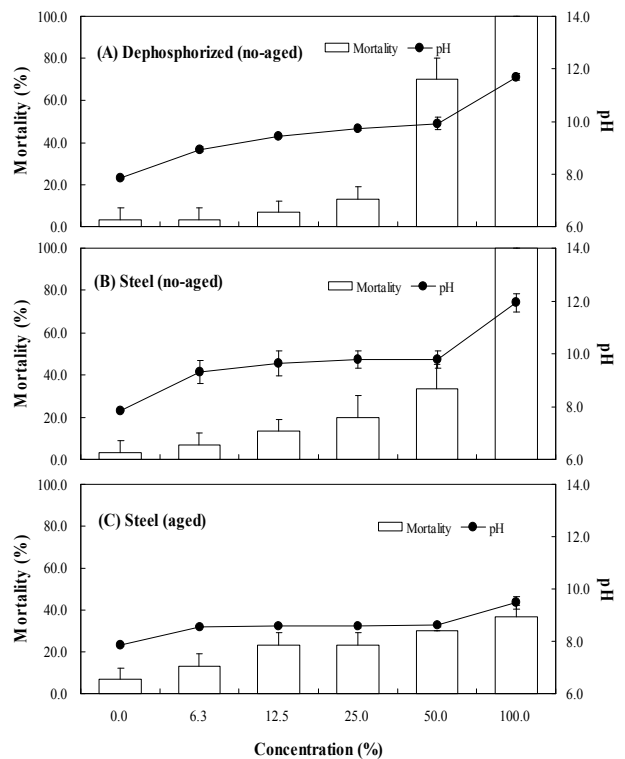


Fig. 3. Mortality of *Brachionus plicatilis* (neonate) exposed to the various slag types under pH uncontrolled.

윤충류 *Brachinus plicatilis*와 저서성 요각류 *Tigriopus japonicus*의 초기생활사에 미치는 슬래그 추출액의 생태 영향

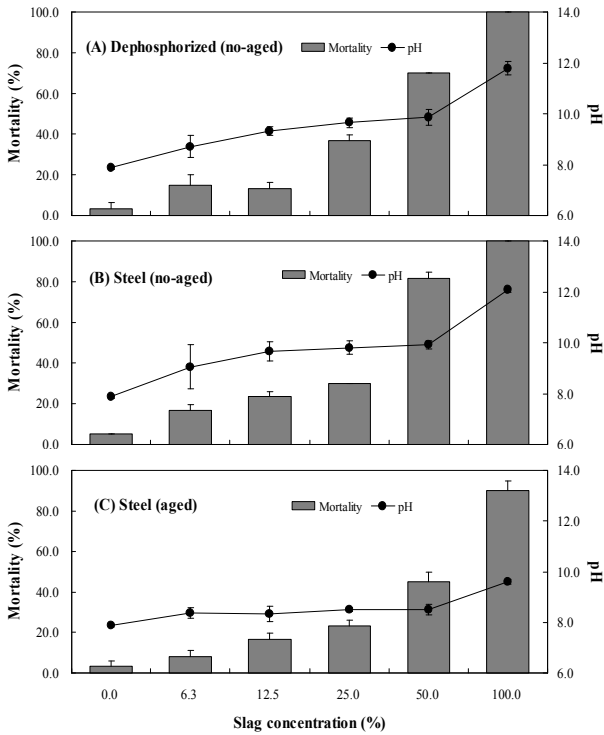


Fig. 4. Mortality of *Tigriopus japonicus* (nauplius) exposed to the various slag types under pH uncontrolled.

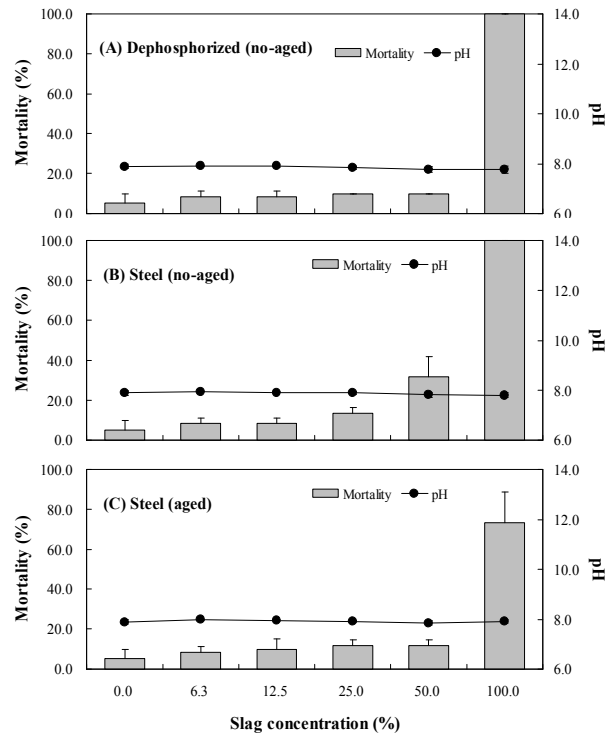


Fig. 5. Mortality of *Tigriopus japonicus* (nauplius) exposed to the various slag types under pH controlled.

3.4 슬래그 추출액에 대한 실험생물의 독성 민감도 비교

B. plicatilis 신생개체의 생태독성 평가를 실시한 결과, pH 비제어 시료의 24-h LC₅₀은 숙성 전 탈인슬래그 시료에서 20.8%로 가장 낮았으며, 숙성 후 탈인슬래그와 제강슬래그 시료에는 LC₅₀ 값이 산출되지 않았다. 한편 *B. plicatilis* 신생개체의 NOEC와 LOEC는 숙성 전 탈인슬래그와 제강슬래그 시료에서 각각 12.5%와 25.0%로 산출되었다(Table 4). pH 비제어 슬래그 추출액에 대한 *T. japonicus* 유생의 48-h LC₅₀은 숙성 전 탈인슬래그 추출액에서 35.3%로 가장 낮았으며, 숙성 후 제강슬래그 추출액에서는 50.4%로 산출되어 숙성 후 시료의 독성이 적은 것으로 나타났다. 한편 숙성 후 탈인슬래그 시료는 모든 처리구에서 사망률이 10% 이내로

산출되어 독성이 없는 것으로 나타났다.

슬래그 처리구별 NOEC는 *T. japonicus* 유생의 경우 모든 시료에서 6.25% 이하로 산출되었으며, LOEC는 숙성 전 탈인슬래그와 제강슬래그 시료에서는 6.25%, 숙성 후 제강슬래그 추출물은 12.5%로 산출되었다(Table 5). 슬래그 추출액의 pH 제어 후 *T. japonicus* 유생에 대한 독성평가를 실시한 결과, 48-h LC₅₀ 값은 숙성 전 제강슬래그 시료에서 65.2%로 가장 낮았으며, 숙성 후 제강슬래그 추출액에서 85.5%로 가장 높아 숙성 전 시료의 독성 영향이 적은 것으로 분석되었다. 한편 슬래그 추출액에 대한 *T. japonicus* 유생의 NOEC와 LOEC는 숙성 전 탈인슬래그 추출액과 숙성 후 제강슬래그 시료에서 각각 50.0%와 100.0%로 산출되었으며, 숙성 전

Table 4. Toxicological estimation for rotifer *Brachionus plicatilis* (neonate) exposed to the various slag type under pH uncontrolled

Slag type	Concentration (%)			
	LC ₅₀	95% CI	NOEC	LOEC
Dephosphorized (aged)*	-	-	-	-
Dephosphorized (non-aged)	20.8	17.1-24.1	12.5	25.0
Steel (aged)	-	-	100.0	>100.0
Steel (non-aged)	63.8	52.4-73.6	12.5	25.0

*: There is no difference mortality between control and treatment (<10%)

Table 5. Toxicological estimation for benthic copepod *Tigriopus japonicus* (nauplius) exposed to the various slag type before and after pH controlled

Slag type	pH uncontrolled (unit: %)				pH controlled (unit: %)			
	LC ₅₀	95% CI	NOEC	LOEC	LC ₅₀	95% CI	NOEC	LOEC
Dephosphorized (aged)*	-	-	-	-	-	-	-	-
Dephosphorized (non-aged)	35.3	29.5-40.7	<6.25	6.25	73.6	70.7-75.6	50.0	100.0
Steel (aged)	50.4	41.5-59.6	6.25	12.5	85.5	67.8-94.6	50.0	100.0
Steel (non-aged)	36.0	30.5-40.9	<6.25	6.25	65.2	54.5-75.9	25.0	50.0

*: There is no difference mortality between control and treatment (<10%)

제강슬래그 추출액에 대한 생물의 NOEC는 25.0%, LOEC는 50.0%로 분석되었다(Table 5).

4. 고찰

본 연구에서 *B. plicatilis* 신생개체와 *T. japonicus* 유생의 황산구리에 대한 LC₅₀를 산출한 결과, *B. plicatilis* 신생개체는 0.32 mg/L(24-h), *T. japonicus* 유생은 2.72 mg/L(48-h)으로 산출되었다. 또한 표준독성물질로 사용된 황산구리 독성에 대한 두 실험생물의 민감도는 실험시간의 차이에도 불구하고 *B. plicatilis* 신생개체가 *T. japonicus* 유생보다 높은 것으로 분석되었다.

일반적으로 생물의 독성반응은 동일한 분류군을 대상으로 실험한 경우 생물의 생태-생리적 특성의 차이로 인해 실험물질의 종류에 따라 반응 정도가 다르게 작용하는 것으로 알려져 있다(Lee et al. 2008c). 슬래그에 대한 생태독성 역시 실험생물의 종류 및 실험물질의 추출방법에 따라 차이를 보였는데, Kim et al.(2005)은 복합슬래그에 대한 해산동물의 생물독성 검정 실험에서 어류 치어, 새우류, 조개류, 말뚝성게 및 참전복 치폐에 대한 복합슬래그의 영향을 파악한 결과, 말뚝성게와 참전복 치폐는 치사 및 생리적 영향을 받는 것으로 나타났으나 그 외 종들은 거의 영향이 없는 것으로 나타나 실험 분류군에 따라 생리적 내성의 차이가 있음을 제시하였다. 본 연구에서 표준독성물질로 사용된 황산구리에 대한 생물의 민감도 차이는 PAN Pesticides Database(<http://www.pesticideinfo.org>)에서 조사한 *B. plicatilis* 신생개체(0.02~0.40 mg/L)와 Yoon et al.(2006)이 수행한 *T. japonicus* 유생의 결과(3.6 mg/L)를 비교한 경우에도 *B. plicatilis* 신생개체의 LC₅₀이 상대적으로 낮은 것으로 분석되어 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 한편 Lee et al.(2008c)은 카드뮴 독성의 경우 *B. plicatilis* 신생개체가 *T. japonicus* 유생보다 민감도가 상당히 높다고 보고하면서 노출물질의 종류에 따라 생물의 민감도 차이가 발생할 것으로 예측하였다. 따라서 해양으로 유입되는 유해물질에 대한 생태독성 반응은

물질의 종류 및 농도, 노출시간의 차이에 따라 종마다 다르게 나타날 수 있으며, 이와 같은 결과는 서식환경 및 각각의 독성물질에 대한 내성한계와 같은 생물의 생태-생리적 특성 차이에 따른 결과로 해석할 수 있다.

한편 숙성시키기 전 채취한 슬래그 추출액의 pH가 높은 이유는 슬래그 내 다량의 유해성 금속원소나 탄산나트륨(Na₂CO₃)이 함유되어 있기 때문이며, 이로 인하여 실험생물에 미치는 독성이 증가하는 것으로 보고하였다(Choi et al., 1995; Coya et al., 2000; Lee et al., 2008b). 본 연구에서 사용된 슬래그 추출액은 숙성 전 시료에서 pH가 높게 측정되었으며, 시료에 대한 실험생물의 독성 반응도 뚜렷하게 관찰되어 Coya et al.(2000)의 결과와 유사한 결과를 보였다. 이와 같은 현상은 숙성 전 슬래그를 매립하거나 해양으로 투기할 경우 슬래그에 포함된 유해물질들이 용출되어 해양환경의 변화를 초래할 가능성이 높은 것으로 판단된다. 본 연구에서 나타난 바와 같이 슬래그에 포함된 유해물질의 독성은 숙성 전 보다 숙성 후 슬래그 시료에서 낮았으며, 슬래그 추출액에 대한 생태독성도 적어서 해양생태계에 미치는 영향은 크지 않을 것으로 판단되었다.

본 연구에서 슬래그 추출액에 대한 독성 민감도는 시료의 종류, pH 및 실험생물의 종류에 따라 상이한 결과를 보였다. 실험결과, pH 비제어 시료에서 *B. plicatilis* 신생개체의 LC₅₀은 숙성 전 탈인슬래그 추출액(20.8%) 보다 제강슬래그 추출액(63.8%)에서 높은 반면, NOEC와 LOEC는 두 시료 모두 동일한 농도로 산출되었다. 그러나 숙성 후 제강슬래그 추출액에 대한 *B. plicatilis* 신생개체의 독성 반응은 시료의 숙성 여부에 따라 뚜렷한 차이를 보이는 것으로 나타났다. Chung et al.(1996)은 제철과정의 고로공정과 제강공정에서 발생한 슬래그를 대상으로 숙성 기간별로 용출되는 중금속의 종류 및 농도변화를 조사한 결과, 숙성 기간이 짧은 경우 슬래그에서는 비소, 납, 아연 등의 중금속이 용출되었으며, 농도는 숙성기간이 길어질수록 감소하였다. 또한 Coya et al.(2000)은 폐배터리로부터 납을 재활용하는 과정에서 발생하는 슬래그의 다양한 용출 물질들을 대상으로

발광미생물을 이용한 생태독성평가를 실시한 결과, 슬래그 숙성기간이 짧을수록 시료의 독성이 증가하였으나 6개월 이상 숙성한 슬래그에서는 독성이 감소하는 것으로 보고하였다. 따라서 슬래그는 적절한 환경에서 장기간 저장할 경우, 슬래그에 용출된 유해물질의 생물 독성과 잔류물질의 활성도를 감소시키는 것으로 해석할 수 있다. 한편 *T. japonicus* 유생의 48-h LC₅₀은 숙성 전 탈인슬래그 추출액 중 pH 제어 시료와 비제어 시료에서 각각 73.6%와 35.3%로 산출되어 pH 제어 시료의 독성에 대한 민감도가 낮았으며, 숙성 후 제강슬래그 추출액에서는 pH 제어 시료와 비제어 시료에서 각각 85.5%와 50.4%로 분석되어 pH 제어 시료의 독성 영향이 상대적으로 낮은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 *T. japonicus* 유생의 슬래그 추출액에 대한 독성이 노출물질의 종류, pH 제어 유무, 생물종에 따라 뚜렷한 차이를 보이는 것으로 해석할 수 있다.

최근까지 진행된 슬래그의 활용 연구에서 Lee et al.(1999)은 5.0%의 제강슬래그 농도에서 와편모조류의 휴면포자 발아가 억제됨을 보고하였다. 또한 제강슬래그는 calcium silicates와 CaO, MgO, FeO, MnO 등과 융합된 aluminoferrites로 구성되어 있으며, 5~7%의 free lime(CaO)가 함유되어 있는 화학적 특성 때문에 황화수소와 인산염인 제거 및 적조방제 등에 효과가 탁월한 것으로 보고되었다(Hyun et al., 1997; Lee et al., 1999; Kim et al., 2002). 한편 Coxa et al. (2000)은 슬래그 내 침출수의 이화학적 변수가 생태계에 미치는 영향을 최소화하기 위해서는 일정기간 숙성 과정을 거치면서 슬래그의 독성 영향을 감소시키기 위한 공정이 필요함을 제시하고 있다. 그러나 발생초기 강우나 분진입자의 이동으로 인해 급작스럽게 방출되는 유해물질들은 수중에 다량 용해되어 이온 상태로 존재할 경우 단기간에 수환경이나 생태계를 교란시킬 우려가 있는 것으로 판단된다. 한편 슬래그에서 발생하는 독성을 저감시키기 위한 방안으로서 USEPA(2002)에서는 toxicity characteristic leaching procedure (TCLP)와 multiple extraction procedure를 사용하여 과립상의 구리 슬래그 침출수에 대한 수온 및 pH 변화에 따른 장기간 안정성 및 독성 반응을 관찰하였는데, 기계적으로 활성화 흡착시킨 시료는 35.0~45.0 °C 수온과 pH 5.0~7.0 환경에서 장기간 보관한 결과 용출되는 중금속의 농도가 감소한 것으로 보고하였다. 또한 산성비가 내리는 상황에서도 용해되는 물질의 농도는 USEPA 기준보다 낮은 농도로 측정되어 장기간 보관된 슬래그는 독성이 없고 안정적이기 때문에 환경위해성이 없음을 제시하였다(Shanmuganathan et al., 2008). 따라서 해양생태계에 미치는 슬래그 독성 영향을 최소화하기 위해서는 표준화된 슬래그 보관 및 관리 매뉴얼을 개발할 필요성이 있다. 이에 본 연구에서는 슬래그의 친환경적 활

용을 위해 발생초기의 슬래그를 산업적으로 이용하기 보다는 장기간 숙성시킨 후 사용하는 것이 해양환경에 미치는 영향을 최소화시킬 수 있음을 제시하였다.

5. 결론

결론적으로 본 연구에서 슬래그 추출액이 해양생물에 미치는 독성 영향은 pH 제어 시료에서 낮았으며, 숙성 전 시료일수록 증가하였다. 또한 pH를 제어한 슬래그 추출액의 독성은 *T. japonicus* 유생보다 *B. plicatilis* 신생개체가 더 민감한 것으로 나타났는데, 이는 실험시간의 차이에 의한 원인으로 해석할 수 있으나 이보다는 슬래그의 숙성 여부, 노출물질의 종류에 따른 생물의 생리-생태적 내성 범위의 차이에 의한 결과로 해석할 수 있다. 본 연구에서 사용된 해양생태독성평가는 슬래그와 같이 기계적으로 활성화 된 시료가 강우나 풍화로 인해 해양으로 유입되는 경우 생태계에 미치는 영향을 예측할 수 있으며, 향후 유해물질의 해양 유입을 차단할 수 있는 아이디어를 제공할 수 있는 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2016년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술원의 지원을 받아 수행된 연구임(울릉도 해역에서 가두리를 활용한 어류양식기술개발)

References

- [1] ASTM(1996), Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus*, American Society for Testing and Materials International, West Conshohocken, PA, USA, <http://www.astm.org>.
- [2] Bae, B. H., J. H. Chung and S. J. Lee(2002), Degradation of Chlorinated Organic Solvents in Groundwater using a Reactive Wall Packed with Steeler's By-Products, Journal of Korean Society of Environmental Engineers, Vol. 24, No. 10, pp. 1761-1774.
- [3] Barka, S., J. F. Pavillon and J. C. Amiard(2001), Influence of different essential and non-essential metals on MTLP levels in the copepod *Tigriopus brevicornis*, Comparative Biochemistry Physiology Part C, Vol. 128, pp. 479-493.
- [4] Cha, W. S., J. W. Kim and H. C. Choi(2006) Evaluation of steel slag for organic and inorganic removals in soil aquifer treatment, Water Research, Vol. 40, pp. 1034-1042.

- [5] Chang, W. S., D. W. Park and D. K. Kim(2001), Effect of Nitrogen, Phosphorous and Algae Removal for Raw Water Treatment by Flyash and Slag as Filter Media, Journal of Korean Society of Environmental Engineers, Vol. 23, pp. 1889-1897.
- [6] Chaurand, P., J. Rose, V. Briois, L. Olivi, J. L. Hazemann, O. Proux, J. Domas and J. Y. Bottero(2007), Environmental impacts of steel slag reused in road construction: A crystallographic and molecular (XANES) approach, Journal of Hazardous Materials, Vol. 139B, pp. 537-542.
- [7] Choi, D. H., S. J. Maeng, D. C. Seo and D. H. Lee(1995), The effect of alkali leaching from steel marking slag on heavy metal retainment, Journal of Korea Solid Wastes Engineering Society. Vol. 12, No. 4, pp. 429-436.
- [8] Chung, Y., Y. B. Kim, Y. S. Kwon and S. H. Lee(1996), Effect of Slag Dumping on Heavy Metals in the Neighbour Sea and Direction of Recycling on Slag, Journal of environmental impact assessment, Vol. 5, No. 2, pp. 21-31.
- [9] Coya, B., E. Marañón and H. Sastre(2000), Ecotoxicity assessment of slag generated in the process of recycling lead from waste batteries, Resources Conservation and Recycling, Vol. 29, pp. 291-300.
- [10] Hwang, E. H. and J. M. Kim(2008), Characteristics of EVA-polymer modified mortars recycling rapid-chilled steel slag fine aggregate, Applied chemistry for engineering, Vol. 19, No. 6, pp. 652-660.
- [11] Hyun, J. H., H. Y. Jung and M. G. Kim(1997), Role of Steel Mill Slag & Steel Mill Sludge to Remove Phosphate from a Solution, Journal of Korea Society of Waste Management, Vol. 14, pp. 640-645.
- [12] Kang, W. H., H. K. Lee and J. Y. Park(2001), Assessment of chemical leachability of electric arc furnace slag before and after aging treatments for environmentally safe reuse, Journal of Korean Society of Environmental Engineers, Vol. 23, No. 11, pp. 1919-1927.
- [13] Kim, D. K., D. W. Park and W. S. Jang(2003), The Study of a Novel Coagulation Technology Using the Atomized Molten Slag as Weighted Coagulation Additives, Journal of Korean Society on Water Quality, Vol. 19, No. 6, pp. 655-661.
- [14] Kim, J. M., K. S. Kim, J. A. Lee, Y. K. Shin, C. K. Park and P. Chin(2005), Bioassay of Marine Animals to the Aquatic Toxicity of Composite Slag and Bituminous Coal, Journal of the Korean Fisheries Society, Vol. 38, No. 2, pp. 100-105.
- [15] Kim, K. H., J. Y. Jung, J. H. Lim and J. K. Lee(2002), Removal characteristics of red tide organisms using Zeofloc, Theories and Applications of Chemical Engineering, Vol. 8, No. 2, pp. 4361-4364.
- [16] Kim, T. H.(2002), Reutilization of electric arc furnace, Journal of the Korean Ceramic Society, Vol. 5, No. 5, pp. 14-18.
- [17] Kim, T. H. and K. B. Park(2000), Swine wastewater treatment properties of steel-making slag, Clean Technology, Vol. 6, No. 2, pp. 85-92.
- [18] Kwok, K. W. H. and K. M. Y. Leung(2005), Toxicity of antifouling biocides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* (Crustacea, Copepoda): Effects of temperature and salinity, Marine Pollution Bulletin, Vol. 51, pp. 830-837.
- [19] Lee, C. I., Y. S. Kwak and D. Y. Kim(1999), Effects of inorganic nutrients and basic oxygen furnace slag on the germination of *Cochlodinium polykrikoides*, *Alexandrium Tamarense* and *Gymnodinium* sp. resting cysts, RIST Journal of R&D, Vol. 13, No. 4, pp. 539-542.
- [20] Lee, G. H., J. S. Chung, K. P. Nam and J. B. Park(2008a), Estimation of cadmium, copper, lead mobility in column packed with furnace slag, Journal of Korean Society of Soil and Groundwater Environment, Vol. 13, No. 4, pp. 54-61.
- [21] Lee, G. H., S. D. Choi, J. S. Chung, J. B. Park and K. P. Nam(2008b), Assessment of Sorption Behavior on Slag Against Heavy Metals, Journal of the Korean Geotechnical Society, Vol. 24, No. 6, pp. 17-25.
- [22] Lee, S. M., G. S. Park, S. J. Yoon, Y. S. Kang and J. H. Oh(2008c), Development of Ecotoxicological Standard Methods using Early Life Stage of Marine Rotifer *Brachionus plicatilis* and Benthic Copepod *Tigriopus japonicus*, 「The Sea」 Journal of the Korea Society of Oceanography, Vol. 13, No. 2, pp. 129-139.
- [23] Lee, H. K. and D. H. Lee(2005), Evaluation of Lead, Copper, Cadmium, and Mercury Species in the Leachate of Steel Making Slag by Seawater, Journal of Korean Society of Environmental Engineers, Vol. 27, No. 1, pp. 75-84.
- [24] MOF(2013), Marine environment standard test method, Ministry of Oceans and Fisheries, p. 516.
- [25] Motz, L. H. and C. J. Geiseler(2001), Products of steel slags on opportunity to save natural resources, Waste Management, Vol. 21, pp. 285-293.

- [26] NIWA(1998), Marine fish (*Rhombosolea pelebeia*). Acute toxicity test protocol, National Institute of Water and Atmospheric Research, p. 29
- [27] PAN Pesticids Database, <http://www.pesticideinfo.org>
- [28] Park, G. S., S. M. Lee, T. J. Han and J. S. Lee(2008), Establishment of standard methods for marine ecotoxicological test, 「The Sea」 Journal of the Korea Society of Oceanography, Vol. 13, No. 2, pp. 106-111.
- [29] Park, K. S.(2011), Application of steel-making (BOF) slag for in-situ remediation of subaqueous contaminated sediments, Rural Resources, Vol. 53, No. 4, pp. 22-33.
- [30] Park, M. H., M. S. Han, S. J. Lee, C. Y. Ahn, B. D. Yoon and H. M. Oh(2002), Effects of CellCaSi and Inorganic Additives on Phosphorus Removal in Water, Korean journal of limnology, Vol. 35, No. 3, pp. 213-219.
- [31] Shanmuganathan, P, P. Lakshmipathiraj, S. Srikanth, A. N. Nachiappan and A. Sumathy(2008), Toxicity characterization and long-term stability studies on copper slag from the ISASMELT process, Resources Conservation and Recycling, Vol. 52, pp. 601-611.
- [32] USEPA(2002), Methods for measuring in the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms, United States Environmental Protection Agency, p. 122
- [33] Yoon, S. J., G. S. Park, J. H. Oh and S. Y. Park(2006), Marine ecotoxicological assessment using the nauplius of marine harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*, Journal of Korean Society of Environmental Engineers, Vol. 9, No. 3, pp. 160-167.

Received : 2016. 07. 11.

Revised : 2016. 08. 20. (1st)

: 2016. 08. 27. (2nd)

Accepted : 2016. 08. 29.