

## Toxkits에 의한 물벼룩 급성독성시험방법의 제도적용 적합성 평가

김종민<sup>†</sup> · 신기식 · 이정서 · 이택준

국립환경과학원 물환경공학연구과

## Evaluation of Alternative Acute Toxicity Test Method with *Daphnia magna*

Jongmin Kim<sup>†</sup> · Kisik Shin · Jungseo Lee · Taekjune Lee

National Institute of Environmental Research Water Environmental Engineering Research Division  
(Received 20 October 2016, Revised 3 March 2017, Accepted 20 March 2017)

### Abstract

This paper aimed to evaluate the results of alternative acute toxicity test on 83 wastewater samples. Each sample was tested by traditional method (using laboratory cultured *D. magna* as a test organism) and alternative method (using Toxikit which can be purchased from a specialized company). The relationship between Lab. culture toxicity and Toxkits toxicity indicated good relation ( $r^2 = 0.84$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 83$ ). Number of samples which showed a small difference of lower than 0.5 between two test methods were 52 and they account for 63 percent of collected samples. In addition, these 52 samples had a lower average toxicity of TU 0.5 (Lab. culture method) and TU 0.45 (Toxkits method). Whereas samples which indicated big difference of test results between two methods, had a tendency to show higher toxicity. From these results, alternative toxicity test method could be applied to the official test method, if samples would have a lower toxicity less than TU 2. Also, Toxikit standard toxicant test results indicated  $EC_{50}$  values between 0.93 and 1.68 mg/L and these results were considered as valid for quality control standard.

**Key words** : Alternative test method, *D. magna*, Toxkits, Wastewater

### 1. Introduction

국내 폐·하수 처리수에 대한 생태독성시험방법은 물벼룩을 시험종으로 급성독성을 측정토록 되어있다(NIER, 2014). 2011년 생태독성제도가 도입되어 시행된 지 5년이 지난 현재 생태독성 배출허용기준 초과율은 당초 약 30 % 정도에서 10% 내외로 감소하였고(NIER, 2014), 생태독성측정기관의 표준독성시험에 의한 정도관리 결과도 대부분 기준(0.9 ~ 2.1 mg/L)을 충족시키고 있어(NIER, 2015a) 물벼룩에 의한 생태독성시험은 어느 정도 안정적인 단계에 도달된 것으로 판단된다. 그러나 다른 수질오염물질에 비해 완화된 기준을 적용하고 있어 배출허용기준을 초과한 경우에도 일부 개선이 부진한 경우도 있고, 살아있는 생물체를 이용하여 시험하는데 동반되는 배양의 어려움, 그리고 시료 1건에 약 120마리의 물벼룩 어린개체가 필요함에 따라 시험 수요에 바로 대응하기 어려운 점 등 여러 문제점들이 지적되고 있다. 게다가 지도단속 등으로 시료가 많아지면 이를

소화할 수 있는 물벼룩 어린개체를 바로 공급하기 어려운 점 때문에 하루에 생태독성시험을 할 수 있는 건수가 최대 4건을 넘기 어려운 것으로 알려져 있다.

유럽 등 생태독성분석에 ISO시험법을 적용하고 있는 나라에서는 물벼룩의 알을 이용하여 급성독성시험이 가능하도록 상용화된 제품을 사용할 수 있는데(ISO, 2012), 이 방법은 높은 균일성, 재현성 및 민감성이 높고 환경시료 적용에 적합하며 계속적인 유지보수가 필요 없는 등 장점이 있어 독성시험의 건수가 많지 않고, 시료가 비정기적으로 들어올 경우 또는 설비 신설 및 배양의 유지관리가 어려울 때 기존 배양에 의한 방법보다 유리한 것으로 알려져 있다(MicroBioTests Inc., 2016). 그러나 ISO 시험법에 대한 활용도가 높은 유럽에 반해 미국에서는 활용도가 낮은 것으로 알려져 있어(NIER, 2015b; U. S. EPA., 2002), 국내 대체시험법으로 도입하기에는 보다 신중한 접근이 요구된다.

본 논문에서는 Toxkits 라는 이름으로 알려져 있는 상용화된 시험방법을 국내 폐수 배출수 시료에 대한 급성독성 시험방법으로 적용이 적절한지에 대한 타당성을 검토하기 위해 수행되었다. 이를 위해 기존 계대 배양된 물벼룩을 이용하여 시험하는 방법과 상용화된 방법을 동일 시료에 대하여 적용하고 비교, 분석하여 기존 생태독성시험을 대체할 수 있는지 여부 등을 검토하였다.

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed.  
jytejongm@gmail.com

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 2. Materials and Methods

시료채취는 업종별 특성 또는 폐수처리수가 방류되는 수역 등을 감안하여 개별 폐수배출시설 21개 업종과 공공폐수처리장 및 공공하수처리시설 등 총 23개 업종의 사업장에서 배출되는 유입수 및 방류수 83건을 대상으로 수행되었다.

시료에 대한 생태독성수준 평가를 위해 수질오염공정시험기준에 따라 물벼룩(*D. magna*)을 이용한 급성독성시험(NIER, 2014)과 상용화된 제품(Toxkits : Daphtokit F magna, Belgium)을 이용한 급성독성시험을 수행하고 도출된 각 시험방법별 독성값을 비교, 분석하였다. Toxkit을 이용한 독성시험은 ISO 시험방법(KATS, 2014) 및 해당 제조사 매뉴얼에 따라 수행하였고(Table 1), EC<sub>50</sub>값을 산출하여 TU값으로 평가하였다. 또한 정도관리를 위해 다이크롬산포타슘(potassium dicromate, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)을 이용하여 배양 물벼룩과 Toxkits 물벼룩의 표준독성시험을 수행하고 비교하였다.

시료중 독성물질의 다른 환경인자에 의한 영향을 검토하고자 염분농도, 전기전도도, pH, 용존산소 농도는 다항목측정기(Yellow Springs Instrument model 556, OH, USA), 경도는 경도계(HI 93735, HANNA Instruments), 잔류염소는 잔류염소측정기(HI 93734, HANNA Instruments)를 이용하여 측정하였다. 암모니아는 수질오염공정시험방법의 암모니아성 질소 분석법에 따라 수행하였다(NIER, 2014).

## 3. Results and Discussion

### 3.1. 업종별 시료에 대한 배양 물벼룩과 Toxkits 물벼룩의 급성독성값 비교

업종 구분은 ‘수질 및 수생태계 보전에 관한 법률’ 시행

규칙 별표 4에 규정된 폐수배출시설의 분류 기준에 따라 구분하였고, 채취된 83건의 시료는 높은 생태독성값을 나타내는 일부 유입수 시료를 포함하고 있다. 시료의 업종별, 사업장(시설)별 배양 물벼룩에 의한 시험결과와 Toxkits에 의한 시험결과 등은 Table 2와 같다.

전체 시료를 대상으로 실험실 배양 물벼룩을 시험생물로 하여 수행한 급성독성값과 Toxkits으로부터 부화한 물벼룩 어린개체(neonate)로 수행한 급성 독성값 간의 관련정도를 보면 Toxkits 를 이용한 독성값은 실험실 배양 물벼룩에 의한 독성값을 84 %정도 설명할 수 있었으며 유의수준은 0.01 이하였다( $r^2 = 0.84$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 83$ ). (Fig. 1) 이 결과로 배양물벼룩에 의한 독성시험값과 Toxkits 물벼룩에 의한 독성시험값 사이에 존재하는 유의한 연관관계를 추정할 수 있었다(Jeon, 1998).

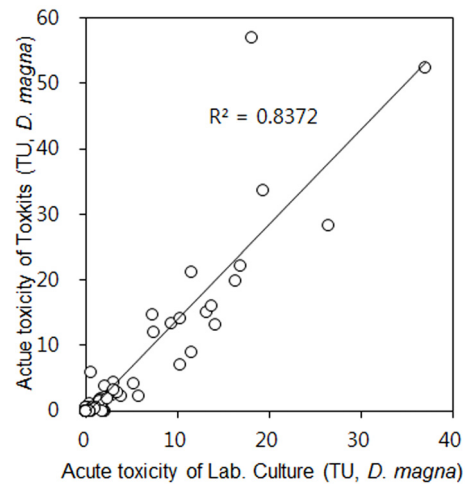


Fig. 1. Relationship between Lab. culture acute toxicity and Toxkits acute toxicity.

Table 1. Experimental conditions of acute toxicity test performed with *D. magna* from laboratory cultures and hatched from dormant eggs (Toxkits)

	Laboratory culture ( <i>D. magna</i> )	Hatched from dormant eggs (Toxkits) ( <i>D. magna</i> )
Exposure period	24 hour	24 hour
Test temperature	20 ± 2 (°C)	20 ± 2 (°C)
No. of test organism per each concentration	20	20
No. of repeatability per each concentration	4	4
Age of test organism (hatching of the dormant eggs)	less than 24 hour	Incubation for 72 hr at 20~22 °C under continuous illumination of 6000 lux (collected at the latest 90 hr after the start of the incubation)
End point	EC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
Photo period (exposure)	16hr : 8hr (light : dark)	24 hr (dark)
Dilution ratio of sample	100 %, 50 %, 25 %, 12.5 %, 6.25 %, control	100 %, 50 %, 25 %, 12.5 %, 6.25 %, control
Dilution medium	NaHCO <sub>3</sub> : 192 mg/L CaSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O : 120 mg/L MgSO <sub>4</sub> : 120 mg/L KCl : 192 mg/L <US EPA>	NaHCO <sub>3</sub> : 2.59 g/L CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O : 11.76 g/L MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O : 4.93 g/L KCl : 0.23 g/L (Mix 25 mL of each of the four solution and make up 1 L with pure water) <ISO 6341>

**Table 2.** Acute toxicity test results and their differences which were tested by laboratory cultured *D. magna* and Toxkits

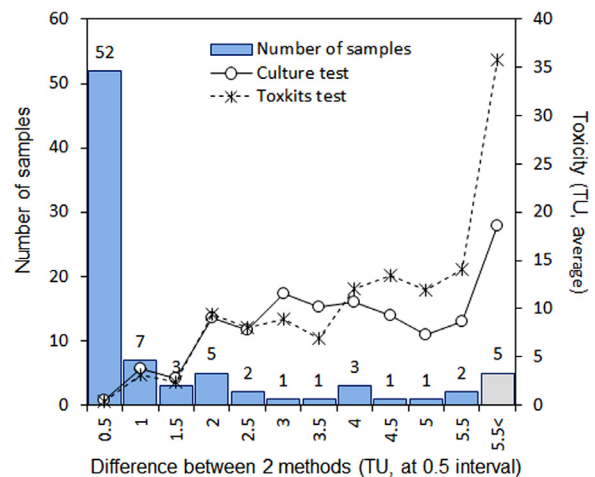
Business category	Code	Influent/ Effluent	Lab. culture(A)	Toxkits (B)	A-B
Public wastewater treatment plant	A1In	In	0.4	1.0	0.60
	A1	Out	0.5	0.0	0.50
	A2In	In	13.1	15.1	2.00
	A2	Out	0.0	0.1	0.10
	A3In	In	1.7	0.4	1.28
	A3	Out	0.0	0.0	0.00
	A4In	In	0.3	0.4	0.13
	A4	Out	0.3	0.0	0.30
	A5In	In	2.9	4.3	1.40
	A5	Out	0.0	0.0	0.00
Public sewage treatment plant	B1	Out	0.0	0.0	0.00
	B2	Out	0.0	0.0	0.00
	B3	Out	0.0	0.0	0.00
	B4	Out	0.0	0.0	0.00
	B5	Out	0.0	0.0	0.00
	B6	Out	0.0	0.0	0.00
	B7	Out	0.0	0.0	0.00
	B8	Out	0.0	0.0	0.00
	B9	Out	0.5	0.0	0.50
	B10	Out	0.0	0.0	0.00
	B11	Out	0.0	0.0	0.00
Manufacture of Synthetic Resin and Other Plastic Materials	C1	Out	0.0	0.0	0.00
	C2	Out	0.0	0.0	0.00
	C3	Out	0.0	0.5	0.50
	C4In	In	2.0	3.7	1.70
	C4	Out	1.4	1.4	0.00
	C5	Out	0.0	0.5	0.50
	C6	Out	0.0	0.0	0.00
Slaughtering of Livestock, Processing, Preserving of Meat and Meat Products	C7	Out	37.0	52.4	15.32
	D1	Out	2.1	0.0	2.07
	D2	Out	9.3	13.4	4.06
	D3	Out	26.4	28.2	1.86
	D4	Out	3.7	2.3	1.44
	D5	Out	10.2	6.9	3.25
	D6	Out	16.2	19.8	3.60
	D7	Out	1.3	1.0	0.29
	D8	Out	7.3	11.9	4.60
	D9	Out	16.8	22.2	5.37
D10	Out	19.3	33.7	14.37	
Spinning of Textiles and Processing of Threads and Yarns	E1	Out	0.0	0.0	0.00
	E2	Out	0.0	0.0	0.00
	E3	Out	0.0	0.0	0.00
	E4	Out	1.4	0.5	0.86
	E5	Out	0.0	0.0	0.00
	E6	Out	0.0	0.0	0.00
	E7	Out	1.9	0.0	1.93
Manufacture of Other Basic Organic Chemicals	F1In	In	13.6	16.0	2.40
	F1	Out	11.5	8.9	2.60
	F2In	In	0.5	0.2	0.30
	F2	Out	0.0	0.0	0.00

**Table 2.** Acute toxicity test results and their differences which were tested by laboratory cultured *D. magna* and Toxikits

Business category	Code	Influent/ Effluent	Lab. culture(A)	Toxkits (B)	A-B
Manufacture of All Other Chemical Products n.e.c.	G1	Out	1.6	1.4	0.20
	G2In	In	14.1	13.1	1.00
	G2	Out	1.6	1.9	0.30
	G3	Out	0.9	0.7	0.20
Manufacture of Basic Organic Petrochemicals	H1In	In	5.1	4.1	1.00
	H1	Out	1.4	0.8	0.60
	H2In	In	2.8	2.4	0.40
	H2	Out	1.4	1.6	0.20
Manufacture of Basic Inorganic Chemicals	I1	Out	2.8	2.8	0.00
	I2In	In	3.4	2.8	0.60
	I2	Out	2.9	3.2	0.30
Manufacture of Rubber and Plastic Products	J1	Out	0.5	5.9	5.36
	J2In	In	1.7	1.3	0.40
	J2	Out	0.0	0.0	0.00
Waste storage facilities and Waste Treatment Services	K1	Out	1.5	1.5	0.04
	K2	Out	18.0	56.9	38.86
	K3	Out	1.0	0.5	0.50
Manufacture of Other Food Products	L1	Out	0.0	0.0	0.00
	L2	Out	10.2	14.1	3.92
Manufacture of Textiles	M1	Out	0.0	0.0	0.00
	M2	Out	0.0	0.0	0.00
Manufacture of Electronic Video and Audio Equipment	N1	Out	1.8	0.0	1.79
	N2	Out	11.5	21.2	9.68
Leather and Allied Products manufacturing	O1In	In	5.7	2.1	3.56
	O1	Out	0.0	0.0	0.00
Manufacture of Rolled, Drawn and Folded Products of Copper	P1	Out	0.9	0.2	0.70
Manufacture of Other Non-Metallic Mineral Products	Q1	Out	0.0	0.0	0.00
Manufacture of Alcoholic Beverages	R1	Out	7.2	14.6	7.43
Manufacture of Smelting, Refining and Alloys of Non-Ferrous Metals	S1	Out	2.3	1.9	0.40
Processing and Preserving of Fruit and Vegetables	T1	Out	0.3	0.0	0.30
Manufacture of Synthetic Colouring Matter, Tanning Materials and Other Coloring Agents	U1	Out	0.0	0.0	0.00
Manufacture of Pharmaceuticals, Medicinal Chemicals and Botanical Products	V1	Out	0.4	0.0	0.40
Manufacture of Condiments and Food Additive Products	W1	Out	0.0	0.0	0.00

또한 동일 시료에 대하여 시험된 배양 물벼룩 독성값과 Toxkits 물벼룩 독성값 간의 차이를 TU 0.5 간격으로 구분하여 각 구간별로 해당되는 시료수와 이들 시료들의 평균 독성값을 산정하였는데, 두 방법 간의 측정값 차이가 TU 0.5 미만인 시료수는 52건으로 전체시료(83건)의 약 63 %를 차지하였고, 평균 독성값은 배양물벼룩이 TU 0.5, Toxkits가 TU 0.45 정도로 낮은 수준을 보였다. 아울러 두 방법 간의 측정값 차이가  $0.5 < TU \leq 1.5$  구간에 해당하는 시료는 약 12 %를 차지하는 10건으로 독성값은 배양물벼룩 TU 2.78~3.81, Toxkits TU 2.34~3.21 수준이었다. 이후 각 순차적으로 두 시험법에 의한 측정값 차이별로 보았을 때 건수(1~5건 이내)는 적었으나 높은 독성값을 보였고 Toxkits로 측정된 값이 배양 물벼룩에 의한 측정값보다 높은 수준을 나타냈다(Fig. 2).

위 결과로 판단할 때, 시료의 생태독성값이 낮은 수준에



**Fig. 2.** Number of samples and their average toxicity at TU 0.5 intervals between Lab. culture and Toxkits.

서는 두 방법간 시험결과값의 차이가 크지 않은 것으로 나타나 현 생태독성 배출허용기준인 TU 2를 기준으로 지도 단속시료 등의 배출허용기준 초과여부를 확인하는 경우에 한정한다면 Toxkits 를 이용한 방법은 전통적인 물벼룩 시험방법(실험실 배양)을 대체할 수 있을 것으로 판단되었다. 그러나 독성값이 높은 시료의 경우 각 시험법에 의한 결과값은 큰 차이를 보이므로 시험 목적에 따라 별도의 검토가 필요할 것으로 생각된다.

3.2. 표준독성시험

배양 물벼룩과 Toxkits 물벼룩 간의 표준독성시험은 각각 10회씩 수행하였다. 배양 물벼룩의 EC<sub>50</sub> 값은 0.94~1.32 mg/L 범위를 보였고, Toxkits 물벼룩의 EC<sub>50</sub> 값은 0.93~1.68 mg/L 범위를 보였다(Fig. 3). 수질오염공정시험기준(NIER, 2014)에서 제시한 물벼룩을 이용한 생태독성시험에서 정도관리를 위한 적정 범위는 다이크롬산포타슘을 이용한 EC<sub>50</sub> 값이 0.9~2.1 mg/L 이내로 관리하도록 규정되어있는데 Toxkits 물벼룩 시험에서도 규정된 표준독성시험 적정범위를 모두 만족하였다. 시험값의 변동계수(coefficient of variation; CV)는 배양물벼룩이 Toxkits 물벼룩 시험결과보다 상대적으로 적었다(배양물벼룩 11.5 %, Toxkits 20.5 %). 결과적으로 Toxkits 물벼룩 시험방법의 표준독성시험결과는 적합한 것으로 판단되었다.

Table 3은 물벼룩 급성독성시험 정도관리를 위해 시행한 외국의 배양물벼룩 및 Toxkits 시험결과(Persoone et al., 2009)와 본 논문의 결과를 비교한 것이다. 평균치로 보았을 때 Toxkits 시험방법의 EC<sub>50</sub> 값 (1.27 mg/L)은 국내 정도관리 기준인 0.9~2.1 mg/L 이내였으며 외국의 1.02~1.28 mg/L 수준과도 유사하였다. CV (%)값 (20.5 %)도 외국의 16.3 ~ 28.6 % 범위 이내로 두 시험방법 모두 외국의 결과와 큰 차이를 보이지 않았다.

Toxkits 시험방법에서 적용하는 배양액은 수질오염공정시험기준에서 규정되어 현재 적용하고 있는 배양액과 다른 조성을 가진다. 현재 수년간 사용하여 익숙한 기존 배양액

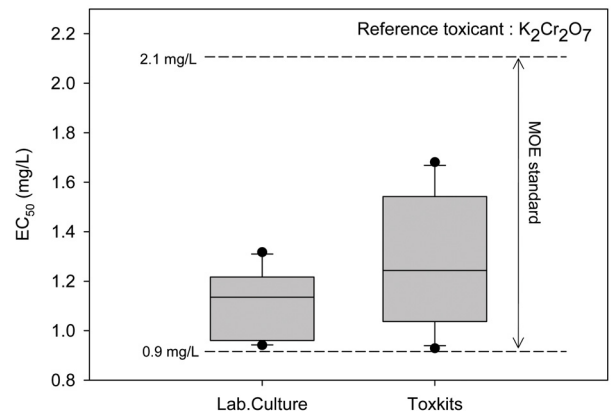


Fig. 3. Comparison of reference toxicant test results between Lab. culture test method and Toxkits test method (n=10, reference toxicant : potassium dicromate (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), 24h EC<sub>50</sub>)

으로 Toxkits 적용가능성을 검토하기 위해 Toxkits 제품을 대상으로 제품에서 규정한 배양액과 기존 배양 물벼룩 시험에서 사용하고 있는 배양액을 이용하여 표준독성시험을 수행하였다(Table 4). 기존 배양액을 이용하여 수행한 표준독성시험 결과 EC<sub>50</sub> 범위는 0.66~0.83 mg/L (평균 0.75 mg/L)로서 국내 정도관리기준(0.9~2.1 mg/L) 범위를 만족시키지 못하였으나, Toxkits 제품설명서에서 제시한 배양액을 사용하여 시험한 결과는 0.93~1.68 mg/L (평균 1.27 mg/L)로 국내 정도관리기준을 만족하였다. 따라서 물벼룩 배양에 적용해온 기존배양액은 Toxkits 시험방법에는 적용할 수 없는 것으로 판단되었다.

4. conclusion

본 논문에서는 국내 폐수 시료에 대한 급성독성 시험방법으로 현재 적용하고 있는 배양물벼룩에 의한 방법을 간소화시킨 시험방법이 기존방법을 대체할 수 있는지에 대한 타당성을 평가해보고자 수행되었다. 국내 폐수시료 83건에

Table 3. Comparison of QC tests on potassium dicromate(K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 24h EC<sub>50</sub>) with *D. magna* from Lab. culture and Toxkits (Persoone et al., 2009)

	Country(org.)	Years	Number of Tests	Mean 24h EC <sub>50</sub> (mg/L)	CV(%)	Range of the EC <sub>50</sub> s (mg/L)
Lab. Culture	Belgium (Vito)	2002-2008	31	0.8	29.9	0.43 ~ 1.64
	The Netherland (G-A*)	1998-2008	27	1.24	21.5	0.7 ~ 1.8
	France (Cemagref)	2004-2007	22	0.97	18.7	0.62 ~ 1.25
	Slovenia (NIC*)	2002-2008	22	1.1	20.3	0.67 ~ 1.56
	Hungary (NIEH*)	2002-2008	22	1.27	18	1 ~ 1.6
	<b>South Korea** (NIER*)</b>	<b>2015-2016</b>	<b>10</b>	<b>1.06</b>	<b>16.6</b>	<b>0.74 ~ 1.32</b>
Toxkits	Belgium (MicroBio Tests Inc)	2002-2008	216	1.15	16.3	0.75 ~ 1.9
	Spain (Interlab)	1997-2008	70	1.02	28.6	0.60 ~ 2
	Slovenia (IPHNG*)	2004-2008	55	1.28	17.8	0.79 ~ 1.74
	<b>South Korea** (NIER*)</b>	<b>2016</b>	<b>10</b>	<b>1.27</b>	<b>20.5</b>	<b>0.93 ~ 1.68</b>

\*G-A: Grontmij-Aquasense, NIC: National Institute of Chemistry, NIEH: National Institute of Envir. Health, NIER: National Institute of Envir. Research, IPHNG: Institute of Public Health Nova Gorica

\*\*Data from author's results

**Table 4.** Comparison of QC results between traditional Lab. culture testing media and Toxkits testing media

	Lab. Culture testing media	Toxkits testing media
Composition	KCl, MgSO <sub>4</sub> , CaSO <sub>4</sub> , NaHCO <sub>3</sub>	NaHCO <sub>3</sub> , CaCl <sub>2</sub> , MgSO <sub>4</sub> , KCl
Number of tests	8	10
Range of the EC <sub>50</sub> (mg/L)	0.66 ~ 0.88	0.93 ~ 1.68
Mean 24h EC <sub>50</sub> (mg/L)	0.75	1.27
CV (%)	8.1	20.5

대하여 기존 배양물벼룩과 Toxikit 물벼룩을 이용한 급성독성시험을 수행하여 그 결과를 비교하였다.

83건 전체시료에 대하여 Toxikit 를 이용한 독성값은 실험실 배양 물벼룩에 의한 독성값을 84 %정도 설명할 수 있었으며 유의수준은 0.01 이하였다( $r^2=0.84, p<0.01, n=83$ ). 이들 시료에서 배양 물벼룩 독성값과 Toxikit 물벼룩 독성값 측정결과와의 차이가 TU 0.5 이하인 건수는 52건으로 전체(83건)의 약 63 %를 차지하였다. 또한 이 구간에 포함된 시료의 독성값 평균은 배양물벼룩 TU 0.5 및 Toxkits TU 0.45 정도로 낮은 수준을 보였고 시료들의 평균 독성값이 높은 경우 두 시험법에 의한 측정값 차이가 큰 것으로 나타났다. 따라서 시료의 생태독성값이 낮은 수준에서는 두 방법간 시험결과값의 차이가 크지 않은 것으로 나타나 현 생태독성 배출허용기준인 TU 2를 기준으로 지도단속시료 등의 배출허용기준 초과여부를 확인하는 경우에 한정한다면 Toxkits를 이용한 방법은 전통적인 물벼룩 시험방법(실험실 배양)을 대체할 수 있을 것으로 판단되었다.

배양 물벼룩과 Toxikit 물벼룩 간의 표준독성시험결과 두 시험방법 간 시험결과와의 차이는 크지 않고 결과 값의 범위도 수질오염 공정시험기준에서 제시한 범의를 대부분 만족하고 있어 Toxikit 물벼룩 시험의 표준독성시험결과는 적합한 것으로 판단되었다.

**References**

Jeon, H. S., Lee, J. J., and Go, G. B. (1998). Statistics for Environmental Engineers. Dong Hwa Technology Publishing Co pp. 344 (Translation version) [Berthouex, P. M. and Brown, L. C. (1994). Statistics for Environmental Engineers. Lewis Publishers]. [Korean Literature]

Korean Agency for Technology and Standards (KATS). (2014). *Water Quality - Determination of the Inhibition of the mobility of Daphnia magna Struss (Cladocera Crustacea) - Acute Toxicity Test*, KS\_ISO 6341:2014. [Korean Literature]

MicroBioTests Inc. (2016). *DAPHTOXKIT F magna*, <http://www.microbiotests.be/information/toxkit-advantagesassets> (accessed Mar. 2016)

Ministry of Environment (MOE). (2014). *Water Quality and Aquatic Ecosystem Conservation Act*, Ministry of Environment. [Korean Literature]

National Institute of Environmental Research (NIER). (2014). *Standard Method for Water Pollutants ES 04704.1, -Acute Toxicity Testing with Daphnia magna-*, National Institute of Environmental Research. [Korean Literature]

National Institute of Environmental Research (NIER). (2015a). *Collected data from Water Environmental Engineering Research Division*, National Institute of Environmental Research. [Korean Literature]

National Institute of Environmental Research (NIER). (2015b). *Business Trip Report on USEPA Whole Effluent Toxicity Testing System*, National Institute of Environmental Research. [Korean Literature]

Persoone, G., Baudo, R., Cotman, M., Blaise, C., Thompson, K. Cl., Moreira-Snatos, M., Vpplatt, B., Torokne, A., and Han, T. (2009). Review on the Acute Daphnia magna Toxicity Test - Evaluation of the Sensitivity and the Precision of Assays Performed with Organisms from Laboratory Cultures or Hatched from Dormant Eggs, *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 393.01, 01p12 - 01p14.

The International Organization for Standardization (ISO). (2012). *Water Quality - Determination of the Inhibition of the Mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea)- Acute Toxicity Test*, ISO 6341 : 2012(E)

United States Environmental Protection Agency (U. S. EPA). (2002). *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*. Fifth Edition. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, D.C. EPA 821-R-02-012.