

수생태 독성자료의 정규성 분포 특성 확인을 통해 통계분석 시 분포 특성 적용에 대한 타당성 확인 연구

옥승엽*** · 문호방* · 나진성**†

*한양대학교 해양융합공학과, **한국생산기술연구원 환경규제기술센터

The Validation Study of Normality Distribution of Aquatic Toxicity Data for Statistical Analysis

Seung-yeop OK***, Hyo-Bang Moon*, and Jin-Sung Ra**†

*Department of Marine Sciences and Convergent Technology, Hanyang University

**Regulatory Chemical Analysis & Risk assessment Center, Korea Institute of Industrial Technology (KITECH)

ABSTRACT

Objectives: According to the central limit theorem, the samples in population might be considered to follow normal distribution if a large number of samples are available. Once we assume that toxicity dataset follow normal distribution, we can treat and process data statistically to calculate genus or species mean value with standard deviation. However, little is known and only limited studies are conducted to investigate whether toxicity dataset follows normal distribution or not. Therefore, the purpose of study is to evaluate the generally accepted normality hypothesis of aquatic toxicity dataset

Methods: We selected the 8 chemicals, which consist of 4 organic and 4 inorganic chemical compounds considering data availability for the development of species sensitivity distribution. Toxicity data were collected at the US EPA ECOTOX Knowledgebase by simple search with target chemicals. Toxicity data were re-arranged to a proper format based on the endpoint and test duration, where we conducted normality test according to the Shapiro-Wilk test. Also we investigated the degree of normality by simple log transformation of toxicity data

Results: Despite of the central limit theorem, only one large dataset (n>25) follow normal distribution out of 25 large dataset. By log transforming, more 7 large dataset show normality. As a result of normality test on small dataset (n<25), log transformation of toxicity value generally increases normality. Both organic and inorganic chemicals show normality growth for 26 species and 30 species, respectively. Those 56 species shows normality growth by log transformation in the taxonomic groups such as amphibian (1), crustacean (21), fish (22), insect (5), rotifer (2), and worm (5). In contrast, mollusca shows normality decrease at 1 species out of 23 that originally show normality.

Conclusions: The normality of large toxicity dataset was not always satisfactory to the central limit theorem. Normality of those data could be improved through log transformation. Therefore, care should be taken when using toxicity data to induce, for example, mean value for risk assessment.

Keywords: aquatic toxicity data, central limit theorem, hazard assessment, normal distribution, Shapiro-Wilk test

†Corresponding author: Regulatory Chemical Analysis & Risk assessment Center, Korea Institute of Industrial Technology (KITECH), Tel: +82-31-8040-6077, Fax: +82-31-8040-6210, E-mail: jinsungra@kitech.re.kr

Received: 01, April, 2019 Revised: 17, April, 2019 Accepted: 20, April, 2019

I. 서 론

국내 「화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」(화평법)은 화학물질 정보를 등록, 심사, 평가하여 이를 국민에게 공유 및 확산함으로써 화학물질의 위험으로부터 국민 건강과 환경보호를 목적으로 시행되었다.¹⁾ 이에 따라 국내 유통되는 기준화학물질 44,365 종 및 모든 신규화학물질은 유해성 및 위해성에 관한 평가가 요구된다. 화평법에 따른 유해성평가는 화학물질의 인체 또는 환경 유해성이나 제조·수입량 범위에 따라 최소 9개부터 최대 46개의 물리·화학적 특성, 인체 유해성, 환경 유해성 평가에 대한 시험자료가 필요하며 환경 유해성평가의 경우 최소 2개부터 최대 18개의 시험자료가 요구된다.¹⁾ 환경 유해성평가의 목적은 화학물질 장기간 또는 단기간 노출에 따른 환경매체 내 악영향이 발생하지 않을 추정 농도인 예측무영향농도(Predicted no-effect concentration, 이하 PNEC) 도출로서 수생태계를 포함한 환경 매체 내 서식하는 생물의 독성자료가 활용된다.²⁾ 수생태계 PNEC 값 도출에는 먹이사슬 내 유기체가 차지하는 3단계(1차 생산자, 1차 소비자, 2차 소비자) 영양단계를 대표하는 조류, 물벼룩, 어류 독성자료가 주로 활용된다.²⁾

PNEC 계산은 가용한 독성자료 유무에 따라 평가계수법 또는 평가계수 기반 외삽법이 활용된다. 평가계수법은 가용한 독성자료가 3단계 영양단계(조류, 물벼룩, 어류)에 대한 급성독성(LC₅₀, EC₅₀) 또는 만성독성(NOEC) 시험자료로 제한될 경우 활용되어진다. 평가계수 기반 외삽법을 활용한 PNEC 도출은 화학물질에 대한 생물종 민감도 분포를 나타내는 종민감도분포(Species Sensitivity Distribution, SSD) 구축에 요구되는 충분한 만성독성자료가 확보된 경우 활용된다.²⁾ 수생태 급성독성자료가 동일 생물종 및 종말점에 대해 한 개 이상 확보된 경우 일반적으로 평균값을 사용하며 유럽³⁾과 미국³⁾은 평균값 도출 시 로그 정규분포(log-normal distribution)를 가정한 기하평균 방법을 적용하고 있다.

일반적으로 독성자료와 같은 표본의 평균 분포는 중심극한정리에 의해 표본이 증가할수록 정규분포에 근사한 것으로 알려져있으며⁴⁾ 충분히 큰 표본은 정규분포를 따르는 것으로 확인되고 있다.⁵⁾ 이에 따라 충분한 수의 독성자료는 중심극한정리에 의해 정규

분포를 가정한 상관(correlation)분석, 회귀(regression) 분석, t-test와 같은 기술통계 분석에 활용되고 있다.⁷⁾ 하지만, 일부 생물종은 중심극한정리를 만족하는 충분한 수의 독성자료가 확인되지 않으며, 충분한 수의 독성자료가 확인되는 경우에도 정규분포를 나타내지 않은 경우가 확인되고 있다. 또한, 동일한 생물종에 확인되는 다수의 독성자료는 다양한 시험방법에 의해 도출되었음에도 차이를 두어 활용되고 있는 않다. 따라서 생물종 별 독성자료의 정규성은 정규성 가정으로 수행되는 다양한 기술통계 분석 및 유해성평가 활용을 위해 확인할 필요가 있다. 본 연구에서는 수생태계 급성독성자료를 활용한 정규성 검정을 통해 다양한 기술통계 분석 및 유해성평가에 적용되는 정규성 가정에 대한 타당성을 검증하고자 한다. 또한, 화학물질 노출에 의해 수생생물에서 확인되는 독성영향인 독성작용기작 종류에 따른 정규성 여부도 확인하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상 물질 및 생물종

대상물질은 단일 생물종 또는 다양한 생물종에 대한 급성독성자료 확보가능성을 고려하여 중금속화합물 2개(mercury compounds, zinc compounds), 유기화학물질 4개(pentachlorophenol, malathion, phenol, chlorpyrifos)를 선정하였다. 또한, 물질 cadmium compounds, copper compounds는 수생생물 중 특히 *Daphnia magna*에 대한 충분히 많은 독성자료의 확보가 예상되어 정규성 검증에 추가적으로 활용하였다. 선정된 4개의 중금속화합물(mercury, zinc, cadmium, copper compounds)의 주요 독성영향은 각 중금속(Hg, Zn, Cd, Cu)원소에 의한 것으로 알려져있어 동일한 중금속원소를 포함하는 물질들은 각각 하나의 화합물로 고려하였다.⁷⁻⁹⁾ 또한, 대상물질의 노출에 따라 확인되는 주요 독성영향인 독성작용기작을 추가 고려하여 정규성 검정을 수행하였다.

생물종 선정은 생태 유해성평가에 활용되는 종민감도분포 구축에서 구분하는 수생생물 분류군을 대상으로 하였다. 본 연구에서는 유럽과(8개 분류군)³⁾과 미국의 종민감도분포 생물종 요구기준(8개 과(family))¹⁰⁾을 고려하여 7개 생물군(양서류, 갑각류, 어류, 곤충류, 윤충류, 연체류, 벌레류)을 선정하였다.

최종적으로 정규성 검정은 선정한 7개 생물 분류군 별 확인되는 종(species) 수준에서의 검증을 수행하였다. 벌레류의 경우 타 분류군에서 확인되지 않는 문(phylum)에 속한 과(family)를 대상으로 하였으며, 이들 역시 종(species) 수준에서 정규성 검증을 수행하였다.

2. 독성종말점 및 노출기간

종말점(endpoint)은 화학물질 노출에 의해 치사(mortality)이 확인되는 급성영향 종말점인 반수 치사농도(lethal concentration 50, 이하 LC_{50})를 선정하였다. 반수 영향농도(effective concentration EC_{50})는 종별로 확인할 수 있는 다양한 영향(behavior, reproduction, development 등)을 고려하기 때문에 독성자료의 통계적 취급이 제한적일 수 있어 본 연구에서는 제외하였다.

노출기간(observation duration)은 급성독성시험방법으로 구분 될 수 있는 기간을 고려하였다. 이에 따라 수집한 자료의 노출기간은 어류 96시간, 나머지 6개 생물군(양서류, 갑각류, 곤충류, 윤형동물, 연체류, 벌레류)은 24시간, 48시간, 72시간, 96시간을 활용하였다. 다만, 앞선 6개 생물군의 독성자료가 동일 노출시간에 대하여 정규성 검정에 충분하지 않은 경우 급성으로 분류할 수 있는 다른 노출기간 자료를 통합적으로 고려하여 정규성 검정에 활용하였다.

3. 독성자료 수집 및 분류

독성자료는 미국 환경보호청(US EPA)에서 운영하는 독성자료 database인 ECOTOX Knowledgebase¹¹⁾에서 수집하였다. 해당 자료는 database 구축 과정에서 전문가 검토(peer-reviewed)가 이루어진 자료이다. 수집 과정에서는 종말점, 노출기간, 독성영향(effect, effect measurement)이 확인되는 자료들을 대상으로 하였으며, 자료의 신뢰성을 높이기 위해 1970년 이후 수행된 최신 자료만 고려하였다. 확보한 독성자료는 종(species) 단위에서 급성독성영향 종말점(LC_{50})을 중심으로 동일한 노출기간(24시간 또는 48시간 또는 72시간 또는 96시간)으로 구분하여 정규성 검정에 활용하였다.

4. 정규성 검정 및 데이터 분석

수집한 수생생물 독성 자료는 종 단위로 구분하였

으며, 정규성 검정은 IBM SPSS software (v21.0)에서 제공하는 모수적 검정법인 Shapiro Wilk test (이하 SW test)를 활용하여 유의 수준 0.05 (95% 유의 수준)에서 정규성 검정을 수행하였다. 정규성 검정에 활용된 생물종 별 독성자료는 3개 이상이 확인되는 경우에 대하여만 적용하였다¹³⁾. 동일한 생물종에 대해 값이 동일하게 나타나는 경우는 정규성 검정에 적용할 수 없기 때문에 제외하였다. 다만, 모든 값이 동일하게 나타나는 경우에 대하여만 고려하였다. 정규성 검정은 일반 정규분포를 따르는지, 로그 변환에 따른 정규분포를 따르는지를 구분 확인하기 위하여 기존 값(LC_{50})과 로그변환 값(log LC_{50})으로 구분하여 수행하였다.

4.1. 개별 노출기간 정규성 검정

개별 노출기간 독성자료의 정규성 검정은 동일 생물종에서 동일하게 확인되는 노출기간의 독성자료를 활용하여 수행하였다. 다수의 노출기간(24시간, 48시간, 72시간, 96시간)이 고려된 6개 생물군(양서류, 갑각류, 곤충류, 윤형동물, 연체류, 벌레류)은 확인되는 각각의 노출기간 별 독성자료를 독립적으로 정규성 검정에 활용하였다.

4.2. 통합 노출기간 정규성 검정

정규성 검정을 목적으로 노출기간 별 독성자료가 충분하지 않은 경우($n < 3$),¹²⁾ 동일 생물종에 확인되는 다수의 노출기간(24시간 그리고/또는 48시간 그리고/또는 72시간 그리고/또는 96시간)의 독성자료를 모두 통합하여 정규성 검정을 수행하였다. 개별 노출기간 독성자료가 정규성 검정에 충분한 경우에도 추가적으로 노출기간을 통합하여 통합 노출기간 자료에 대한 정규성 여부를 검정하였다.

4.3. 중금속화합물 정규성 검정

중금속 원소(Hg, Zn, Cd, Cu)를 가지는 중금속물질의 생물종 별 독성자료는 각각 독립적으로 정규성 검정에 활용하였다. 다만, 동일한 중금속 원소를 갖는 다수의 중금속화합물은 단일 독성 거동 물질로 간주하여 물질별, 생물종별 정규성 여부 판단에 활용하였다. 또한, 유기화학물질과 동일하게 중금속화합물의 정규성 검정은 독성자료 유무에 따라 개별 또는 통합 노출기간을 고려하여 수행하였다.

III. 연구결과 및 고찰

1. 수생 생물군 자료 확보결과

US EPA에서 운영하는 ECOTOX Knowledgebase를 활용한 급성독성자료 확보 결과, 7개 생물군(양서류, 갑각류, 어류, 곤충류, 윤충류, 연체류, 벌레류)에 대하여 154개의 종(species) 단위 독성자료를 확보하였다. 154개의 종은 113개 속(genus) 단위에 포함되며 해당 속은 80개의 과(family) 단위에 포함되는 것으로 확인되었다(Table 1). 계통분류학적 구성에 따른 생물종 단위의 자료를 살펴보면 갑각류가 49종으로 가장 많았으며, 어류 41종, 곤충류 25종,

벌레류(벌레류는 다른 분류군과 중복되지 않는 별도의 과로 구성됨) 25종, 연체류 16종, 양서류 9종, 윤충류 3종의 순으로 나타났다. 종 단위를 구성하는 속 단위 분류는 갑각류 36속, 어류 30속, 벌레류 16속, 곤충류 13속, 연체류 12속, 윤충류 2속 순으로 자료가 확인되었다. 각 생물군 별 속 단위를 구성하는 과 단위 분류는 갑각류 24과, 어류 17과, 벌레류 15과, 곤충 및 연체류 각 9과, 윤충류 2과로 확인되었다. 다만 대상 7개 생물군 중 5개 생물군(갑각류, 어류, 곤충류, 연체류, 벌레류)의 자료는 하나의 과 단위에 다수의 속 단위를 포함하고 있으며, 생물군 별로 갑각류(portunidae (2개 속), daphniidae, pala-

Table 1. Details of each taxonomy group used for normality test

Taxonomic group used for SSD	Families (genera) of each taxonomic group	Number of family/ genus/ species
Amphibian	Bufoinae (Duttaphrynus), Dicoglossidae (Hoplobatrachus), Microhylidae (Microhyla), Pipidae (Xenopus)	4/4/4
Crustacean	Acartiidae (Acartia), Ameiridae (Nitokra), Artemiidae (Artemia), Asellidae (Asellus), Atyidae (Paratya), Callinassidae (Callichirus), Canthocamptidae (Bryocamptus), Centropagidae (Calamoecia), Corophiidae (Corophium), Crangonyctidae (Crangonyx), Daphniidae (Ceriodaphnia, Daphnia, Simocephalus), Dotillidae (Ilyoplax), Gammaridae (Gammarus), Harpacticidae (Tigriopus), Hyalellidae (Hyalella), Moinidae (Moina), Mysidae (Holmesimysis, Archaeomysis, Americamysis, Mysidopsis), Palaemonidae (Macrobrachium, Palaemon, Palaemonetes), Penaeidae (Penaeus, Metapenaeus, Penaeus), Porcellanidae (Petrolisthes), Portunidae (Portunus, Scylla), Temoridae (Temora), Tisbidae (Tisbe), Varunidae (Neohelice, Eriocheir)	24/36/49
Fish	Atherinopsidae (Leuresthes, Menidia), Catostomidae (Xyrauchen), Centrarchidae (Lepomis, Micropterus), Channidae (Channa), Cichlidae (Oreochromis), Clariidae (Clarias), Cyprinidae (Carassius, Cirrhinus, Cyprinus, Danio, Gila, Labeo, Pimephales), Cyprinodontidae (Cyprinodon), Fundulidae (Fundulus), Heteropneustidae (Heteropneustes), Ictaluridae (Ictalurus), Leuciscidae (Ptychocheilus), Moronidae (Morone), Notopteridae (Notopterus), Pleuronectidae (Pseudopleuronectes), Poeciliidae (Cnesterodon, Gambusia, Poecilia), Salmonidae (Oncorhynchus, Salmo, Salvelinus, Thymallus)	17/30/41
Insect	Baetidae (Cloeon), Ceratopogonidae (Culicoides), Chaoboridae (Chaoborus), Chironomidae (Chironomus, Tanytarsus), Culicidae (Aedes, Anopheles, Culex, Culiseta), Dytiscidae (Hygrotus), Limnocharidae (Limnochara), Pleidae (Neoplea), Simuliidae (Simulium)	9/13/25
Rotifer	Brachionidae (Brachionus), Philodinidae (Philodina)	2/2/3
Mollusca	Babyloniidae (Babylonia), Cyrenidae (Corbicula), Lymnaeidae (Lymnaea, Radix), Mytilidae (Perna), Physidae (Physella), Planorbidae (Planorbarius, Planorbella), Tellinidae (Macoma), Unionidae (Lamellidens, Villosa), Veneridae (Meretrix)	9/12/16
Other families	Aeolosomatidae (Aeolosoma), Aphelenchoididae (Aphelenchus), Capitella (Capitellidae), Ctenodrilidae (Ctenodrilus), Dinophilidae (Dinophilus), Dorvilleidae (Ophryotrocha), Dugesidae (Dugesia), Erpobdellidae (Nepheleopsis), Lumbriculidae (Lumbriculus), Naididae (Tubifex), Nereididae (Neanthes, Hediste), Panagrolaimidae (Panagrellus), Rhabditidae (Caenorhabditis), Sagittidae (Ferosagitta), Tubificidae (Limnodrilus)	15/16/16
Total		80/113/154

emonidae, penaeidae (각 3개 속), mysidae (4개 속), 어류(atherinopsidae, centrarchidae (각 2개 속), poeciliidae (3개 속) cyprinidae (7개 속)), 곤충류(chironomidae (2개 속), culicidae (4개 속)), 연체류(planorbidae, unionidae (각 2개 속)), 벌레류(nereididae (2개 속))로 확인되었다.

확보된 zinc compounds의 경골어류(osteichthyes) 독성자료는 확인 가능한 생물 분류에 대한 정보가 계(kingdom), 문(phylum), 상강(superclass) 단위로 제한적이며 본 연구에서 고려하는 과, 속, 종 단위에 대한 정보가 확인되지 않아 제외하였다. 또한, zinc compounds의 연체류 *planorbella trivolvis* (n=5) 자료는 독성 값이 모두 동일한 것으로 확인되었으며 동일한 값은 SW test를 통한 정규성 검정에 반영되지 않기 때문에 제외하였다.

2. 물질별 독성자료 확보결과

대상물질 별 독성자료 확보는 수생생물 독성작용

기작과 함께 고려되어 수행되었다(Table 2). 독성작용기작 확인 결과 pentachlorophenol은 oxidative phosphorylation inhibition,¹³⁾ chlorpyrifos 및 malathion은 acetylcholinesterase inhibition, phenol은 narcosis로 확인되었다.¹⁴⁻¹⁵⁾ 중금속물질의 경우 mercury 화합물은 cardiovascular effect,¹⁶⁾ zinc 화합물은 calcium homeostasis,¹⁷⁾ cadmium chloride는 nephrotoxicity, oxidative stress, immunotoxicity, organ structure and function toxicity¹⁸⁾로 확인되었다. Copper 화합물은 gill damage and hypoxemia 로 확인되었으며 동일한 영향은 mercury 및 zinc 화합물에서도 확인되었다.¹⁹⁻²⁰⁾ 물질 별 독성작용기작은 독성 발현 표적장기 및 메커니즘이 구체적인 유형과 단순 화학물질 노출에 의한 생물학적 활성 감소 및 반응 변화를 통해 독성 발현을 일으키는 유형으로 확인되었다.^{15,19-20)} 메커니즘이 구체적인 경우는 oxidative phosphorylation inhibition, acetylcholinesterase inhibition, gill damage and hypoxemia로 확인되었다.

Table 2. Overview of the number of biota and acute (LC₅₀) toxicity data for 8 chemicals collected from US EPA ECOTOX Knowledgebase

Chemicals* (CAS No.)	MOA [†]	Number of species used (the range of toxicity data number) [‡]								
		Amphibia n	Crustacea n	Fish	Insect	Rotifer	Mollusca	Worm	All species	
Organic	Pentachlorophenol (87-86-5)	I	1(6)	6(4-36)	14(6-48)	2(3-5)	1(6)	2(5-9)	3(4)	29(3-48)
	Chlorpyrifos (2921-88-2)	II	1(5)	12(3-15)	11(5-27)	16(3-51)	1(3)	n.c	n.c	41(3-51)
	Malathion (121-75-5)	II	n.c	12(3-10)	12(5-22)	11(6-99)	n.c	5(3-5)	n.c	40(3-99)
	Phenol (108-95-2)	III	n.c	6(3-29)	5(5-19)	2(5)	1(5)	n.c	1(4-5)	15(3-29)
Inorganic	Mercury compounds	IV, V	3(4-8)	15(3-12)	8(5-24)	4(3-27)	1(9)	5(3-7)	5(4-7)	41(3-27)
	Zinc compounds	IV, VI	n.c	27(3-34)	23(5-51)	n.c	2(5-12)	4(4-12)	12(4-8)	68(3-51)
	Copper compounds	IV	n.c	1(7-127) [§]	n.c	n.c	n.c	n.c	n.c	1(7-127) [§]
	Cadmium chloride (10108-64-2)	VII	n.c	1(5-92) [§]	n.c	n.c	n.c	n.c	n.c	1(5-92) [§]
Total (exclusion duplicate species)			4	49	41	25	3	16	16	154

*mercury compounds: mercury dichloride (7487-94-7), mercury (7439-97-6), zinc compounds: ethylmercury chloride (107-27-7), zinc sulfate (7733-02-0), zinc dichloride (7646-85-7), zinc (7440-66-6), zinc oxide (1314-14-2), zinc sulfate heptahydrate (7446-20-0), copper compounds: copper (II) sulfate (7758-98-7), copper (7440-50-8)

[†]MOA (mode of action): I (oxidative phosphorylation inhibition), II (acetylcholinesterase inhibition), III (narcosis), IV (gill damage and hypoxemia), V (Cardiovascular effect), VI (calcium homeostasis), VII (nephrotoxicity, oxidative stress, immunotoxicity, toxicity to organ structure and function)

[‡]n.c: not considered species

[§]acute toxicity (LC₅₀) data of *daphnia magna*

물질 별 7개 생물 분류군 독성자료 확보 결과, 갑각류 독성자료는 8개 물질 모두에서 확인되었으며, 어류는 6개 물질, 곤충류 및 윤충류는 5개 물질, 양서류 및 벌레류는 4개 물질, 양서류는 3개 물질에서 독성자료가 확인되었다(Table 2). 유기물질의 경우 최소 4개(malathion)부터 최대 7개(pentachlorophenol) 생물 분류군의 독성자료가 확인되었으며 중금속화합물은 최소 5개(zinc compounds)부터 최대 7개(mercury compounds) 생물 분류군에서 독성자료가 확인되었다. 정규성 검증에 충분한 자료를 갖는 것으로 예상되는 copper compounds 및 cadmium compounds에 대하여는 물벼룩(*daphnia magna*) 자료를 확보하였다. Cadmium compounds는 독성 자료 수집 결과 물벼룩에 대하여 모든 자료가 cadmium chloride로 구성되어 있어, 해당 자료만을 사용하였다.

물질 별 확보된 생물종 자료는 중금속화합물이 원소금속 별로 68종(species; zinc compounds), 41종(species; mercury compounds)로 유기물질과 비교하여 상대적으로 많은 생물종 자료가 확인되었다. 유기물질은 각각 41종(chlorpyrifos), 40종(malathion), 29종(pentachlorophenol), 15종(phenol)의 생물종 자료가 확인되었다. zinc compounds에서는 갑각류(27종), 어류(23종), 윤충류(2종), 벌레류(12종) 생물종 자료가 가장 많이 확보되었으며 mercury compounds는 양서류(3종), chlorpyrifos는 곤충류(16종) 생물종

자료가 가장 많이 확보된 물질이었다. 연체류는 malathion 및 mercury compounds에서 동일한 수(5종)의 생물종 자료가 확인되었다. 확보된 생물종 종류는 갑각류가 49종으로 가장 많았으며 어류 41종, 벌레류 25종, 양서류 및 벌레류 16종, 양서류 4종, 윤충류 3종으로 확인되었다. Copper compounds, cadmium chloride의 물벼룩(*daphnia magna*) 독성자료는 앞선 6개 물질 중 가장 많은 자료를 갖는 물질과 비교하여 최소 약 2.5배(n=92)에서 가장 적은 자료를 갖는 물질과 비교하여 최대 약 18배(n=127) 많이 확인되었다.

3. 물질 별 독성자료 정규성 검정 결과

유기물질 및 중금속물질의 수생생물 독성자료 정규성 검정 결과, 로그변환하지 않은 기존 독성 값(LC₅₀) 적용 시 유기물질은 42% (어류, 총 종의 수=31)~83% (벌레류, 총 종의 수=6), 중금속물질은 43% (어류, 총 종의 수=37)~100% (양서류, 총 종의 수=1)의 생물종이 정규성을 나타내고 있는 것으로 확인되었다(Table 3). 갑각류(65%, 총 종의 수=52) 및 벌레류(83%, 총 종의 수=6)는 유기물질에서 정규성 분포를 갖는 종의 비율이 더 높게 나타났으며 양서류(100%, 총 종의 수=1), 곤충류(72%, 총 종의 수=18), 연체류(93%, 총 종의 수=14)는 중금속물질에서 더 높게 나타났다. 유기물질과 중금속물질의 어

Table 3. The ratio of aquatic toxicity data showing normal distribution by original (LC₅₀) and log scale (log LC₅₀)

Species	normality ratio (normality case/all case)			
	Organic chemicals*		Inorganic chemicals†	
	Original scale (LC ₅₀)	Log scale (log LC ₅₀)	Original scale (LC ₅₀)	Log scale (log LC ₅₀)
Amphibian	50% (1/2)	100% (2/2)	100% (1/1)	100% (1/1)
Crustacean	65% (34/52)	83% (43/52)	64% (56/87)	78% (68/87)
Fish	43% (18/42)	64% (27/42)	43% (16/37)	78% (29/37)
Insect	42% (13/31)	61% (19/31)	72% (13/18)	67% (12/18)
Rotifer	75% (3/4)	100% (4/4)	75% (3/4)	100% (4/4)
Mollusca	77% (10/13)	77% (10/13)	93% (13/14)	86% (12/14)
Worm	83% (5/6)	83% (5/6)	50% (9/18)	78% (14/18)
All species	56% (84/150)	73% (110/150)	62% (111/179)	78% (140/179)

*Organic chemicals: pentachlorophenol (87-86-5), chlorpyrifos (2921-88-2), malathion (121-75-5), phenol (108-95-2)

†Inorganic chemicals: mercury compounds (mercury dichloride (7487-94-7), mercury (7439-97-6), ethylmercury chloride (107-27-7)), zinc compounds (zinc sulfate (7733-02-0), zinc dichloride (7646-85-7), zinc (7440-66-6), zinc oxide (1314-14-2), zinc sulfate heptahydrate (7446-20-0)), copper compounds (copper (II) sulfate (7758-98-7), copper (7440-50-8)), cadmium chloride (10108-64-2)

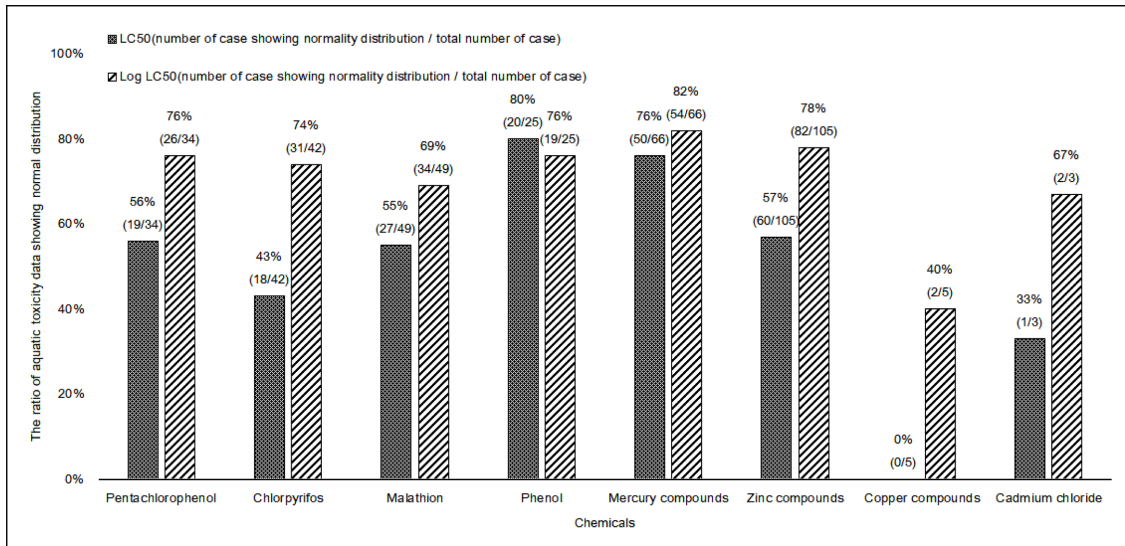


Fig. 1. The normality ratio of aquatic toxicity data for 8 chemicals considering both LC_{50} and $\log LC_{50}$

류 및 윤충류 독성자료의 정규성 분포 비율은 각각 43% (총 종의 수=42 (유기), 총 종의 수=37 (중금속)), 75% (총 종의 수=4 (유기), 총 종의 수=4 (중금속))로 동일하게 나타났다. 또한, 7개 생물 분류군 전체를 대상으로 정규성 분포를 갖는 생물종의 비율을 확인해본 결과 중금속화합물이 62% (총 종의 수=179)로 유기화합물(56%; 총 종의 수=150) 보다 높게 나타났다.

독성 자료를 로그 변환하여($\log LC_{50}$) 정규성 분포를 나타내는 생물종의 비율 변화는 증가, 감소, 변화가 없는 경우를 동시에 고려하여 최종 비율 변화를 나타내었다. 정규성 분포를 나타내는 생물종의 비율은 유기물질의 경우 5개 생물 분류군(양서류, 갑각류, 어류, 곤충류, 윤충류)을 대상으로 비교하여 본 결과 최소 18% (갑각류, 증가한 종의 수=9)에서 최대 50% (양서류, 증가한 종의 수=1) 증가하였다. 중금속물질은 4개 생물 분류군(갑각류, 어류, 윤충류, 벌레류)에서 확인한 생물종 별 독성자료의 정규성 분포 비율이 최소 14% (갑각류, 증가한 종의 수=12)에서 최대 35% (어류, 증가한 종의 수=13) 증가하였으며, 벌레류와 연체류는 각각 5% (감소한 종의 수=1)와 7% (감소한 종의 수=1) 감소하였다. 그러나 독성자료 로그 변환을 통해 정규성 분포를 나타내는 생물종의 비율이 동일하게 확인되는 경우도

확인되었다. 유기물질은 연체류와 벌레류, 중금속물질은 양서류에서 로그변환을 통해 정규성 분포 비율이 증가하지 않는 것으로 확인되었다. 물질에 상관없이 생물 분류군을 모두 고려하여 로그 변환을 통한 정규성 분포 비율의 증가를 확인하여 본 결과 유기화합물과 중금속화합물에서 각각 17% (증가한 종의 수=26)와 16% (증가한 종의 수=29)의 증가를 확인할 수 있었다.

물질 별 가용한 모든 생물군 독성자료를 동시에 고려한 정규성 검정 결과, 로그 변환 전의 독성 값 (LC_{50}) 적용 시 유기물질의 정규성 분포 비율은 43% (chlorpyrifos, 총 종의 수=42)~80% (phenol, 총 종의 수=25)의 범위로 나타났으며 중금속물질은 0% (copper compounds, 총 종의 수=5)~76% (mercury compounds, 총 종의 수=66)의 범위로 나타났다(Fig. 1). 로그 변환한 독성 값($\log LC_{50}$)을 대상으로 정규성 분포 특성을 확인해 본 결과 phenol을 제외한 7개 물질에서 모든 생물군 고려 시 정규성 분포를 나타내는 생물종의 비율이 증가하는 것을 확인하였다. 물질별 정규성 분포를 나타내는 생물종의 비율 증가는 pentachlorophenol (20%, 증가한 종의 수=7), chlorpyrifos (31%, 증가한 종의 수=13), malathion (14%, 증가한 종의 수=7), mercury compounds (6%, 증가한 종의 수=4), zinc compounds (21%, 증가한

종의 수=22), copper compounds (40%, 증가한 종의 수=2), cadmium chloride (34%, 종의 수=1)로 확인되었다. Phenol은 4% (감소한 종의 수=1) 감소하는 것으로 확인되었다.

독성작용기작이 확인되는 물질별 정규성 검정 결과(Fig. 1), 로그 변환 전의 독성 값(LC₅₀) 적용 시 메커니즘이 불명확한 물질 중 phenol은 정규성 분포 비율이 80%로 가장 높게 나타났으나 cadmium chloride은 정규성 분포 비율이 33%로 메커니즘이 명확한 물질 중 copper compounds를 제외한 나머지 5개 물질보다 낮게 나타났다. 로그 변환한 독성 값(log LC₅₀)을 대상으로 정규성 분포 비율을 확인해 본 결과 메커니즘이 명확한 물질 mercury compounds, zinc compounds의 정규성 분포를 나타내는 생물종의 분포 비율은 각각 82, 78%로 phenol (76%)보다 높게 확인되었다. 또한, 메커니즘이 명확한 물질들은 로그변환을 통해 정규성 분포 비율이 모두 증가하였으며 증가 범위는 6% (mercury compounds, 증가한 종의 수=4)~40% (copper compounds, 증가한 종의 수=2)로 확인되었다. 반면 메커니즘이 구체적이지 않은 물질의 경우 cadmium chloride은 정규성 분포 비율이 34%(증가한 종의 수=1) 증가하였으나 phenol은 4%(감소한 종의 수=1) 감소하는 것으로 확인되었다.

통계적으로 수생생물 급성독성자료(LC₅₀)의 정규성 분포를 나타내는 생물종은 로그 변환을 (log LC₅₀)을 통해 증가하는 현상을 확인하였다. 다시 말하면 수생생물의 급성독성자료(LC₅₀)는 일반 정규분포 보다 로그 정규분포에 더 따르는 것으로 생각해 볼 수 있으나 독성작용기작은 정규성 분포 여부에 영향을 주지 않은 것으로 생각된다. 일반적으로 동일 생물종의 독성 평균 값 도출은 로그 정규분포를 가정하기하평균 값을 사용하고 있다.²³⁾ 또한, 모수적 분포를 가정한 중만감도분포 구축에 활용되는 독성자료는 정규성 향상을 목적으로 로그변환 값을 활용하는 경우와 일치하는 것으로 확인되었다.²⁴⁾

4. 개별 및 통합 노출기간을 고려한 독성자료 정규성 검정

7개 생물 분류군(양서류, 갑각류, 어류, 곤충류, 윤충류, 연체류, 벌레류)의 개별 노출기간(24, 48, 72, 96시간)을 고려한 독성자료 중 정규성 검정에 활용 가능한 독성자료가 3개 이상 확보된 경우는 총 329

개 종(species)로 확인되었다. 생물 분류군 별로 확인해 보면 양서류 3개종, 갑각류 139개 종, 어류 79개 종, 곤충류 49개 종, 윤충류 8개 종, 연체류 27개 종, 벌레류 24개 종으로 확인되었다(Table 4). 로그변환을 하지 않은 독성 값(LC₅₀)을 대상으로 정규성 분포를 나타내는 생물종의 비율을 확인해 본 결과 개별 노출기간을 대상으로 한 경우 양서류 67% (총 종의 수=3), 갑각류 65% (총 종의 수=139), 어류 43% (총 종의 수=79), 곤충류 53% (총 종의 수=49), 윤충류 75% (총 종의 수=8), 연체류 85% (총 종의 수=27), 벌레류 58% (총 종의 수=24)로 확인되었다. 7개 생물 분류군을 모두 고려한 정규성 분포를 나타내는 생물종의 비율은 59% (총 종의 수=329)로 나타났다. 로그 변환한 값(log LC₅₀)을 적용하여 정규성 분포를 나타내는 생물종의 비율은 연체류를 제외한 6개 생물 분류군에서 모두 증가하였다. 생물군 별로 증가한 종의 비율은 양서류(33%, 증가한 종의 수=1), 갑각류(15%, 증가한 종의 수=21), 어류(28%, 증가한 종의 수=22), 곤충류(10%, 증가한 종의 수=5), 윤충류(25%, 증가한 종의 수=2), 벌레류(21%, 증가한 종의 수=5)로 확인되었다. 연체류는 4%(감소한 종의 수=1) 감소하는 것으로 확인되었다.

개별 노출기간별로 독성자료가 3개 미만으로 확인된 경우, 노출기간에 무관하게 모든 독성자료를 통합하여 정규성 검정에 활용하였다. 6개 생물 분류군에 대하여 총 110개 종에서 해당의 사례가 확인되었다. 생물 분류군 별로는 양서류 4개 종, 갑각류 62개 종, 벌레류 16개 종, 윤충류 3개 종, 연체류 12개 종, 벌레류 13개 종으로 확인되었다(Table 4). 로그변환을 하지 않은 독성 값(LC₅₀)의 정규성은 양서류, 갑각류, 곤충류, 윤충류, 연체류, 벌레류에 대하여 각각 100% (총 종의 수=4), 39% (총 종의 수=62), 31% (총 종의 수=16), 33% (총 종의 수=3), 58% (총 종의 수=12), 54% (총 종의 수=13)로 확인되었다. 정규성 분포 비율은 양서류를 제외하고 5개 생물 분류군에서 로그변환 (log LC₅₀)을 통해 증가하는 것으로 확인되었다. 생물 분류군 별로 확인해 보면 갑각류 69% (증가한 종의 수=19), 곤충류 69% (증가한 종의 수=6), 윤충류 67% (증가한 종의 수=1), 연체류 83% (증가한 종의 수=3), 벌레류 69% (증가한 종의 수=2)로 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

정규성 검정 시 로그변환을 통해 노출기간을 개별

Table 4. The ratio of toxicity data showing normality distribution considering each and integrated observed duration

Species	Data unit	The ratio of normality distribuion (normality case/all case)	
		Each observed duration*	Integrated observed duration†
Amphibian	Original scale (LC ₅₀)	67% (2/3)	100% (4/4)
	Log scale (log LC ₅₀)	100% (3/3)	75% (3/4)
Crustacean	Original scale (LC ₅₀)	65% (90/139)	39% (24/62)
	Log scale (log LC ₅₀)	80% (111/139)	69% (43/62)
Fish	Original scale (LC ₅₀)	43% (34/79)	not considered species
	Log scale (log LC ₅₀)	71% (56/79)	not considered species
Insect	Original scale (LC ₅₀)	53% (26/49)	31% (5/16)
	Log scale (log LC ₅₀)	63% (31/49)	69% (11/16)
Rotifer	Original scale (LC ₅₀)	75% (6/8)	33% (1/3)
	Log scale (log LC ₅₀)	100% (8/8)	67% (2/3)
Mollusca	Original scale (LC ₅₀)	85% (23/27)	58% (7/12)
	Log scale (log LC ₅₀)	81% (22/27)	83% (10/12)
Worm	Original scale (LC ₅₀)	58% (14/24)	54% (7/13)
	Log scale (log LC ₅₀)	79% (19/24)	69% (9/13)
All species	Original scale (LC ₅₀)	59% (195/329)	44% (48/110)
	Log scale (log LC ₅₀)	76% (250/329)	71% (78/110)

*Each observed duration: the normality test carried out with different observed duration (24 h or 48 h or 72 h or 96 h)

†Integrated observed duration: the normality test carried out with all identified observed duration (24 h or/and 48 h or/and 72 h or/and 96 h) for same species

적으로 고려한 경우에는 55개 생물종, 노출기간을 통합적으로 고려한 경우에는 40개의 생물종에서 정규성이 증가하였다. 일부 생물 분류군은 로그변환을 통해 분류군에 속한 생물종의 정규성이 감소하는 경우도 확인되었다. 독성자료가 충분한 것으로 정규성 검증의 기준으로 활용해보고자 적용한 cadmium chloride (n=92), copper sulfate (n=127), copper (n=97)의 개별노출기간(48시간)을 고려한 물벼룩(*daphnia magna*) 사례에서도 정규성을 나타내지 않았다. 다만, *daphnia magna*를 활용한 연구에서는 독성자료의 정규성 향상을 목적으로 로그 변환 값을 활용하는 것으로 확인되었다.²⁵⁻²⁶⁾

따라서 기술통계 및 유해성평가에 활용되는 독성자료는 정규성 향상을 목적으로 로그변환을 수행한 값의 적용이 가능하지만, 독성자료가 부족하여 상이한 노출기간의 자료를 같이 활용하여 평균, 기하평균 등을 산출하는 것에서는 조심스럽게 접근해야 할 것으로 판단되었다.

IV. 결 론

본 연구는 수생생물 급성독성자료를 활용하여 유해성평가 및 기술통계 분석 시 적용하는 중심극한정리에 따른 정규성 가정을 적용하는 것에 대한 타당성을 확인하였다. 활용된 생물종 중 중심극한정리에 부합되는 충분한 수(25개 이상)의 독성자료가 확인되는 27개의 생물종은 모두 정규분포를 따르지 않았다. 다만, 로그 변환을 통해 일부 7개 생물종에서 정규분포가 확인되었으며 경우에 따라 독성자료가 작은 경우에 정규분포가 확인되었으며 로그 변환을 통해 정규성 증가를 나타내었다.

독성 자료의 로그 변환을 통해 유기물질은 26개, 중금속물질은 29개 생물종에서 추가적으로 정규성이 확인되었다. 생물 분류군 별로 확인하면, 양서류 1개 중, 갑각류 21개 중, 어류 22개 중, 곤충류 5개 중, 운충류 2개 중, 벌레류 5개 중에서 독성자료의 정규성이 증가하였다. 그러나 연체류는 1개 중에서

의 독성자료의 정규성이 감소하였다. 일반적으로 독성 자료가 충분할 경우 정규 또는 로그정규분포를 따를 것으로 예상하고 있으나, 충분한 독성 자료 ($n=92\sim 127$)를 확인할 수 있는 물벼룩(*daphnia magna*)을 대상으로 정규성 분포 여부를 확인해 본 결과 정규성을 따르지 않는 것으로 확인되었다. 결론적으로 정규분포를 가정한 독성자료 활용 시 정규성 향상을 목적으로 로그변환 방법의 적용은 적절할 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 본 연구에서 활용한 7개 생물 분류군에 속한 생물종의 독성 자료를 바탕으로 평가해 본 결과 자료가 충분한 경우에도 (로그)정규분포를 따르지 않는 경우도 확인되고 있다. 따라서 생물종의 독성 값 평균 등을 산출하는데 있어 단순히 $n>3$ 의 자료 확보만으로 (로그)정규분포를 따르는 것으로 가정하는 것보다 n 값의 수를 증가하여 적용하거나, 실험실간 발생할 수 있는 오차를 고려해 줄 수 있는 방안 마련이 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2017년 정부(미래창조과학부)의 재원으로 국가과학기술연구회 창의형 융합연구사업(No. CAP-17-01-KIST Europe)의 지원을 받아 수행되었습니다.

References

1. Korea ministry of government legislation. Act on registration, evaluation, etc. of chemical. Available: <http://law.go.kr>. [accessed 25 March 2019].
2. European Commission. Technical Guidance Document Part 7 in support of the Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for existing substances; 2003. p. 99-105.
3. United States Environmental Protection Agency. Guidelines for Deriving Numerical National Water Quality Criteria for the Protection Of Aquatic Organisms and Their Use; 1985. p. 16-20.
4. Lumley T, Diehr P, Emerson S, Chen L. The Importance of the Normality Assumption in Large Public Health Data Sets. *Annu. Rev. Public Health*. 2002; 23:151-169.
5. Robert V. Hogg, Elliot A. Tanis, Dale L. Zimmerman. Probability and Statistical Inference. Pearson Education, Inc. 9th ed; 2014. p. 200-202.
6. Ghasemi A, Zahediasl S. Normality Tests for Statistical Analysis: A Guide for Non-Statisticians. *Int J Endocrinol Metab*. 2012; 10(2):486-489.
7. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl*. 2012; 101:133-64.
8. J. F. SKIDMORE. Toxicity of Zinc Compounds to Aquatic Animals with Special Reference to Fish. *The Quarterly Review of Biology*. 1964; 39(3):227-48.
9. Solomon F. Impacts of Copper on Aquatic Ecosystems and Human Health. *Environment and Communities*. 2009; 25-28.
10. United States Environmental Protection Agency. Aquatic Life Ambient Water Quality Criterion for Selenium-Freshwater 2016. 2016; p. 33-35.
11. United States Environmental Protection Agency. ECOTOX Knowledgebase. Available: <https://cfpub.epa.gov/ecotox/> [accessed 25 March 2019].
12. S. S. Shapiro and M. B. Wilk. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika*. 1965; Vol. 52, No. 3/4, pp. 591-611.
13. World Health Organization. International Programme on Chemical Safety. Available: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim405.htm> [accessed 25 March 2019].
14. Barata C, Solayan A, Porte C. Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorus(chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*. 2004; p. 125-139.
15. Russom CL, Bradbury SP, Broderius SJ, Hammermeister DE, Drummond RA. Preding modes of toxic action from chemical structure: Acute toxicity in the fathead minnow(*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 1997; Vol. 16, No. 5, pp 948-967.
16. Azevedo BF, Furieri LB, Peçanha FM, Wiggers GA, Vassallo PF, Simoes MR, et al. Toxic Effects of Mercury on the Cardiovascular and Central Nervous Systems. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012; vol. 2012, p. 11.
17. Zeng L, Huang L, Zhao M, Liu S, He Z, et al. Acute Toxicity of Zinc Sulfate Heptahydrate ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) and Copper (II) Sulfate Pentahydrate ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) on Freshwater Fish, *Percocypris pingi*. *Fisheries and Aquaculture Journal*. 2018; 9:240.
18. Kumar P, Singh A. Cadmium toxicity in fish: An

- overview. *GERF Bulletin of Biosciences*. 2010; 1(1):41-47.
19. Ameen, U., Afshan, S., Ali, S., Farid, M., Bhargwana, S., Hannan, F., et al. Effect of Different Heavy Metal Pollution on Fish. *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences*. 2014; 2, 74-79.
 20. P.-Y. Daoust, G. Wobeser, J.D. Newstead. Acute Pathological Effects of Inorganic Mercury and Copper in Gills of Rainbow Trout. *Veterinary Pathology*. 1984; 21:93-101.
 21. Bradbury SP, Carlson RW, Henry TR. "Polar Narcosis in Aquatic Organisms". In Williams LR, Cowgill UM (eds.). *Aquatic toxicology and hazard assessment*. 12. Philadelphia: American Society for Testing and Materials. pp. 1989; 59-73.
 22. Rand GM. *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment* (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press. 1995; pp. 50-53.
 23. Melnikov F, Kostal J, Voutchkova-Kostal A, Zimmerman J, Anastats P. Assessment of predicitive models for estimating the acute aquatic toxicity of organic chemicals. *Green Chem*. 2016; 18, 4432-4445.
 24. King GKK. Revisiting Species Sensitivity Distribution : modelling species variability for the protection of communities. Bio-Informatique, Biologie Systémique [q-bio.QM]. [Français]: Université Claude Bernard-Lyon I; 2015.
 25. Campos B. *Daphnia magna* bioassays to detect novel Eco-toxicological effects of priority and emergent contaminants.[Barcelona]: University Politècnica de Catalunya (UPC); 2014.
 26. Guilhermino L, Diamantino T, Silva M, Soares A. Acute Toxicity Test with *Daphnia magna*: An Alternative to Mammals in the Prescreening of Chemical Toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2000; 46(3):357-62.

<저자정보>

옥승엽(학생연구원), 문효방(교수), 나진성(수석연구원)