

## 해산규조류(*Skeletonema costatum*)의 개체군 성장률을 이용한 phenanthrene와 zinc undecylenate의 독성평가

이주욱, 최 훈, 박유희, 이 윤, 허 승, 황운기\*

국립수산과학원 서해수산연구소 자원환경과 해양생태위해평가센터

## Toxic evaluation of phenanthrene and zinc undecylenate using the population growth rates of marine diatom, *Skeletonema costatum*

Ju-Wook Lee, Hoon Choi, Yun-Ho Park, Yoon Lee, Seung Heo and Un-Ki Hwang\*

Marine Ecological Risk Assessment Center, West Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Incheon 22383, Republic of Korea

### \*Corresponding author

Un-Ki Hwang  
Tel. 032-745-0680  
E-mail. vngi1@korea.kr

Received: 2 September 2019

Revised: 16 September 2019

Revision accepted: 16 September 2019

**Abstract:** We evaluated the toxic effects of phenanthrene (PHE) and zinc undecylenate (ZU) on the population growth rate ( $r$ ) of the marine diatom, *Skeletonema costatum*. The  $r$  of *S. costatum* was determined after 96 hrs of exposure to PHE (0, 25, 50, 100, 200 and 300 mg L<sup>-1</sup>) and ZU (0, 5, 10, 15, 20 and 25 mg L<sup>-1</sup>). The results showed that  $r$  in the control (the absence of PHE and ZU) was greater than 0.04, while  $r$  in the treatment groups decreased with increasing PHE and ZU concentrations. PHE and ZU were shown to reduce  $r$  in a dose-dependent manner, with significant decreases occurring at concentrations above 50 and 10 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The EC<sub>50</sub> values of  $r$  in PHE and ZU exposure were 136.13 and 16.95 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The no observed effect concentrations (NOEC) were 25 and 5 mg L<sup>-1</sup>, and the lowest observed effect concentrations (LOEC) were 50 and 10 mg L<sup>-1</sup>. These results indicated that concentrations of greater than 50 mg L<sup>-1</sup> of PHE and 10 mg L<sup>-1</sup> of ZU in marine ecosystems induced a toxic effect on the  $r$  of *S. costatum*. These results can serve as useful baseline data for the establishment of safety concentrations of PHE and ZU in marine ecosystems.

**Keywords:** phenanthrene, zinc undecylenate, marine diatom, toxicity

## 서 론

인류의 생산 및 소비활동으로 인한 각종 오염원의 유입이 해양오염의 상당부분을 기여하는 것으로 알려져 있으나 (Reddy *et al.* 2005; Lee *et al.* 2017), 최근에는 해상 및 어로 활동에 의해 발생하는 유류 및 방오도료 (antifouling paints; AFPs)와 같은 유기물질에 의한 오염이 증가하는 추세다

(Martinez-Llado *et al.* 2007). 국제해사기구 (International Maritime Organization; IMO)는 유기오염물질의 농도를 저감하기 위하여 선박활동으로 유입되는 유류 유출 규제를 강화시키고 있고 (Martinez-Llado *et al.* 2007), 독성이 높은 방오도료의 사용을 점진적으로 금지하고 있지만 (Jacobson and Willingham 2000; Hwang *et al.* 2018), 이미 해양환경으로 유입된 유류 및 방오도료는 해양환경 내 잔류

할 수 있기 때문에 지속적으로 해양생물에게 영향을 미칠 것으로 판단된다(Stronkhorst and van Hattum 2003; Hwang *et al.* 2018).

유류 유출사고 및 화석연료 연소 과정에서 발생하는 다환방향족탄화수소류 (polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs)는 유류기원의 대표적인 오염물질로 수많은 화합물이 존재하지만 naphthalene, benzopyrene 및 phenanthrene (PHE)과 같이 대부분의 구성성분이 독성이 높다고 알려져 있다(Chiapusio *et al.* 2007). 특히 PHE는 난분해성 물질로 해양환경 내에서 다른 PAHs 보다 고농도로 존재하며, 생물 체내에 축적되어 해양생물의 대사 및 생존에 영향을 미칠 수 있다(Shin and Kim 2003; Wu *et al.* 2013). 또한, 내분비교란물질(endocrine disruptors)로 밝혀져 IMO에서 사용이 금지된 TBT (tributyltin)을 대체하기 위해 신방오도로로 cuprous oxide (Cu<sub>2</sub>O)와 copper thiocyanate (CuSCN)를 기반으로 copper pyrithione (CP), zinc pyrithione (ZP), zineb, ziram 및 zinc undecylenate (ZU)와 같은 금속계와 irgarol, diuron, sea-nine 211 (SN) 및 chlorothalonil (CN)과 같은 비금속계를 혼합하여 사용하고 있다(Jung 2012; Shin *et al.* 2015; Soroldoni *et al.* 2017; Amara *et al.* 2018). 현재 신방오도로에 대한 생물영향 평가가 수행되고 있지만, ZU는 다른 방오도로에 비해 상대적으로 독성이 낮아 많은 연구가 수행되고 있지 않다(Lin *et al.* 2006; Hwang *et al.* 2018). PHE와 ZU 같은 유기오염물질은 해상활동이 빈번한 항구 주변에서 높은 농도로 검출되며(Lam *et al.* 2017), 대도시와 인접한 연안에서 주변의 항구 및 수로보다 최고 200배 이상 높게 보고된 사례가 있다(Kim *et al.* 2008). 또한 해안선이 복잡한 서해와 남해연안에서 신방오도로의 평균농도가 증가하고 오염지역이 확대되는 것으로 보고되고 있다(Lee *et al.* 2011; Lee *et al.* 2015). PHE와 ZU 같은 유기오염물질은 연안에 서식하는 다양한 생물에게 영향을 줄 것으로 예상되며(Hwang *et al.* 2017, 2018), 직·간접적으로는 인류에게도 영향을 미칠 것으로 예상된다.

본 연구는 해양생태계 내에서 생산자를 대표하며, 우리나라 전 연안역에서 우점하는 식물플랑크톤인 *Skeletonema costatum*의 개체군성장률(*r*)을 이용하여, 해양환경공정시험법 해양생물공정시험기준(MOF 2018)에 따라 PHE와 ZU의 독성평가를 실시하였다. 또한, 무영향농도(No Observed Effective Concentration; NOEC), 최소영향농도(Lowest Observed Effective Concentration; LOEC) 및 반수영향농도(50% Effective Concentration; EC<sub>50</sub>)를 제시해, 이

들 유기오염물질에 대한 해양환경기준을 설정하기 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험생물

시험생물은 해산규조류 *S. costatum* (Greville) Cleve이며, 한국해양미세조류은행(Korean Marine Microalgae Culture Center; KMMCC)에서 분양받아 항온실에서 6개월 이상 계대배양하였다. 배양온도는 20.0 ± 1.0°C, 광량은 형광등을 이용하여 3,000~4,000 Lux, 광주기는 10 Light : 14 Dark를 유지하며 f/2 배지(Lananan *et al.* 2013)로 배양하였다.

### 2. 유기오염물질 농도조성

시험에 사용한 PHE (phenanthrene 98%, Sigma-aldrich, USA)과 ZU (zinc undecylenate 98%, Sigma-aldrich, USA)는 DMSO (Dimethylsulfoxide, Sigma-aldrich, USA)에 녹여 100,000 mg L<sup>-1</sup>의 stock solution으로 제조하였다. 시험용액 제조에 사용된 DMSO의 최대농도는 0.3%로 예비실험을 통하여 *S. costatum*의 성장에 영향을 미치지 않는 것을 확인하였다(Okumura *et al.* 2001). *S. costatum* 개체군성장률에 미치는 유기오염물질의 영향을 살펴보기 위하여, PHE와 ZU의 stock solution을 멸균된 자연해수로 희석하여 사용하였다. 유기오염물질의 노출 농도는 예비실험을 통하여 PHE는 0, 25, 50, 100, 200 및 300 mg L<sup>-1</sup>, ZU는 0, 5, 10, 15, 20 및 25 mg L<sup>-1</sup>로 조성하였다.

### 3. 배양조건

50 mL test tube에 농도별로 조성한 시험용액을 각각 30 mL씩 분주하였고 시험은 대조구를 포함한 6구간, 각 농도당 3반복으로 실시하였다. *S. costatum*의 세포수를 계수하여 초기 세포농도가 약 5,000 cell mL<sup>-1</sup>이 되도록 시험용액에 접종하고 f/2 배지를 540 µL 첨가하였다. 배양조건은 조도 3,000~4,000 Lux, 온도 20.0 ± 1.0°C에서 96시간 배양하였으며, 자세한 배양조건은 Table 1에 나타냈다(MOF 2018).

### 4. 개체군 성장률 측정

96시간 배양 후 *S. costatum*의 *r*을 계산하기 위해 fluorometer (Turner Designs Model 10-AU, USA)를 이용하여 각

각의 test tube의 형광량을 측정하였다. 식물플랑크톤의  $r$  (specific population growth rate)은 형광량으로 계산된 엽록소 농도를 회귀방정식(형광량=세포밀도)을 이용하여 세포밀도로 환산한 후 아래와 같은 계산식으로 도출하였고, 대조구의  $r$ 이 0.04 이상일 경우에 유의한 시험결과로 사용하였다(MOF 2018).

$$r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

**Table 1.** Experimental culture condition of *Skeletonema costatum*

Test parameter	Condition
Culture type	Static non-renewal 96 hrs toxicity test
Photoperiod	Ambient light condition and 10L:14D period
Light intensity	3,000-4,000 Lux
Temperature	20.0±1.0°C
Salinity	30.0±1.0
pH	8.0±0.2
Chamber volume	50 mL test tube
Solution	Filter (0.45 µm) and sterilized seawater
Solution change	None
Test solution volume	30 mL
Culture medium	f/2
Initial cell density	5,000 cells mL <sup>-1</sup>
Experiment period	96 hrs
Acceptability criterion	>0.04 population growth rate by the hour

$r$ =개체군 성장률,  $N_t$ =실험종료 후의 세포밀도,  $N_0$ =초기세포밀도,  $t$ =배양시간

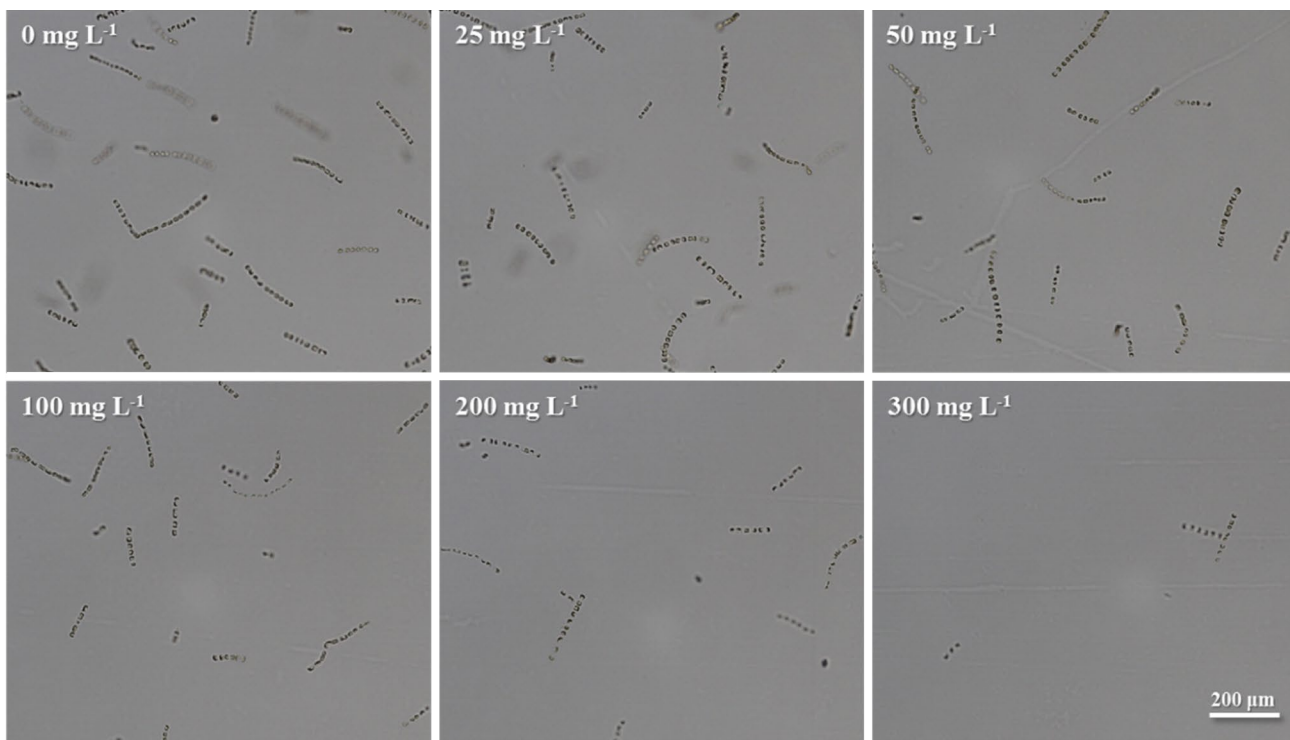
### 5. 통계학적 분석

대조구와 시험구의 유의성 검정은 SigmaPlot software (SigmaPlot 2001, SPSS Inc., USA)의 Student's  $t$ -test로 비교하였으며  $p$ 가 0.05 이하일 때 유의한 시험결과로 판단하였다. *S. costatum*의 개체군성장률에 대한 EC<sub>50</sub>과 95% 신뢰구간(95% confidence limit; 95% CI)은 ToxCalc software (ToxCalc 5.0, Tidepool scientific software, USA)의 probit 통계법을 이용하여 분석하였고, NOEC와 LOEC는 동일 software의 Dunnett's test를 사용하여 분석하였다.

## 결 과

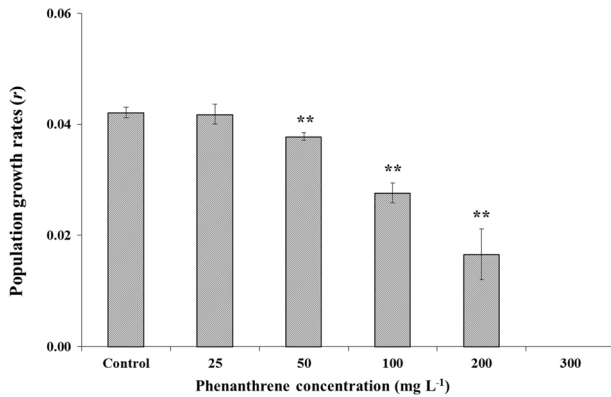
### 1. PHE가 *S. costatum*의 $r$ 에 미치는 영향

PHE가 *S. costatum*의  $r$ 에 미치는 영향은 Fig. 1에 나타냈으며, 대조구의  $r$ 은 0.04 이상으로 해양환경공정시험



**Fig. 1.** Representative images of cell density of *Skeletonema costatum* exposed at different concentrations (0, 25, 50, 100, 200, and 300 mg L<sup>-1</sup>) of phenanthrene.

법 해양생물공정시험기준(MOF 2018)에 부합하였다. *S. costatum*의  $r$ 은 최소농도인  $25 \text{ mg L}^{-1}$ 에서는  $0.041 \pm 0.002$ 로 대조구와 유의한 차이가 없었으나, 그 이상의 농도에서는 PHE가 증가할수록 농도의존적으로 감소하는 경향을 보였다.  $50 \text{ mg L}^{-1}$  농도에서  $r$ 이 유의적( $p < 0.01$ )으로 감소



**Fig. 2.** Change in population growth rates in *Skeletonema costatum* exposed to phenanthrene. Vertical bars represent means $\pm$ SD for three replicates. \*\*indicates statistical significance at  $p < 0.01$  compared to control.

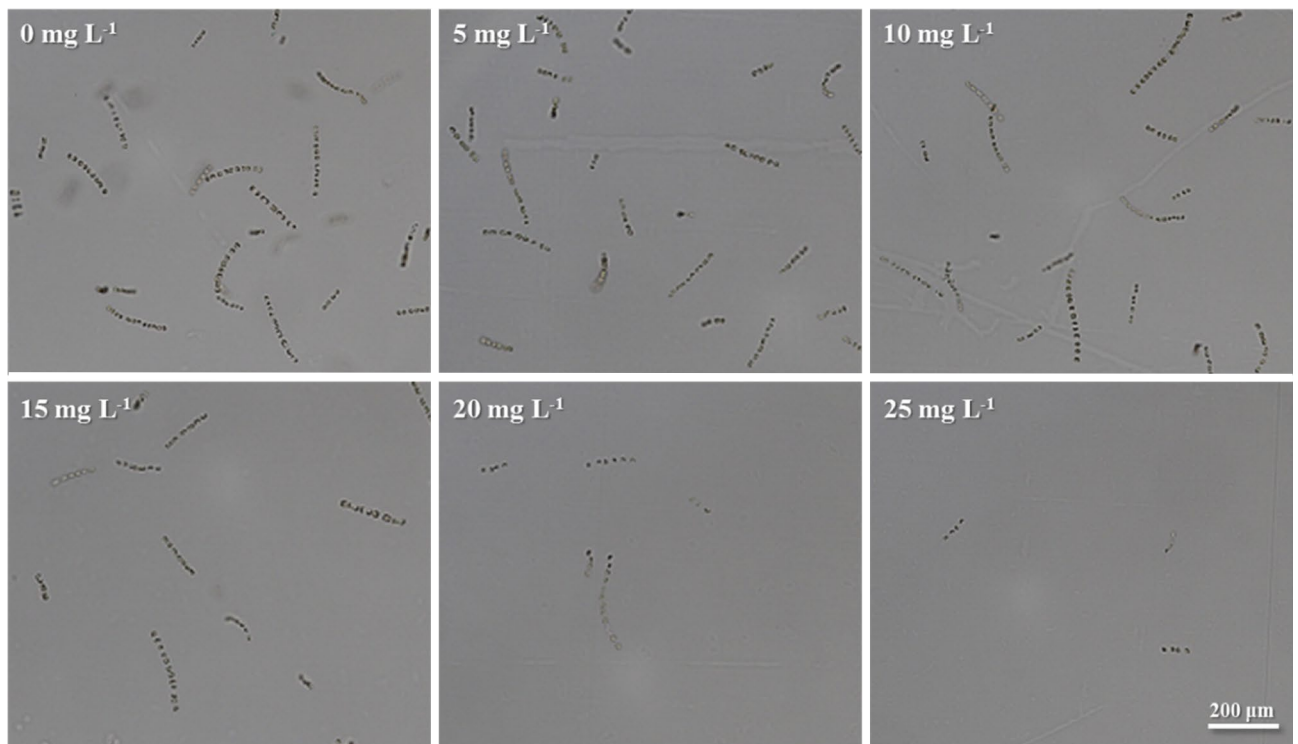
하기 시작하여,  $100 \text{ mg L}^{-1}$  농도에서는  $r$ 이  $0.028 \pm 0.002$ 로 대조구 대비 34%,  $200 \text{ mg L}^{-1}$ 에서  $r$ 이  $0.017 \pm 0.005$ 로 61% 감소하였으며, 실험 최고농도  $300 \text{ mg L}^{-1}$ 에서는  $r$ 을 관찰할 수 없었다(Fig. 2).

## 2. ZU가 *S. costatum*의 $r$ 에 미치는 영향

ZU가 *S. costatum*의  $r$ 에 미치는 영향은 Fig. 3에 나타냈으며, 대조구의  $r$ 은 0.04 이상으로 시험기준에 부합하였다. *S. costatum*의  $r$ 은 ZU 농도가 증가할수록 농도의존적으로 감소하는 경향을 보였고,  $10 \text{ mg L}^{-1}$  농도에서  $r$ 이  $0.040 \pm 0.001$ 로 대조구 대비 유의적( $p < 0.05$ )으로 감소하기 시작하여,  $15 \text{ mg L}^{-1}$  농도에서  $r$ 이  $0.033 \pm 0.001$ 로 대조구 대비 21%,  $20 \text{ mg L}^{-1}$ 에서  $r$ 이  $0.006 \pm 0.001$ 로 87%로 급격하게 감소하였으며 최고농도  $25 \text{ mg L}^{-1}$ 에서는  $r$ 을 산출할 수 없었다(Fig. 4).

## 3. *S. costatum* $r$ 을 이용한 PHE와 ZU의 독성평가

PHE와 ZU에 노출된 *S. costatum*의  $r$ 은 노출농도에 표



**Fig. 3.** Representative images of cell density of *Skeletonema costatum* exposure at different concentrations (0, 5, 10, 15, 20 and  $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) of zinc undecylenate.

준독성반응인 Sigmoid 형태를 나타냈다(Fig. 5). PHE에 대한 *S. costatum* r의 NOEC와 LOEC는 각각 25, 50 mg L<sup>-1</sup>, EC<sub>50</sub>은 136.13 mg L<sup>-1</sup>, EC<sub>50</sub>의 95% Fiducial limits는 85.90~198.28 mg L<sup>-1</sup>으로 나타났다. ZU에 대한 *S. costatum* r의 NOEC와 LOEC는 각각 5, 10 mg L<sup>-1</sup>, EC<sub>50</sub>은 16.95 mg L<sup>-1</sup>, EC<sub>50</sub>의 95% Fiducial limits는 15.73~18.47 mg L<sup>-1</sup>로 나타났다(Table 2).

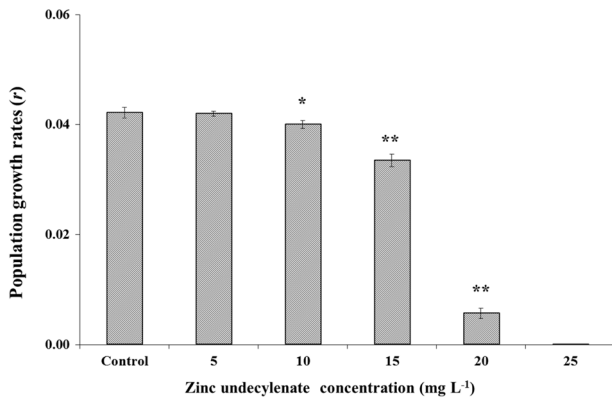


Fig. 4. Change in population growth rates in *Skeletonema costatum* exposed to zinc undecylenate. Vertical bars represent means ±SD for three replicates. \* and \*\* indicate statistical significance at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively, compared to control.

## 고찰

PAHs는 화석연료를 구성하는 다양한 유기화합물 중에서 반휘발성탄화수소(semi-volatile hydrocarbons) 화합물에 포함되며, 미국환경보호청(US EPA)에서는 PAHs 중에서 16종을 특별관리 대상물질로 지정하였다(Ribeiro *et al.* 2012). PAHs는 주로 유류 유출 및 화석연료의 연소와 같은 인위적인 활동을 통해서 해양환경으로 유입되며, 유류에서 기원하는 PAHs는 PHE를 가장 많이 포함하고 있다(Achten and Hofmann 2009; Ribeiro *et al.* 2012). PHE는 성게(*Psammechinus miliaris*)에서 난모세포의 성장과 성숙을 억제하여 생식기능에 영향을 주고(Schäfer and Köhle 2008), zebrafish의 경우에는 망막세포의 성장을 방해하여 망막발달 장애를 일으켰으며(Huang *et al.* 2013), human

Table 2. Toxicity evaluation using population growth rate in *Skeletonema costatum* exposed to phenanthrene and zinc undecylenate

Items	Phenanthrene (mg L <sup>-1</sup> )	Zinc undecylenate (mg L <sup>-1</sup> )
NOEC	25	5
LOEC	50	10
EC <sub>50</sub>	136.13	16.95
95% CI	85.90-198.28	15.73-18.47

NOEC: No observed effective concentration, LOEC: Lowest observed effective concentration, EC<sub>50</sub>: 50% Effective concentration, 95% CI: 95% Confidence limit.

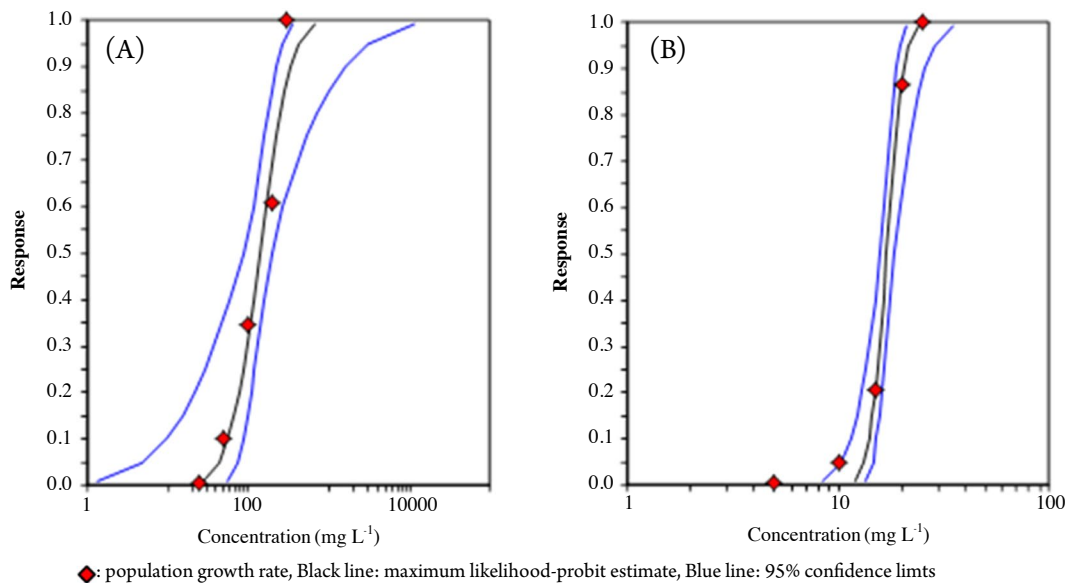


Fig. 5. Concentration-response curves for the effects of phenanthrene (A) and zinc undecylenate (B) on population growth rate in *Skeletonema costatum*.

B-lymphoblastoid cell line의 MCL-5에서는 돌연변이 유발 가능성(Sasaki *et al.* 1997)을 나타내 생식, 성장, 유전변이 등 다양한 수준에서 생물독성을 나타낸다. TBT를 대체하기 위해 사용되고 있는 신방오도료는 표적생물 이외의 해양환경 및 다른 생물에게 독성 영향을 나타내지 않은 것이 이상적이지만(Nakanishi 2007; Antizar-Ladislao 2008; Oliveira *et al.* 2017; Zecher *et al.* 2018), 살생물제(biocide) 특성상 비표적 생물에게도 일부 독성 영향이 나타나는 것으로 알려져 있다(Jung *et al.* 2017). ZU는 신방오도료 중에서도 가장 독성이 낮다고 알려져 있지만(Lansdown 1991; Lin *et al.* 2006; Hwang *et al.* 2018), ZU를 구성하는 물질 중 Zn은 방오도료 입자에서 Cu 다음으로 가장 많이 검출되는 중금속으로 해산로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 *r*을 억제할 수 있으며(Hwang *et al.* 2014; Soroldoni *et al.* 2017), undecylenate의 항균작용으로 가시파래(*Ulva prolifera*)의 포자 운동성을 억제할 수 있는 것으로 알려져 있다(Jung 2012).

본 연구결과 *S. costatum*의 *r*은 PHE와 ZU의 농도가 증가할수록 농도의존적 감소하는 경향을 보였으나, PHE에 노출된 *S. costatum* *r*의 EC<sub>50</sub>은 136.13 mg L<sup>-1</sup>로 녹조류(*Pseudokirchneriella subcapitata*)와 클로렐라(*Chlorella fusca*)보다 PHE의 독성영향을 적게 받았다(Altenburger *et al.* 2004; Baun *et al.* 2008; Turcotte *et al.* 2011; Zindler *et al.* 2016). ZU에 노출된 *S. costatum* *r*의 EC<sub>50</sub>은 16.95 mg L<sup>-1</sup>로 zinc pyrithione (ZP)과 copper pyrithione (CP)과 같은 다른 방오도료에 비해서 상대적으로 독성이 낮다고 판단된다(Fernandez-Alba *et al.* 2002; Onduka *et al.* 2010; Jung *et al.* 2017). 하지만 이온화된 undecylenate의 영향으로 박테리아(*Bacillus subtilis*)에서 독성영향은 ZP > Ziram > ZU > CP 순서로 ZU가 CP보다 약 두 배 정도 독성이 강한 것으로 나타나(Jung 2012), 생물 종에 따른 독성의 특이성도 나타나는 것으로 판단된다. PHE와 ZU 같은 유기오염물질은 노출초기에 물리·화학적인 요인으로 미세조류에 흡착되며, 세포밀도가 높을 때 넓은 표면적으로 유기오염물질이 더 빠르게 흡착하는 것으로 알려져 있으며(Hong *et al.* 2008), 초기 흡착 이후 세포 내로 흡수되어 축적 및 분해과정에서 미세조류 세포벽의 구성 및 효소와 같은 종 특이적인 차이로 인해 흡수, 축적 및 독성영향이 차이가 나타나는 것으로 알려져 있다(Chan *et al.* 2006). 따라서, 본 실험에 사용한 *S. costatum*과 같은 미세조류의 독성범위가 다양하게 나타나는 이유는 PHE와 ZU 같은 유기오염물질을 대

사과정에서 제거할 수 있어, 특정 유기오염물질에 대해 내성을 가질 수 있기 때문에 판단된다(Tam *et al.* 2002).

우리나라는 3면이 바다이며 전체 인구의 35% 이상이 해안에 근접하여 생활하지만, 주로 산업단지 및 항구 지역에서 환경조사가 이루어지고 있다(Kim *et al.* 2002). 특히, Yim *et al.* (2007) 연구에 따르면 우리나라 전국 117개 해안의 퇴적물을 분석한 결과 PAHs 농도가 8.80~18,500 ng g<sup>-1</sup> dry weight으로 분석되었고, 선박 및 해양활동을 통해서 방오도료 입자가 지속적으로 해양환경으로 유출되어 서해와 남해에서 TBT를 제외한 방오도료의 농도가 지속적으로 증가하는 것으로 알려져 있다(Song *et al.* 2005; Lee *et al.* 2011, 2015; Soroldoni *et al.* 2017). 또한, Zn은 항구 및 조선소 주변 퇴적물에서 Cu와 더불어 가장 높게 검출되며, 이들 금속은 방오도료의 독성을 증가시킬 수 있는 것으로 알려져 있다(Cedergreen 2014; Soroldoni *et al.* 2017). 따라서, 연안역에 존재하는 PAHs와 신방오도료는 잔류 및 축적되어 해양생물에게 지속적인 영향을 미칠 수 있기 때문에 수질, 퇴적물 및 생물체내 상시 모니터링과 더불어 다양한 생물을 이용한 독성평가가 필요하다고 판단된다.

## 적 요

해산규조류(*Skeletonema costatum*)의 개체군성장률(*r*)을 사용하여 연안 유기오염물질인 phenanthrene (PHE)과 zinc undecylenate (ZU)의 독성평가를 실시하였다. *S. costatum*을 PHE (0, 25, 50, 100, 200, 300 mg L<sup>-1</sup>)와 ZU (0, 5, 10, 15, 20, 25 mg L<sup>-1</sup>)에 각각 96시간 노출한 이후에 *r*을 산출하였고, 대조구의 *r*은 0.04보다 높아 시험기준에 적합하였다. *S. costatum*의 *r*은 PHE 50, ZU 10 mg L<sup>-1</sup> 이상의 농도에서 대조구 대비 유의하게 감소하기 시작해 PHE와 ZU의 농도가 증가할수록 감소되는 농도의존성을 나타냈으며, 최고농도인 300과 25 mg L<sup>-1</sup> 농도에서는 *r*이 나타나지 않았다. PHE와 ZU에 노출된 *S. costatum* *r*의 반수영향농도(EC<sub>50</sub>)은 136.13, 16.95 mg L<sup>-1</sup>, 무영향농도(NOEC)는 25, 5 mg L<sup>-1</sup>, 최소영향농도(LOEC)는 50, 10 mg L<sup>-1</sup>로 나타났다. 본 연구결과, 해양생태계 내에서 *S. costatum*의 *r*은 PHE 50 mg L<sup>-1</sup>, ZU 10 mg L<sup>-1</sup> 이상의 농도에서 독성영향으로 감소할 것으로 판단되며, PHE와 ZU의 기준농도 설정을 위한 기초자료로 유용하게 사용될 것이다.



## 사 사

본 연구는 2019년도 국립수산물품질관리원 경상과제 (R2019025) 연구비 지원으로 국립수산물품질관리원 서해수산연구소 해양생태위해평가센터에서 수행하였다.

## REFERENCES

- Achten C and T Hofmann. 2009. Native polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in coals - A hardly recognized source of environmental contamination. *Sci. Total Environ.* 407:2461-2473.
- Altenburger R, H Walter and M Grote. 2004. What contributes to the combined effect of a complex mixture? *Environ. Sci. Technol.* 38:6353-6362.
- Amara I, W Miled, RB Slama and N Ladhari. 2018. Antifouling processes and toxicity effects of antifouling paints on marine environment. A review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 57:115-130.
- Antizar-Ladislao B. 2008. Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. *Environ. Int.* 34:292-308.
- Baun A, SN Sorensen, RF Rasmussen, NB Hartmann and CB Koch. 2008. Toxicity and bioaccumulation of xenobiotic organic compounds in the presence of aqueous suspensions of aggregates of nano-C<sub>60</sub>. *Aquat. Toxicol.* 86:379-387.
- Cedergreen N. 2014. Quantifying synergy: a systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. *PloS one* 9:e96580.
- Chan SMN, T Luan, MH Wong and NFY Tam. 2006. Removal and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Selenastrum capricornutum*. *Environ. Toxicol. Chem.* 25:1772-1779.
- Chiapusio G, S Pujol, ML Toussaint, PM Badot and P Binet. 2007. Phenanthrene toxicity and dissipation in rhizosphere of grassland plants (*Lolium perenne* L. and *Trifolium pratense* L.) in three spiked soils. *Plant Soil* 294:103-112.
- Fernandez-Alba AR, MD Hernando, L Piedra and Y Chisti. 2002. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays. *Anal. Chim. Acta* 456:303-312.
- Hong YW, DX Yuan, QM Lin and TL Yang. 2008. Accumulation and biodegradation of phenanthrene and fluoranthene by the algae enriched from a mangrove aquatic ecosystem. *Mar. Pollut. Bull.* 56:1400-1405.
- Huang L, C Wang, Y Zhang, M Wu and Z Zuo. 2013. Phenanthrene causes ocular developmental toxicity in zebrafish embryos and the possible mechanisms involved. *J. Hazard. Mater.* 261:172-180.
- Hwang UK, HM Ryu, JW Lee, SM Lee and HS Kang. 2014. Toxic effects of heavy metal (Cd, Cu, Zn) on population growth rate of the marine diatom (*Skeletonema costatum*). *Korean J. Environ. Biol.* 32:243-249.
- Hwang UK, H Choi, JS Jang, S Heo and JW Lee. 2017. Toxicity assessment of phenanthrene using the survival and population growth rate of the marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Korean J. Environ. Biol.* 35:573-580.
- Hwang UK, H Choi, YH Park, NY Park, SJ Jang, SM Lee, YS Choi, JY Yang and JW Lee. 2018. Toxicity assessment of antifouling agent using the survival and population growth rate of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Korean J. Environ. Biol.* 36:392-399.
- Jacobson AH and GL Willingham. 2000. Sea-nine antifoulant: an environmentally acceptable alternative to organotin antifoulants. *Sci. Total Environ.* 258:103-110.
- Jung SM 2012. Development of new antifouling systems based on nontoxic self-polishing copolymer coatings. Pukyong National University.
- Jung SM, JS Bae, SG Kang, JS Son, JH Jeon, HJ Lee, JY Jeon, M Sidharthan, SH Ryu and HW Shin. 2017. Acute toxicity of organic antifouling biocides to phytoplankton *Nitzschia pungens* and zooplankton *Artemia* larvae. *Mar. Pollut. Bull.* 124:811-818.
- Kim M, MC Kennicutt II and Y Qian. 2008. Source characterization using compound composition and stable carbon isotope ratio of PAHs in sediments from lakes, harbor, and shipping waterway. *Sci. Total Environ.* 389:367-377.
- Kim SK, JR Oh, WJ Shim, DH Lee, UHYim, SH Hong, YB Shin and DS Lee. 2002. Geographical distribution and accumulation features of organochlorine residues in bivalves from coastal areas of South Korea. *Mar. Pollut. Bull.* 45:268-279.
- Lam NH, HH Jeong, SD Kang, DJ Kim, MJ Ju, T Horiguchi and HS Cho. 2017. Organotins and new antifouling biocides in water and sediments from three Korean Special Management Sea Areas following ten years of tributyltin regulation: Contamination profiles and risk assessment. *Mar. Pollut. Bull.* 121:302-312.
- Lananan F, A Jusoh, N Ali, SS Lam and A Endut. 2013. Effect of Conway medium and f/2 medium on the growth of six genera of south China Sea marine microalgae. *Bioresour. Technol.* 141:75-82.
- Lansdown ABG. 1991. Interspecies variations in response to topical application of selected zinc compounds. *Food*

- Chem. Toxicol. 29:57–64.
- Lee JW, HM Ryu, S Heo, SJ Jang, KW Lee and UK Hwang. 2017. Effect of heavy metals (As, Cr, Pb) on the population growth rates of marine diatom, *Skeletonema costatum*. JMLS 2:20–26.
- Lee MR, UJ Kim, IS Lee, MC Choi and JE Oh. 2015. Assessment of organotin and tin-free antifouling paints contamination in the Korean coastal area. Mar. Pollut. Bull. 99:157–165.
- Lee SG, JW Chung, HS Won, DS Lee and YW Lee. 2011. Analysis of antifouling agents after regulation of tributyltin compounds in Korea. J. Hazard. Mater. 185:1318–1325.
- Lin MC, HL Wu, HS Kou and SM Wu. 2006. Simple fluorimetric liquid chromatographic method for the analysis of undecylenic acid and zinc undecylenate in pharmaceutical preparations. J. Chromatogr. A 1119:264–269.
- Martinez-Llado X, O Gibert, V Marti, S Diez, J Romo, JM Bayona and J de Pablo. 2007. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and tributyltin (TBT) in Barcelona harbour sediments and their impact on benthic communities. Environ. Pollut. 149:104–113.
- MOF. 2018. Marine Environment Standard Method, Part 3 Marine Organism Standard Method. Ministry of Oceans and Fisheries, Korea. pp. 115–123.
- Nakanishi T. 2007. Potential toxicity of organotin compounds via nuclear receptor signaling in mammals. J. Health Sci. 53:1–9.
- Okumura Y, J Koyama, H Takaku and H Satoh. 2001. Influence of organic solvents on the growth of marine microalgae. Environ. Contam. Toxicol. 41:123–128.
- Oliveira IB, KJ Groh, R Schonenberger, C Barroso, KV Thomas and MJF Suter. 2017. Toxicity of emerging antifouling biocides to non-target freshwater organisms from three trophic levels. Aquat. Toxicol. 191:164–174.
- Onduka T, K Mochida, H Harino, K Ito, A Kakuno and K Fujii. 2010. Toxicity of metal pyrrithione photodegradation products to marine organisms with indirect evidence for their presence in seawater. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 58:991–997.
- Reddy MS, S Basha, HV Joshi and G Ramachandraiah. 2005. Seasonal distribution and contamination levels of total PHCs, PAHs and heavy metals in coastal waters of the Alang-Sosiya ship scrapping yard, Gulf of Cambay, India. Chemosphere 61:1587–1593.
- Ribeiro J, T Silva, JGM Filho and D Flores. 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in burning and non-burning coal waste piles. J. Hazard. Mater. 199:105–110.
- Sasaki JC, J Arey, DA Eastmond, KK Parks and AJ Grosovsky. 1997. Genotoxicity induced in human lymphoblasts by atmospheric reaction products of naphthalene and phenanthrene. Mutat. Res. 393:23–35.
- Schäfer S and A Köhle. 2009. Gonadal lesions of female sea urchin (*Psammechinus miliaris*) after exposure to the polycyclic aromatic hydrocarbon phenanthrene. Mar. Environ. Res. 68:128–136.
- Shin KH and KW Kim. 2003. Enhanced bioremediation of phenanthrene using biosurfactant. Econ. Environ. Geol. 36:375–380.
- Shin HW, SG Kang, JS Son, JH Jeon, HJ Lee, SM Jung and CM Smith. 2015. Evaluation of antifouling system of new antifouling agents using spores of the green alga, *Ulva pertusa* and diatom, *Nitzschia pungens*. Korean J. Environ. Ecol. 29:736–742.
- Song YC, JH Woo, SH Park and IS Kim. 2005. A study on the treatment of antifouling paint waste from shipyard. Mar. Pollut. Bull. 51:1048–1053.
- Soroldoni S, F Abreu, IB Castro, FA Duarte and GLL Pinho. 2017. Are antifouling paint particles a continuous source of toxic chemicals to the marine environment? J. Hazard. Mater. 330:76–82.
- Stronkhorst J and B van Hattum. 2003. Contaminants of concern in Dutch marine harbor sediments. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 45:306–316.
- Tam NFY, AMY Chong and YS Wong. 2002. Removal of tributyltin (TBT) by live and dead microalgal cells. Mar. Pollut. Bull. 45:362–371.
- Turcotte D, P Akhtar, M Bowerman, Y Kiparissis, RS Brown and PV Hodson. 2011. Measuring the toxicity of alkylphenanthrenes to early life stages of medaka (*Oryzias latipes*) using partition-controlled delivery. Environ. Toxicol. Chem. 30:487–495.
- Wu S, X Xu, S Zhao, F Shen and J Chen. 2013. Evaluation of phenanthrene toxicity on earthworm (*Eisenia fetida*): An ecotoxicoproteomics approach. Chemosphere 93:963–971.
- Yim UH, SH Hong and WJ Shim. 2007. Distribution and characteristics of PAHs in sediments from the marine environment of Korea. Chemosphere 68:85–92.
- Zecher K, VP Aitha, K Heuer, K Roland, M Fiedel and B Philipp. 2018. A multi-step approach for testing non-toxic amphiphilic antifouling coatings against marine microfouling at different levels of biological complexity. J. Microbiol. Methods 146:104–114.
- Zindler F, B Glomstad, D Altin, J Liu, BM Jenssen and AM Booth. 2016. Phenanthrene bioavailability and toxicity to *Daphnia magna* in the presence of carbon nanotubes with different physicochemical properties. Environ. Sci. Technol. 50:12446–12454.