Appl. Chem. Eng., Vol. 30, No. 4, August 2019, 466-471
https://doi.org/10.14478/ace.2019.1027

Article

물벼룩을 이용한 산업방류수 중 1,4-다이옥산 및 디클로로메탄의 생태독성평가

최재원 · 이선희* · 이학성†

울산대학교 화학공학부, *울산보건환경연구원
(2019년 4월 15일 접수, 2019년 5월 17일 심사, 2019년 7월 8일 채택)

Ecotoxicity Assessment of 1,4-Dioxane and Dichloromethane in Industrial Effluent Using *Daphnia magna*

Jae Won Choi, Sun Hee Lee*, and Hak Sung Lee†

School of Chemical Engineering, University of Ulsan, Ulsan 44610, Korea
**Ulsan Institute of Health & Environment, Ulsan 44642, Korea*
(Received April 15, 2019; Revised May 17, 2019; Accepted July 8, 2019)

초 록

1,4-다이옥산과 디클로로메탄은 국제암연구기관(International Agency for Research on Cancer)에서 발암가능그룹으로 분류하고 있으며, 산업폐수 방류수에서 고농도로 빈번하게 배출되고 있다. 산업폐수 방류수에 대한 물벼룩의 24 h 급성독성평가에서 7.53 mg/L의 1,4-다이옥산농도에서 1.1 TU (toxic unit)로 배출허용기준(1.0 TU)에 근접한 값을 나타내었으며, 혼합폐수의 경우, 단일물질에 비해 상대적으로 높은 TU 값을 나타내었다. 실험실에서 제조된 합성폐수로부터 1,4-다이옥산 및 디클로로메탄의 24 h 반수영향농도(EC_{50})값은 각각 1,744 (0.06 TU), 170 mg/L (0.6 TU)로 TU 값이 매우 낮았으며, 1,4-다이옥산 100 ppm에 디클로로메탄 1, 5, 10 ppm을 첨가한 혼합물질의 독성평가결과, TU 값이 0.02, 0.04, 0.10으로 증가하여 두 물질 간 상승작용이 나타났다. 그러나 1,4-다이옥산 및 디클로로메탄에 대한 합성폐수의 TU 값은 비슷한 농도에서 산업폐수의 TU 값보다 5% 이하로 나타났다.

Abstract

1,4-dioxane and dichloromethane are classified as carcinogenic groups in the International Agency for Research on Cancer (IARC). They are frequently released at high concentrations in an industrial wastewater effluent. The acute toxicity (24 h) of *Daphnia magna* for 7.53 mg/L of 1,4-dioxane in the industrial effluent was evaluated as 1.1 TU (toxic unit) and showed TU close to the effluent quality standard. Mixed substances of 1,4-dioxane and dichloromethane in the industrial effluent showed relatively high TU as compared to that of a single substance. Half maximal effective concentration (24 h EC_{50}) values of 1,4-dioxane and dichloromethane for the synthetic wastewater prepared in laboratory were 1,744 (0.06 TU) and 170 mg/L (0.6 TU), respectively and the toxicity was low. Nevertheless the toxicological evaluation of the mixture showed that TU values increased to 0.02, 0.04 and 0.10, respectively as 1, 5 and 10 ppm of dichloromethane was added to 100 ppm of 1,4-dioxane. And the synergistic effect was observed between two substances. But the TU value of synthetic wastewater was below 5%, lower than that of industrial effluent at the similar concentration.

Keywords: *Ecotoxicity, 1,4-Dioxane, Dichloromethane, Daphnia magna, EC_{50}*

1. 서 론

산업발달은 수생태계에 지속적인 오염부하를 가중시키고 있고, 산업폐수 중에는 고농도의 수질오염물질이 포함되어 있어 공공수역으로 배출 시 위험성이 매우 크다[1]. 이들 수질오염물질 중 휘발성 유기물질, 유기용제, 다환 방향족 탄화수소 등 합성 유기화합물과 중금속 등은 각종 질환과 발암, 내분비계 장애 등 사람의 건강은 물론 수생태계에도 큰 영향을 미칠 수 있기 때문에 국내에서도 수질오염물질들의 유해성을 중심으로 산업폐수 관리체계를 강화하고 있다[2]. 주로 중금속류와 휘발성 유기화합물(VOCs; volatile organic compounds)인 특정수질유해물질은 산업폐수와 생활하수로 배출되어 처리과정을 거친 후에도 방류수 중에 잔류되어 지하수 및 하천수에 검출되고 있어 배출업종별로 분류해서 집중 관리하는 효율성 제고가 요구되고 있다[3]. 수계에 존재하는 수십만 종의 화학물질이 물속에서 어떤 반응을 하며, 결과적으로 어떤 최종 유해성을 갖는지는 알 수가 없으므로 지표생물을 이용하여 폐수의 독성유무를 진단하는 전 배수독성(WET; whole effluent toxicity test)은 방류수에 존재하는 오염물질의 혼합독성과 화

† Corresponding Author: University of Ulsan,
School of Chemical Engineering, Ulsan 44610, Korea
Tel: +82-52-259-2252 e-mail: hslee@mail.ulsan.ac.kr

pISSN: 1225-0112 eISSN: 2288-4505 @ 2019 The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry. All rights reserved.

학분석이 되지 않는 미지의 오염물질에 의한 독성까지 반영할 수 있기 때문에 새로운 오염관리 기법으로 적용되고 있다[4]. EPA (미국 환경보호국)는 독성의 확인에 통합적 접근법인 생태독성시험법을 수질근거 분석과 함께 사용하도록 권고하고 있으며, 이 시험법은 다양한 종류의 어류와 물벼룩을 이용한다[5]. 생물을 이용한 독성에 관한 연구는 국내외적으로 오랜 기간 시행되고 있으며 Min[6]은 조류, 물벼룩, 형광박테리아를 이용한 금속의 독성평가, Jeong[7]은 물벼룩에 대한 중금속의 급성 및 만성독성, Cho[8]는 물벼룩을 이용하여 살충제의 급성 및 만성독성에 관한 연구를 하였다. Kim[9]은 *Daphnia magna*와 *Vibrio fischeri*를 이용하여 산업폐수의 생물독성평가에 관한 연구를 하였다. Lee[10]는 낙동강 내 1,4-다이옥산의 독성 모니터링, Choi[11]는 DEHP (di-2-ethylhexyl phthalate)의 노출에 따른 암 위해성 평가, Woo[12]는 환경 인자에 대한 카드뮴의 생태 위해성, Seo[13]는 bronopol에 대한 생물독성 위해성 평가에 관한 연구를 하였다. Lee 등[14]은 산업폐수에 대한 이화학적 분석과 물벼룩 생태독성의 비교 연구를 수행하였는데, 아연 등 중금속이 초과 배출되었을 경우에 생태독성값의 변화를 조사하였다. 그런데 매년 확대 지정되고 있는 특정수질유해물질 중 VOCs에 대해서는 검출 현황 조사나 처리기술에 대한 연구는 이루어져 왔지만, 수많은 개별물질과 이들의 혼합물질에 대한 생태독성평가는 미지 물질 및 검출 한계 이하로 존재할 경우, 해석의 어려움과 복잡성으로 인해 거의 수행되지 않고 있는 실정이다.

울산지역 폐수배출사업장 방류수 내 특정수질유해물질 중 배출허용기준을 초과하여 검출되는 휘발성 유기화합물은 1,4-다이옥산(0.012~13.252 mg/L)과 디클로로메탄(0.001~0.662 mg/L)이었고, 배출허용기준은 1,4-다이옥산이 4.0 mg/L 이하, 디클로로메탄이 0.2 mg/L 이하로 설정되어 있으며, 생태독성 기준은 1 TU (toxic unit) 이하(청정지역), 2 TU 이하(가, 나, 특례지역)로 설정되어 있다. 고농도로 검출된 업종은 화학물질 제조시설, 석유화학계 기초화합물 제조시설, 합성수지 및 기타 플라스틱물질 제조시설 등이었으며, 2016년 화학물질 배출량 조사결과, 1,4-다이옥산의 배출량과 이동량은 각각 1,157 kg/yr 및 79,294 kg이었고, 디클로로메탄의 배출량과 이동량은 각각 3,022,692 kg/yr 및 302,294 kg이었다[15]. 수생태계에는 독성물질 한 개가 아니라 다양한 혼합물에 노출되어 있기 때문에[16] 본 연구에서는 울산지역에서 중금속을 배출하지 않는 석유화학업체 방류수의 VOCs에 대하여 이화학적 농도분석과 물벼룩을 이용한 생태독성시험을 수행하고 상호 배출허용기준의 적정성을 조사하며, 동시에 실험실에서 합성폐수를 제조하여 1,4-다이옥산 및 디클로로메탄에 대한 단일 및 혼합 독성평가를 실시하여 TU에 대한 산업폐수와의 괴리를 조사하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 재료

산업폐수는 울산지역 42개 사업장 방류수를 대상으로 중금속을 배출하지 않고, 주로 VOCs를 배출하는 석유화학업체들의 방류수 중 1,4-다이옥산 및 디클로로메탄을 배출하는 8개 지점을 선정하여 시료를 채취하였다. 실험실에서 제조된 합성폐수는 1,4-다이옥산 및 디클로로메탄(CH_2Cl_2)의 표준용액을 AccuStandard에서 구매하여 사용하였으며, 메탄올(CH_3OH)을 용매로 하여 stock solution (모액)을 조제한 후 물벼룩 배양액으로 희석하여 사용하였다.

2.2. 생태독성시험

시험생물 준비 및 생태독성 분석방법은 수질오염공정시험기준 제 49항 “물벼룩을 이용한 급성독성시험법”에 따라 시행하였다. 대상 시험종인 물벼룩의 배양조건은 온도 20 ± 1 ℃, 광조건은 1,000 lux 이하, 광주기는 light : dark = 16 h : 8 h, 용존산소는 3 mg/L 이상으로 하였다. 먹이는 주먹이인 *Chlorella sp.*와 보조먹이인 YCT (yeast cerophyll trout chow)를 3 : 1로 1 day 1회, 배양액 1 L 기준으로 2.5 mL 공급하였다. 시험수는 원수(100%), 50, 25, 12.5, 6.25%로 준비하여 4번의 반복실험을 하였으며, 실험용액 50 mL에 물벼룩 5마리씩 투입하였다. 실험에는 3회 이상 어린 개체를 생산한 어미로부터 얻은 개체 가운데 생후 24 h 이내의 신생아를 선별하여 사용하였으며, 시험 중에는 먹이 공급을 하지 않았다. 24 h 후의 유영저해 및 사망여부를 관찰하여 그 결과 반수영향농도(EC_{50})를 구하였다.

유영저해란 시험용기를 조용히 움직여 준 후, 약 15 s 후에 관찰하여 일부 기관(촉각, 후복부 등)은 움직이나 유영하지 않는 것을 말하며, 반수영향농도는 일정 시험기간 동안 시험생물의 50%가 유영저해를 일으키는 시료농도[시험수 중 시료의 함유율(%)]이다.

2.3. 생태독성값 계산

생태독성값(TU) 계산은 시험기간 동안 물벼룩의 50%가 유영저해를 일으키는 농도[시험수 중 시료 함유율(%)]인 EC_{50}을 100 / EC_{50}으로 환산한 값이며, 통계학적 분석방법인 TSK (trimmed spearman method) 혹은 probit method를 이용하였다[17].

3. 결과 및 고찰

3.1. 표준 독성시험

독성시험에 사용되는 시험생물은 독성물질에 대한 민감도(sensitivity)가 일정하게 유지되어야 하며 잘 통제된 환경에서 정해진 시험절차를 따라야 한다. 실험에 허용 가능한 기준, 실험조건, 농도-반응단계, 지표독성물질 실험의 시험민감도는 행해진 실험이 유효한 실험이라는 것을 증명하기 위해 필요하다. 따라서 독성시험 때마다 시험동물의 생물학적 특성 및 제반 시험절차가 일정하게 유지되는지 확인하는 것은 독성시험의 신뢰도를 위해 매우 중요하다[18]. 지표독성물질로는 NaCl (sodium chloride), KCl (potassium chloride), $CdCl_2$ (cadmium chloride), $K_2Cr_2O_7$ (potassium dichromate) 등이 있는데, 본 연구에서는 중크롬산칼륨($K_2Cr_2O_7$)을 표준독성물질로 사용하여 표준지표 독성시험(standard reference toxicity test)을 수행하였다. ISO (international organization for standardization)에서는 용존산소 농도가 2 mg/L 이상, 대조구의 유영저해율이 10% 이하이며, 중크롬산칼륨의 24 h EC_{50} 값이 0.9~2.1 mg/L의 범위 내에 있으면 시험이 정당하게 이루어졌음을 인정할 수 있는데, Table 1에 나타낸 바와 같이, 7회의 표준 독성시험 결과 24 h EC_{50} 값이 0.98~1.35 mg/L의 범위 내에 있었으며, 평균값이 1.12 mg/L이었다. 이후 월 1회씩 수행한 결과에서도 일정한 범위 내의 값을 나타내어 본 연구에 사용된 *Daphnia magna*의 민감성은 일정하게 유지된다고 판단되었다.

3.2. 폐수배출사업장의 휘발성 유기화합물 분석 결과

산업단지 폐수 내 특정수질유해물질 농도 및 독성값을 조사하기 위해 중금속을 배출하지 않고, 주로 VOCs를 배출하는 석유화학업체들의 방류수를 분석하였으며, 그 중 농도가 검출된 항목은 Table 2와 같다. 1,4-다이옥산과 디클로로메탄을 제외한 다른 항목은 대부분 미량으로 검출되거나 불검출이었으며, 물벼룩 생태독성값 또한 낮았다. 수질배출허용기준을 초과해서 검출된 배출수(sites 1, 2, 4, 7)의 경우, 화

Table 1. Acute Response of Potassium Dichromate to *Daphnia magna*

Time	EC_{50} (mg/L)							Mean	SD	CV (%)
	1	2	3	4	5	6	7			
24 h	1.07	0.98	1.09	1.11	0.99	1.35	1.25	1.12	0.135	12.1

Table 2. Mixed Ecotoxicity Test of Wastewater and VOCs Characteristics (unit : mg/L)

Site	1,4-dioxane	Dichloro methane	Benzene	Chloroform	DEHP	Acrylonitrile	Bromoform	TU (24 h)
1	7.529	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	1.1
2	13.252	0.001	N.D	N.D	0.0030	N.D	N.D	3.5
3	0.012	0.004	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	1.8
4	5.353	N.D	N.D	N.D	0.0029	N.D	N.D	0.7
5	0.044	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.0
6	3.336	N.D	0.146	0.019	0.0027	N.D	N.D	0.5
7	0.203	0.662	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	1.5
8	N.D	0.010	N.D	N.D	0.393	0.072	1.511	0.8

* N.D : Detection limit (0.001 mg/L).

Table 3. Acute Immobilization Test of 1,4-dioxane to *Daphnia magna*

Contents	Exposure period (h)	Concentration (mg/L)					
		0	400	800	1,200	1,600	2,000
Immobilized average individuals	24	0	0	0	0	2	20
Rate of immobilization (%)		0	0	0	0	10	100
Immobilized average individuals	48	0	0	0	2	16	20
Rate of immobilization (%)		0	0	0	10	80	100

학물질 제조시설, 석유화학계 기초화합물 제조시설, 합성수지 및 기타 플라스틱물질 제조시설 등 업종이 다양했으며, 물벼룩 독성값 또한 업종별로 큰 차이를 나타내었다. Table 2에 나타난 바와 같이, 1,4-다이옥산의 경우, 배출허용농도(4.0 mg/L)를 초과하여 배출한 site 4에서는 TU 값이 1.0 이하이었지만, 배출허용농도 이하인 sites 3 및 7에서는 TU 값이 1.0을 초과하였다. 특히, site 3에서는 1,4-다이옥산 및 디클로로메탄의 배출농도가 매우 낮고, 다른 VOCs가 검출되지 않았음에도 불구하고 TU 값이 1.0을 초과하였으므로 혼합물질에 대한 해석의 어려움이 존재하고 있는 실정이다. 또한, 산업폐수 중 벤젠, 클로로포름, 아크릴로니트릴 및 DEHP (di-2-ethyl hexyl phthalate)가 미량 존재하더라도 TU 값이 1.0 이하인 것으로 나타나 혼합폐수에 미치는 영향이 낮은 것으로 나타났다. 따라서 분석결과를 바탕으로 고농도로 검출된 1,4-다이옥산 및 디클로로메탄과 독성값과의 상관관계를 조사하기 위해 단일물질 및 혼합물질의 농도별 물벼룩 독성시험을 수행하였다.

3.3. 1,4-다이옥산의 물벼룩 급성독성시험

1,4-다이옥산은 산업 활동의 결과로 발생하는 인위적인 산물로 우리나라의 경우, 폴리에스테르 섬유를 제조하는 공장이 주 배출원으로 특히 4대강 유역 중 섬유산업이 밀집되어 있는 낙동강 수계에서 자주 검출되는 경향을 보이고 있다[19]. 시험농도는 예비시험 결과를 기초로 하여 400, 800, 1,200, 1,600, 2,000 mg/L로 선정하였으며, 각 농도별로 준비된 시험용액 50 mL를 비커에 넣고, 비커마다 물벼룩 5마리씩 투입하고 4개의 반복구를 두어 시험농도 당 총 20마리의 물벼룩을 사용하였다. 시험시간은 총 48 h이었으며, 최종 관찰점(end point)은 유영저해로서 24와 48 h 후에 노출중인 개체를 관찰하였다. Table 3에 나타낸 바와 같이, 24 h 후 1,200 mg/L 이하의 농도에서는 물벼룩 유영저해가 나타나지 않았으나, 1,600 mg/L에서 10%, 2,000 mg/L에서 100% 유영저해가 관찰되었다. 48 h 후에는 800 mg/L 이하의 농도에서는 물벼룩 유영저해가 나타나지 않았으나, 1,200 mg/L에서 10%, 1,600 mg/L에서 80%, 2,000 mg/L에서 100% 유영저해가 관찰되었다. 1,4-다이옥산에 노출된 *Daphnia magna*의 급성독성시험 결과로 반수영향농도(EC_{50})와 무영향 관찰농도(NOEC; no observed effect concentration)값을 산출하여 sigmoid curve (Figure 1)를 작성하였다(Sigma Plot program 사용).

1,4-다이옥산의 NOEC 값은 24 h 1,200 mg/L, 48 h 800 mg/L이었고, 24와 48 h의 EC_{50} 값과 95% 신뢰구간은 각각 1,744 (1,685~1,805), 1,409 (1,320~1,504) mg/L으로 물벼룩 독성 값으로 환산하면 0.06~0.07 TU로 배출허용기준(1.0 TU)에 비해 매우 낮았다. 실험결과(1,744 mg/L)를 바탕으로 계산된 24 h TU 값은 약 0.06이었으며, 1,500 mg/L의 농도에서 0.05 TU를 나타내었으므로 1.0 TU 값을 구하기 위하여 외삽하면 약 30,000 mg/L의 농도로 추정되어 Table 2에 나타낸 산업폐수의 측정값과 매우 큰 괴리를 나타내고 있다. 조류를 이용한 생태독성 시험 결과 1,4-다이옥산에 대한 자연형광 측정법의 EC_{50} 값은 21,966 mg/L으로 다른 특정수질유해물질에 비해 독성이 매우 낮은 것으로 나타났다[19]. EPA의 독성자료에서도 1,4-다이옥산에 대한 생물독성 결과가 4,700~8,450 (*Daphnia manga*), 985 (어류, 96 h), 500 mg/L

Table 4. Toxicity by EC_{50} Value

EC_{50} (mg/L)	Toxicity
Less than 0.1	Very high toxic
0.1~1	Highly toxic
1~10	Moderate toxic
10~100	Slightly toxic
More than 100	Practically non-toxic

Table 5. Acute Immobilization Test of Dichloromethane to *Daphnia magna*

Contents	Exposure period (h)	Concentration (mg/L)					
		0	40	80	120	160	200
Immobilized average individuals	24	0	0	0	0	4	20
Rate of immobilization (%)		0	0	0	0	20	100
Immobilized average individuals	48	0	0	0	4	12	20
Rate of immobilization (%)		0	0	0	20	60	100

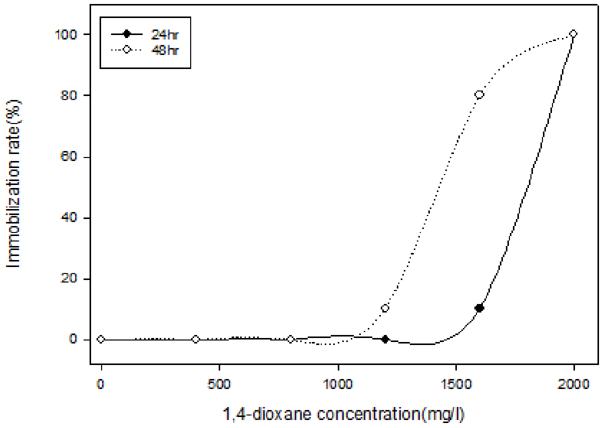

Figure 1. The concentration-response curve of *D. magna* toxicity test on 1,4-dioxane.

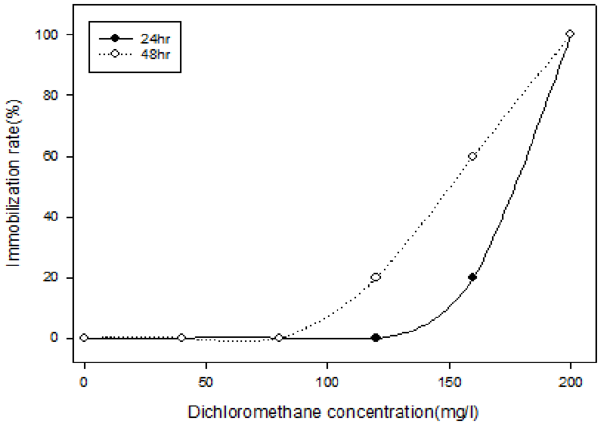

Figure 2. The concentration-response curve of *D. magna* toxicity test on dichloromethane.

(녹조류, 72 h) 등으로 수계에서 배출되는 농도보다 매우 높으므로 안전한 수준으로 평가되고 있다[20]. 반면, Park 등[22]의 결과에서는 1,4-다이옥산의 EC_{50} 값이 8.6 mg/L (*Daphnia manga*)로 매우 높은 수치를 나타내었는데, 이는 1,4-다이옥산을 방류하는 업체의 공장배출수를 직접 시료 채취하여 실험한 결과로서 1,4-다이옥산 외 다른 유해물질과의 혼합에 의해 독성값이 증가한 것으로 보여진다. Kamrin[23]은 EC_{50} 값에 따른 독성 정도를 평가하였는데(Table 4), 1,4-dioxane의 경우, EC_{50} 값(1,409~1,744 mg/L)이 100 mg/L 이상 구간에 해당되어 독성이 거의 없는 것으로 볼 수 있다.

3.4. 디클로로메탄의 물벼룩 급성독성평가

디클로로메탄은 염화메틸 또는 메탄을 염소화하거나 클로로폼을 아연과 아세트산으로 환원하면 얻어지는 화합물로서 주로 반응용제, 냉매나 세척제 등으로 사용되고, 높은 휘발성 때문에 주로 호흡기 장애를 일으키며, 발암가능성 물질로 보고되고 있다[24]. 시험농도는 예비시험 결과를 기초로 하여 40, 80, 120, 160, 200 mg/L로 선정하였다. *Daphnia magna*를 이용하여 디클로로메탄의 급성독성시험을 수행한 결과는 Table 5와 같다.

Table 5에 나타낸 바와 같이, 24 h 후 120 mg/L 이하의 농도에서는 물벼룩 유영저해가 나타나지 않았으나, 160 mg/L에서 20%, 200 mg/L에서 100% 유영저해가 관찰되었다. 48 h 후에는 80 mg/L 이하의 농도에서는 물벼룩 유영저해가 나타나지 않았으나, 120 mg/L에서 20%, 160 mg/L에서 60%, 200 mg/L에서 100% 유영저해가 관찰되었다. 디클로로메탄에 노출된 *Daphnia magna*의 급성독성시험 결과로 반수영향농도(EC_{50})와 무영향 관찰농도(NOEC)값을 산출하여 sigmoid curve (Figure 2)를 작성하였다(sigma plot program 사용). 디클로로메탄의 NOEC 값은 24 h 120 mg/L, 48 h 80 mg/L이었고, 24와 48 h의 EC_{50} 값과 95% 신뢰구간은 각각 170 (162~178), 143 (132~156) mg/L으로 물벼룩 독성 값으로 환산하면 0.6~0.7 TU로 배출허용기준(1.0 TU)과 큰 차이가 없어 독성영향이 우려된다. 실험결과를 바탕으로 24 h에서 1.0 TU 값을 구하기 위하여 외삽하면 약 270 mg/L의 농도로 추정되어 Table 2에 나타낸 산업폐수의 측정값과 매우 큰 괴리를 나타내고 있다. 1988년도 환경부[25]에서 디클로로메탄에 대한 독성평가를 실시한 결과, 물벼룩의 24 h EC_{50} 값이 247 mg/L, 어류(*O. latipes*)의 24 h EC_{50} 값이 423 mg/L, mouse의 경구독성 LD_{50} 값이 6,202 mg/kg으로 보고하였으며, 이는 본 연구의 물벼룩에 대한 시험결과와 유사한 범위 내의

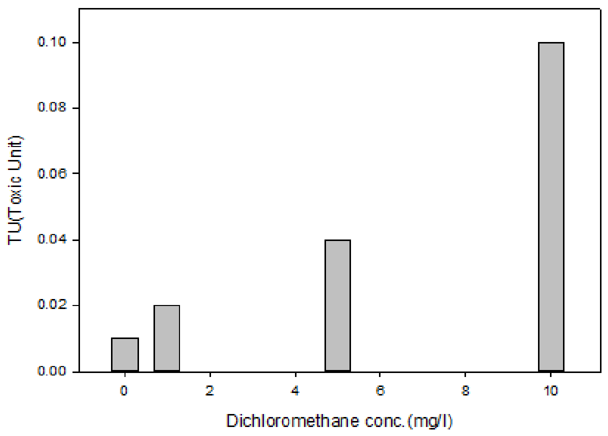

Figure 3. TU of *D. magna* exposed to 0, 1, 5 and 10 mg/L of dichloromethane with 100 mg/L of 1,4-dioxane.

값을 나타내었다. EC_{50} 값에 따른 독성 정도표(Table 4)에서는 디클로로메탄이 143~170 mg/L (100 mg/L 이상 구간)으로 독성이 없는 구간에 해당되었으나, 타 시험종의 급성 및 만성결과도 함께 고려해야 할 것으로 사료된다.

3.5. 혼합독성평가

단일 화학물질에 대한 독성평가는 다양한 생물을 통해 평가되어 왔지만, 환경에 존재하는 유해물질은 대부분 여러 종류가 함께 존재하는 것이 일반적이고, 여러 물질이 혼재하는 경우에는 개별 물질의 독성영향의 단순 합보다 증가하거나(synergism), 감소하는(antagonism) 물질 간의 상호작용이 존재할 수 있으므로[25] 혼합독성에 대한 사전 정보 없이 단일 화학물질을 이용한 독성시험의 결과를 이용하여 혼합물질의 독성영향을 예측하는 것은 부정확할 수 있다[26]. 단일물질에 대한 독성시험 결과를 이용하여 혼합독성시험을 위한 1,4-다이옥산과 디클로로메탄의 농도 조합을 설정하였는데, 1,4-다이옥산 100 mg/L과 디클로로메탄 1, 5, 10 mg/L의 혼합 용액 및 디클로로메탄 100 mg/L과 1,4-다이옥산 1, 5 10 mg/L의 조합으로 독성시험에 사용하였다. 각 농도별로 준비된 시험용액 50 mL를 비커에 넣고, 비커마다 물벼룩 5마리 씩 투입하고 4개의 반복구를 두어 24 h 후에 유영저해를 나타내는 개체를 관찰하였다.

2종류 물질의 혼합에 의한 독성영향을 평가하기 위하여 1,4-다이옥산 100 mg/L에 디클로로메탄을 1, 5, 10 mg/L으로 첨가했을 때의 물벼룩 독성값을 나타내었으며(Figure 3), 디클로로메탄의 농도가 증가할수록 독성값 또한 증가하는 경향을 보였고, 혼합물질의 독성영향을 해석하기 위해 단일물질의 독성값의 합과 혼합물질의 실제 관찰된 값을 비교하였다(Figure 4). 실제 관찰된 값이 예측값보다 높으면 혼합물질 독성영향이 상승효과를 나타내며, 낮을 경우에는 길항 효과를 보이는 것으로 판단하였고, 두 값이 유의하지 않으면 첨가효과로 판단된다[27]. 1,4-다이옥산 100 mg/L (TU 0.01)에 디클로로메탄 1 (TU 0.01), 5 (TU 0.02), 10 mg/L (TU 0.07)이 첨가된 혼합물에 대한 TU값이 각각 0.01, 0.02, 0.04, 0.10으로 예측된 값보다 약간 높게 나타나 1,4-다이옥산과 디클로로메탄에서 독성이 대체로 상승되는 효과(synergy effect)로 볼 수 있었다. 혼합독성 예측모델에 따르면 독성물질 사이의 상호작용에 따라 상승(concentration addition) 또는 독립(independent action)작용을 한다고 알려져 있으며[28], 1,4-다이옥산과 디클로로메탄의 경우 상승작용을 한 것으로 사료된다.

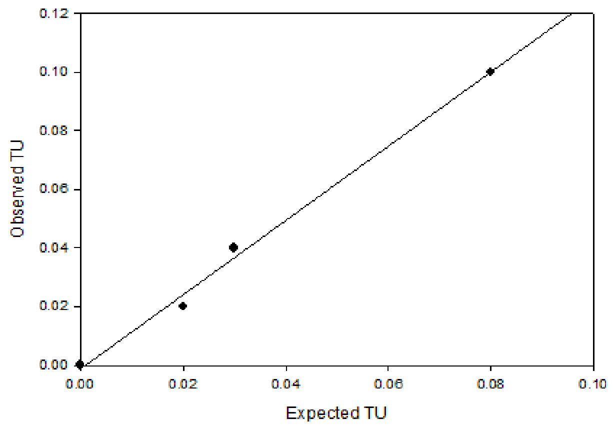

Figure 4. The correlation between expected and observed TU.

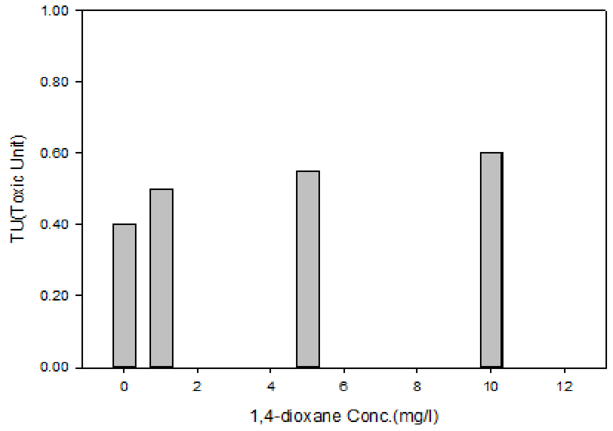

Figure 5. TU of *D. magna* exposed to 0, 1, 5 and 10 mg/L of 1,4-dioxane with 100 mg/L of dichloromethane.

한편, 디클로로메탄 100 mg/L에 1,4-다이옥산을 1, 5, 10 mg/L으로 첨가했을 때의 물벼룩 독성값(Figure 5)에서도 1,4-다이옥산의 농도가 증가할수록 독성값 또한 증가하는 경향을 보였으며, 상대적으로 완만하게 상승하였다. 두 물질 간의 독성영향을 살펴본 결과(Figure 5), 디클로로메탄 100 mg/L (TU 0.40)에 1,4-다이옥산 1 (TU 0), 5 (TU 0), 10 mg/L (TU 0)이 첨가된 혼합물에 대한 TU값이 각각 0.40, 0.50, 0.55, 0.60로 나타나 앞의 경우와 마찬가지로 독성이 대체로 상승되는 효과를 볼 수 있었다. 그러나 첨가한 1,4-다이옥산의 농도가 낮고(TU 0), 디클로로메탄에 비해 독성값도 상대적으로 매우 낮아서 혼합물질에 대한 독성영향은 판단할 수 없었다.

4. 결 론

공공수역으로 방류되는 산업폐수 내 특정수질유해물질 중 1,4-다이옥산과 디클로로메탄이 배출허용기준을 초과한 경우가 자주 발생하여 *Daphnia magna*를 이용한 생태독성시험을 수행하였으며, 동시에 실험실에서 합성한 단일 물질 및 혼합폐수에 대해서도 생태독성시험을 수행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 산업폐수 방류수에 대한 물벼룩 급성독성시험 결과, 1,4-다이옥산의 24 h 생태독성값은 7.5 mg/L에서 1.1 TU를 나타내어 배출허용기준에 근접한 값을 나타내고 있다. 디클로로메탄의 경우, 1,4-다이옥

산과 혼합하여 존재하였는데, 이화학적 농도와 무관한 생태독성값을 나타내어 검출되지 않은 다른 물질의 영향을 받은 것으로 사료되었다.

2. 실험실에서 합성한 폐수에 대한 물벼룩 급성독성시험 결과, 1,4-다이옥산의 24와 48 h의 EC_{50} 값은 각각 1,744 (약 0.06 TU), 1,409 mg/L이었고, 디클로로메탄의 경우, 24와 48 h의 EC_{50} 값은 각각 170 (약 0.6 TU), 143 mg/L로 이화학적 배출허용기준(1,4-다이옥산: 4.0 mg/L, 디클로로메탄: 0.2 mg/L)에 비해 매우 높은 농도를 나타내었다.

3. 실험실에서 합성한 혼합폐수, 1,4-다이옥산과 디클로로메탄의 혼합물질에 대한 독성영향을 평가한 결과, 상호 농도가 증가할수록 생태독성값이 증가하여 상승효과가 나타난 것으로 판단되지만, 비슷한 농도의 산업폐수에 비해서 매우 낮은(5% 이하) 생태독성값(TU)을 나타내었다. 특히, 산업폐수에는 이화학적 분석으로 검출되지 않은 VOCs 및 검출한계 이하로 존재하는 다양한 VOCs로 인하여 생태독성값을 예측하기 어려웠다.

References

1. Y. C. Jung, Study on extended authorization of specific toxic substance and establishment of the effluent standard, Research Report, Ministry of Environment, Korea (2002).
2. S. W. Geis, Modification to the algal growth inhibition test for use as a regulatory assay, *Environ. Toxicol. Chem.*, **19**, 36-41 (2000).
3. J. H. Kim *et al.*, A study on discharge of hazardous water pollutants in industrial wastewater, Research Report NIER-RP2012-188, National Institute of Environmental Research, Korea (2012).
4. K. Yoo and B. Lim, A study on the distribution characteristics of VOCs in groundwaters of the Chungnam province, *J. Korean Soc. Environ. Eng.,* **25**, 340-345 (2003).
5. N. J. Sell, *Industrial Pollution Control Issues and Techniques*, 2nd ed., pp. 14-17, Von Nostrand Reinhold, NY, USA (1992).
6. S. Min, Evaluation of metal toxicity by algae, water fleas and luminescent bacteria, *J. Korean Soc. Civil Eng.*, **20**, 421-427 (2000).
7. J. Jeong, Acute and chronic toxicity of heavy metals to *Daphnia magna*, *J. Environ. Sci. Int.*, **10**, 293-298 (2001).
8. S. Cho, *Acute and Chronic Toxic Test of Insecticides in Daphnia magna*, MSc Dissertation, Busan National University, Busan, Korea (1999).
9. S. Kim, *Bioassay of Industrial Effluent Using the Water Flea (Daphnia magna) and Bioluminescent Bacteria (Vibrio fischeri)*, PhD Dissertation, Hanyang University, Seoul, Korea (2006).
10. J. Lee, Monitoring and risk assessment of 1,4-dioxane in Nakdong river, *Anal. Sci. Technol.*, **21**, 383-391 (2008).
11. S. Choi, A cancer risk assessment of Di(2-ethylhexyl)-phthalate, *J. Toxicol. Public Health*, **18**, 99-106 (2002).
12. D. Woo, Ecological risk assessment for cadmium in environmental media. *J. Environ. Health Sci.*, **44**, 548-555 (2018).
13. E. Seo, Ecotoxicity assessment of bronopol to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and danio rerio empryos, *J. Korean Soc. Urban Environ.*, **18**, 87-93 (2018).
14. S. H. Lee and H. S. Lee, Comparison between ecotoxicity using *Daphnia magna* and physiochemical analyses of industrial effluent, *J. Environ. Sci. Int.*, **23**, 1269-1275 (2014).
15. Korea Ministry of Environment, Chemical emissions survey report (2014).
16. T. Backhaus, Predictability of the toxicity of a multiple mixture of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio fischeri*, *Environ. Toxicol. Chem.*, **19**, 2348-2356 (2000).
17. International Standard Organization, Water quality determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri*, ISO Standard 11348 (1998).
18. S. Park and T. Kim, Perspective of management and review of analytic methods for 1,4-dioxane in water sample, *Anal. Sci. Technol.*, **18**, 173-187 (2005).
19. J. Nam, *Comparison Study on the Ecotoxicity Tests of Organic Materials by Using Algae*, MSc Dissertation, Hanyang University, Seoul, Korea (2017).
20. US EPA, IRIS (Integrated Risk Information System), http://www.epa.gov/iris (2006).
21. US EPA, Ecotox database, http://cfpub.epa.gov/ecotox (2010).
22. D. Park and H. Bae, Acute toxicity test for wastewater from several drainage canals and discharges using *Daphnia magna*, *J. Environ. Sci.*, **20**, 811-818 (2011).
23. M. A. Kamrin, *Pesticide Profiles : Toxicity, Environmental Impact and Fate*, pp. 620-627, Lewis Publishers Boca Raton, FL, USA (1997).
24. J. P. Rioux and R. A. Myers, Methylene chloride poisoning: A paradigmatic review, *J. Emerg. Med*, **6**, 227-238 (1988).
25. Y. Kim, Safety test of synthetic chemicals, Research Report, pp. 90-107, Ministry of Environment, Korea (1988).
26. C. V. Rider, An integrated addition and interaction model for assessing toxicity of chemical mixture, *Toxicol. Sci.*, **87**, 520-528, (2005).
27. J. Lee, Toxicity of binary mixture of cyanide and 3,5-dichlorophenol to *Vibrio fischeri* determination by newly developed N-toxic bioassay system, *J. Environ. Toxicol.*, **11**, 27-36 (2007).
28. E. Anders, Single substance and mixture toxicity of three toxicants with similar and dissimilar modes of action to *Daphnia magna*, *Environ. Biol.*, 6-38 (2005).