

해양오염방제 자재·약제의 성능시험기준 개선방안에 관한 연구 (생태독성시험 항목)

김태원* · 이수진** · 김영운**** · 이문진****

*, ***, 해양생태기술연구소 책임연구원, ** 해양생태기술연구소 선임연구원, **** 선박해양플랜트연구소 책임연구원

Improvement of Performance Test Standards for Marine Pollution Prevention Materials and Chemicals (for Eco-toxicity Test)

Tae Won Kim* · Su Jin Lee** · Young Ryun Kim**** · Moon Jin Lee****

*, ***, Principal research scientist, Marine Eco-Technology Institute, Busan 48520, Korea

** Senior research scientist, Marine Eco-Technology Institute, Busan 48520, Korea

**** Principal research scientist, Korea Research Institute of Ships & Ocean Engineering, Daejeon 34103, Korea

요 약 : 우리나라의 '해양오염방제 자재·약제의 성능시험기준 및 검정기준 중 '생물에 대한 영향시험'(생태독성시험)의 시험방법과 판정기준의 개정과 관련한 방향을 제시하기 위해 현행 기준의 문제점을 파악하고 국가별 제도 비교를 통한 개선방안을 제시하였다. *Skeletonema costatum*을 이용한 성장저해시험의 경우, 배양액 색조를 비교하여 판단하는 기준 대신 측정된 성장률을 적절한 통계기법을 이용하여 비교 분석하는 과학적인 기준이 도입되어야 하며 시험기간의 경우, 지수성장기를 고려하여 4일 이내가 합당한 것으로 판단된다. 어류를 이용한 독성시험의 경우, 다양한 물질에 대한 독성시험 및 비교연구를 통해 방제 자재에 대해 일관되고 적절한 민감도를 나타낼 수 있는 보다 적절한 어체크기에 대한 재설정이 필요하고 이에 따른 합리적이고 객관적인 판정기준이 마련되어야 할 것으로 판단된다. 시험종의 경우, *Artemia* sp. 대신 해양 윤충류인 Rotifer, *Brachionus plicatilis*가 대안이 될 수 있으며 어류시험의 경우, 굴류(Oyster)와 같은 이매패류의 분류군을 이용한 독성시험으로의 대체 역시 대안으로 고려될 수 있다. 마지막으로 해양오염방제 자재·약제의 형식승인 시험과 관련하여 생태독성시험 분야의 경우, 업무의 특수성과 결과의 신뢰성을 고려하여 별도의 공인시험기관 지정 또는 관련 유사 법률과 연계한 일원화된 창구가 필요하며 수용가능한 수준의 시험비용 산정과 시험항목 조정을 통한 합리적인 제도개선이 필요할 것으로 판단된다.

핵심용어 : 해양오염방제 자재·약제, 해양생태독성시험, 판정기준, 시험종, 개선방안

Abstract : This study suggests ways to improve the standard test method and judgment criterion for the "Eco-toxicity Test" based on the rules and regulations provided in 'performance and qualifying test standards for marine pollution prevention materials and chemicals' in the Republic of Korea. Compared with the relevant references of other countries, this study attempted to find the limitations in the existing standards. As for the growth inhibition test of algae using *Skeletonema costatum* as an indicator, applying comparative analysis to measure specific growth rates, together with statistical analysis, instead of applying current methods, judged by the appearance of colors from the culture medium was suggested. Considering the exponential growth phase of the test species, the test duration was suggested to be reduced to less than four days. For the test with fish as an indicator, resetting the appropriate body size was suggested to, show consistent sensitivity against chemicals applied during testing. Furthermore, it is necessary to consider the criteria needs, which should be established in reasonable and objective ways. For the testing species, marine rotifer, *Brachionus plicatilis* could be a replacement for *Artemia* sp., and a bivalve for fish in the test. To improve the performance effectiveness of the "Eco-toxicity test", it is worth considering the designation of accredited testing institutes, by placing it in the same loop. Thus it is also expected to have a reliable management system in place, having the capacity of cost calculation properly and adjusting testing items if required.

Key Words : Marine pollution prevention materials and chemicals, Marine ecotoxicity test, Judgement criterion, Test species, Improvement

* First Author : twkim@marine-eco.co.kr, 051-611-4271

† Corresponding Author : yykim@marine-eco.co.kr, 051-611-0961

1. 서론

1960년대 이후 발전된 산업은 대부분 석유를 에너지원으로 이용하였으며, 원유를 포함한 석유류의 해상운송 양과 빈도도 전세계적으로 증가되었다. 이에 따라 유류의 해상운송과정에서 발생하는 유류유출사고(Oil spill accident)로 인한 해양오염 역시 빈번히 발생되고 있다(Jin et al., 2015; 2019). 국제해사기구(IMO, International Maritime Organization)는 대규모 해양오염사고 발생 시 국가간의 협력을 촉진하고 효과적으로 방제작업이 수행될 수 있도록 ‘유류오염의 대비·대응 및 협력에 관한 국제협약’(OPRC, International Convention on Oil Pollution Preparedness, Response and Co-operation)을 1990년에 채택하였다(IMO, 1990). 우리나라는 1995년 씨프린스호 사고를 계기로 국가긴급방제계획(NCP, National Contingency Plan)과 지역긴급방제계획(RCP, Regional Contingency Plan)의 정비 및 관련법에 대한 면밀한 검토가 이루어졌으며 그 결과, 국가방제능력의 규모를 16,900 KL로 증가하였고 해양오염방제조합을 신설하는 등의 후속 조치가 이루어졌다(Kim, 2008; Choi et al., 2020). 이후 국내 해양유출사고는 매년 평균 300여건 발생하였으나 모두 1,000 KL 규모 이하의 사고로 큰 관심을 받지 못하였으나 2007년 국내 최대의 해양 유류유출 사고인 허베이스피리트호 사고가 발생하여 263,000 KL의 원유 중 약 12,547 KL의 원유가 해양으로 유출되었으며 피해액은 7,341억원으로 이에 따른 방제비용만 1,167억으로 추산되었다(Kim, 2008; Jin et al., 2019). 이와 같이 대형 유조선 사고의 발생빈도는 비교적 낮지만 사고발생 시 유류 유출양과 그에 따른 피해액은 이전 10여 년간의 작은규모의 모든 사고의 영향(유출양 및 피해액)에 견줄만하다(Kim, 2008).

해상 유류유출사고의 경우 신속한 초기대응(방제작업 및 확산방지에 따라 산업 및 환경에 대한 피해를 현격히 감소시킬 수 있다(Etkin et al., 2005; Tamis et al., 2012). 현재까지 해상의 유류오염에 대한 긴급방제 방법으로는 오일펜스(Oil fence), 유회수기(Oil skimmer), 유흡착제(Absorbent) 등을 이용하여 기름을 회수 및 제거하는 물리·기계적인 방법과 유처리제(Dispersant), 유겔화제(Solidifying agent) 등을 이용한 화학적 방법, 기름분해 미생물을 이용한 생물학적 방법(Bioremediation agent) 및 해상에서 유출유를 소각하는 해상소각법(In-situ burning) 등으로 구분된다(Cheong, 2008). 우리나라는 해상 유류오염의 방제작업 시 사용되는 방제품목에 대해서는 해양환경관리법 제110조 4항(해양환경측정기기 등의 형식승인), 동법 시행규칙 제66조(자재·약제의 형식승인 신청 등)에 의해 총 5종(오일펜스, 유처리제, 유흡착제, 유겔화제 및 생물정화제)으로 규정하여 방제 자재·약제를 사용함에 있어 해양환경에 미치는 영향을 최소화하고 일정 성능

이상의 제품을 생산 및 판매하도록 유도함을 그 목적으로 하고있다. 또한 이 5가지 품목에 대해서는 ‘해양오염방제 자재·약제의 성능시험기준 및 검정기준에 관한 규칙’(해양경찰청고시 제2020-8호)에 따라 성능(형식승인)시험을 통과한 자재 및 약제에 대해서만 방제작업이 가능하다. 현재 해양경찰청의 형식승인을 받고 판매중인 자재 및 약제의 현황은 총 5종 417점(Table 1)으로 형식승인을 위한 각 시험항목은 Table 2에 제시하였다.

Table 1. Currently number of marine pollution prevention materials and chemicals approved by Korea Coast Guard

Type	No. of approved materials		
	Total (*Corp.)	Domestic	Imported
Oil fence	146 (31)	110	36
Absorbent	215 (66)	188	27
Dispersant	36 (20)	28	8
Solidifying agent	11 (10)	7	4
Bioremediation agent	9 (9)	7	2

*Corp.: Corporations

5종의 자재 및 약제 중 물리적 방제자재인 오일펜스와 유흡착제를 제외한 3종(유처리제, 유겔화제 및 생물정화제)의 경우 방제작업 시 발생할 수 있는 2차오염에 대한 우려로 인해 ‘생물에 대한 영향시험’(이하 생태독성시험) 항목이 성능시험 및 주기적인 검정시험 기준에 포함되어있다. 그러나 이 기준에 인용된 시험법인 국가기술표준 KS M 2800(유처리제) 및 KS M 1720(유겔화제)의 경우 최초 1989년에 제정되어 30여 년간 이용되어 왔으며 몇차례 개정이 이루어졌으나 생태독성시험에 대한 세부 시험방법 및 판정기준 등은 개정된 부분이 전무하며 현재까지도 표준에서 제시하고 있는 시험의 세부절차(생물학명, 관리방법, 농도구배 및 접종과정 등)와 판정기준에 대해서는 불명확한 부분이 많은 것이 사실이다. 또한 현재 전세계적으로 많이 이용되고 있는 경제협력개발기구(OECD, Organization for Economic Cooperation and Development), 국제표준화기구(ISO, International Organization for Standardization), 미국재료시험협회(ASTM, American Society of Testing and Materials International) 및 미국환경보호청(US EPA, U. S. Environmental Protection Agency) 등에서 제시하는 해양생물을 이용한 생태독성시험법에 포함되어 있는 시험결과의 신뢰성을 담보하는 품질관리(Quality assurance) 및 정도관리 기준 역시 본 국내 표준에서는 찾아볼 수 없다.

따라서 본 연구에서는 현재 해양오염방제 자재·약제의 성

Table 2. Performance standard testing lists of marine pollution prevention materials and chemicals

Type	Oil fence	Absorbent	Dispersant	Solidifying chemicals	Bioremediation chemicals
Testing lists	Appearance check	Temperature test	Flash point	Flash point	Ecotoxicity test
	Dimension check	Oil absorption test	Kinematic viscosity	Kinematic viscosity	Oil decomposition test
	Material inspection	Water absorption test	Emulsification rate	Gelation rate	
	Connection inspection	Vibration test	Ecotoxicity test	Scavenging rate	
	Floating test	Strength test	Density	Recovery rate	
	Tensile strength test	Tensile test	Pour point	Ecotoxicity test	
	Leakage test		Color	Moisture content	
	Oil resistance test				
	Weathering test				

능시험 및 검정시험 기준 중 생태독성시험의 시험방법(생물 중 선정 포함)과 판단기준의 문제점을 파악하고 국가별 제도 비교를 통한 개선방안을 제시하여 과학적이고 합리적인 국내 고시 개정의 방향을 제시하고자 하였다.

2. 국내 · 외 현황

우리나라에서는 1990년대 이전 해운항만청이 해양오염방지 기자재의 형식승인을 담당하고 있었으며 실제로는 선급협회가 타 시험기관에 의뢰하여 유처리(분산)제 등의 성능 및 생태독성시험을 수행하였다(Korea Ministry of Agriculture, 1996). 이 당시 유처리제의 무분별한 대량살포로 인한 2차오염 문제가 대두됨에 따라 유처리제에 대한 생태독성시험법이 1989년 국가기술표준(KS M 2800)으로 제정되었으며 1994년 유처리제의 형식승인이 환경처로 이관된 후 검사기준이 대폭 강화되었다. 이후 1995년 ‘해양오염방지법’을 개정하여 해양오염 방제업무의 책임기관을 해양경찰청으로 일원화하였고 현재까지 해양오염방제 자재·약제의 형식승인 업무를 담당하고 있다(KCG, 2018).

현재 유처리제, 유결화제 및 생물정화제에 대한 성능시험 기준 중 생태독성시험 기준은 품목별로 시험종 및 판정기준이 다소 차이가 있지만 총 5개의 시험종(*Skeletonema costatum*, *Oryzias sp.*, *Artemia sp.*, *Sebastes schlegelii* 및 *Vibrio fischeri*)이 시험에 이용되며 시험조건 및 판정기준은 Table 3과 같다(해양경찰청고시 제2020-8호).

일본의 경우 1970년 ‘해양오염 및 해상재해의 방지에 관한 법률’이 제정되었고 운수성의 담당 아래 시행규칙의 일부 개정 후 1973년에 유출 유처리제의 사용기준이 제정되었고 방제 자재·약제의 형식승인제도가 의무화 되어 오늘에 이르고 있다(MDPC, 1996). 이 중 생태독성시험기준은 현재 유처리제와 유결화제에 한해 적용되며 시험종은 해산규조

류 *S. costatum*과 담수산 어류인 송사리 *Oryzias latipes* 2종으로 국한하고 있다(Table 4).

미국의 경우 1972년 연방수질오염방지법(FWPCA, Federal water pollution control act)이 제정되면서 국가긴급계획(NCP, National contingency plan)이 수립되었으나 이 당시 유류오염에 대한 규정의 경우 6쪽 분량에 불과하였다. 이후 1989년 Exxon Valdez호의 오염사고의 계기로 1990년 유류오염방지법(OPA, Oil pollution act)이 제정되면서 사용할 수 있는 유처리제를 NCP Product schedule(40 CFR 300.900)에 등재시켜놓았다(Korea Ministry of Agriculture, 1996; Choi and Lee, 2009). 현재는 유처리제와 같은 방제자재에 대해 해산 곤쟁이류인 *Mysidopsis bahia*와 해산어류인 *Menidia beryllina*를 이용한 생태독성시험을 의무화하고 있다. 그러나 미국은 해양오염방제 자재·약제의 성능이나 독성에 있어서 최소한계를 규정하거나 법으로 제품에 대한 승인을 허가하는 대신 현장책임자

Table 3. Ecotoxicity test method for marine pollution prevent agents notified by korea coast guard

Test species (Test duration)	Criteria	Standard
<i>Skeletonema costatum</i> (7d)	No significant color difference between control and 100 mg/L	KS M 2800
<i>Oryzias sp.</i> (24h)	LC ₅₀ > 4,000 mg/L LC ₅₀ > *MUC	KS M 1720
<i>Artemia sp.</i> (24h)	LC ₅₀ > 4,000 mg/L LC ₅₀ > MUC	
<i>Sebastes schlegelii</i> (Rockfish) (24h)	LC ₅₀ > MUC	KS M 2800
<i>Vibrio fischeri</i> (60min)	EC ₅₀ > MUC	Standard method for Maritime Environment

*MUC: Maximum Use Concentration

Table 4. Comparison of Eco-toxicity testing methods and requirements for the use of marine pollution prevention materials and chemicals in major countries

Country	Lead government agency	Test materials	Test species	Approval or Registration
Korea	Korea Coast Guard (KCG)	Dispersant Solidifying agent Bioremediation agent	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Oryzias</i> sp. <i>Artemia</i> sp. <i>Sebastes schlegelii</i> <i>Vibrio fischeri</i>	Approval
Japan	Ministry of Land, Infrastructure, Transport and Tourism (MLIT)	Dispersant Solidifying agent	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Oryzias latipes</i>	Approval
USA	United States Environmental Protection Agency (US EPA)	Bioremediation agent Dispersant Miscellaneous oil spill control agent Surface collecting agent Surface washing agent	<i>Mysidopsis bahia</i> <i>Menidia beryllina</i>	Registration
Canada	Environment and Climate Change Canada (ECCC)	Dispersant Herding agent Emulsion treating agent Solidifier Bioremediation agent Surface-washing agent	<i>Oncorhynchus mkiss</i> <i>Gasterosteus aculeatus</i> <i>Daphnia</i> sp. <i>Vibrio fischeri</i> Sea urchin Marine Amphipods	Approval
UK	Department for Environment, Food and Rural Affairs (Defra)	Dispersant Bioremediation agent Sorbent Surface cleaner Solidifying agent	<i>Crangon crangon</i> <i>Patella vulgata</i>	Approval
Australia	Australian Maritime Safety Authority (AMSA)	Dispersant Surface cleaner Bioremediation agent Loose sorbent Degreaser Solidifying or gelling agent Emulsion breaker Herding agent	Crustacean Fish larvae Algae/Phytoplankton Macroalgae/seaweeds Bivalve larvae/zooplakton Seaurchin larvae/zooplankton	Registration

가 제품등록부(Product list)에서 각종 자료를 검토하고 판단하여 사용하도록 하고있다(Table 4; Korea Ministry of Agriculture, 1996; US EPA, 2021).

캐나다의 경우 1985년 캐나다 유류 및 가스 사업법(Canada oil and gas operation act)을 제정하고 1992년 해양오염방제 약제에 대한 목록 규정을 수립하여 환경부 자체 시험 및 각종 연구를 통해 성능과 안전성이 입증된 제품에 대해서 승인을 허가하며 2021년 현재 Corexit®사의 2개의 제품만이 승인을 득한 상태이다. 승인에 필요한 생태독성시험은 캐나다 환경보호시리즈(EPS, Environmental protection series)의 자국 표준 독성시험법을 이용하여 수행된다(Table 4; Brown et al., 2011; Canada Gazette, 2016).

영국은 1983년 유처리제에 대한 유효성과 생태독성시험에 대한 시험규격(LR 448)을 개발하였으며 1985년 식품 및 환경 보호법(Food and environment protection act)을 제정하여 정부승인 없이 유처리제의 해양배출을 허용하지 않았다. 1996년까지는 모든 유처리제의 독성시험이 농림수산식품부(MAFF, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food)에서 수행되었지만 이후 현재까지는 정부로부터 인가를 받았거나 적절한 공인시험소에서 시험이 이루어지고 있다. 현재 생태독성시험은 사용해역에 따라 Sea test(해상에서의 사용)와 Rocky shore test(조간대에서의 사용)으로 구분하여 갑각류인 *Crangon crangon*와 삿갓조개류인 *Patella vulgata*을 각각 시험종으로 이용하고 있다(Table 4; MAFF, 1996).

호주의 경우 미국과 마찬가지로 방제자재의 성능에 대한 별도의 규정 또는 법적인 승인절차 없이 공인된 시험소에서 생물그룹별로 다양한 독성시험을 수행하도록 하여 독성영향이 일정수준 이하(1~10 ppm)로만 검출되면 방제자재 등록부(Register of oil spill control agent)에 등록하여 사용이 허가 되도록 하고있다(Table 4; AMSA, 2015).

3. 문제점 및 개선방안

3.1 판정기준

현재 국내 고시상 유처리제, 유겔화제의 생태독성시험의 경우 *S. costatum*을 이용한 독성시험법이 포함되어 있으며 합격 판정기준의 경우 '100 mg/L 이상의 시험구를 대조구와 비교하여 같은 색조 또는 약간 옅은 색조일 것'으로 규정하고 있다. 이러한 판정기준은 1970년대 제정된 일본의 판정기준을 그대로 준용하고 있다. *S. costatum*을 이용한 독성시험의 경우 미세조류(Microalgae) 단일세포들의 분열과정으로 나타나는 성장률을 비교하는 시험법으로 시험기간동안의 비성장률(SGR, Specific growth rates)을 비교하여 독성의 유무를 판단한다. 이러한 조류성장저해시험(Algae growth inhibition test)은 국제적으로 널리 표준시험법으로 인정받고 있으며 판정기준은 모든 표준시험법에서 측정된 세포수를 이용한 성장률을 대조구와 적절한 통계기법을 이용하여 비교 분석한 후 유의한 차이가 있는지를 판단한다(US EPA 821-R-02-013, 2002; ASTM E 1218-04, 2007; OECD 201, 2011; ISO 10253, 2016). 그러나 현행 국내 고시의 판정기준은 단지 배양액 색을 비교하여 세포밀도를 육안으로 유추하여 추정한다. 이 경우 시험종료시 시험구에서 미세조류의 수만여 세포들이 사멸하였음에도 불구하고 세포벽이 파괴된 후 잔여 엽록소들만 남아 색의 차이가 나지 않아 실제 독성의 영향이 가려질 수 있으며 이러한 색 비교법을 통한 독성의 유무 판단은 결과의 객관성과 신뢰성을 담보하지 못한다.

시험기간의 경우 KS M 2800에서는 7일간으로 명시하고 있다. 앞서 기술한 국제표준시험법의 경우 모두 시험기간을 72시간에서 길게는 120시간을 초과하지 않도록 규정하고 있다. 이는 한정적인 영양성분(배양액) 안에서 광합성을 통한 세포증식이 이루어지고 미세조류 성장 특성상 지수성장기(Exponential phase) 이후 안정기(Stationary phase) 및 사멸기(Death phase)에 도달하기 때문에 독성의 영향을 지수성장기에서만 검출되게 하고자 함이다(ISO, 2008). 그러나 KS M 2800의 7일간 배양은 *S. costatum*의 안정기 및 사멸기가 포함될 수 있는 기간으로 자연적인 성장률 감소로 인해 독성영향 역시 영향을 받을 수 있다.

이를 검증하기 위하여 기존 해양경찰청의 형식승인을 취

득한 유처리제 두 제품(A, B)을 무작위로 선택하여 KS M 2800 시험법에 따라 7일간 *S. costatum*을 이용한 독성시험 후 성장양상과 독성영향을 기존의 색 차이법과 성장률을 이용한 통계기법을 통해 비교 분석하였다. 그 결과, 두제품 모두 시험종료 시 100 mg/L 농도의 배양액 색이 대조구와 유사하여 현행기준으로는 합격으로 판정되었다. 그러나 B제품의 경우 7일간의 성장률을 이용한 통계분석 결과에서는 미약하게나마 100 mg/L 농도에서부터 대조구와 비교하여 성장률에 유의한 차이를 보여 독성영향이 나타났다(Fig. 1, LOEC: 100 mg/L, $p < 0.05$). 또한 72시간까지의 독성영향과 7일간의 독성영향을 비교한 결과, 72시간의 독성영향이 7일간 보다 다소 높게 나타났으며(7d-EC₅₀: 953 mg/L, 72h-EC₅₀: 873 mg/L) 이는 앞서 기술하였던 4일째부터 지수성장기가 아닌 안정기로 유입되면서 대조구와 시험구의 세포 성장에 미치는 독성영향이 감소된 성장률에 가려지면서 나타난 결과로 판단된다. 본 연구에서는 단 2종류의 유처리제만을 무작위로 선택하여 수행된 시험의 결과로 다른 모든 생태독성시험의 판정을 대표할 수는 없으나 단편적인 배양액의 색을 이용한 판정기준에 대해서 한계가 존재한다는 것을 알 수 있다.

따라서 현행의 *S. costatum*을 이용한 독성시험법의 판정기준의 경우 단지 배양액 색을 비교하여 세포밀도를 육안으로 유추하여 추정하는 과거 일본의 판정기준 대신 실제로 계수된 세포밀도를 바탕으로 측정된 성장률을 적절한 통계기법을 통해 비교 분석하는 객관적이고 과학적인 판정기준이 도입되어야 하고, 시험기간의 경우 4일 이내로 축소시켜 한정된 영양성분 내에서 세포증식에 따른 안정기와 사멸기가 시험기간에 포함되지 않아야 할 것으로 판단된다.

국내고시의 어류(송사리, 우럭)를 이용한 생태독성시험의 판정기준의 경우 '24h-LC₅₀값이 4,000 mg/L 또는 최대적정사용농도 이상일 것'으로 규정하고 있다. 이 기준 역시도 일본

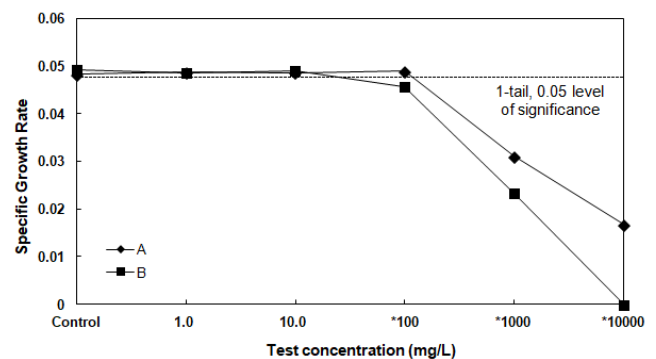


Fig. 1. Concentration-response curves of specific growth rates at 7 days of *Skeletonema costatum* which was exposed to oil dispersants (A and B) passed the performance test. The dotted line is represented as 0.05 level of significance.

의 송사리류 시험의 판정기준인 '24h-LC₅₀값이 3,000 mg/L 이상일 것'을 참고하는 과정에서 기준농도를 유사하게 설정한 것으로 판단된다. 또한 시험어종의 연령 및 크기의 조건의 경우, 송사리는 평균체장 50 mm 이하의 것, 우럭의 경우 5~15 cm의 것을 이용하도록 명시하고 있어 어체크기의 선택에 가용성의 범위가 상당히 넓다(KS M 2800, 2016; KS I 3217, 2018). 보통 어류를 이용한 생태독성시험에 있어 어린 개체는 성체보다 독성물질에 대해 더욱 민감하다고 보고되고 있다(US EPA 821-R-02-013, 2002; Mohammed, 2013). 실제로 어류의 경우 연령이 증가할수록 피부가 발달하면서 비늘의 다층화로 인한 가스 및 용매의 투과성이 감소하고 독성물질을 격리할 수 있는 점액층을 분비하여 같은 독성물질에 대해 덜 민감해진다(Coombs et al., 1972).

현재 많은 국가에서 이용되고 있는 독성시험규격인 OECD 203(2019)에서는 송사리의 경우 1.0~2.0 cm로 제한하고 있으며 US EPA 821-R-02-012(2002)에서는 *Cyprinodon variegatus*와 *Menidia beryllina* 어종의 연령을 부화후 14일 이내의 동일한 어체를 독성시험에 이용하도록 제한하는 것 또한 이러한 원인 때문이다. 시험어체 크기의 선택의 폭이 넓어지면 그만큼 실제 방제 자재에 대한 독성영향 역시 변화의 폭이 넓어지게 되며 이는 결과적으로 명확하고 일관성 있는 독성영향의 검출이 어려워지게 된다.

따라서 어류를 이용한 독성시험의 경우 다양한 물질에 대한 독성시험 및 비교연구를 통해 방제 자재에 대한 일관되고 적절한 민감도를 나타낼 수 있는 연령 및 어체크기에 대한 재설정이 필요하고 이에 따른 합리적이고 객관적인 판정기준(LC₅₀ 값 등)이 마련되어야 할 것으로 판단된다.

3.2 시험종

현행 국내 해양오염방제 자재·약제의 성능 및 검정시험에 이용되는 5종의 시험생물 중 해양규조류를 제외한 무척추동물로 Brine shrimp (*Artemia* sp.)를 시험종으로 지정하고 있다. *Artemia* sp.는 전세계에 널리 분포하는 해양 갑각류의 한 속으로 온도와 염분에 대한 강한 내성, 짧은 수명주기, 다양한 생식전략 등의 특징을 토대로 사용의 용이성과 경제성을 장점으로 과거 1970년대부터 해양생태독성연구에 많이 이용되었다(Persoone and Wells, 1987; Nunes et al., 2006). 또한 미국에서는 1993년까지 유처리제의 독성시험종으로 Brine shrimp를 사용하였다. 그러나 1990년대에 들어오면서 *Artemia* sp.는 독성연구에 광범위하게 이용되었음에도 불구하고 기존의 다른 시험종에 비해 특정 화합물 및 중금속에 대해 비교적 낮은 민감도의 문제와 서식환경의 특수성으로 인해 미국에서도 1994년 이후 유처리제의 독성시험종에서 삭제되었다(Korea Ministry of Agriculture, 1996). 현재는 국제적으로 통용

되는 일반적인 해양생태독성 표준시험법(OECD, ISO, ASTM 및 US EPA 등)에는 시험종으로 등록되어있지 않으며(Crisinei et al., 1994; Gaggi et al., 1995; Song and Brown, 1998; Guerra, 2001; Nałęcz-Jawecki et al., 2003) 최근 고염분의 염호(鹽湖)환경을 대상으로 한 나노물질의 독성시험종으로 국한되고 있다(ISO/TS 20787, 2017).

어류 시험종으로는 현재 송사리류(*Oryzias* sp.)와 우럭(Rockfish, *Sebastes schlegelii*)이 지정되어 있으며 송사리 역시 앞서 기술한 바와 같이 일본의 시험종을 그대로 준용한 것으로 추정된다. 일본은 1930년대부터 아시아 국가들에 널리 분포하는 송사리류인 *O. latipes*에 대해 연구를 시작하였으며 1975년에는 생리, 생태 및 지리적 분포 등 최첨단 기술을 집약한 참고문헌이 출판되었고(Shima and Mitani, 2004) 일본명인 메다카(*Medaka*)가 현재는 고유명사가 될 정도로 *O. latipes*에 대한 관심이 많았다. 또한 생물학적 연구 외에도 1980년대까지 독성학 및 환경학 연구에도 활용되어 왔으며(Ishikawa et al., 1984) 현재까지도 일본의 유처리제 등의 형식승인시험종으로 포함되어 있다. 단 일본에서 독성시험용으로 개발한 송사리는 *O. latipes*의 다양한 변이종 중 실험실 사육이 가장 용이한 Orange-red type (d-rR Strain)을 개량한 종으로 현재 국내에 서식하지 않는 종이다(Japan Ministry of Environment, 2003).

우리나라에 서식하는 송사리는 과거 2집단으로 구분하여 분류학적으로 *O. latipes*와 *Oryzias sinensis*로 분류하고 있으며 이 2종을 이용한 독성시험에 대한 연구는 전무한 실정이다. 또한 분류체계 역시 국가간 합의가 이루어지지 않아 논란의 여지가 있다(Nam et al., 2007). 따라서 현재 국내 고시에서 제시하고 있고 국내에 서식하는 송사리류인 *O. latipes*, *O. sinensis*와 일본의 개량종 간에 독성 민감도 차이에 대한 확인이 필요하며 이러한 송사리류의 경우 담수종으로써 해양환경에 대한 영향을 파악하는 시험에 사용되는 종으로 타당성에 대한 확인 역시 필요하다.

해양종인 우럭의 경우 국내에 많이 서식하고 국민들이 선호하는 경제적 가치가 있는 종이긴 하나 독성시험을 위해 동일한 어미로부터 태어난 균일한 연령의 작은개체를 시험수량 만큼 확보하기 위해서는 실험실 내에서 모든 생활사를 관리하며 사육하여야 한다. 그러나 종 특성 상 초기 먹이불입, 상호공식(相互共食) 및 해수관리 등의 문제로 소규모의 실험실에서 전 세대를 관리하기란 사실상 불가능하다. 대안으로 실제 양식장을 대상으로 필요한 시험어를 분양을 받는 방법이 있으나 이 역시도 분양시기 및 이해관계에 따라 제한적일 수 밖에 없다.

이러한 현행 고시기준에 포함된 시험종의 문제점에 대한 개선방안으로는 먼저 무척추동물의 경우, 서식환경 및 민감

Table 5. Acceptable range in reference toxicant tests of major marine toxicity test standards

Test organism	End point	Reference toxicant	Precision object	Reference
Algae (<i>Skeletonema</i> sp.)	72h-growth inhibition	Potassium dichromate	72h-EC ₅₀ : 2.5±1.1 mg/L	ISO 10253
Invertebrate (<i>Brachionus plicatilis</i>)	24h-survival	Copper	24h-LC ₅₀ : 80±50 µg/L	ASTM E1440-91
Fish (<i>Menidia beryllina</i>)	7d-survival & growth	Copper sulfate	7d-LC ₅₀ : 24.3±8.13 % 7d-EC ₂₅ : 18.7±6.80 %	EPA-821-B-01-004

도에 대해 문제가 제기되고 있는 *Artemia* sp. 대신 해양윤충류 Rotifer(*Brachionus plicatilis*)가 대안으로 고려될 수 있다. *B. plicatilis*는 전세계 해역에 서식하는 동물플랑크톤의 한종으로 *Artemia* sp.와 마찬가지로 환경변화에 대한 내성이 강하고 유·무성생식을 함께 하며 내구란(Cysts)을 형성하여 취급도 용이하다. 또한 *B. plicatilis*를 이용한 생태독성시험법은 ASTM에 표준시험법으로 등재되어 있으며(ASTM E 1440-91, 2004) 우리나라 해양환경공정시험기준(해양생물편)에도 포함되어 있는 시험법이다.

어류의 경우, 현재까지 전세대를 소규모 실험실 내에서 관리할 수 있는 국내 해양종이 개발되지 않아 대체할 독성 시험종이 없는 것이 사실이다. 따라서 어류 시험종을 다른 분류군을 이용한 시험으로 대체하는 것도 대안으로 고려될 수 있다.

패류는 다양한 해양환경(조하대 및 조간대)에 서식하며 우리나라의 수산업 측면에서도 큰 비중을 차지하는 생물군이다. 영국에서는 유처리제 등이 조간대에서 사용될 경우를 대비하여 삿갓조개류 *P. vulgata*를 독성시험종으로 포함시켰으며 호주에서도 가리비류 *Mimachlamys asperima* 유생을 이용한 독성시험법을 포함시켰다(Table 4).

굴(*Crassostrea gigas*)은 우리나라에서 연중 생산되는 대표적인 이매패류로 내수 및 수출산업에 있어서도 가장 큰 비중을 차지한다. 또한 굴 유생을 이용한 독성시험법은 국제 표준규격(ISO 17244, 2015; US EPA OCSPP 850.1055, 2016) 및 국내 해양환경공정시험기준(해양생물편)에 수록될 만큼 대표적인 시험종이다. 이러한 해양 무척추동물의 초기생활 단계는 전 생활사 중 가장 약한 연결고리로서 용해된 화학물질에 대해 성체 보다 매우 높은 민감도를 나타낸다(Beiras, 2018). 따라서 이러한 무척추 동물의 초기생활사의 높은 민감도는 해양오염에 대한 중요한 생태학적 의미를 가지며 어류 성체를 이용한 급성독성시험의 대안으로 충분한 가치가 있을 것으로 판단된다.

이밖에 앞서 언급한 모든 대상 시험종의 경우 정도관리를 위해 특정물질에 대한 참조물질독성시험(Reference toxicant

tests)이 수반되어야 하며 이를 위해서는 해당종을 이용한 기존의 다양한 시험결과 및 국제표준시험기준을 참고하여 독성영향에 대한 정도관리 기준이 수립되어야 한다(Table 5).

3.3 형식승인 절차

국내 현행 고시기준에서는 이러한 해양오염방제 자재·약제의 형식승인 및 검정시험을 수행할 수 있는 시험기관 역시 법적으로 ‘업무대행자’(해양환경관리법 시행규칙 제 74조 1항 2호)로 명시하여 규정하고 있다. 그러나 본 시행규칙의 ‘업무대행자’ 자격 중 ‘시험설비 및 장비’ 기준의 경우 5종의 자재 및 약제 별로 구분되어 있으며 해당자재 별 모든 시험항목을 수행할 수 있을 것으로 규정하고 있다. 그러나 생물을 이용한 생태독성시험의 경우, 다른 시험항목(예, 인화점, 동점도 및 유화율 등)에 비해 살아있는 생물을 이용한다는 특수성으로 인해 기술능력(시험인력 등) 및 시험장비(생물배양 시스템 등)의 유지 및 관리가 다른 시험에 비해 접근방식에서 많은 차이가 발생한다. 미국에서는 유처리제에 대한 독성시험은 미환경청의 인증을 받은 실험실에서만 수행하도록 규정하고 있으며(US EPA, 1993) 영국과 호주에서도 공인된 시험소에서 수행된 독성시험의 결과를 인정해 주고있다(MAFF, 1996; AMSA, 2015). 국내 ‘해양폐기물 및 해양오염 퇴적물 관리법’ 제 25조(전문기관의 지정 등)와 동법 시행규칙 제 33조 3항(전문기관의 지정기준 및 절차)에서는 해양으로 배출되는 물질에 대한 검사를 지정기관인 ‘해양배출 검사기관’이 하도록 하고 있으며 ‘생태독성 시험항목’만을 구분하여 별도로 검사기관을 지정 및 등록하도록 하고 있다. 또한 현행 해양오염방제 자재·약제의 형식승인 및 검정시험의 수수료의 경우 항목별로 법적으로 규정되어 있어 현실적으로 시험대행자가 생태독성시험을 포함한 모든 시험을 수행하기에는 어려움이 따르는 것이 사실이다.

따라서 현행 해양오염방제 자재·약제의 생물에 대한 독성 시험의 경우 그 특수성을 인정하여 별도의 공인된 시험기관의 지정 및 대체 등을 통한 시험결과와 신뢰성 확보 방안이 필요하며 경우에 따라 앞서 기술한 ‘해양배출 검사기관’ 지

정과 같은 관련 유사 법률과 연계하여 일원화된 창구로 조정될 필요가 있을 것으로 판단된다.

시험 수수료의 경우도 시험의뢰자 및 시험대행자가 현실적으로 수용할 수 있는 수준의 재산정이 필요하며 불가능할 경우 앞서 기술한 생물에 대한 현실가능성을 고려하여 미국 및 영국의 현행 사례와 같이 최소한의 시험항목(시험종)의 조정 등이 필요할 것으로 판단된다. 실제로 현행 국내 ‘해양폐기물’의 생태독성시험의 경우 해양환경공정시험기준(해양생물편)의 총 8종의 해양생물을 이용한 생태독성시험법 중 2종인 ‘저서성단각류’와 ‘발광박테리아’를 이용한 생태독성시험법을 적용하고 있다.

4. 결 론

우리나라는 해상 유류오염의 방제작업 시 사용되는 품목에 대해서 해양환경관리법 상 5종으로 규정하고 있으며 이중 유처리제, 유겔화제 및 생물정화화제를 포함한 3종의 경우 방제작업 시 발생될 수 있는 2차오염에 대한 우려로 인해 해양생물을 이용한 생태독성시험기준이 성능시험기준 및 검정기준에 포함되어있다. 본 연구에서는 현행 생태독성시험기준의 시험방법과 판단기준의 문제점을 파악하고 국가별 제도 비교를 통한 개선방안을 제시하여 과학적이고 합리적인 국내 고시 개정의 방향을 제시하고자 하였다.

*S. costatum*을 이용한 조류성장저해시험의 경우, 단지 배양액 색을 비교하여 세포밀도를 육안으로 유추하여 추정하는 판정기준 대신 측정된 성장률을 적절한 통계기법을 통해 비교 분석하는 과학적인 기준이 도입되어야 하며 시험기간을 4일 이내로 축소시켜야 할 것으로 판단된다. 어류를 이용한 독성시험의 경우, 적절한 어체크기에 대한 재설정이 필요하고 이에 따른 합리적이고 객관적인 판정기준이 마련되어야 할 것으로 판단된다.

시험종의 경우, 특정물질에 대해 비교적 낮은 민감도의 문제가 제기되었던 *Artemia* sp. 대신 전세계에 널리 서식하는 해양 윤충류인 *B. plicatilis*가 대안이 될 수 있으며 송사리나 우럭을 이용한 어류시험의 경우, 굴류와 같은 이매패류의 분류군을 이용한 독성시험으로의 대체 역시 대안으로 고려될 수 있다.

마지막으로 해양오염방제 자재·약제의 형식승인 시험과 관련하여 생태독성시험 분야의 경우, 업무의 특수성과 결과의 신뢰성을 고려하여 별도의 공인시험기관 지정 또는 관련 유사 법률과 연계한 일원화된 창구가 필요하며 수용가능한 수준의 시험비용 산정과 시험항목 조정을 통한 합리적인 제도 개선이 필요 할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2021년 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구(해양산업시설 배출 위험유해물질 영향평가 및 관리기술 개발)이다.

References

- [1] AMSA(2015), Australian Maritime Safety Authority, National plan Register of oil spill control agents for maritime response use (NP-POL-04), p. 23.
- [2] ASTM E 1218-04(2007), American Society of Testing and Materials International, Standard guide for conducting static toxicity tests with microalgae, p. 14.
- [3] ASTM E 1440-91(2004), American Society of Testing and Materials International, Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus*, p. 8.
- [4] Beiras, R.(2018), Marine pollution: sources, fate and effects of pollutants in coastal ecosystems, Elsevier, p. 385.
- [5] Brown, C. E., B. Fieldhouse, T. C. Lumley, P. Lambert, and B. P. Holebone(2011), Environment Canada's methods for assessing oil spill treating agents, Oil Spill Science and Technology, pp. 643-671.
- [6] Canada Gazette(2016), Regulations establishing a list of spill-treating agents (Canada Oil and Gas Operations Act). Retrived from <http://www.gazette.gc.ca/rp-pr/p2/2016/2016-06-15/html/sor-dors108-eng.html>.
- [7] Cheong, C. J(2008), Behavior and clean-up technique of spilled oil at sea and shoreline, Journal of Korean Society of Environmental Engineers, Vol. 30, No. 2, pp. 136-145.
- [8] Choi, H. K., C. Ha, and B. C. Kim(2020), A Study on the improvement of hazardous and noxious substances accidents response system by Sea, Journal of Korean Society for Marine Environment and Energy, Vol. 23, No. 3, pp. 173-180.
- [9] Choi, J. W. and S. H. Lee(2009), Analysis on response system in US for chemicals driven marine pollution accidents and korean response policy plan, Journal of the Korean Society of Environment & Safety, Vol. 15, No. 3, pp. 205-212.
- [10] Coombs, T. L., T. C. Fletcher, and A. White(1972), Interaction of metal ions with mucus from the plaice (*Pleuronectes platessa* L.), Biochemical journal, Vol. 128, No. 4, pp. 128-129.
- [11] Crisinei, A., L. Delaunay, D. Rossel, J. Tarradellas, H. Meyer,

- H. Saiah, P. Vogel, C. Dellsle, and C. Blaise(1994), Cyst-based ecotoxicological tests using Anostracans: Comparison of two species of *Streptocephalus*, *Environmental Toxicology and Water Quality*, Vol. 9, No. 4, pp. 317-326.
- [12] Etkin, D. S., D. F. McCay, J. Rowe, and L. Pilkey-Jarvis (2005), Modeling impacts of response method and capability on oil spill costs and damages for Washington State spill scenarios, *International Oil Spill Conference*, Vol. 2005, No. 1, pp. 467-473.
- [13] Gaggi, C., M. Duccini, E. Bacci, G. Sbrilli, M. Bucci, and A. H. E. Naby(1995), Toxicity and hazard ranking of s-triazine herbicides using microtox® two green algal species and a marine crustacean, *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, Vol. 14, No. 6, pp. 1065-1069.
- [14] Guerra, R.(2001), Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents, *Chemosphere*, Vol. 44, No. 8, pp. 1737-1747.
- [15] IMO(1990), International Maritime Organization, International Convention on Oil Pollution Preparedness, Response and Co-operation (OPRC). Retrived from [http://www.imo.org/en/About/Conventions/Pages/International-Convention-on-Oil-Pollution-Preparedness,-Response-and-Co-operation-\(OPRC\).aspx](http://www.imo.org/en/About/Conventions/Pages/International-Convention-on-Oil-Pollution-Preparedness,-Response-and-Co-operation-(OPRC).aspx).
- [16] Ishikawa, T., P. Masahito, and S. Takayama(1984), Usefulness of the medaka, *Oryzias latipes*, as a test animal: DNA repair processes in medaka exposed to carcinogens, *National Cancer Institute Monograph*, Vol. 65, pp. 35-43.
- [17] ISO(2008), International Standard Organisation, water quality - scientific and technical aspects of batch algae growth inhibition tests (TR11044), p. 28.
- [18] ISO 10253(2016), International Standard Organisation, Water quality - marine algal growth inhibition test with *Skeletonema* sp. and *Phaeodactylum tricorutum*, p. 19.
- [19] ISO 17244(2015), International Standard Organisation, Water quality - Determination of the toxicity of water samples on the embryo-larval development of japanese oyster (*Crassostrea gigas*) and Mussel (*Mytilus edulis* or *Mytilus galloprovincialis*), p. 19.
- [20] ISO/TS 20787(2017), International Standard Organisation/ Technical Specification, Nanotechnologies - Aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater lakes using *Artemia* sp. Nauplii, p. 15.
- [21] Japan Ministry of Environment(2003), Medaka *Oryzias latipes*, Development of the methods and suitability of medaka as test organism for detection of endocrine disrupting chemicals, p. 146.
- [22] Jin, Y. M., J. H. Lee, Y. H. Jo, and S. H. Lee(2015), A study on the effectiveness and safety comparison of dispersants, *Journal of Korean Society of Safety*, Vol. 30, No. 6, pp. 148-155.
- [23] Jin, Y. M., J. Y. You, S. S. Choi, A. R. Joo, H. J. Lee, and S. H. Lee(2019), A study on the evaluation of oil-adsorption characteristics and policy guideline of oil snare, *Journal of Korean Society of Safety*, Vol. 34, No. 6, pp. 22-28.
- [24] KCG(2018), Korea Coast Guard, Korea coast guard 2018 annual report, p. 421.
- [25] Kim, S. J.(2008), Herbei sprit oil spill accident, *Journal of Korean Society of Environmental Engineers*, Vol. 30, No. 2, pp. 146-152.
- [26] Korea Ministry of Agriculture(1996), A study on the development of oil spill dispersant concentrate, Final report (2nd annual), p. 197.
- [27] KS M 2800(2016), Korea Industrial Standard, Oil spill dispersant, p. 16.
- [28] KS I 3217(2018), Korea Industrial Standard, Testing methods for industrial wastewater, p. 288.
- [29] MAFF(1996), UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Procedure for the approval of oil spill treatment products (Fisheries research technical report No. 102), p. 19.
- [30] MDPC(1996), Japan Maritime Disaster Prevention Center, Research and development report on large-scale oil spill control technology-Final report on re-evaluation of oil treatment agents performance.
- [31] Mohammed, A.(2013), Why are early life stages of aquatic organisms more sensitive to toxicants than adults?, *New insights into toxicity and drug testing*, pp. 49-62.
- [32] Nałęcz-Jawecki, G., E. Grabińska-Sota, and P. Narkiewicz (2003), The toxicity of cationic surfactants in four bioassays, *Ecotoxicology and environmental safety*, Vol. 54, No. 1, pp. 87-91.
- [33] Nam, S. H., C. Y. Yang, Y. J. An, and J. K. Lee(2007), Fundamentals of ecotoxicity evaluation methods using domestic aquatic organisms in Korea: (I) Fish, *Korean Journal of Ecology and Environment*, Vol. 40, No. 2, pp. 173-183.
- [34] Nunes, B. S., F. D. Carvalho, L. M. Guilhermino and G. Van Stappen(2006), Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing, *Environmental pollution*, Vol. 144, No. 2, pp. 453-462.
- [35] OECD 201(2011), Organization for Economic Cooperation and Development, Guidelines for the Testing of Chemicals,

- freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test, p. 25.
- [36] OECD 203(2019), Organization for Economic Cooperation and Development, Guideline for the Testing of Chemicals, fish acute toxicity test, p. 24.
- [37] Persoone, G. and P. G. Wells(1987), *Artemia* in aquatic toxicology: a review, *Artemia* research and its applications, Vol. 1, pp. 259-275.
- [38] Shima, A. and H. Mitani(2004), Medaka as a research organism: past, present and future, *Mechanisms of development*, Vol. 121, No. 7-8, pp. 599-604.
- [39] Song, M. Y. and J. J. Brown(1998), Osmotic effects as a factor modifying insecticide toxicity on *Aedes* and *Artemia*, *Ecotoxicology and environmental safety*, Vol. 41, No. 2, pp. 195-202.
- [40] Tamis, J. E., R. H. Jongbloed, C. C. Kaman, W. Koops, and A. J. Murk(2012), Rational application of chemicals in response to oil spills may reduce environmental damage, *integrated environmental assessment and management*, Vol. 8, No. 2, pp. 231-241.
- [41] US EPA(1993), U. S. Environmental Protection Agency, Use of chemical dispersants for marine oil spills (EPA/600/R-93/195).
- [42] US EPA(2021), U. S. Environmental Protection Agency, National Contingency Plan (NCP) Product schedule (4/27/2021), p. 26.
- [43] US EPA 821-R-02-012(2002), U. S. Environmental Protection Agency, Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, p. 266.
- [44] US EPA 821-R-02-013(2002), U. S. Environmental Protection Agency, Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms, p. 335.
- [45] US EPA OCSPP 850.1055(2016), U. S. Environmental Protection Agency, Ecological effects test guidelines OCSPP 850.1055: Bivalve acute toxicity test (embryo-larval), p. 16.

Received : 2021. 08. 19.

Revised : 2021. 10. 15.

Accepted : 2021. 10. 28.