

# Naphthalene에 노출된 넙치 치어의 혈액학적 반응

이경선\* · 류향미\*\*

\*,\*\*목포해양대학교 해양시스템공학부

## Acute Effects of Naphthalene on Hematologic Properties of flounder

Kyoung-Seon Lee\*, Hyang-Mi Ryu\*\*

\*, \*\*Faculty of Ocean System Engineering, Mokpo National Maritime University, Mokpo, 539-720 Korea

**요약** : 넙치 치어에 대한 Naphthalene의 급성독성을 조사하기 위하여 대조구(0 $\mu\text{g}/\ell$ ), 1000, 1800, 3200, 5200, 10000  $\mu\text{g}/\ell$ 의 6개의 Naphthalene 농도구를 설정하여 24시간 동안 노출실험을 실시하고 혈액학적 성상을 분석하였다. 넙치치어에 대한 Naphthalene의 24h-LC<sub>50</sub>은 2346.19  $\mu\text{g}/\ell$ 를 나타냈다. 넙치의 혈액학적 반응에서 헤마토크리트값은 5600, 10000  $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도 구에서 대조구와 비교하여 유의하게 증가하였고, 글루코스는 10000  $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도 구에서 유의하게 증가 하였다. 삼투압 농도는 3200, 5600, 10000  $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도 구에서 유의하게 증가하였다. 반면, 이온 분석 결과 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 은 5600 및 10000  $\mu\text{g}/\ell$  Naphthalene 농도구에서 유의하게 증가하였으나 Cl<sup>-</sup>는 큰 차이를 보이지 않았다.

**핵심용어** : 유류오염, 다환방향족탄화수소류, Naphthalene, 넙치, 혈액학적 반응

### 1. 서 론

2007년 12월 7일 태안 앞바다에서 일어난 허베이스피리트호 원유 유출로 인하여 막대한 환경적·경제적 피해가 발생하면서 전 국민의 관심을 모으게 되었다. 선박사고에 의한 유류유출사고는 과거에 비하여 점차 감소추세에 있으나 사고가 발생하면 대량의 유류가 일시적으로 해양으로 유출되면서 해양생태계를 위협하게 됨으로 해서 세계적으로 중요한 해양오염문제로 인식되고 있다.

해양으로 유출된 유류는 시간이 경과함에 따라 다양한 풍화과정을 거치면서 분해되어지고, 다환방향족 탄화수소류(PAHs)와 같은 수용성 물질들은 해양에 잔류하면서 지속적으로 해양생물체에 영향을 끼치게 된다. Naphthalene은 2개의 벤젠환을 가지는 PAHs류의 한 종류로 72.3~93.5%로 가장 높은 비율을 차지하고 있으며, 해양생물들에게 흡수되는 주요 물질로 알려져 있다 (Neff et al., 1976). 또한 휘발성이 강하여 유류 유출 초기에 생물들에게 급성독성을 나타낸다.

PAHs에 의하여 생물체가 폐사하는 농도는 일부 패류 및 어류에 있어 연구되었으나 생물체에 독성을 발휘하는 PAHs의 농도에 대해서도 아직 규명되지 않은 부분이 많으며, PAHs가 생물체에 미치는 영향은 PAHs의 종류에 따라 상이하고 종에 따라서도 상이하며 성장단계에 따라서도 독성에 차이를 보인다고 알려져 있다(Thomas & Budiantara, 1995). 지

금까지의 PAHs류에 대한 생물독성연구는 저서생물에 초점이 맞추어져 왔으며, 어류들은 용이한 이동성 때문에 피해가 적은 것으로 알려져 있어 유영성 어류에 대한 연구는 미비하다. 그러나 많은 종들이 연안에서 자치어기를 보내게 되면서 PAHs에 노출 위험성이 높으며 자치어의 경우에는 성어와 비교하여 오염물질에 대한 민감하여 성장단계에 대한 독성평가가 필요하다고 하겠다.

본 연구에서는 넙치 치어를 대상으로 하여 Naphthalene에 의한 생물검정을 실시하고 Naphthalene 노출 후의 혈액학적 반응에 대해서 검토하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 1) 실험어

넙치 치어는 인근 양식장에서 구입하여 실험실 사육수조에서 2-3주 동안 수온 20℃로 순치시킨 후 실험에 사용하였다. 생물검정실험에 사용된 치어는 체중 실험에 사용한 치어는 체중 7.00±1.49 g, 체장 76.75±6.01 mm을 나타내었으며, 혈액학적 성상분석을 위한 실험에 사용한 치어는 체중 8.33±1.96 g, 체장 86.57±1.96 mm를 나타내었다.

#### 2) Naphthalene 노출실험

Naphthalene 농도는 대조구, 1000, 1800, 3200, 5600 및 10000  $\mu\text{g}/\text{L}$ 로 하였으며 노출 시작 후 2시간 마다 Naphthalene 초기 투여량의 80%를 보충시켜 Naphthalene 농도가 일정하게 유지되도록 하였다. 노출실험은 24시간 동안 실시하였다. 모든 실험은 3회 반복 실시하였으며 폐사율을 구

\*중신회원, kslee@mnmu.ac.kr 061)240-7317

\*\*비회원, ryu0506@mnmu.ac.kr 061)240-7317

## Naphthalene에 노출된 넙치치어의 혈액학적 반응

하고 24시간 반수치사농도(24h-LC<sub>50</sub>)를 분석하였다.

Naphthalene이 넙치 치어의 혈액학적 성상에 미치는 영향을 파악하기 위한 실험은 앞의 실험과 달리 Naphthalene을 보충하지 않고 초기에 농도를 맞춘 후 24시간 동안 노출 실험을 실시하였다. 실험중 폐사직전의 실험어 및 종료 후 생존한 실험어의 미부동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 삼투압 및 이온분석을 위한 혈액은 헤파린나트륨용액을 처리하지 않은 주사기를 이용하여 혈액을 채취한 후 사용하였다.

### 2) 혈액성상분석

#### a. 헤마토크리트치(Hematocrit value)

채취한 혈액은 heparinized capillary tubes(I.D. 1.1-1.2 mm, length 75 mm)에 넣어 haematokrit 210를 이용하여 11,000 rpm으로 5분간 원심 분리한 후 hematocrit reader를 이용하여 측정하였다.

#### b. 글루코스(Glucose)

채취한 혈액을 1.5 ml 마이크로튜브(microtube)에 넣어 11,000 rpm으로 5분간 원심 분리 후 혈장 20 $\mu$ l을 채취하여 글루코스 측정용 시액으로 발색시킨 후 500 nm 파장에서 흡광도(DR/4000U, HACH)를 측정하고, 글루코스량으로 환산하였다.

#### c. 삼투압(Osmolality)

혈액을 11,000 rpm으로 5분간 원심 분리하여 얻은 혈장을 분석 전 -70 $^{\circ}$ C에서 동결보관 한 후, 삼투압측정기(VAPRO Pressure Osmometer Wescor 5520, USA)를 사용하여 혈장 삼투압 농도를 분석 하였다.

#### d. 이온 분석(Ion analysis)

Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 농도분석은 자동화학분석기(Toshiba-200FR, JAPAN)를 사용하여 분석하였다.

### 3) 통계처리

Naphthalene 노출실험 후 넙치의 생존, 사망개체수를 분석하여 24시간 반수치사농도(24h-LC<sub>50</sub>)를 계산하였다. 반수치사농도는 SPSS의 통계 패키지를 사용하여 Probit 방법으로 분석하였다. 또한 각 실험결과로부터 얻어진 자료 값 사이의 유의차 유무는 SPSS통계 패키지를 사용하여 ANOVA 및 Tukey 방법으로 검정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

Naphthalene에 24시간 동안 노출된 넙치치어는 대조구 및 1000  $\mu$ g/l 농도구에서는 폐사하지 않았으나 1800  $\mu$ g/l 농도구에서는 20%, 3200  $\mu$ g/l 농도구에서는 92%, 5600 및 10000  $\mu$ g/l 농도구에서는 100% 폐사하였다. 또한 넙치치어에 대한 Naphthalene의 24h-LC<sub>50</sub>은 2346.19  $\mu$ g/l로 나타났다.

Naphthalene 노출 후 넙치치어의 혈액학적 반응을 검토하기 위하여 헤마토크리트값, 혈장 글루코스, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 및 삼투압을 측정하였다.

헤마토크리트값은 3200  $\mu$ g/l 농도까지는 농도증가에 대한 변화는 나타나지 않았지만 5600, 10000  $\mu$ g/l 농도구에서 대조구와 비교하여 유의한 차이를 보이며 증가하였다(Fig. 1).

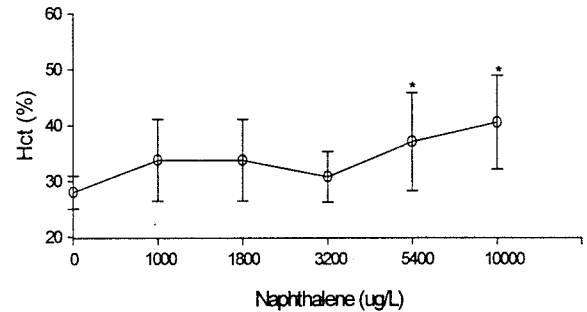


Fig. 1. Hematocrit value in *paralichthys olivaceus* exposed to naphthalene. Vertical bar represents mean $\pm$ SD. (\*P<0.05)

글루코스는 1000 및 1800  $\mu$ g/l 농도구에서는 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았지만 3200, 5600, 10000  $\mu$ g/l의 농도구에서는 유의한 차이를 보였으며 농도증가에 따라 증가하는 경향이 있었다(P<0.05).

Naphthalene에 노출된 넙치 치어의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 및 Cl<sup>-</sup>의 변화는 Table 1과 같았다. 대조구에서의 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 및 Cl<sup>-</sup>의 농도는 각각 171.3 $\pm$ 3.0, 6.5 $\pm$ 1.0, 156.0 $\pm$ 2.6 mEq/L로 나타내었다. Na<sup>+</sup>과 K<sup>+</sup>의 경우에는 Naphthalene 5600 및 10000  $\mu$ g/l 농도구에서 대조구와 비교하여 유의한 차이를 나타내었으나, Cl<sup>-</sup>의 경우에는 유의한 변화는 보이지 않았다(P>0.05).

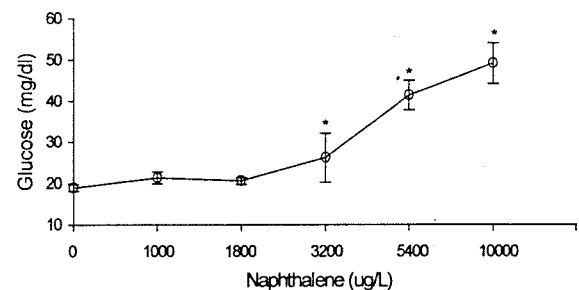


Fig. 2. Plasma glucose in *paralichthys olivaceus* exposed to naphthalene. Vertical bar represents mean $\pm$ SD. (\*P<0.05)

혈장의 삼투압 농도는 Table 2와 같았다. 삼투압 농도는 대조구에서 406.5 $\pm$ 7.0 mOsm/kg로 나타났고, 1000, 1800  $\mu$ g/l의 농도구에서는 대조구와 유의한 변화를 보이지 않았다(P>0.05). 3200, 5600, 10000  $\mu$ g/l의 농도구에서는 대조구와 유의한 차이를 보였다(P<0.05).

참 고 문 헌

4. 결론

본 연구에서는 넙치 치어를 이용하여 Naphthalene에 대한 급성 독성을 평가한 결과는 다음과 같이 요약 할 수 있다.

- 1) 넙치에 대한 Naphthalene의 24h-LC<sub>50</sub>은 2346.19  $\mu\text{g}/\ell$ 로 나타났다.
- 2) 혈액학적 정상 분석 결과 헤마토크리트치는 5600, 10000  $\mu\text{g}/\ell$  농도구에서 유의적으로 증가하였다.
- 3) 글루코스 농도는 3200, 5600, 10000  $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도구에서 약간 증가하는 경향이였으며, 10000  $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도구에서 유의한 차이를 보였다( $P < 0.05$ ).
- 4) Na<sup>+</sup> 및 K<sup>+</sup> 은 5600 및 10000  $\mu\text{g}/\ell$  Naphthalene 농도구에서 유의하게 증가하였으나 Cl<sup>-</sup>는 큰 차이를 보이지 않았다.
- 5) 삼투압 농도는 1000, 1800  $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도구에서 유의한 변화를 보이지 않았고, 3200, 5600, 10000  $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도구에서 유의하게 증가하였다( $P < 0.05$ ).

Table 1. Plasma ion concentrations of *Paralichthys olivaceus* exposed to naphthalene

Concentration ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	Na <sup>+</sup> (mEq/L)	K <sup>+</sup> (mEq/L)	Cl <sup>-</sup> (mEq/L)
0	171.3±3.0	6.5±1.0	156.0±2.6
1000	174.5±4.7	7.2±1.9	158.8±6.0
1800	170.3±17.6	7.4±1.2	156.0±17.3
3200	173.0±15.3	11.7±8.8	158.3±13.9
5600	187.5±5.4*	8.8±1.3*	159.3±2.4
10000	189.3±6.1*	11.2±2.2*	158.0±2.2

1. The data are given as mean±SD by 3 determinations (n=20).
2. The asterisk indicates a significant difference compared to control values ( $P < 0.05$ ).

Table 2. Plasma osmolality of *Paralichthys olivaceus* exposed to naphthalene

Concentration ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	Osmolality (mOsm/kg)
0	406.5±7.0
1000	431.5±30.6
1800	430.0±32.4
3200	483.8±55.1*
5600	479.5±10.7*
10000	536.3±62.0*

1. The data are given as mean±SD by 3 determinations (n=20).
2. The asterisk indicates a significant difference compared to control values ( $P < 0.05$ ).

- [1] Neff, J.M., B.A. Cox, D.Dixit, and J.W. Anderson(1976), Accumulation, and release of petroleum-derived aromatic hydrocarbons by four species of marine animals. Marine Biology, Vol. 38, pp. 279~286
- [2] Hall J.A. and L. Golding(1998), Standard Methods for whole Effluent Toxicity Testing; Development and Application. NIWA, MFE 80205, Hamilton.
- [3] Thomas P., and L. Budiantara(1995), Reproductive Life History Stages Sensitive to Oil and Naphthalene in Atlantic Croaker. Marine Environmental Research, Vol. 39, pp. 147~150