

## 오염된 퇴적물로부터 해양저서 단각류 *Leptocheirus plumulosus*의 은(Ag) 축적에서 흡수경로의 상대적 기여도 평가

유 훈 · 이인태 · 이병권\*  
전남대학교 해양학과

### Relative Influence of Sediments, Food and Dissolved Sources on Ag Bioaccumulation in the Amphipod *Leptocheirus plumulosus*

HOON YOO, IN-TAE LEE AND BYEONG-GWEON LEE\*  
Department of Oceanography, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

해양퇴적물 오염평가에 널리 쓰이는 단각류 *Leptocheirus plumulosus*를 이용하여 오염된 퇴적물에서 Ag를 축적하는데 있어서 각 매질(퇴적물, 공극수, 먹이)의 상대적 기여도를 조사하였다. 또한 퇴적물 중 중금속의 생물 이용도와 독성을 조절하는 인자로 잘 알려진 황화물(AVS)이 공극수 중 용존 Ag 농도와 생물내 흡수에 미치는 영향을 평가하였다. 연안 퇴적물을 임의로 4개의 농도구배(0.1~3.3  $\mu\text{mol Ag/g}$ )로 오염시킨 후, AVS농도를 40 또는 <0.5  $\mu\text{mol/g}$ 로 조절하여 실험생물을 35일 동안 노출시켰다. 실험생물이 배양되는 동안 Ag으로 오염된 것과 오염되지 않은 TetraMin®을 보조 먹이로 공급하여 생물 체내 Ag 축적 농도 차이를 비교하였다. 그 결과, *L. plumulosus*의 체내 Ag농도는 퇴적물 내 Ag의 농도와 양의 상관관계를 갖고 증가하였다( $r^2=0.87$ ,  $p<0.001$ ). 퇴적물 중 AVS의 함량은 공극수 중 용존 Ag의 농도를 조절하는 중요한 인자로 확인되었으나, AVS 농도는 *L. plumulosus*의 Ag 축적에 거의 영향을 주지 않았다. Ag으로 오염된 먹이가 제공된 *L. plumulosus*는 오염되지 않은 먹이가 제공된 *L. plumulosus*보다 최고 1.8배 정도 높게 Ag을 체내에 축적하였다. 즉, Ag으로 오염된 퇴적물에서 *L. plumulosus*의 Ag 축적은 공극수나 해수 중의 용존 Ag의 흡수보다는 퇴적물이나 먹이의 섭식을 통한 흡수가 주요 노출경로라는 것을 시사한다.

A amphipod, *Leptocheirus plumulosus* was exposed to Ag contaminated sediments to evaluate relative importance of various uptake routes (sediment, porewater, supplementary food) for Ag bioaccumulation in sediment-dwelling marine invertebrates. Additionally, influence of AVS (acid-volatile sulfide) on the partitioning of Ag to porewater and on the Ag bioavailability was determined to evaluate the utility of AVS criteria for the management of metal contaminated sediment. The experimental sediments were spiked with 4 levels of Ag (0.1–3.3  $\mu\text{mol Ag/g}$ ) and AVS concentrations were manipulated to 40 or <0.5  $\mu\text{mol/g}$ , then equilibrated for >2 months to allow pore water/particulate distributions similar to nature. A *L. plumulosus* was incubated in the contaminated sediments with overlying water for 35d. During the exposure, the amphipods was fed with supplementary food (TetraMin®) with or without Ag contamination. Following exposure, tissue Ag in *L. plumulosus* was strongly correlated with the weak acid extractable Ag in sediments ( $r^2=0.87$ ,  $p<0.001$ ). The ratio of AVS to Ag-SEM (Ag extracted simultaneously with AVS) had a strong influence on porewater Ag concentration, consistent with previous studies. However, Ag bioaccumulation in *L. plumulosus* was not influenced by AVS concentrations. The amphipods fed Ag contaminated food took up ~ 1.8 X Ag accumulated by the amphipods fed uncontaminated supplementary diet. The result suggests that the benthic invertebrates exposed to metal contaminated sediments would accumulate metals largely via ingestion of contaminated sediments and food, with minor contribution from dissolved sources of porewater and overlying water.

**Key words:** Ag, AVS, Bioaccumulation, Amphipod, Metal

\*Corresponding author: blee@chonnam.ac.kr

## 서 론

수생환경에 존재하는 은(Ag)은 수은, 구리 등과 같이 미량에서도 강한 독성을 나타내고, 인구가 밀집한 연안지역에 주로 집적되어 분포하기 때문에, 최근 들어 환경독성학적으로 관심의 대상이 되고 있다(Gorsuch and Klaine, 1998; Luoma *et al.*, 1995; Sanudo-Willhelmy and Flegal, 1992; Lima *et al.*, 1982). 일반적으로, 육상에서부터 해양으로 유입된 Ag은 입자반응성이 높아( $K_d: 10^{4.5} \sim 10^6$ ) 빠르게 입자에 흡착되어 저층에 퇴적됨으로서 잔류성이 매우 강하다. 그럼에도 불구하고, Ag으로 오염된 해양 환경에서 저서생물이 Ag을 축적하는 경로나 독성 작용은 다른 금속들에 비해 잘 알려져 있지 않다.

일부 무척추동물과 어류를 이용하여 Ag이 해양생물에 미치는 영향에 대한 연구가 이루어져왔지만, 그 대부분은 용존 Ag이 실험생물에게 미치는 영향을 평가하는데 집중되었다(Berthet *et al.*, 1992; Hogstrand *et al.*, 1996; Nelson *et al.*, 1983). 특히 상기 연구들은 Ag이 생물에 미치는 대부분의 독성효과나 생물 이용도는 용존 Ag의 화학종(speciation)에 의해서 결정된다고 주장하였다. 또한 해양생물이 Ag에 노출되는 경로나 정도는 지화학적인 외부 환경 조건과 각 생물의 속성에 따라서도 변할 수 있다고 지적되었다(Wang *et al.*, 1999). 그러나 저서생물이 섭식을 통해 Ag에 노출되는 경로와 이로 인한 Ag의 체내축적과 독성작용에 관한 연구는 현재까지 미흡한 실정이다.

퇴적물 내 중금속이 생물에게 미치는 독성을 평가하기 위한 방법으로 평형분배이론(equilibrium partitioning theory)이 Di Toro *et al.*(1992)에 의해 제안된 이후, 이론의 검증에 위한 많은 실험들이 수행되었다(Berry *et al.*, 1999; Hansen *et al.*, 1996). 이 이론은 기존의 자유이온 활성도 모델(free ion activity model)에 근거한 것으로, 퇴적물 내 중금속 중 용존 Ag 중금속, 즉, 공극수에 함유된 중금속만이 저서생물에 이용되고 독성을 나타낸다고 하였다. 또한 공극수 내 중금속의 농도를 조절하는 인자는 퇴적물 내 존재하는 황화물의 일종인 AVS(acid volatile sulfide)이며, AVS는 2가 중금속( $M^{2+}$ )과 결합하여 불용성의 금속황화물을 형성시켜 공극수 중의 용존 중금속 농도를 낮게 한다. 이런 사실에 근거하여, Di Toro *et al.*(1992)은 퇴적물 내 AVS의 몰농도가 AVS와 동시에 추출된 중금속의 몰농도(SEM, simultaneously extracted metal)보다 클 경우, 공극수 중 용존중금속 농도가 낮아 이로 인한 독성이나 중금속 축적은 일어나지 않는다고 주장하였다. 실제로, Di Toro *et al.*(1992)의 실험방법을 따른 대부분의 실험은 위 이론을 만족시키는 결과를 보였지만, 이와 상반된 결과들이 보고된 경우도 있다. 예로, Lee *et al.*(2000a, b)은 AVS와 SEM의 농도비가 다양한 퇴적물에 18일간 노출된 5종의 해양저서 생물들은 공극수보다는 퇴적물의 직접적인 섭식을 통해서 Cu, Zn, Ni를 체내에 축적한다고 보고하였다. 또 Wang *et al.*(1999)도 다경로 생물 축적모델(DYMBAM)을 이용하여 대부분의 해양 저서생물이 주로 오염된 퇴적물로부터 중금속의 섭식을 통해서 흡수한다고 보고하였다. 이 같은 상반된 결과에 대한 설명은 아직까지 명확하지 않으며 실험 방법간의 지화학적인 조건과 이용생물의 생물학적 속성의 차이로 기인한 것으로 추정하고 있다. 예를 들면, 기존의 실험방법은 자연상태보다 과도하게 높은 중금속 농도를 사용하였고, 중금속과

퇴적물을 오랜 기간동안 반응시키지 않아서 금속이 퇴적물 입자보다 공극수에 상대적으로 높게 분포하여 생물이 공극수에 많이 노출되어 결과가 왜곡될 수 있다(Lee *et al.*, 2000a).

Ag는 AVS와 매우 강한 결합을 하여  $Ag_2S$ 로 침전되기 때문에 AVS에 의해 생물 활용도나 독성작용이 조절될 것으로 추정되며, 이를 뒷받침하는 결과도 보고된 바 있다(Berry *et al.*, 1999). 그러나 이와 반대로 섭식을 통해서 Ag이 해양 무척추 동물에 흡수된다는 상반된 보고도 있어서(Luoma and Jenne, 1977; Hook and Fisher, 2001; Griscom *et al.*, 2000), 퇴적물 중 Ag이 해양 무척추 동물로 흡수되는 경로와 이를 조절하는 인자들의 규명이 절실히 요구되고 있다.

본 연구에서는, 저서 무척추동물이 퇴적물 내에 존재하는 Ag을 축적하는데 있어서 각 흡수경로(퇴적물, 먹이, 공극수)의 상대적 기여도와 AVS가 공극수 중 용존 Ag 농도에 미치는 영향 및 Ag의 생물내 흡수에 미치는 영향을 평가하였다. 이를 위해 실험실에서 Ag으로 오염된 퇴적물을 인위적으로 각 흡수경로와 AVS 농도를 조절한 후 저서 단각류인 *Leptocheirus plumulosus*를 노출시켰다. *L. plumulosus*는 퇴적물 독성평가를 위해 개발된 종으로, 급성 독성실험과 만성독성실험을 위한 표준방법론이 제시되어 있다(DeWitt *et al.*, 1992). 이번 실험에서는 생물이용도를 평가하는 기준으로 체내에 축적된 Ag의 농도를 이용하였다. 이것은 체내에 축적된 중금속이 오염된 메질로부터의 모든 영향을 반영하기 때문이다.

## 재료 및 방법

### 실험 퇴적물

샌프란시스코 인근에 있는 Palo Alto 갯벌에서 퇴적물을 채취하여 현장에서 1 mm 체로 체질하였다. 채취된 퇴적물을 150 L 버킷에서 균질하게 만든 다음, 6개의 20 L 버킷에 나누어 담았다. 퇴적물 내 황화물(AVS, acid volatile sulfides) 농도는  $40 \mu\text{mol/g}$ 이었다.  $AgNO_3$ 를 증류수에 녹여 만든 Ag 용액을 각 버킷에 일정량 첨가하여 퇴적물 내 Ag의 농도를  $0.1 \sim 3.3 \mu\text{mol/g}$ 이 되도록 조절하였다(Table 1). 퇴적물 내 중금속의 분배(partitioning)를 조절한다고 알려진 AVS가 중금속축적에 미치는 영향을 알아보고자, 마지막 버킷의 퇴적물을 인위적으로 산화시켜 AVS의 농도를  $0.1 \mu\text{mol/g}$  이하로 만든 다음, 퇴적물 내 Ag의 농도가  $3.3 \mu\text{mol/g}$ 이 되도록 Ag 용액을 넣어주었다. 넣어준 Ag 용액이 퇴적물 내에서 충분히 재분배될 수 있도록 대형 혼합기를 이용하여 주기적으로 섞어주며, 5주간 저온실( $4^\circ\text{C}$ )에서 보관하였다. 퇴적물의 평균 입도는  $8.1 \phi$ 이었으며, 평균 조성은 모래, 실트, 점토가 각각 0.4%, 43.8%, 55.8%를 차지하였다. 퇴적물 내 유기물 함량은 약 1 g의 퇴적물을 전기로에서  $450^\circ\text{C}$ 로 4시간 동안 연소시켜 측정하였다(LOI, loss on ignition). 저온실에서 5주간 Ag과 반응시킨 퇴적물은 각각의 처리군별로 180 g씩 채취하여 1 L 유리 비커에 옮긴 후, 700 ml의 해수와 함께 일주일간 안정화시켰다.

### 실험생물과 노출

퇴적물 오염평가에 널리 쓰이는 단각류 *Leptocheirus plumulosus*는 실험실 배양을 통하여 얻었다(DeWitt *et al.*, 1992). *L. plumulosus*는 퇴적물에 굴을 파서 서식하므로 퇴적물과 부유물을 모두 섭식

**Table 1.** Mean [AVS], [Ag SEM], and [Ag SEM/2 - AVS] ( $\mu\text{mol/g}$ ) in the sediments at the beginning ( $t=0$ ) and the end ( $t=f$ ) of the experiment. (see Figure 1 for experimental design).

Treatment	Near total Ag <sup>a</sup>		Ag SEM <sup>b</sup>				AVS <sup>b</sup>				[Ag SEM/2 - AVS] <sup>b</sup>	
	t = mean <sup>c</sup>		t = 0		t = f		t = 0		t = f		t = 0	t = f
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	Mean
Control	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	32.9	1.7	14.0	5.3	-32.9	-14.0
AM1	0.09	0.01	0.03	0.01	0.04	0.00	26.8	1.4	15.3	1.9	-26.8	-15.3
AM2	0.32	0.04	0.12	0.02	0.11	0.03	22.6	0.1	14.0	2.3	-22.5	-14.0
AM3	1.26	0.02	0.38	0.02	0.66	0.12	26.6	0.9	17.5	2.6	-26.4	-17.1
AM4	3.34	0.20	2.10	0.26	1.53	0.07	6.6	0.4	5.0	2.6	-5.6	-4.3
OM4	3.24	0.31	3.49	0.16	1.75	0.00	0.1	0.0	0.1	0.0	1.6	0.8

<sup>a</sup>Near total concentrations of Ag in sediment, digested by concentrated HNO<sub>3</sub> for a week

<sup>b</sup>[AVS], [Ag SEM] and [Ag SEM/2-AVS] were averaged among food treatments (N=4)

<sup>c</sup>Mean of t=0 and t=f (N=2)

할 수 있다. 배양방법은 배양용기에 250  $\mu\text{m}$  체로 걸러진 퇴적물을 깔아준 다음, 여과된 해수(15 psu)와 관상어류의 먹이인 TetraMin<sup>®</sup>을 넣어 주었다. 실험이 시작되기 하루 전, 체를 이용하여 250~450  $\mu\text{m}$  크기의 생물을 분리하여 실험에 이용하였다. 노출 실험은 20마리의 *L. plumulosus*를 일주일 동안 먼저 1 L 비이커에서 해수와 함께 안정화된 퇴적물에 임의로 넣어 주면서 시작된다. 생물내 Ag 축적은 퇴적물 내 Ag 농도(5개 구배; M0, M1, M2, M3, M4), AVS 농도(2개 구배; anoxic vs. oxic), 먹이의 양과 오염농도별로 비교하였다(Fig. 1). 먹이의 양과 질에 따라, 오염시키지 않은 먹이를 정량으로 준 그룹(UF<sub>x1</sub>, 4.5 mg/ind./week), Ag으로 오염시킨 TetraMin<sup>®</sup>을 정량으로 준 그룹(SF<sub>x1</sub>, 4.5 mg/ind./week), 오염시키지 않은 먹이를 정량의 1/5만 준 그룹(UF<sub>x0.2</sub>, 0.9 mg/ind./week)으로 분류하였다(Fig. 1). 모든 비교그룹은 각 그룹마다 4개의 노출용기를 사용하였으며, 이 중 1개의 노출용기는 화학분석을 위해 사용되었고 나머지 3개의 용기는 생물 노출에 이용되었다.

생물들이 35일간 노출되는 동안 해수는 일주일에 두 번씩 교환 해주었으며, 준비된 먹이를 제공하였다(아래 참조). 하루 중 16시간 동안 빛을 주었고, 나머지 8시간 동안 암배양 하였다. 실험기간 동안 수온, 염분, 용존산소, pH를 주기적으로 측정하였으며, 35일 평균 수온은 20.4 $\pm$ 0.17 $^{\circ}\text{C}$ , 염분은 15.2 $\pm$ 0.15 psu, pH는 7.9 $\pm$ 0.1, 그리고 용존산소의 농도는 7.3 $\pm$ 0.3 mg/L이었다.

#### 실험먹이

35일간 생물 배양 기간 동안 사용된 먹이는 분쇄된 TetraMin<sup>®</sup>이었다. 오염된 먹이의 영향을 알아보기와 인위적으로 먹이에 Ag 용액을 첨가하여 퇴적물 중의 Ag 농도보다 5배 높게 만들었다. 또 염분변화에 의한 Ag의 탈착을 막기 위해, 실험해수(15 psu)보다 높은 염분(35 psu)에서 일주일 동안 혼합시켰다. 이렇게 준비된 먹이는 동결건조 시킨 다음, 250  $\mu\text{m}$  체로 체질하여 실험먹이로 공급되었다.

Test species	Amphipod <i>Leptocheirus plumulosus</i>				
Test duration	35 days				
Test condition	15 psu at 20 $^{\circ}\text{C}$				
Supplementary food	Unspiked TetraMin <sup>®</sup> (UF <sub>x1</sub> )		Ag-Spiked TetraMin <sup>®</sup> (SF <sub>x1</sub> ) (5XAg in sed.)		Unspiked TetraMin <sup>®</sup> (UF <sub>x0.2</sub> ) (1/5 of UF <sub>x1</sub> )
AVS in sed. ( $\mu\text{mol/g}$ )	Anoxic 40	Oxic <0.5	Anoxic 40	Oxic <0.5	Anoxic 40
Spiked Ag in sed. ( $\mu\text{mol/g}$ )					
M0 (Control)	AM0	-	-	-	AM0
M1=0.1	AM1	-	AM1	-	
M2=0.3	AM2	-	AM2	-	AM2
M3=1.2	AM3	-	AM3	-	AM3
M4=3.3	AM4	OM4	AM4	OM4	AM4

**Fig. 1.** Schematic diagram of experimental treatments. Each treatment had three replicates for biological analysis and one for chemical analysis.

**Table 2.** Mean Ag concentrations (nM) in porewater and overlying water at the beginning (t=0), at the 5th day (t=5) and the end (t=f) of the experiments.

Treatment	Porewater				Overlying Water					
	UF <sub>x1</sub>		SF <sub>x1</sub>		UF <sub>x1</sub>			SF <sub>x1</sub>		
	t=0	t=f	t=0	t=f	t=0	t=5	t=f	t=0	t=5	t=f
Control	<7.4	<7.4			<7.4	<7.4	<7.4			
AM1	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4
AM2	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4
AM3	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4	<7.4
AM4	17.1	9.3	N.M*	11.5	7.1	9.6	<7.4	N.M	27.3	14.9
OM4	67.0	18.4	N.M	18.9	30.3	7.4	<7.4	36.6	15.8	12.6

\*Not measured

### 시료의 채취 및 화학분석

중금속 분석을 위한 시료는 배양의 처음과 마지막에서 채취되었다. 화학분석에 쓰인 실험용기는 모두 10% 염산과 3차 증류수로 세척된 후, 실험에 쓰였다. 퇴적물 내 공극수는 약 30 g의 퇴적물을 20분 동안 원심분리하여 채취하였다(Bufflap and Allen, 1995). 이렇게 채취된 공극수는 0.45 µm PVDF필터를 이용하여 여과한 후, 고순도 염산(Ultrex®)을 첨가하여 pH ~2가 되도록 하였다. 실험 해수는 35일간의 노출기간 동안 주기적으로 채수되어 공극수와 동일한 방법으로 처리되었다.

AVS는 Boothman and Helmstetter(1992)의 방법에 따라 분석되었다. 각 배양용기에서 얻어진 5~10 g의 퇴적물(습중량)을 60 ml의 1N HCl이 담긴 등근 플라스크에 넣어준 후, 40분 동안 교반기에서 진탕시켜 황화수소(H<sub>2</sub>S)를 발생시켰다. 발생된 황화수소는 산화억제제인 SAOB를 이용하여 포집하였다. 포집된 황화물의 농도는 S<sup>2-</sup>전극(Orion®)을 이용하여 측정하였다. AVS분석과정에서 퇴적물로부터 용출된 중금속(SEM, simultaneously extracted metal)은 0.45 µm PVDF필터로 거른 후, 20 ml 유리병에 보관하였다. 평형분배모델(equilibrium partitioning model)을 이용하여 본 실험에서 사용한 HCl 농도 조건에서 추출된 Ag의 화학종은 99% 이상 용존상으로 존재하는 것으로 확인되었다.

실험생물은 35일 동안 노출시킨 후, 1 mm 체로 수거하여 체내에 오염된 퇴적중금속물의 제거를 위해 48시간 동안 깨끗한 해수에서 탈장시켰다. 탈장된 생물은 등결 건조한 후, 14N HNO<sub>3</sub>으로 고온 용해시켜 중금속 분석에 이용되었다(Brown and Luoma, 1995). 각 노출용기에서 1 g의 퇴적물을 채취하여 14N HNO<sub>3</sub>으로 2주간 추출시켜 퇴적물 내 중금속의 총 농도를 분석하였다. 공극수와 해수 내 Ag의 농도는 매트릭스효과를 최소화하기 위해 최소 5배로 희석을 한 다음, GF-AAS를 이용하여 측정되었다. 퇴적물과 생물 체내 중금속 농도는 Flame-AAS으로 분석하였다. 화학분석의 QA/QC는 표준물질(NBS oyster tissue, 1.68 mg/g)을 이용하여 이루어졌다. 표준물질 중 Ag의 회수율은 96.4±1.03%였고, 기기 분석한계는 0.07 nM이었다.

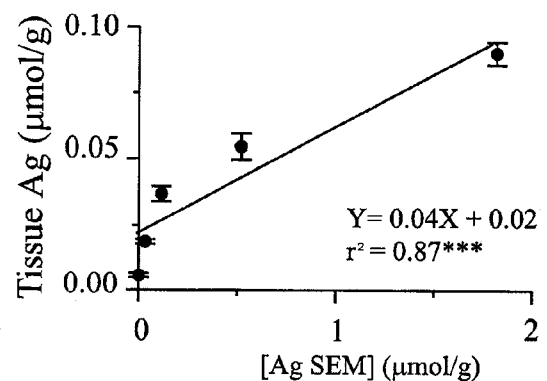
## 결 과

35일간의 노출이 끝난 후, 퇴적물 중 AVS 농도는 해수에 의한 산화로 약 57%정도 감소하였다(Table 1). 퇴적물 내 유기물의 함

량(LOI)은 평균 9.5±0.6%이었으며, 대조군과 Ag으로 오염된 퇴적물간에는 함량 차이가 없었다. AVS와 함께 1M HCl으로 추출된 Ag SEM의 농도는 높은 농도의 Ag를 첨가시킨 실험군(AM3, AM4, OM3)를 제외하고는 노출기간 동안 크게 변화하지 않았다. 환원상태의 퇴적물(대조군, AM1~AM4) 내 AVS의 몰농도는 Ag SEM의 몰농도보다 높아, [Ag SEM]/2-[AVS]<0 이었고, 인위적으로 퇴적물을 산화시킨 OM4에서는 AVS 농도가 상대적으로 낮아, [Ag SEM]/2-[AVS]>0 이었다.

공극수와 해수 중 용존 Ag는 AVS이론과 일치하여, [Ag SEM]/2-[AVS] 값이 0에 근접하거나 양의 값을 갖는 AM4와 OM4에서만 검출되었다(Table 2). OM4의 공극수 내 Ag 농도는 초기에 (t=0d) 67 nM로 AM4에서 보다 높았지만, 노출이 끝난 후(t=35d)에는 18 nM로 크게 감소하였다. 해수 중 용존 Ag의 농도는 일반적으로 Ag으로 오염된 먹이를 제공한 처리군(SF<sub>x1</sub>)에서 오염되지 않은 먹이를 제공한 그룹(UF<sub>x1</sub>)보다 약간 높게 나타났다(Table 2). 아마도 이것은 Ag으로 오염시킨 먹이로부터 Ag이 탈착되어 해수에 용존하였기 때문으로 생각된다.

실험생물 *Leptocheirus plumulosus* 체내의 Ag 농도는 약산으로 추출된 퇴적물 중 Ag 농도(Ag SEM)가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). AVS 농도는 체내 Ag 축적에 영향을 주지 않는 것으로 보여진다. 즉, *L. plumulosus*에 축적된 Ag 농도는 AVS 농도가 낮은 OM4와 AVS 함량이 많은 AM4에서 유의한



**Fig. 2.** The relationship between tissue Ag (µmol/g) in *L. plumulosus* and 1M HCl extractable Ag (µmol/g) in the sediment (Ag SEM). Asterisks represent the significance of the slope (\*\*\*:  $p < 0.001$ ).

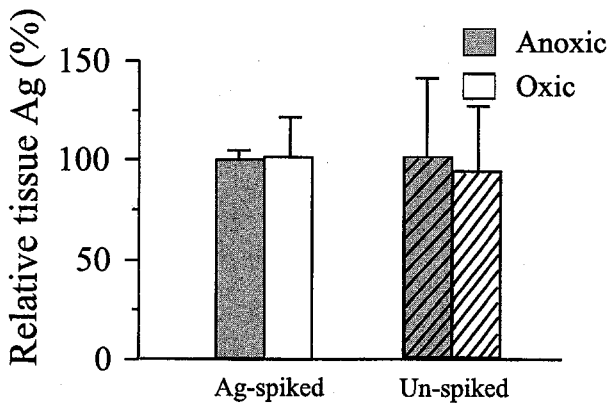


Fig. 3. Relative (%) tissue Ag concentrations in the *L. plumulosus* exposed to oxic and anoxic sediments containing 2.2  $\mu\text{mol Ag/g}$ . Tissue Ag in oxic sediments (OM4) was normalized to those in anoxic sediments (AM4). The bars on the left without hatched line represents the tissue Ag in the *L. plumulosus* fed uncontaminated food and hatched bars on the right those from the treatment with Ag-contaminated diets.

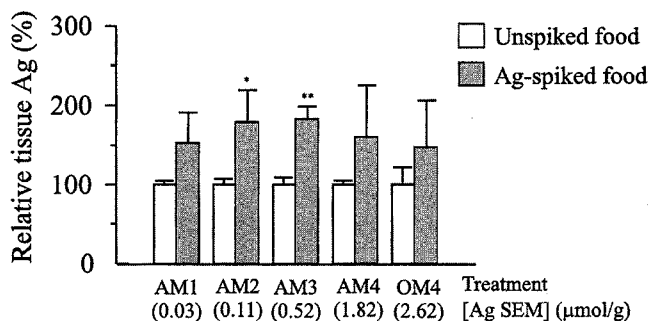


Fig. 4. Comparison of tissue Ag in the *L. plumulosus* fed Ag-spiked food to those fed unspiked food over ranges of levels in sediment. Tissue Ag in spiked food treatments was normalized to tissue Ag in unspiked food treatments. Asterisks represent the significance of differences between two treatments (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ).

( $p < 0.05$ ) 차이가 나지 않았다(Fig. 3).

퇴적물 중 Ag SEM의 농도가 동일한 실험구를 비교하면, 오염된 먹이를 섭취한 *L. plumulosus*가 오염되지 않은 먹이를 공급받은 *L. plumulosus*보다 1.5~1.8배 많은 양의 Ag를 축적하였다(Fig. 4). 이러한 결과는 오염된 먹이로부터 Ag가 해수로 용출되어 생물이 흡수한 결과일 가능성을 배제할 수 없다. 그러나 먹이로부터 해수로 용출된 Ag 농도를 측정된 결과, 가장 고농도의 Ag로 오염된 먹이에서만 6.3% 용출되었을 뿐, 나머지 먹이로부터는 용출 비율이 매우 낮았다. 따라서 먹이의 오염여부에 따른 축적 정도의 차이는 용존태 중금속의 영향이라기보다는 먹이섭식에 의한 가능성이 높다.

퇴적물 내 AVS의 물농도가 Ag SEM의 물농도보다 클 경우에도 ( $[\text{Ag SEM}]/2 - [\text{AVS}] < 0$ ) *L. plumulosus*는 높은 농도의 Ag를 축적하였다(Fig. 5). 이 결과는 *L. plumulosus*가 공극수나 해수 중의 용존 Ag의 다른 경로를 통해서 Ag를 축적하였음을 시사한다. 먹이의 양은 *L. plumulosus*의 성장에 영향을 미쳤는데, 정량의 1/5

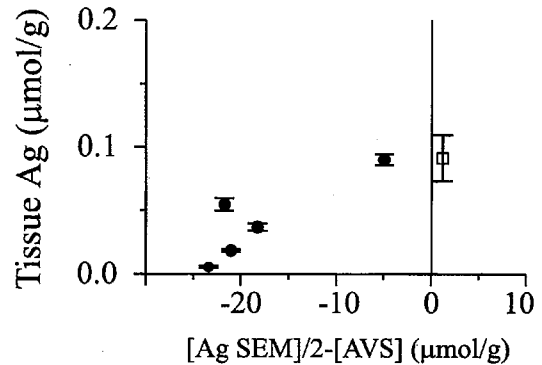


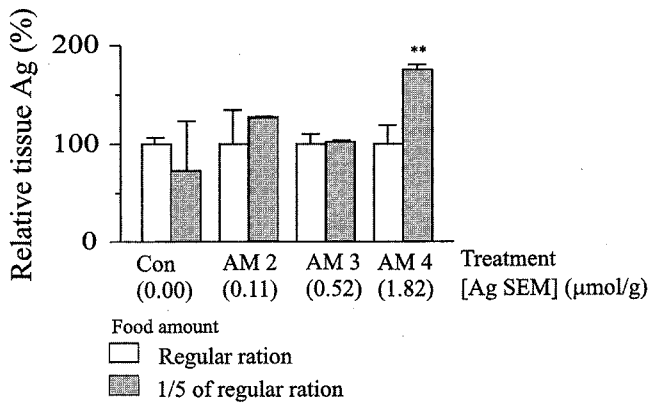
Fig. 5. The relationship between tissue Ag ( $\mu\text{mol/g}$ ) and excess Ag SEM over AVS ( $[\text{Ag SEM}]/2 - [\text{AVS}]$ ) ( $\mu\text{mol/g}$ ). Vertical line represents the  $[\text{Ag SEM}]/2 - [\text{AVS}] = 0$ . Filled circles were from anoxic treatments and open squares from oxic treatments.

을 공급받은  $\text{UF}_{\times 0.2}$ 에서 배양된 *L. plumulosus*의 건중량은 정량을 공급받은  $\text{UF}_{\times 1}$ 에서 배양된 단각류의 70%에 불과하였다. 두  $\text{UF}_{\times 0.2}$ 와  $\text{UF}_{\times 1}$  처리군 간의 체내 Ag 농도는 일반적으로 유사했으나, 퇴적물 중 Ag SEM이 가장 높은 AM4에서는  $\text{UF}_{\times 0.2}$ 에서 배양된 *L. plumulosus*의 체내 농도는 정량을 공급받은  $\text{UF}_{\times 1}$ 보다 두 배정도 높았다(Fig. 6).

## 토 의

실험생물인 *Leptocheirus plumulosus*의 체내 중금속 농도는 대부분 퇴적물 중의 Ag 농도(SEM)와 먹이로써 설명될 수 있었다. AVS이론은 퇴적물 내 AVS의 물농도가 SEM의 물농도보다 높을 경우, 퇴적물 중 중금속이 생물에 흡수되거나 독성작용을 나타내지 않을 것이라고 주장하고 있다(Di Toro *et al.*, 1992; Hansen *et al.*, 1996). 그것은 퇴적물 내 AVS가 2가 중금속과 결합하여 용해도가 매우 낮은 금속 황화물을 형성하여, 생물에게 독성을 미치는 공극수 중 용존태 중금속의 양이 극히 작아지기 때문이라고 설명하고 있다. 그러나 이번 실험에서는 AVS의 물농도가 SEM의 물농도보다 높은 경우에도, 체내 축적이 유의하게 증가하는 것이 관찰되었다. 이것은 *L. plumulosus*가 Ag으로 오염된 먹이와 퇴적물을 직접 섭취하여 소화 기관을 통해 흡수했다는 것을 제시해 준다. 실제 Lee *et al.*(2000a)은 해양 무척추 동물이 Ag으로 오염된 퇴적물을 섭취했을 때, 퇴적물 중 AVS 함량에 무관하게 퇴적물에 함유된 Ag의 15~30%를 체내로 흡수할 수 있다고 보고하고 있다. Ingersoll *et al.*(1994)은 담수 단각류인 *Hyalella azteca*를 오염된 현장퇴적물에 노출시킨 실험에서 중금속의 축적이 AVS농도에 크게 영향을 받지 않는다고 보고하였다. 특히, 이번 실험에 사용된 Ag은 다른 중금속, Zn, Cd, Cu, Pb, Ni보다 훨씬 더 불용성 황화물을 형성하지만, AVS의 농도와 관계없이 저서생물에게 축적될 수 있으며, 이는 단각류의 Ag 축적이 있어서 주요 축적경로가 섭식을 통한 흡수라는 것을 의미한다.

실험기간 동안 오염된 먹이를 통해 *L. plumulosus*에 공급된 Ag의 총량은 노출용기에 함유된 퇴적물 중 Ag의 총량과 비교하면 <0.2%에 불과 하지만, 오염된 먹이의 섭취를 통해서 *L. plumulosus*



**Fig. 6.** The comparison of Ag concentrations in the amphipod fed regular ration (4.5 mg food/ind./wk.) to those fed 1/5 of the regular ration. Tissue Ag from regular ration treatment (UF<sub>x1</sub>) was normalized to those from 1/5 of the regular ration (UF<sub>x0.2</sub>). Asterisk represents the significance of differences between the treatments (\*\*:  $p < 0.01$ ).

는 체내 Ag의 50%이상을 흡수하였다. 이 결과가 제시해주는 것은, *L. plumulosus*가 오염된 퇴적물을 섭취하였을 뿐만 아니라 영양분이 풍부한 TetraMin®을 선택적으로 섭취하였다는 것이다. 본 실험에서 인위적으로 제공된 먹이는 *L. plumulosus*의 Ag 축적에 있어서 섭취를 통한 흡수 경로의 중요도를 평가하기 위해서 이용되었다. 그러나 현장 퇴적물의 만성독성을 평가하기 위한 실험에서 흔히 오염되지 않은 먹이를 제공하는데, 이러한 먹이의 제공은 실험생물이 퇴적물의 섭취를 기피하고 오염이 되지 않은 먹이를 선택적으로 섭취하여 생물의 금속에 대한 노출을 과소평가하는 오류를 범할 수 있다.

생물축적계수(bioaccumulation factor)는 실험생물 체내 중금속과 노출매질(해수, 퇴적물) 내 중금속의 비율이다. 이번 실험에서 35일간 퇴적물에 노출된 *L. plumulosus*의 Ag 축적계수는 0.04로 다른 실험에서 보고된 값보다 훨씬 낮았다. 담수 지렁이인 *Lumbriculus variegatus*의 20일 동안 Ag으로 오염된 퇴적물에 노출된 후 축적계수는 0.40이었다(Hirsch, 1998). 또한 해양 이매패류인 *Macoma balthica*는 0.3, 갯지렁이인 *Neanthes arenaceodentata*의 축적계수는 0.41로 보고되었다(Lee et al., 2001). 이는 아마도 다른 실험에서와는 달리, 본 실험에서 제공된 먹이를 *L. plumulosus*가 선택적으로 섭취하여 퇴적물에 의한 영향이 감소되었기 때문일 것이다. 또한, 영양분이 풍부한 먹이가 충분히 공급되어 개체 성장이 빠르게 일어났기 때문에, 축적된 중금속 함량이 희석되어 체내 농도가 상대적으로 감소한 결과가 나타났다. 이것은 정량의 1/5 만큼의 먹이를 공급받은 *L. plumulosus*가 정량을 먹은 *L. plumulosus*보다 높은 체내 농도를 보인 것을 통해서도 알 수 있다(Fig. 6).

퇴적물 내 중금속의 위해도 평가방법으로 제시된 AVS이론은 간결하며, 튼튼한 배경이론에 기초하고 있어서 중금속으로 오염된 연안 퇴적물 관리에 좋은 규제 기준으로 이용될 수 있는 장점이 있다. 그러나 AVS이론에 근거한 기준은 퇴적물 내 공극수 중 용존 중금속의 농도를 예측하고 이로 인한 생물 이용도 및 독성만을 고려한다는 단점을 가지고 있다. 본 연구의 결과를 통해서 저

서 생물의 중금속 축적은 용존태의 중금속뿐 아니라, 오염된 퇴적물이나 먹이를 통한 섭취 역시 중요한 노출경로라는 것을 알 수 있었다. 따라서 해양환경의 위해성 평가를 위한 모델이나 규제 기준의 설정에 있어서 상기의 인자가 충분히 고려되어야 할 것이다.

## 감사의 글

이 논문은 2001년도 학술진흥재단의 지원(KRF-2001-041-H00018)에 의하여 연구되었습니다. 본 논문을 정성껏 심사해주신 두분 최만식 박사님과 김경태 박사님께 감사드립니다.

## 참고문헌

- Berry, W.J., M.G. Cantwell, P.A. Edward, J.R. Serbst and D.J. Hansen, 1999. Predicting toxicity of sediments spiked with silver. *Environ. Toxicol. Chem.*, **18**: 40–48.
- Berthet, B., J.C. Amiard, C. Amiard-triquet, M. Martoja and A.Y. Jeantet, 1992. Bioaccumulation, toxicity and physico-chemical speciation of silver in bivalve mollusks: ecotoxicological and health consequences. *The Science of the Total Environment*, **125**: 97–122.
- Boothman, W.S. and A. Helmstetter, 1992. Vertical and seasonal variability of acid volatile sulfides in marine sediments. *Research Report. U.S. Environmental Protection Agency, Narragansett, RI*.
- Brown, C.L. and S.N. Luoma, 1995. Use of the euryhaline bivalve *Potamocorbula amrensis* as a biosentinel species to assess trace metal contamination in San Francisco Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **124**: 129–142.
- Bufflap, W.E. and H.E. Allen, 1995. Sediment pore water collection methods: A review. *Water Res.*, **29**: 165–177.
- DeWitt, T.H., M.S. Redmond, J.E. Sewall and R.C. Swartz, 1992. Development of a chronic sediment toxicity test for marine benthic amphipods. *CBP/TRS 89/93. U.S. Environmental Protection Agency, Newport, OR*.
- Di Toro, D.M., J.D. Mahony, D.J. Hansen, K.J. Scott, A.R. Carson and G.T. Ankley, 1992. Acid volatile sulfide predicts the acute toxicity of cadmium and nickel in sediments. *Environ. Sci. Technol.*, **26**: 96–101.
- Gorsuch, J.W. and S.J. Klaine, 1998. Toxicity and fate of silver in the environment. *Environ. Toxicol. Chem.*, **17**: 537–538.
- Griscom, S.B., N.S. Fisher and S.N. Luoma, 2000. Geochemical influences on assimilation of sediment-bound metals in clams and mussels. *Environ. Sci. Technol.*, **34**: 91–99.
- Hansen, D.J., J.D. Mahony, W.J. Berry, S.J. Benyi, J.M. Corbin, S.D. Prarr, D.M. Di Toro and M.B. Abel, 1996. Chronic effect of cadmium in sediments on colonization by benthic marine organisms: an evaluation of the role of interstitial cadmium and acid-volatile sulfide in biological availability. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**: 2126–2137.
- Hirsch, M.P. 1998. Bioaccumulation of silver from laboratory-spiked sediments in the oligochaete (*Lumbriculus variegatus*). *Environ. Toxicol. Chem.*, **17**: 605–609.
- Hogstrand, C., F. Galvez and C.M. Wood, 1996. Toxicity, silver accumulation and metallothionein induction in freshwater rain-

- bow trout during exposure to different silver salts. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**: 1102–1108.
- Hook, S.E. and N.S. Fisher, 2001. Sublethal effects of silver in zooplankton: Importance of exposure pathways and implications for toxicity testing. *Environ. Toxicol. Chem.*, **20-3**: 568–574.
- Ingersoll, C.G., W.G. Brumbaugh, F.J. Dwyer and N.E. Kemble, 1994. Bioaccumulation of metals by *Hyaella azteca* exposed to contaminated sediments from the upper Clark Fork River, Montana. *Environ. Toxicol. Chem.*, **13**: 2013–2020.
- Lee, B.G., S.B. Griscom, J.S. Lee, H.J. Choi, C.H. Koh, S.N. Luoma and N.S. Fisher, 2000a. Influence of dietary uptake and reactive sulfides on metal bioavailability from aquatic sediments. *Science*, **287**: 282–284.
- Lee, B.G., J.S. Lee, H. J. Choi, S.N. Luoma, and C.H. Koh, 2000b. Influence of acid volatile sulfides and metal concentrations on the bioavailability to marine invertebrates in contaminated sediments. *Environ. Sci. Technol.*, **34**: 4517–4523.
- Lee, J.S., B.G. Lee, H. Yoo, C.H. Koh, and S.N. Luoma, 2001. Influence of reactive sulfide (AVS) and supplementary food on Ag, Cd, and Zn bioaccumulation in the marine polychaete, *Neanthes arenaceodentata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **216**: 129–140.
- Lima, A.R., C. Curtis, D.E. Hammermeister, D.J. Call and T.A. Felhaber, 1982. Acute toxicity of silver to selected fish and invertebrates. *Bull Environ. Contamin. Toxicol.*, **29**: 184–189.
- Luoma, S.N., Y.B. Ho and G.W. Bryan, 1995. Fate, bioavailability and toxicity of silver in estuarine environments. *Mar. Pollut. Bull.*, **31**: 44–54.
- Luoma, S.N. and E.A. Jenne, 1977. The availability of sediment-bound cobalt, silver, and zinc to a deposit-feeding clam. In: Biological Implications of Metals in the Environment, edited by Wildung R.E and H. Drucker, NTIS CONF-750920, Springfield, Virginia, pp. 213–230.
- Nelson, D.A., A. Calabrese, R.A. Greig, P.P. Yevich and S. Chang, 1983. Long-term silver effects on the marine gastropod *Crepidula fornicata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **12**: 155–165.
- Sanudo-Willhelmy, S., and R. Flegal, 1992. Anthropogenic silver in the southern California bight: a new tracer of sewage in coastal waters. *Environ. Sci. Technol.*, **26**: 2147–2151.
- Strong, C.R. and S.N. Luoma, 1981. Variations in the correlation of body size with concentrations of Cu and Ag in the bivalve *Macoma balthica*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **38**: 1059–1064.
- Wang, W.X., I. Stupakoff and N.S. Fisher, 1999. Bioavailability of dissolved and sediment-bound metals to a marine deposit-feeding polychaete. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **178**: 281–293.

---

2001년 5월 3일 원고접수

2001년 5월 21일 수정본 채택

담당편집위원: 오재룡