

## 국내 담수새우인 새뱅이 (*Neocardina denticulata*)를 이용한 중금속의 급성독성시험

류지성<sup>\*</sup>, 김은경, 문예련, 김현미, 김학주, 최경희

국립환경과학원 환경노출평가과

### Acute Toxicity Test of Heavy Metals Using Korean Freshwater Shrimp, *Neocardina denticulata*

Jisung Ryu<sup>\*</sup>, Eun Kyoung Kim, Ye Ryeon Moon, Hyun-Mi Kim,  
Hak-Joo Kim and Kyunghye Choi

Environmental Exposure Assessment Division, National Institute of  
Environmental Research, Kyongseo-dong, Seo-gu, Incheon 404-708, Korea

#### ABSTRACT

Indigenous species means a species that is likely, due to historical presence, to occur at a specified site for some portion of its life span. Therefore, indigenous species can be useful as an indicator to assess environmental risk caused by hazardous chemicals in a specific site. So far a few toxicity studies using freshwater species which are indigenous to Korea have been carried out. In this study, a freshwater shrimp (*Neocardina denticulata*) indigenous to Korea was used for acute toxicity test of heavy metals.

*Neocardina denticulata* were exposed to cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>), copper chloride (CuCl<sub>2</sub>) and zinc chloride (ZnCl<sub>2</sub>) using automatic flow-through system for 96 hours. The 96h LC50s were calculated as 0.043 (0.042 ~ 0.045) mg CdCl<sub>2</sub>/L, 0.104 (0.098 ~ 0.113) mg CuCl<sub>2</sub>/L and 2.021 (1.633 ~ 2.594) mg ZnCl<sub>2</sub>/L. When compared with some international standard species such as medaka (*Oryzias latipes*), *Neocardina denticulata* had high sensitivity. Therefore, this study suggested that *Neocardina denticulata* have possibilities for a sensitive test species to test heavy metal toxicity in aqua-system.

**Key words** : *Neocardina denticulata*, heavy metals, acute toxicity, flow-through system

#### 서 론

환경 중 유해화학물질에 대한 적절한 위해성평가를 수행하기 위해서는 화학물질의 독성자료 생산이 필수적인데, 인체독성과는 달리 생태독성은

수백만 종의 생물이 평가의 대상이 될 수 있기 때문에 적합한 생태독성시험종을 선정하는 것이 무엇보다도 중요하다. 특히 한 나라에서 사용되는 화학물질로부터 자국의 환경을 보호하려는 목적으로 위해성평가를 수행하는 경우에는 그 나라 환경에 적합한 독성시험생물종을 선정하고 독성시험법을 개발하는 것이 보다 바람직하다고 할 수 있다. 일부 선진 외국에서는 다양한 고유 생물종을 발굴하여 독성평가를 시도하고 있다 (California EPA, 2003).

<sup>\*</sup>To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-32-560-7238, Fax: +82-32-560-7260  
E-mail: jsgood4u@me.gov.kr



Fig. 1. A Korean freshwater shrimp, *Neocardina denticulata* used in this experiment.

우리나라의 경우 고유 생물종을 이용한 독성평가 연구가 일부 진행되어 왔지만 주로 어류와 물벼룩류에 국한되어 있고 생물종에 대한 기반 연구가 부족하여 보다 다양하고 심도 있는 연구가 필요한 실정이다(농림부, 1999; 환경부, 1997). 이러한 필요성에 따라 국립환경과학원에서는 보다 다양한 생물종을 대상으로 독성시험을 수행하고자 연구사업을 수행하고 있다(국립환경과학원, 2006).

본 연구에서는 우리나라에서 수행된 독성시험연구 보고가 전무한 절지동물문(Arthropoda)의 십각류(decapoda) 생물종을 대상으로 독성시험종을 선정하였다. 십각류는 게, 가재, 새우 등의 고등 갑각류로 주로 바다에 살지만 민물이나 육지에 사는 종들도 있다. 민물에 사는 십각류 중 새우류는 넓게 분포하며 개체확보가 비교적 쉬워 시험생물로서의 가능성이 가재나 게보다 크다고 할 수 있다. 그러나 우리나라에 서식하는 민물새우는 징거미새우, 줄새우, 새뱅이 등 그 종수는 많지 않다. 이들 민물새우 중 새뱅이는 이전 연구결과 개체확보 및 사육이 용이하며, 계대번식도 쉽게 되는 등 시험종으로서의 가능성을 지닌 것으로 판단되었다(국립환경과학원, 2006). 따라서 본 연구에서는 새뱅이(*Neocardina denticulata*)를 대상으로 일반적으로 독성시험에 많이 사용되는 중금속류에 대한 급성독성을 수행함으로써 독성시험종으로서 새뱅이의 활용가능성을 살펴보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험생물

시험에 사용된 담수 갑각류인 새뱅이(*Neocar-*

*dina denticulata*)는 2006년 8월에 부산광역시 기장읍에 위치하고 있는 저수지에서 채집하였다(Fig. 1). 채집한 새뱅이는 국립환경과학원 환경독성실험동내 사육실에서 수온  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH  $7.5 \pm 0.2$ , 용존산소  $7 \sim 8 \text{ mg/L}$  및 광주기 16시간/8시간(명/암)의 조건으로 순화시켰다. 시험에 사용한 개체는 계대배양한 개체로 부화후 3개월 이상된 외관상 이상이 없는 건강한 개체를 사용하였으며, 시험에 사용한 개체의 평균 크기는 체장  $1.76 \pm 0.17 \text{ cm}$ 이었다.

### 2. 시험물질의 조제

시험물질은 cadmium chloride (Sigma Chemical Co., USA), copper (II) chloride (Sigma-Aldrich Inc., USA)와 zinc chloride (Sigma-Aldrich Inc., USA) 각각을 증류수에 용해시켜 시험용액 1,000 mg/L을 만든 후, 재차 희석수에 일정비율로 희석하여 시험에 적합한 농도로 제조하였다. 희석수는 수생생물 사육용 정수처리시스템(Hanssem Watertech. Co., Korea)으로 처리된 수돗물을 사용하였으며, 희석수의 pH 범위는 7~8이었다.

### 3. 급성독성시험

급성독성시험은 자동유수식 노출장치(Sibata Scientific Technology Ltd., Japan)를 이용하여 수행하였다(Fig. 2). 자동유수식 노출장치는 시약공급조, 희석수공급조 및 혼합조로 구성되어 있으며, 본 연구에서는 혼합조에 시험용액과 희석수가 1:9의 비율로 공급되도록 조절하여 최종적으로 노출수조(2L)에 시험용액의 농도가  $\text{CdCl}_2$ 의 경우 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 및 0.16 mg/L,  $\text{CuCl}_2$ 는 0.1, 0.2, 0.3,



Fig. 2. An automatic flow-through exposure system used in this experiment.

0.4 및 0.5 mg/L 그리고 ZnCl<sub>2</sub>는 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 및 8.0 mg/L의 농도가 되도록 하였다. 시험물질의 노출농도는 사전 예비시험을 통해 결정하였다. 시험물질의 노출 중 환경조건은 사육조건과 동일하도록 수온은 24±1°C로 유지하였고, 조명시간은 16h/day로 하였다. 시험농도 당 각 10마리의 개체를 노출시켰으며, 96시간동안 시험을 실시하여 치사율을 관찰하였다. 시험도중 치사개체가 발견되면 즉시 제거하였으며, 움직임이 없이 옆으로 누워있는 상태를 사망으로 간주하였다. 시험은 각 시험농도 당 3반복으로 수행하였으며, 자동유수식 노출장치 2L 노출수조의 시험용액 교체주기는 48시간동안 시험용액 전체가 일회 교환되도록 하였다. 시험기간 동안 먹이는 공급하지 않았으며, 치사율에 따른 반수치사농도 (LC50)는 Probit 통계처리법을 사용하여 산출하였다.

**결과 및 고찰**

96시간 동안 새뱅이에 CdCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub> 및 ZnCl<sub>2</sub>를 노출시킨 결과, 반수치사농도 (96h-LC50)가 각각

Table 1. Lethal concentrations of CdCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub> and ZnCl<sub>2</sub> to *Neocardina denticulata*

Heavy metal	Cadmium (CdCl <sub>2</sub> )	Copper (CuCl <sub>2</sub> )	Zinc (ZnCl <sub>2</sub> )
<sup>1)</sup> 96 h-LC50 (mg/L)	0.043±0.002 (0.042~0.045)	0.104±0.008 (0.098~0.113)	2.021±0.507 (1.633~2.594)

<sup>1)</sup>Data were presented as mean±SD (n=3)

0.043, 0.104 및 2.021 mg/L로 나타났다 (Table 1). 따라서 세가지 중금속에 대한 새뱅이의 독성민감도는 카드뮴>구리>아연의 순으로 나타났다. 독성 시험도중 대조군에서의 이상증상은 발견되지 않았으며, 3반복 시험에 따른 96h-LC50값의 차이가 비교적 크지 않고 농도의존적 결과를 도출하였다.

환경중 유해화학물질에 대한 환경위해성평가를 수행하기 위해서는 생태독성평가자료가 필요하며, 이를 위해서는 적합한 생태독성시험 생물종을 선정하는 것이 중요하다. 더욱이 일정 지역에 대한 환경위해성평가를 수행하는 경우에는 그 지역 환경에 적합한 독성시험생물종을 선정하고 독성시험법을 개발하는 것이 보다 바람직하다고 할 수 있

다. 이러한 목적으로 국립환경과학원에서는 국내 고유 담수 수생생물종을 대상으로 독성시험생물종을 개발하기 위한 연구를 수행해 오고 있다. 기존 연구에서 어류, 갑각류, 연체류 등을 대상으로 하여 개체의 확보성과 사육가능성 등을 중심으로 독성 시험을 수행할 수 있는 조건을 갖는 고유생물종을 선정하였다(국립환경과학원, 2006). 그 결과 대륙송사리 (*Oryzias sinensis*), 새뱅이 (*Neocardina denticulata*), 꽃게다슬기 (*Semisulcospira gottschei*)를 독성 시험 후보생물종으로 선정하였다. 이들 생물종은 사육조건이 까다롭지 않고, 호조건에서 연중 번식이 가능하여 독성시험생물로서의 가능성이 크다고 판단되었다. 이 연구에서 이들 생물종을 대상으로 카드뮴에 대한 급성독성시험을 수행하고 그 결과 값을 다른 외국 생물종의 급성독성값과 비교하여 봄으로써 독성시험가능성 및 독성민감도를 살펴 보았다. 그 결과 새뱅이의 독성민감도가 가장 높았으며, 국제 표준독성시험종인 송사리 (*Oryzias latipes*) 등에 비해서도 독성민감도가 높아 중금속에 대한 독성평가에 유용하게 사용될 수 있는 시험종으로 판단되었다. 이에 본 연구에서 세 가지 중금속에 대한 급성독성시험을 수행하여 새뱅이의 독성시험종으로서의 활용 가능성을 확인해 보았다.

새우류를 이용한 외국 독성연구 자료의 경우 어류나 물벼룩류 만큼 연구가 다양하거나 연구의 양이 많지는 않으나 어느 정도 자료를 찾아볼 수 있다. 그러나 우리나라의 경우 그 사례조차 찾아보기 힘든 실정이다. 새우를 이용한 외국의 연구자료로는 농약류와 중금속 등에 대한 독성자료가 있으며, 일반적인 급성독성 뿐 아니라 농약류에 대한 내분비계장애연구와 만성독성연구 자료도 보고되어 있다(Wu and Chen, 2004; Huang *et al.*, 2006; Kuzmick *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007).

본 시험결과 산출된 세가지 중금속에 대한 새뱅이의 급성독성값은 물벼룩(*Daphnia magna*)을 제외하고 대부분 다른 시험종들의 독성값보다 낮게 나타나 새뱅이는 중금속류에 대한 민감도가 비교적 높은 생물종인 것으로 사료된다(Table 2). 한 연구보고는 중금속 뿐 아니라 다른 물질에 대해서도 새우가 어류보다 민감한 것을 보여주고 있는데, 이 연구에서 민물새우인 *Macrobrachium nipponensis*와 어류인 *Brachydanio rerio*를 대상으로 살충제인 gamma-cyhalothrin과 lambda-cyhalothrin에 대한

**Table 2.** Lethal concentrations of CdCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub> and ZnCl<sub>2</sub> to several species

Heavy metal	Species	<sup>1)</sup> LC50 (mg/L) [exposure duration]
CdCl <sub>2</sub>	<i>Cyprinus carpio</i>	7.9 [96 hours]
	<i>Danio rerio</i>	3.3 [96 hours]
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0.2 [96 hours]
	<i>Daphnia magna</i>	0.01 [96 hours]
CuCl <sub>2</sub>	<i>Cyprinus carpio</i>	0.2 [96 hours]
	<i>Lepomis macrochirus</i>	1.0 [96 hours]
	<i>Oryzias latipes</i>	1.1 [48 hours]
	<i>Daphnia magna</i>	0.03 [96 hours]
ZnCl <sub>2</sub>	<i>Danio rerio</i>	25 [96 hours]
	<i>Lepomis macrochirus</i>	7.2 [96 hours]
	<i>Oryzias latipes</i>	20 [48 hours]
	<i>Daphnia magna</i>	0.07 [96 hours]

<sup>1)</sup>Data were quoted from ECOTOX Database (<http://cfpub.epa.gov/ecotox/>)

급성독성시험을 수행한 결과 *Macrobrachium nipponensis*의 경우 독성값(96h-LC50)이 각각 0.28 µg/L와 0.04 µg/L이었으며, *Brachydanio rerio*의 경우 각각 1.93 µg/L와 1.94 µg/L으로 산출되어 *Macrobrachium nipponensis*의 독성값이 *Brachydanio rerio*에 비해 gamma-cyhalothrin에 대해서는 약 7배, lambda-cyhalothrin에 대해서는 약 50배 더 낮은 것으로 나타났다(Wang *et al.*, 2007). 따라서 새우류는 일반적으로 어류보다 민감한 독성시험종으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서 세 가지 중금속에 대한 급성독성시험결과 독성민감도가 카드뮴>구리>아연의 순으로 나타났다. 해수 새우인 *Litopenaeus vannamei*를 대상으로 카드뮴과 아연에 대한 급성독성시험을 수행한 결과에서도 카드뮴 독성(96h-LC50: 1.07 mg Cd/L)이 아연의 경우(96h-LC50: 1.35 mg Zn/L)보다 높게 나타났으며(Wu and Chen, 2004), Table 2에서 보는 바와 같이 일반적으로 아연의 독성이 카드뮴과 구리보다 낮은 것으로 나타나고 있다. 그러나 계류인 *Chasmagnathus granulata*에 대한 급성독성시험 결과 독성민감도가 카드뮴>아연>구리의 순으로 나타났다(Ferrer *et al.*, 2006). 또한 곤쟁이(*Neomysis awatschensis*)를 이용한 연구의 경우 본 연구에서와 달리 카드뮴(96h-LC50: 20.2 µg Cd/L)보다 구리(96h-LC50: 11.3 µg Cu/L)의 독성이

더 높게 나타났다(Kang *et al.*, 1997). 따라서 중금속에 대한 독성민감도는 생물종에 따라 다른 것으로 사료된다.

본 연구결과 새뱅이는 실험실 내 사육이 용이할 뿐 아니라 급성독성시험시 사망 판별이 몰벼룩과 같이 어렵지 않고 확실하며, 시험기간 중 대조군에 있어서 이상증상이 나타나지 않고, 반복실험에 따른 결과 값의 차이가 크지 않은 등 독성시험을 수행하기 위한 기본적 조건을 만족하는 것으로 사료된다. 특히 중금속류에 대해 민감하여 향후 중금속에 대한 독성시험에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 결 론

새뱅이를 이용한 독성시험이 가능한 지를 알아 보기 위한 첫 단계로서 급성독성시험을 수행하여 보았다. 급성독성시험은 일반적으로 독성시험에 많이 사용되는 중금속류를 선택하여 수행하였으며 그 결과를 다른 시험종의 독성값과 비교하여 새뱅이의 독성민감도를 살펴보았다. 그 결과 CdCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub> 및 ZnCl<sub>2</sub> 노출에 따른 96h-LC50는 각각 0.043, 0.104 및 2.021 mg/L로 나타났으며, 따라서 이들 중금속에 대한 독성은 카드뮴 > 구리 > 아연의 순으로 나타났다. 이러한 독성값은 다른 시험생물종에 비해 낮은 것으로 향후 새뱅이는 중금속에 대한 민감한 독성시험종으로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다. 새뱅이가 독성시험종으로서 적합한지 여부를 알기 위해서는 향후 보다 다양한 물질을 이용한 독성시험을 수행하여 보고, 다양한 독성시험방법에 적용하여 새뱅이에 적합한 독성종 말점(end-points)을 개발할 필요가 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- 국립환경과학원. '환경독성평가를 위한 국내고유생물종 개발' 연구사업 보고서. 2006
- 농림부. '농업환경 보존을 위한 농약의 표준생태독성시험법 연구' 보고서. 1999
- 환경부. '환경위해성 평가 및 관리기술 사업'의 '유해화학물질의 안전성평가 및 관리기술' 과제 제2단계 2차년도 연차보고서. 1997
- California EPA. Overview of freshwater and marine toxicity tests: a technical tool for ecological risk assessment, Office of Environmental Health Hazard Assessment 2003
- Ferrer, L, Andrade, S, Asteasuain, R and Marcovecchio, J. Acute toxicities of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata* from Bahia Blanca estuary, Argentina, *Ecotoxicol Environ Saf* 2006; 65(2): 209-217.
- Huang, DJ, Chen, HC, Wu, JP and Wang, SY. Reproduction obstacles for the female green neon shrimp (*Neocaridina denticulata*) after exposure to chlordane and lindane, *Chemosphere* 2006; 64(1): 11-16.
- Kang, JC, Kim HY and Chin P. Toxicity of copper, cadmium and chromium on survival, growth and oxygen consumption of the mysid, *Neomysis awatschensis*, *J. Korean Fish Soc* 1997; 30(5): 874-881.
- Kuzmick, DM, Mitchelmore, CL, Hopkins, WA and Rowe CL. Effects of coal combustion residues on survival, antioxidant potential, and genotoxicity resulting from full-life cycle exposure of grass shrimp (*Palaemonetes pugio* Holthius), *Sci Total Environ* 2007; 373(1): 420-430.
- Wang, W, Cai, DJ, Shan, ZJ, Chen, WL, Poletika, N and Gao, XW. Comparison of the acute toxicity for gamma-cyhalothrin and lambda-cyhalothrin to zebra fish and shrimp, *Regul Toxicol Pharmacol* 2007; 47(2): 184-188.
- Wu, JP and Chen, HC. Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), *Chemosphere* 2004; 57(11): 1591-1598.