

# 지중해담치, *Mytilus galloprovincialis*의 배 발생에 미치는 다환방향족탄화수소류 (2-methylnaphthalene, fluorene, dibenzothiophene, phenanthrene, pyrene) 의 영향

성찬경<sup>1,2</sup>, 박관수<sup>1</sup>, 이종현<sup>1</sup>, 이창훈<sup>1</sup>

<sup>1</sup>네오엔비즈 환경안전연구소, <sup>2</sup>서울시립대학교 에너지환경시스템공학과

## Effect of five PAHs (2-methylnaphthalene, fluorene, dibenzothiophene, phenanthrene, and pyrene) on the embryonic development in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*

Chan-Gyoung Sung<sup>1,2</sup>, Pan-Soo Park<sup>1</sup>, Jong-Hyeon Lee<sup>1</sup>, Chang-Hoon Lee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Environmental Protection and Safety, NeoEnBiz Co., Bucheon, 420-806, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Energy and Environmental System Engineering, University of Seoul, Seoul, Republic of Korea

### ABSTRACT

Mussels have been commonly used in bioassay for quality assessments of environment. Moreover, several standard protocols for the developmental bioassay of bivalves have been proposed. In this study, the EC50 of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) was determined using mussel, *Mytilus galloprovincialis* embryonic developmental bioassay. To determine the sensitivity of *M. galloprovincialis*, their fertilized eggs were exposed to five PAHs (2-methylnaphthalene, fluorene, dibenzothiophene, phenanthrene, pyrene). The EC50 of 2-methylnaphthalene, fluorene, dibenzothiophene, phenanthrene, and pyrene were 232, 273, 67.9, 43.2, and 33.1  $\mu$ g/L, respectively. The overall sensitivity of *M. galloprovincialis* in the present developmental bioassay was similar to or more sensitive than that of other marine organisms commonly used in aquatic bioassays. The results of this study could be provide with fundamental data of setting standard for protection of marine life and or can use prediction the aquatic toxicity of PAHs.

**Key words:** *Mytilus galloprovincialis*, Embryonic development, bioassay, Sensitivity to PAHs

### 서 론

환경의 질 평가 및 물질의 영향평가에 있어서 환경 매질 및 물질의 화학적 성분 분석으로 생물적 또는 생태적 영향을 판단하기란 쉽지 않다. 따라서 화학분석과 더불어 물질 (환경 매질

내 성분을 포함) 의 생물 축적 (Nicholson and Szefer, 2003; Kurt and Ozkoc, 2004) 과 생물검정 (bioassay) 을 함께 하는 연구가 활발히 이루어지고 있다 (Beiras *et al.*, 2003a, b; Beiras and Bellas, 2008). 담치류는 해양환경의 모니터링과 오염평가에 널리 이용되는 생물이다 (Goldberg and Bertine, 2000; Wedderburn *et al.*, 2000; Geffard *et al.*, 2001; Smolders *et al.*, 2004; Faria *et al.*, 2010; Sunita *et al.*, 2013). 전 세계 연안에서 흔하게 찾을 수 있고 산란유발이 비교적 쉽기 때문에 발생과정이 다양한 연구의 대상으로 이용되고 있기도 하다 (His *et al.*, 1996; Jha *et al.*, 2000; Beiras *et al.*, 2003a, b; Beiras and Albentosa, 2004). 국내 담치류에 관한 연구는 양식과 관련된 연구가 가장 많으며 유생의 배 발생단계와 관련한 몇몇 연구가 있다 (Hur and Hur,

Received: September 15, 2014; Revised: September 18, 2014; Accepted: September 23, 2014

Corresponding author : Chang-Hoon Lee

Tel: +82 (32) 718-9430 e-mail: neoenbiz.lch@gmail.com  
1225-3480/24528

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

2000; Sung *et al.*, 2005, 2006). 이들 연구에서는 지중해담치의 배 발생과정을 이용한 시험의 물리적 조건들과 몇몇 중금속원소에 대한 민감도를 제시하고 있으며 본 연구에도 제시된 시험조건을 적용하여 수행하였다.

다환방향족탄화수소 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)는 환경독성학적 관점에서 변이원성 및 발암성을 나타내는 잔류성 유기오염물질로 분류할 수 있고 스톡홀름협약에서 잔류성 유기오염물질 (POPs, persistent organic pollutants) 중의 한 물질 그룹으로 논의된 바 있다 (UNEP, 2003). 이러한 PAHs는 인공합성물질이 아닌 환경 내 항상 존재하는 자연발생적인 물질 군이지만 인간활동이 주된 오염의 원인으로, 하구와 해수 내 PAHs 농도는 지속적으로 증가되고 있다 (Kennish, 1992; Walker *et al.*, 2001). PAHs류는 200여 종의 이성질체가 존재하는 것으로 알려져 있으며, 벤젠고리가 3개 이하인 LPAHs (low molecular weight PAHs)와 벤젠고리가 4개 이상인 HPAHs (high molecular weight PAHs)로 구분한다. PAHs류는 유류 유출 사고 시 배출되는 성분 중 가장 유해성이 높은 물질로 인식되고 있다. PAHs는 분자량이 낮은 경우 환경 중에서 분해되어 사라질 수 있지만 대부분 안정한 화합물로 높은 녹는점과 끓는점을 가지는 강한 불용성 물질이다. 벤젠고리의 수가 증가하면 수용해도와 휘발성은 낮아지고 흡착으로 인해 입자상으로 존재하는 경향을 보인다. 탄화수소의 비율이 커질수록 화학적으로 안정하지만 벤젠고리의 배열형태에 따라 달라진다. 벤젠고리가 선형으로 배열될 경우, 분자량이 증가할수록 화학적으로 불안정해 지고 비틀어진 위치에 이중결합을 하고 있는 탄소로 인하여 반응성이 커지기도 한다. PAHs는 종류에 따라 다른 상으로 존재할 수 있는데, 온도, 습도 분자의 형태에 따라 상분배가 일어나기도 한다. 탄화수소 (petrogenic) PAHs는 알킬화된 PAHs의 구성 비율이 높으며, 연소기원 (pyrogenic) PAHs는 알킬화되지 않은 PAHs의 구성 비율이 높은 특징을 갖는다. PAHs류 중에 급성독성을 일으키는 물질이 일부 알려져 있으며, 대부분의 경우는 만성독성을 야기 시킨다. PAHs로 인한 발암성, 면역독성, 신경독성, 발생독성, 유전독성, 내분비교란 등의 다양한 독성 작용이 보고되어 있다. PAHs 물질의 일부는 자외선에 의해 독성이 더욱더 증가하는 특징을 갖고 있다. PAHs는 물에 대한 용해도가 높지 않아서 급성독성보다는 만성독성이 더욱 중요하며, 퇴적물의 유기탄소에 흡착하여 존재할 수 있기 때문에, 퇴적물 오염 및 저서생태계에 미치는 독성에 대한 이해가 필수적이라 할 수 있다. PAHs는 체내에 약물대사 등의 과정을 통해 독성이 감소하는 물질도 존재하며, 반대로 대사과정을 통하여 생성된 대사산물로 인하여 독성이 증가하는 물질도 존재한다.

일반적인 해양환경에서 PAHs의 직접적인 점오염원은 하수

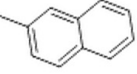
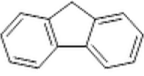
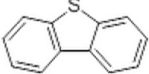
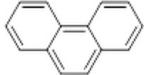
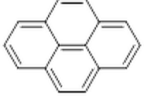
종말처리장으로부터 해양으로 나오는 방류수일 수 있지만 (Latimer and Zheng, 2003; Kanaki *et al.*, 2007), 주된 오염원은 대기로부터 유입되는 화석연료 등의 연소산물이다 (Lim *et al.*, 2007; Qiu *et al.*, 2009; Castro-Jiménez *et al.*, 2012). 일반적이지는 않지만 사고로 인한 유류의 해양 유출은 또 다른 PAHs의 해양 오염원으로, 연간  $1.7 \times 10^5$  tonnes 수준으로 유류가 해양으로 유입되고 있다 (Kennish, 1992; Meador, 2003). 원유 내 주된 독성원인물질은 PAHs로 생물에 악영향을 크게 미칠 수 있다 (Wang *et al.*, 2003). 2007년 12월 Hebei Spirit호가 운반 중이던 약 12,547,000 L의 중동산 원유가 해양으로 유출되는 국내 최대 해양사고가 있었다. 국내에서 1995년 발생한 Sea Prince호 침몰사고 시 유출량의 두 배가 넘고, 국외에서 1989년 발생한 Exxon-Valdez호 사고의 1/3 규모로, 2002년 발생한 Prestige호 유출사고와 2003년 발생한 Tasman Spirit호 유출사고와 비슷한 사고규모이다 (ITOPE, 2008). 유류유출사고와 관련한 많은 연구들은 PAHs의 분포와 생태독성에 초점을 맞추고 있으며 (Boehm, *et al.*, 2007; Guitart, *et al.*, 2008), 2007년 발생한 Hebei Spirit호 유류유출사고로 2014년 현재까지도 PAHs류에 대한 모니터링이 수행되고 있다.

본 연구 또한 국내 서식생물을 이용하여 PAHs의 생태독성을 파악하고자 하였다. 국내 조건대 및 조하대에 널리 분포하는 이매패류인 지중해담치, *Mytilus galloprovincialis*를 시험종으로 하여 5종의 다환방향족탄화수소, 2-metylnaphthalene, fluorene, dibenzothiophene, phenanthrene, 그리고 pyrene을 대상으로 민감도를 알아보고자 하였다. 실제 화학물질의 독성을 평가하기 위해 유럽, 미국, 호주 등 환경 선진국에서는 많은 시간과 비용을 투자하여 다양한 방법으로 독성평가를 수행하고 있다. 물질의 오염 영향 평가에 있어서 비실험적인 방법에 대한 연구들이 진행되고 있고, 특히, 정량적 구조-활성 (QSAR, quantitative structure activity relationship) 을 갖는 PAHs의 독성을 예측하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다 (Song, *et al.*, 2012; Jung, *et al.*, 2013; Cachada, *et al.*, 2014). 하지만 이러한 비실험적인 방법을 적용하기 위해서는 양질의 많은 실험적 자료가 기반이 되어야 한다. 본 연구는 PAHs의 독성을 예측하거나 유류유출 사고로 인한 환경 위해성 평가 및 유해물질의 국내 환경기준 도출 등에 기초 자료를 제공하기 위하여 수행되었다.

## 재료 및 방법

국내 연안 조건대 및 조하대에 널리 서식하는 이매패류인 지중해담치, *Mytilus galloprovincialis*를 시험종으로 선정하였다. 국내 전 해역에 군락으로 서식하여 채취가 용이하고 양식 또한 이루어지고 있어 생물의 수급에 큰 어려움이 없는 생물로

**Table 1.** The chemichysics characteristics of the materials which were used in this study (Di Toro *et al.*, 2000)

Chemical	Structure	CAS #	Log K <sub>ow</sub>	Molecular Weight (g/mol)	Max-Water solubility ( $\mu\text{g/L}$ ) at 25°C
2-methylnaphthalene		91-57-6	3.86	142.2	25,312
Fluorene		86-73-7	4.22	166.2	1,995
Dibenzothiophene		132-65-0	4.44	184.3	1,456
Phenanthrene		85-01-8	4.57	178.2	1,100
Pyrene		129-00-0	4.92	202.3	130

시험의 적용에 장점이 많은 중이다. 성체나 치폐보다 배 발생 과정이 오염물질에 민감하여 민감도 및 배 발생의 최적 조건에 대한 선행연구가 진행된 바 있다 (Sung, *et al.*, 2005, 2006).

시험에 사용한 생물은 오염되지 않은 깨끗한 해역에서 자생 개체들을 채취하여 이용하였다. 성체의 간출을 통한 산란자극으로 알과 정자를 받아 수정란을 확보하였고, 확보된 수정란을 시험 물질에 48시간 노출시켜 정상 발생률을 측정하였다 (ASTM, 1994; USEPA, 1995).

### 1. 시험생물의 준비

성체는 경상남도 거제시 장목면 연안 조간대에서 채취하여 시험에 이용하였다. 시험생물은 실험실로 옮겨와 산란자극을 주어 수정란을 확보하였다. 산란자극은 간출법으로 1 시간가량 직사광선을 피하여 공기중에 노출시킨 후 약 20°C 32 psu 여과해수에 담가 방정과 방란을 유도하였다. 최초 방정을 확인하고 약 20 분경과 후 성체를 물로부터 제거하고, 100- $\mu\text{m}$  망목의 나일론 망을 통과시켜 이물질을 제거하였다. 40- $\mu\text{m}$  나일론 망으로 작은 이물질과 미성숙한 알을 추가적으로 제거하여 수정란만을 수거하였다. 이렇게 수거된 수정란은 여과해수를 이용하여 수차례 헹구어 정자를 모두 제거한 후 시험에 이용하였다.

### 2. 노출시료의 준비

본 연구에 사용한 개별 PAHs는 2-methylnaphthalene,

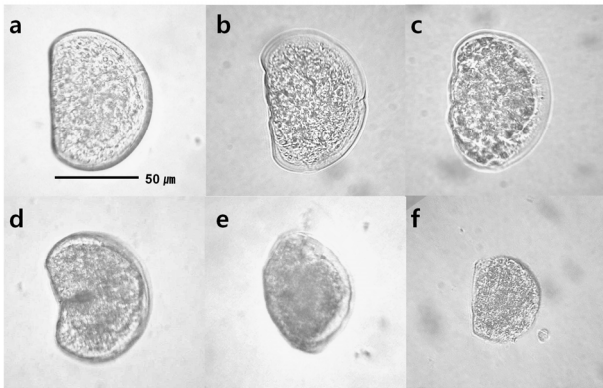
fluorene, dibenzothiophene, phenanthrene, 그리고 pyrene을 이용하였다. 각기 다른 옥탄올-물 분배계수 (Kow)를 갖는 물질로 대상물질을 선정하였다 (Table 1). 물질별로 고농도부터 저농도 까지 희석하여 물질별 독성 파라메타를 산출하였다.

다섯 종의 단일 PAH를 상대적으로 독성이 약한 유기용매인 DMSO (dimethyl sulfoxide) 에 녹여 여과해수로 주입하여 시험하였다.

### 3. 노출실험

시험은 지수식으로 물교환을 하지 않고 밀봉하여 진행하였다. 노출용기는 20-ml 뚜껑이 있는 유리용기로 뚜껑에 알루미늄 늪호일 덮개가 있는 것을 사용하였다. 시험의 진행은 온도가 조절되는 배양기를 사용하였고 노출 온도는 15°C  $\pm$  1°C 이었다. 사용된 해수는 자연해수를 여과하여 사용하였고 이때 염분은 32 psu 이었다. 각 노출 용기마다의 시료량은 10 ml 로 하였고 노출용기에 투입된 수정란은 50 embryos/ml, 4반복으로 수행하였다.

유리용기에 여과해수 9.9 ml 를 주입하고 각 물질별 농도별로 DMSO에 녹여 준비된 PAHs 용액을 100  $\mu\text{l}$  씩 주입하여 시험 시료를 준비하였다. 준비된 시료에 지중해담치의 수정란을 투입하여 조명이 없는 상태로 48 시간 동안 노출하였다. 48 시간 후 모든 실험용기에 중성포르말린을 주입하여 발생을 종료시킨 후 현미경으로 정상발생 유무를 확인하였다. 정상발생



**Fig. 1.** The different abnormalities and normality observed in larvae of *Mytilus galloprovincialis*. **a:** normal larva; **b:** chipped shell; **c:** sawedged hinge; **d & e:** bent hinge; **f:** dwarfish larva.

의 최종 판단은 형성된 패각의 형태로 구분하였다. 형태적인 판단은, 수정란 상태, 세포분열은 하였으나 부화하지 않은 상태, 부화는 하였으나 'D' 형태를 갖추지 않은 상태, 'D' 형태를 갖추었으나 크기가 작은 상태 모두 비정상적으로 분류하였다 (Fig. 1).

**4. 농도분석**

독성 실험에 사용 된 동일 시료를 시험 시작과 종료 시 각 1 ml 분취하여 GC vial에 담은 후 기기분석을 하였다. PAHs 분석을 위한 기기는 Waters사의 HPLC (Waters-2695 separation module) 에 PAH column (Fortis BIO, C18, 5 μm 150 × 4.6 mm) 을 장착한 fluorescence (Waters-474) 검출기를 사용하였고 분석 기기의 조건은 (Table 2) 에 나타내었다. 기기분석의 타당성을 검증하기 위한 정도관리는 직선성, 정확성 및 정밀성을 통행 평가 하였다. 5종의 PAHs는 1-1000 ng/ml 범위에서 제조하여 검량선을 작성 하였다. 상관 계수 ( $R^2$ ) 은 모든 물질에서 0.98 (기준:0.98 이상) 이상의 값을 나타냈으며 표준물질 첨가를 통한 정확성 평가에서는 90-105% (기준:80-120%) 로 나타내고 정밀도 평가에서는 1.0-4.4% (15% 이하) 로 모두 적절한 수준이었다 (Table 3).

**결 과**

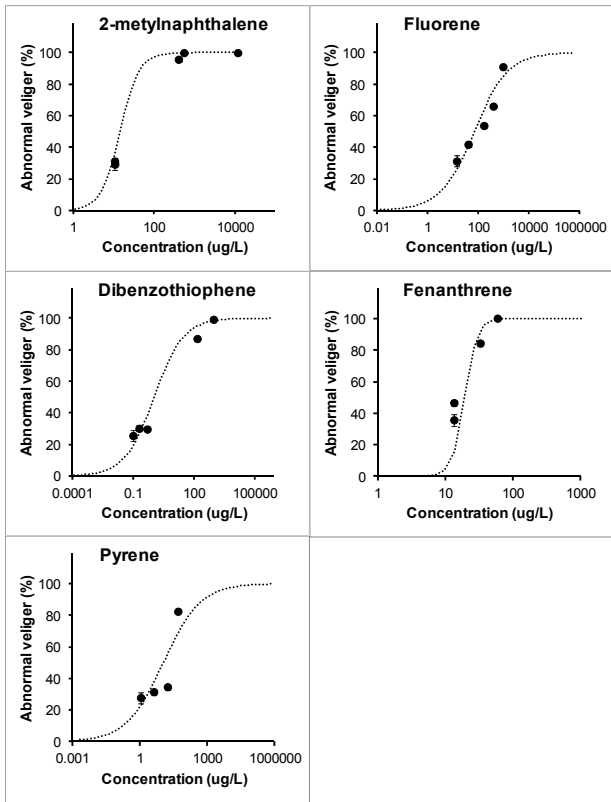
예비실험을 통하여 물에 잘 녹지 않는 물질의 시험을 위해서 사용한 용매인 DMSO에 대한 영향을 파악하였다. 여과해수만을 주입한 실험구와 발생에 있어서 통계적 (t-test,  $p = 0.05$ ) 으로 차이가 나타나지 않는 DMSO 최고 농도는 1% 이었다.

**Table 2.** Selective pairs of fluorometric wavelength and time of the PAHs

Mobile phase gradient elution program for PAHs				
Time (min)	Water (%)	Acetonitrile (%)	Flow rate (ml min <sup>-1</sup> )	
0	40	60	1	
10	0	100	1	
20	0	100	1	
20.5	40	60	1	
25	40	60	1	
Wavelength switching program for FLD				
Retention time (min)	λ-excitation (nm)	λ-emission (nm)	PMT-gain	PAHs determined
12.5	217	338	10	2-methylnaphthalene
14.1	250	341	10	Fluorene
15.1	240	360	10	Dibenzothiophene
15.3	240	360	10	Phenanthrene
18.9	236	389	10	Pyrene

**Table 3.** QA/QC of PAHs

Target compound	Linearity (> 0.98)	CV (< 15%)	Accuracy (%) (80-120)
2-methylnaphthalene	0.999	1.0	
Fluorene	0.999	3.5	
Dibenzothiophene	0.997	4.4	90-105
Phenanthrene	0.999	4.4	
Pyrene	0.998	2.0	



**Fig. 2.** The concentration-response relationship between single polycyclic aromatic hydrocarbons and the proportions of abnormal veliger larvae of *Mytilus galloprovincialis*.

따라서 본 실험에 사용된 DMSO의 최고농도를 1%로 하였다. 시험에 사용된 지중해담치 알의 수정률은 시험을 위해 준비한 수정란을 잘 흔들어 일부를 취하여 광학현미경을 통해 무작위 100개의 알을 관찰하여 계수한 것 중 수정이 이루어진 알의 개수를 기록하여 구하였다. 수정 여부는 알 표면에 수정 후 발현되는 극체 (polar body) 의 유무로 결정하였다. 본 연구에 사용된 알의 수정률은 거의 100%에 가까웠다.

PAHs에 대한 지중해담치의 정상발생 독성시험 결과 농도-반응 관계를 확인하였고, 5 종의 개별 PAH에 대한 독성파라

메타는 통계프로그램인 ToxCalc 5.0 (Tidepool. Scientific Software) 을 이용하여 반수 영향 (약영향) 농도 (50% effective concentration, EC50), 무영향농도 (no observed effective concentration, NOEC) 그리고 최소 영향농도 (lowest observed effective concentration, LOEC) 를 산출하였다. 시험 시료의 농도는 시험 시작과 종료 시 분석 한 농도의 기하평균값을 사용하였다.

개별 PAHs에 노출된 지중해담치 배아는 노출 물질의 농도가 높아짐에 따라 정상적인 발생에 영향을 받았다 (Fig. 2). 2-methylnaphthalene 노출에서의 발생 영향은 다소 좁은 농도구간에서 급격한 변화를 나타내었고 fluorene에서의 영향은 농도가 높아짐에 따라 점차적으로 높아지는 경향을 보였고 dibenzothiophene, phenanthrene 그리고 pyrene에서도 유사한 경향을 보였다. 농도-반응 영향을 바탕으로 독성파라미터를 산출할 수 있었다. 개별 PAHs 2-methylnaphthalene, fluorene, dibenzothiophene, phenanthrene, 그리고 pyrene이 지중해담치의 배아 노출 후 48 시간 발생에 미치는 반수 영향농도는 각각 232, 273, 67.9, 43.2 그리고 33.1  $\mu$ g/L 이었다 (Table 4).

**고 찰**

본 연구는 2-methylnaphthalene, fluorene, dibenzothiophene, phenanthrene, 그리고 pyrene에 대한 지중해담치, *Mytilus galloprovincialis*, 의 발생에 미치는 급성독성영향을 보고한다. 지중해담치의 배 발생과정에 미치는 PAHs의 영향은 각 물질별 수용해도를 초과하지 않은 농도범위에서 나타났다. 물-옥탄올 분배계수가 시험물질 중 상대적으로 낮은 물질인 2-methylnaphthalene, fluorene (log  $K_{ow}$ : 각 3.86, 4.22) 에 대한 민감도는 다른 시험생물과 비교하였을 때 다소 민감한 편에 속하였고 시험물질 중 가장 물-옥탄올 분배계수가 큰 pyrene (log  $K_{ow}$ : 4.92) 에서는 다른 시험생물보다 둔감함을 나타내었다. 개별 PAH의 독성은 각 물질의 극성용매인 물과 유기용매인 옥탄올 사이의 분배계수 (water-octanol partitioning coefficient;  $K_{ow}$ ) 와 상관성이 있다는 것이 정량적 구조활성 관계 (quantitative structure

**Table 4.** Values of toxicity parameters of 48 hours embryonic development of *Mytilus galloprovincialis* for different polycyclic aromatic hydrocarbons

Compounds	EC50 ( $\mu$ g/L)	95% confidence interval		NOEC	LOEC
2-methylnaphthalene	232	77.4	695	10.5	405
Fluorene	273	80.6	924	40.2	168
Dibenzothiophene	67.9	57.8	79.2	<109	109
Phenanthrene	43.2	27.4	68.3	13.5	33.1
Pyrene	33.1	19.3	56.6	17.1	49.8

**Table 5.** Comparison of EC50 (LC50) values of PAHs among developmental bioassay with *Mytilus galloprovincialis* and other organisms commonly used in aquatic toxicity test.

Chemical Name	Species Scientific Name	Species Common Name	Species Group	Media
2-methylanaphthalene	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Artemia salina</i>	Brine shrimp	Crustaceans	SW
	<i>Artemia salina</i>	Brine shrimp	Crustaceans	SW
	<i>Palaemonetes pugio</i>	Shrimp	Crustaceans	SW
	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Sheepshead minnow	Fish	SW
	<i>Rhepoxynius abronius</i>	Amphipod	Crustaceans	SW
	<i>Onconrhyinchus mykiss</i>	Rainbow trout	Fish	FW
	<i>Onconrhyinchus mykiss</i>	Rainbow trout	Fish	FW
	<i>Onconrhyinchus mykiss</i>	Rainbow trout	Fish	FW
	<i>Onconrhyinchus mykiss</i>	Rainbow trout	Fish	FW
	<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>Mussel</b>	<b>Molluscs</b>	<b>SW</b>
Dibenzothiophene	<i>Mytilus edulis</i>	Mussel	Molluscs	SW
	<i>Orthona advisae</i>	Copepod	Crustaceans	SW
	<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>Mussel</b>	<b>Molluscs</b>	<b>SW</b>
Fluorene	<i>Daphnia pulex</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Onconrhyinchus mykiss</i>	Rainbow trout	Fish	FW
	<i>Lepomis macrochirus</i>	Bluegill	Fish	FW
	<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>Mussel</b>	<b>Molluscs</b>	<b>SW</b>
Phenanthrene	<i>Nereis arenaceodentata</i>	Polychaete	Worm	SW
	<i>Daphnia pulex</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia pulex</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia pulex</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Sheepshead minnow	Fish	SW
	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Sheepshead minnow	Sheepshead	SW
	<i>Chironomus tentans</i>	Midge	Insects	FW
	<i>Nereis arenaceodentata</i>	Polychaete worm	Worm	SW
	<i>Artemia salina</i>	Brine shrimp	Crustaceans	SW
	<i>Artemia salina</i>	Brine shrimp	Crustaceans	SW
	<i>Artemia salina</i>	Brine shrimp	Crustaceans	SW
	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia magna</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Daphnia pulex</i>	Water flea	Crustaceans	FW
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Mussel	Molluscs	SW
<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>Mussel</b>	<b>Molluscs</b>	<b>SW</b>	
Pyrene	<i>Americamysis bahia</i>	Shrimp	Crustaceans	SW
	<i>Mulinia lateralis</i>	Clam	Molluscs	SW
	<i>Mulinia lateralis</i>	Clam	Molluscs	SW
	<i>Mulinia lateralis</i>	Clam	Molluscs	SW
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	Paper Pondshell	Molluscs	FW
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	Paper Pondshell	Molluscs	FW
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	Paper Pondshell	Molluscs	FW
	<i>Americamysis bahia</i>	Shrimp	Crustaceans	SW
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	Paper Pondshell	Molluscs	FW
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	Paper Pondshell	Molluscs	FW
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	Paper Pondshell	Molluscs	FW
	<i>Mulinia lateralis</i>	Clam	Molluscs	SW
	<i>Mulinia lateralis</i>	Clam	Molluscs	SW
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Mussel	Molluscs	SW
<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>Mussel</b>	<b>Molluscs</b>	<b>SW</b>	

Chemical Name	Species Scientific Name	Test Duration (hours)	Endpoint	Concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	Reference
2-methylanaphthalene	<i>Daphnia magna</i>	48	LC50	1491	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Artemia salina</i>	24	LC50	2330	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Artemia salina</i>	48	LC50	4740	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Palaemonetes pugio</i>	24	LC50	1700	Anderson <i>et al.</i> , 1974
	<i>Cyprinodon variegatus</i>	24	LC50	2000	Anderson <i>et al.</i> , 1974
	<i>Rhepoxynius abronius</i>	96	LC50	67	Boese <i>et al.</i> , 1997
	<i>Onconrhnchus mykiss</i>	96	LC50	1456	Kennedy, 1990
	<i>Onconrhnchus mykiss</i>	72	LC50	1694	Kennedy, 1990
	<i>Onconrhnchus mykiss</i>	48	LC50	2080	Kennedy, 1990
	<i>Onconrhnchus mykiss</i>	24	LC50	2448	Kennedy, 1990
	<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>48</b>	<b>EC50</b>	<b>232</b>	<b>This study</b>
Dibenzothiophene	<i>Mytilus edulis</i>	1.7	EC50	90	Donkin <i>et al.</i> , 1989
	<i>Oithona advisae</i>	48	LC50	551	Barata <i>et al.</i> , 2005
	<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>48</b>	<b>EC50</b>	<b>273</b>	<b>This study</b>
Fluorene	<i>Daphnia pulex</i>	48	LC50	212	Smith <i>et al.</i> , 1988
	<i>Daphnia magna</i>	48	LC50	430	Finger <i>et al.</i> , 1985
	<i>Onconrhnchus mykiss</i>	48	LC50	820	Finger <i>et al.</i> , 1985
	<i>Lepomis macrochirus</i>	48	LC50	910	Finger <i>et al.</i> , 1985
	<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>48</b>	<b>EC50</b>	<b>68</b>	<b>This study</b>
Phenanthrene	<i>Nereis arenaceodentata</i>	96	LC50	51	Emery & Dillon, 1996
	<i>Daphnia pulex</i>	96	LC50	100	Trucco <i>et al.</i> , 1983
	<i>Daphnia pulex</i>	96	LC50	100	Trucco <i>et al.</i> , 1983
	<i>Daphnia magna</i>	48	LC50	117	Call <i>et al.</i> , 1986
	<i>Daphnia magna</i>	48	EC50	212	Brooke, 1994
	<i>Daphnia magna</i>	48	EC50	230	Brooke, 1994
	<i>Daphnia magna</i>	24	EC50	302	Brooke, 1994
	<i>Daphnia pulex</i>	48	LC50	350	Smith <i>et al.</i> , 1988
	<i>Cyprinodon variegatus</i>	96	LC50	478	Moreau <i>et al.</i> , 1999
	<i>Cyprinodon variegatus</i>	96	LC50	478	Moreau <i>et al.</i> , 1999
	<i>Chironomus tentans</i>	48	LC50	490	Millemann <i>et al.</i> , 1984
	<i>Nereis arenaceodentata</i>	96	LC50	600	Rossi & Neff, 1978
	<i>Artemia salina</i>	48	LC50	677	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Artemia salina</i>	24	LC50	677	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Artemia salina</i>	24	LC50	677	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Daphnia magna</i>	48	LC50	700	Millemann <i>et al.</i> , 1984
	<i>Daphnia magna</i>	48	LC50	700	Millemann <i>et al.</i> , 1984
	<i>Daphnia magna</i>	48	LC50	843	Eastman <i>et al.</i> , 1984
	<i>Daphnia pulex</i>	48	LC50	1120	Geiger & Buikema, 1982
		<i>Mytilus galloprovincialis</i>	48	EC50	144
	<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>48</b>	<b>EC50</b>	<b>43</b>	<b>This study</b>
Pyrene	<i>Americamysis bahia</i>	48	LC50	0.89	Pelletier <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mulinia lateralis</i>	96	EC50	0.91	Pelletier <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mulinia lateralis</i>	96	LC50	1.68	Pelletier <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mulinia lateralis</i>	96	LC50	1.68	Pelletier <i>et al.</i> , 1997
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	24	LC50	2.63	Weinstein <i>et al.</i> , 2001
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	16	LC50	3.35	Weinstein <i>et al.</i> , 2001
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	8	LC50	7.61	Weinstein <i>et al.</i> , 2001
	<i>Americamysis bahia</i>	48	LC50	24.8	Pelletier <i>et al.</i> , 1997
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	8	LC50	28.2	Weinstein <i>et al.</i> , 2001
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	16	LC50	28.2	Weinstein <i>et al.</i> , 2001
	<i>Utterbackia imbecillis</i>	24	LC50	28.2	Weinstein <i>et al.</i> , 2001
	<i>Mulinia lateralis</i>	96	EC50	9454	Pelletier <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mulinia lateralis</i>	96	LC50	9454	Pelletier <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	48	EC50	129	Bellas <i>et al.</i> , 2008
		<b><i>Mytilus galloprovincialis</i></b>	<b>48</b>	<b>EC50</b>	<b>33</b>

**Table 6.** Comparison of EC50 values estimated by nominal and measurement concentrations from the 48 hours embryonic developmental toxicity tests of *Mytilus galloprovincialis* for different polycyclic aromatic hydrocarbons.

Compounds	EC <sub>50s</sub> (μg/L)	
	Measured conc.	Nominal conc.
2-methylnaphthalene	232	993
Fluorene	273	385
Dibenzothiophene	67.9	323
Phenanthrene	43.2	175
Pyrene	33.1	84.8

activity relationship, QSAR) 를 통하여 밝혀져 있다 (Di Toro *et al.*, 2000). PAHs의 용해도, 생물축적 및 생물에게 미치는 독성간의 관계를 설명하는 대표적인 모델로 Target Lipid Model (TLM) 이 있으며, TLM은 PAHs 물질이 생물체내 지방에 축적되며, 물질이 외부로부터 흡수되어 지방으로 축적되는 정도는 생물의 종류와 상관없이 그 물질의 분배계수에 의하여 결정된다는 모델이다. TLM은 PAHs 물질이 갖는 독성작용 (toxic mode of action) 이 동일할 경우 독성은 체내 농도에 비례해서 발현되며, 체내 농도는 물질의 K<sub>ow</sub> 값에 의존적이며, 지방에 축적된 물질의 농도가 특정한 한계값 (threshold) 이상이 되면 사망이 일어난다고 가정한다. 이러한 한계값은 일정하지 않고 종마다 달라진다. Pyrene에서의 둔감한 결과는, 아주 민감한 생물에 있어서도 그 생물에 악영향을 나타낼 만큼의 지질 농도에 이르지 못하는, 즉 체내 지질농도가 너무 낮기 때문에 악영향의 반응이 어려웠기 때문으로 유추 가능하다 (Veith *et al.*, 1983; Di Toro *et al.*, 2000).

PAHs가 지중해담치의 발생에 미치는 영향이 국내 보고는 거의 없으며 국외의 데이터베이스에서 제공하는 자료에서도 이매패류의 발생을 이용한 영향 연구는 많지 않다. 국외 (스페인) 연구로 본 연구와 동일한 종으로 동일한 물질에 대한 시험 결과가 보고된 바 있다 (Bellas *et al.*, 2008). 시험의 목적 또한 PAHs의 이매패 배 발생 급성독성의 보고로 동일하지만 본 연구와 다소 차이가 나는 독성파라미터를 제시하고 있다 (Table 5). 이는 동일한 시험종이라 할지라도 종주 (strain) 에 따라 민감도가 다를 수 있음을 시사한다. 지중해담치는 전 세계에 분포하는 종으로 원 서식지 (서유럽, 지중해) 와 서식환경이 크게 다른 지역에도 적응하여 서식하고 있다. 본 연구 (대륙성 기후) 와 Bellas *et al.* (2008) 연구 (지중해성 기후) 는 실험실에서 배양된 시험생물이 아닌 현장에 서식하는 개체를 채집하여 사용하였다. 현장에 적응한 개체의 특성이 연구 결과에 반영되었을 수 있다. 따라서 두 시험 간 민감도가 다른 이유는 지역적 특성 (기후) 이 반영된 종주 간 민감도의 차이로 설명할 수 있다. 즉, 데이터베이스를 기반으로 한 환경 기준 등의

설정에 있어서 국제적인 서식종 (cosmopolitan) 의 국외 민감도 자료 차용 보다 동일종의 국내 서식종 민감도 분석결과가 더 현실성 있는 결과를 도출할 것으로 여겨진다.

본 연구에 사용된 5 종의 개별 PAHs는 모두 지중해담치의 발생에 영향을 미치는 물질이었다. PAHs의 특성 중 하나로, 수용해도가 높지 않다. PAHs의 수생독성시험에는 일반적으로 물질의 수용해도를 높여 노출하기 위해서 유기용매를 캐리어로 사용한다. 본 연구에서도 캐리어로 DMSO (dimethyl sulfoxide) 를 사용하였다. Bellas *et al.* (2008) 의 연구결과 pyrene 의 반수영향농도를 129 μg/L 로 제시하였다. pyrene의 최대 수용해도는 130 μg/L 로 제시되어 있다 (Battelle, 2007). 연구자 마다 제시하는 물질에 대한 최대 수용해도는 조금씩 차이가 있으나 반수 영향농도를 추정하기 위하여 수용해도를 초과한 농도에서도 시험되었을 가능성이 있다. 그리고 Pelletier *et al.* (1997) 연구에서는 반수영향농도와 반수치사농도 모두 최대 수용해도의 70배 이상 초과한 결과를 제시하고 있다. 따라서 유기용매를 이용한 독성시험에서 생물영향의 과대평가 여지에 대한 충분한 고려가 있어야 할 것으로 여겨진다. Pelletier *et al.* (1997) 연구결과 산출에 있어서 물질의 화학분석을 수행하였다고 밝히고 있다. 하지만 용존 물질의 농도라고 판단하기에는 무리가 있다. 유기용매를 이용하여 과주입된 물질이 결정을 형성하고 농도분석에도 영향을 주었을 것으로 여겨진다. 이러한 평가에서의 오류를 줄이기 위한 대안으로 PDMS (poly dimethylsiloxane) 를 이용한 시험법이 제안된바 있다 (Kwon *et al.*, 2009). PAHs와 같은 소수성 물질의 시험에 적합하며 물질의 수용해도와 생물이용도를 고려한 시험법으로, 폴리머를 이용한 단순 확산으로, 용존 물질의 영향만을 평가할 수 있어 수생독성시험에 적극적인 적용의 여지가 있다.

본 연구에서는 시험 시료의 조제 시 예상되는 명목농도와 시험수를 직접 분석한 농도 간 차이를 비교하였다 (Table 6). 반수영향농도로 비교하였을 경우 최대 4.7 배의 값 차이를 보였다. 이처럼 시험시료의 농도가 일정하게 유지되지 않는 물질의



시험에 있어서 화학분석 농도의 분석은 필수적이다. Bellas *et al.* (2008) 연구에서도 시험시료의 분석을 시작과 종료 시 두 차례 분석한 결과를 제시하고 있다. 결과 물질별로 차이는 있으나 종료 시 측정값은 시험시작 시 측정값의 평균 1/3 수준으로 농도가 감소한 것으로 보고하고 있다. 시험 시료의 화학분석에 있어서도 과주입으로 생성된 결정이 화학분석에 영향을 주지 않도록 주의가 필요할 것으로 여겨진다.

## 사 사

본 연구는 해양수산부 “유류오염 환경영향평가 및 환경복원 연구” 과제의 일환으로 수행되었음.

## REFERENCES

- Abernethy, S., Bobra, A., Shiu, W., Wells, P., Mackay, D. (1986) Acute lethal toxicity of hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons to two planktonic crustaceans: The key role of organism-water-partitioning. *Aquatic Toxicology*, 8: 163-174.
- Anderson, J.W., Neff, J.M., Cox, B.A., Tatem, H.E., Hightower, G.M. (1974) Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish. *Marine Biology*, 27: 75-88.
- ASTM (American Society for Testing and Materials) (1994) Standard guide for conducting acute toxicity tests starting with embryos of four species of saltwater bivalve molluscs. ASTM E724-94. American Society for Testing and Materials, Philadelphia.
- Barata, C., Navarro, J., Varo, I., Riva, M. Arun, S., Porte, C. (2005) Changes in antioxidant enzyme activities, fatty acid composition and lipid peroxidation in *Daphnia magna* during the aging process. *Comparative Biochemistry and Physiology*, B140: 81-90.
- Battelle (2007) Sediment Toxicity of Petroleum Hydrocarbon Fractions. Massachusetts Department of Environmental Protection, Office of Research and Standards.
- Beiras, R., Bellas, J., Fernandez, N., Lorenzo, J.I., Cobelo-Garcia, A. (2003a) Assessment of coastal marine pollution in Galicia (NW Iberian Peninsula): metal concentration in seawater, sediment and mussels (*Mytilus galloprovincialis*) versus embryo-larval bioassays using *Paracentrotus lividus* and *Ciona intestinalis*. *Marine Environmental Research*, 56: 531-553.
- Beiras, R., Fernandez, N., Bellas, J., Besada, V., Gonzalez-Quijano, A., Nunes, T. (2003b) Integrative assessment of marine pollution in Galician estuaries using sediment chemistry, mussel bioaccumulation, and embryo-larval toxicity bioassays. *Chemosphere*, 52: 1209-1224.
- Beiras, R. and Albentosa, M. (2004) Inhibition of embryo development of the commercial bivalves *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* by trace metals; Implication for the implementation of seawater quality criteria. *Aquaculture*, 230: 205-213.
- Beiras, R. and Bellas, J. (2008) Inhibition of embryo development of the *Mytilus galloprovincialis* marine mussel by organic pollutants; assessment of risk for its extensive culture in the Galician Rias. *Aquaculture*, 277(3-4): 208-212.
- Bellas J., Saco-Alvarez, L., Nieto, O., Beiras, R. (2008) Ecotoxicological evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons using marine invertebrate embryo/larval bioassays. *Marine Pollution Bulletin*, 57: 493-502.
- Boehm, P.D., Neff, J.M., Page, D.S. (2007) Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in the waters of Prince William Sound after the Exxon Valdez oil spill: 1989-2005. *Marine Pollution Bulletin*, (54): 339-367.
- Boese, B., Lamberson, J., Swartz, R., Ozretich, R. (1997). Photoinduced toxicity of fluoranthene to seven marine benthic crustaceans. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 32: 389-393.
- Brooke, L.T. (1994) Acute Phenanthrene Toxicity to *Daphnia magna* U.S.EPA Contract No.68-C1-0034, Work Assignment No.2-14, to R.L.Spehar, U.S.EPA, Duluth, MN: 11 p.
- Cachada, A., Pereira, R., Ferreira da Silva, E., Duarte, A.C. (2014) The prediction of PAHs bioavailability in soils using chemical methods: State of the art and future challenges. *Science of The Total Environment*, 472: 463-480.
- Castro-Jimenez, J., Berrojalbiz, N., Wollgast, J., Dachs J. (2012) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Mediterranean Sea: Atmospheric occurrence, deposition and decoupling with settling fluxes in the water column. *Environmental Pollution*, 166: 40-47.
- Call, D.J., Brooke, L.T., Harting, S.L., Poirier, S.H., McCauley, D.J. (1986) Toxicity of Phenanthrene to Several Freshwater Species. Rep. to Battelle Memorial Res. Inst., Columbus, OH, in Partial Fulfillment of Work Assignment No.45, Task Order No.4 of Subcontract No.F4114(8834)-411: 15 p.
- Di Toro, D.M., McGrath, J.A., Hansen, D.J. (2000) Technical basis for narcotic chemicals and polycyclic aromatic hydrocarbon criteria I. Water and tissue. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 1951-1970.
- Donkin, P., Widdows, J., Evans, S.V., Worrall, C.M., Carr, M. (1989) Quantitative Structure-Activity Relationships for the Effect of Hydrophobic Organic Chemicals on Rate of Feeding by Mussels (*Mytilus edulis*). *Aquatic Toxicology*, 14(3): 277-294.
- Eastman D, Booth, G., Lee, M. (1984) Toxicity, accumulation, and elimination of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 13: 105-111.

- Emery, V.L., Dillon, T.M. Jr. (1996) Chronic toxicity of phenanthrene to the marine polychaete worm, *Nereis (Neanthes arenaceodentata)*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56: 265-270.
- Faria, M., Lopez, M.A., Fernandez-Sanjuan, M., Lacorte, S., Barata, C. (2010) Comparative toxicity of single and combined mixtures of selected pollutants among larval stages of the native freshwater mussels (*Unio elongatulus*) and the invasive zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Science of The Total Environment*, 408(12): 2452-2458.
- Finger, S.E., Little, E.F., Henry, M.G., Fairchild, J.F., Boyle, T.P. (1985) Comparison of laboratory and field assessment of fluorene - Part I: Effects of fluorene on the survival, growth, reproduction, and behavior of aquatic organisms in laboratory tests. Pages 120-133 In: T.P. Boyle, Ed., *Validation and Predictability of Laboratory Methods for Assessing the Fate and Effects of Contaminants in Aquatic Ecosystems*. ASTM STP 865. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
- Geffard, O., His, E., Budzinski, H., Seaman, M., Garrigues, P. (2001) Qualite biologique de l'eau de mer evaluate in situ par le test embryo-larvaire de *Crassostrea gigas* et *Mytilus galloprovincialis*: *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Serie III. Sciences de la Vie*, 324: 1149-1155.
- Geiger, J.G. and Buikema, A.L. Jr. (1982) Hydrocarbons depress growth and reproduction of *Daphnia pulex* (Cladocera). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39: 830-836.
- Goldberg, E.D. and Bertine, K.K. (2000) Beyond the mussel watch - new directions for monitoring marine pollution. *The Science of the Total Environment*, 247(2-3): 165-174.
- Guitart, C., Frickers, P., Horrillo-Caraballo, J., Law, R.J., Readman, J.W. (2008) Characterization of sea surface chemical contamination after shipping accidents. *Environmental Science and Technology*, 42(7): 2275-2282.
- His, E., Seaman, M.N.L., Beiras, R. (1996) A simplification the bivalve embryogenesis and larval development bioassay method for water quality assessment. *Water Research*, 31(2): 351-355.
- Hur, Y.B. and Hur, S.B. (2000) Development and growth of larvae of four bivalve species. *Journal of Aquaculture*, 13(2): 119-128. [in Korean]
- International Tanker Owners Pollution Federation Ltd. (ITOPF) (2008) The environmental impact of the Hebei Spirit oil spill, Taean, South Korea. Available from : <[http://www.itopf.com/news-and-events/documents/HEBEISPIRIT\\_EnvironmentalImpact.pdf](http://www.itopf.com/news-and-events/documents/HEBEISPIRIT_EnvironmentalImpact.pdf)>.
- Jha, A.N., Cheung, V.V., Foulkes, M.E., Hill, S.J., Depledge, M.H. (2000) Detection of genotoxins in the marine environment: adoption and evaluation of an integrated approach using the embryo?larval stages of the marine mussel, *Mytilus edulis*. *Mutation Research*, 464(2): 213-228.
- Jung, K.H., Kim, J.K., Noh, J.H., Eun, J.W., Bae, H.J., Kim, M.G., Chang, T.G., Shen, Q., Kim, S.J., Kwon, S.H., Park, W.S., Lee, J.Y., Nam, S.W. (2013) Characteristic molecular signature for the early detection and prediction of polycyclic aromatic hydrocarbons in rat liver. *Toxicology Letters*, 216(1): 1-8.
- Kanaki, M., Nikolaou, A., Makri, C.A., Lekkas, D.F. (2007) The occurrence of priority PAHs, nonylphenol and octylphenol in inland and coastal waters of Central Greece and the Island of Lesbos. *Desalination*, 210(1-3): 16-23.
- Kennedy, C.J. (1990) Toxicokinetic study of chlorinated phenols and polycyclic aromatic hydrocarbons in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Simon Fraser University.
- Kennish, M.J. (1992) *Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kurt, P.B. and Ozkoc, B. (2004) A survey to determine levels of chlorinated pesticides and PCBs in mussels and seawater from the Mid-Black Sea Coast of Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, 48(11-12): 1076-1083.
- Kwon, J.H., Wuethrich, T., Mayer, P., Escher, B.I. (2009) Development of a dynamic delivery method for in vitro bioassays. *Chemosphere*. 76: 83?90.
- Latimer, J.S., Zheng, J. (2003) The sources, transport, and fate of PAHs in the marine environment. In: Douben, P.E. (Ed.), *PAHs: An Ecotoxicological Perspective*. John Wiley, London, pp. 9?33.
- Lim, L., Wurl, O., Karuppiah, S., Obbard, J.P. (2007) Atmospheric wet deposition of PAHs to the sea-surface microlayer. *Marine Pollution Bulletin*, 54(8): 1212-1219.
- Meador, J.P. (2003) Bioaccumulation of PAHs in marine invertebrates. In: Douben, P.E. (Ed.), *PAHs: An Ecotoxicological Perspective*. John Wiley, London, pp. 147?171.
- Millemann, R.E., Birge, W.J., Black, J.A., Cushman, R.M., Daniels, K.L., Franco, P.J., Giddings, J.M., McCarthy, J.F., Stewart, A.J. (1984) Comparative acute toxicity to aquatic organisms of components of coal-derived synthetic fuels. *Transactions of the American Fisheries Society*, 113: 74-85.
- Moreau, C.J., Klerks, P.L., Haas, C.N. (1999) Interaction between phenanthrene and zinc in their toxicity to the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37: 251-257.
- Nadella, S.R., Tellis, M., Diamond, R., Smith, S., Bianchini, A., Wood, C.M. (2013) Toxicity of lead and zinc to developing mussel and sea urchin embryos: Critical tissue residues and effects of dissolved organic matter and salinity Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, 158(2): 72-83.
- Nicholson, S. and Szefer, P. (2003) Accumulation of

- metal in the soft tissues, byssus and shall of the mytilid mussel *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) from polluted and uncontaminated locations in Hong Kong coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1035-1048.
- Pelletier, M.C., Burgess, R.M., Ho, K.T., Kuhn, A., McKinney, R.A., Ryba, S.A. (1997) Phototoxicity of Individual Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Petroleum to Marine Invertebrate Larvae and Juveniles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(10): 2190-2199.
- Qiu, Y.W., Zhang, G., Liu, G.Q., Guo, L.L., Li, X.D., Wai, O. (2009) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the water column and sediment core of Deep Bay, South China. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 83(1): 60-66.
- Rossi, S.S., Neff, J.M. (1978) Toxicity of polynuclear aromatic hydrocarbons to the polychaete *Neanthes arenaceodentata*. *Marine Pollution Bulletin*. 9(8): 220-223.
- Smith, S.B., Savino, J.F., Biouin, M.A. (1988) Acute toxicity to *Daphnia pulex* of six classes of chemical compounds potentially hazardous to Great Lakes biota. *Journal of Great Lakes Research*, 14: 394-404.
- Smolders, R., Bervoets, L., Blust, R. (2004) In situ and laboratory bioassays to evaluate the impact of effluent discharges on receiving aquatic ecosystems. *Environmental Pollution*, 132(2): 231-243.
- Song, M.K., Song, M., Choi, H.S., Kim, Y.J., Park, Y.K., Ryu, J.C. (2012) Identification of molecular signatures predicting the carcinogenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Toxicology Letters*, 212(1):18-28.
- Sung, C.G., Kim, G.B., Seo, J.Y., Lee, C.H., Ryu, T.K., Han, G.M., Choi, J.W., Kim, Y.H. (2005) Optimal conditions of the embryonic development of mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Korean Journal of Malacology*, 21(1): 25-31. [in Korean]
- Sung, C.G., Kim, G.B., Lee, C.H. (2006) Effect of heavy metals on embryonic development in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Korean Journal of Malacology*, 22(2): 167-173.
- Trucco, R.G., Engelhardt, F.R., Stacey, B. (1983) Toxicity, accumulation and clearance of aromatic hydrocarbons in *Daphnia pulex*. *Environmental Pollution (Series A)*. 31: 191-202.
- UNEP (2003) 잔류성유기오염물질의 국제적 규제를 위한 스톡홀름 협약, UNEP PRESS.
- USEPA (1995) Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to West Coast Marine and Estuarine Organisms. EPA/600/R-95-136.
- Veith, G.D., Call, D.J., Brooke, L. (1983) Structure-toxicity relationships for the fathead minnow, *Pimephales promelas*: narcotic industrial chemicals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40: 743-748.
- Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M., Peakall, D.B. (2001) *Principles of Ecotoxicology*, second ed. Taylor & Francis, London.
- Wang, Z., Hollebone, B.P., Fingas, M., Fieldhouse, B., Sigouin, L., Landriault, M., Smith, P., Noonan, J., Thouin, G. (2003) Characteristics of spilled oils, fuels, and petroleum products: Composition and properties of selected oils. EPA/600/R-03/072. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Wedderburn, J., McFadzen, I., Sanger, R.C., Beesley, A., Heath, C., Hornsby, M., Lowe, D. (2000) The field application of cellular and physiological biomarkers, in the mussel *Mytilus edulis*, in conjunction with early life stage bioassays and adult histopathology. *Marine Pollution Bulletin*, 40(3): 257-267.
- Weinstein, J.E., Polk, K.D. (2001) Phototoxicity of Anthracene and Pyrene to Glochidia of the Freshwater Mussel *Utterbackia imbecillis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(9): 2021-2028.