

## 수계 내 경도가 Cd와 Zn 독성에 미치는 영향

윤성호 · 하홍주 · 이성종 · 조은혜\*

한국외국어대학교

### Effect of Water Hardness on Toxicity of Cadmium and Zinc

Sung Ho Yoon · Hong Joo Ha · Sung Jong Lee · Eun Hea Jho<sup>†</sup>

Hankuk University of Foreign Studies

(Received 11 April 2017, Revised 9 July 2017, Accepted 7 August 2017)

#### Abstract

Heavy metals in water systems are being managed on the concentration-based guidelines in Korea. However, various chemicals present in water can interact with heavy metals affecting their toxicity. Such interactions are not considered in the concentration-based guidelines. This study investigated the effect of hardness and coexisting heavy metals on heavy metal toxicity to emphasize the importance of having the effect-based guidelines together with the concentration-based guidelines in water management. The toxic effects of Cd, Zn, or mixtures of Cd and Zn were studied with *Daphnia magna* as a test species following the standard test method at different hardness conditions (100, 200, and 300 mg L<sup>-1</sup> as CaCO<sub>3</sub>). The toxicities of single metal solutions and mixtures showed a decreasing trend with increasing hardness, and this can be attributed to the competition between heavy metals and cations such as calcium ions (Ca<sup>2+</sup>) that cause hardness. The predicted toxicities of the heavy metal mixtures from the single metal toxicity deviated from the measured toxicities, and the predicted toxic effects tend to be greater than the measured toxic effects suggesting that Cd and Zn are in competition. This shows the limitations of using predicted toxic effects and the needs for further studies on mixture toxicities. Overall, this study shows that the management of heavy metals in waters needs to employ the effect-based guidelines together with the concentration-based guidelines.

**Key words** : Cadmium, *Daphnia magna*, Hardness, Toxicity, Zinc

#### 1. Introduction

국내에서 수계 내 중금속은 농도를 기반으로 관리되고 있다. 경도에 따라 생물학적으로 이용 가능한 중금속의 농도가 다를 수 있고, 이는 수생 생물에 미치는 독성에도 영향을 준다(Yim et al., 2006). 하지만 수계 내 중금속은 이러한 독성 영향을 기반으로 관리되고 있지 않다. 다시 말해, 경도와 같이 중금속과 상호작용을 할 수 있는 여러 화학물질들을 고려하지 않고 중금속 농도를 기준으로 관리하고 있다. 수계 내에서 Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>과 같이 경도를 유발시키는 물질은 세포 흡착 사이트에 대해 중금속과 경쟁관계를 가질 수 있어 중금속 독성에 영향을 줄 수 있다(Baker et al., 2017; Saglam et al., 2013). 카드뮴(Cd), 구리(Cu), 니켈(Ni), 납(Pb), 아연(Zn)의 경우, 경도의 증가에 따라 무지개송어(Rainbow trout)에 대한 급성 독성이 낮아졌고, 이는

Ca<sup>2+</sup>의 영향이라고 볼 수 있다고 보고했다(Carroll et al., 1979). 또한, 칼슘의 농도가 0.04 mg L<sup>-1</sup>에서 1.49 mg L<sup>-1</sup>로 증가했을 때 물벼룩(*Daphnia pulex*)에 대한 Zn의 EC<sub>50</sub> 값은 1.6 mg L<sup>-1</sup>에서 28.8 mg L<sup>-1</sup>로 증가하여 독성이 감소하였다(Clifford and Geer, 2009). 수생식물 중 하나인 *Ceratophyllum demersum* 경우 경도가 35 mg L<sup>-1</sup> as CaCO<sub>3</sub>에서 335 mg L<sup>-1</sup> as CaCO<sub>3</sub>로 약 10배 정도 증가했을 때 Cu의 EC<sub>50</sub>값이 약 18% 증가하여 독성이 감소하였음을 나타내었다(Markich et al., 2006). 이와 비슷하게 *Oreochromis niloticus*라는 물고기 종도 경도가 낮을 때보다 높을 때 Cd에 대한 독성 영향이 낮았고, 이는 Cd과 Ca<sup>2+</sup> 간의 경쟁에 의한 것으로 보고한 바 있다(Saglam et al., 2013). 이 외에도 생물 검정에 사용하는 *Rainbow trout*, *Amphiphods*, *Chironomids*, *Daphnids*, *Fathead minnow*와 같은 다양한 생물들도 경도가 증가할수록 독성 값이 감소하는 경향을 보였다(Varanasi and Gmur, 1978; Baker et al., 2017). 이와 같이 경도 유발 물질 중 하나인 Ca<sup>2+</sup>은 중금속과 생물학적 사이트에 대해 경쟁하고 이로 인해 독성 영향이 저감하는 효과가 있었다.

중금속은 또한 수계 내 다른 화학물질 외에도 다른 중금속들과 상호작용을 하지만, 농도 기반 관리 기준은 이를 고

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed.  
ehjho@hufs.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

려하지 못하는 실정이다. 중금속이 생물에 미치는 독성 영향은 중금속들 간의 상호 작용에 따라 상가작용(additivity), 길항작용(antagonism), 상승작용(synergism)으로 나눌 수 있다(Ra et al., 2005; Van Ginneken et al., 2015; Yim et al., 2006). Cd와 Zn의 혼합물에서 Cd의 농도를 고정시켰을 때 Zn 농도의 변화가 독성 영향에 미치는 영향은 거의 없었으나, 반대인 경우 Cd 농도의 증가에 따라 독성 영향이 증가하였다. 이는 독성 영향이 Zn의 변화보다 Cd의 변화에 더 민감하게 반응한다고 볼 수 있다(Komjarova and Blust, 2008). 또한, Zn에 의한 독성보다 Cd에 의한 독성이 물의 경도에 더 민감하게 영향을 받았다(Martins et al., 2004). 물벼룩에 대한 단일 Cd의 독성에 비해 Cd와 Zn의 혼합물의 독성이 더 낮았고, 이는 길항작용에 의한 것으로 볼 수 있다(Meyer et al., 2015). 이는 중금속이 혼합물로 존재하는 환경에서는 중금속의 상호 작용을 고려하여 관리해야 하는 필요성을 보여준다.

물의 경도는 단물( $0 \sim 75 \text{ mg L}^{-1}$ ), 약간 센물( $75 \sim 150 \text{ mg L}^{-1}$ ), 센물( $150 \sim 300 \text{ mg L}^{-1}$ ), 대단히 센물( $300 \text{ mg L}^{-1}$  이상)로 나눌 수 있다(Clesceri et al., 1998). 기존 연구 중 경도가 중금속 독성에 미치는 영향을 본 연구는 주로 단물(soft water)  $0 \sim 75 \text{ mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ 나 약간 센물( $75 \sim 150 \text{ mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ )를 사용하였다(Van Ginneken et al., 2015; Yim et al., 2006). 따라서 본 연구에서는 약간 센물 ( $100 \text{ mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ ), 센물(hard water,  $200 \text{ mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ ), 대단히 센물(very hard,  $\geq 300 \text{ mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ )을 이용하여 경도가 중금속 독성에 미치는 영향을 알아보았다. 또한 수계 내에는 다양한 중금속이 혼합하여 존재하고 있다. 이러한 수계 내 중금속은 토양 내 중금속 함량에 의해 영향을 받을 수 있기 때문에 토양오염물질로 흔히 검출되어 수계로의 유출 가능성이 높은 Cd와 Zn을 독성 평가 대상 물질로 선정하였다. 따라서 본 연구에서는 국내·외에서 표준독성시험 종으로 사용되고 있는 물벼룩(*Daphnia magna*)을 이용하여 수계 내 경도 변화가 중금속(Cd, Zn)의 독성에 미치는 영향을 알아보았다. 이 때, 중금속 간의 상호 작용의 영향을 알아보기 위해 Cd와 Zn가 단일로 존재할 때와 혼합물로 존재할 때 경도가 중금속 독성에 미치는 영향을 알아보았다.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 중금속 용액 준비

중금속 독성 평가를 위해  $\text{CdSO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  (99%, Junsei Chemical Co., Japan)와  $\text{ZnSO}_4$  (101.69%, Mallinckrodt, Ireland)를 사용하여 Cd( $12 \pm 0.87 \text{ mg L}^{-1}$ )용액과 Zn 용액( $130 \pm 0.10 \text{ mg L}^{-1}$ )을 준비하였다. 본 연구에 사용한 Cd용액과 Zn 용액의 농도는 사전 실험을 통해 산출한 각각의  $\text{EC}_{50}$ 값을 기반으로 다양한 희석 배율로 물벼룩 독성 평가를 수행할 때  $\text{EC}_{50}$ 값이 노출 농도 범위 내에 포함될 수 있도록 설정하였다. 경도의 영향을 알아보기 위해 중금속 용액의 경도를 100, 200, 300  $\text{mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ 로 조절하였

다. 경도 조절에는  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KCl}$ 를 사용하였다. 혼합 중금속의 독성 평가를 위해 Cd 용액과 Zn 용액을 혼합하여 Cd:Zn의 부피 혼합비가 1:1, 1:2, 2:1(v/v)인 중금속 혼합액을 준비한 후, 경도를 조절하였다. 이 때 중금속 용액의 초기 pH는 평균  $7.97 \pm 0.05$ 으로, 실험 중 pH는 유지되었다.

### 2.2 중금속 독성 실험

중금속 용액의 독성 평가를 위해 수질오염공정시험기준 [ES 04704.1a](MOE, 2017)에 준하여 *D. magna*를 배양하여 사용하였다. 물벼룩의 배양을 위해 수온은  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였고, 빛 주기는 낮 16시간과 밤 8시간을 사용하였다. 독성 평가를 위한 시료는 각 중금속 용액과 혼합 용액을 1, 2, 4, 8, 16, 32배로 serial dilution하여 준비하였다. 이는 실험 대상 중금속 용액을 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125% 포함한 용액이다. 각 시료에 대한 독성 평가는 네 번 반복 수행하였고, 각 반복 실험당 다섯 마리의 물벼룩 개체를 사용하여 총 20마리의 물벼룩을 사용하였다. 중금속 노출 기간(24시간, 48시간) 동안 먹이는 공급하지 않았다. 각 중금속의 독성 값으로는 24시간 또는 48시간 노출 후 얻은 반수유효농도(50% effective concentration,  $\text{EC}_{50}$ )를 사용하였다. 반복 실험을 통해 얻은 독성 값과 Dose-Response 곡선으로부터 선형 보간법(Linear Interpolation)을 이용하여 물벼룩의  $\text{EC}_{50}$  값을 산출하였고, 이 때 ToxCalc 5.0 프로그램(Tidepoll Software, USA)을 사용하였다. 산출한  $\text{EC}_{50}$  값은 toxic unit(TU;  $100/\text{EC}_{50}$ )값으로 환산하였다.

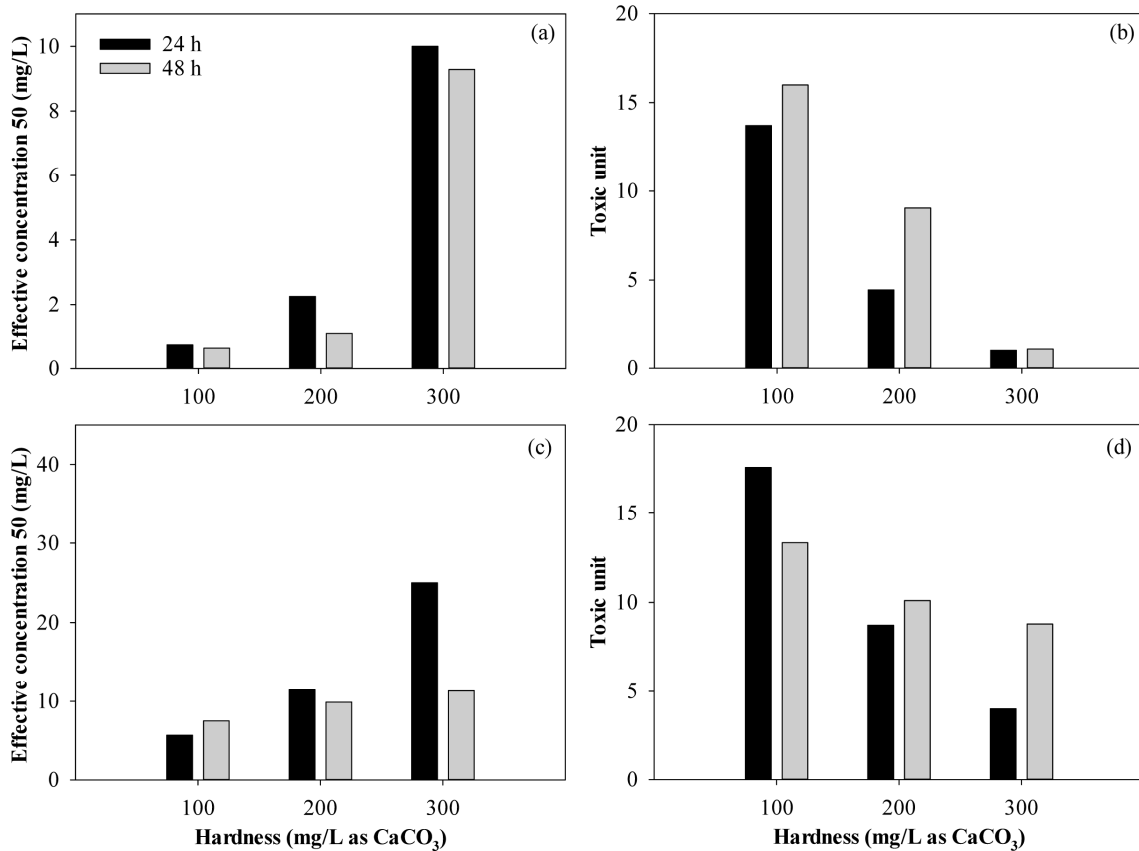
### 2.3 분석 방법 및 물벼룩 생태독성 정도 관리

독성 평가에 사용한 중금속 용액 내 Cd와 Zn 농도는 ICP-OES를 이용하여 두 번 반복 분석하였고, Cd와 Zn의 검출 한계는 각각  $0.0004 \text{ mg L}^{-1}$ 와  $0.0125 \text{ mg L}^{-1}$ 였다. 또한 본 연구에서 수행한 물벼룩 독성 평가의 시험 생물인 물벼룩의 민감도와 시험 절차의 전반적인 신뢰성을 점검하기 위해 매 시험마다 알려진 농도의 표준독성물질인 증크롬산칼륨을 투입하여 동일한 반응 민감도가 나오는지 확인하여 시험군에 문제가 없는지를 진단하고 분석의 신뢰성을 유지하였다.

## 3. Results and Discussion

### 3.1 경도가 단일 중금속 독성에 미치는 영향

Fig. 1은 24시간과 48시간 노출 후 경도가 Cd와 Zn의 독성 값에 미치는 영향을 보여준다. Cd의 경우 24시간 노출 후  $\text{EC}_{50}$  값은 경도가  $100 \text{ mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ (약간 센물)에서  $300 \text{ mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ (매우 센물)로 증가하면서 0.73에서  $10 \text{ mg L}^{-1}$ 로 크게 증가하였고, 이는 독성 영향이 감소하였음을 의미한다(Fig. 1(a)). 48시간 후 Cd의 독성 영향은 24시간 후 독성 영향보다 증가하는 경향을 보였다(Fig. 1(a)). TU값도 24시간 후보다 48시간 후 증가하여, 독성이 증가하였음을 보여주었다(Fig. 1(b)). Zn의 경우, 24시간 노



**Fig. 1.** Toxic effects of cadmium (Cd) (10 mg L<sup>-1</sup>) expressed (a) in 50% effective concentration (EC<sub>50</sub>) and (b) in toxic unit (TU) and toxic effects of zinc (Zn) (100 mg L<sup>-1</sup>) expressed (c) in EC<sub>50</sub> and (d) in TU on *Daphnia magna* after 24 h and 48 h exposures. One toxicity value was calculated for each condition from the data obtained from the toxicity bioassay (four replicates) using ToxCalc 5.0.

**Table 1.** Relationship between the water hardness (mg L<sup>-1</sup> as CaCO<sub>3</sub>) and the toxicity (EC<sub>50</sub> in mg L<sup>-1</sup>) to *Daphnia magna*

Heavy metals	Exposure (h)	Linear relationship	Correlation coefficient, R <sup>2</sup>
Cd	24	EC <sub>50</sub> = -0.064 (hardness) + 19	0.934
	48	EC <sub>50</sub> = -0.075 (hardness) + 24	0.999
Zn	24	EC <sub>50</sub> = -0.068 (hardness) + 24	0.970
	48	EC <sub>50</sub> = -0.023 (hardness) + 15	0.943

출 후 EC<sub>50</sub> 값은 경도가 100에서 300 mg L<sup>-1</sup> as CaCO<sub>3</sub>로 증가하면서 5.7에서 25 mg L<sup>-1</sup>로 증가하여 독성 영향이 감소함을 알 수 있었다(Fig. 1(c)). Cd와 마찬가지로 Zn의 48 시간 노출 후 EC<sub>50</sub> 값은 경도가 100 mg L<sup>-1</sup> as CaCO<sub>3</sub>일 때를 제외하고 24시간 노출 후 EC<sub>50</sub> 값에 비해 낮았고, 이는 시간이 지나면서 Zn의 독성 영향이 증가하였음을 나타낸다(Fig. 1(c)). Zn의 TU값도 같은 경향을 보였다(Fig. 1(d)). 이렇게 경도가 증가함에 따라 독성이 저감하는 것은 경도를 조절하기 위해 증금속 용액에 넣은 Ca<sup>2+</sup>와 Mg<sup>2+</sup> 같은 경도 유발 양이온이 Cd와 Zn같은 증금속과 경쟁하여 나타난 현상이라고 볼 수 있다(Pascoe et al., 1986; Di Toro et al., 2001).

경도가 100에서 300 mg L<sup>-1</sup> as CaCO<sub>3</sub>로 증가했을 때 24 시간 노출 후 TU값의 변화는 Cd가 93%, Zn가 77% 정도로 Cd가 더 민감하게 변했다. 또한, Zn의 경우 24시간 노

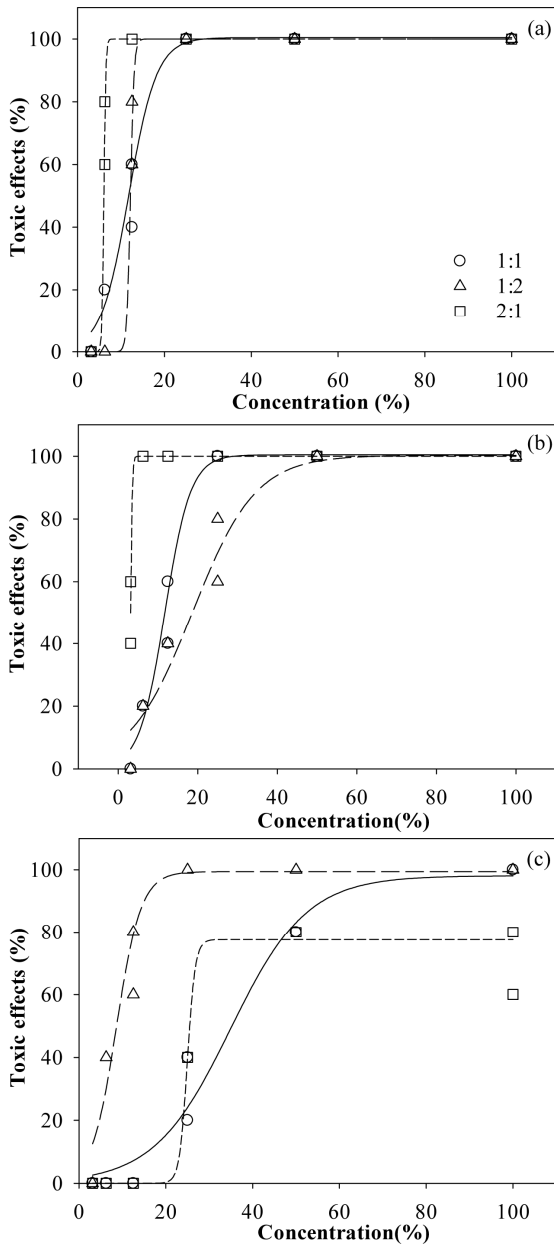
출 후 TU값 변화(77%)가 48시간 노출 후 변화(34%)보다 컸다(Fig. 1(d)). 독성 실험에 사용한 Cd용액의 농도가 Zn 용액의 농도에 비해 10배 낮음에도 불구하고, TU값이 비슷하거나 조금 낮은 편인 것은 물벼룩이 Cd 독성에 더 민감함을 의미한다고 볼 수 있다. 마찬가지로 물벼룩에 대한 Cd와 Zn의 만성 독성에 대한 연구에서도 Zn에 비해 Cd의 독성이 더 높다고 보고한 바 있다(Perez and Hoang, 2017). Cd와 Zn의 TU값은 모두 경도와 강한 선형 관계(R<sup>2</sup> = 0.934 - 0.999)를 보였다(Table 1). 이와 비슷하게 기존 연구에서도 물의 경도와 어류에 대한 Cd와 Zn의 EC<sub>50</sub>값이 강한 선형 관계를 보인바 있다(Mebane et al., 2012). Cd의 경우 노출 시간의 증가는 경도에 대한 Cd의 독성 영향의 민감한 정도, 즉, 경도 변화에 따른 TU값 변화의 기울기에 큰 영향을 미치지 않았으나, Zn의 경우 48시간 후 기울기가 24시간 후 기울기의 약 33%로 감소하여, 시간에 따라

경도가 물벼룩에 대한 Zn의 독성 영향 저감에 미치는 영향이 감소하였음을 알 수 있다(Table 1). 이는 물벼룩 내 축적된 Zn와 경도를 유발하는  $Ca^{2+}$ 와  $Mg^{2+}$  같은 양이온의 양의 변화에 의한 것으로 볼 수 있다. 기존 연구에서 물벼룩이 장기간 Zn에 노출되었을 때 물벼룩 내 Zn 함량은 증가하고, Ca 함량은 감소함을 보여주어  $Ca^{2+}$ 와 Zn가 경쟁 관계에 있음을 보고하였고, 또한, 물벼룩이 Zn에 노출되면서 물벼룩 내  $Ca^{2+}$ 의 밸런스가 영향을 받아 독성 영향이 발현된다는 가설을 보고한 바 있다(Muysen et al., 2006). 따라서 경도가 물벼룩에 대한 중금속의 독성 영향에 미치

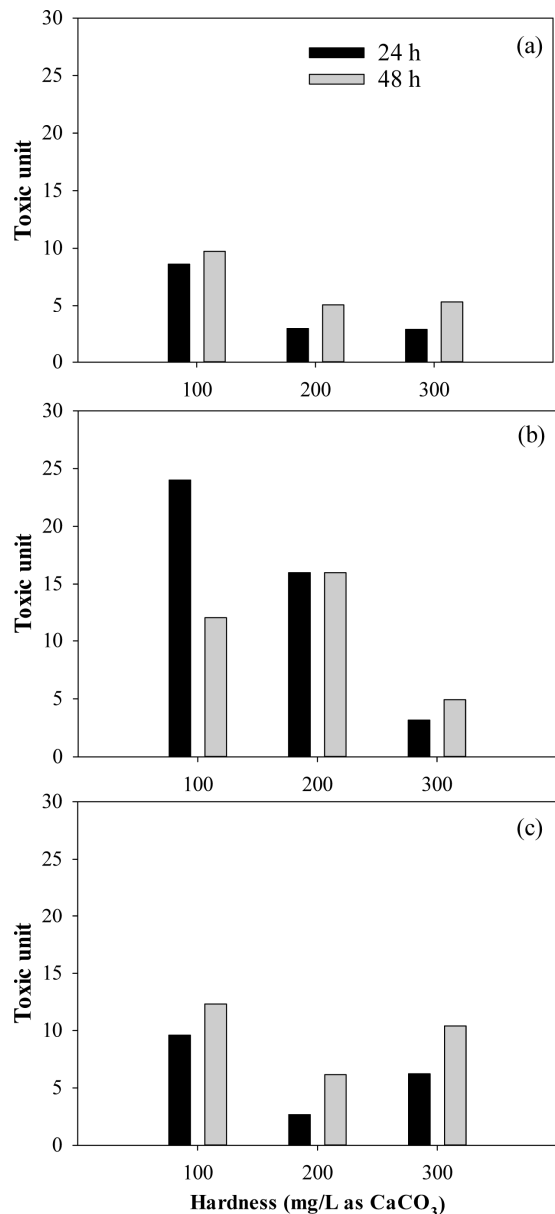
는 영향에 대한 연구는 단기적 영향뿐 아니라 장기적 영향에 대한 연구도 필요할 것으로 보인다.

### 3.2 중금속의 혼합비와 경도가 혼합 중금속 독성에 미치는 영향

Fig. 2는 Zn와 Cd 혼합액이 물벼룩에 미치는 영향을 나타내는 용량반응곡선을 보여준다. 전반적으로 경도가 증가함에 따라 용량반응곡선의 기울기가 완만해지는 것을 볼 수 있다(Fig. 2). Fig. 3은 경도가 Zn와 Cd 혼합액의 TU값에 미치는 영향을 보여준다. 경도가 중금속 혼합액의 TU값에 미치는 영향은 단일 중금속의 TU값에 미치는 영향보다



**Fig. 2.** Dose-response curves of the cadmium ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) and zinc ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) mixtures at hardness of (a) 100, (b) 200, and (c) 300  $\text{mg L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ . The toxicity to *Daphnia magna* after 24 h exposure to mixtures of Cd and Zn at mixing ratios (v/v) of 1:1, 1:2, and 2:1 is shown.



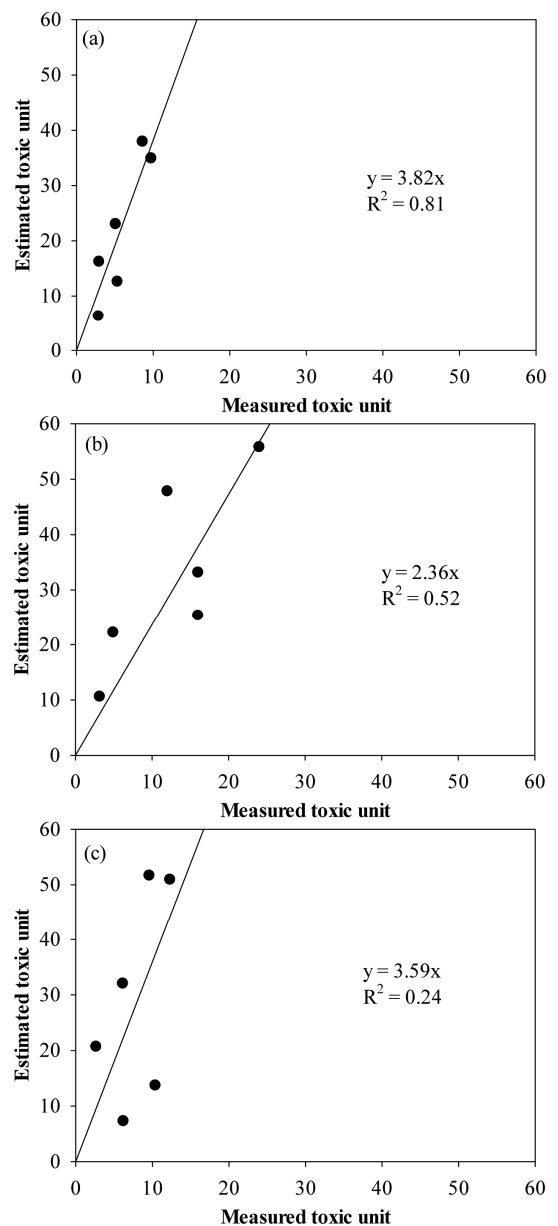
**Fig. 3.** Effect of hardness on toxicity to *Daphnia magna* after 24 h and 48 h exposures to mixtures of cadmium ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) and zinc ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) at mixing ratios (v/v) of (a) 1:1, (b) 1:2, and (c) 2:1.

**Table 2.** The measured and estimated toxic effects (in toxic unit) of cadmium and zinc mixtures on *Daphnia magna* at different hardness conditions

Toxic effect	Cd:Zn mixing ratio (v/v)	Cd concentration (mg L <sup>-1</sup> )	Zn concentration (mg L <sup>-1</sup> )	24 h exposure toxic unit			48 h exposure toxic unit		
				Hardness (mg L <sup>-1</sup> as CaCO <sub>3</sub> )					
				100	200	300	100	200	300
Measured	1:1	11±2.1	130±5.0	8.6	2.9	2.9	9.7	5.1	5.3
	1:2	9.9±0.25	240±13	24	16	3.2	12	16	4.9
	2:1	21±1.6	130±6.0	9.6	2.7	1.2	1.3	2.3	0.83
Estimated	1:1	11±2.1	130±5.0	38	16	6.3	35	23	13
	1:2	9.9±0.25	240±13	56	25	11	48	33	22
	2:1	21±1.6	130±6.0	52	21	7.3	51	32	14

명확해진 않았지만, 경도가 증가할수록 독성 값이 감소하는 추세를 보였다(Fig. 3). 또한, 노출 시간이 24시간에서 48시간으로 증가하면서 독성 값이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3). 혼합비가 1:1인 용액(Fig. 3a)과 2:1인 용액(Fig. 3c)의 독성 값보다 혼합비가 1:2인 용액(Fig. 3b)의 독성 값이 상대적으로 높은 경향을 보였다. 또한 경도가 100에서 300 mg L<sup>-1</sup> as CaCO<sub>3</sub>로 증가했을 때 독성 영향이 저감하는 정도는 혼합비가 1:1 또는 2:1일 때보다 1:2인 용액에서 컸다 - 혼합비가 1:1 또는 2:1일 때 24시간 노출 후 독성 값은 각각 67%와 35% 감소하였으나, 1:2일 때는 87% 감소하였다.

TU값이 1일 때의 증금속 농도가 EC<sub>50</sub>값인 것을 이용해 Cd와 Zn의 혼합액 내 증금속의 농도를 각 증금속의 EC<sub>50</sub> 값의 비율로 나타내고, 그 혼합물의 TU값은 각 증금속의 비율의 합으로 구하여, 증금속 혼합액의 예측 독성 값을 구하여 측정 독성 값과 비교하였다(Franklin et al., 2002; Mebane et al., 2012) (Table 2). 단일 증금속의 EC<sub>50</sub>값을 기반으로 예측한 혼합액의 독성 값은 실제 측정된 혼합액 독성 값보다 3.6±1.8배 높았다(Table 2). 이렇게 예측 값보다 낮은 측정 독성 값은 길항 작용에 의한 것으로 볼 수 있다. 기존 연구들은 Cd와 Zn의 혼합액이 물벼룩 및 다른 민물 생물에 미치는 독성 영향에 대해 상가 효과와 비상가적 효과(길항효과 및 상승효과)를 보고하였고, 상가효과보다는 비상가적 효과를 보고한 연구의 비율이 더 높다(Vijver et al., 2011). 최근 Cd와 Zn의 혼합액 내 치사량에 가까운 Zn의 농도가 존재할 때 물벼룩을 Cd의 독성 영향으로부터 보호할 수 있음이 보고된 바 있다(Perez and Hoang, 2017). Cd와 Zn의 증금속 혼합액에서 Zn 농도 증가에 의한 독성 변화는 Cd 농도 증가에 의한 독성 변화보다 컸다(Table 2). 부피 혼합비가 1:1에서 1:2로 증가하면서 혼합액 내 Zn 농도가 증가하였고, 독성 영향이 증가하였다. 또한, 기존 연구에서 물벼룩이 Zn을 섭취하는 정도는 Cd 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 보임을 보고하였다(Komjarova and Blust, 2008). 이는 부피 혼합비가 1:1에서 2:1로 변하면서 혼합액 내 Cd 농도가 증가하여 Zn의 섭취를 저해하여 부피 혼합비가 1:1일 때와 비슷한 독성 영향을 보이는 것을 뒷받침 할 수 있다. Fig. 4는 예측한 독성 값과 측정된 독성 값 간의 관계를 보여준다. Cd와 Zn의 부피 혼합비가



**Fig. 4.** Relationship between the estimated and the measured toxic effects (in toxic unit) on *Daphnia magna* upon exposure to mixtures of cadmium (10 mg L<sup>-1</sup>) and zinc (100 mg L<sup>-1</sup>) at mixing ratios (v/v) of (a) 1:1, (b) 1:2, and (c) 2:1.

1:1인 경우 예측한 TU값과 측정된 TU값은 Cd와 Zn의 부피 혼합비가 1:2와 2:1인 경우보다 강한 선형 관계를 보였다(Fig. 4). 또한 Cd와 Zn의 부피 혼합비가 1:1인 경우와 2:1인 경우 예측 독성 값은 측정 독성 값의 4배 정도 높았으나, Cd와 Zn의 부피 혼합비가 1:2인 경우 예측 독성 값은 측정 독성 값의 약 2.4배였다(Fig. 4).

#### 4. Conclusion

수계 내 경도는 중금속에 의한 독성 영향을 저감시킬 수 있으나, 농도 기반의 수질 관리 기준은 이러한 독성 저감 영향을 반영하지 않는다. 수계 내 다양한 환경 조건이나 다양한 중금속의 혼합물에 대해 개별 농도 기반 기준을 만들어 관리하는 것에는 한계가 있다. 따라서 다양한 환경 조건이 미치는 영향이 복합적으로 작용하여 발현되는 실제 생태 독성 영향을 기반으로 한 관리가 농도 기반의 수질 관리와 함께 이루어져야 할 것으로 판단된다. 수계 내 중금속 혼합물의 독성 영향 예측을 위해 단일 중금속의 독성 값을 사용하기도 하지만, 아직 연구가 미흡한 편이다. 본 연구에서도 단일 중금속의 독성 값을 기반으로 예측한 혼합물의 독성 영향이 측정 독성 값과 선형 관계를 보이기는 하지만 독성 값에 차이가 있음을 보여주어 예측 독성 값을 사용하는 것의 한계를 보여주었다. 따라서 수계 내 중금속 혼합물의 관리는 농도 기반 관리와 함께 생태 독성 영향 기반 관리가 함께 이루어져야 할 필요가 있다. 이를 위해 앞으로 수계 내 중금속에 대한 다양한 생물의 민감도 및 중금속 외 다른 화학적 조건들이 생물에 미치는 독성 영향 등에 대한 검토가 필요할 것으로 보인다. 또한 생태 독성 값에 대한 허용 가능 또는 불가능 수준 등과 같이 다양한 환경에서의 생태 독성 기반 기준을 도출하기 위한 연구가 필요하다.

#### Acknowledgement

본 연구는 2016년도 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단(NRF-2014R1A1A1003762, NRF-2016R1D1A1A02936998)의 지원을 받아 수행되었습니다. 또한 한국외국어대학교 교내 학술연구비의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

#### References

Baker, J. A., Gilron, G., Chalmers, B. A., and Elphick, J. R. (2017). Evaluation of the Effect of Water Type on the Toxicity of Nitrate to Aquatic Organisms, *Chemosphere*, 168, 435-440.

Carroll, J. J., Ellis, S. J., and Oliver, W. S. (1979). Influence of Hardness Constituents on the Acute Toxicity of Cadmium to Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*), *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 22(1), 575-581.

Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., and Eaton, A. E. (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Waste-*

*water*, 20th edition., American Public Health Association.

Clifford, M. and McGeer, J. C. (2009). Development of a Biotic Ligand Model for the Acute Toxicity of Zinc to *Daphnia pulex* in Soft Waters, *Aquatic Toxicology*, 91(1), 26-32.

Di Toro, D. M., Allen, H. E., Bergman, H. L., Meyer, J. S., Paquin, P. R., and Santore, R. C. (2001). Biotic Ligand Model of the Acute Toxicity of Metals. 1. Technical Basis, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(10), 2383-2396.

Franklin, N. M., Stauver, J. L., Lim, R. P., and Petocz, P. (2002). Toxicity of Metal Mixtures to a Tropical Freshwater Alga (*Chlorella* sp): The Effect of Interactions between Copper, Cadmium, and Zinc on Metal Cell Binding and Uptake, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(11), 2412-2422.

Komjarova, I. and Blust, R. (2008). Multi-metal Interactions between Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in Water Flea *Daphnia magna*, a Stable Isotope Experiment, *Aquatic Toxicology*, 90(2), 138-144.

Markich, S. J., King, A. R., and Wilson, S. P. (2006). Non-effect of Water Hardness on the Accumulation and Toxicity of Copper in a Freshwater Macrophyte (*Ceratophyllum demersum*): How Useful are Hardness-modified Copper Guidelines for Protecting Freshwater Biota?, *Chemosphere*, 65(10), 1791-1800.

Martins, R. J. E., Pardo, R., and Boaventura, R. A. R. (2004). Cadmium(II) and Zinc(II) Adsorption by the Aquatic Moss *Fontinalis antipyretica*: Effect of Temperature, pH and Water Hardness, *Water Research*, 38(3), 693-699.

Mebane, C. A., Dillon, F. S., and Hennessy, D. P. (2012). Acute Toxicity of Cadmium, Lead, Zinc, and Their Mixtures to Stream-resident Fish and Invertebrates, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(6), 1334-1348.

Meyer, J. S., Ranville, J. F., Pontasch, M., Gorsuch, J. W., and Adams, W. J. (2015). Acute Toxicity of Binary and Ternary Mixtures of Cd, Cu, and Zn to *Daphnia magna*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(4), 799-808.

Ministry of Environment (MOE). (2017). *Act on Environmental Testing and Inspection Article 6 Official Test Methods for Water Quality. Acute Toxicity Test Method* [ES 04704.1a]. [Korean Literature]

Muysen, B. T. A., De Schampelaere, K. A. C., and Janssen, C. R. (2006). Mechanisms of Chronic Waterborne Zn Toxicity in *Daphnia magna*, *Aquatic Toxicology*, 77(4), 393-401.

Pascoe, D., Evans, S. A., and Woodworth, J. (1986). Heavy Metal Toxicity to Fish and the Influence of Water Hardness, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 15(5), 481-487.

Perez, E., and Hoang, T. C. (2017). Chronic Toxicity of Binary-metal Mixtures of Cadmium and Zinc to *Daphnia magna*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Article in press, DOI: 10.1002/etc.3830.

Ra, J. S., Kim, K. T., Kim, S. D., Han, S. G., Chang, N. I., and Kim, Y. S. (2005). Mixture Toxicity Test of Ten Major Chemicals using *Daphnia magna* by Response Curve Method, *Journal of Korean Society of Environmental Engineers*, 27(1), 67-74. [Korean Literature]

Saglam, D., Atli, G., and Canli, M. (2013). Investigations on the Osmoregulation of Freshwater Fish (*Oreochromis niloticus*) following Exposures to Metals (Cd, Cu) in Differing Hardness, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 92, 79-86.

Van Ginneken, M., De Jonge, M., Bervoets, L., and Blust, R. (2015). Uptake and Toxicity of Cd, Cu and Pb Mixtures in

- the Isopod *Asellus aquaticus* from Waterborne Exposure, *Science of The Total Environment* 537, 170-179.
- Varanasi, U. and Gmur, D. J. (1978). Influence of Water-borne and Dietary Calcium on Uptake and Retention of Lead by Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*), *Toxicology and Applied Pharmacology*, 46(1), 65-75.
- Vijver, M. G., Elliott, E. G., Peijnenburg, W. J. G. M., and de Snoo, G. R. (2011). Response Predictions for Organisms Water-exposed to Metal Mixtures: A Meta-analysis, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(6), 1482-1487.
- Yim, J. H., Kim, K. W., and Kim, S. D. (2006). Effect of Hardness on Acute Toxicity of Metal Mixtures using *Daphnia magna*: Prediction of Acid Mine Drainage Toxicity, *Journal of Hazardous Materials*, 138(1), 16-21.