

## 폐 미세플라스틱(PET)의 물벼룩 만성독성 연구

Effect of Chronic Toxicity by Waste Microplastics (PET) on  
*Daphnia magna*한보미<sup>1</sup> · 박건우<sup>1</sup> · 유승우<sup>1</sup> · 김창해<sup>2</sup> · 정진호<sup>3</sup> · 나주림<sup>4\*</sup><sup>1</sup>고려대학교 환경생태공학부 학사과정, <sup>2</sup>고려대학교 일반대학원 환경생태공학과 석박사 통합과정,<sup>3</sup>고려대학교 환경생태공학부 교수, <sup>4</sup>고려대학교 오정리질리언스연구원 연구교수Bomi Han<sup>1</sup>, GeonU Park<sup>1</sup>, Seungwoo Yoo<sup>1</sup>, Changhae Kim<sup>2</sup>, Jinho Jung<sup>3</sup> and Joorim Na<sup>4\*</sup><sup>1</sup>Undergraduate Course, Division of Environmental Science & Ecological Engineering, Korea University, Seoul 02841, Korea<sup>2</sup>Integrated Master's and Doctoral Course, Department of Environmental Science & Ecological Engineering, Korea University, Seoul 02841, Korea<sup>3</sup>Professor, Division of Environmental Science & Ecological Engineering, Korea University, Seoul 02841, Korea<sup>4</sup>Research Professor, O-jeong-Eco-Resilience Institute, Seoul 02841, Korea

Received 3 December 2021, revised 14 December 2021, accepted 24 December 2021, published online 31 December 2021

**ABSTRACT:** Commercially used disposable cups undergo fragmentation in the environment and become microplastics (MPs). These MPs can be ingested by aquatic organisms and cause a range of adverse effects. We assessed the acute and chronic toxicity of disposable cup-derived MP fragments in *Daphnia magna*. MP fragments were identified as a polyethylene terephthalate (PET) fragment with a size of  $33.18 \pm 7.76 \mu\text{m}$ . The presence of three additives including 1-Propanone, 1-phenyl-3-[2-(phenylmethoxy)phenyl]-, p-Xylene and ethylbenzene was analyzed from MP fragments. The 48 h acute toxicity revealed that 20 % of immobilization and mortality were found at the highest concentration of PET MP ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ). The 21 d chronic toxicity revealed that PET MP fragments significantly ( $p < 0.05$ ) more reduced survival rate (31 %), total offspring (52 %) in *D. magna* compared with control group. The developmental abnormality of offspring (3.5%) by PET MP fragments was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than control groups (0.3%). These results are possibly induced by gut blocking by ingestion of MP fragments and their longer retention time. These findings indicate that the fragmentation of disposable cups (PET polymers) into small-sized MP fragments pose a significant ecological risk to aquatic organisms. Further studies are required to elucidate the underlying toxicity mechanisms.

**KEYWORDS:** Additives, Chronic toxicity, Daphnid, Microplastics, Waste plastics

**요 약:** 상업에서 사용되는 일회용 컵은 환경으로 유입되어 파편화되어 미세플라스틱 (MP)이 될 수 있다. 또한 MP는 수생 생물에게 섭취 될 수 있으며, 다양한 부작용을 미칠 수 있다. 본 연구는 일회용 컵에서 유래된 MP 조각이 물벼룩에게 미치는 급성 및 만성 독성을 평가했다. MP 조각은  $33.18 \pm 7.76 \mu\text{m}$  크기의 PET (Polyethylene terephthalate) MP 조각으로 확인되었으며, 3종류의 첨가제 (1-Propanone, 1-phenyl-3-[2-(phenylmethoxy)phenyl]-, p-Xylene and ethylbenzene)가 함유되어 있는 것을 확인하였다. 48시간 급성 독성은 최고 농도의 PET MP ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ )에 노출된 물벼룩에서 20%의 유영저해 및 사망을 발견하였다. 21일 만성 독성은  $5 \text{ mg L}^{-1}$ 의 PET MP 조각에 노출된 *D. magna*에서 대조군과 비교하여 줄어든 생존율 (31%)과 번식 (52%)을 보여주었다. 더욱이 PET MP는 태어난 개체의 발달 이상을 (3.5%) 대조군 (0.3%)과 비교하여 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 증가시켰다.

\*Corresponding author: joolim4010@korea.ac.kr, ORCID 0000-0001-9306-9231

© Korean Society of Ecology and Infrastructure Engineering. All rights reserved.

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.

이러한 결과는 MP 조각의 섭취에 의한 장 막힘과 더 긴 체류 시간 때문일 수 있다. 본 연구의 결과는 일회용 컵 (PET 폴리머)이 작은 크기의 MP 조각으로 단편화되면 수생 생물에 심각한 생태학적 위험을 제기할 수 있음을 시사하고 있다. 또한 MP 독성 및 첨가제에 대한 근본적인 독성 메커니즘을 확인하기 위해 추가 연구가 수행되어야 한다.

**핵심어:** 첨가제, 만성독성, 물벼룩, 미세플라스틱, 폐플라스틱

## 1. 서론

플라스틱 (Plastics) 은 이용의 편의성으로 다양한 환경에서 많은 양이 사용되고 있다 (Plastics Europe 2019, UNEP 2005). 더욱이 플라스틱 폐기물은 해안선, 섬 그리고 심해 서식지 같은 해양 환경 (Browne et al. 2011, Ivar do Sul and Costa 2007, Van Cauwenberghe et al. 2015) 뿐만 아니라 호수와 강과 같은 담수환경 (Castañeda et al. 2014, Imhof et al. 2013, Lechner et al. 2014)에서도 발견되고 있으며, 기원이 다양하고 서로 다른 폴리머로 구성되어 있다 (Eerkes-Medrano et al. 2015). 특히 한국 내 산업에서 대중적으로 사용되고 있는 일회용품은 배달, 구매 증가 및 커피 문화 확산 등으로 인해 컵, 용기 등 연간 약 180 억개의 일회용품이 사용되고 있으며, 종류 또한 매우 다양하여 재활용이 어렵기에 환경 내 유입이 불가피한 실정이다 (한국기계연구원 2019).

더욱이 일회용품의 폴리머 (polymer)로 많이 쓰이는 Polyethylene terephthalate (PET)는 Polystyrene 과 Polyethylene (PE) 과 비교하여 상대적으로 약한 기계적 특성을 가지고 있어 (Erk et al. 2015), 쉽게 파편화되어 미세플라스틱 (Microplastics; MP)의 형태가 될 수 있다. 미세플라스틱은 수계로 유입될 경우 수생 생물이 섭취하여 질식, 소화관 막힘, 섭식능력 장애, 사망을 유발할 수 있다 (Gall and Thompson 2015). 더욱이 미세플라스틱 내 첨가된 첨가제가 환경 또는 수생 생물 내에서 용출될 수 있어 그 악영향은 매우 우려되고 있다 (Na et al. 2021). Portugal et al. (2021) 은 작은 담수 갑각류인 *Moina cf. micrura*가 작은 크기의 PET MP (<25  $\mu\text{m}$ )를 섭취하여 표피, 탈각, 내장 및 부속기관에 PET MP가 존재하고 있음을 보고하였다. 담수 물벼룩 *Daphnia magna* (*D. magna*)은 PET MP (<5  $\mu\text{m}$ )에 노출되어 96시간 급성기간동안 유영저해 사망을 일으켰으며 (Gerdes et al. 2019), PET MP는 요각류 *Parvocalanus crassirostris*에게 6 일동안 14 mg L<sup>-1</sup>에 노출

되어 개체군을 줄이는 것으로 보고되었다 (Heindler et al. 2017).

하지만, 실제 환경에 유입되는 플라스틱은 첨가제를 함유하는 상용플라스틱임에도 불구하고, 대부분의 미세플라스틱 독성 연구는 시약용 미세플라스틱을 이용하고 있다. 더욱이 물벼룩 상용 미세플라스틱 만성 독성 연구는 실제 환경에 유입되는 과정에서 장기적으로 첨가제를 용출 및 독성을 유발할 수 있으며 (Lithner et al. 2009, Bejgarn et al. 2015) 기존 연구의 결과가 실제 상용 미세플라스틱이 환경에 미칠 수 있는 영향과는 상이할 수 있어 매우 중요하다. 하지만 기 수행된 PEP소재의 미세플라스틱 독성연구는 대부분 시약용 미세플라스틱의 수생 생물 독성을 연구하였으며, 상용 미세플라스틱의 물벼룩 만성독성연구는 매우 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 실제 상업에서 사용되는 PET 소재의 일회용 플라스틱컵을 미세플라스틱으로 제조하여 담수 생물인 물벼룩 (*D. magna*)의 급성 또는 만성 독성 영향을 평가하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 시험생물

시험생물로는 담수산 물벼룩인 *Daphnia magna*를 사용하였다. 시험용 물벼룩은 국립환경과학원(대한민국)에서 분양 받아 온도 20 ± 2°C, 광주기 16:8의 day/night 조건의 항온수조에서 배양하였다. 20마리의 물벼룩을 2000 ml의 배양액 (M4 배지)이 들은 유리 비이커에서 배양하였으며, 일주일에 2 회 전량 교체되었다. 주 먹이는 *Chlorella vulgaris*를 선택하여 매일 5.0 × 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup> 급여하였다. 모든 독성시험은 3회 이상 물벼룩을 생산한 어미개체에서 태어난 24 시간 미만의 개체를 3 일 동안 배양한 뒤 시험에 이용하였다.

## 2.2 미세플라스틱 (MP)의 제조

본 연구에서 사용된 미세 플라스틱 (Microplastics, MP)은 실제로 상업에서 사용하는 일회용 플라스틱 컵을 이용하여 제조하였다. 플라스틱 컵은 3차 증류수를 이용하여 3회 세척 후 실험실 조건에서 24시간 건조하였다. 건조를 마친 플라스틱 컵은 분쇄의 편의성을 위하여 가로세로 1 cm의 정사각형 모양으로 잘랐으며, 동결분쇄기 (Freezer/Mill 6875, SPEX® SamplePrep, US)를 이용하여 플라스틱 조각으로 분쇄하였다. 최종적으로 25  $\mu\text{m}$  와 50  $\mu\text{m}$  체를 이용하여 균일 된 크기의 플라스틱 조각을 수집하였다.

## 2.3 MP의 물리화학적 특성

MP의 크기와 모양은 전계방출주사전자현미경 (field emission-scanning electron microscopy, FE-SEM, Quanta™ 250 FEG, FEI, USA)을 이용하여 확인하였으며, 구조는 푸리에 변환 적외선 분광법 (Fourier-transform infrared spectroscopy, FT-IR, Cary 630, Agilent, USA)을 이용하여 확인하였다. 최종적으로 확인된 스펙트라를 대조프로그램 (Bio-Rad KnowItAll® Informatics System 2018-IR Spectral Library; Bio-Rad Laboratories, USA) 을 이용하여 기준 스펙트라와 대조하여 시료의 화학구조를 확인하였다.

플라스틱 내 첨가된 화학물질을 알아보기 위하여 5 mg의 MP를 10 ml의 DMSO 용액에 넣은 뒤 1시간 동안 50 rpm으로 교반하였다. 시료 1 ml를 실린지필터 (Minisart filters; 0.45  $\mu\text{m}$ )로 여과시킨 뒤 Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS, Agilent 6890GC/5975MS)를 이용하여 측정하였다. 분석조건은 다음과 같다. 컬럼 (column)은 DB5MS ultra-inert column (30 m, 0.25 mm film thickness, 0.25 mm i.d.)을 사용하였으며, 오븐 온도는 40도에서 2분 유지시킨 뒤 분마다 6도씩 320도까지 올린 후 20분 유지시켰다. 샘플은 pulsed splitless injection으로 1  $\mu\text{l}$  주입하였다. 운반기체는 헬륨을 사용하였으며, 분당 1.1 ml 흐르게 하였다. 최종적으로 측정된 데이터를 기기 내 Library검색을 통해 MP 내 첨가된 미지물질의 정성 분석을 하였다 (Sait et al., 2021).

## 2.4 급성독성시험

급성독성 시험은 Organization for Economic Co-

operation and Development's (OECD) 에서 제시한 시험지침 202 (OECD, 2004)를 바탕으로 시행하였다. 시험 농도는 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200  $\text{mg L}^{-1}$  로 희석수를 (ISO medium, pH=8.0, 경도=250  $\text{mg L}^{-1}$ , 용존 산소 농도=9.1  $\text{mL L}^{-1}$ )를 이용하여 제조하였다. 모든 시험 농도에 대한 노출 개체는 4일된 물벼룩으로 구성하였고 시험 농도당 3개의 반복구를 두었다. 각 농도 별 시험 용액 20 mL를 50 mL 유리 비커에 담고, 10마리의 *D.magna*를 노출시킨 뒤 48 시간 후에 물벼룩의 유영 저해(immobilization, 15 초 동안 자극을 주었을 때, 몸 길이의 2 배 이상을 움직이지 않는 것으로 정의) 및 치사를 판단하였다. 실험은 배양 조건과 동일하게 온도  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 광주기 day/night 16:8 시간 조건에서 시험 기간 동안 먹이를 제공하지 않고 실시하였다.

MP 시료를 넣지 않고, ISO 배지에 노출된 물벼룩을 대조군으로 평가하였으며, 대조군의 물벼룩에서는 48 시간 동안 유영 저해를 포함한 사망이 관찰되지 않았다. 급성독성시험의 유효도는 기준화학물질인 중크롬산 칼륨에 대한 물벼룩의 민감도로서 검증하였다 (ISO 6341, 2012).

## 2.5 만성독성시험

만성독성시험은 급성독성시험과 동일한 조건에서 배양된 물벼룩 (*D. magna*)을 사용하였으며, OECD 시험지침 211 (OECD, 2012) 을 바탕으로 시행하였다. 시험 농도는 5  $\text{mg L}^{-1}$ 로 M4를 희석수로 이용하여 제조하였다. 노출 개체는 태어난지 4 일된 물벼룩을 이용하였으며, 시험 농도당 13 개의 반복구를 두었으며, 3 번의 시험을 진행하였다. 시험용액 50 ml를 50 ml의 유리비커에 담고, 각 비커당 한마리의 *D.magna*를 21 일의 시험기간 동안 노출시켰다. 시험기간동안 매일 물벼룩의 사망, 생식, 탈피를 확인하였으며, 시험의 마지막 날에는 성장 (길이)을 확인하였다. 실험은 배양 조건과 동일하게 온도  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 광주기 day/night 16:8 시간 조건에서 시행하였으며, 시험 기간동안 매일 조류 (*Chlorella vulgaris*;  $5.0 \times 10^5$  cells  $\text{mL}^{-1}$ )를 먹이로 제공하였다. 특히, 시험용액 및 대조군 (M4배지)은 일주일에 2회 전량 교체하였다. 시험 기간동안 대조군의 사망률은 관찰 되지 않았다.

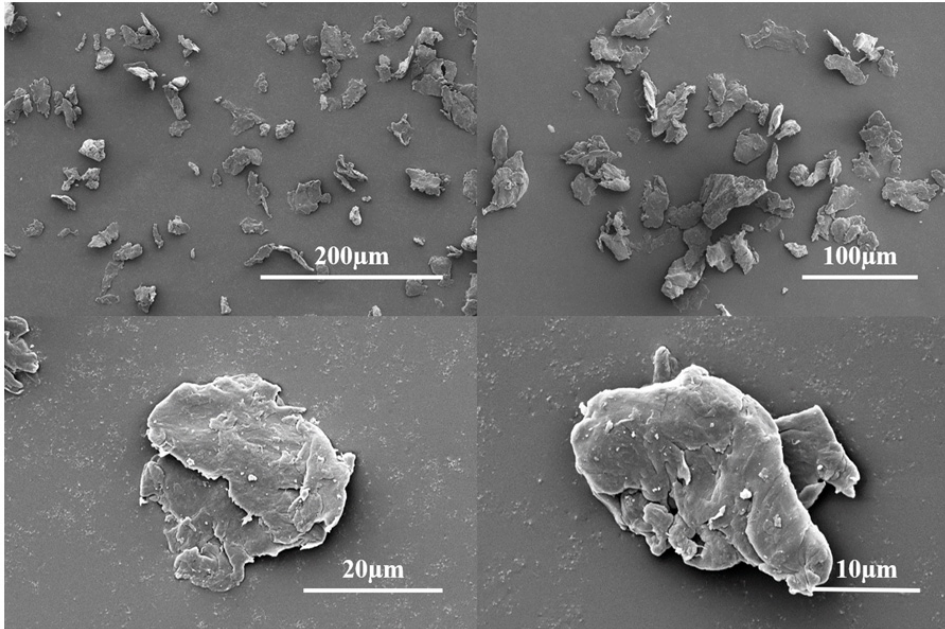
## 2.6 통계학적 분석

대조군과 실험군의 유의성 검정은 SAS (Ver 9.4) 프로그램을 사용하여 students t-test로 분석하였으며,  $p$ 가 0.05 이하인 것을 유의한 것으로 판단하였다. 모든 데이터는 정규성 검정을 먼저 시행하여 정규분포를 따르는 것을 확인한 후 t-test를 시행하였다.

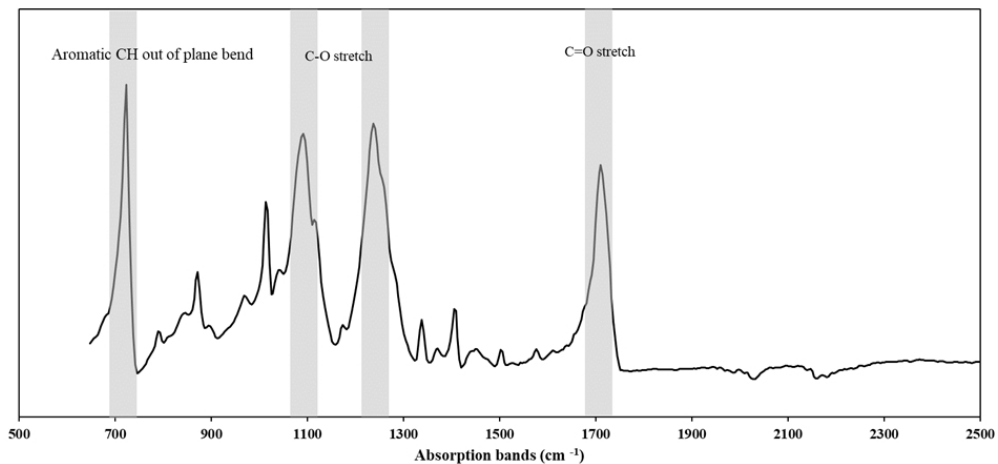
## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 MP의 물리화학적 특성

제조된 MP의 형태 및 크기는 Fig. 1과 같이 나타났다. 제조된 MP의 형태는 날카롭고 매우 불규칙한 모양이었다. 또한 MP조각의 평균 크기 ( $n = 20$ )는  $33.18 \pm 7.78 \mu\text{m}$ 로 확인되었다 (Fig. 1).



**Fig. 1.** Scanning electron microscopy (SEM) images of the polyethylene terephthalate (PET) fragments ( $33.18 \pm 7.78 \mu\text{m}$ ) used in this study.

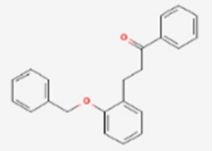
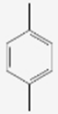



**Fig. 2.** Fourier-transform infrared (FT-IR) spectra of polyethylene terephthalate (PET) MP fragments ( $33.18 \pm 7.78 \mu\text{m}$ ) used in this study.

MP의 FT-IR 스펙트럼은 Fig. 2 와 같이 나타났다. 본 시료의 스펙트럼은 PET polymer 작용기의 주요 스펙트럼인 720, 1094, 1241, 1713  $\text{cm}^{-1}$ 의 파장에서 나타난 peak가 일치하는 것을 통해 본 실험에 사용된 MP가 PET임을 확인하였다 (Jung et al., 2018). 또한 FT-IR 을 통해 PET polymer의 작용기인 C=O stretch (1710.45  $\text{cm}^{-1}$ ), C-O stretch (1241.53, 1089.05  $\text{cm}^{-1}$ ), 그리고 aromatic CH out of plane bend (716.56  $\text{cm}^{-1}$ ) 화학결합을 확인하였다 (Asensio et al. 2009).

플라스틱 내 첨가제의 정성분석 결과, 1-Propanone.

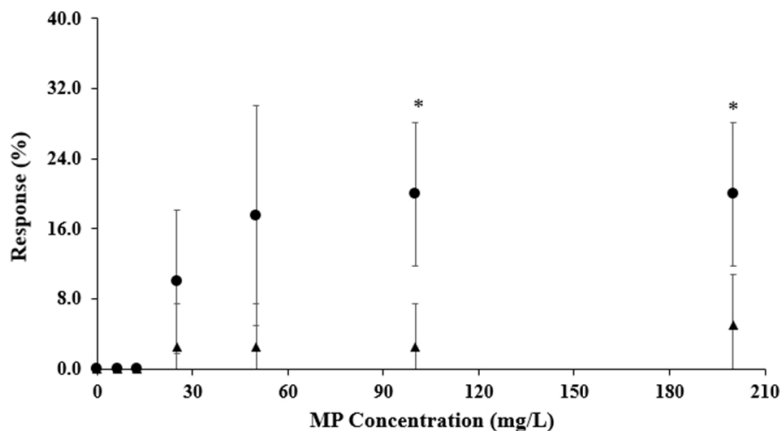
**Table 1.** List of possible chemicals in polyethylene terephthalate (PET) microplastic (MP) fragments were analyzed using

Name	Chemical structure
1-Propanone. 1-phenyl-3-[2-(phenylmethoxy)phenyl]-	
p-Xylene	
Ethylbenzene	

1-phenyl-3-[2-(phenylmethoxy)phenyl]-, p-Xylene, 그리고 Ethylbenzene의 세 가지 화합물이 검출되었다 (Table 1). 검출된 세 가지 화합물은 PET뿐만 아니라 다양한 플라스틱 polymer에 들어가는 첨가제 및 부산물의 일부인 것을 확인하였다 (Chang et al. 2014, Raghavendrachar and Ramachandran 1992).

### 3.2 급성독성시험

물벼룩 급성독성 결과는 24 시간 또는 48 시간 동안 PET에 노출된 물벼룩에서 발견된 유영저해 및 치사 반응의 비율로 나타내었다 (Fig. 3). 24시간 후 MP 25  $\text{mg L}^{-1}$  이상에 노출된 물벼룩에서 독성영향 (유영저해 및 치사)이 나타나기 시작하였다. 48 시간 급성독성 결과에서 MP 100  $\text{mg L}^{-1}$  과 200  $\text{mg L}^{-1}$  에 노출된 물벼룩의 급성독성영향은 24시간 급성독성영향과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 나타났다. 특히 최고 농도인 MP 200  $\text{mg L}^{-1}$  농도에서, 24 시간 이후 평균 5%의 사망률이 발견되었으나, 48 시간 이후에는 평균 20%로 유의하게 더 높은 유영저해 및 치사가 발견되었다 (Fig. 3). 대조군에서는 사망률이 발견되지 않았다. Jemec et al. (2016)은 PET fiber (1400  $\mu\text{m}$ )에 노출된 물벼룩이 48 시간 이후 사망한 것을 발견하였으며, 섭취된 미세 플라스틱으로 인해 사망률이 높아진 것이라고 보고하였다. 더욱이 불규칙한 형상의 미세플라스틱은 수생 생물이 섭취할 경우 장 막힘과 같은 장내 손상을 유발할



**Fig. 3.** Acute toxicity (48 h, n=4) of polyethylene terephthalate (PET) microplastic (MP) fragments ( $33.18 \pm 7.78 \mu\text{m}$ ) to *Daphnia magna*. Triangle and Circle symbols indicate data 24 h and 48 h exposure groups, respectively. The response means proportion (%) of immobilized or dead *Daphnia magna* by exposure to PET MP. All data are presented as mean  $\pm$  standard deviation (n = 39). Asterisks indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between 24 h and 48 h exposure groups.

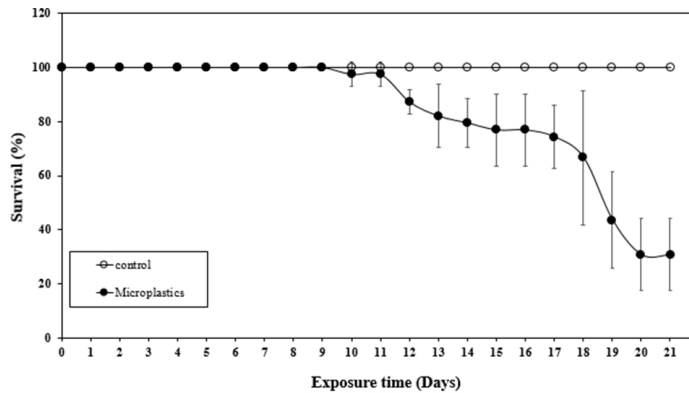
수 있으며 (Burkhardt-Holm 2016), 위장관의 구조적 또는 기능적 악화로 인해 사망할 수 있다 (Pedà et al. 2016). 더욱이 미세플라스틱에 의한 급성독성은 미세플라스틱의 섭취에 의한 독성 뿐만 아니라 미세플라스틱 내 함유된 화학 첨가물의 용출로 인해 물벼룩이 사망 및 유영저해에 이를 수 있다 (Na et al. 2021).

### 3.3 만성독성시험

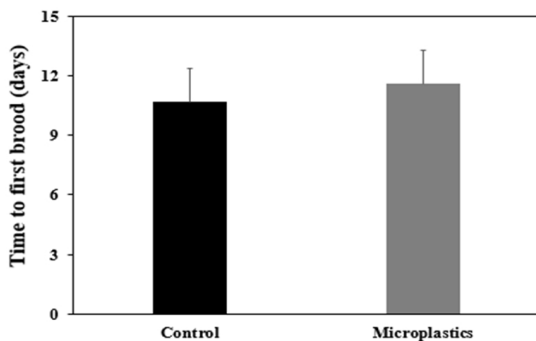
PET에 대한 물벼룩 만성독성 결과, 시험 10일부터 MP 노출군의 첫 사망 개체가 발생하였으며, 실험 종료 시점의 생존률 ( $n = 39$ )은 약  $30.8 \pm 13.3\%$ 로 나타났다. (Fig. 4). 반면, MP를 노출시키지 않은 대조군에서는 사

망이 발견되지 않았다. An et al. (2021)은 큰 PE MP ( $34.4 \pm 13.1$  mm)와 작은 PE MP ( $17.2 \pm 3.4$  mm)에 노출된 물벼룩 21일 만성시험에서의 생존률이 각각 60%, 20%라고 보고하였으며, Ogonowski et al. (2016)은 PE MP ( $2.6 \pm 1.8$  mm)에 대한 21일 만성시험의 생존률이 대조군과 비교하여 50%로 낮아졌으며, 미세플라스틱 조각이 미세플라스틱 비즈와 비교하여 물벼룩 장에서 머무르는 체류시간이 약 2배 정도 길다고 보고하였다.

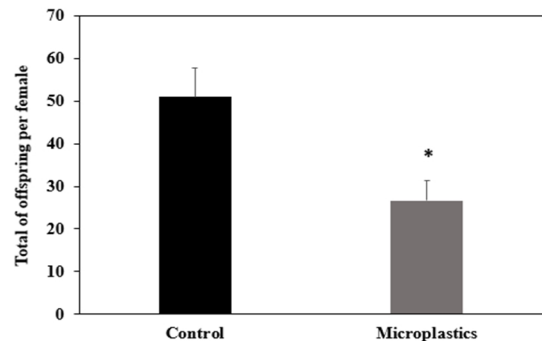
물벼룩의 생활사 특성으로 첫 번식 날, 총 자손 수, 자손의 미 발달률, 성장(길이)을 평가하였다. MP 노출군의 물벼룩 첫 번식 날은 평균 12일로 대조군의 첫 번식



**Fig. 4.** Survival rate (%) of *Daphnia magna* exposed to polyethylene terephthalate (PET) microplastic (MP) fragments ( $33.18 \pm 7.78 \mu\text{m}$ ) for 21 days. The MP concentration was  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . All data are presented as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 39$ ).



**Fig. 5.** Time to first brood (days) of *Daphnia magna* exposed to polyethylene terephthalate (PET) microplastic (MP) fragments ( $33.18 \pm 7.78 \mu\text{m}$ ) for 21 days. The MP concentration was  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . All data are presented as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 39$ ).



**Fig. 6.** Total of offspring per female of *Daphnia magna* was exposed polyethylene terephthalate (PET) microplastic (MP) fragments for 21 days. The MP concentration was  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . All data are presented as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 39$ ). Asterisks indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between the treatment groups and control.

날 평균 11일과 비교하여 약 1일의 차이가 발생하였지만, 통계적인 유의한 차이는 발견되지 않았다 (Fig. 5). 하지만 21일동안 노출군의 평균 총 자손 수는  $26.6 \pm 4.8$  마리로 대조군과 비교하여 약 52.3%였으며 (Fig. 6), 통계적으로 유의한 차이가 있는 것을 확인하였다. 더욱이 생산된 자손의 총 개체 중 미발달의 개체가 대조군에서 0.3%, 노출군에서 3.5%로, 미발달 상태로 태어난 개체의 비율이 대조군에 비해 11배 이상 높다는 것을 확인하였다. 이는 미세플라스틱에 대한 장기 노출로 인해 어미개체의 생식기능에 장애가 생긴 것으로 판단하였다. 기존 다른 시험중에 대한 PET MP 만성 독성 시험 연구에서도 번식 감소와 유전적 장애가 발생한 결과가 있다. Heindler et al. (2017)은 또 다른 갑각류 *Parvoalanus crassirostris* 개체군을 PET MP에 24일간 만성 노출한 결과 개체군 크기가 유의하게 감소하는 것을 보고했으며 Jakubowska et al. (2020)은 113일간 PET MP에 노출된 어류 *Salmo trutta*가 유전적으로 독성영향을 받았다고 보고하였다. 또한 미세플라스틱에 노출된 물벼룩의 성장을 확인하기 위하여 만성시험 종료일에 살아있는 성체의 길이를 평가하였다. 미세플라스틱 노출은 물벼룩의 성장을 저해하여 성체의 몸 길이는 평균  $3429.5 \mu\text{m}$ 로 대조군 (평균  $3719.7 \mu\text{m}$ )과 비교하여 약  $300 \mu\text{m}$  낮았으며, 통계적으로 유의미한 차이를 확인하였다 (Fig 7).

Murphy and Quinn (2018)은 미세플라스틱 조각에 노출된 수생 생물이 먹이섭식 저해로 인해 대사에 영향

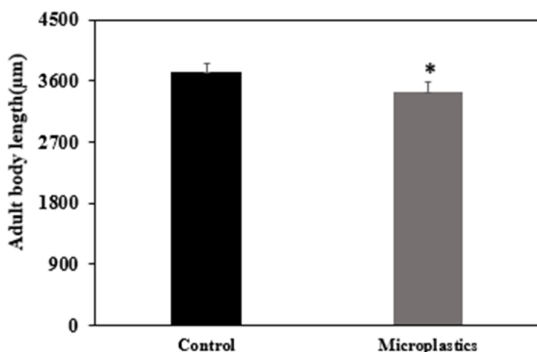


Fig. 7. The growth (body length) of *Daphnia magna* was exposed polyethylene terephthalate (PET) microplastic (MP) fragments for 21 days. The MP concentration was  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . All data are presented as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 39$ ). Asterisks indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between the treatment groups and control.

을 받고 에너지 고갈로 이어 질 수 있다고 보고하였다. 미세플라스틱에 의한 영양 저해는 물벼룩의 성장을 방해 할 가능성이 있다고 판단하였다. 더욱이 미세플라스틱으로 인한 수생 생물의 생식 및 성장 저해는 물벼룩의 에너지 분배가 바뀌어 유도될 수 있는 결과이며 (An et al. 2021), 불규칙한 모양의 미세플라스틱은 섭식 및 수생 생물의 내부 손상을 증가시켜 급성 및 만성독성을 일으킬 수 있다 (Lambert et al. 2017, Na et al. 2021, Wright et al. 2013).

또한, 플라스틱 생산과정에서 첨가되는 첨가제는 미세플라스틱의 형성과정 및 수생 생물의 섭식과정에서 용출이 될 수 있으며, 수생 생물에게 독성영향을 미칠 수 있다. Lithner et al. (2009)는 실생활에 사용되는 32개의 플라스틱 제품들의 leachate 중 9개가 물벼룩에게 48시간 급성독성을 일으킨 것을 보고한 바 있으며, Bejgarn et al. (2015)은 PET를 포함한 21개의 플라스틱 제품들의 leachate 중 8개가 요각류 *Nitocra spinipes*의 급성 독성을 유발함을 보고했다.

본 연구에서 미세플라스틱의 첨가제로 확인된 *p*-xylene, ethylbenzene과 같은 benzene류의 첨가제들은 수환경에서 성장, 발달, 번식을 저해하는 독성 물질로 분류되어 있다 (Hatcher and McGillivray 1979). 더욱이 Neuparth et al. (2014)은 *p*-xylene에 36 일동안 노출된 갑각류 *Gammarus locusta*에서 줄어든 성장과 편향된 성비 그리고 증가된 산화스트레스 (항산화 효소, 지질 과산화 수준)를 발견하였으며, 성장과 성비는 생태학적 관점에서 인구 수준에 대한 잠재적 영향으로 개체군에 영향을 미칠 수 있음을 시사하였다.

따라서 MP 노출군은 미세플라스틱 섭식으로 인한 영향과 PET 첨가제 용출로 인한 영향을 복합적으로 받아 성장과 번식이 저해되었을 수 있다. 하지만 본 연구에서는 플라스틱 첨가제의 분석은 정량이 아닌 정성적 분석을 하였으며, *D. magna*에게 영향을 줄 수 있는 농도로 플라스틱 첨가제가 존재하는지 확인이 더 필요하다.

#### 4. 결론

본 연구는 PET 미세플라스틱이 물벼룩에 미치는 영향을 급성 및 만성기간동안 조사하였다. 일회용 PET 플라스틱 컵을 동결 분쇄하여 MP를 제작하였으며, 제작한 시료의 특성을 파악하기 위해 SEM, FT-IR,

GC/MS 분석한 후 물벼룩 급성 및 만성 독성시험을 진행하였다. PET 미세플라스틱은 비정형 모양으로 날카로운 형상이었으며, 첨가된 화학물질 (1-Propanone, 1-phenyl-3-[2-(phenylmethoxy)phenyl]-, p-Xylene, ethylbenzene)을 확인하였다. 급성독성시험 결과, 200 mg L<sup>-1</sup> 고농도의 미세플라스틱은 물벼룩의 유영저해 및 치사를 일으켰으며, 만성독성시험 결과 5 mg L<sup>-1</sup>의 MP에 노출된 물벼룩에서 31%의 생존률을 확인하였다. 또한 생식 및 성장은 미세플라스틱에 의해 각각 48%, 8% 저해되었다. 결과적으로 PET 미세플라스틱은 물벼룩에 부정적인 급성 및 만성독성을 일으키는 것을 확인하였다. 이것은 실제 사용되는 상용 플라스틱이 미세화된 크기로 환경에 유입되어 수생 생물에 나타날 수 있는 악영향과 생태학적 위협성에 대해 시사한다.

## 감사의 글

이 논문은 고려대학교에서 지원된 연구비와 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(No. NRF-2019R1A2C1002890, NRF-2021R1A6A1A10 045235)의 일환으로 수행되었습니다. 그리고 본 연구에 사용된 물벼룩을 제공해주신 고려대학교 정진호 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

## References

- 한국기계연구원, 2019. 「플라스틱 폐기물로 인한 생태·환경 위해요인 개선」 사전기획연구 보고서
- An, D., Na, J., Song, J., Jung, J., 2021. Size-dependent chronic toxicity of fragmented polyethylene microplastics to *Daphnia magna*. *Chemosphere* 271, 129591. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129591>
- Asensio, C.R., San Andrés Moya, M., de la Roja, J.M., and Gómez, M., 2009. Analytical characterization of polymers used in conservation and restoration by ATR-FTIR spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 395: 2081-2096. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3201-2>
- Bejgam, S., MacLeod, M., Bogdal, C. and Breitholtz, M. 2015. Toxicity of leachate from weathering plastics: An exploratory screening study with *Nitocra spinipes*. *Chemosphere*, 132: 114-119. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.010>
- Browne, M.A., Crump, P., Niven, S.J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T. and Thompson, R., 2011. Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *Environmental Science & Technology* 45: 9175-9179. <https://doi.org/10.1021/es201811s>
- Castañeda, R.A., Avlijas, S., Simard, M.A. and Ricciardi, A., 2014. Microplastic pollution in St. Lawrence River sediments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 71: 1767-1771. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2014-0281>
- Chang, C.-C., K. Green, S., Luke Williams, C., J. Dauenhauer, P. and Fan, W., 2014. Ultra-selective cycloaddition of dimethylfuran for renewable p-xylene with H-BEA. *Green Chemistry* 16: 585-588. <https://doi.org/10.1039/C3GC40740C>
- Erkes-Medrano, D., Thompson, R.C., Aldridge, D.C. and 2015. Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water Research* 75: 63-82. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.012>
- Erk, K.A., Rhein, M., Krafcik, M.J. and Ydstie, S., 2015. Demonstrating the Effects of Processing on the Structure and Physical Properties of Plastic Using Disposable PETE Cups. *Journal of Chemical Education* 92: 1876-1881. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00082>
- Gall, S.C. and Thompson, R.C., 2015. The impact of debris on marine life. *Marine Pollution Bulletin* 92: 170-179. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.041>
- Gerdes, Z., Hermann, M., Ogonowski, M., Gorokhova, E., 2019. A novel method for assessing microplastic effect in suspension through mixing test and reference materials. *Scientific Reports* 9, 10695. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47160-1>
- Hatcher, P.G. and McGillivray, P.A., 1979. Sewage contamination in the New York Bight. Coprostanol as an indicator. *Environmental Science & Technology* 13: 1225-1229.
- Heindler, F.M., Alajmi, F., Huerlimann, R., Zeng, C., Newman, S.J., Vamvounis, G. and van Herwerden, L., 2017. Toxic effects of polyethylene terephthalate micro-particles and Di(2-ethylhexyl)phthalate on the calanoid copepod, *Parvocalanus crassirostris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 141: 298-305. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.029>
- Imhof, H.K., Ivleva, N.P., Schmid, J., Niessner, R. and Laforsch, C., 2013. Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. *Current Biology* 23: R867-R868. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.001>
- ISO 6341, 2012. INTERNATIONAL STANDARD ISO inhibition of the mobility of *Daphnia*.
- Ivar do Sul, J.A. and Costa, M.F., 2007. Marine debris review for Latin America and the Wider Caribbean Region: From the 1970s until now, and where do we go from here? *Marine Pollution Bulletin* 54: 1087-1104. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.05.004>
- Jakubowska, M., Białowąs, M., Stankevičiūtė, M.,



- Chomiczewska, A., Pažusienė, J., Jonko-Sobuś, K., ... and Urban-Malinga, B. (2020). Effects of chronic exposure to microplastics of different polymer types on early life stages of sea trout *Salmo trutta*. *Science of the Total Environment* 740: 139922. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139922>
- Jemec, A., Horvat, P., Kunej, U., Bele, M. and Kržan, A., 2016. Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Pollution* 219: 201-209. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.037>
- Jung, M.R., Horgen, F.D., Orski, S.V., Rodriguez C., V., Beers, K.L., Balazs, G.H., Jones, T.T., Work, T.M., Brignac, K.C., Royer, S.-J., Hyrenbach, K.D., Jensen, B.A. and Lynch, J.M., 2018. Validation of ATR FT-IR to identify polymers of plastic marine debris, including those ingested by marine organisms. *Marine Pollution Bulletin* 127: 704-716. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.061>
- Lambert, S., Scherer, C., Wagner, M., 2017. Ecotoxicity testing of microplastics: Considering the heterogeneity of physicochemical properties: Ecotoxicity Testing of Microplastics. *Integrated Environmental Assessment and Management* 13: 470-475. <https://doi.org/10.1002/ieam.1901>
- Lechner, A., Keckeis, H., Lumesberger-Loisl, F., Zens, B., Krusch, R., Tritthart, M., Glas, M., Schludermann, E., 2014. The Danube so colourful: A potpourri of plastic litter outnumbers fish larvae in Europe's second largest river. *Environmental Pollution* 188: 177-181. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.02.006>
- Lithner, D., Damberg, J., Dave, G. and Larsson, Å. 2009. Leachates from plastic consumer products—screening for toxicity with *Daphnia magna*. *Chemosphere* 74(9): 1195-1200. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.022>
- Murphy, F. and Quinn, B., 2018. The effects of microplastic on freshwater *Hydra attenuata* feeding, morphology & reproduction. *Environmental Pollution* 234: 487-494. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.029>
- Na, J., Song, J., Achar, J.C. and Jung, J., 2021. Synergistic effect of microplastic fragments and benzophenone-3 additives on lethal and sublethal *Daphnia magna* toxicity. *Journal of Hazardous Materials* 402, 123845. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123845>
- Neuparth, T., Capela, R., Pereira, S.P.P., Moreira, S.M., Santos, M.M., Reis-Henriques, M.A., 2014. Toxicity Effects of Hazardous and Noxious Substances (HNS) to Marine Organisms: Acute and Chronic Toxicity of p-Xylene to the Amphipod *Gammarus locusta*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 77: 1210-1221. <https://doi.org/10.1080/15287394.2014.921867>
- OECD, 2012. Test No. 211: *Daphnia magna* Reproduction Test.
- OECD, 2004. Test No. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test.
- Ogonowski, M., Schür, C., Jarsén, Å. and Gorokhova, E., 2016. The Effects of Natural and Anthropogenic Microparticles on Individual Fitness in *Daphnia magna*. *PLoS ONE* 11, e0155063. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155063>
- Pedà, C., Caccamo, L., Fossi, M.C., Gai, F., Andaloro, F., Genovese, L., Perdichizzi, A., Romeo, T., Maricchiolo, G., 2016. Intestinal alterations in European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) exposed to microplastics: Preliminary results. *Environmental Pollution* 212: 251-256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.083>
- PlsteisEurope, 2019. Plastics – the Facts 2019-An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data. <https://www.plasticseurope.org/application/>.
- Portugal, S.G.M., Osés, C.A.B., Thiago, M.G.R. and Branco, C.W.C., 2021. Uptake of Microplastics by a Tropical Freshwater Cladocera Revealed by Polyethylene Terephthalate Fluorescence. *Water, Air, & Soil Pollution* 232, 337. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05291-0>
- Raghavendrachar, P., Ramachandran, S., 1992. Liquid-phase catalytic oxidation of p-xylene. *Ind. Industrial & engineering chemistry research* 31: 453-462. <https://doi.org/10.1021/ie00002a001>
- UNEP, 2005. Marine litter, an analytical overview. United Nations Environment Programme, Nairobi.
- Sait, S.T., Sørensen, L., Kubowicz, S., Vike-Jonas, K., Gonzalez, S.V., Asimakopoulos, A.G. and Booth, A.M. 2021. Microplastic fibres from synthetic textiles: Environmental degradation and additive chemical content. *Environmental Pollution* 268: 115745.
- Van Cauwenberghe, L., Claessens, M., Vandegehuchte, M.B. and Janssen, C.R., 2015. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution* 199: 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.008>
- Wright, S.L., Thompson, R.C. and Galloway, T.S., 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environmental Pollution* 178: 483-492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>