Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety
Research Paper
Vol. 29, Special Issue, pp. 036-046, October 31, 2023, ISSN 1229-3431(Print) / ISSN 2287-3341(Online) https://doi.org/10.7837/kosomes.2023.29.s.036

해양산업시설 배출 위험·유해물질 중 아연(Zn)의 독성시험 기반 국내 해양 수질준거치 제안

석형주* · 김동건** · 최동일** · 김태원***† · 김영윤**** · 황철희***** · 최훈****** · 이문진*******
* 해양생태기술연구소 위해성평가실 선임연구원, ** 해양생태기술연구소 위해성평가실 주임연구원,
*** 해양생태기술연구소 위해성평가실 수석연구원, **** 해양생태기술연구소 R&D 총괄 본부 본부장,
***** 해양생태기술연구소 사업 총괄 본부 본부장, ****** 선박해양플랜트연구소 해양공공디지털연구본부 연구원,
******* 선박해양플랜트연구소 해양공공디지털연구본부 영년직연구원

Proposal for Toxicity Test-based Water Quality Criteria for Zinc as Hazardous and Noxious Substances (HNS) in Effluent from Marine Industrial Facilities in Korea

Hyeong Ju Seok* · Dong Geon Kim** · Dong Il Choe** · Tae Won Kim***† · Young Ryun Kim****
· Choul-Hee Hwang***** · Hoon Choi****** · Moonjin Lee*******
* Senior researcher, Risk Assessment Team, Marine Eco-technology Institute (MEI), Busan 48520, Korea
** Assistant researcher, Risk Assessment Team, Marine Eco-technology Institute (MEI), Busan 48520, Korea
*** Principal researcher, Risk Assessment Team, Marine Eco-technology Institute (MEI), Busan 48520, Korea
**** Director, Research and Development Headquarters, Marine Eco-technology Institute (MEI), Busan 48520, Korea
***** Director, Business Headquarters, Marine Eco-technology Institute (MEI), Busan 48520, Korea
****** Researcher, Ocean and Maritime Digital Technology Research Division, Korea Research Institute of Ships & Ocean Engineering (KRISO), Daejeon 34103, Korea
******* Tenured researcher, Ocean and Maritime Digital Technology Research Division, Korea Research Institute of Ships & Ocean Engineering (KRISO), Daejeon 34103, Korea

요 약 : 본 연구는 해양산업시설에서 배출되는 위험·유해물질(Hazardous and Noxious Substances) 중 아연을 대상으로 국내 서식종을 기반으로 한 독성시험을 수행하고, 그 결과를 활용하여 국내 실정에 맞는 아연의 해양 수질 준거치(Marine Water Quality Criteria)를 제안하였다. 시험생물은 국내 연근해에 분포하고 산업적으로 유용하며, 표준 시험방법이 존재하는 종을 우선으로 5개의 분류군(Algae, Rotifer, Crustacean, Mollusc, Fish)의 총 10종을 선정하여 독성시험을 수행하였으며, 급·만성비(Acute-Chronic Ratio) 산출을 위하여 무척추동물, 어류 분류군에 대한 만성독성시험을 수행하였다. 국내종 독성시험에서 산출된 독성값을 활용한 수질준거치는 US EPA의 CCC (Criterion Continuous Concentration) 산출 기준으로 9.56 ㎍/L, 호주/뉴질랜드의 산출 기준으로 15.50 ㎍/L 로 나타나 호주/뉴질랜드에서 권고하는 기준인 14.40 ㎍/L 와 유사하였다. US EPA 및 호주/뉴질랜드는 자국의 생태독성 데이터베이스(US EPA Ecotox Database, Australasian Ecotoxicology Database)를 보유하고, 신뢰도 높은 독성값들을 생성하여 수질 기준 및 산출 기준을 갱신하고 있다. 한편, 국내에서는 국내종 기반 급성 독성값을 적용하고 있지만, 중요한 산출 지표인 급·만성비는 US EPA 또는 유럽의 결과값을 활용하여 해양 수질 준거치를 산출하고 있으며, 국내의 생태독성 자료 또한 제한적인 실정이다. 따라서, 국내 해양 서식종을 기반으로 한 지속적인 독성시험과 준거치 설정 체계를 확보하여 국내 해양생물과 생태계를 보호할 수 있는 해양 수질 준거치 도출이 필요할 것으로 판단된다.

핵심용어 : 해양산업시설, 해양 수질준거치, 종민감도분포, 독성시험, 위험·유해물질

Abstract : *This study conducted toxicity tests on zinc, a hazardous and noxious substance (HNS) discharged from marine industrial facilities, based on domestic species in Korea, to propose marine water quality criteria for domestic conditions using the results. The test organisms were 10 economically useful species from five taxonomic groups (Algae, Rotifer, Crustacean, Mollusc, and Fish) that inhabit Korean coastal waters and have established testing methods. In addition, chronic toxicity tests were performed on invertebrates and fish to calculate the acute-chronic ratio (ACR) and final ACR (FACR) values. Toxicity values for the species were derived using the US Environmental Protection Agency (EPA)'s criterion continuous concentration (CCC)*

method and the Australia and New Zealand method (including the 2018 revision to the original 2000 method). Using the US EPA's CCC method and the revised Australia and New Zealand method, zinc concentrations of 9.56 µg/L and 15.50 µg/L were derived as water quality criteria for Korean marine species, respectively. The latter value is similar to the 14.40 µg/L zinc level recommended the coastal waters of Australia and New Zealand. The US EPA, Australia, and New Zealand maintain their own localized ecotoxicology databases (US EPA Ecotox Database and Australasian Ecotoxicology Database, respectively) and employ rigorous toxicity testing methods to update water quality criteria periodically. Acute toxicity values are being applied to domestic species. However, the ACR is derived using results from the US EPA or Europe to establish marine water quality criteria. Toxicity data for species native to the Korean coast is limited. Therefore, To establish marine water quality criteria that can protect regional marine organisms and ecosystems, it is crucial to establish continuous toxicity testing and a system for setting HNS level thresholds based on the sensitivities of local marine species.

Key Words : *Marine Industrial Facilities, Marine Water Quality Criteria, Species Sensitivity Distribution (SSD), Toxicity test, Hazardous and Noxious Substances (HNS)*

1. 서 론

위험·유해물질(HNS, Hazardous and Noxious Substances)은 인간의 건강과 해양생물 및 생태계에 해로운 물질이며, 해양의 안정성을 손상하거나 다른 정당한 바다 이용에 방해가 되는 물질로 정의된다(IMO, 2000). 또한, HNS 물질은 산업의 발달에 따라 지속적으로 늘어나고 있으며(Kim et al., 2019), 국제적으로 6,839개의 물질이 목록화되어있다. 국내에서는 해양환경관리법 선박오염방지규칙에 따라 799개의 유해액체물질을 지정하여 관리하고 있다(Choi et al., 2022).

국내 유해액체물질 중 아연은 산업적으로 활용되는 아연 화합물(Zinc alkenyl carboxamide, Zinc alkaryl dithiophosphate, Drilling brines (containing Zinc salts) 등)로 지정되어 있으나 화합물의 개별적인 독성영향을 평가하기 위한 표준물질이 부재하며, 국내외 수질기준에도 화합물이 아닌 단일 아연으로 표현하고 있으므로(US EPA, 1980), 본 연구에서는 단일 아연의 독성과 해양 수질 준거치만을 제안하고자 한다.

아연은 모든 영양단계에서 필수 미량 원소로, 수많은 단백질의 구조와 기능에 기본적인 역할을 수행하지만, 고농도의 아연은 해양생물의 성장 및 번식을 저해하고, 사망률을 증가시킬 수 있으며(Hogstrand, 2012), 무척추동물에게는 산소소비율을 억제하고 암모니아 배출을 방해하는 것으로 알려져 있다(Cheung and Cheung, 1995; Wu and Chen, 2004).

국외 해양 수질준거치 기준은 대표적으로 US EPA의 'National Recommended Aquatic Life Criteria'와 Species Sensitivity Distribution(SSD)를 기반으로 한 호주/뉴질랜드의 'The Guideline Values'가 있다. 미국 및 호주/뉴질랜드는 자국의 생태독성 데이터베이스를 구축하고 지속적으로 독성데이터를 생성하여 수질기준 및 산출기준을 업데이트하고 있다. 한편, 국내의 생태독성 자료는 매우 제한적이며, 해양 수질기준 체계 또한 미흡하다. 국내 해양환경기준(해양환경관리법 제8조)에서는 국내종 독성자료를 활용하여 해양환경기준을 설정했지만, 중요한 수질기준 산출 지표인 최종 급·만성비(Final Acute-Chronic Ratio)는 US EPA이나 유럽의 기준을 활용하여(MOF, 2015) 국내 해양생태계를 완전히 대표할 수 있는 준거치로는 불완전하다. 따라서, 본 연구에서는 주요 선진국들의 수질준거치 설정기준을 충족할 수 있는 기준을 적용하여, 국내 상황에 적합한 아연의 해양 수질 준거치를 제안하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 시험물질

아연은 비교, 검증이 가능한 국외 수질기준 및 독성자료가 다수 존재하며, 국내 해양산업시설 배출수에서 높은 출현빈도를 나타내는 물질이다(KRISO, 2021). 아연 독성시험은 용해 가능한 무기염 형태(Zinc sulfate, Zinc chloride 등)를 기반으로 한 이온상 아연(Zn^{2+})을 환산하여 독성값을 산출하는 방법이 주를 이루고 있으나(EPA, 1980), 본 연구에서는 화합물의 고유독성, 용해도 등의 불확실성을 최소화하기 위해 질산에 용해된 아연 표준용액(Sigma-Aldrich, Merck, Germany)을 고농도의 Stock solution으로 제조하여 시험에 이용하였다. 대조구 및 희석수로 사용된 인공해수는 ISO(2016)에 따라 22 NaCl, 9.7 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 3.7 Na_2SO_4, 1.0 $CaCl_2$, 0.65 KCl, 0.20 $NaHCO_3$, 0.023 H_3BO_3 (all in g/L)를 초순수 증류수에 용해하여 제조하였다. 각 시험의 농도 범위는 Range finding test 및 ECOTOX database (US EPA)의 검토를 통해 적절한 범위를 탐색한 후, 희석비율(Dilution factor) 0.5 수준에서(US EPA, 2002) 시험농도를 최종 설정하였다.

* First Author : hjseok@marine-eco.co.kr, 051-611-4275
† Corresponding Author : twkim@marine-eco.co.kr, 051-611-4271

Table 1. Taxonomy, endpoints, and major test acceptability of 10 marine species to the Korean coast

Test organism			End point		Major test acceptability (Standard methods)
[1]Taxonomy	Scientific name	Species Family	Acute	Chronic	
Algae	*Skeletonema* sp.	Skeletonemataceae	-	72 h-NOEC	- Specific growth rate: > 0.9/day - The variation coefficient of the specific growth rates: < 7% (ISO 10253:2016, ASTM E1218-21:2021)
	Dunaliella tertiolecta	Dunaliellaceae	-	72 h-NOEC	
Rotifer	*Brachionus plicatilis*	Brachionidae	24 h-LC_{50}	7 d-NOEC	- Survival rates : ≥ 90% (ASTM1440-91:2012)
Crustacean	*Monocorophium acherusicum*	Corophiidae	96 h-LC_{50}	-	- Survival rates : ≥ 90% ([2]MOF, 2021a)
	Tigriopus japonicus	Harpacticidae	48 h-LC_{50}	-	- Survival rates : ≥ 90% (ISO 14669)
Mollusc	*Crassostrea gigas*	Ostreidae	30 h-LC_{50}	-	- Developmental stage of D-shaped: ≥ 80% ([3]MOF, 2021b)
	Strongylocentrotus nudus	Strongylocentrotidae	48 h-LC_{50}	-	- Normal larva development rates: ≥ 80% (MOF, 2021b)
Fish	*Pagrus major*	Sparidae	96 h-LC_{50}	7 d-NOEC	- Survival rates (Acute): ≥ 80% - Survival rates (Chronic): ≥ 60% (OEDC212:1998)
	Oplegnathus fasciatus	Oplegnathidae	96 h-LC_{50}	7 d-NOEC	
	Paralichthys olivaceus	Paralichthyidae	96 h-LC_{50}	7 d-NOEC	

[1]*Generally taxonomic groups (Warne, 2001)*
[2]*Korean Standard Method for Marine Wastes (MOF, 2021a)*
[3]*Korean Standard Method for Marine Organisms (MOF, 2021b)*

2.2 독성시험

독성 시험종은 국내 연근해에 분포하며, 상업적으로 유용하고, 표준시험방법이 존재하는 종을 우선하였으며, US EPA 및 호주/뉴질랜드 수질준거치 산출 기준(Stephen et al., 1985; Warne et al., 2018)에 모두 부합하는 8개 과(Family)에 속하는 5개의 분류군(Algae, Rotifer, Crustacean, Mollusc, Fish)의 총 10종을 선정하였다(Table 1).

식물플랑크톤은 *Skeletonema* sp.(해산 규조류), *Dunaliella tertiolecta*(해산 녹조류)를 선정하였으며, 무척추동물(Rotifer, Crustacean, Mollusc) 분류군은 *Brachionus plicatilis*(해산 로티퍼), *Monocorophium acherusicum*(저서성 단각류), *Tigriopus japonicus*(저서성 요각류), *Crassostrea gigas*(참굴), *Strongylocentrotus nudus*(둥근성게)를 선정하였고, 어류는 상업적으로 유용하며, 인공 종묘생산이 가능한 *Pagrus major*(참돔), *Paralichthys olivaceus*(넙치), *Oplegnathus fasciatus*(돌돔)을 선정하였다. 독성시험은 ASTM, ISO, OECD의 표준 시험방법을 참고하여 수행하였으며, 분류군별 급·만성비 산출을 위해, 무척추동물 1종(*B. plicatilis*), 어류 2종(*P. olivaceus*, *P. major*)의 만성 독성시험을 수행하였다. 분류군 중 Algae는 US EPA 급·만성비 산출 기준에 포함되지 않으며(Stephen et al., 1985), 24시간 이상의 시험은 모두 만성으로 간주하고 있으므로(Warne et al., 2018), Algae 분류군의 급·만성비 산출은 고려하지 않았다.

본 연구에서 수행한 독성시험은 시험표준에서 제시하는 대조구의 유효기준을 모두 만족하였으며, 구체적인 독성시험 방법은 Seok et al.(2022)에 설명된 2. 재료 및 방법을 참고하여 수행하였다.

2.2.1 식물플랑크톤 성장저해시험

식물플랑크톤 2종(*Skeletonema* sp. *Dunaliella tertiolecta*)은 해양생태계의 기초생산자로서 국내 하구 및 연안에 널리 분포하는 대표적인 독성시험 종이다. CCAP(Culture Collection of Algae & Protozoa, UK)에서 분양받은 세포를 시험 2~4주 동안 계대배양 후 시험에 사용하였다. 독성시험 표준인 ISO 10253(2016), ASTM E1218-21(2021)을 참고하여 72시간 동안의 성장률을 측정하였으며, 초기 세포 접종밀도는 표준에서 권장하는 접종밀도인 약 5,000 cells/mL가 되도록 하였다. 세포밀도의 측정은 24시간마다 1 mL씩 추출하여 Sedgewick-Rafter chamber(Marienfeld superior, Germany)를 이용하여 현미경(CKX 31, Olympus, Japan) 하에서 관찰하였다.

2.2.2 무척추동물 독성시험

*T. japonicus*는 NeoenBiz(Korea)에서 분양받아 48시간 동안 유생의 생존율을 측정하였으며, *B. plicatilis*는 로티퍼 cyst(MicroBioTests Inc., Belgium) 이용하였고, 24시간 동안 생존율

Table 2. Methods for deriving marine water quality criteria by the US EPA and by ANZECC for Australia and New Zealand

US EPA (Stephen et al., 1985)	$S^2 = \frac{\sum(\ln GMAV)^2 - \left\{\frac{\left(\sum \ln GMAV\right)^2}{4}\right\}}{\sum(P) - \left\{\left(\sum\sqrt{P}\right)^2\right\}/4}$ (1) $L = \left\{\sum(\ln\ GMAV) - S\sum\sqrt{P}\ \right\}/4$ (2) $A = s\sqrt{0.05} + L$ (3) $FAV = e^A$ (4) CCC (Criterion Continuous Concentration) = $\frac{FAV}{FACR^1} \times Conversion\ Factors^2$ CMC (Criterion Maximum Concentration) = $\frac{FAV}{2} \times Conversion\ Factors$
[8]ANZECC (ANZECC and ARMCANZ, 2000)	High reliability trigger value: $Chronic\,(NOEC) - HC_5$ Moderate reliability trigger value: $\frac{Acute\,(L(E)C_{50}) - HC_5}{FACR \text{ or } AF(10)}$ [3]Low reliability trigger value: $\frac{^4L(E)C_{50} \text{ or } NOEC}{AF(10)}$
ANZECC (Warne et al., 2018)	Very high guideline values : Chronic and [5]Converted chronic - HC_5 [6](≥15) High guideline values : Chronic and Converted chronic - HC_5 (8-14) Moderate guideline values : Mixed Chronic and [7]Converted acute - HC_5 (≥8) Low guideline values : Converted acute - HC_5 (5-7)

[1]*Final Acute-Chronic Ratio*
[2]*Applicable only to metals (Kinerson et al., 1996)*
[3]*Insufficient data to meet the minimum data requirements of the species sensitivity distribution (SSD) method (ANZECC, 1992)*
[4]*Lowest single-species toxicity data*
[5]*Chronic lethal concentration (LC)/inhibitory concentration (IC)/effective concentration (EC)$_{50}$ data were converted to chronic EC$_{10}$ values by dividing by 5, 2.5, and 2*
[6]*Sample size*
[7]*Conversion of an acute LC/EC/IC$_{50}$ value to a chronic EC$_{10}$ value requires division by a ACR or, assessment factor of 10*
[8]*Australian and New Zealand Environment and Conservation Council*

(급성시험), 7일 동안 생존율(만성시험)을 측정하였다. *C. gigas, S. nudus*는 자연에서 채취하여 종 동정 후, 수정란을 사용하여 30시간, 48시간 동안 유생 및 수정란의 생존율을 현미경하에서 측정하였다.

2.2.3 어류 독성시험

국내 어류종의 독성시험 표준이 부재하여, OECD 212(1998)의 시험방법 및 유효기준을 참고하여 시험을 수행하였다. 급성시험은 96시간 동안 수정란의 생존율, 만성시험은 7일 동안 수정란과 자어의 생존율을 측정하였다.

2.3 시험농도분석

시험용액 제조에 사용된 최고 농도의 Stock solution을 분석하여 독성 결과값 산출에 적용하였다. 시료를 0.45 ㎛ filter로 여과 후 seaFAST 장치로 전처리하였으며, 전처리된 시료를 유도결합플라즈마 질량분석기(ICP-MS: NexIon 2000, PerkinElmer)를 이용하여 측정 후 농도를 산출하였다.

2.4 통계분석

2.4.1 Toxic value

급성 독성시험의 결과값은 점추정(Point Estimation)을 통하여 EC_{50} (50% Effect Concentration) 또는 LC_{50} (50% Lethal Concentration)을 산출하였고, 만성 독성시험의 결과값은 정규성 검정(Shapiro Wilk's test), 분산의 동질성 평가(F-test) 후 유의수준 5%에서 분석하여 NOEC (No Observed Effect Concentration)를 산출하였다. 독성값 산출을 위한 모든 통계분석은 TOXCALC 5.0 program (Tidepool scientific software, USA)을 사용하였다.

2.4.2 Hazardous Concentration 5% (HC_5)

종민감도분포(Species Sensitivity Distribution, SSD)와 생물종의 95%를 보호할 수 있는 추정값인 HC_5 (Hazardous Concentration of 5%)을 산출하였다. 자료의 정규성 검정은 Anderson-Darling, Kolmogorov-Smirnov, Cramer-von Mises test를 따랐으며, 모델의 적합도는 Akaike's Information Criterion corrected for sample size (aicc)로 평가하였다. 모든 통계분석은 The R package ssdtools를 활용하였다(Thorley and Schwarz, 2018).

2.5 해양 수질준거치 산출

2.5.1 US EPA method

US EPA는 해양생태계 보호를 위한 국가 수질 준거치를 제시하고 있으며, 장기간 해양생태계에 노출되어도 유해한 영향을 미치지 않을 최대 농도인 CCC (Criterion Continuous Concentration)는 최종 만성값(Final Chronic Value, FCV), 식물플랑크톤 최저 독성값, 생물축적성 및 생물학적 중요값(Lowest biologically important Value)을 비교하여 가장 낮은 값을 적용한다.

FCV의 산출은 만성값을 적용하여 2로 나누거나, 최종 급성값(Final acute value, FAV)을 최종 급·만성비(Final acute chronic ratio, FACR)로 나누어 산출하며(Stephen et al., 1985), 중금속류의 해양 수질 준거치는 Conversion Factors (CF)를 적용하여 농도 보정을 하고 있다(Kinerson et al., 1996).

본 연구는 식물플랑크톤 독성값과 호주/뉴질랜드의 만성자료를 제외하고, FAV, FACR, CF를 적용하여 아연의 해양 수질준거치를 산출하였다(Table 2).

2.5.2 호주/뉴질랜드 method

호주/뉴질랜드에서는 종민감도분포와 HC_5를 활용하여 해양 수질 준거치를 제시하고 있다. 이전 가이드라인에서는 급성 HC_5값을 FACR로 나누어 중신뢰도 수준의 준거치를 산출했었으나(ANZECC and ARMCANZ, 2000), 현재 개정된 가이드라인에서는 각 급성값을 급·만성비(ACR) 또는 10으로 나누어 변환된 급성값(Converted acute value)으로 HC_5를 산출하고 있다(Warne et al., 2018).

본 연구에서는 국내종 10종의 결과값과 US EPA 및 호주/뉴질랜드에서 사용된 자료를 활용하였다. Acute-HC_5/FACR 산출에는 호주/뉴질랜드 만성자료를 제외하였고, Converted Acute-HC_5 산출에 사용된 US EPA 자료는 US EPA에서 제시하고 있는 FACR (2.208)을 적용하여 변환된 급성값으로 적용하였다(Table 2).

3. 결과 및 고찰

3.1 독성시험

국내종 10종을 대상으로 수행한 급·만성 독성시험 결과, *C. gigas*가 가장 민감한 영향을 나타냈다. *C. gigas*의 EC_{50}은 138 μg/L이며, ACR을 적용한 변환 급성값인 EC_{10}은 24 μg/L이다. 호주/뉴질랜드의 선행연구에서 Chronic-Converted 독성값인 24 μg/L (Warne et al., 2018)은 본 연구에서 산출한 변환 급성값과 동일하였다. 호주/뉴질랜드에선 무척추동물의 배아(Embryo) 단계를 평가하는 독성시험의 경우, 48시간 이상을 만성시험으로 분류하고 있으나, US EPA에선 일반적으로 7일 이상을 만성으로 구분하고 있다(Warne et al., 2018; Stephen et al., 1985). 본 연구에서는 *C. gigas*와 *S. nudus*가 민감한 생애 단계로 평가되지만 시험 기간이 매우 짧으므로 급성으로 구분하여 급성 변환값을 적용하였다.

Table 3. Acute and chronic zinc toxicity values for Korean marine species obtained in this study

Test organism	L(E)C_{50} (Acute)	NOEC (Chronic)	L(E)C_{10} ([1]Converted Acute)
	Concentration (μg/L)		
Skeletonema sp.	-	430	-
Dunaliella tertiolecta	-	1,720	-
Brachionus plicatilis	344	60	-
Monocorophium acherusicum	1,115	-	196
Tigriopus japonicus	661	-	116
Crassostrea gigas	138	-	24
Strongylocentrotus nudus	170	-	29.7
Pagrus major	5,902	1,140	-
Oplegnathus fasciatus	9,032	-	1,342
Paralichthys olivaceus	2,534	290	-

[1]*The Acute-Chronic Ratio (ACR) was applied to the taxonomic groups of invertebrates and fish in this study.*

Table 4. Acute toxicity data used in the US EPA-recommended marine aquatic life criteria for zinc (US EPA, 1987)

[1]Taxonomy	Scientific name	[2]GMAV (㎍/L)	[3]Toxicity value (㎍/L)
Annelid	*Nereis diversicolor*	8,856	9,682
	Nerels virens		8,100
	Capitelia capitata	2,439	2,439
	Ophryotrocha diadema	1,400	1,400
	Neanthes arenaceodentata	1,273	1,273
	Ctenodrilus worm	7,100	7,100
Echinoderm	*Asterlas forbesil*	39,000	39,000
Mollusc	*Mytilus edulis*	3,934	3,934
	Nassarius obsoletus	50,000	50,000
	Mya arenaria	6,328	6,328
	Loligo opalescens	>1,920	>1,920
	Crassostrea gigas	247.5	233.3
	Crassostrea virginica		262.5
	Mercenaria mercenaria	195	195
Crustacean	*Corophium volutator*	4,683	4,683
	Eurytemora affinis	4,074	4,074
	Nitokra spinipes	1,450	1,450
	Carcinus maenas	1,000	1,000
	Acartia Ciausi	665.9	1,507
	Acartia tonsa		294.2
	Cancer magister	586.1	586.1
	Mysidopsis bahia	543.2	499
	Mysidopsis bigelowi		591.3
	Pagurus longicarpus	400	400
	Homarus americanus	380.5	380.5
Fish	*Leiostomus xanthurus*	38,000	38,000
	Fundulus heteroclitus	36,630	36,630
	Pseudopleuronectes americanus	9,467	9,467
	Menidia menidia	4,514	3,640
	Menidia peninsulae		5,600
	Morone saxatilis	430	430
	Scorpaenichthys marmoratus	191.4	191.4

[1]Generally taxonomic groups are phyla (Warne, 2001)
[2]Genus Mean Acute Value (GMAV)
[3]The end point and duration were not ascertainable

Table 5. Chronic toxicity data used in the default guideline values for zinc in the marine waters of Australia and New Zealand (ANZG, 2021)

[1]Taxonomy	Scientific name	End point	Duration (d)	[2]Toxicity value (㎍/L)
Algae	*Entomoneis punctulata*	EC_{50}	2	153
	Ceratoneis closterium	IC_{10}	3	84
	Dunaliella tertiolecta	EC_{50}	3	54
	Ulva fasciata	NOEC	4	143
	Macrocystis pyrifera	NOEC	16	1,070
Annelid	*Hydroides elegans*	EC_{50}	4	24
Anemone	*Aiptasia pulchella*	EC_{10}	28	9
Crustacean	*Allorchestes compressa*	LC_{10}	28	62
	Callianassa australiensis	EC_{50}	14	230
Mollusc	*Crassostrea gigas*	EC_{50}	2	24
	Haliotis diversicolor	NOEC	28	64
	Mimachlamys asperrima	NOEC	2	5
	Mytilus edulis	EC_{50}	2	35
	Mytilus galloprovincialis	EC_{50}	2	36
	Mytilus trossulus	EC_{20}	2	64
	Saccostrea glomerata	LC_{50}	14	2,080

[1]Generally taxonomic groups are phyla (Warne, 2001)
[2]Values were chronic LC/EC_{50} values that were converted to chronic $NOEC/EC_{10}$ values by dividing by 5 (Warne et al., 2018).

식물플랑크톤 분류군인 *Skeletonema* sp., *D. tertiolecta*의 NOEC는 각각 430 및 1,720 ㎍/L로 나타났으며, *Skeletonema* sp.의 선행 연구결과에 따르면 10~14일간 EC_{50} 값은 175.6~192 ㎍/L (Braek et al., 1976) 범위로 나타났다. 또한, 타 연구에서 *D. tertiolecta*의 3일간의 EC_{50}값은 13,000 ㎍/L 이었으며(Fisher et al., 1984), 호주/뉴질랜드 자료에서는 3일간의 EC_{50}값이 270 ㎍/L로 나타나 본 연구와 선행연구 간의 차이가 나타났다. 이는 동일한 시험종 과 시험기간을 사용하였지만, 시험방법, 시험표준, 품질관리 등의 영향으로 인해 독성값의 차이가 나타날 수 있으며, 식물플랑크톤 독성시험에는 많은 영양배지와 아연과 결합할 수 있는 이온들이 풍부하기 때문에 혼합물 형성에 따른 민감도 저하나 상승이 하나의 요인으로 작용했을 것으로 판단된다. 또한, 이러한 불확실성을 줄이고자 US EPA에서는 매월 민감도 분석 결과를 통해 시험의 반복성과 종의 민감도를 관리하도록 요구하고 있으며(US EPA, 2002), 호주/뉴질랜드는 독성자료의 품질을 평가하는 18가지의 항목(시험 농도분석, 수질 측정 유무, Reference toxicant

test 수행 유무 등)을 점수화하여 준거치 산출에 활용하고 있다(Zhang et al., 2015). 따라서, 국내에도 이를 통해 독성시험의 품질체계를 갖추는 것이 필요할 것으로 판단된다.

무척추동물 급성독성시험에서 $L(E)_{50}$값은 138~1,115 ㎍/L로 나타났으며, *C. gigas*에서 독성영향이 가장 높았고, *M. acherusicum*에서 가장 낮았다. *T. japonicus*의 LC_{50}값은 661 ㎍/L이며, 동일한 요각류인 Acartia 속의 선행연구 결과에서는 기하평균 LC_{50}값이 665.9 ㎍/L로 나타나 본 연구의 결과와 매우 유사하였다(US EPA, 1987). *M. acherusicum*의 LC_{50}값은 1,115 ㎍/L이며, 동일한 단각류인 *Ampelisca abdita*의 선행연구 결과에서는 LC_{50}값이 343 ㎍/L로 나타났다(Berry et al., 1996).

어류 3종의 급성독성시험에서 $L(E)_{50}$ 값은 2,534~9,032 ㎍/L로 나타났으며, *P. olivaceus* 에서는 LC_{50} 값이 2,534 ㎍/L로 가장 민감한 반응을 보였다. 선행 연구결과에서 동일 종의 LC_{50}값이 6,700 ㎍/L로 나타났으며(Wu et al., 1990), 가자미과인 *Pseudopleuronectes americanus*의 LC_{50} 값은 9,467 ㎍/L로 나타나(US EPA, 1987) 본 연구의 결과와 큰 차이를 보였다. 넙치, 가자미 계통의 어류는 시험실 환경에서의 지속적인 유지 및 품질관리가 어려운 것으로 알려져 있다. 또한, 독성시험 표준화가 이루어지지 않았고, 대조구의 기준도 명확하지 않다는 점을 고려해야 한다. 이러한 요인들로 인해 동일종 및 유사종간의 시험결과에서 변동성이 큰 것으로 판단된다.

ACR 도출을 위해 무척추동물 1종, 어류 2종의 만성시험을 수행하였다. *B. plicatilis, P. major, P, olivaceus*의 7일간 NOEC 값은 60, 1,140, 290 ㎍/L로 각각 나타났다. 이 결과값을 적용한 무척추동물의 ACR은 5.73, 어류의 ACR은 6.72로 산출되었으며, 이 3종의 NOEC를 기하평균한 FACR은 6.37이다. US EPA에서는 담수 9종과 해수 1종에 대한 급만성비의 기하평균값으로2.208을 FACR로 사용하고 있으며, 호주/뉴질랜드는 자국종을 대상으로 한 만성값만을 선택하여 ACR을 적용하지 않고 있다(Table 3-5).

3.2 시험 농도분석

시험용액 제조에 사용된 최고 농도의 Stock solution은 농도분석 결과 18.3 mg/L로 측정되었으며, 이 실측농도(Measured concentration)를 독성값 산출에 적용하였다. 중금속류는 휘발성이 매우 낮으며, 시험용액에 대부분 이온화되는 것으로 가정하여 명목상 농도(Nominal concentration)를 기준으로 독성값과 준거치를 산출하는 경우가 일반적이다(Maycock et al., 2012). 그러나, 아연은 시험용기의 표면, 희석용액, 시험환경 등에 흔히 발견되어 시험용액에 농축되며(ANZG, 2021), 본 시험에서는 pH 조절에 따른 비이온화된 농도를 고려하기 위해 실측농도를 적용하고자 최고 농도의 Stock solution을 분석하여 독성값 산출에 사용하였다.

모든 시험농도의 화학분석에는 경제적, 시간적 어려움이 존재하며 무척추동물 독성시험의 경우 시험농도와 시험물질의 양이 매우 미량으로 시험농도 분석에 한계가 있다. 그러나, 정밀한 독성값을 도출하기 위해서는 최고 농도의 Stock solution 분석이 기본적으로 필요하며, 휘발성이 높은 계열의 물질(VOCs 등) 일수록 분석의 한계점에도 불구하고, 각 시험별 시작과 종료시의 농도 분석이 필수적으로 수행되어야 할 것으로 판단된다.

Table 6. Marine water quality criteria for zinc set by the US EPA and by Australia and New Zealand (latest revision and prior version shown)

US EPA				Australia and New Zealand	
Concentration (㎍/L)					
[1]Prior vision		[2]Latest revision		[3]Prior vision	[4]Latest revision
CMC	CCC	CMC	CCC		
86.5	57.7	90	81	14.4	8.0

[1]US EPA, 1980 [2]US EPA, 1987 [3]ANZECC and ARMCANZ, 2000 *[4]ANZG, 2021*

3.3 해양 수질준거치

US EPA 기준 준거치 설정 항목 중 생물축적성은 아연의 경우 해양생물의 생체 축적 가능성이 낮고, 생체 필수요소로 고려되기 때문에 적용하지 않았으며(EC, 2008), 본 연구에서 제시하는 독성값 외에 고려해야 될 생물학적 중요값은 확인할 수 없었다. 따라서, FCV와 식물플랑크톤 결과값을 비교한 결과, FCV에서 보다 낮은값이 도출되어 FCV를 CCC로 적용하였다.

FCV는 식물플랑크톤을 제외한 국내종 8종의 급성 독성값과 국내종 FACR (6.38) 및 Conversion Factor (0.946)를 적용하여 산출한 결과, 30.47 ㎍/L (CMC), 9.56 ㎍/L (CCC)로 각각 나타났다. Conversion Factor는 일반적으로 사용되는 총 회수 농도(total recoverable concentration)가 아닌 해수에서 입자상 흡착 또는 결합된 비율을 고려하여 실제 용해된 농도(Dissolved concentration)를 반영하기 위해 적용한다(Kinerson et al., 1996). 국내종 준거치 결과와 US EPA에서 활용한 데이터를 포함하여 산출한 결과를 비교하면, 68.36 ㎍/L (CMC), 21.43 ㎍/L (CCC)로 나타나 국내종 준거치 결과와 차이가 크게 나타났다. US EPA의 준거치 산출 방법은 최민감값 4개와 누적분포(P, Cumulative probability)에 따라 결정되므로(Table 2), 자료수의 증가가 준거치에 미치는 영향이 매우 크다. 따라서, 독성값의 차이뿐만 아니라 자료 수의 차이(국내종: 8, 총 자료:

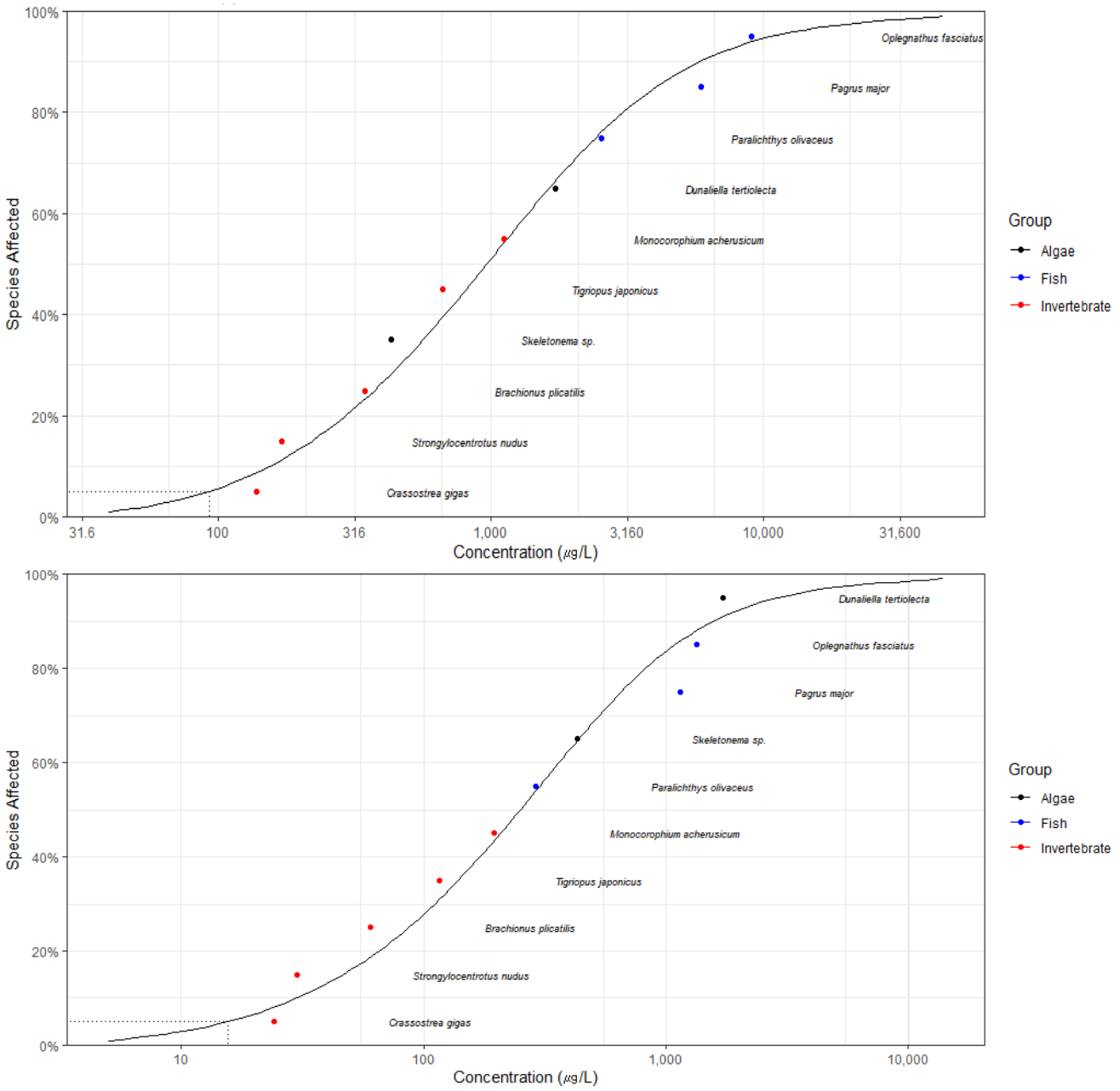

Fig. 1. Species-sensitivity distributions (SSDs) of 10 species native to Korean coastal waters from which HC_5 (Hazardous concentration for 5% of species) values were derived. SSD for derivation of Acute-HC_5 value for zinc (top). Corresponding SSD for Chronic/Converted Acute-HC_5 for zinc (bottom) (Best approaches: Log-normal and log-Gumbel).

36)로 인해 국내종 준거치 결과가 상대적으로 보수적인 결과가 나타난 것으로 판단된다. US EPA에서 권고하는 준거치인 90 μg/L (CMC), 81 μg/L (CCC)와 비교했을 때, 비교적 더 큰 차이를 나타냈으며, FACR (국내종: 6.72, US EPA: 2.208)의 차이가 추가적인 요인으로 작용한 것으로 판단된다(Table 6).

호주/뉴질랜드에서 활용하는 준거치 산출방법(SSD, HC_5)으로 국내종 10종 독성값과 ACR을 적용하여 산출한 결과, 14.49 μg/L (Acute-HC_5/FACR), 15.50 μg/L (Converted Acute-HC_5)로 각각 나타났으며, US EPA와 호주/뉴질랜드 자료를 포함하여 산출한 결과, 24.78 μg/L (Acute-HC_5/FACR), 13.70 μg/L (Converted Acute-HC_5)로 나타났다. 호주/뉴질랜드에서 권고하는 준거치는 14.4 μg/L (개정전), 8.0 μg/L (개정후)이며, 개정전

Table 7. Korean marine water quality criteria derived in this study using US EPA and ANZECC methodologies

	US EPA method		ANZECC (Australia and New Zealand) method	
	CMC	CCC	Acute-HC_5 / FACR	Converted Acute-HC_5
[1]This study (μg/L)	30.47	9.56	14.49	15.50
[2]All data (μg/L)	68.36	21.43	24.78	13.70

[1]Toxicity values for 10 Korean marine species assessed in this study.
[2]Toxicity data from the US EPA (Table 3), Australia and New Zealand (Table 4), and this study (Table 5) were included in the analysis. All chronic toxicity data from Australia and New Zealand were excluded from the US EPA and Acute-HC_5/FACR methods.

권고기준과 국내종 준거치 산출 결과가 매우 유사하게 나타났다. 국내종의 빈약한 독성자료를 고려 했을 때, 확률분포곡선 및 HC_5 적용한 호주/뉴질랜드 준거치 산출방법이 보다 합리적이고 활용 가능할 것으로 판단된다. 또한, 독성자료가 부족할 경우에는 국내종과 동일하거나 유사한 속(Genus, subgenus), 과(Family, Subfamily)를 가진 국외종을 사용하여 기하평균(G(F)MAV, (Genus (Family) Mean Acute Value)을 활용하는 대안적 방법도 적용 가능할 것으로 판단된다(Table 7; Fig. 1). 또한, 국내 해양환경기준에는 아연의 단기기준(34 μg/L), 장기기준(11 μg/L)이 제시되어 있으며, 본 연구와 비교 하였을 때, EPA 기준으로 산출한 CMC (30.47 μg/L), CCC (9.56 μg/L)와 유사하게 나타났다. 현재의 국내 해양환경기준은 국내종 급성독성값을 이용하여 호주/뉴질랜드 개정전 방법으로 설정되어 있음으로, 본 연구에서는 호주/뉴질랜드의 최신 기준과 EPA 기준을 적용하여 해양환경기준의 개정 방향 또한 함께 제시하였다.

4. 결 론

본 연구는 국내에 서식하는 해양생물 10종을 선정하여 아연의 독성시험을 수행하였다. 독성시험 결과, 무척추동물의 *C. gigas*에서 EC_{50}값이 138 μg/L로 나타나 가장 민감한 반응을 보였다. 시험결과는 동일종 및 유사종의 선행연구 결과와 비교하였으며, 선진국의 해양 수질준거치 산출 방법을 적용하여 국내 실정에 맞는 해양 수질 준거치를 제안하였다.

호주/뉴질랜드의 준거치 산출방법을 적용한 국내종 결과값과 호주/뉴질랜드 권고치가 가장 유사하였으며, 준거치 산출을 위한 독성자료가 충분하지 못할 경우 SSD 및 HC_5를 활용한 산출 방법이 적합할 것으로 판단된다. 산출된 국내종 수질준거치는 선진국의 준거치 산출을 위한 최소 독성자료 필요조건은 만족했으나, US EPA, 호주/뉴질랜드에서 사용한 독성자료와 비교했을 때 제한적이며, 불확실성이 높다. 따라서, 국내 독성시험종의 개발, 자료 구축 및 생산이 우선적으로 요구되며, 국내종 독성자료를 공유하고, 관리할 수 있는 체계가 필요하다. 또한, 국내 해양 준거치 산출을 위한 독성자료의 지속적인 생산이 필요하며, 이를 위해 선진국의 방법론을 활용하여 국내 해양에 적합한 절차를 마련하고 개선해 나가야 할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2023년도 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구이다(20210660, 해양위험유해물질(HNS) 배출 등 관리기술 개발사업, 해양산업시설 배출 위험유해물질 영향평가 및 관리기술 개발).

References

[1] ANZECC and ARMCANZ(2000), Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality, Australian and New Zealand Environment and Conservation Council and Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand, Canberra, pp. 1-314.

[2] ANZG(2021), Toxicant default guideline values for aquatic ecosystem protection: Zinc in marine water. Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality. CC BY 4.0. Australian and New Zealand Governments and Australian state and territory governments, Canberra, p. 26.

[3] ASTM(2012), Standard Guide for Acute Toxicity Test with the Rotifer *Brachionus*, American Society for Testing and Materials, 1440-91(E), p. 8.

[4] ASTM(2021), Standard Guide for Conducting Static Toxicity Tests with Microalgae, American Society for Testing and Materials, 1218-21(E), p. 14.

[5] Berry, W. J., D. J. Hansen, W. S. Boothman, J. D. Mahony, D. L. Robson, D. M. Di Toro, B. P. Shipley, B. Rogers, and J. M. Corbin(1996), Predicting the toxicity of metal spiked laboratory sediments using acid volatile sulfide and

interstitial water normalizations, Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 15(12), pp. 2067-2079.

[6] Braek., G. S., A. Jensen, and A. Mohus(1976), Heavy metal tolerance of marine phytoplankton. Combined effects of copper and zinc ions on cultures of four common species. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 25, pp. 37-50

[7] Choi, H., W. S. Kang, T. W. Kim, and M. J. Lee(2022), Proposed Water Quality Criteria based on the Risk Assessment for the Hazardous and Noxious Substances in effluent from Marine industrial facilities, Journal of the Korean Society for Marine Environment & Energy, 25(4), pp. 270-278.

[8] Cheung, S. G. and R. Y. Cheung(1995), Effects of heavy metals on oxygen consumption and ammonia excretion in green-lipped mussels (*Perna viridis*), Marine Pollution Bulletin, 31(4-12), pp. 381-386.

[9] EC(2008), European Union Risk Assessment Report: Nickel and Nickel Compounds, European Commission, p. 1715.

[10] Fisher, N. S., M. Bohe, and J. L. Teussie(1984), Accumulation and toxicity of Cd, Zn, Ag and Hg in four marine phytoplankters, Mar. Ecol. Prog. Ser., 18, pp. 201-213.

[11] Hogstrand, C.(2012), Homeostasis and toxicology of essential metals-Zinc, 3, Fish Physiology. Elsevier Inc, Academic Press, p. 135-200.

[12] IMO(2002), Response and Co-operation to Pollution Incidents by Hazardous and Noxious Substances, Protocol on Preparedness, p. 12.

[13] ISO(2016), Water quality - Marine algal growth inhibition test with Skeletonema sp. and *Phaeodactylum tricornutum*, Geneva Switzerland, ISO10253, p. 19.

[14] Kinerson, R. S., J. S. Mattice, and J. F. Stine(1996), The metals translator: Guidance for calculating a total recoverable permit limit from a dissolved criterion. Draft, US Environmental Protection Agency, Exposure Assessment Branch, Standards and Applied Science Division (4305), Washington, DC, p. 60.

[15] Kim, Y. R., M. Lee, J. Y. Jung, T. W. Kim, and D. Kim (2019), Initial environmental risk assessment of hazardous and noxious substances (HNS) spill accidents to mitigate its damages, Marine pollution bulletin, 139, pp. 205-213.

[16] KRISO(2021), A Study on the Distribution Characteristics of HNS Substances in the Sea Area around Marine Industrial Facilities, Korea Research Institute of Ships and Ocean Engineering, p. 253.

[17] Maycock, D., A. Peters, G. Merrington, and M. Crane(2012), Proposed EQS for Water Framework Directive Annex VIII substances: zinc (for consultation). Environment Agency Science Project Number: SC080021/8, Water Framework Directive - United Kingdom Technical Advisory Group (WFD-UKTAG), Edinburgh, Scotland, p. 178

[18] MOF(Ministry of Oceans and Fisheries)(2015), White Paper on Marine Environment Standards, p. 128.

[19] MOF(Ministry of Oceans and Fisheries)(2021a), Korean Standard Method for Marine Environment, Korean Standard Method for marine wastes, National Institute of Fisheries Science, 2021-7, 20210715, p. 102.

[20] MOF(Ministry of Oceans and Fisheries)(2021b), Korean Standard Method for Marine Environment, Korean Standard Method for marine organisms, National Institute of Fisheries Science, 2021-6, 20210518, p. 188.

[21] OECD(1998), Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages, Paris France, OECD/OCDE212, p. 20.

[22] Seok, H. J., T. W. Kim, D. G. Kim, S. J. Lee, H. Choi, and M. J. Lee(2022), A Study on Biological Toxicity Assessment for Chemical Substances from Marine Industrial Facilities, Journal of the Korean Society for Marine Environment & Energy, 25(4), p. 228-236.

[23] Stephan, C. E., D. I. Mount, D. J. Hansen, J. H. Gentile, G. A. Chapman, and W. A. Brungs(1985), Guidelines for deriving numerical national water quality criteria for the protection of aquatic organisms and their uses, Washington, DC: US Environmental Protection Agency, p. 98.

[24] Thorley, J. and C. Schwarz(2018), ssdtools: An R package to fit species sensitivity distributions, J. Open Source Softw., 3(31), p. 2.

[25] US EPA(1980), Ambient Water Quality Criteria for Zinc, United States. Environmental Protection Agency Office of Water Regulations and Standards Criteria and Standards Division, EPA 440/5-80-079, p. 88.

[26] US EPA(1987), Ambient Water Quality Criteria for Zinc, United States. Environmental Protection Agency Office of Water Regulations and Standards Criteria and Standards Division, EPA 440/5-87-003, p. 207.

[27] US EPA(2002), Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, 1200 Pennsylvania Avenue NW Washington, DC 20460, EPA 821-R-02-012, p. 266.

[28] Warne, M., G. E. Batley, R. A. van Dam, J. C. Chapman, D. R. Fox, C. W. Hickey, and J. L. Stauber(2018), Revised Method for Deriving Australian And New Zealand Water Quality Guideline Values for Toxicants - Update of 2015 Version. Prepared for the Revision of the Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality. Australian and New Zealand Governments and Australian State and Territory Governments, p. 48.

[29] Warne, T. J.(2001), Derivation of the ANZECC and ARMCANZ water quality guidelines for toxicants. Australas. J. Ecotox., 7, pp. 123-136.

[30] Wu, Yulin, Hongru Zhao, and Lanying Hou(1990), Effects of heavy metals on embryos and larvae of flat fish *Paralichthys olivaceus,* Oceanologia et limnologia sinica/Haiyang Yu Huzhao, 21.4, pp. 386-392.

[31] Wu, J. P. and H. C. Chen(2004), Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), Chemosphere, 57(11), pp. 1591-1598.

[32] Zhang, Z., M. S. J. Warne, and A. Vieritz(2015), Ecotoxicity data quality assessment method, Water Quality and Investigations, Department of Science. Information Technology, Innovation and the Arts, Brisbane, Qld. Community: An assemblage of organisms characterised by a distinctive combination of species occupying a common environment and interacting with one another.

Received : 2023. 09. 07.
Revised : 2023. 10. 20.
Accepted : 2023. 10. 27.