

제 출 문

한국해양연구원장 귀하

본 보고서를 “CO₂ 노출에 의한 해양생물 생리영향 연구”과제의 보고서로 제출합니다.

2007. 02.

주관연구기관명 : 한국해양연구원

주관연구책임자 : 김 완 수

연 구 원 : 임장근, 이윤호
: 김충곤, 유옥환
" : 이형곤, 백상규
: 김종욱, 송정민
: 장태호, 고지현
" : 김상헌, 오동은
: 이승배, 박영의
: 박재현, 원정희

보고서 초록

과제관리번호		해당단계 연구기간	2006.01.01 - 2006.12.21	단계 구분	(2) / (2)
연구사업명	기본연구사업				
연구과제명	CO ₂ 노출에 의한 해양생물 생리영향 연구				
연구책임자	김 완 수	해당단계 참여연구원수	총 : 17 명 내부 : 6 명 외부 : 11 명	해당단계 연구비	정부: 181,000 천원 기업: 천원 계: 181,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	한국해양연구원 해양환경연구본부		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위 탁 연 구	연구기관명 :		연구책임자 :		
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)					보고서 면수
<ul style="list-style-type: none"> ○ CO₂ 농도 정밀 제어 장치의 개발 및 시험운영 <ul style="list-style-type: none"> - 측정기기의 안정성 평가를 위해 설정농도의 CO₂를 일정시간 동안 측정하였으며, 저농도 및 고농도의 CO₂를 일정하게 유지하는 것으로 확인 ○ 일정한 상태에서 관찰된 바지락의 호흡생체리듬은 채집지역의 조석주기와 연관된 뚜렷한 주기성이 나타남 ○ CO₂ 환경에 노출된 바지락의 호흡생체리듬은 저농도(0.05~0.2%) 노출에서는 큰 변화를 보이지 않았으나, 고농도(2.0~10.0%) 환경에 노출된 개체들은 호흡리듬이 약화되거나 소멸되는 양상을 나타냄 ○ 조피볼락의 경우, 저농도(0.1~0.2%) 환경에서는 바지락과 유사하게 큰 변화를 보이지 않았으나, 고농도(2.0~5.0%) 환경에 노출된 개체들은 노출 후 약 2일간 호흡리듬의 급격한 증가를 보인 후 점차 원래 리듬으로 회복되는 양상을 보임 ○ 대하를 대상으로 한 노출실험에서 저농도(0.035~0.05%)에서는 큰 변화패턴을 보이지 않았으나, 고농도(2.0~3.0%) 환경에서 호흡생체리듬은 노출 전에 나타나던 뚜렷한 주기성이 노출 후 소멸되는 양상을 보임 ○ 저서성 단각류 <i>Melita koreana</i> 를 대상으로 고농도 CO₂ 환경(2.0%)에서 단기 (<24 h) 및 장기간 (10 days) 노출 시킨 후 개체의 사망률을 측정함 					
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	이산화탄소, 내인성 생체리듬, 바지락, 조피볼락, 대하, 저서성 단각류			
	영 어	Carbon dioxide, Endogenous rhythm, Manila clam, Black rockfish, Freshly shrimp, Amphipoda			

요 약 문

I. 제 목 : CO₂ 노출에 의한 해양생물 생리영향 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

대기 중의 온실가스 농도 증가에 따른 지구 온난화 현상 및 전 지구적 규모의 환경변화가 우려되고 있으며, 이를 해결하기 위해 대기 중의 이산화탄소를 포집하여 해양에 격리하는 방안이 논의되고 있다. 현재 CO₂의 해양격리에 따른 환경영향에 대한 세밀한 검토가 진행되고 있으며, CO₂ 해양격리기술의 현실적 도입을 위해서는 다양한 측면의 해양생물에 대한 CO₂영향을 고려한 환경위해성 평가가 시급한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 CO₂ 해양격리에 수반되는 해양환경영향평가기술을 위한 기초자료를 확보하기 위해, 자동호흡측정장치와 가스 농도 정밀 제어장치를 이용하여 CO₂에 대한 해양생물의 생리반응을 장기적으로 관찰함으로써, 환경에 최소한의 영향을 미치는 CO₂ 분사농도를 결정하고 환경 친화적인 해양처리기술을 개발하기 위한 기반자료를 제공하는데 그 목적이 있다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 연차별 연구개발 내용 및 범위

가. 1차년도 연구개발 내용 및 범위(2005년)

- (1) 자동호흡측정기(AIFR) 및 MFC를 이용한 정밀 CO₂ 농도제어 장치 제작
- (2) 측정기기의 안정성 평가
- (3) 바지락을 대상으로 CO₂ 농도에 따른 호흡생리활성 내인성 생체리듬 관찰

나. 2차년도 연구개발 내용 및 범위(2006년)

- (1) 내인성 생체리듬 변화에 대한 수온 및 CO₂ 농도와의 관계
- (2) 어류에 대한 CO₂ 노출 영향 실험
- (3) 갑각류에 대한 CO₂ 노출 영향 실험
- (4) 동물플랑크톤(단각류)에 대한 CO₂ 영향농도 평가

IV. 연구개발결과

자동호흡측정장치(AIFR)와 MFC(Mass Flow Controller)를 이용한 개스 농도 정밀 제어장치를 개발하여 다양한 농도범위에 대해 CO₂ 노출실험을 진행하였다. 생체리듬 관찰이 용이한 바지락(*Ruditapes philippinarum*), 조피볼락(*Sebastes schlegeli*) 및 대하(*Penaeus chinensis*)을 대상으로 고농도와 저농도 CO₂ 노출환경 하에서 호흡생체리듬의 변화를 반복실험을 통해 관찰하였다. 일정한 상태에서 5일간 관찰된 바지락(*R. philippinarum*)의 호흡생체리듬은 채집지역의 조석주기와 연관된 뚜렷한 주기성이 나타났다. 바지락의 호흡생체리듬은 저농도(0.1~0.2%) 노출에서는 큰 변화를 보이지 않았으나, 고농도(2.0~3.0%) 환경에 노출된 개체들은 호흡리듬이 약화되거나 소멸되는 양상을 나타냈다. 조피볼락(*S. schlegeli*)의 경우, 저농도(0.1~0.2%) 환경에서는 바지락과 유사하게 큰 변화를 보이지 않았으나, 고농도(2.0~5.0%) 환경에 노출된 개체들은 노출 후 약 2일간 호흡리듬의 급격한 증가를 보인후 점차 원래 리듬으로 회복되는 양상을 나타냈다. 대하(*P. chinensis*)를 대상으로 한 노출실험에서 저농도 환경에서는 호흡리듬의 패턴에 있어서 큰 변화를 보이지 않았으나, 고농도(2.0~3.0%) 환경에서 호흡생체리듬은 노출 전에 나타나던 뚜렷한 주기성이 노출 후 소멸되었으며, 호흡량도 지속적으로 감소되는 양상을 보였다. 고농도(2.0%) CO₂노출에 따른 brine shrimp의 노플리어스 유생과 저서성 단각류 *Melita koreana*의 초기 부화율 및 생존율을 조사하였다. Brine shrimp의 부화율은 고농도 CO₂의 영향을 받지 않았지만, 노플리어스 유생은 실험 개시 36시간 후 실험구와 대조구에 48%의 생존율 차이가 나타났고, 단각류 *Melita koreana*는 실험 후 5일 동안 20%의 생존율 차이가 나타났다.

V. 연구개발결과의 활용계획

본 연구를 통해 연안생태계와 심해생태계에서 CO₂ 거동에대한 생물의 생리적 영향을 비교 분석할 수 있으며 환경영향에 대한 장기적이고 정량적인 예측이 가능하다. 또한 미생물 순환에서의 CO₂ 영향과 이를 평가하기 위한 지시종 및 평가모델의 개발이 가능하다. 이러한 연구결과를 이용하여 CO₂ 해양격리방법의 최적기술 (해중분사법) 도출을 위한 기초 자료로 활용할 수 있으며, CO₂ 해양격리에 따른 해양환경영향평가 기술을 개발하는데 필요한 핵심 자료를 제공할 수 있다. 뿐만 아니라, 환경영향평가 항목 중 CO₂와 관련된 생물 검정실험에 필요한 분석도구로 활용이 가능하다.

S U M M A R Y

(영 문 요 약 문)

Despite the well-known role of CO₂ in biochemical responses and ecological processes, its effects on metabolic activities and biological rhythm of oxygen consumption of marine animals have not been well described. This research has highlighted the urgent need of further studies concerning the biological impact of CO₂ ocean sequestration. This experiment has been conducted to determine the effects of CO₂ on the oxygen consumption of the manila clam (*Ruditapes philippinarum*), black rock fish (*Sebastes schlegeli*) and freshly shrimp (*Penaeus chinensis*) in different ranges of CO₂ concentration. The oxygen consumption rate (OCR) was measured with an automatic intermittent flow respirometer (AIFR) and CO₂ concentration was controlled by an automatic mass flow controller under constant conditions. In order to compare metabolic responses, accorded by concentration of CO₂, the experiments were divided into two groups as low (0.05~0.2%) and high (2.0~10.0%) concentration exposure. Following the exposure of low concentration of CO₂, the instantaneous rate of oxygen consumption of manila clam was shown constantly. However, the manila clam, exposed high concentration was exhibited a breakdown in the biorhythm of oxygen consumption presumably due to a strong physiological stress caused by the higher CO₂ concentrations. The Black rock fish did not show a significant change of their respiration rhythm in the low concentration of CO₂ as manila clam. However, they which exposed to the high concentration of CO₂, showed a sudden change for 2 days after CO₂ exposure and gradually recovered their respiration rhythm. The OCR of freshly shrimp also did not show a considerable change in low concentration of CO₂, but OCR was depressed greatly after exposure of high concentration of CO₂ and the respiration rhythm was not recovered.

C O N T E N T S

Chapter 1. Introduction of this study	19
Part 1. Object of this study	19
Part 2. Necessity of development in this study	19
Chapter 2. Research status	21
Part 1. Domestic research status of biological assessment of CO ₂	21
Part 2. Abroad research status biological assessment of CO ₂	21
Chapter 3. Contents and results of this study	25
Part 1. The scheme of development technology	25
1. The scheme of AIFR	25
2. The scheme of gas concentration control system	27
Part 2. Research of CO ₂ exposure on the physiological aspects of marine organisms	29
1. Introduction	29
2. Materials and methods	30
3. Results	32
4. Discussion	39
Part 3. Research of the early stage mortality in high concentration of CO ₂ exposure on marine organisms	54
1. Stability assessment of measuring system	54
2. Experiment of survival rate of high concentration of CO ₂ exposure on the early stage of marine organisms	58
3. conclusion	63

Chapter 4. Achievement of goal of this study and effects on related part 64

Chapter 5. Application and utilization plan of the results 65

Chapter 6. Abroad scientific informations obtained during processes of researches
and developments 67

Chapter 7. References 68

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	19
제 1 절. 연구개발의 목표	19
제 2 절. 연구개발의 필요성	19
제 2 장 국내외 기술개발 현황	21
제 1 절. 국내의 CO ₂ 생태영향평가 연구동향.....	21
제 2 절. 국외의 CO ₂ 생태영향평가 연구동향.	21
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과	25
제 1 절. 개발 기술의 개요	25
1. 자동호흡측정기 개요	25
2. 가스 농도 정밀 제어 장치의 개요	27
제 2 절. CO ₂ 노출에 따른 해양생물의 생리영향 연구	29
1. 서론	29
2. 재료 및 방법	30
3. 결과	32
4. 토의	39
제 3 절. 고농도 CO ₂ 노출에 따른 해양생물의 초기 사망률 연구.....	54
1. 고농도 CO ₂ 노출 측정기기 안정성 평가.....	54
2. 고농도 CO ₂ 노출에 따른 해양생물의 초기 생존율 실험	58
3. 요약	63
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	64
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	65

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 67

제 7 장 참고문헌 68

List of Figures

Fig. 1. Schematic diagram of AIFR (Automatic Intermittent Flow Respirometer)	26
Fig. 2. AIFR and Rescon software interface	26
Fig. 3. Schematic diagram of Gas Precision Control System	27
Fig. 4. MFC(Mass Flow Controller)	28
Fig. 5. Netcoder program	28
Fig. 6. CO ₂ Gas Precision Control System	28
Fig. 7. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> over a 209 h. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) for data presented in Fig. 7A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses	45
Fig. 8. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> before and after exposure to 0.05% CO ₂ . (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> before and after exposure to 0.1% CO ₂ . (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> for after exposure of 0.05% CO ₂ data presented in Fig. 8A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> for after exposure of 0.1% CO ₂ data presented in Fig. 8B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses	46
Fig. 9. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> before and after exposure to 0.15% CO ₂ . (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> before and after exposure to 0.2% CO ₂ . (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> for after exposure of 0.15% CO ₂ data presented in Fig. 9A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, <i>Ruditapes philippinarum</i> for after exposure of 0.2% CO ₂ data presented in Fig. 9B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks	

in the MESA plots are given in parentheses 47

Fig. 10. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 2.0% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 3.0% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 2.0% CO₂ data presented in Fig. 10A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 3.0% CO₂ data presented in Fig. 10B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses 48

Fig. 11. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 5.0% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 10.0% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 5.0% CO₂ data presented in Fig. 11A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 10.0% CO₂ data presented in Fig. 11B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses 49

Fig. 12. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* before and after exposure to 0.1% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* before and after exposure to 0.2% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* for after exposure of 0.1% CO₂ data presented in Fig. 12A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* for after exposure of 0.2% CO₂ data presented in Fig. 12B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses 50

- Fig. 13. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* before and after exposure to 2.0% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* before and after exposure to 5.0% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* for after exposure of 2.0% CO₂ data presented in Fig. 13A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* for after exposure of 5.0% CO₂ data presented in Fig. 13B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses 51
- Fig. 14. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* before and after exposure to 0.035% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* before and after exposure to 0.05% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* for after exposure of 0.035% CO₂ data presented in Fig. 14A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* for after exposure of 0.05% CO₂ data presented in Fig. 14B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses 52
- Fig. 15. (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* before and after exposure to 2.0% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* before and after exposure to 3.0% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* for after exposure of 2.0% CO₂ data presented in Fig. 15A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* for after exposure of 3.0% CO₂ data presented in Fig. 15B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses 53
- Fig. 16. Schematic diagram of high concentration CO₂ measurement 54

Fig. 17. Measuring system for high concentration CO₂ exposure and incubator 55

Fig. 18. Variations of pH at CO₂ concentration of 20,000 ppm 57

Fig. 19. Life cycle of Brine Shrimp and Nauplius 58

Fig. 20. Results of Survival rate in early stage of Nauplius of Brine shrimp 59

Fig. 21. Amphipoda, *Melita koreana* 60

Fig. 22. Survival rate and pH variation in short term (<24 h) CO₂ exposure of *Melita koreana* 61

Fig. 23. Survival rate and pH variation in long term (10 days) CO₂ exposure of *Melita koreana* 62

List of Table

Table 1. Experimental studies looking at effects of CO ₂ on marine organisms without direct relation to CO ₂ ocean sequestration (Kita and Ohsumi, 2004)	22
Table 2. Experimental field and modeling studies concerning biological impacts of CO ₂ ocean sequestration (Kita and Ohsumi, 2004)	24
Table 3. CO ₂ Concentrations of experiment and experimental parameters for manila clam <i>Ruditapes philippinarum</i> . Values are mean±standard deviation	42
Table 4. Rates of oxygen consumption (ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) in manila clam before and after CO ₂ exposure. Values are mean±standard deviation	42
Table 5. CO ₂ Concentrations of experiment and experimental parameters for black rock fish <i>Sebastes shlegeli</i> . Values are mean±standard deviation	43
Table 6. Rates of oxygen consumption (ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) in black rock fish before and after CO ₂ exposure. Values are mean±standard deviation	43
Table 7. CO ₂ Concentrations of experiment and experimental parameters for freshly shrimp <i>Penaeus chinensis</i> . Values are mean±standard deviation	44
Table 8. Rates of oxygen consumption (ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) in freshly shrimp before and after CO ₂ exposure. Values are mean±standard deviation	44
Table 9. Stability assessment of measuring system(Low CO ₂ concentration experiment)	56

그림 목 차

그림 1. 자동호흡측정기의 개요	26
그림 2. 자동호흡측정기와 Rescon 프로그램	26
그림 3. 가스농도정밀제어장치의 모식도	27
그림 4. 유량조절기(Mass Flow Controller)	28
그림 5. Netcorder 프로그램	28
그림 6. CO ₂ 가스 정밀 농도 제어 장치	28
그림 7. (A) 바지락 <i>Ruditapes philippinarum</i> 3개체를 이용하여 209 시간동안 연속적으로 측정된 산소소비율(OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) 자료 (a) 그림 7A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄	45
그림 8. (A) 바지락 <i>Ruditapes philippinarum</i> 3개체를 이용하여 0.05% CO ₂ 노출전과 노출 후의 환경하에서 연속적으로 측정된 산소소비율(OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) 자료 (B) 바지락 <i>Ruditapes philippinarum</i> 3개체를 이용하여 0.1% CO ₂ 노출전과 노출 후의 환경하에서 연속적으로 측정된 산소소비율(OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) 자료 (a) 그림 8A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 (b) 그림 8B 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄	46
그림 9. (A) 바지락 <i>Ruditapes philippinarum</i> 3개체를 이용하여 0.15% CO ₂ 노출전과 노출 후의 환경하에서 연속적으로 측정된 산소소비율(OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) 자료 (B) 바지락 <i>Ruditapes philippinarum</i> 3개체를 이용하여 0.2% CO ₂ 노출전과 노출 후의 환경하에서 연속적으로 측정된 산소소비율(OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) 자료 (a) 그림 9A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 (b) 그림 9B 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄	47
그림 10. (A) 바지락 <i>Ruditapes philippinarum</i> 3개체를 이용하여 2.0% CO ₂ 노출전과 노출 후의 환경하에서 연속적으로 측정된 산소소비율(OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) 자료 (B) 바지락 <i>Ruditapes philippinarum</i> 3개체를 이용하여 3.0% CO ₂ 노출전과 노출 후의 환경하에서 연속적으로 측정된 산소소비율(OCR: ml O ₂ g ⁻¹ WW h ⁻¹) 자료 (a) 그림 10A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 (b) 그림 10B 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄	48

- 그림 11. (A) 바지락 *Ruditapes philippinarum* 3개체를 이용하여 5.0% CO₂ 노출전과 노출 후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (B) 바지락 *Ruditapes philippinarum* 3개체를 이용하여 10.0% CO₂ 노출전과 노출 후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (a) 그림 11A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 (b) 그림 11B 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 49
- 그림 12. (A) 조피볼락 *Sebastes shlegeli* 1개체를 이용하여 0.1% CO₂ 노출전과 노출후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (B) 조피볼락 *Sebastes shlegeli* 1개체를 이용하여 0.2% CO₂ 노출전과 노출후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (a) 그림 12A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 (b) 그림 12B 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 50
- 그림 13. (A) 조피볼락 *Sebastes shlegeli* 1개체를 이용하여 2.0% CO₂ 노출전과 노출후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (B) 조피볼락 *Sebastes shlegeli* 1개체를 이용하여 5.0% CO₂ 노출전과 노출후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (a) 그림 13A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 (b) 그림 13B 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 51
- 그림 14. (A) 대하 *Penaeus chinensis* 1개체를 이용하여 0.035% CO₂ 노출전과 노출후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (B) 대하 *Penaeus chinensis* 1개체를 이용하여 0.05% CO₂ 노출전과 노출후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (a) 그림 14A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 (b) 그림 14B 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 52
- 그림 15. (A) 대하 *Penaeus chinensis* 1개체를 이용하여 2.0% CO₂ 노출전과 노출후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (B) 대하 *Penaeus chinensis* 1개체를 이용하여 3.0% CO₂ 노출전과 노출후의 환경하에서 연속적으로 측정한 산소소비율(OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) 자료 (a) 그림 15A 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄 (b) 그림 15B 자료를 이용하여 MESA 프로그램으로 주기분

석을 실시한 결과. 괄호안의 시간은 주요 peak를 나타냄	53
그림 16. 고농도 CO ₂ 농도제어장치의 모식도	54
그림 17. 고농도 이산화탄소 노출 실험 기기 및 항온수조	55
그림 18. 20,000 ppm CO ₂ 농도에서의 pH 변화	57
그림 19. Brine Shrimp 생활사 및 실험에 이용된 노플리어스 유생	58
그림 20. Brine shrimp 노플리어스 유생의 초기 생존율 실험 결과	59
그림 21. 고농도 노출실험에 이용된 단각류 <i>Melita koreana</i>	60
그림 22. 단기(<24 h) 노출에 따른 <i>Melita koreana</i> 의 생존량과 pH 농도의 변화	61
그림 23. 장기(10 days) 노출에 따른 <i>Melita koreana</i> 의 생존량과 pH 농도의 변화	62

표 목 차

표 1. 고농도의 이산화탄소 투기(CO ₂ ocean sequestration)와 관련되지 않은, 해양생물과 이산화탄소의 농도에 관한 연구(reviewed by Kita and Ohsumi, 2004)	22
표 2. 고농도의 이산화탄소 투기(CO ₂ ocean sequestration)와 관련된 연구(reviewed by Kita and Ohsumi, 2004)	24
표 3. 바지락에 대한 CO ₂ 실험농도와 실험변수	42
표 4. 바지락에 대한 CO ₂ 노출 전과 후의 산소소비율 변화	42
표 5. 조피볼락에 대한 CO ₂ 실험농도와 실험변수	43
표 6. 조피볼락에 대한 CO ₂ 노출 전과 후의 산소소비율 변화	43
표 7. 대하에 대한 CO ₂ 실험농도와 실험변수	44
표 8. 대하에 대한 CO ₂ 노출 전과 후의 산소소비율 변화	44
표 9. 측정기기의 안정성 평가(저농도 실험)	56

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절. 연구개발의 목표

환경변화에 따른 수서생물의 생리적 반응을 알아보기 위한 자동호흡측정시스템의 개발로 일정한 상태와 인위적인 환경변화조건하에서 장기간에 걸친 수서생물의 생체 리듬조사가 가능하게 되었으며, 이를 응용하여 이산화탄소의 농도를 정밀하게 제어할 수 있는 장비를 개발하였다. 따라서 이산화탄소의 농도변화에 따른 해양생물의 생리적 영향을 관찰함으로써 생물영향을 최소화할 수 있는 이산화탄소 분사농도를 결정하는 것이 목표이다.

제 2 절. 연구개발의 필요성

대기 중의 온실가스 농도 증가에 따른 지구 온난화 현상 및 전 지구적 규모의 환경변화가 우려되고 있으며, 이를 해결하기 위해 대기 중의 이산화탄소를 포집하여 해양에 격리하는 방안이 논의되고 있다 (Handa and Ohsumi, 1995; Ormerod and Angel, 1996; Parson and Keith, 1998). 특히, 해양격리기술 중에서도 CO₂를 해양에 분사, 처리하는 기술이 현실적으로 타당한 방법으로 논의되고 있으며 CO₂ 분사 시 예상되는 CO₂ 용해, 확산, 회석범위 등을 고려한 위해성 평가기술이 시급한 실정이다. 그러므로 CO₂ 해양격리에 따른 해양영향평가기술을 개발하기 위해서는 우선적으로, 해양 분사 초기에 발생하는 CO₂ 고농도에 대한 급성독성 및 CO₂의 장기간 노출에 의한 생물의 만성독성에 대한 평가가 함께 수행되어야 한다. 그러나 이에 대한 국내 연구는 미비한 상태이며, 또한 CO₂ 격리에 따른 해양생물에 미치는 생리영향에 대한 연구는 전무한 상태이다. 우리나라도 지구 온난화에 적극 대처하고 교토의정서 채택에 따른 국내 경제/산업 피해를 미연에 방지하기 위하여 CO₂ 해양처리기술이 적극 검토되고 있다. 따라서 세계적인 CO₂ 배출 저감압력에 능동으로 대처하고, CO₂ 해양격리 기술에서 중요한 자료로 생각되는 환경 영향 평가에 대한 연구가 반드시 필요하다. 현재 대기의 CO₂ 농도 증가율(1.8-2 ppm/년)로 예측할 때 2050년에는 500 ppm 정도로 예상되며 해양표층의 생태계에 대한 직접적인 영향도 무시할 수 없게 될 것이다. 2004년도에 발표된 보고서에 의하면 CO₂ 농도 500 ppm 에서는 새우, 조개와 같이 CaCO₃ 물질을 가지고 있는 해양생물들의 껍질 성장 발육에 이상이 생기거나 성장에 지장이 있다고 보고되었다 (Science 2004). 이와 같이 장기적인 측면에서는 수산자원의 감소

등 경제적 피해를 야기 시킬 가능성이 높다 하겠다. 따라서 CO₂가 해양생물에 미치는 영향에 대한 연구가 시급하다 할 것이며, 해양표층 생물들에 대한 자료들을 기반으로 CO₂ 해양처리가 이루어지는 해양중층에서의 CO₂ 격리처분의 유효성을 도출을 위한 환경 영향 기초 자료로서의 생리연구가 필수적이다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절. 국내의 CO₂ 생태영향평가 연구동향

이전에 수행된 국내 연구에서는 이산화탄소에 의한 지구온난화 문제나 해양의 이산화탄소 정보를 이용한 분석에 큰 관심을 보이지 않고 있었으며, 우리나라 일부 해양에서 채수된 해수 시료를 분석함으로써 대기-해양 간의 이산화탄소 교환연구, 해양에서의 물질 순환 연구, 해양환경 수질조사 등의 연구를 수행하는 단계로 아직 많은 부분에서 미흡한 실정이다. 최근 교토의정서의 체결에 따라 산업과 경제활동을 위축시키지 않으면서 CO₂ 감축의무에 부응하기 위해 대용량의 CO₂를 짧은 기간 내에 처리할 수 있는 신기술이 요구되고 있으며, 국내외에서 대량 포집된 CO₂를 전 지구적 CO₂ 순환에 있어서 이산화탄소 저장용량이 매우 큰 해양에 환경 친화적으로 저장시키는 기술을 개발하려는 연구가 진행되고 있다. 이러한 CO₂ 해양처리기술에 대한 환경적 타당성 및 근거를 확보하기 위한 연구가 필수적으로 요구되고 있으며, 일부에서 심해 격리된 CO₂의 환경피해에 관한 환경적 문제를 제기하고 있음을 고려할 때 CO₂ 해양처리에 의한 해양의 영향평가를 면밀히 고려하여 환경적으로 위해를 최소화하는 CO₂ 해양 처리기술이 개발되어야 한다. 현재 에너지연구원이 프론티어 사업으로 CO₂ 저장 및 처리기술 연구가 수행 중에 있으며, 시스템안전연구소에서 해양처리기술에 관하여 해양수산부로부터 R&D 사업으로 10개년 계획으로 연구 추진 중에 있다. CO₂ 해양처리기술개발과 관련하여 CO₂에 의한 효소활성 저해 및 개체 생존/성장/생식에 대한 영향 분석, CO₂ 독성용량-반응 관계성 규명, 메조코즘 현장생태계 영향평가 실시 및 사전/사후영향평가 모니터링 기술 및 생태계 안전성 유지 범위 설정, 생태영향 예측 모델 개발 등의 연구가 이루어질 예정이다.

제 2 절. 국외의 CO₂ 생태영향평가 연구동향

1. 대기 및 해수내 CO₂ 농도 증가에 따른 해양생물 영향 연구

증가된 대기 중의 이산화탄소의 양에 따른 식물플랑크톤과 산호초의 영향 연구가 진행되고 있다. 식물플랑크톤의 성장률은 해양의 용존무기탄소(DIC)농도의 변화에 민감하게 반응하며, 이산화탄소의 농도에 따라 식물플랑크톤의 ¹³C/¹²C의 변화율의 변화가 나타나다 (Raven et al., 1993; Dieter et al., 1999). 증가된 이산화탄소의 농도에 따라 산

호초가 감소하는 것으로 밝혀졌다 (Riebesell et al., 2000). 또한 증가된 이산화탄소의 농도에 따른 동물플랑크톤의 생산량 감소 및 초기 형태 변화 연구와 심해저층에서의 급격한 이산화탄소 농도의 증가에 따른 저서동물의 사망률 연구와 이산화탄소 농도의 변화에 따른 심해어류의 생리실험 연구가 진행되고 있다. 해양에서 이산화탄소 증가에 따라 해수의 pH가 감소하게 된다. 고농도(20,000 ppm)의 이산화탄소를 해양에 투기했을 경우, 투기된 지역에서 해수의 pH는 5.8 이하로 낮아진다 (Herzog et al., 1996). 이렇게 산성화된 해수는 주위로 희석되어 지지만, 수백 km 주위에서의 해수는 pH농도가 7.0이하로 산성화 되는 것으로 예상된다. 이와 같은 해수의 화학성분(pH) 변화는 해양 생물에 많은 영향을 주게 되며, 해수의 pH의 농도 변화에 대한 해양생물의 생리적 또는 독성반응에 대한 연구가 최근 30여 년간 지속적으로 진행되고 있다 (Table 1).

Table 1. Experimental studies looking at effects of CO₂ on marine organisms without direct relation to CO₂ ocean sequestration. (Kita and Ohsumi, 2004)

Research field	Taxon	Reference
growth	Phytoplankton	Wickins, 1984
	Decapoda	Riebesell et al., 1993 Wickins, 1984
calcification	Phytoplankton	Gao et al., 1993
	Coral Reef Organisms	Kleypas et al., 1999
	Decapoda	Langdon et al., 2000 Leclercq et al., 2000 Riebesell et al., 2000
Hemocyanin-O ₂ affinity	Decapoda	Sanders et al., 1992
	Elasmobranchs	Perry and Gilmour, 1996 Heisler et al., 1988
acid-base	Sipunculoidea	Claiborne and Evans, 1992
	Elasmobranchs	Portner et al., 1998
	Teleosts	Crocker and Cech, 1998 Randall et al., 1976 Kent and Peirce, 1978
respiration circulation(acute)	Elasmobranchs	Heisler et al., 1988
	Teleosts	Girham et al., 1990 Toews et al., 1983
		Berenbrink and Bridges, 1994
		Crocker and Cech, 1998 Brownell, 1980
		Grottum and Sigholt, 1996
first-feeding		Larsen et al., 1997
toxicity	Teleosts	Crocker and Cech, 1998
ion regulations		Fivelstad et al., 1998
		Fivelstad et al., 2003
		Foss et al., 2003

2. CO₂ 해양처리에 따른 해양생물 영향 연구

국내 연구실적에 비해 일본, 미국, 노르웨이, 캐나다 등의 선진국들은 선도적으로 지구온난화 대응기술의 일환으로 대기 중의 이산화탄소를 포집, 액화하여 지중 및 해양에 영구 격리시키는 기술개발을 활발히 진행하고 있다. 일본에서는 CO₂ 해양처리기술 R&D사업을 구성하여 2008년 실용화를 목표로 하고 있으며, CO₂ 해양 분사법 연구에만 1997년부터 2007년 까지 총 100억엔을 연구비로 투자 중이다. 이와 관련하여 해양처리 환경평가연구를 큰 연구축으로 설정하여 진행하고 있다. 그러나, 현재까지 직접적인 CO₂ 노출에 대한 해양생물 영향에 대한 연구는 미비한 상태에 있다 (Ishimatsu and Kita, 1999; Tamburri et al., 2000). 1990년 이후 미국에서는 NSF와 NOAA의 지원으로 온실가스 및 해양생물 기원가스들(예, DMS, CH₃Cl, CH₃Br)의 해양에서의 거동 연구가 진행되고 있을 뿐 아니라, 심해에서의 액체 CO₂ 거동에 대한 직접적인 실험과 (Brewer et al., 1999), 심해에 서식하는 생물들의 반응에 대해서 조사 발표하였다 (Tamburri et al., 2000). 또한 Siebel and Walsh (2001, 2002)는 CO₂의 심해처분이 서식생물들에 어떠한 영향을 미치고 있는가에 대해서 조사하였으며, CO₂의 해양격리가 이루어 졌을 때 국소적인 CO₂ 농도의 증가와 해수의 pH 저하가 일어날 수 있고 결과적으로 생물영향이 있을 수 있다고 보고하였다. 최근에 나가사키 대학의 Ishimatsu 교수를 위시한 일본의 연구그룹에서 어류의 치어 및 성체를 대상으로 CO₂의 영향실험을 실시하여 얻은 일련의 결과를 정리 발표하였다 (Ishimatsu et al., 2004). 그들의 결과에 의하면 5% 이상의 고농도의 CO₂ 환경에서 어류의 폐사가 일어나며, 산염기조절 시스템 및 심기능에 이상이 일어나는 것으로 나타나는 것으로 보고 있다. 또한 난 및 자치어기 상태에서는 CO₂에 더욱 민감한 것으로 나타났다.

또한 심해고압탱크를 제작하여 곰치종류와 뱀장어 성체를 대상으로 CO₂ 노출 실험을 수행하였으나, CO₂ 노출 후 육안 관찰과 실험 후 체내의 혈액변화와 근육조직을 일부 관찰한 상태이다. Kikkawa et al.(2004)는 어류의 난 자치어를 대상으로 CO₂에 의한 영향과 인위적인 HCl 첨가에 의한 산성화 영향을 비교한 결과, CO₂에 의한 영향이 더 높다고 했다. 최근 CO₂ 해양처리에 따른 생물영향연구가 다양한 각도에서 진행되고 있으나 (Table 2), 해양생물의 생리생태에 대한 조사는 실험중 및 실험계획이 구체적으로 설정되지 않은 상태이며, 더욱이, 직접적인 CO₂ 노출에 대한 해양생물의 생체리듬 변화에 관한 연구는 보고 된 바 없다. 또한 해양생물에 대한 CO₂ 영향 실험은 대부분 72시간 내의 단기간에 이루어졌으며, 최장의 실험기간이라 해도 120시간에 지나지 않는다. CO₂ 해양격리시의 거동을 고려하면, 장기간에 걸친 CO₂의 영향에 대한 연구가 절실하다 하겠다.

Table 2. Experimental field and modeling studies concerning biological impacts of CO₂ ocean sequestration. (Kita and Ohsumi, 2004)

Research field	Taxon	Reference
tolerance	Bacteria	Portner and Reipschlager, 1996
	nemodes	Takeuchi et al., 1997
	zooplankton	Auerbach et al., 1997
	benthos	Caulfield et al., 1997
	Sipunculoidea	Yamada and Ikeda, 1999
	Fish	Kikkawa et al., 2003, 2004
acid-base	Sipunculoidea	Portner and Reipschlager, 1996
	Fish	Langenbuch and Portner, 2002
		Hayashi et al., 2004
modeling	zooplankton	Adams et al., 1997
	benthos	Auerbach et al., 1997
		Caulfield et al., 1997
behavior, field study	deep-sea animals	
	pelagic copepods	
	bacteria	Tamburri et al., 2000
	phytoplankton	Yamaguchi et al., 2002
	zooplankton	
early developmental stages	Sea urchin	Kikkawa et al., 2003
	Copepods	Kurihara and Shirayama, 2004
	Fish	Kurihara et al., 2004

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절. 개발기술개요

환경변화에 따른 수서생물의 생리적 반응을 알아보기 위한 자동호흡측정장치의 개발로 일정한 상태와 인위적인 환경변화 조건하에서 장기간에 걸친 수서생물의 생체리듬조사가 가능하게 되었다. 뿐만 아니라 이산화탄소의 분사 유량을 정밀하게 제어함으로써 해수 중의 CO₂의 농도를 정량적으로 조절할 수 있는 장비를 개발하였으며, 이를 응용하여 이산화탄소의 농도변화에 따른 해양생물의 생리적 영향을 조사하는 것이 가능하다. 본 연구는 이산화탄소 해양처리기술에 있어서 해양분사 및 저류기술 개발 분야에 응용될 수 있는데, 특히 CO₂ 노출에 민감하게 반응할 수 있는 해양생물과 해양환경에 대한 피해를 최소화할 수 있는 이산화탄소 분사농도를 결정하는데 필요한 환경영향평가 및 생물검정 자료를 제시할 수 있을 것으로 판단된다. 이미 본 연구실에서는 자동호흡측정장치(AIFR)를 이용하여 장기간에 걸친 수서생물의 생체리듬 연구가 진행되고 있으며, 본 연구를 통해 고안한 가스 농도 정밀 제어장치를 이용하여 수서생물에 대한 저농도 및 고농도 CO₂ 환경에서의 생리영향 관찰을 위한 CO₂ 노출실험을 수행하고 있다.

1. 자동호흡측정기(automatic-intermittent-flow-respirometer: AIFR) 개요

본 연구실이 보유하고 있는 자동호흡측정장치의 개요는 다음과 같다. 시스템은 실제 실험이 이루어지는 인큐베이터와 실험제어 및 측정데이터를 저장하는 컴퓨터 시스템의 두 부분으로 구성되어 있다(Fig. 1). 측정 시스템내의 물 흐름을 연결하는 관은 대기로부터의 공기 유입을 차단하기 위하여 관벽이 두꺼운(2 mm) 튜빙(R-3603, U.S.A.)을 사용하였다. 측정 시스템 내의 유량은 마그네틱 드라이브 펌프(MS-Z, ISMATEC, Switzerland)를 사용하여 조절하였다. 측정 시스템 내에 있는 박테리아 또는 다른 생물들에 의한 산소소비용인의 가능성을 제거하기 위하여, 측정 시스템 내의 해수는 측정하기 전에 멤브레인 펌프(KNF-ND 100, Neuberger, Germany)에 사리토리우스 캡슐 필터(input 0.2 μ m, output 0.07 μ m, Germany)를 사용하여 여과하였다. 측정 시스템 내의 수온 측정(Farnell, Pt-100, Germany)과 대기압(Sensym-Hs 20, Farnell, Germany)은 각각의 센서를 사용하여 측정하였고, 전기적 신호는 A/D 보드(AD1199-CD-1, ERMA, Germany)를 통하여 바꾼 후 컴퓨터에 저장하였다. 실험에 사용된 해수의 염분도는 염도계(LF 320, WTW, Germany)를 사용하여 측정하였다. 외부 온도와 빛에 의한 산소소비의 영향을 제거하기 위해 실험은

항상 어두운 상태(constant darkness-DD)에서 실시하였으며, 산소소비 측정 실험은 수온을 자유롭게 조절할 수 있는 BOD 배양기(RI-50-1060, REVCO, U.S.A)에서 수행하였다. 압력(대기압 $P_{atm} = 1기압 = 1013 mbar = 1013 hPa$), 수온과 염분에 따른 산소 포화농도, $KO_2(ml/L)$ 는 Weiss(1970)가 사용한 수식을 이용하였다.

$$\ln KO_2 = A_1 + A_2 * (100/T) + A_3 * \ln(T/100) + A_4 * (T/100) + S_{psu} * [(B_1 + B_2 * (T/100) + B_3 * (T/100)^2)]$$

여기서, T는 측정시의 수온, S는 염분도(%), A와 B는 상수로서 다음과 같다.

$$A_1 = -173.4292, A_2 = 249.6339, A_3 = 143.3483, A_4 = -21.8492, B_1 = -0.033096, B_2 = 0.0142959, B_3 = -0.0017000.$$

측정상태(V_R)의 산소농도(mg/L)는 표준상태(V_{STD})와의 관계로부터 추정하였다.

$$V_R = V_{STD} * (1013 hPa/P_{atm}) * (T/273.15 K)$$

여기서, T는 측정시의 수온, P_{atm} [hPa]은 측정 시간의 대기압력을 나타낸다(Mortimer, 1983). $O_2(mg/L)$ 와 $O_2(ml/L)$ 관계는 Forstner and Gnaiger(1983)에 의해서 $KO_2(mg/L) = KO_2(ml/L) * 1.429$ 로 산출하였다. 더 상세한 측정 원리와 수식은 Kim et al.(1996; 1997; 1998; 1999; 2001)의 논문에 상세히 설명되어 있다. 위에 열거된 모든 수식과 기기의 작동은 자동 조절하고, 모든 자료를 저장할 수 있게 비주얼 베이직 프로그램으로 제작하였다 (Fig. 2).

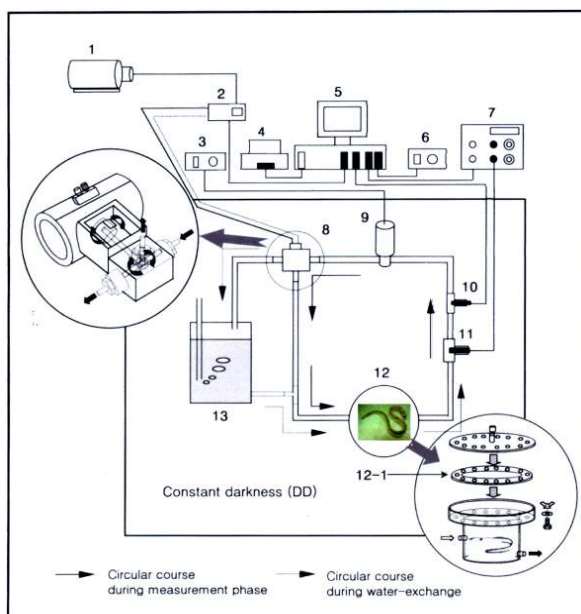


Fig. 1 Schematic diagram of AIFR (Automatic Intermittent-Flow Respirometer).

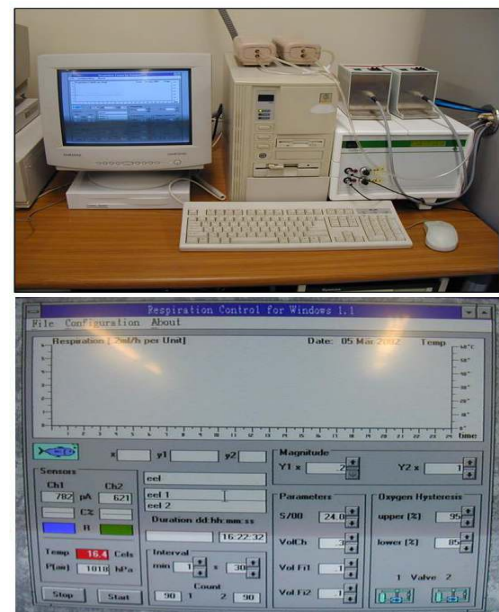


Fig. 2. AIFR and Rescon software interface

2. 가스 농도 정밀 제어 장치의 개요

가스 농도 정밀 제어 장치의 전체 구성은 Fig. 3에 도식화 하였다. 세부적으로 살펴보면 gas의 유량을 정밀하게 조절하는 MFC (Mass Flow Controller) 4기(Fig. 4)와 MFC를 제어하는 컴퓨터, 그리고 실험수조내의 pH를 측정하는 pH meter, 외부 gas tank로 구성되어 있으며, 온도 및 압력에 의존하지 않고 유량 측정 및 조절이 가능하며 정확도가 매우 높다. 실험개스의 유량은 컴퓨터에 설치된 Netcoder program (Fig. 5)을 통해 입력값에 따라 조절이 가능하다. 각각의 MFC는 저농도 그룹과 고농도 그룹으로 나누어져 있으며, 원하는 농도와 유량을 입력한 후 program을 실행시키면 저농도와 고농도 실험을 각각 모니터링 할 수 있도록 설계되었다(Fig. 6). 뿐만 아니라, 수온, 전기전도도 및 대기압을 동시에 측정함으로써 실험용기내의 해수의 상태를 종합적으로 모니터링 할 수 있다. 실험에 사용되는 가스는 CO₂와 일반 압축 공기의 조합으로 구성된다. 가스 공급은 고농도와 저농도의 CO₂ 공급을 위하여 2단으로 구성될 수도 있으며, 이 경우에 가스 농도 제어 장치도 저농도 및 고농도의 2단으로 구분되어, 실험 목적에 따라 다양한 농도 조절이 가능하도록 설계하였으며, CO₂ 주입은 저농도와 고농도 모두 Gas control plan에 의한 step time(min)에 따라서 10단계로 구분되어 농도구배 실험이 가능하다. 별도로 설치되어 있는 pH meter를 이용하여 해수중의 CO₂ 농도를 실시간으로 모니터링 하면서 실험생물의 호흡생리변화를 관찰할 수 있다.

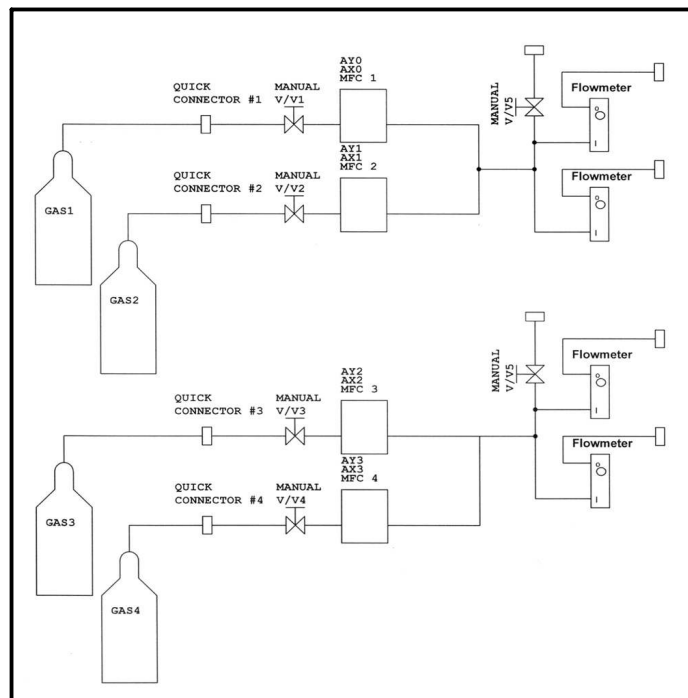


Fig. 3 가스 농도 정밀 제어 장치의 구성도



Fig. 4 MFC(Mass Flow Controller)

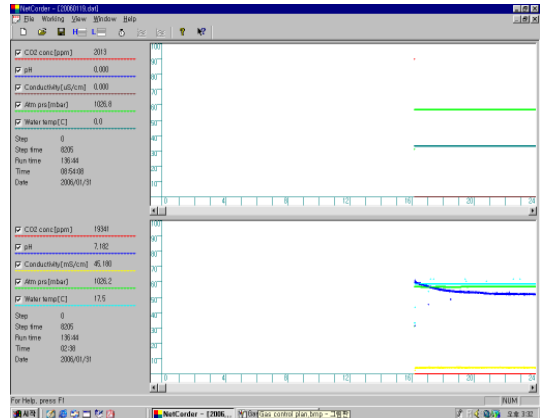


Fig. 5 Netcoder program



Fig. 6 실험실에 설치되어 운영 중인 가스 농도 정밀 제어 장치

제 2 절. CO₂ 노출에 따른 해양생물의 생리영향 연구

1. 서론

인간의 산업활동과 화석연료 사용증가에 따른 대기 중의 온실가스, 특히 이산화탄소의 농도가 급격하게 증가하고 있으며, 이에 따라 대기권 기온상승에 의한 지구온난화 등 여러 전지구적 규모의 환경문제가 발생할 가능성이 대두되고 있다. 최근 선진각국에서는 이러한 이산화탄소를 인위적으로 대기로부터 격리하여 영구히 처리하려는 노력을 기울이고 있는데, 이러한 노력의 일환으로 1997년 2월에 선진국들이 온실가스 배출을 감축해야 하는 목표와 실행계획이 담긴 교토의정서(Kyoto protocol)가 발효되었다. 현재 우리나라는 교토의정서 당사국에 포함되지는 않았으나, 이산화탄소 배출량과 에너지 사용량에 비추어 볼 때 차기 의무감축국가 지정에 따른 온실가스 저감에 대한 국제적인 압력을 피하기 어려울 것으로 판단된다. 현재 인위적으로 이산화탄소를 줄일 수 있는 다양한 방안들이 모색되고 있는데, 대표적인 방법으로 이산화탄소 해양처리방법이 제시되고 있다. 이 기술은 발생원으로부터 포집된 이산화탄소를 단계별 공정을 통해 액화 저장하여 수송선을 통해 특정해역, 특정수심에 방출시킴으로써 해양의 자연회석능력을 이용하여 용해, 회석하는 방식이다. 해양은 대기 이산화탄소 농도 증가를 억제하는 완충 역할을 하고 있으며, 최근 연구에 의하면 1800년대부터 지금까지 발생한 이산화탄소의 절반 이상이 바닷물에 용해되어 심해로 제거되었다고 추정하고 있다 (Feely et al., 2004; Sabine et al., 2004). 그러나 현재 이산화탄소의 발생량은 지구가 자연적으로 완충할 수 있는 범위를 넘어서 훨씬 빠르게 증가하고 있는 상황이며, 위 기술에 의해 고농도의 이산화탄소를 심해에 방출되는 경우, 국지적인 해수 산성화에 따른 급격한 pH 증가와 탄산염 이온의 비율 감소에 따른 생태계의 교란이 예상된다. 그러므로 처리과정에서 고농도의 이산화탄소가 해양생물 및 생태계에 어떤 영향을 미칠 것인가에 대한 충분한 검토와 환경영향을 최소화할 수 있는 처리조건을 파악하는 것이 요구되어진다.

본 연구는 이산화탄소 해양격리가 실행된다는 가정 하에 실제 고농도 이산화탄소 노출 환경에서 해양생물의 생리적 영향을 알아보기 위해 내인성 생체리듬을 이용하여 그 영향 정도를 분석하였다. 패류, 어류 및 갑각류 중에서 비교적 생체리듬 관찰이 용이한 바지락, 조피볼락 및 대하를 선정하여, 일정한 상태에서 호흡리듬을 관찰한 후 고농도 이산화탄소 환경에 노출시킴으로써 환경변화에 따른 생리적 영향을 파악하고, 이산화탄소에 대한 급성 및 만성독성 영향에 대한 생리자료를 확보함으로써 환경피해를 최소화할 수 있는 해양처리농도를 결정하는데 기초자료를 제공하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 바지락(*Ruditapes philippinarum*)

실험에 사용된 바지락은 2005년 7월 및 8월, 2006년 4월부터 8월에 걸쳐 충청남도 서산시 대산읍 오지리 조간대에서 간조시에 약 200 개체씩 채집하였다. 채집된 바지락은 한국해양연구원 어류생체리듬연구실로 옮겨 500 L 순환여과식 수조에 순치한 후, 12시간 light 와 12시간 dark 상태의 실험실에서 19~20°C의 물속에 잠긴 상태로 사육되었으며, 염분은 31.2~31.5 psu 를 유지하였다. 실험에 사용된 바지락(178개체)은 각장의 평균이 3.6 ± 1.3 cm 이며, 습중량은 10.1 ± 1.8 g 이다. 바지락의 호흡률은 자동호흡측정기(AIFR)를 이용하여 실시하였으며, CO₂ 노출실험은 자체 제작한 Gas 농도정밀제어장치를 이용하여 저농도에서 고농도 범위로 조절하면서 실험하였다. 실험의 전 과정은 CO₂ 이외의 외부환경요인에 의해 발생할 수 있는 실험생물의 대한 간접적인 영향을 줄이기 위해 BOD Incubator 내에서 이루어졌다. 해수의 포화도는 85~95%의 범위로 유지시켰으며, 실험용기 내의 유량은 생물의 크기를 고려하여 345.0 ml/min으로 조절하여 실험하였다. 실험이 끝난 바지락은 버어니어 캘리퍼스를 이용하여 각장, 각고 및 각폭(mm)을 측정하였으며, 전자저울을 이용하여 전중량(g)을 측정하였다.

나. 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)

실험에 사용된 조피볼락은 2005년 8월에 인천광역시 옹진군 영흥면 영흥도 동진수산에서 약 100개체를 구입하였다. 구입한 조피볼락은 실험실로 옮겨 500 L 순환여과식 수조에 순치한 후, 12시간 light 와 12시간 dark 상태의 실험실에서 19~20°C의 물속에 잠긴 상태로 사육되었으며, 염분은 31.2~31.5 psu 를 유지하였다. 실험에 사용된 조피볼락(12개체)은 전장의 평균이 10.1 ± 0.7 cm 이며, 습중량은 13.4 ± 2.5 g 이다. 조피볼락의 호흡률은 1회 실험에 1개체씩 자동호흡측정기(AIFR)를 이용하여 측정하였고, CO₂ 노출실험은 자체 제작한 Gas 농도정밀제어장치를 이용하여 저농도에서 고농도 범위로 조절하면서 실험하였다. 실험의 전 과정은 바지락과 마찬가지로 외부환경요인에 의한 간접영향을 줄이기 위해 BOD Incubator 내에서 이루어졌다. 해수의 포화도는 85~95%의 범위로 유지시켰으며, 실험용기 내의 유량은 생물의 크기를 고려하여 345.0 ml/min으로 조절하여 실험하였다.

다. 대하(*Penaeus chinensis*)

실험에 사용된 대하는 2006년 9월 및 10월에 경기도 안산시 안산농수산시장에서 약 20 개체씩 2회에 걸쳐 구입하였다. 구입한 대하는 별도로 제작된 100L 순환여과식 수조에 순치한 후, 12시간 light 와 12시간 dark 상태에서 17~18°C의 수온 하에서 순치시켰으며, 염분은 31.8~32.1 psu 를 유지하였다. 실험에 사용된 대하(12개체)는 전장의 평균이 14.0 ± 1.1 cm 이며, 습중량은 15.3 ± 2.6 g 이다. 대하의 호흡률은 자동호흡측정기(AIFR)를 이용하여 실시하였으며, CO₂ 노출실험은 자체 제작한 Gas 농도정밀제어장치를 이용하여 저농도에서 고농도 범위로 조절하면서 실험하였다. 실험의 전 과정은 CO₂ 이외의 외부환경요인에 의해 발생할 수 있는 실험생물의 대한 간접적인 영향을 줄이기 위해 BOD Incubator 내에서 이루어졌다. 해수의 포화도는 85~95%의 범위로 유지시켰으며, 실험용기 내의 유량은 생물의 크기를 고려하여 345.0 ml/min으로 조절하여 실험하였다.

3. 결 과

CO₂ 환경에 노출된 바지락, 조피볼락 및 대하의 산소소비율은 대조구와 저농도 및 고농도 환경으로 나누어 측정하였으며, 실험어의 크기 및 중량은 실험 종료 후 측정하여 평균값으로 나타내었다. CO₂ 농도별 각 항목의 실험 변수, 실험어의 크기, 중량 및 개체 수에 관한 내용들은 별도의 Table에 기록하였다.

가. CO₂ 노출 농도에 따른 바지락의 산소소비율 변화

(1) 대조구 그룹에서 산소소비율 변화

대조구 바지락에 대한 산소소비율 관찰 실험은 19.6±0.1°C의 수온과 32.2±0.1 psu의 염분을 유지시키면서 169~209시간 동안 연속적으로 측정하였다. 실험에 사용된 바지락(3.8±1.9 cm, 10.6±1.8 g)은 24개체였으며, 산소가 포화된 해수를 1.4 L의 측정용기 내에 345.0 ml/min의 흐름으로 공급하였다(Table 3). 일정한 상태에서 바지락의 산소소비 pattern을 관찰한 결과, 실험기간 동안 호흡량의 진폭 변동이 비교적 일정한 양상을 보였다(Fig. 7A, Table 3). MESA program을 이용하여 호흡리듬에 대한 주기분석을 실시한 결과, 23.6시간의 일주기와 조석주기 리듬과 유사한 12.4시간의 호흡리듬이 우세하게 나타났다(Fig. 7a).

(2) CO₂ 0.05% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 0.05% 노출 농도에 대한 바지락(3.7±2.3 cm, 10.0±1.9 g) 22개체의 산소소비율은 일정한 수온과 염분(20.1±0.4°C, 32.1±0.1 psu)에서 169~190시간 동안 연속 측정되었다. 실험에 사용된 여과 해수는 산소 농도가 85.4~94.8%로 되도록 조절하였으며, 유속은 345.0 ml/min 로 일정하게 공급하였다(Table 3). 실험은 초기 약 4일 동안 일정한 상태에서 산소소비 pattern을 관찰한 후, CO₂ 0.05%를 주입하면서 생물의 호흡 반응을 관찰하였다. 바지락은 실험개시 후 96시간 동안은 안정된 호흡 pattern을 유지하고 있었으나, 0.05%의 CO₂에 노출된 후에는 산소소비율이 다소 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 8A). 전체 실험기간에 대해 노출 전과 후의 산소소비율을 비교하여 테이블에 나타냈다(Table 4). 노출 후에 측정된 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하여 주기분석을 실시한 결과, 조석주기 리듬과 유사한 14.6시간의 호흡리듬이 우세하게 나타났다(Fig. 8a).

(3) CO₂ 0.1% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 0.1% 노출 농도에서 바지락(3.8±1.7 cm, 10.9±1.9 g) 26개체를 이용하여 141~164시간 동안 연속으로 산소소비량을 측정하였다. 실험기간 중 수온은 20.8±0.1°C, 염분은

32.2±0.1 psu를 계속 유지시켰다(Table 3). 실험 초기 96시간 동안 안정된 상태에서 산소 소비량을 측정된 후, 0.1% 농도의 CO₂ 를 주입하면서 호흡반응을 관찰하였다. 실험 초기 약 96시간에 걸쳐 측정된 바지락의 호흡리듬은 일정한 주기성을 보이며 비교적 안정된 양상을 보였으며, CO₂ 0.1%에 노출된 후에도 호흡율과 주기성에 있어서 큰 변화는 보이지 않았다(Fig. 8B). 노출전과 노출후의 평균산소소비율을 비교한 결과, 노출 후에 약 6.2% 정도 감소한 것으로 나타났다(Table 4). MESA program을 이용하여 노출 후의 호흡리듬에 대한 주기분석을 실시한 결과, 24.1시간의 강한 일주기 리듬과 12.1시간의 조석 주기 리듬과 유사한 호흡리듬도 관찰되었다(Fig. 8b).

(4) CO₂ 0.15% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 0.15% 노출 농도에서 바지락(3.5±0.9 cm, 9.3±0.5 g) 14개체를 이용하여 168~215 시간 동안 산소소비량을 측정하였다. 실험기간 중 수온은 20.0±0.3°C, 염분은 32.1±0.2 psu를 계속 유지시켰다(Table 3). CO₂의 노출에 의한 바지락의 산소소비패턴 변화를 관찰하기 위해서 실험 개시 후 116시간 동안 일정한 상태에서 호흡률을 측정하였으며, 이 후 CO₂ 0.15%를 주입하면서 산소소비 형태를 관찰하였다. 실험생물의 호흡량 변화를 관찰한 결과, 실험초기 약 5일 동안은 안정된 호흡패턴을 유지하였으며, CO₂ 0.15 %에 노출한 후에는 노출 전에 비해 호흡율의 최대 peak값의 간격이 넓게 나타났다(Fig. 9A). CO₂에 노출 전과 노출 후에 대한 평균산소소비율을 분석한 결과 노출 전에 비해 노출 후 산소 소비는 약 11.4% 정도 감소한 것으로 나타났으며(Table 4), MESA program을 이용하여 노출 후의 호흡리듬에 대한 주기분석을 실시한 결과, 24.8시간의 일주기 리듬과 10.7시간의 호흡리듬이 관찰되었다(Fig. 9a).

(5) CO₂ 0.2% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 0.2% 의 노출 농도에서 바지락(3.7±2.2 cm, 10.4±1.5 g) 14개체를 이용하여 152~190시간 동안 산소소비량을 측정하였다. 실험기간 중 수온은 20.4±0.7°C, 염분은 32.1±0.2 psu를 계속 유지시켰다(Table 3). CO₂의 노출로 인해 나타나는 생물의 산소소비 pattern 변화를 관찰하기 위해 실험 초기 118시간 동안 안정된 상태에서 산소소비량을 측정된 후, 0.2% 농도의 CO₂를 주입하면서 호흡반응을 관찰하였다. 바지락의 산소소비량은 실험 초기에는 CO₂ 0.15%에 노출한 개체와 유사하게 비교적 안정된 상태를 유지하였으며, CO₂ 0.2%에 노출된 후에는 산소소비량이 다소 감소하였다(Fig. 9B). 노출 전후에 대한 평균산소소비율을 분석한 결과 노출 전에 비해 노출 후 산소 소비는 약 9.8% 정도 감소한 것으로 나타났다(Table 4). 노출 후의 산소소비 자료를 이용하여 주기분석을 실시한 결과 26.2 시간, 15.4시간 및 10.9시간의 호흡리듬이 나타난 것으로 미루어 호흡리듬의 패턴이 다소 불규칙하게 변하는 것으로 판단된다(Fig. 9b).

(6) CO₂ 2.0% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 2.0%의 노출 농도에서 바지락(3.7±3.1 cm, 10.2±1.0 g) 16개체를 이용하여 184~214시간 동안 산소소비량을 측정하였다. 실험기간 중 수온은 19.7±0.1℃, 염분은 32.2±0.1 psu를 계속 유지시켰다(Table 3). CO₂의 노출로 인해 나타나는 생물의 산소소비 pattern 변화를 관찰하기 위해 실험 초기 120시간 동안 안정된 상태에서 산소소비량을 측정한 후, CO₂ 2.0% 을 노출시키고 호흡반응을 관찰하였다. 바지락의 산소소비량은 저농도 범위의 노출 실험과 유사하게 실험초기에는 안정된 상태를 유지하였으나, CO₂에 노출된 후에는 산소소비량이 노출 전에 비해 18.1% 감소하는 경향을 보였다(Fig. 10A, Table 4). 노출 후에 측정된 산소소비 자료를 이용하여 주기분석을 실시한 결과, 이전 실험과 유사하게 일주기 리듬과 유사한 23.6시간과 조석주기 리듬과 유사한 12.8시간의 호흡리듬이 관찰되었다(Fig. 10a).

(7) CO₂ 3.0% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 3.0%의 노출 농도에서 바지락(3.6±0.7 cm, 9.1±0.5 g) 16개체를 이용하여 156~215 시간 동안 산소소비량을 측정하였다. 실험기간 중 수온은 20.7±0.6℃, 염분은 32.1±0.2 psu를 계속 유지시켰다(Table 3). CO₂의 노출로 인해 나타나는 바지락의 산소소비 pattern 변화를 관찰하기 위해 실험 초기 96시간 동안 안정된 상태에서 산소소비량을 측정한 후, CO₂ 3.0% 을 노출시키고 호흡반응을 관찰하였다. 바지락의 산소소비량은 실험개시 후 2~3일간은 다소 증가하는 양상을 보이다가 CO₂에 노출된 후에는 산소소비량이 다소 감소하였으며(Fig. 10B), 이후 실험 종료시 까지 일정한 호흡리듬을 유지하였다. CO₂에 노출 전과 노출 후에 대한 평균산소소비율을 분석한 결과 노출 전에 비해 노출 후 산소소비는 약 30.7% 감소한 것으로 나타났다(Table 4). 노출 후에 측정된 산소소비 자료를 이용하여 주기분석을 실시한 결과, 일주기 리듬과 유사한 24.9시간과 10.7시간 및 6.8시간의 호흡리듬이 관찰되었다(Fig. 10b).

(8) CO₂ 5.0% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 5.0%의 노출 농도에서 바지락(3.6±1.8 cm, 9.5±1.3 g) 26개체를 이용하여 181~224 시간 동안 산소소비량을 측정하였다. 실험기간 중 수온은 20.8±0.1℃, 염분은 32.2±0.1 psu를 계속 유지시켰다(Table 3). 바지락의 산소소비 pattern 변화를 관찰하기 위해 실험 초기 84시간 동안 안정된 상태에서 산소소비량을 측정한 후, CO₂ 5.0% 을 노출시키고 호흡반응을 관찰하였다. 바지락의 산소소비량은 실험초기에는 호흡리듬의 최대 peak 값이 일정한 리듬을 가지면서 비교적 안정된 상태를 유지하였으나, CO₂에 노출된 후에는 산소소비율이 다소 감소하였으며 리듬의 최대 peak 값과 주기성이 약화되는 양상을 보였다(Fig. 11A). CO₂에 노출 전과 노출 후에 대한 평균산소소비율을 분석한 결과 노출 전에 비해

노출 후 산소소비는 약 26.6% 정도 감소한 것으로 나타났다(Table 4). 노출 후에 대해 측정된 산소소비 자료를 이용하여 주기분석을 실시한 결과, 12.5시간의 호흡리듬과 9.2시간의 호흡리듬이 관찰되었다(Fig. 11a).

(9) CO₂ 10.0% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 10.0%의 노출 농도에서 바지락(3.8±2.3 cm, 10.5±1.6 g) 20개체를 이용하여 164~256시간 동안 산소소비량을 측정하였다. 실험기간 중 수온은 20.0±0.3°C, 염분은 32.1±0.2 psu를 계속 유지시켰다(Table 3). CO₂의 노출에 의한 바지락의 산소소비율 변화를 관찰하기 위해 실험개시 90시간 동안 산소소비량을 측정한 후, CO₂ 10.0%을 주입하면서 지속적으로 호흡반응을 관찰하였다. 바지락의 산소소비율은 실험초기에는 일정한 리듬을 유지하면서 호흡률의 최대 peak 도 뚜렷하게 나타났으나, 10.0% CO₂에 노출된 후에는 호흡리듬의 주기성이 약화되었으며 호흡률도 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 11B). 노출 전후에 대한 평균산소소비율을 비교한 결과, 약 18.8% 감소한 것으로 나타났으며, 노출 후에 측정된 호흡률자료를 이용하여 주기분석을 한 결과, 24.6시간과 12.2시간의 조석주기와 유사한 호흡리듬이 혼재하여 나타났다(Fig. 11b).

나. CO₂ 노출 농도에 따른 조피볼락의 산소소비율 변화

(1) CO₂ 0.1% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 0.1% 노출 농도에 대한 조피볼락(9.3±0.3 cm, 11.8±1.4 g) 2개체의 산소소비율은 일정한 수온과 염분(15.2±0.1°C, 32.2±0.1 psu)하에서 192시간 동안 연속 측정되었다. 실험에 사용된 여과 해수는 산소 농도가 85.1~95.1%로 유지하였으며, 유속은 345.0 ml/min로 일정하게 공급하였다(Table 5). 실험은 일정한 상태에서 산소소비 pattern을 측정한 후, 0.1%의 CO₂ 농도에 지속적으로 노출시키면서 생물의 호흡 반응을 관찰하였다. 조피볼락은 실험개시 후 96시간 동안은 안정된 호흡 pattern을 유지하고 있었으며, CO₂ 0.1%을 주입한 후에는 노출직후에는 호흡리듬에 있어서 큰 변화는 관찰되지 않았으나, 노출 후 약 2일이 경과한 다음에는 불규칙한 호흡리듬이 관찰되었다(Fig. 12A). 전체 실험기간에 대해 노출 전과 후의 산소소비율을 비교해본 결과, 노출 후 25.0% 증가하였다(Table 6). 노출 후에 측정된 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하고 주기분석을 실시한 결과, 일주기와 유사한 19.6시간과 9.3시간 및 7.4시간의 불규칙한 호흡리듬이 나타났다(Fig. 12a).

(2) CO₂ 0.2% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 0.2% 노출 농도에 대한 조피볼락(9.4±0.1 cm, 11.1±0.6 g) 2개체의 산소소비율은

일정한 수온과 염분($15.1 \pm 0.1^\circ\text{C}$, 32.1 ± 0.1 psu)에서 199시간 동안 연속 측정되었다. 실험에 사용된 여과 해수는 산소 농도가 85.2~94.9%로 유지하였으며, 유속은 345.0 ml/min 로 일정하게 공급하였다(Table 5). 조피볼락의 산소소비 pattern은 노출 전 96시간 동안은 비교적 안정된 양상을 보였으며, CO₂ 0.2%에 노출된 후에도 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 12B). 노출 전후의 산소소비율을 비교해본 결과, 이전 결과와 유사하게 노출 후 23.9% 증가하는 경향을 나타냈으나, 증가율은 이전 실험보다 낮은 값을 나타냈다(Table 6). 노출 후의 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하고 주기분석을 실시한 결과, 일주기 리듬과 유사한 23.0시간과 15.4시간 및 8.4시간의 호흡리듬이 동시에 관찰되었다(Fig. 12b).

(3) CO₂ 2.0% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 2.0% 노출 농도에 대한 조피볼락(10.3 ± 0.2 cm, 13.5 ± 0.6 g) 2개체의 산소소비율은 일정한 수온과 염분($14.9 \pm 0.1^\circ\text{C}$, 32.1 ± 0.1 psu)에서 199시간 동안 연속 측정되었다. 실험에 사용된 여과 해수는 산소 농도가 85.2~95.0%로 되도록 조절하였으며, 유속은 345.0 ml/min 로 일정하게 공급하였다(Table 5). 실험은 초기 96시간 동안 일정한 상태에서 산소소비 pattern을 측정한 후, 2.0%의 농도에 노출시키고 생물의 호흡 반응을 관찰하였다. 조피볼락은 실험개시 후 96시간 동안은 안정된 호흡 pattern을 유지하고 있었으며, 2.0% CO₂에 노출된 직후에는 큰 변화가 나타나지 않았다. 하지만 노출 후 약 24시간이 경과하면서 노출에 의한 영향으로 산소소비율이 다소 증가하였으며, 호흡률의 최대 peak 값이 두드러지게 나타났다(Fig. 13A). 전체 실험기간에 대해 노출 전과 후의 산소소비율을 비교해본 결과, 약 27.3% 가량 증가하여 이전 결과와 유사한 경향을 나타냈다(Table 6). 노출 후에 측정된 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하고 주기분석을 실시한 결과, 일주기 리듬과 유사한 25.4시간과 12.1시간의 조석주기 리듬과 유사한 두 개의 호흡리듬이 관찰되었다(Fig. 13a).

(4) CO₂ 5.0% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 5.0% 노출 농도에 대한 조피볼락(10.5 ± 1.0 cm, 16.7 ± 4.9 g) 2개체의 산소소비율은 일정한 수온과 염분($14.9 \pm 0.1^\circ\text{C}$, 32.2 ± 0.1 psu)에서 192시간 동안 연속 측정되었다. 실험에 사용된 여과 해수는 산소 농도가 85.3~95.0%로 되도록 조절하였으며, 유속은 345.0 ml/min 로 일정하게 공급하였다(Table 5). 실험은 초기 96시간 동안 일정한 상태에서 산소소비 pattern을 측정한 후, 5.0%의 농도에 노출시키고 생물의 호흡 반응을 관찰하였다. 조피볼락은 실험개시 후 96시간 동안은 안정된 호흡 pattern을 유지하고 있었으나, CO₂ 5.0%에 노출된 후 약 56시간 동안 노출에 의한 영향으로 산소소비율이 급격하게 증가하였으며, 호흡률의 최대 peak 값도 두드러지게 나타났다. 이 후 본래의 산소소비 pattern으로

다시 회복되었다(Fig. 13B). 노출 전과 노출 후의 산소소비율을 비교해본 결과, 56.7% 증가하는 경향을 나타냈다(Table 6). 노출 후에 측정된 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하고 주기분석을 실시한 결과, 일주기 리듬과 유사한 24.1시간의 호흡리듬이 우세하게 나타났으며, 12.1시간의 약한 조석주기 리듬도 관찰되었다(Fig. 13b).

다. CO₂ 노출 농도에 따른 대하의 산소소비율 변화

(1) CO₂ 0.035% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 0.035% 노출 농도에 대한 대하(14.3±0.3 cm, 14.7±0.4 g) 2개체의 산소소비율은 일정한 수온과 염분(20.1±0.1°C, 32.1±0.1 psu)에서 126시간 동안 연속 측정되었다. 실험에 사용된 여과 해수는 산소 농도가 84.3~94.8%로 되도록 조절하였으며, 유속은 345.0 ml/min 로 일정하게 공급하였다(Table 7). 실험은 실험개시 80시간 동안 일정한 상태에서 산소소비 pattern을 측정한 후, 0.035%의 CO₂를 주입하면서 생물의 호흡 반응을 관찰하였다. 대하의 산소소비율은 실험개시 후 80시간 동안 비교적 안정된 호흡 pattern을 유지하고 있었으나, CO₂ 0.035%을 주입한 후 산소소비율이 다소 증가하였으며, 호흡리듬의 주기성이나 호흡량의 변화는 나타나지 않았다(Fig. 14A). 전체 실험기간에 대해 노출 전과 후의 산소소비율을 비교해본 결과, 노출 전에 비해 노출 후에 15.8% 가량 증가했다(Table 8). 노출 후의 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하고 주기분석을 실시한 결과, 각각 22.7시간과 9.6시간 두 개의 호흡리듬이 관찰되었다(Fig. 14a).

(2) CO₂ 0.05% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 0.05% 노출 농도에 대한 대하(13.4±1.0 cm, 13.4±1.6 g) 2개체의 산소소비율은 일정한 수온과 염분(20.1±0.1°C, 32.2±0.1 psu)에서 145시간 동안 연속 측정되었다. 실험에 사용된 여과 해수는 산소 농도가 85.3~94.8%로 되도록 조절하였으며, 유속은 345.0 ml/min 로 일정하게 공급하였다(Table 7). 실험은 초기 74시간 동안 일정한 상태에서 산소소비 pattern을 측정한 후, 0.05%의 농도에 노출시키고 생물의 호흡 반응을 관찰하였다. 대하의 산소소비율은 CO₂ 노출 전 74시간 동안은 비교적 안정된 호흡 pattern을 유지하고 있었으며, CO₂ 0.05%을 주입한 후 산소소비율이 다소 증가하였으며, 주기성이나 호흡량의 변화는 크게 나타나지 않았다(Fig. 14B). 전체 실험기간에 대해 노출 전과 후의 산소소비율을 비교해본 결과, 20.8% 증가하여 이전 결과와 유사한 경향을 나타냈다(Table 8). 노출 후의 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하고 주기분석을 실시한 결과, 조석주기 리듬과 유사한 12.4시간의 호흡리듬만이 우세하게 나타났다(Fig. 14b).

(3) CO₂ 2.0% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO₂ 2.0% 노출 농도에 대한 조피볼락(15.0±0.7 cm, 17.5±3.1 g) 2개체의 산소소비율은

일정한 수온과 염분($20.3 \pm 0.1^\circ\text{C}$, 32.1 ± 0.1 psu)에서 199시간 동안 연속 측정되었다. 실험에 사용된 여과 해수는 산소 농도가 85.4~94.5%로 되도록 조절하였으며, 유속은 345.0 ml/min 로 일정하게 공급하였다(Table 7). 실험은 초기 4일 동안 일정한 상태에서 산소소비 pattern을 측정한 후, 2.0% 농도의 CO_2 를 주입하면서 생물의 호흡 반응을 관찰하였다. 대하의 산소소비율은 실험개시 후 112시간 동안은 일정한 리듬을 가지며 호흡률의 최대 peak 값도 두드러지게 나타났다. 그러나 CO_2 2.0%에 노출 후 실험 종료 시까지 대하의 산소소비율은 노출에 의한 영향으로 감소하였으며, 주기성을 갖던 호흡리듬의 peak 값도 거의 약화되어 본래의 산소소비 pattern으로 회복되지 않았다(Fig. 15A). 전체 실험기간에 대해 노출 전과 후의 산소소비율을 비교해본 결과, 이전 결과와는 다르게 11.3% 감소하는 경향을 나타냈다(Table 8). 노출 후에 측정된 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하고 주기분석을 실시한 결과, 24.9시간과 11.2시간의 두 개의 호흡리듬이 관찰되었다(Fig. 15a).

(4) CO_2 3.0% 노출 농도에서 산소소비율 변화

CO_2 3.0% 노출 농도에 대한 대하(14.3 ± 1.5 cm, 17.9 ± 2.7 g) 2개체의 산소소비율은 일정한 수온과 염분($20.1 \pm 0.1^\circ\text{C}$, 32.1 ± 0.1 psu)에서 149시간 동안 연속 측정되었다. 실험은 초기 4일 동안 일정한 상태에서 산소소비 pattern을 측정한 후, 3.0% 농도의 CO_2 를 주입하면서 생물의 호흡 반응을 관찰하였다. 대하의 산소소비율은 실험개시 후 81시간 동안은 호흡률의 최대 peak 값이 일정한 리듬을 가지면서 비교적 안정된 호흡 pattern을 유지하고 있었으나, CO_2 3.0%을 주입한 후에는 산소소비율이 다소 감소하였으며, 호흡률의 주기성이 다소 약화되었다(Fig. 15B). 전체 실험기간에 대해 노출 전과 후의 산소소비율을 비교해본 결과, 저농도 실험의 경우와는 다르게 8.0% 감소하는 경향을 나타냈다(Table 8). 노출 후의 산소소비 자료를 사용하여 MESA program을 실행하고 주기분석을 실시한 결과, 일주기 리듬과 유사한 24.8시간의 호흡리듬만이 우세하게 나타났다(Fig. 15b).

4. 토 의

본 실험은 바지락(*Ruditapes philippinarum*), 조피볼락(*Sebastes schlegelii*) 및 대하(*Penaeus chinensis*)을 대상으로 다양한 농도범위의 CO₂ 환경 하에서 대상생물의 호흡생체리듬이 어떠한 변화를 나타내는지 알아보기 위해 노출 전과 노출 후의 호흡률을 연속적으로 측정하였다. 실험은 저농도 및 고농도 환경의 두 그룹으로 나누어 진행되었으며, 각각의 시스템에는 바지락의 경우 3개체씩, 조피볼락 및 대하의 경우 각각 1개체씩 넣고 측정을 실시하였다. 저농도 환경은 0.035~0.2%, 고농도 환경은 2.0~10.0%의 범위로 노출 실험을 진행하였다.

가. 바지락

일정한 상태에서 실험개시 후 약 9일간 관찰된 바지락의 호흡생체리듬은 채집지역의 조석주기와 연관된 12.4시간의 뚜렷한 주기성이 나타났으며(Fig. 7a), 실험실 환경에서 적응된 23.6시간의 일주기 패턴도 함께 관찰되었다. 이러한 패턴은 생물이 서식지에서 빛이나 조석과 같은 환경요인에 장기간 노출됨으로써 나타나는 현상으로 알려져 있다(Kadri et al., 1991; Northcott et al., 1991a; Palmer, 1995). 이러한 외부 환경요인에 의한 간섭을 배제하고 CO₂ 노출에 의한 직접적인 생리영향을 관찰하기 위해 실험실에서 장기간 순치시킨 개체를 이용하여 CO₂ 노출실험을 수행하였다. 저농도 실험은 0.05, 0.1, 0.15, 0.2%의 4개의 실험군으로 나누어 진행하였다. 실험개시 약 4일째 0.05%의 CO₂를 주입한 바지락의 호흡생체리듬은 호흡패턴에 있어서 큰 변화를 보이지는 않았으나, 전반적으로 다소 감소하는 경향을 나타냈다. 노출 후의 호흡리듬도 14.6시간의 조석주기와 유사한 리듬이 관찰되었다. 0.1%의 CO₂를 주입한 바지락의 호흡생체리듬은 노출 전에 비해 노출 후의 호흡률의 최대 peak의 간격이 다소 넓어지는 양상을 보였으며 12.1시간의 조석주기와 유사한 호흡리듬과 24.1시간의 일주기 리듬이 혼재하는 양상을 나타냈다. 0.15 및 0.2%의 경우에서도 호흡률의 변화는 유사한 양상을 보였으나, 전체적인 호흡리듬의 패턴은 지속적으로 유지되었다. 이러한 결과로 미루어 저농도 환경에 노출된 바지락의 호흡생체리듬에서는 개체의 상태에 따라 호흡률이 다소 감소하는 경향을 나타냈으나, 전체적인 호흡리듬 패턴에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 판단된다. 한편, 고농도 범위에 대한 실험은 2.0, 3.0, 5.0, 10.0%의 4개 그룹으로 나누어 반복실험을 진행하였으며, 이전 실험과 마찬가지로 일정한 상태에서 3~4일간 호흡패턴을 관찰한 후 고농도의 CO₂를 주입한 후 호흡리듬의 변화를 관찰하였다. Fig. 10A는 2.0%의 CO₂ 환경에 노출된 바지락의 호흡리듬패턴을 나타낸다. 실험개시 후, 약 4일간은 채집지역의 조석주기와 관련된 분명한 주기성이 관찰되었으나, 노출후에는 호흡리듬의 주기성이 점차 약화되는 경향을 나타

냈으며, 호흡률도 감소하는 양상을 보였다. 노출 전과 노출 후의 평균산소소비율은 약 18.1% 감소하였으며, 노출 후의 호흡리듬의 주기성도 12.8시간의 조석주기 리듬과 23.6시간의 일주기 리듬이 혼재하는 양상을 보였다. Fig. 10B와 Fig. 11A에서 보이는 것과 같이 3.0%와 5.0% 농도의 CO₂에 노출된 바지락의 호흡생체리듬도 유사한 경향을 나타냈다. 특히, 노출 전과 노출 후의 평균산소소비율은 각각 30.7%와 26.6%로 급격하게 감소하였으며, 호흡리듬의 주기성도 상당히 약화되는 경향을 보였다. 10.0% 농도의 CO₂에 노출된 바지락의 호흡생체리듬도 이전 결과와 유사한 양상을 보였으며, 노출 전의 주기성이 노출 후에 급격하게 약화되는 경향을 나타냈다. 다만 노출 전에 비해 노출 후의 평균산소소비율은 18.8% 감소하여 이전 실험과 다소 다른 경향을 나타냈다.

나. 조피볼락

조피볼락에 대한 저농도 CO₂ 노출 실험은 0.1% 및 0.2%의 2개의 실험군으로 나누어 진행하였다. 실험개시 약 4일째 0.1%의 CO₂를 주입한 조피볼락의 호흡생체리듬은 호흡패턴에 있어서 큰 변화를 보이지는 않았으나, 전반적으로 다소 증가하는 경향을 나타냈다. 0.2%의 CO₂에 노출된 조피볼락의 호흡생체리듬도 이전 결과와 유사하게 노출 전후의 호흡률에 있어서 큰 변화를 보이지는 않았다. 한편, 2.0% 및 5.0%의 고농도 CO₂ 노출 환경에서는 저농도와는 다른 양상의 호흡패턴을 보였다. 노출 후 약 1~2일이 경과한 시점에서부터 호흡리듬의 최대 peak 가 뚜렷하게 나타났으며, 특히 5.0%의 경우는 호흡률이 급격하게 증가하였으며, 이후 다시 본래의 호흡리듬으로 회복되는 경향을 보였다. 이는 고농도 CO₂ 노출에 따른 급격한 해수 산성화에 기인한 것으로 판단된다. 일반적으로 수서생물에 있어서 해수의 pH 감소는 아가미 세포의 물질수송기능을 저해함으로써 신진대사율 및 체내 산소공급에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(Portner et al., 2004). 또한 수서생물은 세포내의 pH를 일정하게 유지할 수 있는 능력이 있으므로 일시적으로 산성화된 주변 환경에 노출되더라도 일정 시간이 지나면 회복이 가능하다(Portner et al., 1998). 고농도 환경에 노출된 조피볼락의 호흡생체리듬에 있어서 급격한 호흡율의 증가와 일정 시간이 경과되어 회복상태로 전환되는 이유는 이러한 해수 산성화에 따른 일시적인 대사기능의 저해와 회복 능력에 의한 결과로 판단되며, 개체간의 차이를 고려한 보다 많은 반복실험이 필요할 것으로 생각된다.

다. 대하

대하에 대한 저농도 CO₂ 노출 실험은 현재 대기 중의 CO₂ 농도와 유사한 0.035%(350 ppm)과 2100년에 예상되는 대기 CO₂ 농도와 유사한 0.05%(500 ppm)의

2개의 실험군으로 나누어 실험을 진행하였다. 실험개시 약 3일 쯤 0.035%의 CO₂를 주입한 대하의 호흡생체리듬은 호흡패턴에 있어서 큰 변화를 보이지는 않았으나, 전반적으로 다소 증가하는 경향을 나타냈다. 0.05%의 CO₂에 노출된 대하의 호흡생체리듬도 위 결과와 유사하게 노출 후 다소 증가하는 경향을 보였다. 노출 후의 측정된 호흡률에 대한 주기분석 결과는 0.035%의 경우, 9.6시간 및 22.7시간의 호흡리듬이 나타났으며, 0.05%의 경우 12.4시간의 호흡리듬이 관찰되어 호흡생체리듬의 뚜렷한 주기성을 보이지는 않았다. 한편, 2.0% 및 3.0%의 고농도 CO₂ 노출 환경에서는 저농도와는 다른 양상의 호흡패턴을 보였다. 특히, 2.0% CO₂ 환경에 노출된 대하의 호흡생체리듬은 노출 전에는 호흡률의 최대 peak 값이 뚜렷한 주기성을 보였으나 노출 후 급격하게 호흡리듬의 주기성이 약화되어 본래의 리듬으로 회복되지 않았으며, 평균산소소비율도 저농도의 경우와는 달리 다소 감소하는 양상을 보였다.

동일한 CO₂ 노출 환경하에서 생물종에 따라 호흡반응이 다르게 나타나는 이유는 해수 중의 용존 CO₂의 증가에 따른 생리적 반응이 다르기 때문으로 판단된다. 용존 CO₂의 증가는 수소이온농도의 증가를 통해 해수를 산성화시킴으로서 pH를 낮추는 기작을 일으키며, 동시에 해수중의 탄산염을 감소시키는 역할을 한다. 해양생물 중에서 산호, 석회조류 및 이매패류 등껍질 또는 몸체의 일부가 탄산칼슘(CaCO₃)으로 이루어져 있는 종들은 해수 중의 탄산염이 감소되면 이러한 껍질이나 패각 형성에 있어 저해현상이 발생하며 이로 인해 대사활동이나 성장이 영향을 받을 수 있다. 반면 어류의 경우에는 용존 CO₂ 증가에 따른 해수 산성화가 직접적인 영향을 미치는 것으로 판단되나 이를 뒷받침할 생화학적 측면의 연구가 이루어지지 않았으므로 결론을 내리기는 어렵다. 비록 본 연구에서는 실제 CO₂ 해양격리가 이루어지는 수심에 서식하는 생물을 대상으로 실험을 진행하지는 못했으나, CO₂ 해양격리 시 발생할 수 있는 고농도 CO₂ 환경에 대한 내성실험을 통해 해양생물의 생리적 영향을 명확하게 밝힐 수 있었다는 것에 큰 의의가 있다고 판단된다. 앞으로 0.1%이하의 저농도 범위에서의 생물의 생리영향 및 성장률 저해 등을 파악하기 위한 연구가 수행되어야 하며, CO₂ 해양격리에 따른 생물의 영향을 더욱 명확하게 이해하기 위해서는 CO₂ 농도뿐만 아니라 압력, 수온 및 염분에 따른 변화를 동시에 관찰하는 것이 중요하며, 실제 분사가 이루어지는 수심에 서식하는 생물종에 대한 생리실험 및 생체리듬 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Table 3. CO₂ Concentrations of experiment and experimental parameters for manila clam *Ruditapes philippinarum*. Values are mean±standard deviation

	Low CO ₂ Concentration (%)				
	control	0.05	0.1	0.15	0.2
Total Length (cm)	3.8±1.9	3.7±2.3	3.8±1.7	3.5±0.9	3.7±2.2
Total Weight (g)	10.6±1.8	10.0±1.9	10.9±1.9	9.3±0.5	10.4±1.5
Temperature (°C)	19.6±0.1	20.1±0.4	20.8±0.1	20.0±0.3	20.4±0.7
Salinity (psu)	32.2±0.1	32.1±0.1	32.2±0.1	32.1±0.2	32.1±0.2
Oxygen level (%)	85.4~95.2	85.1~94.9	85.7~94.9	85.1~95.0	85.5~94.8
Flow volume (ml/min)	345.0	345.0	345.0	345.0	345.0
Measurement time (h)	169~209	169~190	141~164	168~215	152~190
Individuals (n)	24	22	26	14	14

	High CO ₂ Concentration (%)			
	2.0	3.0	5.0	10.0
Total Length (cm)	3.7±3.1	3.6±0.7	3.6±1.8	3.8±2.3
Total Weight (g)	10.2±1.0	9.1±0.5	9.5±1.3	10.5±1.6
Temperature (°C)	19.7±0.1	20.7±0.6	20.8±0.1	20.0±0.3
Salinity (psu)	32.2±0.1	32.1±0.2	32.2±0.1	32.1±0.2
Oxygen level (%)	85.4~95.0	85.4~94.8	85.7~94.9	85.1~95.0
Flow volume (ml/min)	345.0	345.0	345.0	345.0
Measurement time (h)	184~214	156~215	181~224	164~256
Individuals (n)	16	16	26	20

Table 4. Rates of oxygen consumption (ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) in tmanila clam before and after CO₂ exposure. Values are mean±standard deviation.

OCR	CO ₂ Concentration (%)							
	0.05	0.1	0.15	0.2	2.0	3.0	5.0	10.0
Minimum	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03
Maximum	2.9	6.9	3.5	3.7	3.8	3.4	4.0	3.7
Before exposure (A)	0.9±0.5	1.0±0.6	1.1±0.5	0.8±0.5	1.1±0.5	1.3±0.5	1.4±0.5	0.8±0.5
After exposure (B)	0.8±0.4	0.9±0.7	0.9±0.5	0.7±0.5	0.9±0.4	0.9±0.4	1.0±0.4	0.7±0.4
decreasing in rate of OCR = (B-A)/A (%)	6.4	6.2	11.4	9.8	18.1	30.7	26.6	18.8

Table 5. CO₂ Concentrations of experiment and experimental parameters for black rock fish *Sebastes schlegeli*. Values are mean±standard deviation

	CO ₂ Concentration (%)			
	0.1	0.2	2.0	5.0
Total Length (cm)	9.3±0.3	9.4±0.1	10.3±0.2	10.5±1.0
Total Weight (g)	11.8±1.4	11.1±0.6	13.5±0.6	16.7±4.9
Temperature (°C)	15.2±0.1	15.1±0.1	14.9±0.1	14.9±0.1
Salinity (psu)	32.2±0.1	32.1±0.1	32.1±0.1	32.2±0.1
Oxygen level (%)	85.1~95.1	85.2~94.9	85.2~95.0	85.3~95.0
Flow volume (ml/min)	345.0	345.0	345.0	345.0
Measurement time (h)	192	199	199	192
Individuals (n)	2	2	2	2

Table 6. Rates of oxygen consumption (ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) in black rock fish before and after CO₂ exposure. Values are mean±standard deviation.

OCR	CO ₂ Concentration (%)			
	0.1	0.2	2.0	5.0
Minimum	0.1	0.1	0.1	0.1
Maximum	5.9	4.9	4.6	5.3
Before exposure (A)	1.2±0.5	0.9±0.4	1.1±0.4	1.1±0.4
After exposure (B)	1.6±0.5	1.1±0.4	1.4±0.5	1.7±0.7
Increasing in rate of OCR = (B-A)/A (%)	25.0	23.9	27.3	56.7

Table 7. CO₂ Concentrations of experiment and experimental parameters for freshly shrimp *Penaeus chinensis*. Values are mean±standard deviation

	CO ₂ Concentration (%)			
	0.035	0.05	2.0	3.0
Total Length (cm)	14.3±0.3	13.4±1.0	15.0±0.7	14.3±1.5
Total Weight (g)	14.7±0.4	13.4±1.6	17.5±3.1	17.9±2.7
Temperature (°C)	20.1±0.1	20.1±0.1	20.3±0.1	20.1±0.1
Salinity (psu)	32.1±0.1	32.2±0.1	32.1±0.1	32.1±0.1
Oxygen level (%)	84.3~94.8	85.3~94.8	85.4~94.5	85.3~94.8
Flow volume (ml/min)	345.0	345.0	345.0	345.0
Measurement time (h)	126	145	199	149
Individuals (n)	2	2	2	2

Table 8. Rates of oxygen consumption (ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) in freshly shrimp before and after CO₂ exposure. Values are mean±standard deviation.

OCR	CO ₂ Concentration (%)			
	0.035	0.05	2.0	3.0
Minimum	0.2	0.1	0.3	0.1
Maximum	9.7	9.6	10.9	9.9
Before exposure (A)	2.2±0.8	1.7±0.8	3.7±1.5	1.9±0.9
After exposure (B)	2.6±0.8	2.1±0.9	3.3±1.4	1.7±0.9
decreasing in rate of OCR = (B-A)/A (%)	-15.8	-20.8	11.3	8.0

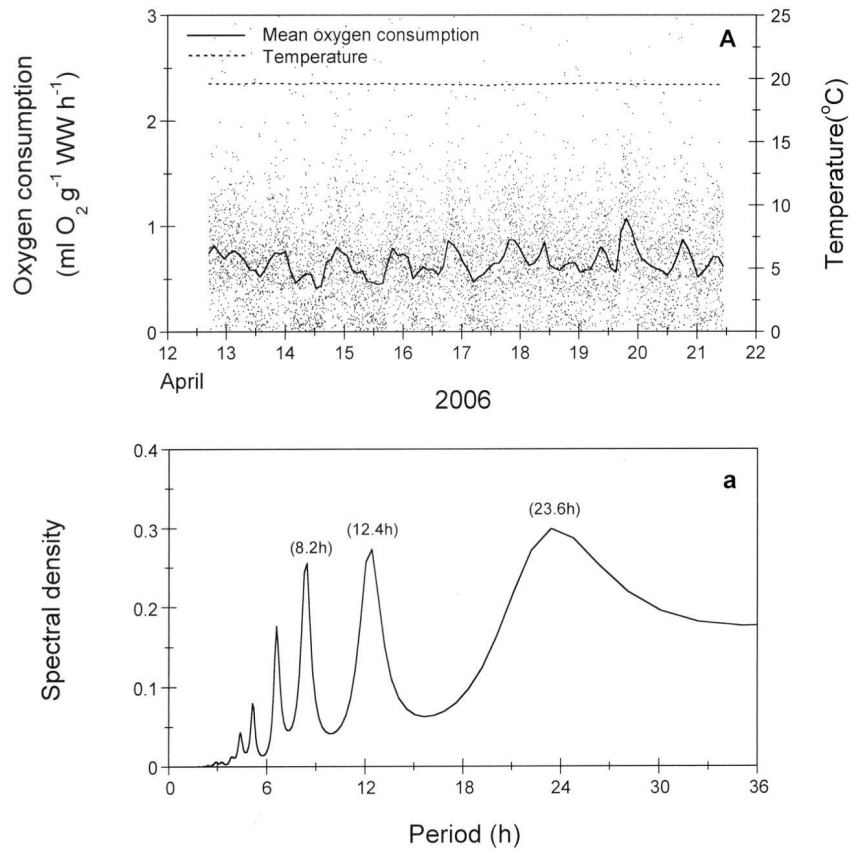


Fig. 7 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* over a 209 h. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) for data presented in Fig. 7A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

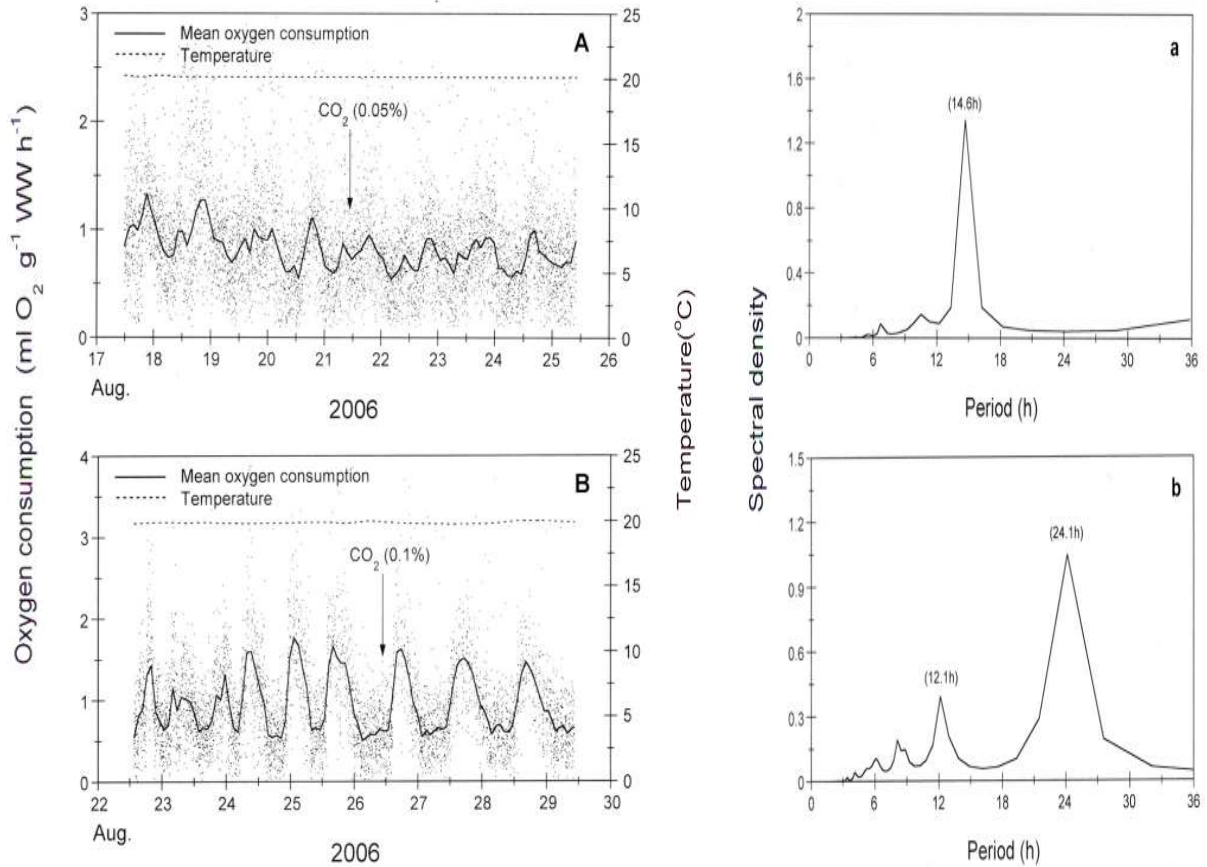


Fig. 8 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 0.05% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 0.1% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 0.05% CO₂ data presented in Fig. 8A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 0.1% CO₂ data presented in Fig. 8B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

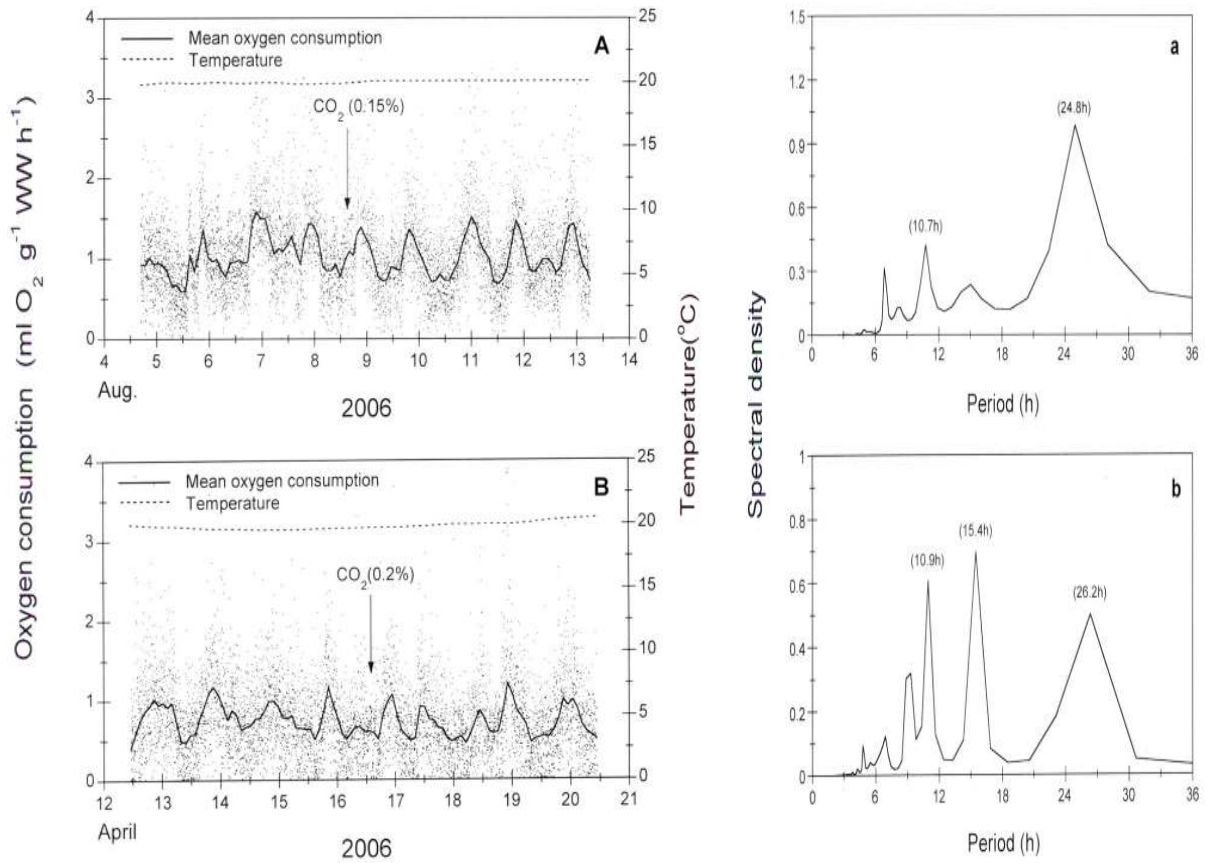


Fig. 9 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 0.15% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 0.2% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 0.15% CO₂ data presented in Fig. 9A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 0.2% CO₂ data presented in Fig. 9B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

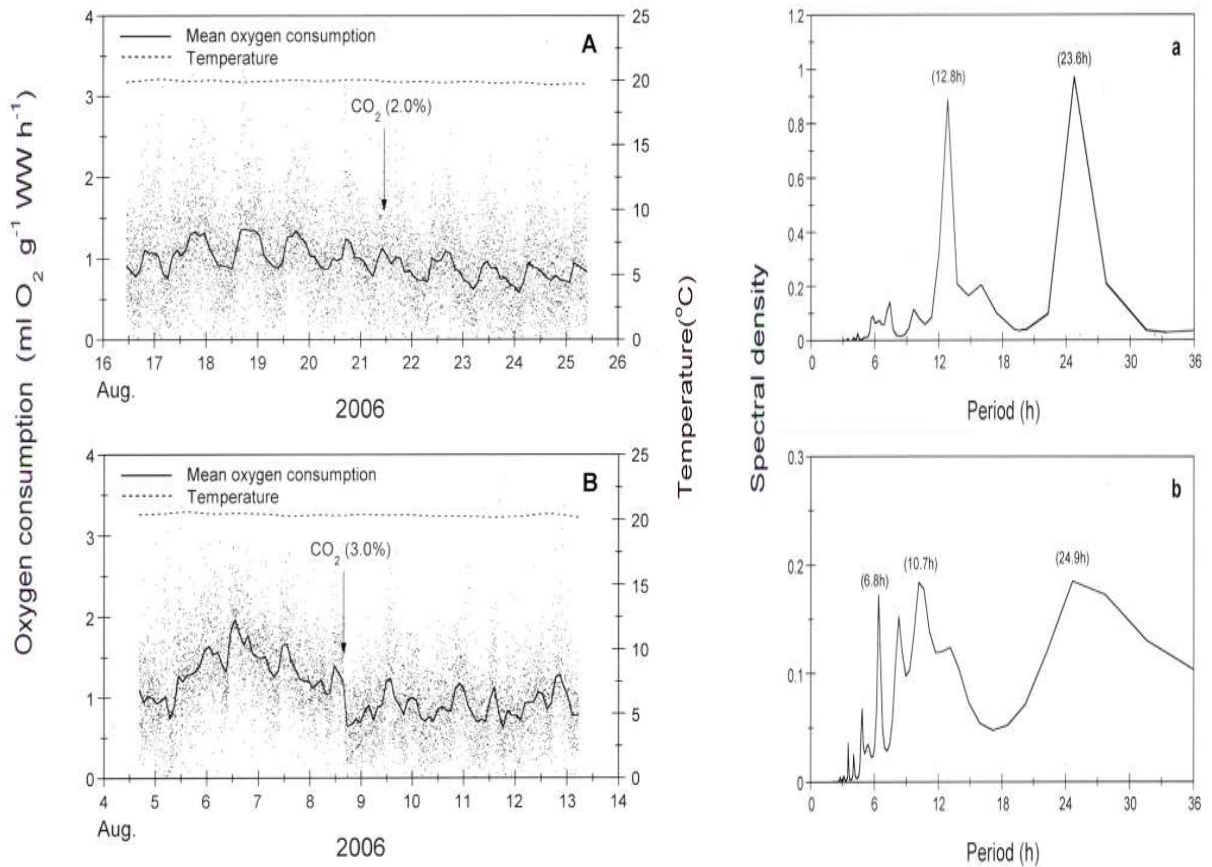


Fig. 10 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 2.0% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 3.0% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 2.0% CO₂ data presented in Fig. 10A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 3.0% CO₂ data presented in Fig. 10B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

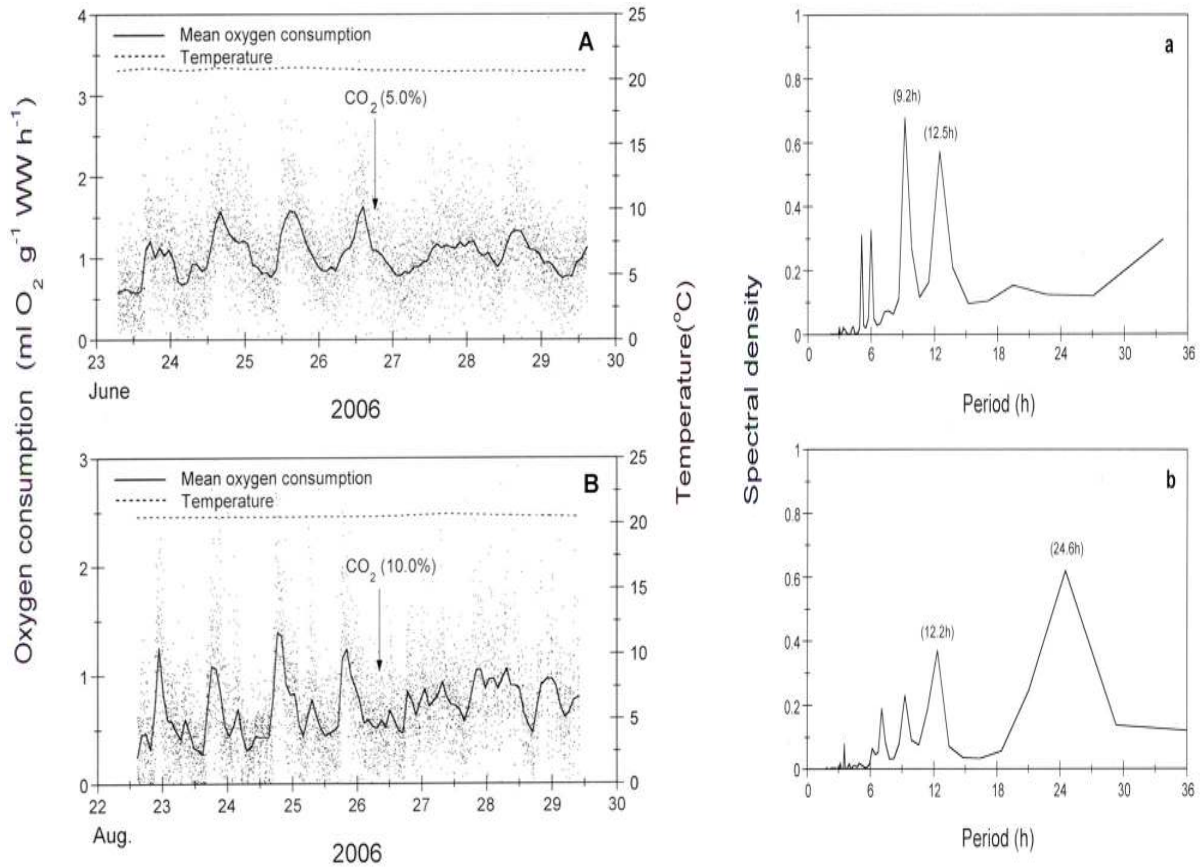


Fig. 11 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 5.0% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* before and after exposure to 10.0% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 5.0% CO₂ data presented in Fig. 11A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum* for after exposure of 10.0% CO₂ data presented in Fig. 11B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

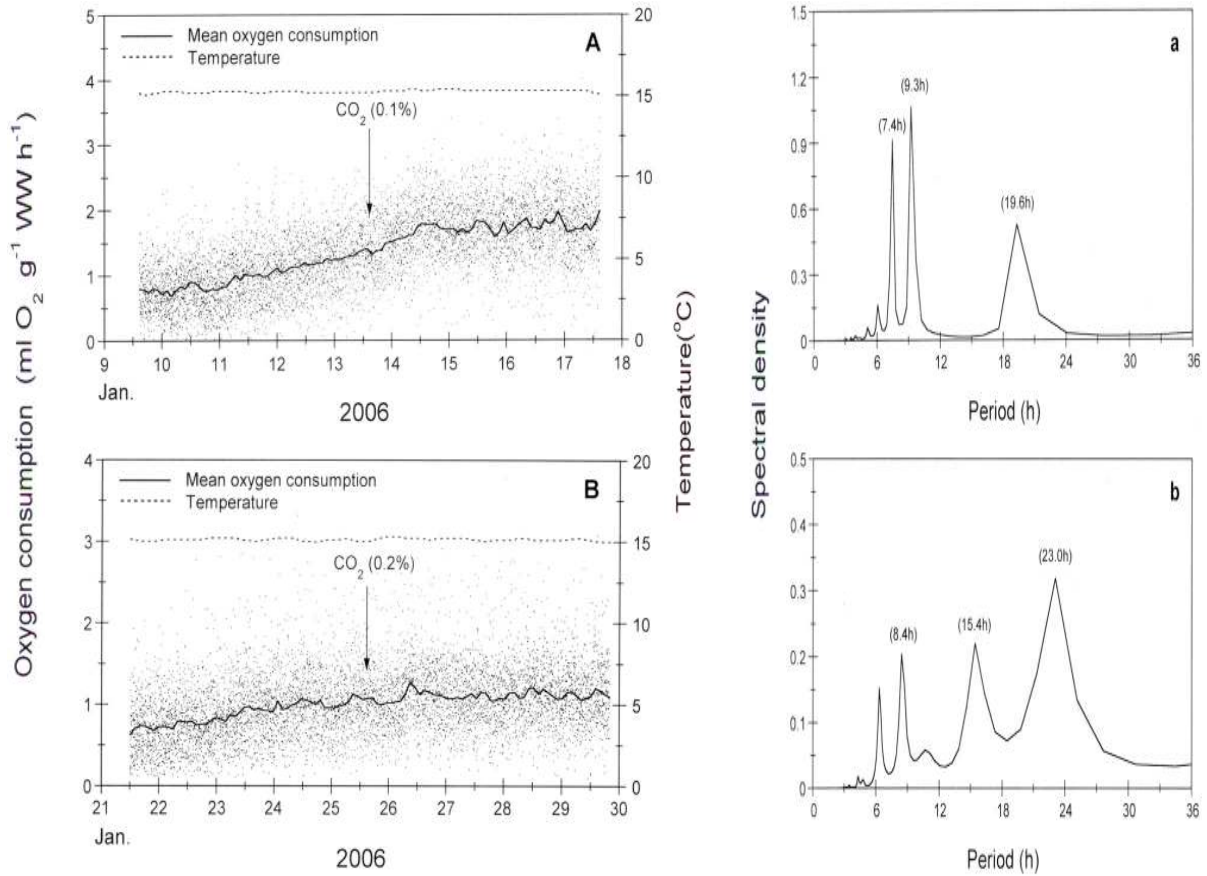


Fig. 12 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* before and after exposure to 0.1% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* before and after exposure to 0.2% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* for after exposure of 0.1% CO₂ data presented in Fig. 12A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* for after exposure of 0.2% CO₂ data presented in Fig. 12B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

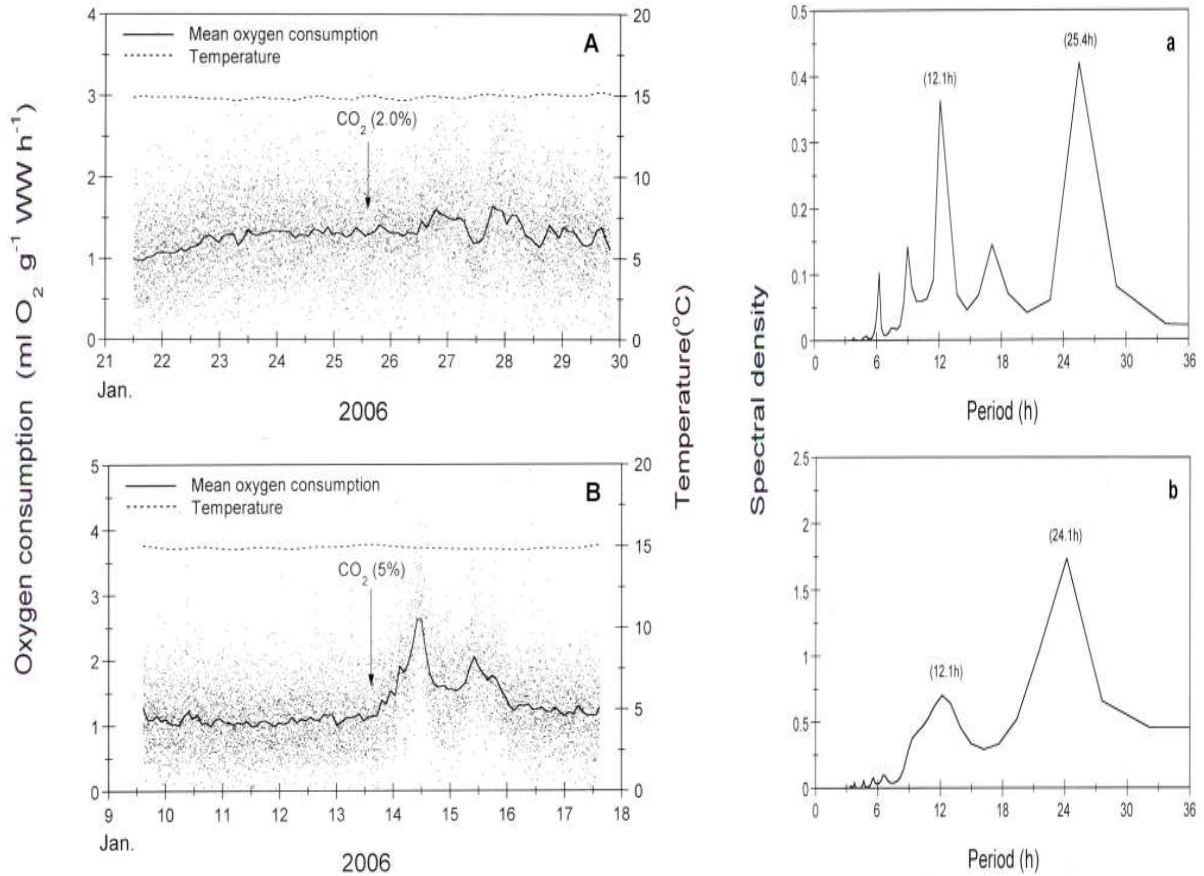


Fig. 13 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* before and after exposure to 2.0% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: ml O₂ g⁻¹ WW h⁻¹) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* before and after exposure to 5.0% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* for after exposure of 2.0% CO₂ data presented in Fig. 13A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the black rockfish, *Sebastes schlegeli* for after exposure of 5.0% CO₂ data presented in Fig. 13B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

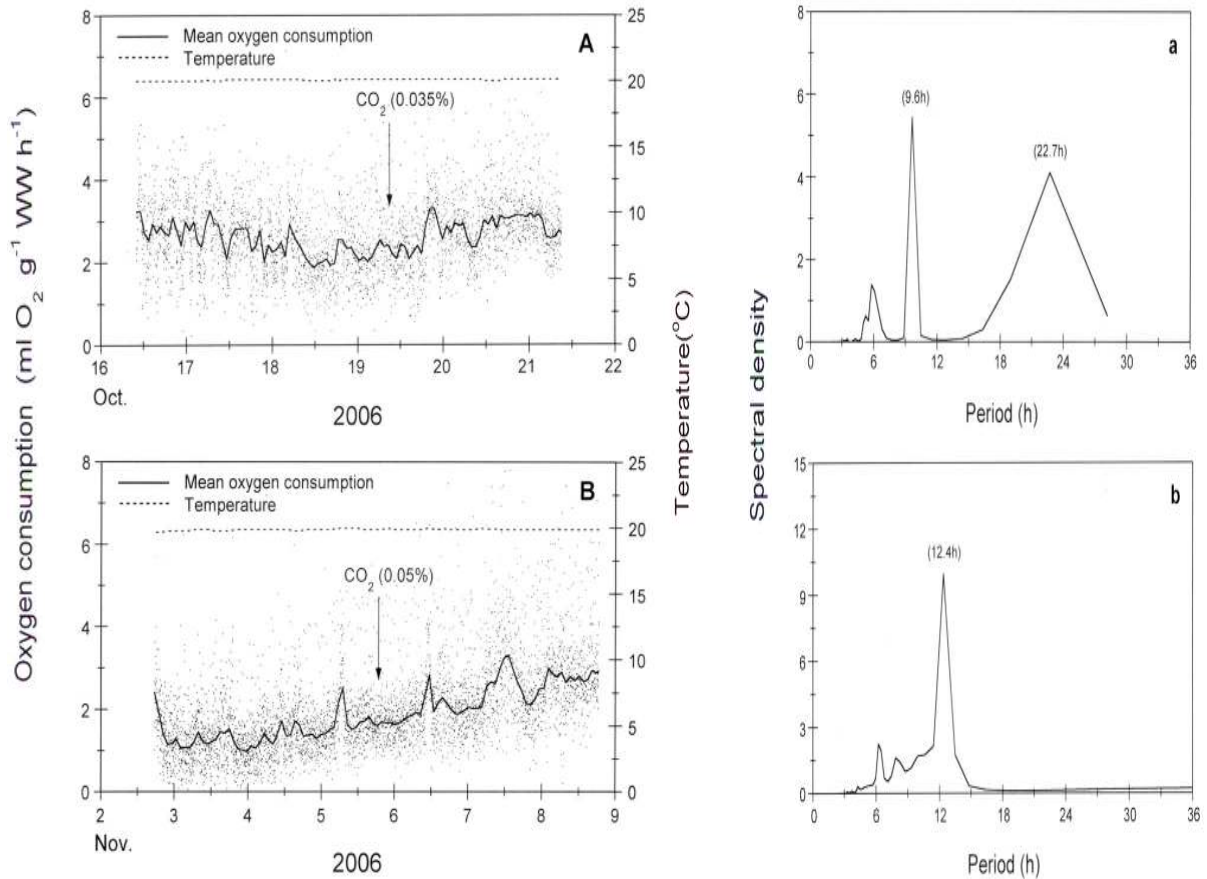


Fig. 14 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: $\text{ml O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ WW h}^{-1}$) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* before and after exposure to 0.035% CO_2 . (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: $\text{ml O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ WW h}^{-1}$) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* before and after exposure to 0.05% CO_2 . (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* for after exposure of 0.035% CO_2 data presented in Fig. 14A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* for after exposure of 0.05% CO_2 data presented in Fig. 14B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

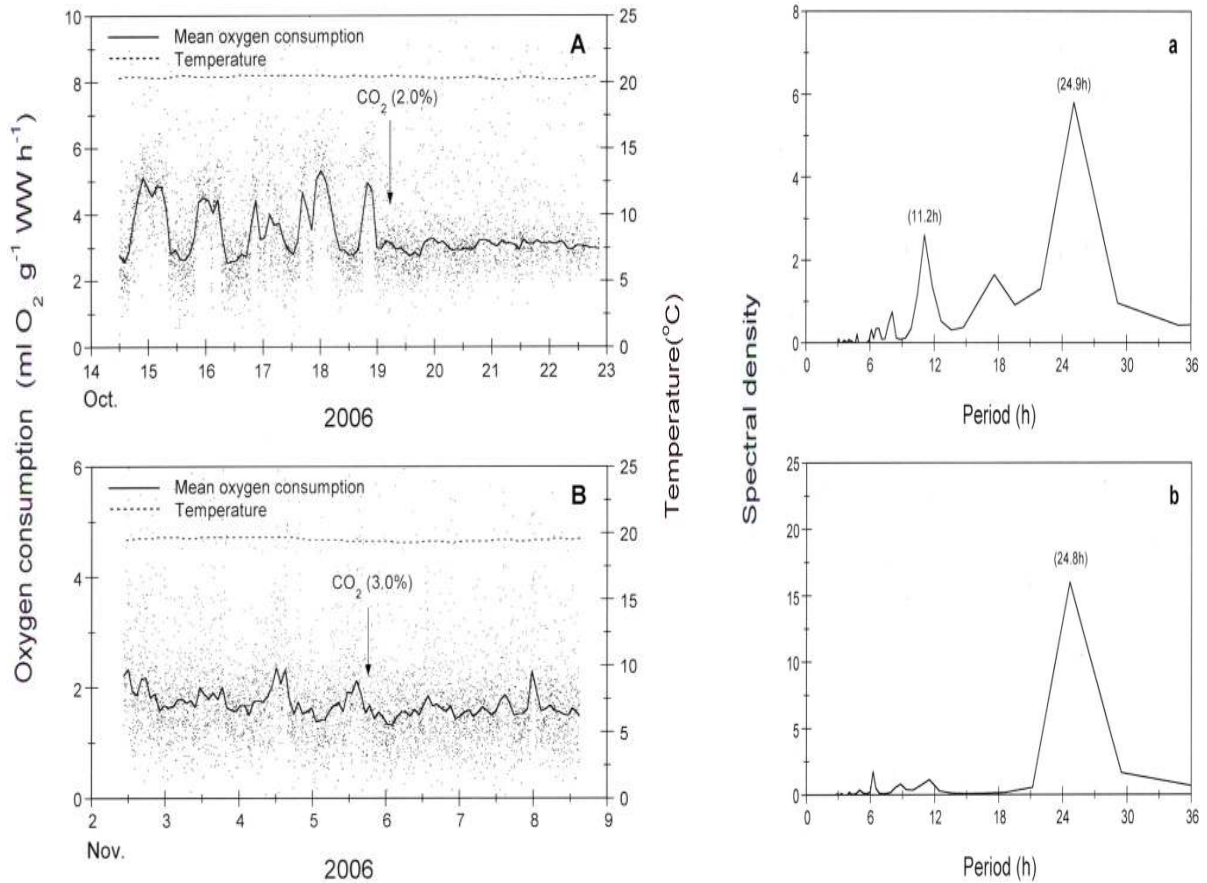


Fig. 15 (A) Time series of oxygen consumption rates (OCR: $\text{ml O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ WW h}^{-1}$) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* before and after exposure to 2.0% CO₂. (B) Time series of oxygen consumption rates (OCR: $\text{ml O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ WW h}^{-1}$) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* before and after exposure to 3.0% CO₂. (a) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* for after exposure of 2.0% CO₂ data presented in Fig. 15A. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses. (b) Maximum entropy spectral analysis (MESA) of the freshly shrimp, *Penaeus chinensis* for after exposure of 3.0% CO₂ data presented in Fig. 15B. Period lengths (h) corresponding to the dominant peaks in the MESA plots are given in parentheses.

제 3 절. 고농도 CO₂ 노출에 따른 해양생물의 초기 사망률 연구

1. 고농도 CO₂ 노출 측정기기 안정성 평가

가. CO₂ 농도 제어장치 제작

고농도의 CO₂를 실험기간 동안 일정하게 배출할 수 있는 제어장치를 제작하였다. 농도의 양을 일정하게 조절하는 기기로는 Mass flow controller(MFC)가 있으며, MFC의 성능에 따라 실험을 안정적으로 유지할 수 있다. 본 연구에서는 MFC를 전자적으로 제어할 수 있는 기기를 선택하여 실험 모식도를 만든 후 기기를 제작하였다(Fig. 16). 본 연구에서 사용된 MFC는 Sierra Instruments의 801 시리즈(MFC#1)와, Sensirion사의 PC1NL0U1V_1N 모델(MFC#2)을 사용하였다. 본 연구에서는 CO₂ 농도를 20,000 ppm (해양에 고농도의 CO₂를 투기했을 때 초기에 발생되는 CO₂의 농도)까지 측정할 수 있도록 하기 위하여, CO₂를 제어하는 장치로 MFC#2(1-10ml/min) 1개와 공기의 양을 제어하는 MFC#1(500 ml/min) 2개를 이용하여 기기를 제작하였다(Fig. 17). 본 기기 뒷면에 CO₂와 공기를 유입하도록 하였으며, 기기 앞면에 대조구(자연상태 CO₂ 농도) 1구와 실험구(고농도 CO₂) 1구를 기기 앞면에 연결할 수 있도록 하였다.

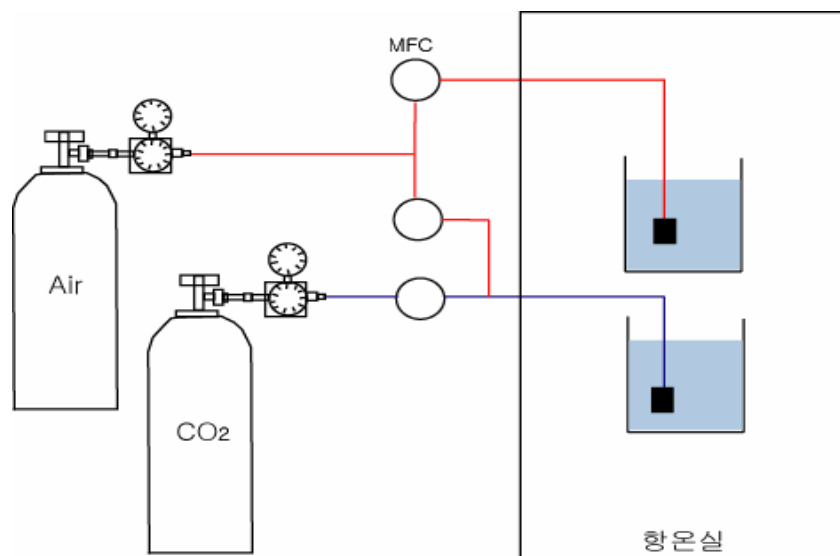


Fig. 16 Schematic diagram of high concentration CO₂ measurement



Fig. 17 Measuring instrument for high concentration CO₂ exposure and incubating system

나. CO₂ 농도 제어장치 안정성 평가

초기 설정 농도의 CO₂를 일정시간 동안 측정하여 본 연구에 사용된 측정기기의 안정성을 평가하였다. 안정성을 평가할 때, 일정 시간 동안 농도 변화 범위가 1% 이하를 보일 때 기기는 안정성이 높다고 평가된다.

(1) 저농도 실험

초기 설정된 700– 2,000 ppm의 CO₂ 농도를 약 20분 동안 기기에서 배출되는 농도의 양을 측정하였다. CO₂ 농도가 700 ppm에 설정된 경우, 기기에서 배출되는 CO₂ 농도는 707.2 ppm으로 에러율은 1.03을 유지하였으나, 설정된 농도가 증가할 수록 에러율은 감소하였다(Table 9). 본 연구에서 700–2,000 ppm CO₂ 농도에서는 700 ppm을 제외하고는 모두 1% 이하의 에러율을 보여, 측정기기는 저농도에서 안정성이 높은 것으로 평가되었다.

Table 9. Stability assessment of measuring system (Low CO₂ concentration experiment)

Experiment (ppm)	Measurement (ppm)	Error (ppm)	% of Error
700	707.2	7.2	1.03
900	906.5	6.5	0.72
1000	1004.5	4.5	0.45
1200	1208.5	8.5	0.68
1400	1413	13	0.92
1600	1613	13	0.81
1800	1805	5	0.28
2000	2007.5	7.5	0.38

(2) 고농도 실험

20,000 ppm CO₂ 농도에서의 pH 변화율을 약 20분 동안 측정한 결과, 첫 번째 실험에서는 pH가 6.24±0.010 범위를, 두 번째 실험에서는 6.24±0.007 범위를 보여, 두 실험의 오차범위가 0.01 ppm 이하로 나타났다. 이와 같은 결과 본 실험에서 이용된 실험기기는 저농도 및 고농도에서 높은 안정성을 유지하는 것으로 밝혀졌다(Fig. 18).

First	Second
6.24 ± 0.010	6.24 ± 0.007

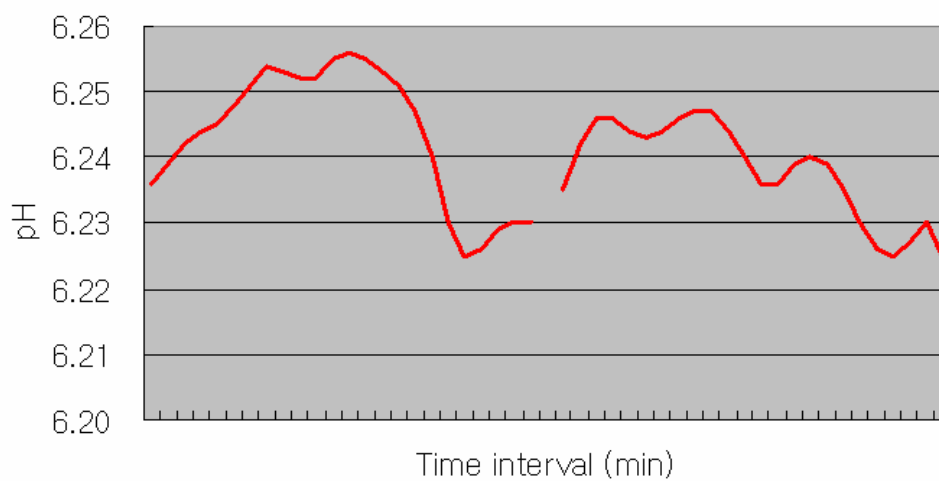


Fig. 18 Variations of pH at CO₂ concentration of 20,000 ppm

2. 고농도 CO₂ 노출에 따른 해양생물의 초기 생존을 실험

가. Brine shrimp를 이용한 부화율 및 초기 생존을 실험

Brine shrimp는 환경이 좋지 않을 때에는 cyst상태로 부화하지만 서식에 적합한 환경이 될 때에는 cyst에서 노플리어스기의 플랑크톤 유생시기로 부화하여 성장한다(Fig. 19). 본 연구에서는 Brine shrimp를 이용하여 고농도의 CO₂에 따른 초기 발생단계의 사망율 및 부화율에 대한 실험을 실시하였다. Brine shrimp의 cyst상태에서 노플리어스기로 부화에 필요한 환경조건으로, 수온은 24-30℃를 유지해야하며, 이때 pH 범위는 7.5-8.5를 유지해야 한다. 또한 부화하는데 걸리는 시간은 약 24-36시간 정도 소요되는 것으로 알려졌다. 본 연구에서는 노플리어스기로 부화된 후 6시간 이전의 생물을 대상으로 고농도(20,000 ppm)의 CO₂를 약 36시간 동안 유지하면서 실험을 실시하였으며, 실험시의 수온은 25℃를 유지하였다. CO₂ 20,000 ppm 농도에서의 pH는 6.622를 나타냈으며, 대조구에서는 8.320을 유지하였다. 기기에서 유출되는 고농도의 CO₂의 양을 측정하기에는 어려움이 있어, 본 연구에는 pH의 농도 변화를 측정하였다. pH 농도는 자동농도 기록장치(seven Multi pH meter S47, Mettler-Toledo)를 이용하여, 실시간 자료를 측정하였다.

(1) cyst에서 노플리어스기로의 부화율 실험

cyst에서 노플리어스기로의 부화율을 실험한 결과, 자연상태의 대조구와 실험구에서의 부화율에는 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다. 이와 같은 결과, Brine shrimp의 cyst에서 노플리어스기로의 부화율에는 pH 농도 영향이 적은 것으로 여겨진다.

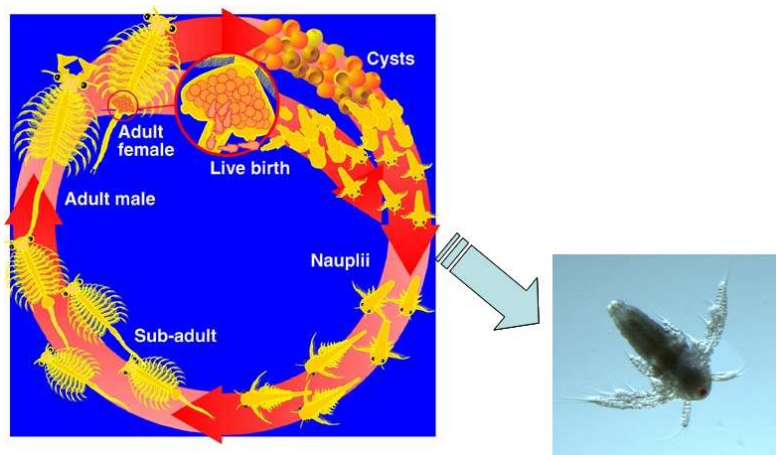


Fig. 19 Life cycle of Brine Shrimp and Nauplius

(2) 노플리어스기 유생의 초기 생존율 실험

cyst에서 부화된 후 6시간 이전의 노플리어스기의 유생을 이용하여, 36 시간동안 고농도의 CO₂를 노출시켰을 때의 생존율을 실험한 결과, 대조구에서는 95% 이상의 높은 생존율을 보였으나, 실험구에서는 47%로 매우 낮은 생존율을 보여 실험구와 대조구간에 유의한 차이를 보였다(Fig. 20). 이와 같은 결과, 노플리어스 유생 생존율은 고농도의 이산화탄소 노출에 영향을 받는 것으로 여겨진다.

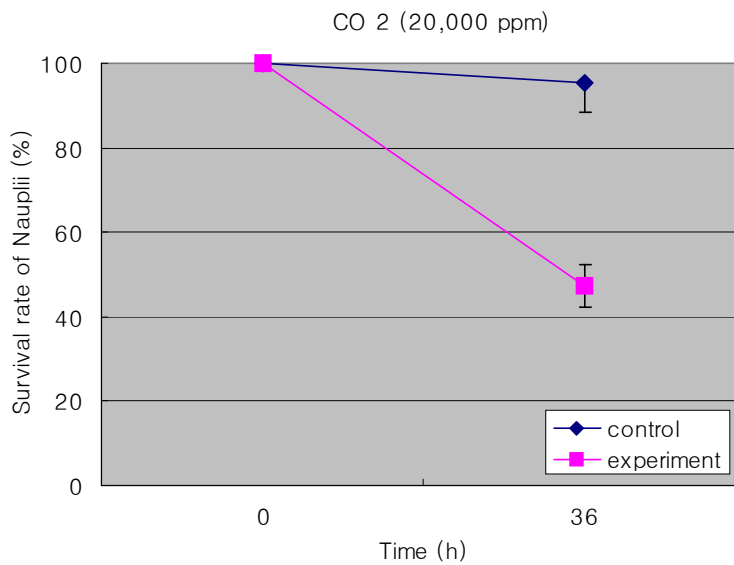


Fig. 20 Results of Survival rate in early stage of Nauplius of Brine shrimp

나. 저서성 단각류 *Melita koreana* 를 이용한 고농도 CO₂ 영향 실험

지시종(Indicate species)을 이용한 해양생태계의 변화를 평가하기 위한 연구가 많이 진행되고 있다. 지시종이 되기 위해서는 환경변화(오염원)에 민감해야 하며, 생태계의 먹이망 구조와 생태학적으로 매우 중요한 위치를 차지하여야 하고, 군집구조에서 우점한 분류군에 속해야 하고, 서식지의 분산과 이동능력이 적어야 한다. 이와 같은 특징을 만족하는 분류군은 저서성 단각류(Amphipoda)에 속하는 종으로 국외에서는 생물검정시험의 주요한 지시종(indicate species)으로 이용되고 있다. 단각류는 갑각류의 낭하상목에 속하는 분류군으로, 전 세계적으로 약 6,000종으로 가장 많은 종수가 보고되고 있는 분류군으로, 크게 Gammaroidea, Ingolfiellidea, Caprellidae, Hyperiidea의 하위 목으로 나누어지고 있다. 이 가운데 Gammaroidea는 가장 많은 종수와 출현량을 보이고 있으며, 열대에서 극지방까지 조간대에서 심해까지 다양한 장소에서 출현하고 있다. 본 연구에 이용된 단각류 *Melita koreana*는 우리나라 조간대에 많이 분포하는 종으로, 초식성 섭식생태를 하며, 해조류가 있는 지역에 많이 출현하는 것으로 보고되고 있다. 본 연구에서는 조간대 지역에 많이 분포하는 단각류 *Melita koreana*를 이용하여 고농도의 CO₂ 농도 노출 실험에 따른 생존을 실험을 실시하였다.

(1) 실험 조건

저서성 단각류 *Melita koreana*를 대부분 조간대에서 썰매네트를 이용하여 정성 채집하였다. 채집된 생물들을 실험실로 운반하여, 4-5 mm 크기의 생물들을 선별하였다. 4-5 mm 크기의 생물은 일반적인 독성평가에 이용되는 크기 범위이다. 실험을 실시하기 전에 실험온도(20℃)에서 24시간 이상 순치하여 실험수온에 적응하도록 하였다(Fig. 21).



Fig. 21 Amphipoda, *Melita koreana*

고농도(20,000 ppm) CO₂ 노출 실험은 20°C의 수온에서, 광 조건은 12:12 hr의 범위를 유지하였고, 실험에 이용된 해수는 autoclave로 멸균한 다음 GF/F 여과지로 여과하였다. 실험기간은 10일 동안 실시되었으며, 각 수조에 15개체를 넣었으며, 실험기간동안에는 먹이를 공급하지 않고, 해수는 2일 간격으로 교환하였다. 실험기간 동안 수조에 살아 있는 개체수 측정은 실험 시작 후 1일 이전에는, 6시간 동안 1시간 간격으로 실시하였으며, 6시간 이후에는 실험 후 24 시간 때 조사하였다. 실험 후 1일 이후에는 2일 간격으로 생존율을 조사하였다.

(2) 단시간(<24 h) 노출에 따른 생존율 변화

실험구와 대조구에 각각 15개체의 단각류를 넣어 단시간 동안 사망률을 측정한 결과, 실험 초기 6시간 동안에는 대조구와 실험구에 사망률의 차이가 나타나지 않았지만, 6시간 이후 실험구에서 개체수가 급격히 감소하였으며, 실험 후 24시간에는 실험구와 대조구에 약 20%의 생존율 차이가 나타났다(Fig. 22).

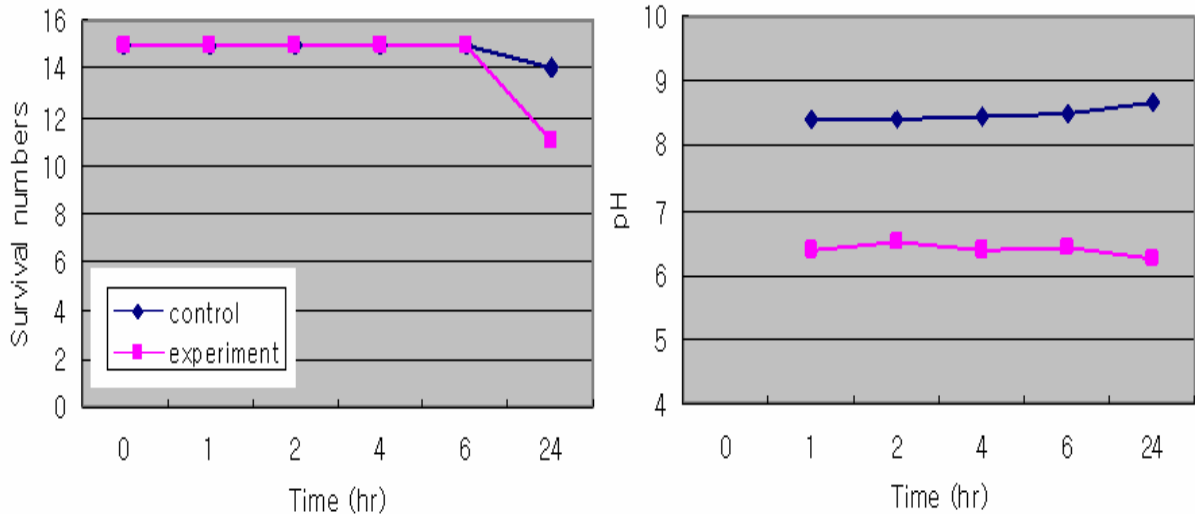


Fig. 22 Survival rate and pH variation in short term (<24 h) CO₂ exposure of *Melita koreana*

(3) 장기간(10 days) 노출에 따른 생존율 변화

실험 1일부터 5일전까지 대조구와 실험구에서의 20% 사망률을 보였으나, 실험 5일 이후부터 실험구와 대조구에서의 사망률 차이는 나타나지 않았다(Fig. 23). 5일 이후에 차이가 나타나지 않는 이유는 실험 동안 먹이를 공급하지 않아 나타난 것으로 여겨지며, 본 연구의 실험 결과, 20,000 ppm 농도의 CO₂ 노출시에는 대조구와 실험구 모두 20%의 생존율 차이가 나타나는 것으로 밝혀졌다.

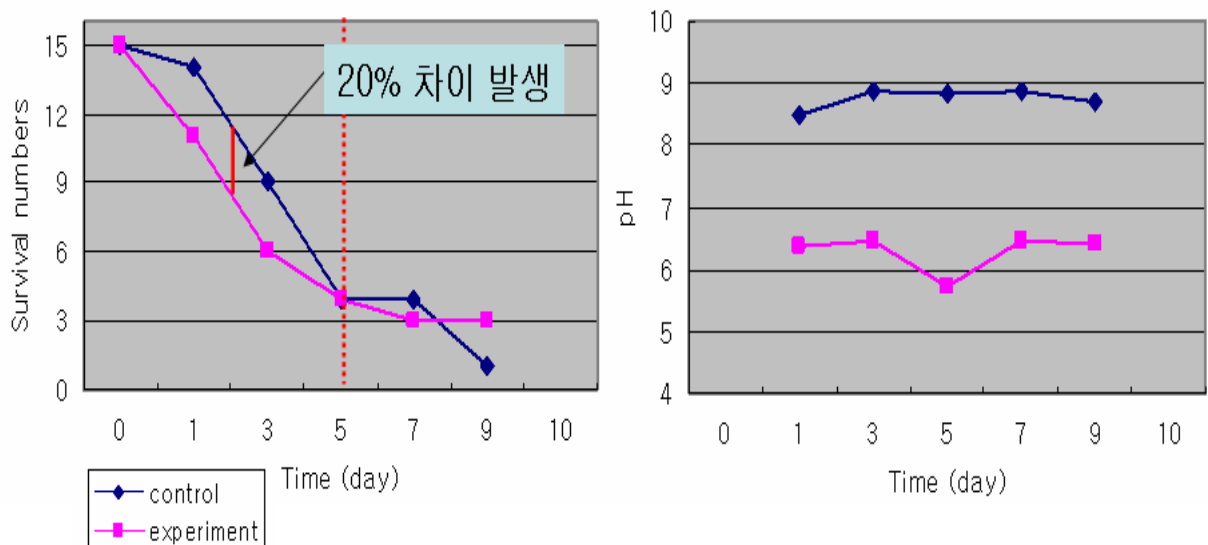


Fig. 23 Survival rate and pH variation in long term (10 days) CO₂ exposure of *Melita koreana*

3. 요약

실험 초기 설정된 농도의 CO₂를 일정시간 동안 같은 농도로 노출시켜 기기에서 나오는 CO₂ 양을 측정하여 기기의 안정성을 평가한 결과, 본 실험에 이용된 기기는 저농도 및 고농도의 CO₂를 일정하게 배출시키는 것으로 확인하였다. 고농도(20,000 ppm) CO₂ 노출에 따른 brine shrimp의 노플리어스 유생과 저서성 단각류 *Melita koreana*의 초기 부화율 및 생존율을 조사 하였다. brine shrimp의 부화율은 고농도의 CO₂의 영향을 받지 않았지만, 노플리어스 유생은 실험 후 36시간 후 실험구와 대조구에 약 48%의 생존율 차이가 나타났고, 단각류 *Melita koreana*는 실험 후 5일 동안 20%의 생존율 차이가 나타났다. 본 연구의 결과, 제한된 실험실 조건에서 고농도의 CO₂ 노출에 따라 해양생물은 영향을 받고 있으며, 큰 개체 보다는 작은 크기의 개체가 더 많은 영향을 받을 것으로 조사되었다. 그러므로 향후 해양생태계 내에서 CO₂ 증가에 따른 해양생물의 초기 생활사에 대한 영향 연구가 보다 필요할 것으로 여겨진다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절. 기술적 측면

본 연구에 활용된 자동호흡 측정기(Automatic intermittent-flow-respirometer)는 전 세계에서 한국해양연구원만이 보유하고 있는 첨단 실험장비이다. 한편, 본 과제를 수행하면서 개발된 가스농도 정밀제어장치는 CO₂ 뿐만 아니라 다양한 종류의 가스용매를 이용하여 실험이 가능하며, 실험가스의 유량 및 농도는 컴퓨터에 설치된 별도의 program을 통해 자유롭게 조절이 가능하다. 시스템은 2개조로 구성된 4기의 MFC를 이용하여 저농도 그룹과 고농도 그룹으로 나누어져 있으며, 원하는 농도와 유량을 입력한 후 program을 실행시키면 저농도와 고농도 실험을 각각 모니터링 할 수 있도록 설계하였기 때문에 다양한 농도범위에 대한 생물의 생리영향을 동시에 모니터링 할 수 있는 장점이 있다. 수서생물의 생리영향 파악에 중요한 호흡률측정과 다양한 농도범위의 CO₂를 동시에 측정할 수 있게 장비를 개발하여 특허를 얻게 되면 많은 부가가치를 얻을 수 있으며, CO₂ 관련 분야의 연구를 선진국 수준이상으로 끌어 올릴 수 있다. 특히 직접적인 CO₂ 노출에 대한 장기적인 해양생물의 내인성 생체리듬 영향을 파악함으로써 해양환경변화에 따른 생물영향을 지속적으로 모니터링 하는 것이 가능하며, 이러한 연구 자료는 CO₂ 해양격리에 따른 환경영향 및 위해성 평가를 판단하는데 중요한 자료로 이용될 수 있다.

제2절. 경제·산업적 측면

대기 중의 CO₂ 증가는 전 지구적인 문제로 대두되고 있으며, 최근의 도쿄의정서 발효에 의해 국가들은 CO₂를 억제, 제거 및 재이용 할 수 있는 정책적인 대안을 필요로 하고 있다. 이러한 CO₂ 배출저감압력에 능동적으로 대응하고 온실가스 저감 credit을 확보할 수 있는 기술개발이 시급한 실정이며, 대안으로 CO₂ 해양처리기술에 대한 기술적 및 경제적 타당성에 대한 검토가 수행중이다. 본 연구는 해양에 분사 또는 저류된 CO₂에 의한 환경 및 생물영향에 대한 정량적인 자료제공과 이를 토대로 환경친화적인 해양처리기술 및 모니터링 시스템 구축을 위한 기반을 제공함으로써 우리나라 환경에 적합하고 고부가가치를 창출할 수 있는 신기술을 개발할 수 있으며, 향후 CO₂ 배출규제에 따른 국제협약과 산업피해를 최소화하고 CO₂ 처리 관련 기술분야에서 기술적 우위를 차지할 수 있을 것으로 판단된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1 절. 보유기술 활용실적

1. 본 연구실에서 보유하고 있는 자동호흡측정기와 생체리듬 분석기술은 수온이나 염분의 급변과 같은 환경요인변화 및 독성물질노출에 기인한 생리적 스트레스 연구에서 명확한 스트레스 범위를 규명하고 저감대책을 결정하는 자료로 활용되었다.
2. 영광원자력발전소 5,6호기 가동에 따른 온배수 환경영향 표준화 작업에 활용되었다.
3. 이번 연구에서 개발된 Gas농도 정밀제어장치는 CO₂ 해양격리방법의 최적기술 (해중분사법) 도출을 위한 기초 자료를 확보하는데 활용될 수 있다.
4. Gas 농도 정밀제어장치와 자동호흡측정장치를 연계하여 실용화할 경우, CO₂ 해양격리에 따른 해양환경영향평가기술을 확립하는데 중요한 연구 장비로 활용할 수 있으며, 기타 다양한 환경영향평가 항목 중 생물 검증실험에 필요한 분석기구로 응용이 가능하다.
5. CO₂ 노출에 의한 해양생물 생리영향 연구의 산업화 기반을 위해 해양생물에 대한 이산화탄소 가스의 영향 평가 장치 및 방법에 대한 특허를 출원하였다(2006.08)..

제 2 절. 공공기능 수행실적

1. 일본 Nagasaki 대학 Ishimatsu 교수와 지속적으로 CO₂ 노출 실험에 대한 자료 및 정보를 교환하고 있다.
2. 2006년 5월에 부산 Bexco에서 개최된 한국해양과학기술협의회 학술대회에서 ‘바지락와 조피볼락의 내인성 산소소비 리듬에 대한 이산화탄소의 영향’의 제목으로 논문발표를 수행하였다.
3. 2007년 1월에 제주도 라마다 프라자 호텔에서 기후변화협약 대응 범부처 합동 워크샵에서 ‘해양생물의 내인성 산소소비리듬에 의한 CO₂ 해양처리 생물영양 연구’의 제목으로 포스터 발표를 수행하였다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 일본 해상기술안전연구소에서 노르웨이의 Bergen 대학 및 미국의 MBARI(Monterey Bay Aquarium Research Institute)와 공동으로 COSMOS project를 추진하고 있으며, 이 프로젝트를 통해 CO₂ 해양격리대상 주변해역에 대한 환경영향평가 공동연구를 수행하고 있다.
2. 일본 지구환경산업기술 연구소(RITE)와 나가사키 대학에서는 CO₂ 해양 환경영향 평가기술 개발과제의 일환으로 해양생물의 생리영향에 미치는 고농도 CO₂ 영향에 관한 연구를 수행한 바 있다.
3. 현재 국제해사기구(IMO) 주도하에 CO₂의 해양격리 허용 및 위해성 평가 관리체제 설립이 추진 중에 있다.
4. CO₂의 분사농도 조절을 통해 직접적인 CO₂ 노출에 의한 해양생물의 내인성 생체리듬의 변화를 관찰함으로써 생리영향을 평가하는 것은 CO₂ 해양처리기술개발에 따른 해양분사 및 저류기술의 안정성 평가를 위해 반드시 필요한 연구이며, 전 세계적으로 이번 연구가 최초이다.
5. 자동호흡측정기와 가스농도정밀제어장치를 접목함으로써 환경변화에 따른 생물의 생체리듬 및 생리영향 연구에 상당한 발전을 가져올 수 있을 것으로 판단되며, 다각적인 연구결과 및 기술축적을 토대로 향후 다양한 분야의 환경위해성 평가 연구 및 생물검정법 개발에 있어서 기술적 우위를 차지할 수 있을 것으로 생각된다.

제 7 장 참고문헌

- Brewer PG, Peltzer E, Aya I, Haugen P, Bellerby R, Yamane K, Kojima R, Walz P, Nakajima Y (2004) Small scale field study of an ocean CO₂ plume. J. Oceanogr., 60, 751–758.
- Dieter A, Wolf-Gradrow DA, Ribesell U, Burkhardt S, Bijma J (1999) Direct effects of CO₂ concentration on growth and isotopic composition of marine plankton. Tellus, 51B, 461–476.
- Feely RA, Sabine CL, Lee K, Berelson W, Kleypas J, Fabry VJ, Millero FJ (2004) Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. Science, 305, 362–366.
- Forstner H, Gnaiger E (1983) Polarographic oxygen sensors. Springer-Verlag, Berlin
- Handa N, Ohsumi T (1995) Direct ocean disposal of carbon dioxide. Terra Scientific Publishing Company, Tokyo, viii+274pp.
- Herzog HJ, Adams EE, Auerbach D, Caulfield J (1996) Environmental impacts of ocean disposal of CO₂. Energy Consers. Mgmt., 37, 999–1005.
- Ishimatsu A, Kita J (1999) Effects of environmental hypercapnia on fish. J. Ichthyol., 46, 1–13.
- Ishimatsu A, Kikkawa T, Hayashi M, Lee KS, Kita J (2004) Effects of CO₂ on marine fish: larvae and adults. J. Oceanogr., 60, 731–741.
- Kadri S, Metcalfe MB, Huntingford FA, Thorpe JE (1991) Daily feeding rhythms in Atlantic salmon in sea cages. Aquaculture 92: 219–224
- Kikkawa T, Kita J, Ishimatsu A (2004) Comparison of the lethal effect of CO₂ and acidification on red sea bream (*Pagrus major*) during the early developmental stages. Mar. Pollut. Bull., 48, 108–110.
- Kim WS, Jeon JK, Lee SH, Huh HT (1996) Effects of pentachlorophenol (PCP) on the oxygen consumption rate of the river puffer fish *Takifugu obscurus*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 143, 9–14
- Kim WS, Kim JM, Yi SK, Huh HT (1997) Endogenous circadian rhythm in the river puffer fish *Takifugu obscurus*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 153, 293–298
- Kim WS, Kim JM, Kim MS, Park CW, Huh HT (1998) Effects of sudden changes in salinity

- on endogenous rhythm of the spotted sea bass *Lateolabrax sp.* Mar. Biol. 131, 219–225
- Kim WS, Huh HT, Lee J–H, Rumohr H, Koh CH (1999) Endogenous circatidal rhythm in the manila clam *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae). Mar. Biol. 134, 107–112
- Kim WS, Huh HT, Huh S–H, Lee TW (2001) Effects of salinity on endogenous rhythm of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae). Mar. Biol. 138, 157–162
- Kita, J, Ohsumi T (2004) Perspectives on biological research for CO₂ ocean sequestration. J. Oceanogr., 60, 695–703.
- Northcott SJ, Gibson RN, Morgan E (1991a) The effect of tidal cycles of hydrostatic pressure on the activity of *Lipophrys pholis* (L.) (Teleostei). J Exp Mar Biol Ecol 148: 35–45
- Ormerod B, Angel M (1996) Ocean storage of carbon dioxide. Workshop 2–Environmental Impact. IEA Greenhouse and Gas R & D Programme, Cheltenham, UK. 131pp.
- Palmer JD (1995) The biological rhythms and clocks of intertidal animals. Oxford University Press, Oxford.
- Parson EA, Keith DW (1998) Fossil fuels without CO₂ emissions. Science, 282, 1053–1054.
- Portner HP, Reischlager A, Heisler N (1998) Acid–base regulation, metabolism and energetics in *Sipunculus nudus* as a function of ambient carbon dioxide level. J. Exp. Biol. 201: 43–55
- Portner HP, Langenbuch M, Reischlager A (2004) Biological impact of elevated ocean CO₂ concentrations: Lessons from animal physiology and earth history. J. Oceanogr. 60: 705–718
- Raven JA, Johnston AM, Turpin DH (1993) Influence of change in CO₂ concentration and temperature on marine phytoplankton 13C/12C ratios: an analysis of possible mechanisms. Global Planet. Change, 8, 1–12.
- Riebesell U, Zondervan I, Rost B, Tortell PD, Richard, EZ, Morel FMM (2000) Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. Nature, 407, 364–367.
- Seibel BA, Walsh PJ (2001) Potential impacts of CO₂ injection on deep–sea biota. Science, 294, 319–320.
- Seibel BA, Walsh PJ (2002) Biological impacts of deep–sea carbon dioxide injection inferred from indices of physiological performance. J. Exp. Biol., 206, 641–650.

Tamburri MN, Peltzer ET, Friederich GE, Aya I, Yamane K, Brewer PG (2000) A field study of the effects of CO₂ ocean disposal on mobile deep-sea animals. *Mar. Chem.*, 72, 95–101.