

유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구

A Study on Impact of Oil and Hazardous Materials
Pollution on Fisheries Resources

1997. 12

연구 기관
한국해양연구소

해양수산부

제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구” 과제의 제3차년도 연차보고서로 제출합니다.

1997년 12월

주관연구기관명 : 한국해양연구소

연구책임자 : 이수형

연구원 : 강성현 오재룡

양동범 김은수

조성록 김경태

김웅서 장만

심원준 홍상희

임운혁 김승규

장민철 임종주(동국대)

연구조원 : 김종근 이종수

이연정 장현숙

김성애 조진하

오귀숙

위탁연구기관명(1) : 여수수산대학교

위탁연구책임자 : 조현서

위탁연구기관명(2) : 제주대학교

위탁연구책임자 : 최광식

위탁연구기관명(3) : 한국외국어대학교

위탁연구책임자 : 이강웅

위탁연구기관명(4) : 강릉대학교

위탁연구책임자 : 전중균

요 약 문

I. 제 목

유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구

II. 연구개발의 목적

1995년 5월부터 수행해 오고 있는 본 연구사업은 1996년 12월까지 제1차 및 제2차년도 사업을 연속사업으로 추진해 왔으며 1997년 12월에 제3차년도 사업을 마무리함으로써 3년간의 연구가 완료될 예정이다. 이 보고서는 제3차년도의 연구결과를 중심으로 정리한 것이지만 동시에 지난 3년간의 연구결과에 대한 최종보고서이기도 하다.

본 연구사업의 목적은 1990년대 들어 급속히 증가하고 있는 연안해역의 유류 및 유해화학물질의 유출사고와 연안의 유독물질 오염이 수산자원에 어떤 영향을 미치는지를 파악하는 데 있다. 이 분야는 워낙 폭이 넓고 다원화되어 있기 때문에 본 연구에서는 연구대상을 다음 몇가지로 국한하여 연구를 수행하였다. 우선 유류와 유독물질오염이 수산자원에 미치는 영향을 파악하기 위하여 수산양식이 가장 활발히 이루어지고 있는 남해안을 연구대상 해역으로 정해 굴 성장에 치명적인 영향을 미치는 유기주석화합물 오염실태 조사 및 위해도 평가를 시도하였으며, 이 화합물이 해산 어패류에 미치는 독성을 알아보기 위하여 성게와 넙치를 이용한 독성조사와 패류에 대한 생리 및 조직병리학적 조사를 동시에 실시하였다. 또한 유류오염 발생해역에 서식하는 어류의 쓸개즙에 축적되어 있는 다핵방향족탄화수소(PAH)의 분석 기술을 정립함으로써 향후 기름유출사고 발생시 어민들이 피해보상을 받을 수 있는 피해입증기술을 확보하였다. 뿐만 아니라 기름오

염과 적조 발생과의 관련 여부를 확인하기 위하여 유류 및 유처리제가 동물플랑크톤의 사망률에 미치는 영향을 파악하였으며, 마산내만에 서식하는 패류의 패각마모현상을 알아보기 위하여 해수-대기간 질소 및 황화합물 교환을 산정과 분포 조사 등을 수행하였다.

이러한 연구 결과는 종합정리된 후 정부에 정책 건의사항으로 제시됨으로써 해양환경보전 정책에 반영되도록 적극 노력할 예정이다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구사업에서는 다음 몇가지 분야로 나누어 연구를 수행하였다.

1. 우리나라에서 굴 양식 활동이 가장 활발한 남해안의 굴양식장 환경보전을 위하여 굴성장에 치명적인 악영향을 미치는 유기주석화합물의 오염 실태 파악 및 위해성 평가를 시도하였고,
2. 유기주석화합물의 성계 및 넙치 등 해산 어패류에 대한 독성을 파악하였으며,
3. 유기주석화합물의 굴 등 패류의 생리와 조직병리학적 영향을 파악하였고,
4. 기름유출사고시 어류 양식장 어민들이 입은 피해입증기술을 확보하기 위하여 어류 쓸개즙(bile)에 축적되어 있는 다환방향족탄화수소의 분석 기술을 정립하였으며,
5. 기름유출사고시 대량 유출되거나 사용되고 있는 유류와 유처리제가 동물플랑크톤의 사망률에 미치는 영향 파악을 시도하였고,
6. 마산만 대기중의 질소와 황화합물의 분포 특성과 대기-해수간의 교환률을 산정하였다.

IV. 연구결과 및 활용에 관한 건의

본 연구사업에서 얻어진 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. '95년 10월부터 '97년 8월에 걸쳐 남해의 여수 주변해역을 중심으로 31개 지점에서 유기주석화합물 농도 조사를 실시하였다. 조사대상은 해수, 대수리, 참굴, 진주담치 등으로 각 대상중의 유기주석화합물 농도와 이 화합물이 수생생물에 미치는 영향을 고등류의 대수리를 중심으로 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.
 - 1) 표층해수로 부터도 유기주석화합물이 광범위하게 검출되었으며, 또 선박활동(조선활동 포함)이 활발한 곳에서 높은 농도를 보였다.
 - 2) 분석된 전 폐류시료로부터 유기주석화합물(부틸주석 및 페닐주석)이 검출되었으며, 또 항구 및 조선소 등 선박활동이 활발한 곳에서 농도가 높았다. 종별 차이를 보면 진주담치보다는 참굴에서 고농도로 축적되어 있었다.
 - 3) 한국산 대수리에 있어서 임포섹스(imposex)의 출현율은 남해의 보성만, 강진만 및 완도대교 지점을 제외한 전 지점에서 100%였다. 또 RPL Index 값이 전체적으로 높고, Tributyltin(TBT)과 Triphenyltin (TPhT) 등 Tri- 형태 농도가 RPL Index값과 정의 상관관계가 있었다. 산란불능개체의 출현율도 보성만을 중심으로 한 서부해역의 일부 지점을 제외하고는 많은 지점에서 출현되었으며, 일부 지점에서는 그 출현율이 80%를 넘었다.
2. 유기주석화합물의 평가 및 관리를 위한 TBT의 환경운명 예측 및 위해도 평가를 실시한 결과는 다음과 같다.
 - 1) 지역수계의 특성을 고려한 TBT의 환경운명예측 모델을 설정하여

마산만에 적용하여 그 유용성을 검증하였다. 우선 마산만에서의 TBT의 각 Box별 추정 유입부하량은 Box A가 1.46×10^{-3} (t/d), Box B가 1.46×10^{-7} (t/d), Box C가 1.65×10^{-4} (t/d)으로 나타났다. 모델 시뮬레이션 결과 예측치는 전반적으로 거의 동일한 오더에서 실측치와 잘 일치하고 있어 모델의 농도재현 능력은 충분한 것으로 검증되었다.

- 2) TBT의 오염이 해양생물 및 인체에 미치는 위해성 평가를 실시하였다. 해양생물에 대한 위해성 평가 결과 생물의 초기성장 단계에서 표면박층의 고농도에 영향을 받을 가능성이 큰 것으로 밝혀졌다. 또한 권패류에 대한 영향은 아주 저농도에서 일어나고, 예측결과 및 실측결과는 영향농도의 수십배의 고농도로 존재하고 있음을 알 수 있었다. 인체에 미치는 영향은 5종류의 시나리오를 구성하여 각 시나리오별로 위해성을 검토하였으나 어느 시나리오에 있어서도 인체에 대한 위해성은 최고 위해도 0.32로 높지 않음을 알 수 있었다.
- 3) TBT의 관리를 위한 대안평가를 실시하였다. 기술적인 측면과 행정적인 측면을 고려하여 대안을 설정하여 그 유용성을 평가하였다. 그 결과 마산만 환경중의 TBT 농도는 약 23%~60% 정도 감소하였다.
- 4) 대안에 따른 해양생물과 인체에 대한 위해성 평가를 실시하여 어느 대안에 있어서도 해양생물에 대한 위해도를 줄일 수는 있어도 생물의 초기 생활사에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 부터 유기주석화합물의 관리방안으로는 연안 선박에 대한 사용규제, 용출속도 규제 등의 대안에 따라서는 대상해역의 외해역으로 갈수록 위해도가 감소하므로 해역을 활용목적별로 구분하여 규제를 강화 또는 구분하는 등의 조치도 가능하다고 할 수 있다. 그러나 TBT는 아주 저농도에서도 권패류에 임포섹스 등의 생식기

이상현상을 유발하여 불임에 이르게 하는등 해양생물에 대한 영향이 특히 큰 물질이므로 최선의 대안은 이들 화합물을 주성분으로 하는 페인트의 사용금지를 단행하는 방법밖에 없다고 하겠다.

추후의 과제로는 유기주석화합물의 생산, 수입, 유통 및 사용량 등에 대한 정보파악과 각 공정에서의 환경에의 유입과정 및 유입량 등의 파악이 시급히 이루어져야 하며, 전국규모의 지역적, 경시적 변화에 대한 장기조사와 해양생물의 개체군에 대한 영향을 정량적으로 파악하기 위한 정밀 조사가 이루어져야 할 것이다.

3. TBT와 해저퇴적물의 해양생물에 대한 독성을 조사하기 위하여 성게의 정자, 난자, 유생 등을 이용해 생물검정실험을 실시하였다. 수행된 생물검정실험은 8세포기 발생실험, 정자 및 난자 독성실험, 유생 독성실험 등이었다. ED₅₀와 최저유효농도(threshold concentration)로 표시한 독성실험에서 TBT화합물중 TBT가 가장 독성이 강한 것으로 나타났으며, 그 다음은 DBT가 대체로 독성이 강한 것으로 나타났다. 포항, 울산, 온산, 부산, 목포, 군산 등 6개 해역의 표층퇴적물을 추출해 성게에 대한 독성실험을 실시한 결과 울산의 장생포항 퇴적물이 ED₅₀ 25 mg/ml, 최저유효농도 125 mg/ml로 해역중에서 가장 독성이 강한 것으로 조사되었다.
4. 방오페인트로 사용되고 있는 TBT가 해산 어류인 넙치에 미치는 영향을 조사하기 위하여 TBT농도 2, 10, 20 ppb에서 1~10 일간 노출시키면서 혈액 중의 각종 효소 활성(alkaline phosphatase, ALKP; alanine aminotransferase, ALT; amylase, AMYL; aspartate aminotransferase, AST; cholinesterase, CHE; lactate dehydrogenase, LDH; lipase, LIPA), 생화학 성분(total protein, TP;

albumin, ALB; total bilirubin, TBIL) 및 무기질(Ca, PHOS, Na⁺, K⁺, Cl⁻) 등을 조사하였고, 또한 간장 중의 해독효소인 cytochrome P-450과 cytochrome b5 활성을 조사하였다.

외관상으로는 노출 1일째부터 넙치 간장에서는 울혈이 관찰되었고 이것으로 간장 조직이 심한 장애를 입었음을 알 수가 있었다. 그리고 효소 중에서는 ALT가 노출 농도와 노출 기간이 커질수록 증가 경향을 보였고, AST는 농도와 상관하여 증가하였다. 그리고 LIPA도 무처리된 대조구에 비해 많은 차이를 보임으로써 좋은 지표 항목이 될 수 있음을 확인하였다. Ca 농도도 대조구에 비해 노출 직후부터 급격하게 감소하였고, 노출 기간이 길어지면서 전해질 중 Na⁺와 K⁺는 늘어난 반면에 Cl⁻은 줄어드는 것이 확인되어 TBT가 삼투압 조절에 영향을 미치는 것으로 판단되었다. 그리고 해독효소인 cytochrome P-450과 cytochrome b5의 활성은 노출 농도와 기간이 커짐에 따라 감소하였다.

5. 유기주석화합물이 어패류의 생리 및 번식, 성장 등에 미치는 여러 가지 영향을 연구하기 위한 방법의 하나로, 본 연구를 통하여 일반 조직병리학적 연구방법을 환경감시계획에 맞게끔 표준절차화 하였다. 이를 위하여 '95년 여름부터 겨울까지 여수 가막만에서 채집된 굴을 대상으로 생식주기를 조사하였다. 여수에서 채집된 굴은 6월경에 발달기(developing stage)를 거쳐 7월경 본격적인 산란(spawning)을 하며, 겨울철에 휴지기(resting stage)로 됨을 알 수 있었다. '96년 5월경 경남 통영에서 마산만으로 이식한 굴을 대상으로 체내의 유기주석화합물 농축 정도를 측정한 결과 '96년 7월 말 모두 폐사하기 전까지 TBT, TPhT 등의 유기주석화합물이 모든 굴 시료로부터 검출되

있으며 그 농도는 TBT의 경우 1,500~3,000 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다. 또한 TPhT의 경우 78~698 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다. 그러나 3개월간 약 10일 간격으로 채집된 굴의 유기주석화합물 농도는 시간이 지남에 따라 증가하는 경향을 보이지 않았다. 성적으로 성숙한 굴로 부터 정제한 알과 정자에 대하여 TBT 및 TPhT를 분석한 결과, 다른 육질과 비교시 뚜렷한 농도 차이를 발견할 수 없었다. 또한 암수의 생식세포에 있어서 이들 유기주석화합물의 농도는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 그러나 이들 굴은 산란기에 전체 육질중량의 40~60%에 해당하는 생식세포를 체외로 방출하므로 산란활동 자체가 유기주석화합물을 체외로 제거하는데 있어 중요한 수단임을 알 수 있었다.

'96년 여수 부근에서 채집한 대형이매패류인 키조개를 대상으로 체내의 유기주석화합물을 생식소와 일반세포로 분리하여 측정된 결과, 알이나 정자에서 상대적으로 높은 농도의 TBT가 검출되었다. 그러나 마산만에서 채집된 굴과 비교시 여수 지역에 채집된 키조개는 상대적으로 낮은 농도의 유기주석화합물을 포함하고 있었으며, TBT의 경우 150~664 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다.

통영에서 마산만으로 이식한 굴을 대상으로 제작된 조직병리학적 자료를 분석한 결과, 다양한 형태의 병리현상을 발견할 수 있었다. 특히 두드러진 현상은 이식후 아가미, 외투막 등지에 혈구가 집중되는 현상이 초기에 관찰되었으며, 시간이 흐름에 따라 아가미 세포괴괴, 소화맹낭의 울혈현상, 소화샘(digestive gland)의 규모축소 및 미동정된 다수의 포자형 기생충 등 환경오염이 심각한 지역에서 전형적으로 관찰되는 병리적 증상이 관찰되었다.

제주 연안의 4대 항, 즉 제주, 성산 한림, 모슬포 등지에서 채집된

대수리와 두드럭고등을 대상으로 임포섹스 발현율을 조사한 결과 모든 지역에서 임포섹스 발현율은 100%로 나타났다. 특히 이들 4개 지역에서는 암,수의 성비에 있어 암컷의 비율이 20% 미만으로 나타나 대수리 집단이 소멸되어 가고 있음을 암시하였다. 제주항의 경우 상대성기질이 지표(RPSI)는 대수리의 경우 80.7%, 두드럭고등의 경우 134.6%로 나타났다. 또한 추자도 신양리 항내에서 채집된 굴의 패각 형태는 유기주석화합물에 의한 영향으로 그 모양이 공 모양을 띄고 있었으며, 패각의 종단면에서는 여러층의 공간이 형성되는 chambering 현상이 나타남으로써 전형적인 TBT의 영향을 암시하였다.

6. 기름유출사고에 의한 광어 축양장 피해를 조사하기 위해서 채취된 광어 담즙중의 다환방향족탄화수소(Polynuclear Aromatic Hydrocarbon, PAH) 농도를 HPLC/FLD (High Performance Liquid Chromatograph /Fluorescence Detector) 기기를 이용해서 분석하였다. 분석 결과 크로마토그램의 형태로부터 오염원을 추정할 수 있었으며, 광어 담즙에 기름중의 PAH 성분이 1달이상 머물므로써 장기적인 피해입증 조사도 가능함을 알 수 있었다.
7. 유처리제가 동물플랑크톤의 사망률에 미치는 영향을 평가하기 위해 microcosm을 이용하여 부산항내 동물플랑크톤을 대상으로 독성 실험을 하였다. 실험 대상 동물플랑크톤은 우점종 요각류인 *Calanus sinicus*, *Paracalanus parvus*, *Acartia omorii*와, 지각류인 *Podon polyphemoides*였다. 저농도의 유처리제(Gamasol LT-A와 Hi-Clean)에 단기간 노출되었을 때 동물플랑크톤의 사망률은 두 유처리제의 종류에 따라 차이가 없었다. 그러나 동물플랑크톤 종류에 따라서 사망률은 달리 나타났다. 크기가 작은 *Acartia* 경우 크기가 큰 *Calanus*

보다 2~3배 높은 사망률을 보였다. 한편 지각류 Podon의 사망률은 요각류 *Paracalanus*의 사망률보다 약 2배 정도 높게 나타났다. 이번 실험을 통해 저농도(100 ppm)에서 단시간(1~3시간) 노출되었을 경우 동물플랑크톤은 최대 26.6%의 사망률을 보였다. 연안역에서 초식성 동물플랑크톤에 의한 평균 섭식압력이 일차생산의 약 10%인 것을 감안하면, 실험 농도 범위의 유처리제 사용시, 약 2% 정도의 식물플랑크톤 증가가 예상된다.

8. 마산만에 서식하는 일부 조간대 패류의 경우 패각마모현상이 대기오염 정도가 비슷한 다른 연안지역에 비해 더 크게 나타나고 있다. 이와 같은 현상을 줄 수 있는 기작으로 주로 외부의 스트레스, 특히 해수에서 대기 중으로 유입되는 DMS(dimethylsulfide)의 산화 산물에 의한 산도 증가에 따른 것으로 추측되었다. 이러한 연구결과를 바탕으로 볼 때 마산만에서 나타난 고등류와 굴 등의 조간대 상부 서식패류의 패각 마모 현상은 마산만의 부영양화로 플랑크톤에 의해 기인하는 DMS가 대기중으로 방출되는 것 이외에도 조석작용에 의해 돌섬 외측으로부터 마산만 안쪽으로 해수가 유입될 때 무산소 상태의 저층 해수가 표층으로 용승될 때 황산염 환원과정에 기인하는 DMS가 대기중으로 다량 방출됨으로써 국지적으로 나타난 현상으로 보인다. 이러한 가설은 마산만의 표층해수와 대기중의 DMS 농도간에 밀접한 상관관계가 없다는 사실과 이 곳에서 연속관측결과 표층의 용존산소가 조석에 따라 거의 0에 가깝게 감소하는 사실에 근거하고 있다. 본 연구는 마산만의 패각마모현상의 원인이 표층의 플랑크톤 기원 DMS와 저층의 황산염 환원 기원의 DMS가 대기중으로 방출되어 대기중의 산도를 증가시킴으로써 나타난 것이라는 구체적인 증거를 제시하였다.

본 연구 결과 질소 화합물중 해수 중에서는 영양염류 성분인 대기중의 HNO_3 , NO_3^- , NH_4^+ 의 경우 일반적인 도시 지역과 공업지역에서 발견되는 농도 범위에 포함되어 있었다. 본 연구 결과 마산만 해수중의 DMS는 겨울철에 검출한계 ~ 600 ng/L, 여름철에 검출한계 $\sim 1,700$ ng/L 값을 보였다. 대기중의 DMS는 겨울철에 검출한계 $\sim 12,000$ ng/m³, 여름철에 300 ng/m³ $\sim 10,500$ ng/m³으로 일차적으로 해수중의 DMS농도에 영향을 받지만 해수면의 거칠기 등에 따라서도 변하는 것을 확인할 수 있었다. 대기중에서 DMS의 직접적인 산화 생성물인 MSA의 농도 변화 양상이 SO_4^{2-} 와 아주 유사한 것으로 나타나 DMS가 대기중의 산도를 어느 정도 결정할 수 있음을 간접적으로 지시하고 있다. 단순히 해수 표층의 DMS 농도와는 구별되는 저층의 고농도 DMS가 대기중으로 대량 유입되는 것을 본 연구를 통하여 확인할 수 있었으며, 이는 국지적으로 대기중의 산성도를 증가시킬 수도 있음을 의미하고 있다. 하지만 DMS에 의한 직접적인 산성도 증가의 기여도 산정과 조간대 생물에 대한 영향의 정량적인 평가는 지속적인 연구 과제로 남아 있다.

ABSTRACT

I . Title

A Study on Impact of Oil and Hazardous Materials Pollution on Fisheries Resources

II . Significance and Objectives of the Study

The importance of coastal fisheries resources has long been recognized in Korea which is a small and highly populated country with little natural resources on land. The Korean coastal seas have low assimilative capacity due to shallow water depth and slow water exchange with open ocean. This makes the seas extremely vulnerable to environmental pollution.

Over the last three decades, the coastal seas have been polluted progressively inasmuch as the efforts for pollution control measures have been overwhelmed by the increasing fluxes of pollutants into the coastal waters. It is thus foreseeable that not only the coastal environment itself, but also the coastal fisheries resources would be badly affected if no appropriate countermeasures against pollution are to be taken in the near future.

The southern coastal waters of Korea are mostly covered with various kinds of mariculture farms. The increased shipping and oil terminal activities of petrochemical industries in the coastal areas threaten the marine environment from oil and hazardous materials

pollution. In fact, over 400 oil spill accidents happened last year in the coastal waters. When an oil spill accident breaks out in the southern coastal seas, the fisheries resources will be badly damaged.

Furthermore, organotin compounds in the aquatic environment are known to be detrimental to the survival, development and commercial value of organisms like oysters at extremely low levels, parts per trillion range. Exposure to tributyltin(TBT) is inevitable wherever organotin-treated vessels sail because the antifouling paints work by leaching small amounts of the toxin into the water surrounding the hull. Thus, the quantitative analyses of TBT in seawater, marine sediment and marine biota are very important. The risk assessment for TBT and toxicity tests on marine fishes are also needed.

The effect of water soluble fraction of crude oils and chemical dispersants on the mortality of zooplankton is important to verify the relationship between the oil spills and outbreak of red-tides.

Therefore, it is necessary to study the impact of oil spills and hazardous materials pollution on the fisheries resources in order to protect the marine environment and the public health.

III. Scope of the Study

The southern coastal waters of Korea are mostly covered with various kinds of mariculture farms. The increased shipping and oil terminal activities of petrochemical industries in the coastal areas threaten the marine environment from oil and hazardous materials pollution. In fact, over 400 oil spill accidents happened last year in the coastal waters of Korea. When an oil spill accident breaks out in

the southern coastal seas, the fisheries resources will be badly damaged.

In order to cope with the coastal pollution by oils and hazardous materials, we conducted:

1. pollution survey of organotin compounds in the southern coasts to protect the environment of mariculture farms including oysters,
2. risk assessment for TBT which is the most toxic organotin compound,
3. laboratory bioassays and toxicity tests of TBT on marine fishes such as olive flounder and sea urchin,
4. the effect of water soluble fraction of crude oils and chemical dispersants on the mortality of zooplankton,
5. air-sea exchanges of some chemical species like dimethyl sulfide(DMS), which are significant sources and important processes in Masan Bay water or overlying atmosphere.

IV. Results and Suggestions

1. The contaminations and effects on marine organisms by organotin compounds such as tributyltin(TBT) and triphenyltin(TPhT) used in anti-fouling paints for ships and cultivating nets have not been well known in Korea. In this study, concentrations of six organotin compounds, such as TBT, TPhT and their metabolites in marine organisms were determined by a GC-FPD. And field studies of imposex in the rock shell, *Thais clavigera*, were carried

out. Marine organisms such as the rock shell (*Thais clavigera*) and the bivalves (*Mytilus edulis* and *Crassostrea gigas*) were collected at sites on the coastal areas of Korea.

While the TBT concentration was highest in the pacific oyster, the TPhT concentration appeared highest in the rock shell. Occurrence percentages of imposex in the rock shell were 100% at most sites surveyed. The observed values of Relative Penis Length(RPL) Index were more than 50% at most sites. Occurrence percentages of sterile individuals, whose oviducts were blocked by vas deferens formation, were in the range of 0~100.0%, and exceeded 50% at several sites near dockyard, harbor and fishing port. These results show that organotin contaminations were already spread widely in the coastal areas of Korea.

2. Risk assessment for TBT was conducted to assess and manage them in the marine ecosystem. To do this, two-dimensional non-conservative box model was chosen for TBT fate model. The TBT fate model was applied to Masan Bay to verify its practical usefulness. The estimated TBT input loads for each box in Masan Bay were 1.46×10^{-3} (t/d) for Box A, 1.46×10^{-7} (t/d) for Box B and 1.65×10^{-4} (t/d) for Box C, respectively. The estimated values by the model simulation were in good agreement with the observed values within the same order of magnitude.

3. Bioassays were conducted with sea urchin sperm, eggs and embryos to determine the toxicity of some chemical compounds (butyltins) and extracts from bottom sediments collected in different parts of the Korean coastal waters. Summarized data of the toxicity (ED_{50} and threshold concentration) of the various butyltins and their characteristic effects on sea urchin cells are given. Comparative investigation of relationship between different butyltins structures and their activities was made. The toxicities of sediment extracts were estimated and compared with the calculated concentrations of total butyltins from the corresponding samples.

4. In order to investigate the effect of TBT on a bottom fish, olive flounders (*Paralichthys olivaceus*) were exposed to 2, 10 and 20 ppb TBT concentrations for 1~10 days. During the experiments, various enzyme activities in fish bloods including alkaline phosphatase (ALKP), alanine aminotransferase (ALT), amylase (AMYL), lipase (LIPA), aspartate aminotransferase (AST), cholinesterase (CHE) and lactate dehydrogenase (LDH), biochemical components such as total protein (TP), albumin (ALB) and total bilirubin (TBIL), and inorganic elements or ions like Ca, P, Na^+ , K^+ and Cl^- were measured. Activities of detoxication enzymes in liver such as cytochrome P-450 and cytochrome b5 were also determined. Olive flounders exposed to TBT showed blood congestions in livers from 1st day of exposure, indicating that the liver tissues were severely damaged. Of the enzymes, ALT increased with the increasing exposure period and TBT

concentrations, while AST only increased with the exposure concentrations. Compared with the control group, Ca concentrations in fish blood detrimentally decreased immediately after exposure. With increasing exposure period increased Na^+ and K^+ concentrations and decreased Cl^- concentrations were observed. This may be due to the osmotic pressure control of TBT. Activities of cytochrome P-450 and cytochrome b5 decreased with the increasing exposure period and TBT concentrations.

5. Harmful effects of organotin compounds on shellfish growth and reproduction were examined with histopathologic techniques. A standard method of routine histopathology was modified for aquatic animals according to NOAA's recommendation to develop a protocol for marine environmental monitoring purpose. To set up the procedure, an annual reproductive cycle of oysters in Yosu was followed with histological techniques. Oysters were sampled, weighed, fixed in Bouin's solution, dehydrated, cut 6 μm thick, and stained with Harri's hematoxylin and eosin. The histologic slides were examined and reproductive stages were scored according to NOAA's protocol. In June, most oysters exhibited developing eggs and they spawned in mid July. Oysters sampled in February were in resting stage.

Oysters were transplanted from Tongyoung, an oyster growing ground, to Masan Bay known to be polluted area in order to study bioaccumulation of organotin compounds. Oysters were sampled on a 10 day interval for two months after transplantation. During spawning season, oyster eggs and sperm were purified and organotins in reproductive and somatic tissues were analyzed

separately. A group of pen shells collected from Yosu in June 1996 was analyzed for TBT concentration. The oysters in Masan Bay exhibited relatively high concentration of TBT with a range of 1,500 to 3,000 ng Sn/g dry wt, TPhT of 78 to 698 ng Sn/g dry wt. No significant difference was observed between TBT concentrations in the somatic and gonadal tissues in oysters during spawning season. However, as the oysters discharged as much as 40 to 60% of their total weight during spawning as gametes, spawning must be a way of depurating pollutants accumulated in the body. Pen shells showed relatively higher concentration of TBT in the gonad during spawning although the TBT concentration in unit weight was lower than that of oysters. Various pathological features were observed from oysters transplanted in Masan Bay, including gill lesion, haemocytic infiltration, parasitic infestation, and digestive tubule abnormalities. An altered reproductive pattern was also observed from the oysters in Masan Bay during spawning season.

Thais clavigera and *T. bronni* belonging to neogastropoda were sampled from four major harbors and some clean control sites around Cheju for the investigation of imposex. The occurrence rate of imposex among the gastropods collected from the harbors was 100% and no true females were encountered in the area. Sex ratio of the gastropods in those harbors altered seriously; females were less than 20% of sample population, indicating that *T. clavigera* population in the harbors are on the way of extinction. In contrast, gastropods collected from the clean control site exhibit non-imposed female and the sex ratio was approximately 1 to

1. It was obvious from this study that harbors and coastal areas around Cheju were strongly affected by organotin compounds. Some oysters collected in Chuja Island showed a strong chambering phenomenon, a kind of shell thickening phenomenon, also indicating the effects of TBT in that area.
6. Bile screening method was used to investigate the effect of the oil spill on a bottom fish, bastard English sole which were cultured around the spilled area. Bastard English sole samples were collected two times at two different culturing sites. With chromatographic patterns and equivalent concentrations, the damaged fish by oil spill could be found out. In the case of benzo[a]pyrene, however, other sources of pyrogenic contamination before the oil spill was also suggested.
7. To investigate the effect of dispersants on the mortality of dominant zooplankton, *in situ* toxicity tests were performed using microcosm in Pusan. Zooplankton used in the experiments were copepods such as *Calanus sinicus*, *Paracalanus parvus* and *Acartia omorii*, and cladoceran such as *Podon polyphemoides*. When these zooplankton were exposed at the lower concentration(100, 500 ppm) of two dispersants, Gamasol LT-A and Hi-Clean, for short period(1~3hr), there was no difference in zooplankton mortality between two dispersants. However, there were differences in mortality among zooplankton. Mortality of small copepod *Acartia* was higher than that of bigger copepod *Calanus* by 2 to 3 times

under the same concentration of dispersant and incubation time. Mortality of cladoceran *Podon* was higher than that of copepod *Paracalanus*. Zooplankton mortality increased up to 26.6% when they were exposed to the dispersants at the concentration of 100 ppm. Considering the grazing pressure of zooplankton (about 10% of the primary production by phytoplankton), increased zooplankton mortality due to dispersant under the experimental condition could increase phytoplankton biomass by 2%.

8. Although the sewage and river sources are made of large portions of pollutant inputs, air-sea exchanges of some chemical species could be significant sources to either Masan Bay water or overlying atmosphere. In January, August 1996 and August 1997 we have simultaneously measured dimethyl sulfide (DMS) in the water throughout the Masan Bay and the overlying atmosphere on small island (Dotsum) at the middle of Masan Bay. The concentrations of atmospheric DMS significantly varied and ranged from detection limit ($<50 \text{ ng/m}^3$) to strikingly high concentrations (up to $10,500 \text{ ng/m}^3$). DMS concentrations in the surface seawater and bottom water, and degree of DMS sea-to-air exchanges influenced atmospheric DMS concentrations. Sampling sites are responsible to the large variation of atmospheric DMS concentrations. The results showed that MSA concentrations in aerosols were much smaller than sulfate. Although we could not find a direct and distinct correlation either

between atmospheric DMS and MSA, or between atmospheric DMS and aerosol sulfate concentration, the close relationship between MSA and aerosol sulfate indicated certain influence of atmospheric acidity from DMS originated from the highly eutrophicated coastal water, Masan Bay. Shell surface damage of *Littorina brevicula* and *Crassostrea gigas* collected from the supralittoral zone was found to be particularly severe in Masan Bay. The primary question was whether the observed morphological alterations was related to environmental stress.

목 차

표목차	33
그림목차	37
제 1 장 서 론	47
제 2 장 남해안의 유기주석화합물 오염실태 조사	53
제 1 절 시료채취 및 분석방법	55
제 2 절 결과 및 고찰	57
1. 해수중의 유기주석화합물 농도	57
2. 생물체내 유기주석화합물 농도	57
3. 대수리의 생식기 이상현상	57
제 3 절 결 언	70
참고문헌	71
제 3 장 TBT(Tributyltin)의 위해성 평가 및 관리 방안	73
제 1 절 서 언	75
제 2 절 TBT의 환경운명 예측	77
1. TBT의 환경운명예측모델 설정	77
2. 해수유동 시뮬레이션	82
3. TBT의 환경운명예측	89
제 3 절 TBT의 위해성 평가	94
1. 수생생물에 대한 위해성 평가	94
2. 인체에 대한 위해성 평가	95
제 4 절 대안 평가에 의한 TBT의 평가	97
1. 대안 평가 시나리오	97
2. 대안에 의한 TBT의 위해성 평가	98
제 5 절 결 언	101
참고문헌	103

제 4 장	성계를 이용한 유기주석화합물의 독성 연구	107
제 1 절	서 언	109
제 2 절	재료 및 방법	109
1.	생물채집	109
2.	난자와 정자 분리	110
3.	수정	110
4.	세포독성실험	110
제 3 절	결과 및 고찰	113
1.	발생단계별 지시자	113
2.	각 유기주석화합물의 비교 독성	115
3.	표층퇴적물 추출액의 독성 실험	132
제 5 장	넙치를 이용한 유기주석화합물의 독성 연구	145
제 1 절	서 언	147
제 2 절	재료 및 방법	149
1.	실험어류	149
2.	사육 및 TBT 노출	151
3.	혈액검사	154
4.	약물대사효소	154
제 3 절	결과 및 고찰	157
1.	중간치사농도의 설정	157
2.	HSI 및 GSI	157
3.	장기소견	158
4.	혈액분석	158
5.	해독효소의 활성변화	172
제 4 절	결 언	177
참고문헌		178

제 6 장 해산 어패류의 생리 및 조직병리학적 연구	189
제 1 절 서 언	191
제 2 절 재료 및 방법	197
1. 패류의 생식력 측정 기술 개발	197
2. 참굴의 유기주석화합물에 대한 생물농축	198
3. 제주연안의 임포섹스 현상	203
제 3 절 결과 및 고찰	209
1. 패류의 생식력 측정 기술 개발	209
2. 참굴의 유기주석화합물에 대한 생물농축	215
3. 제주연안의 임포섹스 현상에 관한 연구	240
제 4 절 결 언	245
참고문헌	247
제 7 장 어류 쓸개즙 중의 PAH 측정을 통한 유류오염 피해 입증 ...	253
제 1 절 서 언	255
제 2 절 재료 및 분석방법	257
1. 재료 및 분석장비	257
2. 분석방법	259
3. 자료의 질검정	261
4. 시료분석	261
5. 농도계산	261
제 3 절 결과 및 고찰	262
1. 크로마토그램 분석	266
2. 등량농도 분석	274
3. 외국 자료와의 비교	279
4. 고찰	280
제 4 절 결 언	282
참고문헌	284

제 8 장 유류 및 유처리제가 동물플랑크톤에 미치는 영향	287
제 1 절 서 언	289
제 2 절 재료 및 방법	294
제 3 절 결과 및 고찰	295
제 4 절 유류 및 유처리제의 특성	301
1. 유 류	301
2. 유처리제	302
제 5 절 결 언	328
참고문헌	330
제 9 장 마산만에서의 해수-대기간 DMS(Dimethyl Sulfide) 교환	333
제 1 절 서 언	335
제 2 절 조사 내용 및 방법	338
1. 조사 목표 및 내용	338
2. 조사방법	339
3. 제1차 '96년 동계 조사결과	351
4. 제2차 '96년 하계 조사결과	362
5. 제3차 '97년 하계 조사결과	373
제 3 절 결 언	397
참고문헌	399
제 10 장 결 론	403

CONTENTS

List of Tables	33
List of Figures	37
Chapter 1. Introduction	47
Chapter 2. Pollution survey for organotin compounds in the southwestern coast	53
Section 1. Sampling and analytical methods	55
Section 2. Results and discussion	57
1. Organotin compounds concentrations in seawater	57
2. Organotin compounds concentrations in marine biota	57
3. Imposex of neogastropod, <i>Thais clavigera</i>	57
Section 3. Conclusion	70
References	71
Chapter 3. Assessment and management of TBT(Tributyltin) by risk analysis	73
Section 1. Introduction	75
Section 2. Prediction of environmental fate of TBT	77
1. Setup of environmental fate model for TBT	77
2. Simulation of seawater circulation model	82
3. Prediction of environmental fate of TBT	89
Section 3. Risk assessment of TBT	94
1. Risk assessment for hydrobios	94
2. Risk assessment for human body	95

Section 4. Assessment of TBT by alternatives	97
1. Assessment scenarios by alternatives	97
2. Risk assessment of TBT by alternatives	98
Section 5. Conclusion	101
References	103
Chapter 4. Toxic effects of organotin compounds on a sea urchin	107
Section 1. Introduction	109
Section 2. Materials and methods	109
1. Sample collection	109
2. Isolation of eggs and sperm	110
3. Insemination	110
4. Cytotoxicity test	110
Section 3. Results and discussion	113
1. Indicator developmental stages	113
2. Compared toxicities of each organotin compounds	115
3. Toxicity test of surface sediment extracts	132
Chapter 5. Toxic effects of organotin compounds on an olive flounder	145
Section 1. Introduction	147
Section 2. Materials and methods	149
1. Olive flounder samples	149
2. Breeding and exposure to TBT	151
3. Blood test	154
4. Metabolic enzyme	154
Section 3. Results and discussion	157
1. Established median lethal concentration	157

2. Hepatosomatic index(HSI) and gonadosomatic index(GSI) ...	157
3. Intestinal transformation	158
4. Blood analysis	158
5. Activity change in detoxication enzyme	172
Section 4. Conclusion	177
References	178

Chapter 6. Effects of organotin compounds on growth and reproduction of commercially important shellfishes

Section 1. Introduction	189
Section 2. Materials and methods	197
1. Development of standard procedures on measuring reproductive effect of shellfish	197
2. Bioaccumulation of organotin compounds in oysters	198
3. Imposex of neogastropods along the coastal areas of Cheju	203
Section 3. Results and discussion	
1. Development of standard procedures on measuring reproductive effect of shellfish	209
2. Bioaccumulation of organotin compounds in oysters	215
3. Imposex of neogastropods along the coastal areas of Cheju	240
Section 4. Conclusion	245
References	247

Chapter 7. Proof of oil spill damage using bile screening method

Section 1. Introduction	255
Section 2. Materials and methods	257

1. Materials and analytical instrument	257
2. Analytical method	259
3. Analytical quality assurance	261
4. Sample analysis	261
5. Calculation of concentration	261
Section 3. Results and discussion	262
1. Interpretation of chromatogram	266
2. Interpretation of equivalents concentration	274
3. Comparison with foreign data	279
4. Discussion	280
Section 4. Conclusion	282
References	284
Chapter 8. Effects of oils and dispersants on zooplankton	
mortality	287
Section 1. Introduction	289
Section 2. Materials and methods	294
Section 3. Results and discussion	295
Section 4. Characteristics of oils and dispersants	301
1. Oils	301
2. Dispersants	302
Section 5. Conclusion	328
References	330
Chapter 9. Sea-to-air exchange of DMS in Masan Bay	333
Section 1. Introduction	335
Section 2. Overview	338
1. Objectives	338
2. Analytical methods	339

3. Study results of Winter time, 1996	351
4. Study results of Summer time, 1996	362
5. Study results of Summer time, 1997	373
Section 3. Conclusion	397
References	399
Chapter 10. Conclusions	403

List of Tables

Table 2-1. Concentrations of organotin compounds in seawater.	58
Table 2-2. Concentrations of organotin compounds in neogastropod, <i>Thais clavigera</i> , in the southern coast of Korea (Oct. 1995-Aug. 1997).	59
Table 2-3. Concentrations of organotin compounds in oysters in the coastal waters of Korea (Oct. 1995-Jan. 1997).	60
Table 2-4. Concentrations of organotin compounds in mussels in the coastal waters of Korea (Oct. 1995-Jan. 1997).	61
Table 2-5. Degees of imposex in <i>Thais clavigera</i> , RPL(Relative Penis Length) Index(%) and sterile individuals(%) (Oct. 1995-Aug. 1997).	62
Table 3-1. Input data for hydrodynamic model.	84
Table 3-2. Mean and range values of parameters.	89
Table 3-3. Observed concentrations of TBT in Masan Bay.	93
Table 3-4. Estimated human risk level of TBT by each scenario.	96
Table 3-5. Alternatives of TBT use as anti-fouling paint.	97
Table 3-6. Estimated load of TBT in each box by alternatives.	98
Table 3-7. Simulated concentrations of TBT in each compartment by alternatives.	99
Table 3-8. Estimated risk levels of TBT on marine organisms and human beings by each alternative.	100
Table 4-1. Toxicity of eight organotin compounds with sea urchin fertilization and development tests expressed in ED ₅₀ and threshold concentrations($\mu\text{g}/\text{ml}$).	128

Table 4-2. Toxicity of eight organotin compounds with sea urchin larva test.	128
Table 4-3. Butyltin concentrations ($\mu\text{g Sn/g dry wt.}$) in sediments and toxicity (ED_{50}) of extracts estimated with 8 blastomer test.	140
Table 4-4. Toxicity (threshold concentration in mg of sediments per ml of test solution) of sediment extracts with larva test.	141
Table 5-1. Experimental conditions of olive flounder.	150
Table 5-2. Measured items and reaction principles in blood.	151
Table 6-1. Date of oyster collections for TBT analysis and for histopathological examination.	204
Table 6-2. Sapling efforts of <i>T. clavigera</i> and <i>T. bronni</i> in Cheju for the investigation of imposex.	207
Table 6-3. Tissue embedding sequence.	210
Table 6-4. Tissue staining sequence.	213
Table 6-5. Developmental stages and description of gonad appearance.	214
Table 6-6. Concentrations of organotin compounds in oysters transplanted from Tongyoung to Masan (ng Sn/g dry wt). ...	224
Table 6-7. Concentrations of organotin compounds in oyster gonadal tissues (ng Sn/g dry weight).	228
Table 6-8. Concentrations of organotin compounds in pen shell, <i>Atrina pectinata japonica</i> collected in Yosu, on June 10, 1996. Gonadosomatic index is a percent weight of gonad to total tissue weight.	230
Table 6-9. Results of the imposex investigation on neogastropods, <i>T. clavigera</i> and <i>T. bronni</i> collected along the coastal area of Cheju. RPLI=Relative Penis Length Index.	241

Table 7-1. Gradient elution program of HPLC.	260
Table 7-2. Bile sampling sites and collected samples.	263
Table 7-3. Equivalents concentrations of bile from this study and other foreign studies.	276
Table 8-1. Chemical composition of dispersants.	303
Table 8-2. Advantages and disadvantages of various dispersants.	304
Table 8-3. Examples of various types of surfactants.	307
Table 8-4. HLB scale of nonionic surfactants.	308
Table 8-5. Methods of final biodegradability.	315
Table 8-6. Tests for ready biodegradability.	316
Table 8-7. Tests for inherent biodegradability.	317
Table 8-8. Toxicity of surfactant.	321
Table 8-9. Effect of surfactant on microorganisms.	322
Table 8-10. Acute toxicities of partial fatty acid ester of polyols and anhydropolyols.	323
Table 8-11. Acute toxicities of polyoxyethylene fatty acid ester.	325
Table 8-12. Acute toxicities of partial fatty acid esters of polyoxyethylene polyols and anhydropolyols.	326
Table 9-1. Measured species and analytical methods.	342
Table 9-2. Conditions for ion chromatograph operation.	343
Table 9-3. Conditions for thermal desorption unit operation.	349
Table 9-4. Conditions for gas chromatograph operation for GC-PID. ...	349
Table 9-5. Conditions for photoionization detector operation.	350
Table 9-6. Conditions for gas chromatograph operation for GC-FPD. ...	350
Table 9-7. Conditions for detector operation for GC-FPD.	350

List of Figures

Fig. 2-1. Sampling sites in Korea.	56
Fig. 2-2. Occurrence percentages of imposex individual in the rock shell, <i>Thais clavigera</i> (Oct. 1995–Aug. 1997).	64
Fig. 2-3. The observed values of Relative Penis Length(RPL) index in the rock shell, <i>Thais clavigera</i> (Oct. 1995–Aug. 1997).	65
Fig. 2-4. Occurrence percentages of sterile individual, whose oviducts were blocked by cas deference formation, in the rock shell, <i>Thais clavigera</i> (Oct. 1995–Aug. 1997).	67
Fig. 2-5. Relationship between TBT concentrations in tissue and RPL index in the rock shell, <i>Thais clavigera</i> (Oct.1995–Aug.1997).	68
Fig. 2-6. Relationships between RPL index and sterile individual in the rock shell, <i>Thais clavigera</i> (Oct.1995–Aug.1997).	69
Fig. 3-1. Schema of transfer, tansport and transformation processes of TBT in water quality model.	79
Fig. 3-2. Finite difference grid map of calculation domain.	83
Fig. 3-3. Computed velocity fields in each level during the flood flow.	86
Fig. 3-4. Computed velocity fields in each level during the ebb flow. ...	87
Fig. 3-5. Comparison of the tidal current ellipses between observed and calculated results.	88
Fig. 3-6. The location of observed stations in Masan Bay.	90
Fig. 3-7. Simulated TBT concentration in each box in Masan Bay.	93
Fig. 4-1. Normal features in the fertilization and developmental stages of sea urchin, <i>Anthocidris crassispina</i>	114
Fig. 4-2. Relationships between percent development to 8 blastomer cells and exposed organotin concentrations in developmental	

toxicity test.	116
Fig. 4-3. Relationships between percent fertilization of treated sperms and non-treated eggs and exposed organotin concentrations in fertilization toxicity test.	120
Fig. 4-4. Relationships between percent fertilization of treated eggs and non-treated sperms and exposed to organotin concentrations in fertilization toxicity test.	124
Fig. 4-5. Abnormal development of sea urchin embryos exposed to tributyltin chloride(TBT) and dimethyltin dichloride(DMT) solutions.	129
Fig. 4-6. Relationships between percent development to 8 blastomer cells and exposed to organotin concentrations of sediment extracts in developmental toxicity test.	133
Fig. 4-7. Relationship between total butyltin concentrations in sediments from Ulsan Bay except Station US4 and ED ₅₀ estimated from 8 blastomer developmental toxicity tests.	142
Fig. 4-8. Relationship between total butyltin concentrations in sediments from Ulsan Bay including Station US4 and ED ₅₀ estimated from 8 blastomer developmental toxicity tests.	142
Fig. 4-9. Relationship between total butyltin concentrations in sediments from harbors other than Ulsan Bay and ED ₅₀ estimated from 8 blastomer developmental toxicity tests.	144
Fig. 5-1. Changes in total protein(TP) concentration (g/dl) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	158
Fig. 5-2. Changes in albumin (ALB) concentration (g/dl) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	159
Fig. 5-3. Changes in alkaline phosphatase (ALKP) activity (U/l) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	161

Fig. 5-4. Changes in alanine aminotransferase(ALT) activity(U/l) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	162
Fig. 5-5. Changes in aspartate aminotransferase(AST) activity (U/l) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	162
Fig. 5-6. Changes in cholinesterase(CHE) concentration (U/ml) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	164
Fig. 5-7. Changes in lipase(LIPA) activity (U/l) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	166
Fig. 5-8. Changes in Ca concentration (mg/dl) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	168
Fig. 5-9. Changes in phosphorus(PHOS) concentration (mg/dl) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	169
Fig. 5-10. Changes in Na ⁺ concentration(mM/l) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	170
Fig. 5-11. Changes in K ⁺ concentration(mM/l) in the blood of olive flounder exposed to TBT.	171
Fig. 5-12. Changes in Cl ⁻ concentration(mM/l) in blood of olive flounder exposed to TBT.	171
Fig. 5-13. Changes in cytochrome P-450 concentration (nM/mg of protein) in the liver microsome of olive flounder exposed to TBT.	175
Fig. 5-14. Changes in cytochrome b5 concentration (nM/mg of protein) in the liver microsome of olive flounder exposed to TBT. ...	175
Fig. 6-1. Temporal sequence of stress effects (Modified from Sindermann, 1995).	193
Fig. 6-2. Location of the oyster tissues taken for histopathological and gonadal assay.	199
Fig. 6-3. Illustration of histopathological procedures used in this study. ...	200

Fig. 6-4. Sampling locations in Cheju and Chujado.	205
Fig. 6-5. Internal anatomy of a typical neogastropoda(redrawn from Gibbs and Bryan, 1994).	208
Fig. 6-6. Histological observations of reproductive stages of the Pacific oysters, <i>Crassostrea gigas</i> collected from Yosu. ① sexually undifferentiated oysters with empty gonoduct and connective tissues. ② late development stage of femal showing mature eggs in follicles. ③ fully developed female with matures eggs filling follicles. ④ spawning femles discharging egg through gonoduct. ⑤ spawned female exhibiting some residual eggs on follicle wall. ⑥ female oyster eggs in resorbing phase, egg becom atrophying. ⑦ male oysters exhibiting fully mature sperms in spermary. ⑧ partially spawned male showing half empty spermary.	218
Fig. 6-7. Histopathological observations made from oysters transplanted from Tongyoung to Masan. ① Kidney walls infiltrated with hemocytic cells and bursted epidermal tissues. ② Edema formed in mantle tissue indicating stress effects. ③ Gills infested with unknown microsporozoan parasites ④ Digestive tubles parasitized by spore-shaped parasites. ⑤ bursted epithellial cells of gills. ⑥ granulocytomas, an inflammatory response, of digestive tubules in oysters collected from Masan Bay. ⑦ relatively normal and regular shape of digetive tubules found in oysters collected from Tongyoung. ⑧ abnormally small and irregular shaped digestive tubules of oysters collected from Masan Bay after transplantation.	222

- Fig. 6-8. Organotin compounds concentrations in oysters from Masan Bay. FG; Female Gonad, MG; Male Gonad, FS; Female Somatic Tissues, MS; Male Somatic Tissues, FW; Female Whole animal, MW; Male Whole animal. 225
- Fig. 6-9. Organo-phenyltin compounds concentrations in oysters from Masan Bay. FG; Female Gonad, MG; Male Gonad, FS; Female Somatic Tissues, MS; Male Somatic Tissues, FW; Female Whole animal, MW; Male Whole animal. 227
- Fig. 6-10. Organotin and phenyltin compounds concentrations in pen shells from Yosu. M; Male, F; Female (GO); Gonad, (SO); Somatic tissues. Individual 1 to 7. 231
- Fig. 6-11. Organotin and phenyltin compounds concentrations in pen shells from Yosu. M; Male, F; Female (GO); Gonad, (SO); Somatic tissues. Individual 8 to 14. 232
- Fig. 6-12. Shells deformations of *Crassostrea rivularis* sampled from Shinyang Harbor, Chujado at depth of 4 to 7 m. ① very thick upper shell of *C. rivularis*, ② Cross-sections of the upper and lower shell of ①, notice the several shell layers inside, ③ closer view of the shell layers inside the thickened shell, ④ hollow chambers formed possibly due to the effects of TBTs in the sampling site, ⑤ another example of shell deformation observed at Shinyang Harbor, notice the ball-shaped upper and lower shells, ⑥ cross-section of the shells shown in ⑤. 237
- Fig. 6-13. Neogastropods distributed along the coastal area of Cheju. ① *Thias bronni*, ② *Thias clavegera*, ③ Imposed female *T. clavegra*, the arrow indicates penis, ④ the arrow indicates

sperm ingesting gland of female <i>T. clavigera</i>	239
Fig. 6-14. Scanned images of the penis of <i>Thais clavigera</i> collected from Cheju Harbor in November 1997. A, B; penises of the drill placed on a slide glass for scanning with 1 cm scale. C, D; magnified images of penis of <i>Thais clavigera</i>	244
Fig. 7-1. Disposition of radioactivity in tissues of fish(English sole) exposed to [3H]BaP via sediment(Adapted from Varanasi <i>et al.</i> , 1989).	256
Fig. 7-2. Correlation of fluorescent ACs in bile by screening and sums of individual metabolites of ACs determined by GC/MS for compounds fluorescing at naphthalene(Adapted from Krahn <i>et al.</i> , 1992).	258
Fig. 7-3. Installation design of HPLC/FLD and output devices.	260
Fig. 7-4. Photographs of dissected bastard English sole and position of gall bladder.	265
Fig. 7-5. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 290/335 nm (NPH wavelength) of (A) bile from UDK6, (B) UDS1.	267
Fig. 7-6. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 290/335 nm (NPH wavelength) of (A) bile from UDK2', (B) UDS3'. ...	268
Fig. 7-7. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 290/335 nm (NPH wavelength) of (A) bile from SR2, (B) SR4, (C) SR6.	269
Fig. 7-8. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 380/430 nm(BaP wavelength) of (A) bile from UDK5, (B) UDS1.	271
Fig. 7-9. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 380/430 nm(BaP wavelength) of (A) bile from UDK2', (B) UDS3'.	272
Fig. 7-10. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 380/430 nm (BaP wavelength) of (A) bile from SR2, (B) SR4, (C) SR6.	273

Fig. 7-11. Equivalent concentration of bile samples fluorescing at 290/335(NPH wavelength) (A) samples analyzed in Jan. (B) Feb.	275
Fig. 7-12. Equivalent concentration of bile samples fluorescing at 380/430(BaP wavelength) (A) samples analyzed in Jan. (B) Feb.	278
Fig. 8-1. Mortality of two dominant copepods, Calanus and Acartia, after 3-hr incubation period.	296
Fig. 8-2. Mortality of two dominant zooplankton, Paracalanus and Podon after 2-hr incubation period.	297
Fig. 8-3. Mortality of two dominant copepods, Calanus and Acartia, after 1-hr incubation period.	298
Fig. 8-4. Effect of dispersant (Gammasol LT-A) on copepod mortality(%) depending on incubation time(hr) and dispersant concentration(ppm).	299
Fig. 9-1. Map of Masan Dotsum site	340
Fig. 9-2. FPD calibration curve for the DMS standards.	344
Fig. 9-3. GC-FPD chromatogram for DMS analysis.	346
Fig. 9-4. IC chromatogram for anion analysis using Dionex-11AS. ..	347
Fig. 9-5. IC chromatogram for cation analysis.	348
Fig. 9-6. Temporal concentration variation of HNO ₃ and NO ₃ ⁻ in Masan Bay in winter of 1996.	352
Fig. 9-7. Temporal concentration variation of NH ₄ ⁺ and Na ⁺ in Masan Bay in the winter of 1996.	353
Fig. 9-8. Temporal concentration variation of SO ₄ ²⁻ and SO ₂ in Masan Bay in the winter of 1996.	354

Fig. 9-9. Comparison for sums of measured water soluble cations and anions of aerosol in Masan Bay in the winter of 1996.	356
Fig. 9-10. Temporal concentration variation of DMS and Chl-a in Masan Bay in the winter of 1996.	358
Fig. 9-11. Comparison of DMS temporal concentration variation in air vs sea water in the winter of 1996.	359
Fig. 9-12. The DMS concentration in air vs Na^+ concentration in air in the winter of 1996.	361
Fig. 9-13. Temporal concentration variation of HNO_3 and NO_3^- in Masan Bay in the summer of 1996.	363
Fig. 9-14. Temporal concentration variation of NH_4^+ and Na^+ in Masan Bay in the summer of 1996.	365
Fig. 9-15. Temporal concentration variation of SO_2 and SO_4^{2-} in Masan Bay in the summer of 1996.	366
Fig. 9-16. Temporal concentration variation of atmospheric DMS in Masan Bay in the summer of 1996.	368
Fig. 9-17. Temporal concentration variation of seawater DMS in Masan Bay in the summer of 1996.	369
Fig. 9-18. Hourly variations of atmospheric DMS during the summer of 1996.	370
Fig. 9-19. Hourly averaged variations of seawater DMS during the summer of 1996.	371
Fig. 9-20. Comparisons of the sea water DMS collected at two different sites on Dotsom Island.	372
Fig. 9-21. Measured surface sea water DMS concentrations in the Masan Bay during summer of 1996.	374

Fig. 9-22. Sea water DMS concentrations along the depth at Station A on summer of 1996.	375
Fig. 9-23. Sea water DMS concentrations along the depth at Station G on summer of 1996.	376
Fig. 9-24. Variation of nitric acid during the 1997 summer campaign.	377
Fig. 9-25. Variation of nitrate aerosol during the 1997 summer campaign.	379
Fig. 9-26. Variation of ammonium during the 1997 summer campaign.	380
Fig. 9-27. Variation of Sodium during the 1997 summer campaign.	381
Fig. 9-28. Variation of sulfate during the 1997 summer campaign. ...	382
Fig. 9-29. Atmospheric DMS during the 1997 summer campaign.	384
Fig. 9-30. Seawater DMS during the 1997 summer campaign.	385
Fig. 9-31. Chl-a concentrations during the 1997 summer campaign.	386
Fig. 9-32. Variation of MSA during the 1997 summer campaign.	387
Fig. 9-33. Variations of DMS, Chl-a, temperature and DO at station G on Aug. 6th, 1997.	389
Fig. 9-34. Variations of DMS, Chl-a, temperature and DO at station D on Aug. 6th, 1997.	390
Fig. 9-35. Variations of DMS, Chl-a, temperature and DO at station A on Aug. 6th, 1997.	391
Fig. 9-36. Temporal seawater DMS variation at 8 stations in Masan Bay during the 1997 summer campaign.	393
Fig. 9-37. Temporal Chl-a variation at 8 stations in Masan Bay during the 1997 summer campaign.	394
Fig. 9-38. Depth profiles of DO and temperature on Aug. 4th and 7th. of 1997.	395
Fig. 9-39. Wind speed variation during the July 31st to Aug. 16th of 1997.	396

제 1 장
서 론

'92년 이후 우리나라 연안해역에서는 해상유출사고가 매년 300여건 발생하여 왔으나 최근 들어서는 400건을 훨씬 상회하고 있으며 점차 대형화되어 가고 있는 실정이다. 뿐만 아니라 육상으로부터 오염물질들이 대량 유입됨으로써 연안오염은 날로 가속화되어 가고 있다. 이에 따라 연안환경은 급속히 악화되어 패류, 어류 등의 양식생물들과 같은 유용 수산자원은 큰 타격을 받고 있으나 원인규명이나 오염의 현상태와 추세 파악을 위한 장기적인 현장조사자료 미비로 피해저감을 위한 적절한 대책 수립이 어려운 것이 우리의 현실이다. 특히 급·만성 독성을 가지고 있는 중금속과 유류 및 유기독성물질들은 연안해역으로 유입된 후 장·단기적으로 해양생태계에 여러가지 악영향을 미치게 된다. 최근에는 일부 해역에서 각종 독성물질에 의한 수산자원 피해가 가시화되고 있음에도 불구하고, 오염의 영향과 피해를 정량적으로 파악하고 추정할 수 있는 체계적이고 종합적인 연구가 전무한 실정이다.

유기주석화합물은 해양에서 선박이나 수중구조물의 생물부착방지용 페인트의 주성분으로 많이 사용되고 있는데 이 성분이 해수중으로 용출됨으로써 해양 생태계에 악영향을 미치기 때문에 중요한 오염원이라 할 수 있다. TBT(tributyltin)는 19세기부터 생물부착방지제로 사용되어온 산화구리보다 더 효과적이고 경제적이라는 게 밝혀지면서 '60년대 말부터 사용량이 급증하였다. 페인트에서 분리되어 나오는 유기주석화합물은 부착성 생물뿐만 아니라 확산을 통해 근처에 있는 비표적생물(non-target organism)에 영향을 미치므로써 생물부착을 막는 효과 이외에도 생태계에 인위적인 변화를 초래하게 된다. TBT로 인한 생태계 교란현상은 '80년대 초에 영국과 프랑스에서 참굴(*Crassostrea gigas*)의 패각기형과 개체군의 감소를 통해 처음 보고되었다. 뒤이은 독성실험을 통해서 TBT가 굴의 성장억제와 패각

기형을 일으키고, 치패(spat)의 성장에 영향을 미치며, 홍합의 성장속도를 감소시키고, 홍합 유생의 높은 사망률을 유도한다는 것이 밝혀졌다. 또한 복족류에 임포섹스를 일으키는 사실이 밝혀지면서, 임포섹스는 TBT 오염의 유용한 생물지표로서 연구대상이 되었다.

1·2차년도에서는 남해안의 진해만, 옥포만, 광양만의 해수, 퇴적물, 생물시료 중의 유기주석화합물 농도를 분석하여 그 오염 현황과 오염원을 파악하였으며, 이 화합물의 평가 및 관리를 위한 환경운명예측모델을 설정하였다. 1·2차년도 조사 결과에서도 밝혀졌듯 이미 우리나라 연안은 TBT 오염이 광범위하게 확산되어 있으며 심한 곳은 외국의 오염심화지역과 비슷한 정도로서 선박 방오페인트로의 사용 규제와 같은 긴급 대책이 필요함을 확인할 수 있었다. 이에 따라 3차년도에서는 TBT 오염에 대한 집중적인 연구를 수행하였다. 우선 제2장에서는 여수를 중심으로 한 남해 서부해역의 해수, 생물시료중의 TBT 오염조사 결과를 다뤘으며, 제3장에서는 전년도에 개발된 TBT의 환경운명예측모델을 이용하여 마산만과 행암만을 포함하는 진해만 일부 해역을 사례연구지역으로 설정해 TBT의 해양생태계내 순환 및 위험평가를 실시하였다.

제4장에서는 유기주석화합물의 해산어류에 대한 독성을 성계를 이용해 정자, 난자, 유생 등에 대한 영향을 생물검정실험을 통해 확인하였으며, 제5장에서는 저서어류인 넙치를 이용해 혈액중의 효소변화와 세포내의 이온변화를 조사하였다. 청정해역으로 부터 오염해역으로 해양생물을 이식할 때 생물내부에 어떤 현상이 발생하는가를 알아보기 위하여 통영해역에서 마산내만으로 굴을 이식한 후 굴의 조직병리현상을 관찰하였다(제6장). 이식된 굴은 2개월내에 모두 폐사하였는데 이 기간동안 TBT 농도의 증가여부와 다양한 조직병리현상을 조사하였다.

우리나라 연안에서 대형 기름유출사고가 발생하면 수산자원피해는 필연적으로 따를 수밖에 없다. 그러나 '79~'94년 사이에 발생한 기름오염사고에서 어민들이 받은 수산피해보상액은 청구액의 평균 6% 정도에 지나지 않는다. 이처럼 피해보상액이 턱없이 낮은 데에는 피해사실에 대한 과학적인 입증을 하지 못한 것도 한가지 이유가 될 수 있다. 어류의 쓸개즙(bile)에 축적되어 있는 유류기원의 다핵방향족탄화수소(PAH)를 정확히 분석할 수 있는 기술을 확보하면 어느 정도는 이에 대한 대처가 가능한데, 제7장에서는 이에 대한 분석법의 정립과 실제로 연안 해역 어류에 대한 응용을 다루었다.

'97년에는 우리나라 사상 가장 많은 459건의 해상유출사고가 발생하였다. 뿐만 아니라 대형 적조가 발생해 막대한 수산피해가 우려되었으나 다행히 이 시기에 태풍이 몰려와 21억여원의 피해만을 입었을 뿐이다. 그러나 지난 '95년에는 사상 유래가 없는 유출량 5천톤의 씨프린스호 좌초사고에 의한 유류오염과 대형적조가 발생해 막대한 수산피해를 야기시킨 바 있다. 따라서 유출유 및 방제작업에서 다량 사용되고 있는 유처리제와 적조 발생과의 관련성 여부에 대해서도 많은 연구가 이루어져야 한다. 따라서 제8장에서는 1·2차년도에 유류 및 유처리제에 의한 동물플랑크톤의 사망률에 대한 기초 실험을 수행한 데 이어 3차년도에서도 우리나라에서 주로 사용되고 있는 탄화수소용제 유처리제에 의한 동물플랑크톤의 사망률을 미소우주(microcosm)를 이용하여 독성연구를 수행하였다.

마지막으로 제9장에서는 마산내만에 서식하는 총알고둥의 패각마모 현상을 규명하기 위하여 해수-대기간 DMS(dimethylsulfide) 교환 연구를 1·2차년도에 이어 3차년도에도 계속 수행하였다.

빈발하는 해양오염사고와 각종 폐수의 해양유입에 따라 유류 및 지속성

오염물질에 의해 연안 수산자원이 장·단기적인 오염의 영향을 받을 소지가 점차 커지고 있다. 특히 단기적인 치사효과보다 장기적인 아치사효과는 유전인자를 통해 당대보다도 후세대에 지속적으로 기형생물과 같은 피해를 야기시키기 때문에 계속 주의 깊게 관찰하지 않으면 안된다. 본 연구과제는 이번 3차년도로서 일단 종료되나 이와 같은 연구는 연안 수산자원보호와 어민들이 입는 수산피해에 대한 조사기술 개발 및 지원 차원에서도 지속적으로 수행되어야 할 것이다.

제 2 장

남해안의 유기주석화합물 오염실태 조사

제 1 절 시료 채취 및 분석방법

여수 연안해역을 중심으로한 남서해의 연안역에 있어서 유기주석 오염의 현황 및 그 오염이 수생생물에 미치는 영향을 조사하기 위하여, Fig. 2-1과 같이 '95년 10월부터 '97년 8월에 걸쳐 수산자원이 풍부하고 다양하며 또한 임해공업단지의 영향으로 연안오염이 우려되고 있는, 남해를 중심으로 서해안의 군산항, 동해안의 포항까지 폭넓은 범위에서 31개의 지점에서 해수(17 지점) 및 조간대에 서식하는 고등류(대수리)와 이매패류(진주담치 및 참굴)를 채수 및 채집하였다. 채취된 시료는 아이스 박스에 넣어 드라이아이스로 냉동시킨 후 실험실로 운반하여 냉동고(-20℃)에 보관하면서 필요시 꺼내 실험에 사용하였다.

분석은 Tripentyltin 및 Tetrapentyltin을 각각 제1 및 제2 내부 표준물질로 이용하여, HBr용액으로 산성화한 후 토로포론 함유 벤젠으로 용매추출하고, 프로필시약으로 안정유도체를 만들어 정제한 후 GC-MS 또는 GC-FPD로 정성 및 정량하였다. 자세한 분석과정은 전년도 보고서에 나와 있다(해양연구소, 1996).

생물에의 영향조사는 유기주석화합물이 고등류에 대한 생식장애를 일으키는 현상(Imposex)이 알려져 있어, 각 지역에 있어서의 대수리에 대한 생식장애의 출현율을 조사하고, 또 생물체중의 농도를 분석하여 그 영향을 검토하였다.

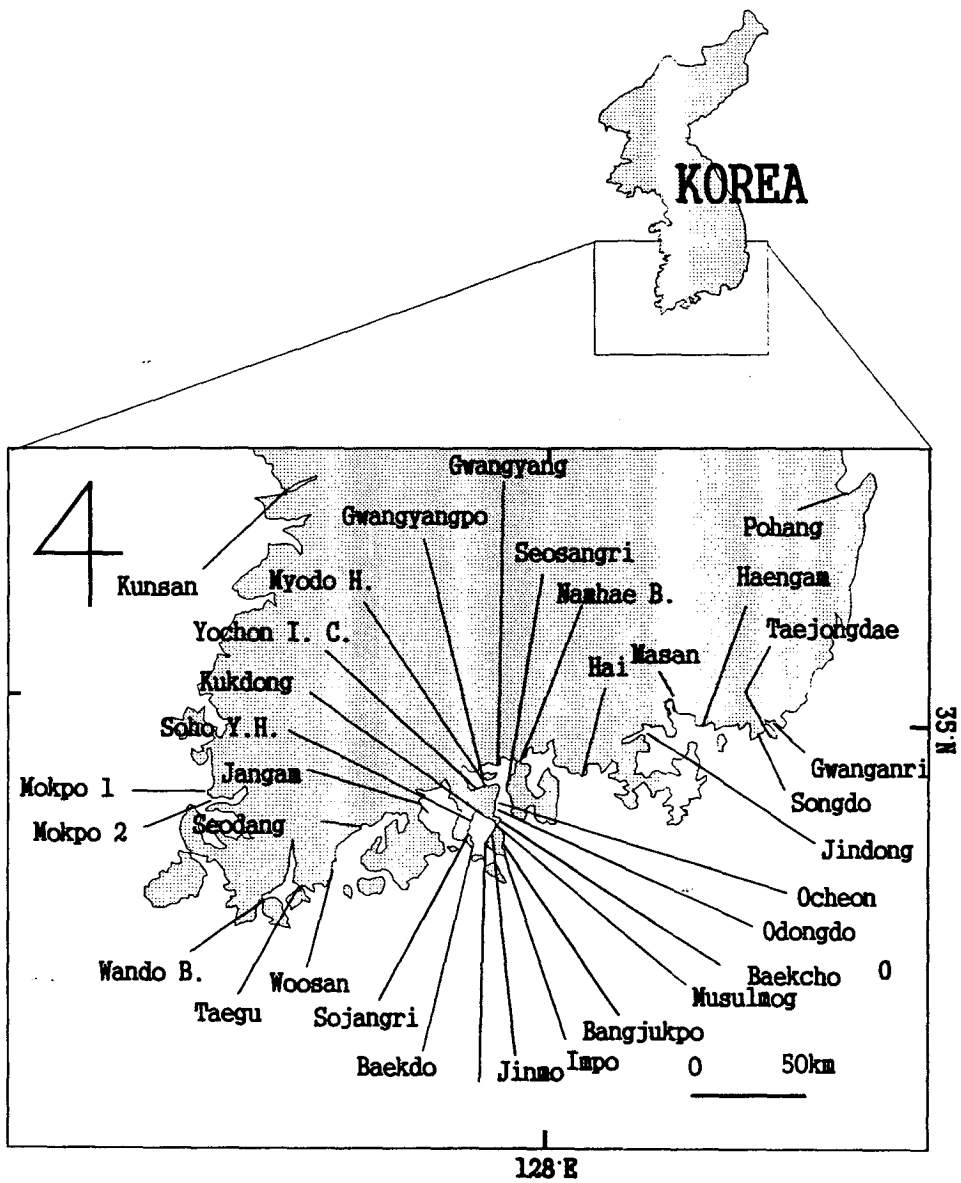


Fig. 2-1. Sampling sites in Korea

제 2 절 결과 및 고찰

1. 해수중의 유기주석 화합물 농도

해수중의 유기주석의 농도는 Table 2-1과 같이 TBT가 TBT가 ND~35.15 ng Sn/l, TPhT가 ND~7.82 ng Sn/l의 범위로 폭넓게 검출되었다. 부틸주석은 거의 전 조사해역에서 검출되었고, 특히 조선소가 있는 국동항에서 평균 14 ng Sn/l를 초과하고 있으며, 오동도와 목포-2 등의 항역에서 5 ng Sn/l 이상의 농도를 보였다. 또 페닐주석도 부틸주석과 비교하여 농도는 낮지만 부틸주석의 농도가 높은 해역에서 검출되고 있다. 이들 결과는 선박의 출입이 많은 해역이나 조선소 부근의 해역에서 비교적 높은 농도를 나타내고 있음을 말해 주고 있다.

2. 생물체내 유기주석 화합물 농도

생물체내중의 유기주석 농도를 Table 2-2~4에 나타내었다. 대수리는 진해만의 행암과 진동, 여수의 국동항 등에서 높게 검출되었다(Table 2-2). 또, 진주담치나 참굴중의 농도는 진해만, 광양만 등에서 높게 검출되어 해수와 대수리의 결과와 유사한 경향을 보였다. 그리고, TPhT의 농도도 참굴에서 1,000 ng Sn/g-dry wt 정도까지 농축되는등 이들 유기주석이 생물의 체내에 고농도로 축적되어 있는 것을 알 수 있다.

3. 대수리의 생식기 이상현상

대수리의 Imposex의 출현율은 Table 2-5 및 Fig. 2-2에서 처럼 남해의 보성만, 강진만 및 완도대교 지점을 제외한 전 지점에서 100% 였다.

Table 2-1. Concentrations of organotin compounds in seawater.

Sampling date	Sampling site		Concentration(ng Sn/ℓ)					
			MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
Mar. 31, 1996.	Gwangyang	D	ND	0.82	1.64	ND	ND	ND
	Myodo H.	D	ND	1.21	1.64	ND	ND	ND
	Aeyangwon	D	ND	1.60	ND	ND	ND	ND
	Odongdo	D	ND	1.48	3.76	ND	ND	ND
	Musulmog	D	ND	0.86	1.24	ND	ND	ND
	Bangjugpo	D	ND	0.31	0.47	ND	ND	ND
	Hwangtae	D	ND	0.94	0.58	ND	ND	ND
		T	ND	1.33	0.73	ND	ND	ND
	Kukdong	D	ND	4.06	2.81	ND	ND	0.59
		T	0.5	6.06	6.31	ND	ND	1.60
	Soho Y.H.	D	ND	1.25	0.73	ND	ND	ND
		T	ND	0.78	0.44	ND	ND	ND
Sojangri	D	ND	0.90	0.55	ND	ND	ND	
July 26~ 29, 1996	Masan	D	ND	11.17	2.66	ND	0.86	2.83
	Hai	D	ND	1.91	3.21	ND	ND	1.51
	Kwangyang	D	ND	3.75	4.81	ND	ND	ND
	Myodo H.	D	ND	2.27	3.21	ND	ND	ND
	Odongdo	D	ND	7.23	7.40	ND	ND	1.60
	Musulmog	D	ND	2.89	1.82	ND	ND	ND
	Bangjugpo	D	ND	3.09	2.44	ND	ND	0.62
	Impo	D	ND	2.62	1.90	ND	ND	ND
	Kukdong	D	ND	45.59	35.15	ND	3.69	7.82
	Soho Y.H.	D	ND	4.88	1.97	ND	ND	0.46
	Baekdo	D	ND	0.98	1.60	ND	ND	ND
	Jangam	D	ND	1.84	2.55	ND	ND	ND
	Seodang	D	ND	2.19	1.46	ND	ND	ND
Mogpo-II	D	ND	5.16	5.58	ND	ND	0.95	

* T : Total, D: Dissolved ND: Not detected
 MBT : Monobutyltin DBT: Dibutyltin TBT : Tributyltin
 MPhT : Monophenyltin DPhT: Diphenyltin TPhT : Triphenyltin
 Myodo H. : Myodo Harbor Soho Y.H. : Soho Yacht Harbor.

Table 2-2. Concentrations of organotin compounds in neogastropod, *Thais clavigera*, in the southern coast of Korea (Oct. 1995-Aug. 1997).

(unit : ng Sn/g dry wt.)

Sampling site	Sampling date	Sex	Rock Shell(<i>Thais clavigera</i>)					
			MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
Taejongdae	Oct. 8,1995	Imposex	22.20	27.15	35.87	44.18	ND	90.86
		Male	20.00	24.34	33.24	ND	ND	68.75
Haengam	Mar.31,1996	Total	ND	ND	ND	106.86	ND	1069.16
Jindong	Mar.31,1996	Imposex	69.50	94.93	75.35	88.86	13.36	614.72
		Male	26.62	24.59	20.27	21.84	ND	164.72
Namhae B.	Aug.18,1997	Imposex	30.6	26.8	26.7	-	-	-
		Male	33.3	26.3	21.6	-	-	-
Seosangri	Aug.18,1997	Imposex	71.4	66.2	56.5	-	-	-
Kwangyang	Aug.4,1997	Male	64.9	56.3	58.7	-	-	-
Yochon I.C.	Aug.18,1997	Imposex	29.8	30.6	36.3	-	-	-
		Male	40.9	47.7	55.6	-	-	-
Myodo H.	Aug.18,1997	Imposex	36.9	34.4	30.4	-	-	-
Kwangyangpo	Aug.18,1997	Imposex	97.0	95.0	78.3	-	-	-
		Male	54.5	41.5	33.9	-	-	-
Odongdo	Aug.20,1997	Male	65.4	115.2	77.3	-	-	-
Baekcho	Aug.20,1997	Imposex	32.0	26.0	47.4	-	-	-
		Male	54.8	43.7	35.5	-	-	-
Jinmog	Aug.20,1997	Male	67.7	81.0	96.3	-	-	-
Impo	Oct.11,1995	Imposex	ND	22.11	14.74	ND	ND	25.26
		Male	18.89	16.49	26.20	ND	ND	18.34
Kukdong	Oct.11,1995	Imposex	60.68	17.03	108.32	28.21	ND	283.57
		Male	62.88	124.03	113.12	51.60	12.15	130.17
Sojangri	Mar.31,1996	Imposex	ND	ND	ND	ND	ND	24.91
		Male	ND	ND	ND	ND	ND	25.70
Seodang	Mar.30,1996	Female	ND	27.70	ND	ND	ND	ND
		Male	ND	ND	ND	ND	ND	16.56
Mokpo II	Jul.26,1996	Imposex	36.0	29.1	34.5	ND	ND	40.9
		Male	ND	93.4	47.7	ND	ND	119.7
Kunsan	Jul.24,1996	Female	ND	ND	35.3	ND	ND	16.1
		Male	ND	56.7	45.8	ND	ND	24.5

* ND : Not detected
 Namhae B. : Namhae Bridge,
 Yochon I.C. : Yochon Industrial Complex.

Table 2-3. Concentrations of organotin compounds in oysters in the coastal waters of Korea (Oct. 1995-Jan. 1997).

(unit : ng Sn/g dry wt.)

Sampling site	Sampling date	Pacific oyster(<i>Crassostrea gigas</i>)					
		MBT	DBT	TBT	MPT	DPT	TPT
Kwanganri	Jan. 8,1997	60.8	ND	130.7	ND	ND	29.0
Oryukdo	Jan. 8,1997	47.6	65.0	163.0	ND	ND	28.2
Songdo	Oct. 8,1995	60.41	35.94	156.96	ND	ND	71.62
Masan	Jul.28,1996	74.36	50.74	147.17	ND	ND	101.73
Jindong	Mar.31,1996	ND	ND	314.25	ND	ND	264.23
Hai	Jul.28,1996	58.29	ND	336.28	ND	37.55	171.96
Kwangyang	Mar.31,1996	63.86	94.67	283.32	23.38	ND	32.58
Myodo H.	Mar.31,1996	31.99	55.57	227.51	ND	ND	57.10
Odongdo	Dec.22,1995	54.84	117.37	247.30	ND	ND	55.68
Bangjugpo	Mar.31,1996	ND	ND	79.15	ND	ND	ND
Hwangtae	Mar.31,1996	ND	17.68	43.21	ND	ND	18.78
Jinmo	Jul.29,1996	ND	ND	98.78	ND	ND	59.28
Kukdong	Dec.22,1995	33.87	41.57	93.54	ND	ND	29.07
Soho Y.H.	Jul.28,1996	100.56	96.63	290.34	ND	39.97	96.31
Sojangri	Jul.28,1996	ND	62.54	93.13	146.24	ND	49.58
Jangam	Mar.30,1996	ND	ND	32.85	ND	15.11	ND
Seodang	Mar.30,1996	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mokpo- I	Jul.26,1996	ND	26.46	420.01	ND	ND	15.92
Mokpo- II	Jul.26,1996	ND	60.83	73.45	ND	ND	5.27
Kunsan	Jul24,1996	ND	45.22	69.96	ND	ND	5.79

* ND: Not detected.

Table 2-4. Concentrations of organotin compounds in mussels in the coastal waters of Korea (Oct. 1995-Jan. 1997).

(unit : ng Sn/g dry wt)

Sampling site	Sampling date	Blue Mussel(<i>Mytilus edulis</i>)					
		MBT	DBT	TBT	MPT	DPT	TPT
Kwanganri	Jan. 8,1997	50.8	35.9	93.5	52.7	ND	24.5
Oryukdo	Jan. 8,1997	55.7	63.3	43.1	80.5	ND	ND
Songdo	Oct. 8,1995	182.64	144.37	112.36	97.56	ND	189.59
Haengam	Mar.31,1996	75.55	80.30	141.35	34.67	ND	290.22
Masan	Mar.31,1996	109.80	79.49	59.36	ND	ND	235.58
Jindong	Mar.31,1996	ND	ND	29.94	ND	ND	77.55
Hai	Jul.28,1996	ND	76.62	38.65	ND	ND	94.09
Kwangyang	Jul.29,1996	ND	35.5	64.7	ND	ND	27.9
Myodo H.	Oct.11,1995	49.36	30.30	198.13	ND	ND	52.47
Odongdo	Oct. 8,1995	ND	51.42	238.50	ND	ND	100.22
Bangjugpo	Oct.11,1995	ND	ND	109.97	113.29	ND	49.91
Impo	Jul.29,1996	ND	ND	37.92	22.42	65.23	76.29
Hwangtae	Mar.31,1996	ND	28.03	21.78	ND	ND	43.48
Kukdong	Oct.11,1995	75.56	63.86	194.11	ND	ND	137.91
Soho Y.H.	Jul.28,1996	90.81	ND	18.09	ND	ND	87.35
Sojangri	Jul.28,1996	58.61	103.32	95.64	ND	ND	138.64
Kamak-1	Dec.22,1995	ND	ND	35.2	ND	ND	ND
Kamak-2	Dec.22,1995	ND	ND	45.5	ND	ND	ND
Mokpo- II	Jul.26,1996	ND	ND	67.06	ND	ND	29.14
Kunsan	Jul.24,1996	50.56	ND	46.63	ND	ND	ND

* ND : Not detected.

Kamak-1, Kamak-2: Cultivated

Table 2-5. Degees of imposex in *Thais clavigera*, RPL(Relative Penis Length) Index(%) and sterile individuals(%) (Oct. 1995-Aug. 1997).

Sampling site	Sampling date	Imposex (%)	RPL Index (%)	Sterile individual(%)
Pohang	Apr.29,1997	100	64.7	65.0
Taejongdae	Oct. 8,1995	100	73.0	22.2
Haengam	Mar.31,1996 Aug.19,1997	100	104.7-149.4 (127.1)	100.0
Jindong	Mar.31,1996 Aug.19,1997	100	71.4-94.5(84.2)	50.0-87.5(68.8)
Hai	Jul.28,1996	100	80.2	20.0
Namhae B.	May26,1997 Aug.18,1997	100	93.8-94.6(94.2)	53.9-57.1(55.5)
Jakjang	May 26,1997 Aug.18,1997	100	76.7-80.0(78.4)	0.0-42.83(21.4)
Seosangri	Aug.18,1997	100	88.7	66.7
Kwangyang	Sep.14,1996 Aug.04,1997	100	86.2-99.1(91.6)	77.8-100.0(88.9)
Yochon I.C.	Sep.15,1996	100	80.5	84.6
Gwangyangpo	May 26,1997 Aug.18,1997	100	84.6-86.7(86.6)	50.0-100.0(75.0)
Changchon	Sep.15,1996 Aug.18,1997	100	85.9-79.9(82.9)	100.0
Dodogri	Sep.15,1996 Aug.18,1997	100	61.4-64.7(63.1)	76.9-100.0(88.5)
Sansungri	Sep.15,1996 Aug.18,1997	100	74.5-103.7(89.1)	61.5-90.0(75.8)
Myodo H.	Sep.14,1996 Aug.18,1997	100	94.4-106.5(100.5)	84.6-91.7(88.1)
Nagpo	Aug.18,1997	100	78.4	100.0
Sindeuk	Sep.14,1996 Aug.20,1997	100	74.5-93.4(91.9)	15.9-66.7(41.3)
Ocheon	Aug.20,1997	100	66.7	91.7
Baekcho	Aug.20,1997	100	91.4	100.0
Jinmog	Aug.20,1997	100	102.5	100.0
Musulmog	Aug.20,1997	100	72.0	66.7
Bangjugpo	Aug.20,1997	100	79.4	29.4
Impo	Oct.11,1995 Aug.20,1997	100	66.7-67.7(67.2)	0.0

<Continued>

Sampling site	Sampling date	Imposex (%)	RPL index (%)	Sterile individual(%)
Kukdong	Oct. 11, 1995 Feb. 25, 1997 June 22, 1997 Aug. 20, 1997	100	90.7-102.5(96.4)	71.4-90.9(80.5)
Sojangri	Mar. 31, 1996	100	57.4	0.0
Baekdo	July 28, 1996	100	44.4	0.0
Jangam	July 27, 1996	100	50.5	0.0
Seodang	Mar. 30, 1996 Aug. 18, 1997	0	0.0	0.0
Woosan	July 18, 1997	0	0.0	0.0
Taegu	Aug. 18, 1997	66.7	21.2	0.0
Wando B.	Aug. 16, 1997	87.5	39.3	62.5
Mokpo- II	July 26, 1996	100	52.1	0.0
Kunsan	July 24, 1996	100	68.1	16.7

* Wando B.: Wando Bridge.

보성만은 만입구해역과 안쪽의 2지점에서 모두 출현율이 0%로 유기주석 오염과 관련하여 가장 깨끗한 해역으로 나타났다. 보성만의 서쪽 인근에 위치하는 강진만에서는 66.7%, 완도대교 지점에서는 87.5%의 출현율을 보여 보성만을 중심으로 동부 해역에서 서부 해역보다 유기주석 오염의 영향을 크게 받고 있는 것으로 나타났다. Fig. 2-3은 유기주석 화합물의 오염의 영향으로 나타나는 임포섹스 개체의 페니스의 평균길이를 정상 수컷 개체의 페니스의 평균 길이와 비교하여 나타내는 RPL(Relative Penis Length) Index를 보여주고 있다. 즉, RPL값이 클수록 영향을 크게 받았다고 볼 수 있다. 진해만 및 광양만의 대부분 조사지점과 가막만의 국동 지

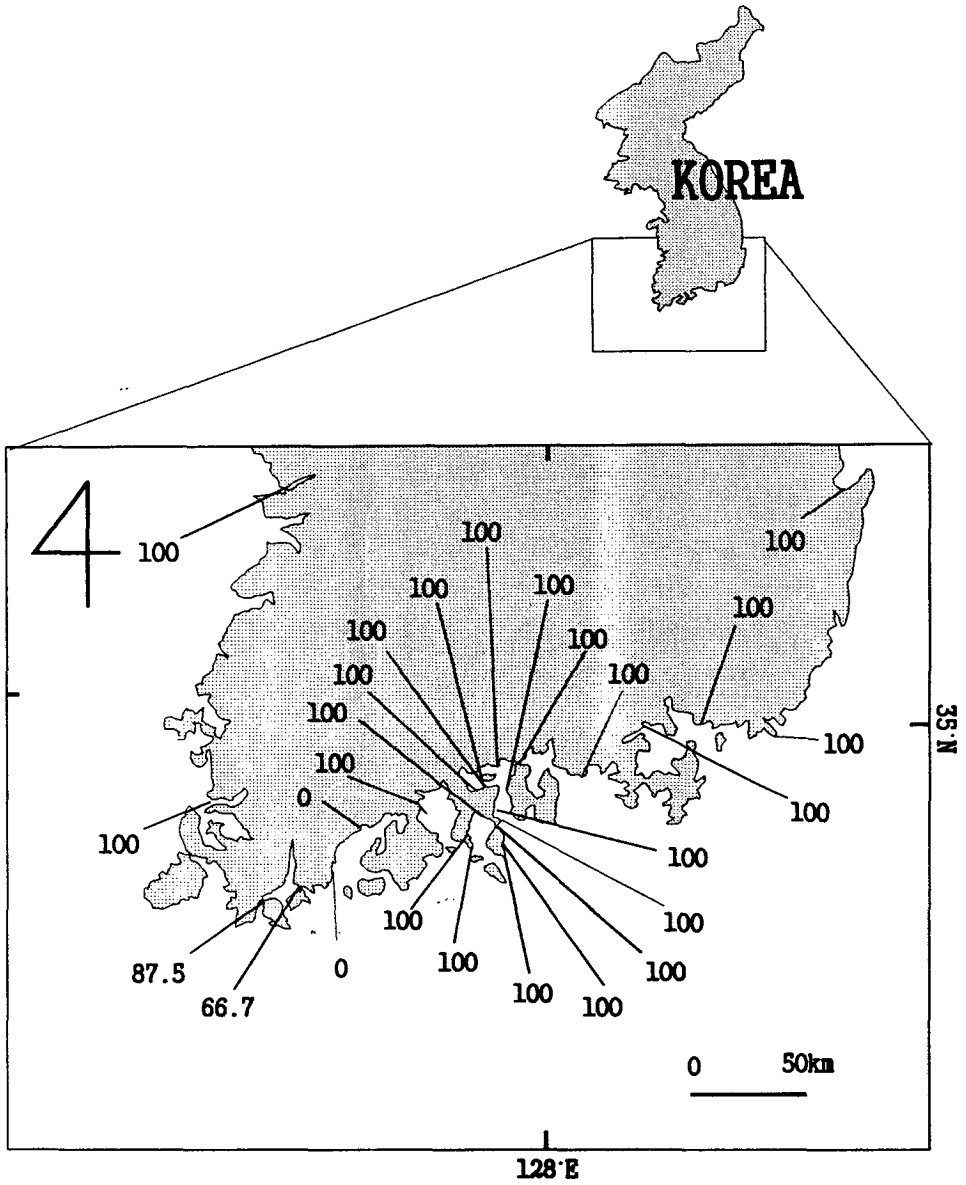


Fig. 2-2. Occurrence percentages of imposex individual in the rock shell, *Thais clavigera*(Oct. 1995~Aug. 1997)

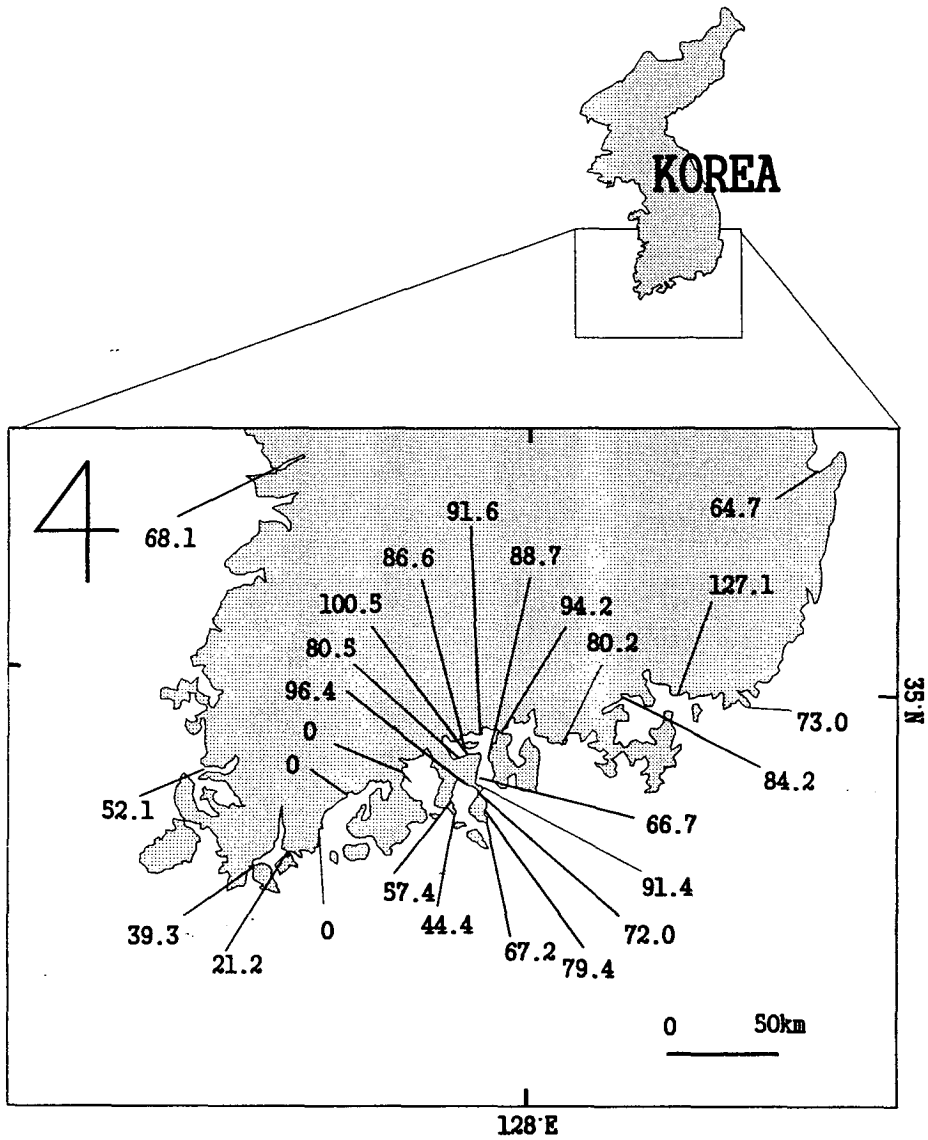


Fig. 2-3. The observed values of Relative Penis Length(RPL) index in the rock shell, *Thais clavigera*(Oct. 1995~Aug. 1997)

점에서 80% 이상의 높은 값을 보여주고 있다. 여수를 중심으로 임해공업 단지가 비교적 발달되어 있는 부산항, 진해만 및 국동항 등에서 전반적으로 높은 경향을 보였다. 특히 진해만의 행암과 광양항의 묘도항에서는 암대수리에 생긴 페니스의 길이가 숫 대수리보다 길었다(Fig. 2-3). 또 Imposex의 정도가 심하여지면 산란관의 출구가 막혀 산란을 할 수 없게 되어 이들 개체의 출현율이 높은 해역에서는 개체군의 감소 등의 영향이 우려된다. 해수 및 생물체 중의 TBT 농도가 높은 해역 및 RPL값이 높은 지점에서 산란불능개체의 출현율이 높게 나타나고 있다(Fig. 2-4). 여수 가막만을 중심으로 동두해역에서 특히 높은 값을 보여주고 있으며 포항과 완도대교 지점에서도 60% 이상의 비교적 높은 값을 보여주고 있다. 가막만의 바깥해역으로 부터 강진만에 걸친 해역과 목포주변 채취지점에서는 0%의 값을 보여 주었다.

Fig. 2-5는 대수리 체내의 TBT농도와 RPL값의 상관특성을 보여주고 있는데 중복상관계수가 약 0.57이상으로 나타나 체내 농축초기에 영향을 크게 받는 것으로 사료된다. Fig. 2-6은 대수리에 나타나는 RPL 값과 산란불능개체의 출현율의 상관관계를 도시한 그림으로 중복상관계수가 0.58 이상으로 비교적 높은 상관을 보여주고 있다. RPL값이 50% 전후에서 산란불능개체의 출현율이 증가하기 시작하여 RPL값이 약 80% 전후에서 대수리 암컷개체의 약 50%가 산란불능 상태로 됨을 추정할 수 있다.

이상의 결과 남서해의 연안역은 유기주석화합물로 폭 넓게 오염되어 있으며 선박입출항 및 조선업 등의 활동이 활발한 해역에서 높은 농도분포를 보였으며 생물에 대한 영향도 큰 것으로 밝혀졌다.

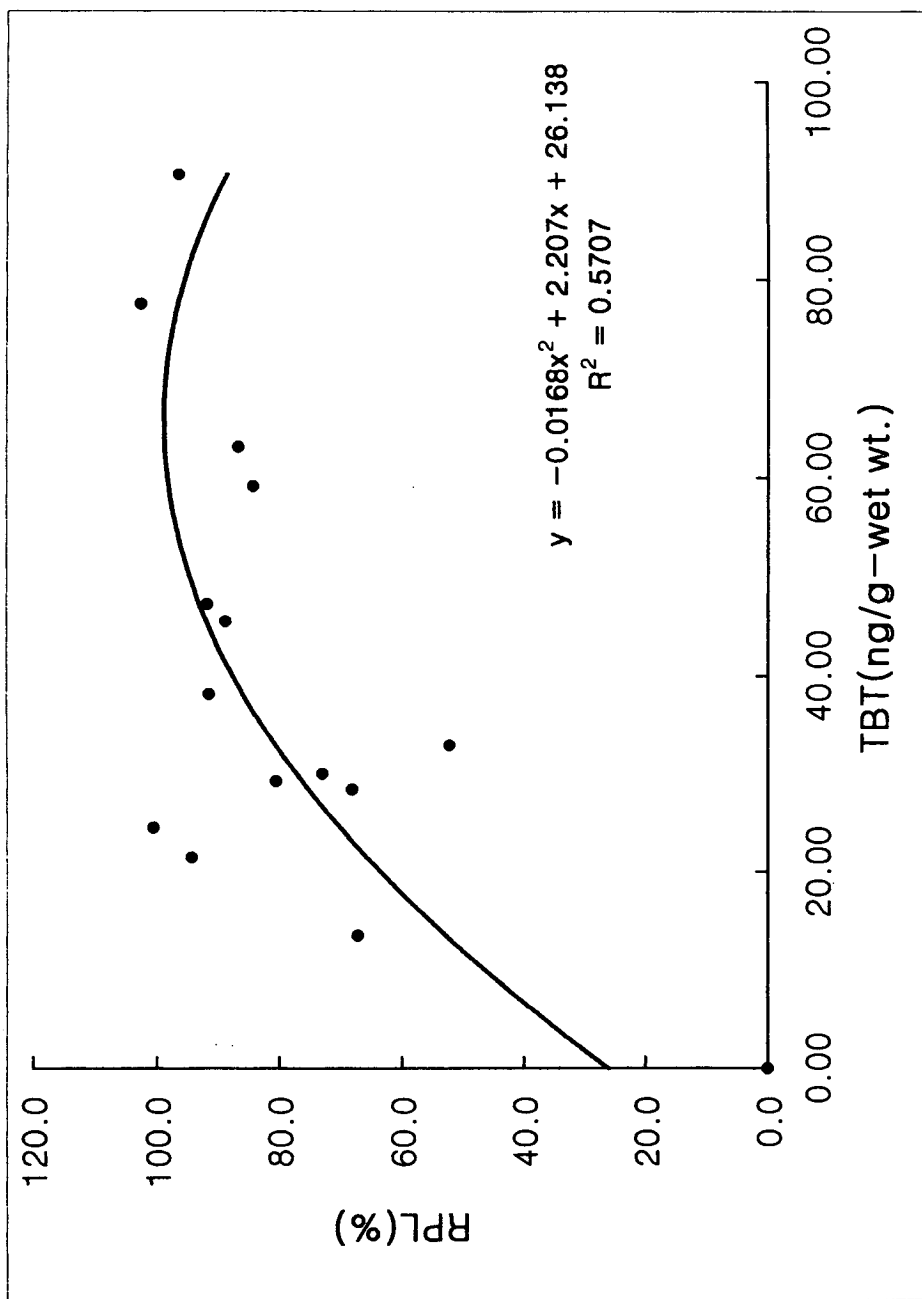


Fig. 2-5. Relationship between TBT concentrations in tissue and RPL index in the rock shell, *Thais clavigera*(Oct.1995-Aug.1997)

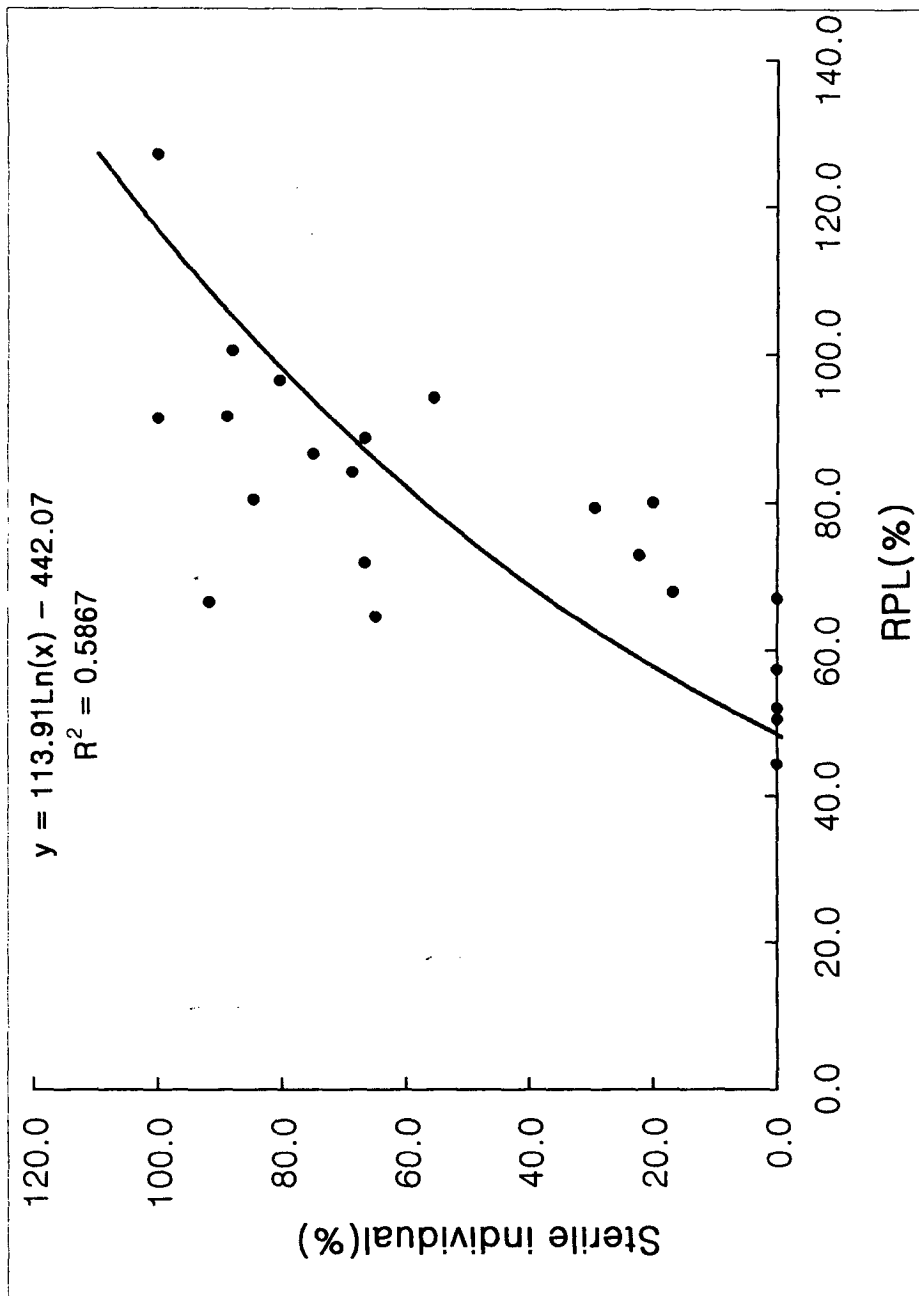


Fig. 2-6. Relationships between RPL index and sterile individual in the rock shell, *Thais clavigera*(Oct.1995-Aug.1997)

제 3 절 결 언

'95년 10월부터 '97년 8월에 걸쳐 남해의 여수주변 해역을 중심으로 31개 지점의 연안역에서 유기주석화합물에 대한 오염조사를 실시하였다. 조사대상은 해수, 대수리, 참굴, 진주담치 등으로 각 대상종의 오염농도와 이들 오염이 수생생물에 미치는 영향을 고등류의 대수리를 중심으로 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 표층해수중에서 유기주석화합물이 광범위하게 검출되었으며, 또 선박활동(조선활동 포함)이 활발한 곳에서 높은 농도를 보였다.
- 2) 분석된 전 패류시료로부터 유기주석화합물(부틸주석 및 페닐주석)이 검출되었으며, 또 항구 및 조선소 등의 선박활동이 활발한 곳에서 높은 농도가 나타났다. 종별 차이를보면 진주담치보다는 참굴에 고농도로 축적되어 있었다.
- 3) 한국산 대수리에 있어서 Imposex의 출현율은 남해의 보성만, 강진만 및 완도대교 지점을 제외한 전 지점에서 100%였다. 또 RPL Index 값이 전체적으로 높고, Tri-형태의 TBT 농도가 RPL Index값과 정 상관관계가 있었다. 산란불능개체의 출현율도 보성만 중심으로 한 서부해역의 일부 지점을 제외하고는 많은 지점에서 출현되었으며 일부 지점에서는 그 출현율이 80%를 넘었다.

참 고 문 헌

- 강성현. 1995. 진해만에 서식하는 해산 이매패류와 복족류의 독성유기오염 물질 생물농축과 오염스트레스의 영향. 서울대학교 이학박사학위논문. p. 96-121.
- 里見至弘, 清水誠. 1992. 有機スズ汚染と水生生物影響. 恒星社 厚生閣. p. 9-19.
- 심원준. 1996. 진해만내 트리부틸주석과 트리페닐주석의 오염 및 생물농축. 서울대학교 대학원 이학석사 학위논문. 89 pp.
- 趙顯書. 1993. 리스크 분석에基づいた有害化學物質의環境曝露의評價に關する研究. 大阪大學 工學博士 學位論文. p. 121-155.
- 최화선. 1993. 기체 크로마토그래피법에 의한 해수중 부틸화주석화합종의 정량. 한양대학교 이학석사 학위논문. 42 pp.
- 한국해양연구소. 1996. 유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구(I·II). 한국해양연구소보고서. BSPN 00324-983-4. 316 pp.
- 홍상희. 1996. 옥포만내 유기주석화합물의 분포와 해양 무척추동물 중의 생물농축. 이화여자대학교 대학원 이학석사 학위논문. 68 pp.
- Cho, H. S., Seol, S. W., Horiguchi, T., Lee, S. H. 1997. Organotin Contaminations and imposex in *Thais clavigera* on the coastal area of Korea. Society of Environmental Toxicology and Chemistry(SETAC) 18th Annual Meeting, San Francisco.
- Cho, H. S., Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shibata, Y. and Morita, M. 1996. Organotin Contaminations around Yosu Peninsula, Southern Coastal Area of Korea. Society of Environmental

Toxicology and Chemistry(SETAC) 17th Annual Meeting,
Washington D.C.

Gibbs, P. E. and Bryan, G. W. 1996. TBT-induced imposex in neogastropod snails: masculinization to mass extinction, in Tributyltin: case study of an environmental contaminant edited by Stephen J de Mora. Cambridge. 212-236.

Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M., and Morita, M. 1997, Imposex in Sea Snails, Caused by Organotin(Tributyltin and Triphenyltin) Pollution in Japan: a Survey, Applied Organometallic Chemistry, 11:451-455.

Liss, P. S. and Slater, P. G. 1974. Nature. 247:181-184.

Stang, P. M. and Seligman, P. F. 1986. Distribution and fate of butyltin compounds in the sediment of San Diego bay. Organotin Symposium, Oceans '86, 1256-1261.

제 3 장
TBT(Tributyltin)의
위해성 평가 및 관리 방안



제 1 절 서 언

본 연구의 목적은 선저도료의 주요한 성분으로서 사용되고 있는 유기주석화합물의 생태계에 대한 위해성 평가를 통한 관리방안을 강구하는 것이다. 유기주석화합물은 방오도료로서 그 유용성이 인정되어 널리 사용되어 왔으나 저농도에서 복족류에 Imposex(생식기구 이상)를 일으키는 등 수중생물에 대한 독성이 아주 강해 생태계에 대한 악영향이 문제시 됨으로써 유럽, 미국, 일본 등 선진 외국에서는 그 사용이 규제되고 있는 물질이다. 우리나라는 최근 산화트리부틸주석(TBTO)에 대해 냉각수, 살균제용으로 제조, 수입, 판매 및 사용금지 조치를 하고 있을 뿐 선박도료 및 어망사용에 대한 규제조치는 없다. 또한 체계적인 조사도 이루어져 있지 않아 그 전모가 알려져 있지 않다. 국내 연구로는 강(1995), Cho(1997, 1996), 심(1996), 홍(1996) 및 최(1993) 등에 의해 진해만, 여수주변해역 등에서의 오염실태가 일부 보고되고 있으나, 해수중에서의 거동예측 및 위해성 평가 등에 대한 연구는 거의 전무한 실정으로, 오염현황, 운명예측, 생태계에 대한 영향, 관리방안 등에 대한 연구가 필요한 실정이다.

특히, 진해만이나 여수연안과 같이 선박운항 및 수산양식이 활발한 연안에서는 유기주석화합물 오염으로 인한 생태계에의 영향이 클 것으로 예상되며, 최근 여수연안에서 굴 종패의 대량폐사로 인한 수확량의 격감 등 굴양식과 관련한 문제도 유기주석화합물과 관련이 있을 가능성이 높다.

따라서, 본 연구의 목표는 이들 지역에 대한 유기주석화합물의 오염현황을 조사하여 해수중에서의 거동 및 생태계 특히 유용 수산자원에 미치는 악영향을 상세히 파악함과 아울러 사용규제를 포함한 종합적인 관리방안을 강구하는데 있다.

본 연구에서는 유기주석화합물의 오염이 관측되고 있는 여수연안 및 마

산만을 대상으로 동해역에서의 오염현황 파악, 운명예측모델링 및 위해성 평가 기법을 통한 유기주석화합물의 평가 및 관리대책 등을 강구하기 위하여 '95년도 부터 '97년까지 3년간에 걸쳐 연구를 수행하였다.

연구된 내용은 첫째, 여수 연안해역에서의 오염현황을 파악하기 위하여 정기적인 현장관측(계절별) 및 시료(해수, 생물 및 퇴적물) 분석을 통해 오염현황 및 농축특성을 파악하였고, 둘째, 해양생물에 미치는 영향을 파악하기 위하여 대상해역에서 복족류를 채취하여 임포섹스 등 생식장해에 관한 조사를 실시하였으며, 셋째, 유기주석등 유해화학물질의 효과적인 평가 및 관리를 위하여 유기주석화합물의 운명예측모델링을 수행하여 이 화합물의 거동파악 및 농도를 예측하였다. 대상해역으로는 폐쇄성수역으로 유기주석화합물의 오염이 진행되고 있는 마산만을 정해 모델의 중요한 파라메타를 설정하기 위하여 다음과 같은 조사를 수행하였다.

- 해수유동 simulation 및 해역의 특성별 해역구분
- 문헌 조사 및 실측을 통한 각종 파라메타의 설정
- 유기주석화합물의 생산, 사용현황 파악 및 대상해역으로의 유입량 산정
- 모델의 재현성 검토.
- 실현성 있는 시나리오에 따른 model simulation.

넷째, 운명예측결과와 실측결과, 해양생물 독성연구결과에 기초하여 환경노출농도 및 위해도(risk)를 추정하였다. 그리고 시나리오 분석을 통하여 그 결과에 따른 위해도를 평가하였다.

다섯째, 위해성 평가를 통하여 유기주석화합물의 사용방법 및 사용규제 등의 대안을 도출하여 각 대안에 대한 위해도 분석을 통하여 최적관리방안을 제시하고자 하였다.

제 2 절 TBT의 환경운명 예측

유기주석화합물의 종합적인 평가 및 관리를 위하여는 동 화합물의 환경 운명예측 및 위해성 평가를 할 필요가 있다. 본 연구에서는 환경운명예측 모델의 설정을 위하여 유기주석화합물중 선박 도료의 주성분으로 가장 널리 이용되고 있는 TBT화합물을 대상물질로 선정하여 실시하였다. TBT 화합물의 환경운명을 예측하는 모델로는, Walton 등(Walton *et al.*, 1986)이 제안한 Dynamic Pseudo Two-Dimensional Link-Node Model, 渡邊(1994)의 표준설정환경을 이용하여 환경중의 농도변화를 예측하는 환경동태모델, 조(1993)가 지역특성을 고려하여 구축한 2층 비보존계의 Box Model(지역수계모델) 등이 있다.

본 연구에서는 지역특성을 고려한 TBT 화합물의 평가 및 관리를 위한 모델로서 가장 적합한 조의 Box Model을 이용하여 대상해역인 마산만의 TBT 화합물의 환경운명예측을 수행하였다.

1. TBT의 환경운명예측모델 설정

가. 환경운명예측 모델의 설정

본 연구에서 사용된 모델은 TBT 화합물의 물질순환을 나타내는 비보존계 Box Model이다. 본 모델은 지역특성을 최대한 고려하여 이류, 확산, 침강, 축적 및 분해 등의 수질 지배인자를 도입하여 구축한다. Box의 구분은 대상해역의 수질의 유사도, 환경기준과 관련한 수질유형분류, 지형 및 연안조건, 1계산 스텝 사이의 해수의 교환량을 고려하여 집괴분석 등의 결

과를 이용하여 설정한다. 각 Box는 대기상, 수상, 표면박층, 저질상으로 구성되며, 수상에는 SS상, 생물상이, 저질상에는 간극수상을 포함한다. 각 상의 특징은 다음과 같다.

우선, 수상은 생물의 주 활동장으로, 수평이류, 수직이류, 확산, 저질로의 침강, 분해등을 주요 지배인자로서 고려한다. 수중의 SS와 생물상은 수상과 평형상태에 있다고 간주하고, 유기탄소에의 흡착정수와 생물농축정수를 이용하며, 각 Box 내 농도는 완전혼합상태로 가정한다.

저질상은 TBT 화합물이 축적되는 장소로서 저서생물에 대한 위해도가 우려되는 곳이다. 수상으로 부터의 침강과 분해, 재부상등이 지배인자로서 거론되지만 재부상은 침강항에 포함시켜 고려한다. 저질의 두께는 Maguire 등(Maguire and Tkacz, 1985)과 Stang등(Stang and Seligman, 1986)의 연구결과인 저질의 Core sample의 연직방향의 농도분포와 수주와의 관계를 고려하여 2 cm로 한다. 저질중의 유기탄소 함유량은 대상해역의 실측값을 도입하며 간극수중의 농도는 저질의 농도와 평형상태에 있다고 가정한다.

표면박층은 미소생물군, 동물플랑크톤의 야간 이동장으로, 더우기 TBT 화합물은 표면박층에서 바로 밑의 수상보다 2~4 오더 높은 농도가 관측되고 있다(Maguire *et al*, 1982; Gucinski, 1986). 두께는 생물의 활동장을 고려하여 1 cm로 한다. 농도변화는 수상의 상층수로 부터의 공기방울에 의한 수송과 분해, 상층수와의 혼합, 대기로의 이동에 지배된다.

TBT 화합물은 증기압이 아주 낮기 때문에 대기중의 농도변화는 중요한 의미는 없지만 대기상의 높이는 대기 혼합도를 고려하여 600m로 한다. 대기중의 농도는 2층 박막이론(Liss & Slater, 1974; Mackay & Leinonen, 1975)에 의한 표면박층으로 부터의 이동과 분해에 지배된다.

모델의 구조는 Fig. 3-1과 같고, 수질 시뮬레이션에 이용하는 방정식은 (3-1)~(3-4)에 나와 있다.

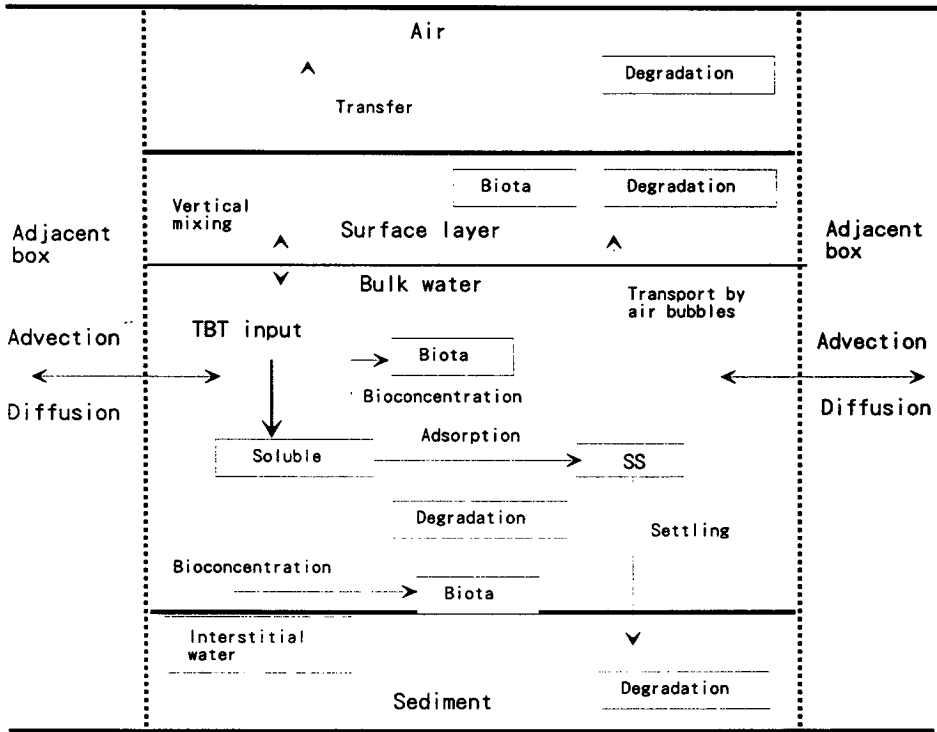


Fig. 3-1. Schema of transfer, transport and transformation processes of TBT in water quality model.

<수 상>

$$\begin{aligned}
 Vw_{1(i)} \cdot \left(\frac{dCw_{1(i)}}{dt} \right) &= \sum_{j=1(i)}^n (Q_{1(i,j)} \cdot Cw_{1(j)}) - \sum_{j=1(i)}^n (Q_{1(i,j)} \cdot Cw_{1(i)}) \\
 + \sum_{j=1(i)}^n (Kh_1 \cdot D_{1(i,j)} \cdot \left(\frac{Cw_{1(j)} - Cw_{1(i)}}{L_{(i,j)}} \right) - \left(\frac{St_{1(i)}}{H_{1(i)}} \right) \cdot KocSS_{1(i)} \cdot \\
 Vw_{1(i)} \cdot Pocss \cdot Cw_{1(i)} - \left(\frac{Ktr}{H_{1(i)}} \right) \cdot Vw_{1(i)} \cdot Cw_{1(i)} \\
 + Km \cdot Vsl_{(i)} \cdot Csl_{(i)} - Kdw \cdot Vw_{1(i)} \cdot Cw_{1(i)} + W_{(i)}
 \end{aligned} \tag{3-1}$$

$$Cssl(i) = Koc \cdot Pocss \cdot Cw_{1(i)}$$

$$Cb_{f(i)} = BCF_f \cdot Cw_{1(i)}$$

$$Cb_{a(i)} = BCF_a \cdot Cw_{1(i)}$$

<저질상>

$$\begin{aligned}
 Vsed_{(1)} \cdot \left(\frac{dCsed_{(1)}}{dt} \right) &= \left(\frac{St_{2(1)}}{H_{2(1)}} \right) \cdot Koc \cdot Pocss \cdot SS_{2(1)} \cdot Vw_{2(1)} \cdot Cw_{2(1)} - \\
 Ksed \cdot Vsed_{(1)} \cdot Csed_{(1)}
 \end{aligned} \tag{3-2}$$

$$Csw_{(1)} = \left(\frac{Csed_{(1)}}{Koc \cdot Pocsd} \right)$$

$$Cb_{b(1)} = BCF_b \cdot Csw_{(1)}$$

<표면박층상>

$$V_{sl(i)} \cdot \left(\frac{dC_{sl(i)}}{dt} \right) = \left(\frac{K_{tr}}{H_{1(i)}} \right) \cdot V_{w1(i)} \cdot C_{w1(i)} - k_{wa} \cdot V_{sl(i)} \cdot C_{sl(i)} - K_m \cdot V_{sl(i)} \cdot C_{sl(i)} - K_{dsl} \cdot V_{sl(i)} \cdot C_{sl(i)} \quad (3-3)$$

<대기상>

$$V_{a(i)} \cdot \left(\frac{dC_{a(i)}}{dt} \right) = K_{wa} \cdot V_{sl(i)} \cdot C_{sl(i)} - K_{da} \cdot V_{a(i)} \cdot C_{a(i)} \quad (3-4)$$

식에서 $C_w, C_{sed}, C_{sl}, C_a, C_{ss}, C_{sw}$ 와 C_b 는 각 상의 농도(t/m^3), V_w, V_{sed}, V_{sl} 과 V_a 는 각 상의 체적(m^3), Q 는 이류량(m^3/hr), D 는 인접 박스간의 경계면의 단면적(m^2), A 는 각 박스의 단면적(m^2), L 은 박스간의 중심간 거리(m), S_t 는 침강속도(m/hr), H 는 수심(m), W 는 TBT화합물의 유입량(t/hr)이다. 첨자 i 는 각 층에 있어서의 박스를, a, b, f 는 각각 조류(algae), 저서생물, 어류를 나타내고, 첨자 (i, j) 는 각각 박스 j 로부터 i 로의 이동을 나타내고 있다.

나. 대상해역의 특성

본 연구의 대상해역은 유기오염이 심화되고 있는 진해만의 북쪽에 위치하고 있는 마산만과 행암만을 포함한 부도남단까지의 해역으로 창원군, 마산시, 창원시, 진해시, 의창군 등으로 둘러싸여 있다. 또한 동해역은 인근 창원공단 등의 공업단지를 끼고 있으며 주위에 조선소, 양식장 등이 혼재하고 있는 해역으로 유기주석화합물의 오염이 보고되어 있는 해역이다(강, 1995; 심, 1996; Cho, 1997).

대상해역은 넓이 약 78.69km^2 , 평균수면하 해수용적 약 0.8614km^3 , 평균 수심 약 11.1m의 수심이 얇고 폭이 좁으며 지형의 굴곡이 심하고 해수의 교환이 적은 폐쇄성 해역이다.

2. 해수유동 시뮬레이션

연안역에서의 화학물질의 분포는 조석류 등 해수의 유동에 의한 이류의 영향을 크게 받는다. 따라서, 대상해역의 유동특성을 재현하여 이류에 의한 화학물질의 이동을 파악하는 것이 중요하다. 본 연구에서는 김(1994)이 마산만을 대상으로 행한 해수유동 시뮬레이션 결과를 이용하여 본 모델의 특성에 맞게 가공하여 사용하였다. 해수유동 모델의 개요는 다음과 같다.

가. 해수유동 시뮬레이션

대상해역을 동서방향으로 53, 남북방향으로 69개의 grid로 분할하고, 수심별로는 3개의 층으로 구분하여 해수유동 시뮬레이션을 행하였다. 대상해역의 격자망은 Fig. 3-2와 같으며, 해수유동모델에서의 조위는 M_2 분조를 취하여 유동장을 재현하였고, 조석류와 항류성분을 계산하였다. 모델의 계산결과와 기 관측된 조류타원도를 비교하여 모델의 유용성을 검토하였다.

나. 모델 입력자료

해수유동모델의 계산영역은 x, y방향으로 250m의 격자로 구분하였고, z방향으로는 0~3m, 3~7m, 7m 이심의 3층으로 구분하였다. 개경계의 조위는 마산만에서 탁월한 M_2 분조를 사용하였다. 개경계 서편의 진폭과 위상은

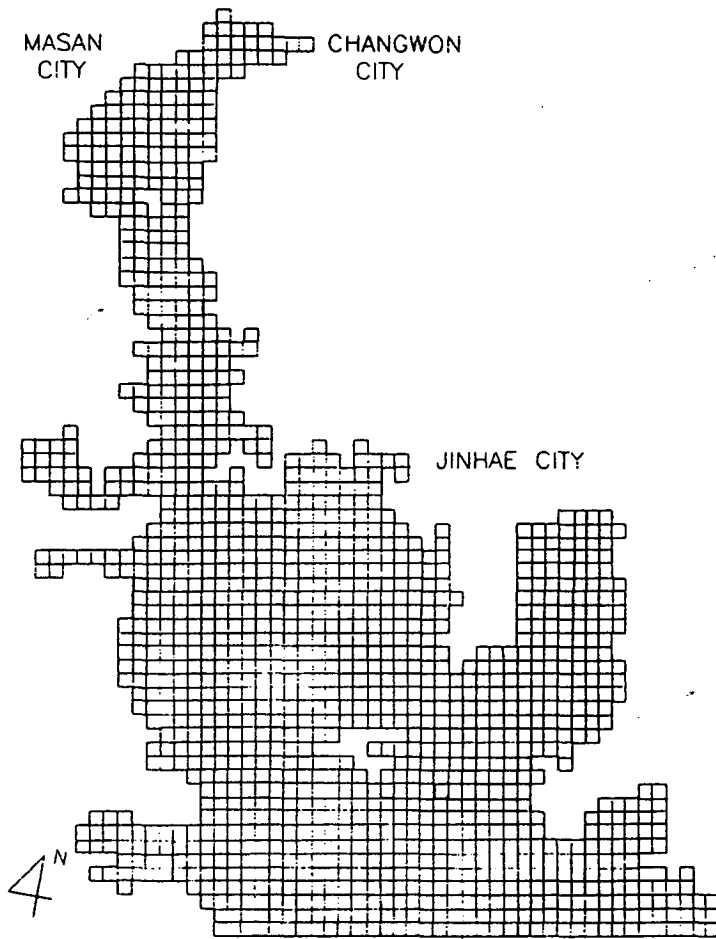


Fig. 3-2. Finite difference grid map of calculation domain.

각각 60.00cm와 246.4° 를 고려하였다. 수평 확산계수는 마산만에서 조사한 김(1993)의 자료를 바탕으로 하여 $3.0 \times 10^5 \text{cm}^2/\text{sec}$ 로 하였다. 기타 입력자료는 Table 3-1에 나타내었다.

Table 3-1. Input data for hydrodynamic model

Parameters	Input Values
Mesh size	$\Delta x = \Delta y = 250\text{m}$
Water depth	chart datum + MSL
Time Interval	10 sec
Level	1 : 0 - 3m 2 : 3 - 7m 3 : below 7m
Tidal level at open boundary	60.0-60.5cm(M ₂)
Water temp. and density at open boundary	level 1 : 21°C, 18.0‰ level 2 : 21°C, 18.0‰ level 3 : 21°C, 18.0‰
Coriolis coefficient	$f = 2 \cdot \omega \cdot \sin \Phi$
Surface friction coefficient	0.0013
Internal friction coefficient	0.0013
Bottom friction coefficient	0.0025
Horizontal viscosity coefficient	$3.0E5 \text{ (cm}^2/\text{sec)}$
Horizontal diffusion coefficient	$3.0E5 \text{ (cm}^2/\text{sec)}$
Wind speed	0.0 (m/sec)
River flow	Refer to Table 4
Calculation time	20 cycles

다. 해수유동 시뮬레이션 결과

해수유동모델에서의 조위는 M_2 분조를 취하여 유동장을 재현하였고, 조석류와 항류성분을 계산하였다. 총 계산시간은 20조석주기였고 항류는 맨 마지막조석의 평균을 취하였다. 각 층의 창조류시 계산결과는 Fig. 3-3, 낙조류시 계산결과는 Fig. 3-4에 나타내었다. 만내의 유속은 0.3m/sec이하였고, 창조시 개경계의 동편에서 유입하여 개경계의 서편으로 빠져나가고, 부도 북측으로는 유속의 흐름이 거의 없었다. 모델의 계산결과와 기 관측된 조류타원도(김등, 1986)를 비교하여 모델의 적용성을 Fig. 3-5에 나타내었다.

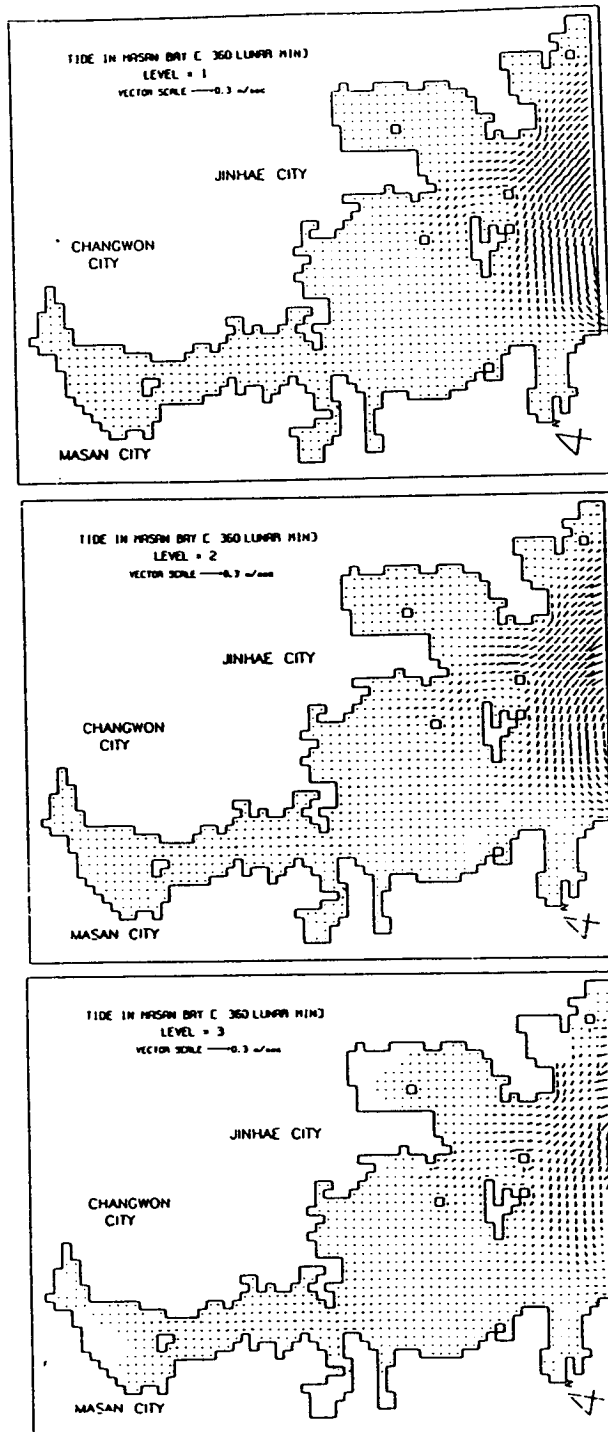


Fig. 3-3. Computed velocity fields in each level during the flood flow.

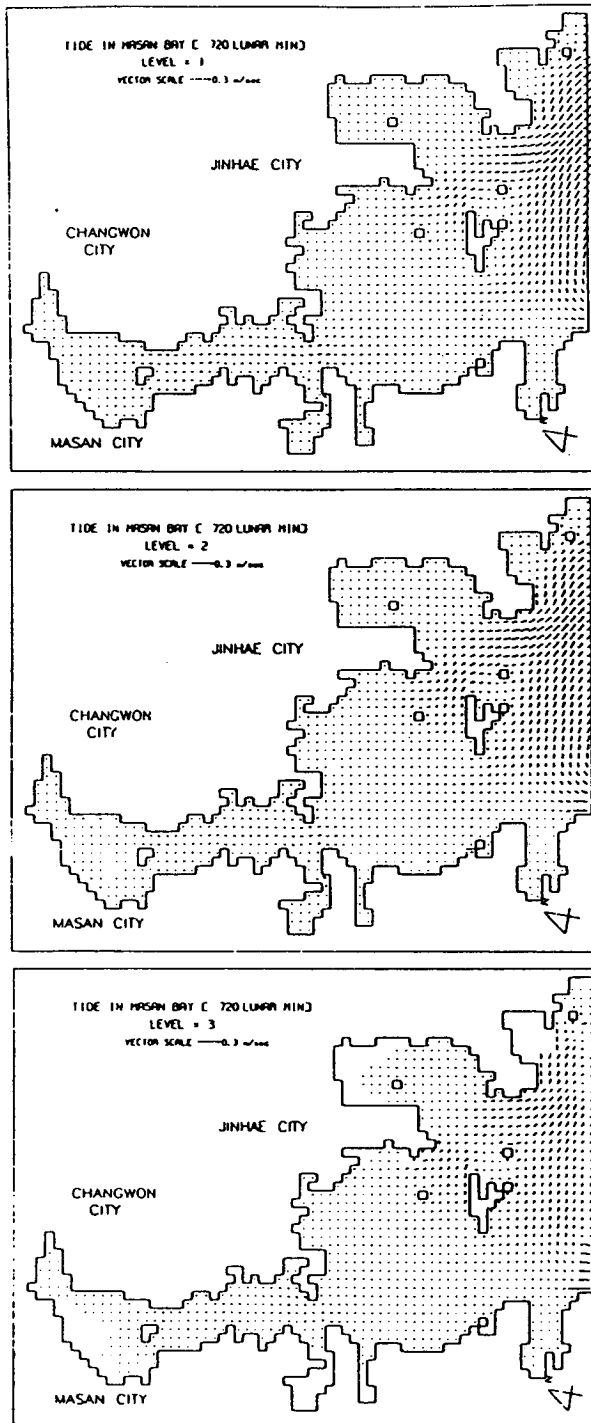
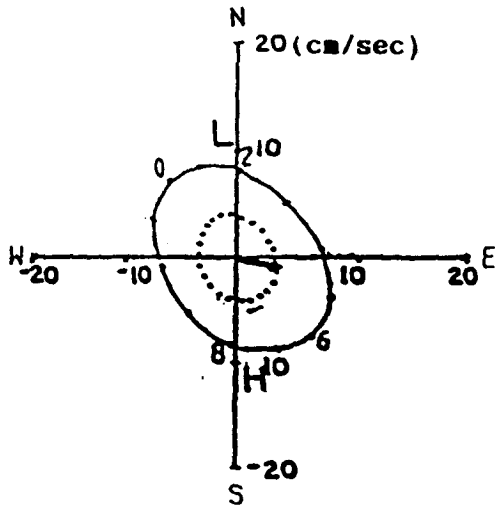
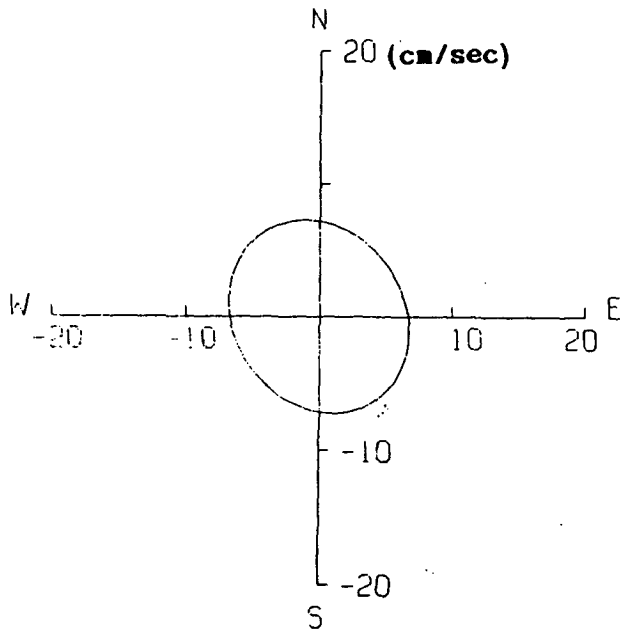


Fig. 3-4. Computed velocity fields in each level during the ebb flow.



(a) observed



(b) calculated

Fig. 3-5. Comparison of the tidal current ellipses between observed and calculated results.

3. TBT의 환경운명예측

마산만에서의 TBT의 환경운명예측은 Fig. 3-6에 나타난 것과 같이 수평방향으로 A, B, C 3개의 Box로 분할하고 각 Box내 여러 격자점에서 계산된 해수유동모델의 결과로부터 단위시간당 각 Box간 이류량을 계산하여 환경운명예측 모델의 유동자료로 이용하였다.

TBT의 환경운명예측모델의 계산에 이용하는 파라미터는 가능한한 관측치를 이용하지만, 감도해석의 결과를 고려하여 결정하였다. Table 3-2에 계산에 사용한 파라미터를 나타내었다.

Table 3-2. Mean and range values of parameters.

Parameters		Range	Mean	
Horizontal diffusion coefficient	$Kh_1(\text{cm}^2/\text{s})$	25000-100000	50000	
	$Kh_2(\text{cm}^2/\text{s})$	-	-	
Soil sorption coefficient	$Koc(\text{m}^3/\text{ton})$	3500-60000	50000	
Transport coefficient	$Ktr(\text{m}/\text{day})$	0.35-1.4	0.7	
Transfer coefficient	$Kwa(\text{m}/\text{day})$	-	0.157	
Mixing rate	$Km(\text{day})$	1.0-24.0	2.0	
Degradation constant	Water	$Kdw1(\text{day})$	0.0325-0.130	0.065
	Sediment	$Kdsed(\text{day})$	0.0023-0.009	0.0045
	Surface layer	$Kdsl(\text{day})$	0.05-0.020	0.1
	Air	$Kda(\text{day})$	0.0025-0.01	0.005
Bioconcentration factor	Fish	$BCF_f(-)$	-	2000
	Benthos	$BCF_b(-)$	-	10000
	Algae	$BCF_a(-)$	-	20000
Organic carbon	SS	$Pocss(\%)$	2.5-10.0	5.0
	Sediment	$Pocsd(\%)$	1.0-4.0	2.0
Density	SS	$Dss(\text{ton}/\text{m}^3)$	-	1.5
	Sediment	$Dsed(\text{ton}/\text{m}^3)$	-	2.0
	Fish	$Db(\text{ton}/\text{m}^3)$	-	1.0

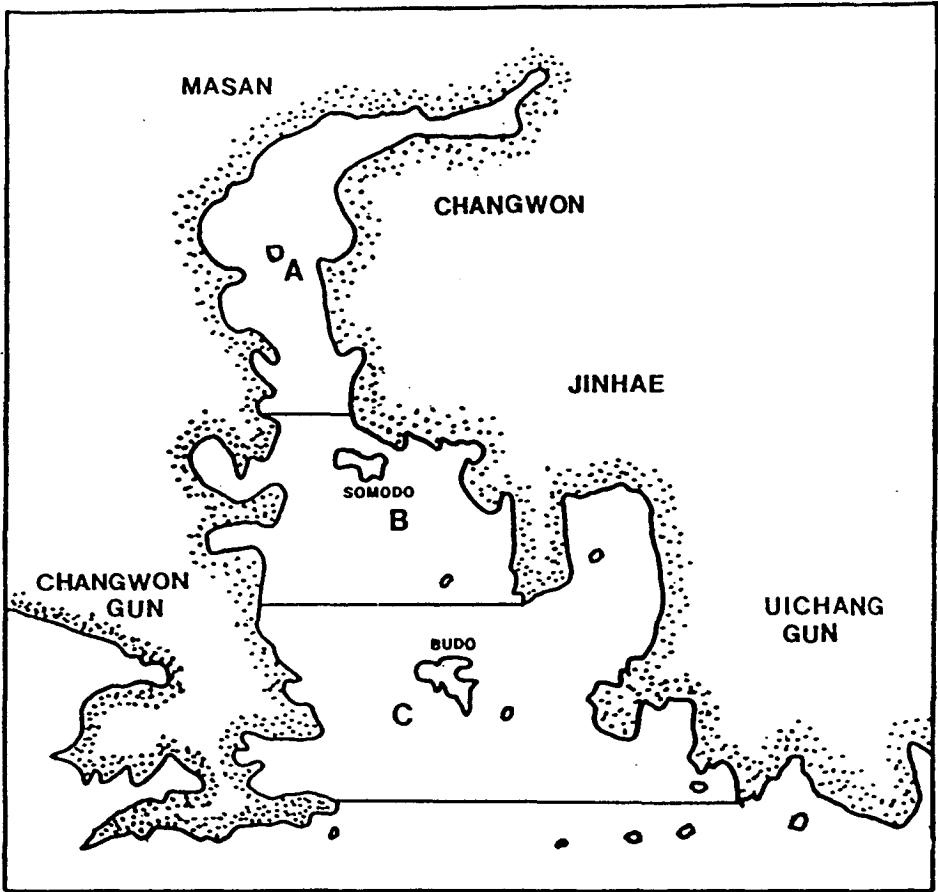


Fig. 3-6. The location of observed stations in Masan Bay.

가. TBT의 마산만으로의 유입량 추정

TBT 유입원의 산정은 이 화합물의 환경운명예측을 행하는데 있어 중요하다. TBT의 유입원으로는 도료생산, 어망제조, 선박제조 및 수리, 선박의 운항 및 정박, 양식용 어망사용 등을 들 수 있다. 그러나 이들 유입원중 어느 유입원에 대해서나 명확한 자료는 없는 실정이므로 지역의 특성을 고려하여 주요 유입원의 추정 및 산정을 할 필요가 있다. 해역에서의 TBT 화합물의 유입은 그 용도의 특성상 주로 선박의 방오페인트로 부터의 용출을 생각할 수 있으며 조선소 등의 선박 제조 및 수리과정, 선박의 항행 및 정박과정을 들 수 있다. 마산만의 경우 동부 경남의 중심 항구로 창원공단, 마산, 진해 등이 산업과 관련한 선박 운항 및 정박이 비교적 활발한 항만이며 외항선이 연간 전체 입항톤수인 18,443,344톤의 약 77%를 차지하고 있는 산업항이라고 볼 수 있다. 또한 대부분 산업항의 경우 선박정박 및 항행으로 부터의 유입이 유입원의 대부분을 차지한다(조, 1993). 따라서, 본 대상해역에서는 출입항 선박으로 부터의 용출로 인한 유입원만을 고려하여 유입부하를 추정하였다.

선박의 정박 및 운항과정으로 부터의 유입은 선저의 침수면적, 선박표면으로 부터의 용출속도, 선박의 정박일수 및 대상해역에서의 운항특성에 지배된다. 유입부하의 대부분을 차지하는 정박중의 선박으로 부터의 유입량의 추정과정은 다음과 같다.

유입량을 $W_s(t/d)$ 로 하고, 용출속도를 $\beta(\mu g/cm^2/d)$, 선체의 침수면적을 $A_s(m^2)$, 정박기간을 $T_s(d)$ 라 하면 유입량은, $W_s(t/d) = (10^{-8}) \times \beta(\mu g/cm^2/d) \times A_s(m^2) \times T_s(d)$ 로 나타낼수 있다. 용출속도 및 침수면적의 계산에 대하여는 조(1993)의 방식에 따랐으며, 정박기간의 추정에 대하여는 선박의 접안으로 부터 하역에 걸리는 시간 1.5일(Henderson, 1986)과 화물을 싣고

떠나는 시간을 고려하여 약 3일로 하였다. 운항선박으로 부터의 유입량은 선박의 운항속도와 각 Box의 거리를 고려하여 운항시간을 추정하여 계산하였다.

이렇게 하여 추정한 각 Box별 유입량은 Box A가 1.46×10^{-3} (t/d), Box B가 1.46×10^{-7} (t/d), Box C가 1.65×10^{-4} (t/d)으로 나타났다.

나. 농도예측의 시나리오 및 모델 시뮬레이션 결과의 고찰

시뮬레이션은 하계의 파라미터에 대하여, 평형상태의 수속판정조건으로 상대허용오차를 0.001%로 주어 평형상태에 도달할 때까지 행하였다. 이 값을 실측치와 비교하여 재현성을 검토하고, 초기조건으로 설정하여 파라미터의 변화나 유입량 증감 등의 시나리오에 따른 농도변화를 검토하였다. 농도예측결과를 Fig. 3-7에 나타내었다. 이들값은 Table 3-3에 나타낸 마산만의 실측치(심, 1996; 조, 1997)와 비교하여 보면 수층의 계산농도는 7.9~37.8 ng/ℓ로 마산만의 실측치인 9~32 ng/ℓ와 거의 같은 오더에서 잘 일치하고 있다. 저질층의 농도는 계산치가 9.9~44.5 ng/g으로 실측치의 <50~<300 ng/g보다 다소 낮은 값을 보여주고 있으나 이는 실측치가 만안쪽에서 높은 값을 보여주는 반면 만 중앙역에서는 50 ng/g 전후의 값을 보여주고 있어 계산치가 실측치를 거의 동일한 오더에서 재현하고 있다고 볼 수 있다. 생물층의 농도는 예측치가 굴에서 157.1~756.8 ng/g, 저서생물에서 49.7~222.3 ng/g, 어류에서 15.7~75.7 ng/g의 범위로 Table 3-3의 실측치의 굴에 대한 값인 147~645 ng/g와 대수리 및 진주담치의 값인 59~142 ng/g의 결과와도 비슷한 오더의 범위에서 잘 재현하고 있다고 볼 수 있다. 전반적으로 예측치는 실측치와 잘 일치하고 있어 모델의 농도재현 능력은 충분한 것으로 검증되었다.

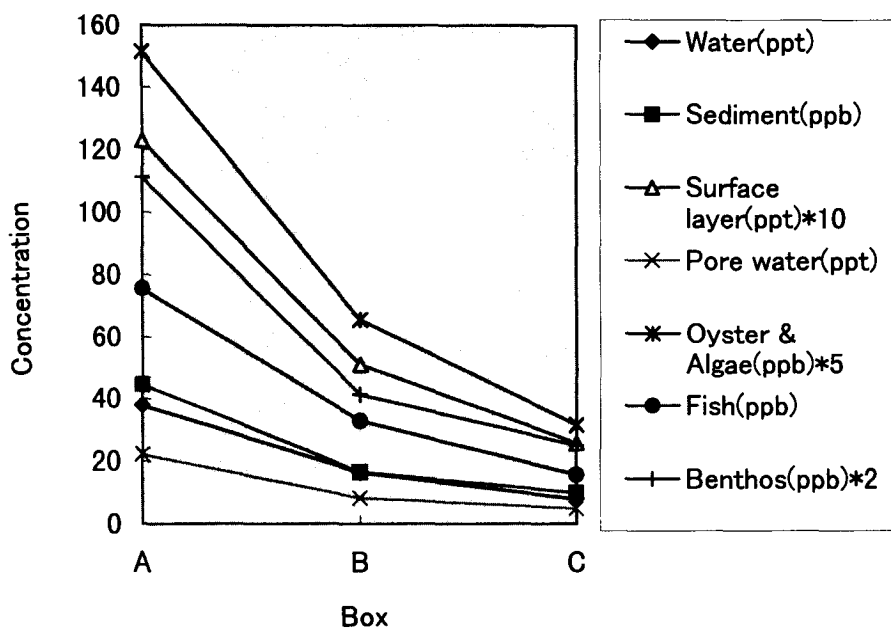


Fig. 3-7 Simulated TBT concentration in each box in Masan Bay.

Table 3-3. Observed concentrations of TBT in Masan Bay.

Box	Seawater (ng/l)	Sediment (ng/g)	Biota (ng/g)		
			<i>Crassostrea gigas</i>	<i>Thais clavigera</i>	<i>Mytilus edulis</i>
A	13~32	<50~<300	147~645	86~131	59
B	22	<50	474	-	-
C	9~30	<50~<300	204~585	59~142	141

제 3 절 TBT의 위해성 평가

1. 수생생물에 대한 위해성 평가

해양생물에 대한 유기주석 화합물의 독성은 1~2 ng/l 정도의 아주 저 농도에서 대수리 등의 권패류에 임포섹스로 불리는 생식기 이상현상을 유발하는 등 환경호르몬 물질로 알려져 있다(Gibbs & Bryan, 1996; Horiguchi, 1995; 1997). 따라서 LC₅₀ 등의 치사와 관련한 항목을 이용하여 평가하는 물질들과는 다른 차원에서 평가할 필요가 있으나 이는 전면 생산 및 사용금지 등의 아주 엄격한 규제를 필요로 한다. 그러나 본 연구에서는 현실적으로 국내의 유기주석화합물 오염에 대한 실태 조사, 오염경향 조사 등의 충분한 연구가 이루어져 있지 않은 점 및 다른 어패류에의 위해성 평가 등을 고려하여 종래의 치사와 관련한 독성자료를 이용하여 평가하는데 주안점을 둔다.

TBT 화합물의 수생생물에 대한 영향평가의 기준으로서는 LC₅₀로부터 MATC(Maximum Allowable Toxicant Concentration, 최대허용농도)를 구하여 예측한 수중의 농도를 MATC와 비교하여 위해성을 평가한다. MATC는 어류는 0.25 ppb, 저서생물은 0.01 ppb, 해조류는 0.77 ppb, 플랑크톤은 0.15 ppb를 적용한다(조, 1993). 이들 값을 마산만의 예측치와 비교하여 보면 어류와 해조류에 대해서는 전 Box에서 기준치 이하의 결과를 보여주었으나 저서생물에 대해서는 안쪽 Box에서 간극수중의 농도가 22.2 ng/l로 기준치보다 보다 높게 나타났다. 또 표면박층에서의 예측 농도는 257~1230 ng/l로 높게 나타나 플랑크톤의 기준치를 크게 상회하였다. 이들 결과로 부터 생물의 초기성장 단계에서 표면박층의 고농도에 영향을 받

을 가능성이 큰 것으로 밝혀졌다. 또한, 권패류에 대한 영향은 아주 저농도에서 일어나기 때문에 예측결과 및 실측결과는 수십배의 고농도로 존재하고 있음을 알 수 있다.

2. 인체에 대한 위해성 평가

TBT 화합물의 인체에 대한 발암성에 대한 연구는 많지 않지만 현재까지 인체에 대한 발암성은 잘 알려져 있지 않다. 동물실험의 결과로부터 피부장해, 호흡장해, 눈 염증, 백혈구수 증가 등의 각종 장해가 보고되어 있다. 일본 후생성에서는 식품중의 TBTO의 잠정적인 ADI(Allowable Daily Intake, 1일 허용섭취량)를 $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 로 설정하고 있다(里見, 1992). Schweinfurth & Gunzel(1987)은 쥐에 대한 실험결과로부터 $3.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 의 잠정기준을 제안하고 있다. 본 연구에서는 $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 을 기준으로 이용한다.

인체가 TBT 화합물에 노출되는 경로는 주로 동 화합물에 오염된 식품의 섭취나 관련산업에 종사하여 작업환경중에 노출되는 것으로 생각된다. 본 연구에서는 주요오염경로를 오염된 식품으로 부터의 노출만을 대상으로 한다. 오염장소는 마산만으로 한정하고 마산만 주변의 인구가 마산만에서 채취되는 해산물을 섭취한다고 가정한다. ADI에 상당하는 해산물중의 농도(CbADI)는 한국인의 성인 평균체중을 50kg으로 하고, 성인 1인 1일의 해산물의 섭취량을 약 100g(일본인의 경우 약 96g(조, 1993))으로 하면, $\text{CbADI} = \text{ADI} \times 50/100$ 으로서 약 0.8 ppm이 된다. 이 값을 해산물중의 농도 Cb(ppm)와 비교하여 잠정 위해도로 정의 하였다.

해산물중의 TBT 농도는 해산물의 종류에 따라 다양하며, 또 섭취량은 섭취하는 해산물의 구성비, 식생활 습관 등에 따라서도 다르다. 본 연구에서는 조(1993)의 시나리오에 준하여 어류, 패류 및 해조류를 중심으로

Table 3-4에서 처럼 5종류의 시나리오를 구성하여 각 시나리오별로 위해성을 검토하였다. 어느 시나리오에 있어서도 인체에 대한 위해성은 최고 위해도 0.32로서 높지 않음을 알 수 있다.

Table 3-4. Estimated human risk level of TBT by each scenario.

No.	Scenario	Risk
1	fish 85%, algae 5%, crustaceans 10%	0.03~0.16
2	fish 100%	0.02~0.09
3	fish 50%, crustaceans 50%	0.04~0.19
4	crustaceans 100%	0.06~0.28
5	fish 50%, algae 20%, crustaceans 30%	0.07~0.32

제 4 절 대안 평가에 의한 TBT의 평가

1. 대안 평가 시나리오

TBT 화합물 이외의 대안으로서는, 생물, 생태학적 방법과 표면물리학적 방법을 이용하는 무독성 방오페인트의 연구와 전기분해법, 초음파법, 자외선 조사법 등을 이용하는 페인트 이외의 방법과 유기주석 이외의 성분을 이용하는 페인트 등의 연구가 수행되어져 오고 있지만 어느 방법도 TBT 방오제에 비하여 내구년수, 경제성, 작업성, 유지비 등의 측면에서 뒤떨어진다. 본 절에서는 TBT 화합물의 전면사용금지 이외의 이용측면에서 기술적 대안으로서 용출속도규제를, 행정적 대안으로서 연안선과 외항선을 구분하여 규제하는 방안, 양자를 통합하는 방안으로 구분하여 검토하였다 (Table 3-5).

Table 3-5. Alternatives of TBT use as anti-fouling paint.

Regulation alternatives	Present	Regulation of TBT paint	
		Leaching rate (1.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{d}$)	Ocean liner
Present	○	×	
Alternative I	×	○	×
Alternative II	×		○
Alternative III	×	○	

대안 I은 용출속도를 현 규제치인 4.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{d}$ 로 부터 1.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{d}$ 로 낮추어 유입부하를 감소시키는 것으로 용출속도가 1~2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{d}$ 의 범위에서

방오성이 충분히 발휘된다고 하는 보고에 기초하고 있다(高橋와 大八木, 1987). 대안 II는 현재의 용출속도는 유지하되 선박의 항행구역으로 부터 외해를 주로 항해하는 외항선과 연안을 주로 이동하는 연안선으로 구분하여 경제적인 측면에서 외항선에만 사용을 허가하는 안이며, 대안 III은 상기 양안을 병용하는 대안이다.

2. 대안에 의한 TBT의 위해성 평가

가. 대안별 TBT 의 농도예측

앞절에서의 유입부하량 추정식을 이용하여 각 Box별, 대안별의 유입부하를 추정하여 Table 3-6에 나타내었다.

Table 3-6. Estimated load of TBT in each box by alternatives.

Box No.	Present	Alternatives		
		I	II	III
Total(t/d)	1.6256×10^{-3}	8.1281×10^{-4}	1.2491×10^{-3}	6.2455×10^{-4}
A	1.4601×10^{-3}	7.3001×10^{-4}	1.1243×10^{-3}	5.6215×10^{-4}
B	1.4620×10^{-4}	7.3100×10^{-8}	1.1257×10^{-7}	5.6285×10^{-8}
C	1.6538×10^{-4}	8.2690×10^{-5}	1.2470×10^{-4}	6.2348×10^{-5}

이 값을 운명예측모델의 박스별 유입부하량으로 입력하여 대안별, 박스별 농도변화를 예측하였다. Table 3-7에 각 Box별 대안별 농도예측결과를 나타내었다.

Table 3-7. Simulated concentrations of TBT in each compartment by alternatives.

Compartment		Present	Alternatives		
			I	II	III
Water(ppt)		7.86~ 37.84	3.93~ 18.92	6.03~ 29.13	3.01~ 14.56
Sediment(ppb)		9.94~ 44.45	4.97~ 22.23	7.64~ 34.28	3.82~ 17.14
Surface layer(ppt)		257~ 1230	129~ 615	197~ 946	98.6~ 473
Pore water(ppt)		5.0~ 22.2	2.5~ 11.1	3.8~ 17.1	1.9~ 8.6
Biota	Fish(ppb)	15.7~ 75.7	7.9~ 37.8	12.1~ 58.3	6.0~ 29.1
	Benthos(ppb)	49.7~ 222.3	24.9~ 111.1	38.2~ 171.4	19.1~ 85.7
	Algae(ppb)	157.1~ 756.8	78.6~ 378.4	120.6~ 582.5	60.3~ 291.3

대안별 각 박스별 예측농도 변화를 보면 대안 I은 현재의 농도에 비하여 1/2로 줄었으며 대안 II는 23%정도 대안 III은 약 60% 정도 감소하였음을 알 수 있다.

나. 대안별 위해성 평가

앞절의 위해성 평가방법을 이용하여 대안별로 위해도를 평가하여 Table 3-8에 나타내었다.

Table 3-8. Estimated risk levels of TBT on marine organisms and human beings by each alternative.

Alternatives	Marine organisms				Human beings
	Fish	Benthos	Zoo-plankton	Algae	
Present	0.03~0.15	0.5~2.2	1.7~8.2	0.01~0.05	0.03~0.16
Alternative I	0.02~0.08	0.3~1.1	0.9~4.1	0.01~0.02	0.02~0.08
II	0.02~0.12	0.4~1.7	1.3~6.3	0.01~0.04	0.03~0.12
III	0.01~0.06	0.2~0.9	0.7~3.2	0.01~0.02	0.01~0.06

위해성이 비교적 높게 나타나는 동물플랑크톤과 저서생물에 대한 결과를 보면 동물플랑크톤에 대한 위해성은 어느 대안에 대해서도 비교적 높게 나타나고 있으며 저서생물에 대해서는 대안 I 과 III에서 1 전후의 값으로 감소하고 있음을 알 수 있다. 이들 결과는 어느 대안에 있어서도 해양생물에 대한 위해성을 줄일 수는 있으나 생물의 초기 생활사에 영향을 받을 가능성이 큰 것을 알 수 있다. 대안에 따라서는 대상해역의 외해역으로 갈수록 위해성이 감소하므로 해역을 활용목적별로 구분하여 규제를 강화하는 등의 조치도 가능하다고 생각된다. 그러나 TBT는 아주 저농도에서도 권패류에 임포섹스 등의 생식기 이상현상을 유발하여 불임에 이르게 하는 등 해양생물에 대한 영향이 특히 큰 물질이므로 최선의 대안은 이들 화합물을 주성분으로 하는 페인트의 전면 금지를 단행하는 방법밖에 없다고 하겠다.

제 5 절 결 언

유기주석화합물의 평가 및 관리를 위한 TBT의 환경운명 예측 및 위해성 평가를 위하여 지역수계의 특성을 고려한 TBT의 환경운명예측 모델을 설정하여 마산만에 적용하여 그 유용성을 검증하였다. 우선 마산만에서의 TBT의 각 Box별 추정 유입부하량은 Box A가 1.46×10^{-3} (t/d), Box B가 1.46×10^{-7} (t/d), Box C가 1.65×10^{-4} (t/d)으로 나타났다. 모델 시뮬레이션 결과 예측치는 전반적으로 거의 동일한 오더에서 실측치와 잘 일치하고 있어 모델의 농도재현 능력은 충분한 것으로 검증되었다.

TBT의 오염이 해양생물 및 인체에 미치는 위해성 평가를 실시한 결과 해양생물에 대해서는 생물의 초기성장 단계에서 표면박층의 고농도에 영향을 받을 가능성이 큰 것으로 밝혀졌다. 또한, 권패류에 대한 영향은 아주 저농도에서 일어나고, 예측결과 및 실측결과는 영향농도의 수십배의 고농도로 존재하고 있음을 알 수 있었다. 인체에 미치는 영향은 5종류의 시나리오를 구성하여 각 시나리오별로 위해성을 검토하였으나 어느 시나리오에 있어서도 인체에 대한 위해성은 최고 위해도 0.32로 높지 않았다.

TBT의 관리를 위한 대안평가를 위하여 기술적인 측면과 행정적인 측면을 고려하여 대안을 설정한 후 그 유용성을 평가하였다. 그 결과 마산만에서의 환경중의 TBT 농도는 약 23%~60% 정도 감소하였다. 대안에 따른 해양생물과 인체에 대한 위해성 평가를 실시하여 어느 대안에 있어서도 해양생물에 대한 위해도를 줄일 수는 있어도 생물의 초기 생활사에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 부터 유기주석화합물의 관리방안으로는 연안선에 대한 사용규제, 용출속도 규제 등 대안에 따라서는 대상해역의 외해역으로 갈수

특 위험성이 감소하므로 해역을 활용목적별로 구분하여 규제를 강화 또는 구분하는 등의 조치도 가능하다고 할 수 있다. 그러나 TBT는 아주 저농도에서도 권패류에 임포섹스 등의 생식기 이상현상을 유발하여 불임에 이르게 하는등 해양생물에 대한 영향이 특히 큰 물질이므로 최선의 대안은 이들 화합물을 주성분으로 하는 페인트의 전면 금지를 단행하는 방법밖에 없다고 하겠다.

추후의 과제로는 유기주석화합물의 생산, 수입, 유통 및 사용량 등에 대한 정보파악과 각 공정에서의 환경에의 유입과정 및 유입량 파악이 시급히 이루어 져야 하며, 전국규모의 지역적 경시적인 장기 조사와 해양생물의 개체군에 대한 영향을 정량적으로 파악하기 위한 상세한 조사가 필요하다고 하겠다.

참 고 문 헌

- 강성현. 1995. 진해만에 서식하는 해산 이매패류와 복족류의 독성유기오염 물질 생물농축과 오염스트레스의 영향. 서울대학교 이학박사학위논문. p. 96-121.
- 高橋一暢, 大八木義彦. 1987. 色材, 60(7):375-380.
- 김동명. 1994. 마산만의 영양염 물질수지에 관한 연구. 부산수산대학교 대학원 공학석사 학위논문. p. 23-42.
- 김종화. 1993. 폐쇄성 내만에 있어서 물질분산에 미치는 지배적 요인. 부산대학교 대학원 석사학위 논문.
- 김종화, 장선덕, 김해룡. 1986. 마산만의 해수 교환률. 어기지, 22(3): 237-243.
- 渡邊信久. 1994. 有機スズ化合物の環境動態に関する研究 -船底塗料, 防汚劑に使用されるトリブチルスズを中心として-. 京都大學 工學博士 學位論文, 134-162.
- 里見至弘, 清水誠. 1992. 有機スズ汚染と水生生物影響. 恒星社厚生閣. 9-19.
- 심원준. 1996. 진해만내 트리부틸주석과 트리페닐주석의 오염 및 생물 농축. 서울대학교 대학원 이학석사 학위논문. 89 pp.
- 趙顯書. 1993. 리스크 분석에基づいた有害化學物質의環境曝露의評價に 關する研究. 大阪大學 工學博士 學位論文. p. 121-155.
- 최화선. 1993. 기체 크로마토그래피법에 의한 해수중 부틸화주석 화학종의 정량. 한양대학교 이학석사 학위논문. 42 pp.
- 홍상희. 1996. 옥포만내 유기주석화합물의 분포와 해양 무척추동물 중의 생물농축. 이화여자대학교 대학원 이학석사 학위논문. 68 pp.

- Cho, H. S., Seol, S. W., Horiguchi, T. and Lee, S. H. 1997. Organotin Contaminations and imposex in *Thais clavigera* on the coastal area of Korea. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) 18th Annual Meeting, San Francisco.
- Cho, H. S., Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shibata, Y. and Morita, M. 1996. Organotin Contaminations around Yosu Peninsula, Southern Coastal Area of Korea. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) 17th Annual Meeting, Washington D.C.
- Gibbs, P. E. and Bryan, G. W. 1996. TBT-induced imposex in neogastropod snails: masculinization to mass extinction in Tributyltin: case study of an environmental contaminant edited by Stephen J de Mora. Cambridge. p. 212-236.
- Gucinski, H. 1986. The effect of sea surface microlayer enrichment on TBT transport. Organotin Symposium. Oceans '86. 1266-1274.
- Henderson, R. S. 1986. Effects of organotin antifouling paint leachates on pearl harbour organisms: A site specific flowthrough bioassay. Organotin symposium. Oceans '86. 4:1226-1233.
- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M., and Morita, M. 1997. Imposex in Sea Snails, Caused by Organotin (Tributyltin and Triphenyltin) Pollution in Japan: a Survey. Applied Organometallic Chemistry. 11:451-455.
- Liss, P. S. and Slater, P. G. 1974. Nature. 247:181-184.
- Maguire, R. J. and Tkacz, R. J. 1985. Degradation of Tri-n-butyltin species in water and sediment from Tront harbor. J. Agric. Food Chem. 33, 947-953.

- Mackay, D. and Leinonen, P. J. 1975. Environ. Sci. Technol. 9(13): 1178-1180.
- Schweinfurth, H. A. and Gunzel, P. 1987. Organotin Symposium. Oceans '87, 4:1421-1431.
- Stang, P. M. and Seligman, P. F. 1986. Distribution and fate of butyltin compounds in the sediment of San Diego bay. Organotin Symposium. Oceans '86, 1256-1261.
- Walton, R., Adema, C. M. and Seligman, P. F. 1986. Mathematical Modelling of the Transport and Fate of Organotin in Harbors. Organotin Symposium. Oceans '86, 4:1297-1301

제 4 장

성계를 이용한

유기주석화합물의 독성 연구

제 1 절 서 언

해양 생물에 대한 여러 오염물질의 독성은 어류 또는 다른 무척추동물을 이용한 96h 급성독성 또는 만성독성실험을 통해 연구되어 왔다. 그러나 어류를 이용한 96h 독성실험은 여러 오염물질의 다양한 독성을 종합적으로 반영하는 결과를 가져오는 것으로 알려져 있다. 반면 성계의 정자, 난자, 유생을 이용할 경우는 실험실에서의 배양이 쉬울 뿐만아니라 성계의 발생학적인 면이 많이 연구되어 있고, 난자가 투명하여 독성물질의 영향을 쉽게 관찰할 수 있다. 해양환경에서 이들 난자, 정자, 유생은 수주 동안 수층에서 머무르는 플랑크톤성으로, 오염물질의 해양에서의 독성을 관찰할 수 있다. 또한 성계의 발생 초기단계는 오염에 매우 민감하다. 해양오염에 대한 연구에서 성계를 이용한 독성실험은 전세계적으로 사용되고 있는 방법으로 높은 감도, 정확성, 재현성 뿐만아니라 쉽게 수행할 수 있는 큰 장점을 가지고 있다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 생물채집

보라성게(*Anthocidaris crassispinia*)는 우리나라 남해안에 높은 수를 보이며 폭넓게 분포하고 있다. 보라성게의 산란시기는 5~9월로 장기간이다. 실험용 보라성게는 제주도 북쪽 해안 수심 3~6 m에서 7~8월 중순에 걸쳐 채집되었다. 채집된 보라성게는 실험실의 폭기 수조로 옮겨져 유지되었으며, 수조의 온도는 24℃였다.

2. 난자와 정자 분리

성체로부터 난자와 정자를 분리하기 위해 0.5M KCl 1~2 ml를 주사기로 주입하였다. 성체의 난자와 정자는 각각 해수가 담긴 비이커에 받아낸다. 난자는 비이커에 가라앉힌 후 상층액을 따라버리고 해수를 새로 채우는 과정을 3회 반복하여 점액질의 난막을 세척해낸다. 난자의 최종 농도는 1,000 egg/ml로 맞춘다. 정자는 세척과정 없이 1/100,000의 체적비로 연한 우유 빛을 띠도록 희석한다.

3. 수정

수정은 모든 실험에서 성체로부터 난자를 분리한 후 최대한 12시간 안에 이루어 졌다. 최종 농도를 맞춘 난자의 용액에 정자를 첨가하여 잘 섞어 준 후, 수정막의 형성을 현미경 하에서 관찰하였다. 첫번째 세포분열은 평균적으로 수정 후 1시간 후에 일어났으며, 8세포기까지는 대부분의 수정란이 동시에 분열하였다. 모든 수정과정은 실험전에 일부를 취하여 관찰되었으며, 수정률이 90%이상일 경우에만 다음 단계의 실험을 진행하였다.

4. 세포독성실험

가. 8세포기 발생 실험

인공 수정된 수정란 0.9 ml를 0.1 ml의 독성물질 용액이 들어있는 multiwell plate에 첨가한 후 26~27°C에서 control이 8세포기가 될 때까지 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 multiwell plate에 최종농도 2%의 포름알데

히드를 첨가하여 분열을 정지시키고 전도현미경하에서 8세포기까지 분열된 수정란을 계수하였다.

나. 정자 독성실험

정자를 이용한 독성실험은 Muchmore와 Epel(1973)에 의해서 처음 개발된 매우 빠르고 감도가 높은 방법이다. 이 방법은 해수 뿐만아니라 퇴적물 및 각종 오염물질의 독성을 측정하는데 유용하다. 이 방법은 성계의 정자를 수정 전에 실험용액에 노출시킨 후 깨끗한 난자와 인공수정을 유도하여 수정율로부터 각 물질의 독성정도를 평가하게 된다.

본 연구에서는 25 ml의 해수에 2방울의 정자 용액을 첨가하여 잘 섞은 후, 1 ml을 취해 0.1 ml의 실험용액이 들어있는 multiwell plate에 넣어 15분간 방치한다. 15분 후에 약 1,000 cell/ml의 농도를 갖는 난자를 각각의 well에 첨가하여 수정이 일어나도록 15분간 방치한다. 각 well에 최종농도가 2%되도록 포름알데히드를 첨가하여 고정시킨 후 전도현미경하에서 100개의 난자를 계수하여 수정막의 유무로 수정율을 관찰한다. Control의 수정율은 대부분의 경우 90%이상이었으며, 90%이하인 경우는 자료를 쓰지 않았다.

다. 난자 독성실험

수정이 않된 난자를 실험용액에 노출시킨 후 정자를 첨가하여 수정율을 측정하는 방법이다. 이 실험을 위해서는 1,000 cell/ml의 농도를 갖는 수정되지 않은 난자가 들어있는 용액 0.9 ml를 0.1 ml 실험용액이 들어있는 multiwell에 첨가하여 잘 섞은 후 2시간 방치한다. 2시간 후에 1/10,000 체적비로 희석된 정자 용액을 0.1 ml 첨가하고 15분 동안 수정이 일어나도록

방치한다. 15분 후에 최종농도 2%의 포름알데하이드로 고정한 후 현미경 하에서 수정된 난자를 계수한다.

라. 유생 독성실험

수정란을 26℃로 유지되는 배양용기에서 24시간 배양하여 플루테우스 유생 전단계까지 발생시킨다. 농도 1,000~3,000 cell/ml의 유생 현탁액 0.9 ml를 0.1 ml의 실험용액이 들어있는 multiwell에 첨가한 후, 2시간 방치한다. 2시간 후 유생의 치사율을 현미경하에서 관찰 계수한 후 치사율이 100%가 되는 임계농도(threshold concentration)를 추정하였다.

마. 실험용액의 준비

독성실험 대상 독성물질은 다음 8종의 유기주석화합물이다: 트리부틸주석(TBT), 디부틸주석(DBT), 모노부틸주석(MBT), 트리페닐주석(TPhT), 디페닐주석(DPhT), 모노페닐주석(MPhT), 트리메틸주석(TMeT), 디메틸주석(DMeT). 유기주석화합물은 모두 클로라이드 형태이며, 입자 또는 용액 상태의 것을 디메틸설폭사이드(dimethyl sulfoxide:DMSO)에 1 mg/ml의 농도로 용해시켜 stock solution을 만들었다. Stock solution은 해수를 이용하여 필요한 농도 범위로 1/2씩 연속적으로 희석하였으며, 실험에 이용된 최종 농도범위는 $10^2 \sim 10^{-12}$ $\mu\text{g/ml}$ 였다. 독성실험에 사용된 DMSO의 최고 농도는 1%로 이는 성계의 수정 및 발생에 전혀 영향을 주지 않았다.

울산의 10개 정점외에 전국 5개 항구에서 채집된 퇴적물의 독성실험을 위해 유기독성물질의 추출해 냈다. 건조된 퇴적물 5 g에 체적비 50%의 염산을 첨가하여 30분간 방치한 후, 디클로로메탄 20 ml를 첨가하여 3시간

동안 진탕하여 유기독성물질을 추출하였다. 추출된 유기용매만을 유리용기에 취하여 질소가스 하에서 디클로메탄을 제거한 후 실험전까지 냉동 보관하였다. 추출액은 200 μ l의 DMSO에 재용해 시킨 후, 이 용액 40 μ l를 해수 200 μ l에 용해시켜 stock solution을 만들었다. 이 stock solution을 연속적으로 희석하여 실험에 사용하였으며, 퇴적물 추출용액의 농도는 추출된 퇴적물 무게/해수(mg/ml)로 표시하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 발생단계별 지시자

보라성계의 정상적인 발생단계별 광학현미경 사진을 Fig. 4-1에 나타냈다. 실험에 단계적으로 이용된 수정, 8세포기, 유생시기는 다음의 지시자를 이용하여 확인하였다.

가. 수정 및 수정막 형성

미수정란에(Fig. 4-1a)에 정자가 들어가게 되면, 수정이 일어나고 그 직후에 투명한 수정막이(Fig. 4-1b)이 형성된다. 만약 세포가 독성물질에 노출되면 수정은 일어나지 않거나 제한 받게된다.

나. 8세포기 단계

정상조건하에서 성계의 수정란은 수정 후 약 1시간 후에 분열을 하게되

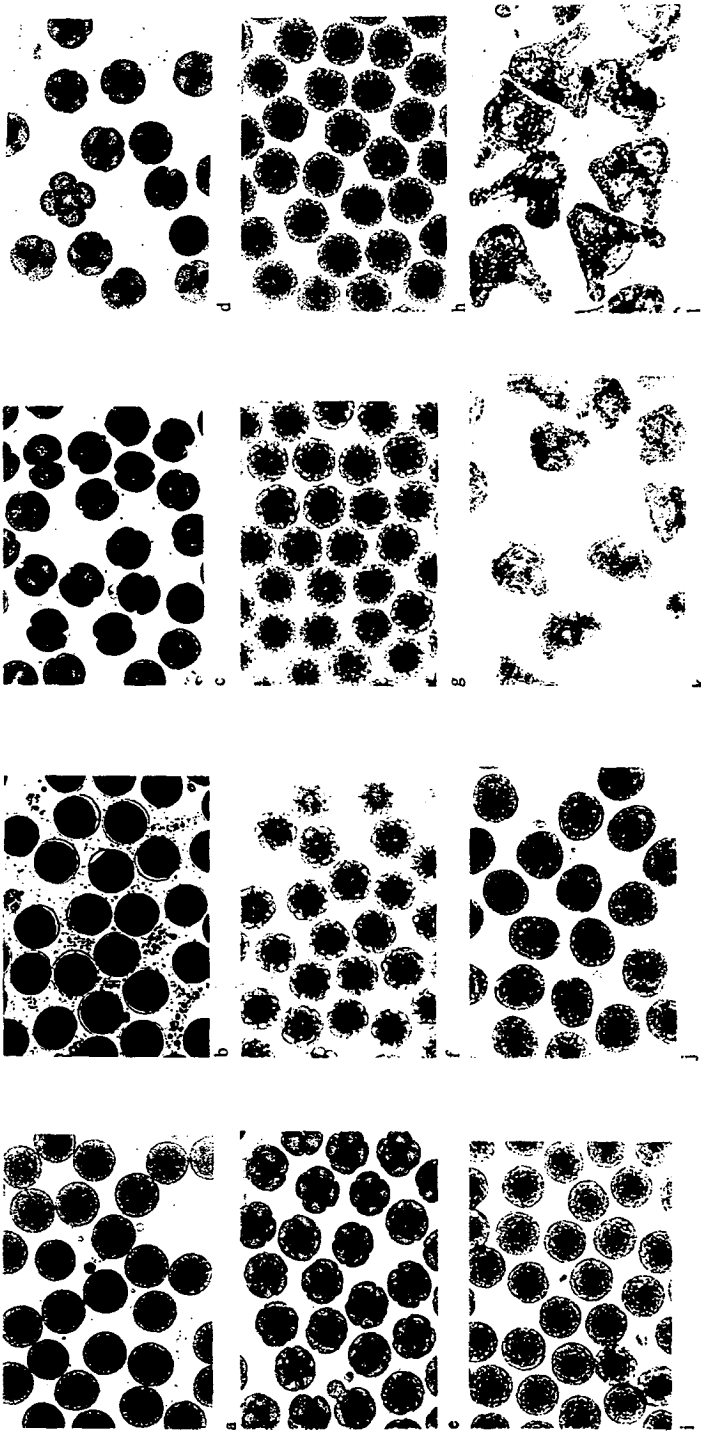


Fig. 4-1. Normal features in the fertilization and developmental stages of sea urchin, *Anthocidris crassispina*.

- a. unfertilized eggs
- b. fertilized eggs, 5 min after fertilization
- c. 2-blastomer stage, 60 min after fertilization
- d. 4-blastomer stage, 90 min after fertilization
- e. 8-blastomer stage, 2 h after fertilization
- f. 16-blastomer stage, 2.5 h after fertilization
- g. 32-blastomer stage, 3 h after fertilization
- h. 64-blastomer stage, 3.5 h after fertilization
- i. blastula, 4 h after fertilization
- j. gastrula, 10 h after fertilization
- k. early pluteus, 18 h after fertilization
- l. pluteus, 24 h after fertilization

고(Fig. 4-1c), 약 매 30분마다 다음 4, 8, 16, 32, 64 세포기로 분열이 일어난다(Fig. 4-1d~h). 정상적인 상태에서 수정란은 거의 동시에 분열이 일어나나, 독성물질에 노출될 경우 분열이 지연 또는 정지되거나 세포의 용해가 발생한다.

다. 유생단계

수정란 현탁액을 지속적으로 혼합하여 주면서 적절한 온도에서 배양하면 여러발생단계 중 포배기(blastula)를 거쳐 수정막이 깨진 후 낭배기(gastrula) 그리고 이어서 플루테우스 유생단계로 넘어간다. 이 유생시기부터 유영을 하게되며 일반적으로 정상적인 운동을 하는 유생과 그렇지 않은 유생간의 비가 독성의 비교치로 사용된다. 그러나 빠르게 유영하는 유생의 운동은 정상과 비정상으로 구별하는 것이 어렵기 때문에 본 연구에서는 모든 유생의 유영활동이 정지한 임계농도만을 구했다.

2. 각 유기주석화합물의 비교 독성

언급된 8개의 모든 유기주석화합물에 대하여 8세포기 발생독성, 정자독성, 난자 독성, 유생독성 실험을 각각 수행하였다. 각 화합물의 농도-반응 곡선(dose-response curve)은 Fig. 4-2~4-4에 나타냈으며, ED₅₀와 임계농도는 Table 4-1~4-2에 각각 나타냈다. ED₅₀와 임계농도는 농도-반응 곡선에서 추정하였다. 전반적으로 부틸주석화합물이 상대적으로 높은 독성을 보이고 있다. 특히, 부틸주석은 강한 antimiotic activity를 보여주고 있다(Fig. 4-5). TBT에 노출된 수정란은 세포분열이 일어나지 않거나 용해되었으며(Fig. 4-5a), 발생이 지연되거나, 다음의 비정상적인 세포분열을

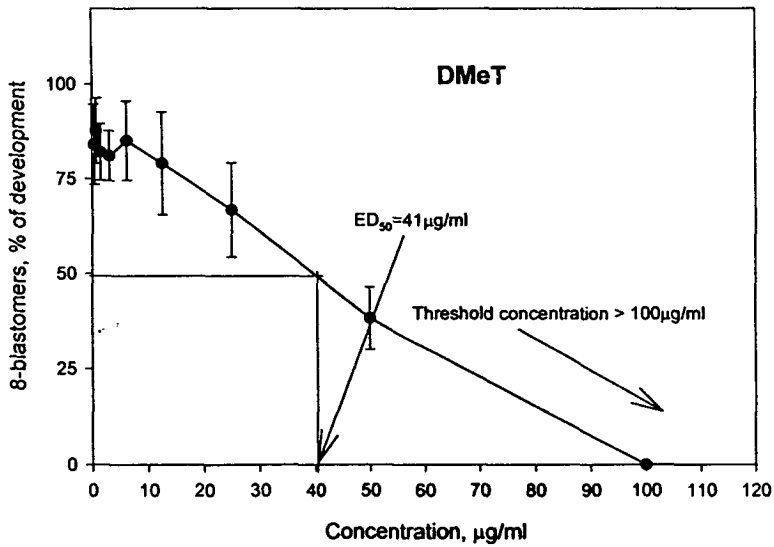
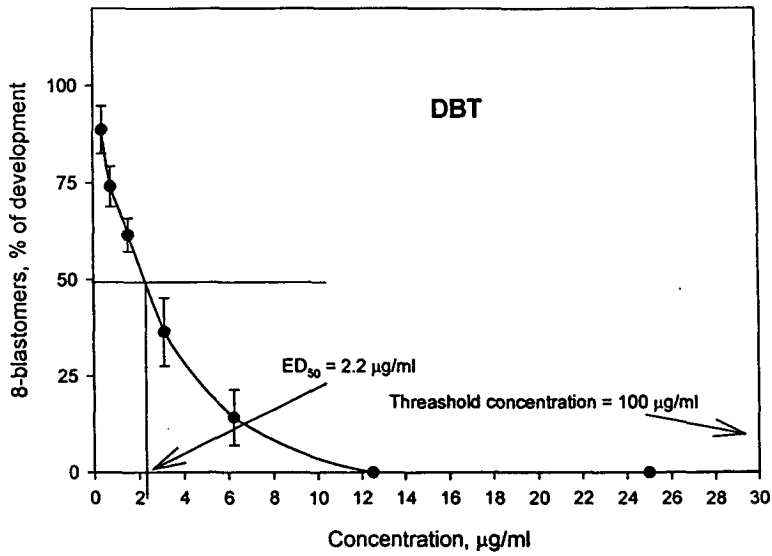
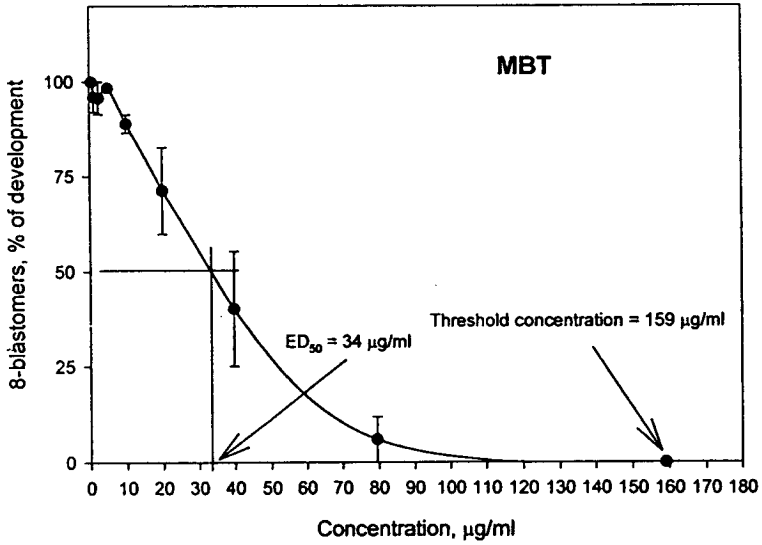
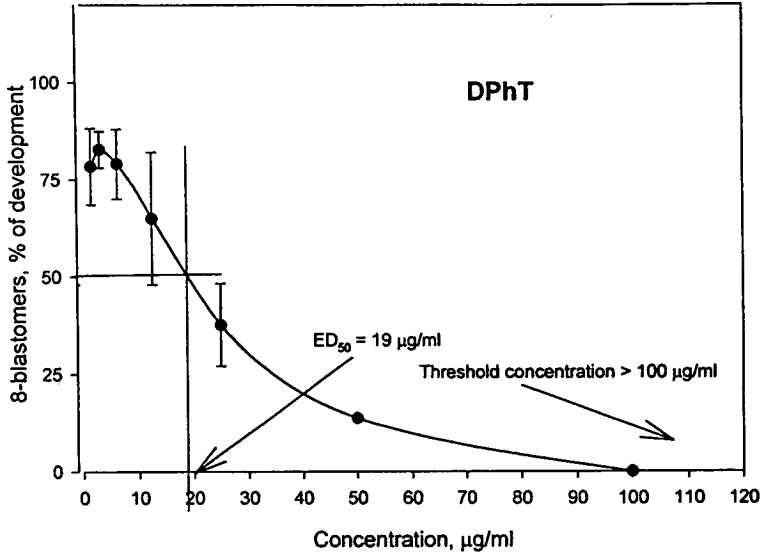
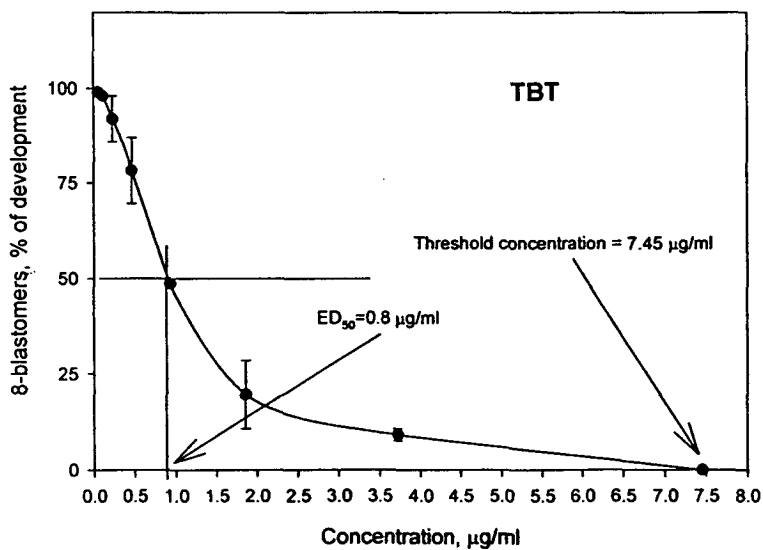
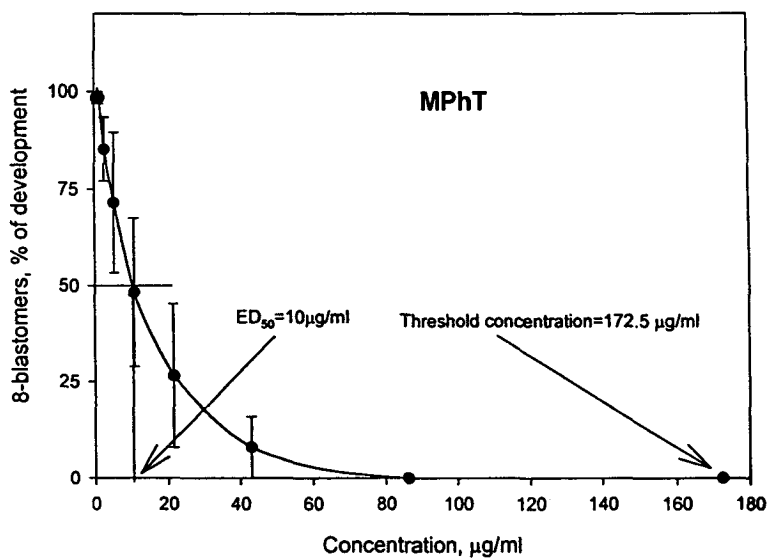


Fig. 4-2. Relationship between percent development to 8 blastomer cells and exposed organotin concentrations in developmental toxicity test.

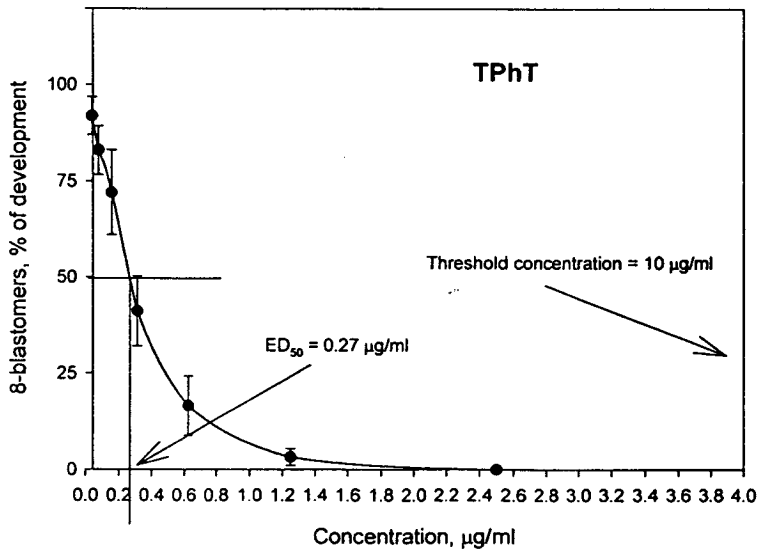
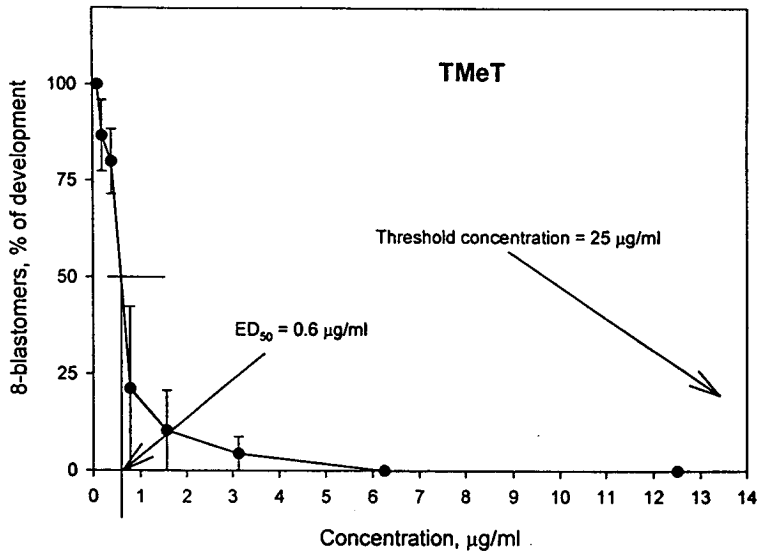
<continued>



<continued>



<continued>



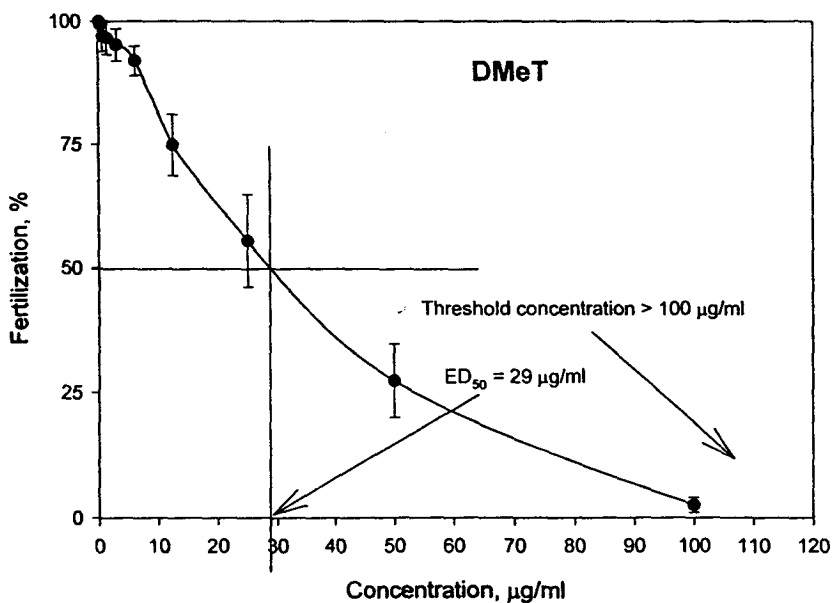
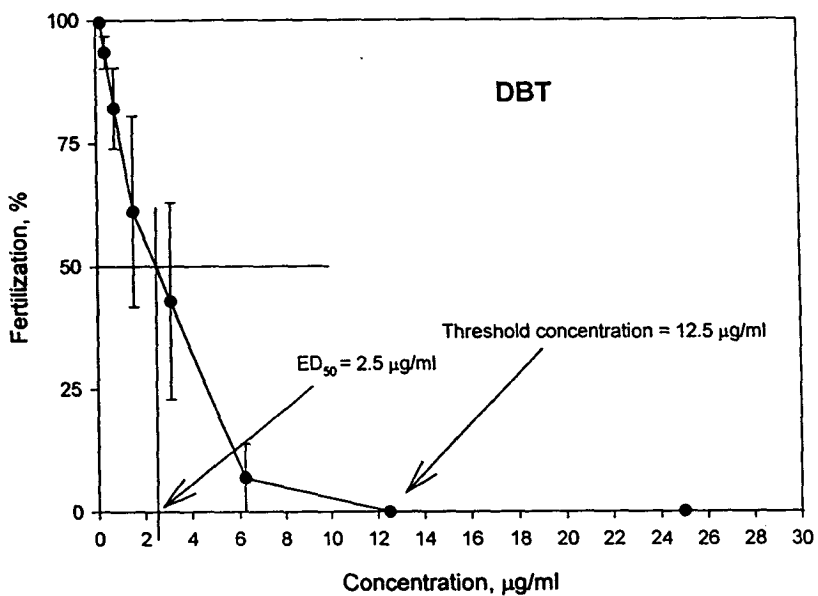
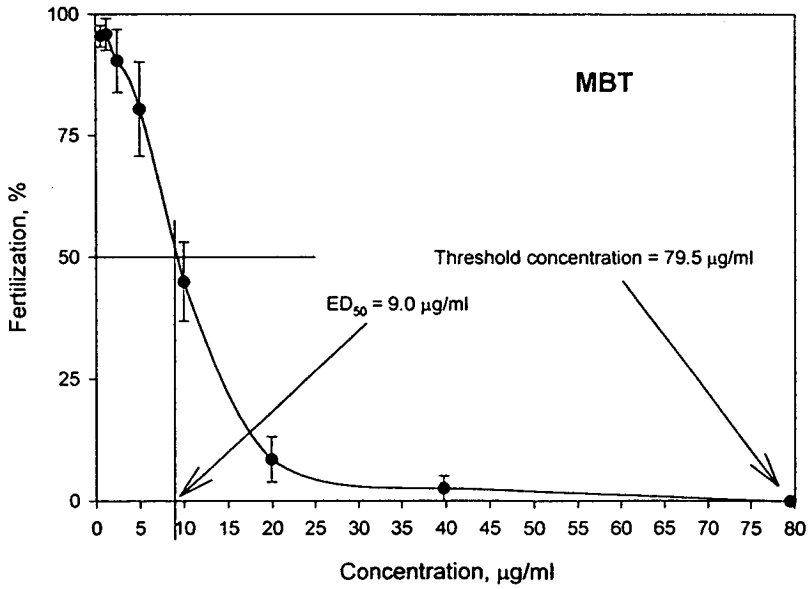
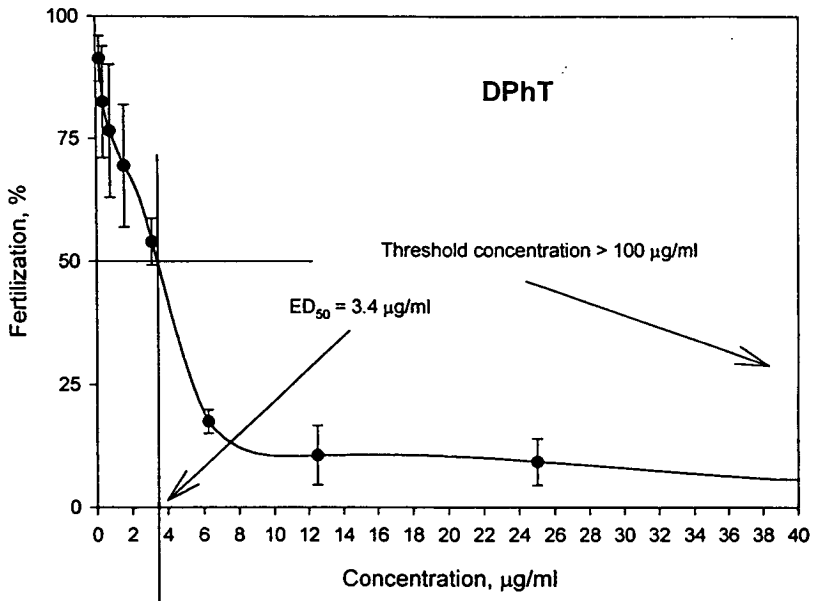
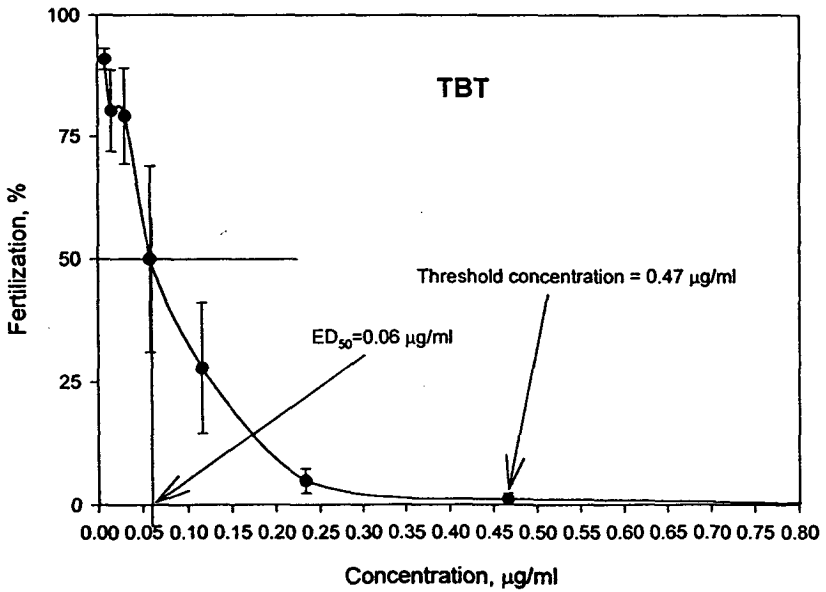
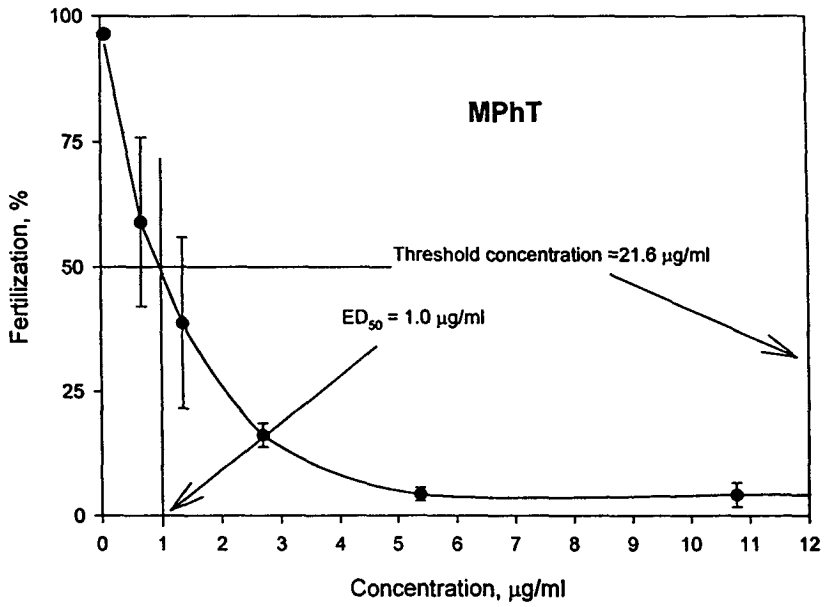


Fig. 4-3. Relationship between percent fertilization of treated sperms and non-treated eggs and exposed organotin concentrations in fertilization toxicity test.

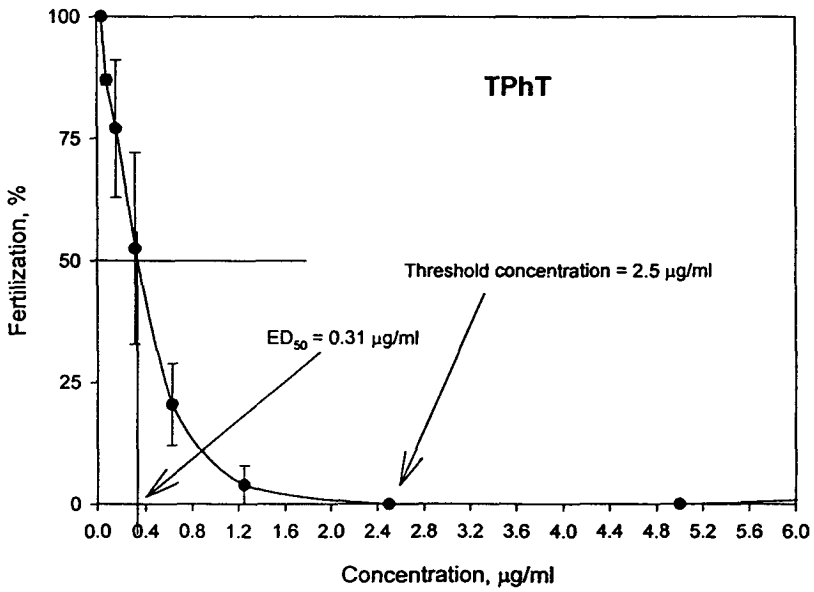
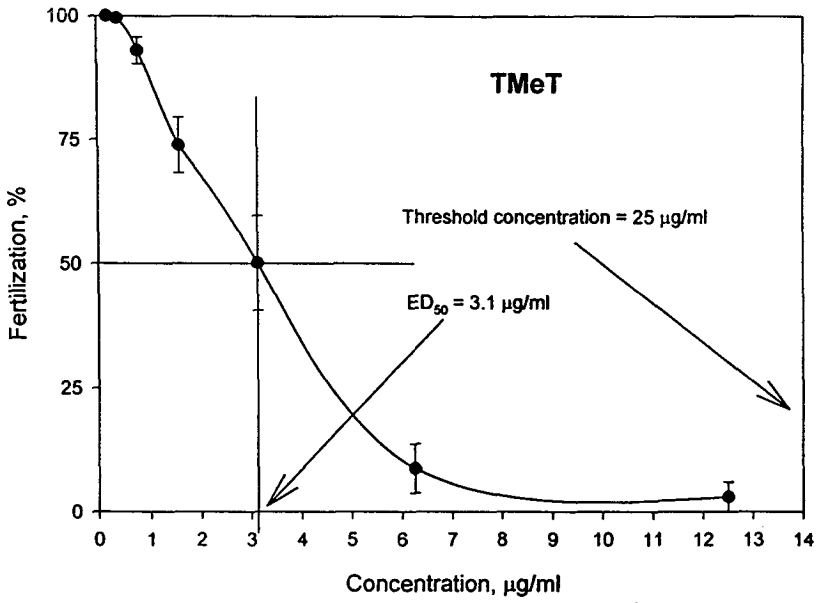
<continued>



<continued>



<continued>



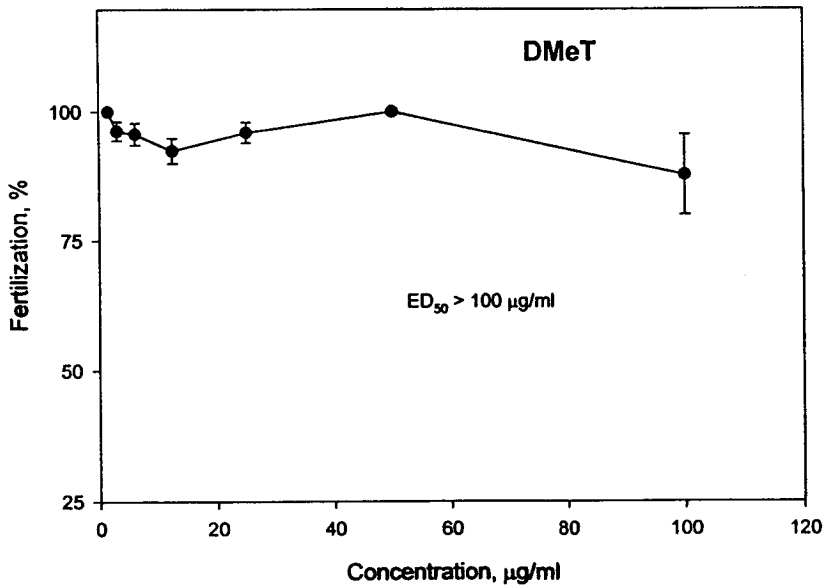
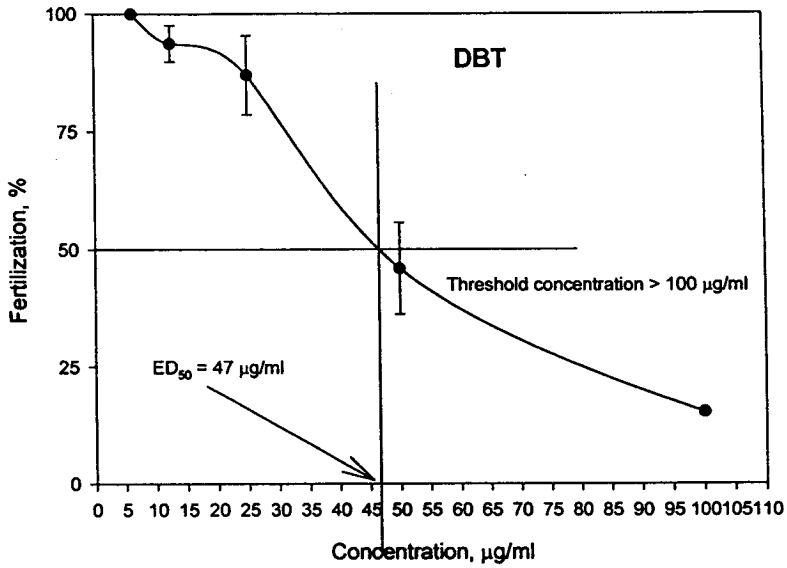
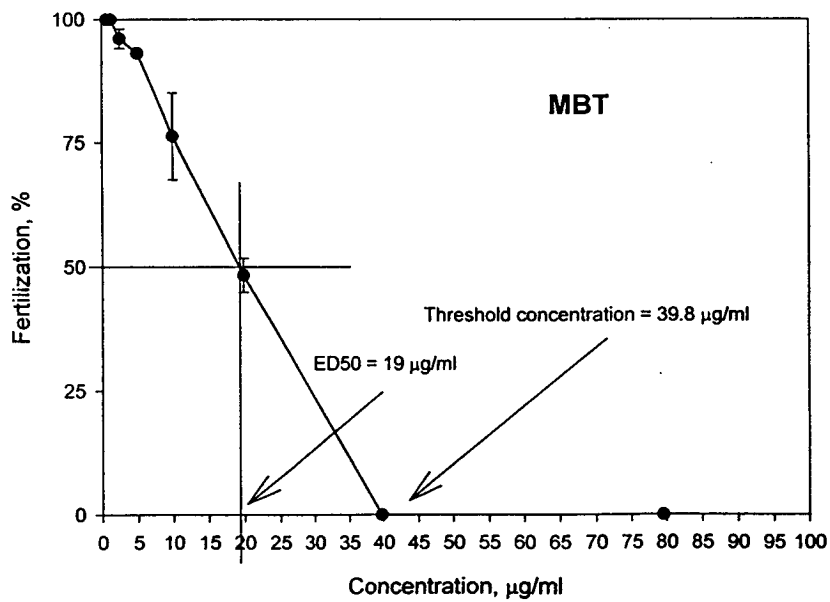
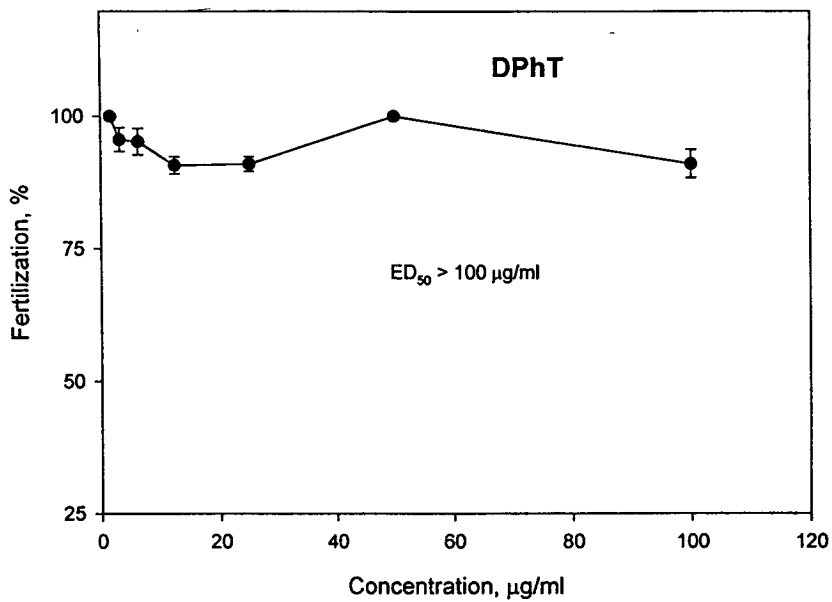
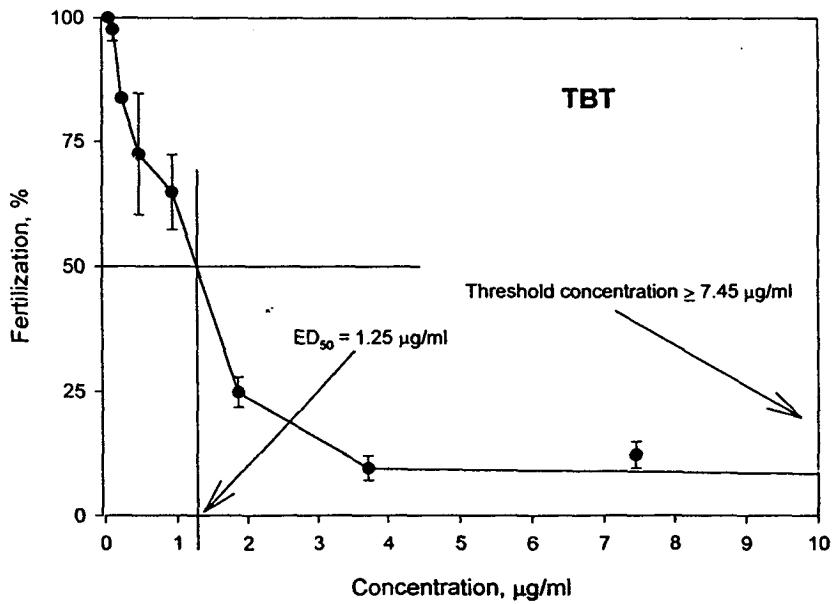
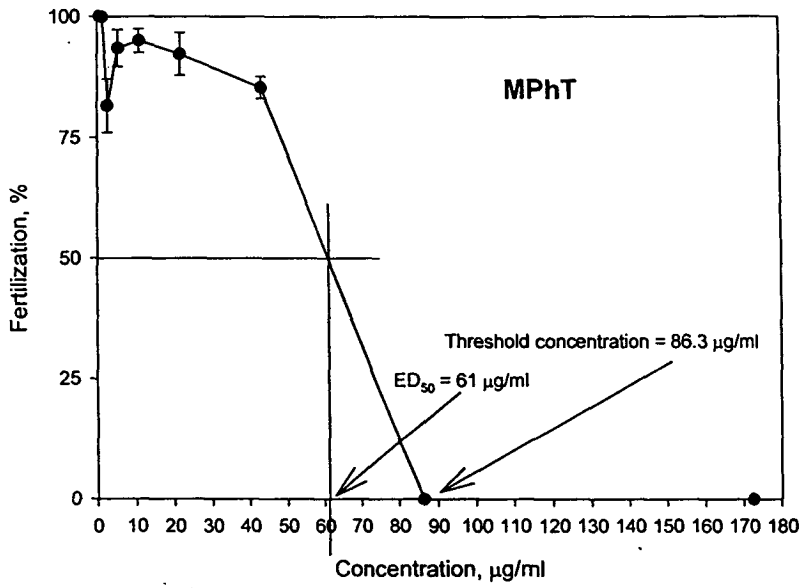


Fig. 4-4. Relationship between percent fertilization of treated eggs and non-treated sperms and exposed organotin concentrations in fertilization toxicity test.

<continued>



<continued>



<continued>

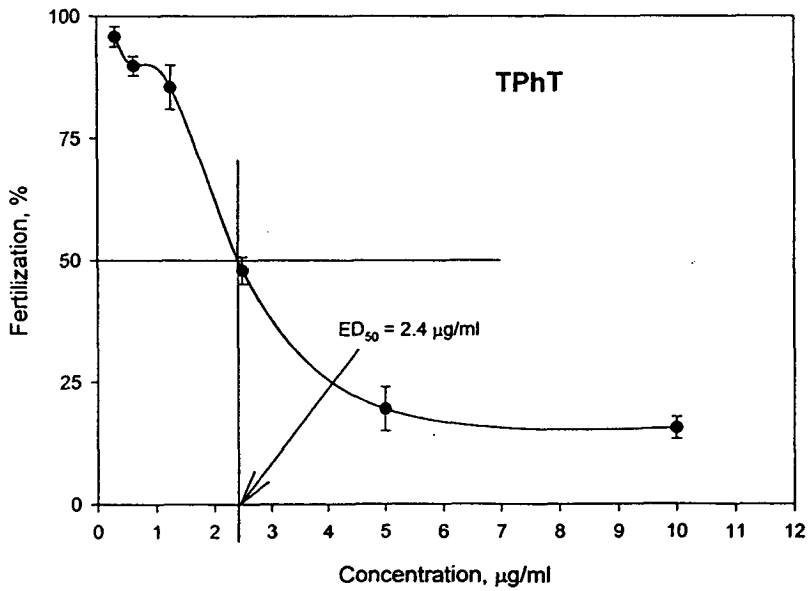
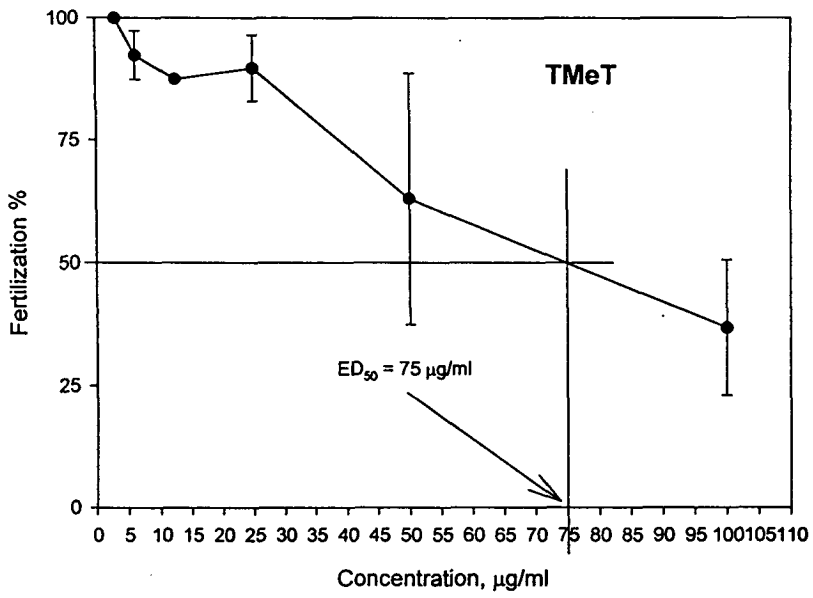


Table. 4-1. Toxicity of eight organotin compounds with sea urchin fertilization and development tests expressed in ED₅₀ and threshold concentrations ($\mu\text{g/ml}$).

8 blastomer test			Egg test		Sperm test	
	ED ₅₀	Threshold	ED ₅₀	Threshold	ED ₅₀	Threshold
TBT	0.8	7.45	1.25	>7.45	0.06	0.47
DBT	2.2	100	47	>100	2.5	12.5
MBT	34	159	19	39.8	9.0	79.5
TPhT	0.27	10	2.4	>10	0.31	2.5
DPhT	19	>100	>100	>100	3.4	>100
MPhT	10	172.5	61	86.3	1.0	21.6
TMeT	0.6	25	75	>100	3.1	25
DMeT	41	>100	>100	>100	29	>100

Table. 4-2. Toxicity of eight organotin compounds with sea urchin larva test.

Substances	Threshold concentration, $\mu\text{g/ml}$
TBT	<0.0017
DBT	100
MBT	159
TPhT	10
DPhT	>100
MPhT	172.5
TMeT	50
DMeT	>100

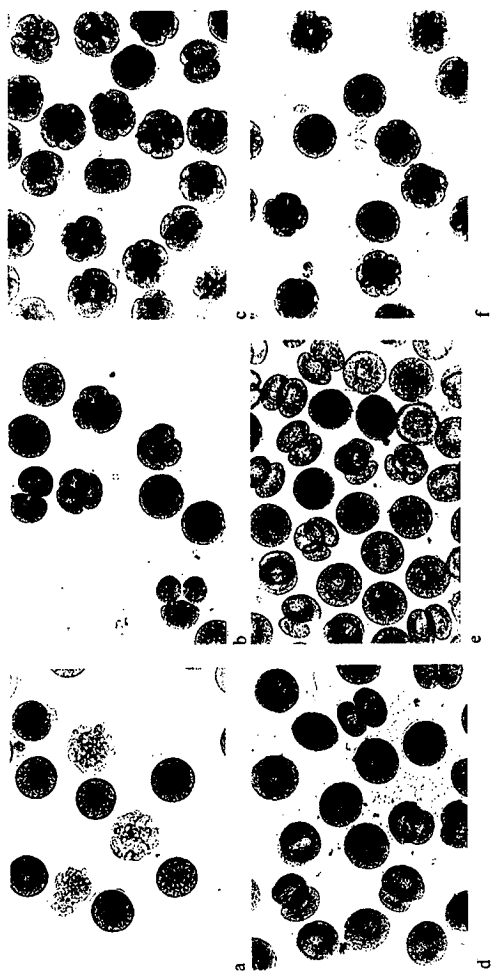


Fig. 4-5. Abnormal development of sea urchin embryos exposed to tributyltin chloride(TBT) and dimethyltin dichloride(DMT) solutions :

- a. TBT(81.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$); lysis of cells
- b. TBT(3.70 $\mu\text{g}/\text{ml}$); abnormal development
- c. TBT(0.03 $\mu\text{g}/\text{ml}$); delay of development
- d. DMT(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$); stop of development and abnormal 2 blastomer stage
- e. DMT(50.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$); abnormal development
- f. DMT(25.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$); delay of development

보였다; 1) 3세포기, 2) 축구공 모양의 세포, 3) 비대칭 분열. 위와 같은 비정상적인 세포들은 포배기 전 또는 포배기에 죽는 것으로 알려져 있다.

8개의 유기주석화합물의 독성 정도에 일련의 순위를 매기는 것은 어렵지만, 전반적으로 몇가지 결과를 이야기 할 수 있다. 성계의 발생단계는 8개의 유기주석화합물에 대한 감도가 다르게 나타남을 알 수 있다. 전체 실험과정을 통해 정자 독성실험이 다른 독성실험에 비해 상대적으로 감도가 높았다(Table 4-1). 미수정 또는 수정된 난자는 정자에 비해 낮은 감도를 보였으나, 유생에 비해서는 높은 감도를 보였다(Table 4-2).

각 독성실험에서 8개 유기주석화합물은 그 독성정도가 다르게 나타났는데, 이는 유기주석화합물의 화학적인 구조의 차이와 해수 용해도 차이에 따른 것으로 사료된다. 전반적인 독성의 정도는 3개의 알킬 또는 페닐기가 결합된 TBT, TPhT, TMeT가 가장 강한 독성을 보였으며, 다음으로 2개의 알킬 또는 페닐기가 결합된 DBT, DPhT, DMeT순이었으며, MBT와 MPhT가 가장 낮은 독성을 보였다(Table 4-1, 4-2). ED₅₀와 임계농도로 표시된 각 유기주석화합물의 상대적인 독성 순서는 3개의 실험에서 다음과 같다.

	8-blastomers test	sperm test	larvae test
ED ₅₀ :			
	TBT>DBT>MBTt	TBT>DBT>MBT	-
	TPhT>MPhT>DPhT	TPhT>MPhT>DPhT	-
	TMeT>DMeT	TMeT>DMeT	
Threshold concentration:			
	TBT>TPhT>TMeT	TBT>DBT>MBT	TBT>DBT>MBT
	DBT>DPhT>DMeT	TPhT>MPhT>DPhT	TPhT>DPhT>MPhT
	MBT>MPhT	TMeT>DMeT	

위의 독성 순서에서 보듯이 페닐주석화합물의 경우에만 실험에 따라 하나의 페닐기가 결합된 MPhT가 두개의 페닐기가 결합된 DPhT보다 상대적으로 강한 독성을 보이고 있다. 반면 전체 8개 유기주석화합물 중에는 TBT(정자독성실험: ED₅₀; 0.06 µg/ml, 임계농도; 0.47 µg/ml)가 가장 강한 독성을 보였으며, TBT의 경우 유생독성실험에서는 <0.0017 µg/ml의 다른 유기주석화합물에 비해 예외적으로 낮은 임계농도값을 보였다.

주석화합물에 결합된 알킬 또는 페닐기의 수가 같은 유기주석화합물의 독성정도를 비교하여 보면 다음과 같다.

	8-blastomers test	sperm test	larvae test
ED ₅₀ :			
	TBT>TMeT>TPhT	TBT>TPhT>TMeT	-
	DBT>DPhT>DMeT	DBT>DPhT>DMeT	-
	MPhT>MBT	MPhT>MBT	
Threshold concentration:			
	TBT>TPhT>TMeT	TBT>TPhT>TMeT	TBT>TPhT>TMeT
	DBT>DPhT>DMeT	DBT>DPhT>DMeT	DBT>DPhT>DMeT
	MBT>MPhT	MPhT>MBT	

난자독성실험의 경우 DMeT, DPhT, TMeT의 세 유기주석화합물은 100 µg/ml농도 안에서 임계농도를 추정할 수 없었으므로, ED₅₀만을 계산하였다.

3. 표층퇴적물 추출액의 독성 실험

우리나라 주변 에서 채취된 14개 표층퇴적물과 2개의 blank에 대하여 8세포기 및 유생독성실험을 수행하였다. 각 정점의 8세포기 발생독성 실험은 Fig. 4-6에 나타냈다. 그래프에 계산된 ED₅₀(퇴적물 질량/실험 최종 용액 부피로 표시된)와 미량분석된 3개 부틸주석화합물의 농도는 Table 4-3에 나타냈다. 또한 유생실험으로부터 계산된 임계농도는 Table 4-4에 나타냈다. 유생 및 8세포기 발생독성실험 중에서 발생독성이 유생독성 실험에 비해 상대적으로 높은 감도를 나타냈으며 부틸주석화합물의 농도변화를 상대적으로 잘 반영하고 있다.

두 실험 모두에서 가장 강한 독성을 보인 곳은 정점 US4(울산 조선소 앞)로 8세포기 발생실험과 유생실험에서 ED₅₀은 각각 25 µg/ml와 125 µg/ml의 값을 보였다. 이는 독성실험 대상 퇴적물 정점 14개 가운데 가장 높은 부틸주석화합물 농도를 보인 정점이다(Table 4-3). 또한 정점 US8, KS1, MP1은 각각 230, 145, 235 µg/ml의 상대적으로 낮은 ED₅₀ 값을 보였는데, 이 3개 정점은 상대적으로 낮은 부틸주석화합물의 농도를 보이는 곳이다. 한편 2개의 blank 추출액(퇴적물 없이 시약만 넣어 추출된 것)은 모두 독성을 나타내지 않았다.

8세포기 발생독성 실험에서 얻어진 ED₅₀와 퇴적물 중의 총 부틸주석화합물의 농도와의 상관관계를 회귀분석을 통해 Fig. 4-9에 나타냈다. 울산에서 채취된 일련의 8개 정점의 결과는 예외적으로 높은 부틸주석 농도를 보인 정점 US4를 제외하였을 때는 상대적으로 높은 상관관계를($r^2=0.70$) 보였으나(Fig. 4-7), 정점 US4를 포함하였을 경우, 정점 US4의 영향으로 낮은 상관관계를($r^2=0.19$) 보였다(Fig. 4-8). 울산 지역외에 5개 정점(포항, 온산, 부산, 군산, 목포)의 경우 ED₅₀과 총 부틸주석화합물 농도간에 $r^2=72$

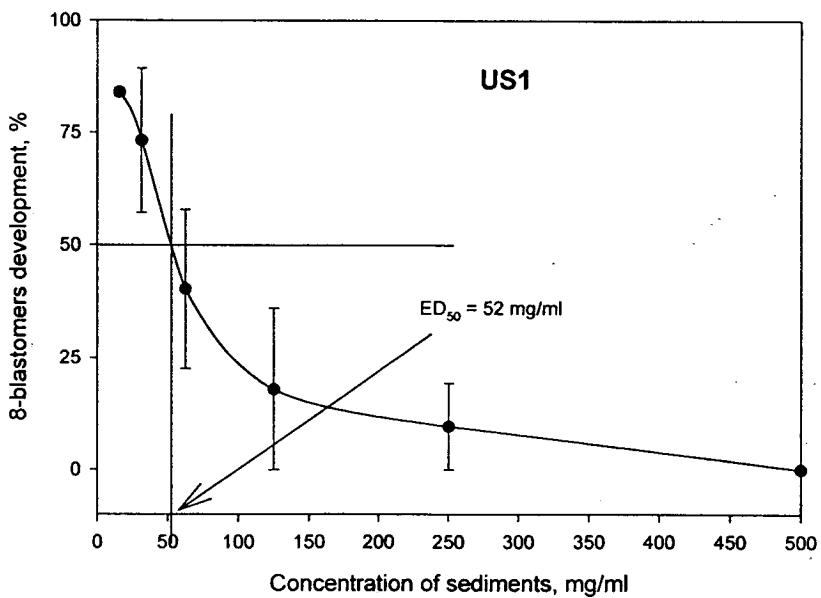
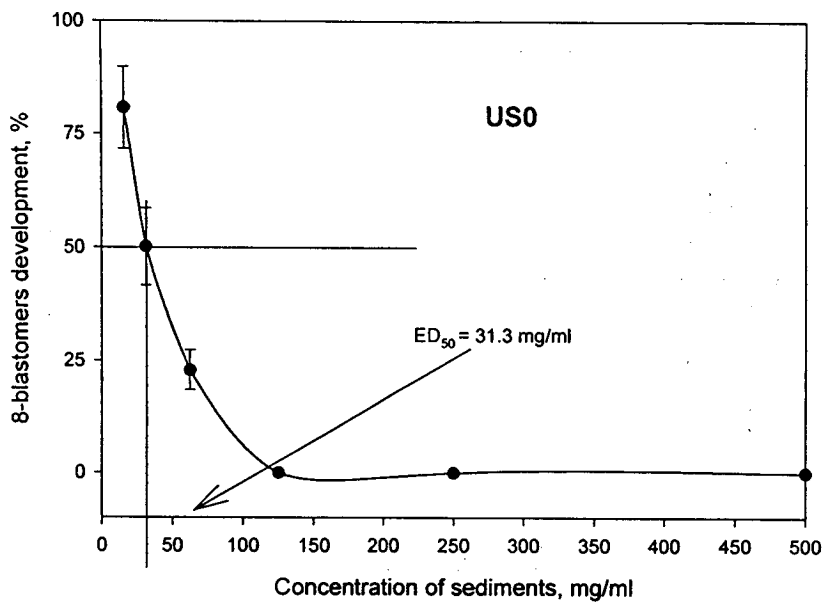
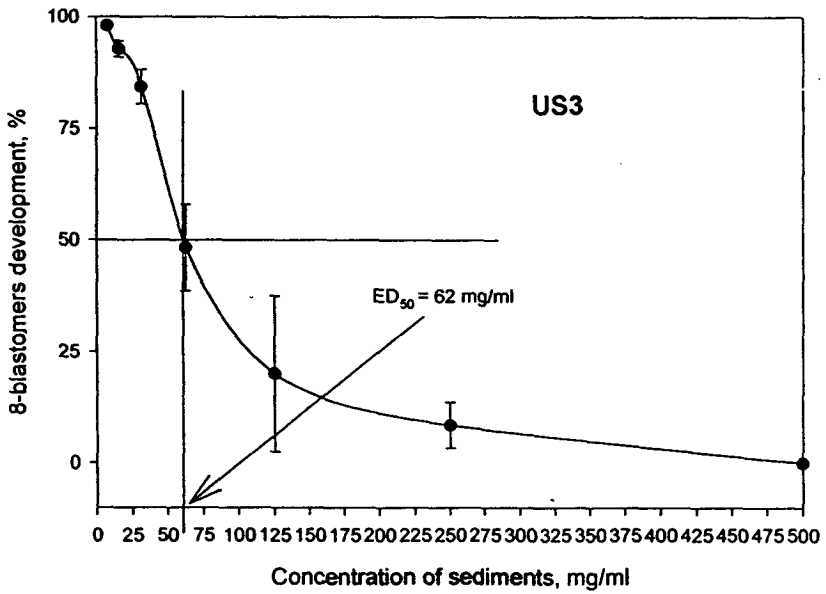
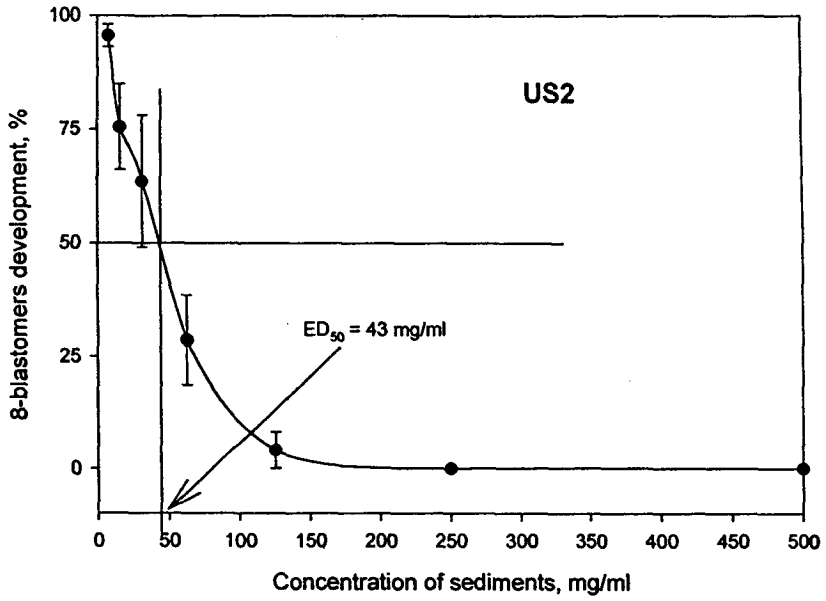
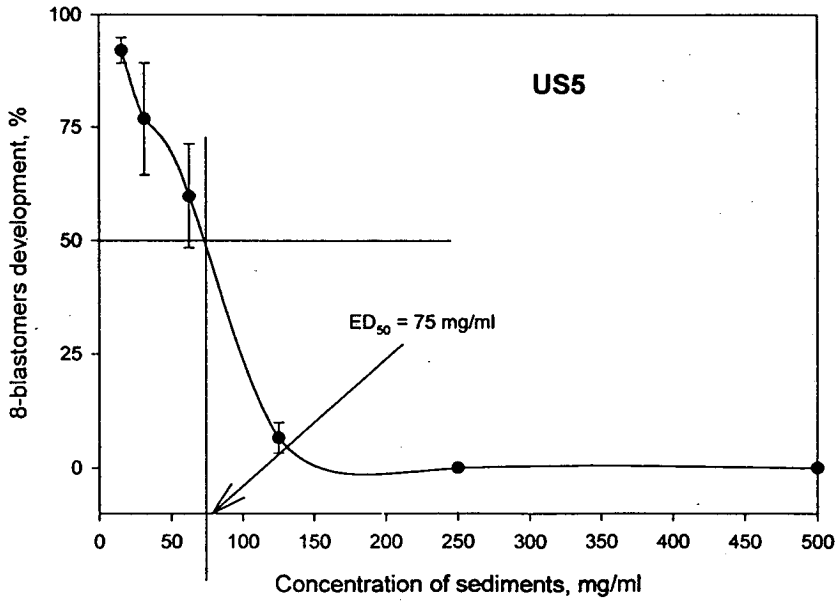
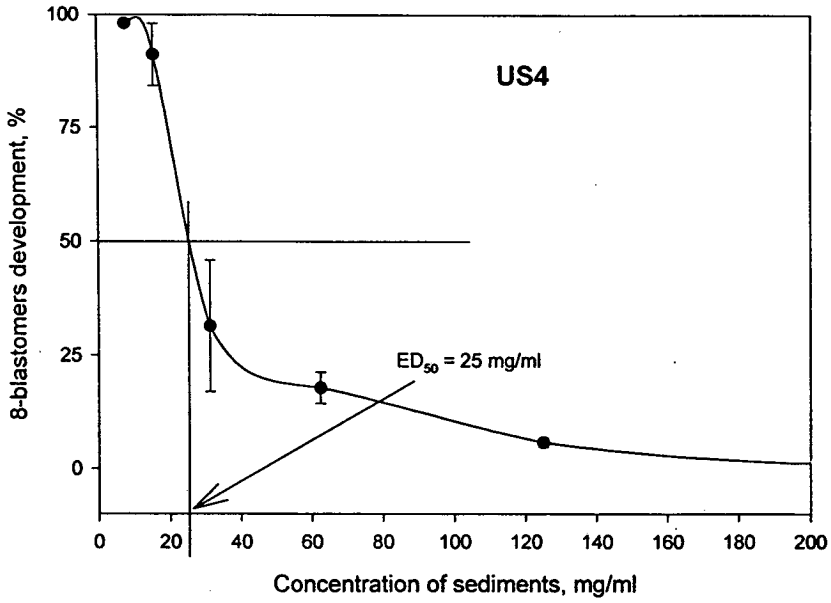


Fig. 4-6. Relationship between percent development to 8 blastomer cells and exposed organotin concentrations of sediment extracts in developmental toxicity test.

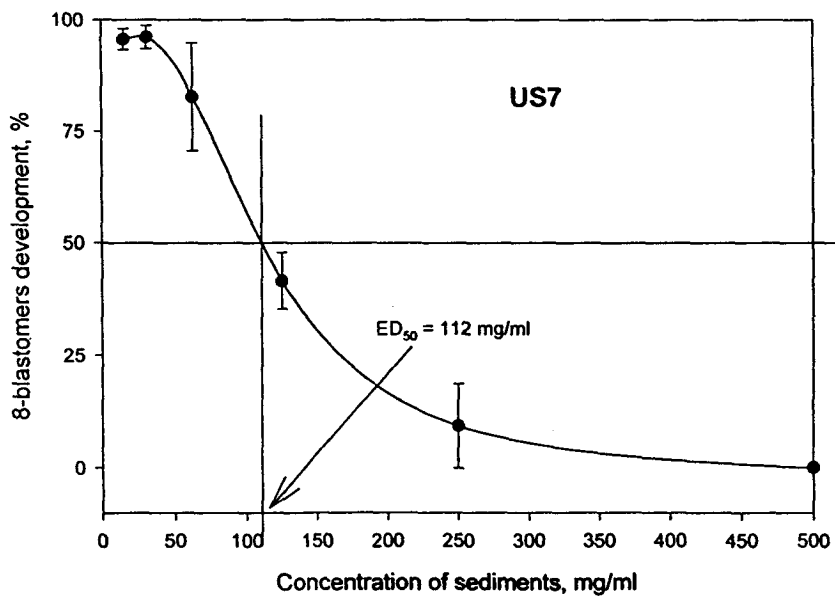
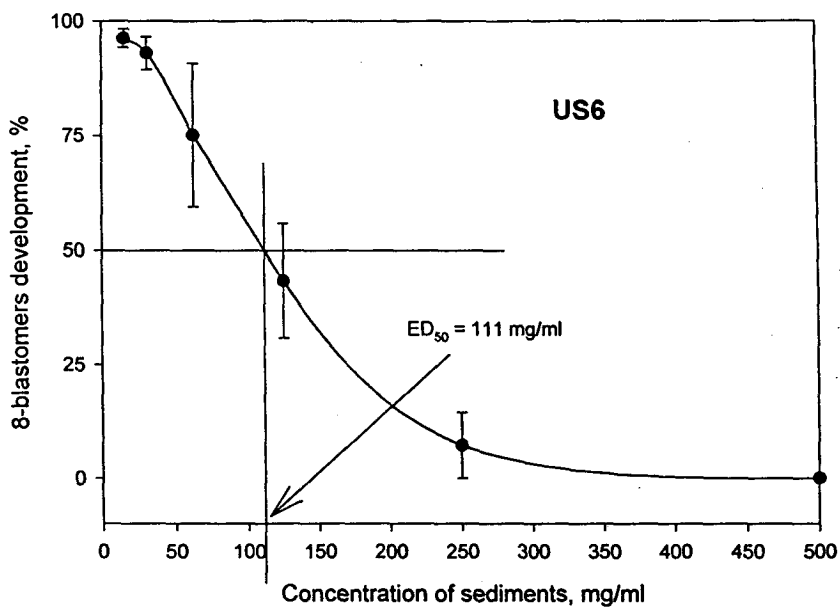
<continued>



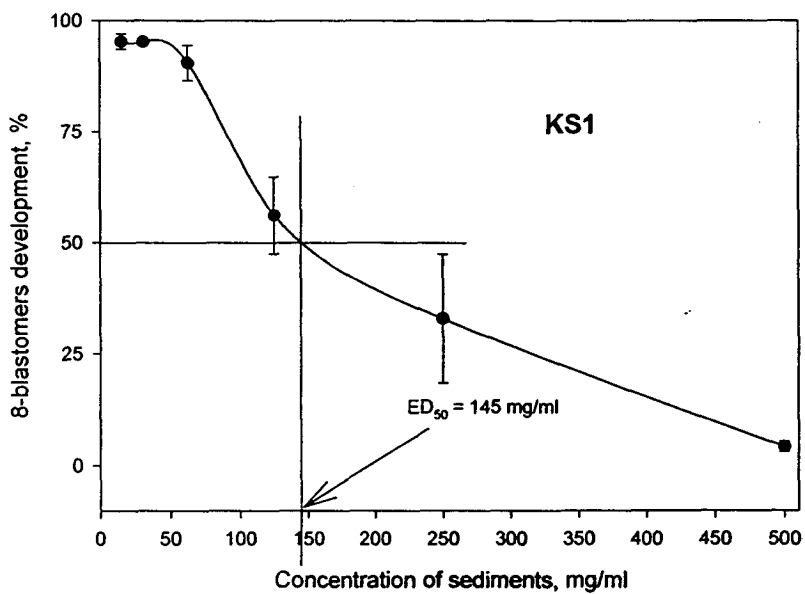
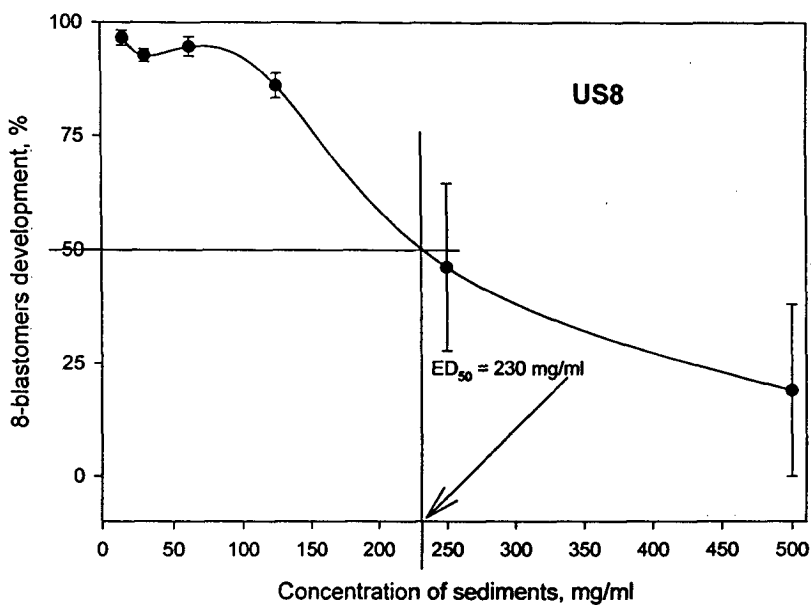
<continued>



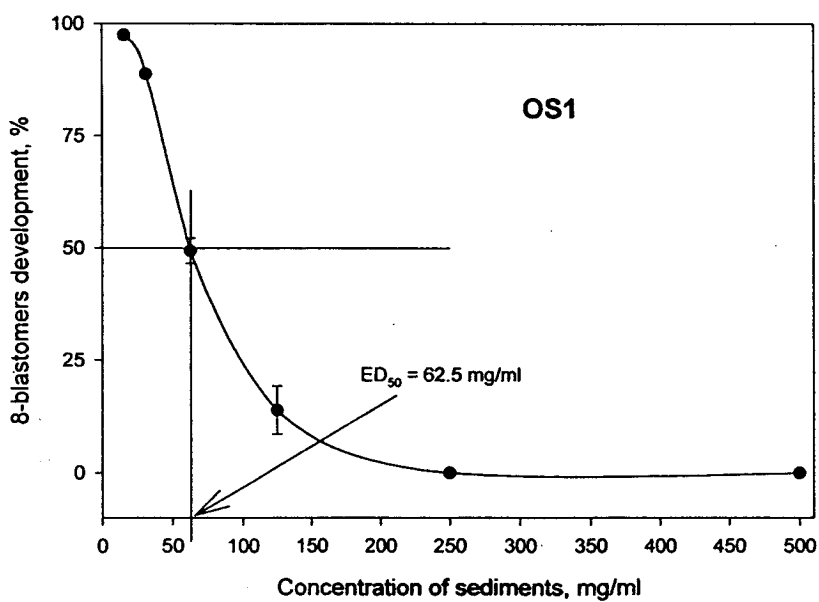
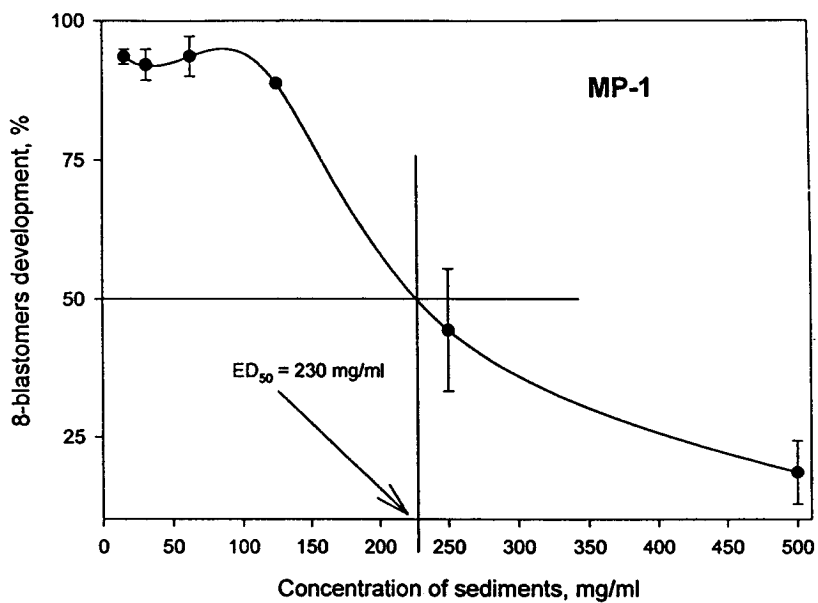
<continued>



<continued>



<continued>



<continued>

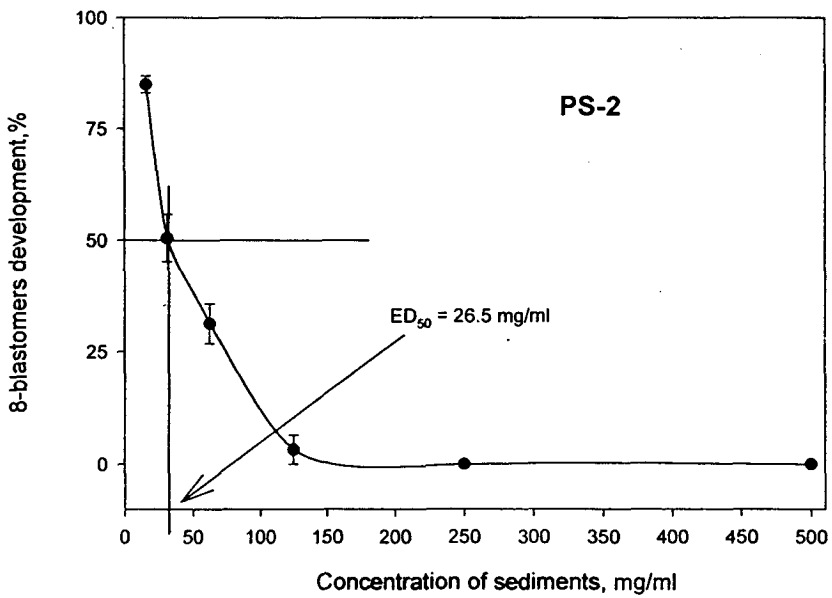
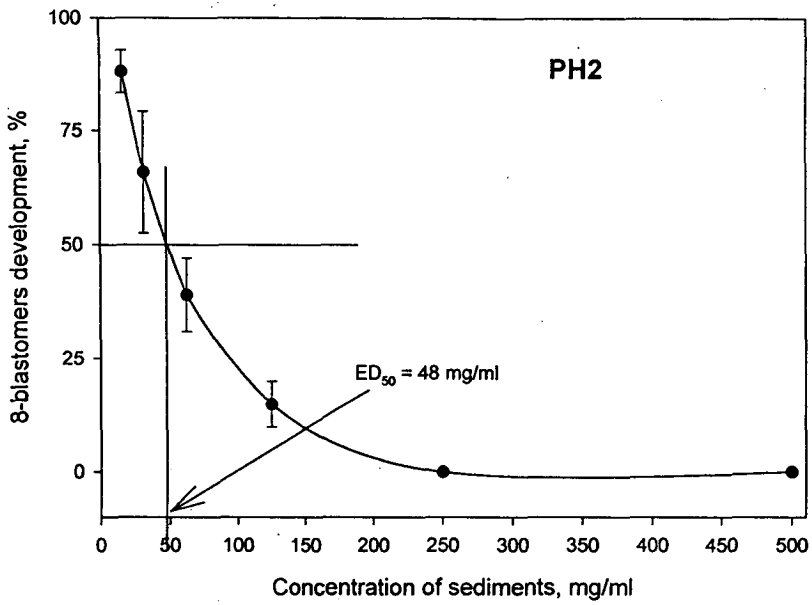


Table. 4-3. Butyltin concentrations ($\mu\text{g Sn/g}$ dry wt.) in sediments and toxicity (ED_{50}) of these extracts estimated with 8 blastomer test.

Stations	MBT	DBT	TBT	Total	ED_{50} , mg/ml
blank1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
blank2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
USO	3.12	2.92	3.24	9.28	31.3
US1	1.58	2.28	4.94	8.80	52
US2	1.04	1.45	5.15	7.64	43
US3	1.40	2.38	4.92	8.70	62
US4	6.95	25.45	66.50	98.90	25
US5	1.51	1.78	4.24	7.52	75
US6	0.03	0.07	0.98	1.08	111
US7	0.06	0.08	0.52	0.65	112
US8	0.00	0.00	0.13	0.13	230
PS2	0.25	0.26	0.89	1.40	26.5
PH2	0.04	0.14	0.74	0.92	48
OS1	0.03	0.05	0.41	0.49	62.5
KS1	0.00	0.00	0.03	0.03	145
MP1	0.00	0.00	0.03	0.03	235

Table. 4-4. Toxicity (threshold concentration in mg of sediments per ml of test solution) of sediment extracts with larva test.

Stations	Threshold concentration, mg/ml
US0	500
US1	500
US2	500
US3	500
US4	125
US5	500
US6	500
US7	500
US8	500
PS2	500
PH2	500
OS1	250
KS1	500
MP1	>500
blank	-

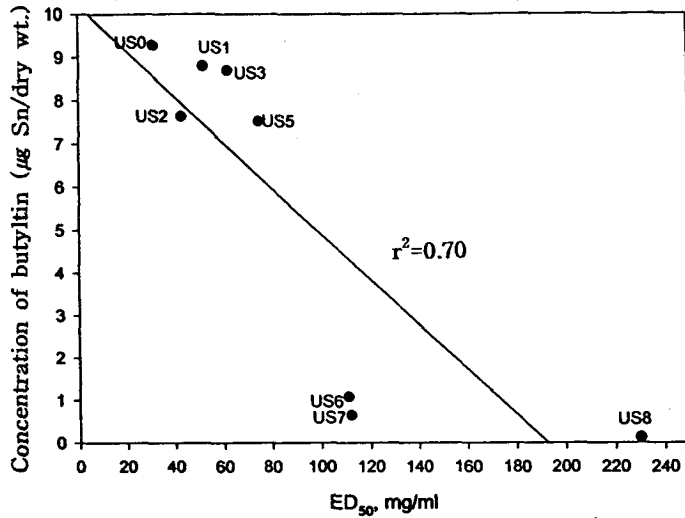


Fig. 4-7. Relationship between total butyltin concentrations in sediments from Ulsan Bay except station US4 and ED₅₀ estimated from 8 blastomer developmental toxicity tests.

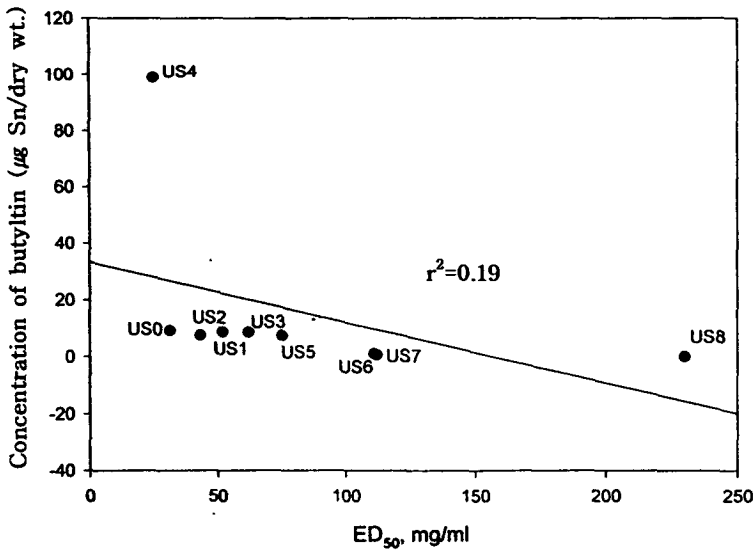


Fig. 4-8. Relationship between total butyltin concentrations in sediments from Ulsan Bay include station US4 and ED₅₀ estimated from 8 blastomer development toxicity tests.

의 상대적으로 양호한 상관관계를 보였다(Fig. 4-9). 정점 US4의 독성이 부틸주석화합물의 농도와 상관관계를 보이지 않는 것은 부틸주석화합물의 독성이 다른 물질에 의해서 영향을 받았거나, 아니면 부틸주석화합물과 본 독성실험 간에 비선형적인 상관관계를 보이는 것으로 해석할 수 있다. 그런데 표층퇴적물 중에는 본 실험에서 분석한 유기주석화합물외에도 농약, 중금속 등의 다른 여러 독성물질 및 기타 다른 화학물질이 존재하기 때문에 이들 물질간의 상호작용에 따른 상승 또는 억제 작용으로 인하여 비선형적인 관계를 보일 수 있을 것으로 사료된다.

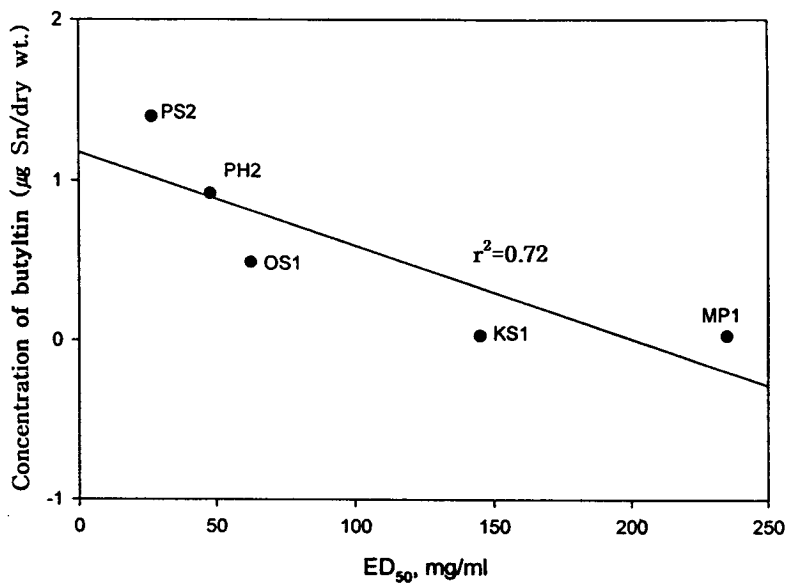


Fig. 4-9. Relationship between total butyltin concentrations in sediments from harbours other than Ulsan Bay ED₅₀ estimated from 8 blastomer developmental toxicity tests.

제 5 장

넙치를 이용한

유기주석화합물의 독성 연구



제 1 절 서 언

유기주석화합물은 산업적으로 다양하게 이용되고 있는 유기금속화합물 중 하나이다. '25년경부터 방충제의 성분으로 처음 사용된 이래로 PVC (polyvinyl chloride) 폴리머의 안정제로도 사용되었으며, 살충효과가 있음이 밝혀지면서(Thompson *et al.*, 1985) 살균제, 목재보존제, 감염방지제, 부착방지제 등의 용도로 농업과 산업에서 다양하게 이용되었다.

유기주석화합물은 결합된 유기주석의 개수에 따라 일유기주석(monoorganotin), 이유기주석(diorganotin)과 삼유기주석(triorganotin)으로 구분하는데, monoorganotin과 diorganotin은 대부분 PVC 폴리머의 안정제로 쓰이는데 비해서 triorganotin은 살생제의 효과가 있어 농약 성분으로 이용되며 선박이나 가두리 등의 수중구조물에 해양생물체가 부착하는 것을 막는 부착방지용 페인트의 성분으로 쓰이기도 한다. 이들 페인트나 어망에서 용출되어 나오는 유기주석화합물은 광분해(Seligman *et al.*, 1986)와 생물학적 분해과정(Reader and Pelletier, 1992; Lee *et al.*, 1989)을 거쳐 부유물질이나 퇴적물 그리고 생물 체내에 흡착되거나 축적(Laughlin, 1986; Dowson *et al.*, 1993)되는데, triorganotin은 특히 친유성이 강하여 입자성 물질에 더 잘 흡착된다고 알려져 있다(Maguire *et al.*, 1983; Dowson *et al.*, 1993). 독성은 triorganotin이 가장 강하며, 그 중에서도 특히 강한 트리부틸주석(tributyltin, TBT)이 주로 부착방지용 페인트에 사용된다. 이 물질은 종래에 부착방지제로 쓰였던 산화구리보다 효과는 더욱 좋으면서도 경제적이라는 잇점 때문에 '60년대 후반부터 급속히 사용량이 늘었다(Anderson & Dally, 1986).

이들 성분은 페인트와 결합되어 있다가 수화(hydration)를 통해 용출되면서 생물들이 부착하는 것을 막지만, 확산을 통해 비교적 근거리에 있는

비표적 생물에게도 무차별로 작용하므로 생태계에 지속적으로 영향을 미치게 된다. 실제로 TBT에 의한 생태계 교란 현상은 '80년대 초에 프랑스에서 참굴(*Crassostrea gigas*)의 패각기형과 개체군 감소를 통해 처음 보고되었다. 이후 독성실험을 통해서 TBT는 패류인 굴의 성장억제와 패각기형을 일으키며(Davies *et al.*, 1988; Lee, 1991; Michel, 1992; Nell & Chvojka, 1992; Stephenson *et al.*, 1986; Stephenson, 1991), 치패의 성장을 저해하며(Lawler & Aldrech, 1987), 홍합의 성장속도를 늦추는 것(Stephenson *et al.*, 1986)은 물론이고 유생의 생존율도 크게 낮춘다는 것이 밝혀졌고(Beaumont & Budd, 1984), 복족류에서는 임포섹스를 유발시키기도 한다(Bryan *et al.*, 1986, 1988; Gibbs & Bryan, 1986; Bailey & Davies, 1989; Short *et al.*, 1989; Smith & McVeagh, 1991; Horiguchi *et al.*, 1994; Ten Hallers-Tjabbes, 1994). 한편 어류의 경우, 찬넬메기는 면역조절과 이병성(罹病性)에 영향을 받고(Rice & Banes, 1994), 배스 유생은 생존율이 저하(Pinkney *et al.*, 1990)와 부화시간의 지연(Ylae-Mononen, 1989)이 일어나며, 망둥어는 성성숙지수의 감소, 정자생성의 저해와 난황축적의 저해 등을 받는데(Shimizu & Kimura, 1992), 성장 초기에는 그 영향이 더욱 크다(Fent, 1992; Fent & Meier, 1994). 더우기 어류의 면역에도 영향을 입히고(Dunier & Siwicki, 1993; Walker *et al.*, 1989), toadfish의 마크로파지에서는 활성산소(reactive oxygen)의 형성을 조장하고(Rice & Weeks, 1991), 활성도 줄인다(Wishkovsky *et al.*, 1989). 한편, 저질에 서식하는 polychaete와 amphipod, copepods의 양도 줄인다는 것이 알려져 있으며(Mattiessen & Thain, 1989; Meador *et al.*, 1993; Hall, 1988), 해양세균에게도 영향을 미치고(Suzuki *et al.*, 1991; Uchida, 1993, 1994), 먹이사슬의 개시자인 해양플랑크톤도 주석화합물을 농축한다고 알려져 있다(Choles *et al.*, 1989).

이처럼 해양생물에게 유해한 영향을 미치는 유기주석화합물은 우리나라의 대부분의 연안에서도 확인되고 있으며(서울대학교, 1996), 특히 항구나 조선소가 위치한 만 안쪽에서 높았고, 한국해양연구소(1996)가 조사한 바에 따르면 조사대상인 대수리, 참굴, 진주담치 등의 패류에서 주석화합물을 검출하였으며, 임포섹스는 TBT농도와 상관관계가 있음이 밝혀졌다. 이처럼 우리나라의 연안환경이 TBT에 의해 상당히 오염되었음에도 불구하고 그동안 이에 관한 연구는 매우 드물었고, 조사된 결과들도 대부분 패류를 중심으로한 생물농축 등의 영향을 조사하고 있을 뿐이며 어류에 대한 영향을 조사한 경우는 더욱 드물다. 하지만 앞서도 언급하였듯이, TBT농도가 높은 만 안쪽은 해산가두리 양식이 활발하게 이루어지는 곳이기도 하고, 또한 TBT가 어망처리시에도 사용된다는 점을 감안한다면 양식어류에 미치는 영향도 반드시 검토되어야 할 것이다. 따라서, 본 연구에서는 유기주석화합물이 양식어류에게 어떠한 영향을 미치는지를 조사하기 위하여 tributyltin chloride(TBTC)를 넙치에게 강제적으로 노출시켰을 적에 혈액학적 및 효소학적으로 어떻게 반응을 일으키는지 조사하였다.

제 2 절 재 료 및 방 법

1. 실험어류

실험에 사용한 넙치는 강릉시 강동면에 위치한 일반 넙치양식장에서 구입하였다. 유해물질 노출에 따른 개체간의 오차를 줄이기 위하여 되도록 같은 암컷에서 부화하여 성장이력이 같은 것들을 사용하였고 체중도 일정한 범위 (350~400 g)에 속하는 것을 선별하여 사용하였다(Table 5-1). 구

Table 5-1. Experimental conditions of olive flounder.

Exposed period (day)	Exposed conc. (ppb)	Body weight (g)	Body length (cm)	Sometric index	
				HSI	GSI
0	0	423-490	30.0-32.0	1.5-1.8	0.7-1.1 (♀)
1	2	315-376	30.5-31.5	1.3-1.4	0.2-0.3(♂), 0.7(♀)
	10	327-365	31.0-32.0	1.4-1.6	0.1-0.3(♂), 0.4-0.7(♀)
	20	318-408	31.3-32.0	1.3-2.3	0.1(♂), 0.6(♀)
2	2	279-337	28.2-30.7	1.4-1.8	0.1(♂), 1.0(♀)
	10	287-431	30.0-32.5	1.4-1.9	0.1-0.3(♂), 0.6(♀)
	20	292-339	28.8-30.9	1.3-1.7	0.4-0.7(♀)
4	2	300-417	29.8-31.7	1.5-1.6	0.1(♂), 0.6(♀)
	10	287-385	29.0-31.9	1.4-2.2	0.1-0.3(♂), 0.5(♀)
	20	323-433	29.8-32.3	1.4-1.8	0.1-0.3(♂), 0.7(♀)
6	2	357-409	30.5-32.5	1.6-1.9	0.1(♂), 0.8(♀)
	10	339-356	28.5-30.5	1.6-1.9	0.1-0.3(♂)
	20	265-340	28.7-31.0	1.2-1.9	0.2-0.3(♂)
10	2	341-422	30.0-30.5	2.0-2.5	0.2-0.5(♂), 0.9(♀)
	10	312-362	28.8-31.1	1.5-1.9	0.2-0.3(♂), 0.7(♀)
	20	296-340	29.5-30.0	1.6-2.1	0.3(♂), 0.5(♀)

입한 넙치는 사육실험 장소인 강릉시 주문진읍에 위치한 강릉종묘배양장으로 옮겨 실험에 들어가기까지 raceway형 콘크리트 수조에 수용하였다.

2. 사육 및 TBT 노출

노출실험을 위하여 콘크리트 수조에 수용했던 넙치를 작은 크기의 수조(60×30×45 cm)에 6~8 마리씩 나누어 수용시켰다. TBTC는 에탄올에 녹인 다음 각각 2, 10, 20 ppb 농도가 되도록 수조에 투여하였으며, 각 농도구는 3 배수로 실시하였다. 해수는 여과한 자연해수를 사용하였고, 수조는 이틀에 한번꼴로 전량 교환(static-renewal)하였고 그 때마다 TBTC도 투여하여 정해진 농도를 유지하였다. 사육 중에는 용존산소를 충분히 공급하기 위해 aeration 하였으며, 사육기간 중 수온은 5~9℃의 범위였고, 먹이는 매일 오전 9시경에 시판용 EP사료를 1회 공급하였다. 한편, 대조구의 넙치가 수온 저하로 인해 폐사하였기에, 실험 종료후에 별도로 넙치양식장에서 사육 중인 넙치를 사용하였다.

Table 5-2에 각 항목의 반응원리와 단위 및 측정과장 등을 정리하였다.

Table 5-2. Measured items and reaction principles in blood.

항 목	반 응 원 리	단 위	측정 과장(mm)
ALT	$\text{alanine} + \alpha\text{-ketoglutarate} \xrightarrow[\text{P-5-P}]{\text{ALT}} \text{pyruvate} + \text{glutamate}$ $\text{pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{lactate} + \text{NAD}^+$	U/l	340
ALB	$\text{albumin} + \text{bromcresol green} \longrightarrow \text{BCG-albumin complex}$	g/dl	630

<Continued>

항 목	반 응 원 리	단 위	측정 파장(nm)
ALKP	$\text{p-nitrophenyl phosphate} \xrightarrow[\text{Mg}^{++}]{\text{ALKP}} \text{p-nitrophenol} + \text{H}_3\text{PO}_4$	U/ℓ	400
AMYL	$\text{dyed starch} \xrightarrow{\text{amylase}} \text{dyed saccharides}$	U/ℓ	555
AST	$\text{aspartate} + \alpha\text{-ketoglutarate} \xrightarrow[\text{P-5-P}]{\text{AST}} \text{oxaloacetate} + \text{glutamate}$ $\text{oxaloacetate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{malate} + \text{NAD}^+$	U/ℓ	340
Ca	$\text{Ca}^{2+} + \text{arsenazo III} \xrightarrow[\text{pH 5.6}]{} \text{colored complex}$	mg/dℓ	680
Cl ⁻	differential potentiometry	mM/ℓ	
CHE	$\text{butyrylthiocholine} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{CHE}} \text{thiocholine} + \text{butyrate}$ $2 \text{ thiocholine} \xrightarrow{} \text{dithiobis(choline)}$ $2 \text{ potassium ferricyanide} \xrightarrow{} 2 \text{ potassium ferrocyanide}$	U/ml	400
LDH	$\text{pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{lactate} + \text{NAD}^+$	U/ℓ	340
LIPA	$1\text{-oleoyl-2,3-diacetylglycerol} \xrightarrow{\text{lipase colipase}} \text{2,3-diacetylglycerol} + \text{oleic acid}$ $2,3\text{-diacetylglycerol} \xrightarrow{\text{diacetylase}} \text{glycerol} + \text{acetic acid}$ $\text{glycerol} + \text{ATP} \xrightarrow[\text{MgCl}_2]{\text{glycerol kinase}} \text{L-}\alpha\text{-glycerolphosphate} + \text{ADP}$ $\text{L-}\alpha\text{-glycerol phosphate} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{L-}\alpha\text{-glycerol phosphate oxidase}} \text{dihydroxyacetone phosphate} + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{leuco dye} \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{dye} + 2 \text{H}_2\text{O}$	U/ℓ	540

<Continued>

항 목	반 응 원 리	단 위	측정 파장(nm)
LIPA	$\begin{array}{l} \text{1-oleoyl-2,3-} \\ \text{diacetylglycerol} \end{array} \xrightarrow{\text{lipase colipase}} \begin{array}{l} \text{2,3-diacetylglycerol} \\ \text{oleic acid} \end{array}$ $\text{2,3-diacetylglycerol} \xrightarrow{\text{diacetylase}} \text{glycerol + acetic acid}$ $\text{glycerol+ATP} \xrightarrow[\text{MgCl}_2]{\text{glycerol kinase}} \begin{array}{l} \text{L-}\alpha\text{-glycerolphosphate} \\ \text{+} \\ \text{ADP} \end{array}$ $\begin{array}{l} \text{L-}\alpha\text{-glycerol} \\ \text{phosphate} \end{array} + \text{O}_2 \xrightarrow[\text{phosphate}]{\text{L-}\alpha\text{-glycerol} \\ \text{oxidase}} \begin{array}{l} \text{dihydroxyacetone + H}_2\text{O}_2 \\ \text{phosphate} \end{array}$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{leuco dye} \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{dye} + 2 \text{H}_2\text{O}$	U/ℓ	540
PHOS	$\begin{array}{l} \text{inorganic} \\ \text{phosphate} \end{array} + \begin{array}{l} \text{ammonium} \\ \text{molybdate} \end{array} \xrightarrow{\text{pH 4.2}} \begin{array}{l} \text{ammonium} \\ \text{phosphomolybdate} \\ \text{complex} \end{array}$ $\begin{array}{l} \text{ammonium} \\ \text{phosphomolybdate} \\ \text{complex} \end{array} \xrightarrow{\text{p-methylamino} \\ \text{phenol sulfate}} \begin{array}{l} \text{heteropolymolybdate} \\ \text{blue} \end{array}$	mg/dℓ	660
K ⁺	differential potentiometry	mM/ℓ	
Na ⁺	differential potentiometry	mM/ℓ	
TBIL	$\text{total bilirubin} \xrightarrow[\text{[4-(N-carboxymethyl} \\ \text{sulfamyl)-benzene} \\ \text{diazonium hexafluorophosphate]}]{\text{dyphylline}} \text{azobilirubin chromophores}$	mg/dℓ	555
TP	$\text{protein+cupric tartarate} \xrightarrow{\text{LiOH}} \text{colored complex}$	g/dℓ	555

3. 혈액검사

혈액은 넵치를 수조에서 꺼내어 바로 미부정맥으로부터 주사기(3 ml용)를 사용하여 채혈하였으며, 헤파린을 처리하지 않은 소형 시험관에 옮긴 뒤 얼음을 채운 용기안에서 1시간 가량 방치하여 자연침강시켜 실험실로 옮겼다. 이후 시험관의 혈액은 원심분리(3,000 rpm, 20분)를 하여 혈청을 얻었다. 혈청은 1.5 ml용 eppendorf tube에 담아 분석하기까지 -45°C 의 냉동고에서 보관하였다. 분석은 혈액분석기(Vitros DTII system, Johnson & Johnson Clinical Diagnostics Inc., USA)를 사용하였으며, 원심분리하여 얻은 혈청 10 μl 를 항목별로 정해진 슬라이드에 분주하므로써 자동적으로 측정하였으며, alkaline phosphatase(ALKP), alanine aminotransferase (ALT), amylase(AMYL), aspartate aminotransferase(AST), cholinesterase (CHE), lactate dehydrogenase(LDH), lipase(LIPA) 등의 각종 효소치와 총 단백질(total protein, TP), 알부민(albumin, ALB), 총비리루빈(total bilirubin, TBIL), 칼슘(Ca), 인(PHOS) 및 Na^+ , K^+ , Cl^- 등의 전해질 농도를 측정하였다.

4. 약물대사효소

넵치의 간장을 사용하여 약물대사(해독) 효소인 cytochrome P-450과 cytochrome b₅를 측정하였다. 이를 위해서는 각 조직으로부터 마이크로솜(microsome) 획분을 얻어야만 하며, 그 방법은 다음과 같다. 즉, 조직을 0.25 M sucrose 용액과 함께 Potter-Elvehjem형 teflon축-glass homogenizer (Wheaton, USA)를 써서 균질화 하고나서 4°C 에서 $9,000\times g$ 로 20분간 냉각원심분리(Hanil, Korea)를 하였다. 원심분리후 핵과 미토콘드리아 등이

침전한 잔사는 버리고 상등액을 모아 다시 105,000×g로 60분간 초원심분리(himac 65β, Hitachi, Japan)를 한 후 가용성 성분이 포함된 상등액은 버리고 마이크로솜 획분인 침전만을 모아 재차 같은 용매와 함께 초원심분리를 하였다. 이 획분을 0.25 M sucrose로 현탁하여 시료 원액으로 사용하였다.

Cytochrome P-450의 측정은 cytochrome P-450가 환원형에서 CO와 결합하면 450 nm 부근에서 극대흡수가 생긴다는 것을 이용하여, 환원형 cytochrome P-450의 CO화합물과 환원형 cytochrome P-450과의 차이스펙트럼을 이용한 Omura and Sato(1965)의 방법으로 하였다. 즉, 조직 미크로솜 현탁액인 시료 원액에 0.1 M 인산염 완충액(pH 7.5)을 넣어 단백질 농도가 0.5~1.0 mg/ml이 되도록 희석하고는 2개의 셀(시료용과 대조구용)에 나누어 붓는다. 400~500 nm까지의 baseline을 기록한 다음 시료셀에 약 1분간 일산화탄소를 통기하고, 이어서 소량(1~2 mg)의 Na₂S₂O₄를 시료셀에만 넣고 잘 섞는다. 다시 400~500 nm 간의 스펙트럼(일산화탄소결합차 스펙트럼)을 기록하고, 일산화탄소결합차 스펙트럼에서 구한 450 nm(최대흡수 지점)와 490 nm의 흡광도차와 baseline에서 구한 450 nm와 490 nm 흡광도차와의 차이로 OD₄₅₀₋₄₉₀을 구한 다음, 원자흡광계수 91 cm⁻¹mM⁻¹을 곱하여 다음의 식을 써서 cytochrome P-450 함량을 구한다.

$$\frac{OD_{450-490}}{91 \times \text{간장미크로솜단백질함량}(mg/ml)} \times 10^3 = \text{cytochrome P-450 (nmol/mg단백질)}$$

그리고 cytochrome b₅의 측정은 시료 원액에 0.1 M 인산염 완충액(pH 7.5)을 단백질 농도가 0.5~1.0 mg/ml 가 되도록 부은 다음, 대조구셀과 시료셀에 분주하고 400~500 nm까지의 baseline을 기록한다. 이어서 2.28 mM NADH 용액을 부어 최종농도가 0.2 mM이 되도록하고 다시 400~500 nm 간의 스펙트럼을 기록하여 424 nm(최대흡수 지점)와 490 nm의 흡광도차와 baseline에서 구한 424 nm와 490 nm 흡광도차와의 차이로 OD₄₂₄₋₄₉₀

을 구한 다음, 원자흡광계수 $185 \text{ cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$ 을 곱하여 다음의 식으로 cytochrome b_5 함량을 산출하였다.

$$\frac{OD_{423-500nm}}{185 \times \text{간장미크로솜단백질함량}(mg/ml)} \times 10^3 = \text{cytochrome } b_5 \text{ (nmol/mg단백질)}$$

한편 조직 미크로솜의 단백질 함량은 Lowry 등(1951)의 방법으로 정량하였다. 즉, 시료 원액인 조직 미크로솜 현탁액 0.05 ml(<100 μg 단백질)를 작은 시험관에 넣고 증류수를 0.05 ml 넣는다. 시약(2% Na_2CO_3 가 들어있는 0.1N NaOH 용액 100 : 2% 주석산칼륨소다 1 : 1% $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1의 혼합용액)을 2.0 ml 넣어서 잘 섞은 다음에 실온에서 10분간 방치하였다가 0.2 ml Folin시약을 넣고는 바로 교반하여 다시 실온에 방치한다. Folin 시약을 넣은지 30분 후에 750 nm에서 흡광도를 측정한다. 소혈청알부민 수용액 0.05 ml(20~100 μg)를 작은 시험관에 넣고 여기에 조직 미크로솜을 현탁한 것과 똑같은 조성의 완충액을 0.05 ml 첨가하고는 앞의 방법에서 얻어진 표준곡선으로 단백질을 정량하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 중간치사농도의 설정

TBTC의 넙치에 대한 반수치사농도(LD₅₀)를 조사하고자, 1차로 200 ppb, 500 ppb, 1000 ppb(= 1 ppm)의 농도에 넙치를 노출시켰더니 6시간 이내에 전부 폐사하였다. 그래서 2차로 20 ppb, 50 ppb, 100 ppb에 노출시켜 조사하였더니 96시간이 경과한 후에도 모두 살았다. 따라서 LD₅₀은 100~200 ppb 사이의 농도임을 짐작할 수 있었다. 관련하여, TBTO의 girella (*Girella punctata*)에 대한 48hr-LC₅₀은 5.2 ppb이고, 96hr-LC₅₀은 3.2 ppb이며(Kakuno and Kimura, 1987), 해산 망둥어(*Chasmichthys dolichognathus*)의 96hr-LC₅₀은 4 ppb였으며(Shimizu and Kimura, 1987), chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)의 TBTO에 대한 96hr-LC₅₀은 1.5 ppb이다(Short and Thrower, 1987). 따라서 넙치는 이들보다 훨씬 내성이 강할 것으로 여겨진다.

2. HSI 및 GSI

TBTC의 노출농도와 노출기간에 따른 간중량지수(hepatosomatic index, HSI)와 성성숙지수(gonadosomatic index, GSI)를 조사하여 보았으나, 뚜렷한 상관관계는 보이지 않았다. 유해물질에 노출된 어류에서 이들이 위축한다고 알려져 있지만(Holm *et al.*, 1991; Shimizu and Kimura, 1987), 이처럼 차이가 생기는 것은 본 실험이 10 일간이라는 매우 짧은 기간안에 이루어졌기 때문일 것으로 여겨진다.

3. 장기 소견

장기 적출을 위해 넙치를 해부하였더니, TBTC 노출 1일째에 이미 간장 조직에서 울혈을 관찰할 수 있었으며, 실험 종료시까지 특별히 증가하는 경향은 보이지 않았다. 이것은 TBTC에 의해 넙치의 간장이 장애를 입었음을 말해준다.

4. 혈액분석

노출농도와 노출기간을 달리한 넙치로부터 채혈하여 혈액 중의 총단백 질량과 albumun 함량을 조사한 결과는 Fig. 5-1~5-2와 같다.

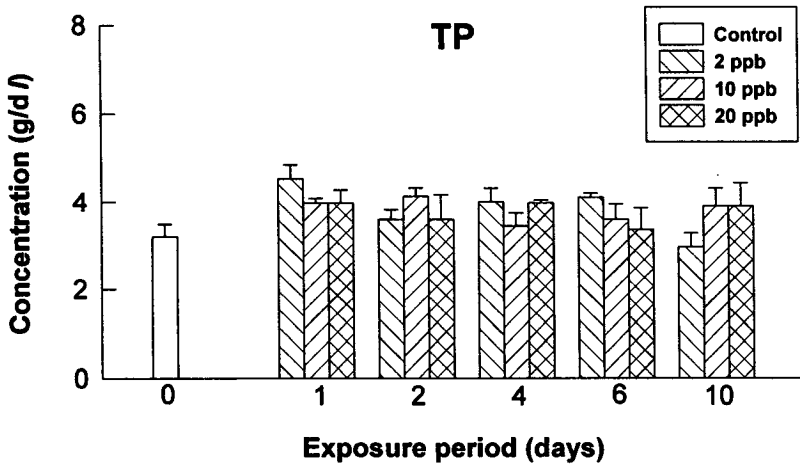


Fig. 5-1. Changes of total protein(TP) concentration (g/dl) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

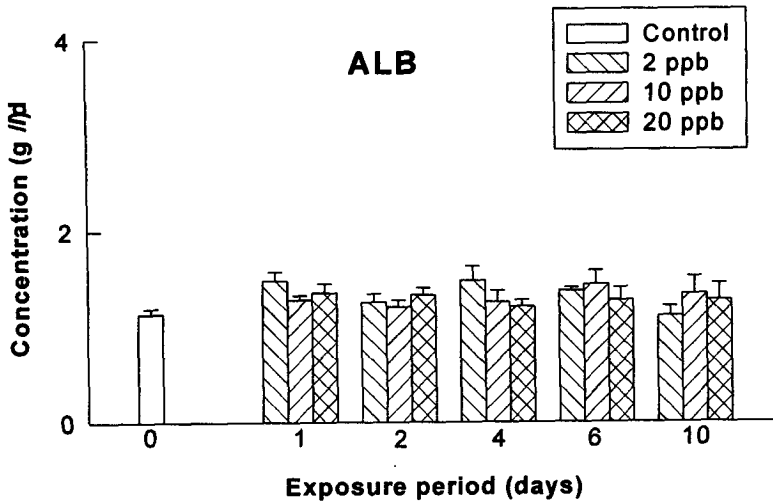


Fig. 5-2. Changes of albumin (ALB) concentration (g/dl) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

Fig. 5-1에서 알 수 있듯이, TBTC에 노출시킨 넙치의 혈액중 총단백질 (TP) 함량은 노출농도와 노출기간에 뚜렷한 양상을 보이지 않았다. 하지만 이것은 짧은 실험기간(10일)에서 얻어진 결과이므로 이것으로 TBTC에 의해 영향을 받지 않는다고 결론짓기에는 무리가 있을 것으로 보인다.

혈액중 TP 함량은 성장(Bentinck *et al.*, 1987), 성별(Raizada *et al.*, 1984), 연령(Fasaic and Palackova, 1990), 계절적 변동(Nakagawa *et al.*, 1977; Siddiqui, 1977a; 1977b), 질병(Harbell *et al.*, 1979; Ikeda and Minami, 1982; Quentel and Aldrin, 1986), 운동량(Xu and Cao, 1989), 섭이 상태, 수질 환경(Weber, 1979; 山脇 등, 1986; Byrne *et al.*, 1989), 스트레스(McLeay and Brown, 1979) 등에 의해서 차이를 보인다고 알려져 있으며, 경골 어류의 TP 함량은 4~7 g/dl의 수준(Turner, 1937;

Yanagisawa & Hashimoto, 1984)으로 알려져 있다. 본 실험기간 중에는 평균 2.9~4.5 g/dl의 수준이었으며, 전 등(1995)이 저수온기에 해상가두리에서 사육한 넙치의 2.9 g/dl과 비슷한 수준이었다.

그리고, 본 실험기간 중에는 매일 먹이를 1회 공급했음에도 불구하고 넙치들은 거의 먹지 않았는데, 그런데도 전반적으로 TP 함량이 뚜렷하게 줄어들지 않은 것은 아마도 실험기간이 짧은 탓에 생체내 타 성분이 단백질로 대사되어 일정한 수준을 유지한 때문일 가능성도 있어 향후 중·장기간에 걸친 노출실험의 필요가 있겠다.

한편, 단백질 함량과 함께 그 조성중 알부민(albumin, ALB)의 함량도 어류의 영양상태를 파악하는데는 매우 중요하다. ALB는 간장에서 합성되기 때문에 간장에 장애를 입게되면 혈청 중 ALB 함량이 줄어들고, 이로 인하여 알부민과 글로부린의 비(A/G ratio)도 저하한다.

Fig. 5-2는 ALB의 경시적인 변화를 나타낸 것인데, TP(Fig. 5-1)와 마찬가지로 뚜렷한 변화 모습은 보이지 않았다. 관련하여, A/G ratio도 0.4~0.6의 비교적 안정된 수준을 유지하였다(미발표 자료).

Fig. 5-3은 넙치 혈액 중의 ALKP 활성의 변화를 나타낸 것인데, ALKP는 주로 monoesterified phosphoric acid를 가수분해 하는 효소 가운데 알카리(pH 9.8 부근)에서 활성을 나타내는 효소로서, 사람의 경우 주요 유래장기는 물질교환이 왕성하게 일어나는 부위인 간장, 골격, 소장이다. ALKP는 이들 부위의 세포벽에 분포하기 때문에 이들 장기가 손상을 입으면 이상치를 나타낸다(李·金, 1988). 특히 간담도 질환이 생겼을 경우에는 특이적으로 상승하므로 이런 질환을 파악할 적에 쓰인다. 비록 사람에서는 통상 5개의 isozyme의 존재한다고 하며, 이들 중 ALKP₁와 ALKP₂가 간장 질환과 밀접한 상관이 있으므로 이들의 구성을 조사하는 것이 바람직하겠지만, 어류에서는 분명치 않아, 본 실험에서는 총활성을 조사하였다.

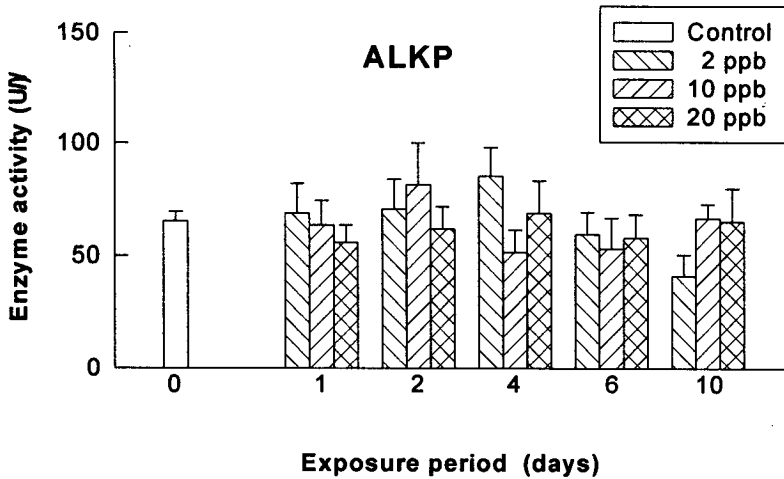


Fig. 5-3. Changes of alkaline phosphatase (ALKP) activity (U/l) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

그림에서도 알 수 있듯이, 전반적으로 효소 활성은 노출시간이 경과하면서 약간 증가하는 경향을 보인 듯 하지만 대조구의 효소 활성이 65 U/l 이었고, 사람의 경우에도 정상 수준의 범위가 40-120 U/l로 광범위하다는 점을 감안한다면 영향을 입는 것으로 보기는 어렵다.

Fig. 5-4와 Fig. 5-5는 넙치의 TBTC 노출에 따른 혈중 ALT과 AST의 활성변화를 각각 나타낸 것이다. 이들 두 효소는 대표적인 아미노산 전이 효소로서 거의 모든 장기에 존재하지만 AST는 심근, 간장과 골격근에 많고, ALT는 간장에 특별히 많아 그 특이성이 인정된다. 더욱이 이들은 혈중 효소로 측정되고 있는 유출효소(releasing enzyme) 중 대표적인 효소로서 세포가 손상을 입으면 세포밖으로 빠져나와 혈중으로 유출되기 때문에 간장 장애의 유무를 판정하는데 널리 쓰인다.

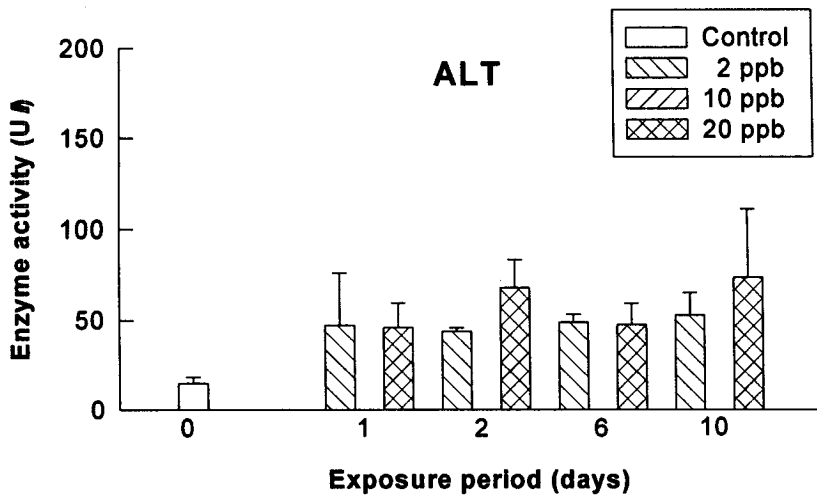


Fig. 5-4. Changes of alanine aminotransferase(ALT) activity(U/l) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

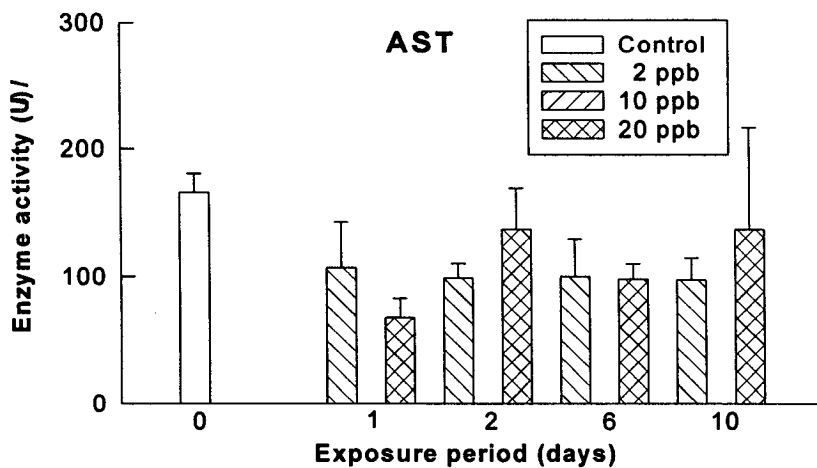


Fig. 5-5. Changes of aspartate aminotransferase(AST) activity (U/l) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

일반적으로 정상인 사람은 두 효소의 활성이 40 이하에서 비슷한 수준이고, 급성의 간장 장애를 받으면 ALT가 AST에 비해 크게 상승하지만, 중증이 되면서 AST가 ALT보다 높게 나타나는 경향이 있다. 하지만 전 등(1995)에 따르면 어류의 경우에는 대부분 AST활성이 ALT에 비해 높았다고 하였다. 즉, 저수온기에 해상가두리에서 양식 중인 은연어, 조피볼락, 농어, 넙치, 돌돔, 전갱이 등을 조사하였더니, 모든 어종에서 AST활성이 ALT에 비해 높았다. 은연어의 경우에는 AST와 ALT 활성이 각각 363 U/l와 10 U/l였고, 조피볼락에서는 19 U/l와 6 U/l, 농어에서는 14 U/l와 4 U/l, 넙치에서는 112 U/l와 95 U/l, 돌돔에서는 24 U/l와 2 U/l, 전갱이에서는 128 U/l와 19 U/l였다. 이와 같은 경향은 고수온기의 같은 종류의 양식어류에서도 마찬가지였기에(전 등, 미발표자료), AST가 ALT에 비해서 높은 것은 어류의 특징인 듯하다. 따라서 본 실험에서 ALT에 비해서 AST 수준이 높았던 것은 TBTC에 노출되었기 때문은 아닌 것으로 판단된다.

한편, ALT의 경우(Fig. 5-4), 대조구에 비하여 노출 농도가 클수록 또한 노출기간이 늘어날수록 다소간 증가하는 경향을 보였다. 그리고 이런 경향은 AST(Fig. 5-5)에서도 20 ppb-노출구에서는 확인되었다. 이 결과로 미루어 ALT는 TBTC에 노출농도와 기간과에 상관하여 변화하며, AST는 농도와 상관하여 영향을 받는 것으로 여겨진다.

넙치의 TBTC 노출에 따른 혈중 cholinesterase(CHE)의 활성변화는 Fig. 5-6과 같다. 이 효소는 간장에서 합성되어 혈청으로 유리되며 신경, 근육계 및 지질대사에 관여하는 것으로 생각되고 있고, 임상적으로는 간장 장애로 인해 활성이 감소하므로 만성간질환 장애의 정도를 파악하는데 자주 이용되며, 본 효소의 활성은 간장 질환의 중증도 판정, 경과 관찰, 간장에 진단 등으로 유용성이 매우 크다.

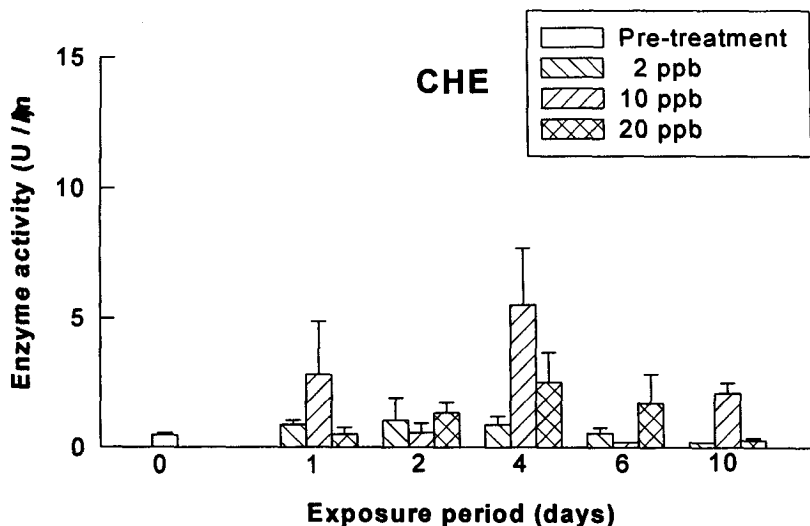


Fig. 5-6. Changes of cholinesterase(CHE) concentration (U/ml) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

하지만 다른 유출효소와는 달리 세포가 파괴되면 합성에 장애를 받아 혈중 활성이 감소하는 특징이 있다. 이 밖에도 CHE의 활성 감소는 영양상태가 지극히 불량하거나 외과 수술시 일시적으로 감소하기도 한다. 또한 약물에 의해서도 활성이 현저히 줄어들기도 하는데, 유기인계 농약(살충제)이나 카바메이트(carbamate)계 농약에 중독되면 활성이 뚜렷하게 줄어들고, 신장 장애로 신증후군이 되면 소변을 통해 효소가 배설되지 않고 혈중에 축적되므로 증가한다.

이러한 점을 이용하여 CHE를 해양의 오염지표로 이용하려는 시도가 여러 연구자들(Bocquénén *et al.*, 1990; 최 등, 1997; Coppage *et al.*, 1974; Galgani *et al.*, 1992; Hallack and Giacobini, 1987; Zinkl *et al.*, 1987;)에 의해 이루어졌는데, 특히 유기인계 살충제의 오염 정도를 판정하는데 효과적이었음이 밝혀졌다. 하지만 유기주석화합물에 의해서도 마찬가지로 활성

변화를 일으키는지는 잘 알려져 있지 않다.

Fig. 5-6에서 보듯이, CHE의 활성변화와 TBTC의 노출 정도와는 상관관계가 없었다. 비록 2 ppb-노출구의 경우에 노출 기간의 연장과 더불어 다소 감소하는 경향을 보이는 듯 하지만, 10 ppb-노출구에서는 전혀 일정한 패턴을 나타내지 않았고, 20 ppb-노출구에서는 오히려 처음 4일째까지는 증가하다가 이후 감소하는 등 실험구마다 각기 다른 변화모습을 보였다. 따라서 이 결과를 해석한다면, 2 ppb의 낮은 농도에서는 노출기간의 경과와 더불어 약간씩이나마 줄지만, 이보다 노출 농도가 높아지면 심한 장애를 입어 효소의 배설이 제대로 이루어지지 못하는 듯 하다. 하지만 같은 실험구에서도 활성의 개체차가 매우 커서 최고 18 배나 차이를 보인 경우도 있었고 대체로 6 배 가량의 차이를 보였다는 점을 감안한다면, 상관관계를 설명할 수는 없었다.

이와 관련하여, 최 등(1997a, 1997b)은 동해산 및 서해산 넙치와 도다리에서 CHE 활성에 지역적인 차이가 뚜렷하였으며, 이것은 서식지의 해양오염과 밀접한 관련이 있다고 하였다. 그리고 본 연구에서는 CHE 활성이 큰 개체차를 보인 반면에 최 등(1997a, 1997b)은 그다지 차이가 없었다는 것도 매우 대조적이었다. 이런 차이가 본 실험에서 사용한 TBTC의 농도가 자연계에서의 농도에 비하여 지나치게 높았기 때문인지, 혹은 일반적인 해양오염물질과 TBTC가 다르기 때문에 CHE의 활성에 별달리 영향을 미치지 못하였는지에 관해서는 현재로서 분명치 않다.

TBTC에 노출시킨 넙치의 리파제(lipase, LIPA) 활성의 변화는 Fig. 5-7과 같다. 리파제(glycero-ester hydrolase)는 트리글리세리드를 가수분해하는 효소로서 지방을 분해하여 지방산을 흡수하는데 중요한 역할을 한다. 주로 이자에 국재하지만 이외에 간장, 신장, 위장, 소장에도 약간은 존재하므로, 이자의 이상을 조사할 적에 아밀라제(amylose) 활성 측정과 더

불어 많이 쓰이고 있다. 리파제는 이차 질환 이외에도 간장 질환이나 신장 질환시에도 혈중 농도가 증가하는데, 사람에게서는 급성췌장염인 경우에는 정상치의 20 배 가량 증가한 후 회복되기도 하고, 만성췌장염인 경우는 약 5 배 가량, 간장 질환인 경우는 약 3 배나 활성이 증가한다고 알려져 있다 (李·金, 1988).

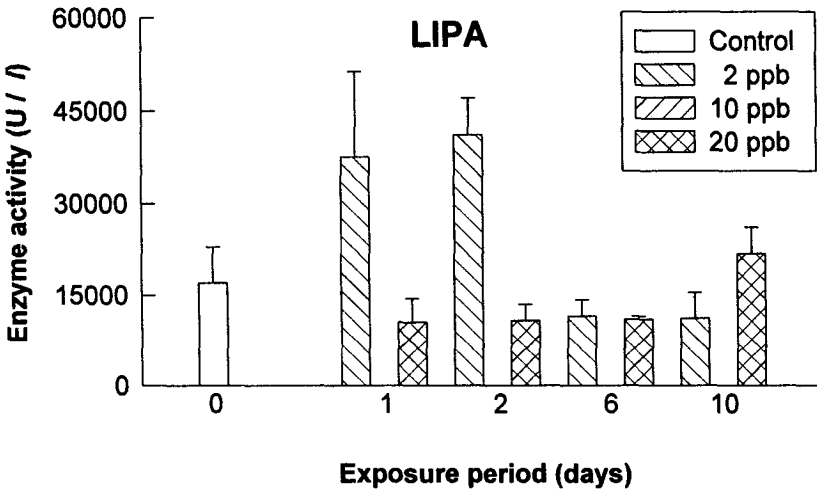


Fig. 5-7. Changes of lipase(LIPA) activity (U/l) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

본 실험에서는 대조구의 활성이 17,000 U/l 정도였는데 비하여, 2 ppb-노출구에서는 노출 직후(노출 1~2 일후)에 이보다 약 2 배 가량이나 많았지만, 이후 활성이 급격하게 감소하여 노출 6 일후에는 약 11,000 U/l 정도로 줄어들었다. 그러나 20 ppb-노출구에서는 초기부터 11,000 U/l 수준을 유지하였다. 이처럼 고농도의 TBTC 노출시의 리파제 활성이 저농도 노출시에 비해 낮았던 것은 너무 농도가 높아서 짧은 시간안에 장기가 장애를

입어 기능이 마비되었기 때문이라고 여겨진다. 따라서, LIPA는 TBTC에 의한 장애를 알 수 있는 좋은 지표라 여겨진다.

이 밖에도, 아밀라제(amylase)와 젖산탈수소효소(lactate dehydrogenase, LDH)의 활성도 조사하였다(미발표자료). 아밀라제는 대조구를 비롯하여 모든 시료에서 검출한계 이하여서 정량할 수 없었으며, LDH의 활성은 각 노출구에서 개체차가 매우 커서 일정한 경향을 보이지 않았다. 하지만 최 등(1997a)은 오염정도에 따라서 LDH 활성에도 유의차가 있었다고 하였는데, 이러한 차이가 앞서의 CHE의 경우와 마찬가지로 TBTC 농도가 자연계에서의 농도에 비하여 지나치게 높았기 때문인지, 혹은 TBTC가 LDH의 활성에는 영향을 미치지 않기 때문인지 현재로서는 확실치 않다.

TBTC에 노출시킨 넙치의 혈액중 칼슘(Ca) 농도의 변화는 Fig. 5-8과 같다. 생체내에서 Ca는 중요한 역할을 하는 양이온으로 대부분 골조직에 존재한다. Ca는 세포조직기능, 신경근조직, 내분비기능 등 여러 가지 생물학적 활성이 있으며, 혈청내 Ca 농도의 증가는 악성종양 등에 의해 일어나고, 감소 현상은 신장장애로 인하여 뼈에 Ca의 흡수가 떨어질 적에 일어난다고 알려져 있다(李·金, 1988).

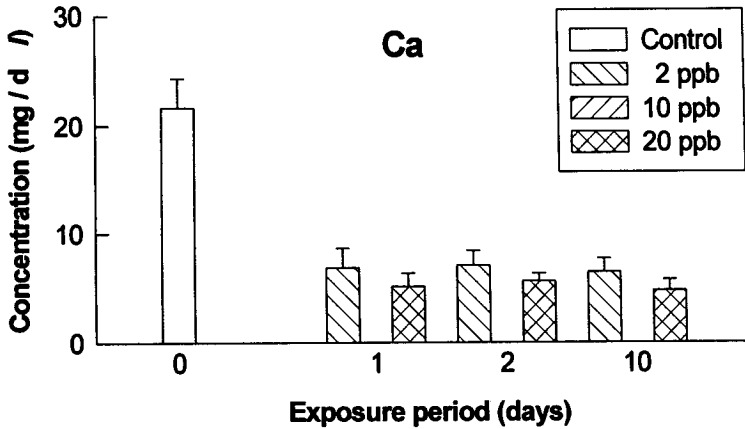


Fig. 5-8. Changes of calcium(Ca) concentration (mg/dl) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

Fig. 5-8에서 알 수 있듯이, 혈액 중 Ca 농도는 TBTC의 노출에 의해 신속하게 영향을 받아, 노출 직후부터 대조구에 비해 매우 적었다. 즉, 노출 농도에 따라 Ca 농도는 차이가 있었고, 노출 기간에 따른 차이는 없었다.

TBTC에 노출시킨 넙치의 혈액중 인(PHOS) 농도의 변화는 Fig. 5-9와 같다. 혈청 중의 인은 무기인과 유기인산인 ester형 인산, 인지질 등의 형태로 존재하며, 무기인은 모든 세포 내에 존재하고 고에너지 인산염으로 에너지대사, 핵산대사, 산-염기 평형의 완충물질로서 작용한다고 알려져 있다. 그리고 혈청 무기인은 칼슘과 마찬가지로 소화기관에서의 흡수, 뼈로부터의 동원, 세포내대사, 신장으로의 배설로 유지되지만, 칼슘과는 달리 혈청에서의 조절이 세밀하지는 않다(李·金, 1988).

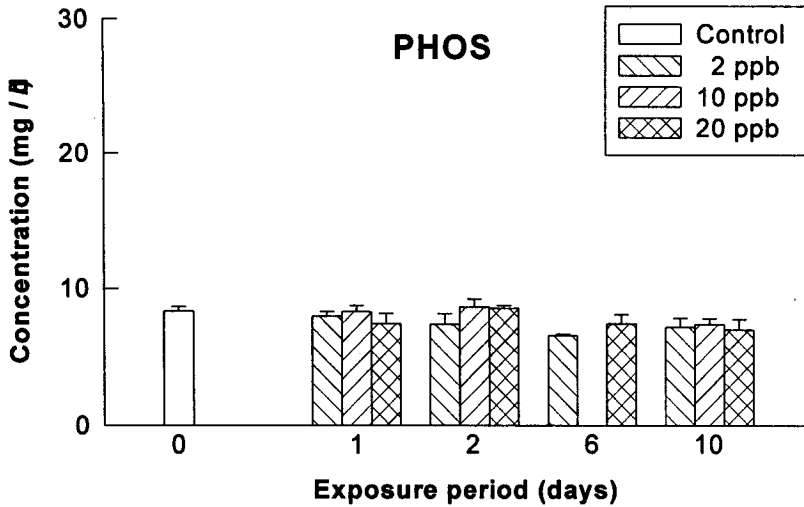


Fig. 5-9. Changes of phosphorus(PHOS) concentration (mg/dl) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

한편, 저수온기의 해산가두리에서 양식중인 어류를 조사한 바에 따르면 PHOS 농도는 어종에 따라 큰 차이를 보여, 은연어(10.9 mmol/l)가 가장 많았고, 농어(7.7±0.7 mmol/l), 조피볼락과 돌돔(5.4~6.0±0.1 mmol/l), 넙치(2.0±0.3 mmol/l)의 순이었으며, 은연어나 조피볼락처럼 비교적 활동성이 강한 어종이 많았다(전 등, 1995). 똑같은 어종을 고수온기에 조사하였더니 은연어(15.8 mmol/l)가 역시 가장 많았고, 다음으로 넙치(16.8 mmol/l), 농어(14.7 mmol/l), 돌돔(10.5 mmol/l)와 조피볼락(10.3 mmol/l)의 순으로서 특히 넙치는 수온이 높아지면서 농도가 8 배나 많아진 점이 특징적이었다(전 등, 미발표자료).

본 실험에서는 노출 기간에 따라 PHOS 농도가 크게 변함없이 일정한 수준을 유지하였으며, 노출 농도에 따라서도 마찬가지로 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 다만, 노출 농도가 큰 사육구에서는 개체차가 심했다. 이처럼

TBTC에 의해 넙치의 PHOS 농도는 그다지 영향을 받지 않는 것으로 여겨진다.

한편 TBTC에 노출시킨 넙치의 혈액중 무기질의 농도 변화는 Fig. 5-10~5-12와 같다. 전 등(1995)이 저수온기에 해양양식 중인 어류의 Na^+ 와 Cl^- 농도를 조사한 결과를 보면, 조피볼락과 넙치와 돌돔(180~204 mmol/l, 179~183 mmol/l)이 은연어나 농어(160~169 mmol/l, 137~142 mmol/l)보다 유의적($p < 0.05$)으로 많았으며, K 농도도 어종 간에 차이가 있어 넙치(3.1 ± 1.7 mmol/l), 돌돔(1.9 ± 0.2 mmol/l), 조피볼락(1.3 ± 0.1 mmol/l), 은연어, 농어($0.5 \sim 0.9 \pm 0.2$ mmol/l)의 순이었다. 그리고 이들은 고수온기에도 은연어의 K^+ 농도가 5.3 mmol/l로 급증한 것 말고는 대체로 저수온기와 큰 차이가 없었다(전 등, 미발표자료).

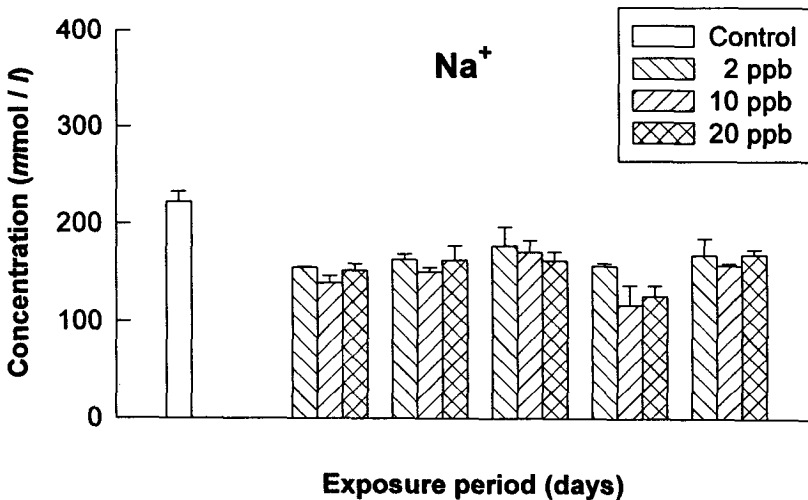


Fig. 5-10. Changes of sodium(Na^+) concentration(mmol/l) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

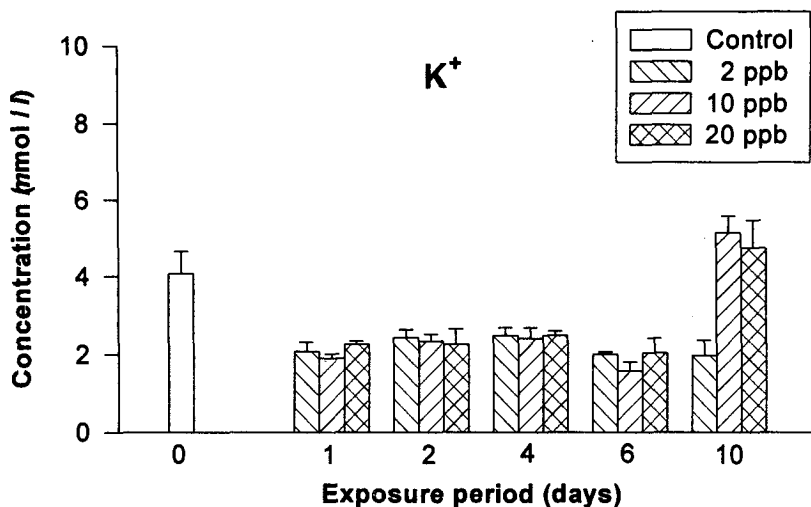


Fig. 5-11. Changes of potassium(K⁺) concentration(mmol/l) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

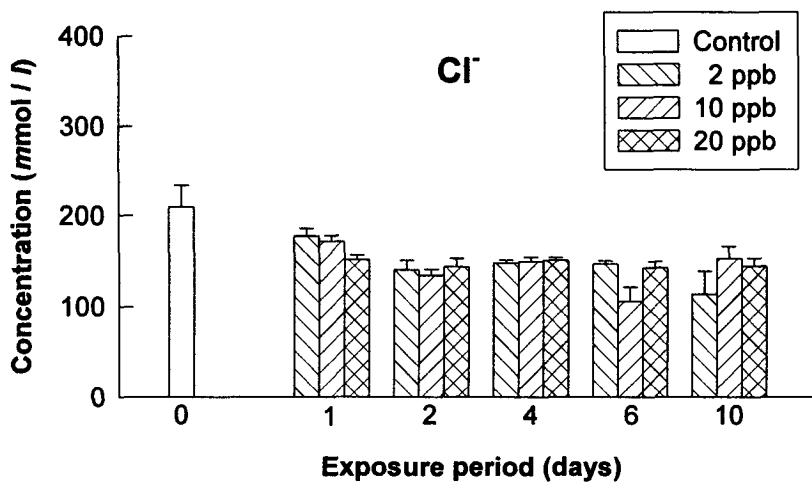


Fig. 5-12. Changes of chloride(Cl⁻) concentration (mmol/l) in the blood of olive flounder exposed to TBTC.

본 실험에서는 Na^+ 의 경우(Fig. 5-10), TBTC에 노출 직후부터 농도가 증가하다가 6 일째에는 정반대로 감소하였고, 이후 10 일째에는 다시 큰 폭으로 상승하는 경향을 보였다. 그리고 혈중 Na^+ 농도는 노출 농도가 낮을수록 높았다. Cl^- 의 경우(Fig. 5-11)에는 Na^+ 농도의 경우와는 반대로, 노출 직후부터 감소하다가 4 일째에 모든 노출구에서 증가경향을 보였으며 이후 하향 안정되는 경향이였다. 그리고 K^+ 농도(Fig. 12)는 Na^+ 농도와 마찬가지로, 노출기간의 증가와 더불어 전반적으로 증가하지만 노출 농도에 따라 차이를 보였다. 즉, 모든 노출구에서 6 일째에 일시적으로 감소하였다가 이후 재상승하는 경향을 보였는데, 특히 10 ppb-, 20 ppb-노출구에서는 재상승의 폭이 커서 노출 첫날에 비해 각각 2.7 배와 2 배였으나, 2 ppb-노출구에서는 재상승됨이 없이 안정적인 수준을 유지하였다. 이러한 결과를 보아, TBTC는 넵치의 전해질 농도에 영향을 미치며, 노출 기간이 길어짐에 따라 Na^+ 는 상승, Cl^- 은 감소, 그리고 K^+ 는 상승하는 경향을 보였다. 이것은 TBTC가 넵치의 삼투압 조절 능력에 장애를 입힌다는 것을 말해준다. 관련하여 Pinkney *et al.*(1989)은 배스(*Morone saxalitis*)에 TBT를 0~1.09 ppb로 노출시켰더니 혈청 중 Na^+ , K^+ 는 변함이 없었다고 하였는데, 아마도 노출 농도의 차이에 기인한 것이라 여겨진다.

5. 해독효소의 활성변화

질병을 치료하기 위해서나 또는 잘못하여 체내로 들어온 약물을 포함한 화학물질이 생물학적으로 활성화하려면 두 가지 조건을 충족하여야만 한다. 즉, 활성형이어야 하고 또한 일정 농도 이상으로 작용부위에 존재해야만 한다. 한편, 생체는 약물과 독물을 포함한 각종 지용성 화합물을 극성화시켜 체외로 배설하기 쉽도록 하는 기구를 갖추고 있는데, 크게 산화반응, 환

원반응, 가수분해, 포합반응 등으로 나눌 수가 있다. 이들 반응은 간장, 폐, 신장, 소장 등에서 이루어지는데, 이 중에서도 특히 간장의 미크로솜에만 들어있는 약물대사 효소계는 중요하다. 그것은 간장의 미크로솜 약물대사 효소계가 지용성 화합물을 극성화하여 신장 등을 통해 배설시키기 때문이다.

간장 미크로솜에는 상호 관련이 있는 두가지 전자전달계가 있는데, 그 중 하나는 NADPH-cytochrome P-450 reductase(환원효소)와 cytochrome P-450 reductase로 이루어진 계이고, 다른 하나는 NADH-cytochrome b₅ reductase와 cytochrome b₅와 지방산불포화효소로 이루어진 계이다. 앞의 것은 스테로이드, 지방산과 그 유도체인 프로스타그란딘, 트롬복산 등이 중요한 기질이며, 생체의 이물에 대한 산화적 환원적 대사의 중심적 역할을 맡고 있는데 비해, 나중의 것은 지방산 불포화화, 메트헤모글로빈 환원에 관여한다.

MFO(Mixed Function Oxidase)계는 간장에서 2 상의 해독과정 중 제 1 상에 관여하는 효소계이다(Remmer, 1970). 즉 생체내에 흡수되는 환경오염물질이나 약물 등과 같은 지용의 이물질들은 간장내에서 산화, 환원, 결합 등의 변형과 해독과정을 거쳐 수용성으로 전환되어 체외로 배설되거나, 약물이 불활성화 되는데, 여기에 관여하는 약물대사 및 기타 독성물질의 대사는 크게 2 상으로 나뉜다(Remmer, 1970; Miller, 1970).

1 상에서는 약물 및 독성물질 등 지용성 물질을 산화, 환원, 가수분해하여 처리하기가 쉬운 형태로 만들고, 2 상에서는 UDP-글루쿠론산, 글루타치온, 황산염 등과 결합시켜 수용성을 증가시켜 배설하기 쉽도록 한다(Astrom and Depierre, 1981). 그리고 1 상 변형과정에 관여하는 효소로는 간장세포의 소포체막에서 지방산, 스테로이드 등의 내인성 물질이나 약물, 발암물질 등과 같이 외부에서 유입된 물질들을 대사시키는 cytochrome P₄₅₀ 의존성 MFO계라 하는 일련의 전자전달계 효소군이 존재한다고 알려져

있다. 이 효소계는 막결합효소(membrane bound enzyme)들인 cytochrome P₄₅₀, cytochrome b₅, NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase 등으로 구성되어 있으며, cytochrome P₄₅₀에 의해서 촉매되는 이 산화반응에서는 산소 분자 중의 하나만 기질에 이용되고 다른 하나는 물(H₂O)로 환원되기 때문에 MFO 또는 monooxygenase reaction 이라 한다(Chow, 1988). MFO계에 의해서 만들어진 생성물질은 대부분 생물학적으로 비활성이므로 이 효소계는 체내에서 매우 중요한 해독기구라 여겨지고 있다. 하지만 많은 약물이나 독소, 발암물질 등이 cytochrome P₄₅₀ 촉매에 의해 변형과정을 거치는 사이에 원래의 물질보다 더 활성적인 물질이 되기도 하며, 독성물질을 해독하는 과정에서 O₂⁻나 H₂O₂도 생성될 수도 있어 조직에서는 과산화 반응도 일어날 수 있다(Bidlack and Tappel, 1973). 이처럼 cytochrome-P₄₅₀은 MFO 시스템에서 매우 중요한 효소이므로 그 함량을 조사하는 일은 독성학의 입장에서는 매우 의미가 있다.

TBTC를 넙치에게 노출시켜 그 농도와 노출기간에 따른 간장 미크로솜 중의 cytochrome P-450와 cytochrome b₅ 농도를 조사한 결과는 각각 Fig. 5-13, Fig. 5-14와 같다.

Cytochrome P-450의 경우(Fig. 5-13), TBTC의 노출 농도와 노출 기간과 비례하여 효소의 농도가 감소하는 것이 뚜렷하였다.

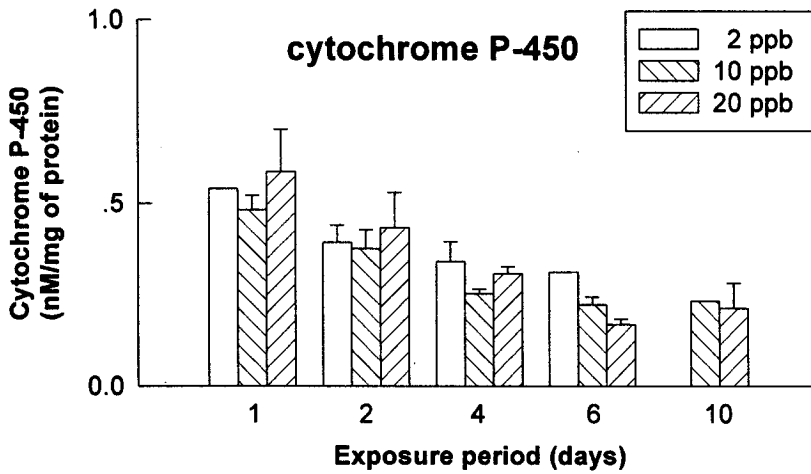


Fig. 5-13. Changes of cytochrome P-450 concentration(nM/mg of protein) in the liver microsome of olive flounder exposed to TBTC.

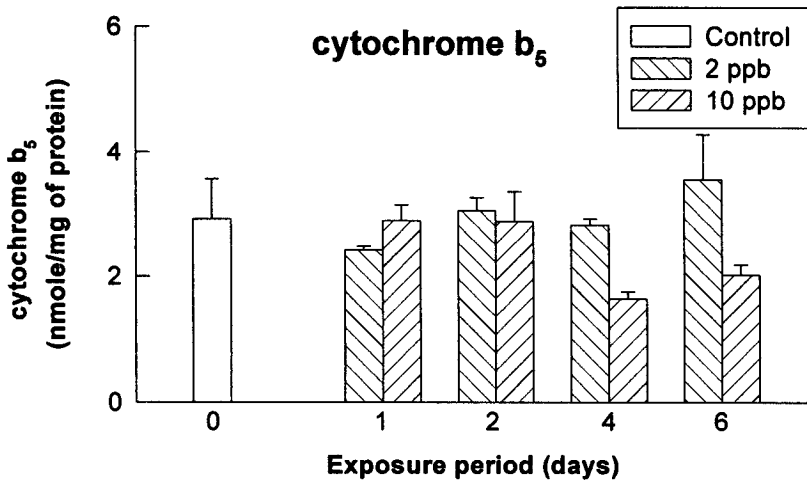


Fig. 5-14. Changes of cytochrome b5 concentration (nmole/mg of protein) in the liver microsomes of olive flounder exposed to TBTC.

이와 같이 TBT 화합물이 cytochrome P-450 효소를 감소시키는 현상은 담수어인 무지개송어, 뱀장어 및 bullhead(Fent and Bucheli, 1994), scup(*Stenotomus chrysops*)(Fent and Stegeman, 1991, 1993a, 1993b), 대서양 menhaden(*Brevoortia tyrannus*)(Hall *et al.*, 1991)에서도 확인된 바 있다.

어류의 cytochrome P-450은 체내로 들어온 TBT를 산화시켜서 수산화 유도체로 만들고, 이들 유도체들은 2 상 효소계에 의해서 황산염이나 탄수화물과 컨쥬게이트 되어 체내에서 빠른 시간안에 제거되는데 비해서, 패류는 MFO 활성이 낮고 cytochrome P-450 함량이 적기 때문에 TBT를 잘 대사시키지 못하여 체내에 축적하는 것으로 알려져 있다(Lee, 1991). 그리고 반응기구에 관해서 Heard *et al.*(1989)는 TBT가 세포막에 결합하여 수용체를 차단하거나 세포 기능을 파괴하여 세포나 세포내기관에 영향을 미치는데, 높은 농도의 TBT가 결합한 세포는 포르말린을 처리한 것처럼 고정되어 버리며, 저농도의 TBT가 나타내는 독성은 정상적인 세포 기능을 서서히 방해하기 때문일 수도 있고, 고농도의 경우에는 세포단백질을 변성시키기 때문일 수 있다고 하였다.

Cytochrome b₅의 경우(Fig. 5-14)에서도 TBTC의 노출 농도와 노출 기간과 비례하여 효소의 농도가 감소하는 경향이 관찰되었다. 하지만 담수어인 무지개송어, 뱀장어 및 bullhead(Fent and Bucheli, 1994), scup(*Stenotomus chrysops*)(Fent and Stegeman, 1991, 1993a, 1993b)에서는 별로 영향을 받지 않았다고 하여 차이를 보이는데, 이것이 노출 농도에 기인한 것일 수도 있어, 향후 자세히 조사해 볼 필요가 있겠다.

제 4 절 결 언

방오제로 널리 쓰였던 TBTC가 해산 어류인 넙치에 미치는 영향을 조사하기 위하여 2 ppb, 10 ppb, 20 ppb에서 1~10 일간 노출시키면서 혈액 중의 각종 효소 활성(alkaline phosphatase, ALKP; alanine aminotransferase, ALT; amylase, AMYL; aspartate aminotransferase, AST; cholinesterase, CHE; lactate dehydrogenase, LDH; lipase, LIPA), 생화학 성분(total protein, TP; albumin, ALB; total bilirubin, TBIL) 및 무기질(Ca, PHOS, Na⁺, K⁺, Cl⁻) 등을 조사하였고, 또한 간장 중의 해독효소인 cytochrome P-450과 cytochrome b5 활성을 조사하였다.

외관상으로는 노출 1 일째부터 넙치 간장에서는 울혈이 관찰되었고 이것으로 간장 조직이 심한 장애를 입었음을 알 수가 있었다. 그리고 효소 중에서는 ALT가 노출 농도와 노출 기간이 커질수록 증가 경향을 보였고, AST는 농도와 상관하여 증가하였다. 그리고 LIPA도 무처리한 대조구에 비해 많은 차이를 보임으로써 좋은 지표 항목이 될 수 있을 것으로 판단되었다. Ca 농도도 대조구에 비해 노출 직후부터 급격하게 감소하였고, 노출 기간이 길어지면서 전해질 중 Na⁺와 K⁺는 늘어난 반면에 Cl⁻은 줄어드는 것이 확인되어 TBTC가 삼투압 조절에 영향을 미칠 것으로 판단된다. 그리고 해독효소인 cytochrome P-450과 cytochrome b5의 활성은 노출 농도와 기간이 커짐에 따라 감소하였다.

참 고 문 헌

- 서울대학교. 1996. TBT 오염실태 조사 및 대책 수립 연구. 농림수산부. 121 pp.
- 李貴寧·金辰圭. 1988. 臨床化學. 의학출판사. 812 pp. 서울.
- 荻野珍吉·竹内レビエン·武田 博·渡邊 武. 1979. コイおよびニジマスにおける飼料磷の有効性について. 日水誌. 45: 1527~1532.
- 전중균·김병기·박용주·허형택. 1995. 주요 양식 어류의 혈액 성분 에 관한 연구. 한수지. 28(2): 123-130.
- 佐藤哲南·上野芳夫·遠藤 仁. 1988. 毒性生化學(上). 地人書館. 338p. 東京.
- 최진호·김동우·박청길·양동범. 1997a. 해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표에 관한 연구. V. 황해산 도다리(*Pleuronichthys cornutus*)의 콜린에스테라제 활성의 변화. 한수지. 30(4): 614-619.
- 최진호·김동우·박청길·양동범. 1997b. 해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표에 관한 연구. III. 황해산 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 콜린에스테라제 활성의 변화. 한생과지. 7(1): 17-23.
- 한국해양연구소. 1996. 유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구(I·II). 과학기술처. BSPN 00324-983-4. 316pp.
- Anderson, C.D. and R. Dalley. 1986. Use of organotin in antifouling paints. In: Proceeding of the Oceans '86 Conference. Vol. 4. Organotin Symposium. pp. 1108-1113.
- Astrom, A. and J.W. Depierre. 1981. Characterization of the induction of drug-metabolizing enzymes by 2-acetylaminofluorene. Biochem. Biophys. Acta. 673: 225.

- Bailey, S.K. and I.M. Davies. 1989. The effects of tributyltin on dogwhelks (*Nucella lapillus*) from Scottish coastal waters. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 69: 335-354.
- Beaumont, A.R. and M.D. Budd. 1984. High mortality of the larvae of the common mussel at low concentrations of tributyltin. Mar. Poll. Bull. 15(11): 402-405.
- Bentinck S.J., M.H. Bealeau, P. Waterstrat, C.S. Tucker, F. Stiles, P.R. Bowser and L.A. Brown. 1987. Biochemical reference ranges for commercially reared channel catfish. Prog. Fish Cult. 49: 108~114.
- Bidlack, W.T. and A.L. Tappel. 1973. Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. Lipids. 8: 177.
- Bocquéné, G., F. Galgani and P. Truquet. 1990. Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring. Mar. Env. Res. 30: 75-89.
- Bryan, G.W., P.E. Gibbs and G.R. Burt. 1988. A comparison of the effectiveness of tri-n-butyltin chloride and five other organotin compounds in promoting the development of imposex in the dogwhelk, *Nucella lapillus*. J. Mar. Biol. Ass U.K. 68: 733-744.
- Bryan, G.W., P.E. Gibbs, L.G. Hummerstone and G.R. Burt. 1986. The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around south-west England : Evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 66: 611-640.
- Byrne, P., D. Speare and H. W. Ferguson. 1989. Effects of a cationic detergent on the gills and blood chemistry of rainbow trout *Salmo gairdneri*. Dis. Aquat. Org. 6: 185~196.

- Chiles, T.C., P.D. Pendoley and R.B. Laughlin, Jr. 1989. Mechanisms of tri-n-butyltin bioaccumulation by marine phytoplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46(5): 859-862.
- Chow, C.K. 1988. Cellular antioxidant defense mechanisms. CRC Press, Vol. 1. p.4.
- Coppage, D.L. and E. Matthews. 1974. Short-term effects of organophosphate insecticides on cholinesterase of estuarine fishes and pink shrimp. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 11: 483-488.
- Davies, I.M., J. Drinkwater and J.C. McKie. 1988. Effects of tributyltin compounds from antifoulants on Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in Scottish sea lochs. *Aquaculture.* 74(3-4): 319-330.
- Dowson, P.H., J.M. Bubb and J.N. Lester. 1993. A study of the partitioning and sorptive behavior of butyltins in the aquatic environment. *Appl. Organomet. Chem.* 7: 623-633.
- Dunier, M., Siwicki, A.K. 1993. Effects of pesticides and other organic pollutants in the aquatic environment on immunity of fish: A review. *Fish Shellfish Immunol.* 3(6): 423-438.
- Fasaic, K. and J. Palackova. 1990. Total protein and serum fraction values in two-year carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Biol. Jugosl. E. Ichthyol.* 22: 23-30.
- Fent, K. 1992. Embryotoxic effects of tributyltin on the minnow *Phoxinus phoxinus*. *Environ. Pollut.* 76(3): 187-194.
- Fent, K. and J.J. Stegeman. 1991. Effects of tributyltin chloride in vitro on the hepatic microsomal monooxygenase system in the fish *Stenotomus chrysops*. *Aquat. Toxicol.* 20(3): 159-168.

- Fent, K. and J.J. Stegeman. 1993a. Effects of tributyltin chloride in vitro on hepatic microsomal cytochrome P450 and associated enzyme activities in the marine fish *Stenotomus chrysops*. In: Responses of Marine Organisms To Pollutants. Part 2, Stegeman, J.J., M.N. Moore and M.E. Hahn eds. 35(1-2): 210-211.
- Fent, K. and J.J. Stegeman. 1993b. Effects of tributyltin in vivo on hepatic cytochrome P450 forms in marine fish. *Aquat. Toxicol.* 24(3-4): 219-240.
- Fent, K. and T.D. Bucheli. 1994. Inhibition of hepatic microsomal monooxygenase system by organotins in vitro in freshwater fish. *Aquat. Toxicol.* 28(1-2): 107-126.
- Fent, K. and W. Meier. 1994. Effects of triphenyltin on fish early life stages. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27(2): 224-231.
- Galgani, F., G. Bocquéné and Y. Cadiou. 1992. Evidence of variation of cholinesterase activity in fishes along a pollution gradient in the North Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 19:
- Gibbs, P.E. and G.W. Bryan. 1986. Reproductive failure in populations of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 66: 767-777.
- Hall, L.W., Jr. 1988. Tributyltin environmental studies in Chesapeake Bay. *Mar. Pollut. Bull.* 19(9): 431-438.
- Hall, L.W., Jr., S.A. Fischer and J.A. Sullivan. 1991. A synthesis of water quality and contaminants data for the Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus* : Implications for Chesapeake Bay. *J. Environ. Sci. Health, Part A.* A26(8): 1513-1544.

- Hallack, M. and E. Giacobini. 1987. A comparison of the effects of two inhibitors on brain cholinesterase. *Neuropharmacol.* 26(6): 521-530.
- Harbell, S.C. 1979. Studies on the pathogenesis of vibriosis in coho salmon *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum). *J. Fish Dis.* 2: 391~404.
- Heard, C.S., W.W. Walker and W.E. Hawkins. 1989. Aquatic toxicological effects of organotins: An overview. *Oceans '89: The Global Ocean. Vol. 2: Ocean Pollution.* 554-563.
- Holm, G., L. Norrgren and O. Linden. 1991. Reproductive and histopathological effects of long term experimental exposure to bis (tributyltin)oxide (TBTO) on the three spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus. *J. Fish Biol.* 38(3): 373-386.
- Horiguchi, T., H. Shiraishi, M. Shimizu and M. Morita. 1994. Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bronni* in Japan. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 74(3): 651-669.
- Horiguchi, T., H. Shiraishi, M. Shimizu, S. Yamazaki and M. Morita. 1994. Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bronni* in Japan. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 74:651-669.
- Ikeda, Y. and T. Minami. 1982. Hematological and hemochemical assessment on streptococcal infection in cultured yellowtail. *Nissuishi.* 48: 1383~1388.
- Kakuno, A. and S. Kimura. 1987. Acute toxicity of bis (tributyltin) oxide to girella (*Girella punctata*). *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* 123: 41-44.

- Laughlin, R.B. 1986. Bioaccumulation of tributyltin : The link between environment and organism. In: Proceeding of the Oceans '86 Conference, Vol. 4, Organotin Symposium, pp. 1206-1209.
- Lawler, I.A. and J.C. Aldrech. 1987. Sublethal effects of bis(tri-n-butyl tin) oxide on *Crassostrea gigas* spat. Mar. Poll. Bull. 18(6): 274-278.
- Lee, R.F. 1991. Metabolism of tributyltin by marine animals and possible linkages to effects. Mar. Environ. Res. 32(1-4): 29-35.
- Lee, R.F., A.O. Valkirs and P.F. Seligman. 1989. Importance of microalgae in biodegradation of tributyltin in estuarine waters. Environ. Sci. Technol. 23: 1515-1518.
- Lowry, O.H., N.J. Roseborough, L.A. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- Maguire, R.J., J.H. Carey and E.J. Hale. 1983. Degradation of the tri-n-butyltin species in water. J. Agric. Food Chem. 31: 1060-1065.
- Matthiessen, P. and J.E. Thain. 1989. A method for studying the impact of polluted marine sediments on intertidal colonising organisms; tests with diesel based drilling mud and tributyltin antifouling paint. In: Environmental Bioassay Techniques and Their Application. Munawar, M., G. Dixon, C.I. Mayfield, T. Reynoldson and M.H. Sadar eds. Vol. 188-189. 477-485.
- McLeay, D. J. and D. A. Brown. 1979. Stress and chronic effects of untreated and treated bleached kraft pulpmill effluent on the biochemistry and stamina of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Fish. Res. Board Can. 36: 1049~1059.

- Meador, J.P., U. Varanasi and C.A. Krone. 1993. Differential sensitivity of marine infaunal amphipods to tributyltin. *Mar. Biol.* 116(2): 231-239.
- Michel, P. 1992. The need for speciation of metal and organometallic compounds for risk assessment in the marine environment: Mercury, arsenic and tin. *Hydroecol. Appl.* 4(2): 43-53.
- Miller, J.A. 1970. Carcinogenesis by chemicals : An overview-GHA Clowes memorial lecture. *Cancer Tes.* 30: 559.
- Nakagawa, H., M. Kayama and K. Ikuta. 1977. Electrophoretic evidence of seasonal variation of carp plasma albumin. *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.* 16: 99~106.
- Nell, J.A. and R. Chvojka. 1992. The effect of bis tributyltin oxide (TBTO) and copper on the growth of juvenile Sydney rock oysters *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley) and Pacific oysters *Crassostrea gigas* Thunberg. *Trace Metals in the Aquatic Environment*. Batley, G.E. ed. 125: 193-201.
- Omura, T. and R. Sato. 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 239: 2370-2378.
- Pinkney, A.E., D.A. Wright, M.A. Jepson and D.W. Towle. 1989. Effects of tributyltin compounds on ionic regulation and gill ATPase activity in estuarine fish. *Comp. Biochem. Physiol., C.* 92C(1): 125-129.
- Pinkney, A.E., L.L. Matteson and D.A. Wright. 1990. Effects of tributyltin on survival, growth, morphometry, and RNA DNA ratio of larval striped bass, *Morone saxatilis*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19(2): 235-240.

- Quentel, C. and J. Aldrin. 1986. Blood changes in catheterized rainbow trout (*Salmo gairdneri*) intraperitoneally inoculated with *Yersinia ruckeri*. *Aquaculture*. 53: 169~185.
- Raizada, M.N., K. K. Jain and S. Raizada,S. 1984. A study of the biochemical constituents of blood of a freshwater teleost, *Cirrhinus mrigala* (Ham.). *Comp. Physiol. Ecol.* 9: 146~148
- Reader, S. and E. Pelletier. 1992. Biosorption and degradation of butyltin compounds by the marine diatom *Skeletonema costatum* and the associated bacterial community at low temperature. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 48: 599-607
- Remmer, H. 1970. The role of the liver in drug metabolism. *Am. J. Med.* 49: 617.
- Rice, C.D. and B.A. Weeks. 1991. Tributyltin stimulates reactive oxygen formation in toadfish macrophages. *Dev. Comp. Immunol.* 15(4): 431-436.
- Rice, C.D. and M.M. Banes. 1994. The immunotoxicity of 3,3',4,4',5-penta chlorobiphenyl (PeCB) and tributyltin (TBT) in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Int'l. Symp. on Aquatic Animal Health*. p. 11.3
- Seligman, P.E., A.O. Valkirs and R.F. Lee. Degradation of tributyltin in San Diego Bay, California, waters. *Environ. Sci. Technol.* 20: 1229-1235.
- Shimizu, A. and S. Kimura. 1987. Effect of bis (tributyltin) oxide on gonadal development of a salt water goby, *Chasmichthys dolichognathus* : Exposure during maturing period. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* 123: 45-49.

- Shimizu, A. and S. Kimura. 1992. Long term effects of bis (n tributyltin) oxide (TBTO) on salt water goby *Chasmichthys dolichognathus*. *Nissuishi*. 58(9): 1595-1602.
- Short, J.W. and F.P. Thrower. 1987. Toxicity of tri n butyl tin to chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, adapted to seawater. *Aquaculture*. 61(3-4): 193-200.
- Short, J.W., S.D. Rice, C.C. Brodersen and W.B. Stickle. 1989. Occurrence of tri-n-butyltin caused imposex in the North Pacific marine snail *Nucella lima* in Auke Bay, Alaska. *Mar. Biol.* 102(3): 291-297.
- Siddiqui, N. 1977a. Seasonal, size and comparative study of plasma proteins of four airbreathing freshwater fishes. *Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B.* 85: 384~390.
- Siddiqui, N. 1977b. Changes in blood plasma mineral concentration with feeding spawning and size of air-breathing catfish (*Clarias batrachus*). *Zool. Jahrb.* 81: 83~89.
- Smith, P.J. and M. MaVeagh. 1991. Widespread organotin pollution in New Zealand coastal waters as indicated by imposex in dogwhelks. *Mar. Pollut. Bull.* 22(8): 409-413.
- Stephenson, M.D. 1991. A field bioassay approach to determining tributyltin toxicity to oysters in California. *Mar. Environ. Res.* 32: 51-59.
- Stephenson, M.D., D.R. Smith, J. Goetzl, G. Idhikawa and M. Martin. 1986. Growth abnormalities in mussels and oysters from areas with high levels of tributyltin in San Diego Bay. In: *Proceeding of the Oceans '86 Conference, Vol. 4, Organotin Symposium*, pp. 1246-1251.

- Suzuki, S. and T. Fukagawa and K. Takama. 1991. Isolation and characterization of tributyltin resistant marine *Vibrio* sp. Second Int'l Marine Biotechnology Conference IMBC '91. p. 88.
- Ten Hallers-Tjabbes, C., J.F. Kemp and J.P. Boon. 1994. Imposex in whelks (*Buccinum undatum*) from the Open North Sea: Relation to shipping traffic intensities. Mar. Poll. Bull. 28(5): 311-313.
- Thompson, J.A., M.C. Sheffer, R.C. Pierce, Y.K. Chau, J.J. Cooney, W.P. Cullen and R.J. Maguire. 1985. Organotin compounds in the aquatic environment: Scientific criteria for assessing their effects on environmental quality. National Research Council Canada. pp. 284.
- Turner, A.H. 1937. Serum protein measurements in the lower vertebrates. II. In marine teleosts and elasmobranchs. Biol Bull. 73: 511-526.
- Uchida, M. 1993. Inhibitory activity of organotin compounds against colony formation of estuarine bacteria. Nissuishi. 59(12): 2037-2042.
- Uchida, M. 1994. Tolerance of marine bacteria for organotin compounds (OTCs) in areas with or without OTC contamination. Fish. Sci. 60(3): 267-270
- Walker, W.W., C.S. Heard, K. Lotz, T.F. Lytle, W.E. Hawkins, C.S. Barnes, D.H. Barnes and R.M. Overstreet. 1989. Tumorigenic, growth, reproductive, and developmental effects in medaka exposed to bis(tri-n-butyltin) oxide. Oceans '89: The Global Ocean. Vol. 2: Ocean Pollution. 516-524.
- Weber, L. J. 1979. The effect of carbon tetrachloride on the total plasma protein concentration of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol. 64C: 37-42.

- Wishkovsky, A., E.S. Mathew and B.A. Weeks. 1989. Effect of tributyltin on the chemiluminescent response of phagocytes from three species of estuarine fish. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 18(6): 826-831.
- Xu, P. and C. Cao. 1989. On hematology of the blood of fishes cultured in the lake pen. China Shuichan Xuebao. 13: 346~352.
- Yanagisawa, T. and K. Hashimoto. 1984. Plasma albumins in elasmobranchs. Nissuishi. 50: 1083.
- Ylae-Mononen, L. 1989. The effects of tri N butyltin chloride (TBTC) on the early life stages of perch(*Perca fluviatilis* L.) in brackish water. Aqua Fenn. 19(2): 129-133.
- Zinkl, G.J., P.J. Shea, R.J. Nakamoto and J. Callman. 1987. Brain cholinesterase activity of rainbow trout poisoned by carbaryl. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 38: 29-35.
- 尾崎久雄. 1978. 魚類生理學講座, 第1卷/血液・循環. pp.326, 緑書房, 東京.
- 山本郁男. 1995. 藥物代謝に關與する酵素とその反應機構. 藥物代謝學, 加藤隆一・鎌龍哲也 編. pp.47~92.
- 山脇啓輔, 橋本 瓦, 藤井清文, 小山次郎, 池田彌生, 尾崎久雄. 1986. 低濃度カドミウムによるコイ血液化學成分の變動. 日水誌. 52: 459~466.
- 坂口守彦. 1991. 魚介類のエキス成分とその代謝. pp. 80~101. 水産生物化學, 山口 勝己 編. 東京大學出版會. 東京. 日本.

제 6 장

해산 어패류의 생리 및 조직병리학적 연구

제 1 절 서 언

우리 나라의 수산 유용자원은 무척추 동물(패류, 갑각류 등), 척추동물(어류), 그리고 해조류로 구분할 수 있다. 이들은 어업과 양식에 의하여 산업적으로 이용되고 있으며 어업의 경우 우리나라의 산업화와 함께 그 자원량이 날로 감소하고 있는 추세이다. 그러나 우리나라 경제규모의 성장과 더불어 수산자원에 대한 소비량은 예전에 비하여 급격히 늘어나고 있으며 이에 따라 잡는 어업에서 기르는 어업으로의 전환에 의한 어패류의 대량생산이 이루어지고 있다.

무척추동물 양식의 근간은 우리 나라 남해안의 경우 굴, 피조개, 꼬막 등이고 동해안의 경우 가리비 양식이 주종을 이루고 있다. 이들의 양식은 어류와 달리 종묘 생산에서부터 성체로의 양성까지 전적으로 자연환경에 의존하고 있으며, 환경의 변화에 따라 그 생산량도 해마다 변동폭이 큰 실정이다. 어류 양식과 달리 무척추동물의 양식은 주 생산지인 남해안에서 최근들어 그 생산량이 현저히 줄어들고 있는 실정이며, 이러한 양식생산량의 감소 원인 규명에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 특히 남해안의 경우 패류의 양식 생산량 감소의 한 원인으로서는 오염에 의한 환경변화로 추측되고 있다(심 등, 1996; Shim, 1996).

유기주석화합물(Organotin compounds), 폴리클로리네이티드비페닐(Polychlorinatedbiphenyls, PCBs), 다환방향족탄화수소(Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, PAHs), 그리고 유기염소계 농약(Chlorinated pesticides) 등은 인간의 산업 활동에 의하여 형성되는 유기독성물질로서 해양환경에 있어 오염원으로 취급되고 있다. 유기주석화합물은 '50년경 처음으로 나무의 부식방지 목적으로 사용된 이래 특히 해운업에 있어 골칫거리인 선박의 부착생물 제거용 페인트 재료로 널리 쓰여왔다. 한 예로, '92년 미국은 유기

주석류가 포함된 부착생물 방지용 도료의 이용으로 3억불 이상의 경비를 절감한 것으로 보고되고 있다(de More, 1996). PCB의 경우 해양구조물을 부착생물로 부터 보호하기위한 부착생물방지 페인트의 원료로 사용하고 있으며, 유기염소계 농약은 농업활동에 쓰인 물질이 강우 등을 통해 해양에 유입되고 있는 실정이다. PAH는 석유로 부터 유래되는 화합물로서, 인간의 산업활동이나 최근들어 해상 기름유출사고 등에 의하여 해양환경에 유입되고 있다(Wade & Sericano, 1989; Sericano *et al.*, 1990).

이러한 유지류는 해양 환경에 유입될 경우 해양 생태계에 독성 물질로 작용을 하며 그 효과는 수질의 변화를 통하여 순간적으로부터 수십년 동안, 다양한 형태의 영향을 미치게된다(Fig. 6-1). Fig. 6-1에서 보듯이 환경오염물질의 영향은 단기적으로는 상피 세포의 파괴와 같은 단순한 영향에서부터 장기적으로는 수십년에 걸친 군집의 파괴 등, 다양한 형태로 나타난다. 유기 독성물질은 여러 형태의 분해과정을 거치지만 이들은 이러한 과정에서 잔류성을 띠며 ppb에서 ppm 정도로 존재하는 것으로 보고되고 있다(Wade *et al.*, 1988; Ellis *et al.*, 1993; Higashiyama *et al.*, 1991). 환경오염 지표종으로 알려진 굴, 홍합 등은 다른종과 비교시 상대적으로 이런 유류 및 유독물질의 독성에 강한 내성을 보인다. 그러나 이런 환경오염 지표종들이 그렇지 않은 다른 종보다 더 잘 견뎌내는 이유는 아직 잘 밝혀지지 않고 있다(Wilson *et al.*, 1992). 환경오염 지표종들이 다른 종보다 환경오염에 잘 견뎌내는 이유중의 하나는 생식을 통한 체내에 축적된 오염물질의 외부로의 방출을 추측할 수 있다(Marcus & Stokes, 1985; Ellis *et al.*, 1993). 즉 이런 오염물질들은 체내에서 축적되어 있다가 주로 생식세포에 축적되어 산란시 난이나 정충의 방출을 통해 생체의외부로 방출(depuration)되며, 실제 굴, 홍합 등은 1회 산란시 전체 육질무게의 40~50% 까지 난 이나 정충의 형태로 외부로 방출하고 있다. 국내의 경우 이

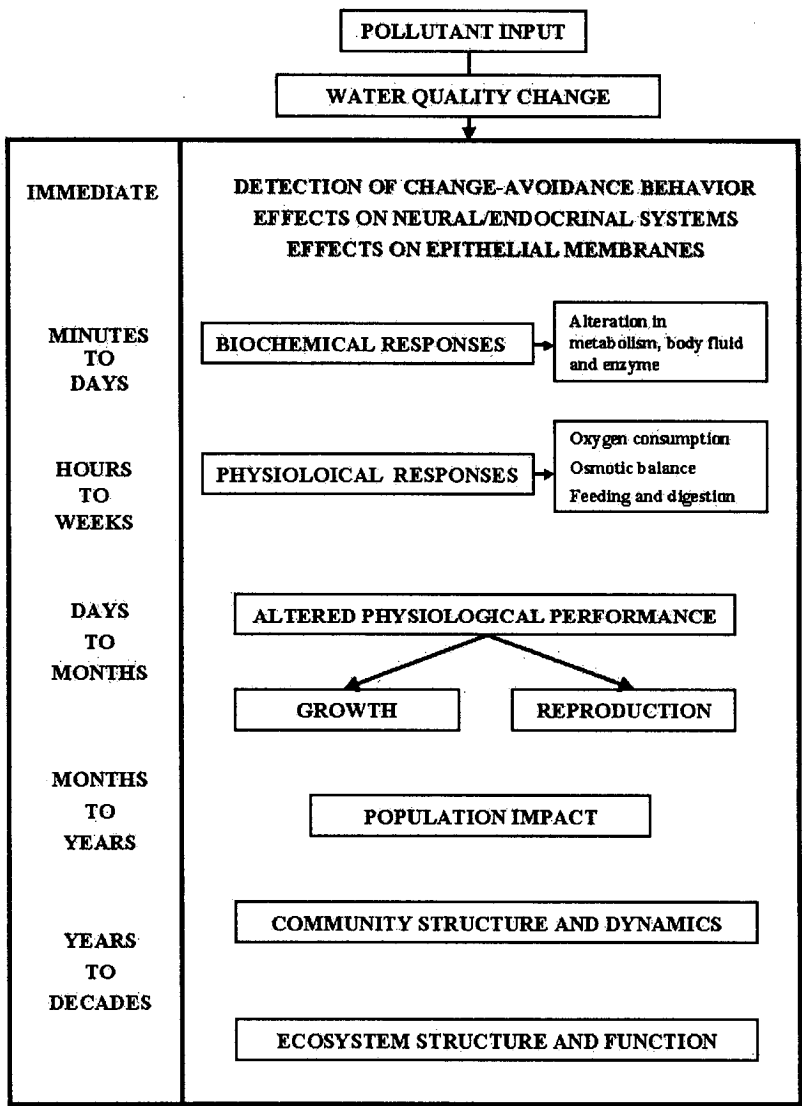


Fig. 6-1. Temporal sequence of stress effects (Modified from Sindermann, 1995)

러한 생식활동을 통한 환경오염 지표종의 오염물질 방출에 대한 연구는 아직 시도되고 있지 않은 실정이다.

유기독성물질은 주로 고착성이며 여과섭식 또는 퇴적물 섭식을 하는 생물의 섭이활동을 통하여 이들의 체내에 축적되며 해양생태계의 먹이사슬을 통하여 해양환경 내에서 순환한다(Akberali & Trueman, 1985). 특히 고착성 이거나 운동성이 미진하며 환경오염 지표종으로 잘 알려진 굴이나 홍합과 같은 이매패들은 이런 유기독성 오염에 상대적으로 강한 종으로 알려져 있으며 여과섭식 행위를 통하여 유기 독성물질을 체내에 잘 축적한다(Higashiyama *et al*, 1991). 그러나 이러한 유기 독성물질은 해산 어패류의 생리작용에 심각한 문제를 일으키기도한다. 한 예로, 유기 주석의 영향은 성숙한 굴의 성장부진, 유생의 치사 등을 유발하며, 특히 신복족류에 속하는 고등에게 있어 암컷이 수컷의 성기를 가지며, 궁극적으로는 생식기능을 상실하여 집단소멸을 유발하기도 한다(Alizieu, 1996; Gibbs & Bryan, 1996). 유기주석은 또한 성숙한 굴의 성장을 저해하기도 하는데 유기주석의 오염이 심한 지역에서는 굴의 패각 성장이 멈춰 굴 패각의 두께가 두꺼워지거나 그 형태가 구형으로 변형되기도 한다.

유기독성물질에 의한 해양환경오염은 날이 갈수록 심각해 지며 이는 우리나라에 국한된 문제 뿐만 아니라 전 세계적인 환경 문제로 인식되고 있다. 이런 유기 독성물질의 환경오염을 감시하기 위한 연구제도가 '78 미국의 "Mussel Watch Program" 에 의하여 시작되었으며, '86년 이후 "National Status and Trend" program 으로 발전하여 장기적인 환경감시 제도로 수행하고 있다(Goldberg *et al.*, 1978; Farrington *et al.*, 1983; NOAA, 1987). 이들 환경감시 계획에서는 주로 근해의 연안역에서 어로활동 또는 양식으로 쓰이는 대형 이매패류(예, 홍합, 굴, 피조개 등)를 주기적으로 채집하여 이들의 체내에 존재하는 유기 독성물질(예, PAH, TBT,

Chlorinated pesticides, Organotin compounds) 및 중금속 등을 분석하여 시간과 공간에 따른 이들 오염원의 분포를 규명하며 생물학적으로서는 이들 오염물질이 유용수산자원에 미치는 영향, 즉, 생물의 생리적 상태, 성장도, 생산량 등을 연구하였다(NOAA, 1987; Ellis *et al.*, 1993). 환경오염이 해양 생물에게 미치는 영향은 장기적인 영향과 단기적인 영향으로 나누어 볼 수 있다. 단기적인 영향은 대부분 생물을 치사시켜 특정 종이나 집단, 또는 군집을 파괴하는 경우이다. 장기적인 영향은 비록 그 영향이 치사에 이르지 않으나 각 개체에 생리학적이거나 병리학적인 영향을 미치는 경우이다(Akberali & Trueman, 1985; Bayne, 1985). 특히 장기적인 환경오염의 영향은 수산 유용자원의 성장부진, 생식력 감소, 질병 및 면역성 저하에 따른 기생충 감염률 증가 등으로 나타난다(Samml & Widdows, 1994; Yevich & Yevich, 1994; Gibbs & Bryan, 1994; Choi *et al.*, 1994). 미국의 걸프만에서 수행된 NOAA의 종합감시 프로그램에서는 환경오염 물질의 농도와 Perkinsus라는 굴 체내 기생성 원생동물 포자충의 감염률 및 감염 정도와 깊은 상관관계가 있는 것으로 나타났는데, 이는 오염지역에서 서식하고 있는 굴들이 오염물질로 인하여 그 면역성이 저하된 결과 기생충에 감염이 쉽게 되는 것으로 해석된다. 또한 이러한 기생충의 감염은 미국 걸프만 및 대서양 연안에 서식하고 있는 굴의 급격한 생산량 감소를 초래한 것으로 알려져 있다(Choi *et al.*, 1989; Craig *et al.*, 1989; Wilson *et al.*, 1990).

외국의 경우 환경오염이 해양생물에게 미치는 영향에 관한 연구는 해양 화학적 측면의 연구와 아울러 해양생물학적 연구가 병행되어 왔으며, 현재 세계적으로 가장 큰 규모의 환경오염 모니터링 연구인 NOAA의 종합감시 프로그램인 "National Status and Trend" 에서도 각종 유기 독성물질의 분석과 아울러 생물시료의 병리학적인, 생태학적 연구가 병행되고 있다(Ellis *et al.*, 1993; Kim, 1995; Lauenstein & Cantillo, 1993). 이러한 환경감시 프

그럼의 개발과 아울러 장기적인 환경감시를 위하여는 정확하며 반복 가능한 조사 및 분석 방법의 개발 과 더불어 방법의 표준화가 무엇보다도 시급한 과제이다. 특히 분석 방법의 표준화는 각기 다른 연구진에 의해서 다른 방법에 의한 연구가 진행될 때 생기는 문제를 최소화 시키는 역할을 한다. 따라서 화학적인 분석 방법의 표준화와 아울러 생물학적, 생태학적 분석 방법의 표준화도 환경감시 프로그램의 진행에 있어 반드시 선행 되어야할 과제이다(Lauenstein & Cantillo, 1993).

우리 나라의 경우 '87~'90년까지 유기독성물질 및 중금속이 유용수산자원에 미치는 영향에 대한 연구가 전국 245개 지역에서 수행되었으며 '91년, '93년, '94년에 이들 오염이 심각한 진해, 마산만에서 조사가 수행되었다(이 등, 1990). 국내 해양 환경 오염에 관한 연구는 외국의 해양환경 오염 연구와 비교시 오염물질의 순환이나 생물학적 축적 등에 주력하고 있는 실정이다. 그러나 외국과 비교시 우리 나라 해양 환경 오염 연구에서 생물의 생리 또는 병리학적 측면의 연구는 아직 본격적으로 수행되지 않고 있는 실정으로 무엇보다도 이러한 연구의 방법론적 기틀을 마련함이 우선적으로 수행될 과제로 생각된다.

본 연구에서는 유지류 및 유독성 물질이 해양 생물에게 미치는 여러 가지 영향을 다음과 같은 측면에서 분석하고자 한다.

- 1) 패류의 생식력 측정 기술 개발; 환경오염이 유용 수산자원의 생식 기능에 미치는 영향을 조직학적 방법으로 분석 가능한 기술 개발
- 2) 조직병리학적 분석 기법 개발; 유기 독성물질에 의한 패류의 생리 및 세포학적 상태 분석에 관한 기술 개발
- 3) 유기주석에 의한 신복족류의 임포섹스 현상에 관한 연구; 제주 연안의 신복족류에서 출현하고 있는 임포섹스 현상 규명

제 2 절 재 료 및 방 법

1. 패류의 생식력 측정 기술 개발

가. 조사 지역

조직학적 방법을 이용한 패류의 생식력 측정 기법을 위하여 전남 여수시와 여천군 돌산도 사이에 위치한 가막만으로부터 참굴(*Crassostrea gigas*)을 채취하였다. 가막만은 현재 우리 나라에서 굴 생산량 2위를 차지하는 지역으로 참굴의 수하식 양식이 성행하는 지역이다. 가막만은 현재 청정 구역으로 설정된 지역으로 다른 지역에 비하여 환경 오염 정도가 월등히 낮은 지역으로 알려져 있다. 가막만의 해수 유동은 주로 조석류의 지배를 받는 것으로 보고되고 있다(이, 1994).

나. 시료 채취

참굴은 전남 여천군 돌산읍 금봉리 앞 바다에 위치한 수하연으로부터 채취하였으며, 그 시기는 굴의 산란이 활발히 진행되고 있던 '95년 6월~8월 사이와 산란이 끝나고 생식적으로 휴지기인 '95년 1월~2월 사이에 채취하였다. 가막만의 굴은 모두 수하연에서 자란 양식산으로 6~7월 경에 채묘된 종묘를 조간대에서 단련한 단련굴로 그 크기는 자연산 굴에 비하여 비교적 작은편이었다.

다. 시료 분석

현장에서 실험실로 옮겨진 굴은 도착 즉시 패각의 길이를 버니어 캘리퍼스로 0.1 mm 까지 측정된 후, 개각하여 육질을 분리하였다. 분리된 육질은 페이퍼 타올로 수분을 충분히 제거한 후 전자저울을 이용하여 1 mg 단위까지 측정, 기록하였다. 습중량 측정이 끝난 시료는 조직학적 슬라이드를 제작하기 위하여 Bouin's solution(saturated picric acid solution 75 ml, concentrated high quality formalin 25 ml, glacial acetic acid 5 ml)에 24시간~48시간 고정하였다. 고정이 끝난 시료는 Fig. 6-2와 같이 아가미, 소화맹낭, 생식소 등이 포함될 수 있도록 몸통의 중앙을 횡적으로 절단하였다. 또한 최종적으로 유리 슬라이드 위에 고정 될 수 있는 크기로 예리한 면도칼로 조직 부위를 정리한 뒤, 조직작성용 카세트에 넣어서 탈수, 염색, 고정의 과정을 거쳐 조직 시료를 제작하였다(Fig. 6-3). 최종적으로 작성된 조직시료는 현미경을 이용하여 관찰하였으며, Olympus 현미경에 부착된 카메라를 이용하여 생식소 부위별로 사진촬영 하였다. 생식소의 조직시료 작성 방법은 NOAA(1983; 1993)의 방법을 따랐다.

2. 참굴의 유기주석화합물에 대한 생물농축

가. 조사 지역

유기주석의 참굴 체내에 있어 생물농축 현상을 연구하기 위하여 '96년 5월 11일 경남 통영시 인평동에 위치한 양식장으로부터 1년 정도 성장한 참굴 500 개체를 마산만 안에 위치한 돌섬으로 이식하였다. 통영시 인평동 부근은 현재 굴 양식이 활발히 이루어지고 있는 지역으로 이곳의 굴 양식

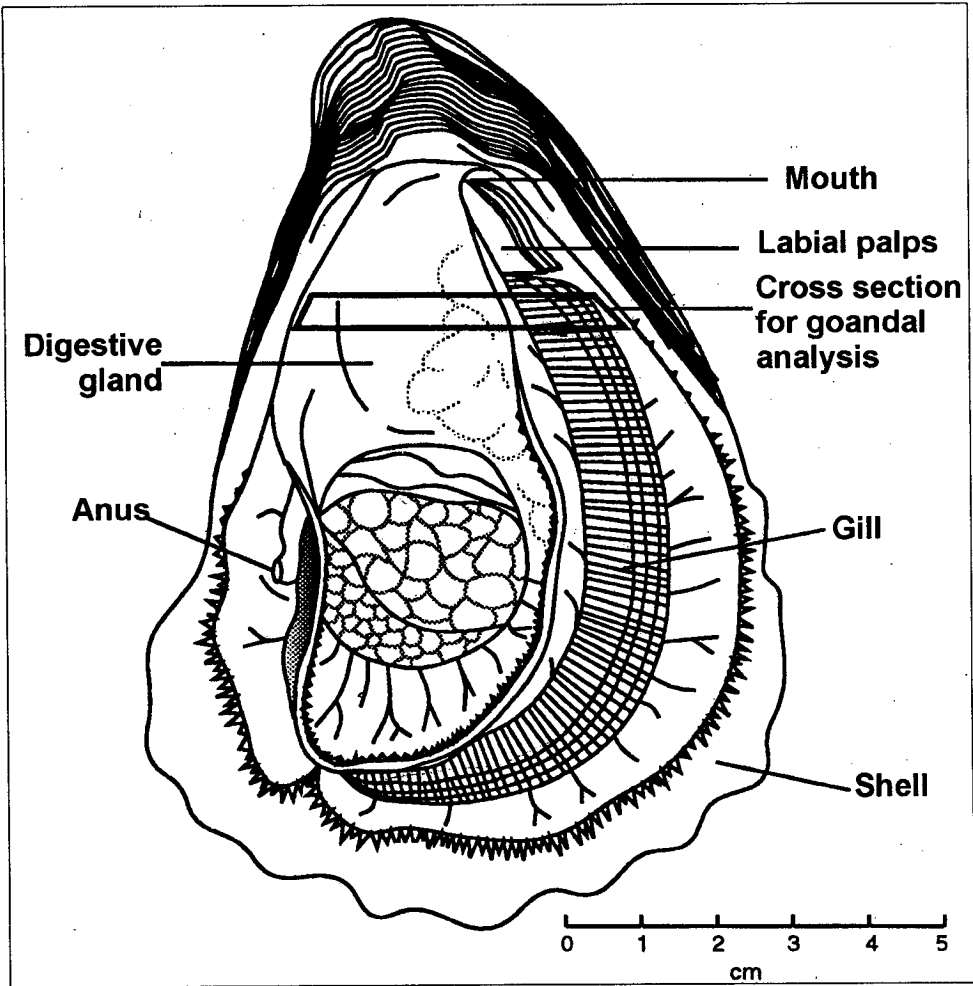


Fig. 6-2. Location of the oyster tissues taken for histopathological and gonadal assay

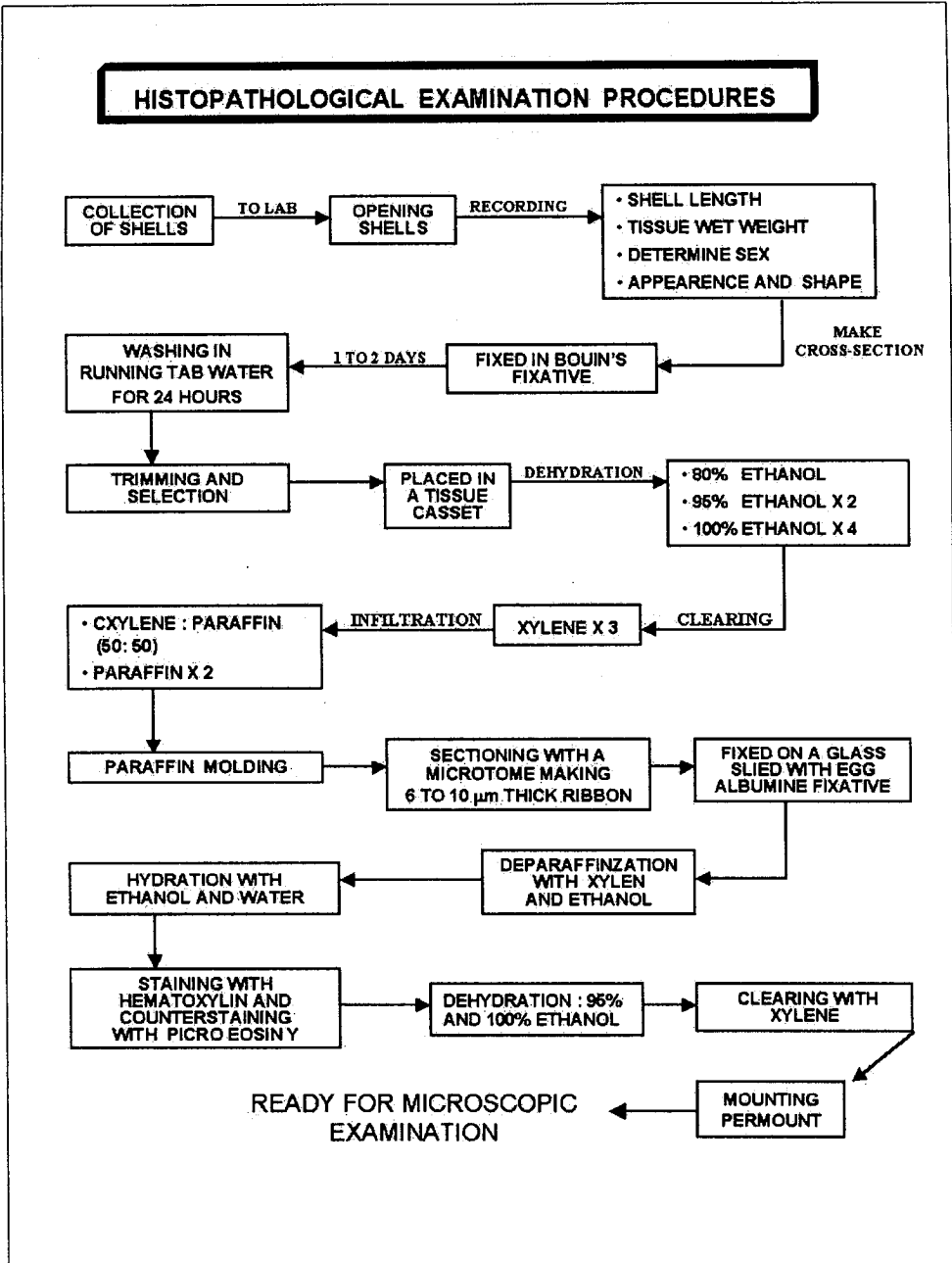


Fig. 6-3. Illustration of histopathological procedures used in this study

은 연승 수하식 방법을 쓰는 지역이다. 마산만은 현재 여러 가지 환경 오염 물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있는 지역이며 특히 TBT, PAH, PCB 등의 해수, 퇴적물내 농도가 높은 지역으로 잘 알려져 있다(이, 1994). 마산만으로 이식된 굴은 플라스틱 콘테이너에 담겨 수심 4~5m 지역에 위치하였다.

제주도 북쪽에 위치한 추자도 신양리 항 내에서도 수심 3~5 지역에서 성숙한 굴이 서식하고 있었다. 비록 추자도 연안은 육지로부터 멀리 떨어진 지역으로 환경오염원이 존재하고 있지 않았으나 항 내에서는 빈번한 선박의 왕래와 이로 인한 TBT의 오염이 예측되었다. 따라서 이들 지역에서 서식하고 있는 굴을 채집하여 TBT의 오염 정도를 분석하였다.

나. 시료 채취

마산만으로 이식된 굴은 이식된 지 1주일 후부터 10일 간격으로 채집을 원칙으로 하였다. 현장에서 채집된 굴은 실험실로 옮겨진 후, 패각의 길이, 육질의 습중량 등을 측정하고 연구 목적에 따라 냉동보관 또는 고정하여 보관하였다.

다. 자료 분석

1) 유기주석화합물의 분석

채집된 개체 각각으로 부터 패각의 길이, 습중량, 성별, 등을 측정후 육질을 분리하여 150 ml amber bottle에 위치하여 전처리 전까지 -60℃에서 냉동보관 하였다. PCB, TBT, 유기염소계 농약의 분석은 HPLC (LACHAT LC)와 Gas Chromatograph(Hewlett-Packard Model 5890 GC)

등을 이용하였으며, 자세한 분석방법은 전년도 보고서에 나와 있다(한국해양연구소, 1996).

본 연구에서는 특히 굴의 생식주기에 따른 유기주석화합물의 생물농축을 알아보기 위하여 굴의 생식세포를 분리, 정제하였다. 생물의 산란주기와 오염물질의 생물축적과는 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 굴의 알이나 정자와 같은 생식세포내의 유기주석화합물의 생물농축에 대한 연구자료는 세계적으로 아직 풍부하지 않은 점을 감안하여, 굴의 산란기인 6월에서 7월 초에 채집된 굴은 알과 정자를 육질로부터 따로 분리한 뒤 각각에 대한 유기주석화합물 농도를 측정하였다.

굴의 알은 산란기에 채집된 굴로부터 알을 포함한 생식소 부위를 가위로 으려낸 뒤 플라스틱 petri dish에 올려놓은 후, saline buffer(NaCl 0.15 M, phosphate buffered, pH 7.3)를 적당히 첨가한 후 주사기 피스톤을 이용하여 생식소를 압박, 알이 밖으로 방출되게 하였다. 방출된 굴 알은 50 ml conical centrifuge tube에 옮긴 뒤 2000 rmp의 속도로 원심분리하여 불순물을 제거하였다. Saline buffer로 여러번 세척한 굴 알은 최종적으로 30 μ m 채로 걸러 불순물을 제거한 후, amber bottle에 -60°C 냉동보관하였다. 수컷의 정자도 같은 방법으로 분리, 정제하였으며, 최종적으로 10,000 rpm으로 원심분리하여 불순물을 제거한 후 amber bottle에 -60°C 냉동보관하였다. 생식소와 이를 제외한 조직의 TBT 분석을 위하여 약 20 개체의 굴을 이용하였다.

2) 조직병리학적 분석

마산만으로 옮겨진 굴과 통영에 서식하고 있는 굴과의 생리학적 차이점을 규명하기 위하여 '97년 5월 10일 경부터 9월 초까지 통영과 마산만에 이식된 굴에 대한 조직병리학적 시료를 작성하였다. 굴의 채집 일정은

Table 6-1과 같다.

채집된 굴은 Bouin's fixative에 고정한 후 탈수, 고정 과정을 거친 뒤, 두께 6 μm 으로 절편을 만든 뒤, Harri's hemotoxylin과 Picro eosin으로 염색하였다. 조직 시료는 현미경을 이용하여 부위별 손상정도를 파악하였으며, 카메라를 이용 사진 촬영 하였다. 조직의 검사는 Yevich & Yevich (1994), Bayne(1985) 및 NOAA(1993) 방법 등을 참조하였다.

3) 패각의 분석

추자도 신양리 지역에서 채집된 굴은 실험실로 옮긴 후, 개각하여 육질을 분리한 뒤, 이들의 무게를 mg 까지 측정하였다. 이 중, 패각의 두께가 정상적인 굴과 비교시 두껍게 나타는 굴의 패각은 전기톱을 이용하여 종단면을 자른 후, Nikon F-90 카메라에 60 mm 렌즈를 부착하여 사진촬영 하였다.

3. 제주연안의 임포섹스 현상

가. 조사 지역

TBT에 의한 신복족류의 임포섹스 현상에 대한 조사는 현재 해양환경 오염 정도가 다른 지역에 비하여 덜 심한 것으로 생각되는 제주도와 인근 도서를 중심으로 수행하였다.

제주 연안에서 관찰할 수 있었던 신복족류는 대수리(*Thais clavigera*)와 두드럭고둥(*Thais bronni*)으로 대부분 항만 내 또는 연안 조간대에서 흔히 발견할 수 있었다. 대수리와 두드럭 고둥은 제주항, 성산항, 모슬포항, 한림항 등, 제주도 내의 4개 주요 항과 성산 오조리, 추자도 신양리, 서귀포 보목리, 남원읍 효돈리 등 에서 '97년 6월에서 11월 사이 수행되었다(Fig.

Table 6-1. Date of oyster collections for TBTs analysis and for histopathological examination

LOCATION	
Masan	Tongyoung
5/27/96	5/27/96
6/03/96	6/03/97
6/10/96	6/10/96
6/24/96	6/24/96
7/06/96	7/06/96
7/26/96	-
-	9/16/96

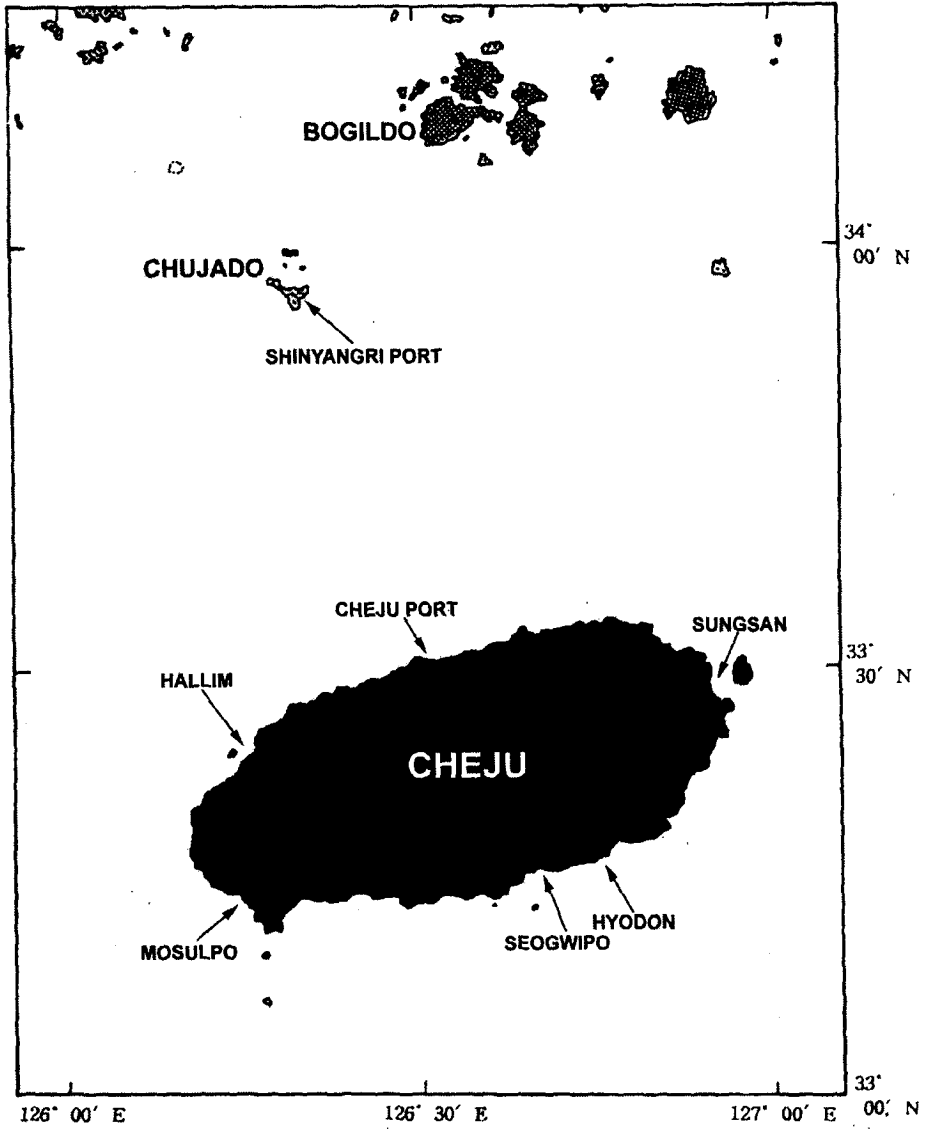


Fig. 6-4. Sampling locations in Cheju and Chujado

6-4). 조사 지역은 모두 조간대 지역으로 대수리는 주로 조간대 중부에 위치하고 있었다. 따라서 이들을 채집하기 위하여 조석표를 참조하여 간조시 채집하였다. 대수리의 임포섹스 출현율에 사용된 시료의 수와 채집 일자 등은 Table 6-2와 같다.

나. 시료 분석

현장에서 채집된 대수리는 실험실로 옮긴 후, 버니어 캘리퍼스를 이용, 각장의 길이를 0.1 mm 까지 측정하였다. 측정을 마친 시료는 패각을 분쇄하여 육질을 분리하여 전자 저울로 습중량을 mg까지 측정하였다.

유기주석의 오염에 의한 임포섹스 정도는 Relative Penis Size Index (RPSI)를 이용하여 계산하는데 11월과 12월에 채집된 대수리를 대상으로 이들의 penis 길이를 수컷과 imposex된 암컷을 대상으로 측정하였다. 대수리의 암, 수 구분은 Fig. 6-5를 참조 하였으며, 이들 중 일부는 사진촬영하였다. 패각으로부터 분리된 대수리는 해부현미경 하에서 sperm ingesting gland의 유무로 암수를 먼저 확인한 뒤, 이들의 두부에 돌출되어 있는 penis를 가위로 도려낸 후 유리슬라이드 위에 위치하였다.

대수리 penis의 길이는 컴퓨터 이미지 분석 기법을 이용하여 측정하였는데, 이를 위하여 우선 대수리의 penis를 포함한 유리슬라이드를 컴퓨터 스캐너를 이용하여 스캐닝하였다. 대수리 penis의 스캐닝은 실험결과 600~1200 dpi의 고해상으로 스캐닝 하여야만 image analyzer software에 의한 길이 분석이 용이하므로 1200 dpi의 해상도로 스캐닝하였다. 이때 길이 측정시 보정을 위하여 1 cm의 축적을 슬라이드에 포함하여 스캐닝하였다. 스캔된 영상은 ImagePro image analyzer를 이용 컴퓨터 영상화된 자료로부터 대수리 penis의 길이를 0.1 mm까지 측정하였다.

Table 6-2. Sapling efforts of *T. clavigera* and *T. bronmi* in Cheju for the investigation of imposex.

Date	Locations	Species	NO.	Remarks
06/11/97	Hyodon, Seogwipo	<i>Thais clavigera</i>	100	Clean area
06/11/97	Sungsan Harbor	<i>T. clavigera</i>	28	Harbor
07/29/97	Cheju Harbor	<i>T. clavigera</i>	50	Harbor
07/29/97	Ojori, Sungsan	<i>T. clavigera</i>	100	closed bay
08/04/97	Moselpo, North Cheju	<i>T. clavigera</i>	50	Harbor
08/07/97	Hallim, North Cheju	<i>T. clavigera</i>	83	Harbor
08/07/97	Bomokri, Seogwipo	<i>T. clavigera</i>	64	Clean area
11/08/97	Cheju Harbor	<i>T. clavigera</i>	55	Harbor
11/08/97	Cheju Harbor	<i>T. bronmi</i>	20	Harbor
12/28/97	Sungsan Harbor	<i>T. clavigera</i>	20	Harbor
12/28/97	Bomokri, Seogwipo	<i>T. clavigera</i>	30	Harbor

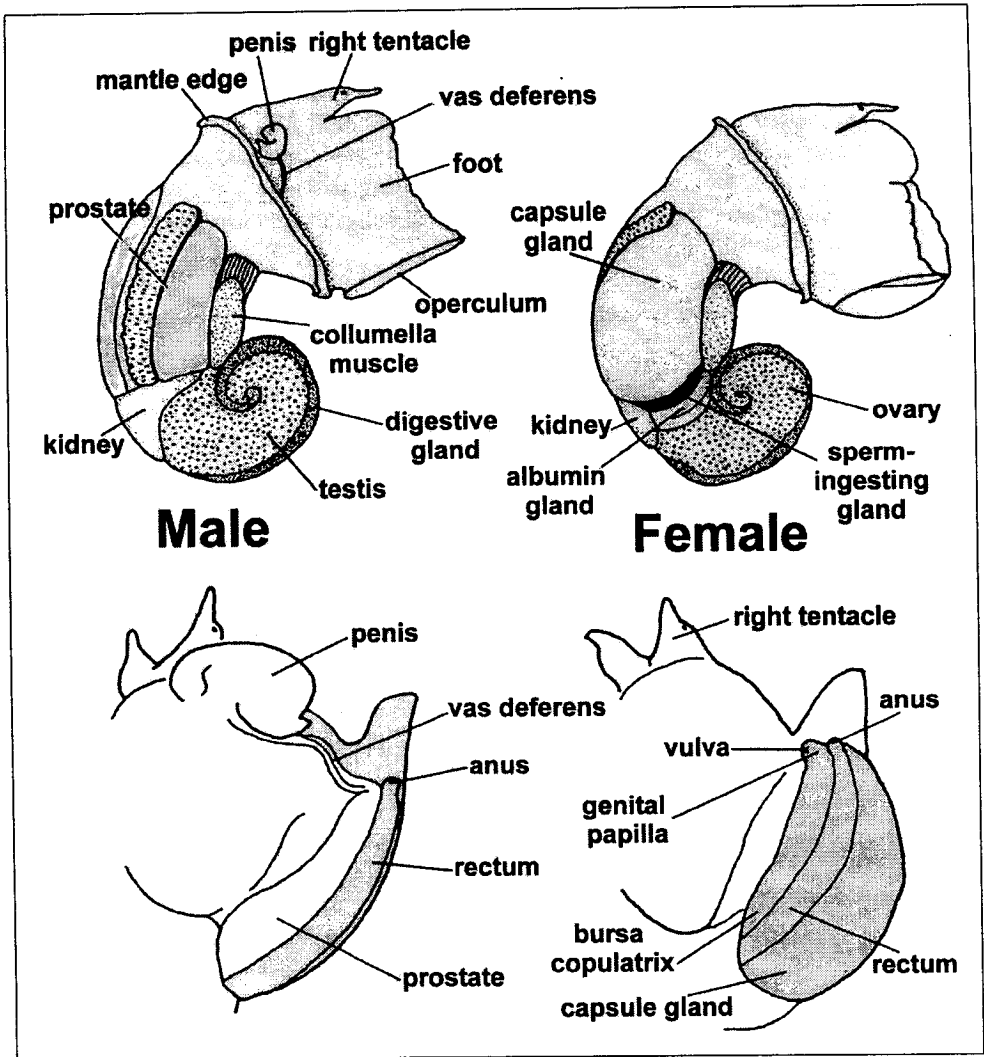


Fig. 6-5. Internal anatomy of a typical neogastropoda (redrawn from Gibbs and Bryan, 1994)

제 3 절 결과 및 고찰

1. 패류의 생식력 측정 기술 개발

가. 조직학적 방법의 표준화

조직학적 방법은 생물시료를 탈수, 세척 과정등을 거쳐 파라핀에 포매한 후 마이크로 톱을 이용하여 적당한 두께로 절단한 뒤, 시료의 특성에 맞는 염색방법으로 염색하여 박편을 제작, 현미경으로 관찰하는 방법을 말한다(Table 6-3). 조직학적 연구방법은 병리학 및 일반생물학 분야에서 널리 쓰이는 연구 방법으로 특히 해양환경감시 프로그램에서는 필수적인 연구방법 중의 하나이다(Yevich & Yevich, 1994; Bayne, 1985).

유독물질에 의한 환경오염은 특히 장기적으로 환경오염의 영향권 내에서 서식하고 있는 생물의 성장과 번식능력의 쇠퇴를 유발하는데, 이는 특정 종의 생식주기를 연장, 또는 단축시키는 생식주기의 교란과 번식기를 통하여 생성, 방출되는 생식세포의 양적 감소를 유발한다. NOAA의 통합감시 계획에서는 환경오염이 생식주기에 미치는 영향에 대한 감시계획 및 분석 절차를 이미 표준화 한 바 있다(NOAA 1983; 1993). 본 연구에서는 참굴의 생식주기를 조직학적 방법으로 분석하는 절차를 표준화하였다. 본 보고서에는 현재 NOAA의 National Status and Trend Program에서 소개하고 있는 조직학적 분석방법을 토대로 본 연구에서 사용된 방법을 단계별로 정리 하였다. 이미 Fig. 6-3에서 설명한 바와 같이 조직학적 재료의 작성은 시료의 고정을 시작으로 최종적으로 슬라이드에 봉입하여 현미경으로 관측하는 과정을 거치게 된다.

핀신전기(slide warmer)에서 24 시간 가량 건조시킨다. 이에 따라 파라핀 전신기 내에서 파라핀 박편은 서서히 퍼지며 알부민용액에 의하여 슬라이드위에 고정되게 된다.

2) 염색 및 봉입 (Staining and Permount)

조직 박편의 염색을 위하여 탈수와 침투를 거친 시료는 다시 함수과정(hydration)을 거쳐 염색하게 된다. 본 연구에서는 시료의 염색액으로 Harris' hematoxylin과 eosin을 사용하였다. 이들 염색액은 일반적인 세포질과 핵 등을 관찰하기에 가장 보편화된 염색액으로 생식소의 관찰에 적합한 것으로 생각된다. 탈파라핀(deparaffinization), 함수(hydration), 염색(staining), 탈수(dehydration), 봉입(permount) 등의 과정은 Table 6-4 와 같다.

3) 조직학적 방법에 의한 참굴의 생식지수

이매패류의 생식주기를 연구하는데 있어 가장 많이 사용하는 방법은 조직학적 방법이며 생식소의 발달과정은 국내의 경우 주로 생식주기에 따른 알의 크기 측정으로 결정한다(정 과 김, 1989; 정 외, 1986). 그러나 이러한 방법은 알의 크기를 측정함에 많은 시간을 소비하여야 하며, 때때로 성숙도가 다른 생식세포가 섞여있을 경우, 이들의 측정이 곤란하게 된다. 이와 상대적으로 NOAA의 홍합감시 계획에서는 굴의 성 성숙 정도를 지수로 표현하여 관찰자가 이러한 지수를 성 성숙 정도에 따라 배정하는 방법을 택하고 있다(Powell *et al.*, 1993; Hillman, 1993). 본 연구 결과 굴의 생식도 지수 판정 기준은 Powell(Powell *et al.*, 1993)의 방법이 굴의 생식주기를 판정하기에 적합한 기준으로 생각되어 이를 따르기로 하였다(Table 6-5). Powell *et al.*(1993)은 대서양산 굴(*Crassostrea virginica*)의 생식주기를 8 단계의 지수로 나타낸 바 있다.

Table 6-4. Tissue staining sequence

DEPARAFFINIZATION		RINSING	
xylene	5 min	running tap water	1 min
xylene	5 min	↓	
ethanol	5 min	BLUEING	
ethanol	5 min	Lithium carbonate solution	0.5-1 min
↓		↓	
COLLOIDIONIZATION		WASHING	
Collodion solution	quick dip	water	2 min
80% ethanol	2 min	↓	
↓		COUNTERSTAINING	
HYDRATION		Picro-eosin/Navy eosin	1 min
50% ethanol	2 min	↓	
30% ethanol	2 min	DEHYDRATION	
water	5 min	95% ethanol	several dips
↓		95% ethanol	several dips
STAINING		100% ethanol	1 min
Harris' solution	2-4 min	100% ethanol	1 min
↓		100% ethanol	1 min
RINSING		↓	
water	5 min	CLEARING	
↓		xylene	5 min
DECOLORIZATION		xylene	5 min
acid alchole	2-3 dip	↓	
↓		MOUNTING	
		PermOUNT	24 hr to dry

Table 6-5. Developmental stages and description of gonad appearance

Developmental Stage	Value	Comments
Sexually undifferentiated	1	Little or no gonad
Early development	2	Follicles beginning to expand
Mid-development	3	Follicles expand and beginning to coalesce: no mature gonad
Late-development	4	Follicles greatly expanded, and coalesced : some mature gamete present
Fully-developed	5	Most gametes mature : little connective tissue remaining
Spawning	6	Gametes visible in gonoduct
Spawned	7	Reduced number of gametes : some mature gametes still remaining : evidence of renewed reproductive activity
Spawned	8	Few or no gametes visible : gonadal tissue atrophying

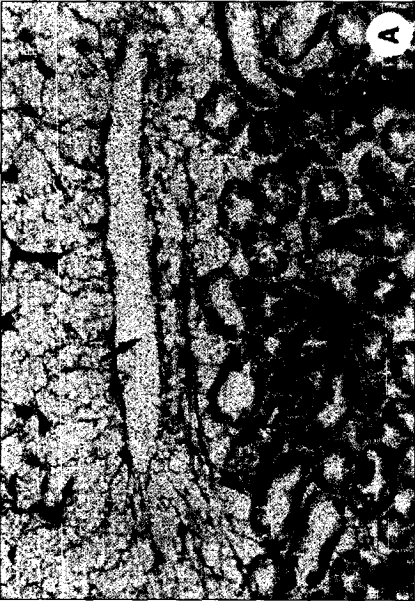
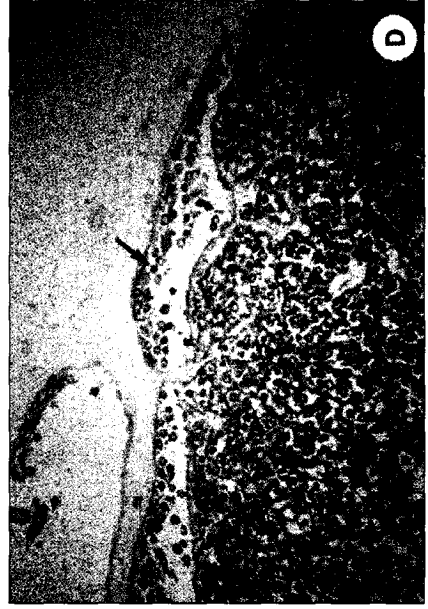
Fig. 6-6은 여수 가막만에서 채집된 굴의 생식소를 조직박편 제작 방법에 의하여 관찰한 결과이다. Fig. 6-6 A는 '96년 2월에 채집한 굴로 생식적으로 휴지기에 있어 생식세포는 전혀 관찰되지 않아 암·수의 구분이 불가능하다. 그림 내의 화살표는 산란시 난이나 정자가 외부로 방출되는 산란관(gonoduct)를 가르킨다. 그림 B는 '96년 6월경에 채집된 굴로 성숙한 알이 난소소엽 (follicle)내에 팽창하고 있으며, 생식적으로 완숙기에 이르고 있다. 그림 C는 산란 직전인 굴 암컷으로 완숙한 알이 난소소엽에 충만하고 있다. D는 산란 중인 암컷으로 일부 알이 산란관에 위치하고 이들이 외부로 방출중임을 가르킨다. E는 산란 후의 굴로 잔여 난세포가 난소소엽의 벽에 붙어 있다. F는 흡수기(spawned, resorbing)의 암컷으로 외부로 방출되지 않은 일부 알이 식세포의 활동에 의하여 다시 흡수되는 과정을 보여주고 있다. G는 '96년 7월경에 채집된 성숙한 굴의 정소로 정소 사이에 빈 공간은 부분적으로 방정이 이루어 졌음을 암시한다. H는 방정 후의 굴로 정소내에 빈 공간이 많이 보이며 잔여 정자가 정소내에 남아 있다.

본 연구에서는 생식소 및 기타 세포의 조직학적 관찰에 대한 분석절차를 확립하였으며, 아울러 생식주기의 정량적 분석에 대한 기준을 제공하였다. 이러한 시료제작 방법 및 분석 기법은 향후 해양오염이 저서동물의 생식 및 성장에 미치는 영향을 시각적인 자료를 통하여 분석할 수 있는 기틀을 마련하는데 그 의미를 갖는다.

2. 참굴의 유기주석화합물에 대한 생물농축

가. 마산만 이식굴의 조직병리학적 관찰

'95년 5월 초 경남 통영시 인평동 굴 양식장에서 마산만 내의 돌섬 부



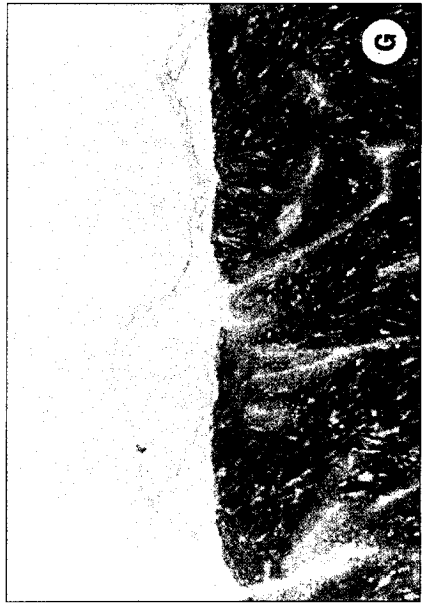


Fig. 6-6. Histological observations of reproductive stages of the Pacific oysters, *Crassostrea gigas* collected from Yosu. ①, sexually undifferentiated oysters with empty gonoduct and connective tissues. ②, late development stage of female showing mature eggs in follicles. ③, fully developed female with mature eggs filling follicles. ④, spawning female discharging egg through gonoduct. ⑤, spawned female exhibiting some residual eggs on follicle wall. ⑥, female oyster eggs in resorbing phase, egg become atrophying. ⑦, male oysters exhibiting fully mature sperms in spermary. ⑧, partially spawned male showing half empty spermary.

근에 이식된 굴에 대하여 조직 시료를 작성, 관찰한 결과는 Fig. 6-7과 같다. Fig. 6-7 A는 이식 후 1 개월 후에 채집한 굴의 소화맹낭 부위를 촬영한 사진이다. 그림의 화살표는 소화선의 벽 주위에 혈구가 집중되어 있음을 가르키며, 또한 소화선의 벽에 세포파열이 일어나고 있는 상태를 보여준다. Fig. 6-7 B의 화살표는 소화맹낭 세포벽내에 형성된 공포(vacuole)를 가르키고 있다. 이러한 세포벽내의 공간이 형성되는 현상은 해양오염에 의한 영향으로 판단된다. 해양 환경오염이 저서생물에게 미치는 또 다른 영향 중의 하나는 기생충의 감염을 증가이다. 이러한 현상은 오랜 기간 동안 환경오염에 저서생물들이 노출될 경우, 면역성이 저하되어 상대적으로 기생충의 감염율이 높아지게 된다(Bayne, 1985). Fig. 6-7 C는 굴 아가미 세포 내에서 관찰된 분류 미상의 포자충류이다. 통영지역의 굴과 마산만으로 이식한 굴의 아가미 세포를 비교시 두드러진 현상중의 하나는 마산만 굴에서 이러한 포자형의 기생충이 보다 많이 관찰된 점이다. Fig. 6-7 D 그림은 마산만에서 채집된 굴의 digestive tubule 세포벽에서 많이 관찰된 미분류 포자형 기생충이다. 특히 이러한 digestive tubule 내에 기생하는 기생충은 마산만으로 이식한 굴에서 두드러지게 많이 관찰되어 마산만의 환경조건이 통영지역보다 굴의 성장에 좋지 않음을 가르킨다. Fig. 6-7 E 그림은 굴의 아가미 상피세포가 파괴된 형태를 보여주고 있다. Fig. 6-7 F는 마산만 굴의 digestive tubule에서 관찰된 염증현상(granulocytoma)으로 세포벽 주위에는 다수의 혈구가 관찰되고 있다. Fig. 6-7 H 그림은 마산에서 채집된 굴의 digestive tubule로 Fig. 6-7의 G 그림과 비교시 그 크기가 작으며 그 형태도 불규칙적임을 알 수 있다.

환경오염이 저서생물의 생리에 미치는 영향은 세포학적 차원에서 다양한 형태로 반영된다. 굴의 경우 먹이를 취하거나 호흡이 일어나는 아가미 세포는 이러한 환경오염에 가장 민감한 부위 중의 하나이다. 환경오염에

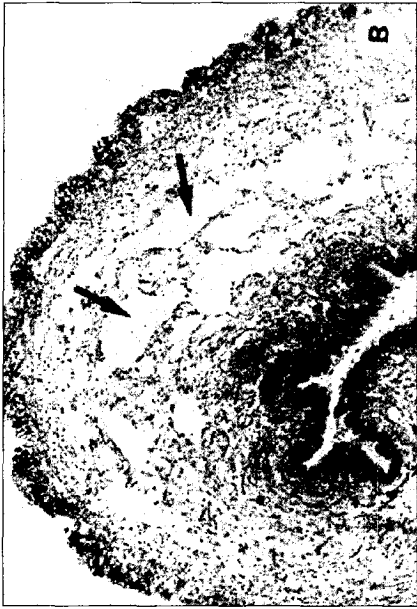




Fig. 6-7. Histopathological observations made from oysters transplanted from Tongyoung to Masan. ①, Kidney walls infiltrated with hemocytic cells and bursted epidermal tissues. ②, Edema formed in mantle tissue indicating stress effects. ③, Gills infested with unknown microsporozoan parasites ④, Digestive tubules parasitized by spore-shaped parasites. ⑤, bursted epithelial cells of gills. ⑥, granulocytomas, an inflammatory response, of digestive tubules in oysters collected from Masan Bay. ⑦, relatively normal and regular shape of digestive tubules found in oysters collected from Tongyoung. ⑧, abnormally small and irregular shaped digestive tubules of oysters collected from Masan Bay after transplantation.

의한 생리적 병리현상 중의 하나는 물리적인 세포파괴 현상으로, Fig. 6-7 E, F 등에서 보듯이 감염세포 주위에 세포 방어 기작으로 혈구가 집중되며, 심한 경우 염증현상을 보이기도한다. 이러한 혈구집중현상은 환경오염이 심각한 지역의 홍합에서도 잘 나타나고 있다(Bayne, 1985). 또한 이미 언급한 바와 같이 오랜기간 동안 오염 지역에 노출 될 경우 생리적 스트레스에 의하여 면역성이 감소되며, 이에따라 기생충 감염률이 증가하게 된다(Choi *et al.*, 1989; Ellis *et al.*, 1993; Wilson-Ormanod *et al.*, 1992; Sindermann, 1995). 통영 굴과 비교시 마산만에 이식된 굴은 소화 맹낭, 소화선 주위에 다양한 형태의 기생충을 포함하고 있어 마산만 지역의 환경오염이 저서생물에게 미치는 악 영향을 잘 반영하고 있다. 본 연구에서는 굴의 소화맹낭에 기생하는 포자형의 기생충에 대한 분류학적 연구가 이루어지지 않았으나, 이에 대한 보다 심도 있는 연구가 필요하다.

나. 참굴의 유기주석 생물농축

'96년 5월 초 경남 통영시 인평동 인근 양식장에서 마산만 돌섬 부근으로 이식한 굴의 유기주석 분석 결과는 Table 6-6과 같다. '96년 5월 22일부터 시작된 시료채취에서는 굴의 생식소(gonad) 부위와 이를 제외한 부위(somatic tissue)로 나누어 분석하였으며, 암, 수의 구분은 현미경을 이용하여 생식세포의 종류로 확인하였다.

Table 6-6에서 볼 수 있듯이 TBT 중 가장 독성이 높은 tributyltin (TBT)이 가장 우점하였으며, 그 농도는 전 실험 기간을 통하여 1,144~3,100 ng Sn/g dry wt로 나타났다(Fig. 6-8). TBT의 분해산물인 MBT나 DBT의 농도는 TBT와 비교시 그 농도가 3~8 배 정도 낮게 나타났다. 반면에 페닐티류 (TPhTs)는 그 농도가 TPhT의 경우 78~698 ng Sn/g dry

Table 6-6. Concentration of organotin compounds in oysters transplanted from Tongyound to Masan (unit=ng Sn/g dry wt)

	MBT	DBT	TBT	MPHT	DPHT	TPHT
5.22 Female Gonad	367	318	1590	74	16	108
5.22 Male Somatic Tissue	405	391	1670	13	43	253
5.22 Female Somatic Tissue	796	33	2090	22	33	294
5.22 Male Gonad	514	343	1380	100	22	185
6.3 Male Somatic Tissue	513	245	1220	65	64	218
6.3 Male Gonad	170	208	1328	23	28	184
6.3 Female Gonad	194	234	1300	37	29	158
6.3 Female Somatic Tissue	462	277	1300	47	52	213
6.11 Female Gonad	452	332	1290	64	9	78
6.11 Female Somatic Tissue	332	260	1144	28	30	204
6.11 Male Somatic Tissue	675	328	1350	52	22	132
6.11 Male Gonad	372	227	1310	67	9	200
6.20 Female Somatic Tissue	1460	530	2530	198	85	495
6.20 Male Gonad	492	360	1670	61	43	321
6.20 Female Gonad	484	403	1900	80	31	226
6.20 Male Somatic Tissue	1030	658	1830	120	50	531
7.6 Male Whole Tissue A	385	313	1750	26	68	319
7.6 Female Whole Tissue B	148	428	3100	66	44	698
7.6 Male Whole Tissue B	339	290	1520	24	33	134
7.6 Female Whole Tissue A	741	548	1640	48	42	461
7.26 Male Whole Tissue	748	535	1870	0	45	289
7.26 Female Whole Tissue	811	516	1870	0	44	366

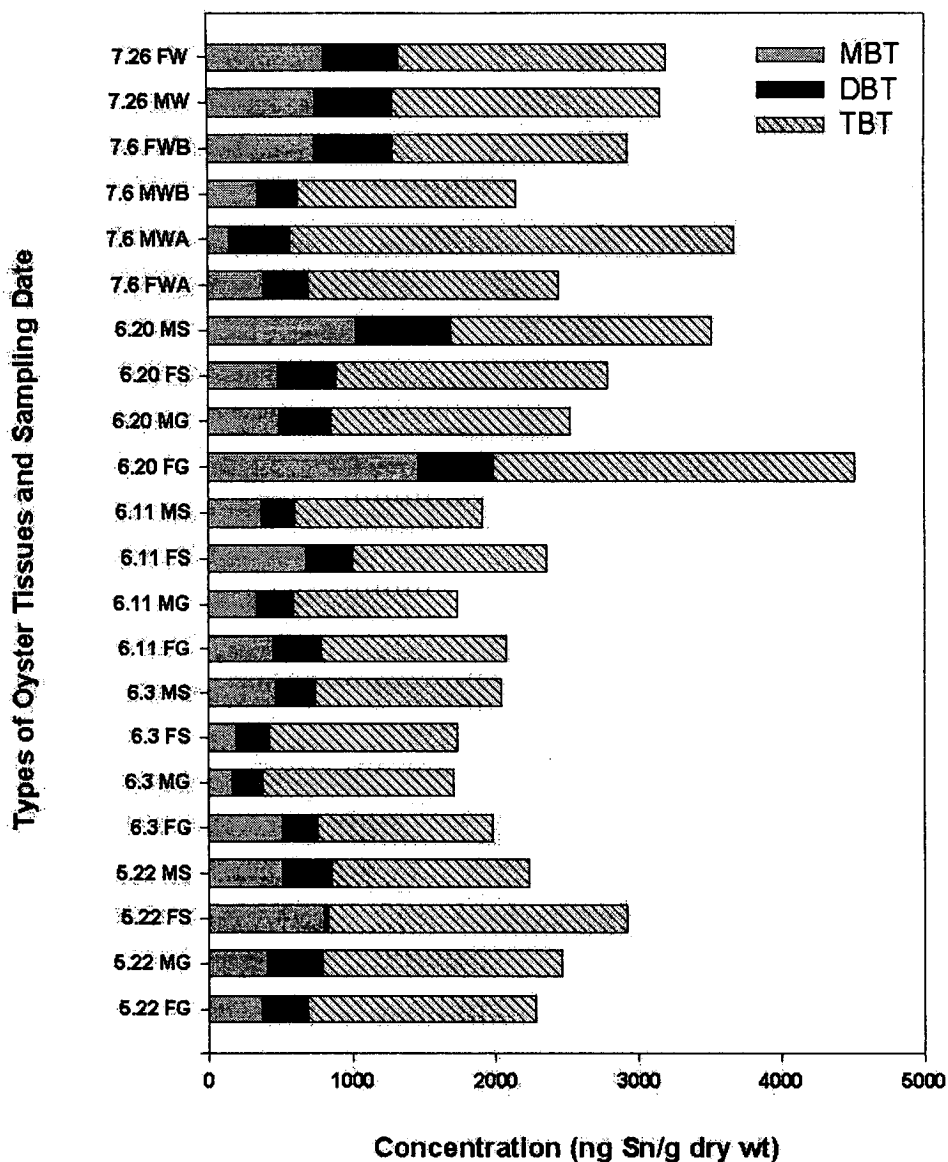


Fig. 6-8. Organotin compounds concentration in oysters from Masan Bay. FG; Female Gonad, MG; Male Gonad, FS; Female Somatic Tissues, MS; Male Somatic Tissues, FW; Female Whole animal, MW; Male Whole animal

wt의 범위를 보였는데, TBTs와 마찬가지로 MPhT, DPhT의 농도는 TPhT 보다 2~5 배 정도 낮게 나타났다(Fig. 6-9).

마산만에 이식된 굴의 산란 시기인 6월 초에서 7월초에 채집한 굴로부터 생식소와 육질세포를 분리하여 수행된 유기주석화합물의 농도 분석 결과는 굴의 생식소에는 다른 육질과 같거나 다소 높은 농도의 유기주석화합물이 포함되어 있는 것으로 나타났다. 그러나 본 실험에서는 굴 개체를 분석하지 않고 TBT 1개 시료 분석시 약 20 개체의 굴을 합하여 분석하였기 때문에 각 개체별 산란량에 따른 TBT 변이를 관찰 할 수 없었다. '96년 6월 10에 채집된 암수 굴 약 100 개체로부터 알과 정충을 분리 정제한 시료와 육질을 비교 분석한 결과에서도 알이나 정자에서 육질과 비교시 다소 높은 TBT가 검출되었으나 역시, 굴 각 개체의 분석이 이루어지지 않아 과연 굴의 생식세포가 다른 세포와 비교시 상대적으로 높은 TBT를 포함하는지의 여부는 밝혀지지 않았다(Table 6-7).

본 연구에서는 굴의 생식세포와 일반 조직세포를 분리하여 분석하였는데, 이는 굴이 산란활동을 통하여 유기주석 물질을 외부로 방출 하는지 여부를 관찰하기 위해서였다. 조직 시료의 분석을 통하여 밝혀진 것은 실험에 사용된 마산만 굴은 6월 말에서 7월 초에 산란을 하였으며, 이러한 산란 활동을 통하여 굴들은 전체 육중량의 40~60 % 정도를 알이나 정충으로 외부에 방출한다. 따라서 산란 직후와 산란 전에는 굴 체내에 있어 유기주석화합물의 농도에 큰 차이가 있으며, 이는 환경감시계획에서 생물학적 뿐만 아니라 화학적 측면에서도 반드시 고려하여야 할 사항 중의 하나로 여겨진다(Sericano *et al.*, 1990; Ellis *et al.*, 1993)

마산만으로 이식된 굴의 시간에 따른 유기주석화합물 체내농축현상은 두드러지게 나타나지 않았다. Table 6-6에서 보듯이 5월 22일에 분석된 암·수의 생식소 및 육질내의 TBT 농도(1,380~2,090 ng Sn/g dry wt)는

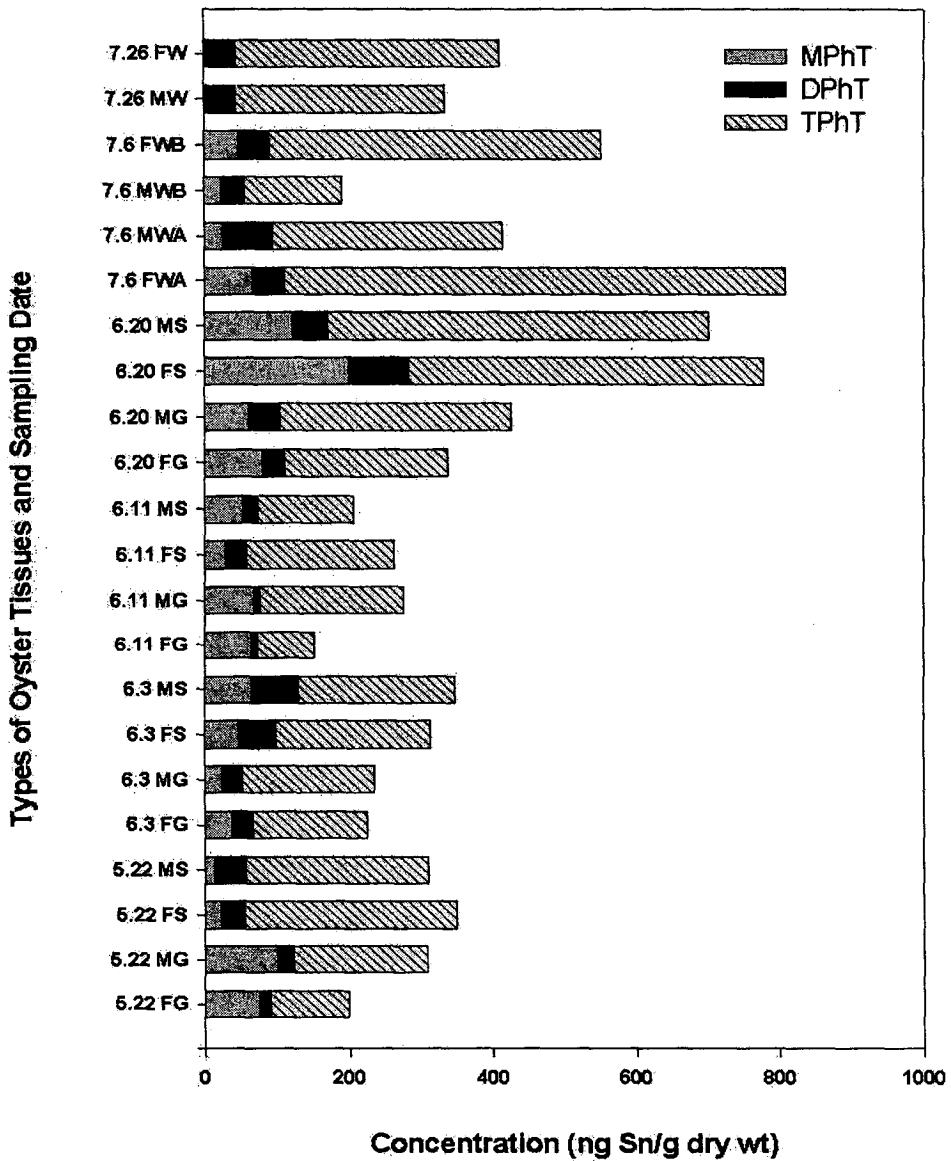


Fig. 6-9. Organo-phenyltin compounds concentration in oysters from Masan Bay. FG; Female Gonad, MG; Male Gonad, FS; Female Somatic Tissues, MS; Male Somatic Tissues, FW; Female Whole animal, MW; Male Whole animal

Table 6-7. Concentration of organotin compounds in oyster gonadal tissues
(unit=ng Sn/g dry weight)

	MBT	DBT	TBT	MPHT	DPHT	TPHT
6.10 groupB egg	135	73	609	0	20	58
6.10 groupB sperm	0	34	600	0	29	110
6.10 groupB male somatic	215	80	545	0	44	132
6.10 groupB female somatic	95	95	554	0	15	95
6.10 groupA egg	150	78	531	0	26	111
6.10 groupA sperm	0	39	587	41	42	107
6.10 groupA male somatic	236	99	579	0	26	141
6.10 groupA female somatic	257	117	532	0	22	130
6.10 groupC egg	94	87	643	0	42	119
6.10 groupC female somatic	170	107	610	0	19	120

7월 26에 채집 분석된 암·수 전체 생물체내의 유기주석화합물 농도(1,780~1,870 ng Sn/g dry wt)과 비교시 뚜렷한 농도의 증가를 보이지 않았다. 이는 아마도 이식 직후에서 최초의 시료 채취기간, 즉 10여일 간에 이미 평형상태에 도달한 것으로 생각된다.

유기주석화합물의 분석은 일반적으로 생체량이 적은 생물시료의 경우 여러 개체를 합쳐서 1개의 시료로 분석하고 있다. 이러한 경우 각 개체의 변이는 여러 개체와 합치는 과정에서 상실되게 된다. 본 연구에서는 유용수산자원 중, 가장 생체량이 큰 키조개를 대상으로 체내의 유기주석화합물을 각 개체별로 분석하였다. 키조개는 육질무게가 50~200 g 정도로 이매패류 중 가장 크다. Table 6-8은 '96년 6월 10일 여수 부근에서 채집된 키조개 14개체를 대상으로 각 개체의 육질과 생식소를 분리하여 유기주석화합물의 농도를 측정된 자료이다. 본 연구에서는 생체량 60~300 g 정도의 암수 각 7 개체를 분석에 이용하였다. 채집당시의 키조개는 성적으로 완숙하여 암컷의 경우 짙은 분홍색 내지 붉은색의 생식소를, 수컷의 경우 유백색의 생식소를 갖고 있었다. 이들 생식소가 전체 육중량에 차지하는 비율은 생식소지수(gonadosomatic index, Table 6-8)로 나타냈으며, 생식소지수는 개체에 따라 5~22% 정도였다. 일반적으로 성적으로 완숙한 키조개의 생식소 지수는 20~30 % 정도인 것으로 알려져 있다.

실험에 이용된 키조개는 생식세포의 경우, 249~664 ng Sn/g dry wt의 TBT를, 육질세포의 경우 113~258 ng Sn/g dry wt의 TBT를 함유하고 있어, 굴과 비교시 그 농도가 낮게 나타났다(Fig. 6-10, 6-11). 그러나 육질세포와 생식세포와의 농도차이는 생식세포에서 현저히 높게 나타나 다른 이매패류와 같이 키조개도 산란을 통하여 체내의 오염물질을 외부로 방출하는 것으로 생각된다. 페닐틴의 경우도 TBT와 같은 양상을 보였는데, 생식소의 경우, 그 농도가 33~109 ng Sn/g dry wt 인 반면 육질세포는

Table 6-8. Concentration of organotin compounds in pen shell, *Atrina pectinata japonica* collected in Yosu, on June 10, 1996.

Gonadal somatic index is a percent weight of gonad to total tissue weight.

ID	Sex	Shell Length (cm)	Shell Width (cm)	Total Tissue Wt(g)	Gonadal Tissue Wt (g)	Gonadal Somatic Index(%)	Gonadal Tissues (ng Sn/g dry wt)				Somatic Tissues (ng Sn/g dry wt)			
							MBT	DBT	TBT	TPHT	MBT	DBT	TBT	TPHT
1	M	21.20	11.70	126.60	11.80	9.32	31	31	366	53	100	46	235	41
2	M	27.50	12.50	312.00	48.51	15.55	42	35	522	56	53	41	214	32
3	M	26.00	14.00	224.00	29.90	13.35	43	37	422	65	62	40	238	38
4	F	21.80	11.00	145.00	29.00	20.00	24	29	402	33	44	48	158	16
5	F	26.50	13.40	258.00	22.80	8.84	59	50	664	109	60	70	255	23
6	M	21.50	11.00	139.00	11.85	8.53	31	24	390	51	103	52	236	23
7	F	27.50	15.00	233.00	25.37	10.89	32	33	587	67	60	57	258	29
8	M	25.50	13.50	230.00	45.97	19.99	17	17	249	30	40	24	113	19
9	M	27.00	12.80	201.00	36.10	17.96	35	33	555	52	43	47	226	28
10	F	26.00	12.00	195.00	44.20	22.67	23	43	588	86	35	57	290	23
11	M	27.00	12.30	271.00	57.90	21.37	40	19	585	67	38	33	196	18
12	F	21.50	12.20	131.00	23.66	18.06	22	20	437	87	43	37	173	29
13	M	25.00	12.20	166.00	23.25	14.01	42	28	348	59	54	33	154	28
14	F	21.70	11.60	118.00	18.08	15.32	21	29	394	77	54	50	150	27
	MEAN	24.69	12.51	196.40	30.60	15.42	32.82	30.74	464.97	63.80	56.34	45.26	206.86	26.83
	STD	2.54	1.14	60.85	14.07	4.79	11.39	9.15	118.57	21.31	20.93	11.84	50.66	7.17

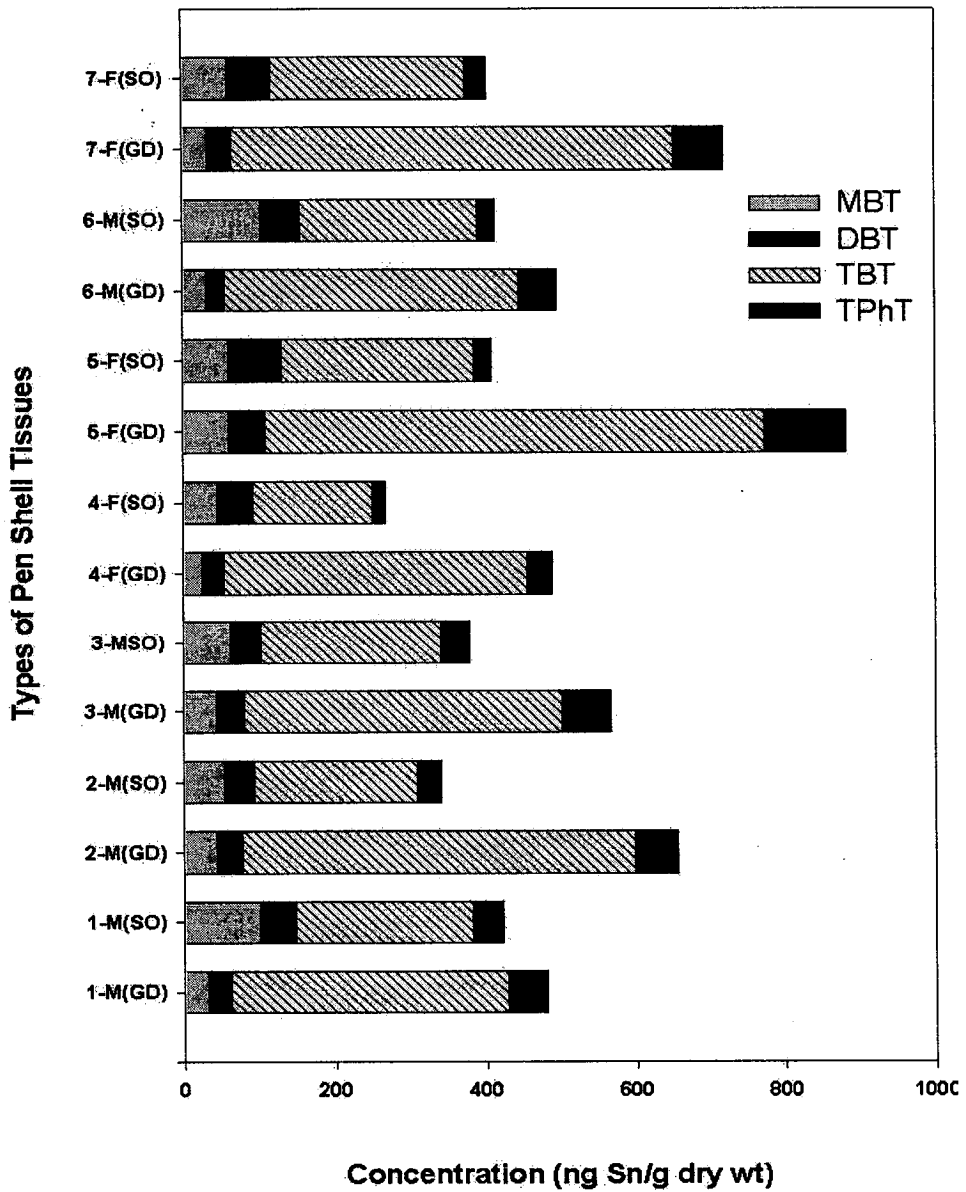


Fig. 6-10. Organotin and phenyltin compounds concentration in pen shells from Yosu. M; Male, F; Female (GO); Gonad, (SO); Somatic tissues. Individual 1 to 7.

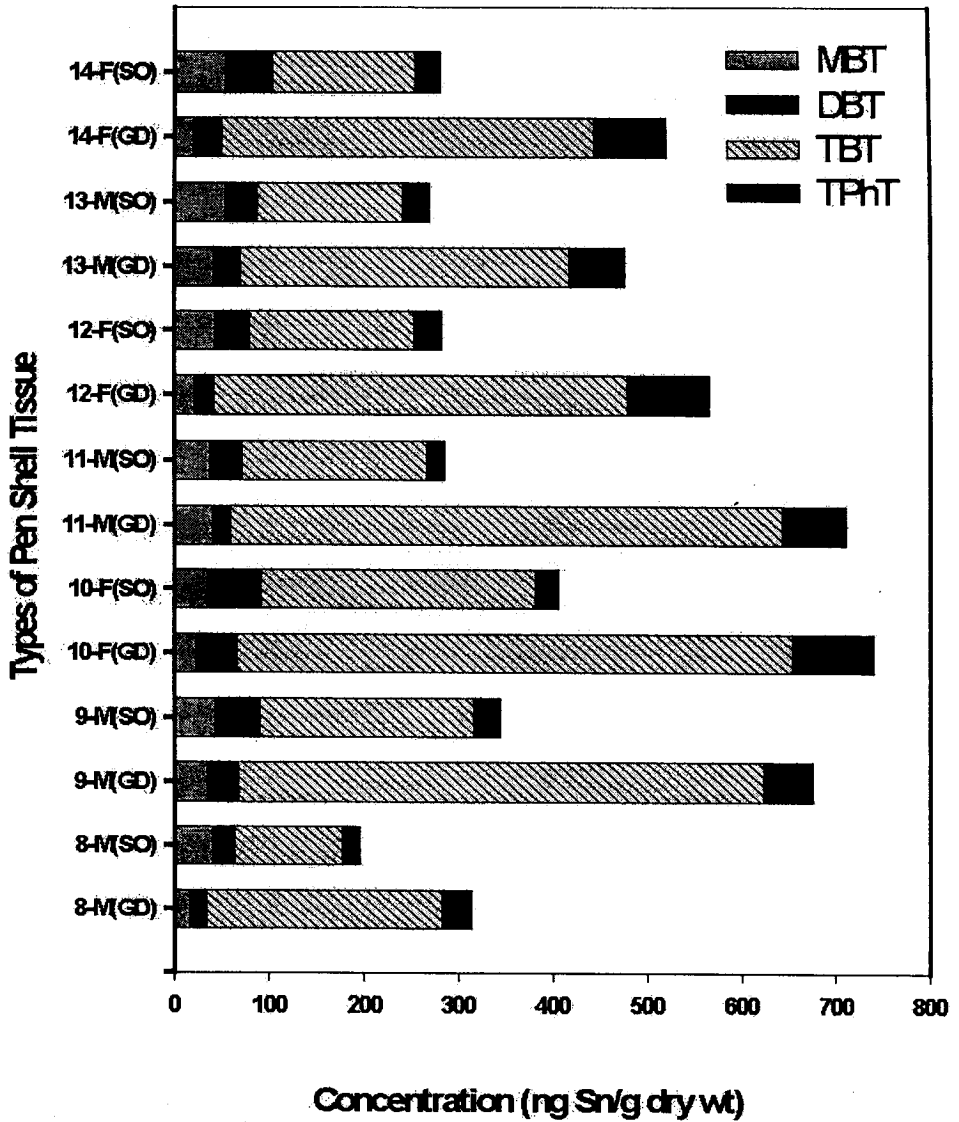


Fig. 6-11. Organotin and phenyltin compounds concentration in pen shells from Yosu. M; Male, F; Female (GO); Gonad, (SO); Somatic tissues. Individual 8 to 14.

19~41 ng Sn/g dry wt의 범위를 보여 생식소에서 보다 높은 농도의 페닐틴이 검출되었다. 그러나 페닐틴의 농도는 마산만에 이식된 굴의 체내 페닐틴 농도와 비교시 월등히 낮은 수치였다. Ellis *et al.*(1993)은 대서양산 굴의 생식세포와 육질세포를 분리하여 이들 세포에 존재하는 PAH와 잔류농약의 종류를 분석한 결과 알 과 정자에서 PAH의 경우 3~5배 정도, 잔류농약의 경우 9 배까지 육질세포보다 높게 존재하고 있음을 보고한 바 있다. 생식세포가 다른 육질세포보다 환경오염물질을 보다 많이 포함하고 있는 이유는 우선 알에는 다른 세포보다 높은 함량의 인지질이 포함되어 있어 상대적으로 PAH 등과 같이 기름과 잘 화합하는 물질이 많이 포함될 수 있으며, 또한 생리적으로는 일회 다량으로 산란을 함으로써 알에 포함된 특정 환경오염 물질을 체외로 배출시키는 방법으로 산란을 이용하는 것으로 추측되고 있다. 본 연구를 통하여 분석된 여수산 키조개의 경우 TBT는 난소나 정소에서 다른 육질보다 그 농도가 높게 나타났는데, 이는 위에서 언급한 바와 같이 패류들이 산란을 통하여 체내의 오염물질을 외부로 방출시키고 있음을 암시한다.

다. 유기주석화합물 과 굴의 패각성장

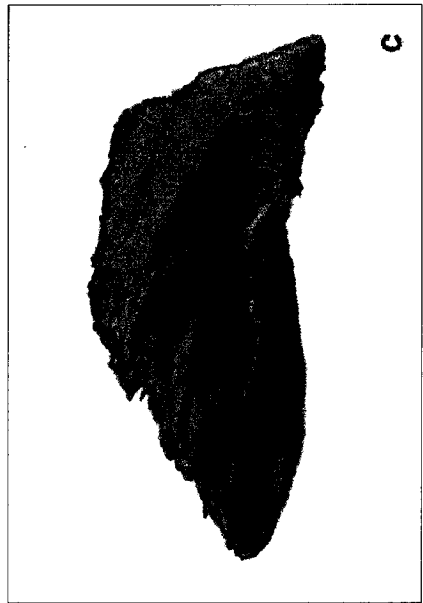
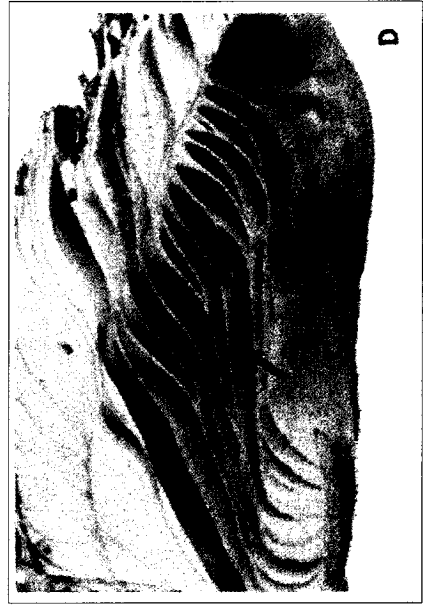
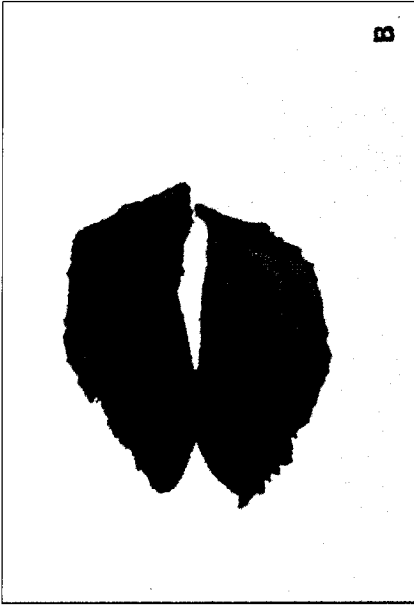
유기주석화합물이 굴의 성장에 미치는 영향중에 하나로 알려진 것은 패각의 기형성장이다. 이미 유기주석화합물에 의한 오염이 심각한 지역에서는 흔히 나타나는 현상으로, 성숙한 굴의 패각성장이 둔화되어 그 두께만이 두꺼워져 굴 패각의 모양이 구형 또는 불규칙한 형태가 되는 현상이다 (Alzieu, 1996; Shim, 1996).

추라도 신양리 항은 작은 어선과 정규 여객선이 왕래하는 작은 항구로 항의 입구만 배가 왕래할 수 있을 정도로 열리있는 폐쇄적 항구이다. 항내

에는 다양한 생물이 서식하고 있으며, 추자도 주변에는 산업시설이 전혀 존재하지 않는 오염이 비교적 심각하지 않은 지역으로 생각된다. '95년 8월과 '97년 10월 2회에 걸친 조사 결과 항내 수심 4~7 m 깊이의 암초에는 다수의 굴이 부착하여 서식하고 있는 것이 확인되었다. 그러나 신양리 항내에 서식하고있는 굴의 패각은 다른 일반적인 굴과 비교시 그 모양이 구형이거나 두께가 두꺼워, 항 내에 유기주석에 의한 오염의 영향이 존재하는 것으로 생각되었다.

Fig. 6-12는 신양리 항 내에서 채집된 16 개체의 굴 중 그 패각의 두께가 기형적으로 두꺼운 개체의 패각을 절단한 단면 그림이다. Fig. 6-12 ㉔, ㉕에서 보듯이 패각의 내부는 여러개의 층으로 이루어져 있으며 층과 층 사이에는 빈 공간이 존재하여 전형적인 TBT 영향임을 암시하고 있다. 신양리 항은 추자군도에 있어 주 기점항인 관계로 많은 소형 어선의 출입이 빈번한 지역이다. 따라서 이들 선박으로부터 파생된 유기주석화합물 페인트에 의한 유기주석오염의 가능성이 높을 것으로 생각된다.

굴의 성장은 패각과 육질의 성장으로 나뉜다. 패각의 성장과 육질의 성장은 일정한 상관관계를 갖으나 때때로 환경 조건에 의하여 육질 또는 패각의 성장에 있어 그 속도가 서로 다를 때, 기형의 굴이 관찰되기도한다 (Alzieu, 1980, 1996; Shim, 1996). 이미 많은 연구에서 밝혀진 바와 같이 유기주석화합물이 굴의 성장에 미치는 영향 중의 하나는 성장둔화로, 굴의 패각이 기형을 보이거나 두꺼워지는 현상은 바로 굴의 패각성장이 둔화되기 때문이다. 추자도 신양리 항에서 채집된 굴의 모양으로 미루어 볼 때, 이 지역에서도 국지적으로 유기주석화합물의 영향이 존재하는 것으로 판단된다.



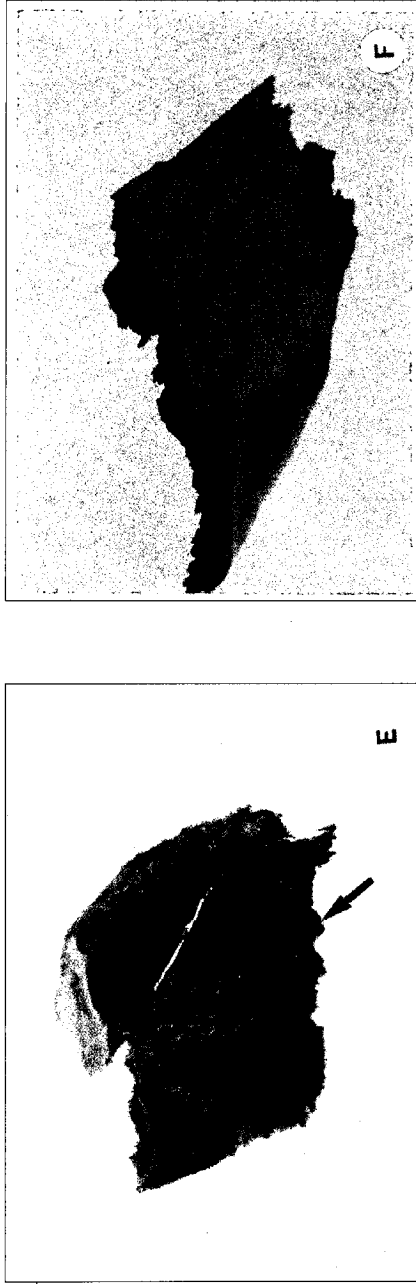


Fig. 6-12. Shells deformations of *Crassostrea rivularis* sampled from Shinyang Harbor, Chujiado at depth of 4 to 7 m. (A) very thick upper shell of *C. rivularis*, (B) Cross-sections of the upper and lower shell of (A), notice the several shell layers inside, (C) closer view of the shell layers inside the thickened shell, (D) hollow chambers formed possibly due to the effects of TBTs in the sampling site, (E) another example of shell deformation observed at Shinyang Harbor, notice the ball-shaped upper and lower shells, (F) cross-section of the shells shown in (E)

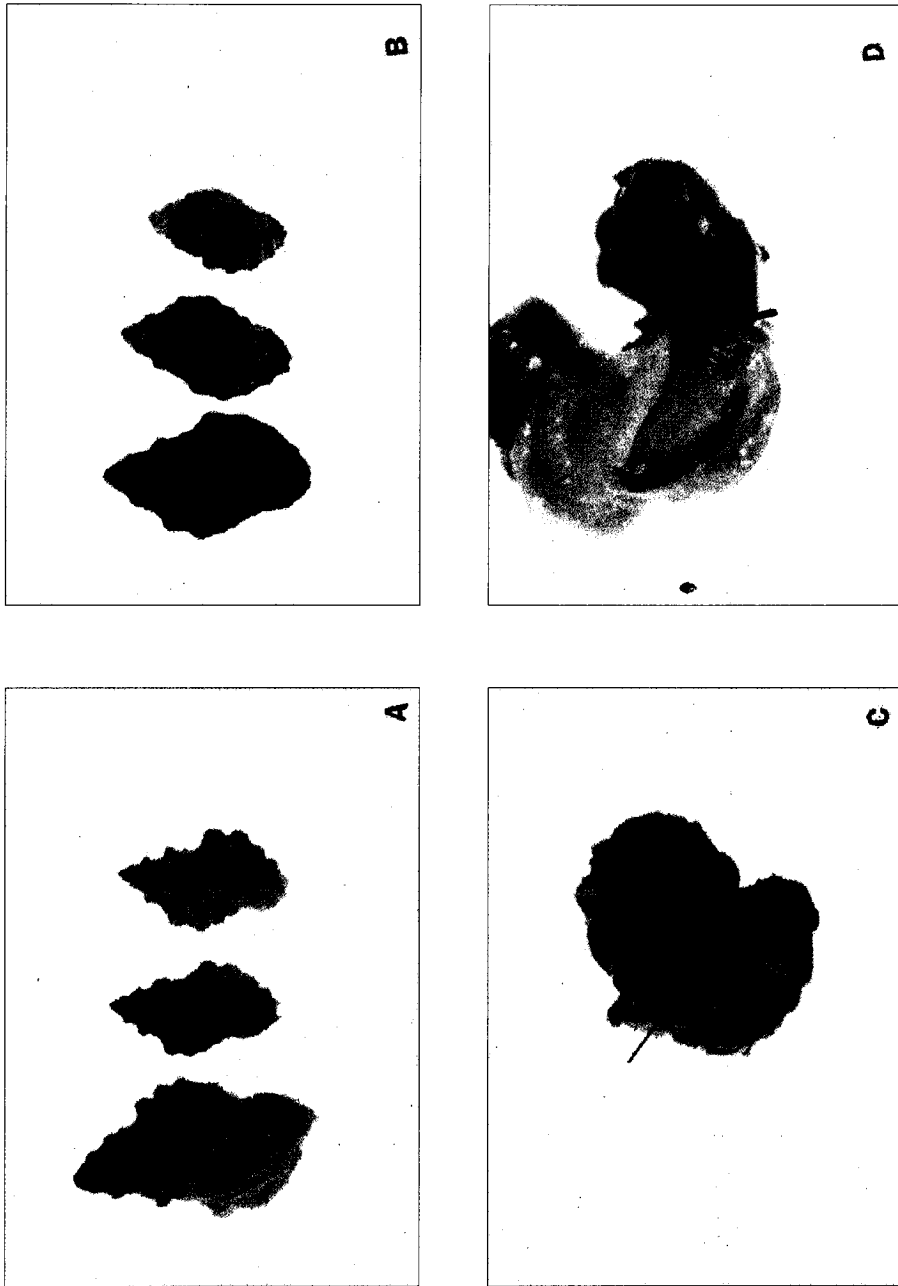


Fig. 6-13. Neogastropods distributed along the coastal area of Cheju. (A) *Thias bronni*, (B) *Thias clavigera*, (C) Imposed female *T. clavigera*, the arrow indicates pennis, (D) the arrow indicates sperm ingesting gland of female *T. clavigera*.

3. 제주연안의 임포섹스 현상에 관한 연구

본 연구에서는 아직 유기주석화합물의 영향이 밝혀져 있지 않은, 비교적 환경오염의 영향이 적은 지역으로 판단되는 제주도 연안의 신복족류를 대상으로 이들의 임포섹스 현상을 분석하였다. 임포섹스(imposex)는 신복족류에 속하는 고등류에서 나타나는 현상으로 유기주석에 의한 환경오염이 암컷의 내분비계통에 이상을 유발하여 암컷이 수컷 생식기를 갖는 현상이다(Gibbs & Bryan, 1996; Shim, 1996). Fig. 6-13은 제주연안에 서식하는 대수리, *Thais clavigera*와 두두럭고둥, *T. bronni*를 보여주고 있다.

본 연구에서는 제주 연안 4개 항 및 대조구 2개 지점에서 채집된 대수리와 두두럭고둥 600개체를 대상으로 이들의 암·수 비율, 임포섹스 암컷의 출현비율 등을 분석하였다. 또한 제주항에서 채집된 대수리와 두두럭고둥을 대상으로 상대성기길이지표(Relative Penis Length Index, RPLI)를 측정하였다. 총 600 개체의 대수리 및 두두럭 고둥을 분석한 결과 대조구로 설정된 서귀포 보목리와 효돈 연안의 대수리는 암·수의 성비가 1대1 정도로 나타났으며, 임포섹스를 보이는 암컷은 발견할 수 없었다(Table 6-9).

제주항, 한림항, 모슬포항, 성산항 등지에서 채집된 대수리는 심한 암·수의 성비 불균형을 보였는데, 대조구와는 상대적으로 이들 지역의 성비는 대부분 수컷이 전체의 70~80%를 차지하여 암컷이 소멸되어 가고 있음을 암시하였다. 또한 대조구와는 상대적으로 이들 4대항 내에 서식하고 있는 대수리 집단에서는 정상적인 암컷을 단 1 개체도 발견할 수가 없어 유기주석화합물의 영향을 강하게 암시하였다. 한편 성산항과 연결한 성산읍 오조리 연안에서 채집된 대수리 집단에서는 그 성비가 1:1 정도로 나타나 다른 지역보다는 성비의 불균형은 발견되지 않았으나, 이 지역과 연결한 성산항의 영향으로 임포섹스 암컷만 출현하고 정상적인 암컷은 발견되지 않았다.

Table 6-9. Results of the imposex investigation on neogastropods, *T. clavigera* and *T. bronmi* collected along the coastal area of Cheju. RPLI=Relative Penis Length Index, RPLI=(mean penis length of male/mean penis length of imposex female)X100

Date	Location	Species	Shell Length (mm)	N Male	N Female	N Pseudo-male	RPLI (%)	Total N
06/11/97	Hyodon	<i>T. clavigera</i>	20.98±3.22	42 (42%)	58 (58%)	0	-	100
06/11/97	Sungsan Harbor	<i>T. clavigera</i>	28.34±4.96	21 (78%)	0	6 (22%)	-	28
07/29/97	Cheju Harbor	<i>T. clavigera</i>	27.85±3.97	40 (80%)	0	10 (20%)	-	50
07/29/97	Ojori, Sungsan	<i>T. clavigera</i>	23.25±2.26	51 (51%)	0	49 (49%)	-	100
08/04/97	Moselpo	<i>T. clavigera</i>	25.58±3.19	39 (78%)	0	11 (22%)	-	50
08/07/97	Hallim	<i>T. clavigera</i>	23.42±2.71	65 (78%)	0	14 (17%)	-	83
08/07/97	Bomokri	<i>T. clavigera</i>	25.25±3.19	32 (50%)	32 (50%)	0	-	64
11/08/97	Cheju Harbor	<i>T. clavigera</i>	24.60±2.79	43 (80%)	0	11 (20%)	80.71	55
11/08/97	Cheju Harbor	<i>T. bronmi</i>	35.69±6.05	17 (85%)	0	3 (15%)	134.65	20
12/28/97	Sungsan Harbor	<i>T. clavigera</i>	23.22±2.50	-	-	-	-	20
12/28/97	Bomokri	<i>T. clavigera</i>	27.89±2.40	-	-	-	-	30

'97년 11월에 제주항으로부터 채집한 대수리의 상대성기길이 지표는 대수리의 경우 80.71 %, 두드럭고둥의 경우 134.65%로 나타나 진해만에서 측정된 대수리의 상대성기길이 지표(Shim, 1996)와 유사한 값을 보였다. 본 연구에서는 신복족류의 성기 길이를 측정하는 방법으로 이들 신복족류의 성기를 가위로 오려낸 다음 유리슬라이드에 고정한 후, 컴퓨터스캐너를 이용, 이들의 성기 모양을 컴퓨터영상화 한 후, 컴퓨터영상면적측정 software를 이용하여 그 길이를 측정하는 방법을 개발하였다. Fig. 6-14는 실제 분석에 이용된 대수리 수컷 및 임포섹스 암컷의 성기를 나타내고 있다.

임포섹스 개체의 성기 길이를 측정하는데 있어 어려운 점 중의 하나는 대수리를 포함한 신복족류의 성기 형태가 나선형으로 굽어 있어 버니어캘리퍼스를 이용한 길이 측정에 애로점이 있다. 본 연구에서는 성기의 길이를 직접 측정하는 대신, 컴퓨터 화상분석 기법을 이용하여 성기의 길이를 컴퓨터스캐너를 입력된 영상으로부터 측정하므로 성기의 모양에 상관없이 길이를 화상으로부터 직접 측정할 수 있었다. 따라서 본 연구에서 개발된 방법은 기존의 버니어캘리퍼스를 이용하여 측정하는 방법보다 그 정확성이 높은 것으로 판단되며, 또한 해양환경감시 프로그램과 같이 대량의 시료를 분석하는 연구에 있어 측정에 소요되는 작업시간을 줄일 수 있는 장점을 가지고 있는 것으로 생각된다.

신복족류(Phylum Mollusca, Class Gastropoda, Order Neogastropoda)에 속하는 고둥류는 특징적으로 머리에 해당하는 부위에 수컷의 경우 생식기를 갖는다. 따라서 다른 고둥류와 달리 성기의 유무로 이들의 성을 쉽게 구별할 수 있다. '70년 이전까지 신복족류에 있어 암수의 구별은 단지 집단 생태학적 차원의 성비 연구 목적이었으나, '70년대 미국과 유럽 연안에서 조사된 결과에서 수컷의 성기를 지닌 암컷이 대량으로 발견되면서 Smith (1971)는 imposex란 용어를 창조해 냈다. 현재 세계적으로 약 16 종의 신

복족류에서 임포섹스 현상이 나타나고 있으며(Gibbs & Bryan, 1996), 이들은 주로 빨소라과(Family Muricidae), 물레고등과 (Family Buccinidae), 및 좁쌀무늬고등과(Family Nassariidae)에 속하고 있다. 우리 나라의 경우 현재 임포섹스 현상이 가장 잘 알려진 종은 대수리(*T. clavigera*)로 이들의 임포섹스 현상은 진해만, 마산만 및 여수 등지에서 나타나고 있다(한국해양연구소, 1996)

임포섹스 현상이 신복족류의 번식생리에 미치는 영향은 현재 상대성기 길이지수(relative penis size index, RPSI)로 표현되며, 이는 표본시료 중 수컷의 생식기 길이 평균을 임포섹스 암컷의 생식소길이를 나눈 것을 백분율로 나타낸 지수이다. Gibbs *et al.*(1988)은 영국에서 옆주름고등의 일종인 *Nucella lapillus*의 임포섹스를 연구한 결과, RPSI 값이 40이 넘을 경우, 또한 해수중의 TBT 농도가 10 ng/L 이상일 경우 암컷에 있어 난소의 발달 대신, 정소의 발달이 시작되는 것을 보고하였으며, 해수중의 TBT 농도가 100 ng/L 이상일 때에는 암컷 일부 개체에서 sperm-gland가 형성되지 않은 것을 보고한 바 있다.

RPSI 값을 측정하는데 있어 가장 큰 문제는 성기의 길이측정에 있는 것으로 생각된다. 대수리와 두두럭 고등의 경우, 이들의 길이는 평균 1 cm 미만이며, Fig. 6-14에서 알 수 있듯이 성기의 형태가 나선형을 이루고 있어 버니어캘리퍼스를 이용한 길이 측정에 많은 어려움을 겪는다. 또한 대량의 시료를 분석할 경우 많은 시간을 소모하게 된다. 본 연구에서는 이러한 점을 개선하여 대수리나 두두럭 고등의 생식기를 가위로 절단한 뒤 이들의 모양을 컴퓨터스캐너로 컴퓨터에 입력, 컴퓨터영상분석 software를 이용, 그 길이를 컴퓨터상에서 측정하는 기법을 개발하였다. 본 연구 방법은 길이 측정의 정확도와 또한 측정에 걸리는 시간을 단축할 수 있는 장점을 지니고 있다.

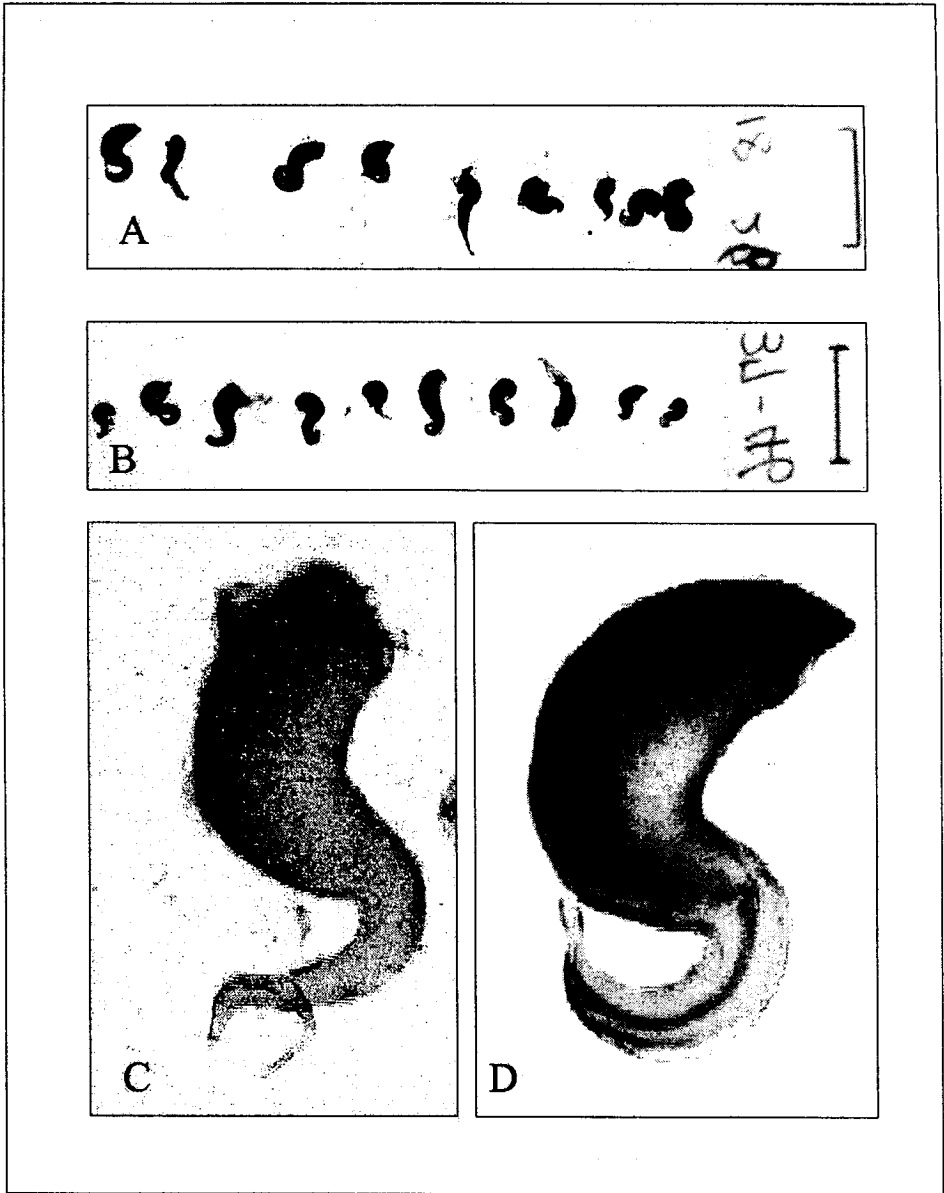


Fig. 6-14. Scanned images of the penis of *Thais clavegera* collected from Cheju Harbor in November 1997. A, B ; penises of the drill placed on a slide glass for scanning with 1 cm scale. C, D ; magnified images of penis of *Thais clavegera*

제 4 절 결 언

유기주석화합물을 포함한 해양오염물질이 어패류의 생리 및 번식, 성장 등에 미치는 영향을 감시하기 위한 방법의 일환으로 본 연구를 통하여 일반 조직병리학적 연구방법을 환경감시계획에 맞게끔 표준 절차화하였다. 이를 위하여 '95년 여름부터 겨울까지 여수 가막만에서 채집된 굴을 대상으로 생식주기를 조사하였다. 분석 방법 및 절차는 이미 해양환경 감시 프로그램을 통하여 완성된 NOAA의 분석절차를 참조하였다. 참굴의 생식 주기를 관찰한 결과, 여수에서 채집된 굴은 6월경에 발달기(developing stage)를 거쳐 7월 경 본격적인 산란(spawning)을 하며, 겨울철에 휴지기(resting stage)로 뒤를 알 수 있었다.

'96년 5월 경 경남 통영에서 마산만으로 이식한 굴의 유기주석화합물 농축 정도를 측정한 결과 '96년 7월말 모두 폐사하기 전까지 TBT와 TPhT의 농도는 TBT의 경우 1,500~3,000 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다. 또한 TPhT의 경우 78~698 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다. 그러나 3개월간 약 10일 간격으로 채집된 굴의 유기주석화합물 농도는 시간이 지남에 따라 증가하는 경향을 보이지 않았다. 산란 성기에 채집된 굴로부터 정제한 알과 정자에 대하여 TBT 및 TPhT를 분석한 결과, 다른 육질과 비교시 뚜렷한 농도 차이를 발견할 수 없었다. 또한 암·수의 생식 세포에 있어서, 이들 유기주석화합물의 농도는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 그러나 이들 굴은 산란기에 전체 육질중량의 40~60%에 해당하는 생식세포를 체외로 방출하므로 산란활동 자체가 유기주석화합물을 체외로 제거하는데 있어 중요한 수단임을 알 수 있었다.

'96년 여수 부근에서 채집한 대형 이매패류인 키조개를 대상으로 체내

의 유기주석화합물을 생식소와 일반세포로 분리하여 측정된 결과, 알이나 정자에서 상대적으로 높은 농도의 TBT가 검출되었다. 그러나 마산만에서 채집된 굴과 비교시 여수 지역에 채집된 키조개는 상대적으로 낮은 농도의 유기주석화합물을 포함하고 있었으며, TBT의 경우 150~664 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다.

마산만에 이식되어 8월초 전량 폐사한 굴을 대상으로 제작된 조직병리학적 자료를 분석한 결과, 다양한 형태의 병리 현상을 발견할 수 있었다. 특히 두드러진 현상은 이식 후 아가미, 외투막 등지에 혈구가 집중되는 현상이 초기에 관찰되었으며, 시간이 흐름에 따라 아가미 세포괴괴, 소화맹낭의 울혈현상, digestive gland의 규모축소 및 미동정된 다수의 포자형 기생충 등 환경오염이 심각한 지역에서 전형적으로 관찰되는 병리적 증상이 나타났다.

제주도의 인근 접속 도서인 추자도 신양리 항내에서 채집된 굴의 패각 형태는 유기주석화합물에 의한 영향으로 그 모양이 공 모양을 띄고 있었으며, 패각의 종단면에서는 여러층의 공간이 형성되어 TBT의 영향을 암시하였다. 제주 연안의 4대항, 즉 제주, 성산 한림, 모슬포 등지에서 채집된 대수리와 두드럭고둥을 대상으로 임포섹스 발현율을 조사한 결과 모든 지역에서 임포섹스 발현율은 100%로 나타났다. 특히 이들 4개 지역에서는 암·수의 성비에 있어 암컷의 비율이 20% 미만으로 나타나 대수리 집단이 소멸되어 가고 있음을 암시하였다. 제주항의 경우 상대성기길이지표(RPSI)는 대수리의 경우 80.7%, 두드럭고둥의 경우 134.6%로 나타났다.

참 고 문 헌

- 심재형, 오재룡, 강성현, 심원준 등. 1996. TBT 오염실태 조사 및 대책수립 연구. 농림수산부 보고서, 121 pp.
- 이수형 등. 1990. 연안환경 보전기술 개발연구. 한국해양연구소 보고서 BSPG00112-315-4, pp. 260.
- 정의영, 김영길. 1989. 서해산 대맛조개, *Solen grandis* Dunker의 성성숙에 관한 연구.
- 정의영, 김형배, 이택열. 1986. 맛조개, *Solen strictus*와 붉은맛, *Solen gordonis*의 생식년주기. 한수지 19: 563-574.
- 한국해양연구소. 1996. 유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구. 한국해양연구소보고서 BSPN 00324-983-4. 316 pp.
- Akberali H.B., Trueman E.R. 1985. Effects of environmental stress on marine bivalve molluscs. Adv. Mar. Biol 22: 102-183.
- Alizie C. 1996. Biological effects of tributyltin on marine organisms. In: de More S.J ed, Tributyltin: case study of an environmental contaminant. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 301.
- Bayne B.L., 1985. The effects of stress and pollution on marine animals. Preager, New York, pp. 384.
- Choi, K-S., Wilson E.A., Lewis D.H., Powell E.N., Ray S.M. 1989. The energetic cost of *Perkinsus marinus* parasitism in oysters: quantification of the thioglycollate method. J. Shellfish. Res. 8: 125-31.

- Craig, M.A., Powell E.N., Fay R.R., Brooks J.M. 1989. Distribution of *Perkinsus marinus* in Gulf coast oyster population. *Estuaries* 12: 82-91.
- Ellis M.S., Choi K-S, Wade T.L., Powell E.N., Jackson T.J., Lewis D.H. 1993. Sources of local variation in polynuclear aromatic hydrocarbon and pesticide body burden in oyster (*Crassostrea virginica*) from Galveston Bay, Texas. *Comp. Biochem. Physiol* 106 C: 689-698.
- Farrington J.W., Goldberg E.D., Risebrough R.W., Martin J.H, Bowen V.T. 1983. US mussel watch 1976-1978: an overview of the trace metal, DDE, PCB, hydrocarbon and artificial radionuclide data. *Environ. Sci. Technol.* 17: 490-496.
- Gibbs P.E, Bryan GW. 1994. Biomonitoring of tributyltin pollution using the imposex response of neogastropod molluscs. In: Kramer K.J.M ed, *Biomonitoring of coastal waters and estuaries*. CRC Press, Boca Raton, pp. 327.
- Gibbs P.E., Bryan G. W. 1996. TBT-induced imposex in neogastropod snails: masculinization to mass extinction. In: de More S.J ed, *Tributyltin: case study of an environmental contaminant*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 301.
- Goldberg, E.D., Bowen V.T., Farrington J.W., Harvey, G., Martin J.H., Parker P.L., Risebrough R.W., Robertson W., Schneider E., Gamble E. 1978. The mussel watch. *Environ. Conserv.* 5: 101.
- Higashiyama T., Shiraishi H., Otsuki A., Hashimoto S. 1991. Concentration of organotin compounds in blue mussels from the wharves of Tokyo Bay. *Mar. Poll. Bull.* 22: 585-587.

- Hillman R.E. 1993. Gonadal index and histopathology for the east and west coasts used in the national status and trends mussel watch. In : NOAA (1993) Sampling and analytical methods of the national benthic surveillance and mussel watch projects 1984-1992 Vol II comprehensive descriptions of complementary measurements. NOAA Tech. Mem. NOS ORCA 71.
- Kim, Y-K. 1995. Long-term changes in spatial and temporal distributions of disease and contaminant body burden in Gulf of Mexico oysters. MS. thesis, Texas A&M University, College Station, Texas, USA.
- Lauenstein G.G., Cantillo A.Y. 1993. Sampling and analytical methods of the national status and trends program. National benthic surveillance and mussel watch projects 1984-1992. NOAA Tech. Mem. NOS ORCA 71. pp. 102.
- Marcus J.M., Stokes T.P. 1985. Polynuclear aromatic hydrocarbons in oyster tissue around three coastal marinas. Bull. Environ. Contam. Toxic. 35: 835-844.
- de More S.J. 1996. The tributyltin debate: ocean transportation versus seafood harvesting. In: de More S.J ed, Tributyltin: case study of an environmental contaminant. Cambridge University Press, Cambridge, pp 301.
- NOAA, 1983. Histological techniques for marine bivalve mollusks. NOAA Tech. Mem. NMFS-F/NEC-25 97, pp.
- NOAA, 1987. National status and trends program - a preliminary assessment of findings of the benthic surveillance project - 1984. NOAA (Office of Oceanography and marine Assessment), Rockville, MD.

- NOAA, 1993. Sampling and analytical methods of the national benthic surveillance and mussel watch projects 1984-1992 Vol II comprehensive descriptions of complementary measurements. NOAA Tech. Mem. NOS ORCA 71.
- Wilson-Ormond E.A., Powell, E.N., K-S Choi, 1993. Gonadal analysis - *Crassostrea virginica*. In : NOAA 1993, sampling and analytical methods of the national benthic surveillance and mussel watch projects 1984-1992 Vol II comprehensive descriptions of complementary measurements. NOAA Tech. Mem. NOS ORCA 71.
- Smaaal A.C., Widdows J. 1994. The scope for growth of bivalves as an intergrated response parameter in biological monitoring. In: Kramer K.J.M ed, Biomonitoring of coastal waters and estuaries. CRC Press, Boca Raton, pp. 327.
- Sericano J.L., Atlas E.L., Wade T.L, Brooks J. M. 1990. NOAA's status and trends mussel watch program: chlorinated pesticides and PCB's in oysters (*Crassostrea virginica*) and sediments from the Gulf of Mexico, 1986-1987. Mar. Environ. Res. 29 : 161-203.
- Shim W.J. 1996. Contamination and bioaccumulation of tributyl- and tributyltin compounds in the Chinhae Bay System, Korea. Ms thesis, Seoul National University.
- Wade T.L., Atlas E.L., Brooks J.M., Kennicutt II M.C., Fox R.G., Sericano J.L. Defreitas D. 1988. NOAA Gulf of Mexico Status and Trends Program : Trace organic contaminant distribution in sediments and oysters. Estuaries 11: 171-179.
- Wade T.L., Sericano J. L. 1989. Trends in organic contaminant distribution in oysters from the Gulf of Mexico. In Proc. Oceans '89 Conf., Seattle, Washington, pp. 585-589.

- Wilson E.A., Powell E.N., Craig M.A., Wade T.L., Brooks J.M. 1990. The distribution of *Perkinsus marinus* in Gulf coast oysters : its relationship with temperature, reproduction, and pollutant body burden. *Int. Rev. Gesamten Hydrobiol.* 75: 533-550.
- Wilson E.A., Powell E.N., Wade T.L., Taylor R.J., Preseley B.J., Brooks J.M. 1992. Spatial and temporal distributions of contaminant body burden and disease in Gulf of Mexico oyster populations: the role of local and large-scale climatic controls. *Holgol. Meeresunters.* 46: 201-235.
- Yevich P.P., Yevich C.A. 1994. Use of histopathology in biomonitoring marine invertebrates. In: Kramer K.J.M ed, *Biomonitoring of coastal waters and estuaries.* CRC Press, Boca Raton, pp. 327.

제 7 장

어류 쓸개즙 중의 PAH

측정을 통한 유류오염 피해 입증

제 1 절 서 언

해양환경으로 방출되는 다환방향족탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)는 연간 23만톤 정도로 추정된다(Law, 1986). PAH는 주로 불완전연소에 의한 연소기원(pyrogenic source)이 대부분을 차지한다. 그러나 대규모의 기름유출 사고시 오염된 해역에서의 PAH 농도는 대개 기름에 의한 것(petrogenic source)이다. 원유 중의 PAH는 7.3~17.5%로 산지에 따라서 큰 편차를 보인다(NRC, 1985). 대부분의 선박에서 연료유로 사용되는 No. 2 연료유와 벙커 C유의 경우에는 각각 16%와 28.2%이다.

연근해에서 기름유출사고는 규모가 점점 대형화되면서 빈발하고 있는 추세이다. 그러나 사고가 생태계에 미치는 영향에 관한 연구는 시간이 많이 소요되고 다방면에서의 접근이 필요하다. PAH 분석에 있어서도 분석시점과 사고시점 간의 차이에 따라서 그 결과는 매우 큰 차이를 보일 수 있다. 그리고 퇴적물이나 생물체의 분석시 이용되는 GC/MS(gas chromatograph/mass spectrometer) 방법은 비용과 시간이 많이 요구된다. 이에 따라 사고의 영향을 바로 반영할 수 있고 추후 모니터링이 가능한 분석방법의 필요성이 대두되었다. 미국 해양대기청(NOAA) 산하의 NMFS(National Marine Fisheries Service)에서는 이러한 요구에 부응하여 저서생물의 담즙(bile)을 이용한 모니터링 방법을 고안하였다(Krahn 등, 1986).

저서어류(bottom dwelling fish)는 오염된 저서환경에서 다량의 오염물질을 섭취하고 이를 신속하게 다른 대사산물로 전환할 수 있는 능력을 가지고 있다. Fig. 7-1에서 보듯이 근육과 간에서의 PAH 농도와 대사산물이 모이는 담즙에서의 농도 차이가 뚜렷한 것을 알 수 있다. 저서어류의 담즙

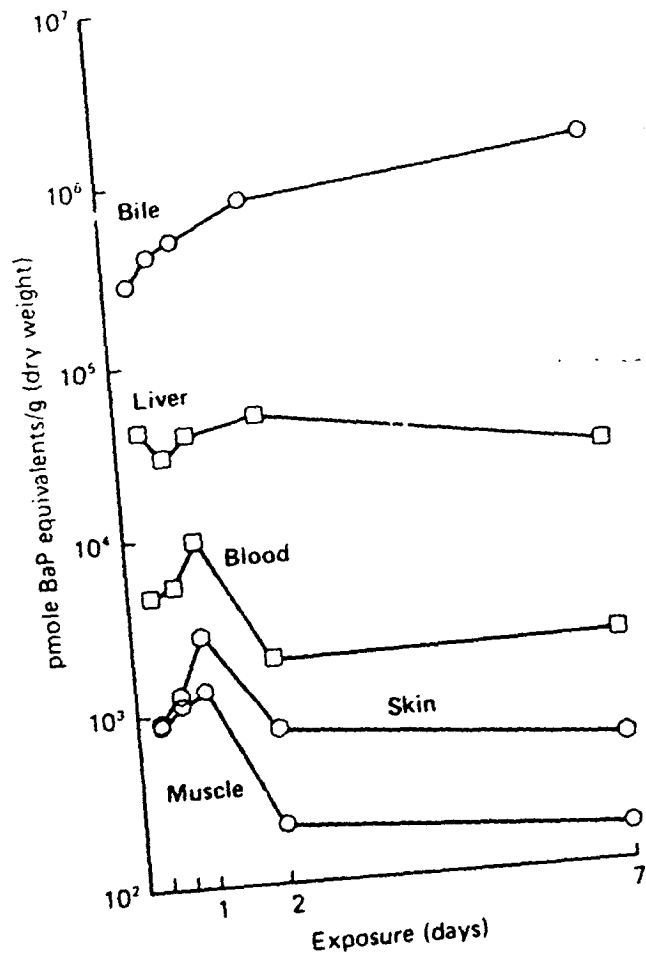


Fig. 7-1. Disposition of radioactivity in tissues of fish(English sole) exposed to [3H]BaP via sediment(Adapted from Varanasi *et al.*, 1989)

을 HPLC(High Performance Liquid Chromatograph)로 분석하는 것은 신속, 간편하여 현장에서 분석이 가능할 뿐만 아니라 정밀한 분석방법인 GC/MS를 이용한 분석과 비교했을 때도 상응하는 결과가 나오는 것을 확인할 수 있다(Fig. 7-2). HPLC-FLD(Fluorescence detector)의 특정파장에서 검출되는 것은 모체(parent)와 그 대사물질, 모체의 알킬화된 파생물질과 대사물질, 같은 구조에서 N, O, S를 포함하고 있는 물질이다. 따라서 이 분석방법은 특정물질의 농도를 정량적으로 분석한다기 보다는 등량(equivalents)의 농도를 측정하는 것이다. 그러므로 크로마토그램의 형태로 오염원의 추정이 가능하다.

본 연구에서는 저서어류 담즙의 HPLC 분석방법을 '98년 1월 15일 울산의 진하해수욕장 근해에서 발생한 화물선 좌초사건에 적용해 봄으로써 그 효용성을 검증해 보고자 한다.

제 2 절 재 료 및 분 석 방 법

1. 재 료 및 분 석 장 비

가. 재 료

HPLC의 이동상으로 메탄올(Burdick and Jackson, high purity), 증류수(Baker analyzed reagent: HPLC grade), 그리고 아세트산(Baker Ultrex)이 사용되었다. HPLC의 칼럼은 역상(reverse-phase)인 Vydak 201TP54(25×0.26cm(ID))를 사용하였다. 표준물질은 황색광하에서 만들고 -20℃에서 갈색

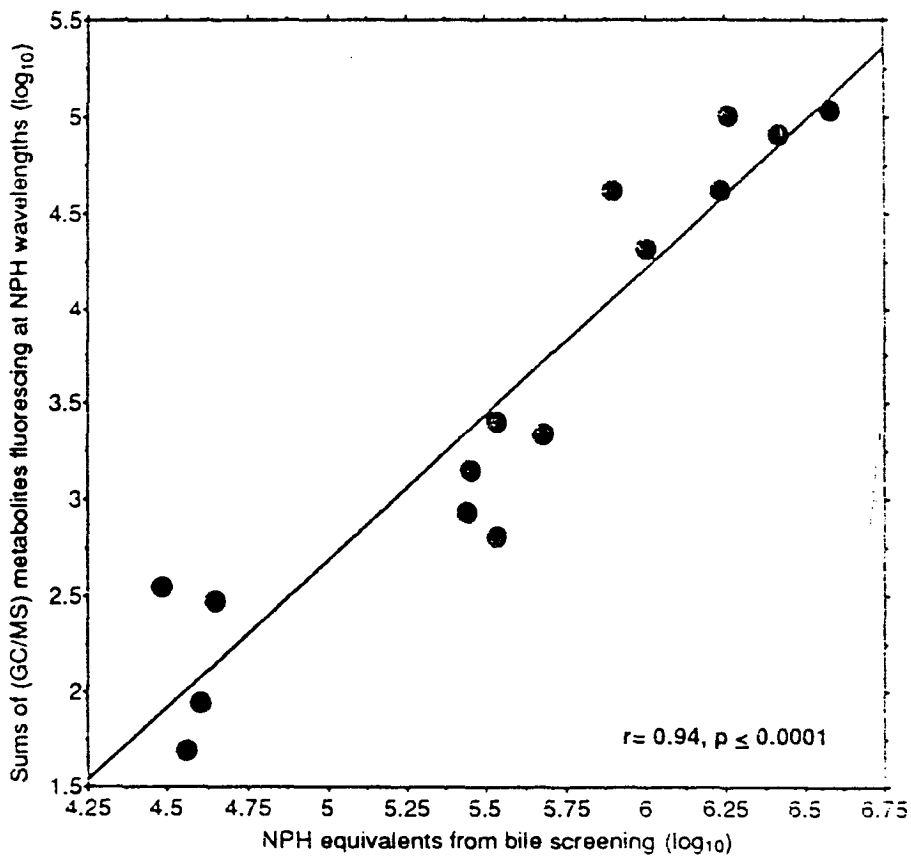


Fig. 7-2. Correlation of fluorescent ACs in bile by screening and sums of individual metabolites of ACs determined by GC/MS for compounds fluorescing at naphthalene (Adapted from Krahn *et al.*, 1992)

마이알(amber vial)에 보관하였다. 나프탈렌(Naphthalene: NPH)은 0.4 ng/, 벤조[a]피렌(Benzo[a]pyrene: BaP)은 1 ng/ μ L의 농도로 제조하여 사용하였다. 자료의 질검정용(quality assurance)으로 담즙풀(bile pool)을 사용하였다. 담즙을 오염된 한 지역에서 모았을 때 3 ml가 되도록 충분한 어류 표본에서 준비하여 모은 것을 50 μ L로 나눈다음, -20 $^{\circ}$ C에서 갈색마이알에 보관하여 사용하였다. 이동상 용매의 가스제거를 위해서 헬륨(grade 4.5: 순도 \geq 99.995%)을 사용하였다. 해부를 위한 장비로는 스테인레스로 만든 가위, 핀셋, 메스를 사용하였고, 장비세척을 위해 메탄올을 사용하였다.

나. 분석 장비

HPLC는 Chemstation으로 제어하고, 온도조절오븐이 장치되어 있으며, 용매의 gradient를 프로그램할 수 있는 Hewlette Packard 1050 series를 이용하였다. 검출기로는 형광분광광도계를 사용하였다. Hewlette Packard 1046 두 대를 동시에 장착하여 분석에 이용하였다.

2. 분석 방법

장비 설치도를 Fig. 7-3에 나타냈다. 샘플은 5 μ l를 정확히 주입하였다. HPLC의 오븐온도는 50 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C로 맞추었고, gradient 프로그램은 Table 7-1에 나와있다. 형광분광광도계는 들뜸/방출 파장을 NPH, 290/335 nm, BaP 380/430 nm에서 측정하였다.

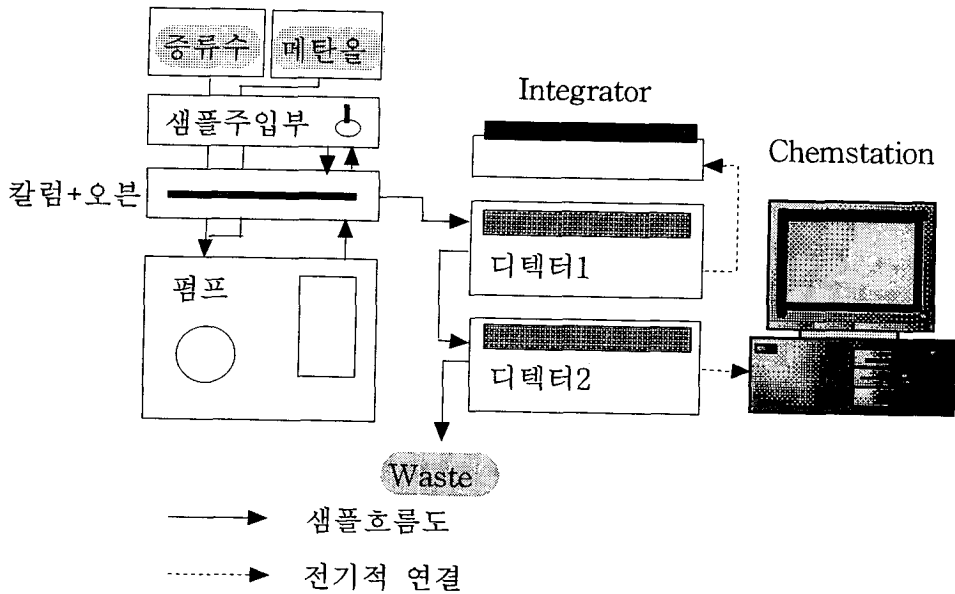


Fig. 7-3. Installation design of HPLC/FLD and output devices

Table 7-1. Gradient elution program of HPLC

Time	Water*(%)	Methanol(%)	Flow rate (mL/min)
0	100	0	1.0
2.5	100	0	1.0
17.5	0	100	1.0
24.5	0	100	1.0
27.5	100	0	1.5
35.5	100	0	1.0
37.5	100	0	1.0

* Water 1L + Acetic acid 5 μ L

3. 자료의 질검정(Quality assurance)

각 분석 세트마다 초기에 적어도 두개의 표준물질을 분석하였고, 다음 단계로 넘어가기 전에 연속적인 표준물질 분석이 상대표준편차 $\pm 5\%$ 내에 들도록 했다. 담즙풀을 분석하고 전에 분석했던 농도와 $\pm 10\%$ 내로 일치하는지 점검했다. 분석하는 때 여섯 샘플마다 적어도 한 샘플은 분석을 되풀이했다.

4. 시료 분석

먼저 공시료(blank)를 분석하여 장비의 오염여부를 점검하고 장비와 운용조건을 위에서도 같이 맞춘 후 $5\ \mu\text{L}$ 의 담즙을 주입하였다. 컴퓨터에 연결된 Chemstation이나 integrator를 이용해 BaP와 NPH에 대한 면적을 계산하였다. 알려진 부피의 담즙 무게를 측정함으로써 담즙의 밀도를 계산하였다.

5. 농도 계산

표준물질의 크로마토그램에서 BaP와 NPH의 피크와 머무름시간(retention time)을 확인한 다음, 면적을 계산하고 농도를 기록하였다. 각 담즙 시료에 대해 각 피크 적분 면적의 합을 구한 다음 아래 식에 따라 농도를 계산하였다.

Eq. 1: BaP 파장에서 대사산물의 농도 (ng/g wet wt.) =
 [BaP의 농도/BaP의 평균 면적]_{std} × [면적합(7-20분)/담즙의 밀도]_{시료}
 × [μ L std/ μ L 샘플]_{주입량}

Eq. 2: NPH 파장에서 대사산물의 농도(ng/g wet wt.) =
 [NPH의 농도/NPH의 평균 면적]_{std} × [면적합(7-20분)/담즙의 밀도]_{시료}
 × [μ L std/ μ L 샘플]_{주입량}

제 3 절 결과 및 고찰

'98년 1월 15일 경남 울주군 진하해수욕장 근해에서 발생한 화물선 사고로 적재되어있던 병커 A, 병커 C유 중 일부가 유출되었다. 유출유는 부근의 축양장 취수구가 집중된 곳으로 표착되어 축양 중이던 광어 치어 및 성어를 폐사시켰다. 이 사고에 대한 유출유의 피해를 추정하기 위해 담즙 시료를 채취해 분석을 실시하였다. 시료채취는 두 차례에 걸쳐서 이루어졌으며 채취된 시료의 종류는 Table 7-2에 나타났다. 시료가 채취된 두 축양장은 취수구가 같으며 같은 어종을 축양하고 있다. A 수산회사에서 채취한 시료는 연령이 9~10개월 정도된 것으로 평균길이가 26.6 ± 2.1 cm이고, 평균무게는 239.7 ± 65.6 g였다. B 수산회사 시료는 연령이 19~20개월 정도이고, 평균길이는 39.9 ± 2.3 cm, 평균무게는 852 ± 111.9 g이었다.

Table 7-2. Bile sampling sites and collected samples.

Sample	Sampling time	Sampling site	Fish species
UDK 1	Jan. 1998	Ulsan A(Breeding farm)	English sole (Age: 9-10 month)
UDK 2			
UDK 3			
UDK 4			
UDK 5			
UDK 6			
UDK 1'	Feb. 1998		
UDK 2'			
UDK 3'			
UDK 4'			
UDK 5'			
UDK 6'			
UDS 1	Jan. 1998	Ulsan B(Breeding farm)	English sole (Age: 19-20 month)
UDS 2			
UDS 3			
UDS 4			
UDS 5			
UDS 1'	Feb. 1998		
UDS 2'			
UDS 3'			
UDS 4'			
UDS 5'			
UDS 6'			
SR 1	Nov. 1997		
SR 2			
SR 3			
SR 4	Jan. 1998	Cultured fish	English sole
SR 5			
SR 6	Jan. 1998	Coastal water of Shihwa Lake	Rock trout
Bile Pool	Apr. 1997	Coastal water of Masan	Mullet

시료를 해부한 사진이 Fig. 7-4에 나와 있다. 담낭은 간 하단에 위치하고 있으며 대부분 녹황색을 띠지만, 오염이 심한 시료에서는 색깔이 짙어지고 크기가 커지는 경향이 있다.

HPLC-FLD로 담즙을 분석할 때 NPH 파장 290 nm/335 nm(들뜸/방출) 대신, 핀안트렌(Phenanthrene:PHN)의 파장인 260 nm/380 nm를 사용해서 PHN 등량(equivalents)의 농도를 분석하기도 한다. 그러나 NPH 파장과 PHN 파장에서 측정된 농도값의 상관관계가 좋기 때문에($r=0.994$, $n=105$: Krahn 등, 1993) 이번 실험에서는 NPH와 BaP 두 파장에서 담즙의 농도를 측정하였다.

NPH는 저분자량의 PAH를 대표하는 분자로 분자량이 128이고, 물에 대한 용해도는 31.7 mg/kg으로 해양환경에서는 주로 용존상태로 존재한다. NPH는 주로 유출사고나 오폐수로 인해 해양환경으로 유입되며 이번사고에서 유출된 벙커 C유에는 2% 정도 포함되어 있다(NRC, 1985). NPH는 생물체에 대해 주로 급성독성을 나타내며 쥐에 대한 LD_{50} 값이 306~600 ppm이다(Varanasi 등, 1989).

BaP는 벤젠고리가 5개로 고분자의 PAH를 대표한다. 분자량은 252이고 로그옥탄올-물 분배계수($\log K_{ow}$)가 6.5로 3.3인 NPH보다 1000배 정도 높다. BaP는 주로 연소에 의해서 생성되지만 유류에도 소량 포함되어 있다. 이번 사고의 유출유인 벙커 C유에는 약 40 ppm정도 포함되어 있다. 해양환경으로 유입된 BaP는 입자에 흡착되어 수층에 있거나 퇴적되어 해저에 존재하게 된다. 생물체에 대해서 PAH계열 중 독성이 가장 높은 편이며 발암성을 나타낸다. 쥐에 대한 LD_{50} 값은 250 ppm이다(Varanasi 등, 1989).

어류 내로 흡수된 PAH는 여러 대사 경로를 통해 체외로 배출되거나 흡수된 뒤 대사경로를 거치지 않고 바로 배출되기도 한다. 대사경로는 주로 간을 거쳐서 최종적으로 담즙에 모여서 배설물로 배출되게 된다.

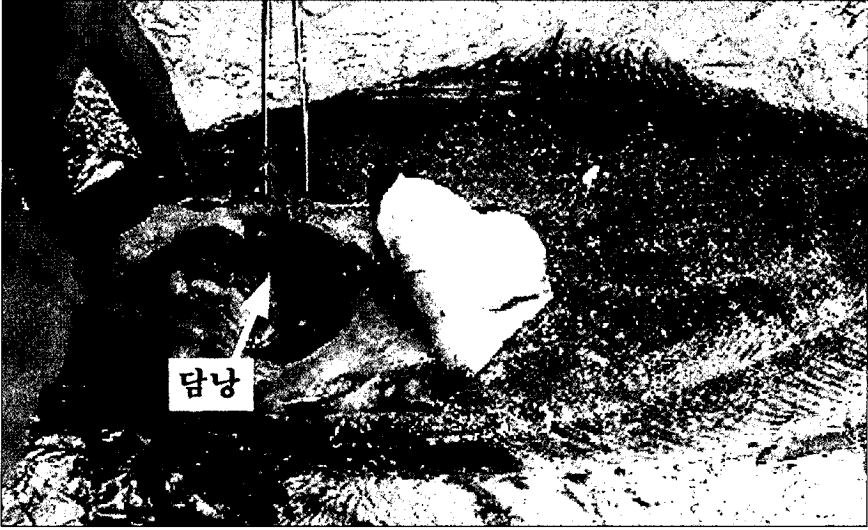


Fig. 7-4. Photographs of dissected bastard English sole and position of gall bladder

시료분석 전 실시한 표준물질의 분석결과는 NPH과 BaP에 대해서 RSD(상대표준편차) 값이 각각 4%와 3.7%로 한계치인 5% 미만이었다. 담즙 분석결과는 RSD값이 NPH과장에서는 0.8%로 한계치인 10% 미만을 만족시키지만 BaP과장에서는 15%로 높은 값이 나왔다. 매 여섯 샘플마다 재분석을 실시하였는데, 결과는 대부분 RSD값이 5% 미만으로 재현성이 만족할 만한 수준이었다.

1. 크로마토그램 분석

가. 나프탈렌 과장

1, 2차 시료의 크로마토그램이 Fig. 7-5, Fig. 7-6에 각각 나와있다. 결과로 제시된 것은 각각의 시료에서 가장 높은 값을 보이는 것으로 정성적인 분석을 위한 것이다.

크로마토그램을 비교해보면 축양장과 시료채취 시기에 관계없이 모양이 비슷한 것을 볼 수 있다. 14~15분대에 계곡이 있고 뒤이어 나타나는 피크, 그리고 22분대에 마지막으로 보이는 피크가 특징이다. Fig. 7-5는 1차 시료의 크로마토그램으로 두 축양장에서 모두 최대 피크가 30 % F (Fluorescence) 이상이지만, 2차시료의 결과인 Fig. 7-6에서는 B 수산에서만 피크의 크기가 이전 것 보다 더 높아진 것을 볼 수 있다.

위의 결과로 두 축양장에서는 동시에 같은 유류에 의해서 피해를 입었으며, 28일이 지난 뒤에도 지속적인 영향을 받고 있는 개체가 있다는 것을 알 수 있다.

비교를 위해서 다른 지역의 다른 어종에 대해서도 분석을 실시해 보았다(Fig. 7-7). 다른 지역에서 축양된 광어는 유출유의 피해를 입은 광어보

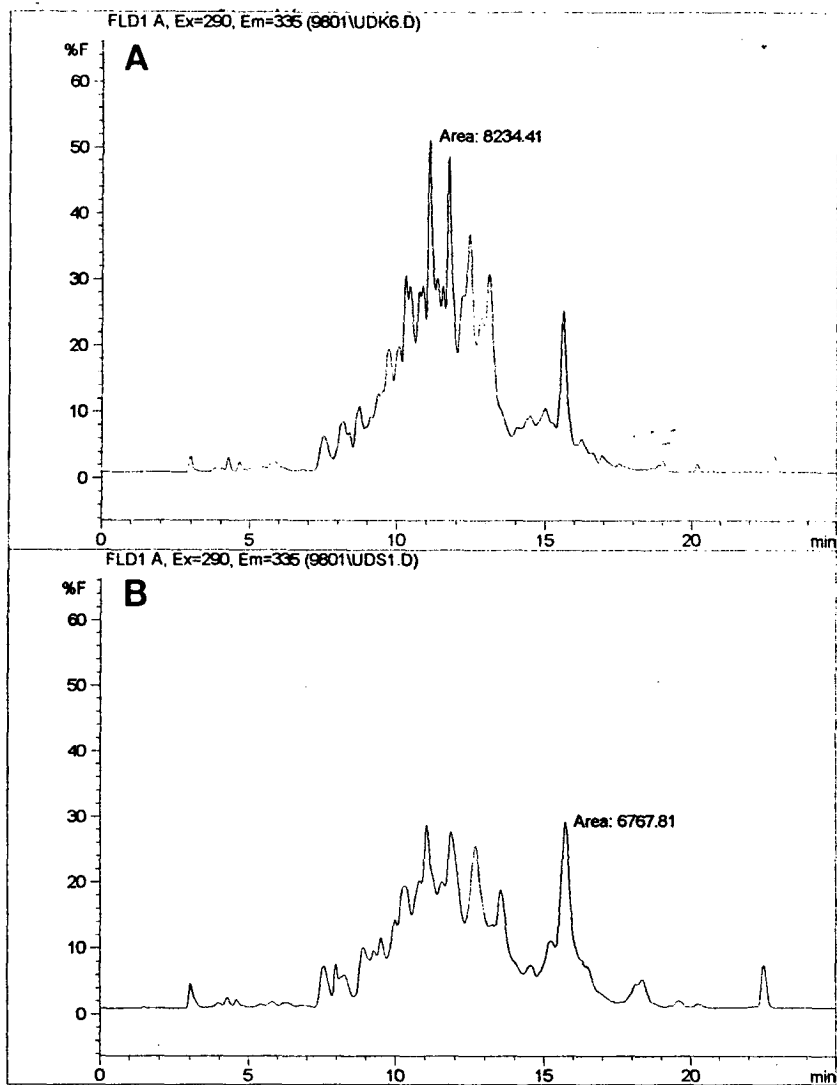


Fig. 7-5. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 290/335 nm(NPH wavelength) of (A) bile from UDK6, (B) UDS1

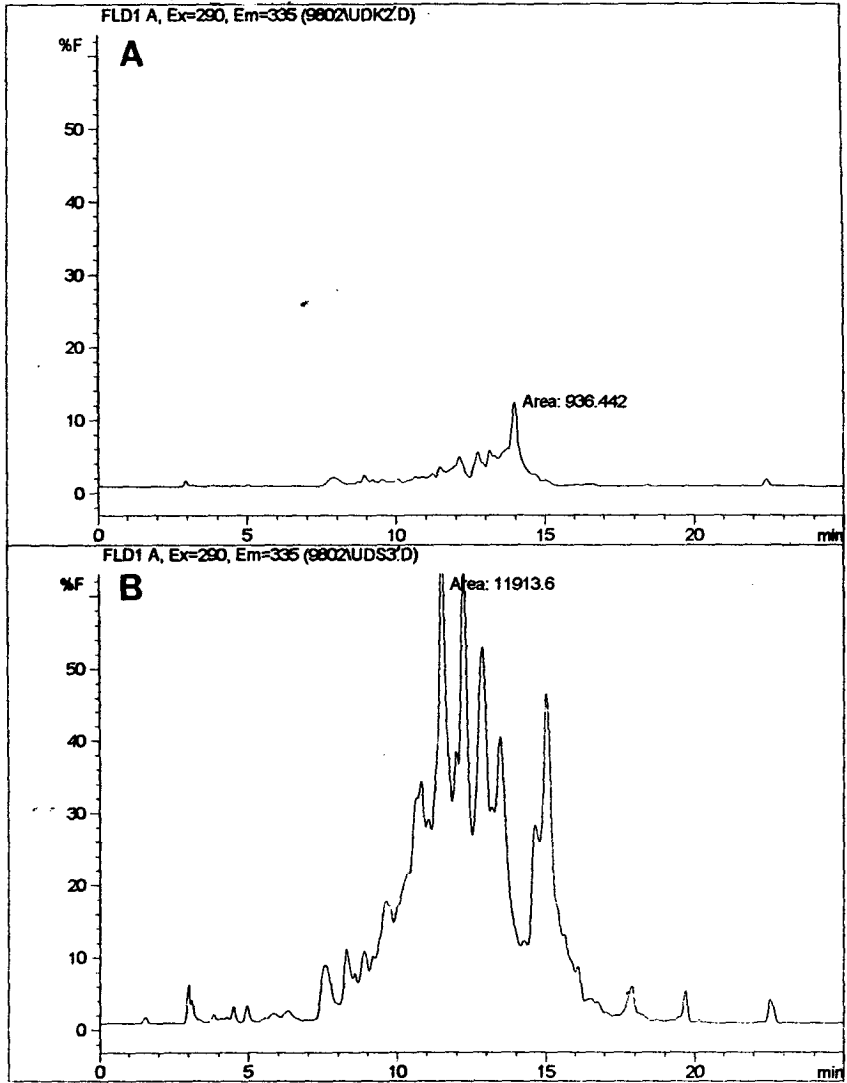


Fig. 7-6. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 290/335 nm(NPH wavelength) of (A) bile from UDK2', (B) UDS3'

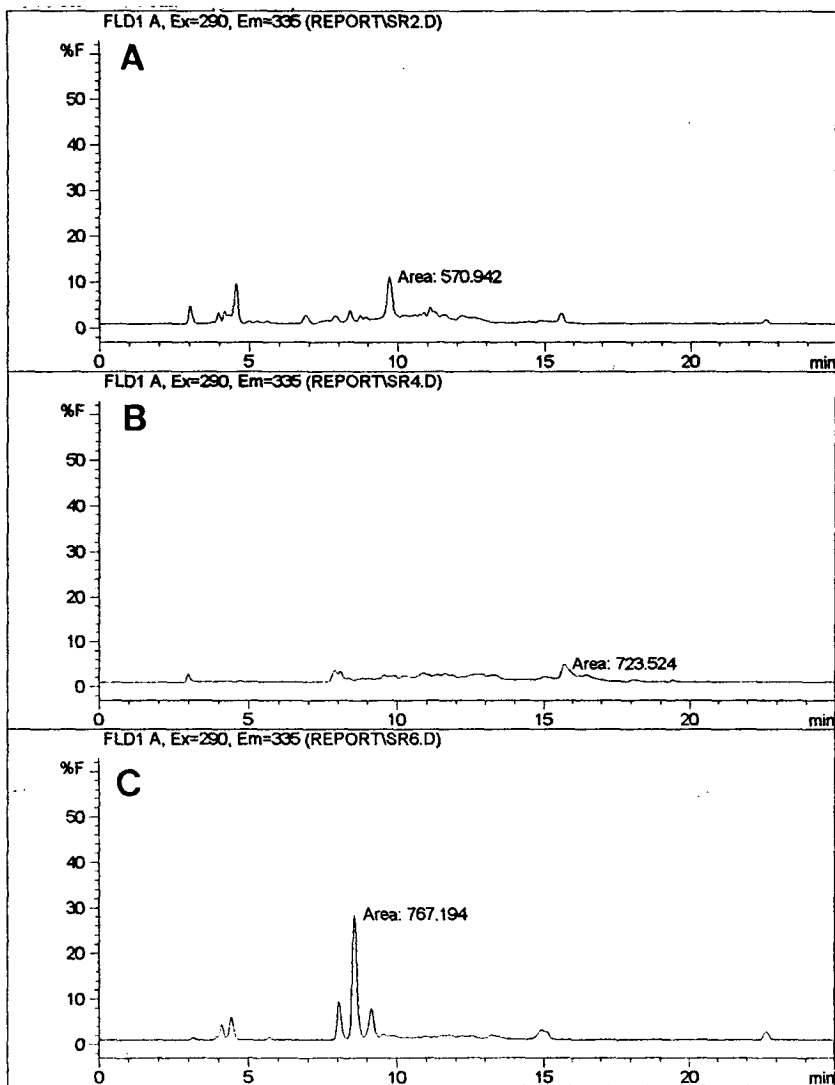


Fig. 7-7. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 290/335 nm(NPH wavelength) of (A) bile from SR2, (B) SR4, (C) SR6

다 피크의 크기가 현저히 작음을 볼 수 있다. 그리고 시화호 근해에서 잡힌 망둥어와 노래미의 크로마토그램에 의하면 이들 어류가 사고지역과 종류는 다르지만 유류에 의한 영향을 받고 있음을 알 수 있다.

나. 벤조[a]피렌 파장

이 파장에서도 NPH 파장에서와 비슷한 결과를 확인할 수 있다(Fig. 7-8, Fig. 7-9). 시료의 채취장소와 채취시간에 관계없이 크로마토그램의 형태가 비슷한 것을 볼 수 있는데, 이러한 결과로 동시에 같은 유류에 의해서 피해를 입었으며 지속적인 영향을 받고 있음을 알 수 있다. 그러나 이 파장에서는 NPH 파장과는 다르게 피크의 크기가 두 축양장 모두에서 크게 변화가 없다.

다른 지역의 시료에서 나온 결과(Fig. 7-10)는 NPH 파장의 결과와 비슷하다. 그러나 다른 지역에서 축양된 광어는 피크의 형태와 크기로 미루어 보아 오염원은 다르지만 그것에 의해 상당한 정도로 영향을 받고 있음을 알 수 있다.

A



B

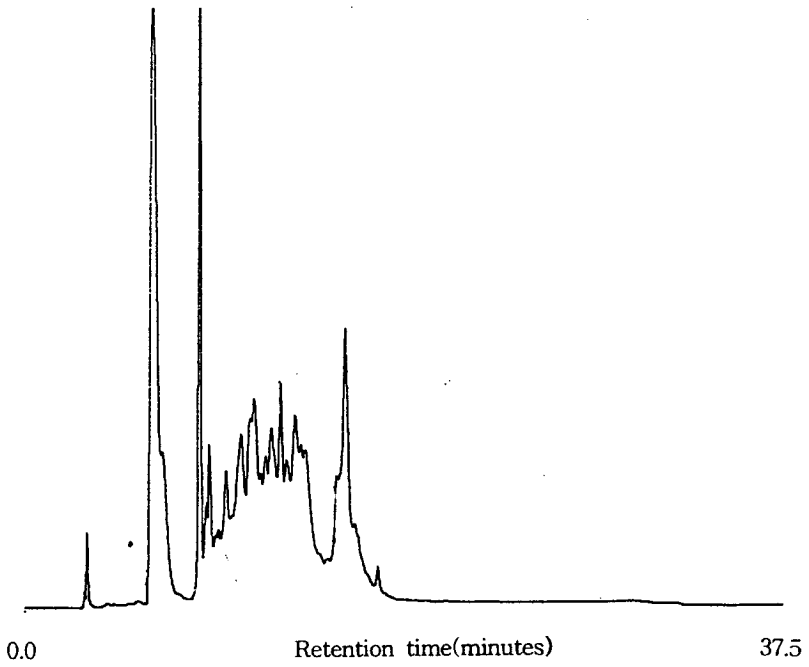


Fig. 7-8. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 380/430 nm(BaP wavelength) of (A) bile from UDK5, (B) UDS1

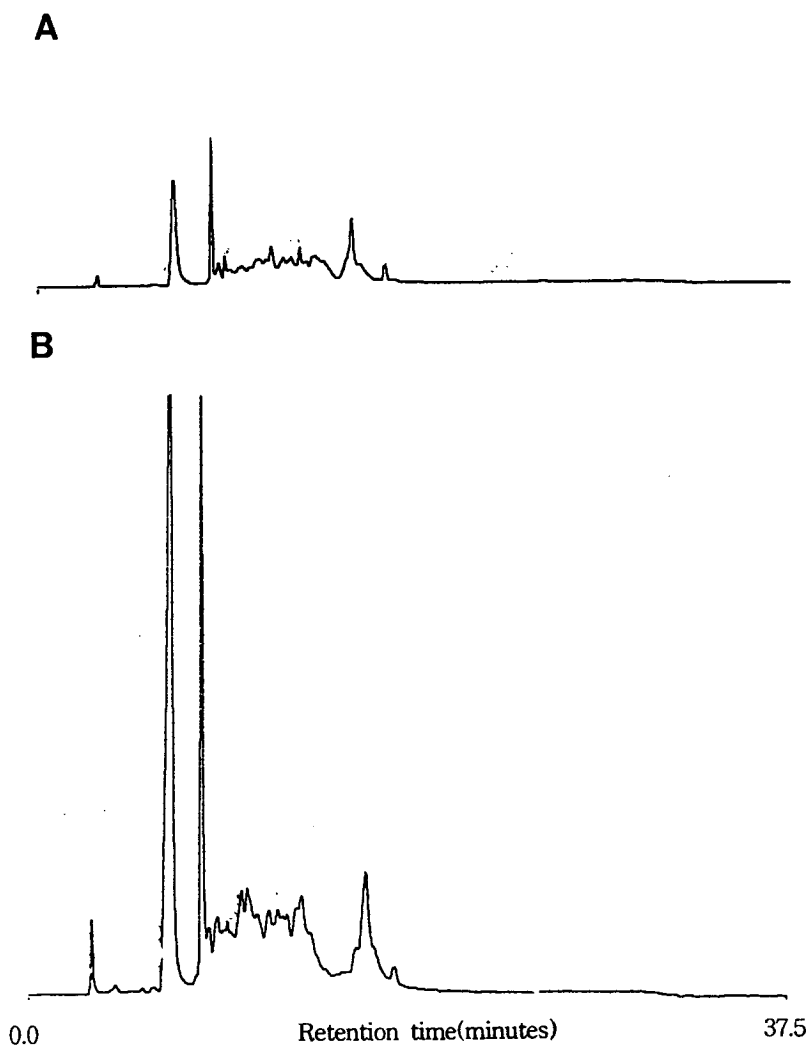


Fig. 7-9. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 380/430 nm(BaP wavelength) of (A) bile from UDK2', (B) UDS3'

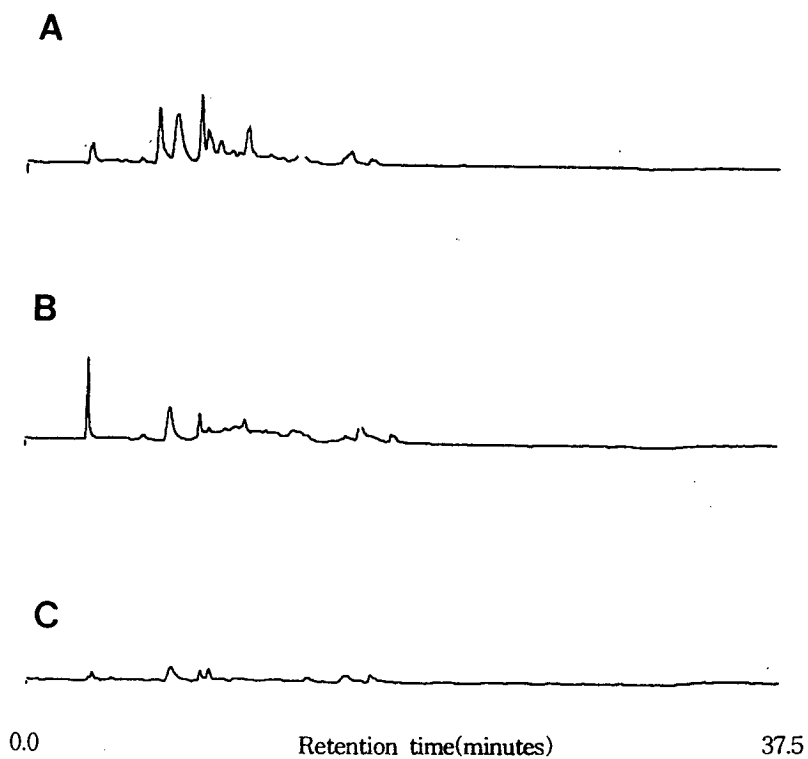


Fig. 7-10. Chromatograms from HPLC/FLD screening at 380/430 nm(BaP wavelength) of (A) bile from SR2, (B) SR4, (C) SR6

2. 등량농도(Equivalents concentration) 분석

가. 나프탈렌 파장

Fig. 7-11, Table 7-3 에서 볼 수 있듯이 1차와 2차 시료의 분석결과는 A 수산과 B 수산이 다른 양상을 보인다. A 수산의 경우 사고후 7일 후에 채취한 1차시료는 평균농도가 $46,295 \pm 39,606$ ng/g(평균 \pm SD)으로 시료간에 차이가 많이 나고, 28일 후에 채취한 2차시료는 농도가 $10,726 \pm 4,944$ ng/g으로 비교적 평균적인 농도분포를 보인다. 이러한 결과로 A 수산에서는 시간이 경과함에 따라 유출유의 영향이 감소하고 있음을 알 수 있다.

B 수산에서는 평균농도값이 1차시료는 $75,502 \pm 29,808$ ng/g, 2차시료는 $90,032 \pm 86,587$ ng/g으로 시간의 경과에 따라 담즙에 축적되는 농도가 감소하지 않고, 개체에 따른 차이가 더 크게 발생하는 것을 볼 수 있다.

비교 지역의 평균농도는 $16,879 \pm 9,625$ ng/g으로 사고지역 축양장의 농도보다 낮다.

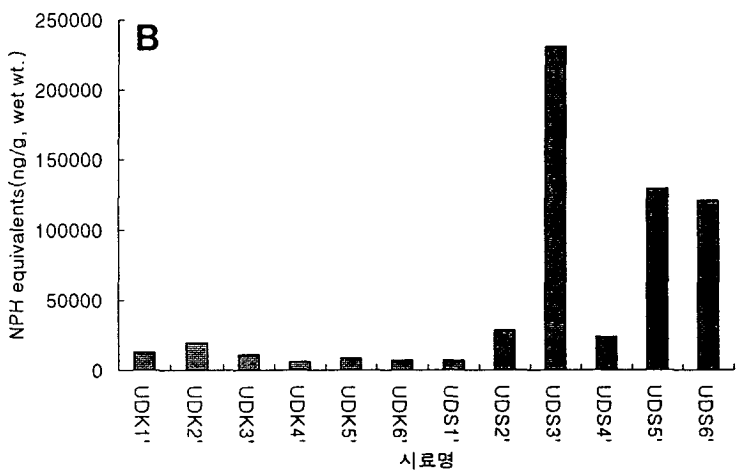
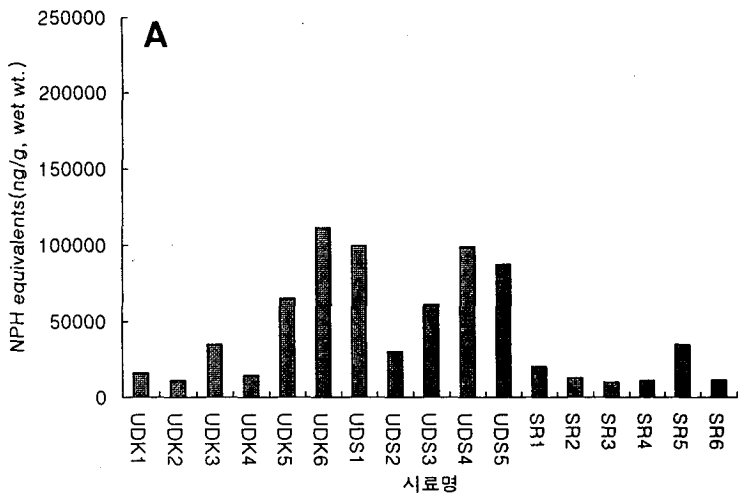


Fig. 7-11. Equivalents concentration of bile samples fluorescing at 290/335 (NPH wavelength) (A) samples analyzed at Jan. 1998 (B) Feb.

Table 7-3. Equivalent concentration of bile from this study and other foreign studies(ng/g wet wt. equivalents)

	Sampling site		Species	Wave-length	Average \pm SD
This Study	Ulsan	A Company (1st)	English sole	NPH	42,263 \pm 39,606
				BaP	81 \pm 90
		A Company (2nd)		NPH	10,726 \pm 4,944
				BaP	62 \pm 28
		B Company (1st)		NPH	75,502 \pm 29,808
				BaP	508 \pm 599
	B Company (2nd)	NPH	90,032 \pm 86,587		
		BaP	365 \pm 297		
	Comparing site		English sole & others	NPH	16879 \pm 9625
				BaP	153 \pm 96
Krahn <i>et al.</i> (1993)	Persian Gulf	Karan Island	English sole	PHN	20,000 \pm 21,000
		Qatar			17,000 \pm 13,000
		Rennie Shoals			10,000 \pm 2,200
Krahn <i>et al.</i> (1986)	Puget Sound	Eagle Harbor	Sheiry	BaP	2,100 \pm 1,500
		Duwamish Waterway			1,400 \pm 2,200
		Clinton			1,300 \pm 1,700
		Inner Everett Harbor			520 \pm 410
		Outer Everett Harbor			270 \pm 220
		Richmond Beach			270 \pm 700
		West Point			240 \pm 160
		Carkeek			110 \pm 120
		President Point			100 \pm 89
		Edmonds			91 \pm 82
		Useless Bay			67 \pm 45

(continued)

	Sampling site	Species	Wave-length	Average \pm SD	
Krahn <i>et al.</i> (1992)	Prince William Sound	oil-injected	Halibut	NPH	3,800,000
		solvent-injected		NPH	30,000
		oil-injected	Dolly Varden	NPH	470,000
		solvent-injected		NPH	40,000
		A	Pollock	NPH	340,000
		B		NPH	270,000
		C		NPH	280,000
		D		NPH	340,000
		Control		NPH	36,000
		A		Salmon	NPH
		B	NPH		990,000
		C	NPH		2,600,000
		D	NPH		780,000
		E	NPH		1,700,000
		Control	NPH		44,000

나. 벤조[a]피렌 파장

A 수산의 1차시료는 농도가 82 ± 89.8 ng/g로 시료에 따른 차이가 많이 나지만, 2차시료는 농도가 61.5 ± 28 ng/g로 1차시료보다 고르게 분포하였다.(Fig. 7-12). NPH 파장에서와 같이 시간의 경과에 따라 담즙에 축적되는 농도는 감소하고 있음을 알 수 있다. B 수산에서는 농도가 1차시료의

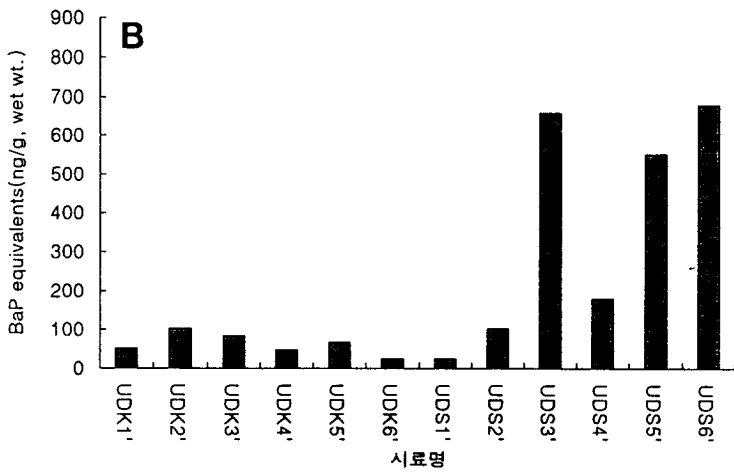
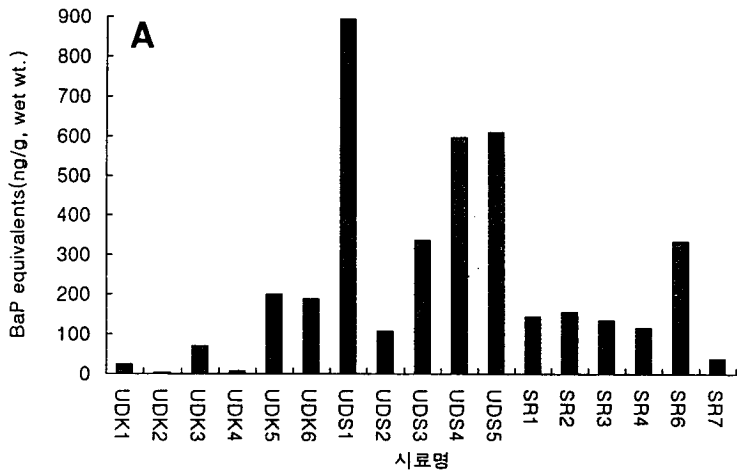


Fig. 7-12. Equivalent concentration of bile samples fluorescing at 380/430 (BaP wavelength) (A) samples analyzed at Jan. 1998 (B) Feb.

경우 508 ± 299 ng/g, 2차시료는 365 ± 297 ng/g로 시간의 경과에 따라 축적된 농도는 감소하는 경향을 보인 반면 개체에 따른 차이가 두드러지는 것을 볼 수 있었다. 비교지역에서는 평균농도가 153 ± 96 ng/g로 A 수산보다 오히려 더 높은 농도를 나타내었다.

3. 외국 자료와의 비교

이번 실험의 결과와 Krahn 등(1986; 1992; 1993)의 결과가 Table 7-3에 나타나 있다. '86년의 자료는 Puget Sound의 11지역에서 오염의 정도와 간의 종양과의 관계를 밝힌 것으로 BaP파장의 농도만 제시하고 있다. '92년 자료는 Exxon Valdez사고후 어류의 담즙을 HPLC로 분석하고 이것을 GC/MS의 자료와 비교한 것이다. 여기서는 어류의 체내에 기름을 주입하여 대사작용을 거친 후의 담즙자료와 피해지역에서 두종의 어류 시료에서 담즙을 분석한 결과를 제시하고 있다. '93년 자료는 걸프전쟁 중 유출된 기름의 영향을 어류의 담즙을 통해서 추정된 것으로 PHN 등량농도만 제시하고 있다.

이번 연구결과는 NPH 파장의 경우 농도가 걸프만과 비슷하다. 걸프만의 자료에서는 시료간의 차이가 심해서, 유출사고가 발생한 지역과 원거리 시료간에 의미있는 차이를 보이지 못했지만 개개의 시료에서는 유출지역이 높은 결과를 보였다. Exxon Valdez 사고 자료의 경우 농도가 너무 높아 이번 연구결과는 오히려 오염되지 않은 대조구와 비슷한 농도를 보인다.

BaP 파장은 Puget Sound만 자료가 제시되어 있기 때문에 제한적인 비교만 가능하다. Krahn 등(1986)의 자료는 오염지역과 대조구의 차이를 명확히 보여주고 있다. 이 자료에서는 나프탈렌 농도를 1,000 ng/g이상, 100 ng/g미만, 100~1,000 ng/g 등 고, 저, 중의 세가지 단계로 나누고 있다. 본

실험의 결과를 이 기준에 적용하면 A 수산의 경우는 저농도인 100 ng/g미만에 속하는 반면 B 수산과 비교지역은 중농도인 100~1,000 ng/g에 속한다고 할 수 있다.

4. 고 찰

크로마토그램의 분석결과를 보면 A 수산과 B 수산이 동시에 같은 유류에 의해 피해를 입었다는 것을 알 수 있었다. 그러나 등량농도 분석 결과 A 수산과 B 수산은 피해의 지속정도가 달랐다. A 수산은 시간의 경과에 따라 유출유의 피해가 감소하는 경향이 명확히 드러났지만, B 수산의 경우 그 피해는 지속적이고 개체에 따라서는 영향의 정도가 더 심해지는 것이 확인되었다. 이러한 차이는 몇가지로 설명이 가능하다. 먼저 두 축양장은 취수구의 위치와 집수조 규모가 다르다. A 수산은 취수구가 B 수산보다 깊은 곳에 위치하고 있어서 유출사고시 상층에 부유된 기름의 영향을 덜 받을 수 있었다. 그리고 취수구에 표착된 기름의 잔류량도 B 수산이 많을 것으로 추정할 수 있다. 집수조의 규모도 B 수산이 크기 때문에(A 수산의 10배 이상) 집수조에 흡착되어 잔류된 유출유가 계속해서 영향을 미칠 것으로 추정된다. 둘째, 사고 발생후 두 축양장의 대응방식이 다소 다른 점을 들 수 있다. A 수산은 사고 후 축양수조를 수차례 거둬서 세척을 실시한 데 반해 B 수산은 상층에 부유하는 유막을 제거하는 방식으로 청소를 하였다. 셋째, 시료자체의 차이를 들 수 있다. A 수산과 B 수산 시료는 연령의 차이에 따른 무게차이가 약 4배 정도 나므로 오염물질의 대사능력과 축적양에 차이를 나타낼 수 있다.

NPH와 BaP 파장에서의 등량농도는 시간의 경과에 따라서 다른 양상을 보이고, 비교지역과의 농도비교에서도 서로 차이가 났다. 이러한 차이는 먼

저 NPH와 BaP가 체외로 배출되는 경로가 다소 다르기 때문이다. NPH의 경우 대사작용을 거치지 않고서도 아가미나 점액질로 체외배출이 가능하지만 BaP는 대사작용을 거친후 담즙에 모였다가 최종적으로 배출되기 때문에 시간에 따른 차이가 날 수 있다(Varanasi 등, 1989). 둘째, NPH와 BaP는 서로 다른 오염원을 가진다. 이번 사고의 유출유인 벙커 C유에 BaP가 소량 포함되어 있긴 하지만 BaP는 주로 연소기원이다. 또한 Krahn 등(1992)은 NPH/BaP 지수로써 오염원에 대해서 추정을 할 수 있다고 했다. Exxon Valez호 사고지역인 Prince Williams Sound의 시료에서는 지수가 $1,300 \pm 600$ 으로 기름에 의한 영향을 명확히 볼 수 있고, 도시화된 Puget Sound는 110 ± 62 으로 연소기원의 영향이 많음을 볼 수 있다. 이번 실험의 결과에서는 NPH/BaP 지수가 동경수산 시료에서는 1차와 2차가 각각 $1,464 \pm 1,584$, 188 ± 73 으로 사고 초기에는 유류에 의한 영향을 많이 받았지만 시간이 지남에 따라 그 영향이 감소되는 것을 볼 수 있다. 그러나 B 수산 시료는 1차와 2차의 결과가 각각 177 ± 64 , 246 ± 81 로 증가하는 경향을 나타내었다. 그리고 비교지역에서는 136 ± 89 로 B 수산과 비슷하였다. 이러한 결과로 사고지역에서는 이번 사고로 유출된 기름 뿐만 아니라 평시에도 다른 오염원이 존재함을 알 수 있다. 사고가 난 지역은 석유화학공단이 밀집한 온산공단에서 멀지 않으므로 연소기원의 PAH 오염원이 항상 존재해왔다고 판단된다. 또한 A 수산과 B 수산의 차이는 시료의 연령 차이에도 일부 기인한다고 추정할 수 있다. B 수산의 시료는 A 수산보다 10개월이나 더 긴 오염의 역사를 간직하기 때문이다.

제 4 절 결 언

기름유출사고 지역의 인근 축양장 어류의 담즙을 HPLC로 분석한 결과 축양중인 어류가 유출유의 영향을 받은 것으로 나타났으며 또 어류 개체중에는 그 영향을 28일이 지난 뒤에 까지도 크게 받고 있는 것으로 파악되었다. 분석과정에서 나프탈렌 파장과 벤조[a]피렌 파장에서 서로 다른 경향을 보였는데 이것은 각각의 오염원이 다소 다른데다 어류 체외로 배출되는 경로 역시 차이가 있기 때문인 것으로 추정된다. 본 연구결과에서는 나프탈렌 농도가 시간경과에 따라서 감소하는 추세를 보인 반면 벤조[a]피렌의 경우 28일이 지난 후에도 대사경로를 통해서 담즙에 축적 중인 것을 확인할 수 있었다. 다른 지역의 시료를 분석하여 비교한 결과 사고지역 시료와는 다른 크로마토그램 형태를 보였으며 사고 직후 시료보다는 시간이 지나면서 낮은 농도를 보였다.

실험대상이었던 A 수산과 B 수산의 시료가 PAH 분석에서 상호 다른 양상을 보인 것은 환경적인 요인의 차이와 시료간의 차이에 기인한 것으로 판단된다. 어류의 경우 환경적인 요인과 어류의 종, 성숙도, 성별, 산란여부 및 주위의 다른 독성물질 존재여부에 따라 PAH의 축적정도가 달라진다. 이번사고의 경우 화물선에 실려있던 시멘트가 같이 유출됨으로써 어류에 영향을 미쳤는데, 시멘트의 영향은 전혀 고려하지 못했다. 시멘트의 경우도 어류에 대해서 물리적, 화학적인 독성 영향을 끼칠 것으로 사료되며, 축양장의 어류가 다량 폐사된 원인이 시멘트와 유출유의 복합적인 영향으로 추정된다.

어류의 담즙을 HPLC로 분석하는 잇점은 기름오염사고에 대한 피해 입증을 위해 유류의 영향을 간편한 방법으로 계속 모니터링을 할 수 있다는

것이다. 아울러 담즙분석과 병행하여 간의 종양이나 병리적인 현상까지 병행할 수 있다면 유출사고에 대한 피해입증 조사에 큰 도움이 될 것으로 생각된다. 오염이 심한 항구나 유출사고 발생시 근해의 어류 담즙을 분석하기 위해서는 시료채취 방법이 문제가 된다. 저서어류의 경우 낚시로 잡기는 어렵고 트롤이나 통발을 이용해야 하지만 여건상 이러한 방법들은 비용과 시간이 많이 투자되어야 한다. 따라서 방제작업과 병행해서 현장의 시료를 동시에 채취할 수 있는 법적인 근거를 마련할 필요성이 있다. 사고 피해 산정시 가시적인 보상차원을 넘어서 잠재적인 어획량 감소까지를 염두에 둔다면 이와 같은 시료채취 방법은 큰 의미가 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Hellou, J., Mackay, D., Fowler, B. 1995. Bioconcentration of Polycyclic Aromatic Compounds from Sediments to Muscle of Finfish. *Environ. Sci. Technol.* 29(10):2555-2560.
- Krahn, M. M. 1997. Advantages to Using Screening Methods in Environmental Monitoring. In: Proceeding of the '97 APEC Workshops.
- Krahn, M. M., Burrows, D. G., MacLeod, W. D. Jr., Malins, D. C. 1987. Determination of Individual Metabolites of Aromatic Compounds in Hydrolyzed Bile of English Sole(*Parophrys vetulus*) from Polluted Sites in Puget Sound, Washington. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 16:511-522.
- Krahn, M. M., Burrows, D. G., Ylitalo, G. M., Brown, D. W., Wigren, C. A., Collier, T. K., Chan, S., Varanasi, U. 1992. Mass Spectrometric Analysis for Aromatic Compounds in Bile of Fish Sampled after the *Exxon Valdez* Oil Spill. *Environ. Sci. Technol.* 26: 116-126.
- Krahn, M. M., Moor, L. K., MacLeod, W. D. Jr. 1986. Standard Analytical Procedures of the NOAA National Analytical Facility, 1986: Metabolites of Aromatic Compounds in Fish Bile. *NOAA Technical Memorandum NMFS F/NWC-102.*
- Krahn, M. M., Myers, M. S., Burrows, D. G., Malins, D. C. 1984. Determination of Metabolites of xenobiotics in the bile of fish from polluted waterways. *Xenobiotica* 14(8):633-646.
- Krahn, M. M., Rhodes, L. D., Myers, M. S., Moore, L. K., MacLeod, W. D. Jr., Malins, D. C. 1986. Associations Between Metabolites of

Aromatic Compounds in Bile and the Occurrence of Hepatic Lesions in English Sole (*Parophrys vetulus*) from Puget Sound, Washington. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15:61-61.

Krahn, M. M., Ylitalo, G. M., Buzitis, J., Bolton J. L., Wigren, C. A., Chan, S., Varanasi, U. 1993. Analysis for Petroleum-related Contaminants in Marine Fish and Sediments Following the Gulf Oil Spill. *Mar. Pollut. Bull.* 27:285-292.

Krahn, M. M., Ylitalo, G. M., Buzitis, J., Chan, S., Varanasi, U. 1993. Rapid High-Performance Liquid Chromatographic Methods that Screen for Aromatic Compounds in Environmental Samples. *J. Chromatogr.* 642:15-32.

Law, R. J. 1986. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Marine Environment: An Overview. *ICES Coop. Res. Rep.* 142:88-100.

Lee, L. M., Novotny, M. V., Bartle, K. D. 1981. Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds. Academic Press, Inc. pp. 17-44

O'Flaherty, B. 1993. Fluorescence Detector: A Practical guide to HPLC detection. Academic Press, Inc. pp. 111-143.

Varanasi, U., Stein, J. E., Nishimoto, M. 1993. Biotransformation and Disposition of PAH in Fish: Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. CRC Press, Inc. Florida. pp. 93-149.

제 8 장

유류 및 유처리제가

동물플랑크톤에 미치는 영향



제 1 절 서 언

해상에서의 인간활동 증가에 따라 유류유출 사고에 의한 해양오염은 점점 심화되고 있다. 예를 들어 해양경찰청의 자료에 따르면 유류유출에 의한 오염사고 건수는 약간의 변동은 있으나 해마다 꾸준히 증가하는 추세를 보여(한국해양연구소, 1996) 최근에는 매년 300여 건을 상회하고 있으며, 앞으로도 해상 물동량의 증가와 임해공업단지 개발로 인해 더욱 증가할 전망이다. 인간의 실수로 인한 해상유류유출 사고는 수산업자들에게 막대한 경제적인 손실을 줄 뿐만 아니라, 해양관련 기타 산업에도 큰 타격을 입힐 수 있다. 뿐만 아니라 해양생태계에도 심각한 영향을 미친다.

유출된 유류는 유출량, 유출유의 종류 및 상태, 해양생물의 특성과 장소에 따라 다양한 영향을 미치게 된다. 유출된 기름이 해양생물에 미치는 영향은 사고 당시의 직접적인 피해와 사고 후 오랜 시간이 경과한 후에 생태계에 나타나는 장기적인 피해가 있다. 직접적인 피해는 다시 유류의 물리적 특성에 의한 피해와 유류의 화학적 성분에 의한 피해로 나눌 수 있다. 물리적인 피해는 원유나 벙커유 등 점성이 큰 유류가 생물의 표면에 부착하여 생물이 질식사하거나 체온이 떨어져 사망하는 경우, 그리고 운동능력을 저하시키는 경우를 말하고 화학적인 피해는 유류에 포함된 방향족 탄화수소 등의 독성에 의한 생리적인 치사가 포함된다. 그밖에 수산유용생물의 상품가치 하락 등이 직접적인 피해에 속한다. 장기적인 피해로는 잔류 유류에 있는 독성의 영향으로 생물들의 생산력 감소를 초래하여 궁극적으로 군집구조의 변화나 개체군의 감소를 유발하는 것을 들 수 있다. 특히 개펄에 스며든 유류는 장기간 잔류하며 표면으로 스며나와 오염연안의 만성적인 피해를 유발한다.

유류오염이 해양생태계에 미쳤던 영향에 관한 기록은 그 피해가 상당하였음을 보여주고 있다(NOAA, 1992). 예를 들어 '67년 유조선 토리캐년(Torrey Canyon)호의 사고로 인해 바위에서 조류를 잡아먹고 살던 삿갓조개가 사라졌고 5년 후에야 삿갓조개의 개체군이 정상으로 회복하였다. 이때는 유류방제를 위해 사용했던 유처리제의 독성으로 인한 피해가 더 컸던 것으로 알려졌다. 또한 바다새도 10여만 마리가 사망하였다. '90년에서 '91년에 걸쳐 일어난 걸프전쟁시 이라크의 해안 석유시설의 파괴로 약 6,700만 톤의 석유가 흘러나와 인근 바다새 2만~5만 마리가 사망한 것으로 보고되었다. 바다새는 깃털에 유류가 묻게 되면 방수성과 보온성을 상실해 체온이 떨어져 사망하게 된다. 이외에도 이동능력이 약한 연안의 저서생물들이 전부 폐사하였다.

연안의 저서생물이나 바다새가 유류오염에 의해 입는 피해상황에 비해 현미경적 크기인 플랑크톤에 대한 피해상황은 전반적으로 잘 알려져 있지 않지만, 유류유출 사고가 나면 플랑크톤 군집도 피해를 입게되는 것으로 알려져 있다. 수층에는 일차생산자인 식물플랑크톤을 비롯하여 이들을 먹이로 하여 에너지를 상위 영양단계로 전달해주는 동물플랑크톤이 서식하고 있으며, 각종 유용수산자원의 알이나 유생들도 분포하고 있다. 이들은 운동능력이 없거나 미약한 부유생물이기 때문에 유류 유출사고가 나면 유출유를 회피할 수 있는 능력이 약해 유영능력이 뛰어난 유영생물들 보다 더 큰 피해를 입을 수 있다. 실험실에서 식물플랑크톤을 저농도의 유출유와 수용성 성분에 노출시켰을 때 일부 유류오염에 민감한 종의 경우 생산력이 감소하였고, 동물플랑크톤의 경우 요각류의 생산력도 감소하는 경향을 보였다(HMSO, 1978). '67년 3월 18일 영국의 Lands End에서 86만 배럴의 원유가 유출된 Torrey Canyon 사고(NOAA/HMRAD, 1992) 당시 사고현장 해역에서 원유와 유처리제에 의해 플랑크톤이 사망하였다고 보고되

었다. '77년 스웨덴 해역에서 일어난 유조선 테시스(Tsesis)호 사고로 동물 플랑크톤이 약 5일동안 급격히 감소하였는데 이는 유류에 의한 사망과 사고해역으로부터 회피한 것이 그 원인인 것으로 보고되었다. '78년 아모코카디즈(Amoco Cadiz)호 사고로 유출된 원유로 인해 영국 해안의 플랑크톤군집이 얼마간 감소하였으나 2~3주 후에는 회복되었다. 사고해역 주변에서는 3종의 어류가 사망하였으며 청어류의 알은 90% 이상이 부화하지 않았고 사고 후 성장장애가 유발되었다는 보고가 있다. 실험실에서 수행된 독성실험에서 원유의 수용성 성분중에는 어류의 알이나 치어를 사망케 하는 것이 있다는 것이 보고되었고 유출 현장의 표층 가까이 있는 치어나 난도 어느 정도 피해를 받을 것으로 평가하고 있다(HMSO, 1978). 특히 어류의 성육장인 강하구나 연안역에서 유류유출 사고가 발생하면 그 피해는 더욱 커질 수 있다. 일반적으로 유출유가 잘 분산·희석되는 외양역에서 사고가 발생하는 경우 해양생물에 미치는 영향은 상대적으로 적으나 연안역에서 사고가 발생할 경우 조류나 해류에 의해 유출유가 해안가로 모이게 되면 조간대의 부착생물에 큰 피해를 입히게 된다.

유류유출 사고시 많이 사용되는 방법은 수면위에 퍼져있는 유류에 유처리제를 살포하는 것과 기계적인 장치를 사용하여 유출된 유류를 제거하는 것이다. 유처리제를 사용하는 방법은 환경이 민감한 해역을 제외하고는 가장 널리 사용되는 방법이다. 일단 해변으로 밀려온 유류는 치우기가 어렵고 노력, 시간, 비용이 많이 들기 때문에 사고현장에 유처리제를 살포하여 유출유를 처리한다. 유처리제의 역할은 유출유를 녹이는 것이 아니고 단순히 해수와 유막간의 표면장력을 감소시켜 작은 입자로 만들어 수중에 분산시키는 것이다. 그러면 유류입자의 체적에 대한 표면적의 비율이 커지므로 미생물에 의한 분해가 가속된다. 유처리제 사용의 장점은 이외에도 유출유가 양식장 등 오염민감해역으로 접근하기 전에 사전 분산처리해 피해를 줄

일 수 있다는 것, 방제가 까다로운 에멀션이나 타르볼 형성을 방지할 수 있다는 것이다. 그러나 유처리제도 중질유나 유출된지 오래된 유류에는 효과적이지 못하다. 독성이 강한 유처리제는 적조(Tang *et al.*, 1992)와 같은 2차 오염피해가 있는 등 사용상의 문제점이 있기도 하나 현재는 저독성 유처리제가 사용된다.

유처리제는 가정에서 사용하고 있는 세제와 기본적으로 같다. 가정에서 쓰는 세제는 사용시 물에 풀어 쓰는데 비해 유처리제는 미리 물이나 유기용매에 녹였다가 유류 유출사고시 뿌리는 것이 차이점이다. 유처리제에는 탄화수소용제, 수용제, 농축형의 세가지가 있다. 탄화수소용제 유처리제의 경우 점성이 큰 중질유가 유출되었을 때 많이 사용되며 성분은 대략 액체 파라핀 탄화수소용제 90%와 계면활성제 10%로 이루어졌다. 액체파라핀 탄화수소용제는 점성이 큰 중질유에 계면활성제가 잘 침투하도록 하나 그 자체가 독성을 가지고 있기도 하다. 유처리제의 성분은 매우 복잡하고 제조업체가 성분을 잘 밝히지 않아 파악하기가 어렵다. 유처리제는 농도가 대개 100~10,000 ppm에서 치사효과가 있고, 100 ppm이상에서는 아치사효과를 유발한다고 알려져 있으며, 동물플랑크톤의 경우 실험에 사용되었던 유처리제 Gamasol LT-A나 Hi-Clean에 1일 노출되었을 때 LC₅₀는 1,000~4,000 ppm인 것으로 조사되었다(한국해양연구소, 1996).

동물플랑크톤은 부유생태계에서 주로 일차생산자인 식물플랑크톤을 소비하고, 대신 어류와 같은 유용수산자원의 먹이로 이용되어 먹이망에서 상·하 영양단계 사이에 에너지의 흐름을 연결해주는 전달자 역할을 한다. 따라서 동물플랑크톤의 사망에 의한 생물량 변화는 유용수산자원의 생물량에 큰 영향을 미친다. 최근 각종 사고에 따른 유류유출 및 과도한 유처리제의 사용으로 수산유용생물이 직접 피해를 입기도 하나 먹이생물인 동물플랑크톤의 높은 사망률에 의한 간접적인 피해가 발생할 가능성도 있다.

따라서 동물플랑크톤의 사망률 측정은 유류오염 사고시 장기적으로 발생할 수 있는 생태계 변화를 예측하는데 필요하다.

1차년도에는 유류유출사고가 잦은 남해안에 우점하는 동물플랑크톤을 대상으로 유류의 수용성 성분(WSF)에 의한 동물플랑크톤의 사망률을 측정하였으며, 2차년도에는 동물플랑크톤이 유처리제에 노출되었을 때 사망률이 어떻게 변하는지를 조사하였다. 실험에 사용된 유처리제는 3종으로 Enersperse 1037, Gamasol LT-A, Hi-Clean이었으며, 특히 고농도의 유처리제에 단기간 노출되었을 경우의 사망률에 초점을 맞추었고, 동물플랑크톤 중에서 가장 우점하는 요각류의 군집을 대상으로 하였다. 3차년도에는 동물플랑크톤 중 우점하는 종을 선택하여 Gamasol LT-A과 Hi-Clean에 노출되었을 때 사망률을 조사하였다. 대부분의 실험은 실제 상황보다 높은 농도와 오랜 노출시간동안 이루어지므로 실험실의 결과는 우리가 예측하는 피해 이상의 것일 수도 있다. 따라서 유류유출 사고시 현장의 농도(1~10 ppm)와 노출시간(1~3시간)을 고려하여(Butler, 1989) 낮은 농도(100~500 ppm)에 노출시켜 짧은 배양시간동안(1시간) 노출시켜 사망률 변화를 측정하였으며, 결과는 기 조사된 자료와 비교하여 논의하였다. 한편 사망률 증가로 인해 부유생태계에 미칠 영향을 예측하였으며, 유처리제의 화학적 특성을 고찰하여 생물에 미칠 수 있는 영향을 파악하고, 유처리제의 생분해와 독성실험을 하는 방법을 고찰하였다.

제 2 절 재 료 및 방 법

유처리제가 동물플랑크톤의 사망률에 미치는 영향을 조사하기 위해 microcosm을 이용한 실험이 2월, 8월, 11월에 부산항 내에서 실시되었다. 실험에 사용된 동물플랑크톤은 부산 조도 앞 해상에서 망목 333 μm , 직경 45 cm의 플랑크톤 네트를 수심 5 m에서 수직으로 예망하여 채집하였다. 채집한 동물플랑크톤을 자연상태의 해수를 채운 9 개의 2 l 용량의 갈색 유리용기에 첨가하였다. 3 개의 용기는 대조병으로 사용하였고, 3 개의 용기에는 Gamasol LT-A를 나머지 3개의 용기에는 Hi-Clean을 각각 첨가하여 혼합한 후 해수중에 배양하였다. 실험에 사용된 유처리제의 농도는 2월과 11월에는 Gamasol LT-A와 Hi-Clean의 농도가 모두 100 ppm이었고, 8월에는 500 ppm이었다. 실험에 사용된 동물플랑크톤은 채집당시에 가장 우점하였던 요각류와 지각류로, 2월에는 요각류인 *Calanus* spp.(주로 *C. sinicus*)와 *Acartia* spp.(주로 *A. omorii*)를, 8월에는 요각류인 *Paracalanus* spp.(주로 *P. parvus*)와 지각류인 *Podon polyphemoides*를, 11월에는 요각류인 *Paracalanus* spp.(주로 *P. parvus*)와 *Calanus* spp.(주로 *C. sinicus*)를 각각 대상으로 하였다. 현장에서 2~3시간 배양한 후 실험용기의 물을 100 μm 의 여과망으로 농축한 후 파이펫으로 동물플랑크톤의 임의 표본을 추출했다. 현미경하에서 살아있는 동물플랑크톤과 사망한 동물플랑크톤을 계수하였으며, 계수한 총 동물플랑크톤의 수와 사망한 동물플랑크톤의 비율로 동물플랑크톤의 사망률을 계산하였다. 동물플랑크톤의 개체수는 최소한 100개체 이상 계수 하였다. 이번 실험에서는 저농도에 단기간 노출되었을 때의 사망률을 측정하는 것을 목적으로 하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

조사해역인 부산 조도 앞의 동물플랑크톤 우점종은 조사시기인 2, 8, 11월에 각각 차이를 보였다. 우점종 요각류인 *Calanus sinicus*는 체장이 2.0~3.5 mm로 비교적 큰 편에 속하며, 수온이 낮았던 2월과 11월에 특히 많이 출현하였다. 또한 *Paracalanus parvus*는 8월과 11월에 우점하였으며, *Acartia omorii*는 2월에 우점하였다. 그리고 지각류인 *Podon polyphemoides*는 8월에 우점하였다. 현장에서의 배양 수온 범위는 2월에 $11\pm 1^{\circ}\text{C}$, 8월에 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, 11월에 $16\pm 1^{\circ}\text{C}$ 였고, 배양 시간은 2월에 3시간, 8월에는 2시간, 11월에는 1시간이었다.

2월 실험의 결과 *Calanus*와 *Acartia*는 유처리제를 첨가하지 않은 실험 용기에서 평균 사망률이 각각 2.5%와 4.0%였다. 한편 유처리제 Gamasol LT-A와 Hi-Clean 100 ppm농도에 3시간 노출되었을 때의 사망률은 각각 *Calanus*가 8.7%와 9.3% 였으며, *Acartia*가 26.6%와 19.6% 였다(Fig. 8-1). 두 우점종의 사망률을 비교하면 *Acartia*의 사망률이 같은 조건에서 *Calanus* 보다 2~3배 높게 나타났다. 많은 독성 실험에서 실험대상 생물의 체중은 독성물질의 치사량에 영향을 미치므로, 이는 *Calanus*의 체장이 2.0~3.5 mm크기 범위로 *Acartia*의 0.8 mm~1.3 mm보다 2배 이상 크기 때문인 것으로 판단된다.

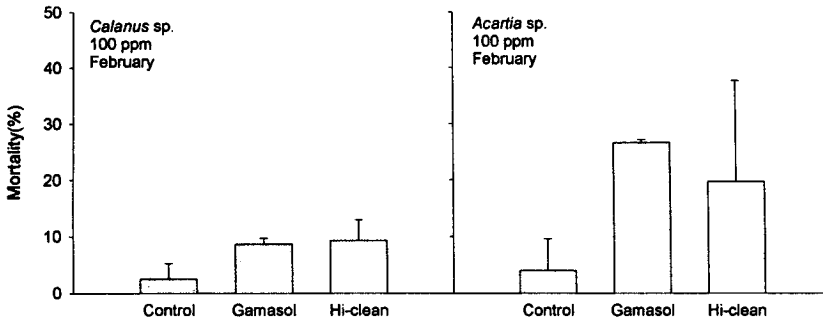


Fig. 8-1. Mortality of two dominant copepods, *Calanus* and *Acartia*, after 3-hr incubation period.

유처리제별 사망률을 비교하면 같은 종이 Gamasol LT-A와 Hi-Clean에 각각 노출되었을 때 평균 사망률은 다소 차이가 있었으나 통계학적(ANOVA)으로 우점종 요각류의 사망률 차이는 없었다($p > 0.5$). 이는 마산만에서 3월에(수온 9°C) 고농도(1,000 ppm)의 Gamasol LT-A와 Hi-Clean에서 24시간동안 배양하여 실험한 요각류의 사망률 37.2%와 36.9%보다(Kim *et al.*, 1997) 훨씬 낮은 수치였다. 그러나 수온이 낮았던 2~3월의 실험에서는 두 유처리제가 요각류의 사망률에 미치는 영향은 통계학적으로 차이가 없다는 결과는 일치하였다.

8월 실험의 결과 *Paracalanus*와 *Podon*은 유처리제를 첨가하지 않은 실험 용기에서 평균 사망률이 각각 4.9%와 11.0%였다. 한편 유처리제 Gamasol LT-A와 Hi-Clean 500ppm농도에 2시간 노출되었을 때의 사망률은 각각 *Paracalanus*가 12.4%와 14.7% 였으며, *Podon*은 24.4%와 27.2% 였다(Fig. 8-2). 두 우점종의 사망률을 비교하면 *Podon*의 사망률이 같은 조건에서

Paracalanus 보다 약 2배 높게 나타났다. 이는 15종류의 화학물질을 가지고 급성 독성실험을 한 결과를 바탕으로 다양한 동물의 화학물질에 대한 민감도를 정리한 자료에서(Sloof, 1985), 담수산 지각류 *Daphnia magna*, *D. pulex*, *D. cucullata*가 다른 갑각류에 비해서 화학물질에 좀 더 민감한 것으로 나타난 것과 일치하는 결과였다. 한편 8월의 실험에서도 Gamasol LT-A와 Hi-Clean 사이에 실험 대상 동물플랑크톤의 사망률에 통계학적 차이가 있지는 않았다.

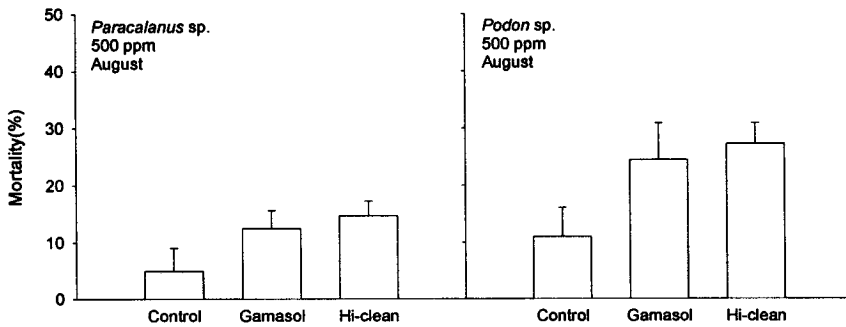


Fig. 8-2. Mortality of two dominant zooplankton, *Paracalanus* and *Podon* after 2-hr incubation period.

11월 실험 결과 *Paracalanus*와 *Calanus*는 유처리제를 첨가하지 않은 실험용기에서 평균 사망률이 각각 2.3%와 12.3% 였다. 한편 유처리제 Gamasol LT-A와 Hi-Clean 100 ppm농도에 1시간 노출되었을 때의 사망률은 각각 *Paracalanus*가 10.6%와 5.4% 였으며, *Calanus*는 4.2%와 12.5% 였다(Fig. 8-3) 였고, 각각의 유처리제 노출된 두 우점종 사이의 사망률 사

이에는 큰 차이가 없었다. 한편 *Calanus*의 경우 저농도(100 ppm) 유처리제에 단기간(1-hr) 노출된 경우, 유처리제를 첨가하지 않은 실험용기 속의 사망률과 통계학적으로 차이가 없었다. 이는 동물플랑크톤이 현장에서 3시간 미만의 단기간에 경험하게 되는 낮은 농도의 유처리제에는 거의 영향을 받지 않을 수도 있다는 것을 보여준다. 실제로 현장에서 동물플랑크톤이 경험하게 되는 유처리제의 농도가 10 ppm 미만인 것으로 알려져 있기 때문에 실험에서 얻어진 사망률보다 실제 사망률은 더욱 낮을 수도 있다. *Calanus*의 경우 유처리제를 처리한 실험용기에서 보다 유처리제를 첨가하지 않은 실험용기에서의 평균 사망률이 높게 나온 것은 실험상의 오류일 가능성도 있다.

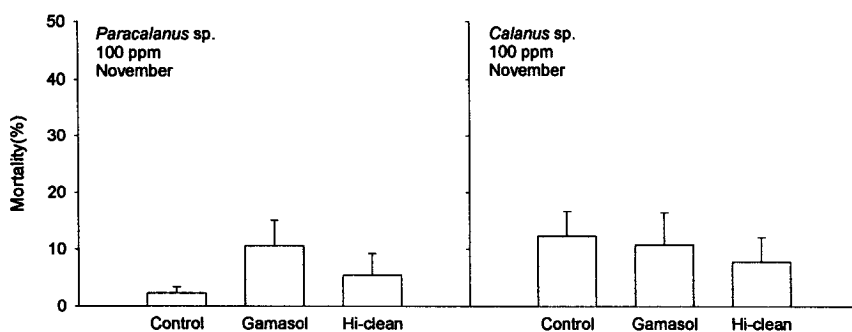


Fig. 8-3. Mortality of two dominant copepods, *Calanus* and *Acartia*, after 1-hr incubation period.

일련의 실험을 통한 결과를 종합하면 일반적으로 요각류가 유처리제의 농도와 노출 시간에 따라 받는 영향은 농도가 높아질수록 그리고 노출시간이 길어질수록 사망률이 커지는 것이었다(Fig. 8-4). 동물플랑크톤은 종류

에 따라 유처리제에 대한 내성에 차이가 있었다. 우리나라 연안역에 우점하는 소형 갑각류 플랑크톤의 경우에는 요각류가 지각류보다는 유처리제에 의한 내성이 강하고, 같은 요각류라도 크기가 큰 것이 좀 더 내성이 큰 것으로 나타났다.

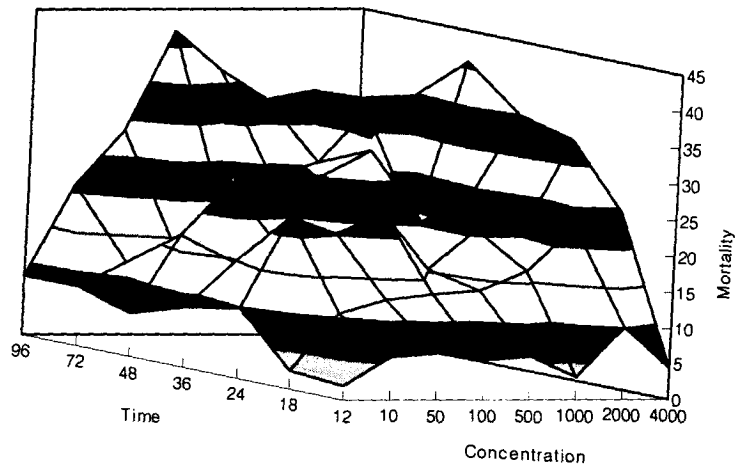


Fig. 8-4. Effect of dispersant (Gammasol LT-A) on copepod mortality(%) depending on incubation time(hr) and dispersant concentration (ppm).

한편 간헐적으로 우점하는 다모류의 부유성 유생이 우점하는 동물플랑크톤 중에는 유처리제에 대한 가장 높은 내성을 보였다(해양연구소, 1996). 성체 다모류는 특히 오염이 심한 연안역에 많이 서식하고 있기 때문에 (KORDI, 1994), 이들의 유생도 각종 오염물질에 대한 내성이 강한 것으로 판단된다. 앞서 언급한 요각류, 지각류를 비롯하여, 다모류의 부유성 유생

은 우리나라 연안역에 우점하는 초식성 동물플랑크톤으로 이들은 식물성플랑크톤을 소비하는데 중요한 역할을 하고 있다. 따라서 이들의 사망률 증가는 섭식압력의 감소로 인해 식물플랑크톤의 생물량을 증가시킬 수 있다. 이번 실험의 결과를 기준으로 보면 농도 100~500 ppm의 유처리제에 1~3 시간 노출되는 경우, 요각류는 최고 19.1% 만큼 사망률이 증가하였고, 지각류는 14.8% 만큼 사망률이 더 증가하였다.

연안역에서 동물플랑크톤이 소비하는 식물플랑크톤의 양은 대체로 일차생산의 10% 이내인 것으로 알려져 있으며(Lara-Lara *et al.*, 1990), Kim(1993)은 연안역에서 측정된 연평균 동물플랑크톤의 섭식압력은 전체 식물플랑크톤에 의한 일차생산의 12.6%라고 보고하였다. 그러나 낮은 수치는 요각류와 같은 초식성 동물플랑크톤이 효율적으로 소비하지 못하는 10 μm 보다 작은 미소 식물플랑크톤이 이 해역에 우점하였기 때문이고, 크기가 10 μm 보다 큰 식물플랑크톤에 의한 섭식압력은 일차생산량의 76%까지 되었다. 우리나라 연안에서 적조를 일으키는 식물플랑크톤의 크기가 10 μm 보다 크다는 점을 고려하면 초식성 동물플랑크톤에 의한 섭식압력은 중요할 수도 있다. 유처리제의 사용으로 인해 초식성 동물플랑크톤이 10% 정도 사망한다면, 이들의 사망으로 인해 전체 식물플랑크톤 생산량은 약 1~7% 가 더 증가하게 될 것이다.

제 4 절 유류 및 유처리제의 특성

1. 유 류

원유는 탄소원자를 4~26 개 또는 그 이상 포함한 각종 탄화수소의 혼합물이다. 분자의 구조는 직선형, 가지형, 또는 방향족 탄화수소처럼 환형인 것 등 아주 다양하다. 탄화수소 이외에 황과 바나듐 화합물 등도 원유에 포함되어 있다. 원유의 정확한 성분은 산유지에 따라 차이가 나며, 같은 산유지라도 시기에 따라 차이가 날 수 있다(Clark, 1986). 원유는 사용되기 전에 정유라는 과정을 거친다. 정유는 일련의 증류과정으로 비등점에 따라 원유는 경유, 나프타, 석유, 중유 등으로 분리된다. 휘발유는 자동차 연료로, 나프타는 석유화학의 원료로, 병커유는 선박이나 발전소에서 쓰인다. 원유의 모든 성분은 박테리아에 의해 분해되며, 효모나 곰팡이에 의해서도 분해가 된다. 직선형, 가지형의 탄화수소는 비교적 빨리 분해가 되고 환형 탄화수소는 느리게, 분자량이 아주 큰 타르는 아주 느리게 분해된다. 유류 중 탄소수가 적은 지방족 탄화수소나 방향족 탄화수소는 미생물에 의해 수개월 내 분해가 가능하지만 분자량이 크고 구조가 복잡한 탄화수소는 분해가 늦거나 미생물에 의해 분해가 되지 않는 것도 많다. 다환방향족 탄화수소(PAH; polycyclic aromatic hydrocarbons)는 발암물질로 알려져 있으며, 고리가 3개 이상인 것은 자연상태하에서 미생물에 의한 분해속도가 극히 느려 오랫동안 잔류한다. 미생물 대신 오염물질에 대한 내성이 강한 것으로 알려진 다모류나 연체동물들에 의해 PAHs가 분해되는 것이 밝혀지고 있다. 이들이 가지고 있는 cytochrome P-450과 같은 복합기능 산화효소계(mixed function oxygenase system)가 분해를 담당한다.

원유와 정제된 유류의 수용성 성분 중에는 해양생물에게 해를 미치는 각종 유독물질이 포함되어 있다. 방향족 탄화수소는 지방족 탄화수소보다 독성이 강하다. 벤젠이나 톨루엔 등 저분자 방향족 탄화수소는 물에 잘 용해되며 세포막을 파괴하고 효소나 구조단백질에 영향을 미치며, 지방족 탄화수소는 마취효과가 있는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 무거운 타르보다는 분자량이 작은 화합물이 독성이 강하나, 분자량이 아주 작은 것은 휘발성이 강해 해양생물에게 미치는 영향은 오히려 적을 수 있다. 타르볼(tar balls)의 형태로 된 유류는 덩어리 형태로 분해되지 않고 남아 장기적인 영향을 미친다.

액체상의 유류가 바다에 유출되면 해수면에서 얇은 유막을 형성하며 분산된다. 유막의 분산속도 및 두께는 해수온도 및 해상상태, 유류의 성질에 따라 결정된다. 가벼운 유류일수록 유막의 두께가 얇고 빨리 분산된다. 유출된 유류는 분자량이 적은 부분은 휘발하고, 수용성 부분은 해수에 녹으며, 섞이지 않는 부분은 유화되어 작은 방울 형태로 분산된다. 유류가 유화되는 속도는 파도나 난류(亂流)에 따라 다르고 이 유상액은 마치 초콜릿무스(mousse)처럼 보이며 아주 끈적끈적해 해변에 밀려오면 생태계에 큰 영향을 미친다. 원유 성분중 무거운 부분은 지름이 1 mm에서 10~20 cm 정도되는 타르볼(tar balls)을 형성한다. 현미경적인 크기의 유화된 유적은 표면적이 넓어서 박테리아에 의해 분해가 쉽게 일어나나 타르볼이나 무스는 느리게 분해된다.

2. 유처리제

해양 유류유출사고 발생시 물리적 처리를 한 후나 또는 물리적 처리가 어려운 해역에서는 유처리제(dispersants; 유화제, 유분산제, 유출유 처리

제)와 같은 화학약품을 사용하여 외관상으로 보이지 않게 분산시키는 방법을 사용하고 있다. 유처리제는 가정이나 산업체에서 사용하고 있는 세제와 유사하나 세제의 경우 가용화(solubilization), 침투(penetration), 유화(emulsification), 분산(dispersion) 등의 여러 가지 복잡한 과정을 거쳐 오염물을 의복으로부터 제거하는 것에 비하여 유처리제의 주목적은 기름을 가용화시키는 것이 아니라 기름과 해수간의 계면장력(interfacial tension)을 급격히 감소시켜 유출유를 수 μm 의 작은 액적으로 분산 또는 유화시키는 것이다. 이렇게 유처리제에 의하여 수중에 작은 액적으로 분산된 기름은 부피 당 표면적이 크게 증가하여 박테리아에 의한 미생물 분해, 일조에 의한 증발, 산화작용 등의 자정작용(self-purification processes)을 촉진시킨다.

유처리제의 일반적인 조성 성분과 비율, 그리고 재료를 나타내면 다음 Table 8-1과 같다.

Table 8-1. Chemical composition of dispersants

조성성분	조성비율(%)	Examples
용 제	40~70	white oil, liquid paraffin, alcohol, 물 등
계면활성제	30~60	sorbitan, fatty acid, oleic acid 등
기타 첨가제	미 량	emulsion, stabilizer, biodegradation activator 등

유처리제는 탄화수소 용제형, 수용제형, 농축형으로 구분되며, 각 종류의 특성을 살펴보면 다음과 같다.

① 광유가 주성분인 유처리제 (탄화수소용제형)

주로 파라핀계 탄화수소용제로 구성되어 있고 해수와 접촉하면 분산 능력이 상실되기 때문에 해수에 사전 희석되어서는 안되며 반드시 유막위

에 살포하여야 한다. 유출유와 유처리제의 비율은 유출상황 및 유출유 종류에 따라 2:1 내지 5:1 정도가 적당하다.

② 물이 주성분인 유처리제 (수용제형)

오염이 예상되는 해안지역에 미리 희석하여 살포함으로써 유출유 피해를 감소시키는데 사용되기도 하나 점성이 높은 유류에는 효과가 떨어진다.

③ 농축형 유처리제 (농축형)

알코올 또는 글리콜 용제로 구성되어 있으며 오일과 유처리제의 비율은 10:1 이상으로 희석하여 사용해도 분산효과(유화율)가 우수하다. 희석한 후 오일과 유처리제의 비율은 오일종류에 따라 2:1 혹은 3:1 정도가 적당하다.

위에서 열거한 유처리제의 종류별 장·단점을 비교하면 다음 Table 8-2 와 같다.

Table 8-2. Advantage and disadvantage of various dispersants

종 류	특 성 (장점과 단점)
Hydrocarbon-based dispersants (탄화수소용제형)	장점 - 점성이 약간 높은 유출유에 분산 효과가 큼 - 유동점이 높아 겨울철 사용에 효과적 단점 - 용제로 인한 2차오염 우려
Water-based dispersants (수용제형)	장점 - 독성이 적음 단점 - 저온에서 동결함
Concentrated dispersants (농축형)	장점 - 희석 사용이 가능하므로 보관 부피가 작음 단점 - 제품단가가 고가

탄화수소용제형 제품은 주로 용제가 광유이나, 수용제형 및 농축형 제품은 물 또는 알코올이 용제로 사용된다. 국내에서 사용되고 있는 탄화수소용제형은 해양생물 체내에 농축되지 않고 생물독성도 거의 없는(99% 무해) normal paraffin계 탄화수소용제가 주로 사용되고 있다. 방향족이 많아짐에 따라 해양생태계에 미치는 독성이 높아지는데 최근의 유처리제는 방향족 탄화수소를 거의 포함하지 않고 있다. 유처리제 내의 용제는 계면활성제의 유동성을 높이며 저온 시의 응고를 방지하며 유출유의 점도를 저하시키고 계면활성제를 오일에 침투하기 쉽도록 하는 역할을 한다.

계면활성제는 생물독성이 낮은 비이온성 계면활성제가 주로 사용되고 있으며 유화분산 작용으로 물과 오일의 혼합용해를 용이하게 하며, 오일에 침투하여 오일의 표면장력(surface tension)이나 계면장력을 급격히 감소시켜 본래 불용성인 오일에 스며들어가 오일을 세분화하고 그 세분된 오일 방울을 활성제의 분자가 둘러싸서 미립자화한 안정한 유탁상태로 확산되어 자연정화 작용을 촉진시킨다. 앞서 언급한 바와 같이 국내에서 사용되고 있는 탄화수소용제형은 해양생물 체내에 농축되지 않고 생물독성도 거의 없는(99% 무해) normal paraffin계 탄화수소용제가 주로 사용되고 있으므로 본 보고서에서는 계면활성제의 특성, 생분해도 및 독성에 관하여 알아보려고 한다.

가. 계면활성제의 특성

계면활성제(surface active agent, surfactant)란 동일 분자내 친수성(hydrophilic 또는 lipophobic)과 소수성(lipophilic 또는 hydrophobic) 부분을 동시에 갖는 양친매성(amphiphilic) 물질로 계면에 흡착되어 계면의 자유에너지를 낮추어 계면의 성질을 현저하게 변화시키는 물질을 말한다.

여기서 계면이란 서로 불용성인 상태의 경계로서 실제로 우리가 접하는 계면은 기체-액체, 기체-고체, 액체-액체, 액체-고체, 고체-고체 등의 5종류가 있으며, 보통 기체와 접하는 경계면을 표면(surface)이라 부르고 그 외의 경우에는 계면(interface)이라 부른다.

계면활성제의 일반적인 형상은 친수성의 머리 부분과 소수성의 꼬리 부분의 둘로 이루어진 구조를 갖고 있다. 여기서 머리 부분은 극성(polar) 또는 이온성으로서 수용액과 친화성을 가지며, 꼬리 부분은 주로 탄화수소의 chain으로서 오일과 친화성을 갖고 수용액 내에서 물과는 거의 상호작용을 하지 않는다. 계면활성제의 표면 활성(surface activity)은 친수성과 소수성의 균형에 따라 달라지게 된다.

이러한 계면활성제는 비누, 샴푸, 세제와 같은 세정제 및 유연제 등 일상 생활용품 제조에 이용될 뿐 아니라 섬유, 도료, 식품, 화장품, 의약품 등 여러 산업 분야에서 널리 사용되고 있다. 또한 계면활성제는 그 성질과 용도에 따라 유화제, 가용화제, 분산제, 습윤제, 기포제, 소포제, 세정제, 대전방지제, 응집제 등 여러 명칭으로 불리고 있다.

계면활성제는 친수성의 대전성 유무에 의하여 이온성 계면활성제(ionic surfactant)와 비이온성 계면활성제(nonionic surfactant)로 분류되며, 이온성 계면활성제는 친수성이 음전하를 띠고 있는(negatively charged) 음이온성 계면활성제(anionic surfactant)와 양전하를 띠고 있는(positively charged) 양이온성 계면활성제(cationic surfactant), pH 조건에 따라 음전하 또는 양전하를 띠는 양쪽성 계면활성제(zwitterionic surfactant)로 구별된다. Table 8-3에 대표적인 계면활성제의 형태에 관하여 나타내었다.

Table 8-3. Examples of various types of surfactants

Surfactant Type	Example
Anionic	$C_{12}H_{25}SO_3^- Na^+$ (Sodium Dodecyl Sulfonate)
Cationic	$C_{12}H_{25}N^+(CH_3)_3Br^-$ (Quaternary Ammonium Salts)
Zwitterionic	$C_{10}H_{21}N^+(CH_3)_2COO^-$ (Carboxybetaine) $C_{10}H_{21}N^+(CH_3)_2C_3H_6SO_3^-$ (Sulfobetaine)
Nonionic	$C_{12}H_{25}(OC_2H_5)_5OH$ (n-Dodecyl Pentaoxyethylene Monoether)

비이온성 계면활성제는 이온성 계면활성제에 비하여 비교적 온도 변화에 매우 민감하므로 적절한 계면활성제를 선택하게 되면 낮은 온도에서도 원하는 세정, 유화, 분산, 가용화, 안정화 등의 응용이 가능하다. 또한 널리 쓰이고 있는 음이온성 계면활성제에 비하여 매우 낮은 임계마이셀농도 (critical micelle concentration, CMC), 계면활성제 집합체인 마이셀 (micelle)의 크기가 작으므로 인한 높은 가용화 능력(solubilization capacity), 특정 온도에서 micellar solution이 surfactant-rich phase와 surfactant-lean phase로 분리되는 운점 현상(cloud point phenomena), 낮은 기포력(low foaming) 및 비교적 경도(hardness)와 전해질 농도(electrolyte concentration)에 덜 민감한 성질 등의 장점들을 가지고 있다.

비이온성 계면활성제의 용도는 계면에 흡착된 계면활성제의 화학적 구조와 밀접한 관계를 가지며 또한 계면활성제가 어떠한 용액에 잘 용해되는

가에 따라 결정된다. 이러한 용도에 맞는 적절한 비이온성 계면활성제를 선택하는 기준으로 널리 사용되는 것이 HLB(hydrophilie-lipophilie balance)로, HLB 수는 분자구조에 따라 실험식으로부터 0에서 20까지 범위로 산출되며, 숫자가 클 수록 친수성을 의미하며 O/W의 안정제로 사용된다. Table 8-4에 HLB 수에 따른 비이온성 계면활성제의 용도를 나타내었다.

Table 8-4. HLB scale of nonionic surfactants

Solubility in water	HLB number	Application
No dispersion	0-3	
Poor dispersion	3-6	W/O emulsifier
Milky dispersion	7-9	Wetting agent
Translucent solution	10-13	O/W emulsifier
Clear solution	13-15	Detergent
	15-18	Solubilizer

나. 계면활성제의 생분해도

생분해란 미생물이 동화작용(anabolism)과 이화작용(catabolism)에 의해 유기물을 biomass로 전환하거나 에너지원으로 이용하여 최종생성물로 CO₂와 H₂O로 분해시키는 것을 말한다.

생분해는 그 분해정도에 따라 다음과 같이 3단계로 나뉘어 정의된다.

- ① 일차적(기능적) 생분해 (Primary Biodegradation) : 유기물질이 가지고 있는 특성을 잃어버릴 정도 혹은 그 유기물질을 분석하는 특정 방법으로 분석되지 않을 정도의 분해.

- ② 환경이 수용할 수 있을 정도의 생분해(Environmentally Acceptable Biodegradation) : 유기물질이 환경에 좋지 않은 성질을 잃어 버릴 정도의 분해.
- ③ 최종적 생분해(Ultimate Biodegradation) : 유기물질이 이산화탄소와 물 및 무기염으로 완전 분해되거나 미생물의 세포물질로 전환되는 것.

1) 생분해 메카니즘

가) ω 산화

생체분자의 alkyl기의 말단에 있는 methyl기는 탄화수소의 분해과정과 같다. 즉 methyl기의 산화에 대한 생화학적 과정은 효소에 의해 우선 제 1 급의 hydro 과산화물을 생성하고, 이것이 탈수된 상태에 H₂가 첨가되면 alcohol이 되며, 더 진행하여 aldehyde, 최종적으로 carbon산(R-COOH)이 된다. 각 단계마다 효소의 작용이 관여한다.

나) β 산화

이것은 지방산이 미생물에 의해 분해되는 과정을 나타내며 많은 동식물의 생체내 분해 메카니즘 설명에 이용된다. 즉 지방산의 말단에 있는 카르복실기에(-COOH) 미생물 Co enzyme(HSCoa)이 작용하여 에스테르화 되면서 탈수된 다음에 탈수소가 일어나서 A, B 불포화유도체가 된다. 이것이 수화하여 β -hydroxy화합물이 되고, 다시 탈수소가 일어나서 β -ketone 유도체가 된다. 마지막으로 별개의 Co enzyme A가 작용하여 α 와 β 의 탄소를 끊어 acetyl Co enzyme과 탄소가 두 개 적은 지방산의 Co enzyme ester가 된다.

다) 벤젠핵의 산화

벤젠 및 그 유도체는 효소의 촉매산화에 의해 카제폴을 생성한다. 이 고리는 2개의 OH기로 분할하여 디카본산이 된다. 이러한 3가지 연속된 분자의 재배치에 의해 β 케톤아디핀산이 되고 산화에 의해 분해가 진행됨으로써, acetyl CoA와 succinic acid가 된다.

2) 주요 계면활성제의 생분해

가) 비누의 분해

비누는 고급 지방산의 나트륨염이기 때문에 약산인 지방산과 강알칼리인 수산화 나트륨으로 물 속에서 가수분해된다. 지방산은 동식물에 의해 섭취되면, 글리세린과 결합하여 생물체의 지방으로 되거나, 효소계에 의해 CO_2 와 H_2O 로 산화·분해되어 자연 생태계에 유용한 작용을 한다.

나) ABS 와 LAS의 생분해

ABS와 LAS는 화학적으로 극히 안정된 물질이지만, 산과 알칼리, 열 등에 의해 가수 분해가 이루어진다. 그 분해과정은 벤젠핵에 부착된 직쇄로 연결된 탄소가 β 산화를 거쳐 두 개씩 탄소가 끝부분부터 순서대로 산화·분리되는 것으로 알려져 있다. ABS는 하수처리장에서도 분해되지 않는 난분해성 물질이고, LAS는 자연계에서 분해가 용이하여 90%이상이 분해된다. Alkyl 측쇄의 말단 methyl기에 최초로 분해가 일어나는 것(β 산화)을 초기 생분해라 하며, methyl 기는 alcohol로 산화되어 계속 aldehyde를 거쳐 carbon 산이 된다. Methyl 기의 산화에 이어서 측쇄는 탄소가 2개씩 연속 제거되어지는 효소반응(β 산화)에 의해 분해·산화된다.

다) AS의 생분해

황산 ester기를 유리시킨 Sulfadase에 의해 쉽게 1차 생분해되고, 무기 황산염과 이에 대응하는 alcohol로 변한다. Alcohol은 aldehyde를 거쳐서 carbon산으로 산화되어 β 산화에 의해서 분해된다. AS와 분지한 2급 AS는 생분해가 매우 용이하며, 분지가 많을수록 생분해가 어려운 것으로 알려져 있다.

라) AE의 생분해

Ether결합의 가수분해와 계속해서 일어나는 alkyl 고리의 산화에 따라서 일어난다. AE의 EO(Ester Oxygen) 부분은 쉽게 분해되어 polyethylene glycol(PEG)이 된 다음 최종에는 CO₂와 H₂O로 분해된다. 직쇄형인 1급 AE에 비하여 2급 또는 약간 분지 1급 AE는 생분해 속도가 다소 느리다.

마) AES의 생분해

호기성 및 혐기성 상태에서도 쉽게 CO₂와 H₂O로 분해된다. Alkyl 측쇄의 길이, EO 측쇄의 길이가 증가하더라도 세제에서 이용되는 범위 이내면 분해속도에 별 변화가 없다. 그러나 EO측쇄가 20 mol 이상이 되면 감소한다.

바) APE의 생분해

생분해 속도가 느리기 때문에 충분한 반응시간이 주어지면 APE는 EO 고리의 단측과 alkyl기의 carboxyl화 및 ω 산화에 의해 실질적인 생분해가 이루어지지만, 그 후 상세한 alkyl기 또는 벤젠고리의 대사는 분명치 않다.

사) AOS의 생분해

AOS는 호기성 조건하의 온수나 냉수에서 비교적 용이하게 분해된다.

따라서 하수 종말처리장의 호기성 조건하에서는 폐수가 처리될 때 일반 유기물과 같이 용이하게 분해된다.

아) SAS의 생분해

SAS는 호기성 조건하에서 용이하게 생분해되며 alkyl 측쇄의 길이는 생분해에 영향을 주지 않는 것으로 알려지고 있다.

자) FAE의 생분해

생분해 속도는 AOS와 같으며 매우 빠르다.

3) 생분해 실험법

가) 일차적 생분해 실험법

세계각국에서는 '60년대부터 계면활성제의 생분해 공정실험법을 채택하여 계면활성제에 의한 환경오염을 규제하고 있다. 미국의 경우 '64년 진탕배양법과 반연속식 활성오니법을 ASTM presumptive test와 confirming test 법으로 채택하였으며, 일본의 경우 '67년 진탕배양법을 JIS 규격으로 채택하였다. 우리 나라에서도 '74년 진탕배양법을 KS 규격으로 채택하여 계면활성제의 생분해 실험에 이용하고 있다. 반면 유럽의 주요 국가들을 중심으로 공통적으로 사용되고 있는 OECD 생분해 실험법에서는 진탕배양법과 연속식 활성오니법을 OECD screening test와 confirmatory test 로 각각 채택하여 계면활성제의 생분해도를 평가하고 있다.

(1) KS, JIS의 생분해 실험법

한국과 일본에서 계면활성제의 생분해 공정법으로 사용하고 있는 실험법은 진탕배양법 A(shake flask test A)이다. 이 실험법은 무기영양염과

효모추출물을 함유한 배지에 계면활성제를 30 mg/l 넣고 2회 순화배양시킨 활성오니를 접종한 후 25℃에서 8일간 진탕배양하여 계면활성제가 생분해되는 정도를 조사하는 것이다. 실험기간동안 감소하는 계면활성제의 양은 음이온 계면활성제의 경우 methylene blue active substances(MBAS) 법으로 평가한다. 이 실험방법에 의해 계면활성제의 생분해도가 7, 8일 평균 90% 이상일 경우 이 계면활성제는 사용할 수 있다.

MBAS법은 음이온계면활성제의 sulfate와 sulfonate가 cationic dye인 methylene blue와 반응하여 형성한 수불용성 물질을 chloroform으로 추출하여 흡광도를 측정하여 정량하는 방법이며, CTAS법은 비이온계면활성제의 polyoxyethylene chain이 cobalt thiocyanate와 반응하여 형성한 물질을 benzene으로 추출하여 흡광도로 정량하는 방법으로 이중 MBAS법은 환경 모니터링에도 사용된다.

(2) ASTM의 생분해 실험법

미국 ASTM의 생분해 실험법은 ASTM presumptive test와 confirming test로 구성되어 있다. ASTM presumptive test는 한국의 KS, 일본의 JIS와 동일한 진탕배양법 A이며 음이온 계면활성제의 정량 역시 MBAS법으로 실시한다. 이 실험법에서 7, 8일차 계면활성제의 생분해도 평균값이 90% 이상일 경우 합격이며, 80~90%일 경우 confirming test를 실시하여야 하며, 80% 미만일 경우 불합격인 것으로 판정한다. Presumptive test에서 생분해도가 80~90%인 시료를 대상으로 실시하는 반연속식활성오니법은 하수처리장을 실험실적으로 간단하게 모델링한 것이다. 하수처리장의 활성오니를 폭기조에 넣고 합성하수 및 실험물질(계면활성제)을 첨가하여 23시간 폭기(aeration) 시킨다. 폭기 후 1시간동안 정체시켜 활성오니를 침전시킨 후 상등액을 제거하고 계면활성제의 생분해도는 제거한 상등액 중에 포함된 계면활성제의 농도를 MBAS법으로 측정하여 결정한다.

(3) OECD 생분해 실험법

OECD의 계면활성제 생분해 실험법은 OECD screening test B와 OECD confirmatory test의 두 가지로 구성되어 있다. OECD screening test B는 한국과 미국, 그리고 일본에서 사용하고 있는 진탕배양법 A와는 약간 다른 방법이다. 이 실험법은 무기영양염에 계면활성제를 유일한 탄소원으로 5mg/1 첨가한 후 하수처리장의 2차 방류수를 미생물원으로 접종하며 25℃에서 진탕배양하여 계면활성제의 생분해성을 조사한다. 실험기간(19일이내)동안 감소하는 계면활성제의 양은 음이온 계면활성제의 경우 MBAS법으로, 비이온 계면활성제의 경우 bismuth active substances (BiAS)방법으로 측정한다.

나) 최종 생분해 실험법

EEC와 OECD에서는 새로운 모든 화학물질들의 생분해성은 우선 비교적 간단하고 경제적인 방법인 preliminary screening 법으로 일차 평가한 후, 필요한 경우 더 많은 비용과 시간을 투자하여 정밀한 평가를 실시하도록 단계적 평가체계를 규정하고 있다. 이 평가 체계는 ready biodegradability, inherent biodegradability, 그리고 simulation test로 이루어진다.

Table 8-5. Methods of final biodegradability.

Legal basis	Chemicals concerned	Test criteria	Test methods	
			Screening test	Simulation test
EEC directives National laws	anionic & nonionic surfactants	Primary biodegradation MBAS removal BiAS removal	OECD screening test	OECD confirmatory
EEC directives National laws	all "new" chemicals	Ultimate biodegradation DOC removal BOD/COD CO ₂ formation	OECD tests for "ready biodegradability" Closed bottle test(≥60%) Modif. OECD screening (≥70%) CO ₂ Evolution (≥60%)	Coupled units test

(1) Tests for ready biodegradability

이 실험법들은 실험물질의 농도가 비교적 높고, 실험시료에 대한 미생물의 적응 시간이 짧으며, 실험물질 이외에 미생물이 이용할 어떠한 유기물을 첨가하지 않는다는 점에서 매우 엄격한 조건의 실험법이다. 이러한 실험 조건에서 28일 이내에 일정 수준(10일 이내에 최소한 10% 이상 분해되고, BOD/COD, CO₂ 발생 정도가 60% 이상) 분해되는 물질은 자연환경에서 빠르고 완전하게 분해되는("readily biodegradable") 물질인 것으로 평가한다.

"Ready biodegradable"를 평가하는 실험법들을 Table 8-6에 나타내었다.

Table 8-6. Tests for ready biodegradability

Test Method	Duration	Determinant	Rank
Closed Bottle	28days	O ₂ uptake	Most stringent*
Modified MITI	28days	O ₂ uptake/DOC	
Modified OECD Screening	28days	DOC/Specific analysis	
Manometric Respirometry	28days	O ₂ uptake(DOC, Specific analysis)	Least Stringent**
Modified AFNOR	28days	DOC/Specific analysis	
Modified STURM	28days	CO ₂ /DOC/Specific analysis	

* Test conditions less favorable to degradation of test substance

** Test conditions more favorable to degradation of test substance

(2) Tests for inherent biodegradability

이 실험법들은 시료를 장시간 미생물에 노출시키는 ready biodegradability 평가법 들보다 시험물질이 분해되기 좋은 실험조건의 실험이며, 여기서 시험물질이 일정수준 이상의 분해도를 보일 경우 이 물질은 “inherently biodegradable”한 물질인 것으로 평가한다. 그러나 이것은 화학물질이 생분해되기 좋은 실험조건에서의 실험결과이기 때문에 여기서 “inherently biodegradable”하다고 평가된 화학물질이 자연환경에서 쉽게 분해된다고 단정지을 수는 없다(Table 8-7).

Table 8-7. Tests for inherent biodegradability

Method	Determinant	Rank
Zahn-Wellens	DOC/Specific analysis	Stringent
Semi-continuous Activated Sludge	DOC/Specific analysis	Less stringent than Zahn-Wellens

(3) 생분해성을 위한 Simulation tests for biodegradability

이 실험법들은 어떤 특정 환경조건에서의 생분해성을 평가하기 위해 이를 실험실적으로 모델링한 것으로, 현재까지 EEC에서 인정한 것으로는 하수처리장을 모델링한 activated sludge simulation test가 있다.

다) 기타 생분해 실험법

River die-away 실험법과 혐기성 생분해 실험법이 있다.

다. 계면활성제의 독성

계면활성제의 환경에 미치는 독성의 정도는 담수어, 조류, 미생물, 고등 식물 등의 환경 생물을 대상으로 급성 독성, 아급성 독성 또는 만성 독성 시험을 하여 평가되고 있다. 각 독성 시험법의 내용을 간단히 소개하면 다음과 같다.

1) 급성 독성 시험

급성 독성 시험은 측정 환경 조건에서 비교적 단시간 내에 생물에 영향을 주는 물질의 농도를 결정하는 시험이다. 생물의 죽음은 쉽게 관찰 가능

하고 거기서 얻어진 치사율 데이터에 의하여 어떤 특정 종의 전체 생존율을 예측할 수 있으므로 환경 중에서 검출된 화학 물질의 치사 한계치 또는 급성 치사량을 구할 수 있다.

보통 급성 독성 시험 결과를 반수치사농도 LC_{50} (Lethal Concentration 50)로 표시하는데 이것은 24시간에서 96시간 사이에 피시험 동물의 반수를 사망시키는데 필요한 물질의 농도를 의미한다. 급성 독성 측정법에서 쓰이는 또 다른 표현법인 반수허용농도 TL_m (Median Tolerance Limit)은 어떤 일정 기간 피시험 동물이 화학 물질에 노출되었을 때 50%가 생존 가능한 농도를 의미하며 통상 LC_{50} 과 같이 사용된다. 또한 어떤 일정 농도의 화학 물질에 피시험체가 노출되었을 때 50% 또는 100%가 죽을 때까지의 시간을 LT_{50} 또는 LT_{100} (Lethal Time 50, 100)으로 표시한다.

또한 생물이 죽음 이외의 다른 현상 즉 성장 속도, 체형의 변형, 운동 상태 등에 미치는 영향을 측정하는 시험으로써 EC_{50} (Effective Concentration 50)이 가끔 이용되는데 이것은 일정시간내에 피시험생물의 반수가 어떤 목적으로 하는 현상을 일으키는 데에 필요한 농도를 의미한다.

환경 조건을 일정하게 만드는 것은 어려우며 또한 다른 시험 기관 사이의 연구 결과에 차이가 있다는 것, 그리고 양극단 농도에서의 연구가 부족한 상태이기 때문에 급성 독성 데이터들을 근거로 수서 생물에 대한 안전 농도를 외삽해서 구한다는 점에는 문제가 있다. 급성 독성 시험의 실제에는 조직학적인 관찰이 그다지 실시되고 있지 않지만 이것은 독성 화학 물질의 작용 기구를 해명하는 데에 없어서는 안되는 것이다.

화학 물질의 수서 생물에 대한 급성 독성 평가 시험법을 표준화하기 위하여 EPA의 전문가 그룹이 그러한 문제점에 대해서 검토하였는데 그 결과는 급성 독성 시험법 해설(US EPA, 1975)에 정리되어 있다.

2) 아급성 및 만성 독성 시험

계면활성제의 수질 환경에 대한 안전성은 급성적인 독성만으로는 충분하지 않으며 계면활성제와 그 분해 생성물은 치사 농도 이하에서도 각종 형태로 수서 동물에 영향을 미친다. 가장 전형적인 예로는 장기간에 걸친 저농도(급성 독성과 비교하여)의 계면활성제가 존재함에 따라 형태, 조직, 생리 활성 등에 변화가 나타나는 만성 영향을 들 수 있다. 그러나 장기간의 영향을 검토하는 경우에는 필연적으로 대상 생물의 성장 단계를 고려해야 할 필요성이 있으며 따라서 life cycle 각 성장 단계마다 계면활성제의 영향을 검토할 필요가 있다.

아급성 및 만성 독성 시험에서는 관찰 내용이 생물의 죽음과 같이 단순한 것이 아니고 먹이 섭취, 기피 행동, 생리 활성, 성장 상태, 체형의 변형, 조직에서의 이상 발생 등 복잡한 내용을 관찰해야 하므로 급성 독성 시험에 비하여 많은 시간과 노력이 요구된다.

3) 독성 시험에 관계되는 요인들

가) 물질의 구조-활성 단계

독성 시험 대상 물질인 화학 물질 즉 계면활성제의 구조에 의해 독성이 좌우되는 경우가 많다. 알킬기의 길이(즉 탄소수)의 생분해 진행 정도에 따라서 독성이 달라지므로 독성 시험에서 고려해야 한다.

나) 환경 인자의 영향

독성 시험에서 피시험 생물이 어떠한 환경에 놓여 있는가에 따라서 독성이 달라지므로 기후, 수질(특히 물의 경도) 등의 환경 인자를 고려해야 한다.

다) 노출 방법

피시험 생물이 화학 물질에 노출되는 방법으로는 정지된 상태(static)와 유수 상태(flow through)의 크게 두 가지로 구분된다. 즉 일정한 농도의 시험액이 들어 있는 용기에 피시험 생물을 넣고 정지 상태에서 관찰하는 것과 연속 또는 반연속적으로 시험액을 흘려주면서 피시험물을 관찰하는 것이다.

라) 생체 농축 및 작용 메커니즘

수서 생물 체내에 계면활성제가 흡수, 농축되는 경로는 중요한 문제가 되며 계면활성제의 체내에서의 거동, 계면활성제 분자구조의 흡수 및 체내 분포에 미치는 영향, 계면활성제의 작용 부위, 식품의 경우 식품위생 상의 문제 여부 등에 관하여 연구되고 있다.

계면활성제의 생체 농축 현상이나 독성 작용 메커니즘의 연구에는 ^{35}S , ^{14}C 등의 동위원소를 이용하여 방사 활성을 조사함으로써 생체 내의 각 부위에 흡착되는 계면활성제의 양을 추적하거나 물질대사 과정을 조사할 수 있다. 즉 피시험 생물체의 어떤 부위로부터 독성이 흡수되기 시작하며 농축도가 가장 큰 부위는 어디인가, 또 독성 물질의 탈리현상을 조사하는데 방사성 동위원소가 유용되고 있다.

4) 유해성 비교

계면활성제의 수서 생물, 조류 및 미생물, 고등 식물 등에 대한 급성, 아급성 및 만성 독성 시험 연구 결과는 비교적 많이 발표되었으나 그 결과의 차이는 매우 큰 폭으로 벌어져 있다. 즉 담수어에 대한 계면활성제의 급성 독성 LC_{50} 은 1~1000 mg/l 전후이고 비누의 LC_{50} 은 20~1800 mg/l이다. 학자에 따라서 계면활성제의 독성 시험 결과에 많은 차이를 나타내며 Table 8-8에 시험 동물에 대한 LC_{50} 값을 나타내었다.

Table 8-8. Toxicity of surfactant

계면활성제	LC ₅₀ (mg/kg)
LAS(C12)	1300~2500
AS	1000~2700
AES	1000~2000
AOS	2700~4000
NPEO	1600
Cationic	400

위의 표에서 양이온계가 독성이 가장 크고 음이온 계면활성제의 경우 LAS(linear alkyl benzene sulfate)는 1300~2500 mg/kg이고 AOS(α -olefin sulfate)는 1000~2000 mg/kg으로 LAS, AS(alkyl sulfate), AES(alcohol ethoxy sulfate)보다 독성이 강하다. 반면에 비이온의 NPEO(nonyl phenyl polyethyleneglycol ether)는 1600 mg/kg으로 이온계에 비하여 상대적으로 독성이 낮음을 알 수 있다.

미생물에 미치는 각종 계면활성제의 영향은 종류에 따라서 LC₅₀ 및 EC₅₀ 값이 다르다. Table 8-9에 원생동물, 미소 후생 동물 및 조류에 대한 계면활성제의 영향(LC₅₀, EC₅₀)을 나타내었다.

표에서 보듯이 원생동물에 대한 EC₅₀ 값에서 AOS는 3.2 mg/l로 가장 독성이 강하고 비누는 87.0 mg/l로 독성이 낮은 반면 조류의 비증식속도에 대한 영향으로서의 EC₅₀ 값은 AE(EO:4)가 5 mg/l로 독성이 강하며 비누는 10~50 mg/l, AES 65 mg/l 그리고 LAS는 110~150 mg/l로 LAS가 가장 독성이 낮은 것으로 나타났으며 미소 후생 동물의 경우 AE(EO:4)가 독성이 세고 비누의 독성은 약한 것으로 나타났다.

세제의 원료로 사용되는 몇 가지 음이온 계면활성제의 진탕배양법에 의한 생분해도의 값을 비교해 보면 AS ≍ AOS ≍ AES > LAS > ABS의 순으로 ABS의 분해 속도가 가장 느리며, AS, AOS, AES 등은 2-3일 안에, LAS는 5~7일 내에 95% 이상이 분해된다. 계면활성제들의 환경 생물에 대한 독성은 생분해도와는 달리 LAS가 AS나 AOS, AES보다 독성이 약한 경우가 있다.

Table 8-9. Effect of surfactant on microorganisms.

계면활성제	EC ₅₀ (mg/kg)			LC ₅₀ (mg/kg)	
	원생동물		조류	미소 후생 동물	
	<i>Colpidium</i>	<i>Opercularia</i>	<i>Selenastrum</i>	<i>Philodina</i> sp.	<i>Nais</i> sp.
LAS(C12)	5.8	18.0	110-150	17.5	7.1
Soap	87.0	76.0	10-50	160.0	14.2
AE(EO:4)	14.2	11.4	5	15.8	7.1
AES	28.0	17.3	65	56.0	-
AS	13.6	14.2	60	52.5	-
AOS	3.2	4.0	45	38.0	-

유처리제에 의한 동물플랑크톤 사망률 측정 실험에 사용한 유처리제 Gamasol LT-A의 계면활성제 주성분은 polyethyleneglycol monooleate, sorbitan monooleate, sorbitol monooleate이며 Hi-Clean의 주성분은 polyethyleneglycol monooleate이고 반면에 농축형 유처리제 Enersperse 1037은 polyethyleneglycol monooleate와 alkylbenzene sulfonate의 성분으로 이루어져 있다. Table 8-10에 sorbitan계의 계면활성제(Span) 독성실험 결과를 나타내었다. Sorbitan monooleate에 해당하는 Span 80의 LD₅₀는

kg당 10ml로 비교적 낮은 값을 갖고 있으며 또한 Span 20, 40, 60과 거의 비슷한 독성을 갖고 있음을 알 수 있다. 그러나 Glycerol monolaurate에 비해서는 Span 80의 독성이 매우 큼을 알 수 있다.

Table 8-10. Acute Toxicities of Partial Fatty Acid Ester of Polyols and Anhydropolyols

Trademark	Condition, sex, species of animal	Route	Concentration (%) and vehicle	LD ₅₀ per kg
SPAN 20 (sorbitan monolaurate)	Male rat	Oral	100	>20 ml
SPAN 40 (sorbitan monopalmitate)	Male rat	Oral		>10 g
SPAN 60 (sorbitan monostearate)	Male rat	Oral		>10 g
SPAN 60	Rat	Oral		31.0 g
SPAN 65 (sorbitan tristearate)	Female rat	Oral	50(in H ₂ O)	>10 g
SPAN 80 (sorbitan monooleate)	Male rat	Oral	100	>10 ml
Glycerol monolaurate	Rat	Oral		53.4 ml

Sorbitol은 글루코스(포도당)을 수소로 환원하여 만든 다가 알코올로 OH기를 6개 갖고 있으며 polyethyleneglycol monooleate는 C₁₇H₃₃COO-(CH₂CH₂O)₉-H의 구조식을 갖고 있다. Table 8-11에 polyethyleneglycol monooleate와 유사한 계면활성제의 독성 실험결과를 나타내었으며, Span에 에틸렌옥사이드(ethylene oxide)를 부가시켜 만든 Tween계의 비이온 계면

활성제의 독성 실험결과를 Table 8-12에 나타내었다.

유처리제는 극성, 비극성용매에 여러 가지 계면활성제가 녹아있는 혼합액 (Wells, 1984a)이고, Gamasol LT-A는 위에서 언급한 polyethyleneglycol mono-oleate, sorbitan mono-oleate, sorbitol mono-oleate와 같은 물질이 액체 파라핀에 녹아 있으며 두 종류의 *n*-alkanes(C_{14} and C_{15})이 미량들어 있다. Hi-Clean은 polyethyleneglycol mono-oleate가 액체 파라핀에 녹아있 으며, M-Scan Ltd.의 분석에 의하면 파라핀의 평균 탄소숫자가 Gamasol LT-A보다 약간 많았다. 농축형 Enersperse 1037은 polyethyleneglycol mono-oleate, alkylbenzene sulfonate, 고분자량의 anionic detergents로 이루어져 있다.

Table 8-11. Acute toxicities of polyoxyethylene fatty acid ester

Trademark	Condition, sex, animal	Route	Con. (%), vehicle	LD ₅₀ per kg
NOPALCOL 6-L [polyoxyethylene (14) monolaurate]	Mouse	Oral	H ₂ O	>25 g
NOPALCOL 6-L	Mouse	I.V.	H ₂ O	0.5 g
MYRJ 45 [polyoxyethylene (8) monostearate]	Rat	Oral		64.0 ml
MYRJ 45	Hamster	Oral		27.0 ml
MYRJ 45	Rabbit	Oral		>12.0 ml
PEG 400 monostearate [polyoxyethylene (9) monostearate]	Mouse	I.V.	H ₂ O	0.25 g
PEG 400 distearate [polyoxyethylene (9) distearate]	Mouse	I.V.	H ₂ O	0.365 g
CARBOWAX 1000 monostearate [polyoxyethylene (23) monostearate]	Mouse	I.V.	H ₂ O	0.87 g
CARBOWAX 1000 distearate [polyoxyethylene (23) distearate]	Mouse	I.V.	H ₂ O	0.22 g
MYRJ 52 [polyoxyethylene (40) monostearate]	Rat	Oral		>20.0 g
Polyoxyethylene monostearate	Rat	Oral		53.0 ml
Polyoxyethylene monostearate	Hamster	Oral		19.5 ml
Polyoxyethylene monostearate	Rabbit	Oral		>15.0 ml
NOPALCOL 4-0 [polyoxyethylene (9) monooleate]	Mouse	Oral	H ₂ O	>25 g
NOPALCOL 4-0	Mouse	I.V.	H ₂ O	1.08 g
NOPALCOL 6-0 [polyoxyethylene (14) monooleate]	Mouse	Oral	H ₂ O	>25 g
NOPALCOL 6-0	Mouse	I.V.	H ₂ O	0.5 g
EMULPHOR EL-719	Rat	Oral	100	70ml
EMULPHOR EL-719	Guinea pig	Oral	100	70ml

Table 8-12. Acute toxicities of partial fatty acid esters of polyoxyethylene polyols and anhydropolyols

Trademark	Condition, sex, species of animal	Route	Concentration (%) and vehicle	LD ₅₀ per kg
TWEEN 20 [Polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate]	Male rat	Oral	100	>20 ml
TWEEN 21 [Polyoxyethylene (4) sorbitan monolaurate]	Male rat	Oral	100	>10 ml
TWEEN 40 [Polyoxyethylene(20) sorbitan monopalmitate]	Male rat	Oral	100	>20 ml
TWEEN 61 [Polyoxyethylene (4) sorbitan monostearate]	Female rat	Oral		>10 g
TWEEN 60 [Polyoxyethylene (20) sorbitan monostearate]	Rat	Oral	100	>20 ml
TWEEN 60	Fasted rat	Oral	100	33.8
[Polyoxyethylene (40) sorbitan monostearate]	Rat	Oral		>60.0 ml
TWEEN 65 [Polyoxyethylene (20) sorbitan tristearate]	Female rat	Oral	100	>10 ml
TWEEN 81 [Polyoxyethylene (5) sorbitan monooleate]	Male rat	Oral	100	>20 ml
TWEEN 80 [Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate]	Male rat	Oral	100	>20 ml
TWEEN 85 [Polyoxyethylene (20) sorbitan trioleate]	Male rat	Oral	100	>20 ml

위의 결과들로부터 유처리제 Gamasol LT-A와 Hi-Clean은 주농축형 유처리제 Enersperse 1037에 비하여 생분해도나 독성면에서 유리하며, 이는 농축형 유처리제 Enersperse 1037에 포함되어 있는 alkylbenzene sulfonate(ABS)에 기인한다고 할 수 있다. ABS는 alkyl기의 분지가 많아 미생물에 의한 생분해가 되기 어려울 뿐 만 아니라 ABS에 포함되어 있는 벤젠이 생물에 대한 독성을 갖고 있으므로 세계 산업에서는 오래전부터 ABS가 사용되지 않고 있다.

유처리제 Gamasol LT-A와 Hi-Clean은 해양오염 유처리제로 사용함에 커다란 문제가 없을 것으로 생각되지만 보다 자세한 실험이 요망되며, 보다 뛰어난 생분해도와 적은 독성을 가진 계면활성제의 개발이 시급하다고 생각된다.

유처리제에 사용하는 계면활성제의 향후 개발 필수 조건은 다음과 같다.

- ① 생분해성이 우수
- ② mildness
- ③ 해양 생물에 대한 저독성
- ④ good performance (급격한 계면장력 감소, 침투력, 분산력, 안정도 등)
- ⑤ 경제성

위의 조건을 충족하는 것으로 천연 biosurfactant와 유사한 형태의 계면활성제를 개발하거나 천연 biosurfactant를 직접 이용하는 방법, 천연 유지 및 식품의 원료 등을 이용한 방법, 아미노산, peptide, 전분 등을 이용한 방법, glycolipid, phospholipid 등의 천연 추출물을 이용하는 방법 등을 고려할 수 있다.

제 5 절 결 언

유류 오염물질에 의한 해양생태계의 피해 평가를 하기 위해 주로 대형 동물들이 이용되어 왔으나, 여러 가지 장점 때문에 동물플랑크톤도 많이 이용되었다(Wells, 1984a). 우선 실험에 사용될 동물플랑크톤을 다량 채집할 수 있고, 다수의 동물을 사용하여 개체간 변이에서 오는 실험결과의 오류를 방지하여 결과에 대한 신뢰도를 높일 수 있으며, 몇몇 종은 오염물질 및 환경요인에 대한 생리·생태학적 반응이 비교적 잘 알려져 있어 실험결과의 정확한 해석이 가능하며, 개체의 크기가 작아 좁은 공간에서 적은 양의 오염물질로도 실험할 수 있으며, 오염물질에 민감하게 반응하는 종들이 많고, 다양한 종들을 실험에 사용할 수 있다는 것이다. 반면 동물플랑크톤의 크기가 아주 작으므로 채집하고 실험하는데 숙련된 기술을 요하고, 많은 시간과 노력이 든다는 단점이 있다(한국해양연구소, 1996).

유류의 수용성 성분이나 유처리제에 의해 동물플랑크톤이 어떠한 영향을 받는지 일련의 실험을 통해 얻은 결과를 요약하면 다음과 같다. 동물플랑크톤의 사망률은 유류나 유처리제의 첨가에 의해 증가하며, 사망률의 증가는 오염물질의 농도가 증가할수록, 또 노출 시간이 길어질수록 증가하였다. 동물플랑크톤의 사망률은 종류에 따라 유처리제에 대한 내성에 차이가 있어, 요각류가 지각류보다는 유처리제에 의한 내성이 강하고, 같은 요각류라도 크기가 큰 것이 좀 더 내성이 큰 것으로 나타났다. 오염이 심한 연안역에 많이 서식하고 있는 다모류의 부유성 유생도 유처리제에 대한 내성이 강하였고, 윤충류도 요각류보다 내성이 강하였다. 동물플랑크톤은 농축형 유처리제 Enersperse 1037에 노출되었을 때 가장 사망률이 높았고, Gammasol LT-A와 Hi-Clean에 노출된 경우 대부분은 사망률에 큰 차이가 없었다.

요각류, 지각류, 윤충류를 비롯하여, 다모류의 부유성 유생은 우리 나라 연안역에 우점하는 초식성 동물플랑크톤으로 이들은 식물성플랑크톤을 소비하는데 중요한 역할을 하고 있다. 이번 실험의 결과를 기준으로 보면 농도 100 ppm의 유처리제에 3시간 동안 노출되는 경우, 요각류는 최고 19.1% 만큼 사망률이 증가하였다. 연안역에서 동물플랑크톤이 소비하는 식물플랑크톤의 양은 대체로 일차생산의 10% 정도인 것으로 알려져 있으므로, 요각류 사망으로 인한 섭식압력의 감소로 전체 식물플랑크톤의 양은 약 2% 정도 증가할 것이다. 이와 같은 양의 증가는 적조와 같은 식물플랑크톤의 대발생을 유발하지는 않을 것으로 판단된다. 그러나 식물플랑크톤 대발생을 일으킬 수 있는 가능성이 있는 임계농도의 식물플랑크톤 세포수가 있을 때 동물플랑크톤이 사망하면, 섭식을 감소가 식물플랑크톤 대발생의 계기가 될 수도 있을 것이다.

참 고 문 헌

- 한국해양연구소. 1996. 유류 및 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향에 관한 연구(I·II). BSPN 00324-983-4. 316pp.
- Butler, J. N., 1989. Using oil spill dispersants on the sea. In: Proceedings 1989. Oil Spill Conference (Prevention, Behavior, Control, Cleanup). American Petroleum Institute. pp.343-345.
- Clark, R. B., 1992. Marine Pollution. 3rd ed. Oxford. 172pp.
- HMSO. 1978. Accidental Oil Pollution of the Sea. A report by officials on oil spills and clean-up measures. Pollution Paper No. 8. Department of the Environment. London. 170pp.
- KORDI. 1994. Marine environmental assessment based on the benthic faunal community in Chinhae Bay, Korea. BSPE 00417-684-3. 73pp.
- Kim, W.-S. 1993. Zooplankton community effects on the phytoplankton community in Long Island Bays. Ph. D. dissertation. SUNY at Stony Brook. 242pp.
- Kim, W.-S., M. Chang, S. H. Lee and J. S. Lee. 1997. Effect of dispersants on zooplankton mortality in Korea. In: Recent Advances in Marine Science and Technology, 96. N. Saxena (ed). PACON International. pp.269-275.
- Lara-Lara, J. R., B. E. Frey and L. F. Small. 1990. Primary production in the Columbia River estuary. II. Grazing loss, transport, and a phytoplankton carbon budget. Pacific Sci., 44:38-50.

- NOAA. 1992. Oil spill case histories 1967-1991. Summaries of significant U.S. and international spills. Report No. NOAA/HMRAD. Seattle, Washington.
- Overton, E. B., W. D. Sharp and P. Roberts, 1994. Toxicity of petroleum. In: Basic Environmental Toxicology. Cockerham, L. G. and B. S. Shane (eds). CRC Press. pp.133-156.
- Sloof, W., 1985. The role of multispecies testing in aquatic toxicology. In: Multispecies Toxicity Testing. Cairns, J. (ed). Pergamon Press. pp.45-60.
- Tang, S-M., X-L. Chen and D-F. Zhuang, 1992. The effects of BP-1100X dispersant and dispersed Shengli crude oil on the ecosystem -Marine ecosystem enclosure experiment. *Acta Ecol. Sinica*. 12(4):361-367. (in Chinese with English abstract)
- Wells, P.G. 1984a. Marine ecotoxicological tests with zooplankton. In: Ecotoxicological Testing for the Marine Environment. Persoone, G., E. Jaspers and C. Claus (eds). State Univ. Ghent and Inst. Mar. Scient. Res., Bredene, Belgium. Vol.1. pp.215-256.
- Wells, P.G. 1984b. The toxicity of oil spill dispersants to marine organisms: A current perspective. In: Oil Spill Chemical Dispersants: Research, Experience, and Recommendations. STP 840. Tom E. Allen (ed), American Society for Testing and Materials, Philadelphia. pp.177-202.

Appendix. The mortality of dominant zooplankton due to two dispersants, Gamasol and Hi-Clean.

Month	Species		Mortality(%)			Mean mortality	Std. Dev.
			i	ii	iii		
02	<i>Calanus</i> sp.	Control	5.31	2.42	0.00	2.58	2.69
		Gamasol	9.52	8.89	7.55	8.65	1.00
		Hi-Clean	10.53	5.26	12.12	9.30	3.59
02	<i>Acartia</i> sp.	Control	10.40	0.79	0.84	4.01	5.53
		Gamasol	26.57	26.06	27.04	26.56	0.49
		Hi-Clean	40.32	8.40	10.11	19.61	17.96
08	<i>Paracalanus</i> sp.	Control	0.94	9.09	4.76	4.93	4.07
		Gamasol	11.40	15.97	9.91	12.43	3.16
		Hi-Clean	14.41	17.36	12.28	14.68	2.55
08	<i>Podon</i> sp.	Control	16.67	6.82	9.52	11.00	5.09
		Gamasol	17.07	27.59	28.57	24.41	6.38
		Hi-Clean	26.56	23.91	31.03	27.17	3.60
11	<i>Paracalanus</i> sp.	Control	3.48	1.92	1.49	2.30	1.05
		Gamasol	15.65	7.34	8.82	10.60	4.43
		Hi-Clean	1.91	4.80	9.47	5.39	3.81
11	<i>Calanus</i> sp.	Control	9.62	10.00	17.39	12.34	4.38
		Gamasol	13.79	14.29	4.17	10.75	5.70
		Hi-Clean	6.90	4.08	12.50	7.83	4.29

제 9 장

마산만에서의 해수-대기간

DMS 교환

제 1 절 서 언

1. 서 언

마산만의 경우 영양염류의 지속적인 대량 유입과 폐쇄적인 연안 환경으로 인해 부영양화와 그에 따른 적조가 반복적으로 나타나는 환경이다. 영양염류의 대량 유입은 주로 마산과 진해시의 생활하수와 공업폐수를 처리하지 않은 상태로 직접 배출하여 일어나는 결과이다(You & Lee, 1980; Park, 1982). 영양염류의 유입 뿐만 아니라 기타 오염물질도 하천, 하수구, 또는 배출구 등을 통해 마산만이나 진해만으로 대량 유입되는 것으로 알려져 있다(Choi, 1989; Lee *et al.*, 1990; Choi *et al.*, 1993). 외국의 연구 사례에 의하면 연안, 호소와 같은 반 폐쇄적 수질환경에 대기로부터의 오염물질에 의한 영향 또한 결코 무시할 수 없는 정도인 것으로 알려져 있다. 하천 및 하수구를 통한 영양염류 등 다양한 오염물질의 마산만, 진해만으로의 유입량과 경로에 대해서는 비교적 연구결과와 자료가 축적되어 있는 반면 대기로부터의 오염물질 유입에 대한 연구는 전무한 실정이다.

강(1995)의 연구에 의하면 마산만에 서식하는 일부 조간대 패류의 경우 나이가 많은 것일 수록 외피의 손상이 다른 연안 지역보다 더 크게 나타나는 것으로 보고되어 있다. 이와 같은 현상을 줄 수 있는 기작은 주로 외부의 스트레스, 특히 대기와 우수중의 산도가 결정적인 영향때문으로 추측된다. 하지만 우수의 경우 다른 지역과 차이가 나지 않는 것으로 보고되어 있어 강우의 산도 이외에 대기의 산도를 결정하는 요인으로 마산만에서 DMS(Dimethyl Sulfide) 유입과 DMS의 산화 산물에 의한 산도 증가에 따른 패류의 외피 손상 가능성을 제시하였다(강, 1995). 해양과 연안의 식물

플랑크톤 체내에서 형성된 뒤 해수와 다시 대기중으로 방출되는 DMS의 경우, 대기중에서 산화 반응 경로를 거치는 동안 SO_2 , SO_4^{2-} 로 산화되어 2차적인 대기의 산성 오염물질로 작용할 수 있고 시정을 악화시키는 주요 물질이며 구름의 응결핵을 형성하여 전지구적으로는 지구열 수지 균형의 문제와 관련되는 물질로 매우 잘 알려져 있다(Charlson *et al.*, 1987; Malin *et al.*, 1992). DMS의 대기중 농도가 해양과 연안 지역의 일차생산력에 직접적으로 관계되어 있어 마산만과 같이 부영양화가 지속적으로 진행되고 적조 현상이 빈번한 지역에서는 발생량이 다른 어떤 해양 환경보다 커서 2차적인 대기오염 물질로서 작용할 가능성이 많을 것으로 보고된 바 있다(Ayers and Gras, 1991).

본 연구에서는 이와 같이 일차생산력이 아주 큰 지역에서 대량으로 발생하는 DMS가 대기 중에 산도를 어느 정도 결정할 수 있는지 파악하고자 하며 해양오염이 수산자원에 미칠 수 있는 잠재적인 영향을 평가하고자 한다. 본 연구에서는 마산만 DMS의 농도와 마산만 대기중의 DMS, MSA(Methanesulfonic acid) 농도와 경향성을 조사하고 이미 연구된 다른 해양환경과 비교하며, 마산만 일대의 대기에서 2차적인 오염물질로 어느 정도 작용할 수 있는지 조사하였다. DMS 분석의 경우 아직 우리나라에서는 관련 연구가 미비하고 분석기술이 확립되어 있지 않아 본 연구에서 축적되는 분석기술과 자료는 추후에 이 분야의 연구를 활성화시킬 수 있을 것이다.

대기오염 물질로서 연안 환경으로의 유입이 전체 유입량 중 상당 부분을 차지하고 있는 것으로 알려진 것으로 질소화합물, 다환방향족탄화수소(PAH, polyaromatic hydrocarbon), PCB(polychlorinated biphenyls), 중금속류 등이 있다. 질소산화물(reactive nitrogen oxides)의 경우 발생량 중(약 100 Tg N/year) 절반 이상이 화석연료의 사용이나 biomass burning등

인간활동에 의한 것으로 알려져 있다. 방출된 대부분 질소산화물은 육상이나 해상으로 침착(deposition)되기 전에 질산염 에어로졸이나 질산가스의 형태로 비교적 빠른 속도(5~10%/hr)로 대기중에서 전환되고, 습식침착(wet deposition)(Olsen, 1988)과 건식침착(dry deposition) (Huebert and Robert, 1985)에 의해 육상이나 해상으로 이동하게 된다. 빠른 광화학적 전환, 표면에 쉽게 침착하는 성질 때문에 인간활동에 의한 질소산화물의 대부분은 근원지 부근에서 다시 지상이나 해상으로 유입되게 된다. 특히 인위적 질소산화물 배출의 대부분이 대도시나 대규모 공업지역 주위에 집중되어 있어, 대도시나 공업지역 주위 해안 생태계의 경우 식물플랑크톤의 제한 요소인 질산염의 공급원으로 전체 일차생산량에도 영향을 줄 수 있는 것으로 알려져 있다. 대도시나 산업지역에 인접한 만 또는 연안지역에서는 대기로부터 질산염 유입이 전체 유입량의 상당량을 차지하고 있는 것으로 보고되어 있다(Sisterson *et al.*, 1989). '95년 미국 virginia 주 Warrenton에서 개최된 Shared Resources Workshop에서 미국 동부의 대부분 연안 환경에서 대기에서 유입되는 질소화합물의 양이 전체 유입량의 40~60% 정도를 차지하고 있는 것으로 발표된 바 있다(Air Resources Laboratory, 1995). 기타 인위적 오염물질인 PAH나 PCB도 대기로부터 건식이나 습식 침착에 의한 호소나 연안환경으로 유입량이 전체 유입량의 20~80% 정도인 것으로 알려져 있다(Latimer, 1989; Eitzer and Hites, 1989; Pavlou and Dexter, 1979). 중금속의 경우에도 연안으로의 유입량중 70% 이상까지 대기에서 기인한 것으로 연구 발표된 바 있다(GESAMP, 1989; Guieu *et al.*, 1991). 결국 마산, 진해만 연안환경 내의 오염물질의 유입, 순환, 방출량을 이해하기 위해서는 이제까지의 하천 유입량과 마산, 진해만 내의 오염물질 농도 조사만으로 한정되어서는 안되며 대기 중의 농도와 유입량에 대한 연구가 필수적으로 포함되어야 한다. 본 연구에서는 마산만 대기중 질소산화

물의 농도측정을 통해 마산만으로 유입될 수 있는 양을 산출할 수 있는 기본 자료를 확보하고자 하였다.

제 2 절 조사내용 및 방법

1. 조사 목표 및 내용

본 연구의 원래 목표는 마산만 주위 대기 환경과 수산자원에 영향을 줄 수 있는 대기 오염물질의 가스상 및 분진 중의 농도를 겨울과 여름의 대표적인 시기 및 적조 시기중에 조사하여, 이 기간의 건식 및 습식 침착에 의한 대기 오염물질의 마산만으로 유입량을 산출의 기본 자료를 확보하고 마산만 해수에서 대기중으로 방출되는 황화합물을 정량화 하고자 하였다.

이번 연구에서 최종 수행된 연구 내용 및 개요는 다음과 같다. 첫째, 대기 중 가스상의 HNO_3 와 입자상의 NO_3^- 분석을 통해 질소산화물의 농도 변화를 관측하였고, 그 자료를 이용하여 질소산화물의 마산만으로의 유입량을 산출하는 기초 자료를 축적하였다. 가스상 HNO_3 의 건식침착 자료의 산출을 위해서는 미기상학적인 연구가 수행되어야 하나, 고가의 장비와 시료채취를 위한 타워 설치 등 실험 여건이 적절치 않아서 우선적으로 대기 중 농도와 마산 지방 기상관측소에서 관측된 기상자료를 통해 간접적으로 건식 침착량을 산출하기 위한 자료 확보를 목적으로 하였다. 둘째, 대기 중 DMS , SO_2 , SO_4^{2-} 농도를 동시 관측하여 식물플랑크톤에서 발생하는 황화합물이 마산만 주변의 대기에 오염물질로 작용할 수 있는지 조사하였다. 셋째, 마산만 수중의 DMS 농도, 클로로필 농도, 동물플랑크톤의 종류와

개체수 등을 파악하여 상호 연관성의 정도와 형태를 파악하고자 하였다. 특히 마산만 내에서 발생한 해수와 대기중 오염물질의 교환과 상호 영향을 파악하기 위한 보다 결정적이고 정량적인 접근을 위하여 '97년도 3차 연구에서 다음과 같은 사항을 집중적으로 추진하고자 하였다. 대기중 고농도 DMS의 정확한 발생원의 조사를 위하여 마산만 전체를 대표할 수 있는 다양한 지점에서 해수중의 DMS 농도의 관측이 대기중의 농도 관측과 동시에 이루어져야 할 것이다. 더우기 대기중에서 산화되는 DMS가 대기중 황산염 농도에 기여하는 정도를 산정하기 위하여 그 중간 산화물질인 MSA의 농도변화를 동시에 측정하고자 하였다.

2. 조사 방법

가. 시료채취 장소

마산만으로의 대기오염 물질을 산출하기 위해서는 특정 오염원의 영향이 배제된 장소의 선정이 우선되어야 한다. 주위의 특정 오염원으로부터 가능한 멀리 떨어져 있으면서도 마산만 주변의 전반적인 대기의 성질을 대표할 수 있는 시료를 채취하기 위해 마산만 내에 있는 돌섬(Fig. 9-1)에서 대기와 수질 시료를 1차 '96년 1월 16일~26일, 2차 '96년 8월 9일~23일간, 3차 '97년 7월 3일~8월 16일 등 3차례에 걸쳐 분석하였다. 이 섬은 두산개발에서 마산시의 위탁을 받아 위탁 시설로 사용하고 있어 대기 오염물질의 배출은 거의 무시할 수 있다. 마산만의 한 가운데에 위치하고 있어 인근 마산만 생활지역과 공업지역으로부터 충분히 떨어져 있으면서 전반적인 마산만 대기의 특징을 모니터링 할 수 있다. 더우기 식물플랑크톤, 동물플랑크톤, DMS의 채취를 위해 어선을 이용하거나 연구선을 사용하지 않아

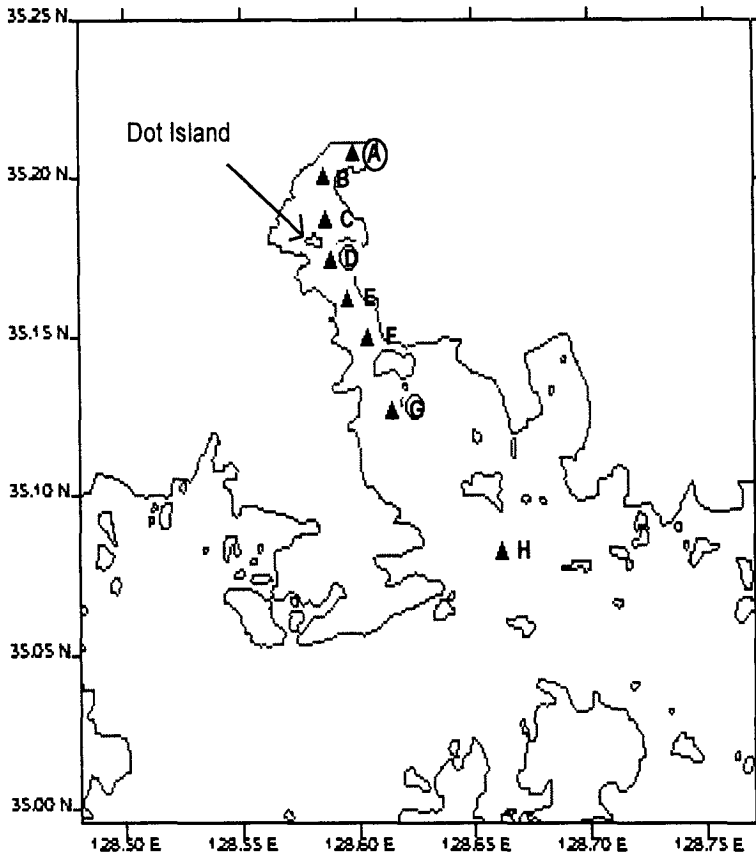


Fig. 9-1. Map of Masan Dotsum sampling site

도 되는 이상적인 장소이다. 마산만내 동물플랑크톤, 식물플랑크톤, 수중의 DMS 시료채취는 선박의 이동과 영향이 없으면서 시료포집이 용이한 돌섬 제2 선착장(비상 선착장) 주변에서 표층수를 떠서 실시하였다. 대기시료 채취기는 1차 겨울철 관측에서는 돌섬 유원지내 오락실 2층 건물 옥상에 설치, 운영하였고 2차, 3차에는 돌섬 여관에서 20m 떨어진 해안도로상에 설치하였다. 2차년도 여름철 연구에서는 8월 23일 하루 동안, 3차 연구에서는 10일 동안 해양연구소 조사선과 용선을 이용하여 마산만 일대 해수를 채취 분석하였다(Fig. 9-1). Station A, D, G에서는 각 수심에 따른 분석을 하였다.

나. 시료채취 방법

본 연구에서 분석된 요소들과 분석 방법이 Table 9-1에 나타나 있다. 대기 중 가스상과 입자상 물질의 채집을 위해서 테플론/나일론 이중 필터를 사용하였다. 테플론 필터는 입자상의 물질(NO_3^- , SO_4^{2-} , NH_4^+ , Na^+ , PAH) 포집을 위한 것이며, 나일론 필터는 가스상의 HNO_3 , SO_2 를 포집하기 위해 사용하였다. 대기 시료채취기는 8개의 테플론/나일론 필터 세트와 8개의 on/off 밸브, rotameter, flowmeter, 펌프로 이루어져 있고, 각 필터 세트는 약 19 l/min의 유량으로 대기시료를 채집하였다. 무인 연속측정을 위해서 on/off밸브는 time sequence control로 자동적으로 열고 닫을 수 있도록 제작되었다. 필터를 통과한 공기의 정확한 양을 알기 위해서 flowmeter를 펌프와 필터 사이에 장착하였고 기록계에 연속적으로 기록 관리하였다. 대기 중의 DMS는 독립적인 펌프와 rotameter를 이용하여 90 ml/min의 유속으로 1시간 동안 대기를 carbotrap 300 absorption tube에 통과시켜 포집하였다. 마산만 해수에 용해되어 있는 DMS를 포집하기 위해서 약 200 ml 정도의 해수를 purge 유리관에 옮겨 따른 뒤 고순도 He 가

Table 9-1. Measured species and analytical methods

Species	Sampling	Instruments
DMS	Carbosieve S III	TDU-GC-PID -FPD
NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NH ₄ ⁺ , Na ⁺ , MSA in aerosol	Teflon filter	IC
HNO ₃	Nylon filter	IC
WD, WS, air temp., RH	AWS	AWS
Salinity	Glass bottles	Salinometer
Chl-a	Glass-fiber filter	Spectrophotometer
Phyto, zoo plankton	Lugor's solution	Microscope
Water Temp. and D.O.	In Situ probe	D.O. meter
NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , NH ₄ ⁺ in sea water	PE and glass bottles	Autoanalyser

스(99.999%)로 purge 시키며 carbotrap 300 absorption tube로 포집하였다. 이와 같은 purge & trap은 해수를 채취한 후 12 시간 이내에 시행하였다 (Belviso *et al.*, 1986; Kim & Andrea, 1987; Boniforti *et al.*, 1993). 클로로필 a의 경우 표층 해수 1 l를 채집 후, 즉시 GF/C 필터에 통과시킨 뒤 필터를 냉동 보관하고 실험실에서 측정하였다(Strickland & Parsons, 1968). 동물플랑크톤의 정성, 정량분석을 위해서는 채취된 해수 약 1 l에 Lugar 용액 3~4 ml를 넣어 보정한 뒤 실험실에서 측정하였다. 해수와 대기중의 DMS, 클로로필 a, 동물플랑크톤 시료채취는 겨울철의 경우, 낮 12시와 밤 12시경으로 하루에 2번 실시하였고 2차와 3차년도에의 경우 매 2시간 간격으로 섬에서 연속 관측하였다.

다. 시료분석 방법

입자상 이온성물질인 NO_3^- , SO_4^{2-} , Na^+ , NH_4^+ 의 분석을 위해서 테플론 필터를 정확히 2등분한 뒤, 반쪽을 vial에 넣고 HPLC 분석급 메탄올 1 ml를 첨가하였으며 나머지 반쪽은 PAH 분석을 위해 냉동 보관하였다. 반쪽 필터 전체가 메탄올에 적셔진 것을 확인한 뒤 초순수 정제수(18 M Ω) 9 ml를 첨가한 뒤 20분 동안 강하게 흔들어 주어 필터에 있는 이온성 입자를 완전히 용출시켰다. 용출된 메탄올/물 용액은 Ion Chromatograph(Table 9-2)를 이용하여 분석하였다. 1차와 2차에서 음이온 분석은 Water사 IC-Pak A 컬럼을 사용하였고 eluent는 1.0 mM Na_2CO_3 /1.0 mM NaHCO_3 , 유량은 1.2 ml/min 였으며 이온의 검출은 conductivity detector를 이용하였다. 3차에서는 MSA 분석을 위하여 Dionex AS-11을 이용하였고 eluent는 NaOH를 이용하여 gradient programing으로 분석하였으며 MSA를 포함한 음이온 1 ppm 표준물질 분석의 예가 Fig. 9-2에 나타나 있다. 모든

Table 9-2. Conditions for ion chromatography operation

	Anion	Cation
Sample loop volume	100 ul	100 ul
Separation column	water IC-pak A	water IC-pak C
Guard column	IC-pak anion guard	IC-pak cation guard
Eluent	1.0 mM Na_2CO_3 / 1.0 mM NaHCO_3	2.0mM HNO_3 / 0.05mM EDTA
Eluent flow rate	1.2 ml/min	1.0 ml/min
Detector	conductivity	conductivity
Detector output range	0.5	0.5
Suppressor	Solid phase	none
Background	12 uS	750 uS

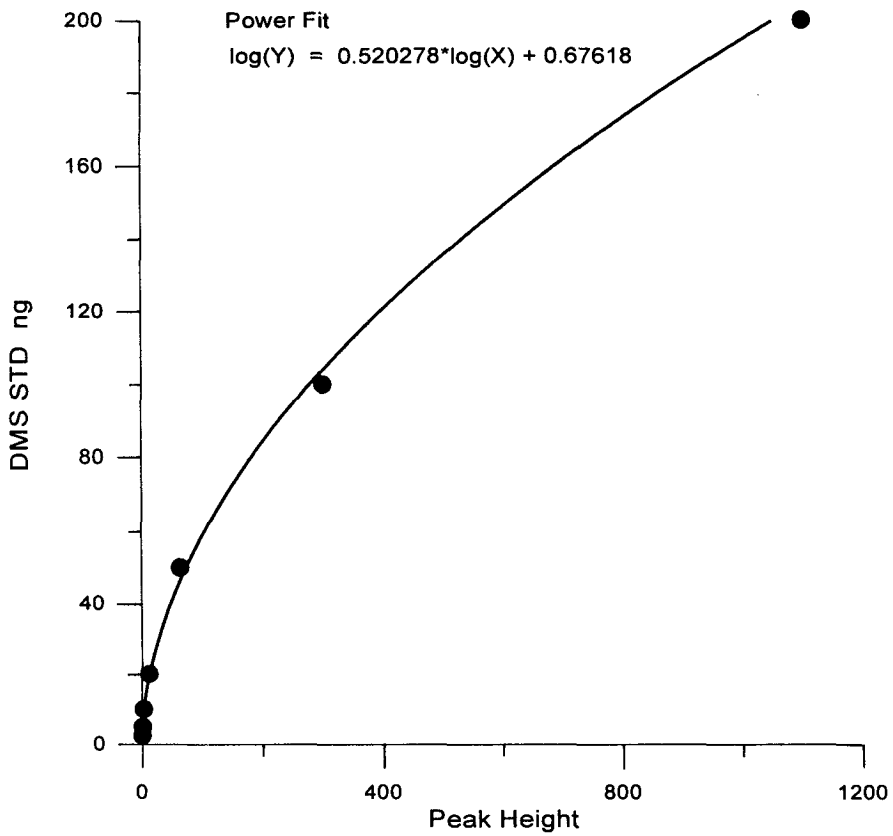


Fig. 9-2. FPD Calibration curve for the DMS standards

음이온의 경우 conductivity detector의 base conductivity를 낮추기 위해서 Alltech사의 Solid suppressor를 적용시켰다. 양이온은 Water사 IC-Pak C 컬럼에 2 mM HNO₃/0.05 mM EDTA eluent를 1.0 ml/min의 유량으로 conductivity detector를 이용하여 검출하였다(Fig. 9-3~9-5).

DMS의 분석에는 1차와 2차 연구에서는 TDU-GC-PID(Thermal Desorption Unit-Gas Chromatograph-Photoionization Detector) 체계를 이용하였다. TDU에서 DMS가 포집된 absorption tube를 300°C에서 5분 동안 10 ml/min 유량의 고순도 He 기체(99.999%)를 통과시키면서 탈착한 뒤 (Table 9-3), GC 오븐 온도 조절(70°C에서 5분, 2°C/min, 120°C에서 1분, 20°C/min, 200°C에서 1분)을 통해서 DMS를 분리하였다. 분리 컬럼은 Alltech사의 GS-Q fused silica capillary column을 이용하였고 TDU에서 나오는 초고순도 He 기체를 carrier gas로 사용하였다(Table 9-4). 본 실험에서 TDU는 시료의 탈착 및 주입뿐만 아니라 GC column을 흐르는 carrier gas의 유량 조절과 확인에 이용되었다. PID detector는 9.5eV의 UV 램프를 장착한 것을 이용하였고 그밖의 기기의 운영조건은 Table 9-5와 같다. 본 실험에서 TDU-GC-PID를 이용한 분석방법의 경우 DMS의 분석한계는 약 1 ng으로 GC-FPD의 분석한계인 0.1 ng보다 약 10배 저하된 값을 보여주었다. 3차 연구에서는 TDU-GC-FPD를 이용하여 분석하였으며 사용된 분석방법은 Table 9-6과 Table 9-7에 나타나 있다. 분석한계는 PID와 마찬가지로 약 1 ng 정도를 유지하였지만 분석시 다른 화합물에 방해 받지 않아 해석에 매우 유리하다.

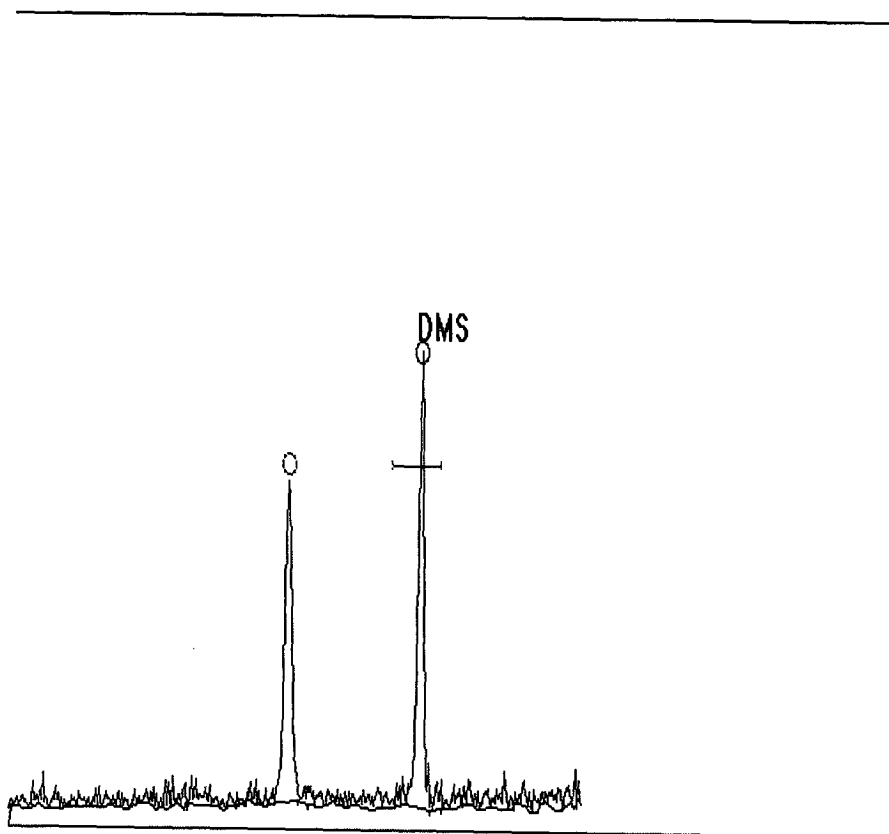


Fig. 9-3. GC-FPD chromatogram for DMS analysis

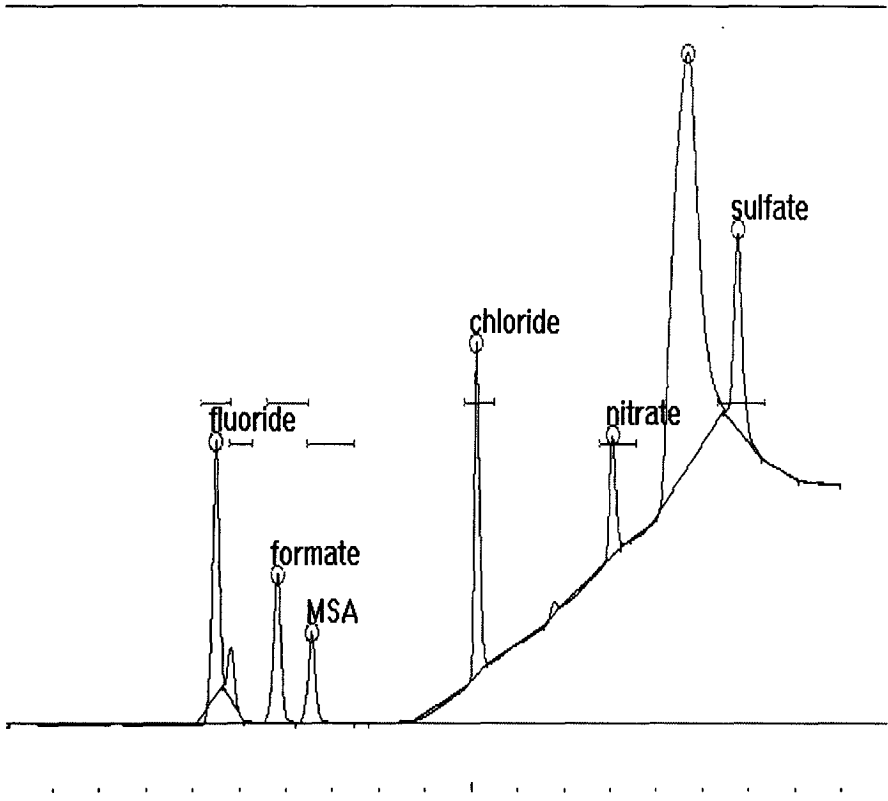


Fig. 9-4. IC chromatogram for anion analysis using Dionex-11AS

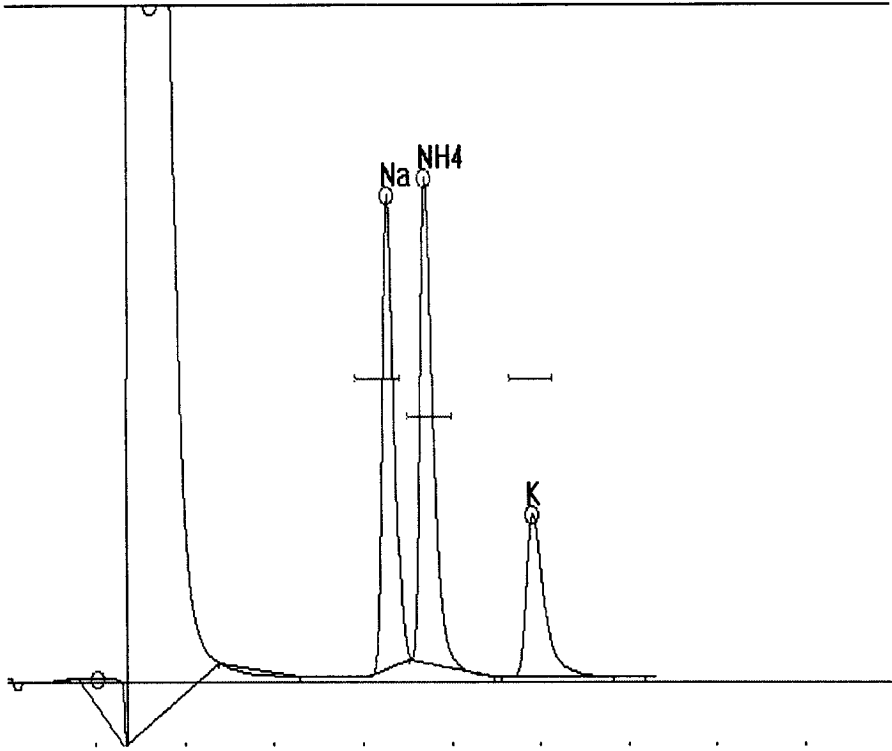


Fig. 9-5. IC chromatogram for cation analysis

Table 9-3. Conditions for thermal desorption unit operation

	Condition
Desorption unit	Supelco Thermal Desorption Unit
Desorption temperature	300°C
Desorption time	5 min
Valve temperature	150°C
Transfer line temperature	150°C
Desorption gas	High Purity He (99.999%)
Gas flow rate	10 ml/min

Table 9-4. Conditions for gas chromatography operation for GC-PID

	Condition
Column	Supelco GS-Q 30m
Oven temperature program	70°C for 5 min
	2°C/min to 120 °C
	120°C for 1 min
	20°C/min to 200°C
	200°C for 1 min
Carrier gas	He (99.999%)
Carrier gas flow rate	10 ml/min

Table 9-5. Conditions for photoionization detector operation

	Condition
Detector temperature	220°C
Input attenuation	1
Output attenuation	64
Lamp intensity	three quarter turn
Lamp eV	9.5 eV

Table 9-6. Conditions for gas chromatography operation for GC-FPD

	Condition
Column	Supelco GS-Q 30m
Oven temperature program	40°C for 2 min 20°C/min to 120°C
Carrier gas	He (99.999%)
Carrier gas flow rate	10 ml/min

Table 9-7. Conditions for detector operation for GC-FPD

	Condition
PMT voltage	- 400 V
H2 flow rate	30 ml/min
Zero air flow rate	100 ml/min
Attenuation	2
Gain	low

3. 제1차 '96년 동계 조사결과

가. 질소 화합물 (HNO_3 , NO_3^- , NH_4^+)

HNO_3 의 경우 약 9일간 동안 뚜렷한 경향성 있는 변화를 보여주지는 않았으며(Fig. 9-6) 약 0.6 ppb 정도의 평균농도를 나타냈다. 각각의 대기 시료가 12시간 평균농도이면서도 농도변화가 심하게 나타나는 것을 알 수 있었다. 입자상의 NO_3^- 의 평균농도는 $8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 정도이었고 HNO_3 의 경우와 마찬가지로 관측기간 동안 뚜렷하게 드러난 변화 양상을 보여주지 않았다(Fig. 9-6). 이와 같은 농도는 도시지역에서 관측된 값과 비슷한 것임을 알 수 있었다(Forrest *et al.*, 1982; Grosjean, 1983). 1월 21일 이후에는 HNO_3 와 NO_3^- 가 서로 비슷한 변화형태를 보여주었지만 전반기 기간동안은 서로 상이한 농도변화 형태를 보여 이 기간동안에는 서로 다른 원인에 의해 농도변화가 좌우되었음을 알 수 있었다. 대체적으로 $\text{NO}_3^-/\text{HNO}_3$ 의 비가 약 5:1 정도로 관측되어 우리나라 다른 지역과 기타 세계 도시지역에서 겨울철 자료와 비슷한 값을 나타내었다(Forrest, 1982; Grosjean, 1982; Shaw *et al.*, 1982; Meixner *et al.*, 1985;). HNO_3 와 NO_3^- 의 경우와는 상반되게 NH_4^+ 의 농도변화는 관측기간동안 비교적 뚜렷한 경향성을 보여 주었고 평균농도는 $4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 을 나타내었다. 전반적으로 관측 중반기(1월 21일~22일)에 농도가 크게 증가된 경향을 나타냈다(Fig. 9-7). 미약하게나마 HNO_3 와 NO_3^- 의 경우에도 관측 중반기에 증가되는 현상이 있었지만 NH_4^+ 의 경우처럼 확실하게 나타나지는 않았다. NH_4^+ 의 농도증가와 아주 유사한 형태로 SO_4^{2-} 의 변화가 관측된 것을 볼 때(Fig. 9-8), 이 기간동안 마산만 대기중에 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 가 증가된 것으로 판단된다. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 는 고체연료의 사용중에 발생된 SO_2 나 대기 중의 DMS가 산화되고 NH_3 와 결합 형성된 입자

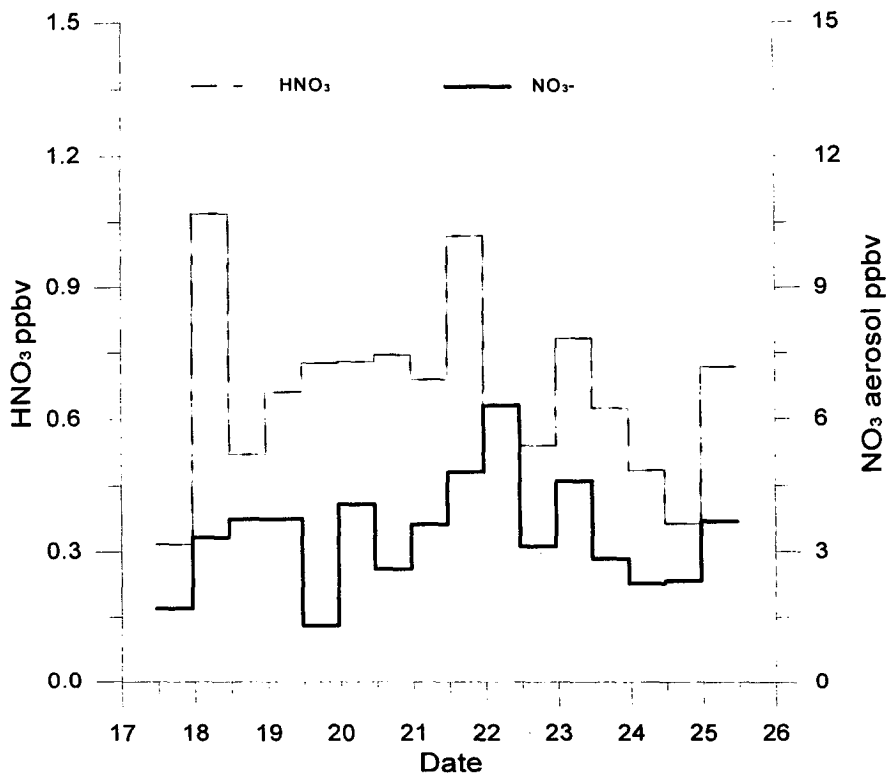


Fig. 9-6. Temporal concentration variation of HNO₃ and NO₃⁻ in Masan Bay in winter of 1996

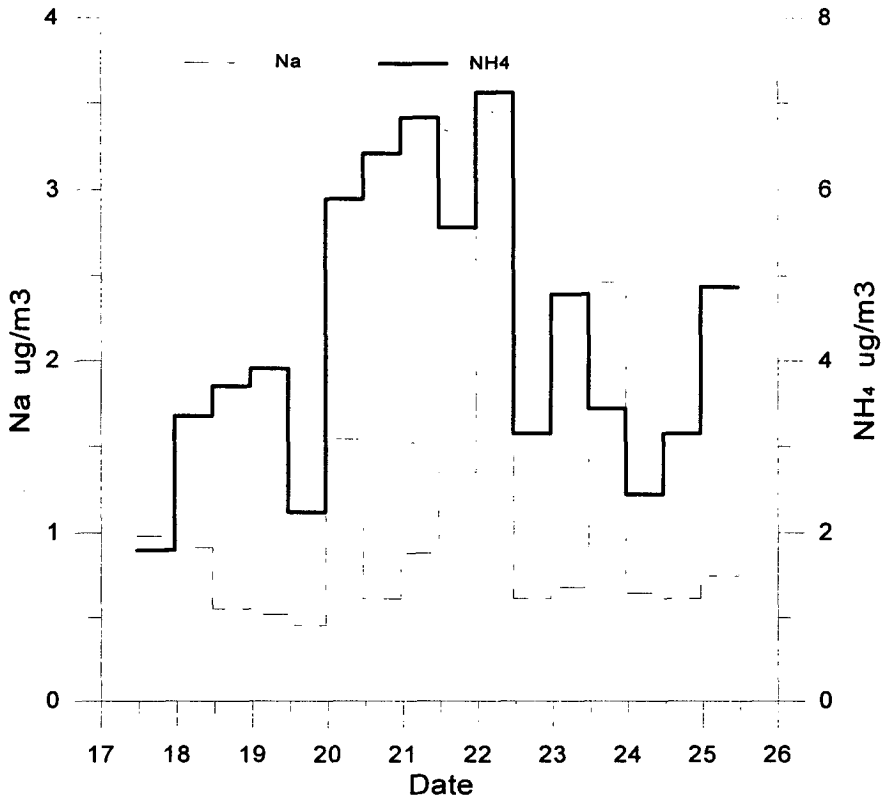


Fig. 9-7. Temporal concentration variation of NH_4^+ and Na^+ in Masan Bay in the winter of 1996

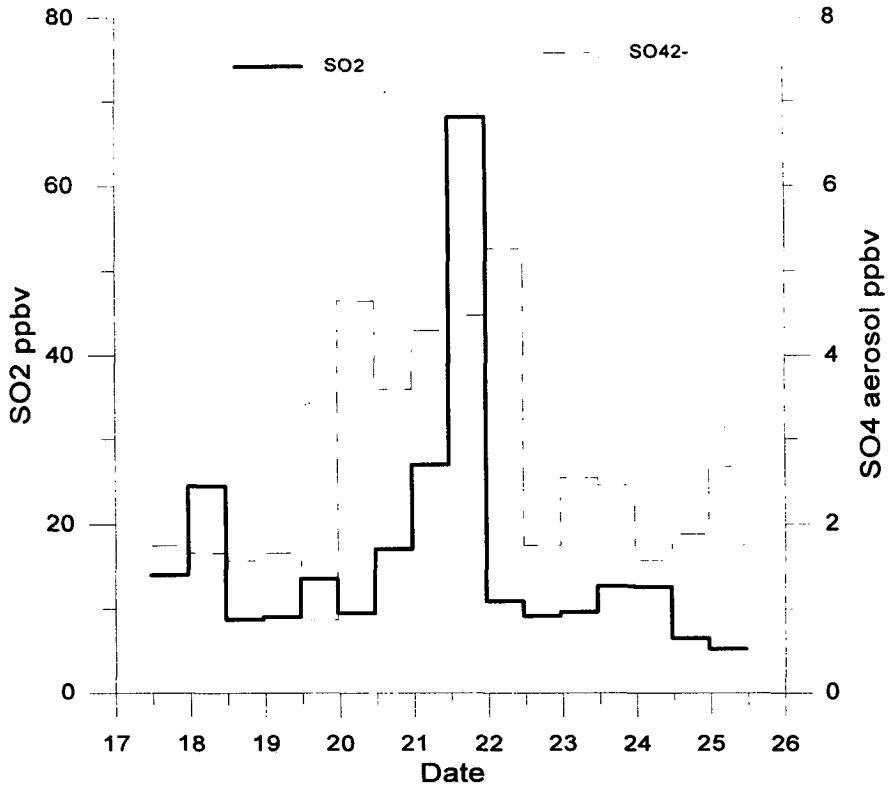


Fig. 9-8. Temporal concentration variation of SO_4^{2+} and SO_2 in Masan Bay in the winter of 1996

상의 물질(secondary aerosol)로 대기중으로 유입된 SO_2 나 DMS가 SO_4^{2-} 로 산화되고 NH_3 와 반응 결합할 수 있는 충분한 시간이 경과할 경우에 나타난다. 그러나 이 기간동안 SO_2 나 DMS가 뚜렷이 증가하지 않은 것으로 판단하여 볼 때 이들의 근원지는 인근 마산지역이 아니고 이 지역으로부터 멀리 떨어진 곳에서 장거리 이동 중에 대기중의 황화합물과 NH_3 가 충분히 반응된 상태에서 나타난 농도증가로 인정된다. 마산만에서 관측된 질소화합물의 농도는 대기로부터의 유입량 조사가 이미 종합적으로 이루어진 미국 연안 및 내만 지역에서의 관측된 농도와 비슷한 값을 보이고 있다 (Sisterson *et al.*, 1989). 결국 대기중에 존재하는 질소화합물의 유입이 마산만에 총 유입되는 질소화합물 중의 중요한 일부를 차지 할 수 있음을 나타내는 것이다. 따라서 대기로부터의 유입량을 정량적으로 산출하는 노력이 계속적으로 수행되어야 할 것이다. 이를 위해서는 대기중의 농도 결정 뿐만 아니라 질소산화물의 습식, 건식 침착을 조사하는 연구가 절실히 필요하다.

나. 수용성 해염 성분 (Na^+)

입자상 성분중 Na^+ 와 K^+ 는 대기중 해염의 농도를 지시하고 바다의 거칠기 정도를 나타낼 수 있는 화학물질이다. Fig. 9-7은 Na^+ 농도변화를 나타낸다. 1월 20, 22, 23일 동안 Na^+ 농도가 같은 형태로 증가되어 있는 것은 이 기간동안 바다의 거칠기가 증가하고 그에 따라 해염의 농도가 증가된 것으로 판단된다. Fig. 9-9는 마산에서 관측된 입자상 물질중 총 음이온 성분과 총 양이온 성분의 당량을 비교 표시한 것으로 실험에 있어서 포함되는 여러 관측 오류를 확인하고 실험의 신뢰성을 파악할 수 있는 근거를 제시할 수 있다. 그림에서 볼 수 있듯이 대체적으로 음이온(NO_3^- ,

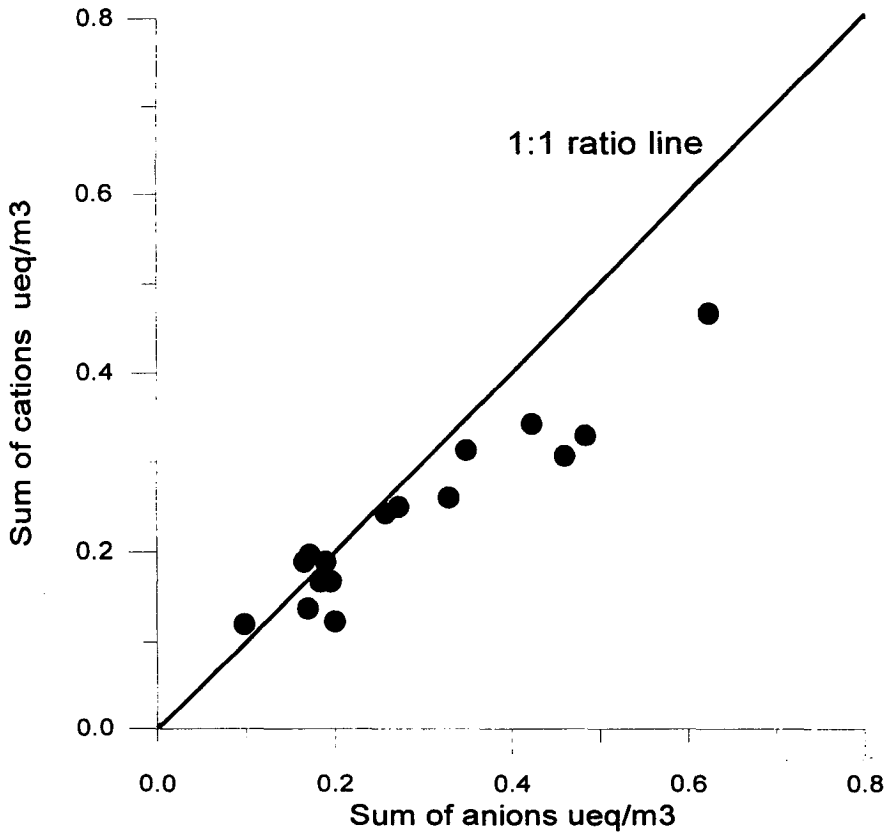


Fig. 9-9. Comparison for sums of measured water soluble cations and anions of aerosol in Masan Bay in the winter of 1996

SO_4^{2-})의 총량이 양이온(Na^+ , NH_4^+)의 합보다 약간 많게 관측되었다. 이와 같은 양이온의 부족분은 농도가 검출한계보다 작아서 농도 산출이 되지 않은 일부 양이온과 수소이온의 영향 때문이다.

다. 황 화합물 (SO_2 , SO_4^{2-} , DMS)

관측된 SO_2 는 질소 화합물과 상당히 다른 변화 형태를 보여 주었다 (Fig. 9-8). 이미 언급된 질소산화물의 경우와는 다른 독립적이고 단발적인 영향인자에 의해 농도가 좌우되고 있음을 알 수 있다. 즉, 주위 공장지역이나 인근 지역에서 직접적인 영향을 받아 일어나는 농도증가의 형태로 파악된다. 이와는 대조적으로 SO_4^{2-} 는 20일부터 22일까지 전반적으로 증가되었고 NH_4^+ 와 유사한 변화값을 보였다. 이 기간동안 NH_4NO_3 보다는 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 형태의 입자상 물질 증가가 뚜렷이 있었던 것으로 보여진다. 일반적으로 해수중의 DMS농도와 Chl. a는 상관관계에 있는 것으로 보고되어 있다(Burgermeister *et al.*, 1990). 하지만 마산만의 경우 뚜렷한 비례 관계에 있는 것으로 나타나지는 않았다(Fig. 9-10). 이는 해수중의 DMS 농도가 식물플랑크톤의 개체수만 아니라 다른 기작, 즉 동물플랑크톤의 포식작용, 식물플랑크톤, 박테리아의 종 분포 등과도 관련되어 있기 때문인 것으로 사료된다(Dacey & Wakeham, 1986; Bak *et al.*, 1992). 해수 중의 DMS 농도변화 양상이 Chl-a의 농도변화와 약 1~2일 정도 지체되어 비슷하게 나타나는 경향이 있어 동물플랑크톤의 포식작용 등과 같은 다른 기작이 해수중 DMS와 식물플랑크톤의 변화에 연관되어 있음을 강력히 시사하고 있다. Fig. 9-11은 대기와 해수 중의 DMS를 나타내고 있다. 18일 부터 마산 대기와 마산만 해수중의 DMS 농도가 함께 급격히 감소하였고 해수 중의 농도는 22일 이후부터 계속적으로 증가한 반면 대기중의 농도는 몇

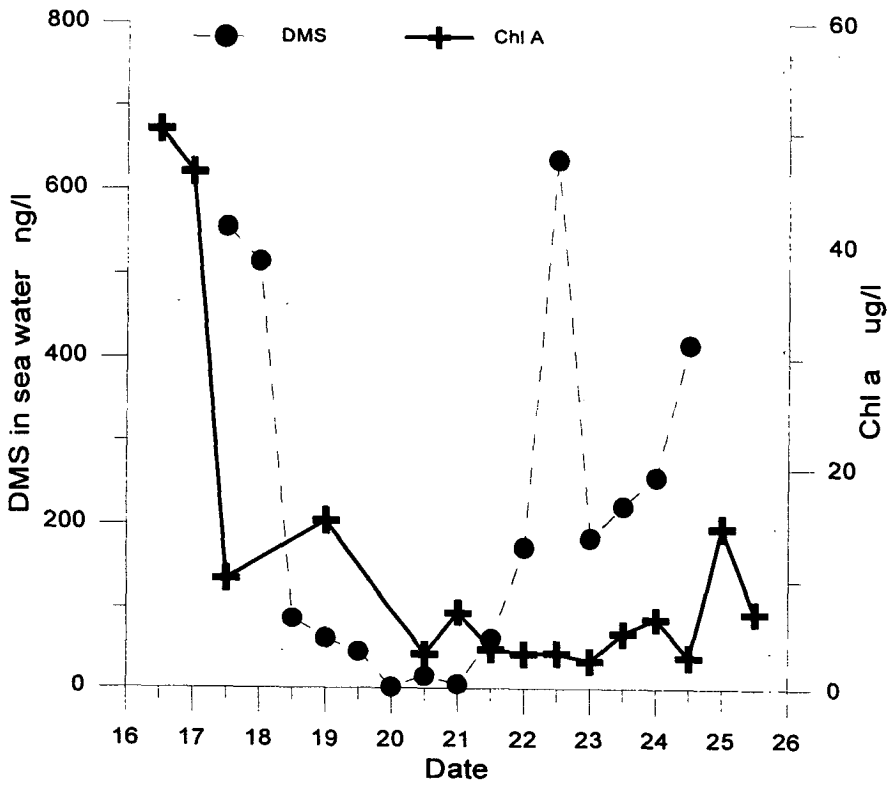


Fig. 9-10. Temporal concentration variation of DMS and Chl a in Masan Bay in the winter of 1996

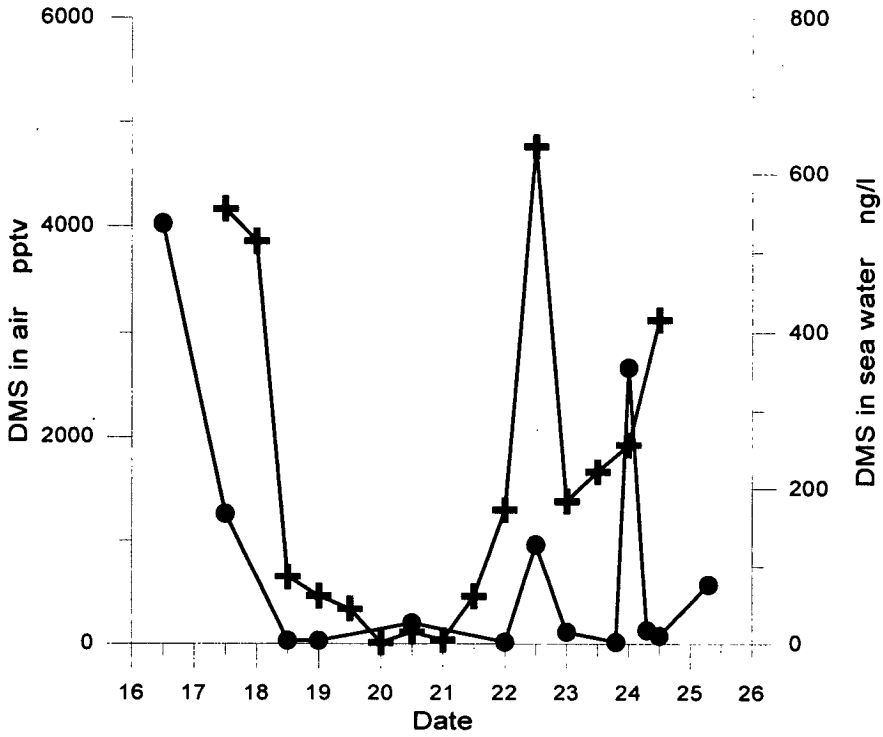


Fig. 9-11. Comparison of DMS temporal concentration variation in air vs sea water in the winter of 1996

변에 걸쳐 단발적인 증가를 보였다. 전반적으로 볼 때 대기중의 농도 증가는 해수의 농도와 비례 관계에 있음을 본 연구에서 확인하여 볼 수 있었다. 겨울철 마산만에서 관측된 농도가 비교적 일차 생산력이 아주 높은 연안이나 해양환경에서나 보여주는 농도와 비슷한 값을 보여주고 있지만 (Biniforti *et al.*, 1993), 마산만에서 더욱 활발한 식물플랑크톤의 번식이 있는 봄과 여름에는 이를 훨씬 넘어서는 농도를 나타낼 수 있어 이곳이 대기로의 대량 DMS 유입에 중요한 역할을 할 수 있는 것으로 판단된다. 이와 같은 상관성이 마산만에서도 관찰되는지 알아보기 위해 22일부터 해수 중의 DMS가 증가하는데도 불구하고 대기 중의 DMS농도가 같은 양상으로 증가하지 않는 것은 대기중의 DMS농도가 단순히 마산만 내의 DMS농도와 직접적인 상관을 항상 나타내지 않는 것을 나타낸다. 즉 해수중의 DMS 농도가 증가하더라도 DMS를 대기로 유입시키는 기작이 활발히 일어나지 않을 경우 대기중의 농도가 같은 형태로 증가할 수 없을 것이다. 해수와 대기의 기체 교환에 있어서 가장 중요한 요인으로 바람에 의한 해수면 거칠기를 생각할 수 있다. 해수면의 거칠기와 대기 중 해염 성분의 농도는 직접적인 연관성을 갖는다. 결국 본 연구에서 측정된 입자상 Na^+ 의 농도는 마산만 해수와 대기의 기체교환 정도를 지시할 수 있는 화학종으로 이용될 수 있다. Fig. 9-12에서 볼 수 있듯이 대기 중 DMS의 농도와 Na^+ 농도와는 상당히 유사한 형태로 변화되고 있음을 알 수 있다. 특히 20일, 22일, 23일에 증가된 대기중의 DMS 농도는 같은 기간동안의 Na^+ 농도증가(즉 해수면 거칠기의 증가)와 직접적인 연관을 갖는 것으로 관측되었다. 관측 초기에 높은 농도의 대기중 DMS는 단순히 해수중의 DMS 농도증가에 기인한 것 뿐만 아니라 해수면의 거칠기 증가에 의한 활발한 기체 교환과도 연관이 되어 있음이 이 자료에서 확인되었다. DMS가 갖는 중요성은 일반적으로 대기중에서 빠르게 SO_2 , MSA(Mathanesulfonic acid), SO_4^{2-} 로

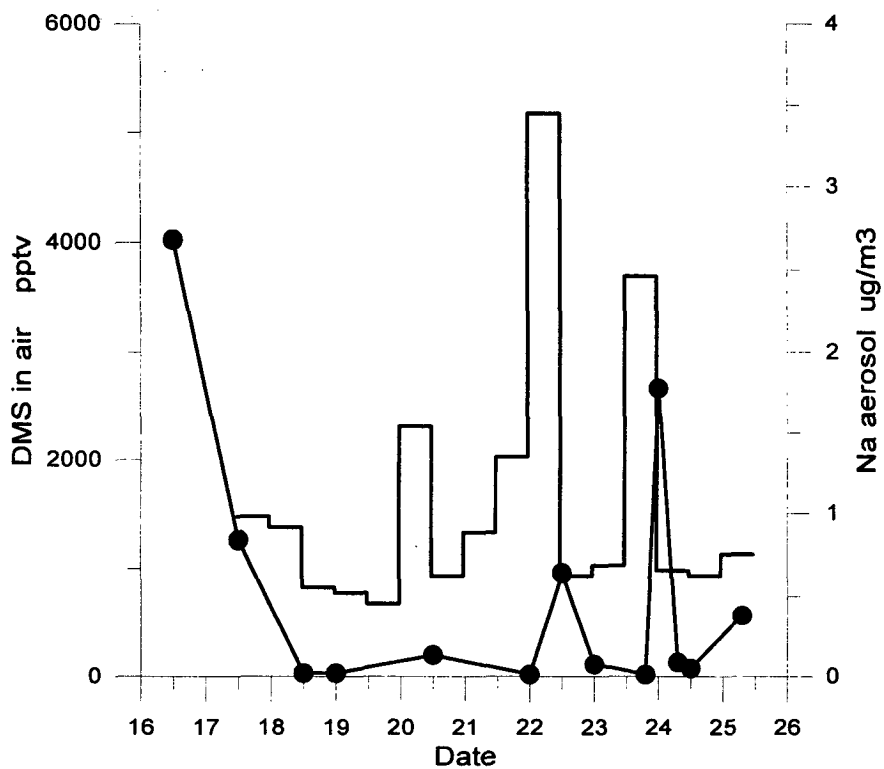


Fig. 9-12. The DMS concentraion in air vs Na⁺ concentration in air in the winter of 1996

산화되고 이들이 대기의 산성도를 증가시키거나 응결핵으로 작용하여 지역적 또는 전지구적인 기상변화를 일으킬 수 있는 물질로 작용하기 때문이다. 마산만에서 대기중의 DMS가 대기중의 SO_2 나 SO_4^{2-} 와 어떤 연관성이 있는 것을 파악하고자 하는 시도를 하였지만 서로의 농도변화에 대한 뚜렷한 연관성을 찾을 수가 없었다. 이것은 이 기간동안 대기중의 SO_2 나 SO_4^{2-} 가 DMS의 산화에 의해 농도가 좌우되기보다는 가까운 마산, 진해 주변의 주거, 산업지역 오염원들로부터 더 많은 영향을 받았거나 대기중으로 유입된지 얼마 되지 않아 DMS가 산화 될 수 있는 충분한 시간적 기회가 없어 나타난 결과일 수도 있다(Tyndall, 1991). 그러므로 대기중에 관측된 SO_2 , SO_4^{2-} 가 어느 정도 대기중에서 빨리 DMS 산화에 의해 형성되는지의 규명 노력이 이어져야 할 것으로 판단되며 봄과 여름에 DMS 증가, 햇빛량 증가, 대기중 산화력 증가에 따라서는 SO_2 , SO_4^{2-} 가 어떤 양상을 보이는지 지속적인 연구가 필요하다.

4. 제2차 '96년 하계 조사결과

가. 질소 화합물 (HNO_3 , NO_3^- , NH_4^+)

HNO_3 (질산가스)의 경우 평균농도는 0.3 ppb로 겨울철과 비교하여 약 반정도의 평균농도를 나타내었지만 변화폭은 매우 크게 관측되었다(Fig. 9-13). 주기적인 풍향의 변화가 있었음에도 HNO_3 의 시간대별 변화양상은 나타나지 않았다. NO_3^- (입자상 질산염)의 평균농도는 $2.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 겨울철 값보다 1/4 정도 감소되었다. 관측 초기 기간동안의 농도보다 관측 중기와 말기에 농도의 연속적인 증가를 보였다. NH_4^+ 의 경우 NO_3^- 와 비슷하게 15일 이후에 농도가 증가하였고 평균농도는 $1.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 겨울철 농도

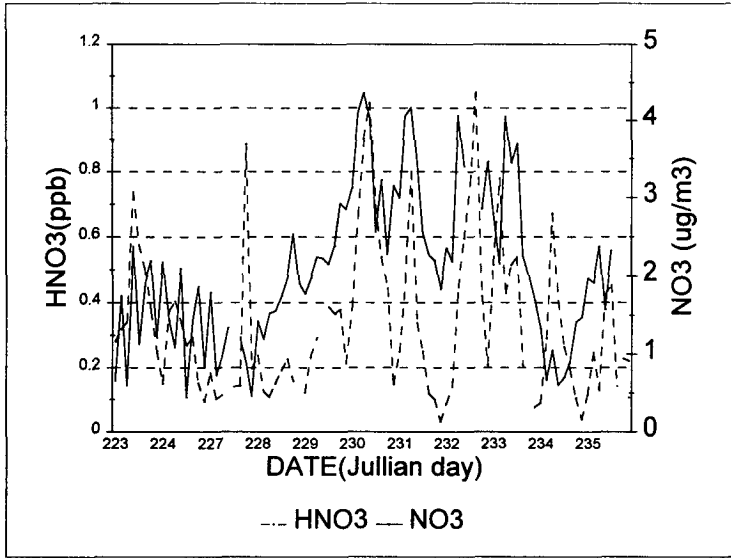


Fig. 9-13. Temporal concentration variation of HNO₃ and NO₃ in Masan Bay in the summer of 1996

보다 역시 1/4 정도 감소된 것으로 나타났다(Fig. 9-14). 여름철의 질소화합물의 농도가 겨울철보다 전반적으로 감소한 것은 이 지역에서 겨울철보다 연료의 사용이 여름에 감소되어 나타난 결과로 추측된다. NO_3^- 와 NH_4^+ 의 농도가 비슷한 경향성을 보이고 있는 것은 대기 중 입자상의 물질중 NH_4NO_3 가 주요한 부분을 차지함을 지시한다.

나. 수용성 해염 성분 (Na^+)

Na^+ 의 평균농도는 $1.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 겨울보다 오히려 약간 증가된 농도를 보였다. 이것은 겨울 관측시의 filter set를 운영한 장소가 돌섬 내부의 2층 건물 옥상이었던 반면 여름철에는 해수면으로부터 약 1 m 밖에 떨어지지 않은 장소에서 관측하여 그만큼 해염의 영향을 직접적으로 받은 것으로 생각된다. 특히 Na^+ 농도는 다른 수용성 입자상의 물질과는 달리 주야간의 변화가 비교적 뚜렷하게 나타났다(Fig. 9-14). 즉 해풍이 우세한 시간대인 낮 동안은 해염성분인 Na^+ 의 농도가 주기적으로 증가되었다.

다. 황 화합물 (SO_2 , SO_4^{2-} , DMS)

대기 중 SO_2 의 농도는 평균 7.1 ppb 였고 겨울철보다 농도가 1/2 정도 감소되었다(Fig. 9-15). 주야간의 주기적인 농도변화는 관측되지 않았으며 다른 관측 요소와도 뚜렷한 연관성을 나타내지 않았다. SO_4^{2-} 의 평균농도는 $2.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 겨울철보다 농도가 1/4 정도로 감소하여 NO_3^- , NH_4^+ 와 동일한 정도로 감소되었다(Fig. 9-15). 이것은 대기중의 입자상의 물질 중에서 NO_3^- , SO_4^{2-} , NH_4^+ 가 서로 밀접하게 연관되어 행동하고 있는 것을 지시하며 NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 가 이들의 주요 성분임을 지시하고 특히 SO_4^{2-}

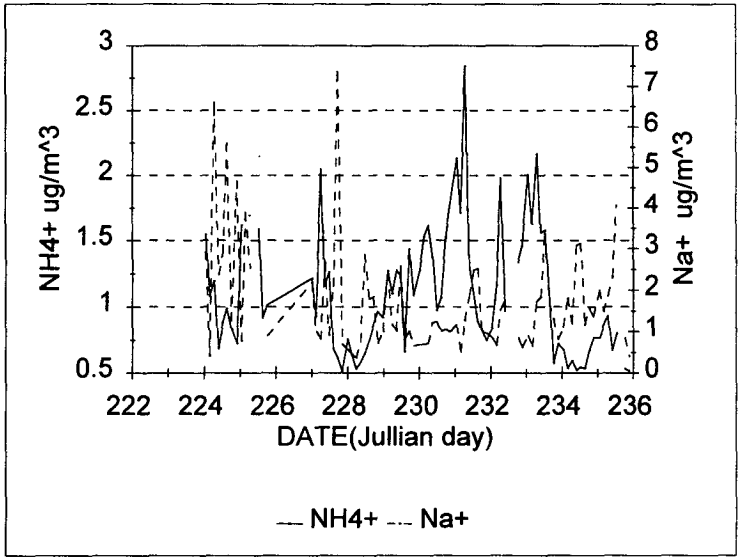


Fig. 9-14. Temporal concentration variation of NH_4^+ and Na^+ in Masan Bay in the summer of 1996

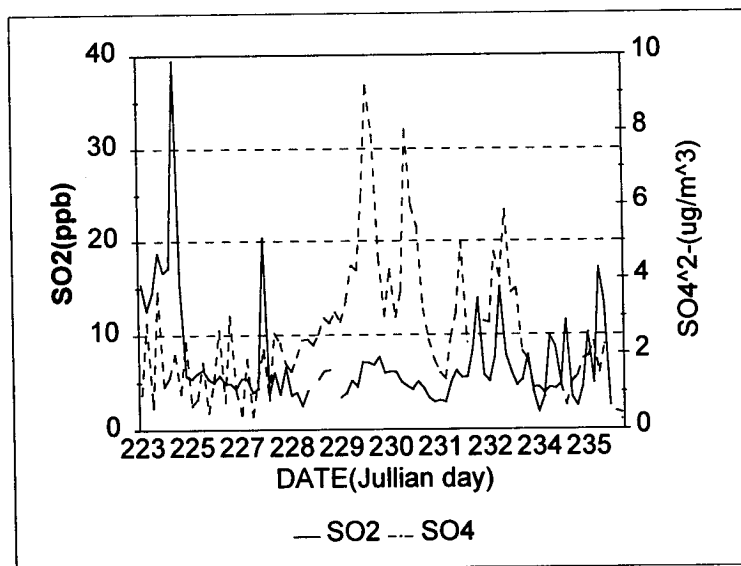


Fig. 9-15. Temporal concentration variation of SO₂ and SO₄ in Masan Bay in the summer of 1996

의 농도변화 양상이 NH_4^+ 와 더욱 유사한 것으로 보아 입자상에서 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 가 우세한 성분인 것으로 판단된다. 대기중의 DMS의 농도는 겨울보다 매우 증가된 값을 보여주었다(Fig. 9-16). 이와 같은 증가는 대기중 DMS의 공급원인 해수에서의 식물플랑크톤의 농도 증가에 기인한 것으로 해수중의 DMS 농도도 겨울철과 비교하여 매우 높게 나타났다(Fig. 9-17). 아직 여름철의 Chl. a 분석 결과가 나오지 않아 정량적인 비교가 어렵지만 해수와 대기중의 DMS 농도증가는 해수중의 식물플랑크톤 증가에 일차적으로 기인하는 것으로 사료된다. 대기중의 다른 요소와는 달리 대기중 DMS 농도는 Na^+ 와 함께 주야간 뚜렷한 변화를 보였다(Fig. 9-18). 즉 해풍이 우세한 낮 시간동안 농도가 증가하였고 육상에서 바람이 부는 밤 시간동안 농도의 감소가 관측되어 Na^+ 와 함께 DMS의 공급원이 해양인 것을 확인할 수 있었다. 대기중의 DMS와는 달리 해수중의 DMS 농도는 뚜렷한 주야간의 변화를 보여주지는 않았지만 조석에 따라 농도변화를 보여주었고 온도, 염분, DO의 자료해석을 통해 정밀한 분석이 요구된다(Fig. 9-19). 관측초기부터 마산만 일대에서 적조가 쇠퇴하는 것으로 관측되었고 이를 반영하여 해수중의 DMS가 점차 감소해가는 경향을 보였다. 이는 해수중의 DMS가 결정적으로 식물플랑크톤의 농도와 밀접한 관계인 것을 시사한다. 하지만 해수중의 DMS농도 변화와는 달리 대기중의 DMS농도는 적조의 현상과 비교적 무관한 변화를 보여 이의 적절한 설명이 요구된다. 적조현상이 마산만 내에서 비교적 국지적으로 일어나는 반면 대기중의 DMS농도는 마산만 일대의 전반적인 해수중의 농도와 air-sea exchange rate에 좌우되어 나타나는 현상으로 이해할 수 있겠다. 돌섬 주변 해수 DMS농도를 비교하기 위하여 300m 떨어진 두 곳(site 1 돌섬 남단, site 2 돌섬 선착장)에서 해수를 채취하여 그 농도를 비교한 결과가 Fig. 9-20에 나타나 있다. 그림에서 볼 수 있듯이 30% 정도 범위내에서 서로 유사한

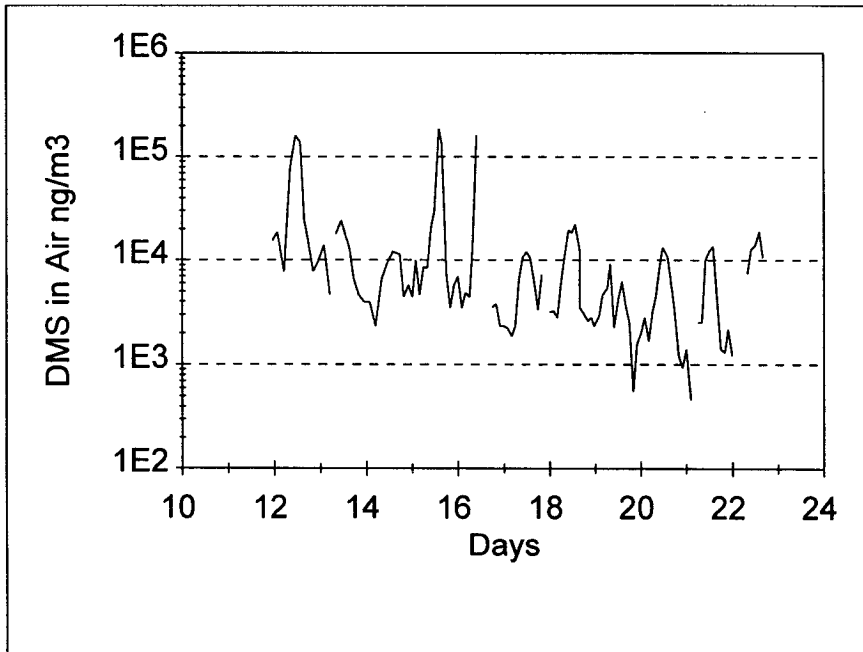


Fig. 9-16. Temporal concentration variation of atmospheric DMS in Masan Bay in the summer of 1996

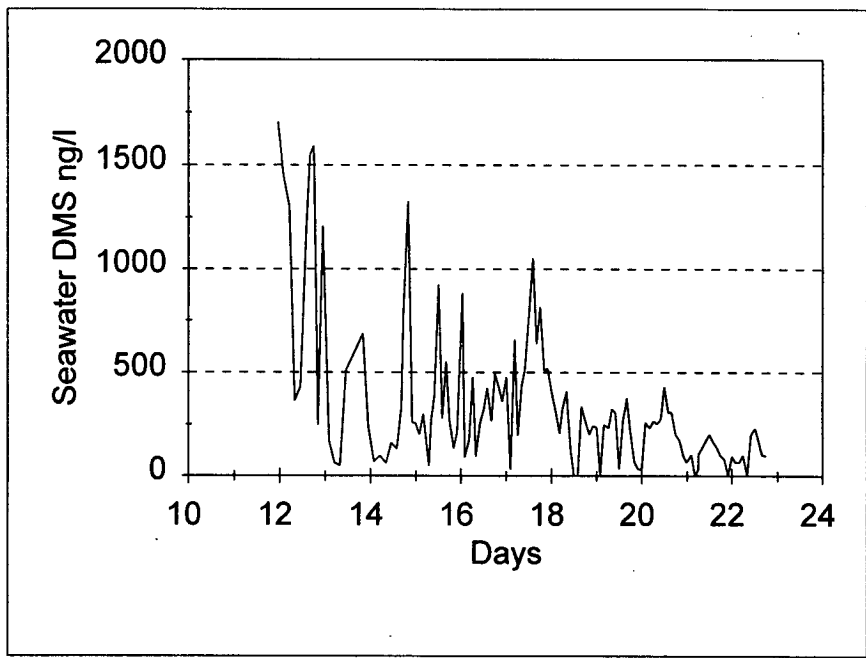


Fig. 9-17. Temporal concentration variation of seawater DMS in Masan Bay in the summer of 1996

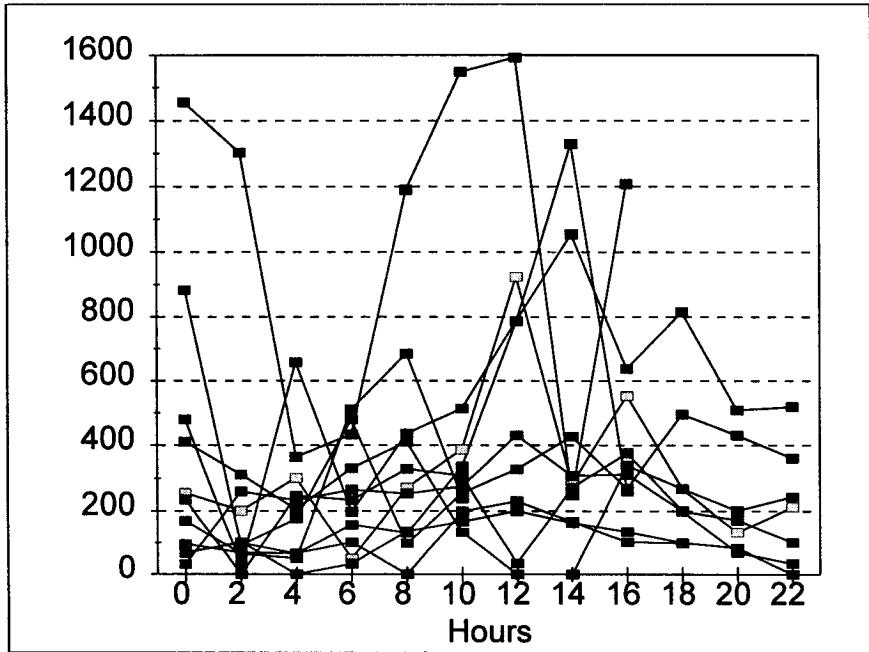


Fig. 9-18. Hourly variations of atmospheric DMS during the summer of 1996

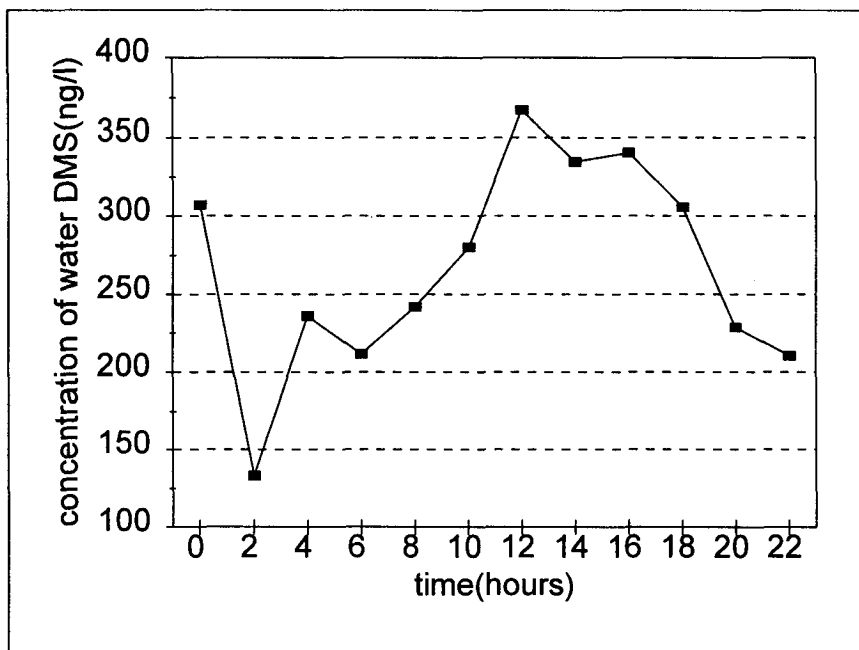


Fig. 9-19. Hourly variations of seawater DMS during the summer of 1996

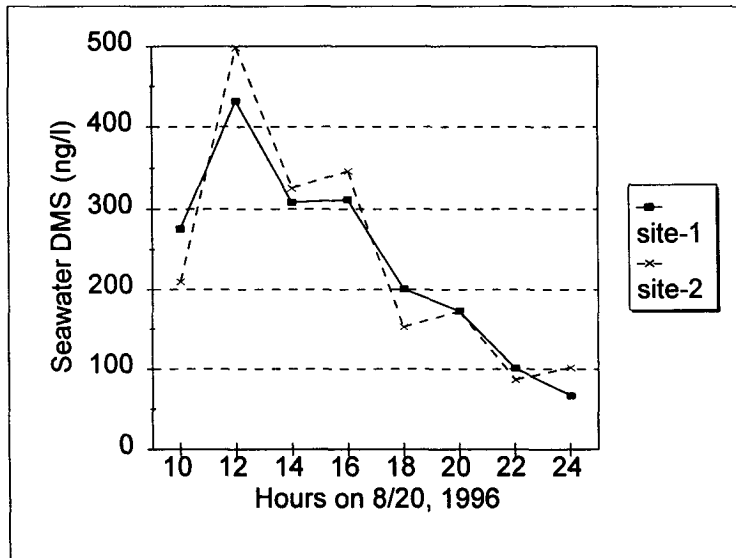


Fig. 9-20. Comparisons of the sea water DMS collected at two different sites on Dot Island.

농도를 보여 적어도 돌섬 주위의 해수에는 지역적으로 큰 차이가 나타나지 않음을 확인할 수 있었고 시료채취와 분석의 신뢰도를 확인할 수 있었다. 하지만 마산내만과 외만에서의 지역적인 DMS 농도차이가 확실히 있음이 관측되었다. 마산만 내만(St. A)에서 외만(St. H)으로 가면서 표층의 DMS 농도를 측정한 결과가 Fig. 9-21이다. 내만에서 가장 높은 농도를 보였고 외만에서의 DMS농도는 감소되면서 균일한 값을 보였지만 돌섬 주위의 해수(St. B, C)에서 오히려 농도가 최저치를 보여 돌섬에서 관측한 해수 DMS가 마산만 농도를 대표할 수 없을 수도 있음이 밝혀졌다. 특히 여름철 대기중의 DMS와 돌섬에서 관측된 해수중의 DMS가 서로 연관성이 거의 없게 나타난 것이 이와 같은 원인에 기인할 수도 있다. 마산만 전체에서 해수중의 DMS농도의 연속적인 관측만이 이를 규명할 수 있을 것으로 판단되며 3차년도 연구에서 이와 같은 시도가 이루어 졌다. 2차 연구에서 St. A와 G에서 수심에 따른 DMS 농도를 분석한 결과가 Fig. 9-22과 Fig. 9-23에 각각 나타나 있다. 내만(St. A)에서는 모든 수심에서 농도가 외만 지역보다 높게 나타났지만 각 정점에서 수심 4~5 m 정도에서 DMS 최소층이 산소 최소층과 같이 공통적으로 관측되었다. 마산만에서 DMS의 공급원은 식물플랑크톤이 대량으로 서식하는 표층과 분해가 활발히 일어나는 저층인 것이 이번 연구에서 확인되었다.

5. 제3차 '97년 하계 조사결과

가. 질소 화합물 (HNO_3 , NO_3^- , NH_4^+)

3차 관측에 HNO_3 의 농도변화는 0.1 ppbv에서 3.6 ppbv 이상 관측되었으며(Fig. 9-24) 평균농도는 0.3 ppbv로 '96년 여름철 평균농도와 동일하였

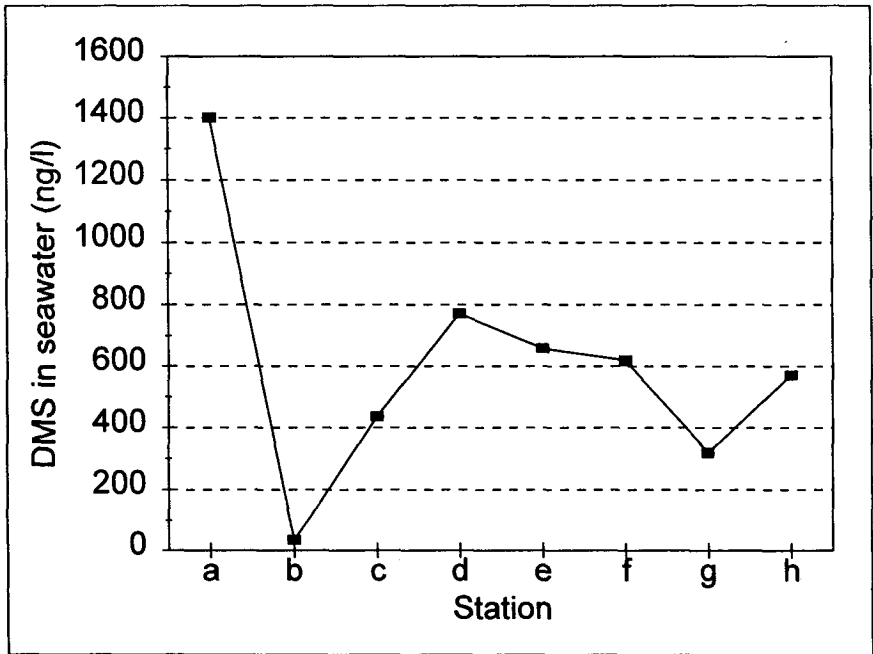


Fig. 9-21. Measured surface sea water DMS concentrations in the Masan Bay during summer of 1996

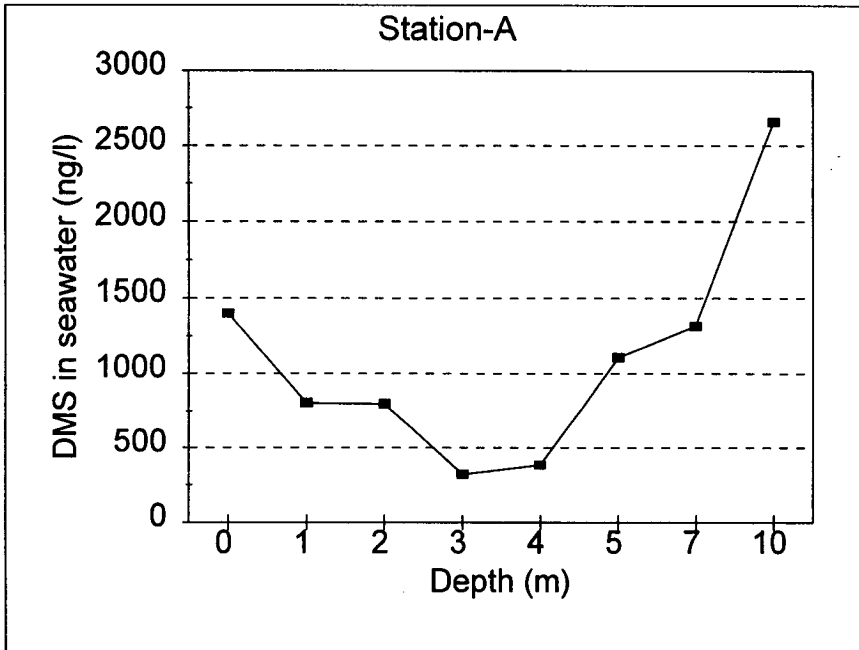


Fig. 9-22. Sea water DMS concentrations along the depth at Station A on summer of 1996

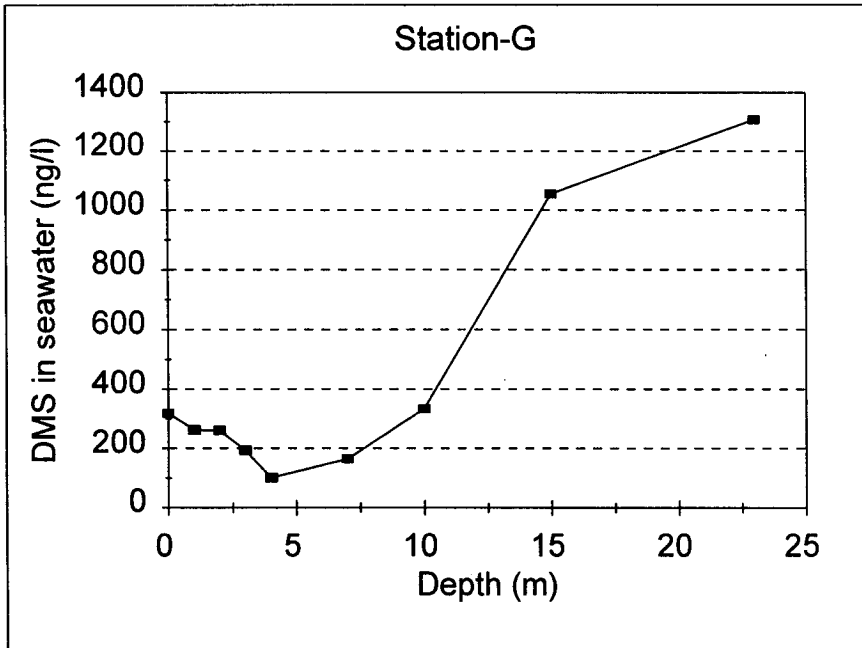


Fig. 9-23. Sea water DMS concentrations along the depth at Station G on summer of 1996

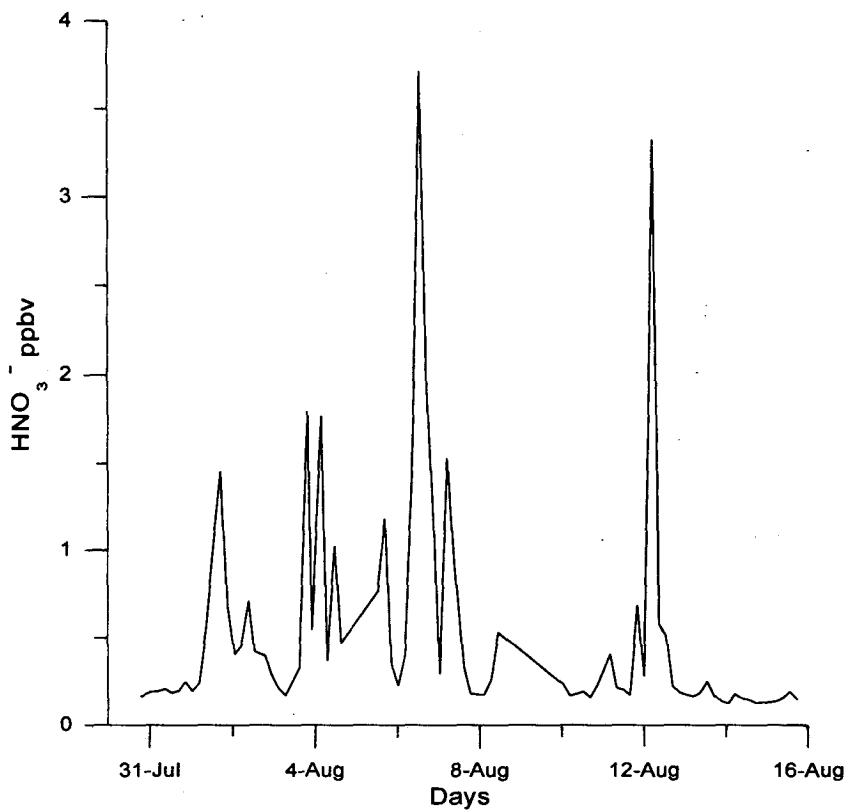


Fig. 9-24. Variation of nitric acid during the 1997 summer campaign

다. 전반적으로 1 ppbv 이하의 농도를 유지하였으며 종종 육풍이 우세한 야간에 주위 육상의 영향을 받아 고농도의 HNO_3 가 관측되었다. HNO_3 의 생성이 주로 이루어지는 주간 농도가 오히려 낮게 관측되고 있는 것은 주간에 비교적 청정한 해풍의 영향을 받기 때문이다. NO_3^- 의 경우도 HNO_3 와 마찬가지로 농도변화가 크게 나타났으며 관측 한계 농도에서 $12 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 정도까지 농도분포를 하였다(Fig. 9-25). '97년에 관측된 평균농도는 $1.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 '96년 $2.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 과 비슷한 정도를 보였다. NH_4^+ 는 NO_3^- 와 비슷한 변화 경향을 보여주어 입자상의 물질내 수용성 성분에서 NH_4NO_3 의 우세함을 다시 확인하여 주었다. 3차 연구에서 관측된 평균농도는 2차 연구 '96년 관측된 평균인 $1.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 과 거의 유사한 $1.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 의 값을 나타내었다(Fig. 9-26).

나. 수용성 해염 성분 (Na^+)

본 연구에서 입자상의 물질 내 수용성 Na^+ 의 경우 거의 모두 해염기원이라고 가정할 수 있어서 Na^+ 변화를 대기중 해양의 영향을 판단하는 기준으로 사용할 수 있기 때문에 전년도 관측때와 같이 바람의 방향에 따라 주고야저의 주기적인 변화가 상당히 뚜렷하게 나타났다(Fig. 9-27). 3차 조사에서 Na^+ 의 평균농도는 $0.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 전년도 여름 관측시보다 약간 감소되었다.

다. 황 화합물 (SO_4^{2-} , MSA, DMS)

3차 관측중에 나타난 SO_4^{2-} 의 농도변화는 다른 입자상 화합물중 NH_4^+ 와 비슷한 경향을 보여 주었다(Fig. 9-28). SO_4^{2-} 와 NH_4^+ 의 상관성은 NO_3^- 와

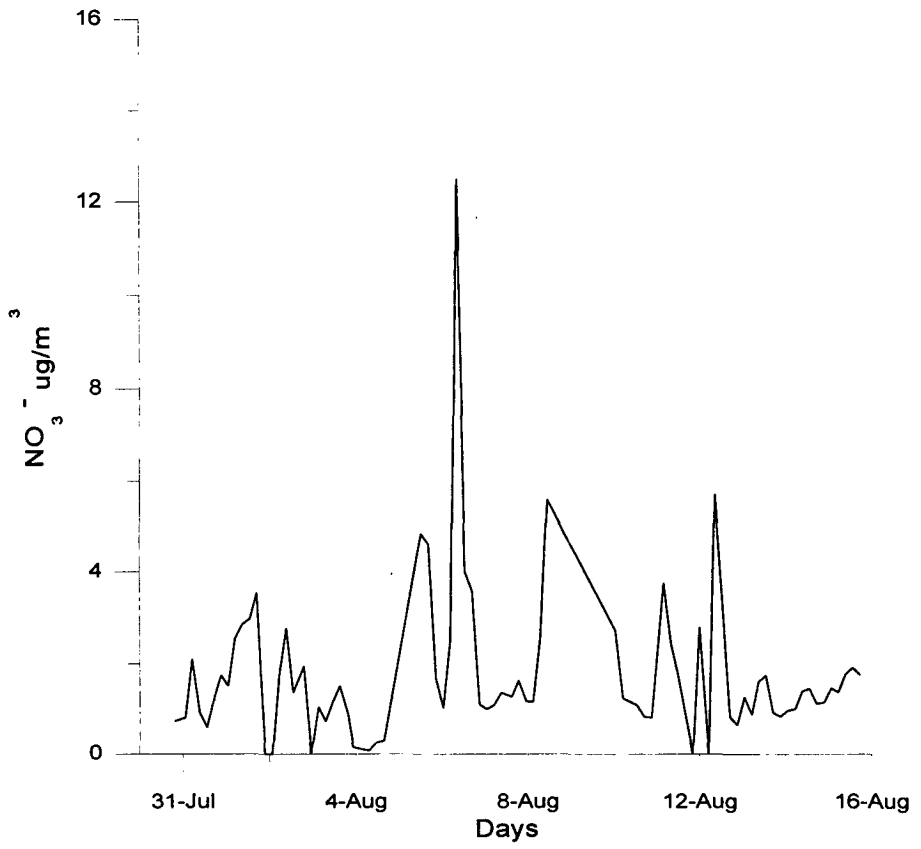


Fig. 9-25. Variation of nitrate during the 1997 summer campaign

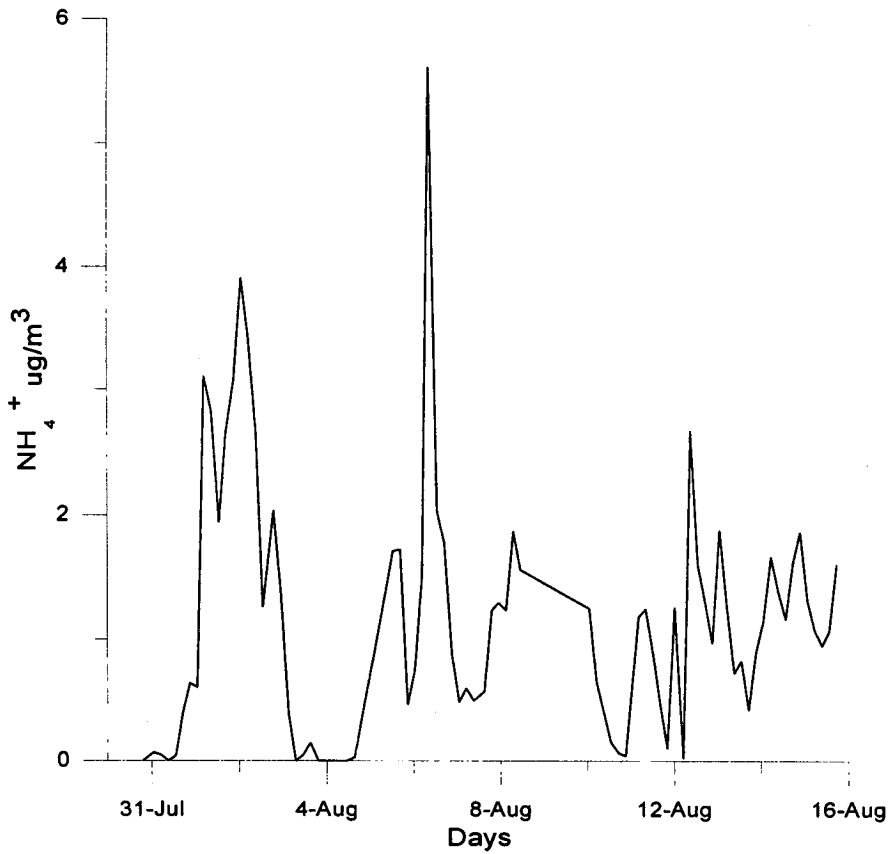


Fig. 9-26. Variation of ammonium during the 1997 summer campaign

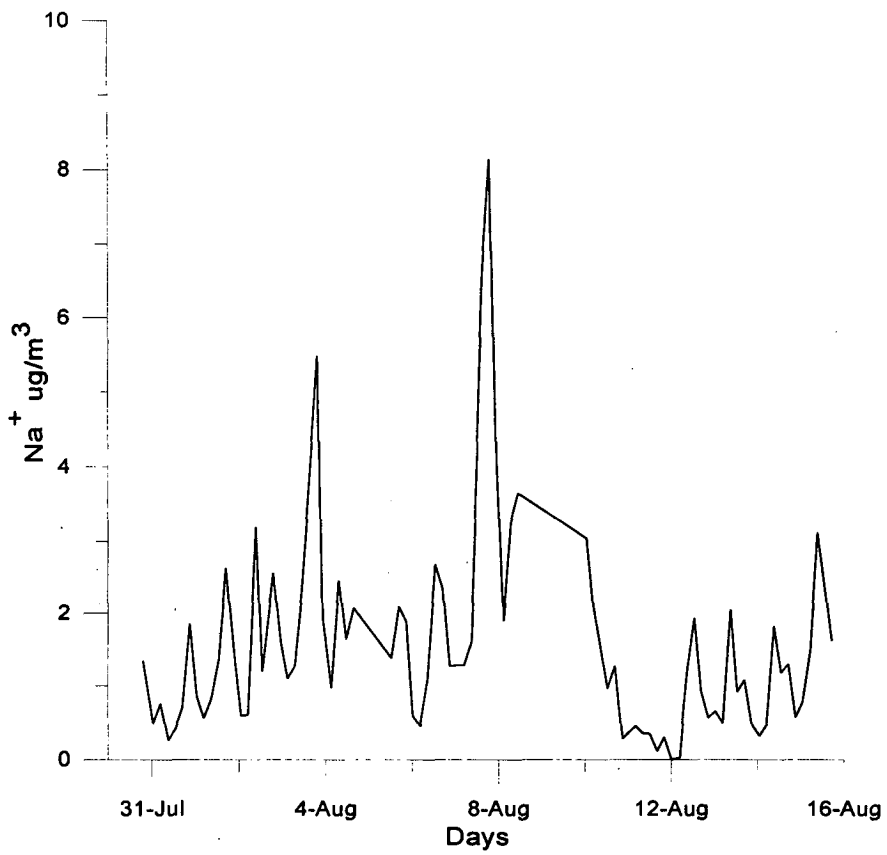


Fig. 9-27. Variation of sodium during the 1997 summer campaign

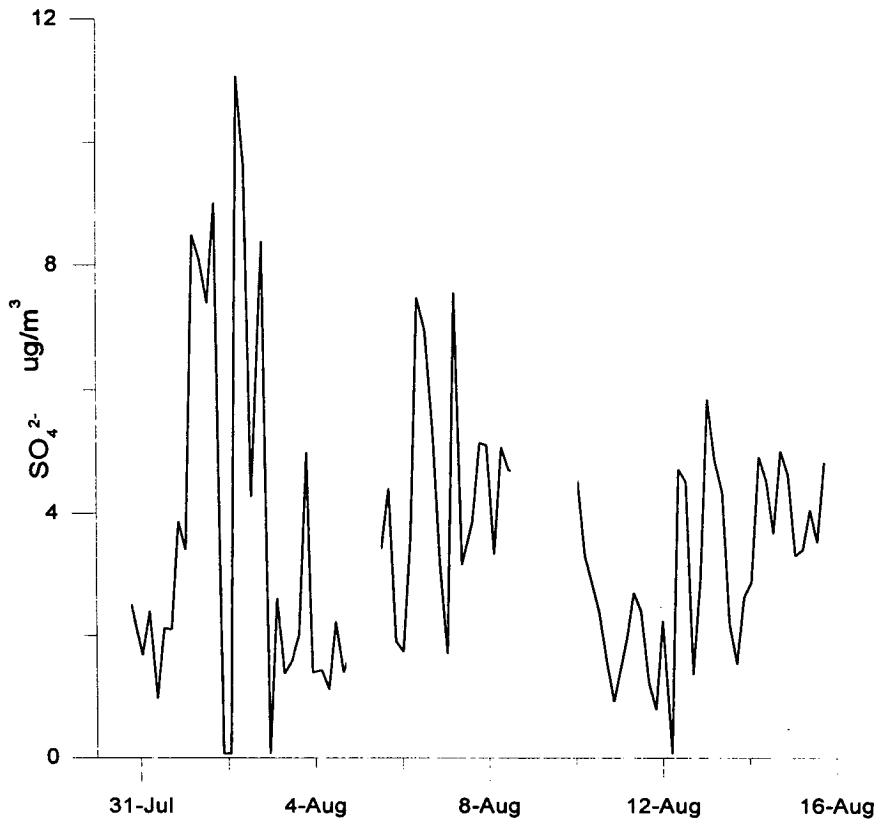


Fig. 9-28. Variation of sulfate during the 1997 summer campaign

NH_4^+ 의 상관성보다 약간 작지만 유사한 변화양상을 보여 입자상의 물질 성분중 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 나 $(\text{NH}_4)\text{HSO}_4$ 의 성분이 NH_4NO_3 와 함께 주요한 부분을 차지하고 있음을 보여주고 있다. 평균농도는 전년도보다 증가된 $3.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 을 나타내었다. 대기중의 DMS 농도변화는 Fig. 9-29와 같이 관측되었다. 보통 10~100 pptv 정도의 농도를 유지하였지만 8월 2일부터 6일까지 ppbv 단위의 높은 DMS가 관측되었다. 이 기간동안의 높은 DMS 농도에 대해서는 다음 절에서 설명하고자 한다. 제한된 시기동안 아주 고농도의 DMS가 관측되었지만 농도는 전체적으로 '96년 1차와 2차 관측보다 10배 이상 감소된 것으로 나타났다. 3차 관측의 경우 관측지점 주위의 조간대 macroalgae bed를 피하여 직접 마산만 해수 위 3m 위치에서 대기를 포집하였기 때문에 1, 2차 관측중에 발생한 조간대에서의 DMS 영향을 최대한 배제한 결과로 추측된다. 또한 3차 실험에서 GC-FPD를 이용한 DMS 분석을 시도한 바, 이전의 GC-PID 분석과의 차이도 배제할 수 없다. 하지만 해수중의 DMS 농도가 전년 여름과 비교하여 거의 같은 농도를 보여주고 있는 것으로 보아 조간대에서의 macroalgae에 의한 영향이 감소되어 대기중의 DMS 농도도 감소되어 나타나는 것으로 보인다. 해수 중의 DMS 농도는 측정 한계 농도부터 2000 ng/l 정도까지 분포하였으며 대기중의 농도와 마찬가지로 8월 4일부터 6일까지 농도증가를 보였다(Fig. 9-30). 대기와 해수중의 DMS 농도변화는 다른 관측시기와 전혀 다른 변화 양상을 나타내었다. 즉 8월 2일부터 6일까지 오히려 Chl-a의 농도는 최소값을 보여주었다(Fig. 9-31). 3차 연구에서 처음 관측된 MSA의 농도는 다른 어떤 입자상의 물질보다 SO_4^{2-} 와 유사한 변화양상을 보여주었다(Fig. 9-32). MSA의 농도는 SO_4^{2-} 보다 20배 정도 작지만 이와 같은 유사한 농도변화 추이는 SO_4^{2-} 의 형성과 소멸에 MSA가 다른 어떤 입자상의 물질보다 유사한 상관성을 갖고 있음을 나타내고 있다. MSA의 기원이 DMS인 것을 고려하

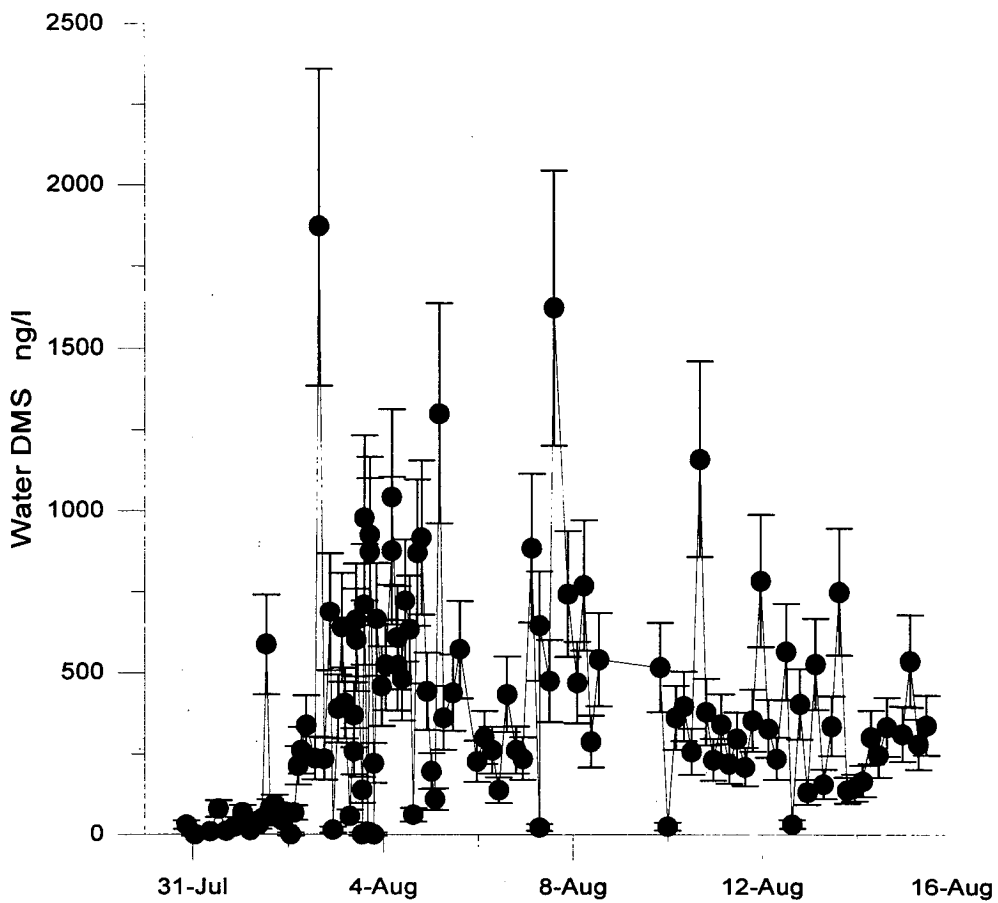


Fig. 9-30. Seawater DMS during the 1997 summer campaign

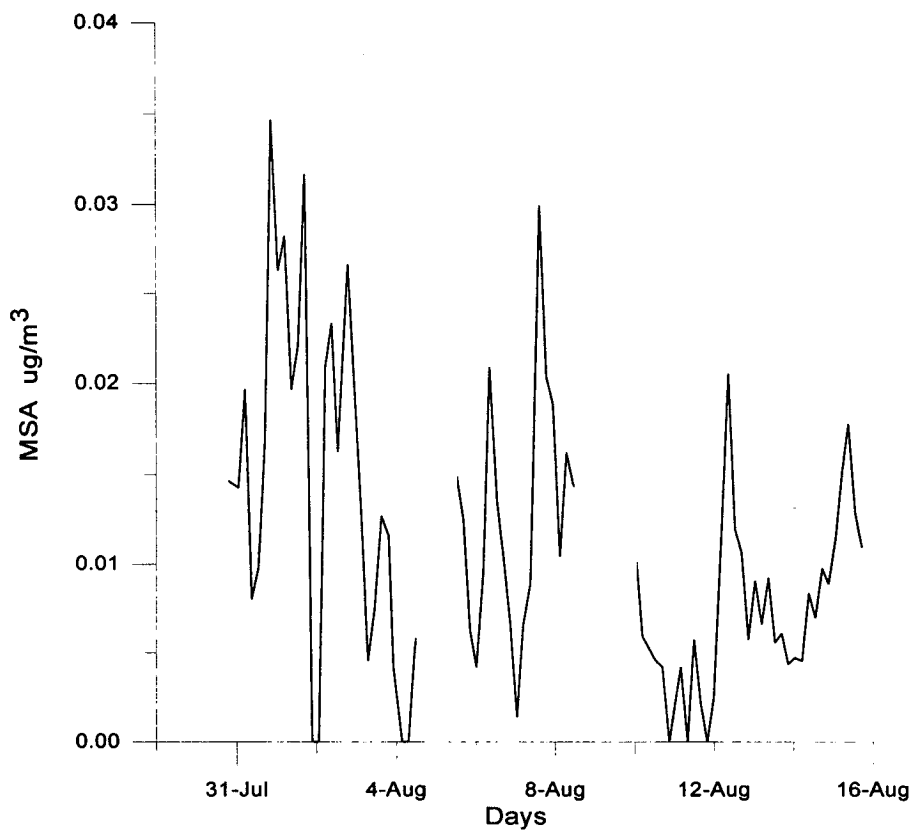


Fig. 9-32. Variation of MSA during the 1997 summer campaign

면 마산만 해수에서 유래한 DMS가 산화과정을 통하여 궁극적으로 SO_4^{2-} 의 농도에 영향을 줄 수 있는 가능성을 보여주고 있다. DMS의 산화속도와 과정이 해륙풍에 따른 풍향변화에 비하여 느리고 복잡하기 때문에 DMS와 SO_4^{2-} 의 직접적인 상관관계를 규명할 수는 없었다. 하지만 해수중 DMS에 의한 대기중 산성도 변화와 나아가 패각류의 외피에 영향을 줄 수 있다는 가설을 일부 뒷받침하고 있다.

라. 해수-대기간 DMS 교환

Fig. 9-33은 1997년 8월 6일 St. G에서 관측된 DMS, DO, Temp., Chl-a, 염분의 수직분포이다. DMS는 표층과 저층에서 높은 농도를 보여주고 Chl-a와 DO는 표층으로부터 계속 감소하여 바다 근처에서는 관측 한계값을 보였다. 염분은 표층에서부터 점차 증가하는 양상을 보였다. 이 장소에서 저층에서 높은 DMS는 전년도 연구에서 이미 관측되었으며 3차 관측동안 비슷한 분포를 보여주었다. 이와 같은 무산소지역에서 높은 DMS증가는 박테리아의 활동에 따른 증가로 추측되며 정확한 기작은 추후의 지속적인 연구를 필요로 한다. Station D에서도 모든 요소들이 낮은 수심에서도 St. G와 비슷한 분포를 이루었다(Fig. 9-34). 전반적으로 내만으로 갈수록 염분이 낮아졌지만 Chl-a와 DMS의 농도는 외만인 St. G보다 높게 관측되었다. Station A의 경우 표층에서 DMS 증가가 다른 지역과는 다르게 관측되지 않았다(Fig. 9-35). 염분으로 판단하여 보면 이 지역은 표층으로 담수의 유입이 많아 해수중의 DMS 농도가 표층에서 작게 나타나는 것으로 판단된다. 표층과는 다르게 이 지역에서도 저층에서는 상당히 높은 농도의 DMS가 존재하였다. 해수에서 대기로의 DMS 배출이 단순히 표층수의 DMS 농도에 따라 좌우되지 않음이 본 연구를 통해서 확인되었

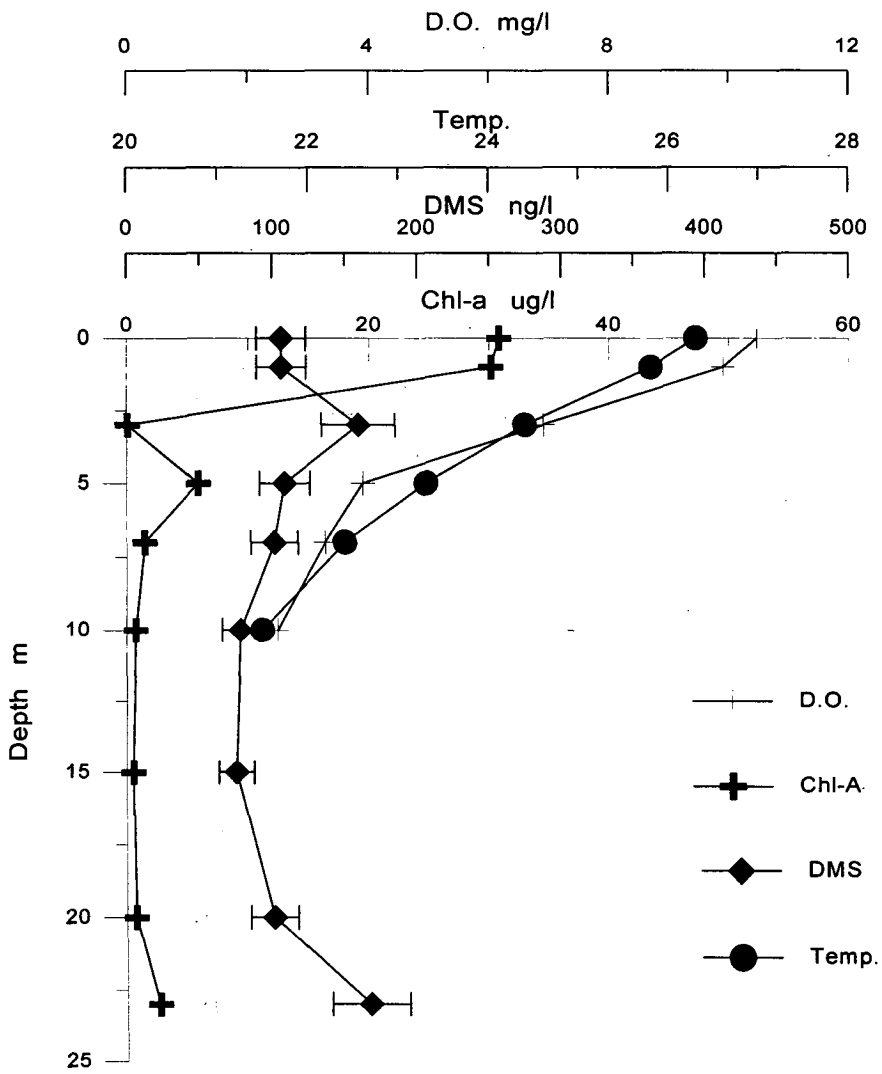


Fig. 9-33. Variations of DMS, Chl-A, temperature and D.O. at station G on Aug. 6th, 1997

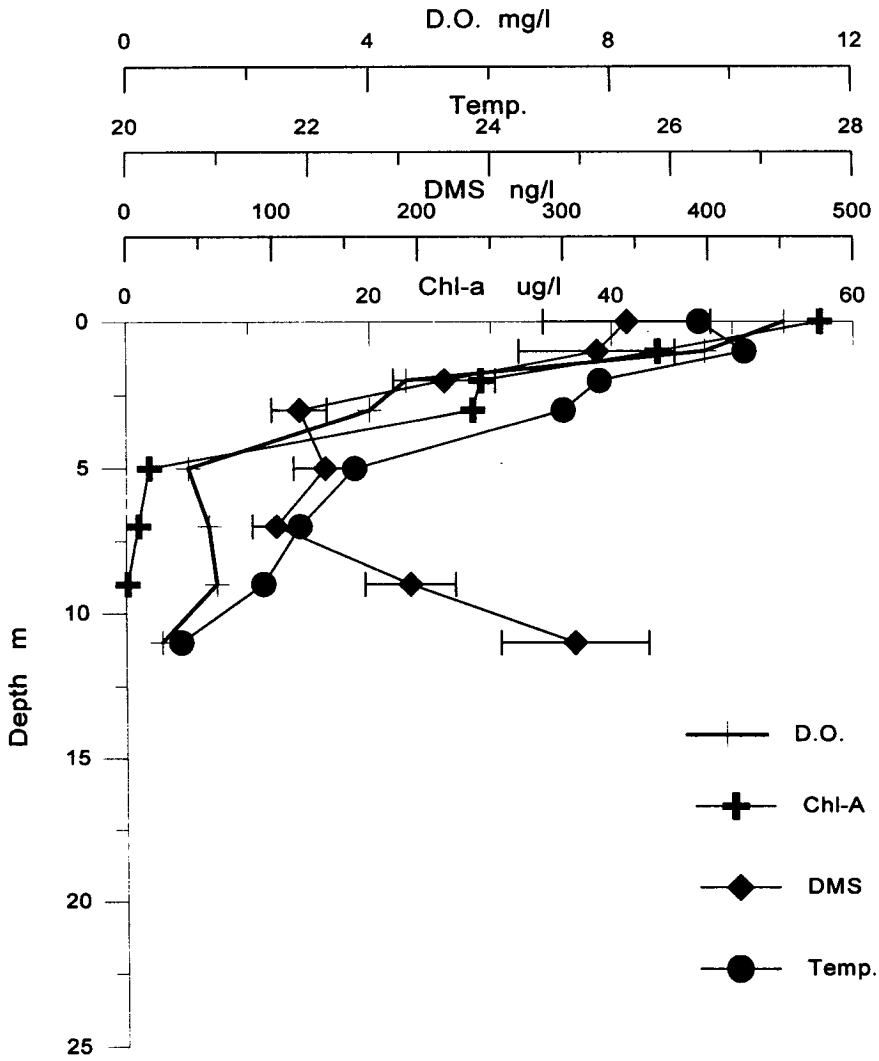


Fig. 9-34. Variations of DMS, Chl-A, temperature and D.O. at station D on Aug. 6th, 1997

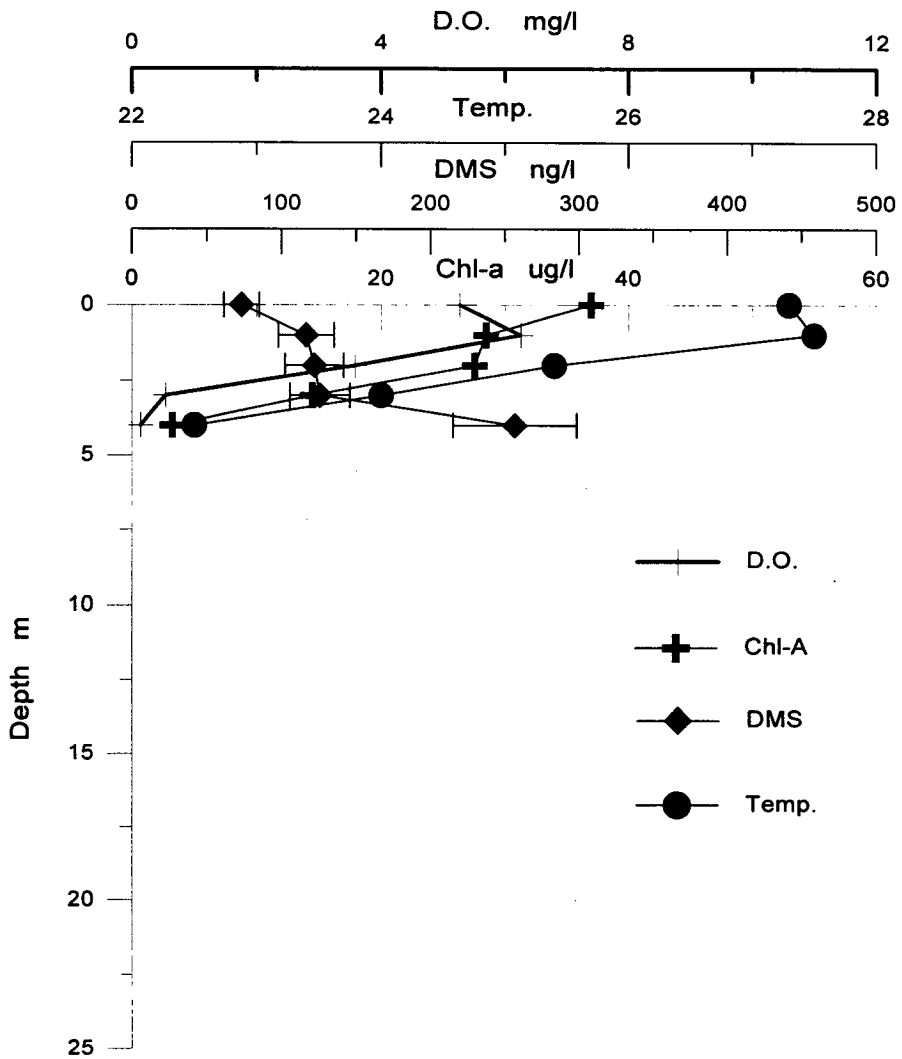


Fig. 9-35. Variations of DMS, Chl-A, temperature and D.O. at station A on Aug. 6th, 1997

다. 즉 Fig. 9-33~35의 예와 같이 마산만 저층의 고농도 DMS가 대기중으로 유입될 수 있다. 앞 절에서 이미 8월 2일부터 8월 6일까지 고농도의 표층 DMS가 돌섬 주위에서 관측된 것을 언급한 바 있다. Fig. 9-36은 10일 동안 마산만의 8 지역에서 관측된 표층 DMS의 농도분포이다. 돌섬에서 관측된 해수중 DMS 농도와 일치하게 8월 2일에서 6일 사이에 내만 지역에서 DMS 농도가 증가된 것을 보여주고 있다. 높은 농도의 DMS 기간 동안 내만 지역에서의 Chl-a의 농도는 아주 낮은 값을 보였고 이것은 이미 Fig. 9-31에서 설명된 것과 유사한 경향이다(Fig. 9-37). 내만 지역에서 낮은 Chl-a와 높은 DMS는 마산만 저층의 낮은 Chl-a와 높은 DMS의 영향을 받아 나타난 결과이다. Station A에서 8월 4일과 7일의 DO와 온도 분포를 보면 8월 4일의 경우 표층과 저층간의 혼합이 일어났던 것을 보여주는 반면 7일의 경우 표층에서 확실한 층이 이루어져 있는 것을 알 수 있다(Fig. 9-38). 8월 2일부터 6일 사이의 마산만, 특히 내만에서의 해수는 강한 바람(Fig. 9-39)에 의하여 저층과의 혼합이 일어나 저층의 높은 DMS와 낮은 Chl-a의 영향을 받은 것으로 여겨진다. 즉, 마산만과 같은 내만의 경우 저층의 높은 DMS가 대기중으로 직접 유입될 수 있음을 확인할 수 있었다. 이와 같은 고농도의 DMS 유입이 주기적으로 발생할 경우 대기중의 산성도에 국지적으로 지대한 영향을 줄 수 있다.

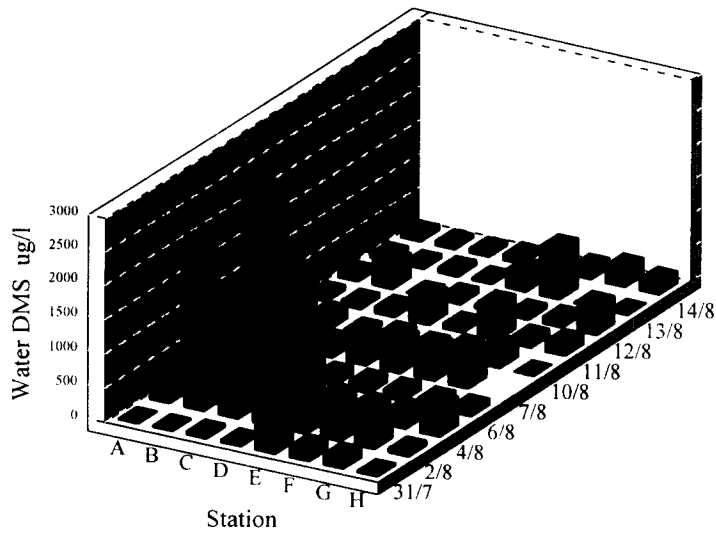


Fig. 9-36. Temporal seawater DMS variation at 8 stations in Masan Bay during the 1997 summer campaign

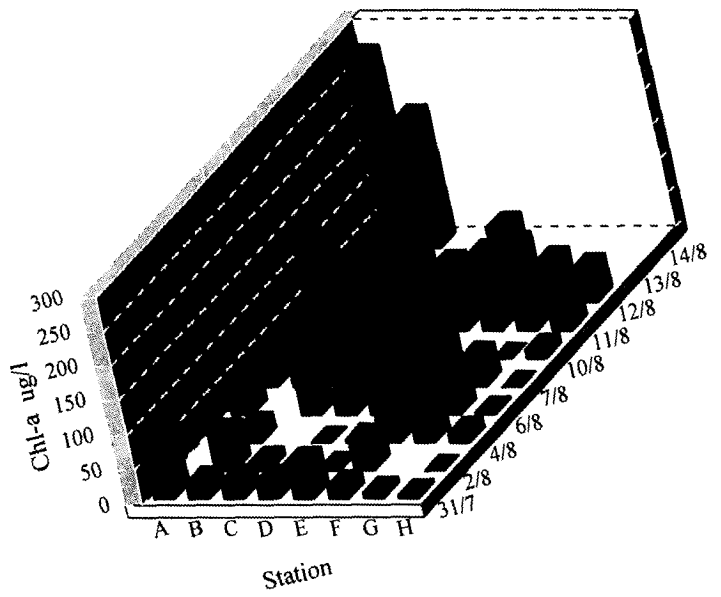


Fig. 9-37. Temporal seawater Chl-a variation at 8 stations in Ma during the 1997 summer campaign

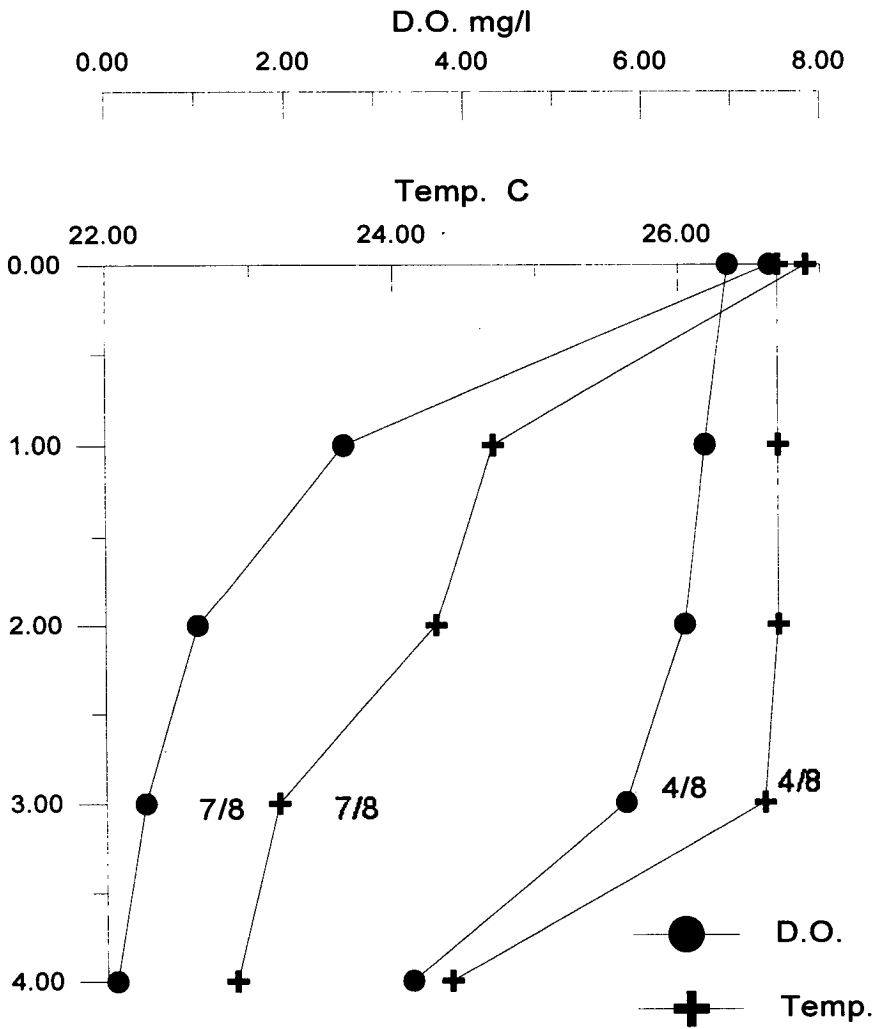


Fig. 9-38. Depth profiles of D.O. and temperature at Aug. 4th and Aug. 7th. of 1997

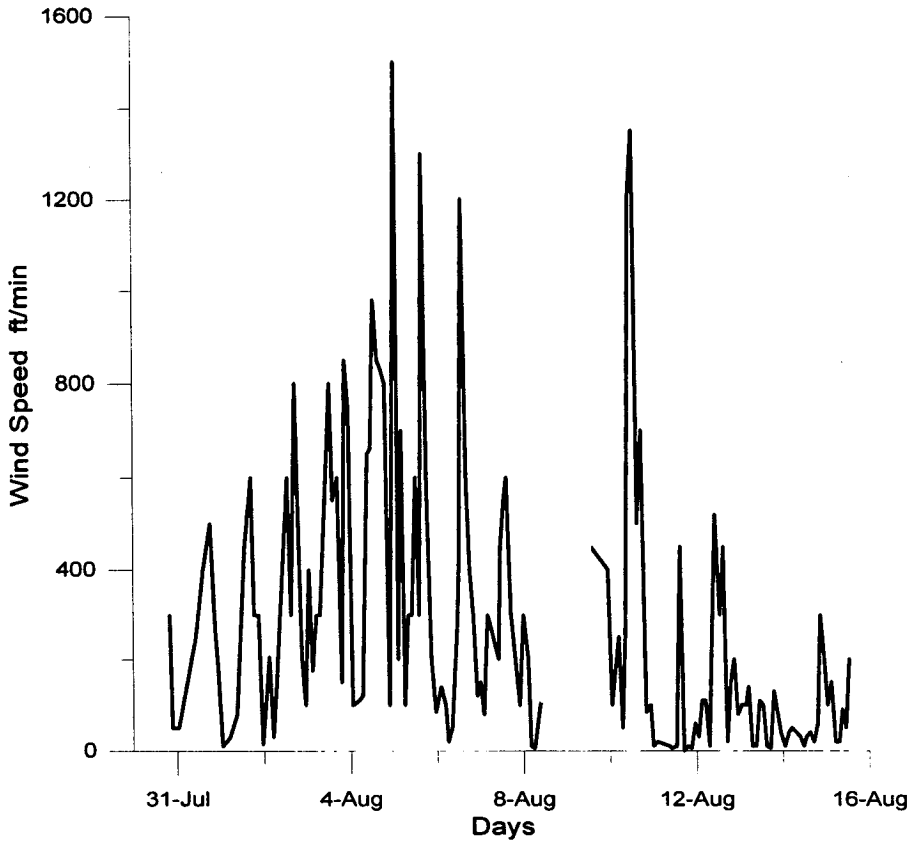


Fig. 9-39. Wind speed variation during the Jul. 31st to Aug 16 th. of 1997

제 3 절 결 언

1차년도 겨울철 질소화합물의 경우 HNO_3 는 0.6 ppb, NO_3 는 $8 \mu\text{g}/\text{m}^3$, NH_4^+ 는 $4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 정도를 나타내었고 2차년도와 3차 여름철 관측에서 HNO_3 는 0.3~0.3 ppb, NO_3 는 $1.7\sim 2.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$, NH_4^+ 는 $1.0\sim 1.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 으로 농도가 작게 관측되어 겨울철에 연료사용 증가의 영향이 반영된 것으로 보인다. 다른 관측 화합물과는 달리 NH_4^+ 는 SO_4^{2-} 의 농도와 비교적 유사한 변화형태를 보여 이 기간동안 입자상의 물질중 수용성 이온성분은 대부분 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 형태로 존재하였고 같은 시기동안 SO_2 나 DMS의 농도변화는 전혀 다른 형태를 보여 이때 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 증가 원인은 인간활동에 따른 대기오염과 장거리 이동의 결과로 설명될 수 있다. 이 농도는 다른 연구 지역에서 관측된 자료와 유사한 값을 보여 대기로부터 질소화합물의 유입이 마산만 전체의 질소화합물 유입에 중요한 요인이 될 수 있음을 지시하여 이 분야에 좀 더 집중적인 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다. 입자상 물질중 수용성 이온들의 분석결과를 비교할 때 음이온의 총 당량 양이온의 총 당량에 비해 약간씩 많은 것을 알 수 있었다. 이것은 분석되지 않은 양이온과 수소이온에 기인한 것으로 판단된다. 관측된 황화합물 중 SO_2 의 평균농도는 여름철 15 ppb, 겨울철 7 ppb, SO_4^{2-} 는 겨울철 $12 \mu\text{g}/\text{m}^3$, 여름철 $2.5\sim 3.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$, 1996년 관측의 경우 대기중 DMS는 겨울철 $2000 \text{ ng}/\text{m}^3$, 여름철 $8000 \text{ ng}/\text{m}^3$, 1997년 여름의 경우 $382 \text{ ng}/\text{m}^3$, 해수중의 DMS는 겨울철 $215 \text{ ng}/\text{l}$, 여름철 $340\sim 388 \text{ ng}/\text{l}$ 를 보여 인위적인 오염원의 영향을 받는 화합물은 여름철에 감소하는 반면 해양에서 유입되는 황화합물의 양은 여름철에 증가하는 것이 뚜렷하게 나타났다. 겨울철 해수중의 DMS 농도변화는 식물플랑크톤의 농도변화와 1~2 일의 시차를 두고 유사하게 나타나 동물플랑크톤의 포식작용이 해수중의 DMS 농도변화에 관여하고 있음이 간접적으로 입증되었다. 대기중 DMS의 농도변화는 일차적으

로 해수중 DMS 농도변화에 좌우되었지만 해수면의 거칠기 변화에 의한 해수-대기의 기체교환량의 변화에도 밀접한 관계가 있음이 밝혀졌다. 마산만 주변 해수와 대기에는 비교적 높은 DMS 가 존재하는 것으로 확인되었지만 대기중에 SO_2 나 SO_4^{2-} 의 농도와 밀접한 상관관계를 찾지 못했다. 하지만 대기중에서 DMS의 직접적인 산화 생성물인 MSA의 농도변화 양상이 SO_4^{2-} 와 아주 유사한 것으로 나타나 DMS가 대기중의 산도를 어느 정도 결정할 수 있음을 지시하고 있다. 더구나 단순히 해수 표층의 DMS 농도와는 구별되는 저층의 고농도 DMS가 대기중으로 대량 유입되는 것을 본 연구를 통하여 확인할 수 있었으며 이는 국지적으로 대기중의 산성도를 증가시킬 수 있음을 의미하고 있다.

마산만에 서식하는 일부 조간대 패류의 경우 패각마모현상이 대기오염 정도가 비슷한 다른 연안지역에 비해 더 크게 나타나고 있다. 이와 같은 현상을 줄 수 있는 기작으로 주로 외부의 스트레스, 특히 해수에서 대기로 유입되는 DMS의 산화 산물에 의한 산도 증가에 따른 것으로 추측되었다. 본 연구결과를 바탕으로 볼 때 마산만에서 나타난 고동류와 굴 등의 조간대 상부 서식패류의 패각마모현상은 마산만의 부영양화로 플랑크톤에 의해 기인하는 DMS가 대기중으로 방출되는 것 이외에도 조석작용에 의해 돌섬 외측으로부터 마산만 안쪽으로 해수가 유입될 때 무산소 상태의 저층해수가 표층으로 용승되면서 황산염 환원과정에 기인하는 DMS가 대기중으로 다량 방출됨으로써 국지적으로 나타난 현상으로 보인다. 이러한 가설은 마산만의 표층해수와 대기중의 DMS 농도간에 밀접한 상관관계가 없다는 사실과 이 곳에서 연속관측결과 표층의 용존산소가 조석에 따라 거의 0에 가깝게 감소하는 사실에 근거하고 있다. 본 연구는 마산만의 패각마모현상의 원인이 표층의 플랑크톤 기원 DMS와 저층의 황산염 환원 기원의 DMS가 대기중으로 방출되어 대기중의 산도를 증가시킴으로써 나타난 것이라는 구체적인 증거를 제시하였다.

참 고 문 헌

- 강성현 (1995), "진해만에서 서식하는 해산 이매패류와 복족류의 독성유기오염물질 생물농축과 오염 스트레스의 영향", 박사학위 논문, 서울대학교 해양학과.
- Air Resource Laboratory (1995), "Airshed and Watershed; the role of atmospheric nitrogen deposition", A report of the Shared Resources Workshop, Warrenton, Virginia, USA.
- Ayers, G.P., and J.L. Gras (1991), "Seasonal relationship between cloud condensation nuclei and aerosol methanesulphonate and sulphate in marine air", *Nature* Vol.353, 834-835
- Bak, F., K. Finster, and F. Rothfuss (1992), "Formation of dimethylsulfide and methanethiol from methoxylated aromatic compounds and inorganic sulfide by newly isolated anaerobic bacteris", *Arch. Microbiol.* Vol157, 529-534
- Belviso, S., N. Mihalopoulos, B.C. Nguyen (1986), "The supersaturation of carbonyl sulfide (OCS) in rain water", *Atmos. Environ.*, Vol21(6), 1363-1367
- Biniforti, R., P. Emaldi, R. Ferraroli, M. Maspero, R. Nair, and A. Novo (1993), "Preliminary data on DMS concentration in seawater samples collected from the La Spezia Gulf (Ligurian Sea)", G. Restelli and G Angeletti (eds.), *Dimethylsulphide: Oceans, Atmospherre, and Climate*, 163-172, ECSC, EEC, EAEC, Printed in the Netherlands
- Burgemeister, S., H. Bingermer, G.O. Kirst, M. Janssen, and W. Ernst (1990), "Onthe biogenic origin of dimethyl sulfide: relation between chlorophyl, ATP, organismic dimethylsulfoniopropionate

and dimethyl sulfide distribution in Atlantic surface waters and atmosphere", J. Geophys. Res., Vol 95, 20607-20615

Charson, R.J., J.E. Lovelock, M.O. Andreae, and S.G. Warren (1987), "Oceanic phytoplankton, atmospheric sulfur, cloud albedo and climate", Nature, Vol 326, 655-661

Choi, H.S. (1989), "Polychlorinated biphenyls residue in Masan Bay. Ph.D. thesis, National Fisheries University of Pusan.

Choi, H.S., E.Y. Kwon, and D.S. Lee (1993), "Determination of mono-, di- and tri-butyl compounds in seawater of several bays of Korea", Bull. Korean Chem. Soc., Vol 14 234-238

Dacey, W.H., and S.G. Wakeham (1986), "Oceanic dimethylsulfide: Production during zooplankton grazing on phytoplankton", Science, Vol 223, 1314-1315

Eitzer, B.D. and R.A. Hites (1989), "Atmospheric Transport and Deposition of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans", Environ. Sci. Technol. Vol 23. 1396-1401

Forrest, J., D.J. Spandau, R.L. Tanner, and L. Newman (1982), "Determination of atmospheric nitrate and nitric acid employing a diffusion denuder with a filter pack", Atmos. Environ., Vol 15, 2273-2282

GESAMP (1989), "Atmospheric input of trace species to the world ocean", Report no 14. GESAMP XIX/4, UNESCO, Athens

Grosjean, D. (1983), "Distribution of atmospheric nitrogenous pollutants at a Los Angeles area receptor site", Environ. Sci. Technol., Vol 17, 13-19

- Guieu, C., J.M. Martin, A.J. Thomas, and F. Elbaz-Poulichet (1991), "Atmospheric versus River Inputs of Metals to the Gulf of Lions", *Marine Pollution Bulletin*, Vol 22, 176-183
- Huebert, B.J. and C.H. Robert (1985). "The dry deposition of nitric acid to grass", *J. Geophys. Res.* 90(D1), 2085-2090.
- Kim, K.H., and M.O. Andrea (1987), "Determination of carbon disulfide in natural waters by adsorbent preconcentration and gas chromatography with flame photometric detection", *Anal. Chem.*, Vol. 59, 2670-2673
- Latimer, J.S. (1989). "The Sources, Transport and Fate of Polychlorinated Biphenyls in Narragansett Bay", Ph.D. Thesis, Graduate School of Oceanography at the University of Rhode Island, Kingston, R.I.
- Lee, C.W., B.Y. Kwon, W.J. Yang, and K.W. Lee (1990), "A study on the contamination of heavy metals and organochlorine compounds in sediments from Masan Bay", *Inst. Environ. Res.*, Kyounghnam Univ., Vol 12 5-24
- Malin, G., S.M. Turner, and P.S. Liss, "Sulfur: the plankton/climate connection", *J. Phycol.*, Vol 28, 590-597
- Meixner, F.X., K.P. Muller, G. Aheimer, and K.D. Hofken (1985), "Measurements of gaseous nitric acid and particulate nitrate", in *Physio-chemical behavior of atmospheric pollutants*, Proc. Workshop Pollut. Cycles Transport-Modelling field experiments, Bilthoven, The Netherlands, 103-114
- Olsen. A.R. (1989). "1986 wet deposition temporal and spatial patterns in North America. DE-AC06-76RL0 1830", prepared for the U.S. Environmental Protection Agency under a Related Services

Agreement with the U.S. Department of Energy, Washington, DC.

- Park, J.S. (1982), "Studies on the characteristics of red tide and environmental conditions in Jinhae Bay", Bull. Fish. Res. Develop. Agency Vol. 28, 55-88
- Pavlou, S.P. and Dexter, R.N. (1979). "Distribution of Polychlorinated Biphenyls (PCB) in Estuarine Ecosystem : Testing the Concept of Equilibrium Partitioning in the Marine Environment", *Environ. Sci. Tech.* Vol. 13, 65-71.
- Sisterson, D.L., V.C. Bowersox, A.R. Olsen, T.P. Meyers, and R.L. Vong, "Deposition monitoring: Methods and Results", National Acid Precipitation Assessment Program, December 1989.
- Shaw, R.W., Jr., R.K. Stevens, and J. Bowermaster (1982), "Measurements of atmospheric nitrate and nitric acid: The denuder difference experiment", *Atmos. Environ.* Vol 16, 845-853
- Strickland, J.D. and T.R. Parsons (1968), "A practical handbook of seawater analysis", *Fish. Res. Board Can. Bull.*, Vol 167, 1-311
- Tyndall, G.S., A.R. Ravishankara (1991), "Atmospheric oxidation of reduced sulfur species", *J. Phys Chem.*, Vol 23, 483-527
- You, K.I., and J.H. Lee (1980), "Environmental studies of the Jinhae Bay: ecological succession of phytoplankton populations, 1974-1980", *J. Oceanogr. Soc. Korea*, Vol 15, 100-107

제 10 장
결 론

'95년 5월부터 수행되어 오고 있는 본 연구사업은 '96년 12월까지 제1차 및 제2차년도 사업을 연속사업으로 추진해 왔으며 '97년 12월에 제3차년도 사업을 마무리함으로써 3년간의 연구가 완료될 예정이다. 이 보고서는 제3차년도의 연구결과를 중심으로 정리한 것이지만 동시에 지난 3년간의 연구 결과에 대한 최종보고서이기도 하다.

본 연구사업의 목적은 '90년대 들어 급속히 증가하고 있는 연안해역의 유류 및 유해화학물질의 유출사고와 연안의 유독물질 오염이 수산자원에 어떤 영향을 미치는지를 파악하는 데 있다. 이 분야는 워낙 폭이 넓고 다원화되어 있기 때문에 본 연구에서는 연구대상을 다음 몇가지로 국한하여 연구를 수행하였다. 우선 유류와 유독물질 오염이 수산자원에 미치는 영향을 파악하기 위하여 수산양식이 가장 활발히 이루어지고 있는 남해안을 연구대상 해역으로 정해 굴 성장에 치명적인 영향을 미치는 유기주석화합물 오염실태 조사 및 위해성 평가를 시도하였으며, 이 화합물이 해산 어패류에 미치는 독성을 알아보기 위하여 성계와 넙치를 이용한 독성조사와 패류에 대한 생리 및 조직병리학적 조사를 동시에 실시하였다. 또한 유류오염 발생해역에 서식하는 어류의 쓸개즙에 축적되어 있는 다핵방향족탄화수소(PAH)의 분석 기술을 정립함으로써 향후 기름유출사고 발생시 어민들이 피해보상을 제대로 받을 수 있는 피해입증기술을 확보하였다. 뿐만 아니라 기름오염과 적조 발생과의 관련 여부를 확인하기 위하여 유류 및 유처리제가 동물플랑크톤의 사망률에 미치는 영향을 파악하였으며, 마산내만에 서식하는 패류의 패각마모 현상의 원인을 규명하기 위하여 해수-대기간 질소 및 황화합물 교환율 산정과 분포 조사 등을 수행하였다.

'95년 10월부터 '97년 8월에 걸쳐 남해의 여수 주변해역을 중심으로 31개 지점에서 유기주석화합물 오염조사를 실시하였는데, 조사대상은 해수, 대수리, 참굴, 진주담치 등으로 각 대상중의 유기주석화합물 농도와 이 화

합물이 수생생물에 미치는 영향을 고등류의 대수리를 중심으로 조사하였다. 그 결과 표층해수로 부터도 유기주석화합물이 광범위하게 검출되었으며, 또 선박활동(조선활동 포함)이 활발한 곳에서 높은 농도를 보였다. 또 분석된 전 폐류시료로부터 유기주석화합물이 검출되었으며, 또 항구 및 조선소 등 선박활동이 활발한 곳에서 역시 높은 농도가 나타남으로써 유기주석화합물 오염이 선박의 방오페인트에서 용출되어 나오는 것을 알 수 있었다. 한국산 대수리에 있어서 임포섹스(imposex)의 출현율은 남해의 보성만, 강진만 및 완도대교 지점을 제외한 전 지점에서 100%였다. 또 RPL Index 값이 전체적으로 높고, TBT와 TPhT 등 Tri- 형태 화합물 농도가 RPL Index 값과 정의 상관관계를 보여 유기주석화합물 중에서도 Tri- 형태 화합물의 독성이 강함을 암시하였다.

유기주석화합물의 평가 및 관리를 위한 TBT의 환경운명 예측 및 위해성 평가를 위해 지역수계의 특성을 고려한 TBT의 환경운명예측 모델을 설정하여 마산만에 적용함으로써 그 유용성을 검증하였다. 우선 마산만에서의 TBT의 각 Box별 추정 유입부하량은 Box A가 1.46×10^3 (t/d), Box B가 1.46×10^{-7} (t/d), Box C가 1.65×10^{-4} (t/d)으로 나타났다. 모델 시뮬레이션 결과 예측치는 전반적으로 거의 동일한 오더에서 실측치와 잘 일치하고 있어 모델의 농도재현 능력은 충분한 것으로 검증되었다. 또한 TBT 오염이 해양생물 및 인체에 미치는 위해성 평가를 실시하였는데 해양생물에 대한 위해성 평가 결과 생물의 초기성장 단계에서 표면박층의 고농도에 영향을 받을 가능성이 큰 것으로 밝혀졌다. 또한 권패류(복족류)에 대한 영향은 아주 저농도에서 일어나고, 예측결과 및 실측결과는 영향농도의 수십배나 되는 고농도로 존재하고 있음을 알 수 있었다. 인체에 미치는 영향은 다섯 종류의 시나리오를 구성하여 각 시나리오별로 위해성을 검토하였으나 어느 시나리오에 있어서도 인체에 대한 위해성은 최고 위해도 0.32로 높지 않음

을 알 수 있었다. 그리고 TBT의 관리를 위한 대안평가를 실시하였는데 기술적인 측면과 행정적인 측면을 고려하여 대안을 설정한 후 그 유용성을 평가하였다. 그 결과 마산만 환경중의 TBT 농도는 약 23%~60% 정도로 감소하였다. 대안에 따른 해양생물과 인체에 대한 위해성 평가를 실시해 어느 대안에 있어서도 해양생물에 대한 위해도를 줄일 수는 있어도 생물의 초기 생활사에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 따라서 유기주석화합물의 관리방안으로는 연안 선박에 대한 TBT 사용규제, 용출속도 규제 등 대안에 따라서는 대상해역의 외해역으로 갈수록 위해도가 감소하므로 해역을 활용목적별로 구분하여 규제를 강화 또는 구분하는 등의 조치도 가능하다. 그러나 TBT는 아주 저농도에서도 권패류에 임포섹스 등의 생식기 이상현상을 유발하여 불임에 이르게 하는등 해양생물에 대한 영향이 특히 큰 물질이므로 최선의 대안은 이들 화합물을 주성분으로 하는 페인트의 사용금지를 단행하는 방법밖에 없다고 하겠다. 추후의 과제로는 유기주석화합물의 생산, 수입, 유통 및 사용량 등에 대한 정보파악과 각 공정에서의 환경에의 유입과정 및 유입량 등의 파악이 시급히 이루어져야 하며, 전국규모의 지역적, 경시적 변화에 대한 장기조사와 해양생물의 개체군에 대한 영향을 정량적으로 파악하기 위한 정밀 조사가 이루어져야 할 것이다.

TBT와 해저퇴적물의 해양생물에 대한 독성을 조사하기 위하여 성게의 정자, 난자, 유생 등을 이용해 생물검정실험을 실시하였다. 수행된 생물검정실험은 8세포기 발생실험, 정자 및 난자 독성실험, 유생 독성실험 등이었다. ED₅₀와 최저유효농도(threshold concentration)로 표시한 독성실험에서 TBT화합물중 TBT가 가장 독성이 강한 것으로 나타났으며, 그 다음은 DBT가 대체로 독성이 강한 것으로 나타났다. 포항, 울산, 온산, 부산, 목포, 군산 등 6개 해역의 표층퇴적물을 추출해 성게에 대한 독성실험을 실시한 결과 울산의 장생포항 퇴적물이 ED₅₀ 25 mg/ml, 최저유효농도 125

mg/ml로 해역중에서 가장 독성이 강한 것으로 조사되었다. 방오페인트로 사용되고 있는 TBT가 해산 어류인 넙치에 미치는 영향을 조사하기 위하여 TBT농도 2, 10, 20 ppb에서 1~10 일간 노출시키면서 혈액 중의 각종 효소 활성, 생화학 성분 및 무기질 등을 조사하였고, 또한 간장 중의 해독 효소인 cytochrome P-450과 cytochrome b5 활성을 조사하였다. 외관상으로는 노출 1일째부터 넙치 간장에서는 울혈이 관찰되었고 이것으로 간장 조직이 심한 장애를 입었음을 알 수가 있었다. 그리고 효소 중에서는 ALT가 노출 농도와 노출 기간이 커질수록 증가 경향을 보였고, AST는 농도와 상관하여 증가하였다. 그리고 LIPA도 무처리된 대조구에 비해 많은 차이를 보임으로써 좋은 지표 항목이 될 수 있음을 확인하였다. Ca 농도도 대조구에 비해 노출 직후부터 급격하게 감소하였고, 노출 기간이 길어지면서 전해질 중 Na^+ 와 K^+ 는 늘어난 반면에 Cl^- 은 줄어드는 것이 확인되어 TBT가 삼투압 조절에 영향을 미치는 것으로 판단되었다. 그리고 해독효소인 cytochrome P-450과 cytochrome b5의 활성은 노출 농도와 기간이 커짐에 따라 감소하였다.

유기주석화합물이 어패류의 생리 및 번식, 성장 등에 미치는 여러 가지 영향을 연구하기 위한 방법의 하나로, 일반 조직병리학적 연구방법을 환경 감시계획에 맞게끔 표준절차화 하였다. 이를 위하여 '95년 여름부터 겨울까지 여수 가막만에서 채집된 굴을 대상으로 생식주기를 조사하였다. 여수에서 채집된 굴은 6월경에 발달기(developing stage)를 거쳐 7월경 본격적인 산란을 하며, 겨울철에 휴지기(resting stage)로 됨을 알 수 있었다. '96년 5월경 경남 통영에서 마산만으로 이식한 굴을 대상으로 체내의 유기주석화합물 농축 정도를 측정한 결과 '96년 7월 말 모두 폐사하기 전까지 TBT, TPhT 등의 유기주석화합물이 모든 굴 시료로부터 검출되었으며 그 농도는 TBT의 경우 1,500~3,000 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다. 또한

TPhT의 경우 78~698 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다. 그러나 3개월간 약 10일 간격으로 채집된 굴의 유기주석화합물 농도는 시간이 지남에 따라 증가하는 경향을 보이지 않았다. 성적으로 성숙한 굴로 부터 정제한 알과 정자에 대하여 TBT 및 TPhT를 분석한 결과, 다른 육질과 비교시 뚜렷한 농도 차이를 발견할 수 없었다. 또한 암수의 생식세포에 있어서 이들 유기주석화합물의 농도는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 그러나 이들 굴은 산란기에 전체 육질중량의 40~60%에 해당하는 생식세포를 체외로 방출하므로 산란활동 자체가 유기주석화합물을 체외로 제거하는데 있어 중요한 수단임을 알 수 있었다. '96년 여수 부근에서 채집한 대형이매패류인 키조개를 대상으로 체내의 유기주석화합물을 생식소와 일반세포로 분리하여 측정 한 결과, 알이나 정자에서 상대적으로 높은 농도의 TBT가 검출되었다. 그러나 마산만에서 채집된 굴과 비교시 여수 지역에 채집된 키조개는 상대적으로 낮은 농도의 유기주석화합물을 포함하고 있었으며, TBT의 경우 150~664 ng Sn/g dry wt의 범위를 보였다. 통영에서 마산만으로 이식한 굴을 대상으로 제작된 조직병리학적 자료를 분석한 결과, 다양한 형태의 병리현상을 발견할 수 있었다. 특히 두드러진 현상은 이식후 아가미, 외투막 등지에 혈구가 집중되는 현상이 초기에 관찰되었으며, 시간이 흐름에 따라 아가미 세포파괴, 소화맹낭의 울혈현상, 소화샘의 규모축소 및 미동정된 다수의 포자형 기생충 등 환경오염이 심각한 지역에서 전형적으로 관찰되는 병리적 증상이 관찰되었다.

기름유출사고에 의한 광어 축양장 피해를 조사하기 위해서 채취된 광어 담즙중의 다환방향족탄화수소(Polynuclear Aromatic Hydrocarbon, PAH) 농도를 HPLC/FLD (High Performance Liquid Chromatograph/Fluorescence Detector) 기기를 이용해서 분석하였다. 분석 결과 크로마토그램의 형태로부터 오염원을 추정할 수 있었으며, 광어 담즙에 기름중의

PAH 성분이 1달이상 머물므로써 장기적인 피해입증 조사도 가능함을 알 수 있었다.

유처리제가 동물플랑크톤의 사망률에 미치는 영향을 평가하기 위해 microcosm을 이용하여 부산항내 동물플랑크톤을 대상으로 독성 실험을 하였다. 실험 대상 동물플랑크톤은 우점종 요각류인 *Calanus sinicus*, *Paracalanus parvus*, *Acartia omorii*와, 지각류인 *Podon polyphemoides*였다. 저농도의 유처리제(Gamasol LT-A와 Hi-Clean)에 단기간 노출되었을 때 동물플랑크톤의 사망률은 두 유처리제의 종류에 따라 차이가 없었다. 그러나 동물플랑크톤 종류에 따라서 사망률은 달리 나타났다. 크기가 작은 *Acartia* 경우 크기가 큰 *Calanus*보다 2~3배 높은 사망률을 보였다. 한편 지각류 *Podon*의 사망률은 요각류 *Paracalanus*의 사망률보다 약 2배 정도 높게 나타났다. 이번 실험을 통해 저농도(100 ppm)에서 단시간(1~3시간) 노출되었을 경우 동물플랑크톤은 최대 26.6%의 사망률을 보였다. 연안역에서 초식성 동물플랑크톤에 의한 평균 섭식압력이 일차생산의 약 10%인 것을 감안하면, 실험 농도 범위의 유처리제 사용시, 약 2% 정도의 식물플랑크톤 증가가 예상되었다.

마산만에 서식하는 일부 조간대 패류의 경우 폐각마모현상이 대기오염 정도가 비슷한 다른 연안지역에 비해 더 크게 나타나고 있다. 이와 같은 현상을 줄 수 있는 기작으로 주로 외부의 스트레스, 특히 해수에서 대기로 유입되는 DMS(dimethylsulfide)의 산화 산물에 의한 산도 증가에 따른 것으로 추측되었다. 본 연구 결과 질소 화합물중 해수 중에서는 영양염류 성분인 대기중의 HNO_3 , NO_3^- , NH_4^+ 의 경우 일반적인 도시 지역과 공업지역에서 발견되는 농도 범위에 포함되어 있었다. 본 연구 결과 마산만 해수중의 DMS는 겨울철에 검출한계~600 ng/L, 여름철에 검출한계~1,700 ng/L 값을 보였다. 대기중의 DMS는 겨울철에 검출한계~12,000 ng/m³, 여름철

에 $300 \text{ ng/m}^3 \sim 10,500 \text{ ng/m}^3$ 으로 일차적으로 해수중의 DMS농도에 영향을 받지만 해수면의 거칠기 등에 따라서도 변하는 것을 확인할 수 있었다. 대기중에서 DMS의 직접적인 산화 생성물인 MSA의 농도 변화 양상이 SO_4^{2-} 와 아주 유사한 것으로 나타나 DMS가 대기중의 산도를 어느 정도 결정할 수 있음을 간접적으로 지시하고 있다. 단순히 해수 표층의 DMS 농도와는 구별되는 저층의 고농도 DMS가 대기중으로 대량 유입되는 것을 본 연구를 통하여 확인할 수 있었으며, 이는 국지적으로 대기중의 산성도를 증가시킬 수도 있음을 의미하고 있다. 하지만 DMS에 의한 직접적인 산성도 증가의 기여도 산정과 조간대 생물에 대한 영향의 정량적인 평가는 지속적인 연구 과제로 남아 있다.

빈발하는 해양오염사고와 각종 폐수의 해양유입에 따라 유류 및 지속성 오염물질에 의해 연안 수산자원이 장·단기적인 오염의 영향을 받을 소지가 점차 커지고 있다. 특히 단기적인 치사효과보다 장기적인 아치사효과는 유전인자를 통해 당대보다는 후세대에 지속적으로 기형생물과 같은 피해를 야기시키기 때문에 계속 주의 깊게 관찰하지 않으면 안된다. 본 연구과제는 이번 3차년도로서 일단 종료되나 이와 같은 연구는 연안 수산자원보호와 어민들이 입는 수산피해에 대한 조사기술 개발 및 지원 차원에서 지속적으로 수행되어야 할 것이다. 본 연구 결과는 종합정리된 후 정부에 정책 건의사항으로 제시됨으로써 해양환경보전 정책에 반영되도록 적극 노력할 예정이다.