

물벼룩과 반달말을 이용한 석유화학 폐수의 생태독성 평가

백병천[†] · 박수호 · 김태령 · 김성욱* · 김상길**

전남대학교 환경시스템공학과

*코오롱워터앤에너지(주)

** (주)환경바이오

Ecotoxicity Evaluation of Petrochemical Complex Wastewater using *Daphnia magna* and *Closterium ehrenbergii*

Byeong-Cheon Paik[†] · Soo-Ho Park · Tae-Ryeong Kim

Sung-Ug Kim* · Sang-Gil Kim**

Department of Environmental System Engineering, Chonnam National University

*Kolon Water and Energy Co., Ltd.

**Hwan Kyeong Bio Co., Ltd.

Abstract

In this study, for the efficient ecotoxicity management of petrochemical complex wastewater, ecotoxicity causing materials analysis, ecotoxicity tests with *Daphnia magna* and the *Closterium ehrenbergii*, correlation analysis and finally the possibility of continuous management for wastewater treatment facilities were conducted. In properties analysis for petrochemical complex wastewater, most of the heavy metals and hazardous substances concentration were lower than U.S. EPA ECOTOX database 24hr-EC₅₀ values, but Cl⁻ and Cu concentrations were higher and them ecotoxicity affecting is expected.

Keywords : Petrochemical wastewater, Ecotoxicity, *Daphnia magna*, *Closterium ehrenbergii*

1. 서론

환경부의 환경관리전략은 용량기반 수용체 중심의 통합관리로 이루어지고 있으며, 수질 환경보전법은 “수질 및 수생태계 보전에 관한 법률”로 개정되었다. 1·2종 사업장은 2011년 1월 1일부터, 3·4·5종 사업장은 2012년 1월 1일부터 생물을 이용한 생태독성

평가가 적용되게 되었다. 또한, 수질원격감시 체계(TMS) 및 산업폐수관리체계 구축 등 물 관리 및 상시 모니터링 체계를 강화하는 방향으로 정책이 수립되어 있고, 이에 따른 국가정책 기반 생물감시장치 설치 수요 또한 증가할 것으로 기대되며, 배출시설과 정수장, 자동측정망을 연계한 통합 모니터링 및 감시 체계 구축의 한 부분으로 생물감시 및 원격

[†]Corresponding author E-mail: bpaik@jnu.ac.kr

모니터링 시스템 구축 또한 중요하게 대두될 것이다¹⁻³⁾.

유럽이나 일본 등 외국의 경우 생물감시는 주로 하천오염관리, 취수원 또는 정수장 관리, 호소 관리용 등으로 주로 적용하고 있으며, 생물감시장치를 이용한 생태독성모니터링 분야를 지속적으로 확대하고 있다⁴⁻⁷⁾.

Y산단의 경우 석유화학산업단지로부터 발생하는 폐수는 폐수처리시설에 유입되어 처리되고 있으나, 2011년 생태독성관리제도 시행으로 새로운 환경기준인 생태독성치에 대응을 매우 필요하며, 관련제도의 조례개정으로 생태독성관리의 점검주기가 월 1회 이상, 조류의 시험생물추가 등 더욱 강화될 예정이다. 현재 폐수처리시설의 경우 실험실의 독성 시험을 하고 있지만, 처리시설 운영특성상 문제 발생시 빠른 대응운전을 위해서 안정적이고 연속적으로 실시간 생태독성치를 파악 및 관리 할 필요가 있다.

본 연구에서는 석유화학산업단지로부터 유입되는 폐수에 대하여 반달말을 이용한 연속식 생물감시장치와 물벼룩을 이용하여 생태독성 모니터링을 수행하고 두 독성값의 상관관계를 분석하였다.

2. 재료 및 방법

Table 1. Culture conditions of *Daphnia magna*

Items	Conditions	
Type	<i>Daphnia magna straus</i>	
Temperature(°C)	20±2	
Day/night cycles(hr)	16 : 8	
Illumination(Lux)	500~1,000	
Food	Algae(<i>Chlorella</i>) - (4.5~5)×10 ⁸ cells/mL	
	YCT (Yeast, Cerophyll, Trout chow)	
Media	Regents	Addition(mg/L)
	KCl	8
	MgSO ₄	120
	CaSO ₄ · 2H ₂ O	120
	NaHCO ₃	192

2.1. 대상시료

본 연구에서는 석유화학산업단지에서 발생되어 폐수종말처리장으로 유입되는 폐수에 대하여 생태독성 평가를 실시하였다. 시료채취 방법으로 2회 시료를 채수하여 생태독성 평가에 사용하였다. 생태독성 시험용 시료로 사용된 시료량은 5 L씩 채수하여 저온에서 당일 배송 및 생태독성시험을 원칙으로 하였다.

2.2. 물벼룩 생태독성시험

2.2.1. 물벼룩 배양조건

생태독성 시험에 사용한 물벼룩의 배양조건은 Table 1과 같다. 생태독성 시험에 사용한 물벼룩의 종은 *Daphnia magna straus*로 국립환경과학원에서 분양받아 배양하였다. 배양 시 온도는 20±2°C 이고, 타이머를 설치하여 명암비를 16:8(hr)로 맞추었으며, 조도는 500~1,000 Lux 사이로 조절해 주었다.

물벼룩의 주먹이인 녹조류는 *Chlorella vulgaris*를 배양하여 (4.5~5.0)×10⁸ cells/mL로 농축한 후 배양액 1 L당 1 mL/day 공급하였으며, 보조먹이인 YCT의 경우 U.S. EPA 방법에 따라 제조하여 주먹이와 마찬가지로 배양액 1 L당 1 mL/day 공급하였다. YCT의 경우

50 mL씩 나누어 냉동보관 하였고, 사용 시 해동하여 냉장보관하며 일주일 이내에 사용하였다. 농축한 주먹이의 경우는 냉장보관(4°C)하여 10일 이내로 사용하였다.

물벼룩 배양액의 경우 수질오염공정시험기준에 따라 KCl, MgSO₄, CaSO₄ · 2H₂O, NaHCO₃를 2차 초순수에 녹여 하루 이상 폭기시켜 사용하였으며, 일주일 이상 된 배양액은 사용하지 않는 것으로 하였다⁸⁾.

2.2.2. 표준독성시험

독성시험에 사용되는 시험생물은 독성물질에 대한 민감도가 일정하게 유지되어야 하며, 잘 통제된 환경에서 정해진 시험 절차를 따라야 한다. 따라서 시료의 유해오염물질에 대한 시험생물의 상대적인 민감도가 일정하게 유지되는 지를 확인하기 위하여 표준독성시험을 수행하였으며 본 연구에서는 중크롬산칼륨(K₂Cr₂O₇)을 표준독성물질로 사용하여, 생물종별 급성독성시험과 동일한 방법으로 수행하였다.

독성시험 시 중크롬산칼륨의 농도범위를 0.0~4.0 mg/L로 하였으며 각 농도별로 5개씩 4반복으로 수행하였다. 반수영향농도(EC₅₀) 산출방법은 수질오염공정시험기준을 따랐다⁹⁾.

2.2.3. 급성독성시험

수질오염공정시험기준에 따라 물벼룩을 이용한 24시간 급성독성시험을 수행하기 위하여, 냉장 보관된 시료는 20±2°C로 온도를 맞춘 후 시험에 사용하였고, 2차 초순수를 이용하여 희석하였다. 독성시험에 투입할 물벼룩은 시험 시작 하루 전에 따로 분리하여, 2주 이상 된 물벼룩의 성체에서 태어난 24시간 미만의 어린 개체를 이용하였다. 시험시작 2시간 전 먹이를 공급하고 시험기간 동안은 먹이를 공급하지 않았으며, 시험 시 배지의 교환도 없는 정지식 급성독성평가 방법을 이용하였다. 각 침출수를 농도별로 20개씩 50

mL 유리비커를 준비하고, 대조구는 사육수만을 넣은 50 mL 유리비커를 준비하였다. 각각의 비커에 물벼룩을 20개씩 넣어 24시간 후의 유영 저해수를 기록하였다. 이때의 유영 저해라 함은 시험용기를 천천히 움직여도 물벼룩이 15초간 헤엄치지 못하는 경우를 말하며 촉각만 움직일 경우에는 유영저해를 받은 것으로 간주하였다. 시험 환경조건은 사육환경조건과 동일하게 유지시켜 주었으며, 시험 전후에 각 시험액과 대조구의 pH 및 DO를 측정하였다.

EC₅₀을 산출하기 위해 생존개체수와 백분율을 이용해 Probit 또는 Trimmed Spearman-Kärber 통계처리법을 이용하였다⁸⁻¹⁰⁾.

2.3. 반달말 독성시험

본 연구에서 시험 생물은 녹색식물문 녹조강 별해감목 물먼지말과 반달말속 담수산 조류로 반달말(*Closterim ehrenbergii*)을 이용하였으며, 반달말 엽록소의 형광(Fluorescence)을 측정하여 생태독성값을 산출하였다.

엽록소의 색소들이 발할 수 있는 총 형광량의 최대값을 F_m이라고하고, 일반적으로 형광을 발하는 값을 F값이라고 할 때, 광합성을 저해하는 독성물질이 유입된 상태에서의 광합성능력(Fluorescence Yield)은 감소하게 된다⁵⁾.

$$\text{Fluorescence Yield} = \frac{(F_m - F)}{F_m}$$

이러한 원리에 기초하였으며, 반달말의 생물독성치는 Toxicity(%)로 나타내었다. 이는 시료수와 기준수에 대한 반달말의 광합성능력 차이를 계산해 독성저해도로 나타낸 것이다.

$$\text{Toxicity}(\%) = \frac{(Y_2 - Y_1)}{Y_2} \times 100$$

Y₁ = 시료수에서의 반달말 광합성 능력

Y₂ = 기준수에서의 반달말 광합성 능력

3. 결과 및 고찰

3.1. 물벼룩을 이용한 독성평가

3.1.1. 표준독성시험

중크롬산칼륨($K_2Cr_2O_7$)을 이용하여 물벼룩에 대한 급성독성시험방법에 따라 24시간 유영저해율을 관찰하였다. 중크롬산칼륨의 24hr- EC_{50} 은 평균 1.06 mg/L, 표준편차는 0.09 mg/L를 보였으며, 이 값은 U.S. EPA ECOTOX database에서 제시하는 0.9~2.0 mg/L의 범위에 있는 것으로 나타났다. 표준편차를 고려할 때 정밀도 및 재현성도 우수한 것으로 판단된다^{4,10}.

3.1.2. 급성독성시험

대상 폐수에 대하여 물벼룩을 이용하여 12회 생태독성시험을 수행하였다. 생태독성 시험결과, TU(Toxicity Unit)는 1.14~1.74(평균 1.45)로 나타났다.

독성의 원인물질로 추정되는 Cl^- 의 농도는 4,419~6,334 mg/L(평균 5,301 mg/L)이었으며, Cu 의 농도는 0.054~0.087 mg/L(평균 0.067 mg/L)이었다(Fig. 1).

24시간동안 독성을 분석한 결과, 18시에서 24시 사이에 독성이 높게 나타났다(Fig. 2).

3.2. 반달말을 이용한 독성평가

3.2.1. 표준독성시험

생태독성시험의 표준물질로 이용되는 물질 중 대표적으로 사용되는 중크롬산칼륨을 이용하여 농도별 반달말을 이용한 생태독성 시험을 수행하였다. 민감도를 평가한 결과, 다양한 생태독성 유발물질을 함유하고 있는 석유화학 폐수에 적용 시 민감도가 우수할 것으로 사료되었다.

3.2.2. 급성독성시험

대상 폐수에 대하여 반달말을 이용하여 70

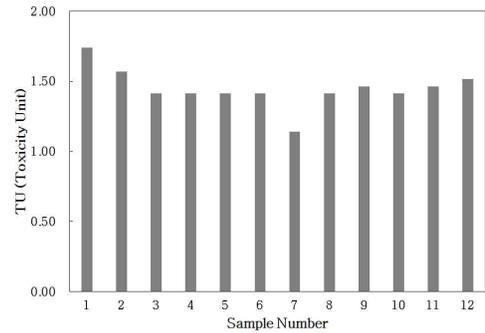


Fig. 1. Toxicity(TU) of petrochemical wastewater for *Daphnia magna*.

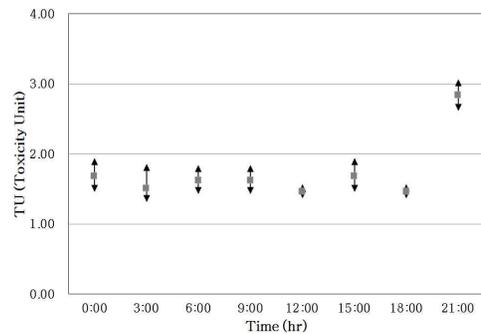


Fig. 2. Toxicity(TU) Variation of petrochemical wastewater for 24 hr.

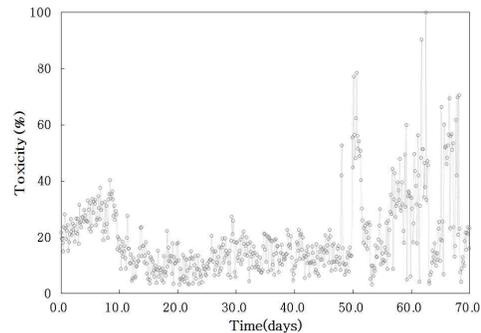


Fig. 3. Toxicity(%) of petrochemical wastewater for *Closterim ehrenbergii*.

일 동안 toxicity(%)을 측정하였다. 독성값은 3.3~100.0%(평균 19.7%)로 나타났으며, 주로 저녁(21시~24시)에 독성이 높게 나타났다(Fig. 3~Fig. 4).

또한, 독성값의 분포를 보면 대부분이 10~20%의 범위에 나타났으며, 60%이상의 독성값을 가지는 경우는 거의 없었다.

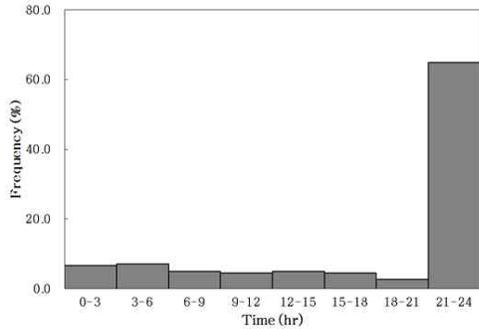


Fig. 4. Toxicity(%) frequency of petrochemical wastewater for 24 hr.

3.3. 상관성 분석

물벼룩과 반달말을 이용한 독성의 상관성을 분석하였다. 생태독성의 경우, 단일 물질에 대해 상관관계가 정량적으로 나타날 수 있으나, 다양한 물질에 대해서는 물질간의 상호작용으로 인하여 생태독성이 증가 또는 감소하기 때문에 생태독성과의 정량적 상관관계를 구하기는 어렵다.

특히, 석유화학 폐수의 경우 다양한 석유화학 제품을 생산하는 공장으로부터 발생되는 여러 가지의 유해물질들이 포함되어 있어, 정량적 상관관계보다는 상관성을 분석하는 것이 타당하다고 할 수 있다.

상관성 분석결과, TU가 1(배출허용기준)을 넘을 경우, Toxicity(%)는 모두 10%이상인 것으로 나타났다. 따라서, 유입수에 대해 Toxicity(%) 기준값을 10%로 설정하여 독성값을 관측하면 유입수의 TU가 1이 넘는 독성물질의 유입을 쉽게 인지하여 폐수처리장의 생태독성 관리에 많은 도움이 될 것으로 판단된다.

4. 결 론

석유화학 폐수에 대한 물벼룩 생태독성 시험결과, TU(Toxicity Unit)는 1.14~1.74(평균 1.45)로 나타났으며, 24시간동안 독성을 분석한 결과, 18시에서 24시 사이에 독성이 높게 나타났다

반달말의 toxicity(%) 측정 결과, 독성값은 3.3~100.0%(평균 19.7%)로 나타났다.

상관성을 분석한 결과, TU가 1(배출허용기준)을 넘을 경우 Toxicity(%)는 10%이상인 것으로 나타났다.

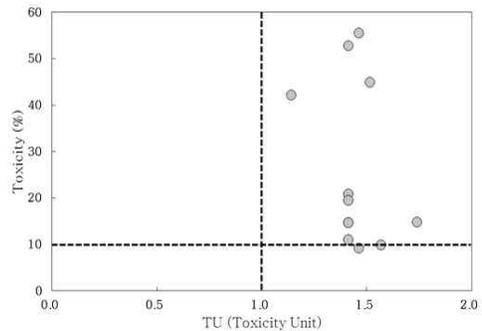


Fig. 5. Relationship of toxicity between *Daphnia magna* and *Closterim ehrenbergii*.

사 사

본 논문은 환경부 지정 전남녹색환경지원센터의 연구비 지원에 의해 수행된 연구과제입니다.

References

1. 환경부(2002), 수질유해물질의 통합독성 관리제도 도입방안 연구.
2. 환경부, 국립환경과학원, 환경관리공단(2008), 산업폐수에 대한 생태독성 배출관리제도.
3. 환경부, 한국환경공단(2011), 3-5종 폐수배출시절 생태독성관리 업무편람.
4. EPA(2004), National Whole Effluent Toxicity (WET) Implementation guidance under the NPDES program.

5. 환경바이오(2009), WEMS 조류생물경보장치.
6. 김상훈(2006), 물벼룩과 발광박테리아를 이용한 산업폐수의 생물독성평가에 관한 연구, 한양대학교 대학원 박사학위논문.
7. 문재수(2012), 반달말 생물감시장치를 이용한 독성 연구, 경북대학교 산업대학원 석사학위논문.
8. 국립환경과학원(2010), 산업폐수 방류수 평가를 위한 물벼룩을 이용한 급성독성 시험에 관한 실험서.
9. EPA(2002), Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms (5th edition).
10. Warnic, S. L. and H. L. Bell(2969), The acute toxicity of some heavy metals to different species of aquatic insects. Journal of the Water Pollution Control Federation, 41, pp. 280-284.