creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

수산학석사 학위논문

전기분해처리 선박평형수가 해양생물의 성장 및 생존에 미치는 영향

2015년 2월

부경대학교 대학원

수산생물학과

조 소 은

Collection @ pknu

수산학석사 학위논문

전기분해처리 선박평형수가 해양생물의 성장 및 생존에 미치는 영향

지도교수 장 영 진

이 논문을 수산학석사 학위논문으로 제출함

2015년 2월

부경대학교 대학원

수산생물학과

조 소 은

Collection @ pknu

조소은의 수산학석사 학위논문을 인준함

2015년 2월 27일

위 원 장 이 학 박 사 손 민 호 ㊞

위 원 농 학 박 사 김 창 훈 ㊞

위 원 농 학 박 사 장 영 진 ㊞

dCollection @ pknu

목 차

Abstract ····· iii

Ⅰ. 서 론 ····· 1

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 5

1. 실험용액 ····· 5
2. 실험생물 ····· 7
3. 실험방법 ····· 11
4. 통계분석 ····· 15

Ⅲ. 결 과 ····· 17

1. 전기분해 처리수 농도에 따른 *Skeletonema costatum*의 성장 ····· 17
   1.1 성장률 ····· 17
   1.2 영향농도 ····· 22
2. 전기분해 처리수 농도에 따른 로티퍼의 생존 및 성장 ····· 24
   2.1 생존율 ····· 24
   2.2 성장률 ····· 24
   2.3 영향농도 ····· 29
3. 전기분해 처리수 농도에 따른 넙치 수정란 및 부화자어의 생존 ····· 32
   3.1 생존율 ····· 32
   3.2 영향농도 ····· 35
4. 전기분해 처리수 농도에 따른 넙치 치어의 생존 ····· 35
   4.1 생존율 ····· 35
   4.2 영향농도 ····· 39

dCollection @ pknu

Ⅳ. 고 찰 ····· 41

Ⅴ. 요 약 ····· 47

Ⅵ. 참고문헌 ····· 48

감사의 글 ····· 60

PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY
부경대학교

Collection @ pknu

Effects of Electrolysed Ship's Ballast Water on Growth and Survival of Marine Organisms

So Eun Jo

Department of Fisheries Biology, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Diverse ballast water management systems (BWMSs) have been developed worldwide in order to regulate international transportation of invasive alien species by ship's ballast water. Among them, an electrolytic method generates active substances and disinfection by-products (DBPs) in ballast water. The DBPs exert apparent toxic effects on marine organisms and have adverse impacts on marine environment.

In this study, toxicity experiments were conducted to investigate for effects of eletrolysed ship's ballast water on growth and survival of marine organisms. Experiments were carried out for three marine organisms, *i.e.*, diatom *Skeletonema costatum*, rotifer *Brachionus plicatilis* and olive flounder *Paralichthys olivaceus* at two salinity condition (35 psu and 19 psu). The results revealed that *S. costatum* was the most sensitive organism that showed apparent effect of growth inhibition

Collection @ pknu

to the electrolysed ballast water; it showed no observed effect concentration (NOEC), lowest observable effect concentration (LOEC) and effect concentration of 50% (EC_{50}) values of T25, T50 and T55.7, respectively, at seawater condition (35 psu). And hatching larva (yolk-sac larva) of *P. olivaceus* showed effects of survival rate at the seawater condition. On the other hand, *B. plicatilis* and juvenile of *P. olivaceus* showed no effects at the both salinity conditions. The chemical compounds revealed that electrolysed ballast water contained total residual oxidants (TROs) below 0.03 µg/L and a total of 20 DBPs (297 µg/L) such as bromate, volatile halogenated organic compounds, halogenated acetonitriles, halogenated acetic acids (HAAs) and chloral hydrate at seawater condition. The chemical compounds revealed that electrolysed ballast water contained TROs below 0.03 µg/L and a total of 13 DBPs (271 µg/L) at brackish water condition (19 psu). Among DBPs, total concentration of HAAs showed gap, in seawater and brackish water, that 218.22 and 100.56 µg/L, respectively.

Collection @ pknu

Ⅰ. 서 론

세계적으로 산업화가 가속화되고 국가 간의 경제교류가 활발해지면서 선박을 이용한 해상무역의 중요성과 함께 선박평형수로 인한 생태적, 경제적 및 인체건강에 대한 부정적인 문제들이 빈번하게 발생하고 있다. 선박평형수는 선박의 안정성과 기동성을 보장하기 위해 필수적이지만, 이를 매개체로 수중생물과 병원균 등이 새로운 생태계로 확산되는 주요 이동 수단이기도 하다. 매년 수십억 톤 이상의 선박평형수가 해상 무역선들에 의해 이송되며, 이로 인해 7,000여 종의 해양생물들이 다른 국가로 이미 전파된 상태이다(Globallast, 2003). 새로운 환경에 유입된 다양한 생물들은 낯선 환경에 적응하지 못하고 대부분 사멸하지만, 적응에 성공한 일부 종은 강한 생존력과 번식력으로 고유 생태계를 교란시키거나 파괴할 수 있는 잠재적인 위해성을 가진다(Hallegraeff and Bolch, 1991; Hallegraeff, 1998; Smayda, 2007).

Ostenfeld (1908)에 의해 아시아의 식물플랑크톤인 *Odontella sinensis*가 북해에서 대량 발생한 것이 처음으로 보고된 이래, 100여 년 동안 많은 연구들이 이루어져 왔으며, 선박평형수 내에 많은 생물들이 존재하고 있다는 사실이 알려졌다(Gollasch et al., 2007). Ostenfeld (1908)와 Gollasch et al. (2007) 등 많은 연구결과에서 보듯이 선박평형수로 인한 부정적인 문제들이 발생하면서 외래 침입종의 관리 필요성이 제기되었으며, 세계 각국에서 전 세계를 운항하는 선박을 관리할 수 있는 관리체제로 해양생물의 국제적 이동문제의 해결 필요성을 느끼게 되었다.

외래 침입종의 유입방지 필요성에 기초하여, 국제해사기구(IMO: International Maritime Organization)에서는 1973년에 외래 침입종의 매개체가 되는 선박평형

Collection @ pknu

수의 중요성을 인식하고 해양환경보호위원회(MEPC: Marine Environment Protection Committee)를 개최하여 '전염병 유발 세균을 포함한 선박평형수 배출의 영향에 대한 연구' 수행을 촉구하는 결의서를 채택하였다(IMO, 1973). 이 결의서를 시작으로 지난 20년간 많은 논의를 거듭한 결과, 2004년 2월 런던에서 열린 IMO의 외교회의에서 국가 간의 선박평형수에 의한 외래 침입종의 유입을 궁극적으로 근절하고 규제하기 위한 '선박평형수관리협약(International Convention for the Control and Management of Ship's Ballast Water and Sediments)'을 채택하였다. 이 협약에서는 바지선 및 군함 등을 제외한 모든 선박에는 국제협약에서 요구하는 성능을 갖춘 선박평형수 관리장치(BWMS: Ballast Water Management System)의 설치를 의무화하도록 제시하고 있다. 이 협약은 회원국 30개국 이상이 비준하고, 비준된 국가의 총 선복량(적재량)이 35% 이상 충족된 뒤부터 1년 후에 발효되며(IMO, 2004), 2014년 4월 현재, 선박평형수 관리협약은 39개국 및 30.25% 선복량이 비준하여 발효 예정 상태이다.

협약 채택 후, 전 세계에서 많은 업체들이 외래 침입종을 사멸시키기 위한 BWMS를 개발하고 있다. 지금까지 물리적(여과, 캐비테이션 등), 기계적(가열, UV 조사 등) 및 활성물질을 주입하거나 생성을 유도하여 생물을 제거하는 화학적(살생물제, 전기분해, 오존 등) 방법들과 같은 선박평형수 관리 기술들이 IMO에 의해 그 성능을 인증 받았으며, 많은 BWMS가 이미 시장에 출시되거나 개발 중이다(Kazumi, 2007; Gregg et al., 2009; Tsolaki and Diamadopoulos, 2010; Goncalves and Gagnon, 2012; Werschkun et al., 2014). IMO에서는 활성물질을 유해생물 및 병원균에 대하여 일반적 또는 특정한 작용을 하는 물질이나 생물로 정의하고 있다(Kim et al., 2012). 활성물질을 사용하는 BWMS의 경우, IMO에 의한 기본승인과 최종승인을 취득하기 위해서는 선박평형수 내에 포함

Collection @ pknu

되어 있는 생물을 사멸시키는 성능실험 뿐만 아니라, 생물학적 독성실험도 수행하도록 제시하고 있다(IMO, 2005; Gollasch et al., 2007; Goncalves and Gagnon, 2012).

여러 가지 방식의 BWMS 중 전기분해 장치를 이용하는 방법은, 2014년 4월까지 개발된 69개의 BWMS 중에서 25개의 장치가 주요 처리방법으로 채택하고 있다. 국내에서는 총 16개의 BWMS 중 10개의 개발 장치가 전기분해 방법을 이용할 정도로 많은 업체들이 이 방법을 선호하고 있다(IMO, 2013; ClassNK, 2014). 전기분해 방법은 다른 방법에 비해 운용경비를 절감할 수 있고, 큰 규모의 장치가 필요하지 않으며, 낮은 독성으로도 높은 생물 제거 효율을 지닌다(Li et al., 2002; Matousek et al., 2006; Tsolaki et al., 2010).

전기분해는 활성물질인 염소(Cl_2)를 생성하여 정수처리장이나 수영장의 물관리 및 발전소 취수구의 오손생물 제거 등 주로 산업적으로 이용되어 왔다. 해수를 전기분해처리하면 해수 내에 존재하는 염화나트륨(NaCl)을 전해질로 하여 차아염소산나트륨(sodium hypochlorite, NaOCl), 차아염소산(hypochlorous acid, HOCl), 차아염소산이온(hypochlorite ion, OCl^-), 하이포아브롬산(hypobromous acid, HOBr), 하이포아브롬산이온(hypobromite ion, OBr^-) 등의 활성물질들을 생성한다(Patermarakis and Fountoukidis, 1990; Li et al., 2002; Deborde and Gunten, 2008; Martínez-Huitle and Brillas, 2008; Goncalves and Gagnon, 2012; Werschkun et al., 2012). 이 활성물질들은 높은 농도에서 수생미생물의 불활성화에 큰 영향을 미칠 수 있기 때문에 수중에 존재하는 유기물 분해, 살균 및 생물사멸에 탁월한 효과를 가진다(Pascho et al., 1995; Lee et al., 1997; Kiura et al., 2002; Yoon et al., 2005; Kim and Gil, 2007; Huang et al., 2008; Banerji et al., 2012; Werschkun et al., 2012). 또한, 선박평형수 탱크 안에서 잔류하면서 선박이 운행되는 동안 지속적으로 소독활동을 하기 때문에 생

Collection @ pknu

물제거 효율이 높다. 그러나, 이러한 활성물질들이 많은 수중무기물 및 유기화합물들과 연속적으로 결합하며 불가피하게 다양한 소독부산물(disinfection by-products, DBPs)들을 생성하게 된다. 이 소독부산물질들은 수서생물과 인체에 잠재적인 발암성 및 돌연변이 유발 등의 위험성(Richardson et al., 2007)을 가진다. 특히, 해양환경에서는 먹이사슬단계에 따라 생체 내에 축적 될 가능성(Gregg et al., 2009)이 있는 등 해양 생태계내의 수생생물들 뿐만 아니라 인체에도 명백한 독성을 미친다(Woo et al., 2002; Deborde and Gunten, 2008; Werschkun et al., 2012). 따라서, 전기분해처리로 인해 생성된 소독부산물들의 해양생물에 미치는 유해성 평가는 필수적으로 평가되어야 할 사항이다.

본 연구의 목적은 실내실험을 통하여 전기분해 처리장치의 하나인 HS-BALLAST에 의해 처리된 선박평형수가 해양생태계 내의 각 영양단계를 순차적으로 나타내는 *Skeletonema costatum*, 로티퍼, 넙치의 수정란, 부화자어 및 치어에 미치는 생물학적 영향의 여부와 그 정도를 밝히는 데 있다.

Collection @ pknu

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험용액

국제해사기구(IMO)에서는 선박평형수로 이용하는 해수의 다양한 염분변화를 고려하여 염분 10 psu 이상 차이가 나는 2 종류 이상의 시험수를 이용하여 2 반복 이상의 실험을 권고한다(IMO, 2005). 따라서, 모든 독성실험은 해수(35 psu)와 기수(19 psu)의 두 개 염분농도에서 수행하였으며, 2012년 2월 7일(35 psu)과 2월 14일(19 psu)에 각 염분의 시험수를 ㈜화승 R&A (Yangsan, Korea)에 실험실 규모로 설치된 HS-BALLAST의 시험 설비로부터 채취하였다.

독성실험을 수행하기 위하여, 거제시 여차몽돌해수욕장에서 채취하여 HS-BALLAST의 시험설비 장소로 운반한 10톤의 원수 중 5톤은 원수 내의 생물들을 사멸시키기 위해 전기분해 처리장치를 통과시킨 처리수(전기분해 처리수)로서 처리수(treated water) 탱크에 5일 동안 보관하였다. 나머지 5톤은 처리장치를 통과시키지 않고 비처리수(control water) 탱크에 보관하였다. 선박 운항기간을 가정한 5일 후, deballasting 시에 중화과정을 거쳐 전기분해 처리수 내에 포함된 총잔류산화물(total residual oxidants, TRO)의 농도를 낮춘 후 배출되는 처리수와 비처리수를 실험용액으로 각각 700 L와 1,000 L씩 채수하였다 (Fig. 1). 채취한 실험용액은 200 L 폴리에틸렌 재질의 용기에, 운반중의 마찰로 인한 성상의 변화를 방지하기 위해 윗부분의 공간을 최소화하도록 담고, 외부자극(공기, 빛 등)과 접촉되지 않도록 밀봉하였으며, 채취 후 3시간 이내에 냉장차를 이용하여 HS-BALLAST의 시험설비 장소로부터 독성실험실로 운반하였다.

Collection @ pknu

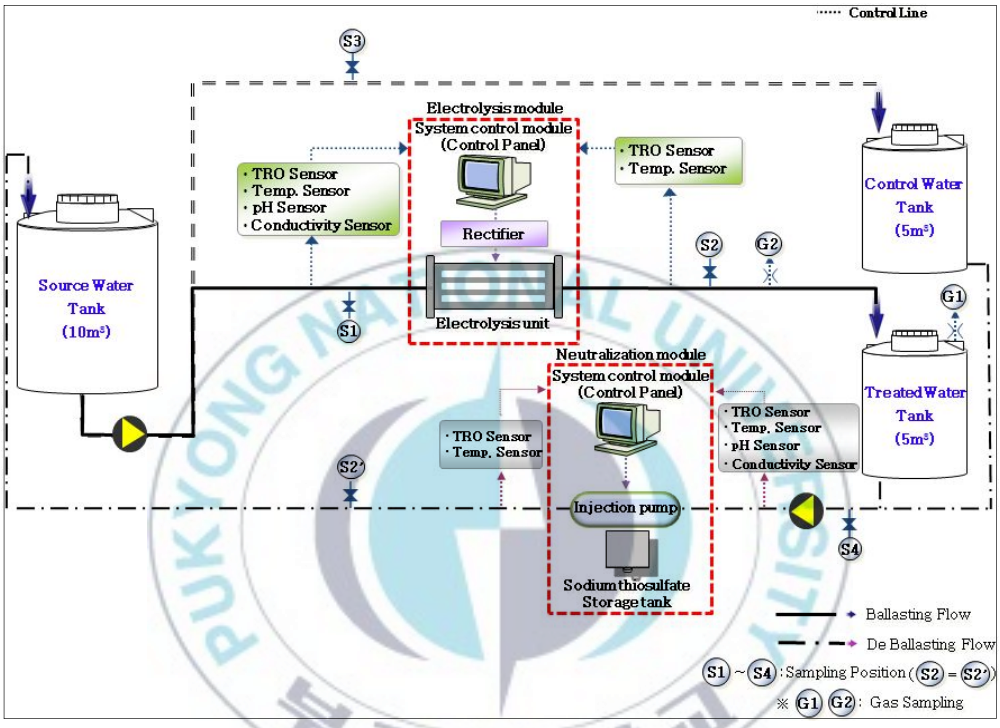

Fig. 1. A schematic layout diagram showing ballasting and deballasting processes of a BWMS (ballast water management system), HS-BALLAST of HWASEUNG R&A Co., Ltd (Yangsan, Korea) (MEPC, 2012b). Sampling points for toxicity experiments are S2′ (NT100) and S4 (T100). The three sampling points for total residual oxidant (TRO) measurements are S2 (ballasting), S4 (deballasting: before neutralization) and S2′ (deballasting: after neutralization), respectively.

Collection @ pknu

실험실로 운반된 실험용액은 1 μm CP (chisso polypropylene) filter (Chisso Filter Co., Ltd, Japan)로 여과한 후, 비처리수(NT100)를 대조구 및 전기분해 처리수(T100)에 대한 희석수로 이용하여 T100의 비율을 6.25% (T6.25), 12.5% (T12.5), 25% (T25), 50% (T50) 및 100% (T100)로 희석하여, 총 6개의 실험구로 제조하였다. 농도별로 제조한 실험용액은 각 생물의 실험온도에 순치시킨 후 실험에 사용되었다.

실험에 사용된 실험용액의 TRO 측정결과(Table 1) 및 소독부산물의 분석(Table 2)은 한국화학융합실험연구원(Ulsan, Korea)에서 수행하였다.

2. 실험생물

2.1 규조류 *Skeletonema costatum*

규조류 *Skeletonema costatum*은 해양생태계의 기초생산자로서 하구 및 해안지역에서 널리 분포하는 식물플랑크톤으로 국제표준시험규격(International Organization for Standardization (ISO) 10253, 2006)에 명시되어 있는 시험 종이다. 미세조류의 성장실험에 사용된 *S. costatum*은 ㈜해양생태기술연구소(Busan, Korea)에서 6개월 이상 지속적으로 배양되어 온 것으로 계대배양은 매주 이루어졌다. 지수성장기의 *S. costatum*을 사용하기 위해 실험시작 3일 전에 본 실험과 동일한 조건에서 전배양(pre-culture)을 실시하였고, 기수(19 psu)에서 실험하기 위해서는 실험 수행 전 2주 이상 19 psu 염분에 순치를 시켰다. 또한, 본 실험 수행 전 ISO 10253 (2006)에서 제시한 표준참조독성물질인 중크롬산칼륨($K_2Cr_2O_7$)을 이용한 참조독성물질실험을 통하여 *S. costatum*이 민감도에 적합함을 확인하였다.

Collection @ pknu

Table 1. Total residual oxidant (TRO) concentrations in electrolysed ballast water during a BWMS operation, which was installed in HWASEUNG R&A Co., Ltd (Yangsan, Korea)

(unit: μg/L; mean value ± SD)

Condition	Ballasting (Day 0)	Deballasting (Day 5)	
	After electrolysis	Before neutralization	After neutralization
Seawater (35 psu)	9.44 ± 0.11	5.97 ± 0.02	< 0.03
Brackish water (19 psu)	9.75 ± 0.09	5.33 ± 0.04	< 0.03

Ballasting date was Feb. 2, 2012 at seawater condition and Feb. 9, 2012 at brackish water condition. Deballasting date was Feb. 7, 2012 at seawater and Feb. 14, 2012 at brackish water.

Collection @ pknu

Table 2. Compositions of generated disinfection by-products in the control water (NT100) and treated water (T100) at two conditions in experiment

(unit: μg/L)

Disinfection by-product (DPB)	Seawater (35 psu)		Brackish water (19 psu)	
	NT100	T100	NT100	T100
Bromate	-	2.22	-	-
Chloral hydrate	-	0.02	-	-
Volatile halogenated organic compounds (VOCs)				
Dichloromethane	0.04	0.38	0.03	0.03
cis-1,2-Dichloroethene	-	0.17	-	-
Bromochloromethane	0.49	0.38	0.05	0.36
Trichloromethane	0.34	0.43	1.05	0.51
Dibromomethane	-	0.75	-	0.26
1,2-Dichloropropane	0.56	0.60	1.50	-
Dichlorobromomethane	-	0.38	-	0.84
Dibromochloromethane	-	2.39	-	8.77
Tetrachloroethene	-	0.19	0.29	-
Tribromomethane	0.35	69.1	1.17	159
1,2,4-Trichlorobenzene	0.14	0.57	-	-
1,2,3-Trichlorobenzene	0.09	0.29	-	-
Halogenated acetonitriles				
Bromochloroacetonitrile	-	0.04	-	0.08
Halogenated acetic acids (HAAs)				
Dalapon	0.34	3.43	-	-
Dibromoacetic acid	5.14	45	3.24	10.3
Bromodichloroacetic acid	-	-	-	8.62
Chlorodibromoacetic acid	-	1.79	0.17	-
Tribromoacetic acid	1.90	168	0.72	76.5
Bromochloroacetic acid	-	-	-	5.14
Halogenated phenols				
2,4,6-Tribromophenol	-	0.61	-	0.54
Total number	10	20	9	13
Total concentration	9.39	296.74	8.22	270.95
VOCs	2.01	75.63	4.09	169.77
HAAs	7.38	218.22	4.13	100.56

'-' represents the value which less than the detection limit.

dCollection @ pknu

2.2 로티퍼 *Brachionus plicatilis*

로티퍼 *Brachinus plicatilis* (윤충류)는 전 세계적으로 분포하는 해양생태계내의 1차 소비자로서, 짧은 세대기간, 민감도, 내구란(cyst)의 상업적 가용성 및 광범위한 생물학적 데이터베이스 존재 등의 이유로 독성실험에 많이 사용되는 종으로, 국제표준시험규격(American Society for Testing and Materials (ASTM) E1440-91, 2012)에 명시되어 있는 시험 종이다. 본 실험에 사용된 로티퍼의 내구란은 MicroBioTests Inc. (Gent, Belgium)에서 구입하였으며 공급처의 지침서에 따라 염분 20 psu, 3,000 lux 조도조건의 연속조명하에서 24시간동안 부화시켰다. 부화 후 2시간 이내의 유생(neonate)이 실험에 이용되었다. 염분 35 psu의 독성실험은 염분차이에 의한 스트레스를 줄이기 위해 부화 후 1시간 동안 35 psu에 순화시킨 후, 현미경으로 확인하였을 때 움직임이 활발하고 형태적으로 이상이 없는 건강한 개체를 선별하여 실험에 이용하였다. 로티퍼 또한 본 실험 전 ASTM E1441-91 (2012)에서 제시한 표준참조독성물질인 중크롬산칼륨을 이용한 참조독성물질실험을 수행하여 민감도가 적합함을 확인하였다.

2.3 넙치 *Paralichthys olivaceus*

넙치 *Paralichthys olivaceus* (어류)는 해양생태계 내의 최종 영양단계인 포식자로서, 국내의 대표적인 양식어종이며 생리·생태학적으로 많은 연구가 이루어져왔고, 실험을 위한 생물의 확보가 용이한 종이다. 넙치의 수정란 및 치어는 종묘생산장(Yeosu, Korea)으로부터 구득하여 실험에 이용하였으며, 수정란 및 부화자어의 생존 실험은 수정 후 8시간 이내의 수정란을 사용하였다. 치어의 생존 실험은 부화 후 30~50일 이내의 개체들로 크기가 유사한 개체(체장: 2.64~2.79 cm)를 2주 이상 실험실 내에서 각각의 염분(35 psu, 19 psu)에 순화시켜 실험에 이용하였다.

Collection @ pknu

3. 실험방법

3.1 *Skeletonema costatum*의 성장 실험

*Skeletonema costatum*을 이용한 성장 실험은 국제표준시험규격(ISO 10253, 2006)에 따라 72시간 동안의 성장률을 산출하였다. 성장 실험은 농도별로 제조한 실험용액에 f/2 배지를 포함하여 10 mL씩 15 mL 시험관에 분주하였으며 지수식, 3반복구로 수행되었다. *S. costatum*의 초기 접종밀도는 약 3,000 cell/mL가 되도록 하였고, 22 ± 1℃, 3,000 lux 조도조건의 연속조명하에 인큐베이터(JSCC-150, JSR Co., Ltd, Korea)를 이용하여 배양하였다. 시험관은 매일아침 실험용액이 잘 섞이도록 흔들어주었다. *S. costatum*의 세포밀도는 형광분석기(Turner Designs Model 10 AU, USA)의 460 nm (excitation filter)와 683 nm (emission filter)의 파장에서 흡광도를 이용하여 chlorophyll *a* 농도를 측정하는 방법으로 이루어졌다. 모든 대조구 및 실험구는 매 24시간마다 분취전, 실험용액이 균질하게 되도록 잘 혼합해준 후, 각각 1 mL씩 분취하여 90% 아세톤으로 chlorophyll *a*를 추출하였고, 세포밀도와 chlorophyll *a* 농도의 상관관계를 분석하는 회귀방정식을 구하기 위해 대조구의 세포밀도는 Sedgewick-Rafter chamber를 이용하여 도립현미경(CKX 31, Olympus, Japan) 하에서 계수하였다. 이 회귀방정식을 이용하여 대조구 및 모든 실험구의 세포밀도를 추정하였다.

*S. costatum*의 성장률(growth rate, *r*)은 다음과 같은 식을 이용하여 계산되었다.

$$r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

r = *S. costatum*의 성장률

Nt = d 일 후의 세포밀도

dCollection @ pknu

N_0 = 실험 시작시의 세포밀도

t = 배양기간

실험용액의 pH는 WQC-22A Multiparameter Water Quality Meter (DKK-TOA Co., Japan)를 이용하여 실험 시작 시와 종료 시에 측정하였다.

3.2 로티퍼의 생존 실험

국제표준시험규격(ASTM E1441-91, 2012)에 따라, 농도별로 제조한 실험용액에 24시간 동안 로티퍼의 부화유생(neonate)을 노출시켜 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위해 로티퍼의 생존 실험이 이루어졌다. 모든 대조구 및 실험구는 지수식으로 12개의 반복구를 두었으며, 48 well plate의 각 well에 준비된 실험용액을 1 mL씩 분주한 후 하나의 well에 각각 5마리씩의 유생을 micropipet을 이용하여 투입하였다. 개체의 투입이 완료된 48 well plate는 parafilm으로 밀봉한 후 25 ± 1℃, 연속 암조건으로 인큐베이터(JSCC-150, JSR Co., Ltd, Korea)에서 배양하였다. 생존율은 실험 시작 24시간 후 입체현미경(SZ51, Olympus, Japan)을 이용하여 생존한 부화유생을 계수하여 생존율을 산출하였다. 현미경으로 확인하였을 때 실험용기를 살며시 흔들거나 바늘의 자극에도 움직임이 없는 개체들은 사망한 개체로 간주하였다.

실험용액의 수온, pH 및 DO는 WQC-22A Multiparameter Water Quality Meter (DKK-TOA Co., Japan)를 이용하여 실험 시작 시와 종료 시에 측정하였다.

3.3 로티퍼의 성장 실험

로티퍼의 성장 실험은 국제표준시험규격(ASTM 1441E-91, 2012)과 Janssen et al. (1994)을 참고하여, 농도별로 제조한 실험용액에 96시간 동안 로티퍼의 부화유생(neonate)을 노출시켜 개체군 성장률에 미치는 영향을 알아보기 위해 이

Collection @ pknu

루어졌다. 모든 대조구 및 실험구는 지수식으로 12개의 반복구를 두었으며, 준비된 각각의 실험용액에 먹이생물로서 녹조류 *Chlorella vulgaris*를 1 × 10^6 cells/mL의 밀도가 되도록 접종하였다. 48 well plate의 각 well에 먹이가 포함된 실험용액을 1 mL씩 분주한 후 하나의 well에 각각 5마리씩의 유생을 micropipet을 이용하여 투입하였다. 개체의 투입이 완료된 48 well plate는 parafilm으로 밀봉한 후 25±1℃, 연속 암조건으로 인큐베이터(JSCC-150, JSR Co., Ltd, Korea)에서 배양하였다. 실험기간 동안 매 24시간마다 입체현미경(SZ51, Olympus, Japan)을 이용하여 사망한 개체(실험용기를 살며시 흔들거나 바늘의 자극에도 움직임이 없는 개체)들은 실험용액의 오염방지를 위해 제거하였고, 성장률 파악을 위하여 생존 개체수는 기록하였다. 로티퍼의 개체군성장률(population growth rate, r_m)은 아래와 같은 식에 의하여 계산되었다.

$$r_m = (\ln N_4 - \ln N_0) / 4$$

r_m = 로티퍼의 개체군 성장률

N_4 = 4일 후의 개체수

N_0 = 초기접종 개체수

4 = 배양기간(일)

실험용액의 수온, pH 및 DO는 WQC-22A Multiparameter Water Quality Meter (DKK-TOA Co., Japan)를 이용하여 실험 시작 시와 종료 시에 측정하였다.

3.4 넙치의 수정란 및 부화자어의 생존 실험

넙치의 수정란 및 부화자어를 이용한 생존 실험은 국제표준시험규격(Organization for Economic Co-operation Development (OECD) 212, 1998)에

Collection @ pknu

따라, 농도별로 설정한 실험용액에 7일 동안 수정란을 노출시켜 부화자어까지의 초기생활사 단계의 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위해 이루어졌다. 모든 대조구 및 실험구는 반지수식으로 2일에 한번 부분 환수(총부피의 60%)를 시행하였고 3개의 반복구로 진행되었다. 준비된 실험용액을 1 L 유리 비커에 0.8 L 씩 분주하여 각 용기별로 30개체씩을 수용하였다. 실험온도는 20 ± 1℃, 1,000 lux의 조도로 명암주기를 명:암 = 16:8로 조절하였으며, 용존산소 농도가 5.0~7.0 mg/L로 유지되도록 폭기 하였고, 실험기간 동안 먹이는 공급하지 않았다. 실험시작 후 매 24시간마다 사망 개체를 확인하여 기록 후, 실험용기로부터 사체를 제거하였다. 수정란은 색이 불투명하거나 부화단계가 진행되지 않는 개체를 사망한 것으로 간주하였고, 부화자어는 움직임이 없고 자극에도 반응이 없으며 불투명한 색을 띄거나 용기 밑바닥에 가라앉은 개체를 사망한 것으로 간주하였다.

각 실험용액의 수온, pH, DO 및 염분농도는 WQC-22A Multiparameter Water Quality Meter (DKK-TOA Co., Japan)를 이용하여 24시간마다 측정하였다.

3.5 넙치의 치어를 이용한 생존 실험

넙치 치어의 생존 실험은 국제표준시험규격(OECD 203, 1992)에 따라, 농도별로 제조한 실험용액에 치어를 96시간 동안 노출시켜 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위해 이루어졌다. 해수(35 psu)의 실험에 이용된 치어의 평균 체장은 2.71 ± 0.07 cm (mean ± SD), 평균 체중은 0.09 ± 0.03 g (mean ± SD)이었고 기수(19 psu)의 실험에 이용된 치어는 각각 2.73 ± 0.06 cm (mean ± SD), 0.09 ± 0.04 g (mean ±SD)이었다. 모든 대조구 및 실험구는 반지수식으로 2일에 한번 부분 환수(총부피의 60%)를 시행하였고 3개의 반복구로 진행되었으며, 30 L 유리 수조에 준비된 실험용액을 20 L씩 분주하여 각 용기별로 20개

Collection @ pknu

체의 치어를 수용하였다. 실험온도는 20 ± 1℃, 1,000 lux의 조도로 명암주기를 명:암 = 16:8로 조절하였으며, 용존산소 농도가 5.0~7.0 mg/L로 유지되도록 폭기 하였고, 실험기간 동안 먹이는 공급하지 않았다. 실험시작 후 매 24시간마다 움직임이 없고 자극에도 반응이 없는 개체를 사망한 것으로 간주하여 기록 후, 실험용기로부터 사체를 제거하였다.

각 실험용액의 수온, pH, DO 및 염분농도는 WQC-22A Multiparameter Water Quality Meter (DKK-TOA Co., Japan)를 이용하여 24시간마다 측정하였다.

4. 통계분석

*Skeletonema costatum*의 성장 실험에서 세포밀도의 산출을 위한 대조구의 chlorophyll *a* 농도와 세포밀도사이의 상관관계 분석과 회귀분석은 SPSS 12.0 program (IBM Inc., USA)을 이용하였다. 또한, TOXCALC 5.0 program (Tidepool scientific software, McKinleyville, CA, USA)을 이용하여 각 실험결과들의 통계분석을 수행하였다. *S. costatum*의 성장률, 로티퍼의 생존율 및 개체군 성장률, 넙치의 생존율의 결과를 바탕으로 ANOVA를 실시하였고, 대조구와 실험구들 간의 통계적인 유의한 차를 나타내는 최저농도는 최저영향관찰농도(lowest observed effect concentration, LOEC)로써 산출하였으며, 통계적인 차이가 나타나지 않는 최대농도를 무영향관찰농도(no observed effect concentration, NOEC)로써 산출하였다. 자료의 정규분포(normal distribution)는 Shapiro Wilk's test와 Komolgorov D test를 이용하여 검증하였고, Bartlett's test로 분산의 동질성(homogeneity of variance)을 검증하였으며, Dunnett's test를 이용하여 유의수준 p = 0.05에서 분석하였다. 정규분포를 따르지 않거나 동질성이 나타나지 않는 경우는 Steel's many-one rank test를 이용하여 분석하였다. *S. costatum*과 로티퍼의 50% 영향농도(50% effect concentration, EC_{50})는 선형보간법(linear inter-

Collection @ pknu

polation)을 이용하여 산출하였고, 로티퍼와 넙치의 50% 치사농도(50% Lethal concentration, LC_{50})는 Maximum likelihood-probit method로 산출되었다.

Collection @ pknu

Ⅲ. 결 과

1. 전기분해 처리수 농도에 따른 *Skeletonema costatum* 의 성장

실험개시 후 NT100의 chlorophyll *a* 측정농도와 계수한 세포밀도를 회귀 분석한 결과, 해수에서는 y = 1.22x + 2.67 (R^2 = 0.99, n = 16, p < 0.05), 기수에서는 y = 0.96x + 3.23 (R^2 = 0.98, n = 16, p < 0.05)의 회귀방정식이 산출되었고, 두 실험 모두 결정계수(R^2)가 0.98~0.99로 높은 적합도를 보였다(Fig. 3).

1.1 성장률

전기분해 처리수 농도에 대한 *Skeletonema costatum*의 성장률을 평가한 실험결과, 해수 조건에서는 *S. costatum*의 초기 접종밀도가 평균 1,821 cell/mL 이었다. 실험개시 24시간 후부터 각 실험구들의 세포밀도가 대조구(NT100)에 비해 낮게 나타났다. 특히, T50과 T100에서 48시간 경과 후에는 다른 농도의 실험구보다 높은 성장저해를 보이다, 실험 종료시에는 48시간째의 세포밀도보다 더 낮아짐을 보였다(Fig. 4). 실험 종료시의 세포밀도는 NT100이 400,084 cell/mL로 가장 높았으며, T50과 T100에서 각각 27,820 cell/mL 와 2,692 cell/mL로 낮았다. 이를 제외한 다른 실험구들의 세포밀도는 288,775~198,355 cell/mL이었으며 전기분해 처리수의 농도가 높아질수록 세포밀도가 낮아짐을 보였다(Fig. 4). 실험종료시의 세포밀도로 산출된 성장률은 NT100에서 1.79로 가장 높았으나, T50과 T100에서는 0.99와 0.20을 보여 급격한 성장 감소율을 나타내며 NT100과 유의한 차이가 나타났다(Table 3, Fig. 5; p < 0.05).

Collection @ pknu

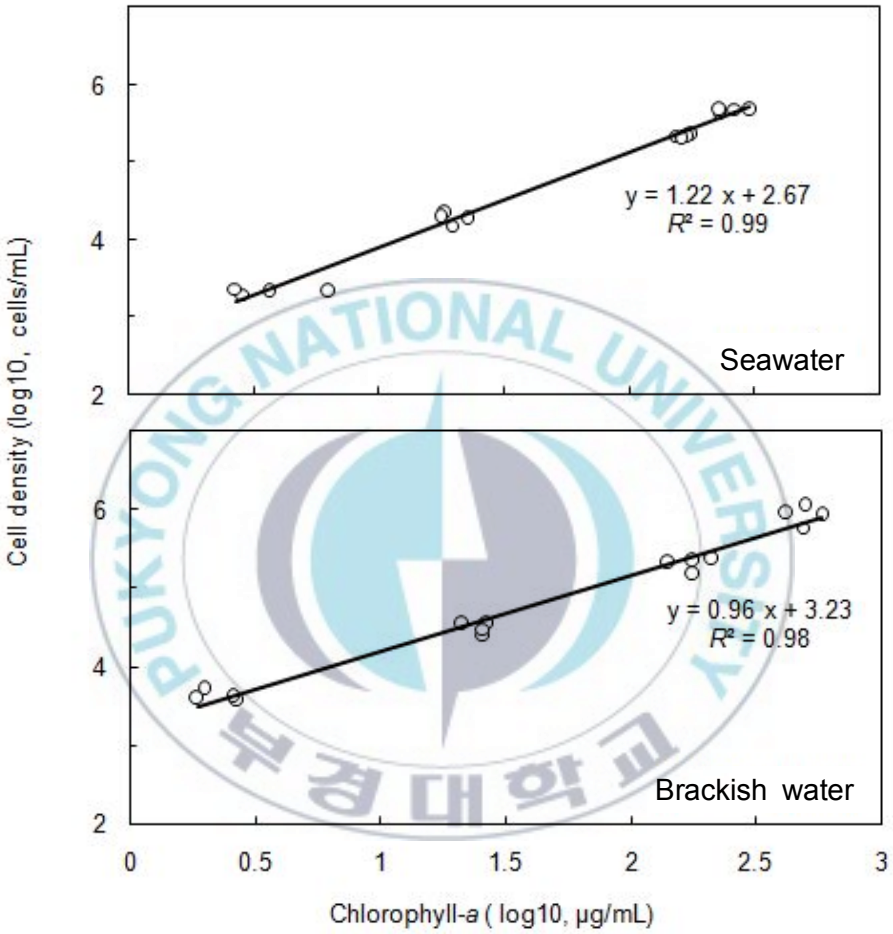

Fig. 3. Linear regression between chlorophyll *a* concentrations (µg/L) and cell density in the NT100 (control water) of diatom *Skeletonema costatum* exposed to electrolysed ballast water for 72 h in experiments with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu).

Collection @ pknu

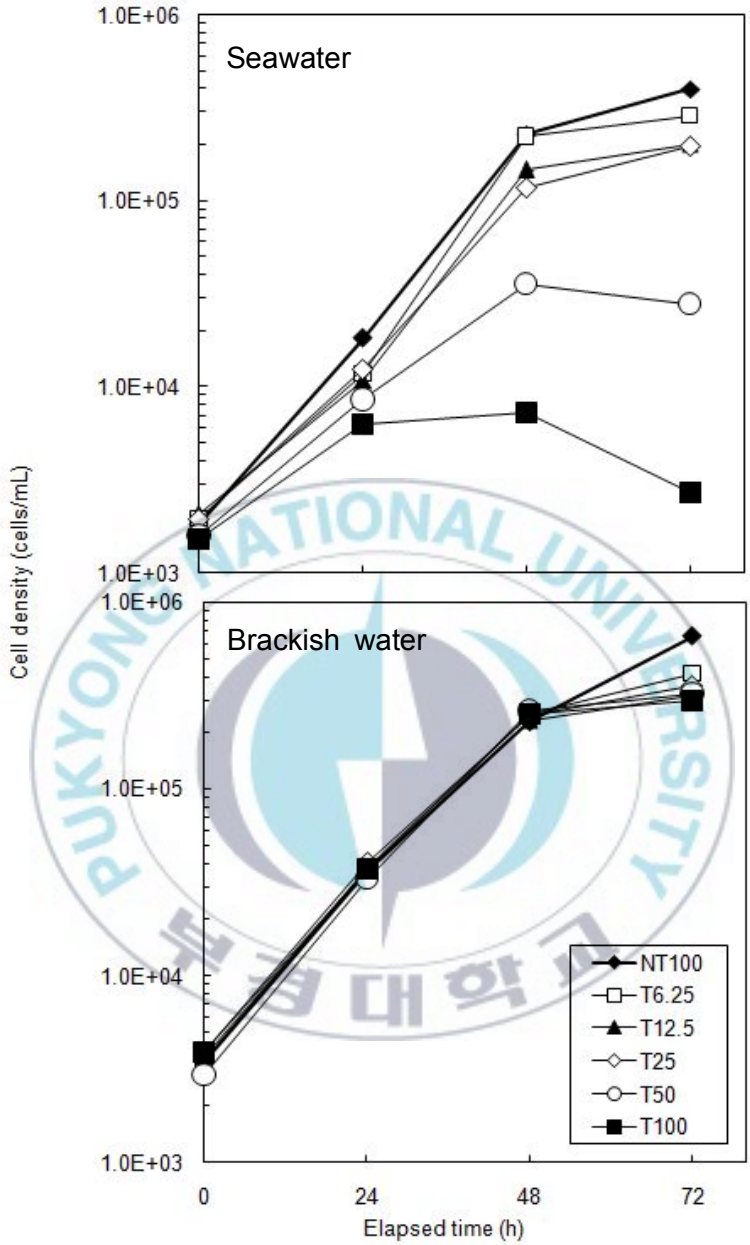

Fig. 4. Variation of the mean cell density (cells/mL) of diatom *Skeletonema costatum* exposed to electrolysed ballast water for 72 h in the experiments with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

Table 3. Specific growth rate of diatom *Skeletonema costatum* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 72 h) with two conditions

Condition	Concentration	Growth rate (mean ± SD)
Seawater (35 psu)	NT100	1.79 ± 0.12
	T6.25	1.66 ± 0.03
	T12.5	1.53 ±0.03
	T25	1.56 ± 0.19
	T50	0.99 ± 0.17
	T100	0.20 ± 0.13
Brackish water (19 psu)	NT100	1.74 ± 0.03
	T6.25	1.59 ± 0.04
	T12.5	1.49 ± 0.18
	T25	1.50 ± 0.07
	T50	1.57 ± 0.08
	T100	1.45 ± 0.11

NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

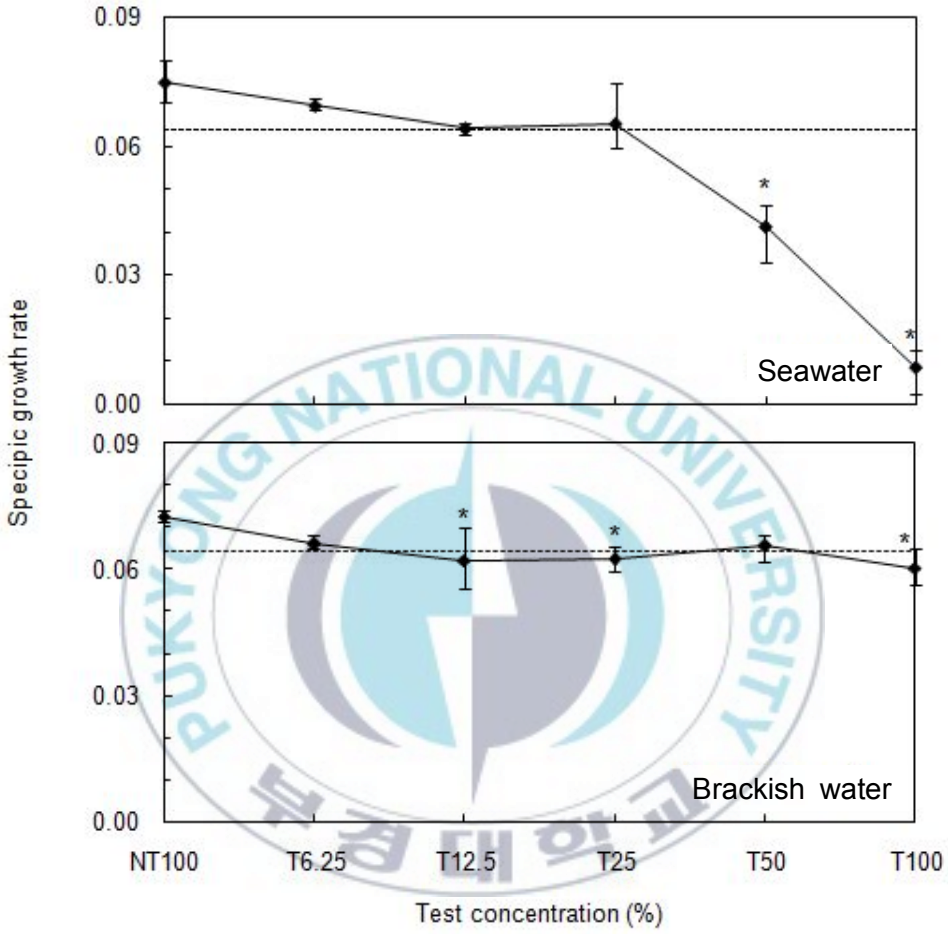

Fig. 5. Concentration-response curves of specific growth rate of diatom *Skeletonema costatum* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 72 h) with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). The dotted lines and symbols (*) represent at the 0.05 level of significance. Vertical bars represent maximum and minimum value. NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

나머지 실험구에서는 성장률이 1.53~1.66으로 NT100에 비해 감소하는 경향이 나타났으나, 통계적으로는 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 3, Fig. 5; ANOVA, $p > 0.05$).

기수 조건의 실험에서는 *S. costatum*의 초기접종 밀도가 평균 3,580 cell/mL 이었다. 실험개시 후, 48시간까지 전기분해 처리수 농도와 관계없이 유사한 세포밀도로 증가양상을 보이다가 48시간 후부터 실험 종료 시까지 각 실험구들의 세포밀도가 NT100에서 보다 낮게 나타났다(Fig. 4). 실험 종료 시의 세포밀도는 NT100이 651,845 cell/mL로 가장 높았으며, T100에서 295,739 cell/mL로 가장 낮았다. 나머지 실험구들에서는 312,989~409,811 cell/mL이었으며, T25, T50 및 T100의 실험구에서는 실험 농도가 높아질수록 세포밀도가 낮아짐을 보였다(Fig. 4). 실험종료시의 NT100의 성장률은 1.74로 가장 높았으나, T12.5, T25 및 T100의 실험구에서는 각각 1.49, 1.50 및 1.45의 성장률을 나타내며 NT 100과 유의한 차이를 보였고, 다른 실험구들에서는 차이가 나타나지 않았다 (Table 3, Fig. 5; $p < 0.05$).

1.2 영향농도

실험결과로부터 NOEC, LOEC 및 EC_{50} 값을 산출한 결과, 해수조건에서 각각 T25, T50 및 T55.7로 전기분해 처리수에 대한 성장저해 영향이 높게 나타났다(Table 4; $p < 0.05$).

기수조건에서는 T12.5와 T25에서 NT100과 유의한 차이가 나타났지만, 그 보다 높은 농도인 T50이 NT100과 유의한 차이가 없었으며, 편차도 크지 않았으므로 전기분해 처리수 농도에 따른 영향이라 판단하지 않았다(Fig. 5; $p < 0.05$). 따라서, 이전 구간에서 나타난 유의차는 고려하지 않아 T50이 NOEC로 산출되었고, LOEC도 역시 NT100과 유의한 차이가 나타난 T100이 산출되었다(Fig. 5, Table 4; $p < 0.05$).

Collection @ pknu

Table 4. Results of growth experiment of diatom *Skeletonema costatum* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 72 h) with two conditions

Condition	NOEC	LOEC	EC_{50}	95% Confidence of limit	
				Lower	Upper
Seawater (35 psu)	T25	T50	T55.7	T37.2	T71.8
Brackish water (19 psu)	T50	T100	> T100	-	-

NOEC: no observed effect concentration, LOEC: lowest observed effect concentration, EC_{50}: effect concentration of 50%, T100: 100% of treated ballast water, - : not applicable

Collection @ pknu

또한, EC_{50} 값이 T100 이상으로 산출되어 미약하지만 성장 저해영향이 있는 것으로 나타났고, 해수와 기수 조건의 실험 결과를 비교했을 때 해수에서 성장저해영향이 더 높은 것으로 나타났다(Fig. 5, Table 4; $p < 0.05$).

2. 전기분해 처리수 농도에 따른 로티퍼의 생존 및 성장

2.1 생존율

로티퍼의 부화유생을 전기분해 처리수에 24시간 동안 노출시킨 생존 실험 결과, 해수 조건의 실험에서는 NT100을 포함한 모든 농도의 실험구에서 사망한 개체가 없어 100%의 생존율을 나타냈다(Fig. 6). 기수 조건의 실험에서는 T6.25와 T25에서 1개체씩 사망하여 98.3% 생존율을 보였으며, NT100을 포함한 나머지 다른 실험구에서는 100%의 생존율을 나타냈다(Fig. 6). 생존율을 이용한 통계분석 결과, 해수와 기수 조건의 실험에서 대조구인 NT100과 유의한 차이를 보이는 실험구는 없었다(Fig. 7; $p > 0.05$).

2.2 성장률

로티퍼의 개체군 성장 실험을 위해 전기분해 처리수에 96시간 동안 노출시킨 결과, 해수에서는 실험개시 24시간 이후부터 개체수가 증가하기 시작하였다(Fig. 8). 실험종료시의 개체수는 NT100에서 62개체로 가장 많았으며, 가장 낮은 개체수는 T6.25에서 58개체로 나타났다(Fig. 8). 실험종료시의 NT100과 T100의 개체군 성장률은 0.63로 가장 높았고, 다른 실험구들에서는 0.61~0.62로 나타났다(Table 5). 실험구들의 개체군 성장률은 유사하였으나 T6.25, T12.5 및 T25의 실험구에서는 NT100과 통계적으로 유의한 차이를 보였고, 다른 실험구에서는 대조구인 NT100과 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 5; Fig. 9; $p < 0.05$).

Collection @ pknu

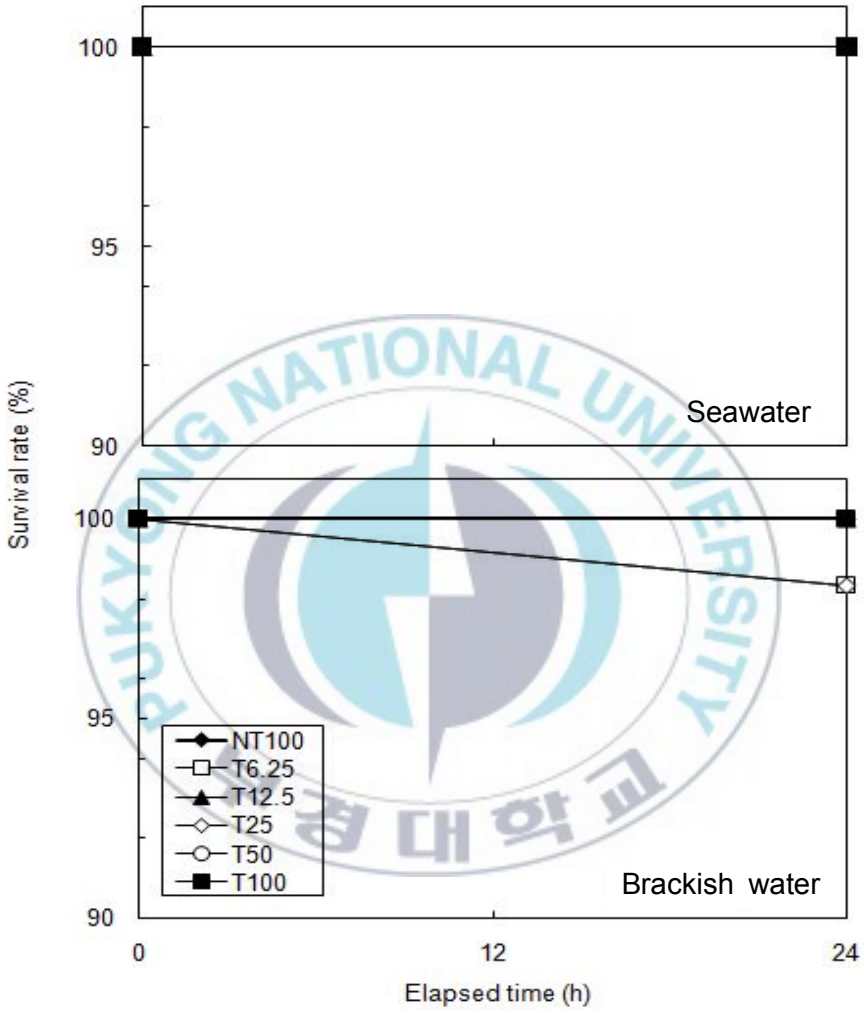

Fig. 6. The average survival rate of rotifer *Brachionus plicatilis* exposed to electrolysed ballast water for 24 h in the experiments with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

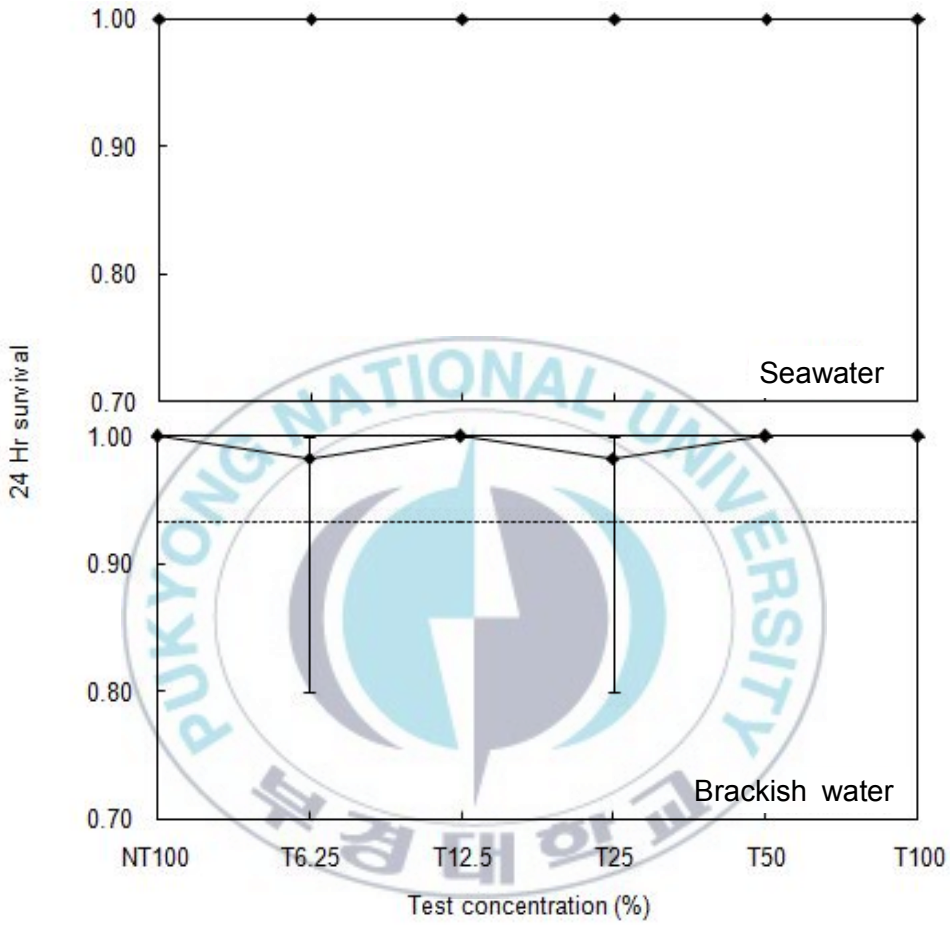

Fig. 7. Concentration-response curves of survival rate of rotifer *Brachionus plicatilis* exposed to electrolysed ballast water for 24 h in the experiments with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). The dotted lines and symbols (*) represent at the 0.05 level of significance. Vertical bars represent maximum and minimum value. NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

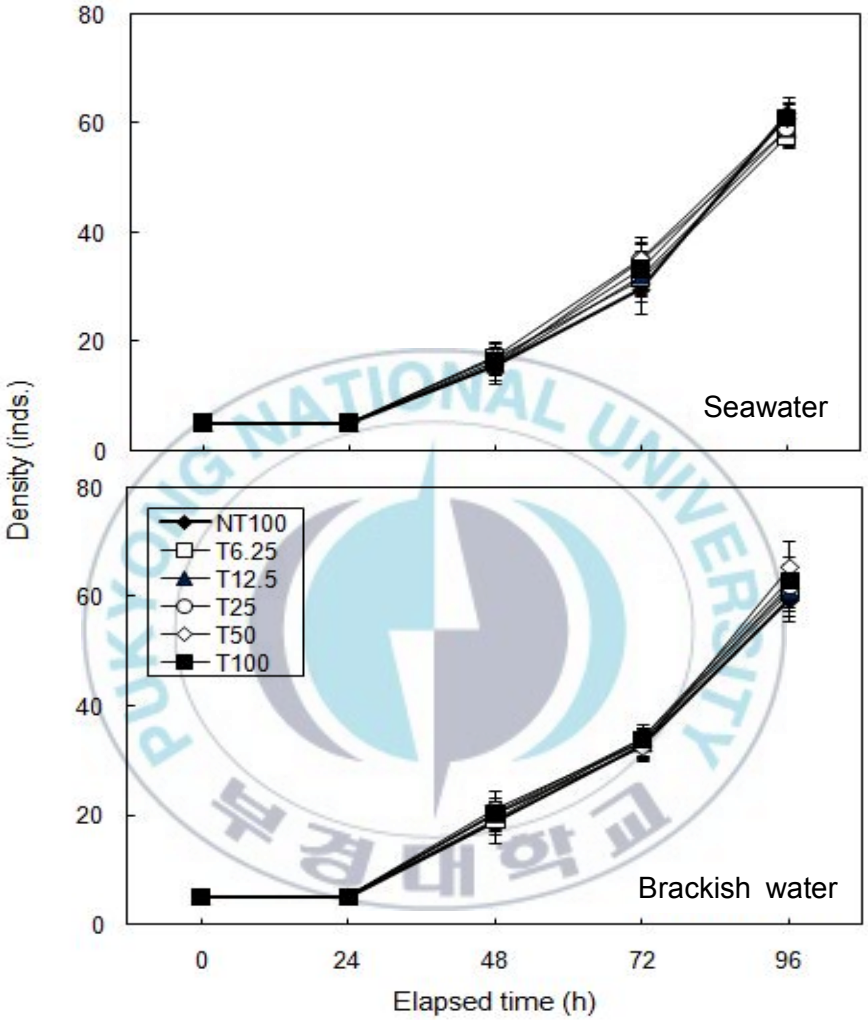

Fig. 8. Variation of the mean number of rotifer *Brachionus plicatilis* exposed to electrolysed ballast water for 96 h in the experiments with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). Vertical bars represent the standard deviation. NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

Table 5. Population growth rate of rotifer *Brachionus plicatilis* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 96 h) with two conditions

Condition	Concentration	Growth rate (mean ± SD)
Seawater (35 psu)	NT100	0.63 ± 0.01
	T6.25	0.61 ± 0.01
	T12.5	0.62 ± 0.01
	T25	0.62 ± 0.01
	T50	0.62 ± 0.01
	T100	0.63 ± 0.01
Brackish water (19 psu)	NT100	0.62 ± 0.01
	T6.25	0.63 ± 0.02
	T12.5	0.62 ± 0.01
	T25	0.63 ± 0.01
	T50	0.64 ± 0.02
	T100	0.63 ± 0.01

NT: control water, T: treated water.

dCollection @ pknu

기수에서도 실험개시 24시간 이후부터 모든 실험구에서 개체수의 증가를 보였다(Fig. 8). 실험 종료 시 T50에서 개체수가 65개체로 가장 많았으며, NT100에서 59개체로 개체수가 가장 낮았다(Fig. 8). 개체군 성장률은 T50에서 0.64로 가장 높게 나타났으며, NT100과 T12.5에서는 0.62로 가장 낮게 나타났다(Table 5). 해수와 달리 기수에서는 통계결과 NT100과 유의한 차이를 보이는 실험구는 나타나지 않았다(Fig. 9; $p > 0.05$).

2.3 영향농도

생존율 실험 결과로부터 산출된 NOEC, LOEC 및 LC_{50} 값은 해수와 기수 조건의 실험 모두 전기분해 처리수 농도가 100%인 T100 이상으로 나타나 전기분해 처리수가 생존율에 미치는 독성 영향이 없었다(Table 5; $p > 0.05$).

개체군 성장률로부터 산출된 NOEC, LOEC 및 EC_{50} 값 또한 해수와 기수 조건의 실험에서 모두 T100 이상으로 나타나 전기분해 처리수가 로티퍼의 개체군 성장에 미치는 독성영향이 없는 것으로 나타났다(Table 7; $p > 0.05$). 해수 조건에서의 실험결과를 바탕으로 영향농도 산출 시, T6.25, T12.5 및 T25의 실험구가 NT100과 유의한 차이가 나타났지만, 더 높은 농도인 T50과 T100에서 NT100과 유의한 차이가 없었으며, 편차도 크지 않았다(Fig. 9; $p < 0.05$). 따라서, T6.25, T12.5 및 T25의 실험구에서 나타난 유의차는 전기분해 처리수에 의한 영향이 아니라고 판단하여 고려하지 않았다(Fig. 9; $p < 0.05$).

Collection @ pknu

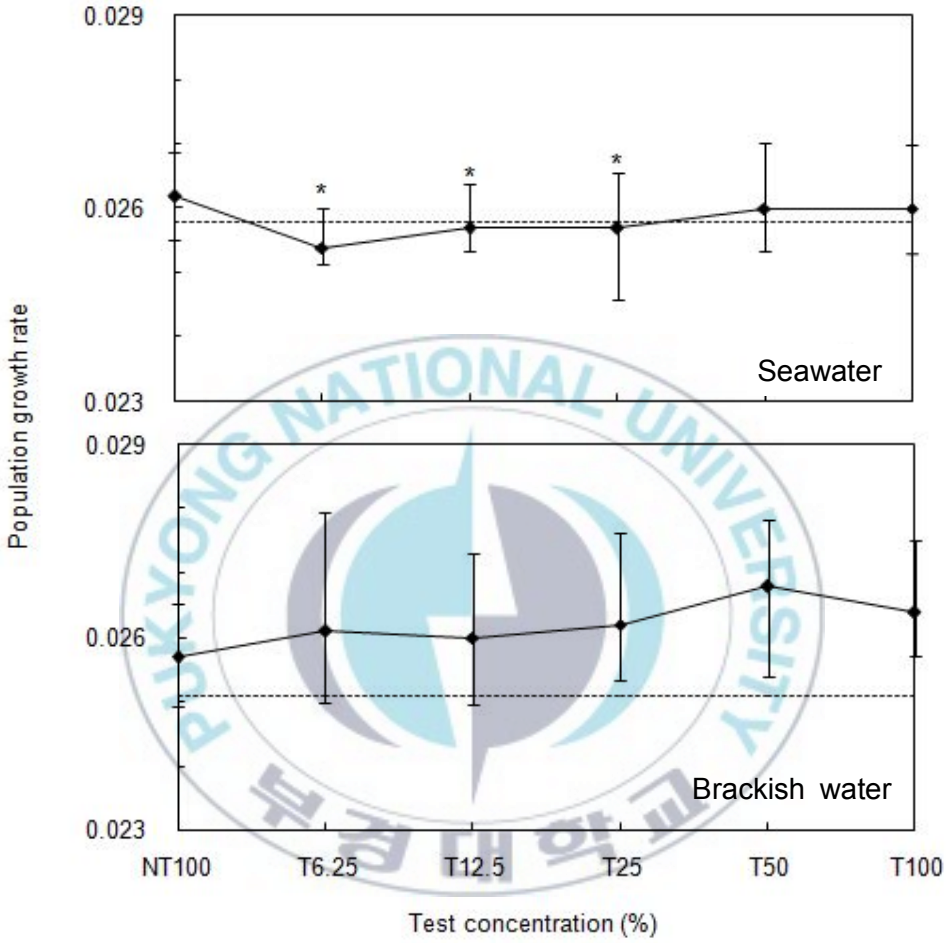

Fig. 9. Concentration-response curves of population growth rate of rotifer, *Brachionus plicatilis* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 96 h) with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). The dotted lines and symbols (*) represent at the 0.05 level of significance. Vertical bars represent maximum and minimum value. NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

Table 6. Results of survival and population growth experiment of the rotifer, *Brachionus plicatilis* exposed to electrolysed ballast water at two conditions

Type	Condition	NOEC	LOEC	LC_{50} / EC_{50}	95% Confidence of limit	
					Lower	Upper
Survival rate (24 h)	Seawater (35 psu)	T100	> T100	> T100	-	-
	Brackish water (19 psu)	T100	> T100	> T100	-	-
Population growth (96 h)	Seawater (35 psu)	T100	> T100	> T100	-	-
	Brackish water (19 psu)	T100	> T100	> T100	-	-

NOEC: no observed effect concentration, LOEC: lowest observed effect concentration, EC_{50}: effect concentration of 50%, LC_{50}: lethal concentration of 50%, T100: 100% of treated ballast water, - : not applicable

Collection @ pknu

3. 전기분해 처리수 농도에 따른 넙치의 수정란 및 부화자어의 생존

3.1 생존율

전기분해 처리수가 넙치의 수정란 및 부화자어의 생존에 미치는 영향을 조사하기 위해 7일간 노출시킨 결과, 해수 조건의 실험에서는 실험 개시 2일 후에 수정란의 부화가 완료되었으며, 이때의 부화율은 T50에서 91.1% 로 가장 높았고, T12.5에서 85.6%로 가장 낮았다(Fig. 10). NT100을 포함한 다른 실험구들에서는 86.7~88.9%로서, 해수 실험에 사용된 수정란의 부화율은 모든 실험구에서 85% 이상을 보였다(Fig. 10). 부화 후 3일째부터 T25에서 나머지 실험구들에 비해 생존율이 낮게 나타났으며, 5일 후부터 T100에서 가장 낮은 생존율을 보였다(Fig. 10). 실험 종료 시의 생존율은 NT100에서 72.2%로 가장 높았고, T100에서 55.6%로 가장 낮았으며 그 외의 실험구들은 66.7~70.0%의 생존율을 보였다(Fig. 10). T100의 실험구에서 다소 낮은 생존율을 보이며 NT100과 유의한 차이가 나타났지만, 다른 실험구들은 NT100과 유의한 차이가 없었다(Fig. 11; $p < 0.05$).

기수 조건의 실험에서도 실험 개시 2일 후에 부화가 완료되었으며, 부화율은 NT100에서 94.4%로 가장 높았고, T12.5에서 80%로 가장 낮았다(Fig. 10). 나머지 실험구들은 부화율이 86.7~96.3%로 나타나며, 부화율은 모든 실험구에서 80% 이상을 보였다(Fig. 10). 실험 종료 시 NT100의 생존율은 77.8%로 가장 높았고, T12.5에서 67.8%로 가장 낮았으며, 나머지 실험구들은 68.9~74.4%이었다(Fig. 10). 생존율을 바탕으로 통계 분석한 결과, NT100과 비교하여 유의한 차이를 보이는 실험구는 나타나지 않았다(Fig. 11; $p > 0.05$).

Collection @ pknu

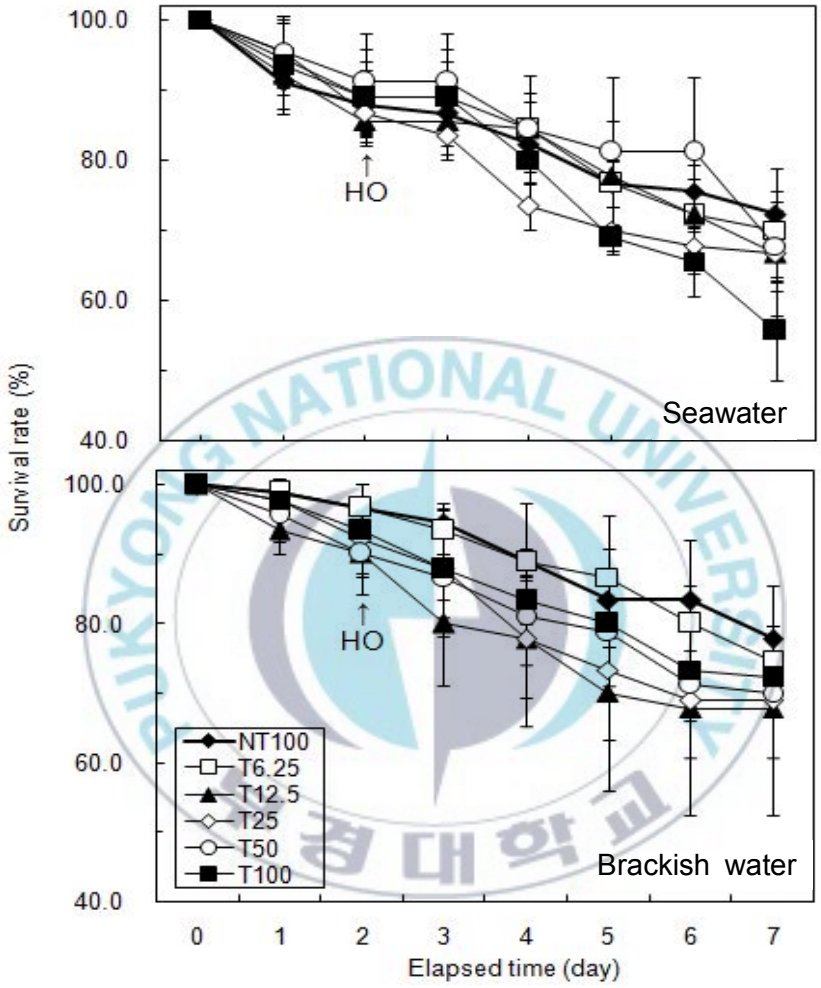

Fig. 10. Variation of the mean survival rate of fertilized eggs and yolk-sac larva of olive flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to electrolysed ballast water for 7 days in the experiments with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). Vertical bars represent standard deviation. HO: hatched out, NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

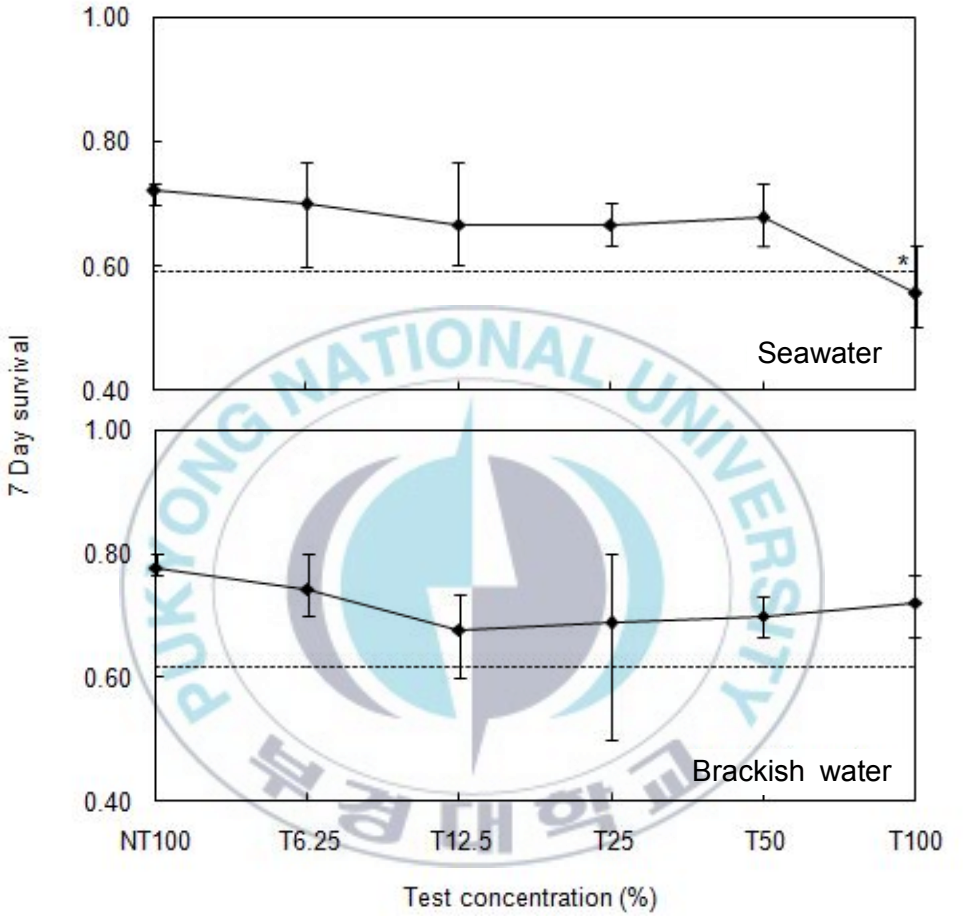

Fig. 11. Concentration-response curves of survival rate of fertilized eggs and yolk-sac larva of olive flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 7 days) with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). The dotted lines and symbols (*) represent at the 0.05 level of significance. Vertical bars represent maximum and minimum value. NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

3.2 영향농도

넙치의 수정란 및 부화자어의 실험 결과를 바탕으로 통계분석한 결과, 해수 조건의 실험에서는 NOEC는 T50, LOEC가 T100 및 LC_{50}이 T100 이상으로 산출되며 독성영향이 나타났다(Fig. 11, Table 7; $p < 0.05$).

반면, 기수 조건의 실험에서는 T12.5에서 생존율이 가장 낮았지만 NT100과 유의한 차이가 없었으므로, NOEC가 T100, LOEC 및 LC_{50}이 T100 이상으로 산출되며 전기분해 처리수에 대한 독성영향이 나타나지 않았다(Table 7; $p > 0.05$).

4. 전기분해 처리수 농도에 따른 넙치 치어의 생존

4.1 생존율

농도에 따른 전기분해 처리수가 넙치 치어의 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위해 96시간 동안 노출시킨 결과, 해수 조건의 실험에서 가장 높은 생존율을 보인 실험구는 T6.25로, 사망개체가 발견되지 않아 생존율이 100%로 나타났다. NT100과 T50의 실험구에서 96.7%로 생존율이 가장 낮게 나타났고, 나머지 실험구에서는 98.3%로 동일한 생존율을 보였다(Fig. 12). 통계분석 결과 NT100의 생존율과 유의한 차이를 보이는 실험구는 나타나지 않았다(Fig. 13; $p > 0.05$).

기수 조건의 실험에서는 NT100을 포함한 모든 실험구에서 사망한 개체가 나타나지 않아 생존율 100%를 보였으며, 유의한 차이를 보이는 실험구도 나타나지 않았다(Fig. 12, Fig. 13; $p > 0.05$).

Collection @ pknu

Table 7. Results of survival experiment of fertilized eggs and yolk-sac larva of olive flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 7 days) with two conditions

Condition	NOEC	LOEC	LC_{50}	95% Confidence of limit	
				Lower	Upper
Seawater (35 psu)	T50	T100	>T100	-	-
Brackish water (19 psu)	T100	> T100	> T100	-	-

NOEC: no observed effect concentration, LOEC: lowest observed effect concentration, LC_{50}: lethal concentration of 50%, T100: 100% of treated ballast water, - : not applicable

Collection @ pknu

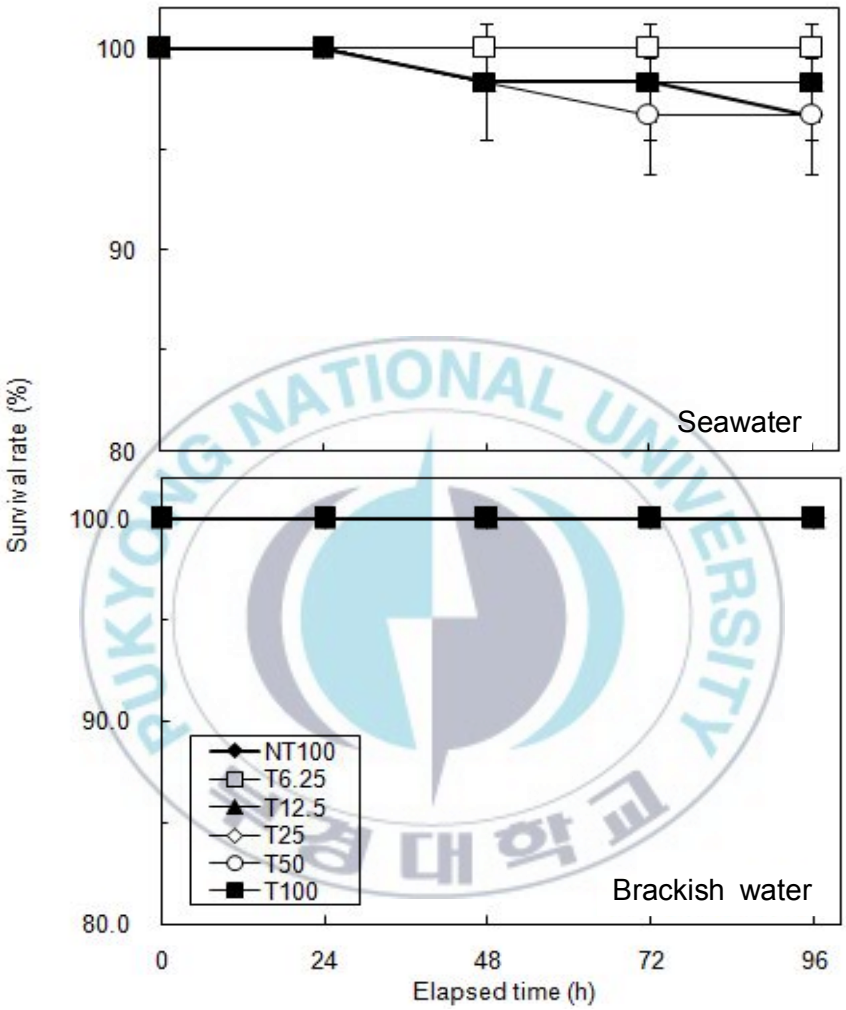

Fig. 12. Variation of the mean survival rate of juvenile of olive flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to electrolysed ballast water for 96 h in the experiments with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). Vertical bars represent the standard deviation. NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

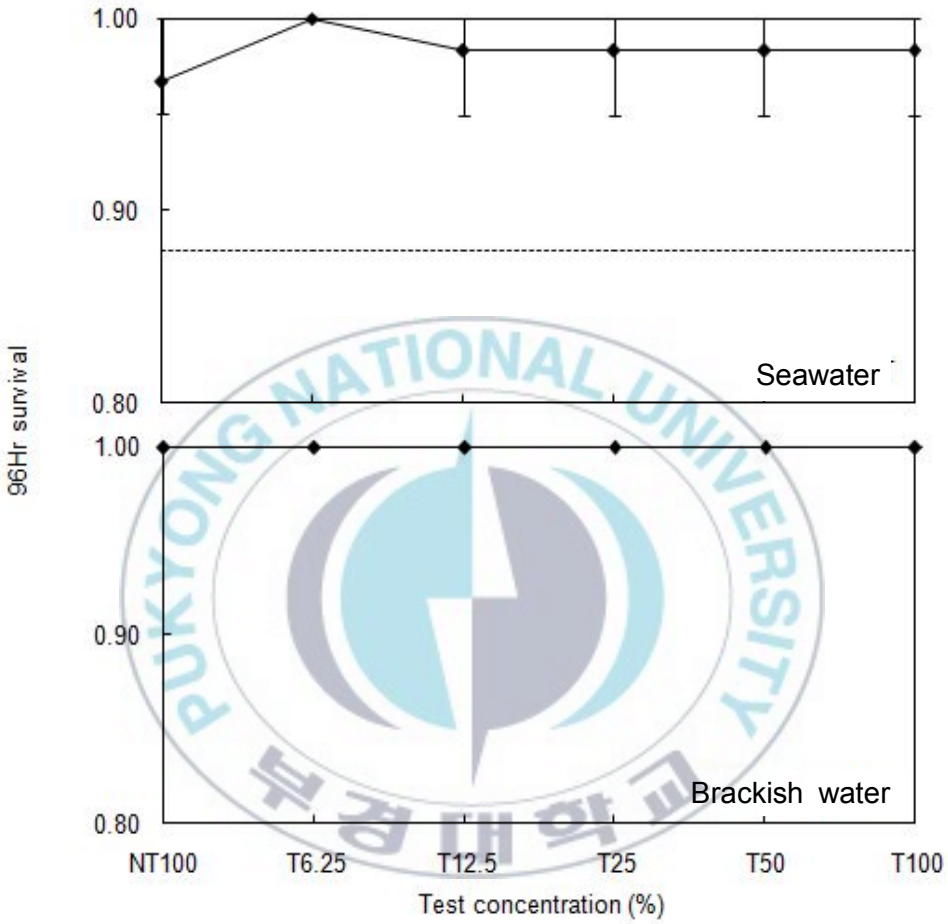

Fig. 13. Concentration-response curves of survival rate of juvenile of olive flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 96 h) with seawater (35 psu) and brackish water (19 psu). The dotted lines and symbols (*) represent at the 0.05 level of significance. Vertical bars represent maximum and minimum value. NT: control water, T: treated water.

Collection @ pknu

4.2 영향농도

넙치 치어의 생존실험 결과를 바탕으로 산출된 NOEC, LOEC 및 LC_{50} 값은, 해수와 기수 조건의 실험 모두 전기분해 처리수의 100%인 T100 이상으로 나타나며, 전기분해 처리수가 넙치 치어의 생존율에 미치는 독성영향은 없는 것으로 나타났다(Table 8; $p > 0.05$).

PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY
부경대학교

Collection @ pknu

Table 8. Results of survival experiment of juvenile of olive flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to electrolysed ballast water at the end of the experiments (after 96 h) with two test conditions

Condition	NOEC	LOEC	LC_{50}	95% Confidence of limit	
				Lower	Upper
Seawater (35 psu)	T100	＞T100	＞T100	-	-
Brackish water (19 psu)	T100	＞T100	＞T100	-	-

NOEC: no observed effect concentration, LOEC: lowest observed effect concentration, LC_{50}: lethal concentration of 50%, T100: 100% of treated ballast water, - : not applicable

Collection @ pknu

Ⅳ. 고 찰

선박평형수 처리장치 중 전기분해 방법이 유해생물 제거에 매우 효과적이나, 이러한 화학적인 방법의 대부분은 활성물질 및 다양한 소독부산물들(DBPs)을 생성한다. 활성물질 및 2차적으로 생성된 소독부산물은 해양생태계 내에서 생물과 환경에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있다(Banerji et al., 2012; Werschkun et al., 2012; Zhang et al., 2013). 따라서, 본 연구에서는 전기분해 처리한 선박평형수(전기분해 처리수)가 해양생물에 미치는 영향에 대해 조사하였다.

분류학적으로 서로 다른 생물군에 속하는 3종의 실험생물을 이용하여 전기분해 처리수에 대한 영향을 평가한 결과, 규조류인 *Skeletonema costatum*이 해수와 기수조건의 실험에서 EC50이 각각 T55.7과 T100 이상으로 독성이 검출되어 가장 민감한 생물로 나타났다. 이는 전기분해 처리수에 대해 이루어진 이전의 연구들에서도 *S. costatum*을 포함한 미세조류가 가장 민감한 반응을 보인 것으로 나타나 본 연구결과에 부합하였다(MEPC, 2009, 2010a, 2010b, 2010c 2011a, 2011b, 2012a; Shon et al., 2013). 이러한 결과는 *S. costatum*이 실험에 이용된 다른 생물들에 비해 하등한 생물이며, 매우 미세한 유기체이자 단세포 생물이므로, 독성물질 또는 외부 환경에 대한 자극에 더 민감하게 반응한 것으로 보인다. 또한, 염소처리한 배출수 내의 잔류 TRO는 특히 식물플랑크톤의 광합성 기능을 손상시켜 기초생산력의 감소를 야기할 수 있다고 알려져 있다(Brook and Baker, 1972; Carpenter et al., 1972; Morgan and Carpenter, 1978; Poornima et al., 2005). 본 연구에서 평형수를 중화 처리하여 총잔류산화물(TRO) 농도가 검출한계인 0.03 μg/L 미만으로 검출되었으나, 극미량으로도 *S.*

Collection @ pknu

*costatum*의 성장에 영향을 미칠 수 있는 것으로 추정된다. 그리고 전기분해 처리수가 5일 동안 탱크 내에서 보관되는 동안 처리수 내의 TRO와 사멸된 생물의 사체 및 잔존 유기물들과 지속적으로 반응하여 다양한 소독부산물들을 생성하게 되므로, 이들 사이의 상승 및 길항작용이 잔류독성으로 나타나는 것으로 판단된다. 이러한 소독부산물들의 생성은 pH, 수온, 접촉시간, 전구물질의 농도, 특성 및 잔류염소의 양 등에 따라 많은 차이를 나타내므로(Lee et al., 2003; Kim et al., 2005), 종에 대한 민감도도 다르게 나타날 수 있다.

한편, 로티퍼 *Brachionus plicatilis*에서는 생존율 및 개체군 성장률에 미치는 영향이 나타나지 않았다. MEPC (2011a)에서는 기수 조건에서 NOEC, LOEC 및 EC_{50} 값이 각각 T50, T100 및 T100 이상으로 산출되며 미약한 독성영향을 보여 본 연구와 다소 차이를 나타냈다. 그러나, 로티퍼를 이용하여 전기분해 처리수에 대해 동일한 조건에서 실험한 이전의 연구들에서는 부정적인 영향이 나타나지 않아 본 연구와 일치하였다(MEPC, 2010c, 2012a). 이는 로티퍼가 다른 종에 비해 생성된 소독부산물들에 낮은 민감도를 가진다는 것을 의미하며, 일반적으로 검출되는 소독부산물에 대한 독성 영향은 미미할 것으로 추측할 수 있다.

넙치 *Paralichthys olivaceus*의 수정란 및 부화자어의 생존율 결과에서는 해수 조건에서 NOEC가 T50, LOEC가 T100, LC_{50}값이 T100 이상으로 산출되어 T100에서 미약한 독성영향이 존재하는 것으로 나타났다. MEPC (2010b, 2012a)에서도 해수와 기수 조건에서 모두, MEPC (2011a)에서는 기수 조건에서만 독성영향이 나타나며, 염분에 따른 차이는 있었으나 잔류독성이 검출된 본 연구의 결과와 일치하였다. 그러나, 선행 연구된 MEPC (2010a)에서는 독성이 검출되지 않아 본 연구결과와 차이를 보였다. 넙치의 수정란 및 자어의 본 연구결과를 살펴보면, 실험용액의 농도에 따른 부화율은 차이가 없었지만, 부화 직후

Collection @ pknu

자어기에 들어서부터 T100에 대한 영향이 다소 민감하게 나타났다. 이것은 부화 전 수정란을 둘러싸고 있는 난막이 외부의 독성물질의 전달을 차단하는(Rosenthal and Alderdice, 1976; Rombiogh and Garside, 1982; Hallare et al., 2005) 방패막 역할을 할 뿐만 아니라, 수정란의 난황과 유구(oil globule)에 독성물질이 축적되어 신경계 및 기관에 상대적으로 적은 영향을 미친 것이라 생각된다(Hall et al., 1982). 반면, 부화자어는 갓 부화 후 생체기관들이 미숙한 상태에서 수중 환경에 직접적으로 노출됨에 따라 수정란에 비해 독성영향이 높게 나타난 것으로 추측된다.

한편, 넙치의 치어에서는 독성영향이 없는 것으로 나타났으며, 전기분해 처리수에 대한 다른 연구결과들과 일치함을 보였다(MEPC, 2009, 2010a, 2010b, 2010c 2011a, 2011b, 2012a). 실험에 사용된 치어는 생후 한 달 내외의 연령대로 수정란 및 부화자어보다 오랜 적응 기간을 거치며 외부환경에 상대적으로 강한 민감성을 보이는 것으로 판단된다.

*S. costatum*은 염분내성이 매우 큰 것으로 알려져 있으며(Shimura et al., 1979; Ravail and Robert, 1985; Park et al., 2005), 넙치 역시 광염성 어류로 알려져 있다(Daniels and Borski, 1998; Kelsall and Balment, 1998; Atwood et al., 2001; Higashimoto et al., 2001; Sampaio and Bianchini, 2002). 또한, 넙치의 수정란 및 자어의 생존율도 염분에 따른 차이가 없는 것으로 보고된 바 있다(Min et al., 2007; Park et al., 2008). 해수를 이용한 독성 실험에서 염분을 인위적으로 조절하게 되면 해수 중 염분의 증감으로 인하여 독성이 변하는 경향을 보이게 되므로(Hall and Anderson, 1995.), 광염성 생물을 이용하여 실험할 것을 권장하며(Park et al., 2008), 본 연구에서도 이러한 생물들을 사용하였다.

그러나, 본 연구의 독성실험 결과를 종합해보면, 기수에서보다 해수 조건의 실험에서 생물들에게 미치는 영향이 더 높은 것으로 나타났다. *S. costatum*은

Collection @ pknu

기수보다 해수에서 더 높은 독성 값이 산출되었고, 넙치의 부화자어는 해수에서만 미약한 독성이 나타났다. 이는 잔류독성이 검출된 전기분해 처리한 평형수의 다른 독성실험들이, 해수보다 기수 조건에서 다소 높은 독성을 보이는 것과는 상반된 결과이다(MEPC, 2009, 2010a, 2010b, 2011a, 2011c, 2012a). 또한, 본 연구에서 기수 조건의 실험 실시 전 2~3주간의 염분 순치기간을 두어 생물에게 미칠 수 있는 염분차이의 충격을 배제하였으므로, 해수에서 보다 더 높은 독성이 검출된 원인은 시험용액 내 생성된 소독부산물에서 기인했을 것이라 추정할 수 있다.

전기분해 처리수에서 소독부산물들의 종류수와 농도가 높을수록 *S. costatum*의 개체군의 성장이 저해되며, 특히 물질들 중에서 halogenated acetic acids (HAAs)의 종류 및 농도와 큰 상관성을 가진다고 알려져 있다(Shon et al., 2013). 본 연구의 T100에서 검출된 소독부산물질의 종류가 기수 조건에서는 총 13종이었으며 물질들의 총 농도는 271 µg/L이었고, 총 4종류의 HAAs는 101 µg/L이 검출되었다(화학분석 자료는 재료 및 방법의 실험용액 참조). 반면, 해수에서는 총 20종이 297 µg/L 농도로, 4종류의 HAAs가 218 µg/L으로 검출되며 기수에서의 검출량과 2배 이상의 큰 차이를 보였다. 따라서, 해수 조건에서 생성된 소독부산물들의 총 종류수와, 그 중 HAAs에 해당하는 물질의 농도가 해수에서 높게 검출된 것이 실험생물에게 부정적인 영향을 미친 것으로 추측할 수 있다.

한편, 본 연구에서 검출된 소독부산물 중 기수보다 해수 조건에서 다소 높게 검출된 물질은 HAAs에 속하는 dibromoacetic acid와 tribromoacetic acid이었다. 이 두 물질은 일반적으로 염소로 소독된 배출수에서 발견되어 왔다(Yang et al., 2005; Krasner et al., 2009; Sun et al., 2009). 염소와 같은 활성물질에 관한 독성데이터는 많은 자료가 있는 반면, haloacetic acid (dichloroacetic acid, di-

Collection @ pknu

bromoacetic acid, tribromoacetic acid 및 trichloroacetic acid) 등 할로겐화 소독부산물에 관한 독성데이터는 제한적이다(Burton et al., 2008; Fisher et al., 2014). MEPC (2013)와 Fisher et al., (2014)에서 제시된 dibromoacetic acid의 가장 낮은 농도에서 검출된 생태 독성 값을 비교해보면 담수어류 *Pimephales promelas*에서 96 h-LC_{50} 값이 69,000 µg/L이었고, tribromoacetic acid 는 담수미세조류인 *Psuedokrirchneriella subicapitata*에서 96 h-NOEC 값이 1,000 µg/L로 나타났다. 본 연구의 전기분해 처리수에서 dibromoacetic acid, tribromoacetic acid가 검출된 농도는 해수 조건에서 각각 45 µg/L와 168 µg/L이었으며, 이는 위에서 제시된 생태독성 값에 크게 못 미치는 수준으로, 단일 화학물질들의 영향은 아닌 것으로 판단된다. 선박평형수와 같은 각종 배출수의 경우 여러 가지 화학물질이 복합적으로 존재하기 때문에 화학물질이 가지는 잠재적인 독성영향을 평가하기 어려우며, 2개 이상의 혼합물에 대한 수중생물의 독성은 단일 화학물질이 가진 독성보다 높거나 낮게 나타날 수 있다(Lloyd, 1987).

비록 HS-BALLAST로 전기분해 처리한 선박평형수에서 생물에 대한 독성영향이 나타났지만 가장 민감한 미세조류와 어류의 부화자어에서만 다소 나타났고, 선박평형수가 광활한 해양에서 배출되어 확산됨을 감안하였을 때, 실제적으로 해양생물에게 미치는 부정적인 영향은 미미할 것으로 예측된다. 하지만, 본 연구에서 독성영향의 원인물질로 추정되는 소독부산물의 생성은 앞서 고찰했듯이 전기분해 방식, 접촉시간, pH, 수온, 염소 및 브롬의 농도, 전구물질의 농도 등에 따라 많은 차이를 나타내고(Kim et al., 2005), 독성물질에 노출된 생물의 생존 및 생체반응 또한 물질의 물리·화학적 특성 및 그 농도와 노출시간 그리고 수온, 염분 등의 환경요인과 생물종에 따라 많은 차이를 보이게 되므로(Laughlin and Neff, 1980; Millemann et al., 1984), 선박평형수로 사용하는 그 해역의 특성과 처리장치의 성능에 따라 해양생물에 미치는 영향은

Collection @ pknu

상이할 것으로 예상된다.

따라서, 전기분해 방법 및 조건에 따라 다양하게 생성되는 소독부산물들과 그들의 통합적인 독성이 우려되는 위해성에 대해, 보다 정밀한 상관성 규명을 위하여 전기분해 처리한 선박평형수에 대한 독성연구가 지속적으로 수행되어야 하며, 여러 연구들을 바탕으로 독성 영향의 저감방안을 마련해 나가야 할 것이다.

Collection @ pknu

Ⅳ. 요 약

선박평형수에 의한 외래 침입종의 국제 이동을 규제하기 위해 전 세계적으로 다양한 선박평형수 처리장치(BWMS)가 개발되고 있다. 이 중 전기분해방법은 선박평형수 내에서 활성물질들과 소독부산물들을 생성한다. 이 소독부산물들은 해양생물에게 독성 영향을 나타내고 해양환경에 부정적인 영향을 미칠 수 있다.

따라서, 본 연구에서는 규조류 *Skeletonema costatum*, 로티퍼 *Brachionus plicatilis* 및 넙치 *Paralichthys olivaceus*를 이용하여 전기분해처리수의 독성 실험을 실시하였다. 실험결과, *S. costatum*의 해수 조건에서 무영향농도(NOEC), 최저관찰영향농도(LOEC) 및 50% 영향농도(EC_{50}) 값이 각각 T25, T50 및 T55.7로 산출되었고, 전기분해 처리한 선박평형수에 대해 성장저해 영향을 보이며 가장 민감한 종으로 나타났다. 넙치의 수정란 및 부화자어의 생존율을 이용한 독성 실험에서는 해수 조건에서만 LC_{50}값이 T100 이상으로 미약한 독성 영향을 보였다. 해수 조건에서 넙치의 수정란 및 자어에서 T100의 LOEC값이 산출되었지만 LC_{50}값이 T100 이상으로 미약한 독성영향이 나타났다. 반면에, 로티퍼와 넙치의 치어에서는 두 염분 조건에서 모두 생존율과 개체군 성장률에 영향을 보이지 않으며 독성이 나타나지 않았다.

전기분해 처리한 선박평형수 내의 총잔류산화물(TRO)은 해수와 기수 조건에서 모두 0.03 µg/L 이하로 검출되었다. 해수에서는 생성된 소독부산물질(bromate, volatile halogenated organic compounds, halogenated acetonitriles, halogenated acetic acids (HAAs) 및 chloral hydrate)이 총 20종이 297 µg/L 농도로 검출되었고, 기수에서는 총 13종이었으며 총 농도는 271 µg/L이었다. 소독부산물질 중에서, 특히 HAAs의 농도가 해수와 기수에서 각각 218 µg/L와 101 µg/L이 검출되어 2배 이상 차이를 보였다.

Collection @ pknu

Ⅵ. 참고문헌

ASTM E1440-91. 2012. Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus*. ASTM International, West Conshohocken, PA 19428-2959, United States, pp. 8.

Atwood HL, Tomasso JR and Smith TIJ. 2001. Nitrite toxicity to southern flounder, *Paralichthys lethostigma* in fresh and brackish water. Journal of the World Aquaculture Society 32, 348-351.

Banerji S, Werschkun B and Hofer T. 2012. Assessing the risk of ballast water treatment to human health. Regulatory Toxicology and Pharmacology 62, 513-522.

Brook AJ and Baker AL. 1972. Chlorination at power plants: impact on phytoplankton productivity. Science 176, 1414-1415.

Burton DT, Ziegler G, Fisher DJ and Yonkos LT. 2008. G9 Data for Siemens Ballast Water Management System Dossier for Application for Basic Approval. Final report to Siemens Water Technologies Corporation/Electrocatalytic Products, Union, New Jersey, pp. 33.

Carpenter EJ, Peck BB and Anderson SJ. 1972. Cooling water chlorination and productivity of entrained phytoplankton. Marine Biology 16, 37-40.

ClassNK. 2014. Latest information of approval of ballast water management system. Retrieved from https://www.classnk.or.jp/hp/pdf/activities/statutory/

Collection @ pknu

ballastwater/ approval_ballast_e.pdf on June 30 2014.

Daniels HV and Borski RJ. 1998. Effects of low salinity on growth and survival of Southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) larvae and juveniles. In: United States/Japan Natural Resources Aquaculture Symposium: Marine Finfish and Shellfish Aquaculture, Marine Stock Enhancement and Open Ocean Engineering, Technical Report, 26, pp. 187-191.

Deborde M and Gunten UV. 2008. Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment-kinetics and mechanisms: a critical review. Water Research 42, 13-51.

Fisher D, Yonkos L, Ziegler G and Friedel E. 2014. Acute and chronic toxicity of selected disinfection byproducts to *Daphnia magna*, *Cyprinodon variegatus* and *Isochrysis galbana*. Water Research 55, 233-244.

Globallast. 2003. Ballast water Risk Assessment: Uwer Guide (1.4) for the BWRA Database/GIS System.

Gollasch S, David M, Voigt M, Dragsund E, Hewitt C and Fukuyo Y. 2007. Critical review of the IMO international convention on the management of ship's ballast water and sediments. Harmful Algae 6, 585-600.

Goncalves AA and Gagnon GA. 2012. Recent technologies for ballast water treatment. Ozone Science and Engineering 34, 174-195.

Gregg M, Rigby G and Hallegraeff GM. 2009. Review of two decades of progress in the development of management options for reducing or

Collection @ pknu

eradicating phytoplankton, zooplankton and bacteria in ship's ballast water. Aquatic Invasions 4, 521-565.

Hall LW, Graves WC, Burton DT and Roberson BS. 1982. A comparison of chlorine toxicity to three life stages of striped bass (*Morone saxatilis*). Bulletin of Environmental Contamination Toxicology 29, 631-636.

Hall LW and Anderson RD. 1995. The influence of salinity on the toxicity of various classes of chemicals to aquatic biota. Critical Reviews in Toxicology 25, 281-346.

Hallare AV, Schirling M, Luckenbach T, Kohler HR and Triebskorn R. 2005. Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. Journal of Thermal Biology 30, 7-17.

Hallegraeff GM and Bolch CJ. 1991. Transport of toxic dinoflagellate cysts via ship' ballast water. Marine Pollution Bulletin 22, 27-30.

Hallegraeff GM. 1998. Transport of toxic dinoflagellates via ship' ballast water: bioeconomic risk assessment and efficacy of possible ballast water management strategies. Marine Ecology Progress Series 168, 297-309.

Higashimoto Y, Nakao N, Ohkubo T, Tanaka M and Nakashima K. 2001. Structure and tissue distribution of prolactin receptor mRNA in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*): conserved and preferential expression in

Collection @ pknu

osmoregulatory organs. General and Comparative Endocrinology 123, 170-179.

Huang Y-R, Hung Y-C, Hsu S-Y, Huang Y-W and Hwang D-F. 2008. Application of electrolyzed water in the food industry. Food Control, 19, 329-345.

IMO. 1973. International Convention for the Prevention of Pollution from Ships (MARPOL). Final Act of the International Conference on Marine Pollution, Resolution 18. International Maritime Organization, London, UK.

IMO. 2004. International Convention for the Control and Management of Ship's Ballast Water and Sediments, IMO BWM/CONF/36.

IMO. 2005. Procedure for approval of ballast water management systems that make use of active substances (G9). Resolution MEPC 126 (53). 29 pp.

IMO. 2013. International convention for the control and management of sheep's ballast water and sediment, 2004, List of ballast water management systems tha make use of active substances which received basic and final approval. BWM.2/Circ.34/Rev.2.

ISO 10253. 2006. Water quality-marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*. International Standard Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

Janssen CR, Persoone G and Snell TW. 1994. Cyst-based toxicity tests. VIII. Short-chronic toxicity tests with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*.

dCollection @ pknu

Aquatic Toxicology, 28, 243-258.

Kazumi J, 2007. Ballast Water Treatment Technologies and Their Application for Vessels Entering the Great Lakes via the St. Lawrence Seaway. Transportation Research Board Special Report 291. Miami, Florida.

Kelsall CJ and Balment RJ. 1998. Native urotensins influence cortisol secretion and plasma cortisol concerntration in the euryhaline flounder, *Platichthys flesus*. General and Comparative Endocrinology 112, 210-219.

Kim E-C, Oh J-H and Lee S-G. 2012. Consideration on the concentration of the active substances produced by the ballast water treatment system. Journal of Korean Society for Marine Environmental Engineering 15, 219-226.

Kim JK, Jung SG, Shin CS and Cho HJ. 2005. Characteristics of disinfection by-products formation in Korea. Journal of the Korean Society of Water and Wastewater 19, 301-311.

Kim J-S and Gill D-S. 2007. Electrolysis characteristics of shipboard wastewater to manage the marine pollution. Journal of Korean Society of Water Science and Technology 15, 17-24.

Kiura H, Sano K, Morimatsu S, Nakano T, Morita C, Yamaguchi M, Maeda T, and Katsuoka Y. 2002. Bactericidal activity of electrolyzed acid water from solution containing sodium chloride at low concentration, in comparison with that at high concentration. Journal of Microbiological Methods 49, 285-293.

Collection @ pknu

Krasner SW, Westerhoff P, Chen B, Rittmann BE and Amy G. 2009. Occurrence of disinfection byproducts in United States wastewater treatment plant effluents. Environmental Science and Technology 43, 8320-8325.

Laughlin RB and Neff JM. 1980. Influence of temperature, salinity, and phenanthrene (a petroleum derived hydrocarbon) on the respiration of larval mud crabs *Rhithropanopeus harristii.* Estuarine Coastal and Marine Science 10, 655-669.

Lee B-H, Lee J-K, Gil D-S and Kwak S-Y. 1997. Ammonia-nitrogen removal in sea water by using electrolysis. Journal of Aquaculture 10, 435-438.

Lee K-J, Hong J-E, Pyo H. Park S-J, Yoo J-K and Lee D-W. 2003. A study on formation pattern of DBPs by disinfection of drinking raw water. Analytical Science and Technology 16, 249-260.

Li XY, Ding F, Lo PSY and Sin SHP. 2002. Electrochemical disinfection of saline wastewater effluent. Journal of Environmental Engineering 128, 697-704.

Lloyd R. 1987. Special tests in aquatic toxicity for chemical mixtures: interactions and modification of response by variation of physicochemical conditions, In: Vouk VB, Butler GC, Upton AC, Parke DV and Asher SC (eds.), Methods for Assessing the Effects of Mixtures of Chemicals, New York, John Wiley & Sons, pp. 491-507.

Martínez-Huitle CA and Brillas E. 2008. Electrochemical alternatives for drinking water disinfection. Angewandte Chemie International Edition 47, 1998-2005.

dCollection @ pknu

Matousek RC, Hill DW, Herwig RP, Cordell JR, Nielsen BC, Ferm NC, Lawrence DJ and Perrins JC. 2006. Electrolytic sodium hypochlorite system for treatment of ballast water. Journal of Ship Production 22, 160-171.

MEPC. 2009. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for basic approval of Kwang San Co., Ltd. (KS) ballast water treatment system "En-Ballast" submitted by republic of korea. Marine Environment Protection Committee 60/2/7.

MEPC. 2010a. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for basic approval of AquaStar ballast water treatment system submitted by republic of korea. Marine Environment Protection Committee 61/2/1.

MEPC. 2010b. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for final approval of the HHI ballast water treatment system submitted by republic of korea. Marine Environment Protection Committee 62/2/5.

MEPC. 2010c. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for basic approval of the STX Metal Co., Ltd. ballast water treatment system submitted by republic of korea. Marine Environment Protection Committee 62/2/8.

MEPC. 2011a. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for final approval of the AquaStar™ ballast water treatment system submitted by the republic of korea. Marine Environment Protection Committee 63/2/3.

MEPC. 2011b. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for basic approval of the EcoGuardian™ ballast water treatment system submitted by the republic of korea. Marine Environment Protection Committee 63/2/4.

dCollection @ pknu

MEPC. 2011c. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for final approval of the KTM-BWMS ballast water treatment system submitted by the republic of korea. Marine Environment Protection Committee 63/2/8.

MEPC. 2012a. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for basic approval of the Smart Ballast ballast water treatment system submitted by the republic of korea. Marine Environment Protection Committee 64/2/2.

MEPC. 2012b. Harmful aquatic organisms in ballast water, application for basic approval of the HS-BALLAST water treatment system submitted by the republic of korea. Marine Environment Protection Committee 64/2/3.

MEPC. 2013. Harmful aquatic organisms in ballast water, information on the GESAMP-BWWG Database of chemicals most commonly associated with treated ballast water. Marine Environment Protection Committee 65/INF.14.

Millemann RE, Birge WJ, Black JA, Cushman RM, Daniels KL, Franco PJ, Giddings JM, McCarthy JF and Stewart AJ. 1984. Comparative acute toxicity to aquatic organisms of components of coal-derived synthetic fuels. Transactions of the American Fisheries Society 113, 74-85.

Min EY, Lee OH and Kang J-C. 2007. The effects of hypo-salinity on embryos and larvae of olive flounder (*Paralichthys olvaceus*). Journal of Fish Pathology 20, 257-267.

Morgan RP and Carpenter EJ. 1978. Biocides. In: Schubel JR and Marcy BC (eds.), Power Plant Entrainment: A Biological Assessment. Academic Press,

dCollection @ pknu

Inc., New York, 96-113.

OECD 203. 1992. Fish, Acute Toxicity Test. OECD Guideline for Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, 9 pp.

OECD 212, 1998. Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, 20 pp.

Ostenfeld CH. 1908. On the immigration of *Biddulphia sinensis* Grev. and its occurrence in the North Sea during 1903-1907 and on its use for the study of the direction and rate of flow of the currents. Meddelelser fra Kommissionen for Danmarks fiskeri-og havundersøgelser: Serie Plankton 1, 1-44.

Park G-S, Lee S-H, Lee S-M, Yoon S-J and Park S-Y. 2005. Phytoplankton as standard test species for marine ecotoxicological evaluation. Journal of the Environmental Sciences 14, 1129-1139.

Park GS, Kang J-C, Yoon SJ, Lee SM and Hwang UK. 2008. Establishment of marine ecotoxicological standard method for larval fish survival test. Journal of the Korean Society of Oceanography 13, 140-146.

Pascho RJ, Landolt ML and Ongerth JE. 1995. Inactivation of *Renibacterium salmoninarum* by free chlorine. Aquaculture 131, 165-175.

Patermarakis G and Fountoukidis E. 1990. Disinfection of water by electrochemical treatment. Water Research 24, 1491-1496.

Poornima EH, Rajadurai M, Rao TS, Anupkumar B, Rajamohan R, Narasimhan

dCollection @ pknu

SV, Rao VNR and Venugopalan VP. 2005. Impact of thermal discharge from a tropical coastal power plant on phytoplankton. Journal of Thermal Biology 30, 307-316.

Ravail B and Robert JM. 1985. Influence of salinity on the growth of *S. costatum* (Greville) Cleve in the water of the Loire Estuary, Cryptogramie Algologie 6, 51-60.

Richardson LL, Sekar R, Myers J, Gantar M, Voss JD, Kaczmarsky L, Remily ER, Boyer GL and Zimba PV. 2007. The presence of the cyanobacterial toxin microcystin in black band disease of corals. FEMS Microbiology Letters 272, 182-187.

Rombiogh PJ and Garside ET. 1982. Cadmium toxicity and accumulation in eggs and alevins of Atlantic salmon *Salmo salar*. Canadian Journal of Zoology 60, 2006-2014.

Rosenthal H and Alderdice DF. 1976. Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larvae. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 33, 2047-2065.

Sampaio LA and Bianchini A. 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 269, 187-196.

Shimura S, Shibuya H and Ichimura S. 1979. Growth and photosynthesis properties of some planktonic marine diatoms at various salinity regimes,

Collection @ pknu

Bulletin de la société franco-japonaise de paris, Tokyo, 17, 149-155.

Shon M-B, Son MH, Lee J, Son Y-J, Lee GH, Moon CH and Kim Y-S. 2013. The study on the marine eco-toxicity and ecological risk of treated discharge water from ballast water management system using electrolysis. Journal of the Korean Society for Marine Environmental and Energy 16, 88-101.

Smayda TJ. 2007. Reflections on the ballast water dispersal harmful algal bloom paradigm. Harmful Algae 6, 601-622.

Sun YX, Wu QY, Hu HY and Tian J. 2009. Effect of bromide on the formation of disinfection by-products during wastewater chlorination. Water Research 43, 2391-2398.

Tsolaki E and Diamadopoulos E. 2010. Technologies for ballast water treatment: a review. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 85, 19-32.

Tsolaki E, Pitta P and Diamadopoulos E. 2010. Electrochemical disinfection of simulated ballast water using *Artemia salina* as indicator. Chemical Engineering Journal 156, 305-312.

Werschkun B, Sommer Y and Banerji S. 2012. Disinfection by-products in ballast water treatment: An evaluation of regulatory data. Water Research 46, 4884-4901.

Werschkun B, Banerji S, Basurko OC. David M, Fuhr F, Gollasch S, Grummt T, Haarich M, et al. 2014. Emerging risks from ballast water treatment: The

Collection @ pknu

run-up to the international ballast water management convention. Chemosphere 112, 256-266.

Woo Y-T, Lai D, McLain JL, Manibusan MK and Dellarco V. 2002. Use of mechanism-based structure-activity relationships analysis in carcinogenic potential ranking for drinking water disinfection by-products. Environmental Health Perspective 110, 75-87.

Yang X, Shang C and Huang JC. 2005. DBP formation in breakpoint chlorination of wastewater. Water Research 39, 4755-4767.

Yoon BS, Rho JH, Kim KI, Park KS and Kim HR. 2005. Development of ballast water treatment technology (feasibility study of NaOCl produced by electrolysis). Journal of the Korean Society for Marine Environmental Engineering 8, 174-178.

Zhang N, Ma B, Li J. and Zhang Z. 2013. Factors affecting formation of chemical by-products during ballast water treatment based on an advanced oxidation process. Chemical Engineering Journal 231, 427-433.

Collection @ pknu

감사의 글

논문을 마무리하며 돌이켜 보니 진심으로 감사드려야 할 분들이 많은 것 같습니다. 학부 졸업 후 직장생활 중이던 저를 제자로써 흔쾌히 받아주시고, 졸업하기까지 오랜 시일이 걸렸음에도 불구하고 항상 따뜻한 격려와 지도를 아낌없이 해주신 장영진 교수님께 진심으로 감사드립니다. 그리고 정말 바쁘신 와중에도 논문 심사와 지도를 해주신 손민호 박사님께 진심으로 감사드립니다. 부족함 많은 저를 일 할 수 있도록 이끌어주시고 배움의 길을 열어주신 박사님의 인생선배로서의 가르침과 격려 잊지 않겠습니다. 또한, 학부시절부터의 인연에서 논문 심사 및 지도까지 오랜 가르침을 주신 김창훈 교수님께도 진심으로 감사드립니다.

학부 및 대학원 과정동안 전공에 보다 깊은 지식을 배울 수 있게 가르침을 주신 손철현 교수님, 조재윤 교수님, 허성범 교수님, 김동수 교수님, 배승철 교수님, 김종명 교수님, 남윤권 교수님께 감사드립니다.

연구실에서 석사과정을 하며 항상 많은 도움을 받기만 한 김기태 군, 도용현 선배님, 김원진 선배님, 정경일 선배님, 그리고 많은 조언을 주신 연구실 선배님들께 깊이 감사드립니다.

늘 함께하고 싶은 해양생태기술연구소의 박사님들, 선배님들, 언니들, 후배님들에게 감사드리며, 특히 함께 고생한 생물검정팀(김태원 선배님, 석형주, 김남림, 쩐티투바)과 손명백 선배님, 김근용 선배님께 진심으로 감사드립니다. 그리고 BW 과업의 시작부터 지금까지 서로 다독이며 함께해주신 한국조선기자개연구원 분들과 한국화학융합시험연구원 분들께도 감사드립니다.

또한, 제 인생의 동반자로 걱정과 응원으로 항상 힘을 주는 라비앙로즈, 힐링맘식스, 토용토용맘스 및 02동기들에게 감사의 마음 전합니다.

dCollection @ pknu

마지막으로, 지금의 제가 있도록 믿음과 사랑으로 지켜봐주신 우리 부모님, 외할머니를 비롯한 외가 가족 분들, 그리고 항상 따뜻하게 격려와 조언으로 힘을 주신 시부모님과 가족 분들께 진심으로 감사드리며 많이 사랑한다고 전하고 싶습니다. 10년 전부터 지금까지 늘 한결같은 모습으로 믿음직스럽게 제 인생을 이끌어주는 듬직한 남편 장성욱 님과 순수한 웃음으로 엄마아빠의 피로를 한방에 날려주는 아들 장원준 어린이에게도 정말 깊이 감사드립니다. 아내와 엄마의 역할에 항상 부족한 것 같아 미안한 마음이 크지만, 지금처럼 행복하고 따스함이 가득한 가정으로 보답하겠습니다. 진심으로 많이 사랑합니다.

너무 많은 분들의 도움을 받은 탓에 그 감사의 마음을 자세히 글로 옮기지 못해 죄송합니다. 도움을 주시고 격려해주신 모든 분들께 다시 한 번 진심으로 감사드리며 이 논문을 바칩니다.

Collection @ pknu