



공학석사 학위논문

# 물벼룩(Daphnia magna)과 발광박테리아(Aliivibrio fischeri)를 이용한 리튬, 황산염, 니켈의 복합독성 연구

2023년 2월

부경대학교대학원

생태공학과

노 인 혜

공학석사 학위논문

## 물벼룩(*Daphnia magna*)과 발광박테리아(*Aliivibrio fischeri*)를 이용한 리튬, 황산염, 니켈의 복합독성 연구

지도교수 성 기 준

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함

2023년 2월

부경대학교대학원

생태공학과

노 인 혜

### 노인혜의 공학석사 학위논문을 인준함

2023년 2월 17일



표 목차iii
그림목차
Abstract
I. 서 론 1
1. 연구 배경 및 목적 1
2. 연구 범위 및 절차 3
S I I I I
Ⅱ. 이론적 배경 및 선행연구 고찰
1. 생태독성 제도 도입 배경 4
2. 복합독성 평가
3. 선행연구
Ⅲ. 연구방법
1. 실험생물종
가. 물벼룩( <i>Daphnia magna</i> )
나. 발광박테리아( <i>Aliivibrio fischeri</i> )
2. 실험물질
3. 실험방법
가. 단일물질 물벼룩( <i>Daphnia magna</i> ) 급성독성 실험 8
나. 단일물질 발광박테리아( <i>Aliivibrio fischeri</i> ) 급성독성 실험 … 11

- i -

다. 복합물질	물벼룩( <i>Daphnia magna</i> ) 급성독성 실험 ······	13
라. 복합물질	발광박테리아(Aliivibrio fischeri) 급성독성 실험 …	15
마. 복합물질	독성평가	17

- Ⅳ. 결과 및 고찰
  19
  1. 단일물질 물벼룩 급성독성 실험
  2. 단일물질 발광박테리아 급성독성 실험
  3. 복합물질 물벼룩 급성독성 실험
  4. 복합물질 발광박테리아 급성독성 실험
  5. 독성평가 모델을 이용한 복합물질의 물벼룩 급성독성 비교
  41
  6. 독성평가 모델을 이용한 복합물질의 발광박테리아 급성독성 비교
  46
- V. 요약 및 결론 50
  참고문헌 54



Table 1. Study Procedure    3
Table 2. D.magna culture solution composition    9
Table 3. Single substance concentration for <i>D.magna</i> toxicity test 10
Table 4. Single substance concentration for <i>A.fischeri</i> toxicity test 12
Table 5. Concentrations of lithium and nickel mixture for toxicity test
of <i>D.magna</i> 13
Table 6. Concentrations of lithium and sulfate mixture for toxicity test
of <i>D.magna</i> 13
Table 7. Concentrations of nickel and lithium mixture for toxicity test
of <i>D.magna</i> 14
Table 8. Concentrations of nickel and sulfate mixture for toxicity test
of <i>D.magna</i> 14
Table 9. Concentrations of lithium and nickel mixture for toxicity test
of A.fischeri 15
Table 10. Concentrations of llithium and sulfate mixture for toxicity test
of A.fischeri 15
Table 11. Concentrations of nickel and lithium mixture for toxicity test
of A.fischeri
Table 12. Concentrations of nickel and sulfate mixture for toxicity test
of A.fischeri

Table 13. <i>D.magna</i> toxicity test result for a single substance 2	20
Table 14. A.fischeri toxicity test result for a single substance 2	25
Table 15. <i>D.magna</i> toxicity test result of lithium and nickel mixtures 2	27
Table 16. <i>D.magna</i> toxicity test result of lithium and sulfate mixtures 2	29
Table 17. <i>D.magna</i> toxicity test result of nickel and lithium mixtures 3	31
Table 18. <i>D.magna</i> toxicity test result of nickel and sulfate mixtures 3	33
Table 19. A.fischeri toxicity test result of lithium and nickel mixtures ·· 3	35
Table 20. A.fischeri toxicity test result of lithium and sulfate mixtures 3	37
Table 21. A.fischeri toxicity test result of nickel and lithium mixtures ·· 3	38
Table 22. A.fischeri toxicity test result of nickel and sulfate mixtures 3	39
Table 23. Toxicity prediction of <i>D.magna</i> for lithium and nickel mixtures	
using CA ······ 4	11
Table 24. Toxicity prediction of <i>D.magna</i> for lithium and nickel mixtures	
using IA 4	42
Table 25. Toxicity prediction of <i>D.magna</i> for lithium and sulfate mixtures	
using CA 4	12
Table 26. Toxicity prediction of <i>D.magna</i> for lithium and sulfate mixtures	
using IA ····· 4	13
Table 27. Toxicity prediction of <i>D.magna</i> for nickel and lithium mixtures	
using CA ······ 4	13
Table 28. Toxicity prediction of <i>D.magna</i> for nickel and lithium mixtures	
using IA ······ 4	14

Table 29. Toxicity prediction of <i>D.magna</i> for nickel and sulfate mixtures
using CA 45
Table 30. Toxicity prediction of <i>D.magna</i> for nickel and sulfate mixtures
using IA 45
Table 31. Toxicity prediction of A.fischeri for lithium and nickel mixtures
using CA
Table 32. Toxicity prediction of A.fischeri for lithium and nickel mixtures
using IA 46
Table 33. Toxicity prediction of A.fischeri for lithium and sulfate mixtures
using CA
Table 34. Toxicity prediction of A.fischeri for lithium and sulfate mixtures
using IA 47
Table 35. Toxicity prediction of <i>A.fischeri</i> for nickel and lithium mixtures
using CA
Table 36. Toxicity prediction of A.fischeri for nickel and lithium mixtures
using IA 48
Table 37. Toxicity prediction of A.fischeri for nickel and sulfate mixtures
using CA 49
Table 38. Toxicity prediction(IA) of A.fischeri for nickel and sulfate mixtures
using IA 49

그 팀 목 :	차
---------	---

Fig. 1. <i>D.magna</i> toxicity test method 10
Fig. 2. <i>A.fischeri</i> toxicity test method
Fig. 3. Immobilization rate of <i>D.magna</i> for lithium (A) 24h (B) 48h ··· 21
Fig. 4. Immobilization rate of <i>D.magna</i> for nickel (A) 24h (B) 48h ····· 22
Fig. 5. Immobilization rate of <i>D.magna</i> for sulfate (A) 24h (B) 48h ··· 23
Fig. 6. Bioluminesence inhibition of A.fischeri for a single substance
(30min) (A) Li (B) Ni (C) Sulfate
Fig. 7. Immobilization rate of <i>D.magna</i> for lithium and nickel mixtures
according to the exposure time (A) 24 h, Li + Ni (B) 48 h, Li + Ni $\cdots$ 28
Fig. 8. Immobilization rate of <i>D.magna</i> for lithium and sulfate mixtures
according to the exposure time (A) 24 h, Li + sulfate (B) 48 h, Li +
sulfate 30
Fig. 9. Immobilization rate of <i>D.magna</i> for nickel and lithium mixtures
according to the exposure time (A) 24 h, Ni + Li (B) 48 h, Ni + Li $\cdots$ 32
Fig. 10. Immobilization rate of <i>D.magna</i> for lithium and nickel mixtures
according to the exposure time(A) 24 h, Ni + Sulfate (B) 48 h,
Ni + Sulfate
Fig. 11. Bioluminescence inhibition of A.fischeri for lithium and nickel
mixtures ······ 36
Fig. 12. Bioluminescence inhibition of A.fischeri for lithium and sulfate
mixtures

Fig.	13.	Bioluminescence inhibition of A.fischeri for nickel and lithium	
		mixtures ·····	38
Fig.	14.	Bioluminescence inhibition of A.fischeri for nickel and sulfate	
		mixtures	40



Mixture Toxicity of Lithium, Sulfate and Nickel on *Daphnia magna* and *Aliivibrio fischeri* 

In Hye Roh

Department of Ecological Engineering, Pukyong National University

#### Abstract

Worldwide, demand for lithium has increased in various industries, increasing by 170% in 2022 compared to 2015. Lithium's annual growth rate is expected to be the highest among metals by 2025 due to the rapid growth of the electric vehicle battery.

Wastewater generated in the secondary battery production process contains lithium and high sulfate concentrationsAs the demand for high Ni-based precursors is rapidly increasing, the discharge of nickel wastewater is also a concern. In addition, lithium and sulfate are not currently included in the permissible limit for water pollutants, and are not treated in existing wastewater treatment facilities. If lithium and sulfate are discharged without treatment, adverse environmental effects are expected to be significant. Therefore, for the safe management of secondary battery discharge water, including lithium, sulfate, and nickel, we will conduct a mixture substance ecotoxicity study on these materials and finally prepare a plan to establish a secondary battery discharge water management system.

In this study, the toxicity of lithium and sulfate, which are major contaminants contained in discharge water from the secondary battery production process, and nickel, a material of concern for discharge, were evaluated using *Daphnia magna* and *Aliivibrio fischeri*. In the case of *Daphnia magna*, the toxicity difference according to the exposure time was also evaluated after adding a reaction time of 48 hours in addition to 24 hours according to the water pollution standards method.

As a result of the single material toxicity evaluation, lithium  $EC_{50}$  18.2 mg/L,  $EC_{50}$  14.3 mg/L, sulfate  $EC_{50}$  4,597.2 mg/L,  $EC_{50}$  4,345.0 mg/L, nickel  $EC_{50}$  7.5 mg/L,  $EC_{50}$  5.1 mg/L for 24h and 48h were found to be different in ecotoxicity according to the reaction time. *Aliivibrio fischeri* 30min lithium  $EC_{50}$  3,025.8 mg/L, sulfate  $EC_{50}$  67,010.3 mg/L and nickel  $EC_{50}$  6.8 mg/L confirming a difference in sensitivity between *Daphnia magna* and *Aliivibrio fischeri*  species to lithium and sulfate. As a result of predicting mixture toxicity (CA, IA) of mixture substances, antagonistic, additive, and synergistic effects were found depending on the mixing ratio of single substances, but most showed antagonistic effects.

Therefore, a systematic ecotoxicity management system for secondary battery effluent considering the exposure time, test species, and mixed toxicity according to the target substance is required.

CH OL IN

CS W

#### I. 서론

#### 1. 연구 배경 및 목적

전 세계적으로 여러 산업 분야에서 리튬 수요량이 증가하여, 2015년 177,000톤(LCE 기준)에서 2022년 481,372톤(LCE 기준)으로 170% 증가 하였으며, 2025년까지 리튬의 연간 성장률은 금속 중에서 가장 높을 것으로 예상한다(KORES, 2016; 포스코경영연구원, 2018).

리튬 수요분야는 유리, 세라믹, 의약품 등으로 구성된 산업용 제품과 배터리용 제품으로 구분할 수 있고, 산업용 제품의 리튬 수요 비중은 점차 감소가 예상되고, 전기차 배터리 비중은 2025년에는 64%로 급성장할 것으로 예상되어 (포스코경영연구원, 2019), 리튬 배터리에 대한 제도적 관리가 필요한 시점 이다.

일반소비자들이 사용하는 리튬 배터리는 다른 쓰레기와 함께 도시 고형 페기물로 배출되면서(Hal, 2008), 최근 서울 한강을 포함한 주변 북한강, 남한강, 공공폐수처리시설 및 상수에 포함된 리튬 농도를 분석한 결과, 인구 밀도와 리튬 함량 사이에 양의 상관관계가 있다는 것을 확인하였고, 도시 지역에서 처음으로 대규모 리튬 오염을 강조하였다(Choi, 2019).

리튬 배터리 사용은 급속도로 증가하고 있지만, 수질관리를 위한 수질오염 물질 배출허용기준에 아직 리튬은 포함되어 있지 않으며, 하·폐수에 포함된 리튬을 처리하기 위해서는 진공증발농축기, 역삼투법(R/O membrane), 이온교환수지 등과 같은 시설이 필요하나 고비용으로 인해 설치 및 유지 관리가 쉽지 않아, 기존의 폐수처리시설에서 리튬을 처리할 방안이 마련되어 있지 않은 실정이다. 향후 수십 년 동안 환경에 대한 리튬의 기여가 상당할 것으로 예상되므로 2차전지 배출수의 관리체계 구축을 위한 연구가 필요하다.

- 1 -

리튬 배터리는 양극재, 음극재, 전해액, 분리막으로 구성되어 있고, 이 중 양극재는 리튬과 전구체로 구성된다. 양극재 원료인 리튬 제조과정에서 리튬과 고농도의 황산염이 폐수로 배출되며, 전구체(니켈, 코발트, 망간 등 으로 구성) 또한 고농도의 황산염이 폐수로 배출되고 있다. 최근에는 에너지 밀도가 높은 High Ni 계열의 전구체 수요가 급증(포스코경영연구원, 2019) 하면서 니켈의 폐수 배출도 우려되는 상황이다.

따라서 현재 리튬과 같은 새로운 오염물질들이 폐수로 발생되고 있는 상황 에서 현재의 수질관리 체계가 적절한지 검토가 필요하다. 또한 이전 연구 에서는 중금속 복합물질에 대한 복합독성 평가는 활발히 연구되었지만, 리튬, 니켈과 같은 금속과 염 성분과의 혼합물에 관한 연구는 부족한 상황이며, 현재 배출수 수질관리를 위한 생태독성 실험은 물벼룩 단일종만 수행하여 수질기준(TU, 독성단위) TU1 ~ TU2로 관리하고 있다.

본 연구에서는 실험생물종인 담수종 물벼룩(*Daphnia magna*)과 해양종 발광박테리아(*Aliivibrio fischeri*)를 이용하여 리튬 배터리 제조과정에서 발생하는 주요 오염물질인 리튬, 황산염과 High Ni 계열의 전구체 수요 급증으로 인해 배출수로 배출 가능성이 큰 니켈의 단일물질 독성실험을 수행하고, 그 결과를 바탕으로 리튬, 황산염, 니켈을 여러 농도로 혼합한 복합물질을 제조하여 복합독성을 평가하고자 한다. 본 연구 결과는 이들 복합물질의 복합독성 평가를 통해 최종적으로 2차전지 배출수 관리체계를 구축하는데 도움이 될 것으로 기대된다.

- 2 -

#### 2. 연구 범위 및 절차

본 연구에서는 담수 및 해양생물종인 물벼룩(*Daphnia magna*)과 발광 박테리아(*Aliivibrio fischeri*)를 이용하여, 리튬, 니켈, 황산염의 단일 및 복합독성 실험을 수행하여 2차전지 배출수 관리체계 구축을 위한 사전 연구를 수행하고자 한다.

단일독성 실험은 예비실험을 통해 실험생물에 무영향 농도와 100% 영향을 미치는 농도 범위를 설정한 후, 이 범위 내에서 독성실험을 수행하였고, 결과는 통계프로그램 중 Probit(Verson 1.5)을 사용하여 EC<sub>50</sub> 값(반수영향 농도), 95% 신뢰구간을 산출하였으며, 단일독성 실험결과를 바탕으로 복합 독성 실험을 수행하였다. 연구 절차는 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Study Procedure

서론	- 연구 배경 및 목적
선행연구 및	- 생태독성 제도 도입 배경
제도고찰	- 생태독성 평가 관련 선행연구
연구방법	<ul> <li>단일물질 물벼룩(Daphnia magna) 급성독성 실험 (예비실험, 독성실험)</li> <li>단일물질 발광박테리아(Allivibrio fischeri) 급성독성 실험 (예비실험, 독성실험)</li> <li>복합물질 물벼룩(Daphnia magna) 급성독성 실험</li> <li>복합물질 발광박테리아(Allivibrio fischeri) 급성독성 실험</li> <li>Probit을 사용하여 EC<sub>50</sub> 값(반수영향농도), 95% 신뢰구간 산출</li> <li>독성평가 모델을 이용한 복합독성 평가 결과 비교</li> </ul>
결과 및	- 단일물질, 혼합물질 간 독성 비교
고찰	- 실험생물종 간 독성 비교

#### Ⅱ. 이론적 배경 및 선행연구 고찰

#### 1. 생태독성 제도 도입 배경

환경부에서는 2011년 생태독성 통합관리제도를 도입하여 기존 이화학적 오염물질 관리 위주의 물 환경 정책에서 수계로 배출되는 모든 수질오염 물질의 독성을 통합적으로 관리하는 수용체 중심의 수질관리체계를 구축하 였다. 산업 발달로 유해화학물질의 종류가 급속히 증가하고, 수계로 배출 되는 모든 화학물질의 배출허용기준을 설정하는 것은 어려운 상황(환경부, 2011)이므로 생태독성 제도 도입을 통해 수생태계 통합관리가 시작되었고, 물벼룩을 이용한 급성독성 실험을 통해 관리되고 있다. 생태독성 실험 결과 산출된 EC<sub>50</sub> 값을 이용하여 독성단위인 TU(Toxic Unit)로 환산하고, 배출 수의 생태독성 기준은 배출되는 지역(청정, 가, 나, 특례지역)에 따라 TU1, TU2로 설정하고 있다(물환경보전법 시행규칙, 2019)

#### 2. 복합독성 평가

복합물질의 독성은 각각의 단일물질이 생물종에 작용하는 독성기작에 따라 독성결과는 다르게 나타날 수 있다(나진성 외, 2005). 복합물질의 상호작용 결과 나타나는 독성을 예측하기 위해서는 모델링 접근법이 필요하며, 주요 수학적 모델로 Concentration Addition(CA)과 Independent Action (IA)이 있다(나진성 외, 2005; Åsa et al., 2004). 예측 결과를 바탕으로 혼합물질의 상호작용 결과가 길항효과(antagonistic effect), 첨가효과(additive effect), 상승효과(synergistic effect)를 나타내는지 판단할 수 있다(Kungolos. 1999; Yoshinari et al., 2016).

- 4 -

#### 3. 선행연구

Choi et al.(2019)은 리튬 생산 증가에 따라 발생되는 리튬 2차 이온배터리 (LIB) 폐기물에 대한 처리 지침이 없어, 한강 주변으로 리튬의 환경오염 관련 연구를 진행하였으며, 서울의 인구밀도가 높은 지역 주변 공공수역에 리튬의 농도가 높음을 확인하였고, 현재의 수처리 프로토콜은 리튬 제거에 비효율적임을 기술하였다.

Jared et al.(2017)은 리튬 2차 이온배터리를 구성하는 양극재 물질(리튬, 코발트, 망간)을 이용하여 물벼룩(*Daphnia magna*)의 생존과 번식에 미치는 영향을 조사하였다. 리튬의 21일 만성 독성실험에서 리튬 5 mg/L는 2일에 약 70%, 4일 30%, 7일 20%, 11일 10% 생존을 보였으며, 14일 모두 사멸하였다. 리튬 10mg/L는 2일에 약 20% 생존을 보였고, 4일에 모두 사멸하였다.

Hal and Angelica.(2008)은 리튬에 대한 담수생물종의 생태독성 조사결과 Daphnia magna 24h EC<sub>50</sub>은 33 mg/L-197 mg/L, Tubifex tubifex 24h-96h EC<sub>50</sub>은 9.3 mg/L-44.8 mg/L, Pimephales promelas 26d EC<sub>50</sub>은 1 mg/L-6.4 mg/L로 조사되었다.

Thainara et al.(2020)은 리튬의 해양생물종, *Mytilus galloprovincialis* (홍합)에 대한 28일 만성독성 연구를 진행하였다. 리튬농도는 345 µg/L-955 µg/L이며, 28일 노출 후 사망은 관찰되지 않았으나, 저해는 나타났다. 또한 대사억제, 산화 스트레스 및 신경독성을 유도하였으며, 세포손상과 산화, 환원, 항상성의 손실을 초래하는 것으로 관찰되었다.

Lynn et al.(2003)은 리튬의 독성에 나트륨이 미치는 영향에 대해 연구를 진행하였다. 물벼룩(*Ceriodaphnia*)은 리튬 1 mg/L에 6일 반응 동안 나트륨 1.7 mg/L 혼합된 복합물에서 모두 사멸, 나트륨 7.0 mg/L 혼합된 복합물에서 90% 이상 생존하였으며, 리튬 4 mg/L에 6일 반응 동안 나트륨 3.2 mg/L 혼합된 복합물에서 2일 반응에서 모두 사멸하였으며, 나트륨 40 mg/L 혼합 된 복합물에서 100% 생존하였다. 리튬에 나트륨이 혼합되어 있을 경우, 리튬독성에 크게 영향을 미쳤다.

김도경(2017)은 OECD 가이드라인 No. 202 "Daphnia sp. Acute Immobilisation Test"를 참고하여 수행한 물벼룩 48시간 급성독성 실험에서 니켈의 반수영향 농도는 EC<sub>50</sub> 3.85(3.83-3.87)Ni mg/L로 산출되었고, 니켈+미세플라스틱(PS, 고정) 복합물질 EC<sub>50</sub> 4.67(4.65-4.69)Ni mg/L로 독성단위모델(Toxic unit model)을 이용한 모델예측 결과 약간 감소로 나타났으며, 니켈+카르복실기를 가진 미세 플라스틱(PS-COOH, 고정) 복합물질 EC<sub>50</sub> 3.14(3.12-3.17)Ni mg/L로 모델예측 결과 약간 상승으로 판단되었다.

환경부(2009)는 황산염의 물벼룩 EC<sub>50</sub>은 3,000 mg/L 이상, 주요 염 이온의 물벼룩 생태독성 강도는 K<sup>+</sup> > HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ≒ Mg<sup>2+</sup> > Cl<sup>-</sup> > SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>로 유추하였다.

or u

#### Ⅲ. 연구방법

#### 1. 실험생물종

가. 물벼룩(Daphnia magna)

실험생물종인 물벼룩은 EPA, OECD, DIN(독일 표준), KS(한국 표준)에서 표준 실험생물종으로 규정하고 있는 큰물벼룩(*Daphnia magna*)이며, 물벼룩은 수생태계의 1차 영양단계 대표 생물종으로, 크기가 작아 다루기 수월하고, 뛰어난 번식력을 가지며, 독성물질에도 민감하게 반응하여 생태독성 실험에 적합한 종이다(국립환경과학원, 2013).

본 연구에 사용된 물벼룩은 국립환경과학원에서 분양받은 것이다.

나. 발광박테리아(Aliivibrio fischeri)

실험생물종인 발광박테리아(*Aliivibrio fischeri*)는 전 세계적으로 분포하는 대표적인 발광미생물로, 국제표준 ISO에서 표준 실험생물종으로 규정하고 있으며, 다른 독성실험과 비교해 신속성, 반복성이 좋으며, 오염물질에 대한 용량-반응이 뚜렷(이규태 외, 2008)하여 생태독성 실험에 적합한 종이다. 본 연구에 사용된 발광박테리아는 미국 Microtox사에서 동결건조 상태로 제조하여 판매하는 제품을 사용하였다.

#### 2. 실험물질

실험에 사용된 리튬은 순도 99% 이상의 LiCl(Sigma-Aldrich, USA), 니켈은 순도 98%의 NiCl<sub>2</sub>(Sigma-Aldrich, USA), 황산염은 순도 99%의 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(WAKO chemical, Japan)를 사용하였으며, 이 시약들을 선택한 이유는 실험물질인 리튬, 니켈, 황산염과 결합하고 있는 염소와 나트륨이 물벼룩과 발광박테리아 급성 독성 실험에 사용된 농도에서는 독성영향을 미치지 않는 물질이므로 선택하게 되었다. 물벼룩 염화나트륨(NaCl) 독성에서 주독성은 염소이온에 의한 것이며, 나트륨 이온 독성은 최소 15,000 mg/L 보다 높을 수 있다고 하며(환경부, 2009), 발광박테리아는 해양생물종으로 해수에는 염소이온이 약 19,000 mg/kg, 나트륨이온이 약 10,600 mg/kg 포함 (환경부, 한국환경공단, 2011)되어 있어, 일정농도의 염소이온과 나트륨 이온은 발광박테리아에는 독성이 없다.

#### 3. 실험방법

가. 단일물질 물벼룩(Daphnia magna) 급성독성 실험

본 연구에서 수행한 물벼룩 급성 독성 실험은 수질오염공정시험기준 「물벼룩을 이용한 급성 독성 시험법」(2017)과 KSIISO 6341 「수질-물벼룩 운동성 억제 특성 측정 방법(급성 독성 시험 방법)」(2003)을 참고하였다.

본 실험의 목적은 수서 무척추동물인 물벼룩을 독성물질에 투입하여 24시간, 48시간 반응 후 물벼룩이 받은 영향(치사, 유영저해)의 정도를 평가하는 것 이며, 독성의 정도는 투입한 물벼룩의 50%가 영향을 받은 농도인 EC<sub>50</sub> 값 (반수영향농도)으로 나타내었다. 수질공정시험법에는 반응시간이 24시간으로 되어 있으나, EPA, OECD 시험법을 참고하여 48시간 반응시간을 추가하였다. 물벼룩 배양 및 시료의 희석을 위한 배양액 조성은 Table 2와 같다.

	Patassium	Magnesium	Calcium sulfate	Sodium
Reagent	Chloride	sulfate	dihydrate	bicarbonate
	(KCl)	$(MgSO_4)$	$(CaSO_4 \cdot 2H_2O)$	(NaHCO <sub>3</sub> )
(mg/L)	8	120	120	192

Table 2. D.magna culture solution composition

배양실, 실험실의 온도와 조도는 각각 (20 ± 2)℃, 500 Lux ~ 1000 Lux를 유지하였으며, 조명은 명 16시간, 암 8시간을 유지하고 물 교환, 먹이공급, 폭기 등을 하지 않았다.

실험에 사용된 물벼룩은 계대배양한 생후 2주 이상의 암컷 성체가 생산한 생후 24시간 미만의 크기가 동일한 어린 개체이며, 먹이는 주먹이인 식물성 플랑크톤 *Chlorella vulgaris*(10<sup>7</sup> cells/mL - 10<sup>8</sup> cells/mL)와 부먹이 YCT (Yeast, Cerophyll(R), Trout chow 혼합액)를 일정비율 혼합하여 사용하였다. 실험 2시간 전 먹이를 주어 실험 중 먹이가 주는 영향을 최소화 하였다.

실험물질의 농도 설정은 예비실험을 통해 물벼룩에 무영향 농도와 100% 영향을 미치는 농도 범위를 설정한 후, 이 범위 내에서 일정비율의 5농도를 설정하여 본실험을 수행하였고, 한 농도당 물벼룩은 5마리씩 4개의 반복구를 두었고, 실험용액의 양은 50 mL로 하였다.

Test	Lithium		Nikel		Sulfate	
substance	예비실험	본실험	예비실험	본실험	예비실험	본실험
	4.5	10	1	1	750	3,500
Con	9	12	3	3	1500	4,000
(mg/L)	18	14	6	5	3,000	4,500
(IIIg/L)	36	16	12	7	6,000	5,000
	72	18	24	9	12,000	5,500

Table 3. Single substance concentration for *D.magna* toxicity test



Fig. 1. D.magna toxicity test method

실험물질에 투입한 물벼룩의 24시간, 48시간 반응 후 치사, 유영저해 확인 후, 통계프로그램 Probit을 이용하여 EC<sub>50</sub> 값(반수영향농도), 95% 신뢰 구간을 산출하였다.

정도관리를 위하여 표준독성물질인 다이크롬산포타슘(K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)을 희석수로 조제(4 mg/L)하여 물벼룩 급성 독성 실험 수행 후 24시간 EC<sub>50</sub> 값이 0.9 mg/L - 2.1 mg/L 범위에 있는지 확인하였다. 나. 단일물질 발광박테리아(Aliivibrio fischeri) 급성독성 실험

본 연구에서 수행한 발광박테리아 급성 독성 실험은 수질오염공정시험기준 「발광박테리아를 이용한 급성 독성 시험법」(2017)과 KSIISO 11348 「수질-물 시료의 비브리오피셔리 발광에 대한 저해 효과 측정방법-발광 세균 시험」(2014)을 참고하였다.

본 실험의 목적은 해양 미생물인 발광박테리아를 독성물질에 투입하여 30분 반응 후 변화하는 발광도의 정도를 평가하는 것이며, 독성의 정도는 투입한 발광박테리아의 50%가 영향을 받은 농도인 EC<sub>50</sub> 값(반수영향농도)으로 나타내었다. 발광박테리아의 발광기작은 세포 호흡과 관련이 있어, 독성 물질에 의해 세포 구조 및 대사에 변화가 생기면 세포 호흡량 변화 및 최종적으로 발광도에도 변화가 발생한다(해양생물공정시험기준, 2021).

냉동 건조된 발광박테리아에 1 mL의 Microtox reconstitution(재활성화) 용액을 넣어 저장 현탁액으로 준비하고, (4 ± 3) ℃로 유지하면서 실험에 필요한 시험 현탁액 조제에 사용하였다. 시험현탁액은 희석수 50, 저장현탁액 10의 비율로 일정량 혼합 후, 15초 간격으로 시험관에 500 uL씩 필요수량 만큼 주입하고, 15분 후 초기 발광도를 측정하였다. 이 시험관에 대조구(희석수), 실험물질 500 uL(2반복) 각각을 15초 간격으로 주입하고, 30분 반응 후 최종 발광량을 측정하여 실험물질에 의한 저해율(발광감소율)을 산출하였다.

실험물질의 농도 설정은 예비실험을 통해 발광박테리아에 무영향 농도와 100% 영향을 미치는 농도 범위를 설정한 후, 이 범위 내에서 일정비율의 농도로 본실험을 수행하였다.

발광박테리아 저해율은 통계프로그램 Probit을 이용하여 EC<sub>50</sub> 값(반수 영향농도), 95% 신뢰구간을 산출하였고, 정도관리를 위해 표준독성물질인 다이크롬산포타슘을 희석수로 조제(105.8 mg/L)하여 급성 독성 실험 수행하여 30분 반응 후 20 - 80%의 저해가 나타나는지 확인하였다.

Test	Lithi	ium	Nik	xel	Sulf	čate	
substance	예비실험	본실험	예비실험	본실험	예비실험	본실험	
	250	500	0.25	0.5	20 000	20,000	
Con	500 1.000	1,000 2,000 3,000	$\begin{array}{cccc} 0 & 1,000 \\ 00 & 2,000 \\ 00 & 3,000 \\ 00 & 4,000 \\ \end{array}$	1 10	1	40,000	40,000
(mg/L)	2,000			10 20	5	60,000	50,000
	4,000			40	10 20	80,000	60,000 70,000
	8,000	1,000	80	20	100,000	80,000	

Table 4. Single substance concentration for A.fischeri toxicity test



Fig. 2. A.fischeri toxicity test method

다. 복합물질 물벼룩(Daphnia magna) 급성독성 실험

단일물질 급성독성 실험 결과를 토대로 리튬+니켈(고정), 리튬+황산염(고정), 니켈+리튬(고정), 니켈+황산염(고정)을 혼합하여 복합물질 급성독성 실험을 수행하였다. 리튬과 니켈의 실험농도는 단일물질 독성실험 농도로 설정 하였고, 고정농도인 리튬, 니켈, 황산염은 단일물질 독성실험 결과를 바탕 으로 EC<sub>50</sub> 값 전, 후의 3개 농도를 선택하였다.

Table 5. Concentrations of lithium and nickel mixture for toxicity test of *D.magna* 

Variable Li(mg/L)	Fixed Ni(mg/L)
0	① 1, 1, 1, 1, 1
10, 12, 14, 16, 18	② 3, 3, 3, 3, 3
× 1	3 5, 5, 5, 5, 5

※ 복합물질 : 리튬+①니켈, 리튬+②니켈, 리튬+③니켈

 Table 6. Concentrations of lithium and sulfate mixture for toxicity test of

 D.magna

Variable Li(mg/L)	Fixed sulfate(mg/L)
	① 4,000, 4,000, 4,000, 4,000, 4,000
10, 12, 14, 16, 18	② 4,500, 4,500, 4,500, 4,500, 4,500
	③ 5,000, 5,000, 5,000, 5,000, 5,000

※ 복합물질 : 리튬+①황산염, 리튬+②황산염, 리튬+③황산염

Table 7. Concentrations of nickel and lithium mixture for toxicity test ofD.magna

Varialbe Ni(mg/L)	Fixed Li(mg/L)
1, 3, 5, 7, 9	① 10, 10, 10, 10, 10
	2 12, 12, 12, 12, 12
	3 14, 14, 14, 14, 14

※ 복합물질 : 니켈+①리튬, 니켈+②리튬, 니켈+③리튬

 Table 8. Concentrations of nickel and sulfate mixture for toxicity test of

 D.magna

Varialbe Ni(mg/L)	Fixed sulfate(mg/L)	
19	① 4,000, 4,000, 4,000, 4,000, 4,000	
1, 3, 5, 7, 9	2 4,500, 4,500, 4,500, 4,500, 4,500	
	3 5,000, 5,000, 5,000, 5,000, 5,000	
※ 복합물질 : 니켈+①황산염, 니켈+②황산염, 니켈+③황산염		

라. 복합물질 발광박테리아(Aliivibrio fischeri) 급성독성 실험

단일물질 급성독성 실험 결과를 토대로 리튬+니켈(고정), 리튬+황산염(고정), 니켈+리튬(고정), 니켈+황산염(고정)을 혼합하여 복합물질 급성독성 실험를 수행하였다. 리튬과 니켈의 실험농도는 단일물질 독성실험 농도로 설정을 하였고, 고정농도인 리튬, 니켈, 황산염은 단일물질 독성실험 결과를 바탕 으로 EC<sub>50</sub> 값 전, 후의 3개 농도를 선택하였다.

Table 9. Concentrations of lithium and nickel mixture for toxicity test ofA.fischeri

Variable Li(mg/L)	Fixed Ni(mg/L)	
500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	

※ 복합물질:리튬+①니켈, 리튬+②니켈, 리튬+③니켈

Table 10. Concentrations of Ilithium and sulfate mixture for toxicity test of *A.fischeri* 

Variable Li(mg/L)	Fixed sulfate(mg/L)	
500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000	① 20,000, 20,000, 20,000, 20,000, 20,000	
	② 40,000, 40,000, 40,000, 40,000, 40,000	
	3 60,000, 60,000, 60,000, 60,000, 60,000	

※ 복합물질 : 리튬+①황산염, 리튬+②황산염, 리튬+③황산염

Table 11. Concentrations of nickel and lithium mixture for toxicity test of *A.fischeri* 

Variable Ni(mg/L)	Fixed Li(mg/L)
0.5, 1, 5, 10, 20	<ol> <li>10, 500, 500, 500, 500, 500</li> <li>20,000, 1,000, 1,000, 1,000, 1,000</li> </ol>
	(3) 3,000, 3,000, 3,000, 3,000 3,000

※ 복합물질 : 니켈+①리튬, 니켈+②리튬, 니켈+③리튬

 Table 12. Concentrations of nickel and sulfate mixture for toxicity test of

 A.fischeri

Variable Ni(mg/L)	Fixed sulfate(mg/L)	
15	1 20,000, 20,000, 20,000, 20,000, 20,000	
0.5, 1, 5, 10, 20	2 40,000, 40,000, 40,000, 40,000, 40,000	
	3 60,000, 60,000, 60,000, 60,000, 60,000	
※ 복합물질 : 니켈+①황산염, 니켈+②황산염, 니켈+③황산염		

마. 복합물질 독성평가

단일물질이 혼합된 복합물질의 복합독성 영향을 평가하기 위해 수학적 모델인 Concentration Addition(CA)과 Independent Action(IA)을 사용하여 이론적으로 예상되는 단일물질간의 상호작용을 예측하였다. 두 모델의 주요 독성 예측 원리는 단일물질 각각의 독성결과를 바탕으로 혼합물질의 복합 독성을 예측하는 것이다(Åsa et al., 2004).

CA 모델은 독성단위(TU) 접근방식을 사용하여 복합물질의 독성을 예측 하며, 화학물질의 EC<sub>50</sub> 값이 TU1로 간주한다. 관련 계산식은 다음과 같으며, 단일물질 각각의 독성결과를 이용하여 독성(TU)을 산출하고, 단일물질 독성 (TU)의 합이 복합물질의 독성(ΣTU)으로 표현된다.

$$\sum TU_i = \sum_{i=1}^{n} \frac{C_i}{EC_{50i}}$$

계산식에서 n은 복합물질에 포함된 단일물질의 수, C<sub>i</sub>는 복합물질에 포함 된 각각의 단일물질 농도, EC<sub>50</sub>는 복합물질에 포함된 각각의 단일물질 EC<sub>50</sub> 값이다. 단일물질 혼합비율에 따라 복합물질의 독성(∑TU)이 계산되고, Probit 통계프로그램을 이용하여 EC<sub>50</sub> 값을 나타내는 복합물질 독성(∑TU)을 산출하여 그 값이 1을 초과하면 복합물질 EC<sub>50</sub> 발생상황에서 복합물질은 길항효과, 1이면 첨가효과, 1 미만이면 상승효과를 나타내었음을 판단할 수 있다(Pamela A et al., 1997; 나진성 외, 2005).

IA 모델은 화학물질의 독성영향(저해율)을 바탕으로 복합물질의 독성을 예측하며, 관련 계산식은 다음과 같다.

$$P(E) = P_1 + P_2 - (P_1 \times P_2)/100$$

- 17 -

계산식에서 P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>는 복합물질에 포함되어 있는 각각의 단일물질 A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>의 농도에서 나타나는 독성영향(저해율)이며, P(E)는 이러한 단일물질이 혼합된 복합물질의 이론적 독성영향(저해율)이 된다. Probit 통계프로그램을 이용하여 예측된 복합물질 독성영향(P(E))을 이용하여 EC<sub>50</sub> 값을 산출하여 예측된 EC<sub>50</sub> 값(P(EC<sub>50</sub>))과 실제 측정된 EC<sub>50</sub> 값(O(EC<sub>50</sub>))을 비교하여 P(EC<sub>50</sub>)> O(EC<sub>50</sub>)이면 복합물질 EC<sub>50</sub> 발생상황에서 상승효과, P(E)=P(O)이면 첨가 효과, P(EC<sub>50</sub>)<O(EC<sub>50</sub>)이면 길항효과를 나타내었음을 판단할 수 있다 (정 현 외, 2014; Tsiridis et al., 2006; Kungolos et al., 1999).



#### Ⅳ. 결과 및 고찰

#### 1. 단일물질 물벼룩 급성독성 실험

단일물질 리튬, 니켈, 황산염에 대해 물벼룩 24시간, 48시간 반응 후, 반수 영향농도인 EC<sub>50</sub> 값, 95% 신뢰구간을 산출하였고, 정도관리를 위해 수행한 표준독성물질 다이크롬산포타슘의 EC<sub>50</sub> 1.08 mg/L로 정도관리 기준인 0.9 -2.1 mg/L을 만족하였다.

가. 리튬

독성실험 결과 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, 리튬에 대한 물벼룩의 독성실험 결과, 실험에 적용된 리튬 농도 10, 12, 14, 16, 18 mg/L에 대한 24시간 반응 결과, EC<sub>50</sub>은 18.2 mg/L, 농도별 유영 저해율은 각각 0, 0, 0, 15, 45% 였으며, 48시간 반응 결과 EC<sub>50</sub>은 14.3 mg/L, 농도별 유영저해율은 각각 5, 15, 45, 60, 100%로 산출되었다(Table 13, Fig. 3).

나. 니켈

독성실험 결과 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, 니켈에 대한 물벼룩의 독성실험 결과, 실험에 적용된 니켈 농도 1, 3, 5, 7, 9 mg/L에 대한 24시간 반응 결과, EC<sub>50</sub>은 7.5 mg/L, 농도별 유영저해율은 각각 0, 0, 30, 45, 60% 였으며, 48시간 반응 결과, EC<sub>50</sub>은 5.1 mg/L, 농도별 유영저해율은 각각 0, 10, 45, 75, 100%로 산출되었다(Table 13, Fig. 4). 다. 황산염

독성실험 결과 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, 황산염에 대한 물벼룩의 독성실험 결과, 실험에 적용된 황산염 농도 3,500, 4,000, 4,500, 5,000, 5,500 mg/L에 대한 24시간 반응 결과, EC<sub>50</sub>은 4,597.2 mg/L, 농도별 유영저해율은 각각 5, 25, 45, 60, 90% 였으며, 48시간 반응 결과 EC<sub>50</sub>은 4,345.0 mg/L, 농도별 유영저해율은 각각 10, 35, 50, 75, 100%로 산출되었다(Table 13, Fig. 5).

리튬, 니켈, 황산염의 반응시간별 EC<sub>50</sub> 값 차이는 24시간 반응결과와 비교해 48시간에서 독성이 21%, 32%, 5% 증가하였다(Table 13).

	and the second se		
	Lithium(mg/L)	Nikel(mg/L)	Sulfate(mg/L)
24h EC <sub>50</sub>	18.2(17.3-20,6)	7.5(6.4-9.6)	4,597.2 (4,367.6-4,853.3)
48h EC <sub>50</sub>	14.3(13.5-15.1)	5.1(4.4-5.7)	4,345.0 (4,127.4-4,555.2)

Table 13. D.magna toxicity test result for a single substance

★ ( ): 95% Confidence Interval



Fig. 3. Immobilization rate of *D.magna* for lithium (A) 24h, (B) 48h



Fig. 4. Immobilization rate of *D.magna* for nickel (A) 24h, (B) 48h



Fig. 5. Immobilization rate of *D.magna* for sulfate (A) 24h, (B) 48h
#### 2. 단일물질 발광박테리아 급성독성 실험

단일물질 리튬, 니켈, 황산염에 대해 발광박테리아 30분 반응 후, 반수 영향농도인 EC<sub>50</sub> 값, 95% 신뢰구간을 산출하였고(Table 14, Fig. 6), 독성 영향은 발광감소율을 사용하였다. 정도관리를 위하여 수행한 표준독성물질 다이크롬산포타슘 실험에서 반응시간 동안 대조구 보정계수값은 1.0을 나타내어 기준인 0.6-1.3을 만족, 반복실험 편차는 1.5%로 기준인 3%를 만족, 표준물질 30분 반응 후 저해율은 45%로 기준인 20-80%를 만족하 였다.

가. 리튬

리튬에 대한 발광박테리아 독성실험 결과, 실험에 적용된 리튬 농도 500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000 mg/L에 대한 30분 반응 결과, EC<sub>50</sub>은 3,025.8 mg/L, 농도별 발광감소율은 각각 6, 24, 33, 47, 62 %로 산출되었다.

발광박테리아의 EC<sub>50</sub>은 물벼룩과 비교하였을 때 독성차이가 매우 크게 났으며, 해양생물종인 발광박테리아에 독성이 매우 낮게 발현된 이유는 리튬은 적은 농도이지만 해수에 포함되어 있는 성분이며, 해수의 주요성분인 나트륨, 마그네슘과 원자구조가 비슷하고, 화학적 성질 또한 비슷하여 대부분의 생물학적 효과를 나트륨과 마그네슘의 경쟁으로 설명될 수 있어(Eric et al., 2017) 리튬의 독성이 낮게 발현된 것으로 생각된다.

나. 니켈

니켈에 대한 발광박테리아 독성실험 결과, 실험에 적용된 니켈 농도 0.5, 1, 5, 10, 20 mg/L에 대한 30분 반응 결과, EC<sub>50</sub>은 6.8 mg/L, 농도별 발광

- 24 -

감소율은 각각 6, 18, 43, 57, 73 %로 산출되었다. 발광박테리아의 EC<sub>50</sub>은 물벼룩과 유사한 독성을 나타내는 것으로 조사되 었다.

다. 황산염

황산염에 대한 발광박테리아 독성실험 결과, 실험에 적용된 황산염 농도 20,000, 30,000, 40,000, 50,000, 60,000, 70,000, 80,000 mg/L에 대한 30분 반응 결과, EC<sub>50</sub>은 67,010.3 mg/L, 농도별 발광감소율 각각 0, 6, 19, 36, 44, 49, 60 %로 산출되었다.

발광박테리아의 EC<sub>50</sub>은 물벼룩과 비교하였을 때 독성차이가 매우 크게 났으며, 해양생물종인 발광박테리아에 독성이 매우 낮게 발현된 이유는 황산염은 해수를 구성하는 성분으로 해수에는 황산이온이 약 2,600 mg/kg 포함(환경부, 2011)되어 있어 발광박테리아에 독성이 낮을 것으로 생각된다.

Table 14. A.fischeri toxicity test result for a single substance

	Lithium(mg/L)	Nikel(mg/L)	Sulfate(mg/L)
30m EC <sub>50</sub>	3,025.8 (2,571.0-3,728.8)	6.8(5.4-8.7)	67,010.3 (62,843.8–72,387.7)

ℜ ( ) : 95% Confidence Interval



Fig. 6. Bioluminescence inhibition of *A.fischeri* for a single substance(30min) (A) Li (B) Ni (C) Sulfate

#### 3. 복합물질 물벼룩 급성독성 실험

복합물질 리튬+니켈(고정), 리튬+황산염(고정), 니켈+리튬(고정), 니켈+황산염 (고정)에 대해 물벼룩 24시간, 48시간 반응 후, 반수영향농도인 EC<sub>50</sub> 값, 95% 신뢰구간을 산출하였다.

가. 리튬+니켈(고정)

독성실험 결과 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, Table 5와 같이 리튬 농도 10, 12, 14, 16, 18 mg/L에 대하여 니켈 농도를 1, 3, 5 mg/L 고정하여 수행한 결과, 리튬+니켈1 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 18.7 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 12.3 mg/L 였으며, 농도별 유영저해율은 각각 0, 0, 0, 20, 35% 와 20, 40, 75, 85, 95%로 나타났다. 리튬+니켈3 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 18.8 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 7.9 mg/L 였으며, 유영저해율은 각각 0, 15, 15, 30, 55%와 60, 95, 90, 90, 95%로 나타났다. 리튬+니켈5 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 18.0 mg/L, 유영 저해율은 20, 20, 30, 40, 55% 였으며, 48시간 반응 결과 유영저해율이 100, 95, 95, 100, 95%로 실험농도에서 95% 이상 저해를 받아 EC<sub>50</sub>은 추정할 수 없는 매우증가로 평가되었다. 단일물질 니켈의 1, 3, 5 mg/L 유영저해 율은 각각 24h 0, 0, 30%, 48h 0, 10, 45%로 나타났다(Table 15, Fig. 7).

Table 15. D.magna toxicity test result of lithium and nickel mixtures

	Variable Li +	Variable Li +	Variable Li +
	Fixed Ni 1 mg/L	Fixed Ni 3 mg/L	Fixed Ni $5 \text{ mg/L}$
24h EC <sub>50</sub>	18.7(17.5-23.6)	18.8(16.4-30.0)	18.0(15.3-40.9)
48h EC <sub>50</sub>	12.3(11.3-13.2)	7.9(1.9–10.0)	독성 매우증가

% ( ) : 95 % Confidence Interval



Fig. 7. Immobilization rate of *D.magna* for lithium and nickel mixtures according to the exposure time (A) 24h, Li + Ni (B) 48h, Li + Ni

나. 리튬+황산염(고정)

독성실험 결과 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, Table 6과 같이 리튬 농도 10, 12, 14, 16, 18 mg/L에 대하여 황산염 농도를 4,000, 4,500, 5,000 mg/L 고정하여 수행한 결과, 리튬+황산염 4,000 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 135.0 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 549.5 mg/L 였으며, 농도별 유영저해율은 각각 15, 15, 20, 20, 20 %와 20, 20, 20, 20, 25 %로 나타났다. 리튬+황산염 4,500 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 16.6 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 14.4 mg/L 였으며, 유영 저해율은 각각 25, 30, 45, 45, 55 %와 25, 35, 60, 55, 60 %로 나타났다. 리튬+ 황산염 5.000 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 12.7 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 4.0 mg/L 였으며, 유영저해율은 각각 40, 40, 55, 60, 80 %와 80, 80, 85, 80, 95 %로 나타났 다. 단일물질 황산염의 4,000, 4,500, 5,000 mg/L 유영저해율은 각각 24h 25, 45, 60 %, 48h 35, 50, 75 %로 나타났다(Table 16, Fig. 8).

	Variable Li +	Variable Li +	Variable Li +
	Fixed Sulfate 4,000 mg/L	Fixed Sulfate 4,500 mg/L	Fixed Sulfate 5,000 mg/L
24h EC <sub>50</sub>	135.0(-)	16.6(13.8-104.1)	12.7(9.4-14.9)
48h EC <sub>50</sub>	549.5(-)	14.4(12.0-19.4)	4.0(-)

Table 16. D.magna toxicity test result of lithium and sulfate mixtures

ℜ ( ) : 95 % Confidence Interval



(A)



Fig. 8. Immobilization rate of *D.magna* for lithium and sulfate mixtures according to the exposure time (A) 24h, Li + sulfate (B) 48h, Li + sulfate

다. 니켈+리튬(고정)

독성실험 결과 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, Table 7과 같이 니켈농도 1, 3, 5, 7, 9 mg/L에 대하여 리튬 농도를 10, 12, 14 mg/L 고정하여 수행한 결과, 니켈+리튬 10 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 7.9 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 2.0 mg/L 였으며, 농도별 유영저해율은 각각 0, 0, 30, 40, 55 % 와 20, 65, 90, 100, 100 %로 나타났다. 니켈+리튬 12 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 7.6 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 1.5 mg/L 였으며, 유영저해율은 각각 0, 10, 35, 40, 60 %와 30, 85, 95, 100, 100 %로 나타났다. 니켈+리튬 14 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 8.0 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 0.9 mg/L 였으며, 유영저해율은 각각 0, 10, 30, 35, 60 %와 60, 85, 100, 100, 100%로 나타났다. 단일물질 리튬의 10, 12, 14 mg/L의 유영저해율은 각각 24h 0, 0, 0%, 48h 5, 15, 45로 나타났다(Table 17, Fig. 9).

	Variable Ni +	Variable Ni +	Variable Ni +
	Fixed Li 10 mg/L	Fixed Li 12 mg/L	Fixed Li 14 mg/L
24h EC <sub>50</sub>	7.9(6.7-11.0)	7.6(6.1–11.4)	8.0(6.4-12.7)
48h EC <sub>50</sub>	2.0(1.4 - 2.5)	1.5(1.0-1.9)	0.9(0.4-1.3)

Table 17. D.magna toxicity test result of nickel and lithium mixtures

ℜ ( ) : 95 % Confidence Interval



Fig. 9. Immobilization rate of *D.magna* for nickel and lithium mixtures according to the exposure time (A) 24h, Ni + Li (B) 48h, Ni + Li

라. 니켈+황산염(고정)

독성실험 결과 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, Table 8과 같이 니켈 농도1, 3, 5, 7, 9 mg/L에 대하여 황산염 농도를 4,000, 4,500, 5,000 mg/L 고정하여 수행한 결과, 니켈+황산염 4,000 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 7.1 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 3.6 mg/L 였으며, 농도별 유영저해율은 각각 20, 25, 40, 45, 65 %와 30, 30, 45, 75, 80 %로 나타났다. 니켈+황산염 4,500 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 2.8 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 1.4 mg/L 였으며, 유영저해율은 각각 40, 40, 60, 70, 65 %와 50, 50, 80, 85, 95 %로 나타났다. 니켈+황산염 5.000 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 0.6 mg/L, 48h EC<sub>50</sub>은 0.5 mg/L 였으며, 유영저해 율은 각각 65, 65, 70, 80, 100 %와 80, 95, 100, 100, 100 %로 나타났다. 단일 물질 황산염의 4,000, 4,500, 5,000 mg/L 유영저해율은 각각 24h 25, 45, 60 %, 48h 35, 50, 75 %로 나타났다(Table 18, Fig. 10).

	Variable Ni +	Variable Ni +	Variable Ni +
	Fixed Sulfate 4,000 mg/L	Fixed Sulfate 4,500 mg/L	Fixed Sulfate 5,000 mg/L
24h EC <sub>50</sub>	7.1(4.3-28.1)	2.8(0.1-6.1)	0.6(0-1.6)
48h EC <sub>50</sub>	3.6(2.1-5.7)	1.4(0.4-2.3)	0.5(0-0.9)

Table 18. D.magna toxicity test result of nickel and sulfate mixtures

% ( ) : 95 % Confidence Interval



Fig. 10. Immobilization rate of *D.magna* for nickel and sulfate mixtures according to the exposure time (A) 24h, Ni + sulfate (B) 48h, Ni + sulfate

## 4. 복합물질 발광박테리아 급성독성 실험

복합물질 리튬+니켈(고정), 리튬+황산염(고정), 니켈+리튬(고정), 니켈+황산염 (고정)에 대해 발광박테리아 30분 반응 후, 반수영향농도인 EC<sub>50</sub> 값, 95% 신뢰구간을 산출하였다.

가. 리튬+니켈(고정)

Table 9와 같이 리튬 농도 500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000 mg/L에 대하여 니켈 농도를 0.5, 1, 5 mg/L 고정하여 수행한 결과, 리튬+니켈 0.5 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 3,795.7 mg/L, 농도별 발광감소율은 각각 10, 20, 32, 41, 55 %로 나타났다. 리튬+니켈 1 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 3,957.2 mg/L, 발광감소율은 각각 15, 23, 33, 41, 55 %로 나타났으며, 리튬+니켈 5 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 3,581.1 mg/L, 발광감소율은 각각 34, 40, 42, 42, 58 %로 나타났다. 단일물질 니켈의 0.5, 1, 5 mg/L의 발광감소율은 각각 6, 18, 43 %로 나타났다(Table 19, Fig. 11).

Table 19. A.fischeri toxicity test result of lithium and nick	cel mixtures
---	--------------

	Variable Li +	Variable Li +	Variable Li +
	Fixed Ni 0.5 mg/L	Fixed Ni 1 mg/L	Fixed Ni $5 \text{ mg/L}$
20m EC	3,795.7	3,957.2	3581.1
50III EC <sub>50</sub>	(3,040.8-5,262.5)	(3,025.0-6,087.8)	(2,125.5-199,931.8)

TH OL Y

 $\times$  ( ) : 95 % Confidence Interval



Fig. 11. Bioluminescence inhibition of A.fischeri for lithium and nickel mixtures

나. 리튬+황산염(고정)

Table 10과 같이 리튬농도 500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000 mg/L에 대하여 황산염 농도를 20,000, 40,000, 60,000 mg/L 고정하여 수행한 결과, 리튬+ 황산염 20,000 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 3,190.4 mg/L, 농도별 발광감소율은 각각 6, 7, 18, 44, 72 %로 나타났다. 리튬+황산염 40,000 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 1,469.4 mg/L, 발광감소율은 각각 18, 30, 51, 78, 94 %로 나타났으며, 리튬+황산염 60,000 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 585.0 mg/L, 발광감소율은 각각 49, 61, 86, 93, 96 %로 나타 났다. 단일물질 황산염의 20,000, 40,000, 60,000 mg/L의 발광감소율은 각각 0, 19, 44 %로 나타났다(Table 20, Fig. 12).

Table 20. A.fischeri toxicity test result of lithium and sulfate mixtures

	Variable Li +	Variable Li +	Variable Li +
	Fixed sulfate 20,000 mg/L	Fixed sulfate 40,000 mg/L	Fixed sulfate 60,000 mg/L
20m EC	3,190.4	1,469.4	585
$30m EC_{50}$	(1,809.4-252,938.9)	(796.1-2,344.2)	(449.4-710.5)

 $\times$  ( ) : 95 % Confidence Interval



Fig. 12. Bioluminescence inhibition of A.fischeri for lithium and sulfate mixtures

다. 니켈+리튬(고정)

Table 11과 같이 니켈농도 0.5, 1, 5, 10, 20 mg/L에 대하여 리튬 농도를 500, 1,000, 3,000 mg/L 고정하여 수행한 결과, 니켈+리튬 500 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 3.4 mg/L, 농도별 발광감소율은 각각 12, 22, 51, 73, 95 %로 나타났다. 니켈+ 리튬 1,000 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 7.2 mg/L, 발광감소율은 각각 14, 26, 37, 45, 78 %로 나타났으며, 니켈+리튬 3,000 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 7.4 mg/L, 발광감소율은 각각 42, 46, 48, 52, 52 %로 나타났다. 단일물질 리튬의 500, 1,000, 3,000 mg/L의 발광 감소율은 각각 6, 24, 47 %로 나타났다(Table 21, Fig. 13).

	1						
	1	Variable	Ni +	Variable Ni	+	Variable Ni +	
	F	ixed Li 50	00 mg/L	Fixed Li 1,000	mg/L	Fixed Li 3,000 mg	;/L
30m EC	50	3.4(1.9-0	6.1)	7.2(2.4-98.7	')	7.4(-)	
※ ():	95 %(	Confidence	e Interval			E	
%,'	120	Ni	Li 500mg/L	₩ Li 1,000mg/L	■ Li 3,0	00mg/L	
bitior	100 -	1	3	CH 2	1		
ihni	80 -						
ence	60 -			E3333			
esce	40 -						
imin	20 -						
Biolu	0 -						
	+				10		
	Ni	0.5	1	5	10	20	
	Li	500	500	500	500	500	
	Li	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	
	Li	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	
			Co	ncentration mg/l			

Table 21. A.fischeri toxicity test result of nickel and lithium mixtures

Fig. 13. Bioluminescence inhibition of A.fischeri for nickel and lithium mixtures

라. 니켈+황산염(고정)

Table 12와 같이 니켈 농도 0.5, 1, 5, 10, 20 mg/L에 대하여 황산염 농도를 20,000, 40,000, 60,000 mg/L 고정하여 수행한 결과, 니켈+황산염 20,000 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 26.5 mg/L, 농도별 발광감소율은 각각 0, 9, 18, 34, 43 %로 나타났다. 니켈+황산염 40,000 mg/L의 EC<sub>50</sub>은 2,020.2 mg/L, 발광감소율은 각각 4, 9, 5, 18, 18 %로 나타났으며, 니켈+황산염 60,000 mg/L 실험결과 발광감소율이 28, 28, 28, 28, 27 %로 실험농도에서 유사한 감소율이 나타나 EC<sub>50</sub>은 추정 할 수 없는 것으로 평가되었다. 단일물질 황산염의 20,000, 40,000, 60,000 mg/L의 발광감소율은 0, 19, 44 %로 나타났다(Table 22, Fig. 14).

Table	22.	A.fischeri	toxicity	test	result	of	nickel	and	sulfate	mixtures

	Variable Ni +	Variable Ni +	Variable Ni +
	Fixed sulfate 20,000 mg/L	Fixed sulfate 40,000 mg/L	Fixed sulfate 60,000 mg/L
30m EC <sub>50</sub>	26.5(18.3-45.5)	2,020.2(-)	발광감소율 변화 없음

H ot in

※ ( ) : 95 % Confidence Interval



Fig. 14. Bioluminescence inhibition of A.fischeri for nickel and sulfate mixtures



## 5. 독성평가 모델을 이용한 복합물질의 물벼룩 급성독성 비교

리튬+니켈(고정), 리튬+황산염(고정), 니켈+리튬(고정), 니켈+황산염(고정)의 물벼룩 24시간, 48시간 복합독성 실험결과를 바탕으로 독성평가 모델인 CA(Concentration Addition)와 IA(Independent Action)를 이용하여 독성을 비교하였다.

가. 리튬+니켈(고정)

리튬+니켈1, 3, 5 mg/L 복합물질의 CA모델 평가 결과 24시간, 48시간 반응 에서 모두 상승효과를 나타내었다. 단, 48시간 반응 리튬+니켈5 mg/L의 경우 모든 농도에서 95%이상의 유영저해율을 나타내어 EC<sub>50</sub>을 추정할 수 없어, TU<sub>mix</sub> 산출 또한 할 수 없었다. IA 모델 실험 결과 24시간 반응에서 모두 길항효과, 48시간 반응에서 모두 상승효과를 나타내었다(Table 23, Table 24).

Variable Li+Fixed Ni(mg/L)		$\mathrm{TU}_{\mathrm{mix}}$	Effect
	Li + Ni 1	1.2	AT
24h	Li + Ni 3	1.4	AT
	Li + Ni 5	1.6	AT
48h	Li + Ni 1	1.1	AT
	Li + Ni 3	1.1	AT
	I: NIE	_	
	L1 + 1N1 J	(독성 매우증가)	_

Table 23. Toxicity prediction of *D.magna* for lithium and nickel mixtures using CA

Variable	Li+Fixed Ni(mg/L)	P(EC <sub>50</sub> )	O(EC <sub>50</sub> )	Effect
	Li + Ni 1	18.2	18.7	AT
24h	Li + Ni 3	18.2	18.8	AT
	Li + Ni 5	17.3	18.0	AT
	Li + Ni 1	14.3	12.3	SN
48h	Li + Ni 3	13.6	7.9	SN
-1011	Li + Ni 5	11.0	독성 매우증가	SN

Table 24. Toxicity prediction of *D.magna* for lithium and nickel mixtures using IA

나. 리튬+황산염(고정)

리튬+황산염 4,000, 4,500, 5,000 mg/L 복합물질의 CA모델 실험결과 24시간, 48시간 반응에서 모두 길항효과를 나타내었고, IA 모델 평가 결과 24시간 반응에서 모두 길항효과, 48시간 반응에서 길항, 길항, 상승효과를 나타내 었다(Table 25, Table 26).

Table 25. Toxicity prediction of *D.magna* for lithium and sulfate mixtures using CA

Variable	e Li+Fixed Sulfate(mg/L)	$\mathrm{TU}_{\mathrm{mix}}$	Effect
	Li + sulfate 4,000	4.7	AT
24h	Li + sulfate 4,500	2.0	AT
	Li + sulfate 5,000	1.8	AT
	Li + sulfate 4,000	11.4	AT
48h	Li + sulfate 4,500	2.0	AT
	Li + sulfate 5,000	1.2	AT

Variable	Li+Fixed Sulfate(mg/L)	P(EC <sub>50</sub> )	O(EC <sub>50</sub> )	Effect
	Li + Sulfate 4,000	18.6	135.0	AT
24h	Li + Sulfate 4,500	13.1	16.6	AT
	Li + Sulfate 5,000	8.1	12.7	AT
	Li + Sulfate 4,000	11.9	545.9	AT
48h	Li + Sulfate 4,500	10.5	14.4	AT
	Li + Sulfate 5,000	7.4	4.0	SN

Table 26. Toxicity prediction of *D.magna* for lithium and sulfate mixtures using IA

다. 니켈+리튬(고정)

니켈+리튬 10, 12, 14 mg/L 복합물질의 CA모델 평가결과 24시간, 48시간 반응에서 모두 길항효과를 나타내었고, IA 모델 평가 결과 24시간 반응에서 모두 길항효과, 48시간 반응에서 모두 상승효과를 나타내었다(Table 27, Table 28).

Table 27. Toxicity prediction of *D.magna* for nickel and lithium mixtures using CA

Varial	ole Ni+Fixed Li(mg/L)	$\mathrm{TU}_{\mathrm{mix}}$	Effect
	Ni + Li 10	1.6	AT
24h	Ni + Li 12	1.7	AT
	Ni + Li 14	1.8	AT
	Ni + Li 10	1.1	AT
48h	Ni + Li 12	1.2	AT
	Ni + Li 14	1.1	AT

Table 28. Toxicity prediction of *D.magna* for nickel and lithium mixtures using IA

Variable	Ni+Fixed Li(mg/L)	$P(EC_{50})$	O(EC <sub>50</sub> )	Effect
	Ni + Li 10	7.5	7.9	AT
24h	Ni + Li 12	7.5	7.6	AT
	Ni + Li 14	7.5	8.0	AT
	Ni + Li 10	4.5	2.0	SN
48h	Ni + Li 12	3.6	1.5	SN
	Ni + Li 14	1.7	0.9	SN

라. 니켈+황산염(고정)

니켈+황산염 4,000 4,500, 5,000 mg/L 복합물질의 CA 모델 평가 결과 24 시간, 48시간 반응에서 동일하게 길항, 길항, 상승효과를 나타내었고, IA 모델 평가 결과 24시간 반응에서는 길항, 길항, 상승효과, 48시간 반응에서는 길항, 첨가, 길항효과를 나타내었다(Table 29, Table 30).

CA, IA 모델을 이용한 리튬+니켈(고정), 리튬+황산염(고정), 니켈+리튬 (고정), 니켈+황산염(고정) 복합물질의 물벼룩 24시간, 48시간 평가 결과, 모델 간 동일한 평가 결과도 있었으나, 일부 다른 결과도 있었다. 리튬+니켈 (고정), 니켈+리튬(고정)의 IA 모델은 24시간에서는 길항효과로 48시간에서는 상승효과로 평가되어 반응시간별 평가 결과가 달라져 반응시간에 따라 독성효과가 달라질 수 있음을 알 수 있었다.

복합물질의 전체적인 CA, IA 모델 평가 결과는 대부분 길항효과를 나타내었다.

Variabl	e Ni+Fixed sulfate(mg/L)	$\mathrm{TU}_{\mathrm{mix}}$	Effect
	Ni + sulfate 4,000	1.5	AT
24h	Ni + sulfate 4,500	1.1	AT
	Ni + sulfate 5,000	0.8	SN
	Ni + sulfate 4,000	1.5	AT
48h	Ni + sulfate 4,500	1.2	AT
	Ni + sulfate 5,000	0.9	SN

Table 29. Toxicity prediction of *D.magna* for nickel and sulfate mixtures using CA

Table 30. Toxicity prediction of *D.magna* for nickel and sulfate mixtures using IA

Variable	e Ni+Fixed sulfate(mg/L)	P(EC <sub>50</sub> )	O(EC <sub>50</sub> )	Effect
	Ni + sulfate 4,000	5.0	7.1	AT
24h	Ni + sulfate 4,500	2.0	2.8	AT
	Ni + sulfate 5,000	0.7	0.6	SN
	Ni + sulfate 4,000	2.3	3.6	AT
48h	Ni + sulfate 4,500	1.4	1.4	AD
	Ni + sulfate 5,000	0.4	0.5	AT

# 동성평가 모델을 이용한 복합물질의 발광박테리아 급성독성 비교

리튬+니켈(고정), 리튬+황산염(고정), 니켈+리튬(고정), 니켈+황산염(고정)의 발광박테리아 30분 복합독성 실험 결과를 바탕으로 독성평가 모델인 CA (Concentration Addition)와 IA(Independent Action)를 이용하여 독성을 비교 하였다.

가. 리튬+니켈(고정)

리튬+니켈0.5, 1, 5 mg/L 복합물질의 CA, IA 모델 평가 결과, 모든 복합물질 에서 길항효과를 나타내었다(Table 31, Table 32).

Variat	ble Li+Fixed Ni(mg/L)	TU <sub>mix</sub>	Effect
	Li + Ni 0.5	1.3	AT
30m	Li + Ni 1	1.4	AT
	Li + Ni 5	1.8	AT

Table 31. Toxicity prediction of A.fischeri for lithium and nickel mixtures using CA

\* AT : Antagonistic, AD : Additive, SN : Synergistic

Table 32. Toxicity prediction of A.fischeri for lithium and nickel mixtures using IA

Variable	e Li+Fixed Ni(mg/L)	$P(EC_{50})$	O(EC <sub>50</sub> )	Effect
	Li + Ni 0.5	2,731.0	3,795.7	AT
30m	Li + Ni 1	1,983.0	3,957.2	AT
	Li + Ni 5	681.0	3,581.1	AT

나. 리튬+황산염(고정)

리튬+황산염 20,000, 40,000, 60,000 mg/L 복합물질의 CA 모델 평가 결과 모두 길항효과를 나타내었고, IA모델 평가결과 길항, 상승, 상승효과를 나타내었다(Table 33, Table 34).

Table 33. Toxicity prediction of A.fischeri for lithium and sulfate mixtures using CA

Variab	ole Li+Fixed sulfate(mg/L)	$\mathrm{TU}_{\mathrm{mix}}$	Effect
	Li + sulfate 20,000	1.3	AT
30m	Li + sulfate 40,000	1.2	AT
	Li + sulfate 60,000	1.1	AT
* AT :	Antagonistic, AD : Additive,	SN : Synergistic	

Table 34. Toxicity prediction of A.fischeri for lithium and sulfate mixtures using IA

Variabl	e Li+Fixed sulfate(mg/L)	$P(EC_{50})$	O(EC <sub>50</sub> )	Effect
	Li + sulfate 20,000	3,025.8	3,190.4	AT
30m	Li + sulfate 40,000	1,949.0	1,469.4	SN
	Li + sulfate 60,000	660.0	585.0	SN

다. 니켈+리튬(고정)

니켈+리튬 500, 1,000, 3,000 mg/L 복합물질의 CA, IA 모델 평가 결과 동일하게 상승, 길항, 길항효과를 나타내었다(Table 35, Table 36).

Table 35. Toxicity prediction of A.fischeri for nickel and lithium mixtures using CA

Varia	ble Ni+Fixed Li(mg/L)	$\mathrm{TU}_{\mathrm{mix}}$	Effect
	Ni + Li 500	0.8	SN
30m	Ni + Li 1,000	1.5	AT
	Ni + Li 3,000	2.4	АТ

\* AT : Antagonistic, AD : Additive, SN : Synergistic

Table 36. Toxicity	prediction of	A.fischeri	for nickel	and	lithium	mixtures	using L	A
--------------------	---------------	------------	------------	-----	---------	----------	---------	---

Variable	e Ni+Fixed Li(mg/L)	P(EC <sub>50</sub> )	O(EC <sub>50</sub> )	Effect	
	Ni + Li 500	<mark>5.</mark> 5	3.4	SN	
30m	Ni + Li 1,000	2.5	7.2	AT	
	Ni + Li 3,000	0.5	7.4	AT	

라. 니켈+황산염(고정)

니켈+황산염 20,000, 40,000, 60,000 mg/L 복합물질의 CA 모델 평가 결과 니켈+황산염 60,000 mg/L는 실험농도에서 유사한 발광감소율(27, 28%)을 나타내어 EC<sub>50</sub>을 추정할 수 없어 TU<sub>mix</sub> 또한 산출할 수 없었으며, 나머지는 길항효과를 나타내었고, IA 모델 평가 결과 모두 길항효과를 나타내었다 (Table 37, Table 38).

리튬+황산염(고정) 복합물질의 CA, IA 모델 평가 결과를 제외하고 나머지 모든 복합물질의 평가결과는 동일하게 나타났으며, 물벼룩의 독성평가 결과와 마찬가지로 CA, IA 모델을 이용한 독성평가 결과는 대부분 길항 효과를 나타내었다.

Variabl	le Ni+Fixed sulfate(mg/L)	$\mathrm{TU}_{\mathrm{mix}}$	Effect
	Ni + sulfate 20,000	3.6	AT
30m	Ni + sulfate 40,000	25.6	AT
	Ni + sulfate 60,000	(발광감소율 변화 없음)	-

Table 37. Toxicity prediction of A.fischeri for nickel and sulfate mixtures using CA

\* AT : Antagonistic, AD : Additive, SN : Synergistic

Table 38. Toxicity prediction(IA) of A.fischeri for nickel and sulfate mixtures using IA

Variable	Ni+Fixed sulfate(mg/L)	P(EC <sub>50</sub> )	O(EC <sub>50</sub> )	Effect
30m	Ni + sulfate 20,000	6.8	26.5	AT
	Ni + sulfate 40,000	3.2	2,020.2	AT
	Ni + sulfate 60,000	0.7	독성 매우낮음 (발광감소율 변화 없음)	AT

## V. 요약 및 결론

본 연구에서는 담수생물종인 물벼룩(*D.magna*)과 해양생물종인 발광박테 리아(*Aliivibrio fischeri*)를 이용하여 리튬 배터리 제조과정에서 발생되는 주요 오염물질인 리튬, 황산염과 High Ni 계열의 전구체 수요 급증으로 인해 배출수로 배출 가능성이 큰 니켈을 여러 농도로 혼합하여 복합독성을 평가 하였다.

- 단일물질 물벼룩 급성독성 실험 결과 24시간, 48시간 반응 후, 리튬
   EC<sub>50</sub>은 18.2 mg/L, 14.3 mg/L, 니켈 EC<sub>50</sub>은 7.5 mg/L, 5.1 mg/L, 황산염
   EC<sub>50</sub>은 4597.2 mg/L, 4345.0 mg/L 로 산출되었고, 리튬, 니켈, 황산염의
   반응시간별 독성차이는 24시간에 비해 48시간에서 독성이 21%, 32%,
   5% 증가하였다.
- 발광박테리아 급성독성 실험 결과 30분 반응 후, 리튬 EC<sub>50</sub>은 3,025 mg/L, 니켈 EC<sub>50</sub>은 6.8 mg/L, 황산염 EC<sub>50</sub>은 67,010.3 mg/L로 산출되었다.
   발광박테리아의 EC<sub>50</sub>을 물벼룩과 비교하였을 때, 니켈 독성은 유사하게 산출되었으나, 리튬, 황산염 독성은 큰 차이를 나타내어, 두 물질은 물벼룩과 발광박테리아에 민감도 차이가 있음을 확인하였다.
- 복합물질 물벼룩 급성독성 실험과 CA, IA 모델을 이용한 독성평가 비교는
   다음과 같다.
  - 리튬+니켈1, 3, 5 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 니켈의 농도가 증가하여도 유사 한 독성을 나타내었고, CA, IA 모델 평가 결과 모두 길항효과를 나타

내었다. 48h EC<sub>50</sub>은 니켈 농도가 증가함에 따라 독성도 증가하였고, CA 모델은 길항효과, IA 모델은 상승효과를 나타내었다.

- 리튬+황산염 4,000, 4,500, 5,000 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 황산염 농도가 증가함에 따라 독성도 증가하였고, CA, IA 모델 평가 결과 모두 길항 효과를 나타내었다. 48h EC<sub>50</sub>은 황산염 농도가 증가함에 따라 독성도 증가하였고, CA 모델은 길항효과, IA 모델은 길항, 길항, 상승효과를 나타내었다.
- 니켈+리튬 10, 12, 14 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 리튬의 농도가 증가하여도 거의 동일한 독성을 나타내었고, CA, IA 모델 평가 결과 모두 길항효과를 나타내었다. 48h EC<sub>50</sub>은 리튬의 농도가 증가함에 따라 독성도 증가하 였고, CA 모델은 길항효과, IA 모델은 상승효과를 나타내었다.
- 니켈+황산염 4,000, 4,500, 5,000 mg/L의 24h EC<sub>50</sub>은 황산염 농도가 증가 함에 따라 독성도 증가하였고, CA, IA 모델 평가 결과 동일하게 길항, 길항, 상승효과를 나타내었다. 48h EC<sub>50</sub>은 황산염 농도가 증가함에 따라 독성도 증가하였고, CA 모델은 길항, 길항, 상승효과, IA 모델은 길항, 첨가, 길항효과를 나타내었다.
- 복합물질 발광박테리아 급성독성 실험과 CA, IA 모델을 이용한 독성평가 비교는 다음과 같다.

TH OT V

- 리튬+니켈 0.5, 1, 5 mg/L의 30 m EC<sub>50</sub>은 니켈의 농도가 증가하여도
   유사한 독성을 나타내었고, CA, IA 모델 평가 결과 모두 길항효과를
   나타내었다.
- 리튬+황산염 20,000, 40,000, 60,000 mg/L의 30m EC<sub>50</sub>은 황산염의 농도가
   증가함에 따라 독성도 증가하였고, 모델을 이용한 독성평가 결과 CA
   모델은 길항효과, IA 모델은 길항, 상승, 상승효과를 나타내었다.

- 니켈+리튬 500, 1,000, 3,000 mg/L의 30 m EC<sub>50</sub>은 리튬의 농도가 증가
   하여도 독성은 감소하였고, CA, IA 모델 평가 결과 동일하게 상승, 길항,
   길항효과를 나타내었다.
- 니켈+황산염 20,000, 40,000, 60,000 mg/L의 30 m EC<sub>50</sub>은 황산염의 농도가
   증가하여도 독성은 매우 감소하였고, CA, IA 모델 평가 결과 모두 길항
   효과를 나타내었다.
- CA, IA 독성평가 모델을 이용하여 복합물질의 발광박테리아 독성을 평가하고 비교한 결과, 두 모델은 거의 동일한 평가결과를 나타내었고, 복합물질의 복합독성 평가 결과 대부분 길항효과를 나타내었다.

최근 새로운 오염물질로 공공수역에서 리튬이 검출되고 있어, 2차전지 생산공정에서 배출되는 리튬의 관리가 필요한 시점이다. 2차전지 생산공정 배출수에는 리튬, 고농도의 황산염이 배출되고 있으며, 이러한 오염물질은 수질오염물질 배출허용기준에는 아직 포함되어 있지는 않지만, 생태독성을 통해 관리되고 있다. 리튬, 황산염은 일반적인 페수처리시설에서는 처리되지 않고 제거를 위해서는 진공증발농축기, 역삼투법(R/O membrane), 이온교환 수지 등과 같은 시설이 필요하나 고비용으로 인해 설치가 쉽지 않아, 오염 물질이 공공수역으로 바로 배출될 수 있다.

본 연구는 2차전지 배출수 관리체계 구축을 위한 사전연구로 리튬, 황산염, 니켈 단일물질의 물벼룩(24시간, 48시간)과 발광박테리아 독성실험 및 이 물질들이 혼합된 복합물질의 독성실험을 수행한 후, 최종적으로 독성평가 모델을 이용하여 복합물질의 복합독성을 평가하였다. 이 모든 결과를 바탕 으로 하여, 2차전지 배출수에 대한 관리방안을 제시하고자 한다.

현재 수질공정시험기준에 따른 배출수의 물벼룩 급성독성 실험은 24시간 반응 후 독성을 산출하고 있으나, 리튬, 니켈 및 복합물질 독성실험에서 24 시간 반응과 비교해 48시간 반응 후 독성에 큰 차이를 나타내어, 리튬, 니켈, 고농도 황산염이 포함된 배출수는 추가 48시간 독성실험이 필요할 것 으로 판단된다.

리튬의 물벼룩 24h EC<sub>50</sub>은 18.2 mg/L, 발광박테리아 30m EC<sub>50</sub>은 3,025.8 mg/L, 황산염의 물벼룩 24h EC<sub>50</sub>은 4,597.2mg/L, 발광박테리아 30m EC<sub>50</sub>은 67,010.3 mg/L 를 나타내어 리튬과 황산염의 경우 생물종에 따른 독성 차이를 크게 나타 내었다. 현재 수질오염물질 배출허용기준에 따른 배출수의 생태독성 실험은 담수생물종인 물벼룩만 수행하고 있으나, 해양으로 배출수가 배출될 경우 에는 해양생물종을 이용한 생태독성 실험도 필요할 것으로 판단된다.

독성평가 모델인 CA, IA 모델을 이용한 복합물질의 복합독성 평가 결과, 단일물질 혼합비율에 따라 길항, 첨가, 상승효과를 나타내었으며, 본 연구 에서 수행한 복합물질의 대부분에서는 길항효과를 나타내었다. 복합독성 결과를 바탕으로 현재 수질 제도하에서 배출수 생태독성 기준 TU1 이내를 만족하기 위해서는 2차전지 배출수내 다른 오염물질이 없는 것으로 가정하였 을 때 리튬 13 mg/L, 황산염 5,000 mg/L, 니켈 0.6 mg/L 이하로 혼합되면 생태독성 기준을 만족할 것으로 예상된다.

더 나아가 후속 연구로 리튬이라는 새로운 오염물질이 공공수역으로 배출 되었을 때 담수 및 해양 생태계에 미치는 영향을 판단하기 위해 저농도 장기노출에 따른 단일, 복합물질 생태독성 평가가 필요할 것으로 판단된다.

# 참 고 문 헌

[한글 문헌]

- 김도경. 2017. 물벼룩을 이용한 미세플라스틱과 니켈의 복합독성 연구: 미세플라스틱 작용기의 영향. 건국대학교 대학원. 환경과학과 석사학위 논문
- 구희영. 2019. 수서생태계의 대표생물 3종을 이용한 유기인계농약 Carbophenothion의 환경위해성평가. 전남대학교 대학원. 환경에너지 공학과 석사학위논문.

국립수산과학원. 2021. 해양환경공정시험기준.

국립환경과학원. 2013. 생태독성 분석기관 기술 교육 자료집.

국립환경과학원. 2022. 수질오염공정시험기준.

나진성, 김기태, 김상돈, 한상국, 장남익, 김용석. 2005. 독성 반응곡선을 이용한 수계 주요 오염물질의 혼합독성평가. 대한환경공학회지. 27(1): 67-74.

물환경보전법 시행규칙. 2019. 별표13 수질오염물질의 배출허용기준 안창효. 2020. 프로빗 분석방법을 이용한 광주지역 수계에서 Ibuprofen의

생태위해성 평가. 전남대학교 대학원. 환경에너지공학과 석사학위논문. 이규태, 박경수, 김평중. 2008. 해양성 발광박테리아를 이용한 해양환경 독성

평가 시험법 개발: N-Tox test. 한국해양학회지 바다. 13(2): 156-163 이나래. 2020. 발광박테리아(*Vibrio fischeri*)와 물벼룩(*Daphnia magna*)을

이용한 과불화합물과 중금속의 혼합독성 평가. 창원대학교 대학원.

보건의과학과 석사학위논문.

이철희, 이순화. 2007. 화학물질과 생태독성. 라이프사이언스(2판).

- 이우미, 김지성, 김일호, 김석구, 윤영한. 2014. 발광박테리아 Vibrio fischeri를 이용한 과불화합물과 중금속의 복합독성평가. 대한환경공학 회지. 36(2): 119-126.
- 정한솔. 2020. 수서 대표생물 3종을 이용한 Carbamazepine의 생태위해성평가. 전남대학교 대학원. 환경에너지공학과 석사학위논문.
- 정 현, 박숙현, 황유식. 2014. 발광박테리아(Vibrio fischeri)에 대한 중금속

및 디젤의 혼합 독성 영향. 한국물환경학회지. 30(4): 403-408. 포스코경영연구원. 2018. 2025년 리튬 수급 전망.

포스코경영연구원. 2019. 글로벌 리튬 산업 7대 이슈.

환경부. 2009. 산업폐수 생태독성 원인물질 탐색 및 저감방안에 관한 연구(Ⅱ). 환경부. 한국환경공단. 2011. 3종-5종 폐수배출시설 생태독성관리 업무편람. KORES. 2016. 리튬 시장 분석보고서.



[외국 문헌]

- Åsa Arrhenius, Frederick Grönvall, Martin Scholze, Thomas Backhaus and Hans Blanck. 2004. Predictability of the mixture toxicity of 12 similarly acting congeneric inhibitors of photosystem II in marine periphyton and epipsammon communities. Aquatic Toxicology. 68: 351–367.
- Backhaus T., Scholze M. and Grimme L. H. 2000. The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri*. Aquatic Toxicology. 49: 49–61.
- Banthita Sawasdee, Kohler Heinz-R. and Rita Triebskorn. 2011. Histopathological effects of copper and lithium in the ramshorn snail, Marisa cornuarietis(Gastropoda, Prosobranchia). Chemosphere. 1033-1039.
- Choi Hye-Bin, Ryu Jong-Sik, Shin Woo-Jin and Vigier Nathalie. 2019. The impact of anthropogenic inputs on lithium content in river and tap water. Nature Communications. 10: 5371.
- Eric Jakobsson, Orlando Arguello-Miranda, See-Wing Chiu, Zeeshan Fazal, James Krucz다, Santiago Nunez-Corrales, Sagar Pandit and Laura Pritchet. 2017. Towards a Unified Understanding of Lithium Action in Basic Biology and its Significance for Applied Biology. The Journal of Membrane Biology. 250: 587-604
- Faust M., Altenburger R., Backhaus T., Blanck H., Boedeker W., Gramatica P., Hamer V., Scholze M., Vighi M. and Grimme L. H. 2001. Predicting the joint algal toxicity of multi-component

*s*-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants. Aquatic Toxicology. 56: 13 - 32.

- Faust M., Altenburger R., Backhaus T., Blanck H., Boedeker W., Gramatica P., Hamer V., Scholze M., Vighi M. and Grimme L. H. 2003. Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. Aquatic Toxicology. 63: 43–63.
- Gea Hui-Li, Liu Shu-She, Su Bing-Xia and Qin Li-Tang. 2014. Predicting synergistic toxicity of heavy metals and ionic liquids on photobacterium Q67. Journal of Hazardous Materials. 268: 77-83.
- Hal Aral and Angelica Vecchio-Sadus. 2008. Toxicity of lithium to humans and the environment-A literature review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 70: 349 - 356.
- Jared bozich, Mimi hang, Robert Hamers and Rebecca Klaper. 2017. Core chemistry influences the toxicity of multicompnent metal oxide nanomaterials lithium nickel manganese cobalt oxide and lithium cobalt oxide to Daphnia magna. Environmental Toxicology and Chemistry. 36(9): 2493–2502.
- Jun Yang, Anqi Liao, Shulin-Hu, Yiwen zheng, Shuli Liang, Shuangyan Han and Ying Lin. 2022. Acute and chronic toxicity of binary mixtures of bisphenol A and Heavy metals. Toxics. 1–14.
- Kim Dokyung, chae Yooeun and An Youn–Joo. 2017. Mixture Toxicity of Nickel and Microplastics with different functional group on *Daphnia magna*. Environmental science and technology. 51: 12852–12858.

- Kungolos A., Samaras P., Kipopoulou A. M., Zoumboulis A. and Sakellaropoulos G. P. 1999. Interactive toxic effects of agrochemicals on aquatic organisms. Water Science and Technology. 40(1): 357–364.
- Lynn adams kszos and Stewart Arthur J. 2003. Review of lithium in the aquatic environment: distribution in the United States, toxicity and case example of groundwater contamination. Ecotoxicology. 12: 439-447.
- Lynn adams kszos, John beauchamp J. and Stewart Arthur J. 2003. Toxicity of lithium to three freshwater organisms and the antagonistic effect of sodium. Ecotoxicology. 12: 427-437.
- Nadia Ruocco, Maria Costantin and Luigia Santella. 2016. New insights into negative effects of lithium on sea urchin Paracentrouts lividus embryos. Scientific reports. 1–12.
- Nagato Edward G., D'eon Jessica C., Lankadural Brian P., Poirier David G., Reiner Eric J., Simpson Andre J. and Simpson Myrna J. 2013.
  H NMR-based metabolomics investigation of Daphnia magna responses to sub-lethal exposure to arsenic, copper and lithium. Chemosphere. 331–337.
- Nina Cedergreen. 2014. Quantifying Synergy: A Systematic Review of Mixture Toxicity Studies within Environmental Toxicology. Chemical Synergists in Environmental Toxicology. 9(5): 1–12.
- Pamela A., Pape-lindstrom and Lydy Michael j. 1997. Synergistic toxicity of atrazine and organophosphate insecticides contravenes the response addition mixture model. Environmental Toxicology and Chemistry. 16: 2415–2420.

- Pillard David A., Dufresne Doree L., Caudle Dan D., Tietge Joseph E. and Evans James M. 2000. Predicting the toxicity of major ions in seawater to mysid shrimp(*Mysidopsis bahia*), sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*), and inland silverside minnow(*Menida beryllina*). Environmental Toxicology and Chemistry. 19(1): 183–191.
- Thainara Viana, Nicole Ferreira, Bruno Henriques, Carla Leite, Lucia De Marchi, Joana Amaral, Rosa Freitas and Eduarda Pereira. 2020.How safe are the new green energy resources for marine wildlife?The case of lithium. Environmental Pollution. 267: 1–9
- V. Tsiridis, M. Petala, P. Samaras, S. Hadjispyrou, G. Sakellaropoulos and A. Kungolos. 2006. Interactive toxic effects of heavy metals and humic acids on *Vibrio fischeri*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 63: 158–167.
- Victoria Tkatcheva., David Poirier., Richard Chong-Kit., Vasile I. Furdui., Christopher Burr., Ray Leger., Jaspal Parmar., Teresa Switzer., Stefanie Maedler., Eric J. Reiner., James P. Sherry and Denina B.D. Simmons. 2015. Lithium an emerging contaminant: Bioavailability, effects on protein expression, and homeostasis disruption in short -term exposure of rainbow throut. Aquatic Toxicology 161: 85-93.
- Yoshinari Tanaka and Mitsuru Tada. 2016. GENERALIZED CONCENTRATION ADDITION APPROACH FOR PREDICTING MIXTURE TOXICITY. Environmental Toxicology and Chemistry. 9999: 1–11.
[통계 프로그램]

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM, Version 1.5

