

선박평형수처리장치에서 사용되는 중화제가 생물의 생리현상에 미치는 영향에 관한 기초 연구

장풍국*, 강준수, 장민철, 신경순, 현봉길, 이우진
한국해양과학기술원 선박평형수연구센터
*e-mail: pgjang@kiost.ac.kr

A basic study on the effect of neutralizing agents used to ballast water management system on the physiology of organisms

Pung-Guk Jang, JunSu Kang, Min-Chel Jang, Kyoungsoon Shin, Bonggil Hyun,
Woojin Lee
Ballast Water Research Center, Korea Institute of Ocean Science and Technology

요약

국제해사기구(IMO)는 선박 기원의 외래종 침입을 방지하기 위해 2004년 선박평형수관리협약을 제정하였으며, 이에 따라 국제항을 오가는 선박은 2019년부터 2024년까지 정부승인을 득한 선박평형수처리장치(BWMS)를 의무적으로 설치해야 한다. BWMS는 필터, 전기분해, 산화제, UV, 열처리 등 다양한 기술을 적용해 평형수 내 생물을 사멸시킨 후 IMO D-2 기준에 맞게 배출해야만 한다. BWMS 기술 중 활성물질 이용 기술(전기분해장치, 산화제 주입 등)은 잔류 활성물질을 <0.1 ppm으로 방출하기 위해서 중화제(sodium sulfate 혹은 thiosulfate)를 사용한다. 활성물질을 사용하는 BWMS의 처리수는 소독부산물과 더불어 중화제가 항만에 배출되어 해양환경에 영향을 줄 수 있다. 본 연구는 활성물질을 중화시키는 과정에서 사용되는 중화제가 생물에게 미치는 생리적인 영향을 알아보기 위해 활성물질로 처리된 요각류 egg를 중화제와 여과해수로 중화시킨 후 이들의 부화율과 유생의 활동도를 조사하였다. 본 연구 결과 활성물질을 처리하지 않은 대조수(C1-C3)에서의 부화율은 4% (24h), 47% (48h), 54% (72h)였으며, 대조수에서 24h 이내 부화한 유생의 활동도는 20h부터 사멸하는 유생이 관찰되었고 44h에서는 모든 유생이 사멸하였다. 중화제로 중화시킨 처리수 A(T1-T3) 경우 부화율은 2% (6h), 6% (24h), 10% (48h)였으며, 중화제 주입 후 6h 이내 부화한 유생의 활동도는 27h 이내 모두 사멸하였다. 반면 여과해수로 희석시킨 처리수 B(FT1-FT3)의 부화율은 0% (6h), 2% (24h), 3% (48h)였으며, 6h 이내 부화한 유생은 관찰되지 않았다. 따라서 중화제로 중화시킨 경우, 대조수보다 부화율과 유생 활동도가 현저히 낮지만, 여과해수로 희석시킨 경우보다 부화율이 높게 나타나 중화제가 요각류의 생리적인 활성에 영향을 미치는 것으로 판단된다.

1. 서론

국제해사기구(IMO)는 선박 기원의 외래종 침입을 방지하기 위해 2004년 선박평형수처리협약을 제정하였으며, 이에 따라 국제항을 오가는 선박은 2019년부터 2024년까지 정부승인을 득한 선박평형수처리장치(BWMS)를 의무적으로 설치해야 한다[1]. BWMS는 필터, 전기분해, 산화제, UV, 열처리 등 다양한 기술을 적용해 평형수 내 생물을 사멸시킨 후 IMO D-2 기준에 맞게 배출되어야 한다. BWMS 기술 중 활성물질을 이용하는 기술(전기분해장치, 산화제 주입 등)은 소독부산물과 잔류 활성물질을 제거하기 위한 중화제가 배출수와 함께 항만으로 유입된다. 특히, 잔류 활성물질의 생물 독성이 높기 때문에 이들의 농도를 <0.1 ppm으로 중화시킨 후 배출해야 한다. 따라서 모든 활성물질을 사용하는 BWMS 처리장치는 중화제(sodium sulfate 혹은 thiosulfate)를

사용하기 때문에 항만에 과하게 유입될 수 있다.

활성물질을 사용하는 BWMS는 평형수 내의 유기물과 활성물질이 결합하여 소독부산물을 형성하게 되며, 이들은 생물에게 유해하기 때문에 정부형식승인을 받기 위해서는 IMO의 G9 시험을 수행해서 환경위해성이 없다는 것을 증명해야 한다[2]. 현재까지 소독부산물과 더불어 중화제에 대한 독성 연구도 진행되었다. Ziegler(2018) 등은 식물플랑크톤에 대한 중화제 독성이 100 ppm 이상에서도 나타나지 않는다고 보고하였다[3]. BWMS의 배출시 중화제 농도가 6 ppm 정도로 예상되기 때문에 BWMS에 사용되는 중화제 농도로는 식물플랑크톤에 대한 독성 영향이 미미할 것으로 판단된다. 그러나 위 연구에서 높은 중화제가 주입된 시험구에서 오히려 식물플랑크톤의 개체수가 증가하였다고 보고하였다.

활성물질을 사용하는 BWMS의 배출수를 중화시

키기 위해 사용되는 중화제가 항만에서 생물에 대한 독성과 같은 유해성은 없을 수 있지만, 이들의 생리 활성도를 증가 및 감소시키는 역할을 할 수도 있다고 판단된다. 본 연구는 요각류의 알(egg)을 대상으로 부화율과 부화된 유생의 활동도를 관찰하여 BWMS에 사용하는 중화제가 생물의 생리적 활성에 영향을 미치는지를 분석하였다.

2. 재료 및 방법

요각류 egg를 모으기 위해 장목만에서 원추형 플랑크톤 네트(망목 사이즈, 200 μm)를 이용하여 동물 플랑크톤을 채집한 후 시험실에서 1L 유리 비커로 옮긴 후 상층부에 빛을 비추어 요각류를 모이게 한 다음 5 mL 일회용 피펫으로 이들을 분리해 egg를 받을 수 있도록 고안한 시험 장치로 옮겼다.

시험 장치는 여과해수를 1L 채운 유리 비커에 망목(mesh) 사이즈가 100 μm 인 체(sieve)를 넣고 체 내에 선별한 요각류를 주입하는 간단한 장치이다. 비커에서 상당량의 요각류를 신속하게 시험 장치로 이동 시킨 후 15°C로 설정된 배양기에 넣고 하루 동안 보관하였다. 다음 날 egg가 담겨진 1 L 비커를 망목 사이즈 20 μm 인 체를 이용해서 유기물(egg 포함)만 남을 수 있도록 한 다음, 여과해수를 이용해 거른 유기물을 비커로 옮긴 후 egg 관찰이 수월하도록 바둑판 모양의 선이 있는 페트리디쉬(\varnothing 90 mm)에 적당량 분배하였다.

대조수(C1-C3)에는 차아염소산나트륨(NaOCl)을 넣지 않았으며, 처리수는 차아염소산나트륨을 주입하여 TRO 농도가 8 ppm이 되도록 하였다.

준비된 시험수를 40 mL 유리병에 20 mL씩 주입하여 대조수 3개와 처리수 9개를 준비하였다. 처리수는 활성물질에 48h 동안 노출시킨 후 중화제로 중화시킨 시험구(처리수 A, T1-T3)와 여과해수로 중화시킨 시험구(처리수 B, FT1-FT3) 각각 3개씩 준비하였다. 또한 중화시키지 않은 시험수에서의 egg의 부화 여부를 확인하기 위해 3개의 처리수 시험구를 준비하였다. Egg가 준비된 페트리디쉬를 해부 현미경으로 관찰하면서 준비된 시험구에 피펫을 사용하여 약 100~200개의 egg를 주입하고, 15°C 배양기에 보관하였다. 각 시험구의 egg 부화율과 유생 활동도를 관찰하기 위해 각각의 시험구마다 10분 간격으로 egg를 주입하였다. 각 시험구에서 부화한 유생을 관찰하는 시간이 약 10분 정도 소요되었으며, 관찰 종료 후에는 다시 15°C 배양기에 보관하였다.

대조수는 72h 동안 배양기에 보관하면서 부화율 및 유생 활동도를 관찰하였다. 처리수 A와 B는 48h 동안 배양기에 보관한 후 중화시키고 이후 48h 동안 배양기에 보관하면서 부화율과 유생 활동도를 관찰하였다. 해부현미경(x20)으로 egg 및 유생을 관찰하였으며, 현미경실 온도는 배양 온도와 유사(15~18°C)하게 유지하였다.

대조수는 24h 동안 배양기에 보관한 후 실험실로 옮겨 유리병에 있는 시험수를 페트리디쉬에 붓고 해부 현미경으로 부화한 유생을 계수하였다. 관찰 후 배양기에 보관하고 설정한 관측 시간마다 실험실로 옮겨 부화한 유생을 관찰하였다. 대조수에서 유생 활동도를 관찰하기 위해 24h 동안 보관한 대조수에서 부화한 유생을 6 well culture plate (\varnothing 35 mm)로 옮기고 해부현미경으로 관찰하였다. 유생의 활동도는 4단계(1점: 매우 활발함, 2점: 자극 시 움직임이 활발함, 3점: 자극해도 움직임이 둔화됨, 4점: 자극에 반응 없음(사멸))로 구분하여 점수로 환산하였다.

처리수는 활성물질로 처리한 후 48h 동안 배양기에서 보관한 후 잔류 TRO 농도를 측정하였다. 처리수 A는 중화제(티오황산나트륨)를 각 시험구마다 10분 간격으로 주입해 잔류 TRO가 0.1 ppm 이하가 되도록 하였고, 처리수 B는 여과해수로 반복적으로 희석하여 TRO를 0.1 ppm 이하로 낮추었다. 처리수 A와 B는 중화 후 6h 동안 배양기에 보관한 후 실험실로 옮겨 유리병에 있는 처리수를 페트리디쉬에 붓고 해부현미경으로 부화한 유생을 계수하였으며, 중화제로 처리한 시험구에서 6h 내에 깨어난 유생 활동도를 대조수와 동일한 방법으로 관찰하였다.

3. 결과 및 토의

3.1 대조수의 부화율과 유생 활동도

대조수에서 시간에 따른 누적 부화율은 24h, 48h, 72h에 각각 4%, 47%, 54%를 나타내었다(표 1). 48h 부화율은 일반적인 여과해수(>70%)의 부화율 보다 낮게 관찰되었다. 이는 관찰된 egg 중에 돌기가 나와 있는 cyst 형태의 egg도 관찰되어 환경 조건에 따른 요각류 egg 상태가 부화율에 영향을 미치는 것으로 판단된다. 실제 주입한 egg(200~205개)와 시험 종료 후 계산된 egg(172~188개)의 수가 시험구마다 차이가 있는데, 이는 일부 egg가 20 mL 유리병으로 옮기는 과정에서 유실된 것으로 판단된다.

표 1. 대조수에서 시간에 따라 부화한 유생과 부화율

Egg*	부화한 유생 수			누적 부화율 (%)			
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	
C1	172	10	64	89	6	37	52
C2	188	9	101	101	5	54	54
C3	175	4	90	99	2	51	57
Avg	178				4	47	54

*부화한 egg와 시험 종료 후 남은 egg의 합

대조수에서 24h 후 부화한 유생들을 6 well culture plate에 옮긴 후 시간에 따른 이들의 활동도를 표 2에 정리하였다. 20h부터 사멸하는 개체가 관찰되었고, 48h에서는 모든 유생이 사멸하였다(표 2). 이는 부화한 유생이 먹이의 공급 없이 생존할 수 있는 시간이 최대 72h 정도라는 것을 시사한다.

표 2. 대조수에서 24h 이내에 부화한 유생의 활동도

유생수	유생 활동도 점수							
	0h	6h	20h	24h	28h	32h	48h	
C1	10	1	1	3.3	3.7	4	4	4
C2	8	1	1	3.0	3.5	3.9	3.9	4
C3	4	1	1	2.0	3.5	3.8	3.8	4
Avg.		1	1	2.8	3.6	3.9	3.9	4

3.2 처리수의 부화율과 유생 활동도

처리수 A의 48h 이후의 TRO 농도가 4.04 ppm을 나타내어 중화제 38 μ L를 주입하였으며, 최종 TRO 농도는 0.03 ppm으로 측정되었다. 중화하지 않은 시험구에서 부화한 유생은 관찰되지 않았다. 처리수 A의 중화 후 부화율은 6h, 24h, 48h마다 관찰하였으며, 각 시간별 누적 부화율은 각각 2%, 6%, 10%를 나타내었다(표 3).

표 3. 처리수 A에서 시간에 따른 남겨진 egg수와 부화율

Egg*	부화한 유생 수			누적 부화율 (%)			
	6h	24h	48h	6h	24h	48h	
T1	184	2	11	12	1	6	8
T2	184	4	20	27	2	11	15
T3	193	3	5	11	2	3	6
Avg	187				2	6	10

*부화한 egg와 시험 종료 후 남은 egg의 합

처리수 A에서 중화 후 6h 이내에 부화한 유생을 관찰한 결과, 처리수 A의 3번 시험구(T3)에서 2h

이후부터 외부 자극에 반응이 없는 사멸한 개체가 관찰되었으며, 20h에 3마리 모두 사멸하였다(표 4). 시험구 1과 2(T1, T2)에서도 시간 경과에 따라 활동도가 감소하다가 27h에 모든 유생이 사멸하였다.

표 4. 처리수 A에서 24h 이내에 부화한 유생의 활동도

유생수	유생 활동도 점수									
	1h	2h	3h	4h	5h	6h	8h	20h	27h	
T1	2	2	2	2	2	2	2	2	3.5	4
T2	4	1	1	1	1	1	1.75	1.75	3.5	4
T3	3	1	2	2	2	3	3	3	4	4
Avg		1.33	1.67	1.67	1.67	2.00	2.25	2.25	3.67	4

대조수와 처리수 A의 부화율과 유생 활동도를 비교해 보면 처리수가 상당히 낮은 부화율과 유생 활동도를 나타내었다. 이는 egg가 활성물질에 48h 동안 노출되면서 egg의 생리적 활성에 영향을 미친 것으로 판단된다.

처리수 B는 48h 이후 여과해수로 희석하여 TRO 농도를 0.05 ppm을 낮추었다. 관찰시간(6h, 24h, 48h)에 따른 누적 평균 부화율은 0%, 2%, 3%를 나타내었다(표 5). 6h 내에 부화한 유생이 없어 유생 활동도를 관찰하지 못했다.

표 5. 처리수 B에서 시간에 따른 남겨진 egg수와 부화율

Egg*	부화한 유생 수			누적 부화율 (%)			
	6h	24h	48h	6h	24h	48h	
FT-1	75	0	1	2	0	1	3
FT-2	76	0	3	3	0	4	4
FT-3	74	0	1	1	0	1	1
Avg.	75				0	2	3

*부화한 egg와 시험 종료 후 남은 egg의 합

처리수 A와 처리수 B의 48h 누적 부화율을 보면, 처리수 A가 3배 이상 높은 부화율을 나타내었다. 이는 중화제에 의해서 egg가 자극을 받아 부화율이 증가할 수 있음을 보여준다.

4. 결론

활성물질로 처리된 처리수 내의 요각류 egg는 활성물질이 존재하는 경우 부화하지 않지만, 처리수가 중화가 되면 egg가 부화할 가능성이 있다. 특히 중화제로 처리수를 중화할 경우 여과해수로 중화한 것보다 부화율이 증가하여 중화제가 요각류 egg의 부

화에 관여하는 것으로 판단된다. 또한 활성물질에 노출된 egg에서 부화한 유생 활동도가 현저하게 낮아져 활성물질에 노출된 egg가 부화해도 정상적으로 생존할 가능성은 낮아 보인다. 향후에 중화제에 노출된 해양생물에 대해 유전적인 접근 방법(대사체 분석 등)을 통해 중화제가 해양 생물의 생리에 미치는 영향을 규명하고자 한다.

References

- [1] IMO, "International convention for the control and management of ship's ballast water and sediment", 2004.
- [2] Pung-Guk Jang, "Characteristic and Relative Environmental Risk of Disinfection by Products Associated with Simple Glucose or Naturally Occurring Algal Organic Matter as Tested in Ballast Water Treatment System", Journal of Marine Science and Engineering, 10(12), Dec. 2022.
- [3] G. Ziegler, "Long-term algal toxicity of oxidant treated ballast water", Marine Pollution Bulletin, 133, pp. 18-29, May, 2018.