

Microtox 생물검정법을 이용한 하수오니 처리 토양의 독성평가

박상준[†] · 김승기 · 남재작*

한국과학기술연구원 도핑컨트롤센터, *농업과학기술원 환경생태과

Microtox Biological Toxic Assessment of Soils Treated with Sewage Sludge

Sang-Jun Park[†], Seungki Kim, and Jae-jak Nam*

Doping Control Center, Korea Institute of Science & Technology, Seoul 136-791, Korea

*National Institute of Agriculture Science & Technology, Suwon 441-707, Korea

The toxicity of soils treated with sewage sludge was evaluated using Microtox instrumental analysis. In soils treated with highly polluted sewage sludge from industrial zone, the bioassay revealed a high potential toxicity in proportion to the amount of sewage sludge. In soils treated with highly polluted sewage sludge from municipal zone contained the low level of heavy metals, PAHs. The effect of Microtox concentration was well correlated with the concentration of heavy metals and PAHs on soils. This bioassay technique can be a sensitive method of soil quality evaluation and useful for discriminating the quality of soil following potential risk assessment.

Key words : bioassay, heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs), effect of concentration(EC₅₀)

1. 서 론

하수오니는 75% 이상의 수분을 포함하고 있고 성분의 유·무해성에 관계없이 퇴비의 원료로 사용 불가능한 재료로 구분되어 있어 활용되지 못하므로, 바다에 투기되거나 매립하고 있으나, 국제협약에 따른 규정에 의해 해양투기는 앞으로 더 이상 기대하기가 곤란하며 이에 따라 오키의 재활용에 대한 중요성이 대두되고 있다.^{1~3)} 하수오니의 측정법은 중금속과 방향족 탄화수소에 대한 많은 연구가 있어 왔다. 대부분의 경우 다량의 측정 유기용매를 사용하고, 추출 및 처리시간이 긴 Soxhlet법이나 유기용매 초음파 추출법을 이용하여 추출한 후에 농축하는 복잡한 전처리 과정을 거쳐서 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 또는 기체 크로마토그래피 불꽃이온화 검출법(gas chromatography-flame ionization detector, GC-FID)을 이용하여 분석하는 방법을 사용하며, 기체 크로마토그래피 질량분석법(gas chromatography-mass

spectrometry, GC-MS)를 이용하면 미량 수준까지 분석이 가능하다.⁴⁾

일반적으로 유기물 내에 함유된 무기원소를 분석하기 위한 산분해법은 건식분해법과 습식분해법이 있으며 최근에는 마이크로파 분해장치를 이용하는 방법도 이용되고 있다.⁵⁾ 습식분해법의 경우 산화력이 있는 질산, 황산 및 과염소산 등 무기산 단독 또는 그 혼합산들이 사용된다. 이들 강산들은 강한 산화력으로 유기물을 분해하고, 이때 유기물질 내의 미량 금속들은 비휘발성의 무기 양이온으로 용해된다. 또한 이런 습식분해법은 유기물 속의 질소, 인 및 황을 유도결합 플라즈마 원자분광기(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer, ICP-AES)로 분석하는데도 유용하다. 그러나 이 과정 중 Hg, As, Se, B, Sb 같은 휘발성 금속들은 거의 혹은 전부 손실되며, 규산이 많은 물질의 경우에는 불용성의 규산염이 형성된다.⁶⁾ 혼재되어 있는 하수오니의 유해 독성이 자연에 존재하는 물질의 화학적 형태를 변화시켜 생태계에 미치는 영향

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: xodid4@hanmail.net

을 반영할 수 없는 한계성을 가지고 있다.⁷⁾

Microtox 분석법은 생물학적 검정법(bioassay)으로서 해양 발광성 미생물인 *Vibrio fischeri*의 발광성 저해도를 측정하는 생물학적 독성평가 기법의 일종으로 유해물질의 상대적 독성을 단시간내 분석할 수 있고 유해물질에 노출시 즉시 반응을 나타낸다는 신속성과 편리성을 가지고 있다. Microtox 분석법은 발광성 미생물이 체내에서 생성하는 ATP의 일부를 자체효소인 Luciferase에 의해서 빛에너지로 전환시키는데, 유해물질에 의해서 미생물 내 ATP 생성량 또는 에너지 전달체계가 달라지면 빛에너지의 발생량이 변화하게 된다. Microtox 분석법은 바로 이러한 발광저해 원리를 이용하여 물질의 독성을 평가하는 기법으로 특히 토양이나 퇴적물에 존재하는 PCBs, PAHs, metals, sulfur 등 각종 유해물질에 대해서 민감한 반응을 보인다.^{8,9)}

본 논문에서는 하수오니 처리 토양(25, 50, 100 ton/ha)을 microtox 분석법으로 basic test, solid phase test, basic solid phase test, basic test for aqueous extract를 하여 EC₅₀을 조사 하였으며, ICP-AES와 GC-MS 기기를 사용하여 중금속과 PAHs를 조사하여 microtox분석과 유해물질간의 상관관계와 유의성을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

Microtox 분석에 사용되는 발광박테리아(*Vibrio fischeri*)는 AZUR사(Carlsbad, CA, USA)로부터 구입하였다. 박테리아 재활성화 용액(reconstitution solution)은 독성이 없는 초순수로 AZUR사로부터 구입하였으며, 발광박테리아 시약 1병당 재활성화 용액 1mL을 넣어 동결건조된 발광박테리아를 재활성화 시키는데 사용하였다. 희석액(diluent)은 Azur사로부터 구입하였고, 샘플과 시약을 희석할 때 사용하였다. 페놀(Phenol)은 Aldrich사(Milwaukee, WI, USA)로부터 구입하여 페놀 50 mg을 500 mL의 갈색 플라스크에 증류수로 용해시켜서 100 µg/mL의 농도로 제조하여 표준용액으로 사용하였다. 증류수는 Millipore사(Bedford, MA, USA)의 Mill-Q water system을 이용해 얻은 183 MO 이상의 저항을 가지는 탈이온수를 사용하였다. 유기용매는 sodium sulfate, methylene chloride, n-hexane은 Fisher Scientific사(Fair lawn, NJ, USA)에서 구입하였으며, dimethylsulfoxide(DMSO)는 Junsei사(Chemical

Co., Ltd, Japan)에서 구입하여 사용하였다. ICP-AES분석을 위해서 사용된 토양추출분해액(ternary solution)은 nitric acid(HNO₃)는 Fisher Scientific(Fair lawn, NJ, USA)사, sulfuric acid(H₂SO₄)는 Duksan사(Ansan, Kyunggi, Korea), perchloric acid(HClO₄)는 Samchn사(Columbus, OH, USA)로부터 구입하여 HNO₃ : H₂SO₄ : HClO₄ = 10: 1: 4 비율로 제조하여 사용하였다. GC-MS분석에 사용되는 용매 dichloromethane, cyclohexane는 각각 Fisher Scientific사와 Junsei사로부터 구입하여 사용하였다.

2.2. 기기

본 실험에서 사용한 microtox 기기는 Microtox Analyzer(AZUR Environmental, USA)로서 model 500을 사용하였다. -20°C에서 보관된 발광 미생물을 재활성 용액으로 활성을 시킨 후 4°C에서 실험조건을 유지하면서 microtox 분석을 통해 EC₅₀을 측정하였다. 그리고 하수오니를 처리한 토양의 중금속 농도를 측정하기 위해서 ICP-AES(GBC-Integra XMP, Australia)를 사용하여 분석하였으며, 또한 PAHs 농도를 측정하기 위해서는 GC-MS(GCQ, Finnigan, USA)를 사용하여 분석하였다.

2.3. 실험방법

Basic test는 토양 15 g에 희석액(diluent) 30 mL로 24시간 추출하여 상등액을 취해서 분석하였으며, solid phase test는 토양 15 g에 희석액(diluent) 30 mL를 10분 동안 추출 후 filter column으로 정제한 용액을 microtox manual에 따라 분석하였다. basic solid phase test 는 토양 15 g에 희석액(diluent) 30 mL를 10분 동안 추출하여 상등액을 microtox 분석에 사용하였으며, basic test for aqueous extract test는 토양 추출과정을 2가지(diluent, solvent)용액을 사용하였다. 우선 토양 15 g과 희석액 30 mL를 암상태(20 ±2°C)에서 48시간동안 진탕시켜 상등액을 분석에 사용하였으며, 유기용매로 추출하는 solvent는 토양 50 g에 sodium sulfate 50 g, methylene chloride 150 mL와 metallic copper 25 mg을 넣은 뒤 200 rpm에서 4시간 이상 진탕 한 후 여과지(Watman No. 2)를 이용하여 유기용매 추출용액을 질소 농축기(Turbo vap, Zymark)로 methylene chloride를 증발시킨 후 dimethylsulfoxide(DMSO)로 재용해하여 최종 농도를 2%가 되도록 증류수로 희석하여 microtox manual에

따라 EC₅₀을 측정하였다.

하수오니 처리 토양의 화학 조성, 중금속 농도와 pH가 중금속에 미치는 활성에 대해 조사하였다. pH는 일반적으로 토양분석법에 따라 하수오니로 처리된 토양 1 g에 distilled water 5 mL 비율로 추출하여 조사하였다. ICP-AES 분석은 하수오니 처리 토양의 중금속 총농도는 토양 5 g을 4 M HNO₃ 침출액 25 mL에 넣고 80°C에서 16시간동안 침출하여 측정하는 방법과 토양 2 g을 분해액인 ternary solution(HNO₃:H₂SO₄:HClO₄ = 10:1:4) 20~30 mL에 넣고 열판분해장치(kieldatherm, Gerhardt, Germany)에서 초기 1시간은 250°C, 그 후에는 375°C로 2시간 동안 가열 분해 후 여과하여 측정하는 방법을 사용하였다.

하수오니 처리 토양의 PAHs 각각의 농도를 통해 어떤 특성이 있는지 알아보기 위해서 조사하였다. 토양의 전처리에는 Soxhlet 추출법을 이용하여 여러 번의 추출과 용매 교환 후 정제 컬럼을 통과한 유출액을 최종적으로 1 mL로 농축한 후 분석하였다. GC-MS를 이용하여 PAHs를 분석하기 위해서 시료추출 및 정제는 US EPA의 SW-846¹⁰⁾ 분석법에 준하여 분석하였다. 시료는 20 g을 약 20-50 g의 무수황산 나트륨과 혼합한 후 원통여과기에 넣고 Soxhlet 추출법을 이용하여 약 16시간 추출하였다. 추출용매는 dichloromethane 200 mL를 사용하였다. 추출된 시료에 내부표준물질을 첨가 후 무수황산나트륨 컬럼을 통과시켜 미량의 수분을 제거 후, 감압회전농축기를 사용하여 농축하였다. 2 mL 정도로 농축된 추출액을 cyclohexane으로 용매 교환 후 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 정제 하였다. 정제 컬럼을 통과한 유출액은 최종적으로 1 mL로 농축한 후 GC-MS를 사용하여 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 하수오니 처리 토양의 화학 조성과 중금속 농도

하수오니 처리 토양의 pH 및 중금속 농도를 조사하여 Table 1에 나타내었다. 우선 생활 하수오니 처리 토양(MSS)의 pH는 하수오니 처리량에 따라 5.4, 4.8, 4.5, 공단 하수오니 처리 토양(ISS)은 4.9, 4.9, 4.6이었다. 중금속 농도가 ISS의 경우 Cu는 각각 138.3, 199.9, 329.9 mg/kg이었으며, Ni는 4.2, 4.6, 8.2 mg/kg으로 나타났다. pH는 MSS와 ISS가 산성을 나타내었다. MSS와 ISS 하수오니 처리량에 따라 중금속의 농도가 높아지는 것을 알 수 있었고, ISS는 MSS보다 월등히 높음을 알 수 있었다. Ibekwe 등은 pH는 중금속에 영향을 주고 하수오니를 처리한 토양에 자란 식물체는 중금속의 흡수가 증가한다고 하였고,¹¹⁾ Stuman and McBride와 Blasiak and Harter등도 pH가 토양 중의 중금속의 활성에 중요한 영향을 미친다고 하였으며 대략 pH 5.5정도가 최대라고 하였다.^{12,13)} 하수오니를 토양에 처리할 때 중금속이 작물에 미치는 영향을 최소화하기 위해서는 pH를 보정해 줄 필요가 있으며, Microtox 분석에 사용되는 박테리아도 영향을 최소화하기 위해서 pH를 6~8로 보정해주어야 함을 Microtox Manual을 통해 알 수 있었다.

3.2. 하수오니 처리 토양의 PAHs 농도

GC-MS로 분석한 16가지 PAHs 농도를 조사하여 Table 2에 나타내었다. MSS와 ISS에 함유되어 있는 16가지 PAHs 중 MSS와 ISS 농도를 살펴보면 naphthalene은 MSS에서 하수오니 처리량에 따라 238.3, 286.6, 224.5 ug/kg, ISS에서 440.4, 801.1, 1161.0 ug/kg, acenaphthene은 MSS에서 18.8, 8.4, 10.5 ug/kg, ISS에서 18.1, 33.7, 59.4 ug/kg, fluorene은 MSS에서 32.4, 18.4, 31.0 ug/kg, ISS에서 46.8,

Table 1. pH and Concentration of heavy metals on soils treated with the sewage sludges(mg/kg).

Sewage Sludges	Levels (ton/ha)	pH	Cr	Ni	Cu	Pb	Cd	Zn	Fe	Mn
MSS ¹	25	5.4	0.1	0.2	5.3	6.4	0.1	26.4	99.8	36.3
	50	4.8	0.2	0.3	8.0	7.5	0.1	29.5	143.5	41.1
	100	4.5	0.5	0.3	10.8	7.2	0.1	27.1	208.9	35.8
ISS ²	25	4.9	2.3	4.2	138.3	10.3	0.1	41.4	173.1	31.9
	50	4.9	4.9	4.6	199.9	11.1	0.1	36.0	282.0	20.7
	100	4.6	10.4	8.2	329.9	13.6	0.2	54.2	414.0	17.0

¹Municipal Sewage Sludge, ²Industrial Sewage Sludge

Table 2. Concentrations of PAHs on soils treated with the sewage sludges(ug/kg).

Sewage Sludges	Levels (ton/ha)	NaP ^A	Acy ^B	Ace ^C	Fle ^D	Phe ^E	Ant ^F	Fla ^G	Pyr ^H	Chr ^I	BaA ^J	BbF ^K	BkF ^L	BaP ^M	IcP ^N	DaA ^O	BgP ^P
MSS ¹	25	238.3	19.9	18.8	32.4	227.5	75.3	338.4	593.5	91.3	180.3	257.9	124.8	174.9	165.6	56.7	206.6
	50	286.6	13.6	8.4	18.4	122.3	12.4	177.2	215.7	70.2	155.9	204.1	88.4	122.1	130.4	36.7	198.1
	100	224.5	11.7	10.5	31.0	227.8	29.0	434.5	499.1	186.1	371.0	419.7	171.4	286.9	253.9	55.4	359.5
ISS ²	25	440.4	12.9	18.1	46.8	313.8	48.4	323.0	590.9	112.9	233.2	225.0	97.7	145.1	134.7	37.6	200.7
	50	801.1	16.4	33.7	75.8	435.3	72.5	238.7	568.6	72.2	249.1	219.6	78.8	90.7	121.4	24.4	235.8
	100	1161.0	34.0	59.4	167.2	749.5	127.1	448.5	957.0	143.2	483.5	364.2	150.4	158.1	241.6	75.3	483.2

¹Municipal Sewage Sludge, ²Industrial Sewage Sludge.

^ANaPhthalene, ^BAcenaphthylene, ^CAcenaphthene, ^DFluorene, ^EPhenanthrene, ^FAnthracene, ^GFluoroanthene, ^HPyrene, ^IChrysene, ^JBenzo(a)anthracene, ^KBenzo(b)fluoroanthene, ^LBenzo(k)fluoroanthene, ^MBenzo(a)pyrene, ^NIndeno(1,2,3-cd)pyrene, ^ODibenzo(a,h)anthracene, ^PBenzo(ghi)perylene.

75.8, 167.2 ug/kg, phenanthrene은 MSS에서 227.5, 122.3, 227.8 ug/kg, ISS에서 313.8, 435.8, 749.5 ug/kg, anthracene은 MSS에서 75.3, 12.4, 29.0 ug/kg, ISS에서 48.4, 72.5, 127.1 ug/kg, pyrene은 MSS에서 593.5, 215.7, 499.1 ug/kg, ISS에서 590.9, 568.6, 957.0 ug/kg로 나타났다. 남재작등은 naphthalene은 대개 250~430 ug/kg 정도의 농도에서는 중요한 의미를 갖지 않는다고 했으며, acenaphthylene은 모든 지역(대, 중, 소지역의 하수 슬러지)에서 20 ug/kg내외로 존재량이 극히 적다고 보고 하였다.⁵⁾ 본 실험에서 naphthalene은 ISS에서 독성에 큰 영향이 있다는 것을 알 수 있었지만, MSS는 하수오니 처리량에 관계없이 독성의 영향이 없다는 것을 알 수 있었고, acenaphthylene은 MSS에서 19.9, 13.6, 11.7 ug/kg, ISS에서 12.9, 16.4, 34.0 ug/kg으로 존재량이 극히 적다는 것이 일치 하였다. 그리고 PAHs가 주로 화석연료의 사용과 밀접하게 관련되어 있고, 화석연료의 사용량은 도시규모나 지역의 특성에 따라 다를 수도 있지만, 일부 PAHs 물질에 대해서는 큰 차이가 없다는 것을 알 수 있다.

3.3. 서로 다른 Microtox분석의 EC₅₀ 비교

하수오니 처리 토양에 존재하는 중금속과 PAHs에 대한 독성을 Microtox분석을 통해 상관관계와 유의성을 검증하기 위해서 Basic Test, Solid Phase Test, Basic Solid Phase Test, Basic Test for Aqueous Extract(Diluent Extract, Solvent Extract)분석을 통해 EC₅₀을 조사하였다. Table 3에 하수오니 처리 토양의 독성을 여러 가지 방법을 사용한 결과를 나타내었다.

Basic test법은 하수오니 처리량에 따라 MSS EC₅₀이 448.1, 430.2, 440.8 g/L, ISS는 130.6, 135.2, 130.4 g/L이었고 Solid Phase Test법은 MSS EC₅₀이 190.9, 200.2, 187.5g/L, ISS는 135.1, 137.6, 131.7 g/L이었으며, Basic Solid Phase Test법은 MSS EC₅₀이 98.2, 100.5, 99.5 g/L, ISS는 72.1, 73.4, 80.5 g/L이었다.

하수오니 처리량에 따라 독성을 가장 잘 나타내준 방법은 basic test for aqueous extract법으로 MSS EC₅₀이 245.6, 240.4, 236.1 g/L, ISS는 170.5, 104.7, 73.2 g/L로 하수오니 처리 토양의 독성을 평가하기 위한 분석법으로 basic test for aqueous extract법이 가장 적합함을 알 수 있었다. 또한 유기화합물의

Table 3. Comparison of Microtox media^Q with different method.

Sewage Sludges	Levels (ton/ha)	Basic Test	Solid Phase Test	Basic Solid Phase Test	Basic Test for Aqueous Extract	
					Diluent Extract	Solvent Extract
MSS ¹	25	448.1	190.9	98.2	245.6	249.4
	50	430.2	200.2	100.5	240.4	243.3
	100	440.8	187.5	99.5	236.1	152.7
ISS ²	25	130.6	135.1	72.1	170.5	198.7
	50	135.2	137.6	73.4	104.7	142.2
	100	130.4	131.7	80.5	73.2	70.9

^Qconcentration : EC₅₀(g/L), ¹MSS : Municipal Sewage Sludge, ²ISS : Industrial Sewage Sludge

독성정도를 평가하기 위하여 추출 용매인 회석액을 용매로 바꿔 basic test for aqueous extract법으로 측정했을 때도 MSS EC₅₀이 249.4, 243.3, 152.7 g/L, ISS는 198.7, 142.2, 70.9 g/L로 유기 용매를 사용한 경우에 발광 미생물(*Vibrio fischeri*)이 처리량에 따른 독성에 대한 감도가 더 좋다는 것을 알 수 있었다. 즉,

회석액으로 추출한 basic test for aqueous extract EC₅₀과 중금속 농도가 유의성이 있을 것으로 예측하였고, 용매로 추출한 basic test for aqueous extract EC₅₀과 PAHs 농도가 유의성이 있을 것으로 예측할 수 있었다.

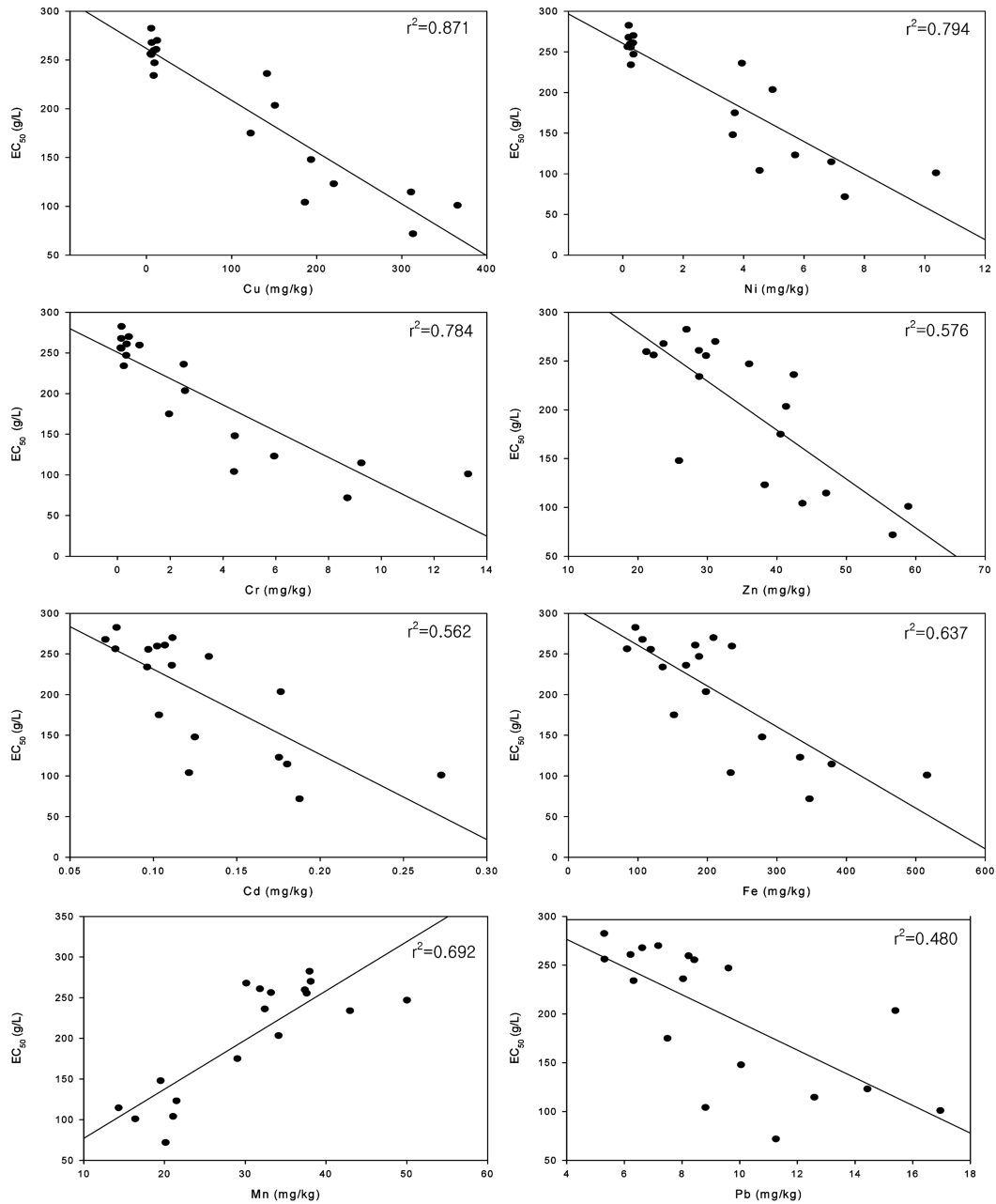


Fig. 1. The relationship between heavy metals and the Microtox EC₅₀ on soil treated with the sewage sludges(Diluent Extract).

3.4. Diluent extract EC₅₀과 중금속의 상관관계

Diluent extract EC₅₀과 중금속의 상관관계를 Fig. 1에 나타내었다. 직선 상관 계수(r^2)를 보면 Cu는 0.8691, Cr는 0.7817, Ni는 0.7912, Zn은 0.5703, Cd은 0.5620, Fe은 0.637, Mn은 0.692로 상관관계가 높음을 알 수 있었고, Pb은 0.4806으로 상관관계가 없음을 알 수 있었다. Cu, Cr, Ni, Zn, Cd, Fe의 농도는 하수오니 처리량에 따라 diluent extract EC₅₀이 낮아짐으로써 독성이 강한 부의 상관관계를 나타내었고, Mn은 하수오니 처리량에 따라 독성이 완화되는 정의 상관관계를 나타내었다. 즉, 앞에서 ICP-AES로 얻은 중금속의 농도와 diluent extract EC₅₀이 상관계수가 높다는 것을 알 수 있었고, 기존의 독성평가 방법인 중금속 분석법과 더불어 생물검정(bioassay)법의 일종인 microtox 분석법도 독성평가 방법으로 유용하다는 것을 알 수 있었다.

3.5. PAHs 농도와 solvent extract EC₅₀의 상관관계

GC-MS를 통한 PAHs 농도와 상관관계를 알아보기 위해서 통계를 이용하여 조사하였다. 하수오니는 MSS, ISS를 구분하지 않고 하수오니 처리량과 PAHs에 대해 3회 반복으로 분석하였고, 직선 회귀식과 상관계수를 구하였다. GC-MS로 분석한 PAHs 농도와 solvent extract EC₅₀을 회귀 분석을 이용하여 상관관계를 Fig. 2에 나타내었다.

Naphthalene, phenanthrene, fluoroanthene, pyrene, benzo(h)fluoroanthene, benzo(ghi)perylene은 다른 PAHs보다 농도가 높았지만, phenanthrene은 0.594, benzo(ghi)perylene은 0.500로서 직선 상관 계수(r^2)를 나타내었고, PAHs 중 상관관계가 높은 것으로는 acenaphthene 0.544, fluorene 0.611, benzo(a)anthracene 0.655로 직선 상관 계수(r^2)가 높음을 알 수 있었

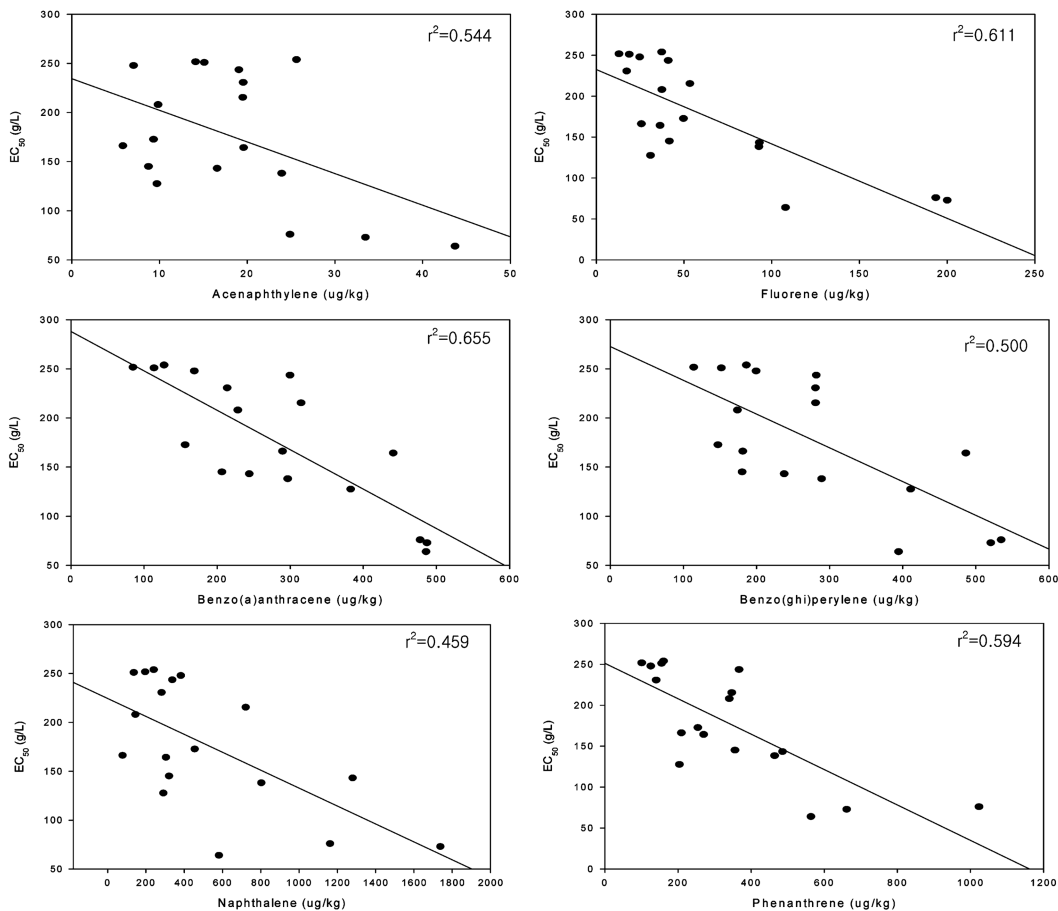


Fig. 2. The relationship between PAHs and the Microtox test EC₅₀ on soil treated with the sewage sludges(Solvent Extract).

다. MSS와 ISS의 총 PAHs 농도와 solvent extract EC₅₀의 회귀분석을 통해 상관관계를 Fig. 2에 나타내었으며, 직선 상관 계수(r^2)는 0.582로서 높지 않음을 알 수 있었다. 그러나 유해물질들이 추출한 용액 내에서 혼재되어 상호결합을 통해서 상승작용과 길항작용으로 총 PAHs에 대한 solvent extract EC₅₀의 상관관계가 낮음을 알 수 있었다.

3.6. 통계를 이용한 유의성 검정

회귀 직선과 상관계수로 유의성을 검정하기 위하여 ICP-AES와 GC-MS를 이용하여 하수오니 처리 토양의 중금속 농도와 PAHs 농도를 구했으며 유의성 검정 결과를 각각 Table 1과 Table 2에 나타내었고, 여러 가지 microtox 분석법 중 basic test for aqueous extract (diluent extract, solvent extract)을 통한 EC₅₀을 Table 3에 나타내었다.

중금속 및 PAHs의 상관계수를 보면 오차범위(p)가 0.01보다 낮아서 유의성이 있음을 알 수 있다. 중금속의 상관관계는 Cu > Ni > Cr > Mn > Fe > Zn > Cd 순으로 높음을 알 수 있다. 앞서 ICP-AES를 통한 중금속의 농도는 Fe > Mn > Zn > Pb > Cu > Ni > Cr 순으로 높아 이러한 순서에 입각하여 microtox 분석과 중금속 농도의 상관성이 높을 것으로 예측하였지만, 통계를 이용하여 분석 해 보았을 때 전혀 다르게 나온 것을 알 수 있었다. 실제로 토양 중에 중금속들이 혼합하여 존재하기 때문에 중금속간의 결합을 통해 상승작용과 길항작용으로 인해 microtox 발광 미생물의 독성(EC₅₀)에 미치는 영향이 단순히 중금속의 농도에 의존하는 것이 아니라는 것을 알 수 있어서 기존의 독성평가 방법인 기기분석만으로는 하수오니의 독성을 평가하기에는 역부족임을 알 수 있었다. PAHs에서 benzo(a)anthracene이 0.655로서 직선 상관 계수(r^2)가 가장 높았고, fluorene > phenanthrene > acenaphthene > benzo(ghi)perylene 순으로 상관관계가 높음을 알 수 있다. 이외에 다른 PAHs는 토양 내에 농도가 적었지만 상관관계를 본 결과 오히려 높아 독성이 농도에 비례하는 것이 아니라는 것을 알 수 있었다. 즉, 상관관계가 있는 PAHs는 5개뿐이지만, 총PAHs와 solvent extract EC₅₀의 직선 상관 계수(r^2)는 0.582로서 유의성을 알 수 있었고, Table 4에 나타내었다. 이것은 혼합되어 있는 PAHs의 상승, 길항작용으로 microtox에 미치는 종합적인 독성의 영향임을 알 수 있었다.

Table 4. Significance of difference between heavy metals, PAHs and Microtox EC₅₀.

		r^2	p^a
Heavy Metals	Cu	0.871**	p<0.0001
	Ni	0.794**	p<0.0001
	Cr	0.784**	p<0.0001
	Zn	0.576**	p=0.0003
	Cd	0.562**	p=0.0003
	Fe	0.637**	p<0.0001
	Mn	0.692**	p<0.0001
PAHs	Ace ^C	0.544**	p=0.0005
	Fle ^D	0.611**	p=0.0001
	Phe ^E	0.594**	p=0.0002
	BaA ^J	0.655**	p<0.0001
	BgP ^P	0.500**	p=0.001
	Total PAHs	0.582**	p=0.0002

^CAcenaphthene, ^DFluorene, ^EPhenanthrene, ^JBenzo(a)anthracene, ^PBenzo(ghi)perylene, ^aProb., **: P<0.01.

4. 결 론

하수오니는 폐기물의 일종으로 더 이상 매립이나 해양투기가 되지 않으므로 농업적으로 재활용하는데 중요한 관심사가 되고 있다. 특히 하수오니에는 중금속과 PAHs 같은 유해물질들을 가지고 있으므로 이들 유해물질이 혼합되어 있는 독성의 영향을 알아보기 위해 생물학적 분석법인 microtox 분석을 하였다. 본 실험에서는 다양한 유해물질이 혼합되어 있는 하수오니 처리 토양을 microtox 분석법과 기기분석(ICP-AES, GC-MS)을 통해 상관관계와 유의성에 대해 연구하였다. microtox 분석을 하기 위해 하수오니를 토양에 처리하였으며, 분석하고자 하는 토양의 중금속과 PAHs를 추출하기 위해서 희석액과 유기용매를 사용하였다. 추출한 용액으로 여러가지 microtox 분석을 하였으며, basic test for aqueous extract(dilute extract, solvent extract)분석법이 중금속과 PAHs 농도에 대해 상관관계와 유의성이 높았다. 이러한 상관관계와 유의성을 조사한 결과 중금속의 직선 상관 계수(r^2)는 Cu:0.871, Ni:0.794, Cr:0.784, Zn:0.576, Cd:0.562, Fe: 0.637 였으며, 부의 상관관계를 나타내었으며, Mn은 0.692로서 정의 상관관계를 나타내었다. PAHs의 직선 상관 계수(r^2)는 acenaphthene:0.544, fluorene:0.611, phenanthrene:0.594, benzo(a)anthracene:0.655, benzo(ghi)perylene:0.500로서 부의 상관관계를 나타내

있고, 총 16가지가 혼합된 총 PAHs 직선 상관 계수 (r^2)는 0.582였다.

참고문헌

1. 환경부, 2002, “환경백서”.
2. 환경부, 2001, “전국 폐기물 발생 및 처리 현황”.
3. 환경부, 2001, “지정 폐기물 발생 및 처리 현황”.
4. Bernard S. Crimmins and Joel E. Baker, Improved GC/MS methods for measuring hourly PAH and nitro-PAH concentrations in urban particulate matter, 2006, *Atmospheric Environment* 40, 6764-6779.
5. 남재작, 조남준, 정이근, 이상학, *한국토양비료학회지*, 1998, 31(3), 253-258
6. US EPA, 1990, Microwave assisted acid digestion of sediments, sludge, soils, and oils, SW-846, Method 3051, Washington, DC, USA.
7. 남재작, 박우균, 이상학, *한국환경과학회지*, 2002, 11(4), 367-373.
8. Salizzato, M., B. Pavoni, A.V. Ghirardini, P.F. Ghetti, Sediment toxicity measured using *Vibrio fischeri* as related to the concentrations of organic(PCBs, PAHs) and inorganic (Metals, sulphur) pollutants, 1998, *Chemosphere* 36, 2949-2968.
9. Ringwood, A.H., M.E. DeLorenzo, P.E. Ross, A.F. Holland, Interpretation of Microtox solid-phase toxicity tests: The effects of sediment composition, *Environ. Toxicol. Chem.*, 1997, 16, 1135-1140.
10. US EPA, 1996, Test Methods for Evaluating Solid waste, Physical/Chemical Methods: Semivolatile Organic compounds by Gas Chromatography/Mass spectrometry(GC/MS), SW-846, Method 8270C, Washington, DC, USA.
11. Ibekwe, A. M., J. S. Angle, R. L. Chaney, P. Van Berkum, Sewage sludge and heavy metal effects on nodulation and nitrogen fixation of Legumes *J. Environ. Qual.*, 1995, 24, 1199-1204.
12. McBride, M. B, Growing food crops on sludge-amended soils: Problems with the U.S. Environmental Protection Agency method of estimating toxic metal transfer, *Environment Toxicity and Chemistry*, 1998, 17(11), 2274-2281.
13. McBride, M. B., B. K. Richards, T. Steenhuis, and G. Spiers, Molybdenum uptake by forage crops grown on sewage sludge-amended soils in the field and greenhouse, *J. Environ. Qual.*, 2000, 29, 848-854.