

연구논문

국가환경시료은행 시료 채취, 분쇄, 저장과 개선방안 고찰

이장호* · 이종천* · 김명진** · 한아름* · 이유진* · 바데 라빈드라* · 김민성*

국립환경과학원 환경자원연구부 자연평가연구팀*, 자연자원연구과**

(2012년 9월 11일 접수, 2012년 11월 16일 승인)

Sampling and Cryogenic Pulverization and Storage of Environmental Samples and Improvement of Operating Procedures in National Environmental Specimen Bank

Jangho Lee* · Jongchun Lee* · Myungjin Kim** · Areum Han* · Eugene Lee* ·
Rabindra Bade* · Minsung Kim*

Ecosystem Assessment Division*, Nature Conservation Research Division**

(Manuscript received 11 September 2012; accepted 16 November 2012)

Abstract

Environmental Specimen Banks (ESBs) are playing pivotal role in monitoring the effect of environmental pollution on the ecosystem based on the retrospective analysis of the representative samples collected regularly and stored in cryogenic condition. In Korea, National Environmental Specimen Bank (NESB) was established in 2009 and the standard operating procedures (SOPs) for sampling, and cryogenic milling and storage had been prepared during 2007-2010. Since then, the tentative SOPs for the seven kinds of specimens (shoots of Red Pine (*Pinus densiflora*) and Korean Pine (*Pinus koraiensis*), leaves of Mongolian Oak (*Quercus mongolica*) and Zelkova Tree (*Zelkova serrata*), eggs of Feral Pigeon (*Columba livia* var. *domestica*), muscles and organs of Common Carp (*Cyprinus carpio*), and Freshwater Bivalve (*Unio (Nodularia) douglasiae*)) have been put to test in the field and laboratory as well against the practicality and feasibility. The SOPs were improved by reflecting the findings from the research and the following discussion regarding the selection of specimen (Feral Pigeon suffering from a control management), sample size (a problem of decreasing number of sampling trees related to increasing sampling time) and period (a problem related to a bud growth), and sampling methods etc.. In addition, barcoding system for the management of the specimen information, and monitoring system of the cryogenic storage to regulate the optimum temperature and the liquid nitrogen level were also developed for the efficient and effective control of the samples. Lastly, the safety guide and emergency protocol were augmented to

guarantee a safe work environment with the cryogenic facility. These improvements of the SOPs are expected to contribute to more stable operation of the NESB.

Keywords : Environmental Samples, Standard Operating Procedures, Cryogenic Storage

I. 서 론

전 세계적으로 10만 여 종의 유해화학물질이 존재하며 매년 2천 여 종의 물질이 새로 만들어지고 있다(정동효, 2007). 하지만 이들 물질 모두에 대해 상세한 위해성 정도나 노출 정도, 유해성 정도에 대한 정보가 구축되지 못하고 있다. 또한 이들 물질이 생물체에 축적되면서 야기하는 생태독성에 대한 영향은 미래시점에서 새롭게 밝혀지는 경우가 많다(국립독성과학원, 2007). 이에 생물체 시료를 장기간 확보해 두면 유해화학물질의 생물체 농축에 대한 시계열적 변화를 정확히 파악할 수 있고, 과거 어느 시점부터 영향을 미쳤는지, 생물종에 따라서 농축 특성이 어떤 차이를 보이는지 등을 명확히 파악할 수 있다. 또한 미래시점에서 환경당국에 의해 시행된 특정 유해화학물질 저감 정책이 시행 전과 후를 비교했을 때 효과가 실제로 있는지 등도 파악할 수 있다(Kim *et al.*, 2009; Rüdél *et al.*, 2003; Wenzel *et al.*, 2004).

생물체 시료를 장기간 변질 없이 보관하기 위해서는 초저온 저장이 적합하다. 초저온은 영하 130도 이하의 상태를 말하는데, 초저온 상태로 급속 냉각시키면 얼음결정형성에 의한 시료의 물리적 파괴 영향이 거의 없는 것으로 알려져 있다(Rüdél and Weingartner, 2008). 그리고 이화학적 반응이 일어날 수 없는 온도 상태이다. 초저온 냉매로는 액체 질소가 많이 사용되는데 비용이 저렴할 뿐만 아니라 산소에 의한 산화반응을 억제하는 역할 또한 한다. 이같이 생물체 시료의 초저온 저장과 분석을 목표로 시료 채취, 초저온 분쇄, 저장 등의 제반 기능을 환경시료은행이 담당하고 있다. 우리나라도 2009년도에 국가환경시료은행을 환경부 국립환경과학원에 건립하였고, 주요 환경시료의 채취 절차를 포함한 시료은행 운영에 필요한 표준운영절차(SOP)도 4년여에 걸쳐 마련하였다. 그리고 현재는

표준운영절차를 현장에 적용하고, 그 결과를 검토하여 개선사항을 파악하는 단계에 있다.

개선사항 파악은 한 번의 시험연구로 이루어질 수 없고, 반복적인 적용 연구로 문제점을 파악하는 것이 중요하다. 국가환경시료은행에서는 '10년도에 채취, 분쇄, 저장에 대한 표준운영절차 시험 적용이 처음 이루어졌다(국립환경과학원, 2010; Kim *et al.* 2010). 본 논문에서는 시험연구 2년차인 '11년도 적용 결과를 다루었다. 육상생태계 시료로서 소나무, 잣나무 등 5종, 담수생태계 시료로서 잉어, 말조개를 대상으로 채취, 분쇄, 저장을 단계별로 실시하였고, 그 결과를 표준운영절차 및 '10년도 결과와 비교 검토한 후 향후 개선방안을 고찰하였다.

II. 국외동향

환경시료은행은 1970년대에 미국과 독일을 주축으로 시료를 영구적으로 보관할 수 있는 저장소(archive) 개념이 제안되면서 진행되었다(Becker and Wise, 2009). 1979년에 미국, 일본, 독일에서 환경시료은행 사업이 시작되었고, 현재 우리나라를 포함한 17개 국가에서 운영 또는 설립 중에 있다(Kayer *et al.*, 1982; www.inter-esb.org).

1. 주요 선진국의 환경시료은행 특징

미국은 1979년에 국립표준기술원(National Institute of Standard and Technology, NIST)과 환경보호청(Environmental Protection Agency)의 공동 프로젝트로 National Biomonitoring Specimen Bank(NBSB)가 출범하게 되었다. 현재는 해양환경시료은행(Marine Environmental Specimen Bank, MESB)으로 통합하여 운영되고 있고, 표준시료(Certified Reference Material) 제작과 인간의 간, 혈액, 음식, 홍합류, 굴, 어류 조직,

해양침전물 및 해양포유류 등의 시료를 저장하고 분석하고 있다(김명진 등, 2008; 이종천과 김명진, 2012). 일본은 환경부 소속 국립연구기관인 국립환경연구소(National Institute for Environmental Studies, NIES)에서 1979년 환경시료은행 건립을 위한 시범사업으로 환경시료와 멸종위기종에 대한 유전자원을 저장하면서 시작했다. 이후 환경시료타임캡슐이라는 기관을 신설하여 멸종위기종 조직, 해양시료, 인체시료 등을 저장하고 분석하고 있다. 독일은 1979년 독일연방내무부(German Federal Ministry of the Interior, BMDI)와 독일연방연구기술부(German Federal Ministry of Research and Technology, BMFT)의 지원으로 시범사업(pilot project)이 시작되었다. 현재 환경시료는 육상생태계에서 독일가문비(*Picea abies*) 등 9종, 담수생태계에서 어류인 Bream(*Abramis brama*) 등 3종, 해양생태계에서 어류인 Eelpout(*Zoarces viviparus*) 등 4종, 그리고 인체시료를 저장하고 분석하고 있다. 특히, 독일의 경우 시료 채취, 분쇄, 저장 등에 관한 표준운영절차를 1985년부터 작성하여 체계적으로 업데이트하고 공개하고 있다(Emons *et al.*, 1997). 우리나라 국가환경시료은행은 독일의 표준운영절차를 모델로 해서 운영절차 지침을 작성하였다. 독일의 표준운영절차를 소개하면 다음과 같다(Bartel *et al.*, 2009; Klein *et al.*, 2010; Paulus *et al.*, 2010; Rüdell and Weingartner, 2008; Rüdell *et al.*, 2008; Wagner *et al.*, 2003; 2009).

2. 독일환경시료은행 표준운영절차 특징

환경시료 채취 및 처리 운영절차의 구성은 대상종 선정기준, 채취부위, 채취지역의 선정, 샘플크기 및 개체선택, 채취시기 및 방법, 조사도구 세척, 생체특성치 측정 등으로 구성되어 있다. 대상종 선정기준은 다양한 서식환경을 포함하는 넓은 지역 분포와 장기적인 채취가 가능한 많은 개체수 확보를 공통적인 기준으로 한다. 우리나라 국가환경시료은행에서 채취하고 있는 종과 비슷한 생물학적 특징을 가진 시료종을 중심으로 살펴보면, 육상생태계

의 수목시료인 독일가문비(*Picea abies*), 구주소나무(*Pinus sylvestris*), 참나무 일종인 Red Beech(*Fagus sylvatica*), 양버들(*Populus nigra Italica*)은 대기로부터 침착(沈着)되는 오염물질을 파악하는 데 유용하다. 육상생태계에서 곡류 등을 먹는 집비둘기(*Columba livia f. domestica*)는 초식영양단계(herbivorous trophic level)의 오염물질 거동을 살피는데 유용하며, 해양생태계에서 어류나 수초 등을 먹는 재갈매기(*Larus argentatus*)는 잡식영양단계(omnivorous trophic level)의 오염물질 거동을 파악하는데 유용하다. 담수생태계에서는 육식영양단계(carnivorous trophic level)로 어류인 Bream(*Abramis brama*), 잡식영양단계(omnivorous trophic level)인 민물조개 일종인 Zebra Mussel(*Dreissena polymorpha*)이 각 영양단계에서의 오염물질 거동을 파악하는데 사용된다.

샘플크기, 채취시기, 채취부위 및 채취량을 보면, 독일가문비와 구주소나무는 40년생 이상의 수목 15개체 이상을 대상으로 수목 당 일년생 가지 150g씩을 3월~5월에 채취한다. Red Beech와 양버들은 각각 40년생 이상과 20년생 이상의 수목 15개체 이상씩을 대상으로 수목 당 일년생 가지 150g씩을 8월~9월에 채취한다. 집비둘기는 지점 당 25개 알, 총 375g을 목표로 3월~9월에 채취하고 있다. 어류인 Bream은 산란기가 끝나는 8월~9월에 지점 당 20개체를 채취하고, 근육과 간을 적출하고, 혈액도 채취한다. 민물조개인 Zebra Mussel도 산란기가 끝나는 9월~11월에 100개체를 채취한다. 해양생태계 시료인 재갈매기 알은 지점 당 30~35개 알, 총 2,200g을 목표로 3월~4월에 채취하고 있다. 그리고 채취한 시료는 무게, 크기 등의 생체특성치 정보를 측정하여 기록한다.

환경시료 분쇄 및 저장 운영절차의 구성은 장비 및 재료, 준비사항, 초저온 분쇄과정, 도구의 세척, 안전조치 등으로 구성되어 있다. 과정 중에 시료를 분쇄하는 이유는 많은 양의 시료를 작은 부피로 저장할 수 있고, 이질적인 성질을 지닌 시료의 각 부위들이 고루 섞이는 균질화(homogenisation) 효과

도 기대할 수 있기 때문이다. 분쇄장비는 1kg 이상의 시료를 한 번에 분쇄할 경우에 사용되는 초저온 대형밀링기(Cryo-oscillating mill, KHD, Cologne)와 1kg 미만에 사용하는 소형밀링기(Planetary mill, 독일 Fritsch사)가 있다. 그리고 수작업 분쇄에 사용되는 막자사발과 분쇄입자의 크기를 측정하는 입도분석기, 분쇄시료를 담은 바이알(glass vial), 초저온에 견디는 바코드라벨지와 산소농도경보시스템 등이 필수적이다. 준비사항으로 분쇄 과정 중에 시료의 초저온이 항상 유지되도록 액체질소 공급설비가 갖춰져야 한다. 분쇄는 초저온으로 냉각된 막자사발에 시료를 넣고 수작업으로 시료를 잘게 부순 후 밀링기에 넣어 분쇄한다. 대형밀링기는 기기 자체에 액체질소가 공급되면서 분쇄 시 초저온이 항상 유지되는 반면 소형밀링기는 분쇄 볼(ball)과 사발을 분쇄 전에 충분히 초저온 냉각시켜서 사용해야 한다. 분쇄 후에는 균질화(homogenisation) 여부(분쇄 입자 > 90%, 입도 < 200 μ m)를 판단하기 위해 입도분석을 실시한다. 기준을 만족 못할 시에는 다시 분쇄를 실시한다. 시료정보는 바코드에 기록되고 시료를 바코드라벨지가 부착된 바이알에 담아 액체질소를 이용한 초저온저장탱크에 최종적으로 저장한다. 저장시설 등에서는 액체질소를 사용하기 때문에 질식과 동상 등의 안전사고에 주의해야 한다. 위험지역 표시, 물질특성 및 응급조치에 대한 교육 및 훈련이 상시적으로 이루어져야 한다.

III. 연구방법

1. 채취종 및 채취부위 선정

독일의 표준운영절차와 마찬가지로 우리도 채취종의 선정은 오염정도가 다양한 넓은 지역의 분포 가능성, 오염영향의 민감성, 채취량을 충족시킬 수 있는 개체수, 장기적인 채취 가능성 등을 기준으로 선정하였다(국립환경과학원, 2007). 장기적인 계획은 총 14종으로 육상생태계 7종(소나무, 잣나무, 신갈나무, 느티나무, 집비둘기, 지렁이, 토양), 담수생태계 3종(저질, 잉어, 말조개), 해양생태계 4종(조개

류, 어류, 팽이갈매기, 해조류)으로 수립되어 있다. 2011년에는 총 7종으로 육상생태계는 소나무(*Pinus densiflora*), 잣나무(*Pinus koraiensis*), 신갈나무(*Quercus mongolica*), 느티나무(*Zelkova serrata*), 집비둘기(*Columba livia* var. *domestica*), 담수생태계는 잉어(*Cyprinus carpio*), 말조개(*Unio (Nodularia) douglasiae*)를 선정하였다. 상록침엽수는 연중 시들지 않기 때문에 1년 동안의 오염영향을 반영할 수 있다. 상록침엽수 중 소나무와 잣나무는 우리나라의 대표적인 침엽수로서 소나무는 침엽수 중 분포 면적이 50% 이상으로 가장 넓다. 잣나무는 8.3%를 차지하지만, 조림수종 중 가장 넓은 면적을 차지하고 있다(산림청, 2011). 그리고 이 두 수종은 오염물질의 영향, 특히 대기 침착 유기물질과 관련한 연구가 활발히 진행되어 왔다(천만영, 1998; 2008a; 2008b; 2009). 다음으로 상록침엽수 시료의 보완적인 시료로 낙엽활엽수를 선정하였다. 낙엽활엽수는 봄, 여름의 생장시기 동안의 오염영향을 파악하는 지표로 이용될 수 있다. 낙엽활엽수 중 신갈나무는 온대지방의 대표적인 수종으로 한반도 전역에 분포한다(송민섭, 2008). 그리고 느티나무는 대표적인 가로수와 조경수로 도시 지역, 농촌지역 등에 고루 분포하는 낙엽활엽수이고, 도시 오염영향에 관한 연구도 수행된 종이다(이경준 등, 1995). 집비둘기는 도시지역, 농촌지역 등에 고루 분포하는 종으로 연중 번식이 가능하며 오염영향 연구가 상당히 이루어진 종이다(김정수 등, 2001; 남동하 등, 2001; 2002). 잉어는 하천에 고루 서식하는 종으로 작은 물고기나 수서곤충 등을 먹고 사는 잡식성 어류이다. 그리고 하천생태계 오염물질 농축 정도를 모니터링하는 지표생물로 이용되고 있다. 말조개는 하천에 고루 서식하고 있으며 물속 유기물을 걸러서 먹는다(문교부, 1990). 또한 말조개를 포함한 민물조개류는 하천 환경오염에 대한 유용한 지표로 이용되고 있다.

채취부위를 보면, 침엽수는 1년생 가지(침엽 포함)를 대상으로 하였고, 활엽수는 잎(잎자루 제외)을 대상으로 하였다. 집비둘기는 채취의 용이성을 고

려해 알을 대상으로 하였고, 잉어는 근육을 기본 부위로 하고, 간, 신장, 비장을 추가로 적출하였다. 말조개는 껍질을 제외한 연체(soft body) 전체를 대상으로 하였다.

2. 채취지역 및 시기

채취지역은 토지이용도를 참고하여 도시지역(관악산, 여수산단, 한강시민공원), 근교지역(태화산, 축령산, 연인산, 함평공원), 자연지역(설악산, 월악산, 지리산)으로 구분하였다. 또한 종별 서식특성에 따라 채취지역을 선별하였다(그림 1, 표 1). 소나무는 도시지역인 관악산, 자연지역인 월악산과 설악산에서 채취하였고, 잣나무는 근교지역인 태화산과 축령산, 그리고 자연지역인 설악산에서 채취하였다. 신갈나무는 도시지역인 관악산과 근교지역인 연인산, 자연지역인 지리산에서 채취하였고, 느티나무는 도시지역인 여수공단과 자연지역인 지리산에서 채취하였다. 집비둘기 알은 대도시에 속하는 한강시민공원과 소도시에 속하는 함평공원에서 채취하였다. 잉어는 4대강을 대상으로 하였고, 말조개는 금강과 낙동강을 대상으로 하였다.

채취시기는 종별 성장특성을 고려하여 선택하였다. 소나무(5월~6월)와 잣나무(3월~6월)는 봄철에

표 1. 시료 채취지역 및 시료종류

생태계	구분	조사지	시료종류(채취일)
육상 생태계	도시지역	관악산	소나무(5/4), 신갈나무(9/23)
		여수공단	느티나무(9/27)
		한강시민공원	집비둘기 알 (4/28, 6/10, 7/6, 11/15)
	근교지역	태화산	잣나무(3/8)
		축령산	잣나무(5/18)
		연인산	신갈나무(9/21)
		함평공원	집비둘기 알(3/25, 11/8)
	자연지역	설악산	소나무(6/16), 잣나무(6/16)
		월악산	소나무(5/25)
지리산		신갈나무(9/28), 느티나무(9/27)	
담수 생태계	한강	잉어(11/1)	
	금강	잉어(11/10), 말조개(11/8, 10)	
	낙동강	잉어(11/3), 말조개(11/4)	
	영산강	잉어(11/8)	

채취하였고, 신갈나무(9월)와 느티나무(9월)는 가을철에 채취하였다. 잉어(11월)와 말조개(11월)는 가을에 채취하였고, 집비둘기(3월~11월)는 연중 채취하였다.

3. 시료 채취

국가환경시료은행의 표준운영절차상 수목시료 채취량 기준은 최소 15개체(그루)로 개체당 최소 150g씩이다. 소나무와 잣나무 가지는 수목의 바깥

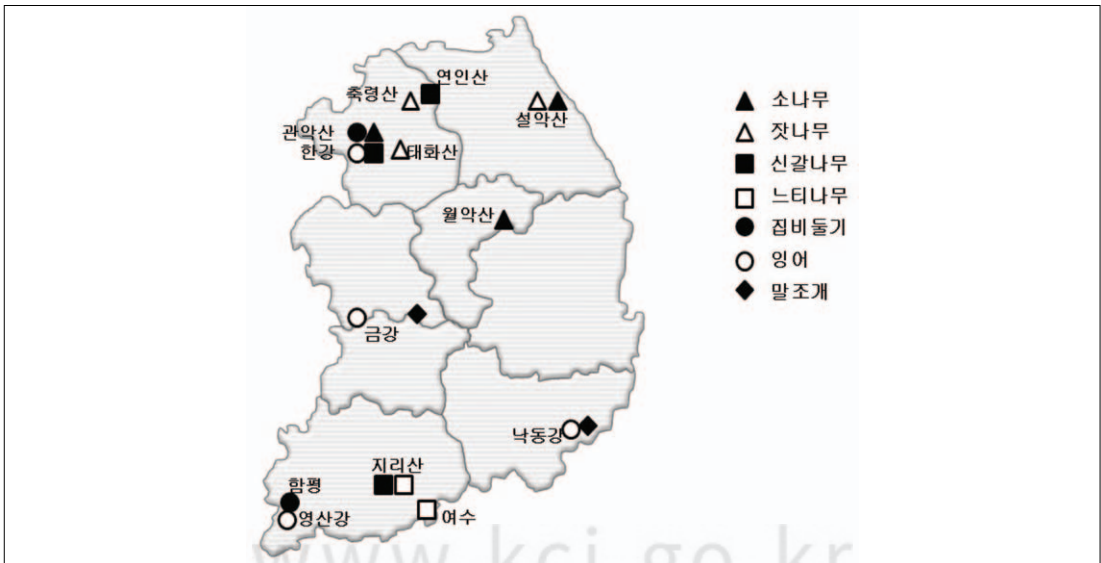


그림 1. 조사 대상종별 채취지역

쪽 수관에서 고지가위를 이용하였고, 채취된 가지로부터 1년생 가지를 스테인리스 스틸 전정가위를 이용하여 채취하였다. 신갈나무와 느티나무 잎은 각 수목의 바깥쪽 수관에서 고지가위를 이용하여 가지를 잘라낸 후 가지로부터 잎자루를 제외한 잎을 채취하였다. 채취된 시료는 액체질소로 초저온을 유지하여 실험실로 운송하였다. 집비둘기 알의 표준운영절차상 채취량 기준은 지역 당 최소 25개이다. 알 개체의 선택 기준은 표준운영절차 상에 알 속의 배발생 신진대사에 따른 물질변화가 가장 적

은 배발생 초기단계의 알을 선택하는 것으로 되어 있다. 추정방법으로 알을 실험실에 가져와 물에 띄워 가라앉은 알을 선택하는 방법을 사용하였다(그림 2(l)). 연중 번식이 가능하므로 3월~11월에 2회 이상 방문하여 알을 채취하였다. 채취 시에는 보호장구를 착용하였고, 약 5℃의 냉장상태를 유지하여 알을 운반하였다. 잉어 채취량 기준은 6~10개체로 되어 있다. 4대강 하류 지점에서 11월에 1회씩 방문하여 채집하였다. 해질녘부터 이른 아침 사이에 먹이활동을 하는 잉어의 섭식특성을 이용해 일몰 전



그림 2. 환경시료 채취



그림 3. 환경시료 분쇄 및 저장

에 자망 또는 정치망을 설치하고 다음 날 아침에 그물을 걷어 올리는 방법을 이용하였다. 단, 금강은 철새의 휴식과 이동에 영향을 주는 교란을 최소화하기 위하여 일몰 전에 그물을 설치한 후, 다음 날 오후에 그물을 수거하였다. 말조개 채취량 기준은 20개체이다. 채취는 낙동강과 금강에서 11월에 실시하였으며, 가슴장화를 착용한 후 투명아크릴 판 및 집계를 이용하여 하상(河床)을 훑어가며 채취하였다(그림 2).

4. 시료 분쇄 및 저장

시료의 분쇄는 청정실(면지입자 352,000개/m³ 이하) 내에서 수행했으며, 액체질소 공급설비를 이용하여 분쇄 과정을 초저온으로 유지하였다. 수작업 분쇄는 초저온으로 냉각시킨 텅스텐 카바이드 사발(부피 500ml)을 사용했으며, 이후 소형밀링기(Planetary mill, 독일 Fritsch사)를 이용하여 분쇄하였다(그림 3). 그리고 각 단계별로 시료 소실율도 기록하였다. 표준운영절차 상 분쇄조건은 분쇄

사발 1개에 볼(직경 3cm) 10개와 시료 250g을 채우고, 분당회전수 400rpm으로 10~20분 동안 2회 반복하는 것으로 되어 있다.

시료는 시료정보를 담은 바코드라벨지를 부착한 바이알에 시료를 담아 저장하였다. 저장탱크는 초저온(-130℃ 이하)이 유지되도록 감시시스템으로 통제하였고, 저장실은 공조시스템을 가동하여 환기하였고, 또한 산소농도결핍 경보장치를 가동하여 질식위험 상황을 실시간으로 감시하였다.

IV. 연구결과 및 고찰

연구결과 및 고찰에서는 시험연구 2년차인 '11년도 적용 결과를 기술하였다. 육상생태계 시료로서 소나무, 잣나무 등 5종, 담수생태계 시료로서 잉어, 말조개를 대상으로 채취, 분쇄, 저장을 단계별로 실시하였고, 그 결과를 표준운영절차 및 '10년도 결과(김명진 등, 2012)와 비교 검토한 후 개선방안을 제시하였다.

1. 환경시료 채취

수목시료의 표준운영절차상 채취량 기준은 최소 15개체(그루)로 개체당 최소 150g씩 이상을 채취하는 것이다. 이번 연구에서 소나무 등 수목 4종의 시료는 1,030g~3,900g이 채취되었다(표 2). 특히 느티나무는 채취량이 적었는데, 채취지역인 홍국사(1,050g)와 화엄사(1,030g) 모두 균락을 이루지 않고, 절 주변에 독립목으로 분포하여 충분한 개체수와 시료량 확보가 어려웠기 때문이다. 소나무, 잣나무, 신갈나무의 경우도 충분한 개체수 확보가 어려웠다. 이는 조사지가 대부분 높은 해발고와 긴 도보 이동시간이 소요되는 곳에 주로 위치해 있어 시료의 초저온 현장보관을 위해 차량까지 복귀하는 시간이 늘어나는 문제를 고려해 채취대상 개체수를 줄였기 때문이다. 향후에 채취 개체수, 채취시간, 초저온 현장보관 지체시간 및 시료의 이화학적 상태 변화 등을 종합적으로 고려한 채취 개체수 산정이 필요하다.

집비둘기 알의 표준운영절차상 채취량 기준은 지역 당 최소 25개씩이다. 이번 연구에서는 한강공원에서 21개 319g(껍질 제외), 함평공원에서 21개 302g(껍질 제외)이 채취되었다. 한강공원과 함평공원 모두 둥지관리가 제대로 이루어지지 않아 번식 둥지 환경이 열악한 실정이었다(그림 4). 한강공원의 경우, 양화지구처럼 둥지가 철거된 사례도 있었다. 더구나 집비둘기가 2009년에 유해야생동물로

지정되어 앞으로 서식환경이 더욱 위협받을 가능성이 높다. 향후 연구목적으로 인공둥지를 조성·관리하는 등의 대안마련이 필요하다. 잉어의 채취량 기준은 6~10개체로 되어 있다. 영산강을 제외하고 3개 지역(한강, 금강, 낙동강)에서 6개체를 포획하였다. 하지만 낙동강의 경우, 6개체를 포획했지만

표 2. 대상종별 시료채취량

대상종	지역	단위	수량	시료 채취량(g)
소나무	관악산	그루	9	2,120
	월악산		9	2,710
	설악산		4	1,380
잣나무	태화산(조립지)	그루	10	3,800
	축령산(조립지)		8	3,900
	설악산		4	1,800
신갈나무	관악산	그루	6	2,020
	연인산		6	2,110
	지리산		6	2,460
느티나무	여수공단	그루	3	1,050
	지리산		3	1,030
집비둘기 ¹⁾	한강공원	알수(개)	21	319
	함평공원		21	302
잉어 ²⁾	한강	마리	6	1,971
	금강		6	2,344
	낙동강		6	882
	영산강		3	3,262
말조개 ³⁾	금강	개	47	356
	낙동강 ⁴⁾		-	-

¹⁾ 껍질 제외한 알무게; ²⁾ 근육무게; ³⁾ 연체(soft body) 무게; ⁴⁾ 채집되지 않음.



(a) 집비둘기 둥지 내 공간 부족(한강공원)



(b) 집비둘기 둥지 파손(함평공원)

그림 4. 집비둘기 서식 둥지 상태

표 3. 분쇄단계별 생산시료량(g)과 누적 소실율(%)

대상 시료	지역	원시료	1차 분쇄	2차 분쇄	바이알 저장
소나무 가지	관악산	704	652(7.4)	638(9.4)	-
	월악산	630	604(4.1)	580(7.9)	-
	설악산	582	566(2.7)	552(5.2)	454(22.0)
잣나무 가지	태화산	696	678(2.6)	674(3.2)	-
	축령산	550	540(1.8)	526(4.4)	514(6.5)
	설악산	738	712(3.5)	708(4.1)	-
신갈나무 잎	관악산	674	642(4.7)	446(33.8)	-
	연인산	723	658(9.0)	648(10.4)	-
	지리산	520	482(7.3)	462(11.2)	450(13.5)
느티나무 잎	여수공단	536	520(3.0)	510(4.9)	-
	지리산	529	514(2.8)	500(5.5)	-
집비둘기 알	한강공원	46	37(19.6)	-	35(23.9)
	함평공원	78	57(26.9)	-	44(43.6)
잉어 근육	한강	736	724(1.6)	712(3.3)	684(7.1)
말조개 연체	금강	326	306(6.1)	296(9.2)	284(12.9)

(): 원시료에 대한 각 단계별 누적 소실율(%)

생중량이 적은 잉어들이 주로 포획되어 882g만 채취되었다. 말조개 연체는 20개체 채취량 기준을 가지고 있는데, 금강에서만 47개체가 채취되었고, 낙동강에서는 채집되지 않았다. 이번 조사에서 잉어와 말조개는 채집이 1회씩만 진행되어 채취량이 저조한 측면도 있기 때문에 향후에는 조사지 검토 및 횡수와 채집 기간을 늘리는 방안이 필요하다.

2. 환경시료 분쇄 및 저장

소형밀링기를 이용한 환경시료 분쇄량은 표 3과 같다. 집비둘기 알은 46g과 78g의 원시료가 투입되었고, 수목시료 4종과 잉어, 말조개의 원시료는 326g~738g의 범위에서 분쇄에 투입되었다. 집비둘기 알은 1차 수작업 분쇄만 수행하였는데 분쇄생산 양은 37g과 57g이었다. 나머지 6종의 시료는 1차분쇄 단계를 거친 후 306g~724g의 분쇄시료가 생산되었다. 이후 소형밀링기를 이용한 2차분쇄 단계 후에는 296g~712g의 분쇄시료가 생산되었고, 바이알저장 단계를 거친 후 284g~684g의 분쇄 시료가 저장되었다.

분쇄 작업단계별 시료의 소실율을 보면, 원시료를 수작업으로 분쇄하는 1차분쇄 단계의 소실율은

1.6%~26.9%의 범위를 보였고, 소형밀링기를 이용한 2차분쇄는 원시료량 대비 3.2%~33.8% 범위의 누적 소실율을 보였다. 이 후 바이알 저장 시 발생하는 누적소실율은 6.5~43.6%의 범위를 보였다.

3. 표준운영절차의 단계별 적용 및 개선방안 검토

1) 시료 채취 부문

채취중 선정에서는 오염정도가 다양한 넓은 지역의 분포 가능성, 채취량을 충족시킬 수 있는 개체수, 장기적인 채취 가능성, 오염영향의 민감성 등을 기준으로 선정하였다. '10년도와 '11년도 모두 7종을 선정하여 채취하였다. 이 중 집비둘기는 2009년에 유해야생동물로 지정되어 서식이 통제되고 있는 종이며, 조사지역인 한강공원과 함평공원 모두 등지관리가 제대로 이루어지지 않아 번식동지 환경이 열악한 실정이다. 향후 인공동지 조성방식이나 대체 후보지 모색을 통한 대안마련이 필요하다.

개체수 및 채취량은 채취 기준에 대부분 못 미쳤다. 특히, 소나무, 잣나무, 신갈나무의 경우 조사지가 높은 해발고와 긴 도보이동시간이 소요되는 곳에 주로 위치해 있기 때문에 시료의 초저온 현장보



(a) 당년지(當年枝) 눈(bud)
(태화산, 3월)



(b) 당년지 신엽(新葉)
(축령산, 5월)

그림 5. 침엽수 채취시기에 따른 당년지 성장 차이

관을 위해 차량까지 복귀하는 시간이 늘어나면 시료의 이화학적 상태 변화가 우려된다. 따라서 채취 개체수, 채취 시간, 초저온 현장보관 지체 시간 등을 종합적으로 고려한 채취 개체수 산정이 필요하다. 예를 들면, 연인산 신갈나무 채취지는 해발고 698m로 조사차량으로부터 도보로 이동하면 왕복 2시간이고, 채취작업시간은 약 2시간 (총 6그루×20분)으로 총 4시간이 소요되었다. 따라서 초저온 현장보관시간의 지체가 의심되면 조사일수를 늘이고, 작업시간을 줄이는 방안이 필요하다. 낙동강 말조개는 이번 조사에서 1개체도 채집되지 못했다. 조사 횟수가 1회로 부족한 면도 있기 때문에 향후에는 조사지 검토 및 횟수와 채집 기간을 늘리는 방안이 필요하다.

채취시기 및 빈도의 경우, 소나무와 잣나무 채취는 표준운영절차 상 휴면(休眠)이 끝난 3월~5월에 실시하는 것으로 되어 있고, 당년지(當年枝)가 눈(bud) 상태일 때 채취하도록 기술되어 있다. 하지만 5월에 채취된 축령산 잣나무 가지는 당년지(當年枝)가 눈(bud) 상태가 아니라 어느 정도 자란 신엽(新葉) 상태로 포함되었다(그림 5). 따라서 표준운영절차 상의 채취시기인 3월~5월은 너무 넓은 범위이기 때문에 조사 시기를 앞당길 수 있도록 채취 기간을 줄일 필요가 있다.

채취방법에서 집비둘기 알의 경우, 알 속의 배발생 신진대사에 따른 물질변화가 가장 적은 배발생

초기단계의 알을 선택하는 것으로 표준운영절차 상에 기술되어 있고, 추정방법으로 부유법(浮游法, 물에 띄워 가라앉는 알 선택)을 사용하는 것으로 되어 있다. '10년도에도 부유법으로 알을 선택하는데 문제가 발견되지 않았으나, '11년도에는 알의 배발생 초기 상태가 반드시 물에 가라앉는 특성과 일치하지는 않았다. 그림 6에서 1번, 6번, 7번, 11번 알은 바닥에 가라앉았고, 나머지 알은 수면에 떠다. 그림 7에서 알 내용물을 보면 1번, 6번, 7번, 11번 알의 내용물은 노른자가 상당히 많은 배발생 초기단계에 해당된다. 하지만 물에 뜬 알 중에도 8번과 19번 알은 노른자가 거의 대부분을 차지하는 배발생 초기 단계임에도 불구하고 수면에 떠다. 따라서 물에 띄워 배발생단계를 확인하는 방법이 실제 배발생 초기 단계를 판단하는데는 한계가 있다고 볼 수 있다. 따라서 이러한 문제점은 현장에서 산란행동을 지속적으로 관찰하여 초기산란 시기를 파악하여 채취하는 방법으로 보완이 필요할 것으로 판단된다.

운송의 경우, 표준운영절차 상에는 충격에 의한 누출이나 질소가스에 의한 질식 등 위험물 취급에 대한 주의사항을 다루고 있다. 현재 시료 운송은 일반 승합차 짐칸에 액체질소통과 초저온저장탱크를 임시로 실어 시료를 운반하고 있는 실정이다(그림 8). 향후에 운송차량 사고 시 전복이나 파손 등의 충격을 견딜 수 있는 충격완충구조 설비와 무미, 무색, 무취의 질소가스에 의한 질식을 방지하기 위한



그림 6. 집비둘기 알 부화단계 추정(함평공원)

□ 가라앉은 알: ○수면에 뜬 알 중 배발생초기단계인 알

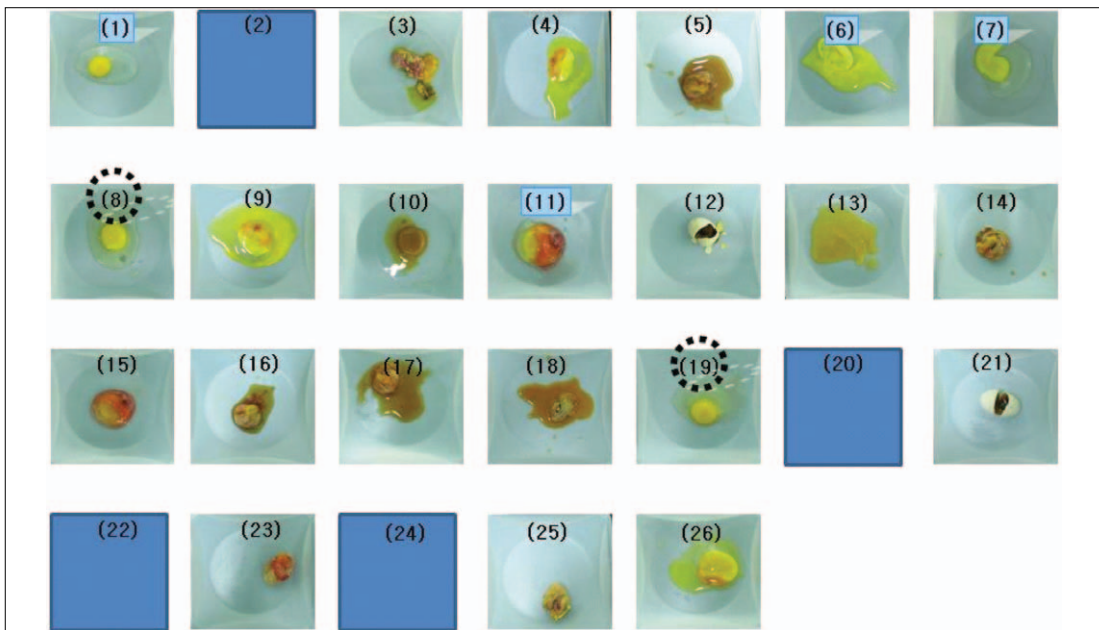


그림 7. 집비둘기 알 속 상태 확인(함평공원)

□ 가라앉은 알: ○수면에 뜬 알 중 배발생초기단계인 알, (2), (20), (22), (24)는 속이 빈 알로 사진촬영 안함.



그림 8. 운송차량 내 저장탱크(왼쪽)와 액체질소탱크(오른쪽)

환기시스템을 갖춘 초저온 시료 운송 전용차량의 구비가 필요하다.

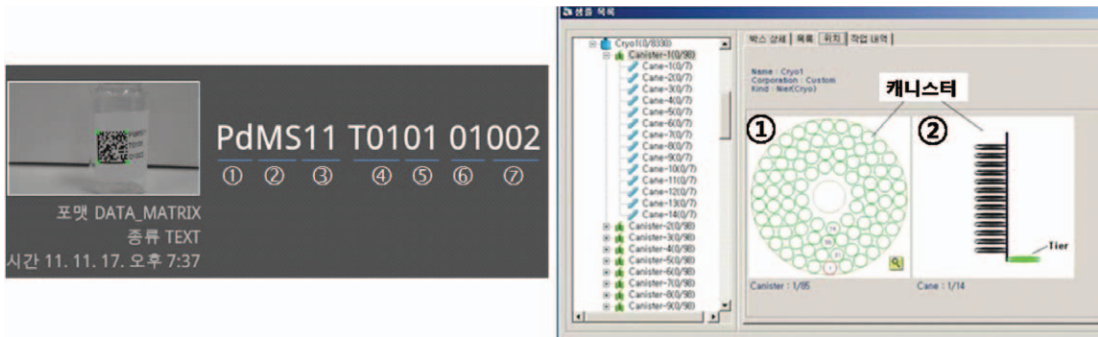
2) 시료 분쇄 및 저장 부문

시료를 분쇄하면 많은 양의 시료를 작은 부피로 저장할 수 있고, 이질적인 성질을 지닌 시료의 각 부위들이 고루 섞이는 균질화(homogenisation) 효과도 기대할 수 있다. 표준운영절차 상 분쇄장비는 1kg 이상 시료의 경우 초저온대형밀링기를 사용하고, 1kg미만 시료의 경우 소형밀링기를 사용하는 것으로 되어 있다. 현재 국가환경시료은행은 소형

밀링기만 구비되어 있고, 초저온대형밀링기는 '12년도 하반기에 도입될 예정이다. 표준운영절차상의 소형밀링기 분쇄조건은 분쇄사발(500ml) 1개 당 볼(직경 3cm) 10개와 시료 250g을 넣고 10~20분 동안 2회 반복하는 것으로 되어 있다. 이 과정에서 주의할 점은 분쇄 시 초저온유지가 관건이기 때문에 회전분쇄 시 발생하는 열(熱)에 의한 온도증가가 최소화되도록 분쇄시간을 정하는 것이다. 우리나라 표준운영절차에는 1회 분쇄 시간에 대한 언급이 없지만, 독일 표준운영절차에는 1~2분으로 분쇄시간을 제한하도록 되어 있다. '10년도에는 발열(發熱) 증가를 고려하지 않고 10분 동안 2회 분쇄했지만, '11년도에는 회당 2분의 기준을 적용하여 분쇄를 실시하였고, 육안으로 시료의 상태를 수시로 모니터링하였다(그림 9). 시료의 균질화 정도는 분쇄 입도(粒度)를 근거로 판단하게 된다. 표준운영절차에서는 균질화 수준을 분쇄 입자의 90% 이상이 입도 200µm 이하가 되도록 규정하고 있다. 하지만 국가 환경시료은행에서는 입도분석기가 '12년 하반기에 도입될 예정에 있어 이번 연구에서는 입도분석을 실시하지 못한 채 초저온 저장을 실시하였다. 추후 입도분석기가 도입되면 분쇄된 시료에 대한 입도분

분쇄 준비	원시료	1차분쇄 (수작업)	소형밀링기	2차분쇄 (소형밀링기 분쇄)		바이알 담기	무게 측정	저장
				1회	2회			
액체질소 공급	신갈나무							
도구 초저온 유지	잣나무							
도구 초저온 유지	잉어							
			소형밀링기 가동 준비			바이알 담기	저장준비	

그림 9. 초저온 분쇄 및 저장 과정



(a) 바코드 읽기 예시
 ①시료종류, ②채취지점, ③채취년도, ④저장탱크 번호,
 ⑤캐니스터 번호, ⑥랙(선반) 층 번호, ⑦바이알번호
 (b) 바코드관리시스템
 ①캐니스터 위치, ②랙(선반) 층 위치

그림 10. 바코드 정보 및 관리시스템

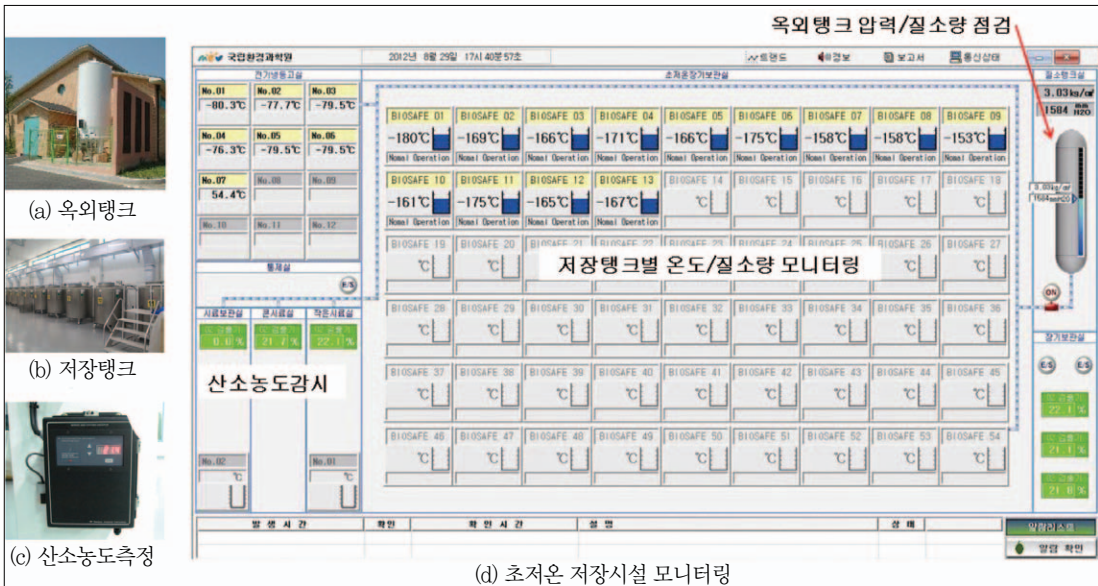


그림 11. 초저온 저장시설 통합모니터링 시스템

석을 실시할 예정이다.

환경시료를 초저온저장하는 것은 국가환경시료은행의 주요 목적 중 하나이기 때문에 분쇄 등의 과정에 시료의 소실을 최소화하는 것이 중요하다. 이번 연구에서는 각 작업단계(원시료 → 1차분쇄 → 2차분쇄 → 바이알 저장)별로 시료 소실이 어느 정도 발생하였다. 이러한 소실은 시료를 옮겨 담는 과정에서 발생하는 경우가 많기 때문에 반복훈련을 통한 작업자들의 숙련도를 높이는 것이 중요하다(그림 9).

저장 바이알의 정보기록과 관련하여 '10년도에는 단순 일련번호를 부여하는 수준에서 그쳤지만, '11

년도에는 저장 위치정보와 채취장소, 채취일 등의 속성정보(시료채취 및 생체특성치 정보 등) 등을 통합적으로 기록 유지하는 바코드시스템으로 업데이트하였다(그림 10).

다음으로 저장절차 중 준비단계에서는 저장실 내 산소농도결핍 경보장치를 상시 가동하였고(19% 기준), 저장탱크의 온도 및 액체질소량을 상시 감시하는 시스템 또한 가동시켰다(그림 11). 안전관리 측면에서는 옥외 액체질소 저장시설(8.7톤)의 압력과 액체질소량을 상시 모니터링하였고, 누출여부도 상시 점검하였으며, 저장시설 내 공조시스템 정상 가동

표 4. 시료 채취, 분쇄 및 저장 표준운영절차의 단계별 주요 적용결과 및 검토결과 요약

구분	운영절차	결과		검토	
		'10년도	'11년도		
채취	채취종 선정	<ul style="list-style-type: none"> 넓은 분포 충분한 개체수 장기적인 채취가능성 오염영향 민감성 	총 7종 • 소나무, 잣나무 • 신갈나무, 느티나무 • 집비둘기 알 • 잉어 • 말조개	총 7종 • 소나무, 잣나무 • 신갈나무, 느티나무 • 집비둘기 알 • 잉어 • 말조개	<ul style="list-style-type: none"> 집비둘기의 경우, '09년에 유해야생동물로 지정되어 통제되고 있음. 연구목적으로의 서식관리 필요
	개체수 및 채취량	<ul style="list-style-type: none"> 침엽수: ≥15개체, ≥2.3kg 활엽수: ≥15개체, ≥2.3kg 집비둘기 알: ≥25개 잉어: 6~10개체 말조개: ≥20개체 	<ul style="list-style-type: none"> 침엽수: 4~9개체, 0.5~3.2kg 활엽수: 7~22개체, 1.0~4.8kg 집비둘기 알: 12~21개 잉어: 3~5개체 말조개: 16개체 	<ul style="list-style-type: none"> 침엽수: 4~10개체, 1.4~3.9kg 활엽수: 3~6개체, 1.0~2.5kg 집비둘기 알: 21개 잉어: 3~6개체 말조개: 47개체 	<ul style="list-style-type: none"> 수목시료는 채취개체수 달성이 미비함. 수목시료는 조사지까지 긴 도보이동시간이 소요됨. 시료의 초저온 보관을 위해 단시간 내 차량복귀 요구됨 채취 개체수, 채취 시간, 초저온 현장보관 지체시간 등의 종합적 고려 필요
	채취시기	<ul style="list-style-type: none"> 침엽수: 3~5월 활엽수: 8~9월 집비둘기 알: 3~8월 잉어: 9~11월 말조개: 9~11월 	<ul style="list-style-type: none"> 침엽수: 3~5월 활엽수: 7~8월 집비둘기 알: 4~6월 잉어: 10~11월 말조개: 10월 	<ul style="list-style-type: none"> 침엽수: 3~6월 활엽수: 9월 집비둘기 알: 3~11월 잉어: 11월 말조개: 11월 	<ul style="list-style-type: none"> 침엽수는 표준운영절차에 3~5월로 되어 있으나, 당년지(當年枝)가 눈(bud) 상태가 아니라 신엽(新葉) 상태로 포함될 가능성이 커 채취시기를 앞당길 필요 있음.
	채취방법	<ul style="list-style-type: none"> 집비둘기 알 선택 시 배 발생 초기단계로 추정된 알 선택(물에 띄워 가라앉는 알) 	-	<ul style="list-style-type: none"> 물에 띄워 확인하는 방법이 반드시 정확하지는 않음. 	<ul style="list-style-type: none"> 산란행동 관찰로 초기 산란 시기 파악 필요
	운송	<ul style="list-style-type: none"> 액체질소 및 초저온시료 운송 시 충격에 의한 누출과 이로 인한 동상, 질식 등 주의 	-	-	<ul style="list-style-type: none"> 운송전용차량 제작 필요(충격완충 및 질식방지 배기시스템 구비)
분쇄	장비	<ul style="list-style-type: none"> 초저온대형밀링기(≥시료 1kg) 소형밀링기(<시료 1kg) 	<ul style="list-style-type: none"> 소형밀링기(<시료 1kg) 	<ul style="list-style-type: none"> 소형밀링기(<시료 1kg) 	초저온대형밀링기 '12년 도입 예정
	분쇄작업	<ul style="list-style-type: none"> 분쇄조건(소형밀링기) 사발(500ml) 1개 당 볼(직경 3cm) 10개와 시료 250g, 10~20분 동안 2회 반복 	<ul style="list-style-type: none"> 직경 3cm 볼 10개 10분 동안 2회 반복 	<ul style="list-style-type: none"> 직경 3cm 볼 10개와 시료로 500ml 사발을 가득 채움 2분/회당, 2회 반복 분쇄 	<ul style="list-style-type: none"> 분쇄시 초저온유지가 관건 발열(發熱) 증가와 관련된 회당 분쇄시간 최소화가 중요
	입도분석	<ul style="list-style-type: none"> 기준: 분쇄입자 ≥ 90%, 입도 ≤ 200mm 	-	-	입도분석장비 '12년 도입 예정
저장	준비	<ul style="list-style-type: none"> 환기시설 및산소농도경보기 가동 	<ul style="list-style-type: none"> 환기시설 및산소농도경보기 가동 	<ul style="list-style-type: none"> 환기시설 및산소농도경보기 가동 	-
	라벨링	<ul style="list-style-type: none"> 저온에 견디는 라벨지 부착 	<ul style="list-style-type: none"> 단순 일련번호 부여 	<ul style="list-style-type: none"> 위치정보, 속성정보 담은 바코드 부여 	<ul style="list-style-type: none"> 위치 및 속성정보 관리에 대한 구체적 언급 필요
	저장관리	<ul style="list-style-type: none"> 액면계와 온도계 모니터링 	<ul style="list-style-type: none"> 액체질소량 모니터링 ≤ -130℃ 유지 	<ul style="list-style-type: none"> 액체질소량 모니터링 ≤ -130℃ 유지 	-
	안전관리	<ul style="list-style-type: none"> 비상시 경고문자 메시지 휴대전화 전송 옥외 액체질소 저장시설 압력 및 누출 점검 고압가스 안전교육 실시 	<ul style="list-style-type: none"> 옥외 액체질소 저장시설 압력 및 누출 점검 고압가스 안전교육 실시 	<ul style="list-style-type: none"> 옥외 액체질소 저장시설 압력 및 누출 점검 고압가스 안전교육 실시 	<ul style="list-style-type: none"> 비상시 경고문자 메시지 휴대전화 전송 추가 필요

여부 또한 정기적으로 점검하였다. 그리고 작업자들을 대상으로 정기적인 고압가스안전교육을 실시하였다. 향후 저장탱크 내 온도상승 등의 긴급상황 발생 시 경고문자 메시지 휴대전화 전송을 통한 즉각 통보가 가능하도록 장치 추가 또한 고려해 볼 필요가 있다.

V. 결론

본 연구에서는 국가환경시료은행 운영에 필요한 표준운영절차를 현장에 적용한 후 그 결과를 검토하고 개선사항을 고찰하였다. 시료 채취절차에서는 채취종 선정, 채취개체수 및 채취량, 채취시기, 채취방법 등을 검토하고 개선사항을 제시하였다. 시료 분쇄 및 저장절차에서는 분쇄 시 초저온 유지절차, 시료 정보의 바코드화, 초저온 저장을 위한 온도와 액체질소량 모니터링, 고압가스취급 시 안전관리 등의 사항을 검토하고 개선사항을 제시하였다. 이러한 검토작업은 건립 3년째를 맞은 국가환경시료은행의 표준운영절차 상의 부족한 부분을 어느 정도 보완할 수 있을 것으로 기대된다. 다만, 기초장비로서의 초저온대형밀링시스템이나 입도분석기 등의 운영절차는 장비가 도입 되는대로 실질적인 시험가동을 통해 작성 및 보완이 필요하다. 또한 현재 구축 중인 유무기오염물질 분석시스템의 조속한 확립을 통해 환경시료별 오염물질 분석결과를 검토하고, 그 결과를 채취, 분쇄, 저장작업과정 상의 문제점을 판단하는데 상시적으로 활용하는 일도 필요하다.

이제 우리나라 국가환경시료은행은 지속가능한 환경오염물질 모니터링을 위한 환경시료의 채취, 초저온 분쇄 및 저장의 첫걸음을 내딛었다고 할 수 있다. 향후에도 체계적이고 지속적인 표준운영절차 적용 연구를 통해 환경시료은행 운영 목적을 내실 있게 달성하는 것이 중요하다.

사 사

본 연구는 2011년 ‘국가환경시료은행 시료채취

및 처리 표준운영절차 활용 연구(Ⅱ)’의 일환으로 수행되었습니다. 그리고 본 연구의 조사에 협조해주신 국립공원관리공단, 서울특별시한강사업본부, 함평읍사무소에 감사드립니다.

참고문헌

- 국립독성과학원, 2007, 독성물질 국가관리사업 연구보고서, 국립독성과학원.
- 국립환경과학원, 2007, 국가환경시료은행 표준운영체계 구축 연구(I), 국립환경과학원.
- 국립환경과학원, 2010, 국가환경시료은행 시료채취 및 처리 표준운영절차 활용 연구(I), 국립환경과학원.
- 김명진, 유병호, 이석조, 이종천, 이철우, 2008, 환경시료은행의 국제적 동향 및 우리의 대응, 환경영향평가학회지, 17(4), 225-233.
- 김명진, 이장호, 최태영, 한아름, 송교홍, 이유진, 이종천, 2012, 국가환경시료은행의 표준운영절차 적용, 환경영향평가학회지, 21(2), 327-338.
- 김정수, 한상희, 이두표, 구태희, 2001, 서울지역 집비둘기 *Columba livia*의 서식지별 중금속 오염, 한국생태학회지, 24(5), 303-307.
- 남동하, 이두표, 구태희, 2001, 비둘기의 체내 납과 카드뮴 축적에 영향을 미치는 요인, 한국조류학회지, 8(2), 107-115.
- 남동하, 이두표, 구태희, 2002, 비둘기의 체내 조직 중 중금속 농도의 상관관계, 한국생태학회지, 25(5), 335-339.
- 문교부, 1990, 한국동식물도감 제32권 동물편(연체동물 I), 157-158.
- 산림청, 2011, 임업통계연보 제41호, 32-33.
- 송민섭, 2008, 한국 상수리나무(*Quercus acurissima*)림의 분포와 군집구조 분석, 창원대학교 대학원 박사학위논문, 21-66.
- 이경준, 한심희, 김군보, 1995, 전국 주요 도시에 녹음수로 식재된 느티나무의 건강도 측정과 이를 이용한 대기오염상태 측정, 서울대학

- 교 수목원 연구보고, 15, 1-11.
- 이종천, 김명진, 2012. 선진국 환경시료은행의 특성 분석을 통한 국가환경시료은행의 발전방안, 자원환경지질, 45(2), 169-180.
- 정동효 역, 2007, (泉 邦彦, 有害物質小辭典, 2004), 생활속의 유해물질사전, 유한문화사, 435.
- 천만영, 1998, 대기 중 PCBs의 침엽수잎 침착에 관한 연구, 대한환경공학회지, 20(10), 1377-1383.
- 천만영, 2008a, 나뭇잎에 침착된 PAHs 분석법 개발, 한국환경분석학회지, 11(4), 261-267.
- 천만영, 2008b, 소나무잎에 침착된 PAHs 특성, J. Environ. Toxicol., 23(3), 213-220.
- 천만영, 2009, 시골과 도시지역의 소나무잎과 토양에 침착된 PAHs 특성, 한국환경분석학회지, 12(1), 6-12.
- Bartel, M., R. Klein, M. Paulus, M. Quack, K. Tarricone, D. Teubner, and G. Wagner, 2009, Guideline for sampling and sample treatment, Norway Spruce (*Picea abies*) / Scots Pine (*Pinus sylvestris*), Trier University, Germany.
- Becker, P. R. and S. A. Wise, 2009, 30 years of progress in environmental specimen banking, International symposium on environmental specimen bank.
- Emons, H., J. D. Schlodot, and M. J. Schwuger, 1997, Environmental specimen banking in Germany - present state and further challenges. Chemosphere. 34, Nos 9/10, 1875-1888.
- Kayer, D., U. R. Boehringer, and F. Schmidt-Bleek, 1982, The environmental specimen banking project of the Federal Republic of Germany. Environmental Monitoring and Assessment 1, 241-255.
- Kim, M., J. Kim, Y. Cho, and B. Yoo, 2009, Environmental specimen bank and ecosystem assessment, 환경영향평가, 18(6), 429-434.
- Kim, M., T. Choi, A. Han, J. Shin, and J. Lee, 2010, The National Environmental Specimen Bank in Korea: establishment and standard operating procedures, in Isobe, T., K. Nomiyama, A. Subramanian and S. Tanabe (eds.), Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry-Environmental Specimen Bank, TERRAPUB, 125-132.
- Klein, R., M. Bartel, M. Paulus, M. Quack, K. Tarricone, D. Tarricone, D. Teubner, and G. Wagner, 2010, Guideline for sampling and sample treatment, Bream (*Abramis brama*), Trier University, Germany.
- Paulus, M., M. Bartel, R. Klein, M. Quack, K. Tarricone, D. Teubner, and G. Wagner, 2010, Guideline for sampling and sample treatment, feral pigeon (*Columba livia* f. *domestica*), Trier University, Germany.
- Rüdel, H., P. Lepper, and J. Steinhanses, 2003, Retrospective monitoring of organotin compounds in marine biota from 1985 to 1999: results from the German Environmental Specimen Bank, Environmental Science & Technology, 37(9), 1731-1738.
- Rüdel, H., and M. Weingartner, 2008, Guidelines for sampling and sample processing: storage of environmental samples under cryogenic conditions, Fraunhofer Institute, Germany.
- Rüdel H., S. Uhlig, and M. Weingartner, 2008, Pulverisation and homogenisation of environmental samples by cryomilling, Fraunhofer Institute, Germany.

- Wagner, G., M. Bartel, R. Klein, M. Neitzke, K. Nentwich, M. Paulus, and M. Quack, 2003, Guideline for sampling and sample treatment, Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*), Trier University, Germany.
- Wagner, G., M. Bartel, R. Klein, M. Paulus, M. Quack, K. Tarricone, and D. Teubner, 2009. Guideline for sampling and sample treatment, Red Beech (*Fagus sylvatica*), Trier University, Germany.
- Wenzel, A., W. Bohmer, J. Muller, and H. Rüdell, 2004, Retrospective monitoring of alkylphenols and alkylphenol monoethoxylates in aquatic biota from 1985 to 2001: results from the German Environmental Specimen Bank, Environmental Science & Technology, 38, 1654-1661.
- <http://www.inter-esb.org>.

최종원고채택 12. 11. 20