

Research Paper

배터리 제조공정에서 배출되는 잠재 유해 물질에 대한 물벼룩과 발광박테리아의 생태독성: 리튬, 니켈, 황산염을 대상으로

노인혜* · 성기준**

(주)동남의화학연구원*, 부경대학교 생태공학과**

Ecotoxicity of *Daphnia magna* and *Aliivibrio fischeri* on Potentially Harmful Substances Emissions from Battery Manufacturing Processes: Lithium, Nickel, and Sulfate

Inhye Roh* · Kijune Sung**

Southeast Medi-Chem Institute*

Department of Ecological Engineering, Pukyong National University**

요약: 이차전지 생산공정에서 발생한 폐수에는 리튬과 고농도의 황산염을 포함하고 있으며 최근에는 에너지 밀도가 높은 High Ni 계열의 전구체 수요가 급증하면서 니켈의 배출도 우려되는 상황이다. 리튬과 황산염의 경우 현재 수질오염물질 배출허용기준에 포함되어 있지 않으므로, 이들이 적절하게 처리되지 못하고 배출되었을 경우 향후 환경에 대한 부정적 영향이 클 수 있을 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 물벼룩(*Daphnia magna*)과 발광박테리아(*Aliivibrio fischeri*)를 이용하여 이차전지 생산공정 배출수에 포함되어 배출될 수 있는 잠재오염물질인 리튬과 니켈 및 황산염의 생태독성을 평가하였다. 생태독성평가 결과, 물벼룩 24시간, 48시간 리튬 EC₅₀ 값은 18.2mg/L, 14.5mg/L, 니켈의 경우 7.2mg/L와 5.4mg/L, 황산염 EC₅₀ 값은 4,605.5mg/L, 4,345.0mg/L로 나타나, 물벼룩의 경우 물질 및 반응시간(24시간, 48시간)에 따른 생태독성 차이가 있음을 알 수 있었다. 리튬, 니켈, 황산염에 대한 물벼룩의 EC₅₀을 비교하면, 니켈의 24h 및 48h EC₅₀은 리튬에 비해 39.6-37.2%, 황산염에 비해서는 0.1-0.2% 수준으로 세 물질 중 가장 독성이 강한 것으로 나타났다. 그 차이는 노출시간과 상관없이 유사한 수준으로 나타났다. 반면, 황산염의 EC₅₀은 리튬과 니켈에 비해 각각 253.0-299.7%, 639.5-804.6% 수준으로 세물질 중 독성이 가장 약한 것으로 나타났다. 발광박테리아의 리튬에 대한 30분 EC₅₀ 값은 2,755.8mg/L, 니켈은 7.4mg/L, 황산염 EC₅₀ 값은 66,047.3mg/L로 니켈과는 달리 리튬과 황산염에 대한 물벼룩과 발광박테리아 생물 종별 민감도 차이도 있음을 확인하였다. 이차전지 배출수 관리를 위해 향후 이들 물질에 대한 복합 독성에 관한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

주요어: 생태독성, 배출수, 반수영향농도, 리튬, 니켈, 황산염

First Author: Inhye Roh, Tel: +82-51-627-7123, E-mail : ihroh@semi.re.kr, ORCID: 0009-0006-2013-0955

Corresponding Author: Kijune Sung, Tel: +82-51-629-6544, E-mail: ksung@pknu.ac.kr, ORCID: 0000-0003-1521-6341

Received: 06 March, 2023. Revised: 11 April, 2023. Accepted: 17 April, 2023.

Abstract : Wastewater generated in the secondary battery production process contains lithium and high-concentration sulfate. Recently, as demand as demand for high-Ni precursors with high-energy density has surged, nickel emission is also a concern. Lithium and sulfate are not included in the current water pollutant discharge standard, so if they are not properly processed and discharged, the negative effect on future environment may be great. Therefore, in this study, the ecotoxicity of lithium, nickel, and sulfate, which are potential contaminants that can be discharged from the secondary battery production process, was evaluated using water flea (*Daphnia magna*) and luminescent bacteria (*Aliivibrio fischeri*). As a result of the ecotoxicity test, 24-hour and 48-hour *D. magna* EC₅₀ values of lithium were 18.2mg/L and 14.5mg/L, nickel EC₅₀ values were 7.2mg/L and 5.4mg/L, and sulfate EC₅₀ values were 4,605.5mg/L and 4,345.0mg/L, respectively. In the case of *D. magna*, it was found that there was a difference in ecotoxicity according to the contaminants and exposure time (24 hours, 48 hours). Comparing the EC₅₀ of *D. magna* for lithium, nickel, and sulfate, the EC₅₀ of nickel at 24h and 48h was 39.6-37.2% compared to lithium and 0.1-0.2% compared to sulfate, which was the most toxic among the three substances. The difference appeared to be at a similar level regardless of the exposure time. The EC₅₀ of sulfate was 253.0-299.7% and 639.5-804.6%, respectively, compared to lithium and nickel, showing the least toxicity among the three substances. The 30-minute EC₅₀ values of luminescent bacteria for lithium, nickel, and sulfate were 2,755.8mg/L, 7.4mg/L, and 66,047.3mg/L, respectively. Unlike nickel, it was confirmed that there was a difference in sensitivity between *D. magna* and *A. fischeri* bacteria to lithium and sulfate. Studies on the mixture toxicity of these substances are needed.

Keywords : Ecotoxicity, Discharged water, EC₅₀, Lithium, Nickel, Sulfate

I. 서론

전 세계적으로 이차전지 산업이 발달하면서, 전 기자동차 및 휴대전화를 위주로 리튬이온 배터리의 수요도 급격하게 증가하고 있다(Park et al, 2021; Hwang 2021). 따라서 이차전지 공급에 필요한 원료 물질의 사용이 증가하고 있는데, 리튬의 경우 2015년 177,000톤(LCE 기준)에서 2022년 481,372톤(LCE 기준)으로 170% 증가하였으며, 2025년까지 리튬의 연간 성장률은 금속 중에서 가장 높을 것으로 예상된다(KORES 2016; POSRI 2018).

리튬 배터리는 양극재, 음극재, 전해액, 분리막으로 구성되어 있고, 이 중 양극재는 리튬과 전구체로 구성된다. 양극재 원료인 리튬 제조과정에서 리튬과 고농도의 황산염이 폐수로 배출될 수 있으며, 최근에는 에너지 밀도가 높은 High Ni 계열의 전구체 수요가 급증하면서 니켈의 배출도 우려되는 상황이다(POSRI 2019). 따라서 리튬 배터리의 제조 및 폐기

과정에서 발생할 수 있는 환경영향을 최소화할 수 있도록 폐수의 처리 및 폐기물의 적절한 관리가 필요하다. 하지만 일반소비자들이 사용하는 리튬 배터리가 다른 쓰레기와 함께 도시 고형 폐기물로 배출되면서(Aral and Vecchio-Sadus 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 확인하고, 도시 지역 수계에서 리튬 관리의 중요성을 강조하였다(Choi et al, 2019).

현재 리튬 배터리 사용이 증가하고 있으며, 이로 인한 환경영향에 대한 우려가 발생하고 있지만, 수질 관리를 위한 수질오염물질 배출허용기준에 리튬은 물론 함께 배출될 수 있는 황산염에 대한 기준이 없다. 고니켈계 리튬 이차전지 수세 공정에서 발생하는 리튬 수세액에는 400-5,000 ppm 농도로 리튬 이온이 함유되어 있다고 알려져 있는데(Jin et al, 2021), 이러한 폐수에 포함된 리튬을 처리하기 위해서는 진공

증발농축기, 역삼투법(R/O membrane), 이온교환수지 등과 같은 시설이 필요하나 고비용으로 인해 설치 및 유지관리가 쉽지 않아, 기존의 폐수처리시설에서 리튬을 처리할 방안이 마련되어 있지 않은 실정이다. 추가 처리시설이 적절히 운영되기 전까지는 환경에 대한 리튬의 기여가 상당할 것으로 예상되어 이에 대한 대책이 필요하다.

환경부에서는 2011년 생태독성 통합관리제도를 도입하여 기존 이화학적 오염물질 관리 위주의 물 환경정책에서 수계로 배출되는 모든 수질오염물질의 독성을 통합적으로 관리하는 수용체 중심의 수질관리체계를 구축하였다. 산업 발달로 유해화학물질의 종류가 급속히 증가하고, 수계로 배출되는 모든 화학물질의 배출허용기준을 설정하는 것은 어려운 상황(KMOE 2009a)이므로 생태독성 제도 도입을 통해 수생태계 통합관리가 시작되었고, 물벼룩을 이용한 급성독성 평가를 통해 관리되고 있다. 생태독성 평가 결과 산출된 EC_{50} 값을 이용하여 독성단위인 TU(Toxic Unit)로 환산하고, 배출수 생태독성 기준을 배출되는 지역(청정, 가, 나, 특례지역)에 따라 1TU, 2TU로 설정하고 있다.

이차전지 생산 공정에서 배출될 수 있는 잠재 유해 물질들의 생태독성 관련 연구는 양극재 물질(리튬, 코발트, 니켈, 망간)에 대한 물벼룩(*Daphnia magna*) 독성 평가(Bozich et al, 2017), 리튬에 대한 홍합의 만성독성 평가(Viana et al, 2020), 어류와 물달팽이에 대한 독성평가(Kazos et al, 2003), 니켈에 대한 저서성 요각류와 고동류와 같은 담수 및 해양 생물에 대한 독성평가(Wang et al, 2020), 담수생물에 미치는 황산염의 영향(Elphick et al, 2011; Karjalainen et al, 2021) 등 다양한 연구가 진행되면서 이들 물질에 의한 수생태계 위해성이 지속적으로 논의되어 왔다. 문제는 잠재 유해 물질들의 생태독성 관련 연구가 주로 담수종을 이용하여 수행되어 왔으며, 그 결과 또한 연구에 따라 다소 차이가 난다는 것이다. *D. magna*를 리튬 EC_{50} 은 2.3mg/L에서 197mg/L로 다양한 범위로 보고되고 있으며, 니켈의 독성 또한 리튬보다 높다고 알려져 있으나, 보고된 EC_{50} 이 0.65mg/L-5.7mg/L 수준으로 연구에 따라 그 값의

차이를 보인다(Environment Canada, 2000; Aral and Vecchio-Sadus, 2008; Okamoto et al, 2014; Kim et al, 2017; Michalaki et al, 2022). 해양종인 *A. fischeri*를 이용한 니켈에 대한 생태독성 연구 결과, EC_{50} 이 1.39mg/L, IC_{50} 이 0.265 mg/L 수준으로 보고된 바 있으나(Lee et al., 2022; Hsieh et al, 2004), 리튬이나 황산염 단독 물질에 *A. fischeri* 독성 연구는 많이 진행되지 않았다(Abbas et al, 2018).

앞으로 이차전지 관련 잠재 유해물질에 대한 생태위해성이 높아지고, 이들 물질에 대한 체계적인 관리가 필요한 시점에서, 선행 연구 결과들의 차이와 관련 자료의 부재 등은 EC_{50} 을 이용한 TU 단위로 배출수 생태독성기준을 설정하는 국내 기준에 장애가 될 수 있으며, 실제 생태독성이 발현하였을 때 원인물질을 규명하는 데에도 어려움이 있다. 또한 폐수 배출 시설에서 배출되는 처리수가 하천과 같은 담수지역은 물론이고 하구나 해양과 같이 염분의 농도가 높은 지역에도 방류가 이루어지고 있어서, 담수종인 물벼룩만으로 독성을 평가하는데 무리가 따르며, 해양종을 이용한 독성평가 또한 고려되어야 한다.

따라서 본 연구에서는 담수종 물벼룩(*Daphnia magna*) 외에 유해물질에 대한 민감성이 뛰어난 해양종인 발광박테리아(*Aliivibrio fischeri*)를 이용하여 리튬 배터리 제조과정에서 발생하는 주요 오염물질인 리튬, 황산염과 니켈의 독성 평가를 수행하고, 생태독성을 이용한 이차전지 배출수 관리에 기초자료를 제공하고자 한다.

II. 연구방법

1. 물벼룩(*Daphnia magna*) 독성실험

물벼룩은 수생태계의 1차 영양단계 대표 생물종으로, 크기가 작아 다루기 수월하고, 뛰어난 번식력을 가지며, 독성물질에도 민감하게 반응하여 생태독성 평가에 적합한 종이다(KNIER, 2013). 본 시험에 사용된 물벼룩은 EPA, OECD, DIN(독일 표준), KS(한국 표준)에서 표준 시험생물종으로 규정하고 있는 큰 물벼룩(*Daphnia magna*)이며, 국립환경과학원에서 분양받아 사용하였다.

Table 1. Composition of *D.magna* culture solution (KMOE, 2017)

Reagent (mg/L)	Potassium Chloride (KCl)	Magnesium sulfate (MgSO ₄)	Calcium sulfate dihydrate (CaSO ₄ ·2H ₂ O)	Sodium bicarbonate (NaHCO ₃)
	8	120	120	192

급성독성평가는 수질오염공정시험기준의 물벼룩을 이용한 급성독성 시험법으로 수행하였다(KMOE 2017). 시험에 사용된 물벼룩은 계대배양한 생후 2주 이상의 암컷 성체가 생산한 생후 24시간 미만의 크기가 동일한 어린 개체이며, 먹이는 주먹이인 식물성 플랑크톤 *Chlorella vulgaris* (10^7 cells/mL- 10^8 cells/mL)와 부먹이 YCT (Yeast, Cerophyll(R), Trout chow 혼합액)를 일정비율 혼합하여 사용하였다. 시험 2시간 전 먹이를 주어 시험 중 먹이가 주는 영향을 최소화하였다. 시험 농도당 물벼룩은 5마리씩 4개의 반복구를 두었고, 시험용액의 양은 50mL로 하였다. 물벼룩을 독성물질에 투입하여 24시간, 48시간 반응 후 물벼룩이 받은 영향(치사, 유영저해)의 정도를 평가하였으며, 독성의 정도는 투입한 물벼룩의 50%가 영향을 받은 농도인 EC₅₀ 값(반수영향농도)으로 나타내었다. 수질오염공정시험기준에는 반응시간이 24시간으로 되어 있으나, 이들 물질이 배출된 후 수생태계에 노출시간이 증가할 경우의 독성변화를 알아보고자 EPA, OECD 시험법을 참고하여 48시간 반응시간을 추가 하여 수행하였다. 배양실, 실험실의 온도와 조도는 각각 (20±2)℃, 500Lux~1000Lux를 유지하였으며, 조명은 명16시간, 암8시간을 유지하고 물 교환, 먹이공급, 폭기 등은 하지 않았다. 수질오염공정기준을 참고하여 사용한 물벼룩 배양 및 시료의 회석을 위한 배양액 조성은 Table 1과 같다.

정도관리를 위해 표준독성물질인 다이크롬산포타슘(K₂Cr₂O₇)을 희석수로 조제(4mg/L)하여 24시간 EC₅₀ 값이 0.9mg/L-2.1mg/L 범위에 있는지 확인하였다.

2. 발광박테리아(*Aliivibrio fischeri*) 독성실험

발광박테리아(*Aliivibrio fischeri*)는 전 세계적으로 분포하는 대표적인 발광미생물로서 국제표준 ISO에서 시험생물종으로 규정하고 있으며, 다른 독성평

가와 비교해 신속성, 반복성이 좋으며, 오염물질에 대한 용량-반응이 뚜렷하여 생태독성 평가에 적합한 종이다(Lee et al, 2008). 본 연구에 사용된 발광박테리아는 미국 Microtox사에서 동결건조 상태로 제조하여 판매하는 제품을 사용하였으며, 급성독성 평가는 수질오염공정시험기준의 발광박테리아를 이용한 급성독성 시험법으로 수행하였다(KMOE, 2017).

냉동 건조된 발광박테리아에 1mL의 Microtox 재활성화 용액을 넣어 저장 현탁액으로 준비하고, (4±3)℃로 유지하면서 시험에 필요한 시험 현탁액 조제에 사용하였다. 시험현탁액은 희석수 50, 저장현탁액 10의 비율로 일정량 혼합 후, 15초 간격으로 시험관에 500uL씩 필요 수량만큼 주입하고, 15분 후 초기 발광도를 측정하였다. 이 시험관에 대조구(희석수), 시험물질 500uL(2반복) 각각을 15초 간격으로 주입하고, 30분 반응 후 최종 발광량을 측정하여 시험물질에 의한 저해율(발광감소율)을 산출하였다. 독성의 정도는 투입한 발광박테리아의 50%가 영향을 받은 농도인 EC₅₀ 값(반수영향농도)으로 나타내었다. 발광박테리아의 발광기작은 세포 호흡과 관련이 있어, 독성물질에 의해 세포 구조 및 대사에 변화가 생기면 세포 호흡량 변화 및 최종적으로 발광도에도 변화가 발생한다(KMOF 2018).

발광박테리아 시험의 정도관리를 위해 표준독성물질인 다이크롬산포타슘을 희석수로 조제(105.8mg/L)하여 30분 반응 후 20%-80%의 저해가 나타나는지 확인하였다.

3. 독성물질의 조제 및 통계분석

시험에 사용된 리튬은 순도 99% 이상의 LiCl (Sigma-Aldrich, USA), 니켈은 순도 98%의 NiCl₂ (Sigma-Aldrich, USA), 황산염은 순도 99%의 Na₂SO₄ (WAKO chemical, Japan)를 사용하였다. 시험물질의 농도 설정은 물벼룩과 발광박테리아의 무영향 농

Table 2. Concentrations of substances used in toxicity test according to exposure time

Test species	Lithium (mg/L)	Nickel (mg/L)	Sulfate (mg/L)
<i>D.magna</i>	10	1	3,500
	12	3	4,000
	14	5	4,500
	16	7	5,000
	18	9	5,500

도와 100% 영향을 미치는 농도 범위를 확인한 후 EC₅₀ 산정을 위하여 8개 이상의 농도를 이용하여 시험하였다. 또한 이 범위 내에서 물벼룩의 경우 일정 비율의 5개 농도를 설정하여 노출시간 변화에 따른 영향을 파악하고자 하였다. *D. magna*의 노출시간 별 영향평가에 사용된 리튬, 니켈 및 황산염의 농도는 Table 2와 같다.

실험결과를 R 프로그램(version 4.22)과 drc 팩키지를 이용해 dose-response curve를 작성하고 EC₅₀ 값을 산출하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 물벼룩 급성독성 평가

리튬, 니켈, 황산염에 대해 물벼룩 24시간, 48시간 반응 후, 용량-반응곡선을 작성한 후 반수영향농도인 EC₅₀ 값을 산출하였으며, 유의수준은 $p < 0.001$ 이었다(Figure 1).

정도관리를 위해 수행한 표준독성물질인 다이크롬 산포타슘의 EC₅₀은 1.08mg/L (0.91mg/L-1.29mg/L)로 정도관리 기준인 0.9mg/L-2.1mg/L을 만족하였다.

리튬의 EC₅₀ 값은 24h와 48h 각각 18.2(±0.70)mg/L, 14.5(±0.28)mg/L로 20.3% 감소하여, 노출시간 증가에 따라 영향농도가 감소하면서 물벼룩에 대한 위해성이 증가하는 것을 알 수 있었다(Table 3). Aral and Vecchio-Sadus(2008)은 리튬에 대한 담수종 생태독성 실험에서 Li₂SO₄를 이용한 조사 결과 *D. magna*의 24h EC₅₀은 33mg/L-197mg/L로 보고한 바 있으며, 유럽화학물질청(ECHA, European Chemicals Agency)에 등록된 염화리튬(LiCl)의 생

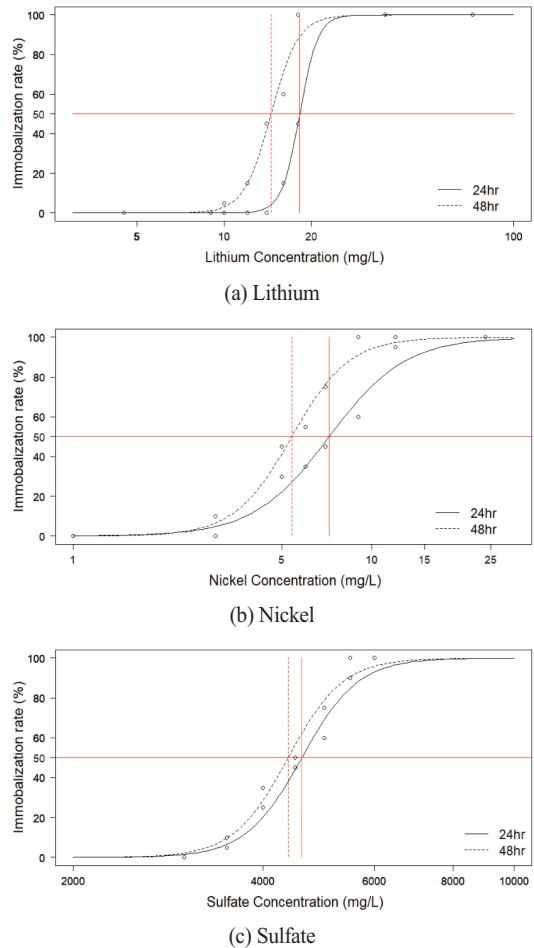


Figure 1. Dose-response curve of *D.magna* at 24h and 48h for (a) Lithium, (b) Nickel, (c) Sulfate.

태독성 결과를 리튬 독성으로 환산하면 48h EC₅₀은 41.5 mg/L, NOEC 10.6mg/L로 본 연구보다 높은 수준이었으나, Okamoto et al. (2014)의 연구에서는 본 연구 결과보다 낮은 6.30-7.82mg/L 수준으로 보고하여, 실험 조건 등에 따라 다소 차이를 보이는 것으로 나타났다. 또한 실지렁이인 *Tubifex tubifex*의 24h-96h EC₅₀은 9.3-44.8mg/L, 어류인 *Pimephales promelas* 26d EC₅₀은 1-6.4mg/L로 조사된 바 있어, 생물마다 리튬에 대한 독성이 다소 차이가 있는 것으로 나타났다(Aral and Vecchio-Sadus 2008).

니켈의 EC₅₀ 값은 48h에는 5.4(±0.17)mg/L로 24h 7.2(±0.30)mg/L와 비교하여 75% 수준으로 (Table 3), 리튬과 비교하여 노출시간 증가에 따라

Table 3. EC₅₀ of Li, Ni, and Sulfate on *D. magna*. Values in () are standard error.

Species	Exposure Time	Lithium (mg/L)	Nickel (mg/L)	Sulfate (mg/L)
<i>D.magna</i>	24 hr	18.2 (±0.70)	7.2 (±0.30)	4605.5 (±64.49)
	48 hr	14.5 (±0.28)	5.4 (±0.17)	4,345.0 (±62.63)

독성영향이 더 큰 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Kim et al. (2017)의 니켈 48h EC₅₀ 3.85(3.83-3.87) Nimg/L 보다 다소 높은 수준이다. 하지만 니켈의 경우 경도에 영향을 받는 것으로 알려져 있는데, 경도 240mg/L에서 니켈의 48h EC₅₀이 5.7mg/L로 본 결과와 유사하게, 경도가 45mg/L에서는 0.51mg/L로 매우 낮은 수준인 것으로 보고되었다(Okamoto et al. 2014). 본 실험에서 사용된 물벼룩 배양액의 경도가 (160-180)mgCaCO₃/L 임을 고려하면, 5.4 (±0.17)mg/L의 EC₅₀ 값은 경도의 영향이 적절하게 반영되었음을 알 수 있다. Bozich et al. (2017)은 0.4 mg/L의 니켈 농도에서 9일 노출 시 물벼룩이 100% 생존하였으나, 최종 21일 반응 후 100% 사망하였고, 80.3% 번식(Reproduction) 감소가 나타났으며, Pereira et al. (2017)은 21일 EC₅₀이 0.059-0.121mg/L로 보도되었는데, 독성이 온도에 영향을 받으며, 또한 노출시간 증가에 대한 독성영향 또한 있음을 보여 주었다. Mano and Shinohara(2020)은 니켈의 물벼룩에 대한 독성이 pH나 용존유기탄소에 영향을 받으며 이로 인해 일본 여러 하천에 대하여 EC₅₀이 0.52-4.0mg/L로 다양하게 관찰될 수 있음을 보여주어, 실

제 니켈을 함유하는 폐수의 배출지역의 온도, 경도, 용존유기탄소 등 수질에 의한 영향을 고려해야 함을 알 수 있다.

황산염 EC₅₀의 경우 4,605.5(±64.49)mg/L과 4,345.0(±62.63)mg/로 노출시간에 따른 영향이 6% 미만으로 리튬, 니켈과 비교해 상대적으로 적으며, 이는 황산염의 경우 노출시간에 대한 영향을 받지 않음을 보여준다. 유럽 송어의 경우 1,207 mg/L 이상의 황산염 농도에서 부화에 영향을 받는 것으로 알려져 있으며(Karjalainen et al. 2021), KMOE (2009b)에서도 황산염의 물벼룩 EC₅₀은 3,000mg/L 이상, 주요 염 이온의 물벼룩 생태독성 강도는 K⁺>HCO₃⁻ ≃Mg²⁺>Cl⁻>SO₄²⁻로 유추한 바 있어, 이 농도 수준의 염의 배출은 주의하여야 한다. 일부 담수생물에 미치는 황산염의 독성 또한 경도의 영향을 받는 것으로 알려져, 이들 물질의 독성 평가 시 주의하여야 한다 (Elphick et al. 2011).

리튬, 니켈, 황산염에 대한 물벼룩의 EC₅₀을 비교하면, 니켈의 24h과 48h의 EC₅₀은 리튬에 비해 39.6-37.2%, 황산염에 비해서는 0.1-0.2% 수준으로 세 물질 중 가장 독성이 강한 것으로 나타났으며, 그 차

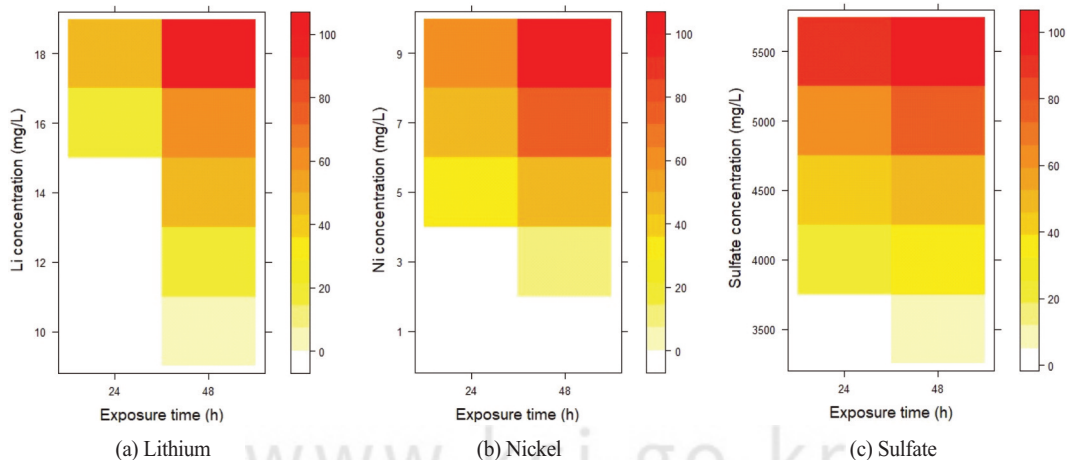


Figure 2. Effects of exposure time on *D.magna* Immobilization rate(%) for (a) Lithium (b) Nickel (c) Sulfate.

Table 4. EC₅₀ of Li, Ni, and Sulfate on *A. fischeri*. Values in () are standard error.

Species	Exposure Time	Lithium (mg/L)	Nickel (mg/L)	Sulfate (mg/L)
<i>A.fischeri</i>	30 min	2,755.8 (±257.47)	7.4 (±0.51)	66,047.3 (±1520.49)

이는 노출시간과 상관없이 유사한 수준이다. 황산염의 EC₅₀은 리튬과 니켈에 비해 각각 253.0–299.7%, 639.5–804.6% 수준으로 독성은 가장 약한 것으로 나타났다.

리튬 독성평가 결과 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, 노출시간 비교 실험농도인 10, 12, 14, 16, 18mg/L에서 농도별 유영저해율은 24h 노출에 0%, 0%, 0%, 15%, 45%, 48h노출에서는 5%, 15%, 45%, 60%, 100%로 나타나, 노출시간 증가에 따라 유영저해율 또한 증가하였다(Figure 2(a)). 특히 24h 노출에서 영향을 보이지 않았던 10mg/L 농도에서 48h 노출에서는 영향을 받기 시작하여 18 mg/L 수준에서는 100% 영향을 나타내었다. 니켈 독성평가 결과도 유사하게 나타났으며, 대조구에서는 물벼룩에 대한 영향이 없으며, 실험농도인 1, 3, 5, 7, 9mg/L에서 농도별 유영저해율은 24h실험에서 0%, 0%, 30%, 45%, 60%, 48h 실험에서는 0%, 10%, 45%, 75%, 100%로 노출시간 증가에 따라 저해율도 증가하였다(Figure 2(b)). 특히 9mg/L 수준에서는 48h 노출에 100% 영향을 받는 것으로 나타났으며, 24h 노출에서는 영향을 보이지 않았던 3mg/L 농도에서 48시간 노출에서는 영향을 미치기 시작하였다. 황산염의 경우도 대조구에서 물벼룩에 대한 영향은 나타나지 않았으며, 황산염 실험농도 3,500, 4,000, 4,500, 5,000, 5,500mg/L에 대한 저해율은 24h의 경우 5%, 25%, 45%, 60%, 90%, 48 h의 경우 10%, 35%, 50%, 75%, 100% 수준인 것으로 나타났다. 리튬, 니켈과 마찬가지로 노출시간 증가에 따른 저해율 증가를 수반하였으나, 그 차이는 상대적으로 작은 것으로 나타났다.

2. 발광박테리아 급성독성 평가

리튬, 니켈, 황산염에 대한 독성실험 결과 정도관리를 위하여 수행한 표준독성물질 다이크롬산포타슘 시험에서 반응시간 동안 대조구 보정계수값은 1.0

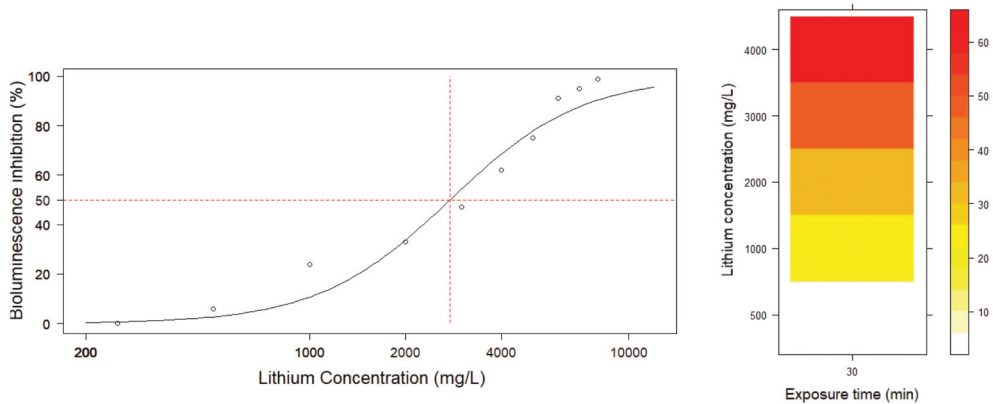
을 나타내어 기준인 0.6–1.3 만족, 반복시험 편차가 1.5%로 기준인 3% 만족, 표준물질 30분 반응 후 저해율은 45%로 기준인 20%–80%를 만족하였다. 리튬, 니켈, 황산염에 대해 발광박테리아의 30분 반응 후, 용량-반응곡선을 작성한 후 반수영향농도인 EC₅₀ 값을 산출하였으며, 유의수준은 $p < 0.001$ 이었다 (Figure 3).

리튬에 대한 발광박테리아의 급성독성 평가 결과, 실험농도 범위인 500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000 mg/L에서 발광감소율은 각각 6%, 24%, 33%, 47%, 62% 였으며(Figure 3(a)), EC₅₀은 2,755.8(±257.47) mg/L로 산출되었다(Table 4). 물벼룩의 EC₅₀이 14.5–18.2mg/L이었던 것과 비교하면 EC₅₀이 151.4–190.1배 수준으로 발광박테리아에 영향을 미치는 리튬 농도가 높은 것으로 나타났다. 해양종인 발광박테리아에 독성이 매우 낮게 산출된 이유는 리튬은 적은 농도이지만 해수에 포함된 성분이며, 해수의 주요 성분인 나트륨, 마그네슘과 원자구조가 비슷하고, 화학적 성질 또한 비슷하여 대부분의 생물학적 효과를 나트륨과 마그네슘의 경쟁으로 설명될 수 있어 리튬의 독성이 낮게 발현된 것으로 판단되며, 담수종인 물벼룩의 경우 이와 같은 영향이 없었던 것으로 판단된다(Jakobsson et al, 2017). 또한, Thibon et al, (2021)의 연구에서는 생물지리학적/기후가 다른 3개 지역 해양에 수심(해저-해수면)에 따라 서식하는 4 분류군, 33종 생물에 대한 리튬농도를 확인한 결과 이매패류에서 어류로 갈수록 감소하였고, 수은(Hg)이 먹이그물 상부로 갈수록 크게 증가되는 것과는 대조적인 결과를 나타내었다. 미량 원소(Cd, Cu, Fe, Hg, Pb, Zn)가 물고기의 간에 저장되는 것과는 달리, 리튬은 해양생물의 삼투압 조절과 내부 Na 균형 유지 역할을 하는 아가미, 신장에 높은 농도로 나타나, 리튬은 금속과 다른 생물학적 효과를 나타내며, 염 성분과 유사한 경향을 나타내는 것으로 조사되었다. 따라서 리튬 함유 폐수의 경우 발광박테리아보다는

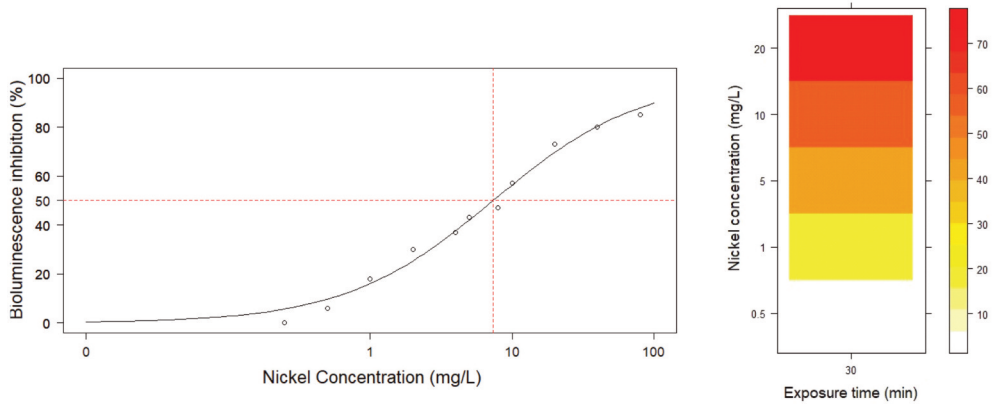
물벼룩을 이용한 생태독성 평가가 더 적합함을 알 수 있다.

황산염의 경우 실험농도 범위인 20,000mg/L-80,000mg/L에서 발광감소율이 0%-62% 였으며

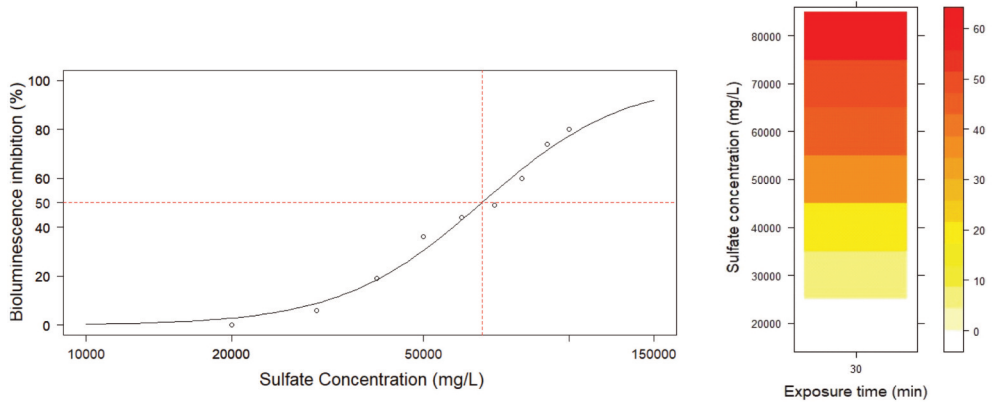
(Figure 3(c)), EC_{50} 은 $66,047.3(\pm 1,520.49)$ mg/L로 나타나 물벼룩과 유사하게 발광박테리아에서도 본 실험 대상 물질 중 독성이 가장 낮게 나타났다(Table 4). 이는 물벼룩과 비교하여 약 15배 정도 더 독성이 낮



(a) Dose-Response curve (left) and bioluminescence inhibition (%) (right) of Lithium



(b) Dose-Response curve (left) and bioluminescence inhibition (%) (right) of Nickel



(c) Dose-Response curve (left) and bioluminescence inhibition (%) (right) of Sulfate

Figure 3. Bioluminescence inhibition of *A. fischeri* for 30 min (a) Lithium, (b) Nickel, (c) Sulfate.

은 수준으로서, 이러한 이유는 황산염이 해수를 구성하는 성분으로 해수에는 황산이온이 약 2,600mg/kg 포함되어 있어 리튬과 유사하게 해양종인 발광박테리아가 황산염에 대한 내성이 있기 때문에 판단된다 (KMOE and KECO 2011). 하지만 본 연구 결과는 염이 고농도로 배출되는 시설의 경우에는 발광박테리아도 영향을 받을 수 있음을 보여주고 있어, 고농도의 염에 대한 관리가 필요함을 보여준다. 폐수 처리수의 급성독성값과 염분농도간의 상관분포를 분석한 결과 65.1-277.0%의 염분농도가 *A. fischeri* 발광율에 영향(TU1,2-7.2)을 미친다고 보고하였다(Kim et al. 2015). 동물성 플랑크톤의 경우 염분에 대한 EC₅₀이 63.3psu로 본 연구인 발광박테리아의 EC₅₀과 유사한 것으로 보고되었으며, 최소영향농인 LOEC가 40 psu로, 해수의 염분농도인 35 psu 보다는 다소 높은 것으로 알려져 있다(Park et al. 2018). 본 연구에서도 발광박테리아가 30,000mg/L 이상의 염분 농도에서 영향을 받기 시작하며 점차 독성이 증가하는 것을 보여주었다(Figure 3(c)). 이러한 황산염 증가에 의한 생태독성에 미치는 영향은 리튬과 함께 배출되었을 때 더 증가할 수 있어 향후 복합독성에 대한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

니켈의 경우는 리튬이나 황산염과 다소 다른 경향을 보여주었다. 노출 농도 0.5, 1, 5, 10, 20mg/L의 범위에서 발광감소율은 6%, 18%, 43%, 57%, 73%였으며(Figure 3(b)), 이를 통해 산출한 발광박테리아 EC₅₀은 7.4(±0.51)mg/L였으며(Table 4), 1.39 mg/L 수준으로 보고된 Lee et al. (2022)의 연구보다는 다소 높은 EC₅₀ 값을 보여주었다. 물벼룩과 독성차이가 컸던 리튬이나 황산염과는 달리 발광박테리아의 니켈에 대한 독성은 물벼룩과 거의 유사한 수준으로 나타났다. 니켈의 경우 해양종이나 담수종과 상관없이 유사한 독성을 발현한다는 것으로, 니켈이 포함된 배출수에 대해서는 물벼룩이나 발광박테리아 모두 사용이 가능한 것으로 나타났다. 하지만 염 농도가 높은 폐수 혹은 배출수가 해양에 배출 될 경우에는 염의 영향을 많이 받는 물벼룩보다는 발광박테리아를 이용하는 것이 좀 더 합리적일 수 있음을 보여준다.

IV. 결론

본 연구에서는 물벼룩(*Daphnia magna*)과 발광박테리아(*Aliivibrio fischeri*)를 이용하여 이차전지 생산공정 배출수를 통해 배출될 수 있는 잠재오염물질인 리튬과 니켈 및 황산염의 생태독성을 평가하였다. 물벼룩의 경우 현재 국내에서 적용 중인 24시간 외에 48시간 반응시간을 추가하여, 노출시간에 따른 독성 변화 또한 평가하였다.

평가 결과, 물벼룩의 경우 물질 및 반응시간에 따른 생태독성 차이가 관찰되었다. 리튬, 니켈 및 황산염의 독성은 24h EC₅₀을 기준으로 니켈 > 리튬 > 황산염 순으로 독성이 높게 산출되었으며, 48h EC₅₀ 또한 동일한 독성경향을 나타내었다. 반응시간별 니켈, 리튬 및 황산염의 독성은 24시간에 비해 48시간에서 EC₅₀ 값이 25%, 20%, 6% 감소하였으며, 반응시간이 증가함에 따라 독성이 증가함을 확인하였다. 이러한 독성 변화는 독성이 큰 물질일수록 더 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.

발광박테리아 생태독성 평가 결과 리튬과 황산염은 물벼룩과 비교해 독성이 매우 낮게 산출되어 생물종별 민감도의 차이가 있음을 확인하였다. 니켈의 경우 두 생물종 모두 유사한 수준의 EC₅₀ 값을 나타내었다. 이러한 결과는 니켈을 포함한 폐수의 경우 어느 생물종으로 독성평가를 수행하여도 큰 무리는 없으나, 염 농도가 높은 폐수의 경우에는 발광박테리아를, 리튬 농도가 높은 폐수는 물벼룩을 사용하는 것이 폐수의 독성을 잘 검증할 수 있을 것으로 기대된다. 한편 제대로 처리되지 않은 이차전지 배출수는 리튬, 니켈 및 황산염이 함께 배출될 수 있으므로 향후 이러한 물질들의 복합 독성 및 저농도 장기노출의 만성독성에 관한 연구와 더불어 온도, 경도, pH 등 유해 물질의 독성에 영향을 미치는 수질 인자에 의한 평가 또한 필요할 것으로 판단된다.

References

- Abbas M, Adil M, Ehtisham-ul-Haque S, Munir B, Yameen M, Ghaffar A, Shar G, Tahir M,

- Iqbal M. 2018. *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: A review. *Science of the Total Environment* 656: 1295-1309.
- Aral H, Vecchio-Sadus A. 2008. Toxicity of lithium to humans and the environment—A literature review. *Ecotoxicol Environ Saf.* 70: 349-356.
- Bozich J, Hang M, Hamers R, Klaper R. 2017. Core chemistry influences the toxicity of multicomponent metal oxide nanomaterials, lithium nickel manganese cobalt oxide and lithium cobalt oxide to *Daphnia magna*. *Environ toxicol chem.* 36(9): 2493-2502.
- Choi H, Ryu J, Shin W, Nathalie V. 2019. The impact of anthropogenic inputs on lithium content in river and tap water. *Nature Communications.* 10: 5371.
- Elphick J, Davies M, Gilron G, Canaria E, Lo B, Bailey HC. 2011. An aquatic toxicological evaluation of sulfate: the case for considering hardness as a modifying factor in setting water quality guidelines. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 30(1): 247-253.
- Environment Canada. 2000. Biological Test Method: Reference Method for Determining Acute Lethality of Effluents to *Daphnia magna*.
- European Chemicals Agency (ECHA). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/5223/6/2/4>
- Hsieh C, Tsai M, Ryan D, Pancorbo C. 2004. Toxicity of the 13 priority pollutant metals to *Vibri fisheri* in the Microtox[®] chronic toxicity test. *The Science of the Total Environment* 320: 37-50.
- Hwang J. 2021. Technology and market trend of secondary battery. *Auto Journal.* 43(10): 31-35. [Korean Literature]
- Jakobsson E, Arguello-Miranda O, Chiu SW, Fazal Z, Kruczk J, Nunez-Corrales S, Pandit S, Pritchett L. 2017. Towards a unified understanding of Lithium action in basic biology and its significance for applied biology. *J Membr Biol.* 250: 587-604.
- Jin Y, Kim BR, Kim DW. 2021. Correlation between lithium concentration and ecotoxicology in lithium contained waste water. *Clean Technology* 27(1): 33-38. [Korean Literature]
- Karjalainen J, Makinen M, Karjalainen A. 2021. Sulfate toxicity to early life stages of European whitefish (*Coregonus lavaretus*) in soft freshwater. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 208 :111763.
- Kim D, Chae Y, An Y. 2017. Mixture Toxicity of Nickel and Microplastics with different functional group on *Daphnia magna*. *Enviro sci technol.* 51: 12852-12858.
- Kim J, Shin K, Yu S, Lee J, Kim W. 2015. Comparative study on acute toxicity of treated effluent containing salt using *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. *Journla of Korean Society on Water Environment* 31(5): 453-459. [Korean Literature]
- KORES. 2016. Lithium market analysis report.
- Korea Ministry of Environment (KMOE). 2009a. Ecotoxicity management system for industrial wastewater. [Korean Literature]
- Korea Ministry of Environment (KMOE). 2009b. Research on the search for substances that cause ecotoxicity in industrial wastewater and reduction measures (II). [Korean Literature]
- Korea Ministry of Environment (KMOE), Korea Environment Corporation (KECO). 2011. Handbook for ecotoxicity management of class 3-5 wasterwater discharge facilities. [Korean Literature]
- Korea Ministry of Environment (KMOE). 2017.

- Standard testing method for water pollution. [Korean Literature]
- Korea Ministry of Oceans and Fisheries (KMOF). 2018. Standard testing method for maritime environment pollutant.
- Korea National Institute of Environmental Research (KNIER). 2013. Ecotoxicity analysis institute technical training materials.
- Lee K, Park G, KIM P. 2008. Development of Marine Toxicity Standard Method for Marine Luminescent Bacteria: Introduction of N-Tox test. Journal of the Korean Society of Oceanography 13(2): 156-163. [Korean Literature]
- Lee K, Kim J, Jo H, Song H, Cheon S, Seo D, Lee M, Lee J. 2022. Ecotoxicity assessment for monitoring hazardous substances on *Vibrio fischeri*. Journal of Korean society of Marine, Environment, Energy. 25(4): 217-222. [Korean Literature]
- Mano H, Shinohara N. 2020. Acute toxicity of nickel to *Daphnia magna*: validation of bioavailability models in Japanese rivers. Water Air and Pollution. 231(459).
- Michalaki A, McGivern A, Poschet G, Buttner M, Altenburger R, Grntzalis K. 2022. The effects of single and combined stressors on Daphnids—Enzyme markers of physiology and metabolomics validate the impact of pollution. Toxins 10: 604.
- Okamoto A, Yamamuro M, Tatarazao N. 2014. Acute toxicity of 50 metals to *Daphnia magna*. J. Appl Toxicol. 35: 824-830.
- Park S, Seo J, Kim T. 2018. Environmental impacts of brine from the seawater desalination plants. Journal of Environment Impact Assessment. 27(1): 17-32. [Korean Literature]
- Park MJ, Jun DJ, Kang SG. 2021. Korean secondary battery industrial ecosystem. Journal of the Korean Battery Society. 1(2): 85-88. [Korean Literature]
- Pereira CMS, Deruytter D, Blust R, De Schampelaere KAC. 2016. Effect of temperature on chronic toxicity of copper, zinc, and nickel to *Daphnia magna*. Environ toxicol chem. 36(7): 1909-1916.
- Posco Research Institute (POSRI). 2018. Lithium supply and demand outlook in 2025. [Korean Literature]
- Posco Research Institute (POSRI). 2019. 7 major issues in the global lithium industry. [Korean Literature]
- Thibon F, Weppe L, Nigier N, Churlaud C, Lacoue-Labarthe T, Metian M, Cherel Y, Bustamante P. 2021. Large-scale survey of lithium concentrations in marine organisms. Science of the Total Environment 751(141453).
- Viana T, Ferreira N, Henriques B, Leite C, Marchi L, Amaral J, Freitas R, Pereira E. 2020. How safe are the new green energy resources for marine wildlife? The case of lithium. Environmental Pollution 267: 1-9.
- Wang Z, Yeung K, Zhou G, Yung M, Schlekot C, Garman E, Gissi F, Stauber J, Middleton E, Wang Y, Leung K. 2020. Acute and chronic toxicity of nickel on freshwater and marine tropical aquatic organisms. Ecotoxicology and Environmental Safety. 206: 111373.