

기술보고

굴(*Crassostrea gigas*)의 패각운동을 이용한 생물모니터링시스템 연구 I. 홀 소자를 이용한 저염분하에서 비정상적인 패각운동 측정

오석진¹ · 이준호² · 김석윤^{1,†}

¹부경대학교 해양학과

²부경대학교 선박실습운영센터

Bio-Monitoring System Using Shell Valve Movements of Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*)

I. Detecting Abnormal Shell Valve Movements Under Low Salinity Using a Hall Element Sensor

Seok Jin Oh¹, Jun-Ho Lee² and Seok-Yun Kim^{1,†}

¹Department of oceanography, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

²Training ship administrative center, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

요 약

저염분에 따른 양식생물의 피해를 줄이기 위한 조기경보 방안으로 염분에 따른 굴(*Crassostrea gigas*) 패각운동 특성을 홀 소자를 이용하여 측정하는 생물모니터링시스템의 적용 가능성을 조사하였다. 염분농도 27 psu에서 굴의 패각운동은 평균 10-15 mm 정도의 개각상태를 유지하다가, 비교적 빠른 폐각상태를 지시하는 큰 파형이 보였으며, 다시 개각상태로 돌아가나, 그 속도는 폐각상태로 진행되는 속도보다 느리게 나타났다. 20 psu까지 저염분의 농도에서는 27 psu의 패각운동과 큰 변화가 없었다. 하지만 17 psu 이하의 염분농도부터 이상 패각운동이 지시되었으며, 10 psu에서는 패각운동이 없이 폐각상태를 유지하였다. 이와 같은 생물모니터링시스템을 패류 양식에 활용하여 해양환경의 이상변동을 신속히 감지할 수 있다면, 어업피해를 감소시킬 활동으로 연결될 것으로 기대된다.

Abstract – As an early warning system to reduce the damage of aquacultured mollusks due to low salinity water, we investigated the possibility of a biomonitoring system measuring the shell valve movement (SVM) of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) by using the Hall element sensor. In high salinity water of 27 psu, SVMs of Pacific oyster showed spikes which mean a relatively fast closing condition after opened condition of average 10-15 mm, and then the SVM showed back to opening condition slower than closing speed. In water salinity of 20-27 psu, the SVMs were similar to that of 27 psu. However, below 17 psu, it showed abnormal valve movements such as spending more time for shell closure. In 10 psu, we could not detect SVMs due to closed condition during experiment periods. Thus, if we quickly detect abnormal environmental variations like low salinity using bio-monitoring of SVM, it may contribute to increased productivity by dramatically reducing damages in aquaculture.

Keywords: Low salinity water(저염수), Bio-monitoring system(생물모니터링 시스템), Shell valve movement(패각운동), Pacific Oyster(굴), Hall element sensor(홀 소자)

1. 서 론

해양으로 유입되는 물질의 95% 이상이 강을 통해 운반되며, 그 퇴적되는 양은 매년 200억톤 정도로, 기초생산자의 영양염 공급원

으로써 강의 역할은 매우 중요하다(Clark *et al.*, 1997). 하지만 주요 강에는 댐이 건설되어 연안역으로 유입되는 담수를 차단하고 있으며, 저수용량의 한계 또는 홍수 예방을 위해 담수를 방류한다. 우리나라도 주요 강에도 댐이 건설되어 있으며, 특히 남해안의 남강 및 낙동강 댐에 의한 방류는 인접한 연안의 염분농도를 일시에 변

[†]Corresponding author: yunk0411@gmail.com

화시켜 조간대 및 조하대의 양식생물에게 큰 영향을 미치고 있다. 더욱이 저염분화 이외에도 연안역은 많은 이상 해양환경에 따라 피해가 보고되고 있는 실정이다.

이러한 해양환경을 모니터링 하기 위해서 많은 비용과 시간을 투자하고 있지만, 이상적인 모니터링 시스템은 다음 2가지 사항을 충족시켜야 할 것으로 보인다. “이상 해양환경에 대한 높은 감도”, “설치 및 유지에 위한 낮은 비용 및 간편성”을 들 수 있다. 이를 위해서 최근에 제안되고 있는 시스템이 생물모니터링시스템(bio-monitoring system)으로 화학물질에 대하여 정확하고, 민감하게 반응하는 생물을 감지소자로 활용하여 환경을 모니터링 하는 시스템이다. 만약 감지소자로 사용되는 생물을 잘 선택한다면 화학센서보다 구조가 간단하고, 감지-계측 성능이 훨씬 우수한 모니터링 시스템을 구축할 수 있다(Baldwin and Kramer, 1994).

한편, 대부분의 이매패류는 바다에서 큰 이동성이 없는 생물로 알려져 있으나, 호흡, 섭식, 심박률, 내인성 리듬(circatidal and circadian rhythm), 포식자에 대한 회피 및 자극 등에 따라 반응하는 폐각의 움직임은 활발하다(Rao, 1954; Langton, 1977; Ameyaw-Akumfi and Naylor, 1987). 이러한 폐각의 움직임을 폐각운동(bivalve valve activity)이라 지칭하며, 오래 전부터 이매패류의 건강도 지표로 이용되어왔다(Fuji, 1979; Higgins, 1980; Fuji and Toda, 1991). 최근에는 환경 변화에 따라 특유의 폐각운동을 보인다는 보고가 있어, 생물모니터링시스템의 감지소자로 활용이 검토되고 있다(Nagai *et al.*, 2006; Basti *et al.*, 2009). 본 연구는 정밀 제어계측에 사용하는 홀 소자(hall element sensor)를 이용하여 국내 패류 양식 중 가장 많은 생산량을 보이는(Ministry for food, agriculture, forestry and fisheries, 2011) 굴의 폐각 운동을 측정하고, 그 첫 번째 단계로 연안역에서 문제가 되고 있는 저염수에 대한 생물모니터링시스템 구축 가능성을 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 홀 소자를 이용한 굴의 폐각운동 측정

본 실험에 이용한 굴(*Crassostrea gigas*)은 2년생이며(각고: 90.5±4.5 mm, 각장: 25.4±2.5 mm, 각폭: 40.9±3.4 mm, 습중량: 70.7±4.3 g), 폐각운동의 측정은 홀 소자(Hall element sensor)를 이용하였다. 홀 소자는 정밀기기 측정과 같은 공업분야에서 많이 사용하고 있는 센서로, 기존의 폐각운동 측정 장치인 Kymograph와 Strain-gauge보다 부착에 따른 스트레스가 없어 자연상태에서 보이는 폐각운동을 측정하는데 용이하다(Nagai *et al.*, 2006). 계측원리는 홀 소자와 자석간의 거리에 따라 변화하는 자기력 값을 홀 소자의 출력전압으로 변환하여 폐각운동을 측정하는 것이다. 여기서 홀 소자는 자기장의 세기에 따라 전압이 변화하는 소자로, 제어전류가 발생할 때 외부자계(자속밀도)의 변화에 따라 출력전압이 발생하고, 출력전압은 제어전류와 외부자계의 합에 비례한다. 그렇기 때문에 제어전류를 일정하게 하면, 출력전압은 외부자계에 비례하며, 외부자계는 자석과 홀 소자의 거리의 제곱에 반비례하기 때문에 출

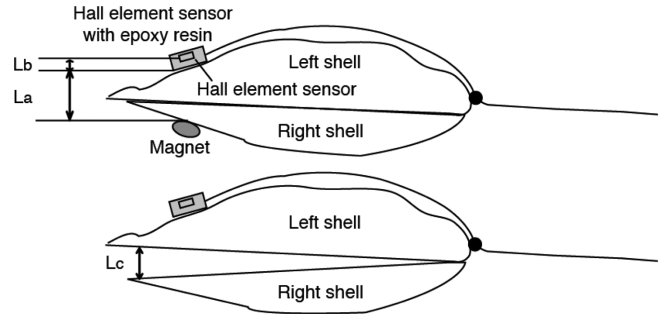


Fig. 1. Scheme of a shell valve movement measuring system of a Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). La: the distance between the Hall sensor and the magnet at the closed state; Lb: the distance between the Hall element sensing point inside the sensor; Lc: the distance of the gap between the valve.

력전압으로부터 두 폐각의 거리를 계산할 수 있다. 본 연구에서 측정속도는 1/50 sec 였다(Fig. 1).

먼저 좌 폐각과 우 폐각의 거리와 홀 소자의 출력 값과 상호비교를 위해서 굴 내부기관을 모두 제거한 후, 좌우 폐각의 선단에 각각 홀 소자 및 자석을 부착하고, 버니어캘리퍼스(vernier calipers)를 이용하여 거리를 측정하였으며, 서로 다른 폐각거리를 반복 측정하여 센서의 출력 값과 폐각거리의 관계를 구하였다. 홀소자와 자석간의 거리(L)는 폐각시의 홀 소자 센서와 자석 간의 거리(L₀), 홀 소자 센서내의 홀 소자 감지부의 거리(L_a) 또는 굴 폐각 선단부의 개각 거리(L_c)의 합이다(Fig. 1). 본 연구에서 폐각시 L_a는 약 5.0 mm, L_b는 약 3.5 mm로, L과 홀소자센서 출력값(V_h)의 관계식은 다음과 같이 도출되었다(Fig. 2).

$$V_h = 63804 \times L^2 - 21.246 \quad (1)$$

V_h는 L₂에 반비례하며, 높은 상관관계가 보여(r²=0.997), V_h로부터 L의 값을 정확히 계산이 가능하였다. 따라서 실험에서 도출된 V_h

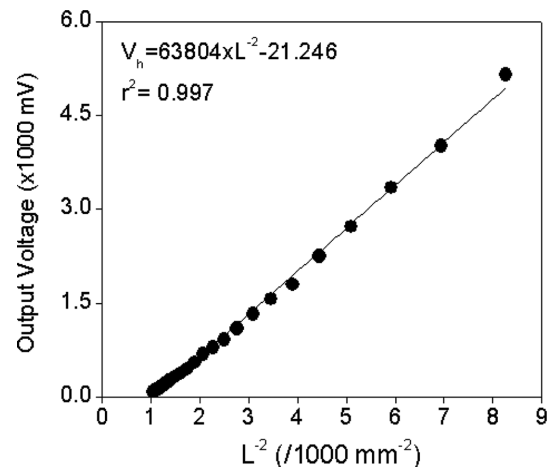


Fig. 2. Relationship between the output voltage (V_h) of the Hall element sensor and the distance (L=L_c+8.5 mm L_a: 5.0 mm, L_b: 3.5 mm) from the Hall element sensor on the left valve to the magnet on the right valve.

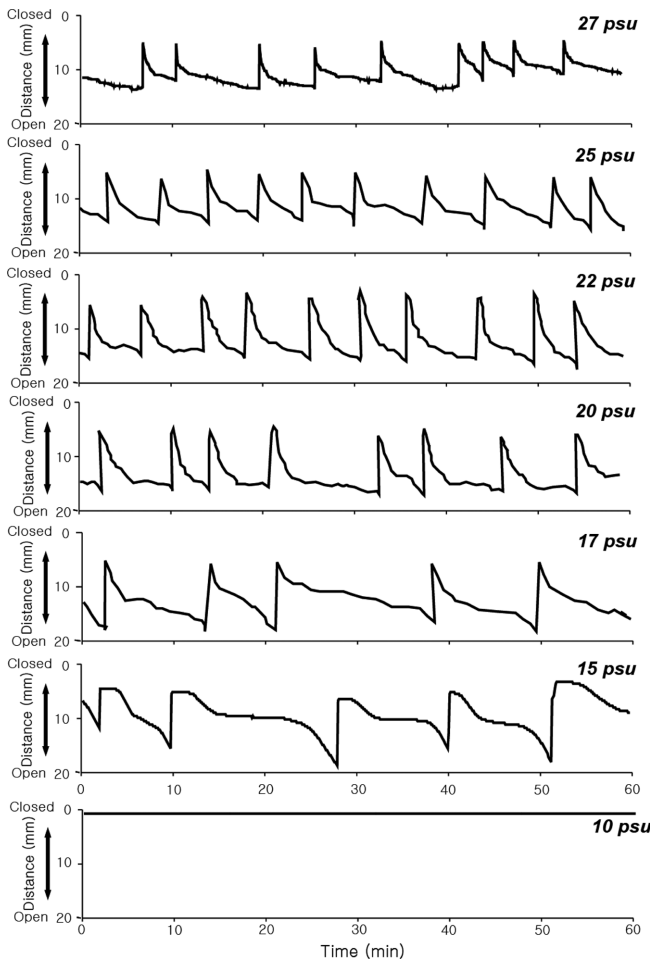


Fig. 3. Valve movements recorded for Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in various salinity steps. These data were obtained from single pacific oyster as an example of a typical set of results. Valve movements of Pacific oyster showed the same results.

는 상기 (1)에 대입하여 계산함으로써 정확한 개각거리(L_v)를 계산할 수 있으며, 이를 폐각운동의 파형의 형태로 나타내었다. 또한 폐각 시에는 폐각거리를 0 mm로 하였으나, 폐각거리가 0 mm이라 할지라도 폐각정도에 따라 V_{in} 가 10,200~19,058 mV까지 변화하였기에, 10,200 mV이상의 값이라도 모두 폐각상태인 0 mm로 가정하였다.

2.2 여과해수 및 저염수의 폐각운동 측정

기본적인 폐각운동 측정은 GF/C(1.2 m pore size) 필터로 여과한 해수에, 섭이 영향을 배제하기 위하여 먹이공급 없이 1주 이상 순치한 굴 4개체를 대상으로 수행하였다. 수온, 염분 및 pH는 채취한 굴 양식장의 환경과 유사하게 조절하였다(경남 거제 인근 해역 수온은 $17 \pm 2^\circ\text{C}$, 염분 27 psu, pH 8.0). 내인성 주기 중 circadian rhythms을 줄이기 위해서, 암조건하에서 측정하였으며, 만약 이상 폐각운동을 보일 경우 최대한 안정한 환경을 재조성하여 굴의 폐각운동을 다시 측정하였다.

저염분 노출실험은 상기 기본해수에 증류수를 이용하여 총 6단계(25 psu, 22 psu, 20 psu, 17 psu, 15 psu 그리고 10 psu)의 염분농도 해수를 조제하였다. 순치된 폐각운동 부착 굴을 각각의 염분 단계에 폭로하여, 2시간동안 폐각운동을 실시간으로 전송 받아 비교 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 폐각운동 측정을 위한 환경조성 및 여과해수에서 측정

폐각운동은 다양한 생리활동의 결과이지만, 여과활동 중 섭이도 중요한 요인 중의 하나이다. 이 운동은 폐각근의 활동에 따라 발생하며, 폐각근을 구성하는 성분 중 횡문근(striated muscle)이 폐각의 급속한 개폐운동을 담당하고 있으며, 평활근(smooth muscle)은 폐각작용을 유도한다. 따라서 본 실험에서는 이러한 섭이활동에 따른 폐각운동이 저염분에 따른 폐각운동과 구별을 위하여, 1주일정도 먹이공급을 하지 않은 실험개체를 실험에 사용하였으며, 실험 중에도 먹이 공급은 없었다.

한편 폐각의 개폐활동이 일어나는 다른 주요 원인 중에서 여수 활동은 산소공급과 밀접한 관련이 있다(Nagai, 2008). 빈산소수괴 형성시 폐각운동을 관찰하기 위해 실내수조에 N_2 기체를 이용하여 진주조개의 폐각운동을 관찰한 결과(Nagai, 2008; Oh *et al.* unpublished data), 산소결핍에 따라 체내 산소 공급을 위하여 격렬한 폐각운동을 보이는 등 이상운동을 보였다(Nagai, 2008). 본 연구에서는 이러한 산소결핍에 따른 이상 폐각운동을 방지하기 위해 기폭기로 100 ml min^{-1} 를 폭기하여, 수조내의 산소농도를 약 8.0 mg L^{-1} 로 유지하여 실험을 수행하였다.

이러한 상기의 환경조건에서, 여과해수 중 굴의 폐각운동을 측정할 결과, 평균 10~15 mm 정도의 개각상태를 유지하다가, 비교적 빠른 폐각상태를 지시하는 큰 파형이 보였고, 다시 개각상태로 돌아가지만 그 속도는 폐각상태로 진행되는 속도보다 느리게 나타났다(Fig. 3). 이와 같은 폐각운동은 60분 동안 10~15회 정도였으나, 경우에 따라 20회 정도의 많은 폐각운동을 보이기도 하였다(Fig. 3). 굴의 폐각운동의 횟수는 다른 이매패류보다 비교적 활발한 폐각운동으로 진주조개(*Pinctada fucata martensii*)의 경우, 60분 동안 0~2회였으며, 통상 6회 미만으로 나타났다(Nagai *et al.* 2006). 진주조개의 폐각운동은 굴과 다르게 개각과 폐각의 속도가 일정하여 침과 같은 폐각운동의 파형이 나타났다(Nagai *et al.* 2006).

3.2 저염수에 따른 굴의 폐각운동 측정

일반적인 굴에 대한 염분내성의 기존 보고를 보면, 10 psu 미만과 35 psu 이상인 곳에서도 생존은 가능하지만, 생식은 되지 않으며, 최적 염분농도는 본 연구에서 사육환경보다 다소 낮은 20~25 psu의 범위로 알려져 있다(FAO, 2005). 따라서 돌발적인 저염분 변화에 따른 이상 폐각운동을 보기 위해서, 염분농도를 27 psu에서 각각 다른 6단계의 염분농도 해수에 노출시켰다.

Fig. 3은 4개체의 하나의 개체의 폐각운동패턴을 나타낸 것이며, 나

머지 3개체도 염분에 대한 폐각운동양상이 일정하였다. 통상 20 psu 이상의 염분 농도에서는 27 psu의 폐각 운동과 큰 차이가 없었다. 하지만, 17 psu 이하에서 폐각 후 원래의 개각상태로 돌아가는 시간이 길어지는 경향을 보였다. 15 psu에서는 폐각 후 개각을 시작하는 시간이 지연되는 경향, 즉 폐각 후 일정 시간 동안 멈추고 나서 개각을 하는 형태를 보였다. 하지만, 10 psu는 측정시간 동안 폐각상태를 유지하였으며, 이러한 상태가 지속될 경우 여수율 감소에 따른 폐사 가능성이 있다.

3.3 폐각운동을 이용한 생물모니터링 가능성

저염수에 따른 양식장 피해가 매년 보고되고 있는 실정으로, 2002년 집중 호우에 따라 낙동담수가 거제만으로 대량 유입되어 굴 양식장의 약 70-80%가 집단 폐사하여 약 40억 원대의 피해가 발생하였으며(<http://news.naver.com/main/read.nhn?mode=LSD&mid=sec&sid1=102&oid=001&aid=0000227310>), 남강과 섬진강의 영향을 받는 사천만, 강진만 그리고 가막만의 경우도 매년 집중 호우 또는 태풍으로 육상 및 연근해 양식장에 큰 피해를 초래하고 있다. 이러한 저염분수의 유입을 미리 파악할 수 있다면, 육상양식의 경우 양수를 일시 공급을 차단하거나, 염분약층 하부의 해수를 양수할 수 있으며, 수하식 양식의 경우 수하연의 깊이를 증가시키는 등의 적절한 방법을 통하여 피해를 감소시킬 수 있을 것이다.

이러한 이상 수환경을 감지하기 위해 일반적인 화학센서보다 고효율/저비용인 생물모니터링시스템의 연구가 선진국을 중심으로 활발히 연구가 수행되고 있다. 그 중 이매패류를 이용한 생물경보시스템에 관한 연구는 말조개(Kramer *et al.*, 1989), 홍합류(Borcherding, 1992), 담수산 진주패뽕조개(Englund and Heino, 1994), 참재첩(Ham and Peterson, 1994)과 같은 생물이 대상으로 시험되었다. 이 중 홍합은 OECD에서 수계 독성물질을 감지하는데 사용하는 생물 중 하나로 얼룩말홍합을 이용한 Dreissena-Monitor 및 Musselmonitor[®]로 명칭 되는 생물모니터링시스템으로 발전되었다. 이 시스템은 독일에서 10년 이상 하천의 생물모니터링시스템으로 사용되고 있다(de Zwart *et al.*, 1993; Borcherding, 2006). 하지만, 얼룩말홍합은 미국에서는 대표적인 생태계 파괴 외래생물로 지정되어 있으며, 발전소 및 공장의 배수구를 막는 등 산업적으로 막대한 피해를 주는 생물로 알려져 있다(Clark *et al.*, 1997). 우리나라에서도 문제가 되고 있는 외래생물이며, 하천수의 수질 오염과 관련이 있어, 우리나라 연안역의 이상 해양환경에 대응하기 힘든 생물이다.

일본의 경우는 양식생물의 생산성 향상을 위해서 이매패류의 폐각운동을 측정하여 생물의 건강의 지표로 사용하여 왔으며, Nagai *et al.*(2006)가 최초로 해양에서 이매패류를 이용한 생물모니터링 시스템을 시도하였다. 일본 진주양식의 대부분을 차지하고 있는 Ago만은 유해적조류 *Heterocapsa circularisquama*의 적조 및 여러 가지 환경오염에 따라 진주생산이 급격히 저하됨에 따라 환경모니터링 시스템이 필요하게 되었으며, 그중 진주조개를 이용한 *H. circularisquama*의 생물경보시스템을 구성하여 실용화 준비 단계에 있다. 또한 일본 Nagasaki현에서 진주조개를 이용하여 용존산

소 감소에 따른 폐각운동을 측정하여 빈산소 생물모니터링시스템 구축을 시도 하였다(Kawai *et al.*, 2006).

특히 Nagai(2008)는 진주조개의 폐각운동이 각각의 환경변수(적조, 빈산소 그리고 황화수소)에 대하여 특유의 운동패턴을 가지고 있다고 보고하였다. 여과된 해수에 비해 유해적조조류의 경우 경련과 같은 12~75 초의 짧은 폐각운동을 보였으며, 빈산소수의 경우 10~35 초에 해당되는 폐각운동이 연속적이며, 규칙적으로 나타났다. 그리고 황화수소(H₂S)의 경우 150~240 초의 비교적 긴 폐각운동을 보였다. 지금까지 미세조류, 물벼룩 또는 어류를 이용한 생물모니터링시스템은 이상해양환경에 대한 정량적인 요인만 파악할 수 있었으나, 이매패류의 폐각운동을 이용한 생물모니터링시스템은 정량적인 요인뿐만 아니라 이상 해양환경의 종류까지 파악이 가능할 것으로 보인다.

하지만 진주조개의 경우에서처럼 우리나라의 굴에서도 이상 해양환경에 대한 특유의 폐각운동을 보일 것인지는 좀 더 세밀한 연구가 필요할 것으로 보인다. 현재의 연구는 저염분에 대한 이상 폐각운동을 확인한 것으로, 추후 다른 이상 해양환경(유해적조, 황화수소, 빈산소 및 중금속 등) 관련 폐각운동을 비교하여, 정성분석 가능성을 살펴 볼 예정이다.

후 기

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2013년)에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- [1] Ameyaw-Akumfi, C. and Naylor, E., 1987, Temporal patterns of shell-gape in *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 95, 237-242.
- [2] Baldwin, I.G. and Kramer, J.M., 1994, Biological early warning systems (BEWS). In: *Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries*. Kramer, J.M., ed. CRC Press, New York, U.S.A., 1-20.
- [3] Basti, L., Nagai, k., Shimasaki, Y., Oshima Y., Honjo T., Segawa, S., 2009, Effects of the toxic dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on the valve movement behavior of the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Aquaculture*, 291, 41-47.
- [4] Borcherding, J., 1992, Another early warning system for the detection of toxic discharges in the aquatic environment based on valve movement of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. In: *The Zebra Mussel Dreissena polymorpha - Ecological Biological Monitoring and First Applications in the Water Quality Management*. Neumann, D. and Jenner, H.A., eds. Gustav Fischer Verlag, New York, U.S.A., 127-146.
- [5] Borcherding, J., 2006, Ten years of practical experience with the Dreissena-Monitor, a biological early warning system for continuous water quality monitoring. *Hydrobiologia* 556, 417-426.
- [6] Clark, R.B., Frid, C. and Attili M., 1997, Marine pollution

- fourth edition. Oxford, New York 161.
- [7] de Zwart, D., Kramer, K.J.M. and Jenner, H.A., 1993, Practical experiences with the biological early warning system "Mussel-monitor", *Environmental Toxicology and Water Quality*, 10, 237-247.
- [8] Englund, V.P.M. and Heino, M.P., 1994, Valve movement of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* (Bivalve, Unionidae) in a eutrophic lake. *Annales Zoologici Fennici*, 31, 257-262.
- [9] FAO., 2005, Cultured aquatic species information programme *Crassostrea gigas*. Retrieved from http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Crassostrea_gigas/en on April 13.
- [10] Fujii, T., 1979, The study for periodic behaviour of bivalves I Periodicity observed in short-necked clam *Tapes japonica* Deshayes put in natural environment. *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.*, 40, 37-46 (in Japanese with English abstract).
- [11] Fuji, T. and Toda, S., 1991, Open and Close Shell-Movement of the Mussel, *Mytilus edulis* L. under Natural Conditions. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture*, 20, 33-40 (in Japanese with English abstract).
- [12] Ham, K.D. and Peterson M.J., 1994, Effect of fluctuating low level chlorine concentrations on valve-movement behavior of the asiatic clam (*Corbicula fluminea*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13, 493-498.
- [13] Higgins, P.J., 1980, Effects of food availability on the valve movements and feeding behavior of juvenile *Crassostrea virginica* (Gmelin). I. Valve movements and periodic activity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 45, 229-244.
- [14] Kawai, H., Uchida, H., Kasuya, T. and Yamaguchi, H., 2006, Study on environmental restoration in enclosed water using the pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*. preliminary study on the measurement of oyster's feeding and shell activities. *Annual Report of Nagasaki Institute of Health Science and Environment Science*, 52, 19-23 (In Japanese).
- [15] Kramer, K.J.M., Jenner, H.A. and Zwart, D.D., 1989, The valve movement response of mussels: a tool in biological monitoring. *Hydrobiologia*, 188, 433-443.
- [16] Langton, R.W., 1977, Digestive rhythms in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 41, 53-58.
- [17] Ministry for food, agriculture, forestry and fisheries, 2011, Food, agriculture, forestry and fisheries statistical yearbook. Director-General Planning & Coordination Bureau, Gwacheon, pp324.
- [18] Nagai, K., Honjo, T., Go, J., Yamashita, H. and Oh, S.J., 2006, Detecting the shellfish killer *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) by measuring bivalve valve activity with a Hall element sensor. *Aquaculture*, 255, 395-401.
- [19] Nagai, K., 2008, Research on means of Alleviating damage by *Heterocapsa circularisquama* red tides and reddening adductor disease, causes of the mass mortality of Japanese Pearl Oyster (*Pinctada fucata martensii*). Shinju press, Tokyo, Japan, 276pp (in Japanese).
- [20] Rao, K.P., 1954, Tidal rhythmicity of rate of water propulsion in *Mytilus californianus* and its modifiability by transplantation. *Biol. Bull.*, 43, 283-293.

2013년 2월 6일 원고접수

2013년 4월 9일 심사수정일자

2013년 5월 6일 게재확정일자