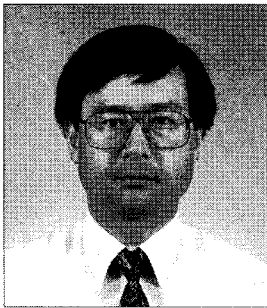


독성시험은 신뢰성 재현성이 생명

수서생물에 대한 독성시험에서 고려해야할 것들



이 성 규

한국화학연구소 환경독성연구팀

가. 독성시험에 사용하는 생물종

농약의 환경생태독성시험에 사용하는 생물종은 여러가지가 있으나 일반적으로 다음과 같은 요건들을 만족시킬 수 있다면 크게 제한을 받지 않는다. 하지만 일반적인 독성시험 지침서(guide-line)를 따르는 것이 좋다.

시험에 사용하는 시험종은 ① 농약독성에 민감해야 하고 ② 쉽게 어느때고 구할 수 있어야 하며 ③경제적으로 중요 어종(어류의 경우) ④생태적으로 중요한 의미가 있는 종 ⑤생물학적으로 연구가 잘 되어 있는 종 ⑥게임(낚시)으로 즐기는데 중요한 종(어류의 경우) 등의 요건을 갖추어야 한다. 그래서 어류는 믿을 만한 부화장에서 공급받거나 자체생산하며 그 밖의 수서 무척추동물이나 조류(algae)는 대개 각 연구실에서 사육하면서 시험에 사용하고 있다. 당연한 말이지만 독성시험에 있어서 믿을 만하고 건강한 생물의 확보는 믿을 수 있는 결과를 만드는데 관건이 되고 있다. 특히 우리나라와 같은 열악한 조건에서는 무엇보다

도 이러한 문제들이 선결되어야 양질의 독성자료를 만들어 낼 수 있을 것이다.

현재 OECD(경제협력개발기구)에서 화학물질의 독성을 평가할 때 추천하고 있는 생물종은 표2와 같다. 우리나라에서는 어류중에서 잉어(*Cyprinus carpio*)를 채택하고 있으며 수서 무척추동물과 조류에 대한 규정은 없다. 위에서 언급한 생물종은 전세계적으로 가장 널리 사용되고 있는 종들이기 때문에 축적된 자료가 많은 장점이 있다. 그러나 각국에서는 자국에서 농약의 환경위해성을 평가하는데 용이한 여러 종류의 생물종을 선발하여 독성시험에 이용하고 있다.

일본의 농약 등록요건에는 잉어와 물벼룩에 대한 독성시험 결

표2. OECD에서 추천하고 있는 수서생물종

어 류	수서무척추동물	조류(algae)
<i>Brachydanio rerio</i> (zebra-fish)	<i>Daphnia magna</i> (물벼룩)	<i>Selenastrum capricornutum</i> <i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Chlorella vulgaris</i>
<i>Pimephales promelas</i> (fathead minnow)		
<i>Cyprinus carpio</i> (common carp: 잉어)		
<i>Oryzias latipes</i> (ricefish: 송사리)		
<i>Poecilia reticulata</i> (guppy)		
<i>Lepomis macrochirus</i> (bluegill: 월남붕어)		
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (rainbow trout: 무지개송어)		

자료: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 1993

농약의 환경생태독상에 대하여(中)

과를 요구하고 있지만, 일본 국내에서는 농약으로부터 자국의 환경을 보호하기 위하여 아주 다양한 생물에 대한 독성시험을 하고 있다. 즉, 위의 2종 생물 이외에 어류 5종, 갑각류 5종, 패류 4종, 양서류 2종, 수서곤충 8종 등에 독성시험을 하고 있다.

반면에 국내의 실정을 보면 농약관리법에 명시된 독성시험만 수행할 뿐 국내 수서생물, 더 나아가 수서생태계를 보호하기 위한 보다 적극적인 연구는 전무한 실정이다. 그런데 이러한 연구는 농약연구소와 같은 정부 연구기관이 주축이 되고 관련 연구자들이 참여하여 이루어져야 한다. 또 농약회사나 관련 협회도 가능한 범위내에서 참여하여 투자를 해야 이러한 연구를 활성화시킬 수 있고 이를 통해서 농약에 대한 일반 국민의 막연한 불안감 내지는 의구심을 해소시킬 수 있는 계기가 될 수 있을 것이다.

나. 독성시험 시설

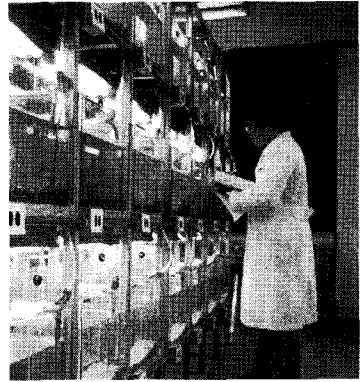
농약의 수서생물에 대한 독성을 시험하거나 연구할 수 있는 시설은 크게 독성시험에 쓰이는 생물을 사육 또는 순화시키는 시설과 농약을 실험생물에 노출시키는 시설로 나눌 수 있다. 여기서 강조되는 점은 생물의 사육에서부터 독성시험에 이르기까지 모든 시설은 환경조건이 시험조건에 맞게 잘 조절되어야 하며,

이러한 환경조건이 잘 유지되고 있다는 사실이 기록으로 증명되어야 하고, 상호오염(cross contamination)의 가능성이 충분히 배제되어야 한다.

1) 사육 또는 순화시설

독성시험에 있어서 그 결과가 신뢰성과 재현성을 가지기 위해서는 시험에 사용하는 생물의 질(quality)이 일정하게 유지되어야 한다. 따라서 일정한 상태의 생물을 지속적으로 확보하기 위한 계획을 수립하고 이에 맞는 시설을 확보해야 한다. 어류의 경우를 보면 외국에서는 대개 믿을 수 있는 공공 양어장이나 일반 양어장에서 구입하여 실험실에서 일정 기간(대개 2주 이상) 순화시킨 후 독성시험에 사용한다. 국내에서는 잉어의 경우 양어장에서 구입할 수 있으나 시기가 제한되어 있기 때문에 연중 시험하기 위해서는 자체에서 어류를 생산할 수 있는 시설과 기술을 갖추어야 한다. 필자의 연구실에서는 송사리를 계대사육하면서 연중 독성시험을 하고 있다. 그외의 생물들(물벼룩, 조류, 기타)은 각 실험실에서 사육하면서 독성시험에 사용한다.

생물을 잘 사육하기 위해서는 ①오염되지 않은 사육수의 확보 ②사육환경(온도, 광도)의 만족 ③각 생물에 적절한 먹이의 확보 및 ④계대사육기술이 확립되어야



어류사육시설(화학연구소)

한다. 어류사육에 있어서 특히 중요한 것은 사육수인데, OECD Guideline(1993)에서는 오염되지 않은 지하수나 천연수를 쓰도록 권고하고 있으며 수도물은 잔류염소 때문에 가능하면 피하도록 하고 있다.

2) 독성시험 시설

농약을 생물에 노출시키는 시설에서 고려해야 할 사항은 ①각 시험조건에 맞는 환경(온도, 광도, 광주기)이 조절, 기록되어야 하고 ②시설내의 유해물질이 적절히 배출 또는 처리되어야 한다. 근래에는 이러한 독성시험시설에서 가장 중요하게 고려하고 있는 점이 연구자 또는 작업자의 안전 또는 건강문제이다. 독성시험을 할때는 시험물질이 호흡이나 피부접촉에 의하여 노출되지 않도록 배기시설을 하고 안전장구를 착용하고 시험용액은 시험물질이 하수에 들어가지 않도록 적절히 처리해야 한다.

농약의 환경생태독성에 대하여(中)

다. 시험방법

농약의 수서생물에 대한 위해성을 평가하기 위해서는 먼저 시험목적에 맞는 시험방법이 확립되어야 한다. 따라서 각국에서는 많은 연구를 통해서 농약의 환경생태독성을 시험하기 위한 표준 시험방법을 정해 놓고 있으며 계속적인 연구를 통해서 기존 방법들을 보완하거나 새로운 방법들을 개발하기도 한다.

그런데 독성시험의 결과는 어떤 농약의 운명을 좌우하기도 하기 때문에 이러한 시험방법들은 과학적으로 보편, 타당성이 있고 국제적으로도 받아들일 수 있어야 하므로 현재의 추세는 국제적으로 표준화하는 방향으로 가고 있다. 즉, 표준화된 시험방법을 통해서 그 농약의 내재적 독성을 합리적으로 평가하고, 이러한 결과들은 국제적으로도 상호인정될 수 있다. 이러한 노력의 일환으로 선진국에서는 ring-test, round-robin test 등을 통해

서 각 시험기관의 능력을 평가하고, 표준화에 있어서 발생하는 문제점들을 도출하고, 이를 해결함으로써 각 시험기관의 독성시험 수행능력을 일정수준 이상으로 끌어올려 보다 신뢰성 있는 결과를 만들어내도록 하고 있다.

따라서 각종의 농약에 대한 독성시험도 국제적으로 인정되고 있는 시험방법을 따라가고 있는 추세에 있다. 그 한 예로 일본에서는 물벼룩 독성시험이 3시간이었으나 곧 OECD 가이드라인에 맞출 계획이라고 한다. 현재 국제적으로 널리 채택하고 있는 시험방법으로 OECD Guideline (1993) 외에 Standard method (APHA, AWWA, WPCF), ASTM방법, US EPA방법 등이 있으나 시험방법의 큰 흐름은 별 차이가 없고 다만 일부 세부적 내용에서 다소 차이가 있다.

라. 독성시험의 종류

농약의 수서생물에 대한 환경

생태독성시험은 크게 다음과 같이 구분된다.

1) 급성독성시험

비교적 짧은 시간동안(48시간 또는 96시간) 어류, 물벼룩, 조류(algae) 등을 농약에 노출시켜 농약의 독성을 알아내는 시험이다. 일반적으로 독성을 예비검색(screening)하는 단계의 시험이며 농약을 등록할 때 기본적으로 제출해야 할 독성자료를 만들게 된다. 결과는 LC₅₀(50% 치사농도) 또는 EC₅₀(50% 영향농도)으로 표시된다. 농약을 생물에 노출시키는 방법에는 정체식(static)과 반정체식(semistatic) 및 유수식(continuous flow)등이 있는데 어떤 방법에 의하여 시험하느냐는 시험목적, 농약의 이화학적 특성에 따라 다르지만 기본적으로 시험기간동안 용존산소, 시험물질의 농도가 만족할만한 수준이상으로 일정하게 유지되도록 하여야 한다.

표3. 수서생물에 대한 독성시험의 종류

시 험 방 법	얻는 결과와 관찰 내용	시험결과의 활용
어류 급성독성시험 생육초기독성시험 만성독성시험	96시간 LC ₅₀ , 치사 최대허용농도, 무작용농도, 성장 최대허용농도, 무작용농도	독성의 예비검색 어류군집에 대한 영향평가 어류군집에 대한 영향평가
수서무척추동물 급성독성시험 만성독성시험	48시간 (L)C ₅₀ , 움직임, 치사 최대허용농도, 무작용농도, 생식	독성의 예비검색 수서무척추동물군집에 대한 영향 평가
조류(algae)	-	96시간 EC ₅₀ , 성장저해
모의생태계 및 야외시험	-	무영향농도, 생태계 기능 및 구조
		독성의 예비검색, 1차 생산자에 대한 1차 생산자에 대한 영향평가
		수생태계의 구조와 기능에 미치는 영향 평가

농약의 환경생태독성에 대하여(中)



연못에서 Enclosure 내의 모의생태계에서 농약의 환경 생태독성을 시험하는 광경 (화학연구소)

2) 어류생육초기 독성시험 및 만성독성시험

급성독성시험의 결과와 농약의 사용 행태(pattern), 농약의 특성에 따라 급성독성만으로는 그 농약의 독성을 충분히 평가하기 어려운 경우에 좀 더 높은 단계의 독성시험을 실시하게 된다. 만성독성시험에서는 대상생물의 전생육단계(full life stage)에 걸쳐 생식과 성장인자에 관한 사항을 조사하여 그 농약의 MATC(maximum acceptable toxicant concentration, 최대 허용농도)와 NOEC(no observed effect concentration, 무영향농도)값을 구하게 된다. 만성독성의 시험기간은 어류의 경우 어중에 따라 6개월에서 2년이상 소요되고 물벼룩의 경우는 약 20일이상 소요된다. 그런데 어류의 경우 만성독성시험에 소요되는 기간이 너무 길어 이에 따른 비용문제, 농약개발과 상품화의 지연 등의 문제점 때문에 보다 시험기간은 짧으면서 농약

의 만성독성은 잘 예측할 수 있는 시험방법의 개발이 필요하게 됨에 따라 1970년 후반에 들어 활발히 연구된 시험방법이 어류 생육초기 독성시험이다.

이 시험방법은 어류의 생육단계에서 외부영향에 가장 민감한 단계에 대한 독성시험 결과로 만성독성을 예측하는 것이다. 이 시험은 수정란에서부터 시작하여 부화후 약 30일~60일(어중에 따라)까지 노출시키는데 1992년에 OECD 가이드라인에 공식적으로 채택됨에 따라 앞으로 세계적으로 널리 쓰일 전망이다.

3) 모의생태계(mesocosm) 시험

위에서 언급한 시험법들은 모두 실험실적인 시험으로 시험조건들이 인위적으로 조절되고 또한 단일시험종에 대한 독성시험이므로 재현성과 신뢰성은 높으나 그 결과로 농약의 자연생태계의 구조와 기능에 미치는 영향을 잘 알기 어렵다. 즉, 실험실적 시험결과는 원인과 결과의 인과관계는 비교적 잘 설명할 수 있지만 실제 생태계에서의 예측성은 매우 낮다고 할 수 있다. 이러한 실험실적 독성시험방법의 단점을 보완, 좀 더 자연생태계와 가까운 시험조건에서 농약의 환경생태독성을 연구하는 시도가 모의생태계 개념의 도입이다.

여기서는 시험대상생물이 여러 종이고 주위 환경과의 상호작용

이 고려되므로 이러한 방법에 의한 연구결과는 실험실적 독성시험결과로 실제 환경에서의 영향을 예측하는데 징검다리의 역할을 한다고 볼 수 있다. 이 방법은 1960년 후반부터 농약의 환경독성을 평가하는데 활용되어 왔으나 1980년 초에 이르러 몇몇 국가를 중심으로(특히 미국, 영국) 농약을 등록할 때 위해성평가의 한 시험항목으로 요구하게 되었다. 이에 농약회사와 농약관리를 책임지고 있는 국가기관에서는 이 시험방법을 정립하기 위하여 많은 연구를 진행해 왔고 이러한 연구결과들은 학회, Workshop, 전문위원회 등을 통해서 정리되어 모의생태계 시험에 대한 가이드라인이 발간되기도 한다.

농약을 등록할 때 전단계시험(급성 및 만성)의 결과와 환경내에서 농약을 실제 사용했을 때 그 농약의 예상농도(EEC, expected environmental concentration)와 무작용농도(NEOC)를 비교하여 농약사용으로 수서생물이 영향을 받을 가능성이 있는 경우 최종단계의 시험으로 모의생태계시험 또는 실제 생태계시험결과를 제출하도록 하고 있다.

다음호에는 육상생태계에 대한 독성시험과 농약의 위해성 평가 과정을 중심으로 계속해서 알아 본다. **농약정보**