

Brachydanio rerio(zebrafish)를 이용한 IBP, methidathion 및 piperophos의 생물농축성

하영득 · 민경진 *[†] · 이승곤

계명대학교 식품가공학과

* 계명대학교 공중보건학과

Bioconcentration of IBP, Methidathion and Piperophos in *Brachydanio rerio*(zebrafish)

Young Duck Ha, Kyung Jin Min*[†] and Han Seab Lee

Department of Food Science and Technology, Keimyung University

* Department of Public Health, Keimyung University

(Received 20 April 2001; Accepted 10 June 2001)

ABSTRACT

This study was performed to investigate the bioconcentration of IBP, methidathion and piperophos. The BCFs(bioconcentration factor), depuration rate constants for three pesticides in zebrafish(*Brachydanio rerio*) were measured by OECD guideline 305. The concentration of test pesticides were one-hundredth and one-thousandth concentration of 96-hrs LC₅₀ in accordance with OECD guideline 305. The results obtained are summarized as follows:

The average BCF values of IBP were 5.31(n=4) and 7.30(n=4) at one-hundredth and one-thousandth concentration of 96-hrs LC₅₀. The average BCF values of methidathion were 8.72(n=4) and 11.25(n=4), the average BCF values of piperophos were 34.30(n=4) and 42.60(n=4). Depuration rate constants of IBP were 0.09(h⁻¹) and 0.08(h⁻¹), half-life of IBP were 7.70 and 8.66 at each tested concentration. The concentrations of IBP in zebrafish at low and high concentrations rapidly decreased after 12(0.243 µg/g) and 12 hours(0.040 µg/g). Depuration rate constants of methidathion were 0.40(h⁻¹), half-life of methidathion were 1.73 at one-hundredth and of 96-hrs LC₅₀, respectively. The concentrations of methidathion in zebrafish at high concentrations rapidly decreased after 6 hours(0.18 µg/g). Depuration rate constant of low concentration was not measured because methidathion in zebrafish was depurated in 6 hours. Depuration rate constants of piperophos were 0.15(h⁻¹) and 0.44(h⁻¹), half-life of piperophos were 4.62 and 1.58 at each tested concentration. The concentrations of piperophos in zebrafish at low and high concentrations rapidly decreased after 12(0.26 µg/g) and 6 hours(0.015 µg/g). It was suggested that high BCF of piperophos was due to high K_{ow}(octanol-water partition coefficient). The possibility of bioconcentration was not likely to be high because of its rapid K_{DEP}(depuration rate constant) in the environment. It was suggested that low BCF of methidathion showed lowest K_{ow} as well as the most rapid K_{DEP}. Therefore, the possibility of bioconcentration was not occurred in the environment. It was suggested that the BCF determined for IBP was lower than that of other pesticides due to high Sw(water solubility), slow K_{DEP}. Therefore, IBP revealed little bioconcentration effect on in aquatic ecosystem.

Keywords : IBP, Methidathion, Piperophos, Zebrafish, Bioconcentration

I. 서 론

산업의 발달과 더불어 자연계에 배출되는 많은 중

류의 환경오염 물질중 대표적인 하나가 농약이라고 할 수 있다. 공업화에 따른 농업인구 및 농지의 감소로 식량증산을 위해 영농의 기계화와 농약 사용이 불가피 하게 되었고, 농약사용량이 증가하면서 각종 농약의 오·남용으로 인한 식품오염의 사례도 많아졌다. 유기합성농약은 병충해에 대한 방제효과가 확실한 반면에 잔류농약에 의한 환경오염과 자연생태계

[†]Corresponding author : Department of Public Health, Keimyung University .
Tel : 053-580-5229, Fax : 053-580-5164
E-mail : kjm442@kmu.ac.kr

의 파괴라는 부작용을 가지고 있다.¹⁾ 더욱이 근래에 와서는 농산물의 수출입 과정에서 잔류 농약 문제가 국제통상마찰의 원인이 되기도 하므로, 각국의 농약 규제에 대한 정보교환이 절실히 요청된다.²⁾ 우리나라의 농약 출하량은 1980년에 16,132 M/T이었던 것이 1998년에 22,103 M/T로 증가하였다.³⁾ 이렇게 농약의 소비량이 증가한 원인으로는 돌발 병해충 방제를 위한 농약원제의 비축과 수입 원목 등 수입 농·임산물의 방역용 약제의 소비량이 크게 증가했기 때문이다.⁴⁾ 유기합성농약중 유기염소계와 유기수은계는 잔류독성이 강하여, 우리 나라에서는 DDT, Aldrin제 및 살포용 유기수은계의 사용이 금지되었지만, 이에 반해 잔류독성이 약한 유기인계와 카르바메이트계 농약의 사용이 증가하고 있다.⁵⁻⁶⁾ 유기인계 농약은 지속성이 적어 잔류의 위험이 적으며, 살충력이 강하고 적용해충의 범위가 넓은 장점이 있지만 대부분 급성 중독을 일으키거나 지연성 마비를 일으키는 것으로 알려져 있다. 또 환경 내에서 빨리 분해되지만 사용량의 증가로 인한 하천, 호수 및 지하수 오염의 우려가 높아지고 있고, 분배계수가 높은 유기인계 농약은 어류 등의 생물체에 축적된다는 보고가 있으며, 실제로 유기인계 농약 및 그 분해산물 또한 검출되고 있다.⁷⁻⁸⁾ 농약에 의한 수질 오염으로 죽은 어류는 현재 전체 치사 어류의 8%를 차지한다고 보고되었다.⁹⁾ 농약 등 화학물질의 환경독성 평가의 일환으로 어류를 포함한 수서 생물을 이용한 독성 평가 방법이 선진국에서는 일찍부터 많이 연구되었다. 농약의 안전성을 평가하는 항목에는 생물농축성, 분해성, 독성, 노출량 등이 있으며, 이 중에서도 생물농축성은 건강에 직결되는 요인으로 알려져 있다.¹⁰⁾ 생물농축성은 농약이 수계로 이동된 후 수생 생태계에 영향을 미쳐 수생 생물의 만성적인 독성을 유발할 가능성과 먹이연쇄를 통한 인체내의 축적 가능성을 설명하는 지표로 이용되고 있다.¹¹⁻¹⁴⁾ 생물농축성의 척도로 이용되는 생물농축계수(Bioconcentration factor, BCF)는 물고기의 체내에 농축되어 있는 화학물질의 농도와 수중에 잔류되어 있는 화학물질의 농도 비로써 표시하며, 이는 화학물질의 환경 내 이동현상을 설명하는데 도움을 주고 있다.¹¹⁻¹⁴⁾ Kanazawa¹⁵⁾는 topmouth gudgeon를 실험어종으로 하여 15종의 살충제에 대한 BCF를 측정하고, 수용성, 분배계수, 급성독성사이의 상관성을 보고한 바 있다. Tsuda 등¹⁶⁻¹⁷⁾은 killfish를 사용하여 diazinon, fenthion, fenitrothion, IBP(Iprobenfos), parathion 및 EPN을 flow through system으로 단독 및 혼합투여시의 생

물농축성 실험을 실시하여 BCF와 배설속도간에 유의한 차이가 없음을 보고하였다. 이후 Tsuda 등¹⁸⁾은 guppy, killfish, 금붕어 및 white cloud mountain fish를 실험어종으로 하여 15종의 유기인계 농약의 BCF를 측정하여, 유기인계 농약들의 높은 극성, 빠른 대사작용 등을 고려하지 않은 octanol-water 분배계수(Pow)에서 추정된 BCF값보다 실제 실험어종에서 측정된 BCF값이 더 정확함을 보고하였다.

국내에서는 민 등¹⁹⁾이 zebrafish와 red sword tail을 사용하여 OECD guideline 305-D의 static fish test에 따라 dichlorvos, methidathion 및 phosalone의 생물농축성 실험을 하였으며, 이후 민과 차²⁰⁾는 BPMC, chlorothalonil, dichlorvos 및 methidathion의 BCF를 OECD guideline 305-B의 semi-static fish test 방법으로 측정하였다. 최근 OECD²¹⁾에서는 생물농축성 실험방법(OECD guideline 305 A-E) 5가지를 flow through fish test(OECD guideline 305)로 통합하여, 화학물질의 생물농축성을 평가하는 방법으로 제안하였다.

이에 본 연구는 국내에서 시판되는 유기인계 농약인 IBP, methidathion 및 piperophos에 대한 생물농축성을 OECD에서 화학물질의 생물농축성을 평가하는 대표적인 방법인 flow through system(OECD guideline 305)으로 측정하여 농약의 안전성 평가자료로 제시하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 재료

1) 실험동물

실험동물은 OECD guideline 305의 실험어종인 zebrafish(*Brachydanio rerio*)로 부화 후 90일 된, 길이 3.1 ± 0.1 cm, 무게 0.3 ± 0.1 g(wet weight)인 것을 시중에서 구입하여 실험실 조건에서 1개월간 적응시킨 후 20마리를 1군으로 하여 실험하였다. 실험은 도는 사육과 실험 전기간동안 $23.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 를 유지하고 사료는 Tetra(독일)사 제품인 Tetra Min을 공급하였다.

2) 기기 및 시약

실험에 사용된 기기로는 gas chromatograph(Shimadzu, GC-14A), homogenizer(Niho seiki seisakusho, ED), rotary vaccum evaporator(Rikakikai, NE-IS), pH meter(TOA, HM-20S), chemical balance(Chyo, JL-180), 그 외 실험실에서 사용하는 일반기기를 사용하였다. 사용된 시약으

로 acetone, acetonitrile, ethyl acetate, ethyl ether 및 n-hexane은 Wako사(일본)의 pesticide grade를 사용하였고, 탈 이온수 제조에는 MILLI-Q-PLUS(Millipore) 순수제조장치를 사용하였다. 고체상 추출(Solid-Phase Extraction)에는 Waters사(미국)의 Sep-Pak Plus(florisil) cartridge를 사용하였다.

3) 실험농약

실험농약은 현재 국내에서 시판되는 유기인계 농약인 IBP[S-benzyl O,O-diisopropyl phosphorothioate, 95%, (주)경농], methidathion[S-2,3-dihydro-5-methoxy-2-oxo-1,3,4-thiadiazol-3-yl methyl O,O-dimethyl phosphorodithioate, 95%, (주)경농], piperophos [S-2-methylpiperidinocarbonylmethyl O,O-dipropyl phosphorodithioate, 95.5%, (주)경농]를 사용하였다.

2. 실험방법

1) IBP, methidathion 및 piperophos의 급성어독성시험(LC50)

급성어독성시험의 실험조건은 OECD guideline 203에 따랐다.²²⁾ 실험용 수조는 25×25×25 cm인 정육면체 유리수조로 용량은 15 l였고, zebrafish 10마리를 1군으로 10 l 실험수를 채워 실험을 하였다. 각 농약에 대한 적절한 농도(0.1, 1, 10, 100 mg/

l)를 설정하여, 예비실험을 시행하였으며, 예비실험을 기초하여 본 실험에서 100%영향농도(IBP, 30 mg/l; methidathion, 50 mg/l; piperophos, 20 mg/l)와 무영향농도(IBP, 5 mg/l; methidathion, 10 mg/l; piperophos, 1 mg/l) 사이에 각 5개의 농도(IBP, 7, 12, 17, 22, 27 mg/l; methidathion, 12, 21, 30, 39, 48 mg/l; piperophos 2, 6, 10, 14, 18 mg/l)를 대수등간격으로 농약처리한 실험군과 대조군을 두어 3, 6, 12, 24, 48, 72 및 96시간에 걸쳐 실험하여 사망한 개체를 관찰하였다. 개체의 사망은 물고기를 건드려서 반응이 없는 상태로 정의하였으며, 사망한 개체는 즉시 제거하였다. LC50값은 SAS/PC(Version 6.12)를 이용하여 log scale 값의 농약농도와 probit scale의 사망개체수간의 회귀식으로부터 50% 치사농도값을 구하였으며, 회귀모델의 적정성을 검정하였다.

2) IBP, methidathion 및 piperophos의 생물농축성실험

생물농축성 시험의 시험조건은 OECD guideline 305를 따랐다.²¹⁾ 즉 실험수는 수돗물을 활성탄으로 여과하고 염소를 제거한 물을 그대로 사용하였으며, 시험수는 수온 23.5±1℃, pH는 7.5~7.6, 용존산소 7.1~7.3 mg/l 였다. 먹이공급은 실험전기간 동안 1일 1회 물고기 무게의 1%에 해당하는 양을 공급하였고 여분의 먹이와 배설물은 먹이공급 1시간 후에

Table 1. GC conditions for analysis of pesticides

Item	IBP	methidathion	piperophos
Instrument	Shimadzu GC-14A	Shimadzu GC-14A	Shimadzu GC-14A
Column	DB-17 capillary 30m×0.53 mm(I.D)	DB-17 capillary 30m×0.53 mm(I.D)	DB-17 capillary 30m×0.53 mm(I.D)
Detector	FPD	FPD	FPD
Column temp.	initial temp. 100℃ initial time 0 min rate 5℃/min 10℃/min final temp. 150℃ 270℃ final time 0 min 0 min	initial temp. 160℃ initial time 0 min rate 10℃/min final temp. 260℃ final time 5 min	initial temp. 150℃ initial time 0 min rate 10℃/min 5℃/min final temp. 260℃ 270℃ final time 5 min 10 min
Injector temp.	280℃	280℃	280℃
Detector temp.	300℃	310℃	300℃
Carrier gas	N ₂ , 1.0 ml/min	N ₂ , 0.8 ml/min	N ₂ , 1.0 ml/min
Air	60 kPa	60 kPa	60 kPa
Hydrogen	60 kPa	60 kPa	60 kPa
Type of injection	Splitless	Splitless	Splitless
Injection volume	1 µl	1 µl	1 µl

매일 제거하였다. 광주기는 16시간 조명, 8시간 암 조건을 유지하였다. 어류의 적응수조는 75×30×45 cm인 직육면체 유리수조로 용량은 100 l였고, 1회 실험시 zebrafish 20마리를 1군으로 사용했으며, 두 가지 농도에서 같은 기간의 실험을 3회씩 반복하였다. 실험기간은 72시간동안으로, 실험농도는 IBP, methidathion 및 piperophos의 경우 96시간 LC₅₀ 농도를 측정하여 이 농도를 기준으로 1/100농도(고농도)와 1/1000농도(저농도)에서 생물농축시험을 실시하였다. 실험기간동안 일정한 농도를 유지하기 위해서 IBP(14 µg/ml, 1.4 µg/ml), methidathion(22

µg/ml, 2.2 µg/ml) 및 piperophos(5 µg/ml, 0.5 µg/ml)용액을 각각 5 l 조제하여 24시간마다 공급하여 여과된 수돗물로 mixing chamber에서 100배 희석하여 300 ml/min으로 실험용 수조로 공급하였다. 각 농약의 bioconcentration factors(BCFS)값은 6, 12, 24, 48, 72시간 동안 실험후 각각 측정하여 산출하였다. 각 농약의 표준용액 조제와 검량선 작성 및 GC의 조건은 일본위생시험법 주해²³⁾와 PAM(Pesticide analytical manual)²⁴⁾에 따라 IBP, methidathion 및 piperophos를 ethyl acetate 10 ml에 녹여 각각 1000 µg/ml 되게 stock solution을 a만

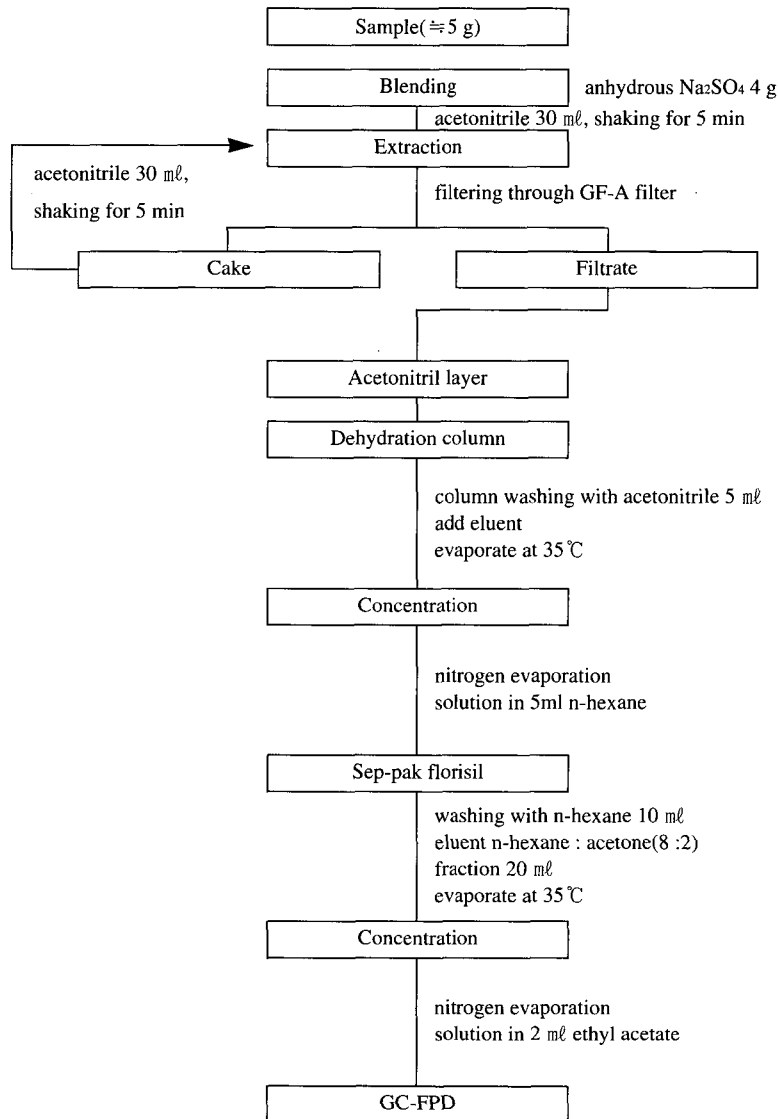


Fig. 1. Extraction procedure of pesticides in zebrafish.

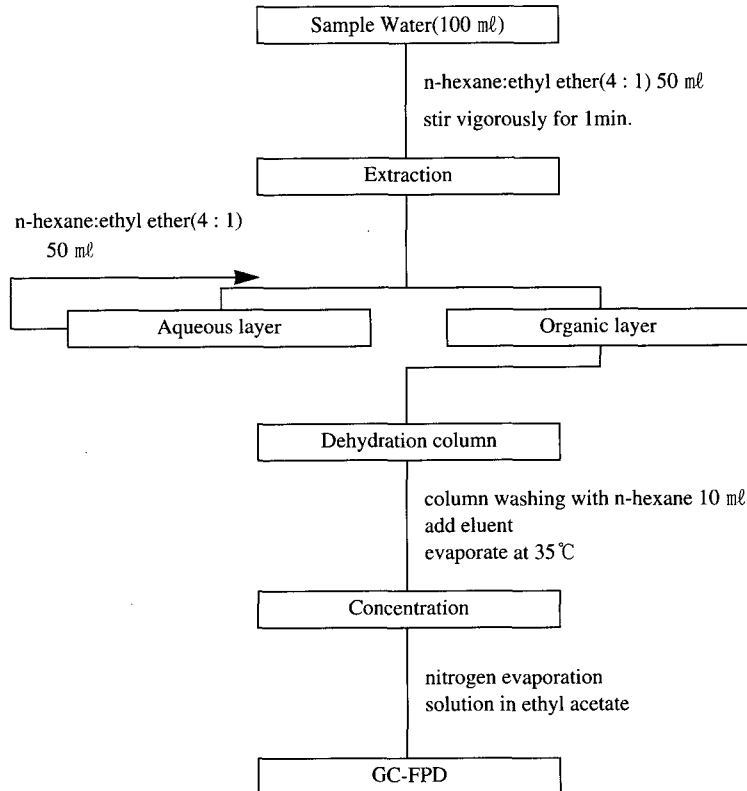


Fig. 2. Extraction procedure of pesticides in test water.

든 후 각 단계별로 희석하여 0.5, 1, 5, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되게 표준용액을 조제하였다. 조제된 각 농도별 표준용액을 1 μl 씩 GC에 주입하여 peak 면적법에 의하여 검량선을 작성하였다. 각 농약에 대한 GC 분석조건은 Table 1과 같다. Zebrafish에서 각 농약의 추출 및 정량은 일본위생시험법 주해²³⁾와 PAM(Pesticide analytical manual)²⁴⁾에 따랐으며, 배설속도상수(depuratation rate constant)의 측정은 민 등의 방법¹⁸⁾에 따랐다.

Zebrafish에서 각 농약의 추출순서는 Fig. 1과 같으며, 실험수에서 각 농약의 추출순서는 Fig. 2와 같다.

III. 결과 및 고찰

1. 시료농약의 회수율 시험

회수율은 zebrafish에서 IBP 90.1%, methidathion 89.4% 및 piperophos 87.6%였고, 실험수에서는 98.7~102.3%이었다. 또한 5 g의 어류조직별 시료와 실험수 100 ml의 본 분석법에 의한 농약별 검출한계는 0.01~0.001 ppm 범위였다.

Table 2. Acute toxicity of pesticides

Pesticides	LC ₅₀ (mg/ℓ)			
	24th	48th	72th	96th
IBP	15.5	14.8	14.4	14.0
methidathion	31.5	28.3	25.2	22.0
piperophos	6.2	5.7	5.3	5.0

2. 시료농약의 급성어독성(LC₅₀)시험

IBP, methidathion 및 piperophos의 24, 48, 72 및 96시간의 LC₅₀ 값은 Table 2와 같다. 96시간 LC₅₀ 값은 IBP 14.0 mg/ℓ, methidathion 22.0 mg/ℓ, piperophos 5.0 mg/ℓ 로 조사되었다.

3. BCF와 배설속도상수

OECD guideline 권고기준에 따라 96시간 LC₅₀의 1/100농도(고농도)와 1/1000농도(저농도)에서 생물농축실험을 수행하였다.

IBP의 96시간 LC₅₀ 농도가 14.0 mg/ℓ 으로 조사되었으므로 이 농도의 1/100인 0.14 mg/ℓ 과 1/1000인 0.014 mg/ℓ 에서 6, 12, 24, 48 및 72시간 실험의 어류체내 농축정도, 실험수 중의 농도 및 BCF값을 구한

Table 3. High concentration of test IBP in zebrafish, test water and calculated BCFs

Hours	Fish ($\mu\text{g/g}$)	Test water ($\mu\text{g/ml}$)	(mean \pm S.E.)
			BCFs*
6	0.63 \pm 0.009	0.14 \pm 0.009	4.50 \pm 0.07
12	0.67 \pm 0.009	0.13 \pm 0.009	5.15 \pm 0.06
24	0.75 \pm 0.015	0.15 \pm 0.009	5.00 \pm 0.06
48	0.76 \pm 0.015	0.14 \pm 0.009	5.40 \pm 0.06
72	0.74 \pm 0.015	0.13 \pm 0.009	5.69 \pm 0.05

* BCFs indicates 6, 12, 24, 48, 72-hour bioconcentration factor.

Test concentration : 1/100 of 96hr LC₅₀(0.14 $\mu\text{g/ml}$)

Each value represents mean \pm S.E. of 3 experiments.

Table 4. Low concentration of test IBP in zebrafish, test water and calculated BCFs

Hours	Fish ($\mu\text{g/g}$)	Test water ($\mu\text{g/ml}$)	(mean \pm S.E.)
			BCFs*
6	0.107 \pm 0.007	0.14 \pm 0.001	7.64 \pm 0.09
12	0.115 \pm 0.007	0.15 \pm 0.001	7.67 \pm 0.07
24	0.110 \pm 0.007	0.15 \pm 0.001	7.33 \pm 0.07
48	0.106 \pm 0.007	0.15 \pm 0.001	7.07 \pm 0.07
72	0.107 \pm 0.007	0.15 \pm 0.001	7.13 \pm 0.07

* BCFs indicates 6, 12, 24, 48, 72-hour bioconcentration factor.

Test concentration : 1/100 of 96hr LC₅₀(0.014 $\mu\text{g/ml}$)

Each value represents mean \pm S.E. of 3 experiments.

결과는 Table 3 및 4와 같다. 어류 체내에서의 농축 정도와 BCF값은 두 농도군에서 각각 12시간 이후에 정류상태에 도달하여 72시간동안 거의 일정하였으며 (Fig. 3(A), Fig. 4(A)), 그 값은 고농도에서 5.31 (n=4)과 저농도에서 7.30 (n=4)으로 나타났다. Zebrafish 체내에서 IBP의 배설속도상수를 구하기 위한 6, 12, 24, 48시간의 배설 실험 결과는 Fig. 3(B) 및 Fig. 4(B)와 같다. IBP의 배설속도상수는 고농도와 저농도에서 0.09h⁻¹와 0.08h⁻¹이었고, 반감

기는 7.70 및 8.66시간이었다. 어류체내에서 IBP의 농도는 고농도와 저농도 실험에서 12시간이후에는 0.243 $\mu\text{g/g}$ 및 0.040 $\mu\text{g/g}$ 이하로 떨어져 대부분 배설되었다는 것을 알 수 있었다.

Methidathion의 96시간 LC₅₀은 22 mg/l 였으므로, 1/100인 0.22 mg/l 과 1/1000인 0.022 mg/l 에서 6, 12, 24, 48 및 72시간 실험의 어류체내 농축정도, 실험수 중의 농도 및 BCF의 실험결과는 Table 5 및 6과 같다. 어류 체내에서의 농축 정도와 BCF값은 IBP의 경우와 마찬가지로 12시간 이후에 정류상태에 도달하여 72시간동안 거의 일정하였다 (Fig. 5(A), Fig. 6(A)). BCF값은 12시간에서 72시간 사이에 고농도와 저농도에서 각각 8.72 (n=4)와 11.25 (n=4)로 조사되었다. Zebrafish 체내에서 methidathion의 배설속도상수를 구하기 위하여 행한 6, 12시간의 배설 실험 결과는 Fig. 5(B) 및 Fig. 6(B)와 같다. Methidathion의 배설속도상수는 고농도에서 0.40h⁻¹ 이었고, 반감기는 1.73시간으로 조사되었다. 저농도에서는 6시간이내에 배설되어 배설속도상수와 반감기를 구할 수 없었다. 어류체내에서 methidathion의 농도는 고농도에서 6시간 이후에는 0.18 $\mu\text{g/g}$ 이하로 떨어져 대부분 배설 되었다는 것을 알 수 있었다.

Piperophos의 96시간 LC₅₀ 농도가 5.0 mg/l 으로 조사되어 이 농도를 기준으로 1/100인 0.05 mg/l 과 1/1000인 0.005 mg/l 에서 6, 12, 24, 48 및 72시간 실험의 어류체내 농축정도, 실험수 중의 농도 및 BCF의 실험결과는 Table 7 및 8과 같다. Piperophos 0.05 mg/l 와 0.005 mg/l 에서 어류 체내에서의 농축 정도와 BCF값은 두 농도군에서 각각 12시간 이후에 정류상태에 도달하여 72시간동안 거의 일정하였다 (Fig. 7(A), Fig. 8(A)). BCF값도 12시간에서 72시간 사이에 고농도에서 34.30 (n=4)과 저농도에서 42.60 (n=4)으로 조사되었다. Zebrafish 체내에서 piperophos의 배설속도상수를 구하기 위하여 수행한

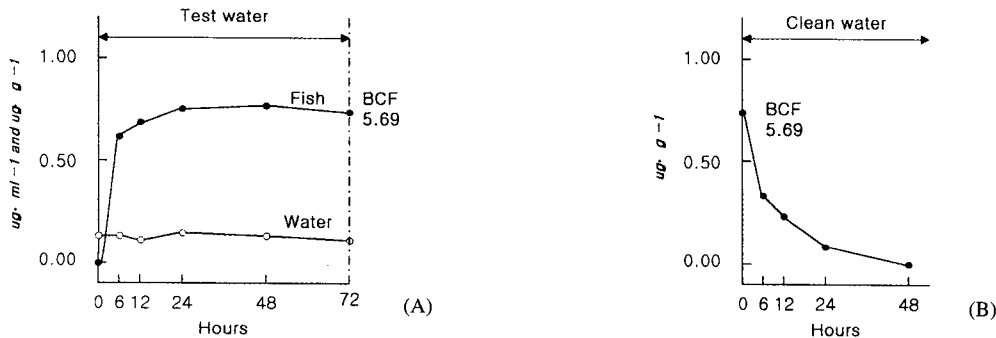


Fig. 3. Intake(A) and depuration(B) of high concentration IBP by zebrafish.

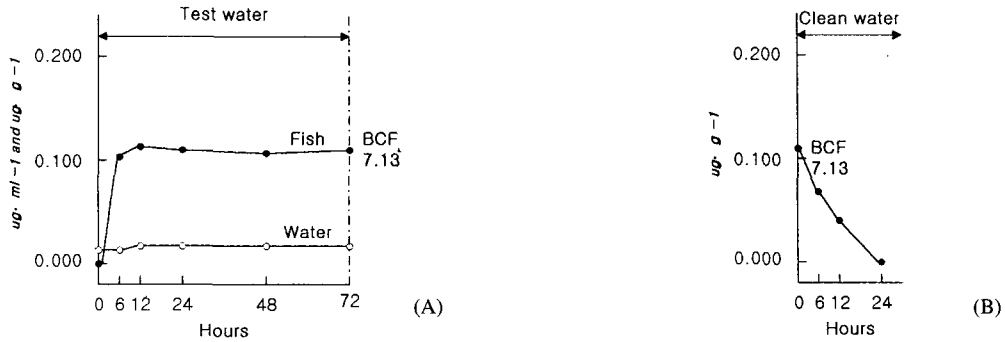


Fig. 4. Intake(A) and depuration(B) of low concentration IBP by zebrafish.

Table 5. High concentration test of methidathion in zebrafish, test water and calculated BCFs (mean ± S.E.)

Hours	Fish (μg/g)	Test water (μg/ml)	BCFs*
6	1.45 ± 0.009	0.22 ± 0.009	6.59 ± 0.07
12	1.85 ± 0.009	0.22 ± 0.009	8.41 ± 0.07
24	1.87 ± 0.009	0.21 ± 0.009	8.90 ± 0.06
48	1.93 ± 0.009	0.23 ± 0.009	8.39 ± 0.05
72	1.93 ± 0.009	0.21 ± 0.009	9.19 ± 0.06

* BCFs indicates 6, 12, 24, 48, 72-hour bioconcentration factor.
 Test concentration : 1/100 of 96hr LC₅₀(0.22 μg/ml)
 Each value represents mean ± S.E. of 3 experiments.

Table 6. Low concentration test of methidathion in zebrafish, test water and calculated BCFs (mean ± S.E.)

Hours	Fish (μg/g)	Test water (μg/ml)	BCFs*
6	0.20 ± 0.009	0.021 ± 0.001	9.52 ± 0.02
12	0.23 ± 0.009	0.021 ± 0.001	10.95 ± 0.03
24	0.24 ± 0.009	0.021 ± 0.001	11.42 ± 0.04
48	0.25 ± 0.009	0.022 ± 0.001	11.26 ± 0.03
72	0.25 ± 0.009	0.022 ± 0.001	11.36 ± 0.03

* BCFs indicates 6, 12, 24, 48, 72-hour bioconcentration factor.
 Test concentration : 1/100 of 96hr LC₅₀(0.022 μg/ml)
 Each value represents mean ± S.E. of 3 experiments.

6, 12, 24시간의 배설 실험 결과는 Fig. 7(B) 및 Fig. 8(B)와 같다. Piperophos의 배설속도상수는 고농도와 저농도에서 각각 0.15h⁻¹과 0.44h⁻¹이었고, 반감기는 4.62 및 1.58시간으로 조사되었다. 어류체내에서 piperophos의 농도는 고농도와 저농도에서 12시간 및 6시간 이후에는 0.26 μg/g 및 0.015 μg/g 이하로 떨어져 대부분 배설되었다는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과에서 IBP와 methidathion 및 piperophos는 zebrafish체내에 고농도와 저농도에서 모두 12시간 이내에 정류상태에 도달하여 더 이상의 축적

이 일어나지 않았다. Table 9는 실험농약의 BCF값, 배설속도상수, 분배계수, 수용성을 정리한 표이다. BCF값은 piperophos, methidathion, IBP 순서로 높았으며, 배설속도는 methidathion, piperophos, IBP 순으로 빨랐다. 농약의 환경내 동태와 관련된 중요한 물리화학적 성질인 분배계수와 수용성을 고려할 때 piperophos의 BCF값이 높은 이유는 분배계수가 크기 때문이라고 생각되며, IBP는 배설속도상수가 작음에도 불구하고 BCF값이 낮은 것은 실험 농약 중에서 수용성이 가장 크기 때문이라고 생각된다. 일반적

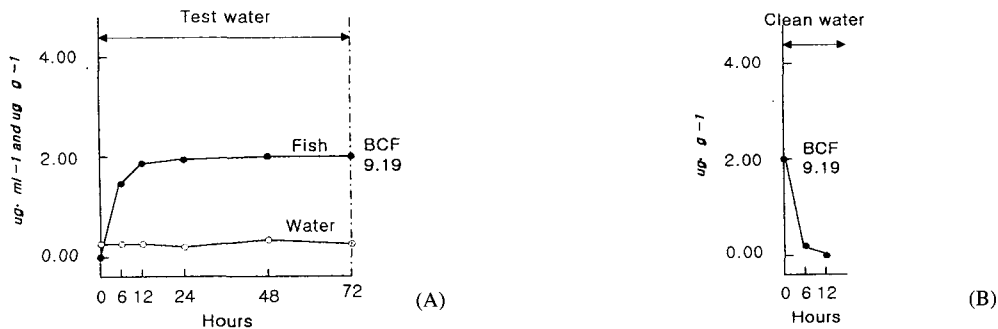


Fig. 5. Intake(A) and depuration(B) of high concentration methidathion by zebrafish.

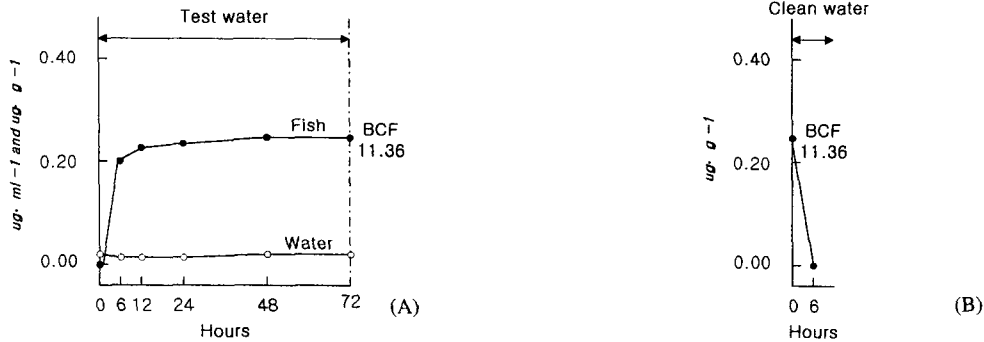


Fig. 6. Intake(A) and depuration(B) of low concentration methidathion by zebrafish.

Table 7. High concentration test of piperophos in zebrafish, test water and calculated BCFs

(mean ± S.E.)			
Hours	Fish (μg/g)	Test water (μg/ml)	BCFs*
6	1.21 ± 0.009	0.04 ± 0.009	30.26 ± 0.30
12	1.42 ± 0.009	0.04 ± 0.009	35.50 ± 0.67
24	1.50 ± 0.009	0.04 ± 0.009	37.50 ± 0.54
48	1.63 ± 0.009	0.05 ± 0.009	32.60 ± 0.62
72	1.58 ± 0.009	0.05 ± 0.009	31.60 ± 0.77

* BCFs indicates 6, 12, 24, 48, 72-hour bioconcentration factor.
 Test concentration : 1/100 of 96hr LC₅₀(0.05 μg/ml)
 Each value represents mean ± S.E. of 3 experiments.

Table 8. Low concentration test of piperophos in zebrafish, test water and calculated BCFs

(mean ± S.E.)			
Hours	Fish (μg/g)	Test water (μg/ml)	BCFs*
6	0.167 ± 0.001	0.004 ± 0.001	41.75 ± 0.51
12	0.204 ± 0.001	0.005 ± 0.001	40.80 ± 0.67
24	0.214 ± 0.001	0.005 ± 0.001	42.80 ± 0.49
48	0.219 ± 0.001	0.005 ± 0.001	43.80 ± 0.53
72	0.215 ± 0.001	0.005 ± 0.001	43.00 ± 0.58

* BCFs indicates 6, 12, 24, 48, 72-hour bioconcentration factor.
 Test concentration : 1/100 of 96hr LC₅₀(0.005 μg/ml)
 Each value represents mean ± S.E. of 3 experiments.

으로 생체내 지질친화성의 척도로 알려진 분배계수 (logPow)는 piperophos 4.30, IBP 3.21 및 methidathion 2.20이었다.²⁵⁻²⁷ Neely 등²⁸이 제안한 logBCF에 대한 logP_{ow}의 회귀식인 logBCF = 0.542logP_{ow} + 0.124에 따라 IBP, methidathion 및 piperophos의 logBCF를 예측하면 각각 1.86, 1.32, 2.45가 된다. 또한 Veith 등²⁹이 제안한 logBCF = 0.85logP_{ow} - 0.70으로 logBCF를 예측하면 IBP, methidathion 및 piperophos는 각각 2.20, 1.17, 2.96이 되고, Kanazawa¹⁴가 제안한 logBCF = (1.53

logPow) - 3.303을 사용하여 logPow로부터 logBCF를 예측하면 IBP, methidathion 및 piperophos가 각각 1.61, 0.06, 3.28이 된다. 또한 생체내 침투성의 척도로 알려진 수용성(logS_w)은 IBP, methidathion 및 piperophos가 각각 2.60, 2.30, 1.40이다.²⁵⁻²⁷ Kanazawa¹⁵가 제안한 수용성에 대한 회귀식인 logBCF = 4.68 - (0.59logS_w)으로부터 logBCF를 예측하면 IBP, methidathion 및 piperophos는 각각 3.15, 3.23, 3.85가 된다. 위의 보고자들이 분배계수나 수용성으로 부터 추정한 IBP, methidathion 및

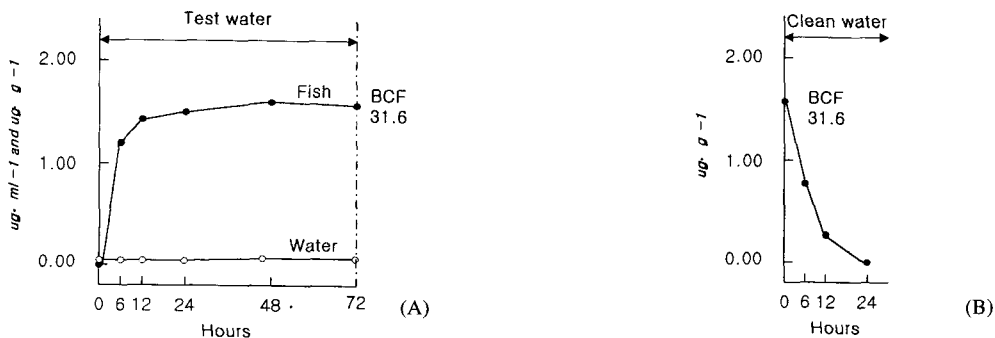


Fig. 7. Intake(A) and depuration(B) of high concentration piperophos by zebrafish.

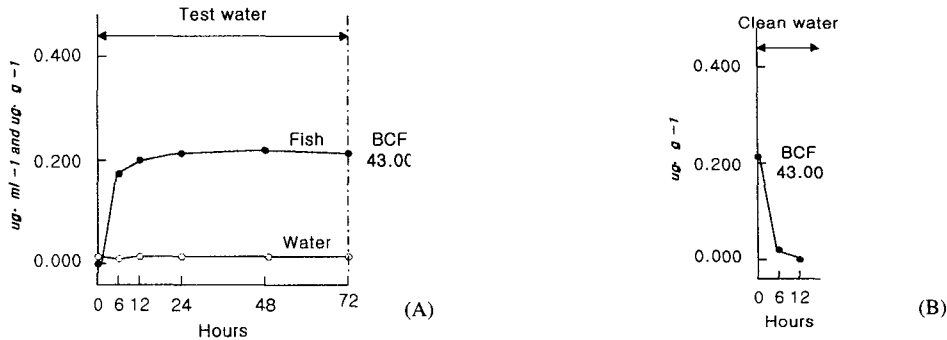


Fig. 8. Intake(A) and depuration(B) of low concentration piperophos by zebrafish.

Table 9. BCF and depuration rate constant and physicochemical properties of pesticides

	IBP	methidathion	piperophos
BCF(H)	5.31	8.72	34.30
(L)	7.30	11.25	42.60
K(h ⁻¹)(H)	0.09	0.40	0.15
(L)	0.08	-	0.44
log Pow [*]	3.21	2.20	4.30
log Sw [*]	2.60	2.30	1.40

(H) : high concentration : 96h-LC₅₀의 1/100,

(L) : low concentration : 96h-LC₅₀의 1/1000

K(h⁻¹) : depuration rate constant, Sw : water solubility

Pow : octanol-water partition coefficient

* Data were pesticide manual(Montgomery, 1993; Tomlin, 1995; Montgomery, 1996)

piperophos의 BCF는 본 연구에서 측정된 BCF와 많은 차이를 보였다. BCF에 영향을 미치는 인자에는 화학물질의 물-옥탄올 분배계수, 수용성, 극성, 이온상태, 분자량, 분자표면적 등이 있다.²⁹⁻³⁰⁾ 단순히 분배계수와 수용성만으로 BCF를 추정하기보다는 실제 BCF를 측정하는 것이 더 정확한 결과를 얻을수 있을 것으로 생각된다. Tsuda 등¹⁷⁾은 여러 실험어종을 사용하여 15종의 유기인계 농약의 BCF를 측정하였는데, 유기인계 농약들의 높은 이온특성, 높은 분자량 그리고 빠른 대사작용 등을 고려하지 않은 Pow에서 추정된 BCF값보다 실제 실험어종에서 측정된 BCF 값이 더 정확함을 보고하였다. Kanazawa¹⁵⁾는 topmouth gudgeon을 이용하여 IBP를 포함한 15종의 살충제에 대한 단기간 BCF를 측정하여, 분배계수와 수용성 및 LC₅₀간의 상관성을 보고하였다. 그가 5~20 µg/l의 실험농도에서 14일간 실험을 수행하여 얻은 IBP의 BCF 값은 본실험 보다 다소 낮게 나타났다. 또한, Tsuda¹⁷⁾는 killfish를 실험 어종으로 하여 flow through system 방법으로 실험농도 3.5 µg/l

에서 72시간 실험을 수행한 결과 IBP의 BCF값이 5.1(n=5)로 본실험 결과와 유사하였다. Serrano³²⁾는 Mediterranean mussel을 이용하여 methidathion의 BCF를 측정하였다. 실험농도 1 µg/ml에서 35일간 실험을 수행한 logBCF의 값이 2.3으로 본 실험보다 18배정도 높게 나타났다. 이와 같은 BCF값의 차이는 실험어종간의 지방함량, 배설속도 및 대사활성 정도의 차이에 기인한다고 생각이 된다. Cairns 등³³⁾은 실험 어종은 물론, 어류 체내의 지방함량, 대사활성 정도 등이 BCF값과 상당히 깊은 관련성이 있을 것으로 추측하였다. Seiichi³⁴⁾는 shellfish 3종을 이용하여 BPMC를 포함한 17종의 농약에 대한 BCF를 측정하고, 실험어종간의 차이를 생체변환율(biotransformation rate)의 차이에 기인한다고 보고하였다.

또한, 민 등³⁵⁾도 3가지 실험어종을 사용하여 카르바메이트계 농약 3종과 유기염소계인 chlorothalonil의 BCF값을 구하고 실험어종간의 BCF값 차이를 지방함량과 배설속도상수가 다르기 때문이라고 하였다.

IV. 결 론

Zebrafish를 실험어류로 하여, flow through fish test 방법으로 IBP, methidathion 및 piperophos의 BCF와 배설속도상수를 측정하였다. 실험농약의 96시간 LC₅₀는 IBP는 14.0 mg/l, methidathion는 22.0 mg/l, piperophos는 5.0 mg/l로 조사되었다. 실험농약의 LC₅₀의 1/100인 (IBP 0.14 mg/l, methidathion 0.22 mg/l, piperophos 0.05 mg/l)고농도와 LC₅₀의 1/1000인 (IBP 0.014 mg/l, methidathion 0.022 mg/l, piperophos 0.005 mg/l)저농도에서 어류 체내의 농축은 두 농도군에서 모두 12시간 이후에 정류상태에 도달하여 72시간동안 거의 일정하였고, BCF

값도 12시간에서 72시간 사이에 IBP는 고농도 5.31(n=4)과 저농도 7.30(n=4)이었고, methidathion은 고농도와 저농도에서 8.72(n=4)와 11.25(n=4)이었고, piperophos의 경우는 고농도 34.30(n=4)과 저농도 42.60(n=4)으로 나타났다. 배설속도상수는 IBP는 고농도와 저농도에서 각각 $0.09h^{-1}$ 와 $0.08h^{-1}$ 이었고, piperophos의 경우는 고농도와 저농도에서 각각 $0.15h^{-1}$ 와 $0.44h^{-1}$ 이었다. Methidathion의 경우는 고농도에서 $0.40h^{-1}$ 이었고, 저농도에서는 어류체내에서 6시간이내에 배설되어서 배설속도상수를 구할 수 없었다. IBP와 piperophos의 반감기는 고농도와 저농도에서 각각 7.70와 8.66시간 및 4.62와 1.58시간으로 조사되었다. Methidathion은 고농도에서 반감기는 1.73시간이었다. IBP는 고농도와 저농도에서 12시간 이후에는 $0.243 \mu g/g$ 및 $0.040 \mu g/g$ 이하로, methidathion은 고농도에서 6시간 이후에는 $0.18 \mu g/g$ 이하로, piperophos는 고농도와 저농도에서 각각 12시간과 6시간 이후에는 $0.26 \mu g/g$ 및 $0.015 \mu g/g$ 이하로 떨어져 대부분 배설된다는 것을 알 수 있었다. Piperophos는 octanol-water 분배계수가 크기 때문에 BCF값이 실험농약 중에서 가장 높게 나타났으나 배설속도가 빨라 실제 환경 중에서 생물농축효과는 그다지 크지 않을 것으로 생각한다. Methidathion의 경우 분배계수가 가장 낮지만 배설속도는 실험농약 중에서 가장 빨라 실제 환경에서 생물농축은 역시 적을 것으로 예상된다. IBP는 배설속도는 느리나, 수용성이 가장 커서 실제 환경에서의 BCF값은 piperophos, methidathion 보다 현저히 낮을 것으로 생각되며 본실험에서도 낮게 나타났다.

참고문헌

- 1) 이서래, 이미경 : 한국인에 의한 유기인계 농약의 식이섭취량 추정. 한국환경농학회지, **13**(1), 66-75, 1994.
- 2) 이서래 : 식품의 오염과 위해 평가. 한국환경농학회지, **12**(3), 325-333, 1993.
- 3) 농약공업협회 : 99 농약년보. 1999.
- 4) 김성환, 홍종욱 : 개정 농약학. 향문사, 1997.
- 5) Serrano, R., Lopez, F. J., Hernandez, F. and Pena, J. B. : Bioconcentration and depuration of chlorpyrifos in the marine Mollusc *Mytilus edulis*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **33**, 47-52, 1997.
- 6) Varó, I., Serrano, R., Navarro, C., Lopez, F. J. and Amat, F. : Acute lethal toxicity of organophosphorus pesticide chlorpyrifos to different species and strains of *Artemia*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **61**, 788-785, 1998.
- 7) Donald, W. S. : Organophosphorous and carbamate pesticides, *CRS, Inc. USA*, 275-300, 1995
- 8) Pereira, W. E. and Hostettler, F. D. : Nonpoint source contamination of the Mississippi river and its tributaries by herbicides. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 1542, 1993.
- 9) Bartilk, M. and Piskac, A. : In General part. Elsevier Scientigic Publ. Co., N.Y., *Veterinary toxicology*, 21-24, 1981.
- 10) 김 균, 김용화 : 화학물질의 환경화학적 시험과 환경독성학적 평가. 화학과 공업의 진보, **30**(4) 244-255, 1990.
- 11) Korte, F., Freitag, D., Geyer, H., Viswanathan, R., Kotzias, D., Attar, A. and Klein, W. : Ecotoxicological profile analysis. *Ecotoxicology and Environmental safety*, **6**, 60-81, 1982.
- 12) Oliver, B. G. and Niimi, A. J. : Bioconcentration of chlorobenzene from water by rainbow trout., Correlations with partition coefficients and environmental residues. *Environ. Sci. Technol.*, **17**(5), 287-291, 1983.
- 13) Jorgensen, S. E. : Modelling in ecotoxicology, *Elsevier, Netherlands*, 69-79, 1990.
- 14) Barron, M. G. : Bioaccumulation and bioconcentration in aquatic organism, *CRC Press, USA*, 652-666, 1995.
- 15) Kanazawa, J. : Measurement of the bioconcentration factors of pesticides by freshwater fish and their correlation with physicochemical properties or acute toxicities. *Pestic. Sci.*, **12**, 417-424, 1981.
- 16) Tsuda, T., Nakanishi, H. and Aoki, S. : Accumulation and excretion of diazinon, fenthion and fenitrothion by killfish : comparison of individual and mixed pesticides. *Wat. Res.*, **29**(2), 455-458, 1995.
- 17) Tsuda, T., Aoki, S., Inoue, T. and Kojima, M. : Accumulation of IBP, parathion and EPN by killfish : comparison of individual and mixed pesticides. *Comp. Biochem. Physiol.*, **111C**, 19-22, 1995.

- 18) Tsuda, T., Kojima, M., Harada, H., Nakajima, A. and Aoki, S. : Relationships of bioconcentration factors of organophosphate pesticides among species of fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **116**(3), 213-218, 1997.
- 19) 민경진, 전봉식, 차춘근, 김근배, 조영주 : *Brachydanio rerio*와 *Xiphophorus hellieri*를 이용한 Dichlorvos, Methidathion 및 Phosalone의 단기 간 생물농축계수의 측정. 한국환경위생학회지, **24**(3) 99-106, 1998.
- 20) 민경진, 차춘근 : 일부 농약의 생물농축계수의 측정. 한국식품위생안전성학회지, **14**(2) 142-152, 1999.
- 21) OECD : OECD Guideline 305, *OECD*, 1998.
- 22) OECD : OECD Guideline 203, *OECD*, 1998.
- 23) 일본약학회편 : 위생시험법주해. 금원출판사, 75-77, 430-442, 1985.
- 24) PAM : Pesticide analytical manual, USFDA, 1991.
- 25) Montgomery, J. H. : Agrochemicals Desk Reference Environmental Data, *Baca Raton, LEWIS Publishers*, 1993.
- 26) Montgomery, J. H. : Groundwater chemicals, 2th ed., *Baca Raton, LEWIS Publishers*, 1996.
- 27) Tomin, C. : The Pesticide Manual. 10th. *London, British crop protection council*, 1995.
- 28) Neely, W. B., Branson, D. R., and Blau, G. E. : The use of the partiton coefficient to measure the bioconcentration potential of organic chemicals in fish. *Environ. Sci. Technol.* **8**(13), 1113-1115, 1974.
- 29) Veith, G. D., DeFoe, D. L., and Bergstedt, B. V. : Measuring and estimating the bioconcentration factor of chemicals in fish. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **36**, 1040-1048, 1979.
- 30) Herbert, H. O. : A review of the correlation between physicochemical properties and bioaccumulation. *Pestic. Sci.* **17**, 265-276, 1986.
- 31) Barron, M. G. : Bioaccumulation. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 1612-1618, 1990.
- 32) Serrano, R., Hernandez, F., Lopez, F. J. and Pena, J. B. : Bioconcentration of chlorpyrifos, chlorfenvinphos, and methidathion in *Mytilus galloprovincialis*, *Bull. Environ. contam. Toxicol.*, **59**, 968-975, 1997.
- 33) Cairns J. and Mount. D. I. : Aquatic toxicology. *Environ. Sci. Tech.*, **24**(2), 154-161, 1990.
- 34) Seiichi, U. : Uptake and depuration kinetics and BCFS of several pesticides in three species of shellfish. *Aquatic Toxicology*, **39**, 23-43, 1997.
- 35) 민경진, 전봉식, 차춘근, 김근배 : 단기간 생물농축계수의 측정에 있어서 실험어류의 종에 따른 차이. 한국환경위생학회지, **24**(1) 24-31, 1998.