한국환경위생학회지, 제21권 제3호 (1995)
Kor. J. Env. Hlth. Soc., Vol. 21, No. 3, pp. 38~47 (1995)

Carassius auratus(goldfish)를 利用한 Chlorothalonil의 短期間 生物濃縮係數와 分配係數의 測定

車春根 · 全奉植 · 閔庚鎭
啓明大學校 自然科學大學 公衆保健學科

Determination of Short-term Bioconcentration Factor and Partition Coefficient on Chlorothalonil in *Carassius auratus*(goldfish)

Chun-Geun Cha, Bong-Sik Jeon, Kyung-Jin Min
Department of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University

The Bioconcentration factor (BCF) is used as an important criterion in the risk assessment of environmental contaminants. Also it can be used as indicator of biomagnification of environmentally hazardous chemicals through food-chain as well as a tool for ranking the bioconcentration potential of the chemicals in the environment.

This paper reports the measured BCF value on Chlorothalonil in *Carassius auratus*(goldfish), under steady state, and examined correlation between the BCF value and the partition coefficient or acute toxicity or physicochemical properties.

Carassius auratus(goldfish) was chosen as test organism and test period were 3-day, 5-day. Experimental concentrations were 0.005, 0.01 and 0.05 ppm. Chlorothalonil in fish tissue and in test water were extracted with n-hexane and acetonitrile. GC-ECD was used to detecting and quantitating of Chlorothalonil. Partition coefficient was determined by stir-flask method. LC_{50} was determined on Chlorothalonil, Carbaryl and BPMC.

The obtained results were as follows.

1. It was possible to determine short term BCFs of Chlorothalonil through relatively simple procedure in environmental concentrations.
2. BF_3 of Chlorothalonil in concentration of 0.005, 0.01 and 0.05 ppm were 2.1866± 0.23446, 3.5269± 0.23517, 10.2045± 0.18053 and BCF_5 were 6.6543± 0.55257, 6.9774± 0.02500, 23.4576± 2.06884, respectively.
3. Chlorothalonil concentration in fish extract and BCFs of Chlorothalonil were increased as increasing test concentration and prolonging test period.
4. Fate of test-water concentration on Chlorothalonil was greater than that of control-water concentration. It is considered that greater fate of test-water concentration on Chlorothalonil is due to hydrolyzing nitrile group under the mild condition and substituting chloro group by some aromatic compounds in test water.
5. Determined logP of Chlorothalonil was 2.80. And determined LC_{50} of Chlorothalonil in time of 24, 48, 72 and 96 hr were 0.1684, 0.1402, 0.1400, 0.1352(mg/*l*) respectively. And LC_{50} of Carbaryl in above times were 19.918, 18.635, 18.466, 18.12(mg/*l*) respectively. LC_{50} of BPMC were 10.248, 9.166, 9.087, 8.921(mg/*l*) respectively.
6. It is suggested that the BCF of Carbamates depend on partition coefficients. But BCF of Chlorothalonil, organochlorine pesticide, would be strongly influenced by steric, electronic effect of substituents than partition coefficient.

Keywords : Bioconcentration factor(BCF), partition coefficient(logP), Chlorothalonil.

I. 序 論

BCF와 關聯된 硏究는 많이 報告되고 있다. 즉, Metcalf 等[1]은 水生 生態系를 代表하는 模擬環境系를 이용하여 同位元素 標識法으로 DDT를 비롯한 4種의 有機鹽素系 農藥의 代謝産物과 生物擴散(Biomagnification) 및 分解率 等의 實驗을 하였고, Neely 等[2] Leo 等[3]과 Hansch 等[4]이 提案한 옥탄올-물 分配係數 값을 利用하여 四鹽化炭素를 비롯한 數種의 有機化合物에 對한 BCF값을 豫測하고, 이 값이 rainbow trout를 利用하여 測定한 實驗값과 一致함을 밝혔다. Isensee와 Jones[5]는 模擬 水生 生態系를 利用하여 除草劑인 TCDD의 生物濃縮實驗을 同位元素 標識法으로 測定한 바 있다. Vieth 等[6]은 28種의 有機化合物에 對하여 Bluegill sunfish를 利用하여 그들의 BCF를 測定하고 分配係數와 水溶性等을 함께 測定하여 이들의 相關性을 報告한 바 있다. Kanazawa[7]는 Topmouth gudgen을 利用하여 carbaryl과 BPMC를 包含한 15種의 殺蟲劑에 對한 短期間 BCF를 測定하고 分配係數와 水溶性 및 LC_{50}를 함께 測定하여 그들의 相關性을 報告한 바 있다. 또한, Korte 等[8-9]은 1978年과 1982年에 複雜한 模擬環境生態系 實驗을 좀 더 單純化한 生態毒性學的 實驗法을 開發하여 carbaryl을 包含한 15種의 有機化合物에 對하여 golden orfes를 利用하여 同位元素 標識法으로 BCF를 測定한 바 있다. 그리고, Oliver와 Niimi[10]는 rainbow trout를 利用하여 chlorobenzen의 BCF를 測定하고, 分配係數와 環境에 殘留하는 Chlorobenzene의 濃度와의 相關性을 報告하였다. 같은 해 Schimmel 等[11]은 methyl parathion을 包含한 6種의 農藥에 對하여 急性毒性, 옥탄올-물 分配係數, 水溶性 等을 測定하고, 아울러 GC-ECD를 使用하여 eastern oyster의 長期間 BCF를 測定한 바 있다. 또한, Shaw와 Connell[12]은 PCB의 옥탄올-물 分配係數를 測定하고, juvenile sea mullet를 이용하여 GC-ECD로 PCB의 BCF를 測定하여 옥탄올-물 分配係數와 BCF, 그리고 PCB의 鹽素 置換패턴에 影響을 받는 立體效果係數를 計算하여 그들의 相關性을 調査한 바 있다. Swackhamer와 Hites[13]는 lake trout와 white fish를 利用하여 有機鹽素系 化合物들의 BCF를 測定하고, 魚種에 따른 脂肪含量의 差異와 옥탄올-물 分配係數 및 BCF와의 相關性을 調査한 바 있다. de Wolf 等[14]은 guppy를 利用하여 芳香族 아민 系統의 鹽素化合物에 對하여 BCF를 測定하고, 옥탄올-물 分配係數에 根據하여 BCF를 推定한 값으로부터 그 偏差를 生理化學的 代謝率에 依存하는 生體變換率(Biotransformation rate)의 影響으로 說明한 바 있다.

또한, 化學物質의 毒性과 分配係數, 分配係數와 BCF의 相關關係로부터 물고기 體內에서의 化學物質의 濃度를 豫測할 수 있는 QSAR, 卽 定量的 構造活性相關關係式의 理論的 모델을 提示한 많은 報告가 있다.[15-18]

그러나, 先進國과는 달리 우리나라에서 有害化學物質인 農藥을 利用한 BCF 實驗은 閔 等[20]에 의해 唯一하게 報告된 바 있다. 즉, 比較的 價格이 低廉하고, 生物濃縮程度가 여러가지 魚種의 中間水準程度인 *Carassius auratus*(goldfish)를 利用하여 carbaryl과 BPMC의 短期間 BCF를 測定하였다. 또한, 實驗方法에 있어서도 比較的 簡單한 抽出操作과 精製過程을 거쳐, GC-ECD를 使用하여 定量함으로써 우리나라 實情에 맞는 實驗方法을 찾고자 하였다. 이어, 閔[21]은 前述한 農藥에 對하여 分配係數를 測定하고, 環境濃度 條件에서 BCF를 測定하고 그들의 相關性을 分析하는 等, 實際 環境에 適用할 수 있는 實驗結果를 報告한 바 있다.

한편, 農藥의 生産量은 現在 全 世界的으로 2백여만톤에 이르고 있으며 우리나라도 1992年 現在 한해의 農藥 生産量이 2만 9천톤에 이르고 있다.[22] 現在, 우리나라에서는 BHC, DDT, Eldrin, Heptachlor 等의 有機鹽素系 農藥의 使用이 禁止되고 있다.[23]

그러나, 有機鹽素系 農藥인 Chlorothalonil은 사과, 감귤, 포도, 복숭아, 땅콩, 양파, 담배 等 多樣한 果樹와 밭 作物에 주로 탄저병 豫防을 위한 殺菌劑로 使用되고 있다.[24] 이는 1963년에 開發[25]되어 國內에서만 1992年 한해, 年間 成分量으로 357톤이 使用[26]되었지만 BCF를 測定한 報告는 찾아보기가 힘들어 이에 對한 硏究의 必要性이 크다고 생각되었다.

따라서, 本 硏究는 閔의 方法[21]에 따라 *Carassius auratus*(goldfish)를 利用하여 chlorothalonil의 短期間 BCF를, 比較的 簡單한 實驗方法으로 測定하고자 하며, 아울러 一般的으로 BCF와 相關性이 큰 것으로 알려진 分配係數와 LC_{50}를 함께 測定하고, 閔[21]과 閔 等[20]에 의해 報告된 BPMC와 carbaryl의 實驗값과의 比較를 통하여 系列이 다른 化合物에 있어서 BCF와 關聯된 變數들, 卽 分配係數, LC_{50}, 各 農藥의 分子水準에서의 分子屈折率, 電子效果 等이 서로 어떤 相關性이 있는가를 밝히는데 目的을 두고 遂行되었다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗動物 및 材料

1) 實驗動物

實驗動物은 市中에 市販되는 *Carassius auratus* (goldfish), 길이 5~6 cm, 무게 4~5 g인 것을 購入하여 實驗室 條件에서 1個月間 適應시킨 後, 5마리를 1群으로 實驗하였다. 實驗溫度는 飼育과 實驗 全期間동안 20±1℃를 維持하고 飼育期間에는 市販飼料와 空氣를 充分히 供給하였다.

2) 機器 및 試藥

實驗에 使用한 機器로는 Gas Chromatograph(GC-14A, Shimadzu), Rotary Vacuum Evaporator(Rikakikai. NE-IS), Blender(Rikakikai. DC-2RT) 및 實驗室에서 使用하는 一般機器를 使用하였다. 使用된 試藥으로는 trifluoroacetic anhydride(Janssen), selite545, ethyl acetate, pyridine, anhydrous sodium sulfate, acetonitrile, sodium chloride, n-hexane, ethyl ether 等으로 HPLC用(J. T. Baker) 혹은 分析用 特級試藥을 使用하였다. 脫 이온水로는 MILLI-Q-PLUS(Millipore) 純粹製造裝置를 利用하여 實驗時 製造하여 使用하였다.

抽出液 中의 水分을 除去하기 위하여 使用되는 anhydrous sodium sulfate (Na_2SO_4)는 약 300℃의 dry oven에서 4時間 加熱하여 使用하였으며, selite 545는 약 130℃에서 24時間 乾燥시켜 desiccator內에서 冷却시켜 實驗에 使用하였다.

3) 實驗農藥

實驗에 使用한 農藥은 現在 國內에서 市販되는 有機鹽素系 農藥인 chlorothalonil [(Tetrachloroisophthalonitrile, (株)慶農]과 carbamate系 農藥인 carbaryl [(NAC, 1-Naphthyl methyl carbamate, (株)慶農)]과 BPM[(2-sec-Butylphenil methyl carbamate, (株)慶農)]를 再結晶 또는 減壓蒸留하여 使用하였다.

2. 實驗方法

1) Chlorothalonil의 生物濃縮係數(BCF)의 測定

(1) 標準溶液의 製造 및 檢量線의 作成[27]

Chlorothalonil을 ethyl acetate 10 ml에 녹여 100 μg/ml되게 stock solution을 調製한 後, 各 段階別로 稀釋하여 0.02, 0.05, 0.01, 0.05, 0.07, 0.10, 0.20 mg/l가 되게 標準溶液을 調製하였다. 調製된 各 濃度別 標準溶液을 1 μl씩 GC에 注入하여 peak 面積法에 의하여 Chlorothalonil의 檢量線을 作成하였다. BCF 測定을 위한 GC의 條件은 Table 1과 같다. 各 檢量線은 GC-14A에 附着된 CR-6A Recorder에 內藏된 BASIC applied program을 利用하여 多段階 標準샘플의 分析을 통한 直線檢量線인 least-square method를 使用하여 定量을 行하였다.

(2) 금붕어의 實驗條件 및 BCF의 計算

1回 實驗時 금붕어 5마리를 1群으로 使用하였고, 같은 濃度, 같은 期間의 實驗을 5回씩 反復하였다. 全 實驗期間 中 먹이를 주지 않았으며, 空氣의 供給도 두껑의 덮는 틈을 調節하여 最少量만 供給하였다. 實驗에 使用한 水槽는 한변이 25×25×25

Table 1. GC conditions of determination of BCF and P_{ow}

Item	BCF	P_{ow}*
Instrument	Shimadzu GC-14A	Shimadzu GC-14A
Column	Gaschrome Q (60~80 mesh)	Gaschrome Q (60~80 mesh)
	1.0% Silicon OV-17	1.0% Silicon OV-17
	SUS column	SUS column
	Length 2 m	Length 2 m
	Diameter 1/8 inch	Diameter 1/8 inch
Temperature	Column temp. 180℃	Column temp. 180℃
	Injection temp. 220℃	Detector temp. 220℃
	Detector temp. 250℃	Detector temp. 250℃
Carrier gas	N_2, 60 ml/min	N_2, 60 ml/min
Injection volume	1 μl	2 μl
Type of detector	^{63}Ni-ECD	FID
Range	10^1	10^1
Current	0.5 nA	-
Recorder	CR-6A	CR-6A
Calibration program	BASIC(Applied program)	BASIC(Applied program)

* P_{ow} denotes experimentally determined partition coefficient in octanol-water system.

Table 2. Condition of experimental water used for BCF test

Parameter	Range
Water Temperature (℃)	20± 1
pH	6.0～7.0
Total Hardness (mg/*l*)	50～60
DO (mg/*l*)	6.0～7.0
Chloride (mg/*l*)	18.0～20.0

cm인 정육면체 유리 水槽로 容量은 15 *l*였다. 實驗濃度는 各各 0.005, 0.01, 0.05 ppm으로 實驗期間은 3日, 5日로 하였다. 實驗水는 蒸留水로 1 mg/*l* 濃度로 標準液을 調製한 後, 各 濃度別로 물을 加하여 全量 10 *l*되게 하였다. 實驗水 條件은 Table 2와 같다. 短期間 BCF의 測定을 위해서는 實驗期間이 짧을 수록, 排出率(depuration rate), 代謝率, 分解率, 揮發率 等과 같이, 實驗魚種에 對한 吸收率에 影響을 줄 수 있는 要因을 피할 수 있는 利点이 있어 實驗期間을 3日과 5日로 制限하였다.

Chlorothalonil의 BCF값은 3日을 BCF_3, 5日을 BCF_5로 나타내었고, BCF의 計算은 아래 公式에 따라 算出하였다.[9-10,28]

$$BCF = \frac{\text{Chlorothalonil concentration in fish (μg/g)}}{\text{Chlorothalonil concentration in water (μg/ml)}}$$

(3) 금붕어에서의 Chlorothalonil의 抽出 및 定量[29]

試料 약 20 g을 細切 磨碎한 後 acetonitril 45 m*l*, selite 545 약 2 g을 넣어 3～5분간 攪拌한 後, selite 545를 약 5 mm 두께로 입힌 吸引濾過器로 濾過하였다. 濾過板上의 殘渣를 다시 비이커에 옮겨서 acetonitrile 45 m*l*를 加하여 混和한 後, 같은 方法으로 다시 濾過하였다. 5% NaCl 溶液 50 m*l* 및 n-hexane 45 m*l*을 넣은 分液漏斗에 acetonitrile 抽出液을 加하여 1分間 세게 흔든 後 水層은 n-hexane 45 m*l*로 再抽出하였다. 抽出液을 合하여 蒸溜水 40 m*l*로 2回 洗滌한 後 無水 Na_2SO_4 column(內徑 20 mm, 높이 50 mm)을 通過시켜 脫水하였다. 다시 column을 n-Hexane 약 10 m*l*로 씻어낸 後 이것을 35℃에서 약 0.5 m*l*되게 濃縮시킨 後 마지막 最終液은 窒素개스로 溜去시켰다. 濃縮殘渣를 ethyl acetate 2 m*l*에 녹여 檢量線과 같은 方法으로 GC로 測定하였다.

(4) 實驗水의 抽出 및 定量

금붕어 實驗을 行한 實驗水 100 m*l*를 n-hexane : ethyl ether(4 : 1) 50 m*l*로 2回 抽出하고 抽出液을 無水 Na_2SO_4 column(內徑 20 mm, 높이 50 mm)을 通過시켜 脫水한 後 n-hexane 약 10 m*l*로 씻어낸 後 이것을 35℃에서 약 0.5 m*l*되게 濃縮시킨 後 마지막 最終液 窒素개수로 溜去시켰다. 濃縮殘渣를 ethyl acetate로 適當히 稀釋하여 檢量線과 같은 方法으로 GC로 測定하였다.

2) chlorothalonil의 分配係數의 測定[30]

(1) 標準溶液의 製造 및 檢量線의 作成

Chlorothalonil을 ethyl acetate에 녹여 20 mg/m*l*되게 하였다. 이 標準溶液은 各各 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 m*l*를 vial에 取하고 ethyl acetate를 加하여 全量이 2 m*l*되게 하였다. 調製된 試料溶液을 2 μ*l*씩 GC에 注入하여 peak 面積法에 의하여 chlorothalonil의 檢量線을 作成하였다. 分配係數의 測定을 위한 GC의 條件은 Table 1과 같다.

(2) 實驗條件 및 分配係數의 計算

Chlorothalonil을 0.1 M 濃度로 各各 octanol 20, 30 m*l*에 녹인 三角플라스크에 一定比의 脫이온水(980, 300 m*l*)를 加하여 36時間 攪拌한 後 24時間 放置하여 octanol層과 水層을 各各 分取하여 分析을 行하였다. 實驗時 溫度는 25± 1℃를 維持하며 各 實驗을 3回 反復하여 行하였다.

Chlorothalonil의 分配係數의 計算은 아래 公式에 따라 算出하였다.

$$P_{ow} = \frac{\text{Concentration of chemical in n-octanol saturated with water}}{\text{Concentration of chemical in water saturated with n-octanol}}$$

(3) Octanol과 水層에서 Chlorothalonil의 抽出 및 定量

Octanol層의 溶液 1 m*l*를 피펫으로 取하여 ethyl actate 1 m*l*로 稀釋하여 檢量線과 같은 方法으로 GC로 測定하였다. 水層은 水溶液 250 m*l*를 取하여 n-hexane : ether(4 : 1) 50 m*l*로 3回 抽出한 後 無水 Na_2SO_4 colum(內徑 20 mm, 높이 50 mm)을 通過시켜 脫水한 後 n-hexane 약 10 m*l*로 column을 洗滌하였다. 洗滌液과 抽出液을 合하여 35℃에서 약 0.5 m*l*되게 濃縮시킨 後 마지막 最終液은 窒素개스로 溜去시켰다. 濃縮殘渣를 ethyl acetate 2 m*l*에 녹여 GC로 測定하였다.

3) 急性毒性實驗(LC_{50})

Chlorothalonil, carbaryl, BPMC의 24, 48, 72, 96時間의 半致死濃度를 APHA, AWWA, WPCF가 共同으로 出刊한 Standard method[31]와 農藥殘留性試驗의 基準과 方法[32]에 依據하여 實驗하였다. 豫備實驗을 통해 各 化合物에 對한 適切한 濃度를 設

定하였으며, 本 實驗에서 各 8個의 濃度를 選定하여 反復實驗을 行하였다. 個體의 死亡은 금붕어를 건드려서 움직이지 않는 狀態로 正義하였으며, 死亡個體數는 모든 農藥에 對해 農藥處理 後 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96時間에 걸쳐 實施하였으며 死亡한 금붕어는 除去하였다. 實驗에 使用한 實驗水의 條件은 Table 2와 같으며, 實驗水는 48時間 後에 交換하여 化合物 外의 다른 要因에 의한 毒性을 排除하였다.

LC_{50}값을 SAS program을 利用하여 log-scale값의 農藥濃度와 Probit-scale의 死亡個體數 間의 回歸式으로부터 50% 致死 濃度값을 求하였으며 回歸모델의 適正性을 檢定하였다.

III. 結果 및 考察

1. GC 成績

標準溶液에서의 chlorothalonil의 GC chromatogram은 Fig. 1(A)와 같이 머무름時間은 약 10分이었고, 금붕어의 初期狀態의 抽出物에 對한 chromatogram과 實驗에 使用된 實驗水의 chromatogram에서는 chlorothalonil의 peak가 나타나지 않았다.

Chlorothalonil의 實驗에서 금붕어의 抽出物(Fig. 1(B)), 實驗水 (test water), 對照實驗水(control water)의 GC 成績은 標準溶液의 GC와 같이 머무름時間 약 10分에서 그 peak를 찾아 볼 수 있었다.

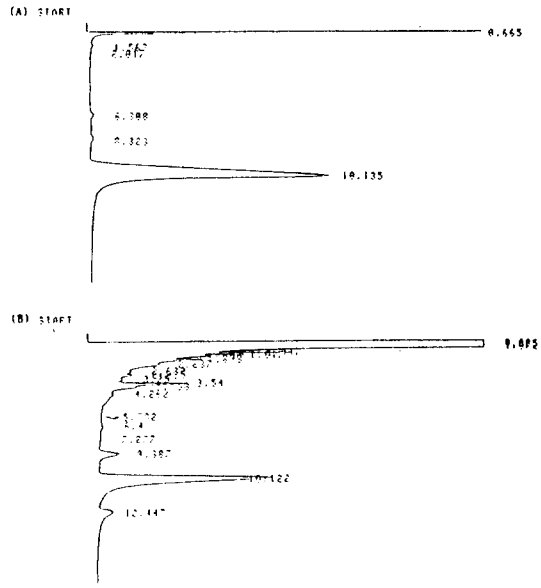

Fig. 1. GC-ECD chromatogram of chlorothalonil.
(A) Chlorothalonil standard solution.
(B) Fish tissue extract tested with chlorothalonil.

2. 實驗條件에 따른 BCF의 成績

Chlorothalonil의 3日 實驗에서 금붕어 體內의 濃縮되는 程度와 實驗水, BCF_3의 成績은 Table 3과 같다. Chlorothalonil의 濃度가 增加할 수록 금붕어 體內에서의 濃縮程度는 增加하였으며, BCF_3도 增加하였다. BCF_3가 增加하는 理由는 금붕어 體內에 濃縮되는 chlorothalonil의 量이 實驗水에 殘留하는 Chlorothalonil의 量보다 많기 때문이며, 實驗水의 濃度는 對照水에 비해 매우 낮아짐을 알 수 있다.

Table 4는 Chlorothalonil의 5日 實驗成績을 整理한 것이다. BCF_3와 같은 傾向으로 금붕어 體內에서의 濃縮程度는 Chlorothalonil의 濃度가 增加할 수록 增加하고 BCF_5도 增加하였다.

5日 實驗群이 3日 實驗群보다 금붕어 體內에서의 濃縮程度와 BCF값이 약 2배 程度 높게 나타났다.

實驗水의 濃度는 對照水에 비해 殘留하는 chlorothalonil의 濃度가 매우 낮아짐을 알 수 있다. 이것은 Fig. 2의 各 濃度別, 各 期間別 實驗水의 濃度變化에서 보는 바와 같이 實驗濃度가 높을수록 實驗水의 濃度變化가 크며 5日 實驗水의 濃度가 3日 實驗水의

Table 3. Concentration of Chlorothalonil in fish, test water, control water and calculated BCF_3

(Mean± S.E.)

Groups spiked conc. (ppm)	Fish (μg/g)	Test water (μg/ml)	Control water (μg/ml)	BCF_3
0.005	0.0053± 0.00044	0.0024± 0.00007	0.0045± 0.00004	2.1866± 0.23446
0.01	0.0101+ 0.00049	0.0029± 0.00005	0.0071± 0.00008	3.5269± 0.23517
0.05	0.0372± 0.00036	0.0037± 0.00003	0.0423± 0.00029	10.2045± 0.18053

* No chemicals were found in control fish group.
* Each value represents mean± S.E. of 5 experiments.
* BCF_3 indicates 3-day bioconcentration factor.

Table 4. Concentration of chlorothalonil in in fish, test water, control water and calculated BCF_5

(Mean± S.E.)

Groups spiked conc. (ppm)	Fish (μg/g)	Test water (μg/ml)	Control water (μg/ml	BCF_5
0.005	0.0110± 0.00055	0.0017± 0.00006	0.0041± 0.00006	6.6543± 0.55257
0.01	0.0162± 0.00051	0.0023± 0.00003	0.0063± 0.00013	6.9774± 0.02500
0.05	0.0715± 0.00565	0.0031± 0.00014	0.0256± 0.00116	23.4576± 2.06884

* No chemicals were found in control fish group.
* Each value represents mean± S.E. of 5 experiments.
* BCF_5 indicates 5-day bioconcentration factor.

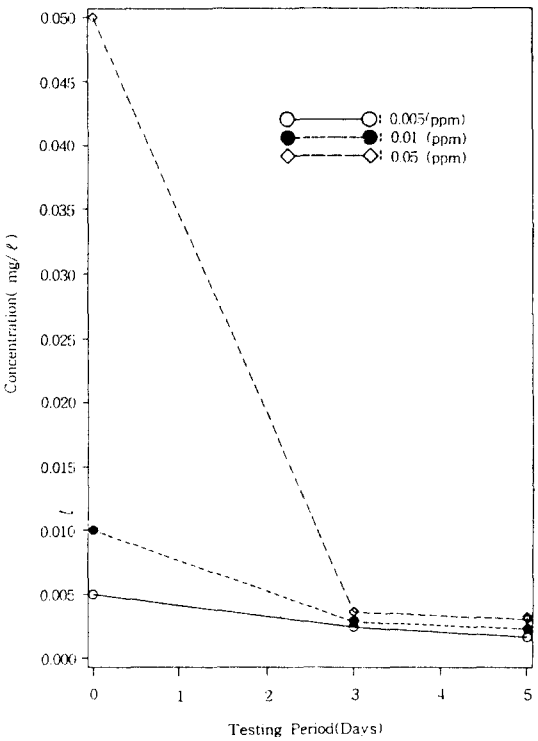

Fig. 2. Plots on fate of testwater concentration vs. tested period. *Each value represents mean± S.E. of 5 experiments.

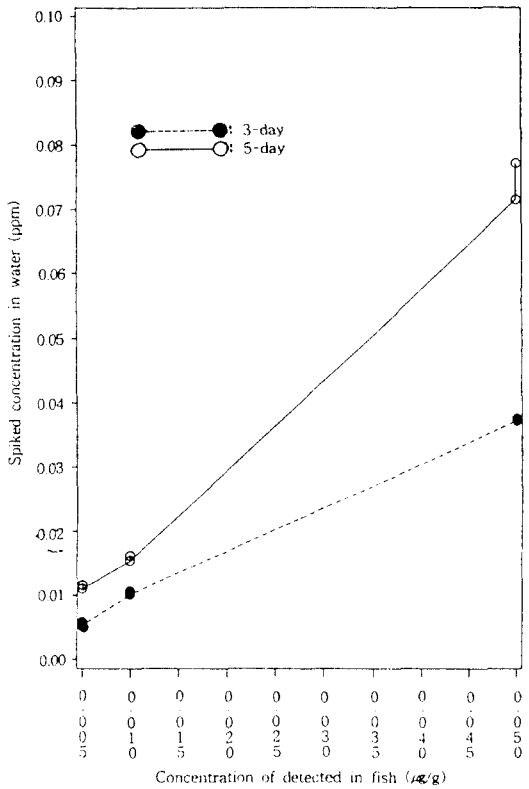

Fig. 3. Accumulation tendency of chlorothalonil in fish tissue by tested concentration period. *Each value represents mean± S.E. of 5 experiments.

濃度에 비해 急激히 減少하고 있다. 또한, 實驗水의 變化가 큰 것은 一般的으로 有機鹽素系 化合物이 環境 內에 安定한 것으로 알려져 있으나 chlorothalonil은 分子構造로 볼 때 nitrile基가 緩和한 條件에서도 쉽게 加水分解되며 鹽素基는 水中의 芳香環을 가진 化合物과 쉽게 置換되어 分解되기 때문으로 史料된다. 그러나 금붕어에 吸收된 chlorothalonil은 5日 以內에는 代謝가 되지 않음을 알 수 있다. Fig. 3과 Fig. 4는 chlorothalonil의 各 濃度別, 各 期間別 금붕어 體內에서의 濃縮程度와 BCF값의 變化를 그림으로 나타낸 것이다. 前述한 바와 같이 實驗濃度와 實驗期間이 增加할수록 금붕어 體內에서의 濃縮程度와 BCF값이 各各 增加하였다.

3. Chlorothalonil의 分配係數와 BCF의 相關性

Stir-flask法으로 測定한 chlorothalonil의 分配係

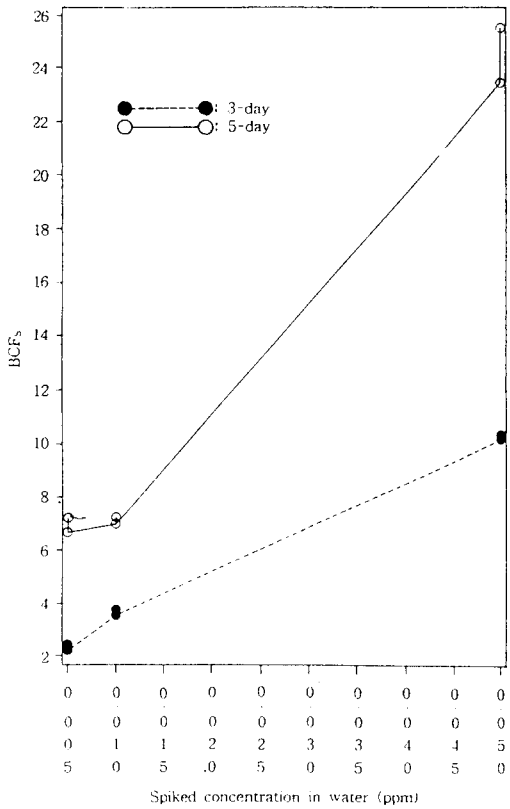

Fig. 4. Plots on BCFs of chlorothalonil vs. tested concentration. *Each value represents mean ± S.E. of 5 experiments.

數(P_{ow})값을 Table 5에 整理하였다. Chlrolothalonil의 分配係數의 값은 log 2.80으로 測定되었으며 다른 有機鹽素系 農藥의 分配係數(P_{ow})값이 大體로 높은데 비해 chlorothalonil의 分配係數 값은 相當히 낮게 나타났다. 一般的으로 分配係數(P_{ow})와 BCF는 相關性이 큰 것으로 알려져 있으나 이 實驗結果로 미루어 볼 때, 分配係數만으로 chlorothalonil의 理論的 BCF값을 推定하는 것은 chlorothalonil의 生物濃縮傾向을 解析하는 데 있어서 무리가 있다고 보인다.

Table 5. Average $logP_{ow}$ values determined by experiment using the stir-flask method

(Mean± S.E.)

Pesticides	V_o/V_w#	logP*	$logP_{ow}$**
Chlorothalonil (NW: 265.89)	1 : 10	2.79± 0.0008	2.80± 0.0132
	1 : 49	2.81± 0.0068	

V_o/V_w# represent the volume ratio of octanol and water, respectively.
logP* denote determined partition coefficient in different ratio of octanol-water system.
$logP_{ow}$** designated partition coefficient which revealed the mean value of logP*.
*Each value represents mean± S.E. of 3 experiments.

Table 6. Comparison of LC_{50} on chlorothalonil vs. carbamates

	Carbaryl	BPMC	Chlorothalonil
24 hr LC_{50}	19.918	10.248	0.1684
48 hr LC_{50}	18.635	9.166	0.1402
72 hr LC_{50}	18.466	9.087	0.1400
96 hr LC_{50}	18.120	8.921	0.1352

그러므로, BCF값은 實驗값으로 求하는 편이 安全하다고 思料된다. 특히, 分配係數(P_{ow})와는 關係없이 化學物質의 生產量이 年間 100톤 以上이면 BCF 實驗을 하도록 OECD는 勸告하고 있으며, chlorothalonil의 國內 生產量이 1992年 現在 357톤인 點으로 미루어 볼 때 BCF값을 分配係數로부터 推定하기 보다는 實驗으로 求해야 할 當爲性이 認定된다.

4. Chlorothalonil, Carbaryl, BPMC의 半致死濃度(LC_{50})

Table 6은 有機鹽素系 農藥인 chlorothalonil과 carbamate系 農藥인 carbaryl과 BPMC의 24, 48, 72, 96時間 LC_{50}값을 求하여 整理한 것이다. Chlorothalonil, BPMC, carbaryl의 順으로 急性毒性이 減少

Table 7. Comparison of BCFs on chlorothalonil vs. carbamates

	Carbaryl*		BPMC*		Chlorothalonil	
	BCF_3	BCF_5	BCF_3	BCF_5	BCF_3	BCF_5
0.05 (ppm)	4.67	3.90	4.08	3.47	10.21	25.53
0.10 (ppm)	3.62	4.22	4.90	4.61	–	–
0.50 (ppm)	1.20	1.19	4.75	4.08	–	–

*BCFs on Carbamates were cited from ref. 21.

Table 8. Comparison of BCFs, $logP_{ow}$ and 48 hr-LC_{50} on chlorothalonil vs. carbamates

	Carbaryl	BPMC	Chlorothalonil
BCF_3 (0.05 ppm)	4.67*	4.08*	10.20
$logP_{ow}$	2.20*	3.18*	2.80
48 hr LC_{50}	18.635	9.166	0.1402

* BCF and $logP_{ow}$ on carbamates were cited from ref. 21.

함을 알 수 있다.

5. Chlorothalonil과 Carbamate系 農藥의 BCF 比較

Table 7은 chlorothalonil과 carbamate系 農藥인 BPMC와 Carbaryl의 BCF값을 比較한 것이다. Chlorothalonil의 BCF값이 Carbamate系 農藥보다 相當히 높은 것을 알 수 있다.

Table 8은 實驗濃度 0.05 ppm에서 chlorothalonil과 carbamate系 農藥의 BCF, 옥탄올-물 分配係數 (P_{ow}), 48時間 LC_{50}를 比較한 것이다. 一般的으로, 分配係數가 높으면 BCF값도 높지만 두 Carbamate系 農藥에 있어서, BPMC의 分配係數가 Carbaryl보다 높은데도 불구하고 오히려 BCF값은 Carbaryl보다 낮았으며, chlorothalonil의 BCF가 두 carbamate系 農藥보다 매우 높은데도 불구하고 오히려 分配係數값은 이들 두 carbamate系 農藥의 中間程度의 水準인 點으로 미루어 볼 때 實驗濃度 0.05 ppm에서는 分配係數와 BCF와는 相關性이 없는 것으로 사료된다. 또한, 48時間 LC_{50}와 BCF와의 相關性을 比較해 보면 chlorothalonil의 48時間 LC_{50}가 두 carbamate系 農藥보다 크며 BCF값도 두 Carbamate系 農藥보다 더 높게 나타났다. 이것은, 一般的으로 LC_{50}가 크면 BCF값도 增加한다는 Kanazawa의 報告[7]와 一致하므로 LC_{50}와 相關性이 있는 것으로 推定된다. 그러므로, 母核이 다른 種類의 農藥들 間에 BCF를 解釋하는데 있어서는 農藥의 種類에 따라 各其 다른 方法으로 解釋을 해야 될 것으로 思料된다.

6. Chlorothalonil과 Carbamate系 農藥의 物理化學的 性質의 比較

Table 9는 Chlorothalonil과 Carbamate系 農藥의 物理化學的 性質들을 比較한 것이다. 實驗 濃度 0.05 ppm에서 금붕어의 3日 濃縮 實驗群을 보면, Chlorothalonil이 BPMC의 1/7, 금붕어의 5日 濃縮 實

Table 9. Comparision with physicochemical properties on chlorothalonil vs. carbamates

		Carbaryl	BPMC	Chlorothalonil
MR*		64.36	59.82	56.99
F*		0.08	−0.06	2.67
R*		−0.08	−0.11	−0.22
logP		2.20**	3.18**	2.80
48 hr LC_{50}		18.635	9.166	0.1402
0.05 (ppm)	BCF_3	4.67**	4.08**	10.20
	BCF_5	3.90**	3.47**	23.46
	$FISH_3$[@]	0.22**	0.28**	0.04
	$FISH_5$[@]	0.15**	0.12**	0.07
0.10 (ppm)	BCF_3	3.62	4.90	−
	BCF_5	4.22	4.61	−
	$FISH_3$	0.23	0.38	−
	$FISH_5$	0.20	0.31	−
0.50 (ppm)	BCF_3	1.20	4.75	−
	BCF_5	1.19	4.08	−
	$FISH_3$[@]	0.26	1.37	−
	$FISH_5$	0.26	1.07	−
1 (ppm)	BCF_3	0.34	4.66	−
	BCF_5	0.34	4.09	−
	$FISH_3$	0.27	4.19	−
	$FISH_5$	0.27	3.94	−
2 (ppm)	BCF_3	0.18	2.64	−
	BCF_5	0.18	2.42	−
	$FISH_3$	0.31	5.36	−
	$FISH_5$	0.40	4.26	−
5 (ppm)	BCF_3	0.10	1.88	−
	BCF_5	0.13	1.83	−
	$FISH_3$	0.50	8.97	−
	$FISH_5$	0.61	8.50	−
10 (ppm)	BCF_3	0.06	−	−
	BCF_5	0.07	−	−
	$FISH_3$	0.50	−	−
	$FISH_5$	0.56	−	−

* Data of MR, F and R were cited from ref. 33, 34, 35. MR is molar refractivity, F and R indicate that Lupton-Swain's field effect and resonance effect of the compounds.

** Data of Carbamates were cited from ref. 21.

@ $FISH_3$, $FISH_5$ represent the determined concentrations of tested compounds in the extracts of tested fish, in the period of 3 day or 5 day.

** Data of Carbamates in concentration of 0.1, 0.5 and 1 ppm were cited from of ref. 20.

** Data of Carbamates in concentration of 2, 5, and 10 ppm were cited from ref. 20.

驗群에서 Chlorothalonil이 Carbaryl의 1/2에 지나지 않으면서도, 3日 BCF는 Chlorothalonil이 BPMC의 약 2.5배, 5일 BCF는 Carbaryl의 약 6배 가량 Chlorothalonil이 더 높은 理由를 分配係數만으로는 說明할 수 없다.

그리고, Chlorothalonil의 금붕어 體內에 濃縮程度가 적음에도 불구하고 BCF값이 높은 理由는 前述한 바와 같이 물속에 殘留하는 Chlorothalonil의 Transformation 程度가 크다는 點이지만 더 자세한 理由를 알아보기 위해 Hansch, Leo, Fuzita 等이 提案한 化合物의 生理活性의 豫測에 利用되는 物理化學的 性質들을 檢討해 보았다. MR은 化合物의 立體效果를 나타내는 分子 屈折率이며, F 및 R은 Lupton과 Swain이 提案[33]한 field effect와 resonance effect를 가리킨다. MR과 R이 작을수록 毒性의 세기는 커지며, F값이 클수록 BCF값도 커지는 것을 알 수 있다.

그리고, 實驗濃度 0.1 ppm 以上의 濃度에서 Carbaryl과 BPMC를 比較해 보면, MR, F, R값과 分配係數, 毒性의 세기, BCF는 反比例하는 相關關係를 觀察할 수 있다. 또한, 實驗濃度 2 ppm 以上의 濃度에서도 같은 傾向을 나타내고 있다.

이런 結果를 綜合해 보면, Carbamate系 農藥인 Carbaryl과 BPMC의 BCF는 分配係數가 더 큰 影響을 끼치며, 有機鹽素系 農藥인 Chlorothalonil의 BCF는 分配係數보다 電子效果에 더 큰 影響을 받는 것으로 推定된다. 아울러 系列이 다른 化合物에 對하여는 各其 別途의 parameter를 使用하여, BCF, LC_{50} 等과 化合物의 物理化學的 性質사이의 相關性을 檢討하는 것이 보다 正確한 結果를 얻을 수 있을 것으로 思料된다.

IV. 結 論

금붕어(*Carassius auratus*)를 利用하여 環境濃度인 0.005, 0.01 및 0.05 ppm에서 Chlorothalonil의 生物濃縮係數(BCF)와 分配係數(P_{ow})를 測定하고, Carbamate系 農藥인 BPMC와 Carbaryl의 LC_{50}를 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. *Carassius auratus*(goldfish)를 利用한 chlorothalonil의 短期間 生物濃縮係數인 BCF_3, BCF_5를 實驗濃度 0.005, 0.01 및 0.05 ppm에서 測定할 수 있었고, 意義 있는 結果를 얻을 수 있었다.
2. 測定結果, BCF_3는 實驗濃度 0.005, 0.01 및 0.05 ppm에서 各各 2.1866± 0.23446, 3.5269± 0.23517, 10.2045± 0.18053이었고, BCF_5는 같은 實驗濃度에서 各各 6.6543± 0.55257, 6.9774± 0.02500, 23,4576± 2.06884이었다.
3. Chlorothalonil의 實驗濃度와 實驗期間이 增加할 수록 금붕어 體內의 濃縮程度는 增加하였으며, BCF도 增加하였다.
4. Chlorothalonil의 實驗水의 濃度變化가 對照實驗水에 비해 큰 것은 緩和한 條件에서도 nitrile基가 쉽게 加水分解되는 點과 chloro基가 水中의 芳香環을 가진 化合物과 쉽게 置換되기 때문으로 思料된다.
5. Chlorothalonil의 分配係數(P_{ow})는 log 2.80으로 測定되었으며, chlorothalonil, carbaryl, BPMC의 24, 48, 72, 96時間 LC_{50}는 chlorothalonil의 경우 0.1684, 0.1402, 0.1400, 0.1352(mg/*l*)였으며, carbaryl은 19.918, 18.635, 18.466, 18.12 (mg/*l*)였으며, BPMC는 10.248, 9.166, 9.087, 8.921(mg/*l*)이었다.
6. Carbamate系 農藥인 carbaryl과 BPMC의 BCF는 分配係數의 影響을 더 많이 받으며, 有機鹽素系 農藥인 chlorothalonil의 BCF에는 置換基의 電子效果가 分配係數보다 더 큰 영향을 끼치는 것으로 추정된다.

參考文獻

1) Metcalf, R. L., Sangha, G. K. and Kapoor, I. P.: Model ecosystem for the evaluation of pesticide biodegradability and ecological magnification. *Environ. Sci. Technol.*, **5**(8), 709-716, 1971.
2) Neely, W. B., Branson, D. R. and Blau, G. E.: Partition coefficient to measure bioconcentration potential of organic chemicals in fish. *Environ. Sci. Technol.*, **8**(13), 113-115, 1974.
3) Leo, A., Hansch, C. and Elkins, D.: *Chem. Rev.*, **71**, 525, 1971.
4) Hansch, C., Leo, A. and Nikaitani, D.: *J. Org. Chem.*, **37**, 3090, 1972.
5) Isensee, A. R. and Jones, G. E.: Distribution of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine(TCDD) in aquatic model ecosystem. *Environ. Sci. Technol.*, **19**(7), 668-672, 1975.
6) Vieth, G. D. *et al.*: An evaluation of using partition coefficients and water solubility to estimate bioconcentration factors for organic chemicals in fish. Aquatic toxicology, 116-129, 1980.
7) Kanazawa, J.: Measurement of the bioconcentra-

tion factors of pesticides by freshwater fish and their correlation with physicochemical properties or acute toxicities. *Pestic. Sci.*, **12**, 417-424, 1981.

8) Korte : Ecotoxicological profile analysis. *Ecotoxicology and Environmental safety*, **6**, 60, 1982.

9) Korte, F., *et al.* : A concept for establishing ecotoxicologic priority lists for chemicals. *Chemosphere*. **1**, 79-102, 1978.

10) 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.

11) Schimmel, S. C., *et al.* : Acute toxicity, bioconcentration, and persistence of AC225, 705, Benthiocarb, Chlorpyrifos, Fenvalerate, Methyl Paration, and Permethrin in the estuarine environment. *J. Agric. Food. Chem.*, **31**, 104-113, 1983.

12) Shaw, G. R. and Connel, D. W. : Physicochemical properties controlling Polychlorinated biphenil (PCB) concentration in aquatic organisms. *Environ, Sci. Technol.*, **18**(1), 18-23, 1984.

13) Swackhamer, D. L. and Hites, R. A. : Occurrence and bioaccumulation of organochlorine compounds in fishes from Siskiwit lake, Isle Roylae, Lake Superior. *Environ, Sci. Technol.*, **22**(5), 543-548, 1988.

14) de Wolf, W., *et al.* : Influence of biotransformation on the relationship between bioconcentration factors and octanol-water partition coefficients. *Environ. Sci. Technol.*, **26**(6), 1197-1201, 1992.

15) Kenaga, E. E. and Goring, G. A. : Relationship between water solubility, soil sorption, octanol water partitioning and bioconcentration of chemicals in biota. Aquatic toxicology, 78-115, 1980.

16) Mackay, D. : Correlation of bioconcentration factors. *Environ. Sci. Technol.*, **16**(5), 274-278, 1982.

17) Mackay, D. and Hughes, A. I. : Three-parameter equation describing the uptake of organic compounds by fish. *environ. Sci. Technol.*, **18**(6), 439-444, 1984.

18) Hawker, D. W. and Connell, D. W. : Influence of partition coefficient of lipophilic compounds on bioconcentration kinetics with fish. *Wat. Res.*, **22** (6), 701-707, 1988.

19) Thomann, R. V. : Bioaccumulation model of organic chemical distribution in aquatic food chains. *Environ. Sci. Technol.*, **23**(6), 699-707, 1989.

20) 閔庚鎭, 朴善烈, 姜會洋 : *Carassius auratus*(gold fish)를 利用한 BPMC와 Carbaryl의 生物濃縮係數의 測定. 韓國環境衛生學會誌, **20**(1), 75-82, 1994.

21) 閔庚鎭 : Carbamate系 農藥의 生體濃縮係數의 測定. 韓國環境衛生學會誌, **20**(4), 80-89, 1994.

22) 統計廳 : 韓國統計年鑑. 第40號, 133, 1993.

23) 柳弘, 卞, 李海根, 全盛煥 : 農藥殘留分析方法. 東和技術, **173**, 1991.

24) 農藥工業協會 : 94 農藥使用 指針書. 1994.

25) Buchel, K. H. : Chemistry Pesticides. John Wiley & Sons, Inc., 1983.

26) 農藥工業協會 : 92 農藥年報. 1992.

27) 日本藥學會編 : 衛生試驗法註解. 金原出版社, 90-93, 1980.

28) Jorgensen, S. E. : Modelling in ecotoxicology. **16**, 69-79, 1990.

29) 日本藥會編 : 衛生試驗法註解. 金原出版社, 75-81, 1980.

30) Brooke, D., *et al.* : An interlaboratory evalluation of the stir-flask method for the determination of octanol-water partition coefficients(LogP). *Chemosphere*, **21**, 119-133, 1990.

31) APHA, AWWA, WPCF : Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. APHA, Washington D. C., 1989.

32) 保健社會部 : 農藥殘留性 試驗의 基準과 方法(魚毒性 試驗). 保健社會部 告示 第91-88號, 1991.

33) Hansch, C., *et al.* : *J. Med. Chem.*, **16**, 1207, 1973.

34) Craig, P. N. : *J. Med. Chem.*, **14**, 680, 1971.

35) Lupton, E. C. and Swain, C. C. : *J. Am. Chem. Soc.*, **16**, 1207, 1973.