

단기간 생물농축계수의 측정에 있어서 실험어류의 종에 따른 차이

민경진 · 차춘근 · 전봉식 · 김근배
계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Difference in Species of Test Fish on the Determination of Short-term Bioconcentration Factor

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

ABSTRACT

This study was performed to investigate the difference in species of test fish on the determination of short-term bioconcentration factor in zebrafish(*Brachydanio rerio*), red sword tail(*Xiphophorus helleri*) and goldfish(*Carassius auratus*). Experimental concentrations of carbamates were 0.05 and 0.10 ppm and chlorothalonil were 0.005 and 0.01 ppm for 3 and 5 days, respectively. This paper reports the measured BCF value on pesticides in various species of test fish, under steady state, and examined correlation between the BCF value and depuration rate constant or LC_{50} or lipid content. Carbamates and chlorothalonil concentration in fish extract and BCF of carbamate and chlorothalonil were increased as increasing test concentration. Carbamates concentration in fish extract and BCF of carbamate were decreased as increasing test period, but chlorothalonil concentration in fish extract and BCF of chlorothalonil were increased as prolonging test period. Determined pesticide concentration in fish extract and BCF were highest in red sword tail, and followed by goldfish, and zebrafish. Determined depuration rate constant were highest in zebrafish, and followed by goldfish, and red sword tail. 96hr- LC_{50} were highest in red sword tail, and followed by zebrafish, and goldfish. Lipid compositions were highest in red sword tail, and followed by goldfish, and zebrafish. Therefore, it is suggested that the difference of BCF between each pesticide due to those of lipid composition of fish and depuration rate constant, while LC_{50} have no effect on BCF.

Keywords: Bioconcentration factor(BCF), Zebrafish(*Brachydanio rerio*), Red sword tail(*Xiphophorus helleri*), Goldfish(*Carassius auratus*), BPMC, Carbaryl, Carbofuran, Chlorothalonil, Depuration rate constant, Lipid content.

I. 서 론

산업의 발달과 국민소득의 증대로 산업분야 뿐 만 아니라 국민생활 전반에 걸쳐 다종 다량의 화학물질이 사용되고 있으며 화학물질의 대부분은 인간의 생활을 풍요롭고 편리하게 해 주나 일부는 난분해성, 고축적성, 급만성 독성 등과 같이 인간의 건강 및 환경생태계에 위해를 미칠 수 있는 특성을 가지고 있어, 광범위하게 장기간 사용될 때 인간의 생활을 근본적으로 위협하기도 한다.¹⁾

현재, 농약은 오염 물질간의 환경공해지수값으로

높은 위험도를 나타내고 있으며 미래에도 그다지 변화하지 않는 것으로 예측되고 있다.²⁾

이런 이유로, 선진국에서는 농약의 안전성을 평가하는 기준으로 생물체내 농축경향을 설명하는 생물농축성 시험(Bioconcentration test)으로 미국의 FIFRA(Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act, EPA, 1984), 일본의 화학물질 심사 및 규제법(Japanese Chemical Substances Control Law, 1973), 덴마크의 Chemical Substances and Products Act, OECD의 OECD Test Guideline(OECD, 1981), 그리고 EC의 OECD Test Guide-

line에 근거한 EC-Directive 67-548에 의해 생물농축 실험의 기준과 실험방법이 마련되어 있다.³³⁾

그러나, 국내적으로 농약의 안전성을 평가하는 기준은 농약관리법에 따라 그 안전성 평가를 수행하고 있으나, 생물농축성에 대한 기준과 실험방법은 최근 농약관리법이 개정되었지만 마련되어 있지 않은 실정이며, 안전성 평가의 기술 수준은 급성독성, 변이원성, 분해성, 어독성 등은 기초단계수준이며, 아급성, 아만성 이상의 장기독성시험은 미 수행단계에 있으며 국제적인 화학물질의 안전성평가 시험기관이 전무한 실정이다.³⁴⁾

한편, BCF실험에 영향을 미치는 결정인자들을 살펴보면 실험어종, 폭로기간, 실험온도 등을 들 수 있으며, 특히 실험어류의 종, 크기와 지방함량에 따라 서로 다른 물질에 대하여 서로 다른 BCF값이 보고되고 있다.³⁵⁾

그리고, OECD에서는 BCF실험을 위한 어종의 선택지침으로 OECD guideline 305A에서 catfish (*Ictalurus melus*), zebrafish(*Brachydanio rerio*) 혹은 carp를, OECD guideline 305B에서 zebrafish (*Brachydanio rerio*)를, OECD guideline 305C에서 Japanese carp를, OECD guideline 305D에서 guppies 혹은 zebrafish(*Brachydanio rerio*)를, OECD guideline 305E에서 rainbow trout, bluegills, fat-head minnows, sheepshead minnows, silversides, shiner perch, English sole, staghorn sculpin 및 3-spine sticklebacks를 실험어종으로 추천³⁶⁾하고 있어 실험어종이 다양함에 따라, 어종간의 지방함량의 차이, 화학물질의 흡수율의 차이, 화학물질의 저장능력의 차이 등, 생리학적 과정에 기인한 생물농축 영향을 설명하기란 어려운 점이 많다.

따라서, OECD guideline에서 일반적으로 많이 사용되고 있는 실험어종인 zebrafish(*Brachydanio rerio*)와 guppies류인 red sword tail(*Xiphophorus helleri*)을 이용하여, 1995년 현재 국내 농약생산량이 100톤이상³⁷⁾인 carbamate류 carbaryl, BPMC, carbofuran과 유기염소계 농약인 chlorothalonil의 단기간 생물농축계수를 측정하고, 본 연구자가 보고한 BCF실험을 위해 사용한 goldfish(*Carassius auratus*)의 BCF값과 어떠한 차이가 있는지를 비교하여, 실험어류의 종에 따라 단기간 생물농축계수의 측정에 미치는 영향이 어떠한지를 밝히고자 한다. 아울러, 각각의 실험농약에 대해서 어종에 따른 depuration rate를 구하여 상호 비교 검토함으로써, 어종에 따른 depuration rate가 BCF에 얼마만큼의 영향을 미치는지를

알아보고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 재료

1) 실험동물

실험동물은 시중에 시판되는 *Brachydanio rerio* (zebrafish), 길이 3.1 ± 0.1 cm, 무게 0.3 ± 0.1 g(wet weight)와 guppies류인 red sword tail(*Xiphophorus helleri*), 길이 3.5 ± 0.1 cm, 무게 0.4 ± 0.1 g(wet weight)인 것을 구입하여 실험실 조건에서 1개월간 적응시킨 후, 10마리를 1군으로 실험하였다. 실험온도는 사육과 실험 전기간동안 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 를 유지하고 사육기간에는 시판사료(Tetra min)와 공기를 충분히 공급하였다.

2) 기기 및 시약

실험에 사용한 기기로는 gas chromatograph(GC-14A, Shimadzu) 및 실험실에서 사용하는 일반기기를 사용하였다. 사용된 시약으로는 trifluoroacetic anhydride(JANSSEN), selite545, ethyl acetate, pyridine, anhydrous sodium sulfate, acetonitrile, sodium chloride, n-hexane, ethyl ether 등으로 잔류농약시험용(Wako, Co)을 사용하였다. 고체상 추출(Solid-Phase Extraction)방법에 쓰인 cartridge는 Waters사(U.S.A.)제품 Sep-Pak Plus(florisil)를 사용하였다.

3) 실험농약

실험농약은 현재 국내에서 시판되는 carbamate계 농약인 BPMC [2-sec-Butylphenil methyl carbamate, (주)경농], carbaryl [NAC, 1-naphthyl-methyl carbamate, (주)경농], carbofuran [Furadan, 2, 3-dihydro-2, 2-dimethyl-7-benzo-furanolmethylcarbamate, (주)경농]과 유기염소계 농약인 chlorothalonil [Daconil, Tetrachloro isophthalonitrile, (주)경농]을 재결정하여 사용하였다.

4) 실험수조

어류의 순응수조는 용량이 100 l였으며, 실험용 수조는 각변이 $30 \times 30 \times 30$ cm인 정육면체 유리수조로 용량은 27 l였고 실험수의 조건은 수온이 $24 \pm 1^\circ\text{C}$, pH는 8.2 ± 0.1 , 용존산소는 $7.0(\text{mg/l})$ 이상으로 유지하였으며, 그 외 실험수의 조성은 OECD guideline 305D³⁸⁾에 따랐다.

2. 실험방법

1) Zebrafish 및 red sword tail의 실험조건 및 BCF의 계산

Zebrafish 및 red sword tail에 대한 실험조건은 OECD guideline 305D를 따랐다.⁶⁾ 1회 실험시 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil은 zebrafish 및 red sword tail 10마리를 1군으로 사용하였고, 같은 농도, 같은 기간의 실험을 3회씩 반복하였다.

대조수는 단기간 BCF측정에 영향을 미치는 실험농약의 분해, 증발, 실험수조 기벽의 흡착 등으로 인한 손실량을 조사하기 위해 대조수 중의 농약을 정량하였다. 단기간 BCF의 측정을 위해서는 실험기간이 짧을수록, 배설속도, 대사율, 분해율, 휘발을 등과 같이, 실험어종에 대한 흡수율에 영향을 줄 수 있는 요인을 피할 수 있는 잇점이 있어 실험기간을 3일, 5일로 제한하였다.

실험농도는 carbamate계 농약인 BPMC, carbaryl, carbofuran은 0.05, 0.10 ppm과 유기염소계 농약인 chlorothalonil은 0.005, 0.010 ppm으로 하였다. BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 BCF값은 3일을 BCF₃, 5일을 BCF₅로 나타내었고, BCF의 계산은 Korte 등의 방법에 따라 산출하였다.⁸⁾

2) BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 생물농축계수(BCF)의 측정

BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 표준용액 조제와 검량선 작성 및 GC의 조건은 위생시험법 주해에 따랐다.⁹⁾ 즉, BPMC, carbaryl, carbofuran을 ethyl acetate 10 ml에 용해시켜 각각 10 µg/ml 되게 조제한 후, 각각 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 ml를 시험관에 취하고 ethyl acetate를 가하여 전량이 0.20 ml되게 하였다. 여기에 pyridine 0.1 ml, trifluoroacetic anhydride 0.2 ml 넣은 후 유도체화 하고, 조제된 각 농도별 표준용액을 1 µl씩 GC에 주입하여 peak면적법에 의하여 carbofuran과 chlorothalonil의 검량선을 작성하였다. Chlorothalonil은 ethyl acetate 10 µl에 녹여 100 µg/ml 되게 stock solution을 조제한 후, 각 단계별로 희석하여 0.005, 0.01, 0.02, 0.03 mg/l가 되게 표준용액을 조제하였다. 조제된 각 농도별 표준용액을 1 µl씩 GC에 주입하여 peak 면적법에 의하여 Chlorothalonil의 검량선을 작성하였다. 각 농약의 측정을 위한 GC는 Shimadzu사 제품(모델 GC-14A)에 칼럼은 J&W사제(U.S.A.)로서 길이 30 m, 내경 0.25 mm, 액체상 두께 0.25 µm인 OV-17을 사용하였다. N₂를 운반기체로 사용하였으며, 칼럼내의 흐름속도는 2 ml/min 이었고,

splitless injection method를 사용하였다. GC 오븐의 온도는 carbamate계의 경우 180°C, chlorothalonil은 200°C에서 등온분석하였으며, 검출기는 ⁶³Ni-ECD-C 14를 사용하였고 그 외의 조건은 민 등의 방법에 따랐다.¹⁰⁾

Zebrafish 및 red sword tail에서의 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 추출 및 정량은 일본위생시험법주해에 따라¹¹⁾ 시료를 세절 마쇄한 후 acetonitrile과 n-hexane으로 추출, 농축한 후 미리 n-hexane 10 ml로 conditioning한 Sep-Pak(florisil)에 n-hexane농축액 4 ml를 유입시켜 통과시킨 후, n-hexane 10 ml로 1회 세척, n-hexane:ethyl ether(85:15) 10 ml로 2회세척 후, n-hexane:ethyl ether(85:15) 40 ml를 5 ml/min로 SPE를 행하였다. 이 액을 받아 농축시킨 후 마지막 최종 액은 질소가스를 써서 날려보냈다. 농축잔류물을 ethyl acetate 0.2 ml에 녹여 표준용액과 같은 방법으로 시료를 조제한 후 n-hexane으로 적당히 희석하여 GC로 측정하고 검량선 범위내에서 정량한 후 µg/g으로 환산하였다. Zebrafish 및 red sword tail실험을 행한 대조수와 실험수에서의 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 추출 및 정량은 이전에 보고한 민 등의 방법¹⁰⁾에 따라 실험을 행한 실험수 100 ml를 n-hexane과 ethyl ether(4:1)로 추출하고 농축시킨 후 농축잔류물을 ethyl acetate 0.2 ml에 녹여 검량선 범위내에서 정량한 후 µg/ml로 환산하였다.

3) BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 회수율 측정

Zebrafish(약 3 g)와 red sword tail(약 4 g) 및 각각의 실험수 시료(100 ml)에 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil 표준용액을 각각 10 µg/ml 및 0.5 µg/ml으로 제조하여 이 용액을 각각 0.2 ml씩 첨가시켜서 전술한 실험방법에 의거하여 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 함량을 정량하였으며 이로부터 회수율을 구하였다.

4) BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 배설속도상수(depuration rate constant)의 측정

Zebrafish 및 red sword tail 체내에서의 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 배설속도상수를 계산하기 위하여 다음의 식을 사용하였다.¹²⁾

$$C = C_0 e^{-kt}$$

여기서 C는 5일 실험후 24시간이 지난 시점에서

의 zebrafish 및 red sword tail 체내에서의 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 농도($\mu\text{g/g}$)이며, C_0 는 5일 실험후의 최초 zebrafish 및 red sword tail 체내에서의 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 농도($\mu\text{g/g}$)이고, k는 배설 속도상수를 가리키며, t는 시간(hour)을 가리킨다.

5) BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 급성독성실험(LC_{50})

BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 24, 48, 72, 96시간의 반치사농도를 APHA, AWWA, WPCF가 공동으로 출간한 Standard method¹³⁾와 농약잔류성시험의 기준과 방법¹⁴⁾에 의거하여 실험하였다.

6) Zebrafish, red sword tail 및 goldfish의 조지방 함량분석

어류의 종에 따른 지방함량을 조사하고자 zebrafish, red sword tail 및 goldfish를 Soxhlet extractor를 사용하여 ethyl ether로 추출하고 정량하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 회수율 측정결과

Zebrafish와 red sword tail 및 각각의 실험수 시료에서 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 회수율은 Table 1과 같으며, BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 함량을 정량하는데는 충분하다고 판단되었다.

2. 실험어종에 따른 BCF의 측정결과

1) BPMC의 BCF 측정결과

실험어종을 달리하여 BPMC의 실험농도 0.05 및 0.10 ppm에서 3일 및 5일 실험의 어류 체내 농축정도와 실험수, 대조실험수, BCF의 성적은 Table 2와 같다. Zebrafish, goldfish, red sword tail의 순으로 BPMC의 어류 체내 농축정도와 BCF값이 높은 것을 알 수 있다. 또한 BPMC의 실험농도가 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도는 증가하였고 BCF값도 증가하였다. 한편, BPMC의 실험농도가 같은 경우 실험기간이 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도와 BCF는 감소하는 경향을 나타냈다.

2) Carbaryl의 BCF 측정결과

Table 3은 실험어종을 달리하여 carbaryl의 실험농도 0.05 및 0.10 ppm에서 3일 및 5일 실험의 어류 체내 농축정도와 실험수, 대조실험수, BCF의 성적을 나타낸 것이다. Carbaryl의 경우도 실험어종에

Table 1. Recovery of spiked pesticide in fish and test water (unit:%)

Pesticide	Zebrafish (tissue)	Red sword tail(tissue)	Test water
BPMC	92.7	90.5	104.7
Carbaryl	89.1	88.3	103.3
Carbofuran	87.4	88.8	105.3
Chlorothalonil	86.3	87.2	102.3

Table 2. Concentration of BPMC in fish, test water, control water and calculated BCFs (mean \pm S.E.)

Fish	day	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Fish* ($\mu\text{g/ml}$)	Test water ($\mu\text{g/ml}$)	Control water ($\mu\text{g/ml}$)	BCFs*
Goldfish* (<i>Carassius auratus</i>)	3	0.05	0.28 \pm 0.08 [†]	0.07 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	4.08 \pm 0.01
		0.10	0.38 \pm 0.09	0.08 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01	4.90 \pm 0.01
	5	0.05	0.12 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	3.47 \pm 0.01
		0.10	0.31 \pm 0.04	0.08 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	4.61 \pm 0.01
Zebrafish (<i>Brachydanio rerio</i>)	3	0.05	0.12 \pm 0.02	0.05 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	2.43 \pm 0.04
		0.10	0.25 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01	0.10 \pm 0.02	2.78 \pm 0.05
	5	0.05	0.08 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	2.05 \pm 0.09
		0.10	0.21 \pm 0.02	0.08 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	2.64 \pm 0.03
Red sword tail (<i>Xiphophorus hellieri</i>)	3	0.05	0.29 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	5.78 \pm 0.08
		0.10	0.49 \pm 0.05	0.08 \pm 0.01	0.09 \pm 0.03	6.15 \pm 0.09
	5	0.05	0.27 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	0.05 \pm 0.02	5.42 \pm 0.07
		0.10	0.47 \pm 0.03	0.08 \pm 0.02	0.09 \pm 0.03	5.89 \pm 0.08

*No chemicals were found in control fish group. [†]Each value represents mean \pm S.E. of 3 experiments.

[†]BCFs indicates 3-day or 5-day bioconcentration factor. *Data from ref. 15.

Table 3. Concentration of Carbaryl in fish, test water, control water and calculated BCF_s (mean±S.E.)

Fish	day	Conc. (µg/ml)	Fish* (µg/ml)	Test water (µg/ml)	Control water (µg/ml)	BCF _s [†]
Goldfish* (<i>Carassius auratus</i>)	3	0.05	0.22±0.07 [†]	0.05±0.00	0.05±0.00	4.67±0.00
		0.10	0.23±0.15	0.07±0.00	0.08±0.00	3.62±0.00
	5	0.05	0.15±0.03	0.04±0.00	0.04±0.00	3.90±0.01
		0.10	0.20±0.01	0.05±0.01	0.05±0.00	4.22±0.02
Zebrafish (<i>Brachydanio rerio</i>)	3	0.05	0.04±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	1.08±0.03
		0.10	0.09±0.01	0.09±0.01	0.10±0.01	1.21±0.07
	5	0.05	0.03±0.00	0.04±0.01	0.05±0.01	0.87±0.04
		0.10	0.09±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01	1.10±0.03
Red sword tail (<i>Xiphophorus hellieri</i>)	3	0.05	0.28±0.03	0.05±0.01	0.05±0.01	5.64±0.08
		0.10	0.47±0.04	0.08±0.01	0.10±0.02	6.02±0.07
	5	0.05	0.21±0.02	0.04±0.01	0.04±0.01	5.39±0.09
		0.10	0.45±0.03	0.08±0.02	0.09±0.02	5.73±0.11

*No chemicals were found in control fish group. [†]Each value represents mean±S.E. of 3 experiments.

[†]BCF_s indicates 3-day or 5-day bioconcentration factor. *Data from ref. 15.

다른 어류체내에서의 농축정도와 BCF값은 BPMC와 같은 경향을 나타내고 있으며, 실험농도와 실험기간에 따른 carbaryl의 체내 농축정도와 BCF값도 같은 경향을 나타내고 있다.

3) Carbofuran의 BCF 측정결과

Table 4는 실험어종을 달리하여 carbofuran의 실험농도 0.05 및 0.10 ppm에서 3일 및 5일 실험의 어류 체내 농축정도와 실험수, 대조실험수, BCF의 성

적을 나타낸 것이다. Carbofuran은 실험 전기간동안 zebrafish체내에서 검출되지 않았으며 이로인해 BCF값을 산출할 수 없었으며, goldfish, red sword tail 순으로 carbofuran의 어류 체내 농축정도와 BCF값이 높은 것을 알 수 있다. Goldfish와 red sword tail의 어류체내 농축정도와 BCF값은 실험농도가 증가할수록 증가하였다. Carbofuran의 실험농도가 같은 경우 red sword tail의 어류 체내에서의

Table 4. Concentration of Carbofuran in fish, test water, control water and calculated BCF_s[†] (mean±S.E.)

Fish	day	Conc. (µg/ml)	Fish* (µg/ml)	Test water (µg/ml)	Control water (µg/ml)	BCF _s [†]
Goldfish* (<i>Carassius auratus</i>)	3	0.05	0.08±0.01 [†]	0.04±0.00	0.04±0.00	2.08±0.05
		0.10	0.16±0.03	0.08±0.01	0.08±0.01	2.14±0.06
	5	0.05	0.08±0.00	0.04±0.00	0.04±0.00	2.21±0.07
		0.10	0.19±0.03	0.07±0.03	0.08±0.05	2.57±0.01
Zebrafish* (<i>Brachydanio rerio</i>)	3	0.05	ND	0.05±0.01	0.05±0.00	-
		0.10	ND	0.09±0.01	0.10±0.01	-
	5	0.05	ND	0.05±0.01	0.05±0.00	-
		0.10	ND	0.08±0.01	0.11±0.00	-
Red sword tail (<i>Xiphophorus hellieri</i>)	3	0.05	0.15±0.02	0.05±0.01	0.05±0.01	3.12±0.06
		0.10	0.28±0.04	0.08±0.01	0.10±0.01	3.61±0.09
	5	0.05	0.14±0.03	0.05±0.01	0.05±0.01	2.81±0.07
		0.10	0.26±0.02	0.08±0.02	0.10±0.01	3.29±0.05

*No chemicals were found in control fish group. [†]Each value represents mean±S.E. of 3 experiments.

[†]BCF_s indicates 3-day or 5-day bioconcentration factor. *Data from ref. 16. *Data from ref. 17.

Table 5. Concentration of Chlorothalonil in fish, test water, control water and calculated BCFs* (mean±S.E.)

Fish	day	Conc. (µg/ml)	Fish* (µg/ml)	Test water (µg/ml)	Control water (µg/ml)	BCFs*
Goldfish* (<i>Carassius auratus</i>)	3	0.005	0.005±0.000†	0.002±0.001	0.005±0.000	2.187±0.234
		0.010	0.010±0.001	0.003±0.001	0.007±0.001	3.527±0.235
	5	0.005	0.011±0.001	0.002±0.000	0.004±0.000	6.654±0.553
		0.010	0.016±0.001	0.002±0.000	0.006±0.000	6.977±0.025
Zebrafish* (<i>Brachydanio rerio</i>)	3	0.005	0.004±0.001	0.003±0.001	0.005±0.001	1.327±0.020
		0.010	0.006±0.001	0.004±0.003	0.008±0.001	1.511±0.031
	5	0.005	0.004±0.001	0.003±0.002	0.004±0.001	1.331±0.037
		0.010	0.006±0.001	0.003±0.001	0.007±0.001	1.597±0.072
Red sword tail (<i>Xiphophorus hellieri</i>)	3	0.005	0.012±0.001	0.003±0.001	0.005±0.001	4.051±0.091
		0.010	0.018±0.002	0.004±0.001	0.008±0.001	4.616±0.075
	5	0.005	0.024±0.003	0.003±0.001	0.004±0.001	8.104±0.472
		0.010	0.034±0.011	0.004±0.001	0.007±0.002	8.711±0.303

*No chemicals were found in control fish group. †Each value represents mean±S.E. of 3 experiments.

*BCFs indicates 3-day or 5-day bioconcentration factor. *Data from ref. 18. *Data from ref. 17.

농축정도와 BCF는 실험기간이 증가할수록 감소하였으나, 금붕어 체내에서의 농축정도와 BCF는 증가하는 경향을 나타냈다.

4) Chlorothalonil의 BCF 측정결과

Table 5는 실험어종을 달리하여 chlorothalonil의 실험농도 0.05 및 0.10 ppm에서 3일 및 5일 실험의 어류 체내 농축정도와 실험수, 대조실험수, BCF의 성적을 나타낸 것이다. Zebrafish, goldfish, red sword tail의 순으로 chlorothalonil의 어류 체내 농축정도와 BCF값이 높은 것을 알 수 있다. 또한 chlorothalonil의 실험농도가 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도는 증가하였고 BCF값도 증가하였다. 한편, chlorothalonil의 실험농도가 같은 경우 실험기간이 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도와 BCF는 carbamate계 농약이 대부분 감소하는 경향이거나, 유기염소계 농약인 chlorothalonil의 경우는 증가하는 경향을 나타내고 있다. 이러한 결과들을 종합해 볼 때, carbamate계 농약의 경우는 실험어종 대부분에서 3일 이후에는 더 이상 축적이 되지 않고 거의 정류상태에 도달하며, 유기염소계 농약인 chlorothalonil의 경우는 실험어종 대부분에서 체내 농축이 계속해서 증가하는 경향을 나타내고 있다. 또한, 실험어종에 따라 서로 각 농약의 체내 농축정도와 BCF값은 zebrafish, goldfish, red sword tail의 순으로 증가하였다.

따라서, 일반적으로 실험어종에 따른 체내 농축에

Table 6. Depuration rate constants of pesticides in various species of test fish (unit : k(h⁻¹))

	Concentration (ppm)	goldfish (<i>Carassius auratus</i>)	zebrafish (<i>Brachydanio rerio</i>)	red sword tail (<i>Xiphophorus hellieri</i>)
BPMC	0.050	0.019*	0.025	0.013
	0.100	0.021*	0.025	0.014
Carbofuran	0.050	0.030*	0.042	0.020
	0.100	0.032*	0.044	0.020
Carbofuran	0.050	0.076	—	0.050
	0.100	0.082	—	0.051
Chlorothalonil	0.005	0.003*	0.011*	0.001
	0.010	0.004*	0.012*	0.001

*Data from ref. 19. *Data from ref. 17.

Table 7. Comparison of 96hour LC₅₀ on pesticides

(unit : mg/l)

Pesticides	goldfish (<i>Carassius auratus</i>)	zebrafish (<i>Brachydanio rerio</i>)	red sword tail (<i>Xiphophorus helleri</i>)
BPMC	8.921	6.023	4.021
Carbaryl	18.120	15.735	11.673
Carbofuran	5.439	2.874	0.189
Chlorothalonil	0.135	0.054	0.041

영향을 미칠수 있는 요인으로 알려진 배설속도상수와 LC₅₀, 지방함량 등을 구하였다.

3. BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 배설속도상수(depuration rate constant)의 측정

Table 6은 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 각 농도에서 실험한 배설속도상수를 정리한 것이다. 네가지 농약에 대하여 zebrafish의 배설속도가 가장 빠르고 다음이 goldfish, red sword tail의 순이었다. 이는 배설속도상수가 실험어류의 종에 따라 체내에 농축되는 정도와 BCF값이 zebrafish, goldfish, red sword tail의 순으로 높은것과 연관성이 있음을 알수있다.

4. BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 반치사농도(LC₅₀)

Table 7은 goldfish, zebrafish 및 red sword tail을 이용하여 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 96시간 LC₅₀값을 구하여 정리한 것이다. 네가지 농약에 대하여 red sword tail, zebrafish, goldfish 순으로 급성독성이 감소함을 알 수 있다. Red sword tail의 경우는 일반적으로 LC₅₀가 크면 BCF값도 증가하는 경향을 나타내고 있으나, goldfish와 zebrafish의 경우는 반대의 경향을 나타내고 있어 이 실험에는 LC₅₀와 BCF는 상관성이 없다고 사료된다. 따라서, 어류의 종에 따라 생물농축에 영향을 미치는 요인으로 일반적으로 받아들여지고 있는 지방함량을 구하였다.

5. Zebrafish, goldfish 및 red sword tail의 조지방함량

Table 8은 zebrafish, goldfish 및 red sword tail의 조지방함량을 측정한 것이다. Zebrafish, goldfish 및 red sword tail의 지방함량은 각각 8.63, 12.98 및 21.66%로 측정되었다. 일반적으로 어류의 지방함량이 클수록 생물농축이 높게 나타난 앞의 결과

Table 8. Lipid contents of goldfish, zebrafish and red sword tail tissues (mean±S.E.)

Sample	Crude fat(%)
goldfish(<i>Carassius auratus</i>)	12.98
zebrafish(<i>Brachydanio rerio</i>)	8.63
red sword tail(<i>Xiphophorus helleri</i>)	21.66

들을 볼 때 지방함량과 관련성이 있을것으로 여겨진다.^{20,21)} 즉, zebrafish, goldfish 및 red sword tail의 지방함량에 따라 같은 물질에 대해서도 생물농축경향이 다르게 나타남을 알수있다. 위의 결과들을 종합해볼 때, 실험어종을 달리하여 네가지 농약에 대하여 생물농축계수에 미치는 영향은 각 화합물에 대한 어류의 배설속도상수의 차이와 어류의 지방함량에 따른 차이에 기인하는 것으로 추정된다.

IV. 결 론

Zebrafish(*Brachydanio rerio*), red sword tail(*Xiphophorus helleri*) 및 goldfish(*Carassius auratus*)를 이용하여 실험농도 0.05, 0.10 ppm에서 BPMC, carbaryl, carbofuran 및 실험농도 0.005, 0.01 ppm에서 chlorothalonil의 생물농축계수(BCF)와 배설속도상수(depuration rate constant)를 측정하고, 각각의 어종에 대한 LC₅₀ 및 지방함량을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

실험농도가 증가할수록 carbamate계 농약인 BPMC, carbaryl, carbofuran과 유기염소계 농약인 chlorothalonil의 어류 체내 농축정도와 BCF는 증가하였으나, 실험기간이 증가함에 따라 carbamate계 농약은 어류 체내 농축정도와 BCF는 감소하였으며 유기염소계 농약은 어류 체내 농축정도와 BCF가 증가하였다. 또한, 어류 체내 농축정도와 BCF는 각 농약에 대해 zebrafish, goldfish, red sword tail의 순으로 높게 나타났다. 그리고, BPMC, carbaryl, carbofuran 및 chlorothalonil의 배설속도상수는 zebraf-

ish, goldfish, red sword tail의 순으로 배설이 빠르게 나타났으며, 96시간 LC₅₀는 goldfish, zebrafish, red sword tail의 순으로 독성이 높게 나타났다. 그리고, 어류의 체내 지방함량은 zebrafish, goldfish, red sword tail의 순으로 높았다. 이상의 결과에서, 실험 어종을 달리하여 측정된 네가지 농약에 대한 생물농축계수는 각 화합물에 대한 어류의 배설속도상수와 어류의 지방함량에 영향을 받는것으로 추정된다.

감사의 글

이 논문은 1996년도 계명대학교 비사연구비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드리는 바이다.

참고문헌

- 1) Belluck, D. A., and Benjamin, S. L.: Pesticide and Human health. Journal of Enviromental Health, July/August, 11-13, 1990.
- 2) 이서래: 환경독성학의 새로운 과제. 한국환경농학회지, 7(1), 65-73, 1988.
- 3) William, J. A.: Handbook of Ecotoxicology, CRC, Inc. USA, 25-46, 1995.
- 4) 유흥일: 환경독성평가의 관련제도. 한국환경위생학회, 환경독성평가에 관한 세미나 자료집, 3-16, 1995.
- 5) Nagal, R., and Loskill. R.: Bioaccumulation in Aquatic system. pp. 7-12, 1991.
- 6) Organization for Economic Co-operation and Development: OECD Guideline 305 A-E. OECD, 1981.
- 7) 농약공업협회: 95 농약년보. 1995.
- 8) Korte: Ecotoxicological profile analysis. Ecotoxicology and Environmental safety, 6, 60, 1982.
- 9) 일본약학회편: 위생시험법주해. 금원출판사, 75-77, 1980.
- 10) 민경진 외 4인: Carbaryl과 Chlorothalonil의 공존이 Carassius auratus(goldfish)를 이용한 생물농축계수에 미치는 영향. 한국환경위생학회지, 22(4), 1996.
- 11) 일본약학회편: 위생시험법주해. 금원출판사, 430-442, 1980.
- 12) 심창구: 약물체내속도론. 서울대학교 출판부, 3-21, 1994.
- 13) APHA, AWWA, WPCF: Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. APHA, Washington D.C., 1989.
- 14) 보건사회부: 농약잔류성 시험의 기준과 방법(어독성 시험). 보건사회부 고시 제91-88호, 1991.
- 15) 민경진: Carbamate계 농약의 생체농축계수의 측정. 한국환경위생학회지, 20(4), 80-89, 1994.
- 16) 민경진 외 4인: Carassius auratus(goldfish)를 이용한 Carbofuran 단기간 생물농축계수의 측정. 환경위생학회지, 22(4), 25-32, 1996.
- 17) 민경진, 차춘근: Carbofuran과 Chlorothalonil의 공존이 Brachydanio rerio(zebrafish)를 이용한 단기간 생물농축계수의 측정에 미치는 영향. 환경위생학회지, 23(2), 64-71, 1997.
- 18) 차춘근, 전봉식, 민경진: Carassius auratus(goldfish)를 이용한 Chlorothalonil의 단기간 생물농축계수와 분배계수의 측정. 한국환경위생학회지, 21(3), 38-48, 1995.
- 19) 민경진 외 3인: BPMC, carbaryl, chlorothalonil의 상호작용이 Carassius auratus(goldfish)를 이용한 단기간 생물농축계수의 측정에 미치는 영향. 환경위생학회지, 23(2), 72-82, 1997.
- 20) Gobas, F. A. et al: Environ. Toxicol. Chem. 8, 231-245, 1989.
- 21) Smith, J. A. et al: Rev. Environ. Contam. Toxicol. 103, 127-1151, 1988.