

## ***Brachydanio rerio*와 *Xiphophorus hellieri*를 이용한 Dichlorvos, Methidathion 및 Phosalone의 단기간 생물농축계수의 측정**

민경진 · 전봉식 · 차춘근 · 김근배 · 조영주  
계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

### **Determination of Short-term Bioconcentration Factor on Dichlorvos, Methidathion and Phosalone in *Brachydanio rerio* and *Xiphophorus hellieri***

**Kyung Jin Min, Bong Sik Jeon, Chun Geun Cha,  
Geun Bae Kim and Young Joo Cho**

*Department of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University*

#### **ABSTRACT**

This study was performed to investigate the bioconcentration of dichlorvos, methidathion and phosalone in zebrafish(*brachydanio rerio*), red sword tail(*Xiphophorus hellieri*). The fishes were exposed to 0.05 ppm, 0.01 ppm, 0.50 ppm, one-hundredth concentration of 96-hrs LC<sub>50</sub> and one-thousandth concentration of 96-hrs LC<sub>50</sub> and test periods were 3, 5 and 8 days. The depuration rate of each pesticide from the whole body of fish was determined over the 24-hr period after treatment. Obtained results are summarized as follows: In the case of dichlorvos, dichlorvos concentration in zebrafish extract and BCF<sub>s</sub> of dichlorvos were increased as increasing test concentration. In the case of same experimental concentrations, dichlorvos concentration in zebrafish extract and BCF<sub>s</sub> of dichlorvos were decreased as prolonging test periods, especially dropped after 5days. Dichlorvos concentration in red sword tail extract were increased as increasing test concentration, but BCF<sub>s</sub> in concentration of 0.05 ppm, 0.01 ppm and one-hundredth of 96-hrs LC<sub>50</sub> were decreased. Methidathion and phosalone concentration in zebrafish extract in zebrafish extract were increased as increasing test concentration, but there was little difference in BCF<sub>s</sub>. In the case of same experimental concentrations, there were little differences in BCF<sub>s</sub> and concentration in zebrafish extract. In the case of red sword tail, it was impossible to calculate on BCF<sub>s</sub> data because test concentration was under the detecting limit on GC or test fish were die. Determined depuration rate constant were highest on dichlorvos, and followed by methidathion, and phosalone. The results of determining depuration rate of these pesticides showed that the high BCF in fish might be due to the slow depuration rate in fish, it is thought to be responsible for vapor pressure, water solubility and partition coefficient. It is suggested that one-hundredth concentration of 96-hrs LC<sub>50</sub> will be proper test concentration because one-thousandth of LC<sub>50</sub> was under the detecting limit on GC. Dichlorvos, methidathion and phosalone, organophosphorous pesticides, were examined to their BCF<sub>s</sub> and depuration rates by means of fish test.

**Keywords :** Bioconcentration factor(BCF), Zebrafish(*brachydanio rerio*), Red sword tail(*Xiphophorus hellieri*), Dichlorvos, Methidathion, Phosalone, Depuration rate constant

#### **I. 서 론**

농약은 성분 특성에 따라 유기염소계 농약, 유기

인계 농약, 카르바메이트계 농약으로 대별된다. 유기염소계 농약은 환경 내에서 안정하므로 잔류성이 문제가 되어 대부분 사용이 금지되었으며, 현재 사

용되고 있는 농약은 환경 내에서 쉽게 분해되어 잔류성 문제는 크지 않은 것으로 알려진 유기인계 및 카르바메이트계 농약이 대부분을 차지하고 있다.<sup>1,8)</sup> 그러나, 이들 농약은 해마다 사용량의 증가로 인하여 하천, 호수 및 지하수의 오염 우려가 높아지고 있는 실정이며,<sup>4,11)</sup> 유기인계 농약은 cholinesterase activity를 감소시켜 신경말단에서 acetylcholine양을 증가시킴으로써 대부분 급성중독을 일으키거나 저연성 마비를 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>12)</sup>

즉, 이러한 농약의 환경 및 인체에 미치는 악 영향이 인정됨에도 불구하고 예방조치를 소홀히 함으로써 농약으로 인한 환경오염과 환경성 질환을 유발하고 있다.

이러한 이유로 선진 각국에서는 농약에 대한 관리법령을 제정하여 이미 기존의 화학물질에 대해서는 선택적으로, 그리고 새로운 화학물질에 대해서는 사전 유해성 평가를 강화하고 있다.<sup>13)</sup>

국내적으로, 농약에 대한 안전성 평가 기술의 수준은 급성독성, 변이원성, 분해성, 어독성 등은 기초 단계이며, 아급성 이상의 장기독성시험은 수행되지 않고 있으며, 농약의 안전성 평가를 위한 국제적인 수준의 시험기판이 거의 없는 실정이다.<sup>14)</sup>

특히, 농약의 환경내 이동현상 및 생물체내의 농축과정을 설명하는 지수로서의 기능을 가지고 있으며, 인간의 건강에 미치는 영향을 예측하는데 도움을 주고 있는 생물농축시험<sup>15,20)</sup>에 대한 연구는 국내적으로 거의 보고가 없는 실정이다. 특히, 생물농축성은 먹이사슬(food chain)을 거쳐 사람의 건강과 직결되므로 생물농축성의 정확한 평가는 보건학적으로도 큰 의의를 가진다.

이전의 보고들은 주로 유기화합물 전반에 관한 것이고 현재 광범위하게 사용되는 유기인계 농약에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 유기인계 농약에 대한 생물농축에 관한 최근의 보고는 Begum 등이 *clarias batrachus*를 이용하여 dimethoate의 생물농축실험을 renewal system으로 수행하여 간과 어류 조직 중 간에서 축적이 높음을 보고하였고,<sup>21)</sup> Tsuda 등은 killifish를 이용하여 diazinon, fenthion 및 fenitrothion의 생물농축실험을 flow through system으로 수행하고 이를 농약을 단독 및 혼합투여하여 어류체내 농축정도와 배설속도에는 유의한 차이가 없음을 보고하였다.<sup>22)</sup> 한편, 국내적으로는 유기인계 농약의 생물농축에 대한 보고는 거의 찾아 보기 힘들고, 매년 국내적으로 사용량이 증가하고 있는 유기인계 농약에 대한 안전성평가 방법으로서 생물농축실험을 시도하는 것

은 그 의의가 크다고 생각되었다.

이 연구에서 선정한 유기인계 농약인 dichlorvos는 사과, 뽕나무, 복숭아 등의 잎말이나방의 살충제와 온실 및 비닐하우스의 훈증제로 사용<sup>23)</sup>되는 농약으로 국내 생산량이 1995년 한해동안 성분량으로 850톤에 달하였다.<sup>24)</sup> Methidathion은 감귤이나 사과 등의 깍지벌레 및 진딧물 해충제거에 사용<sup>23)</sup>되는 농약으로 국내 생산량이 1995년 한해동안 성분량으로 150톤에 달하였고,<sup>24)</sup> phosalone 또한 감귤이나 사과 등의 진딧물 및 굴나방 등의 해충제거에 사용되는 농약으로 주로 합성페레스로이드계의 농약과 혼합제로 사용되고 있으며 특히 어독성 1급에 속하는 농약으로 알려져 있다.<sup>23)</sup>

따라서 이 연구는 국내적으로 유기인계 농약에 대한 생물농축성 연구가 미흡한 상황에서 국제적인 안전성평가 시험방법인 OECD guideline 305-D<sup>25)</sup>에 따라, 유기인계 농약인 dichlorvos, methidathion 및 phosalone의 생물농축시험을 수행하여 단기간 BCF, LC<sub>50</sub>, 배설속도상수를 측정하고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 재료

#### 1) 실험동물

실험동물은 시중에 시판되는 *Brachydanio rerio* (zebrafish), 길이  $3.1 \pm 0.1$  cm, 무게  $0.3 \pm 0.1$  g(wet weight)과 guppies류인 red sword tail(*Xiphophorus helleri*), 길이  $3.5 \pm 0.1$  cm, 무게  $0.4 \pm 0.1$  g(wet weight)인 것을 구입하여 실험실 조건에서 1개월간 적응시킨 후, 10마리를 1군으로 실험하였다.

#### 2) 기기 및 시약

실험에 사용한 기기로는 gas chromatograph(GC-14A, Shimadzu) 및 실험실에서 사용하는 일반기기를 사용하였다. 사용된 시약으로는, celite 545, ethyl acetate, anhydrous sodium sulfate, acetonitrile, sodium chloride, n-hexane, ethyl ether 등으로 잔류농약시험용(Wako, Co)을 사용하였다.

#### 3) 실험농약

실험농약은 현재 국내에서 시판되는 유기인계 농약인 dichlorvos [DDVP®, 2, 2-dichloro ethenyl dimethyl phosphate, 98%], methidathion [S-2, 3-dihydro-5-methoxy-2-oxo-1, 3, 4-thiadiazol-3-ylmethyl O, O-dimethyl phosphorodithioate, 99%], phosalone [S-5-chloro-2, 3-dihydro-2-oxo-

benzoxazol-3-ylmethyl *O*, *O*-diethyl phosphoro-dithioate, 98%, (주)경농]을 사용하였다.

#### 4) 실험수조

어류의 적응수조는 각변이  $75 \times 30 \times 45$  cm인 직육면체 유리수조로 용량은 100 l였으며, 실험용 수조는 각변이  $25 \times 25 \times 25$  cm인 정육면체 유리수조로 용량은 15 l였다.

## 2. 실험방법

### 1) Zebrafish 및 red sword tail의 실험조건 및 BCF의 계산

Zebrafish 및 red sword tail에 대한 실험조건은 OECD guideline 305-D를 따랐다.<sup>25)</sup> 실험기간은 3일, 5일 및 8일로 하였고, 실험농도는 OECD guideline 권고기준인, 실험동물의 LC<sub>50</sub>농도의 1/1000, 1/100농도와 본 실험실에서 기준에 설정한 실험농도인 0.05, 0.10, 0.50 ppm에서 각각 실시하였다. 각 농약의 BCF값은 3일을 BCF<sub>3</sub>, 5일을 BCF<sub>5</sub>, 8일을 BCF<sub>8</sub>로 나타내었다.<sup>15-17)</sup>

### 2) 농약의 생물농축계수(BCF)

#### (1) 표준용액의 제조 및 검량선의 작성

각 농약의 표준용액 조제와 검량선 작성 및 GC의 조건은 일본 위생시험법 주해<sup>26)</sup>와 PAM(Pesticide analytical manual)<sup>27)</sup>에 따랐다. Dichlorvos, methidathion 및 phosalone은 ethyl acetate 10 ml에 녹여 각각 1000 µg/ml 되게 stock solution을 조제한 후, 각 단계별로 희석하여 0.5, 1, 5, 10 µg/ml가 되게 표준용액을 조제하였다. 조제된 각 농도별 표준용액을 1 µl씩 GC에 주입하여 peak 면적법에 의하여 검량선을 작성하였다. 각 농약의 측정을 위한 GC의 조건으로 칼럼온도는 dichlorvos가 150°C, methidathion은 230°C, phosalone은 250°C에서 등온분석하였으며, 검출기는 FPD를 사용하였고 그 외의 조건은 민 등<sup>28)</sup>의 방법에 따랐다.

#### (2) 어류조직에서 농약의 추출 및 정량

Zebrafish 및 red sword tail에서 각 농약의 추출 및 정량은 일본위생시험법 주해<sup>26)</sup>와 PAM(Pesticide

analytical manual)<sup>27)</sup>에 따랐다.

#### (3) 실험수에서 농약의 추출 및 정량

실험수에서 농약의 추출 및 정량은 민 등<sup>28)</sup>의 방법에 따랐다.

#### 3) 농약의 회수율 측정

Zebrafish와 red sword tail(약 4g) 및 각각의 시료 실험수 100 ml에 Dichlorvos, methidathion 및 phosalone의 경우 0.5 µg/ml 표준용액을 각각 0.2 ml씩 첨가하여 전술한 실험방법에 따라 Dichlorvos, methidathion 및 phosalone의 함량을 구하였으며 이로부터 회수율을 계산하였다.

#### 4) 농약의 배설속도상수(depuration rate constant)의 측정

Zebrafish 및 red sword tail 체내에서 각 농약의 배설속도상수의 측정은 민 등<sup>28)</sup>의 방법에 따랐다.<sup>28)</sup>

#### 5) 농약의 급성독성시험(LC<sub>50</sub>)

농약의 96시간 반수치사농도를 구하기 위하여 APHA, AWWA, WPCF가 공동으로 출간한 Standard method<sup>29)</sup>와 농약잔류성시험의 기준과 방법<sup>30)</sup>에 따라 실험하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 농약의 급성독성 시험 결과

각 농약의 96시간 LC<sub>50</sub> 실험결과는 Table 1과 같다. Zebrafish가 red sword tail보다 같은 농약에 대하여 내성이 강하였다.

### 2. 농약의 회수율 시험 결과

Zebrafish와 red sword tail 및 각각의 실험수 시

**Table 1.** Comparison of 96 hour LC<sub>50</sub> on pesticides (unit : mg/l)

Pesticides	Zebrafish	Red sword tail
Dichlorvos	55.0171	1.0232
Methidathion	22.0314	0.0208
Phosalone	1.0532	0.0005

**Table 2.** Recovery and detection limits of pesticides in fish and test water (mean±S.E.)

Pesticide	Spiked level fish/test water (ppm)	Detection limit fish/test water (ppm)	Zebrafish (%)	Red sword tail (%)	Test water (%)
Dichlorvos	1.25/0.05	0.02/0.0008	86.3±1.5	87.2±1.3	102.3±1.7
Methidathion	1.25/0.05	0.02/0.001	88.4±2.3	90.1±2.1	99.8±1.4
Phosalone	1.25/0.05	0.009/0.0009	89.5±1.7	89.3±1.7	98.7±1.4

료에서, 개개 농약의 회수율은 Table 2와 같다. 회수율은 zebrafish에서 86.3~92.7%, red sword tail에서는 88.3~91.5%, 실험수에서는 98.7~105.4%로 BCF를 구하기 위한 개개 농약의 함량을 정량하는데는 충분하다고 판단되었다. 또한, 어류조직별 4g의 시료와 실험수 시료 100 ml의 본 분석법에 의한 농약별 검출한계는 각각 0.0004~0.02 ppm과 0.00001~0.001 ppm 범위였다.

### 3. 농약의 생물농축계수(BCF)

#### 1) Dichlorvos의 BCF

Dichlorvos의 실험결과는 Table 3과 같다. Zebrafish의 경우, 실험농도가 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도와 BCF값은 증가하였으며, 실험농도가 같은 경우에는 실험기간이 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도와 BCF는, 5일 이후 감소하는 경향을 나타내고 있다. Red sword tail의 경우, 96시간 LC<sub>50</sub>의 1/100실험농도(0.01 ppm)와 0.05, 0.10 ppm 실험농도에서, 실험농도가 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도는 증가하였으나 BCF값은 오히려 감소하였

**Table 3.** Concentration of dichlorvos in fish, test water, control water and calculated BCFs (mean±S.E.)

Fish	Conc. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Day	Fish ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )	Test water ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Control water ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	BCFs
Zebrafish <sup>†</sup>	1/1000		0.12±0.04	0.051±0.02	0.055±0.002	2.35±0.04
	1/100		1.19±0.05	0.43±0.01	0.55±0.02	2.76±0.08
	0.05	3	0.08±0.02	0.03±0.01	0.04±0.01	2.36±0.05
	0.10		0.21±0.05	0.08±0.02	0.10±0.02	2.42±0.04
	0.50		1.05±0.23	0.40±0.03	0.50±0.04	2.63±0.03
	1/1000	5	0.11±0.02	0.049±0.02	0.054±0.004	2.24±0.06
	1/100		1.19±0.03	0.42±0.01	0.54±0.01	2.83±0.03
	0.05		0.08±0.02	0.03±0.02	0.04±0.01	2.37±0.12
	0.10		0.20±0.03	0.08±0.02	0.09±0.03	2.50±0.09
	0.50		0.99±0.17	0.37±0.04	0.49±0.08	2.68±0.07
Red sword tail <sup>‡</sup>	1/1000		0.11±0.03	0.048±0.02	0.053±0.005	2.29±0.03
	1/100		1.18±0.02	0.42±0.01	0.54±0.02	2.80±0.05
	0.05	8	0.08±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	2.35±0.04
	0.10		0.21±0.02	0.08±0.03	0.09±0.03	2.48±0.08
	0.50		0.97±0.08	0.36±0.05	0.47±0.09	2.61±0.23
	1/1000	3	ND*	0.001±0.000	0.001±0.000	—
	1/100		0.04±0.00	0.008±0.001	0.010±0.001	4.92±0.05
	0.05		0.14±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	4.66±0.08
	0.10		0.37±0.03	0.08±0.02	0.09±0.01	4.63±0.09
	0.50		—	—	—	—
	1/1000		ND	0.001±0.000	0.001±0.000	—
	1/100		0.03±0.00	0.008±0.001	0.010±0.001	3.90±0.08
	0.05	5	0.15±0.01	0.03±0.02	0.04±0.01	5.01±0.05
	0.10		0.39±0.06	0.08±0.02	0.09±0.03	4.88±0.08
	0.50		—	—	—	—
	1/1000	8	ND	0.001±0.000	0.001±0.000	—
	1/100		0.03±0.00	0.007±0.001	0.009±0.001	4.29±0.05
	0.05		0.15±0.02	0.03±0.01	0.04±0.01	5.02±0.14
	0.10		0.38±0.04	0.08±0.03	0.09±0.03	4.74±0.11
	0.50		—	—	—	—

\*Zebrafish: • 1/1000 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.055  $\mu\text{g}/\text{ml}$

• 1/100 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.550  $\mu\text{g}/\text{ml}$

<sup>†</sup>Red sword tail: • 1/1000 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.001  $\mu\text{g}/\text{ml}$

• 1/100 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.010  $\mu\text{g}/\text{ml}$

\*ND: not detected.

**Table 4.** Concentration of methidathion in fish, test water, control water and calculated BCFs (mean±S.E.)

Fish	Conc. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Day	Fish ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )	Test water ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Control water ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	BCFs
Zebrafish <sup>†</sup>	1/1000	3	0.09±0.01	0.020±0.001	0.022±0.001	4.55±0.24
	1/100		1.14±0.11	0.21±0.01	0.22±0.01	5.42±0.31
	0.05		0.24±0.05	0.05±0.01	0.05±0.01	4.88±0.15
	0.10		0.39±0.11	0.09±0.02	0.10±0.02	4.33±0.27
	0.50		1.84±0.45	0.41±0.11	0.48±0.05	4.48±0.35
Zebrafish <sup>†</sup>	1/1000	5	0.09±0.01	0.018±0.002	0.022±0.002	5.08±0.18
	1/100		1.10±0.15	0.20±0.02	0.22±0.02	5.49±0.21
	0.05		0.23±0.04	0.05±0.01	0.05±0.01	4.61±0.04
	0.10		0.40±0.08	0.09±0.02	0.10±0.03	4.44±0.07
	0.50		1.72±0.37	0.40±0.04	0.46±0.06	4.30±0.11
Red sword tail <sup>*</sup>	1/1000	8	0.08±0.01	0.018±0.003	0.022±0.002	4.64±0.15
	1/100		1.11±0.09	0.19±0.03	0.22±0.02	5.84±0.19
	0.05		0.21±0.00	0.04±0.01	0.05±0.01	5.25±0.07
	0.10		0.37±0.02	0.08±0.02	0.09±0.02	4.63±0.15
	0.50		1.77±0.03	0.38±0.07	0.45±0.04	4.65±0.25
Red sword tail <sup>*</sup>	1/1000	3	ND*	ND	ND	ND
	1/100		ND	ND	ND	ND
	0.05		—	—	—	—
	0.10		—	—	—	—
	0.50		—	—	—	—
Red sword tail <sup>*</sup>	1/1000	5	ND	ND	ND	ND
	1/100		ND	ND	ND	ND
	0.05		—	—	—	—
	0.10		—	—	—	—
	0.50		—	—	—	—
Red sword tail <sup>*</sup>	1/1000	8	ND	ND	ND	ND
	1/100		ND	ND	ND	ND
	0.05		—	—	—	—
	0.10		—	—	—	—
	0.50		—	—	—	—

\*Zebrafish: • 1/1000 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.022  $\mu\text{g}/\text{ml}$

• 1/100 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.220  $\mu\text{g}/\text{ml}$

\*Red sword tail: • 1/1000 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.00002  $\mu\text{g}/\text{ml}$

• 1/100 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.00021  $\mu\text{g}/\text{ml}$

\*ND: not detected.

다. 한편, Red sword tail의 경우, 96시간 LC<sub>50</sub>의 1/1000농도(0.001 ppm)에서 검출한계(0.02 ppm) 미만으로 BCF값을 산출할 수 없었고, 실험농도 0.50 ppm에서는 실험동물이 사망하여 제외하였다.

### 2) Methidathion의 BCF

Methidathion의 실험결과는 Table 4와 같다. Zebrafish의 경우, 실험농도가 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도는 증가하였으나, BCF값은 큰 변화가 없었다. 실험농도가 같은 경우, 실험기간이 증가해도 어류 체내에서의 농축정도는 일정하였으며,

BCF값도 큰 변화가 없었다. Red sword tail의 경우, 96시간 LC<sub>50</sub>농도의 1/1000농도(0.00002 ppm)와 1/100(0.0002 ppm)에서 실험농도가 검출한계(0.02 ppm) 미만이었으므로, 이로인해 BCF값을 산출할 수 없었고, 실험농도 0.05, 0.10, 0.50 ppm에서는 실험동물이 사망하여 제외하였다.

### 3) Phosalone의 BCF

Phosalone의 실험결과는 Table 5와 같다. Phosalone의 경우에도, zebrafish의 체내에서 실험농도와 실험기간에 따른 체내 농축정도와 BCF값은 methi-

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

Fish	Conc. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Day	Fish ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )	Test water ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Control water ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	BCFs
Zebrafish <sup>†</sup>	1/1000	3	0.01±0.00	0.001±0.000	0.001±0.000	10.1±0.1
	1/100		0.12±0.01	0.010±0.001	0.010±0.001	12.3±0.1
	0.05		0.55±0.11	0.05±0.01	0.05±0.01	11.2±0.4
	0.10		0.99±0.31	0.10±0.02	0.10±0.01	10.4±0.5
	0.50		—	—	—	—
Zebrafish <sup>†</sup>	1/1000	5	0.01±0.00	0.001±0.000	0.001±0.000	10.4±0.1
	1/100		0.12±0.01	0.010±0.001	0.010±0.001	12.4±0.1
	0.05		0.52±0.07	0.04±0.01	0.05±0.01	13.4±0.8
	0.10		0.94±0.23	0.09±0.02	0.10±0.02	10.7±0.2
	0.50		—	—	—	—
Red sword tail <sup>*</sup>	1/1000	8	0.01±0.00	0.001±0.000	0.001±0.000	10.2±0.1
	1/100		0.11±0.01	0.010±0.001	0.010±0.001	11.2±0.1
	0.05		0.53±0.17	0.04±0.01	0.05±0.01	13.8±0.7
	0.10		0.95±0.33	0.09±0.02	0.10±0.02	10.5±0.3
	0.50		—	—	—	—
Red sword tail <sup>*</sup>	1/1000	3	ND <sup>#</sup>	ND	ND	ND
	1/100		ND	ND	ND	ND
	0.05		—	—	—	—
	0.10		—	—	—	—
	0.50		—	—	—	—
Red sword tail <sup>*</sup>	1/1000	5	ND	ND	ND	ND
	1/100		ND	ND	ND	ND
	0.05		—	—	—	—
	0.10		—	—	—	—
	0.50		—	—	—	—
Red sword tail <sup>*</sup>	1/1000	8	ND	ND	ND	ND
	1/100		ND	ND	ND	ND
	0.05		—	—	—	—
	0.10		—	—	—	—
	0.50		—	—	—	—

<sup>†</sup>Zebrafish: • 1/1000 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.00105  $\mu\text{g}/\text{ml}$

• 1/100 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.01053  $\mu\text{g}/\text{ml}$

<sup>\*</sup>Red sword tail: • 1/1000 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.0000005  $\mu\text{g}/\text{ml}$

• 1/100 of 96hr LC<sub>50</sub>: 0.000005  $\mu\text{g}/\text{ml}$

<sup>#</sup>ND: not detected.

dathion의 경향과 같았다. Zebrafish의 경우, 실험농도 0.50 ppm에서는 실험동물이 사망하여 제외하였다. Red sword tail의 경우, 96시간 LC<sub>50</sub>농도의 1/1000농도(0.0000005 ppm)와 1/100(0.000005 ppm)에서 실험농도가 검출한계(0.009 ppm) 미만이어서 BCF값을 산출할 수 없었고, 실험농도 0.05, 0.10, 0.50 ppm에서는 실험동물이 사망하여 제외하였다.

#### 4. 농약의 배설속도상수의 측정 결과

각 농약에 대하여, 각 농도에서 실험한 배설속도상

수를 측정한 결과는 Table 6과 같다. Dichlorvos의 경우, zebrafish의 배설속도가 red sword tail보다 빠른 것을 알 수 있으며, 이는 실험어류의 종에 따라 체내에 축적되는 정도와 BCF값이 red sword tail이 zebrafish보다 높은것과 연관성이 있음을 알 수 있다. Zebrafish의 경우, 각 농약의 배설속도는 dichlorvos, methidathion, phosalone의 순으로 빨랐다.

#### 5. 농약의 물리화학적 성질과 BCF

어류체내 화학물질의 독성 예측에 이용되는 각 농

**Table 6.** Depuration rate constants of pesticides  
[unit : k(h<sup>-1</sup>)]

	Concentration (mg/l)	Zebrafish	Red sword tail
Dichlorvos	1/1000	0.228	—
	1/100	0.224	0.082
	0.05	0.231	0.083
	0.10	0.220	0.084
	0.50	0.226	—
Methidathion	1/1000	0.154	—
	1/100	0.155	—
	0.05	0.156	—
	0.10	0.150	—
	0.50	0.153	—
Phosalone	1/1000	0.096	—
	1/100	0.093	—
	0.05	0.090	—
	0.10	0.100	—
	0.50	—	—

**Table 7.** BCF and physicochemical properties\*

Pesticide	V <sub>p</sub> <sup>a)</sup> (mPa)	S <sub>w</sub> <sup>b)</sup> (mg/l)	P <sub>ow</sub> <sup>c)</sup>
Dichlorvos	2100	8000	79.4
Methidathion	0.25	200	158.49
Phosalone	0.067	1.7	20000

a) V<sub>p</sub> indicates vapor pressure.

b) S<sub>w</sub> indicates water solubility.

c) P<sub>ow</sub> indicates octanol-water partition coefficient.

\* Data were cited from pesticide manual.<sup>31-33)</sup>

약의 물리화학적 성질은 Table 7과 같다.<sup>31-33)</sup> 일반적으로, 중기압은 환경내 이동현상, 수용성은 생체내 침투, 그리고 분배계수는 지질 친화성이 척도로 알려져 있으며, BCF와 상관성이 어떠한지를 알아보기 위해 조사하였다. 각 농약의 어류체내 농축정도와 BCF값이 phosalone, methidathion, dichlorvos의 순으로 높게 나타난 결과는 농약의 물리화학적 성질인 중기압, 수용성, 분배계수와 높은 상관성이 있음을 알 수 있다. 즉, dichlorvos의 경우 zebrafish체내에 농축정도와 BCF값이 다른 농약에 비해 낮고 배설속도가 빠른 것은 중기압과 수용성이 가장 크며, 분배계수는 가장 낮은것에 그 원인이라 여겨지며, phosalone은 이와 반대로 zebrafish체내에 농축정도와 BCF값이 높고 배설속도가 느린 것은 중기압과 수용성이 가장 작으며, 분배계수는 가장 높기 때문이다. 이로 예상된다.

이상의 결과에서, 본 실험에 사용한 각 농약의 BCF는 zebrafish보다 red sword tail이 높았다. 그러나, methidathion과 phosalone의 경우는 검출한 계 미만이거나 실험동물의 사망으로 BCF를 산출할 수 없었다. 그리고, 96시간 LC<sub>50</sub>의 1/1000농도에서는 급성독성 농도가 낮은 농약일 경우 검출한계 미만으로, 체내축적경향을 파악하기 힘들거나, 실험수행의 어려움이 많은 것으로 나타났다. 따라서, 실험농도는 96시간 LC<sub>50</sub>의 1/100농도가 더 적절한 것으로 생각된다. 그리고 새로 개발된 농약의 BCF측정에 있어서 BCF값의 확보를 위해서는 zebrafish가 실험어류로서 적절하다고 생각된다.

#### IV. 결 론

Zebrafish(*brachydanio rerio*), red sword tail (*Xiphophorus helleri*)을 이용하여 유기인계 농약인 dichlorvos, methidathion 및 phosalone을 실험농도 0.05, 0.10, 0.50 ppm 및 각 농약에 대해 측정한 96시간 LC<sub>50</sub> 농도의 1/100, 1/1000에서 단기간(3일, 5일, 8일) 생물농축계수(Bioconcentration factor, BCF)를 측정하였으며, 아울러 배설속도상수(de-purification rate constant)를 구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Dichlorvos의 경우 zebrafish에서 실험농도가 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도와 BCF값은 증가하였으며, 실험농도가 같은 경우에는 실험기간이 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도와 BCF는 5일 이후 감소하는 경향을 나타냈다. 또한 red sword tail의 경우, 96시간 LC<sub>50</sub>의 1/100 실험농도와 0.05, 0.10 ppm 실험농도에서, 실험농도가 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도는 증가하였으나 BCF값은 오히려 감소하였다.

Methidathion과 phosalone의 경우 zebrafish에서 실험농도가 증가할수록 어류 체내에서의 농축정도는 증가하였으나, BCF값은 큰 변화가 없었다. 실험농도가 같은 경우, 실험기간이 증가해도 어류 체내에서의 농축정도는 일정하였으며, BCF값도 큰 변화가 없었다. Red sword tail의 경우, 검출한계 미만이거나 실험동물의 사망으로 BCF값을 산출할 수 없었다.

각 농약의 배설속도상수는 dichlorvos, methidathion, phosalone의 순으로 배설이 빠르게 나타났다. 이것은 배설속도가 느린 편이 높은 BCF를 나타낸다는 사실을 뒷받침하는 것이라 보여지며, 이들

농약의 물리화학적 성질인 증기압, 수용성, 분배계수와 상관성이 있는 것으로 추정된다.

그리고 이들 농약에 대하여, OECD guideline 305-D에서 권고하고 있는 실험농도 중 96시간 LC<sub>50</sub>의 1/1000에서 수행한 실험은, GC로서 검출한계 미만인 경우가 있어서 BCF측정에 어려움이 있었다. 따라서, 실험농도를 96시간 LC<sub>50</sub>의 1/100로 하는 것이 적절할 것으로 판단된다.

## 참고문헌

- 1) Moriarty, F. and Walker, C. H.: Bioaccumulation in Food Chains-Rational Approach, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **13**, 208, 1987.
- 2) Nagal, R. and Loskill, R.: Bioaccumulation in A-aquatic system. VCH, USA, 7-12, 1991.
- 3) Geiger, C. R.: The health and safety concerns of common insecticides. *Journal of Environmental Health*, **55**(8), 11-13, 1993.
- 4) Robertson, B. K. and Alexander, M.: Growth-linked and cometabolic biodegradation: Possible reason for occurrence of absence of accelerated pesticide biodegradation. *Pestic. Sci.*, **41**, 311, 1994.
- 5) Hill, E. F.: Organophosphorous and Carbamate Pesticides. CRC, Inc. USA, 243-274, 1995.
- 6) Blus, L. J.: Organochlorine pesticides. CRC, Inc. USA, 275-300, 1995.
- 7) Koren, H. and Bisesi, M.: Handbook of environmental health and safety, CRC, Inc. USA, 275-310, 1996.
- 8) Peter, M. C., Herbert, E. A., Kathy, G. and Michael, N. Z.: Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals, *Environ. Sci. Technol.*, **30**(10), 448A-452A, 1996.
- 9) 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.
- 10) Burkart, M. R. and Kolpin, D. W.: Hydrologic and land-use factor associated with herbicides and nitrate in near-surface aquifers. *J. Environ. Qual.*, **22**, 646, 1993.
- 11) Masse, et al.: Leaching of metolachlor, atrazine and atrazine metabolites into groundwater. *Trans. Asae*, **37**, 801, 1994.
- 12) Donald, W. S.: Organophosphorous and Carbamate Pesticides. CRC, Inc. USA, 275-300, 1995.
- 13) Caspers, N. and Sch rman, G.: Bioaccumulation in Aquatic System. VCH, USA, 81-98, 1991.
- 14) 유홍일: 환경독성평가의 관련제도. 한국환경위생학회, 환경독성평가에 관한 세미나 자료집, 3-16, 1995.
- 15) Korte, F., Freitag, D., Geyer, H., Viswanathan, R., Kotzias, D., Attar, A. and Klein, W.: Ecotoxicological profile analysis. *Ecotoxicology and Environmental safety*, **6**, 60, 1982.
- 16) 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.
- 17) Jorgensen, S. E.: Modelling in ecotoxicology, Elsevier, Netherlands, 69-79, 1990.
- 18) Barron, M. G.: Bioaccumulation and Bioconcentration in Aquatic Organism, CRC Press, USA, 652-666, 1995.
- 19) van Leeuwen, C. J. and Hermens, J. L. M.: Risk assessment of chemicals: KAP, Netherlands, 1-17, 1995.
- 20) Linthurst, R. A.: Methods to assess the effects of chemicals on ecosystems. John Willy & Sons, Inc., 1995.
- 21) Begum, G., et al.: Study of dimethoate bioaccumulation in liver and muscle tissues of clarias batrachus and its elimination following cessation of exposure. *Pestic. Sci.*, **40**, 201-205, 1994.
- 22) Tsuda, T., et al.: Accumulation and excretion of diazinon, fenthion and fenitrothion by killfish: comparison of individual and mixed pesticides. *Wat. Res.*, **29**(2), 455-458, 1995.
- 23) 농약공업협회: '95 농약사용지침서. 농약공업협회, 1995.
- 24) 농약공업협회: '96 농약연보. 농약공업협회, 1996.
- 25) OECD: OECD Guideline 305 A-E, OECD, 1981.
- 26) 일본약학회편: 위생시험법주해, 금원출판사, 75-101, 430-442, 1985.
- 27) PAM: Pesticide analytical manual, USFDA. 1991.
- 28) 민경진, 차춘근, 전봉식, 김근배: 단기간 생물농축계수의 측정에 있어서 실현여류의 종에 따른 차이. 한국환경위생학회지, **24**(1), 24-31, 1998.
- 29) APHA, AWWA, WPCF: Standard methods for the examination of water and waste water. 17th ed. Washington D.C., APHA, 1989.
- 30) 보건사회부: 농약잔류성 시험의 기준과 방법(어독성 시험). 보건사회부 고시 제91-88호, 보건사회부, 1991.
- 31) Montgomery, J. H.: Agrochemicals Desk Reference Environmental Data. LEWIS Publishers, USA, 1993.
- 32) Montgomery, J. H.: Groundwater Chemicals. 2th ed., CRC, Inc. USA, 1996.
- 33) Tomlin, C.: The Pesticide Manual. 10th ed., British crop protection council, 1995.