

In vivo 시험에 의한 잉어(*Cyprinus carpio* L.)체내 endosulfan의 대사

이강봉 · 심재한 · 서용택*
전남대학교 농과대학 농화학과

Abstract : ^{14}C - α -endosulfan을 공시어인 잉어(*Cyprinus carpio* L.)에 대해서 LC_{10} 농도(4.5 $\mu\text{g/L}$)로 처리하여 *in vivo* 대사과정을 추적한 결과 endosulfan은 처리 직후에 공시어에 빠르게 흡수되었다가 시간이 경과됨에 따라 잉어체내로부터 제거되었다. 잉어의 간과 신장, 소화관에서 발견된 endosulfan의 대사물질로는 EE(endosulfan ether), EA(endosulfan alcohol), EHE(endosulfan hydroxyether), EL(endosulfan lactone)이었으며 주된 대사물질은 EE와 EA이었다. 다만 식물체와 포유류 등에서 발견되는 것으로 알려진 ES(endosulfan sulfate)는 공시어의 어느 조직에서도 발견되지 않았다. ^{14}C -endosulfan의 공시어 머리와 근육, 소화관에서의 흡수는 처리 8시간 후에 최대에 이르렀으나 간과 신장에서는 각각 처리 30분과 4시간 후에 최대의 흡수량을 보였다. 공시어의 모든 조직에서 방사능량은 처리 8시간 후에는 급격히 감소하였으며 이때 간, 신장, 소화관 조직에서 ^{14}C -endosulfan의 회수율은 80~90%로 나타났다. 하지만 처리 8시간이 경과한 이후부터는 추출되지 않은 방사능량이 증가(27~31%)되었으며 8시간을 중심으로 수용성 물질의 생성이 증가되었다(1994년 5월 12일 접수, 1994년 6월 21일 수리).

서 론

DDT, BHC, heptachlor 등 대부분의 유기염소계 농약은 매우 안정한 화합물로서 농산물 및 농업환경내에서의 잔류성 문제로 전반적으로 사용이 규제되고 있으나 광범위한 비침투성 살충제인 endosulfan(Thiodan, 6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexa hydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepin 3-oxide)은 계속해서 사용되고 있는 cyclodiene 계 농약이다. 공업용 endosulfan은 α -endosulfan과 β -endosulfan이라고 하는 2개의 이성체를 가지는데 이들은 4:1의 혼합비율로 구성되어 있다.¹¹⁾ Endosulfan은 여러 가지 대사물질이 있는 것으로 보고되어 왔는데 endosulfan alcohol(EA), endosulfan ether(EE), endosulfan sulfate(ES), endosulfan lactone(EL), endosulfan α -hydroxyether(EHE)가 그것이다(Fig. 1).²²⁾

Endosulfan의 이성체중 α -endosulfan은 β -endosulfan에 비해 독성이 강한 반면 토양 중 흡착능력은 β -endosulfan이 더욱 강한 것으로 알려져 있다.¹³⁾ 이것은 독성이 강한 α -endosulfan이 토양 중에서 쉽게 용탈되어 수중으로 침투할 수 있음을 나타낸다. 또한 포유류와 식물

체중의 주된 산화대사물질로 알려진 ES역시 그 독성이 β -endosulfan에 비해 큰 것으로 알려져 있으나¹⁶⁾ EE와 EA는 독성이 거의 없는 것으로 보고되었다.¹⁾ Endosulfan은 다른 유기염소계 농약에 비하여 포유류에 대한 독성이 약하지만(쥐; 급성경구독성 LD_{50} 100 mg/kg, 급성피독성 LD_{50} 681 mg/kg) 어류에는 독성이 매우 높다.¹⁶⁾ 잔류된 endosulfan의 수질오염이나 통기성 토양에서의 유실에 의해^{11,13)} 수생환경을 오염시킨 몇몇 경우가 보고되어 있으나 아직까지 수생생물에서 endosulfan의 대사경로는 밝혀진게 아주 미미한 실정이다.

따라서 본 실험에서는 endosulfan에 의한 잉어체내의 조직별 대사산물과 대사기작을 확인 구명하고자 ^{14}C -endosulfan을 이용하여 잉어에서 *in vivo* 시험과 *in vitro* 시험을 수행하고자 하였는데 여기에 *in vivo* 시험의 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

^{14}C -endosulfan α -isomer(2.96 MBq/mg, 99% up)은

Key words : endosulfan, *in vivo*, metabolism, carp

*Corresponding author : Y.-T. Suh

International Isotopes München(Germany)로부터 구입하였고 공업용 endosulfan(96%)은 농약연구소로부터 분양 받았다. Thin layer chromatography(TLC) plate는 Merck 제품을, 그밖의 시약은 특급을, 용매(MeOH, acetone, chloroform, hexane)는 농약잔류분석용 또는 HPLC용을 사용하였다. Gas chromatograph는 Pye Unicam 304 모델을, high performance liquid chromatograph는 Waters 510 & 486 모델을, liquid scintillation counter는 LKB 제품을, TLC autoradiograph scanner는 Trace master 20 모델을, gas chromatograph-mass spectrometer는 Hewlett Packard, HP 5890 series II와 HP 5970 series MS selective detector를 사용하였다.

방법

1) Endosulfan 대사물질의 합성

공업용 endosulfan(96% up)의 재결정은 Chau와 Therry⁴⁾의 방법에 따라 실시하였고 endosulfan 대사물질들은 Barnes와 Ware,¹⁾ Lindquist와 Dahm,¹²⁾ Sylvan 등²²⁾의 방법에 준하여 합성하였으며 endosulfan sulfate는 Supelco Co.로부터 구입하였다. ¹⁴C- α -Endosulfan은 TLC 상 (acetone : heptane, 4 : 96, v/v)에서 정제하여 순수물질을 사용하였다.

2) 잉어의 endosulfan에 대한 독성시험

공시어인 참잉어(평균무게; 1.6 ± 0.42 g, 평균길이 7.2 ± 0.8 cm)는 전라북도 내수면 개발시험장에서 분양받아 실험실조건으로 2주 이상 순화시킨 후 시험에 사용하였

다. 순화기간 중 잉어 치어용 사료를 체중당 2~4%/일로 공급하였고 사육실 온도는 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 일조시간은 12시간으로 유지하였다. 공시어는 시험 24시간 전에 절식시켰으며 독성시험은 $50 \times 50 \times 40$ cm(W×L×H)의 유리수조에서 수행하였다. 공시농약인 endosulfan은 acetone에 용해시켜 1,000 ppm의 stock solution을 만들고 다시 이를 희석하여 500, 250, 100, 50, 25, 10, 5 ppm의 working solution을 조제하여 처리하였고 시험에 사용된 공시어의 조건은 Table 1과 같다.

LC₅₀은 무처리구를 포함하여 8 수준의 농도로 시험하고 시험구당 20 마리씩 2 반복으로 처리하였다. 공시어의 치사판정은 노출 시작 후 3, 6, 9, 12, 24, 48, 96시간에 야가미 호흡이 중지된 것이나 유리막대로 자극을 주어 반응이 없는 것으로 하였다. LC₅₀의 통계적 계산은 Finney⁷⁾에 의한 probit 분석으로 하였으며 대사시험은 LC₁₀의 농도를 처리하여 실시하였다.

3) Endosulfan의 in vivo 대사시험

공시어 3마리를 3 L beaker에 넣고 acetone에 용해시킨 LC₁₀ 농도의 ¹⁴C- α -endosulfan(4.5 μg , 0.36 $\mu\text{Ci/L}$)과 비표지 endosulfan을 각각 3 반복으로 처리하였다. 처리 후 0.5, 1, 4, 8, 24, 48, 96시간에 각 처리구의 공시어로부터 간, 신장, 중장, 두부, 몸통을 재빨리 분리 채취하여 Rao 등¹⁴⁾의 방법과 Guerin과 Kennedy⁸⁾의 방법을 변형하여 다음과 같이 추출하였다. 무게를 칭량한 각 조직을 hexane : acetone : MeOH(15 : 5 : 5) 혼합용액(10 ml)으로 glass homogenizer에서 각 조직의 2배량의 무수 Na₂SO₄를 넣고 마쇄하였다. 마쇄한 조직은 동일한 혼합용액(30 ml)으로 세척한 후 삼각플라스크로 옮겨 30분 동안 진탕추출하였다. 추출 후 Büchner 깔대기(Whatman No. 6)상에서 여과하고 여액은 분액여두에서 증류수 500 ml와 NaCl 포화액 50 ml를 첨가하고 hexane 150 ml로 2회에 걸쳐 분배추출하여 무수 Na₂SO₄층을 통과시켰다. 탈수시킨 추출액은 회전진공농축기상에서 농축(1 ml)하여 column clean-up을 실시하였다. 정제용 column은 Florisil(10 g)을 유리 column(22 mm i.d×50 cm)에 hexane을 이용하여 습식충전하여 사용하였으며 조제된 column에 첨가된 상기 농축시료는 2% acetone/hexane 용액 200 ml로 용출시켰다. 비표지 endosulfan을 처리한

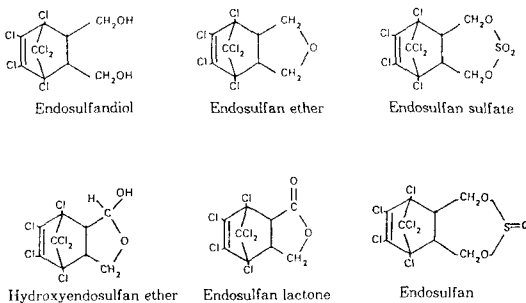


Fig. 1. Structures of endosulfan and its metabolites.

Table 1. Chemical Properties of Water Used in the Test

pH	Hardness*	COD	DO	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Temp. (°C)	alkalinity	NH ₃ -N	EC (mMho)
7.7	58	0.3	6.98	—	1.69	15±1.5	22.5	0.07	0.26

* Hardness, COD, DO, SO₄²⁻, alkalinity, and NH₃-N are expressed as mg/L.

시험구는 농축하여 benzene으로 재용해하여 GLC/ECD 분석을 실시하여 각 조직에서의 endosulfan 대사물질의 생성과 그 잔류량을 조사하였고 ^{14}C -endosulfan 처리구는 TLC와 LSC 계측을 실시하여 그 분포와 대사물질의 생성을 확인하였다. ^{14}C -Endosulfan 처리구의 경우에는 공시수, 조직잔류물, 수용성 추출물, 지용성 추출물로 분리하여 시험을 수행하였다.

비표지 endosulfan을 분리하기 위한 TLC plate로는 AgNO_3 -함유 silicagel plate를 사용하였으며 ^{14}C -endosulfan 분석용 TLC plate로는 silicagel 피복 aluminium plate와 silicagel 피복 glass plate, RP-18 silicagel plate를 사용하였다. 각 TLC plate는 사용 전에 130°C 에서 15분간 활성화 시켰으며 desiccator에서 냉각시킨 후 실온에서 시료와 표준품을 점적하였다. TLC의 전개는 $33 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 온도조건에서 4% acetone/heptane의 용매계로 수행하였으며 아울러 heptane : benzene(1 : 1, v/v)의 용매계로도 수행하여 대사물질들을 확인하였다. 비표지 endosulfan의 경우에는 H_2O_2 와 UV선으로 검출 확인하고 GC와 GC-MS로 확인하였다. 표지 endosulfan은 TLC scanner와 autoradiography로 검출 확인하고 검출 후 해당 R_f 부분을 긁어 모아 LSC로 계측하였다. 여기서 GC 분석은 Pye Unicam 304 series gas chromatograph로 실시하였으며 검출기는 ^{63}Ni -전자포획검출기(ECD)를 사용하였다. Column은 5% SE-30과 5% DC-200이 3 : 1의 비율로 혼합된 유리컬럼(4 mm i.d. \times 2 m)을 사용하였으며 컬럼, 주입기, 검출기의 온도는 각각 210, 270, 290 $^\circ\text{C}$ 였다. 이동상 가스는 질소를 분당 45 ml의 유속으로 사용하였다. 또한 GC-MS의 분석은 HP 5890 series II gas chromatograph와 HP 5970 series MS selective detector를 이용하였는데 분석컬럼은 HP-Ultra II(0.2 mm \times 20 m capillary column)를 사용하였다. 주입기와 검출기의 온도는 각각 270, 290 $^\circ\text{C}$ 였으며 컬럼은 180 $^\circ\text{C}$ 에서 2분

동안 유지하다가 5 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 의 조건으로 승온하여 250 $^\circ\text{C}$ 에서 5분간 유지 후 분석을 종결하였다. 이동상 가스는 He(10 ml/min)를 사용하였으며 split ratio는 30 : 1, MS 범위는 33-470, 이온화는 E.I.mode, 70 eV로 실시하였다.

결과 및 고찰

공시어인 참잉어에 대한 독성시험에서 공시약제인 endosulfan의 96시간 LC_{50} 은 7.96 ppb이었으며 LC_{10} 은 4.49 ppb로 이미 알려져 있는 바와 같이 아주 강한 어독성을 보였다. ^{14}C -Endosulfan과 그 대사물질들의 분석을 위한 수단으로 TLC 상에서 두가지 용매계로 분리한 결과, 이들의 R_f 값을 Table 2에 나타냈다. 이들 값은 전개온도에 따라 약간의 차이가 나타났으나 endosulfan과 그 대사물질들의 전개는 α -endosulfan(αE), endosulfan ether(EE), β -endosulfan(βE), endosulfan sulfate(ES), endosulfan alcohol(EA), endosulfan α -hydroxy ether(EHE), endosulfan lactone(EL)의 순서로 나타났다. 이러한 R_f 값은 Rao와 Murty^{15,18}의 보고와 유사하였으며 heptane : benzene(1 : 1, v/v) 용매계에서의 R_f 값도 거의 일치하였다.

또한 대사체의 확인을 위한 GC-ECD와 HPLC-UV에서의 retention time(R_t)은 Table 3에 나타낸 바와 같다. GC-ECD에 의한 endosulfan과 그 대사물질들의 동시분석은 지금까지는 DC-200, OV-101, QF-1, OV-17, SE-30 등의 column 충전물에 의해서 부분적으로 실시되어 왔다.²⁰ 하지만 최근들어 5% SE-30 : 5% DC-200(3 : 1, w/w)의 혼합충전 column을 사용한 대사물질들의 동시분석법이 개발²³되어 endosulfan과 그 대사물질의 분석이 용이하게 되었다. 이 분석조건을 이용한 GC/ECD 분석에서 이들의 검출순서는 EE, EHE, EL, EA, αE , βE , ES로 나타났다. 이들의 분석시간은 표준품은 약 10.5분,

Table 2. hR_f values of endosulfan and its metabolites

Compounds	hR_f	
	Acetone/Heptane (4 : 96, v/v) 33 \pm 1 $^\circ\text{C}$	Heptane/Benzene (50 : 50, v/v) 33 \pm 1 $^\circ\text{C}$
α -Endosulfan	81	92
Endosulfan ether	46	76
β -Endosulfan	25	54
Endosulfan sulfate	13	48
Endosulfan alcohol	10	23
Endosulfan α -hydroxyether	4	13
Endosulfan lactone	0	4

Table 3. R_t values of endosulfan and its metabolites in GC and HPLC

Compounds	R_t values (min)		
	GLC-ECD	HPLC (RP-8)	HPLC (RP-18)
Endosulfan ether	3.0	7.3	7.5
Endosulfan α -hydroxyether	3.5	6.4	6.7
Endosulfan lactone	3.8	3.2	3.9
Endosulfan alcohol	4.6	5.4	5.4
α -Endosulfan	6.1	10.5	9.6
β -Endosulfan	8.0	9.3	8.2
Endosulfan sulfate	9.6	6.0	6.0

Table 4. Residues of endosulfan and its metabolites in the liver of carp after treatment

Compound	Residue Amount with Time ($\mu\text{g}/\text{mL}$)						
	0.5	1	4	8	24	48	96 (hr)
α -Endosulfan	0.78	0.69	0.81	0.85	0.48	0.67	0.96
β -Endosulfan	0.51	0.38	0.75	0.44	0.19	0.25	0.63
Endosulfan ether	1.21	0.78	0.76	0.49	0.52	0.57	0.62
Endosulfan alcohol	0.94	0.23	0.10	tr	tr	tr	tr
Endosulfan sulfate	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Endosulfan lactone	ND	ND	0.06	tr	tr	tr	0.08
Endosulfan	tr	0.15	0.08	0.06	0.04	0.06	0.04
α -hydroxyether							
Total	3.44	2.23	2.56	1.84	1.23	1.55	2.33

ND: not detected, tr: trace detected.

시료에서는 13분 정도가 소요되었으며 EE와 EHE가 선명하게 구분되지 못하는 단점이 있었다.

비표지 endosulfan을 처리한 *in vivo* 시험에서 이들의 대사물질 확인은 GC-ECD와 GC-MS로 결정하였고 공시어의 간에서 이들 대사물질의 생성 잔류농도를 Table 4에 나타냈다. 이들의 총 잔류량은 ^{14}C -표지 화합물을 사용했을 때와 유사하게 처리 직후에 그 잔류량이 가장 높았고 시간이 경과함에 따라 그 양은 감소하였다. 또한 ES와 EL은 모든 시간대에서 불검출 되거나 극미량만이 발견되었다. EE는 총 잔류량의 변화경향과 같은 양상을 보였는데 이는 공시어에서 EE가 주된 대사물질로 배설 되거나 다른 기관으로 이동되었음을 시사한다. EA도 처리 직후에 나타났다가 그 양이 급격히 감소하는 경향을 보였다. 반면에 EHE는 거의 모든 시간대에서 미량씩 비슷한 양이 검출되었다.

한편 신장 조직에서의 endosulfan 대사물질 생성농도는 Table 5에 나타난 바와 같이 간 조직과 마찬가지로 EE가 대량 생성되어 시간의 경과에 따라 감소하는 것을 볼 수 있었다. EA에서도 역시 유사한 경향을 보였으며

ES와 EL은 불검출 또는 미량만이 검출되었다. EHE도 간 조직에서와 마찬가지로 미량이 검출되었으며 시간의 경과에 따라 큰 변화는 없었다. 신장 조직에서 이들의 총 잔류량을 보면 처리 직후에 급격히 많은 양이 섭취 되어 시간이 경과함에 따라 감소하다가 96시간 후에 그 양이 다시 증가되었다.

공시어의 소화관으로부터 추출한 endosulfan 대사물질을 분석한 결과는 Table 6에 나타냈다. 총 잔류량은 시간의 경과에 따라 감소하다가 역시 96시간 후에 증가되는 결과를 보였으며 다른 조직에서와 마찬가지로 ES나 EL은 불검출 되거나 미량만이 검출되었다. 소화관에서도 다른 조직에서 나타난 바와 같이 EE가 초기에 다량 생성되어 그 양이 점차 감소하였는데 이 결과로 미루어 보아 공시어의 간과 신장, 소화관에서 endosulfan은 주로 EE로 대사되어 배설되는 것으로 추측되었다. 또한 EA도 초기에 상당량이 생성되어 점차 감소되는데 다른 체내 생성 화합물과 conjugation 반응을 하여 체외배설되었을 것으로 추측되었다.

이상의 조직기관에서 공통적으로 약제처리 후 96시간

Table 5. Residues of endosulfan and its metabolites in the kidneys of carp after treatment

Compound	Residue Amount with Time ($\mu\text{g/ml}$)						
	0.5	1	4	8	24	48	96 (hr)
α -Endosulfan	1.68	1.00	1.36	1.04	0.33	0.71	1.32
β -Endosulfan	0.52	0.68	0.95	0.60	0.32	0.35	2.12
Endosulfan ether	3.12	1.38	1.41	0.63	0.85	0.44	0.56
Endosulfan alcohol	1.62	0.30	0.10	0.10	0.13	tr	tr
Endosulfan sulfate	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Endosulfan lactone	ND	tr	ND	0.08	tr	tr	tr
Endosulfan	ND	0.11	0.17	0.11	0.08	0.09	0.08
α -hydroxyether							
Total	6.94	3.56	3.99	2.56	1.71	1.59	4.08

ND: not detected, tr: trace detected.

Table 6. Residues of endosulfan and its metabolites in the gut of carp after treatment

Compound	Residue Amount with Time ($\mu\text{g/ml}$)						
	0.5	1	4	8	24	48	96 (hr)
α -Endosulfan	1.25	0.26	0.53	0.51	0.39	0.55	1.62
β -Endosulfan	0.38	0.21	0.45	0.40	0.19	0.23	2.15
Endosulfan ether	1.34	0.60	0.71	0.52	0.41	0.51	0.34
Endosulfan alcohol	0.96	0.12	0.10	tr	tr	tr	tr
Endosulfan sulfate	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Endosulfan lactone	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0.11
Endosulfan	ND	0.06	0.08	0.06	tr	tr	tr
α -hydroxyether							
Total	3.93	1.25	1.87	1.49	0.99	1.29	4.22

ND: not detected, tr: trace detected.

에는 모든 잔류량이 증가되었는데 그 이유는 분명치 않았다. 또한 약제처리 후 96시간에 이들 조직기관에서 βE 의 양이 αE 에 비해 상대적으로 증가되었는데 이는 Rao 등¹⁶⁾에 의해 알려진 αE 가 βE 보다 약 20배 정도의 독성이 크다는 사실과 Chopra 등³⁾이 αE 가 담배에서 βE 로 전환된다고 보고한 사실에서와 같이 잉어체내에 적도 마찬가지로 대사경로를 통해 조직기관에서 αE 가 독성이 더 낮은 βE 로 전환되었다고 추측할 수 있었다.

이러한 endosulfan의 분해물질에 대한 결과는 생물 종과 그 환경에 따라 매우 다양하다. 두 종류의 조류(algae)⁹⁾에서 endosulfan은 EA로만 분해되고 Ballschmitter와 Tolg²⁾도 곤충에서 EHE와 EA가 주된 대사물질이라고 하였다. 집파리에서는 ES가 주된 대사물질이라고 보고¹⁾되었으며 Gupta와 Chandra¹⁰⁾는 mouse에서 EA와 ES가 주요 분해물질이며 ES는 지방층에 저장되고 EA는 배설된다고 하였다. Gorbach 등¹¹⁾은 milk sheep에서

EA, ES, EHE가 주요한 대사물질이라고 보고하였다. 하지만 Wyman 등²⁵⁾은 rat에서 EHE가 주된 대사물질이라고 하여 Ballschmitter 등과는 다른 결과를 보고하였다. 어류 체내에서 endosulfan의 대사에 관한 연구는 드물게 보고되었는데 Sastry와 Siddiqui²¹⁾는 snake-head fish에서, Devi 등³⁾은 *C. punctata*에서의 최종 대사물질은 EA 또는 EE라고 보고하였다. 대형잉어(*L. rohita*)¹⁶⁾와 반목어(*A. testudineus*)¹⁶⁾에서 주요 대사물질은 EE이고 이 물질은 *M. acculeatum*의 간과 신장에서도 최종 대사물질이라고 보고¹⁷⁾되었다. 한편 Rao와 Murty¹⁹⁾는 메기에서 ES, EA, EE가 주된 대사물질이라고 보고하였으며 Rao¹⁵⁾는 *C. catla*의 간과 신장에서 EL, EA, EE가 최종 대사물질이라고 보고하였다.

이와 같이 어류 체내에서 endosulfan의 대사 생성물질은 어류의 종 및 연구자에 따라 다소 상이하나 일반적으로 포유류나 곤충 및 식물체에서 흔히 발견되는

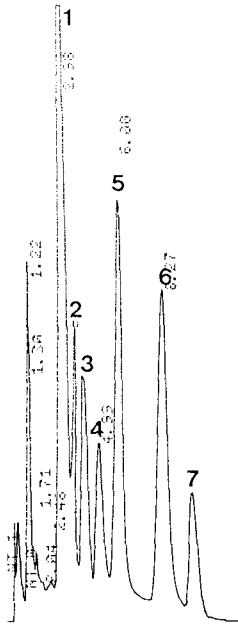


Fig. 2. Gas chromatogram of endosulfan and its metabolites; the order of peak label is EE, EHE, EL, EA, α E, β E, and ES.

대사물질인 ES는 endosulfan의 산화물로 어류의 해독 과정에서 생성되는 것은 아니며 모화합물 만큼 독성이 큰 것이라는 보고¹⁶⁾와 본 연구의 결과는 일치하였다. 본 연구에서 잉어 체내의 주 대사물질로 확인된 EE와 EA는 생물학적 독성(특히 어독성)이 거의 알려지지 않았다. Lindquist와 Dahm¹²⁾의 보고에서는 EA는 1370 mg/kg의 쥐 경구독성으로 치사 화합물이 아님을 밝혔고 집파리에 대한 EA와 EE의 LC₅₀은 >500 μ g/g이라고 알려져 있다. Gill⁹⁾ 등은 endosulfan이 혈액으로부터 제거되어 간 조직에 저장되며 소화관을 통해 배설된다고 하였다. 본 실험의 결과에서도 endosulfan이 간과 신장 조직에서 대사되거나 이동되어 소화관을 통해 배설된다고 제안할 수 있었다. 이 같은 endosulfan 대사물질들의 GC-ECD를 통한 분석결과는 GC-MS를 통해 재확인하였는데 Endosulfan과 그 대사물질들의 GC-ECD 상에서의 chromatogram은 Fig. 2에 나타났다. 이들의 민감도는 EE와 EA, ES에서 큰 차이가 있었는데 EE는 α E에 비해 약 1.8배, EA는 약 0.3배, ES는 약 0.5배의 민감도를 보였다. 또한 endosulfan을 GC-MS 분석한 이온 spectrum은 Fig. 3에 나타냈는데 이 중 EHE와 EA에서는 적절한 column이

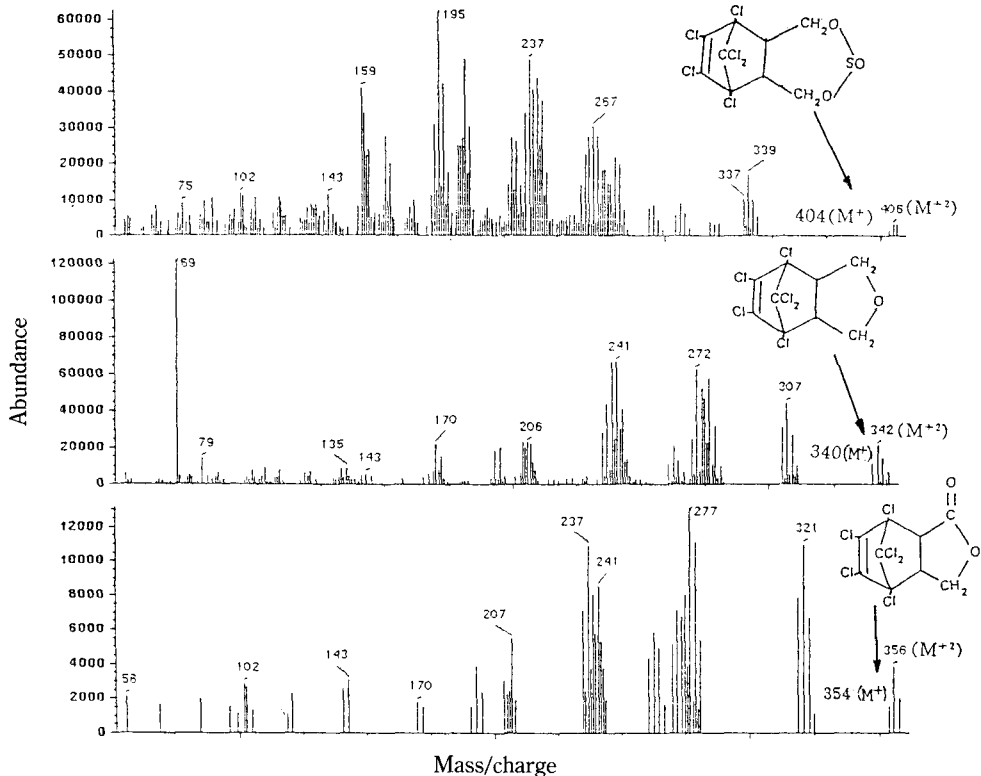


Fig. 3. GC-MS spectra of endosulfan and its metabolites.

Table 7. Distribution of ¹⁴C-endosulfan and its metabolites in tissues of carp and water

Time (hr)	% total ¹⁴ C-radioactivity traced (¹⁴ C-radioactivity applied:100 %)						Total
	Liver	Kidney	Gut	Head	Muscle	Water	
0.5	1.2	0.6	4.7	10.1	11.6	61.9	90.1
1	1.1	1.2	7.3	18.1	21.7	32.5	81.9
4	1.0	1.7	12.1	29.0	26.4	13.4	83.6
8	0.7	1.5	26.6	47.7	7.3	9.2	93.0
24	0.3	0.3	4.1	25.9	2.9	39.1	72.6
48	0.2	0.2	2.0	16.5	1.8	51.7	72.4
96	0.1	0.1	0.7	14.1	0.9	53.2	69.1

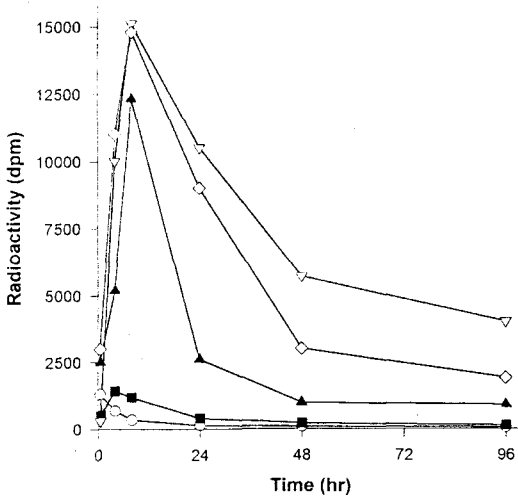


Fig. 4. Rate of absorption of ¹⁴C-endosulfan in tissues; (▲) gut, (◇) muscle, (▽) head, (■) kidneys, (○) liver.

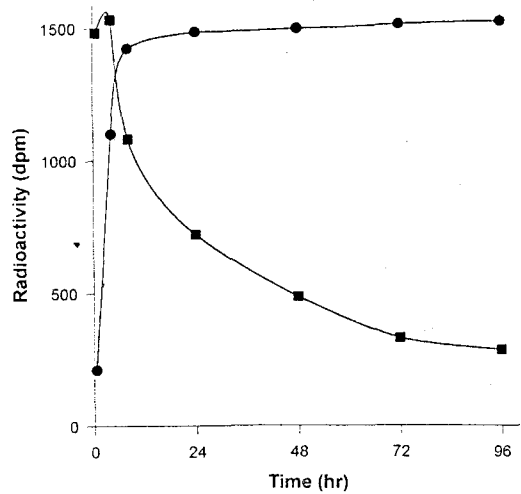


Fig. 5. Degradation of endosulfan in water during the toxicity test; (●) water soluble extracts, (■) organo soluble extracts.

이용될 수 없어서 검출되지 않았고 나머지는 모두 검출되었다. ES는 420, EL은 354, EE는 340, αE나 βE는 404의 m/z를 보였으며 공시어의 간, 신장, 창자, 공시수에서의 추출 시료를 분석한 결과 GC-ECD에서 분석한 바와 마찬가지로 EE, EL이 검출되었다. 한편, 소화관 시료와 96시간 노출 후의 공시수에서 각각 450과 428의 m/z를 보이는 물질이 검출되었는데 어떤 물질에 의한 것인지의 확인하지 못하였다.

¹⁴C-표지 endosulfan을 비표지 화합물의 방식과 같이 실험하여 이들의 분포를 확인한 결과(Table 7) 간 조직에서는 처리 직후(30분)부터 그 분포량이 계속해서 감소되는 경향을 보였고 신장과 근육에서는 처리 후 4시간에 흡수를 최대로 보이다가 이후로는 감소하는 경향을 보였다. 반면 공시어의 머리와 소화관 조직에서는 처리 후 8시간에 흡수 최대를 보이다가 이후로 감소하였다.

한편, 공시수에서는 공시어의 섭취 증가에 따라 상대적으로 그 양이 감소하였다가 8시간을 정점으로 차츰 증가하는 경향이 두드러졌다.

상기의 결과로 미루어 보아 약제의 섭취가 처리 후 8시간이 경과했을 무렵에 거의 이뤄지고 그 이후로는 섭취된 endosulfan이 대사물질의 형태로 배설되었다고 가정할 수 있었다. 총 방사능의 시간경과에 따른 회수율 감소는 배설된 대사물질이 배설물로의 bound residue가 이루어져 기인한 것으로 나타났다. 시간의 경과에 따른 각 조직별 흡수량상은 Fig. 4에 나타냈다. 앞서 언급한 바와 같이 간에서는 처리 직후부터 감소 경향이 나타났고 신장에서는 4시간, 소화관, 근육, 머리 부분에서는 처리 후 8시간이 흡수 최대를 보였으며 이후로는 감소가 뚜렷하였다. 한편, 이들의 총 섭취량 분포는 창자, 머리,

근육 조직에서 가장 높았는데 처리 4시간까지는 머리와 근육이 가장 높았고 처리 후 8시간부터는 창자와 머리 부분에 방사능의 분포가 두드러졌다. 반면에 간과 신장 조직에서는 다른 조직의 20배 이하로 낮은 분포를 보였는데 이러한 결과가 간과 신장에서 섭취된 endosulfan이 독성이 낮은 다른 대사물질로 쉽게 분해되어 다른 기관으로 이동하였는지 아니면 이들 조직에서 해독용량이 초과되어 다른 기관으로 분포된 것인지는 분명하지 않았다. 이러한 흡수 분포량은 Fig. 5에서의 endosulfan 대사물질의 공시수에서의 추출곡선에서도 잘 나타나는데 공시약제 처리 후 8시간을 분기점으로 수용성 추출물과 지용성 추출물이 교차하고 있다. 즉, 수용성 대사물질인 EA, EHE, EE, EL의 생성량(conjugate포함)이 증가하고 있으며 상대적으로 αE 나 βE 의 양이 감소하고 있음을 확인할 수 있었다. 이상의 결과로 미루어 보아 공시약제인 endosulfan은 잉어의 체내로 섭취되어 EE, EA, EHE, EL 등의 대사물질로 대사되고 이들은 공시어의 체내로 흡수된 후 빠르게 대사되어 체외로 배설된다고 볼 수 있었다. 또한 이들 대사물질 중 가장 많은 양은 EE와 EA가 차지하고 있었는데 이는 공시약제가 최초로 EE나 EA로 대사됨을 나타내는 결과라고 생각되었다. 이러한 결과들은 *in vitro* 시험으로 재확인하여 잉어에서 endosulfan의 대사과정을 결정할 수 있을 것이다.

감사의 말

본 연구는 한국학술진흥재단의 1992년도 자유공모과제 연구비 지원에 의해 수행된 것으로 당 재단에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Barnes, W. W. and G. W. Ware (1965) The absorption and metabolism of ^{14}C -labeled endosulfan in the house fly, J. Econ. Entomol., 58(2), 286-291
- Ballschmiter, V. K. und G. Tölg (1966) Metabolismus des thiodans in insekten, Angew. Chem. 78, 775-776
- Chopra, N. M., B. S. Campbell and J. C. Hurly (1978) Systematic studies on the breakdown of endosulfan in tobacco smokers: Isolation and identification of the degradation products from the pyrolysis of endosulfan I in a nitrogen atmosphere, J. Agric. Food Chem., 26, 255-258
- Chau, A. S. Y. and K. Therry (1972) Confirmation of pesticide residue identity. IV. Derivative formation in soil matrix for the confirmation of α - and β -endosulfan by chromatography, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 55(6), 1232-1238
- Devi, P. A., D. M. R. Rao and K. S. Tilak (1981) Relative toxicity of the technical grade material, isomers, and formulations of endosulfan to the fish *Channa punctata*, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 27, 239-243
- El Zorgani, G. A. and M. E. H. Omer (1974) Metabolism of endosulfan isomers by *Aspergillus niger*, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 12(2), 182-185
- Finney, D. J. (1971) In "Probit analysis, estimation of the medium effective dose", 19-47, Cambridge Univ. press, Cambridge, England
- Guerin, T. F. and I. R. Kennedy (1992) Distribution and dissipation of endosulfan and related cyclodienes in sterile aqueous systems: Implications for studies on biodegradation, J. Agric. Food Chem., 40, 2315-2323
- Gill, T. S., J. Pande and H. Tewari (1991) Effects of endosulfan and phosphamidon poisoning on the peripheral blood of fish, J. Environ.Sci.Health, A26 (2), 249-255
- Gupta, P. K. and S. V. Chandra (1977) Toxicity of endosulfan after repeated oral administration to rats, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 18(3), 378-384
- Gorbach, S. G., O. E. Christ, H. M. Kellner, G. Kloss, and E. Börner (1969) Metabolism of endosulfan in milk sheep, J. Agric. Food Chem., 16(6), 950-953
- Lindquist, D. A. and P. A. Dahm (1957) Some chemical and biological experiments with thiodan, J. Econ. Entomol., 50(4), 483-486
- Rao, D. M. R. and A. S. Murty (1980) Persistence of endosulfan in soils, J. Agric. Food Chem., 28, 1099-1101
- Rao, D. M. R. (1981) Improved clean-up technique for estimation of endosulfan residues from fish tissues under tropical conditions, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 64, 340-342
- Rao, D. M. R. (1989) Studies on the relative toxicity and metabolism of endosulfan to the indian major carp *Catla catla* with special reference to some biochemical changes induced by the pesticide, Pestic. Biochem. Physiol., 33, 220-229
- Rao, D. M. R., A. P. Devi and A. S. Murty (1980) Relative toxicity of endosulfan, its isomers, and formulated products to the freshwater fish *Labeo ro-*

- hita, J. Toxicol. Environ. Health, 6, 825-834
17. Rao, D. M. R., A. P. Devi and A. S. Murty (1981) Toxicity and metabolism of endosulfan and its effect on oxygen consumption and total nitrogen excretion of the fish *Macrognathus aculeatum*, Pestic. Biochem. Physiol., 15, 282-287
 18. Rao, D. M. R. and A. S. Murty (1980) Toxicity and biotransformation and elimination of endosulfan in *Anabas testudineus*, Indian J. Exp. Biol., 6, 664-672
 19. Rao, D. M. R. and A. S. Murty (1982) Toxicity and metabolism of endosulfan in three fresh water catfishes, Environ. Poll. Ser., A27, 223-230
 20. Singh, N. C., T. P. Dasgupta and A. Mansingh (1991) Dynamics of pesticides in tropical conditions. 1. Kinetic studies of volatilization, hydrolysis, and photolysis of dieldrin and α - and β -endosulfan, J. Agric. Food Chem., 39, 575-579
 21. Sastry, K. V. and A. A. Siddiqui (1983) Metabolic changes in the snake head fish *Channa punctata* chronically exposed to endosulfan, Water, Air, and Soil Pollution, 19, 133-141
 22. Sylvan, E. F., J. D. Antony, V. C. Michael and R. A. Olofson (1965) Conformational equilibria in cyclic sulfites: The configurations and conformations of the two isomeric thiodans, J. Org. Chem., 30, 169-175
 23. Turlough, F. G., W. L. K. Stephen and I. R. Kennedy (1992) Efficient one-step method for the extraction of cyclodiene pesticides from aqueous media and the analysis of their metabolites, J. Agric. Food Chem., 40, 2309-2314
 24. Warman, P. R. and G. Fairchild (1984) The effects of endosulfan and fertilizer source on soil fertility 2. Available soil nutrient levels and soil organic matter, Commun. Soil Sci. Plant Annal., 15(3), 309-326
 25. Wyman, D. H., H. Kurt and M. C. Thomas (1978) Fate of endosulfan in rats and toxicological consideration of apolar metabolites, Pestic. Biochem. Physiol., 3, 251-258

***In vivo* Metabolism of Endosulfan in Carp (*Cyprinus carpio* L.)**

K. B. Lee, J. H. Shim, and Y. T. Suh* (Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

Abstract : To study the metabolism and absorption of endosulfan in carp, ^{14}C - α -endosulfan was treated with the LC_{10} concentration ($4.5 \mu\text{g/L}$). In an *in vivo* test, endosulfan was metabolized (65~80%) in tissues and endosulfan ether, endosulfan alcohol, endosulfan α -hydroxyether, and endosulfan lactone were identified, indicating that those are the main metabolites of detoxification in carp. The maximum levels of ^{14}C -endosulfan in the head, muscle, and gut occurred after 8 hr exposure. However, the maxima reached in the liver and kidneys after 30 min and 4 hr, respectively. Radioactivity in the tissue decreased rapidly 8 hr after treatment. The total amount of ^{14}C -endosulfan recovered in the liver, kidneys and gut of fish was about 80~90% during the 8 hr treatment. The non-extractable radioactivity increased after 8 hr exposure (27~31%). Endosulfan sulfate, the main degradation product in plant and mouse, was not detected during the test interval from tissues of the carp.