

생쥐 체내에서 ^{14}C - α -Endosulfan의 대사

김인선 · 이강봉 · 심재한 · 서용택

Metabolism of ^{14}C - α -Endosulfan in Mouse *in vivo*

In-Seon Kim, Kang-Bong Lee, Jae-Han Shim and Yong-Tack Suh

Abstract

Absorption, distribution, excretion and metabolism of ^{14}C - α -endosulfan([1,4,5,6,7,7-hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-en 2,3-ylenebismethylene]sulfite) were studied in male mouse(Balb/c) after single intraperitoneal treatment as the dose level of 7.5 mg/kg body weights.

After treatment of ^{14}C - α -endosulfan, the radioactivity was rapidly excreted into the urine(63.9 %) within 4 days, thereafter the excretion ratio was constant. Radioactivity levels in the tissues was reached maximum 0.5 hr in heart, 2 hrs in liver and kidney after the treatment, then decreased with time. Endosulfan was metabolized to β -endosulfan(β -E), endosulfan ether(EE), endosulfan sulfate(ES), and endosulfan alcohol(EA). The main metabolites were EA(13.25 %) in liver and endosulfan hydroxyether(EHE)(19.37 %) in kidney. The urinary metabolites were EA(43.21 %), ES (4.78 %), β -E(7.21 %), EE(3.72 %) and EHE(18.04 %).

서 론

근래에 들어 환경문제에 대한 인식이 높아짐에 따라, 병해충과 잡초의 방제가 주목적인 농약에 대해서 그 방제 효과와 더불어 환경 오염 또는 독성 측면을 더욱 중요시하는 경향이 있다. 농약이 최종

적으로 인간을 포함한 생태환경에 끼치는 피해를 줄이기 위해서 농약 사용에 대한 규제가 강화되고 있다. 따라서 농약의 개발 방향도 한층 안전한 화합물 형태를 지향하고 있으며, 이러한 경향의 하나로 천연물질 농약에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 하지만 농약이 가진 특성으로서 아무리 안전

한 화합물 형태라 할지라도, 또 규제 범의안에서 개발되어 사용되는 것들이라고 할지라도 환경오염을 줄이고, 독성을 평가하기 위해서는 먼저 동식물의 체내에서 농약의 동태에 대한 추적과 탐색이 이루어지지 않으면 안될 것이다. 특히, 일부 약제에서는 모화합물 자체의 직접적인 것보다 2차적으로 동식물의 체내에 흡수되어 분해된 대사산물에 의한 독성이 증가하는 경우가 있으므로, 농약 성분에 대한 효과적인 체내 추적 및 탐색 연구를 위한 대사적 접근이 매우 중요하다고 할 수 있다. 대사적 접근에는 약제가 체내에 흡수 - 축적 - 대사 - 배설의 경로를 거칠 때까지 정확한 동태를 알아내는 것이 중요한데, 여기에는 표지화합물을 사용하면 매우 효과적일 것이다.

본 연구에 공시된 약제 endosulfan([1,4,5,6,7,7-hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-en 2,3-ylenebis-methylene]sulfite)은 cyclodien 유기염소계 살충제의 하나로서 농산물과 환경에 잔류성 문제로 사용이 규제되고 있는 이 계통의 다른 약제와는 달리 꾸준히 사용되고 있다. Endosulfan의 대사산물들로서는 β -endosulfan(β -E), endosulfan ether(EE), endosulfan hydroxyether(EHE), endosulfan sulfate(ES), endosulfan alcohol(EA), endosulfan lactone(EL) 등¹⁾이 있으며, 동물체에서 endosulfan의 대사에 관한 연구결과 집파리에서 ES가 주요 대사산물²⁾, rat에서 EHE가 주요 대사산물³⁾ 알려져 있다. 또 milk sheep에서는 EA가 주요 대사산물⁴⁾로 어류(*Cyprinus carpio* L.)에서는 EE가 주요 대사산물⁵⁾로 알려져 있다. 이렇듯 다양한 동물에서 endosulfan의 대사시험이 수행되어 왔지만, mouse에서는 Praywoon 등⁶⁾이 그 대사산물의 구조를 밝히지 않은 상태에서 다만 동정하는 데만 그쳤을 뿐으로 그 연구가 미비한 실정이다.

이에 본 실험에서는 표지 endosulfan을 이용한 생쥐 체내에서 대사 경로의 연구를 통해 포유동물에서 이 약제에 대한 효과적인 추적과 탐색 방법을 확립하고, 나아가 환경오염과 독성 측면에서 기초자료로 이용될 수 있는 독성학적 평가에 도움을 주고

자 한다.

재료 및 방법

1. 재 료

^{14}C - α -Endosulfan(2.96 MBq/mg)은 International Isotopes München(Germany)사에서 구입하여 TLC scanner 상에서 단일 spot로서 순도 99% 이상임을 확인하여 사용하였으며, 비표지 α -endosulfan의 표준품(96% up)은 농과원 작물보호부에서 분양받아 사용하였다. β -Glucuronidase(Type X-A, sulfatase 및 phosphatase 활성 함유) 그리고 Florisil은 Sigma(USA)제품을, silica gel과 TLC(thin layer chromatography) plate는 Merck(Germany) 제품을, 그 밖의 시약은 Junsei(Japan) 특급을, 용매들은 농약잔류 분석용 용매를 사용하였다. Endosulfan의 대사산물은 이⁷⁾로부터 합성되어 GC/MS, IR 및 NMR로 그 구조가 확인된 것을 사용하였고, endosulfan sulfate만은 Supelco(USA)사로부터 구입하여 사용하였다.

2. 사용기기

HPLC(high performance liquid chromatograph, Waters 510, USA), LSC(liquid scintillation counter, LKB, USA), TLC autoradiograph scanner(Trace master 20, USA) 등이었다.

3. 약제 처리

공시동물(Balb/c male mouse, 20-27 g, 4 주령)은 전남대학교 수의과 대학에서 분양 받아 실험실 조건에서 2 주 이상 순치한 다음 28 × 43 × 18 cm(가로 × 세로 × 높이) stainless cage에 5 마리씩 나누어 넣고 24 시간 먹이를 주지 않은 다음 corn oil에 녹인 공시약제 비표지 endosulfan과 ^{14}C - α -endosulfan을 혼합하여 7.5 mg kg⁻¹ body weights 수준으로 복강주사하였다. 실험군은 무처리구를 포함하여 3

개의 군에 3 반복으로 수행하였으며, 대조군은 약제를 제외하고는 모든 관리를 동일 하게 처리하였다. 먹이는 약제 처리 12 시간 후에 2.5 g/마리 수준으로 1 일 3 회 공급하였으며, 물 공급은 정상적으로 하였다. 분양용 stainless cage는 배설물을 받을 수 있도록 장치하였으며, 광 주기는 12 시간으로 하였고, 그리고 온도와 습도는 실험실 조건으로 하였다.

4. 생쥐 체내에서 ^{14}C - α -endosulfan의 대사시험

약제를 처리한 후 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 96 시간마다 mouse의 간과 신장 그리고 심장을 취하여 표면에 묻은 약제를 씻어 낸 다음 동결건조한 후 막자사발로 완전히 마쇄하였다. 마쇄시료는 무게를 칭량한 후 10% 0.1 N NaOH 수용액이 함유된 dichloromethane/acetone(1:1)의 혼합용액 50 ml를 이용하여 1 시간 동안 3 회 진탕하여 추출한 후 Büchner 깔때기 상에서 감압 여과하고, 여액은 30 °C 조건의 수조에서 질소농축하였다. 농축물은 증류수 3 ml를 가하여 다시 용해 한 다음 ethyl acetate 3 ml로 5 회에 걸쳐 분배추출하고, 유기용매층은 질소농축 후 acetone에 용해하여 TLC plate에서 전개 후 TLC autoradiograph로 대사산물을 확인하였고, 수용액층은 용액 1 ml를 취해 8 ml의 Aqualuma plus LSC cocktail과 잘 혼합한 후 LSC 계측을 하였다. TLC plate는 silica gel 피복 alumina TLC plate로서 사용전에 130 °C에서 15 분간 활성화하도록 한 다음 desiccator 안에서 실온까지 내려가도록 식혀서 사용하였으며, 그의 전개는 33 ± 2 °C 온도조건에서 heptane/benzene(1:1, v/v)의 용매계로 수행하였다.

비표지 약제 처리의 경우 hexane을 이용하여 7 g의 Florisil이 습식 충전된 glass column(2.2 cm i.d. x 50 cm length)에서 2% acetone이 함유된 hexane 200 ml로 용출하여 정제한 다음 용출액은 40 °C 온도 조건의 회전진공농축기 상에서 감압농축 후 다시 methanol에 재용해하여 HPLC 분석을 하였다. HPLC는 Waters 510으로서 검출기는 486 tunable

UV 검출기를 사용하여 UV 215 nm에서 분석하였고, 이동상은 10% 초산이 함유된 70% methanol 수용액으로 하였는데, 그 유속은 1.7 ml/min이었다. 분석 column은 Waters μ -Bondapak C-18(3.9 μ m thickness x 300 mm length) stainless column이었다.

5. 생쥐의 배설물에서 ^{14}C - α -endosulfan의 대사 시험

생쥐체내에서 ^{14}C - α -endosulfan 배설물의 조사는 1 일 간격으로 생쥐의 소변을 받아 0.6 ml를 취해 50 mM 인산완충용액(pH 7.4)을 이용해 총 부피를 3 ml로 맞춘 다음 이 중에서 1 ml를 취해 8 ml의 Aqualuma plus LSC cocktail과 잘 혼합하여 LSC 계측을 하여 수행하였다. 소변에서 대사산물의 조사는 앞의 소변수용액 중 첫 번째 시료는 0.1 N HCl 용액을 이용하여 pH를 2.0으로 맞춘 다음 동량의 ethyl acetate로 5 회 분배 추출하였고, 두 번째 시료는 초산완충용액을 가해 pH를 3.8로 맞춘 다음 1,000 units glucuronidase를 가해 37 °C 온도조건의 진탕 수조에서 16 시간 배양 후 동량의 ethyl acetate로 5 회 분배 추출하였다. 세 번째 시료는 1 N HCl를 가해 pH를 2.0으로 맞춘 후 끓는 수조에서 4 시간 동안 가수분해하여 동량의 ethyl acetate를 가해 5 회 분배 추출하였다. 시료중 유기용매층은 질소농축 후 앞 조건의 TLC 전개 후 TLC autoradiograph로 대사산물을 확인하였고, 수용액층은 용액 1 ml를 취해 8 ml의 Aqualuma plus LSC cocktail과 잘 혼합한 다음 LSC 계측을 하였다. 표준품에 대한 상기 조건의 酸 가수분해 및 酵素 가수분해 가능성은 상기조건의 TLC 분석을 통해 존재하지 않음을 확인하였으며, 모화합물의 회수율은 3 반복 평균 92% 수준이었다.

6. 대사산물의 확인

대사산물의 확인은 TLC autoradiograph 분석을

통해 확인된 각 대사산물의 해당 Rf 지점을 취하여 acetone으로 1시간 동안 3 회 추출한 다음 질소농축 후 HPLC 분석을 통해 표준품 대사산물과 대조군과의 머무름 시간을 기준으로 수행하였다. 분석상에서 나타난 머무름 시간은 대사산물을 동일한 조건의 시료 중에 첨가하여 비교 수행한 결과 분석에 오류가 없었음이 확인되었다. 해당 분해산물의 분포율을 나타 내기 위한 mass balance는 autoradiogram 상에 나타난 방사능(¹⁴C)과 앞서 실시한 HPLC 분석에서 나타난 각 분해산물을 용매 분획하여 LSC 계측을 통해 조사하였다.

결과 및 고찰

1. 생쥐 체내에서 ¹⁴C- α -endosulfan의 분포

약제 처리 후 각 조직별 방사능(¹⁴C)은 표 1에서 보는 바와 같이 처리 30 분 이내에는 심장에서 가장 높은 분포를 보였고, 그 비율은 처리 방사능의 8.07 % 수준이었다. 약제 처리 후 2 시간에는 심장의 약제 분포율이 6.22 %로 감소되는 반면 간과 신장에서

각각 1.43 %와 1.48 % 수준으로 나타나 이 시간 이전보다 2.5-3.5 배까지 현저한 증가를 보였다. 이러한 결과는 endosulfan이 처리 초기에는 심장으로 왔다가 시간이 경과함에 따라 간과 신장으로 이행 분포하는 것으로 나타났다. 간과 신장에서 약제의 최대 분포율은 2 시간 이후 현저한 감소를 보이다가 처리 12 시간 이후에는 검출이 되지 않았다. 이와는 달리 심장에는 많지는 않지만 계속 잔류하여 처리 48 시간까지 1 % 미만의 약제 분포율을 보였다. 이러한 결과는 심장에 흡수된 endosulfan은 간과 신장으로 이행된 후 다른 조직으로 또 다시 이행될 수 있음을 시사하였다.

2. 생쥐 체내에서 ¹⁴C- α -endosulfan의 대사

¹⁴C- α -endosulfan을 처리 한 후 각 조직에서 분포율이 가장 높은 시간에 적절한 각 조직에서 대사산물의 autoradiograph 분석 결과는 그림 1에 나타났다. 적출된 간에서 ¹⁴C- α -endosulfan은 그림 1에서 보여준 바와 같이 β -E, EE, ES, EHE, EA 등으로 대사됨을 알 수 있었고, 그 가운데 주요 대사산물은 EA와 ES였다. 또 신장에서도 간에서와 비슷한 결과를 보였는데, EHE가 주요 대사산물이었다. 대사산물 가운데 EL은 어떠한 실험군에서도 검출되지 않았으므로 나머지 대사산물에서 비롯된 최종산물일 수도 있으며, 그 대사산물들이 EL로 전환되기 전에 배설될 수도 있다고 짐작하게 하였다. 간과 달리 신장에서는 특히 EHE의 형성이 다른 대사산물보다 4 배까지 현저히 높게 검출되어 신장에서는 EHE의 형성이 잘 된다는 보고⁷⁾와 일치하였다.

이들 대사산물의 형성율을 보면(표 2) 간에서는 EA가 13.25 %로 가장 높았으며, 대사산물 중 ES도 11.54 %로서 꽤 높은 검출을 보였고, β -E와 EHE는 3.1-3.7 %로서 가장 낮게 검출되었다. 또 신장에서는 EHE가 19.37 %로서 가장 높게 검출되었으며, 그 다음은 EA로 12.69 %의 검출을 보였고, 간에서와 달리 ES가 3.22 %로서 β -E와 함께 가장 낮게 검출되었다. 하지만 간과 신장의 전반적인 대사산물의

Table 1. Relative ¹⁴C-radioactivity in the mouse tissues after ¹⁴C- α -endosulfan treatment

Time after treatment(hr)	% of ¹⁴ C-radioactivity in each tissue*		
	Liver	Kidney	Heart
0~0.5	0.33	0.37	8.07
0.5~1.0	0.43	0.62	7.17
1.0~2.0	1.43	0.48	6.22
2.0~4.0	0.87	0.72	5.24
4.0~8.0	0.55	0.31	2.44
8.0~12	0.18	ND	1.12
12~24	ND	ND	0.89
24~48	ND	ND	0.48
48~96	ND	ND	ND

*Mean of triplicate

ND : below background of radioactivity

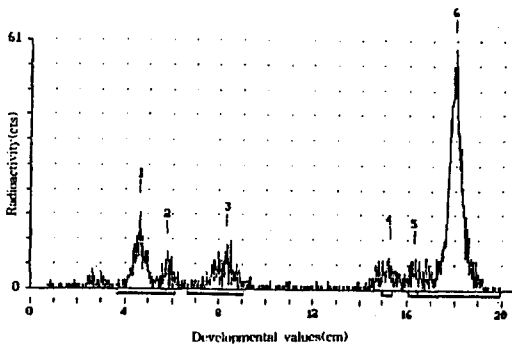


Fig. 1. One dimensional autoradiogram of ¹⁴C- α -endosulfan and its metabolites from liver extracts: 1. endosulfan alcohol, 2. endosulfan hydroxyether, 3. endosulfan sulfate, 4. β -endosulfan, 5. endosulfan ether, 6. α -endosulfan. TLC plate was developed up to 20 cm by heptane/benzene(1 : 1, v/v) solvent system.

형성에서 EA가 두드러진 검출을 보여 endosulfan의 생쥐 체내 대사는 EA로 진행되는 대사가 주요 경로일 것으로 판단되었다. 특히, EA는 다른 대사산물과 비교하면 酸加水分解나 glucuronidase가 작용하는 가수분해로 유기용매 추출율이 증가하는 경향이 나타나는 것으로 보아 EA는 생쥐 체내에서 conjugation 대사와 관련이 깊을 것으로 생각되었다.

한편 심장에서는 간이나 신장하고는 달리 대사산물의 형성이 매우 낮았으며, 처리된 α -E가 87.24%로서 높게 검출되어, 약제 처리 후 endosulfan은 심

장에서 거의 비대사산물로서 존재한다고 볼 수밖에 없었다. 또 심장에서 대사산물 가운데 EA는 5.2% 검출되어 다른 대사산물보다 높게 검출되었는데, 이러한 결과는 endosulfan이 가수분해 반응 등 매우 빠른 대사과정을 거쳐 EA를 형성한다고 볼 수 있다.

이상의 결과를 통해 생성된 대사산물을 토대로 생쥐 체내에서 endosulfan의 대사 기작을 살펴보면, 먼저 endosulfan은 CO 결합부위에서 sulfur 잔기의 회전으로 인한 α -E가 β -E로 되는 대사, 가수분해 반응을 통한 α -E가 EA로 되는 대사, 산화적인 기작을 통하여 α -E와 β -E가 ES로 되는 대사, epoxidation 반응에 따라서 EA가 EHE 또는 EE로 되는 대사 등이 이루어지는 것으로 보인다.

3. 생쥐의 소변중 대사산물의 확인

생쥐의 소변을 통한 endosulfan의 배설율은 그림 2에서 보여준 바와 같이 처리 4일 이내에 최대의 배설율인 63.7%를 보였다. 처리 4일 이후에는 배설의 증가율 정도가 그 이전보다 현저히 감소하여 7일 이내에는 4일과 유사한 63.9%로 나타났다. 이러한 결과는 생쥐에서 endosulfan의 배설 경로가 소변임을 의미하였다. 약제의 나머지(26.3%)는 대변이나 CO₂로 소실될 가능성이 있음을 추측할 수 있었다. 이 추측은 endosulfan의 대사산물 중 일부는 시간이 경과함에 따라 근육 내에 많이 축적된다는 보고⁶⁾와 같이, 배설되는 비율은 점점 감소할 것이라

Table 2. Relative ¹⁴C-radioactivity of α -endosulfan and its metabolites in mouse tissues after ¹⁴C- α -endosulfan treatment

Tissues ¹⁾	% of radioactivity of α -endosulfan and its metabolites in each tissue ²⁾						
	α -E	β -E	EE	ES	EHE	EA	EL
Liver	61.53	3.11	6.79	11.54	3.78	13.25	ND
Kidney	55.70	2.70	6.30	3.22	19.37	12.69	ND
Heart	87.24	3.71	1.71	1.40	0.74	5.20	ND

1) Each tissue was taken from mouse when distribution of ¹⁴C-radioactivity was maximum

2) Mean of triplicate

ND : below background of radioactivity

는 판단과 소변 중에 존재하는 총 방사능이 시간이 경과함에 따라 차츰 감소하는 사실을 통하여 확인할 수 있었다.

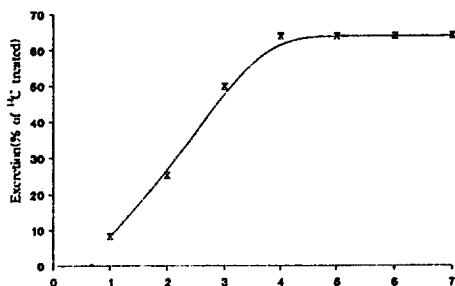


Fig. 2. Cumulative excretion of ^{14}C -radioactivity into the mouse urine after ^{14}C - α -endosulfan treatment. All values are S. D. of 3 test group containing five mouse, respectively.

생쥐의 소변에 배설되는 endosulfan 대사산물은 그림 3에서 보여준 것처럼 EE, EA, EHE, ES, β -E 등으로 배설됨을 알 수 있었으며, 배설되는 주요 대사산물은 EA였다. 이들 대사산물의 배설 정도를 보면 약제처리 1 일 이내에는 그림 3의 (A)에서 처럼 β -E가 12.8%, ES가 3.83%, EA가 22.42%로 각각 검출되었으며, 4 일 이내에는 이들 3 가지 대사산물의 증가와 더불어 EHE도 또한 검출되었다. 약제처리 4 일 이내에 나타난 대사산물의 형성율을 보면 EA가 43.21%로 가장 높았고, EHE 18.04%, β -E 7.21%, ES 4.78%, EE 3.72% 순서를 보였다. 이 때 비대사산물 α -E는 23.04%가 검출되었다. 대사산물 중 특히 EA는 다른 대사산물보다 14 배까지 높은 검출율을 보여, 생쥐 체내에서 α -E가 EA로 되는 대사과정은 매우 중요한 해독대사과정으로 생각되었다. 포유류에서는 대사산물 중 ES가 높게 검출된다는 보고⁴⁾와는 달리 본 실험의 결과에서는 ES가 비교적 낮은 형성율을 보였는데, 이것은 ES가 근육에 축적율이 높다는 보고⁶⁾를 통해 이 대사산물이 소변중에서 낮게 검출될 수 있다고 추측되었다.

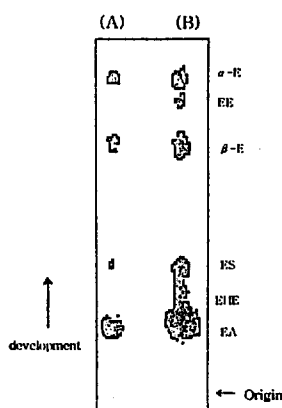


Fig. 3. Two dimensional autoradiogram of ^{14}C - α -endosulfan and its metabolites from urinary extracts 1 day(A) and 4 days(B) after ^{14}C - α -endosulfan treatment. Each mouse urine was adjusted to pH 2.0 with 0.1 N HCl and extracted with ethyl acetate. TLC plate was developed by heptane/benzene(1 : 1, v/v) solvent system.

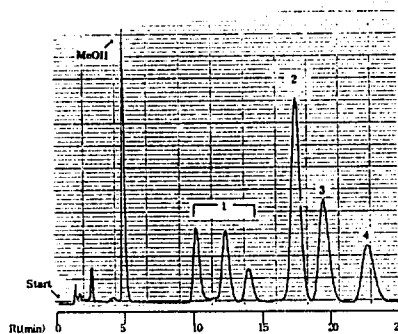


Fig. 4. HPLC chromatogram of endosulfan metabolites from mouse urine: 1, 3, urinary impurity, 2, endosulfan alcohol, 4, endosulfan hydroxyether. The urine sample was extracted with ethyl acetate 5 times after pH adjustment to 2.0 with 0.1 NHCl, then organic phase was discarded. The aqueous phase was hydrolyzed at boiling water for 4 hr then extracted with ethyl acetate 5 times.

한편 소변에 존재하는 endosulfan의 유기용매 비추출성 대사산물로는 그림 4에서 보여준 바와 같이 EA와 EHE인데, EA가 주요 대사산물이었다. 유기용매 비추출성 방사능은 소변시료 총 방사능의 13.4%였으며 대사산물의 HPLC 분석을 통한 방사능을 보면 EA가 73.13%, EHE가 17.27%로 소변 중 이들 대사산물의 회수율은 90% 이상이었다. 특히 EA는 glucuronidase의 가수분해 반응으로 유기용매 추출 정도가 EHE보다 현저히 증가함을 볼 때 glucuronic acid와 conjugates를 형성할 가능성이 높음을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 보면 생쥐 체내에서 endosulfan은 약제처리 후 초기에 심장에 이르렀다가 혈액순환을 통해 간과 신장으로 이행되어 β -E, EE, EHE, ES, EA 등으로 대사된 후, 소변을 통해 다시 수용성이 증가된 형태의 대사산물로 배설되는 경로를 가질 것으로 생각되었으며, 배설된 대사산물 중 EA와 EHE는 유기용매 비추출성 형태의 conjugates로 대사될 수 있었다.

요 약

생쥐 체내에서 ^{14}C - α -endosulfan의 흡수, 분포, 대사, 배설 등의 동태를 구명하기 위하여 약제를 7.5 mg kg^{-1} 수준으로 복강주사 처리하여 수행한 시험 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 약제처리 후 4 일 이내에 처리 방사능의 63.9%가 소변을 통해 배설되었고, 그 후부터는 배설율이 일정하였다.
2. 약제처리 후 각 조직별 방사능의 분포는 처리 30분 이내에는 심장에 가장 높게 분포하였으며, 2 시간에는 간과 신장에서 그 분포율이 현저하게 증가하였으며, 시간이 경과함에 따라 그 분포율은 점점 감소하였다.
3. ^{14}C - α -endosulfan은 생쥐 체내에서 β -endosulfan (β -E), endosulfan ether(EE), endosulfan sulfate (ES), 그리고 endosulfan alcohol(EA)로 대사되었으며 주요 대사산물은 간에서 EA(13.25%) 그리고 신장에서는 EHE(19.37%)였다.

4. 소변 중에 배설된 대사산물로는 EA(43.21%), ES(4.78%), β -E(7.21%), EE(3.72%), EHE(18.04%) 등이었다.

참고문헌

1. Sylvan, E.F., J.D. Antony, V.C. Michael and R. A. Olofson (1965); Conformational equilibria in cyclic sulfites : The configurations and conformations of two isomeric thiodan, J. Org. Chem. **30** : 169-175.
2. Barnes, W.W. and G.W. Ware (1965); The absorption and metabolism of ^{14}C -endosulfan in house fly, J. Econ. Entomol. **58**(2) : 286-291.
3. Wyman, D.H. and M.C. Thomas (1980); Fate of endosulfan in rats and toxicological consideration of apolar metabolites, Pestic. Biochem. Physiol. **3** : 251-258.
4. Gorbach, S.G., O.E. Christ and H.M. Kloss (1969); Metabolism of endosulfan in milk sheep, J. Agric. Food. Chem. **16**(6) : 950-953.
5. 이강봉, 심재한, 서용택 (1994); In Vitro 시험에 의한 잉어(*Cyprinus carpio* L.) 체내 endosulfan의 대사. 한국농화학회지. **37**(3) : 194-202.
6. Praywoon, O., T. Elizabeth and W.W. Georgy (1965); Metabolism, storage and excretion of ^{14}C -endosulfan in the mouse. J. Econ. Entomol. **59**(3) : 546-601.
7. 이강봉 (1994); 잉어(*Cyprinus carpio* L.) 체내 endosulfan의 대사와 radioimmunoassay(RIA)에 의한 잔류분석법에 관한 연구. 전남대학교 박사학위논문.
8. 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 pesticides. Pestic. Biochem. Physiol. **33** : 220-229.