

Fenitrothion의 생체내 분포 및 잔류성에 관하여

이상기 · 유영찬 · 정규혁*

국립과학수사연구소
*성균관대학교 약학대학

Distribution and Persistence of Fenitrothion in Rats

Sang-Ki Lee, Young-Chan Yoo and Kyu-Hyuck Chung*

National Institute of Scientific Investigation
*College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University

ABSTRACT

Distribution and persistence of fenitrothion in rats were studied following oral administration of a single dose 300 mg/kg of body weight. Residue of the parent compound was analyzed in blood, liver, kidney, brain, lung and heart 2, 4, 6, 8 hours and 1, 2, 3, 5, 7 days after oral administration. The maximum concentration of fenitrothion appeared in the blood, kidney, heart on the 2 hour and liver, brain, lung on the 4 hour. Residues of the parent compound in kidney were much higher and persistent than other tissues and the pesticide was not detected on the 7th day. Recoveries were ranged from 83.0(lung, 1 µg/g) to 97.5%(blood, 1.5 µg/ml).

Keywords : Fenitrothion, Distribution, Persistence, Blood, Tissue

I. 서 론

현대 농업에 있어서 농산물의 질적향상과 양적증대에 미치는 농약의 기여도는 매우 크다. 그러나 농약은 과다사용시 생태계의 파괴 등 환경에 미치는 영향은 지대하여 독성문제에 대한 관심을 기울여야 할 물질이다. 특히 독성이 강한 농약은 자·타살의 목적으로 오·남용되고 있어 이러한 농약이 인체에 노출될 우려가 매우 높다.

유기인제류 농약은 일반적으로 생체내에서 비교적 빠르게 분해, 배설되어 잔류성, 축적성이 적은 것으로 보고되어 왔으나, 대량 섭취시에는 신경조직의 acetylcholinesterase를 비가역적으로 저해하여 acetylcholine의 축적으로 인해 결국은 호흡곤란으로 사망을 유발시킨다고 알려져 있다.^{1,4)}

Fenitrothion[O,O-dimethyl-O-(3-methyl-4-nitrophenyl)-phosphorothioate]은 일본의 Sumitomo화학에서 개발되어 소개된 유기인제류 살충제로 국내에서는 스미치온, 호리치온, 메프라는 상품명으로 이화명나방의 구제용으로 널리 사용되고 있

며,⁵⁾ 파리, 모기의 박멸목적으로 가정용으로도 생산·판매되고 있어 우리 생활과 쉽게 접촉할 수 있는 물질의 하나이다. WHO 및 EPA에서는 fenitrothion을 2급독성 농약으로 분류하고 있으며 인체에 대한 일일섭취허용량(ADI)은 0.005 mg/kg, body weight로 규정하고 있는 보통 독성의 농약으로서⁶⁾ 자타살 목적으로 빈번히 사용되고 있는 물질의 하나이다.

농약에 노출된 후 나타나는 만성 또는 급성 중독 여부를 평가하기 위해서는 생체에서의 잔류성을 조사하는 것이 필요하다. 혈액 및 조직 등 생체내 잔류성은 농약의 물리화학적 성질 및 생체내 대사 기전의 특성 등에 따라 달라진다. 따라서 본 조사에서는 rat를 이용하여 생체시료 중의 fenitrothion의 분석 방법을 확립하고 혈액 및 조직 등 생체내 잔류성을 조사하였다.

II. 실험방법

1. 실험동물

체중 약 200 g내외의 건강한 웅성 Sprague-Daw-

ley계 rat를 1주일 이상실험실 환경에 적응시킨후 1개군을 5마리로 하여 대조군 및 약물투여군으로 구분하여 22±3°C에서 상대습도 50±20%로 사육하였다. 물과 사료는 자유롭게 섭취시켰으며 약물투여전 24시간 절식하였다.

1) 대조군

Corn oil을 5.0 ml/kg씩 경구투여 하였다.

2) 약물투여군

Fenitrothion(95.1%)을 corn oil에 용해하여 LD₅₀의 약 반량인 300 mg/kg씩을 경구투여 하였다.

2. 생체 시료

대조군은 corn oil투여후 2시간이 경과한 후, 약물투여군은 투여후 2시간, 4시간, 6시간, 8시간, 1일, 2일, 3일, 5일 및 7일이 경과한 후 희생시켜 혈액을 채취하고 간장, 신장, 뇌, 폐 및 심장 등의 조직을 적출하여 -30°C이하의 냉동고에 보관하여 시료로 하였다.

3. 검량선의 작성

Fenitrothion(Sumitomo Chem. Co., 95.9%)표준품을 내부표준용액인 methidathion용액(Ciba geigy Co., 2 µg/ml acetone)에 녹여 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 µg/ml의 fenitrothion이 함유된 용액을 GC(Varian Model Star 3400Cx)에 주입하여 얻은 chromatogram에서 면적비에 따라 검량선을 작성하였으며 이때 GC의 분석조건은 다음과 같다.

Column : DB-17[15 m×0.53 mm(i.d.) film
thickness 1.0 µm]

Detector : TSD

Column Temp. : 140°C(1) $\xrightarrow{20^\circ\text{C}/\text{min}}$ 190°C(1) $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 250°C

Injector Temp. : 270°C

Detector Temp. : 280°C

Carrier gas : N₂(30 ml/min)

Attenuator : 8

Chart Speed : 0.5 cm/min

4. 회수율 측정

대조혈액에는 fenitrothion의 농도가 0.5, 1.0 및 1.5 µg/ml가 되도록, 조직에는 0.5, 1.0 및 1.5 µg/g이 되도록 fenitrothion을 가하고 분시험법의 함량 측정법에 따라 시험하여 회수율을 조사하였다.

5. 시료중 fenitrothion의 함량 측정

실온이 될때까지 시료를 방치한후 혈액 및 각 조

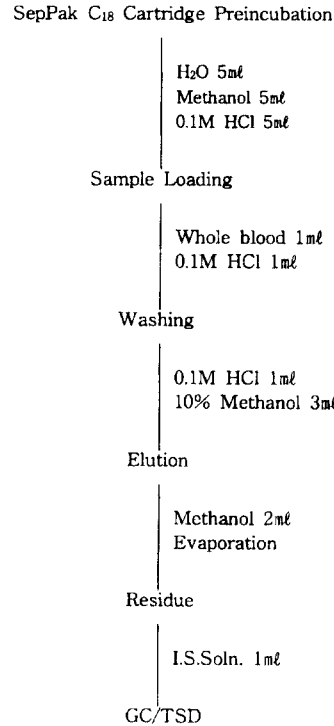


Fig. 1. Flow diagram of extraction procedure in blood.

직을 다음과 같은 조작을 하여 함량을 측정하였다.

1) 혈액

본 방법은 Kiyoshi 등⁷⁾이 혈액중 dipterex를 분리정량하는 방법과 구 등⁸⁾의 방법을 변형한 것으로 10 ml syringe에 SepPak C₁₈ cartridge (Waters)를 장착하고 물 5 ml, methanol 5 ml, 0.1M HCl 5 ml로 cartridge를 활성화시킨 다음 혈액 1 ml와 0.1M HCl 1 ml를 가하여 혼합후 cartridge를 통과시킨다. 0.1M HCl 1 ml와 10% methanol 3 ml로 cartridge를 세척한 다음 methanol 2 ml로 cartridge내 fenitrothion을 용출하고 용출액을 농축한다. 잔사에 내부표준용액 일정량을 가하여 GC에 주입하여 peak면적비에 따라 함량을 측정하였다(Fig. 1).

2) 조직

본 방법은 Asanuma등의 방법^{9,10)}을 참조한 것이다. 즉 조직 1~3 g을 50 ml용 원심관에 넣고 물 5~10 ml, ethyl acetate 30 ml를 가하여 homogenizer로 추출하고 원심분리한 후 상등액을 취하여 증발건고한다. 잔사를 hexane 15 ml에 녹이고 분액 여두에 옮긴 다음 hexane포화 acetonitrile 15 ml를 가하여 5분간 진탕한다. 이 과정을 2회 반복한 다음

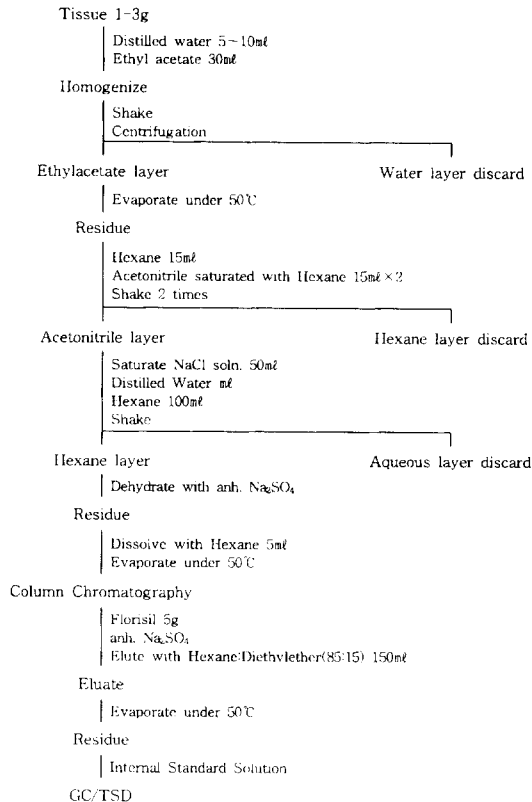


Fig. 2. Flow diagram of extraction procedure in tissues.

하층의 acetonitrile층을 분액여두에 취하여 포화식염수 50 ml, 물 100 ml 및 hexane 100 ml를 가하여 진탕한다. Hexane층을 무수황산나트륨으로 탈수한 후 농축한다. 잔사를 hexane 5 ml에 녹이고 florisil column으로 정제한다. Florisil은 미리 130°C에서 3~4시간 활성화시킨 다음 hexane으로 헹타하여 column에 기포가 발생하지 않도록 충전시키고 층이 안정화된 후에 무수황산나트륨을 1 cm정도 넣는다. Column에 농축액을 주입한 후 15% ether함유 hexane 150 ml로 분당 5 ml의 유출속도로 용출한다. 용출액을 증발농축한 후 잔사에 내부표준용액 일정량을 가하여 GC에 주입하여 peak면적비에 따라 함량을 측정하였다(Fig. 2).

III. 결과 및 고찰

Fenitrothion은 황갈색의 액체로 alcohol, ether, ketone과 방향족 탄화수소에는 녹지만 물과 지방족 탄화수소에는 녹지 않으며 20~25°C에서 보관하면

2년간 안정하고 alkali성에서는 불안정한 물질이다.⁶⁾ Fenitrothion은 유제(유효성분 50%) 및 수화제(유효성분 40%)로 제조되어 판매되고 있으며,⁵⁾ 동물실험결과 다량복용시 전형적인 cholinergic poisoning을 유발시키며 rat에 대한 경구급성독성(LD₅₀)은 571.3 mg/kg 및 607.9 mg/kg으로 독성이 적은 것으로 알려져 있다.^{11,12)} Fenitrothion이 parathion-methyl과 비교하여 독성이 적는데 그 이유는 생체내 대사과정의 차이는 아니고 혈액뇌관문 투과능의 저하에 관련되어 있다고 보고되어 있다.¹³⁾

이와같이 fenitrothion은 비교적 안전한 농약으로 알려져 있으나 파리, 모기의 박멸목적으로 가정용으로도 생산·판매되고 있어 우리 생활과 쉽게 접할 수 있으며 다량복용시 사망을 유발시킬 수 있는 비교적 인체에 노출이 쉬운 중요한 물질의 하나이다. Fenitrothion의 만성 또는 급성 노출을 평가하거나 만성독성에 의한 사망 또는 다량 음독에 의한 사망을 규명하기 위해서는 fenitrothion의 중독을 확인할 수 있는 표적조직을 적출하여 목적성분을 분석하는 것이 필요하다. 따라서 fenitrothion의 생체내 표적조직을 규명함과 동시에 잔류성을 보기 위해 rat에 LD₅₀의 약 반량의 fenitrothion을 1회 경구투여하여 일정시간 간격으로 혈액 및 각 조직을 적출하여 fenitrothion의 분석방법을 확립하고 함량을 측정하였다.

1. GC에 의한 Fenitrothion 분석법

GC를 이용하여 내부표준물질인 methidathion의 peak면적에 대한 fenitrothion peak 면적의 비와 fenitrothion농도의 검량선을 작성한 결과 Fig. 3과 같이 0.1~20 µg/ml 범위에서 r값이 0.999인 직선성을 나타내었으며 최소검출량은 0.01 ng이었다.

Rat의 대조혈액과 조직에 fenitrothion을 각각 0.5, 1.0, 1.5 µg/ml 및 0.5, 1.0, 1.5 µg/g을 넣고 각각의 추출방법(Fig. 1, 2)으로 추출하여 실험한 후 회수율을 측정하였다. 그 결과 Table 1에서 보는 바와 같이 세가지 농도에서의 회수율은 혈액에서 96.0~97.5%, 조직에서는 83.0~93.1% 범위였으며 RSD값도 10%이하로 본 실험방법에 혈액 및 조직 중의 fenitrothion함량을 측정하는데 양호한 방법임을 알 수 있었다.

아울러 Fig. 4의 대조 및 시료 생체 성분의 gas chromatogram에서 보는 바와 같이 fenitrothion과 내부표준물질인 methidathion이 방해물질에 의한

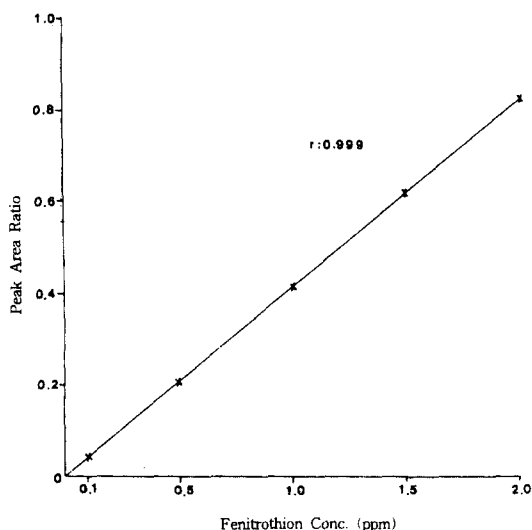


Fig. 3. Calibration curve of fenitrothion

Table 1. Recovery of Fenitrothion Spiked to Rat Blood and Tissues.

Sam- ple	Added amount ($\mu\text{g}/\text{ml}$ & g)	Found amount ($\mu\text{g}/\text{ml}$ & g)	RSD	Recovery (%)
Blood	0.5	0.48 ± 0.013	2.71	96.0 ± 2.10
	1.0	0.97 ± 0.006	0.62	96.9 ± 0.64
	1.5	1.46 ± 0.021	1.44	97.5 ± 1.36
Liver	0.5	0.43 ± 0.025	5.81	86.7 ± 4.99
	1.0	0.90 ± 0.007	0.78	90.0 ± 0.71
	1.5	1.40 ± 0.053	3.79	93.1 ± 3.56
Kid- ney	0.5	0.42 ± 0.025	5.95	84.0 ± 4.90
	1.0	0.88 ± 0.048	5.45	88.0 ± 4.78
	1.5	1.39 ± 0.084	6.04	92.5 ± 5.62
Heart	0.5	0.44 ± 0.017	3.86	88.7 ± 3.40
	1.0	0.84 ± 0.009	1.07	84.0 ± 0.91
	1.5	1.27 ± 0.028	2.21	84.5 ± 1.89
Brain	0.5	0.42 ± 0.026	6.19	84.7 ± 5.25
	1.0	0.84 ± 0.043	5.10	84.3 ± 4.33
	1.5	1.32 ± 0.030	2.27	88.2 ± 1.98
Lung	0.5	0.45 ± 0.017	3.78	90.7 ± 3.40
	1.0	0.83 ± 0.031	3.73	83.0 ± 3.14
	1.5	1.37 ± 0.100	7.30	91.4 ± 6.62

Mean values \pm S.D., n=3

RSD; relative standard deviation

영향없이 양호하게 검출됨을 알 수 있었다.

2. Fenitrothion의 생체 잔류성

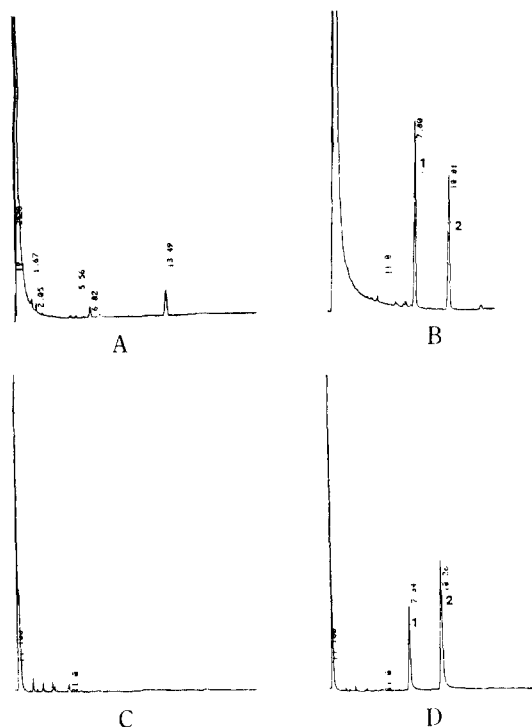


Fig. 4. Gas chromatogram of blank blood(A), sample blood(B), blank tissue(C) and sample tissue (D) 1: fenitrothion 2: methidathion (internal standard)

Fenitrothion 300 mg/kg을 rat에 1회 경구투여하여 2, 4, 6, 8시간, 1, 2, 3, 5 및 7일후 혈액 및 조직을 적출하여 생체시료에 잔류하는 fenitrothion의 함량을 측정 한 결과는 Table 2와 같으며 이를 Fig. 5와 같이 도표로 나타내었다.

혈액에서는 투여후 2시간에 1.851 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 최대 농도가 나타났으며 투여 후 8시간까지는 급격한 감소를 보였다. 투여후 8시간부터 1일까지는 미세한 감소를 보이다가 2일에는 급격하게 감소하였으며 3일부터는 검출되지 않았다. 신장 및 심장에서는 투여후 2시간에 최대농도를 나타냈으며 특히 심장에서는 혈액과 마찬가지로 투여후 8시간부터 1일까지는 미세한 감소를 보이다가 2일에는 급격하게 감소하였으며 3일부터는 검출되지 않았다. 신장에서는 투여후 1일까지 지속적으로 감소하였으나 타조직에 비해 검출량이 높았다. 간, 뇌 및 폐에서는 투여후 4시간에 최대농도가 나타났으며 특히 폐에서는 투여후 4시간에서 6시간 사이에 잔류량의 급격한 감소가 나

Table 2. Fenitrothion levels in Blood and Tissues in rats after oral administration of 300 mg/kg fenitrothion.

	Blood	Liver	Kidney	Heart	Brain	Lung
Control	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2 hour	1.851±1.059	0.186±0.063	22.990±7.411	1.886±0.569	2.161±1.149	14.741±5.323
4 hour	1.323±0.261	0.685±0.574	9.208±4.422	1.260±0.590	2.443±1.399	15.223±5.642
6 hour	0.857±0.257	0.437±0.334	6.721±3.822	1.253±0.670	2.367±1.058	1.265±0.658
8 hour	0.678±0.186	0.107±0.071	5.351±2.284	0.896±0.279	1.752±0.604	1.089±0.534
1 day	0.677±0.316	0.025±0.004	1.333±0.617	0.763±0.038	0.378±0.144	0.721±0.361
2 day	0.082±0.051	0.008±0.003	0.567±0.305	0.018±0.021	0.041±0.032	0.022±0.012
3 day	ND	0.003±0.001	0.009±0.017	ND	0.010±0.018	0.002±0.002
5 day	ND	ND	ND	ND	0.004±0.004	ND
7 day	ND	ND	ND	ND	ND	ND

M±S.D. (n=3), ND : not detected, Unit : $\mu\text{g}/\text{ml}$ & $\mu\text{g}/\text{g}$

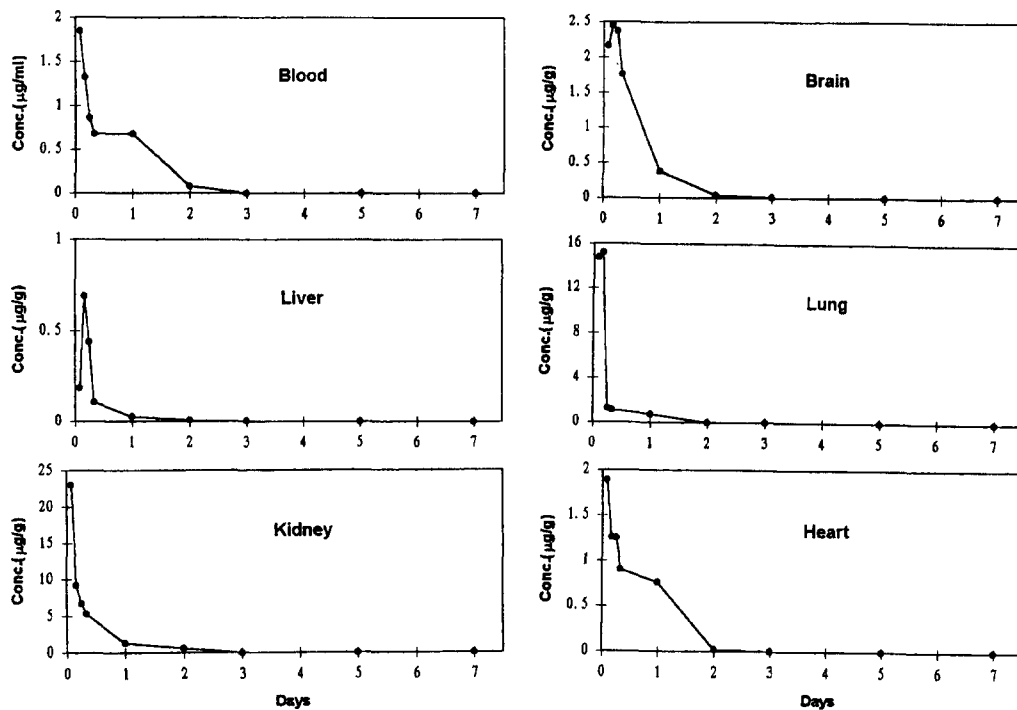


Fig. 5. Fenitrothion levels in blood and tissues of rats treated orally at 300 mg/kg. (Marks of \bullet : within 1 day means 2, 4, 6 and 8 hours.)

타났다. 뇌를 제외하고는 5일부터 잔류량이 검출되지 않았으며, 7일에는 전조직에서 검출되지 않았다. 혈액 및 조직내 최대 잔류량은 신장, 폐, 뇌, 심장, 혈액, 간의 순서로 높게 나타났다. Asanuma 등¹⁰⁾은 300 mg/kg의 fenitrothion을 rat에 경구투여하여 혈액, 뇌 및 신장에서 잔류량을 측정할 결과 신장에서 가장 높은 농도가 검출되었으며 투여 후 시간대

별 농도변화는 투여후 1일까지는 점차 증가되어 1일 후에 최대치를 나타내었다가 다시 감소되는 것으로 보고하고 있어 본 조사의 신장에서 가장 높은 농도가 나타난 결과와는 일치하였으나 투여후 2~4시간 후에 최고 농도에 도달하였다가 이후 신속히 감소되는 결과와는 달랐다. 아울러 본 조사 결과로 보아 생체 잔류성 뿐아니라 시간경과에 따른 fenitrothion

감소율이 혈액 및 각 조직에 따라 다른 것으로 나타났다.

Miyamoto 등¹⁴⁾은 방사선동위원소로 표시된 fenitrothion을 15 mg/kg의 용량으로 rat에 경구투여하여 실험한 결과 투여직후 간, 폐, 신장에서 다량의 방사능이 검출되었으며, 투여된 방사능의 3/4이 1시간 이내에 배설되고 24시간에는 방사능이 거의 검출되지 않아 fenitrothion이 신속히 배설됨을 보고하였다. 따라서 본 실험에서 fenitrothion의 잔류량이 신장에서 가장 높은 것은 체내에서 fenitrothion의 신속한 배설속도와 대부분이 뇨 중으로 배설되기 때문인 것으로 사려된다. 한편 뇌에서는 투여후 5일까지도 미량이 검출되어 다른 조직에 비해 잔류성이 높은 것으로 나타났다.

IV. 결 론

Fenitrothion의 생체내 분포 및 잔류성을 보기 위해 rat에 LD₅₀의 약 반량인 300 mg/kg을 1회 경구투여하여 7일간 혈액 및 각종 조직을 적출하여 fenitrothion의 함량을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 회수율이 혈액시료에서 95%이상이었고 각 조직시료에서는 83.0%~93.1%로 나타나 본 실험방법이 양호한 fenitrothion 분석법인 것으로 나타났다.

2. Fenitrothion은 혈액, 심장 및 신장에서는 투여후 2시간에, 간, 뇌 및 폐에서는 투여후 4시간에 최고농도에 도달하였으며, 각 조직에서 2일후에는 급격히 농도가 감소하였고 투여후 5일후에는 뇌를 제외한 전조직에서는 검출되지 않았다.

3. 시험대상 생체시료 중 신장에서 가장 높은 농도의 fenitrothion이 검출되었으며 뇌에서 가장 오랫동안 잔류한 것으로 나타났다.

참고문헌

- 1) Namba, T. : Poisoning due to Organophosphate Insecticide. : Acute and Chronic Manifestations. Am. J. Med., **50**, 475-492, 1971.
- 2) Ernst, H. and Patriciae, L. : A Textbook of Modern Toxicology. 133-184, Elsevier, 1987.
- 3) O'Brien, R.D. : Insecticide : Action and Metabolism. Academic Press. 1967.
- 4) Davies, J.E., Barquet, A., Freed, V.H., Haque, R., Morgade, C., Sonneborn, R.E. and Vaclavek, C. : Human Pesticide Poisoning by a Fat-Soluble Organophosphate Insecticide. Arch. Environ. Health, **30**, 608-613, 1975.
- 5) 농약공업협회 : '95 농약사용지침서. 1995.
- 6) Clive, T. : The Pesticide Manual. The World Compendium Published by British Crop Protection Council. 10th Edition, 1994.
- 7) Kiyoshi, A., Chiaki, F., Setsuko, A., Takaniro, K. and Iwao, I. : A Rapid and Sensitive Quantitation of Dipterex In Serum by Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography with Flame Thermionic Detection. Journal of Analytical Toxicology, **13**, 150-151, 1989.
- 8) 구기서, 한백희, 박윤신, 정영호, 지홍근 : 혈액중에서 유기인제류의 정량법에 관한 연구. 국립과학수사연구소년보, **24**, 243-247, 1992.
- 9) Asanuma, N. : Experimental studies on the Organophosphorous Pesticide Residues in Living Bodies. II. J. Jpn. Assoc. Rural Med., **22**, 282-283, 1973.
- 10) Asanuma, N., Susuki, A., Kurosawa, K., Abe, E. and Sasaki, K. : Experimental Studies on the Organophosphorous Pesticide Residues in Living Bodies. J. Jpn. Assoc. Rural Med., **27**, 772-781, 1978.
- 11) Camargo, L.A.A., Saad, W.A. and Larini, L. : Acute Toxicity of Fenitrothion (=Sumithion, Folithion). Arq. Inst. Biol., Sao Paulo, **35**, 219-222, 1970.
- 12) Camargo, L.A.A., Saad, W.A. and Larini, L. : Acute Toxicity of O,O-dimethyl-O-(3-methyl-4-nitrophenyl)-phosphorothioate. Determination of the oral LD₅₀ in the Rat. Rev. Fac. Farm. Odontol. Araraquara, **4**, 53-60, 1970.
- 13) Miyamoto, J. : Studies on the Mode of Action of Organophosphorous Compounds. IV. Penetration of Sumithion, Methylparathion and their Oxygen Analogs into Guinea Pig Brain and Inhibition of Cholinesterase in vivo. Agric. Biol. Chem., **28**, 422-430, 1984.
- 14) Miyamoto, J., Mihara, K. and Hosokawa, S. : Comparative Metabolism of m-Methyl-¹⁴C-sumithion in Several Species of Mammals in vivo. J. Pestic. Sci., **1**, 9-21, 1975.