

Carbofuran과 Chlorothalonil의 공존이 *Brachydanio rerio*(zebrafish)를 이용한 단기간 생물농축계수의 측정에 미치는 영향

민경진 · 차춘근

계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Effect of Co-existence of Carbofuran and Chlorothalonil on the Short-term Bioconcentration Factor in *Brachydanio rerio*(zebrafish)

Kyung-Jin Min and Chun-Geun Cha

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

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of co-existence of carbofuran and chlorothalonil on the short-term bioconcentration factor in *Brachydanio rerio*(zebrafish). The fishes were exposed to the single and combined treatment of carbofuran and chlorothalonil for 1, 3 and 5 days. Experimental concentrations of carbofuran were 0.05 and 0.10 ppm under the single treatment. And those of chlorothalonil were 0.005 and 0.010 ppm. Experimental concentrations of the combined treatment of carbofuran and chlorothalonil were 0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.010 ppm, 0.10 ppm+0.005 ppm for 1, 3 and 5 days, respectively. Carbofuran and chlorothalonil in fish and in test water were extracted with n-hexane and acetonitrile. GC-ECD was used to detect and quantitate carbofuran and chlorothalonil. 1-day, 3-day and 5-day bioconcentration factors(BCF_1 , BCF_3 and BCF_5) of each pesticide were obtained from the quantitation results. The depuration rate of each pesticide was determined over the 24-h period after combined treatment.

The results were as follows :

Carbofuran did not bioaccumulate in zebrafish under the single and combined treatment for testing periods. BCF_1 values of chlorothalonil in concentration of 0.005 and 0.010 ppm under the single treatment were 0.508, 0.621, BCF_3 were 1.327, 1.511 and BCF_5 were 1.331, 1.597, respectively. BCF_1 values of chlorothalonil were 0.512, 0.520 and 0.619, respectively, when the concentration of carbofuran and chlorothalonil in combined treatment were 0.05+0.005, 0.05+0.010 and 0.10+0.005 ppm. BCF_3 values of chlorothalonil 1.341, 1.338 and 1.513, respectively, and BCF_5 values of chlorothalonil were 1.332, 1.327 and 1.521, respectively, under the above combined treatment. Depuration rate constants of chlorothalonil in concentration of 0.005 and 0.010 ppm under the single treatment were 0.011 and 0.012. Depuration rate constants of chlorothalonil were 0.011, 0.010 and 0.011, when the concentration of carbofuran and chlorothalonil in combined treatment were 0.05+0.005, 0.05+0.010 and 0.10+0.005 ppm. It was observed that no significant difference of carbofuran and chlorothalonil concentration in fish extracts, test water, BCF_s and depuration rate constants of carbofuran and chlorothalonil between combined treatment and single treatment. It was considered that no appreciable interaction at experimental concentrations due to lower concentrations than LC_{50} . It is suggested that the difference of BCF_s between carbofuran and chlorothalonil due to those of fat composition of fish and solubility of carbofuran and chlorothalonil.

Keywords : Bioconcentration factor(BCF), Carbofuran, Chlorothalonil, Co-existence, Depuration rate constant.

I. 서 론

환경화학물질인 농약의 안전성을 평가하는 기준으로 생물농축실험은 이미 전 세계적으로 그 필요성이 인정되어 UNEP, WHO, ILO, EU, OECD, USEPA 등에서 많은 노력을 기울이고 있다.¹⁾

특히, 1981년 OECD 회원국간에 화학물질의 위해성 평가에 대한 자료의 공유와 위해성평가를 위한 기술개발 등에 대한 상호 국제적인 노력에 동의를 하였고²⁾, 이어 1992년 유엔환경개발회의(UNCED)에서 선포한 리오환경선언의 내용중 제19장 "화학물질의 관리에 전세계가 전적으로 노력해야 한다"는 선언을 통해 화학물질의 위해성 평가에 대한 국제적인 노력은 가속화 되고 있다.³⁾

국내적으로는 농약의 유해성 심사시 제출해야 할 자료임에도 불구하고 생물농축실험의 기술개발노력은 축적된 기술이 거의 전무한 실정이며 생태독성학적 성격을 무시할 수 없다는 특징 때문에 연구수행에 많은 어려움을 겪고 있다.⁴⁾

한편, 생물농축계수(Bioconcentration factor, BCF)는 해당 화학물질에 대하여 일정기간, 일정농도에서 물고기를 기른 후 물고기의 체내에 농축되어 있는 화학물질의 농도와 수중에 잔류되어 있는 화학물질의 농도비로써 표시하며 이는 화학물질의 환경내 이동현상과 생물체 내의 농축과정을 설명하는 지수로서의 기능을 가지고 있으며, 인간의 건강에 미치는 영향을 예측하는데 도움을 주고 있다.^{5,7)}

실제 캐나다 독성물질 관리국에서는 BCF값이 5000이상인 화학물질은 생물체내 상당한 농축이 되며 이로 인해 규제물질로 분류하며 아울러 BCF값이 500이상인 화학물질에 대해서는 위해성이 있는 것으로 분류하고 있다. 그리고 유럽공동체에서는 BCF값이 100이상인 화학물질은 생물체내 잠재적 농축위험성이 있는 것으로 여기고 있다.⁸⁾

그러므로 생물농축실험은 위와 같은 이유로 중요성이 인정되나 생물농축실험의 각종 자료와 정보는 국내적으로 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구는 유기염소계 농약의 일종으로 사과, 감귤, 포도, 복숭아, 땅콩, 양파, 담배 등 다양한 과수와 작물에 주로 탄저병 예방을 위한 살균제로 사용⁹⁾되고 있으며 연간 성분량으로 357톤이 사용¹⁰⁾되고 있는 Chlorothalonil과 포유동물에 대하여 cholinesterase를 저해하여 중독을 일으키는 것으로 알려진 Carbamate계의 하나이며, 식물에 의한 침투

이행성이 매우 높은 물질 중 최강으로 분류되는 화합물인 Carbofuran¹¹⁾을 OECD Guide line 실험어종인 *Brachydanio rerio*(zebrafish)를 이용하여 BCF를 측정하고 배설속도상수(depuration rate constant)를 구하는 데 일차적인 목적이 있다. 아울러 이들 농약의 LC₅₀를 구하고 반치사농도의 1/2농도에서 혼합투여시 상호작용을 조사하고 두 농약간의 공존시 BCF에 미치는 영향을 조사하고자 한다. 그리고, 이미 보고한 BCF실험을 위해 사용한 *Carassius auratus*(goldfish)의 BCF값과 비교하여 실험어류의 종에 따라 단기간 생물농축계수에 미치는 영향이 어떠한지를 밝히고자 하며, 이 연구는 농약을 비롯한 유해화학물질의 안전성평가 자료로서 도움이 될것으로 사료된다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 재료

1) 실험동물

실험동물은 시중에 시판되는 *Brachydanio rerio*(zebrafish), 길이 3.1 ± 0.1 cm, 무게 0.20 ± 0.01 g (wet weight)인 것을 구입하여 실험실 조건에서 1개월간 적응시킨 후, 10마리를 1군으로 실험하였다. 실험온도는 사육과 실험 전기간동안 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 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.

3) 실험농약

실험농약은 현재 국내에서 시판되는 carbamate계 농약인 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 $60 \times 30 \times 40$ cm인 직육면체 유리수조

로 용량은 72 l였고 실험수의 조건은 수온이 26 ± 1 (°C), pH는 8.2 ± 0.1 , 용존산소는 7.0(mg/l)이상이므로 유지하였으며, 그 외 실험수의 조성은 OECD guideline 305D¹²⁾에 따랐다.

2. 실험방법

1) Zebrafish의 실험조건 및 BCF의 계산

Zebrafish에 대한 실험조건은 OECD guideline 305D를 따랐다.¹²⁾ 1회 실험시 carbofuran과 chlorothalonil은 zebrafish 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. Carbofuran과 chlorothalonil의 단독투여시 실험농도는 각각 0.05, 0.10 ppm과 0.005, 0.010 ppm으로 실험기간은 1일, 3일, 5일로 하였다. Carbofuran과 chlorothalonil의 혼합투여시 실험농도는 carbofuran+chlorothalonil(0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.010 ppm, 0.10 ppm+0.005 ppm)으로 혼합투여하였고, 0.10 ppm+0.010 ppm의 경우는 예비 실험 결과 실험동물이 사망하여 제외하였으며, 실험기간은 1일, 3일, 5일로 하였다. 단기간 BCF의 측정을 위해서는 실험기간이 짧을수록, 배설속도(depuration rate), 대사율, 분해율, 회발율 등과 같이, 실험어종에 대한 흡수율에 영향을 줄 수 있는 요인을 피할 수 있는 잇점이 있어 실험기간을 0일, 1일, 3일, 5일로 제한하였다.

Carbofuran과 chlorothalonil의 BCF값은 1일을 BCF₁, 3일을 BCF₃, 5일을 BCF₅로 나타내었고, BCF의 계산은 korte 등의 방법에 따라 산출하였다.¹³⁾

2) Carbofuran과 chlorothalonil의 생물농축계수(BCF)의 측정

Carbofuran과 chlorothalonil의 표준용액 조제와 검량선 작성 및 GC의 조건은 이전에 보고한 민 등의 방법¹⁴⁾에 따랐다. 즉, carbofuran과 chlorothalonil을 ethyl acetate 10 ml에 용해시켜 각각 20 µg/ml 및 1 µg/ml되게 조제한 후, 1:1로 희석하여 각각의 농도가 10 µg/ml 및 0.5 µg/ml가 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 2 µl씩 GC에 주입하여 peak면적법에 의하여

carbofuran과 chlorothalonil의 검량선을 작성하였다. 두가지 농약의 측정을 위한 GC는 Shimadzu사 제품(모델 GC-14A)에 칼럼은 gaschrome Q(60~80 mesh) 1.0% silicone OV-17을 사용하였다. GC오븐의 온도는 180°C에서 등온분석하였으며, 검출기는 ⁶³Ni-ECD를 사용하였고 그 외의 조건은 민의 방법에 따랐다.¹⁴⁾

Zebrafish에서의 carbofuran과 chlorothalonil의 추출 및 정량은 일본위생시험법주해에 따라¹⁵⁾ 시료를 세절 마쇄한 후 acetonitrile과 n-hexane으로 추출, 농축한 후 미리 습식충진한 florasil(20 g) 상부에 무수 Na₂SO₄(8 g)를 깔고 난 column(내경 20 mm, 높이 25 cm)에 농축액을 유입시켜 n-hexane:ethyl ether(85:15) 200 ml를 5 ml/min으로 칼럼크로마토그래피를 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. Zebrafish실험을 행한 대조수와 실험수에서의 carbofuran과 chlorothalonil의 추출 및 정량은 이전에 보고한 민 등의 방법¹⁴⁾에 따라 zebrafish 실험을 행한 실험수 100 ml를 n-hexane과 ethyl ether로 추출하고 농축시킨 후 농축잔류물을 ethyl acetate 0.2 ml에 녹여 검량선 범위내에서 정량한 후 µg/ml로 환산하였다.

3) Carbofuran과 chlorothalonil의 회수율 측정

Zebrafish(약 2 g)와 실험수 시료(100 ml)에 carbofuran과 chlorothalonil 표준용액을 각각 10 µg/ml 및 0.5 µg/ml으로 제조하여 이 용액을 각각 0.2 ml씩 첨가시켜서 전술한 실험방법에 의거하여 carbofuran과 chlorothalonil의 함량을 정량하였으며 이로부터 회수율을 구하였다.

4) Carbofuran과 chlorothalonil의 배설속도상수(depuration rate constant)의 측정

Zebrafish 체내에서의 carbofuran과 chlorothalonil의 배설속도상수를 계산하기 위하여 다음의 식을 사용하였다.¹⁶⁾

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

여기서 C는 5일 실험후 24시간이 지난 시점에서의 zebrafish 체내에서의 carbofuran과 chlorothalonil의 농도(µg/g)이며, C₀는 5일 실험후의 최초 zebrafish 체내에서의 carbofuran과 chlorothalonil의 농도(µg/

g)이고, k는 배설속도상수를 가리키며, t는 시간(hour)을 가리킨다.

5) Carbofuran과 chlorothalonil의 급성독성실험(LC₅₀)

Carbofuran과 chlorothalonil의 24, 48, 72, 96시간의 반치사능도를 APHA, AWWA, WPCF가 공동으로 출간한 Standard method¹⁷⁾와 농약잔류성시험의 기준과 방법¹⁸⁾에 의거하여 실험하였다. 아울러 두 농약간의 상호작용을 조사하기 위하여 96시간 반치사능도의 1/2의 농도로 혼합투여하여 혼합투여시 두 농약간의 상호작용을 조사하였다.

6) Zebrafish와 goldfish의 조지방 함량분석

어류의 종에 따른 지방함량을 조사하고자 zebrafish와 goldfish를 Soxhlet extractor를 사용하여 ethyl ether로써 추출하고 정량하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 회수율 측정결과

Zebrafish와 실험수 시료에서 carbofuran과 chlorothalonil의 회수율은 각각 87.4, 98.3, 86.3, 102.3%로 carbofuran과 chlorothalonil의 함량을 정량하는데는 충분하다고 판단되었다.

2. 실험조건에 따른 BCF의 측정결과

1) 단독투여시 carbofuran과 chlorothalonil의 측정결과

Table 1과 Table 2는 carbofuran과 chlorothalonil을 각각 실험농도 0.05 ppm과 0.10 ppm, 0.005 ppm과 0.01 ppm으로 단독투여시 1일, 3일 및 5일 실험결과를 정리한 것이다. Carbofuran은 실험 전 기간동안 zebrafish 체내에서 검출되지 않았으며 이로 인해 BCF값을 산출할 수 없었다. 이전의 민 등의 보고¹⁹⁾에 따르면 carbofuran이 goldfish체내에서 적은 양이나마 축적이 있었던 것과 비교해 볼 때 다른 경향을 나타내고 있다.

한편, chlorothalonil은 실험농도와 실험기간이 증가함에 따라 zebrafish체내에서 다소 증가하는 경향이 있으나 3일 이후에는 더 이상 축적이 되지 않고 거의 정류상태에 도달하는 것으로 나타났다. 이는 이전의 차 등의 보고²⁰⁾에 의하면 실험농도와 실험기간이 증가할수록 goldfish 체내에서의 chlorothalonil의 농도와 BCF값이 증가하는 것과는 다른 경향을 나타내고 있다. 이것은 실험어종이 다르기 때문이다.

2) Carbofuran과 chlorothalonil의 혼합투여시 carbofuran의 측정결과

Table 1. Concentration of carbofuran in fish, test water, control water and calculated BCF. (MEAN±S.E.)

Groups by Spiked conc.(ppm)	Exposure time(day)	Fish* (µg/g)	Test Water (µg/ml)	Control Water (µg/ml)	BCF*
0.05	1	ND*	0.047±0.003 [†]	0.050±0.001	-
0.10	1	ND	0.091±0.002	0.098±0.002	-
0.05	3	ND	0.046±0.005	0.049±0.003	-
0.10	3	ND	0.087±0.005	0.101±0.005	-
0.05	5	ND	0.046±0.007	0.050±0.003	-
0.10	5	ND	0.084±0.008	0.011±0.001	-

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

*BCF indicates 1-day, 3-day or 5-day bioconcentration factor. *Not detected.

Table 2. Concentration of chlorothalonil in fish, test water, control water and calculated BCF. (MEAN±S.E.)

Groups by Spiked conc.(ppm)	Exposure time(day)	Fish* (µg/g)	Test Water (µg/ml)	Control Water (µg/ml)	BCF*
0.05	1	0.002±0.001 [†]	0.004±0.001	0.005±0.001	0.508±0.013
0.10	1	0.005±0.001	0.008±0.002	0.009±0.001	0.621±0.027
0.05	3	0.004±0.001	0.003±0.001	0.005±0.001	1.327±0.020
0.10	3	0.006±0.001	0.004±0.003	0.008±0.001	1.511±0.031
0.05	5	0.004±0.001	0.003±0.002	0.004±0.001	1.331±0.037
0.10	5	0.006±0.001	0.003±0.001	0.007±0.001	1.597±0.072

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

*BCF indicates 1-day, 3-day or 5-day bioconcentration factor.

Table 3. Concentration of chlorothalonil in fish, test water, control water and calculated BCF₁ exposed to the combined treatment of chlorothalonil & carbofuran in water (MEAN±S.E.)

Groups by Spiked conc.(ppm) (Chl+Car)	Fish* (µg/g)	Test Water (µg/ml)	Control Water (µg/ml)	BCF ₁ *
0.05+0.05	0.002±0.001 [†]	0.004±0.001	0.004±0.001	0.512±0.009
0.05+0.10	0.002±0.001	0.004±0.001	0.005±0.001	0.520±0.005
0.010+0.05	0.005±0.001	0.008±0.001	0.101±0.001	0.619±0.028

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

[†]BCF₁ indicates 1-day bioconcentration factor.

Table 4. Concentration of chlorothalonil in fish, test water, control water and calculated BCF₃ exposed to the combined treatment of chlorothalonil & carbofuran in water (MEAN±S.E.)

Groups by Spiked conc.(ppm) (Chl+Car)	Fish* (µg/g)	Test Water (µg/ml)	Control Water (µg/ml)	BCF ₃ *
0.005+0.05	0.004±0.001 [†]	0.003±0.001	0.004±0.001	1.341±0.056
0.005+0.10	0.004±0.001	0.003±0.001	0.004±0.001	1.338±0.043
0.010+0.05	0.006±0.001	0.004±0.001	0.008±0.001	1.513±0.082

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

[†]BCF₃ indicates 3-day bioconcentration factor.

Table 5. Concentration of chlorothalonil in fish, test water, control water and calculated BCF₅ exposed to the combined treatment of chlorothalonil & carbofuran in water (MEAN±S.E.)

Groups by Spiked conc.(ppm) (Chl+Car)	Fish* (µg/g)	Test Water (µg/ml)	Control Water (µg/ml)	BCF ₅ *
0.005+0.05	0.004±0.001 [†]	0.003±0.001	0.004±0.001	1.332±0.063
0.005+0.10	0.004±0.001	0.003±0.001	0.004±0.001	1.327±0.048
0.010+0.05	0.006±0.001	0.004±0.001	0.007±0.001	1.521±0.097

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

[†]BCF₅ indicates 5-day bioconcentration factor.

Carbofuran과 chlorothalonil을 실험농도 0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.010 ppm, 0.10 ppm+0.005 ppm으로 1일, 3일 및 5일로 혼합투여한 결과 carbofuran의 단독투여시와 같이 zebrafish 체내에서 carbofuran은 검출되지 않았으며 이로 인해 BCF값을 산출할 수 없었다.

3) 혼합투여시 chlorothalonil의 측정결과

Table 3, 4 및 5는 chlorothalonil과 carbofuran의 혼합투여시 1일, 3일 및 5일 실험에서 zebrafish, 실험수, 대조수 중의 chlorothalonil의 농도와 BCF값을 정리한 것이다. Chlorothalonil의 실험농도 0.005 ppm에서 carbofuran의 농도를 0.05 및 0.10 ppm으로 혼합투여시 BCF₁은 0.512 및 0.520였으며 BCF₃는 1.341 및 1.338였으며 BCF₅는 1.332 및 1.327이었다. Chlorothalonil의 실험농도 0.01 ppm에서

carbofuran의 농도를 0.05 ppm으로 혼합투여시 BCF₁은 0.619, BCF₃는 1.513, BCF₅는 1.521이었다. Chlorothalonil과 carbofuran의 혼합투여시 zebrafish, 실험수, 대조실험수, BCF값은 chlorothalonil의 단독투여시와 거의 변화가 없었다. 이것은 이전의 민 등의 보고¹⁴⁾에 의하면 carbofuran과 같은 계열의 carbamate계 농약인 carbaryl을 chlorothalonil과 혼합투여 하였을 때 goldfish체내 농축에 있어 단독투여시와 유의한 차이가 없었음을 보고한 것과 같은 경향을 나타내고 있다. 따라서, zebrafish의 체내 농축에 영향을 미칠수 있는 요인들을 자세히 검토하고자 배설속도상수와 LC₅₀, 지방함량 등을 구하였다.

3. Carbofuran과 chlorothalonil의 배설속도상수 (depuration rate constant)

Table 6. Depuration rate constants of carbofuran and chlorothalonil between experiments using the individual pesticides and ones using the pesticides present as a mixture

Pesticide	Carbofuran+Chlorothalonil (ppm)	goldfish k(h ⁻¹)	zebrafish k(h ⁻¹)
Carbofuran	0.05	0.076 [*]	-
	0.10	0.082 [*]	-
Chlorothalonil	0.005	0.003 ⁺	0.011
	0.010	0.004 ⁺	0.012
	0.05+0.005	-	0.011
	0.10+0.005	-	0.010
	0.05+0.010	-	0.011

^{*}Data from ref. 19. ⁺Data from ref. 21.

Table 6은 goldfish와 zebrafish에 대한 carbofuran과 chlorothalonil의 배설속도상수를 정리한 것이다. carbofuran의 경우 zebrafish 체내에서의 농축이 일어나지 않은 관계로 배설속도상수를 산출하지 못하였다. Chlorothalonil의 경우 zebrafish의 5일 실험이 지난뒤의 24시간 이후에는 zebrafish 체내에서의 잔류량이 검출한계미만으로 측정이 불가능하므로 t(시간)=24시간을 기준으로 하였다. 위의 식을 이용한 결과 zebrafish는 goldfish보다 배설속도상수가 약 4배정도 빠르게 나타났다. 그리고 chlorothalonil과 carbofuran의 혼합투여시 배설속도상수는 단독투여시와 비교해볼 때 goldfish와 마찬가지로 별다른 차이가 없었다. 즉, chlorothalonil과 carbofuran의 공존시 carbofuran은 chlorothalonil의 배설에 관여하지 않는 것으로 추정된다. 이것은 이전의 민 등의 보고¹⁴⁾에서와 같이 carbaryl과 chlorothalonil의 공존시 서로 배설에 관여하지 않은 것과 같은 경향을 나타내고 있다.

4. Carbofuran과 chlorothalonil의 반치사농도(LC₅₀)

Table 7은 zebrafish를 이용하여 carbofuran과 chlorothalonil의 24, 48, 72, 96시간 LC₅₀값을 구하여 정리한 것이다. Chlorothalonil, carbofuran의 순으로 급성독성이 감소함을 알수 있다. 그리고 chlorothalonil과 carbofuran의 96시간 반치사농도의 1/2의 농도로 이들 농약을 혼합투여 해 본 결과 zebrafish는 12시간이후 모두 사망하였다. 이는 두 농약간의 공존시 상승작용을 하는 것으로 추정할수 있으나 본 BCF실험은 96시간 LC₅₀을 기준으로 할 때 carbofuran의 경우 약 1/50~1/100, chlorothalonil의 경우 1/6~1/13의 실험농도로서 생물농축 실험을 한 것으로 zebrafish에 대한 생물농축에 영

Table 7. Comparison of LC₅₀ on chlorothalonil vs. carbofuran (unit :

	Carbofuran	Chlorothalonil
24 hr LC ₅₀	4.19	0.0667
48 hr LC ₅₀	4.34	0.0648
72 hr LC ₅₀	4.76	0.0634
96 hr LC ₅₀	4.88	0.0613

Table 8. Lipid contents of goldfish and zebrafish tissues (MEAN±S.

Sample	Crude fat(%)
zebrafish	8.63
goldfish	12.98

향을 미치기에는 매우 높은 농도로 사료된다.

5. Zebrafish와 goldfish의 조직지방량

Table 8은 zebrafish와 goldfish의 조직지방함량을 측정한 것이다. zebrafish와 goldfish의 지방함량은 각각 8.63과 12.98%로 측정되었다. 일반적으로 어류의 지방함량이 클수록 생물농축이 높게 나타나는 것으로 보아 carbofuran의 경우 goldfish와 비교하면 zebrafish는 체내에서 농축이 일어나지 않았으며 chlorothalonil의 경우는 goldfish보다 BCF값이 낮게 나타난 것으로 보아 지방함량과 관련성이 있을 것으로 여겨진다. 즉, goldfish와 zebrafish의 지방함량에 따라 같은 물질에 대해서도 생물농축경향이 다르게 나타남을 알수있다.

또한 carbofuran의 수용성과 chlorothalonil 수용성은 각각 700 mg/l²²⁾ 과 0.9 mg/l²³⁾로서 carbofuran의 수용성이 대단히 크며, 이것은 소수성 화학 물질이 친수성 화학물질보다 어류체내 흡수율(up-

take rate)이 크며 배설율(elimination rate)은 감소한다는 Gobas 등의 보고²⁴⁾에서와 같이 carbofuran의 경우는 zebrafish 체내에서 농축이 일어나지 않았으며 혼합투여시 chlorothalonil의 BCF에도 영향을 미치지 않은것으로 추정된다.

이런 결과들을 종합해 보면 carbofuran은 zebrafish 체내 농축이 되지 않았으며 chlorothalonil과 혼합투여 하였을때도 같은 경향을 나타내었다. 그리고 chlorothalonil의 경우는 단독투여시와 혼합투여시 생물체내 농축정도는 거의 차이가 없었으며 배설속도 또한 별다른 차이가 없었다. 상호작용이 관찰된 LC₅₀실험에서의 두 물질의 농도가 0.06~4.88 ppm인데 비하여 BCF실험에서는 농도가 0.005~0.1 ppm에 지나지 않았다. 따라서 묽은 농도이기 때문에 각각의 생물농축정도와 배설속도에 상호작용을 보이지 않는 것으로 사료된다. 또한 zebrafish와 goldfish의 지방함량 차이는 carbofuran과 chlorothalonil의 생물농축에 영향을 미치는 것으로 추정할 수 있다.

IV. 결 론

Brachydanio rerio(zebrafish)를 이용하여 carbamate계 농약인 carbofuran과 유기염소계 농약인 chlorothalonil을 각각 단독 및 혼합투여하여 농도별(단독투여 ; carbofuran : 0.05, 0.10 ppm, chlorothalonil : 0.005, 0.01 ppm, 혼합투여 ; carbofuran+chlorothalonil ; 0.05+0.005, 0.05+0.010, 0.10+0.005 ppm) , 폭로기간별(1일, 3일, 5일), 두 물질의 zebrafish체내 함량변화를 측정하였으며 이로부터 생물농축계수(BCF)를 산출하고 아울러 배설속도상수(depuration rate constant)를 구하였다. Zebrafish와 실험수에서 carbofuran과 chlorothalonil 축적량은 n-hexane과 acetonitrile을 이용하여 추출하였으며 GC-ECD를 이용하여 정량하였다. 그 결과는 다음과 같다.

Carbofuran의 단독투여시 각각 실험농도 0.05와 0.10 ppm에서 전 실험기간동안 zebrafish체내에서 농축이 일어나지 않았으며, chlorothalonil의 경우 단독투여시 각각 실험농도 0.005와 0.01 ppm에서 BCF₁은 0.508, 0.621이었고, BCF₃는 1.327, 1.511이었고, BCF₅는 1.331, 1.597이었다. 혼합투여시 각각 실험농도 0.05와 0.005 ppm, 0.05와 0.010 ppm, 0.10과 0.005 ppm에서 carbofuran의 경우는 단독투

여시와 마찬가지로 zebrafish체내에서 농축이 일어나지 않았으며, chlorothalonil의 경우 위와 동일한 실험농도에서 BCF₁는 0.512, 0.520, 0.619이었고, BCF₃는 1.341, 1.338, 1.513이었고 BCF₅는 1.332, 1.327, 1.521이었다.

Chlorothalonil의 단독투여시 실험농도 0.005 ppm와 0.010 ppm에서 chlorothalonil의 배설속도상수(depuration rate constant)는 각각 0.011, 0.012이었다. 그리고, carbofuran과 chlorothalonil의 혼합투여시 chlorothalonil의 배설속도상수는 실험농도 0.05와 0.005 ppm, 0.05와 0.010 ppm, 0.10과 0.005 ppm에서 각각 0.011, 0.010, 0.011이었다.

이상의 결과에서 zebrafish체내에서 carbofuran의 축적은 단독 및 chlorothalonil과의 혼합투여시 전 실험기간동안 일어나지 않았다. Chlorothalonil의 경우는 단독투여시와 carbofuran과의 혼합투여시 zebrafish 체내 축적량과 실험수 중의 농도 및 BCF 값은 유의한 차이가 없었다. 아울러 chlorothalonil의 배설속도상수도 단독투여시와 carbofuran과의 혼합투여시 유의한 차이가 없었다.

이것은 두 농약간에 상승작용이 나타난 LC₅₀농도보다 매우 묽은 농도이기 때문에 두 농약간의 상호작용이 일어나지 않은 것으로 추정된다. 또한 zebrafish와 goldfish에서 carbofuran과 chlorothalonil의 생물농축정도의 차이는 어류의 종에 따른 지방함량의 차이와 두 농약간의 수용성의 차이에 기인하는 것으로 추정된다.

감사의 글

이 논문은 1996년도 계명대학교 대학원 학생·교수 공동학술 특별지원 연구비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) Van Leeuwen, C. J., and HERMENS, J. L. M. : Risk assessment of chemicals : KAP, Netherlands. 1-17, 1991.
- 2) Organization for Economic Co-operation and Development : Decision of the Council concerning mutual acceptance of data in the assessment of chemicals, Annex 2. OECD Principles of good laboratory practice. OECD, Paris, France, 1981.
- 3) United Nations : Environmentally sound management of toxic chemicals including prevention of

- illegal international traffic in toxic and dangerous products. Agenda 21, chapter 19. United Nations Conference on Environment and development. Rio de Janeiro, Brasil, 1992.
- 4) 유흥일 : 환경독성평가의 관련제도. 한국환경위생학회, 환경독성평가에 관한 세미나 자료집, 3-16, 1995.
 - 5) Kristensen, P., and Tyle, H. : Bioaccumulation in aquatic systems. VCH, USA, 189-227, 1991.
 - 6) Irene Scheunert : Ecotoxicological testing, Handbook of hazardous materials, Academic presses, 223-239, 1993..
 - 7) Mace G. Barron : Bioaccumulation and bioconcentration in aquatic organisms, CRC, USA, 652-666, 1995.
 - 8) Peter M. C., et al. : Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals, *Environ. Sci. Technol.*, 30(10), 448A-452A, 1996.
 - 9) 농약공업협회 : 94 농약사용 지침서. 1994.
 - 10) 농약공업협회 : 92 농약년보. 1992.
 - 11) Occupational Health Services, Inc. MSDS for carbofuran. OHS Inc., Secaucus, NJ, 1991.
 - 12) Organization for Economic Co-operation and Development : OECD Guideline 305 A-E, OECD, 1981.
 - 13) Korte, F., et al. : A concept for establishing ecotoxicologic priority lists for chemicals. *Chemosphere*, 1, 79-102, 1978.
 - 14) 민경진 외 4인 : Carbaryl과 Chlorothalonil의 공존이 *Carassius auratus*(goldfish)를 이용한 생물농축계수에 미치는 영향. 한국환경위생학회지, 22(4), 1996.
 - 15) 일본약학회편 : 위생시험법주해. 금원출판사, 430-442, 1980.
 - 16) 심창구 : 약물체내속도론. 서울대학교 출판부, 3-21, 1994.
 - 17) APHA, AWWA, WPCF : Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. APHA, Washington D.C., 1989.
 - 18) 보건사회부 : 농약잔류성 시험의 기준과 방법(어독성 시험). 보건사회부 고시 제91-88호, 1991.
 - 19) 민경진 외 4인 : *Carassius auratus*(goldfish)를 이용한 Carbofuran 단기간 생물농축계수의 측정. 환경위생학회지, 22(4), 1996.
 - 20) 차춘근, 전봉식, 민경진 : *Carassius auratus*(goldfish)를 이용한 Chlorothalonil의 단기간 생물 농축계수와 분배계수의 측정. 한국환경위생학회지, 21(3), 38-48, 1995.
 - 21) 민경진 외 3인 : BPMC. carbaryl, chlorothalonil의 상호작용이 *Carassius auratus*(goldfish)를 이용한 단기간 생물농축계수의 측정에 미치는 영향. 환경위생학회지, 23(2), 1997.
 - 22) Philip, H. Howard : Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals. Lewis Publishers, volume 3, 1991.
 - 23) Clive Tomlin : The pesticide manual. British crop protection publications, 10 Ed. 1994.
 - 24) Gobas, F.A.P.C., A. Opperhuizen and O. Hutzinger : Bioconcentration of hydrophobic chemicals in fish: relationship with membrane permeation. *Environ. Toxicol. Chem.* 5, 637-646, 1986.