

BPMC, Carbaryl 및 Chlorothalonil의 상호작용이 *Carassius auratus*(goldfish)를 이용한 단기간 생물농축계수의 측정에 미치는 영향

민경진 · 차춘근 · 전봉식 · 김근배
계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Effect of Interaction of BPMC, Carbaryl and Chlorothalonil on short-term Bioconcentration Factor in *Carassius auratus*(goldfish)

Kyung-Jin Min, Chun-Geun Cha, Bong-Sik Jeon and Geun-Bae Kim
Department of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of co-existence of BPMC, carbaryl and chlorothalonil on the short-term bioconcentration factor in *Carassius auratus*(goldfish). The fishes were exposed to the combined treatment of BPMC, carbaryl and chlorothalonil (0.05 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.05 ppm+0.010 ppm, 0.05 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm) for 3 and 5 days, respectively. BPMC, carbaryl and chlorothalonil in fish and in test water were extracted with n-hexane and acetonitrile. GC-ECD was used to detect and quantitate BPMC, carbaryl and chlorothalonil. 3-day and 5-day bioconcentration factors(BCF_3 and BCF_5) of each pesticide were calculated from the quantitation results. The depuration rate of each pesticide from the whole body of fish was determined over the 72-h period after combined treatment.

The results were as follows :

BCF_3 values of BPMC were 4.163, 4.011, 4.122, 4.750 and 4.842 when the concentration of BPMC+carbaryl+chlorothalonil in combined treatment were 0.05 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.05 ppm+0.010 ppm, 0.05 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm and 0.10 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm. BCF_5 values of BPMC were 3.465, 3.270, 3.472, 3.162, 4.227 and 4.157, respectively, under the above conditions. While BCF_3 values of carbaryl were 4.583, 4.642, 4.571, 3.637 and 3.529, respectively, and BCF_5 values of carbaryl were 3.932, 3.797, 3.843, 4.293 and 4.132, respectively, under the conditions. While BCF_3 values of chlorothalonil were 2.024, 3.532, 2.213, 2.157 and 2.271, respectively, and BCF_5 of chlorothalonil were 6.712, 7.013, 6.457, 6.694 and 6.597, respectively, under the conditions.

Depuration rate constants of BPMC were 0.019, 0.018, 0.020, 0.022 and 0.021 when the concentration of BPMC+carbaryl+chlorothalonil in combined treatment were the same as above. And depuration rate constants of carbaryl were 0.030, 0.029, 0.030, 0.029 and 0.031, respectively, under the same condition of pesticide mixtures. While depuration rate constants of chlorothalonil were 0.004, 0.004, 0.003, 0.004 and 0.003, respectively, under the same condition.

It was observed that no significant differences of $BCFs$ and concentrations of the compounds in fish extracts, test water between combined treatment and single treatment. It was considered that no appreciable interaction at experimental concentrations was due to low concentrations, near environmental level, 0.005~0.1 ppm. Coexistence of BPMC, carbaryl and chlorothalonil had no effect on depuration rate of each pesticide and depuration rate of chlorothalonil was investigated 1/8 and 1/6 slower than those of carbaryl and BPMC in combined treatment. It is similar result in comparison with single treatment. Therefore, it is considered that the persistence of chlorothalonil in fish body would be higher than those of carbaryl and BPMC. It is suggested that bioaccumulation

rate and depuration rate of these pesticides mainly depend on property of each pesticide itself and coexistence or interaction of three component do not affect to BCF in low concentrations.

Keywords : Bioconcentration factor(BCF), BPMC, Carbaryl, Chlorothalonil, Depuration rate constant.

I. 서 론

화학물질의 생산과 사용량이 급격히 증가함에 따라 화학물질로 인한 전강장해와 환경오염 예방을 위하여 선진 각국에서는 이미 기존의 화학물질에 대해서는 선택적으로, 그리고 새로운 화학물질에 대해서는 사전 유해성 평가를 강화하고 있다.¹⁾ 현재 전 세계적으로 등록된 화학물질은 1천만종이 넘고 실제 제조, 유통되고 있는 화학물질의 수는 약 10만종에 이르고 있으며 매년 1천여 종의 신규 화학 물질이 소개되고 있다. 이 중 농약의 생산량은 연간 5백만 톤에 이르고 있으며 우리나라로 1992년 현재 한 해의 농약 생산량이 28,946톤에 이르고 있으며, 농업 생산의 대규모화에 따라 매년 증가하고 있다.²⁾

화학물질의 안전성은 Microtox test, 발암성 척도 시험, 최기형성 시험 그리고 돌연변이원성 시험 등과 같은 실험실적 수단으로 독성을 예측하는 방법과 산업장의 근로자에 적용하는 TLV계열의 지수, 수질오염 및 오염수의 독성기준을 표시하는 TLm 등의 지수, 그리고 화학물질에 오염된 식품의 섭취한계를 표시하는 ADI지수 등으로 표시되고 있다.³⁾ 이러한 화학물질중에서도 농약은 유해성 평가의 주요 대상이 되고 있으므로, 농약의 안전성 기준은 환경독성학적 측면을 고려한 기준이 마련되어야 할 것이다.⁴⁾

대부분의 농약은 수제 혹은 유제로서 농작물과 해충, 토양 등에 살포되며, 이후 농약은 토양에 흡착되어 장시간에 걸쳐 토양오염을 일으키기도 한다. 그리고, 일부는 분해되어 대기오염물질로 방출되기도 하며, 수질오염을 일으키기도 한다. 또한, 일부는 생태계의 먹이사슬을 통하여 상위포식자의 생체 내에 잔류하고 농축되는 과정을 거쳐서 궁극적으로 인간의 건강에 유해요인이 되기도 한다.⁵⁾

농약의 생물체내 농축과 환경 내 잔류로 인한 유해성 평가의 필요성에 따라 이전부터 생물농축실험의 중요성은 강조되어 왔다.^{6,7)} 특히, 생물농축계수(Bioconcentration factor, BCF)는 해당 오염물질에 대하여 일정기간, 일정농도에서 물고기를 기른 후 물고기의 체내에 농축되어 있는 오염물질의 농도와 수중에 잔류되어 있는 오염물질의 비로써 표시하

며 이는 오염물질의 환경내 이동현상과 생물체 내의 농축과정을 설명하는 지수로서의 기능을 가지고 있으며⁸⁾, 인간의 건강에 미치는 영향을 예측하는데 도움을 주고 있다.⁹⁾

한편, 옥탄올-물 분배계수는 유해독성물질의 세포막 투과성과 지질 친화성을 설명하는 데 많이 이용되고 있다.¹⁰⁾ 즉, 분배계수는 1970년대 초기부터 물고기를 이용하여 측정한 유해화학물질의 BCF와 그들의 물리화학적 성질과의 상관관계를 논증하는데 사용되었으며 여러가지 화학물질의 생물농축정도를 예측하는데 활용되고 있다.¹¹⁾

현재까지 농약과 관련된 BCF연구는 많이 보고되고 있으며¹²⁻¹⁷⁾, 저자 등은 이미 *Carassius auratus* (goldfish)를 이용하여 carbamate계 농약인 BPMC와 carbaryl의 BCF를 보고하였고¹⁸⁾, 이어 환경농도에서의 BCF도 보고하였다.¹⁹⁾ 그리고 유기염소계 농약인 chlorothalonil의 BCF를 측정하고, 앞서의 BCF들과 이를 농약의 분배계수, LC₅₀, 분자수준에서의 전자효과를 함께 측정 또는 조사하여 BCF와의 상관성을 검토하였다. 그 결과, carbamate계의 BCF는 분배계수와 비례하고, 유기염소계인 chlorothalonil의 BCF는 분자수준의 전자효과가 오히려 더 큰 영향을 받는 것으로 나타났다.²⁰⁾ 따라서, 계열이 서로 다른 화합물에 있어서는 BCF와 물리적 성질 간의 상관성을 검토함에 있어서 다른 방법을 사용해야 된다는 것을 알게 되었고, 이들이 섞여 있는 상태에서의 BCF는 어떻게 변할 것인가에 흥미를 느끼게 되었다. 특히, 이제까지는 개개 화합물에 대한 BCF만을 측정하였으나¹²⁻¹⁷⁾, 화합물의 혼합투여에 대한 BCF보고는 미흡한 실정이었다.²¹⁻²³⁾

특히, Statham과 Lech는 rainbow trout를 이용하여 carbaryl과 수종의 농약을 서로 혼합투여 하였을 때 급성독성에 있어 화합물간의 상가작용을 보고한 바 있으며²⁴⁾ Macek는 수종의 살충제에 대하여 29가지 배합방법으로 bluegills을 이용하여 혼합투여 하여 11종은 상가작용이상, 17종은 상가작용 그리고 1종은 상가작용이하의 급성독성에 대한 농약 상호간 작용을 보고한 바 있다.²⁵⁾ 그리고, Marking과 Mauck는 rainbow trout를 이용하여 수종의 살충제

에 대한 급성독성에 상호작용을 조사하고 9종의 길항작용, 9종의 상가작용 그리고 2종의 상승작용을 조사한 바 있다.²⁰⁾ 그러나, 대부분 이들의 연구는 급성독성에 대한 화합물간의 상호작용을 보고한 것으로 BCF에 대한 화합물 간의 상호작용을 조사한 보고는 찾기 어렵다. 특히, 수질오염물질은 단일 성분으로 존재하지 않고 여러가지 성분이 섞여 있으므로, 앞서의 농약들이 섞여 있는 상태에서 각각의 BCF를 측정함이 중요할 것으로 판단되어, carbamate계 농약인 carbaryl과 BPMC, 유기염소계 농약인 chlorothalonil을 각각 혼합 투여하여 *Carassius auratus* (goldfish)에 대한 단기간 BCF를 측정하였을 때 각각의 BCF에 영향을 미치는지 여부를 밝히는 데 이 연구의 목적이 있다. 아울러 배설속도상수(depuration rate constant)를 구하여 각각의 농약에 대한 체내잔류성을 조사함으로써 이 연구는 농약의 안전성을 생태독성학적으로 평가하고 이제까지는 소홀했던 다성분계(多成分系)에 있어서의 BCF측정과 성분들의 상호작용이 BCF에 영향을 미치는지, 아닌지를 밝힘으로서 앞으로의 BCF연구에 도움을 주고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 재료

1) 실험동물

실험동물은 시중에 시판되는 *Carassius auratus* (goldfish), 길이 6.1±0.5 cm, 무게 3.7±0.5 g (wet weight)인 것을 구입하여 실험실 조건에서 1개월간 적응시킨 후, 5마리를 1군으로 실험하였다. 실험온도는 사육과 실험 전기간동안 20±1°C를 유지하고 사육기간에는 시판사료 (Tetra min)와 공기를 공급하였다.

2) 기기 및 시약

실험에 사용한 기기로는 gas chromatograph (GC-14A, Shimadzu), rotary vacuum evaporator(Rikakikai, NE-IS), blender(Rikakikai, DC-2RT) 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 BPMC [2-sec-Butylphenil methyl carbamate, (주)경농]과 carbaryl [NAC, 1-naphthylmethyl carbamate, (주)경농], 유기염소계 농약인 chlorothalonil [Daconil, Tetrachloro isophthalonitrile, (주)경농]을 감압증류 또는 재결정하여 사용하였다.

4) 실험수조

어류의 순응수조는 용량이 100 l였으며, 실험용 수조는 각변이 60×30×40 cm인 직육면체 유리수조로 용량은 72 l였고 실험수의 조건은 수온이 20±1(°C), pH는 6.8~7.2, 용존산소는 7.0(mg/l) 이상으로 유지하였으며, 그 외 실험수의 조성은 OECD guideline 305A¹⁹⁾에 따랐다.

2. 실험방법

1) 금붕어의 실험조건 및 BCF의 계산

금붕어에 대한 실험조건은 OECD guideline 305D를 따랐다.²⁰⁾ 1회 실험시 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil은 금붕어 5마리를 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. BPMC와 carbaryl의 단독투여시 실험농도는 각각 0.05, 0.10 ppm, 그리고 chlorothalonil의 단독투여시 실험농도는 0.005, 0.010 ppm으로 실험기간은 1일, 3일, 5일로 하였다. 실험농도는 BPMC+carbaryl+chlorothalonil(0.05 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.05 ppm+0.010 ppm, 0.05 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm)으로 혼합투여하였고, 0.10 ppm+0.010 ppm+0.010 ppm의 경우는 예비실험 결과 실험동물이 사망하여 제외하였다. 실험기간은 3일과 5일로 하였다. 단기간 BCF의 측정을 위해서는 실험기간이 짧을수록, 배설속도(depuration rate), 대사율, 분해율, 휘발율 등과 같이, 실험어종에 대한 흡수율에 영향을 줄 수 있는 요인을 피할 수 있는 잇점이 있어 실험기간을 0일, 3일, 5일로 제한하였다.

BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 BCF값은 3일을 BCF₃, 5일을 BCF₅로 나타내었고, BCF의 계산은 아래 공식에 따라 산출하였다.^{28,29)}

BCF

$$= \frac{\text{Pesticide Concentration in whole body of fish } (\mu\text{g/g})}{\text{Pesticide Concentration in water } (\mu\text{g/ml})}$$

2) BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 생물농축계수(BCF)의 측정

(1) 표준용액의 제조 및 검량선의 작성³⁰⁾

BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil을 ethyl acetate 10 ml에 용해시켜 각각 30 µg/ml, 30 µg/ml 및 3 µg/ml되게 조제한 후, 1:1:1로 희석하여 각각의 농도가 10 µg/ml, 10 µg/ml 및 1 µg/ml가 되게 표준용액을 조제하였다. 검량선 작성과정은 표준용액을 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 ml넣은후 밀전분화하고 실온에서 60분간 방치하였다. 다음, n-hexane:ethyl ether(45:3) 4.8 ml를 넣고 증류수를 5 ml넣어서 충분히 잘 흔들어 섞었다. 상층액을 증류수 5 µl로 2회 세척한후 anhydrous sodium sulfate(Na_2SO_4)로 탈수하였다. 조제된 각 농도별 표준용액을 2 µl씩 GC에 주입하여 peak면적법에 의하여 carbaryl과 chlorothalonil의 검량선을 작성하였다. 세가지 농약의 측정을 위한 GC는 Shimadzu사 제품(모델 GC-14A)에 칼럼은 gaschrome Q(60~80 mesh) 1.0% silicone OV-17을 사용하였다. GC 오븐의 온도는 180°C에서 등온분석하였으며, 검출기는 ^{63}Ni -ECD를 사용하였고 그 외의 조건은 민의 방법에 따랐다.¹⁹⁾ 각 검량선은 GC-14A에 부착된 CR-6A Recorder에 내장된 BASIC applied program을 이용하여 다단계 표준샘플을 통한 직선검량선인 least-square method를 사용하여 정량을 행하였다.

(2) 금붕어에서의 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 추출 및 정량³¹⁾

시료 약 20 g을 세절 마쇄한 후 acetonitrile 45 ml, selite 545 약 2 g을 넣어 고속으로 3-5분간 교반한 후, selite 545를 약 5 mm두께로 입힌 흡인여과기로 여과하였다. 여과판상의 잔사를 다시 비이카에 옮겨서 acetonitrile 45 ml를 가하여 혼화한 후, 같은 방법으로 다시 여과하였다. 5% NaCl용액 50 ml 및 n-hexane 45 ml를 넣은 분액여두에 acetonitrile추출액을 가하여 1분간 세게 훃든 후 수중은 n-hexane 45 ml로 재추출하였다. 추출액을 합하여 증류수 40 ml로 2회 세척한 후 무수 Na_2SO_4 column(내경 20 mm, 높이 50 mm)을 통과시켜 탈수하였다. 다시 column을 n-hexane 약 10 ml로 씻어낸 후 이것을 35°C에서 약 5 ml되게 농축시킨 후 미리 습식충진한 florisil(20 g) 상부에 무수 Na_2SO_4 (8 g)를 깔고 난 column(내경 20

mm, 높이 25 cm)에 이 액을 유입시켜 n-hexane: ethyl ether(85:15) 300 ml를 5 ml/min으로 칼럼크로마토그래피를 행하였다. 이 액을 받아 35°C에서 약 0.5 ml되게 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.

(3) 대조수 및 실험수의 추출 및 정량

금붕어 실험을 행한 실험수 100 ml를 n-hexane: ethyl ether(4:1) 50 ml로 2회 추출하고 추출액을 무수 Na_2SO_4 column(내경 20 mm, 높이 50 mm)을 통과시켜 탈수한 후 n-hexane 약 10 ml로 씻어낸 후 이것을 35°C에서 약 0.5 ml되게 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/ml로 환산하였다.

3) BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 회수율 측정

금붕어(약 20 g)와 실험수 시료(100 ml)에 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil 표준용액을 각각 10 µg/ml, 10 µg/ml 및 1 µg/ml으로 제조하여 이 용액을 각각 0.2 ml씩 첨가시켜 전술한 실험방법에 의거하여 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 함량을 정량하였으며 이로부터 회수율을 구하였다.

4) BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 급성독성 조사

BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 상호작용을 조사하기 위하여 APHA, AWWA, WPCF가 공동으로 출간한 Standard method¹⁷⁾와 농약잔류성시험의 기준과 방법¹⁸⁾에 의거하여 세 농약 각각의 96시간 반치사농도의 1/3의 농도로 혼합투여하여 급성독성 실험을 하였다.

5) BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 배설속도 상수(depuration rate constant)의 측정

금붕어 체내에서의 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 배설속도상수를 계산하기 위하여 다음의 식을 사용하였다.³²⁾

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

여기서 C는 5일 실험후 72시간이 지난 시점에서의 금붕어 체내에서의 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 농도(µg/g)이며, C_0 는 5일 실험후의 최초 금붕어 체내에서의 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 농도(µg/g)이고, k는 배설속도상수를 가리키며, t는 시간(hour)을 가리킨다.

III. 결과 및 고찰

1. 회수율 측정 및 GC 측정결과

금붕어와 실험수 시료에서 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 회수율을 구한 결과는 Table 1과 같다. 표준용액에서의 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil 표준용액의 GC chromatogram은 Fig. 1(A)와 같이 머무름 시간은 각각 2.8분, 9.7분과 15.8분이었고, 금붕어의 초기상태의 추출물에 대한 chromatogram과 실험에 사용된 실험수의 chromatogram에서는 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 peak가 나타나지 않았다. BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 실험에서 금붕어의 추출물((Fig. 1(B)), 실험수(test water), 대조실험수(control water)의 GC 측정결과는 표준용액의 GC와 같이 머무름 시간 각각 2.8분, 9.7분과 15.8분에서 그 peak를 찾아 볼 수 있었다.

2. 실험조건에 따른 BCF의 측정결과

1) 혼합투여시 BPMC의 측정결과

Table 1. Recovery of spiked BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil in *Carassius auratus*(goldfish) and test water

	Sample	% Recovery (Mean±S.E.)
BPMC	<i>Carassius auratus</i> (goldfish)	89.3±4.7
	test water	108.1±8.9
carbaryl	<i>Carassius auratus</i> (goldfish)	87.6±7.2
	test water	106.2±5.7
chloro- thalonil	<i>Carassius auratus</i> (goldfish)	85.8±5.7
	test water	113.8±10.9

Table 2는 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 혼합투여시 금붕어, 실험수 및 대조수 중의 BPMC 농도와 3일 BCF를 정리한 것이다. 민의 보고¹⁹⁾에 의한 BPMC의 실험농도 0.05와 0.1 ppm에서의 단독투여

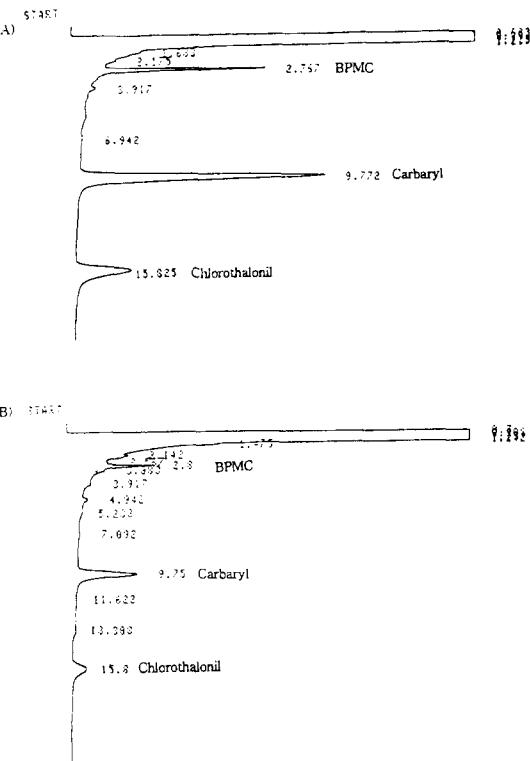


Fig. 1. GC-ECD chromatogram of BPMC, carbaryl and chlorothalonil.
 (A) BPMC, carbaryl and chlorothalonil standard solution.
 (B) Pesticides in extract of fish tested with BPMC, carbaryl and chlorothalonil.

Table 2. Concentration of BPMC in fish, test water, control water and calculated BCF₃ exposed to the combined treatment of BPMC, carbaryl and chlorothalonil in water
(MEAN±S.E.)

Groups by spiked conc.(ppm) (BPMC+Car+Chl)	Fish* ($\mu\text{g/g}$)	Test Water ($\mu\text{g/ml}$)	Control Water ($\mu\text{g/ml}$)	BCF ₃ *
0.05"	0.281±0.077	0.069±0.011	0.079±0.005	4.077±0.014
0.05+0.05+0.005	0.175±0.043 [†]	0.042±0.004	0.051±0.003	4.163±0.049
0.05+0.05+0.010	0.172±0.038	0.043±0.005	0.049±0.002	4.011±0.037
0.05+0.10+0.005	0.169±0.027	0.041±0.003	0.050±0.001	4.122±0.055
0.10"	0.381±0.086	0.078±0.016	0.094±0.012	4.900±0.005
0.10+0.05+0.005	0.394±0.051	0.083±0.011	0.099±0.022	4.750±0.037
0.10+0.10+0.005	0.388±0.044	0.080±0.009	0.097±0.019	4.842±0.021

*Data for single dose were cited from ref. 19. *No chemicals were found in control fish group.

[†]Each value represents mean±S.E. of 3 experiments. 'BCF₃' indicates 3-day bioconcentration factor.

Table 3. Concentration of BPMC in fish, test water, control water and calculated BCF₅ exposed to the combined treatment of BPMC, carbaryl and chlorothalonil in water (MEAN±S.E.)

Groups by spiked conc.(ppm) (BPMC+Car+Chl)	Fish* ($\mu\text{g/g}$)	Test Water ($\mu\text{g/ml}$)	Control Water ($\mu\text{g/ml}$)	BCF ₅ *
0.05*	0.115±0.016	0.033±0.007	0.066±0.008	3.465±0.010
0.05+0.05+0.005	0.121±0.027 ^t	0.037±0.005	0.048±0.001	3.270±0.015
0.05+0.05+0.010	0.125±0.033	0.036±0.004	0.047±0.002	3.472±0.031
0.05+0.10+0.005	0.117±0.011	0.037±0.003	0.047±0.002	3.162±0.018
0.10*	0.305±0.042	0.073±0.007	0.078±0.005	4.180±0.011
0.10+0.05+0.005	0.300±0.023	0.071±0.013	0.082±0.008	4.227±0.017
0.10+0.10+0.005	0.299±0.015	0.072±0.011	0.083±0.009	4.157±0.009

*Data for single dose were cited from ref. 19. *No chemicals were found in control fish group.

^tEach value represents mean±S.E. of 3 experiments. *BCF₅ indicates 5-day bioconcentration factor.

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

Groups by spiked conc.(ppm) (Car+BPMC+Chl)	Fish* ($\mu\text{g/g}$)	Test Water ($\mu\text{g/ml}$)	Control Water ($\mu\text{g/ml}$)	BCF ₃ *
0.05*	0.215±0.073	0.046±0.001	0.050±0.001	4.666±0.002
0.05+0.05+0.005	0.206±0.021 ^t	0.045±0.002	0.048±0.002	4.583±0.011
0.05+0.05+0.010	0.204±0.019	0.044±0.004	0.049±0.003	4.642±0.009
0.05+0.10+0.005	0.201±0.009	0.044±0.003	0.051±0.001	4.571±0.004
0.10*	0.234±0.154	0.066±0.002	0.080±0.002	3.622±0.004
0.10+0.05+0.005	0.247±0.041	0.068±0.009	0.085±0.013	3.637±0.017
0.10+0.10+0.005	0.236±0.037	0.067±0.011	0.086±0.017	3.529±0.025

*Data for single dose were cited from ref. 19. *No chemicals were found in control fish group.

^tEach value represents mean±S.E. of 3 experiments. *BCF₃ indicates 3-day bioconcentration factor.

와 본 실험의 BPMC의 실험농도 0.05 ppm에서 carbaryl과 chlorothalonil의 농도를 0.05와 0.005 ppm, 0.05와 0.010 ppm, 0.10과 0.005 ppm 그리고 BPMC의 실험농도 0.1 ppm에서 carbaryl과 chlorothalonil의 농도를 0.05와 0.005 ppm, 0.10과 0.005 ppm으로 혼합투여시 금붕어 체내 농축정도와 실험수, 대조수, BCF값이 거의 변화가 없음을 알 수 있다($P>0.05$).

Table 3도 3일 BCF실험과 같은 방법으로 측정한 5일 BCF값을 정리한 것으로 금붕어 체내 농축정도와 실험수, 대조수 및 BCF값이 거의 변화가 없음을 알 수 있다($P>0.05$). 3일 및 5일 실험에서 대조수 중의 농약농도는 BCF측정에 영향을 미치지 않은 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 carbaryl과 chlorothalonil이 서로 계열이 다른 농약임에도 불구하고 Tsuda 등이 같은 계열의 농약들 간에 BCF측정에 상호작용이 없었던 점과 같은 결과를 나타냈다.²¹⁾

2) 혼합투여시 carbaryl의 측정결과

Table 4는 carbaryl, BPMC 및 chlorothalonil의

혼합투여시 금붕어, 실험수 및 대조수 중의 carbaryl 농도와 3일 BCF를 정리한 것이다. 민의 보고¹⁹⁾에 의한 carbaryl의 실험농도 0.05와 0.1 ppm에서의 단독투여와 본 실험의 carbaryl의 실험농도 0.05 ppm에서 BPMC와 chlorothalonil의 농도를 0.05와 0.005 ppm, 0.05와 0.010 ppm, 0.10과 0.005 ppm 그리고 carbaryl의 실험농도 0.1 ppm에서 BPMC와 chlorothalonil의 농도를 0.05와 0.005 ppm, 0.10과 0.005 ppm으로 혼합투여시 금붕어 체내 농축정도와 실험수, 대조수, BCF값이 거의 변화가 없음을 알 수 있다($P>0.05$).

Table 5도 3일 BCF실험과 같은 방법으로 측정한 5일 BCF값을 정리한 것으로 금붕어 체내 농축정도와 실험수, 대조수 및 BCF값이 거의 변화가 없음을 알 수 있다($P>0.05$). 3일 및 5일 실험에서 대조수 중의 농약농도는 BCF측정에 영향을 미치지 않은 것으로 조사되었다. Statham과 Lech는 carbaryl이 다른 계열의 농약들과 혼합투여 했을 때 급성독성에서 부교감

신경의 활성을 강화시킨다고 보고하여 공존하는 농약과의 상가작용 혹은 carbaryl의 흡수 촉진효과를 간접적으로 시사하였으나²⁴⁾, 본 실험의 결과는 BPMC와 chlorothalonil의 공존이 carbaryl의 BCF에 영향을 미치지 않았으며 이는 BCF에 미치는 화합물 간의 상호 작용을 설명함에 있어 어류 체내에서 화합물이 배출

되는 속도를 함께 조사함이 좋다고 사료된다.

3) 혼합투여시 chlorothalonil의 측정결과

Table 6은 chlorothalonil, BPMC 및 carbaryl의 혼합투여시 금붕어, 실험수 및 대조수 중의 carbaryl농도와 3일 BCF를 정리한 것이다. 차의 보고²⁰⁾에 의한 chlorothalonil의 실험농도 0.005 와 0.01

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

Groups by spiked conc.(ppm) (Car+BPMC+Chl)	Fish* ($\mu\text{g/g}$)	Test Water ($\mu\text{g/ml}$)	Control Water ($\mu\text{g/ml}$)	BCF ₅ *
0.05*	0.145±0.025	0.037±0.001	0.038±0.004	3.897±0.005
0.05+0.05+0.005	0.138±0.013 [†]	0.035±0.004	0.041±0.005	3.932±0.013
0.05+0.05+0.010	0.137±0.009	0.036±0.002	0.042±0.004	3.797±0.022
0.05+0.10+0.005	0.142±0.018	0.037±0.005	0.039±0.002	3.843±0.029
0.10*	0.197±0.013	0.047±0.005	0.053±0.002	4.219±0.017
0.10+0.05+0.005	0.193±0.007	0.045±0.007	0.055±0.007	4.293±0.025
0.10+0.10+0.005	0.190±0.015	0.046±0.015	0.056±0.011	4.132±0.033

*Data for single dose were cited from ref. 19. *No chemicals were found in control fish group.

[†]Each value represents mean±S.E. of 3 experiments. ^{*}BCF₅ indicates 5-day bioconcentration factor.

Table 6. Concentration of chlorothalonil in fish, test water, control water and calculated BCF₃ exposed to the combined treatment of chlorothalonil, BPMC and carbaryl in water (MEAN±S.E.)

Groups by spiked conc.(ppm) (Car+BPMC+Chl)	Fish* ($\mu\text{g/g}$)	Test Water ($\mu\text{g/ml}$)	Control Water ($\mu\text{g/ml}$)	BCF ₃ *
0.05*	0.005±0.001	0.002±0.001	0.005±0.001	2.187±0.234
0.05+0.05+0.005	0.005±0.001 [†]	0.002±0.001	0.005±0.002	2.024±0.113
0.05+0.05+0.010	0.005±0.001	0.002±0.001	0.005±0.003	2.213±0.097
0.05+0.10+0.005	0.005±0.001	0.002±0.001	0.006±0.001	2.157±0.084
0.10*	0.005±0.001	0.002±0.001	0.006±0.001	2.271±0.121
0.10+0.05+0.005	0.010±0.001	0.003±0.001	0.007±0.001	3.527±0.235
0.10+0.10+0.005	0.010±0.001	0.003±0.001	0.007±0.001	3.532±0.184

*Data for single dose were cited from ref. 20. *No chemicals were found in control fish group.

[†]Each value represents mean±S.E. of 3 experiments. ^{*}BCF₃ indicates 3-day bioconcentration factor.

Table 7. Concentration of chlorothalonil in fish, test water, control water and calculated BCF₅ exposed to the combined treatment of chlorothalonil, BPMC and carbaryl in water (MEAN±S.E.)

Groups by spiked conc.(ppm) (Car+BPMC+Chl)	Fish* ($\mu\text{g/g}$)	Test Water ($\mu\text{g/ml}$)	Control Water ($\mu\text{g/ml}$)	BCF ₅ *
0.05*	0.011±0.001	0.002±0.001	0.004±0.001	6.654±0.553
0.05+0.05+0.005	0.011±0.001 [†]	0.002±0.001	0.004±0.001	6.712±0.332
0.05+0.05+0.010	0.012±0.001	0.002±0.001	0.005±0.001	6.457±0.214
0.05+0.10+0.005	0.012±0.001	0.002±0.001	0.004±0.001	6.694±0.194
0.10*	0.012±0.001	0.002±0.001	0.004±0.001	6.597±0.177
0.10+0.05+0.005	0.016±0.001	0.002±0.001	0.006±0.001	6.977±0.025
0.10+0.10+0.005	0.017±0.001	0.003±0.001	0.006±0.001	7.013±0.077

*Data for single dose were cited from ref. 20. *No chemicals were found in control fish group.

[†]Each value represents mean±S.E. of 3 experiments. ^{*}BCF₅ indicates 5-day bioconcentration factor.

ppm에서의 단독투여와 본 실험의 chlorothalonil의 실험농도 0.005 ppm에서 BPMC와 carbaryl의 농도를 0.05와 0.05 ppm, 0.05와 0.10 ppm, 0.10과 0.05 ppm, 0.10과 0.10 ppm 그리고 chlorothalonil의 실험농도 0.01 ppm에서 BPMC와 chlorothalonil의 농도를 0.05와 0.05 ppm으로 혼합투여시 금붕어 체내 농축정도와 실험수, 대조수, BCF값이 거의 변화가 없음을 알 수 있다($P>0.05$). Table 7도 3일 BCF실험과 같은 방법으로 측정한 5일 BCF값을 정리한 것으로 금붕어 체내 농축정도와 실험수, 대조수 및 BCF값이 거의 변화가 없음을 알 수 있다($P>0.05$). 3일 및 5일 실험에서 대조수 중의 농약농도는 BCF 측정에 영향을 미치지 않은 것으로 조사되었다.

Keplinger와 Deichmann¹¹ 유기염소계농약과 유기인계농약 그리고 카바메이트계농약을 포함한 15종의 농약에 대하여 rat를 이용하여 100가지 이상의 경우로 혼합투여하여 급성독성시험을 한 결과 대부분이 상가작용을 나타낸다고 보고하여 약리학적 상호작용이 있음을 밝혔다.³³⁾ 이 사실은 다성분계에 있어서 농약의 흡수율이 다소 촉진되거나 또는 농축 효과가 다소 증가한다는 점을 간접적으로 시사하는

Table 8. Depuration rate constants of BPMC, carbaryl and chlorothalonil in experiments using the pesticides present as a mixture

Pesticide	(BPMC+Car+Chl)(ppm)	$k(h^{-1})$
BPMC	0.05	0.019
	0.05+0.05+0.005	0.019
	0.05+0.05+0.010	0.018
	0.05+0.10+0.005	0.020
	0.10	0.021
	0.10+0.05+0.005	0.022
	0.10+0.10+0.005	0.021
Carbaryl	0.05	0.030
	0.05+0.05+0.005	0.030
	0.05+0.05+0.010	0.029
	0.10+0.05+0.005	0.029
	0.10	0.032
	0.05+0.10+0.005	0.030
	0.10+0.10+0.005	0.031
Chlorothalonil	0.005	0.003
	0.05+0.05+0.005	0.004
	0.05+0.10+0.005	0.003
	0.10+0.05+0.005	0.004
	0.10+0.10+0.005	0.003
	0.010	0.004
	0.05+0.05+0.010	0.004

것이라 볼 수 있다.

따라서, BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 혼합투여시, 체내잔류효과 혹은 농축정도에 영향을 끼치는 배설속도상수를 구하여 BCF에 미치는 영향이 어떠한가를 알아보고자 하였다.

3. BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil을 혼합투여한 급성독성 실험

BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 96시간 반치사농도²⁰의 1/3 농도인 2.98(mg/l), 6.04(mg/l), 0.045(mg/l)의 농도로 이들 농약을 혼합투여 해 본 결과

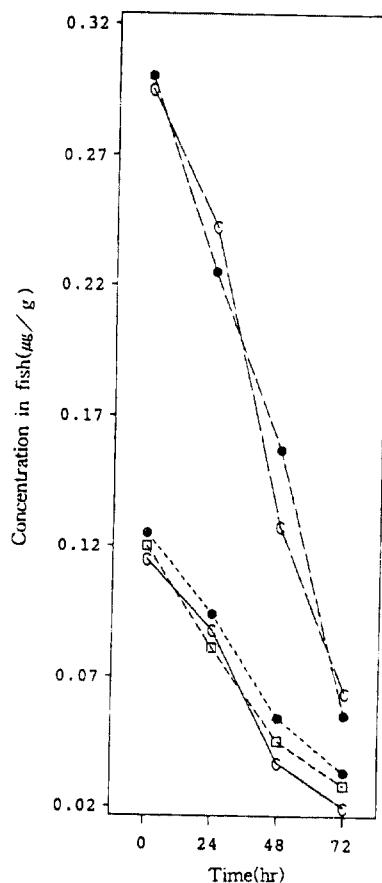


Fig. 2. Depuration of BPMC from the whole body of goldfish.

- : BPMC+Carbaryl+Chlorothalonil
(0.05+0.05+0.005 ppm)
- : (0.05+0.05+0.010 ppm)
- : (0.05+0.10+0.005 ppm)
- : (0.10+0.05+0.005 ppm)
- : (0.10+0.10+0.005 ppm)

goldfish는 4시간이후 모두 사망하였다. 이들 농도는 각 농약의 LC₅₀값의 1/3에 해당하는 것으로서, 실험결과는 상가작용이 아닌 상승작용으로 추정된다.

4. BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 배설속도 상수(depuration rate constant)

Table 8은 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 혼합투여시 각각의 배설속도상수를 정리한 것이다. Carbaryl의 경우 5일 실험후 72시간 이후에는 금붕어 체내에서의 잔류량이 검출한계미만으로 측정이 불가능하므로 t (시간)=72hour을 기준으로 하였다.

위의 식을 이용한 결과 carbaryl은 BPMC보다 배설 속도상수가 약 1.5배, chlorothalonil보다는 6배에서 8배 가량 높은 것을 알 수 있으며, BPMC는 chlorothalonil보다 배설속도상수가 약 4배에서 6배 가량 높은 것을 알 수 있다. Fig. 2, Fig. 3 및 Fig. 4는 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 배설속도상수를 구하기 위하여 각각의 실험농도에서 24시간, 48시간, 72시간의 배설속도 실험결과를 그림으로 표시한 것이다. Fig. 2에서 BPMC의 단독투여시 및 혼합투여시 모두 72시간 이후에는 최초 금붕어 체내의 BPMC농도의 약 1/3가량 배설되었으며, Fig. 3의 carbaryl의

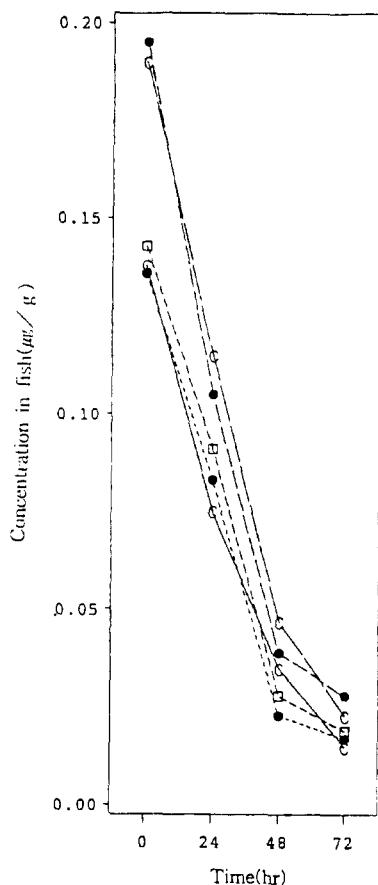


Fig. 3. Depuration of carbaryl from the whole body of goldfish.

- : BPMC+Carbaryl+Chlorothalonil
(0.05+0.05+0.005 ppm)
- : (0.05+0.05+0.010 ppm)
- : (0.05+0.10+0.005 ppm)
- : (0.10+0.05+0.005 ppm)
- : (0.10+0.10+0.005 ppm)

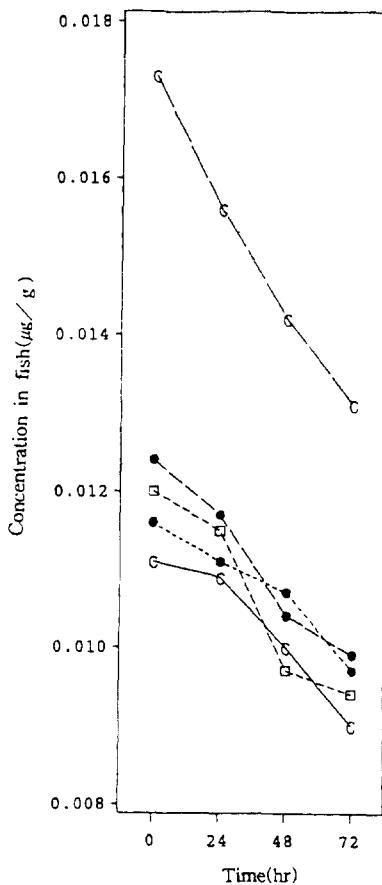


Fig. 4. Depuration of chlorothalonil from the whole body of goldfish.

- : BPMC+Carbaryl+Chlorothalonil
(0.05+0.05+0.005 ppm)
- : (0.05+0.05+0.010 ppm)
- : (0.05+0.10+0.005 ppm)
- : (0.10+0.05+0.005 ppm)
- : (0.10+0.10+0.005 ppm)

경우 각 실험농도가 달라도 72시간 이후는 90%이상 배설되어 g당 0.02 μg 이하가 되었고 빠른 속도로 배설되었다. Fig. 4의 chlorothalonil의 경우 72시간 이후에는 앞의 BPMC 및 carbaryl보다 아주 느리게 25%정도 배설되었다.

이런 결과들을 종합해 보면 chlorothalonil의 배설 속도는 BPMC 및 carbaryl의 농도와 관계없이 chlorothalonil의 농도에 의존하는 경향이 있어 체내 잔류성이 클 것으로 추정되며, BPMC 및 carbaryl은 chlorothalonil의 농도에는 큰 영향을 받지 않고 배설되는 것으로 사료된다. 이런 결과는, 본 실험이 0.005~0.1 ppm에서 시행된 것이기 때문에, 이렇게 묽은 농도에서는 세 성분간의 상호작용이 일어나지 않은 결과로 추정된다.

IV. 결 론

Carassius auratus(goldfish)를 이용하여 carbamate계 농약인 BPMC 및 carbaryl과 유기염소계 농약인 chlorothalonil을 각각 혼합투여하여 농도별 (BPMC+carbaryl+chlorothalonil : 0.05 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.05 ppm+0.010 ppm, 0.05 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm), 폭로기간별(3일 및 5일), 세 물질의 금붕어내 함량변화를 측정하였으며 이로부터 생물농축계수 (BCF)를 산출하고 아울러 배설속도상수(depurat-ion rate constant)를 구하였다. 금붕어와 실험수의 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil 축적량은 n-hexane과 acetonitrile을 이용하여 추출하였으며 GC-ECD를 이용하여 정량하였다. 그 결과는 다음과 같다.

BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 혼합투여시 각각 실험농도 0.05 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.05 ppm+0.010 ppm, 0.05 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm에서 BPMC의 경우 BCF₃은 4.163, 4.011, 4.122, 4.750, 4.842이었고, BCF₅는 3.465, 3.270, 3.472, 3.162, 4.227, 4.157이었다. Carbaryl의 경우 위와 동일한 실험농도에서 BCF₃는 4.583, 4.642, 4.571, 3.637, 3.529이었고 BCF₅는 3.932, 3.797, 3.843, 4.2e93, 4.132이었다. Chlorothalonil의 경우 위와 동일한 실험농도에서 BCF₃는 2.024, 3.532, 2.213, 2.157, 2.271이었고 BCF₅는 6.712, 7.013, 6.457, 6.694,

6.597이었다.

BPMC, Carbaryl 및 chlorothalonil의 혼합투여시 BPMC의 경우 실험농도 0.05 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.05 ppm+0.05 ppm+0.010 ppm, 0.05 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.05 ppm+0.005 ppm, 0.10 ppm+0.10 ppm+0.005 ppm에서 BPMC의 배설속도상수(depuration rate constant)는 각각 0.019, 0.018, 0.020, 0.022, 0.021이었고, carbaryl의 경우 위와 같은 실험농도에서 배설속도상수는 각각 0.030, 0.029, 0.030, 0.029, 0.031이었으며, chlorothalonil의 경우 위와 같은 실험농도에서 배설속도상수는 각각 0.004, 0.004, 0.003, 0.004, 0.003이었다. 즉, carbaryl은 BPMC보다 배설속도상수가 약 1.5배, chlorothalonil보다는 6배에서 8배 가량 높은 것을 알 수 있으며, BPMC는 chlorothalonil보다 배설속도상수가 약 4배에서 6배 가량 높은 것을 알 수 있다.

이상의 결과에서 BPMC, carbaryl 및 chlorothalonil의 혼합투여시 실험기간에 따른 금붕어 체내 축적량과 실험수 중의 농도 및 BCF값은 단독투여에 비하여 큰 변화가 없었다. 이것은 실험농도가 0.005 내지 0.1 ppm으로서 묽은 농도이기 때문에 상호작용이 일어나지 않기 때문으로 사료된다.

BPMC, Carbaryl 및 chlorothalonil이 공존하여도 각각의 배설에 서로 관여하지 않았으며, 특히 chlorothalonil은 BPMC와 carbaryl보다 각각 배설 속도가 1/8 및 1/6 이상 느리게 조사되었다.

따라서 chlorothalonil, BPMC, carbaryl의 순으로 체내 잔류성이 클 것으로 추정된다.

묽은농도에서는 다성분계라 하여도 각각의 BCF와 배설율은 각 성분농약의 성질과 농도에 의존하며 다른 성분의 간섭을 받지 않을 것으로 추정된다.

감사의 글

이 논문은 1995년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Caspers, N., and Sch rman, G. : Bioaccumulation in Aquatic System. VCH, USA, 81-98, 1991.
- 유홍일 : 환경독성평가의 관련제도. 한국환경위생학회, 환경독성평가에 관한 세미나 자료집, 3-16, 1995.
- 김오식 : 환경 화학물질의 위해성 평가, 신광문화사,

- 1993.
- 4) 이서래 : 환경독성학의 새도운 과제. *한국환경농학회지*, 7(1), 65-73, 1988.
 - 5) Belluck, D. A., and Benjamin, S. L. : Pesticide and Human health. *Journal of Environmental Health*, July/August, 11-13, 1990.
 - 6) Kristensen, P., and Tyle, H. : Bioaccumulation in aquatic systems. VCH, USA, 189-227, 1991.
 - 7) Japan : Japanese chemical substances control law (No.117), 1973.
 - 8) Clark, K. G., Frank, P. C., and Mackay, D. : *Environ. Sci. Technol.*, 24, 1203-1213, 1990.
 - 9) 김용화, 김균 : 화학물질의 환경화학적 시험과 환경독성학적 평가. 화학과 공업의 진보, 30(4), 244-255, 1990.
 - 10) Moriarty, F., Walker, C. H. : Bioaccumulation in Food Chains-Rational Approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 13, 208, 1987.
 - 11) Hodgson, E., and Levi, P.E. : Modern toxicology, Elsevier, 27-28, 1987.
 - 12) Esser, H.O. : A review of the correlation between physicochemical properties and bioaccumulation. *Pestic. Sci.* 17 : 265-276, 1986.
 - 13) Metcalf, R.L., Sangha, G.K., and Kapoor, I.P. : Model ecosystem for the evaluation of pesticide biodegradability and ecological magnification. *Environ. Sci. Technol.*, 5(8), 709-716, 1971.
 - 14) Vieth, G.D., et al. : An evaluation of using partition coefficients and water solubility to estimate bioconcentration factors for organic chemicals in fish. *Aquatic toxicology*, 116-129, 1980.
 - 15) Kanazawa, J. : Measurement of the bioconcentration factors of pesticides by freshwater fish and their correlation with physicochemical properties or acute toxicities. *Pestic. Sci.*, 12, 417-424, 1981.
 - 16) Korte : Ecotoxicological profile analysis. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 6, 60, 1982.
 - 17) Korte, F., et al. : A concept for establishing ecotoxicologic priority lists for chemicals. *Chemosphere*, 1, 79-102, 1978.
 - 18) Swackhamer, D.L., and Hites, R.A. : Occurrence and bioaccumulation of organochlorine compounds in fishes from Siskiwit lake, Isle Royle, Lake Superior. *Environ. Sci. Technol.*, 22(5), 543-548, 1988.
 - 19) 민경진, 박선열, 강희왕 : *Carassius auratus*(gold fish)를 이용한 BPMC와 Carbaryl의 생물농축계수의 측정. *한국환경위생학회지*, 20(1), 75-82, 1994.
 - 20) 민경진 : Carbamate계 농약의 생체농축계수의 측정. *한국환경위생학회지*, 20(4), 80-89, 1994.
 - 21) 차춘근, 전봉식, 민경진 : *Carassius auratus*(gold fish)를 이용한 Chlorothalonil의 단기간 생물농축계수와 분배계수의 측정. *한국환경위생학회지*, 21(3), 38-48, 1995.
 - 22) Tsuda, T., et al. : Accumulation and excretion of diazinon, fenthion and fenitrothion by killifish : comparision of individual and mixed pesticides. *Wat. Res.*, Vol. 29, No. 2, 455-458, 1995.
 - 23) 민경진, 배현균, 김희섭 : 구리와 Chlorothalonil의 공존이 *Carassius auratus*(goldfish)를 이용한 단기간 생물농축계수의 측정에 미치는 영향. 계명대학교 학생학술연구논문, 1995.
 - 24) 김근배 : Carbaryl과 Chlorothalonil의 공존이 *Carassius auratus*(gold fish)를 이용한 생물농축계수에 미치는 영향. 계명대학교 대학원, 1996.
 - 25) Statham, C. N., and Lech, J. J. : Potentiation of the acute toxicity of several pesticides and herbicides in trout by carbaryl. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 86, 105-111, 1975.
 - 26) Macek, K. J. : Acute toxicity of pesticide mixtures to bluegills. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 14, 648-652, 1975.
 - 27) Marking, L. L., and Mauck, W. L. : Toxicity of paired mixtures of candidate forest insecticides to rainbow trout. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 13, 518-523, 1975.
 - 28) OECD : OECD Guideline 305 A-E, OECD.
 - 29) 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.
 - 30) Jorgensen, S.E. : Modelling in ecotoxicology. 16, 69-79, 1990.
 - 31) 일본약학회편 : 위생시험법주해. 금원출판사, 71-93, 1980.
 - 32) 일본약학회편 : 위생시험법주해. 금원출판사, 440-442, 1980.
 - 33) 심창구 : 약물체내속도론. 서울대학교 출판부, 3-21, 1994.
 - 34) Keplinger, M. L., and Deichmann, W. B. : Acute toxicity of combinations pesticide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 10, 586-595, 1967.