

Ellman 효소법에 의한 대전시 상수도내 살충제의 잔류농도 결정 및 그 대책에 관한 연구

이 봉 호 · 이 영 순 · 전 종 한
대전산업대학교 공업화학과 · 서울산업대학교 안전공학과
(1997년 2월 10일 접수)

A Study on the Remaining Concentration of Pesticides in Tap Water of Taejon City by Ellman's Enzyme Method and the Countermeasure

Bong-Ho Lee, Young-Soon Lee*, and Jong-Han Chun
Dept. of Ind. Chemistry, Taejon Nat'l Univ. of Technology
*Dept. of Safety Eng., Seoul Nat'l Univ. of Technology
(Manuscript received 10 February 1997)

The degree of pesticides accumulation in tap water in Taejon from June 1995 to Apr 1996 was measured by Ellman's coupled enzyme assay. Since organic phosphate and carbamate pesticides specifically inhibit the neurotransmitter modulating enzyme acetylcholinesterase(AChE), the enzyme activity can be used as a diagnosis for the pesticides accumulation in water and various samples.

During the period of this study, the enzyme activity was changed almost every week. The lowest enzyme activity was 64 % of that of the control reaction and there are several days showing about 100 % enzyme activity. In general, the enzyme activity is higher in summer than other seasons especially early spring times. The pH value of tap water was very close to neutral(pH 7.0) and it seems that the enzyme activity was not affected by the small pH changes.

Either boiling of tap water or addition of NaOH solution decomposed the pesticide components.

These results show that AChE assay is a convenient, sensitive, and reliable method for detection of pesticides in water samples.

Key words : Tap Water, Pesticides, Remaining Concentration of Pesticides, Ellman's Enzyme Assay, A-cetylcholinesterase Inhibition

1. 서 론

인류가 사용하고 있는 농약은 크게 살충제와 제초제로 분류될 수 있다. Mineau¹⁾, Crue et al.²⁾ 그리고 Davis 와 Richardson³⁾은 농약 중에서 살충제가 작물의 해충뿐만 아니라 논밭에 살고 있는 각종 생물을 살상시켜 생태계를 크게 훼손시키는 것에 대해 연구 하였다. 또한 이영순 외⁴⁾는 농사 과정에서 살포되는 살충제의 일부는 하천으로 유입되어 하천의 담수어를 살상시키거나 악영향을 주는 것은 물론 일부는 지하수로 유입되어 토양과 지하수를 오염시키는 것에 대한 연구를 하였다. 더욱 심각한 문제는 땅속에 침투된 살충제가 지속적으로 지하수 및 하천으로 확산되고 이렇게 확산된 살충제는 상수원으로 활용되는 저수지나 호수로 유입되어 상수원을 오염시키게 된다. 박영규 외⁵⁾는 우리나라의 낙동강 수계를 대상으로 농약 유출에 대한 조사연구를 실

시하여 농경지 유출수에서 BHC, α -Endosulfan, Aldrin, Fenitrothion 등을 검출하여 이에 대한 정량값을 보고하였다. 박영규 외⁵⁾는 역시 이러한 농약성분들이 금호강 상류지역에서도 검출되는 것으로 보고 하였다. 최근 소득증대와 더불어 골프장 건설이 많이 진행되고 있어 농약 오염원은 계속 증가하고 있다. 이러한 살충제의 대부분은 하천이나 담수호로 이동하는 동안 일부분만 자연적으로 분해되고, 나머지는 분해되지 않고 물 속에 용존되어 있게 된다. 이렇게 살충제로 오염된 상수원은 정수 과정에서 별도의 정제 과정 없이 처리되어 그대로 식수로 사용되게 된다.

살충제는 해충의 신경전달에 관련된 효소인 acetylcholinesterase(EC 3.1.1.7. : 이하 AChE)의 활성자리 serine²⁰⁰과 비가역적인 공유결합을 형성하여 효소의 활성을 감소시키게 된다. 이러한 효소 억제반응은

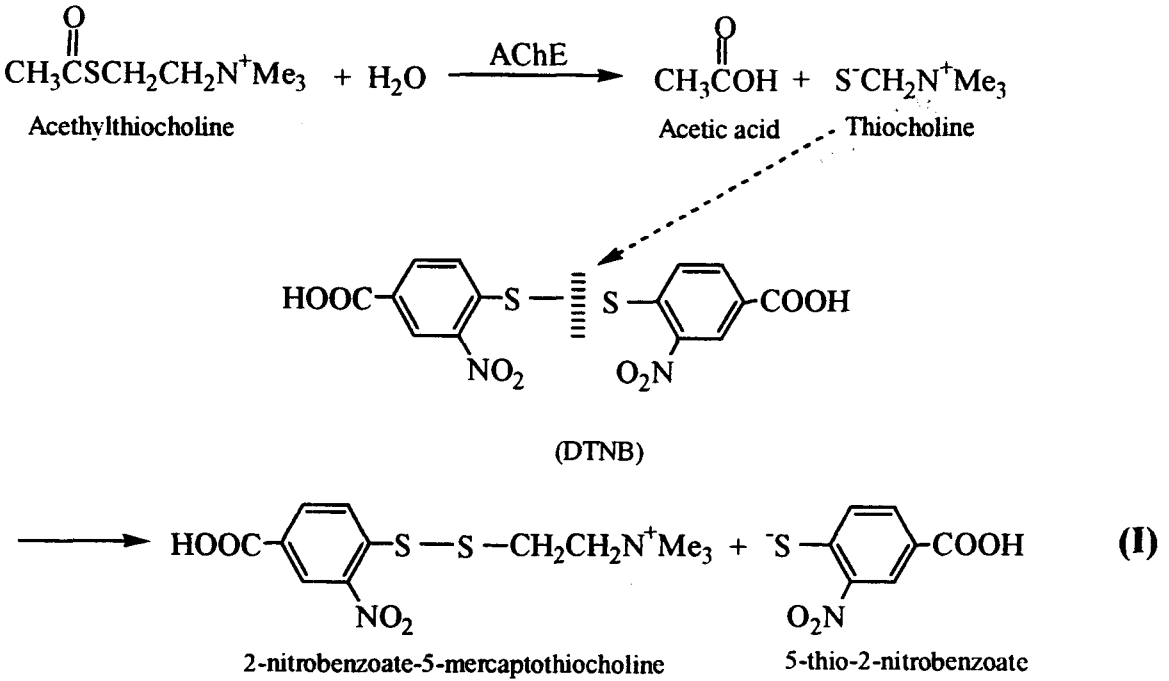


Fig. 1. The mechanism of Ellman's coupled AChE assay.

해충의 호흡기와 순환기관을 마비시켜 해충을 죽이는 살충작용을 하게 된다. Yu et al.⁶⁾, O'Brien⁷⁾ 그리고 Quinn⁸⁾은 이러한 메카니즘이 살충제를 인간 및 주변 동물이 섭취하였을 때에도 동일하게 작용하여 인간 및 동물에게 신경전달과 관계되는 각종 질병을 유발시키는 물론이고 심한 경우 사망에 이르게 하기도 한다고 보고하였다.

그러므로 살충제가 용존되어 있는 식수를 인간이 장기적으로 섭취하게 되면 살충제 중독에 의해 각종 질병이 유발되므로, 식수에 살충제가 용존되어 있다는 것은 국민 보건상 매우 심각한 일이다. 따라서 유럽에서는 한 종류의 농약에 대한 허용 기준이 하루 0.1 µg/ml 이하이며, 대사물을 포함한 농약성분의 허용 기준은 하루 0.5 µg/ml 이하로 정해놓고 있다(EEC Drinking Water Directive, 1990). 이러한 이유로 인해 살충제를 포함한 농약의 검출법에 대한 여러 연구가 진행되었으며, 호주의 Fergusson et al.은 효소 immunoassay를 통해 제초제인 diuron을 물 시료에서 정량 하였으며, 스페인 과학자들이 Gomez et al.⁹⁾은 Guadaleta 강의 유기인계 살충제를 membrane과 column chromatography를 연결해 검출하였으며 그리고 Minunni 과 Mascini¹⁰⁾는 상수원내의 살충제를 biospecific interaction analysis를 통해 검출하기도 하였다.

한편 Barcelo¹¹⁾는 enzyme assay나 immunoassay법을 이용한 농약 검출법이 기존에 사용되어 오던 크로마토그래피법과 같은 방법들보다 간편할 뿐만 아니라, 검출한계가 높아 낮은 농도의 농약 성분도 쉽게 검출할 수 있다고 보고하여 이 방법에 대해 최근에 많은 관심이 모아지고 있다. 본 연구에서는 수자원 내에 용존되어 있

는 살충제의 검출과 기초적인 정량을 위하여 식수로 사용되고 있는 대전시 수돗물을 매주 정기적으로 1년 동안 채취하여 수돗물내의 살충제 농도를 enzyme assay 법인 Ellman¹²⁾ 방법에 의해 측정하였다. 이 Ellman assay는 어류나 조류의 살충제 측정정도를 검사하는 간편한 방법으로, Crue et al.²⁾ 및 이영순 외⁴⁾ 등이 이에 관한 연구를 한바 있으며 현재 널리 사용되고 있다.

그리고 본 연구에서는 물 속에 용존되어 있는 살충제를 경제적이고 효과적으로 제거시키기 위한 방법을 제시하기 위해 수돗물을 가열시키거나, NaOH를 투입시켜 분해시키는 방법을 시도하였다. 살충제는 주로 유기인계나 카바메이트계이고 이들은 열이나 염기에 불안정하기 때문에 위와 같은 방법으로 분해시켜 제거하는 방법을 시도하였다.

2. 이론 및 실험

농약으로 사용되는 유기인계와 carbamate계 살충제는 신경 전달에 관계되는 효소인 AChE의 활성 자리의 아미노산인 serine²⁰⁰의 히드록시기와 비가역적으로 반응하여 공유결합을 형성하여 AChE의 활성을 저하시킨다. 이렇게 AChE 효소활성이 감소하게 되면 호흡기와 순환기 계통이 마비되어 살충작용을 하게 된다. 따라서 AChE 활성 억제 정도가 효소억제제(살충제)의 존재와 농도에 대한 직접적인 정보를 제공한다. 이러한 AChE 억제는 Ellman 효소법에 의해 매우 정확하고 간편하게 측정 될 수 있는데, 이 방법은 natural substrate analog인 acetylthiocholine(ATCh)을 AChE 촉매로 가수분해하고 분해된 thiocholine이 coupling agent인 5, 5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)(DTNB)와 반응하여

4-mercapto-2-nitrobenzoic acid와 2-nitrobenzoic acid의 thio 음이온을 생성한다. 이렇게 생성된 음이온은 UV에 정확하게 검출되기 때문에 UV에 의해 이 음이온의 생성속도를 측정함으로써 AChE의 활성도를 측정하게 된다. 그림 1에는 Ellman 효소법에 의한 반응 메카니즘을 나타내었다.

그림 1의 Ellman coupled enzyme assay는 컴퓨터에 연결된 HP 8452A Diode Array UV-visible 분광광도계를 사용하여 실시하였으며 얻어진 데이터는 컴퓨터로 해석하였다. 모든 반응은 1 mL의 수정 cuvette에서 실시하였으며, 반응온도는 항온조를 사용하여 25.0 ± 0.1 °C로 유지시켰다. 반응시 기질인 acetylthiocholine (ATCh) 농도는 0.1 mM, 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)(DTNB) 농도는 0.2 mM, AChE 농도는 0.02 unit(3.08 nM)이었으며 흡수 파장은 412nm이었다. Ellman¹²⁾법에 의하면 이 파장에서 그림 1의 (I)에 대한 몰 흡광 계수는 $13800 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 이었다. 반응은 효소용액을 cuvette에 넣어 시작하였다.

AChE에 의한 ATCh의 가수분해 반응의 초기반응 속도는 다음과 같이 실시하였다. 효소의 초기 반응속도(initial rate)는 기질농도의 5-10% 정도만 효소에 의해 분해되는 초기의 직선기울기를 측정하는 것으로 412 nm에서 기준반응(control reaction)의 초기 속도를 100으로 하고 시료의 반응을 control 반응에 대한 상대백분율로 계산하였다. 이때 초기반응은 흡광도 변화가 0.1 정도가 되게 하였으며 반응속도는 흡광도 변화선의 기울기가 되도록 한다. 또한 반응속도의 단위는 흡광도 단위이며 이를 몰흡광 계수로 나누어주면 농도 단위로 환산된다. 그리고 사용한 완충 용액은 0.1 M, pH 7.3의 phosphate 용액이었다. 모든 반응은 2번 이상 측정하였으며, 표에 나타낸 값들은 평균값을 취하여 나타내었다.

또한 강수량과 효소활성도의 관계를 알아보기 위해 기상청으로부터 평가기간의 강수량을 입수하여 강수량에 따른 수돗물내의 살충제 농도 변화 관계를 측정하였다.

수돗물속에 용존되어 있는 살충제를 효과적으로 분해시키기 위한 방법은 다음과 같이 두 가지 방법에 의해 실시하였다. 첫째 방법은 상수도 물을 고온으로 처리하여 살충제를 분해시키는 방법으로, 효소의 활성도를 감소시켜 살충제의 농도가 높게 검출되는 시료를 선택하여 상수도 물을 90 °C이상으로 가열하여 5분 동안 그 온도로 유지시켜 살충제의 분해를 시도하였다. 그런 다음 역시 Ellman 효소억제 반응에 의해 살충제의 분해 정도를 측정하였다. 두 번째 방법은 상수돗물의 pH 변화에 따라 살충제가 분해되는 것을 알아보기 위한 것이다. 이 방법은 NaOH 용액을 가하여 5분간 반응시킨 후 살충제의 분해 정도를 측정하는 것으로 상술하면 다음과 같다. 이 방법은 시료 10 mL에 0.1 N NaOH 용액 1 mL를 가하고 5분 동안 교반시킨 다음 0.1 N HCl 용액으로 중성이 되게 한 후 Ellman 효소억제 반응에 의해 살충제의 분해 정도를 측정하는 것이다.

3. 결과 및 고찰

표 1에는 대전시 상수돗물의 효소활성 억제 정도를 측정된 결과를 나타내었다. 표 1에 나타낸바와 같이 기준반응은 완충용액을 사용하였을 때의 초기반응 속도이고 이때의 효소활성도를 100 %로 하여 수돗물의 상대적 효소활성도를 나타내었다. 가장 낮은 효소 활성도는 기준반응에 비해 63.5 %의 활성을 나타냈으며 대부분의 경우 80 % 이상의 활성을 나타내었다. 이 표에서 먼저 주목할 점은 효소활성도가 계속 변화한다는 것이다. 본 연구의 초기 기간인 95년 6월부터 7월 12일 까지의 효소활성도는 100 % 미만이었지만 9월 중순까지의 효소활성도는 매우 높게 나타났다. 그리고 11월 1일 까지 계속 낮은 효소활성도를 나타내었는데, 11월 1일에는 매우 낮은 효소활성도를 보여주고 있다. 그 이후 96년 3월과 96년 4월초에도 낮은 효소활성도를 보여주고 있다. 이 결과는 대청호에 지속적으로 농약성분이 유입되고 있다는 사실을 보여주는 것으로 미국의 미주리강 유역에서 여러 가지의 농약 성분이 검출된 것과 같은 결과이다. Coppage 와 Braidech¹³⁾는 미주리강에서 disulfocan, fensulfothion, azinphosmethyl 등의 농약 성분을 ppb 범위에서 검출하였다. Carter¹⁴⁾의 연구에 의하면 10 ppb의 azinphosmethyl을 12시간 동안 catfish에 노출시키면 45 %의 뇌 AChE 활성이 감소하는 것으로 나타났다. Katz¹⁵⁾는 무지개송어에 대한 azinphosmethyl의 LC₅₀ 값이 3.2 ppb 이고, Macek¹⁶⁾는 channel catfish에 대한 LC₅₀값이 3290 ppb라고 보고하였다. 이상과 같은 연구 결과들에 의하면 담수어들이 비록 급성 LC₅₀ 보다 낮은 농도의 농약일지라도 빈번하고 지속적으로 노출되면 AChE 억제가 일어나고 결국 죽게되는 것을 의미하는 것이고, 이는 Post 와 Leasure¹⁷⁾, Eaton¹⁸⁾ 그리고 Lahav 와 Sarig¹⁹⁾ 등에 의해 확인되어 보고되었다. 이러한 결과는 인간에게도 적용된다. 또한 우리나라의 경우 박영규 외²⁰⁾가 낙동강 수계를 대상으로 각종 농약성분의 검출과 강수량에 따른 농도 변화에 대한 연구를 하였다. 이 결과, 금호강 유역의 공산동 지점에서는 γ -BHC나 α -Endosulfan의 경우 계절별로 큰 농도 변화가 없었고, 6 km 하류지점에서는 α -Endosulfan, β -Endosulfan 등은 하절기에도 많이 검출되나 5월과 9월에 낮게 나타난다고 보고하였다.

효소활성도와 강수량과의 상관관계를 알아보기 위하여 기상청에서 대청호 인근지역의 강수량에 대한 자료를 입수하여 이를 수돗물내의 살충제 농도와 비교하여 그림 2에 나타내었다. 그림 2에서 보는 바와 같이, 우리나라의 강우는 여름철에 집중되는데 95년 7월 5일부터 9월초까지 많은 강수량을 나타내고 있다. 그 이후 계속해서 낮은 강수량을 기록하다 96년 3월에는 평상시보다 많은 강수량을 기록하고 있다. 비교적 많은 강수량이 기록된 95년 7월 중순에서 8월까지의 전반기에 높은 효소활성을 나타내고 있다. 이러한 현상은 두 가지로 설명할 수 있다. 첫째는 강수량이 많기 때문에 농약의 농도가 낮아지기 때문이고, 두 번째는 상기 기간이 여름철로 기온이 높고 일조량이 많아서 농약성분의 분해가 다른 계절보다 빠르기 때문이다. 이것은 96년 3월

Table 1. The AChE activities of tap water in Taejon

시료채취 날짜	시료	초기속도평균 (10^3 A/s)	시료의 효소 활성비(%)
95. 6. 14	기준반응	1.976 ± 0.005	86.5
	수도물시료	1.709 ± 0.008	
6. 21	기준반응	2.789 ± 0.007	63.5
	수도물시료	1.772 ± 0.004	
6. 28	기준반응	2.490 ± 0.003	85.6
	수도물시료	2.132 ± 0.022	
7. 5	기준반응	1.435 ± 0.011	87.4
	수도물시료	1.254 ± 0.008	
7. 5 (Boiled tap Water)	기준반응	2.421 ± 0.003	105.6
	수도물시료	2.557 ± 0.260	
7. 12	기준반응	1.966 ± 0.006	77.6
	수도물시료	1.527 ± 0.004	
7. 19	기준반응	1.654 ± 0.003	108.3
	수도물시료	1.791 ± 0.013	
7. 26	기준반응	3.014 ± 0.004	88.3
	수도물시료	2.660 ± 0.009	
7. 26 (Boiled tap water)	기준반응	3.014 ± 0.004	95.9
	수도물시료	2.890 ± 0.009	
8. 2	기준반응	1.618 ± 0.004	102.6
	수도물시료	1.660 ± 0.004	
8. 9	기준반응	1.666 ± 0.002	92.6
	수도물시료	1.543 ± 0.015	
8. 16	기준반응	1.865 ± 0.009	98.2
	수도물반응	1.832 ± 0.007	
8. 23	기준반응	2.550 ± 0.003	99.8
	수도물반응	2.545 ± 0.002	
8. 30	기준반응	2.237 ± 0.003	92.7
	수도물반응	2.073 ± 0.002	
9. 6	기준반응	2.281 ± 0.003	110.6
	수도물반응	2.524 ± 0.002	
9. 13	기준반응	2.375 ± 0.001	103.2
	수도물반응	2.451 ± 0.006	
9. 20	기준반응	1.774 ± 0.014	88.8
	수도물반응	1.575 ± 0.005	
9. 27	기준반응	1.578 ± 0.009	95.1
	수도물반응	1.500 ± 0.033	
95. 10. 4	기준반응	1.955 ± 0.011	96.1
	수도물시료	1.879 ± 0.013	
10. 11	기준반응	2.532 ± 0.004	89.1
	수도물시료	2.255 ± 0.004	
10. 18	기준반응	2.532 ± 0.004	88.3
	수도물시료	2.236 ± 0.008	
10. 25	기준반응	2.532 ± 0.004	77.5
	수도물시료	1.962 ± 0.004	
11. 1	기준반응	1.581 ± 0.007	89.1
	수도물시료	1.409 ± 0.014	
11. 8	기준반응	3.194 ± 0.021	70.7
	수도물시료	2.257 ± 0.008	
11. 15	기준반응	1.482 ± 0.010	113.5
	수도물시료	1.682 ± 0.048	

Table 1. (Continued)

시료채취 날짜	시료	초기속도평균 (10^3 A/s)	시료의 효소 활성비(%)
11. 22	기준반응	1.482 ± 0.010	94.2
	수도물시료	1.396 ± 0.015	
11. 29	기준반응	1.482 ± 0.005	85.6
	수도물시료	1.268 ± 0.003	
12. 6	기준반응	3.304 ± 0.012	89.9
	수도물시료	2.970 ± 0.003	
12. 13	기준반응	2.258 ± 0.005	114.1
	수도물시료	2.575 ± 0.003	
12. 20	기준반응	2.258 ± 0.004	93.0
	수도물반응	2.099 ± 0.037	
12. 27	기준반응	2.258 ± 0.013	81.8
	수도물반응	1.847 ± 0.006	
96. 1. 3	기준반응	3.077 ± 0.008	93.6
	수도물반응	2.879 ± 0.007	
1. 10	기준반응	1.335 ± 0.021	85.1
	수도물반응	1.137 ± 0.037	
1. 17	기준반응	1.582 ± 0.029	76.6
	수도물반응	1.260 ± 0.045	
1. 24	기준반응	1.890 ± 0.006	85.2
	수도물반응	1.610 ± 0.002	
1. 31	기준반응	2.660 ± 0.007	96.1
	수도물반응	2.555 ± 0.009	
96. 2. 7	기준반응	1.968 ± 0.007	73.4
	수도물시료	1.444 ± 0.020	
2. 7 (NaOH+HCl)	기준반응	3.150 ± 0.005	87.5
	수도물시료	2.756 ± 0.004	
2. 14	기준반응	2.252 ± 0.003	90.3
	수도물시료	2.033 ± 0.003	
2. 21	기준반응	2.007 ± 0.003	87.5
	수도물시료	1.756 ± 0.007	
2. 28	기준반응	2.189 ± 0.005	85.6
	수도물시료	1.875 ± 0.032	
3. 6	기준반응	2.118 ± 0.005	80.1
	수도물시료	1.697 ± 0.004	
3. 13	기준반응	1.447 ± 0.014	93.4
	수도물시료	1.352 ± 0.006	
3. 20	기준반응	2.748 ± 0.014	65.3
	수도물시료	1.794 ± 0.017	
3. 27	기준반응	1.913 ± 0.006	84.0
	수도물시료	1.607 ± 0.009	
4. 3	기준반응	1.983 ± 0.008	83.7
	수도물시료	1.661 ± 0.017	
4. 10	기준반응	2.394 ± 0.003	68.4
	수도물시료	1.637 ± 0.023	
4. 17	기준반응	2.753 ± 0.008	99.1
	수도물반응	2.728 ± 0.003	
4. 24	기준반응	1.736 ± 0.045	123.1
	수도물반응	2.136 ± 0.003	

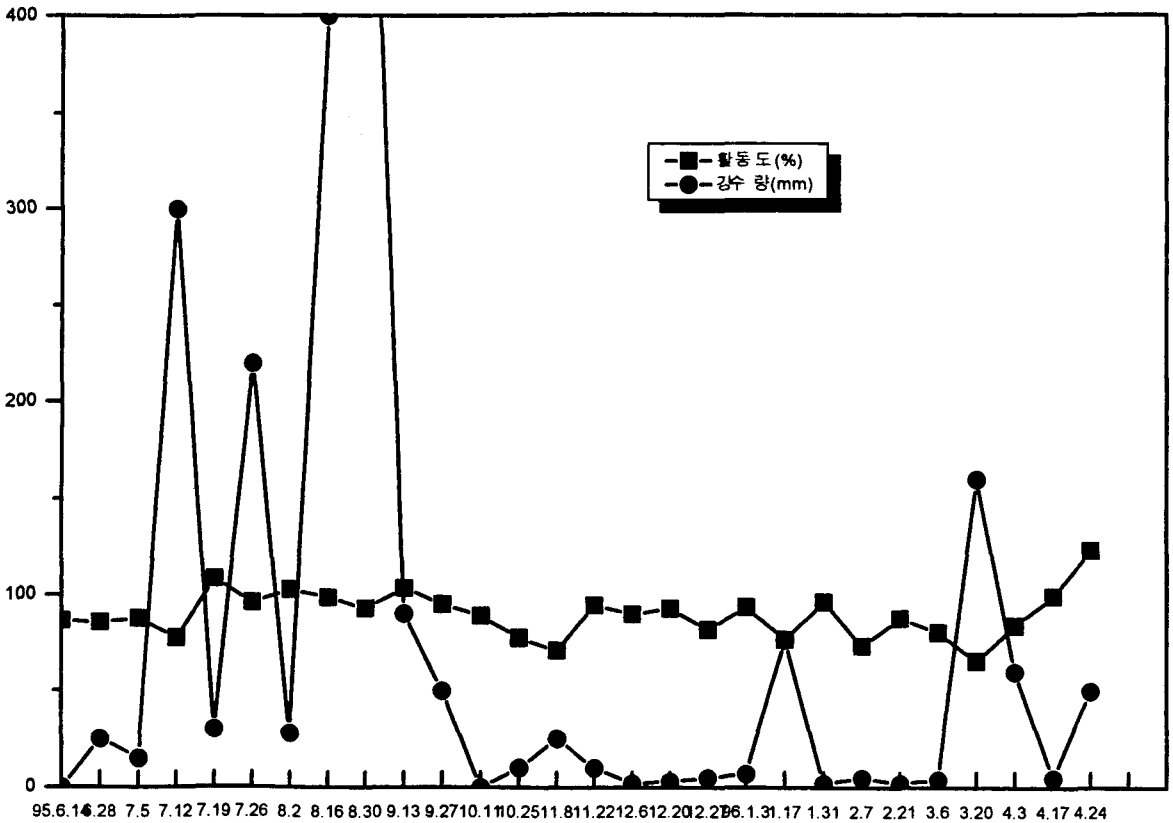


Fig. 2. The relationship of enzyme activity with the amount of rainfall from Jun. 1995 to Apr. 1996.

의 효소활성도와 강수량의 상관관계로부터 확인 할 수 있었다. 96년 3월에는 평상시 보다 많은 강수량을 기록하고 있지만 효소활성도는 평상시보다 높지 않게 나타나고 있다. 이러한 현상은 다음과 같이 설명될 수 있다. 유기인계와 카바메이트계 농약은 분해가 쉽게 일어나는 화합물이지만, 겨울철에는 일조량이 적고 기온이 낮아서 분해되는 속도가 느리기 때문에 강수량이 많지 않은 경우에는 효소활성도의 감소에 영향을 주지 못하는 것으로 생각된다. 또 겨울철에 살충제 성분이 계속 검출되는 이유중 하나는 여름이나 가을에 사용한 농약이 분해되지 않고 남아있으며 일부는 토양속으로 흡수된 후 계속 유출되기 때문이다. 스페인 과학자들인 Gomez et al.⁹⁾의 연구에 의하면 11월에서 4월까지도 Guadaleta 강 중상류에서 Parathion 및 Chlopyrifos가 0.2 µg/L의 농도로 검출된다고 보고되었다.

그림 3에는 효소활성도 조사기간에 대해 수돗물의 수소이온농도(pH)와 효소활성도를 나타내었다. 그림 3에 나타낸 바와 같이 동일한 기간의 pH 값은 중성인 7.0에 매우 가까웠으며 pH 값의 변화량이 7.0에서 ±0.3 이내여서 pH 값은 문제가 되지 않으며, 이 정도의 pH 변화는 효소활성도에도 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

효소 활성도가 저하되어 살충제가 수돗물에 용존되어 있는 것으로 생각되는 시료에서 살충제를 분해시키기 위해, 본 연구에서는 두 가지 실험을 실시하였다. 첫째

방법은 수돗물을 끓여서 살충제를 제거시키는 것으로 95년 7월 5일과 95년 7월 26일의 시료를 5분 동안 끓인 다음 효소억제 정도를 측정하였다. 그 결과, 7월 5일 시료의 경우에는 끓이기 전보다 끓인 후의 효소활성이 증가하였으며, 7월 26일 시료의 경우에도 끓인 후의 효소활성이 역시 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 수돗물을 끓이게 되면 수돗물내에 용존되어 있는 살충제의 농도가 감소함을 알 수 있었다. 두 번째 방법은 시료에 1 N NaOH 용액을 넣고 5분 동안 교반한 후 HCl 용액으로 중화시켜 수돗물내의 살충제를 분해시키는 방법이다. 이 방법에 의한 실험은 96년 2월 7일의 시료에 대해 실시하였는데 NaOH 용액으로 처리하기 전의 수돗물 효소 활성도는 73 % 인 반면, NaOH 용액으로 처리한 후의 효소활성도는 87 %로 향상되어 살충제가 어느 정도 분해되었음을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 두 가지 방법 모두 수돗물내에 용존되어 있는 살충제를 분해시키기에 효과적인 것으로 생각된다.

4. 결 론

본 연구는 작물 재배시 살충제로 주로 사용되는 유기인계와 carbamate계의 농약이 수돗물에 어느 정도 용존되어 있는가를 조사하기 위한 것으로, 기존에 사용되어 오던 크로마토그래피법 보다 훨씬 간편하고 정확한 Ellman 효소법을 사용하여 수돗물에 용존되어 있는 살

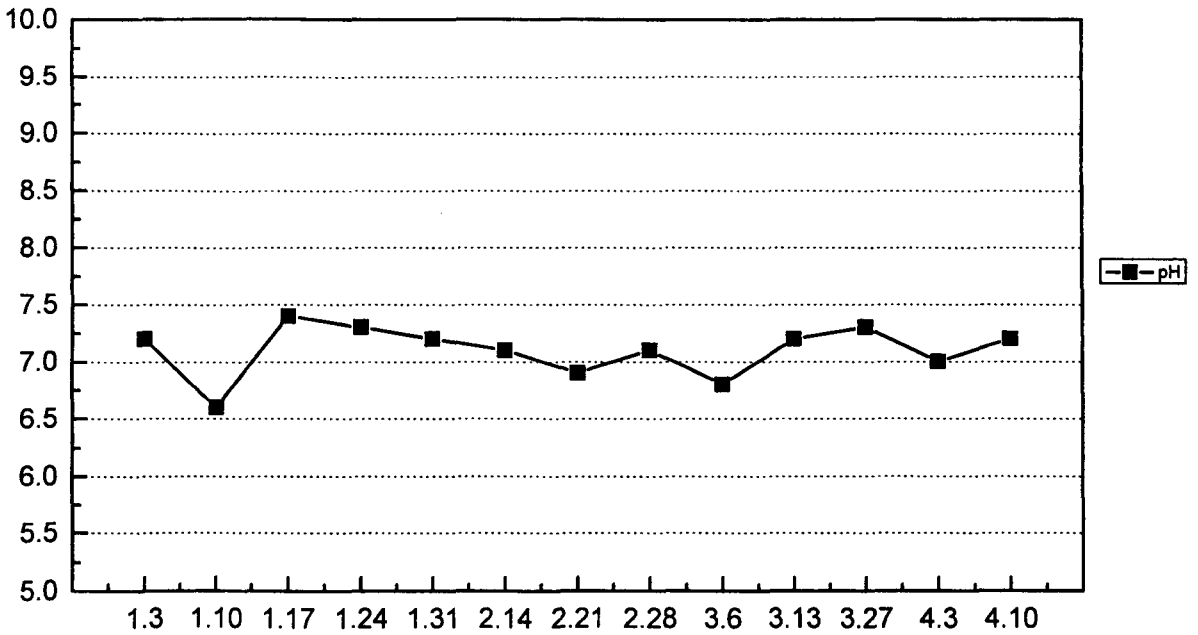


Fig. 3. The pH values of tap water in Taejeon from Jan. 1996 to Apr. 1996.

충제의 존재유무와 효소억제정도를 측정하였다. 측정 방법은 대전시 상수도 물을 95년 6월 14일 부터 96년 4월 22일 까지 약 1년 동안 매주 주기적으로 채취하여 효소활성도를 측정하였으며 기상청으로부터 대전시 수돗물의 상수원인 대청댐 인근의 강수량을 입수하여 강수량과 용존된 살충제의 농도와 비교하여 다음과 같은 결론들을 얻을 수 있었다.

1) 측정기간 내내 대전시 수돗물의 효소 활성도는 완충용액을 사용한 기준 반응의 효소 활성도보다 낮은 값을 나타내어, 대전시의 수돗물에는 살충제가 용존되어 있다는 것을 알 수 있었다. 살충제의 집중적인 살포 기간인 6월에서 8월 이외의 기간에서도 살충제가 검출된다는 것은 살포된 살충제가 서서히 지하수로 침투되어 1년 내내 지속적으로 하천으로 유입되고 있다는 것을 의미한다.

2) 수돗물에 용존되어 있는 살충제의 농도는 살충제의 살포기간과는 거의 무관하며 오히려 강수량 및 계절적인 요인과 밀접한 관련이 있음을 보여 주었다. 즉 95년 7월 5일 부터 9월 초까지의 기간에는 많은 양의 살충제를 살포하는 기간임에도 불구하고 매우 높은 효소 활성도를 나타내고 있어 수돗물내의 살충제의 용존 농도가 매우 낮다는 것을 의미한다. 그 이유는 이 기간의 강수량이 가장 많기 때문이며, 또한 이 기간은 여름철 기온이 가장 높고 일조량이 많아서 농약성분의 분해가 다른 계절 보다 빠른 것도 수돗물내의 낮은 살충제 농도에 기여하고 있는 것으로 생각된다. 그리고 갈수기인 11월에는 살충제를 사용하지 않는 기간임에도 수돗물내의 살충제의 농도가 가장 높게 나타났으며, 갈수기인 96년 3월 과 4월 초에도 역시 동일한 결과를 보여주었다. 그 이유는 갈수기임으로 인해 강수량이 적은 것은

물론 살충제 농도는 강수량과 밀접하다는 것을 확인하여 주었다.

3) 수돗물에 용존되어 있는 살충제의 제거는 두 가지 방법에 의해 실험하였다. 첫째 방법은 수돗물을 끓이는 것으로, 끓이기 전의 효소 활성도 88.3 %에서 5분 동안 끓인 후 효소 활성을 측정한 결과 95.9 %로 효소 활성도가 증가하였다. 두 번째 방법은 수돗물 1N NaOH 용액을 넣고 5분 동안 교반한 후 HCl 용액으로 중화시키는 것으로 처리전의 효소 활성도 73 %에서 처리 후에는 87 %로 상승하였다. 두 방법 모두 효과적이지만 추후 수돗물 원수 등에 대해 보다 상세한 실험이 필요하다.

4) 이상과 같은 결론들로부터 본 실험에서 적용한 Ellman's coupled enzyme assay 방법은 동물 및 수질 내에 축적되어 있는 유기인계 및 carbamate계 농약을 평가하기 위한 방법으로 현재 사용되고 있는 크로마토그래피법에 비해 간단하고 정확하여 매우 유용한 방법임을 알 수 있다.

감사의 글

본 연구는 교육부 지원의 지역개발 연구과제에 의하여 수행되었습니다. 연구비를 제공하여 준 교육부에 감사드립니다.

참고 문헌

- 1) Mineau, P., 1991, "Difficulties in the Regulatory Assesment of Cholinesterase-Inhibiting Insecticides" in Cholinesterase-Inhibiting Insecticides, 277-299.
- 2) Crue, C. E., Tome, M. W., Swanson, G. A.,

- Borthwick, S. M., and DeWeese, L. R., 1988, in "Agricultural Chemicals and the Quality of Prairie-Pathole Wetlands for Adult and Juvenile Waterfowl-What are the Concerns? Proceedings of the National Symposium on Protection of Wetlands from Agricultural Impacts", U. S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep., 88(16), 55-64.
- 3) Davis, C. S. and Richardson, R. J., 1980, "Experimental and Clinical Neurotoxicology", Organophosphorus Compounds, 527-544.
- 4) 이 영순, 이 봉호, 전 중한, 1995, 효소억제 반응에 의한 충남 논산지역의 유기인계 및 카바메이트계 농약의 잔류농도 결정 및 주변동물에 대한 독성 연구 한국공업화학회지 6, 732-739.
- 5) 박 영규, 이 철희, 이 순화, 김 종우, 1996, 낙동강유역 하천수의 농약 유출 특성 대한환경공학회지 18(5), 627-636.
- 6) Yu, C. C., Metcalfand, R. L., Booth, G. M., 1972, "Inhibition of Acetylcholinesterase from Mammals and Insects by Carbofuran and Its Related Compounds and Their Toxicities toward These Animals" J. Agric. Food Chem. 20, 923-926.
- 7) O'Brien, R. D., 1967, "Insecticides: Action and Metabolism", Academic Press, New York.
- 8) Quinn, D. M., 1987, "Acetylcholinesterase: Enzyme Structure, Reaction Dynamics, and Virtual Transition States" Chem. Rev. 87, 955-979.
- 9) Gomez-Gomez, C., Arufe-Martinez, M. I., Romero-Palanco, J. L., Gamero-Lucas, J. J., Vizcaya-Rojas, M. A., 1993, "Monitoring of Organophosphorus Insecticides in the Guadalete River(Southern Spain)" Bull. Environ. Contam. Toxicol. 55, 431-438.
- 10) Minunni, M., Mascini, M., 1993, "Detection of Pesticide in Drinking Water Using Real-Time Biospecific Interaction Analysis" Anal. Lett. 26, 1441-60.
- 11) Barcelo, D., 1993, "Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water" J. Chromatogr. 643, 117-143.
- 12) Ellman, G. L., Coutney, K. D., Andres, Jr. V., Featherstone, R. M., 1961, "A New And Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity" Biochem. Pharmacol., 7, 88-95.
- 13) Coppage, D. L., Braidech, T. E., 1976, "River Pollution by Anticholinesterase Agents" Water Res. 10, 19-24.
- 14) Carter, F. L., 1971, "In vivo Studies of Brain Acetylcholinesterase Inhibition by Organophosphate and Carbamate Insecticide in Fish. Unpublished Ph.D. dissertation, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana
- 15) Katz, M., 1961, "Acute Toxicity of Some Organic Insecticides to Three Species of Salmonids and to Threespine Stickle-back" Trans Am. Fish Soc. 90, 264-268.
- 16) Macek, K. J., McAllister, W. A., 1970, "Insecticides Susceptibility of Some Common Fish Family Representatives" Trans Am. Fish Soc. 99, 20-27.
- 17) Post, G., Leasure, R. A., 1974, "Sublethal Effects of Malathion to Three Salmonid Species" Bull. Environ. Contam. Toxicol. 12, 312-319.
- 18) Eaton, J. G., 1970, "Chronic Malathion Toxicity to Bluegill" Water Res. 4, 673-684.
- 19) Lahav, M., Sarig, S., 1969, "Sensitivity of Pond Fish to Azinphosmethyl and Parathion" Bamidgheh Bull. Fish Cult. Israel 21, 67-74.