

## 유기주석화합물이 rotifer (*Brachionus plicatilis*)의 생존율에 미치는 독성

전중균\* · 이미희 · 이지선 · 이경선<sup>1</sup> · 심원준<sup>2</sup> · 신영범<sup>2</sup> · 이수형<sup>2</sup>

강릉대학교 해양생명공학부/동해안해양생물자원연구센터 (EMBRC),

<sup>1</sup>日本國 長崎大學 海洋資源教育研究센터, <sup>2</sup>한국해양연구원 해양환경기후연구본부

## Toxicity of Organotin Compounds on the Survival of Rotifer (*Brachionus plicatilis*)

Joong-Kyun Jeon\*, Mee-Hee Lee, Ji-Seon Lee, Kyoung-Seon Lee<sup>1</sup>,  
Won-Joon Shim<sup>2</sup>, Yeong-Beom Shin<sup>2</sup> and Soo-Hyung Lee<sup>2</sup>

EMBRC, Kangnung Nat'l University, Gangneung 210-702, Korea

<sup>1</sup>Marine Research Institute, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

<sup>2</sup>Korea Ocean Research & Development Institute, Ansan 425-170, Korea

**Abstract** - Organotins are widely used organometals in various agricultural and industrial purposes. After introduction of these chemicals to the aquatic environment, they are degraded by abiotic and biotic processes. The tri-organotin compounds are sequentially degraded to di-organotin, mono-organotin and then finally inorganic tin. Although the effects of trialkyltin on marine organisms have been intensively studied, little has been known on plankton as a producer of ecosystem. In this paper, the toxicities of dibutyltin (DBT), monobutyltin (MBT), diphenyltin (DPT), monophenyltin (MPT), trimethyltin (TMT) and dimethyltin (DMT) to rotifer *Brachionus plicatilis* were measured, and their potencies were compared based on 96 hr-LC<sub>50</sub> value.

The results showed that DPT (13.8 ppb) was the highest toxic, which was followed by TMT (42.9), DBT (80.6), MPT (262.2), MBT and DMT (>1,000) in order. Thus, in tri- and di-organotins, the toxicity was observed phenyltins>butyltins>methyltins, and in mono-organotins phenyltins was more toxic than butyltins. Considering the order of 96 hr-LC<sub>50</sub> with octanol-water coefficients (K<sub>ow</sub>) in organotins together, it was considered that the toxicity of organotins seems to be related to the lipophilicity of the compounds.

**Key words :** dibutyltin, monobutyltin, diphenyltin, monophenyltin, trimethyltin, dimethyltin, rotifer, survival rate, 96 hr-LC<sub>50</sub>

## 서 론

\* Corresponding author: Joong-Kyun Jeon, Tel. 033-640-2412,  
Fax. 033-647-2410, E-mail. jkjeon@kangnung.ac.kr

해양에서 오염물질은 해류에 의해 신속하게 전파되며  
또한 먹이사슬을 통해서 해양생물의 체내에 고농도로

농축되므로, 먹이사슬의 하부에 위치하여 해양생태계의 기초생산을 담당하는 이들의 오염은 이들을 먹이로 하는 포식자 생물에게도 영향을 미쳐서 적·간접적으로 생태계에 변화를 가져올 수가 있을 것이다. 전 등(2003)은 tributyltin (TBT)과 triphenyltin (TPT)과 같은 유기 주석화합물(organotin compounds, OTC)이 먹이사슬 하부에 위치한 rotifer에 미치는 독성을 생존율을 기준으로 조사하여 OTC가 높은 독성을 보임을 확인하였다. 이들 OTC는 대체로 독성이 매우 강하고(WHO 1980; Boyer 1989), 어패류에 흡입되면 누적 잔류성이 강하기 때문에 오염이 심할 경우에는 어류는 물론 패류도 각종 피해를 입으며 특히 복족류는 임포섹스(imposex)와 같은 생식장애를 일으키기도 하는데, 우리나라 연안에도 상당한 농도로 분포한다(Shim *et al.* 2000).

한편, OTC에 노출된 해양생물은 그 독성을 완화시키고 체내로부터 빨리 배설하기 위해 여러 조직들 특히 간장의 약물대사 효소계를 활용하여 이들을 산화·환원시켜(Fent and Bucheli 1994; Fent and Meier 1994; Gibson and Skett 1994), 분해산물인 dibutyltin (DBT)이나 monobutyltin (MBT) 등을 체내에 만들며(Shim 2000; Shim *et al.* 2000), 해양에는 OTC를 분해하는 미생물도 존재하여 여러 분해물이 만들어진다고 알려져 있다(Harino *et al.* 1997; Kawai *et al.* 1998; Pain and Cooney 1998). OTC의 미소생물에 대한 독성은 주석 원자와 결합한 유기군(organic group)의 사슬길이가 늘어날수록 커지지만 tetraorganotin 화합물과 무기주석은 거의 독성이 없다고 알려져 있다(White *et al.* 1999). 이처럼 OTC의 종류에 따라 생물에 대한 독성이 다르다고 하지만 그 독성에 관해서는 잘 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 유용 해산동물의 유생단계에서 좋은 먹이생물로 쓰이는 동물플랑크톤인 rotifer를 대상으로 TBT와 TPT의 분해산물 및 환경시료에서 극미량으로 검출되는 trimethyltin과 dimethyltin의 독성을 조사·비교하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 노출시약

본 실험에서는 부틸주석의 MBT(monobutyltin trichloride; 95%, Aldrich), DBT(dibutyltin dichloride; 96%, Aldrich), 페닐주석의 MPT(monophenyltin trichloride; 98%, Aldrich), DPT(diphenyltin dichloride; 96%, Aldrich), 메틸주석의 DMT(dimethyltin dichloride; 96%, Aldrich), TMT(trimethyltin chloride; Aldrich)를 사용하

였다.

### 2. Rotifer 배양과 시약 노출

실험에 사용한 유기주석화합물은 에탄올(Merck, Germany)에 녹였고, 배지 중에 첨가하는 에탄올의 농도는 0.1%를 넘지 않도록 하였는데 이 농도로는 rotifer에게 독성을 보이지 않았다. 그리고 rotifer의 사육 및 노출 등은 전보(Jeon *et al.* 2003)와 동일하게 실시하였다. 즉, rotifer는 강릉대학교의 먹이생물연구실로부터 기수산의 내구란(L-type)을 입수하였으며, Diurnal Growth Chamber (MLR-350HT, Sanyo Co. Japan)에서 28°C, 4,000 lux로 광주기(24 L)를 유지하면서 부화시켜 실험에 사용하였다. 5일간의 배양 중에는 별도로 공기를 공급하지 않았다. 내구란의 부화와 사육을 위한 배지로는 여과 해수와 증류수를 2:1의 비율로 섞은 염수(25‰)를 사용하였으며, rotifer의 노출실험은 Costar® 6 well cell culture cluster (Corning, U.S.A.)에서 실시하였고, 각 well에 5 ml의 배지를 넣은 다음 갖 부화한 rotifer를 20개체씩 분주하고 에탄올에 녹인 노출시약을 첨가하여 일정한 농도로 맞추어 실시하였다. 그리고 노출기간 중에 배지는 교환하지 않았다. 각 화합물의 노출농도는 MBT와 DMT는 500과 1,000 ppb로 하였으며, DBT와 TMT는 10, 25, 50, 100 및 200 ppb로 하였고, MPT는 100, 150, 200 및 300 ppb, DPT는 10, 20 및 100 ppb에서 실시하였다. 그리고 비교를 위해서는 25‰의 염수만으로 사육한 대조구(control) 및 이것에 에탄올(0.1%)을 첨가한 sham구를 함께 설정하여 노출실험을 실시하였다. 그리고 노출 후 24시간 간격으로 해부현미경(Olympus, Japan)으로 rotifer의 생존을 검정하여 생존개체를 계수하였으며, 모든 실험구는 10 반복으로 실시하였다.

### 3. 통계처리

각 노출구간의 유의차 검정은 SPSS program의 Duncan's 다중검정으로 95% 수준으로 유의차 검정을 실행하였으며, 반수치사농도(median lethal concentration, LC<sub>50</sub>)는 Finney's probit analysis(1971) 방법으로 산출하였다.

## 결과 및 고찰

MBT에 노출시킨 rotifer의 생존율 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 대조구와 sham구의 생존율은 노출 24시간 이후부터 감소하면서 노출 120시간 후에는 86%가 되었

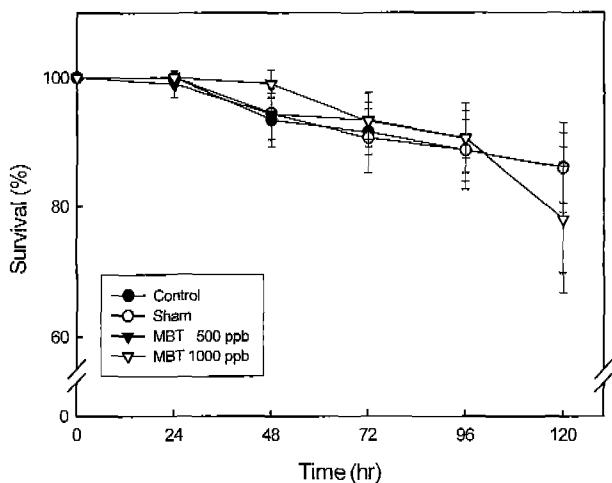


Fig. 1. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various monobutyltin (MBT) concentration in 25% at 28°C.

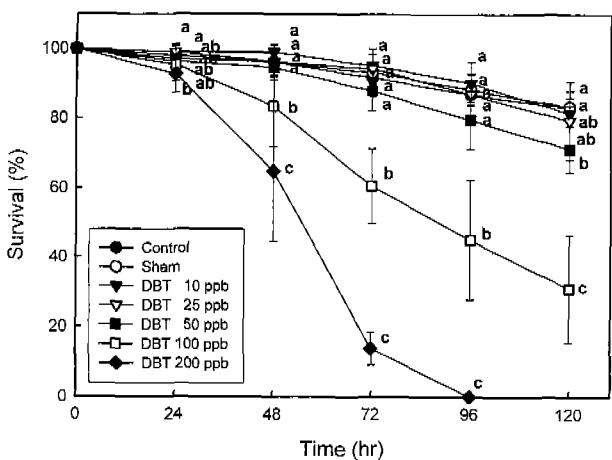


Fig. 2. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various dibutyltin (DBT) concentration in 25% at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

고, 500 ppb와 1,000 ppb 노출구도 120시간의 노출로 78%로 낮아졌으나 대조구와 유의적인 차이는 없었으므로, 1000 ppb의 노출로도 rotifer의 생존에는 별다른 영향을 미치지 않음을 관찰할 수가 있었다. 그리고 DBT에 노출시킨 경우(Fig. 2), 대조구나 sham구는 120시간에 생존율이 83%였고, 10 ppb와 25 ppb의 노출구도 비슷한 수준이었으며, 50 ppb 노출구는 71%로 다소 낮았다. 하지만 100 ppb 노출구는 노출 48시간 후부터 낮은 농도의 노출구와 생존율에 차이를 보이기 시작하였고 이후 감소경향은 더욱 커서 96시간 및 120시간 후에는 생존율이 각각 45%와 31%로 낮아졌으며, 200 ppb 노출구는

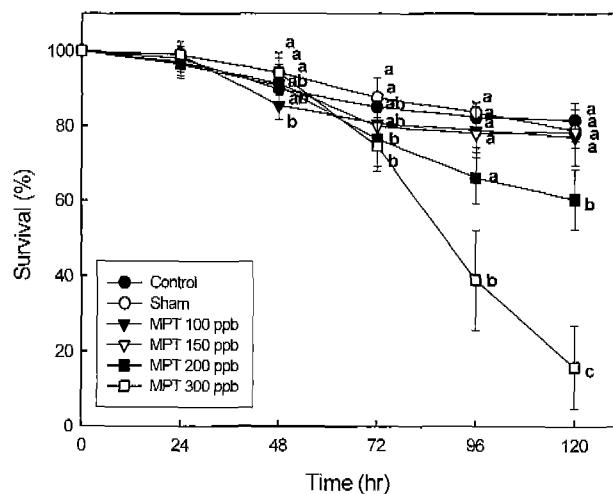


Fig. 3. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various monophenyltin (MPT) concentration in 25% at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

이보다 감소경향이 더욱 분명하여 72시간 후에는 14%로 급감하였다가 96시간 후에는 모두 폐사하였다. 이들 생존율의 자료를 근거로 DBT의 96시간-LC<sub>50</sub> (96 hr-LC<sub>50</sub>)을 구하면 80.6 ppb였다. 이 결과를 이전의 TBT의 rotifer에 대한 독성 결과(2.0 ppb) (전 등 2003)와 함께 고려하여 판단하면 3가지 부틸주석 화합물의 96 hr-LC<sub>50</sub>은 TBT(2.0 ppb)>DBT(80.6)>MBT(>1,000)의 순이다. 즉, 주석 원자에 부틸기(butyl group)가 1개보다는 2개인 화합물의 독성이 더욱 강하고, 또한 2개보다는 3개인 것의 독성이 더욱 강하다는 것을 보여주어 부틸기가 3개 이내에서는 결합수가 많아질수록 독성이 강해진다는 것을 보여준다. 이와 같이 주석 원자와 결합된 유기그룹(organic group)의 사슬길이와 수가 늘어날수록 독성이 커지는 것은 미생물을 대상으로 한 실험이나 성게 유생의 치사율 실험과도 결과가 일치한다(White et al. 1999; Shim 2000).

페닐주석화합물인 MPT와 DPT에 노출시킨 rotifer의 생존율 변화는 각각 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. MPT에 노출시킨 경우(Fig. 3), 대조구나 sham구 그리고 100 ppb, 150 ppb 노출구는 노출 120시간 후까지 생존율이 77~82%로 줄었으나 노출구간에는 차이가 없었으며, 200 ppb 노출구는 96시간과 120시간 후에 각각 66% 및 60%로 감소하였고, 300 ppb 노출구는 각각 39% 및 16%로 급감하였다. 따라서 각 농도별 경시적인 생존율을 근거로 구한 96 hr-LC<sub>50</sub>은 262.2 ppb였다. 그리고 DPT에 노출시킨 경우(Fig. 4)에는 낮은 농도에서도 생존율이 민감하게 변했으며, 10 ppb 노출구는 96시간 후부터 대조

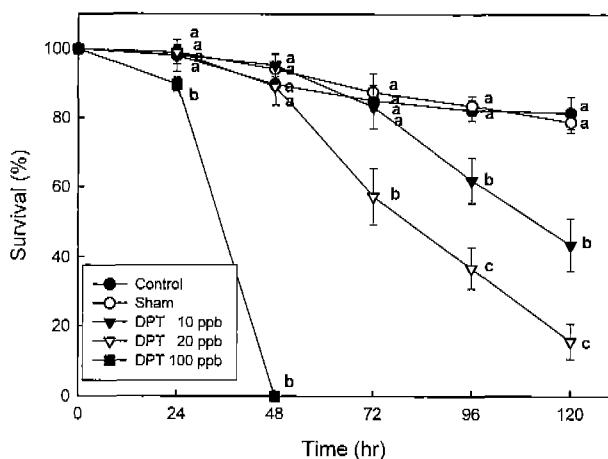


Fig. 4. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various diphenyltin (DPT) concentration in 25% at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

구와 유의적인 차이를 보였고 120시간 후에는 44%로 낮아졌다. 100 ppb 노출구에서는 생존율이 24시간 후에 이미 대조구 등과 유의적인 차이를 보였고 48시간 후에는 모두 폐사하였다. 따라서 이런 생존율을 근거로 구한 96 hr-LC<sub>50</sub>은 13.8 ppb였다. TPT의 96 hr-LC<sub>50</sub>이 1.1 ppb 수준(전 등 2003)임을 감안한다면 페닐주석화합물의 rotifer 독성은 TPT (1.1 ppb) > DPT (13.8) > MPT (262.2)이었다. 이 결과는 앞의 부틸주석화합물의 경우와 마찬가지로 주석 원자에 결합된 페닐기의 수가 1개에서 3개까지 증가할수록 독성도 뚜렷이 증가하였다. 한편, 앞서의 연구(전 등 2003)에서 rotifer에 대한 trialkyltin 화합물의 독성은 TPTs가 TBTs보다 강하였다고 보고되었는데, 이와 같은 경향은 dialkyltin 및 monoalkyltin 화합물에서도 마찬가지였다. 즉, dialkyltin에서는 DPT가 DBT보다 독성이 강했고, 또한 monoalkyltin에서도 MPT가 MBT보다 독성이 강했다. OTC가 탈부칠(debutylation)되면 독성이 더 낮아지지만 탈페닐(dephenylation)에서는 반드시 그렇지 않다는 것이 세균을 대상으로 한 연구에서도 확인되었다(Pain and Cooney 1998).

그리고 메틸주석화합물인 DMT와 TMT에 노출시킨 rotifer의 생존율 변화는 각각 Fig. 5 및 Fig. 6과 같다. DMT에 노출시킨 경우(Fig. 5)를 보면 대조구를 비롯하여 sham구, 500 ppb 노출구는 노출 120시간 후까지 생존율은 83~87%로 줄었으나 노출구간에는 차이가 나지 않았고, 1,000 ppb 노출구는 75%로 감소하는데 지나지 않았다. 그렇지만 TMT에 노출시킨 경우(Fig. 6)에는 노출농도에 따라 생존율은 점차 낮아져서, 10 ppb와 25 ppb

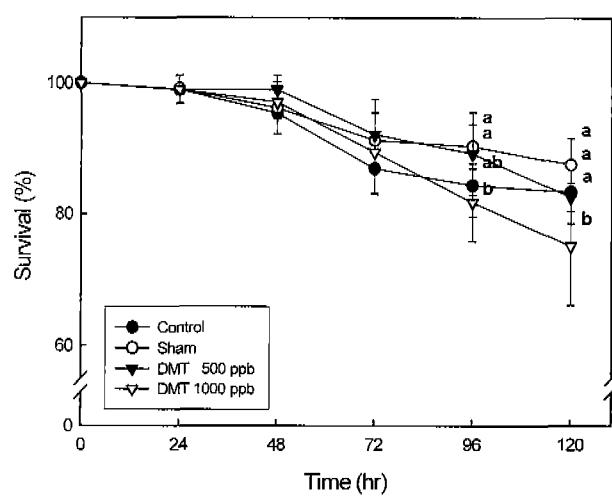


Fig. 5. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various dimethyltin (DMT) concentration in 25% at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

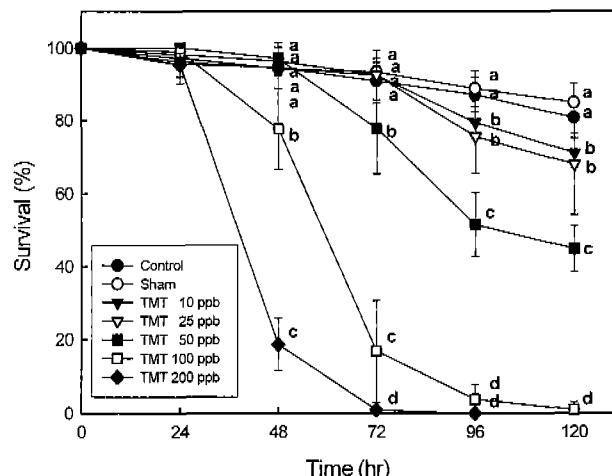


Fig. 6. Survival of rotifer, *Brachionus plicatilis*, exposed to various trimethyltin (TMT) concentration in 25% at 28°C. A same superscript in each column are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

노출구는 120시간 후에 각각 71%와 68%였고, 50 ppb 노출구는 45%였지만 100 ppb와 200 ppb에서는 노출 48시간 후부터 유의적으로 낮아졌으며, 특히 200 ppb 노출구는 72시간 후에 모두 폐사하였다. 각 화합물의 농도별 생존율의 결과를 근거로 구한 96 hr-LC<sub>50</sub>은 >1,000 ppb (DMT), 42.9 ppb (TMT)였다. 따라서 앞서 언급한 부틸주석과 페닐주석화합물의 경우와 마찬가지로 메틸주석화합물의 독성도 메틸기의 결합수가 많아짐에 따라 독성이 강하다는 것을 확인할 수 있었다.

이상으로, 메틸주석화합물(DMT, TMT), 부틸주석화합물(MBT, DBT) 및 폐널주석화합물(MPT, DPT)이 동물성 플랑크톤인 rotifer에 미치는 영향을 조사하였는데 96 hr-LC<sub>50</sub>을 기준으로 독성을 비교한다면 DPT(13.8 ppb)가 가장 강했고 이어서 TMT(42.9), DBT(80.6), MPT(262.2), MBT와 DMT(>1,000)의 순이었다. 따라서 전동(2003)이 밝힌 TBT와 TPT의 rotifer 독성을 함께 고려하면, trialkyltin에서는 TPT>TBT>TMT 순으로 작아지며, dialkyltin에서도 DPT>DBT>DMT 순으로 작아졌고, monoalkyltin에서도 폐널주석화합물이 부틸주석화합물에 비해 독성이 강하다는 것을 확인할 수가 있었다. 이처럼 유기주석화합물의 독성이 서로 다른 것은 화합물의 소수성(lipophilicity)뿐 아니라 주석 원자의 분극성(polarizability)과도 관련이 있다고 한다(Sun *et al.* 1997). 이들의 옥坦올-물 분배계수(octanol-water coefficient, Kow)의 log값은 MBT 0.35, DBT 1.49, MPT 1.15, DPT 1.9, DMT -3.1, TMT -2.3이라 알려져 있으며(Wong *et al.* 1982), DPT의 계수가 가장 크고 이어서 DBT, MPT, MBT, TMT, DMT였고, TMT를 제외하고는 앞의 96 hr-LC<sub>50</sub>을 기준으로 한 독성과 잘 일치하였다( $r^2 = 0.95$ ). 이것은 소수성이 클수록 세포 지질막과의 친화성이 상대적으로 크기 때문에 상대적으로 막을 쉽게 통과할 수 있어 세포에 미치는 영향도 빠르게 일어나는 것이라 여겨진다. 미소생물에 미치는 OTC의 영향은 주변환경에 따라 달라지며, 수계에서는 특히 pH와 염분도(salinity)가 중요한 요인이라고 알려져 있지만(White *et al.* 1999), 본 연구에서는 pH와 염분도가 똑같은 염수를 사용하였기 때문에 이들 요인에 의한 오차는 무시할 수가 있을 것이다.

OTC는 해양생태계의 고등동물뿐 아니라 세균이나 플랑크톤에도 독성을 보인다(Pain and Cooney 1998; White *et al.* 1999). 특히 플랑크톤은 생태계 내의 먹이사슬에서 기초생산을 담당하고 어류 등의 초기생활단계에서 중요한 먹이생물로 이용되고 있지만 이들에게 미치는 OTC의 독성에 관해서는 잘 알려져 있지 않다. Kusk and Petersen(1997)에 따르면, 해산 요각류 *Acartia tonsa*의 유생은 TBT 1 ng l<sup>-1</sup>의 매우 낮은 농도에서 발달이 저해되고 15~20 ng l<sup>-1</sup>에서는 생존이 영향을 받는다고 하였으며, Meador(1986)는 *Daphnia magna*가 LC<sub>50</sub>(3.5~6 ppb) 농도에 훨씬 못미치는 0.5 ppb에서도 광주성(phototaxis)이 역전되는 비정상적인 생리상태를 보인다고 하였고, Han and Cooney(1995)는 *Psudomonas* sp.와 *Serratia* sp.도 LC<sub>50</sub> 농도의 1/10,000 정도의 낮은 농도에서도 화학주성(chemotaxis)이 이상을 일으킨다고 하였는데, 이런 보고들은 플랑크톤과 같은 하등생물이

OTC에 의해 매우 민감하게 영향을 받는다는 것을 보여준다. 해수 중에 존재하는 OTC는 해양세균 등에 의해 분해되며 해양에서의 dialkyltin 및 monoalkyltin의 농도는 trialkyltin에 비해 낮고, rotifer에 미치는 독성도 또한 약하지만 분해물에 의한 영향을 완전히 무시할 수는 없을 것이다. 따라서 앞으로는 각종 오염물질이 해양생태계에 미치는 영향을 조사하기 위해서는 경제적인 가치가 있는 대형생물종 뿐 아니라 기초생산을 담당하는 먹이사슬의 하부에 위치하는 플랑크톤류에 대한 영향도 함께 연구되어야 할 것으로 사료된다.

## 적  요

유기주석화합물은 농업과 산업분야에서 많이 쓰이고 있으며, 이들은 수계환경으로 유입되어 물이나 저질 중의 세균들에 의해 분해되어 최종적으로는 무기주석으로 된다. Trialkyltin 화합물이 해양생물에 미치는 영향에 관해서는 많은 연구가 있지만, 해양생태계에서 기초적인 생산을 담당하는 플랑크톤류에 미치는 영향에 관해서는 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 TBT와 TPT의 분해물인 DBT, MBT, DPT, MPT를 비롯하여 trimethyltin(TMT)과 그 분해물인 dimethyltin(DMT)이 기수산rotifer의 생존에 미치는 독성(96 hr-LC<sub>50</sub>)을 조사·비교하였다.

그 결과, DPT(13.8 ppb)가 가장 강했으며 TMT(42.9), DBT(80.6), MPT(262.2), MBT와 DMT(>1,000)의 순으로 나타났다. 즉, trialkyltin과 dialkyltin에서는 폐널주석, 부칠주석, 메칠주석의 순으로 독성이 약해지며, monoalkyltin에서도 폐널주석화합물이 메칠주석화합물에 비해 독성이 강하다는 것을 확인할 수가 있었다. 이렇듯 독성이 서로 다른 것은 유기주석화합물의 소수성(lipophilicity)과도 높은 상관이 있었다.

## 사  사

이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2001-001-H00065)에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참  고  문

전중균, 이미희, 이지선, 이경선, 심원준, 신영범, 이수형. 2003.

- Rotifer (*Brachionus plicatilis*)의 생존율에 미치는 tributyltin (TBT)과 triphenyltin (TPT)의 독성. 환경생물학회지. 21:158-163.
- Boyer JJ. 1989. Toxicity of dibutyltin, tributyltin and other organotin compounds to humans and to experimental animals. *Toxicol.* 55:253-298.
- Fent K and TD Bucheli. 1994. Inhibition of hepatic microsomal monooxygenase system by organotins in vitro in freshwater fish. *Aquat. Toxicol.* 28:107-126.
- Fent K and W Meier. 1994. Effects of triphenyltin on fish early life stages. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 224-231.
- Finney DJ. 1971. Probit Analysis. 3rd ed. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Gibson GG and P Skett. 1994. Introduction to Drug Metabolism. 2nd edition, Blackie Academic & Professional, London.
- Han G and JJ Cooney. 1995. Effects of butyltins and inorganic tin on chemotaxis of aquatic bacteria. *J. Ind. Microbiol.* 14:293-299.
- Harino H, M Fukushima, Y Kurokawa and S Kawai. 1997. Susceptibility of bacterial populations to organotin compounds and microbial degradation of organotin compounds in environmental water. *Environ. Pollut.* 98:157-162.
- Kawai S, Y Kurokawa, H Harino and M Fukushima. 1998. Degradation of tributyltin by a bacterial strain isolated from polluted river water. *Environ. Pollut.* 102:259-263.
- Kusk KO and S Petersen. 1997. Acute and chronic toxicity of tributyltin and linear alkylbenzene sulfonate to the marine copepod *Acartia tonsa*. *Environ. Toxicol. Chem.* 16:1629-1633.
- Meador JP. 1986. An analysis of photobehavior of *Daphnia magna* exposed to tributyltin. *Oceans '86 Conference Record: Science Engineering Adventure. Vol. 4. Organotin Symposium*, 1213-1218.
- Pain A and JJ Cooney. 1998. Characterization of organotin-resistant bacteria from Boston Harbor sediments. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35:412-416.
- Shim WJ. 2000. A study on the environmental chemistry and toxicology of organotins in the marine environment of Korea. A Ph.D Thesis, Seoul National University, pp.263.
- Shim WJ, SH Kahng, SH Hong, NS Kim, SK Kim and JH Shim. 2000. Imposex in the rock shell, *Thais clavigera*, as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea. *Mar. Environ. Res.* 49:435-451.
- Sun HW, GL Huang, SG Dai and TY Chen. 1997. A diparametric QSAR pattern for organotin compounds on rotifer *Brachionus plicatilis*. *Toxicol. Environ. Chem.* 60:75-85.
- White JS, JM Tobin and JJ Cooney. 1999. Organotin compounds and their interactions with microorganisms. *Can. J. Microbiol.* 45:541-554.
- WHO. 1980. Tin and organotin compounds: a preliminary review. In: *Environmental Health Criteria* 15. World Health Organization ed. Geneva, pp. 69-92.
- Wong PTS, YK Chau, O Kramer and GA Bengert. 1982. Structure-toxicity relationship of tin compounds on algae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39:483-488.

Manuscript Received: February 11, 2003

Revision Accepted: April 22, 2003

Responsible Editorial Member: Don Chan Choi  
(Yong-In Univ.)