

## 내분비계 장애추정농약에 대한 에스트로겐성 영향검색 및 위해성 평가

이제봉\* · 신진섭 · 이희동 · 정미혜 · 유아선 · 강규영<sup>1</sup>

농업과학기술원, <sup>1</sup>경상대학교 환경생명식품공학부

**요약** : 현재 국내 사용중이며 내분비계 장애추정농약으로 분류된 benomyl, carbaryl, endosulfan 등 17종 농약에 대한 estrogen성 영향을 검색하기 위하여 인체난소암세포(BG1Luc4E2)를 이용한 luciferase assay를 수행하였으며, luciferase assay에서 Eeq를 산출한 후 내분비계 장애추정 농약의 에스트로겐성 영향에 대한 식이섭취 위험도 평가를 실시하였다. Estrogen 수용체 결합시험에서 cypermethrin, dicofol, endosulfan, esfenvalerate 및 fenvalerate가  $10^{-5}$  M에서 최고 영향이 관찰되었고, mancozeb 등 8종 농약은 약한 영향이 관찰되었으며, benomyl 등 나머지 4종 농약은 영향이 없었다. 이들 중 활성이 비교적 강한 dicofol 및 endosulfan의 1 nmol 17  $\beta$ -estradiol에 대한 RLP 와 RLU는 dicofol의 경우  $10^{-5}$  및 56%이었고, endosulfan은  $10^{-5}$  및 72%이었다. MRL을 이용한 식이섭취 위험도 평가 결과 농약들의 추정 1일 최대농약섭취량은 cypermethrin 0.667, dicofol 0.1462, endosulfan 0.2066 및 fenvalerate/esfenvalerate 0.2098 mg/person으로 총 추정 1일 최대 농약섭취량이 1.2298 mg/person이었고, 남성 혈중 에스트로겐 증가 농도는 3.075 ng/L로 정상농도에 비해 15%정도 증가하였으나, 국내 모니터링 성적을 기준으로 평가한 결과 남성혈중 에스트로겐 증가 농도는 0.01938 ng/L로 정상농도에 비해 0.09693%정도 증가하였다.(2004년 5월 21일 접수, 2004년 6월 25일 수리)

**Key word** : Suspected endocrine disrupting pesticides, luciferase activity, risk assessment.

### 서 언

가소제, 플라스틱용 화학물질, 산업물질, 농약류 및 중금속 등의 일부 물질들은 생체내의 호르몬 농도에 영향을 주어 내분비계의 정상적인 기능을 방해하는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 물질들이 생체내에 유입되면 마치 호르몬처럼 작용하여 생식기능저하, 기형유발, 성장 장애 등 각종 부작용을 초래하여 생물계에 위협이 될 수 있다는 인식이 제기되는 등 새로운 환경문제로 대두 되고 있다(국립환경연구원, 1999). 1996년 WWF(World Wildlife Funds)에서 내분비계 장애추정 물질로 DDT 등 67종을 분류한 이후, 선진국 및 국제기구에서는 이들 물질에 대한 관리방안을 모색하기 위하여 다각도의 연구가 진행 중에 있다(US/EPA, 1997; Boenke 등, 2002; 국립환경연구원, 1999). US/EPA에서는 1996년 EDSTAC (Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee)를 구성하여 내분비계 장애추정물질에 대한 시험법 등을

권고하였으며, 2002년 12월 US/EPA의 EDSP(Endocrine Disruptor Screening Program)에서는 Tier I Screening을 수행할 목적으로 농약 주성분 50~100종을 선별하기 위한 계획을 공표하였다(Federal Register Notice/US EPA, 2002). 국내에서도 농약 등 화학물질 중 내분비계 장애추정물질로 분류한 이들 화학물질에 대한 효율적인 관리를 위해 인체건강 및 환경생물에 미치는 영향에 대한 연구가 활발히 수행되고 있다.

내분비계 장애추정물질은 그 작용 기작이 복잡하므로 다양한 검색시험법이 개발되고 있으며, 이들 물질은 생물체의 성관련 호르몬 수용체와 결합하여 생체 호르몬과 유사한 영향을 보인다는 것이 지금까지 밝혀진 대표적인 작용 기작이다. 그러나 이들 물질은 이외에도 생체호르몬의 기능저해, 유사호르몬적 작용(Gillesby와 Zacharewski, 1998), 에스트로겐 반응 요소(estrogen response element)와 다른 수용체와의 결합에 의한 영향, 신호전달체계, 성호르몬의 합성 및 분해의 교란(Machala와 Vondracek, 1998) 등 다양한 기작이 알려져 있다. 에스트로겐성물질에 대한 위해성은 에스트로겐 수용체와의 결합정도 및 유전자 활성화 능

\*연락처

Table 1. Characteristics of test cells for luciferase bioassay

| Cell      | Medium | Origin of cell          | Mark gene  | Test item |
|-----------|--------|-------------------------|------------|-----------|
| BG1Luc4E2 | ESM    | Human ovarian carcinoma | Luciferase | ER        |

력에 의해 평가된다. 이 경우의 작용기작은 핵내의 heat shock protein과 복합체를 형성하여 에스트로겐 수용체 부위에 결합되면 에스트로겐 유전자가 활성화됨으로서 영향을 유발하는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 국내 사용중이며, 내분비계 장애추정농약으로 분류된 benomyl, carbaryl, endosulfan 등 17종 농약에 대한 에스트로겐성 영향을 평가하기 위해 인체난소암세포(BG1Luc4E2)를 이용한 luciferase assay (Rogers와 Denison, 2000)를 수행하였고, 내분비계 장애추정농약의 에스트로겐성 영향에 대한 식이섭취 위험도평가(Shaw와 McCully, 2002)를 추정최대일일섭취량(EMDI, estimated maximum daily intake)을 산출하여 평가한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

시험농약으로는 WWF(1996년)가 분류한 내분비계 장애추정물질 중 국내사용 17종 농약(alachlor, benomyl, carbaryl, cypermethrin, 2,4-D, dicofol, endosulfan, esfenvalerate, fenvalerate, malathion, mancozeb, methomyl, metribuzin, metiram, parathion, trifluralin 및 vinclozolin)원제 및 제품을 (주)경농 등 국내 농약제조회사로부터 입수하여 사용하였으며, 17  $\beta$ -estradiol 및 일반시약은 Sigma chemical Co.(USA)로부터 구입하였으며, 에스트로겐 수용체 결합유전자 함유 BG1Luc4E2(인체난소암 세포)세포는 캘리포니아 대학 환경독성과학에 재직중인 Denison 박사로부터 분양받아 사용하였다(표 1).

배양배지인  $\alpha$ -Minimum Essential Medium( $\alpha$ -MEM), fetal bovine serum(FBS) 등 배양배지는 Gibco BRL(UK)로부터 구입하여 사용하였다.

### Luciferase 활성조사

에스트로겐성 활성조사를 위해 BG1Luc4E2 세포를  $\alpha$ -MEM배지에서 3~5일간 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 및 상대습도 85% 조건하에서 배양하였다. Luciferase 활성 검색은 배양된 세포를 24 well 검색용 배양 플레이트에 well

당  $1 \times 10^4$ 세포를 5% dextran-coated charcoal로 처리된 FBS (Hyclone, USA)와 페놀레드가 없는 estrogen-stripped media(ESM, Sigma)에 접종한 후 7일 동안 매일 배지를 교환하면서 90% confluence가 되었을 때 시험물질을 24시간 동안 처리하여 시험하였다. 시험물질 처리시 용매의 농도는 배지의 0.1%를 초과하지 않도록 하였으며, 시험물질이 처리된 세포는 배지를 제거하고 phosphate buffer saline (PBS)으로 씻은 후 100  $\mu$ L의 lysis buffer (Promega, USA)로 세포를 용해한 다음 세포를 수거하고 원심분리하였다. 용해액 50  $\mu$ L에 50  $\mu$ L의 luciferase reagent (Promega, USA)를 첨가하여 Luminometer (MicroLumat plus LB 96V, Berthold, Germany)를 이용하여 delay time 10 초, integration time 5초의 시험조건에서 측정하였다.

### Protein 정량

세포 용해액 중 단백질함량은 단백질 표준물질로 bovine serum albumin(BSA)를 사용하여 Bradford법으로 측정하였다. 20  $\mu$ L 시험물질과 50  $\mu$ L Biorad assay Kit를 첨가하고 증류수로량을 조절하여 Multiskan Spectrum(Thermo LabSystems, Finland)을 이용하여 490 nm에서 측정하였다.

### Relative luciferase potency(RLP) 및 relative luciferase effect(RLE)치 산출

Soto와 Carlos(1985)가 E-screen에 의한 결과를 평가할 때 사용한 방법으로 합성 에스트로겐인 17  $\beta$ -estradiol의 최고활성을 보일 때를 기준으로 하여 시험물질의 농도와 비교할 때는 relative proliferation potency(RPP)로, 그리고 최고 활성의 세기를 비교할 때는 relative proliferation effect(RPE)로 비교하여 평가하였다. 그러나 본 연구에서는 세포의 분열을 비교한 것이 아니고 luciferase의 활성을 비교하였으므로 RLP 및 RLE로 표현하여 평가하였다.

### 식이섭취 위해성 평가

식품을 통한 내분비계 장애추정농약에 대한 위해성을 다음 식과 같은 방법으로 평가하였다(Shaw와 Mc-

Cully, 2002). 농약의 추정최대일일농약섭취량(EMDI, estimated maximum daily intake)을 국민 평균 식품섭취량과 MRL을 이용하여 산출하고, 독성시험으로부터 얻은 최대 활성농도와 17 β-estradiol의 최고활성농도의 차이로부터 E.eq(estrogen equivalent index)를 산출하여 남자 혈액 중 에스트로젠 농도와 비교하여 위해성을 평가하였다. 평가식과 관련인자는 다음과 같다.

$$\text{혈중 내분비계 장애물질농도} = \text{EMDI} \times \frac{\text{E.eq}}{\text{blood volume(L)}}$$

- EMDI : Estimated maximum daily intake of EDs
- E.eq : Estrogen equivalent index to 17β-estradiol
- Average human blood volume : 4 L
- Average human male plasma concentration of 17β-estradiol : 20 ng/L.

### 결과 및 고찰

#### 내분비계 장애추정농약에 대한 에스트로젠성 영향

내분비계 장애추정농약 중 국내사용 17종 농약에 대하여 10 uM의 농도로 에스트로젠 수용체 결합 생물검정법으로 에스트로젠성 영향을 시험한 결과 그림 1에서 보는 바와 같이 양성대조물질인 17β-estradiol은 음성대조 물질인 DMSO의 RLU(relative luciferase unit)/mg protein에 비해 약 57배 증가된 활성을 보였으며, dicofol 25.1, endosulfan 11.1, esfenvalerate 5.4, fenvalerate 5.1, 및 cypermethrin 4.7배 정도로 음성대조에 비해 증가된 활성을 보여 에스트로젠 수용체 유전자 발현을 유도하였다. 또한 alachlor, mancozeb, methomyl, methiram, metribuzin, parathion, triflurain 및 vinclozolin은 2.0배 정도 유전자 발현을 증가시켰고, 그 밖의 농약들에서는 영향이 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 Giesy 등(2002)이 에스트로젠 및 아릴하이드로카본 수용체를 이용한 환경오염물질의 생물검정연구결과에서 얻은 DDT, endosulfan, methyl parathion, methomyl 등의 연구결과와 유사하였으며, Legler 등(1998)의 endosulfan, dieldrin 및 lindane에 대한 인체 유방암세포(T47-D)를 이용한 luciferase reporter gene assay에 의한 에스트로젠성 영향을 조사한 결과 endosulfan이 에스트로젠성 영향이 있다는 연구결과와도 동일한 경향이었다. 또한 Petit 등(1997)이 보고한 parathion에 대한 유전자 전환 효모를 이용한

에스트로젠성 영향검색의 결과와도 유사하였으며, Klotz 등(1996)의 carbamate계 농약에 대한 연구결과 및 Go 등(1999)의 pyrethroid계 농약에 대한 연구결과 등과 같은 경향이었다. 상당수의 농약이 에스트로젠 수용체와 결합하여 유전자의 활성을 어느 정도 증가시켰지만, 이러한 사실만으로 농약 그 자체가 에스트로젠성이 있다는 것을 의미하지는 않는다.(그림 1)

#### Relative luciferase potency(RLP) 및 relative luciferase effect(RLE)에 의한 농약의 위해성 평가

비교적 활성이 높은 dicofol과 endosulfan에 대한 RLP 및 RLE에 의한 에스트로젠성 영향을 평가하기 위하여 합성 에스트로젠인 17β-estradiol과 농약에 대한 영향을 BG1Luc4E2 세포를 이용하여 luciferase 활성을 검색한 결과 그림 2-(A) 및 2-(B)에서 보는 바와 같이 17 β-estradiol은 10<sup>-13</sup>M까지는 영향이 없었으나 10<sup>-12</sup>M부터 영향이 나타나기 시작하여 농도 의존적으로 10<sup>-11-9</sup>M에서 최고의 활성을 보이다가 10<sup>-8</sup>M 이상의 농도에서는 세포독성 등에 의한 영향으로 오히려 활성이 감소하는 경향을 보였다. 따라서 17 β-estradiol의 최대 활성농도인 10<sup>-10</sup>M을 RLP로, 2,500 RLU/mg protein을 RLE로 설정하였다. 반면 dicofol 및 endosulfan의 RLP는 모두 10<sup>-5</sup>M이었고, RLE는 최고활성이 1,400 및 1,800 RLU/mg protein으로 각각 56 및 72%였다. 이와 같은 결과는 인체내에 존재하는 에스트로젠 활성에 대한 E.eq가 10<sup>-5</sup>배에 해당하므로 농약 자체로서의 에스트로젠성 영향은 미약할 것으로 판단되었다. Oh(2000) 등은 E-screen 생물검정법으로 한국 주요 강물 및 강 퇴적물에 대한 에스트로젠성 영향에 대한 정량적 평가를 수행한 결과 에스트로젠에 대한 E.eq가 10<sup>-3-2</sup>으로 우려수준은 아니라고 평가하였는데, 지금까지 내분비계 장애물질에 대한 평가는 국제기구나 선진국에서 공인된 평가법이 개발되어있지 않아 연구자별로 개발한 평가방법으로 평가하고 있다.

#### 시험농약의 에스트로젠성 영향에 대한 식이섭취위험도 평가

국내사용 내분비계 장애추정농약에 대한 에스트로젠성 영향을 검색한 결과 cypermethrin, dicofol, endosulfan, esfenvalerate 및 fenvalerate가 각각 10<sup>-5</sup> M에서 최고의 활성을 보였으며 10<sup>-6</sup> M을 무영향농도로 설정하였다. RLP로부터 E.eq를 각각 10<sup>-5</sup>으로 산출하

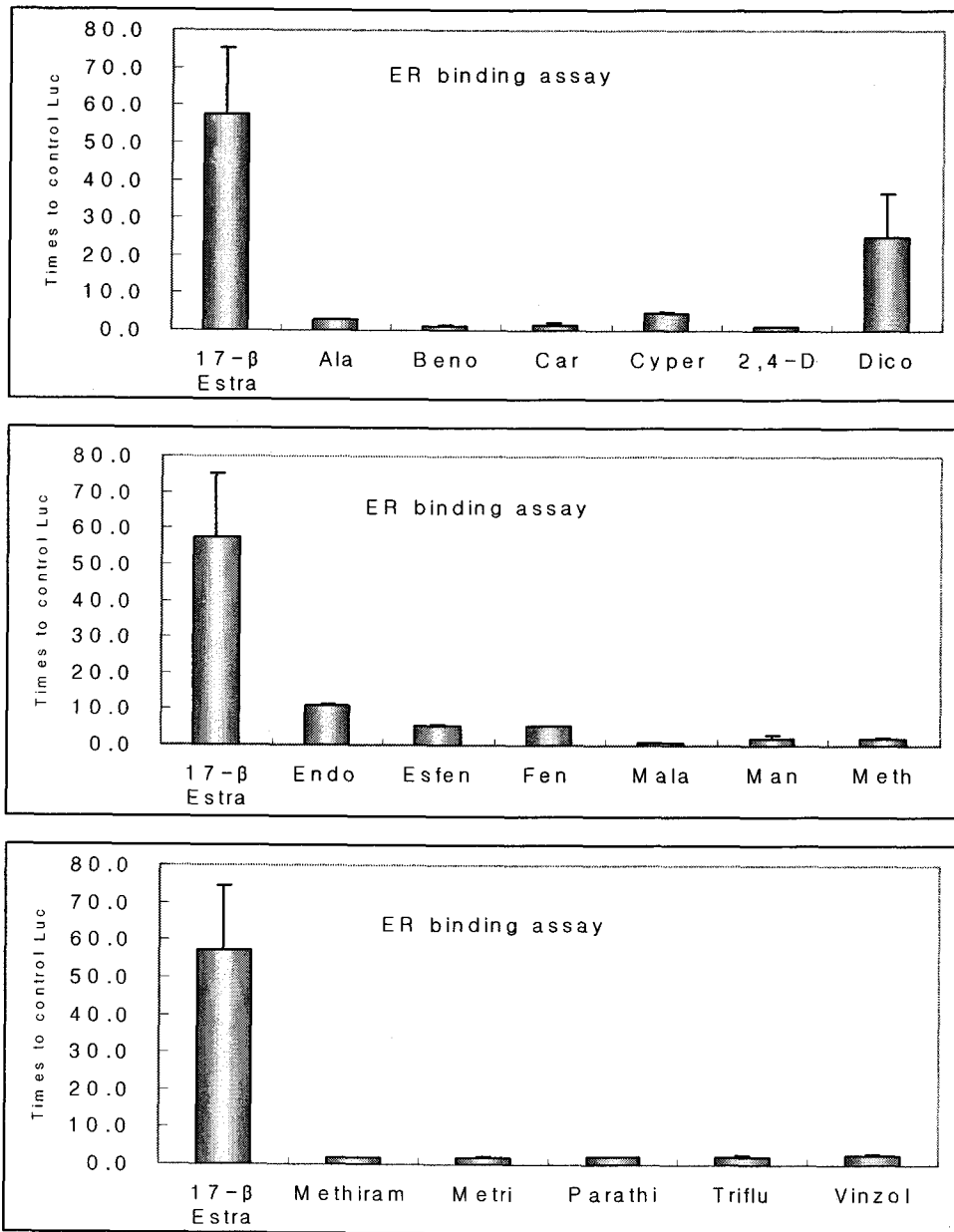


Fig. 1. Induction of luciferase activity by 10  $\mu$ mol pesticides or 1 nmol 17 $\beta$ -estradiol in BGM-ERE cell. Cells were plated in 24-well plates and grown for 7 days in ESM. At approximately 90% confluence the cells were incubated with test materials for 24 hours and luciferase activity in cell lysates was measured by luminometer.

였다. Dicofol과 endosulfan 등 5종 농약의 국내 등록농산물에 대해 설정된 농약잔류허용기준과 1일 식품섭취량으로부터 추정최대일일농약섭취량을 산출하였는데, 그 결과는 표 2에서 보는 바와 같이 cypermethrin은 감자, 고추, 사과 배추 등 8작물에 등록되어 있으며 MRL이 0.05~5.0 mg/kg으로 추정최대일일 농약섭취량은 0.667 mg/person이었으며, dicofol은 사과,

배 및 감귤에 MRL이 2.0 mg/kg로 추정최대일일농약섭취량을 산출한 결과 0.1462 mg/person이었다. Endosulfan은 배추에만 등록되어있으며 MRL이 2.0 mg/kg으로 추정최대일일농약섭취량은 0.2066 mg/person 이었다. Fenvalerate/ esfenvalerate의 국내 등록 작물은 고추, 배추 등 5종이며, MRL이 0.2~2.0 mg/kg으로 설정되어 있어 추정최대일일농약섭취량은 0.2098 mg/person이

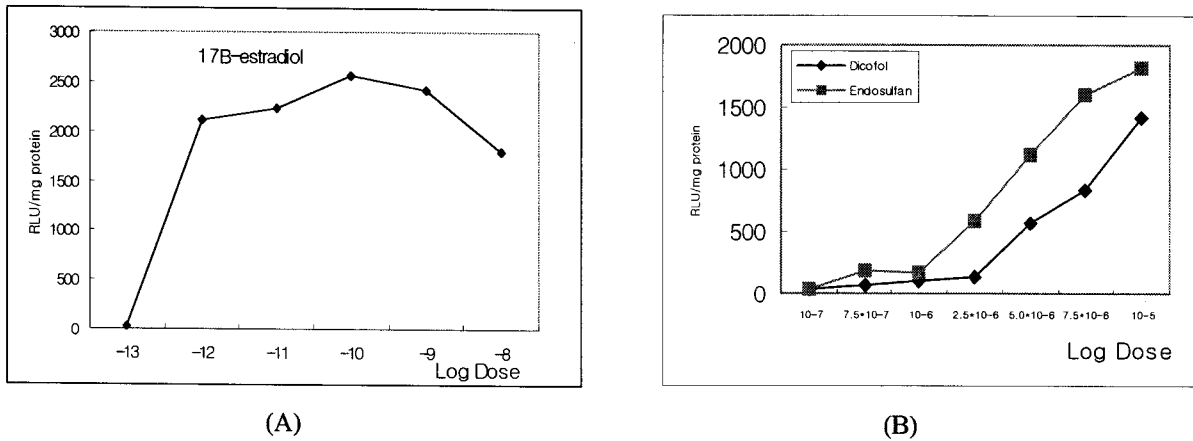


Fig. 2. Dose-response curve for induction of luciferase activity by 17 β-estradiol in BG1Luc4E2 cells. Cells were plated in 24-well plates and grown for 6 days in ESM. At approximately 90% confluence the cells were incubated with the indicated concentration of 17β-estradiol for 24 hr and luciferase activity in cell lysates was determined.

었다.

내분비계 장애추정농약 5종에 대한 식이섭취 위험도를 평가한 결과 표 4에서 보는 바와 같이 정상적인

성인 남성의 평균혈중 에스트로겐 농도를 20 ng/L로, 17 β-estradiol에 대한 E<sub>eq</sub>를 표3과 같이 10<sup>-5</sup>, 5종 농약의 추정최대일일농약섭취총량을 1.2298 mg/person, 혈

Table 2. Estimated maximum daily intake of pesticides from registered agricultural commodities in Korea

| Pesticide                     | Crops    | Daily food intake(kg/man) <sup>a)</sup> | MRL(mg/kg) <sup>b)</sup> | EMDI(mg/man) <sup>c)</sup> |
|-------------------------------|----------|---|--------------------------|----------------------------|
| Cypermethrin                  | Potato   | 0.0185                                  | 0.05                     | 0.000925                   |
|                               | Pepper   | 0.0071                                  | 0.5                      | 0.003550                   |
|                               | Cabbage  | 0.1033                                  | 5.0                      | 0.516500                   |
|                               | Apple    | 0.0389                                  | 2.0                      | 0.077800                   |
|                               | Pear     | 0.0082                                  | 2.0                      | 0.016400                   |
|                               | Citrus   | 0.0260                                  | 2.0                      | 0.052000                   |
|                               | Ginseng  | 0.0002                                  | 0.1                      | 0.000020                   |
|                               | Subtotal |   | 0.2022                   | -                          |
| Dicofol                       | Apple    | 0.0389                                  | 2.0                      | 0.0778                     |
|                               | Pear     | 0.0082                                  | 2.0                      | 0.0164                     |
|                               | Citrus   | 0.0260                                  | 2.0                      | 0.0520                     |
|                               | Subtotal |   | 0.0731                   | -                          |
| Endosulfan                    | Cabbage  | 0.1033                                  | 2.0                      | 0.2066                     |
| Total                         |          | 0.2022                                  | -                        | 0.2066                     |
| Esfenvalerate/<br>Fenvalerate | Pepper   | 0.0071                                  | 1.0                      | 0.0071                     |
|                               | Cabbage  | 0.1033                                  | 1.0                      | 0.1033                     |
|                               | Apple    | 0.0389                                  | 2.0                      | 0.0778                     |
|                               | Pear     | 0.0082                                  | 2.0                      | 0.0164                     |
|                               | Citrus   | 0.0260                                  | 0.2                      | 0.0052                     |
|                               | Total    |   | 0.2022                   | -                          |

<sup>a)</sup>Ministry of Health & Welfare(1999) National nutrition survey report.

<sup>b)</sup>NIAST(2003) Maximum residue limits of pesticides in agricultural commodities (unpublished)

<sup>c)</sup>EMDI = Daily food intake × Maximum residue limit

Table 3. Estrogen equivalent index(E.eq) of pesticides to 17 $\beta$ -estradiol by estrogen receptor binding assay on human ovarian carcinoma BGI Luc4E2 cell line.

| Compound                      | Con. of maximum <sup>a)</sup> activity(Mol) | E.eq <sup>b)</sup> |
|-------------------------------|---|--------------------|
| 17 $\beta$ -estradiol         | 10 <sup>-10</sup>                           | 1.0                |
| Cypermethrin                  | 10 <sup>-5</sup>                            | 10 <sup>-5</sup>   |
| Dicofol                       | 10 <sup>-5</sup>                            | 10 <sup>-5</sup>   |
| Endosulfan                    | 10 <sup>-5</sup>                            | 10 <sup>-5</sup>   |
| Esfenvalerate/<br>fenvalerate | 10 <sup>-5</sup>                            | 10 <sup>-5</sup>   |

<sup>a)</sup>Concentration of maximum luciferase activity on ER binding assay.

<sup>b)</sup>E.eq = Concentration of maximum luciferase activity of 17 $\beta$ -estradiol/tested material.

Table 4. Dietary risk assessment of suspected endocrine disrupting pesticides based on maximum residue limits

| Pesticides                    | EMDI <sup>a)</sup><br>(mg/person/day) | E.eq <sup>b)</sup> | V. of Blood<br>(L) <sup>c)</sup> | Con.of EDs in<br>blood(ng/L) <sup>d)</sup> | %/Normal<br>concentration <sup>e)</sup> |
|-------------------------------|---------------------------------------|--------------------|----------------------------------|--|---|
| Cypermethrin                  | 0.6672                                | 10 <sup>-5</sup>   | 4                                | 1.668                                      | 8.34                                    |
| Dicofol                       | 0.1462                                | 10 <sup>-5</sup>   | 4                                | 0.365                                      | 1.825                                   |
| Endosulfan                    | 0.2066                                | 10 <sup>-5</sup>   | 4                                | 0.517                                      | 2.585                                   |
| Esfenvalerate/<br>fenvalerate | 0.2098                                | 10 <sup>-5</sup>   | 4                                | 0.525                                      | 2.625                                   |
| Total                         | 1.2298                                |                    |                                  | 3.075                                      | 15.374                                  |

<sup>a)</sup>Daily food intake  $\times$  Maximum residue limit.

<sup>b)</sup>E.eq = Concentration of maximum luciferase activity of 17 $\beta$ -estradiol/tested material.

<sup>c)</sup>Average human blood volume.

<sup>d)</sup>EADI  $\times$  E.eq/blood volume(L).

<sup>e)</sup>d)/Average human male plasma concentration of 17 $\beta$ -estradiol(20 ng/L) $\times$ 100.

액량을 4 L로 하여 혈중 농약에 의한 에스트로겐성물질의 증가량을 산출한 결과 정상인 혈중에 존재하는 에스트로겐 농도를 농약섭취로 인하여 3.075 ng/L 증가시켰다. 이것은 정상 에스트로겐 농도의 15.37% 정도에 해당하여 농약에 의한 위해성이 다소 문제가 있을 것으로 평가되었으나, 농약 모니터링 자료에 의한 위해성평가 결과 혈중에 존재하는 에스트로겐 농도의 증가는 0.01938 ng/L로 정상농도에 비해 0.09693% 정도 증가하여 농약에 의한 위해성은 문제되지 않을 것으로 판단되었다(표 5). 이와 같은 결과는 영국의 MAFF(Ministry of Agriculture, Fisheries & Food)자료를 이용하여 영국인식이섭취량을 통한 농약의 에스트로겐성 위해성평가 결과 농약에 의한 에스트로겐성 영향은 없을 것으로 평가한 것과 차이가 없었다(Shaw와 McCully, 2002). 그러나 이와 같은 평가가 식육, 음용수 등 모든 노출을 다 고려하지 못했고, 또 다른 인

자가 있을 수 있기 때문에 앞으로 더 많은 연구와 평가법이 개발되어야 정확한 평가가 가능할 것으로 판단되었다.

## 인용문헌

- Boenke, A., C. Searle, T. Karjalainen(2002) Contribution of European research to endocrine disruptors. *analytica Chimica Acta* 473:161~165.
- Denison, M. S., A. Pandini, S. R.Nagy(2002) Ligand binding and activation of the Ah receptor. *Chemico-Biological Interaction* 141:3~24.
- Denison, M. S., D. Phelan, G. M. Winter, M. H. Ziccardi(1998) Carbaryl, a Carbamate insecticides, is a Ligend for the Hepatic Ah(Dioxin) Receptor. *Toxicology and Applied Pharmacology* 152:406~414.

Table 5. Dietary risk assessment of 5 suspected endocrine disrupting pesticides by practical residue monitoring data

| Pesticide                     | Crops    | Daily food intake (kg/person) <sup>a)</sup> | Mean residue (mg/kg) <sup>b)</sup> | EADI (mg/person) <sup>c)</sup> | Con.of EDs in blood(ng/L) <sup>d)</sup> | %/Normal concentration <sup>e)</sup> |
|-------------------------------|----------|---|------------------------------------|--------------------------------|---|--------------------------------------|
| Cypermethrin                  | Potato   | 0.0185                                      | -                                  | -                              | -                                       | -                                    |
|                               | Pepper   | 0.0071                                      | 0.045                              | 0.00032                        | 0.00080                                 | 0.0040                               |
|                               | Cabbage  | 0.1033                                      | 0.020                              | 0.00207                        | 0.00518                                 | 0.0259                               |
|                               | Apple    | 0.0389                                      | 0.016                              | 0.00062                        | 0.00155                                 | 0.00775                              |
|                               | Pear     | 0.0082                                      | -                                  | -                              | -                                       | -                                    |
|                               | Citrus   | 0.0260                                      | 0.009                              | 0.00023                        | 0.00058                                 | 0.0029                               |
|                               | Ginseng  | 0.0002                                      | -                                  | -                              | -                                       | -                                    |
|                               | Subtotal | 0.2022                                      | -                                  | 0.00324                        | 0.0081                                  | 0.0405                               |
| Dicofol                       | Apple    | 0.0389                                      | 0.079                              | 0.00307                        | 0.00768                                 | 0.03840                              |
|                               | Pear     | 0.0082                                      | 0.075                              | 0.00062                        | 0.00155                                 | 0.00775                              |
|                               | Citrus   | 0.0260                                      | 0.002                              | 0.00005                        | 0.00013                                 | 0.00063                              |
|                               | Subtotal | 0.0731                                      | -                                  | 0.00374                        | 0.00936                                 | 0.04678                              |
| Endosulfan                    | Cabbage  | 0.1033                                      | 0.002                              | 0.000207                       | 0.00052                                 | 0.0026                               |
|                               | Subtotal | 0.2022                                      | -                                  | 0.000207                       | 0.00052                                 | 0.0026                               |
| Esfenvalerate/<br>Fenvalerate | Pepper   | 0.0071                                      | 0.008                              | 0.000057                       | 0.00014                                 | 0.0007                               |
|                               | Cabbage  | 0.1033                                      | -                                  | -                              | -                                       | -                                    |
|                               | Apple    | 0.0389                                      | 0.013                              | 0.000506                       | 0.00127                                 | 0.00635                              |
|                               | Pear     | 0.0082                                      | -                                  | -                              | -                                       | -                                    |
|                               | Citrus   | 0.0260                                      | -                                  | -                              | -                                       | -                                    |
|                               | Subtotal | 0.2022                                      | -                                  | 0.000563                       | 0.00141                                 | 0.00705                              |
|                               | Total    |   |                                    | 0.00775                        | 0.01938                                 | 0.09693                              |

<sup>a)</sup>Ministry of Health & Welfare(1999) National nutrition survey report.

<sup>b)</sup>NIAS(2002) Pesticides monitoring data(unpublished)

<sup>c)</sup>EMDI = Daily food intake × Maximum residue limit

<sup>d)</sup>EADI × E.eq/blood volume(L)

<sup>e)</sup>d)/Average human male plasma concentration of 17β-estradiol(20 ng/L)×100

- Giesy, J. P., K. Hilscherova, P. D. Jones, K. Kannan, M. Machala(2002) Cell bioassay for detection of aryl hydrocarbon(AhR) and estrogen receptor(ER) mediated activity in environmental samples. *Marine Pollution Bulletin* 45:3~16.
- Gillesby, B. E. and T. R. Zacharewski(1998) Exoestrogens : mechanism of action and strategies for identification and assessment. *Environ. Toxicol. Chem.* 17:3~14.
- Go, V., M. S. Wolff, B. G. T. Pogo(1999) Estrogenic potential of certain pyrethroid compounds in the MCF-7 human breast carcinoma cell line. *Environ. Health perspect.* 107:173~177.
- Klotz, D. M., B. S. Beckman, S. M. Hill, J. A. Mclachlan, M.R.Walters, S.F.Arnold (1996) Identification of environmental chemicals with estrogenic activity using a combination of in vitro assays. *Environ. Health Perspect.* 104(10) : 1084~1089.
- Legler, J., C. Brink, A. Brower, D. Vethaak, P. VanDerSaag, T. Murk, B. Burg(1998) Assessment of (anti)estrogenic compounds using a stably transfected luciferase reporter gene assay in the human T47-D breast cancer cell line. *Organohalogen Com.* 35 : 265~268.
- Machala, M., and J. Vondracek(1998) Estrogenic activity of xenobiotics. *Vet. Med.* 10:311~317.

- Oh, S. M., S. Y. Cheong, Y. Y. Sheen, K. H. Chung (2000) Quantitative assessment of estrogenic activity in the water environment of Korea by the E-Screen assay. *The Science of the Total Environment* 263:161~169.
- Petit, F., P. Le-Goff, J. P. Cravedi, Y. Valotaire, F. Pakdel (1997) Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics : recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocytes cultures. *J. Mol. endocrinology*. 19:321~335.
- Rogers, J. M., and M. S. Denison (2000) Recombinant cell bioassays for endocrine disruptors : Development of a stably transfected human ovarian cell line for the detection of estrogenic and anti-estrogenic chemicals. *In vitro and molecular toxicology* 13(1):67~82.
- Rogers, J. M., and M. S. Denison (2002) Analysis of the anti-estrogenic activity of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin in human ovarian carcinoma BG-1 cells. *Molecular pharmacology* 61(6):1393~1403.
- Seidel, S. D., V.L.G.M. Winter, W.J.Rogers, E.I.Eugenio, and .S.Denison (2000) Ah Receptor-based chemical screening bioassay : application and limitations for the detection of Ah receptor agonist. *Toxicological Science* 55:107~115.
- Shaw, I. and S. McCully (2002) A review of the potential impact of dietary endocrine disrupters on the consumer. *International Journal of Food science and technology* 37:471~476.
- Soto, A. and S. Carlos (1985) The role of estrogens on the proliferation of human breast tumor cells(MCF-7). *Journal of steroid biochemistry* 23(1):87~94.
- US/EPA (1997) EPA special report on endocrine disruption.
- US/EPA (1998) Final report of endocrine disruptor screening and testing advisory committee.
- US/EPA (2002) Federal register notice
- Ziccardi, M. H., I. A. Gardner, J. A. K. Mazet, M. S. Denison (2002) Application of the luciferase cell culture bioassay for the detection of refined petroleum products. *Marine pollution Bulletin* 44:893~991.
- 국립환경연구원(1999) 내분비계 장애물질 이해와 대응.
- 농업과학기술원(2003) 농약잔류허용기준(내부자료)
- 농업과학기술원(2002) 농약 모니터링 성적(내부자료)
- 보건복지부(1998) 국민영양조사결과보고서.

#### Risk assessment for estrogenic effect of the suspected endocrine disrupting pesticides

Je Bong Lee\*, Jin Sup Shin, Hee Dong Lee, Mihye Jeong, Aresun You, Kyu Young Kang<sup>1</sup>(*National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707 and <sup>1</sup>Department of Environ. Biotechnology, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea*)

**Abstract :** The present study was conducted to test and evaluate estrogenic effect of 17 pesticides including benomyl and carbaryl, being suspected as endocrine disrupting chemicals. For estrogenic effect examination, luciferase assay were achieved with human ovarian cancer cell, BG1Luc4E2. Estrogenic effects of cypermethrin, dicofol, endosulfan, esfenvalerate, and fenvalerate were observed at the concentration of  $10^{-5}$  M by estrogen receptor binding assay. Relative luciferase potency and relative luciferase effects compared with  $10^{-10}$  M 17  $\beta$ -estradiol were  $10^{-5}$ , 56% for dicofol, and  $10^{-5}$ , 72% for endosulfan, respectively. Estimated maximum daily intake for pesticides was calculated from maximum residue limit of agricultural commodity and food consumption was 1.2298 mg/person. Theoretically calculated blood estrogen level from dietary intake for pesticides based on MRL in Korea, 3.075 ng/L was equivalent to 15% of estrogen concentration in normal blood, but practical monitoring data, 0.01938 ng/L was equal to 0.09693% of estrogen concentration in normal blood.

\*Corresponding author (Fax : +82-31-290-0508, E-mail : jblee@rda.go.kr)