

살균제 hexaconazole의 잉어(*Cyprinus carpio* L.) 장기 중 분포

이은영·박인영·김병석¹·박연기¹·유오종¹·박경훈¹·김 균²·경기성*

충북대학교 농업생명환경대학 응용생명환경학부, ¹농업과학기술원 농산물안전성부,

²한국화학연구원 부설 안전성평가연구소 분석시험센터

(2007년 10월 21일 접수, 2007년 11월 23일 수리)

Distribution of the fungicide hexaconazole in internal organs of carp (*Cyprinus carpio* L.)

Eun Young Lee, In Young Park, Byung Seok Kim¹, Yeon Ki Park¹, Oh Jong You¹, Kyung Hun Park¹, Kyun Kim² and Kee-Sung Kyung*

(School of Applied Life Science and Environment, College of Agriculture, Life and Environmental Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, ¹Department of Crop Life Safety, National Institute of Agricultural Science & Technology, Suwon 441-707, and ²Analytical Research Center, Korea Institute of Toxicology, Daejeon 305-708, Korea)

Abstract : In order to elucidate the behavior of the fungicide hexaconazole (1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine) in carp (*Cyprinus carpio* L.), carps were exposed to [¹⁴C]hexaconazole at a predicted environmental concentration (PEC) of 0.32 mg L⁻¹ for 4 days under static conditions. Hexaconazole in water was absorbed into carps to reach the maximum concentration 2 days after exposure. The amounts of the [¹⁴C]hexaconazole and its metabolites absorbed in gall were much higher than those in the other organs and especially those in gall 2 days after exposure were 25 and 67 times higher than those in liver and kidney, respectively, strongly suggesting that biliary excretion involving enterohepatic recirculation could be an import route for the elimination of hexaconazole absorbed in carps.

Key words : hexaconazole, carp, behavior, enterohepatic recirculation

서 론

벼 재배지역에 살포하는 농약은 등록과정에서 인근 수계에 서식하는 생물에 대한 영향을 평가하기 위하여 조류(algae)와 물벼룩 및 잉어에 대한 독성시험을 수행하여 수서 생태계에 대한 안전성을 평가하고 있으며, 이 중 잉어에 대한 급성독성이 어독성 I급인 농약은 등록을 보류하고 있다(농촌진흥청, 2004).

Hexaconazole ((*RS*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)hexan-2-ol)은 영국의 Zeneca에서 개발된 triazole계 침투성 농약으로 ascomycetes와 basidiomycetes에 대한 예방과 치료효과가 뛰어나 국내에서는 벼 잎집무늬마름병 등 여러 작물에 되어 사용되고 있다

(Chen 등, 1996; 한국작물보호협회, 2007). 이 농약의 물리화학적 특성을 살펴보면, 분자량 314.2, 융점 110~112°C, 수용해도 0.017 g L⁻¹, 가수분해와 광분해가 낮은 화합물이다. 수컷 rat에 대한 급성경구독성(LD₅₀)은 2,189 mg kg⁻¹ 이상이고(Chen 등, 1996) 경피 및 안구독성이 경미하며, 쥐에 대한 흡입독성은 5.9 mg L⁻¹ 이상이다. 생태계 생물에 대한 LC₅₀는 물벼룩 2.9 mg kg⁻¹, 무지개 송어 3.4 mg kg⁻¹으로 알려져 있으며, 일일섭취허용량(ADI)이 0.005 mg kg⁻¹ body weight로써 독성이 EPA IV급으로 분류된 살균제이다(British Crop Protection Council, 2003).

적용 범위가 매우 넓어 전세계적으로 많이 사용되고 있는 triazole계 살균제인 hexaconazole의 잔류분석법과 잔류성(이 등, 2004; 김 등, 2005), 활성 검정법과 약효(김 등, 1998; 김 등, 2003; 김 등, 2005), 토양 및 작물체중 행적(Weissler 등, 1988; 경 등, 2004a; 경

*연락처 : Tel: +82-43-261-2562, Fax: +82-43-271-5921,
E-mail: kskyung@chungbuk.ac.kr

등, 2004b), 대사 (Kumar와 Mithyantha, 1990; Santoro 등, 2000), 분석법(Chen 등, 1996) 등이 보고되어 있지만 어류 중 농약의 행적에 관한 연구로는 제초제 metolachlor의 잉어 중 행적(경 등, 1999), 살충제 imidacloprid의 붕어중 행적(임 등, 2006), 살균제 hexaconazole의 붕어중 행적(이, 2003) 등이 있다. 어류 중 농약의 행적에 관한 앞서의 연구결과를 종합하면 어체 장기 중 쓸개에 분포하는 농도가 다른 장기에 비해 현저히 높고 신장 보다는 담도를 통하여 배설된다고 보고하였다.

Hexaconazole은 주로 원예용 살균제로 사용되지만 헥사코나졸 유제는 벼 잎집무늬마름병 방제를 위하여 벼 재배지에 살포되기 때문에 (한국작물보호협회, 2007) 인근에 서식하는 어류에 노출될 가능성이 있다.

따라서 hexaconazole의 어독성에 대한 기초자료로 활용하고자 농업환경에 살포된 살균제 hexaconazole의 잉어 장기중 경시적 분포를 조사하기 위하여 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

시험 화합물

시험에 사용한 [^{14}C]hexaconazole(triazole환- ^{14}C 표지, 비방사능 18.5 MBq/mg, 순도 99.3%)과 비표지 hexaconazole(순도 98.0%)은 Zeneca Agrochemicals (England)에서 분양 받아 사용하였으며, 그 화학구조와 표지 위치는 그림 1에 나타내었다.

시험 어류 및 시험수

시험 어류는 농업과학기술원에서 사육중인 잉어

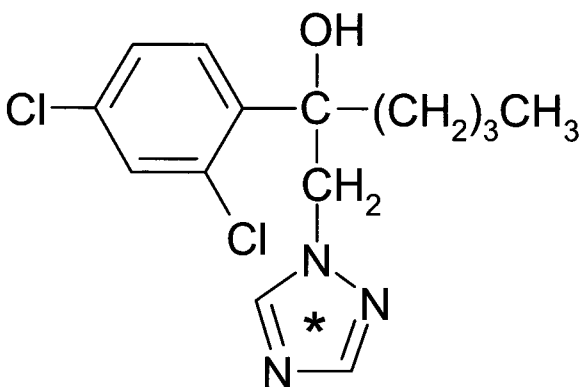


Fig. 1. Structural formula and ^{14}C -labelled position (*) of hexaconazole ((*RS*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)hexan-2-ol). Specific activity : 18.5 MBq/mg.

(*Cyprinus carpio* L.)를 사용하였으며, 평균 전장은 22.3 ± 1.3 cm, 평균체중은 130 ± 30.5 g이었다. 시험수는 24시간 동안 통기(aeration)시킨 지하수를 사용하였으며, 이 시험수의 물리화학적 특성은 pH 7.4, DO 8.0 mg/kg, 수온 23 ± 1 °C, CaCO_3 25.4 mg/kg이었다.

환경추정농도(predicted environmental concentration, PEC) 산출

벼 잎집무늬마름병을 방제하기 위하여 사용되는 hexaconazole 유제(10%)의 1,000배 희석액을 160 L 10a^{-1} 살포하였을 때 살포된 hexaconazole이 수심 5 cm 인 논물에 전량 용해된 경우를 가정하여 다음 식에 의하여 환경추정농도(predicted environmental concentration, PEC)를 산출하였다.

$$\text{환경추정 농도} = \frac{10 \text{ a당 제품농약 살포량(mL)} \times \text{제품농약중 주성분 함량(\%)}}{\text{수심 5 cm인 10 a 논물의 양(L)} \times 100}$$

노출시험 및 시료채취

20 L의 유리수조(내경 28.5 × 높이 37 cm)에 24시간 통기시킨 시험수 6 L를 담고, 891.3 kBq의 [^{14}C]hexaconazole과 비표지 hexaconazole을 합하여 환경추정농도인 0.32 mg L^{-1} 되게 처리한 후 24시간 절식시킨 잉어를 3반복으로 처리하고 4일간 지수조건(static condition)에서 각각 노출시켰으며, 처리 후 1, 2, 4일차에 시료를 채취하였다. 노출이 끝난 잉어는 흐르는 물로 외부를 세척한 후 간, 심장, 쓸개, 지라, 부레, 신장, 내장 및 생식소를 적출하였다.

시험수중 ^{14}C 의 수상(aqueous phase)과 유기상(organic phase)간 분배

[^{14}C]Hexaconazole을 처리하고 잉어를 사육한 사육수 중 극성대사산물이 어느 정도 생성되었는지를 알아보기 위하여 5 mL의 시험수와 동량의 dichloromethane으로 분배 추출한 후 분리된 각층에서 2 mL를 취하여 방사능을 계측하였다.

방사능 계측

잉어의 각 장기에 흡수된 방사능을 계측하기 위하여 세절한 생체시료 약 0.1 g을 Biological oxidizer (Model 307, Packard, U.S.A.)로 2분간 연소시켜 발생한 $^{14}\text{CO}_2$ 를 8 mL의 Carbo-sorb[®]E(Packard, U.S.A.)에 흡수시킨 후 7 mL의 Permafluor[®]E (Packard, U.S.A.)를

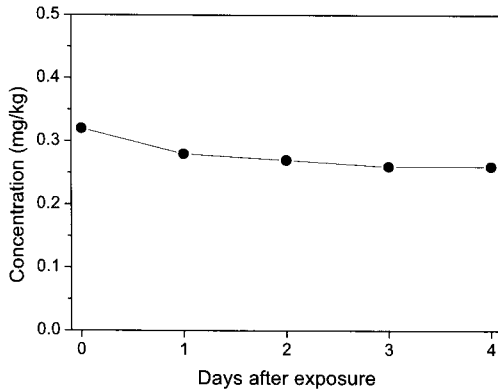


Fig. 2. Changes in hexaconazole concentration in test water during 4 days of exposure to carps.

첨가하여 액체섬광계수기(liquid scintillation analyzer, Tri-Carb 2900TR, Perkin Elmer, U.S.A.)로 방사능을 계측하였다. 또한 유기용매에 녹아 있는 시료의 방사능은 Ready-organic (Packard, U.S.A.) 15 mL를 첨가한 후 LSC로 방사능을 측정하였으며, 어류 사육수 및 분배시험시 물중 방사능은 시료 5 mL (분배시험의 경우는 2 mL)에 15 mL의 Aquasol(DuPont, NEN Research Products, U.S.A.)을 첨가하여 4°C의 암소에서 24시간 안정시킨 후 방사능을 계측하였다.

결과 및 고찰

환경추정농도 산출

벼 잎집무늬마름병을 방제하기 위하여 안빌유제 (10% hexaconazole) 1,000배 희석액을 10 a당 160 L 살포하였을 때 살포된 hexaconazole이 수심 5 cm인 논물에 전량 용해된 경우를 가정하여 산출한 환경추정 농도는 다음 식에서 보는 바와 같이 0.32 mg L⁻¹이었다.

$$\frac{160 \text{ mL} \times 0.1}{50,000 \text{ L}} = 0.32 \text{ mg L}^{-1}$$

시험수중 hexaconazole의 경시적 농도

벼 잎집무늬마름병을 방제하기 위하여 안빌유제 (10% hexaconazole) 1,000배 희석액을 10a당 160L 살포하였을 때 hexaconazole의 환경추정농도인 0.32 mg L⁻¹에 잉어를 노출시키는 4일간의 시험기간 동안 시험수중 hexaconazole의 경시적 농도는 그림 2에서 보는 바와 같이 처리 직후에는 최초 처리농도인 0.32

mg L⁻¹이었으나 처리후 4일차의 농도는 0.26 mg L⁻¹로써 초기농도의 약 81% 수준이었으며, 4일간 평균 농도는 0.28 ± 0.02 mg L⁻¹이었다. 이 결과로 미루어 볼 때 hexaconazole을 처리한 사육수에 잉어를 노출시킬 경우 처리 직후부터 1일 사이에 시험수에 처리한 ¹⁴C 방사능의 약 13%가 잉어에 흡수되어 흡수량이 가장 많았으나 그 이후의 잔류량 변화는 크지 않았다.

잉어 사육수 중 ¹⁴C의 수상과 유기상간의 분배

[¹⁴C]Hexaconazole을 처리하고 잉어를 사육한 사육수 중 극성대사산물이 어느 정도 생성되었는지를 알아보기 위한 사육수중 ¹⁴C의 수상과 유기상간의 분배 시험 결과는 그림 3에서 보는 바와 같이 처리 후 1일에 수상으로 분배된 양이 약 10% 증가하였으나 그 이후는 거의 변화가 없었다. 이는 잉어에 흡수된 hexaconazole이 체내에서 초기 대사과정과 conjugation 반응을 거쳐 체외로 배설되었기 때문인 것으로 추정되었다(이, 2003).

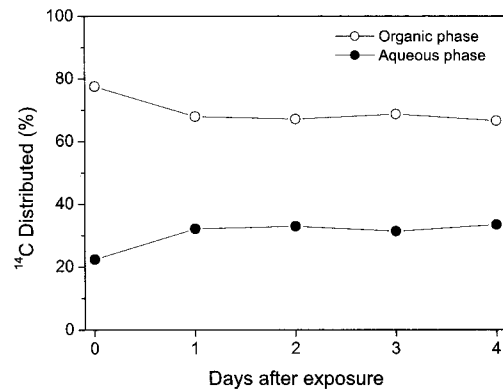


Fig. 3. Distribution of ¹⁴C in test water between aqueous phase and organic phase partitioned from the test water during 4 days of exposure to carps. Aqueous phase + organic phase = 100%.

잉어체내 장기중 ¹⁴C의 경시적 분포

Hexaconazole을 환경추정농도인 0.32 mg L⁻¹되게 처리한 시험수에 4일간 노출시킨 잉어의 장기중 hexaconazole과 그 대사산물의 경시적 분포는 그림 4에서 보는 바와 같이 쓸개 중 잔류농도가 다른 장기의 잔류농도에 비해 현저히 높았으며, 잔류농도는 간에 잔류하는 농도의 25배, 신장중 잔류농도의 67배이었다. 이 결과는 독성물질의 배설에는 일반적으로 신장과 담즙을 통한 배설이 가장 중요하다는 보고(이, 1993)와 신장 중 잔류량이 쓸개에 비해 현저히 낮은 것을 고려

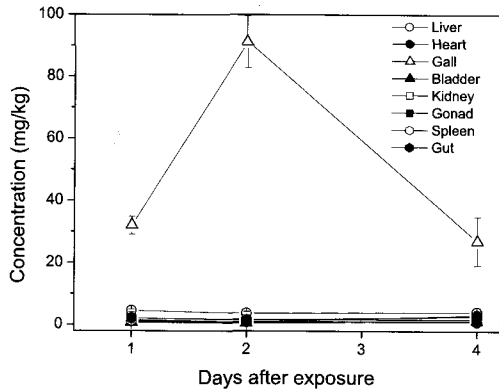


Fig. 4. Concentration of hexaconazole in internal organs of carps as a function of exposure time. Concentration of hexaconazole in test water was calculated as hexaconazole equivalents on the basis of the specific activity of [14 C]hexaconazole.

하면 hexaconazole은 신장보다는 담도를 통하여 배설되는 것으로 보인다. 또한 [14 C]metolachlor를 처리한 사육수에 잉어를 노출시켰을 때 쓸개 중 [14 C]metolachlor의 잔류량이 다른 장기에 비해 현저히 높았으며, 이는 잉어 아가미의 filament와 피부를 통하여 혈액에 흡수된 후 간과 쓸개 및 장을 거친 후 혈액을 거쳐 순환하는 enterohepatic recirculation 과정을 거쳐 체외로 배설(Levine, 1990; Amdur, 1991; Hodgson과 Levi, 1994; Matthew, 1994)된다는 경 등(1999)의 연구결과와 살충제 imidacloprid와 살균제 hexaconazole을 붕어에 노출시켰을 때 신장 보다는 담도를 통하여 배설된다는 임 등(2006)과 이(2003)의 연구결과와 유사한 경향이였다. 또한 hexaconazole을 붕어에 노출시켜 시험한 이(2003)의 연구결과와 비교해 보면 hexaconazole은 붕어와 잉어 체내에서의 대사와 배설경로에 큰 차이가 없는 것으로 판단되었다.

감사의 글

이 논문은 2006학년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의해 연구되었으며, [14 C]hexaconazole을 분양해 준 Zeneca Agrochemicals에 감사드립니다.

인용문헌

Amdur, M. O., J. Doull and C. D. Klaassen (1991)

Toxicology, pp.69~71, Pergamon Press.

British Crop Protection Council (2003) The Pesticide Manual, Thirteenth Edition, C.D.S. Tomlin edited, pp.533~534.

Chen, T., C. Dwyre-Gygax, S. T. Hadfield, C. Willetts, and C. Breuil (1996) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for a broad spectrum triazole fungicide: hexaconazole, J. Agric. Food Chem, 44:1352~1356.

Hodgson, E and P. E. Levi (1994) Introduction to biochemical toxicology, 2nd Edition, pp.183~186, Appleton & Lange.

Kumar, Y. and M. S. Mithyantha (1990) Metabolism of hexaconazole in sandy loam soil, Company report, Rallis India LTD.

Levine, R. R (1990) Pharmacology: Drug action and reactions, pp. 145~147, Little, Brown and Company.

Matthew, H. B. (1994) Excretion and elimination of toxicants and their metabolites. Chapter 2, In Introduction to biochemical toxicology (Ed. Hodgson, E. and P. E. Levi), 2nd edition, Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut, pp.177~192.

Santoro, A, A. Scopa, S. A. Bufo, M. Mansour, and H. Mountacer (2000) Photodegradation of the triazole fungicide hexaconazole, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 64:475~480.

Weissler, M. S., R. Mistry and I. R. Hill (1988) Hexaconazole : Degradation in aerobic and anaerobic soils, Compony report, Plant Protection Division, ICI.

경기성, 이병무, 김진화, 오병렬, 정영호, 이재구 (1999) 제초제 metolachlor의 잉어체내 행적, 농약과학회지 3(2):54~59.

경기성, 이병무, 이재구 (2004a) 살균제 hexconazole 토양잔류물의 벼 재배 microecosystem(pot) 중 행적, 농약과학회지 8(3):35~40.

경기성, 이병무, 임양빈, 이영득, 한성수, 최주현, 김진화, 류갑희, 이재구 (2004b) 살균제 hexaconazole의 흡착 및 용탈 특성, 농약과학회지 8(1):35~40.

김병섭, 윤여순, 윤철수, 장현철, 용영록, 홍세진 (2005) *Rhizoctonia solani*에 의한 여름 시금치 잘록병의 방제를 위한 살균제 선발, 농약과학회지 9(1): 35~40.

김성수, 김혜진, 임종수, 박동식, 허장현 (2005) 오이 중 hexaconazole 2% 입상수화제의 잔류분석 및 안

- 전성 평가, 강원대학교 농업과학연구소 논문집 16:91~95.
- 김수정, 이정명, 강충길 (1998) Hexaconazole의 처리가 수박의 생육 및 박의 ethylene 발생에 미치는 영향, 농약과학회지 2(2):108~112.
- 김재정, 김준태, 박성우, 박은숙, 김홍태 (2003) 고추 탄저병균의 발아와 부타, 균사 생장에 미치는 화합물의 활성 검정법 확립 및 살균제의 효과, 농약과학회지 7(3):159~168.
- 농촌진흥청 (2004) 농약관리법령 훈령집(개정증보판), 환경생물독성시험성적서 검토기준, pp.174~178.
- 이병무 (2003) 수도재배환경중 살균제 hexaconazole의 행동 및 잔류 특성, 농학박사학위논문, 원광대학교 대학원.
- 이창업 (1993) 수의독성학. pp.54~74, 서울대학교 출판부.
- 이희동, 경기성, 권혜영, 임양빈, 김진배, 박승순, 김장익 (2004) 과일의 형태적 특성에 따른 농약의 잔류성과 분포, 농약과학회지 8(2):107~111.
- 임양빈, 김찬섭, 이희동, 정미혜, 김대규, 경기성 (2006) 살충제 imidacloprid의 붕어(*Carassius auratus* L.)중 행적 및 장기에 대한 독성, 농약과학회지 10(4):289~295.
- 한국작물보호협회 (2007) 농약사용지침서, pp.338~339.

살균제 hexaconazole의 잉어(*Cyprinus carpio* L.) 장기중 분포

이은영 · 박인영 · 김병석¹ · 박연기¹ · 유오종¹ · 박경훈¹ · 김 균² · 경기성*

충북대학교 농업생명환경대학 응용생명환경학부, ¹농업과학기술원 농산물안전성부,

²한국화학연구원 부설 안전성평가연구소 분석시험센터

요약 : 살균제 hexaconazole(1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine)의 잉어(*Cyprinus carpio* L.) 체내 장기중 분포를 구명하기 위하여 hexaconazole를 환경추정농도인 0.32 mg kg⁻¹로 처리한 시험수에 잉어를 지수조건에서 4일간 노출시켰다. 수중의 hexaconazole은 잉어체내에 흡수되어 노출 2일차에 최대 흡수량을 나타내었으며, 다른 장기에 비해 쓸개에서 농도가 가장 높았다. 처리 후 2일차의 쓸개중 hexaconazole의 농도는 간 중 잔류량의 약 25배, 신장 중 잔류량의 67배이었다. 이 결과를 근거로 할 때 잉어체내에 흡수된 hexaconazole의 주요 배설경로는 담도로 추정되었다.

색인어 : 잉어, hexaconazole, enterohepatic recirculation