

송사리 (*Oryzias latipes*)와 지렁이 (*Eisenia fetida*)를 이용한 Alachlor의 생태 위해성평가

이철우 · 김현미 · 윤준현 · 송상환 · 류지성
김은경 · 양창용 · 정영희 · 최경희 · 이문순*

국립환경과학원 환경노출평가과

Ecological Risk Assessment of Alachlor using Medaka (*Oryzias latipes*) and Earthworm (*Eisenia fetida*)

Chulwoo Lee, Hyun-Mi Kim, Junheon Yoon, Sang-Hwan Song, Jisung Ryu,
Eun-Kyoung Kim, Chang-Yong Yang, Young-Hee Chung, Kyunghee Choi and Moon-Soon Lee*

Environmental Exposure Assessment Division, National Institute of Environmental Research,
Kyungseo-dong Seo-gu, Incheon 404-708, Korea

Abstract – Medaka (*Oryzias latipes*) and earthworm (*Eisenia fetida*) toxicity tests were carried out and ecological risk assessment in water and soil was performed with national monitoring data. NOEC of alachlor was 100 µg L⁻¹ in the medaka early life-stage test. Embryonic development, hatchability and time to hatching of medaka eggs were affected by this chemical. The LC₅₀ and NOEC of alachlor were 94.1 mg kg⁻¹ and 55.0 mg kg⁻¹, respectively, in the earthworm acute toxicity test. The environmental monitoring has been carrying out by NIER since 1999. Exposure levels of alachlor in water and soil were ND~0.54 µg L⁻¹ and ND~0.9 µg kg⁻¹, respectively, in national monitoring data which had been performed from 2000 to 2004. The measured water and soil exposure levels were applied to evaluate the environmental risk assessment. The PNEC of alachlor in water and in soil were determined as 1 µg L⁻¹ and 55.0 µg kg⁻¹, respectively using the safety factors which were suggested in EU and OECD. The HQs (PEC/PNEC) were determined to be below 1 for both water and soil when the maximum exposure levels (0.54 µg L⁻¹ in water and 0.9 µg kg⁻¹ in soil) were applied. Conclusively, our study indicated that there was not significant ecological risk of alachlor in water and soil of our monitoring sites.

Key words : medaka (*Oryzias latipes*), earthworm (*Eisenia fetida*), alachlor, risk assessment

서 론

Alachlor는 acetanilide계 농약으로서 벼과 잡초의 어

린 눈에 흡수되어 선택적 기능을 발휘하는 제초제 물질로 사용되고 있다(Galassi *et al.* 1996). 아직까지 alachlor의 선택적 작용 메카니즘은 명확히 규명되어 있지 않으나, acetanilide계 제초제들은 지질, 단백질 및 플라보노이드의 생합성 등의 생리·생화학적 반응을 저해하는 것으로 알려져 있다(Kangetsu and Sinthalapadi 2001). 이

* Corresponding author: Moon-Soon Lee, Tel. 032-560-7239, Fax. 032-560-7260, E-mail. mslee416@me.go.kr

들 제초제는 농업에서 널리 사용되고 있으며, 따라서 농약 사용 지역을 중심으로 하천 수계나 지하수 또는 토양 등에 잔류할 가능성이 있는 물질이다 (Atmakuru and Sinthalapadi 2004). Alachlor는 독성이 비교적 높은 편은 아니나, 반복되는 노출을 통해 일부 시험동물에서 간 독성, 안구의 포도막(uveal) 퇴화, 종양 등이 유발된 보고가 있었다 (Scott *et al.* 1999; Osano *et al.* 2002). 게다가 alachlor는 2,4-D, 2,4,5-T, amitrole, atrazine 등과 더불어 내분비계 장애가 우려되는 제초제로 알려져 있는데, 과거 World Wildlife Fund (WWF)나 EPA 등에서는 내분비계 장애물질 목록에 포함시킨 바 있다 (World Wildlife Fund Canada 1996). Alachlor에 의한 랫드, 마우스 등을 포함한 포유류에서의 급·만성독성 자료는 그동안 보고된 바 있으나, 내분비계장애와 관련된 생태독성 자료는 부족한 상태이다 (California EPA 1997).

송사리 (*Oryzias latipes*)는 크기가 작고, 번식력이 좋으며, 사육이 용이하여 독성학은 물론, 유전학, 발생학 등의 다양한 분야에서 널리 이용되어 온 시험어종이다. 특히 송사리 개량종 (orange-red medaka)은 OECD에서 추천하고 있는 어종 가운데 하나로서 독성시험 어종으로의 사용빈도는 지속적으로 증가하고 있다. 지렁이는 토양에서 유기물을 분해하고, 그 배설물이 식물에 영양분을 공급함과 동시에 토양의 구조를 향상시킨다는 측면에서 매우 중요성이 높은 생물이다. 또한 이러한 토양에 서식하는 대표적 생물체인 지렁이에 대해서는 OECD를 비롯한 각국에서 환경오염물질이 토양 생물군에 미치는 영향을 평가하는 측면에서 관심이 점차 증가하고 있으며, 따라서 국내에서도 지렁이를 이용한 독성 및 위해성평가 연구에 보다 많은 관심과 연구가 필요한 상황이다. 지렁이는 토양에서 화학물질의 독성을 평가하기 위한 매우 유용한 지표생물로서 시험에 사용하기에 매우 적절한 생물학적 특성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다 (Neuhauser *et al.* 1985; Maria *et al.* 2005; Susana *et al.* 2005). 유럽연합 (EU)과 OECD는 지렁이를 생태독성 시험의 주요 공시생물로 이미 채택하였으며, 그 이유는 환경오염 평가를 위해 실험실 조건에서 독성시험을 수행하는데 있어 시험생물로 적절하기 때문이다. 지렁이가 가운데 OECD에서는 *Eisenia fetida* 종을 공시생물로 제시하고 있는데 본 지렁이 종은 화학물질에 대한 감수성이 비교적 높고 생활사가 짧아 부화 후 7~8주 정도 지나면 성체가 된다. 이 외에도 번식률이 높고 사육이 용이하여 독성시험 생물로 국제적으로 널리 사용되고 있다 (OECD 1984).

본 연구에서는 제초제인 alachlor를 대상으로 어류와 지렁이에 대한 독성시험을 수행하였으며, 이와 더불어

그동안 조사된 바 있는 수계 및 토양 환경 중의 잔류농도와 비교함으로써 이들 물질에 대한 기초적인 생태 위해성평가를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험종

시험종은 OECD 공시종인 송사리 (*Oryzias latipes*, Orange-red type)와 지렁이 (*Eisenia fetida*)를 대상으로 하였으며, 송사리의 경우 사육온도 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 와 18:6시간의 명:암 조건, 지렁이의 경우 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 와 400~800 Lux의 광조건에서 사육한 건강한 개체를 시험에 사용하였다.

2. 시험물질의 조제

어류 급성독성시험과 초기성장단계 독성시험, 지렁이 급성독성시험을 위한 시험물질은 alachlor (CAS No. 15972-60-8, Wako Co.)를 사용하였다. 시험물질은 비수용성인 관계로 어류 독성시험에서는 ethanol을 용매로 지렁이 독성시험에서는 acetone을 용매로 사용하여 stock solution을 조제하였으며, 이를 재차 희석하여 시험에 사용하였다.

3. 인공토양의 조제

지렁이 급성독성시험을 위한 인공토양은 Sphagnum peat : Kaolin clay : 산업용 모래를 1:2:7의 비율(건조중)로 조제하여 사용하였다 (OECD 1984; 국립환경과학원 2004). 인공토양의 각 성분 가운데 Sphagnum peat는 pH 5.5~6.0으로 분말상으로 건조된 것, Kaolin clay는 kaolinite 함량이 30% 이상인 것, 산업용 모래는 입경 50~200 μm 인 모래가 50% 이상을 차지하는 것을 사용하였다. 각 성분들을 비율에 맞게 정확히 측정하고 pH를 6.0 ± 0.5 가 되도록 CaCO_3 를 일정량 첨가한 후 소형믹서기를 사용하여 인공토양을 혼합·조제하였다.

4. 어류 독성시험

송사리 급성독성시험은 대조군을 제외한 5개의 처리군을 설정하였으며, 각 군마다 10개체씩의 성어를 투여하였고, 0~4 mg L^{-1} 범위의 농도로 설정하였다. 노출기간은 96시간으로서 24시간마다 용액을 교환하는 반지수식 방법을 사용하였으며, 수온과 조명시간은 사육조건과 동일하게 맞추었다. 시험기간 동안 치사율과 이상 행동을 관찰하였으며, 아가미 호흡이 멈춘 상태를 사망으로 간주하였다. 치사율에 따른 반수치사농도 (LC_{50})는 Probits

통계처리법을 사용하여 산출하였다. 송사리 초기생장단계 독성시험의 경우, 시험물질 처리를 위해 친어로부터 산란된 수정란(수정 후 10시간 이내)을 채취하여 대조군과 처리군 별로 30개의 알을 200 mL의 시험용액이 담긴 유리용기에 첨가하여 14일간 노출하였으며, 노출농도는 0~500 µg L⁻¹ 범위를 설정하였다. 노출방법은 반지수식 방법을 사용하였으며 25±1°C, 광주기 16/8시간(명/암)의 조건에서 배양하였다. 시험기간 동안 치사율(mortality), 부화율(hatching success), 기형발생률(abnormality)을 측정하였으며, 발달 상황을 실체현미경(Karl Zeiss Corp.)을 이용하여 24시간 마다 관찰하였다.

5. 지렁이 독성시험

지렁이 독성시험은 OECD 화학물질 테스트 가이드라인 등을 근거로 하여 수행하였다(OECD 1984; 국립환경과학원 2004). 노출농도는 55.0, 71.5, 93.0, 120.8 및 157.1 mg kg⁻¹(공비 1.3)의 농도(nominal concentration)를 설정하였다. 각 처리군 별로 유리수조(15×14 cm)에 미리 메어둔 모래 100 g을 넣고 농도별로 조제된 시험물질 5 mL을 모래위에 고르게 뿌린 다음 용매를 휘발시킨 후 인공토양을 추가로 넣어 모래와 혼합하였다. 대조군의 경우에는 모래 100 g이 담긴 유리수조에 아세톤 용매 5 mL을 고르게 뿌리고 휘발시킨 후 처리군과 동일한 방법으로 인공토양을 혼합하였다. 시험물질은 14일간 노출하였으며, 노출이 종료된 후 치사율, 체중변화 등을 측정하였다.

6. 수계 및 토양 중 생태 위해성평가

어류 및 지렁이 독성시험 결과를 이용한 위해성평가는 원칙적으로 유럽연합의 환경위해성평가 지침에 준하

여 수행하였다. 본 연구에서 수계의 경우 송사리의 초기생장단계 독성 시험의 무영향관찰농도(NOEC, No Observed Effect Concentration)와 지렁이 급성독성시험에서의 NOEC를 통해 예측무영향농도(PNEC, Predicted No Effect Concentration)를 결정하였으며, 노출평가 자료는 국립환경과학원에서 수행중인 “내분비계장애물질의 환경 중 잔류실태 조사” 결과를 토대로 하였다. 최종적으로 PNEC와 노출농도를 비교하는 위해도 결정 과정을 수행하였다.

결과 및 고찰

1. 어류 독성시험

송사리 성어에 대한 alachlor 급성독성시험 결과, 96시간 반수치사농도(LC₅₀)는 1.8 mg L⁻¹를 나타내었다. 본 측정값과 기존에 보고된 타 어종의 급성독성 값을 비교했을 때 송사리의 경우가 다소 민감한 수치를 보였으나 커다란 차이는 보이지 않았다. 과거 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*), 메기(*Heteropneustes fossilis*), 블루길(*Lepomis macrochirus*)에 대한 alachlor의 급성독성은 96시간 LC₅₀이 각각 1.6 mg L⁻¹, 3.7 mg L⁻¹ 및 3.2 mg L⁻¹로 보고된 바 있다(Johnson *et al.* 1980; Chaturvedi *et al.* 2000; Office of Pesticide Programs 2000). 송사리 수정란에 alachlor를 처리하여 초기생장단계에서의 독성을 평가한 결과, Table 1에 나타낸 바와 같이 노출범위(0~500 µg L⁻¹)에서 시험물질의 농도가 증가할수록 부화율은 용량-반응 양상(dose dependent pattern)으로 감소되었다. 200 µg L⁻¹ 처리군에서부터 부화율의 감소가 유의적으로 나타나기 시작했는데 200 µg L⁻¹에서는 부화율이 약 53%였으며, 즉 시험물질의 농도가 증가할수록 부화

Table 1. Effects of exposure to different concentrations of alachlor on embryos and larvae

Conc. (µg L ⁻¹)	†Mortality (%)	Hatch success (%)	*Adverse effects (%)	Major types of lesions and deformations
0	7 (2/30)	90 (27/30)	13 (4/30)	-
10	10 (3/30)	90 (27/30)	13 (4/30)	-
20	7 (2/30)	87 (26/30)	20 (6/30)	-
50	13 (4/30)	80 (24/30)	20 (6/30)	Growth inhibition
100	13 (4/30)	80 (24/30)	23 (7/30)	Growth inhibition
200	27 (8/30)	53 (16/30)	43 (13/30)	Dwarf and undeveloped eyeballs Peritoneal/Visceral edema
500	37 (11/30)	33 (10/30)	63 (19/30)	Dwarf and undeveloped eyeballs Peritoneal/Visceral edema Egg yolk absorption inhibition

†Mortality was measured from the dead embryos within 12 days after the chemical treatment.

*Adverse effects of medaka embryos include cardiovascular defect, hemorrhage, growth inhibition and death. Adverse effects of medaka embryos were observed within 12 days after the chemical treatment.

되지 못하고 사망하는 현상이 뚜렷이 관찰되었다. 미부화 된 개체들은 주로 embryo의 발달과정에서 나타난 장애에 기인하였으며, 주요 증상으로는 성장저해 (growth inhibition), 심장주위의 부종 (edema), 미발달된 안구 (undeveloped eyeballs) 등이 관찰되었고 이들은 결국 부화하지 못하고 사망하였다 (Fig. 1). 혈액순환 장애는 대조군의 소수 embryo에서도 관찰되었으나 그 증상은 심하지 않았으며, 추후 회복됨으로써 정상적인 부화가 이루어졌다. 한편 alachlor에 의한 타 어종에서의 초기성장 독성 자료가 거의 존재하지 않아 어종간의 독성비교는 실시하지 않았다. 내분비계장애물질들은 다양한 기작을 통해 정상적인 호르몬계에 장애를 가져올 수 있는데 대표적인 메카니즘이 에스트로젠 성질을 가지고 있는 화학물질들의 작용이다. Nonylphenol, bisphenol A 등과 같은 화학물질들은 phenol-ring 구조를 지니고 있어 암컷 특이적인 생체물질을 수컷에서 유도하기도 한다. 그러나 과거 본 연구실에서 수행한 비텔로제닌 (vitellogenin) 유도시험을 통해 alachlor는 에스트로젠 성질을 없는 것으로 나타났다 (Lee *et al.* 2003). 송사리의 경우, 적정생육

온도에서 수정 후 9일 정도면 대부분 내부 장기의 형태 발달이 완성되어 가는 것으로 알려져 있으며, 이때부터 노출된 화학물질의 체내 대사 또는 배설과정이 일어나게 된다 (Lobos *et al.* 1992; Stephanie *et al.* 2001). 금번 수정란을 이용한 초기성장단계 독성시험 결과 alachlor는 성장 발달에 장애를 유발하는 것으로 추정되었으나, 어류 체내에서의 대사 과정이 아직 명백히 밝혀져 있지 않음에 따라 초기 발달 단계에서의 정확한 독성작용을 알기 위해서는 생체 내에서의 alachlor의 대사 기작에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 판단되었다.

2. 지렁이 독성시험

지렁이 급성독성시험 결과, alachlor의 LC₅₀는 7일 경과 후에 132.5 mg kg⁻¹이었고 (95% 신뢰한계는 121.5~148.8 mg kg⁻¹), 14일 후 94.1 mg kg⁻¹ (95% 신뢰한계는 88.8~99.7 mg kg⁻¹)를 나타내었다. 한편, 치사율에 대한 NOEC는 7일 및 14일 후에 모두 55.0 mg kg⁻¹이었으며, 7일까지는 100% 치사가 나타나는 시험군은 없었으나 14일 후에 100%의 치사율을 나타내는 농도는 157.1 mg kg⁻¹이었다 (Table 2).

인공토양의 pH 또는 수분의 지나친 변화는 시험물질이 아닌 환경요인에 의한 독성을 야기할 수 있기 때문에 측정되어야 할 중요한 항목이다. 따라서 독성시험 시작 및 종료 후의 pH 변화를 조사한 결과, 인공토양의 pH는 시험시작 전 6.25~6.41, 시험 종료 후 6.41~6.68로 평균 0.18 증가하였으나, 이는 지렁이에 독성을 유발하지 않는 범위였다. 한편, 인공토양의 수분은 종료 시 5.1% 감소 (시험시작 33.4~37.4% 범위에서 종료 시 27.7~32.4%) 하였으나, 이 역시 독성을 유발할 수 있는 요인으로는 작용하지 않았다. 노출기간 동안 치사율과 더불어 체중변화를 조사하였는데 시험시작 전 평균체중은 370.6±51.6 mg (n=240) 이었으며, 종료 후 체중 감소율은 대조군에서 8.8%, 55.0 mg L⁻¹ 처리군에서 8.2%, 71.5 mg kg⁻¹ 처리군에서 10.6%, 93.0 mg kg⁻¹ 처리군에서 15.4% 감소하였다 (Fig. 2). 따라서 체중감소가 유의적으로 감소하기 시작한 노출농도는 71.5 mg kg⁻¹으로 나타

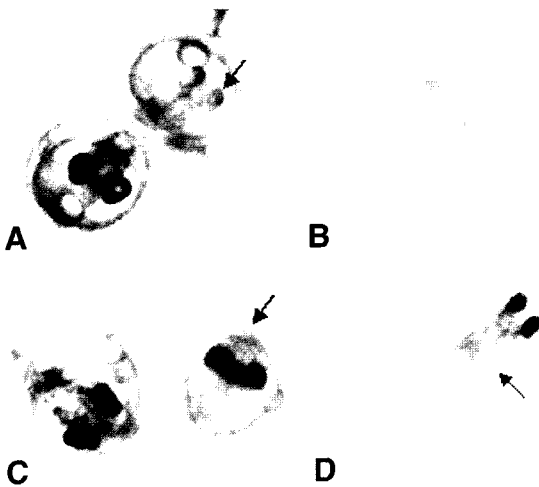


Fig. 1. Major types of abnormalities of embryos and larvae exposed to alachlor. A: undeveloped eyeballs, B: growth inhibition; C: dwarf, D: edema and hindrance of egg yolk sac absorption.

Table 2. Earthworm (*Eisenia fetida*) acute toxicity of alachlor

Conc. (mg kg ⁻¹)	No. of earthworm	No. of dead earthworm		Weight (mg)		
		7 days	14 days	7 days	14 days	Decrement
Control	40	0	0	363.4±47.5	331.6±47.0	8.8%
55.0	40	1	1	373.5±52.2	342.7±52.7	8.2%
71.5	40	3	5	351.5±45.0	314.4±44.8	10.6%
93.0	40	6	15	388.8±50.5	328.8±60.8	15.4%
102.8	40	11	36	379.0±56.9	-	-
157.1	40	31	40	367.4±51.3	-	-

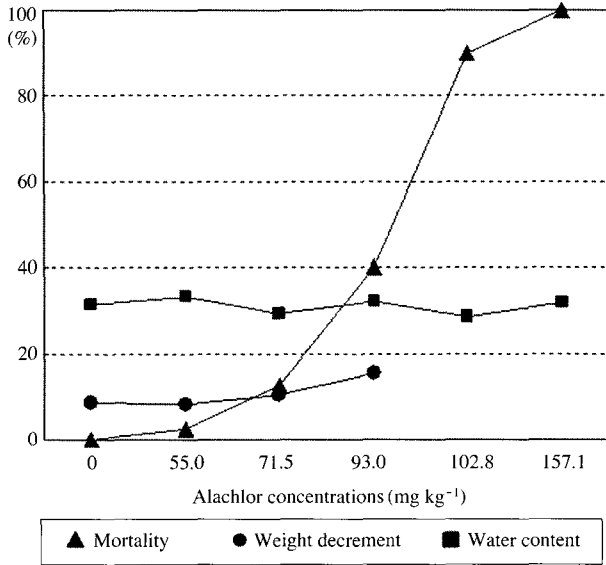


Fig. 2. Mortality, weight decrement and water content in control and exposure group of alachlor.

났으며 이는 치사율의 최소영향관찰농도(LOEC)와 동일하였고, LC₅₀ (14일)인 94.1 mg kg⁻¹ 보다는 낮은 값을 나타내었다. 한편, 102.8 mg kg⁻¹ 이상의 농도에서는 14일 후 사망개체가 많아 체중 감소의 여부를 판단하기가 어려웠다.

3. 수계 및 토양 중의 노출실태

Alachlor의 토양 중으로의 유입은 대부분 제초제 농약의 제조 및 제초제 살포에 따른 오염을 들 수 있으며, 강우 또는 침출수에 의해 토양으로부터 하천 또는 지하수로 유입될 가능성이 높다. Alachlor는 토양 중에서 생분해 및 광분해 과정을 통해 대사체로 전환되며, 토양에서 소실되는 반감기는 대략 15일인 것으로 알려져 있다. Alachlor는 토양 이외에 하천수 또는 지하수에서도 흔히 검출되는데 WHO 가이드라인의 경우 음용수 (drinking water)에서 20 µg L⁻¹ 이내로 제한하고 있다. 하천의 경우 일반적으로 ND~0.9 µg L⁻¹ 범위를 보이는데 (미국 뉴저지주 하천들의 예를 들면 ND~0.13 범위로 검출된 바 있다) 제초제 사용이 빈번한 지역 하천의 경우는 1 µg L⁻¹가 넘는 지점이 발견되기도 하였다 (Pereira *et al.* 1992; Rostad *et al.* 1992)

국립환경과학원은 1999년도부터 매년 내분비계장애물질의 환경 중 잔류실태에 대한 모니터링을 전국적으로 실시하고 있으며, 그 가운데는 제초제인 alachlor가 조사 항목으로 포함되어 있다 (국립환경과학원 2005). 그러나 본 물질의 조사 지점은 오염지역을 대상으로 한 것이

Table 3. Concentrations of alachlor in water and soil

Year	Water (µg L ⁻¹)	Soil (µg kg ⁻¹)
2004	ND~0.23 (39%) [†]	ND~0.65 (16%)
2003	ND (<0.05)~0.54 (37%)	ND (<0.5)~0.9 (6%)
2002	ND (<0.05)~0.16 (33%)	ND (<0.5)~0.7 (11%)
2001	ND (<0.05)~0.07 (44%)	ND (<0.5)~0.8 (11%)
2000	ND (<0.004)~0.09 (30%)	ND (<0.01)~0.08 (6%)
1999	ND (<0.0009)	ND (<0.09)

*The environmental monitoring has been carrying out in Environmental exposure assessment division, NIER since 1999

[†](%) : Detection rate (No. of Detected sites/No. of Sampling sites × 100)
 Detection limit: 2001~2004 (Water <0.05 µg L⁻¹, Soil <0.5 µg kg⁻¹); 2000 (Water <0.004 µg L⁻¹, Soil <0.01 µg kg⁻¹); 1999 (Water <0.0009 µg L⁻¹, Soil <0.09 µg kg⁻¹)

아니고 전국적 모니터링에 중점을 둔 것이므로 농약이 집중적으로 살포되는 토양이나 이들 토양에 인접한 하천에서 검출될 수 있는 농도보다는 낮은 확률이 매우 높다. 현재까지 6차례의 모니터링을 실시하였는데 조사 지점에 대한 alachlor의 검출 범위를 Table 3에 나타내었다. 검출률로 볼 때는 수계의 경우 조사지점에서 매회 30% 이상이 검출되었으며, 토양의 경우는 20% 이내의 검출률을 나타내었다. 검출범위는 수계의 경우 조사 시작 후 2004년까지 ND~0.54 µg L⁻¹이었으며, 토양지점의 경우는 ND~0.90 µg kg⁻¹이었다.

4. 수계 및 토양에서의 생태 위해성평가

송사리 초기생장단계 독성시험에서 얻어진 NOEC에 평가계수를 적용해 PNEC를 산정함으로써 수계중의 생태 위해성평가를 실시하였다. 한편, 지렁이 급성독성 자료는 위해성평가에 활용시 육상생태독성에 해당되는 것이지만 육상생태독성에 대한 평가계수 산정방법이 정립되어 있지 않은 관계로 PNEC를 수서생태 독성평가에서의 평가계수 산정방법에 준해서 산출하였다. 즉, 유럽연합과 OECD의 평가계수 지침을 토대로 평가계수를 산정하고 이를 통해 PNEC를 도출하였다. 본 연구에서 생산된 자료는 단기간 노출에 따른 독성 데이터로서 위해도 산출에 적용할 독성값은 송사리의 경우 부화율에 대한 NOEC, 지렁이의 경우 체중감소와 치사율에 대한 NOEC를 사용하였다. 현재 지렁이 등 토양에 서식하는 생물종을 활용한 독성자료는 어류, 물벼룩 등 수생생물에서의 데이터에 비해 매우 부족한 실정으로 이들 시험종에 대한 급·만성 독성시험의 활성화가 요구되고 있다.

송사리 수정란의 부화율에 대한 alachlor의 NOEC는 100 µg L⁻¹이었으며, 평가계수 100을 적용한 결과, PNEC는 1 µg L⁻¹로 산출할 수 있었다. 지렁이 급성독성 결과,

14일 동안 NOEC(치사율 또는 체중감소)는 55.0 mg kg^{-1} 으로 나타났으며, 평가계수 100을 적용했을 때 PNEC는 0.55 mg kg^{-1} 이었다. 한편 본 연구에서는 산출된 PNEC와 더불어 위해도 산출의 필수적인 요소인 환경 중 노출수준은 앞장에서 나타난 바와 같이 “내분비계장애물질의 환경 중 잔류실태 조사” 결과를 토대로 하였다. 어류와 육생생물의 독성시험을 토대로 한 PNEC에 비해 일반 하천과 토양에서의 노출수준은 매우 낮았으며, 조사지점의 하천과 토양 중의 최대 검출농도($0.54 \mu\text{g L}^{-1}$ 및 $0.9 \mu\text{g kg}^{-1}$)를 적용했을 경우, 이들 물질에 대한 위해도(HQ)는 1 이하로 낮게 나타났다. 더욱이 지렁이 독성값의 경우, 평가계수를 극히 보수적인 수준인 1,000을 적용했을 때도 조사지점에서의 위해도는 1 이하로 나타났다. 한편, 조사지점 수계와 토양에서의 alachlor의 유입 경로는 현재로서는 불확실하며, 토양에서의 환경예측농도(PEC) 산출방법이 정립되어 있지 않은 관계로 위해도는 PEC가 아닌 하천 및 토양 중의 실제 검출농도로 산출하였으며, 지금까지의 조사기간 동안 최대검출 지점에서 위해도가 1 이하이므로 각 지점에 대한 위해도는 산출하지 않았다.

한편, 내분비계장애가 의심되는 alachlor 농약의 내분비계장애에 대한 실질적 위해성평가를 위해서는 기존 화학물질에 적용하는 위해성평가 이외에도 내분비계장애의 특성에 맞는 위해성평가의 적용이 필요하다. 그러나 현재 내분비계장애물질에 대한 여러 연구가 진행되고 있음에도 불구하고 아직까지 환경 중 특정 화학물질의 농도가 인간에게 내분비계장애 영향을 준다는 구체적인 위해성평가 결과는 찾아볼 수 없다. 내분비계장애물질의 영향은 용량증가에 따라 영향이 증가하는 경향을 보이는 일반적인 화학물질과 다른 용량-반응 곡선을 나타낼 수 있기 때문에 이러한 내분비계장애물질의 위해성평가를 위해서는 새로운 접근방법이 필요하다. 현재 수질에서의 내분비계장애물질에 대한 생태 위해성평가를 위한 독성농도는 주로 어류독성시험을 통해 얻어지는데 대표적인 시험으로 반생애 시험(partial life-cycle test), 전생애 시험(full life-cycle test)을 들 수 있으며, 그 종말점(end-points)으로서는 성장, 생식, 기형 등에 대한 영향이 대표적이다. 최근에는 비텔로제닌 등 생체지표를 이용한 독성자료를 위해성평가에 적용하고자 하는 연구들이 진행되고 있다(Lee *et al.* 2002; Hutchinson *et al.* 2006). 그러나 지렁이, 식물 등 육상서식 생물에 대한 독성시험은 그 폭이 넓지 못하며, 특히 내분비계 독성과 관련된 시험방법은 거의 없는 실정이다. 현재 지렁이를 이용해 내분비계장애 영향을 측정할 수 있는 가장 가능성 있는 시험은 지렁이생식독성시험(Earthworm repro-

duction test)을 들 수 있다.

본 연구의 위해도 산출 시에는 송사리의 초기성장단계 독성 및 지렁이 급성독성 시험값을 적용해 보았으나, 향후 내분비계장애가 의심되는 물질의 경우에는 저농도 장기노출 독성시험이 필요하며, 아울러 민감한 생체지표의 개발을 통해 내분비계에 적합한 위해성 평가방법을 정립해 나가야 할 필요성이 있다. 한편 외국의 경우는 일반 수계, 토양에서 뿐만 아니라 오염원 중심으로 모니터링이 이루어지고 있으며, 일반토양에서는 잔류성이 미미하다라도 농약 살포지역 등에서는 고농도로 검출될 수 있으므로 위해도가 증가할 수 있다. 따라서 국내의 경우도 일반 수계 및 토양에서는 alachlor 물질에 대한 위해도가 현저히 낮은 수준이지만 향후에는 제초제 제조 또는 사용 지역에 대한 모니터링 자료를 확보함으로써 오염원에 대한 노출 및 위해성평가를 실시하고, 이를 통해 환경 중으로의 유입을 방지하기 위한 오염관리 대책을 마련해 나가야 할 것으로 판단되었다.

적 요

제초제 alachlor에 대한 송사리 및 지렁이 독성시험을 실시하고 국내 잔류실태조사 결과를 바탕으로 생태 위해성평가를 실시하였다. 송사리 독성시험 결과, 96시간 LC_{50} 는 1.8 mg L^{-1} 이었으며, 수정란을 사용한 초기성장단계 독성시험에서는 부화율에 대한 NOEC가 $100 \mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다. 한편, 지렁이 급성독성시험에서 LC_{50} (14일)는 94.1 mg kg^{-1} , NOEC는 55.0 mg kg^{-1} 으로 나타났으며, 체중감소가 유의적으로 나타난 농도는 71.5 mg kg^{-1} 이었다. Alachlor의 국내 하천 및 토양 중 노출수준은 국립환경과학원에서 실시하고 있는 “내분비계장애물질의 환경 중 잔류실태 조사” 결과를 토대로 하였는데 1999~2004년 동안 조사결과, 하천 및 토양에서 각각 $\text{ND} \sim 0.54 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{ND} \sim 0.9 \mu\text{g kg}^{-1}$ 의 범위로 검출되었다. 위해도 산출을 위한 환경 중 노출수준은 PEC가 아닌 하천 및 토양 중 실제 검출농도로 산출하였다. 독성값은 급성독성 NOEC를 사용하였으며, 평가계수를 100으로 적용했을 때 PNEC는 송사리 독성시험과 지렁이 독성시험에서 각각 $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ 및 0.55 mg kg^{-1} 으로 산출되었다. 본 독성시험을 통한 PNEC에 비해 잔류실태조사에서의 일반 하천과 토양에서의 노출수준은 매우 낮았으며, alachlor의 최대 검출농도를 나타낸 지점(수계 $0.54 \mu\text{g L}^{-1}$, 토양 $0.9 \mu\text{g kg}^{-1}$)을 적용했을 경우, alachlor 물질에 대한 HQ는 1 이하로 낮게 나타남에 따라 국내 일반 하천과 토양에서의 위해도는 낮은 수준이었다. 한편 외국의 경우, 일반 하천에서 뿐만 아니라 제초제 제조 또는 사용

지역을 중심으로 한 모니터링도 이루어지고 있으며, 따라서 이러한 오염원 지역에서의 위해도는 높을 가능성이 있다. 국내의 경우 일반 하천과 토양에서는 alachlor에 대한 생태 위해도는 현저히 낮은 수준이지만 향후에는 제초제 사용 빈도가 높은 지역을 중심으로 한 모니터링 실시와 장기노출에 따른 민감 독성자료를 활용한 위해성평가가 필요하다고 판단된다.

사 사

지령이 급성독성시험에 협조해 주신 한국화학시험연구원 안전성평가센터에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 국립환경과학원, 2005. 내분비계장애물질 조사연구사업 결과보고서. pp. 17-33.
- 국립환경과학원, 2006. 화학물질유해성시험연구기관의 지정 등에 관한 규정 (국립환경과학원고시 2006-4호). [별표 5] 지령이급성독성시험. pp. 74-79.
- Atmakuru R and TM Sinthalapadi. 2004. Dissipation of alachlor in cotton plant, soil and water and its bioaccumulation in fish. *Chemosphere*. 54:647-652.
- California EPA. 1997. Public health goal for alachlor in drinking water. pp. 3-20. Office of Environmental Hazard Assessment.
- Chaturvedi LD and K Agrawal. 2000. Physiological Responses of Fish to Rogor and Alachlor Part I. General Impact on *Heteropneustes fossilis*. *Uttar Pradesh J Zool*. 11(2):93-102.
- Galassi S, A Provini, S Mangiapan and E Benfenati. 1996. Alachlor and its metabolites in surface water. *Chemosphere*. 32(2):229-237.
- Hutchinson TH, GT Ankley, H Segner and CR Tyler. 2006. Screening and testing for endocrine disruption in fish-biomarkers as "signposts," not "traffic lights," in risk assessment. *Environ Health Perspect*. 114(1):106-114.
- Johnson WW and MT Finley. 1980. Handbook of Acute Toxicity of Chemicals to Fish and Aquatic Invertebrates. pp. 98. Resour. Publ. 137, Fish Wildl Serv, USDI, Washington DC.
- Kangetsu H and TM William. 2001. Differential cysteine synthase activity and alachlor susceptibility in five crops and six weed species. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 71:116-123.
- Lee C, SH Jeon, JK Na, YJ Choi and K Park. 2002. Sensitivities of mRNA expression of vitellogenin, choriogenin and estrogen receptor by estrogenic chemicals in medaka, *Oryzias latipes*. *J of Health Science*. 48(5):441-445.
- Lee CW, ER Park, SH Song, JS Ryu, GC Nam, HS Bae, MS Lee, KS Park, SH Jeon and JG NA. 2003. Studies on the environmental risk assessment of endocrine disruptors with biomarkers, Report of NIER, Korea. 25:13-28.
- Lobos JH, TK Leib and SU TM. 1992. Biodegradation of bisphenol A and other bisphenols by gram-negative aerobic bacterium, *Appl Environ Microbiol*. 58(6):1823-1831.
- Maria DF, C Ekain, MV María, U Arantzazu, B Mar, P Javier and VT José. 2005. Ecological risk assessment of contaminated soils through direct toxicity assessment, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 62:174-184.
- Neuhauser EF, RC Loehr, MR Malecki, DL Milligan and PR Durkin. 1985. Toxicity of selected organic chemicals to the earthworm *Eisenia fetida*. *J Environ Qual*. 14:383-388.
- Office of Pesticide Programs. Ecotoxicity Database (Formerly: Environmental Effects Database (EEDB) 2000. Environmental Fate and Effects Division, U.S.EPA, Washington, D.C.
- OECD. 1984. OECD guidelines for the testing of chemicals 207, Earthworm, acute toxicity tests (4 April 1984).
- Osano O, W Admiraal, HJ Klamer, D Pastor and EA Bleeker. 2002. Comparative toxic and genotoxic effects of chloroacetanilides, formamidines and their degradation products on *Vibrio fischeri* and *Chironomus riparius*. *Environmental Pollution*. 119:195-202.
- Pereira WE, CE Rostad and TJ Leiker. 1992. Synthetic organic agrochemicals in the lower Mississippi River and its major tributaries: Distribution, transport and fate. *Journal of Contaminant Hydrology*. 9:175-188.
- Rostad CE, WE Pereira and TJ Leiker. 1992. Distribution and transport of selected anthropogenic organic compounds on Mississippi River suspended sediment. *Journal of Contaminant Hydrology*. 16(2):175-199.
- Scott C, L Siming, L Russell, H Ernest and L Randy. 1999. *In vitro* metabolism of alachlor by human liver microsomes and human cytochrome P450 isoforms. *Chemico-Biological Interactions*. 122(1):27-39.
- Stephanie DP, SA Vilalobos, K Kannan and PC John. 2001. Morphological effects of bisphenol A on the early life stage of medaka (*Oryzias latipes*), *Chemosphere*. 45:535-541.
- Susana L, M Amadeu and JA Antonio. 2005. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. *Environmental Pollution*. 138:121-131.
- World Wildlife Fund Canada (Online). <http://www.wwfcanada.org>.

Manuscript Received: October 17, 2006

Revision Accepted: November 30, 2006

Responsible Editor: Inn-Sil Kwak