J. Fd Hyg. Safety 18(3), 153–160 (2003)

흰쥐를 이용한 Methidathion의 경구투여 및 피부도포 후 뇨 중 대사물질 측정

민경진† · 김화선 · 차춘근
계명대학교 공중보건학과

Determination of Urinary Metabolites of Methidathion after Oral Administration and Dermal Application to Rats

Kyung-Jin Min†, Hwa-Sun Kim and Chun-Geun Cha
Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

ABSTRACT – This study was performed to determine the urinary metabolites of methidathion in rats. Urine samples were collected for 24 hours in metabolic cages following after oral administration and dermal application of methidathion to rats. The urinary metabolites were identified by GC/MS and the excretion time courses of urinary dialkyl phosphate metabolites were analyzed by GC/FPD. The results obtained are summarized as follows: Three dialkyl phosphate metabolites, DMP, DMTP, and DMDTP, were detected in the rat urine. Urinary dialkyl phosphate metabolites were identified on the basis of their mass spectra by GC/MS. The molecular ions of DMP, DMTP, and DMDTP, were identified at m/z 153, m/z 198, and m/z 158, respectively. A comparison of excretion time courses of urinary dialkyl phosphate metabolites between the orally administrated and dermally applicated rats were also established. After oral administration, 79.2% of DMP, 93.3% of DMTP, and 83.0% of DMDTP were excreted into the urine by 12, 24, and 12 hours, respectively. After dermal application, 71.1% of DMP, 82.8% of DMTP, 87.7% of DMDTP were excreted into the urine by 24, 48, 48 hours, respectively. Consequently, almost all of the dialkyl phosphates in oral administration were excreted within 48 hours. However, the metabolites in dermal application were excreted up to 168 hours. In this study, three urinary metabolites of methidathion, DMP, DMTP and DMDTP, were detected in the rat both after oral administration and dermal application with methidathion. And the urinary excretion in dermal application was more delayed than that in oral administration. Based on the results, it is suggested that three urinary dialkyl phosphates, DMP, DMTP, and DMDTP, could be used as the biomarkers of exposure for methidathion.

Key words: Methidathion, Metabolite, Urine, GC/MS

유기인계 농약의 생체모니터링은 혈액 cholinesterase의 측정, 혈액과 조직 내 모화합물의 잔류, 그리고 뇨 중 dialkyl phosphate 대사물질의 측정으로 이루어진다.[1] 혈액 cholinesterase는 임산부의 경우 0~20% 정도 감소하고 만성간염, 간암, 급성간염 등의 간질환 환자의 경우에도 현저하게 감소한다. 이러한 낮은 민감도와 특이성으로 인해 cholinesterase 활성도의 측정만으로는 유기인계 농약의 노출에 대한 평가를 정확히 할 수 없다. 혈액과 조직 내 모화합물의 측정은 과량으로 투여되지 않는 한 검출이 어렵다는 단점이 있다. 그러나 뇨 중 dialkyl phosphate 대사물질의 측정은 모화합물이 변화하지 않고 배설되거나, 하나 또는 두 개의 주요 대사물질로 배설되고, 배설이 상대적으로 빠르며 (<72 hours), 대사물질이 간단한 분석기술에 의해 낮은 농도까지 측정이 가능한 경우 이들 화합물에 대한 생체모니터링지표로써 매우 유용하다.[2] 따라서, 뇨 중 dialkyl phosphate 대사물질의 측정은 유기인계 농약에 대한 폭로를 측정하기 위한 정확하고 민감한 평가방법으로써 역학적, 독성학적 연구에 중요하게 사용되고 있다.[3-4]

요 중 dialkyl phosphates는 수용성이 높고 뇨에서 이온화되어 있기 때문에 일반 유기용매로는 추출이 어려우며 낮은 증기압과 높은 극성으로 인해 GC로 분석하기 위해서는 휘발성과 민감도를 높이기 위해 반드시 유도체화 과정을 거쳐야 한다.[5]

유도체화 된 뇨 중 dialkyl phosphates의 분석기기로는 GC/FPD를 사용하여 정성 및 정량분석[6-16]하며 대사물질을 동정하기 위해서 GC/MS 및 NMR을 사용[3, 17-18]해 왔다.

†Author to whom correspondence should be addressed.

또한, 피부폭로가 현재 사용되고 있는 많은 농약의 주요한 흡수경로로 부각되면서, 농약의 직업적인 폭로에 대한 폭로평가에서 피부를 통한 생체모니터링의 필요성이 부각되고 있다.[19] 농약의 피부흡수에 관한 연구로는 유기인계 농약인 guthion을 피부도포 후 뇨 중 대사물질의 양과 혈액 cholinesterase 활성도를 측정한 결과, 유기인계 농약과 관련되는 가장 민감하고 신뢰성 있는 측정방법이 뇨 중 대사물질인 alkyl phosphate를 측정하는 것이라는 보고가 있다.[14] 또한, rat와 hairless guinea pig을 대상으로 유기인계 농약인 diazinon의 피부흡수에 대한 in vitro와 in vivo의 비교실험을 한 결과 좋은 일치도를 나타내어 in vitro 실험이 in vivo 실험의 대체용으로 사용 가능하다는 것이 보고되었으며,[20] alachlor를 붉은털 원숭이에게 경피투여 한 실험에서는 흡수된 양의 약 75%가 24시간 내에 뇨로 배설된다고 보고하였다.[21] 그리고, 농약에 직업적으로 노출되었을 때 피부에 묻은 농약이 손세척과 같은 과정으로 인해 제거될 수 있는지를 연구한 결과, 농약에 폭로된 지 1시간 이내에 실험을 수행한 결과 68% 정도 밖에 회수되지 않는다고 보고하였다.[22] 또한, 유기인계 농약인 chlorpyrifos를 경구투여 및 피부도포하여 뇨 중 dialkyl phosphate인 DEP와 DETP를 정량하고, 배설속도를 측정한 결과 피부도포가 경구투여보다 배설이 지연된다고 보고하였다.[23] 그러나, 아직까지 피부흡수와 관련된 유기농약의 대사물질에 관한 연구는 미흡한 실정으로 연구의 필요성이 절실하다.

선진국에서는 신종 합성 농약이 개발됨과 동시에 그 독성 및 안전성과 유해성을 평가하여 사용기준을 정하고 있지만 우리나라의 경우 아직도 부족한 실정에 있으며, 여러 선진국에서 인간에게 유해한 화합물질에 대해 그 폭로여부의 판단과 그 폭로양을 기준으로 대사물질을 연구하여 생체지표를 마련하고 있는데 반해 국내에서는 이러한 자료가 미비한 실정이므로 농약에 대한 폭로여부와 그 대사물질에 대한 연구는 농약의 유해성 평가 자료로 활용할 수 있다는 측면에서 중요한 의의를 갖는다.

따라서 이 연구의 목적은 Ciba-Geigy사가 1966년 Supracide, Ultracide라는 이름으로 개발한 약제로 국내에서 1998년 기준[24] 성분량으로 53톤 이상이 생산되어 다양한 작물과 과수에 해충제거용 살충제로 사용되고 있으며 피부에 특히 독성을 나타내는 고독성 농약인 methidathion을 흰쥐에 경구투여 및 피부도포하여 뇨 중 dialkyl phosphate 대사물질을 측정하고자 함에 있다.

실험재료 및 방법

실험재료

실험동물 – 실험동물은 체중 150~200g(5~6주령)의 Sprague Dawley종의 숫 흰쥐를 구입하여 사육실 (온도: 25±1°C, 상대습도: 50±5%)에서 일주일 이상 물과 사료를 자유로이 공급하면서 적응시켰다. 대조군(normal control group, NC), propylene glycol 처리군(propylene glycol treatment control group, PGTC)과 농약 처리군(treatment group)으로 구분하여 각각 5마리씩 실험에 사용하였다.

실험농약 – 실험농약은 현재 국내에서 등록되어 있는 유기인계 농약인 methidathion 원제 [S-2, 3-dihydro-5-methoxy-2-oxo-1,3,4-thiadiazol-3-ylmethyl *O,O*-dimethyl phosphorodithioate, 99%, (주) 경농]를 사용하였다.

기기 및 시약

실험에 사용된 기기로는 뇨 중 대사물질을 동정하기 위해서 Hewlett Packard (HP) 6890 GC에 연결된 HP 5973A MSD(mass selective detector)를 사용하였고, 시간별 배설량을 측정하기 위해서 FPD(flame photometric detector, phosphorus mode)가 장착된 GC(Shimadzu, GC-14A)를 사용하였다. 또한, 원심분리기(Hanil Science, HA-1000-3), 회전증발농축기(Rikakikai. NE-IS) 및 그 외 실험실에서 사용하는 일반기기를 사용하였다. 유도체 시약인 TBAH (tetrabutylammonium hydroxide, 1.0M in methanol)는 Aldrich사, 그 외 일반시약은 잔류농약 분석용으로 Wako사 제품을 구입하여 사용하였다.

실험방법

분석방법 – 이 실험에서는 추출용매로 Richardson과 Seiber의 방법[1]에 근거하여 뇨 중 dialkyl phosphate 대사물질의 분석에서 가장 추출효율이 좋은 용매인 5% ethanol in ethyl acetate를 사용하였다. 전반적인 추출과정은 뇨 시료 1 ml를 채취하여 원심분리용 시험관(screw cap tube)에 취하고, 6N-HCl 1 ml를 넣고 1분간 vortex로 혼합한 후 5% ethanol in ethyl acetate 1ml를 넣고 2분간 vortex로 혼합하였다. 2,000 rpm에서 15분간 원심분리하고 상층액을 깨끗한 시험관에 옮긴 후 반복추출 한 상층액을 합하여 35°C에서 감압 농축 후 ethyl acetate 1 ml를 넣고 완전히 녹였다. 이 용액에 TBAH 40 μl를 넣고 vortex mixer로 1분간 다시 격렬하게 혼합반응시켜 유도체를 만들고, 유도체화 된 시료 2 μl를 GC/MS와 GC/FPD에 주입하여 분석하였다. 요 중 대사물질을 정성 및 정량하기 위한 GC/MS와 GC의 분석조건은 Table 1과 같다. GC/MS와 GC 조건으로 초기온도 80°C이며, 5°C/min으로 150°C까지 올린 후, 10°C/min으로 300°C까지 올렸다.

실험동물에 대한 농약처리 및 뇨 시료 채취

Methidathion을 경구투여 한 실험에서는 대조군은 물과 사

Table 1. GC/MS and GC conditions for the analysis of urinary metabolites

Item	GC/MS	GC
Instrument	Hewlett-packard 6890	Shimadzu GC-14A
GC conditions		
Column	HP-1 capillary 50m×0.2mm(I.D)	DB-17 capillary 30m×0.53mm(I.D)
Temperature	Col. initial temp. 80°C initial time 0 min rate 5, 10°C/min final temp. 150, 300°C final time 5 min Inj. 280°C Det. 300°C	Col. initial temp. 80°C initial time 0 min rate 5, 10°C/min final temp. 150, 270°C final time 5 min Inj. 280°C Det. 300°C
Carrier gas	He, 0.7ml/min	N_2, 1ml/min
Air	-	60kPa
Hydrogen	-	60kPa
Type of injection	Split(1/10)	Split(1/10)
Injection volume	2ml	2ml
Detector	-	FPD
MS conditions		
MS	HP 5973A MSD	
Ionization mode	Electron impact	
Mass range	50-550 m/z	
Electron energy	70 eV	

료만을 공급한 군(NC)과, propylene glycol을 5 ml/kg씩 경구투여한 군(PGTC)으로 하였으며, 농약 처리군(treatment)은 profenofos를 propylene glycol에 녹여 급성 경구독성 (LD_{50} male rat: 25~54 mg/kg) 최대치의 1/5 농도 (10.8 mg/kg)로 zonde를 이용하여 경구투여하였다.[25]

한편, 피부도포 한 실험에서는 실험일 24시간 전에 먼저 실험동물의 복부털을 제모기로 5×6cm 이상 크기의 넓이로 면도한 다음 2.5×2.5cm 크기 면적의 거즈에 methidathion을 일정하게 묻혀 제모된 부위에 도포 한 다음 의료용 반창고로 고정시켰다.[26] 대조군은 피부에 아무 것도 도포시키지 않은 군(NC)과, propylene glycol 처리군(PGTC)은 propylene glycol 만을 5 ml/kg씩 피부 도포시켰고, 농약 처리군(treatment)은 methidathion을 propylene glycol에 녹여 급성 경피독성(LD_{50} male rat: 1,546~1,663 mg/kg) 최대치의 1/5 농도(332.6 mg/kg)로 피부에 도포하였다.

쥐 한 마리씩을 각 metabolic cage에 넣어 물과 사료를 공급하면서 24시간 동안 뇨를 채취하여 추출방법에 따라 추출하고 유도체화 시켜 GC/MS로 대사물질을 동정하였다. 채취된 모든 시료는 분석 전까지 -20°C로 냉동 보관하였다.

한편, methidathion을 경구투여 및 피부도포 후 뇨 중 대사물질의 시간에 따른 배설량을 측정하기 위해 농약 처리된 쥐 한 마리씩을 각 metabolic cage에 넣어 물과 사료를 공급하면서 경구투여의 경우 4, 8, 12, 24, 48 및 72시간, 피부도포의 경우 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 및 168시간 동안의 뇨를 채취하여 전술한 방법에 따라 실험처리 한 후 GC/FPD로 분석하였다. 요 중 대사물질의 시간별 배설량 측정은 총 배설량(peak area)에 대한 시간별 배설량(peak area)을 백분율로 나타내었다.

결과 및 고찰

경구투여 후 뇨 중 대사물질 측정

흰쥐에 methidathion을 경구투여 후 뇨 중 대사물질을 측정한 결과는 다음과 같다. 대조군(NC), propylene glycol 만을 투여한 쥐(PGTC) 및 methidathion을 투여한 쥐(treatment)에서 각각 24시간 동안 뇨를 채취하여 분석한 GC/MS의 total ion chromatogram은 Fig. 1(A), (B), (C)와 같다. GC/MS 분석에 있어서는 Richardson과 Seiber의 연구[1]에서 dialkyl phosphates류 표준용액을 분석한 질량스펙트럼 자료에 근거하여 주요조각이온을 확인하였으며, 농약 처리군에서 DMP, DMTP 및 DMDTP는 각각 13분대, 17분대, 19분대에서 나타났다. DMP의 주요조각이온은 m/z=153, 127, 109, DMTP는 m/z=198, 169, 142, 109, 그리고 DMDTP는 m/z=158, 125, 93으로 확인되었으며, 대조군과 propylene glycol 처리군에서 DMP, DMTP 및 DMDTP의 분석에 영향을 미치는 간섭물질은 없었다. Methidathion을 투여한 쥐의 뇨에서 분석한 DMP, DMTP 및 DMDTP의 total ion chromatogram과 질량 스펙트럼은 각각 Fig. 2, 3, 4와 같다.

피부도포 후 뇨 중 대사물질 측정

흰쥐에 methidathion을 피부도포 후 뇨 중 대사물질을 측정한 결과는 다음과 같다. 대조군(NC), propylene glycol 만을 투여한 쥐(PGTC) 및 methidathion을 투여한 쥐(treatment)에서 각각 24시간 동안 뇨를 채취하여 분석한 GC/MS의 total ion chromatogram은 Fig. 5(A), (B), (C)와 같다. GC/MS 분석에 있어서는 Richardson과 Seiber의 연구[1]에서 dialkyl phosphate류 표준용액을 분석한 질량스펙트럼 자료에 근거하여 주요조각이온을 확인하였으며, 농약 처리군에서 DMP, DMTP 및 DMDTP는 각각 13분대, 17분대, 19분대에서 나타났다. DMP의 주요 조각이온은 m/z=153, 127, 109, DMTP는 m/z=198, 169, 142, 109, 그리고 DMDTP는 m/z=158, 125, 93으로 확인되었으며, 대조군과 propylene glycol 처리군에서 DMP, DMTP 및 DMDTP의 분석에 영향을 미치는 간섭물질은 없었다. Methidathion을 투여한 쥐의 뇨에서 분석한 DMP, DMTP 및 DMDTP의 total ion

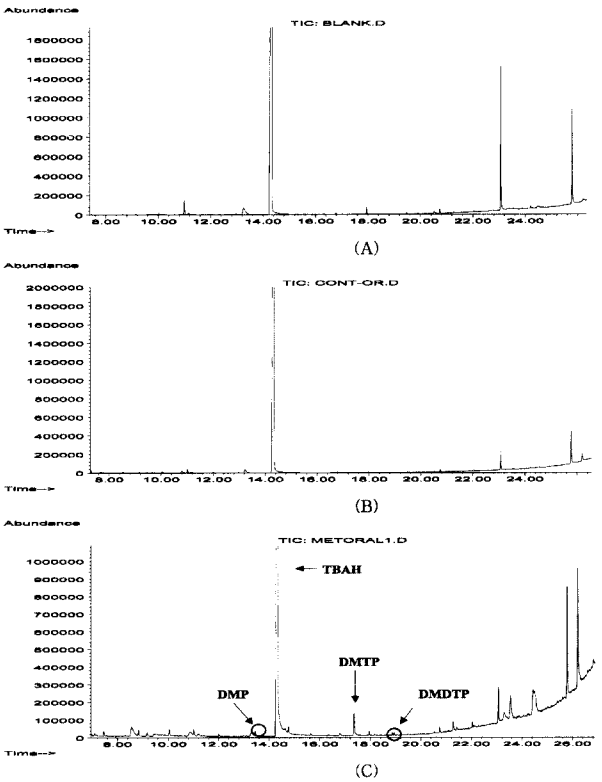

Fig. 1. GC/MS total ion chromatograms of NC urine (A), PGTC urine (B), and treatment urine (C) in oral administration of methidathion to rats.
(NC: normal control group, PGTC: propylene glycol treatment group)

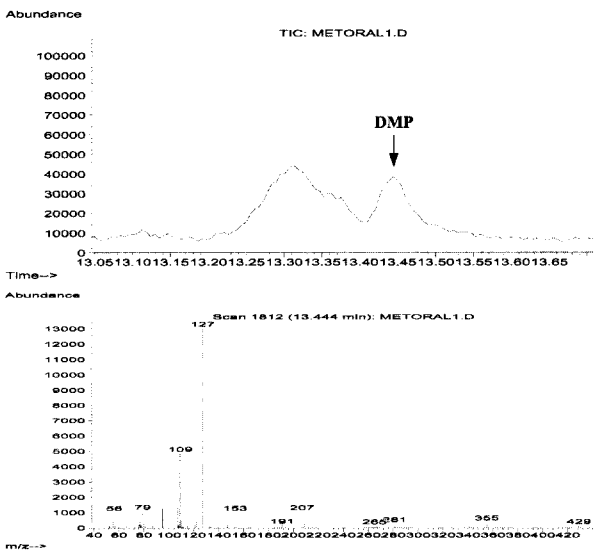

Fig. 2. GC/MS total ion chromatogram and mass spectrum of urinary metabolite (DMP) in oral administration of methidathion to rats.

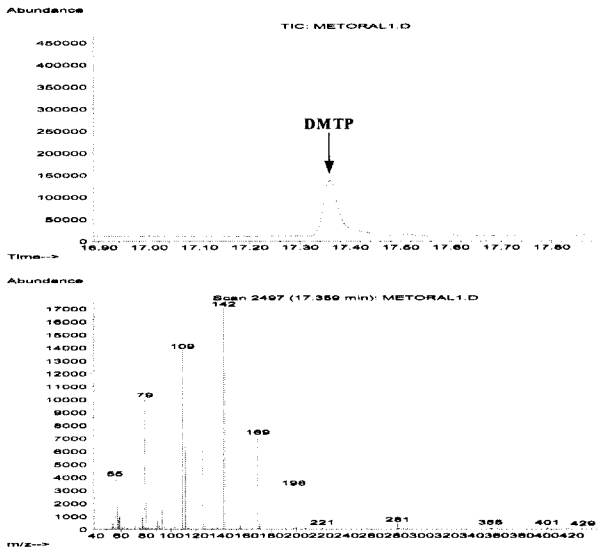

Fig. 3. GC/MS total ion chromatogram and mass spectrum of urinary metabolite (DMTP) in oral administration of methidathion to rats.

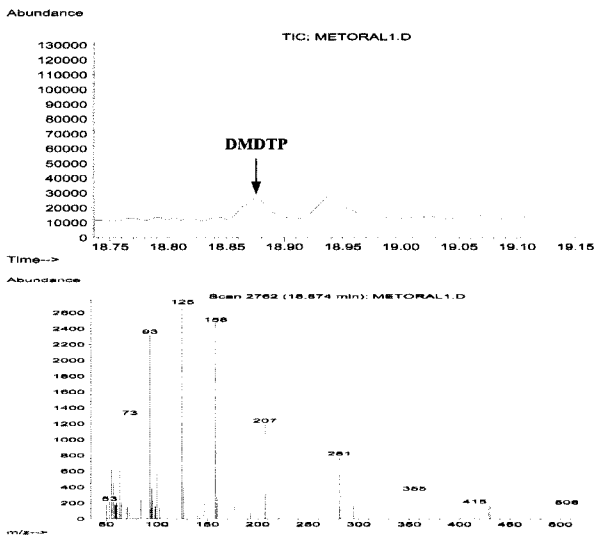

Fig. 4. GC/MS total ion chromatogram and mass spectrum of urinary metabolite (DMDTP) in oral administration of methidathion to rats.

chromatogram과 질량 스펙트럼은 각각 Fig. 6, 7, 8과 같다.

따라서, methidathion을 피부도포 한 후 뇨 중 대사물질을 측정한 결과 경구투여 하였을 때와 마찬가지로 유기인계 농약의 일반적 대사물질인 dialkyl phosphates 중 세 가지 형태(DMP, DMTP, DMDTP)로 대사되어 배설됨을 알 수 있었다.

경구투여 후 뇨 중 대사물질의 시간별 배설량 측정

Methidathion을 쥐에 경구투여 후 4, 8, 12, 24, 48 및 72 시간 동안 DMP, DMTP 및 DMDTP의 총 배설량에 대한

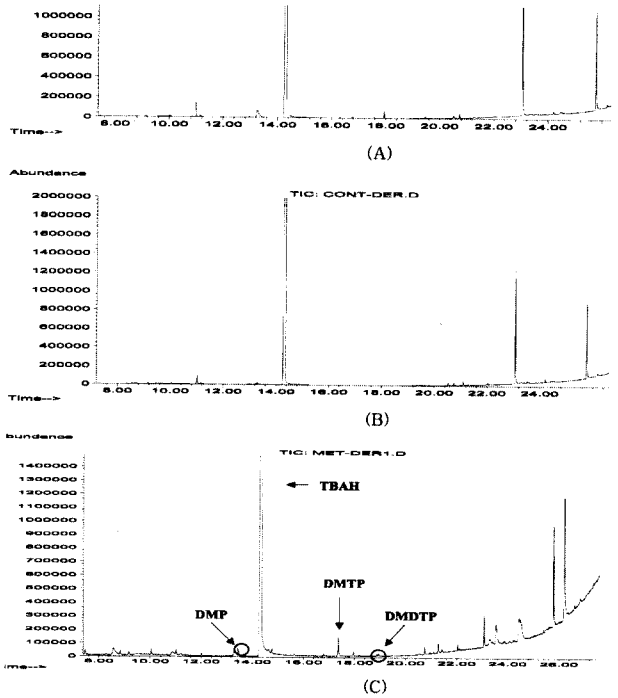

Fig. 5. GC/MS total ion chromatograms of NC urine (A), PGTC urine (B), and treatment urine (C) in dermal application of methidathion to rats.
(NC: normal control group, PGTC: propylene glycol treatment control group)

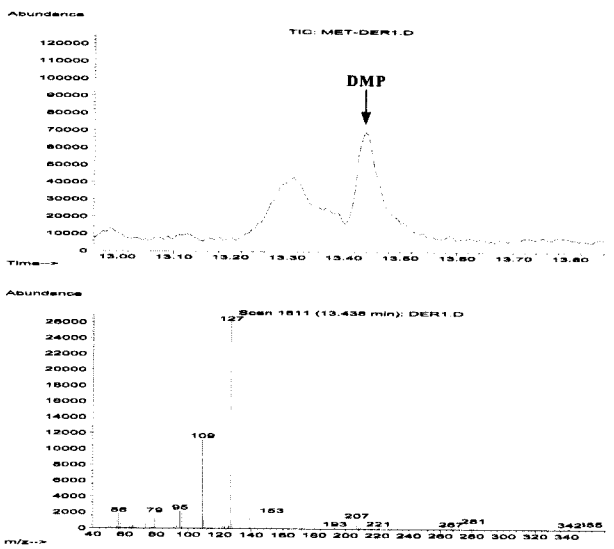

Fig. 6. GC/MS total ion chromatogram and mass spectrum of urinary metabolite (DMP) in dermal application of methidathion to rats.

시간별 배설량을 GC chromatogram의 peak area에 의하여 백분율로 나타낸 결과는 Table 2와 같다. LD_{50} 1/5 농도를

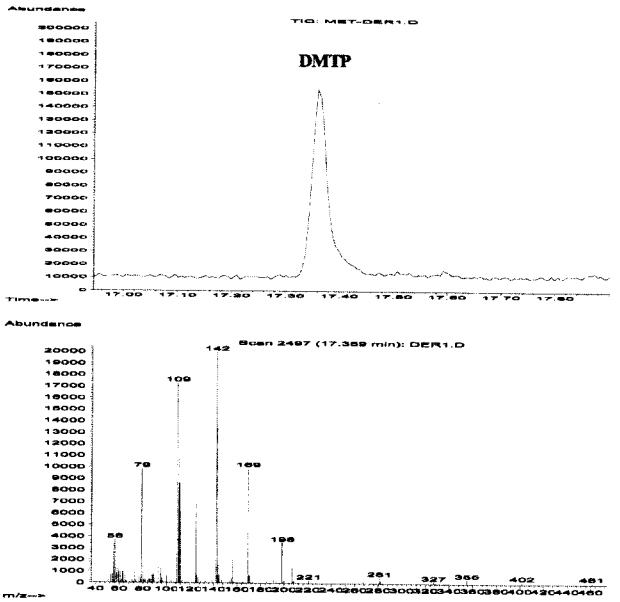

Fig. 7. GC/MS total ion chromatogram and mass spectrum of urinary metabolite (DMTP) in dermal application of methidathion to rats.

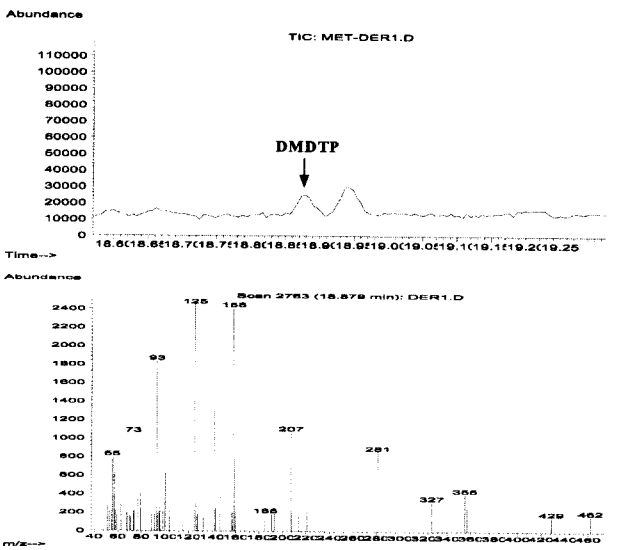

Fig. 8. GC/MS total ion chromatogram and mass spectrum of urinary metabolite (DMDTP) in dermal application of methidathion to rats.

경구투여 한 후 각 뇨 중 대사물질의 시간별 배설량은 DMP는 12시간 이내에 79.2%가 배설되었고, DMTP는 24시간 이내에 93.3%, DMDTP는 12시간 이내에 83.0%가 배설되었다.

피부도포 후 뇨 중 대사물질의 시간별 배설량 측정

Methidathion을 쥐에 피부도포 후 4, 8, 12, 24, 48, 72,

120, 144 및 168시간 동안 DMP, DMTP, DMDTP 각각의 총 배설량에 대한 시간별 배설량을 GC chromatogram의 peak area에 의하여 백분율로 나타낸 결과는 Table 3과 같다. LD_{50} 1/5 농도를 피부도포 한 후 각 뇨 중 대사물질의 시간별 배설량은 DMP는 24시간 이내에 71.1%가 배설되었고, DMTP와 DMDTP는 48시간 이내에 각각 82.8%, 87.7%가 배설되었다.

투여경로에 따른 뇨 중 대사물질의 시간별 배설량 비교

Methidathion을 경구투여 및 피부도포 한 결과, 경구투여 한 실험에서는 대사물질들이 48시간 이내에 뇨 중으로 완전히 배설되는 반면 피부도포 한 실험에서는 각 개체의 상태에 따라 늦게는 168시간까지 배설이 지연됨을 알 수 있었다. 또한, 투여경로에 따라 각 뇨 중 dialkyl phosphates에 대한 반감기를 일분획모형(one-compartment model)으로 측정한 결과 경구투여의 경우 DMP 6.9시간, DMTP 7.9시간 그리고, DMDTP 6.0시간이었으며, 피부도포 한 경우에는 DMP 15.1시간, DMTP 21.7시간 그리고, DMDTP 18.2시간이었다.

Griffin 등[23]은 유기인계 농약 chlorpyrifos를 사람에게 경구투여 및 피부도포 한 실험에서 반감기를 측정한 결과 경구투여의 경우 15.5시간인 것에 반해 피부도포의 경우에는

Table 2. Excretion time courses of urinary metabolites in oral administration of methidathion to rats

	Percentage of time courses (hours)					
	4	8	12	24	48	72
DMP	24.88±2.35	30.15±2.15	24.14±0.76	20.84±1.73	*ND	ND
DMTP	23.35±1.68	28.93±1.39	20.83±0.42	20.22±1.68	6.02±0.35	ND
DMDTP	31.61±3.1	32.97±0.67	18.41±0.49	17.01±1.17	ND	ND

Oral dose level: 10.8 / (1/5 of LD_{50}).
*ND: not detected
Each value represents the meanS.E. of 3 experiments and one experiment used five rats.

Table 3. Excretion time courses of urinary metabolites in dermal application of methidathion to rats

	Percentage of time courses (hours)									
	4	8	12	24	48	72	96	120	144	168
DMP	0.81±0.42	11.83±1.14	11.01±2.73	47.41±1.95	28.94±4.83	*ND	ND	ND	ND	ND
DMTP	1.04±0.04	7.21±1.43	10.93±1.87	38.13±1.52	25.54±2.65	8.68±1.01	7.06±1.87	0.61±0.32	0.41±0.41	0.42±0.22
DMDTP	0.44±0.44	8.08±0.94	12.17±1.11	42.32±1.02	24.68±4.01	7.33±3.74	4.97±4.97	ND	ND	ND

Dermal dose level: 332.6 / (1/5 of LD_{50}).
*ND: not detected
Each value represents the meanS.E. of 3 experiments and one experiment used five rats.

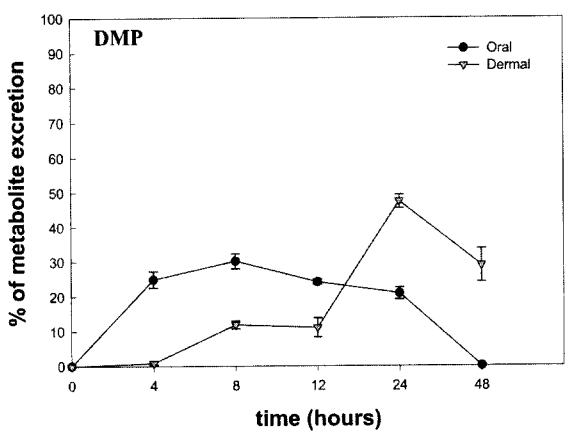

Fig. 9. Comparison of excretion time courses of DMP in oral and dermal exposure of methidathion to rats.

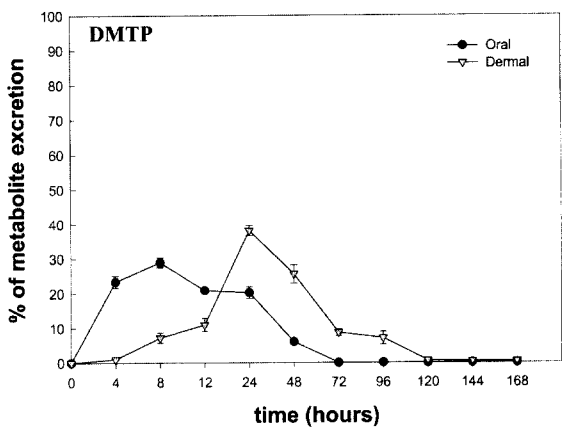

Fig. 10. Comparison of excretion time courses of DMTP in oral and dermal exposure of methidathion to rats.

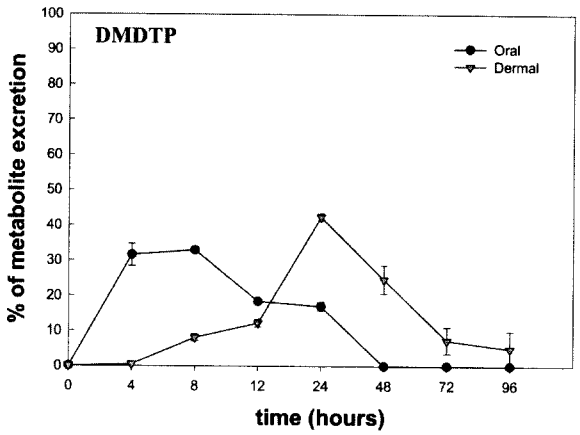

Fig. 11. Comparison of excretion time courses of DMDTP in oral and dermal exposure of methidathion to rats.

이 결과는 이 실험의 결과와 동일한 경향을 나타내었다.

DMP, DMTP 및 DMDTP에 대하여 경구투여 및 피부도포 시 뇨 중 대사물질의 시간별 배설량 차이를 비교한 결과는 Fig. 9, 10, 11과 같다. He의 보고[19]에 의하면, dialkyl phosphates류 중에서 DMP와 DEP는 농약 폭로에 직접적인 관련성을 가지고 있으나, DMDTP와 DEDTP는 각각 DMTP 및 DETP와 같은 다른 형태의 alkyl phosphate로 빠르게 분해되어 상대적으로 적은 양이 검출된다고 하였다.

이 점으로 미루어보아 이 실험에서도 DMP는 methidathion의 폭로에 직접적인 관여를 가지며, DMTP는 DMDTP가 빠르게 분해되어 생성된 물질인 것으로 추정된다.

경구투여와 피부도포 시 각각의 결과에서 DMP는 빠른 시간 내에 완전히 배설되는 것에 반해 DMDTP는 늦게는 96시간, DMTP는 168시간까지 배설이 지연되는 것으로 미루어보아 DMDTP가 체내에서 DMTP로 분해되어 DMTP가 가장 늦게까지 배설되는 것으로 추정된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원에 의한 것입니다.

국문요약

Methidathion을 흰쥐에 경구투여 및 피부도포 후 뇨 중 대사물질을 GC/MS로 분석하였고, 투여경로에 따른 뇨 중 대사물질의 차이를 비교하였으며, 뇨 중 dialkyl phosphate의 시간별 배설량과 그 외 대사물질을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. Methidathion을 경구투여 및 피부도포 후 뇨 중 대사물질을 측정한 결과 유기인계 농약의 공통적인 대사물질인 dialkyl phosphates 중 세 가지 물질인 DMP, DMTP 및 DMDTP로 동일하게 배설되었다. GC/MS로 주요조각이온을 확인한 결과 DMP는 m/z=153, 127, 109, DMTP는 m/z=198, 169, 142, 109 그리고, DMDTP는 m/z=158, 125, 93에서 분자이온을 확인할 수 있었다. Methidathion을 경구투여 및 피부도포 후 뇨 중 dialkyl phosphates의 시간별 배설량을 측정한 결과 경구투여의 경우 DMP는 12시간 이내에 79.2%, DMTP는 24시간 이내에 93.3% 그리고, DMDTP는 12시간 이내에 83.0%가 배설되었고, 피부도포의 경우 DMP는 24시간 이내에 71.1%, DMTP와 DMDTP는 48시간 이내에 각각 82.8%, 87.7%가 배설되었다. 이 결과 경구투여 한 실험에서는 48시간 이내에 뇨 중 dialkyl phosphates가 완전히 배설되는 반면 피부도포 한 실험에서는 각 개체의 상태에 따라 대사물질들이 늦게는 168시간까지 배설이 지연됨을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합하면, 흰쥐에 methidathion을 경구투여 및 피부도포 후 뇨 중 대사물질을 측정한 결과 dialkyl phosphate 중 DMP, DMTP 및 DMDTP로 검출되었으며, 경구투여와 피부도포 시 뇨 중 대사물질의 차이는 없었으나, 경구투여보다 피부도포의 경우 배설이 더 지연되었다. 결론적으로, methidathion의 뇨 중 대사물질인 DMP, DMTP 및 DMDTP는 이 농약의 생체모니터링 지표물질로서 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Richardson, E. R. and Seiber, J. N.: Gas chromatographic determination of organophosphorus insecticides and their dialkyl phosphate metabolites in liver and kidney samples. *J. Agr. Food Chem.*, **41**(3), 416-422 (1993).
2. Fenske, R. A. and Leffingwell, J. T.: Method for the determination of dialkyl phosphate metabolites in urine for

studies of human exposure to malathion. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 995-998 (1989).
3. Draper, W. M., Wijekoon, D. and Stephens, R. D.: Determination of malathion urinary metabolites by isotope dillution ion trap GC/MS. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1796-1801 (1991).
4. Aprea, C., Sciarra, G., Orsi, D., Boccalon, P., Sartorelli, P. and Sartorelli, E..: Urinary excretion of alkylphosphates in the general population (Italy). *The Science of the Total Environment*, **177**, 37-41 (1996).
5. Fest, C. and Schmidt, K. J.: The chemistry of organophosphorus pesticides, Springer- Verlag, Berlin, 337 (1973).
6. Shafik, T., Bradway, D. E., Enos, H. F. and Yobs, A. R.: Human exposure to organophosphorus pesticides. A modified procedure for the gas-liquid chromatographic analysis of alkyl phosphate metabolites in urine. *J. Agr. Food Chem.*, **21**(4), 625-629 (1973).
7. Blair, D. and Roderick, H. R.: An improved method for the determination of urinary dimethyl phosphate. *J. Agr. Food Chem.*, **24**(6), 1221-1223 (1976).
8. Bradway, D. E. and Shafik, M. T.: Malathion exposure studies. Determination of mono- and dicarboxylic acids and alkyl phosphates in urine. *J. Agr. Food Chem.*, **25**(6), 1342-1344 (1977).
9. Lores, E. M. and Bradway, D. E.: Extraction and recovery of organophosphorus metabolites from urine using an anion exchange resin. *J. Agr. Food Chem.*, **25**(1), 75-79 (1977).
10. Churchill , F. C., Ku, D. N. and Miles, J. W.: Gas-liquid chromatographic inlet block derivatization of organophosphorus pesticides and related dialkyl phosphorothioates. *J. Agr. Food Chem.*, **26**(5), 1108-1112 (1978).
11. Takade, D. Y., Reynolds, J. M. and Nelson, J. H.: 1-(4-Nitrobenzyl)-3-(4-tolyl)triazene as a derivatizing reagent for the analysis of urinary dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides by gas chromatography. *J. Agr. Food Chem.*, **27**(4), 746-752 (1979).
12. Daughton, C. G., Cook, A. M. and Alexander, M.: Gas chromatographic determination of phosphorus-containing pesticide metabolites via benzylation. *Analytical Chemistry*, **51**(12), 1949-1953 (1979).
13. Bradway, D. E., Moseman, R. and May, R.: Analysis of alkyl phosphates by extractive alkylation. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **26**, 520-523 (1981).
14. Franklin, C. A., Fenske, R. A., Greenhalgh, R., Mathieu, L., Denley, H. V., Leffingwell, J. T., Spear, R. C.: Correlation of urinary pesticide metabolite excretion with estimated dermal contact in the course of occupational exposure to guthion. *J. of Toxicology and Environmental Health*, **7**, 715-731 (1981).
15. Moody, R. P., Franklin, C. A., Riedel, D., Muir, N. I., Greenhalgh, R. and Hladka, A.: A new GC on-column methylation procedure for analysis of DMTP(*O,O*-dimethyl phosphorothioate) in urine of workers exposed to fenitrothion. *J. Agr. Food Chem.*, **33(3)**, 464-467 (1985).
16. Nutley, B. P. and Cocker, J.: Biological monitoring of workers occupationally exposed to organophosphorus pesticides. *Pestic. Sci.*, **38**, 315-322 (1993).
17. Ali, F. A. F. and Fukuto, T. R.: Toxicity of *O,O,S*-trialkyl phosphorothioates to the rat. *J. Agr. Food Chem.*, **30**(1), 126-130 (1982).
18. Mahajna, M., Quistad, G. B. and Casida, J. E.: *S*-Methylation of *O,O*-dialkyl phosphorodithioic acids: *O,O,S*-trimethyl phosphorodithioate and phosphorodithiolate as metabolites of dimethoate in mice. *Chem. Res. Toxicol.*, **9**(7), 1202-1206 (1996).
19. He, F.: Biological monitoring of exposure to pesticides: current issues. *Toxicology Letters*, **108**, 277-283 (1999).
20. Moody, R. P. and Nadeau, B.: *In vitro* dermal absorption of pesticides: IV. *In vivo* and *in vitro* comparison with the organophosphorus insecticide diazinon in rat, guinea pig, human and tissue-cultured skin. *Toxic. in vitro*, **8**(6), 1213-1218 (1994).
21. Sanderson, W. T., Biagini, R., Tolos, W., Henningsen, G. and MacKenzie, B.: Biological monitoring of commercial pesticide applicators for urine metabolites of the herbicide alachlor. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **56**, 883-889 (1995).
22. Fenske, R. A., Schulter, C., Lu, C., Allen, E. H.: Incomplete removal of the pesticide Captan from skin by standard handwash exposure assessment procedures. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **61**, 194-201 (1998).
23. Griffin, P., Mason, H., Heywood, K. and Cocker, J.: Oral and dermal absorption of chlorpyrifos: a human volunteer study. *Occup. Environ. Med.*, **56**, 10-13 (1999).
24. 농약공업협회: 99'농약년보.농약공업협회(1999).
25. Tomlin, C.: The pesticide manual. 10th, Crop Protection Publications, U.K., 1994.
26. Marco, G. J., Simoneaux, B. J., Williams, S. C., Cassidy, J. E., Bissig, R. and Muecke, W.: Dermal exposure related to pesticide use. ACS, Washington, D. C., 43-61, 1985.