J. Fd Hyg. Safety 15(2), 137–143 (2000)

Flow-through fish test를 이용한 Phosphamidon과 Profenofos의 생물농축계수의 측정

민경진† · 차춘근 · 서 설*
*계명대학교 공중보건학과 · * 대구보건대학 임상병리과*

Determination of Bioconcentration Factor on Phosphamidon and Profenofos by Flow-through Fish Test

Kyung-Jin Min†, Chun-Geun Cha and Seol Seo*
Department of Public Health, Keimyung University, Taegu 704-701
** Department of Clinical Pathology, Taegu Health College, Taegu 702-260, Korea*

ABSTRACT – The present study was performed to investigate the bioconcentration of phosphamidon and profenofos. The BCFs(bioconcentration factors), depuration rate constants and LC_{50} for two pesticides in zebrafish(*Brachydanio rerio*) were measured by the flow-through system(OECD guideline 305). The results obtained are summarized as follows: The 24-hrs LC_{50}, 48-hrs LC_{50}, 72-hrs LC_{50} and 96-hrs LC_{50} were more than 100 mg/l for phosphamidon. The concentration of phosphamidon in zebrafish reached an equilibrium in 12 hrs at low and high concentrations(0.2 mg/l and 1 mg/l). The average BCF values of phosphamidon were less than 1 at low(0.96, n=7) and high concentrations (0.89, n=7) after 12~168 hrs. Depuration rate constants of phosphamidon were 0.18 hr^{-1} and 0.21 hr^{-1}, half-life of phosphamidon were 3.85 and 3.30 at low and high concentrations(0.2 mg/l and 1 mg/l), respectively. The concentrations of phosphamidon in zebrafish at low and high concentrations were rapidly decreased after 8(0.04 μg/g) and 12 hrs(0.07 μg/g). The 24-hrs LC_{50}, 48-hrs LC_{50}, 72-hrs LC_{50} and 96-hrs LC_{50} were 2.9, 2.6, 2.2 and 2.0 mg/l for profenofos. The concentration of profenofos in zebrafish reached an equilibrium in 12 hrs at five-hundredth and one-hundredth concentration of 96-hrs LC_{50}(0.004 mg/l and 0.02 mg/l). The average BCF values of profenofos were 141.9(n=7) and 111.3(n=7) at five-hundredth and one-hundredth concentration of 96-hrs LC_{50}(0.004 mg/l and 0.02 mg/l) after 12~168 hrs. Depuration rate constants of profenofos were 0.09 hr^{-1} and 0.10 hr^{-1}, half-life of profenofos were 7.70 and 6.93 at five-hundredth and one-hundredth concentration of 96-hrs LC_{50}(0.004 mg/l and 0.02 mg/l), respectively. The concentrations of profenofos in zebrafish at five-hundredth and one-hundreth concentration of 96-hrs LC_{50} decreased agter 8(0.18 μg/g) and 12 hrs (0.19 μg/g). The LC_{50} value in zebrafish showed that acute toxicity of profenofos was higher than that of phosphamidon. The BCF values of profenofos were 100 times higher than those of phosphamidon, and depuration rate of phosphamidon was two times faster than that of profenofos.

Key words □ Bioconcentration factor(BCF), Phosphamidon, Profenofos, Zebrafish(*brachydanio rerio*), Depuration rate constant

현재 사용되고 있는 대부분의 농약들은 유기합성화학물질로서 식량의 안정적 공급을 위한 그 유익성 못지 않게 인체 및 생태계에 미치는 독성과 잔류성이 커서 유해성을 지니고 있다.[1] 이로 인해 세계각국에서는 농약으로 인한 피해를 최소화하기 위해 농약사용에 대한 규제를 강화하고 환경생태계에 영향이 적은 안전한 농약을 개발하는데 노력을 기울이고 있다.[2] 특히 사용량이 증가하고 있는 유기인계와 카르바메이트계 농약들은 이전에 사용했던 유기염소계에 비해 잔류기간이 짧고 저독성임에도 불구하고 어독성이 비교적 강하여 단순한 환경오염문제 뿐만 아니라 먹이연쇄과정

†Author to whom correspondence should be addressed.

중의 중요한 중간과정인 어류의 독성에 큰 영향을 미칠 것으로 우려되고 있다.[3,4] 아울러 자연계에 유입된 농약은 여러지역의 수생생태계에도 영향을 미침으로서 그 결과로 생물농축현상을 일으키고 있음이 밝혀지고 있으며, 이들 농약의 생산량 증가로 인해 하천, 호소 및 지하수 오염의 심각성이 더해 가고 있다. 농약의 안전성 평가는 환경내에서 농약의 동태를 예측하는 물리·화학적 성질, 분해성 및 축적성에 대한 시험법과 환경생물의 독성 및 인체 독성에 관한 영향을 예측하는 독성학적 시험법으로 나누어 진다.[5] 국내에서는 농약의 환경내 동태와 관련된 안전성 평가시험은 생물농축성 시험법이 1998년에 처음으로 마련되었기 때문에,[6] 우리나라는 선진국에 비해 농약의 생물농축성에 대한 연구가 거의 미약하여 농약의 사전승인제도와 사전심사제도 등의 국제간 법적 규제에 해당하는 농약의 안전성 평가 자료가 매우 부족한 실정이다. 환경내 동태와 관련된 시험으로 생물농축성은 농약이 수계로 이동된 후 수생생태계에 영향을 미쳐 수생생물의 만성적인 독성을 유발할 가능성과 먹이연쇄를 통한 인체의 축적 가능성을 설명하는 지표로 이용되고 있다.[7-12]

최근 OECD에서는 생물농축성 실험방법(OECD guideline 305 A-E) 5가지를 하나의 방법인 flow through fish test (OECD guideline 305)로 통합하였으며 화학물질의 생물농축성을 평가하는 대표적인 방법으로 받아들여지고 있다.[13]

국내적으로 생물농축시험법은 1998년 12월 환경부에서 화학물질유해성시험연구기관의 지정등에 관한 규정에 의해 처음으로 생물농축성 시험방법을 마련하기에 이르렀다.[6] 이 시험법은 최근 통합된 OECD guideline 305의 생물농축성 실험방법과 비교할 때 실험어종면에서 OECD guideline은 8종을 추천어종으로 선정하고 있으며, 우리나라 시험법은 잉어(*Cyprinus carpio*, common carp)와 송사리(*Orizias latipes*, ricefish) 2종으로 제한하였다. 실험농도도 OECD guideline은 96시간 LC_{50}의 1/100농도(고농도)와 10배의 차이가 있는 저농도로 규정하고 있고 우리나라 시험법은 96시간 LC_{50}의 1/10농도(고농도)와 10배의 차이가 있는 저농도로 규정하고 있다. 두 시험법을 비교해 볼 때 국내적으로 시험어종을 두 종류로 제한한 점과 실험농도의 고농도 기준을 높게 설정함으로써 생물농축성 실험을 하는 도중 실험어종에 미칠 수 있는 영향을 고려하기에 어려운 점이 있을것으로 생각된다.

그러므로, 이 연구는 국내적으로 flow through fish test를 이용한 농약의 생물농축성 연구가 전무한 실정임을 감안할 때 국제적인 연구환경변화에 적극적으로 대처하기 위해 필요한 연구라 생각된다.

실험에 사용한 유기인계 농약은 식물의 잎 등을 통한 침투이행성 살충제로서, 국내에서 1995년 기준 350톤 이상 생산되어 사과의 진딧물과 소나무의 솔잎흑파리 제거용 살충제로 널리 이용되고 있는 phosphamidon과 다양한 과수와 작물의 진딧물제거용 살충제로서 소화중독효과 및 접촉독에 의한 살충효과를 나타내며 어독성 1급에 해당하는 profenofos를 선정하였다.[14]

이 연구는 두 가지 농약에 대하여 국제적으로 권장하고 있는 시험방법인 OECD guideline 305에 의해 생물농축계수를 측정하였으며, 국내적으로 flow-through fish test를 이용한 농약의 생물농축성 연구가 전무한 실정에서 두가지 농약의 생물농축성을 평가하는 자료로써 기대된다.

재료 및 방법

실험동물 및 재료

실험동물 – 실험동물은 OECD guideline 305[13]의 실험어종인 zebrafish(*Brachydanio rerio*)로 부화 후 90일 된, 길이 3.1±0.1 cm, 무게 0.3±0.1 g(wet weight)인 것을 시중에서 분양 받아 실험실 조건에서 1개월간 적응시킨 후 실험하였다. 실험온도는 사육과 실험 기간동안 23.5±1°C를 유지하고 시판사료는 Tetra사(독일)제품 Tetra Min을 공급하였다.

기기 및 시약 – 실험에 사용한 기기로는 gas chromatograph (Shimadzu, GC-14A), 회전증발농축기(Rikakikai, NE-IS), pH meter(TOA, HM-20S), 화학천칭(Chyo, JL-180) 및 그 외 실험실에서 사용하는 일반기기를 사용하였다. 사용된 시약으로는 anhydrous sodium sulfate는 Junsei사(일본), acetonitrile, ethyl ether 및 n-hexane은 Wako사(일본)에서 구입하여 사용하였다. 탈 이온수로는 MILLI-Q -PLUS (Millipore) 순수제조장치를 이용하여 실험시 제조하여 사용하였다. 고체상 추출(Solid- Phase Extraction) 방법에 쓰인 cartridge는 Waters사(미국)제품 Sep-Pak Plus (florisil)를 사용하였다.

실험농약 – 실험농약은 현재 국내에서 시판되는 유기인계 농약인 phosphamidon [2-chloro-2-diethyl carbamoyl-methyl vinyl dimethyl phosphate, 98%, (주)경농]과 profenofos [*O*-4-bromo-2- chlorophenyl *O*-ethyl S-propyl phosphorothioate, 98%, (주)경농]를 사용하였다.

실험방법

Phosphamidon과 profenofos의 급성어독성시험(LC_{50}) - 급성어독성시험의 실험조건은 OECD guideline 203에 따랐

다.[15] 실험용 수조는 각변이 25×25×25 cm인 정육면체 유리수조로 용량은 15 l였고, zebrafish 10마리를 1군으로 10 l 실험수를 채워 실험을 하였다. 예비실험을 통해 각 농약에 대한 적절한 농도(0.1, 1, 10, 100 mg/l)를 설정하였으며, 본실험에서는 100% 영향농도와 무영향농도 사이에 각 5개의 농도를 대수등간격으로 농약처리한 실험군과 대조군을 두어 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96시간에 걸쳐 사망한 개체를 관찰하였다. 개체의 사망은 물고기를 건드려서 움직이지 않는 상태로 정의하였으며, 사망한 개체는 즉시 제거하였다. LC_{50}값은 SAS/PC(Version 6.12)를 이용하여 log scale값의 농약농도와 probit scale의 사망개체수간의 회귀식으로부터 50% 치사 농도값을 구하였으며 회귀모델의 적정성을 검정하였다.

Phosphamidon과 profenofos의 생물농축성 시험 - 생물농축성 시험의 실험조건은 OECD guideline 305를 따랐다.[13] 즉 실험수는 수돗물을 활성탄으로 여과하여 염소를 제거한 물을 그대로 사용하였으며, 실험수의 수온은 23.5±1℃, pH는 7.5~7.6, 용존산소는 7.1~7.3 mg/l 였다. 먹이공급은 실험기간 동안 물고기 무게의 1%에 해당하는 양을 공급하였고 여분의 먹이와 배설물은 먹이공급 1시간 후에 매일 제거하였다. 광주기는 16시간 조명, 8시간 암조건을 유지하였다. 어류의 적응수조와 실험용 수조는 각변이 75×30×45 cm인 직육면체 유리수조로 용량은 100 l였고, 1회 실험시 zebrafish 20마리를 1군으로 사용하였으며, 두 가지 농도에서 같은 기간의 실험을 3회씩 반복하였다. 실험기간은 7일 동안으로, 실험농도는 phosphamidon의 경우 96시간 LC_{50} 농도가 100 mg/l이상으로 측정되어 이 농도를 기준으로 1/100농도(고농도)와 1/500농도(저농도)에서 실시하였고, profenofos의 경우는 OECD guideline 권고기준인 실험동물 LC_{50} 농도의 1/100농도(고농도)와 1/500농도(저농도)에서 실시하였다. 실험기간동안 일정한 농도를 유지하기 위해서 phosphamidon(100 mg/l, 20 mg/l)과 profenofos(2 mg/l, 0.4 mg/l)용액을 각각 조제한 후 여과된 수돗물로 mixing chamber에서 100배 희석하여 300 ml/min으로 실험용 수조로 공급하였다. 각 농약의 Bioconcentration factors(BCFS) 값은 6, 12, 24, 48, 72, 120, 144, 168시간 동안 실험 후 각각 측정하여 산출하였다.[7-9] 각 농약의 표준용액 조제와 검량선 작성 및 GC의 조건은 일본위생시험법 주해[16]와 PAM(Pesticide analytical manual)[17]에 따라 phosphamidon과 profenofos를 ethyl acetate 10 ml에 녹여 각각 1000 μg/ml 되게 stock solution을 조제한 후 각 단계별로 희석하여 0.5, 1, 5, 10 μg/ml가 되게 표준용액을 조제하였다. 조제된 각 농도별 표준용액을 1 μl씩 GC에 주입하여 peak 면적법에 의하여 검량선을 작성하였다. 각 농약의 측정을 위한 GC의 분석조건은 Table 1과 같다. Zebrafish에서 각 농약의 추출 및 정량은 일본위생시험법 주해[16]와 PAM (Pesticide analytical manual)[17]에 따랐다. 시료 약 5 g을 세절 마쇄한 후 acetonitrile 30 ml, 무수 Na_2SO_4 약 4 g을 넣어 고속으로 5분간 교반하고 부흐너 깔때기에 GF-A 여과지를 부착시킨 후 흡인여과기로 여과하였다. 여과판상의 잔사를 다시 비이커에 옮겨서 acetonitrile 30 ml를 가하여 혼화한 후 같은 방법으로 다시 여과하였다. n-hexane 20 ml를 넣은 분액여두에 acetonitrile 추출액을 가하여 1분간 세게 흔든 후 분리하여 acetonitrile층을 무수 Na_2SO_4 column (내경 20 mm, 높이 50 mm)을 통과시켜 탈수하였다. 다시 column을 acetonitrile 5 ml로 씻어내고 이것을 35℃에서 회전증발농축기로 약 0.5 ml되게 농축시킨 후 마지막 최종액은 질소가스를 불어 넣어 건조시켰다. 이 잔류물을 n-hexane 5 ml로 녹인 후 Sep-Pak(florisil)에 n-hexane 농축액 5 ml를 유입시켜 통과시키고 n-hexane 10 ml로 1회 세척 후 n-hexane : acetone(8 : 2) 20 ml를 5 ml/min으로 solid phase extraction을 행하였다. 이 액을 받아 농축시킨 후 마지막 최종액은 질소가스를 불어 넣어 건조시켰다. 농축잔류물을 ethyl acetate에 녹여 표준용액과 같은 방법으로 시료를 조제한 후 GC로 측정하고 검량선 범위내에서 정량한 후 μg/g으로 환산하였다. 실험수에서 농약의 추출 및 정량은 실험에 사용한 실험수 100 ml를 phosphamidon의 경우 dichloromethane 50 ml로, profenofos의 경우 n-hexane : ethyl ether(4 : 1) 50 ml로 2회 추출하고 추출액을 무수 Na_2SO_4 column(내경20 mm, 높이50 mm)을 통과시켜 탈수한 후 35℃에서 약 0.5 ml되게 농축시킨 후 마지막 최종액

Table 1. GC conditions for analysis of pesticides

Item	GC
Instrument	Shimadzu GC-14A
GC conditions	
Column	DB-17
	capillary
	30 m × 0.53 mm(I.D)
Temperature	Col.† 220, 240℃
	Inj.* 240, 250℃
	Det. 270℃
Carrier gas	N_2, 2 ml/min
Air	60 kPa
Hydrogen	60 kPa
Type of injection	Splitless
Injection volume	1 μl
Detector	FPD

†Column temp. : phosphamidon(220℃), profenofos(240℃)
* Injection temp. : phosphamidon(240℃), profenofos(250℃)

은 질소가스를 불어 넣어 건조시켰다. 농축잔류물을 ethyl acetate로 적당히 희석하여 검량선과 같은 방법으로 GC로 측정하였다. 각 농약의 회수율 측정은 zebrafish(약 5 g) 및 시료 실험수 100 ml에 phosphamidon과 profenofos 10 μg/ml 표준용액을 각각 0.5 ml씩 첨가하여 전술한 실험방법에 따라 각각의 함량을 구하였으며 이로부터 회수율을 계산하였다. 농약의 배설속도상수(depuration rate constant)의 측정은 민등외 방법[18-20]에 따랐다.

결과 및 고찰

농약의 회수율 시험 결과

Zebrafish와 실험수의 시료에서 각 농약의 회수율은 Table 2와 같다. 회수율은 zebrafish에서 88.1~88.8%, 실험수에서는 97.4~99.2%로 BCF를 구하기 위한 각 농약의 함량을 정량하는데는 충분하다고 판단되었다. 또한 5 g의 어류조직별 시료와 실험수 시료 100 ml의 본 분석법에 의한 농약별 검출한계는 0.01 및 0.001 ppm 범위였다.

농약의 급성어독성(LC_{50})시험 결과

Phosphamidon과 profenofos의 24, 48, 72, 96시간 LC_{50} 값은 Table 3과 같다. Phosphamidon의 경우는 96시간에 걸쳐 예비 급성어독성 실험을 한 결과 100 mg/l의 농도와 대조군 모두에서 사망한 개체는 없었으며, 이 결과로 phosphamidon의 96시간 LC_{50}값을 100 mg/l 이상으로 간주하였다. Profenofos의 경우 24, 48, 72 및 96시간 LC_{50}값은 각각 2.9, 2.6, 2.2, 2.0 mg/l로 측정되었다.

Phosphamidon의 BCF와 배설속도상수

Phosphamidon의 96시간 LC_{50} 농도가 100 mg/l이상으로 측정되어 이 농도를 기준으로 1/100농도(고농도)와 1/500농도(저농도)에서 생물농축실험을 하였다. Phosphamidon 1 mg/l(고농도)와 0.2 mg/l(저농도)에서 6, 12, 24, 48, 72, 120, 144 및 168시간 실험의 어류체내 농축정도 및 실험수의 농도와 BCF의 성적은 각각 Table 4 및 5와 같다.

Table 2. Recovery rates and detection limits of pesticides in fish and test water (mean±S.E.)

Pesticide	Spiked level fish/test water (ppm)	Detection limit fish/test water (ppm)	Zebrafish (%)	Test water (%)
Phosphamidon	1.25 / 0.05	0.01 /0.001	88.1±1.5	97.4±1.1
Profenofos	1.25/ 0.05	0.01/0.001	88.8±1.6	99.2±1.4

Table 3. Acute toxicity of phosphamidon and profenofos to zebrafish

Pesticides	LC_{50}(mg/l)			
	24h	48h	72h	96h
Phosphamidon	> 100	> 100	> 100	> 100
Profenofos	2.9	2.6	2.2	2.0

Table 4. Concentration of phosphamidon(high concentration) in zebrafish, test water and calculated BCFs (mean±S.E.)

Hours	Fish(μg/g)	Test water (μg/ml	BCF_S*
6	0.41±0.01	0.97±0.01	0.42±0.01
12	0.90±0.01	1.01±0.01	0.89±0.01
24	0.89±0.01	0.98±0.01	0.91±0.01
48	0.89±0.01	0.99±0.01	0.90±0.01
72	0.91±0.01	1.02±0.01	0.89±0.01
120	0.86±0.01	0.97±0.01	0.89±0.02
144	0.84±0.01	0.96±0.01	0.88±0.02
168	0.86±0.01	0.98±0.01	0.88±0.01

* BCF_S indicate 6, 12, 24, 48, 72, 120, 144, 168-hour bioconcentration factor.
Test concentration : 1 μg/ml
No chemicals were found in control fish group.
Each value represents mean ± S.E. of 3 experiments.

Table 5. Concentration of phosphamidon(low concentration) in zebrafish, test water and calculated BCFs (mean±S.E.)

Hours	Fish(μg/g)	Test water (μg/ml)	BCF_S*
6	0.10±0.01	0.20±0.01	0.50±0.02
12	0.18±0.01	0.19±0.01	0.95±0.02
24	0.21±0.01	0.21±0.01	1.00±0.01
48	0.19±0.01	0.19±0.01	1.00±0.01
72	0.17±0.01	0.18±0.01	0.94±0.01
120	0.18±0.01	0.19±0.01	0.95±0.01
144	0.18±0.01	0.19±0.01	0.95±0.02
168	0.19±0.01	0.20±0.01	0.95±0.02

* BCF_S indicate 6, 12, 24, 48, 72, 120, 144, 168-hour bioconcentration factor.
Test concentration : 0.2 mg/ml
No chemicals were found in control fish group.
Each value represents mean ± S.E. of 3 experiments.

어류 체내에서의 농축정도와 BCF값은 두 농도군에서 각각 12시간 이후에 정류상태에 도달하여 168시간동안 거의 일정하였다(Fig. 1(A), Fig. 2(A)). 12시간에서 168시간 사이의 BCF값은 고농도(0.89, n=7)와 저농도(0.96, n=7) 모두 1미만으로 낮게 나타났다.

Zebrafish 체내에서 phosphamidon의 배설속도상수를 구하기 위하여 2, 4, 8, 12시간의 배설 실험 결과는 각각 Fig. 1(B) 및 Fig. 2(B)와 같다. Phosphamidon의 배설속도상수는 고농도와 저농도에서 각각 0.21 h^{-1}과 0.18 h^{-1}였고, 반감기는 각각 3.30 및 3.85시간으로 측정되었다. 어류체내에서 phosphamidon의 농도는 고농도와 저농도 실험에서

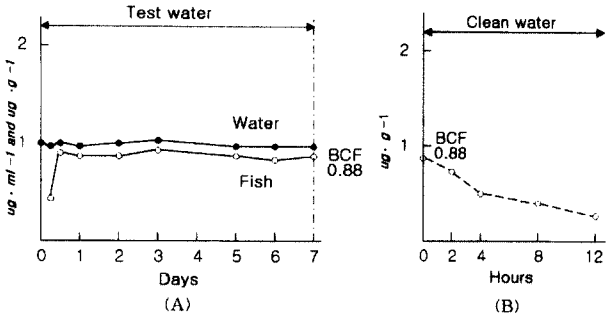

Fig. 1. Intake(A) and depuration(B) of phosphamidon(high concentration) by zebrafish

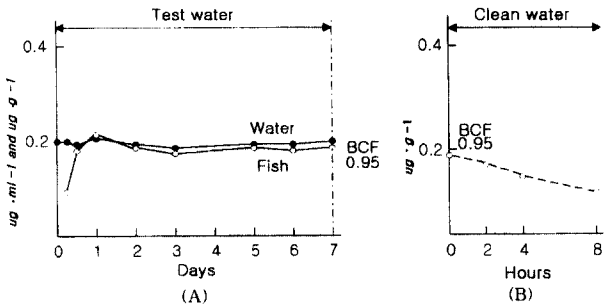

Fig. 2. Intake(A) and depuration(B) of phosphamidon(low concentration) by zebrafish.

각각 12시간 및 8시간 이후에는 체중 g당 0.07 및 0.04 μg이하로 떨어져 대부분 배설된다는 것을 알 수 있었다.

Profenofos의 BCF와 배설속도상수

Profenofos의 생물농축성 실험은 OECD guideline 권고기준인 실험동물 LC_{50} 농도의 1/100농도(고농도)와 1/500농도(저농도)에서 실시하였다. Profenofos 0.02 mg/l(고농도)와

Table 6. Concentration of profenofos(high concentration) in zebrafish, test water and calculated BCF_S (mean ± S.E.)

Hours	Fish(μg/g)	Test water (μg/ml)	BCF_S*
6	0.731 ± 0.001	0.021 ± 0.003	34.81 ± 4.29
12	2.467 ± 0.002	0.020 ± 0.002	123.35 ± 9.44
24	2.551 ± 0.015	0.020 ± 0.002	127.55 ± 9.62
48	2.379 ± 0.003	0.020 ± 0.002	117.23 ± 9.45
72	2.294 ± 0.003	0.022 ± 0.002	104.95 ± 7.25
120	2.248 ± 0.015	0.022 ± 0.002	102.67 ± 8.94
144	2.137 ± 0.004	0.021 ± 0.002	101.76 ± 8.36
168	2.131 ± 0.005	0.021 ± 0.002	101.48 ± 6.96

*BCF_S indicate 6, 12, 24, 48, 72, 120, 144, 168-hour bioconcentration factor.
Test concentration : 1/100 of 96 hr LC_{50} (0.02 μg/ml)
No chemicals were found in control fish group.
Each value represents mean ± S.E. of 3 experiments.

Table 7. Concentration of profenofos(low concentration) in zebrafish, test water and calculated BCF_S (mean ± S.E.)

Hours	Fish(μg/g)	Test water(μg/ml)	BCF_S*
6	0.1887 ± 0.0012	0.0040 ± 0.0001	47.17 ± 0.53
12	0.5840 ± 0.0023	0.0039 ± 0.0001	149.74 ± 1.83
24	0.6498 ± 0.0024	0.0041 ± 0.0001	158.48 ± 5.35
48	0.5459 ± 0.0021	0.0038 ± 0.0001	143.65 ± 4.95
72	0.5300 ± 0.0031	0.0039 ± 0.0001	135.89 ± 1.81
120	0.5216 ± 0.0031	0.0038 ± 0.0001	137.25 ± 1.79
144	0.5355 ± 0.0029	0.0040 ± 0.0001	133.87 ± 2.47
168	0.5237 ± 0.0023	0.0039 ± 0.0001	134.29 ± 1.72

*BCF_S indicate 6, 12, 24, 48, 72, 120, 144, 168-hour bioconcentration factor.
Test concentration : 1/500 of 96 hr LC_{50} (0.004 μg/ml)
No chemicals were found in control fish group.
Each value represents mean ± S.E. of 3 experiments.

0.004 mg/l(저농도)에서 6, 12, 24, 48, 72, 120, 144 및 168시간 실험의 어류체내 농축정도 및 실험수의 농도와 BCF 성적은 Table 6 및 7과 같다.

어류 체내에서의 농축정도와 BCF값은 phosphamidon과 마찬가지로 12시간 이후에 정류상태에 도달하여 168시간동안 거의 일정하였다(Fig. 3(A), Fig. 4(A)). BCF값은 12시간에서 168시간 사이에 고농도와 저농도에서 각각 111.3 (n=7)과 141.9(n=7)로 측정되었다.

Zebrafish 체내에서 Profenofos의 배설속도상수를 구하기 위하여 2, 4, 8, 12시간의 배설 실험 결과는 Fig. 3(B) 및

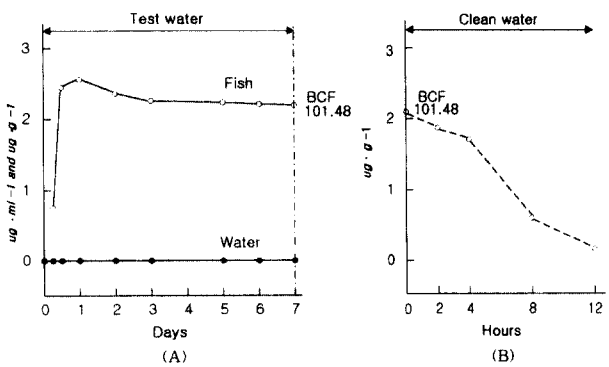

Fig. 3. Intake(A) and depuration(B) of profenofos(high concentration) by zebrafish.

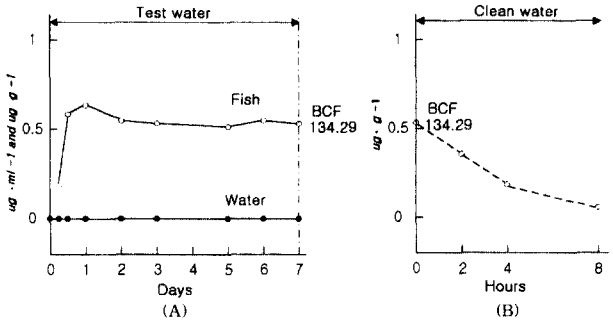

Fig. 4. Intake(A) and depuration(B) of profenofos(low concentration) by zebrafish.

Fig. 4(B)와 같다. Profenofos의 배설속도상수는 고농도와 저농도에서 각각 0.10 h^{-1}과 0.09 h^{-1}이었고, 반감기는 각각 6.93 및 7.70시간으로 측정되었다. 어류체내에서 profenofos의 농도는 고농도와 저농도에서 각각 12시간 및 8시간 이후에는 체중 g당 0.19 μg 및 0.18 μg이하로 떨어짐을 알 수 있었다.

이상의 결과에서 phosphamidon과 profenofos는 zebrafish 체내에 두 가지 농도(고농도와 저농도)에서 모두 12시간 이내에 정류상태에 도달하여 더 이상의 축적이 일어나지 않았다. Phosphamidon과 profenofos의 BCF값은 profenofos가 phosphamidon보다 약 100배 정도 높게 나타났으며, 농약의 배설속도는 phosphamidon이 profenofos보다 약 2배 정도 빨랐다.

이 실험에서 phosphamidon과 profenofos는 일반적으로 생체 내 지질친화성의 척도로 알려진 분배계수(logPow)가 각각 0.80과 1.7[21-23]로서 Kanazawa[24]가 제안한 logBCF에 대한 logPow의 회귀식이 logBCF=(1.53 logPow)-3.303으로 이 식을 사용하여 logPow로부터 logBCF를 예측하면 phosphamidon과 profenofos는 각각 -2.1과 -0.7이 된다. 또한 생체내 침투성의 척도로 알려진 수용성(logSw)과 BCF와의 상관성을 살펴 볼 때 phosphamidon과 profenofos의 수용성은 각각 9와 4.5[21-23]로서 Kanazawa[24]가 제안한 logBCF에 대한 logSw의 회귀식이 logBCF=4.68-(0.59 logSw)로서 logBCF를 예측하면 phosphamidon과 profenofos는 각각 -0.63과 2.0이 된다. 따라서, phosphamidon과 profenofos의 BCF를 분배계수로 추정하기 보다는 수용성 정도로 추정하는 것이 더 좋을 것으로 생각된다. 또한, phosphamidon의 BCF가 낮은 이유는 배설속도가 빠르고 수용성이 커서 분배계수가 작기 때문이며, 실제 환경중에서도 생물농축성이 낮을것으로 생각된다. Profenofos는 phosphamidon에 비해 배설속도가 느리고, 수용성이 낮고, 분배계수가 커서 BCF가 phosphamidon보다 매우 높은 것을 알 수 있다.

국문요약

Zebrafish(*Brachydanio rerio*)를 실험어류로 하여 phosphamidon과 profenofos의 생물농축계수(bioconcentration factor: BCF)와 배설속도상수(depuration rate constant) 및 LC_{50}를 측정하였다. Phosphamidon의 24, 48, 72, 96시간 LC_{50}는 모두 100 mg/l이상으로 측정되었다. Phosphamidon 1 mg/l(고농도)와 0.2 mg/l(저농도)에서 어류 체내에서의 농축정도는 두 농도군에서 각각 12시간 이후에 정류상태에 도달하여 168시간동안 거의 일정하였고, BCF값도 12시간에서 168시간 사이에 고농도(0.89, n=7)와 저농도(0.96, n=7) 모두 1미만으로 낮게 나타났다. Phosphamidon의 배설속도상수는 고농도와 저농도에서 각각 0.21 h^{-1}과 0.18 h^{-1}이었고, 반감기는 각각 3.30 및 3.85시간으로 측정되었다. 고농도와 저농도에서 각각 12시간 및 8시간 이후에는 g당 0.07 및 0.04 μg이하로 떨어져 대부분 배설된다는 것을 알 수 있었다. Profenofos의 24, 48, 72, 96시간 LC_{50}는 각각 2.9, 2.6, 2.2, 2.0 mg/l로 측정되었다. Profenofos의 96시간 LC_{50} 농도의 1/100농도(0.02 mg/l)와 1/500농도(0.004 mg/l)에서 어류체내에서의 농축정도는 phosphamidon과 마찬가지로 12시간 이후에 정류상태에 도달하여 168시간동안 거의 일정하였고, BCF값은 12시간에서 168시간 사이에 96시간 LC_{50} 농도의 1/100농도와 1/500농도에서 각각 111.3(n=7)과 141.9(n=7)로 측정되었다. Profenofos의 배설속도상수는 96시간 LC_{50} 농도의 1/100농도와 1/500농도에서 각각 0.10 h^{-1}과 0.09 h^{-1}이었고, 반감기는 각각 6.93 및 7.70시간으로 측정되었다. 각각의 농도에서 12시간 및 8시간 이후에는 g당 0.19 μg 및 0.18 μg이하로 떨어짐을 알 수 있었다. Phosphamidon과 profenofos의 급성어독성은 profenofos가 높았고, BCF값은 profenofos가 phosphamidon보다 약 100배 정도 높게 나타났으며, 배설속도는 phosphamidon이 profenofos보다 약 2배 정도 빨랐다.

참고문헌

1. 정영호, 박영선: 농약학. 전국농업기술자협회, 선문사 (1990).
2. Caspers, N. and Sch rman, G.: Bioaccumalation in Aquatic System. VCH, USA, 81-98 (1991).
3. Pereira, W. E. and Hostettler, F. D.: Nonpoint source contamination of the Mississippi river and its tributaries by herbicides. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 1542 (1993).
4.. Burkart, M. R. and Kolpin, D. W.: Hydrologic and land-use factor associated with herbicides and nitrate in near-surface aquifers. *J. Environ. Qual.*, **22**, 646 (1993).
5. 김용화, 김균: 화학물질의 환경화학적 시험과 환경독성학적 평가. 화학과 공업의 진보, **30**, 244-255 (1990).
6. 환경부(1998): 화학물질의 유해성 심사 등에 관한 규정, 국립환경연구원고시 제 1998-34호, 환경부.
7. Korte, F., Freitag, D., Geyer, H., Viswanathan, R., Kotzias, D., Attar, A. and Klein, W.: Ecotoxicological profile analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **6**, 60 (1982).
8. Oliver, B.G. and Niimi, A. J.: Bioconcentration of chlorobenzene from water by rainbow trout., Correlations with partition coefficients and environmental residues, *Environ. Sci. Technol.*, **17**, 287-291 (1983).
9. Jorgensen, S. E.: Modelling in ecotoxicology, Elsevier, Netherlands, pp. 69-79 (1990).
10. Barron, M. G.: Bioaccumulation and Bioconcentration in Aquatic Organism, CRC Inc., Baca Raton, 652-666 (1995).
11. van Leeuwen, C. J. and Hermens, J. L. M.: Risk assessment of chemicals, KAP, Netherlands, pp. 1-17 (1995).
12. Linthurst, R. A.: Methods to assess the effects of chemicals on ecosystems, John Willy & Sons, New York (1995).
13. OECD: OECD Guideline for the testing of chemicals 305 bioconcentration: flow-through fish test, Paris adopted by the council on 14th June (1996).
14. 농약공업협회: 99 ' 농약사용지침서. 농약공업협회 (1999).
15. OECD: OECD Guidelines for the testing of chemicals 203 fish, acute toxicity test, Paris adopted by the council on 17th July (1992).
16. 일본약학회편: 위생시험법주해. 금원출판사 (1986).
17. PAM: Pesticide analytical manual, USFDA (1991).
18. 민경진, 전봉식, 차춘근, 김근배, 조영주: *Brachydanio rerio*와 *Xiphophorus hellieri*를 이용한 Dichlorvos, Methidathion및 Phosalone의 단기간 생물농축계수의 측정. 한국환경위생학회 지, **24**, 99 (1998).
19. 민경진, 전봉식, 차춘근, 조영주, 송진욱: *Brachydanio rerio*와 *Xiphophorus hellieri*를 이용한 γ-BHC와 Chlorothalonil의 단기간 생물농축계수의 측정. 한국환경위생학회 지, **24**, 124 (1998).
20. 민경진, 전봉식, 차춘근, 김근배, 조영주, 송진욱: *Brachydanio rerio*와 *Xiphophorus hellieri*를 이용한 BPMC, Carbaryl 및 Carbofuran의 단기간 생물농축계수의 측정. 한국식품위생안전성학회지, **13**, 213 (1998).
21. Montgomery, J. H.: Agrochemicals Desk Reference Environmental Data. LEWIS Publishers, USA (1993).
22. Montgomery, J. H.: Groundwater Chemicals. 2th ed., CRC, Inc. USA (1996).
23. Tomlin, C.: The Pesticide Manual. 10th ed., British crop protection council, (1995).
24. Kanazawa, J.: Measurement of the bioconcentration factors of pesticides by freshwater fish and their correlation with physicochemical properties or acute toxicities. *Pestic. Sci.*, **12**, 417 (1981).