

양식어류 근육 내 말라카이트그린 잔류성 연구

김진우 · 송상현¹ · 이주석² · 최혜승³ · 지보영국립수산과학원 병리연구팀,¹(주) 워터스
²내수면양식연구소, ³양식환경연구소

서론

말라카이트그린 (MG)은 주로 송어나 향어 등 담수어류 양식장에서 수정란에 감염되는 수생균과 치어의 체외 기생충의 치료제로써 사용되어 왔다 (Alderman, 1985). MG가 수생균에 탁월한 치료효과를 나타내고 경제적인 이유 때문에 일반 양식 어가에서 널리 사용하여 왔으나 최근에는 인체 유해 의심물질로 인지됨에 따라 세계 각국에서 이의 사용을 제한하거나 금지하고 있다. 국내에서는 2005년도 무지개송어를 비롯한 담수어류에서 MG가 검출되어 사회적으로 커다란 파장을 일으킨 바 있다. MG 잔류성에 대한 연구는 차넬 메기, 무지개송어, golden orfe, 잉어, 연어류 등 대부분 담수어류를 중심으로 이루어졌고 (Poe and Wilson, 1983; Kietzmann *et al.*, 1990; Alderman and Clifton-Hadley, 1993; Bergwerff and Scherpenisse, 2003), 이들 연구 결과를 통해 노출된 MG는 어류체내에서 약 70% 이상이 루코말라카이트그린 (LMG) 형으로 전환되어 잔류함의 밝혀졌다. 본 연구에서는 국내에서 사용 금지된 MG가 양식어류 체내에서 어떠한 잔류패턴을 나타내는 지에 관하여 기초 연구 자료를 제공하고자 몇몇 양식어류에 MG를 인위적으로 노출시킨 후 근육 내 잔류 형태를 조사하였다.

재료 및 방법

MG의 노출은 실험당시의 사육여건 (수온) 고려하여 농도와 시간을 다르게 실시하였는데, 넙치 (평균 286 g, 13±1℃)는 3ppm에서 20분, 조피볼락 (평균 51.6 g, 10±1℃)은 1.6 ppm에서 10분, 송어 (평균 837 g, 13±1℃), 향어 (평균 1264 g, 13±1℃), 뱀장어 (평균 208 g, 24±1℃)는 1.6 ppm에서 40분씩 각각 노출을 시켰다. 시료의 채집은 일정 시간 경과별로 2마리씩 무작위로 실시하여 분석 전까지 -80℃에 보관하였다. MG의 분석은 시료 근육 5 g을 취하여 5 ml Ammonium acetate buffer (0.05M, pH 4.5), 0.5ml HA용액 (25%), 0.5 ml p-TSA 용액 (1M)에 1시간 침지한 후 20 ml 아세토나이트릴 (ACN)을 첨가하여 10,000 rpm으로 1분간 3회 반복 마쇄하고 10℃, 4,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 상층을 취하였다. 이 상층 물에 20 ml ACN을 첨가하여

10℃, 4,000 rpm으로 10분간 원심 분리한 후 Dichloromethane 30 ml 첨가하여 shaking시켰다. 이 후 10℃, 4,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 유기 용매 층을 취한 후 50℃에서 감압농축을 실시하고 여기에 ACN 2 ml 첨가하여 sonication으로 녹인 후 0.5 µm필터 (PTFE) 여과시켜 HPLC로 분석하였다.

결과 및 요약

MG를 3 ppm농도로 20분 동안 노출시킨 넙치 (평균 286 g)와 1.6 ppm농도로 10분 동안 노출시킨 조피볼락 (평균 51.6 g)은 근육에서 환수 후 160분째와 0분째 0.2757 ppm/g 및 0.0325 ppm/g으로 최대 검출치를 나타내었으며 이 후 시간 경과와 더불어 감소하기 시작하여 환수 후 40일째 0.05036 ppm/g 및 0.00718 ppm/g의 검출치를 보였다. 노출된 MG는 넙치에서 환수 후 1일 제부터 90% 이상, 조피볼락에서는 환수 후 20일째부터 50% 이상의 루코말라카이트그린 (LMG)형으로 검출되었다. MG를 1.6 ppm농도로 40분 동안 노출시킨 송어 (평균 286 g)와 향어 (평균 1264 g)는 근육에서 환수 후 100분 짜 1.58917 ppm/g 및 0.46168 ppm/g으로 최대 검출치를 나타내었으며 이 후 시간 경과와 더불어 감소하기 시작하여 환수 후 40일째 0.20568 ppm/g 및 0.1664 ppm/g의 검출치를 보였다. 노출된 MG는 송어와 향어에서 환수 직후 72.4% 및 86.1, 환수 후 100분 짜 65.8% 및 65.1%, 환수 후 1일 짜 84.4% 및 73.7%, 환수 후 6일 짜 95.7% 및 93.1%, 환수 후 20일 짜 98.7% 및 98.3% 그리고 환수 후 40일 짜 99.1% 및 100%의 LMG형으로 검출되었다. MG를 1.6 ppm농도로 40분 동안 노출시킨 뱀장어(평균 208 g)는 근육에서 환수 후 1일 짜 0.64302 ppm/g으로 최대 검출치를 나타내었으며 이 후 시간 경과와 더불어 감소하기 시작하여 환수 후 40일째 0.18132 ppm/g의 검출치를 보였다. 노출된 MG는 환수 직후 36.2%, 환수 후 100분 짜 43.8%, 환수 후 1일 짜 53.1%, 환수 후 6일 짜 89.9% 그리고 환수 후 20일째부터는 98% 이상의 LMG형으로 검출되었다.

이상으로부터 수온이 낮으면 근육 내 LMG로 전환되는 기간이 길어지며 그 양도 작아지고, 수온이 높으면 근육 내 MG 최대치에 이르는 시간이 길어지며 MG 검출량이 적수온에서 보다 높음을 알 수 있었다. 또한 무지개송어는 수온 13℃전후에서 MG 노출 1일 후부터 90%이상이 LMG로 잔류함을 알 수 있었다.

참고문헌

- Alderman, D. J. 1985. Malachite green: a review. J. Fish Dis., 8, 289-298.
- Alderman, D. J. and R. S. Clifton-Hadley. 1993. Malachite green: a pharmacokinetic study in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*(Walbaum). J. Fish Dis., 16, 297-311.
- Bergwerff, A. A. and Scherpenisse, P. 2003. Determination of residues of malachite green in aquatic animals. J. Chrom. B., 788, 351-359.
- Kietzmann, M., H. -J. Hapke, M. Beeke and S. Stehle. 1990. Problematik der

- Malachitgrun-Anwendung beim Fisch. 1990. Deutsche Tierarztliche Wochenschrift. 97, 290-293.
- Poe, W. E. and R. P. Wilson. 1983. Absorption of malachite green by channel catfish. Progressive Fish-Culturist, 45, 228-229.