

Oxytetracycline과 Tetracycline의 약육에 따른 양식 어류 (넙치, 조피볼락, 참돔)의 조직 내 잔류량의 변화

김 석 · 정희식* · 강석중** · 하지영 · 정원철 · 허성혁 · 신용운 · 김경원 · 김대근 · 이후장†
경상대학교 수의과대학 동물의학연구소, *경상남도 축산과, **경상대학교 해양생물이용학부

Tissue Distribution after dipping administration of Oxytetracycline and Tetracycline in Olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), Rockfish (*Sebastes schlegeli*), and Red sea bream (*Pagrus major*)

Suk Kim, Hee Sik Chung*, Seok Joong Kang**, Ji Young Ha, Won Chul Jung, Sung Hyek Heo, Yong Woon Shin, Kyoung Won Kim, Dae Geun Kim and Hu Jang Lee†

Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea

*Livestock Division, Gyeongnam Provincial Government, Changwon, 641-702, Korea

**Division of Marine Bioscience, Gyeongsang National University, Tongyeong, 650-160, Korea

Tissue distribution and residue depletion of oxytetracycline (OTC) and tetracycline (TC) following dipping administration were evaluated in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), rockfish (*Sebastes schlegeli*), and red sea bream (*Pagrus major*) under field conditions. Fishes were held in floating cages placed in sea water and fed a commercial diet for 15 days to acclimate to a new surrounding. Fishes were dipped in OTC 50 g/ton water for 30 min and TC 18 g/ton water for 5 hours. Blood and muscle were sampled from fishes on 0th, 1th, 2th, 3th, and 5th day after administration. After solid-phase extraction, OTC and TC analyses were carried out by HPLC. The recovery rate of OTC in serum and muscle samples was 71-77% and 78-84%, respectively. Also, the recovery rate of TC in serum and muscle samples was 70-79% and 73-78%, respectively. The results of recovery rate were similar to previous studies reported.

At the termination of dipping administration of OTC and TC, residue concentration in muscle samples of rockfish was significantly higher than those of olive flounder and red sea bream. At day 5, residue concentrations of all samples were believed to decrease to lower than 0.05 mg/kg, the detection limit.

The present study showed that residue concentrations of OTC and TC decreased to below 0.05 mg/kg after treatment 5th day, faster than the established withdrawal period. The tissue residue depletion time of dipping administration of OTC and TC seems to be shorter than those of oral or parenteral administration.

Key words: Oxytetracycline, Tetracycline, Olive flounder, Rockfish, Red sea bream.

산업의 발달과 더불어 식생활 문화와 소비문화가 변화하면서, 수산식품 및 활어에 대한 소비가 급증하고 있다. 해양수산부 통계연보에 따르면, 2004년 우리나라에 수입된 수산물은 1999년

에 비하여 2배 정도 (약 23억 달러)가 증가하였으며, 이 중 활어의 수입은 6만 4천 톤으로 지난 5년 전과 비교하여 약 2.5배 증가한 것으로 나타났다 (해양수산부, 2005). 이와 같이 수산식품

†Corresponding Author : Hu Jang Lee, Tel : 055-751-6642,
Fax : 055- 751-5803, E-mail : hujang@gnu.ac.kr

에 대한 소비의 증가와 더불어, 국민들의 보다 위생적이고 안전한 식품에 대한 요구도 증가하고 있다.

최근, 국내산 및 수입산 활어에 있어서 항생제 및 오염물질의 검출로 인해 수산식품에 대한 안전성이 위협받고 있다. 일본에 수출한 양식넙치의 항생제 잔류로 인한 전량반품, 중국산 수입 활잉어에서 oxytetracycline (OTC) 과량검출로 전량 반송, 제주산 병든 활넙치에서 과량의 OTC 검출, 중국산 수입 어류 및 국내산 일부 양식 어류로부터 발암성 물질인 말라카이트그린의 검출, 그리고 백화점 등에서 판매되는 축·수산식품 중에서 항생제 내성 식중독균의 검출 (식품의약품안전청, 2005) 등으로 인해 항생물질을 포함한 오염물질 등의 잔류로 축·수산식품에 대한 안전성이 문제가 되면서, 소비가 위축되고 있는 실정이다.

우리나라뿐만 아니라 대부분의 선진 외국에서는 축·수산식품에 대하여, 사용하는 동물용 의약품에 대한 안전휴약기간과 잔류허용기준을 설정하고 운영하고 있으며, 국가잔류계획을 수립하여 전국을 대상으로 잔류조사를 실시하고 있다. 어류에 있어서는, 그 동안 항생물질 잔류 검사를 OTC에 대해서만 실시하였으나, 2000년 3월 이후부터는 florfenicol, flumequine, oxolinic acid 등, 주로 사용되고 있는 항생물질들에 대해서도 잔류검사를 실시하고 있다. 그러나 인력 및 장비 등의 부족으로 인해 급증하고 있는 시료들에 대한 완전한 검사가 이루어지고 있지 못한 실정이다.

현재, 우리나라에서는 약 30여 종의 항생·항균 물질이 수산양식용으로 시판되고 있으며, 이 중 tetracycline계 항생제인 OTC가 가장 많이 사용되고 있다 (국립수의과학검역원, 2005). OTC는 테트라사이클린계 항생제 중에서 가장 광범위한 항균 범위를 나타내며, 어류의 비브리오증, 연쇄상구균증 및 아가미부식증과 같은 세균성 질병의 치료에 사용되고 있다. 또한, 테트라사이클린계 항생제인 tetracycline (TC)은 비브리오병,

절창병, 지느러미병 및 에로모나스병과 같은 어류의 질병 치료에 사용되고 있다 (이 등, 1996).

한편, 수산용 항생물질은 양식과정에서 어류 질병의 예방 또는 치료 등을 목적으로 광범위하게 사용됨으로서, 오·남용으로 인한 약물의 잔류, 내성균의 증가, 숙주 동물의 생리적 부작용 등의 부작용을 초래하고 있다 (정 등, 2004).

최근, 어류에 사용하는 기존 항생제의 잔류에 대한 많은 연구가 진행되었다. 어류에 사용되는 항생·항균물질의 어류질병에 대한 치료효과 (전세규, 1992; 허강준, 1994; 허강준, 1994a), 질병에 대한 감수성 (허정호, 2002; 손광태, 2005), 그리고 항생·항균물질에 대한 내성 (전세규, 1983; 유민호, 2002) 등에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으나, 어류에 있어서 OTC와 TC에 대한 잔류연구는 주로 사료를 통한 경구투여 시 조직 내 잔류를 분석한 연구가 주종을 이루고 있다 (Brocklebank *et. al.*, 1997; Luzzana *et. al.*, 1994; 정 등, 1998). 어류에 사용하는 항생제의 투여경로는 사료뿐만 아니라 주사, 약욕 등 다양한 경로를 취하고 있어 각각의 투여경로에 대한 어체 내 분포 및 잔류에 대한 연구는 매우 중요하다. 특히, 양식장에서 일반적으로 사용되고 있는 약욕을 통한 투여에 대한 잔류 연구는 미미한 실정이다.

따라서, 어류 양식에 있어서 항생제의 사용이 증가하므로써 어체 내 잔류 및 내성균의 출현에 따른 국민보건 상 안전성 확보가 시급한 실정인 만큼, 양식어류에 대한 항생제의 약욕을 통한 투여에 따른 체내의 약물의 분포 및 잔류 등에 대한 연구가 절실히 요구되고 있다.

본 연구에서는 어류에 가장 광범위하게 사용되고 있는 OTC와 TC를 약욕을 통해 양식어류 (넙치, 조피볼락, 참돔)에 투여하여 이들 약제의 조직 내 잔류분포를 조사함으로써, 약제의 효율적인 사용을 통한 잔류 및 내성균의 출현을 방지할 목적으로 수행하였다.

재료 및 방법

시약 및 시료 추출용액

본 연구에서 사용된 항생제의 표준품 OTC 및 TC는 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)를 사용하였으며, 기타의 시약은 분석용으로 구입하여 실험에 사용하였다. 항생제 추출 용액은 아래와 같이 조제하여 사용하였다.

- ① MacIlvaine Buffer - 0.1 M Citric acid 용액 1 L에 0.1 M phosphate 용액 625 ml을 넣어 제조한다 (pH 4.0 ± 0.05).
- ② MacIlvaine 용액 - 1.625 L MacIlvaine buffer에 0.1 M EDTA 용액을 넣어 제조한다.
- ③ 용출 용액 - 1 L 정량 flask에 0.01 M oxalic acid를 넣고 methanol로 1 L가 되도록 채워 용해한다.
- ④ MOX 용액 - 100 ml 정량 flask에 1.50 g oxalic acid를 넣고, methanol로 100 ml가 되도록 채워 용해시킨다.
- ⑤ 희석 용액 - 100 ml MOX 용액에 100 ml 증류수를 가하여 조제한다.

약물투여 및 시료의 채취

실험어는 경상남도 통영 소재 양어장에서 육성 중인 평균 체중 350 ± 30 g 넙치, *P. olivaceus*, 450 ± 45 g 조피볼락, *Sebastes schlegeli*, 430 ± 55 g 참돔, *Pagrus major*를 분양 받아 25°C로 조절된 순환여과식 수조에 수용하여, 절식하면서 15일간 순치시킨 후 실험에 사용하였다.

OTC (oxytetracycline HCl 500g/kg, 하이테라, 한국셀벨)은 물 1 ton에 100g을 녹여 광어, 우럭, 그리고 참돔 각각 25마리씩을 30분간 약욕을 통하여 투여하였다. 또한, TC (tetracycline HCl 120 g/kg, 수산용 마이코신, 녹십자수의약품)은 물 1 ton에 150 g을 녹여 넙치, 조피볼락, 그리고 참돔 각각 25마리씩을 5시간 약욕을 통하여 투여하였다. 약제 투여 후 실험어는 25°C 순환여과식 수조 (용량: 1,000 L)에 약제 별로 수용하였으며, 수조의 물은 미리 25°C로 조정된 여과해수로 매일 전부 또는 절반씩 교환하여 주었다.

시료채취는 약욕 직후, 약욕 후 1, 2, 3 그리고 5일에 각각 어종 및 투여 약제군에 대하여 5마리씩 5회에 걸쳐서 시행하였다. 실험어는 MS-222로 마취시킨 후, 미부 혈관으로부터 혈액을 채취하고 나서 해부하여 근육 조직을 적출하였다. 혈액은 원심분리 (2,000 × g, 10분)를 통하여 serum을 분리하여 잔류분석에 사용하였다.

조직내 약제의 잔류분석

이동상 용액의 조제: Methanol, acetonitrile, 0.01 M oxalic acid 용액을 1 : 2 : 7 (pH 2.0)의 비율로 혼합한 후, 0.2 µm membrane filter (Millipore, USA)로 정제하여 이동상으로 하였다.

HPLC의 분석조건: 본 실험에서는 UV-visible detector가 장착된 HPLC system (HP1100 Series; Hewlett-Packard)을 이용하였다. 분석 column으로는 µ-BondaPack C18 (3.9 × 300 mm, 10 µm, Crescent Sci. Ltd., India)을 사용하였다.

시료 및 표준용액에서 OTC 및 TC의 분석을 위해, HPLC에 이동상 용매를 1.0 ml/min의 유속으로 흘리면서 자외선 파장을 360 nm로 하고 측정 감도를 0.005 ~ 0.01 AUFS로 설정하였으며, 주입량은 50 µl로 하여 peak 면적 값을 측정하였다.

표준 용액의 조제: OTC (Sigma, USA)와 TC (Sigma, USA)를 정확히 계량하여 메탄올에 용해하고, OTC와 TC 각각에 대하여 1 mg/ml의 표준원액을 조제하였다. 이 표준원액을 증류수로 적당히 희석해서 표준용액으로 하였다.

표준 곡선의 작성: OTC와 TC의 표준용액을 각각 0.1, 0.2, 0.5, 그리고 1.0 ppm의 농도로 하여 농도 대 peak 면적 비를 이용하여 표준곡선을 작성하였다.

회수율 조사: 시료에 대한 회수율은 근육 및 혈청 시료에 0.5와 1.0 ppm 농도로 spiking하여, 시료의 전처리 방법에 따라 추출 및 정제한 후, HPLC에 주입하여 표준용액과 머무름 시간을 비교하여 정성 확인한 후, 해당 peak의 면적 값

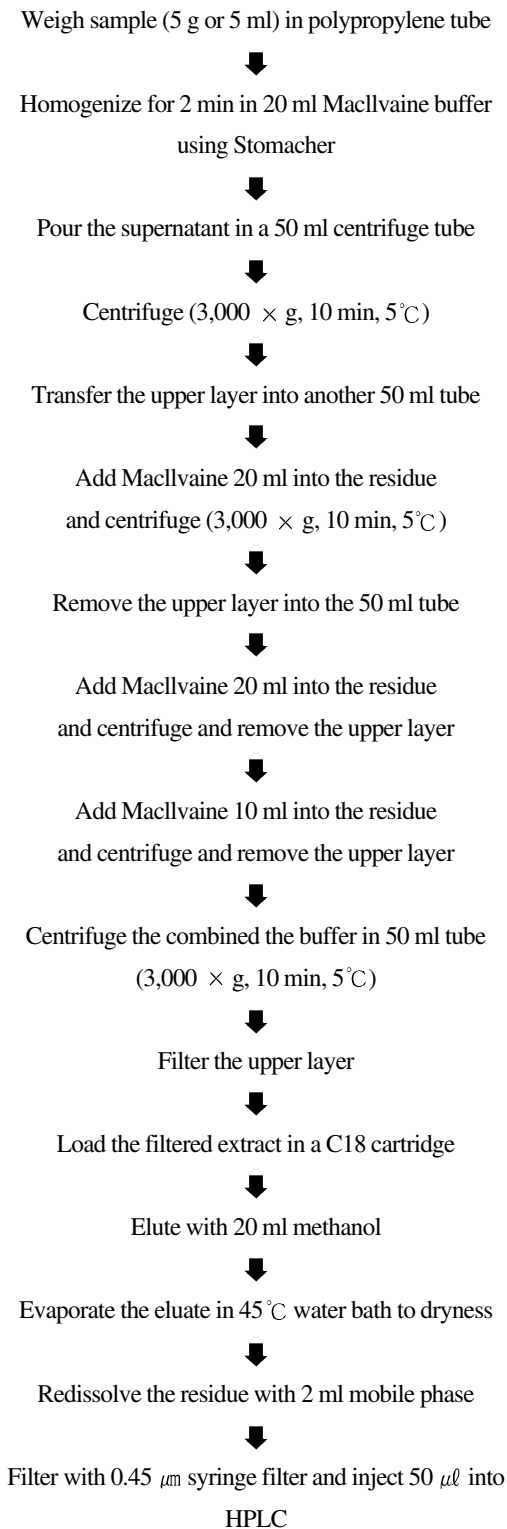


Fig. 1. Summary of sample clean-up procedure for oxytetracycline and tetracycline for samples.

을 표준용액의 직선 회귀방정식에 대입하여 농도를 구한 후, 아래의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{회수율}(\%) = \frac{\text{시료에서 회수된 TCs의 농도}}{\text{시료에 첨가된 TCs의 농도}} \times 100$$

시료의 전처리 및 분석: OTC와 TC의 추출은 약육을 통하여 투여한 어체로부터 채취한 혈액과 근육에 대하여 균질화 한 후 5.0 g (serum은 5ml)을 50 mL 원심관에 취하여 Macclvaine buffer 20 ml를 가하여 교반기로 2분간 교반 한 후, 원심분리 (3,000 × g, 10 min, 5°C)하여 상등액을 분리하였다. 잔사는 다시 20 ml과 10 ml Macclvaine buffer를 연속적으로 가하여 상기 방법과 동일하게 2회 반복 추출하여 상등액을 합쳤다. 합친 추출액을 다시 원심분리 (3,000 × g, 30 min, 5°C)하여 상등액을 감압여과한 후 여액을 Sep-Pak C₁₈ cartridge (Vac 3 cc, 500 mg, Waters, USA)에 통과시켜 OTC와 TC를 흡착시켰다. Sep-Pak C₁₈ cartridge에 흡착된 OTC와 TC는 20 ml methanol로 용출한 후 증발 (45°C)시키고, HPLC 분석용매 2 ml을 가하여 용해시킨 다음 0.45 μm syringe filter (Nalgene)로 여과한 후 HPLC로 측정하였다.

OTC와 TC의 잔류량 분석은 Ongi 등(1984)의 방법에 따라 분석하였다.

Sep-pak C₁₈ cartridge는 시료를 적용하기 전에 10 ml methanol, 20 ml 증류수를 순차적으로 0.5 ml/min의 속도로 흘려 cartridge를 전처리하여 활성화시킨 후 사용하였다. 시료의 전처리과정에 대한 요약은 Fig. 1과 같다.

통계학적 분석

결과의 통계적 처리는 Sigma plot을 이용하여 student's t-test로 실시하였으며, p < 0.05일 때 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

표준곡선

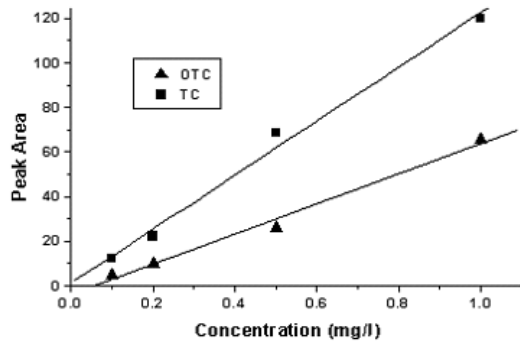


Fig. 2. Standard calibration curves of tetracycline antibiotics by High-Performance Liquid Chromatography. HPLC condition; column, μ -BondaPak C18 (3.9×300 mm, $10 \mu\text{m}$), mobile phase, 0.01 M oxalic acid-methanol-acetonitrile (7:2:1), flow rate, 1.0 ml/min, injection volume, $50 \mu\text{l}$.

OTC와 TC의 표준용액을 각각 0.1, 0.2, 0.5 그리고 1.0 mg/l의 농도로 희석하여 HPLC로 분석한 다음 농도대에 따른 peak 면적비를 이용하여 표준곡선을 작성한 결과 OTC와 TC의 r^2 은 각각 0.9957과 0.9951으로 모두 양호한 직선성 ($r^2 > 0.995$)을 나타내었다 (Fig. 2).

회수율조사

시료에 대한 OTC와 TC에 대한 회수율은 각각의 OTC와 TC의 표준용액을 넘치, 조피볼락, 참돔의 근육 (5 g)과 혈청 (5 ml)에 각각 0.5과 1.0 ppm이 되도록 spiking하여 회수율을 구하였다 (Table 1). Fig. 3은 넘치 근육에 OTC와 TC를 각각 0.5 mg/kg의 농도로 spiking하여 앞서 기술한 방법에 따라 전처리한 후, HPLC로 측정된 결과이다. OTC의 경우, 0.5 ppm의 농도에서의 회수율은, 모든 근육 시료에서 78% 이상의 회수율을 보였으며, 모든 혈청시료에서 71% 이상의 회수율을 보여, 근육시료에서의 회수율이 혈청시료에서의 회수율보다 다소 높은 경향을 보였다. 또한, OTC 1.0 ppm의 농도에서 회수율은, 모든 근육시료에서 80% 이상의 회수율을 보였으며, 모든 혈청시료에서 76% 이상의 회수율을 보여, 0.5 ppm에서와 같이 근육시료에서의 회수율이 혈청시료에서의 회수율보다 다소 높은 경향을 나타내었다. 한편, TC의 경우, 0.5 ppm의 농도에서의 회수율은, 모든 근육 시료에서 73% 이상의 회수율을 보였으며, 모든 혈청시료에서 70% 이상의 회수율을 보여, OTC에서와 같이, 근육시료에서의 회수율이 다소 높았다. 또한 TC 1.0 ppm의 농도에서 회수율은, 모든 근육시료에서

Table 1. Spiked Recovery in Blood and Muscle.

Fishes	Sample	Spiked concentration (mg/kg)	Recovery (%)	
			OTC (Mean \pm SD, n=3)	TC (Mean \pm SD, n=3)
<i>P. olivaceus</i>	Muscle	0.5	78.25 \pm 0.23	73.64 \pm 0.63
		1.0	80.51 \pm 1.28	74.52 \pm 0.71
	Serum	0.5	71.27 \pm 0.36	70.85 \pm 0.42
		1.0	76.72 \pm 0.49	72.44 \pm 0.35
<i>S. schlegeli</i>	Muscle	0.5	83.24 \pm 0.33	75.43 \pm 0.54
		1.0	81.93 \pm 0.56	76.24 \pm 0.63
	Serum	0.5	72.12 \pm 0.34	70.52 \pm 0.51
		1.0	77.27 \pm 0.62	71.28 \pm 0.49
<i>P. major</i>	Muscle	0.5	80.21 \pm 0.43	73.96 \pm 0.54
		1.0	84.35 \pm 0.68	78.13 \pm 1.22
	Serum	0.5	75.54 \pm 1.34	73.23 \pm 0.72
		1.0	77.68 \pm 2.31	79.54 \pm 1.32

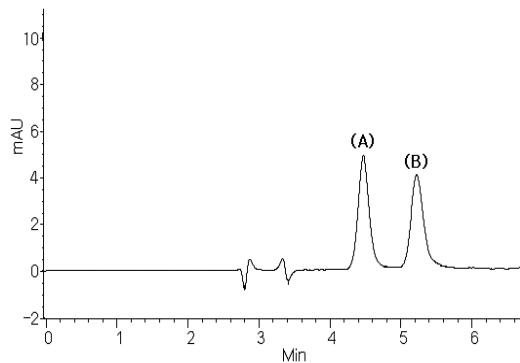


Fig. 3. Chromatograms of a olive flounder muscle spiked to a level of 0.5 mg/kg with each of oxytetracycline (A) and tetracycline (B).

74% 이상의 회수율을 보였으며, 모든 혈청시료에서 71% 이상의 회수율을 보여, 0.5 ppm에서와 같이 근육시료에서의 회수율이 혈청시료에서의 회수율 보다 다소 높은 경향을 보였다.

조직내 잔류분석

OTC의 잔류농도에 있어서, 투약 직후 (0 day)에 혈청농도는 넙치, 조피볼락, 참돔 모두에 있어서 비슷한 농도를 보였으나, 근육농도에 있어서 조피볼락의 농도가 넙치나 참돔에 비하여 유의성 있게 높게 수치를 나타냈다. 투약 후, 혈청과 근육의 농도가 점차적으로 감소하는 경향이 관찰되었으며, 투약 5일 후에는 모든 실험어의

혈청과 근육에서의 OTC와 TC의 농도가 검출농도 이하 (0.05 mg/kg)로 관찰되었다. 한편, TC의 잔류농도에 있어서는 투약 직후 (0 day)에 혈청농도는 OTC에 있어서와 같이 넙치, 조피볼락, 참돔 모두에 있어서 유사한 농도를 보였으나, 근육농도에 있어서 우럭의 농도가 넙치나 참돔에 비하여 유의성 있게 높은 수치를 보였다. 투약 후, 혈청과 근육의 농도가 점차적으로 감소하는 경향이 관찰되었으며, 투약 3일 후에는 참돔의 혈청농도가 검출농도 이하로 관찰되었으며, 투약 5일 후에는 넙치, 조피볼락, 참돔 모두 혈청과 근육에서의 OTC와 TC의 농도가 검출농도 이하 (0.05 mg/kg)로 관찰되었다 (Table 1-2).

고 찰

OTC는 Gram-positive와 Gram-negative 세균에 대한 광범위한 항균작용을 갖는 항생제로 가축의 포도상구균, 살모넬라 그리고 대장균의 예방 및 치료에 있어서 효과적인 약제이며, 양식어류에 있어서 비브리오증, 연쇄상구균증 및 아카미부식증과 같은 세균성 질병의 치료에 효과적이라고 알려져 있다. 또한, TC는 가축의 호흡기질 환과 소화기질병의 예방 및 치료에 사용되는 약제이며, 양식어류에 있어서 비브리오증, 절창병, 지느러미병 및 에로모나스병과 같은 질병 치료

Table 2. Concentration of oxytetracycline in serum and muscle of fishes after dipping of oxytetracycline 50 g/ton water.

Fish	Tissue	No. of Samples	Residue concentration after treatment (mg/kg)				
			0 day*	1 day	2 day	3 day	5 day
<i>P. olivaceus</i>	Serum	5	0.778 ± 0.023	0.338 ± 0.024	0.304 ± 0.031	0.107 ± 0.042	ND
	Muscle	5	1.028 ± 0.047	0.779 ± 0.043	0.428 ± 0.017	0.169 ± 0.038	ND
<i>S. schlegeli</i>	Serum	5	0.835 ± 0.034	0.346 ± 0.033	0.310 ± 0.017	0.115 ± 0.023	ND
	Muscle	5	1.923 ± 0.041**	0.967 ± 0.076	0.511 ± 0.025	0.196 ± 0.051	ND
<i>P. major</i>	Serum	5	0.754 ± 0.055	0.316 ± 0.029	0.279 ± 0.033	0.098 ± 0.028	ND
	Muscle	5	1.215 ± 0.039	0.835 ± 0.052	0.324 ± 0.061	0.156 ± 0.047	ND

ND, Not detected; * at the termination of dipping administration of oxytetracycline; ** indicates $p < 0.05$ (Compared to *P. olivaceus* and *P. major*).

에 효과가 있는 것으로 알려져 있다 (이 등, 1996).

하 등 (1977)은 넙치 근육에 OTC 및 TC를 0.1, 0.3 ppm으로 spiking 하여, 회수율을 조사하였던 바, 0.1 ppm에서는 OTC와 TC의 회수율이 각각 66, 51%였으며, 0.3 ppm에서는 OTC와 TC의 회수율이 각각 51, 52%로 보고하였다. 넙치 근육조직에 있어서, OTC 및 TC의 회수율에 대한 다른 연구보고에 따르면, 근육조직에 OTC 및 TC를 0.1, 0.5, 1.0 ppm으로 spiking 한 경우 회수율은 0.1 ppm에서는 OTC와 TC의 회수율이 모두 100%였으며, 0.5 ppm에서는 OTC와 TC의 회수율이 각각 98 및 97%였으며, 1.0 ppm에서는 OTC와 TC의 회수율이 각각 97 및 96%로 보고하였다 (이 등, 2005). 이는 본 연구에서 넙치근육에 OTC와 TC를 0.5 ppm으로 spiking 한 회수율이 각각 78 및 73%, 그리고 1.0 ppm에서는 80 및 74%를 보였던 결과와 비교할 때, 하 등 (1977)의 연구결과 보다는 높은 회수율을 보였고, 이 등 (2005)의 연구결과와 비교해서는 다소 낮은 회수율을 보였다. 또한, 연어근육에 OTC를 0.1, 0.5 ppm으로 spiking 하여 회수율을 조사한 경우, 각각 84 및 70%로 보고하였고 (Rupp *et al.*, 2005), Pena 등 (2003)은 연어근육에 TC를 0.05, 0.1, 0.2 ppm으로 spiking 하여 회수율을 조사하였던 경우, 모두 83% 이상의 높은 회수율을 보고

하였다. Hiroyuki 등 (1999) 등은 뱀장어 근육에 OTC와 TC를 0.1, 0.5 ppm으로 spiking 하여 0.1 ppm에서는 OTC와 TC의 회수율이 78% 이상을, 0.5 ppm에서는 70% 이상의 회수율을 보여, 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다.

본 연구에서도 혈청 및 근육시료에 대한 회수율은 OTC와 TC 모두 근육에서의 회수율이 혈청에서의 회수율 보다 다소 높게 나타나, 위의 연구 보고들과 유사한 결과를 보여 주고 있다. 한편, 회수율에 있어서 다소의 차이를 보이는 것은 어류의 종류와 추출 방법에 따라 회수율이 편차를 보이는 것으로 사료된다.

기준에, 국내·외적으로 OTC와 TC의 어류 조직 내 잔류량에 대한 많은 연구가 수행되어왔다. 정 등 (1998)은 넙치에 OTC를 100 mg/kg B.W.로 1회 강제 경구투여한 후, 항생제 감수성 미생물을 이용한 간이 스크리닝 검출방법으로 근육 내 OTC 잔류량을 조사한 결과, 약제 투여 후 20일째에서 음성반응을 보였다고 보고하고 있다. Jose 등 (1996)은 참돔에 OTC 75 ppm을 사료에 혼합하여 하루에 한번씩 14일 동안 투여한 후, 조직 내 잔류량을 조사한 결과, 근육조직에서의 농도는 약제 투여 후 10일째 되는 날에는 0.1 ppm 이하로 조사되었다. 이러한 결과는, 본 연구의 참돔에서 약제투여 후 5일째 되는 날에 0.05 ppm 이하를 나타냈던 것과 비교하여 높은

Table 3. Concentration of tetracycline in serum and muscle of fishes after dipping of tetracycline 18 g/ton water.

Fish	Tissue	No. of Samples	Residue concentration after treatment (mg/kg)				
			0 day*	1 day	2 day	3 day	5 day
<i>P. olivaceus</i>	Serum	5	0.489 ± 0.014	0.345 ± 0.035	0.173 ± 0.023	0.068 ± 0.015	ND
	Muscle	5	0.524 ± 0.078	0.276 ± 0.054	0.156 ± 0.035	0.075 ± 0.024	ND
<i>S. schlegeli</i>	Serum	5	0.515 ± 0.035	0.354 ± 0.021	0.150 ± 0.046	0.053 ± 0.012	ND
	Muscle	5	0.974 ± 0.102**	0.469 ± 0.034	0.249 ± 0.042	0.103 ± 0.022	ND
<i>P. major</i>	Serum	5	0.419 ± 0.048	0.293 ± 0.037	0.127 ± 0.036	ND	ND
	Muscle	5	0.626 ± 0.086	0.326 ± 0.053	0.168 ± 0.029	0.072 ± 0.017	ND

ND, Not detected; * at the termination of dipping administration of tetracycline; ** indicates $p < 0.05$ (Compared to *P. olivaceus* and *P. major*).

농도이며 장시간의 조직 내 잔류를 보여주고 있는 바, 약제의 경구투여 방법이 약육을 통한 투여보다도 오랜 시간 잔류하는 것을 확인할 수 있었다.

Rigis 등 (2004)은 농어에 OTC 50 mg/kg B.W.를 사료에 혼합하여 경구투여한 후, 혈액 내 잔류량을 조사한 결과, 혈청 내 half-life는 21시간이었으며, 약제 투여 후 4일에 혈중 농도는 0.1 ppm으로 보고하였다. 이러한 결과는 본 연구에서 혈청 내 OTC의 약제 투여 후 농도가 반으로 감소되는 시간이 24시간 보다 짧았던 결과와 유사하였으나, 약제투여 후 3일에 혈청 내 농도가 0.1 ppm 전후로 나타난 것은, 어종의 차이에도 불구하고, 앞서 기술한 바와 같이, 약제의 경구투여가 약육을 통한 투여 보다 장시간 체내 잔류하는 것을 확인시켜주는 결과이다.

본 연구를 종합하여 보면, 넙치, 조피볼락, 참돔에 있어서 OTC의 혈청과 근육에서의 회수율은 각각 71-77%, 78-84%를 보였고, TC의 혈청과 근육에서의 회수율은 각각 70-79%, 73-75%를 나타내 기존의 연구보고와 비슷하거나 다소 높은 회수율을 보여, 양식어류 내 OTC 및 TC의 잔류분석에 적용하는 데 유용한 자료가 될 것으로 사료된다. 또한, OTC와 TC를 각각 100 g/ton, 150 g/ton의 농도로 약육을 통하여 넙치, 조피볼락, 참돔에 투여했을 경우, 혈청과 근육 내에 약제투여 후 5일째 되는 날에는 OTC의 농도는 잔류허용기준치 (0.2 mg/kg) 이하로, TC의 농도 역시 0.1 mg/kg 이하로 잔류하였다. 따라서 OTC와 TC를 권장 용법 및 용량에 따라 양식어류에 사용할 경우 안전휴약기간 (30일) 내에 OTC가 조직내에서 잔류허용기준치 보다 훨씬 낮은 농도 수준으로 잔류하는 것으로 추정된다.

본 연구를 통하여, 어류에 가장 광범위하게 사용되고 있는 OTC와 TC를 약육을 통해 양식어류 (넙치, 조피볼락, 참돔)에 투여하여 이들 약제의 조직 내 잔류분포를 조사함으로써, 향후 양식어류에 사용되는 항생제들에 대해 약육 투여 방식에 의한 조직 내 잔류 분포 연구와, 약제의 효

율적인 사용을 통한 잔류 및 내성균의 출현을 방지하는 데, 기초 자료로 활용될 것을 기대한다.

요 약

Oxytetracycline과 tetracycline을 넙치, 조피볼락 그리고 참돔에 각각 약육을 통하여 투여한 다음, 휴약기간 동안 근육조직 내 잔류와 분포를 조사하였다.

실험어는 해수 중에서 일정한 크기의 케이지에 일반 상업용 사료를 주어 사육하였고, 실험에 사용하기에 앞서 15일 동안 환경에 적응시켰다. 약제투여는, oxytetracycline 50 g을 물 1톤에 투여하고 넙치, 조피볼락, 그리고 참돔을 각각 30분 동안 약육하였고 tetracycline 18 g을 물 1톤에 투여하고 실험어들을 5시간 동안 약육하였다. 혈액과 근육시료는 약제투약 전, 약제투약 후 1, 2, 3, 그리고 5일에 각각의 실험어를 대상으로 채취하였다. Oxytetracycline과 tetracycline의 잔류분석은 고형상추출을 한 후 고속액체크로마토그래피를 이용하여 분석하였다. Oxytetracycline의 회수율은 혈액에서는 71-77%이었고, 근육에서는 78-84%를 보였다. 또한, tetracycline의 회수율은 혈액에서 70-79%, 근육에서 73-78%를 보였다.

약육 직후, 조피볼락의 근육 중 oxytetracycline과 tetracycline의 잔류농도가 넙치와 참돔의 근육 중 잔류농도에 비하여 통계적으로 유의성 있게 높았으며, 약육 후 5일째에는, 모든 실험어의 근육 중 oxytetracycline과 tetracycline의 잔류농도가 고속액체크로마토그래피의 검출한계인 0.05 mg/kg 이하로 감소하였다.

이상의 결과로부터, oxytetracycline과 tetracycline의 약육을 통한 투여는 넙치, 조피볼락 그리고 참돔의 근육 중에서 안전휴약기간 보다도 일찍 소실되는 것으로 관찰되었으며, 경구 또는 주사를 통한 투여 보다도 체내 소실이 빨리 일어나는 것으로 추정된다.

감사의 글

이 논문은 정부 (교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (R05-2004-000-10627-0).

참 고 문 헌

- Brocklebank, J. R., Namdari, R. and Law, F. C.: An oxytetracycline residue depletion study to assess the physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model in farmed Atlantic salmon. *Can. Vet. J.*, 38: 645-646, 1997.
- Farrington, W. H., Tarbin, J., Bygrave, J. and Shearer, G.: Analysis of trace residues of tetracyclines in animal tissues and fluids using metal chelate affinity chromatography / HPLC. *Food Addit. Contam.*, 8: 55-64, 1991.
- Jose, M. J., Giorgia, R., Paola, A. and Giorgio, G.: Tissue distribution and residue depletion of oxytetracycline in sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) after oral administration. *Aquaculture*, 147: 159-168, 1996.
- Luzzana, U., Serrini, G., Moretti, V. M., Maggi, G. L., Valfre, F. and Polidori, P.: Effect of temperature and diet composition on residue depletion of oxytetracycline in cultured channel catfish. *Analyst*, 119: 2757-2759, 1994.
- Nakazawa, H., Ino, S., Kato, K., Watanabe, T., Ito, Y. and Oka, H.: Simultaneous determination of residual tetracyclines in foods by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, 732: 55-64, 1999.
- Pena, A. L., Lino, C. M. and Silveira, M. I.: Determination of tetracycline antibiotics in salmon muscle by liquid chromatography using post-column derivatization with fluorescence detection. *J. AOAC Int.*, 86: 925-929, 2003.
- Reimer, G. J. and Young, L. M.: Validation of a method for determination of tetracycline antibiotics in salmon muscle tissue. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73: 813-817, 1990.
- Rigos, R., Nengas, I., Alexis, M. and Athanasopoulou, F.: Bioavailability of oxytetracycline in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *J. Fish Diseases*, 73: 813-817, 1990.
- Rupp, H. S. and Anderson, C. R. J.: Determination of oxytetracycline in salmon by liquid chromatography with metal-chelate fluorescence detection. *J. AOAC Int.*, 88: 505-510, 2005.
- 국립수의과학검역원: 연도별 (2001년~2004년) 항생제 판매실적. 125-149, 2005.
- 손광태, 오은경, 이태식, 이희정, 김풍호, 김지화: 남해안 어류양식장에서 분리된 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Vibrio alginolyticus*의 항균제 감수성. *한국수산학회지*, 38: 365-371, 2005.
- 신동규, 구재근: 뱀장어 및 미꾸라지의 염산옥시테트라사이클린의 잔류에 관한 연구. *한국수산학회 2002년 추계 학술대회 발표요지집*, 102-103, 2002.
- 유민호, 정준범, 김은희, 이형호, 정현도: 새로운 conjugation 방법을 응용한 R plasmid 함유 어병세균의 분리와 양식장 내성균의 현황 분석. *한국수산학회지*, 35: 115-121, 2002.
- 이영순, 허강준, 박재학: *어류질병학*, pp.171-176, 신광종합출판, 서울, 1996.
- 이희정, 이태식, 송광태, 김풍호, 조미라, 박미정, 이영호: HPLC를 이용한 어패류 중의 테트라사이클린계 항생제 분석방법 개발. *한국수산학회지*, 38: 372-378, 2005.

- 전세규, 박성우, 정영숙: 낙동강 잉어와 양식잉어의 장내약제내성균. 한국수산학회지, 16: 17-24, 1983.
- 전세규, 정현도: 항생제 사용과 세균성 어류질병의 치료. 한국어병학회지, 5: 38-47, 2002.
- 정소정, 서정수, 임혜경, 김나영, 이상환, 허민도, 정현도, 정준기: Chloramphenicol의 경구투여에 따른 양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 조직내 잔류량 및 혈액학적 변화. 한국어병학회지, 17: 113-121, 2004.
- 정승희, 김진우: 넙치 근육중 잔류 옥시테트라사이클린의 간이 스크리닝 검출방법 비교 연구. 한국어병학회지, 11: 77-81, 1998.
- 하대식, 김중수, 김근섭: MSPD와 HPLC를 이용한 어류의 잔류 설파제와 테트라사이클린계 항생물질의 동시분석. 한국식품위생안전성학회지, 12: 117-124, 1997.
- 허강준, 김정호: 양식어류 (이스라엘 잉어, 넙치)에 대한 항균물질 pefloxacin의 효능 및 안전성에 관한 연구. 대한수의학회지, 34: 153-163, 1994.
- 허강준, 이진희: 양식어류 (이스라엘잉어, 넙치)의 세균성 질병에 대한 Gentamicin의 효능 및 안전성에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지, 18: 327-338, 1994.
- 허정호, 정명호, 조명희, 김국현, 이국천, 김재훈, 정태상: 경남 남부지역 양식 어류 질병에서 항생제 감수성에 관한 연구, 한국임상수의학회지, 19: 19-24, 2002.
- 해양수산부: 해양수산 통계연보, 2005.

Manuscript Received : April 7, 2006

Revision Accepted : May 24, 2006

Responsible Editorial Member : Joon-Ki Chung

(Pukyong Univ.)