

HPLC를 이용한 어류 중의 Spiramycin 분석

이태식* · 이희정 · 조미라 · 변한석 · 손광태 · 박미정¹ · 이영호²
국립수산물품질관리원, ¹국립수산물품질검사원, ²대한민국 국회

Analysis of Spiramycin in Fish Using High Performance Liquid Chromatography

Tae Seek LEE*, Hee Jung LEE, Mi Ra JO, Han Seok BYUN,
Kwang Tae SON, Mi Jung PARK¹ and Young Ho YI²

National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-902, Korea

¹National Fishery Products Quality Inspection Service, Gyunggi-do 410-315, Korea

²The National Assembly, Seoul 150-701, Korea

A high performance liquid chromatography assay method for spiramycin in fish muscle was developed. The developed method was evaluated and validated by monitoring spiramycin in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), black rock fish (*Sebastes schlegeli*) and in live conger eel (*Anguilla japonica*) in fish farms and distribution centers. Using the developed method, the recovery rate was up to 82.4-88.8%, which was higher than that of conventional methods (77.6-87.1%). In particular, the proposed sample treatment protocol was suitable for use with fish samples to remove low molecular weight materials and pigments that could interfere an accurate analysis. The prepared stock solution was very stable, and it remained chemically stable for 5 weeks at 4°C. The performance limit of the developed method for spiramycin acid in fish muscle was 0.05 ppm. One hundred thirty-four fish samples including olive flounder, black rock fish and live conger eel were analyzed to evaluate the overall efficiency of the modified method and to monitor the actual condition of spiramycin usage in fish farms. Olive flounder and black rock fish were collected from fish farms in coastal areas of Korea, and live conger eels were purchased from a fish market in the Busan area from September 2001 to March 2002. According to the overall performance of the developed method, it was considered suitable for the monitoring of spiramycin in fish muscle. The suggested method of analysis for spiramycin in fish muscle is registered in the Korean Official Methods of Food Analysis and is currently being utilized for fishery products inspection by the Korea Food and Drug Administration and the National Fisheries Products Quality Inspection Service.

Key words: HPLC, Spiramycin

서 론

스피라마이신(spiramycin)은 마크로라이드계 항생제로 방선균인 *Streptomyces ambifaciens*로부터 얻어지는 macrolide계 항생제로서 erythromycin과 비슷한 항균 범위를 가지며 3개의 당이 결합된 16원환의 lactone ring을 함유하며, 그 중 2개는 서로 연결되어 있다(Lee, 1994). 또한 3개의 화학적 구조가 관련되어 있는 스피라마이신 I, II, III의 염기 혼합물로 spiramycin I은 aglycone의 C-3의 위치에 hydroxyl 그룹을 가지고 있고, spiramycin II는 hydroxyl 그룹이 acetyl화 되었고 spiramycin III는 같은 위치에 propinylated 되어있다(Omura et al., 1979, Jin and Cen, 2004)

스피라마이신 I은 최소 85%, II는 5%, III는 10%로 각각 구성되어 있고, 지금까지 대사과정은 알려져 있지 않으나 in vitro상에서 cysteinate 유도체로 빠르게 바뀐다 이 변화는 formaldehyde의 첨가에 의해서 억제된다고 보고되고 있으며,

항균작용 기작은 세균의 ribosome의 50S subunit에 결합하여 3차구조를 변화시키고 peptidyl transferase 활성을 저해하여 peptidyl-tRNA의 전위를 억제하여 세균의 단백질 합성을 저해한다고 알려져 있다(Sagana et al., 2005).

수산동물용 스피라마이신은 경구 투여에 의하여 급속히 흡수되는데 혈액 및 장기 내 농도는 투여 후 3-6시간에 가장 높으며, 그 후 서서히 체외로 배출되어 10일 후에는 근육에서 소실되고, 기타 혈액, 간장, 신장, 비장 등에서도 14일 후에는 완전히 소실된다고 하였다(Ozaki, 1984). 스피라마이신의 체내 흡수속도는 erythromycin 등 다른 항생제체들과 비교하면 다소 느린 경향이 있지만, 위장에서 안정하며, 지속적인 효과를 나타낸다. 주로 그람양성균 및 리켓치아속에 대해 작용하며, 그람음성 혐기성균에 내성을 보인다. 일반적으로 혈장농도에서 정균작용을 하며 조직농도가 높아지면 살균작용을 나타내기도 하였다(Lee, 1994).

수산동물용 스피라마이신은 일반적으로 스피라마이신 엠보네이트 형태로 공급되며, 방어, 은어, 틸라피아에 대하여는

*Corresponding author: tslee@nfrdi.re.kr

연쇄구균증에 탁월한 효과를 나타내는데, 특히 잉어, 무지개송어, 뱀장어, 방어의 경우 아가미 부식병 또는 비브리오 병에 대하여 효과가 있는 것으로 알려져 있다(NFRDI, 2000). 또한 스피라마이신은 질병 치료를 위한 동물용의약품 또는 성장을 촉진하기 위하여 먹이첨가제로 널리 사용되고 있는데, 이로 인하여 축산물에서는 잔류문제가 발생된다(Furusawa, 1999). 약물동태와 휴약기간 미 준수 및 약제의 부적절한 사용은 잔류라는 문제를 야기시켰고 소비자에 대해서는 중독성을 가지게 하였다. 그 결과 EU에서는 축산물에 대한 근육의 최대 잔류 허용치를 0.2 ppm으로 설정하게 되었다(EC, 1999).

따라서 스피라마이신은 유럽에서는 소, 닭 등 축육에 대해 0.2-0.4 ppm의 최대잔류허용치를 두고 있으나, 어류에 대해서는 언급한 바 없다. 그러나 수산물이 발달되어 있는 일본은 식품위생법에 근거한 항생제 허용기준에 어류, 패류, 생식용 생굴에 대하여 0.2 ppm 이하의 허용기준치가 설정되어 있다(JETRO, 2004).

현재 수산물에 대한 스피라마이신 모니터링을 위하여 간단하고 정확한 방법이 절대적으로 필요하나 대부분의 분석법이 축산물을 대상으로 하고 있다. 스피라마이신 분석방법은 미생물(Pascal et al., 1990; Cuypers et al., 1994; Daix and Gougeard 1996) 혹은 HPLC (Mourier and Brun, 1993; Mignot et al., 1993)에 의한 방법 등이 보고되어 있으나 이들 방법들은 분석절차가 복잡할 뿐 아니라 장시간의 분석시간을 필요로 함에 따라 많은 시료를 처리하는데 문제가 있다. 특히 저분자 물질이나 색소가 많이 함유되어 있는 수산물에서 스피라마이신을 clean-up하여 추출하기란 어려울 뿐만 아니라 신속하게 검출하는데 효율적으로 사용하기 곤란한 문제점이 제기되고 있다.

따라서 본 연구에서는 스피라마이신에 대한 수산식품 위생 안전 확보 차원에서 양식 어류 중에 존재하는 스피라마이신을 고감도로 신속하게 검출할 수 있는 시험법을 개발하였으며, 시험법의 현장 적용성을 확인하기 위하여 양식중인 넙치 및 시중 유통 중인 뱀장어를 대상으로 스피라마이신 잔류 정도를 모니터링하였다.

재료 및 방법

시약 및 시료

본 연구에서 사용된 항생제 표준품은 spiramycin (Dr. Ehrestorfer GmbH, Germany)를 사용하였으며, 시료 중의 항생제 추출에는 hexane, acetonitril, methanol (HPLC grade, Merck), phosphoric acid, calcium chloride, ammonium acetate (Sigma, USA) 등을 사용하였다. 그리고 시료에서 추출한 항생제 정제는 SCX (500 mg, Strata Phenomenex, USA) 카트리지를 사용하였다.

양식어류 중의 스피라마이신 잔류모니터링은 경남 통영 및 전남 완도, 장흥지역 양식장에서 양식중인 어류를 대상으로 하였다.

항생제 표준용액 조제 및 표준곡선 작성

Stock solution: 스피라마이신 표준품 10 mg을 100 mL 용량 플라스크에 취하고, methanol로 녹여 100 ppm 농도의 stock solution을 조제하였다.

Working solution: Stock solution 10 mL를 정확히 취하여 100 mL 용량 플라스크에 옮기고 스피라마이신 분석에 사용되는 HPLC 이동상으로 정용하여 10 ppm 표준용액으로 하였으며, 이를 희석하여 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 ppm의 working solution으로 사용하였다.

HPLC 이동상의 제조: 0.05 M phosphoric acid, acetonitrile을 75:25 (pH 3.0, v/v)의 비율로 혼합한 후 0.2 μm membrane (Millipore, USA)으로 여과하여 이동상으로 하였다.

Spiramycin 추출

어패류 중의 스피라마이신 추출 및 분석은 Horie et al. (1998)와 Leal et al. (2001)이 제시한 방법을 다음과 같이 개량하여 실시하였다. 어류의 껍질을 벗긴 후 필렛을 뜯 어육을 잘게 마쇄한 다음, 어육 10 g을 취하여 0.05 M phosphoric acid (pH 3.0)와 methanol(7:3, v/v) 혼합액 40 mL를 첨가하여 homogenizer (Polytron PT 3000, Switzerland)로 2분간 균질화시켜 스피라마이신을 추출하였다(Fig. 1). 추출액은 8,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 잔사를 제거한 상층만을 취하여 분액여 두로 옮겨 n-hexane (80 mL)으로 2회 세척하여 지질을 제거하였다. 지질을 제거한 추출액을 45°C에서 10분간 열처리하여 추출액 중의 단백질을 석출시킨 후, 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 변성단백질을 제거하고 45°C에서 감압농축 (EYELA, model N-2NW, Japan)하여 3 mL까지 농축하였다. 시료 농축액은 vacuum manifold (Supelco, USA)를 이용하여 Bond Elut SCX 카트리지에 흡착시켰다. SCX 카트리지는 사용하기 전에 methanol 25 mL, 증류수 25 mL, 0.01 M calcium hydroxide 40 mL를 순차적으로 0.5 mL/min의 속도로 흘려 카트리지를 활성화시킨 후 증류수 30 mL로 세척한 후 사용하였다. 항생제 추출물을 흡착시킨 카트리지는 증류수 40 mL로 약 0.5 mL/min의 속도로 세척하여 수용성 성분을 제거한 후, 50% methanol이 첨가된 2.5% ammonium acetate 40 mL로 흡착물을 0.5 mL/min의 속도로 용출시켰다.

50% methanol이 첨가된 2.5% ammonium acetate 용출물은 45°C에서 감압 농축하여 건조시킨 후, 건조물을 0.05 M phosphoric acid, acetonitrile (75:25, pH 3.0, v/v)의 이동상을 사용하여 3 mL로 정용하고, 0.2 μm membrane filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. 스피라마이신 표준품 및 시료 추출액의 기기분석 조건은 Table 1과 같다. 항생제 표준품 및 추출액의 분석에는 Shiseido nanospace SI-2 HPLC system (Shiseido Co., Japan)과 C₁₈ column (4.6 mm ID × 250 mm, UG type, 5 μm, Shiseido Co., Japan)을 사용하였다.

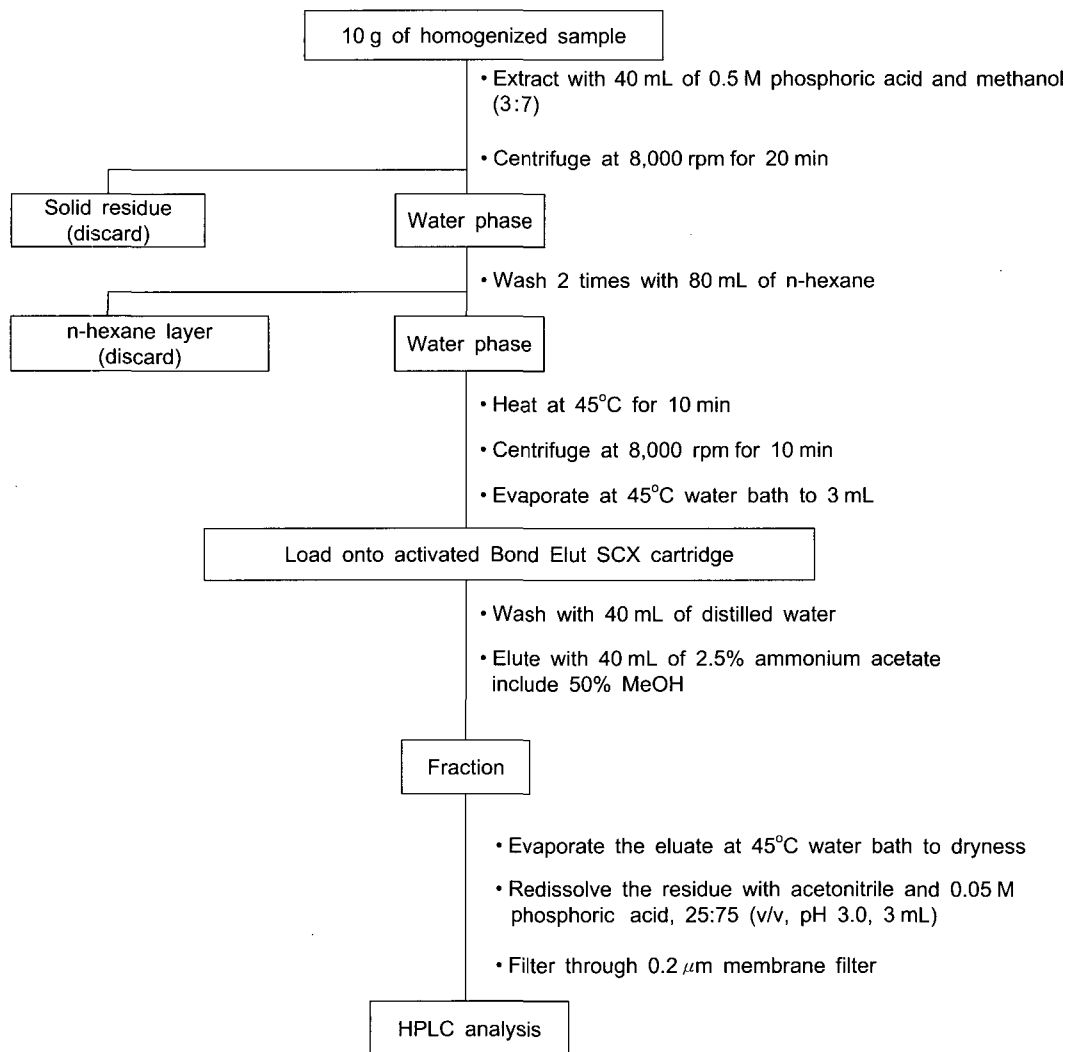


Fig. 1. Summary of extraction procedure of spiramycin from fish sample.

Table 1. HPLC instrument and analysis conditions for spiramycin

| | |
|-------------------------|---|
| HPLC | Shiseido nanospace S1-2 system |
| Column | Shiseido UG 120, 4.6 mm ID x 250 mm |
| Mobile phase | 0.05 M phosphoric acid : Acetonitrile =75:25 (pH 3.0, v/v) |
| Flow rate | 1 mL/min |
| Detector | UV 232 nm, Shiseido nanospace |
| Injection volume | 50 μ L |
| Column oven temperature | 35°C |
| Ending time | 20 min |

결과 및 고찰

스피라마이신 분석을 위한 기존방법의 문제점 및 개선
어류 중의 스피라마이신 분석을 위하여 Horie et al. (1998)
와 Leal et al. (2001)이 개발한 시험법을 변형하여 새로운 분석

방법을 확립하였다. 두 방법 모두 Macrolide 계열의 항생제를
동시 분석하기 위하여 파장 대를 달리하여 분석하였고 또
이동상의 농도구배를 주어 동시분석 하였으나 본 연구에서는
수산물에서의 스피라마이신에 대한 분석방법을 확립하여 수
산식품위생안전을 확보하고자 스피라마이신에 대한 신속·정
량 분석 방법을 위하여 농도구배 없이 분석하는 방법을 연구
하였다. 먼저 0.05 M sodium dihydrogenphosphate (pH 4.5)와
acetonitrile을 사용하였으며 농도구배를 주어 Macrolide 계열
의 항생제를 동시에 분석한 Horie et al. (1998)의 방법에서
이동상의 조성을 개량하였다. Cosmosil column (Nacalai
Tesque, C₁₈, 250×4.6 mm i.d., Japan)을 사용하고 이동상을
0.05 M sodium dihydrogenphosphate (pH 4.5)보다 감도가 좋았
던 0.05 M phosphoric acid와 acetonitrile (pH 3.0)로 바꾸고
이동상의 비율을 80:20, 78:22, 75:25의 비율로 retention time
의 변화를 보았을 때 각각 12.97분, 7.39분, 4.8분으로 나타나

빠른 분석을 위하여 이동상의 조성을 75:25의 비율로 결정하였다(Data not shown). 또한 column 선정의 경우 동일한 C₁₈ column이라도 제조회사와 충전제인 carbon량에 따라 분석감도가 달라지기 때문에 Cosmosil (250×4.6 mm i.d.), Shiseido MG (250×4.6 mm i.d.), Shiseido UG 120 (250×4.6 mm i.d.)를 사용하여 비교 분석한 결과 Cosmosil column의 경우 retention time이 4.8분, Shiseido MG column은 6.63분, Shiseido UG 120 column은 5.7분에 스피라마이신이 각각 분리되었다(Data not shown). 따라서 어류시료를 분석한 크로마토그램을 비교한 결과 peak 형태 및 방해 peak와의 분리가 Shiseido UG 120 column이 가장 좋은 것으로 확인되었다. 위와 같은 분석조건으로 넙치(Oliver flounder, *Paralichthys olivaceus*) 시료에 스피라마이신 표준품 5 ppm을 첨가하여 분석한 결과 겹친 부분이 없는 깨끗한 peak를 얻을 수 있었다.

한편 Leal et al. (2001)은 2.5 g의 조직을 0.3% metaphosphoric acid-methanol (7:3,v/v)혼합액 17 mL를 넣어 5분간 균질화한 다음 여과하여 약 12 mL로 감압농축하여 0.05 M NaH₂PO₄ (pH 4.4)로 활성화된 Bond Elut SCX (Varian, Harbor City, CA, USA) 카트리지에 흡착시킨 후, HPLC로 분석하는 방법으로

스피라마이신을 분석하였다. 이 방법은 전처리 과정은 간편하였지만, 닭고기에 0.5 ppm의 스피라마이신 표준용액을 첨가하여 분석한 크로마토그램을 확인한 결과, 스피라마이신 peak 주변에 다른 peak가 잡혀 미량을 정량하기에는 부적합하였으며, 또한 채취한 시료량이 적으면 분석값에 대한 재현성이 떨어져 신뢰할 수 없는 값이 예상될 수 있다고 판단되었다. 따라서 본 연구에서 개발한 전처리 방법은 Leal et al. (2001)의 방법보다 많은 양의 시료를 채취하기 때문에 원심분리 및 농축과정이 있지만 어류에서 추출한 스피라마이신의 크로마토그래피상의 peak를 비교하였을 때 주변에 방해 peak가 없는 깨끗한 분리도와 높은 회수율을 얻을 수 있었다(Fig. 2).

표준검량선

각 농도의 스피라마이신 표준용액(0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 ppm)을 50 µL씩 취하여 3회 반복 분석한 크로마토그램으로부터 농도별 평균면적을 구하여 X축을 농도, Y축을 면적으로 하여 검량선을 작성하였다(Fig 3).

시험용액 분석에서 얻은 크로마토그램으로부터 각 성분에 대하여 머무름 시간이 일치되는 각각의 피크에 대한 평균면적

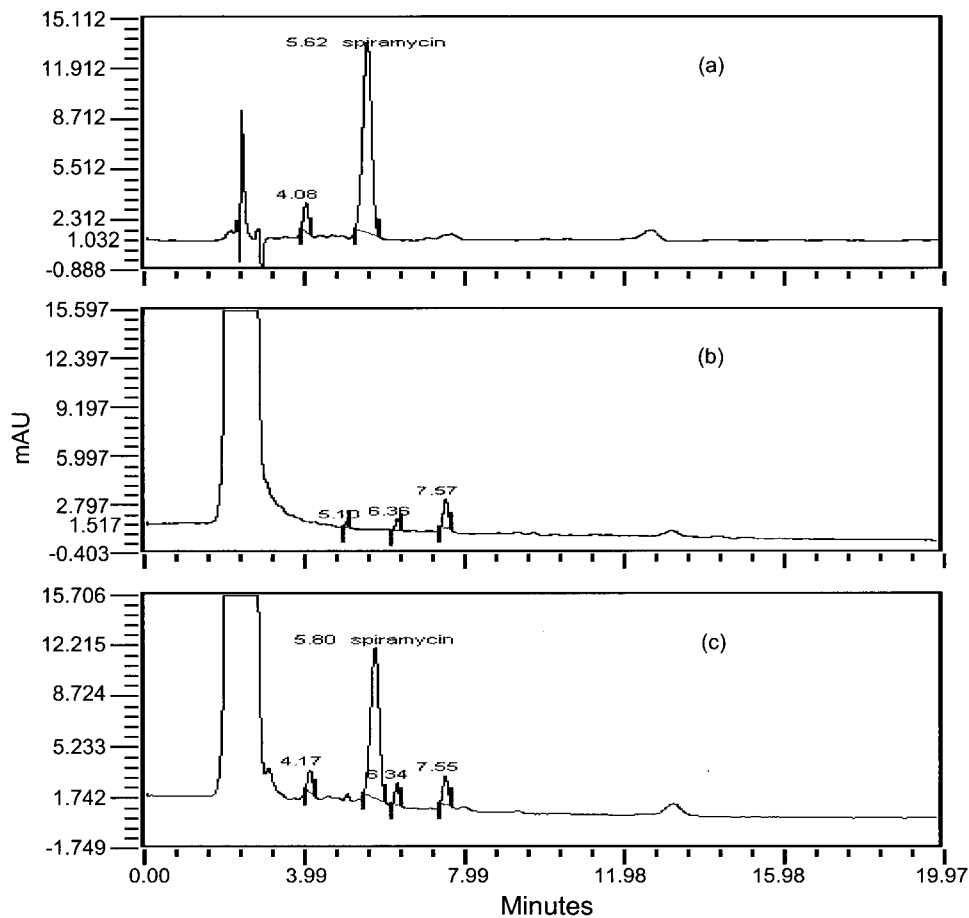


Fig. 2. HPLC chromatogram of spiramycin in spiked oliver flounder (*Paralichthys olivaceus*). (a), Standard solution 5 ppm; (b), spiked sample 5 ppm; (c), blank sample.

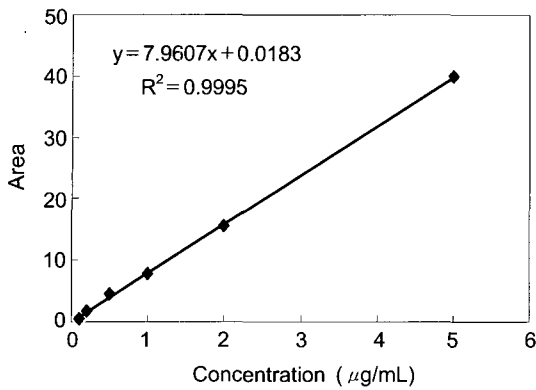


Fig. 3. Standard calibration curve for determination of spiramycin.

을 구한 다음 검량선 좌표의 Y축에 동일한 값을 표시하고 이 값과 검량선상 만나는 점에서 수직으로 X축과 만나는 점이 시험용액의 농도를 나타낸다. 이 농도에 시험용액의 회석배수(잔류물에 가한 이동상의 부피)를 곱하고 시료 무게로 나누어 최종 시료 중 각 성분의 농도를 산출하였다.

$$\text{시료중 spiramycin 농도} = \frac{\text{시료의 피크면적}}{\text{표준용액 피크면적}} \times \frac{\text{표준용액농도}}{\text{시료무게}}$$

표준검량선은 0.1-5.0 ppm에서 결정계수(r^2)가 0.9995로 직선성을 보였으며, 직선회귀식은 $y=7.96070x+1833.3$ 이었으며 어류 시료 중의 스피라마이신 검출한계는 0.05 ppm 이었다

회수율

스피라마이신 표준용액(0.1, 0.5, 1.0 ppm)을 첨가한 시료를 0.5 M phosphoric acid와 methanol (3:7, 40 mL)로 추출한 후 일반 시료 전처리와 같은 방법으로 시료를 처리하여 HPLC로 분석하였으며 분석결과를 표준용액의 농도 peak와 비교하여 회수율을 측정하였다. 어류 시료에 스피라마이신을 0.1, 0.5, 1.0 ppm 첨가하여 회수율을 측정할 결과 평균회수율은 각각의 경우 $82.4 \pm 3.11\%$ ($n=3$), $82.7 \pm 5.97\%$ ($n=3$) 및 $88.8 \pm 1.42\%$ ($n=3$)이었으며, 각각의 변이계수는 3.77, 7.22, 및 1.60%로 농도에 따라 다소 차이는 있었지만 높은 회수율을 나타내었다 (Table 2). 한편 닭 근육에서 $77 \pm 8\%$ 의 회수율을 가진 Leal et al. (2001)의 결과보다는 다소 높은 회수율을 나타내었으며, Horie et al. (1998) 등이 발표한 닭, 멧돼지, 소의 근육과 간 및 멧돼지의 신장에 스피라마이신을 1 ppm 첨가하여 회수율을 시험을 실시한 결과 77.6-87.1%의 회수율로 평균 81.4%의 회수율을 얻은 보고와 비슷한 회수율을 나타내었다. 또한 일본의 경우 잔류물질 분석을 위한 개발에 있어서 검출한계는 적어도 0.05 ppm이어야하고 1-2 ppm 첨가하였을 때 회수율은 적어도 70% 이상 되어야 한다는 지침(CJVPA, 1988)에 따라 개발된 시험방법의 검출한계는 0.05 ppm으로 그 기준에 합당하였다.

Table 2. Recovery of spiramycin from flounder, *Paralichthys olivaceus*, muscle tissue

| Concentration | Recovery rate (% Mean) | | |
|---------------|------------------------|---------|-------|
| | 0.1 ppm | 0.5 ppm | 1 ppm |
| 1st | 82.1 | 84.9 | 88.1 |
| 2nd | 79.4 | 87.2 | 87.8 |
| 3rd | 85.6 | 75.9 | 90.4 |
| Average | 82.4 | 82.7 | 88.8 |
| CV | 3.77 | 7.22 | 1.60 |

따라서 본 연구를 수행한 연구자들에 의해 제시된 시험법은 수산식품 중에 존재하는 스피라마이신을 효율적으로 분석가능하다는 것을 입증하였고, 이를 바탕으로 본 시험법의 식품공전에서의 사용을 식품의약품안전청(식약청)에 건의하였다. 이에 따라 식약청에서는 2004년 제시된 시험법 사용의 타당성을 검토한 후 본 연구에서 개발된 어패류 중의 스피라마이신 분석법을 식품공전법으로 채택하였으며, 이후 본 시험법은 식품의약품안전청, 국립수산물품질검사원 등에서 내수산 및 수입산 어패류에 대한 시험분석법으로 활용되고 있다.

스피라마이신 표준용액의 안전성

Stock solution

스피라마이신 분석에서의 표준품으로 사용하는 stock solution의 안전성을 확인하기 위하여 스피라마이신에 methanol을 가하여 100 ppm 농도액을 조제하고 이것을 실온과 냉장(4°C)에 보관하면서 저장중의 안전성을 조사하였다. 스피라마이신 표준용액(100 ppm)은 실온과 냉장 조건하에서 실온의 경우 저장 3주째까지, 냉장의 경우 저장 5주까지 안전성을 유지하는 것을 확인하였다(Table 3). 표준용액의 안전성은 표준용액을 각각 1.0 및 0.5 ppm으로 희석한 용액을 측정하였다.

Working solution

스피라마이신 표준용액(100 ppm)으로 조제한 working solution (0.5-5 ppm)을 실온 및 냉장 조건하에서의 안전성을 확인한 결과, working solution의 경우 4°C에 저장할 경우 3일 경과 후에도 98.5% 이상으로 안전성을 유지하였으나, 실온에 보관하는 경우 1일 경과 후 농도에 따라서 88.3%까지 떨어지는 것이 확인되었다(Table 4).

이상의 결과로 표준용액(100 ppm)의 경우 조제 후 상당한 기간까지 안전성이 유지되었으나, working solution의 경우는 안전성 보장이 3일 이후에는 안전성 보장이 거의 불가능하기 때문에 시험당일 조제하여 냉장의 경우 최대 3일안에, 상온의 경우 당일 사용하여야 하는 것으로 확인되었다.

양식어류 및 시판 활 뱀장어를 대상으로 한 스피라마이신 모니터링

본 연구에서 개발된 분석방법의 활용 가능성 확인 및 어류 양식장에서의 스피라마이신 사용실태 파악을 위하여, 2001년부터 2002년까지 남해안 일원에서 운용 중인 육상 및 해상

Table 3. Stability of standard spiramycin solution under room temperature and at 4°C

| Storage condition | Standard solution (ppm) | Storage | | | | | No. of samples |
|---------------------|-------------------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|----------------|
| | | 1st week | 2nd week | 3rd week | 5th week | 7th week | |
| Room temperature | 0.5 | 95.8 ± 0.1 | 92.8 ± 0.3 | 93.5 ± 0.5 | 90.8 ± 0.6 | 89.1 ± 0.7 | 3 |
| | 1.0 | 100.7 ± 0.3 | 98.0 ± 0.2 | 96.3 ± 0.6 | 95.7 ± 0.8 | 91.3 ± 0.5 | 3 |
| Refrigeration (4°C) | 0.5 | 98.13 ± 0.5 | 95.4 ± 0.5 | 97.9 ± 0.6 | 96.7 ± 0.2 | 91.2 ± 0.2 | 3 |
| | 1.0 | 97.64 ± 0.2 | 99.1 ± 0.3 | 100.9 ± 0.2 | 100.5 ± 0.3 | 92.8 ± 0.4 | 3 |

Table 4. Stability of working spiramycin solution during storage time

| Storage condition | Standard solution (ppm) | Storage days | | | | No. of samples |
|---------------------|-------------------------|--------------|-------------|-------------|------------|----------------|
| | | 1st day | 3rd day | 5th day | 1st week | |
| Room temperature | 0.5 | 93.2 ± 0.4 | 84.5 ± 0.7 | 37.3 ± 0.7 | 27.2 ± 0.5 | 3 |
| | 1.0 | 88.3 ± 0.7 | 77.6 ± 1.1 | 50.4 ± 0.5 | 39.0 ± 0.6 | 3 |
| | 2.0 | 92.5 ± 0.4 | 78.4 ± 0.6 | 55.4 ± 0.6 | 42.4 ± 0.7 | 3 |
| | 5.0 | 91.3 ± 0.5 | 81.6 ± 0.6 | 63.9 ± 0.4 | 46.8 ± 0.3 | 3 |
| Refrigeration (4°C) | 0.5 | 108.8 ± 0.2 | 100.6 ± 0.5 | 79.9 ± 0.5 | 78.0 ± 0.4 | 3 |
| | 1.0 | 98.7 ± 0.6 | 98.5 ± 0.3 | 86.1 ± 0.6 | 79.9 ± 0.4 | 3 |
| | 2.0 | 103.8 ± 0.4 | 101.4 ± 0.4 | 95.1 ± 0.3 | 91.3 ± 0.3 | 3 |
| | 5.0 | 102.8 ± 0.3 | 103.1 ± 0.4 | 101.8 ± 0.4 | 93.0 ± 0.2 | 3 |

Table 5. Monitoring of spiramycin in oliver flounder (*Paralichthys olivaceus*) and black rock fish (*Sebastes schlegeli*) cultured in fish farm and in live conger eel (*Anguilla japonica*) purchased from seafood market in Busan area

| Survey Time | Location | Fish species | Spiramycin (ppm) | No. of Samples |
|------------------|------------------------|-----------------|------------------|----------------|
| Sep. - Nov. 2001 | Tongyeong | Oliver flounder | ND | 5 |
| | Tongyeong | Black rock fish | ND | 3 |
| | Geoje | Black rock fish | ND | 3 |
| | Janghung | Oliver flounder | ND | 50 |
| | Wando | Oliver flounder | ND | 34 |
| Jan. - Mar. 2002 | Kijang market in Busan | Eel | ND | 21 |
| | Bujun market in Busan | Eel | ND | 18 |

ND: Not detected.

어류양식장의 양식어류와 시중에 유통 중인 뱀장어에 대한 스피라마이신 잔류 여부 확인을 위한 모니터링을 실시하였다. 넙치의 경우, 2001년도에는 경남 통영, 전남 장흥 및 완도의 육상어류양식장 12개를 대상으로 9월부터 11월까지 총 89점의 시료를 분석하였고, 조피볼락은 경남 통영 및 거제지역의 해상어류 양식장 각 1개소에서 양식중인 어류 6점을 대상으로 분석하였다. 뱀장어는 양식장에서의 시료 구입이 어려워 2002년 1월에서 3월까지 부산 시내의 시장에서 유통되고 있는 활 뱀장어를 대상으로 39점에 대하여 모니터링을 실시하였다. 양식어류 및 시판 활 뱀장어 총 134점에 대하여 스피라마이신을 분석하였으나, 모든 시료에서 스피라마이신은 검출되지 않았다(Table 5). 그리고 탐문 조사 결과, 넙치양식장에서는 OTC 등의 항생제는 사용하고 있으나, 스피라마이신은 사용하고 있지 않는 것으로 확인되었다. 그러나 양식어류의 항생제에 대한 국민보건위생안전 확보를 위하여서는 어류양식장에서 사용 중인 다양한 종류의 항생제에 대한 사용실태와 잔류 모니터링은 지속적으로 실시되어야 할 필요가 있다고 생각된다.

사 사

이 연구는 국립수산물과학원의 이화학적 위생안전위해관리 연구 및 해양수산부의 해양수산연구개발사업인 생산·출하 전 단계 수산물에 대한 위해요소중점관리기준 설정 및 표준모델 개발에 관한 연구의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다 (RP-2006-FS-004).

참 고 문 헌

- CJVPA (Corporation of Japan Veterinary Pharmaceutical Associations). 1988. GLP standard of the veterinary drugs, Livestock Agency, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Tokyo, Japan, 1-106.
- Cuypers, V., P. Mourier, J. Poirier and J. Rombi. 1994. Spiramycin embonate (RP 5337, Embonate). Study of metabolism in pigs. Rhône-Poulenc Rorer Report RPR/RD/CRVA/AN No. 7015,
- Daix, V. and N. Gougard. 1996. Spiramycin assay in swine tissues complement of validation of the micro-

- biological assay method. Report RPR/RD/CPD/PQA/CRVA 7370.
- EC (European Communities). 1999. COMMISSION REGULATION (EC) No 2593/1999. Amending Annexes I, II and III of Council Regulation (EEC) No 2377/90 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Communities. Brussels, Belgium, L26-L31
- Furusawa, N. 1999. Normal-phase high-performance liquid chromatographic determination of spiramycin in eggs and chicken. *Talanta*, 49, 461-468.
- Horie, M., K. Saito, R. Ishii, T. Yoshida, T. Haramaki and H. Nadazawa. 1998. Simultaneous determination of five macrolide antibiotics in meat by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 812, 295-302.
- JETRO (The Japan External Trade Organization). 2004. Specification and Standards for Foods, Food Additives, etc. under the Food Sanitation Law. Business Information Center, Tokyo, Japan, 1-18.
- Jin, Z.H. and P.L. Cen. 2004. Improved production of spiramycin by mutant *Streptomyces ambofaciens*. *J. Zhejiang Univ. SCI.*, 5, 689-695.
- Leal, C., R. Codony, R. Compano, M. Granados and M.D. Prat. 2001. Determination of macrolide antibiotics by liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 910, 285-290.
- Lee, J.R. 1994. An Introduce to Veterinary Pharmacology. A Publishing Department of Seoul University, 179-180.
- Mignot, A., M.A. Lefebvre and L. Millerioux. 1993. Determination of spiramycin and neospiramycin in biological samples (muscle and liver) from a metabolism study of spiramycin in the pig. CEPHAC Report, CD 514, 44-132.
- Mourier, P. 1993. Spiramycin embonate in pigs: study of metabolism. Submitted by Rhône-Poulenc Rorer Report RPR/RD/CRVA/AN No. 6993, 133-168.
- Mourier P. and A. Brun. 1997. Study of the metabolism of spiramycin in pig liver, *J. Chromatogr. B*, 704, 197-205.
- NFRDI (National Fisheries Research and Development Institute). 2000. Prevention of Fish Disease and Therapeutic Control for Health Fish Product. Gudeok Publishing Company, Busan, Korea, 95-204.
- Omura, S., H. Ikeda and C. Kitao. 1979. Isolation and properties of spiramycin I 3-hydroxyl acylase from *Streptomyces ambofaciens*. *J. Biochem.*, 86, 1753-1758.
- Ozaki, H. 1984. Fish Pharmacology V (Antibiotic 4). Midorishobo Publishing Company, Tokyo, Japan, 95-133.
- Pascal, C., A. Bertrand, A. Kies and J. Poirier. 1990. Spiramycin - Study of residues in swine following administration in feed. Unpublished Report No. 1103. Submitted by Rhône-Poulenc Santé, Vitry-sur-Seine, France, 1-42.
- Sagan, C., S.A. Salvador, D. Dubreuil, P.P. Poulet, D. Duffaut and I. Brumpt. 2005. Simultaneous determination of metronidazole and spiramycin I in human plasma, saliva and gingival crevicular fluid by LC-MS/MS, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 38, 298-306.

2006년 2월 28일 접수

2006년 4월 24일 수리