韓家衛誌 第31卷 第3號
Korean J Vet Serv (2008) 31(3) : 385-395.

Korean Journal
of Veterinary Service

인천광역시에서 유통되는 계란의 플루오로퀴놀론계 항균물질 잔류 실태 조사

박은정*, 임지흔, 이성모, 임정수[1], 오대규[1]

인천광역시보건환경연구원, 가천의과학대학교[1]

(접수 2008. 08. 13, 게재승인 2008. 09. 23)

A study on the residues of fluoroquinolones in hen's eggs consumed in Incheon Metropolitan city

Eun-Jeong Park*, Ji-Huen Lim, Sung-Mo Lee, Jeong-Soo Im[1], Dae-Kyu Oh[1]

Incheon Metropolitan City Institute of Health & Environment, Incheon 400-102, Korea
[1]*Department of Preventive Medicine, Gachon University of Medicine and Science, Incheon 406-799, Korea*

(Received August 23, 2008, accepted in revised from September 23, 2008)

Abstract

This study was carried out to investigate the residue level of fluoroquinolones in hen's general eggs and specific eggs by microbiological assay method and high performance liquid chromatography (HPLC) method. HPLC separation was carried out by reversed phase chromatography on a Symmetry C_{18} (250 × 4.6 ㎜, 5 ㎛ particle size) with a phase composed of distilled water (containing 0.4% triethylamine and phosphoric acid) : Methanol (780 : 220, v/v), pumped isocratically at a flow rate of 1.0 ㎖/min. A fluorescence detector was utilized with an excitation wavelength of 278 ㎚ and an emission wavelength of 456 ㎚. The calibration curves were linear ($\gamma^2 \geq 0.999$) over a concentration range of 0.025~0.4 ㎍/㎖. Average recoveries of the five fluoroquinolones in whole eggs at fortified levels of 0.05~0.2 ㎍/g were ranged mean 78.1~91.7% and low coefficient of variation was less than 10% for all analysed samples. The limits of detection and limits of quantification for whole eggs were 1.2~6.0 ng/g and 2.3~9.1 ng/g, respectively. Only one hen's general eggfrom chicken farm in Incheon was detected with the residual fluoroquinolones (Microbiological assay method ; 1 of 47 general eggs) ; the range of residual concentration enrofloxacin was 0.12 ppm. Those in food stores were detected with the residual

*Corresponding author
Tel : +82-32-440-5463, Fax : +82-32-440-5494
E-mail : ejpark@incheon.go.kr

fluoroquinolones (Microbiological assay method ; 4 of 88 general eggs) ; the ranges of residual concentration enrofloxacin were 0.15~2.2 ppm, ciprofloxacin 0.01~0.06 ppm, and hen's specific eggs (40) in food stores were not detected. For the microbiological assay method of fluoroquinolones in hen's eggs, as the results of comparative analysis, the disc diffusion method with *E coli* may be a little highly detected for the residual fluoroquinolones.

Key words : fluoroquinolones, general egg, specific egg, Microbiological assay, HPLC.

서 론

계란은 단백질, 탄수화물, 지방, 무기질, 비타민 등 모든 영양소가 골고루 들어 있어 세계 모든 사람들이 애호하는 단일 식품으로 높은 영양가에 비해 에너지가 낮고 소화 흡수가 잘 되며 다른 축산물에 비해 비교적 가격이 저렴하여 우리 식생활에 많이 소비되고 있는 축산물이다[1,2].

1인당 연간 계란소비량은 미국해외농업처(FAS) 2001년 통계에 따르면 일본 346개, 중국 301개, 프랑스 265개, 미국 258개, 대한민국 179개로 조사되었고 우리나라 농림부 통계에 의하면 2002년 203개, 2004년 193개로 감소하다가 2006년에는 223개를 소비하는 것으로 조사되었다.

현대인의 식생활 변화로 계란 소비량이 정체되어 계란의 부가가치를 높이기 위해 일반란과 차별화된 다양한 종류의 기능성 계란인 특수란이 생산, 판매되고 있다. 1980년대 중반부터 국내 계란 시장에서 일부 선보이기 시작한 특수란은 사육과정에서 일반란과는 달리 특수한 환경이나 특수사료를 먹여 특정 성분을 강화하고 상품화한 계란으로 2006년 전체 계란 시장 1조 2천억원 중 특수란 시장은 약 3,000억원 정도로 추산된다. 특수란에는 해초란, 자연방사란, 요오드란, 비타민란, 인삼란 등이 있으며 계란유통 브랜드는 상표등록 자체조사결과 '06년 약 220여개 정도로 추산되고 있다. 최근 웰빙 열풍의 영향 및 대형할인매장위주의 시장 환경 변화 추세에 적합하여 1~2년 만에 특수란의 소비는 약 30% 이상 성장하였으며 일반란 보다 높은 가격으로 거래되고 있다[3-5].

플루오로퀴놀론계 항균물질은 그람양성세균, 그람음성세균, *Mycoplasma spp*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Camphylobacter spp*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus pneumoniae* 등에도 강한 항균력을 가지고 있어 사람과 가축에서 널리 사용되고 있다[6-8]. 국내에서는 ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin, danofloxacin, cenfloxacin, pefloxacin, orbifloxacin 등의 약제가 가축 및 수산용으로 판매되고 있다[9]. 육계는 살모넬라 감염증, 마이코플라스마 감염증 치료 및 예방 등의 목적으로 널리 사용되고 있으나 산란중인 닭에서는 사용을 금지하고 있으며 식품위생법에 의거 동물용의약품 잔류허용기준에서는 알에서 enrofloxacin과 ciprofloxacin을 불검출로 고시하고 있다[10].

미국에서는 플루오로퀴놀론계 저항성 *Salmonella*와 *Campylobacter*가 검출되었으며[11,12] 축산물 내 잔류로 인한 약제 내성 및 독성이 심각하여 미국 FDA, 캐나다, 유럽, 일본 등에서 규제 중에 있으며[13-16] 국내에서도 치료 및 예방 목적으로 무분별하게 사용되어 닭에서 플루오로퀴놀론 항균제에 대한 내성율이 57.1~59.2%로 높게 나타났다[17].

축산물 내 플루오로퀴놀론계 항균물질 잔류분석법은 간이검사법과 정밀정량법으로 구분될 수 있다. 간이검사법으로는 Microbiological assay[18-21], Immunoassay[18,19], Thin layer Chroma-

tography (TLC)[22] 등이 있고 정밀정량법으로는 HPLC (High performance liquid chromatography)[14,23,24], HPLC-MS (High performance liquid chromatography - Mass spectrometry)[25], HPLC/MS/MS[26] 등이 보고되고 있다. 특히 Microbiological assay법은 *B subtilis, B cereus, B megaterium, M luteus, E coli* 등의 여러 균주를 사용하여 평판 배지에 투명하게 형성되는 미생물의 억제환을 측정하는 것으로 많은 양의 검사 시료에서 광범위한 항균물질을 동시에 검출할 수 있는 간이검사법으로 개발되어 사용되고 있다. 그러나 식용란에서 간이검사법으로 사용 중인 *B subtilis* 균주 등을 이용한 방법은 German Hemmstoff test 및 Dutch kidney test를 혼용하여 1980년대 초에 개발된 방법으로 플루오로퀴놀론계 항균물질에 대한 검출 감도가 낮아 잔류허용기준까지 검출할 수 없는 단점을 가지고 있다[19,21].

고 등[24] 및 서 등[27]의 연구는 광주광역시에서 유통되는 식용란을 대상으로 플루오로퀴놀론계 합성항균제의 잔류 조사를 하였으나 특수영양성분 강화 및 사육환경 등이 상이한 특수란을 고려하지 않았다.

따라서 본 연구에서는 국내외에서 보고된 플루오로퀴놀론계 항균물질에 대한 검사법을 토대로 인천광역시에서 유통되는 일반란과 특수란에 대하여 간이검사법으로 식용란의 미생물 및 잔류물질 등 검사요령[28]에서 사용하는 EEC 4-plate법과 조 등[20]이 검사한 *E coli*법을 비교하고 정밀정량법으로 형광검출기를 부착한 액체크로마토그래피를 이용하여 계란 내 잔류 가능성이 높은 플루오로퀴놀론계 항균물질 중 pefloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin, danofloxacin를 동시 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

연구재료

2007년 1월부터 12월까지 인천 양계장에서 생산된 일반란 47건과 관내 백화점 및 할인매장에서 계란 128건(일반란 88건, 특수란 40건)을 구입하여 시험에 사용하였다.

연구방법

간이정성검사법으로 미생물학적 검사 방법인 EEC 4-plate법(식용란의 미생물 및 잔류물질 등 검사요령)[28]과 조 등[20]이 검사한 방법을 실시하고 정밀정량법으로 형광검출기를 부착한 액체크로마토그래피를 이용하여 플루오로퀴놀론계 항균물질인 pefloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin, danofloxacin을 동시 분석하였다.

간이정성검사

시험용 균주

미생물 균주는 EEC 4-plate법으로 축산물의 가공기준 및 성분에 사용되는 *Bacillus subtilis* 아포액(Merck, Germany, 2×10^7 cfu/㎖), *Micrococcus luteus* ATCC 9341 균주액(대한종균협회, 2×10^7 cfu/㎖)을 사용하였고 추가로 *E coli* 법으로 *E coli* ATCC 11303 균주액(국립수의과학검역원 분양, 5×10^7 cfu/㎖)을 사용하였다.

시험용 평판 조제

시험용 평판은 Test agar pH 6.0, Test agar pH 8.0 및 Mueller hinton agar (Merck, Germany)에는 *Bacillus subtilis* 아포액, Test agar pH 8.0에는 *Micrococcus luteus* ATCC 9341 균주액, Test agar pH 6.0에는 *E coli* ATCC 11303 균주액을 각각 해당 배지량의 1%를 가하여 혼합한 후 8 ㎖씩 페트리디쉬에 분주하여 제작하였다. Mueller hinton agar에는 시험균액 외에 추가로 trimethoprim 10 ㎍/㎖을 100㎖ 당 1㎖을 가하여 시험용 평판을 만들었다.

Table 1. Sample size for the experiment

Item	Chicken farms (*n = 47)	Department stores & discount stores (**n = 128)		Total
	General egg	General egg	Specific egg	
No of tested	47	88	40	175
%	26.8	50.3	22.9	100.0

*n = number of chicken farms, **n = number of brands

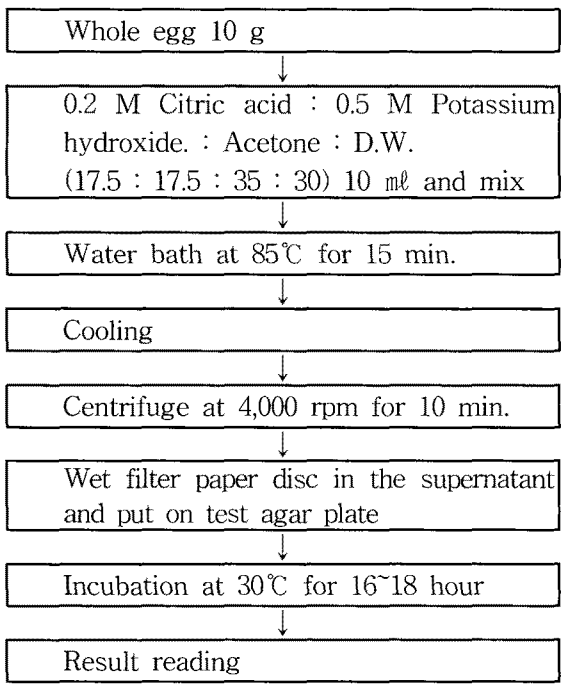

Fig 1. The sample preparation scheme for the analysis of fluoroquinolones (Microbiological assay method)

계란 전처리 및 판정

계란 10개를 혼합, 균질화 하여 전란액 10 g을 취해 Fig 1 숙식에 따라 처리하고 캘리퍼스를 이용하여 디스크 10 ㎜ (ADVANTEC, Toyo Roshi Kaisha, Ltd.)을 포함한 억제대가 12 ㎜ 이상인 평판이 있을 경우 해당시료를 양성으로 판정하고 HPLC를 이용하여 정밀정량검사를 실시하였다.

HPLC를 이용한 정밀정량검사

표준품 및 시약

플루오로퀴놀론계 표준품은 norfloxacin (NFX, Sigma), ciprofloxacin (CPFX, Dr. Ehrenstorfer GmbH), enrofloxacin (EFX, Dr. Ehrenstorfer GmbH), danofloxacin (DFX, Sigma)을 사용하였고 pefloxacin (PFX)은 국립수의과학검역원으로부터 구하여 사용하였다. Ethyl Acetate, Methanol, 증류수는 HPLC급을 사용하여 분석하였고 Oxalic acid, Triethylamine, Phosphoric acid 등 시험에 사용된 시약은 특급 이상의 수준을 사용하였다.

기기

전처리 기기로는 원심분리기(Union 55R, 한일sci.), 10,000 rpm 원심분리기(HM-150IV, 한일sci.), 농축기(Turbovap® LV, Zymark), 초음파세척기(1510R-DTH, Branson)를 사용하였고 분석시에는 형광검출기가 장착된 액체크로마토그래피(Spectra system FL2000, TSP, USA)를 이용하였다.

분석조건

형광검출기가 부착된 HPLC를 이용하여 Table 2의 조건에 따라 시험하였다.

Table 2. HPLC condition for the determination of fluoroquinolones

Items	Conditions
Mobile phase	DW (0.4% Triethylamine & Phosphoric acid) : Methanol = 780:220, v/v)
Detector	Exi 278㎚, Emi. 456㎚
Flow rate	1.0 ㎖/min.
Colume	Symmetry C_{18} (250 × 4.6㎜, 5㎛)
Injection vol	20㎕

표준용액 조제

플루오로퀴놀론계 표준품 10 ㎎을 각각 취하여 100㎖ 갈색 용량 플라스크에 넣고 메탄올에 완전히 녹인 다음 100 ㎍/㎖ 농도로 만들어 표준원액(stock solution)으로 하였다. 또 표준원액을 이동상 용매로 희석하여 10 ㎍/㎖ 농도로 만들어 표준용액으로 사용하였다. 표준용액은 냉장 보관하여 14일간 사용하였다.

표준곡선 작성

플루오로퀴놀론계 표준용액(10 ㎍/㎖)을 100㎖ 갈색 용량 플라스크에 4, 2, 1, 0.5, 0.25 ㎖씩 취하고 이동상으로 표시선 까지 채워 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 ㎍/㎖으로 희석하였다. 5개 농도의 희석된 표준용액을 20 ㎕씩 주입하여 얻은 크로마토그램에서 각각의 플루오로퀴놀론계 약물에 대한 농도별 평균면적을 구하여 X축을 농도, Y축을 면적으로 하여 표준곡선을 작성하였다.

계란 전처리

전란액 1.0 g을 칭량하여 50 ㎖ 원심튜브에 취한 후 Fig 2 술식에 따라 처리하여 시험용액으로 사용하였다.

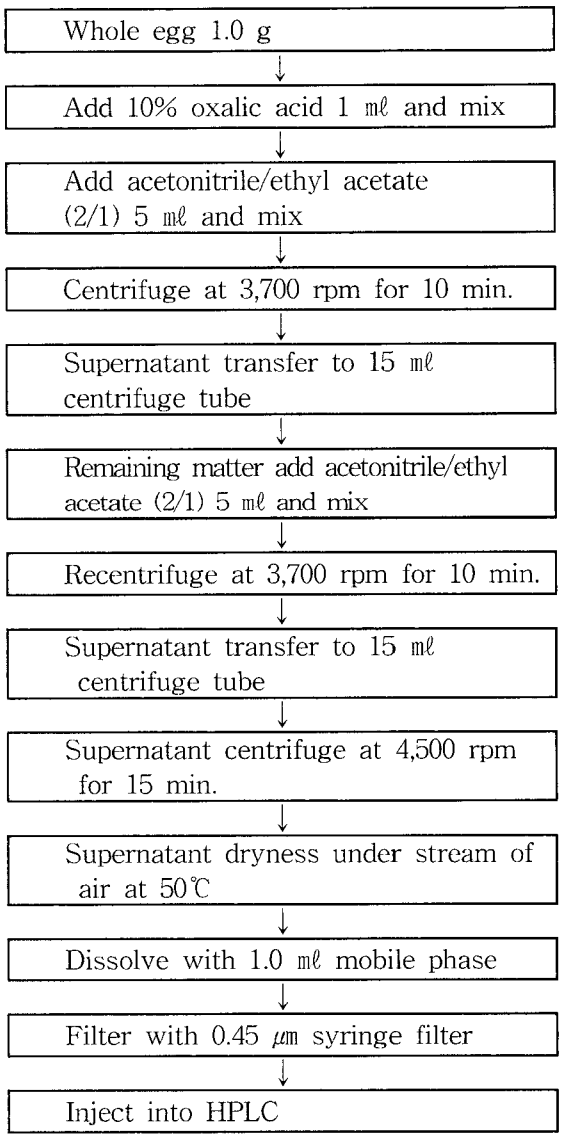

Fig 2. The sample preparation scheme for the analysis of fluoroquinolones (HPLC method)

결과 및 고찰

플루오로퀴놀론계 항균물질은 1990년도에 개발되어 Fig 3과 같이 화학 구조식의 작용기에 따라 약물의 명명을 달리하고 다양한 효과를 나타낸다. 세균의 DNA전사에 관여하는 DNA-gyrase 활성을 억제하여 살균작용을 나타내는 광범위 합성항균제로서 *Mycoplasma spp, Salmonella spp, Shigella spp, Camphylobacter spp, Enterobacteriaceae, Streptococcus pneumoniae,* 그람양성세균, 그람음성세균 등에도 강한 항균력을 가지고 있어 사람과 가축에서 널리 사용되고 있다.

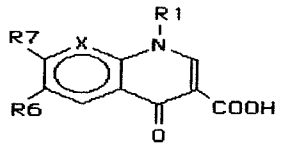

Fig 3. Chemical structure and characteristic fluoroquinolones

본 연구에서는 간이정성법으로 미생물학적 검사를 실시하고 정밀정량법으로 형광검출기를 부착한 액체크로마토그래피를 이용하여 2007년 인천 관내 농장, 백화점 및 할인매장에서 구입한 일반란과 특수란에서 플루오로퀴놀론 항균물질 잔류 실태를 조사하였다.

표준곡선 작성

표준용액을 각각 25~400 ng/㎖의 농도범위에서 HPLC에 주입하여 여기파장 278 ㎚, 측정파장 456 ㎚에서 측정하였을 때 pefloxacin, norfloxacin, danofloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin 5종 모두에서 상관계수 0.999 이상의 직선성을 나타내었다(Fig 4).

HPLC 크로마토그램

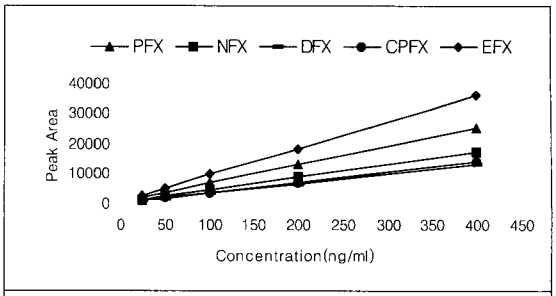

Fig 4. The standard calibration curves for the analysis of fluoroquinolones (χ^2>0.999) (DFX response/10)

*: PFX : pefloxacin, NFX : norfloxacin, DFX : danofloxacin, CPFX : ciprofloxacin, EFX : enrofloxacin

플루오로퀴놀론계 합성항균제 5종에 대한 HPLC 크로마토그램은 Fig 5에서 보는 바와 같이 분리도가 양호하였다. 또한 전란액에 혼합표준용액을 50 ng/g의 농도로 첨가하여 액상추출법으로 전처리하여 분석하였을 때 음성시료와 첨가시료 사이에 방해 피크 없이 표준용액과 동일한 분리도를 보였다. pefloxacin이 제일 먼저 분리되었으며 norfloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin, danofloxacin 순서대로 검출되었다.

박 등[23]과 고 등[24]에 의하면 danofloxacin이 먼저 나오고 enrofloxacin이 맨 뒤에 분리되었는데 이것은 이동상 용매 조성에 의한 것으로 사료된다.

정확도 및 정밀도 분석

플루오로퀴놀론계 항균물질이 잔류되지 않은 계란을 선별하여 0.05~0.2 ㎍/g의 농도로 첨가한 후 회수율을 측정한 결과 pefloxacin 84.7~88.2%, norfloxacin 75.0~84.2%, ciprofloxacin 73.3~80.8%, enrofloxacin 87.0~97.2%, danofloxacin 80.3~83.0%로 나타났고, 실험실내 변이계수(CV)는 2.4~8.7%이었다(Table 3).

박 등[23]이 enrofloxacin 등 5종의 동시분석법으로 측정한 전란액에서의 평균 회수율은

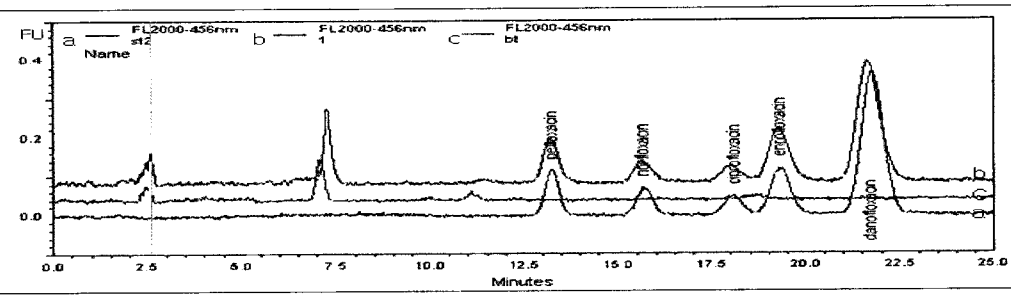

Fig 5. HPLC chromatogram of a) fluoroquinolone standards (50 ng/㎖), b) fluoroquinolone fortified egg at 50 ng/g, and c) blank

Table 3. Accuracy and repeatability of fluoroquinolones in spiked eggs (n=6)

Compounds	Recovery rate (%)±SD*, (CV**, %)			
	0.05 ㎍/g	0.1 ㎍/g	0.2 ㎍/g	Mean
Pefloxacin	84.7 ± 3.9 (4.6)	88.2 ± 5.0 (5.7)	88.0 ± 3.1 (3.6)	87.0 ± 4.0 (4.6)
Norfloxacin	75.0 ± 6.5 (8.7)	84.2 ± 4.6 (5.4)	83.8 ± 3.8 (4.5)	81.0 ± 5.0 (6.2)
Ciprofloxacin	73.3 ± 4.7 (6.4)	80.2 ± 6.6 (8.2)	80.8 ± 2.6 (3.3)	78.1 ± 4.6 (6.0)
Enrofloxacin	87.0 ± 2.1 (2.4)	97.2 ± 4.0 (4.1)	90.8 ± 2.7 (3.0)	91.7 ± 2.9 (3.2)
Danofloxacin	80.3 ± 2.3 (2.9)	83.0 ± 4.9 (6.0)	82.3 ± 2.5 (3.0)	81.9 ± 3.2 (4.0)

*SD : Standard deviation, **CV : Coefficient of variation

Table 4. Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of fluoroquinolones in eggs (n=20)

Compounds	LOD (㎍/kg)	LOQ (㎍/kg)
Pefloxacin	3.5	5.3
Norfloxacin	5.1	7.5
Ciprofloxacin	6.0	9.1
Enrofloxacin	3.0	4.4
Danofloxacin	1.2	2.3

※ LOD=Blank determination + 3*SD
LOQ=Blank determination + 6*SD

82.1~88.9%, 실험실내 변이계수는 2.3~8.4%, 닭 근육에서 평균 회수율은 83.2~96.0%, 변이계수는 0.7~5.5%였다. 윤 등[29]이 enrofloxacin 등 7종의 동시분석법으로 측정한 계란에서의 평균 회수율은 60~94%, 실험실내 평균 변이계수는 5.0~10.0%였으며 Schneider와 Donoghue[30]는 sarafloxacin 등 6종에 대해 회수율 66~110%, 변이계수는 1.8~16.0%였다고 보고하였다. CODEX에서는 0.01~0.1 ㎍/g 농도일 경우 회수율은 70~110%, 변이계수는 20% 이내, 0.1 ㎍/g 초과 농도일 경우 회수율은 80~110%, 변이계수는 15% 이내를 권장하고 있는데 본 실험 결과의 회수율과 변이계수는 국제 권장 기준 이내의 양호한 성적으로 판단된다.

검출한계 및 정량한계 조사

계란의 플루오로퀴놀론계 항균물질 5종에 대한 동시분석에서 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 각각 pefloxacin 3.5 ppb, 5.3 ppb, norfloxacin 5.1 ppb, 7.5 ppb, ciprofloxacin 6.0 ppb, 9.1 ppb, enrofloxacin 3.0 ppb, 4.4 ppb, danofloxacin 1.2 ppb, 2.3 ppb 이었다 (Table 4).

박 등[23]은 항균물질 5종에 대하여 계란에서 LOD 1.0~4.9 ppb, LOQ 4.2~9.3 ppb, 닭고

기에서 LOD 0.3~2.2 ppb, LOQ 1.0~7.2 ppb로 보고하였고 윤 등[29]은 계란에서 엔로플로사신 등 7종에 대해 LOD 0.2~21.9 ppb, LOQ 0.3~33.6 ppb로 보고하였다. 또한 Lim 등[25], Schneider와 Donoghue[30], Gigosos 등[31]의 조사에서는 1~5 ppb로 본 실험과 유사한 결과를 보였다.

계란에서 잔류실태

인천지역 양계장에서 생산된 일반란 47건을 EEC 4-plate법과 *E. coli*법으로 검사하여 양성은 각각 1건이었고 HPLC 정밀정량 검사 결과 enrofloxacin 0.12 ppm 검출되었다. 또한 관내 백화점 및 할인매장에서 구입한 계란 128건(일반란 88건, 특수란 40건) 중 EEC 4-plate법 양성은 일반란 3건, *E. coli*법 양성은 일반란 4건이었다. 이를 HPLC로 정밀정량 검사 결과 enrofloxacin 0.15~2.2 ppm, ciprofloxacin 0.01~0.06 ppm 검출되어 4건 모두에서 플루오로퀴놀론계 항균물질이 검출되었으나 특수란에서는 40건 모두 음성이었다 (Table 5. 6).

Table 5. Detection rate of fluoroquinolones in hen's eggs collected from farms & food stores in Incheon metropolitan city (Microbiological assay method)

Items	Farms (n = 47)*	Food stores (n = 128)**		Total (n=175)
	General egg (n = 47)	General egg (n = 88)	Specific egg (n = 40)	
No of positive by EEC 4-plate method (%)	1 (2.1)	3 (2.3)	0 (0)	4 (2.3)
No of positive by *E coli* ATCC 11303 method (%)	1 (2.1)	4 (3.1)	0 (0)	5 (2.9)

*n = number of chicken farms, **n = number of brands

양계장에서 생산된 일반란과 관내 백화점 및 할인매장에서 구입한 일반란에서 플루오로퀴놀론계 항균물질 검출률 차이에 대해 χ^2검증 결과 통계학적으로 유의한 차이는 발견되지 않았다(p value=0.658).

2003년 고 등[24]의 연구에 의하면 계란에서 enrofloxacin 검출률은 2.2%로 본 연구 조사의 2.9%와 비슷한 결과를 보였으나 ciprofloxacin은 검출되지 않았다. 또한 이번 조사에서 enrofloxacin은 다량 검출된 반면 ciprofloxacin은 불검출 이거나 소량 검출되었는데 이는 닭 체내에서 enrofloxacin이 ciprofloxacin으로 일부 대사 되어진 것으로 Garcia 등[32]과 Intorre 등[33]의 조사 결과와 일치하였다.

관내 식품매장에서 구입한 계란 중 간이정성검사법 비교에서 양성반응은 EEC 4-plate법으로 3건, *E coli*법으로 4건이었고 *E coli* 균주를 이용한 방법에서 플루오로퀴놀론계 합성항균제 검출률이 다소 높게 나타나 조 등[20]의 검사 결과와 같았다. 국내에서 계란 중 잔류기준은 enrofloxacin과 ciprofloxacin에 대한 허용기준이 불검출이고 국내외적으로 산란 중인 닭에 사용을 금지하고 있어 *E. coli* 균주를 이용한 미생물학적 방법이 보다 효율적인 것으로 판단된다.

2001년 이 등[34]의 연구에 의하면 특수란과 일반란에서 일부 성분이 차이가 없었고 영양강화 계란 간에는 성분 편차가 크게 나타났으나[35], 본 연구에서는 특수란에서 플루오로퀴놀론계 항균물질이 검출되지 않아 보다 더 안전한 것으로 조사되었다. 이는 특수란에서 특수 영양성분 강화 및 차별화된 사육환경 등의 영향으로 질병에 걸린 위험이 낮은 것이 원인으로 사료되나 보다 지속적인 추가 조사가 필요하다.

Table 6. Residue level of fluoroquinolones using HPLC in general hen's eggs suspected by microbiological assay method

Detected compounds	Result (Average, μg/g)	Origin
Enrofloxacin	0.12	Farms
Enrofloxacin Ciprofloxacin	0.15 0.02	Food stores
Enrofloxacin Ciprofloxacin	0.2 0.01	Food stores
Enrofloxacin Ciprofloxacin	0.6 0.06	Food stores
Enrofloxacin Ciprofloxacin	2.20 0.04	Food stores

결 론

계란은 노약자, 유아 및 모든 사람들이 쉽게 접할 수 있는 축산물로서 날로 먹거나 간단한 열처리만으로도 섭취가 가능하므로 안전성과 위생에 있어서 언제든지 문제가 발생할 수 있다. 특히 플루오로퀴놀론계 항균물질은 닭에서 살모넬라 감염증, 마이코플라스마 감염증 치료 및 예방 등의 목적으로 널리 사용되고 있어 계란에서 잔류 가능성이 매우 높다. 따라서 본 연구에서는 간이정성법으로 미생물학적 검사를 실시하고 정밀정량법으로 액체크로마토그래피를 이용하여 2007년 인천 관내 농장, 백화점 및 할인매장에서 구입한 일반란과 특수란에서 플루오로퀴놀론 항균물질 잔류 실태를 조사하였다.

첫째, 플루오로퀴놀론계 5종 pefloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin, danofloxacin에 대한 HPLC 분석조건으로 컬럼은 Symmetry C_{18}을 사용하였고 이동상 용매는 0.4% Triethylamine, Phosphoric acid 첨가 용액과 Methanol을 780 : 220 혼합하여 사용하였으며, 형광검출기 여기파장 278 ㎚, 측정파장 456 ㎚에서 유속은 1.0 ㎖/min. 으로 측정하여 상관계수 0.999 이상의 직선성을 보였다.

둘째, 플루오로퀴놀론 표준용액을 0.05~0.2 μg/g 첨가한 전란액에서 평균 회수율은 78.1~91.7% 이었고 실험실내 평균 변이계수(CV)는 모두 10% 미만이었다. 검출한계 및 정량한계는 각각 1.2~6.0 ng/g, 2.3~9.1 ng/g 이었다.

셋째, 인천지역 유통 계란에 대한 간이검사법 비교에서 EEC 4-plate법보다 *E coli* 균주를 이용한 방법에서 플루오로퀴놀론계 합성항균제 검출률이 다소 높게 나타났다. 양계장에서 생산된 일반란 47건 중 HPLC 검사 결과 enrofloxacin 0.12 ppm 검출되었고 백화점 및 할인매장에서 구입한 일반란 88건 중 HPLC 검사 결과 4건에서 enrofloxacin 0.15~2.2 ppm, ciprofloxacin 0.01~0.06 ppm 검출되었으며 특수란은 40건 모두 음성이었다.

이와 같은 연구 결과를 종합해 볼 때 현재 식품의 기준 및 규격 및 식용란의 미생물 및 잔류물질 등 검사요령에서 검사하는 EEC 4-plate법에 *E coli* 법을 추가하여 식육 및 식용란에 잔류위험이 있는 플루오로퀴놀론계 항균물질 검출률을 높일 수 있는 방법으로 공인시험법을 변경할 필요성이 있다. 또한 식용란 검사 이원화 체계를 일원화 체계로 개선하여 식용란 검사를 강화하고 국민 건강과 직결된 안전한 축산물 보급을 위해서 정부, 축산인 모두가 노력하여야 할 것이다.

참고문헌

1. 이성기. 1999. 계란과 닭고기의 과학. 유한문화사, 서울 : 15-36.
2. 한석현. 1996. 계란의 과학과 그 이용, 선진문화사, 서울 ; 111-131, 204-214.
3. 한국양계연구소. 2002. 특수성분을 이용한 새로운 계란상품들. 양계연구(145) : 55-57.
4. CJ Feed. 2000. 국내 특수란 무엇이 문제인가. 21세기축산(가을호).
5. 박우문. 2000. 특수란의 성분표시 기준에 관한 연구. 2000 한국가금학회 춘계 산학

협동 심포지움 PROCEEDINGS, 한국가금학회 : 9-21.
6. Hooper DC and Wolfson JS. 1985. Minireview The fluoroquinolone ; Pharmacology, clinical use and toxicities in human. *Antimicrob Agents Chemother* 28(5) : 716-721.
7. Vancutsem PM, Bablish JG and Schwark WS. 1990. The quinolone antimicrobials ; Structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animal and toxicity. *Cornell Vet* 80 : 173-186.
8. Mitsuyama J. 1999. Structures of existing and new quinolones and relationship to bactercidal activity against *Streptococcus pneumoniae*. *J Anti Chem* 44 : 201-207.
9. 사단법인 한국동물약품협의회. 2001. 동물용의약품 등 편람.
10. 식품의약품안전청. 2007. 식품의 기준 및 규격. 식품의약품안전청고시 제2007-84호.
11. Herikstad H, Hayes P, Mokhtar M, et al. 1997. Emerging quinolone resistant *Salmonella* in the United States. *Emerging Infect Dis* 3 : 371-372.
12. Smith KE, Besser JM, Hedberg CW, et al. 1999. Qunolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota 1992-1998. *The New Engl J Med* 340(20) : 1525-1532.
13. FDA. 2003. FDA Approved animal drug products NADA 140-828. 21 *CFR* 520.813.
14. Barry C. 1993. The analytical testing followed by laboratory services division of agriculture Canada for veterinary drug residues in eggs, In proceedings of the euroresidues II conference on residues of veterinary drugs in food, *Veldhoven*. The Netherlands 3-5 : 170-175.
15. The European agency for the evaluation of medical products. 2002. The European agency for the evaluation of medical products : Veterinary medicines and inspections, Committee for veterinary medical products, Enrofloxacin, Summary report(5). *EMEA*/MRL /820/02-Final.
16. Horie H, Saito K, Nose N. et al. 1994. Simultaneous determination of benofloxacin, danofloxacin, enrofloxacin, and ofloxacin in chicken tissues by HPLC. *J Chrom B* 653 : 69-76.
17. 이영주, 김애란, 정석찬 등. 2005. 닭 분변 유래 *E. coli* 및 *Salmonella* spp.의 내성 패턴. 대한수의학회지 45(1) : 75-83.
18. Suhren G, Hammer P and Heeschem W. 1996. Detection of residues of quinolones in milk, In proceedings of the euroresidue III conference on residues of veterinary drugs in food, *Veldhoven*. The Netherlands 6-8 : 917-921.
19. 조병훈, 진남섭, 손성완 등. 1996. EEC 4-Plate Test의 식육중 항균물질 검출감도와 항균물질 계열별 검출능 비교 조사. *J Fd Hyg Safety* 11(4) : 307-314.
20. 조병훈, 임채미, 윤소미 등. 2005. 닭고기 및 계란내 Fluorouinolone계 항균물질의 미생물학적 간이검사법. 한국수의공중보건학회지 29(1) : 37-44.
21. Boison JO and MacNeil JD. 1995. New test kit technology. Oka H, Nakazawa H, Hadara K. et al. ed. In Chemical Analysis for Antibiotics Used in Agriculture, *AOAC International Va USA* : 77.
22. Juhel GM and Abjeun JP. 1998. Screening of quinolones residues in pig muscle by planer chromatography. *Chromatographia* 47(12) : 101-104.
23. 박수정, 조병훈, 임채미 등. 2005. HPLC를 이용한 계란내 Fluoroquinolone계 항균물

질의 동시분석법. 한국수의공중보건학회지 29(1) : 45-55.
24. 고바라다, 박성도, 장미선 등. 2005. 식용란의 플루오로퀴놀론계 합성항균제의 잔류에 관한 조사. 한국가축위생학회지 28(3) : 235-243.
25. Lim J, Park B and Yun H. 2002. Sensitive liquid chromatographic - mass spectrometric assay for norfloxacin in poultry tissue. *J Chrom B* 772 : 185-189.
26. Yamada R, Kozono M, Ohmori T, et al. 2006. Simultaneous determination of residual veterinary drugs in bovine, porcine, and chicken muscle using liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Biosci Biotechnol Biochem* 70(1) : 54-65.
27. 서계원. 2000. 계란 중 Fluroquinolone계 합성항균제의 잔류에 관한 연구. 전남대학교 박사학위논문 : 65-87.
28. 국립수의과학검역원. 2005. 식용란의 미생물 및 잔류물질 등 검사요령. 농림부고시 제2005-78호.
29. 윤소미, 임채미, 조병훈 등. 2003. 액체크로마토그래피를 이용한 계란내 플루오로퀴놀론계 약물의 동시다제 분석. 한국수의공중보건학회지 27(4) : 177-182.
30. Schneider MJ and Donoghue DJ. 2000. Multiresidue determination of fluroquinolones in eggs. *J AOAC Int* 83(6) : 1306-1312.
31. Gigosos PG, Revesado PR, Cadahia O, et al. 2000. Determination of quinolones in animal tissues and eggs by high - performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *J Chrom A* 871 : 31-36.
32. Garcia OH, Gorla N, Luders C, et al. 1999. Comparative phamacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in chickens. *J Vet pharma and Ther* 22 : 209-212.
33. Intorre L, Mengozzi G, Bertini S, et al. 1997. The plasma kinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite, ciprofloxacin in the Muscovy Duck. *Vet Res Communications* 21 : 127-136.
34. 이성모, 김경호, 이정구 등. 2002. 인천지역 백화점 유통 계란의 위생적 품질상태. *J Fd Hyg Safety* 7(3) : 129-136.
35. 한국소비자보호원. 2004. 영양 강화 계란 품질 비교 테스트. 소비자시대 : 4-7.