

## 메기(*Silurus asotus*)에 투여한 멜라민의 체내함량 변화

김풍호\* · 조미라<sup>1</sup> · 이희정 · 김경덕<sup>2</sup> · 하광수 · 유현덕 · 유홍식<sup>3</sup> · 이두석<sup>3</sup> · 윤호동<sup>3</sup>

국립수산과학원 남동해수산연구소, <sup>1</sup>남서해수산연구소, <sup>2</sup>사료연구센터, <sup>3</sup>식품안전과

## Accumulation and Depletion of Melamine Through Experimental Feeding in Catfish *Silurus asotus*

Poong Ho Kim\*, Mi ra Jo<sup>1</sup>, Hee Jung Lee, Kyoung Duck Kim<sup>2</sup>, Kwang Soo Ha, Hyun Duk Yoo, Hong Sik Lee<sup>3</sup>, Doo Seog Lee<sup>3</sup> and Ho Dong Yoon<sup>3</sup>

*Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Tongyoung 650-943, Korea*

<sup>1</sup>*Southwest Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Yeosu 556-823, Korea*

<sup>2</sup>*Aquafeed Research Center, National Fisheries Research and Development Institute, Pohang 791-923, Korea*

<sup>3</sup>*Food and Safty Research Division, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-705, Korea*

In 2007, pet food contaminated with melamine caused hundreds of dogs and cats to develop renal failure all over the world. In 2008, over 294,000 infants consumed infant formula and developed kidney stones in China. Further investigation revealed that fish feed also contained melamine; this raised concerns about melamine residues in edible fish tissues, which could have caused the urinary tract stone epidemic. In Korea, catfish fed with assorted feed that included cuttlefish organs that contained melamine developed whitening syndrome and fell dead in some populations in 2008. This event raised suspicions about the toxicity of melamine and all feeds containing melamine were immediately recalled. In this study, we investigated the rates of melamine accumulation and depletion in muscle and viscera of catfish to propose proper withdrawal periods. One group of catfish was fed a commercially available diet that contained 30, 100 and 300 mg melamine per kg diet for 14 days. To investigate residual melamine contents in muscle and viscera, other experimental groups were fed a melamine free diet after being fed melamine for 7 days. The residual amount of melamine was analyzed by LC-MS/MS. The melamine concentration in muscle was estimated to be 3.7 mg/kg after 6 days of feeding with a diet containing 300 mg melamine/kg. After 2 days of culture with a melamine free diet, the residual melamine was depleted and the concentration had decreased from 1.15 mg/kg to 0.19 mg/kg in the muscle of catfish fed a diet containing 300 mg melamine/kg for 7 days. The residual amount of melamine was reduced to 0.03 mg/kg in muscle after 7 days of culture with a melamine free diet and was undetectable after a prolonged culture period of 14 days. Catfish tend to excrete melamine rapidly after oral administration and changes in body color were not observed during the short dosing period.

Key words: Melamine, Catfish, LC-MS/MS

## 서 론

멜라민(melamine, 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine)은 질소로 구성된 질소유기 화합물로 구조의 중심에 트리아진환을 가진 유기질소화합물의 일종으로 승화성을 가지며 수용액은 약염기성을 띤다. 멜라민은 포르말린과 결합해 내연성 및 내열성 수지 생산에 사용되는 유기화합물질로 바닥 타일, 화이트보드 및 주

방기구 등 플라스틱제품을 만드는데 사용된다(Lipschitz and Stokey, 1945. Weil and Choudhary, 1995). 식품이나 사료 내에 멜라민을 사용하는 것은 불법이나, 사료내의 단위 그람당 단백질 함량을 증가시키기 위하여 멜라민 성분을 첨가하는 것으로 추정되며, 이는 사료내의 단백질 함량 측정 시 보통 Kjeldahl and Dumas tests를 이용한 질소함량을 이용하여 단백질 함량을 측정하기 때문에 66%의 질소를 함유한 멜라민을 첨가 하면 단위 그람당 단백질 함량이 증가하게 된다. 최근 단백질 측정이 질소함량을 측정하는 것보다 TCA방법을 이용한 질소 함량법으로

\*Corresponding author: phkim@nfrdi.go.kr

바뀌어져 측정하고 있으나, 중국에서는 여전히 Kjeldahl법으로 측정하고 있다(FDA, 2008). 2007년까지 멜라민은 개나 고양이의 신장 장애 및 사망사건의 원인으로 지목될 때까지는 독성이 없거나 아주 적은 것으로 여겨졌으나, 미국, 캐나다 그리고 남아프리카에서 멜라민이 오염된 애완동물 사료로 인하여 수많은 개와 고양이의 신장에 질환을 발생시켰으며, 최근 가축사료에서도 발견되어 약 백만마리의 돼지와 닭들이 섭취한 것으로 여겨지고 있다(Brown et al., 2007; Cianciolo et al., 2008; Thompson et al., 2008). 중국보건부(Chinese Ministry of Health)의 발표에 의하면 2008년 11월 현재 294,000명의 유아가 멜라민이 함유된 분유로 피해를 입었으며, 이중 5만명이 넘는 영유아들이 신장질환으로 병원치료를 받았고, 6명의 유아가 비뇨기장애, 신장폐색 등으로 사망했으며, 문제 분유 중 멜라민 농도는 <math><0.05-4700 \text{ mg/kg}</math>, 평균  $1,212 \text{ mg/kg}</math>이었으며, cyanuric acid 등 멜라민 유사체는 멜라민 존재량의 0.1% 수준이었다고 한다(KFDA, 2009)$

멜라민은 그 유사성분들과 함께 존재 시 그 독성이 두드러지게 증가하는데, 특히 개와 고양이의 집단 사망사고에서 밝혀진 것과 같이 멜라민은 유사성분 중 하나인 cyanuric acid 등과 함께 존재 시 수소결합에 의해 보다 쉽게 결석을 생성하는 것으로 보이며 이러한 현상은 uric acid나 기타 oxytriazine 성분들과도 가능한 것으로 알려져 있다(WHO, 2008). FDA 보고서에서도 닭이나 돼지가 섭취한 양은 매우 적으며 도축되기 전에 체외로 대부분 배출될 것이라고 보고하였다. 또한 사람의 식생활이 개나 고양이보다 더 다양하고, 개나 고양이가 매일 같은 제품을 섭취하는 반면 사람은 매일 다른 음식을 섭취함으로써 사람의 식품에서는 오염된 제품이 아주 적다고 하였다.

돼지와 고양이 그리고 틸라피아(*Oreochromis niloticus*), 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*) 찬넬메기(*Ictalurus punctatus*), 및 대서양연어(*Salmo salar*)에 멜라민과 cyanuric acid를  $400 \text{ mg/kg}$ 의 농도로 3일간 혼합 투여한 경우, 신장에서 결정들이 관찰되었으며, 근육에서도 멜라민과 cyanuric acid가 검출되었다(Reimschuessel et al., 2008). Andersen et al.(2008)에 의하면 유통 중인 새우와 어류에서 멜라민이  $50 \mu\text{g/kg}$ 를 초과하는 농도로 잔류하는 경우가 거의 10%였으며, 이들의 농도 범위는  $51-237 \mu\text{g/kg}$ 였다고 보고하였다.

현재 melamine을 검출하는 방법으로는 효소면역측정법(EIA), 고속액체크로마토그래프법(HPLC-DAD), UPLC-MS/MS법이 있다. 이 중 EIA의 검출한계(limits of detection)은  $0.02 \mu\text{g/mL}$ 이나 HPLC-DAD는  $0.1 \mu\text{g/mL}$ 이다(Kim et al., 2008). 식약청에서는 식품중의 멜라민을 분석하는 방법으로 LC-MS/MS를 이용하는 방법, HPLC를 이용하는 방법 및 GC-MS를 이용하는 시험법을 정하고 있다(KFDA, 2009).

우리나라에서는 2008년 멜라민 성분이 함유된 오징어내장 분말 배합사료를 먹인 메기가 백화현상이 발생하면서 일부 폐사되었다는 보도에 따라 양식메기의 안전성에 의문이 제기되어 멜라민이 함유된 배합사료를 전량 폐기처분하고, 시중에 배포된

배합사료는 회수조치 한 보도가 있었다.

이에 따라 어류 체내의 멜라민을 신속하고 정확한 분석법을 확립하고 잔류에 대한 연구가 필요하게 되었다. 따라서 본 연구에서는 LC-MS/MS를 이용하여 멜라민을 혼합한 사료를 메기에 투여하면서 양식메기 근육에서 멜라민을 분석하고, 멜라민 첨가 사료에 의한 메기의 백화현상 및 폐사 발생여부와 멜라민 첨가 사료 투여 후 메기의 멜라민 축적 및 체외배출에 대하여 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 멜라민 첨가 혼합사료의 제조

실험사료는 사료의 멜라민 함량이 30, 100 및  $300 \text{ mg/kg}$ 이 되도록 조절된 3종류를 설계하였다. 대조구는 멜라민을 사료를 투여하기 전에 메기를 이용하였다. 사료의 제조는 단백질원으로 어분과 오징어간분을 사용하였으며, 지질원으로 어유를, 탄수화물원으로 텍스트린을 각각 사용하였다. 시험 사료는 각 원료들을 분말 형태로 잘 혼합한 후, 각 함량별로 멜라민(Sigma, USA)을 녹인 물을 첨가하고 실험용 펠렛 제조기로 압출 성형하였다. 제조된 실험사료는 실온에서 48시간 건조한 후,  $-30^\circ\text{C}$ 에 보관하면서 사료 공급시 마다 사용하였다.

### 사육관리 및 시료채취

사육실험은 평균체중  $72 \text{ g}$ 의 메기를 8개의  $1,000 \text{ L}$  수조에 각각 50마리씩 사료별 2반복으로 수용하여 실험사료를 1일 오전과 오후 2회씩 시험어가 더 이상 먹지 않을 때까지 반복 공급하였다. 사육수는 각 수조에  $10 \text{ L/min}$  내외로 조절하여 흘러주었으며, 사육기간 동안의 수온은  $19.8 \pm 2.3^\circ\text{C}$ 였다. 어체내 멜라민 축적변화를 조사하기 위하여 실험사료 공급 1, 2, 3, 4, 6, 7 및 14일 후 멜라민 함량별로 실험어 3마리를 시료로 채취하였으며, 메기 어체내에 축적된 멜라민의 배출속도를 확인하기 위하여 7일간 멜라민 사료를 투여한 시험구를 별도의 수조로 옮겨서 멜라민을 첨가하지 않은 대조 사료를 1일 2회 공급하며 1, 2, 3, 7 및 14일 후에 각 수조에서 실험어 3마리를 채취하여 즉살시킨 후 냉장보관하여 실험실로 옮겨 멜라민 분석 시료로 사용하였다.

### 멜라민의 추출

멜라민의 추출은 Anderson (2007)의 방법에 따라 실시하였다. 메기의 근육 및 내장 시료  $5 \text{ g}$ 에 acetonitrile과 water (1:1)혼합액을  $24 \text{ mL}$  첨가하여 5분간 흔들어서 균질화 시킨 다음  $5,000 \text{ rpm}$ 에서 5분간( $5^\circ\text{C}$ ) 원심분리하였다. 상층액  $15 \text{ mL}$ 를 조심스럽게 취하여 동량의 dichloromethane를 첨가하여 다시 같은 조건에서 원심분리하였다. 분리된 상층액 중  $5 \text{ mL}$ 를 취하여 활성화시킨 MCX (Water, Oasis) cartridge에 주입하고 5% ammonium hydroxide/methanol 혼합액  $5 \text{ mL}$ 로 용출한 후  $55^\circ\text{C}$ 에서 질소가스를 이용하여 농축하고, acetonitrile과 ammonium

Table 1. Operation conditions of LC-MS/MS for melamine

HPLC Conditions	
Column	Waters Hilic silica, 3.0 mm ID × 50 mm, 3 μm
Mobile phase	A: 0.02 M Ammonium formate/Water B: 0.02 M Ammonium formate/Acetonitrile Gradient elution <sup>1)</sup>
Flow rate	0.3 mL/min
Oven temperature	30 °C
Injection volume	10 μL
Run time	20 min
MS Conditions	
Ionization	ESI, Positive
Nebulization and collision gas	N <sub>2</sub> , Ar
Spray voltage	4,500 V
Capillary temp.	350 °C
Collision Energy	7, 23 V
Cone voltage	154, 149 V
Precursor Ion(m/z)	127
Fragment Ion(m/z)	85(confirmation ion) 68

<sup>1)</sup> For time of 0 min, 5% of 0.02 M Ammonium formate (A) and 95% of acetonitrile (containing 0.02 M Ammonium formate, B) were used. For time of 5 and 7 min, 50% A and 50% B were used.

formate (95:5)혼합액 1 mL로 재용해 하여 0.2 μm 실린지 필터로 여과한 후 LC-MS/MS로 분석하였다. MCX cartridge는 methanol, water를 차례로 5 mL 씩 흘려 활성화 시킨 후, 시료를 주입하고 0.1 N HCl 5 mL와 methanol 2 mL를 차례로 흘려 세척한 뒤 cartridge를 1분간 완전히 건조시킨 후 용출액으로 용출하였다.

**멜라민 분석조건**

HPLC 기기는 Finnigan Surveyor (Thermo, USA)를 사용하여 Hilic silica column (Waters, 3.0 mm ID × 50 mm, 3 μm)을 사용하여 0.02 M ammonium formate/water A용액과 0.02 M ammonium formate/acetonitrile B용액을 처음에 5:95의 비율로 이동상을 흘리다가 5분 후에 50:50으로 gradient시키고 7분 후 다시 초기 이동상을 흘리면서 20분간 분석하였다. 이때 column 온도는 30°C를 유지하였으며, 유속은 0.3 mL/min으로 하였다.

LC-MS-MS 조건으로는 Finnigan TSQ Quantum (Thermo, USA)을 사용하여 ESI와 positive 방식으로 nebulization과 collision gas는 질소와 아르곤으로 분사 및 이온화시켰으며 spray voltage, capillary 온도는 각각 4,500 V, 350°C로 하였으며, collision energy와 cone voltage는 각각 7, 23 V 및 154, 149 V로 고정하였다. 기기분석조건은 Table 1에 나타내었다.

LC-MS/MS의 ESI positive mode로 분석한 멜라민의 질량 spectrum과 SRM 크로마토그램을 Fig. 1와 Fig. 2에 나타내었

다. 멜라민의 precursor ion(parent ion) m/z 127과 2개의 product ion (daughter ion) 인 m/z 85와 m/z 68이 나타났으며, 정량을 위한 최적의 product ion으로는 m/z 85을, 멜라민 확인을 위한 product ion으로는 m/z 68를 선정하였다.

**표준곡선 작성**

각 농도의 멜라민 표준용액(10, 20, 50, 100, 200, 500 ng/mL)을 10 μL씩 취하여 3회 반복 분석한 chromatography로부터 각각의 멜라민에 대한 농도별 평균면적을 구하여 X축을 농도, Y축을 면적으로 하여 검량선을 작성하였다.

시험용액 분석에서 얻은 chromatogram으로부터 각 성분에 대하여 용출시간이 일치되는 각각의 peak에 대한 평균면적을 구한 다음 검량선 좌표의 Y축에 동일한 값을 표시하고 이 값과 검량선상 만나는 점에서 수직으로 X축과 만나는 점이 시험용액의 농도를 나타낸다. 이 농도에 시험용액의 희석배수(잔류물에 가한 이동상의 부피)를 곱하고 시료무게로 나누어 최종시료 중 각 성분의 농도를 산출하였다.

**결과 및 고찰**

**표준곡선, 검출한계 및 정량한계**

표준 검량선 작성은 표준물질 10 mg을 정확히 달아 100 mL 용량 플라스크에 취하고 methanol에 녹여 100 μg/mL 농도로 조제하였다. 이 표준용액을 acetonitrile로 5, 10, 20, 50, 100, 200 ng/mL 농도로 희석하여 분석한 결과 직선성 (r<sup>2</sup>값)은 0.9996을 나타내어 아주 양호한 것으로 확인되었다(Fig. 3). 검출한계 및 정량한계는 Causon (1997) 에 따라 구하였다. 그 결과 검출한계 (LOD, Limit of Detection)는 2.0 ng/mL, 정량한계(LOQ, Limit of Quantitation)는 10 ng/mL로 대상물질의 분리도(S/N 비) 등이 뛰어났으며, 낮은 parts per billion(ppb) 범위의 극미량 존재 시에도 정량분석이 가능하였다. 식약청의 식품 중 멜라민 분석법 중 LC-MS/MS를 이용한 경우 정량한계를 0.5 mg/kg으로 정하고 있고, Kim et al. (2008)은 효소면역 측정법으로는 검출한계가 0.02 μg/mL였고, HPLC-DAD 방법은 0.1 μg/mL 였으며, Filigenzi et al. (2007)은 돼지 근육에서 멜라민을 검출했을 때 LOD가 1.7 μg/kg까지 검출할 수 있었다고 하였다. 따라서 본 연구에서 수행한 기기와 분석법으로 아주 정밀하게 극미량의 멜라민 분석이 가능하였다

**메기 근육 및 내장의 멜라민의 축적**

멜라민이 각각 30, 100, 300 mg/kg이 되도록 혼합한 사료를 메기에게 매일 2회씩 투여한 후 시간 경과에 따른 메기 근육 및 내장의 멜라민 경시적 농도변화를 Fig. 4 및 Fig. 5에 나타내었다. 멜라민을 혼합한 사료를 먹인 메기의 근육에서는 멜라민이 축적되는 것이 확인되었으며, 투여 1일 후에 300 mg/kg을 혼합한 시험구에서는 3.2±0.2 mg/kg, 100 mg/kg 시험구는 0.7±0.1 mg/kg, 30 mg/kg 시험구에서는 0.1±0.0 mg/kg의 멜라민

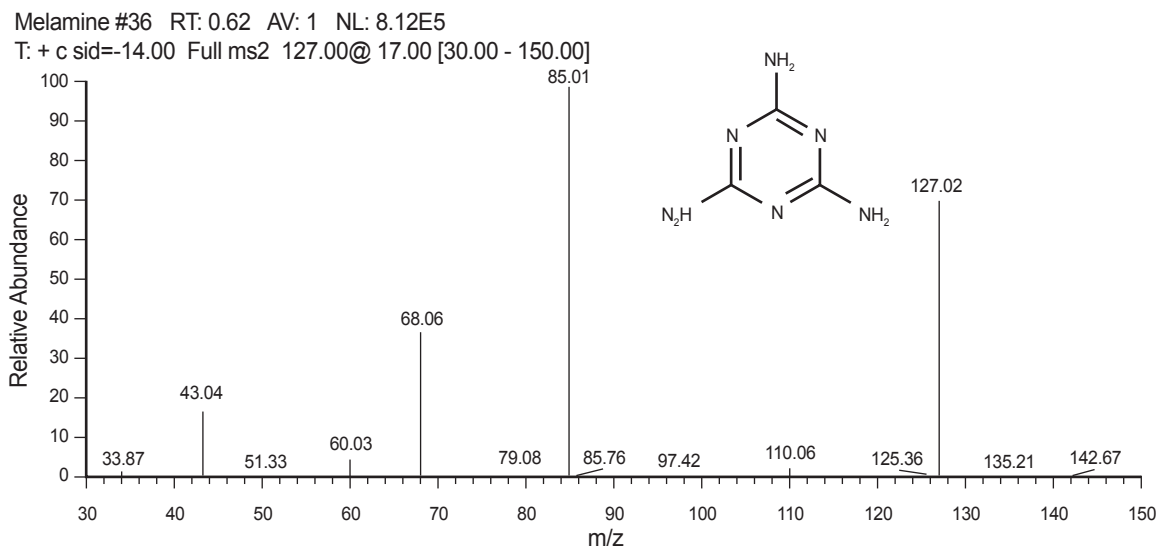


Fig. 1. Full scan product ion spectra of melamine obtained by selecting m/z 127 as a precursor ion in ESI positive mode (con voltage 20 V).

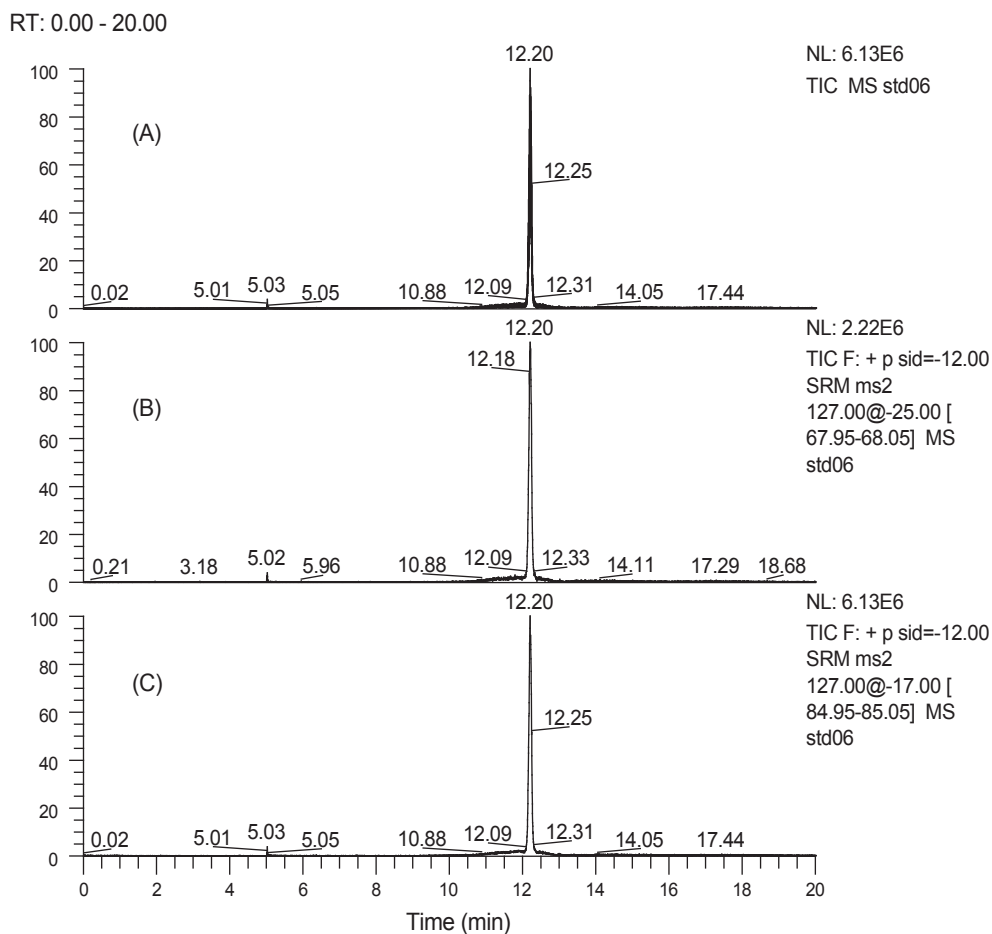


Fig. 2. SRM chromatograms of melamine for the standard at 50 ng/mL: (A) Total ion chromatogram (TIC), (B) SRM transition m/z 127→68, (C) SRM transition m/z 127→85.



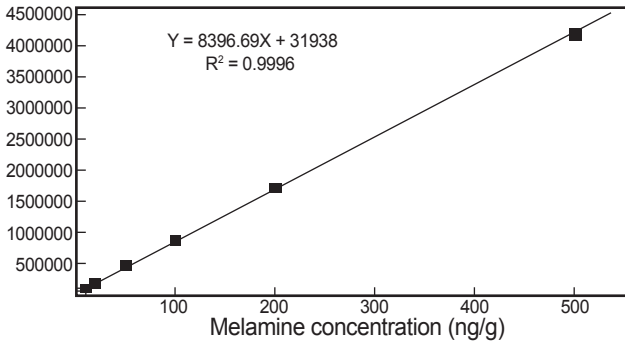


Fig. 3. Standard calibration curve of melamine contents ( $r^2 = 0.9996$ ).

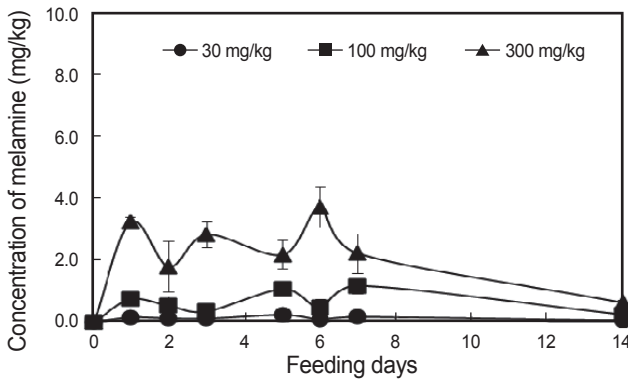


Fig. 4. Change of melamine contents in catfish *S. asotus* muscle during experimental periods.

이 축적되었다. 300 mg/kg 시험구에서는 투여 6일 후에  $3.7 \pm 0.9$  mg/kg으로 최대값을 나타내었으며, 100 mg/kg 시험구는 7일 후에  $1.2 \pm 0.3$  mg/kg, 30 mg/kg 시험구는 투여 4일 후에  $0.2 \pm 0.0$  mg/kg으로 최대값을 나타내었으며, 이후 서서히 감소하여 투여 14일 후에는 각각 0.05-0.6 mg/kg을 나타내었다. 멜라민 사료를 지속적으로 투여하여도 메기의 근육에서는 어느 정도 축적된 뒤에 대사과정을 통하여 곧바로 배출되는 것을 확인할 수 있었다.

한편, 내장에서는 모든 시험구에서 투여 1일 후에 최대값을 나타내었는데, 300 mg/kg에서  $6.4 \pm 1.5$  mg/kg, 100 mg/kg 시험구는  $1.1 \pm 0.3$  mg/kg, 30 mg/kg 시험구는  $0.4 \pm 0.1$  mg/kg이 각각 검출된 후에 투여 14일간 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 내장에서 멜라민을 투여에 따라 처음에 많은 양이 잔류하지만 지속적으로 체내에 축적하지는 않는 것으로 확인되었다.

양식어류 사료에서 최고 400 mg/kg의 멜라민이 검출되었지만, 양식어류 조직에서는 검출되지 않았다고 보고한 바 있으나 (USFDA, 2007), 최근 Anderson et al. (2008)은 LC-MS/MS를 이용하여 양식어류 사료에 400 mg/kg의 멜라민 또는 시아닐산과 혼합하여 14일까지 급여한 후 양식어류 근육에서 멜라민을 검출하였는데, 찬뽕메기(catfish, *Lctalurus punctatus*)에서 80-

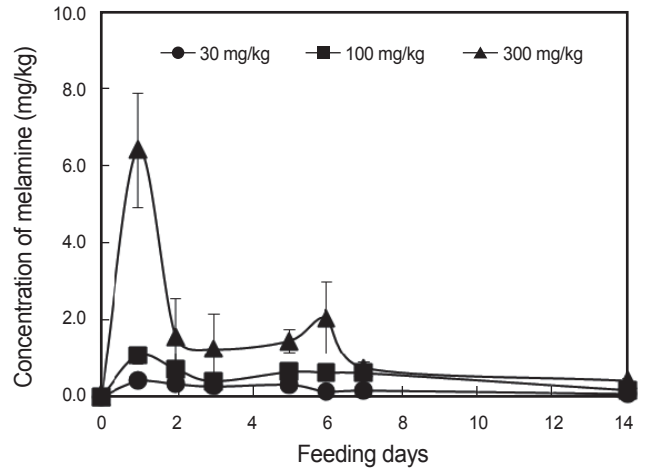


Fig. 5. Change of melamine contents in catfish *S. asotus* internal organs during experimental periods.

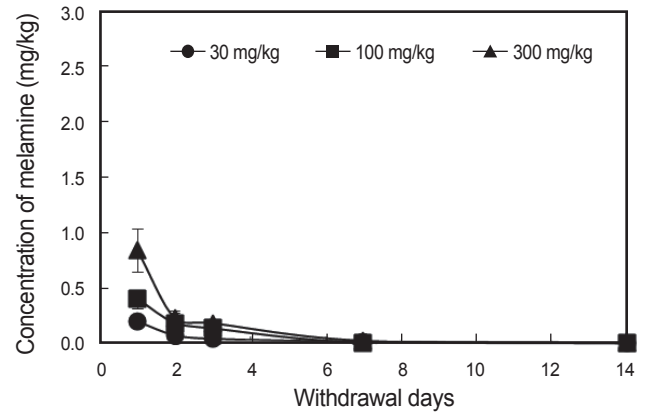


Fig. 6. Excretion of melamine in the muscle of catfish *S. asotus* after feeding for 7 days.

210 mg/kg, 틸라피아(tilapia, *Oreochromis* sp.)에서 0.02-177 mg/kg, 송어(trout, *Oncorhynchus mykiss*)에서 34-80 mg/kg, 연어(salmon, *Salmo salar*)에서 58-94 mg/kg이 검출되었으며, 멜라민을 첨가하지 않은 사료를 먹인 송어와 연어에서도 0.04-0.12 mg/kg의 멜라민이 검출되었다고 보고하였다.

본 실험에서는 이들 시험구에서보다 낮은 멜라민 잔류량을 나타내었는데 이는 시험어의 크기와 사육환경에 기인하는 것으로 추정된다. 멜라민 혼합사료를 경구투여 하였을 때 투여 초기에 급격하게 근육과 내장에 멜라민이 축적되어 잔류하였으나, 일주일 후에는 급격하게 감소하는 현상을 나타내어 대사과정 중에 멜라민이 배출이 쉽게 이루어 지는 것을 확인하였다.

#### 메기 근육 및 내장의 멜라민의 배출시험

멜라민이 각각 30, 100, 300 mg/kg이 되도록 혼합한 사료를 메기에게 매일 2회씩 7일간 투여한 후 멜라민이 첨가되지 않은 사료를 공급하면서 메기 근육 및 내장의 멜라민 경시적 농도

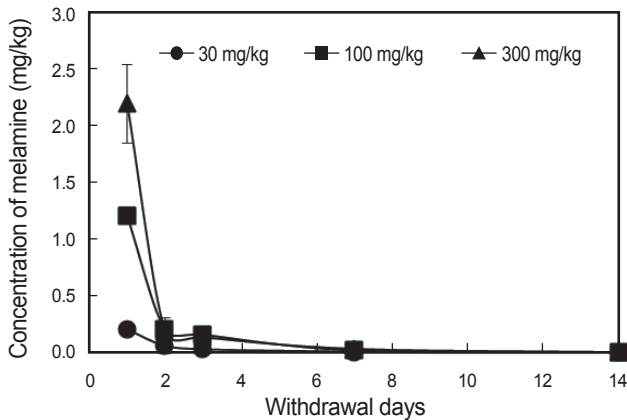


Fig. 7. Excretion of melamine in the internal organs of catfish *S. asotus* after feeding for 7 days.

변화를 Fig. 6 및 Fig. 7에 나타내었다. 300 mg/kg 시험구는 투여 후에 축적 멜라민  $1.2 \pm 0.5$  mg/kg, 100 mg/kg 시험구는  $0.6 \pm 0.0$  mg/kg, 30 mg/kg 시험구는  $0.2 \pm 0.2$  mg/kg이 축적되었으며, 멜라민이 혼합되지 않은 사료로 전환하여 2일차에 각각 0.06-0.2 mg/kg으로 급격하게 감소한 후 7일 후에는 0.01-0.03 mg/kg으로 거의 모두 배출 되었으며, 14일 후에는 완전히 배출 되어 모든 시험구에서 멜라민이 검출되지 않았다.

한편, 시험구의 내장에서는 투여 1일 후에 300 mg/kg에서  $0.8 \pm 0.3$  mg/kg, 100 mg/kg에서는  $0.4 \pm 0.1$  mg/kg, 30 mg/kg 시험구는  $0.2 \pm 0.1$  mg/kg의 축적이 되었으며, 멜라민이 함유 되지 않은 일반사료를 투여한 후 2일 후에는 각각 0.07-0.2 mg/kg으로 급격하게 감소하였으며, 7일 후에는 0.01-0.02 mg/kg으로 거의 배출 되었으며, 14일 후에는 모든 시험구에서 검출되지 않았다. Reimschuessel et al. (2009)은 메기와 송어에 멜라민과 cyanuric acid를 각각 또는 혼합하여 20 mg/kg body로 1회 경구 투여한 후 1, 3, 7, 14, 28 및 42일에 채취한 시료에 대하여 멜라민과 cyanuric acid의 근육 잔류량을 조사하여 멜라민의 최고 농도는 하루 경과 후에 메기에서 12.73 mg/kg (평균 9.98 mg/kg), 송어에서는 12.26 mg/kg (평균 7.89 mg/kg)가 잔류하였으며, 7일 후에는 메기는 0.32 mg/kg으로, 송어는 1.63 mg/kg으로 전 개체에서 2.5 mg/kg이하로 검출되었다. 또한 14일 후에는 메기는 0.02-0.03 mg/kg으로 감소되었으며, 28일 후에는 전혀 검출 되지 않았다. 송어는 28일 후에 0.01-0.17 mg/kg이 검출되었으며, 42일 후에 완전히 소멸되었다고 보고하였다. 본 실험에서도 멜라민이 혼합되지 않은 일반사료를 공급하였을 때 급격하게 감소하였으며 메기는 14일 후에는 완전히 배출되어 Reimschuessel et al. (2009)가 실험한 것보다 낮은 농도로 축적되고 빨리 배출되었는데, 이는 사료에 혼합하여 투여한 멜라민이 경구투여한 것보다 소화흡수가 느리고 완전히 대사되지 않았기 때문이라고 추정되지만, 멜라민이 체내에서 빠른 시간에 배출되는 결과는 비슷하였다.

Reimschuessel et al. (2005, 2007)에 의하면 어류 필렛에서

멜라민의 반감기는 1.5일에서 4일 정도였으며, 근육에서의 반감기는 혈액에서보다 더 길다고 하였다. 또한 멜라민은 포유동물에서 빠르게 흡수되고, 쥐는 약 3시간, 돼지는 4시간의 반감기를 가지는 것으로 알려져 있다(Mast et al., 1983; Sugita et al., 1991; Baynes et al., 2008). 어류가 화학물질을 더 천천히 배설하는 냉혈동물이기 때문에 포유동물보다는 반감기가 더 길다고 하였다(Reimschuessel et al., 2005, 2007). 또한 쥐에 경구 투여 시 뇨에서 24시간 내에 90%가량이 소실되며, 다른 조직보다 신장이나 방광에서 더 배출속도가 더 빠르다고 보고하였으며(Mast et al., 1983), 또한 Ronald et al. (2008)은 돼지에 6.13 mg/kg의 농도로 정맥주사 시 28시간 내에 99% 멜라민 농도가 혈액에서 소실됨을 보고하였고, Puschner et al. (2007)은 고 양이에서 멜라민과 cyanuric acid를 함께 복용 시에 48시간 때에 급성 신장부전이 나타나나 단독으로 투여 시는 별다른 영향이 없었다고 보고하였다. 이상의 연구보고와 같이 멜라민은 냉혈동물이 어류에서는 포유보다 화학물질의 흡수와 배출속도가 느리며 반감기도 더 길기 때문에 어류가 멜라민에 오염된 사료를 섭취하게 되면 멜라민이 어류 조직에 오래 남게 되어 인간에 미치는 영향이 클 수도 있다. 그러나 멜라민 사료를 섭취한 어류도 1-2일 동안 정상사료를 섭취하면 멜라민이 체외로 거의 배출되기 때문에 어류 섭취에 의한 멜라민 독성은 그리 큰 문제는 발생하지 않을 것으로 사료된다. 또한 관능적으로 평가해볼 때 멜라민 사료에 의해 메기 체색이 희게 변화하는 백화현상은 발견되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 일부 양식업계에서 주장했던 멜라민이 첨가된 사료에 의해 메기의 체색이 변화하는 주장에 대해서는 명확한 구명이 되지 않았으며, 멜라민의 영향에 대해서는 앞으로 좀더 상세한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 사 사

본 연구는 국립수산과학원 수출패류 생산해역 및 수산물 위생조사 연구의 연구비 지원(RP-2011-FS-013)에 의해 수행되었습니다.

## 참 고 문 헌

- Andersen WC, Turnipseed SB, Karbiwnyk CM, Madson. 2007. Determination of melamine residues in catfish tissue by triple quadrupole LC-MS-MS with HILIC chromatography. Laboratory Information Bulletin LIB No. 4396 VoFDALume 23, 1-12.
- Brown CA, Jeong KS, Poppenga RH, Puschner B, Miller DM, Ellis AE, Kang KI, Sum S, Cistola AM and Brown SA. 2007. Outbreaks of renal failure associated with melamine and cyanuric acid in dogs and cats in 2004 and 2007. J Vet Diagn Invest 19, 525-531.
- Cianciolo RE, Bischoff K, Ebel JG, Van Winkle TJ, Goldstein RE and Serfilippi LM. 2008. Clinicopathologic, histo-

- logic, and toxicologic findings in 70 cats inadvertently exposed to pet food contaminated with melamine and cyanuric acid. *J Am Vet Med Assoc* 233(5), 729-737.
- Christine MK, Wendy CA, Sherri BT, Joseph MS, Mark RM, Keith EM, Charles MG, Ron AM, Nathan GR and Renate R. 2009. Determination of cyanuric acid residues in catfish, trout, tilapia, salmon and shrimp by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 637, 101-111.
- Causon R. 1997. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis viewpoint and discussion. *J Chromatography B* 689, 175-180.
- Filigenzi MS, Tor ER, Poppenga RH, Aston LA and Puschner B. 2007. The determination of melamine in muscle tissue by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapi comun. Mass Spectrom* 21, 4027-4032
- KFDA (Korean Food and Drug Administration). 2009. What is the melamine in Food. *KFDA, Seoul, Korea*, 45-50.
- Lipschitz WL and Stokey E. 1945. The mode of action of three new diuretics: melamine, adenine and formoguanamine. *J Pharmacol Exp Ther* 83, 234-249.
- Reimschuessel R, Giesecker CM, Miller RA, Ward J, Boehmer J, Rummel N, Heller DN, Nochetto C, de Alwis GK, Bataller N, Anderson WC, Turnipseed SB, Karbiwnyk CM, Satzger RD, Crowe JB, Wilber NR, Reinhard MK, Roberts JF and Witkowski MR. 2008. Evaluation of the renal effects of experimental feeding of melamine and cyanuric acid to fish and pigs. *Am J Vet Res* 69, 1217-1228.
- Reimschuessel R, Evans E, Andersen WC, Turnipseed SB, Karbiwnyk CM, Mayer TD, Nochetto C, Rummel NG and Giesecker CM. 2009. Residue depletion of melamine and cyanuric acid in catfish and rainbow trout following oral administration. *J Vet Pharmacol Therap* 33, 172-182.
- Ronald EB, Smith G, Mason SE, Barretta E, Barlowa BM and Riviere JE. 2008. Pharmacokinetics of melamine in pigs following intravenous administration. *Food Chem Toxicol* 46, 1196-1200.
- Puschner B, Poppenga RH, Lowenstine LJ, Filigenzi MS and Pesavento PA. 2007. Assessment of Melamine and Cyanuric Acid Toxicity in Cats. *J Vet Diagn Invest* 19, 616-624.
- Thompson ME, Lewin-Smith MR, Kalasinsky VF, Pizzolato KM, Fleetwood ML, McElhaney MR and Johnson TO. 2008. Characterization of melamine-containing and calcium oxalate crystals in three dogs with suspected pet food-induced nephrotoxicosis. *Vet Pathol* 45, 417-426.
- Tran BN, Richard O, Robin S, Robert J and Kenneth MA. 2010. Use of Methanol for the efficient extraction and analysis of melamine and cyanuric acid residues in dairy products and pet foods. *J Agric Food Chem* 58, 101-107.
- USFDA. 2007. Interim melamine and analogues safety/risk assessment. Available from: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/melamra.html>, Accessed May 25.
- Weil ED and Choudhary V. 1995. Flame-retarding plastics and elastomers with melamine. *J Fire Sci* 13, 104-126.
- Wendy CA, Trunopseed SB, Karbiwnyk CM, Clark SB, Mrdson MR, Giesecker CM, Miller RA, Runmmel NG and Reimschuessel R. 2008. Determination and confirmation of melamine residue in catfish, trout, tilapia, salmon and shrimp by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 56, 4340-4347.
- WHO. 2008. Export meeting to review toxicological aspects of melamine and cyanuric acid. In collaboration with FAO Supported by Health Canada, Ottawa, Canada, 1-4.

---

2011년 9월 7일 접수  
 2011년 10월 21일 수정  
 2011년 10월 31일 수리