

## Trichlorfon (TCF)의 약욕 투여에 따른 뱀장어 체내 약물 잔류량 및 약물동태학 연구

조현호 · 정준기<sup>†</sup>

부경대학교 수산생명의학과

### Residue level and pharmacokinetics of trichlorfon in the Japanese eel (*Anguilla japonica*) after bath treatment

Hyun Ho Jo and Joon Ki Chung<sup>†</sup>

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan, 48513, Republic of Korea

This study performed a trichlorfon (TCF) residue and pharmacokinetic analysis with Japanese eels, *Anguilla japonica*, to obtain baseline data to establish the maximum residue level (MRL) of TCF in *A. japonica*. After dipping *A. japonica* in 30 ppm and 150 ppm of TCF at 28°C and 18°C, drug residue in the body was analyzed with LC-MS/MS, and these results were further analyzed with the PK solver program to obtain the pharmacokinetic parameters of TCF in the serum, muscles, and liver. The maximum concentrations ( $C_{max}$ ) in the serum, muscles, and liver were 25.87-357.42, 129.91-1043.73, and 40.47-375.20, respectively, and the time to maximum concentration ( $T_{max}$ ) was 0.13-1.32h, 1.17-3.34h, and 0.14-5.40h, respectively. The terminal elimination half-life ( $T_{1/2}$ ) was 2.13-3.92h, 5.30-10.35h, and 0.65-13.81h, respectively. In the 30 mg/L concentration group, TCF was not detected in the serum of eels 96 hours after bathing, and was below the detection limit after 336 hours in muscle and liver. On the other hand, in the 150 mg/L concentration group, TCF was not detected in the serum of eels 336 hours after bathing, but was detected in muscle and liver at 336 hours. In conclusion, the results of this study would be useful in establishing the MRL of TCF in farmed *A. japonica*.

**Key words:** *Anguilla japonica*, eel, maximum residue level, pharmacokinetic, trichlorfon

## 서 론

국제연합식량농업기구(FAO)나 세계보건기구(WHO)에서는 인간에 대한 위험 때문에 수산용 동물용의약품을 포함한 식품첨가물의 일일 섭취허용량(acceptable daily intake, ADI)을 권고하고, 식

품 중에 함유된 식품첨가물의 섭취로 인한 인체 위해 평가를 담당하고 있으며, 육류 및 육가공품에 잔류하는 수산용 동물용의약품의 잔류허용기준(MRL)과 산업 및 환경오염물질에 대한 허용량(Tolerable limit)을 설정하고 있다.

Trichlorofon(TCF)은 유기인 구충제로서 축산업 및 어류 양식 산업에서 흡충, 조충, 선충, 구두충 등 기생충성 질병 치료에 가장 빈번하게 사용되고 있는 수산용 동물용의약품 중의 하나이다. 이 약물

<sup>†</sup>Corresponding author: Joon Ki Chung  
Tel: +82-51-629-5940, Fax: +82-51-629-5938  
E-mail: jkchung@pknu.ac.kr

은 기생충의 골격근 시냅스 및 신경 근육 접합부에서 acetylcholine esterase(AchE) 활동을 억제 및 기생충의 항산화 방어 시스템을 변화시켜 약리작용을 나타낸다고 알려져 있다(Guimarães et al., 2007). 특히 양식 어류의 경우 있어서는, 잉어, 틸라피아, 베스, 연어, 유럽산 뱀장어 등의 다양한 어류에서 외부 기생충 감염성 질병 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Yonar et al., 2015; Ferrando et al., 1991). 국내에서도 담수 어류인 잉어 및 뱀장어에 대하여 외부 기생충 구제제로서 용법 및 용량이 설정되어 사용이 허가되어 있다. 그러나, 일부 양식장에서는 다량의 TCF를 사용하여 치료를 하고 있기 때문에, TCF가 어류 체내에 고농도로 잔류하여 인간의 건강에 위해를 일으킬 수도 있게 된다. 또한, TCF는 육류 및 육류가공품과는 달리 어류에서는 개별 어종별로 잔류허용기준(MRL)이 설정되어 있지 않다. 2017년 식품의 동물용의약품 잔류허용기준에서 소의 근육, 간 지방 및 신장의 TCF의 잔류허용기준(MRL)은 0.05mg/kg이어야 한다고 권고하였으며, 돼지 및 양에서도 근육, 간 지방 및 신장의 TCF의 잔류허용기준(MRL)은 0.1mg/kg으로 권고하였다. 현재 어류에 대해서 0.01mg/kg으로 설정되어 있지만, 뱀장어에 대해서는 TCF의 잔류허용기준(MRL)이 아직 설정되어 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 뱀장어에 대한 TCF의 잔류허용기준(MRL) 설정에 필요한 기초 자료를 얻고자 TCF 노출에 따른 체내 잔류량 및 약물동태학적 분석을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 어류 및 사용 약물

본 연구에서 사용된 전장 약 50 cm(약 180 g)의 건강한 뱀장어(그룹별 10마리)를 고창의 한 양식장에서 구입하여 300 L 수조에 7일간 순치 시켰다. 본 실험에 사용한 약품은 TCF(metrifon, Daesung Microbiological labs. Co, LTD, korea)을 사용하였다.

TCF는 뱀장어의 외부 기생충(Argulus, Lerneae, Dactylogyrus, Gyrodactylus, 및 Trichodina), 물이 및 물벼룩 등의 구제에 사용된다. 용법 및 용량 설정이 (장시간 사용 2.5 ppm; 단기간 사용 30,000 ppm)

되어져 사용된다.

### TCF 투여 및 시료 채취

시험 구는 적정 수온(28°C)과 비교 수온(18°C)을 설정하였고, 투여한 약물의 농도는 30 ppm을 기준으로 5배에 해당하는 150 ppm으로 두 단계로 설정하였다. 현재 승인되어 있는 TCF용량은 장기간에서는 0.25~0.5 ppm이고, 단기간에서는 25,000~30,000 ppm으로 설정이 되어있다. 그러나 약물의 투여 기간이 설정되어있지 않다. 이런 점을 고려하여 본 연구에서 중간 영역인 30ppm을 기준으로 해서 투여 기간을 30분으로 설정하였다. 시료 채취는 각 수조에 뱀장어 10마리씩 30분간 약욕 투여한 후 약욕이 종료된 직후를 기준으로 0, 0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 168 및 336시간마다 MS-222(ethyl 3- amino-benzoate methanesulfonate; Sigma, St. Louis, Missouri, USA)로 마취시켜 혈액, 근육, 간을 채취하였다. 혈액을 채취해 원심분리(4°C, 6000rpm, 15분)하여 -80°C에서 보관하였으며, 실험 기간 동안 폐사한 실험 어는 없었다.

### 시료 전처리

혈액, 근육 및 간의 TCF를 추출하는 방법은 우등(woo et al., 2016)의 방법을 일부 변형하여 수행하였다.

#### 1) 혈청

먼저 혈액 내 TCF를 추출하기 위해 TCF를 약욕 투여한 샘플의 혈청 200ul을 E-tube에 취하여 1ml의 아세트나이트릴(Merck, Darmstadt, Germany)을 첨가한다. 이후 5분동안 Sonication을 한 후, 원심분리(6000rpm, 10분)하고 상등액을 취하여 0.2µm syringe filter(HP020AN, Advantec, Tokyo, Japan)로 여과한 다음 기기에 주입하여 분석하였다.

#### 2) 근육 시료

TCF를 약욕 투여한 근육 시료 2 g을 50 ml 원심분리관에 취하여 아세트나이트릴 20 ml를 첨가 후 10분간 진탕 혼합하고, 4°C, 13000rpm에서 10분동안 원심분리하여 상층액을 취한다. 상층액을 농축 플라스크로 옮겨 40°C 이하에서 rotary evaporator

(EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 감압 농축을 실시했으며 잔류물을 아세트나이트릴 포화 헥산 (Merck, Darmstadt, Germany) 10 ml로 재용해하여 새로운 튜브에 옮긴다. 다시 농축플라스크에 아세트나이트릴 포화 헥산 10 ml로 재용해하고 앞의 용액과 합쳐서 10분간 진탕 혼합한다.

분리될 때까지 정치하고, 헥산층을 제거하고 40°C 이하의 수욕 상에서 감압농축한다. 이후 잔류물은 50% 메탄올 1 ml로 재용하고 4°C, 13000rpm에서 10분동안 원심분리 후 0.2 µm syringe filter로 여과하여 시험용액으로 한다.

### 3) 간 시료

TCF을 약육 투여한 샘플의 간 시료 1 g을 50 ml 원심분리관에 취하여 아세트나이트릴 10 ml을 첨가 후 10분간 진탕 혼합 후, 4°C, 13000rpm에서 10분 동안 원심분리하여 상층액을 취한다. 상층액을 추출액으로 하고, 메탄올(Merck, Darmstadt, Germany) 5 ml과 물(Merck, Darmstadt, Germany) 5 ml로 활성화 시킨 HLB cartridge (Waters, Millford, MA, USA)에 총 시료추출액을 흡착시켜 용출액을 만들어 15 ml Coming tube에 담아 40°C이하의 수욕

상에서 질소감압농축기(Biotage, Upsala, Sweden)를 이용하여 감압농축하고, 잔류물을 아세트나이트릴 포화 헥산 10 ml로 재용해한 후 10분간 진탕 혼합한다. 분리가 될 때까지 정치시킨 후, 헥산층을 제거하고 40°C 이하의 수욕 상에서 질소 가스 감압 농축 한다. 잔류물은 50% 메탄올 0.5 ml로 재용하고 4°C, 13000 rpm에서 10분 동안 원심분리 후 0.2 µm syringe filter로 여과하여 시험용액으로 한다.

### 기기 분석

TCF을 분석을 확인하기 위해 액체크로마토그래피/ 질량 분석기(LC-MS/MS)를 사용하였다. 분석용 칼럼은 Eclipse Plus C18 column(2.1×100 mm, 1.8 µm, Agilent Technologies), 컬럼 온도는 40°C, 이동상으로는 용매 A는 0.1% Formic Acid가 포함된 물, 용매 B는 0.1% Formic Acid가 포함된 아세트나이트릴을 이용해 Table 1의 조건으로 분석하였으며, 유속은 0.3 ml/min 속도로 유지했고, 주입량은 10 µl로 하였다. 질량 분석기 조건을 설정하기 위해 각각의 분석 물질은 표준물질을 사용하여 column을 통과시키지 않고 직접 텐덤 질량분석기로 분석

Table 1. LC-MS/MS parameters for the analysis of TCF

HPLC	Agilent 1290 infinity			
Column	Eclipse Plus C18 (2.1mm x 100 mm, 1.8 µm particle size)			
Mobile phase	(A) Water + 0.1% formic acid (B) Acetonitrile + 0.1% formic acid			
Flow rate	0.3 mL/min	Gradient program		
		min	%A	%B
Oven temperature	40°C	0	90	10
		1	90	10
Injection volume	10.0 µl	7	20	80
		8.5	20	80
MS	Agilent 6430 Triple Quad LC/MS	11	90	10
		17	90	10
Ionization	Electrospray ionization (ESI)			
Acquisition mode	Multiple reaction monitoring (MRM), positive ion mode			
Ionspray voltage	4kV	Collision gas	Nitrogen	
Ion source temp.	350°C	Nebulizer	40psi	
Gas Flow	11L/min			

하였다. 전기 분무 이온화 (ESI)방법으로 양이온(+, positive) mode에서 모분자 (precursor ion)를 선택하고 최적화된 충돌 에너지(Collision energy)를 알아 내어 딸분자(product ion)를 생성 후 정성 및 정량 이온을 결정하는 MRM mode로 조건을 설정하여 분석하였다.

**TCF 표준 용액 및 시약 조제**

TCF 99%(Sigma- Aldrich, St. Louis, Missouri, USA)을 메탄올에 녹여 100 µg/ml의 농도로 표준 원액을 만들었다. 이후 표준 원액을 메탄올로 정밀히 희석하여 각각 2.5, 5, 10, 20 그리고 50 µg/ml 농도로 만들어 LC-MS/MS를 이용해 분석하였다.

**분석법 검증**

TCF 분석법 검증은 CODEX에서 제시하는 “식품 중 수산물 동물용의약품 잔류시험법에 대한 Variation 가이드라인”에 준하여 특이성, 직선성, 회수율, 정량 한계(LOQ, limit of quantification) 등으로 시험법의 신뢰성 및 적합성 여부를 검토하였다(Codex alimentarius commision, 2000). CODEX에서 검량 곡선 작성을 위해 0을 포함 6개의 농도, 상관계수 0.95% 이상을 요구하며, 각 농도에 대해 회수율 및 분석 오차(coefficient of variation)에 대한 범위를 정해 정확도 및 정밀도에 대해 적정 여부를 판단한다. 분석 오차는 표준편차를 평균으로 나눈 값을 백분율로 나타내는 값이다.

**약물동태학적 해석**

TCF을 투여한 뱀장어 장기 조직별 약물 농도 측정결과를 바탕으로 비 구획 (Non-Compartmental) model에 따라 PKSolver (Zhang et al., 2010)을 적용하여 최고 농도 (C<sub>max</sub>), 최고 농도 도달시간 (T<sub>max</sub>),

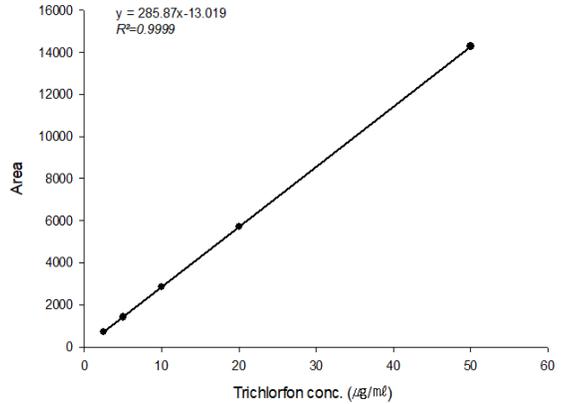


Fig. 1. Calibration curve for the assay of TCF.

배설 반감기 (T<sub>1/2</sub>)등의 중요한 약물동태학적 지표 (pharmacokinetic parameter)를 계산하였다.

**결 과**

**직선성**

각 농도에 대한 peak 면적을 이용해 표준 곡선을 작성하였다. TCF의 회귀계수(R<sup>2</sup>)는 0.999로 우수한 직선성을 보였다. 이는 CODEX guideline 에서 제시하는 기준을 충족하였다(Fig. 1).

**검출 한계(Limit of detection, LOD), 정량 한계 (Limit of quantification) 및 회수율(Recovery)**

TCF의 검출 한계(LOD)는 크로마토그램에서 각각 신호 대 잡음 비(S/N ratio)를 3.3 이상을 하였으며, 정량 한계는(LOQ)는 각각 신호 대 잡음 비 10 이상으로 계산하였다.

그 결과 TCF의 각 물질의 검출 한계는 *A. japonica*의 혈청에서 0.15µg/kg, 근육에서 0.18 µg/kg 그리고 간에서 0.11 µg/kg으로 분석되었다(Table 2).

Table 2. LOD and LOQ of TCF in spiked *A. japonica* samples, LOD (Limit of detection) = 3.3 \* σ/S,

Compound	Serum		Muscle		Liver	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
<b>Trichlorfon</b>	0.15	0.46	0.18	0.55	0.11	0.33

Table 3. Recovery rate and coefficient of TCF in spiked *A. japonica* samples

Substance	Species	Matrix	Matrix curve(R <sup>2</sup> )	Spiked Conc(μg/kg)	Recovery rate(%)	CV(%)
Trichlorfon	<i>Anguilla japonica</i>	Serum	>0.999	5	86±4.8	5.2
				10	93±2.4	4.1
				100	102±3.6	3.8
		Muscle	>0.999	5	110±1.2	1.3
				10	108±2.3	2.3
				100	111±1.9	1.9
		Liver	>0.999	5	56±4.2	4.3
				10	67±3.4	3.5
				100	58±2.6	2.7

*A. japonica*의 시료 별 TCF 평균 회수율은 혈청 86~102%, 근육 108~111%, 간장 56~67% 였다. 혈청 및 근육에서는 회수율이 각 시료별 모두 15% 이내로 국제기준을 충족하였다(Table 3). 하지만 간장에서는 국제 기준(10 μg/kg에 대한 기준 허용 범위는 70-110%, 100 μg/kg는 80-110%) 국제기준을 충족하지 못하므로 고농도의 간장 분석에서는 적용이 다소 어려움이 있다고 판단된다.

### TCF에 대한 잔류 양상

적정 수온(28°C)하에서 뱀장어에 30 mg/L의 TCF을 약욕 투여한 후 뱀장어 혈청, 근육 및 간 내 TCF

을 분석한 결과, 혈청에는 약욕 투여 후 48시간 이후 검출 한계 이하로 나타났고, 근육과 간에서는 투여 후 336시간 이후 검출 한계 이하로 나타났다. 반면에, 비교 수온(18°C)하에서 뱀장어에 30 mg/L의 TCF을 약욕 투여 한 후 뱀장어 혈청, 근육 및 간 내 TCF을 분석한 결과, 혈청에는 투여 96시간 이후 검출 한계 이하로 나타났고, 근육과 간은 투여 336시간 이후 검출 한계 이하로 나타났다(Fig. 2).

적정 수온(28°C)하에서 뱀장어에 150 ppm의 TCF을 약욕 투여한 후 뱀장어 혈청, 근육, 간 내 TCF을 분석한 결과, 혈청에는 약물 약욕 후 96시간 이후 검출 한계 이하로 나타났고, 근육은 336시간 이후

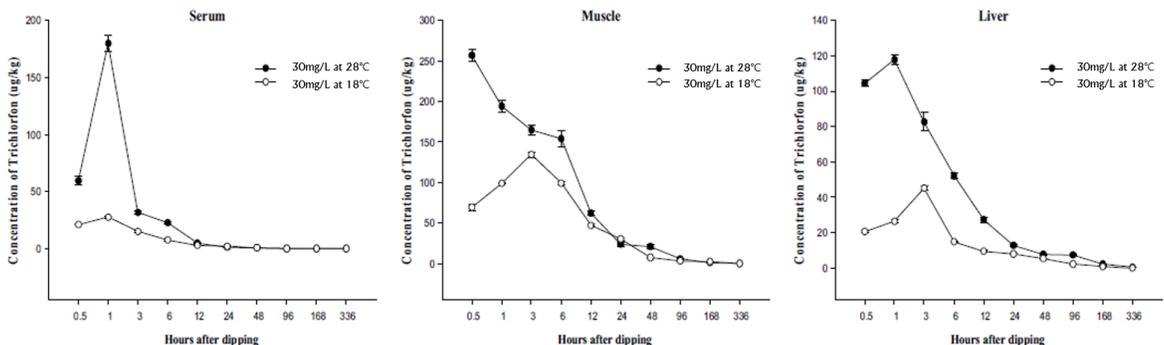


Fig. 2. Tissue concentration of TCF in *A. japonica* after bath treatment of 30mg/L TCF at different dipping temperature.

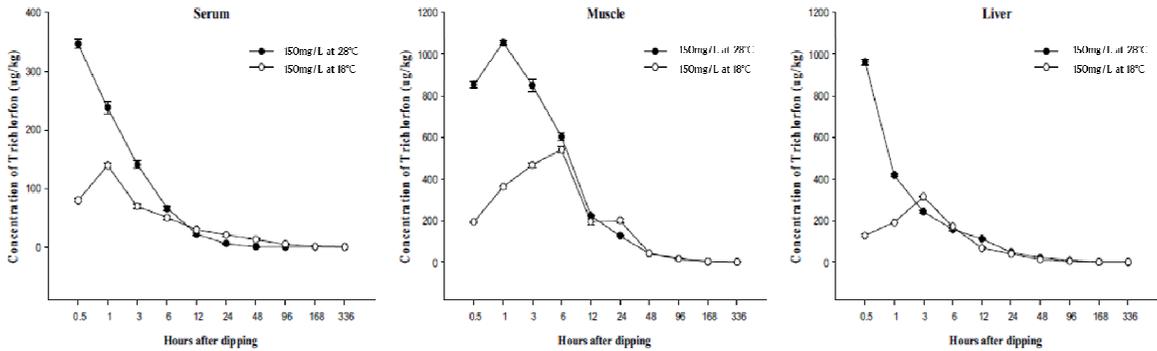


Fig. 3. Tissue concentration of TCF in *A. japonica* after bath treatment of 150mg/L TCF at different temperature.

에도 검출되었으며, 간은 약물투여 후 336시간 이후 검출 한계 이하로 나타났다. 뱀장어에 비교 수온(18°C) 하에 150 ppm의 TCF를 약욕 투여 한 후 뱀장어 혈청, 근육, 간 내 TCF를 분석한 결과, 혈청에는 약물투여 336시간 이후 검출 한계 이하로 나타났지만, 근육과 간은 336시간 이후에도 검출되었다(Fig. 3).

**약물동태학적 해석 Pharmacokinetic interpretation**

TCF를 약욕한 후 뱀장어의 조직 별 잔류 약물 농도 결과를 바탕으로 약물 동태의 수학적 분석을 noncompartmental model에 따라 pharmacokinetic parameters를 계산한 결과를 온도와 용량에 따라 각각 Table 4, 5, 6 및 7에 나타내었다. 적정 수온인 28°C에서 30 및 150 ppm으로 약욕한 뱀장어 근육

내 TCF의 농도-시간곡선하 면적 ( $AUC_{0-\infty}$ )은 각각 2405.93 및 9320.75  $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{h}$ 로 나타났다. 근육 내 최고 농도 도달시간 ( $T_{\text{max}}$ ) 및 최고 농도 ( $C_{\text{max}}$ )는 각각 1.17 및 1.19시간에서 237.51 및 1043.73  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타났다. 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는 각각 6.90 및 5.30시간으로 나타났고, 평균 체류 시간 ( $MRT_{0-\infty}$ )은 각각 9.98 및 8.02시간으로 나타났다. 비교 수온인 18°C에서는 30 및 150 ppm으로 약욕한 뱀장어 근육 내 TCF의 농도-시간곡선하 면적 ( $AUC_{0-\infty}$ )은 각각 1702.31 및 9432.50  $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{h}$ 로 나타났다. 근육 내 최고 농도 도달시간 ( $T_{\text{max}}$ ) 및 최고 농도 ( $C_{\text{max}}$ )는 2.45 및 3.34시간에서 각각 129.91 및 504.99  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타났다. 그 외 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는 각각 7.16 및 10.35시간으로 나타났고, 평균 체류 시간 ( $MRT_{0-\infty}$ )은 각각 11.26 및 16.16시간으로 나타났다.

Table 4. Pharmacokinetic parameters of TCF in serum, muscle and liver from *A. japonica* after bath treatment of 30 mg/L TCF at 18°C

Parameter	Unit	Serum	Muscle	Liver
$C_{\text{max}}$	$\mu\text{g}/\text{ml}$	25.87	129.91	40.47
$T_{\text{max}}$	h	1.32	2.45	2.30
$t_{1/2}$	h	2.41	7.16	8.07
$AUC_{0-t}$	$\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{h}$	120.63	1702.31	260.57
$AUC_{0-\text{inf}}$	$\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{h}$	120.63	1702.31	260.57
$MRT_{0-\text{inf}}$	h	3.91	11.26	4.79

Table 5. Pharmacokinetic parameters of TCF in serum, muscle and liver from *A. japonica* after bath treatment of 30 mg/L TCF at 28°C

Parameter	Unit	Serum	Muscle	Liver
<b>C<sub>max</sub></b>	µg/ml	131.41	237.51	112.99
<b>T<sub>max</sub></b>	h	1.02	1.17	0.86
<b>t<sub>1/2</sub></b>	h	2.74	6.90	4.88
<b>AUC<sub>0-t</sub></b>	µg/ml*h	372.50	2405.93	897.69
<b>AUC<sub>0-inf</sub></b>	µg/ml*h	372.50	2405.93	897.69
<b>MRT<sub>0-inf</sub></b>	h	2.09	9.98	7.28

Table 6. Pharmacokinetic parameters of TCF in serum, muscle and liver from *A. japonica* after bath treatment of 150 mg/L TCF at 18°C

Parameter	Unit	Serum	Muscle	Liver
<b>C<sub>max</sub></b>	µg/ml	113.81	504.99	66.89
<b>T<sub>max</sub></b>	h	1.15	3.34	5.40
<b>t<sub>1/2</sub></b>	h	3.92	10.35	13.81
<b>AUC<sub>0-t</sub></b>	µg/ml*h	788.56	9432.50	1747.15
<b>AUC<sub>0-inf</sub></b>	µg/ml*h	788.56	9432.50	1747.15
<b>MRT<sub>0-inf</sub></b>	h	6.06	16.16	22.09

Table 7. Pharmacokinetic parameters of TCF in serum, muscle and liver from *A. japonica* after bath treatment of 150 mg/L TCF at 28°C

Parameter	Unit	Serum	Muscle	Liver
<b>C<sub>max</sub></b>	µg/ml	357.42	1043.73	375.20
<b>T<sub>max</sub></b>	h	0.13	1.19	0.14
<b>t<sub>1/2</sub></b>	h	2.13	5.30	0.65
<b>AUC<sub>0-t</sub></b>	µg/ml*h	1144.56	9320.75	1387.76
<b>AUC<sub>0-inf</sub></b>	µg/ml*h	1144.56	9320.75	1387.76
<b>MRT<sub>0-inf</sub></b>	h	3.10	8.02	0.98

적정 수온인 28°C에서 30 및 150 ppm으로 약육한 뱀장어 혈청 내 TCF의 농도-시간곡선하 면적 ( $AUC_{0-\infty}$ )은 각각 372.50 및 1144.56  $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{h}$ 로 나타났다. 근육 내 최고 농도 도달시간 ( $T_{\max}$ ) 및 최고 농도 ( $C_{\max}$ )는 각각 1.02 및 0.13시간에서 131.41 및 357.42  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타났다. 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는 각각 2.74 및 2.13시간으로 나타났고, 평균체류시간 ( $MRT_{0-\infty}$ )은 각각 2.09 및 3.10시간으로 나타났다. 비교 수온인 18°C에서는 30 및 150 ppm으로 약육한 뱀장어 혈청 내 TCF의 농도-시간곡선하 면적 ( $AUC_{0-\infty}$ )은 각각 120.63 및 788.56  $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{h}$ 로 나타났다. 근육 내 최고 농도 도달시간 ( $T_{\max}$ ) 및 최고 농도 ( $C_{\max}$ )는 1.32 및 1.15시간에서 각각 25.87 및 113.81  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타났다. 그 외 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는 각각 2.41 및 3.92시간으로 나타났고, 평균체류 시간 ( $MRT_{0-\infty}$ )은 각각 3.91 및 6.06시간으로 나타났다.

적정 수온인 28°C에서 30 및 150 ppm으로 약육한 뱀장어 간 내 TCF의 농도-시간곡선하 면적( $AUC_{0-\infty}$ )은 각각 897.69 및 1387.76  $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{h}$ 로 나타났다. 간 내 최고 농도 도달시간 ( $T_{\max}$ ) 및 최고 농도 ( $C_{\max}$ )는 각각 0.86 및 0.14시간에서 112.99 및 375.20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타났다. 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는 각각 4.88 및 0.65시간으로 나타났고, 평균체류시간 ( $MRT_{0-\infty}$ )은 각각 7.28 및 0.98시간으로 나타났다. 비교 수온인 18°C에서는 30 및 150 ppm으로 약육한 뱀장어 간 내 TCF의 농도-시간곡선하 면적 ( $AUC_{0-\infty}$ )은 각각 260.57 및 1747.15  $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{h}$ 로 나타났다. 간 내 최고 농도 도달시간 ( $T_{\max}$ ) 및 최고 농도 ( $C_{\max}$ )는 2.30 및 5.40시간에서 각각 40.47 및 66.89  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타났다. 그 외 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는 각각 8.07 및 13.81시간으로 나타났고, 평균 체류 시간 ( $MRT_{0-\infty}$ )은 각각 4.79 및 22.09시간으로 나타났다.

## 고 찰

본 연구는 뱀장어에서 TCF의 약물동태학적 잔류 시험을 통해 혈액, 근육, 간을 LC-MS/MS로 분석하였다. 체내 약물동태연구를 위해 PK Solver program (Zhang et al., 2010)을 적용하여 비 구획

(non-compartmental) model로서 최고 농도 ( $C_{\max}$ ), 최고 농도 도달시간 ( $T_{\max}$ ), 배설 반감기( $T_{1/2}$ ) 등의 중요한 pharmacokinetic parameter를 계산하였다. (Woo et al., 2016)의 넙치에서의 TCF 노출에 따른 약물동태학적 연구에서 넙치에 1 ppm과 5 ppm의 농도에서 약육한 결과 혈청에서 최고 농도( $C_{\max}$ )는 각각  $3.1\pm 0.5$  ng/mL과  $31.8\pm 3.7$  ng/mL, 최고 농도 도달시간 ( $T_{\max}$ )은 6시간 그리고 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는  $19.6 \pm 4.1$ 시간과  $14.4 \pm 2.8$ 시간으로 다소 긴 반감기를 가졌다. 이 뿐만 아니라 Woo (2019)의 조피볼락에 대한 TCF의 약물동태학적 연구에서는, 15°C의 30 ppm과 150 ppm 노출 시에 최고 농도 ( $C_{\max}$ )는 98.76  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 253.42  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 였으며, 최고 농도 도달시간 ( $T_{\max}$ )은 둘다 1 h, 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는 각각 6.10 h와 7.34 h였다. 그리고 25°C의 30 ppm과 150 ppm 노출 시에는 최고 농도( $C_{\max}$ )는 479.63  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 301.49  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 최고 농도 도달시간 ( $T_{\max}$ )은 0.5 h, 1 h, 배설 반감기 ( $T_{1/2}$ )는 각각 6.86 h와 4.54 h인 결과를 얻었다. 이는 본 연구 결과와 비슷하게 최고 농도까지 도달하는 시간은 적정 수온인 28°C가 비교 수온인 18°C 보다 더 빠르게 흡수가 되며, 반감기 또한 빠르게 나타나는 것을 볼 수 있다. 즉 투여 농도가 동일 시 고수온일수록 약물의 잔류 시간이 짧아지는 것으로 약물이 체내에 머무르는 시간은 투여 농도 보다는 수온에서 영향을 더 크게 받는 것으로 나타났다. 어체 내에서 약물 동태는 약물 투여 농도, 배설, 배사, 분포 등과 같은 여러 인자에 의해 달라진다고 알려져 있다 (Treves-Brown, 2000). 뿐만 아니라 어류에서 수온은 생리적 대사과정에 직접적인 영향을 주는 조절 인자로서 항생제와 같은 약물이 체내 분포 및 배설에 수온이 큰 영향을 준다고 하였으며(Son et al., 2011), 잔류 기간은 낮은 수온 보다 고수온에서 더 짧다고 보고되었다(Zhang and Li, 2007). 이와 유사한 연구들은 어류에서 약물 흡수 및 제거에 대한 온도의 영향을 보고했다(Xu, Li, Fu, Zhang, Dong, et al., 2019 ; Yang et al., 2020).

또한 양식 어류의 TCF 휴약 기간에 대한 첫번째 연구는 Brandal and Egidius (1979)에 의해 보고되었다. 연어류 근육에서 TCF는 시간이 경과함에 따라 근육내 잔류량이 점차 소실되어 약물투여 12일

이후부터는 잔류물이 관찰되지 않았다. 이 결과를 토대로 연어과 어류에 대해서는 TCF를 투여하는 경우 21일의 휴약 기간을 권고하였다.

TCF은 국내외에서 각 식품에 대하여 잔류허용기준(MRL)이 설정되어 있다. 국내에서는 소, 돼지, 양 등에 대하여 세부적으로 설정되어 있으며 대부분 0.05~0.1 mg/kg이다. 일본은 수산 생물에 대하여 8개 분류 체계에 따라 잔류허용기준(MRLs)을 설정하고 있으며, 대부분 0.004~0.01 mg/kg이다. 일본에서 TCF의 수산용의약품 허가는 뱀장어, 잉어 등과 같이 어종별로 사용이 가능하도록 되어 있어 잔류허용기준(MRL)도 어종별로 설정되어 있다. 유럽에서는 잔류허용기준(MRL)이 0.01 mg/kg으로 되어 있으나, 어종별로 개별적으로는 잔류허용기준(MRL)이 설정되어 있지 않다. 현재까지 우리나라에서는 일본과 같이 어종별로 설정되어 있지 않은 수산용 동물용의약품이 대다수이다. 그리고 뱀장어에서 TCF의 약물동태학적 연구는 수행되지 않아 잔류허용기준(MRL)이 아직 설정에 어려움이 있다. TCF의 분포, 배설, 대사와 같은 약물동태학적 특성은 어종, 크기, 실험 조건, 약물 농도 그리고 시간에 따라 달라지므로 본 연구에서 얻은 결과들을 다른 생물체에 대한 연구 결과들과 직접적으로 비교하기는 어렵다. 하지만, 그럼에도 불구하고 본 연구에서 얻은 약물동태학적 결과들은 향후 양식 뱀장어에 대한 잔류허용기준 설정 시 중요한 자료로 활용될 것으로 기대된다.

## 요 약

본 연구에서는 뱀장어에 대한 trichlorfon (TCF)의 잔류허용기준(maximum residue level, MRL) 설정을 위한 기초 자료를 얻기 위하여 뱀장어를 대상으로 하여 trichlorfon (TCF) 노출에 따른 체내 잔류량 및 약물동태학적 분석을 실시했다. 28°C와 18°C에서 각각 30 ppm 및 150 ppm의 TCF를 30분간 약욕하여 이에 따른 체내 약물잔류농도를 LC-MS/MS로 분석한 결과를 바탕으로 PK solver program을 이용하여 혈청, 근육 및 간에서 TCF의 약동학 파라미터를 얻었다. 혈청, 근육 및 간에서 최고 농도( $C_{max}$ )는 25.87-357.42, 129.91-1043.73 및 40.47-

375.20였고, 최고 농도 도달시간( $T_{max}$ )는 0.13-1.32 h, 1.17-3.34 h, 및 0.14-5.40 h이었으며, 배설 반감기( $T_{1/2}$ )는 2.13-3.92 h, 5.30-10.35 h, 및 0.65-13.81 h이었다. 30 mg/L농도 투여군에서는 약욕 후 96시간이 지난 뱀장어의 혈청에서 TCF가 검출되지 않았으며, 근육 및 간에서는 336시간이후 부터 검출한계 이하로 나타났다. 반면에 150 mg/L농도 투여군에서는 약욕 후 336시간이 지난 뱀장어의 혈청에서 TCF가 검출되지 않았지만, 근육 및 간에서는 336시간에도 검출되었다. 결론적으로 본 연구를 통해 얻은 결과들은 향후 양식 뱀장어에 대한 trichlorfon (TCF)의 잔류허용기준(MRL) 설정에 유용한 기초 자료로 활용 될 것으로 기대한다.

## 사 사

이 논문(또는 저서)은 부경대학교 자율창의학술연구비(2021년)에 의하여 연구되었음.

## References

- Brandal, P. O., Eg-d-us, E. Treatment of salmon llice (*Lepeophtheirus salmonis* Krayer, 1838) with Neguvon® - description of method and equipment. *Aquaculture* 18, no. 2: 183-188, 1979.
- Guimaraes, A.T.B., Silva de Assis, H.C. and Boeger, W. The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 68, 57-62, 2007.
- M. D. Ferrando, E. Sancho, and E. Andreu-Moliner, "Comparative acute toxicities of selected pesticides to *Anguilla anguilla*," *Journal of Environmental Science and Health. Part B*, vol. 26, no. 5-6, pp. 491-498, 1991.
- Son, K.T., Jo, M.R., Oh, E.G., Mok, J.S., Kwon, J.Y., Lee, T.S., Song, K.C., Kim, P.H. and Kwon, H.J. Residues of ampicillin and amoxicillin in olive flounder *Paralichthys olivaceus* following oral administration, *Kor J Fish Aquat Sci*, 44(5): 464-469, 2011.
- Treves-Brown, K.M. Tetracyclines. In *Applied Fish Pharmacology*, pp. 64-82. Kluwer Academic Publishers, Boston, 2000.
- WHO. Antimicrobial Use in Aquaculture and Antimicrobial Resistance. World Health Organization.

- Woo, S. J., Lee, H. H., & Chung, J. K. Simultaneous determination of trichlorfon and dichlorvos residues in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) by liquid chromatography- mass spectrometry: validation and application to pharmacokinetics. RRJPPS, 5, 85-95, 2016.
- Woo, S. J. Drug metabolism system associated with the exposure of benzo[a]pyrene and trichlorfon in rockfish (*Sebastes schlegelii*). dissertation, Pukyong National University Graduate School, 2019.
- Xu, N., Li, M., Fu, Y., Zhang, X., Dong, J., Liu, Y., Zhou, S., Ai, X., & Lin, Z. Effect of temperature on plasma and tissue kinetics of doxycycline in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after oral administration. Aquaculture, 511, 734204, 2019.
- Yang, F., Yang, F., Wang, G., Kong, T., Wang, H., & Zhang, C. Effects of water temperature on tissue depletion of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) following multiple oral doses. Aquaculture, 515, 734542, 2020.
- Yonar, M Enis, Serpil Mişe Yonar, Ayşegül Pala, Sibel Silici, and Naim Saglam. Trichlorfon-Induced Haematological and Biochemical Changes in *Cyprinus Carpio*: Ameliorative Effect of Propolis. Diseases of aquatic organisms 114, no. 3: 209-16, 2015.
- Zhang, Q. & Li, X. Pharmacokinetics and residue elimination of oxytetracycline in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*, Aquaculture 272, 140-145, 2007.
- Zhang, Yong, Meirong Huo, Jianping Zhou, and Shaofei Xie. Pksolver: An Add-in Program for Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis in Microsoft Excel. Computer methods and programs in biomedicine 99, no. 3. 306-14, 2010.

---

Manuscript Received : Nov 15, 2021

Revised : Dec 02, 2021

Accepted : Feb 04, 2022