

양식 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 대한 Erythromycin 휴약기간 설정

이태식 · 박미정^{1*} · 최혜승 · 심길보 · 박미선² · 신일식³
국립수산과학원 양식환경연구센터, ¹국립수산물품질검사원,
²국립수산과학원 연구기획부, ³강릉원주대학교 해양생명공학부

Erythromycin Withdrawal Time in Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) after Oral Administration

Tae Seek LEE, Mi Jung PARK^{1*}, Hye Sung CHOI, Kil Bo SHIM,
Mi Seon PARK² and Il Shik SHIN³

Aquaculture Environment Research Center, NFRDI, Tongyeong 650-943, Korea

National Fisheries Products Quality Inspection Service, Busan 600-016, Korea

Research and Development Planning Department, NFRDI, Busan 619-902, Korea

³Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung-Wonju National University, Gangneung 210-702, Korea

The withdrawal time of erythromycin in cultured olive flounder was investigated to ensure the food safety of the fish treated with erythromycin. The oral administration of erythromycin was carried out using the experimental diet containing erythromycin (200 mg/kg) daily dose of 40 mg/kg body weight. The 45 day experimental period was broken into 7 days of habituation, 8 days of medication and 30 days of additional feeding without antibiotics.

The erythromycin concentration in the flounder muscle had been increased gradually with medication. After 5 days of medication, the concentration increased to its maximum level of 6.05 mg/kg. After discontinuing the antibiotic, the erythromycin concentration decreased drastically and day 9 was below 0.1 mg/kg. The erythromycin concentration had slowly declined from the 6th to the 20th day after medication and disappeared completely after 25 days. From these results, the time needed to reduce the erythromycin level to the 0.2 mg/kg limit adopted by the EU and Japan was suspected to be 4-6 days. Therefore, a reasonable withdrawal time following EU and Japanese regulatory guidelines for erythromycin in the cultured flounder could be estimated to be 10 days.

Key words: Erythromycin, LC/MS/MS, Olive flounder, Withdrawal time

서 론

2006년의 FAO (Food and Agriculture Organization, 국제식량농업기구), 통계에 의하면 2005년 현재 전 세계의 총 수산물 생산량은 157,531천 톤이며, 이 중 어획생산량은 94,572천 톤, 그리고 양식 생산량은 62,939천 톤으로 집계되고 있다 (FAO, 2006a). 이와 같이 식량자원 공급 측면에서의 수산양식의 비중은 점차 높아지고 있으며, 전 세계에서 식품으로 소비되는 어류의 43%가 양식어류인 것으로 파악되고 있다 (FAO, 2006b). 세계 인구증가에 따른 식량난 해결을 위한 방안의 일환으로 수산업의 중요성이 강조되고 있으며, 수산물 생산 및 공급 방식은 잡는 어업에서 기르는 어업으로 전환되고 있다 (KMI, 2007). 2004년 현재 우리나라의 양식 생산량은 95만 톤으로 세계양식 생산에서 1.7%를 차지하며 세계 8대 양식 생산국으로 부상하고 있다 (FAO, 2006b). 우리나라의 경우 1980년대부터 산업적 규모의 어류 양식이 시작된 이후 다양한 어종에 대한 양식이 이루어지고 있다. 특히 국민소득

증가함에 따라 이들 어종에 대한 종묘 생산기술 및 고밀도의 증가와 함께 참돔, 넙치, 조피볼락 등 고급 활어의 수요가사 육기법 등이 확립되어 어류 양식 산업은 기업형 양식으로 급속히 발전하고 있다. 그러나 이처럼 대부분의 어류양식이 행하여지고 있는 연안해역의 수질환경이 배수유역에서 유입되는 각종 오염물질과 해면에서의 각종 어업활동 중에 발생하는 오염물질 등에 의하여 점차 열악해짐에 따라 (KFDA, 2004), 생산성 향상을 위한 고밀도 사육 등이 채택됨으로써 양식과정 중에 발생하는 어류질병 또한 다양해지고 있다. 그리고 양식어류 질병 발생의 증가에 따라 질병의 치료를 위한 약물 특히, 항생제 사용 또한 해마다 증가되고 있는 실정이다 (Park et al., 2002). 이처럼 항생제는 어류질병의 치료는 물론 예방을 목적으로 사용되는 것은 물론 질병예방의 목적으로 장기간 사용하는 것으로 확인되고 있다 (MOMAF, 2002). 이러한 어류양식장에서의 항생제 사용 증가는 질병 원인균의 항생제 내성을 증가시켜 질병에 대한 약물의 효용성이 떨어뜨릴 뿐만 아니라, 항생제가 잔존하는 어류를 장기간 섭취할 경우, 인체에 직·간접적인 영향을 미칠 수 있다. 따라서 미국, 일본

*Corresponding author: parkmj@nfs.go.kr

등 세계 각국에서는 수산물은 물론 일반 식품에서의 항생제 함량 및 관리에 대한 엄격한 관리기준을 법으로 정하여 관리하고 있다 (EC, 1999; KFDA, 2007a; KFDA, 2007b).

질병의 예방이나 치료를 위하여 양식어류에 항생제를 투여한 경우 어류 체내에서의 항생제의 분해 또는 배출 속도는 대단히 느리므로 양식과정 중에 항생제를 사용한 양식어류를 식품으로 사용할 경우 식품을 섭취하는 시점에서 식품 중에 항생제가 잔류할 가능성은 언제나 있다고 할 수 있다 (Hayama, 1998). 그리고 이러한 식품 중에 잔류하는 항생제는 사람에게 대하여 직접적인 독성 또는 과민증(알레르기)을 유발하기도 한다. 그리고 비록 병원성이 없는 세균의 경우라도 항생제 내성이 증대되면 세균의 항생제 내성은 인체 내 또는 자연계에서 쉽게 병원균으로 전이 될 수 있기 때문에 식품 중의 항생물질은 반드시 관리되어야 할 식품위생안전위해로 간주되고 있다 (KFDA, 2006; Park, 2004). 한편 어류양식에 사용되고 있는 항생제 중에서 erythromycin은 한국에서의 양식어류 생산량의 80% 이상을 차지하고 있는 넙치 및 조피볼락의 비브리오 증 등 세균성 질병 치료에 많이 사용되고 있으며 (Treves-Brown, 2000), 2004년 현재 그 사용량은 10,545 kg으로 oxytetracycline, amoxicillin에 이어 3위를 차지하고 있다 (KFDA, 2006).

Erythromycin은 macrolide계 항생제로서, *Streptomyces erythraeus*로부터 최초로 생산되어졌으며, in vitro에서 gram positive cocci (*Staphylococci*, *Streptococci*), gram positive (*Bacillus anthracis*, *Corynebacterium*, *Clostridium* sp.) 또는 gram negative rods에 대하여 활성을 가지며, 대부분 *Enterobacteriaceae* (*Pseudomonas*, *E. coli*)에 속하는 균종들은 내성이 있는 것으로 보고되고 있다 (Ray et al., 2004). Erythromycin은 축산에서도 빈번히 사용되고 있으며, 축산물에 대한 허용기준치도 소고기, 돼지고기, 닭고기에는 0.1 mg/kg, 칠면조고기에서는 0.125 mg/kg 등이 설정되어 있다 (KFDA, 2007a; KFDA, 2007b). 그러나 erythromycin은 수산물의 경우, 수산용 약품으로서의 사용 허가는 되어 있지만, 잔류 허용 기준치 및 잔류허용 기준치에 부합한 안전한 식품을 생산하는데 필요한 휴약기간 등은 설정되어 있지 않은 실정이다. EU에서는 모든 식품종류에 대하여 근육에서의 erythromycin 최대 잔류허용치를 0.2 mg/kg으로 설정하고 있으나 (EC, 1999), 대부분의 EU 회원국에서는 erythromycin에 대하여 아직 사용 허가가 나지 않은 나라들이 많기 때문에 불검출의 기준이 적용되어 관리되어야 할 필요가 있다고 주장하는 많은 보고가 있다 (Esposito et al., 2007). 한편 미국의 경우 erythromycin은 수산용에 대하여 미승인 약제로 관리되고 있다. 수산식품의 생산과 소비가 대중화되어 있는 일본의 경우 positive list 제도에 근거하여 erythromycin을 연어과, 뱀장어과, 갑각류과, 패류과, 기타어류에 대해서는 0.2 mg/kg, 농어과에 대해서는 0.06 mg/kg 이하의 잔류허용기준치를 적용하고 있다 (KFDA, 2007b).

본 연구에서는 우리나라 해면양식 생산의 대부분을 차지하

고 있는 넙치 (MOMAF, 2006)의 양식과정 중에 세균성 질병의 예방이나 치료를 위하여 사용하고 있는 erythromycin에 대한 식품위생학적 안전 확보를 위하여 EU, 일본 등에서 설정하고 있는 허용기준치 0.2 mg/kg 및 불검출이라고 하는 가설적인 허용기준치에 대한 휴약기간을 설정하였다.

재료 및 방법

1. 실험어

양식 넙치에 대한 항생제 투약 및 휴약 시험은 2007년 4월에 경상남도 거제군 일운면 소재의 육상 넙치 양식장에서 실시하였다. 휴약기간 설정을 위한 시험어에 대한 투약 및 체내 축적된 항생제의 감소 또는 소실정도에 대한 확인시험은 2007년 4월 15일부터 5월 24일까지 40일간 2개의 수조에서 동시에 실시하였다.

시험어는 입식된 후 1년 정도 경과한 380 g 전후의 넙치 (olive flounder, *Paralichthys olivaceus*)를 대상으로 하였다. 즉 약 2,800마가 각각 수용되어 있는 2개의 양식수조 (7×7 m 사각 콘크리트수조)에서 양식중인 넙치에 erythromycin이 함유된 사료를 경구투여 하면서, 어체 근육 중의 항생제 축적의 정도와 휴약기간 동안 항생제 감소 정도를 측정하였다. 시험어는 외관적으로 특이한 질병이 없는 것으로 확인되었다.

2. 항생제 투여

실험용 약 사료는 시판 배합사료 (Extruded pellet, EP) kg 당 erythromycin (다원이미아신, 역가 20%) 0.2 g을 골고루 혼합시켜 조제하였다. 약 사료의 일일 공급량은 어체중의 0.5%가 되도록 조절하였다. 즉 약 사료 투여에 의한 일일 항생제 투여 농도는 어체중 kg당 약 40 mg이 되도록 조제하였다. 그리고 약 사료는 매일 1회씩 8일간 지속적으로 투여하였다.

3. 시료채취

Erythromycin을 경구투여 중에는 매일 일정한 시간에 수조 F-4와 F-6에서 각각 3-5마의 시험어를 채취하였으며, 경구투여 종료 후에는 일반 습식사료 (Moist Pellet, MP)를 투여하면서 1-5일 간격으로 30일 동안 경시적으로 5마씩 채취하였다. 수조에서 채취한 시료어는 즉살시켜 실험실로 운송하여 가식부 (육질부)를 채취한 후 즉시 분석하였다.

4. Erythromycin 분석

넙치시료에서의 erythromycin 분석은 0.2% meta-phosphoric acid와 methanol로 추출하여 LC/MS/MS로 분석하는 Park et al.(2008)의 방법을 사용하였다.

즉, 마쇄한 어육에 0.2% meta-phosphoric acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 methanol (Merck Co, Darmstadt, Germany) 혼합액을 첨가하여 항생제를 추출하였으며, erythromycin 검출에는 Ultra performance liquid chromatography (UPLC) system (Acquity; Waters, USA)이 장착된 liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS, Quattro Premier XE; Waters, Milford, MA, USA) system을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 양식 넙치 중의 erythromycin 축적 및 배출

Erythromycin은 넙치, 조피볼락, 참돔, 방어, 뱀장어, 무지개송어, 은어, 틸라피아의 에드워드병, 비브리오팀, 장관백탁증 등의 예방과 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 조피볼락에 대한 휴약기간은 30일로 권고하고 있다 (KFDA, 2006). 본 연구에서의 양식 넙치에 대한 휴약기간 설정을 위한 실험은 동절기가 끝나고 수온이 상승하기 시작하며, 사육어의 급이 활동이 왕성해지기 시작하는 4월과 5월에 집중적으로 실시하였다.

본 연구에서는 시험 결과의 객관성 확보를 위하여 두 개의 사육수조 (F-4, F-6)를 동일한 조건으로 구성하여 반복시험의 개념으로 실험을 실시하였다.

사용된 시험어의 평균체중은 353.9 ± 72.2 g, 평균체장은 30.4 ± 1.8 cm이었다. 시험기간 동안의 평균수온은 13.6 ± 0.1 °C로 양식 중에 수온은 약간씩 상승하는 시기였다 (Table 1).

시험어에 대한 사육은 순치 7일, 투약 8일 그리고 휴약 30일 등의 순으로 실시하였다. 그리고 순치기간 중 5일은 항생제를 함유하지 않은 EP사료를 투여하고 2일간은 절식시킨 후 투약을 시작하였다.

시험어에 대한 항생제 투여가 시작됨에 따라 넙치 근육내의 erythromycin의 축적량이 지속적으로 증가하기 시작하였으며, 각 시료 개체에서의 항생제 농도는 최대값을 기준으로 투약 5일부터 6일까지는 6.0 mg/kg 전후의 농도가 유지되었다. 투약 5일째에는 최대 6.05 mg/kg까지 증가하였으며, 투약 8일째의 최저값은 0.01 mg/kg, 그리고 최대값은 3.38 mg/kg이었다. 그러나 넙치의 경우, 정착성어류로 개체마다 먹이섭이활동의 정도차이가 많아 어체별 erythromycin 축적농도 차이가 많이 발생하였다 (Fig. 1).

투약 종료 후부터 어체내의 항생제 농도는 급속도로 감소하기 시작하여 최대 농도를 기준으로 할 때 휴약 1일에는 4.43 mg/kg까지 감소하였으며, 휴약 2일째부터는 0.1 mg/kg 이하로 감소하는 개체가 발생하기도 하였으며, 휴약 9일째에는 5미 모두에서 0.1 mg/kg 이하까지 감소하였다. 그리고 휴약 6일째부터 20일까지는 개체에 따른 차이는 다소 있었으나, 완만히 감소하는 경향을 보인 후 휴약 25일 후에는 전 시료 개체에서 완전히 소실되는 것이 확인되었다 (Fig. 2).

Traves-Brown(2000)은 chinook salmon을 대상으로 erythromycin을 21일 동안 각각 50 mg/kg/day, 100 mg/kg/day 투여한 실험에서 50 mg/kg/day의 농도로 투약한 경우 처음 며칠까지

Table 1. Water temperature and survival rate of the olive flounder used in the experiment

Water temperature (°C)	Body weight of sample (g)	Total length of sample (cm)	Survival rate (%)
13.6 ± 0.1	353.9 ± 72.2	30.4 ± 1.8	97.1

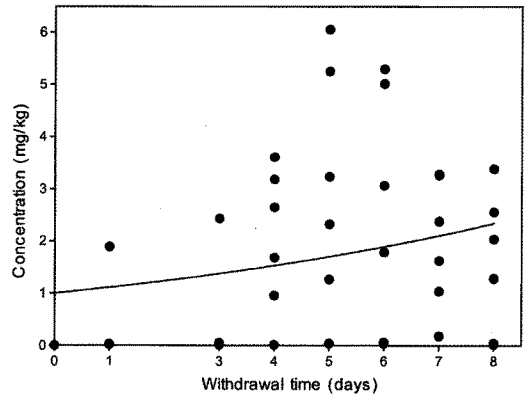


Fig. 1. Accumulation of erythromycin in the muscle of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) muscle during oral administration

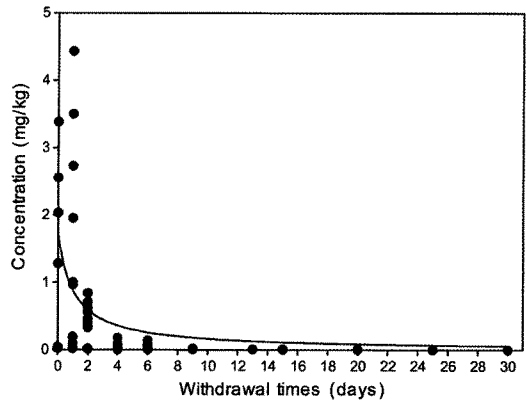


Fig. 2. Change of erythromycin concentration in the muscle of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) muscle after the stopping of oral administration.

는 혈장 (plasma)과 조직 (tissues)에서 erythromycin 농도가 증가되었으며, 그 이후에는 안정한 상태였다고 보고하고 있다. 그리고 100 mg/kg/day를 투여한 경우는 혈장에서만 50 mg/kg/day를 투여한 경우와 같았으나, 어체내에 축적된 항생제 농도가 일정하게 유지되는 안정기 때의 농도는 50 mg/kg/day를 투여한 경우에 비하여 약 2배 정도 높은 축적의 정도를 보였다고 하였다. 그리고 조직에서는 투약 비율에 따라 4-10배 정도의 잔류량 차이를 나타내었다고 보고하고 있다. 그리고 두 가지 조건의 실험 중에서 50 mg/kg/day 농도로 투약한 경우, 3일경과 후에 간 (liver)보다는 비장 (spleen), 신장 (kidney) 등에서 erythromycin의 잔류량이 높게 나타났으며, 10일 후에는 신장을 제외하고는 모든 장기에서 육질부 (muscle)에서 보다 높은 잔류량을 나타내었다. 즉, 투약에 따른 어체 부위별 erythromycin 축적의 정도는 신장>비장>간>혈장>적색육>백색육의 순인 것으로 보고하고 있다. 두 번째 실

협인 100 mg/kg/day 농도로 투약하였을 경우 3일경과 후에는 모든 어체 부위에서 똑같은 농도가 축적되는 것으로 보고한 바 있다. 그러나 10일째에는 신장, 간, 비장 등이 혈장 또는 근육 보다 농도가 높게 나타났다. 그리고 21일째 신장에서는 여전히 농도가 높게 나타나는 것으로 보고하고 있다. 그러나 같은 연구에서 투약 후 10일째에는 근육과 혈장에서는 erythromycin이 검출되지 않은 것으로 보고하고 있다. 그리고 다른 어종인 방어(yellowtail)의 경우 50 mg/kg/day 투약하였을 때, 근육에는 항생제 투여를 종료한지 72 시간이 경과하면 잔류량이 없는 것으로 보고되고 있으며, 신장의 경우 144 시간, 비장의 경우 120시간 경과되면 잔류량이 없는 것으로 보고하고 있다. 즉 방어의 경우 넙치나 송어류 보다 체내에 축적된 항생제 농도의 감소 속도가 빠른 것은 높은 수온에서 사육되고 활동성이 높아 체내물질대사 속도가 빠른 것에 기인한 것으로 추정된다.

2. 양식 넙치에 대한 erythromycin 휴약기간 설정

Erythromycin은 넙치, 조피볼락, 참돔, 방어, 뱀장어, 무지개송어, 은어, 틸라피아의 에드워드증, 장관백탁증, 연쇄구균증 등의 예방과 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 넙치에 대한 휴약기간은 30일로 권고하고 있다 (NFRDI, 2006). 사육수조 F-4 및 F-6에서의 실험 결과, 투약 실시 후 개체의 차이는 있었지만, 투약이 계속되는 8일째까지 어체내의 항생제 함량은 지속적으로 증가하였으며 (Fig. 1), 체내에 축적된 항생제는 휴약 1일째부터 점차적으로 감소하여 휴약 4일 후에는 전 시료 개체에서 0.2 mg/kg 이하로 감소하였으며, 이후부터는 완만한 감소 경향을 나타낸 후 휴약 30일에는 전 시료에서 완전히 소실되었다 (Fig. 2).

한편 Esposito et al. (2007)은 무지개송어 (*Oncorhynchus mykiss*)에 대한 erythromycin 휴약기간 설정연구 결과에서 21일 동안 매일 어체중량 kg당 100 mg의 erythromycin을 투여할 경우, EU 측에서 권장하는 잔류허용기준치 0.2 mg/kg에 해당하는 휴약기간은 22일이라고 보고하고 있으며, 잔류하지 않는량 (off-label) 정도의 허용기준치를 적용할 경우에서의 적정 휴약기간은 500 °C-day (°C-day=water temperature×day, 휴약에 필요한 적산수온)로 제시하고 있다.

본 연구에서의 결과를 EU, 일본 등에서 적용하고 있는 식품 또는 수산물에 대한 잔류허용기준 0.2 mg/kg을 적용할 경우, 넙치에 대한 erythromycin의 휴약기간은 전 시료 개체에서의 항생제 농도가 0.2 mg/kg 이하로 감소하는데 소요되는 4-6일과 개체간의 사료 섭취차이에 따른 항생제 축적 정도차이 등을 충분히 고려하여 10일 (136 °C-day) 정도로 책정하는 것이 적절할 것으로 판단되며, erythromycin에 대한 식품에서의 허용 기준치를 불검출로 설정할 경우 넙치에 대한 erythromycin의 휴약기간은 30일 (408 °C-day) 정도가 적절한 것으로 생각된다.

이 연구는 국립수산물연구원 (수출패류생산해역 및 수산물위생조사, RP-2009-FS-005)의 지원에 의하여 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- EC (European Communities). 1999. COMMISSION REGULATION No 2593/1999 amending Annexes I, II and III of Council Regulation (EEC) No 2377/90 laying down Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. Official J. Eur. Commun., Brussels, Belgium, L315/26-31.
- Esposito, A., L. Fabrizi, D. Lucchetti, L. Marvasi, E. Coni and E. Guandalini. 2007. Orally administered erythromycin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Residues in edible tissues and withdrawal time. Antimicrob. Agents Chemother., 51, 1043-1047.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2006a. Yearbook of fishery statistics. FAO Fisheries Department, 98, 1-560.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2006b. State of world aquaculture 2006. FAO Fisheries Department, 1-129.
- Hayama, T. 1998. Residues of animal drugs in food. J. Food Hyg. Soc. Japan, 39, 6-11.
- KFDA (Korea Food & Drug Administration). 2004. Establishment antimicrobials management system for aquaculture. Gudeok Publ. Co., Busan, Korea, 1-184.
- KFDA (Korea Food & Drug Administration). 2006. Approval of registration of the animal drug and usage status. Dongwon-Monhwasa, Seoul, Korea, 1-183.
- KFDA (Korea Food & Drug Administration). 2007a. Food Code. Seoul, Korea, 1115pp.
- KFDA (Korea Food & Drug Administration). 2007b. MRLs for veterinary drugs in foods. pp. 1-310.
- KMI (Korea Maritime Institute). 2007. Global maritime affairs & fisheries weekly 16th, Gihoek munhwasa, Seoul, Korea, pp.5-10.
- MOMAF (Ministry of Maritime Affairs & Fisheries). 2002. Study on the development of HACCP system for fishery products during production and before market. Gudeok Publ. Co., Busan, Korea, pp. 1-254.
- MOMAF (Ministry of Maritime Affairs & Fisheries). 2006. Survey on the status of fish culture. Samsungelife, Seoul, Korea, pp.15-29.
- NFRDI (National Fisheries Research and Development Institute). 2006. The guidance of aquatic drug use. pp.1-31.

- Park, J.H. 2004. Analytical method for veterinary drug residues. In: International symposium & workshop on the control of the use of veterinary drug and management of residues in foods of animal origin. Lee, H.O, NVRQS, Korea, pp.137-167.
- Park, M.S., B.Y. Jee, S.H. Jeong and J.W. Kim. 2002. Status and prospects of fish diseases in Korea. In: World Aquaculture, 586 pp.
- Park, M.J., M.S. Park, T.S. Lee and I.S. Shin. 2008. A new analytical method for erythromycin in fish by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Food Sci. Biotechnol., 17, 508-513.
- Ray, W.A., K.T. Murray, S. Meredith, S.S. Narasimhulu, K. Hall and C.M. Stein. 2004. Oral erythromycin and the risk of sudden death from cardiac causes. N. Engl. J. Med., 351, 1089-1096.
- Treves-Brown, KM. 2000. Applied fish pharmacology. eds. Dordrecht Boston, Kluwer Academic Publ., pp. 87-94.

2009년 3월 19일 접수

2009년 5월 4일 수정

2009년 6월 8일 수리