

양식 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 경구투여한 Ampicillin 및 Amoxicillin의 어류체내 잔류량의 변화

손광태 · 조미라^{1*} · 오은경 · 목종수 · 권지영 · 이태식¹ · 송기철 · 김풍호² · 이희정²

국립수산과학원 식품안전과, ¹남서해수산연구소 해역산업과, ²남동해수산연구소

Residues of Ampicillin and Amoxicillin in Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* Following Oral Administration

Kwang-Tae Son, Mi-Ra Jo^{1*}, Eun-Gyoung Oh, Jong-Soo Mok, Ji-young Kwon, Tae-Seek Lee¹, Ki-Cheol Song, Poong-Ho Kim² and Hee-Jung Lee

Food Safety Research Division, NFRDI, Busan 619-705, Korea

¹Southwest Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Yeosu 556-823, Korea

²Southeast Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Tongyeong 650-943, Korea

Residues of ampicillin and amoxicillin in the muscles of olive flounder *Paralichthys olivaceus* were investigated after oral doses of 20 mg/kg body weight/day of ampicillin and 40 mg/kg body weight/day of amoxicillin in a first examination and 40 mg/kg body weight/day of ampicillin and 80 mg/kg body weight/day of amoxicillin in a second examination for 5-6 days. The ranges of seawater temperatures in the 1st and 2nd examinations were 13.4-15.6°C and 16.8-21.4°C, respectively. Ampicillin and amoxicillin concentrations were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The average recovery rates of ampicillin and amoxicillin in fish samples ranged from 84.8-95.2% and 100.8-103.8%, respectively. Residual concentrations in the olive flounder peaked on the 5th day, with average concentrations of 0.075 mg/kg and 0.311 mg/kg in the 1st examination, and 0.098 mg/kg and 0.630 mg/kg in the 2nd examination for ampicillin and amoxicillin, respectively, with maximum concentrations in muscle. In the 1st examination, ampicillin concentrations in olive flounder after withdrawals of 1 and 3 days were 0.041 mg/kg and 0.023 mg/kg, respectively, and amoxicillin concentrations after withdrawals of 1 day and 10 days were 0.172 mg/kg and 0.023 mg/kg, respectively. In the 2nd examination, the ampicillin concentrations in olive flounder after withdrawals of 1 and 3 days were 0.041 mg/kg and 0.023 mg/kg, respectively, and amoxicillin concentration after withdrawals of 1 day and 10 days were 0.172 mg/kg and 0.023 mg/kg, respectively. We suggest that the recommended withdrawal periods should be 3 days for ampicillin and 10 days for amoxicillin in the olive flounder.

Key words: Ampicillin, Amoxicillin, Olive flounder, Withdrawal period

서 론

1928년 플레밍이 페니실린을 처음 발견하고 1940년에 화학적으로 안정한 형태의 항생제인 페니실린이 분리된 이래 현재까지 수백종의 항생제가 개발되었다. 독일에서는 250종이 넘는 항생제가 상용화되어 있으며(Kümmerer and Henninger, 2003), 전 세계 항생제 소비량은 100,000-200,000톤에 달한다(Wise, 2002). 이러한 항생물질은 처음에는 사람이나 동물의 질병 발생을 예방하거나 치료를 목적으로 사용되었으나 사료와 혼합하여 가축이나 어류의 성장 촉진을 위한 목적으로도 사용되어져 왔다(Tollefson et al., 1997; Gaskins et al., 2002). 광범위한 항생제 사용으로 인한 내성균 발현의 문제는 사람과 동물의 건강에 위

협을 주는 공중보건학적 측면에서 뿐만 아니라 치료비용의 상승 등 경제적인 측면에서도 손실을 가져와 세계적인 문제가 되고 있다(Rubin et al., 1999; Holmberg et al., 1987).

국내에서도 축·수산물에 사용되는 동물용 항생제는 매년 1,500톤 정도 판매되고 있는데, 이들 중 수산용으로는 11.5-17.7% 정도 사용되어지고 있다(KFDA, 2007). 최근 판매된 수산용 항생제의 성분별 비율은 옥시테트라사이클린(oxytetracycline)이 76%로 가장 많았고, 다음으로 에리스로마이신(erythromycin) 6.3%, 아목시실린(amoxicillin) 5.6%, 설파(sulfa)계열 2.9%, 시프로플록사신(ciprofloxacin) 1.5%, 암피실린(ampicillin) 1.1%의 순으로 페니실린계 항생제의 비중이 점차 높아지고 있는 추세이다(NVRQS, 2009). 이처럼 동물용 의약품의 오·남용이나 미승인 물질의 사용을 방지하기 위하여 식품의약품안전청에서는 사용제한이나 잔류허용기준치를 정하

*Corresponding author: mirajo@nfrdi.go.kr

여 규제하고 있으며, 규제대상 성분도 점차 확대되고 있는 추세로 국내에서도 2009년까지 142종의 동물용의약품에 대하여 잔류허용기준이 설정되었다(KFDA, 2009). 이는 미국, EU, 호주 등에서의 기준 설정수보다 상회하고 있으며, 2010년 1월부터는 축수산물에서 기준 미설정 항생제 및 합성항균제가 검출될 경우 0.03 mg/kg의 일률기준을 적용함으로써 축·수산물에 대한 안전관리가 강화되었다(KFDA, 2008).

한편 ampicillin과 amoxicillin은 6-aminopenicillanic acid를 가지고 있는 페니실린계 항생물질로서, 가축의 질병이나 성장촉진을 위한 사료 첨가제로 많이 사용되었는데, 수산분야에서 ampicillin은 양식어류의 유결절증, 비브리오증, 연쇄상구균증 및 에드워드병에, 그리고 amoxicillin은 양식어류의 그람 양성균, 음성균, 유결절증 및 절창병 등의 예방 및 치료에 광범위하게 사용되고 있다(Lambert and O'Grady, 1992; KAHPA, 2001). 수산용으로 사용하는 ampicillin 및 amoxicillin의 국내에서의 잔류허용기준은 어류 및 갑각류에 대하여 모두 0.05 mg/kg으로 설정되어 있다(식품의약품안전청 고시 제 2007-63호). Jo et al. (2006)은 국내 연안 가두리 양식장에서 양식되고 있는 넙치, 조피볼락, 농어를 대상으로 양식단계 및 출하단계에서의 ampicillin과 amoxicillin을 모니터링한 결과 ampicillin은 생산단계에서 전체시료 중 6.2%에서 최대 0.16 mg/kg로 일부 시료에서는 기준치를 초과하여 검출되었고, amoxicillin은 최대 0.03 mg/kg으로 전체 시료 중 2.5%의 검출율을 나타내었으나, 출하단계 양식어류에서 ampicillin 및 amoxicillin은 검출되지 않았다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 육상 양식장에서 양식되고 있는 넙치(*Paralichthys olivaceus*)를 대상으로 그람 양성균과 그람 음성균에 의한 질병 예방 및 치료에 광범위하게 사용되고 있는 ampicillin 및 amoxicillin을 사료에 혼합하여 경구 투여한 후 체내 잔류량을 경시적으로 파악함으로써 효율적인 휴약기간 설정을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 시료

본 연구에서 사용된 ampicillin trihydrate 및 amoxicillin의 표준품은 Sigma사(USA) 제품을 사용하였으며, 시료 중 항생제 추출에는 증류수, diethyl ether(B&J, SK Chemicals, Korea)를 사용하였다. 유도체화 시약으로는 37% formaldehyde(Merck, Germany)와 trichloroacetic acid(Sigma, USA)를 사용하였다. 시험어는 질병에 감염되지 않고 항생제 투여를 받은 이력이 없는 건강한 넙치(*Paralichthys olivaceus*, 550 ± 150 g, 34 ± 5 cm)를 사용하였다. 시험어는 ampicillin과 amoxicillin 시험구로 구분하여 두개의 콘크리트 수조(가로 8 m×세로 8 m×높이 1 m)에 500마리씩 넣어서 사용하였다. 시험은 비교적 어류의 먹이섭취가 왕성한 수온 상승기와 하강기 등 2회에 걸쳐 실시하였으며, 수온 상승기에는 2006년 5월 8일부터 6월 7일까지, 그리

고 수온 하강기에는 10월 11일부터 11월 10일까지 실시하였다.

항생제 투여 및 시료 채취

항생제 투여 용량은 동물용의약품 등의 잔류성시험 지침(국립수의과학검역원 고시 제2007-6호) 중 별표(동물용의약품의 잔류성 시험방법)에 따라 항생제 투여 용량단계를 2단계로 구분하여 실험을 실시하였다. 즉 ampicillin과 amoxicillin은 동물용의약품으로 시판되고 있는 수산용 분제(1 kg 중 ampicillin 100 g 함유, amoxicillin 100 g 함유)를 수온 상승기에 1일 섭취량이 어체중 kg 당 ampicillin 20 mg 및 amoxicillin 40 mg 되도록, 그리고 수온 하강기에 어체중 kg 당 ampicillin 40 mg 및 amoxicillin 80 mg 되도록 조제하여 경구투여하였다.

생사료 중 항생제 농도는 어체중 kg당 ampicillin 20 mg/kg, amoxicillin 40 mg/kg이 되도록 혼합·조제하여 일정기간 동안 양식 넙치에 급여하여 최대 축적농도에 도달하게 되면 항생제가 혼합된 사료의 급여를 중단하고 일반 사료로 대체한 후 경시별 항생제 잔류량을 측정하였다. 시료 채취는 항생제가 함유된 사료를 경구투여한 직후부터 동물용의약품의 잔류허용기준치인 0.05 mg/kg(식품의약품안전청 고시 제 2007-63호) 이하가 될 때까지 지속적으로 매회 10마리씩 채취하였다. 채취한 시료어는 즉살 시킨 후 저온하에서 실험실로 운송하여 근육을 채취하고 항생제 잔류검사를 실시하였다.

시료 채취는 항생제가 함유된 사료를 경구투여한 직후부터 기준치인 0.05 mg/kg 이하가 될 때까지 지속적으로 매회 10마리씩 채취하였다. 채취한 시료어는 즉살 시킨 후 저온하에서 실험실로 운송하여 근육을 채취하고 항생제 잔류검사를 실시하였다.

표준용액 및 이동상 조제

Ampicillin과 amoxicillin 표준품 각 10 mg씩을 증류수에 녹여 100 mL 용량플라스크에 넣어서 100 ppm 농도의 표준원액(stock solution)으로 하였다. Working solution은 표준원액을 단계적으로 1.0, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05 ppm이 되도록 희석하여 사용하였다. HPLC 분석을 위한 이동상은 0.05 M KH₂PO₄(pH 6.5, Sigma, USA) 용액과 acetonitrile(Merck, USA)을 4:1의 비율로 혼합하여 사용하였다.

표준곡선의 작성 및 잔류 항생제 산출

표준용액(1.0, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05 ppm)으로 조제된 ampicillin과 amoxicillin을 50 µL씩 취하여 3회 반복 실험한 chromatography로부터 각각의 항생제에 대한 농도별 평균면적을 구하여 X축을 농도, Y축을 면적으로 하여 검량선을 작성하였다. 시험용액에서 얻어진 chromatogram으로부터 각 성분에 대하여 머무름 시간이 일치되는 각각의 peak에 대한 평균 면적을 구한 다음 검량선 좌표의 Y축에 동일한 값을 표시하고, 이 값과 검량선상에 만나는 점에서 수직으로 X축과 만나는 점이 시험용액의 농도를 나타낸다. 이 농도에 시험용액의 희석배수(잔류물에 가한 이동상의 부피)를 곱하고 시료무게로 나누어 최종시료

Table 1. HPLC instruments and analysis conditions for ampicillin and amoxicillin

Item	Analysis condition
HPLC system	Shiseido nanospace SI-2
Detector	UV detector 360 nm
Column temperature	30°C
Flow rate	1 mL/min
Column	4.6 mL ID×150 mm (Shiseido MG C ₁₈)
Injection volume	50 µL
Mobile phase	0.05 M KH ₂ PO ₄ : Acetonitrile = 4 : 1 (pH 6.5)

중 각 성분의 농도를 산출하였다.

Ampicillin 및 amoxicillin의 추출조건

어육 중의 ampicillin 및 amoxicillin의 추출 및 분석조건은 Jo et al. (2006)의 방법으로 실시하였다. 즉 어육 5 g에 증류수 40 mL를 가하여 균질기(Polytron PT3000, Switzerland)로 10,000 rpm에서 2분간 균질화시켜 ampicillin과 amoxicillin을 추출하였다. 추출액은 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 잔사를 제거한 상층액은 50 mL 원심관에 취하였다. 70% trichloroacetic acid(TCA) 1 mL를 가하여 단백질을 침전시킨 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 단백질을 제거하였다. 45°C에서 2-3 mL로 감압농축하여 얻은 액을 증류수로 5 mL 되도록 정용한 다음 지질제거를 위하여 diethyl ether 6 mL를 가하여 30분간 진탕 후 하층을 취하였다. 지질을 제거한 하층은 검출감도를 높이기 위하여 유도체화 과정을 거쳐야 하므로 20% TCA 0.5 mL를 가하여 진탕한 후 다시 7% formaldehyde 용액 1 mL를 가하여 60초간 진탕하여 100°C에서 30분간 가열한 후 즉시 방냉하였다. 이 유도체화된 용액에 NaCl 1 g을 첨가하여 약하게 흔든 후 diethyl ether 6 mL를 넣어 30초간 진탕하고 3,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 diethyl ether층을 제거하였다. 이 과정을 반복하여 diethyl ether 추출액 12 mL를 50°C에서 질소 농축시켜 완전히 건조시킨 다음 증류수 1 mL로 정용하고 여과(0.2 µm, PTFE, Millipore, USA)시켜 HPLC 분석에 사용하였다. Ampicillin 및 amoxicillin 분석을 위한 HPLC 분석조건은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

표준 검량선, 검출한계 및 정량한계

Ampicillin 및 amoxicillin 표준용액의 농도를 각각 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 mg/kg으로 단계희석하고, HPLC로 분석하여 농도에 대한 peak 면적비를 이용하여 표준곡선을 작성하였다(Fig. 1). Ampicillin 및 amoxicillin의 회귀계수(r²)는 각각 0.9985 및 0.9966으로 매우 양호한 것으로 확인되었다.

또한, ampicillin 및 amoxicillin 항생제에 대한 검출한계

Table 2. Recovery values, LODs and LOQs obtained in olive flounder *P. olivaceus* muscle samples for the determination of ampicillin and amoxicillin

Antibiotics	Fortified conc. (µg)	Recovery (%)	SD ¹⁾	CV ²⁾	LOD ³⁾	LOQ ⁴⁾
Ampicillin	0.5	95.2	4.91	5.15	0.0015	0.005
	1.0	84.8	6.96	8.21		
Amoxicillin	0.5	103.8	7.59	7.32	0.0021	0.007
	1.0	100.8	9.14	9.08		

¹⁾SD; standard deviation, ²⁾CV; coefficient value, ³⁾LOD; limit of detection, ⁴⁾LOQ; limit of quantitation.

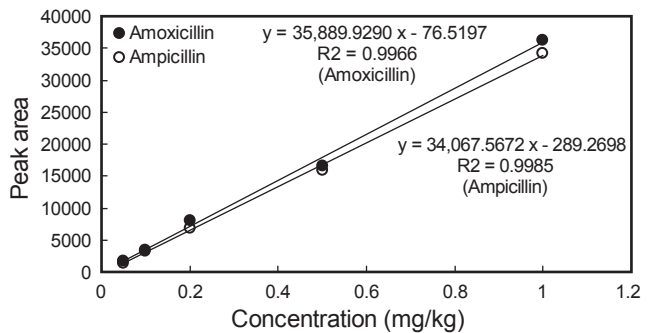


Fig. 1. The ampicillin and amoxicillin calibration curve from 0.05 mg/kg to 1.0 mg/kg (Peak area vs. Concentration).

(LOD, Limit of Detection)는 각각 0.0015 mg/kg 및 0.0021 mg/kg이었으며, 정량한계(LOQ, Limit of Quantitation)는 각각 0.005 mg/kg 및 0.007 mg/kg으로 나타나 낮은 parts per billion(ppb) 범위의 극미량 존재 시에도 정량분석이 가능함을 알 수 있었다(Table 2).

표준품의 회수율

넙치 근육에 ampicillin 표준용액을 0.5 및 1.0 mg/kg 되도록 첨가하여 회수율을 살펴본 결과 평균 95.2% 및 84.8%를 나타내었다. 그리고 amoxicillin을 동일한 조건으로 실험한 결과 평균 회수율은 각각 103.8% 및 100.8%로 ampicillin보다 높은 회수율을 나타내었다. 이러한 결과들은 잔류물질 분석을 위한 방법개발에 있어서 검출한계가 적어도 0.05 ppm이어야 하고, 1-2 ppm 첨가하였을 때 회수율이 적어도 70% 이상이어야 한다는 지침(CJVPA, 1988)을 만족하는 수준이었다.

Cho et al. (2006)은 넙치 근육에 ampicillin을 0.05-0.1 mg/kg 되도록 첨가하였을 때 회수율이 87.1-98.2%를, 그리고 Luo et al. (1997)은 ampicillin을 메기의 근육조직에 5, 10, 20 mg/kg 되도록 첨가하여 회수율을 조사한 결과 89.9-95.2%를 나타내어 본 연구결과와 유사한 수준을 나타내었다. 또한 축산물에 있어서 Goto et al. (2005)은 소와 돼지의 근육조직에 ampicillin을 0.05, 0.1 mg/kg 되도록 첨가하여 회수율을 조사한 결과 모든 근육조직에서 99% 이상의 회수율을 나타내어 축산물 뿐만 아니

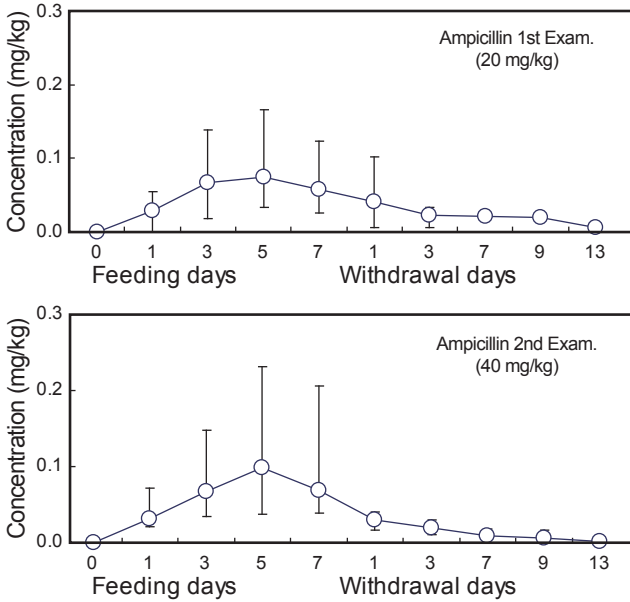


Fig. 2. Concentration changes of ampicillin in the muscle of olive flounder *P. olivaceus* after oral administration of ampicillin. The upper and under bar indicate the minimum and maximum range of ampicillin concentration in the muscle of olive flounder.

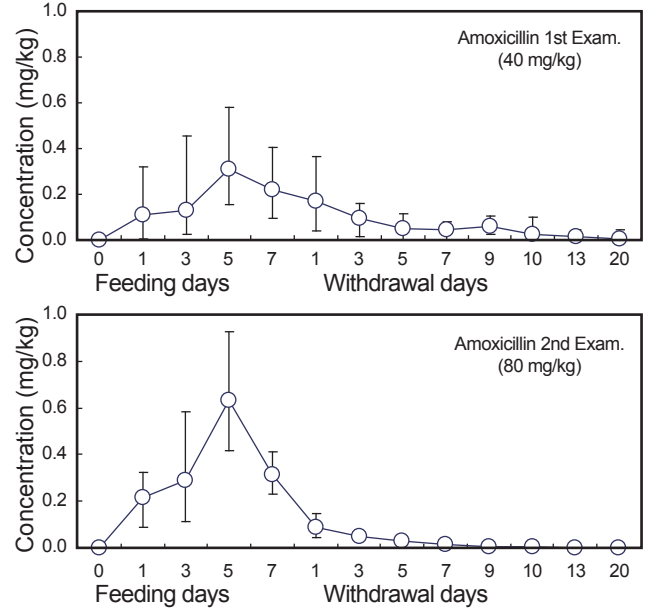


Fig. 3. Concentration changes of amoxicillin in the muscle of olive flounder *P. olivaceus* after oral administration of amoxicillin. The upper and under bar indicate the minimum and maximum range of amoxicillin concentration in the muscle of olive flounder.

라 수산물에서도 ampicillin의 회수율은 전반적으로 높은 것을 알 수 있었다. 그러나 일부 연구결과에서는 어류에서 ampicillin의 회수율이 61.5-73.2%로 다소 낮은 결과를 나타내어 시료의 전처리나 검출방법에 따라서 회수율의 차이가 발생할 수 있다는 것을 알 수 있었다(Nagata and Saeki, 1986).

한편 Wang et al. (2009)은 농어과 어류 근육에 amoxicillin을 1-10 mg/kg 되도록 첨가시 회수율이 81.1-97.7%로 보고하였으며, Luo and Ang(2000)은 틸라피아 근육에 amoxicillin을 다양한 농도로 첨가하여 확인된 회수율이 모두 92% 이상을 나타내어 본 연구결과에서보다는 낮은 회수율을 나타내었다. 그리고 Chung et al. (2006)은 넙치, 조피볼락, 참돔에 amoxicillin을 0.05, 0.1 mg/kg의 농도로 첨가하여 회수율을 조사한 결과 0.05 mg/kg의 농도에서 넙치가 97.3%, 0.1 mg/kg의 농도에서는 참돔이 87.8%의 가장 높은 회수율을 나타내었다고 보고하여 비교적 amoxicillin의 회수율이 높았던 반면에 Kuo et al. (2009)은 농어 근육에 amoxicillin 1-10 mg/kg 되도록 첨가한 회수율이 74-83%를, Sorensen et al. (1999)은 송어의 근육에 amoxicillin을 10-200 µg/kg 되도록 첨가한 회수율이 80.5%를, 그리고 Ang et al. (1996)은 amoxicillin을 0.01, 0.02 mg/kg의 농도로 첨가한 메기 근육에서 각각 81.2% 및 78%, 연어 근육에서는 79.5% 및 76.2%의 회수율을 나타내어 어종에 따른 amoxicillin의 회수율의 차이를 알 수 있었다.

어류 체내 ampicillin 및 amoxicillin의 잔류량 변화

양식넙치에서 ampicillin 및 amoxicillin 휴약기간 구명을 위

한 시험은 실제 양식이 이루어지고 있는 부산시 기장군 일광면 소재 넙치양식장에서 실시하였다. 항생제 투여 용량은 동물용의약품 등의 잔류성시험 지침(국립수의과학검역원 고시 제2007-6호) 중 별표(동물용의약품의 잔류성 시험방법)에 따라 최소 2단계 이상의 항생제 투여 용량단계로 구분하였다. 즉 ampicillin과 amoxicillin은 동물용의약품으로 시판되고 있는 수산용 분제(1 kg 중 ampicillin 100 g 함유, amoxicillin 100 g 함유)를 구입하여 1차 시험에는 1일 섭취량이 어체중 kg 당 ampicillin 20 mg 및 amoxicillin 40 mg 되도록, 그리고 2차 시험에는 어체중 kg 당 ampicillin 40 mg 및 amoxicillin 80 mg 되도록 조제하여 양식넙치에 경구투여하였다.

1차 시험은 연중 해수의 온도변화를 볼 때 해수의 온도가 상승하는 시기인 2006년 5월 8일부터 6월 7일까지 30일간에 걸쳐 수행하였으며, 해수의 온도범위는 13.4-15.6℃이었다.

양식 넙치에서의 ampicillin 및 amoxicillin은 모두 투약 5일째에 각각 평균 0.075 mg/kg 및 0.311 mg/kg으로 최대 측정량을 나타내었는데, 이는 본 연구에서 사용한 항생제의 제조사에서 권장한 방어의 투약일수가 ampicillin의 경우 5일, amoxicillin의 경우 4-7일로 제시하고 있는 바 넙치의 경우에도 이 범위를 벗어나지 않는 것으로 나타났다(Figs. 2, 3).

양식 넙치에서 ampicillin의 시간에 따른 잔류량은 휴약 1일에 어류의 근육에서 평균 0.041 mg/kg으로 가장 높은 값을 나타내었으나, 잔류허용기준치인 0.05 mg/kg보다는 낮은 값을 나타내었다. 그리고 3일째에는 평균값이 0.023 mg/kg으로 감소하여 13일째에는 어류의 근육에서 본 연구에서 ampicillin의

정량한계치(LOQ)인 0.007 mg/kg이하로 검출되었다. 그리고 amoxicillin은 휴약 1일째에 어류의 근육에서 평균 0.172 mg/kg으로 가장 높은 값을 나타내었고, 10일째에 0.023 mg/kg으로 잔류허용기준치인 0.05 mg/kg보다 낮은 값을 나타내었다. 휴약 20일째에는 어류의 근육에서 amoxicillin이 정량한계치인 0.005 mg/kg이하로 검출되었다.

2차 시험은 연중 해수의 온도가 높은 시기인 하절기에서 수온이 하강하는 초가을인 2006년 10월 11일부터 11월 10일까지 30일간에 걸쳐 수행하였으며, 해수의 온도범위는 16.8-21.4 °C로 1차 시험에 비하여 다소 높은 온도범위이었다. 생사료에 혼합되는 항생제 농도는 1차 시험에서 보다 높은 어체중 kg당 ampicillin 40 mg/kg, amoxicillin 80 mg/kg이 되도록 사료에 혼합·조제하여 동일한 방법으로 실험을 실시하였다.

투약에 따른 두 항생제가 양식 넙치 근육에 축적되는 최대 농도는 1차 시험과 유사하게 모두 투약 5일째에 ampicillin이 평균 0.098 mg/kg, amoxicillin이 0.630 mg/kg로 나타나 권장 투약일수는 벗어나지 않는 것으로 나타났다. Amoxicillin 첨가구에서 1차 시험에 비하여 약 2배 높게 나타난 반면 ampicillin 첨가구에서는 1.3배로 나타나 amoxicillin이 ampicillin 보다 양식어류의 체내로 축적이 더 잘되는 것으로 확인되었다.

약제 투여를 중지하였을 때 양식 넙치에서 ampicillin의 시간에 따른 잔류량 변화는 휴약 1일째에 0.030 mg/kg으로 잔류허용기준치보다 낮은 농도를 나타내었으며, 3일째에는 0.019 mg/kg으로 감소하였고, 9일째에는 어류의 근육에서 ampicillin이 정량한계치인 0.007 mg/kg이하로 검출되었다. 그리고 amoxicillin은 휴약 1일째에 어류의 근육에서 평균 0.089 mg/kg를 나타내었고, 7일째에 0.016 mg/kg으로 잔류허용기준치보다 낮은 값을 나타내었다. 휴약 13일째에는 어류의 근육에서 amoxicillin이 정량한계치인 0.005 mg/kg이하로 검출되었다.

Cho et al. (2006)은 ampicillin을 넙치, 조피볼락, 참돔에 어체중 당 100 mg/kg(역가 10%)을 사료와 혼합하여 수온 25 °C의 조건에서 5일 동안 투여 후 휴약하였을 때 모든 어류 시료에서 휴약 3일째부터 기준치 0.05 mg/kg의 절반 수준인 0.025 mg/kg이하로 검출되었다고 보고하였다. Chung et al. (2006)은 amoxicillin을 넙치, 조피볼락, 참돔을 대상으로 어체중 당 40 mg/kg 되도록 사료에 혼합하여 7일간 투여 후 휴약하였는데, 휴약 1일째에 0.13-0.17 mg/kg, 3일째에는 0.01-0.02 mg/kg을 나타내었으며, 4일째에는 모든 어류의 근육에서 amoxicillin이 검출농도 이하(0.01 mg/kg)로 확인되어 본 연구결과와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 Jeon et al. (2010)은 뱀장어에 amoxicillin을 어체중 당 각각 40 mg/kg 및 80 mg/kg 농도로 경구 투여한 후 시간 경과에 따른 혈중에서의 농도변화를 확인하였는데, 두 실험구 모두 휴약 25일 이후에 0.05 mg/kg이하로 나타나 대상 어종에 따라 잔류하는 기간이 차이가 있음을 알 수 있었다.

변온동물인 어류는 투여된 항생제의 잔류농도와 잔류기간은 수온에 의해 크게 영향을 받는데(McCracken et al., 1976 ; Kasuga et al., 1984) 넙치는 보통 수온 20-25 °C에서 성장이 가

장 활발한 것으로 보고되어 있다(Iwata et al., 1994). 본 연구에서 1차 시험어보다 약제 투여량이 더 많았던 2차 시험어의 체내에서 항생제 잔류기간이 짧았던 것은 수온의 영향 때문이라 사료되며, 1차 시험시의 수온이 넙치의 적정 수온보다 낮아 어류 체내의 효소 및 대사율이 감소되었기 때문으로 추정된다(Fauconneau et al., 1983).

수온은 어류의 모든 생리적 대사과정에 직접적인 영향을 미치는 대사조절인자로서(Brett and Groves, 1979), 낮은 수온에서 사료의 소모량이 적을 뿐 아니라 어류 체내에서 대사활동도 서서히 일어난다고 알려져 있다(Kilambi and Robinson, 1979 ; Koskela et al., 1997).

이상의 결과로 미루어 볼 때 양식 넙치에서의 ampicillin 및 amoxicillin의 항생제 휴약기간은 투여된 항생제 농도와 비례하여 어체 근육 중에 축적되지는 않았으며, 어류의 대사작용에 직접적으로 작용하는 수온에 의한 영향을 더 많이 받는 것으로 확인되었다. 따라서 양식 넙치에서의 ampicillin 및 amoxicillin의 항생제 휴약기간 설정은 생리적 대사작용이 왕성한 2차 시험 시기보다 1차 시험을 수행한 시기를 기준으로 하고, 동물용의약품의 잔류허용기준치인 0.05 mg/kg보다 낮은 농도에 도달하는 시기를 고려하여 볼 때 ampicillin은 3일, amoxicillin은 10일이 적절할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원 수출패류 생산해역 및 수산물 위생조사 연구의 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과 일부입니다(RP-2011-FS-007).

참고문헌

- Ang YWC, Luo W, Hansen EB, Freeman JP and Thompson HC. 1996. Determination of amoxicillin in catfish and salmon tissues by liquid chromatography with precolumn formaldehyde derivatization. *J AOAC Int* 79, 389-396.
- Brett JR and Groves TDD. 1979. Physiological energetics. In *Fish Physiology*, vol. VIII, Energetics and growth (Hoar WS, Randall DJ and Brett JR eds), Academic Press, New York, U.S.A., 162-259.
- Cho YH, Jung WC, Shin YW, Kim KW, Ha JY, Heo SH, Kim EG, Chung HS, Kang SJ, Choi YJ, Kim S and Lee HJ. 2006. Muscle tissue distribution level of ampicillin in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), rockfish (*Sebastes schlegeli*), and red sea bream (*Pagrus major*) following oral administration. *J Vet Clin* 23, 164-168.
- Chung HS, Kim S, Min WG and Lee HJ. 2006. Muscle tissue distribution level of amoxicillin in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), rockfish (*Sebastes schlegeli*), and red sea bream (*Pagrus major*) following oral administration. *J Food Hyg Safety* 21, 244-249.

- 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.
- Fauconneau B, Choubert G, Blanc D, Breque J and Luquet P. 1983. Influence of environmental temperature on flow rate of foodstuffs through the gastrointestinal tract of rainbow trout. *Aquaculture* 34, 27-39.
- Gaskins HR, Collier CT and Anderson DB. 2002. Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Anim Biotechnol* 13, 29-42.
- Goto T, Ito Y, Yamada S, Matsumoto H and Okab H. 2005. High throughput analysis of tetracycline and penicillin antibiotics in animal tissues using electrospray tandem mass spectrometry with selected reaction monitoring transition. *J Chromatogr A* 1100, 193-199.
- Holmberg SD, Solomon SL, and Blake PA. 1987. Health and economic impacts of antimicrobial resistance. *Rev Infect Dis* 9, 1065-1078.
- Iwata, N., K. Kikuchi, H. Honda, M. Kiyono and H. Kurokura. 1994. Effects of temperature on the growth of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish Sci* 60, 527-531.
- Jeon EJ, Seo JS, Kim JD, Jung SH, Kim MS, Hwang JY, Park MA, Lee BY, Kim JW and Kim YC. 2010. Pharmacokinetics of amoxicillin trihydrate in cultured eel *Anguilla japonica* by single oral and intravenous administrations. *J Fish Pathol* 23, 357-367.
- Jo MR, Kim PH, Lee TS, Oh EG, Yu HS and Lee HJ. 2006. Simultaneous determination of amoxicillin and ampicillin in fish meat using high-performance liquid chromatography. *J Kor Fish Soc* 39, 454-459.
- KAHPA (Korea Animal Health Products Association). 2001. The guidebook of veterinary antibiotics. Kyungseong Munhwasa, Gyenggido, Korea, 898-923.
- Kasuga Y, Sugitani A, Yamada F, Arain M and Moridawa S. 1984. Oxolinic acid residues in tissues of cultured rainbow trout and ayu fish. *J Food Hyg Soc Japan* 25, 512-615.
- KFDA (Korean Food and Drug Administration). 2007. Monitoring of antimicrobial resistance on the food animals and meats. Seoul, Korea, 1-110.
- KFDA (Korean Food and Drug Administration). 2008. Notice No. 2008-51. Seoul, Korea.
- KFDA (Korean Food and Drug Administration). 2009. Advanced Notice No. 2009-173. Seoul, Korea.
- Kilambi RV and Robinson WR. 1979. Effects of temperature and stocking density on food consumption and growth of grass carp *Ctenopharyngodon idella*, Val. *J Fish Biol* 15, 337-342.
- Koskela J, Pirhonen J and Jobling M. 1997. Effect of low temperature on feed intake, growth rate and body composition of juvenile Baltic salmon. *Aquac Int* 5, 479-487.
- Kümmerer K and Henninger A. 2003. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluents. *Clin Microbiol Infec* 9, 1203-1214.
- Kuo TF, Wang YK, Sheu SY, Chang MH and Wang JH. 2009. Detection of residues by use of solid phase extraction and reversed phase high performance liquid chromatography after oral administration of amoxicillin in bass muscle. 2009. *Taiwan Vet J* 35, 66-74.
- Lambert HP and O'Grady FW. 1992. Antibiotics and chemotherapy. In *Veterinary medicine*, 6th ed., Churchill Livingstone. New York. U.S.A., 130-139.
- Luo W, Ang CYW, Thompson Jr. HC. 1997. Rapid method for the determination of ampicillin residues in animal muscle tissues by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr B* 694, 401-407.
- Luo W and Ang CY. 2000. Determination of amoxicillin residues in animal tissues by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detection. *J AOAC Int* 83, 20-25.
- McCracken AS, Fidgeon S, O'Brien JJ and Anderson D. 1976. An investigation of antibiotic and drug residues in fish. *J Applied Bacteriol* 40, 61-66.
- Nagata T and Saeki M. 1986. Determination of ampicillin residues in fish tissues by liquid chromatography. *J AOAC* 69, 448-450.
- NVRQS (National Veterinary Research and Quarantine Service). 2009. Monitoring of microbial resistance on the food animals and meats. 1-92.
- Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Greene JA and Moiduddin A. 1999. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. *Emerg Infect Dis* 5, 9-18.
- Sorensen LK, Hansen H and Snor L. 1999. Determination of amoxicillin in trout by liquid chromatography with UV detection after derivatization. *J AOAC Int* 82, 1345-1352.
- Tollefson L, Altekruze SF and Potter ME. 1997. Therapeutic antibiotics in animal feeds and antibiotic resistance. *Rev Sci Tech* 16, 709-715.
- Wang JH, Chao MR, Chang MH and Kuo TF. 2009. Liquid chromatographic determination of amoxicillin residues in grouper muscle following oral administration of the veterinary drug. *Taiwan Vet J* 35, 21-28.
- Wise R. 2002. Antimicrobial resistance: priorities for action. *J Antimicrob Chemoth* 49, 585-586.

2011년 7월 14일 접수
 2011년 8월 11일 수정
 2011년 10월 4일 수리