



제주 및 완도지역 양식넙치에서 잔류 동물용 의약품 모니터링

서정수* · 조희성** · 정아름*** · 지보영**** · 권문경**** · 황지연* · 황성돈* · 정지민* · 이지훈*
*†국립수산과학원(연구사) · **국립수산과학원(조사원) · ***국립수산과학원(주무관) ·
****국립수산과학원(연구관)

Monitoring of Veterinary Drug Residues in Cultured Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* from Jeju and Wando Regions

Jung Soo SEO* · Hee Sung JO** · Ah-Reum JEONG*** · Bo-Young JEE**** · Mun-Gyeong KWON****
· Jee Youn HWANG* · Seong Don HWANG* · Ji Min JEONG* · Ji-Hoon LEE†

National Institute of Fisheries Science (*†researcher, **intern researcher, ***officer, ****senior researcher)

Abstract

Residue levels in randomly collected olive flounder muscles were monitored in 2015-2018. Fish were obtained from fish farms located in Jeju and Wando regions to monitor 45 veterinary antibiotic drugs. For analysis, sensitive methods which adopt simultaneously detection of multiple agents were used: high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) detection. A total of 1,200 samples were analyzed, and antibiotic residues were detected in 15 Jeju samples (1.25%) and 45 Wando samples (3.75%). None of them contained residues exceeding respective maximum residue limits (MRLs) set by the Korean Food Code. Although the present monitoring result identifies safe status overall, current surveillance efforts over antibiotic use need to be maintained by continuous monitoring.

Key words : HPLC-MS/MS, Monitoring, Residues, Veterinary drug

I. 서론

동물용 의약품이란 동물용으로만 사용함을 목적으로 하는 의약품으로 페니실린, 테트라사이클린, 퀴놀론계열과 같은 항생·항균물질 및 프라지퀴텔, 후마길린과 같은 구충제 등 다양한 동물용 의약품이 동물 질병의 예방·치료 등을 위해 사용되고 있다. 동물용 의약품 중 수산용 의약품은 약사법 제 85조 및 동물용 의약품 등 취급규칙 제 2조에 의거하여 수산용 동물용 의약품으로 어패류 등에 사용함을 목적으로 하는 동물용 의약품을 말한다(NIFS, 2018a). 현재 수산용으로 사용하도록 허가

된 의약품은 경구용이 가장 많고 소수만이 주사용, 약욕 또는 수조에 투입하거나 양식장에 산포하도록 허가되어 있다.

수산용 의약품 중 사용량 및 필요성에서 가장 중요한 의약품은 항생제 및 합성항균제이다. 항생·항균제의 오·남용은 궁극적으로 식품 위생학적 측면에서 문제를 유발한다. 수산물에서 항생제를 투여하였을 경우 휴약기간이 경과한 후에 출하해야 하며 미 준수 시 항생제가 잔류하게 되어, 이는 식품 내 잔류된 항생제가 극소량일지라도 사람이 섭취하였을 경우 인체의 내성률 증가로 이어져 인체 질병치료에 문제를 일으킬 수 있다

† Corresponding author : 0051-720-3024, jhlee001@korea.kr

* 이 논문은 국립수산과학원 수산생물 방역프로그램 개발·운영 지원에 의해 수행되었음.

(Jung, 2003; KFDA, 2011; Lee, 2003). 따라서 식품 안전을 제고하고 자국민의 건강 위해를 방지하기 위하여 우리나라, 국제식품규격(Codex), 일본, 미국 및 EU에서는 식품에 대한 잔류허용기준(MRL, maximum residue level)을 설정하여 관리하고 있고(Song et al., 2012), 국내에서는 현재(2019년) 193종의 동물용의약품에 대한 잔류허용기준을 설정하여 관리하고 있으며 그 중 수산물에서는 53개로 설정되어 있다(KFDA, 2019).

식품의약품안전처에서 수행한 동물용의약품 잔류실태조사(Jung, 2004; Jung, 2005; Lee, 2004; Lee, 2005; Lim, 2007)에 따르면 국내 수산물에 대한 동물용의약품의 잔류위해성은 크게 우려되는 수준은 아니라고 보고하였지만, Kim et al. (2010)은 향후 오·남용에 대한 식품 안전성을 보장하지 못하므로 보다 광범위한 항생제 잔류모니터링과 관리지도가 필요하다고 강조 하였다. 수산물 중 잔류의약품 분석법은 허용기준치의 적합을 신속 정확하게 확인하기 위해 동시다성분 분석법 연구가 활발히 진행되고 있으며 대부분 액체크로마토그래피(HPLC, high performance liquid chromatography)와 질량분석기(Tandem mass spectrometry) 기법이 많이 이용되고 있다(Kim et al., 2010; Song et al., 2012).

따라서 본 연구는 국립수산과학원 수산방역과의 수산생물방역프로그램개발·운영 계속사업 내 세부과제인 수산생물용의약품관리의 일환으로 국내 넙치 생산의 주 양식장이 분포하고 있는 제주 및 완도 2개 지역에서 출하단계의 넙치를 대상으로 HPLC-MS/MS를 이용해 2014년 식품의약품안전평가원 잔류물질과에서 새롭게 확립한 수산물의 잔류동물용의약품 동시 다성분 스크리닝법(KFDA, 2014)을 이용하여 동물용의약품 사용 실태조사를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험어

본 연구에 사용한 시료는 2016년부터 2018년도까지 제주 및 완도의 2개 지역에 분포하고 있는 넙치양식장(지역별 10개소)에서 해마다 출하대상의 넙치(35 cm 이상) 200마리를 분석에 사용하였다. 시험어는 구매 즉시 근육을 샘플링한 후 4℃에서 냉장 보관하면서 분석하였으며, 분석시간까지 장기간 보관 시에는 -86℃에서 냉동 보관하여 사용하였다.

2. 표준품 및 시약

표준품으로 사용된 45종 시약은 식품의약품안전평가원 잔류물질과에서 제공받아 사용하였다. 액체크로마토그래피 이동상 및 전처리 시약으로서 아세트나이트릴 및 물은 HPLC급 시약(Merck, Darmstadt, Germany), 개미산암모늄은 Sigma-Aldrich 사(St. Louis, MO, USA), 개미산은 Wako사(Osaka, Japan), C18분말(Discovery® DSC-18)은 Supelco사(Bellefonte, PA, USA) 그리고 syringe filter는 Whatman사(Maidstone, UK)의 0.2 µm를 사용 하였다.

3. 표준용액 제조

제공받은 45종 표준원액은 -20℃에 냉동 보관하면서 분석 직전에 물로 희석하여 혼합표준용액으로 사용 하였다.

4. 사용기기 및 분석조건

분석에 사용한 고속액체크로마토그래피는 Agilent Technologies 1290 Infinity(Agilent, Santa Clara, CA, USA), 질량분석기는 Agilent 6430 Triple Quad LC/MS(Agilent, Santa Clara, CA, USA), 칼럼은 Agilent Eclipse Plus C18(2.1x150mm, 3.5 µm)을 사용하였다. 분석조건은 2014년 수산물의 잔류동물용의약품 동시 다성분 스크리닝법과 동일하게 적용하였으며 MRM(multiple reaction monitoring)조건은 <Table 1>에 나타내었다.

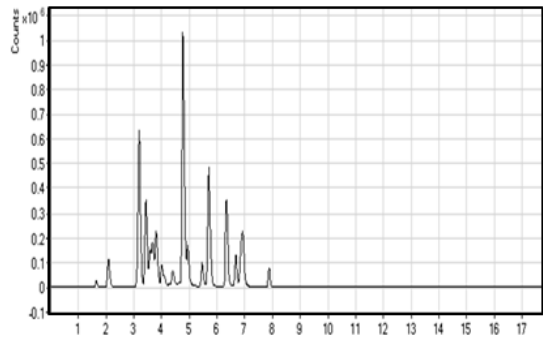
<Table 1> Analytical conditions of the MRM transition of MS/MS

No.	Compound name	Precursor ion(m/z)	Product ion(m/z)	Collision energy(eV)	Fragmentor(V)	Polarity
1	Chlortetracycline	479.0	462.1/444.1	13/17	126	Positive
2	Oxytetracycline	461.1	443.0/426.3	5/13	91	Positive
3	Doxycycline	445.0	427.9/320.2	18/28	40	Positive
4	Tetracycline	445.0	428.0/410.2	9/13	106	Positive
5	Florfenicol	356.0	335.8/185.1	5/20	120	Negative
6	Florfenicol amine	248.0	230.1/154.0	5/49	65	Positive
7	Thiamphenicol	354.0	290.0/185.1	10/20	120	Negative
8	Chloramphenicol	321.0	151.0/257.0	10/5	120	Negative
9	Trimethoprim	291.0	261.1/230.1	25/21	126	Positive
10	Ormethoprim	275.0	259.2/123.1	25/21	126	Positive
11	Erythromycin	734.0	576.4/158.0	12/24	180	Positive
12	Josamycin	828.0	174.1/109.1	29/49	197	Positive
13	Kitasamycin	772.7	215.0/109.1	29/41	202	Positive
14	Spiramycin	843.0	101.0/174.0	35/28	200	Positive
15	Lincomycin	407.0	272.5/126.2	21/25	91	Positive
16	Clindamycin	425.0	126.2/98.9	25/29	136	Positive
17	Amoxicillin	366.0	208.0/114.0	5/15	110	Positive
18	Ampicillin	350.0	191.9/159.8	15/16	65	Positive
19	Enrofloxacin	360.0	342.2/316.2	17/13	91	Positive
20	Ciprofloxacin	332.0	288.0/245.0	10/25	100	Positive
21	Difloxacin	400.0	356.1/299.1	17/25	126	Positive
22	Flumequine	262.0	244.1/202.0	13/33	91	Positive
23	Nalidixic acid	233.0	215.1/187.1	9/25	70	Positive
24	Norfloxacin	320.0	276.0/233.0	13/25	95	Positive
25	Ofloxacin	362.0	318.2/261.1	13/25	121	Positive
26	Oxolinic acid	262.0	244.0/216.0	13/29	101	Positive
27	Pefloxacin	334.0	316.1/290.1	17/13	93	Positive
28	Sulfadiazine	251.0	156.0/108.1	9/21	101	Positive
29	Sulfamethoxazole	254.0	156.1/108.1	9/21	96	Positive
30	Sulfamerazine	265.0	172.0/108.0	20/25	106	Positive
31	Sulfamethazine	279.0	186.0/124.1	13/21	101	Positive
32	Sulfaphenazole	315.0	156.0/108.0	25/25	90	Positive
33	Sulfaquinoxaline	301.0	156.0/108.1	9/29	111	Positive
34	Sulfathiazole	256.0	156.0/108.1	9/9	96	Positive
35	Sulfisoxazole	268.0	108.1/92.1	21/25	91	Positive
36	Sulfachlorpyridazine	285.0	156.0/92.1	9/25	101	Positive
37	Sulfachlorpyrazine	285.0	156.0/108.1	9/21	96	Positive
38	Sulfadimethoxine	311.0	156.0/108.1	13/25	106	Positive
39	Sulfadoxine	311.0	156.0/108.1	17/25	116	Positive
40	Sulfamonomethoxine	281.0	156.0/108.0	13/25	96	Positive

41	Sulfamethoxyypyridazine	281.0	156.0/108.1	13/25	91	Positive
42	Sulfaguanidine	215.0	156.0/108.0	11/23	90	Positive
43	Cefalexin	348.0	174.1/158.0	9/5	65	Positive
44	Tiamuline	494.0	192.1/119.0	17/37	111	Positive
45	Praziquantel	313.0	203.1/83.1	13/21	91	Positive
46	Ceftiofur	524.0	359.0/285.0	9/13	136	Positive
47	Desfuroylceftiofur	430.0	241.0/126.0	12/10	110	Positive

5. 전처리

균질화한 시료 2 g을 정밀히 달아 원심분리관에 취하여 2 mM 개미산암모늄용액 10 mL를 가하여 20분간 진탕 후 9,000 G에서 10분간 원심분리하고 추출액을 새로운 원심분리관에 취한다. 분리된 추출액에 C18 분말 500 mg을 분산 후 헥산 10 mL를 가하여 30초간 진탕한다. 진탕 후 9,000 G에서 5분간 원심분리하고, 하층액을 40°C 수욕상에서 추출액이 1 mL가 남을 때까지 질소 농축한 후 0.2 µm syringe filter로 여과하여 시험용액으로 하였다.



[Fig. 1] Typical HPLC-MS/MS chromatogram of 45 veterinary drugs.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 직선성 및 회수율

동물용의약품의 표준물질 45종 혼합용액에 대한 크로마토그램은 [Fig. 1]과 같으며, 극성이 가장 큰 플로르페니콜 대사물질인 플로르페니콜아민(Retention time, 1.251 min)부터 아목시실린 (1.587 min)순으로 용출되었다. 45종의 각 표준용액을 10, 100, 1000 µg/L의 3개 농도로 검량선을 작성한 결과 Codex에서 요구하는 0.95 이상으로 도출되었다. 회수율은 분석시료에 최대잔류허용기준(MRL)의 10배 농도가 되도록 첨가하여 분석한 결과 60~101% 범위로 도출되었다. 정량한계(LOQ, limit of quantitation)는 각 의약품들의 잔류허용기준의 절반 수준까지 분석이 가능하였다.

2. 동물용의약품 모니터링 결과

국내 넙치양식의 대표 지역인 제주 및 완도에 서 해마다 200마리의 출하대상 넙치를 대상으로 수산물에서 잔류허용기준이 설정되어있는 동물용 의약품 45종에 대한 잔류량을 조사 하였다. 45종 의약품 중 아목시실린 및 옥시테트라사이클린 2종이 검출되었고, 나머지 43종은 검출되지 않았다. 먼저 제주지역의 경우 2016 및 2017년도에는 모든 의약품이 불검출로 나타났으며, 2018년도에 아목시실린이 15개 샘플에서 검출되었다<Table 2>. 검출수준은 15개 샘플 모두 아목시실린 잔류허용기준(MRL)인 0.05 mg/kg 이하로 검출되었다. 완도지역의 경우 2017년도에 아목시실린 및 옥시테트라사이클린이 45개 및 40개 샘플에서 검출되었다<Table 3>. 제주지역과 비교 시 다소 많은 샘플에서 검출 되었지만, 아목시실린 잔류허용기준 0.05 mg/kg 이하로 모두 검출되었으며, 옥시테

트라사이클린도 잔류허용기준 0.2 mg/kg 이하로 모두 검출되었다. 이 외의 모니터링 년도에는 모두 불검출로 나타났다.

<Table 2> Monitoring on residues of veterinary drugs from Jeju region

Year	Compound	No. of detected/ total samples	Residue level(mg/kg)	MRL (mg/kg)
2016	Amoxicillin	0/200	N.D.*	0.05
	Oxytetracycline	0/200	N.D.	0.2
2017	Amoxicillin	0/200	N.D.	0.05
	Oxytetracycline	0/200	N.D.	0.2
2018	Amoxicillin	15/200	<LOQ**	0.05
	Oxytetracycline	0/200	N.D.	0.2

*N.D.: Not detected

**LOQ: Limit of quantitation

<Table 3> Monitoring on residues of veterinary drugs from Wando region

Year	Compound	No. of detected/ total samples	Residue level(mg/kg)	MRL (mg/kg)
2016	Amoxicillin	0/200	N.D.*	0.05
	Oxytetracycline	0/200	N.D.	0.2
2017	Amoxicillin	45/200	<LOQ**	0.05
	Oxytetracycline	40/200	<LOQ	0.2
2018	Amoxicillin	0/200	N.D.	0.05
	Oxytetracycline	0/200	N.D.	0.2

*N.D.: Not detected

**LOQ: Limit of quantitation

본 잔류실태 조사를 통해 넙치양식에서 세균성 질병의 치료를 위한 의약품으로서 아목시실린을 가장 빈번하게 사용함을 알 수 있었다. 현재 아목시실린의 투약방법은 주사 및 경구체제로 허가되어 사용이 가능 하다(NIFS, 2018b). 어류에서 경구 시 의약품마다 다소 상이할 수 있지만, 대개 투여된 의약품의 50%이상이 위와 장에서 흡수되어 체내로 이동하고 나머지 흡수되지 않은 부분은 변으로 배출되어 사육수로 소실된다(Park, 2013a). 반면 주사투여의 경우 어류가 질병에 감염되었을 때 신속한 약효의 발현을 목적으로 이

미 동유럽 등 여러나라에서 널리 활용되고 있어 (Kim et al., 2014) 본 연구에서 검출된 아목시실린은 주사투여가 가능한 넙치 특성상 주사제제의 아목시실린이 검출된 결과라고 사료된다. 옥시테트라사이클린은 수산용으로 전 세계적으로 가장 많이 사용되는 항생제로서(Park, 2013b) 경구 및 약용투여가 가능한 의약품 이다(NIFS, 2018c). 제주지역의 경우 옥시테트라사이클린은 단 한건도 검출되지 않았지만 완도지역은 아목시실린과 유사한 건수로 검출되었다. 이는 완도지역에서 아목시실린의 주사투여 후 주사부위에서 세균성질병으로 인한 2차 감염 예방을 목적으로 약용을 병용하는 것으로 사료된다.

본 연구 결과를 종합해 볼 때 넙치양식장에서 대표적으로 사용되는 항생제는 2종으로서 허가된 의약품 대비 비교적 적은 종류의 항생제를 사용함을 알 수 있었고, 넙치 체내 잔류 의약품 함량은 모두 기준치 이하로 검출되어 투약에 있어서 휴약기간의 준수를 적절하게 반영함을 알 수 있었다. 하지만, 주사투여가 가능한 넙치의 어종 특성상 아목시실린은 지속적으로 사용될 것으로 판단되어 식품안전성 측면에서 양어장 및 수산질병관리사 등에서 광범위하게 수산용의약품의 안전 사용 홍보 및 교육이 지속적으로 필요할 것으로 사료된다.

References

- Jung SC(2003). The Annual Report of KFDA, Korea, 7, 1113~1114.
- Jung SC(2004). Establishment of control system of antibiotics for live stocks of KFDA, Korea, 8, 2223~2224.
- Jung SC(2005). Establishment of control system of antibiotics for live stocks of KFDA, Korea, 9, 420~421.
- KFDA(2011). Korea Food Code, Seoul, Korea. 235.
- KFDA(2014). Pesticides and Veterinary Drugs Information. Retrieved from https://www.mfds.go.kr/brd/m_218/list.do?page=21&sr

- chFr=&srchTo=&srchWord=srchTp
- KFDA(2019). Pesticides and Veterinary Drugs Information. Retrieved from <http://www.foodsafetykorea.go.kr/residue/vd/mrls/list.do?currentPageNo=1&searchCode=&menuKey>.
- Kim HY, Chung SY, Choi SH, Lee JS, Choi IS, Cho MJ, Sin MS, Song JS, Choi JC, Park HO, Ha SC, Shin IS and Seo EC(2010). Monitoring of Veterinary Drug Residues in Foods Produced in Korea. *Korean Journal of Food Science Technology* 42(6), 653~663.
- Kim JS, Lee JH, Lee SJ and Park KW(2014). Pharmacokinetics of amoxicillin after intramuscular injection at different temperatures to cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Fish Pathology* 19, 267~276.
- Lee TS(2003). The Annual Report of KFDA, Korea, 7, 1115~1116.
- Lee TS(2004). Establishment of antimicrobials management system for aquaculture of KFDA, Korea, 8, 2225~2226.
- Lee TS(2005). Establishment of antimicrobials management system for aquaculture of KFDA, Korea, 9, 422~423.
- Lim SK(2007). Monitoring of antimicrobial resistance on the food-animals and meats of KFDA, Korea, 11, 644~645.
- NIFS(National Institute of Fisheries Science)(2018a). Aquatic Medicine Catalog, Aquatic Disease Control Division, Busan, Korea, 6~7.
- NIFS(National Institute of Fisheries Science)(2018b). Aquatic Medicine Catalog, Aquatic Disease Control Division, Busan, Korea, 12~18.
- NIFS(National Institute of Fisheries Science)(2018c). Aquatic Medicine Catalog, Aquatic Disease Control Division, Busan, Korea, 67~93.
- Park KH(2013a). Mode of action of aquatic medicines, bioscience, seoul, Korea, 28~29.
- Park KH(2013b). Mode of action of aquatic medicines, bioscience, seoul, Korea, 55~56.
- Song JY, Hu SJ, Joo HJ, Kim MO, Hwang JB, Han YJ, Kwon YJ, Kang SJ and Cho DH(2012). Residue analysis of penicillines in livestock and marine products. *Analytical Science and Technology* 25(4), 257~264. <http://dx.doi.org/10.5806/AST.2012.25.4.257>
-
- Received : 05 September, 2019
 - Revised : 27 September, 2019
 - Accepted : 08 October, 2019