J. Fd Hyg. Safety, 13(1), 14 - 19(1998)

시판중인 뱀장어중의 Oxolinic acid 잔류량과 가열에 의한 변화

김경호 · 송미란* · 최선남 · 최민순 · 박관하†
*군산대학교 해양과학대학, *기전여자전문대학 식품영양학과*

Oxolinic acid Residue in the Cultured Eel Tissues and its Change to Heating Process

Kyong-Ho Kim, Mi-Ran Song, Sun-Nam Choe, Min-Soon Choe, and Kwan Ha Park†
College of Ocean Science and Technology, Kunsan National University, Kunsan 573-702, Korea
**Department of Food Nutrition, Kijeon Women's Junior College, Chonju 560-701, Korea*

ABSTRACT—The residual tissue concentraion of the widely used aquatic antibacterial agent, oxolinic acid, was surveyed in eels collected from fish markets of Chonbuk Province, Korea. Their concentrations in the dorsolateral muscle were widely varying. In about 32% of samples examined, oxolinic acid was not detected. In about 16% of those samples in which oxolinic acid was detected, the concentration was above 0.1 ppm. The tissue distrubution of the agent in major organs was in the rank order of kidney>liver>plasma>muscle. When the muscle samples which contained residual oxolinic acid were baked for up to 10 min, there was no change in the drug concentration. Their concentration declined to about 50% by baking for 30 min at which time the tissue turned to the texture of charcoal. The extreme stability of oxolinic acid to heating process was confirmed with muscle samples from eels to which a high dose of oxolinic acid was administered, and also with an aqueous oxolinic acid solution of known concentration. It is suggested that an effective regulatory measure should be initiated to keep eel consumers from residual oxolinic acid impact.

Key words □ cultured eels, oxolinic acid, heating

어류는 점점 더 단백질 자원으로서의 중요성을 더해가고 있는 한편 천연자원의 고갈로 인해 어업에 의해 공급되던 어류의 많은 부분이 양식에 의해 대체되어 가고 있는 현실에 있다. 대부분의 축산업과 마찬가지로 양식업도 점점 과밀사육화해가는 경향이 있어서 수질의 악화에 따라 필연적으로 어병의 발생빈도가 증가하고 있다. 더구나 어병의 발생은 사육수온과 밀접한 관계가 있으나 뱀장어 양식장은 대부분의 경우 가온 system으로 되어 있어서 연중 어병의 발생이 끊이지 않고 있다.

그러나 어병의 예방 목적으로 사료에 첨가하여 사용하거나 어병의 치료에 사용하는 항균제들이 어류양식의 생산성 향상에 커다란 기여를 하고 있는 것은 사실이나, 한편으로는 식용어류에의 잔류가 인체에서 독성을 발휘할 가능성이 심각한 문제로 부각되고 있다. 예를 들어 아직 수산용항균제로 기인한 독성에 관한 체계적인 연구보고는 없지만, penicillin계 항생제의 경우 anaphylaxis의 유발,[1] chloramphenicol류 약제에 의한 조혈기능장애,[2] tetracycline계 항생제에 의한 소화기계 장애,[3] 또한 모든 수산용 항균제가 함유된 식품의 섭취에 따른 항균제에 대한 약제내성의 발달[4] 등은 충분히 가능성이 예상되는 부작용들이다. 일반적으로 항균물질들은 정온동물들에 비하여 어류에서의 배설반감기가 길어서[5] 동일한 기간의 휴약기로는 가축에서 보다 출시의 싯점에서 상당한 양의 항균물질이 잔존할 가능성을 배제할 수 없다.

Oxolinic acid는 nalidixic acid, piromidic acid 등과 함께 어병의 치료에 사용하는 old quinolone계의 일종으로 Gram 음성균에 특히 강력하기 때문에 뱀장어의 질병치료에 빈번히 사용되고 있다. Oxolinic acid는 뱀장어에서 병원성 Gram 음성균인 *Aeromonas, Pseudomonas, Vibrio, Edwardsiella, Flexibacter* 및 *Pasteurella*속의 균들이 유발하는 각

†Author to whom correspondence should be addressed.

종 어병에 유효하다. 보통 5~20 mg/kg의 용량으로 5~7일간 연속 경구투여한 후 최소 25일간의 휴약기간을 갖도록 지시하고 있다.[6] 현재 국내에서만도 양식어류의 질병치료 목적으로 10여개사 이상에서 판매되고 있다.[7]

국내에서 유통중인 뱀장어에서의 oxolinic acid의 잔류농도에 대한 실태조사 보고가 거의 없기 때문에 우선 전북지역의 시판 뱀장어를 입수 잔류량의 범위를 확인하였으며 이들 시료를 대상으로 주요 식용대상이 되는 근육을 비롯하여 혈액, 또 quinolone계 약물의 주요 배설경로가 되는 간장 및 신장에서의 분포농도를 측정하였다. 특히 뱀장어는 거의 구워서 먹는 경향이 있기 때문에 날것으로 먹는 다른 어종들과는 잔류 항균물질의 위해도를 평가함에 있어서 가열에 의해서 과연 잔류 oxolinic acid의 농도 감소가 일어날 것인가 하는 것이 더욱 중요한 관심사항이 될 것이다. 따라서 이 연구에서는 검출된 잔류량이 가열에 의해 어떻게 변해 가는가도 조사하였다.

재료 및 방법

분석시료

시험에 사용한 뱀장어(*Anguilla japonica*) 시료는 전북지역의 소매업자들로 부터 1997년 4월부터 1997년 10월 사이에 살아있는 상태로 구입하여 사용하였다. 이들 시료들이 출시된 시점과 출시전 oxolinic acid를 투여한 기간이나 휴약기간 등에 대한 추적은 불가능하였다. 뱀장어는 체중 250~380 g의 범위였으며 분석을 위한 시료를 조제하기 위해 얼음으로 마취한 상태에서 미부혈관에서 heparin으로 처리한 주사기로 혈액을 채취하였다. 혈액 채취후 두부를 강타하여 도살하고 측배부 근육, 신장 및 간장을 각각 적출하여 실험에 사용하였다. 혈액은 3,000×g로 20분간 원심분리하여 혈장을 분석에 사용하였다.

뱀장어에서의 실험실적 oxolinic acid 투여

시중에서 체중 300~350 g의 뱀장어를 구입하여 실험실에서 수온 20°C 정도에서 2주일간 순치하였다. Oxolinic acid(Na salt)를 생리식염액에 용해하고 마리당 100 mg/kg의 용량으로 복강내로 투여하였다. 이 용량은 정상적인 1회 투여용량에 비하여 훨씬 높지만 근육중의 oxolinic acid가 함유된 시료에서 가열에 의한 변화를 시험하는데에 오차를 줄일 목적으로 높은 용량으로 투여하였다.

뱀장어 근육시료의 가열처리

가열에 의한 oxolinic acid의 농도변화를 추적하기 위해 근육을 5 g씩 여러 개로 나누고 각 조직을 1분, 5분, 10분, 30분 및 1시간 동안 hotplate(약 210°C)를 사용하여 가열하였다. 가열 후 각각의 조직을 아래에 기술한 추출방법으로 oxolinic acid를 추출하였다. 가열 후에는 수분의 증발로 인해 중량의 변화가 발생하기 때문에 농도의 계산은 가열 이전의 중량을 기준으로 하였다.

Oxolinic acid 수용액의 가열처리

Oxolinic acid(base)를 소량의 acetone에 녹이고 증류수를 사용하여 0.05 ppm으로 조제하여 10분, 30분 및 1시간 동안 가열하면서 농도의 변화를 측정하였다.

Oxolinic acid의 추출

시료에 4배량의 acetonitrile을 가하고 균질화하였다. 3,000×g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 분액여두에 옮기고 pellet에 다시 3배량의 acetonitrile을 가하여 sonicator로 1분간 분쇄추출한 후 3,000×g로 5분간 원심분리하여 상층액을 분액여두에 합쳤다. 상층액 총량의 2배량에 해당하는 n-hexane 가하고 5분간 진탕하여 아래층만 분리하였다. 분리한 용액에 n-propanol을 2배량 가하여 rotary evaporator로 50°C 감압하에서 완전히 건조시키고 10 ml의 30% acetonitrile(acetic acid 0.3% 함유)의 혼합액에 용해하여 분석에 사용하였다.

High-performance liquid chromatography(HPLC)를 이용한 oxolinic acid의 분석

Oxolinic acid의 분석은 ODS column(150×4.6 mm, GL Science)를 사용하였으며, 1 ml/min의 유속으로 30% acetonitrile(0.3% acetic acid함유)를 mobile phase로 사용하여 분리 후 265 nm(HPLC용 UV-visible detector, Waters)로 측정하였다. Mobile phase의 공급에는 Waters 510 HPLC pump, 유출 peak 크기의 분석에는 Waters 746 data module을 각각 사용하였다. 본 시험에서의 검출한계는 0.005 ppm이었으며 상기 추출과정의 recovery는 87~94%였다.

Chemicals

뱀장어에 투여한 oxolinic acid(Na salt)는 한국 Bayer에서 공급받았으며 HPLC분석시 표준물질로 사용된 oxolinic acid는 Sigma에서 구입하였다. Heparin, acetone, acetic acid, n-hexane, acetonitrile, n-propanol 등은 Sigma에서 구입하여 사용하였다.

Data의 표현

Data는 일반적으로 평균±표준오차(SEM)로 표현하였으며 시험수가 적은 경우에는 평균값만으로 나타내었다.

결과 및 고찰

시판중인 뱀장어 근육내 oxolinic acid 농도

조직내의 oxolinic acid의 잔류량의 실태를 파악하기 위하여 주로 식용으로 사용하고 있는 근육부위의 농도를 측정하였으며 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 즉 총 31개의 시료중 약 32%에 해당하는 10개의 시료에는 oxolonic acid가 검출되지 않았다. 나머지의 21개 시료에서는 최저 0.005에서 최고 0.17 ppm으로 다양한 범위의 농도가 발견되었다. 특히 5개의 시료(16.1%)에서는 0.1 ppm 이상의 잔류량이 검출되었다.

어류의 경우 근육이외의 부위를 식용으로 사용하지 않는 것이 일반적인 관습이나 국내의 경우 뱀장어는 비교적 고가이기 때문인지 근육 이외의 부위도 종종 식욕으로 사용되고 있다. 따라서 이 연구에서는 근육 이외에도 혈액, 간장 및 신장에서의 분포도 조사하였다. Table 1에서 분류한 근육에서의 잔류 level에 근거하여 조직별 잔류량을 Table 2에 나타내었다. 그 결과 장기에서의 농도는 신장>간장>혈장>근육의 순서로 근육에의 잔류농도에 상관없이 어느 부위도 근육보다는 높게 나타났다. 이는 근육만의 농도가 아니라 그 이외의 장기에서의 농도도 식품위생학적 견지에서 아주 중요함을 의미한다.

뱀장어의 주요 소비국인 일본의 사이타마현의 경우 1992년 당시 시판중인 10개의 뱀장어 분석시료중 70%에 달하는 7개에서 0.01~0.1 ppm의 농도로 발견됨을 보고하고 있다.[8] 일본에서의 oxolinic acid의 잔류량에 대하여 식품위생법에 근거한 식품 · 첨가물 등의 규격기준에서는 식품에는 항생물질이 함유되어 있어서는 안된다라고 규정되어 있음에도 불구하고 휴약기간을 잘 준수하지 않았음을 시사한다. 또한 일본에서 유통중인 은어 조직에서의 oxolinic acid 잔류에 관한 보고[9]에서 근육에서의 농도가 0.74~1.9 ppm일 때에 간장 및 신장에서의 농도는 2.6~9.1 ppm으로써 본 연구에서의 검토한 뱀장어의 경우처럼 근육 이외의 장기에 더욱 높은 농도의 약물이 잔류함을 보이고 있다. 한편 이 Horie 등의 보고서[9]에서는 은어의 피부나 뼈에서의 농도도 근육보다는 높음을 보여주고 있다.

Table 1. Oxolinic acid resudue in 31 eel muscle samples

Residual level (ppm)	Number of samples	Percentage
<0.005 (not detected)	10	32.2
0.005~0.01	8	25.8
0.01~0.05	6	19.4
0.05~0.1	2	6.5
0.1~0.2	5	16.1
>0.2	0	0
Total number of samples	31	100.0

가열에 의한 농도의 변화

시판중인 뱀장어 근육에서의 가열에 의한 oxolinic acid의 잔류농도 변화는 Fig. 1에 표현하였다. 즉 1~10분간 가열한 경우 거의 근육내 oxolinic acid 농도가 변하지 않았다. 그러나 30분간 가열에 의해 전체 농도의 50% 정도가 감소

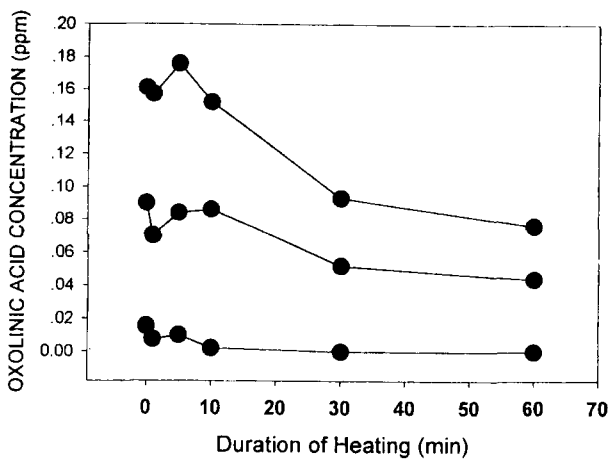

Fig. 1. Changes of residual oxolinic acid to heating in eel muscles collected from fish markets.
Muscle samples were heated for 1, 5, 10, 30 min or 1 hr at 210°C. The line graphs from the top are: 0.1~0.2 ppm (n=3); 0.05~0.1 ppm (n=2); 0.01~0.05 ppm (n=3) of oxolinic acid in muscle samples. Mean values are shown.

Table 2. Distribution of oxolinic acid residue in muscle, plasma, liver and kidney of eels collected from fish markets

Residue level in muscle		Residue concentration (mean±SE, ppm)			
ppm	n	muscle	plasma	liver	kidney
0.005-0.01	8	0.007±0.003	0.007±0.007	0.012±0.006	0.013±0.001
0.01~0.05	6	0.027±0.006	0.031±0.008	0.045±0.010	0.050±0.012
0.05~0.1	2	0.09	0.097	0.160	0.170
0.1~0.2	5	0.159±0.010	0.197±0.019	0.287±0.017	0.313±0.024

Mean values of two samples for the 0.05~0.1 ppm level.

하였으며 1시간 가열에 의해서 더 감소되는 추세를 보여 주고 있다. 이때 10분 가열에서도 충분하게 구워진 것으로 보였으며 30분이나 1시간 가열한 시료의 경우에는 완전하게 탄화되어 먹을 수 없는 상태로 되었다.

한편 인위적으로 고용량의 oxolinic acid(100 mg/kg)를 복강내로 투여한 뱀장어에서 투여 48시간 후에 근육에서 매우 높은 농도로 검출되었다(Fig. 2). 이 용량은 실제 사용되는 용량 및 경구투여시의 흡수도[10]를 고려하면 현장에서의 사용 용량의 최소 10여배 정도는 되지만, 이 연구에서는 조직중 농도변화의 신뢰성을 높이기 위해 비교적 높은 잔존농도를 함유한 조직을 얻을 목적으로 사용하였다. 이 시료를 사용한 가열시험에서도 30분 이상의 가열에 의해서는 농도의 현저한 변화가 관찰되어었으나 10분의 가열에 의한 변화는 무시할 정도였다. 한편 유통중인 뱀장어 시료에서와 같이 상당수준의 약물농도 감소가 일어나는 정도인 30분 이상의 가열 시간은 너무 과도한 조직의 탄화를 유발하였기 때문에 실제로 뱀장어의 조리과정에서 oxolinic acid의 파괴를 기대하기는 어려울 것이다.

또 다른 시험에서는 가열에 대한 oxolinic acid의 안정성이 뱀장어 조직에서 다양한 성분들과 함께 존재하기 때문인가를 검토하기 의해 조직에서 발견되고 있는 개략적인 평균 농도의 oxolinic acid 수용액(0.05 ppm)을 동일 조건에서 가열하면서 농도변화를 검토하였다(Fig. 3). 그 결과 조직에서의 변화경향과 유사한 농도 감소 pattern을 보여주었다. 이는 oxolinic acid가 뱀장어 조직에서 특별히 안정한 것은 아니며 이 약물 자체가 열에 상당히 안정함을 시사한다. 이 연구에서는 열에 의한 oxolinic acid자체의 감소현상만을 검토하였으나 못지않게 중요한 것은 가열에 의해 생성되는 물질은 과연 안전한가 또 항균력은 완전히 소실되어 인간이 섭취할 경우 인체에서의 항균제 내성을 유발할 가능성은 없는가 하는 것도 검토되어야 할 것이다.

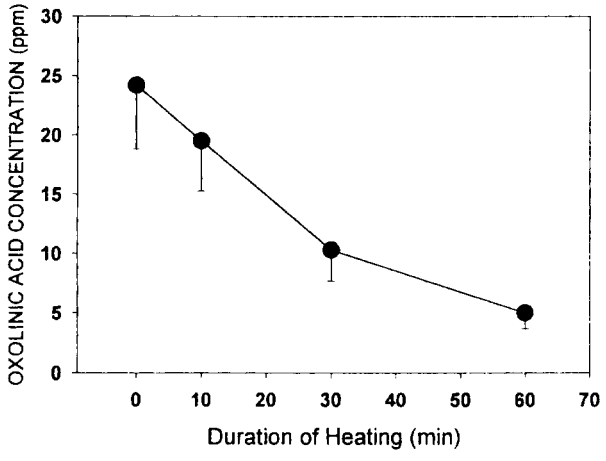

Fig. 2. Changes of residual muscle oxolinic acid to heating in eels treated with a high dose of oxolinic acid.
Oxolinic acid was administered intraperitoneally at 100 mg/kg and muscles were obtained 48 hr later. Muscles were heated for 10 min, 30 min and 1 hr. Data are mean±standard error from 5 eels.

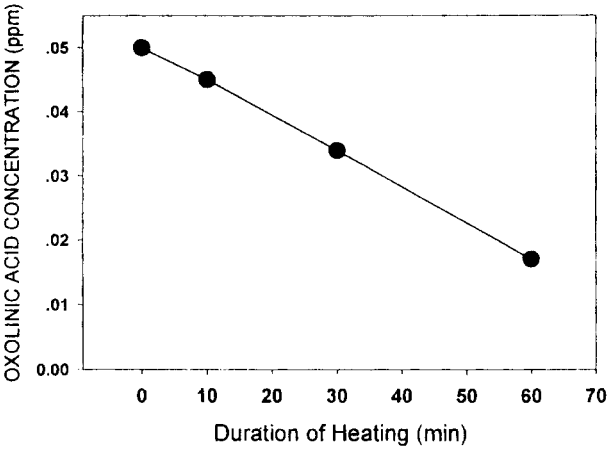

Fig. 3. Changes of oxolinic acid concentration in aqueous solution.
Oxolinic acid solution was prepared at 0.05 ppm in distilled water and heated for 10 min, 30 min and 1 hr. Mean values from duplicate experiments.

이 연구결과는 양식연어에서 quinolone계 항균제인 oxolinic acid 및 flumequine의 조리 후의 잔존 정도는 조리전과 별로 변동이 없음을 보고한 연구결과,[12] 또 은어 시료에서 10분간 가열조리 또는 7일간 냉장보관에 의해서 oxolinic acid 농도의 변화가 전혀 없음을 관찰한 보고[9]와 일치한다.

고 찰

본 연구결과중 일부 시료에서 발견된 높은 농도의 근육내 잔류량은 이들은 정상적인 용량의 oxolinic acid를 사용하였다고 가정하면 휴약기간을 거의 지키지 않고 출하하였다고 보여진다. 일반적으로 이 약제가 경구투여 후 장기간 체내에서 머무르는 것[12,13]이 알려져 있기 때문에 뱀장어의 경우 잔류방지를 위하여 25일 이상 휴약하도록 권고하고 있다. 그러나 국내의 각사가 시판하고 있는 수산용 oxolinic acid에 지시한 휴약기간은 최단 6일에서 최장 25로로 표시하는 등 일관성 있는 지침이 결여되어 있다. 약물의 투여후 필요한 휴약기간이 포유동물과는 달리 변온동물인 어류에서는 환경온도에 커다란 영향을 받기 때문에 oxolinic acid의 배설이 16°C에서는 28일 정도에 완료되나 10°C에서는 60일 정도가 소요되며, 5°C에서는 4개월 이상 걸리기 때

문[14]에 단순하게 휴약기간을 규정하는 것 보다는 체내의 잔류량을 기준으로 인체 위해성 여부를 판단해야 하는 어려움이 있다.

해외로 수출하는 경우 국내에서 생산된 뱀장어의 경우 해양수산부 농산물 검사소 등에서 철저한 검사를 통해 항균물질이 잔류한 상품이 식용으로 사용될 가능성이 적으나 국내에서 직접 시중으로 유통되는 경우에는 통제방법이 전혀 없기 때문에 식품위생학적으로 커다란 문제를 야기할 수가 있다. 더구나 oxolinic acid는 일반적으로 요리에 필요한 정도의 가열조작에 의해서는 잔류량의 감소가 거의 일어나지 않는 등 상당히 화학적으로 안정한 화합물이기 때문에 양만업자나 유통과정의 취급업자 들에 대한 계도 및 감시체계의 확립이 필요하다고 본다. Oxolinic acid가 가열에 대하여 매우 안정한 것은 약제의 조제, 유통 및 보관과정에는 하나의 장점일 수 있으나 조리과정에서 파괴가 잘 되지 않기 때문에 위생학적 측면의 문제가 아닐 수 없다.

수산용 항균제인 oxolinic acid의 허용잔류량에 대한 1995년 8월의 농림수산부의 고시에 의하면 식품중에서 검출이 되지 않아야 한다고 규정하고 있다. 한편 국내의 식품공전에서 미생물을 이용한 항균제 검출법을 제시하고 있으며 이 방법에 의하면 검출한계가 대략 0.1 ppm 이상이기 때문에 0.1 ppm이 일반적으로 인정되는 허용치라고 유추할 수 있으나 특정농도 이상의 잔류량이 분명한 독성을 유발하는 증거가 있기 때문에 이러한 기준을 설정한 것은 아니다. 특히 oxolonic acid의 경우 1966년에 quinolone계 항균제중 두 번째로 합성되어 인체에는 초기의 임상 실험단계에서 시도되다가 개발이 중단되고 대신 축산용 항균제로 널리 사용되어온 약제이다. 따라서 이 약물의 독성에 대한 동물시험 결과도 매우 드물며 대체적으로 300 ppm이하의 농도를 함유한 diet를 장기간 설치류에 급이하여도 뚜렷한 독성학적 증상이 발현되지 않는 것으로 보고되고 있다.[15,16] 단지 항균제들은 그들의 작용특성상 직접적인 약제 자체의 독성이 아니라 항균작용을 발휘함으로써 장내세균총의 교란[17]을 유발하거나 낮은 농도로 지속적으로 노출시킴으로써 저항성 세균의 발달을 야기할 수 있는 가능성이 문제가 되고 있다. 식품중에 잔류하는 양에 의한 위해성 여부는 섭취하는 식품의 양과 밀접한 관련이 있으나, 이러한 관점에서 oxolinic acid의 경우 대장균(*E. coli*)에 대한 $MIC_{50}^{'}$이 0.1 μg/m*l*인 점[18]을 고려하면 0.1 ppm 정도의 농도 이상이 함유된 어육을 섭취함으로써 장내세균총에 영향을 미칠 수 있는 농도에 도달할 가능성이 충분히 있다. 그러므로 본 연구결과 5개의 시료에서 발견된 0.1 ppm 이상의 잔류농도는 우려할 만한 수준인 것으로 사료된다.

국문요약

수산용 항균제로 널리 사용되고 있는 옥소린산의 잔류량을 전북지역에서 시판중인 뱀장어 근육조직에서 측정하였다. 후배부 근육중의 옥소린산 잔류량은 시료에 따라 많은 차이가 있었으며 32%의 시료에서는 검출되지 않았다. 옥소린산이 검출된 시료중 16%에서는 그 농도가 0.1 ppm 이상이었다. 중요 장기중의 옥소린산 농도는 신장>간장>혈장>근육의 순이 었다. 근육중의 옥소린산은 10분 가열에 의해 거의 감소되지 않았으며 30분 가열에 의해서는 원래 농도의 50% 수준으로 감소하였으나 30분 가열 후의 시료는 심하게 탄화되었다. 고용량의 옥소린산을 실험실적으로 뱀장어에 투여하여 얻은 근육중의 농도나 수용액중의 옥소린산이 가열에 의해 파괴되는 경향을 검토함으로써 옥소린산의 열안정성이 확인되었다. 이 연구 결과는 뱀장어 소비자를 옥소린산 섭취로 부터 보호할 수 있는 규제의 강화가 필요함을 시사한다.

참고문헌

1. Idsøe, O., Guthe, T., Willcox, R.R. and Deweck. A.L.: Nature and extent of penicillin side-reactions, with particular reference to fatalities from anaphylactic shock. *Bull. WHO* **38**, 159-188 (1968).
2. Wallerstein, R.O., Condit, P.K., Kasper, C.K., Brown, J. W. and Morrison, F.R.: Statewide study of chloramphenicol therapy and fatal aplastic anemia. *J. Amer. Med. Assoc.* **208**, 2045-2050 (1969).
3. Winckler, K.: Tettracycline ulcers of the oesophagus: endoscopy, histology, and roentgenology in two cases, and review of the literature. *Endoscopy,* **13**, 225-228 (1981).
4. Levy, S.B.: Antibiotic resistant bacteria in food of man and animals. *In Antimicrobials and agriculture* (Woodbine, M., eds.), Butterworths, London, pp. 525-531 (1983)

5. Nouws, J.F.M., Grondel, J.L., Schutte, A.R. and Laurensen, J.: Pharmacokinetics of ciprofloxacin in carp, African catfish and rainbow trout. *Vet. Quart.* **10**, 211-216 (1988).
6. 수산용약품 사용지도지침, 해산양식어의 질병, 전세규, 한국수산신문사, pp. 126-131 (1992).
7. 옥소린산, 동물약품등편람, 한국동물의약품협회, pp. 529-537 (1997).
8. Horie, M., Saito, K., Nose, N. and Nakazawa, H.: Simultaneous detection of quinolone antibacterials in fish and meat by high performance liquid chromatography. 食衛誌, **33**, 442-448 (1992).
9. Horie, M., Saito, K., Nose, N. and Nakazawa, H.: Simultaneous determination of eight quinolone antibacterials in meat and fish by high performance liquid chromatography. 食衛誌, **36**, 62-67 (1995).
10. Martinsen, B. and Borsberg, T.E.: Comparative single-dose pharmacokinetics of four quinolones, oxolinic acid, flumequine, sarafloxacin, and enrofloxacin, in Atlantic salmon (Salmo salar) held in seawater at 10°C. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**(5), 1059-1064 (1995).
11. Steffennak, I., Hormazabal, V. and Yndestad, M.: Effect of cooking on residues of the quinolones oxolinic acid and flumequine in fish. *Acta Vet. Scand.* **35**(3), 299-301 (1994).
12. Hustvedt, S.O., Salte, R. and Vassik, V.: Absorption. distribution and elimination of oxolinic acid in Atlantic salmon after various routes of administration. *Aquaculture* **95**, 193-199 (1991).
13. Salte, R. and Liestol, K.: Drug withdrawl from farmed fish. *Acta Vetrinaria Scand.* **24**, 418-430 (1983).
14. Björklund, H.V., Eriksson, A. and Bylund, G.: Temperature-related ab sorption and excretion of oxolinic acid in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), *Aquaculture,* **102**, 17-27 (1992).
15. Yamada, T., Nakamura, J., Murakami, M., Okuno, Y., Hosokawa, S., Matsuo, M. and Yamada, H.: The correlation of serum luteining hormone levels with the induction of Leydig cell tumors in rats by oxolinic acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **129**(1), 146-154 (1994).
16. Yamada, T., Maita, K., Nakamura, J., Murakami, M., Okuno, Y., Hosokawa, S., Matsuo, M. and Yamada, H.: Carcinogenicity studies of oxolinic acid in rats and mice. *Food Chem. Toxicol.,* **32**(5), 397-408 (1994).
17. Nouws, J.F., Kuiper, H., van Klingeren, B. and Kruyswijk, P.G.: Establishment of a microbiologically acceptable daily intake of antimicrobial drug residues. *Vet. Q.* **16**(3), 152-156 (1994).
18. 清水當尙: キノロン藥の開發歷. キノロン藥(上田泰 編), ライフ・サイエンス社, pp. 2-14 (1990).