

Precolumn 유도체화법을 이용한 어류 중의 amoxicillin과 ampicillin 분석

조미라 · 김풍호 · 이희정 · 이태식
국립수산과학원 식품위생팀

서론

Amoxicillin과 ampicillin은 penicillin계열의 항생제로서 그람양성균과 그람음성균에 유효하고 병원균이 활발하게 증식하는 동안에 이루어지며 세포벽 mucopeptide의 생합성을 억제함으로써 살균작용을 나타낸다. 이들 항생제는 직접적인 독성은 미미하지만 동물에게 알레르기 반응을 일으키는 경우가 있으며 특히 사람에서는 약 10%가 알레르기 반응을 보이며 어떤 사람은 극소량에 의해서도 과민반응을 일으킨다고 하였다(Huber, 1988). 그러나 이 계열의 항생제들은 이미 세계적으로 널리 사용하고 있고 동물용 약품에서 뿐만 아니라 수산용 약품으로서 어류 양식업계에서 어류 질병인 유클절증, 절창병의 치료제로 사용하고 있는 실정이다(동물약품동편람, 2001). 이와같이 이들 항생제가 식품에 잔류하였을때 사람에게 알레르기 반응을 일으킬 가능성이 있는 약물 그룹으로 전 세계적으로 엄격하게 규제하고 있다. 그러나 우리나라의 경우 식품공전(2004)에 쇠고기와 돼지고기에 대해서만 규정되어 있으며, 수산용으로 판매되고 있는 amoxicillin과 ampicillin은 최근 판매량이 증가하고 있는데 반해서 식품위생안전확보를 위한 관리지침이 마련되어 있지 않고 있다.

지금까지 알려져 있는 식품 중의 항생제 분석방법도 축육 및 가금류를 대상으로 한 것이 대부분이었으며, 어류 및 패류 등 수산물을 대상으로 개발된 경우는 그리 많지 않았다. 축산물을 대상으로 개발된 시험방법들은 여러 가지 요인으로 인하여 수산물 분석에 부적합한 경우가 많았으며, 특히 회수율에서 큰 문제점으로 나타내었다. 따라서 본 연구에서는 penicillin계인 amoxicillin과 ampicillin을 동시에 분석할 수 있는 방법을 확립하고자 기존의 연구자들의 보고한 방법을 개량하였다. 즉 수산물에서 이들 항생제를 추출하는 방법과 여러 가지 HPLC 분석조건들에 대한 비교 검토를 거쳐 정확하게 항생제를 분석할 수 있으며, 또한 회수율도 높은 분석방법을 확립하였다.

재료 및 방법

본 연구에서 사용된 항생제의 표준품 amoxicillin과 ampicillin은 Sigma사 (USA)를

사용하였으며, 항생제 표준품 및 시료 추출액의 검출하기 위한 분석기기는 Shiseido nanospace SI-2 HPLC system (Shiseido Co., Japan)을 이용하였다. 분석법 개발 시험은 시료중의 항생제 추출과정과 표준품 및 시료추출액을 사용한 HPLC 검출 조건 확립으로 구분 실시하였다.

결과 및 요약

식품 중의 amoxicillin과 ampicillin 분석에 사용되어 오고 있는 식품공전 (2004), Sørensen et al. (1999), Ang et al. (1996)의 방법 등을 개량하여 어류 중에 잔류한 amoxicillin과 ampicillin을 효율적으로 분석할 수 있는 방법을 다음과 같이 확립하였다. 마쇄한 어육에 증류수 40 mL를 가하여 10,000 rpm에서 2분간 균질화한 다음 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 추출액에 70% trichloroacetic acid (TCA) 1 mL를 가하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상층액을 Whatman (No. 1) 여과지로 여과하였다. 여과액을 3-4mL 정도로 감압 농축한 후 증류수로 5mL로 정용하였다. 추출액 5mL에 diethyl ether를 6mL 첨가하여 30초간 진탕 후 하층을 취하였다. 유도체화 과정을 위하여 하층 전량에 20% TCA 0.5 mL을 가하여 진탕하고, 다시 7% formaldehyde 용액 1 mL을 첨가하여 60초간 진탕한 후 100°C에서 30분간 가열하였다. 유도체 처리한 추출액에 NaCl을 1g과 diethyl ether를 첨가하여 30초간 진탕한 후 3,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 diethyl ether층을 수거하였다. 이 과정을 반복하여 얻은 diethyl ether 추출액을 50°C에서 건조 시킨 후, 증류수로 정용하고, 여과(0.2 μ m, PTFE, Millipore)한 후 HPLC로 분석하였다.

항생제 추출액의 HPLC 분석 조건은 다음과 같다. Column; C₁₈ (4.6 mm ID × 250 mm, MG type, 5 μ m, Shiseido Co., Japan), 이동상; 0.05M KH₂PO₄ (pH 6.5):아세토니트릴 = 80:20, 검출기 및 파장; 자외선검출기, 360nm, Flow rate; 1mL/min, Injection volume; 50 μ L.

참고문헌

- Huber, W.G., 1988. Penicillins: Veterinary pharmacology and therapeutics. 6th ed, edited by Booth, N.H. and McDonald, L.E.; Iowa State University Press, pp 796-811.
- 동물약품협회, 동물약품동편람, pp. 898-923, 2001.
- KFDA(Korea Food and Drug Administration). 2004. 식품공전, 제 3. 식품일반에 대한 공통 기준 및 규격, 6. 기준 및 규격에 적용, 2) 동물용의약품의 잔류허용기준, 식품의약품안전청, pp. 50-52.
- Ang, Y.W.C., W. Luo, E.B. Hansen, Jr J.P. Freeman and H.C. Thompson, Jr. 1996. Determination of amoxicillin in catfish and salmon tissues by liquid chromatography with precolumn formaldehyde derivatization. J. AOAC Int. 79(2) 389-396.
- Sørensen, L.K, L.K. Snor, T. Elkær and H. Hansen. 1999. Simultaneous determination of seven penicillins in muscle, liver and kidney tissues from cattle and pigs by a multiresidue high-performance liquid chromatographic method. J. Chromatogr. B, 734, 307-318.