

돈육내 sulfonamides의 잔류물질 검출에 관한 연구

신연경 · 김태종 · 윤화중

건국대학교 축산대학 수의학과
(1994년 9월 22일 접수)

Studies on the detection of sulfonamide residues in swine edible tissues

Youn-kyung Shin, Tae-jong Kim, Hwa-joong Yoon

Department of Veterinary Medicine, College of Animal
Husbandry, Kon-Kuk University
(Received Spet 22, 1994)

Abstract : The study was carried out to determine the residues of sulfonamides in swine edible tissues with high performance thin layer chromatography. For this purpose, the Rf values of sulfonamides in various solvent systems and the recovery rate of sulfameathazine from sampike saples were obtained. Thirty-four samples collected from meat market in Seoul were analyzed.

The results obtained from the present study were followings:

1. The average recovery rate of sulfamathazine residues from spiked tissues 0.05, 0.1, 0.5 and 1mg/kg sample weight was 85%.
2. Two of 34 samples of pork for domestic consumption were reported to have been exceeded 0.05 ppm in sulfamethazine residues degrec.
3. On the basis of the results, the degrec of residues of sulfamethazine in swine meat for domestic consumption is seemed not to be dangerous for public health.

Key words : sulfonamide residues, thin layer chromatography, the Rf values, spike

서 론

Sulfonamides는 수의 임상분야에서 세균성 질병을 예방 및 치료하는데 60년 이상 폭넓게 쓰여왔다^{1,4}. 가축을 치료할 목적으로 주로 많이 쓰이는 sulfonamides 혼합 약제에는 sulfaquinoxaline, sulfathiazole, sulfamethazine, sulfamerazine 등이 주로 sodium salts 상태로 포함된다⁵.

사람과 수의임상, 축산업 분야에서 동시에 사용가능한 sulfonamides에는 sulfadimethoxine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfanilamide, sulfapyridine, sulfathiazole, sulfachlopyridazine의 7가지가 있고 사람에게는 쓸 수 없으나 동물에 중요하게 쓰이는 sulfonamides에는 sulfabromomethazine, sulfathoxypridazine, sulfanitran, sulfaquinoxaline 등이 있다³.

Sulfonamides가 수의임상분야에서 광범위하게 쓰임

은 이들 약제의 잔류물질 및 대사산물이 동물성 식품에서 문제가 될 수 있음을 의미한다⁶. 이러한 까닭으로 가식조직내에서 sulfonamides의 잔류물질의 농도가 최소한 공인될 수 있는 잔류허용한계치(accepted tolerance level) 이하로 될 때까지 잔류물질을 제거하기 위하여 휴약기간(withdrawal time)이 요구된다. FDA는 돼지에서 sulfamethazine이 포함된 사료에 대해 15일의 휴약기간을 요구하고 있다⁷.

대부분의 경우에 있어서 sulfonamides의 법적 잔류허용한계치(legal tolerance limit)는 0.1ppm이다^{3,6,9}. 수의 임상 및 축산업에서는 sulfonamides의 중요성으로 인하여 그들의 대사에 관하여 상당한 연구가 진행되었으며 실제적인 면에서 돼지에서 현재 조직내 잔류물질로 인하여 문제가 되는 것은 주로 sulfamethazine과 sulfathiazole이라고 한다³.

오랫동안 동물조직내의 sulfonamides 잔류물질을 검출하기 위하여 사용된 가장 광범위한 화학적 방법은 Bratton-Mashall reaction을 기본으로 한 colorimetric procedure이다^{6,10}. 그러나 이 방법은 특히 0.1mg/kg 정도의 수준까지 밖에 검출할 수 없는 한계가 있다³. 더욱이 이 방법은 개개 sulfonamides간의 구별이 어려울 뿐만 아니라 sulfonamides와 비슷한 반응을 하는 다른 물질과도 구별이 곤란하다¹³. 현재 0.1mg/kg 이하의 수준에서 민감도를 가지고 조직내 sulfonamides 잔류물질을 검출하기 위한 화학적 분석방법으로는 HPLC¹¹⁻¹⁶, TLC^{8,17,21}, GC^{22,23}, GC/MS²⁴가 있다. 이들 방법은 특이적이고 이들 거의가 주요 sulfonamide인 sulfamethazine을 검출하기 위한 것이다⁶. 그러나 이들 장비는 quantitative TLC를 제외하고는 장비가 매우 비싸고 시료내에 존재하는 방해성분을 제거하기 위하여 추출과 농축과정에 시간이 많이 소요되어 하루에 몇몇 대상 시료밖에 검사하지 못한다²³.

TLC에 관한 많은 문헌이 있으나 연구, 조사자들은 주로 TLC의 정량 정확성 결여에 초점을 두고 있다. 그러나 TLC는 타종류의 chromatographic technique에 비하여 미량 물질의 신속한 분석등의 몇가지 잇점을 가지고 있다^{12,20,21,25,26}. TLC는 계속해서 순차적으로 실시하는 것보다 동시에 여러가지 시료를 분석함으로써 시간을 절약해 많은 수의 시료를 분석해야 할 경우 가장 먼저 고려되는 방법이다. 또한 여러가지 물질의 혼합물을 분석해야 하는 경우 GC 또는 HPLC와는 달리 검출기계의 문제에 대한 고려없이 solvent system을 선택하여 사용할 수 있다¹⁹.

TLC scanner를 사용할 경우에는 필요 장비를 줄여주는데 왜냐하면 하나의 기계가 정교한 재조정 없이 다른

분석을 실행하기 때문이다²⁶. ng의 sulfonamides가 TLC plate상에서 fluorescamine 용액의 분사에 의하여 검출 가능하다^{12,20,21,25-27}. HPTLC plate를 이용한 screening 방법은 주로 HPLC에 의한 정량분석 이전에 동물조직내 잔류물질중 sulfonamides를 정성 동정하기 위한 것이다.

그러나 본 실험에서는 HPLC를 위한 screening 목적 이외에 HPTLC scanner에 의한 정량분석 결과를 연구하기 위한 것에 의의를 두었다.

재료 및 방법

실험 재료 : 1992년 5월 11일에서 16일에 걸쳐 서울 지역에서 임의로 선정한 34개 정육점을 대상으로 하여 각 정육점당 한건의 돼지 후지 근육을 채취하여 시료로 하였다. 채취한 시료는 얼음이 담긴 아이스박스내에 넣어 냉동 또는 냉장상태가 풀리지 않도록 0℃ 이하를 유지한 후 즉시 -20℃의 냉상고에 넣어 보관하였다가 사용하였다.

시약 제조

Sulfonamides standards solution 제조 : 각 standard sulfonamides를 각각 10mg씩을 methanol 용액 100ml에 녹여서 100 ppm의 main standard solution을 제조한 후 필요시 적정량을 4ml 시험관에 담아 용매를 건조시킨 후 다시 녹여서 희석하는 방법으로 필요한 농도를 만들어 사용하였다. Standard sulfonamides는 Sigma의 것을 사용하였다.

Phosphate buffer solution 0.05M(pH 10.0) : 4.36g의 KH₂PO₄를 400ml의 증류수에 녹인후 0.1M NaOH로 pH를 10으로 조정한 후 증류수를 첨가해 500ml을 만든다.

Flourescamine 용액 : Flourescamine(Sigma) 5mg을 500ml의 acetone에 녹여서 사용하였다.

HPTLC plate 전개에 의한 각 sulfonamides의 Rf value 작성 : 5종의 sulfonamides의 working standard solution(1μg/ml)을 만들어 전개용매에서의 Rf value를 조사한다.

- Solvent system A chloroform : n-butanol(4:1, v/v)
- Solvent system bb Ethyl acetate : methanol: 28% ammonia (30:15:1, v/v/v)
- Solvent system C acetonitrile : chloroform : 28% ammonia (30:10:0.2, v/v/v)

$$R_f \text{ value} = \frac{\text{시료점적 장소에서 spot의 중앙까지의 거리}}{\text{시료점적 장소에서 전개 용매 선단까지의 거리}}$$

HPTLC에 의한 검사를 위한 시료의 전처리 방법 : 시료의 전처리 방법은 Haagsma et al⁶의 방법을 약간 변형시켜 사용하였으며 Fig 1과 같다.

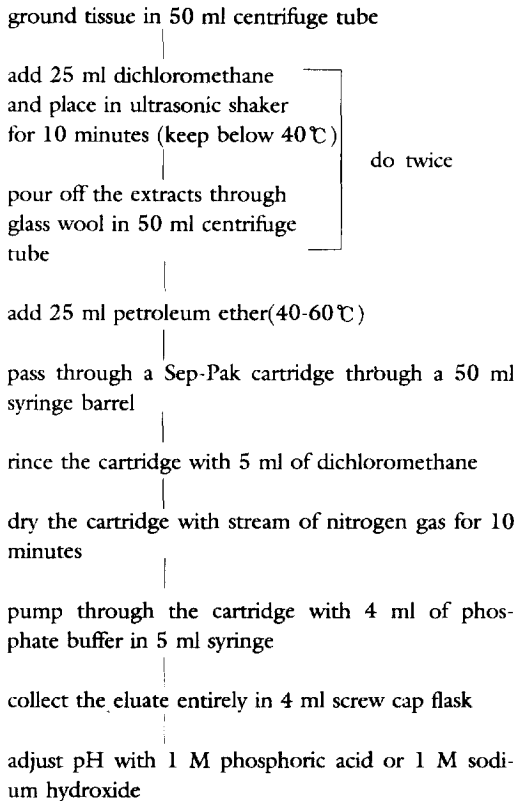


Fig 1. Procedure of sample preparation

Chromatography : 추출물에 2ml의 ethyl acetate를 첨가하여 vortex mixer에서 15초간 섞어준 후 원심분리하여 상층 organic phase의 1ml을 마이크로 피펫으로 분리해 내 4ml의 screw cap flask에 담는다.

로타리 에바포레이터를 이용하여 추출액을 건조시킨 후 다시 50μl을 ethyl acetate로 건조되고 남은 물질을 녹인 후 그중 20μl을 CAMAG Linomat IV와 100μl micro syringe(Hamilton)를 이용하여 질소 가스로 말려가면서 HPTLC plate(Merck 5629)에 밑에서 15mm 높이에 간격은 5mm로 하여 정확하게 점적한다. 따뜻한 공기 또는 드라이어로 조심스럽게 말려 준 후 plate를

넣기전에 30분간 미리 전개 용매를 5mm 높이로 넣고 고정시켜 둔 CAMAG two trough chamber에 plate를 넣고 뚜껑을 덮어둔다. 시료 점적 장소에서 위로 40mm 전개될 때까지 기다려서 plate를 꺼내어 경계를 표시하고 상온에서 10분간 말린 후 plate의 silica layer가 젖을 정도로 fluorescamine 용액을 분사한다. 5분후 UV cabinet nm에서 관찰한 후 TLC scanner에 넣어 검사한다.

TLC scanner에 의한 정량시험 : UV cabinet에 넣어 일단 형광 띠의 밝기를 먼저 확인한 후 CAMAG TLC Scanner II system을 mercury lamp 366 nm에 맞춘 후 정량한다.

Sulfamethazine spiking에 의한 회수율 검사 : HPLC를 이용하여 sulfamethazine이 잔류하지 않음이 확인된 돼지 후지 근육을 균질화 하여 10g을 취하여 50ml 원심분리관에 넣어 둔 후 standard sulfamethazine 용액을 각각 0.05, 0.1, 0.5 and 1mg/kg tissues weight이 되게 spiking 한후 최소한 10분 이상을 경과한 후 전처리를 하여 plate에 20μl씩 점적하고 농도가 0.2μg/ml 및 0.55μg/ml, 0.4μg/ml 및 1.1μg/ml, 2μg/ml 및 5.5μg/ml 그리고 4μg/ml 및 11μg/ml의 sulfamethazine standard 용액을 각 spiking 농도별 plate에 20μl씩 점적한 후 TLC scanner II에 적용시켜 정량하여 회수율을 검사하였다.

결 과

각 solvent system별 sulfonamides의 RF Value : Table 1에서 요약한 바와 같이 Solvent system A에서는 sulfamethazine, sulfamerazine과 sulfamonomethoxine

Table 1. Retardation factors of sulfonamides on HPTLC silica gel 60 plates in different solvent system

Sulfonamides	Solvent system A	Solvent system B	Solvent system C
sulfamethazine	0.79	0.68	0.88
sulfamerazine	0.72	0.53	0.87
sulfaquinolaxine	0.87	0.58	0.86
sulfadimetoxine	0.90	0.63	0.94
sulfamonomethoxine	0.78	0.50	0.74

solvent system A : chloroform : n-butanol(4:1, v/v)

solvent system B : ethyl acetate : methanol : 28% ammonia(30:15:1, v/v/v)

solvent system C : acetonitrile : chloroform : 28% ammonia(30:10:0.2, v/v/v)

의 Rf value가 거의 비슷하게 나타나므로 이들의 잔류가 의심되는 경우 현저하게 차이가 나는 solvent system B 및 C에 재전개시켜 동정하면 확실한 분별이 가능하였다. sulfaquinoxaline과 sulfadimethoxine의 경우 solvent system A에서 0.87과 0.90으로 거의 비슷하므로 solvent system C로 재전개 하면 특히 유효한 결과를 얻을 수 있었다.

Sulfamethazine의 회수율 검사 : 농도별 sulfamethazine의 회수율은 Table 2와 같다. 높은 농도와 낮은 농도간의 회수율에는 거의 차이가 없으며 평균 회수율은 83%이다. Plate상에 나타난 결과는 Fig 2~8에 서와 같다.

Table 2. Recovery of sulfamethazine from spiked swine muscle

Added (mg/kg)	Found (mg/kg)	Standard deviation (n=6)	Coefficient of variation	Recovery (%)
1	0.84	0.027	3.21	84
0.5	0.42	0.024	5.71	84
0.1	0.081	0.010	12.2	82
0.05	0.041	0.001	2.44	81

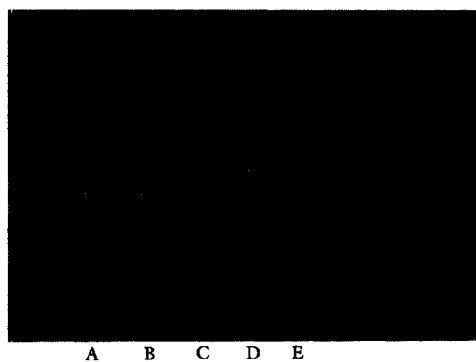


Fig 2. Thin layer chromatogram of five sulfonamides on a HPTLC silica layer plate in solvent system A.

- A: standard sulfamethazine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- B: standard sulfamerazine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- C: standard sulfaquinoxaline solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- D: standard sulfadimethoxine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- E: standard sulfamonomethoxine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$

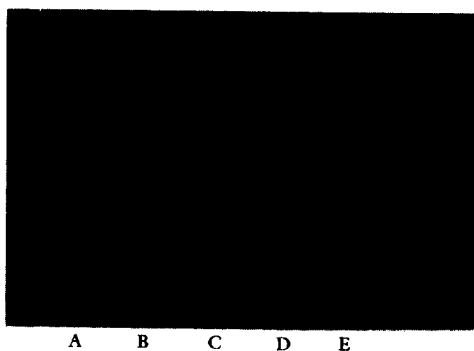


Fig 3. Thin layer chromatogram of five sulfonamides on a HPTLC silica layer plate in solvent system B.

- A: standard sulfamethazine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- E: standard sulfamerazine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- C: standard sulfaquinoxaline solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- D: standard sulfadimethoxine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- E: standard sulfamonomethoxine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$

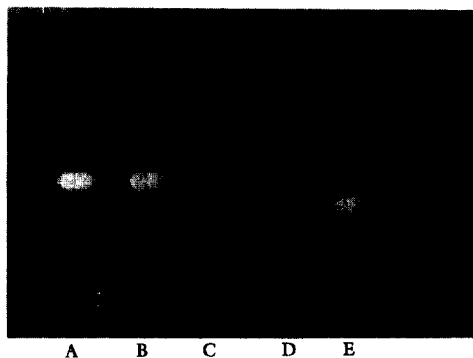
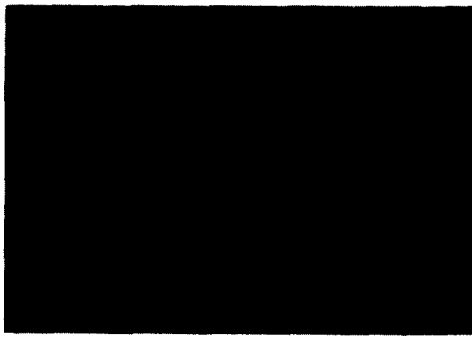


Fig 4. Thin layer chromatogram of five sulfonamides on a HPTLC silica layer plate in solvent system C.

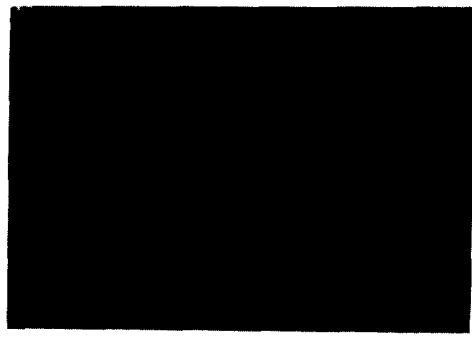
- A: standard sulfamethazine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- B: standard sulfamerazine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- C: standard sulfaquinoxaline solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- D: standard sulfadimethoxine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- E: standard sulfamonomethoxine solution 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$



1 2 3 4 5 6 7 8

Fig 5. Thin layer chromatogram of tissue extracts from spiked swine tissues on a HPTLC silica plate.

- 1-2: 0.2µg/ml standard sulfamethazine solution
- 3-4: sample extracts A from spiked samples in 0.05 ppm
- 5-6: sample extracts B from spiked samples in 0.05 ppm
- 7-8: 0.55µg/ml standard sulfamethazine solution



1 2 3 4 5 6 7 8

Fig 7. Thin layer chromatogram of tissue extracts from spiked swine tissues on a HPTLC silica plate.

- 1-2: 2µg/ml standard sulfamethazine solution
- 3-4: sample extracts A from spiked samples in 0.5 ppm
- 5-6: sample extracts B from spiked samples in 0.5 ppm
- 7-8: 5.5µg/ml standard sulfamethazine solution



1 2 3 4 5 6 7 8

Fig 6. Thin layer chromatogram of tissue extracts from spiked swine tissues on a HPTLC silica plate.

- 1-2: 0.4µg/ml standard sulfamethazine solution
- 3-4: sample extracts A from spiked samples in 0.1 ppm
- 5-6: sample extracts B from spiked samples in 0.1 ppm
- 7-8: 1.1µg/ml standard sulfamethazine solution



1 2 3 4 5 6 7 8

Fig 8. Thin layer chromatogram of tissue extracts from spiked swine tissues on a HPTLC silica plate.

- 1-2: 4µg/ml standard sulfamethazine solution
- 3-4: sample extracts A from spiked samples in 1 ppm
- 5-6: sample extracts B from spiked samples in 1 ppm
- 7-8: 1µg/ml standard sulfamethazine solution

시판용 돈육의 정성 및 정량 : 1992년 5월 11일부터 16일 사이에 서울지역내 정육점에서 채취한 돼지정육의 후기근육을 이용한 총 34건의 검사에 0.05 ppm 농도의 standard sulfamethazine을 동시에 점적 하여 UV cabinet에서 366 nm상에서 관찰하였을 때 2건에서 0.05 ppm 수준보다 더 짙은 형광을 발하여 2건의 시료를 다시 전처리하여 형광의 밝기를 측정하여 standard sulfamethazine을 점적한 후 TLC scanner에 넣어 정량하였으며 그 결과는 Table 3과 같다.

각 solvent system 별의 Rf value로 검출된 물질이 sulfamethazine임을 확인한 후 정량한 결과 2건의 시료에서 각각 0.06 ppm, 0.13 ppm이 잔류함임이 밝혀졌다.

Table 3. Result of the sample analysis

Sample No	Rf value			Amount
	Solvent system A	Solvent system B	Solvent system C	
19	0.79	0.70	0.88	0.06 mg/kg
24	0.78	0.68	0.87	0.13 mg/kg

고 찰

Sulfonamides를 분석하는데 있어서 Bratton-Mashall reaction의 특이성 부족으로 인하여 더 민감하고 특이적인 잔류물질 분석법으로 chromatographic method가 개발된 이래 지금까지 여러 종류의 chromatographic technique이 동물조직내 sulfonamides를 정성 및 정량 및 분석하는데 이용되어 왔다^{7,28}. 이에 의한 방법은 대상물질에 대해 선택적이라는 잇점은 있으나 회수율과 재현성이 일반적으로 좋지 않은 것으로 인식되어 왔다³.

본 연구에서도 전처리 과정의 미세한 변동에 따라 회수율과 재현성에 많은 변동을 보였다. 그러나 사용 용매와 처리시간등을 일정하게 제한하는 등의 세심한 주의와 기술을 다한다면 별로 문제가 없는 것으로 나타났다. 추출의 경우 sulfonamides가 화학적 구조의 특성상 극성을 나타내므로 극성 용매에서는 잘 녹으나 비극성 용매에서는 잘 녹지 않는 편이다³. 그래서 sulfonamides를 일단 Sep-pak cartridge내에서 PBS(pH=10)를 이용하여 용출시킨 후 다시 ethyl acetate의 organic phase로 바꾸는데는 세심한 pH 조절이 필요하며 이에 좌우하여 회수율이 매우 차이가 난다^{1,13}.

대부분 sulfonamides의 용출에는 1:1의 chloroform : acetone을 이용하나 이 용출액은 silica cartridge에 정제되어 있는 sulfonamides의 용출에는 부적당하다¹¹. 용출액으로서 dichloromethane은 실험결과 spiking된 돼지 근육조직내에서 sulfonamides를 상당한 양을 회수할 수 있게 하며 petroleum ether의 첨가후에는 Sep-pak cartridge내에서 sulfamethazine의 완전하게 정제가 가능하게 한다²⁹.

전개용매에서의 전개는 경우 시료 점적시에 점적의 길이와 넓이를 가능한 한 작게 제한하고 또 이동상을 4 cm 이상 넘지 않게 하면 좀더 정밀한 전개양상을 볼 수 있다. Parks⁸의 경우 ethyl acetate : methanol : ammonia(30:10:1)을 전개용매로 사용하여 sulfamethazine, sulfamerazine, sulfaquinoxaline, sulfadimethoxine에 대해 각 0.32, 0.20, 0.32 및 0.34의 Rf value를 얻고, Haagsma et al⁶은 chloroform : n-butanol(4:1)의 전개 용매에서 sulfamethazine, sulfaquinoxaline에 대해 각각 0.50 및 0.58, Bukanski et al¹은 같은 solvent system을 사용한 실험에서 solvent system B 및 C에서 sulfamerazine, sulfaquinoxaline 및 sulfamonomethoxine에 대해 각각 0.38, 0.53 및 0.4와 0.22, 0.11 및 0.05를 얻은 것과 비교하여 전개시에는 전개용매의 높이, 전개시간 및 전개시키려는 plate의 각도를 되도록이면 같은 조건이 되도록 해 주는 것이 중요한 것으로 보인다.

Phillips et al²⁸은 chloroform : acetone을 용출액으로 하고 1N HCl로 최종추출물을 회석하는 처리를 한 TLC 방법으로 0.1 ppm의 농도에서 88%의 회수율과 12%의 CV를 구하였으며, Thomas et al²⁶은 ethyl acetate를 용출액으로 하고 최종 추출물을 methanol에 회석하여 실시한 TLC법으로 95%의 회수율을 얻은 것과 비교하여 회수율을 높이기 위한 여러가지 방법이 용출액을 여러가지로 시도하거나 지방을 제거해주는 등의 clean-up 과정의 개선으로 크게 높일 수 있을 것으로 본다.

본 실험에서는 시료를 돼지의 후기 근육만 사용하였으나 현재 많은 연구가 실시되어 sulfonamides의 뇨 및 혈청내의 농도와 근육, 간장 및 신장내 농도간의 관계에 대해 밝히고 있는데 Randecker et al⁷은 sulfamethazine의 tissue concentration = ratio x fluid concentration의 관계에서 각 ratio의 수치는 혈청 및 뇨에 대해 근육, 간장 및 신장에 대해 각각 0.24, 0.90 및 0.53, 그리고 0.08, 0.27 및 0.16임을 밝혀 내었다.

이에 따르면 돼지 조직내 sulfamethazine의 농도는 간장 >신장 >근육의 순서이며 뇨안의 농도는 근육내 농

도의 12.5배 가량임을 알 수 있다. 따라서 시료를 비교적 전처리가 단순한 뇨를 택하여 잔류량을 측정한다면 정해진 시간내에 좀더 많은 시료를 처리할 수 있을 것이다.

결 론

본 실험에서는 HPTLC를 이용하여 돈육내의 sulfonamides의 잔류물질을 검출하여 여러 종류의 sulfonamides중 각각의 Rf value를 여러가지 solvent system을 사용하여 측정해 검출되는 sulfonamides의 종류까지 확인하고 잔류하지 않음이 확인된 시료에 각 농도별로 sulfamethazine을 spiking하여 회수율을 측정하고 그를 토대로 시판 돈육내의 sulfamethazine의 잔류상태를 조사하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 0.05, 0.1, 0.5 및 1 mg/kg tissues weight로 각각 spiking한 돈육을 dichloromethane으로 추출하고 ethyl acetate에 회석하여 측정한 결과 회수율은 평균 83%였다.

2. 서울시내 정육점에서 돼지 후지 근육을 34건 채취하여 sulfamethazine 잔류량을 검사한 결과 2건(5.6%)에서 0.05 ppm이상의 농도가 검출되어 정량한 결과 각각 0.06 ppm과 0.13 ppm이 측정되었다.

3. 본 실험의 결과 국내 및 미국내에서 식육내 sulfamethazine 잔류허용 기준인 0.1 ppm을 초과하는 잔류 수준을 나타낸 시료는 1건(3%)이므로 현재 시판 돈육의 sulfamethazine 잔류 상태는 식육 위생상 위험수준이 아니라 생각되며 TLC scanner를 정확한 잔류물질 분석법을 좀더 보완 및 개발 한다면 빠르고 정확한 잔류물질 분석이 가능하리라 본다.

참 고 문 헌

1. Bukanski BW, Degroodt JM, Beernaert H. A two-dimensional high performance thin layer chromatographic screening method for sulfonamides in animal tissues. *Z Lebesm Unters Forsch* 1988; 187: 242-245.
2. Cieri UR. Detection of sulfonamides in animal feeds. *J Assoc Off Anal Chem* 1976; 59(1): 56-59.
3. Horwitz W. Review of analytical methods for sulfonamides-Analytical methods for sulfonamides in foods and feeds. - I Review of methodology. *J*

- Assoc Off Anal Chem* 1981; 64(1): 104-130.
4. Roach JAG, Sphon JA, Hunt DF. Pulsed positive ion-negative ion chemical ionization MS of animal drugs: sulfonamides. *J Assoc Off Anal Chem* 1980; 63(3): 452-459.
5. Cieri UR. Determination of sulfaquinolaxine, sulfathiazole, sulfamerazine, and sulfamethazine in feed concentrates or premixes. *J Assoc Off Anal Chem* 1973; 56(6): 1475-1479.
6. Haagsma N, Dieleman B, Gortemaker BGM. A rapid thin layer chromatographic screening method for five sulfonamides in animal tissues. *Vet Quart* 1984; 6: 8-12.
7. Randecker VW, Reagan JA, Engel RE, et al. Serum and urine as predictors of sulfamethazine levels in swine muscle, liver and kidney. *J Food Protect* 1987; 52(2): 115-122.
8. Parks OW. Screening test for sulfamethazine and sulfathiazole in swine liver. *J Assoc Off Anal Chem* 1982; 65(3): 632-634.
9. 이창업, 이장락. 축산식품중의 잔류 설파제 분별 정량법에 관한 비교 연구: I. Thin layer chromatography 서울대학교 수의대 논문집 1981; 6: 167-172.
10. Hayashi M, Bourne WA, Beville RF, et al. Disposition of sulfonamides in food producing animals: Pharmacokinetics of sulfamethazine in ewe lambs. *Am J Vet Res* 1979; 40: 1578.
11. Alled MC, Dunmire DL. High performance liquid chromatography determination of sulfamethazine at low levels in nonmedicated swine feeds. *J Chromat Sci* 1978; 16: 533-537.
12. Beville RF, Pittert LW, Bourne DWA. Disposition of sulfonamides in food producing animals IV; Pharmacokinetics sulfamethazine in cattle following administration of an intravenous dose and three oral dosage forms. *J Pharm Sci* 1977; 66(5): 619-623.
13. Cox BL, Krzeminski LF. High pressure liquid chromatographic determination of sulfamethazine in pork tissues. *J Assoc Off Anal Chem* 1982; 65(6): 1311-1315.
14. Lanbeck K. Determination of salicylazosulphapyridine and sulfapyridine in plasma using high performance liquid chromatography. *J Chromat* 1978;

- 154: 321-324.
15. Petz M. High pressure liquid chromatographic method for the determination of residual chloramphenicol, furazolidone, and five sulfonamides in eggs, meat and milk. *Z Lebensm Unters Forsch* 1983; 176: 289-293.
 16. Tisher F, Sutter J L, Bathish JM, et al. Improved method for determination of sulfonamides in milk and tissues. *J Agri Food Chem* 1968; 16(1): 50-53.
 17. Banes D, Riggelman OH. Hybrid assay for trisulfapyridine preparations. *J Assoc Off Anal Chem* 1971; 54(5): 1195-1199.
 18. Fravolini A, Begliomini A. Extraction and determination of mixed sulfonamides in feeds. *J Assoc Off Anal Chem* 1969; 52(4): 767-769.
 19. Thomas MH, Epstein RL, Ashworth RB, et al. Quantative thin layer chromatographic multi-sulfonamides screening procedure: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 1983; 66(4): 884-892.
 20. Thomas MH, Soroka KE, Simpson RM, et al. Determination of sulfamethazine in swine tissues by quantative thin layer chromatography. *J Agri Food Chem* 1981; 29: 621-624.
 21. Wooley JL, Murch Jr O, Sigel CW. Thin-layer chromatography screening method for sulfamethazine residues in calf tissues, plasma and urine. *J Assoc Off Anal Chem* 1978; 61(3): 545-549.
 22. Daun RJ. Simultaneous Gas liquid chromatographic determination of four sulfonamides in feeds. *J Assoc Off Anal Chem* 1971; 54(6): 1277-1282.
 23. Lloyd WE, Jenny AL, Cox DF, et al. Relationship of sulfamethazine in swine diets and resultant tissue concentration using Tishler and Gas-liquid chromatographic methods. *Am J Vet Res* 1981; 42: 339.
 24. Mannel AJ, Steller WA. Gas liquid chromatographic determination of sulfamethazine in swine and cattle tissues. *J Assoc Off Anal Chem* 1981; 64(4): 794-799.
 25. Bevill RF, Schemske KM, Luther HG, et al. Determination of sulfonamides in swine plasma. *J Agri Food Chem* 1978; 26(5): 1201-1203.
 26. Thomas MH, Soroka KE, Thomas SH. Quantative thin layer chromatographic multi-sulfonamides screening procedure. *J Assoc Off Anal Chem* 1983; 66(4): 881-883.
 27. Goodspeed DP, Simpson RM, Ashworth RB. Sensitive and specific gas-liquid chromatographic-spectrometric screening procedure for trace levels of five sulfonamides in liver, kidney and muscle tissues. *J Assoc Off Anal Chem* 1978; 61(5): 1050-1053.
 28. Phillips WF, Trafton JF. A screening method for sulfonamides extracted from animal tissues. *J Assoc Off Anal Chem* 1975; 58(1): 44-47.
 29. Sweymour D, Rupe BD. High pressure liquid chromatographic determination of sulfamethazine residues in beef tissues. *J Pharma Sci* 1980; 69: 701-703.
 30. Bevill RF, Sharma RM, Meachum SH, et al. Disposition of sulfonamides in food producing animals; Concentration of sulfamethazine and its metabolites in plasma, urine, and tissue of lambs following intravenous administration. *Am J Vet Res* 1977; 38: 973.
 31. Kcritz GD, Bourne WA, Dittert LW, et al. Disposition of sulfonamides in food producing animals: Pharmacokinetics of sulfamethazine in sheep. *Am J Vet Res* 1977; 38: 979.
-