



다녀왔습니다

축산식품내 잔류물질 분석기술 연수

수의과학연수소 안전성과 연구사
조 병 훈



머리말

지난 1997년 11월 1일부터 30일까지 (1개월 간), 축산식품내 잔류물질 분석기술 연수를 위하여 싸이프러스(Cyprus)에 다녀왔다. 본편에서는 연수내용과 연수기술에 관하여 소개드리고자 한다.

① 출장목적

IAEA와 FAO가 합동으로 주관하는 지역간 훈련과정(축산식품내 잔류물질 분석기술 연수과정)에 참석하는데 목적이 있었음. 축산식품내 항생제 및 성장촉진 호르몬제를 비롯한 유해잔류물질의 분석을 위한 간이정성검사법 및 확인정량법의 기술 배양으로 국내 잔류분석기술의 향상.

우리나라의 국가잔류검사프로그램(National Residue Program)과 선진각국의 잔류조사 및 규제검사 프로그램의 비교분석으로 보다 효율적이고 효과적인 국가잔류검사프로그램 설정. 각국의 수의사를 비롯한 축산식품내 잔류물질 분석전문가가 참석하는 훈련과정으로 식품안전성 연구에 관한 정보 수집에 필요한 국제적 채널 구축 등이다.

② 출장일정

본 훈련과정은 국제원자력기구(IAEA)와 세계식량기구(FAO)가 공동으로 주관하는 지역간 훈련과정(FAO/IAEA Inter-regional Training Course on the "Use of Nuclear and Related Techniques for the Determination of Veterinary Drugs Residues in Livestock Products")으로 싸이프러스(Cyprus) 수도 니코시아(Nicosia)에서 실시되었으며, 공식일정은 11월 3일부터 11월 28까지 26일간이었음.

본 교육훈련과정은 국가간의 축산식품 교역의

다녀
왔습니다



원활은 물론 축산식품으로 인한 소비자의 안전성 확보를 위해 필요한 축산식품내 항생물질과 호르몬 문제를 비롯한 유해잔류물질의 잔류분석기술 훈련과 국가잔류방지프로그램 작성할 수 있는 기술 등을 배양시키기 위해 금년에 처음으로 개설한 교육훈련과정으로 개발도상국을 위주로 20개국 국가 총20명이 참가하여 교육을 이수하였음. 일정별 연수내용 :

- 97. 11. 1. 서울출발 (~ 런던 경유),
- 11. 2. 사이프러스 도착
- 11. 3~9일 Opening Ceremony (입교식, 직원 및 강사소개), FAO/IAEA 공동연구과제 (Coordinated Research Project) 및 IAEA 기술협력과제(Technical Cooperation Project, TCP) 설명회, 미생물학적 방법(Four Plate test)의 원리 및 실습, 면역학적 방법 관련 기초 원리 강의,
- 11. 10~16일 약체크로마토그래피 및 대사를 근거로한 시료채취방법 및 국가 잔류검사 프로그램 작성방법, 방사성동위원소 면역분석법, 호소면역 분석법 이론 및 실습,
- 11. 17~23일 박종크로마토그래피법(TLC/HPTLC), 가스 크로마토그래피법(GC), 액체크로마토그래피법(HPLC) 및 질량분석법(MS)의 기초이론 및 HPTLC 실습,
- 11. 24~28일 액체크로마토그래피법(HPLC) 기초이론 및 시료전처리법 실습, 기기운용요령, 분석법(SOP)의 작성, 검증 방법 및 인증절차, Closing Ceremony(폐교식, 11. 28),
- 11. 29(토) 사이프러스 출발 (~ 취리히 경유, 서울도착 (30일)

③ 일반개황

■ 사이프러스

사이프러스(Cyprus, 그리스어로 “키프로스”라고도 함)는 우리나라 사람의 대부분이 생소한 국가로 여겨지는데 지중해에서 세 번째로 큰 섬으로 지중해 동북단에 위치하고 있으며 면적이 9.25Km²로서 한반도의 약 1/24(남한 약 1/10)로 매우 작은 국가임. 동서의 최장거리는 240Km, 남북의 최대넓이는 100km, 위도는 북위 34°33' ~ 35°33', 경도는 동경 32°16' ~ 34°37', 인구는 1995년말 현재 735,900명으로 그리스계 84.7%, 터어키계 12.3%, 외국인 3%임. 1974년 터어키의 침공으로 현재까지 양분되어 있고 유엔평화유지군(UNFICYP)이 주둔하고

있음.

농경지의 총면적은 약 430ha로 전국토의 46.8%를 차지하며, 경작지의 약 21%는 스프링쿨러 등을 이용한 일정한 방법으로 관개(irrigation)되고 약 4%는 연중 관개되며, 약 13%는 큰 비가 내리면 관개됨. 사이프러스의 기후는 전형적인 계절적인 리듬을 띠는 지중해성 기후로서 봄과 가을이 짧고 비교적 기간이 긴 고온건조한 여름(5월중순~9월중순)과 비가 내리며 다소 변화가 있는 겨울(11월~3월중순)로 구분됨. 기온은 여름이 평균 29℃(산간지역 22℃)로서 7, 8월의 평균최대기온은 36℃(산간지역 27℃), 겨울은 1월의 평균 기온이 10℃(산간지역 3℃), 평균최저기온은 5℃(산간지역 1℃)임. 농작물은 주로 저지대에서만 경작되는데 주요 농작물은 cereal(밀과 보리), 채소류, 감자, 토마토, 감귤 등이 재배되고 있음.

올리브나무는 전국 어느지역에서나 자라고 있으나 특히 해안경사지에 많이 볼 수 있으며, 포도는 사이프러스의 유일한 산간지역(Troodos)에서 많이 생산되고 감귤은 비교적 땅이 비옥한 계곡지역에서 많이 생산됨.

이외에 당근, 사탕무우, 캐로브(carob), legume(콩류), 사료작물(fodder), 아몬드, 사과, 바나나 등도 재배됨. 주요 수출농작물은 감자, 토마토를 포함한 채소류, 감귤, 포도(table grape) 등이며, 이들 농작물의 가공품을 포함할 때 사이프러스 총수출의 34.4%를 차지한다고 함. 사이프러스에서 사육되고 있는 동물은 주로, 양, 산양, 소, 돼지, 닭, 토끼 등이며, 수요량에 비해 공급이 부족하여 매년 외국으로부터 쇠고기, 송아지고기, 양 및 산양고기 등을 수입하고 있는 실정임.

정부조직 및 산하 관련기관

정부기구는 동 교육훈련과정의 실시기관인 중앙수의검사소(Central Veterinary Laboratories, Veterinary Services)가 소속되어 있는 농업·자연자원·환경부(Ministry of Agriculture, Natural Resources and Environment)를 포함해 11개의 부처가 있음. 농업·자연자원·환

경부 (Ministry of Agriculture, Natural Resources and Environment) 산하 Department와 Services는 다음과 같다.

- Agriculture
- Animal husbandary
- **Veterinary Services**
- Forest
- Water Development
- Geological Survey
- Metrological Survices
- **Agricultural Research Institute**
- Land Consolidation
- Department of Fisheries
- Enviromental Protection Services
- Mines

◎ **농업연구소 (Agricultural Research Institute)**

농업연구소는 FAO/UN 특별자금을 지원받아 1962년에 설립된 농업·자연자원·환경부 (Ministry of Agriculture, Natural Resources and Environment)의 한 기관으로 직원은 40명의 연구원과 80명의 기술직 (technician), 보조원 (assistant) 및 행정직 (administrative person)으로 구성. 주요 연구분야 : Field crops, Horiculture, Animal production, Soil and water use, Plant protection, Animal economics

◎ **중앙수의검사소 (Veterinary Services)**
중앙수의검사소 역시 농업·자연자원·환경부 (Ministry of Agriculture, Natural Resources and Environment)의 한 기관으로 우리나라의 농촌진흥청 수의과학연구소와 거의 유사한 기능을 하고 있는 기관임. 중앙수의검사소 소장 (headquarter)을 중심으로 가금병리 (Poultry pathology), 동물질병진단 (Veterinary laboratories), 동물질병방역 (Prevention and control of animal diseases) 및 수의공중보건분야 (Veterinary public health)를 담당하는 4개의 Section과

인공번식 (Artificial breeding) 및 생식기질병·동물약품 (Reproductive diseases and Veterinary drugs)을 담당하는 2개의 sub-section으로 구성되어 있음. 중앙수의검사소 산하에는 5개의 지역검사소 (District veterinary station) 및 15개 지소 (Rural veterinary station)가 있음. 주요 연구분야 : 동물질병의 예방, 관리 및 치료, 인수공통전염병 및 식품매개질병을 비롯한 공중보건, 인공번식에 의한 동물의 유전적 개량, 동물보호 주요 박멸대상질병 : 탄저 (Anthrax), Swine fever, 소결핵 (Bovine tuberculosis), Sheep pox, Bovine hypodermosis, 뉴캐슬병 (Newcastle) 등. 주요 관리대상 인수공통전염병 및 식품매개질병 : 주요질병 - Echinococcosis, Brucellosis, Q-fever 등, 담당부서 : Veterinary Public Health Section

- * 잔류물질 검사
- 주요검사대상물질 : Antibiotics, Hormones, Sulfonamides 등
- ◆ **항생물질 (Antibiotics)** : 클로람페니콜 등
- ◆ **호르몬제 (Hormones)** : DES, Zeranol, Oestradiol, Testoterone, Trenbolone, Progesterone, Clenbuterol 등.
- ◆ **합성항균제** : Sulfonamides, Furazolidone, Carbadox, Nitrofurantoin, Nicarbazin, Dimetridazole, Ivermectin
- ◆ **중금속** : Pb, Cd, Hg 등
- 주요검사품목 : 식육, 우유 및 유제품. 잔류검사 방법 : Four plate test (FPT), HPTLC, ELISA 및 HPLC.
- 담당 부서 : Veterinary Public Health Section

● **훈련과정**

- 1) **FAO/IAEA 지역간 훈련과정**
 - 훈련과정명 : IAEA/FAO Interregional Training Course on the "Use of Nuclear and Related Techniques for the Determination of Veterinary Drugs Residues in Livestock Products"

이 훈련과정은 국제원자력기구(IAEA)와 세계식량기구(FAO)가 공동으로 주관하는 지역간 훈련과정으로 개발도상국가를 위주로 국제적으로 중요시 되고 있는 축산식품내 잔류물질로 인한 축산식품 교역의 원활은 물론 축산식품으로 인한 소비자의 안전성 확보를 위해 필요한 기술을 배양하도록 하는데 그 목적이 있었음. 이러한 취지로 IAEA와 FAO가 금년에 처음으로 개설한 훈련과정으로 개발도상국가를 대상으로 당해국가 정부로부터 추천을 받아 제출된 서류를 통해 선발한 20개국 총 20명이 참가하여 교육을 이수하였음. 훈련참가국은 한국을 포함해 Chile, El Salvador, Ethiopia, Jamaica, Jordan, Kazakhstan, Lithuania, Malasia, Mali, Motocco, Myanmar, Namibia, Paraguay, Singapore, Slovakia, Thailand, Macedonia, Uruguay 및 Vietnam이었음. 훈련 개최지는 싸이프러스(Cyprus)의 수도 니코시아(Nicosia)이었으며, 공식일정은 11월 3일부터 11월 28까지 26일간이었음. 주요 훈련내용은 축산식품내 잔류물질 분석방법 이론과 실습, 약물체내동태 및 대사를 근거로한 시료채취방법 및 국가잔류방지프로그램 작성 기술, 분석법(SOP)의 작성·검증방법 및 국제적인 인증절차, FAO/IAEA에서 주관하는 지원 프로그램 소개 및 신청방법 등이었음.

2) 기타 FAO/IAEA 훈련과정 등 축산식품내 잔류물질 분석기술에 관한 FAO/IAEA 지역간 훈련과정 이외 IAEA와 FAO가 공동으로나 IAEA 단독으로 1997년도에 주관한 훈련, 회의, 세미나, 심포지움, 워크숍 등 지원프로그램은 15개 과정으로 그 예를 들면 다음과 같다.

- Meeting of TC Regional Project RAW/5/004 "Support for Rinderpest Surveillance in West Asia", Amman, Jordan, 22-26 June 1997.
- Regional Workshop on "The Use and Applications of the FAO/IAEA Self-coating RIA Kit and the ARCAL Kit for Progesterone Determination", Veracruz, Mexico, 8-12 September 1997.

Regional Workshop under FAO/IAEA Co-ordinated Research Project on "the Application of Antigen and Antibody Detection ELISA to Diagnos Trypanosomes in Domestic Livestock", Onderstepoort, South Africa, 6-9 October 1997.

- Regional Workshop held under the IAEA TC Model Project RAF/5/043 on "The Surveillance of Rinderpest to Achieve the Final OIE Declaration of Freedom from Rinderpest", Dakar, Senegal, 1-5 December 1997.

④ 연수내용

■ 잔류물질 분석기술

1) 미생물학적 방법 : 축산물내 잔류물질 분석방법으로 미생물학적 방법으로는 현재 유럽 각국에서 사용하고 Four plate test(FPT, 일명 "EEC 4 plate method"라고 함)에 대해서만 시험방법상의 및 실습 실시. Bacillus subtilis BGA (B.s), Micrococcus luteus ATCC 9341(M.l) 균주를 이용하고 4종류의 평판(B.s pH 6.0, pH 7.2, pH 8.0, M.l pH 8.0)을 사용하여 식욕이나 신장 시료를 검사. 국내 검사방법과 다른점은 식욕시료에 디스크(직경 10mm 지육검사용 여지)를 삽입하여 육즙을 이용하는데 반해 냉동상태에서 stainless steel cutter(내경 8mm)를 이용하여 취한 식욕이나 신장시료 절편(slice, 2mm 두께)을 이용하는 점과 신장시료의 경우 cellulose membrane(2.5x2.5cm, 혹은 2.5cm strip)을 이용하는 점. FPT의 검출능에 대해서 다른 확인정량법과 비교한 결과 패니실린계, 테트라사이클린계 및 스트렙토마이신에 대해서는 의음성(false negative)을 나타내지 않은 반면, 설파제와 클로람페니콜은 검출감도가 낮아 의음성결과를 종종 나타내기 때문에 모니터링에 이용할 수 없으므로 효소면역법이나 HPTLC 등 각각 다른 스크리닝 방법을 적용하고 있음.

다녀왔습니다

2) 면역학적 방법 : 면역학적 방법으로는 효소면역분석법(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)과 방사성 동위원소 면역분석법(Radioimmunoassay, RIA)을 위주로 항체생산, 표준곡선 작성 등에 관한 기초 이론 및 ELISA 키트를 이용한 실습을 실시. 항원(Antigen)으로 작용하기 위해서는 분자량이 10,000 daltons 이상이 되어야 하지만 대부분의 항원물질 분자량은 페니실린 500, 설파메타진 270, 겐타마이신 400, 테트라사이클린 320 등으로 매우 작기 때문에 carrier protein (Albumin 60,000 daltons 등)과 결합(conjugation, coupling)시켜 항체를 생산. 대부분의 단백질 분자는 많은 free carboxylic acid group(COOH)과 free primary amino group(NH₂)을 가지고 있을 뿐만 아니라 어떤 단백질은 thiol group(SH)을 가지고 있기 때문에 강한 반응성을 띄게 되며, 어떤 약물은 또한 다소 약한 반응성을 띄는 ketone(=O) 혹은 alcohol(-OH)기를 가지고 있으므로 화학반응을 통해 conjugate의 형성 가능(예: protein-COOH + drug-NH₂ = protein-CONH-drug + H₂O(condensation reaction, peptide bond 형성). cELISA법에서 coating 항체와 결합하지 않은 enzymehapten conjugate를 제거하기 위해서 washing 과정을 거치지만, RIA법에서는 항체와 결합하지 않은 분자를 제거하기 위한 한 방법으로 매우 높은 전하를 띄는 dextran coated charcoal을 이용하여 원심분리를 통해 제거함. 즉, charcoal과 결합하기 위해서는 그 표면에 입힌 dextran층을 통과하여야 하므로 charcoal은 항체에 결합되지 않은 tracer나 drug와 같은 작은 분자하고만 결합하게 됨으로써 원심분리하여 상층액에 남아있는 항체와 결합하지 않은 unbound molecules을 제거할 수 있음.

cRIA를 위한 적정 항체량은 항체의 농도를 단계 희석하여 고정된 일정한 양의 tracer와 반응시켜 tracer량의 50%와 결합되는 항체농도로 설정. Enzyme-drug conjugate를 생산하는 방법도 항원물질 등 약물의 항체생산을 위한 conjugate

를 만드는 방법과 같지만 차이점은 그와 다른 protein carrier를 사용하는 것이며, 예를 들면 다음과 같다. ① 산성하에서 방향성 아미노기(aromatic amino group)에 아질산염(NaNO₂)을 가하여 diazo complex를 형성시키는 방법으로 clenbuterol과 설파제에 많이 이용: Drug-NH₂ + NaNO₂ + H+Protein ⇒ ArN≡N:Protein. ② Carbodiimides를 이용하여 아미노기와 카르복실기간의 peptide bond를 유도하는 방법: Drug-NH₂ + Carbodiimide + COOH-Protein ⇒ DrugNH=COProtein. ③ Aldehydes(주로 gluteraldehyde)를 이용하여 아미노기와 일차아민(primary amine)간의 공유결합을 유도하는 방법. 한 약물에 대해 생산한 항체의 교차반응(cross reactivity)은 유사한 구조를 가지고 있는 약물들과 같은 방법으로 실험하여 음성대조의 O.D값에 비해 50% 감소하는 농도(50% inhibition point)를 구하여 비율로서 나타냄. 즉, clenbuterol에 대한 항체를 이용하여 clenbuterol과 구조가 유사한 β-agonist, sal-butamol의 교차반응을 구하려고 할 때 각각의 50% inhibition point가 35pg과 650pg일 경우 salbutamol의 교차반응은 5.4%(35/650x100). 유럽지역에서 면역학적 방법의 검출한계(sensitivity 혹은 limit of detection)의 결정방법으로는 표준곡선을 이용하거나 통계를 이용하여 한 분석법의 threshold를 결정하는 방법 등이 이용되지만 일반적으로 음성대조 O.D값의 80%수준으로나 음성대조와 같은 OD값을 나타내는 시점의 평균농도에 3배 표준편차를 더한 값으로 나타냄.

예를들어 n=100, 평균=6ng/g, SD=4이라면 검출한계는 18ng/g. 토끼에 대한 설파메타진 항혈청을 이용하여 microtitre plate에 항체 coating, cELISA에 의한 표준검량선 작성 및 검출농도 계산법 등 실습

3) 박층크로마토그래프법 : Paper chromatography에서 한 단계 발전한 박층크로마토그래프법(Thin Layer Chromatography, TLC)은 1970년대 후반에 접어들면서 기존의 TLC법보다

한 단계 진보된 HPTLC, 고속박층크로마토그래프법으로 발전되었고 최근에는 Mass Spectrometer(e.g, HPLC-ITD 800 Interface, Finigan)와 함께 이용하기도 함. TLC와 HPTLC의 차이점은 단지 plate의 physical dimension과 plate에 coating된 정지상 입자의 크기의 차이로서 HPTLC가 기존의 TLC보다 신속하게 분리 가능함. HPTLC을 비롯한 TLC는 신빙성이 있고 신속하며 경제적이기 때문에 영국, 벨기에 등 유럽각국에서는 설파메타진, streptomycin 등 항균물질, 갑상선호르(thyreostat), clenbuterol 등 호르몬제를 비롯한 각종 잔류물질 검출분야 뿐만 아니라 의학, 생화학, 식품, 환경 및 화학합성분야 등에서 GC, HPLC, MS 등 확인정량법의 전단계로서 각종 물질을 스크리닝하거나 경우에 따라 HPLC로 정제한 물질을 확인하기 위해 HPTLC를 많이 이용하고 있음.

HPTLC 방법에는 보통의 1차원 HPTLC, 이보다 시료(분석물질)의 분리능이 좋은 이차원(2D) HPTLC, 그리고 Thin Layer Scanner(densitometer)를 이용하여 분석물질을 정량할 수 있는 antiDiagonal HPTLC 등이 있음. HPTLC의 기초원리, 2D HPTLC의 전개방법 및 HPTLC plate를 이용하여 신장에서 설파메타진을 스크리닝하는 방법 등 실습

4) 기기분석법 : HPLC법을 위주로 solid phase extraction 등 시료전처리 방법의 기초이론, HP-LC 시스템의 용매의 조건 및 극성, degassing방법, 펌프, 주입기 및 검출기의 기능, guard 및 분석용 column의 기능, 유도화방법(pre-column & post-column derivatization), 분리형태 등의 기초이론, 설파제 및 tetracyclines 분석실례, 설파메타진에 대한 HPLC 실습 등

- 설파제의 분석 적용실례

Column : Novapak C18 250 x 3.9mm.
5µm particle size
Mobile phase : 16% acetonitrile in 10mM ammonium acetate pH 7

Flow rate : 1ml/min
Detector : UV 266nm
Sulfonamides : diazine, thizole, metha-
zine, quinoxaline

- 테트라사이클린계 항생물질의 분석 적용실례

Column : Hichrom C6 150 x 4.2mm.
5µm particle size
Mobile phase : 27% methanol in oxalic acid
pH 4
Flow rate : 1ml/min
Detector : UV 350nm
Sulfonamides : OTC, TC, CTC, doxycycline

■ 국가잔류검사프로그램 작성기술

1) 분석법 작성기술

❖ 분석법 개발 계획시 고려사항 : 시료채취방법 sampling/시료제조방법 sample preparation/시료추출방법 extraction/추출시료정제방법 clean-up/분석물분리방법 separation/분석물 검출방법 detection

❖ 신뢰성있는 잔류분석업무(Good Residue Analysis, Good Analytical Practice)를 위한 Valid Analytical Management 원칙 : satisfy an agree requirment/ methods & equipment "fit for their purpose" /qualified & competent staff/ results should be comparable/ well defined quality control & quality assurance plans/ independent assessment of the technical performance.

❖ 잔류분석법 개발의 어려운 점 : 신뢰성있는 잔류분석업무를 수행하기 위해 필요한 VAM 원칙이 강조되지만 분석법 개발에는 다음과 같은 어려운 점들이 존재하게 됨. 이러한 어려운 점을 요약하여 5Ms이라고도 하는데 즉, Men(women), Material, Methods, Manipulate Data 및

Money가 소요되기 때문임. 따라서 다음과 같은 사항을 고려하여 분석법을 개발하고 검증을 실시하여 표준검사방법매뉴얼(SOP)을 작성한 후 모니터링 및 규제검사 검사프로그램에 적용하도록 하고 있음.

- * cross contamination
- * low recoveries
- * matrix interference ; require more extensive cleanup & more sensitive detector
- * availability of reference
- * range of compounds for which methods are required
- * need for multiresidue methods
- * need to determine both parent compound & metabolites
- * analyte stability(temperature, light, enzymatic activity)
- * the toxicity of analytes, solvents & other reagents

분석법의 검증 및 품질관리(Validation & Quality control of methods): 분석법의 개발과 동시에 검증이 반드시 필요하며, 검증된 분석법을 잔류모니터링계획에 설정하고 그 분석법의 개선이 필요시 개선하려는 방법 역시 검증을 통해 개선되어야 함. 이러한 분석법의 검증방법으로 EN45001나 ISO/IEC Guide 25와 같은 규정에서 권고하는 분석법의 검증자료를 작성하여 NAMAS와 같은 인증기관(creditation authorities)으로부터 승인을 받는 것임.

2) 잔류검사프로그램 작성기술

유럽연합(EU)에서는 EU국가 서로간 혹은 다른 지역국가가 EU로 축산물을 수출하려고 할 경우 EU Directive 96/23/EEC 규정에 따라 금지 혹은 사용승인이 되지 않은 약물의 검출 및 불법 사용의 예방, 사용승인이 된 약물이라하더라도 허용한계이상으로 잔류되는지를 모니터링하도록 체계적인 잔류모니터링시스템을 구축하여 수행하기를 강력히 요구하고 있음. 영국의 국가잔류검사프로그램 시스템을 살펴보면 영국 농업수산 식품성이 국가잔류검사계획(national plan)수립의 책임을 지고 있으며, Veterinary Medicine Directorate의 관련공무원(regulatory administrator), Veterinary Laboratories

Agency(VLA)의 분석화학자 및 Chief Veterinary Officer's Group의 수의사들이 위원회의 위원이 되어 계획을 수립함.

Meat Hygiene Agency가 시료를 채취하여 VLA로 보내고 이곳에서 검사를 한 후 잔류물질이 발견되면 CVO's Group에 의해 농가방문조사 및 보다 광범위한 시료채취, 그리고 경우에 따라 강제조치를 비롯한 점검(investigations)이 이루어 짐. 이 결과는 VMD가 보고서(annual report)를 작성하여 EU에 제출함. 모니터링되어야 할 약제(Drugs to be Monitored) : 사용승인이 된 약제의 원물질 혹은 marker 잔류물, 사용이 금지되어 왔거나 금지될 약물, 그리고 당해국가나 다른 나라(영국의 경우 영국 및 다른 EU국가)에서 검출되어 온 잔류물질에 근거하여야 함.

❖ **시료로 채취되어야 할 조직(Tissues to be S-sampled):** 체내동태학적 자료(pharmacokinetic data)와 적절한 시료(matrix)를 채취할 수 있는 가능성을 고려하여 시료로 채취할 조직을 결정하여야 함. 이를테면 농장에서는 도축장에서 선택할 시료와 매우 다른데 β -agonist는 망막에 축적되므로 도축장에서는 안구(eyeball)를 채취할 수 있지만 농장에서는 채취할수 없으며, tilmicosin의 잔류조사를 위해서는 체내동태학적으로 간에서 다른 장기보다 오랫동안 높은 농도로 존재하기 때문에 간이 가장 적절한 시료이며, 지방이나 근육시료의 검사는 무의미함.

❖ **검사방법 설정 :** 어떤 시료에서 분석물이 허용한계를 초과하여 존재하지 않음을 신속하게 검사할 수 있는 간이검사법(screening method)과 분석물을 확인하고 신뢰할 수 있는 높은 수준으로 그 물질의 농도를 정량할 수 있는 확인정량법(quantative & confirmation method)을 설정하여야 함.

- 설파제를 제외한 항균물질의 간이검사법(screening method)으로는 Four Plate Test와 같은 한천확산시험법이 효과적인 것으로 설파제는 HPTLC가 효과적인 screening방법으로

간주되고 있음. 반면 규제검사시스템하에서 특히 금지된 steroid 호르몬의 검사를 위해 검사비용을 최소화하기 위해서 면역학적 방법(EIA 혹은 RIA)이 중요시되고 있음.

- 확인정량법(quantative & confirmation method)으로 HPLC나 GC와 같은 quantative method는 정확하고 정밀한 정량성이 있는지와 분석법의 수행한계(performance limits, 즉 검출한계나 정량한계)를 아는 것이 중요하며, MS와 같은 confirmation method도 잔류물의 동정 및 농도를 확인할 수 있어야 하는데 이 결과에 따라 follow-up action의 결정이 내리지기 때문에 의양성결과(false positive)가 없어야 함이 중요. 분리능이 낮은 GC/MS에 의한 미량농도(trace level)의 잔류물질을 확인(confirmation)하는 경우 적어도 4개의 이온을 모니터링하고 그들의 relative abundance를 측정하는 것이 필요함.

5) 건의사항

FAO와 IAEA는 특히 개발도상국의 지원사업 일환으로 합동으로 주관하는 공동연구과제(Coordinated Research Project, CRP)하에서 세미나, 워크샵, 회의, 기술훈련 등을 개최하거나 공동연구과제 계약을 맺고 있으며, 개별국가에 IAEA가 단독으로 3~5년동안 지원하는 기술협력과제(Technical Cooperation Project, TCP)의 신청을 받고 있음.

이때 반드시 필요한 것이 관련 정부로부터 추천을 받도록 되어 있고 이러한 프로젝트를 1~2년전에 제안을 받아 심사를 하기 때문에 관련 연구원에게 신속한 정보가 요구됨.

6) 수집자료

- 1) K Bauer, L Gros, W Sauer; Thin Layer Chromatography-An Introduction, Merck, 1991. p80.
- 2) N Simpson & K.c. Van Horne; Sorbent Extraction Technology, Varian, 1993. p138.
- 3) Approach to analytical methods for veterinary drugs residues, Veterinary Laboratories Agency, 1997. p41
- 4) Good Laboratory Practice and Current Good Manufacturing Practice, Hewlett Packard, 1994. p152.
- 5) HPLC for Food Analysis-A Primer, Hewlett Packard, 1996. p132.
- 6) Standard Operating Procedure Determination of tetracyclines residues in kidney by HPLC, Veterinary Laboratories Agency, 1997. p19.
- 7) Standard Operating Procedure-HPLC analysis of ampicillin, cloxacillin and amoxicillin in bovine, ovine and porcine kidney, Veterinary Laboratories Agency, ACU0168, 1997. p15.
- 8) Standard Operating Procedure-Extraction and TLC analysis of monensin, salinomycin and narasin in poultry tissues and animal feed, Veterinary Laboratories Agency, ACU0274, 1997. p19.
- 9) Validation document-Analysis of tetracyclines in kidney by ELISA, Veterinary Laboratories Agency, SOP ACU0278, 1997. p43.
- 10) Validation document-The determination of tetracyclines by HPLC, Veterinary Laboratories Agency, SOP ACU0345, 1997. p36.
- 11) Validation Document Screening of sulfonamides by HPTLC, Veterinary Laboratories Agency, SOP ACU0305, 1997. P35.
- 12) Cyprus, Cyprus Tourism Organization, 1996. p252.
- 13) Cyprus Travellers Handbook, Cyprus Tourism Organization, 1996. p144