

잔류의약품: 수질관련현황 및 고상추출-액체크로마토그래프-텐덤형 질량분석장치에 의한 극미량 동시분석법 최적화

김정희 · 최재원 · 이재희 · 백경희

한국수자원공사 수돗물분석연구센터

Development of Analytical Methods for Pharmaceutical and Personal Care Products(PPCPs) in Drinking Water

Junghee Kim · Jaewon Choi · Jaehee Lee · Kyunghee Baek

Water Analysis & Research Center, Kwater

1. 서론

항생제를 비롯한 의약품들은 주로 인간의 질병치료 목적으로 복용되거나, 동물들의 질병 치료, 예방, 성장촉진, 면역력 증강 등의 다양한 목적으로 동물 먹이용 사료와 치료제로 광범위하게 사용되고 있다. 특히 항생제의 경우 2001년 의약분업 실시 이후 감소되고는 있으나 전체 항생제 사용량의 50%를 소비하고 있는 축수산업 분야에서는 연간 1,500톤 정도의 항생제가 질병이나 성장 촉진의 목적으로 구분별하게 사용되고 있는 실정이다. 이러한 항생제의 과다 사용은 항생제 내성균의 발현 등으로 인한 질병치료를 어렵게 하거나, 더 나아가 내성균이 인체에 전달될 경우 사람의 질병치료도 어렵게 만들 수 있는 등 심각한 피해를 초래할 수 있다.^{1,2)}

인체용 의약품은 주로 복용 후 배설되어 의약품 처리시스템이 구비되지 않은 하수처리장에서 1단계 처리 후 하천수로 직접 배출되며, 의약품의 제조, 폐기 등의 과정중에서도 많은 양이 환경으로 방출되고 있다(Fig. 1). 또한 수의약품은 동물용 사료나 의약품으로 사용되어 축산폐수로 배출되거나, 수의약품 생산공정 및 저장과정중의 누출로 인해 환경중으로 배출된다.^{3,4)} 이렇게 환경으로 방출된 의약품의 하천 유입을 통해 우리의 식수원인 하천을 비롯한 자연 생태계 및 인체에 막대한 영향을 미칠수 있다는 우려가 제기되면서 새로운 환경오염물질로 인식되기 시작하였으며, 이에 대한 대책 마련이 시급한 실정이다.

수처리와 위해성 평가를 위해 물속의 의약품을 정확하게 분석하는 것이 필수이나, 국내의 분석기반은 주로 액체크로

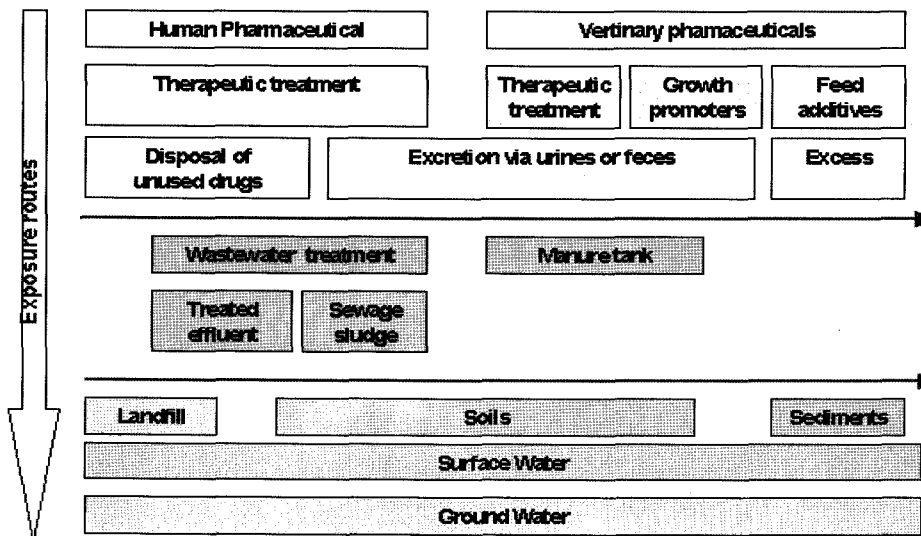


Fig. 1. 인간 및 가축용 의약품의 배출원과 환경내 이동경로.¹⁹⁾

E-mail: bkhee@kwater.or.kr

Tel: 042-629-2030

Fax: 042-629-7969

마토그래프(HPLC)를 이용한 축산 제품, 인체시료 등의 분석 사례⁵⁻⁷⁾가 많고, 환경수에 적용한 사례는 매우 제한적이다. 또한 환경분석에서 유기화합물의 주요 분석장비인 가스 크로마토그래프-질량분석기(GC-MS)에 의한 적용^{8,9)}은 일부의 항생제에만 적용되는 등 한계점을 가지고 있다. 최근에 HPLC와 탠덤질량분석장치(MS-MS)를 조합한 LC-MS-MS가 제품별로 정확성, 재현성, 극미량 검출능력이 향상하면서 항생제를 비롯한 ‘물에 잘 녹는’ 생활주변 유기화합물을 분석하기 위한 분석하는 주력 장비로 정착하고 있다.¹⁰⁻¹⁸⁾ 최근 한국수자원공사 수돗물분석연구센터도 기존의 LC-MS-MS를 새로운 기종으로 교체하면서 사회적으로 이슈가 되고 있는 항생제를 비롯한 대표적인 의약품의 극미량 분석을 위하여 분석체계를 검토해왔다. 본 기고에서는 지금까지 검토한 잔류의약품의 효과적인 물시료 분석기법을 제시하고, 이를 토대로 음용수 중의 잔류실태를 파악하여 향후 정수처리 공정에서의 제거효율 평가와 운영개선 및 장래 시설개선 수립을 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

대상 의약품은 문헌조사를 통해 축수산물의 치료, 예방, 성장 촉진용으로 사용량이 많아, 식육 중에 잔류하거나 배설물로 배출되어 수계에서 빈번하게 검출 사례 또는 검출될 우려가 있어 인체에 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 화합물 중 테트라사이클린계와 설파계 등 주요 동물용 항생제 및 국내의 검출사례가 있는 인체용 의약품을 선정하였다. 분석법 검토를 위해 본 연구에서 사용한 표준물질 및 약칭은 Table 1과 같다. 최적 분석조건 선정 및 검출한계 극대화 측면에서 선정된 구체적인 검토사항은 다음과 같다.

Table 1. 분석대상 의약품 목록

Compounds	Abbreviation	Molecular weight	CAS number
Sulfathiazole	STZ	255.309	72-14-0
Sulfamerazine	SMR	264.31	127-79-7
Sulfamethazine	SMT	278.3	57-68-1
Sulfamonomethoxine	SMMT	280.31	1220-83-3
Sulfachlorpyridazine	SCPD	284.72	80-32-0
Sulfamethoxazole	SMTXZ	253.05	723-46-6
Sulfadimethoxine	SDMT	310.01	59-40-5
Sulfaquinoxaline	SQNX	300.34	59-40-5
Sulfisoxazole	SFSXZ	267.30	127-69-5
Tetracycline	TC	444.45	60-54-8
Oxytetracycline	OTC	460.44	79-57-2
Chlortetracycline	CTC	478.89	57-62-5
Demeclocycline	DMCC	464.85	127-33-3
Acetaminophene	AAP	151.1	103-90-2
Carbamazepine	CMZ	236.27	298-46-4
1,7-dimethylxanthine	DMX	194.19	611-59-6
Caffeine	CAF	194.19	58-08-2
Diltiazem	DTA	414.51	42399-41-7
Trimethoprim	TMP	290.32	738-70-5
Tylosin	TL	916.12	1401-69-0
Penicillin G	PG	334.39	61-33-6
Erythromycin	EM	733.93	114-07-8

- 1) 시료 전처리 방법 선정 및 조작 조건의 최적화
- 2) HPLC 및 LC-MS-MS를 이용한 잔류의약품 정성 및 정량 확인 방법
- 3) 분석대상물질의 검출목표와 정량한계의 설정 및 검출한계 극대화

2. 본 론

2.1. 표준물질, 시약에서 분석기기각 분석조건

2.1.1. 표준액 및 시약

STZ(sulfathiazole) 등 22종의 표준물질 및 sulfamethazine-phenyl-¹³C₆ 등 내부표준물질은 Dr. Ehrenstorfer, Sigma, Kanto 사 및 Cambridge Isotope Laboratories사에서 구입하였으며, 추출용매는 J.T Baker사의 잔류농약급 시약을 사용하였다. 증류수는 ELGA-RO system을 통과한 3차 증류수를 사용하였고, sulfuric acid, EDTA, oxalic acid, hydrochloric acid, formic acid, TFA 등 시험에 사용된 모든 시약은 특급 및 그 이상의 수준을 사용하였다.

2.1.2. 고상추출장치 및 분석기기

항생제를 비롯한 의약품 시료는 대부분 친수성화합물질로서 전처리 방법은 고상추출법(SPE, solid-phase extraction) 과 기존의 액-액추출법(LLE, liquid-liquid extraction) 중에서 상대적으로 전처리 방법이 간단하고 일상분석에 효율이 높은 고상추출법을 선택하여 HLB, MAX(Waters), ENVI(Supelco), S-100(Phenomenex) 등 대표적인 종류별로 비교 검토하였다. 분석에 사용된 기기는 HPLC-UV detector(Agilent 1100), HPLC-FLD 및 HPLC(Agilent 1200 SL) - API4000 탠덤형-사중극자 질량분석기(MS-MS, Applied Biosystem) 등을 이용하였으며, 질량분석기의 이온화 방식은 전자분무이온화(ESI, Electro Spray Ionization)법을 이용하였다. 또한 HPLC용 분석컬럼은 Phenomenex사의 Gemini C18을 사용하였다.

2.1.3. LC-MS-MS에서의 MRM 분석방법과 이온화 기작

액체크로마토그래피와 결합된 탠덤형 질량분석기(여기서는 triple quadrupole 타입을 말함) 시스템 구성을 Fig. 2에 나타내었다. 이 장치는 기존의 GC-MS에 의한 정성·정량분석법 적용이 어려운 시료, 즉 큰 분자량, 극성, 이온, 열적 불안정 그리고 휘발성을 가진 화합물의 분석에 적합하다. 이러한 특성을 가진 화합물에 대해 GC-MS를 적용할 경우, 적절한 유도체화를 통해 분석할 수 있으나, 분석단계가 복잡해지고, 검토할 사항이 추가적으로 소요된다. LC-MS-MS를 이용할 경우 이러한 과정이 필요 없기 때문에 분석시간을 크게 단축시킬 수 있는 장점이 있다. MRM(multiple reaction monitoring) 방식이란 분석성분의 모화합물을 특정하고 그 화합물에서만 발생한 특징적인 조각이온 성분을 추출하여 선택적으로 검출할 수 있는 방식이다. 따라서 복잡한 매트릭스와 함께 대상물질이 미량으로 존재할 경우 방해이온 질량에 대한 제거기능이 뛰어나며, LC-MS와 같은 단일 질량분석장

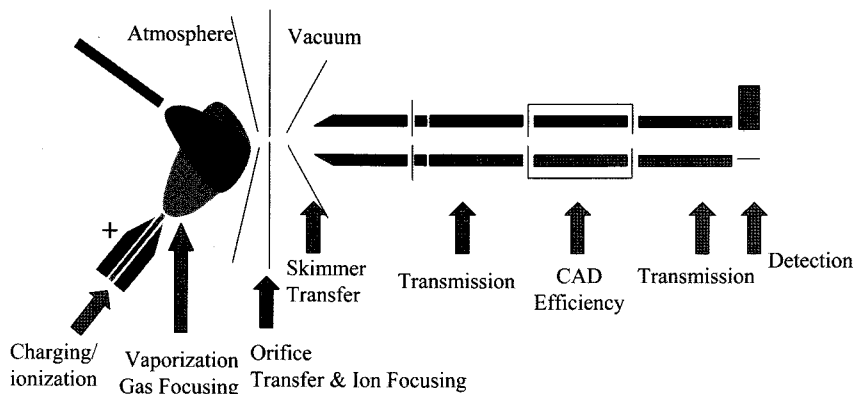


Fig. 2. LC-MS-MS 시스템 구성.

치보다 훨씬 높은 선택성을 가지고 검출이 가능하다. 따라서 불순물과 함께 존재하는 미량물질의 정성기능이 탁월할 뿐 아니라 최근의 텐덤형 질량분석기는 매우 고감도를 제공하므로 극미량의 정량까지 가능해졌다. 참고로 LC-MS-MS를 scan 모드로 사용할 경우, DAD(Diode Array Detector)와 비슷한 감도를 나타내지만, 정량을 목적으로 precursor 이온에서 생성되는 특정 조각 이온(product ion)만을 선택하여 집중적으로 모니터링하는 MRM 방식일 경우, DAD와 비교할 수 없는 고감도를 가진다.

액체크로마토그래피에서 기본적인 분리를 통해 이온원으로 들어온 분석성분은 대기압 상태의 전기장을 갖는 ESI(electrospray ionizer)로 들어가, 분무기(nebulizer)에서 에어로졸 형태가 된 후, 고진공 상태의 포커싱 렌즈를 통해 질량분석관으로 끌려들어가며 생성된 이온을 질량과 하전량과의 비(m/z)에 따라 분리시키고 얻어진 질량스펙트럼을 해석함으로써 대상물질 또는 미지분자의 질량 및 구조를 확인한다. ESI는 근래에 일반화되어가는 이온화방식으로, 고전압을 건 미세한 관에 용액의 시료를 통과시켜 선단부터 대기압에 노출시키는 방법이다. 대표적으로 설명되는 기작으로는 다음과 같다. 시료 용액은 고전압이 걸린 미세한 관을 통과하는 동안 대전하여 과잉 전하를 가진 미세방울이 되며 용매가 증발함에 따라 전하밀도가 점점 커져 클론힘이 응집한계를 넘으

면 클론이 붕괴하여 기상의 이온으로 되고 이때 전하가 시료 분자로 이동하여 분자이온으로 된다.

2.1.4. 시료의 전처리 및 기기분석 운영조건

물시료의 정제용 카트리지는 문헌에서 많이 사용되는 종류를 선정하여 회수율, 정밀도, 정확도 등을 비교·검토하였고, 기본적으로 물시료는 1,000 mL를 내부표준물질과 함께 고상카트리지에서 여과, 0.1% TFA/MeOH 10 mL로 추출하고 1 mL로 최종 농축하였다. LC컬럼은 Phenomenex사의 Gemini C18(2.0 mm×150 mm×3.0 μm)를 사용하였고, 이동상은 0.1% TFA/Acetonitrile과 0.1% TFA/DI Water를 준비하여 시간에 따른 비율변화 프로그램(gradient)으로 기본적인 성분 분리를 시도하였으며 다양한 pH범위를 검토하였다.

2.2. 단계별 분석조건 검토결과

2.2.1. LC-ESI positive-MS-MS-MRM 방법을 이용한 다성분 동시분석조건 검토

LC 컬럼은 Gemini C18 조건에서 이동상을 0.1% TFA/Acetonitrile과 0.1% TFA/DI Water, 유속을 0.2 mL/min로 하여 Table 2와 같은 다단계 gradient 프로그램에서 pH 조건을 검토한 결과, pH < 3 이하의 산성조건에서 피크의 형태와 감도면에서 대체로 양호한 결과를 나타내었다. 질량분석

Table 2. LC-MS-MS를 이용한 동시분석조건 의 예시

Description	HPLC Condition	Description	MS/MS analysis condition
Instrument	HPLC(HP1100)	Instrument	API 4000
Column	Phenomenex Gemini C18	Source Temp	550 °C
Mobile Phase	A: 0.1% TFA/water B: 0.1% TFA/Acetonitrile	Curtain Gas	30
Gradient program	0 min, A:B=100:30	GS1	50
	10 min, A:B=100:300(Equ)	GS2	50
	10 min, A:B=50:50	IS	5500 Voltage
	15 min, A:B=30:70	CAD	6
	20.1min, A:B=0:100	EP	10
Run Time	35 min		

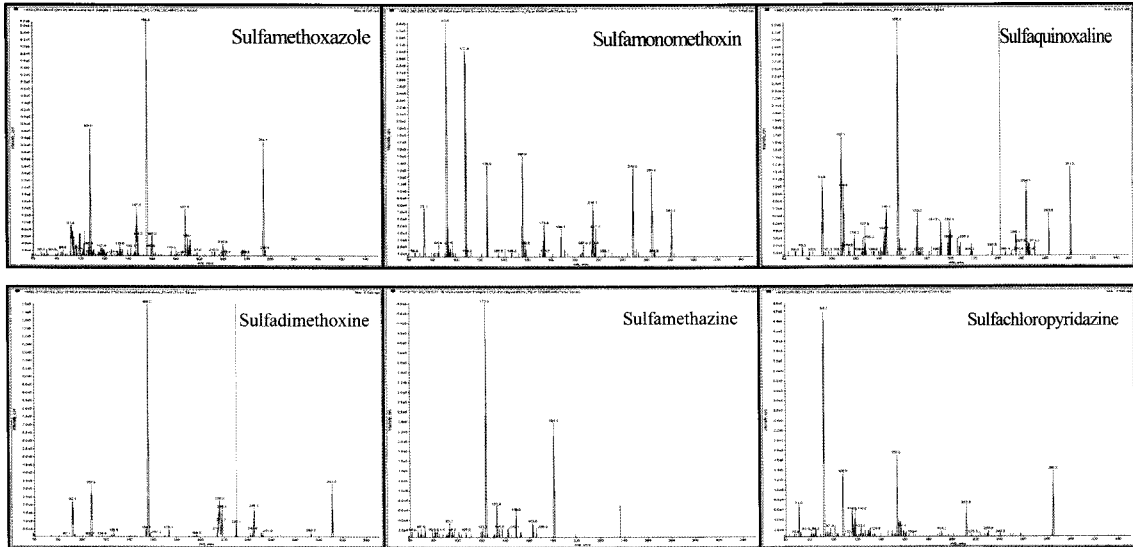


Fig. 3. 연구 대상물질의 질량스펙트럼 예시.

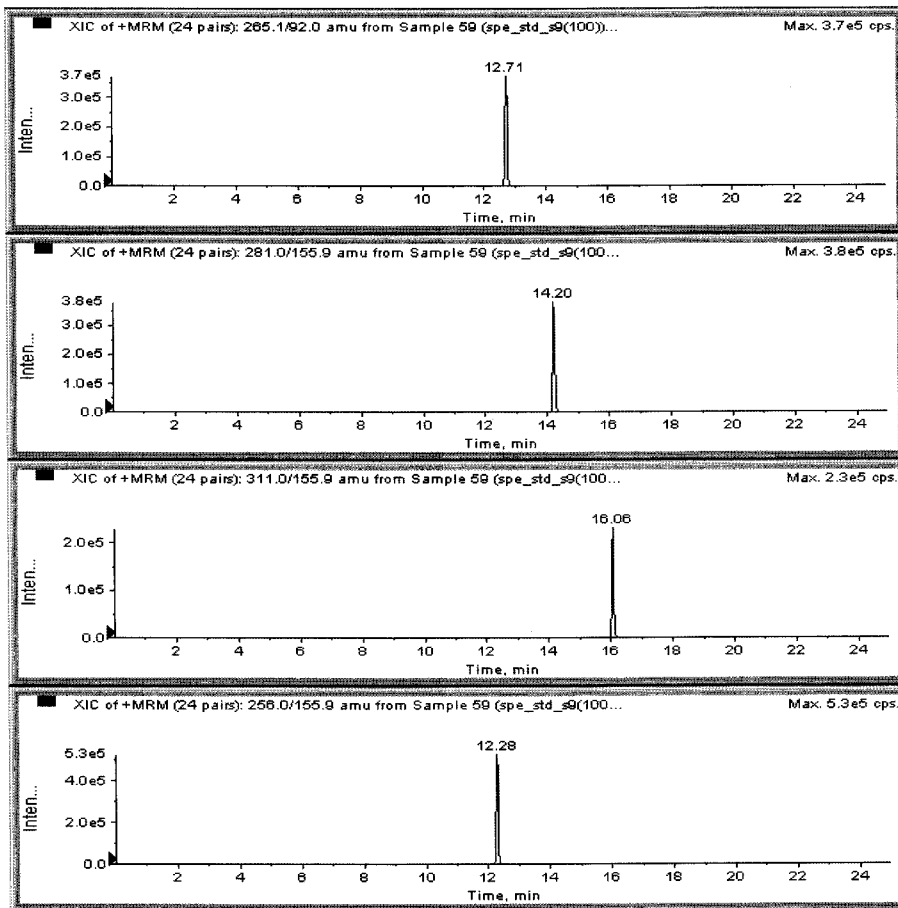


Fig. 4. 100 ng/L 로 표준액을 첨가한 시료의 MRM 크로마토그램 예시.
(상단에서부터 sulfamerazine, sulfamonomethoxine, sulfadimethoxine 및 sulfathiazole)

기의 MRM 방식에서 precursor 이온은 $[M+H]^+$ 즉, 수소화된 분자이온을 사용하였으며 Q2에서 생성된 product 이온을 동시에 모니터링하였다. 각 대상물질의 대표적인 질량스펙트럼과 설파계 항생제에 대한 MRM 크로마토그램을 각각 Fig. 3과 4

에 예시하였다. 또한 Table 2에서 예시한 바와 같은 MS 조건들 즉 DP(Declust potential), CXP, CE(collison energy) 값은 각각의 의약품에 대하여 최적화하였다. Fig. 5에 22개 항생제, 의약품성분에 대한 총이온 크로마토그램을 나타내었다.

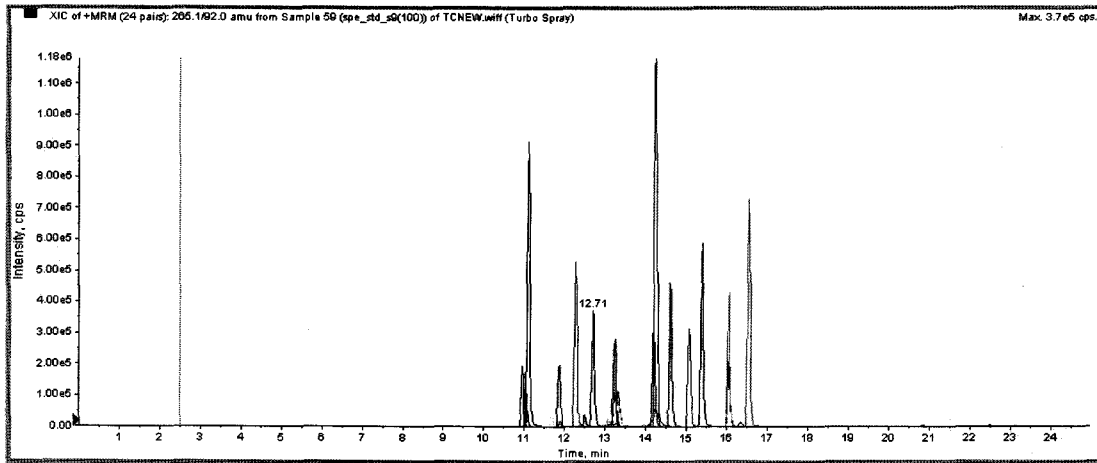


Fig. 5. LC-ESI positive-MS-MS-MRM을 이용한 혼합 표준액 총이온 크로마토그램(TIC).

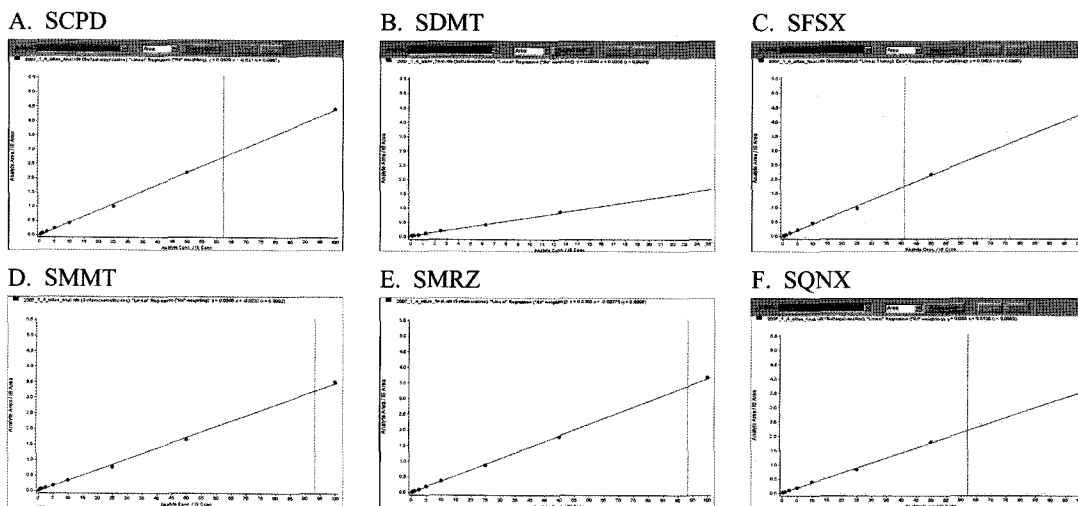
2.2.2. 고상카트리지 종류별 비교결과

항생제 분석을 위한 최적 SPE 카트리지 선정을 위하여 시중 판매되고 있는 9개 카트리지에 대해 회수율 및 표준편차를 비교하였다. 증류수를 참고시료로 이용하였으며, 사전 검토를 통해 EDTA 첨가량 및 황산을 이용한 pH 조건을 각 시료에 첨가하여 조정하였다. 표준물질을 10 ng/L의 농도가 되도록 첨가하고, 각 SPE 카트리지에는 메탄올 및 증류수를 사용하여 사전활성화를 거친 후, 시료를 여과·흡착하였다. 고상추출은 5 mL/min의 유속으로 여과를 거치고 정제수를 이용하여 세척 후 약 20분간 수분을 제거한 후, 0.1% TFA/MeOH를 이용하여 용출한다. 용출액은 Turbo-Vap(질소가스, 40℃)을 이용하여 1 mL까지 농축하였다. 각 시료를 측정된 결과, 실과계 항생제에 대한 9종의 카트리지 중 최저 회수율이 75%였으나 10% 이하의 표준편차를 갖는 것은 HLB뿐이었으며, 그 외에는 14~90% 정도의 큰 편차를 가지는 것으로 나타났다. 테트라사이클린계 항생제의 경우, ENVII8, ENVICARB, LC18은 20%를 밑도는 회수율을 가지는 것으로 나타났으며 그 외에는 50~120% 회수율 범위에서 7~20%의 표준편차를 가지는 것으로 나타났다. 아세트아미노펜

등 기타의약품에 대한 적용 결과에서는 비교적 큰 표준편차의 경향을 보였다. 22개 의약품목에 대해 전체적으로 평가하였을 때는 Waters사의 HLB와 Phenomenex사의 S100-FCH-S 카트리지에 비교적 우수한 회수율과 안정된 표준편차값을 나타내었다.

2.2.3. 표준물질의 검량곡선

2.2.2에서 최적화한 전처리 조건을 이용하여 각각의 표준물질에 대해 분석성분별 감도에 따라 0.25~100 ng/L, 0.063~25 ng/L 범위에서 9개의 표준용액을 증류수 1,000 mL에 첨가하여 전처리하고 검량곡선을 측정하였다. 검량곡선은 단계별로 일정량의 내부표준물질을 첨가하여 전처리 완료된 표준액의 농도에 따른 표준물질 면적 대비 내부표준물질의 면적에 따라 작성되었으며, 시료의 정량에는 동위원소 희석법을 이용하였다. 항생제를 포함하는 의약품 20종에 대해 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ng/L로 9단계의 표준용액을 조제하고 시료와 동일한 방법으로 전처리 후 검량한 결과, 표준용액의 검량선은 모두 양호한 직선성($r = 0.999$)을 나타내었다(Fig. 6).



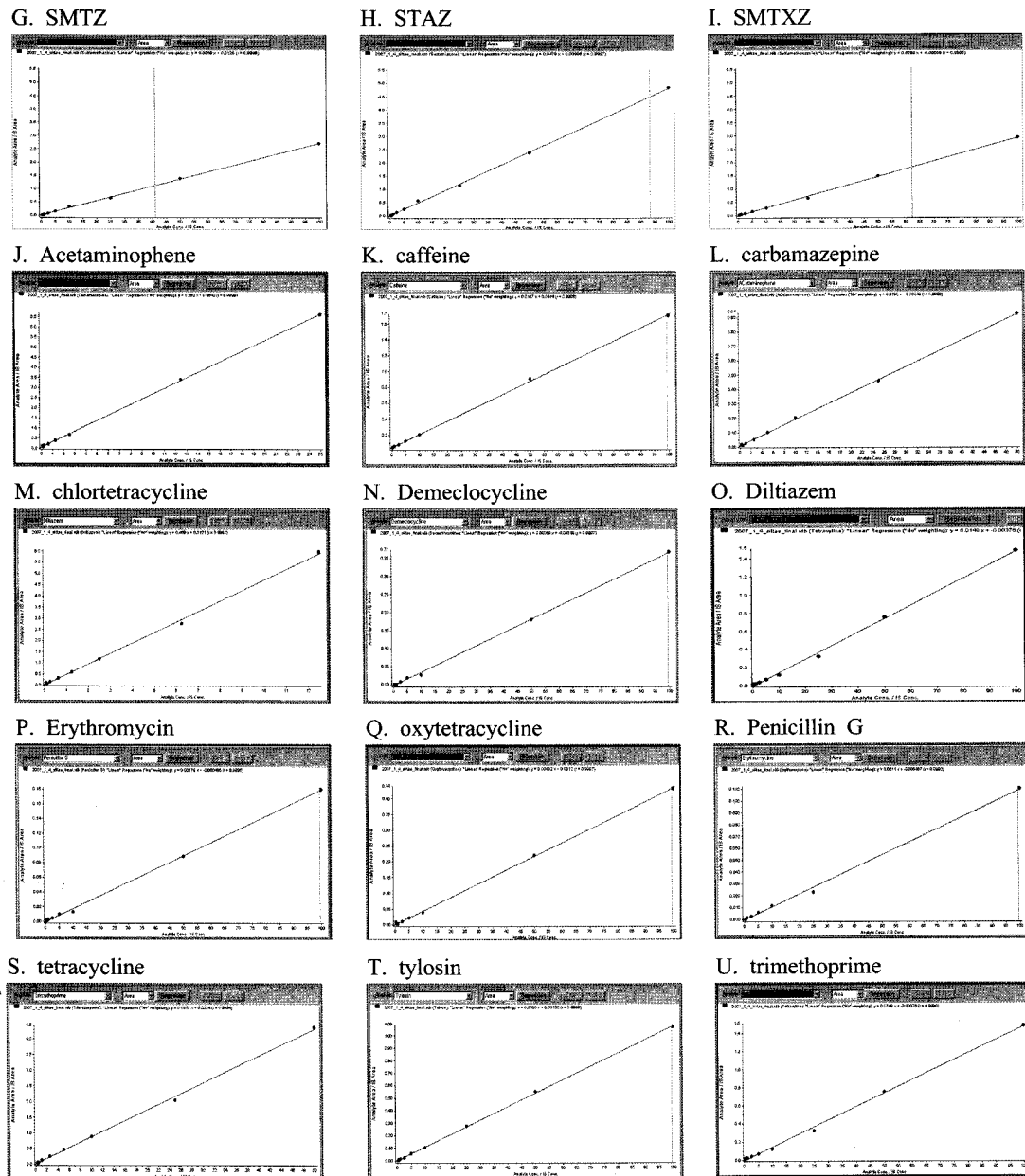


Fig. 6. 각 표준물질의 9단계 농도별 검량곡선의 직선성 평가.

2.2.4. 분석방법의 유효성 평가

이 후, HLB 카트리지를 이용하여 증류수 및 의약품이 검출되지 않은 담 원수에 대해 저농도 범위인 2.5 ng/L와 10 ng/L가 되도록 표준물질을 첨가한 후 위와 동일한 방법으로 추출, 농축 후 7회 반복측정을 통해 정확도 및 정밀도를 측정하였다. 전체 의약품에 대한 정확도 및 정밀도 시험 결과는 Table 3과 같다. 분석결과, 첨가량 대비 검출농도 범위는 설파계 항생제의 경우, 저농도인 2.5 ng/L에서 96~128%였고, 이보다 4배 높은 10 ng/L에서 88~127%로 확인되어 유의차 없이 양호한 회수율이 얻어졌다. 또한 정밀도 평가에서 설파계 항생제의 경우, 상대표준편차(RSD, relative standard deviation)는 2.5 ng/L에서 2.85~11.17%, 10 ng/L에서는 0.99~6.96% 사이로써, sulfadimethoxine(17.1%)을 제외

하면 우수한 정밀도를 나타내었다. 따라서 본 연구에서 확립한 분석법에 의한 정밀, 정확도는 정수 및 원수에 대한 적용이 가능한 것으로 판단되었다.

2.2.5. 검출한계 및 정량한계

지금까지 확립한 전처리 방법 및 기기분석법을 이용하여 설파계 항생제 9종에 대해, 각물질의 장치 검출감도(instrumental detection limits)를 고려하여 2.5 ng/L와 0.625 ng/L로 첨가한 시료를 사용하여 7회 반복 전처리 및 측정된 결과 분석방법의 검출한계(MDL)는 0.028~2.1 ng/L, 실질적 정량한계(PQL, practical quantification limits)는 0.140~10.6 ng/L로 산출되어 낮은 parts per trillion(ppt) 범위의 극미량 존재시 정량분석이 가능함을 알 수 있었다.

Table 3. 조사대상 의약품의 두 농도별 첨가 실험군에 대한 정확도 및 정밀도

물질명	농도(ng/L)	정확도(%)	정밀도
Sulfonamides	2.5	96.4~124	2~10
	10	95~112	2~7
Tetracyclines	2.5	89~134	9~14
	10	85~104	4~11
carbamazepine	2.5	94	3
	10	95	1
acetaminophene	2.5	65	9
	10	110	3
Tylosin	2.5	65	8
	10	85	5
Penicillin G	2.5	113	18
	10	88	11
caffeine	2.5	92	12
	10	86	6

3. 결론

최근의 논문과 학계보고 등에 따르면 독일을 비롯한 미국, 캐나다 등에서 하수처리장 방류수 및 하천수 등에서 설파계 및 테트라사이클린계 항생제의 최대검출 농도는 0.87~2.0 ug/L의 농도로 검출이 되었으며, 1999~2000년 사이 미국의 139개 하천의 80%에서 항생물질을 포함하는 82개 의약품관련 화합물이 검출²⁰⁾이 확인되었으며 국내 수계에서의 일부 항생제 검출사례도 최근 보도된 바 있다. 선진국에 비해 연간 축산물생산량 대비 항생제 사용량이 매우 높은 수준으로 알려진 국내 사정을 고려하면 하천수 및 하수처리장 방류수에 일부 의약품이 검출가능한 농도로 존재함을 예상할 수 있다. 이에 따라 의약품 및 생활관련 화학물질인 PPCP(pharmaceuticals and personal care products)에 대한 물분석법 정립 및 이들 화합물에 대한 실태조사가 향후 환경분석, 처리 및 위해성 평가분야에서 매우 중요한 이슈로 부상할 것으로 예상된다. 이에 따라 본 연구에서는 수중에 존재하는 극미량의 잔류의약품 분석을 위하여 고상추출 등의 최적 전처리 조건의 선정 및 LC-MS-MS를 이용한 다성분 극미량 동시분석 조건 선정을 검토하였으며 주요 결과는 다음과 같다.

1) 대표적인 고상추출(SPE) 카트리지가 9종에 대해 회수율 및 표준편차를 비교·검토한 결과, HLB와 S100-FCH-S가 높은 회수율과 측정값의 재현성에서 비교적 우수한 결과를 나타내어, 본 연구대상 항목의 최적 추출시스템으로 선정하였다. 또한 고상추출장치를 이용한 시료의 전처리과정에서 중요한 요소는 EDTA 첨가량과 pH 범위였으며, 넓은 범위의 극성에 대응하는 카트리지의 선정인 것으로 판단되었다.

2) 선정된 SPE 조건을 이용하여 9단계의 검량곡선용 표준물질을 증류수에 첨가, 고상추출, 농축 후 LC-MS-MS로 분석한 결과, 0.25~100 ng/L 범위의 표준액 농도에서 대상

의약품 22종 모두 상관계수가 0.999 이상으로 직선성이 매우 양호하였다. 또한 분석방법의 검출한계가 0.028~2.1 ng/L 범위로써, 기존 HPLC나 LC-MS보다 상대적으로 감도가 우수하여 극미량까지 분석이 가능하였으며, 분석법의 정밀도 및 정확도 역시 설파계 항생제의 경우, 정밀도 0.99~11%, 정확도 88~128% 범위로써 매우 우수한 결과를 나타내었다.

본 연구결과를 바탕으로, 분석법이 완료된 항생제 및 의약품에 대해서 국내 주요하천에 대한 지속적인 모니터링을 실시하고, 또한 매년 증가되고 있는 의약품 사용실태에 맞춰 우선조사대상 의약품을 점차적으로 확대하여, 분석법 정립 및 실태조사를 병행할 계획이다.

참고문헌

1. 국민참여연대, 축수산 동물약품(항생제) 실태 보고서 I. 1~3(2005).
2. 강재현, 메디칼 에세이 : 항생제 남용과 건강, 한국농단, 173, 150~151(2004).
3. Petrovic, M., Dolores, M., Hernando, M.D., Silvia Diaz-Cruz, M., Barcelo, D., "Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review," *J. Chromatography A*, **1067**(1-2), 1~14(2005).
4. Van De Steene JC., Mortier KA, Lambert WE., "Tackling matrix effects during development of a liquid chromatographic-electrospray ionisation tandem mass spectrometric analysis of nine basic pharmaceuticals in aqueous environmental samples," *J. Chromatography A*, **1123**(1), 71~81(2006).
5. AbuRuz, S., Millership, J., McElnay, J., "The development and validation of liquid chromatography method for the simultaneous determination of metformin and glipizide, gliclazide, glibenclamide or glimiperide in plasma," *J. Chromatography B*, **817**(2), 277~286(2005).
6. 정지윤, 홍무기, 최동미, 식품 중 설파아미드계 동물용 의약품의 잔류실태, 분석과학, **20**(1), 84~90(2007).
7. Yoon, S.Y., Kim, H.J., Shin, J.G., Baek, Y.J., "Quantitative determination of sulfonamide residues in milk by high-performance liquid chromatography fluorescence detector," *J. Korea Dairy Technol. Sci.*, **21**, 7~12(2003).
8. 한국화, 김상돈, "방류수 내 잔류 의약품의 위해성 평가: 수서생물에 의한 독성평가와 GC/MS를 이용한 수질시료 분석," 대한환경공학회 춘계학술연구발표회, pp. 389~393(2004).
9. Wan-Ching, L., Hsin-Chang, C., Wang-Hsien, D., "Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography-mass spectrometry," *J. Chromatography A*, **1065**(2), 279~285(2005).

10. Milman, B. L., Identification of chemical compounds. Trends in analytical chemistry, **24**(6), 493~508(2005).
11. Shinwoo, Y., Jongmun, C., Carlon, K., "Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic waste water by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry," *J. Chromatography A*, **1097**(1-2), 40~53(2005).
12. Lykkeberg, A. K., Halling-Sørensen, B., Cornett, C., Tjørnelund, J., Hansen, S.H., "Quantitative analysis of oxytetracycline and its impurities by LC-MS-MS," *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **34**(2), 325~332(2004).
13. Zhu, J., Snow, D.D., Cassada, D.A., Monson, S.J., Spalding, R.F., "Analysis of oxytetracycline, tetracycline, and chlortetracycline in water using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *J. Chromatography A*, **928**(2), 177~186(2001).
14. Fuh, M.R.S., Chan, S.A., Wang, H.L., Lin, C.Y., "Determination of antibacterial reagents by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry," *Talanta*, **52**(1), 141~151(2000).
15. Gómez, M. J., Petrović, M., Fernández-Alba, A. R., "Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters," *J. Chromatography A*, **1114**(2), 224~233(2006).
16. Hutchinson, M. J., Young, P. B., Kennedy, D. G., "Conformation of carbodox and olaquinox metabolites in porcine liver using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry," *J. chromatography B*, **816**(1-2), 15~20(2005).
17. Alfredsson, G., Branzell, C., Granelli, K., Lundström, Å., "Simple and rapid screening and conformation of tetracyclines in honey and egg by a dipstick test and LC-MS/MS," *Alaytica chimica acta*, **529**(1-2), 47~51(2005).
18. Hirsch, R., Ternes, T. A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F., Kratz, K.L., "Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry," *J. Chromatography A*, **815**(2), 213~223(1998).
19. Golet, E. M., Alder, A. C., Giger, W., "Environmental exposure and risk assessment of fluoroquinolone antibacterial agents in wastewater and river water of the Glatt Valley Watershed, Switzerland," *Environ Sci Technol.*, **36**(17), 3645~3651(2002).
20. Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T., "Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance," *Environ Sci Technol.*, **36**(6), 1202~1211(2002).