

HPLC를 이용한 축·수산 식품 중 잔류 노보비오신의 분석

이병규 · 이철우 · 이상주 · 정은하 · 임현균 · 한상범*

중앙대학교 약학대학

(2007. 5. 28. 접수. 2007. 8. 3. 승인)

Determination of residual novobiocin in livestock products and fisheries products by HPLC

Byung Kyu Lee, Cheol-Woo Lee, Sang-Ju Lee, Eun Ha Jung,
Hyun Kyun Lim and Sang Beom Han*

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

(Received May 28, 2007; Accepted August 3, 2007)

요약: 본 연구에서는 축산 식품으로 소고기, 돼지고기, 닭고기를 선택하고, 수산 식품으로는 광어와 뱀장어를 선택하여 축·수산 식품 중에 잔류하는 노보비오신의 신속하고 간단한 고속액체크로마토그래피(HPLC) 분석법을 확립하였다. 각 대상 조직시료 일정량에 메탄올을 가하여 균질화한 후, 핵산 용매를 가하여 분석에 방해가 되는 지용성 불순물을 추출 제거하였다. 남은 액을 질소 기류 하에서 완전 건조하고, 여기에 이동상을 가하여 재분산한 후, 0.45 μm syringe filter로 여과하고, 이 중 20 μL 를 HPLC에 주입하였다. HPLC 칼럼으로 phenyl hexyl 칼럼(4.6 \times 150 mm, 5 μm)을 사용하였고, 이동상으로는 아세토니트릴과 10 mM 인산수소나트륨(monobasic sodium phosphate, pH 2.5)의 혼합액(50/50, v/v)을 사용하였으며, 유속은 1.0 mL/min, UV 검출 파장은 254 nm이었다. 각 대상 조직시료에 0.5~5 $\mu\text{g/g}$ 의 농도 범위로 표준품을 가하고 검량선을 작성한 결과, 상관계수(r^2)는 모든 조직 시료에서 CODEX 기준에 적합한 직선성($r^2 > 0.95$)을 보였으며, 정량한계는 0.5 $\mu\text{g/g}$ 이었다. 각 조직별 평균 회수율은 소 등심 시료가 99.8%, 돼지 삼겹살 시료가 102.4%, 닭 가슴살 시료가 91.0%, 광어 살코기 시료가 104.0%, 뱀장어 살코기 시료가 93.0%이었다. CODEX 기준을 참조하여 분석법에 대한 검증을 실시한 결과, 양호한 직선성, 정밀성, 정확성 및 회수율을 얻었다.

Abstract: A simple and rapid high-performance liquid chromatography assay for the determination of residual novobiocin levels in bovine, porcine, chicken, flatfish and japanese eel muscle has been developed and validated. The separation condition for HPLC/UV was optimized with phenyl hexyl (4.6 \times 150 mm, 5 μm) column with 10 mM monobasic sodium phosphate buffer (pH 2.5)/acetonitrile (50/50, v/v) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min and detection wavelength was set at 254 nm. Residues were extracted from tissue by blending with methanol and lipid materials were removed with n-hexane. Then, the methanol extract was evaporated to dryness under a nitrogen stream, reconstituted in the mobile phase. Aliquot of the organic extract was decanted

* Corresponding author

Phone : +82-(0)2-820-5596 Fax : +82-(0)2-3280-5596

E-mail: hansb@cau.ac.kr

and filtered through 0.45 μm syringe filter. The 20 μL of the resulting solution was injected into the HPLC system. The calibration ranges were 0.5–5 $\mu\text{g/g}$ and calibration curves were linear with coefficients of correlation better than 0.95. The limits of quantification were 0.5 $\mu\text{g/g}$ for all muscles. The recoveries of bovine, porcine, chicken, flatfish and japaneseel muscles were 99.8 %, 102.4 %, 91.0 %, 104.0 % and 93.0 %, respectively. The procedures were validated according to the CODEX guideline, determining specificity, linearity, accuracy, precision, quantitation limit and recovery.

Key words: Novobiocin, residue, livestock products, fisheries products, HPLC/UV

1. 서 론

동물용의약품은 가축, 가금, 어류 등의 질환 예방 및 치료목적으로 사용되고 있으며, 최근에는 축·수산업의 경영형태가 대규모, 집산화되면서 성장촉진의 목적으로 다량의 항생물질이 축산농가나 어류양식장에서 사용되고 있다.¹⁻³ 의약분업 이후 의료기관의 항생제 사용은 어느 정도 규제가 이루어지고 있으며 사용량에 있어서도 다소 감소추세에 있으나, 전체 항생제 사용량의 50 % 정도를 소비할 것으로 추정되는 축·수산업에서는 연간 1,500톤 정도의 항생제가 동물의 질병치료 뿐만 아니라 성장촉진 목적으로 무분별하게 사용되고 있는 것으로 알려져 있다.

축·수산업의 항생제 남용이 인체 내성률 증가에 미치는 영향에 대하여 과학적 논쟁이 아직도 진행되고 있으나, 분명한 것은 국내 축·수산업의 항생제 사용량은 선진국과 비교하여 지나치게 많다는 것이다. 소비자들은 국민소득의 증가와 더불어 더욱 위생적이고 안전한 축·수산 식품을 선호하고 있는 반면, 축산 식품 중 동물용 의약품 잔류 사례는 계속해서 증가하고 있다.⁴

노보비오신(Novobiocin, N-[7-[3-O-(Aminocarbonyl)-6-deoxy-5-C-methyl-4-O-methyl-beta-L-lyxo-hexopyranosyl]oxy]-4-hydroxy-8-methyl-2-oxo-2H-1-benzopyran-3-yl]-4-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)benzamide)은 *Strepto-*

*myces niveus*에 의해 생산되는 약산성 항생제로서, coumarin 부분과 benzoic acid 유도체 부분, 당성분인 noviose 부분으로 구성되어 있다(Fig. 1). 1950년대 후반에 경구용 제제와 주사제로 개발되었으며, 주로 그람양성세균에 대하여 항균력을 가지고 있다. 하지만, 간장장애, 혈액이상 등의 부작용 발생률이 10 %를 넘어서고, 내성균의 높은 발생률로 인하여 한때 개발이 중단되기도 하였다.^{5,6}

노보비오신의 약리작용은 fluoroquinolone처럼 세균의 DNA topoisomerase(gyrase)를 억제하는 것이며, 단독 투여시에는 정균작용을 나타내고 다른 항생제와 복합제로 사용하면 살균작용을 나타낸다.⁷ 현재 FDA에서는 포도상구균에 의한 중증의 감염질환에 한하여, 다른 약물의 선택이 불가능할 경우에만 처방을 허가하고 있을 정도로, 인체에 적용하는 것은 여전히 신중하게 고려되고 있다.⁸

한편 노보비오신은 축산동물의 사료에 첨가되어 사용하거나 젖소의 유방염을 치료하기 위한 주사제로도 이용되고 있다. 국내에서는 노보비오신을 네오마이신과 디하이드로 스트렙토마이신과의 복합제로 만들어 젖소의 유방염 치료 주입제로 사용하고 있으며, 사용 후 72시간 내에 착유한 우유는 식용으로 사용하지 못하도록 하고 있다. 미국에서는 이미 1982년에 우유 중의 잔류허용한계(MRL)를 0.1 $\mu\text{g/g}$ 로 설정하여 관리하고 있으며,⁹ 우리나라에서도 노보비오신의 잔류허용한계를 소, 닭, 칠면조, 오리고기에서 각각 1.0 $\mu\text{g/g}$ 이하로 설정하고 있다.¹⁰

축·수산물의 잔류물질 분석방법은 분석시료 자체가 동물성으로 그 구성 성분이 매우 복잡하고 종류가 다양하며, 잔류허용한계(MRL) 이하를 분석할 수 있는 고감도의 분석기법이 적용되어야 한다.¹¹ 특히, 축·수산 식품은 장기보관이 어렵고 또 식용 적부판정을 빨리 하여야 하므로 분석방법이 신속하고 정확하여야 한다.

기존의 축·수산 식품 내의 잔류물질 검사법 중 미

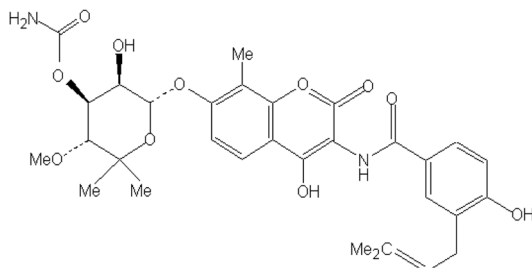


Fig. 1. Chemical structure of novobiocin (MW : 611.6).

생물학적 분석법, 면역학 시험법¹¹(미생물 수용체 분석법)은 기기분석법에 비해 시간이 많이 걸리고, 특이성이 낮으며 항생물질의 동정과 정량결과에 대한 정밀성 및 정확성이 떨어지고, 새로운 물질의 증가와 분석 결과의 법률적 해석에 따라 문제점이 발생하는 등 많은 단점이 있다. 따라서, 최근에는 대상물질의 확인과 정량적 분석이 가능한 박층크로마토그래피(TLC), 가스크로마토그래피(GC), 액체크로마토그래피(HPLC), 질량분석기(MS) 등의 방법이 많이 사용되고 있다.

하지만, 노보비오신에 대하여 국내 식품공전에는 아직도 미생물시험법이 정량시험법으로 규정되어 있을 뿐, 정밀기기를 이용한 분석법이 확립되어 있지 않으므로, 본 연구에서는 축·수산 식품에 잔류하는 노보비오신의 고속액체크로마토그래피 분석법을 개발하였고 CODEX 기준에 따르는 분석법 검증^{12,13}을 실시하여 분석법의 신뢰성을 제고하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

분석에 사용된 노보비오신(novobiocin sodium) 표준품은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, Mo, USA)로부터 구입하였고, 아세트니트릴과 메탄올, 탈이온수(J.T. Baker, Phillipsburg, MT, USA), 헥산(Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, USA)은 HPLC-용을 사용하였다. 인산수소나트륨과 인산(Junsei Chemical, Tokyo, Japan), 무수황산나트륨(Kanto Chemical, Tokyo, Japan)은 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

HPLC-용 펌프로 Hitachi L-2130 low-pressure gradient pump(Hitachi High-Technologies Corp., Tokyo, Japan)를, 주입기는 Hitachi L-2200 자동주입기를, 칼럼 오븐으로는 Hitachi L-2300을, UV 검출기로는 Hitachi L-2400 등을 사용하였다. HPLC 칼럼은 phenyl hexyl(4.6×150 mm, 5 μm, Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA)칼럼을 사용하였으며, data 처리장치로는 EZChrome Elite (Ver. 3.1.3)를 이용하였다. 시료 균질화를 위하여 믹서기(Hanil Electric, Seoul, Korea)를 사용하였으며, 추출을 위하여 왕복진탕기(Vision Scientific Co. Ltd., Taejon, Korea)와 원심분리기(Model MF-550, Hanil Science Industrial Co. Ltd., Incheon, Korea)를 사용하였다.

2.2. 시료 채취

축산물로 사용한 소 등심, 돼지 삼겹살 및 닭 가슴

살은 서울시 동작구 흑석동의 정육점에서 구입하였고, 수산물로 사용한 광어와 뱀장어는 서울시 동작구 노량진 수산시장에서 구입하였다. 각각의 축·수산물은 구입 후 -20°C 이하에서 냉동 보관하였으며, 분석할 때에는 실온에서 녹인 후 사용하였다.

2.3. Blank 조직 시료 및 표준 조직 시료 전처리

고속믹서기로 균질화한 각 조직의 blank 시료 5 g에 무수황산나트륨(sodium sulfate anhydrous) 5 g과 메탄올 15 mL를 가하여, 1시간 동안 shaker로 흔들어서 추출한 뒤, 3000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 메탄올 추출액을 취하고, 여기에 헥산 15 mL를 가하여 비극성 성분들을 제거한 후, 남은 액을 40°C에서 질소기류로 완전히 건조시켰다. 건조한 추출물에 이동상 250 μL를 가하여 재분산하고, 0.45 μm syringe filter로 여과한 후, 이 중 20 μL를 HPLC에 주입하였다. 표준검량선을 작성하기 위하여 노보비오신 표준품을 메탄올에 녹여 1 mg/mL로 만든 후, 이 용액을 적당히 희석하고 균질화한 각 조직 시료 5 g에 spike하여 노보비오신의 농도가 0.5, 1(MRL), 2, 3, 4, 5 μg/g이 되도록 표준 조직 시료를 만들었다. 각 표준 조직 시료를 blank 조직 시료와 같은 방법으로 전처리하고 HPLC에 주입하여 크로마토그램을 얻었다(Fig. 2).

2.4. HPLC 조건 최적화

축·수산 식품 중에 잔류하는 노보비오신의 분석은 이미 보고된 HPLC/UV 분석법¹⁴⁻²²과 LC-MS/MS 분석법²³을 참고하여, 이동상 조성, 칼럼, 전처리법 등을 변화시키면서 최적화된 결과, phenyl hexyl(4.6×150 mm, 5 μm) 칼럼을 선택하였고, 이동상으로 아세트니트릴과 10 mM 인산수소나트륨(monobasic sodium phosphate, pH 2.5)의 혼합(50/50, v/v)을 사용하였으며, 유속은 1.0 mL/min, UV 검출파장은 254 nm를 유지시켰다.

2.5. 분석법의 검증(Validation)

각 표준 조직 시료로부터 노보비오신 0.5~5 μg/g의 농도에 대한 노보비오신의 피크 면적을 이용하여 검량선을 작성하였으며, 각 검량선의 상관계수(coefficient of correlation, r^2)를 구하였다(Fig. 3).

각 표준 조직 시료에 대한 노보비오신 분석법의 정확성(%)과 정밀성(coefficient of variation, C.V.)을 평가하기 위하여, 하루에 실험을 5번 시행하여 일내(intra-batch) 정밀성, 정확성을 구하였고, 5일간 실험을

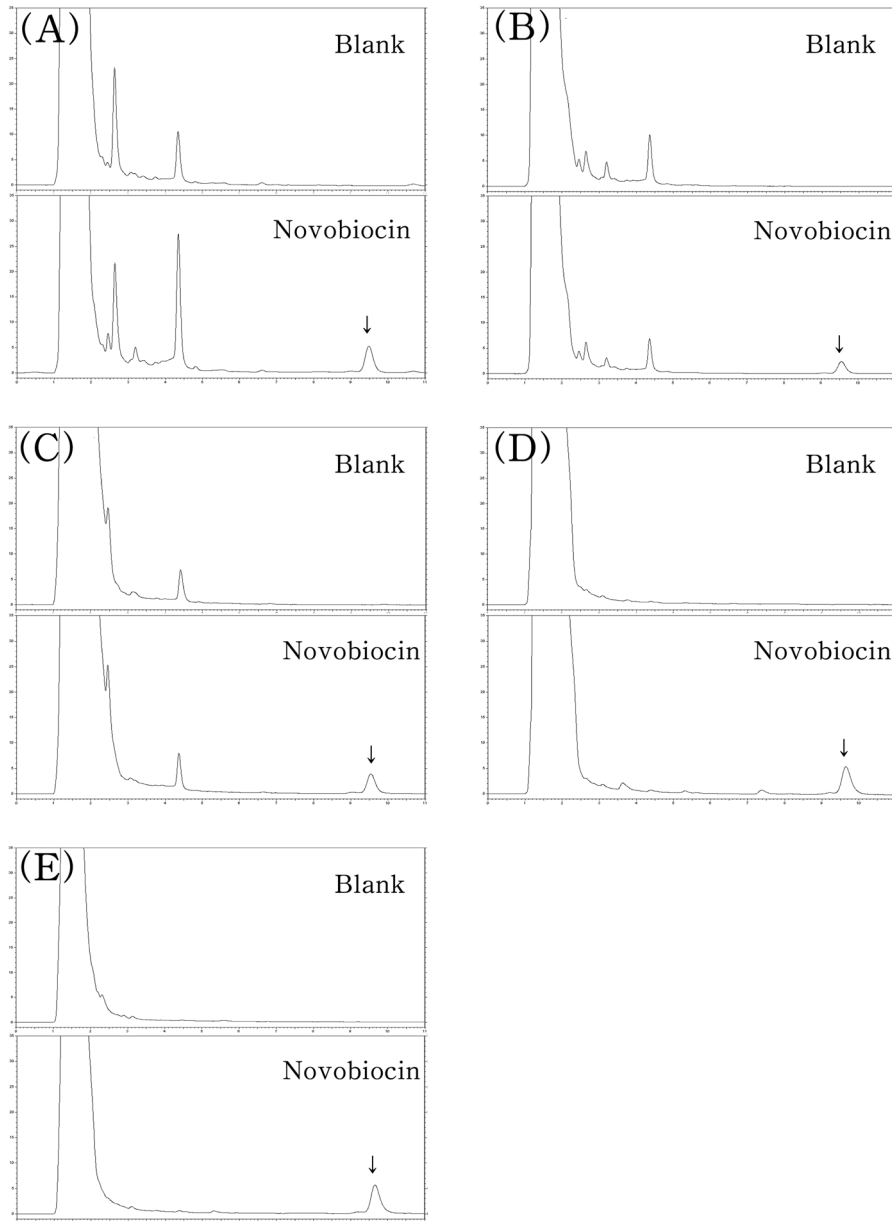


Fig. 2. HPLC chromatograms of blank samples (above) and a fortified (5 µg/g) novobiocin (below) in (A) bovine muscle, (B) porcine muscle, (C) chicken muscle, (D) flatfish muscle and (E) japanese eel muscle.

행하여 일간(inter-batch) 정밀성을 구하였다(Table 1).

각 표준 조직 시료를 blank 조직 시료와 같은 방법으로 분석하였을 때, 정량한계 농도는 신호대 잡음비(S/N ratio)를 9 이상으로 하고 정밀성이 20% 이하이고 정확성이 80~120%인 조건을 만족하는 농도로 정하였다.

각 조직 시료에 대한 회수율을 검토하기 위하여, 노

보비오신의 농도가 0.5, 1, 2, 5 µg/g이 되도록 spike한 조직 시료와 동일한 농도의 노보비오신 표준액을 같은 HPLC 조건에서 분석하였다. 분석결과 얻어진 크로마토그램으로부터 노보비오신의 피크 면적비를 구하였으며, 이를 각 조직 시료에 대하여 6회 반복 실험하였다(Table 1).

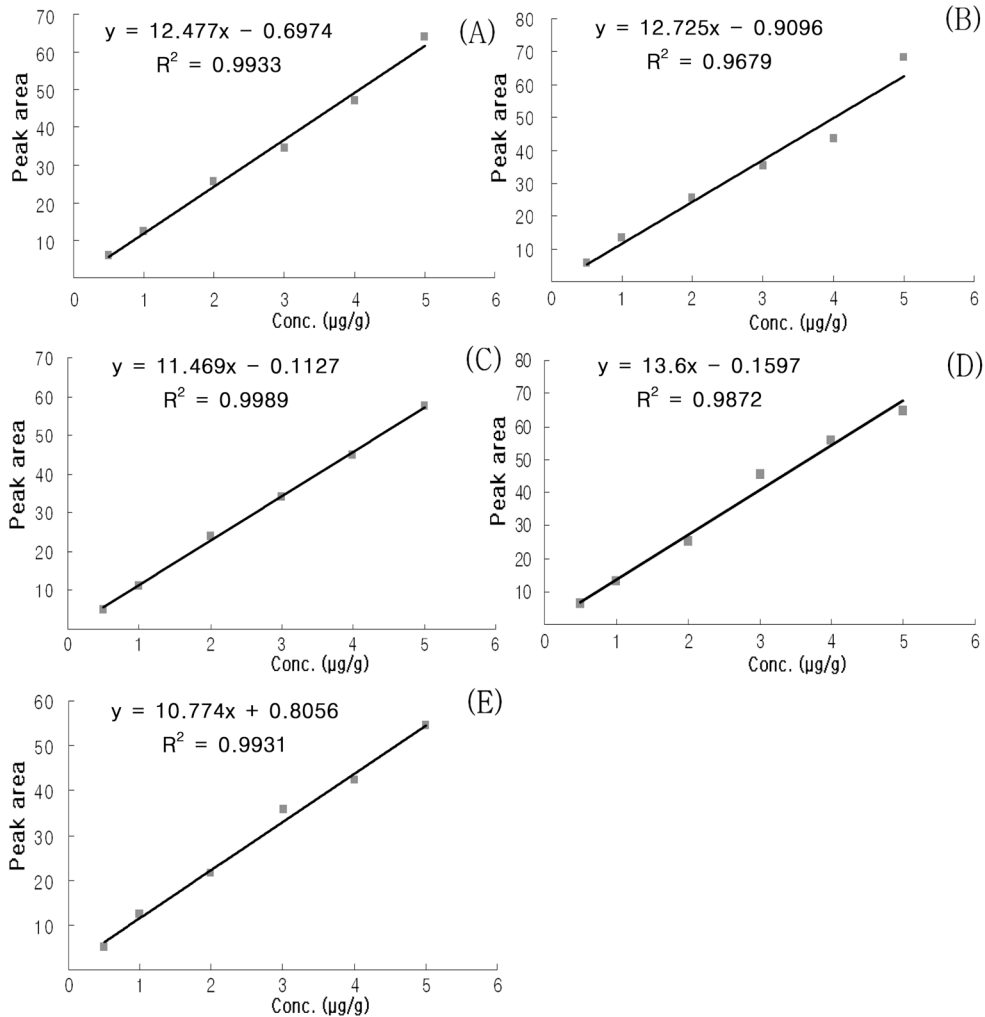


Fig. 3. Linear regression lines of novobiocin in (A) bovine muscle, (B) porcine muscle, (C) chicken muscle, (D) flatfish muscle and (E) japanese eel muscle.

3. 결과 및 고찰

축·수산 식품에 잔류하는 노보비오신의 HPLC 분석 방법 중 시료전처리 조건, 고정상, 이동상의 조성, 검출 파장 등을 변경하며 노보비오신의 분석 감도, 간섭물질로부터의 분리능, 머무름 시간, 피크 대칭성 등을 최적화하였다. 그 결과, 개발한 분석 조건에서 얻은 blank 조직 시료와 5 µg/g의 농도로 spike한 표준 조직 시료의 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다. 소 등심, 돼지 삼겹살, 닭 가슴살, 뱀장어와 광어 살코기 시료에서 잔류 노보비오신의 머무름 시간은 약 9.5분이었으며, 축·수산 식품 시료 내의 다른 성분들로부터 간섭을 받

지 않고 11분 이내에 양호하게 분리되었다.

축·수산 식품 5 종에 대하여 전처리 단계에서 메탄올로 추출 및 제단백(protein precipitation)한 후, 헥산 용매로 액체-액체 추출(liquid liquid extraction, LLE)하여 비극성인 성분들을 모두 제거함으로써, 조직 시료 중 어떠한 성분도 노보비오신보다 머무름 시간이 더 크지 않았다. 이로 인하여 축·수산 식품 중 잔류 노보비오신의 총 분석시간을 크게 단축할 수 있었다.

HPLC 칼럼으로 가장 많이 사용되는 end-capping이 되어있는 ODS 칼럼과 phenyl hexyl 칼럼, 최근에 소개되어 고효율 분석에 많이 사용되고 있는 monolithic 칼럼^{24,30}을 비교 하였다. 3 가지 칼럼 중 monolithic

칼럼의 분리 시간이 가장 짧았으나, 노보비오신과 식품 중의 다른 간섭 성분들의 분리능이 좋지 않았다. Phenyl hexyl 칼럼의 경우 end-capping이 되어있는 ODS 칼럼과 비교하여 분석 시간은 거의 유사하였으나, 노보비오신의 피크가 ODS 칼럼에서 분석하였을 경우보다 피크폭이 더 좁았으며, 피크 대칭성도 더 우수하였다. 따라서 monolithic 칼럼보다 분석 시간은 길지만 분리능이 좋고, 노보비오신의 피크 형태가 개선된 phenyl hexyl 칼럼을 선택하여 분석을 수행하였다.

잔류 노보비오신을 분석하기 위한 이동상의 조성을 결정하기 위하여 순상크로마토그래피^{16,17}용 이동상은 먼저 제외하였고, 역상 크로마토그래피에 적당한 완충 용액으로 trifluoroacetic acid(TCA),¹⁹ 10 mM 인산수소나트륨(monobasic sodium phosphate)¹⁴과 5-10 mM 인산(phosphoric acid)^{18,20,22} 중, 일반적으로 고속액체 크로마토그래피에 가장 많이 사용되는 인산수소나트륨을 선택하였다. 특히 인산을 이동상으로 사용하였을 때는 머무름 시간의 재현성이 좋지 않았다. 노보비오신은 pK_{a1} 이 4.3, pK_{a2} 가 9.1로 약산에 해당하며,¹⁹ 이를 바탕으로 이동상 완충용액의 pH를 2.5로 조절하였다. 이동상의 용리 조건으로는 많은 문헌에 제시되어

있는 기울기 용리(gradient elution)^{18,19,21} 대신 등용매 용리(isocratic elution)를 실시하였다. 이는 대부분의 노보비오신 분석 문헌들이 노보비오신의 이성질체 및 분해 산물 등을 분석하는 조건이어서, 기울기 용리로 많은 수의 노보비오신 이성질체를 동시에 분석하려고 시도하였기 때문이다. 본 연구에서는 조직 시료 중 노보비오신 성분만 분석하였으므로, 아세트니트릴과 10 mM 인산수소나트륨(monobasic sodium phosphate, pH 2.5)의 혼합액(50/50, v/v)으로 등용매 용리 하여도 선택적으로 노보비오신을 검출할 수 있었다.

노보비오신의 검출파장으로 문헌에서는 254 nm 또는 340 nm를 사용하였다. 이에 본 연구에서 두 파장에 대한 노보비오신의 분석 감도를 비교하였는데, 두 파장 사이에서 감도의 큰 차이가 없었다. 그러나, 254 nm에서 시료 중 머무름 시간이 짧은 극성 성분들의 피크가 뚜렷하게 관찰되어 254 nm로 검출파장을 선택하였다.

CODEX 기준을 참고하여, 개발된 축·수산 식품 시료에 0.5(MRL의 1/2배)~5(MRL의 5배) $\mu\text{g/g}$ 의 농도 범위로 노보비오신 표준품을 첨가하고, 전처리하여 HPLC로 분석하였을 때, 검량선의 회귀곡선과 방정식

Table 1. Accuracy, precision and recovery of HPLC analysis for novobiocin in animal muscles

Matrix	Conc. ($\mu\text{g/g}$)	Precision (C.V., %)		Accuracy (%)	Recovery (n=6, %)
		Intra-day	Inter-day		
Bovine muscle	0.5	5.89	9.29	94.50	91.65
	1.0	4.85	4.14	106.64	101.34
	2.0	2.95	2.46	104.74	107.13
	5.0	3.85	2.75	95.62	98.95
Porcine muscle	0.5	2.15	7.31	104.60	99.49
	1.0	2.39	5.16	105.11	101.96
	2.0	2.10	2.62	102.44	106.24
	5.0	4.21	3.76	101.32	102.03
Chicken muscle	0.5	8.69	3.50	94.41	91.13
	1.0	4.92	1.69	98.20	90.30
	2.0	4.75	4.66	92.63	96.44
	5.0	4.45	4.09	89.87	86.04
Flatfish muscle	0.5	2.59	3.35	88.52	101.89
	1.0	2.14	8.22	97.72	105.78
	2.0	2.89	6.81	93.53	106.34
	5.0	2.87	7.72	96.74	101.94
Japanese eel muscle	0.5	1.54	9.12	87.13	93.93
	1.0	5.76	7.89	102.75	96.67
	2.0	4.17	3.97	99.99	93.60
	5.0	4.28	4.86	101.41	87.62

을 Fig. 3에 나타내었다. 일정 농도 범위 내에서 5 종의 시료 모두가 상관계수(r^2) 0.95 이상으로 CODEX 기준에 적합하였다.

일내 정밀성, 정확성을 평가하기 위하여 5 종의 축·수산 식품 시료별로 노보비오신의 4 가지 농도에 대하여 하루에 5번 반복 실험하였으며, 일간 정밀성을 확인하기 위하여 5일간 반복 실험하였다. 정밀성은 노보비오신 피크 면적의 표준편차를 평균 피크 면적값으로 나눈 비의 백분율(%)로 구하였고, 정확성은 검량선에 의하여 정량한 농도의 평균값을 기지의 농도로 나눈 비의 백분율(%)로 구하였다. Table 1에 본 분석법의 정확성과 정밀성에 대한 결과를 나타내었다. 각각의 시료와 농도에서 노보비오신의 일내 정밀성(C.V., %)은 1.54~8.69%, 일간 정밀성(C.V., %)은 1.69~9.29%, 정확성은 87.13~106.64%로 양호한 결과를 얻었다.

축·수산 식품 중 잔류 노보비오신의 정량한계는 크로마토그램 상에서 신호 대 잡음비(S/N ratio)를 9 이상으로 하고 정밀성이 20% 이하이고, 정확성이 80~120%인 조건을 만족하는 농도로 하여 5 종의 축·수산 식품 시료 모두 동일하게 0.5 µg/g로 정하였다. 즉, 우리나라의 식품 중 노보비오신의 잔류허용한계(1.0 µg/g) 보다 낮은 농도로 정량한계를 설정하였다.

5 종의 축·수산 식품 시료에서 회수율을 검토하기 위하여, 각 조직 시료별로 6회 반복 실험한 결과, 각 조직별 평균 회수율은 소 등심에서 99.8%, 돼지 삼겹살에서 102.4%, 닭 가슴살에서 91.0%, 광어 살코기에서 104.0%, 뱀장어 살코기에서 93.0%이었다(Table 1). 이는 CODEX 기준에서 규정하는 100 µg/kg 이상의 농도에서 허용되는 회수율의 범위 80~110%를 만족하는 결과이다.

이미 보고된 노보비오신의 HPLC 및 LC-MS/MS 분석법들은 순상 칼럼 또는 전형적인 역상 ODS 칼럼을 사용하였고, 주로 기울기 용리를 하여 원료의약품, 의약품제제, 우유, 사람혈장 및 혈청, 지표수 등에서 노보비오신을 분석하는데 이용되었다. LC-MS/MS 분석법을 제외한, 대부분의 문헌에서는 matrix가 복잡하거나, 노보비오신의 이성질체 및 유연물질을 동시에 분석하는 이유로 분석시간이 20분 이상이었으며, 축·수산 식품을 대상으로 전처리하고 빠른 시간에 노보비오신을 검출한 보고는 없었다. 따라서, 본 연구에서는 5 종의 축·수산 식품을 대상으로 시료 전처리 방법을 확립하였고, 특히 분석 칼럼으로 phenyl hexyl 칼럼을 사용하여 분리도를 개선하였으며, 이에 따른 적절한 이동상의 용매조성과 pH 등을 선정하고 분석

법 검증을 수행한 바, CODEX 기준에 만족스러운 결과를 얻었다.

4. 결 론

일반 소비자들은 국민소득의 증가와 더불어 더욱 위생적이고 안전한 축·수산물을 선호하고 있는 반면, 동물용 의약품의 오남용으로 축·수산 식품 중 동물용 의약품의 잔류 사례는 계속해서 증가하고 있다. 그러나 현재 동물용 의약품의 오남용을 방지하기 위한 축·수산 식품 중 잔류 동물용 의약품의 정밀기기 분석법 보급이 우리나라에서는 매우 초보적인 단계이다. 이에, 본 연구에서는 동물용 의약품으로 사용되는 노보비오신을 대상으로 기존의 미생물 시험법의 단점을 보완하는 기기분석법의 개발을 목표로 하였으며, 축·수산 식품 중 잔류 노보비오신을 분석함에 있어서, 보다 간편하고 신속하며 보편적으로 사용할 수 있는 분석법을 확립하기 위하여, 시료 전처리 방법 및 분석 조건을 개선하고 최적화하였다.

CODEX 기준을 참조하여 본 분석법에 대한 검증(analytical method validation)을 실시한 결과, 양호한 직선성, 정밀성, 정확성 및 회수율을 얻었으며, 5 종의 축·수산 식품 시료로부터 최대잔류허용(MRL) 보다 낮은 농도에서 정량한계를 설정할 수 있었다. 따라서 본 연구에서 확립한 고속액체크로마토그래피 기기 분석법은 향후 국내 유통되고 있는 축·수산 식품 중 잔류 노보비오신 분석법으로 매우 유용하게 적용할 수 있으리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 중앙대학교 학술연구비(일반연구비) 지원으로 중앙대학교 약학대학 약품분석화학고실에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. The Merck Veterinary Manual (<http://merckvetmanual.com>)
2. The Greenbook (<http://www.fda.gov/cvm/greenbook.html>)
3. A. D. Corcia and M. Nazzari, *J. Chromatogr. A*, **974**, 53-59 (2002).
4. G. S. Chung, B. H. Cho and S. W. Son, C. M. Lim, S.

- J. Park, H. J. Kwon and H. J. Ha, *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.*, **30**(2), 159-168 (2006).
5. R. A. Bridges, H. Berendes and R. A. Good, *J. Pediatr.*, **50**(5), 579-85(1957).
 6. H. Welch, C. N. Lewis, L. E. Putnam and W. A. Randall, *Antibiotic Med. Clin. Ther.*, **3**(1), 27-32(1956).
 7. P. French, E. Venuti and H. S. Fraimow, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **37**(12), 2736-2739(1993).
 8. M. A. Montecalvo, H. Horowitz, G. P. Wormser, K. Seiter and C. A. Carbonaro, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**(3), 794 (1995).
 9. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 556.460, U. S. Government Printing Office, Washington DC, 1992.
 10. 식품공전, 식품의약품안전청, 2005.
 11. M. M. L. Aerts, A. C. Hogenboom and U. A. Th. Brinkman, *J. Chromatogr. B*, **667**, 1-40 (1995).
 12. Codex Guidelines for the Establishment of a Regulatory Programme for Control of Veterinary Drug Residues in Foods (CAC/GL 16), 1993.
 13. Validation Guidelines, Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods, 11th Session, 1998.
 14. K. Tsuji and J. H. Robertson, *J. Chromatogr.*, **94**, 245-253 (1974).
 15. K. Tsuji, *Methods Enzymol.*, **43**, 300-320 (1975).
 16. K. Tsuji, P. D. Rahn and M. P. Kane, *J. Chromatogr.*, **235**, 205-214 (1982).
 17. K. Tsuji and R. B. Binns, *J. Chromatogr.*, **253**, 227-236 (1982).
 18. W. A. Moats and L. Leskinen, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**(4), 776-778 (1988).
 19. T. L. Chen, M. J. Kennedy, V. M. Dunlap and O. M. Colvin, *J. Chromatogr. B*, **652**, 109-113 (1994).
 20. E. G. Zuhowski, J. C. Gutheil and M. J. Egorin, *J. Chromatogr. B*, **655**, 147-152 (1994).
 21. V. B. Reeves, *J. AOAC Int.*, **78**(1), 55-58 (1995).
 22. H. J. Kim, L. H. Hwang, J. H. Joeng, E. S. Yoon, N. W. Park and I. G. Han, *Kor. J. Vet. Serv.*, **21**(3), 261-266 (1998).
 23. X. S. Miao and C. D. Metcalfe, *J. Mass Spectrom.*, **38**, 27-34 (2003).
 24. K. Cabrera, *J. Sep. Sci.*, **27**, 843-852 (2004).
 25. W. Li, D. P. Fries and A. Malik, *J. Chromatogr. A*, **1044**, 23-52 (2004).
 26. T. Ikegami and N. Tanaka, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **8**(5), 527-533 (2004).
 27. A. Zarghi, A. Shafaati, S. M. Foroutan and A. Khodam, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **39**, 677-680 (2005).
 28. H. Y. Aboul-Enein and I. Ali, *Talanta*, **65**, 276-280 (2005).
 29. A. Korner and S. Kohn, *J. Chromatogr. A*, **1089**, 148-157 (2005).
 30. M. Cledera-Castro, A. Santos-Montes and R. Izquierdo-Hornillos, *J. Chromatogr. A*, **1087**, 57-63 (2005).