

식품 중 플루오로퀴놀론계 항생제의 분석

김희연 · 신민수 · 최희주 · 박세종 · 송재상 · 정소영 · 최선희 · 이화정¹ · 김영선 · 최재천*
서울지방식품의약품안전청, ¹식품의약품안전청

Analysis of Fluoroquinolone Antibiotics in Foods

Hee-Yun Kim, Min-Su Shin, Hee-Ju Choi, Se-Jong Park, Jae-Sang Song, So-Young Cheong,
Sun-Hee Choi, Hwa-Jeong Lee¹, Young-Seon Kim, and Jae-Chun Choi*
Seoul Regional Korea Food and Drug Administration
¹Korea Food and Drug Administration

Abstract Residual fluoroquinolone levels in animal foods retailed in Korea were monitored according to the method outlined in Korea Food Code using HPLC-FLD and HPLC-ESI-MS/MS for confirmation. The optimum ion transitions were 360→316, 342 m/z for enrofloxacin, 332→314, 288 m/z for ciprofloxacin, 320→301, 230 m/z for norfloxacin, 334→315, 290 m/z for pefloxacin, 362→318, 261, 334 m/z for ofloxacin, and 262→201, 126 m/z for flumequin. Enrofloxacin, ciprofloxacin and norfloxacin residues were found in 12 out of 388 samples. These antibiotics were only found in chicken samples, while no residues were found in beef, pork, milk and egg samples. Using this monitoring method, detection rates of 3.1, 1.3, and 0.3% were obtained for enrofloxacin, ciprofloxacin and norfloxacin, respectively. The levels of enrofloxacin, ciprofloxacin and norfloxacin detected in food samples ranged from 0.01 to 0.73 mg/kg in 12 samples, 0.01-0.03 mg/kg in 5 samples, and 0.12 mg/kg in only a sample, respectively.

Key words: fluoroquinolone, HPLC-FLD, HPLC-ESI-MS/MS

서 론

퀴놀론계열의 약물은 1962년 항말라리아제인 클로르퀸을 합성하는 과정 중에 중류물로부터 분리한 1,8-naphthyridine, 즉 nalidixic acid가 그 효시이며(1), 최초 발견된 이래 항균 범위의 항균력을 개선하기 위하여 quinoline을 기본구조로 하는 합성물들이 만들어져, 25개 이상의 유도체들이 합성되어져 왔다(2). 초기에 개발된 quinolone 항생제로는 flumequinone, oxolinic acid가 있으며, 이들 제제는 이중 방향족(hetero aromatic), 이중환(bicyclic)을 가지고 있는 화합물로 많은 호기성 세균에 대하여 우수한 활성을 가지나 혐기성 세균에 대해서는 다소 미약한 활성을 나타냈다(3). 이후 이들 제제의 효능을 개선하여 quinoline의 6번 탄소위치에 불소(F)를 첨가함으로써 항균력의 범위가 더욱 넓어진 2세대 퀴놀론인 플루오로퀴놀론(fluoroquinolone)계열 항생제가 개발되었다(4-7). 퀴놀론계의 작용기전에 대해서는 세균의 DNA gyrase 작용을 억제하여 DNA 복제 및 핵전사를 포함한 다양한 세포 기능을 방해함으로써 항균력을 갖는 것으로 알려져 있다(8). 인수공용 퀴놀론제는 식품을 통한 지속적인 섭취 시 약제 내성균의 형성뿐만 아니라 부작용으로 간질성 폐염, 아킬레스 건염 등이 발

생할 수 있으며, 특히 18세 이하의 어린이에서는 연골형성장애가 생길 수 있으므로 약물 사용시 규제가 필요한 실정이다. 플루오로퀴놀론계 항생제의 가장 큰 부작용은 수많은 병원균의 빠른 항생제 내성균의 출현이다(9-11). 우리나라의 경우 엔로플록사신, 시프로플록사신, 노르플록사신 및 오픈플록사신이 양계산업에서 다발하는 *E. coli*, *Mycoplasma*, *Pasteurella*, *Salmonella*의 예방과 치료 목적으로 사료첨가, 음용수 및 주사 등의 방법으로 투약되고 있는데(8), 국립수의과학검역원은 플루오로퀴놀론계 항생제가 사람의 감염증에 유용한 치료제로 사용되고 있으나 동 제제에 내성이 생길 경우 감염증 치료약이 매우 제한되는 점과 선진국에서 동물용 의약품으로 허가되지 않고 있는 품목이라는 점 등을 고려하여 사람과 동물에서 동시에 사용되고 있는 인수공용 플루오로퀴놀론계 항생제인 시프로플록사신, 노르플록사신, 페플록사신 및 오픈플록사신 등 4종에 대하여 2008년 7월 1일부터 국내 제조와 수입을 전면 금지한다고 밝힌 바 있다(12).

2007년에 식품의약품안전청은 소고기, 돼지고기, 닭고기, 유 및 알 등에 대한 엔로플록사신, 시프로플록사신, 오픈플록사신, 노르플록사신 및 플루메퀸에 대한 규제 강화 차원의 일환으로 신설기준을 마련하여 운용하고 있다. 따라서 소고기, 돼지고기, 닭고기, 유, 알 등 대표적 축산식품에 대한 잔류 플루오로퀴놀론계 항생제의 모니터링을 통하여 기준·규격 준수 여부를 확인할 필요성이 제기되었고, 식품공전 시험법을 대상 식품에 적용함으로써 시험법의 유효성을 확인하고 크로마토그래프/질량분석기를 도입한 확인시험방법을 확립하여 현행 공인 시험법인 액체크로마토그래프-형광검출법의 신뢰성을 제고해야 할 것으로 판단됨에 따라 본 연구를 수행하게 되었다.

*Corresponding author: Jae-Chun Choi, Seoul Regional Korea Food and Drug Administration, Seoul 158-050, Korea
Tel: 82-2-2640-1476
Fax: 82-2-2640-1364
E-mail: hjatu@kfda.go.kr
Received August 19, 2009; revised October 15, 2009;
accepted October 19, 2009

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 시료는 서울(경기, 인천, 강원), 대전, 대구, 부산 및 광주의 대형할인점에서 유통되고 있는 육류, 유류 및 알류 총 388건이었다. 식품군은 소근육(46건), 돼지근육(35건), 닭근육(143건), 유(47건), 알(67건) 등 5종류로서 검사 대상 축종의 수집 부위는 다소비 되는 부분을 고려하여 소근육은 등심, 돼지근육은 삼겹살, 닭의 경우는 전방을 취하였으며 유는 우유, 알은 계란에 한정하였다. 지역에 대한 총 검체 수집건수는 인구수 비례를 고려하여 선정하였고, 식품군에 따른 수집건수는 동물용의약품 잔류실태조사 보고서(13)의 국내 축종별 퀵놀론계 사용현황을 참고하여 결정하였다. 검체는 구매 즉시 냉장 보관하면서 유통기한 이내에 분석을 하였으며 장기간 보관하여야 하는 경우 냉동 보관하여 사용하였다.

표준품 및 시약

표준품인 엔로플록사신, 시프로플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신, 페플록사신 및 플루메퀸은 Fluka(Büchs, Switzerland), 인산 완충용액, 트리에틸아민 및 테트라하이드로퓨란은 Sigma(St. Louis, MO, USA), 구연산은 Wako(Tokyo, Japan), 기타 아세트니트릴, 삼염화초산, 메탄올, 헥산, 에틸아세테이트 및 옥살산 등은 Merck(Darmstadt, Germany), C₁₈ cartridge는 Waters(Miliford, MA, USA), C₁₈ 분말은 Supelco(Bellefonte, USA)의 제품을 사용하였고 여과지와 시린지 필터는 Whatman(Maidstone, UK)의 Whatman No.1과 0.45 µm syringe filter를 각각 사용하였다.

표준용액의 제조

엔로플록사신, 시프로플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신, 페플록사신 및 플루메퀸 표준품을 정밀히 달아 100 mL 용량플라스크에 취하고 메탄올로 표시선까지 채워 100 µg/mL의 농도가 되도록 하였다. 이를 다시 이동상으로 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 및 1.0 µg/mL의 농도가 되도록 희석하여 분석용 표준용액으로 사용하였다.

분석조건

시료의 분석에 사용한 HPLC-FLD 및 HPLC-ESI-MS/MS의 분석조건은 Table 1과 같았다.

Table 1. Analytical conditions of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, pefloxacin and ofloxacin by HPLC-FLD

Instrument	Shiseido Nanospace SI-2
Detector	Ex 278 nm, Em 455 nm
Column	sp column C ₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 µm, Shiseido, Japan)
Mobile phase	A: 10 mM Citric acid, B: 70% Methanol in 10 mM citric acid
Gradient	20% (B: 0-15 min)→20-25% (B: 15-25 min)→25-30% (B: 25-30 min)→30% (B: 30-38 min)→30-20% (B: 38-39 min)
Oven temperature	40°C
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	10 µL

Table 2. Analytical conditions of flumequin by HPLC-FLD

Instrument	Shiseido Nanospace SI-2
Detector	Ex 327 nm Em 369 nm
Column	sp column C ₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 µm, Shiseido, Japan)
Mobile phase	0.01 M Oxalic acid : Acetonitril : Methanol (6 : 3 : 1)
Oven temperature	40°C
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	10 µL

HPLC-ESI-MS/MS를 이용한 확인시험법 확립

분석의 신뢰도와 정확도를 향상시키고자 크로마토그래피/질량 분석기(HPLC-MS/MS)를 이용한 확인 시험방법을 확립하였다. Ion source는 ESI를 선택하였고, 각각의 [M+H]⁺ 형태의 quasi molecule ion인 엔로플록사신 360, 시프로플록사신 332, 노르플록사신 320, 오픈플록사신 362, 페플록사신 334 및 플루메퀸 262를 precursor ion으로 하여 collision energy(Ce, V)를 5-50 V까지 5 V 단위로 올려 가며 product ion을 구하였다. Product ion의 세기는 엔로플록사신 316>342, 시프로플록사신 314>288>231, 노르플록사신 302>231,

Table 3. Analytical conditions of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin and flumequin by HPLC-ESI-MS/MS

Instrument	HPLC: Shiseido Nanospace SI-2			
	MS/MS: Thermo Finigan TSQ Quantum Discovery Max			
Column	Cadenza 5CD-C ₁₈ (2.0 mm×150 mm×5 µm)			
Mobile phase	A: 0.2% Acetic acid in methanol, B: 0.2% Acetic acid			
Gradient	20% (A: 0-3 min)→20-90% (A: 3-8 min)→90-90% (A: 8-25 min)→90-20% (A: 25-30 min)→20-20% (A: 30-35 min)			
Oven temp.	35°C			
Flow rate	0.2 mL/min			
Injection volume	10 µL			
MS/MS	Ionization mode	ESI	Aux gas pressure	15
	Spray voltage	4800	Capillary temperature	350°C
	Sheath gas pressure	40	Skimmer offset	0.0
	Ion sweep gas pressure	0.0	Collision pressure	1.5
	Collision energy	SRM table	Scan width (m/z)	0.01
	Scan time(s)	0.005	Chrom filter peak width(s)	25

Table 4. HPLC-ESI-MS/MS parameters for detection of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin and flumequin

Compounds (M.W.)	Quasi molecule ions	1st Transition			2nd Transition		
		Q1 ¹⁾ mass (amu)	Q3 ²⁾ mass (amu)	Collision energy (Ce, V)	Q1 mass (amu)	Q3 mass (amu)	Collision energy (Ce, V)
Enrofloxacin (359.39)	[M+H] ⁺	360	342(73.4) ³⁾	20	360	316(100)	20
Ciprofloxacin (331.34)	[M+H] ⁺	332	314(100)	20	332	288(38.3)	20
		332	231(21.9)	52	-	-	-
Norfloxacin (319.33)	[M+H] ⁺	320	302(100)	15	320	231(41.1)	35
Ofloxacin (361.73)	[M+H] ⁺	362	318(100)	15	362	261(55.9)	20
Pefloxacin (333.36)	[M+H] ⁺	334	316(100)	15	334	290(48.1)	15
		334	233(32.6)	20	-	-	-
Flumequin (261.25)	[M+H] ⁺	262	244(100)	20	262	202(57.3)	35
		262	126(11.7)	45	-	-	-

¹⁾Precursor ions, ²⁾Product ions, ³⁾Product ion ratios(%).

오픈플록사신 318>261, 페플록사신 316>290>233, 플루메퀸 244>202>126의 순이었다. 검량선, 정량한계 및 검출한계를 구할 때 사용한 이온은 각 화합물의 product ion 가운데 이온세기가 상대적으로 크고 안정적인 이온인 316, 314, 302, 318, 316 및 202를 선택하였다.

엔로플록사신, 시프로플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신 및 페플록사신의 전처리(Matrix solid-phase dispersion)

식품공전 시험방법(14)에 의하여 전처리하였다. 즉, 분쇄한 시료 2 g을 C₁₈(octadecyl-derivatized silica)과 함께 유발에 취하고 시료 0.5 g, 수산 0.05 g 및 무수황산나트륨 0.03 g을 첨가하여 균질화시켰다. 여과지(Whatman No.1) 2장을 10 mL 주사기에 넣고 앞의 균질화 혼합물을 충전한 후 다시 여과지 1장을 균질화 혼합물 위에 덮고 주사봉으로 부피가 약 4.0 mL되게 압축하였다. 헥산을 8 mL를 가하여 흘려보내고 주사기를 vacuum manifold로 옮겨 혼합물내의 잔존 헥산을 감압하에서 제거하였다. 다시 에틸아세테이트 8 mL로 주사기를 세척하고 세척한 주사기를 vacuum manifold로 옮겨 감압하에서 완전히 건조시켰다. 메탄올 13 mL로 용출시킨 후 용출액을 질소 농축하여 건조시키고 이동상 0.5 mL를 건조물에 가한 후 10분간 초음파 처리하여 용해시켰다. 용해액을 4°C, 6,000×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하고 이를 멤브레인 필터(0.45 µm)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다. 회수율 시험은 위의 0.05, 0.1 및 0.2 µg/mL 표준용액을 해당 시료에 첨가한 후 위와 같이 되풀이하여 시험하고 HPLC-FLD로 분석하여 표준용액과 비교한 후 회수율을 산출하였다.

엔로플록사신, 시프로플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신 및 페플록사신의 전처리(Liquid-liquid extraction)

식품공전 시험방법(14)에 의하여 전처리하였다. 즉, 균질화한 시료 5 g을 원심분리관에 취한 후 20% 메탄올성 삼염화초산 2.5 mL를 가하여 15초간 균질화시켰다. 이 용액을 1,500×g에서 10분간 원심분리한 후 0.05 M 인산완충용액(pH 7.4) 12.5 mL를 가하고 1,500×g에서 15분간 다시 원심분리 하였다. 상층액을 메탄올 6 mL, 0.05 M 인산완충용액(pH 7.4) 6 mL로 차례로 미리 활성화시킨 C₁₈ 카트리지에 흡착시키고 물 3 mL로 세척한 후, 3분간 감압 하에서 건조시키고 아세토니트릴성 1% 삼염화초산 6 mL로 용출시켰다. 용출액을 45°C 이하의 수욕 중에서 감압 농축한 후 잔류물을 이동상 2 mL에 녹인 후 멤브레인 필터(0.45 µm)로 여과하여 시험용액으로 하였다. 회수율 시험은 위의 0.05, 0.1 및

0.2 µg/mL 표준용액을 해당 시료에 첨가한 후 위와 같이 되풀이하여 시험하고 HPLC-FLD로 분석하여 표준용액과 비교한 후 회수율을 산출하였다.

플루메퀸의 전처리

식품공전 시험방법(14)에 의하여 전처리하였다. 즉, 균질화한 시료 2 g을 50 mL 원심분리관에 취하여 무수황산나트륨 5 g 에 툴아세테이트 40 mL를 첨가하고 균질기로 2분간 균질화시켰다. 균질액을 8,000×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 전량 수거하여 농축수기에 옮기고 잔류물에 대하여 같은 조작을 1회 더 반복하여 추출액을 합쳤다. 모아진 추출액은 1 mL 정도가 되도록 35°C에서 감압 농축하였다. 이 농축액에 아세토니트릴 100 mL를 가하여 분액 여두에 씻어 넣고, 헥산 50 mL를 가하여 5분간 격렬하게 흔들어 헥산층과 아세토니트릴층을 분리하였다. 분리된 아래층을 다시 35°C에서 감압농축으로 건조시키고, 이동상 2 mL를 가하여 녹여 멤브레인 필터(0.45 µm)로 여과한 후 시험용액으로 사용하였다. 회수율 시험은 위의 0.05, 0.1 및 0.2 µg/mL 표준용액을 해당 시료에 첨가한 후 위와 같이 되풀이하여 시험하고 HPLC-FLD로 분석하여 표준용액과 비교한 후 회수율을 산출하였다.

결과 및 고찰

직선성, 검출한계 및 정량한계

엔로플록사신, 시프로플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신, 페

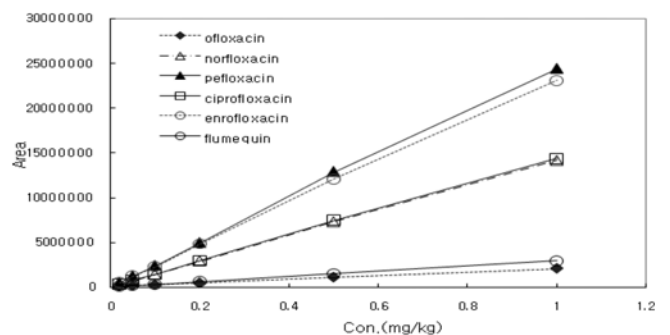


Fig. 1. Calibration curves of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, pefloxacin and flumequin at different concentrations by HPLC-FLD.

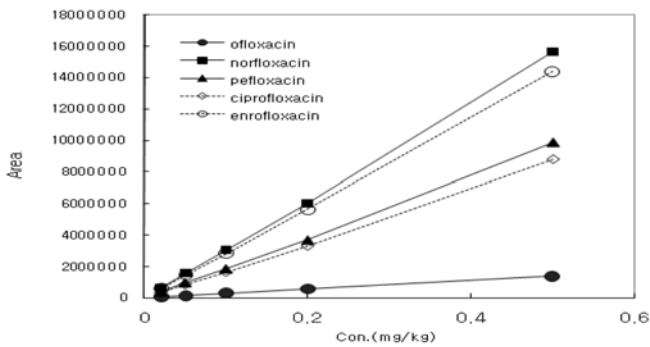


Fig. 2. Calibration curves of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, pefloxacin and flumequin at different concentrations by HPLC-ESI-MS/MS.

플록사신 및 플루메퀸의 검량선을 도시한 결과는 Fig. 1 및 2와 같았다. 위의 표준용액의 각 농도를 HPLC-FLD(0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 및 1.0 µg/mL)와 HPLC-ESI-MS/MS(0.05, 0.125, 0.25 및 0.5 µg/mL)로 측정 한 후 1차 회귀식으로부터 얻은 R²값은 양쪽 모두 0.9991-0.9999의 높은 직선성을 보여주었다. ACS(15)의 방법에 따라 아래의 식으로 구한 엔로플록사신, 시프로플록사신, 노르플록사신, 오플록사신, 페플록사신 및 플루메퀸에 대한 HPLC-FLD 및 HPLC-ESI-MS/MS의 각 검출한계와 정량한계는 Table 5 및 6과 같았다. HPLC-FLD의 경우에는 검출한계와 정량한계가 각각 0.0006-0.009와 0.002-0.03 mg/kg이었고, HPLC-ESI-MS/MS의 경우에는 검출한계와 정량한계가 각각 0.002-0.328와 0.003-1.094 µg/kg로서 매우 만족할만한 수준을 보여 주었다.

Limit of detection (L.O.D)=As-Ab≥3×Sb

Limit of quantification (L.O.Q)=As-Ab≥10×Sb

Table 5. L.O.D. and L.O.Q. for detection of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin and flumequin using HPLC-FLD

Compounds	L.O.D. (µg/kg)	L.O.Q. (µg/kg)	R ²	CV (%)
Enrofloxacin	0.9	3.0	0.9999	7.1
Ciprofloxacin	0.9	3.0	0.9998	8.1
Norfloxacin	0.9	3.0	0.9991	9.5
Pefloxacin	0.6	2.0	0.9991	9.3
Ofloxacin	9.0	30	0.9996	9.2
Flumequin	0.9	3.0	0.9998	8.7

Table 6. L.O.D and L.O.Q for detection of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin and flumequin using HPLC-ESI-MS/MS

Compounds	L.O.D (µg/kg)	L.O.Q (µg/kg)	R ²	CV (%)
Enrofloxacin	0.0021	0.007	0.9999	9.1
Ciprofloxacin	0.3282	1.094	0.9998	10.4
Norfloxacin	0.1488	0.496	0.9991	13.1
Pefloxacin	0.0009	0.003	0.9991	15.4
Ofloxacin	0.0021	0.007	0.9996	11.8
Flumequin	0.003	0.01	0.9998	10.6

(As, the mean of area of sample signal; Ab, the mean of area of blank signal; Sb, standard deviation of area of blank signal)

회수율

전술한 전처리법에 따라 행한 회수율 결과는 Table 7과 같았

Table 7. Recovery (%) of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin ofloxacin, pefloxacin and flumequin (n=3)

Compounds	Fortified conc. (mg/kg)	Samples				
		Beef	Pork	Chicken	Milk	Egg
Enrofloxacin	0.05	89.7±3.1 ¹⁾	84.3±2.9	95.5±6.3	68.4±6.1	79.7±6.9
	0.1	92.9±3.0	82.3±8.9	96.5±9.0	69.5±2.1	77.5±5.6
	0.2	98.9±2.5	90.2±10.1	100.6±1.8	72.7±2.6	79.2±8.3
Ciprofloxacin	0.05	85.9±3.7	82.8±3.9	95.5±5.7	69.2±6.6	72.3±7.1
	0.1	80.6±6.9	78.7±10.9	98.5±9.3	71.8±1.8	71.0±6.4
	0.2	96.0±2.6	86.5±10.6	100.0±6.4	73.7±2.9	72.6±8.0
Norfloxacin	0.05	91.7±2.8	82.4±2.9	90.4±7.1	72.5±7.7	73.8±6.3
	0.1	91.7±3.5	80.8±9.5	92.8±8.1	73.7±1.2	71.8±5.9
	0.2	97.2±2.5	87.2±10.5	96.8±1.9	74.4±3.3	75.0±7.8
Pefloxacin	0.05	85.3±3.2	84.6±3.8	92.4±7.3	74.4±7.4	76.6±8.8
	0.1	92.1±4.8	79.1±11.2	94.1±10.1	77.9±1.2	74.6±6.1
	0.2	94.0±2.3	86.9±10.3	100.3±2.5	79.0±3.3	76.6±7.1
Ofloxacin	0.05	84.6±4.8	101.5±3.8	92.1±12.5	78.4±8.2	80.2±2.7
	0.1	82.8±5.5	79.6±12.5	93.7±8.5	100.5±7.4	88.6±4.5
	0.2	80.1±2.0	95.4±3.6	90.9±6.6	89.1±10.2	81.6±9.4
Flumequin	0.05	85.3±3.2	84.6±3.8	92.4±7.3	92.1±4.8	79.1±11.2
	0.1	92.1±4.9	79.1±6.2	94.1±10.1	94.0±2.3	90.9±8.3
	0.2	94.0±5.3	86.9±7.3	95.3±2.5	96.8±1.9	96.8±1.9

¹⁾Mean±RSD (Relative standard deviation)

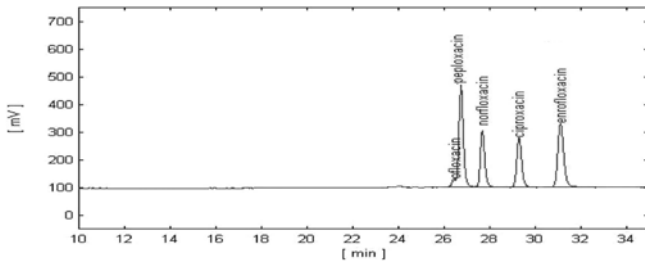


Fig. 3. Standard chromatogram of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin and pefloxacin at each 0.1 ppm by HPLC-FLD.

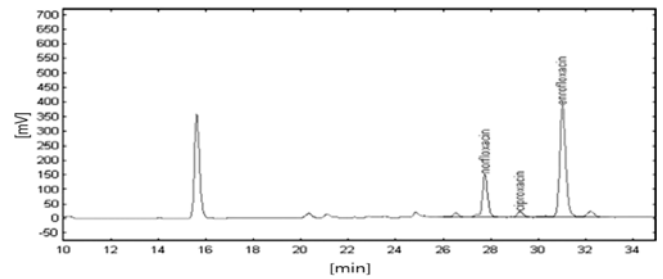


Fig. 5. Chromatogram of norfloxacin, ciproxacin and enrofloxacin found in chicken (Korean name: *Ogolge*) sample by HPLC-FLD.

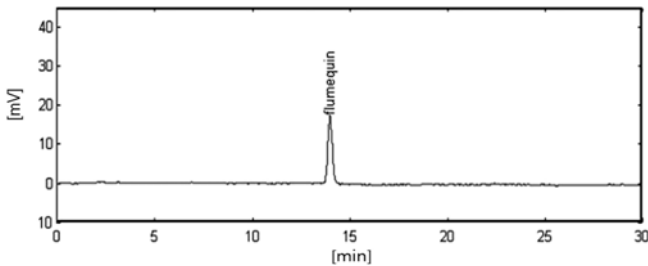


Fig. 4. Standard chromatogram of flumequin at each 0.1 ppm by HPLC-FLD.

다. 평균회수율(%)은 엔로플록사신의 경우 소근육 92.6±3.1, 돼지근육 85.1±7.6, 닭근육 97.5±5.5, 유 70.5±3.8, 알 76.3±7.0, 시프로플록사신의 경우 소근육 89.4±4.1, 돼지근육 82.5±8.1, 닭근육 96.3±7.6, 유 72.7±1.4, 알 72.5±6.9, 노르플록사신의 경우 소근육 91.4±3.1, 돼지근육 84.2±7.9, 닭근육 94±5.8, 유 74.2±4.0, 알 74.5±7.5, 페플록사신의 경우 소근육 90.2±4.0, 돼지근육 89.2±8.4, 닭근육 95.5±8.4, 유 78.4±4.2, 알 77.1±5.3, 오픈록사신의 경우 소근육 82.7±3.6, 돼지근육 86.5±6.6, 닭근육 92.3±7.5, 유 93.9±7.5, 알 83.1±8.4, 플루메퀸의 경우 소근육 91.9±4.4, 돼지근육 83.4±5.5, 닭근육 95.0±6.3, 유 86.4±3.4, 알 89.1±5.7%를 나타내었다. 각 화합물의 회수율은 유와 알이 소근육, 돼지근육 및 닭근육에 비해 다소 떨어지는 모습을 보여주었는데 이는 액성 또는 에멀전 형태인 유와 알의 물성이 전처리 과정 중 시료의 손실에 기인된 것으로 사료되었다.

Enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin and flumequin의 정량

총 388건의 시료 중 조사 대상 항생제가 검출된 시료의 수는 12건으로 3.8%의 검출율을 보였다. HPLC-FLD 측정에서 검출된

시료는 새로 확립한 HPLC-ESI-MS/MS를 이용한 확인시험법으로 확인하였다. 각 식품의 종류에 따른 엔로플록사신, 시프로플록사신, 페플록사신, 노르플록사신, 오픈록사신 및 플루메퀸의 검사건수, 검출건수 및 검출율(%)을 비교한 결과는 Table 8과 같았고 검출 시료의 수거 지역과 시료명 및 검출 농도는 Table 9와 같았다. 엔로플록사신, 시프로플록사신, 페플록사신, 노르플록사신, 오픈록사신 및 플루메퀸 표준품 및 각 검출 시료의 HPLC-FLD와 HPLC-ESI-MS/MS 크로마토그램 및 mass fragments를 Fig. 3-7에 나타내었다. 모두 닭에서만 12건의 엔로플록사신, 5건의 시프로플록사신 및 1건의 노르플록사신이 검출(시프로플록사신과 노르플록사신 모두 엔로플록사신과 동일 검체)되었다. 소근육, 돼지근육, 유 및 알과 같은 다른 시료들에서는 조사 대상 항생제가 검출되지 않았다. 국내 축종별 플루오로퀴놀론계 항생제 사용현황(16)을 살펴보면 연간 사용량이 닭>수산물>돼지>소 순인 것으로 보고하고 있는바 이는 닭에서의 높은 검출률을 뒷받침하는 것으로 사료된다. 한편, 닭에서 플루오로퀴놀론계 항생제가 계란까지 이행될 수 있으며, 닭의 산란기에 주사 투여 후 휴양기간을 지키지 않을 경우 계란 내 이행되어 잔류될 가능성이 높다는 연구 보고(6)가 되고 있으나, 본 연구결과에서는 알에서 항생제가 잔류하지 않는 것으로 나타났으며, 전체시료에 대한 검출율을 보면 엔로플록사신의 경우 12건의 검출로 3.1%의 검출율을, 시프로플록사신의 경우는 5건의 검출로 1.3%의 검출율을, 노르플록사신의 경우는 1건의 검출로 0.3%의 검출율을 각각 보여주었다. 지역별로는 서울이 엔로플록사신 5건과 시프로플록사신 2건이었고, 대전이 엔로플록사신 3건, 대구가 엔로플록사신 1건, 부산이 엔로플록사신 및 시프로플록사신 각 3건(동일 검체), 노르플록사신 1건이었다. 검출농도는 엔로플록사신의 경우 0.01-0.73 mg/kg, 시프로플록사신의 경우 0.01-0.03 mg/kg, 노르플록사신의 경우 0.12 mg/kg이었다. 현행 우리나라 식품공전은 가금류 근육 중 엔로플록사신(시프로플록사신과의 합으로써)과 플루메퀸에 대하여

Table 8. Detection rate(%) of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, pefloxacin and flumequin in samples used in this study

Sample	Number of sample		Detection rate (%)					
	Tested	Detected	Enrofloxacin	Ciprofloxacin	Norfloxacin	Ofloxacin	Pefloxacin	Flumequin
Beef	46	ND ¹⁾	-	-	-	-	-	-
Pork	85	ND	-	-	-	-	-	-
Chicken	143	12	8.4 ²⁾	3.5 ²⁾	0.7 ²⁾	-	-	-
Egg	47	ND	-	-	-	-	-	-
Milk	67	ND	-	-	-	-	-	-
Total	388	12	3.1	1.3	0.3	-	-	-

¹⁾Not detected, ²⁾Overlap samples

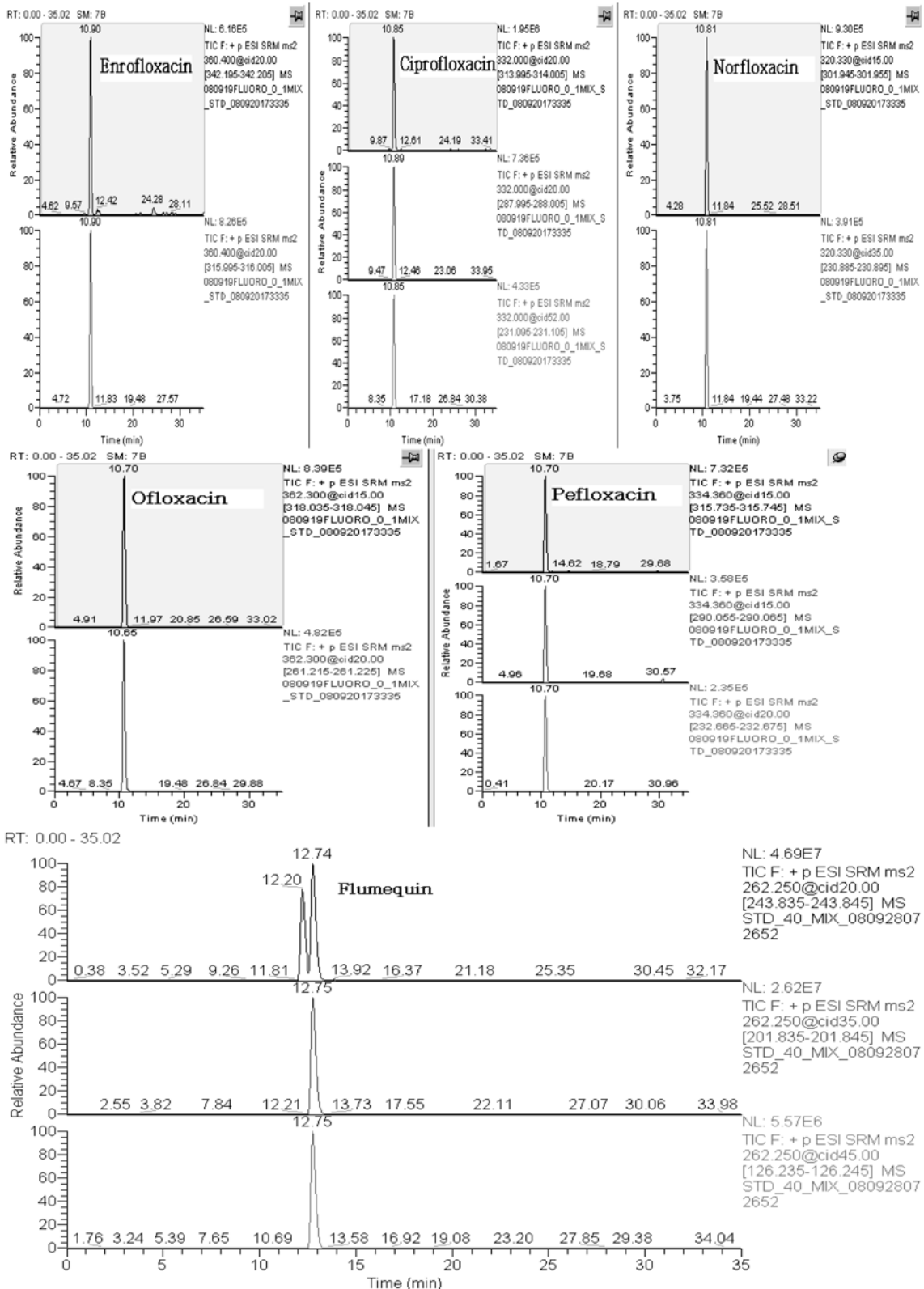


Fig. 6. Standard chromatograms of enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, pefloxacin and flumequin at each 0.1 ppm by HPLC-ESI-MS/MS.

0.1 mg/kg과 0.2 mg/kg, 노르플록사신, 페플록사신 및 오픈록사신에 대하여는 불검출을 잔류허용기준으로 삼고 있다. 이 기준을 적용하였을 때 잔류허용기준치를 초과한 검체는 엔로플록사신 5

건과 노르플록사신 1건으로 검출농도는 각각 0.21-0.73 mg/kg과 0.12 mg/kg이었다. 지역별로는 부산이 3건으로 가장 많았고 서울이 2건이었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 국내 유통 축산식품

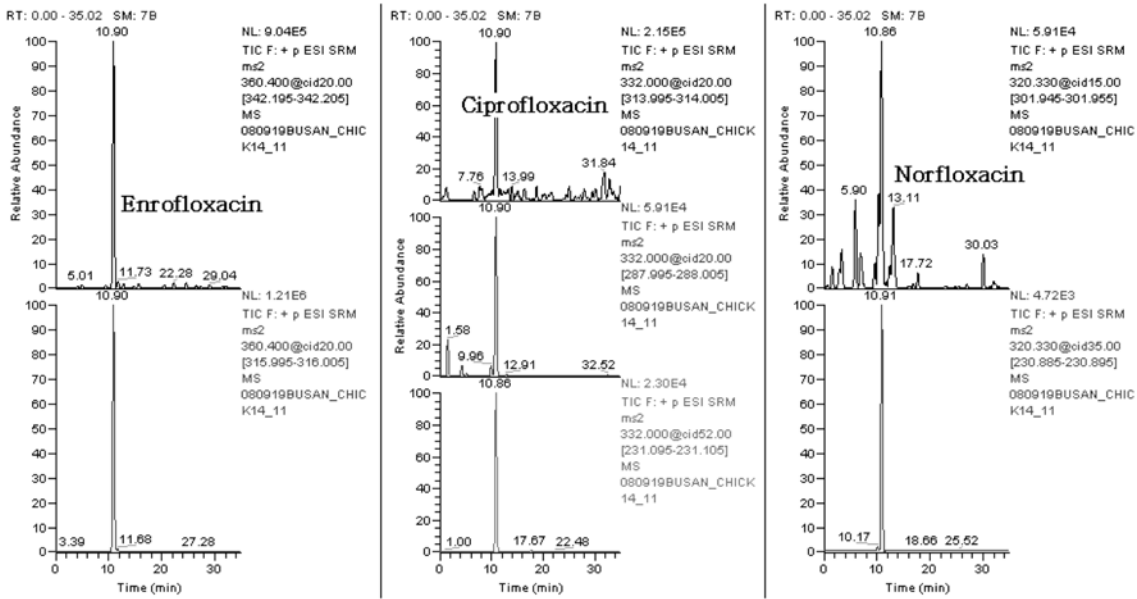


Fig. 7. Chromatograms of enrofloxacin, ciprofloxacin and norfloxacin found in chicken (Korean name: *Ogolge*) sample by HPLC-ESI-MS/MS.

Table 9. Enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin levels in sample detected

Detected compounds	Region	Samples	Level (mg/kg)	MRLs (mg/kg)
Enrofloxacin	Seoul	chicken-1	0.06	0.1 ¹⁾
		chicken-2	0.01	
		chicken-3	0.51	
		chicken-4	0.06	
		chicken-5	0.73	
	Daejeon	chicken-6	0.01	
		chicken-7	0.04	
		chicken-8	0.04	
	Daegu	chicken-9	0.03	
	Busan	chicken-10	0.21	
		chicken-11	0.25	
		chicken-12	0.71	
Seoul	chicken-1	0.02		
	chicken-5	0.03		
Ciprofloxacin	Busan	chicken-10	0.01	
		chicken-11	0.01	
		chicken-12	0.03	
Norfloxacin	Busan	chicken-10	0.12	ND ²⁾

¹⁾Sum of enrofloxacin and ciprofloxacin contents, ²⁾Not detected

중 엔로플록사신, 시프로플록사신, 노르플록사신, 페플록사신, 오플록사신 및 플루메퀸의 잔류농도는 잔류허용기준을 초과하는 시료 몇 건을 제외하면 각 동물용의약품의 잔류실태는 비교적 안전한 수준이었으나, 퀴놀론계 항생제의 잔류량 연구에 대한 이전의 문헌과 본 연구결과를 고찰하여 불 때 오남용에 따른 플루오르퀴놀론계 항생제의 잔류기준초과 가능성은 상존한다 할 것이므로 국민의 식품안전 및 동물용의약품의 안전관리를 위해 보다 지속적이고 광범위한 동물용의약품의 모니터링과 제도적인 관리가 요구되는 것으로 사료된다.

요 약

총 388건의 시료를 분석한 결과, 닭 143건 중 총 12건의 플루오르퀴놀론계 항생제가 검출되었으며 다른 식품군에서는 모두 불검출 되었다. 항생제 별로 보면 엔로플록사신이 12건으로 가장 많았고 시프로플록사신이 5건, 노르플록사신이 1건 순이었다. 검출농도는 엔로플록사신이 0.01-0.73 mg/kg, 시프로플록사신이 0.01-0.03 mg/kg 및 노르플록사신이 0.12 mg/kg이었다.

문 헌

- Wolfson JS, Hooper DC. The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity *in vitro*. *Antimicrob. Agents Ch.* 28: 581-586 (1985)
- Heo GJ, Kim JH. A study on efficacy and safety of antibacterial (pefloxacin methanesulfonate) to cultured fish, *Cyprinus carpio* and *Paralichthys olivaceus*. *Korean J. Vet. Res.* 34: 153-163 (1994)
- Koga H, Itoh A, Murayama S, Suzue S, Irikura T. Structure-activity relationships of antibacterial 6,7-and 7,8-disubstituted 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. *J. Med. Chem.* 23: 1358-1363 (1980)
- Horie M, Nakazawa H. Current legal regulation of veterinary drugs and their residual analysis. *J. Food Hyg. Soc. Japan* 36: 329-343 (1995)
- Anadon A, Velez C, Martinez-Larranaga MR, Bringas P, Diaz MJ. Pharmacokinetics of norfloxacin in chickens after single intravenous and oral administration of the drug. pp. 286-288. In: 5. Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. August 18-22, Copenhagen, Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Frederiksberg C, Denmark (1991)
- Seo KW, Lee JI, Lee CY, Kim ES, Lee JC. Elimination of fluoroquinolones in eggs after intramuscular injection treatment of laying hens. *Korean J. Vet. Public Health* 26: 249-259 (2002)
- Leshner GY, Froelich EJ, Gruett MD, Bailey JH, Brundage RP. 1,8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. *J. Med. Chem.* 5: 1063-1065 (1962)
- Kim JH, Cho MH, Kang HG, Son SW, Lee HS. Matrix solid phase dispersion (MSPD) extraction and HPLC determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in pork muscle tissue. *Korean J. Vet. Res.* 37: 195-202 (1997)

9. Park EH, Kim JA, Choi SH, Bin JH, Cheigh HS, Suk DH, Lee SC, Kim YH. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* from diarrhea patients. *J. Life Sci.* 17: 811-815 (2007)
10. Llovo J, Mateo E, Muñoz A, Urquijo M, On SLW, Fernández-Astorga A. Molecular typing of *Campylobacter jejuni* isolates involved in a neonatal outbreak indicates nosocomial transmission. *J. Clin. Microbiol.* 41: 3926-3928 (2003)
11. Lee JH, Lee JH, Cho Y. Teratological effects of enrofloxacin on the embryos and fetus during the hatching of chicken eggs. *Korean J. Environ. Health* 34: 292-299 (2008)
12. National Veterinary Research and Quarantine Service. Restriction of fluoroquinolones using for animals. Available from: <http://enews.nvrs.go.kr/main/php/index.php?pageCode=articleView&idx=364>. Accessed Oct. 10, 2008.
13. Seo KW, Lee JI, Lee CY, Lee JC. Matrix solid-phase dispersion (MSPD) isolation and liquid chromatographic determination of residual furazolidone in eggs. *J. Food Hyg. Saf.* 18: 43-50 (2003)
14. KFDA. Korea Food Code. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 10-15-3-29-33 (2007)
15. ACS Committee on Environmental Improvement. Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. *Anal. Chem.* 52: 2242-2249 (1980)
16. Shin HC, Park KH. Verterinary drugs residue monitoring. Annual Report of KFDA, Korea 10: 530-531 (2006)