

## 수산물 중 네오마이신, 겐타마이신 동시분석법 개발

홍영민<sup>1\*</sup> · 이석기<sup>1</sup> · 김형아<sup>2</sup> · 황유경<sup>2</sup>

<sup>1</sup>동일시마즈 기술연구소, <sup>2</sup>가톨릭대학교 의과대학 예방의학교실

### Simultaneous Analytical Method for the Neomycin, Gentamicin Residues in Seafood

Youngmin Hong<sup>1\*</sup>, Seokki Lee<sup>1</sup>, Hyoung-Ah Kim<sup>2</sup>, and Yu-Kyung Hwang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dongil SHIMADZU Corp. R&D Center, Seoul, Korea

<sup>2</sup>Department of Preventive Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Received September 18, 2009; Accepted February 9, 2010

This paper describes a simultaneous method for the determination of two aminoglycosides (neomycin and gentamicin) using solid phase extraction followed by liquid chromatograph-mass spectrometry. The extract was applied to an WCX and HLB solid phase extraction cartridge. The cartridges were washed with water and methanol, and analytes were eluted with TCA buffer-acetonitrile mixture. The aminoglycosides were separated by ion-pairing reversed phase mode prior to ESI-LC/MS. Under the conditions applied neomycin was almost separated from all the gentamicin compounds. No interfering peaks from endogenous compounds of matrix were noted at the elution position of the analytes. Recoveries of neomycin fortified at levels of 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg seafood samples ranged from 92 to 115%. Recoveries of gentamicin fortified at levels of 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mg/kg seafood samples ranged from 99 to 116%. Method detection limits in four seafood sample matrices were between 0.002 and 0.033 mg/kg.

**Key words:** aminoglycoside, mass spectrometry, seafood, veterinary drug

#### 서 론

농수축산업 등에서 생산 또는 사육동물의 건강증진, 생산성 향상, 자가 치료 및 예방을 목적으로 필수불가결하게 사용되는 동물용의약품은 질병 및 해충의 확산을 방지하고 그로 인한 경제적 손실의 절감효과가 상당할 것으로 추정되고 있으며, 사료 생산업체에서 사용하는 많은 항생제는 동물의 내장에 잘 흡착되지 않고, 대부분 그대로 대변이나 소변으로 배설된다. 또한 많은 국가에서는 비료 보조제로 동물 배설물을 원료로 사용하고 이를 토양에 뿌리고 있어 환경 중 동물용의약품 잔류물질의 영향에 대해서 국제적으로도 관심이 증가하고 있는 추세이다.

국내에서 수산물 항생제 판매량은 연간 250톤이 넘으며 매년 증가하는 추세로 수산물 항생제는 수의사의 처방 없이도 대부분 사용이 가능하다[Statiscs Korea, 2007; MFAFF, 2007]. 따라서 예방 및 자가 치료의 목적으로 일반인도 동물약품판매 대리점에서 특별한 구비서류나 절차 필요 없이 자유로이 구입

이 가능하여 오남용의 우려가 높다[KAHPA].

동물용의약품 중 조혈계에 대한 영향 및 발암성 등 인체에 미칠 수 있는 영향 때문에 클로람페니콜, 니트로푸란 등은 완전 사용이 금지되었으며, 아미노글리코사이드계인 네오마이신과 겐타마이신은 단독제제 혹은 다른 종류의 항생제와 혼합제제로 국내에서 시판되고 있다[NVRQS, 2007]. 이들은 사료첨가를 통한 경구투여법이나 약용제제로 사용되고 있으며, 물에 직접 항생제를 넣어 투여하는 경우가 대부분이다. 이러한 투여방법은 항생제가 물의 정화과정에서 완전히 분해제거되지 않기 때문에 환경에 직접적으로 노출될 수 있으며 이는 항생제에 대한 저항성을 나타내는 세균의 출현을 많아지게 하고, 이러한 세균의 인체노출 확률 또한 높아질 수 있다[Kummerer, 2004]. 또한 동물용의약품이 잔류된 수산물을 사람이 섭취하였을 때 항생제 내성 유전자가 사람에게도 옮겨질 수 있기 때문에 수산물 내의 항생제 잔류여부의 확인은 공중보건학적인 측면에서도 매우 중요하다[Samanidou와 Evaggelopouou, 2007].

미국, EU, 일본 등 선진 각국에서는 항생제 등 동물용의약품의 사용을 수의사의 처방을 받도록 하는 등 엄격하게 규제하고 있으며[Cohen 등, 1998; MHLW, 2005; USDA FSIS, 2009], 식품 중 동물용의약품의 잔류허용기준(Maximum Residue Levels, MRLs)을 설정하여 과도한 사용을 억제토록 정책을 유

\*Corresponding author

Phone: +82-2-540-5960; Fax: +82-2-540-5980

E-mail: ymhong@shimadzu.co.kr

지하고 있다. CODEX에서도 축산물(소, 돼지, 닭, 오리, 양, 염소, 말 등) 중 Abamectin, Benzylpenicillin, Carazolol, Danofloxacin, Gentamicin, Lincomycin 등을 포함한 56종 동물용의약품의 MRLs이 설정되어 있으나, 수산물(연어, 송어)에 대해서는 MRLs이 설정된 동물용의약품 수가 상대적으로 많지 않은 실정이다 [KFDA, 2007; KFDA 2006a].

우리나라에서도 CODEX 기준을 바탕으로 식품 중 항생물질 등 동물용의약품과 잔류농약에 대한 MRLs 및 시험방법을 설정하여 식품공전에 제시하고 있으며 HPLC, LC/MS/MS 또는 GC/MS 등 기기의 발달, 분석법의 개발 등으로 기존의 시험법을 대체하거나 효율적인 시험법을 확립함으로써 지속적인 시험법의 개발, 개선향상 및 관리로 안전한 식품관리의 신뢰성 확보가 요구되고 있다[KFDA, 2006b].

네오마이신은[ChemSpider] 임상적으로 효과가 커서 감염 치료용으로 널리 사용되며 비용이 저렴하고 저항성이 낮으며 국소용, 경구용 약제가 알려져 있다. 그람-음성균으로 감수성이 있는 균은 *E.coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*이고, 그람-양성균으로는 *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus Faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis*가 네오마이신에 감수성이 있다. 피부 및 점막 감염시 국소도포용으로 많이 이용되며 약물에 대한 과민성, 신장독성, 내이독성으로 인한 난청, 장관흡수부전, 중복감염 등이 부작용으로 알려져 있다. 치료용 약제로서 혈청 중 모니터링 시에는 가장 적절한 방법으로 자동화 면역화학분석법이 사용되고 있으며, 이 방법은 모든 아미노글리코사이드류에 가능한 것이 아니므로 크로마토그래피가 응용되기도 한다.

겐타마이신은[Arnold 등, 1988; ChemSpider] 그람 음성 세균 감염 치료에 매우 유용하며, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*에 비교적 잘 작용하기 때문에 많이 사용되고 있다. 3가지 다른 분자량을 가진 4가지 형태로

존재할 수 있으며, 발색단이 부족하여 분광광도법으로 검출하기 어려워 유도체화 또는 질량분석기를 이용한 분석방법이 알려져 있다. 대부분 산 수용액 및 염기 용액에서 안정하며, 메탄올 이외 유기용매에서는 불용성이다. 다양한 형태의 겐타마이신을 분리분석하기 위한 방법으로, 이온쌍 시약을 용리액에 첨가하여 분석을 할 수 있다. 하지만, LC/MS 분석의 경우, 이러한 시약은 이온화를 저해하고 LC/MS 도입부를 오염시킬 수 있다. 일반적으로 겐타마이신의 분리를 위한 이동상에는 heptafluorbutyric acid나 nonafluorpentanoic acid 등이 이용될 수 있다. 최근 Oertel 등[Oertel 등, 2004]은 치료 약제의 모니터링과 임상적 및 약리동태학적 연구를 위한 목적으로, 상기의 이온쌍 시약 대신에, hydrophilic interaction chromatography (HILIC)를 사용하여 인체 혈장에서 겐타마이신, 네오마이신을 포함한 6종의 아미노글리코사이드계 동시분석법을 제안한 바 있다. 본 연구에서는 기존의 HPLC/UVD나 유도체화 분석 등을 통해 검출이 어려운 네오마이신과 겐타마이신에 대해 LC/MS를 이용한 동시분석방법을 검토하였으며, 몇 가지 수산물 검체에 대한 적용성을 평가하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료. 네오마이신, 겐타마이신 각 표준품은 Sigma-Aldrich사의 제품을 구입하였다. 추출용매는 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>에 Na<sub>2</sub>EDTA와 TCA를 첨가하고, pH 4로 조정한 10 mM 인산완충용액 으로 하였다. 고상추출카트리지는 Waters사의 HLB(200 mg, 6 mL) 카트리지와 WCX(150 mg, 6 mL) 카트리지를 이용하였으며, vacuum manifold는 Restek사 제품을 이용하여 각각의 동물용의약품을 흡착시키고, TCA와 아세트나이트릴을 첨가한 증류수를 용출용액으로 하여 용출시켰다. 네오마이신과 겐타마이신의 물리화학적 특성은 Table 1과 같다.

Table 1. The physical-chemical properties of neomycin and gentamicin

Property	Neomycin	Gentamicin
Formula	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> N <sub>6</sub> O <sub>13</sub>	C <sub>21</sub> H <sub>43</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>
M.W.	614.6437 g/mol	477.5954 g/mol
CAS No.	1404-04-2	1403-66-3
pKa	8.3	8.2
pK <sub>ow</sub>	-9.41 estimated.	-1.88 estimated.
Class	Streptomycetes	Micromonospora
Solubility	Neomycin B hydrochloride; Solubility in mg/ml at ~28°C water 15.0, methanol 5.7, ethanol 0.65, isopropanol 0.05	Gentamicin Freely soluble in water, moderately soluble in methanol, ethanol, acetone
Structure	<p>neamine neobiosamine B Neomycin B</p>	<p>purpurosamine 2-deoxystreptamine garosamine</p> <p>Gentamicin C<sub>1</sub> R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>                      Gentamicin C<sub>2</sub> R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H                      Gentamicin C<sub>1a</sub> R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H</p>

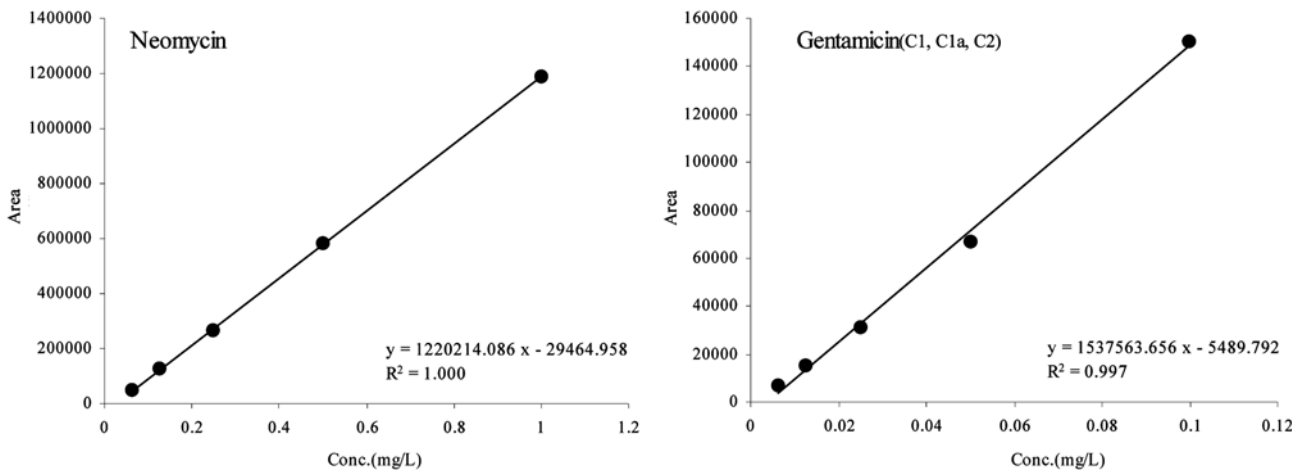


Fig. 1. The calibration curves of neomycin and gentamicin.

**표준용액 제조.** 네오마이신, 겐타마이신 표준물질 적당량을 각각 정밀히 달아 희석용매(물:아세트나이트릴:아세트산=78:20:2의 부피비)에 녹여 100 µg/mL 표준원액으로 하였다. 검량선 작성용 표준용액은 각각의 표준원액을 적절히 희석하여 제조하였으며, 표준물질의 검량선은 Fig. 1과 같다.

**시료채취.** 대상 수산물은 광어, 우럭, 대하, 장어로 선정하였으며, 시료는 서울시 소재 수산시장을 방문하여 광어, 우럭, 장어는 활어, 대하는 냉장된 것을 구입하였다. 양식지역은 광어, 우럭, 장어의 경우 남해안이며, 대하는 동남아 국가나 아프리카에서 수입된 것을 사용하였다.

**시료전처리 및 추출.** 광어, 우럭, 장어 대하의 가식부(머리, 지느러미, 골격, 비늘, 내장 제외)를 적당한 크기로 자른 후 분쇄기에 넣어 균질화 하였다.

균질화 시료 2g에 10 mM 인산완충용액 10 mL를 넣고 약 1분간 균질화한 다음 초음파로 10분간 추출한다. 추출한 시료는 약 10분간 격렬하게 진탕한 후, 4,500 rpm으로 10분간 원심 분리하였다. 분리된 상등액을 깨끗한 원심튜브에 옮겨 담고, 남은 고형물에 10 mM 인산완충용액 10 mL를 다시 기체 vortex로 교반하여 추출하였다. 이후 앞과 같은 방법으로 원심분리하여 상등액을 앞의 상등액과 합한다. 합한 상등액에 30% 수산화나트륨을 약 0.2 mL를 첨가하여 pH 7.5~8.0으로 맞추어 추출액으로 하였다. 필요한 경우, 1 N 염산 또는 1 N 수산화나트륨을 첨가하여 pH를 조절하였다.

정제과정은 메탄올 5 mL와 물 5 mL을 1~3 mL/min의 유속으로 HLB 카트리지와 WCX 카트리지를 각각 활성화하고 이를 직렬로 연결하여 사용하였다. 연결된 카트리지에 추출액을 1~3 mL/min의 속도로 천천히 주입하여 흡착시키고, 물 5 mL를 넣어 같은 유속으로 세척하였다. 수분을 제거하기 위해 5분 이상 공기를 통과시켜 건조시키고 마지막으로 희석용매 4 mL를 1~3 mL/min의 속도로 용출시켰으며, 0.45 µm PTFE 필터로 여과하여 시험액을 PP재질의 바이알에 담아 시험용액으로 하였다. 이때 유리재질의 용기를 사용할 경우, 네오마이신과 겐타마이신이 흡착되어 손실될 수 있으므로, PP재질의 용기를 이용하였다. 전처리 과정을 Fig. 2에 나타내었다.

**LC/MS 분석조건.** 시료 분석은 LC/MS(LCMS-2010EV,

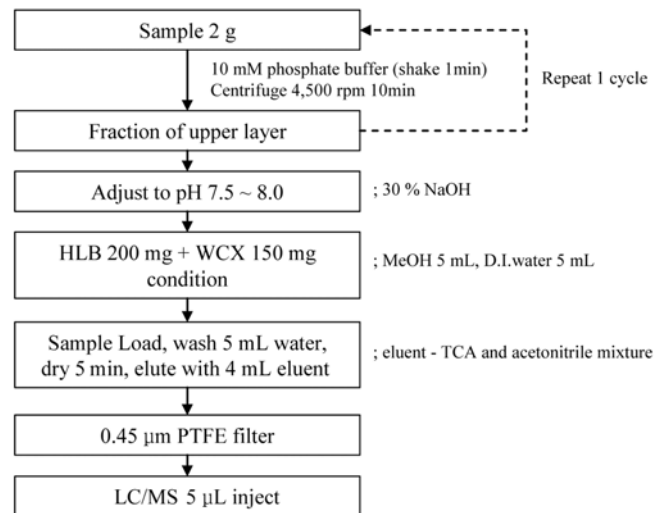


Fig. 2. The schematic diagram of sample pretreatment process.

Shimadzu, Japan)를 사용하였으며, 분석용 컬럼은 ODS 컬럼(FC-ODS, 2.0 mm×150 mm I.D., 3 µm, Shimadzu, Japan), 이 동상으로는 용매 A: 5 mM heptafluorobutyric acid-water, 용매 B: 아세트나이트릴을 이용하여 Gradient(10% B 용매를 15분 동안 40%까지 증가시키고 5분간 유지하였으며 1분간 다시 10%로 감소시킨 후 4분간 유지)를 이용하였으며 유속은 0.4 mL/min로 하였다.

질량분석기는 ESI 방식으로 이온화시켜 측정하였으며, Spray voltage 4.5 kV, Nebulizer gas(N<sub>2</sub>) flow 1.5 L/min, Drying gas (N<sub>2</sub>) pressure 0.1 MPa, Capillary temperature 200°C에서 SIM mode를 이용하여 Neomycin(m/z 308), Gentamicin C<sub>1</sub>(m/z 478), Gentamicin C<sub>2</sub>/C<sub>2a</sub>(m/z 464), Gentamicin C<sub>1a</sub>(m/z 450)를 정량하여 합한 값으로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

네오마이신, 겐타마이신의 동시분석을 위해 ESI-LC/MS를 이용하여 SIM 모드로 수행하였다. 네오마이신은 m/z 308로 정량

**Table 2. Method detection limits\* of neomycin and gentamicin (unit; mg/kg, n=6)**

	Flatfish	Stingfish	Conger eel	Fleshy prawn
Test conc.	0.05			
Neomycin	0.002	0.002	0.002	0.002
Gentamicin	0.013	0.033	0.033	0.006

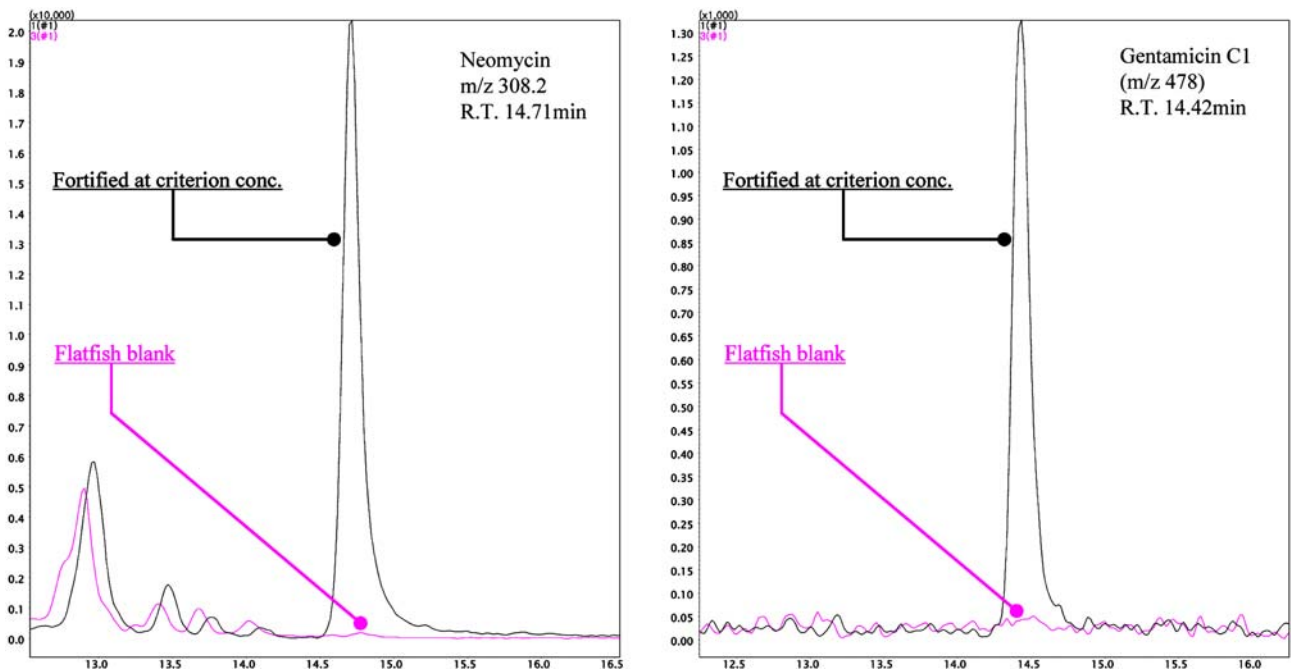
\*Method detection limit= $t_{n-1, \alpha=0.01} \times s$ ; the student's t-value for a 99% confidence level based on "n" replicates processed and "s" is the standard deviations of the measured values.

하였으며, 겐타마이신은 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>/C<sub>2a</sub>, C<sub>1a</sub>에 대하여 m/z 478, 464, 450의 각 이온량의 합을 이용하여 정량하였다. 상기의 시험방법에 대한 각 수산물 검체의 정량한계를 확인하기 위하여, 0.05 mg/kg 수준의 표준물질을 시료에 첨가하여 분석한 결과, 네오마이신은 0.002 mg/kg 수준이었으며, 겐타마이신은 0.006~0.033 mg/kg 수준이었다(Table 2).

네오마이신에 대한 검량 수준은 정량기준농도(0.50 mg/kg)를 1 STD로 하고 0.5, 1, 2, 4 STD로 하였다. 각 농도는 네오마이신 정량기준농도를 함유한 시료 2 g을 시험절차에 따라 수행하여 시험액 4 mL로 하였을 경우 시험액의 1 STD는 0.25 mg/L이므로 각각 0.125, 0.250, 0.500, 1.000 mg/L가 된다. 검량선 작성은 0.5, 1, 2, 4 STD를 이용하였다. 검량선의 직선성은 0.125~1.00 mg/L 범위에서 r<sup>2</sup>=0.99로 확인되었다.

각 수산물에 대한 농도별(0.25~1.0 mg/kg) 회수율과 CV는 광어의 경우, 92~114% 및 1.7~5.6%, 우럭 98~109% 및 1.3~3.2%, 장어 99~115% 및 2.5~4.0%, 대하 92~114% 및 1.4~4.1%이었다.

겐타마이신에 대한 검량 수준은 정량기준농도(0.10 mg/kg)를 1 STD로 하고 0.5, 1, 2, 4 STD로 하였다. 각 농도는 겐타마이신 정량기준농도를 함유한 시료 2 g을 시험절차에 따라 수행하여 시험액 4 mL로 하였을 경우 시험액의 1 STD는 0.05



**Fig. 3. Extracted ion chromatogram of quantitation ion for blank control flatfish and fortified control flatfish.**

**Table 3. Recoveries of neomycin in fortified samples (n=3)**

Sample	Fortified (mg/kg)	Analyzed (mg/kg)	Recovery (%)	CV (%)
Flatfish	0.250	0.286±0.013	114.36±5.28	4.62
	0.500	0.518±0.009	103.65±1.77	1.71
	1.000	0.916±0.051	91.59±5.11	5.58
Stingfish	0.250	0.273±0.003	109.17±1.36	1.25
	0.500	0.511±0.016	102.15±3.24	3.17
	1.000	0.977±0.029	97.74±2.91	2.98
Conger eel	0.250	0.286±0.007	114.52±2.91	2.54
	0.500	0.525±0.019	104.95±3.82	3.64
	1.000	0.992±0.040	99.19±3.97	4.00
Fleshy prawn	0.250	0.285±0.012	114.08±4.65	4.08
	0.500	0.504±0.012	100.86±2.31	2.29
	1.000	0.924±0.013	92.44±1.28	1.38

Table 4. Recoveries of gentamicin in fortified samples (n=3)

Sample	Fortified (mg/kg)	Analyzed (mg/kg)	Recovery (%)	CV (%)
Flatfish	0.050	0.050±0.011	100.49±22.24	22.13
	0.100	0.107±0.012	107.08±12.44	11.62
	0.200	0.214±0.020	107.23±10.19	9.50
Stingfish	0.050	0.051±0.002	102.36±3.84	3.75
	0.100	0.103±0.003	103.41±3.13	3.03
	0.200	0.204±0.008	102.20±4.19	4.10
Conger eel	0.050	0.051±0.003	102.28±6.66	6.51
	0.100	0.106±0.009	105.76±9.17	8.67
	0.200	0.198±0.011	99.11±5.71	5.76
Fleshy prawn	0.050	0.058±0.002	116.35±4.90	4.21
	0.100	0.110±0.008	110.49±8.09	7.32
	0.200	0.224±0.020	112.16±9.92	8.84

mg/L이므로 각각 0.025, 0.050, 0.100, 0.200 mg/L가 된다. 검량선 작성은 0.5, 1, 2, 4 STD를 이용하였다. 검량선의 직선성은 0.025~0.20 mg/L 범위에서  $r^2=0.99$ 로 확인되었다.

각 수산물에 대한 농도별(0.05~0.20 mg/kg) 회수율과 CV는 광어의 경우, 100~107% 및 9.5~22.1%, 우럭 102~103% 및 3.0~4.1%, 장어 99~106% 및 5.8~8.7%, 대하 110~116% 및 4.2~8.8%이었다.

본 연구에서는 네오마이신과 겐타마이신에 대한 고상흡착 효율을 위해 이온성 물질을 흡착할 수 있는 양이온교환 충전제인 WCX와 지용성 및 수용성 물질을 흡착할 수 있는 HLB를 2단으로 하여 고상추출 시험을 수행하였으며, 그 결과 수산물 검체에 대해 양호한 회수율과 재현성 있는 결과를 얻을 수 있었던 것으로 사료된다.

또한, heptafluorobutyric acid와 ESI-LC/MS를 이용하여 대상 물질을 동시에 분리하여 정량할 수 있었으며, 정량한계는 약 최대 0.04 mg/kg 이하로 향후, 수산물에 대한 네오마이신과 겐타마이신의 규제기준을 마련하는데 있어서 참고자료가 될 수 있을 것으로 기대된다.

## 초 록

선진 각국에서는 항생제 등 동물용의약품의 사용을 엄격하게 규제하고 있으며, 식품 중 동물용의약품의 잔류허용기준(Maximum Residue Levels, MRLs)을 설정하여 과도한 사용을 억제토록 정책을 유지하고 있다. 우리나라에서도 CODEX 기준을 바탕으로 식품 중 동물용의약품에 대한 MRLs 및 시험방법을 설정하여 식품공전에 제시하고 있으며 HPLC, LC/MS/MS 또는 GC/MS 등 기기의 발달, 분석법의 개발 등으로 기존의 시험방법을 대체하거나 효율적인 시험방법을 확립함으로써 지속적인 시험방법의 개발, 개선향상 및 관리로 안전한 식품관리의 신뢰성 확보가 요구되고 있다.

본 연구에서는 기존의 HPLC/UV나 유도체화 분석 등을 통해 검출이 어려운 네오마이신과 겐타마이신에 대해 LC/MS를 이용한 동시분석방법을 검토하였으며, 몇 가지 수산물 검체에 대한 적용성을 평가하였다. 대상 수산물은 광어, 우럭, 장어, 대

하 등 4종이었으며 전처리 방법으로 추출용매는 2% 아세트산을 함유한 20% 아세트나이트릴과 HLB 카트리지와 WCX 카트리지를 연결하여 사용하였다. LC/MS 동시분석 조건은 이동상으로 용매 A: 5 mM heptafluorobutyric acid, 용매 B: 아세트나이트릴을 이용하여 gradient로 유속은 0.4 mL/min로 하였다. 그 결과, 각 정량기준농도의 0.5, 1, 2, 4배 농도에서 검량선의 직선성( $r^2$ )은 네오마이신 0.989, 겐타마이신 0.989이었으며 네오마이신의 회수율과 CV는 0.25~1.00 mg/kg에서 각각 92~115% 및 1.3~5.6%, 각 수산물에 대한 LOD와 LOQ는 각각 0.0005~0.0007 mg/kg 및 0.0017~0.0023 mg/kg이었다. 겐타마이신의 회수율과 CV는 0.05~0.20 mg/kg에서 각각 99~116% 및 3.0~22.1%, 각 수산물에 대한 LOD와 LOQ는 각각 0.0017~0.0100 mg/kg 및 0.0056~0.0333 mg/kg이었다. 향후 이들 수산물에 대한 대상 동물용의약품의 MRLs 설정 시 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

**Key words:** aminoglycoside, mass spectrometry, seafood, veterinary drug

## 감사의 글

본 연구는 2008년도 식품의약품안전청의 지원(08072기타사 617)에 의하여 수행된 연구 결과이며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Arnold LS, Robert SD, George RS, David WS, Vassiliki P and Syriopoulou (1988) Gentamicin Penetration into Cerebrospinal Fluid in Experimental Haemophilus influenzae Meningitis, Antimicrob Agents Chemother **32**, 1034-1039.
- ChemSpider, <http://www.chemspider.com/>.
- Cohen M, Harrison PF, and Lederberg J (1998) Antimicrobial Resistance: Issues and Options. Division of Health Sciences Policy, pp. 41, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington DC.
- Korea Animal Health Products Association (KAHPA) <http://>

- www.kahpa.or.kr/.
- Korea Food and Drug Administration (KFDA) (2007) The Criteria and Specifications of Food. KFDA notice 2007-71, 2007a, Korea.
- Korea Food and Drug Administration (KFDA) (2006a) Veterinary drug residue monitoring, pp. 530, KFDA, Volume 10, Korea.
- Korea Food and Drug Administration (KFDA) (2006b) Development of an analytical method for the determination of veterinary drug residues in food, pp. 861, KFDA, Volume 10, Korea.
- Kummerer K (2004) Resistance in the environment, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **54**, 311-320.
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (2007) Annual report on Fisheries trends in 2007, Korea.
- Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) (2005) Analytical Methods for Residual Compositional Substances of Agricultural Chemicals, Feed Additives, and Veterinary Drugs in Food. The director notice no.0124001, Japan.
- National Veterinary Research & Quarantine Service (NVRQS) (2007) Guidelines on safe use of Veterinary Drugs. The director notice no.2007-25, Korea.
- Oertel R, Neumeister V, and Kirch W (2004) Hydrophilic interaction chromatography combined with tandem-mass spectrometry to determine six aminoglycosides in serum, *Journal of Chromatography A* **1058**, 197-201.
- Samanidou VF, and Evaggelopouou EN (2007) Analytical strategies to determine antibiotic residues in fish. *Journal of Separation Science* **30**, 2549-2569.
- STATISTICS KOREA (2007) Fisheries Production Survey, Korea.
- United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service (USDA FSIS) (2009) Chemistry Laboratory Guidebook, USA.