

HPLC-UVD를 이용한 축산식품 중 Novobiocin의 시험법 확립

박희라 · 권찬혁¹ · 이종구² · 김형수 · 채영식 · 오재호 · 권기성^{3*}

식품의약품안전청 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 화학물질과, ¹식품의약품안전청 식품기준과,
²식품의약품안전청 신소재식품과, ³부산지방식품의약품안전청 시험분석센터

Establishment of an Analytical Method for Novobiocin in Livestock Products Using HPLC-UVD

Hee-ra Park, Chan-Hyeok Kwon¹, Jong-Goo Lee², Hyung-Soo Kim, Young-Sik Chae, Jae-Ho Oh, and Kisung Kwon^{3*}

Food Chemical Residues Division, Department of Food Safety Evaluation,
National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Food and Drug Administration

¹Food Standardization Division, Department of Food Standardization, Food and Drug Administration

²Novel Food Division, Food and Drug Administration

³Center for Food and Drug Analysis, Busan Regional Food and Drug Administration

Abstract Novobiocin is a coumarin-containing antibiotic, and has a longer half-life in various animals than other veterinary medicines. A simple and rapid high-performance liquid chromatography assay for the determination of residual novobiocin levels in chicken, beef and milk has been developed and validated. The separation condition for HPLC/UVD was optimized by a MG II C₁₈ (4.6 mm ID×250 mm, 5 μm) column with 0.1% formic acid in H₂O/0.1% formic acid in Acetonitrile (40/60, v/v) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min and the detection wavelength was set at 340 nm. Residues were extracted from tissue by blending with methanol. After liquid-liquid partitioning, lipid materials were removed with n-hexane and purification as Silica (1 g, 6 mL) cartridge with 10 mL acetone/dichloromethane (10/90, v/v). Limit of quantification and linearity performed by the analytical method were 0.02 mg/kg and 0.999 (r²), and the recovery range was 88.8±5.6-100.3±4.4, 88.8±7.2-97.0±3.2 and 88.1±4.3-92.8±3.6%. It is expected that this analytical method with regards to novobiocin in chicken, beef and milk could be applied as an official method to administer food safety on veterinary medicines.

Keywords: novobiocin, chicken, beef, milk, HPLC/UVD

서 론

최근 축·수산물 등의 산업형태가 대규모, 집단화되면서 식용 동물의 대량생산, 생산성향상, 질병치료 및 예방 등의 목적으로 다양한 종류의 동물용의약품이 사용되고 있다. 동물용의약품 중 항생제의 경우 2007년 항생제 사용감소를 위한 제도(농림부고시 제2007-83호) 마련됨에 따라 항생제 사용량이 다소 감소하고는 있지만, 밀집 사육을 하는 우리나라 축산업의 특성상 질병 예방목적의 항생제는 여전히 많이 사용되고 있다. 2009년 사용량은 연간 998톤이었으며 국내 육류 생산량 1톤당 항생제 사용량은 0.54 kg(08')으로 스웨덴의 18배, 미국의 1.7배, 일본의 1.4배이다. 또한 항생제 사용량 중 배합사료용 비율은 감소하고 있는 반면('01년 56% '09년 25%) 자가 치료 및 예방용 항생제 비율은 오히려 증가세('01년 38% '09년 65%)를 보이고 있어 지속적인

관리가 필요한 실정이다(1).

식품 중 잔류동물용의약품에 대한 관리는 1989년 잔류허용기준을 설정하면서 시작되었으며 2011년 현재 143종에 대한 잔류기준을 마련하면서 지속적으로 안전관리를 수행해오고 있다. 다만 국내에서 이미 사용 허가된 약품 중 잔류허용기준이 없거나 또는 제 외국에서 사용 중이나 우리나라에서 관리가 되지 않는 약품 등에 대해서는 잔류허용기준 설정이 요구되고 있으며, 과학이 발달하면서 기존의 잔류시험법 등을 개선하는 시험법 선진화가 추진되고 있는 실정이다(1).

동물용의약품 중 aminocoumarin 계열 항생제인 노보비오신(Novobiocin, N-7-3-O-(Aminocarbonyl)-6-deoxy-5-C-methyl-4-O-methyl-beta-L-lyxo-hexopyranosyl-4-hydroxy-8-methyl-2-oxo-2H-1-benzopyran-3-yl-4-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)benzamide)은 약산성 항생제로서 *Streptomyces niveus*에 의해 생산되는 약품으로 coumarin부분, benzoic acid 유도체부분과 당성분인 noviose부분으로 구성되어 있다(Fig. 1). Type DNA topoisomerase DNA gyrase의 합성을 방해하며(2) 특히, 그람양성세균에 대해 주로 항균력을 나타낸다(3).

노보비오신은 주로 젖소의 유방염 치료에 이용되고 있으며 약리작용으로는 단독 투여 시 정균작용과 다른 항생제와 복합제로 사용하면 살균작용을 나타내는(4) 병용효과를 보이는 것으로 알려져 있다. 미국 FDA에서는 포도상구균 질환 중 다른 약물의 선택

*Corresponding author: Kisung Kwon, Center for Food and Drug Analysis, Busan Food and Drug Administration, Busan 608-829, Korea

Tel: 82-51-610-6102

Fax: 82-51-610-6159

E-mail : kisungk@korea.kr

Received September 27, 2011; revised December 30, 2011;

accepted March 7, 2012

이 불가능할 경우에 한해서만 처방을 허가하고 있을 정도로 인체에 적용하는 것은 신중히 고려되고 있는 약품으로(5,6) 1982년 우유 중 잔류허용기준(MRL)를 0.1 ppm으로 설정되어 하고 있다(7). 우리나라에서는 2010년까지 소, 닭, 칠면조, 오리에게 대해 각각 1.0 ppm으로 잔류허용기준을 설정하여 관리하고 있었으나, 2011년 상기 항목에 대한 기준을 삭제하고 소근육, 소간, 소지방, 소신장에서 0.1 ppm, 우유에 대해서 0.05 ppm으로 입안예고 중에 있다.

축·수산물 중 잔류동물용의약품에 대한 시험은 시료 특성상 시료의 장기 보관이 어렵고, 그 구성성분이 매우 복잡하고 다양하여 시험법이 까다로운 편이며, 또한 미량을 측정해야하므로 고감도 분석장비가 이용되어야 하는 경우도 많다. 그러나 식품공전 등 표준화된 공정시험법으로 적용되기 위해서는 범용적으로 사용가능한 기계를 활용하여 고감도 및 재현성이 좋은 시험법을 개발하여야 한다.

Lee 등(6)은 노보비오신의 HPLC 및 LC-MS/MS 분석법들에서 순상칼럼 또는 전형적인 역상 ODS 칼럼을 사용하였고, 주로 기울기 용리를 이용하여 원료의약품, 의약품제제, 우유, 사람의 혈장 및 혈청, 지표수 등에서 노보비오신 분석을 보고하였고, Kim 등(8)은 메탄올을 사용하여 우유에서의 노보비오신 분석을 보고하였다. 또한 Ionue 등(9)의 연구에서는 centrifugal ultrafiltration을 이용하여 새로운 노보비오신 분석에 적용시켜 분석하였다. 이러한 분석법들은 모두 높은 회수율, 재현성 및 정확성을 나타내었지만, 아직까지 우리나라 기준과 규격에 맞는 시험법으로는 확립되지 않아 노보비오신의 분석에 대한 시험법이 절실히 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 식품 중 잔류될 수 있는 노보비오신에 대하여 보편적인 HPLC-UVD를 사용하여 국제식품규격위원회(Codex) 기준에 부합하고 액-액분배법 등 정제과정을 추가하여 잔류물질의 감도를 높인 시험법을 개발하고자 하였으며, HPLC-MS를 이용한 정성시험법도 확립하였다. 확립된 시험법은 동물용의약품의 안전관리를 위한 공정시험법으로 활용될 것으로 기대된다.

재료 및 방법

시료

사용된 시료(닭고기, 소고기 및 우유 등)는 유통 대형마트에서 구입하여 사용하였으며, 축산물의 경우는 구입 후 각각 균질화한 후 폴리에틸렌 지퍼팩에 담아 -70°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

시약 및 장비

노보비오신 표준품(93%)은 Dr. Ehrenstorfer GmbH(Augsburg, Germany)에서 구입하였고, hexan, 메탄올, 디클로로메탄 및 아세토니트릴 등은 HPLC grade로써 Merck(Darmstadt, Germany)에서 구입하여 사용하였다. 무수황산나트륨은 Wako(Osaka, Japan)로부터, 실리카 카트리지(Silica, 1 g, 6 mL)은 Waters(Massachusetts, USA)로부터 구입하였다.

노보비오신을 분석하기 위하여 자외부흡광광도검출기(UVD, Ultraviolet Detector)가 장착된 액체크로마토그래프(High Performance Liquid Chromatograph, Shiseido Nanospace SI-2 HPLC set, Tokyo, Japan)를 이용하였으며 칼럼으로는 MG II C₁₈ (4.6 mm i.d.×250 mm, 5 μm, Shiseido, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 이동상으로 0.1% 개미산이 함유된 물/아세토니트릴 혼합액(40/60, v/v)을 사용하였고 칼럼 온도, 검출기 파장, 이동상의 유량 및 시료 주입량은 각각 40°C, 340 nm, 1 mL/min 및 20 μL이었다. 검체 중

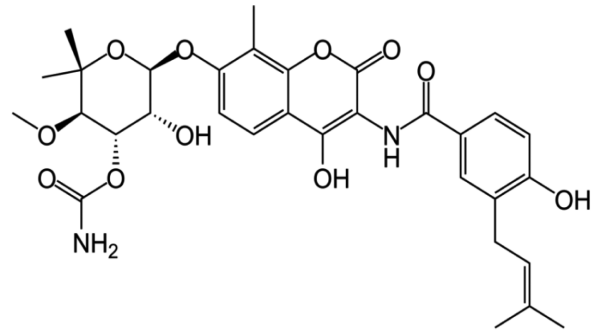


Fig. 1. The chemical structure of novobiocin.

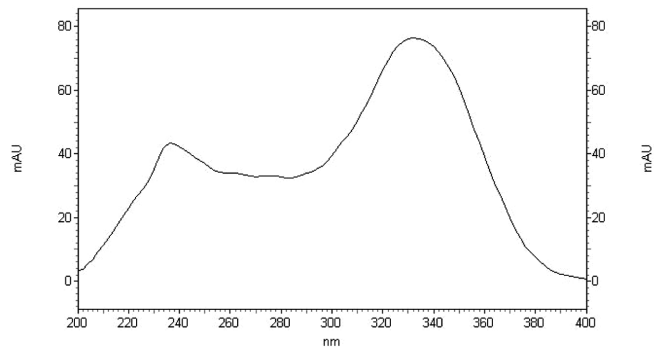


Fig. 2. The UV spectrum of novobiocin.

노보비오신을 확인하기 위하여 액체크로마토그래프-질량분석기(HPLC-MS, Thermo Finnigan TSQ Quantum Ultra, Waltham, USA)를 사용하였다.

시료 전처리

닭고기와 소고기 5g을 각각 정밀히 달아 균질기 용기에 넣고, 무수황산나트륨 30g과 메탄올 30mL를 넣은 후 3분간 균질화하여 원심분리기용 튜브에 넣고 30분간 진탕 추출하였다. 이를 8,000×g, 4°C에서 10분간 원심분리한 후 상등액 15mL를 정확히 감압농축플라스크에 취하여 감압농축한 뒤, 잔류물을 메탄올로 포화된 hexan 10mL와 hexan으로 포화된 메탄올 10mL로 용해시켜 분액깔대기에 취하였다. 분액깔대기를 심하게 흔들어 10분간 정지한 후 메탄올층을 취하여 감압농축 플라스크에 취하고, 상기 hexan층에 다시 hexan으로 포화된 메탄올 10mL를 가하여 심하게 흔들어 10분간 정지시킨 다음 메탄올층을 상기 감압농축플라스크에 합하여 농축하였다. 이를 아세톤/디클로로메탄 혼합액(10/90, v/v) 10mL를 가하여 용해시킨 후 실리카 카트리지에 아세톤/디클로로메탄 혼합액(10/90, v/v) 5mL를 넣고 유출시켰다. 고정상상단이 노출되기 직전에 상기 아세톤/디클로로메탄 혼합액(10/90, v/v) 10mL에 용해된 시료를 유출시킨 다음, 고정상상단이 노출되기 직전에 아세톤/디클로로메탄 혼합액(10/90, v/v) 5mL를 유출시키고, 고정상상단이 노출되기 직전에 메탄올/아세톤 혼합액(10/90, v/v) 10mL를 용출시켜 시험관에 받았다. 이를 40°C 이하의 수욕상에서 완전히 질소 농축한 다음 잔류물을 0.1% 개미산/아세토니트릴 혼합액(40/60, v/v)으로 용해하여 최종부피를 2mL가 되도록 하여 시험용액으로 하였다.

우유는 5mL를 정밀히 달아 균질기 용기에 넣고, 무수황산나트륨 30g과 메탄올 30mL를 넣은 후 3분간 균질화하였다. 원심분리기용 튜브에 넣고 30분간 진탕 추출한 뒤, 이를 8,000×g, 4°C

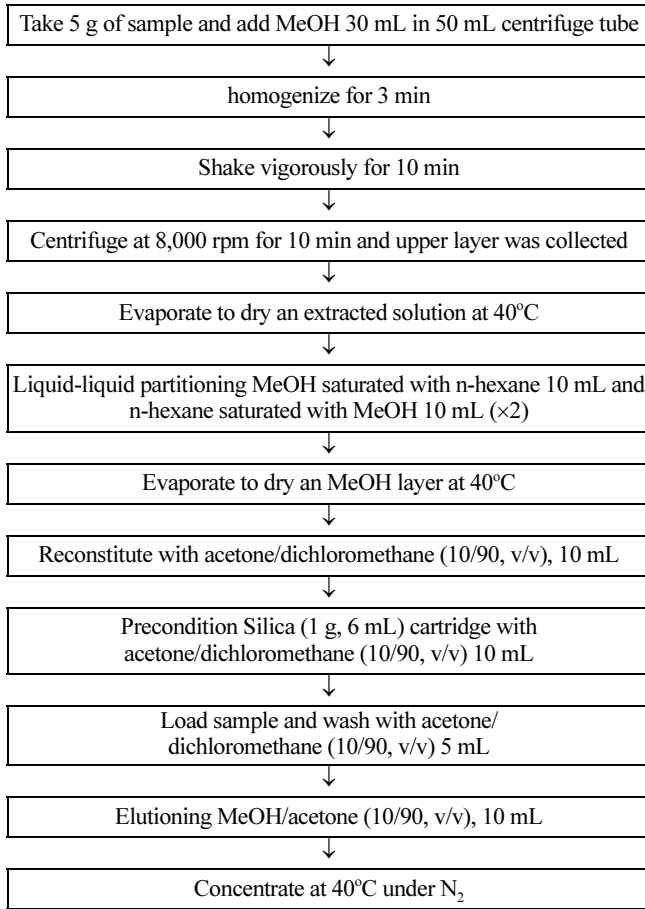


Fig. 3. Sample preparation for analysis of novobiocin in sample.

에서 10분간 원심분리한 후 상등액 30 mL를 감압농축플라스크에 취하여 감압 농축하였다. 다음 과정은 상기 위의 과정과 동일하게 한 후 최종부피를 1 mL가 되도록 하여 시험용액으로 하였다.

HPLC 및 HPLC-MS 조건 최적화

축산식품 중에 잔류하는 노보비오신의 분석은 Lee 등(6)에 의해 선행된 연구를 참고하였고, 선행연구에서 피크의 폭과 대칭성이 우수한 ODS 칼럼을 사용한 것에 참고하여 MG II C₁₈(4.6 mm I.D.×250 mm, 5 μm, Shiseido, Tokyo, Japan), 칼럼을 사용하였다. 이동상으로 개미산 0.1%가 함유된 물/아세토니트릴 혼합액(40/60, v/v)으로 기울기 용리를 하는 것이 노보비오신의 감도 및 분리능에 가장 우수하여 적용시켰고, 칼럼 온도, 검출기 파장, 이동상의 유량 및 시료 주입량은 각각 선행연구를 참고하여(6) 40°C, 340 nm, 1 mL/min 및 20 μL로 선택하였다. 분석조건은 Table 1에 나타내었다.

분석법 검증(Validation)

닭고기와 소고기 시료로부터 노보비오신 0.1-5.0 mg/L의 농도에 대한 노보비오신의 피크 면적을 이용하여 검량선을 작성하였으며, 각 검량선의 상관계수(correlation coefficient, r)를 구하였다. 노보비오신 표준용액 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 및 5.0 mg/L의 6개의 농도에 대하여 검량선(calibration curve)를 작성한 결과 상관계수가 0.999 이상으로 CODEX에서 요구하는 0.95이상 이었다. 또한 정량한계는 시료조제과정을 거친 닭고기와 소고기 시료에 표준품을 0.02 mg/kg 수준으로 첨가하여 신호대 잡음비(S/N ratio)를

Table 1. HPLC/UV/D parameter for the analysis of novobiocin in chicken, beef and milk

HPLC	Shiseido Nanospace SI-2		
Column	MG II C ₁₈ (4.6 mm ID × 250 mm, 5 μm)		
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in H ₂ O B: 0.1% formic acid in Acetonitrile		
	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.0	40	60
	15.0	40	60
	20.0	85	15
	30.0	85	15
	34.0	40	60
	40.0	40	60
Flow rate	1.0 mL/min		
Oven temp.	40		
Injection volume	20 μL		
Detector	UV 340 nm (210-400)		
Mass Spectrometry	Thermo Finnigan TSQ Quantum Ultra		
Column	MG II C ₁₈ (2.0 mm × 100 mm, 3 μm)		
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in H ₂ O B: 0.1% formic acid in Acetonitrile		
	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.0	50	50
	15.0	50	50
	16.0	100	0
	20.0	100	0
	21.0	50	50
	25.0	50	50
Flow rate	0.2 mL/min		
Ion mode	ESI (positive)		
Spray Voltage	4.5 kV		
Sheath Gas	N ₂ (35 psi)		
Capillary Temperature	350		
Auxiliary Gas	N ₂ (50 psi)		
Collision Gas	Ar		
Collision Voltage	50 V		
Injection volume	5 μL		
Scan range	500-700 m/z		

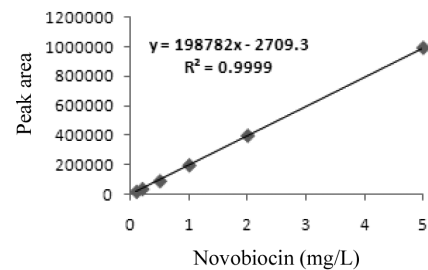


Fig. 4. Calibration curve of novobiocin in chicken and beef.

10 이상으로 하여 계산하였다(Fig. 4).

우유 시료로부터 노보비오신 0.05-2.0 mg/L의 농도에 대한 노보비오신의 피크 면적을 이용하여 검량선을 작성하였으며, 각 검량선의 상관계수(correlation coefficient, r)를 구하였다. 노보비오신

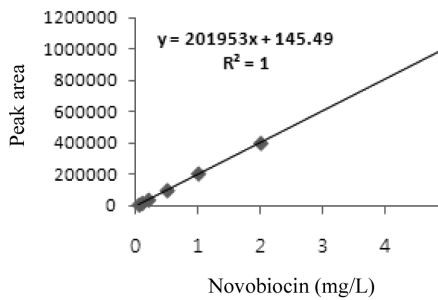


Fig. 5. Calibration curve of novobiocin in milk.

표준용액 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 및 2.0 mg/L의 6개의 농도에 대하여 검량선(calibration curve)을 작성한 결과 상관계수가 0.999 이상으로 CODEX에서 요구하는 0.95 이상이었다. 또한 정량한계는 시료조제과정을 거친 유 시료에 표준품을 0.02 mg/kg 수준으로 첨가하여 신호대 잡음비(S/N ratio)를 10 이상으로 하여 계산하였다(Fig. 5).

본 연구에서 수행된 모든 시험법의 효율 및 신뢰성을 검증하기 위하여 회수율 시험을 수행하였다. 동물용의약품이 잔류하여 있지 않은 시료에 각각의 분석 물질을 최대잔류허용기준(MRL)의 1/2배, 1배, 2배 수준이 되도록 처리, 혼화하고 위의 분석과정을 행하여 회수율을 측정하였다. 각 실험은 여섯 번 반복되었다.

결과 및 고찰

최적분석조건의 설정

축산 식품에 잔류하는 노보비오신의 분석 방법에서 시료전처리 조건, 고정상, 이동상 조성, 검출 파장 등을 변경하면서 최적의 감도, 간섭물질로부터 분리능, 머무름 시간 등을 설정하였다. 그 결과 개발한 분석 조건에서 얻은 무처리 시료와 표준 물질을 spike한 시료의 크로마토그램을 Fig. 6, 7에 나타내었다. 노보비오신 표준물질은 시료 중 그 어떤 다른 성분들로부터 간섭을 받지 않았으며, 머무름 시간은 약 10.3분이었다. 닭고기, 소고기 및 우유 3종의 식품에 대하여 전처리 과정에서 메탄올로 추출 및 제단백하고, 무수황산나트륨으로 수분을 제거와 동시에 균질화하였다. 이를 헥산으로 포화된 메탄올과 메탄올로 포화된 헥산을 이용한 액-액분배법으로 비극성 물질들을 제거하고자 하였다. 또한 실리카 카트리지를 이용한 정제 과정을 추가하여 다양한 시료들에서 잔존하는 간섭물질들을 더 제거하고자 하였다. 예비 실험에서 HLB 카트리지를 이용하여 정제하고자 하였으나 회수율이 낮아 회수율이 높은 실리카 카트리지를 선택하게 되었다.

노보비오신을 분석하기 위한 이동상의 조성을 결정하기 위해 순상크로마토그래피용 이동상은 먼저 제외하였으며(10), 역상 크로마토그래피에 적당한 완충용액으로 0.1% 인산(phosphoric acid)(11)와 0.1% 개미산(formic acid) 중 표준물질의 감도가 조금 더 좋은 0.1% 개미산을 선택하였다.

노보비오신의 검출파장 선택에 있어 문헌(12)에서는 254 nm와 340 nm를 사용하여 분석하였으나 본 연구에서는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 340 nm에서 좀 더 높은 감도를 확인할 수 있었고, 간섭물질 대신 노보비오신의 피크가 뚜렷하게 관찰되어서 340 nm로 검출파장을 선택하였다. Codex 기준(10)을 참고하여 닭고기, 소고기 및 우유 시료에서 MRL 수준의 1/2, 1 및 2배의 농도 범위 노보비오신 표준품을 첨가한 다음 전처리하였다. 이를 HPLC로 분석하여 Fig. 8에서 보는 바와 같이 크로마토그램을 얻었다.

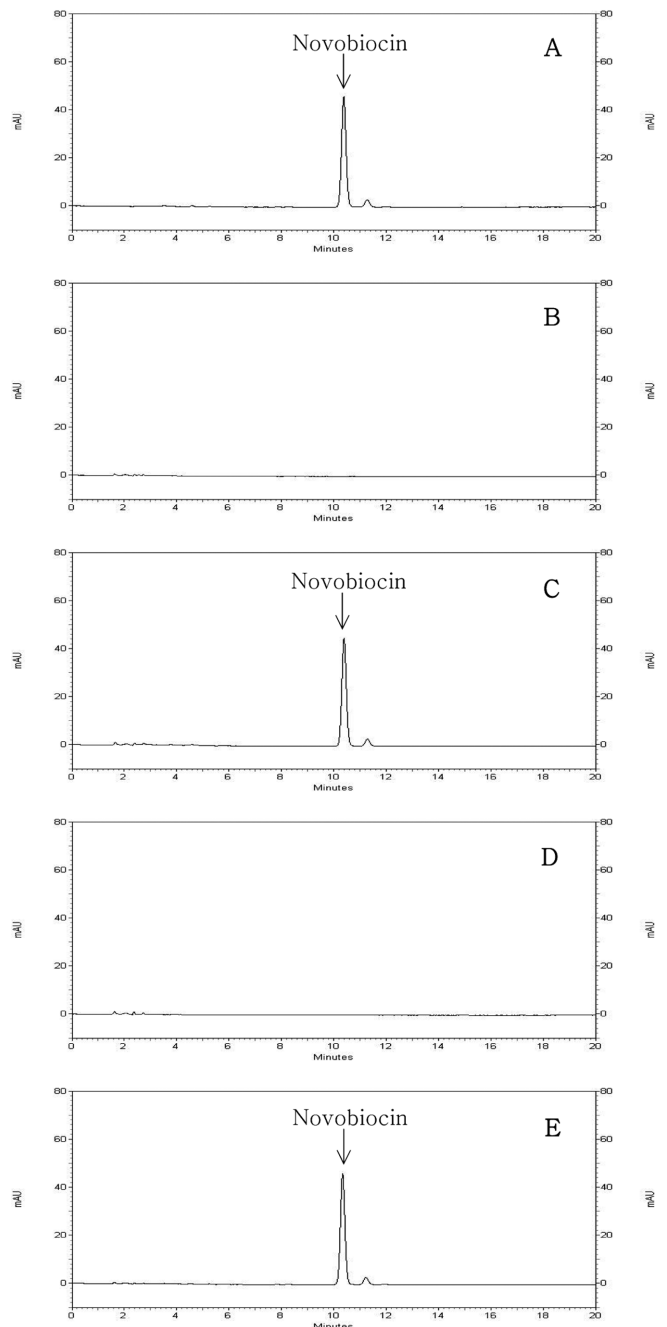


Fig. 6. HPLC-UV-D chromatograms of novobiocin standard (A), control chicken (B), fortified chicken sample at 0.5 mg/kg (C), control beef (D), and fortified beef sample at 0.5 mg/kg (E).

회수율 및 재현성

정확성은 검량선에 의하여 정량한 농도의 평균값을 기지의 농도로 나눈 비의 백분율(%)로 구하였으며, 정밀성은 노보비오신 피크 면적의 표준편차를 평균 피크 면적값으로 나눈 비의 백분율(%)로 구하여 Table 2에 결과를 나타내었다.

닭고기와 소고기 시료 5g에 노보비오신을 각각 0.5, 1.0과 2.0 mg/kg 3개 농도가 되도록 표준품을 첨가하여 시료조제과정을 거쳐 분석하였다. 분석 크로마토그램으로부터 머무름 시간을 비교하고 피크에 대한 평균면적을 구하여 검량선을 작성하여 시험용액 중 노보비오신의 함량을 구함으로써 회수율을 구하였으며, 6 반복 실험하여 정확성과 정밀성을 평가하였다. 그 결과, 확립한

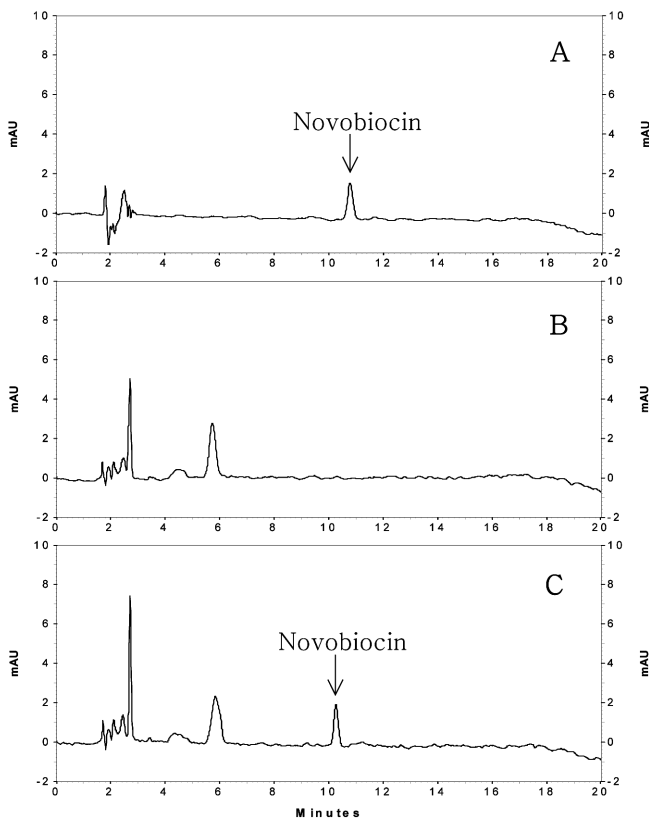


Fig. 7. HPLC-UVD chromatograms of novobiocin standard (A), control milk (B), and fortified milk sample at 0.025 mg/kg (C).

Table 2. Recovery and LOQ novobiocin

Food	Fortification. (mg/kg, ppm)	¹⁾ Recovery (%)	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Chicken	0.5	100.3±4.4	4.4	0.02
	1.0	88.8±5.6	6.3	
	2.0	96.3±7.6	7.9	
Beef	0.5	97.0±3.2	3.3	0.02
	1.0	90.3±2.1	2.4	
	2.0	88.8±7.2	8.1	

¹⁾Mean values of six replicates with standard deriviations.

Table 3. Recovery and LOQ novobiocin

Food	Fortification. (mg/kg, ppm)	¹⁾ Recovery (%)	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Milk	0.025	91.3±0.9	1.0	0.02
	0.05	92.8±3.6	3.9	
	0.1	88.1±4.3	4.8	

¹⁾Mean values of six replicates with standard deriviations.

분석법은 회수율이 닭고기는 92.5-103.8, 83.8-105.7, 85.7-104.8%, 소고기는 94.3-101.4, 86.1-91.9, 84.5-102.7%, 상대표준편차가 닭고기는 4.4-7.9%, 소고기는 2.4-8.1%로 만족할 만한 수준으로 평가되었다(Table 2).

우유 시료 5 mL에 노보비오신을 각각 0.025, 0.05과 0.1 mg/kg 3개 농도가 되도록 표준품을 첨가하여 시료 조제과정을 거쳐 분석하였다. 분석 크로마토그램으로부터 머무름 시간을 비교하고 피크에 대한 평균면적을 구하여 검량선을 작성하여 시험용액 중

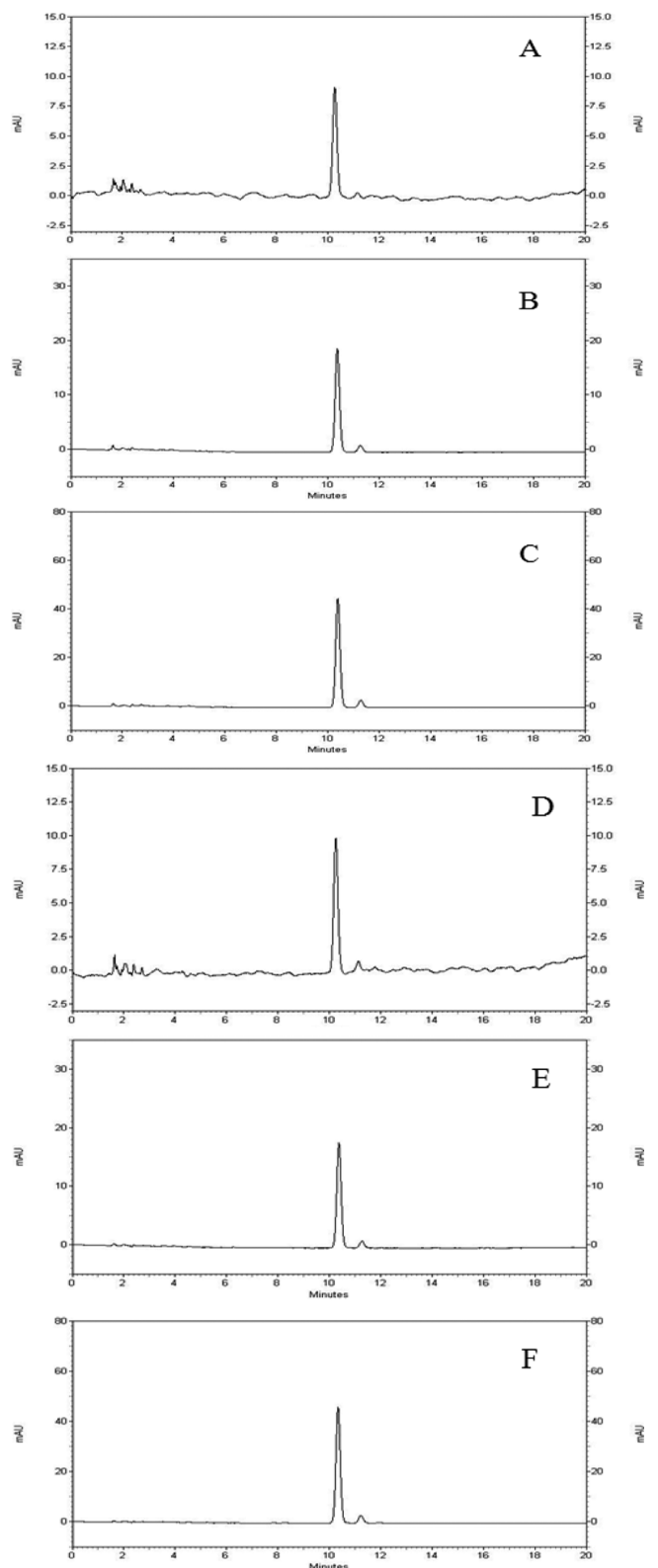


Fig. 8. HPLC-UVD chromatograms of fortified beef & chicken sample at MRL x 1/2 (A,D), MRL (B,E) and MRL x 2 (C,F).

노보비오신의 함량을 구함으로써 회수율을 구하였으며, 6번 반복 실험하여 정확성과 정밀성을 평가하였다. 그 결과, 확립한 분석법은 회수율이 89.9-92.4, 90.0-95.0, 82.3-93.2%이었으며, 상대표

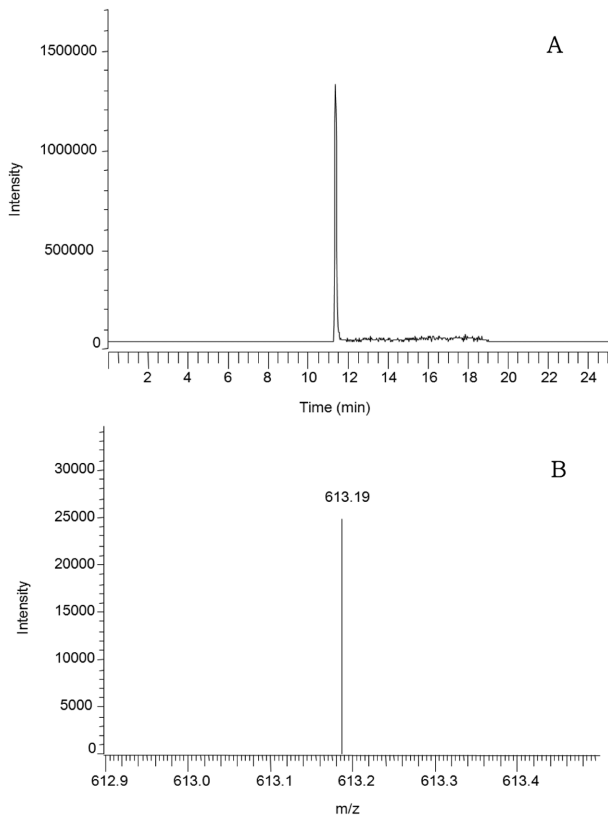


Fig. 9. Total ion chromatogram (A) and mass spectrum (B) of the novobiocin.

준편차가 1.0-4.8%로 만족할 만한 수준으로 평가되었다(Table 3).

3종의 축산식품 시료 중 회수율 결과는 Codex 기준에서 규정하는 100 µg/kg 이상의 농도에서 허용되는 회수율의 범위 80-110%를 만족하는 결과였다. 노보비오신을 확인하기 위하여 HPLC-MS를 이용하였고 그 분석조건은 Table 1에 나타내었다. 분자량 500-700의 범위에서 노보비오신의 total ion chromatogram(TIC)과 mass spectrum을 Fig. 9에 나타내었다.

결론

기준에 보고된 노보비오신의 HPLC 및 HPLC-MS 분석법들은 순상 칼럼이나 역상 ODS 칼럼을 주로 사용하였으며, 주로 원료 의약품이나 사람의 혈장과 혈청 등에서 분석하는 것이 대부분이었다. 또한 HPLC-MS 분석법을 제외한 나머지는 시료의 매트릭스가 복잡하거나 이성질체를 동시에 분석하는 이유로 분석시간이 20분 이상이었으며(6), 액-액분배법과 카트리지를 정제법을 이용하여 간섭물질을 최대한 제거한 분석법은 보고된 바 없었다. 또한, 단일시료(우유)에서의 노보비오신 분석에서 높은 회수율과 정확성을 보고한 연구도 있었지만, 단일시료의 분석이라는 것과 전처리 과정이 다소 복잡하였다(8). 최근에는 다양한 축·수산물 식품에 새로운 분석방법을 도입하여 효율성과 신속성을 향상시켰지만, 몇몇 시료에서 회수율이 다소 감소한 결과를 보여주었다(9). 따라서 본 연구에서는 3종의 축산 식품을 대상으로 효과적인 시료 전처리 방법과 최적의 정제 과정을 확립하였으며, 분석법 검증을 통하여 만족스러운 결과를 확인할 수 있었다.

요약

노보비오신은 동물용의약품 중 약산성 항생제이며, 우리나라의 경우 선진국에 비해 항생제의 사용이 높은 만큼 동물용의약품의 잔류 사례는 계속해서 증가하고 있다. 이에 따라 식품 중 잔류 동물용의약품의 안전관리를 위해 축산 식품 중 닭고기, 소고기 및 우유에서 노보비오신에 대한 HPLC-UVD를 이용한 잔류 분석법을 확립하였다. 각 시료 일정량에 메탄올을 가하고 균질화하여 대상 성분을 추출하고 액-액분배법으로 지방성분을 제거한다. 대상성분이 추출된 여액을 실리카 카트리지를 이용하여 정제한 다음 HPLC-UVD로 분석하였다. 확립된 시험법의 정량한계와 직선성은 CODEX 기준에 적합한 수준으로 각각 0.02 mg/kg과 0.999 (r^2)이었으며 회수율은 닭고기, 소고기 및 우유에서 각각 88.8±5.6-100.3±4.4, 88.8±7.2-97.0±3.2 및 88.1±4.3-92.8±3.6%이었다. 본 연구에서 확립된 노보비오신의 시험법은 동물용의약품의 안전관리를 위한 공정시험법으로 활용될 것으로 기대된다.

감사의 글

이 연구는 2010년 식품의약품안전평가원 ‘식품 중 잔류물질의 신규 시험법 개발 연구’(10161식품안001)의 연구개발비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Shin HC. Planning study on the development of residue standardization for veterinary drugs. Report of NIFDS. Korea Food & Drug Administration, Osong, Korea. pp. 20-50 (2010)
- Maxwell A. DNA gyrase as a drug target. Trends Microbiol. 5: 102-109 (1997)
- Reeves VB. Liquid chromatographic procedure for the determination of novobiocin residues in bovine milk. interlaboratory study. J. AOAC. 78: 55-58 (1995)
- French P. Venuti E. Frainow HS. *In vitro* activity of novobiocin against multiresistant strains of Enterococcus faecium, Antimicrob. Agents Ch. 37: 2736-2739 (1993)
- Montecalvo MA. Horowitz H. Wormser GP. Seiter K. Caronaro CA. Effect of novobiocin-containing antimicrobial regimens on infection and colonization with vancomycin-resistant Enterococcus faecium, Antimicrob. Agents Ch. 39: 794 (1995)
- Lee BK. Lee SJ. Jung EH. Lin HK. Han SB. Determination of residual novobiocin in livestock products and fisheries products by HPLC, Anal. Sci. Technol. 20: 347-354 (2007)
- Code of Federal Regulations. Title 21. Part 556.460. U.S. Government Printing Office. Washington, DC, USA (1992)
- Kim HJ. Hwang LH. Joeng JH. Yoon ES. Park NW. Han IG. A study on determination of novobiocin residues in milk by high performance liquid chromatography, Korean J. Vet. Serv. 21: 261-266 (1998)
- Inoue K. Nitta S. Hino T. Oka H. LC-MS/MS and centrifugal ultrafiltration method for the determination of novobiocin in chicken, fish tissues, milk and human serum. J. Chromatogr. B 877: 461-464 (2009)
- Codex Guidelines for the Establishment of a Regulatory Programme for Control of Veterinary Drug Residues in Foods (CAC/GL 16). (1993)
- Tsuji K. Rahn PD. Kane MP. High-Performance liquid chromatographic method for the determination of novobiocin, J. Chromatogr. 235: 205-214 (1982)
- Zuhowski EG. Gutheil JC. Egorin MJ. Rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic assay for novobiocin in human serum, J. Chromatogr. B 655: 147-152 (1994)