

Research Article

Open Access

## HPLC-PDA를 이용한 닭고기 중 Nitroxoline 분석법 개발

조운제,<sup>1</sup> 채영식,<sup>1</sup> 김재은,<sup>1</sup> 김재영,<sup>1</sup> 강일현,<sup>1</sup> 이상목,<sup>1</sup> 도정아,<sup>1</sup> 오재호,<sup>1</sup> 장문익,<sup>1\*</sup> 홍진환<sup>1</sup>

<sup>1</sup>식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 잔류물질과

### Development and Validation of Analytical Method for Nitroxoline in Chicken Using HPLC-PDA

Yoon-Jae Cho,<sup>1</sup> Young-Sik Chae,<sup>1</sup> Jae-Eun Kim,<sup>1</sup> Jae-Young Kim,<sup>1</sup> Ilhyun Kang,<sup>1</sup> Sang-Mok Lee,<sup>1</sup> Jung-Ah Do,<sup>1</sup> Jae-Ho Oh,<sup>1</sup> Moon-Ik Chang<sup>1\*</sup> and Jin-Hwan Hong<sup>1</sup> (Residues of Pesticide and Veterinary Drugs in Foods Division, Department of Food safety Evaluation, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety Chungwon 363-700, Korea)

Received: 2 January 2013 / Revised: 14 March 2013 / Accepted: 25 March 2013

© 2013 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

#### Abstract

**BACKGROUND:** Nitroxoline is an antibiotic agent. It is used for the treatment of the second bacterial infection by the colibacillosis, salmonellosis and viral disease of the poultry. When the nitroxoline is indiscreetly used, the problem about the abuse of the antibiotics can occur. Therefore, this study presented the residue analytical method of nitroxoline in food for the safety management of animal farming products.

**METHODS AND RESULTS:** A simple, sensitive and specific method for nitroxoline in chicken muscle by high performance liquid chromatograph with PDA was developed. Sample extraction with acetonitrile, purification with SPE cartridge (MCX) were applied, then quantitation by HPLC with C18 column under the gradient condition with 0.1 % tetrabutylammonium hydroxide-phosphoric acid and methanol was performed. Standard calibration curve presented linearity with the correlation coefficient ( $r^2$ ) > 0.999, analysed from 0.02 to 0.5 mg/L concentration.

Limit of quantitation in chicken muscle showed 0.02 mg/kg, and average recoveries ranged from 72.9 to 88.1 % in chicken muscle. The repeatability of measurements expressed as coefficient of variation (CV %) was less than 12 % in 0.02 and 0.04 mg/kg.

**CONCLUSION(S):** Newly developed method for nitroxoline in chicken muscle was applicable to food inspection with the acceptable level of sensitivity, repeatability and reproducibility.

**Key Words:** Analytical method, Chicken, HPLC-PDA, Nitroxoline, Residue

#### 서론

Nitroxoline(5-nitro-8-hydroxyquinoline)은 항생제로서 항혈관 형성, 항암 및 항진균 효과를 광범위하게 나타낸다(Karpi ska *et al.*, 2010; Pelletier *et al.*, 1995). 의학적으로는 오토타믹증의 치료에 이용되는데, 오토타믹증을 일으키는 그람 양성 및 음성균에 대하여 활성을 나타내며, 특히 *Candida albicans* 균에 큰 효과를 나타낸다(Ghoneim *et al.*, 2011). 또한, 동물에게는 주로 가금류의 대장균증, 살모넬라증 및 바이러스성 질병에 기인한 2차 세균 감염증을 치료하는 항생제로 이용된다(잔류동물용의약품 기준 선진화를 위

\*교신저자(Corresponding author),  
Phone: +82-43-719-4204; Fax: +82-43-719-4200;  
E-mail: 1004@korea.kr

한 기획 연구(KFDA, 2010).

국내 축·수산업 동물용 의약품의 최근 5년간 사용량은 약 13,000여톤 정도로 비교적 많은 양이 사용되고 있다(Shin *et al.*, 2011). 현대의 축·수산업에서 항생제 사용은 불가피 하나 사용된 항생제가 축산물로의 이행 및 잔류로 이어지면, 식품 위생 등의 문제로 나타날 수 있으며, 최근 문제시 되고 있는 축·수산식품 내 동물용 항생제의 잔류와 내성 등의 부작용으로 인해 심장기능 및 임신율의 저하, 체내 간장·신장 등 장기의 기능 장애, 발육 저하, 독성 발현 및 내성균의 발생과 같은 유해 작용을 나타낼 수 있다(잔류동물용의약품 기준 선진화를 위한 기획 연구(KFDA), 2010). 항생제 중 하나인 nitroxoline의 경우, 국내에서의 사용량이 2009년에는 260 kg, 2010년에는 129 kg 정도로 다른 항생제에 비해 적은 양이지만(Shin *et al.*, 2012), 인체에 미치는 영향이 현재까지 보고된 바 없으며, 국내는 물론 제외국에서도 기준 및 규격이 설정되어있지 않은 상태이다(잔류동물용의약품 기준 선진화를 위한 기획 연구(KFDA), 2010). 따라서 항생제의 무분별한 사용을 야기시킬 수 있으며, 더 나아가 항생제의 오·남용의 문제가 나타날 수도 있다.

현재까지 임상 등에 관련된 몇몇 문헌(Karpi ska *et al.*, 2010; Szabó *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 2001; Ghoneim *et al.*, 2011; Štefane *et al.*, 2012; Kang *et al.*, 2003)을 제외하고는 식품 중 잔류분석을 수행한 연구는 거의 보고된 바 없을 뿐만 아니라, 특히 가금류에 대한 잔류분석연구는 전무한 상황이다. 최근 우리나라에서는 사용이 허가된 동물용의약품에 대한 기준을 설정, 강화하고 있는 추세에 따라 독성 및 잔류자료들이 요구되는 상황에서 가금류에 사용하기 위하여 등록된 nitroxoline의 안전관리를 위한 잔류분석법이 필요함에

따라 nitroxoline의 효율적이고 신속한 분석법을 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료

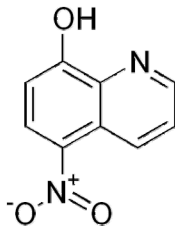
시중에서 유통되고 있는 가금류(닭고기)를 구입하여 공시험을 거쳐 nitroxoline이 잔류되지 않은 시료를 대상으로 회수율 시험을 하였다. 대상 시료의 근육을 믹서기로 마쇄하여 균질화한 후 20 g 단위로 소분하여 분석 전까지 냉동실(-20 °C)에 보관하면서 사용하였다.

### 시약 및 재료

Nitroxoline(8-Hydroxy-5-nitroquinoline, 96.0 %) 표준품은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 표준용액은 메탄올(Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하여 조제하였으며, nitroxoline의 물리화학적 특성은 Table 1에 나타내었다.

액체크로마토그래피 이동상 및 전처리용 시약으로는 아세트 니트릴 및 메탄올의 경우 HPLC급 시약(Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. 또한, 수산화암모늄, 개미산 및 인산은 특급 시약(Wako, Osaka, Japan)을 구입하여 사용하였고, TBAOH(tetrabutylammonium hydroxide solution(assay 55-60 % in water))는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 분석에 사용한 고상추출 카트리지(SPE)는 MCX 카트리지(mixed-mode cation exchange (500 mg, 6 mL), Waters, Bellefonte, PA, USA)를 이용하여 활성화 과정을 거친 후 사용하였다.

Table 1. Physicochemical properties and structure of nitroxoline

IUPAC name	5-Nitroquinolin-8-ol	
CAS No.	4008-48-4	
Melting point	177~182 °C	
Molecular weight	190.16 (C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	
Boiling point	418.995 °C at 760 mmHg	
Density	1.497 g/ml	
Log Pow <sup>1)</sup>	2.004	
Vapor pressure (25 °C, mPa)	6.419 × 10 <sup>-3</sup> mmHg at 25 °C, 8.537 × 10 <sup>-7</sup> mPa at 25 °C	
pKa	-	
Solubility	Soluble in Water	
Toxicity	ORL-RAT : LD <sub>50</sub> > 104 mg/kg	

<sup>1)</sup>n-Octanol/water partition coefficient.

### 표준용액의 조제

Nitroxoline 표준물질 약 10 mg을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 µg/mL 표준원액으로 조제하였으며, 표준용액은 표준원액을 실험 전에 메탄올로 희석하여 사용하였다. 표준원액과 표준용액은 모두 갈색병에 담아 -20 °C 냉동실에 보관하여 사용하였다.

### 시료 전처리

균질화한 닭고기 근육 시료 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 20 mL 아세토니트릴을 가한 후 진탕하여 추출 과정을 거쳤다. 이를 9,000 G, 4 °C에서 10분간 원심분리하고 얻어진 상정액을 농축플라스크에 취하였다. 이 잔류물에 아세토니트릴 20 mL를 가하고 위의 원심분리 과정을 재 반복한 후 얻어진 상정액을 상기 상정액과 합하여, 40 °C 이하의 수욕 상에서 감압 농축하였다. 농축에 의해 얻어진 잔류물은 메탄올 2 mL로 재용해하여, 미리 메탄올 2 mL 및 물 2 mL로 활성화시킨 MCX 카트리지에 흡착시켰다. 흡착된 카트리지에 5 % 개미산 수용액 2 mL 및 5 % 수산화암모늄 함유 메탄올 2 mL로 세척한 후, 5 % 수산화암모늄 함유 메탄올 2 mL로 용출하였다. 용출액은 40 °C 이하의 수욕 상에서 질소 농축하였

고 잔류물은 메탄올 2 mL로 재용해하여 0.20 µm 멤브레인 필터로 여과하고, 이를 시험용액으로 사용하였다(Fig. 1).

### 기기 분석 조건

Nitroxoline의 잔류량은 PDA 검출기(photodiode-array detector)가 장착된 액체크로마토그래프(Shiseido JP/Nanospace SI-2, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 분석용 컬럼은 XBridge C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 µm: Waters, Dublin, Ireland), 컬럼 온도는 40 °C, 이동상으로는 용매 A: 0.1 % TBAOH-인산와 용매 B: 메탄올을 이용하여 용매기울기 조건으로 분석하였으며, 유속은 1 mL/min, 주입량은 20 µL로 하여 360 nm에서 측정하였다(Table 2).

Nitroxoline의 확인 시험은 먼저 질량분석기 조건을 확립하기 위해서 표준용액을 사용하여 컬럼을 통과하지 않고 직접 텐덤 질량분석기(tandem mass spectrometry)로 도입하였다. 텐덤 질량분석기를 통해 nitroxoline의 precursor ion을 선택하고 최적의 충돌 에너지(collison energy)를 선택한 다음 product ion을 탐색하여 표준물질에 대한 fragmentation pattern을 확인하였다(Table 3).

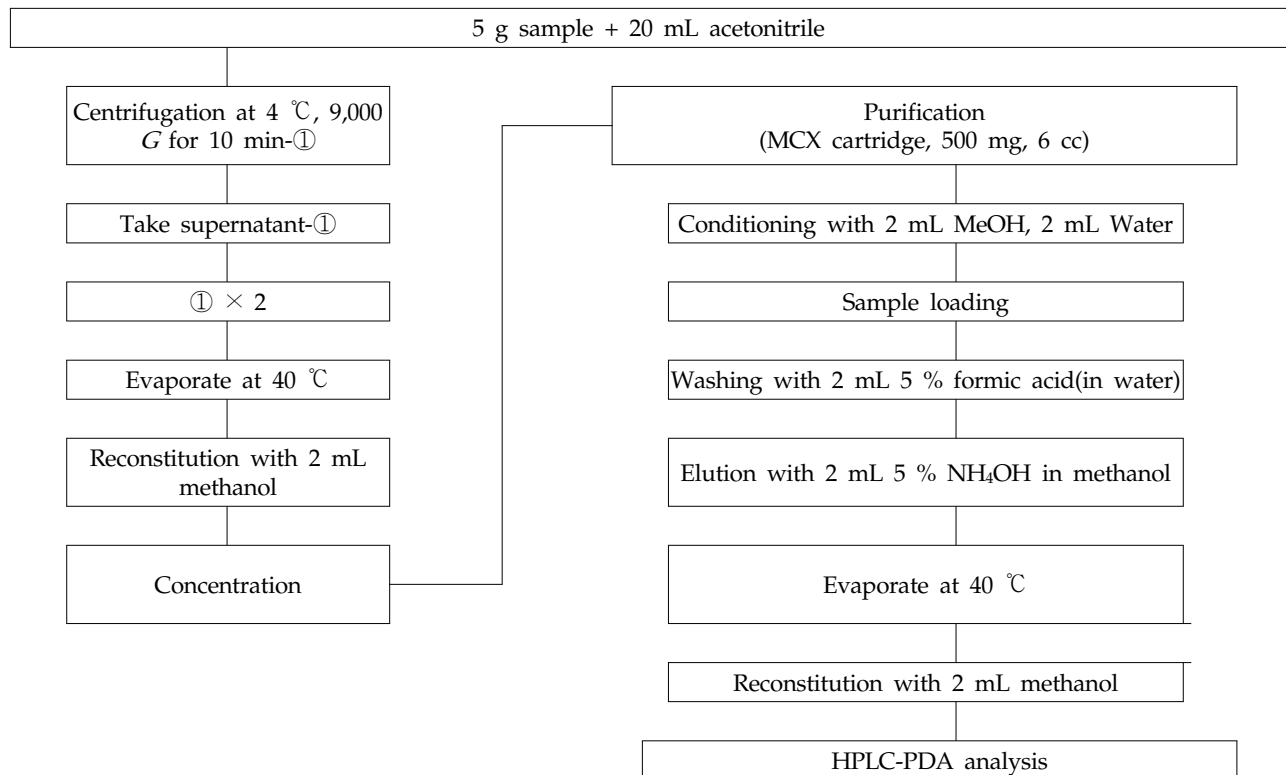


Fig. 1. Analytical procedure for nitroxoline residues in chicken sample.

**Table 2. HPLC-PDA parameter for the analysis of nitroxoline**

Parameter	Conditions																					
HPLC	Shideido JP/Nanospace SI-2																					
Column	C <sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)																					
Flow rate	1.0 mL/min																					
Injection volume	20 μL																					
Column temperature	40 °C																					
	A : 0.1 % TBAOH(tetrabutylammonium hydroxide)-phosphoric acid B : Methanol																					
Mobile phase	<table border="1"> <thead> <tr> <th>min</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>13</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>14</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>18</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	min	A (%)	B (%)	0	90	10	1	90	10	8	10	90	13	10	90	14	90	10	18	90	10
	min	A (%)	B (%)																			
	0	90	10																			
	1	90	10																			
	8	10	90																			
	13	10	90																			
14	90	10																				
18	90	10																				
Wavelength	360 nm																					

**Table 3. LC-MS/MS parameter for the analysis of nitroxoline**

Parameter	Conditions																					
LC	Thermo Accela High Speed LC																					
Column	C <sub>18</sub> (2.1 mm × 150 mm, 3 μm)																					
Flow rate	0.2 mL/min																					
Injection volume	10 μL																					
Column temperature	40 °C																					
	A : 0.1 % trifluoroacetic acid in water B : 0.1 % trifluoroacetic acid in methanol																					
Mobile phase	<table border="1"> <thead> <tr> <th>min</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>85</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>85</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>13</td> <td>85</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>85</td> <td>15</td> </tr> </tbody> </table>	min	A (%)	B (%)	0	85	15	1	85	15	5	0	100	8	0	100	13	85	15	15	85	15
	min	A (%)	B (%)																			
	0	85	15																			
	1	85	15																			
	5	0	100																			
	8	0	100																			
13	85	15																				
15	85	15																				
Mass Spectrometry	Thermo TSQ Vantage																					
Ionization mode	Positive ion electrospray																					
Spray voltage	5,000 V																					
Capillary temperature	350 °C																					
Collision gas	Ar																					
Collision energy	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Precursor Ion (<i>m/z</i>)</th> <th>Collision energy (eV)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>191.0-89.1</td> <td>46</td> </tr> <tr> <td>191.0-127.0</td> <td>39</td> </tr> <tr> <td>191.0-145.0</td> <td>21</td> </tr> </tbody> </table>	Precursor Ion ( <i>m/z</i> )	Collision energy (eV)	191.0-89.1	46	191.0-127.0	39	191.0-145.0	21													
	Precursor Ion ( <i>m/z</i> )	Collision energy (eV)																				
	191.0-89.1	46																				
191.0-127.0	39																					
191.0-145.0	21																					

## 분석법 검증

최종적으로 닭근육 시료를 이용하여 개발된 nitroxoline의 분석법은 CAC Guide line(Codex Alimentarius Commission guidelines for the establishment of a regulatory programme for control of veterinary drug residues in foods; CAC/GL 16, 1993)에 준하여 직선성(Linearity), 회수율, 정량 한계(LOQ), 재현성(Reproducibility) 등으로 유효성 검증을 실시하였다.

닭근육 시료로부터 nitroxoline 0.2-0.5 mg/kg의 농도에 대한 각각의 피크 면적을 이용하여 검량선을 작성하였고, 각 검량선의 상관 계수(coefficient of correlation,  $r^2$ )를 구하였다. 정량 한계는 분석결과를 수치화할 수 있는 최저 한계를 의미하는데, 각국 및 기관에서는 보통 S/N 6~10 범위를 상용하고 있으며, 국내에 설정된 기준은 국제 기준을 수용하고 있다(Lee, 2012). 따라서 이를 근거로 하여 matrix blank에 첨가한 nitroxoline의 크로마토그램에서 신호 대 잡음비(S/N ratio)가 10 이상이 되는 농도 값을 이용해 다음과 같은 계산식에 의해 정량한계를 산출하였다.

$$\text{Limit of quantitation (mg/kg)} = \frac{a \times b}{w}$$

a: nitroxoline의 검출량(mg/L)

b: 최종 희석부피(L)

w: 검체량(kg)

이에 대한 분석법의 정확성을 평가하기 위하여 최대잔류 허용기준(MRL)이 설정되어있지 않은 nitroxoline은 1 및 2 배 LOQ(0.02 및 0.04 mg/kg) 농도로 회수율을 측정하였다. 분석 크로마토그램으로부터 얻은 피크의 면적을 검량선에 대입하여 시료에 대한 nitroxoline의 회수율을 구하였고, 6반복 실험을 통해 정확성과 정밀성을 평가하였다. 또한, HPLC/PDA 및 LC-MS/MS를 보유한 특정 실험실 1곳을 선정하여 동일한 전처리 과정과 분석 조건으로 5회 반복 실험을 통하여 분석법을 검증(verification)하였다.

## 결과 및 고찰

### 분석법 최적 조건 확립

Nitroxoline을 분석하기 위한 기기조건으로 0.1 % TBAOH-인산(A)와 메탄올(B) 두 가지 용매로 용매비율기 조건을 설정하여 머무름 시간과 감도를 확인한 결과, 높은 감도와 적당한 머무름 시간을 나타내었다. 분석 과정은 UV 스펙트럼 확인 결과, 217 nm에서 가장 높은 흡광도를 보였으나 기본선(baseline)이 불안정할 뿐만 아니라 표준물질의 피크(peak) 또한 늘어짐 현상이 나타나 분석에 어려움이 있어 다음으로 높은 흡광도를 보이는 360 nm를 선택하여 위의 문제점들을 해결하였다. 분석에 사용된 칼럼은 보편적으로 사용되는 분석용 칼럼인 C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)을 선택하였으며, 분석유속은 1.0 mL/분, 주입량은 20 μL을 적용하였다. 확립

된 기기분석 조건으로 분석한 nitroxoline에 대한 크로마토그램과 UV 스펙트럼은 Fig. 2와 같다.

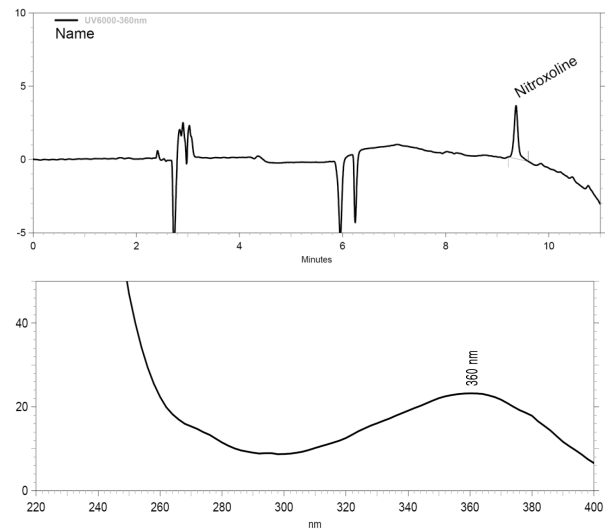
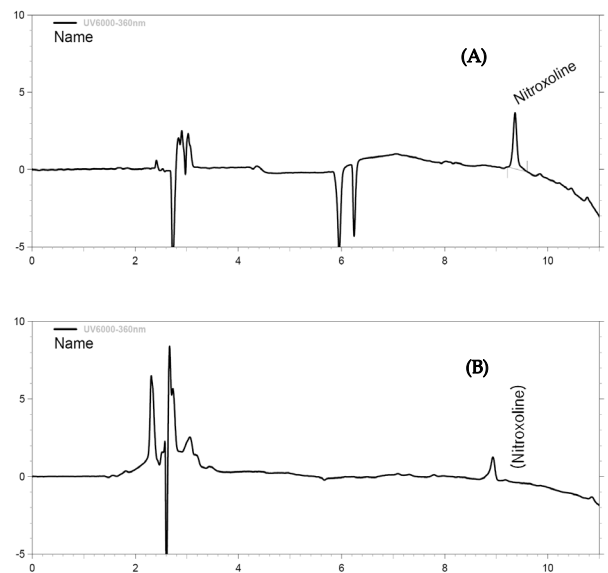


Fig. 2. Chromatogram and spectrum of nitroxoline standard (2 ng).

### 특이성 및 검량곡선

본 연구의 분석 조건에 대한 특이성(specificity)을 검증하기 위해, blank test를 한 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 nitroxoline의 머무름 시간대에 어떠한 방해물질 또는 matrix가 검출되지 않은 결과를 나타내어 본 분석법의 높은 분리능과 선택성을 가짐을 확인하였다.

Nitroxoline 표준용액의 직선성(linearity) 시험 결과, nitroxoline에 대한 상관계수( $r^2$ )가 0.999의 직선성을 나타내었으며(Table 4), 이는 CAC에서 권장하는  $r^2 > 0.95$ 에 적합하여 매우 만족할만한 수준의 결과를 확인하였다.



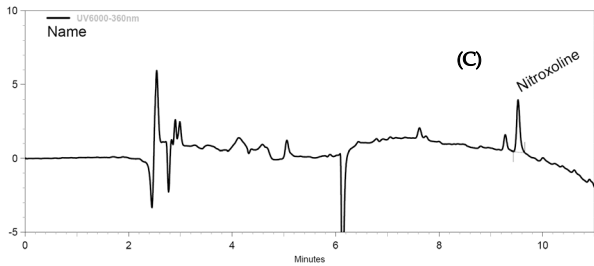


Fig. 3. Chromatograms of nitroxoline standard at 2 ng (A), blank chicken sample (B), and fortified chicken sample at 2 ng (C).

Table 4. Standard calibration curve range, linearity and  $r^2$  of nitroxoline

Compound	Sample	Standard curve range (mg/L)	Linearity	$r^2$
Nitroxoline	Chicken muscle	0.02-0.5	$y=21176x-460.5$	0.999

#### 정량한계 및 회수율

Nitroxoline의 정량한계는 크로마토그램 상에서 신호 대 잡음비(S/N ratio)를 10 이상으로 하였다. 분석법의 정확성을 평가하기 위하여 닭고기 시료 5 g에 nitroxoline을 각각 LOQ 및  $2 \times \text{LOQ}$ (0.02 및 0.04 mg/kg) 농도가 되도록 표준물질을 첨가하고 시험용액 조제 과정을 거쳐 회수율 실험을 수행하였다. 분석 크로마토그램으로부터 얻은 피크의 머무름 시간을 비교하고(Fig. 3), 피크에 대한 면적을 구한 뒤, 검량선을 통해 시험용액 중 nitroxoline의 함량을 확인함으로써 회수율을 구하였고, 6반복 실험을 통해 정확성과 정밀성을 평가하였다. 회수율 시험 결과, 닭고기 시료에서의 회수율과 변동계

수는 72.9~88.1 %, 2.5~11.7 % (Table 5)로 나타나, CAC에서 권장하는 회수율 및 변동계수에 충족하는 결과를 나타내어 잔류동물용 의약품 분석법으로서 적합함을 확인하였다.

Table 5. Recovery, CV and LOQ of nitroxoline in chicken muscle

Sample	Nitroxoline			
	Fortified Conc. (mg/kg)	Recovery <sup>1)</sup> (%)	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Chicken muscle	0.02	88.1±10.3	11.7	0.02
	0.04	72.9±1.9	2.5	

<sup>1)</sup>Mean values of six replicate with standard deviations.

#### 확인시험

Nitroxoline의 HPLC-PDA를 통한 분석 조건은 설정되었지만, 분석 물질에 대한 정성적 확인과 차후 LC-MS/MS를 통한 분석 조건 설정을 위해 nitroxoline에 대한 확인 이온(confirmation ion)을 설정하였다. Full scan mode에서 precursor ion을 질량 스펙트럼을 통해 확인한 다음 충돌 에너지(collision energy)를 설정하여 product ion을 생성한 후 높은 감도와 양호한 스펙트럼을 보이는 이온을 선택하여 최적의 MRM(multiple reaction monitoring) 조건을 설정하였다.

Nitroxoline은 ESI(electro-spray ionization) 이온화 방법으로 positive mode에서 높은 감도를 보였으며, 모분자인  $m/z$  191.0에 충돌 에너지를 각각 46, 39 및 21 eV를 가하여 확인이온  $m/z$  89.1, 127.0 그리고 145.0을 얻어 nitroxoline에 대한 확인 시험을 확립하였다(Fig. 4 및 5).

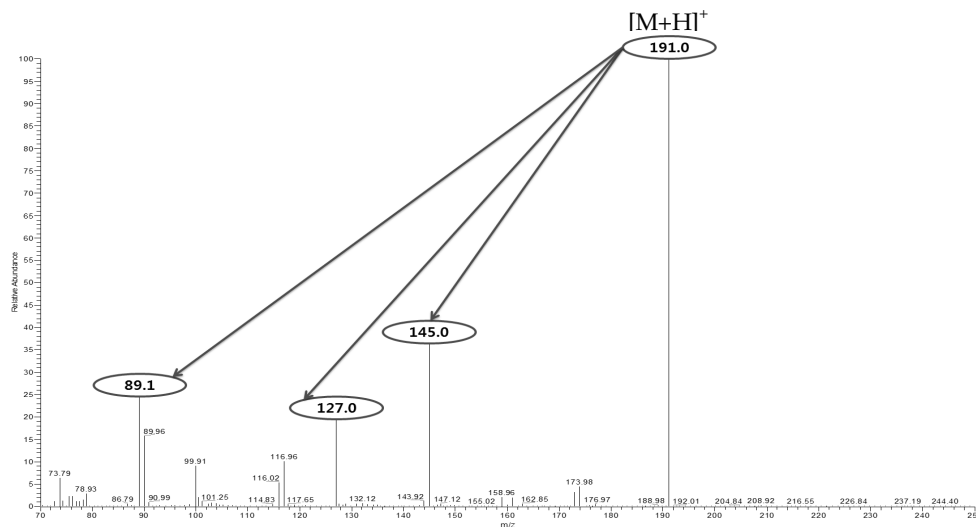


Fig. 4. Precursor ion spectrum and product ion spectrum of nitroxoline standard solution in MeOH.

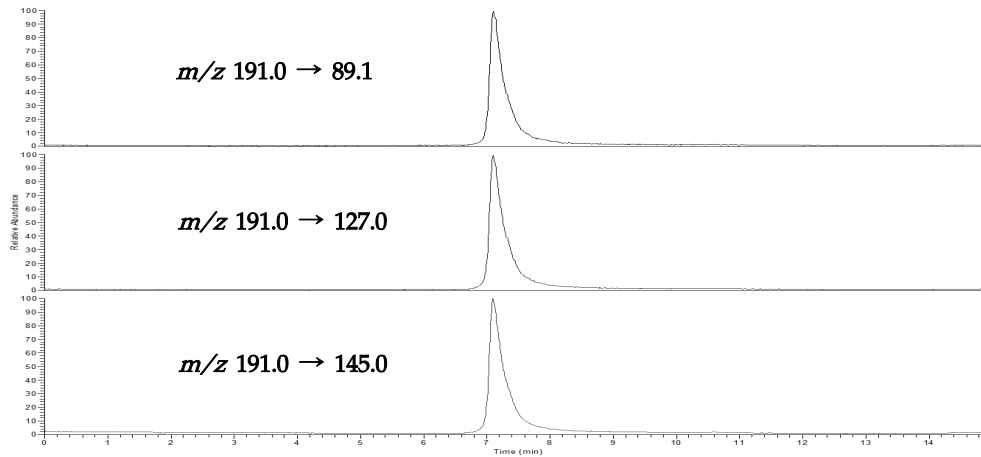


Fig. 5. LC-MS/MS Chromatograms of nitroxoline standard at 20 ng.

### 실험실 간 분석법 검증

개발된 nitroxoline의 분석법에 대한 실험실간 검증을 HPLC-PDA 및 LC-MS/MS를 보유한 특정 실험실 1곳을 선정하여 동일한 전처리 과정 및 분석 조건으로 5회 반복실험을 수행하여 이를 통해 분석법의 신뢰성을 재고하고자 검증(verification)을 수행하였다. 실험실간 분석법 검증 결과, 확립된 분석법의 회수율은 81.4~86.4%, 변동계수가 3.7~4.7%의 결과를 나타내었다(Table 6).

Table 6. Comparison of analytical methods for nitroxoline in inter-laboratory

Sample (Laboratory)	Nitroxoline		
	Spiked Conc. (mg/kg)	Mean recovery (%)	RSD (%)
Chicken	0.02	86.4	3.7
muscle (A)	0.04	81.4	4.7

따라서 가금류에 사용되고 있는 nitroxoline의 잔류 분석에 대하여 효율적인 시료 전처리 방법과 최적의 정제 과정뿐만 아니라 높은 수준의 정밀성, 정확성 및 재현성을 나타내는 효과적인 분석법으로 확인되었다. 따라서 본 nitroxoline의 분석법은 축산 식품의 안전관리에 기여할 것으로 판단된다.

### 요약

우리나라는 2007년부터 원료축산물에 대한 동물용의약품 잔류허용기준 설정을 강화하면서 관련 시험법을 식품공전에 등재하여 활용하고 있다. 더불어 국외에서는 국제식품규격위원회와 유럽연합의 규제 강화 추이에 따라 불검출기준 물질에 대한 MRL 설정 등 낮은 농도의 정량한계를 가지는 검증된 분석법 개발 등이 활발히 진행되고 있다. 따라서 본 연구는 가금류 중 잔류허용기준은 아직 설정되어 있지 않으나, 식품안전성 조사 및 연구 등을 위해서는 시험법의 확립이 필요

한 nitroxoline의 닭고기 근육 중 잔류시험법을 개발하고자 하였다. 분석에 사용된 검체는 닭고기의 근육을 이용하였다. 검체에 아세트노트리틸을 가하여 추출한 후, 이를 감압 농축하여 메탄올로 녹인 다음 MCX 카트리지로 정제한 후 HPLC-PDA에 주입하였다. 기기분석은 C18 컬럼을 사용하였고, 0.1% TBAOH-인산용액과 메탄올을 기용기 조건으로 하여 360 nm에서 측정하였다. 또한, 액체크로마토그래프-질량분석기를 통해 확인시험을 수행하였으며, 모든 검증은 CAC 가이드라인(CAC/GL 16, 1993; CAC/GL 71, 2009) 규정에 따라 실시하였다. 그 결과, nitroxoline의 LOQ는 0.02 mg/kg 수준이었고, 회수율은 72.9~88.1%로 나타났다. 또한, 변동계수는 2.5~11.7%로 CAC 가이드라인(CAC/GL 16, 1993; CAC/GL 71, 2009) 규정에 만족하는 수준이었다. 따라서 개발된 분석법은 잔류동물용의약품의 분석에 있어 보다 신속하고 경제적인 분석 및 모니터링에 적용 가능할 것으로 기대된다.

### 감사의 글

This study was supported by a grant (12161KFDA023) from Korea Food and Drug Administration in 2012.

### 참고문헌

- Codex Alimentarius Commission, 1993. Codex Guidelines for the Establishment of a Regulatory Programme for Control of Veterinary Drug Residues in Foods, Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods; CAC/GL 16, CODEX, Italy.
- Codex Alimentarius Commission, 2009. Guidelines for the design and implementation of national regulatory food safety assurance programme associated with the use of veterinary drugs in food producing animals; CAC/GL 71, Codex, Italy.

- Ghoneim, M.M., El-Desoky, H.S., 2011. Electrochemistry of the antibacterial and antifungal drug nitroxoline and its determination in bulk form, pharmaceutical formulation and human blood, *Bioelectroch.* 80, 162-168.
- Kang, X., Wang, Z., 2003. Quantitative high-performance liquid chromatographic analysis of nitroxoline and structurally related compounds, *Chromatographia* 57, 405-408
- Karpi ska, G., Mazurek, A.P., Dobrowolski, J.C., 2010. On tautomerism and substituent effect in 8-hydroxyquinoline-derived medicine molecules, *J. Mol. Struc. Theochem.* 961, 101-106.
- Lee, Y.D., 2012. *Practical book of Korea Food Code pesticide residue analysis method*, pp. 79, Korea Food & Drug Administration, Korea.
- Pelletier, C., Prognon, P., Bourlioux, P., 1995. Roles of divalent cations and pH in mechanism of action of nitroxoline against Escherichia coli strains, *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 707-713.
- Shin, H.C., Kim, T.S., 2012. Development of management system and standardization for veterinary drug residue, pp. 7-8, Korea Food & Drug Administration, Korea.
- Štefane, B., Po gan, F., Sosi, I, Gobec, S., 2012. A microwave-assisted nucleophilic substitution reaction on a quinoline system: the synthesis of amino analogues of nitroxoline, *Tetrahedron Lett.* 53, 1964-1967.
- Szabó, G., Guzzi, J., 1995. Examination of silica-salicylic acid and silica-8-hydroxyquinoline HPLC stationary phases for estimation of the adsorption coefficient of soil for some aromatic hydrocarbons, *Chemosphere* 30, 1717-1727.
- Wang, H., Wang, S.W., Zhang, H.S., 2001. Spectrofluorimetric determination of cysteine based on the fluorescence inhibition of Cd(II)-8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid complex by cysteine, *Talanta.* 53, 1015-1019.