

LC-MS/MS를 이용한 육류 중 아미노글리코사이드계 항생제 9종의 동시분석 및 적용성 검증

조운제¹ · 최선주¹ · 김명애¹ · 김미경^{1*} · 윤수진¹ · 장문익¹ · 이상목¹ · 김희정¹ · 정지운¹ · 이규식¹ · 이상재²

¹식품의약품안전평가원 식품위해평가부 잔류물질과, ²식품의약품안전평가원 식품위해평가부

Simultaneous Determination of Aminoglycoside Antibiotics in Meat using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

Yoon-Jae Cho¹, Sun-Ju Choi¹, Myeong-Ae Kim¹, MeeKyung Kim^{1*}, Su-Jin Yoon¹, Moon-Ik Chang¹,
Sang-Mok Lee¹, Hee-Jeong Kim¹, JiYoon Jeong¹, Gyu-Seek Rhee¹, and Sang-Jae Lee²

¹Pesticide and Veterinary Drug Residues Division, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation,
Osong, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea

²Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation,
Osong, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea

(Received February 12, 2014/Revised March 23, 2014/Accepted May 14, 2014)

ABSTRACT - A simultaneous determination was developed for 9 aminoglycoside antibiotics (amikacin, apramycin, dihydrostreptomycin, gentamicin, hygromycin B, kanamycin, neomycin, spectinomycin, and streptomycin) in meat by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Each parameter was established by multiple reaction monitoring in positive ion mode. The developed method was validated for specificity, linearity, accuracy, and precision based on CODEX validation guideline. Linearity was over 0.98 with calibration curves of the mixed standards. Recovery of 9 aminoglycosides ranged on 60.5~114% for beef, 60.1~112% for pork and 63.8~131% for chicken. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were 0.001~0.009 mg/kg and 0.006~0.03 mg/kg, respectively in livestock products including beef, pork and chicken. This study also performed survey of residual aminoglycoside antibiotics for 193 samples of beef, pork and chicken collected from 9 cities in Korea. Aminoglycosides were not found in any of the samples.

Key words : aminoglycoside antibiotics, meat, validation, LC-MS/MS

경제발전과 더불어 생활수준의 향상으로 인하여 사람들이 식품을 선택할 때에도 안전 및 건강에 대한 인식이 높아졌다. 보고에 따르면 우리나라의 2010년 육류 소비량은 총 1,967천 톤으로 추정되며, 2000년과 비교했을 때 1인당 연간 육류 소비량은 약 21.3% 증가한 것으로 조사되었다¹⁻²⁾. 선진국들에 비해 연간 축산물생산량 대비 축산업에서 항생제 사용량이 높은 수준이다. 항생제를 포함한 동물용의약품은 휴약 기간을 지키지 않거나 무분별하게 사용하여 가축 체내에 잔류하게 되면 그 축산물을 통하여 최종소비자인 인체에 유해 작용을 나타낼 우려가 있어 양

축 농가 및 일반소비자에 이르기까지 큰 관심의 대상이 되고 있다³⁻⁶⁾. 따라서 미국, 유럽연합(EU), 중국, 일본 등 세계 여러 국가와 국제식품규격위원회(CODEX)에서는 잔류허용기준(maximum residue limit, MRL)을 설정하여 규제하고 있으며 국내에서도 동물용의약품에 대한 잔류허용기준을 설정하여 관리하고 있다⁷⁻⁸⁾.

우리나라에서 가장 많이 사용되는 동물용의약품은 항생제 및 합성항균제이며, 테트라사이클린계, 페니실린계, 설파논아미드계, 아미노글리코사이드계, 마크로라이드계, 퀴놀론계 순으로 사용량이 많은 것으로 조사되고 있다^{4,9-10)}. 아미노글리코사이드계 항생제는 그람 음성균과 그람 양성균에 대한 항균력이 우수한 물질로서 구조는 두개 또는 그 이상의 아미노당이 배당체 결합으로 중심부의 육탄당핵에 연결되어 있다(Fig. 1). 또한 겐타마이신을 제외한 물질은 *Streptomyces*속 미생물에서 생성되며 겐타마이신은

*Correspondence to: MeeKyung Kim, Pesticide and Veterinary Drug Residues Division, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation, Osong, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea
Tel : 82-43-719-4202, Fax : 82-43-719-4200
E-mail : mkim@korea.kr

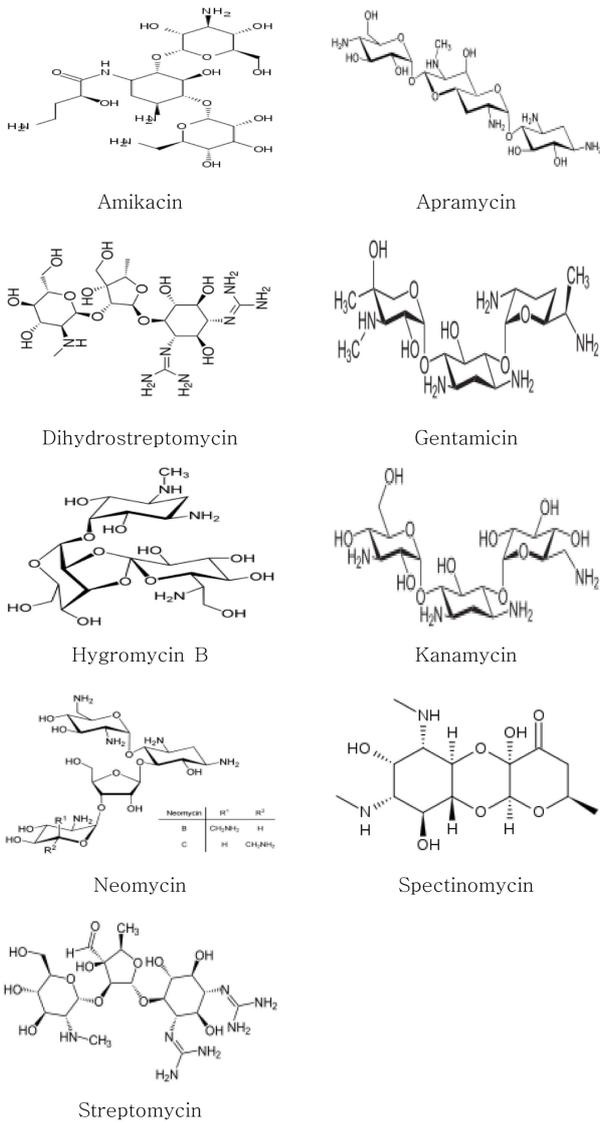


Fig. 1. Molecular structures of aminoglycosides.

*Micromonospora purpurea*에서 생성되는 특징을 가지고 있다¹¹⁻¹⁶. 아미노글리코사이드는 알칼리 환경에서 좋은 항균 작용을 보이는데 알칼리 환경이 세포막을 손상시키고 세균 내로 아미노글리코사이드가 침투하기 용이하게 만들어 준다. 침투 후 세포질 내에서 아미노글리코사이드는 세균 ribosome의 16s RNA의 30S subunit과 상호 작용하여 전사과정을 선택적으로 방해하고 단백질 형성을 저해하여 항균작용을 완성하게 된다¹⁷⁻¹⁸.

최근 국제적으로 기준이 엄격해짐에 따라 이를 관리하기 위하여 새로운 분석법 개발이 필요한 실정이며, LC-MS나 GC-MS, LC-MS/MS를 이용한 정성 및 정량 분석법 개발이 확대되는 추세이다¹⁹⁻²⁰. 동물용의약품 중 아미노글리코사이드계열은 우리나라 식품공전에 8개 시험법이 등재되어있으며, 그 중 다성분 시험법(5.3.1)은 겐타마이신, 네오마이신, 디하이드로스트렙토마이신, 스트렙토마이신,

스펙티노마이신의 5종을 포함하고 있다. 하지만 현재 잔류허용기준이 있는 아미노글리코사이드계열 동물용의약품은 8종(겐타마이신, 네오마이신, 디하이드로스트렙토마이신, 스트렙토마이신, 스펙티노마이신, 아프라마이신, 카나마이신, 하이그로마이신 B)으로 이를 모두 포함하지는 못한다.

2013년 3월 정부조직법 개정으로 식품안전관리가 식품의약품안전처로 일원화 되면서 축산물 분야 관련 법령 및 고시 등이 식품의약품안전처 소관이 되었으나, 동일한 동물용의약품에 대한 상이한 잔류시험법이 존재하여 혼란이 발생 할 수 있어 시험법 조화가 필요하게 되었다. 따라서 본 연구에서는 잔류허용기준이 설정되어 있는 8종과 잔류허용기준이 설정될 예정인 아미카신을 포함하여 총 9종의 아미노글리코사이드계열 동시분석법을 개선하고자 하였으며, 확립된 분석법을 사용하여 국내 유통 중인 축산물을 대상으로 실제 적용성 검증을 위한 잔류실태조사를 수행하였다.

재료 및 방법

시료

시료는 시중에서 유통되고 있는 무항생제 소고기, 돼지고기, 닭고기를 구입하여 사용하였다. 대상 시료는 구입 후 균질화하여 분석 전까지 냉동실(-20°C)에 보관하였다.

시약 및 재료

표준물질인 겐타마이신(gentamicin), 스펙티노마이신(spectinomycin)은 USP (MD, USA)를 사용하였고, 스트렙토마이신(streptomycin), 아미카신(amikacin)은 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany)에서, 네오마이신(neomycin), 디하이드로스트렙토마이신(dihydrostreptomycin), 아프라마이신(apramycin), 카나마이신(kanamycin), 하이그로마이신 B(hygromycin B)은 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 내부표준물질(internal standard, I.S)인 토브라마이신(tobramycin)은 Fluka (Buchs, Switzerland)에서 구입하였다. Acetonitrile, methanol (Merck, Damstadt, Germany) 등 용매는 HPLC grade로 사용하였으며, heptafluorobutyric acid (HFBA) 등 그 이외의 분석용 시약 및 용매는 특급 또는 분석용을 사용하였다.

표준원액 및 표준용액

표준물질을 각각 정밀히 달아 acetonitrile : acetic acid : water (v/v, 10:1:39) 혼합용액에 용해하여 표준원액을 만들었으며 잔류허용기준의 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4배 농도로 희석하여 표준용액으로 준비하였다. 표준원액은 튜브에 담아 냉동 보관하였으며, 표준용액은 사용직전에 조제하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 용기는 모두 poly-

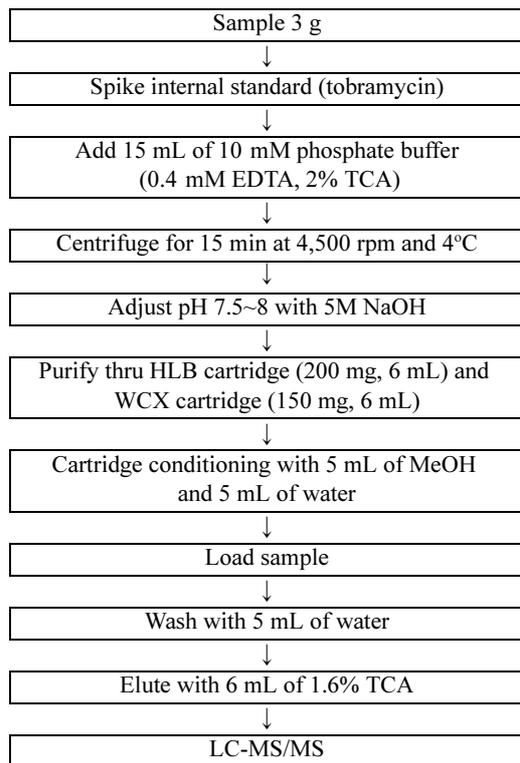


Fig. 2. Analytical procedure of aminoglycosides in meat.

propylene 재질을 사용하였다.

추출 및 정제

소고기, 돼지고기, 닭고기 각각의 시료를 균질화하여 3 g 을 50 mL polypropylene tube에 취하고 2% trichloroacetic acid가 함유된 10 mM phosphate buffer 15 mL를 넣고 격렬하게 흔들어 섞은 후 5,000 G에서 약 15분간 원심분리 하였다. 상층액을 50 mL polypropylene tube에 취하고 5 M sodium hydroxide 0.2~0.3 mL를 가하여 pH 7.5~8로 조정하고 이 액을 추출액으로 사용하였다. 미리 methanol 5 mL와 물 5 mL로 HLB cartridge와 WCX cartridge를 각각 활성화시킨 후 HLB cartridge 위에 WCX cartridge를 연결하였다. 연결한 카트리지에 추출액을 흡착시키고 물 5 mL로 세척한다. 이때, 감압하여 물을 완전히 제거해 주었다. 1.6% trichloroacetic acid 6 mL로 15 mL polypropylene tube에 용출하고, 용출용액은 최종 6 mL로 맞추었다. 이 용액을 균질화 한 후 GHP filter (Pall, 0.2 µm)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다. Fig. 2에 시료 전처리 과정을 나타내었다.

LC-MS/MS 조건

아미노글리코사이드 분석을 위해 사용한 LC-MS/MS는 Thermo TSQ Quantum ultra (Thermo electron Co., Waltham, MA, USA), 칼럼은 Waters Xbridge C₁₈ (2.1 × 150 mm, 3.5

Table 1. Conditions of LC for the analysis of aminoglycosides

Description	Condition		
Column	XBridge C ₁₈ (2.1 × 150 mm, 3.5 µm)		
Column temperature	40°C		
Injection volume	10 µL		
Flow rate	0.3 mL/min.		
Mobile phase	A : 20 mM HFBA in 5% acetonitrile		
	B : 20 mM HFBA in 50% acetonitrile		
Gradient	Time (min)	Mobile phase	
		A (%)	B (%)
	0	80	20
	0.5	80	20
	9	5	95
	10	5	95
10.1	80	20	
15	80	20	

µm, Dublin, Ireland) 을 사용하였다. 이동상 A는 20 mM HFBA가 포함된 5% acetonitrile을 사용하였고, 이동상 B는 20 mM HFBA가 포함된 50% acetonitrile이었으며 gradient 용매 조건을 사용하였다. HPLC 분석 조건은 Table 1과 같다. 질량 분석기 조건을 확립하기 위해서 각각의 분석물질은 표준물질을 사용하여 칼럼을 통과하지 않고 직접 질량분석기(MS/MS)로 분석하였다. Electron spray ionization (ESI)의 양이온모드(positive ion mode)로 parent ion, daughter ion 및 collision energy를 최적화하였으며, multiple reaction monitoring (MRM) 조건으로 분석하였다(Table 2).

분석법 검증

개선된 분석법을 CODEX guideline에 따라 직선성(linearity), 정확성(accuracy), 정밀성(precision), 정량한계(limit of quantification, LOQ)를 측정하여 유효성을 검증하였다²¹⁻²². 직선성은 혼합표준용액을 잔류허용기준 농도의 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4배가 되도록 희석한 후 LC-MS/MS에 주입하여 얻어진 피크면적으로 검량선(calibration curve)을 작성하고 직선성(R² > 0.98)을 구하였다. 정확성과 정밀성은 동물용의약품이 전혀 검출되지 않은 시료에 잔류허용기준의 0.5, 1, 2배 농도로 표준용액을 첨가한 후 회수율과 상대표준편차(relative standard deviation, RSD, %)를 측정하였다. 검출한계(limit of detection, LOD)는 각각 신호대비 잡음비 3배 이상인 농도로 계산하였으며, 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 각각 신호대비 잡음비가 10배 이상인 농도로 계산하였다.

적용성 검증을 위한 잔류실태조사

확립된 분석법의 실제 적용성을 검증하기 위하여 잔류 실태조사를 수행하였다. 시료는 서울, 강원도, 경기도, 경

Table 2. Optimized MS parameters for aminoglycosides

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Collision Energy (eV)	Tube Lens (eV)	Cycle Time (s)
Amikacin	586.267	162.983	32	92	0.2
		264.146	23		
Apramycin	540.318	217.019	26	118	0.2
		378.134	14		
Dihydrostreptomycin	584.254	245.967	33	136	0.2
		263.036	29		
Gentamicin	478.183	157.054	20	83	0.2
		322.208	13		
Hygromycin B	528.232	177.013	27	112	0.2
		352.015	21		
Kanamycin	485.212	163.027	24	87	0.2
		324.097	14		
Neomycin	615.431	160.929	28	141	0.2
		293.014	21		
Spectinomycin	351.148	97.974	29	96	0.2
		207.091	20		
Streptomycin	582.232	245.999	36	176	0.2
		263.035	29		
Tobramycin (I.S)	468.226	162.986	22	76	0.2
		324.084	13		

상남도, 경상북도, 전라남도, 전라북도, 충청남도, 충청북도의 9개 지역의 대형 마트에서 유통되고 있는 축산물로서 총 193건을 수거하였다. 소고기, 돼지고기, 닭고기를 대상 식품으로 전국의 주요 소비 지역(서울, 부산, 인천, 대구, 대전, 광주, 강원 등)을 중심으로 한 인구비례와 소고기, 돼지고기, 닭고기의 지역별 생산량을 함께 고려하여 검체를 수거하였다. 전국의 주요 소비 지역 인구비례는 통계청의 2012년도 국내 인구분포 현황을 근거로 하였다. 수거한 검체는 가식부분을 손질하여 분쇄한 후 균질화 하였

Table 3. Number of samples of beef, pork, and chicken collected for monitoring of aminoglycosides

Location	Beef		Pork	Chicken	Total
	Imported	Domestic			
Seoul	4	13	15	8	40
Incheon/Gyeonggi	2	20	25	13	60
Gangwon	-	4	2	-	6
Daegu/Gyeongbuk	-	8	8	4	20
Busan/Gyeongnam	-	11	9	1	21
Gwangju/Jeonnam	-	8	8	4	20
Jeonbuk	-	2	2	1	5
Sejong/Chungbuk	-	2	3	2	9
Daejeon/Chungnam	-	5	6	3	14
Total	6	73	78	36	193

으며 분석이 되기 전까지 -20°C 냉동실에서 보관하였다. 본 연구의 잔류실태조사를 위한 지역별 검체 수거는 2013년 6월부터 2013년 11월 사이에 이루어 졌으며 지역별 수거량은 Table 3과 같다.

결과 및 고찰

분석법 선정 및 조건 확립

「식품공전」⁸⁾에 고시된 아미노글리코사이드 동시분석법을 근간으로 회수율과 재현성을 높일 수 있도록 내부표준 물질을 적용하여 시험법을 개선하였다. 이동상은 ion-pairing 시약 20 mM HFBA가 포함된 5% acetonitrile과 50% acetonitrile로 C_{18} 칼럼을 사용하여 분석하였다. 기울기 용리 조건에서 분석 대상 물질은 모두 분리되어 용출되었다.

MS/MS 분석을 위해 ESI를 선택하였고, full scan mode에서 질량 스펙트럼을 확인한 다음 precursor ion과 product ion을 생성한 후 특성이온을 선택하여 최적의 MRM 조건을 확립하였다. 분자의 선택성과 이온의 감도를 향상시키기 위하여 scan time, voltage, collision energy 등을 조정하여 최적의 감도를 나타내도록 하였다.

분석법 검증

특이성은 다른 성분이 존재 할 때 표적 분석물질만을

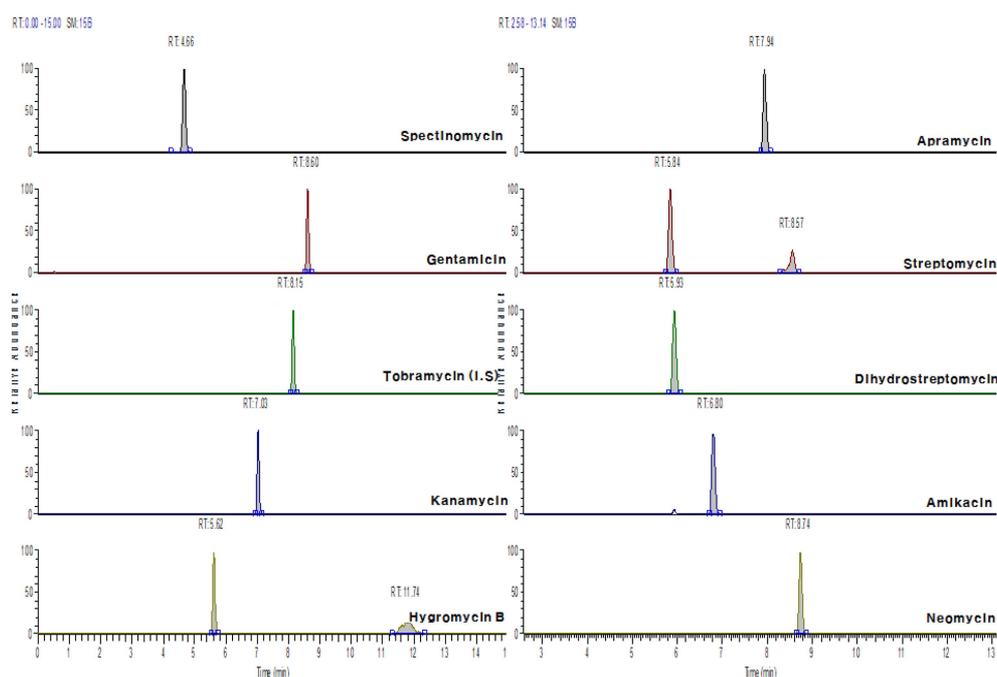


Fig. 3. Chromatogram of aminoglycosides by LC-MS/MS.

Table 4. Validation results of the analytical method of aminoglycosides in beef

Compound	Concentration (mg/kg)	Recovery ¹⁾ (%)	RSD ²⁾ (%)	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	R ²
Amikacin	0.05	83.8 ± 15.1	18.1	0.002	0.006	0.998
	0.1	87.9 ± 9.9	11.3			
	0.2	106 ± 12.9	12.1			
Apramycin	0.25	69.6 ± 8.7	12.5	0.009	0.030	0.993
	0.5	78.2 ± 5.1	6.5			
	1.0	86.8 ± 10.3	11.9			
Streptomycin /Dihydrostreptomycin	0.25	80.5 ± 11.4	20.3	0.006	0.020	0.997
	0.5	93.6 ± 8.6	9.4			
	1.0	99.3 ± 9.6	9.8			
Gentamicin	0.05	77.5 ± 14.2	18.3	0.002	0.006	0.983
	0.1	73.7 ± 8.4	11.4			
	0.2	60.5 ± 12.7	21.0			
Hygromycin B	0.05	72.8 ± 12.1	16.7	0.002	0.006	0.990
	0.1	71.6 ± 4.0	5.6			
	0.2	91.6 ± 14.4	15.7			
Kanamycin	0.05	88.6 ± 12.4	14.0	0.002	0.006	0.992
	0.1	97.5 ± 8.1	8.3			
	0.2	110 ± 14.0	12.7			
Neomycin	0.25	60.6 ± 6.8	11.2	0.001	0.003	0.990
	0.5	61.8 ± 9.3	15.1			
	1.0	61.1 ± 6.8	11.1			
Spectinomycin	0.25	94.5 ± 3.6	3.8	0.001	0.002	0.990
	0.5	99.2 ± 6.7	6.7			
	1.0	114 ± 15.6	13.7			

¹⁾Average value of recoveries (n = 6).

²⁾Average value of relative standard deviations (n = 6).

Table 5. Validation results of the analytical method of aminoglycosides in pork

Compound	Concentration (mg/kg)	Recovery ¹⁾ (%)	RSD ²⁾ (%)	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	R ²
Amikacin	0.025	91.2 ± 19.0	20.8	0.001	0.003	0.995
	0.05	75.2 ± 14.4	19.2			
	0.1	89.4 ± 12.6	14.1			
Apramycin	0.05	75.1 ± 14.6	19.4	0.002	0.006	0.999
	0.1	71.7 ± 13.9	19.4			
	0.2	81.8 ± 9.1	11.1			
Streptomycin /Dihydrostreptomycin	0.3	93.6 ± 19.7	28.1	0.006	0.020	0.998
	0.6	83.6 ± 11.9	22.2			
	1.2	90.2 ± 13.5	18.4			
Gentamicin	0.05	75.1 ± 10.9	14.5	0.002	0.006	0.997
	0.1	65.7 ± 11.1	16.9			
	0.2	64.8 ± 14.1	21.7			
Hygromycin B	0.025	75.4 ± 8.3	11.0	0.001	0.003	0.997
	0.05	68.6 ± 13.1	19.2			
	0.1	82.0 ± 14.5	17.7			
Kanamycin	0.1	108 ± 3.4	3.2	0.003	0.010	0.997
	0.2	108 ± 5.8	5.4			
	0.4	101 ± 5.6	5.6			
Neomycin	0.25	66.5 ± 14.3	21.5	0.009	0.030	0.999
	0.5	60.1 ± 5.0	8.3			
	1.0	66.2 ± 4.0	6.0			
Spectinomycin	0.25	107 ± 18.9	17.7	0.006	0.020	0.999
	0.5	109 ± 9.4	8.6			
	1.0	112 ± 14.9	13.3			

¹⁾Average value of recoveries (n = 6).

²⁾Average value of relative standard deviations (n = 6).

명확하게 식별해 낼 수 있는 항목으로 아미노글리코사이드계열 표준물질 9종 혼합액에 대한 크로마토그램은 Fig. 3과 같으며, 아미카신, 아프라마이신, 디하이드로스트렙토마이신, 겐타마이신, 하이그로마이신 B, 카나마이신, 네오마이신, 스펙티노마이신, 스트렙토마이신, 토브라마이신으로 분리가 되는 것을 확인 할 수 있었다. 검량선은 주어진 범위에서 시료 중의 분석물질 농도에 직접 비례하는 분석 결과를 얻는 항목으로 잔류허용기준의 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4배 농도 범위에서 검량선을 작성하여 직선성을 확인하였다. 모든 물질의 상관계수(R²)는 0.98 이상으로 Codex에서 권장하는 R² > 0.95와 비교해도 매우 만족할 만한 수준이었다.

회수율을 측정하기 위해 소고기, 돼지고기, 닭고기에 잔류허용기준의 0.5배, 1배, 2배 농도로 표준용액을 첨가한 후 회수율 실험을 3회 반복하였으며, 정확성과 정밀성을 평가하였다. 또한 잔류허용기준이 없는 물질의 경우 대상 식품의 가장 낮은 잔류허용기준을 적용하여 실험을 진행하였다. 소고기의 평균 회수율은 60.5~114%이었으며, 상대표준편차는 3.8~21%로 나타났다, 돼지고기의 평균 회수율은 60.1~112%, 상대표준편차는 3.2~27.5%로 조사되었

으며, 닭고기의 평균 회수율은 63.8~131%이었으며, 상대표준편차는 3.9~25.3%의 결과를 얻을 수 있었다. 회수율은 다른 연구 결과와 유사한 수준이었으며, 상대표준편차는 다른 연구 결과와 유사하거나 값이 조금 높은 것을 확인할 수 있었다^{13,15)}. 검출한계는 0.001~0.009 mg/kg이며, 정량한계는 0.006~0.03 mg/kg으로 잔류허용기준의 범위를 고려할 때 만족할 만한 수준이었다. 이상의 결과는 Table 4, Table 5, Table 6에 나타내었다.

적용성 검증을 위한 잔류실태조사

분석법의 실제 적용성을 검증하기 위하여 국내 유통 중인 식육(소고기, 돼지고기, 닭고기) 193건을 수거하여 아미노글리코사이드계 동물용의약품 9종에 대한 잔류량을 조사하였다(Table 3). 잔류조사 결과 모든 시료에서 9종의 아미노글리코사이드계 항생제가 검출되지 않았다. 주로 검출되는 동물용의약품은 테트라사이클린계, 페니실린계, 퀴놀론계 및 설폰아마이드계인 것으로, 아미노글리코사이드계는 상대적으로 검출 빈도가 낮은 것으로 보고되어 있다^{9,11)}. 아미노글리코사이드계 동물용의약품의 잔류실태조사 결과를 종합해 볼 때 국내 유통 축산물은 매우 안전한 것으로

Table 6. Validation results of the analytical method of aminoglycosides in chicken

Compound	Concentration (mg/kg)	Recovery ¹⁾ (%)	RSD ²⁾ (%)	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	R ²
Amikacin	0.05	101 ± 9.4	9.3	0.002	0.006	0.992
	0.1	101 ± 21.7	21.5			
	0.2	103 ± 4.0	3.9			
Apramycin	0.05	74.4 ± 5.6	7.6	0.002	0.006	0.999
	0.1	75.3 ± 8.3	11.1			
	0.2	87.1 ± 7.7	8.9			
Streptomycin /Dihydrostreptomycin	0.3	87.7 ± 8.1	13.0	0.006	0.020	0.999
	0.6	89.2 ± 9.8	11.6			
	1.2	86.5 ± 6.7	8.5			
Gentamicin	0.05	83.2 ± 18.0	21.6	0.002	0.006	0.989
	0.1	74.6 ± 18.9	25.3			
	0.2	85.2 ± 11.7	13.7			
Hygromycin B	0.05	70.2 ± 7.7	11.0	0.002	0.006	0.997
	0.1	78.2 ± 14.5	18.6			
	0.2	89.4 ± 11.8	13.1			
Kanamycin	0.05	102 ± 15.3	15.0	0.002	0.006	0.998
	0.1	120 ± 19.0	15.8			
	0.2	111 ± 11.2	10.1			
Neomycin	0.25	66.7 ± 9.2	13.8	0.006	0.030	0.999
	0.5	63.8 ± 7.9	12.4			
	1.0	65.2 ± 6.5	10.0			
Spectinomycin	0.25	113 ± 7.1	6.2	0.006	0.020	0.998
	0.5	131 ± 25.7	19.6			
	1.0	122 ± 9.5	7.8			

¹⁾Average value of recoveries (n = 6).

²⁾Average value of relative standard deviations (n = 6).

나타났으며, 국민의 식품안전과 동물용의약품 안전관리를 위해 잔류실태조사는 지속적으로 필요한 것으로 사료되는 바이다. 또한 본 연구에서 확립된 분석법이 실제 시료에 적용됨이 검증되었으므로 아미노글리코사이드계열 동시분석법이 표준시험법으로 널리 활용 될 수 있기를 기대한다.

요 약

LC-MS/MS를 이용하여 아미노글리코사이드계 동물용의약품 9종에 대하여 동시분석법을 확립하고 잔류실태조사를 수행하였다. 현재 식품공전에 수록된 시험법을 기본으로 분석법을 개선하였으며 국제식품규격위원회 기준에 따라 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성, 정량한계 등을 검증하였다. 아미노글리코사이드 혼합표준용액을 잔류허용기준의 0.125배, 0.25, 0.5, 1, 2, 4배 농도에 따라 검량선을 작성한 결과 0.98 이상의 직선성을 확인하였다. 소고기의 회수율은 60.5~114%, 돼지고기의 회수율은 60.1~112%, 닭고기 회수율은 63.8~131%을 나타내었다. 또한 LOD는 0.001~0.009 mg/kg, LOQ는 0.006~0.03 mg/kg이었다. 국내 유통 중인 축산물 (소고기, 돼지고기, 닭고기) 193건을 수

거하여 개선된 분석법의 적용성 검증과 축산물의 안전성 확인을 위한 잔류조사를 수행한 결과 시험법의 적용성이 충분히 검증되었으며 모든 시료에서 아미노글리코사이드계열의 항생제가 검출되지 않아 유통 축산물이 안전한 것으로 확인되었다. 확립된 분석법은 식육에 잔류할 수 있는 아미노글리코사이드계열 동물용의약품 안전관리에 활용할 수 있을 것으로 사료되는 바이다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 식품의약품안전처 연구개발과제의 연구개발비 지원(13161축산물 921)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Korea Meat Trade Association (KMTA). Information and data of agricultural statistics of Korea. Available from <http://kmta.or.kr/html/sub6-1.html?scode=6>. Oct. 20 (2012).
2. Kim H. Y., Chung S. Y., Choi S. H., Lee J. S., Choi I. S., Cho

- M. J., Shin M. S., Song J. S., Choi J. C., Park H. O., Ha S. C., Shin I. S., Seo E. C.: Monitoring of veterinary drug residues in foods produced in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **42**, 653-663 (2010).
3. Hah D. S., Kim J. S., Kim G. S.: Simultaneous quantification of sulfonamide and tetracyclines in fish muscle tissue by matrix solid phase dispersion (MSPD) extraction and HPLC. *J. Food Hyg. Safe.* **12**, 117-124 (1997).
 4. 신호철, 박관하: 동물용의약품 잔류실태 조사. *식품의약품안전청 연구보고서* (2006).
 5. Guillemot D.: Antibiotic use in humans and bacterial resistance. *Curr. Opin. Microbiol.* **2**, 494-498 (1999).
 6. 이태식: 수산용 항생제 관리시스템 구축. *식품의약품안전청 연구보고서* (2006).
 7. Yanfei T., Dongmei C., Huan Y., Lingli H., Ahaoying L., Xiaoqin C., Caixia Y., Yuanhu P., Zhenli L., Zonghu Y.: Simultaneous determination of 15 aminoglycoside(s) residues in animal derived food by automated solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chem.* **135**, 676-683 (2012).
 8. 식품공전: *식품의약품안전처* (2013).
 9. Kim M. K., Cho B. H., Lim C. M., Kim D. G., Yune S. Y., Shin J. Y., Bong Y. H., Kang J. W., Kim M. A., Son S. W.: Chemical Residues and Contaminants in Foods of Animal Origin in Korea during the Past Decade. *J. of Agri. & Food Chem.* **61**, 293-2298 (2013).
 10. 이광근, 정윤희: 식품 중 항생제 잔류량 모니터링. *식품의약품안전청 연구보고서* (2005).
 11. Roh Y. S., Baek G. J., Kim S. Y., Choi E. Y., Seo H. S., Hur B. H., Joung D. S.: Simultaneous determination of aminoglycoside antibiotics by HPLC/MS. *Korean J. Vet. Serv.* **30**, 1-12 (2007).
 12. Kaufmann A., Butcher P., Maden K.: Determination of aminoglycoside residues by liquid chromatography and tandem mass spectrometry in a variety of matrices. *Anal. Chim. Acta.* **711**, 6-53 (2012).
 13. Sara B., Roverta C., Antonio D. C., Aldo L., Monica M., Manuela N.: Simple confirmatory assay for analyzing residues of aminoglycoside antibiotics in bovine milk: hot water extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* **1067**, 93-100 (2005).
 14. Zhu W. X., Yang J. Z., Wei W., Liu Y. F., Zhang S. S.: Simultaneous determination of 13 aminoglycoside residues in foods of animal origin by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry with two consecutive solid-phase extraction steps. *J. Chromatogr. A.* **1207**, 29-37 (2008).
 15. Umezawa, H., Hooper I. R.: Aminoglycoside antibiotics, *Springer-Verlag*, p. 293 (1982).
 16. Turnipseed S. B., Clark S. B., Karbiwnyk C. M., Anderse W. C., Miller K. E., Madson M. R.: Analysis of aminoglycoside residues in bovine milk by liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry after derivatization with phenyl isocyanate. *J. Chromatogr. B.* **877**, 1487-1493 (2009).
 17. Byun J. Y.: Update of Research on Aminoglycoside toxicity. *Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg.* **55**, 1-7 (2012).
 18. Cox E. C., White, J. R., Flaks, J. G.: Streptomycin action and the ribosome. *Proc. Natl Acad. Sci.* **51**, 703-709 (1964).
 19. Park M. S., Lee J. J., Myung S. W.: Analysis of phoxim residue in animal food production (cattle and pig) by LC/ESI-MS/MS. *J. Korean Chem. Soc.* **55**, 626-632 (2011).
 20. 권기성 등: 식품 중 잔류동물용의약품 안전성 연구 (I); 2011년 잔류동물용의약품 시험법 개발 및 잔류실태조사. *식품의약품안전청 연구보고서* (2011).
 21. Codex guidelines for the establishment of a regulatory programme for control of veterinary drug residues in foods. CAC/GL 16. 1-46 (1993).
 22. Guidelines on Good Laboratory Practice in Pesticide Residue Analysis. CAC/GL 40-1993 (2010).