

계란 중 항생물질 및 합성항균제 잔류 분석에 관한 연구

정경태[†] · 김홍태 · 이강록 · 이동수

축산물 위생검사소

Studies on the Determination and Residues of Antimicrobial Drugs in Chicken Eggs

Kyung-Tae Chung[†], Hong-Tae Kim, Gang-Rok Lee and Dong-Soo Lee

Veterinary Service Laboratory

Abstract

This study was attempted to determination and residues of antimicrobial drugs in chicken eggs. A microbiological screening method was developed for the determination of antimicrobial residues in chicken eggs. 10 g of whole eggs were extracted 10 mL of citric-acetone buffer in paper disc diffusion method.

A matrix solid-phase dispersion extraction and liquid chromatography with photodiode array detection was developed for simultaneous determination of four tetracyclines (oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline, doxycycline) in chicken eggs. The elute were analyzed with DAD at 360 nm. The mobile phase was 0.01 M oxalic acid/acetonitrile/methanol(72:18:10, v/v/v) run isocratically.

A matrix solid-phase dispersion extraction and liquid chromatographic determination of enrofloxacin, ciprofloxacin in eggs is described. The elute was determined with fluorescence detection(Ex 278 nm, Em 455 nm). The mobile phase was a mixture of 0.4% phosphoric acid and 0.4% triethylamine aqueous solution/methanol(82:18, v/v) for eggs.

A liquid-liquid extraction with ethyl acetate and liquid chromatographic determination of thiabendazole, flubendazole in eggs is described. The elute were analyzed with DAD 295 nm. The mobile phase was 0.04 M ammonium phosphate/acetonitrile(62:38, v/v) for eggs.

Key Words: egg, antimicrobial drugs, residues

서 론

계란은 우리나라 대부분의 사람들이 선호하는 식품으로 단일 식품으로 높은 영양가에 비해 에너지가 낮고 소화 흡수가 잘 되며 비교적 가격이 저렴해 우리 식생활에 많이 소비되고 있는 완전식품이라 할 수 있다^{1,2)}.

하지만, 양축농가의 산란계 사육 시 질병의 예방, 치료 및 성장촉진 등의 목적으로 항생제, 합성항균제 등의 약물사용이 꾸준히 증가되고 있어 이들의 계란내 잔류가능성은 상존하고 있는 실정이다.

이에 미국, EU 등 선진국에서는 오래전부터 식용란의 잔류 허용기준을 정하여 모니터링을 실시하여 왔지만^{3,4)} 우리나라는 2002년도에 축산물가공처리법이 개정되어 2002년 7월부터 계란, 오리알, 메추리알을 식용란으로 정하여 축산물에 포함시켰으며, 옥시테트라사이클린, 네오마이신, 스펙티노마이신, 플루벤다졸 등의 잔류허용기준이 신설되었다^{5,6)}. 이후 2004년 4월부터 enrofloxacin에 대한 잔류허용기준이 추가되어 현재 5종의 약물을 규제하고 있다⁷⁾.

계란을 비롯한 각종 축산물내 항균물질의 잔류분석은 간이 검사법과 확인정량법으로 구분될 수 있다. 간이 검사법으로는 미생물학적 방법, 면역학적 방법, 박층크로마토그래피 등이 있으며, 확인정량법으로는 고속액체 크로마토그래피, 액체 크로마토그래피 · 질량분석법 등이 보고되어 있다.

계란내 테트라사이클린계 항생물질의 정량법 중 기존의 HPLC법은 다량의 유기용매 사용, 장시간 소요, buffer 사용에 따른 착화합물 형성에 의한 컬럼 수명 단축 등의 단점이 있다. 이에 Baker 등^{8,9)}은 시료의 전처리 방법으로 시료와 고정상을 균질화하여 추출 · 정제하는 시료분산처리법(matrix solid-phase dispersion, MSPD)을 보고하여 전처리 조작이 간단하고 신속하며 유기용매의 사용량을 최소화 할 수 있게 하였다. 이 방법은 또한 플루오르퀴놀론계 약물에도 같은 방법으로 적용할 수 있으며 동시다체 확인정량법으로 확립되어 있다.

벤지미다졸계 구충제는 동물에서 회충, 촌충, 간질충 등 광범위구충제로 우리나라를 비롯하여 전 세계적으로 널리 사용되고 있다. 구충제로 인한 위해성은 가축에서 약제내성을 일으키며, 사람에게 이행되어 체내에 축적되면 기형 유발, 면역체

[†] Corresponding author. E-Mail: ktchung@busan.go.kr
Phone: 051-331-0095, Fax: 051-338-8266

계 억제 등으로 병원미생물에 의한 2차감염이 일어날 수 있다. 최근 우리나라도 식용란에서 플루벤다졸의 잔류허용기준을 0.4 ppm으로 설정하였다²⁾.

그러나 우리나라의 경우 식용란의 항생제, 합성항균제 등의 잔류허용기준이 최근에 마련되었고 이들에 대한 시험법 정립 등도 다소 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 식용란의 간이검사법, 테트라사이클린계 항생물질, 플로오로퀴놀론계 및 벤지미다졸계 합성항균제 등의 전처리 방법 및 기기분석법을 정립하여 계란내 잔류물질 검사법을 확립하고 나아가 시민에게 안전한 축산물을 공급함으로써 시민보건 향상에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

항생물질 간이정성검사

공시시료 : 2006년 9월부터 12월까지 부산광역시내 대·중형 할인판매점에서 유통되고 있는 계란 300개를 구매하여 축산물가공처리법과 식품공전에서 정하는 바에 따라 난백과 난황을 혼합한 전란액을 -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다(Table 1).

시험용 균주 및 균액 제조 : 시험용 균주는 *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149, *Bacillus megaterium* ATCC 9885, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 등 5종을 식품공전의 항생물질 및 합성항균제 간이검사법에 준하여 제조하였다.

시험용 배지 : 시험용 배지로는 Difco Lab. (USA)의 antibiotic medium No. 8 (pH 5.85 ± 0.05 , AM #8), No. 5 (pH 7.9 ± 0.1 , AM #5), No. 2 (pH 6.55 ± 0.05 , AM #2),

Mueller Hinton medium (pH 7.3 ± 0.1 , MH) 등 4종을 식품공전의 항생물질 및 합성항균제 간이검사법에 준하여 실험하였다(Table 2).

시료추출 및 시험방법 : 추출완충액으로서 구연산·아세트완충액 (pH 6.3)은 0.2 M 구연산용액과 0.5 M 수산화칼륨용액을 동량으로 혼합하고, 이액과 아세트, 증류수를 35:35:30의 혼합비로 사용하였다.

균질화된 전란액 10 g에 구연산·아세트완충액 10~30 mL를 가하여 stomacher로 2분간 균질화한 후 이 시료를 85°C , 15분간 항온수조에서 가열 후 찬물에 식힌 다음 맑은 추출액을 paper disc에 침지한 후 시험용 평판위에 올려놓고 18시간 정도 배양 후 억제대 형성여부를 확인하고 12 mm 이상을 양성으로 판정하였다. 양성대조로는 ciprofloxacin $0.1 \mu\text{g/g}$ 용액을 사용하였다.

테트라사이클린계 정밀검사

표준품 및 시약 : 사용된 표준품은 oxytetracycline (OTC), tetracycline (TC), chlortetracycline (CTC), doxycycline (DOX)으로 Sigma사 (USA) 제품을 사용하였고, n-hexane (Merck), methylene chloride (J. T. Baker) methanol (J. T. Baker)은 HPLC grade를, oxalic acid, EDTA 등 모든 시약은 특급 및 그 이상의 수준으로 사용하였다. MSPD법을 위한 충전제는 bulk Cs ($40 \mu\text{m}$, Merck)을 사용하였다.

분석기기 및 분석조건 : 분석기기로는 photodiode array detector가 장착된 HPLC (Agilent 1100 series)를 이용하였으며, 측정조건은 컬럼으로 ZORBAX Eclipse XDB-C8 ($4.6 \times 150 \text{ mm}$, $3.6 \mu\text{m}$)을 사용하였으며, 이동상 용매는 0.01 M oxalic acid, acetonitrile, methanol의 혼합용액(72:18:10, v/v/v)을 $0.45 \mu\text{m}$ 필터로 여과하여 사용하였으며, 검출파장은 자외부 360 nm , 유속은 1.0 mL/min 로 측정하였다.

Table 1. The number of chicken eggs in sampling area

Kinds of market	No. of market	No. of eggs
Large*	7	240
Middle**	2	60
Total	9	300

* Department food stores and large discount market

** Middle discount market

Table 2. The experimental conditions of screening test

Strain	Incubation temperature	Medium
<i>B. cereus</i>	30°C	AM #8
<i>B. subtilis</i>	30°C	AM #5
<i>B. stearothermophilus</i>	55°C	AM #2
<i>B. megaterium</i>	45°C	MH
<i>M. luteus</i>	30°C	AM #5

표준용액 및 첨가시료 제조 : 각 표준물질 약 10 mg을 100 mL methanol에 녹여 100 $\mu\text{g/mL}$ 표준원액을 만들고 이를 이동상으로 희석하여 10 $\mu\text{g/mL}$ 로 표준용액으로 사용하였다. 첨가시료는 전란액 0.5 g씩을 유발에 취하여 표준용액을 첨가 0.4, 0.2 및 0.1 $\mu\text{g/g}$ 으로 제조하였다. 표준곡선은 0.05, 0.1, 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석하여 50 μL 씩 3회 반복주입 농도별 면적비를 구한 후 회귀 분석하여 작성하였다.

시료 전처리 : 시료 전처리는 C_{18} 분말 2 g을 유발에 취하여 전란액 0.5 g을 달고 oxalic acid와 EDTA 0.05 g을 첨가 후 유봉으로 균질화하였다. 이 혼합물을 여과지가 장착된 10 mL 주사기에 옮겨 hexane 8 mL로 세척 후 음압으로 hexane을 제거하고 methylene chloride 8 mL로 세척 후 음압으로 완전히 건조시키고, 0.01 M methanolic oxalic acid 8 mL로 용출하여 40°C 질소하에서 완전히 건조시키고 여기에 이동상 0.5 mL를 가하여 초음파로 용해시킨 후 0.2 μm 필터로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

- Sample preparation scheme for MSPD

```

0.5 g whole egg
↓
Add 2 g  $\text{C}_{18}$  bulk, 0.05 g EDTA, 0.05 g oxalic acid
and blend gently
↓
Transfer 10 mL syringe barrel
↓
Wash with 8 mL n-hexane and dry
↓
Wash with 8 mL methylene chloride and dry
↓
Elute with 8 mL 0.01 M oxalic acid in methanol
↓
Evaporate to dryness
↓
Dissolve with 0.5 mL mobile phase
↓
Filter with 0.45  $\mu\text{m}$  syringe filter

```

플루오로퀴놀론계 정밀검사

표준품 및 시약 : 사용된 표준품은 enrofloxacin (EF), Ciprofloxacin (CF)으로 Dr. Erenstofer사 제품을 사용하였고, n-hexane (Merck), acetonitrile (J. T. Baker), methanol (J. T. Baker) 등은 HPLC grade, trichloroacetic acid, sodium sulfate 등 모든 시약은 특급 및 그 이상의 수준으로 사용하였다. MSPD법을 위한 충전제는 bulk C_{18} (40 μm , Merck)을 사용하였다.

분석기기 및 분석조건 : 분석기기로는 형광검출기가 장착된 HPLC(Agilent 1100 series)를 이용하였으며, 측정조건은 컬럼으로 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6×150 mm, 3.6 μm)을 사용하였으며, 이동상 용매는 증류수(0.4% triethylamine 과 0.4% phosphoric acid 첨가 용액)와 methanol 혼합용액 (82:18, v/v)을 0.45 μm 필터로 여과하여 사용하였으며, 검출파

장은 Ex 278 nm, Em 455 nm로, 유속은 1.0 mL/min로 측정하였다.

표준용액 및 첨가시료 제조 : 각 표준물질 약 10 mg을 100 mL methanol에 녹여 100 $\mu\text{g/mL}$ 표준원액을 만들고 이를 이동상으로 희석하여 10 $\mu\text{g/mL}$ 로 표준용액으로 사용하였다. 첨가시료는 전란액 0.5 g씩을 유발에 취하여 표준용액을 첨가 0.2, 0.1 및 0.05 $\mu\text{g/g}$ 으로 제조하였다. 표준곡선은 0.05, 0.1, 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석하여 50 μL 씩 3회 반복주입 농도별 면적비를 구한 후 회귀 분석하여 작성하였다.

시료 전처리 : 시료 전처리는 C_{18} 분말 2 g을 유발에 취하여 전란액 0.5 g을 달고 oxalic acid 0.05 g과 sodium sulfate 0.03 g을 첨가 후 유봉으로 균질화하였다. 이 혼합물을 여과지가 장착된 10 mL 주사기에 옮겨 hexane 8 mL로 세척 후 음압으로 hexane을 제거하고 ethylacetate 8 mL로 세척 후 음압으로 완전히 건조시키고, methanol 8 mL로 용출하여 40°C 질소하에서 완전히 건조시키고 여기에 이동상 0.5 mL를 가하여 초음파로 용해시킨 후 0.2 μm 필터로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

- Sample preparation scheme for MSPD

```

0.5 g whole egg
↓
Add 2 g  $\text{C}_{18}$  bulk, 0.05 g sod. sulfate, 0.05 g oxalic acid
and blend gently
↓
Transfer 10 mL syringe barrel
↓
Wash with 8 mL n-hexane and dry
↓
Wash with 8 mL ethylacetate and dry
↓
Elute with 8 mL acetonitrile
↓
Evaporate to dryness
↓
Dissolve with 0.5 mL mobile phase
↓
Filter with 0.45  $\mu\text{m}$  syringe filter

```

벤지미다졸계 구충제 정밀검사

표준품 및 시약 : 사용된 표준품 thiabendazole (TBZ), flubendazole (FLU)은 Dr. Erenstofer사 제품을 사용하였고, n-hexane (Merck), ethylacetate (J. T. Baker), acetonitrile (J. T. Baker) 등은 HPLC grade를, ammonium phosphate는 특급시약을 사용하였다.

분석기기 및 분석조건 : 분석기기로는 photodiode array detector가 장착된 HPLC (Agilent 1100 series)를 이용하였으며, 측정조건은 컬럼으로 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6×150 mm, 3.6 μm)을 사용하였으며, 이동상 용매는 0.04 M ammonium phosphate와 acetonitrile 혼합용액(62:38, v/v)을 0.45 μm 필터로 여과하여 사용하였다.

Table 3. Microbiological disc for detection of ciprofloxacin in fortified whole eggs according to volume of extraction buffer

Ciprofloxacin added ($\mu\text{g/g}$ egg, n=3)	Mean microbial inhibition zone diameter (mm)		
	10 mL buffer	20 mL buffer	30 mL buffer
Disc (diameter=10 mm) 0.1	18.9	17.4	15.4

표준용액 및 첨가시료 제조 : 각 표준물질 약 10 mg을 100 mL 용량플라스크에 취하고 10 mL dimethyl sulfoxide (DMSO)로 녹인 다음 acetonitrile로 표시선까지 채워 100 $\mu\text{g/mL}$ 표준용액을 만들고 이를 이동상으로 희석하여 10 $\mu\text{g/mL}$ 로 표준용액으로 사용하였다. 첨가시료는 전란액 1 g을 취하여 표준용액을 첨가 0.8, 0.4 및 0.2 $\mu\text{g/g}$ 으로 제조하였다. 표준곡선은 0.8, 0.4, 0.2, 0.1 및 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석하여 50 μL 씩 3회 반복주입 농도별 면적비를 구한 후 회귀 분석하여 작성하였다.

시료 전처리 : 시료 전처리는 전란액 1 g을 50 mL 원심분리관에 취한 후 50% acetonitrile 1 mL를 첨가 혼합한 후 다시 ethylacetate 5 mL를 첨가 혼합하고 3,700 rpm에서 10분간 원심 후 상층액을 취하였다. 잔사에 다시 ethylacetate 5 mL를 첨가 재 원심하여 상층액에 합하고 40 $^{\circ}\text{C}$ 질소하에서 완전히 건조시키고, 여기에 50% acetonitrile 1 mL를 가하여 초음파로 용해시킨 후 0.2 μm 필터로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

- Sample preparation scheme

- 1.0 g whole egg
- ↓
- Add 1 mL 50% acetonitrile and homogenized for 3 min
- ↓
- Add 5 mL ethyl acetate and shake for 3 min
- ↓
- Centrifuged for 10 min at 4,000 rpm and take ethyl acetate layer
- ↓
- Evaporate to dryness
- ↓
- Dissolve with 1.0 mL 50% acetonitrile
- ↓
- Filter with 0.45 μm syringe filter

결과 및 고찰

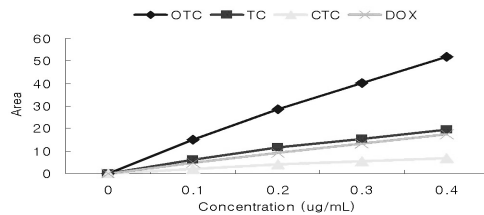
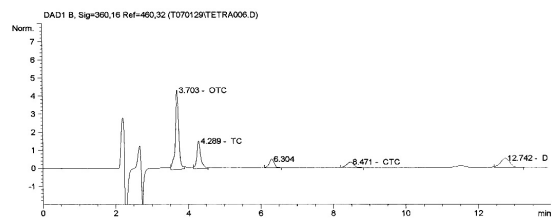
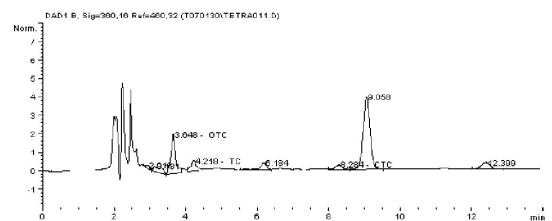
항생물질 간이정성검사

미생물학적 간이검사법에서 추출완충액의 량과 paper disc(직경 10 mm)간의 검출감도를 비교하기 위하여 각각의 전란액 10 g에 ciprofloxacin 0.1 ppm 농도의 첨가시료를 이용한 구연산·아세트 완충액을 10~30 mL로 달리 추출 시 추출완충액 10 mL를 가한 1:1 추출의 경우가 검출감도가 가장 우수하였다(Table 3).

간이정성검사에 사용된 계란 300건 중 항생물질 양성으로 판정된 것은 2건(0.67%)으로 아주 낮은 수치였던 바 이는 대중형 할인판매점에서 유통되는 계란이 주였고, 소비자들의 잔류물질에 대한 인식 고취로 생산, 판매상들이 항생물질 무잔류 계란을 공급하는데 기인하는 것으로 사료된다. 그러나 현재까지 국내의 식용란에 대한 항생물질 간이검사는 2006년 농림부 사업으로 처음 검사가 이루어지고 있고, 다른 연구 결과 자료도 미미하여 정확한 양성율은 알 수 없는 실정이다.

테트라사이클린계 정밀검사

표준검량곡선 : 표준용액을 0.05~0.2 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도범위에서 HPLC에 주입 자외부 360 nm에서 측정하였을 때 OTC, TC,

Fig. 1. Standard calibration curves of tetracyclines. ($r^2 > 0.999$)Fig. 2. HPLC chromatogram of tetracyclines standard at 0.2 $\mu\text{g/mL}$.Fig. 3. HPLC chromatogram of tetracyclines in whole egg fortified at 0.2 $\mu\text{g/g}$ and blank.

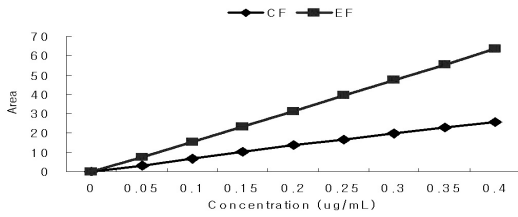


Fig. 4. Standard calibration curves of fluoroquinolones. ($r^2>0.999$)

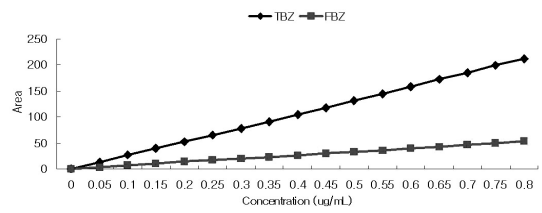


Fig. 7. Standard calibration curves of benzimidazoles. ($r^2>0.999$)

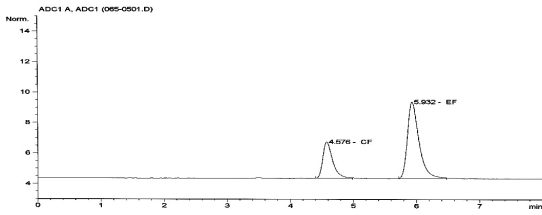


Fig. 5. HPLC chromatogram of fluoroquinolones standard at 0.2 $\mu\text{g/mL}$.

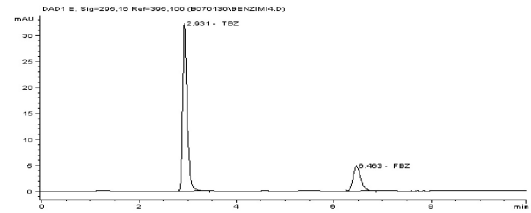


Fig. 8. HPLC chromatogram of benzimidazoles standard at 0.3 $\mu\text{g/mL}$.

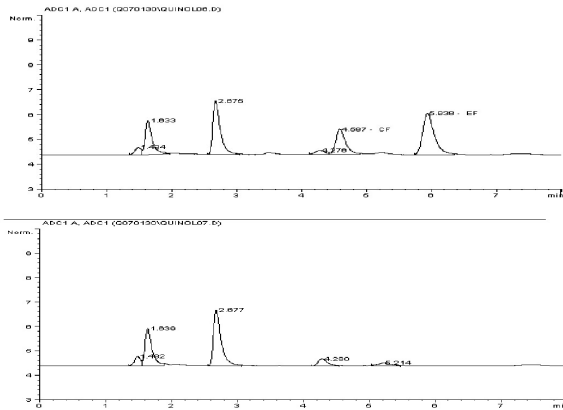


Fig. 6. HPLC chromatogram of fluoroquinolones in whole egg fortified at 0.2 $\mu\text{g/g}$ and blank.

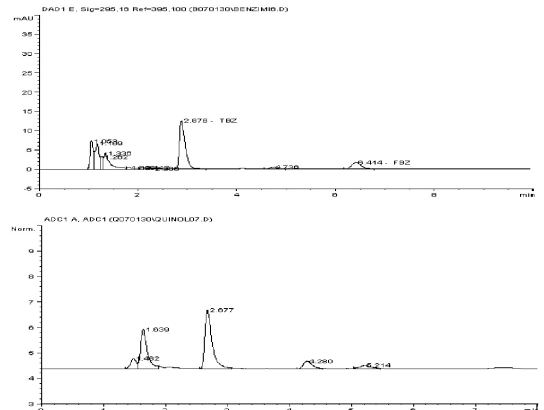


Fig. 9. HPLC chromatogram of benzimidazoles in whole egg fortified at 0.5 $\mu\text{g/g}$ and blank.

CTC, DOX 4종 모두 상관계수 0.999 이상의 직선성을 보였다 (Fig. 1). 또한 동시분석 크로마토그램은 Fig. 2에서와 같이 양호한 분리도를 나타내었다. 4종의 혼합표준용액을 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 계란에 첨가한 분석에서도 음성시료와 첨가시료 사이에 방해 피크가 없이 표준용액과 동일한 분리도를 나타내었다 (Fig. 3). 따라서 테트라사이클린계 항생물질(OTC, TC, CTC, DC)은 MSPD법으로 이동상 용매는 0.01 M oxalic acid, methanol, acetonitrile의 혼합용액이, 동시검출 파장으로는 360 nm의 파장이 적합하였다.

물질별 회수율: 물질별 회수율 측정을 위하여 테트라사이클린계 항생물질이 잔류되지 않은 것으로 확인된 계란에 0.1~0.4 $\mu\text{g/g}$ 의 농도로 표준물질을 첨가 후 회수율을 측정한 결과 OTC 75.2~84.2%, TC 65.6~70.2%, CTC 70.1~75.6%,

DC 65.3~74.7%로 나타났다. 이 결과는 Code에서 100 ppb 이상인 경우 회수율 80~120%, 변이계수 15% 이내를 권장하는 것에 비하면 회수율은 다소 낮은 수치로 액상추출법이나 다른 발전된 방법을 통하여 회수율의 개선이 필요할 것으로 사료된다. 평균 변이계수(CV)는 4.3~8.5%였다 (Table 4).

플루오로퀴놀론계 정밀검사

표준검량곡선: 표준용액을 0.05~0.2 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도범위에서 HPLC에 주입 형광검출기 여기파장(Ex) 278 nm, 흡수파장(Em) 455 nm에서 측정하였을 때 enrofloxacin과 ciprofloxacin은 상관계수 0.999 이상의 직선성을 보였다 (Fig. 4). 또한 분석 크로마토그램은 Fig. 5에서와 같이 양호한 분리도를 나타내었다. 표준용액을 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 계란에

첨가한 분석에서도 음성시료와 첨가시료 사이에 방해 피크가 없이 표준용액과 동일한 분리도를 나타내었다(Fig. 6). 따라서 플로르퀴놀론 합성항균제는 MSPD법으로 이동상 용매는 0.4% trimethylamine, phosphoric acid 첨가용액과 methanol의 혼합용액이, 동시검출 파장으로는 형광검출기에 의한 여기파장 278 nm, 측정파장 455 nm의 파장이 적합하였다.

물질별 회수율 : 물질별 회수율 측정을 위하여 플로오로퀴놀론계 약물이 잔류되지 않은 것으로 확인된 계란에 0.05~0.2 µg/g의 농도로 표준물질을 첨가 후 회수율을 측정 한 결과 평균 회수율은 enrofloxacin 82.4%, ciprofloxacin 84.7%로 나타났으며, Code에서 100 ppb 이상인 경우 회수율 80~120%, 변이계수 15% 이내를 권장하는 것에 적합한 수준이었다. 평균 변이계수(CV)는 7.53~8.3%였다(Table 5).

벤지미다졸계 구충제 정밀검사

표준검량곡선 : 표준용액을 0.05~0.8 µg/mL의 농도범위에서 HPLC에 주입 자외선 검출기 295 nm에서 측정하였을 때 thiabendazole, flubendazole은 상관계수 0.999 이상의 직선성을 보였다(Fig. 7). 또한 분석 크로마토그램은 Fig. 8에서와 같이 양호한 분리도를 나타내었다. 표준용액을 0.5 µg/mL의 농도로 계란에 첨가한 분석에서도 음성시료와 첨가시료 사이에 방해 피크가 없이 표준용액과 동일한 분리도를 나타내었다(Fig. 9). 벤지미다졸계 구충제는 ethyl acetate를 이용한 액상추출법으로 이동상 용매는 ammonium phosphate buffer와 acetonitrile의 혼합용액이, 검출파장으로는 295 nm가 적합하였다.

물질별 회수율 : 물질별 회수율 측정을 위하여 벤지미다졸계 약물이 잔류되지 않은 것으로 확인된 계란에 0.2~0.8 µg/g의 농도로 표준물질을 첨가 후 회수율을 측정 한 결과 평균 회수율은 flubendazole 93.7%, thiabendazole 93.9%로 나타났으며, Code에서 100 ppb 이상인 경우 회수율 80~120%, 변이계수 15% 이내를 권장하는 것에 비해 회수율은 높은 편이었다. 평균 변이계수(CV)는 4.0~6.8%였다(Table 6).

결 론

식용란의 항생물질 간이검사법, 테트라사이클린계 항생물질, 플로오로퀴놀론계 및 벤지미다졸계 합성항균제 등의 전처리 방법 및 기기분석법을 정립하여 계란내 잔류물질 검사법 확립을 목적으로 실시한 본 실험에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *B. subtilis* 등 5종의 균주를 이용한 미생물학적 간이정성검사서에서 10 g의 전란액에 대한 추출완충액으로는 구연산·아세트 완충액 10 mL가 가장 적합하였으며, paper disc에 의한 항생물질 및 합성항균제의 검출이 가능하였다.

2. 테트라사이클린계 항생물질(OTC, TC, CTC, DC)의 동시분석을 위한 MSPD법으로 이동상 용매는 0.01 M oxalic

acid, methanol, acetonitrile의 혼합용액이, 동시검출 파장으로는 자외선 검출기 360 nm의 파장이 적합하였다.

3. 플로르퀴놀론 합성항균제(EF, CF)는 MSPD법으로 이동상 용매는 0.4% trimethylamine, 0.4% phosphoric acid 첨가용액과 methanol의 혼합용액이, 동시검출 파장으로는 형광검출기에 의한 여기파장 278 nm, 측정파장 455 nm의 파장이 적합하였다.

4. 벤지미다졸계 구충제(TBZ, FLU)는 ethyl acetate를 이용한 액상추출법으로 이동상 용매는 ammonium phosphate buffer와 acetonitrile의 혼합용액이, 검출파장으로는 자외선 검출기 295 nm가 적합하였다.

참 고 문 헌

1. 한석현. 계란의 과학과 그 이용. 선진문화사, 서울. 1996.
2. 이성기. 계란과 닭고기의 과학. 유한문화사, 서울. 1999.
3. Quon DJ. Monitoring of domestic and imported eggs for veterinary drug residues by the Canadian Food Inspection Agency. 48: 6421-6427(2000).
4. Department of Agriculture, Fisheries & Forestry, Australia. 2000/2001 Report on the Australian National Residue Survey Results. pp 45(2001).
5. 농림부. 축산물가공처리법. 2002.
6. 식품의약품안전청. 식품의 기준 및 규격중 개정. 2002.
7. 식품의약품안전청. 식품의 기준 및 규격중 개정. 2004.
8. Baker, SA. Matrix-solid dispersion. J. Chromatography A. 885 : 115-127(2000).
9. 강환구, 손성완 등. 시료고체상분산 전처리법을 이용한 식육중 테트라사이클린계 항생물질 동시 정량분석, Korean J. Vet. Res. 36(3) : 541-550(1996).