

LC-MS/MS에 의한 벌꿀 중 잔류 네오마이신의 분석

심영은¹ · 정지윤² · 명승운^{1,★}

¹경기대학교 자연과학대학 화학과, ²식품의약품안전청 식품잔류약품과
(2009. 2. 2. 접수, 2009. 7. 3. 승인)

Analysis of residual neomycin in honey by LC-MS/MS

Young-Eun Shim¹, Ji-Yoon Jeong² and Seung-Woon Myung^{1,★}

¹Department of Chemistry, Kyonggi University, 94-6 Yui-dong, Yeongtong-gu, Suwon 443-760, Korea

²Pesticide & Veterinary Drug Residues Division, Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

(Received February 2, 2009; Accepted July 3, 2009)

요 약: 벌꿀 중에 잔류하는 아미노글라이코사이드 항생제인 네오마이신을 효과적으로 분석하는 방법을 개발하고 방법에 대한 유효성 검증을 수행하였다. 0.1 M 염산을 사용하여 벌꿀의 pH를 2로 조절한 후 고체상 추출(SPE) 고체상인 양이온교환 카트리지에 적재한 후 염기성 메탄올로 용리하였다. 용리된 추출물은 이온쌍 시약을 사용한 이온쌍 크로마토그래피법으로 분리한 후 LC/(+)ESI-MS/MS의 MRM 방법으로 분석하였다. 정량분석을 위해서 spike 한 5.0~250 µg/kg 농도 범위에서 검정곡선은 좋은 직선성 ($r^2 > 0.9951$)을 나타내었다. 분석방법의 상대표준편차는 11.5~18.7%이었고 정확도는 bias로 10.9~20.9%이었다. 확립된 분석방법은 벌꿀 중에서 네오마이신의 분석방법으로 유용하게 사용될 수 있을 것이다.

Abstract: An effective and specific procedure for confirmation of neomycin, aminoglycoside antibiotic in honey was developed and validated. Honey was adjusted to pH 2 with 0.1 M HCl and applied to weak cation-exchange SPE cartridge. Neomycin was eluted with basified methanol. Following separation by ion-pairing liquid chromatography, neomycin was analysed with positive electrospray ionization and MRM mode. Quantification was linear over the range of 5.0~250.0 µg/kg ($r^2 > 0.9951$). The precision (R.S.D.) and accuracy (as a bias) of quality control samples in honey ranged 11.5~18.7% and 10.9~20.9%, respectively. Established method can be applied to analysis of neomycin in honey.

Key words: Honey, neomycin, LC-MS/MS

1. 서 론

항생제는 인간의 질병치료 목적으로 개발되었으나 현재는 인간의 질병 치료 목적이외에도 식품 보존제,

과실용 살균제, 어류양식 등의 동물 치료 등 다양한 목적으로 식품 및 식품 원료 물질에 사용되고 있다. 현재 미국에서 생산되는 항생제의 약 13% 정도가 축산물·수산물 등에 이용될 정도로 항생제는 일반인들

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)31-249-9647 Fax : +82-(0)31-249-9647

E-mail : swmyung@kgu.ac.kr

의 상식을 넘어 광범위하게 식품에 사용되고 있다. 벌꿀은 오랜 옛날부터 귀한 약품 및 식품으로 사용되어 왔으며, 현재에는 가공식품의 원료로도 활용되면서 그 수요가 증가하여 벌을 길러 꿀을 채집하는 양봉업이 발달하였다. 꿀벌은 집단적으로 생활하기 때문에 각종 질병으로 인한 병해를 입기 쉬워 이를 방지할 목적으로 양봉가에서는 항생제를 사용하고 있다.

우리나라에서는 식품에 들어있는 항생물질 등 동물용 의약품과 살충제 등의 잔류허용기준을 식품공전에 정하고 있는바 네오마이신의 경우 식육, 유(乳)제품, 계란 등에서 0.5~10 mg/kg¹으로 정하여 규제하고 있으며 잔류물질시험법도 제시하고 있다.

네오마이신은 감염 치료제로 널리 사용되며 약효가 광범위한 aminoglycoside 항생제에 속하며 Gram 양성 과 음성 박테리아의 성장을 저해한다.² 혈중 네오마이신의 농도가 너무 높으면 이독성(ototoxicity)과 신독성(nephrotoxicity)을 나타낼 수 있다.^{3,4} 네오마이신은 소, 돼지, 닭, 오리 등에 사용이 허가되어 세균성 질병 치료에 이용되며, 양봉용으로는 꿀벌의 항감염증 치료용으로 사용되고 있다. 그리고 양봉용으로 허가된 네오마이신은 옥시테트라사이클린과 혼합제품인 “네오테트라”라는 상품명으로 1 개가 허가되어 있으며, 벌꿀 중 잔류허용기준은 0.1 mg/kg이다.

동물용 네오마이신은 sulfate salt 형태로 사용되며, 상업적으로 판매되는 네오마이신은 neomycin B (Fig. 1)가 90% 이상을 차지하는 최대구성성분이며, neomycin B가 대사산물이 없이 모약물(parent drug)로 배설되므로 벌꿀 중에 잔류하는 네오마이신의 양을 측정하고자 하면 neomycin B의 양을 측정하면 된다.

벌꿀 중 네오마이신은 사용허가가 되어 있음에도 불구하고 분석방법에 대한 연구는 다른 항생제를 비롯한 일반 약물에 비해서 그다지 많지 않다. Aminoglycoside neomycin은 극성이 강한 수용성을 나타내므로 기체 크로마토그래피(GC)나 액체 크로마토그래피(HPLC)와 같은 크로마토그래피에 의한 분석방법이 까다롭기 때

문이다.

얇은막 크로마토그래피⁵와 기체 크로마토그래피,⁶ 모세관 전기이동(CE)법^{7,8}을 이용하여 분석한 논문들도 소수 있기는 하지만 분리도가 그리 좋지 않으며 검출한계도 좋지 못하다.

따라서, 일반적인 분석방법은 HPLC를 이용하여 분석하는 방법인데 역상(reverse phase) HPLC에는 네오마이신의 강한 친수성 때문에 이온쌍 시약을 사용하는 방법이 주로 사용되고 있으며^{9,10} 검출기로는 컬럼 통과 후 유도체화 시킨 형광 검출법(FLD), 전기화학 검출법(ECD) 또는 증기빛산란검출기법(ELSD)이 사용되고 있다.¹¹⁻¹⁷

그런데, LC/MS에서는 이온쌍 시약이^{18,19} 사용되면 감도가 줄어든다는 지적이 있다.²⁰ 따라서 극성이 큰 친수성 화합물을 분리하는데 사용하는 정상(normal phase) 크로마토그래피가 적합하지만, 이 방법에서는 물이 사용되지 않거나 극소량 사용되기 때문에 LC/MS의 이온화방법인 ESI (electrospray ionization) 방법에는 적합하지 않다. 따라서 정상 크로마토그래피 대신에 정지상이 zwitterionic silica gel인 HILIC (hydrophilic interaction chromatography) 방법²⁰을 사용하기도 하지만 컬럼이 비싸다는 단점이 있다.

시료 전처리방법으로는 주로 근육, 간, 콩팥 등 생체 조직,²¹ 혈청,^{19,20} 연고,⁵ 안약,²² 우유¹⁸ 등에서 네오마이신을 분석한 방법이 있지만 벌꿀에서 이를 분석한 예는 거의 없다.

시료로부터 네오마이신의 추출/정제 방법으로는 고체상 추출법^{18,20}과 PBS (phosphate-buffered saline)용액을 사용한 액체-액체추출법²¹ 등이 있다.

본 논문에서는 효과적이며 감도가 높고 정밀도와 정확도가 개선된 벌꿀중에서 네오마이신을 분석하기 위해서, 고체상 추출법을 사용하여 추출 및 정제과정을 거친 후 이온쌍 시약을 사용한 LC/ESI-MS/MS 분석 방법을 개발하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시약

네오마이신 표준물질은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, USA)로부터 구입하였으며, 표준용액은 증류수에 녹여 농도를 1000 µg/mL로 만들어 냉장 보관하였고, 필요에 따라서 이 용액을 희석하여 사용하였다. 메탄올, 물, 아세트니트릴은 J.T. Baker사(Phillipsburg, NJ, USA)로부터 HPLC급 고순도 용매를 구입하였고, 이

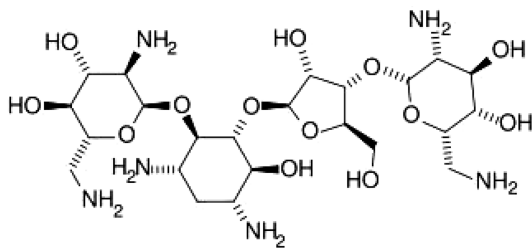


Fig. 1. Chemical structure of neomycin B (MW : 614.64).

온쌍 시약인 NFPA (nonafluoropentanoic acid)와 초산, formic acid는 Sigma-Aldrich사(ST. Louis, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

2.2. 재료 및 장치

시료의 혼합을 위해 사용된 shaker는 EYELA사(Tokyo, Japan)의 Multi Shaker MMS 제품을 사용하였으며, 시료 농축을 위한 회전 증발기도 EYELA사(Tokyo, Japan)의 제품을 사용하였다. 시린지 필터는 National Scientific사(Rockwood, TN, USA)의 0.45 µm 크기를 사용하였으며, 초음파 장치는 NEURON FIT 사(Tokyo, Japan)의 JAC Ultrasonic 4020 제품을 사용하였다. 진공감압장치는 Supelco사(Bellefonte, PA, USA)의 SPE vacuum manifold 제품을 사용하였다. 고체상 추출 흡착제인 MCX (Mixed mode Cation eXchange) 카트리지는 Waters사(Milford, MA, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

2.3. LC-MS/MS 분석조건

LC-MS/MS는 시료 자동주입기(Agilent 1200 Series G1313A Autosampler)가 장착된 Agilent사(Palo Alto, CA, USA)의 Agilent 1200 Series HPLC와 결합된 Agilent 6410 Triple-Quadrupole 질량분석기였다.

HPLC의 컬럼은 Eclipse Plus C₁₈ 컬럼으로써 내경이 2.1 mm, 길이가 100 mm 그리고 충전 입자 크기가 3.5 µm인 컬럼을 Agilent사(Palo Alto, CA, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

이동상 A는 20 mM formic acid와 10 mM NFPA가 포함된 수용액이며, 이동상 B는 20 mM formic acid와 10 mM NFPA가 포함된 메탄올 용액을 기울기 용리 조건으로 0.2 mL/min 유속으로 흘려주었다. 상세한 조건은 Table 1과 같으며 시료주입량은 20 µL이었다.

질량분석기의 이온화방법은 전기분무이온화(electrospray ionization, ESI)방법으로 양이온 모드에서 MRM (multiple reaction monitoring) 방식으로 검출하였다.

Table 1. Gradient parameters for HPLC analysis of neomycin

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0	50	50
0.5	30	70
5	5	95
5.1	50	50
12	50	59
10	20	80

선구이온(precursor ion)은 m/z 615이었으며 검출된 생성이온은 m/z 455, 323, 163, 161이었으며, nebulizing 기체의 온도는 350 °C, 유량은 8 L/min(질소)이었으며 충돌에너지는 30 V이었다.

2.4. 시료 전처리 및 검정곡선 작성

균질화한 벌꿀 시료 5 g에 물 20 mL를 넣고 진탕하여 충분히 녹인 후 0.1 M 염산을 사용하여 pH 2로 조정하였다. 이 시료 용액을 메탄올 5 mL와 물 5 mL로 활성화시킨 MCX 카트리지(60 mg, 3 cc)에 적재시켜서 흡착시키고 8 mL의 20% NH₄OH 메탄올 용액으로 용출하였다. 용출액은 45 °C 이하의 수욕 중에서 감압하여 농축하고 잔류물은 0.1 M HCl 1 mL로 녹인 후 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 하였다(Fig. 2).

검정곡선을 작성하기 위하여 네오마이신이 검출되지 않은 벌꿀 시료(blank 시료)에 농도가 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 50.0, 75.0, 250.0 µg/kg이 되도록 네오마이신을 spike하였다. 위의 시료 전처리방법과 동일한 방법으로 처리한 용액 20 µL를 LC-MS/MS에 주입하여 크로마토그램을 얻은 후 검정곡선을 작성하였다.

2.5. 방법의 유효성: 정밀도, 정확도, 회수율

LC-MS/MS를 이용한 벌꿀 시료 중 잔류 네오마이

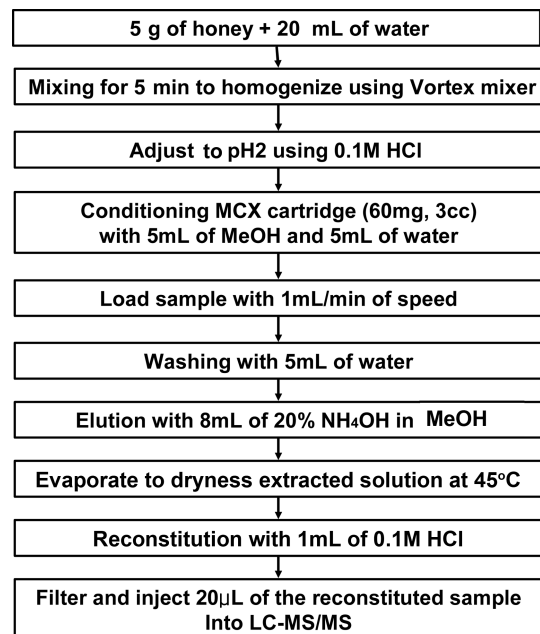


Fig. 2. Flow diagram of the sample preparation for neomycin analysis.

신 분석법의 정확도와 정밀도를 평가하기 위하여 바탕 벌꿀 시료 중 네오마이신의 농도가 30.0, 50.0, 75.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 되도록 각 농도당 3개씩 spike한 5 g의 벌꿀 시료를 전처리하여 앞에서 작성한 검정곡선을 통하여 정량 분석하였다.

벌꿀 시료로부터 네오마이신을 추출하는 시료 전처리 방법에 대한 절대 회수율(absolute recovery)을 평가하기 위하여, 시료 중 네오마이신의 농도가 30.0, 50.0, 75.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 되도록 spike한 벌꿀 시료 5 g을 앞에서 제시한 시료 전처리 방법으로 분석하고, 위 농도와 동일한 농도(농축 인자를 고려)의 네오마이신 표준 용액을 시료 전처리를 거치지 않고 LC-MS/MS에 직접 주입하여 분석한 결과와 비교하여 절대 회수율을 평가하였다.

3. 결 과

3.1 LC-MS/MS 분석조건 확립

3.1.1. HPLC 분석조건

네오마이신은 친수성이 매우 큰 물질이므로 일반적인 역상 HPLC 시스템에서는 거의 머무름이 없이 컬럼을 빠져나오게 되므로 이온쌍(ion pairing) 시약을 사용해서 머무름을 준다.

분자 당 전하 분포가 한 개에서 여러 개까지 일어나므로 질량분석기에서의 감도가 현저히 감소된다. 더욱이 전하 분포는 분석물질의 농도에 따라서 변하기

때문에 질량분석기에서의 검정곡선도 비선형을 나타내므로 정량분석에 어려움이 있다. 따라서, NFPA와 formic acid를 사용한 이온쌍 크로마토그래피에서는 전하가 안정화되어 비극성 컬럼(C_{18})에서의 적절한 머무름이 있게 하고 피크의 모양도 개선되며 이월(carryover)도 없애주는 효과를 나타낸다.

이온쌍(ion-pair) 크로마토그래피의 작용 메커니즘은 크게 두 가지가 있다. 한 가지는 이온상태의 분석물질과 용액내에 있는 이온쌍 시약 사이에 이온쌍이 형성된 후 역상 컬럼에서 새롭게 형성된 이온쌍 머무름이 생긴다는 것과^{23,24} 다른 하나는 이온쌍 시약이 역상 컬럼에 의해 먼저 불잡힌 후 분석물질 분자들이 흡착된 이온쌍 시약과 관계된 상대이온(counter ion)과 이온 교환을 한다는 것이다.²⁵⁻²⁸ 일반적으로는 전자의 이론을 많이 따르는데 즉, 이온성 분석물질이 이동상에 있는 이온쌍 시약과 이온쌍을 형성해서 전기적으로 중성이 되어 소수성 성질이 증가함으로써 비극성인 역상 컬럼에 친화도가 증가하여 컬럼에 머무름이 있게 된다는 것이다.

따라서, 본 논문에서는 이온쌍 시약인 NFPA와 formic acid를 사용하여 역상 컬럼에서 분석한 결과 머무름 시간이 6.9 분이며 피크도 꼬리꼬림현상 없이 뾰족한 대칭모양을 나타내어서 정량분석에 용이하였다(Fig. 3).

3.1.2. MS/MS 분석조건

네오마이신 작업 표준용액을 사용하여 ESI (electro-

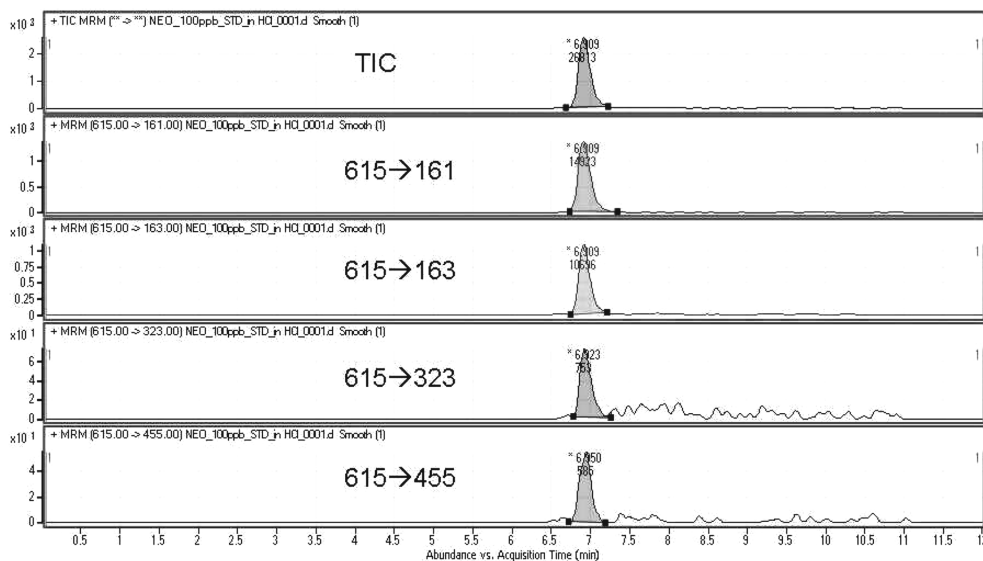


Fig. 3. Representative LC-MS/MS TIC and extracted ion chromatograms of authentic standard neomycin (10 ng/g).

spray ionization)와 APCI (atmospheric pressure chemical ionization) 이온화방법 중 감도가 좋은 방법을 비교한 결과, ESI 방식이 감도가 양호했고 ESI 방식의 양이온(+) 모드와 음이온(-) 모드를 비교한 결과 양이온 모드가 훨씬 더 좋은 감도를 보였다.

분석물질의 선택성과 감도를 향상시키기 위해서 tandem 질량분석법(tandem mass spectrometry)을 사용하였으며 MRM (multiple reaction monitoring) 모드로 분석하였다. 충돌셀에서의 충돌에너지를 조절하여 생성이온(product ion)의 감도가 크게 함으로써 최적의 선구이온(precursor ion)/생성이온(product ion) 쌍을 선정하였다.

ESI의 양이온 모드에서 full scan 질량스펙트럼(Fig. 4의 위)은 $[M+H]^+$ 인 m/z 615가 기준이온(base ion)으로 검출되었으며, tandem 질량분석을 위해서 m/z 615를 선구이온(precursor ion)으로 선택하여 생성이온(product ion)모드에서 적절한 충돌에너지로 충돌시킨 결과 생성이온(product ion)으로 m/z 455, 323, 163, 161이 토막이온(fragment ion)으로 나타났으므로 이를 정성(quantitation) 및 확인(criteria) 이온으로 선정하였다(Fig. 4의 아래). 토막이온들은 glycosidic binding의 재배열(Fig. 5)로부터 유래한 것이다. 생성이온 스펙트럼(Fig. 4의 아래)에서 가장 세기가 큰 m/z 161이 정

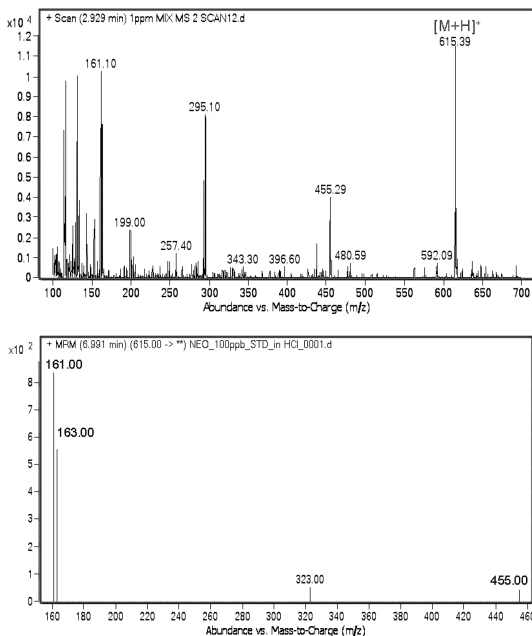


Fig. 4. Electrospray negative ion Q1 mass spectrum (upper) and product ion mass spectrum (lower) used in MRM for neomycin (lower).

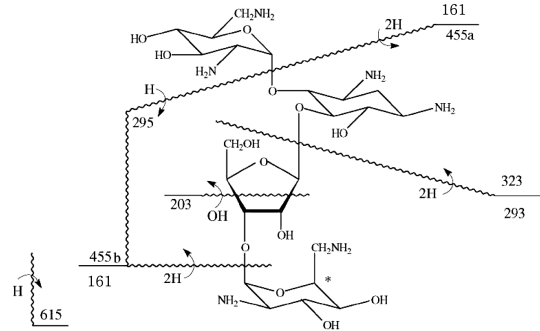


Fig. 5. Chemical structure of neomycin and its main MS/MS fragments.¹⁸

량이온으로 선택되었다.

LC/MS/MS에서는 약간의 용매의 조성 또는 충돌에너지에 따라서 질량스펙트럼의 상대이온세기에서 차이가 생긴다. 따라서, 낮은 농도에서의 정성확인을 위해서는 네오마이신 검출이력이 없는 벌꿀시료에 표준물질을 소량 첨가한 후 동일한 시료 전처리방법에 따라서 추출/정제한 표준물 시료와 실제시료의 이온들을 비교하여, 각 이온들의 비가 CODEX에서 권장하는 상대 이온세기 허용치 범위내에 드는 피크만을 정성적으로 네오마이신으로 확인한 후 정량시험을 하였다.²⁹ CODEX 가이드라인에 따르면 LC/MS/MS 시험의 경우 기준 피크(base peak)에 대해서 50%이상인 이온의 상대적인 허용범위는 $\leq 20\%$, 20~50% 크기의 이온은 $\leq 25\%$, 10~20% 크기의 이온은 $\leq 30\%$ 이내를 요구하고 있다. 따라서, 표준물질의 MRM 이온들의 기준이온에 대한 상대세기는 m/z 163 (71.7%), m/z 323 (5.1%), m/z 455 (4.0%)이므로 m/z 163의 경우 product ion scan에서 m/z 161에 대한 상대세기가 57.4~86.0% 이내에 들면 만족하며, 표준물질에서 m/z 323과 m/z 455의 상대세기는 10% 이내이므로 이 기준을 적용할 수 없다. 따라서, 세계반도핑기구(WADA)³⁰에서 제시하는 기준에서는 기준 피크의 25%이내인 이온에 대해서는 절대값으로 $\pm 10\%$ 를 적용하고 있으므로 이 기준을 준용하여 m/z 323의 크기는 15.1%이내, m/z 455의 크기는 14%를 적용하여 정성적인 평가를 실시하였다.

3.2. 분석법 검증

확립된 LC-MS/MS에 조건에서 네오마이신의 머무름 시간은 각각 약 6.9 분으로 다른 성분들로부터 간섭을 받지 않고 양호하게 분리되었다(Fig. 3).

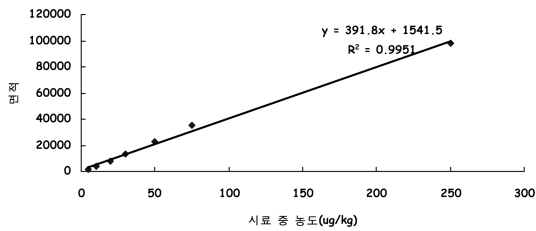


Fig. 6. Linear regression curve of neomycin in honey.

3.2.1. 검정곡선

바탕 벌꿀 시료에 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 50.0, 75.0, 100.0, 250.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도로 spike한 후 시료 전처리 방법에 따라서 추출한 후에 크로마토그램에 나타난 네오마이신의 피크 면적을 적분해서 농도 대 피크 면적에 대해서 검정곡선을 작성한 결과 상관계수 (coefficient of correlation, r^2)는 0.9951로 CODEX 기준 ($r^2 > 0.95$)에 적합한 직선성을 보였다(Fig. 6).

3.2.2. 정밀도 및 정확도

실험 방법의 정밀도와 정확도를 평가하기 위해서, 네오마이신의 농도가 30.0, 50.0, 75.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 되도록 각 농도 당 3개의 시료에 바탕 벌꿀시료에 spike시켜서 측정하였다.

그 결과 정밀도의 표현으로써 상대표준편차(RSD)가 30.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 13.3%, 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 18.7%, 그리고 75.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 11.5%를 나타냄으로써 모두 20% 이내의 좋은 정밀성을 나타내었다.

시험의 정확성은 bias로 나타내었으며, 이는 기지의 농도(X_a)에서 검정곡선에 통해서 정량한 농도(X_m)의 평균값을 뺀 후 기지의 농도로 나눈 비의 백분율(%) ($\text{Bias} = (X_a - X_m)/X_a \times 100$)로 구하였으며, 30.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 10.9%, 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 11.2%, 그리고 75.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 20.9%를 나타내었다(Table 2).

3.2.3. 절대 회수율

벌꿀 시료에 대한 절대 회수율을 평가하기 위하여, 시료 중 네오마이신의 농도가 30.0, 50.0, 75.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 되도록 각 농도당 3개씩 spike한 벌꿀 시료 5 g을 분

Table 2. Precision and accuracy for neomycin in honey (n = 3)

Concentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	RSD (%)	Bias (%)
30.0	13.3	10.9
50.0	18.7	11.2
75.0	11.5	20.9

석하였고, 위 농도와 동일한 농도(농축 인자를 고려)의 네오마이신 표준용액을 시료 전처리를 거치지 않고 LC-MS/MS에 직접 주입하여 분석한 결과와 비교하여 절대 회수율을 평가하였다. 3회 반복 실험한 결과 평균 회수율은 30.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 53.4%, 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 49.3%, 그리고 75.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 49.4%로써 아주 좋은 절대 회수율을 나타내지는 않았다. 이는 네오마이신이 친수성이 큰 물질로써 유기용매로의 추출이 용이하지 않기 때문으로 사료되며, 비록 절대 회수율이 낮더라도 정량범위가 식품공전에서 규제하고 있는 농도 수준까지는 충분히 측정이 가능하며, 측정의 정밀도와 정확도도 양호하므로 이는 네오마이신 측정에 크게 영향을 미치지 않을 것이다.

4. 결 론

벌꿀 중에 잔류하는 네오마이신을 액체 크로마토그래피/질량분석/질량분석법(LC/MS)을 사용하여 효과적으로 분석할 수 있는 방법을 확립하였다. 확립된 방법에는 벌꿀 중에서 고체상 추출방법으로써 양이온 교환(MCX) 카트리지를 사용하여 네오마이신을 선택적으로 추출/정제할 수 있는 방법과 NFPA 이온쌍 시약을 사용하여 역상(reverse phase) 액체 크로마토그래피(RPLC) 시스템으로 효과적으로 머무름을 갖게 하여 다른 매트릭스로 분리하는 방법 및 MS/MS의 특성이온등이 포함되어 있다. 확립된 방법은 5.0-250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 농도범위에서 검정곡선이 직선성($r^2 = 0.9951$)을 나타냄으로써 실제 벌꿀 중에서 효과적으로 분석할 수 있는 방법이였다.

확립된 분석방법을 통해서 벌꿀 중에서 미량으로 잔류하는 네오마이신을 규제농도인 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이하까지 측정함으로써 안전한 벌꿀 생산과 유통에 기여할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청의 연구용역과제인 “벌꿀 중 항생제 분석법 개발 및 모니터링” 사업의 지원으로 이루어진 것이며, 경기대학교 특성화사업단의 기재를 사용하였음.

참고문헌

1. 식품공전, [별표 7] 식품 중 동물용의약품의 잔류허

- 용기준, 식품의약품안전청, 2008.
2. S. A. Waksman, E. Katz and H. Lechevalier, *J. Lab. Clin. Med.*, **36**, 93-99(1950).
 3. B. A. Waisbren and W. W. Spink, *Ann. Int. Med.*, **33**, 1099-1119(1950).
 4. A. A. Nelson, J. L. Radomski and E. C. Hagen, *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, **10**, 366-367(1951).
 5. M. H. M. Sharaf, A. L. Sanchez, P. A. White and R. G. Manning, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **25**(6), 927-935(2002).
 6. M. Margosis and K. Tsuji, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 1836-1838(1973).
 7. L. L. Yuan, H. P. Wei, H. T. Feng and S. F. Y. Li, *Anal. Bioanal. Chem.*, **385**, 1575-1579(2006).
 8. P. Srisom, B. Liawruangrath, S. Liawruangrath, J. M. Slater and S. Wangkarn, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **43**, 1013-1018(2007).
 9. B. Shaikh, E. H. Allen and J. C. Gridley, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **68**, 29-36(1985).
 10. B. Shaikh, J. Jackson, G. Guyer and W. R. Ravis, *J. Chromatogr.*, **571**, 189-198(1991).
 11. K. Tsuji and K. M. Jenkins, *J. Chromatogr.*, **369**, 105-115(1986).
 12. D. A. Stead and R. M. E. Richards, *J. Chromatogr. B*, **693**, 415-421(1997).
 13. E. Adams, R. Schepers and E. Roets, J. Hoogmartens, *J. Chromatogr. A*, **741**, 233-240(1996).
 14. I. Clarot, A. Regazzeti, N. Auzeil, F. Laadani, M. Citton, P. Netter and A. Nicolas, *J. Chromatogr. A*, **1087**, 236-244(2005).
 15. N. H. Zawilla, J. Diana, J. Hoogmartens and E. Adams, *J. Chromatogr. B*, **833**, 191-198(2006).
 16. V. P. Hanco and J. S. Rohrer, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **43**, 131-141(2007).
 17. N. C. Megoulas and M. A. Koupparis, *J. Chromatogr. A*, **1057**, 125-131(2004).
 18. D. N. Heller, S. B. Clark and H. F. Righter, *J. Mass Spectrom.*, **35**, 39-49(2000).
 19. D. G. Mascher, C. P. Unger and H. J. Mascher, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **43**, 691-700(2007).
 20. R. Oertel, U. Renner and W. Kirch, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **35**, 633-638(2004).
 21. A. Posyniak, J. Zmudzki and J. Niedzielska, *J. Chromatogr. A*, **914**, 59-66(2001).
 22. M. Pendela, E. Adams and J. Hoogmartens, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36**, 751-757(2004).
 23. C. Horváth, W. Melander, I. Molnár and P. Molnár, *Anal. Chem.*, **49**, 2295-2305(1977).
 24. C. Horváth, W. Melander and I. Molnár, *J. Chromatogr.*, **125**, 129-156(1976).
 25. J. C. Kraak, K. M. Jonker and J. F. K. Huber, *J. Chromatogr.*, **142**, 671-688(1977).
 26. N. E. Hoffman and J. C. Liao, *Anal. Chem.*, **49**, 2231-2234(1977).
 27. P. T. Kissinger, *Anal. Chem.*, **49**, 883(1977).
 28. J. L. M. Van de Venne, J. L. H. M. Hendriks and R. S. Deedler, *J. Chromatogr.*, **167**, 1-16(1978).
 29. Joint FAO/WHO food standards programme, Codex Alimentarius Commission, *Report of the 17th session of the codex committee on residues on veterinary drugs in foods* (2007).
 30. WADA Technical Document-TD2003IDCR, WADA, 2003.