

## MSPD 方法에 의한 豚肉中 Carbadox와 Olaquinox 分析法 研究

황래홍·김영수·김기근  
서울특별시보건환경연구원 축산물부

### **A study on determination of carbadox and olaquinox in swine tissues by matrix solid phase disperse method**

Lae-Hwong Hwang, Young-Soo Kim, Ki-Keun Kim  
Seoul Metropolitan Government Institute of Health and Environment  
Division of Experiment

#### Abstract

This study was carried out to determination of carbadox and olaquinox residues in swine tissues by MSPD(matrix solid phase disperse)method.

The results obtained were as follows;

1. Optimal wavelengths of UV for carbadox and olaquinox were 310 and 370nm, respectively.
2. Ethyl acetate-Acetonitrile(8:2) was found to be adequate as extractant in this method.
3. The average overall recovery of carbadox at the 0.01, 0.05, and 1.0 $\mu$ M spike levels was 89.2% and that of olaquinox was 89.9%, and the detection limits were 0.5ng for carbadox and olaquinox.

---

Key Word : Carbadox, Olaquinox, Matrix solid phase disperse(MSPD)

## 緒 論

카바독스와 올라퀸독스는 돼지의腸管疾患治療와豫防 및成長促進을 위한飼料添加劑로 사용되고 있는抗菌劑로서 이들중 카바독스는發癌性化合物로規定되어 있다.<sup>1~8)</sup>

이에 FDA에서는 카바독스가添加된飼料를給與한 돼지의屠畜前休藥期間을 10週로 정하고 있으며美聯邦施行法規에는料理되지 않은可食部の豚肉에 대해 카바독스는檢出되어서는 아니된다고規定하고<sup>1~2)</sup> 있는 등嚴格한管理가行해지고 있으며國內에서도역시豚肉에 대해 카바독스는檢出되어서는 아니된다고規定하고 있다.<sup>9)</sup>

한편 올라퀸독스는食肉에殘留시公衆保健學的側面에서바람직하지 않는 것으로<sup>7)</sup>報告되고 있으나 그有害性與否에 관한報告는發見하지 못하였으며國內에서는牛肉과豚肉에 대해 그許容基準을 0.05ppm으로規定하고 있다.<sup>9)</sup> 따라서 이들藥劑를分析하는데는敏感한方法이適用되어야 할 것으로思料된다.

現在까지 이들에 관한分析은仔豚에 대한比較藥理學과毒性學研究過程에서 TLC,<sup>6)</sup> GC,<sup>4)</sup> SP,<sup>5~6)</sup> LC<sup>1,5,6)</sup>등을利用하여 feed에 대해 주로 이루어져 왔으며<sup>6)</sup>筋肉에 대한分析報告는 많지 않은實情이다.

現在國內에서는 HPLC를利用하여豚肉에서 카바독스와 올라퀸독스를分析하는方法이告示되어 있으나<sup>9)</sup> 이러한分析方法은 그前處理가古典的인 것으로서 많은有機溶媒의消耗와分析時間이要求되며 그에 따른回收率의低下를 가져올 수 있는데 이는 카바독스와 올라퀸독스가自然 또는人爲的인 빛에 매우 약한特性을 지니고 있기 때문으로,<sup>1~7)</sup> 빛의影響을最少化하고微量을檢出할 수 있는迅速하고敏感한分析方

法이要求되는 것이다.

이에本試驗에서는最近有害物質分析시 많이利用되고 있는 MSPD(matrix solid phase disperse)前處理方法을利用하여豚肉中の 카바독스와 올라퀸독스의 보다迅速하고特異的이며敏感한分析方法을研究하여食肉中有害殘留物質分析法發展에寄與코져 한다.

## 材料 및 方法

카바독스와 올라퀸독스는 빛에 매우 약하기 때문에 모든試驗過程은 가능한 빛에露出되지 않도록 하였다.

### 1. 試藥 및 裝備

#### a) 試 藥

Acetonitrile, Methanol, n-Hexane, Ethyl acetate, Dichloromethane는 HPLC grade를使用하였으며 N, N-Dimethylformamide와 Carbadox 標準品은 Sigma 製品을使用하였고 Olaquinox 標準品은國立保健院에서分讓받은 것을試驗에使用하였다.

C<sub>18</sub>(40 $\mu$ m prep LC packing : J T Baker)는試驗에使用하기前에必要的量을 취하여 그量의 2배에 해당하는 n-Hexane, Ethyl acetate, Methanol로 차례로洗滌後乾燥하였다.

#### b) 裝 備

##### 1) HPLC

- Pump : 600E multisolvent delivery system
- Injector : Waters U6K
- Detector : Waters 996 Photodiode Array Detector
- Column :  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>, 10 $\mu$ m 3.9 $\times$ 300mm(Waters)

◦ Data system : millennium 2010

2) Rotary evaporator(heidolph vv2001)

## 2. 試料 및 標準溶液 調製

1) 試料 : 豚肉試料를 서울시 관내 畜協 共販場에서 購入하였으며 豫備試驗을 거쳐 카바독스와 올라퀸독스가 殘留하지 않은 것으로 確認된 試料를  $-20^{\circ}\text{C}$ 의 冷凍庫에 保管하여 試驗에 使用하였다.

2) 標準溶液 調製

a) Stock sol

① Carbadox-標準品 10mg을 正確히 달아 100ml 메스플라스크에 취하고 DMF 약 10ml를 加하여 녹인후 메탄올로 채워 100ml가 되게 하였다.(100ppm)

② Olaquinox-標準品 10mg을 正確히 달아 100ml 메스플라스크에 취하고 D.W 약 10ml를 加하여 녹인후 메탄올로 채워 100ml가 되게 하였다.(100ppm)

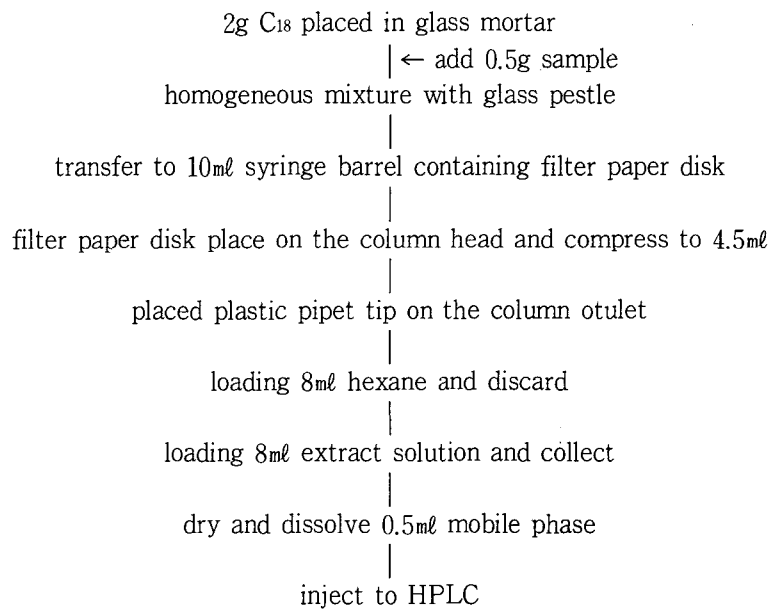
b) Working sol : stock sol ①②를 각각 취하여 메탄올로 10, 100 및 1,000배로 稀釋하여 使用하였다.(0.1, 1.0, 10ppm)

c) LC sol : 0.1ppm 濃度の Carbadox와 Olaquinox working sol 50ul와 1ppm 濃度の working sol 25ul 및 10ppm 濃度の working sol 50ul씩을 100ml의 이동상용매에 溶解하였다.(Carbadox와 Olaquinox 각각 0.001, 0.05 1ppm)

## 3. 試驗方法

試料 0.5g에 0.1, 1.0 및 10ppm 濃度の 카바독스와 올라퀸독스 workig sol를 각각 50, 25, 50ul씩 添加하여(시료로서 0.01, 0.05 및 1ppm) MSPD(matrix solid phase disperse) 方法에 따라 前處理(그림. 1)한 後 이들과 LC sol을 각각 50ul씩 HPLC에 注入하여 回收率 및 特異性を 測定하였다.

抽出溶媒로는 Dichloromethane, Ethyl acet-



**Fig 1.** Analysis process of MSPD method

ate 및 Ethyl acetate-Acetonitrile(8:2)를 사용하여 比較 選定하였으며, 分析時 Photodiode Array Detector의 波長은 200nm에서 500nm사이에서 1.2nm間隔으로 測定하여 적정과장을 선정 하였으며, 이동상용매는 카바독스의 分析時 18% 아세토니트릴을 분당 1ml유속으로 사용하였고 올라퀸독스 分析時는 15% 메탄올을 사용하였다.

## 結果 및 考察

카바독스와 올라퀸독스 LC sol를 Photodiode Array Detector로 測定한 結果 이들의 最大 吸收 波長은 각각 305와 260nm이었으며 그 스펙트럼은 다음과 같았다.(그림. 2)

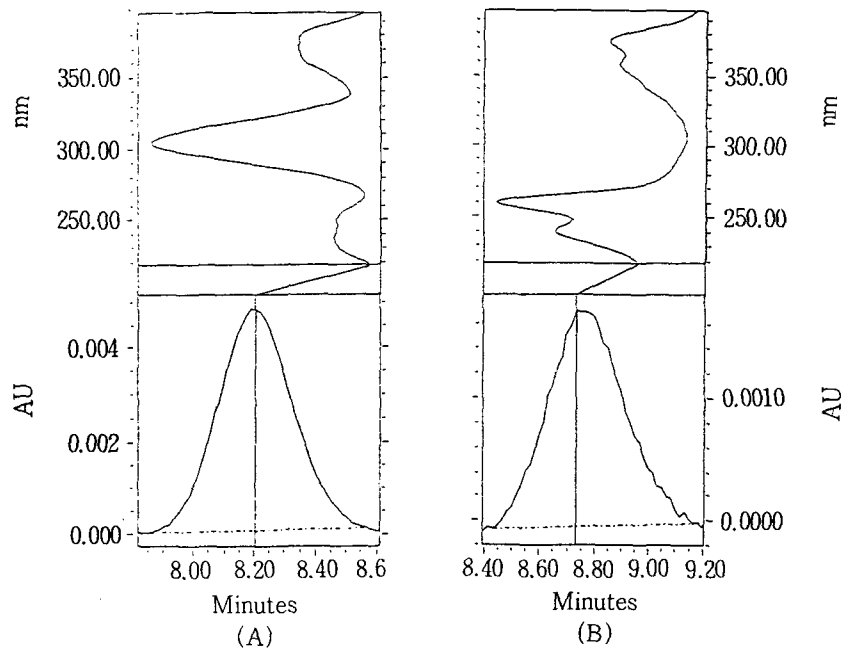
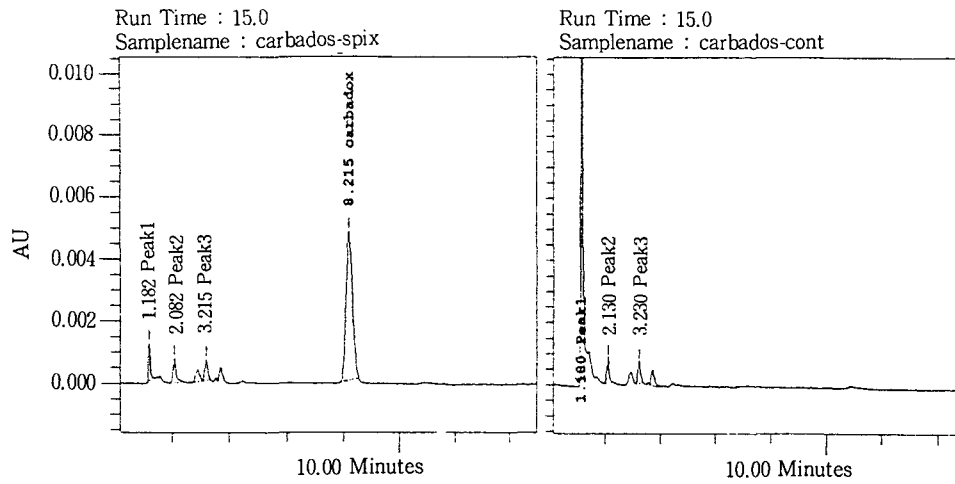


Fig. 2 UV spectra of carbadox(A) and olaquinox(B)

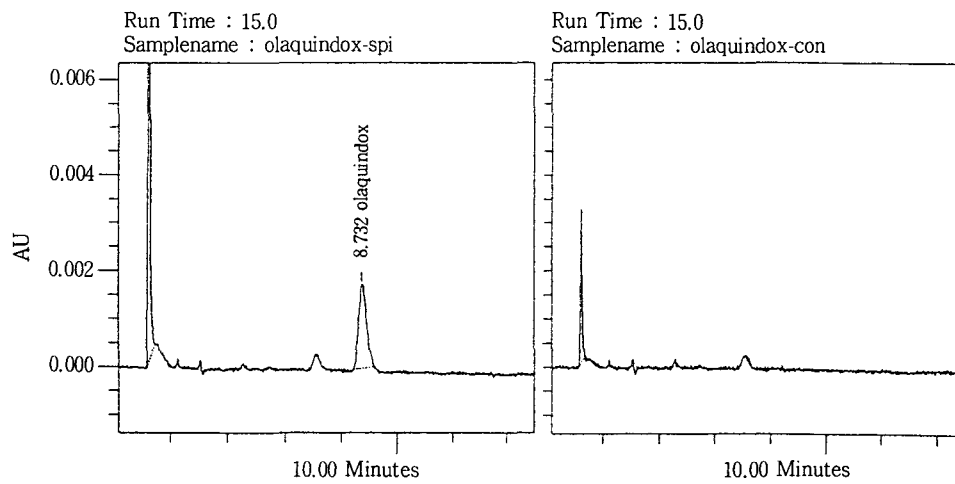
適正波長의 選定에 있어서 重要的 것은 어떤 特定波長에서 分離하고자 하는 藥劑의 特異性으로서 비록 最大의 吸收波長이 아니라 해도 適正 感度を 維持할 수 있는 範圍內에서 特異的인 波長을 選定하여야 하는데<sup>10)</sup> 本試驗에서는 카바독스와 올라퀸독스를 前處理하여 分析한 結果 카바독스는 最大 吸收波長에서 100% 特異性을 보였으나 올라퀸독스는 最大 吸收波長에서 많은 妨害 피크가 出現하여 100% 特異的이지 못한 것으로 나타났다.

이에 올라퀸독스의 스펙트럼에서 2次로 높은 吸收를 보이는 370nm를 波長으로 하여 測定한 結果 100%의 特異性을 나타내었다. 이러한 결과는 Tomoke와 Masanoub<sup>7)</sup>등 여러 研究結果와 一致하는 것으로 前述한 바와 같이 波長 選定時 感도와 特異性을 適切히 活用해야 한다는 것을 確認할 수 있게 하는 것이었다.

이에 本 試驗에서는 카바독스는 310nm를 그리고 올라퀸독스는 370nm를 分析 波長으로 사용하였다.(그림. 3)



(A)



(B)

**Fig. 3** Chromatogram of fortified and control tissue  
 (A : carbadox(20ng), detection at 310nm)  
 (B : olaquinox(20ng), detection at 370nm)

한편 MSPD 方法의 前處理에서 使用되는 抽出 溶媒를 選定하기 위하여 먼저 디크로로메탄과 초 산에틸을 使用하여 豫備實驗을 한 結果 디크로로 메탄으로 抽出시 카바독스와 올라퀸독스 모두에 서 回收率이 10% 以下로 거의 抽出이 되지 않는

것으로 나타났으며, 초산에틸로 抽出시는 카바독 스에서 全體平均 80% 以上の 回收率을 보였으나 올라퀸독스에 있어서는 40% 以下の 낮은 回收率 과 높은 변이계수로 信賴度에 問題가 있는 것으 로 調査되었다.(표 1)

**Table 1.** Recovery of carbadox and olaquinox extracted with ethyl acetate from swine tissues

Added, ppm	Carbadox		Olaquinox	
	Rec, ppm	Rec, %	Rec, ppm	Rec, %
0.05	0.04727	94.5	0.01771	35.4
	0.04787	95.7	0.02011	40.2
	0.04759	95.2	0.01929	38.6
	0.04928	98.6	0.01686	33.7
	0.04854	97.1	0.01697	33.9
	0.04793	95.9	0.02242	44.8
	0.04239	84.8	0.01841	36.8
	0.04401	88.0	0.01785	35.7
	0.04307	86.1	0.02021	40.4
Av., %		92.9		37.7
SD, %		5.132		3.628
CV, %		5.525		9.618
1.0	0.824	82.4	0.398	39.8
	0.821	82.1	0.389	38.9
	0.821	82.1	0.383	38.3
	0.771	77.1	0.352	35.2
	0.782	78.2	0.355	35.5
	0.767	76.7	0.351	35.1
	0.798	79.8	0.398	39.8
	0.804	80.4	0.395	39.5
	0.796	79.6	0.397	39.7
Av., %		79.8		38.0
SD, %		2.156		2.092
CV, %		2.701		5.509

이에 본 시험에서는 초산에틸을 1차로 選定하고 이를 아세토니트릴과 8:2로 混合하여 抽出溶媒의 극성을 增加시켜 보았는데 그 結果 카바독스는 豚肉試料에 0.01, 0.05, 1.0ppm 添加시 각각 96.6, 91.1, 80.0%로 全體平均 89.2%, 올라퀸독

스는 각각 92.6, 93.4, 83.3%로 全體平均 89.9%의 높은 回收率을 나타내었으며 변이계수에 있어서도 대체로 適切한 것으로 調査되었다.(표 2)

한편 이들 藥劑들의 回收率이 添加된 藥劑의 濃度가 높아 질수록 떨어지는 傾向이 있는데 이

**Table 2.** Recovery of carbadox and olaquinox extracted with ethyl acetate- acetonitrile(8:2) foam swine tissues

Added, ppm	Carbadox		Olaquinox	
	Rec, ppm	Rec, %	Rec, ppm	Rec, %
0.01	0.00942	94.2	0.00933	93.3
	0.00946	94.6	0.00922	92.2
	0.00964	96.4	0.00893	89.3
	0.00983	98.3	0.00891	89.1
	0.00960	96.0	0.00892	89.2
	0.00983	98.3	0.00934	93.4
	0.00962	96.2	0.01001	100.1
	0.00977	97.7	0.00962	96.2
	0.00979	97.9	0.00906	90.6
Av, %		96.6		92.6
SD, %		1.541		3.695
CV, %		1.595		3.990
0.05	0.04755	95.1	0.04740	94.8
	0.04275	85.5	0.04630	92.6
	0.04635	92.7	0.04780	95.6
	0.04470	89.4	0.04640	92.8
	0.04515	90.3	0.04575	91.5
	0.04735	94.7	0.04695	93.9
	0.04670	93.4	0.04735	94.7
	0.04470	89.4	0.04725	94.5
	0.04460	89.2	0.04515	90.3
Av, %		91.1		93.4
SD, %		3.126		1.738
CV, %		3.433		1.861
1.0	0.771	77.1	0.809	80.9
	0.771	77.1	0.827	82.7
	0.768	76.8	0.826	82.6
	0.834	83.4	0.841	84.1
	0.823	82.3	0.845	84.5
	0.824	82.4	0.842	84.2
	0.807	80.7	0.840	84.0
	0.800	80.0	0.835	83.5
	0.804	80.4	0.833	83.3
Av, %		80.0		83.3
SD, %		2.508		1.120
CV, %		3.134		1.344

는 前處理시에 外部의 빛에 露出되는 量이 많아 지기 때문인 것으로 思料된다. 이러한 結果는 Agenes, et al<sup>1)</sup>과 Neville, et al<sup>7)</sup>의 試驗結果와 比較해 볼때 대체로 優秀한 것으로서 이는 試料의 前處理에 가장 큰 原因이 있을 것으로 推측되는데 이들의 前處理는 試料의 抽出과 濃縮 및 pH의 矯正 등의 過程을 거치는 典型的인 方法으로서 本試驗의 MSPD(matrix solid phase disperse)方法에 비해 많은 時間과 段階가 要求되며 그에 따른 分析過程에서의 損失과 빛에 露出되는 時間이 길어지게 된다. 따라서 이러한 것들이 回收率에 影響을 미친 것으로 思料된다.

실제 Agenes et al<sup>1)</sup>이 試驗한 結果에 의하면 후드內에서 前處理 동안(2時間 以內) 60와트의 螢光燈과의 거리에 따라 Desoxycarbadox의 回收率에 매우 差異를 보여 위의 사실을 뒷받침하여 주었다.

本 試驗은 카바독스와 올라퀸독스를 MSPD 前處理 方法을 利用하여 分析하고자 한 것으로서 이 두가지 藥劑를 同時에 前處理하여 溶媒 消耗을 줄이고 分析 時間을 短縮할 수 있었으며 또한

分析感度 및 特異性에서도 優秀한 것으로 調查되었다.

한편 이들 藥劑들은 體內에서 여러 化合物質로 代謝가 이루어지기 때문에<sup>6,8)</sup> 차후 이러한 代謝物質에 대한 分析研究도 함께 이루어져야 할 것으로 思料된다.

## 結 論

MSPD(matrix solid phase disperse) 方法을 利用하여 豚肉中 殘留 카바독스 및 올라퀸독스를 分析하기 위한 試驗 結果는 다음과 같았다.

1. 카바독스와 올라퀸독스의 分析 波長으로는 각각 310nm와 370nm가 가장 適合하였다.
2. 抽出溶媒로는 초산에틸과 아세토니트릴을 8:2로 混合한 溶媒가 適合하였다.
3. 本 實驗에 의한 回收率은 카바독스가 0.01, 0.05 및 1.0ppm 添加시 全體平均 89.2%, 올라퀸독스는 89.8%로 調查되었으며 이들의 檢出限界는 0.5ng이었다.



## 参 考 文 献

1. Agnes I, et al. 1984. Liquid chromatographic determination of Carbadox, Desoxycarbadox, and Nitrofurazones in pork tissues. *J Assoc Off Anal Chem.* 67:958~962.
2. Jose E, et al. 1985. Liquid chromatographic determination of Carbadox residues in animal feed. *J Assoc Off Anal Chem.* 68:653~657.
3. Agnes I, et al. 1985. Liquid chromatographic monitoring of the depletion of Carbadox and its metabolite Desoxycarbadox in Swine tissues. *J Assoc Off Anal Chem.* 68:665~671.
4. Gerrit J, et al. 1985. Liquid chromatographic determination of Carbadox and Desoxycarbadox in medicated feeds and in porcine gastrointestinal tract. *J Assoc Off Anal Chem.* 68:658~660.
5. Dwight M, et al. 1983. High pressure liquid chromatographic determination of Carbadox and Pyrantel Tartrate in swine feed and supplements. *J Assoc Off Anal Chem.* 66:602~605.
6. Theo J, et al. 1988. Liquid chromatographic determination of Olaquinox in medicated feeds and in contents of porcine gastrointestinal tract. *J Assoc Off Anal Chem.* 71:1106~1109.
7. Tomoko N, Masanobu S. 1987. Determination of Olaquinox in swine tissues by liquid chromatography. *J Assoc Off Anal Chem.* 70:706~707.
8. Martin JL, Bartolucci SR. 1982. Confirmatory identification of Carbadox-related residues in swine liver by gas-liquid chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring. *J Assoc Off Anal Chem.* 65:66~70.
9. 한국식품공업협회. 1995. 식품공전. 한일인쇄.
10. 황래홍. 1995. HPLC를 이용한 축산식품중 잔류 설폰아미드제의 동시분석법 연구. 서울대 보건대학원 석사학위논문.