

총설

시료 중 잔류 항생제 분석 방법:
IV. EPA method 1694와 비교 가능한 기기 분석 방법

김찬식 · 류홍덕 · 정유진[†] · 김용석 · 류덕희

국립환경과학원 물환경연구부 유역총량연구과

Determination of Veterinary Antibiotic Residues:
IV. Comparable Analytical Methods with EPA Methods 1694_A Review

Chansik Kim · Hong-Duck Ryu · Eu Gene Chung[†] · Yongseok Kim · Doug Hee Rhew

Watershed and Total Load Management Research Division, Water Environment Research Department,
National Institute of Environmental Research

(Received 23 August 2016, Revised 17 November 2016, Accepted 21 November 2016)

Abstract

In this study, 16 antibiotics were selected from among the top 30 veterinary antibiotics sold in South Korea in 2014, as well as from among the pharmaceuticals targeted by EPA method 1694, in order to review analytical methods for the detection of trace levels of antibiotics in environmental samples: surface water, soils, animal origin foods, and manures. LC-MS/MS was heavily used. In the chromatography for the detection of the selected antibiotics, the C₁₈ column was mostly used at the temperature of 30~40°C. Water and methanol/acetonitrile were commonly chosen as a nonpolar and a polar mobile phase, respectively. Gradient elution was applied to separate multiclass antibiotics. Volatile additives, such as formic acid, acetic acid, and ammonium acetate were mixed with the mobile phase to improve the ionization efficiency of analytes and the sensitivity in MS detection. Electrospray ionization (ESI) was widely used in the LC-MS/MS and positive ionization was preferred to determine the selected antibiotics. A protonated [M+H]⁺ molecule was selected as a precursor ion, and its two transitions were analyzed, one for quantitative measurement and the other for confirmation. This study reviewed linearity of the calibration curve, recovery, repeatability, method detection limits (MDLs), and method quantification limits (MQLs) for each target compound used to validate the developed analytical methods.

Key words : Analytical methods, EPA method 1694, HPLC-MS/MS, Veterinary antibiotics

1. Introduction

다양한 의약품 및 개인위생용품(Pharmaceuticals and personal care products, PPCPs) 사용 등 의학의 발달로 인한 인간수명의 연장 및 이로 인한 세계 인구의 증가(Fig. 1)는 또 하나의 환경 문제의 원인이 되고 있다. 특히 PPCPs를 대표하는 의약품질은 인간과 동물의 질병 치료와 예방을 목적으로 사용되는데 섭취한 그대로 또는 일부 변형된 대사산물(metabolite)의 형태로 배출되어 지표수 등 환경에서 µg/L 수준으로 검출되고 있다 (Seifrtova et al., 2009).

환경 시료 중에 존재하는 미량 농도의 잔류항생제의 분석은 액체크로마토그래피(liquid chromatography, LC)를 이용한 물질 분리와 UV, 형광도 또는 질량분석기(mass spectrometry)를

이용한 검출 기법을 사용한다. 과거에는 분석대상 항생제가 갖는 고유의 특성에 따라 photodiode array(PDA) 검출기나 형광검출기(fluorescence detector: FLD)를 이용하였으나 다 계열의 항생제를 동시에 분석하려는 시도들이 늘어남에 따라 최근

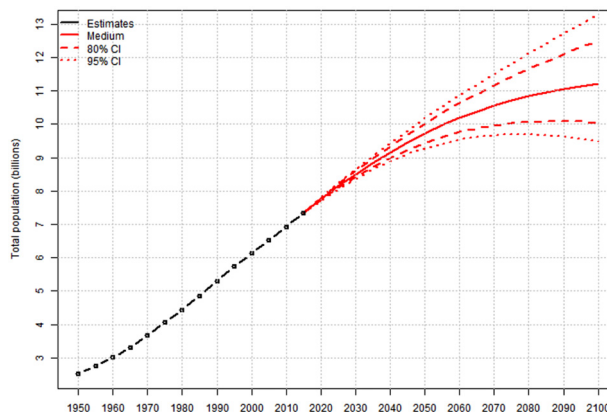


Fig 1. Projection of population of the world (1950-2015: estimates; 2015-2100: medium-variant projection and 80 and 85 percent confidence intervals) (United Nations (2015)).

[†] To whom correspondence should be addressed.
egchung@korea.kr

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.

의 연구들은 MS/MS를 이용한 항생제 검출 방법이 주로 사용되고 있다(Boscher et al., 2010; Gorissen et al., 2015; Gros et al., 2013; Hou et al., 2015; Tao et al., 2012).

다양한 종류의 PPCPs 중 항생제는 인간의 보건에 심각한 문제를 야기할 수 있기 때문에 많은 관심과 함께 다양한 연구가 진행되고 있다. 항생제는 인간의 질병치료 뿐 아니라 축산업의 생산성을 높이기 위한 목적으로 널리 사용되어 왔으며 항생제 오·남용으로 인한 항생제 내성 박테리아의 문제는 1990년대부터 보고되기 시작하였다(Bonnet, 2004; Hur et al., 2012; Neu, 1992; Pfeifer et al., 2010). 항생제는 다양한 경로로 환경에 유입되는데 인간의 활동에 의해 유입되는 항생제는 대부분의 경우 하수처리장을 거치고 있으나 일부 항생제들은 제거 효율이 낮고(Behera et al., 2011) 항생제 수거 및 처리 등에 관한 적절한 규제가 없어 방류수를 통해 지표수, 즉 환경으로 유입된다. 가축용 항생제의 경우 주로 배설물을 통해 배출되는데 일부 대규모의 사육시설을 제외한 중소규모의 농가들은 적절한 축산 분뇨처리 시설 없이 퇴비화를 통해 배설물을 처리해 오고 있다. 그러나 모넨신(monensin), 설파메타진(sulfamethazine), 록시트로마이신(roxithromycin), 티아몰린(tiamulin) 등과 같은 물질들은 퇴비화 과정에서 제거되기 어려운 것으로 보고되고 있고(Dolliver et al., 2008; Schlusener et al., 2006) 퇴비의 형태로 자연 중에 살포되는 것으로 나타났다. 비료를 통해 환경으로 유입된 항생제는 토양에 흡착되거나 빗물과 함께 주변 유역, 지하수로 흘러들어 오염을 야기하며 잠재적으로는 항생제 저항 유전자를 생성하는 원인 물질로 작용할 수 있다(Martinez-Carballo et al., 2007; McArdell et al., 2003; Tolls, 2001). 테트라사이클린계열(tetracyclines)의 항생제는 양이온들과 결합하여 착물을 형성하는 특성을 가지고 있어 토양에 높은 농도로 흡착되는 것으로 알려져 있고(Avisar et al., 2010; Kim et al., 2012), 베타-락탐계열(β -lactams)이나 설피나이드계열의 항생제는 비교적 물에 잘 녹는 특성으로 인해 빗물과 함께 수환경으로 쉽게 확산되는 특징을 나타낸다(Avisar et al., 2010; Kim et al., 2012; Li et al., 2010). 특히, 우리나라의 가축용 항생제 판매량은 사료 혼합 금지와 처방전 사용을 필수화 하는 등의 규제에 의해 점차 감소하는 경향을 보이고 있으나, 여전히 세계적으로 큰 가축용 항생제 시장을 보유하고 있는 국가 중 하나이다(Lim et al., 2014). 특히 항생제의 사용량과 내성 박테리아 사이에 확실한 양적 상관관계는 다수의 연구를 통해 밝혀진 바 있어(Bronzwear et al., 2002; Goossens et al., 2005) 우리나라 환경의 항생제 오염에 대한 실태 파악과 대안 마련을 위한 연구가 필요한 상황이다.

항생제 및 의약품으로 인해 발생하는 이처럼 다양하고 복잡한 환경오염 실태와 인간 영향에 대한 모니터링을 위해, 1999년부터 2000년까지 미국 지질조사소(U. S. Geological Survey, USGS)는 30개 주, 139개 하천수를 채취하고 95종의 의약품, 호르몬 등의 잔류 실태를 조사하면서 의약품의 관리와 규제의 필요성을 주장하였고 수환경에서의 거동과 인간 건강에 미치는 영향을 이해하기 위해 대사물질의 모니터링이

중요하다고 하였다(Kolpin et al., 2002). 이를 토대로 2007년에는 미국의 수질오염방지법(Clean Water Act)에 사용할 목적으로 HPLC-MS/MS 기술을 통해 PPCPs를 분석할 수 있는 EPA method 1694 (U. S. EPA, 2007)를 발표하여 PPCPs 관리 체계를 구축해 오고 있다. 2013년, 미국 질병통제예방센터(United States Centers for Disease Control and Prevention, U. S. CDC)에서는 항생물질 내성(antibiotic resistance)의 위험성과 심각성을 설명하고 즉각적인 조치들의 필요성을 알리기 위한 목적으로 보고서를 발간하였으며 베타-락탐계, 설피나이드계, 플로로퀴놀론계 항생제에 대한 내성이 매우 흔하게 관찰된다고 보고하고 있다(CDC, 2013). 특히 항생제 내성균 모니터링을 위해 NARMS(National Antimicrobial Resistance Monitoring System)을 마련하고 인간과 동물, 식품을 구분하여 항생제 내성균에 대한 모니터링을 수행해 오고 있다. NARMS는 항생제 내성 박테리아를 추적하는 보건 감시 시스템으로 US CDC, 미국 식품의약국(United States Food and Drug Administration, US FDA), 미국 농무부(United States Department of Agriculture, USDA)와 각 주의 위생국이 참여하는 관계부처 협력 사업이다(CDC, 2015). 인간에게 감염을 일으키는 항생제 내성 장내세균에 대한 감시 시스템은 1996년 14개 지점으로부터 시작되었고 2003년부터는 미국 전역을 대상으로 모니터링을 수행해 오고 있다(CDC, 2015). FDA에서는 인간이 노출될 수 있는 직접적인 경로 역할을 하는 시장에 판매되는 육류를 대상으로 박테리아의 저항성에 관한 정보를 제공한다(FDA, 2015). USDA는 CDC와 FDA의 모니터링 결과 및 자체 조사를 통해 음식을 매개로 하는 병원균과 박테리아를 조사하고 항생제 내성균의 발생 및 전파 특성이나 패턴 등을 연구한다(USDA, 2016). 각 기관들은 1년에 1회 이상, 주기적으로 보고서를 발간하며 홈페이지를 통해 공개하고 있는 것으로 조사되었다(CDC, 2015; FDA, 2015; USDA, 2016).

우리나라는 국립환경과학원을 중심으로 2006년부터 환경 중 의약품 분석방법 및 실태조사, 환경 위해성 평가, 배출원 및 거동 연구, 대사 및 분해조사, 항생제의 내성률 등을 조사하고 이를 관리하기 위한 연구를 지속적으로 수행해 오고 있고 있으며 2003년부터 농림수산검역검사본부에서 ‘축산용 항생제 관리 시스템 구축 사업’을, 2008년부터는 농림수산식품부가 주관하여 ‘축산 항생제 내성균 감시체계 구축’ 사업을 실시하였다. 이러한 다양한 연구 결과를 토대로, 환경부에서는 가축 사육 과정에서 발생하는 잔류 항생물질에 의한 환경오염과 피해의 심각성을 인식하고 「가축분뇨의 관리 및 이용에 관한 법률」과 「가축분뇨실태조사의 세부 절차 및 방법 등에 관한 고시」를 제정·발표하였다(Korea Ministry of Government Legislation, 2015).

이러한 노력에도 불구하고 잔류항생물질을 분석하기 위한 국내 표준시험방법이 정립되어 있지 않고, 국립환경과학원에서 발표한 연구 보고서에서는 분석방법을 개발하여 보고한 문헌들을 기본으로 하여 개량, 수정한 분석방법을 적용하고 있으나 의약품질을 계열에 따라 5 개의 그룹으로 구별하여 전처리 및 분석조건을 다르게 적용하고 있어 인력과 시간의 소모가 큰 문제를 가지고 있다.

정확하고 효율적인 실태조사와 오염 관리를 위해서는 분석 인력 및 시간을 최소화할 수 있는 검증된 분석방법의 개발과 적용을 통한 신뢰성 있는 데이터의 확보가 매우 중요하다. 본 연구에서는 선정된 37종의 동물용 항생제 중 U. S. EPA method 1694(U. S. EPA, 2007) 대상 16종의 항생제를 중심으로 1) LC-MS를 사용한 분석방법 및 조건을 조사하고 2) 방법의 유효성을 평가하여 EPA 분석법의 검출성능과 비교하였다. 이를 토대로 향후 표준화된 항생제 분석 방법 수립을 위한 기틀을 마련하고자 하였다.

2. Material and Methods

본 연구에서는 LC-MS를 활용하여 동물용 항생제를 분석한 문헌을 조사하고 기기분석 방법 및 항생제 계열별 분석 특성을 평가하고자 하였다. 한 계열 이상의 항생제들을 분석한 문헌을 조사 대상으로 하였고 의약품질의 분석방법을 제시한 미국 EPA method 1694가 발표된 2007년 이후에 보고된 문헌들을 위주로 검토하였다.

2.1. 대상물질의 선정

선행 연구에서 동물용 항생제 분석방법을 검토하기 위한 목적으로 선정된 동물용 항생제 37종 중 미국 EPA method 1694 대상 16종을 선정하였다(Table 1). 베타-락탐계와 플로로퀴놀론계 각 2종, 린코사미드계(lincosamides)와 매크로라이드계(macrolides) 각 1종, 설펜아미이드계 6종, 테트라사이클린계 3종과 트라이메소프림(trimethoprim)이 포함되며 EPA method 1694에서 제시한 분석방법과 성능을 검토하였다.

2.2. 기기분석 (analytical methods)

EPA method 1694는 액체, 고체 시료중의 잔류 항생제 농도를 분석하는데 HPLC-MS/MS를 사용하였고 HPLC와 MS/MS 각각에 대한 분석조건을 제시하고 있다(U. S. EPA, 2007). 따라서 본 연구에서는 LC와 MS를 사용하여 항생제를 분석한 문헌들로부터 분석방법을 조사하였다. LC 분석조건으로 컬럼의 종류와 온도, 이동상의 종류와 유량 등을 조사하였고 공통적으로 나타나는 특성을 확인해 보고자 하였다. 질량분석기 조건으로는 대상 항생물질에 따른 이온화 방식, 전구이온(precursor ion)과 전이체(transitions)의 질량 대 전하 비(mass to charge ratio, m/z), 전구이온을 분해하기 위해 가하는 충돌에너지(collision energy)량을 조사하였다.

2.3. 분석방법의 검증 (method validation)

일반적으로 개발된 분석방법의 검증을 위해 검정곡선의 선형 구간(linear range)과 상관계수(correlation coefficient), 회수율(recovery), 시험방법의 검출한계와 정량한계 등을 검토하는 것으로 알려져 있다(NIER, 2011). 분석 대상 시료의 매질을 고려하여 계산된 검출 한계와 정량 한계를 각각 방법검출한계(method detection limit, MDL), 방법정량한계(method quantification limit, MQL)로 나타낸다. 시료의 매질을 고려하지 않은 기기 자체의 검출한계와 정량한계를 기기검출한계(instrument detection limit, IDL), 기기정량한계(instrument quantification limit, IQL)로 표시하기도 하며 EPA method 1694에서는 최소정량수준(minimum level of quantification, MLQ)으로 표현하고 있다. 일부 문헌은 검출한계와 정량한계 대신 EU Commission (2002)에서 제시한 결정 한계(decision limit, CC_{α})와 탐지 역량(detection limit, CC_{β})을 이용하여 검출성능을 평가하고 있어 이에 대한 고찰을 수행하였다.

3. EPA method 1694

미국 EPA에서는 환경 시료 중의 의약품질과 개인위생용품(pharmaceuticals and personal care products, PPCPs)을 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)와 텐덤 질량분석기를 이용해 분석하는 방법을 개발하였고 액체, 고체, 바이오 고체로 구분하여 적용할 수 있는 방법을 보고하고 있으며(U. S. EPA, 2007) 기존의 EPA method(U. S. EPA, 1984; 1996; 2010)들과 AXYS Analytical Services에서 개발된 방법, 기존의 연구들(Castiglioni et al., 2005; Fiese and Steffen, 1990; Hirsch et al., 1998; Kolpin et al., 2002; Lindsey et al., 2001)을 토대로 하고 있다. 기존 문헌에 보고된 일반적인 분석방법을 수정하여 전처리 조건과(pH 2.0 또는 pH 10.0) 텐덤 질량분석기의 이온화 조건((+) 이온화 또는 (-)이온화) 등에 따라 4개의 그룹을 설정하고, 64종의 대상 PPCPs 물질을 포함시키는 방법으로 그룹을 구성하였다. 대부분의 항생제는 그룹 1과 2에 포함되어 있는데 베타-락탐계, 플로로퀴놀론계, 린코사미드계, 매크로라이드계, 설펜아미이드계 등의 항생제는 그룹 1에, 테트라사이클린 계열의 항생제가 그룹 2로 분류된다. 그룹 1, 2는 산성조건(pH 2)에서 고상추출이 이루어지고 positive 이온화 방식

Table 1. The classification of the 16 selected antibiotics among the targeted antibiotics in EPA method 1694

Class	Compound	EPA group	Class	Compound	EPA group
β-lactams	Penicillin G	Group 1	Fluoroquinolones	Enrofloxacin	Group 1
	Ampicillin			Flumequine	
	Sulfachloropyridazine		Lincosamides	Lincomycin	
	Sulfadimethoxine		Macrolides	Tylosin	
Sulfonamides	Sulfamethazine			Tetracyclines	
	Sulfamethoxazole		Oxytetracycline		
	Sulfathiazole	Doxycycline			
	Sulfadiazine	Others	Trimethoprim	Group 1	

을 사용하는 특징을 보이고 있는데 총설 I, II에 통해 가축용 항생제 분석을 위한 자세한 전처리 방법들을 EPA method 1694와 함께 고찰하여 보고하였다. 또한, 물질에 따른 방법 검출한계와 최소정량수준을 제시하고 있으며 검정농도의 범위와 시료상(phase)에 따른 회수율도 보고하고 있다. 분석방법의 검증에 위한 검출 한계와 회수율 등은 다음 절에서 보다 자세히 검토하고 다양한 문헌에 보고된 값들과 비교하고자 하였다.

4. Chromatographic Separation Methods

Table 2는 동물용 항생제 분석을 위한 LC 조건을 정리하여 나타내었다. HPLC 또는 초고성능 액체 크로마토그래피 (ultra performance liquid chromatography, UPLC)를 적용하는 것으로 확인되었다. UPLC는 2 μm 이하의 입자 크기를 갖는 고정상으로 제작된 컬럼을 적용하고 HPLC 보다 높은 압력으로 분리를 수행한다. 작은 입자를 사용함에 따라 고정상과 이동상이 접촉할 수 있는 표면적이 증가하여 컬럼 길이를 줄일 수 있고, 높은 압력으로 분리를 수행함에 따라 빠른 유속의 적용이 가능하다. 이러한 특징을 통해 UPLC에서 HPLC 보다 짧은 분리시간, 높은 민감도와 재현성의 구현이 가능하게 되었다. 실제로 조사된 문헌에 따르면 HPLC에서는 이동상의 유량이 0.1~0.35 ml/min범위로 나타났으나 UPLC에서는 0.25~0.45 ml/min유량으로 이동상이 주입되는 것으로 조사되었다.

컬럼은 EPA 방법을 포함하여 대부분의 문헌에서 역상 C_{18} 컬럼을 사용하였고 일부 연구에서는(Iglesias et al., 2012; Nebot et al., 2012) phenyl을 작용기로 하는 고정상을 충전한 Synergi Polar RP 컬럼을 사용한 것으로 나타났다. 일반적으로 phenyl 컬럼은 방향족 아민, 극성이 강하고 물에 잘 녹는 물질을 분리하는데 향상된 성능을 나타낸다. C_{18} 컬럼에서 나타나는 극성결합 외에 파이결합(π - π interaction)이 물질 분리 메커니즘으로 작용하기 때문에 상대적으로 넓은 선택성을 갖는다. 항생제 연구에 있어서는 일부 극성을 나타내는 테트라사이클린계, 설펜아미이드계, 퀴놀론계 등을 분석하는데 사용될 수 있으며 Iglesias et al. (2012)와 Nebot et al (2012)의 연구에서도 설펜아미이드계열, 퀴놀론계열(quinolones) 항생제 등의 잔류농도 분석방법을 개발하고 적용한 결과를 보고하고 있다.

컬럼의 온도는 이동상과 고정상, 분리 물질 간의 화학적인 상호작용에 영향을 미치기 때문에 컬럼 온도가 일정하게 유지되지 않는 경우 머무름 시간(retention time, RT)이 변하거나 선택성의 차이로 인해 용리 순서(elution order)가 변할 수 있다. 특히 컬럼 내부에서 위치에 따른 온도차이가 발생할 경우 피크(peak) 모양의 왜곡이 발생할 수 있어 컬럼 오븐을 사용하여 일정 시간 이상 예열을 거친 후 분석을 진행한다. 개발된 분석방법들이 제시하는 설정 온도의 범위는 15~45°C로 나타났으나 대부분은 30~40°C 조건을 적용하고 있다. EPA method는 40°C로 컬럼 온도를 제시하고 있다.

항생제를 LC로 분리하는데 사용되는 이동상으로는 극성

용매인 물과 비극성용매를 기본으로 사용한다. 비극성 용매로는 아세토나이트릴(acetonitrile)이 가장 많이 사용되는 것으로 조사되었으며 메탄올(methanol) 또는 메탄올과 아세토나이트릴의 혼합액이 유사한 빈도로 적용되는 것으로 나타났다. 모든 연구에서 극성용매와 비극성용매의 혼합비율을 시간에 따라 달리하는 구배용출법(gradient elution)을 사용하고 있으며 높은 비율의 물과 함께 컬럼에 도입되어 고정상에 고정된 분석물질들은 이동상 중에 비극성 용매의 비율이 높아짐에 따라 순차적으로 고정상에서 용리되어 컬럼 외부로 유출된다. 모든 물질은 고유한 특성으로 서로 다른 극성도를 가지고 있으며 이로 인해 특정한 머무름 시간을 갖는다. 이동상에서 비극성 용매의 비율을 빠르게 증가시키면 물질의 고정상에 머무르는 비극성 물질의 분리가 용리 속도가 증가하여 빠른 시간에 크로마토그래피를 완료할 수 있으나 검출기에서 검출되는 물질 각각의 피크가 중첩되는 문제를 야기할 수 있다. 메탄올과 아세토나이트릴 용매의 경우 서로 비극성도에 차이를 가지고 있어 극성이 낮은 메탄올에서 보다 빠른 용출이 진행되며 메탄올과 아세토나이트릴 혼합 용매를 사용하는 경우 이를 토대로 혼합 비율이 결정된다.

이동상에는 포름산(formic acid), 옥살산(oxalic acid), 포름산암모늄(ammonium formate), 초산암모늄(ammonium acetate) 등을 첨가하는데 휘발성 첨가제를 사용함으로써 항생제의 이온화 효율이 증가하고 질량분석기에서 감도(sensitivity)가 향상되는 것으로 보고되고 있다(Seifrtova et al., 2009). Yang et al. (2010)의 연구를 제외한 모든 연구에서 0.05~0.3%의 포름산을 첨가물로 사용하는 것으로 나타났고 일부 문헌에서는 포름산과 함께 포름산암모늄(Ho et al., 2012, 2014; Li et al., 2012; U. S. EPA, 2007)이나 초산암모늄(Zhou et al., 2012; Zhou et al., 2013)을 첨가하기도 하였다. 일반적으로 HPLC-MS 이동상에 첨가하는 첨가제는 휘발성이 강한 물질을 주로 사용하고 옥살산은 상대적으로 낮은 휘발성 때문에 거의 사용되지 않았다. 그러나 Yang et al. (2010)은 0.1%의 포름산과 5 mM의 옥살산을 pH 조절용 첨가제로 사용하고 각각의 MS 스펙트럼을 비교한 결과 포름산을 사용한 경우에 테트라사이클린계열의 항생제 피크에서 심각한 테일링(tailing) 현상이 나타남을 확인하였다. 옥살산으로 pH를 조절한 결과 테일링 현상이 나타나지 않았으며 이는 옥살산이 메탈 이온과 결합하는 강한 킬레이트제로 작용하여(Kartal, 2003) 테트라사이클린계열의 항생제와 메탈이온의 결합으로 인한 피크의 왜곡을 방지한다고 하였다. EPA method 1694에서도 테트라사이클린계열의 항생제와 그 대사물질들은 다른 계열의 항생제 분석방법과 동일한 전처리 과정을 거치나 그룹 2로 따로 분류하여 옥살산을 첨가제로 사용하는 기기 분석 조건을 적용하고 있는데 Yang et al. (2010)이 언급한 것과 동일한 이유일 것이라 판단된다.

Zhou et al. (2012)은 5 mM 옥살산, 0.1% 포름산, 0.5% 포름산, 0.1% 포름산(+5 mM 초산암모늄), 0.1% 포름산(+2 mM 초산암모늄), 0.2% 포름산(+2 mM 초산암모늄)을 이동상으로 사용하여 분석 효율을 평가하였다. Yang et al. (2012)의 연구

Table 2. Comparison of detection methods and chromatographic conditions for the 16 selected antibiotics (FA: formic acid; ACN: acetonitrile; RRLC: rapid resolution liquid chromatography; UPLC: ultra performance chromatography; AF: ammonium formate; MeOH: methanol; HFBA: heptafluorobutyric acid)

Reference	Detection method	Mobile phase	Column	Column temperature (°C)	Flow rate (ml/min)
U. S. EPA, 2007	HPLC-MS/MS	Group 1 A: 0.3% FA and 0.1% AF in water B: 1:1 ACN:MeOH	XTerra C18 (100×2.1 mm, 3.5 μm)	40	0.15-0.3
		Group 2 A: 1:1 ACN:MeOH (5 mM oxalic acid) B: 1:1 5 mM oxalic acid in water			
Aguilera-Luiz et al., 2012	Analyte	Ampicillin, penicillin G, lincomycin, tylosin, enrofloxacin, flumequine, sulfachloropyridazine, sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfamethazine, sulfamethoxazole, chlortetracycline, doxycycline, oxytetracycline, trimethoprim			0.3
		A: MeOH B: 0.05% FA in water	Acquity UPLC BEH C18 (100×2.1 mm, 1.7 μm)	30	
Ben et al., 2008	Analyte	Enrofloxacin, flumequine, tylosin, sulfadiazine, sulfachloropyridazine, sulfadimethoxine, chlortetracycline, doxycycline, oxytetracycline, trimethoprim			0.23
		A: 0.2% FA in water (vol %) B: MeOH, C: ACN	Symmetry C18 (150×2.1 mm, 5 μm) with guard column (10×2.1 mm)	30	
Bohm et al., 2012	Analyte	Sulfamethoxazole, sulfathiazole, sulfamethazine, sulfadimethoxine, oxytetracycline, chlortetracycline			0.3
		A: 0.2% FA in water B: 0.2% FA in ACN	Aqua C18 (150×2.0 mm, 3.0 μm)	30	
Boscher et al., 2010	Analyte	Oxytetracycline, chlortetracycline, doxycycline, enrofloxacin, tylosin, lincomycin, trimethoprim			0.25
		A: 0.1% FA in water B: 0.1% FA in ACN/MeOH mixture (7:3, v/v)	Zorbax XDB plus (150×2.1 mm, 5 μm)	40	
Carretero et al., 2008	Analyte	Trimethoprim, enrofloxacin, doxycycline, tylosin, flumequine, penicillin G			0.2
		A: 10mM FA in MeOH B: 10mM FA in water	XTerra C18 (100×2.1 mm, 3.5 μm)	-	
Dasenaki and Thomaidis, 2010	Analyte	Lincomycin, tylosin, enrofloxacin, flumequine, sulfadiazine, sulfadimethoxine, sulfathiazole, chlortetracycline, trimethoprim			0.1
		A: 0.1% FA in water B: ACN	Zorbax Eclipse Plus C18 (50×2.1 mm, 1.8 μm)	-	
Freitas et al., 2014	Analyte	Sulfachloropyridazine, sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, sulfadimethoxine, chlortetracycline, doxycycline			0.45
		A: 0.1% FA in water B: ACN	Acquity HSS T3 (100×2.1mm, 1.8μm)	40	
Gao et al., 2012	Analyte	Penicillin G, ampicillin, enrofloxacin, flumequine, tylosin, sulfachloropyridazine, sulfadimethoxine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, sulfadiazine, chlortetracycline, oxytetracycline, doxycycline, trimethoprim			0.2
		A: ACN:MeOH (1:1, v/v) B: 0.3% FA in water (with 0.1% AF, pH 2.9)	XTerra MS C18 (100×2.1 mm, 3.5 μm)	25	
	Analyte	Enrofloxacin, sulfadimethoxine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, sulfadiazine, tylosin			

Table 2. Comparison of detection methods and chromatographic conditions for the 16 selected antibiotics (FA: formic acid; ACN: acetonitrile; RRLC: rapid resolution liquid chromatography; UPLC: ultra performance chromatography; AF: ammonium formate; MeOH: methanol; HFBA: heptafluorobutyric acid)

Reference	Detection method	Mobile phase	Column	Column temperature (°C)	Flow rate (ml/min)
Gbylik-Sitkorska et al., 2015	RRLC-MS/MS	A: ACN B: 0.025% HFBA in water	Luna C18 (2) 100A (50×3.0 mm, 3.0 μm)	30	0.4
	Analyte	Ampicillin, penicillin G, enrofloxacin, flumequine, lincomycin, tylosin, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfadiazine, sulfathiazole, chlortetracycline, oxytetracycline, trimethoprim			
Gorissen et al., 2015	UPLC-MS/MS	A: 0.1% FA in water B: 0.1% FA in ACN	Acquity UPLC BEH C18 (100×2.1 mm, 1.7 μm)	40	0.4
	Analyte	Chlortetracycline, doxycycline, enrofloxacin, flumequine, sulfachloropyridazine, sulfadiazine, trimethoprim			
Gros et al., 2013	UPLC-MS/MS	A: ACN B: 0.1% FA in water	Acquity HSS T3 (50×2.1 mm, 1.8 μm)	-	-
	Analyte	Ampicillin, penicillin G, lincomycin, tylosin, enrofloxacin, sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, doxycycline, oxytetracycline, trimethoprim			
Han et al., 2015	UPLC-MS/MS	A: ACN B: 0.1% FA in water	Acquity UPLC BEH C18 (50×2.1 mm, 1.7 μm)	40	0.3
	Analyte	Ampicillin, penicillin G, enrofloxacin, flumequine, sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfachloropyridazine, trimethoprim, doxycycline, chlortetracycline, tylosin, lincomycin			
Ho et al., 2012 Ho et al., 2014	HPLC-MS/MS	A: 0.3% FA and 0.1% AF in water B: ACN:MeOH (1:1, v/v)	XTerra MS C18 (100×2.1 mm, 3.5 μm)	40	0.25
	Analyte	Doxycycline, enrofloxacin, flumequine, sulfadiazine, trimethoprim, tylosin			
Hong et al., 2015	UPLC-MS/MS	A: 0.1% FA in water (vol %) B: ACN	Ethylene bridged hybrid C18 (50×2.1 mm, 1.7 μm)	40	0.4
	Analyte	Lincomycin, penicillin G, sulfachloropyridazine, chlortetracycline, doxycycline, enrofloxacin, oxytetracycline, sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, trimethoprim, tylosin			
Hou et al., 2015	UPLC-MS/MS	A: ACN B: 0.1% FA in water (vol %)	Acquity UPLC BEH C18 (100×2.1 mm, 1.7 μm)	40	0.45
	Analyte	Sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfachloropyridazine, trimethoprim, enrofloxacin, oxytetracycline, doxycycline, chlortetracycline, tylosin			
Iglesias et al., 2012	HPLC-MS/MS	A: 0.1% FA in ACN B: 0.1% FA in water	Synergi Polar-RP 100Å (50×2.0 mm, 2.5 μm) with SecurityGuard (4.0×2.0 mm)	-	0.15
	Analyte	Enrofloxacin, sulfachloropyridazine, sulfadiazine, sulfamethazine, trimethoprim			
Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006	HPLC-MS/MS	A: 95% MeOH in water (pH 3.0 with FA) B: 20% MeOH in water (pH 3.0 with FA)	XTerra MS C18 (100×2.1 mm, 3.5 μm) with Guard (10×2. mm)	15	-
	Analyte	sulfadiazine, sulfamethazine, chlortetracycline, oxytetracycline, doxycycline, tylosin			
Kaklamanos et al., 2013	HPLC-Orbitrap	A: 0.5% FA in water B: 0.5% FA in MeOH	Altima HP C18 (150×3.2 mm, 5 μm)	35	0.35
	Analyte	Sulfadiazine, sulfathiazole, sulfamethazine, sulfachloropyridazine, sulfamethoxazole, lincomycin, chlortetracycline, oxytetracycline, doxycycline, tylosin, enrofloxacin			

Table 2. Comparison of detection methods and chromatographic conditions for the 16 selected antibiotics (FA: formic acid; ACN: acetonitrile; RRLLC: rapid resolution liquid chromatography; UPLC: ultra performance chromatography; AF: ammonium formate; MeOH: methanol; HFBA: heptafluorobutyric acid)

Reference	Detection method	Mobile phase	Column	Column temperature (°C)	Flow rate (ml/min)
Li et al., 2012	HPLC-MS/MS	A: ACN:MeOH (1:1, v/v) B: 0.3% FA in water (with 0.1% AF, pH 2.9)	XTerra MS C18 (100×2.0 mm, 3.0 μm)	Room temp.	0.2
	Analyte	Enrofloxacin, sulfadimethoxine, sulfamethazone, sulfamethoxazole, sulfathiazole, sulfadiazine, tylosin			
Locatelli et al., 2011	HPLC-MS/MS	A: 0.1% FA in water B: 0.1% FA in MeOH	ZORBAX SB-C18 (30×2.1 mm, 5 μm)	-	0.3
	Analyte	Ampicillin, sulfamethoxazole, trimethoprim			
Lopes et al., 2012	UPLC-MS/MS	A: 0.1% FA in ACN B: 0.1% FA in water	Acquity UHPLC BEH C18 (100×2.1 mm, 1.7 μm)	30	0.3
	Analyte	Ampicillin, chlorotetracycline, doxycycline, enrofloxacin, flumequine, sulfamethoxazole, sulfadiazine, sulfadimethoxine, sulfathiazole, trimethoprim			
Nebot et al., 2012	HPLC-MS/MS	A: 0.1% FA in water (vol %) B: 0.1% FA in ACN (vol %)	Synergi Polar-RP 100 Å (50×2.0 mm, 2.5 μm) with SecurityGuard (4.0×2.0 mm)	-	0.2
	Analyte	Enrofloxacin, sulfadimethoxine, sulfamethoxazole, trimethoprim			
Pozo et al., 2006	HPLC-MS/MS	A: 0.01% FA in water (vol %) B: 0.01% FA in MeOH (vol %)	Kromasil C18 (100×2.1 mm, 5 μm)	-	0.2
	Analyte	Enrofloxacin, flumequine, ampicillin, penicillin G			
Salvia et al., 2012	HPLC-MS/MS	A: 0.01% FA in water (pH 3.3) B: MeOH	Zorbax Eclipse Plus C18 (50×2.1 mm, 1.8 μm)	50	0.3
	Analyte	Sulfadiazine, sulfathiazole, trimethoprim, sulfadimethoxine, tylosin, penicillin G			
Tang et al., 2012	UPLC-MS/MS	A: 0.05% FA in water B: ACN	Acquity HSS T3 (100×2.1mm, 1.8μm)	-	0.3
	Analyte	Tylosin, ampicillin, lincomycin			
Yang et al., 2010	RRLLC-MS/MS	A: ACN B: 5 mM oxalic acid in water	Zorbax Eclipse XDB C18 (50×2.1 mm, 1.8 μm) with in-line filter	45	0.4
	Analyte	Oxytetracycline, sulfamethoxazole, sulfamethazine, sulfadiazine			
Zhou et al., 2012	RRLLC-MS/MS	A: 0.2% FA and 2mM ammonium acetate B: ACN	Zorbax Eclipse plus C18 (100×2.1 mm, 1.8 μm) and pre-column filter (0.2 μm)	40	0.3
	Analyte	Lincomycin, tylosin, enrofloxacin, sulfadiazine, sulfadimethoxine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, chlortetracycline, oxytetracycline, doxycycline			
Zhou et al., 2013	RRLLC-MS/MS	A: ACN B: 0.2% FA and 2mM ammonium acetate	Zorbax Eclipse plus C18 (100×2.1 mm, 1.8 μm) and pre-column filter (0.2 μm)	40	0.3
	Analyte	Sulfamethoxazole, sulfadiazine, sulfadimethoxine, sulfamethazine, sulfathiazole, chlortetracycline, tylosin, doxycycline, oxytetracycline, enrofloxacin, trimethoprim, lincomycin			

와 동일하게 옥살산을 사용한 경우 테트라사이클린계열의 항생제에 있어서 더 높은 감도, 분해능(resolution), 반복성(repeatability)과 낮은 매트릭스 효과(matrix effect)를 나타내었으나 옥살산은 휘발성이 낮기 때문에 LC-MS/MS 기기의 모세관 경계(capillary interface)에 축적되는 문제가 발생할 수 있다고 하였다. 반면 0.2% 포름산(+2 mM 초산암모늄)을 이동상으로 사용하였을 때 테트라사이클린계열의 항생제에 대해서도 충분한 감도를 나타냄과 동시에 플로로퀴놀론, 이오노포어(ionophore), 매크로라이드계열의 항생제에서는 다른 조건에서 보다 높은 피크 분해능과 감도를 나타내는 것을 보고하기도 하였다.

Gbylik-Sikorska et al. (2015)는 헵타플로부티르산(hept-fluorobutyric acid)을 첨가하였는데 이는 이온쌍 크로마토그래피(ion-pair chromatography)를 적용할 때 이온 쌍 시약(ion pair reagent)으로 사용하는 일반적인 물질이다. Gbylik-Sikorska et al. (2015)는 극성을 띠는 아미노글리코사이드(aminoglycoside)계열의 항생제(Karthikeyan and Meyer, 2006) 4종을 포함하여 9개 계열의 항생제를 동시에 분석하는 분석법을 개발하였고 이를 위해 이온쌍 크로마토그래피를 사용, 총 13분의 분석시간 동안 45종의 항생제를 분리·분석하였다고 보고하고 있다.

5. Mass Spectrometric Detection Methods

HPLC 또는 UPLC에 의해 분리된 항생제는 이온화단계를 거치고 질량분석기를 통과하면서 질량에 따라 분리되어 검출기에서 검출된다. 항생제 분석방법을 조사한 결과 모든 연구에서 전자분무이온화(electrospray ionization: ESI)법을 사용하는 것으로 나타났다. 일반적으로 이온화 장치를 거친 분자들은 이온화 방식(positive 또는 negative)에 따라서 양자를 얻거나 잃어서 $[M+H]^+$ 또는 $[M-H]^-$ 형태의 분자로 이온화되며 모넨신, 살리노마이신 등과 같은 항생제는 나트륨 염 $[M+Na]^+$ 의 형태로 이온화 되기도 한다(Zhou et al., 2012). 본 연구에서 선정된 16종의 항생제는 모두 positive 방식의 이온화가 적용되고 있으며 $[M+H]^+$ 의 형태의 전구체를 형성하는 것으로 조사되었다(Table 3). Boscher et al. (2010)는 유일하게 페니실린G(penicillin G) 분석을 목적으로 negative 방식의 이온화를 적용한 것으로 보고하였다. 13개 계열, 33종의 동물용 항생제를 LC-MS/MS로 분석하는 방법을 개발하면서 페니실린 계열과 페니콜계열(phenicol)의 일부 항생제들은 negative 방식의 이온화를 적용하였으나 이에 대한 효과나 목적에 대해서는 언급하지 않고 있다.

항생제를 분석한 모든 문헌은 MS/MS 또는 MS/Orbitrap의 형태로 구성된 텐덤 질량분석기를 적용하고 있으며 두 개 이상의 질량분석기를 사용할 때 적용 가능한 방법인 선택반응검출(selected reaction monitoring, SRM) 방식으로 대상물질을 정성·정량한다. 선택반응검출 방식에서 이온화된 전구체 중 특정한 질량 대 전하 비(m/z)를 갖는 이온들이 첫 번째 질량 분석기에 의해 분리되고 충돌 셀(collision cell)에서 충돌 에너지(collision energy, CE)와 가스(collision gas)에 의해 쪼개진다. 쪼개진 입자들(fragments)은 사중극자(quadrupole)

또는 orbitrap(ion trap mass analyzer)으로 이동하고 특정한 질량 대 전하 비를 갖는 물질이 분리되어 검출기로 보내진다. 일반적으로 시료 중 분석대상 물질의 양을 측정하고(quantification) 물질의 종을 검증(confirmation)할 목적으로 강한 검출신호를 갖는 두 종류의 전이체(transitions)를 선정하고 해당 질량 대 전하 비를 갖는 물질을 검출한다. 분석하고자 하는 대상 물질이 정해진 경우 SRM 방식을 적용하면 빠른 시간에 정확한 스크리닝(screening)이 가능하여 규칙적이고 지속적인 시료 분석을 필요로 하는 경우 매우 유용한 방법으로 사용되고 있다.

5.1. 플로로퀴놀론계

플로로퀴놀론계열의 항생제는 인의용(人醫用)으로 많이 사용되며 노르플록사신(norfloxacin), 시프로플록사신(ciprofloxacin) 등에 대한 연구가 많이 보고되어 왔고 동물용 항생제로는 엔로플록사신(enrofloxacin), 사라플록사신(sarafloxacin) 등에 대한 분석방법과 검출현황에 관한 연구가 다수 진행되어 왔다. 본 연구에서는 엔로플록사신과 플루메퀸(flumequine)에 대한 분석방법을 조사하였고 형광도를 갖는 특성으로 인해 LC와 형광광도계(fluorescence detection, FLD)를 사용하여 농도를 측정하기도 하였으나(Nakata et al., 2005; Prat et al., 2004) 다 계열(multi-class)항생제 분석법이 개발됨에 따라 LC-MS/MS가 주로 적용된다. 주로 관찰하는 전이체로는 $[M+H]^+$ 에서 질량 18이 감소된 이온이 엔로플록사신과 플루메퀸에서 공통적으로 보고되고 있으며 $m/z = 316, 202$ 를 갖는 이온이 엔로플록사신과 플루메퀸을 검출하는 다른 하나의 전이체로 각각 사용되는 것으로 나타났다.

5.2. 설펜아미이드계와 트라이메소프림

설펜아미이드계열은 인의용, 축산용을 구분하지 않고 가장 많이 연구되어온 항생제이다. 특히, 인의용으로 사용되는 설펜아미드계열(sulfamethoxazole)은 트라이메소프림과 일정한 비율로 혼합된 형태로 제품화되는 경우가 많아 설펜아미드계열의 항생제만큼 빈번하게 트라이메소프림에 관한 연구가 보고되고 있다(Seifrtova et al., 2009). 축산용 설펜아미드계열의 항생제로는 설펜아미드계열(sulfachloropyridazine), 설펜티아졸(sulfathiazole), 설펜메타진, 설펜디아진(sulfadiazine) 등이 분석방법을 개발하는 문헌에서 자주 다루어진다. 설펜아미드계열의 물질들은 형광성을 갖고 있지 않기 때문에 형광광도계를 사용한 검출이 불가능한 반면 260 nm(Li et al., 2007) 또는 272 nm(Malintan and Mohd, 2006) 파장의 빛을 흡수하는 특성으로 인해 HPLC-UV를 이용해 농도를 측정하기도 하였다. 그러나 MS에 비해 감도가 낮고, 환경시료의 경우 다양한 방해물질이 존재할 수 있기 때문에 그 사용이 매우 제한적이다.

설펜아미드계열의 항생제는 이온화 과정에서 positive 또는 negative 방식 모두 적용이 가능한 것으로 보고되고 있으나(Hao et al., 2006) 대부분의 경우 positive 방식을 사용하고 $[M+H]^+$ 형태로 이온화가 진행된다. 전이체로 관찰되는 쪼개진 입자들은 $m/z = 92([M-RNH_2-SO_2]^+)$, $108([M-RNH_2-SO]^+)$, $154([M-RNH_2]^+)$ 를 갖는 이온들이 주를 이루고 있으며 대부

Table 3. Comparison of mass spectrometric conditions for detection of the 16 selected antibiotics

Analyte	Detection method	Ionization mode	Precursor (<i>m/z</i>)	Transitions (<i>m/z</i>) (collision energy (eV))		Reference
				Quantification	Confirmation	
Ampicillin	HPLC-MS/MS	ESI+	350.3	160.2 (-)	- (-)	U. S. EPA, 2007
	UPLC-MS/MS	ESI+	350.4	106.3 (20)	- (-)	Freitas et al., 2014
	HPLC-MS/MS	ESI+	350.1	106.0 (27)	160.0 (27)	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	350	106 (35)	114 (41)	Gros et al., 2013
	UPLC-MS/MS	ESI+	350	106 (18)	174 (14)	Han et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	350.1	106.1 (15)	174.1 (10)	Locatelli et al., 2011
	UPLC-MS/MS	ESI+	350.0	106.2 (30)	160.1 (10)	Lopes et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	350.0	106.0 (25)	- (-)	Pozo et al., 2006
	UPLC-MS/MS	ESI+	350.224	174.03 (-)	- (-)	Tang et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	367.5	160.2 (-)	- (-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI-	333	191.9 (-14)	74.1 (-36)	Boscher et al., 2010
	UPLC-MS/MS	ESI+	335.1	176.0 (25)	- (-)	Freitas et al., 2014
	HPLC-MS/MS	ESI+	335.1	160.0 (60)	176.1 (60)	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	335	176 (19)	160 (21)	Gros et al., 2013
	UPLC-MS/MS	ESI+	335	160 (12)	176 (12)	Han et al., 2015
	Penicillin G	UPLC-MS/MS	ESI+	335	160 (15)	176 (15)
UPLC-MS/MS		ESI+	335.2	160.1 (15)	176.3 (15)	Lopes et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	335.0	160.0 (10)	- (-)	Pozo et al., 2006
HPLC-MS/MS		ESI+	335	217 (19)	91 (59)	Salvia et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	407.5	126.0 (-)	- (-)	U. S. EPA, 2007
HPLC-MS/MS		ESI+	407.2	126.2 (39)	359.3 (27)	Bohm et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	407	126 (25)	359 (25)	Carretero et al., 2008
HPLC-MS/MS		ESI+	407.2	126.1 (28)	359.3 (28)	Gbylik-Sikorska et al., 2015
UPLC-MS/MS		ESI+	407	359 (27)	389 (25)	Gros et al., 2013
UPLC-MS/MS		ESI+	407	126 (27)	359 (19)	Han et al., 2015
UPLC-MS/MS		ESI+	407	126 (25)	359 (20)	Hong et al., 2015
HPLC-Orbitrap		ESI+	407.22103	- (-)	- (-)	Kaklananos et al., 2013
UPLC-MS/MS		ESI+	407.332	126.046 (-)	- (-)	Tang et al., 2012
RRIC-MS/MS		ESI+	407.5	126.1 (32)	70.1 (72)	Zhou et al., 2012, 2013
HPLC-MS/MS		ESI+	916.0	772.0 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
Tylosin		HPLC-MS/MS	ESI+	917.4	174.3 (18)	101.1 (45)
	HPLC-MS/MS	ESI+	916.7	174.2 (52)	772.5 (41)	Bohm et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	916.6	174.2 (51)	101.1 (75)	Boscher et al., 2010

Table 3. Comparison of mass spectrometric conditions for detection of the 16 selected antibiotics

Analyte	Detection method	Ionization mode	Precursor (<i>m/z</i>)	Transitions (<i>m/z</i>) (collision energy (eV))		Reference
				Quantification	Confirmation	
Enrofloxacin	HPLC-MS/MS	ESI+	917	174 (35)	772 (35)	Carretero et al., 2008
	UPLC-MS/MS	ESI+	917.1	174.3 (35)	- (-)	Freitas et al., 2014
	HPLC-MS/MS	ESI+	916.0	174.0 (110)	772.5 (110)	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	916.3	174.0 (55)	772.3 (43)	Gao et al., 2012; Li et al., 2012
	UPLC-MS/MS	ESI+	916	174 (43)	772 (49)	Gros et al., 2013
	UPLC-MS/MS	ESI+	916	174 (40)	101 (42)	Han et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	916.0	156.2 (60)	772.3 (32)	Ho et al., 2012
	UPLC-MS/MS	ESI+	917	174 (40)	101 (50)	Hong et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	916.6	772.5 (30)	174.2 (38)	Hou et al., 2015
	HPLC-Orbitrap	ESI+	916.52643	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013
	HPLC-MS/MS	ESI+	916	174 (49)	101 (67)	Salvia et al., 2012
	UPLC-MS/MS	ESI+	916.751	174.008 (-)	(-)	Tang et al., 2012
	RRLC-MS/MS	ESI+	916.5	174.1 (29)	132.1 (33)	Zhou et al., 2012, 2013
	HPLC-MS/MS	ESI+	360.0	316.0 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI+	360.3	342.3 (20)	316.3 (20)	Aguilera-Luiz et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	360.1	316.3 (29)	245.1 (39)	Bohm et al., 2012
HPLC-MS/MS	ESI+	360.3	316.3 (28)	245.2 (38)	Boscher et al., 2010	
HPLC-MS/MS	ESI+	360	245 (25)	316 (25)	Carretero et al., 2008	
UPLC-MS/MS	ESI+	360.3	316.3 (19)	- (-)	Freitas et al., 2014	
HPLC-MS/MS	ESI+	360.0	316.2 (28)	245.2 (39)	Gao et al., 2012; Li et al., 2012	
HPLC-MS/MS	ESI+	360.0	342.0 (100)	286.0 (100)	Gbylik-Sikorska et al., 2015	
UPLC-MS/MS	ESI+	360.4	316 (30)	244.9 (20)	Gorissen et al., 2015	
UPLC-MS/MS	ESI+	360	316 (27)	245 (39)	Gros et al., 2013	
UPLC-MS/MS	ESI+	360	316 (19)	342 (21)	Han et al., 2015	
HPLC-MS/MS	ESI+	360.0	316.3 (17)	341.8 (22)	Ho et al., 2012	
UPLC-MS/MS	ESI+	360	342 (25)	316 (20)	Hong et al., 2015	
UPLC-MS/MS	ESI+	360.2	316.2 (26)	342.2 (20)	Hou et al., 2015	
HPLC-MS/MS	ESI+	360	342 (19)	316 (19)	Iglesias et al., 2012	
HPLC-Orbitrap	ESI+	360.17180	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013	
UPLC-MS/MS	ESI+	360.3	342.3 (20)	316.3 (20)	Lopes et al., 2012	
HPLC-MS/MS	ESI+	360	316 (19)	342 (19)	Nebot et al., 2012	
HPLC-MS/MS	ESI+	360.1	316.1 (20)	- (-)	Pozo et al., 2006	
RRLC-MS/MS	ESI+	360.4	316.1 (17)	342.1 (17)	Zhou et al., 2012, 2013	

Table 3. Comparison of mass spectrometric conditions for detection of the 16 selected antibiotics

Analyte	Detection method	Ionization mode	Precursor (m/z)	Transitions (m/z) (collision energy (eV))		Reference
				Quantification	Confirmation	
Flumequine	HPLC-MS/MS	ESI+	262.0	173.7 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI+	262.3	244.3 (20)	202.2 (20)	Aguilera-Luiz et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	262.2	244.2 (23)	202.2 (41)	Boscher et al., 2010
	HPLC-MS/MS	ESI+	262	202 (35)	244 (35)	Carretero et al., 2008
	UPLC-MS/MS	ESI+	262.2	202.1 (32)	- (-)	Freitas et al., 2014
	HPLC-MS/MS	ESI+	262.1	244.0 (25)	202.0 (25)	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	261.6	243.9 (40)	201.9 (20)	Gorissen et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	262	244 (19)	202 (34)	Han et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	262.0	201.9 (34)	244.1 (19)	Ho et al., 2012
	UPLC-MS/MS	ESI+	262	244 (20)	202 (30)	Hong et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	262.0	202.0 (30)	- (-)	Pozo et al., 2006
	HPLC-MS/MS	ESI+	285.0	156.0 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI+	285.1	156.2 (15)	80.2 (50)	Aguilera-Luiz et al., 2012
	UPLC-MS/MS	ESI+	285	156 (22)	92 (22)	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	UPLC-MS/MS	ESI+	285.3	92.3 (28)	- (-)	Freitas et al., 2014
	Sulfachloropyridazine	UPLC-MS/MS	ESI+	285.1	155.8 (30)	107.8 (20)
UPLC-MS/MS		ESI+	285	156 (14)	108 (24)	Han et al., 2015
UPLC-MS/MS		ESI+	285	156 (15)	108 (25)	Hong et al., 2015
UPLC-MS/MS		ESI+	285.1	108.1 (25)	155.4 (15)	Hou et al., 2015
HPLC-MS/MS		ESI+	285	156 (17)	92 (17)	Iglesias et al., 2012
HPLC-Orbitrap		ESI+	285.02075	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013
UPLC-MS/MS		ESI+	285.1	156.2 (15)	80.2 (50)	Lopes et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	251.2	156.1 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
HPLC-MS/MS		ESI+	251.0	156.0 (17)	92.0 (25)	Aguilera-Luiz et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	251	108 (20)	156 (20)	Carretero et al., 2008
UPLC-MS/MS		ESI+	251	156 (22)	92 (22)	Dasenaki and Thomaidis, 2010
UPLC-MS/MS		ESI+	251.2	156.2 (15)	- (-)	Freitas et al., 2014
HPLC-MS/MS		ESI+	251.1	156.0 (23)	108.0 (35)	Gao et al., 2012; Li et al., 2012
UPLC-MS/MS		ESI+	250.3	155.8 (20)	91.8 (10)	Gorissen et al., 2015
UPLC-MS/MS		ESI+	251	156 (23)	92 (37)	Gros et al., 2013
Sulfadiazine		UPLC-MS/MS	ESI+	251	156 (16)	108 (24)
	HPLC-MS/MS	ESI+	251.2	65.0 (39)	92.0 (28)	Ho et al., 2012
	UPLC-MS/MS	ESI+	251.1	156.0 (17)	108.0 (27)	Hou et al., 2015

Table 3. Comparison of mass spectrometric conditions for detection of the 16 selected antibiotics

Analyte	Detection method	Ionization mode	Precursor (<i>m/z</i>)	Transitions (<i>m/z</i>) (collision energy (eV))		Reference
				Quantification	Confirmation	
Sulfadimethoxine	HPLC-MS/MS	ESI+	251	156 (17)	92 (17)	Iglesias et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	251.0	156.0 (28)	108.0 (28)	Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006
	HPLC-Orbitrap	ESI+	251.05972	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013
	UPLC-MS/MS	ESI+	251.0	156.0 (17)	92.0 (25)	Lopes et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	251	156 (19)	92 (35)	Salvia et al., 2012
	RRIC-MS/MS	ESI+	251.3	156.0 (9)	92.1 (25)	Yang et al., 2010; Zhou et al., 2012, 2013
	HPLC-MS/MS	ESI+	311.0	156.0 (-)	- (-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI+	311.1	156.2 (20)	245.3 (18)	Aguilera-Luiz et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	311	156 (30)	- (-)	Ben et al., 2008
	HPLC-MS/MS	ESI+	311	108 (25)	156 (25)	Carretero et al., 2008
	UPLC-MS/MS	ESI+	311	156 (22)	92 (22)	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	UPLC-MS/MS	ESI+	311.4	156.4 (20)	- (-)	Freitas et al., 2014
	HPLC-MS/MS	ESI+	311.2	156.1 (30)	108.0 (41)	Gao et al., 2012; Li et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	311.0	156.0 (50)	108.0 (50)	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	311	156 (29)	65 (79)	Gros et al., 2013
	UPLC-MS/MS	ESI+	311	156 (20)	92 (35)	Hong et al., 2015
HPLC-Orbitrap	ESI+	311.08085	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013	
UPLC-MS/MS	ESI+	311.1	156.2 (20)	245.3 (18)	Lopes et al., 2012	
HPLC-MS/MS	ESI+	311	156 (21)	92 (21)	Nebot et al., 2012	
HPLC-MS/MS	ESI+	311	156 (27)	92 (45)	Salvia et al., 2012	
RRIC-MS/MS	ESI+	311.3	156.0 (20)	92.1 (36)	Zhou et al., 2012, 2013	
HPLC-MS/MS	ESI+	279.0	156.0 (-)	- (-)	U. S. EPA, 2007	
HPLC-MS/MS	ESI+	279	204 (30)	- (-)	Ben et al., 2008	
UPLC-MS/MS	ESI+	279.4	156.3 (15)	- (-)	Freitas et al., 2014	
HPLC-MS/MS	ESI+	279.2	186.1 (25)	156.0 (27)	Gao et al., 2012; Li et al., 2012	
HPLC-MS/MS	ESI+	279.2	156.0 (50)	108.0 (50)	Gbylik-Sikorska et al., 2015	
UPLC-MS/MS	ESI+	279	186 (16)	156 (18)	Han et al., 2015	
UPLC-MS/MS	ESI+	279	186 (20)	156 (20)	Hong et al., 2015	
HPLC-MS/MS	ESI+	279	186 (19)	92 (19)	Iglesias et al., 2012	
HPLC-MS/MS	ESI+	279.0	186.0 (28)	156.0 (28)	Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006	
HPLC-Orbitrap	ESI+	279.09102	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013	
RRIC-MS/MS	ESI+	279.3	186.0 (13)	124.1 (21)	Yang et al., 2010	
RRIC-MS/MS	ESI+	279.3	124.1 (21)	156 (12)	Zhou et al., 2012, 2013	
Sulfamethazine						

Table 3. Comparison of mass spectrometric conditions for detection of the 16 selected antibiotics

Analyte	Detection method	Ionization mode	Precursor (m/z)	Transitions (m/z) (collision energy (eV))		Reference
				Quantification	Confirmation	
Sulfamethoxazole	HPLC-MS/MS	ESI+	254.0	156.0 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI+	254	156 (20)	- (-)	Ben et al., 2008
	UPLC-MS/MS	ESI+	268	156 (22)	92 (22)	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	UPLC-MS/MS	ESI+	254.4	156.4 (20)	- (-)	Freitas et al., 2014
	HPLC-MS/MS	ESI+	254.0	156.0 (23)	160.1 (27)	Gao et al., 2012; Li et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	254.0	107.8 (40)	155.9 (40)	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	254	156 (23)	92 (37)	Gros et al., 2013
	UPLC-MS/MS	ESI+	254	156 (16)	108 (24)	Han et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	254	156 (15)	92 (30)	Hong et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	254.0	188.1 (15)	156.0 (17)	Hou et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	254.1	156.0 (10)	92.1 (20)	Locatelli et al., 2011
	HPLC-MS/MS	ESI+	254	92 (35)	156 (35)	Nebot et al., 2012
	RRLC-MS/MS	ESI+	254.3	156.0 (13)	108.1 (21)	Yang et al., 2010; Zhou et al., 2012, 2013
	HPLC-MS/MS	ESI+	256.3	156.0 (-)	- (-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI+	256	156 (20)	- (-)	Ben et al., 2008
	Sulfathiazole	HPLC-MS/MS	ESI+	256	108 (20)	156 (20)
UPLC-MS/MS		ESI+	256	156 (22)	92 (22)	Dasenaki and Thomaidis, 2010
UPLC-MS/MS		ESI+	256.4	156.3 (15)	- (-)	Freitas et al., 2014
HPLC-MS/MS		ESI+	256.0	156.0 (21)	108.0 (36)	Gao et al., 2012; Li et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	256.0	156.0 (20)	108.0 (20)	Gbylik-Sikorska et al., 2015
UPLC-MS/MS		ESI+	256	156 (21)	92 (39)	Gros et al., 2013
UPLC-MS/MS		ESI+	256.2	156.1 (15)	92.2 (25)	Lopes et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	256	156 (19)	92 (35)	Salvia et al., 2012
RRLC-MS/MS		ESI+	256.3	92.1 (24)	108.1 (24)	Zhou et al., 2012, 2013
HPLC-MS/MS		ESI+	479.0	444.0 (-)	- (-)	U. S. EPA, 2007
HPLC-MS/MS		ESI+	479.3	444.3 (20)	462.3 (18)	Aguilera-Luiz et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	479	462 (20)	- (-)	Ben et al., 2008
HPLC-MS/MS		ESI+	479.2	444.1 (31)	462.1 (25)	Bohm et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	479	444 (20)	462 (20)	Carretero et al., 2008
UPLC-MS/MS		ESI+	479	154 (30)	462 (30)	Dasenaki and Thomaidis, 2010
Chlortetracycline		UPLC-MS/MS	ESI+	479.3	444.2 (20)	- (-)
	UPLC-MS/MS	ESI+	479.1	443.8 (30)	370.8 (20)	Gorissen et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	479	154 (19)	462 (27)	Han et al., 2015

Table 3. Comparison of mass spectrometric conditions for detection of the 16 selected antibiotics

Analyte	Detection method	Ionization mode	Precursor (<i>m/z</i>)	Transitions (<i>m/z</i>) (collision energy (eV))		Reference
				Quantification	Confirmation	
Doxycycline	UPLC-MS/MS	ESI+	479	462 (25)	444 (20)	Hong et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	479.2	444.0 (14)	462.2 (20)	Hou et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	479.0	444.2 (28)	462.0 (28)	Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006
	HPLC-Orbitrap	ESI+	479.12157	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013
	RRLC-MS/MS	ESI+	479.1	444 (17)	462 (17)	Zhou et al., 2012, 2013
	HPLC-MS/MS	ESI+	445.2	428.2 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI+	445.3	428.3 (18)	154.2 (28)	Aguilera-Luiz et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	445.3	428.2 (25)	154.2 (41)	Bohm et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	445.2	428.2 (24)	410.2 (36)	Boscher et al., 2010
	UPLC-MS/MS	ESI+	445	154 (30)	428 (30)	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	UPLC-MS/MS	ESI+	445.5	428.2 (18)	- (-)	Freitas et al., 2014
	UPLC-MS/MS	ESI+	445.3	427.9 (40)	320.9 (20)	Gorissen et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	445	154 (37)	429 (17)	Gros et al., 2013
	UPLC-MS/MS	ESI+	445	428 (19)	321 (30)	Han et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	445.2	219.2 (14)	341.2 (21)	Ho et al., 2012
	Oxytetracycline	UPLC-MS/MS	ESI+	445	428 (20)	44 (50)
UPLC-MS/MS		ESI+	445.2	410.2 (20)	428.2 (25)	Hou et al., 2015
HPLC-MS/MS		ESI+	445.0	428.0 (28)	410.2 (28)	Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006
HPLC-Orbitrap		ESI+	445.16054	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013
UPLC-MS/MS		ESI+	445.3	428.3 (18)	154.2 (28)	Lopes et al., 2012
RRLC-MS/MS		ESI+	445.2	428.1 (17)	154 (25)	Zhou et al., 2012, 2013
HPLC-MS/MS		ESI+	461.2	426.2 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
HPLC-MS/MS		ESI+	461.4	443.3 (13)	426.3 (10)	Aguilera-Luiz et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	461	443 (20)	- (-)	Ben et al., 2008
HPLC-MS/MS		ESI+	461.2	426.1 (27)	443.2 (19)	Bohm et al., 2012
HPLC-MS/MS		ESI+	461	426 (15)	444 (15)	Carretero et al., 2008
UPLC-MS/MS		ESI+	461	154 (30)	443 (30)	Dasenaki and Thomaidis, 2010
UPLC-MS/MS		ESI+	461.5	426.3 (20)	- (-)	Freitas et al., 2014
UPLC-MS/MS		ESI+	461	426 (29)	443 (19)	Gros et al., 2013
UPLC-MS/MS		ESI+	461	426 (20)	443 (15)	Hong et al., 2015
UPLC-MS/MS		ESI+	461.2	443.2 (14)	425.5 (19)	Hou et al., 2015
HPLC-MS/MS	ESI+	461.0	426.0 (28)	444.0 (28)	Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006	
HPLC-Orbitrap	ESI+	461.15546	- (-)	- (-)	Kaklamanos et al., 2013	

Table 3. Comparison of mass spectrometric conditions for detection of the 16 selected antibiotics

Analyte	Detection method	Ionization mode	Precursor (m/z)	Transitions (m/z) (collision energy (eV))		Reference
				Quantification	Confirmation	
Trimethoprim	UPLC-MS/MS	ESI+	461.4	443.3 (13)	426.3 (10)	Lopes et al., 2012
	RRIC-MS/MS	ESI+	461.2	426.1 (17)	201.1 (41)	Yang et al., 2010; Zhou et al., 2012, 2013
	HPLC-MS/MS	ESI+	291.0	230.0 (-)	(-)	U. S. EPA, 2007
	HPLC-MS/MS	ESI+	291.4	230.2 (25)	261.3 (25)	Aguilera-Luiz et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	291.2	230.2 (33)	261.2 (35)	Bohm et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	291.3	230.2 (31)	261.2 (33)	Boscher et al., 2010
	HPLC-MS/MS	ESI+	291	123 (25)	230 (25)	Carretero et al., 2008
	UPLC-MS/MS	ESI+	291	230 (25)	123 (25)	Gorissen et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	291	230 (33)	261 (35)	Gros et al., 2013
	UPLC-MS/MS	ESI+	291	230 (24)	261 (23)	Han et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	291.0	123.2 (35)	151.3 (32)	Ho et al., 2012
	UPLC-MS/MS	ESI+	291	230 (25)	123 (25)	Hong et al., 2015
	UPLC-MS/MS	ESI+	291.2	230.2 (25)	230.1 (24)	Hou et al., 2015
	HPLC-MS/MS	ESI+	291	230 (21)	123 (21)	Iglesias et al., 2012
	HPLC-MS/MS	ESI+	291.2	230.1 (15)	261.1 (35)	Locatelli et al., 2011
	UPLC-MS/MS	ESI+	291.4	261.3 (25)	230.2 (25)	Lopes et al., 2012
HPLC-MS/MS	ESI+	291	230 (21)	123 (21)	Nebot et al., 2012	
HPLC-MS/MS	ESI+	291	230 (31)	261 (37)	Salvia et al., 2012	
RRIC-MS/MS	ESI+	291.3	123.1 (25)	230.1 (21)	Zhou et al., 2013	

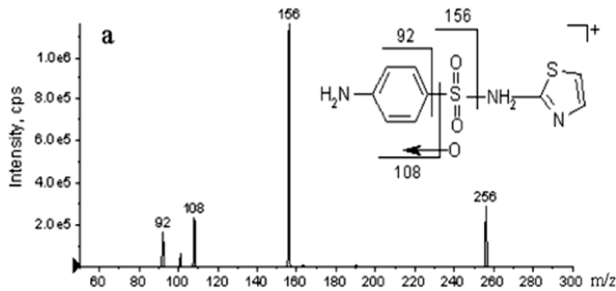


Fig. 2. Tandem mass spectrum of sulfathiazole and collision-induced dissociation mass fragmentation (Hao et al. (2006))

본의 설피아미드계열의 항생제는 $m/z = 156$ 의 이온을 정량이온으로 사용하는 것으로 나타났다. Fig. 2에서 분자량 256를 갖는 설피티아졸에 대한 전이체와 텐덤질량분석 스펙트럼(tandem mass spectrum)의 예를 보여준다.

5.3. 테트라사이클린계

본 연구에서 고려한 테트라사이클린계열의 항생제는 클로르테트라사이클린(chlortetracycline), 옥시테트라사이클린(oxytetracycline), 독시사이클린(doxycycline)이며 HPLC-MS/MS를 이용한 분석을 수행하고 있다. 설피아미드계열과 마찬가지로 360 nm(Yang et al., 2004), 280 nm(Babic et al., 2006) 파장에서 흡광도를 UV검출기로 측정하여 농도를 확인하기도 하였다. Positive 방식의 이온화 과정을 거쳐 $[M+H]^+$ 분자를 생성하며 NH_3 (atomic mass unit, amu: 17), H_2O (amu: 18) 또는 NH_3 와 H_2O 가 제거된 형태의 이온들 ($[M+H-NH_3]^+$, $[M+H-H_2O]^+$, $[M+H-NH_3-H_2O]^+$)이 주된 전이체로 검출되고 있다. Hao et al. (2006)은 27종의 항생제를 분석하였는데 본 연구에서 선정한 3종의 테트라사이클린계 항생제 모두 positive 방식에서 쉽게 이온화되는 것을 확인하였다.

6. Method Validation

본 연구에서는 개발된 분석 방법의 유효성을 평가하기 위해 제시된 검정선의 범위와 선형성, 회수율, 방법검출한계, 방법정량한계를 조사하였고(Table 4), EPA method 1694(U.S. EPA, 2007)에서 제시한 회수율과 검출한계를 비교하여 개발된 방법들의 특성을 확인하고자 하였다. 검정곡선의 범위는 0부터 수백~수십만 $\mu g/L$ (또는 $\mu g/kg$)까지 적용된 것으로 나타났다. 이는 대상 시료의 종류에 따라 다른데 상대적으로 예상되는 농도가 낮은 지표수를 시료로 하는 경우 1 $\mu g/L$ 이하의 농도에서 검량선을 작성하기도 하고(Iglesias et al., 2012; Pozo et al., 2006) 높은 잔류량이 예상되는 가축 배설물(excreta)이나 퇴비(manure)를 대상으로 하는 경우에는 5,000 $\mu g/kg$ (Gorissen et al., 2015; Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006) 또는 100,000 $\mu g/kg$ (Hou et al., 2015) 까지 검량선을 작성하는 것으로 나타났다. 직선성을 나타내는 r^2 값은 Lopes et al. (2012)와 Dasenaki and Thomaidis (2010)의 연구($r^2 > 0.98$)를 제외하

모든 연구에서 0.990 이상의 값을 갖는 것으로 나타났다.

EPA method 1694는 시료의 상에 따라 회수율을 제시하였고 17.1~214.04% 범위를 갖는 것으로 나타났다. 페니실린 G, 링크마이신, 타이로신 등이 상대적으로 높거나 낮은 회수율을 나타내고 있으며 플로로퀴놀론계열, 설피아미드계열, 테트라사이클린계열의 항생제들은 59.1~158.5%(평균 101.4%)로 유효한 범위의 회수율을 나타내고 있다. 특히 링크마이신의 경우 물, 고체, 바이오고체의 회수율을 각각 17.1, 55.95, 198.99%로 보고하고 있는데 이는 다른 문헌에서 보고하는 63~137%에 비해 매우 낮은 값이다. LC-MS/MS분석 방법에서는 시료의 전처리 효율이 회수율을 결정하는 주요한 인자로 작용하며 상대적으로 매질이 깨끗한 물 시료에서 높은 회수율을 나타낼 것이라 예상되나 전처리 조건에 따라 고체 시료에서 높은 회수율을 나타내는 경우도 다수 보고되고 있다(Table 4). 이는 다양한 항생제의 화학적 특성에 기인한 것으로 조사된 문헌이 다 계열의 항생제를 대상으로 하는 전처리 방법을 개발하고 있고 모든 물질에 최적화된 전처리 방법을 도출하기 어렵기 때문이다. 따라서 다양한 화학적 특성을 갖는 다 계열의 항생제를 대상으로 하는 분석법의 개발을 위해서는 충분한 회수율을 얻을 수 있는 대상물질의 범위를 결정하는 것이 매우 중요할 것이다.

분석방법의 감도를 평가하기 위해서 MDL과 MQL을 측정하여 제시한다. MDL과 MQL은 일반적으로 신호 대 잡음비(signal-to-noise ratio: S/N)를 계산하여 결정하며 3이 되는 농도를 검출한계(limit of detection, LOD), 10이 되는 농도를 정량한계(limit of quantification, LOQ)로 나타낸다. EPA method는 물 시료의 MDL을 0.1~13 ng/L로, 고체 시료의 MDL을 0.55~13 $\mu g/kg$ 으로 제시하고 있어 각각 ppt수준, ppb수준 까지 검출이 가능한 것으로 나타났다. 조사된 문헌들에서도 물 시료는 ppt수준 까지, 고체 시료는 ppb 수준 까지 잔류 항생제를 검출할 수 있는 것으로 나타나 환경시료 중에 미량으로 존재하는 잔류 항생제를 검출하는데 적용이 가능한 방법이라 할 수 있다.

결정한계와 탐지역량은 유럽연합에서 도입한 것으로(EU Commission, 2002) 사람이 먹는 식·가공품에 잔류하는 항생제를 측정하는 분석방법을 검증하기 위한 기준 중 하나로 사용된다. 일반적으로 최대잔류기준(maximum residue limit: MRL)이 도입된 항생제에 대한 분석방법의 검증기준으로 사용되는데 아미노글리코사이드계열의 항생제에 대한 분석방법을 제시한 대부분의 문헌에서 사용하는 것으로 보고되고 있다. 본 연구에서 검토한 문헌 중 Bohm et al. (2012), Freitas et al. (2014), Nebot et al. (2012)은 결정한계와 탐지역량을 계산하여 보고하였는데, 언급된 연구들은 유럽에서 진행되었고 꿀, 소고기, 우유를 시료로 사용하고 있어 EU에서 설정한 MRL이 존재하기 때문인 것으로 판단된다.

7. Conclusions

본 연구는 선행 연구를 통해 선정된 36종의 동물용 항생제 중 미국 EPA method 1694 대상 16종의 항생제를 선정

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r ₂	Recovery (%)	MDL	MQL	Reference
Ampicillin	Water	1.25~200 µg/L	-	-	-	5 ng/L	U. S. EPA, 2007
	Solid Biosolid					5 µg/kg 5 µg/kg	
	Bovine muscle	25~150 µg/kg	-	97	61 µg/kg ^a	73 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	105.7	0.02 µg/L	0.05 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	SW	20~50 µg/L	0.9933	108	0.83 ng/L	2.76 ng/L	Gros et al., 2013
	WWE			80	3.08 ng/L	10.28 ng/L	
	Milk	0.1~2.5 µg/kg	0.9992	78~85	0.1 µg/kg	0.3 µg/kg	Han et al., 2015
	SW	0.13~1000 ng/L	0.9986	47.6~54.6	0.14 ng/L	0.45 ng/L	Locatelli et al., 2011
	Fish	10~150 µg/kg	> 0.98	93~118	3.0 µg/kg	10.0 µg/kg	Lopes et al., 2012
	GW	0.005~0.5 µg/L	> 0.99	57~61	0.5 ng/L	-	Pozo et al., 2006
	SW			34~39			
	Milk	25~100 µg/L	> 0.99	64~76	1 ng/L	2.5 ng/L	Tang et al., 2012
	Water			58.83	2.4 ng/L	10.0 ng/L	
	Solid Biosolid	2.5~500 µg/L	-	214.04	13 µg/kg	50 µg/kg	U. S. EPA, 2007
Animal feeds	0~40 µg/L	0.996	99.09	13 µg/kg	50 µg/kg		
Penicillin G	Bovine muscle	25~150 µg/kg	-	83~109	-	12.3 µg/kg	Boscher et al., 2010
	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	94	69 µg/kg ^a	87 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	SW	20~50 µg/L	0.9937	97.1	3.72 µg/L	10 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	WWE			50	4.00 ng/L	13.32 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.3~3 µg/kg	0.9895	30	3.48 ng/L	11.62 ng/L	
	WWI	1~1000 µg/L	0.999	68~73	0.3 µg/kg	0.6 µg/kg	Han et al., 2015
	Fish	10~150 µg/kg	> 0.98	56~74	13 ng/L	-	Hong et al., 2015
	GW	0.005~0.5 µg/L	> 0.99	74~100	7.5 µg/kg	25.0 µg/kg	Lopes et al., 2012
	SW			103~117	1.1 ng/L	-	Pozo et al., 2006
	Agricultural soil	0.5~500 µg/kg	0.998	108~117	0.220 µg/kg	0.73 µg/kg	Salvia et al., 2012
	Water			29~51	0.8 ng/L	10 ng/L	
	Solid Biosolid	2.5~500 µg/L	-	17.7	4.7 µg/kg	10 µg/kg	U. S. EPA, 2007
	Honey	0~50 µg/kg	-	55.95	4.7 µg/kg	10 µg/kg	
	Animal feeds	0~40 µg/L	0.997	198.99	4.7 µg/kg	10 µg/kg	Bohm et al., 2012
Meat	10~1000 ng/g	0.998	93	8.7 µg/kg ^a	11.7 µg/kg ^b	Boscher et al., 2010	
			90~101	-	3.8 µg/kg	Carretero et al., 2008	
			86	3 µg/kg	10 µg/kg		

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r ₂	Recovery (%)	MDL	MQL	Reference
Tylosin	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	98.9	0.01 µg/L	0.02 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	SW WWE	20~50 µg/L	0.9995	82 63	6.04 ng/L 11.24 ng/L	20.15 ng/L 37.47 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.01~2 µg/kg	0.9968	88~103	0.01 µg/kg	0.03 µg/kg	Han et al., 2015
	WWI	1~1000 µg/L	0.998	81~83	7.4 ng/L	-	Hong et al., 2015
	Animal feeds	10~1000 µg/kg	0.9992	90.9~110.6	10 µg/kg	25 µg/kg	Kaklamanos et al., 2013
	Milk	25~100 µg/L	> 0.99	84~104	0.1 ng/L	0.25 ng/L	Tang et al., 2012
	SW Manure	5~200 µg/L	> 0.995	124~137 63~117	1.01 ng/L 4.10 µg/kg	3.37 ng/L 13.7 µg/kg	Zhou et al., 2012
	Water Solid Biosolid	5~1000 µg/L	-	103.48 60.99 47.80	13 ng/L 8.1 µg/kg 8.1 µg/kg	50 ng/L 50 µg/kg 50 µg/kg	U. S. EPA, 2007
	MBF PMIF	5~100 µg/kg	> 0.990	95.5~122.4 117.3~134.6	5.0 µg/kg 1.0 µg/kg	15.0 µg/kg 3.3 µg/kg	Aguilera-Luiz et al., 2012
	Honey	0~50 µg/kg	-	106	7.5 µg/kg ^a	9.4 µg/kg ^b	Bohm et al., 2012
	Animal feeds	0~40 µg/L	0.998	73~91	-	5.1 µg/kg	Boscher et al., 2010
	Meat	10~1000 ng/g	0.997	89	3 µg/kg	5 µg/kg	Carretero et al., 2008
	Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	116	116 µg/kg ^a	133 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	Sludge	0.05~500 µg/L	0.9924	89.7	0.1 µg/kg	-	Gao et al., 2012
	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	91.4	0.01 µg/L	0.02 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	SW WWE	20~50 µg/L	0.9986	70 142	2.37 ng/L 28.11 ng/L	7.9 ng/L 93.69 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.03~2 µg/kg	0.9897	85~106	0.03 µg/kg	0.05 µg/kg	Han et al., 2015
	Agricultural soil Manure	2.5~500 µg/L	0.9992	103 89	3 µg/kg 1 µg/kg	9 µg/kg 4 µg/kg	Ho et al., 2012
	WWI	1~1000 µg/L	0.999	84~87	1.3 ng/L	-	Hong et al., 2015
	Manure Agricultural soil	1.0~100000 µg/kg	> 0.99	42~56 47~56	0.5 µg/kg 0.5 µg/kg	1.7 µg/kg 1.7 µg/kg	Hou et al., 2015
Manure	20~2500 µg/kg	-	91.3~34.9	26.9 µg/kg	89.6 µg/kg	Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006	
Animal feeds	25~200 µg/kg	0.9949	112.4~114.5	10 µg/kg	25 µg/kg	Kaklamanos et al., 2013	
SW	0.05~200 µg/L	0.9934	90.0	0.05 ng/L	-	Li et al., 2012	
Agricultural soil	0.1~125 µg/kg	0.998	17~26	0.100 µg/kg	0.350 µg/kg	Salvia et al., 2012	

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r_2	Recovery (%)	MDL	MQL	Reference
Enrofloxacin	Milk	25~100 $\mu\text{g/L}$	> 0.99	90~97	2.5 ng/L	5 ng/L	Tang et al., 2012
	SW Manure	5~200 $\mu\text{g/L}$	> 0.995	97~119 97~137	0.51 ng/L 0.52 $\mu\text{g/kg}$	1.71 ng/L 1.72 $\mu\text{g/kg}$	Zhou et al., 2012
	Water Solid Biosolid	2.5~500 $\mu\text{g/L}$	-	96.37 97.44 108.72	5.2 ng/L 3.1 $\mu\text{g/kg}$ 3.1 $\mu\text{g/kg}$	10 ng/L 10 $\mu\text{g/kg}$ 10 $\mu\text{g/kg}$	U. S. EPA, 2007
	Honey	0~50 $\mu\text{g/kg}$	-	98	8.8 $\mu\text{g/kg}^a$	11.8 $\mu\text{g/kg}^b$	Bohm et al., 2012
	Animal feeds	0~40 $\mu\text{g/L}$	0.996	59~66	-	4.4 $\mu\text{g/kg}$	Boscher et al., 2010
	Meat	15~1000 ng/g	0.993	86	3 $\mu\text{g/kg}$	10 $\mu\text{g/kg}$	Carretero et al., 2008
	Bovine muscle	50~300 $\mu\text{g/kg}$	-	98	0.04 $\mu\text{g/kg}^a$	0.06 $\mu\text{g/kg}^b$	Freitas et al., 2014
	Sludge	0.05~500 $\mu\text{g/L}$	0.9975	84.4	0.2 $\mu\text{g/kg}$	-	Gao et al., 2012
	AFW	0.02~1000 $\mu\text{g/L}$	> 0.99	89.5	0.01 $\mu\text{g/L}$	0.02 $\mu\text{g/L}$	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	Poultry excreta	50~5000 $\mu\text{g/kg}$	0.995	90~105	7.76 $\mu\text{g/kg}$	50 $\mu\text{g/kg}$	Gorissen et al., 2015
	SW WWE	20~50 $\mu\text{g/L}$	0.9978	85 133	0.54 ng/L 7.73 ng/L	1.81 ng/L 25.76 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.1~2.5 $\mu\text{g/kg}$	0.9946	92~104	0.1 $\mu\text{g/kg}$	0.3 $\mu\text{g/kg}$	Han et al., 2015
	Agricultural soil Manure	0.1~500	0.9997	102 113	3 $\mu\text{g/kg}$ 4 $\mu\text{g/kg}$	9 $\mu\text{g/kg}$ 14 $\mu\text{g/kg}$	Ho et al., 2012
	WWI	1~1000 $\mu\text{g/L}$	1.000	62~88	6.1 ng/L	-	Hong et al., 2015
	Manure Agricultural soil	1.0~100000 $\mu\text{g/kg}$	> 0.99	60~65 61~65	0.8 $\mu\text{g/kg}$ 0.8 $\mu\text{g/kg}$	2.6 $\mu\text{g/kg}$ 2.6 $\mu\text{g/kg}$	Hou et al., 2015
	SW	0.006~0.25 $\mu\text{g/L}$	0.995	82~113	12.5 ng/L	-	Iglesias et al., 2012
	Animal feeds	25~1000 $\mu\text{g/kg}$	0.9981	104.9~106.1	10 $\mu\text{g/kg}$	25 $\mu\text{g/kg}$	Kaklamanos et al., 2013
SW	0.05~500 $\mu\text{g/L}$	0.9990	97.4	0.1 ng/L	-	Li et al., 2012	
Fish	10~150 $\mu\text{g/kg}$	> 0.98	81~112	3.0 $\mu\text{g/kg}$	10.0 $\mu\text{g/kg}$	Lopes et al., 2012	
Milk	0~250 $\mu\text{g/L}$	0.991	-	6.3 ng/ml ^a	10.7 ng/ml ^b	Nebot et al., 2012	
GW SW	0.005~0.5 $\mu\text{g/L}$	> 0.99	94~110 98~107	1.4 ng/L	-	Pozo et al., 2006	
SW Manure	5~200 $\mu\text{g/L}$	> 0.995	221~292 153~218	0.39 ng/L 0.66 $\mu\text{g/kg}$	1.29 ng/L 2.19 $\mu\text{g/kg}$	Zhou et al., 2012	
Water	1.25~250 $\mu\text{g/L}$	-	91.15	2.7 ng/L	5 ng/L	U. S. EPA, 2007	

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r ₂	Recovery (%)	MDL	MQL	Reference
Sulfachloropyridazine	Solid Biosolid			151.31 92.35	1.4 µg/kg 1.4 µg/kg	5 µg/kg 5 µg/kg	
	MBF PMIF	5~100 µg/kg	> 0.990	52.7~71.7 60.2~70.7	0.1 µg/kg 1.0 µg/kg	0.3 µg/kg 3.3 µg/kg	Aguilera-Luiz et al., 2012
	Honey	0~50 µg/kg	-	97	7.9 µg/kg ^a	10.2 µg/kg ^b	Bohm et al., 2012
	Animal feeds	0~40 µg/L	0.998	56~81	-	7.5 µg/kg	Boscher et al., 2010
	Meat	25~1000 ng/g	0.999	94	5 µg/kg	25 µg/kg	Carretero et al., 2008
	Bovine muscle	100~600 µg/kg	-	104	214 µg/kg ^a	229 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	101.7	0.01 µg/L	0.02 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	Poultry excreta	50~5000 µg/kg	0.998	90~108	1.84 µg/kg	50 µg/kg	Gorissen et al., 2015
	SW WWE	20~50 µg/L	0.9983	119 119	0.73 ng/L 3.17 ng/L	2.44 ng/L 10.58 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.01~2 µg/kg	0.9974	84~99	0.01 µg/kg	0.03 µg/kg	Han et al., 2015
	Agricultural soil Manure	0.1~500 µg/L	0.9999	92 99	1 µg/kg 2 µg/kg	4 µg/kg 6 µg/kg	Ho et al., 2012
	WWI	1~1000 µg/L	1.000	101~108	1.7 ng/L	-	Hong et al., 2015
	Fish	10~150 µg/kg	> 0.98	88~111	7.5 µg/kg	25.0 µg/kg	Lopes et al., 2012
	GW SW	0.005~0.5 µg/L	> 0.99	98~100 100~103	0.8 ng/L	-	Pozo et al., 2006
	Water Solid Biosolid	1.25~250 µg/L		115.36 158.30 90.24	1.2 ng/L 1.9 µg/kg 1.9 µg/kg	5 ng/L 5 µg/kg 5 µg/kg	U. S. EPA, 2007
	MBF PMIF	5~100 µg/kg	> 0.990	109.3~120.5 74.4~120.9	0.2 µg/kg 0.2 µg/kg	0.7 µg/kg 0.7 µg/kg	Aguilera-Luiz et al., 2012
	Fish	20~50 µg/kg	> 0.98	50	15.6 µg/kg	47.3 µg/kg	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	103	104 µg/kg ^a	108 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	Poultry excreta	50~5000 µg/kg	0.998	90~99	9.22 µg/kg	50 µg/kg	Gorissen et al., 2015
	Milk	0.03~2 µg/kg	0.9954	78~96	0.03 µg/kg	0.05 µg/kg	Han et al., 2015
WWI	1~1000 µg/L	0.997	72~75	0.9 ng/L	-	Hong et al., 2015	
Manure Agricultural soil	1.0~100000 µg/kg	> 0.99	71~79 83~90	0.1 µg/kg 0.1 µg/kg	0.3 µg/kg 0.3 µg/kg	Hou et al., 2015	
SW	0.006~0.25 µg/L	0.995	73~133	5.3 ng/L	-	Iglesias et al., 2012	

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r ₂	Recovery (%)	MDL	SQL	Reference	
Sulfadiazine	Animal feeds	50~1000 µg/kg	0.9975	63.0~95.0	-	25 µg/kg	Kaklamanos et al., 2013	
	Fish	10~150 µg/kg	> 0.98	92~96	3.0 µg/kg	10.0 µg/kg	Lopes et al., 2012	
	Water	1.25~250 µg/L	-	80.11	92.0~101.3	0.4 ng/L	5 ng/L	U. S. EPA, 2007
				158.51		10 µg/kg		
	Biosolid			107.55		2.7 µg/kg	10 µg/kg	
	MBF	5~100 µg/kg	> 0.990	70.2~90.8	0.2 µg/kg	0.7 µg/kg	Aguilera-Luiz et al., 2012	
					0.5 µg/kg	1.7 µg/kg		
	Meat	10~1000 µg/kg	0.998	98	3 µg/kg	10 µg/kg	Carretero et al., 2008	
	Fish	20~150 µg/kg	> 0.98	75.3	22.2 µg/kg	67.2 µg/kg	Dasenaki and Thomaidis, 2010	
	Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	93	113 µg/kg ^a	125 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014	
	Sludge	0.1~500 µg/L	0.9969	206.6	0.3 µg/kg	-	Gao et al., 2012	
	Poultry excreta	50~5000 µg/kg	0.996	90~92	7.93 µg/kg	50 µg/kg	Gorissen et al., 2015	
	SW	20~50 µg/L	0.9997	50	3.35 ng/L	11.16 ng/L	Gros et al., 2013	
				64	11.14 ng/L	37.13 ng/L		
	Milk	0.03~2 µg/kg	0.9945	71~97	0.03 µg/kg	0.05 µg/kg	Han et al., 2015	
	Agricultural soil	0.1~500 µg/L	0.9998	72	2 µg/kg	7 µg/kg	Ho et al., 2012	
				63	1 µg/kg	3 µg/kg		
	WWI	1~1000 µg/L	0.992	70~74	1.1 ng/L	-	Hong et al., 2015	
	Manure	1.0~100000 µg/kg	> 0.99	71~80	0.8 µg/kg	2.6 µg/kg	Hou et al., 2015	
				70~81	0.8 µg/kg	2.6 µg/kg		
SW	0.006~0.25 µg/L	0.992	75~123	15.8 ng/L	-	Iglesias et al., 2012		
Manure	20~2500 µg/kg	-	58.5~84.6	8.7 µg/kg	28.9 µg/kg	Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006		
Animal feeds	10~1000 µg/kg	0.9919	73.9~84.1	10 µg/kg	25 µg/kg	Kaklamanos et al., 2013		
SW	0.05~500 µg/L	0.9986	101	0.05 ng/L	-	Li et al., 2012		
Fish	10~150 µg/kg	> 0.98	77~103	3.0 µg/kg	10.0 µg/kg	Lopes et al., 2012		
Agricultural soil	0.05~1000 µg/kg	0.997	55~84	0.02 µg/kg	0.055 µg/kg	Salvia et al., 2012		
Sediment of river	10~100 µg/kg	0.9976	110~123	1.15 µg/kg	3.82 µg/kg	Yang et al., 2010		
SW	5~200 µg/L	> 0.995	96~107	0.39 ng/L	1.29 ng/L	Zhou et al., 2012		
			55~97	0.45 µg/kg	1.50 µg/kg			
Water	0.25~50 µg/L	-	87.00	0.1 ng/L	1 ng/L	U. S. EPA, 2007		
			78.65	0.55 µg/kg	2 µg/kg			
			67.87	0.55 µg/kg	2 µg/kg			
Biosolid								

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r ₂	Recovery (%)	MDL	MQL	Reference
Sulfamethazine	MBF	5~100 µg/kg	> 0.990	95.7~119.5	0.2 µg/kg	0.7 µg/kg	Aguilera-Luiz et al., 2012
	PMIF			110.2~119.0	0.5 µg/kg	0.7 µg/kg	
	SWW	0.5~25 µg/L	0.9995	95~100	10 ng/L	-	Ben et al., 2008
	Meat	10~1000 ng/g	0.998	86	3 µg/kg	10 µg/kg	Carretero et al., 2008
	Fish	20~150 µg/kg	> 0.98	60.3	8.26 µg/kg	25.0 µg/kg	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	93	107 µg/kg ^a	114 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	Sludge	0.01~500 µg/L	0.9992	59.6	0.02 µg/kg	-	Gao et al., 2012
	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	98.9	0.01 µg/L	0.02 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	SW	20~50 µg/L	0.9951	50	0.41 ng/L	1.38 ng/L	Gros et al., 2013
	WWE			81	9.67 ng/L	32.24 ng/L	
	WWI	1~1000 µg/L	0.999	76~80	1.9 ng/L	-	Hong et al., 2015
	Animal feeds	25~1000 µg/kg	0.9943	90.9~101.7	10 µg/kg	25 µg/kg	Kaklamanos et al., 2013
	SW	0.01~500 µg/L	0.9996	121.0	0.01 ng/L	-	Li et al., 2012
	Fish	10~150 µg/kg	> 0.98	76~108	7.5 µg/kg	25.0 µg/kg	Lopes et al., 2012
	Milk	0~500 µg/L	0.994	-	13.4 ng/ml	22.8 ng/ml ^b	Nebot et al., 2012
	Agricultural soil	0.01~500 µg/kg	0.991	53~107	0.009 µg/kg	0.026 µg/kg	Salvia et al., 2012
	SW	5~200 µg/L	> 0.995	71~79	0.56 ng/L	1.87 ng/L	Zhou et al., 2012
	Manure			64~81	0.55 µg/kg	1.83 µg/kg	
	Water	0.5~100 µg/L	-	100.67	0.6 ng/L	2.00 ng/L	U. S. EPA, 2007
	Solid			119.60	0.83 µg/kg	5 µg/kg	
Biosolid			103.35	0.83 µg/kg	5 µg/kg		
SWW	0.5~25 µg/L	0.9996	101~105	18 ng/L	-	Ben et al., 2008	
Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	100	105 µg/kg ^a	110 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014	
Sludge	0.01~40 µg/L	0.9984	106.1	0.04 µg/kg	-	Gao et al., 2012	
AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	106.9	0.01 µg/L	0.02 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015	
Milk	0.03~2 µg/kg	0.9957	81~98	0.03 µg/kg	0.05 µg/kg	Han et al., 2015	
WWI	1~1000 µg/L	0.993	95~117	2.6 ng/L	-	Hong et al., 2015	
SW	0.006~0.25 µg/L	0.992	80~126	17.0 ng/L	-	Iglesias et al., 2012	
Manure	20~2500 µg/kg	-	84.1~108.6	8.2 µg/kg	27.3 µg/kg	Jacobsen and Halling-Sorensen, 2006	
Animal feeds	25~500 µg/kg	0.9973	82.4~92.4	10 µg/kg	25 µg/kg	Kaklamanos et al., 2013	
SW	0.01~500 µg/L	0.9993	102.0	0.02 ng/L	-	Li et al., 2012	
Sediment of river	10~100 µg/kg	0.9989	66.3~84.1	0.51 µg/kg	1.69 µg/kg	Yang et al., 2010	

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r ₂	Recovery (%)	MDL	MQL	Reference
Sulfamethoxazole	SW Manure	5~200 µg/L	> 0.995	87~99 58~83	0.31 ng/L 0.46 µg/kg	1.03 ng/L 1.53 µg/kg	Zhou et al., 2012
	Water Solid Biosolid	0.5~100 µg/L	-	88.17 103.21 102.56	0.4 ng/L 1.2 µg/kg 1.2 µg/kg	2 ng/L 5 µg/kg 5 µg/kg	U. S. EPA, 2007
	SWW	0.5~25 µg/L	0.9998	113~122	21 ng/L	-	Ben et al., 2008
	Fish	20~150 µg/kg	> 0.98	90	7.42 µg/kg	22.5 µg/kg	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	108	108 µg/kg ^a	117 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	Sludge	0.1~500 µg/L	0.9993	92.2	0.3 µg/kg	-	Gao et al., 2012
	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	102.1	0.01 µg/L	0.02 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	SW WWE	20~50 µg/L	1.000	89 63	1.39 ng/L 4.78 ng/L	26.88 ng/L 12.60 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.01~2 µg/kg	0.9993	71~84	0.01 µg/kg	0.03 µg/kg	Han et al., 2015
	WWI	1~1000 µg/L	0.999	67~74	3.8 ng/L	-	Hong et al., 2015
	Manure Agricultural soil	1.0~100000 µg/kg	> 0.99	66~71 68~72	0.5 µg/kg 0.3 µg/kg	1.7 µg/kg 1.0 µg/kg	Hou et al., 2015
	Animal feeds	25~1000 µg/kg	0.9978	76.1~96.7	-	50 µg/kg	Kaklamanos et al., 2013
	SW	0.1~500 µg/L	0.9991	101.0	0.15 ng/L	-	Li et al., 2012
	SW	0.13~1000 ng/L	0.9987	66.3~69.4	0.24 ng/L	0.78 ng/L	Locatelli et al., 2011
	Milk	0~500 µg/L	0.995	-	14.7 ng/ml ^a	25.0 ng/ml ^b	Nebot et al., 2012
	Sediment of river	10~100 µg/kg	0.9978	69.1~76.9	0.58 µg/kg	1.94 µg/kg	Yang et al., 2010
	SW Manure	5~200 µg/L	> 0.995	65~86 70~88	0.29 ng/L 0.49 µg/kg	0.96 ng/L 1.63 µg/kg	Zhou et al., 2012
Water Solid Biosolid	1.25~250 µg/L	-	76.73 59.06 92.10	0.5 ng/L 1.9 µg/kg 1.9 µg/kg	5 ng/L 50 µg/kg 50 µg/kg	U. S. EPA, 2007	
SWW	0.5~25 µg/L	0.9988	76~79	15 ng/L	-	Ben et al., 2008	
Meat	10~1000 ng/g	0.998	84	3 µg/kg	10 µg/kg	Carretero et al., 2008	
Fish	20~150 µg/kg	> 0.98	95.3	13.0 µg/kg	39.4 µg/kg	Dasenaki and Thomaidis, 2010	
Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	105	107 µg/kg ^a	115 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014	
Sludge	0.01~500 µg/L	0.9958	174	0.03 µg/kg	-	Gao et al., 2012	
AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	105.1	0.02 µg/L	0.02 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015	
SW	20~50 µg/L	0.9999	70	2.03 ng/L	6.7 ng/L	Gros et al., 2013	
Sulfathiazole	SWW	0.5~25 µg/L	0.9988	76~79	15 ng/L	-	Ben et al., 2008
	Meat	10~1000 ng/g	0.998	84	3 µg/kg	10 µg/kg	Carretero et al., 2008
	Fish	20~150 µg/kg	> 0.98	95.3	13.0 µg/kg	39.4 µg/kg	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	105	107 µg/kg ^a	115 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	Sludge	0.01~500 µg/L	0.9958	174	0.03 µg/kg	-	Gao et al., 2012
	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	105.1	0.02 µg/L	0.02 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	SW	20~50 µg/L	0.9999	70	2.03 ng/L	6.7 ng/L	Gros et al., 2013

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r ₂	Recovery (%)	MDL	MDL	MDL	Reference
Chlortetracycline	WWE			50	6.80 ng/L		22.68 ng/L	
	WWI	1~1000 µg/L	0.991	79~95	1.2 ng/L		-	Hong et al., 2015
	Animal feeds	25~1000 µg/kg	0.9989	85.5~77.8	-		25 µg/kg	Kaklamano et al., 2013
	SW	0.01~500 µg/L	0.9974	84.2	0.02 ng/L		-	Li et al., 2012
	Fish	82~96 µg/kg	> 0.98	71~109	3.0 µg/kg		10.0 µg/kg	Lopes et al., 2012
	Agricultural soil	0.01~1000 µg/kg	0.993	45~76	0.011 µg/kg		0.036 µg/kg	Salvia et al., 2012
	SW Manure	5~200 µg/L	> 0.995	121~132 85~110	0.26 ng/L 0.40 µg/kg		0.88 ng/L 1.33 µg/kg	Zhou et al., 2012
	Water Solid Biosolid	5~150 µg/L	-	95.24 121.24 114.43	1.20 ng/L 2.3 µg/kg 2.3 µg/kg		20 ng/L 20 µg/kg 20 µg/kg	U. S. EPA, 2007
	SWW	0.5~25 µg/L	0.9993	95~101	61 ng/L		-	Ben et al., 2008
	Honey	0~50 µg/kg	-	94	8.2 µg/kg ^a		10.8 µg/kg ^b	Bohm et al., 2012
	Meat	10~1000 ng/g	0.992	86	3 µg/kg		10 µg/kg	Carretero et al., 2008
	Fish	20~150 µg/kg	> 0.98	81.4	14.7 µg/kg		44.6 µg/kg	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	Bovine muscle	50~300 µg/kg	-	100	121 µg/kg ^a		143 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	AFW	0.02~1000 µg/L	> 0.99	98.8	0.02 µg/L		0.05 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	Poultry excreta	50~5000 µg/kg	0.995	89~94	3.17 µg/kg		50 µg/kg	Gorissen et al., 2015
	SW WWE	20~50 µg/L	0.9942	108 98	11.20 ng/L 13.77 ng/L		37.35 ng/L 45.90 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.3~3 µg/kg	0.9916	76~83	0.3 µg/kg		0.6 µg/kg	Han et al., 2015
	WWI	1~1000 µg/L	1.000	51~73	5.8 ng/L		-	Hong et al., 2015
	Manure Agricultural soil	1.0~100000 µg/kg	> 0.99	65~73 71~79	0.8 µg/kg 0.5 µg/kg		2.6 µg/kg 1.7 µg/kg	Hou et al., 2015
	Manure	20~5000 µg/kg	-	75.6~228	14.8 µg/kg		49.0 µg/kg	Jacobsen and Hailing-Sorensen, 2006
Animal feeds	50~1000 µg/kg	0.9986	117.0~96.9	-		50 µg/kg	Kaklamano et al., 2013	
Fish	10~150 µg/kg	> 0.98	97~125	7.5 µg/kg		25.0 µg/kg	Lopes et al., 2012	
SW Manure	5~200 µg/L	> 0.995	113~118 80~124	0.88 ng/L 2.49 µg/kg		2.94 ng/L 8.31 µg/kg	Zhou et al., 2012	
Water Solid Biosolid	5~150 µg/L	-	119.65 67.83 87.03	2.8 ng/L 2.3 µg/kg 2.3 µg/kg		20 ng/L 20 µg/kg 20 µg/kg	U. S. EPA, 2007	
Honey	0~50 µg/kg	-	93	8.6 µg/kg ^a		11.3 µg/kg ^b	Bohm et al., 2012	

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r_2	Recovery (%)	MDL	SQL	Reference
Oxytetracycline	Animal feeds	0~40 $\mu\text{g/L}$	0.994	33~63	-	8.8 $\mu\text{g/kg}$	Boscher et al., 2010
	Fish	20~150 $\mu\text{g/kg}$	> 0.98	44.5	15.4 $\mu\text{g/kg}$	46.5 $\mu\text{g/kg}$	Dasenaki and Thomaidis, 2010
	Bovine muscle	50~300 $\mu\text{g/kg}$	-	103	123 $\mu\text{g/kg}^a$	147 $\mu\text{g/kg}^b$	Freitas et al., 2014
	AFW	0.02~1000 $\mu\text{g/L}$	> 0.99	95.8	0.02 $\mu\text{g/L}$	0.05 $\mu\text{g/L}$	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	Poultry excreta	50~5000 $\mu\text{g/kg}$	0.999	100~102	2.19 $\mu\text{g/kg}$	50 $\mu\text{g/kg}$	Gorissen et al., 2015
	SW	20~50 $\mu\text{g/L}$	0.9962	76	11.23 ng/L	37.43 ng/L	Gros et al., 2013
	WWE	20~50 $\mu\text{g/L}$	0.9962	125	77.49 ng/L	258.29 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.3~3 $\mu\text{g/kg}$	0.9993	95~116	0.3 $\mu\text{g/kg}$	0.6 $\mu\text{g/kg}$	Han et al., 2015
	Agricultural soil	0.5~500 $\mu\text{g/L}$	0.9997	98	1 $\mu\text{g/kg}$	4 $\mu\text{g/kg}$	Ho et al., 2012
	Manure	1~1000 $\mu\text{g/L}$	0.999	76	4 $\mu\text{g/kg}$	14 $\mu\text{g/kg}$	Ho et al., 2012
	WWI	1~1000 $\mu\text{g/L}$	0.999	54~68	5.7 ng/L	-	Hong et al., 2015
	Manure	1.0~100000 $\mu\text{g/kg}$	> 0.99	59~65	1.0 $\mu\text{g/kg}$	3.3 $\mu\text{g/kg}$	Hou et al., 2015
	Agricultural soil	20~5000 $\mu\text{g/kg}$	-	60~68	1.0 $\mu\text{g/kg}$	3.3 $\mu\text{g/kg}$	Hou et al., 2015
	Manure	20~5000 $\mu\text{g/kg}$	-	97.6~137.8	15.3 $\mu\text{g/kg}$	51.0 $\mu\text{g/kg}$	Jacobsen and Halting-Sorensen, 2006
	Animal feeds	50~500 $\mu\text{g/kg}$	0.9942	72.5~88.1	-	50 $\mu\text{g/kg}$	Kaklamanos et al., 2013
	Fish	10~150 $\mu\text{g/kg}$	> 0.98	85~94	7.5 $\mu\text{g/kg}$	25.0 $\mu\text{g/kg}$	Lopes et al., 2012
	SW	5~200 $\mu\text{g/L}$	> 0.995	124~141	1.33 ng/L	4.43 ng/L	Zhou et al., 2012
	Manure	5~200 $\mu\text{g/L}$	> 0.995	108~138	2.79 $\mu\text{g/kg}$	9.30 $\mu\text{g/kg}$	Zhou et al., 2012
	Water	5~150 $\mu\text{g/L}$	-	148.84	2.1 ng/L	20 ng/L	U. S. EPA, 2007
	Solid	5~150 $\mu\text{g/L}$	-	112.85	2.2 $\mu\text{g/kg}$	20 $\mu\text{g/kg}$	U. S. EPA, 2007
Biosolid	5~150 $\mu\text{g/L}$	-	74.46	2.2 $\mu\text{g/kg}$	20 $\mu\text{g/kg}$	U. S. EPA, 2007	
SWW	0.5~25 $\mu\text{g/L}$	0.9876	90~102	91 ng/L	-	Ben et al., 2008	
Honey	0~50 $\mu\text{g/kg}$	-	93	8.0 $\mu\text{g/kg}^a$	10.4 $\mu\text{g/kg}^b$	Bohm et al., 2012	
Animal feeds	0~40 $\mu\text{g/L}$	0.993	15~28	-	9.4 $\mu\text{g/kg}$	Boscher et al., 2010	
Meat	10~1000 ng/g	0.999	71	3 $\mu\text{g/kg}$	10 $\mu\text{g/kg}$	Carretero et al., 2008	
Fish	20~150 $\mu\text{g/kg}$	> 0.98	75.9	25.8 $\mu\text{g/kg}$	78.1 $\mu\text{g/kg}$	Dasenaki and Thomaidis, 2010	
Bovine muscle	50~300 $\mu\text{g/kg}$	-	102	124 $\mu\text{g/kg}^a$	148 $\mu\text{g/kg}^b$	Freitas et al., 2014	
AFW	0.02~1000 $\mu\text{g/L}$	> 0.99	99.3	0.01 $\mu\text{g/L}$	0.02 $\mu\text{g/L}$	Gbylik-Sikorska et al., 2015	
SW	20~50 $\mu\text{g/L}$	0.9902	88	4.40 ng/L	14.67 ng/L	Gros et al., 2013	
WWE	20~50 $\mu\text{g/L}$	0.9902	150	5.91 ng/L	19.71 ng/L	Gros et al., 2013	
WWI	1~1000 $\mu\text{g/L}$	1.000	74~90	6.9 ng/L	-	Hong et al., 2015	
Manure	1.0~100000 $\mu\text{g/kg}$	> 0.99	67~74	0.5 $\mu\text{g/kg}$	1.7 $\mu\text{g/kg}$	Hou et al., 2015	

Table 4. Comparison of analytical method validations for the selected antibiotics according to original sample matrixes (AFW: animal feeding water; SW: surface water; WWI: wastewater influent; WWE: wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: ground water; MBF: meat-based baby food; PMIF: powdered milk-based infant formula)

Analyte	Original sample matrix	Calibration range	r ₂	Recovery (%)	MDL	MQL	Reference
Trimethoprim	Agricultural soil			78-82	0.8 µg/kg	2.6 µg/kg	
	Manure	20-5000 µg/kg	-	42.0-54.4	8.3 µg/kg	27.8 µg/kg	Jacobsen and Hailing-Sorensen, 2006
	Animal feeds	50-500 µg/kg	0.9914	60.6-76.8	-	50 µg/kg	Kaklamanos et al., 2013
	Fish	10-150 µg/kg	> 0.98	71-109	15.0 µg/kg	10.0 µg/kg	Lopes et al., 2012
	Sediment of river	10-100 µg/kg	0.9972	63.8-72.0	0.19 µg/kg	0.64 µg/kg	Yang et al., 2010
	SW Manure	5-200 µg/L	> 0.995	140-159 170-259	0.63 ng/L 0.95 µg/kg	2.08 ng/L 3.18 µg/kg	Zhou et al., 2012
	Water Solid Biosolid	1.25-250 µg/L	-	80.82 103.24 98.81	1.1 ng/L 3.3 µg/kg 3.3 µg/kg	5 ng/L 10 µg/kg 10 µg/kg	U. S. EPA, 2007
	MBF PMIF	5-100 µg/kg	> 0.990	84.6-89.2 69.5-87.6	0.1 µg/kg 0.1 µg/kg	0.3 µg/kg 0.3 µg/kg	Aguilera-Luiz et al., 2012
	Honey	0-50 µg/kg	-	98	9.2 µg/kg ^a	12.1 µg/kg ^b	Bohm et al., 2012
	Animal feeds	0-40 µg/L	0.996	78-89	-	6.7 µg/kg	Boscher et al., 2010
	Meat	10-1000 ng/g	0.999	72	3 µg/kg	10 µg/kg	Carretero et al., 2008
	Bovine muscle	50-300 µg/kg	-	98	108 µg/kg ^a	116 µg/kg ^b	Freitas et al., 2014
	AFW	0.02-1000 µg/L	> 0.99	95.5	0.02 µg/L	0.05 µg/L	Gbylik-Sikorska et al., 2015
	Poultry excreta	50-5000 µg/kg	0.996	93-97	2.47 µg/kg	50 µg/kg	Gorissen et al., 2015
	SW WWE	20-50 µg/L	0.9994	102 84	1.71 ng/L 2.35 ng/L	5.70 ng/L 7.84 ng/L	Gros et al., 2013
	Milk	0.1-2.5 µg/kg			µg/kg	µg/kg	Han et al., 2015
	Agricultural soil Manure	0.1-500	0.9998	102 90	0.5 µg/kg 1 µg/kg	2 µg/kg 3 µg/kg	Ho et al., 2012
	WWI	1-1000 µg/L	0.997	84-94	1.0 ng/L	-	Hong et al., 2015
	Manure Agricultural soil	1.0-100000 µg/kg	> 0.99	70-73 72-80	0.5 µg/kg 0.5 µg/kg	1.7 µg/kg 1.7 µg/kg	Hou et al., 2015
	SW	0.006-0.25 µg/L	0.993	78-111	9.1 ng/L	-	Iglesias et al., 2012
SW	0.25-1000 ng/L	0.9989	90.1-96.5	0.25 ng/L	0.56 ng/L	Locatelli et al., 2011	
Fish	10-150 µg/kg	> 0.98	100-116	3.0 µg/kg	10.0 µg/kg	Lopes et al., 2012	
Milk	0-250 µg/L	0.998	-	5.8 ng/ml ^a	9.9 ng/ml ^b	Nebot et al., 2012	
Agricultural soil	0.01-1000 µg/kg	0.999	75-93	0.006 µg/kg	0.019 µg/kg	Salvia et al., 2012	

^a CC_α (decision limit), ^b CC_β (detection capability)

하여 해당 물질의 잔류 농도를 측정하기 위한 분석 방법을 고찰하였다. 특정 항생제 계열이 갖는 특징에 따라 HPLC를 통해 분리된 물질을 형광광도계나 UV spectrometer를 이용하여 측정하는 방법을 사용하기도 하였으나 최근에는 미량 농도의 측정과 다 계열의 항생제를 동시에 측정할 수 있는 방법이 개발되어 HPLC와 텐덤 질량분석기(MS/MS)를 활용한 기술들이 적용되고 있다.

LC 단계에서는 HPLC 또는 UPLC를 사용하며 대부분의 경우 역상 C18컬럼을 사용하며 30~40°C로 컬럼 오븐의 온도를 유지시키는 것으로 나타났다. 역상 컬럼에서 항생제를 분리하기 위한 이동상으로는 극성 용매인 물이 사용되고 비극성 용매로는 메탄올이나 아세트나이트릴 또는 메탄올과 아세트나이트릴의 혼합액이 사용되는 것으로 나타났다. 모든 방법은 시간에 따라 극성 용매와 비극성 용매의 혼합 비율을 달리하는 구배용출법을 사용하고 있으며 극성이 낮은 물질이 상대적으로 긴 머무름 시간을 갖는다.

이온화 효율을 향상시키고 질량분석기에서 감도를 높이기 위한 방법으로 휘발성이 높은 포름산, 포름산암모늄, 초산암모늄 등을 이동상에 첨가제로 사용하며 검토된 대부분의 문헌에서 0.05~0.3%의 포름산을 첨가물로 사용하는 것으로 나타났다. 일부 문헌과 EPA method 1694에서는 테트라사이클린계열 항생제에 대한 분석 효율을 높이기 위해 옥살산을 첨가하여 감도, 분해능, 반복성 등이 향상되는 것을 확인하였으나 상대적으로 낮은 휘발성을 갖는 옥살산으로 인해 기계적인 문제를 일으킬 수 있고, 다 계열의 항생제를 분석하는 경우에 있어서는 포름산과 초산암모늄을 첨가제로 사용한 조건에서 모든 항생제에서 높은 분해능과 감도를 나타낸다고 보고되고 있다.

HPLC 또는 UPLC로 분리된 항생제는 이온화 단계를 거치는데 positive 방식의 전자분무이온화법을 사용하는 것으로 나타났고 선택반응검출 방식으로 분석대상물질의 농도를 측정한다. 선택반응검출 방식은 빠른 시간에 정확한 스크리닝이 가능하여 규칙적이고 지속적인 시료분석에 매우 유용한 것으로 알려져 있다.

분석방법을 개발하여 보고한 문헌들에서는 그 유효성을 검증할 목적으로 검정선의 범위와 선형성, 회수율, 검출한계 등을 제시하는 것으로 나타났다. 대부분의 연구들은 직선성을 나타내는 r^2 이 0.99 이상인 조건의 검량선을 사용하고 있으며 페니실린 G, 린코마이신, 타이로신 등이 상대적으로 좋지 않은 회수율을 나타내는 반면 플로로퀴놀론계열, 설펜아미이드계열, 테트라사이클린계열의 항생제는 유효한 회수율을 나타내는 것으로 조사되었다. 보고된 MDL은 물 시료의 경우 ppt 수준, 고체시료의 경우 ppb 수준으로 환경 시료 중에 미량으로 존재하는 잔류 항생제를 검출하는데 충분한 감도를 갖는 것으로 판단된다.

본 연구를 통해 확인된 바와 같이 EPA method 1694를 적용할 수 있는 16종의 동물용 항생제는 동일한 분석방법의 적용이 가능한 것으로 나타났고, 특히 LC에 적용하는 컬럼의 종류, 이온화 방식 등이 같은 것으로 조사되었다. 따라서 적절한 전처리 과정을 적용할 경우 16종의 항생제

에 대한 동시 분석이 가능하리라 판단된다. 향후 분석 대상물질의 범위를 확장시키기 위해서는 C₁₈컬럼과 positive 방식의 이온화법으로 분석 가능한 물질들에 대해 우선적으로 분석법을 적용해 보고 분석 데이터 검증을 통한 적용성 평가가 이루어져야 할 것이다.

References

- Aguilera-Luiz, M. M., Vidal, J. M., Romero-Gonzalez, R., and Frenich, A. G. (2012). Multiclass Method for Fast Determination of Veterinary Drug Residues in Baby Food by Ultra- High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Food Chemistry*, 132(4), pp. 2171-2180.
- Avisar, D., Primor, O., Gozlan, I., and Mamane, H. (2010). Sorption of Sulfonamides and Tetracyclines to Montmorillonite Clay, *Water, Air, & Soil Pollution*, 209(1-4), pp. 439-450.
- Babic, S., Asperger, D., Mutavdzic, D., Horvat, A. J., and Kastelan-Macan, M. (2006). Solid Phase Extraction and HPLC Determination of Veterinary Pharmaceuticals in Wastewater, *Talanta*, 70(4), pp. 732-738.
- Behera, S. K., Kim, H. W., Oh, J. E., and Park, H. S. (2011). Occurrence and Removal of Antibiotics, Hormones and Several Other Pharmaceuticals in Wastewater Treatment Plants of the Largest Industrial City of Korea, *Science of the Total Environment*, 409(20), pp. 4351-4360.
- Ben, W., Qiang, Z., Adams, C., Zhang, H., and Chen, L. (2008). Simultaneous Determination of Sulfonamides, Tetracyclines and Tiamulin in Swine Wastewater by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1202(2), pp. 173-180.
- Bohm, D. A., Stachel, C. S., and Gowik, P. (2012). Validation of a Multi-Residue Method for the Determination of Several Antibiotic Groups in Honey by LC-MS/MS, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(10), pp. 2943-2953.
- Boscher, A., Guignard, C., Pellet, T., Hoffmann, L., and Bohn, T. (2010). Development of a Multi-Class Method for the Quantification of Veterinary Drug Residues in Feedstuffs by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1217(41), pp. 6394-6404.
- Bonnet, R. (2004). Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M Enzymes, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1), pp. 1-14.
- Bronzwear, S. L. A. M., Cars, O., Buchholz, U., Molstad, S., Goettsch, W., Veldhuijzen, I. K., Kool, J. L., Sprenger, M. J., and Degener, J. E. (2002). A European Study on The Relationship of Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance, *Emerging Infectious Diseases*, 8(3), pp. 278-282.
- Carretero, V., Blasco, C., and Pico, Y. (2008). Multi-Class Determination of Antimicrobials in Meat by Pressurized Liquid Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1209(1), pp. 162-173.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Calamari, D., Fanelli, R., and Zuccato, E. (2005). A Multiresidue Analytical Method Using Solid-Phase Extraction and High-Pressure Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry to Measure Pharmaceuticals of Different Therapeutic Classes in Urban Wastewaters, *Journal of Chroma-*

- tography A*, 1092(2), pp. 206-215.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2013). *Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013*, Center for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia, pp. 13-17.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2015). <http://www.cdc.gov/narms/about/index.html>.
- Dasenaki, M. E. and Thomaidis, N. S. (2010). Multi-Residue Determination of Seventeen Sulfonamides and Five Tetracyclines in Fish Tissue Using a Multi-Stage LC-ESI-MS/MS Approach Based on Advanced Mass Spectrometric Techniques, *Analytica Chimica Acta*, 672(1), pp. 93-102.
- Dolliver, H., Gupta, S., and Noll, S. (2008). Antibiotic Degradation During Manure Composting. *Journal of Environmental Quality*, 37(3) pp. 1245-1253.
- EU Commission. (2002). Commission Decision EC 2002/657 of 12 August 2002 Implementing Council Directive 96/23/EC Concerning the Performance of Analytical Methods and the Interpretation of Results, *Official Journal of European Communities*, L 221, pp. 8-36.
- Fiese, E. F. and Steffen, S. H. (1990). Comparison of the Acid Stability of Azithromycin and Erythromycin A, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 25(suppl A), pp. 39-47.
- Freitas, A., Barbosa, J., and Ramos, F. (2014). Multi-Residue and Multi-Class Method for the Determination of Antibiotics in Bovine Muscle by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry, *Meat Science*, 98(1), pp. 58-64.
- Gao, L., Shi, Y., Li, W., Niu, H., Liu, J., and Cai, Y. (2012). Occurrence of antibiotics in eight sewage treatment plants in Beijing, China, *Chemosphere*, 86(6), pp. 665-671.
- Gbylik-Sikorska, M., Posnyiak, A., Sniegocki, T., and Zmudzki, J. (2015). Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Multiclass Method for the Determination of Antibiotics Residues in Water Samples from Water Supply Systems in Food-Producing Animal Farms, *Chemosphere*, 119, pp. 8-15.
- Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R., Elseviers, M., and ESAC Project Group. (2005). Outpatient Antibiotic Use in Europe and Association with Resistance: a Cross-National Database Study, *The Lancet*, 365(9459), pp. 579-587.
- Gorissen, B., Reyns, T., Devreese, M., De Backer, P., Van Loco, J., and Croubels, S. (2015). Determination of Selected Veterinary Antimicrobials in Poultry Excreta by UHPLC-MS/MS, for Application in Salmonella Control Programs, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(15), pp. 4447-4457.
- Gros, M., Rodriguze-Mozaz, S., and Barcelo, D. (2013). Rapid Analysis of Multiclass Antibiotic Residues and Some of Their Metabolites in Hospital, Urban Wastewater and River Water by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Quadrupole-Linear Ion Trap Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1292, pp. 173-188.
- Han, R. W., Zheng, N., Yu, Z. N., Wang, J., Xu, X. M., Qu, X. Y., Li, S. L., Zhang, Y. D., and Wang, J. Q. (2015). Simultaneous Determination of 38 Veterinary Antibiotic Residues in Raw Milk by UPLC-MS/MS, *Food Chemistry*, 181, pp. 119-126.
- Hao, C., Lissimore, L., Nguyen, B., Kleywegt, S., Yang, P., and Solomon, K. (2006). Determination of Pharmaceuticals in Environmental Waters by Liquid Chromatography/Electrospray Ionization/Tandem Mass Spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384(2), pp. 505-513.
- Hirsch, R., Ternes, T. A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F., and Kratz, K. L. (1998). Determination of Antibiotics in Different Water Compartments via Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 815(2), pp. 213-223.
- Ho, Y. B., Zakaria, M. P., Latif, P. A., and Saari, N. (2012). Simultaneous Determination of Veterinary Antibiotics and Hormone in Broiler Manure, Soil and Manure Compost by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1262, pp. 160-168.
- Ho, Y. B., Zakaria, M. P., Latif, P. A., and Saari, N. (2014). Occurrence of Veterinary Antibiotics and Progesterone in Broiler Manure and Agricultural Soil in Malaysia, *Science of the Total Environment*, 488, pp. 261-267.
- Hong, Y., Sharma, V. K., Chiang, P. C., and Kim, H. (2015). Fast-Target Analysis and Hourly Variation of 60 Pharmaceuticals in Wastewater Using UPLC-High Resolution Mass Spectrometry, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(4), pp. 525-534.
- Hou, J., Wan, W., Mao, D., Wang, C., Mu, Q., Qin, S., and Luo, Y. (2015). Occurrence and Distribution of Sulfonamides, Tetracyclines, Quinolones, Macrolides, and Nitrofurans in Livestock Manure and Amended Soils of Northern China, *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), pp. 4545-4554.
- Hur, J., Jawale, C., and Lee, J. H. (2012). Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolated from Food Animals: A Review, *Food Research International*, 45(2), pp. 819-830.
- Iglesias, A., Nebot, C., Miranda, J. M., Vazquez, B. I., and Cepeda, A. (2012). Detection and Quantitative Analysis of 21 Veterinary Drugs in River Water Using High-pressure Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry, *Environmental Science and Pollution Research*, 19(8), pp. 3235-3249.
- Jacobsen, A. M. and Halling-Sorensen, B. (2006). Multi-Component Analysis of Tetracyclines, Sulfonamides and Tylosin in Swine Manure by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384(5), pp. 1164-1174.
- Kaklamanos, G., Vincent, U., and von Holst, C. (2013). Analysis of Antimicrobial Agents in Pig Feed by Liquid Chromatography Coupled to Orbitrap Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1293, pp. 60-74.
- Kartal, S. N. (2003). Removal of Copper, Chromium, and Arsenic from CCA-C Treated Wood by EDTA Extraction, *Waste Management*, 23(6), pp. 537-546.
- Karthikeyan, K. G. and Meyer, M. T. (2006). Occurrence of Antibiotics in Wastewater Treatment Facilities in Wisconsin, USA, *Science of the Total Environment*, 361(1), pp. 196-207.
- Kim, Y., Lim, S., Han, M., and Cho, J. (2012). Sorption Characteristics of Oxytetracycline, Amoxicillin, and Sulfathiazole in Two Different Soil Types, *Geoderma*, 185, pp. 97-101.
- Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., and Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in US Streams, 1999-2000: A National Reconnaissance, *Environmental Science & Technology*, 36(6), pp. 1202-1211.
- Korea Ministry of Government Legislation. (2015). *Act On The Management and Use of Livestock Excreta*, 13526, Korea

- Ministry of Government Legislation.
- Li, J. D., Cai, Y. Q., Shi, Y. L., Mou, S. F., and Jiang, G. B. (2007). Determination of Sulfonamide Compounds in Sewage and River by Mixed Hemimicelles Solid-Phase Extraction Prior to Liquid Chromatography-Spectrophotometry, *Journal of Chromatography A*, 1139(2), pp. 178-184.
- Li, W., Shi, Y., Gao, L., Liu, J., and Cai, Y. (2012). Occurrence of Antibiotics in Water, Sediments, Aquatic Plants, and Animals from Baiyangdian Lake in North China, *Chemosphere*, 89(11), pp. 1307-1315.
- Li, Z., Chang, P. H., Jean, J. S., Jiang, W. T., and Wang, C. J. (2010). Interaction Between Tetracycline and Smectite in Aqueous Solution, *Journal of Colloid and Interface Science*, 341(2), pp. 311-319.
- Lim S. K., Lee, J. E., Lee, H. S., Nam, H. M., Moon, D. C., Jang, G. C., Park, Y. J., Jung, Y. G., Jang, S. C., and Wee, S. H. (2014). Trends in Antimicrobial Sales for Livestock and Fisheries in Korea During 2003-2012, *Korean Journal of Veterinary Research*, 54(2), pp. 81-86. [Korean Literature]
- Lindsey, M. E., Meyer, M., and Thurman, E. M. (2001). Analysis of Trace Levels of Sulfonamide and Tetracycline Antimicrobials in Groundwater and Surface Water Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry*, 73(19), pp. 4640-4646.
- Locatelli, M. A. F., Sodre, F. F., and Jardim, W. F. (2011). Determination of Antibiotics in Brazilian Surface Waters Using Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 60(3), pp. 385-393.
- Lopes, R. P., Reyes, R. C., Romero-Gonzalez, R., Vidal, J. L. M., and Frenich, A. G. (2012). Multiresidue Determination of Veterinary Drugs in Aquaculture Fish Samples by Ultra High Performance Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 895, pp. 39-47.
- Martinez-Carballo, E., Gonzalez-Barreiro, C., Scharf, S., and Gans, O. (2007). Environmental Monitoring Study of Selected Veterinary Antibiotics in Animal Manure and Soils in Austria, *Environmental Pollution*, 148(2), pp. 570-579.
- Malintan, N. T. and Mohd, M. A. (2006). Determination of Sulfonamides in Selected Malaysian Swine Wastewater by High-Performance Liquid Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1127(1), pp. 154-160.
- McArdell, C. S., Molnar, E., Suter, M. J. F., and Giger, W. (2003). Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland, *Environmental Science & Technology*, 37(24), pp. 5479-5486.
- Nakata, H., Kannan, K., Jones, P. D., and Giesy, J. P. (2005). Determination of Fluoroquinolone Antibiotics in Wastewater Effluents by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and Fluorescence Detection, *Chemosphere*, 58(6), pp. 759-766.
- National Institute of Environmental Research (NIER). (2010). *Environmental Examination Inspection QA/QC Handbook*, 2nd ed, 11-1480083-000291-01, National Institute of Environmental Research, pp. 21-25.
- Nebot, C., Iglesias, A., Regal, P., Miranda, J., Cepeda, A., and Fente, C. (2012). Development of a Multi-class Method for the Identification and Quantification of Residues of Antibiotics, Coccidiostats and Corticosteroids in Milk by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *International Dairy Journal*, 22(1), pp.78-85.
- Neu, H. C. (1992). The Crisis in Antibiotic Resistance, *Science*, 257(5073), pp. 1064-1073.
- Prat, M. D., Benito, J., Compano, R., Hernandez-Arteseros, J. A., and Granados, M. (2004). Determination of Quinolones in Water Samples by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography with Fluorimetric Detection, *Journal of Chromatography A*, 1041(1), pp. 27-33.
- Pfeifer, Y., Cullik, A., and Witte, W. (2010). Resistance to Cephalosporins and Carbapenems in Gram-Negative Bacterial Pathogens, *International Journal of Medical Microbiology*, 300(6), pp. 371-379.
- Pozo, O. J., Guerrero, C., Sancho, J. V., Ibanez, M., Pitarch, E., Hogendoorn, E., and Hernandez, F. (2006). Efficient Approach for the Reliable Quantification and Confirmation of Antibiotics in Water Using On-Line Solid-Phase Extraction Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1103(1), pp. 83-93.
- Salvia, M. V., Vulliet, E., Wiest, L., Baudot, R., and Cren-Olive, C. (2012). Development of a Multi-Residue Method Using Acetonitrile-Based Extraction Followed by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for the Analysis of Steroids and Veterinary and Human Drugs at Trace Levels in Soil, *Journal of Chromatography A*, 1245, pp. 122-133.
- Schlusener, M. P., Con Arb, M. A., and Bester, K. (2006). Elimination of Macrolides Tiamulin and, Salinomycin During Manure Storage, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51(1), pp. 21-28.
- Seifrtova, M., Novakova, L., Lino, C., Pena, A., and Solich, P. (2009). An Overview of Analytical Methodologies for the Determination of Antibiotics in Environmental Waters. *Analytica Chimica Acta*, 649(2), pp. 158-179.
- Tang, Y. Y., Lu, H. F., Lin, H. Y., Shih, Y. C., and Hwang, D. F. (2012). Multiclass Analysis of 23 Veterinary Drugs in Milk by Ultraperformance Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 881, pp. 12-19.
- Tao, Y., Yu, G., Chen, D., Pan, Y., Liu, Z., Wei, H., Peng, D., Huang, L., Wang, Y., and Yuan, Z. (2012). Determination of 17 Macrolide Antibiotics and Avermectins Residues in Meat with Accelerated Solvent Extraction by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 897, pp. 64-71.
- Tolls, J. (2001). Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review, *Environmental Science & Technology*, 35(17), pp. 3397-3406.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2015). *World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables*. Working Paper No. ESA/P/WP.241, United Nations, New York, pp. 2-3.
- United States Department of Agriculture (USDA). (2016). <http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=6750&page=1>.
- United States Environmental Protection Agency (U. S. EPA). (1984). *Method 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons*, U.S. Environmental Protection Agency.
- United States Environmental Protection Agency (U. S. EPA). (1996). *Method 8321A Solvent Extractable Nonvolatile Compounds by*

- High Performance Liquid Chromatography/Thermospray/Mass Spectrometry (HPLC/TS/MS) or Ultraviolet (UV) Detection*, U.S. Environmental Protection Agency.
- United States Environmental Protection Agency (U. S. EPA). (2007). *Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS*, EPA-821-R-08-002, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- United States Environmental Protection Agency (U. S. EPA). (2010). *Method 1668A Interlaboratory Validation Study Report*, EPA-820-R-10-004, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- United States Food and Drug Administration (U. S. FDA). (2015). <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/default.html>.
- Yang, J. F., Ying, G. G., Zhao, J. L., Tao, R., Su, H. C., and Chen, F. (2010). Simultaneous Determination of Four Classes of Antibiotics in Sediments of the Pearl Rivers Using RRLC-MS/MS, *Science of the Total Environment*, 408(16), pp. 3424-3432.
- Yang, S., Cha, J., and Carlson, K. (2004). Quantitative Determination of Trace Concentrations of Tetracycline and Sulfonamide Antibiotics in Surface Water Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography/Ion Trap Tandem Mass Spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18(18), pp. 2131-2145.
- Zhou, L. J., Ying, G. G., Liu, S., Zhao, J. L., Chen, F., Zhang, R. Q., Peng, F. Q., and Zhang, Q. Q. (2012). Simultaneous Determination of Human and Veterinary Antibiotics in Various Environmental Matrices by Rapid Resolution Liquid Chromatography- Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1244, pp. 123-138.
- Zhou, L. J., Ying, G. G., Liu, S., Zhang, R. Q., Lai, H. J., Chen, Z. F., and Pan, C. G. (2013). Excretion Masses and Environmental Occurrence of Antibiotics in Typical Swine and Dairy Cattle Farms in China, *Science of the Total Environment*, 444, pp. 183-195.