

Agilent 6470 QQQ LC/MS를 사용한 육류 내 다중, 다중 잔류 동물용 의약품의 정량 스크리닝을 위한 종합 워크플로

저자

Siji Joseph, Aimei Zou,
Chee Sian Gan,
Limian Zhao와 Patrick Batoon
Agilent Technologies, Inc.

개요

일상적인 실험실 테스트를 가속화하고 간소화하기 위해, 사람이 섭취할 수 있게 손질된 동물 근육 중 210종 동물용 의약품 잔류 물질의 표적 스크리닝 또는 정량 분석을 위한 종합 LC/MS/MS 워크플로가 개발되었습니다. 이 워크플로는 시료 전처리부터 크로마토그래피 분리, MS 검출, 데이터 처리 및 분석, 보고서 작성까지 모두 포함합니다. 세 종류의 근육 매트릭스(닭고기, 돼지고기, 쇠고기)를 사용하여 워크플로 성능을 평가했으며, 두 종류의 Agilent TQ LC/MS 모델(Agilent 6470 및 6495C QQQ LC/MS)을 평가에 이용했습니다. Agilent Captiva EMR—Lipid 카트리지를 사용한 간단한 시료 전처리 프로토콜로 추출과 매트릭스 정제를 효율적으로 수행했습니다. 13분 분석법으로 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 컬럼을 사용한 단일 크로마토그래피 분석법은 용출 시간 동안 허용 가능한 분리 및 머무름 시간 분포를 제공하여 신뢰할 수 있는 TQ 검출 및 데이터 분석을 지원했습니다.

0.1 ~ 100µg/L 범위의 매트릭스 보정 스파이크 시료를 사용한 검출 한계(LOD), 정량 한계(LOQ), 검량선 직선성, 정확도, 정밀도 및 회수율 평가 결과를 기준으로 워크플로 성능을 추산했습니다. 검량선은 모든 분석물질이 $R^2 > 0.99$ 의 직선성을 나타낸 LOQ부터 100µg/L까지 표시했습니다. 기기의 분석법 정확도 값은 73 ~ 113% 이내였습니다. 표적 분석물질의 반응 및 머무름 시간 %RSD 값은 각각 $\leq 19\%$ 및 $\leq 0.28\%$ 였습니다. 첨가 품질 관리(QC) 시료(육류의 1, 10 및 25µg/kg)의 3가지 농도에서의 분석물질 회수율과 재현성을 사용하여 동물용 의약품의 신뢰할 수 있는 일상적 스크리닝을 목적으로 분석법 적용 적합성을 검증했습니다. 회수율 반복성(배치 내 기술 복제) 및 회수율 재현성(배치 간 기술 복제)은 QC 시료를 사용하여 계산했으며 결과는 각각 20% 및 32%의 허용 가능한 한계 내에 있었습니다.¹ 닭고기, 쇠고기 및 돼지고기 근육 매트릭스의 워크플로 분석법 성능 결과는 잘 일치했으며 다양한 육류 매트릭스의 일상적인 다중 잔류물질 스크리닝을 위한 분석법으로 적합함을 확인시켜 주었습니다.

서론

동물용(수의학) 약물은 일반적으로 가축의 성장과 건강을 개선하는 데 사용됩니다. 가축 사육에 수의학 약물을 부적절하게 사용하면 동물성 식품에 이러한 약물이 축적되어 소비자에게 악영향을 미칠 수 있습니다. 공중 보건을 보호하기 위해 동물성 식품 내 수의학 약물을 제한하는 글로벌 규정이 제정되어 있습니다. 화학적 정량의 절대적 표준으로서 Triple Quadrupole LC/MS(LC/MS/MS) 기술이 이 분석 목적에 널리 사용됩니다. 그러나 실험실에서는 전통적으로 케미스트리에 특정한 추출 과정을 사용하며, 화합물의 부류에 따라 개별 LC/MS 분석을 실행합니다. 이러한 비효율성은 실험실 운영의 생산성을 떨어뜨려 결과적으로, 처리량이 감소하고 운영 비용이 높아집니다. 일상적인 작업을 간소화하기 위해 LC/MS/MS를 사용하여 다양한 동물성 식품 매트릭스에서 200종 이상의 다중 동물용 의약품에 높은 신뢰도로 정확하게 분석하기 위한 종합 워크플로가 개발되었습니다. 이러한 종합적 워크플로에는 시료 추출 및 매트릭스 정제, 크로마토그래피 분리, MS 검출, 표적물질 정량화 및 보고서 작성 템플릿이 포함됩니다. 표 1에는 이 워크플로를 사용하여 분석한 동물용 의약품 부류가 나열되어 있습니다.

실험

표준물질 및 시약

동물용 의약품 표준물질은 Sigma-Aldrich (미국 미주리주 세인트루이스), Toronto Research Chemicals(캐나다 온타리오) 및 Alta Scientifi(중국 천진)에서 구입했습니다. 애질런트 LC/MS 등급 아세토니트릴 (ACN), 메탄올(MeOH) 및 물을 본 연구에 사용했습니다. 사용된 다른 모든 용매는 Sigma-Aldrich의 HPLC 등급이었습니다. 이동상에 사용할 LC/MS 첨가제도 Sigma-Aldrich에서 구입했습니다. 개별 수의학 표준물질의 스톱 용액은 적절한 용해 용매 (메탄올, 디메틸설폭사이드, 아세토니트릴

표 1. 기능적 용도/화학물질 종류 및 각 등급의 표적 화합물 수를 기준으로 210종의 동물용 의약품 분류.

번호	기능적 용도/화학물질 종류	표적물질 수
1	마취제	1
2	구충제	16
3	구충제/Avermectins	3
4	구충제/Benzimidazoles	14
5	구충제/Nitroimidazoles	5
6	Anti-herbivore	1
7	항염증제	2
8	항생제	7
9	항생제/Aminoglycosides	5
10	항생제/Amphenicols	3
11	항생제/Beta-Lactam	16
12	항생제/Macrolides	10
13	항생제/Quinolones	10
14	항생제/Sulfonamides	27
15	항생제/Tetracycline	6
16	항구토제	1
17	항균제	6
18	항균제/Furans	1
19	항 콕시듐제	14
20	도파민 수용체	1
21	살균제 및 염료	3
22	성장 촉진제/Anabolic steroids	3
23	성장 촉진제/Beta-agonists	4
24	성장 촉진제/Corticosteroids	4
25	호르몬	9
26	살충제	15
27	NSAID	14
28	Quinoxalines	1
29	진정제	8

또는 물을 개별적으로 또는 조합하여 사용)를 사용하여 1,000 또는 2,000µg/mL의 분말 또는 액체 동물용 의약품 표준물질로 준비했습니다. 몇 가지 스톱 용액은 위에 나열한 공급업체로부터 100µg/mL 농도의 기성 용액으로 구입해 사용했습니다. 포괄적인 표준물질 혼합물(50/50 아세토니트릴/물에 포함된 각 표적 분석물질 1µg/mL)을 개별 스톱 용액에서 준비하여 이 실험에 사용했습니다.

시료 전처리

분석법 성능을 평가하기 위해 닭고기, 쇠고기 및 돼지 고기 근육 매트릭스를 사용했습니다. 신선한 닭고기(항생제 무함유), 쇠고기, 돼지 고기는 지역 식료품점에서 구입했습니다. 시료는 가정용 블렌더를 사용하여 균질화했습니다. 혼합 육류 2±0.1g을 칭량하여 50mL 원뿔형 폴리프로필렌 튜브에 넣었습니다. 즉시 분석하지 않을 경우, 균질화한 육류 시료를 -20°C에 보관했습니다.

시료 전처리는 용매 추출을 기반으로 하며, 그런 다음 Agilent Captiva EMR-Lipid (p/n 5190-1003) SPE 정제를 거칩니다. 원활한 시료 용출을 위해 애질런트 양압 매니폴드 시스템(PPM-48, 품번 5191-4101)을 사용했습니다.

추출 전(매트릭스 스파이크) QC 시료는 균질화된 근육 매트릭스에 적절한 동물용 의약품 표준물질 용액을 세 가지 농도로 스파이킹하여 첨가되었습니다. 이 세 가지 농도는 각각의 육류에서 낮은 농도 QC(LQC)로 1µg/kg, 중간 농도 QC(MQC)로 10µg/kg, 높은 농도 QC(HQC)로 25µg/kg입니다.

추출 전 LQC 및 MQC 시료를 사용하여 분석법의 회수율과 재현성을 평가했습니다. 표준물질을 매트릭스에 넣은 후, 시료를 30초 동안 볼텍스로 혼합하고 15 ~ 20분 동안 안정화시켰습니다. 이를 통해 스파이킹된 표준물질이 시료 매트릭스 내로 침투하여 시료 추출 전에 평형을 이룰 수 있었습니다.

시료 전처리 절차를 그림 1에 요약했습니다. 자세한 절차는 종합 동물용 의약품 dMRM 솔루션(G5368AA)에 포함된 워크플로 가이드에 나와 있습니다.

추출 후 검량 표준물질

매트릭스 바탕은 첨가되지 않은 육류 시료를 사용하여 준비했습니다. 매트릭스 바탕에 적절한 표준물질을 스파이킹하여 매트릭스 보정 검량 표준물질을 준비했습니다. 근육 매트릭스에서 검량 수준의 목표 농도는 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 25.0, 50.0 및 100.0µg/kg이었습니다. 시료 전처리 중에 도입된 1:10의 희석 인자를 고려할 때, 실제 매트릭스 보정 검량 표준물질 농도는 매트릭스 바탕 추출물에서 0.01, 0.025, 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 및 10.0µg/L였습니다.

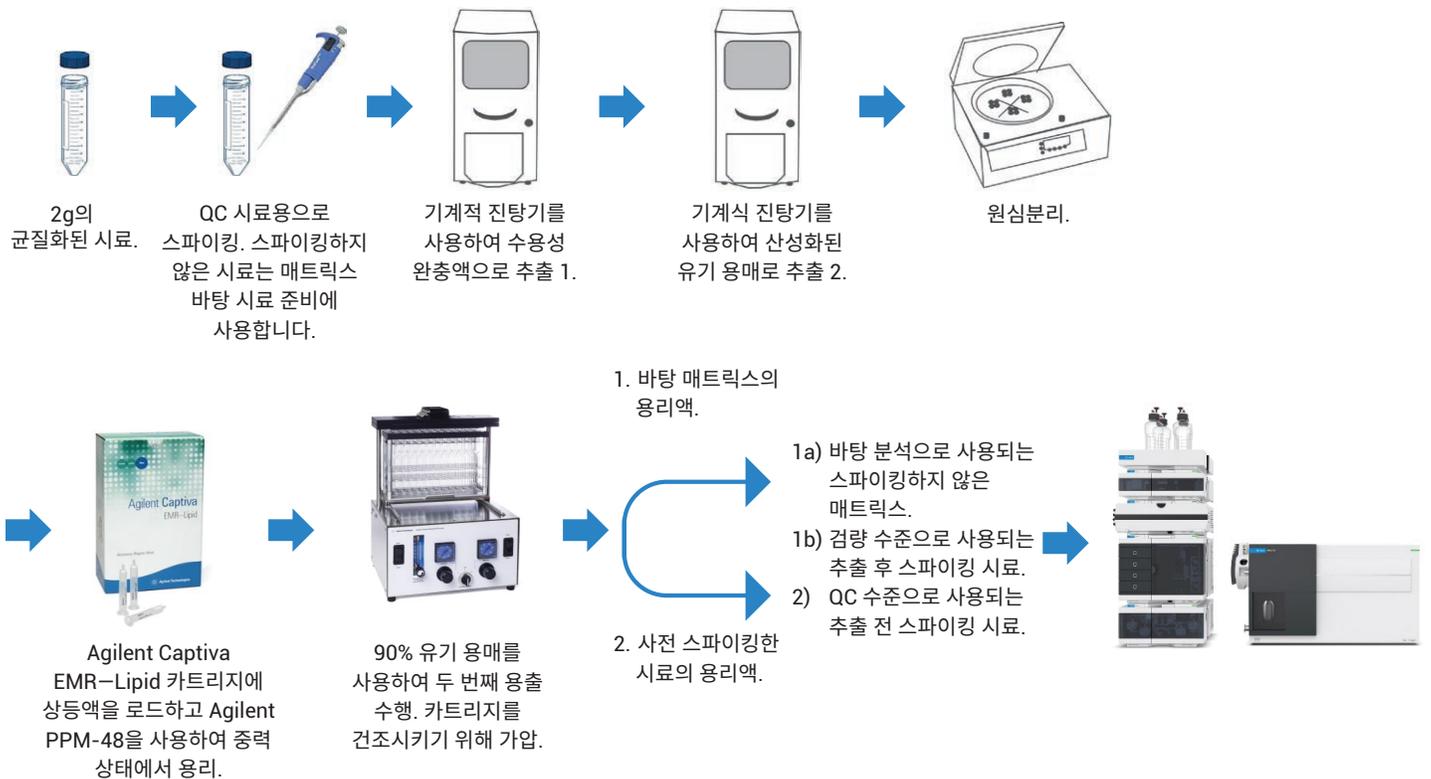


그림 1. 시료 추출 및 Agilent Captiva EMR-Lipid 정제 프로토콜의 순서도. (이미지의 크기는 실제 비율과 무관합니다.)

50/50 아세트니트릴/물에 0.1, 1.0 및 2.5µg/L 농도의 원액을 사용하여 해당 매트릭스 보정 검량 표준물질의 반응을 비교하는 식으로 매트릭스 효과를 평가했습니다.

기기

Agilent 1290 Infinity II LC에 설치된 Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 컬럼 (품번 695575-302)을 사용하여 크로마토그래피 분리를 수행했습니다. 1290 Infinity II LC의 개별 모듈은 다음과 같습니다.

- Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프 (G4220A)
- Agilent 1290 Infinity 자동 시료 주입기 (G4226A)
- Agilent 1290 Infinity 항온 컬럼 장치 (G1316C)

LC 시스템에는 20µL 주입 루프와 다중 세척 기능이 있습니다. 이동상 A는 4.5mM ammonium formate, 0.5mM ammonium fluoride 및 0.1% formic acid를 함유한 물이었고, 이동상 B는 4.5mM ammonium formate, 0.5mM ammonium fluoride 및 0.1% formic acid를 함유한 50/50 ACN/MeOH였습니다.

Agilent Jet Stream(AJS) 이온 소스가 있는 6470 LC/TQ는 동적 MRM(dMRM) 모드에 작동했습니다. LC/TQ 자동 튜닝은 *m/z < 100 report* 모드가 활성화된 상태에서 unit 모드로 수행했습니다. 데이터 수집 및 처리는 Agilent MassHunter 소프트웨어 (버전 10.0)를 사용하여 수행했습니다. 이 연구에 사용된 타사 실험실 장비와 소모품에 대한 자세한 내용은 종합 동물용 의약품 dMRM 솔루션에 포함된 워크플로 가이드를 참조하십시오. 6470 LC/TQ 및 6495C LC/TQ에 대한 분석법은 종합 동물용 의약품 dMRM 솔루션에 포함되어 있으므로 사용자가 acquisition 분석법을 직접 복사하고 사용할 수 있습니다.

동물용 의약품 스크리닝 워크플로 적용

동물성 식품 매트릭스 내 동물용 의약품 잔류물질을 관리하기 위해 여러 규제 기관에서 보고 제한(reporting limit)을 시행합니다. 규제 기관 및 시료 매트릭스에 따라 동물용 의약품의 허용 잔류 한계는 다를 수 있습니다. US FDA-CFR,² US FSIS,³ EU⁴ 및 AOAC에서 권장하는 동물용 의약품 모니터링 목록을 조합한 연구를 바탕으로 210종의 표적 동물용 의약품을 선택했습니다.⁵ 그림 2에 다양한 기관간의 표적물질 분포를 벤 다이어그램으로 나타냈습니다. 총 210종의 표적 분석물질 중 168종은 AOAC, EU 및 미국 규정/ 가이드라인에 의해 규제되는 세 가지 근육 매트릭스에 규정된 최대 잔류 한계(MRL)를 가지고 있습니다. MRL이 규정되지 않은 나머지 42개의 표적물질은 이러한 규정/ 가이드라인의 요구 사항에 따라 근육 매트릭스의 모니터링 범주로 지정되었습니다. 적절한 첨가 QC 시료의 분석 특성을 평가하여 특정 규정/가이드라인에 기반한 일상적 스크리닝에 워크플로를 적용할 수 있는지 여부를 입증했습니다.

결과 및 토의

다중 동물용 의약품 스크리닝을 위한 간단한 워크플로 분석법

동물용 의약품 분석을 위한 높은 감도의 강력한 워크플로는 다양한 규제 지침에 따라 일상적인 스크리닝을 수행하는 사용자에게 도움을 줍니다. AOAC 권장 표적물질 목록에 대한 닭고기 근육 매트릭스의 스크리닝을 수행하여 가이드라인을 기반으로 하는 일상적 분석에 새로 개발된 워크플로를 적용할 수 있음을 입증했습니다. 168종 표적물질 중 닭고기 스크리닝에는 86종이 필요하며 그 결과를 표 2(이 문서의 끝 부분에 있음)에 요약했습니다. 추출 후 스파이킹한 검량 농도를 사용하여 워크플로 분석법의 감도를 확인했으며, 1(LQC), 10(MQC) 및 25 µg/kg(HQC)로 세 가지 추출 전 QC 농도에서 실시한 회수율 분석을 이용해 일상적인 스크리닝에 대한 적용 가능성을 입증했습니다. 스크리닝 양상을 입증하기 위해 표적물질의 MRL 값을 기반으로 QC 농도 중 하나를 선택했습니다. 닭고기 매트릭스에 대한 AOAC 가이드라인에 포함된 대부분의 표적물질(86종 중 85종)의 MRL은 ≥10µg/kg이며, MQC(10µg/kg)를 사용한 회수율 분석은 이러한 모든 표적물질을 스크리닝하기에 적합합니다.

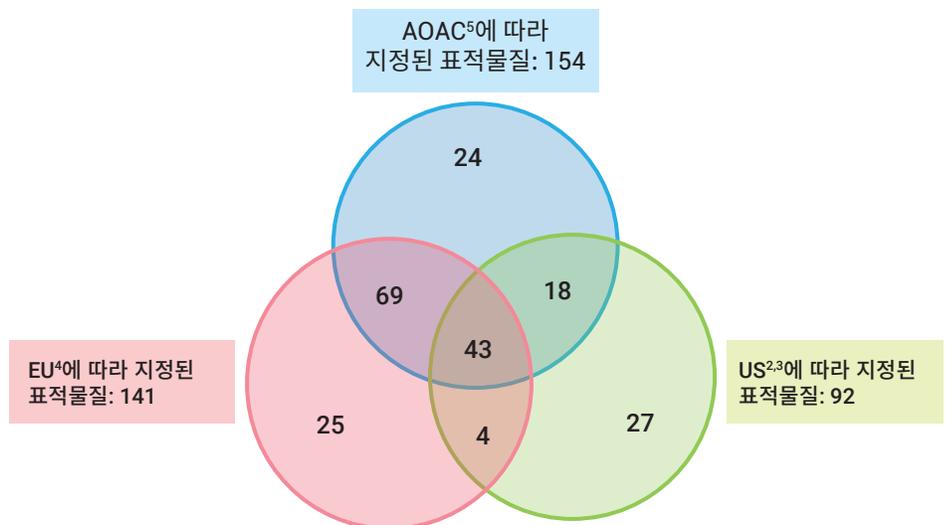


그림 2. 다양한 규정에 따른 210종 표적물질 분포를 보여주는 벤 다이어그램.

Prednisone 표적물질의 경우, 닭고기 매트릭스의 MRL은 $\sim 1\mu\text{g}/\text{kg}$ 이고, 이 표적물질의 경우 LQC($1\mu\text{g}/\text{kg}$)를 사용하여 회수율, 반복성 및 재현성과 같은 표적물질 성능 지표를 추정했습니다. 이와 유사하게, cefalexin의 경우 MRL은 $200\mu\text{g}/\text{kg}$ 이고 HQC를 사용하여 표적물질 성능을 평가했습니다. 요약하면, 제안된 워크플로 분석법은 AOAC 가이드라인에 따라 닭고기 매트릭스의 86종 표적물질을 모두 스크리닝하는 데 효과적으로 사용할 수 있습니다. 회수율 값의 일중(intraday) 반복성 및 일간(interday) 재현성에 대한 결과는 일관되고 재현 가능한 결과를 나타내 신뢰할 수 있는 일일 스크리닝 분석이 가능함을 입증했습니다.

LC/TQ 분석법 개발 및 성능 평가

전구 이온, 존재비가 가장 높은 생성 이온 및 충돌 에너지를 포함한 화합물에 대한 파라미터는 MassHunter MRM Optimizer를

사용하여 최적화했습니다. LC/MS/MS에 의한 식별 및 확인에 적용되는 규제 요건을 충족하기 위해 각 화합물마다 2개 또는 3개의 표적별 MRM transition을 선택했습니다. 종합 동물용 의약품 dMRM 솔루션에 포함된 분석법은 각 화합물에 대한 MRM transition과 모든 관련 MS 파라미터로 구성됩니다.

InfinityLab Poroshell EC-C18 컬럼을 사용한 크로마토그래피 분리로 210종의 동물용 의약품에 대해 13분 기울기 분석과 함께 우수한 분리 및 머무름 시간 분포가 얻어졌습니다. $0.5\text{mL}/\text{min}$ 유량일 때 AJS 소스에서 표적 이온의 탈용매가 용이했습니다. 이동상에 ammonium fluoride를 첨가한 결과, 음이온화 감도가 향상되고 부가물질 형성이 감소했습니다. 주기 시간(cycle time)이 750ms이고 측정시간(dwel time)이 7 ~ 370ms인 dMRM 분석법이 사용되었습니다.

관찰된 일반적인 크로마토그래피 피크 폭은 8 ~ 12초였습니다. 그림 3은 닭고기 매트릭스에서 $2.5\mu\text{g}/\text{L}$ 농도로 사후 스파이킹한 모든 동물용 의약품 표적물질에 대한 대표적 MRM 크로마토그램을 보여줍니다.

Piperazine, amprolium 및 nicotine과 같은 초기에 용출된 극성 화합물은 수용 가능한 피크 모양을 가지고 있습니다. 그러나 emamectin 및 moxidectin과 같은 몇 가지 mectins는 크로마토그래피 실행이 끝날 무렵에 용출되었습니다. 2,4,6-triamino-pyrimidine-5-carbonitrile, amoxicillin, baquiloprim, cefapirin, cotinine, deacetylcefapirin, dicloxacillin, dicyclanil, diminazene, ractopamine, salbutamol(albuterol), sulfaguandine, tilmicosin 및 zilpaterol과 같은 표적물질은 분할 피크로 나타났습니다. 이 문제는 주입 직전의 최종 시료를 더 높은 수용액 용매 비율로 하여 극복할 수 있습니다.

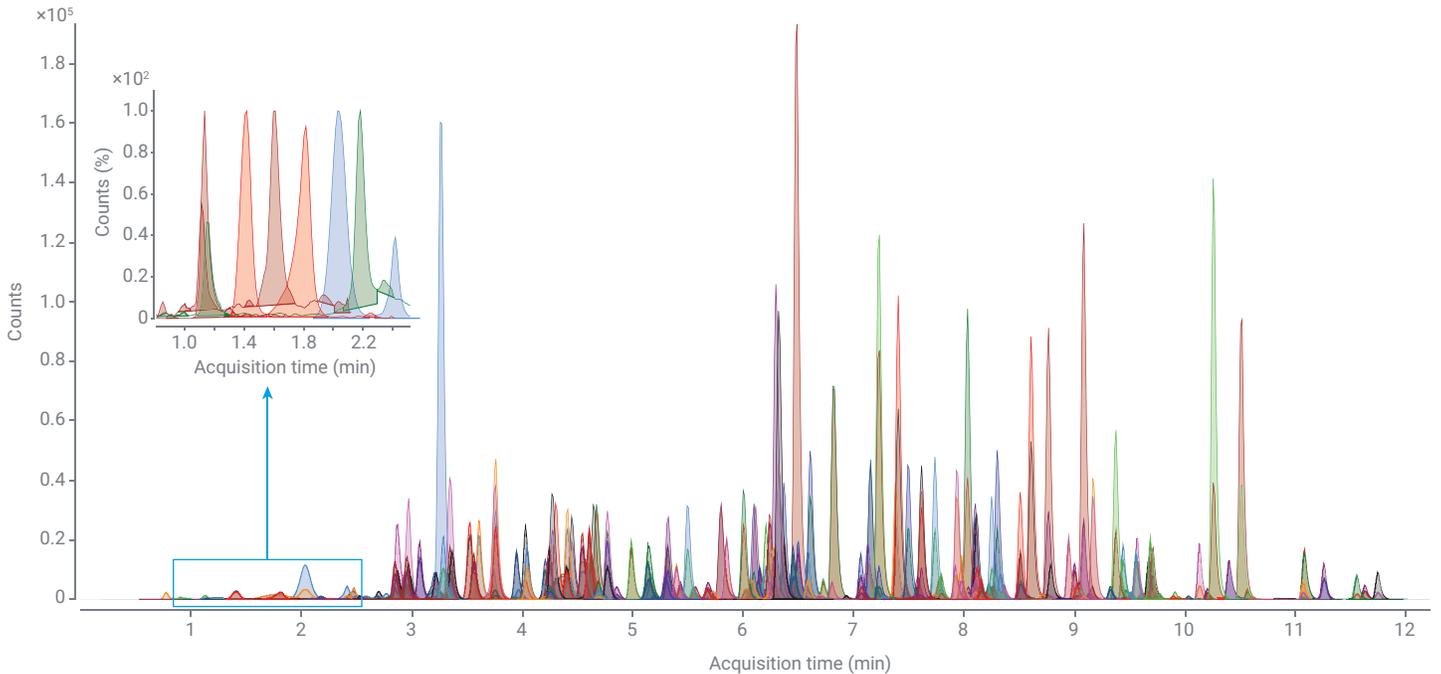


그림 3. 바탕 닭고기 매트릭스에 $2.5\mu\text{g}/\text{L}$ 로 사후 스파이킹한 210종 동물용 의약품 표적물질의 MRM 크로마토그램. 희석 계수가 1:10이라는 점을 고려할 때 $2.5\mu\text{g}/\text{L}$ 의 사후 스파이킹은 닭고기에 $25\mu\text{g}/\text{kg}$ 스파이킹한 것에 해당합니다. 대칭적인 날카로운 피크는 머무름 시간 창 내에서 표적물질의 효율적인 크로마토그래피 분리를 보여줍니다. 삽입된 플롯은 초기에 용출된 6종의 표적물질에 해당하는 정규화된 피크를 확대한 것입니다.

워크플로 성능은 분석법 감도, 직선성, 정확도, 정밀도, 분석물질 회수율, 반복성 및 재현성을 기반으로 평가했습니다. 3가지 근육 매트릭스를 5개의 배치 분석으로 워크플로 성능을 평가했습니다(닭고기 매트릭스에 3개 배치, 쇠고기에 1개 배치, 돼지고기에 1개 배치). 두 가지 모델 기기로 6470 LC/TQ 및 6495C LC/TQ를 사용하여 워크플로 분석법의 성능을 검증했습니다. 두 모델의 두 번째 기기 세트로 결과를 교차 검증했습니다. 각 시료 매트릭스에 대한 배치 실행에는 용매 바탕, 매트릭스 바탕, 매트릭스 보정 검량 표준물질 및 추출 전 QC 시료가 포함되었습니다. 매트릭스 보정 검량 표준물질은 세 번 반복으로 실행되었으며, 매트릭스 스파이킹 QC 시료는 두 번 반복으로 실행되었습니다. 매트릭스 효과를 평가하기 위해 원액 QC 시료도 실행했습니다.

LOD, LOQ 및 검량 곡선의 직선성

LOD 및 LOQ는 추출 후 검량 수준의 다양한 낮은 농도로 정했습니다. 각 화합물에 대해 LOD로 정의한 최소 신호대 잡음비(S/N)는 3 이상이고 LOQ의 경우 10 이상인 것으로 확인했습니다. 이는 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어에 내장된 피크 높이와 자동 RMS 알고리즘을 사용하였습니다. LOQ를 재차 확인하기 위해 시료 매트릭스에 대한 표적물질 선택성 및 분석물질 반응 재현성과 같은 추가 측정도 고려했습니다. S/N만 기준하는 LOD 및 LOQ 계산은 매트릭스에 내인성

표적물질의 존재로 인한 매트릭스의 기여가 있을 경우, 영향을 받을 수 있습니다. 표적 분석물질에 매트릭스의 기여가 있을 때는 매트릭스 기여의 3배 피크 면적으로 LOD를 정의하고, 매트릭스 기여의 5배 면적으로 LOQ를 정의했습니다. 3회 반복 주입하여 계산된 분석물질 반응 재현성도 LOQ에 중요하게 고려되었으며, %RSD는 일반적인 허용 기준인 25%보다 낮았습니다. 대부분의 동물용 의약품에 대한 규제 MRL 요구 사항을 고려할 때 매트릭스 추출물의 가장 낮은 사후 스파이킹 농도는 육류 내 0.1µg/kg에 해당하는 0.01µg/L였습니다. 그러나 많은 표적물질 MRM 신호의 강도는 더 낮은 LOD 및 LOQ에 도달할 수 있는 가능성을 보여주었습니다.

정의된 LOQ부터 가장 높은 스파이킹 농도까지 추출 후 시료를 사용하여 각 표적물질에 대한 검량선을 생성했습니다. 예를 들어, LOD가 0.1µg/kg인 표적물질의 경우 검량선은 0.25 ~ 100µg/kg 범위로 구성되었고, LOD가 1µg/kg인 표적물질의 경우 검량선 범위는 2.5 ~ 100µg/kg였습니다. 최고의 직선성 응답 함수를 정하기 위해 다양한 회귀 모델을 평가했으며 최상의 검량 모델은 유형: 선형, 원점: 무시, 가중치: 1/x 조건에서 얻어졌습니다. 모든 표적물질은 R² > 0.99의 검량선 직선성 요구 사항을 충족했습니다. 표 2는 닭고기 매트릭스에 있는 모든 표적물질의 LOD, LOQ 및 검량선 데이터를 보여줍니다.

기기 분석법 정확도 및 정밀도

각 추출 후(매트릭스 보정) 검량 농도에 대한 평균 정확도 값은 세 번의 주입으로 계산되었습니다. 검량 범위에서 모든 표적물질에 대해 측정된 정확도 값은 70 ~ 120% 범위 내에 잘 들어왔습니다.

추출 후 검량 농도로 세 번 반복 주입하여 표적물질 반응 및 머무름 시간(RT)의 상대적 표준 편차(%RSD)를 계산하는 방법으로 정밀도를 결정했습니다. 모든 매트릭스의 모든 표적물질에 대해 우수한 RT 및 응답 정밀도 값이 관찰되었습니다. 닭고기 매트릭스의 모든 표적물질에 대한 반응 % RSD는 <20%였고 모든 표적물질의 RT %RSD는 0.5% 이내였습니다. 정밀도 결과로 용출 프로파일 및 MS 검출의 재현성이 검증되었습니다. LOQ가 25µg/kg인 표적물질의 경우, RT %RSD 및 면적 %RSD가 25µg/L로 계산되었습니다.

표적물질 회수율/추출 효율성

이 실험에서는 세 가지 농도의 추출 전 QC 시료(LQC, MQC 및 HQC)를 사용하여 시료 전처리가 표적물질 회수율에 미치는 영향을 평가했습니다. 회수율은 추출 전 QC의 “표적물질 반응”과 추출 후 스파이킹 검량선 수식으로 얻은 “측정된 반응”을 사용하여 계산했습니다. 그림 4는 닭고기 내 1µg/L에 해당하는 농도에서 세 가지 표적물질인 trimethoprim, oxibendazole 및 febantel에 대한 추출 후 시료(검정선) 및 추출 전 시료(파란선)를 중첩한 MRM 크로마토그램을 보여줍니다. 추출 후 검량 농도와 추출 전 QC 시료 간의 응답 수 비교는 이 표적물질들의 회수율이 양호(106 ±1%) 함을 나타냅니다. LQC 및 MQC의 경우, 세 가지 전처리 기법으로 두 번 주입하여 평균 회수율을 계산했고, HQC의 경우 한 가지 전처리 기법으로 두 번 주입하여 평균 회수율을 계산했습니다. 표적물질의 97% 이상에서 회수율 값이 허용 범위인 60 ~ 120%를 충족했습니다. Amproilum, cefapirin, erythromycin, malachite green, narasin, nicotine과 같은 표적물질의 회수율

값은 30 ~ 60 % 범위 내에 있었습니다. 그러나 결과는 세 가지의 배치 연구에서 재현 가능했습니다. 모든 표적물질의 회수율 결과를 표 2에 나타냈습니다.

워크플로 배치 내 반복성

이 연구에서는 배치 내 QC 농도의 전처리 기법 간 표적물질 회수율 결과의 변동을 추정했습니다. 회수율 반복성은 닭고기 매트릭스를 사용한 QC 농도의 일중 (intraday) 전처리 기법을 사용하여 계산된 회수율 값의 %RSD로 측정했습니다. 시료 전처리 조건은 가능한 일정하게 유지했습니다. Captiva EMR—Lipid 추출의 경우, LQC(1µg/kg) 및 MQC(10µg/kg) 수준의 각 전처리 기법을 3회 반복하여 수행했습니다. 각 전처리한 시료를 질량 분석기에 반복하여 주입했습니다. 각 QC 수준에 대해 %RSD를 계산하고 이를 반복성으로 표현했습니다. 일반적으로, 10ppb에서 허용되는 회수율 반복성 한계는 21%이고 1ppb에서의 한계는 30%입니다.¹ 모든 표적물질의 회수율 반복성 %RSD 값은 허용되는 한계 내에 있었으며 그 결과를

표 2에 포함시켰습니다. 일부 표적물질의 회수율 값은 60% 미만이었습니다. 그러나 이 표적물질들의 회수율 반복성은 10% RSD 내로 각 전처리 기법에서 일관된 특성을 보였습니다. 이러한 결과로부터 Captiva EMR-Lipid 시료 전처리를 사용했을 때의 분석물 회수율 반복성이 입증되었습니다.

워크플로 배치 간 재현성

이 연구에서는 몇 가지 실험실 조건에서 세 가지 닭고기 매트릭스 배치간에 얻은 회수율 결과의 정밀도를 평가했습니다. 다양한 시료 매트릭스, 다양한 분석자, 다양한 기기, 서로 다른 날짜 및 다양한 실험실 환경을 포함하여 시료 전처리와 분석에 개입할 수 있는 잠재적 변수를 가능한 다르게 유지했습니다. LQC(1µg/kg), MQC(10µg/kg), HQC(25µg/kg)의 세 가지 추출 전 스파이킹 농도 모두에 대해 표적물질 회수율 재현성을 측정했습니다. 각 분석법으로 얻은 시료를 2번 반복 주입하고, 서로 다른 실험실 조건에서 산출된 농도의 %RSD를 재현성으로 보고했습니다.

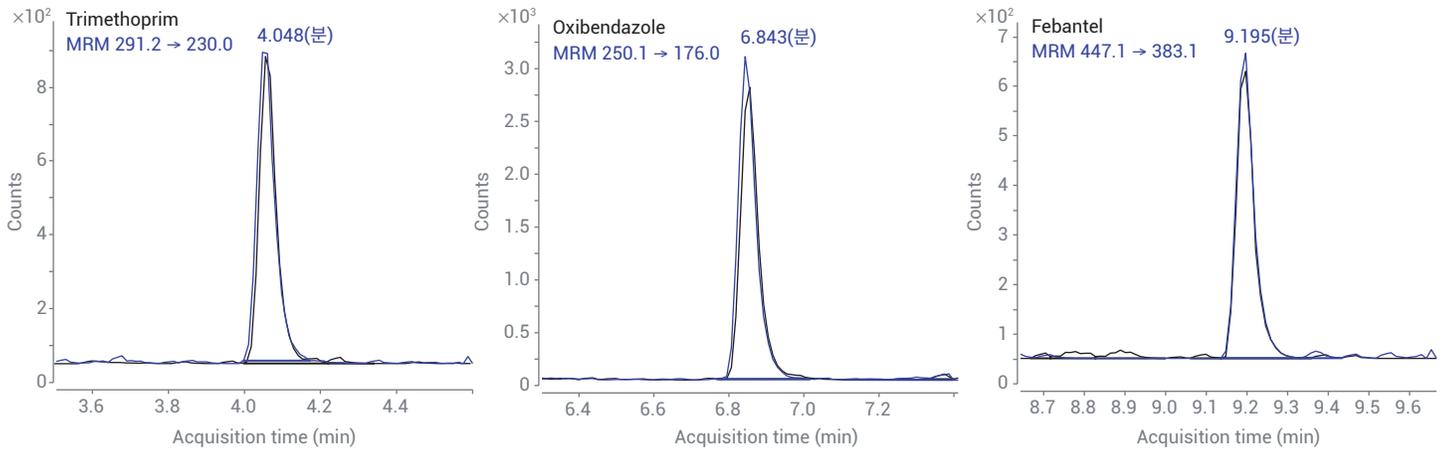


그림 4. 닭고기의 1µg/kg에 해당하는 3종의 동물용 의약품 표적물질 MRM 크로마토그램을 중첩시킨 결과입니다. 검정선은 1µg/L 사후 스파이킹 검량 농도에 대한 MRM이고, 파란선은 1µg/kg 사후 스파이킹에 대한 것입니다.

확인된 결과를 표 2에 요약했습니다. 210종 표적물질 모두 <32% RSD의 회수율 재현성 한계¹를 충족했으며, 그 중 91% 이상 표적물질의 결과는 15% RSD 이내였습니다. 회수율 재현성 결과로 다양한 실험실 조건에서 Captiva EMR—Lipid 시료 전처리의 정확성이 재확인되었습니다.

매트릭스 효과 평가

매트릭스 효과(ME)는 원액 표준물질의 표적물질 반응에 대한 사후 스파이킹 시료의 표적물질 반응의 비율로 평가했습니다. 일반적으로, 매트릭스 효과는 매트릭스 보정 검량선으로 보정할 수 있기 때문에 수용 가능한 ME 기준에 대한 엄격한 요구 사항은 없습니다. 그러나 매트릭스 효과는 분석법 감도와 신뢰성 평가에 중요한 파라미터입니다. 이 연구에서는 2.5µg/L 수준의 사후 스파이킹 검량 수준을 상응하는 원액 표준물질과 대비하여 ME를 조사했습니다. 총 210종 내에서 93%

이상의 표적물질은 유의한 매트릭스 억제를 나타내지 않았습니다. 이러한 표적물질의 경우, ME는 75% 이상이었습니다. 약 3%의 표적물질에서 ME가 50 ~ 70% 이내로 나타나 낮은 이온 억제를 보였습니다. 1%의 표적물질에서는 ME가 25 ~ 50% 이내로 나타났으며 이는 상대적으로 중간 수준의 이온 억제를 나타냅니다. 표적물질의 3%는 ME가 25% 미만으로 상당한 이온 억제를 나타냈습니다. Cyromazine, dicyclanil, sulfacetamide, sulfaguandinine, sulfisomidine 및 tolfenamic acid와 같은 표적물질은 이온 억제에 영향을 미치지 않았습니다. Erythromycin 및 fluralaner와 같은 표적물질은 상대적으로 중간 수준의 이온 억제 영향을 받았으며 2,4,6-triamino-pyrimidine-5-carbonitrile, amprolium, cotinine, deacetylcefapirin, metronidazole, metronidazole-OH 및 nicotine은 상당한 이온 억제를 나타냈습니다.

세 가지 근육 매트릭스에 걸친 분석법 성능 비교

닭고기, 쇠고기, 돼지고기 근육의 성능 결과는 잘 일치했습니다. 하나의 예로서, 닭고기, 쇠고기 및 돼지고기 근육의 10µg/kg 표적물질에 대한 회수율 결과를 그림 5에 나타냈습니다. 닭고기 표적물질의 97% 이상의 회수율은 허용 가능한 범위인 60 ~ 120% 이내였으며, 쇠고기와 돼지고기 표적물질은 94% 이상의 회수율 기준이 충족되었습니다. 이러한 결과로부터 다양한 육류 매트릭스에 워크플로의 적용 가능성을 확인했습니다. Dipyron hydrate 및 cefuroxime은 쇠고기 및 돼지고기 매트릭스에서 매트릭스 간섭을 보였으며 정량 결과에 부정적인 영향을 미쳤습니다. Acepromazine, chlorpromazine 및 propionyl promazine은 쇠고기 및 돼지고기 매트릭스에서 낮은 회수율을 보였지만 여전히 허용 가능한 7% RSD의 재현성을 나타냈습니다.

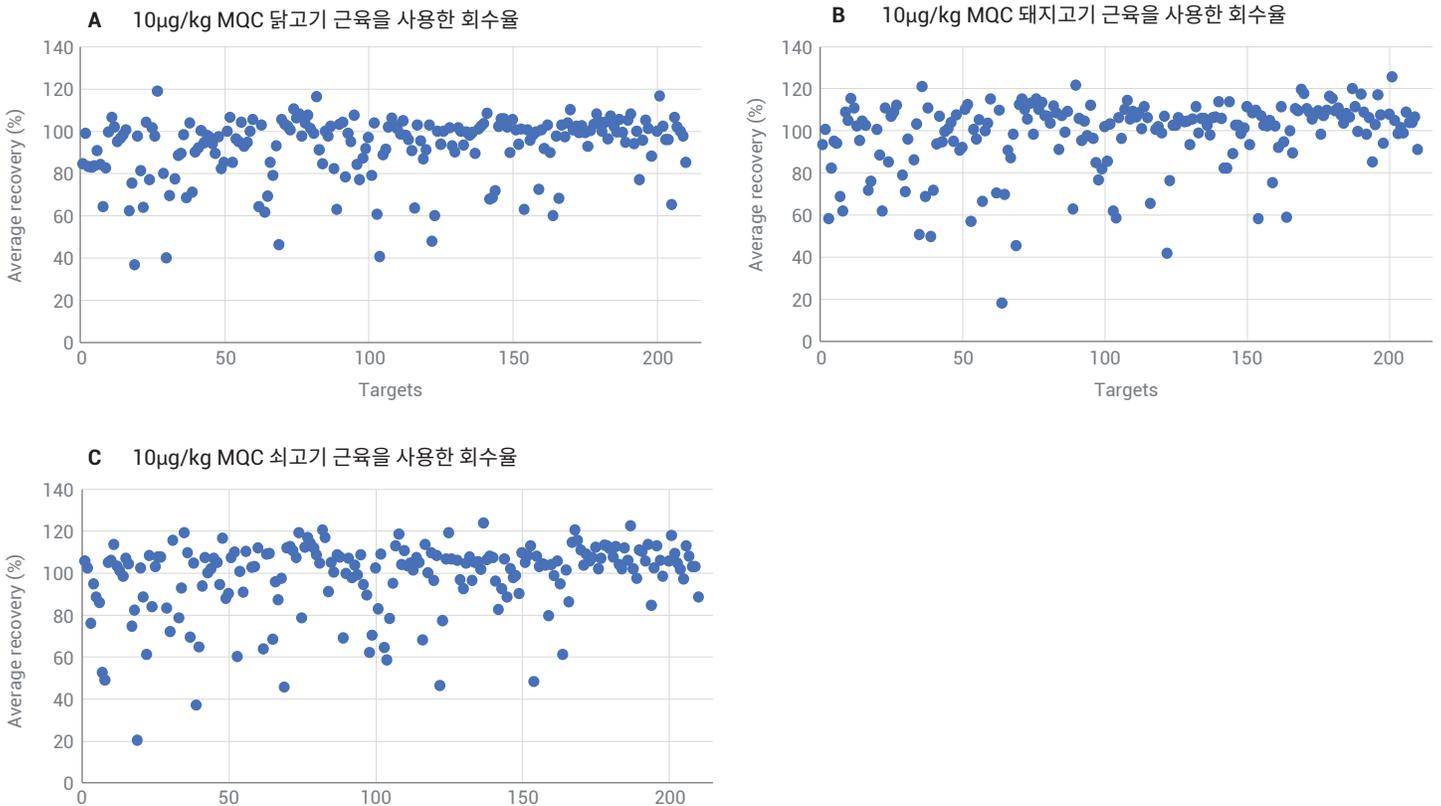


그림 5. 10µg/kg 사전 스파이킹 MQC 시료를 사용하여 닭고기(A), 돼지고기(B) 및 쇠고기(C) 근육 매트릭스에서 얻은 표적물질 회수율.

결론

이 연구에서는 6470 LC/TQ를 사용하여 육류에 포함된 210종의 다중 동물용 의약품을 높은 신뢰도로 빠르게 스크리닝 및 정량화하면서 높은 감도와 재현성을 제공하는 워크플로에 대해 설명했습니다. 이 워크플로는 Captiva EMR-Lipid 시료 정제와 함께 고상/액상 추출을 사용하고 6470 LC/TQ에 연결된 1290 Infinity II LC를 사용하여 분석을 수행합니다. 닭고기 매트릭스에서 AOAC 등재 표적물질을 스크리닝하여 일상적인 동물용 약물 스크리닝 분석에 워크플로 솔루션을 적용할 수 있음을 입증했습니다.

용매 추출 및 Captiva EMR-Lipid 정제를 기반으로 하는 간단한 시료 전처리 프로토콜은 표적 분석물 회수율에 영향을 주지 않으면서 매우 효율적이고 선택적이며 재현 가능한 매트릭스/지질 제거 성능을 제공합니다. InfinityLab Poroshell EC-C18 컬럼을 사용한 13분 LC 분석법은 우수한 크로마토그래피 분리와 모든 표적물질의 균일한 RT 분포를 제공했습니다. LC/TQ 데이터 수집은 기기 주기 시간을 가장 효율적으로 사용하기 위해 빠른 극성 전환을 이용하는 dMRM 모드에서 이루어졌습니다. 분석법 감도는 대부분의 분석물질에서 5ng/mL 미만의 LOD를 획득하는 데 도움을 주었습니다.

워크플로 성능은 두 가지 TQ 모델(6470 LC/TQ 및 6495C LC/TQ)을 사용하여 검증했습니다. 두 모델간의 검량선 직선성, 정확도, 정밀도 및 회수율 결과에 기반한 분석법 성능 평가는 6495C LC/TQ에서 더 높은 감도 향상의 추가적 이점과 더불어 일치했습니다. 이 분석법은 두 모델에서 두 번째 장비 세트를 사용하여 교차 검증했습니다. 다른 육류 매트릭스에서 워크플로의 적용 가능성은 쇠고기와 돼지고기를 통해 입증했습니다.

표 2. 닭고기 매트릭스에서 AOAC 가이드라인을 기반으로 표적물질 스크리닝한 결과.

번호	화합물 명	RT(분)	가능적 용도/ 화학물질 종류	CAS 번호	AOAC MRL (µg/kg)	LOD (µg/L)	R ² > 0.99의 선형 검량선 범위	MQC 회수율(% (*LQC, #HQC)	MQC 회수율 반복성 (%)(*LQC)	MQC 회수율 재현성 (%)(*LQC, #HQC)
1	2, 4, 6-triamino-pyrimidine-5-carbonitrile	1.58	살충제	465531-97-9	해당 없음	5	10 ~ 100	85	8%	5%
2	2,4-DMA [Amitraz Metabolite]	4.34	살충제	33089-74-6	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	99	1%	1%
3	2-Quinoxalinecarboxylic acid [QCA]	4.13	Quinoxalines	879-65-2	해당 없음	5	10 ~ 100	83	6%	13%
4	4-epi-oxytetracycline	4.26	항생제/Tetracycline	14206-58-7	200	0.5	1 ~ 100	83	5%	14%
5	4-epi-tetracycline	4.17	항생제/Tetracycline	79-85-6	200	0.25	0.5 ~ 100	83	1%	15%
6	5-Hydroxy thiabendazole	3.52	구충제/Benzimidazoles	948-71-0	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	91	1%	3%
7	5-Hydroxyflunixin	8.29	NSAID	75369-61-8	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	84	2%	10%
8	Acepromazine	7.34	진정제	61-00-7	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	64	7%	11%
9	Acetyl isovaleryl tylosin [Tylvalosin]	8.71	항생제/Macrolides	63409-12-1	40	1	2.5 ~ 100	82	1%	10%
10	Albendazole	8.01	구충제/Benzimidazoles	54965-21-8	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	100	1%	2%
11	Albendazole sulfone	6.14	구충제/Benzimidazoles	75184-71-3	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	107	2%	6%
12	Albendazole sulfoxide	5.54	구충제/Benzimidazoles	54029-12-8	해당 없음	1	2.5 ~ 100	102	2%	3%
13	Albendazole-2-aminosulfone	3.71	구충제/Benzimidazoles	80983-34-2	해당 없음	0.5	1 ~ 100	95	2%	4%
14	Alpha Zearalanol	8.25	호르몬	26538-44-3	해당 없음	2.5	5 ~ 100	97	12%	6%
15	Altrenogest	8.96	호르몬	850-52-2	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	98	2%	2%
16	Aminoflubendazole	6.08	구충제/Benzimidazoles	82050-13-3	50	0.1	0.25 ~ 100	101	0%	1%
17	Amoxicillin	2.78	항생제/Beta-Lactam	26787-78-0	10	2.5	5 ~ 100	62	9%	23%
18	Ampicillin	3.94	항생제/Beta-Lactam	69-53-4	10	2.5	5 ~ 100	75	2%	16%
19	Amprolium	1.19	항균제	13082-85-4	500	1	2.5 ~ 100	36	7%	14%

번호	화합물 명	RT(분)	기능적 용도/ 화합물질 종류	CAS 번호	AOAC MRL (µg/kg)	LOD (µg/L)	R ² > 0.99의 선형 검량선 범위	MQC 회수율(%) (*LQC, #HQC)	MQC 회수율 반복성 (%)(*LQC)	MQC 회수율 재현성 (%)(*LQC, #HQC)
20	Azaperone	5.76	진정제	1649-18-9	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	98	2%	1%
21	Azithromycin	6.16	항생제/Macrolides	83905-01-5	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	81	2%	3%
22	Baquiloprim	2.63	항균제	102280-35-3	해당 없음	0.5	1 ~ 100	64	2%	5%
23	Betamethasone	7.77	성장 촉진제/ Corticosteroids	378-44-9	해당 없음	0.5	1 ~ 100	104	3%	3%
24	Cabergoline	4.58	도파민 수용체	81409-90-7	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	77	3%	4%
25	Carazolol	6.06	진정제	57775-29-8	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	102	1%	1%
26	Carbadox	4.41	항균제	6804-07-05	해당 없음	0.5	1 ~ 100	98	3%	4%
27	Carprofen	9.00	NSAID	53716-49-7	해당 없음	10	25 ~ 100	119	0%	4%
28	Cefalexin	3.91	항생제/Beta-Lactam	15686-71-2	200	10	25 ~ 100	74 (#)	-	29% (#)
29	Cefalonium	3.91	항생제/Beta-Lactam	5575-21-3	해당 없음	5	10 ~ 100	80	20%	15%
30	Cefapirin	3.19	항생제/Beta-Lactam	21593-23-7	해당 없음	0.5	1 ~ 100	40	6%	32%
31	Cefazolin	4.31	항생제/Beta-Lactam	25953-19-9	해당 없음	5	10 ~ 100	70	16%	6%
32	Cefoperazone	5.14	항생제/Beta-Lactam	62893-19-0	해당 없음	10	25 ~ 100	88 (#)	-	10% (#)
33	Cefquinome	3.69	항생제/Beta-Lactam	84957-30-2	해당 없음	1	2.5 ~ 100	77	9%	6%
34	Ceftiofur	6.27	항생제/Beta-Lactam	80370-57-6	해당 없음	1	2.5 ~ 100	89	5%	11%
35	Cefuroxime	4.40	항생제/Beta-Lactam	55268-75-2	해당 없음	5	10 ~ 100	89	17%	11%
36	Chloramphenicol	6.24	항생제/Amphenicols	56-75-7	해당 없음	2.5	5 ~ 100	98	4%	5%
37	Chlorhexidine	7.08	항균제	55-56-1	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	69	4%	1%
38	Chlormadinone	9.45	호르몬	1961-77-9	해당 없음	1	2.5 ~ 100	104	2%	1%
39	Chlorpromazine	8.06	진정제	50-53-3	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	71	12%	13%
40	Chlortetracycline	5.94	항생제/Tetracycline	57-62-5	200	1	2.5 ~ 100	90	2%	9%
41	Ciprofloxacin	4.43	항생제/Quinolones	85721-33-1	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	92	2%	2%
42	Clenbuterol	5.28	성장 촉진제/ Beta-Agonists	37148-27-9	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	100	2%	4%
43	Clindamycin	6.45	항생제/Macrolides	18323-44-9	해당 없음	5	10 ~ 100	94	1%	3%
44	Clopidol	3.56	항 콜시튬제	2971-90-6	5000	0.5	1 ~ 100	98	3%	1%
45	Closantel	10.54	구충제	57808-65-8	해당 없음	1	2.5 ~ 100	97	3%	2%
46	Colchicine	6.72	NSAID	64-86-8	해당 없음	0.5	1 ~ 100	94	3%	3%
47	Cotinine	2.35	살충제	486-56-6	해당 없음	0.5	1 ~ 100	89	2%	2%
48	Coumaphos	9.58	구충제	56-72-4	해당 없음	1	2.5 ~ 100	97	3%	10%
49	Cyromazine	2.47	구충제	66215-27-8	100	1	2.5 ~ 100	82	3%	3%
50	Danofloxacin	4.63	항생제/Quinolones	112398-08-0	200	0.1	0.25 ~ 100	85	1%	2%
51	Dapson	4.67	항생제/Sulfonamides	80-08-0	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	100	3%	3%
52	Dapson N-Acetyl	5.40	항생제/Sulfonamides	565-20-8	해당 없음	0.5	1 ~ 100	107	2%	1%
53	Deacetylcefapirin	2.30	항생제/Beta-Lactam	104557-24-6	해당 없음	5	10 ~ 100	85	8%	2%
54	Diaveridine	3.73	항균제	5355-16-8	50	0.1	0.25 ~ 100	97	2%	1%

번호	화합물 명	RT(분)	기능적 용도/ 화합물질 종류	CAS 번호	AOAC MRL (µg/kg)	LOD (µg/L)	R ² > 0.99의 선형 검량선 범위	MQC 회수율(%) (*LQC, #HQC)	MQC 회수율 반복성 (%)(*LQC)	MQC 회수율 재현성 (%)(*LQC, #HQC)
55	Diazinon	9.64	살충제	333-41-5	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	95	2%	8%
56	Diclofenac	9.14	NSAID	15307-86-5	해당 없음	0.5	1 ~ 100	104	5%	7%
57	Dicloxacillin	8.11	항생제/Beta-Lactam	3116-76-5	300	5	10 ~ 100	93	2%	23%
58	Dicyclanil	2.93	살충제	112636-83-6	해당 없음	0.5	1 ~ 100	95	2%	2%
59	Difloxacin	5.29	항생제/Quinolones	98106-17-3	300	0.25	0.5 ~ 100	100	1%	1%
60	Diflubenzuron	9.11	살충제	35367-38-5	해당 없음	2.5	5 ~ 100	105	7%	3%
61	Dimetridazole	3.66	항 복시동물제	551-92-8	해당 없음	10	25 ~ 100	87 (#)	-	7% (#)
62	Diminazene	2.96	항 복시동물제	536-71-0	해당 없음	2.5	5 ~ 100	64	9%	8%
63	Dinitolmide [Zoalene]	5.56	항 복시동물제	148-01-6	3000	2.5	5 ~ 100	103	1%	5%
64	Dipyron hydrate- metabolite [4-Methylaminoantipyrine]	3.34	NSAID	519-98-2	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	62	2%	3%
65	Doxycycline	6.26	항생제/Tetracycline	564-25-0	100	0.5	1 ~ 100	69	3%	17%
66	Emamectin B1a benzoate	10.09	구충제/Avermectins	121124-29-6	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	79	2%	4%
67	Emamectin B1b benzoate	9.90	구충제/Avermectins	121424-52-0	해당 없음	2.5	5 ~ 100	85	7%	5%
68	Enrofloxacin	4.74	항생제/Quinolones	93106-60-6	100	0.25	0.5 ~ 100	93	2%	2%
69	Erythromycin	7.40	항생제/Macrolides	114-07-8	100	0.5	1 ~ 100	46	7%	3%
70	Ethopabate	6.60	항 복시동물제	59-06-3	500	0.1	0.25 ~ 100	106	2%	3%
71	Famphur	8.18	살충제	52-85-7	해당 없음	1	2.5 ~ 100	103	4%	6%
72	Febantel	9.15	구충제/Benzimidazoles	58306-30-2	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	102	6%	2%
73	Fenbendazole	8.59	구충제/Benzimidazoles	43210-67-9	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	100	1%	3%
74	Fenbendazole Sulfoxide [Oxfendazole]	6.44	구충제/Benzimidazoles	53716-50-0	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	110	1%	1%
75	Firocoxib	7.96	NSAID	189954-96-9	해당 없음	2.5	5 ~ 100	106	5%	6%
76	Florfenicol	5.55	항생제/Amphenicols	73231-34-2	100	0.5	1 ~ 100	108	5%	4%
77	Fluazuron	10.17	살충제	86811-58-7	해당 없음	0.5	1 ~ 100	98	2%	4%
78	Flubendazole	7.72	구충제/Benzimidazoles	31430-15-6	50	0.1	0.25 ~ 100	104	1%	5%
79	Flugestone acetate	8.35	호르몬	2529-45-5	해당 없음	1	2.5 ~ 100	108	3%	2%
80	Flumequine	7.39	항생제/Quinolones	42835-25-6	400	0.1	0.25 ~ 100	101	2%	1%
81	Flunixin	8.75	NSAID	38677-85-9	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	99	2%	1%
82	Fluralaner	9.89	살충제	864731-61-3	해당 없음	2.5	5 ~ 100	116	4%	9%
83	Furazolidone	4.68	항균제/Furans	67-45-8	해당 없음	2.5	5 ~ 100	91	4%	16%
84	Gamithromycin	6.44	항생제/Aminoglycosides	145435-72-9	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	85	11%	1%
85	Gonadotropin	7.57	호르몬	33515-09-2	해당 없음	0.5	1 ~ 100	100	4%	4%
86	Halofuginone	6.44	항 복시동물제	55837-20-2	10	0.5	1 ~ 100	98	1%	3%
87	Haloperidol	7.11	진정제	52-86-8	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	102	1%	1%
88	Haloxon	8.58	구충제	321-55-1	해당 없음	2.5	5 ~ 100	82	8%	10%
89	Imidocarb	3.20	항 복시동물제	27885-92-3	해당 없음	0.5	1 ~ 100	63	3%	7%
90	Iprnidazole	6.04	구충제/Nitroimidazoles	14885-29-1	해당 없음	5	10 ~ 100	103	13%	11%

번호	화합물 명	RT(분)	기능적 용도/ 화학물질 종류	CAS 번호	AOAC MRL (µg/kg)	LOD (µg/L)	R ² > 0.99의 선형 검량선 범위	MQC 회수율(%) (*LQC, #HQC)	MQC 회수율 반복성 (%)(*LQC)	MQC 회수율 재현성 (%)(*LQC, #HQC)
91	Iprnidazole-OH	4.85	구충제/Nitroimidazoles	35175-14-5	해당 없음	1	2.5 ~ 100	104	3%	1%
92	Isometamidium	5.98	구충제	20438-03-3	해당 없음	2.5	5 ~ 100	78	3%	10%
93	Josamycin	8.22	항생제/Macrolides	16846-24-5	40	0.5	1 ~ 100	99	3%	2%
94	Ketamine	4.74	마취제	6740-88-1	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	95	2%	1%
95	Ketoprofen	8.20	NSAID	22071-15-4	해당 없음	0.5	1 ~ 100	107	1%	4%
96	Kitasamycin A5 [Leucomycin A5]	7.70	항생제/Aminoglycosides	18361-45-0	200	1	2.5 ~ 100	84	1%	4%
97	Lasalocid A	10.99	항 콕시들통제	25999-31-9	20	0.25	0.5 ~ 100	77	2%	4%
98	Leuco Crystal violet	10.36	살균제 및 염료	603-48-5	해당 없음	0.5	1 ~ 100	87	3%	1%
99	Leucomalachite green	10.48	살균제 및 염료	129-73-7	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	92	0%	4%
100	Levamisole	3.58	구충제	14769-73-4	10	0.25	0.5 ~ 100	97	2%	2%
101	Lincomycin	3.74	항생제/Aminoglycosides	154-21-2	100	0.1	0.25 ~ 100	79	1%	2%
102	Lufenuron	10.11	살충제	103055-07-8	해당 없음	10	25 ~ 100	104	5%	0%
103	Maduramicin Ammonium	11.59	항 콕시들통제	79356-08-4	100	1	2.5 ~ 100	61	1%	4%
104	Malachite green	8.21	살균제 및 염료	10309-95-2	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	40	2%	10%
105	Malathion	8.92	살충제	121-75-5	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	89	2%	4%
106	Marbofloxacin	4.00	항생제/Quinolones	115550-35-1	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	91	4%	2%
107	Mebendazole	7.49	구충제/Benzimidazoles	31431-39-7	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	102	1%	6%
108	Mefenamic acid	9.68	항염증제	61-68-7	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	106	1%	6%
109	Megestrol acetate	9.43	호르몬	595-33-5	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	103	5%	1%
110	Melengestrol acetate	9.55	호르몬	2919-66-6	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	101	4%	3%
111	Meloxicam	8.10	NSAID	71125-38-7	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	99	1%	5%
112	Methylprednisolone	7.78	성장 촉진제/ Corticosteroids	83-43-2	해당 없음	0.5	1 ~ 100	105	3%	3%
113	Metoserpate	6.55	진정제	1178-28-5	20	0.25	0.5 ~ 100	98	3%	3%
114	Metronidazole	3.22	구충제/Nitroimidazoles	443-48-1	해당 없음	0.5	1 ~ 100	96	5%	4%
115	Metronidazole-OH	2.77	구충제/Nitroimidazoles	4812-40-2	해당 없음	2.5	5 ~ 100	91	8%	5%
116	Monensin	11.22	항 콕시들통제	17090-79-8	10	0.5	1 ~ 100	63	1%	2%
117	Monepantel	9.45	구충제	851976-50-6	해당 없음	1	2.5 ~ 100	103	1%	23%
118	Morantel tartrate	5.27	구충제	20574-50-9	해당 없음	0.5	1 ~ 100	95	2%	2%
119	Moxidectin	11.04	구충제/Avermectins	113507-06-5	해당 없음	5	10 ~ 100	87	14%	23%
120	Nafcillin	8.02	항생제/Beta-Lactam	147-52-4	해당 없음	0.5	1 ~ 100	91	2%	5%
121	Nalidixic acid	7.21	항생제	389-08-2	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	103	3%	1%
122	Narasin	11.71	항 콕시들통제	55134-13-9	15	0.5	1 ~ 100	48	2%	7%
123	Neo-Spiramycin	5.71	항생제/Macrolides	70253-62-2	200	0.5	1 ~ 100	60	5%	4%
124	Nequinatate	9.35	구충제	13997-19-8	100	0.1	0.25 ~ 100	100	4%	1%
125	Netobimin	7.06	구충제	88255-01-0	100	2.5	5 ~ 100	94	8%	16%
126	Nicarbazine	8.76	항 콕시들통제	587-90-6	200	0.5	1 ~ 100	100	2%	2%

번호	화합물 명	RT(분)	기능적 용도/ 화합물질 종류	CAS 번호	AOAC MRL (µg/kg)	LOD (µg/L)	R ² > 0.99의 선형 검량선 범위	MQC 회수율(%) (*LQC, #HQC)	MQC 회수율 반복성 (%)(*LQC)	MQC 회수율 재현성 (%)(*LQC, #HQC)
127	Nicotine	1.44	Anti-herbivore	54-11-5	해당 없음	10	25 ~ 100	54 (#)	-	20% (#)
128	Niflumic Acid	9.07	항염증제	4394-00-7	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	102	3%	1%
129	Nitroxynil	6.67	구충제	1689-89-0	해당 없음	2.5	5 ~ 100	93	5%	3%
130	Norfloxacin	4.28	항생제/Quinolones	70458-96-7	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	90	3%	1%
131	Norgestomet	9.31	호르몬	472-54-8	해당 없음	1	2.5 ~ 100	102	3%	3%
132	Novobiocin	9.75	항생제	303-81-1	1000	1	2.5 ~ 100	100	2%	5%
133	Olaquinox	3.00	성장 촉진제/ Anabolic steroids	23696-28-8	해당 없음	0.5	1 ~ 100	93	2%	2%
134	Oleandomycin	7.03	항생제/Aminoglycosides	3922-90-5	150	0.25	0.5 ~ 100	100	1%	2%
135	Orbifloxacin	4.97	항생제/Quinolones	113617-63-3	20	0.25	0.5 ~ 100	98	2%	1%
136	Ormetoprim	4.39	항생제	6981-18-6	100	0.25	0.5 ~ 100	99	5%	1%
137	Oxacillin	7.51	항생제/Beta-Lactam	66-79-5	300	5	10 ~ 100	89	11%	11%
138	Oxibendazole	6.79	구충제/Benzimidazoles	20559-55-1	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	101	1%	1%
139	Oxolinic acid	6.29	항생제/Quinolones	14698-29-4	100	0.25	0.5 ~ 100	102	2%	1%
140	Oxyclozanide	9.49	구충제	2277-92-1	해당 없음	2.5	5 ~ 100	103	4%	2%
141	Oxyphenbutazone	8.09	NSAID	129-20-4	해당 없음	0.5	1 ~ 100	108	2%	2%
142	Oxytetracycline	4.46	항생제/Tetracycline	79-57-2	200	1	2.5 ~ 100	68	3%	19%
143	Penicillin G	6.92	항생제/Beta-Lactam	61-33-6	해당 없음	1	2.5 ~ 100	68	2%	20%
144	Penicillin V [Phenoxymethylpenicillin]	7.33	항생제/Beta-Lactam	87-08-1	25	2.5	5 ~ 100	72	2%	25%
145	Phenylbutazone	9.01	NSAID	50-33-9	해당 없음	1	2.5 ~ 100	102	3%	1%
146	Phosalone	9.69	살충제	2310-17-0	해당 없음	1	2.5 ~ 100	106	5%	3%
147	Phoxim	9.63	살충제	14816-18-3	25	2.5	5 ~ 100	106	8%	2%
148	Piperonyl butoxide Ammonia	10.24	살충제	51-03-6	500	0.1	0.25 ~ 100	102	3%	7%
149	Pirlimycin	5.70	항생제/Aminoglycosides	79548-73-5	해당 없음	2.5	5 ~ 100	90	5%	10%
150	Praziquantel	8.49	구충제	55268-74-1	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	106	3%	2%
151	Prednisolone	7.22	성장 촉진제/ Corticosteroids	50-24-8	해당 없음	0.5	1 ~ 100	101	0%	6%
152	Prednisone	7.06	성장 촉진제/ Corticosteroids	53-03-2	0.7	0.5	1 ~ 100	102 (*)	24% (*)	24% (*)
153	Progesterone	9.53	호르몬	57-83-0	해당 없음	0.5	1 ~ 100	101	3%	1%
154	Propionylpromazin	7.90	항구토제	3568-24-9	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	63	5%	11%
155	Propyphenazone	7.61	NSAID	479-92-5	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	101	0%	2%
156	Pyrantel	4.15	구충제	15686-83-6	해당 없음	0.5	1 ~ 100	96	2%	2%
157	Pyrimethamine	6.20	항균제	58-14-0	50	0.1	0.25 ~ 100	98	3%	1%
158	Ractopamine	4.55	성장 촉진제/ Beta-agonists	97825-25-7	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	100	2%	2%
159	Rafoxanide	11.03	구충제	22662-39-1	해당 없음	0.5	1 ~ 100	72	5%	4%
160	Rifaximin	9.00	항생제	80621-81-4	해당 없음	1	2.5 ~ 100	101	4%	4%

번호	화합물 명	RT(분)	기능적 용도/ 화합물질 종류	CAS 번호	AOAC MRL (µg/kg)	LOD (µg/L)	R ² > 0.99의 선형 검량선 범위	MQC 회수율(%)(*LQC, #HQC)	MQC 회수율 반복성 (%)(*LQC)	MQC 회수율 재현성 (%)(*LQC, #HQC)
161	Robenidine	8.48	항 콕시들통제	25875-51-8	100	0.5	1 ~ 100	92	2%	2%
162	Ronidazole	3.34	구충제/Nitroimidazoles	7681-76-7	500	0.25	0.5 ~ 100	103	2%	2%
163	Salbutamol [Albuterol]	2.93	성장 촉진제/ Beta-agonists	18559-94-9	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	90	2%	2%
164	Salinomycin	11.52	항 콕시들통제	53003-10-4	100	0.5	1 ~ 100	60	1%	2%
165	Sarafloxacin	5.29	항생제/Quinolones	98105-99-8	10	0.25	0.5 ~ 100	98	2%	2%
166	Spiramycin I	6.03	항생제/Macrolides	24916-50-5	200	0.5	1 ~ 100	68	5%	4%
167	Sulfabenzamide	5.99	항생제/Sulfonamides	127-71-9	100	0.1	0.25 ~ 100	103	3%	4%
168	Sulfacetamide	3.06	항생제/Sulfonamides	144-80-9	100	0.25	0.5 ~ 100	97	3%	2%
169	Sulfachloropyridazine	5.16	항생제/Sulfonamides	80-32-0	100	0.25	0.5 ~ 100	104	2%	9%
170	Sulfaclozine	6.21	항생제/Sulfonamides	102-65-8	100	0.5	1 ~ 100	110	3%	6%
171	Sulfadiazine [Silvadene]	3.36	항생제/Sulfonamides	68-35-9	100	0.25	0.5 ~ 100	101	1%	4%
172	Sulfadimethoxine	6.39	항생제/Sulfonamides	122-11-2	100	0.1	0.25 ~ 100	102	1%	3%
173	Sulfadimidine [Sulfamethazine]	4.54	항생제/Sulfonamides	57-68-1	100	0.25	0.5 ~ 100	99	1%	4%
174	Sulfadoxine	5.49	항생제/Sulfonamides	2447-57-6	100	0.1	0.25 ~ 100	102	2%	1%
175	Sulfaethoxyypyridazine	5.84	항생제/Sulfonamides	963-14-4	100	0.1	0.25 ~ 100	99	3%	6%
176	Sulfaguanidine	1.82	항생제/Sulfonamides	57-67-0	100	0.5	1 ~ 100	93	1%	2%
177	Sulfamerazine	3.94	항생제/Sulfonamides	127-79-7	100	0.25	0.5 ~ 100	100	2%	3%
178	Sulfameter [sulfamethoxydiazine]	4.40	항생제/Sulfonamides	651-06-9	100	0.25	0.5 ~ 100	103	1%	4%
179	Sulfamethizole	4.43	항생제/Sulfonamides	144-82-1	100	0.25	0.5 ~ 100	108	3%	5%
180	Sulfamethoxazole	5.39	항생제/Sulfonamides	723-46-6	100	0.25	0.5 ~ 100	105	3%	5%
181	Sulfamethoxyypyridazine	4.60	항생제/Sulfonamides	80-35-3	100	0.25	0.5 ~ 100	100	3%	4%
182	Sulfamonomethoxine	5.14	항생제/Sulfonamides	1220-83-3	100	0.25	0.5 ~ 100	104	3%	7%
183	Sulfamoxole	4.24	항생제/Sulfonamides	729-99-7	100	0.25	0.5 ~ 100	96	2%	6%
184	Sulfantran	7.25	항생제/Sulfonamides	122-16-7	100	5	10 ~ 100	107	6%	7%
185	Sulfaphenazole	6.26	항생제/Sulfonamides	526-08-9	100	0.25	0.5 ~ 100	102	3%	3%
186	Sulfapyridine	3.75	항생제/Sulfonamides	144-83-2	100	0.25	0.5 ~ 100	100	3%	3%
187	Sulfaquinoxaline	6.44	항생제/Sulfonamides	59-40-5	100	0.1	0.25 ~ 100	105	3%	7%
188	Sulfathiazole	3.55	항생제/Sulfonamides	72-14-0	100	0.25	0.5 ~ 100	99	2%	4%
189	Sulfisomidine	3.27	항생제/Sulfonamides	515-64-0	100	0.25	0.5 ~ 100	95	2%	2%
190	Sulfisoxazole	5.67	항생제/Sulfonamides	127-69-5	100	0.5	1 ~ 100	105	2%	5%
191	Sulindac	7.97	항생제/Sulfonamides	38194-50-2	100	0.25	0.5 ~ 100	108	1%	2%
192	Teflubenzuron	10.01	살충제	83121-18-0	해당 없음	5	10 ~ 100	94	4%	5%

번호	화합물 명	RT(분)	기능적 용도/ 화학물질 종류	CAS 번호	AOAC MRL (µg/kg)	LOD (µg/L)	R ² > 0.99의 선형 검량선 범위	MQC 회수율(%) (*LQC, #HQC)	MQC 회수율 반복성 (%) (*LQC)	MQC 회수율 재현성 (%) (*LQC, #HQC)
193	Testosterone	8.49	성장 촉진제/ Anabolic steroids	58-22-0	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	100	3%	2%
194	Tetracycline	4.67	항생제/Tetracycline	60-54-8	200	0.5	1 ~ 100	77	1%	15%
195	Thiabendazole	4.26	구충제/Benzimidazoles	148-79-8	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	96	4%	3%
196	Thiamphenicol	4.25	항생제/Amphenicols	15318-45-3	50	0.5	1 ~ 100	105	2%	6%
197	Tiamulin	7.56	항생제	55297-95-5	100	0.1	0.25 ~ 100	101	1%	2%
198	Tilmicosin	6.76	항생제/Macrolides	108050-54-0	75	1	2.5 ~ 100	88	3%	6%
199	Tolfenamic acid	9.86	NSAID	13710-19-5	해당 없음	10	25 ~ 100	120 (#)	-	7% (#)
200	Trenbolone	7.91	성장 촉진제/ Anabolic steroids	10161-33-8	해당 없음	0.5	1 ~ 100	100	4%	4%
201	Trichlorfon [DEP]	5.20	진정제	52-68-6	해당 없음	1	2.5 ~ 100	117	0%	16%
202	Triclabendazole	9.67	구충제/Benzimidazoles	68786-66-3	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	102	2%	1%
203	Trimethoprim	4.02	항생제	738-70-5	50	0.25	0.5 ~ 100	96	2%	1%
204	Tripelennamine	6.28	구충제	91-81-6	해당 없음	0.1	0.25 ~ 100	96	3%	1%
205	Tylosin	7.56	항생제/Macrolides	1401-69-0	100	1	2.5 ~ 100	65	5%	10%
206	Valnemulin	8.30	항생제	101312-92-9	해당 없음	0.5	1 ~ 100	106	5%	3%
207	Vedaprofen	9.00	NSAID	71109-09-6	해당 없음	0.5	1 ~ 100	102	2%	1%
208	Virginiamycin M1	8.15	항생제/Macrolides	21411-53-0	100	0.5	1 ~ 100	100	2%	2%
209	Xylazine	5.11	진정제	7361-61-7	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	98	3%	2%
210	Zilpaterol	2.93	성장 촉진제/ Beta-agonists	119520-05-7	해당 없음	0.25	0.5 ~ 100	85	2%	4%

참고 문헌

1. Guidelines for Standard Method Performance Requirements, AOAC Official Methods of Analysis (**2016**) Appendix F.
2. The United States, Code of Federal Regulations (CFR) - Title 21, Tolerance of Residues in New Animal Drugs in Food, *Part 556, volume 6*, April 1, **2019**.
3. The United States, Chemical contaminants of public health concern used by the Food Safety and Inspection Service (FSIS), **2017**.
4. Official Journal of the European Union, Pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits (MRL), Commission Regulation (EU) No 37/**2010**.
5. AOAC guidelines on “Screening and identification method for regulated veterinary drug residues in food”, *Version 7*, June 20, **2018**.

www.agilent.com/chem

DE.8459606481

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2020
2020년 10월 22일, 한국에서 인쇄
5994-1932KO

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com