

5.3.26 나프실린(Nafcillin), 디클록사실린(Dicloxacillin), 벤질페니실린(Benzylpenicillin), 클록사실린(Cloxacillin)

가) 1) 시험법 적용범위

나) 축산물 등에 적용한다.

다) 2) 분석원리

라) 검체 중 나프실린, 디클록사실린, 벤질페니실린, 클록사실린을 아세트니트릴로 추출하고 냉동하여 지방을 침전시켜 제거하고 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

마) 3) 측정기기

바) 액체크로마토그래프/질량분석기

사) 4) 시약 및 시액

아) 가) 용매 : 고속액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

자) 나) 표준원액 : 나프실린, 디클록사실린, 벤질페니실린, 클록사실린 표준품을 각각 정밀히 달아 물에 녹여 100 mg/L로 한다.

차) 다) 표준용액 : 표준원액을 물로 희석하여 나프실린, 디클록사실린, 클록사실린은 0.15, 0.3, 0.6, 0.9 및 1.2 mg/L(유(乳) 분석시에는 0.015, 0.03, 0.06, 0.09 및 0.12 mg/L), 벤질페니실린은 0.025, 0.05, 0.1, 1.5 및 2.0 mg/L(유(乳) 및 알(卵) 분석시에는 0.002, 0.004, 0.008, 0.012 및 0.016 mg/L)가 되게 한다.

카) 5) 시험용액의 조제

타) 가) 유(乳), 알(卵)

균질화 한 검체 1 g을 15 mL 원심분리관에 취하고 아세트니트릴 3 mL를 가한 후 5분간 격렬히 흔들어 섞는다. 이 용액을 1,800 G에서 10분간 원심분리한 후 상층액 1 mL를 취하고 16,000 G에서 10분간 다시 원심분리한다. 상층액을 취하여 -24℃에서 30분간 방치하여 지방을 침전시키고 상층액을 취하여 시험용액으로 한다.

나) 유(乳) 및 알(卵) 외 식품

균질화 한 검체 1 g을 15 mL 원심분리관에 취하고 물 2 mL를 가하여 균질화한 후 아세트니트릴 5 mL를 가하고, 5분간 격렬히 흔들어 섞는다. 이 용액을 1,800 G에서 10분간 원심분리한 후 상층액 1 mL를 취하고 16,000 G에서 10분간 다시 원심분리한다. 상층액을 취하여 -24℃에서 30분간 방치하여 지방을 침전시키고 상층액을 취하여 시험용액으로 한다.

파) 6) 시험조작

하) 가) 측정조건

(1) 액체크로마토그래프 조건

- 칼럼 : C<sub>8</sub> (2.1 × 100 mm, 3.5 μm) 또는 이와 동등한 것
- 칼럼온도 : 40℃
- 이동상 : 90% 아세트니트릴 용액
- 유속 : 0.25 mL/분
- 주입량 : 10 μL

(2) 질량분석기 조건

- Ionization : ESI(negative)
- Capillary Temperature : 550℃

- Collision gas : 아르곤(Ar)
- Collision energy : 나프실린, 디클록사실린, 클록사실린(16 V), 벤질페니실린 (14 V)

7) 정량시험

가) 시험용액 및 표준용액을 각각 질량분석기에 주입하여 아래표의 특이이온을 확인한다. 이후, 각각에서 얻은 크로마토그램으로부터 머무름시간을 비교하고, 나프실린은 m/z 272, 디클록사실린은 m/z 329, 벤질페니실린은 m/z 192, 클록사실린은 m/z 293에 대한 면적으로 검량선을 작성하여 시험용액 중 각각의 함량을 구한다.

물질	Precursor ion(m/z)	Fragment ion(m/z)
나프실린	413	272, 243, 73
디클록사실린	470	329, 426, 42
벤질페니실린	333	192, 74, 72
클록사실린	434	293, 390, 42

나) 정량한계

- (1) 나프실린 : 유(乳)(0.001 mg/kg), 유(乳)외 식품(0.01 mg/kg)
- (2) 디클록사실린 : 0.001 mg/kg
- (3) 벤질페니실린 : 유(乳)(0.001 mg/kg), 유(乳)외 식품(0.01 mg/kg)
- (4) 클록사실린 : 0.002 mg/kg