5.3.92 린코마이신(Lincomycin), 클린다마이신(Clindamycin)

1) 시험법 적용범위

수산물에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 린코마이신과 클린다마이신을 2% 초산으로 추출하고 HLB 카트리지로 정제하여 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프-질량분석기(LC/MS)를 사용한다.

4) 시약 및 시액

가) 용매 : 액체크로마토그래피용 또는 이와 동등한 것

나) 물 : 3차 증류수

다) 표준원액 : 린코마이신과 클린다마이신 표준품을 각각 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L로 한다.

라) 표준용액 : 표준원액을 이동상으로 희석하여 표준원액을 각각 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 mg/L가 되게 한다.

마) 2% 초산 용액 : 초산 10 mL를 물에 녹여 500 mL가 되게 한다.

바) 0.1% 개미산 용액 : 개미산 0.5 mL를 물에 녹여 500 mL가 되게 한다.

사) HLB(Hydrophilic Lipophilic Balance) 카트리지 : divinylbenzene-co-N-vinyl-pyrrolidone 고정상이 충진되어 있는 일회용 카트리지(200 mg, 6 mL)를 사용한다.

아) 기타시약 : 특급

5) 시험용액의 조제

분쇄한 검체 2 g을 원심분리관에 취하고 2% 초산 용액 6 mL를 가하여 균질화 한 다음 1,200 *G*에서 10분간 원심분리 한다. 미리 메탄올 5 mL와 물 5 mL로 활성화시킨 HLB 카트리지에 상층액을 흡착시킨 다음 물 5 mL로 세척한 후 메탄올 6 mL로 용출한다. 용출액을 약 3 mL가 될 때 까지 실온에서 질소 농축시킨다. 잔류한 추출액에 0.1% 개미산을 넣어 총량이 4 mL로 하고 이를 0.45 μm 멤브레인필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C_{18}(2.1 × 150 mm, 3 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

- 이동상 A : 0.1% 개미산 용액
- 이동상 B : 아세토니트릴

시간(분)	A(%)	B(%)
0.0	90	10
15.0	5	95
25.0	5	95
30.0	90	10

(3) 유속 : 0.2 mL/min

(4) 주입량 : 10 μL

나) 질량분석기 측정조건

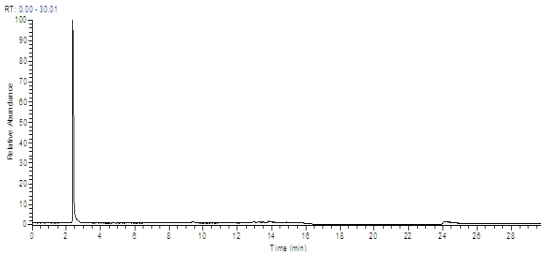
(1) Inoization : ESI(Positive)

(2) Capillary temperature : 200 ℃

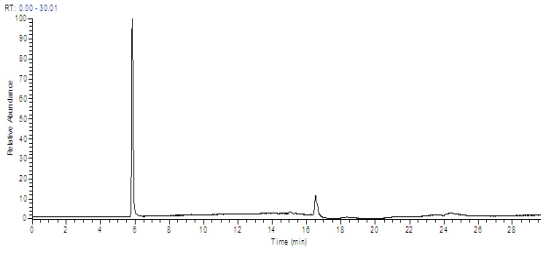
(3) 특이이온 및 Spray voltage

물 질	SIM ion(m/z)	Spray voltage(KV)
린코마이신	407	4.5
클린다마이신	425	4.5

다) 표준품의 크로마토그램



린코마이신 RT 2.4분



클린다마이신 RT 5.8분

7) 정량시험

가) 표준용액과 시험용액을 각각 질량분석기에 주입하여 특이이온을 확인한다. 이후, 각각에서 얻은 크로마토그램으로부터 머무름시간을 비교하고, 표준용액의 피크의 면적으로 검량선을 작성하여 시험용액 중 린코마이신 및 클린다마이신의 함량을 구한다.

나) 정량한계

(1) 린코마이신 정량한계 : 0.1 mg/kg

(2) 클린다마이신 정량한계 : 0.01 mg/kg