5.3.27 세프티오퍼(Ceftiofur)

5.3.27.1 제1법

1) 시험법 적용범위

우유, 산양유 등 유(乳)류 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체를 초산암모늄용액으로 희석하여 $C_{18}$ 카트리지에 통과시키고 메탄올로 용출하여 농축한 후 역상 크로마토그래프/자외부흡광검출기로 측정한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/자외부흡광검출기

4) 시약 및 시액

가) 표준품 희석용매 : 250 mL 0.1 M 초산완충용액과 250 mL 메탄올을 혼합한다.

나) 표준원액 : 세프티오퍼 나트륨 표준품 10 mg을 정확히 달아 물에 용해한 후 희석하여 100 μg/mL 농도가 되게 한다.

다) 0.1 M 초산암모늄 : 3.8 g 초산암모늄을 물에 녹여 500 mL가 되게 한다.

라) 0.2 M 초산 : 11.5 mL 빙초산을 물로 녹여 1 L가 되게 한다.

마) 0.2 M 초산나트륨 : 16.4 g 무수초산나트륨을 1 L 플라스크에 넣어 물로 1 L가 되게 한다.

바) 0.1 M 초산완충용액 : 0.2 M 초산 463 mL와 0.2 M 초산나트륨 37 mL을 혼합해서 물로 1 L가 되게 한다.

사) SPE 칼럼 : Mega Bond Elut $C_{18}$(Varian사, 1 g) 또는 이와 동등한 것

아) 기타시약 : 특급

5) 시험용액의 조제

검체 2.0 g을 50 mL 원심분리관에 담은 후 8 mL 0.1 M 초산암모늄 용액으로 희석한다. 가볍게 흔들어 준 다음 미리 5 mL 메탄올과 10 mL 0.1 M 초산암모늄을 흘려준 $C_{18}$ 칼럼(1 g, 6 mL)에 희석한 우유검체를 서서히 통과시킨다(1초당 1-2방울). 원심분리관을 5 mL 0.1 M 초산암모늄으로 두 번 헹군 다음 SPE 칼럼에 통과시킨다. 다시 5 mL 초산암모늄으로 칼럼을 한번 더 세척한 후 진공을 걸어 $C_{18}$ 칼럼을 건조시킨다. 3 mL 메탄올을 가하여 유리시험관에 용출시킨다(1초당 5-6방울). 추출액을 질소하에서 약 1 mL로 농축시킨 후 농축액을 2 mL 메스플라스크로 옮긴다. 0.4 mL 0.1 M 초산완충용액으로 유리시험관을 두 번 헹구어 플라스크에 취한 다음 완충용액으로 정확히 2 mL가 되게 한다. 0.2 μm 시린지 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 측정조건

(1) 칼럼 : Supelcosil LC-18-DB $C_{18}$(4.6×250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상 : 800 mL 0.1 M 초산완충용액과 200 mL 아세토니트릴을 혼합하여 0.2 μm 나일론-66 필터로 여과한다.

(3) 유속 : 1.0 mL/분

(4) 측정파장 : UV 293 nm

7) 정량시험

시험용액 및 표준용액 100 μL를 위의 조건에 따라 액체크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피크의 머무름시간을 비교해서 피크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여

검체 중 세프티오퍼의 함량을 구한다.