pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 38, No. 5, pp. 361~372 (2023)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2023.38.5.361

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

LC-MS/MS를 이용한 축산물 중 유기주석계 농약 Azocyclotin, Cyhexatin 및 Fenbutatin oxide의 동시시험법 개발

김남영 · 박은지 · 박소라* · 이정미 · 정용현 · 윤혜정
식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 잔류물질과

Development of a Simultaneous Analytical Method for Azocyclotin, Cyhexatin, and Fenbutatin Oxide Detection in Livestock Products using the LC-MS/MS

Nam Young Kim, Eun-Ji Park, So-Ra Park*, Jung Mi Lee, Yong Hyun Jung, Hae Jung Yoon
Pesticide and Veterinary Drug Residues Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea

(Received May 4, 2023/Revised October 4, 2023/Accepted October 14, 2023)

ABSTRACT - Organotin pesticide is used as an acaricide in agriculture and may contaminate livestock products. This study aims to develop a rapid and straightforward analytical method for detecting organotin pesticides, specifically azocyclotin, cyhexatin, and fenbutatin oxide, in various livestock products, including beef, pork, chicken, egg, and milk, using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The extraction process involved the use of 1% acetic acid in a mixture of acetonitrile and ethyl acetate (1:1). This was followed by the addition of anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$) and anhydrous sodium chloride. The extracts were subsequently purified using octadecyl (C_{18}) and primary secondary amine (PSA), after which the supernatant was evaporated. Organotin pesticide recovery ranged from 75.7 to 115.3%, with a coefficient of variation (CV) below 25.3%. The results meet the criteria range of the Codex guidelines (CODEX CAC/GL 40). The analytical method in this study will be invaluable for the analysis of organotin pesticides in livestock products.

Keywords: Cyhexatin, Fenbutatin oxide, LC-MS/MS, Organotin, QuEChERS

국민의 생활 식습관의 변화로 해마다 육류소비량이 증가하고 있으며, 통계청(Korean Statistical Information Service, KOSIS) 및 한국육류유통수출협회에 따르면 2021년 국내 1인당 쌀 소비량은 56.9 kg, 육류소비량은 56.1 kg으로 우리나라 국민의 주식이라 할 수 있는 쌀의 소비량을 따라잡고 있다[1,2]. 이에 따라 축산물의 안전성이 중요시되고 있으며 특히, 살충제, 살균제 등의 농약이 사료, 음수, 토양에 잔류하며 비의도적 오염으로 인해 축산물에 잔류 또는 축적되어 사람에게 영향을 미칠 수 있으므로 이에 대한 관리가 필요하다[3,4]. 현재 식품의약품안전처에서는 2023년 3월 기준으로 축산물 중 139종의 농약에 대해 잔류허용기준(maximum residue level, MRL)을 설정하여 관리하고 있다[5].

대표적인 유기주석계 살비제는 azocyclotin, cyhexatin 및 fenbutatin oxide로 오래전부터 과수용으로 사용되고 있으며[6], 이는 아데노신 삼인산(ATP) 합성효소를 저해함으로서 해충을 억제하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다[7]. 각 농약의 n-octanol/water 분배계수(Log P_{ow})는 5.3, 4.9 및 5.2이며, 증기압은 4.5×10^{-13} mm Hg, 2×10^{-9} mm Hg 및 1.8×10^{-11} mm Hg으로 매우 낮고 비극성 화합물의 특성을 나타낸다[8,9].

유기주석계 농약 3종(azocyclotin, cyhexatin 및 fenbutatin

*Correspondence to: So-Ra Park, Pesticide and Veterinary Drug Residues Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju 28159, Korea
Tel: +82-73-719-4218, Fax:+82-43-719-4200
E-mail: psr0126@korea.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal 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.

oxide)의 일일섭취허용량(acceptable daily intake, ADI)은 각각 0.003, 0.007 및 0.03 mg/kg b.w/day로 설정되어있다[10]. Azocyclotin 및 cyhexatin의 축산물 중 잔류물의 정의는 azocyclotin 및 cyhexatin의 합을 cyhexatin으로 하며 MRL은 국내와 유럽에서 각각 우유 등 3품목(0.05-0.2 mg/kg) 및 소 및 그의 부산물 등 52품목(0.01 mg/kg)으로 설정되어 관리하고 있다. Fenbutatin oxide은 모화합물이 잔류물의 정의로, 국내에서는 MRL이 닭고기 등 6품목에서 0.05-0.2 mg/kg으로 설정되어 있으며, 국외 축산물 중 MRL은 일본, Codex, EU에서 각각 소 등 28품목(0.05-0.2 mg/kg), 닭고기 등 6품목(0.05-0.2 mg/kg) 과 소 및 부산물 등 52품목(0.02 mg/kg)으로 설정되어 관리하고 있다[11-13].

Azocyclotin의 경우 살포 후 생체 및 환경 중에서 cyhexatin으로 빠르게 분해되어 azocyclotin의 잔류량은 cyhexatin으로 나타나게 되며, 축산물에서 해당 농약에 대한 잔류물의 정의는 'azocyclotin과 cyhexatin의 합을 cyhexatin으로 함'으로 설정되어있다. Azocyclotain과 cyhexatin의 선행연구들을 보면, 기기분석간 MRM 조건이 azocyclotin과 cyhexatin이 서로 다르게 설정하여 분석한 경우가 있고 동일한 MRM 조건으로 분석한 연구가 있으며, 별도의 전환과정을 거치지 않아도 수용액 중 azocyclotin이 cyhexatin으로 전환되는 것을 확인한 사례가 있다[14-16]. 본 연구에서 azocyclotin과 cyhexatin은 별도의 전환과정없이 LC-MS/MS 기기 분석과정의 수용액 중에서도 cyhexatin으로 분해되므로 분석법 관련 연구에서 azocyclotin의 경우 cyhexatin을 대상 성분으로 확립하였다.

식품공전의 축산물 중 유기주석계 농약 시험법(식품의약품안전처 공고 제2020-55호, '20.6.26.)은 단성분 시험법으로 다량의 유기용매를 사용하고 액-액분배 및 유도체화 등의 복잡한 전처리 과정이 필요하여 분석에 많은 시간이 소요되며 가스크로마토그래피로 분석하여 재현성이 떨어지는 단점이 있어 노후된 시험법에 대한 개선이 필요하다[17]. 유기주석계 농약 관련 선행 연구를 살펴보면[15,18,19], 최근에는 QuEChERS법을 기반으로 추출 및 정제한 후 LC-MS/MS를 이용한 분석법이 주로 연구되고 있으나, 이는 주로 농산물을 대상으로 한 시험법으로 축산물에 대한 연구는 아직 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 대표적으로 사용되는 유기주석계 농약 3종(azocyclotin, cyhexatin 및 fenbutatin oxide)에 대해 축산물에 적용할 수 있는 정밀도 및 정확도가 높으며 효율성이 뛰어난 QuEChERS법을 활용하여 시험법을 마련하고자 하였다.

Materials and Methods

농약 및 시약

Azocyclotin 표준품(99.5%)과 cyhexatin 표준품(99.9%)은 Dr.Ehrenstorfer (Teddington, UK), fenbutatin oxide 표준품(98.0%)은 Sigma-Aldrich (ST Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 아세토니트릴(Acetonitrile, ACN)과 메탄올(Methanol, MeOH)은 HPLC 등급으로 Merck (Darmstadt, Germany)사 제품을 사용하였으며, 포름산 암모늄(ammonium formate)과 포름산(formic acid)은 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다. 추출에 사용된 무수황산마그네슘과 염화나트륨은 Sigma-Aldrich 제품을 사용하였고, 정제에 쓰인 C_{18}은 Waters (Miliford, MA, USA), primary secondary amine (PSA)는 Agilent technology (Santa Clara, CA, USA)에서 구입하여 실험에 사용하였다. PTFE Syringe filter (0.2 μm×13 mm)는 Teknokroma (Sant cugat del valles, Spain)에서 구입하였다. 시험법 확립을 위한 대표 축산물 5종의 검체인 소고기, 돼지고기, 닭고기, 우유, 계란을 구입하여 균질화한 후 밀봉된 용기에 담아 -20°C에 보관하고 실험에 사용하였다.

Azocyclotin, cyhexatin과 fenbutatin oxide의 표준품을 아세톤에 녹여 100 μg/mL의 농도가 되도록 표준원액을 조제하였으며, 이후 사용 시에는 농도에 맞게 메탄올로 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 표준원액 및 표준용액은 갈색병에 담아 -20°C에서 보관하였다.

검량곡선은 cyhexatin과 fenbutatin oxide가 검출되지 않은 음성대조시료(Negative control sample)에 최종적으로 농도가 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 mg/L이 되도록 제조하였다.

기기 분석

기기는 액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS, Thermo scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하였으며, 분석용 컬럼은 ZORBAX SB-C_{18} (2.1 mm I.D.×50 mm L, 3.5 μm, Agilent technology)을 이용하여 분석하였다. 컬럼 온도는 40°C를 유지하였으며 유속은 0.4 mL/min으로, 주입량은 10 μL으로 하였다. 이동상 용매는 5 mM 포름산 암모늄, 1% 포름산 함유물과 5 mM 포름산 암모늄, 1% 포름산 함유 메탄올로 기울기 용리 방식을 사용하여 분석 시간을 8분으로 하였다. 질량분석기는 electrospray ionization (ESI)법의 positive-ion mode를 사용하였으며 total ion chromatogram (TIC)과 mass spectrum을 통해 감도가 우수한 이온을 정량이온(quantification ion) 및 정성이온(quantification ion)으로 선택하여 multi reaction monitoring (MRM) 조건을 선정하였다(Table 1).

추출 및 정제

추출은 균질화된 검체 5 g을 정밀히 달아 50 mL 원심분리관에 넣고 1% 아세트산 함유 아세토니트릴:아세트산에틸(1:1)를 10 mL 첨가하여 진탕기(MMV-1000W, EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 30분간 진탕한 후 $MgSO_4$ 4 g, NaCl 1 g을 넣고 1분간 다시 진탕하였으며 이를 4°C, 4,000

Table 1. Analytical conditions of LC-MS/MS for the determination of cyhexatin and fenbutatin oxide

Condition	Content						
Instrument	LC: Accela (Thermo Fisher Scientific) MS/MS: TSQ Vantage (Thermo Fisher Scientific)						
Chromatographic separation							
Column	ZORBAX SB-C_{18} (2.1 mm I.D.×50 mm L, 3.5 μm)						
Flow rate	0.4 mL/min						
Injection volume	10 μL						
Column temp.	40°C						
Mobile phase	A : 1% formic acid/5 mM ammonuim formate in water B : 1% formic acid/5 mM ammonuim formate in methanol						
Gradient	Time (min)	A (%)	B (%)				
	0	60	40				
	2	0	100				
	5	0	100				
	5.1	60	40				
	8.0	60	40				
MS/MS condition							
Spray voltage	3.7 kV						
Capillary temperature	320°C						
Vaporizer temperature	70°C						
Coumpound	Ioniazation mode	Retention time (min)	Molecular weight (g/mol)	Exact mass (g/mol)	Precursor ion (*m/z*)	Product ion (*m/z*)	CE[1] (eV)
Cyhexatin	+	3.2	386.2	387.2	369	205[2]	17
						81	28
Fenbutatin oxide	+	3.6	1052.7	1052.4	519	197[2]	55
						351	34

[1] Collision energy (eV).
[2] Quantification ion.

*G*에서 10분간 원심분리하였다.

정제는 C_{18} 250 mg, PSA 100 mg을 넣은 새로운 15 mL 원심분리관에 추출로부터 얻은 상층액 중 5 mL를 첨가하여 1분간 진탕한 후 4°C, 4,000 *G*에서 10분간 원심분리하였다. 정제된 상층액 3 mL는 40°C에서 질소농축기(Evatros TCS, Goojung, Seoul, Korea)를 사용하여 농축한 후 5 mM 포름산 암모늄, 1% 포름산 함유 메탄올 1.5 mL에 녹여 1분간 진탕을 추가로 실시한 뒤 4°C, 4,000 *G*에서 10분간 원심분리하였다(이때, 우유는 원심분리 전에 -20°C에서 30분간 방냉을 실시하였다). 원심분리 후 상층액을 멤브레인 필터(PTFE)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

시험법의 유효성 검증

본 연구에서 시험법 검증은 'CODEX 가이드라인(CAC/GL 40-1993, 2003)[20]' 및 식품의약품안전평가원의 '식품등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인(2016)'을 근거로[21], 검출한계(limit of detection), 정량한계(limit of quantification), 선택성(selectivity), 정확도(accuracy), 정밀도(precision), 직선성(linearity)을 확인하여 검증하였다. 선택성은 축산물 검체의 무처리 시료와 표준용액을 첨가한 시료의 크로마토그램을 비교하여 확인하였다. 직선성 확인을 위해 azocyclotin, cyhexatin과 fenbutatin oxide을 0.005-0.75 μg/mL의 농도로 제조하였으며, 각 농도의 피크 면적을 토대로 검량선을 작성하여 이에 대한 결정계수(coefficient of determination; R^2)를 구하여 확인하였다. 기기상 검출한계와 정량한계는 크로마토그램상에서 검출된 피크의 신호대 잡음비(signal-to-noise ratio; S/N)의 값이 3, 10 이상으로 하였으며 최소검출농도와 희석배율을 계산하여 시험법 정량한계를 확인하였다. 정확도 및 정밀도는 대표 축산물소, 돼지, 닭, 우유, 계란 5개 검체에 대해 LOQ, MRL,

MRL 10배의 농도가 되도록 무처리 시료에 5반복 처리한 후 시료 분석과 동일한 방법으로 분석하여 평균 회수율과 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)를 구하였다.

Results and Discussion

추출 및 정제과정의 최적화

축산물 중 유기주석계 농약 azocyclotin, cyhexatin 및 fenbutatin oxide의 추출 및 정제조건을 확인하고자 하였으며, 분석시 azocyclotin은 모두 cyhexatin으로 분석되었다. 먼저 추출에 용이한 용매를 선정하고자 선행 연구를 참고하여 아세트산에틸을 추출 용매로 선택하였으며[22,23], 이와 더불어 추출용매의 효율을 높이고자 아세트산을 추가하여 검토하였다(Fig. 1A). 한편, 본 연구에서는 QuEChERS법을 이용하여 시험법을 확립하였으며 QuEChERS 시험법 중 초기 개발된 original법, 시료의 pH에 따라 영향을 받는 농약을 보호하기 위해 acetate buffer를 사용하는 AOAC법과 동일한 이유로 citrate buffer를 사용하는 EN법으로 전처리한 후 회수율을 비교하여 추출조건을 선정하였다(Fig. 1B)[24-26]. Azocyclotin은 original법에서 회수율이 가장 높게 나왔으나 다소 낮은 수치가 확인되었다(36.2%). Cyhexatin original법(88.2%)에서 가장 좋은 수치를 보였고, fenbutatin oxide 또한 original법(95.0%)에서 가장 좋은 회수율을 보여 최종적으로 original법을 추출 조건으로 선정하였다.

모두 original법으로 적용하였으며, 1% 아세트산을 첨가하여 아세트산에틸의 비율을 비교한 결과, azocyclotin과 cyhexatin 및 fenbutatin oxide에서 각각 50%, 70% 및 30% 아세트산에틸이 함유된 추출용매의 회수율이 가장 높았으나 동시 분석을 위하여 종합하였을 때, 최종적으로 50% 아세트산에틸이 함유된 추출용매를 선정하였다.

또한, 축산물이 기기에서 높은 matrix effect를 보이는 것을 감안하여, Matrix effect를 확인하였다. matrix effect는 LC-MS/MS로 분석할 경우 검체 추출 성분에 따라 이온억압 또는 증강 현상을 의미하는 것으로, 이온억압의 경우 검출기 도달까지 이온의 양이 감소하는 것을 뜻하며, 증가하는 것은 이온 증강현상이라 한다. -20-20% 인 경우

Table 2. Matrix effect of organotin pesticides in livestock products

Sample	Matrix effect (%)		
	Azocyclotin	Cyhexatin	Fenbutatin oxide
Beef	-73.04	-72.35	-66.40
Pork	-73.51	-65.02	-71.74
Chicken	-75.31	-44.13	-61.21
Milk	-95.31	-47.25	-73.03
Egg	-59.56	-20.31	-59.81

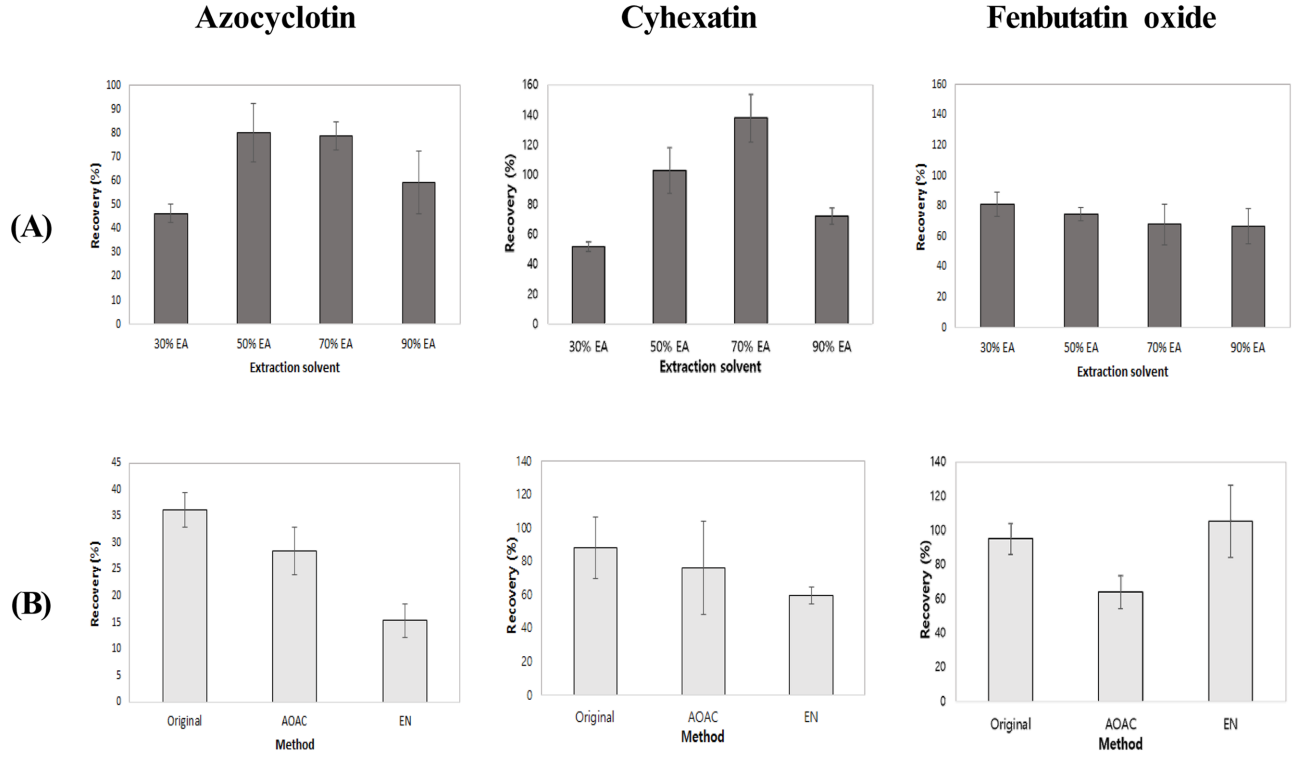

Fig. 1. Comparison of extraction methods and solvents for organotin pesticides.

matrix effect가 없음, -50--20% 또는 20-50%는 중간, -50% 미만 혹은 50% 초과인 경우 높음을 나타낸다. 본 연구에서 축산물 별 matrix effect를 확인한 결과는 Table 2에 나타내었으며, azocyclotin은 소에서 가장 적은 -73.04%, 우유에서 가장 큰 -95.31%, cyhexatin은 계란 검체에서 가장 적은 -20.31%, 소에서 가장 큰 -72.35%의 matrix effect가 확인되었으며, fenbutatin oxide는 계란에서 -59.81%, 우유에서 -73.03%의 수치를 보였다. 대부분의 matrix effect가 높게 나타났고, 축산물 검체 matrix의 이온억압현상이 높게 나온 것을 확인하였으며, 회수율계산을 위한 정량 확인은 조직표준곡선으로 하였다. 각 검체 별 matrix effect는 Table 3에 나타내었다.

정제는 지질 등 비극성 간섭 물질을 제거하는 C_{18} (octadecylsilane)과, (+)전하를 띠는 작용기로 (-)전하를 띠는 유기산 제거역할을 하는 PSA를 사용하였다[24]. C_{18}과 PSA의 첨가량에 따라 회수율을 비교한 결과(Table 3), C_{18}

Table 3. The recovery of azocyclotin, cyhexatin and fenbutatin oxide according to the purification materials

Purification materials		Recovery (%)		
		Azocyclotin	Cyhexatin	Fenbutatin oxide
C_{18}	250 mg	82.9±2.4	82.2±2.5	103.2±8.5
	500 mg	120.7±12.6	73.8±4.4	62.1±6.9
	750 mg	117.8±12.1	90.5±6.2	103.9±3.9
PSA	100 mg	100.6±8.8	103.6±15.7	111.7±3.4
	200 mg	78.8±17.1	111.0±8.8	128.3±6.9
	400 mg	125.7±7.6	102.1±2.1	111.3±11.1
C_{18}(250 mg) + PSA(100 mg)		98.5±4.1	93.4±19.8	114.9±10.0

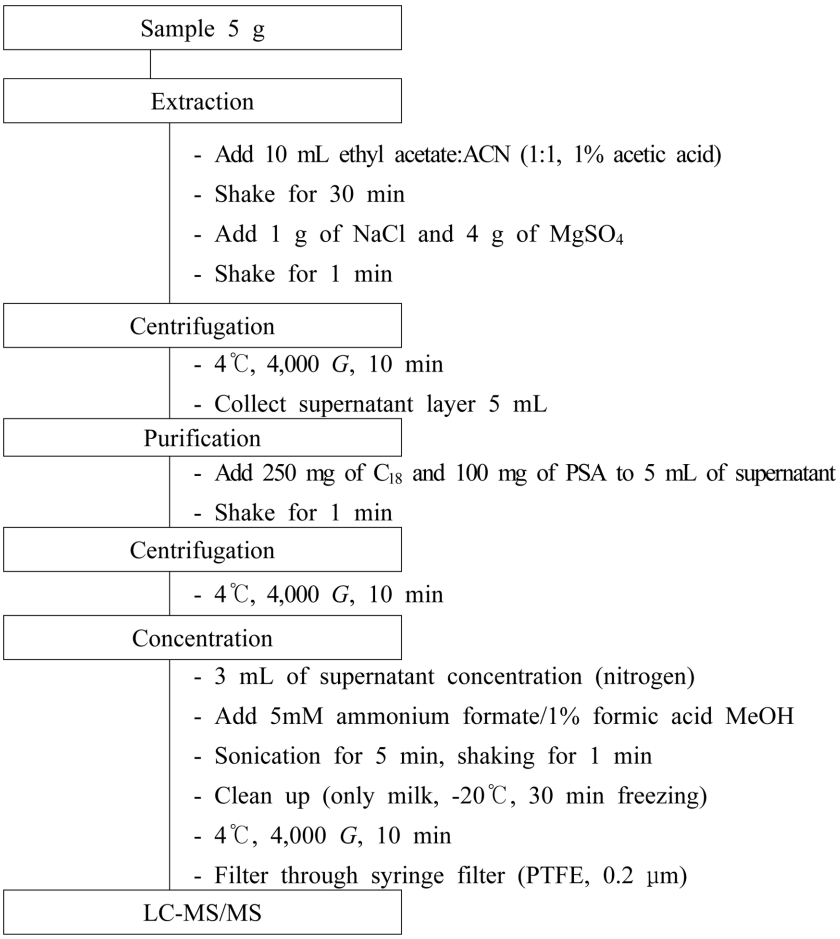

Fig. 2. Flow chart for organotin pesticide analysis.

은 750 mg에서 가장 좋은 회수율을 보였으며 PSA는 100 mg과 400 mg에서 적합한 회수율을 보였다. PSA를 많이 넣을수록 회수율의 차이는 크지 않았으나, 기기에서 분석한 농약의 검출세기와 baseline이 불안정해져 감도가 좋지 않아 선택성이 떨어지는 단점이 있어 최종적으로 C_{18} 250 mg, PSA 100 mg을 선택하여 회수율을 확인한 결과, azocyclotin, cyhexatin 및 fenbutatin oxide에서 각각 98.5, 93.4 및 114.9%의 회수율을 보여 본 시험법에서 사용할 정제조건으로 적합함을 확인하였다. 농축 후 재용해 용매는 분석 시 baseline 안정화를 위해 이동상 용매와 동일한 용매로 하였으며, 우유의 경우 추출 및 정제 후에도 분석 전 여과하여 vial에 담을 경우 침전물이 발생하므로 freezing 과

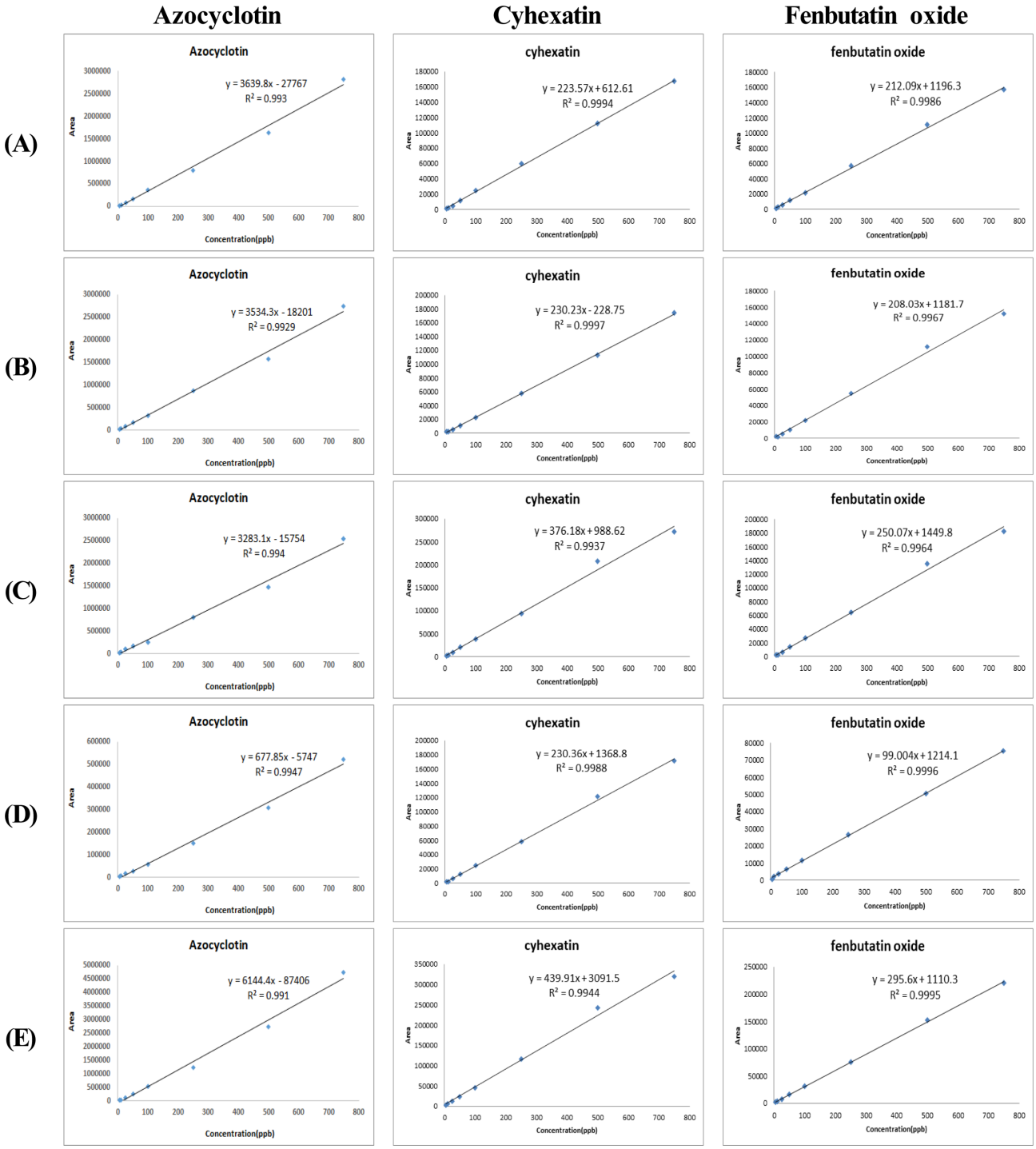

Fig. 3. Standard curve of azocyclotin, cyhexatin and fenbutatin oxide(Concentration: 0.005 - 0.75 μg/mL). (A: Beef, B: Pork, C: Chicken, D: Milk, E: Egg)

정을 추가하였으며, 이와 같이 최종 확립된 유기주석계 농약의 시험법은 다음 그림과 같다(Fig. 2).

시험법 유효성 검증

직선성의 확인은 각 대상 물질별로 0.005, 0.01, 0.025,

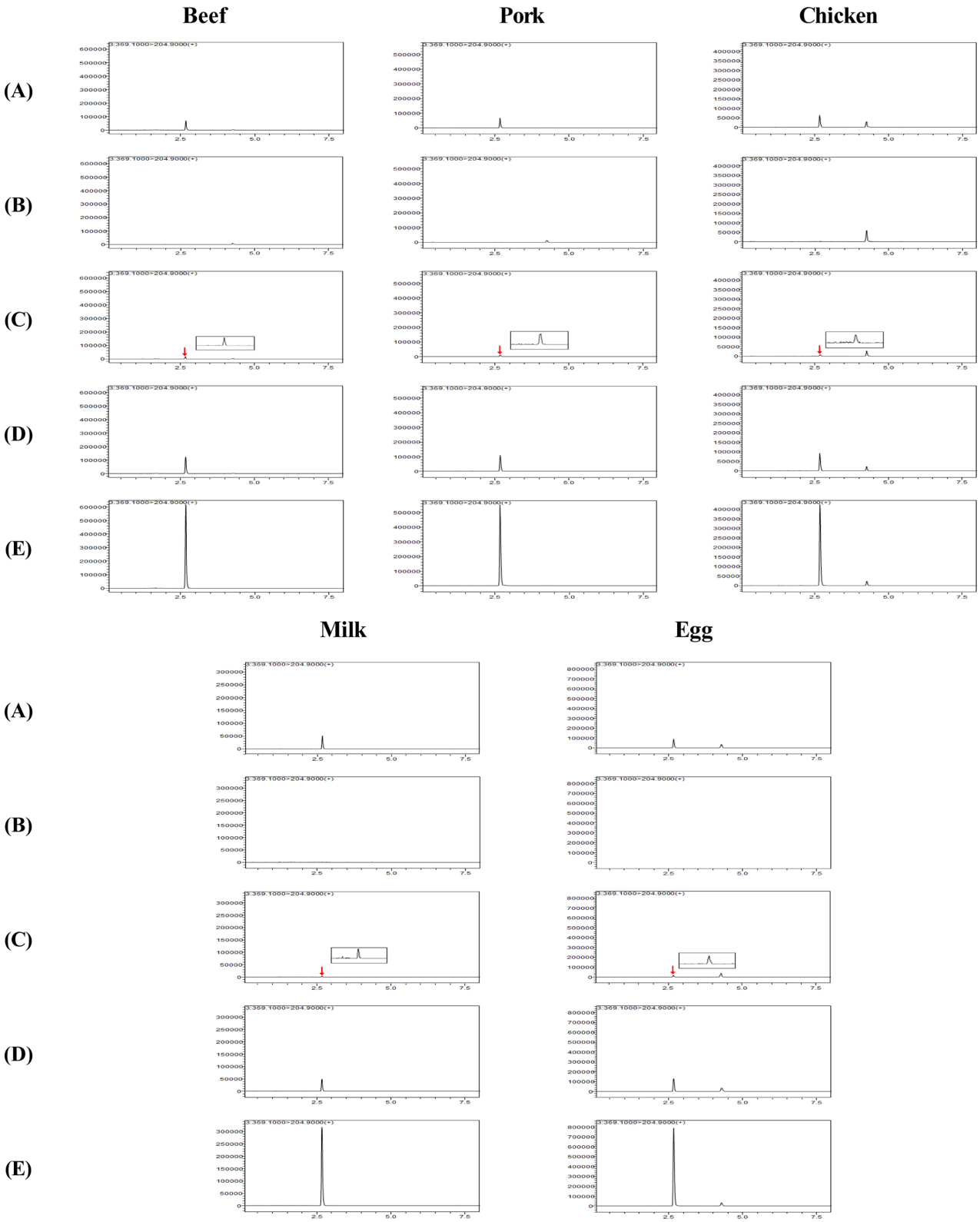

Fig. 4. LC-MS/MS chromatograms of azocyclotin in livestock products corresponding to: (A) tissue standard at 0.05 mg/L, (B) control, (C) standard spiked at 0.01 mg/kg, (D) standard spiked at 0.05 mg/kg, and (E) standard spiked at 0.5 mg/kg.

0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 μg/mL 농도로 calibration curve를 작성하였으며 결정계수(R^2)가 0.99 이상으로 확인되어 높은 직선성을 나타내었다. 이는 Codex 가이드라인(CAC/GL 40-1993, 2003) 및 '식품의약품안전처 식품의약품안전

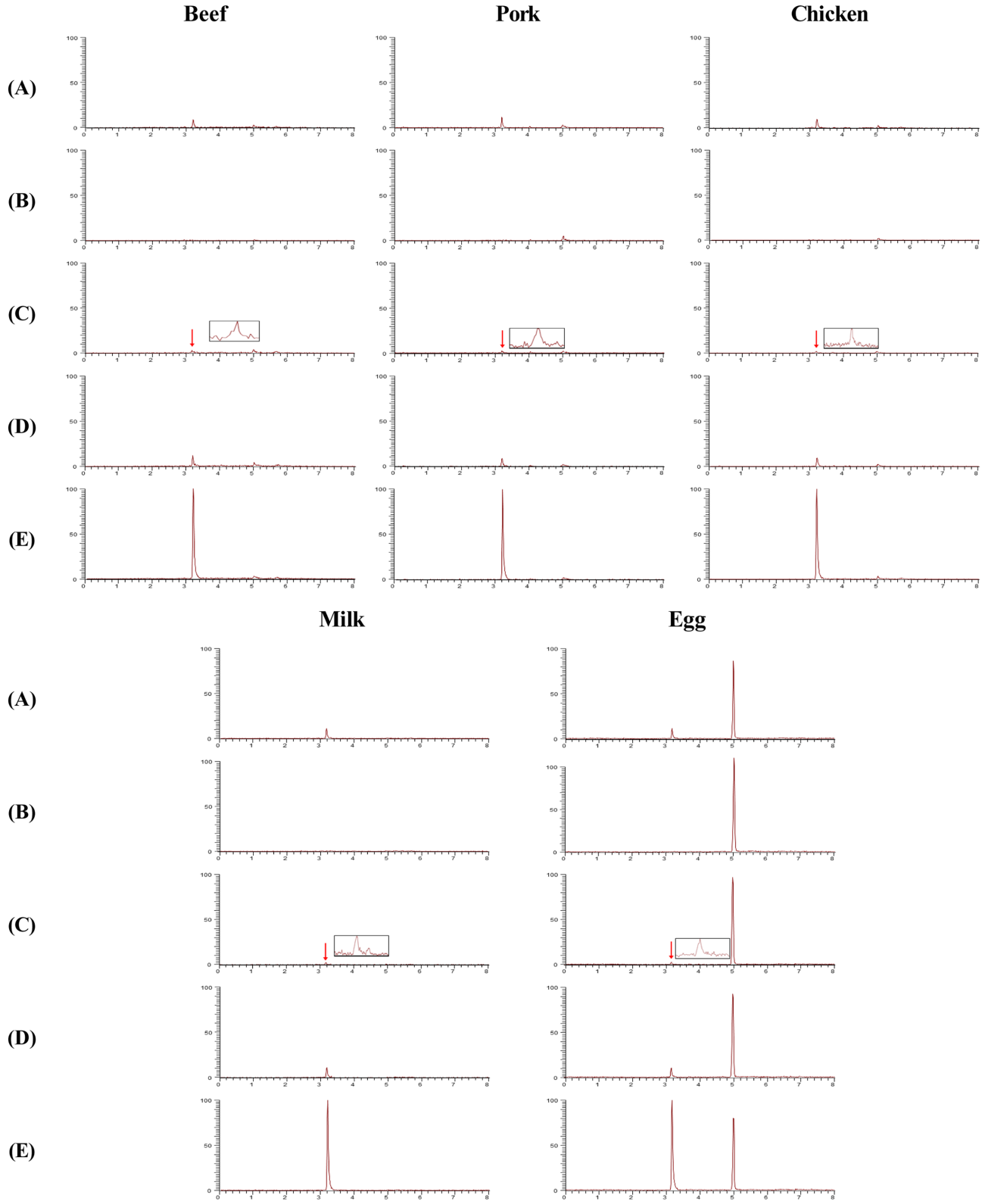

Fig. 5. LC-MS/MS chromatograms of cyhexatin in livestock products corresponding to: (A) tissue standard at 0.05 mg/L, (B) control, (C) standard spiked at 0.01 mg/kg, (D) standard spiked at 0.05 mg/kg, and (E) standard spiked at 0.5 mg/kg.

평가원의 식품등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인(2016)'의 기준(R^2≥0.98)에 부합하였으며(Fig. 3), 해당 검량선을 통해 대표 축산물 소, 돼지, 닭, 우유, 계란의 회수율을 정량하였다.

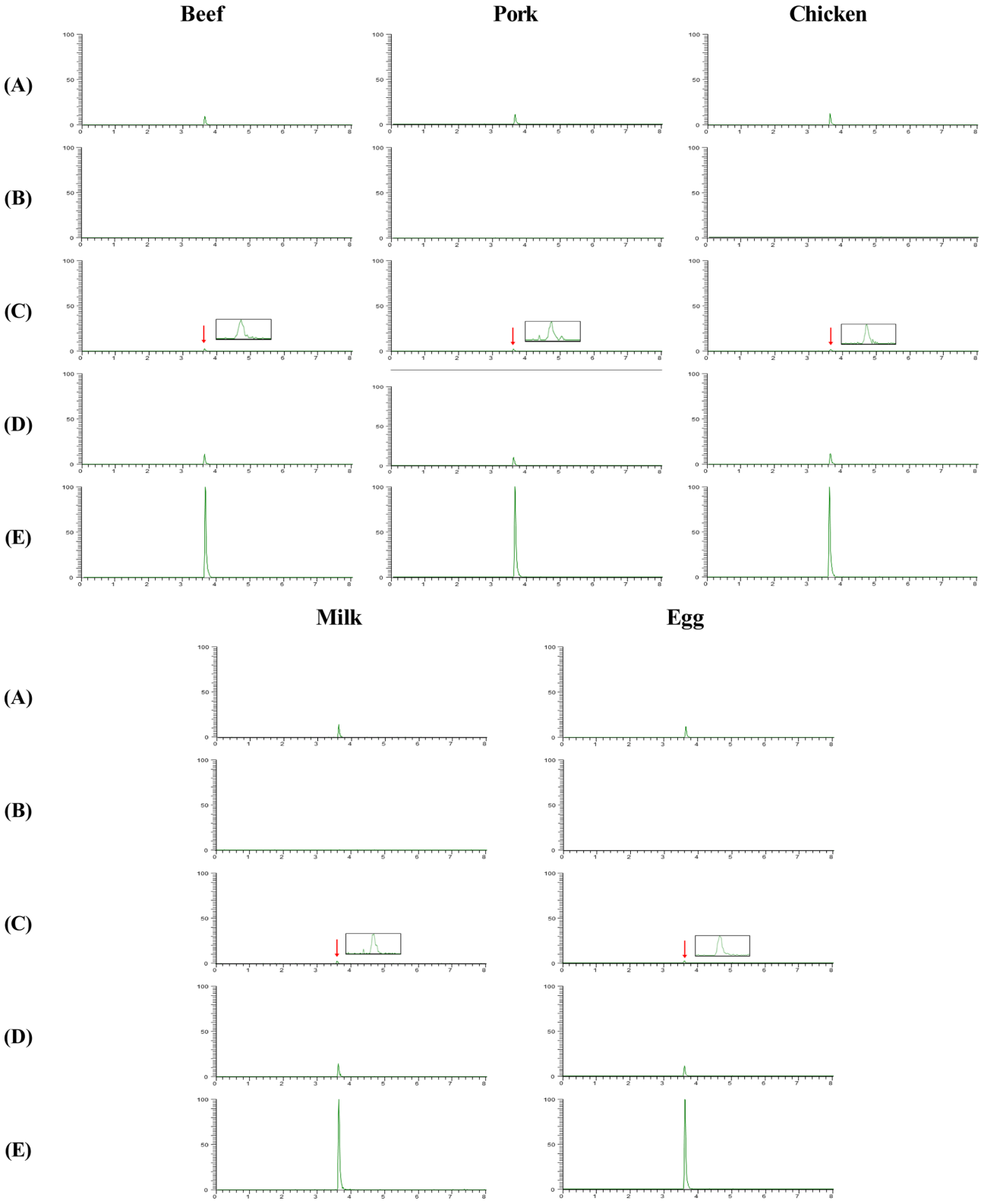

Fig. 6. LC-MS/MS chromatograms of fenbutatin oxide in livestock products corresponding to: (A) matrix matched standard at 0.01 mg/L, (B) control, (C) standard spiked at 0.01 mg/kg, (D) standard spiked at 0.1 mg/kg, and (E) standard spiked at 0.5 mg/kg.

Table 4. Inter-laboratory validation results for analysis of azocyclotin in livestock products

Sample	Fortification (mg/kg)	Recovery±RSD[a)] (%)
Beef	0.01	93.9±7.2
	0.05	94.7±7.5
	0.5	93.5±4.3
Pork	0.01	102.7±25.3
	0.05	76.4±8.2
	0.5	77.9±12.7
Chicken	0.01	83.2±17.7
	0.05	114.8±8.8
	0.5	110.0±6.8
Milk	0.01	78.7±10.5
	0.05	106.2±3.0
	0.5	115.3±10.1
Egg	0.01	93.9±16.5
	0.05	79.6±7.7
	0.5	88.1±5.0

Table 5. Inter-laboratory validation results for analysis of cyhexatin in livestock products

Sample	Fortification (mg/kg)	Recovery±RSD[a)] (%)
Beef	0.01	106.0±8.8
	0.05	97.7±8.1
	0.5	94.6±4.5
Pork	0.01	85.7±9.3
	0.05	97.8±7.8
	0.5	94.0±2.5
Chicken	0.01	86.2±5.7
	0.05	99.5±4.8
	0.5	96.6±2.5
Milk	0.01	89.3±13.1
	0.05	99.4±3.6
	0.5	101.2±6.1
Egg	0.01	95.7±8.6
	0.05	107.3±7.0
	0.5	100.3±4.5

[a)] Recovery±RSD: Mean values of 5 times replications with standard deviation.

선택성 확인을 위하여 유기주석계 농약(azocyclotin, cyhexatin 및 febutatin oxide)의 표준용액, 무처리 시료, 표준용액을 첨가한 회수율 시료의 크로마토그램을 비교하였으며 무처리 시료 중에서 유기주석계 농약의 머무름 시간과 질량대 전하비(*m/z*)가 동일한 간섭물질이 검출되지 않아 본 시험법이 대상 물질들을 분석함에 있어 높은 선택성을 가진 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4-6). 본 연구에서 유기주석계 농약의 검출한계는 희석배수와 최소 기기 검출농도(0.04 mg/L)를 감안하였을 때, 0.04 mg/kg으로 확인되었으며, 최소 검출농도(0.01 mg/L)와 희석배수를 고려하여 0.01 mg/kg으로 하였다.

Table 6. Inter-laboratory validation results for analysis of fenbutatin oxide in livestock products

Sample	Fortification (mg/kg)	Recovery±RSD[a)] (%)
Beef	0.01	91.9±9.1
	0.05	102.5±6.5
	0.5	97.8±3.1
Pork	0.01	84.4±11.4
	0.05	89.9±4.9
	0.5	97.3±1.1
Chicken	0.01	96.9±3.3
	0.05	106.9±3.0
	0.5	93.9±7.3
Milk	0.01	92.9±11.9
	0.05	108.7±5.0
	0.5	106.4±4.5
Egg	0.01	110.0±4.6
	0.05	110.8±4.3
	0.5	107.9±2.5

[a)] Recovery±RSD: Mean values of 5 times replications with standard deviation.

다음으로 본 연구에서 확립한 시험법의 정확도 및 정밀도를 확인하기 위하여 대표 축산물 5종의 시료에 LOQ, MRL, MRL 10배 수준인 0.01, 0.05, 0.5 mg/kg으로 처리하여 회수율 실험을 5반복 수행하였다. 그 결과는 Table 4-6에 나타내었으며 각 농도에서 유기주석계 농약의 평균 회수율은 76.4-115.3%이었으며, 상대표준편차는 25.3% 이하로 나타났다. 이는 Codex 가이드라인(CAC/GL 40-1993, 2003) 및 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원의 '식품등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인(2016)'을 통해 적합함을 확인하였다.

Acknowledgement

본 연구는 식품의약품안전처의 지원(20161농축산604, 2020)을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

국문 요약

축산물 중 잔류허용기준이 설정되어 관리하고 있는 농

약 azocyclotin, cyhexatin, fenbutatin oxide는 대표적인 유기주석계 살비제이다. 기존 시험법은 가스크로마토그래피를 사용하여 정량한계가 높고 분석 시 재현성이 떨어져 이에 대한 개선이 필요한 실정으로 본 연구에서는 비교적 간편하며 시간이 적게 소요되는 QuEChERS법을 활용하여 azocyclotin, cyhexatin, fenbutatin oxide의 시험법을 마련하고자 하였다. 1% 아세트산을 함유한 아세트산에틸:아세토니트릴(1:1) 혼합액을 이용하여 진탕 추출 후 d-SPE로 정제하고 이를 농축 후 LC-MS/MS를 이용한 시험법을 개발하였다. Azocyclotin, cyhexatin 및 fenbutatin oxide의 결정계수(R^2)는 0.99 이상으로 높은 직선성을 확인하였으며 정량한계는 0.01 mg/kg으로 높은 감도를 나타내었다. 대표 축산물 5종(소, 돼지, 닭, 계란, 우유)에서 LOQ(0.01 mg/kg), MRL(0.05 mg/kg), MRL 10배(0.5 mg/kg)의 농도에서 회수율 실험을 한 결과 평균 회수율이 76.4-115.3% 및 84.4-110.8%이었으며, 상대표준편차는 25.3% 이하로 나타났다. 본 연구는 Codex 가이드라인(CAC/GL 40-1993, 2003) 및 '식품의약품안전처 식품의약품안전평가원의 식품등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인(2016)'에 적합한 수준임을 확인하였다. 따라서 본 연구에서 확립한 시험법은 축산물 중 잔류할 수 있는 azocyclotin, cyhexatin, fenbutatin oxide의 안전관리를 위한 공정시험법으로 활용 가능할 것으로 판단된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Nam Young Kim https://orcid.org/0000-0001-7608-4122
Eun-Ji Park https://orcid.org/0000-0002-5812-4888
So-Ra Park https://orcid.org/0000-0003-1352-0112
Jung Mi Lee https://orcid.org/0000-0003-2840-5010
Yong Hyun Jung https://orcid.org/0000-0002-7789-0836
Hae-jung Yoon https://orcid.org/0000-0003-4973-1659

References

1. Korean Statistical Information Servic (KOSIS), (2023, June 5). Annual grain consumption per person. Retrieved from https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT_1ED0001&checkFlag=N
2. Korea Meat Trade Association (KMTA), (2023, June 5). Meat consumption per person. Retrieved from http://www.kmta.or.kr/kr/data/stats_spend.php
3. Ledoux, M., Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin. A review of the past two decades. *J. Chromatogr. A.*, **1218**, 1021-1036 (2011).
4. Ko, A.Y., Kim, H.J., Do, J.A., Jang, J., Lee, E.H., Ju, Y.J., Kim, J.Y., Chang, M.I., Rhee, G.S., Development of analytical method for determination of spinetoram residues in livestock using LC-MS/MS. *Anal. Sci. Technol.*, **29**, 94-103 (2016).
5. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, March 21). Korean food code. Retrieved from https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC
6. Campillo, N., Viñas, P., Peañalver, R., Cacho, J.I., Hernández-Córdoba, M., Solid-phase microextraction followed by gas chromatography for the speciation of organotin compounds in honey and wine samples: a comparison of atomic emission and mass spectrometry detectors. *J. Food Compos. Anal.*, **25**, 66-73 (2012).
7. Rural Development Administration (RDA), (2023, March 22). Pesticide safety information system from https://psis.rda.go.kr/psis/cont/contentMain.ps?menuId=PS00313
8. Pubchem, (2023, March 21). Vapor pressure. Retrieved from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
9. Benchchem, (2023, March 21). Vapor pressure. Retrieved from https://www.benchchem.com/product/b141819
10. Korean Law Information Center, (2023, March 21). Registration criteria of pesticide and technical product. Retrieved from https://www.law.go.kr/admRulSc.do?menuId=5&subMenuId=41&tabMenuId=183&query=%EB%86%8D%EC%95%BD%20%EB%B0%8F%20%EC%9B%90%EC%A0%9C%EC%9D%98%20%EB%93%B1%EB%A1%9D%EA%B8%B0%EC%A4%80#liBgcolor0
11. European Commission, (2023, March 22). EU Pesticide database-MRLs. Retrieved from https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls
12. The Japan Food Chemical Research Foundation, (2023. March 22). MRLs list of agricultural chemicals in foods. Retrieved from, https://db.ffcr.or.jp/front/
13. Food and Agricultural Organization (FAO), (2023. March 22). Pesticide index, https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/
14. Qian, B., He, Y., Zhao, J., Peng, L.X., Han, B.J., Simultaneous determination of five organotins in tropical fruits using modified QuEChERS combined with ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.*, **59**, 269-279 (2021).
15. Ma, Y.N., Gui, W.J., Zhu, G.N., The analysis of azocyclotin and cyhexatin residues in fruits using ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Methods.*, **7**, 2108-2113 (2015).
16. Seong, R.S., Kang, I.H., Mun, C.S., Lee, J.J., Kim, J.E., Lee, Y.D., Lee, J.R., Im, M.H., Lee, J.H., Yang, J.H., 2013. Development of improved analytical method of residual pesticides in oriental herbal medicines, MFDS, Cheongju, Korea, pp. 40-55.
17. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2017, Analytical manual for pesticide residues in foods, 5th, MFDS, Cheongju, Korea, pp. 180.

18. Ma, Y.N., Chen, M.X., Mou, R.X., Cao, Z.Y., Simultaneous determination of three organotin pesticides in fruits and vegetables by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rap. Commun. Mass. Spectr.*, **33**, 867-874 (2019).
19. AB SCIEX, (2023, October 4). Quantitation and identification of organotin compounds in food, water, and textiles using LCMS/MS. Retrieved from https://sciex.com/content/dam/SCIEX/pdf/brochures/Organotin_pesticides_QTRAP4k_6690212.pdf
20. Codex Alimentarius Commission (CAC), Guidelines on good laboratory practice in residue analysis, CAC/GL 40-1993. CAC, Rome, Italy (2003).
21. National institute of food and drug safety evaluation (NIFDS), Guidelines on standard procedures for preparing analysis method, NIFDS, Cheongju, Korea (2016).
22. Taylor, M.J., Melton, L.M., Sharp, E.A., Watson, J.E., A liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry method for the determination of multiple pesticide residues involved in suspected poisoning of non-target vertebrate wildlife, livestock and pets. *Anal. Methods.*, **5**, 248-259 (2013).
23. Mol, H.G., Rooseboom, A., van Dam, R., Roding, M., Arondeus, K., Sunarto, S., Modification and re-validation of the ethyl acetate-based multi-residue method for pesticides in produce. *Anal. Bioanal. Chem*., **389**, 1715-1754 (2007).
24. Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., Schenck, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "Dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int*., **86**, 412-431 (2003).
25. British Standard (BS), Food of plant origin-determination of pesticide residues using GCMS and/or LC-MS(/MS) following acetonitrile extraction/ partitioning and clean up by dispersive SPE-QuEChERS method, BS EN 15662:2008 (E), BS, London, UK (2008).
26. Lehotay, S.J., Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *J. AOAC Int*., **90**, 485-520 (2007).