pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 37, No. 3, pp. 136~142 (2022)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2022.37.3.136

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

# LC-MS/MS를 이용한 축산물 중 살충제 메토프렌의 잔류분석법 개선

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

# Improvement of an Analytical Method for Methoprene in Livestock Products using LC-MS/MS

Eun-Ji Park, Nam Young Kim, 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 6, 2022/Revised May 25, 2022/Accepted May 26, 2022)

**ABSTRACT -** The research aims to develop a rapid and easy analytical method for methoprene using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). A simple, highly sensitive, and specific analytical method for the determination of methoprene in livestock products (beef, pork, chicken, milk, eggs, and fat) was developed. Methoprene was effectively extracted with 1% acetic acid in acetonitrile and acetone (1:1), followed by the addition of anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$) and anhydrous sodium acetate. Subsequently, the lipids in the livestock sample were extracted by freezing them at -20°C. The extracts were cleaned using $MgSO_4$, primary secondary amine (PSA), and octadecyl ($C_{18}$), which were then centrifuged to separate the supernatant. Nitrogen gas was used to evaporate the supernatant, which was then dissolved in methanol. The matrix-matched calibration curves were constructed using 8 levels (1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 150 ng/mL) and the coefficient of determination ($R^2$) was above 0.9964. Average recoveries spiked at three levels (0.01, 0.1, and 0.5 mg/kg), and ranged from 79.5-105.1%, with relative standard deviations (RSDs) smaller than 14.2%, as required by the Codex guideline (CODEX CAC/GL 40). This study could be useful for residue safety management in livestock products.

**Key words:** Analytical method, LC-MS/MS, Livestock products, Methoprene, QuEChERS

축사에서 방제를 위해 사용하는 살충제, 살균제 등의 농약은 사료, 음수, 토양에 잔류하며 비의도적 경로에 의해서 축산물 중 잔류 및 축적되어 먹이사슬을 통해 사람에게 영향을 미칠 수 있다[1]. 대표적인 축산물 안전사고로는 2017년 벨기에를 시작으로 국내에서도 산란계 농가에서 사육과정에 살충제를 직접 살포하여 계란에서 살충제 농약(DDT, bifenthrin, etoxazole, flufenoxuron, pyridaben 및 fipronil)이 검출된 사례가 있다. 이에 따라 국내에서는 2022년 1월 기준으로 총 135종의 농약에 대하여 축산물 중 MRL(Maximum residue level, 잔류허용기준)을 설정하여 관리하고 있다. 그리고 소비자의 불안감을 해소하기 위하여 국가잔류물질검사프로그램(National residue control program; NRP)을 실시하여 식육, 식용란 및 원유의 안전성을 검사하고 있다.

메토프렌(1-methylethyl(*E*,*E*)-11methoxy-3,7,11-trimethyl-2,4-dodecadienoate; methoprene)은 담황색의 유충호르몬 유사체로서 유충과 번데기를 죽일 수 있을 뿐만 아니라 곤충의 발달을 억제하고 성장 및 변태 단계에서의 호르몬 작용을 교란함으로써 살충 작용을 한다[2-4]. 화학식은 $C_{19}H_{34}O_3$로 310.5 g/mol의 분자량을 지니고, 물리화학적 특성으로는 증기압은 $3.16\times10^{-3}$ mm Hg (25°C)이며 *n*-octanol/water 분배계수(Log $P_{ow}$)가 5.5로 비극성 화합물의 특성을 나타낸다[5].

메토프렌에 대한 국외 축산물 중 MRL은 Codex와 유럽, 캐나다, 일본 등에서 각각 0.02-0.2(달걀 등 6품목), 0.05-

*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: +82-43-719-4218, 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.

0.2(거위 간 등 52품목), 0.01-0.1(우유 등 4품목), 0.05-0.1(소고기 등 28품목) mg/kg으로 설정되어있다[6-9]. 현재 국내의 경우 포유류고기, 포유류부산물, 알, 우유에 대한 MRL을 0.05-0.1 mg/kg 수준으로 설정하였으며[10], 독성학적 측면에서 중요성이 인정되는 대사산물이 없어 잔류물의 정의가 모화합물로 관리되고 있다[11].

식품공전의 축산물 중 메토프렌 단성분 시험법은 전처리 과정 중 다량의 유기용매를 사용하고 검체의 종류별로 전처리법이 다르기 때문에 분석에 많은 시간과 노동력이 투입된다는 단점이 있다(식품의약품안전처 공고 제 2021-69호, '21.8.9.). 이러한 단점을 개선하기 위해 최근 농약 분석법으로 비교적 간단하여 분석 시간이 적게 소요되고, 소량의 유기용매 사용으로 비용을 감소시킨다는 장점이 있는 QuEChERS법이 활용되고 있다. QuEChERS법은 황산마그네슘과 염화나트륨에 의한 염석 효과를 활용하여 추출하고 분산상 SPE 방법(dispersive solid phase extraction, d-SPE)을 이용해 정제하여 잔류농약을 분석하는 방법으로, 추출 중 citrate buffer 혹은 acetate buffer를 사용하여 시료의 pH에 의해 분해되거나 회수율이 낮아지는 농약들을 보호하기도 한다[12-14]. 메토프렌을 이용한 QuEChERS 시험법으로는 식품공전 중 농산물 시험법(7.1.3.18, 식품의약품안전처 공고 제 2021-26호, '21.3.25.)과 진피[15], 소고기, 돼지고기, 닭고기[16], 계란[17]에 acetate buffer 혹은 포름산 암모늄을 이용하여 분석한 연구 결과들이 있다. 그 결과, 농산물에서의 선행 연구 결과들은 시험법의 정확도 및 정밀도가 확보되었지만, 축산물의 경우 닭고기에서의 정확도 및 정밀도가 확보되지 않았고 대표축종 5종에서 모두 분석 가능한 시험법이 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 QuEChERS법을 활용하여 소고기(반추동물), 돼지고기(비반추동물), 닭고기(가금류), 계란(알류), 우유(유), 소지방(지방)에 동일하게 적용할 수 있는 효율적이고 정밀도·정확도가 높은 메토프렌 시험법을 마련하고자 하였다.

## Materials and Methods

### 시약 및 검체

Methoprene(99.5%) 표준품은 Sigma-Aldrich (Buchs, Switzerland)에서 구입하였다. 아세토니트릴(Acetonitrile)은 HPLC 등급으로 Merck (Darmstadt, Germany)에서 구입하여 사용하였으며 황산마그네슘(Magnesium sulfate)은 Junsei (Tokyo, Japan), 아세트산(Acetic acid), 여과보조제(Celite 545)는 Sigma-Aldrich (Buchs, Switzerland), Primary secondary amine (PSA)는 Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA), $C_{18}$은 Waters (Milford, Ireland)로부터 구입하였다. 축산물 검체로는 소(등심), 돼지(삼겹살), 닭(다리살), 유(우유), 알(계란)을 구입하여 균질화 후 밀봉된 용기에 담아 -20°C에 보관하며 실험에 사용하였다. 한편 소고기로부터 지방을 추출하기 위하여 균질화한 소고기 30-50 g을 용기에 담고 황산마그네슘 약 50 g을 넣어 섞은 후 헥산 150 mL를 넣어 5분간 흔들어 혼합한 후 여과보조제를 넣은 부흐너깔때기에서 감압 여과하였다. 잔류물은 헥산 50 mL로 재추출하여 위의 여과액과 합하고 황산마그네슘으로 탈수한 후 40°C이하에서 감압하여 용매를 날려 얻은 지방을 실험에 사용하였다.

### 표준원액 및 표준용액의 조제

메토프렌 표준품 10.05 mg을 아세토니트릴 10 mL에 용해하여 1,000 μg/mL의 표준원액을 조제하였다. 검량선 작성을 위해 표준원액을 아세토니트릴로 희석하여 100 μg/mL의 표준용액으로 조제한 뒤 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 1.5 μg/mL로 단계적으로 희석하였다. 그리고 matrix-matched 검량선을 위해 각 축산물 시료의 무처리 추출액과 각 표준용액을 부피기준 9:1로 혼합하여 최종 농도가 0.001, 0.0025, 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.15 μg/mL가 되도록 조제하여 90% 이상의 matrix를 포함할 수 있도록 하였다. 표준용액은 실험 전 즉시 만들어서 사용하였으며, 표준원액과 표준용액 모두 갈색병에 담아 4°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

### LC-MS/MS 기기분석 조건

분석기기는 Agilent (Santa Clara, CA, USA)사의 LC-MS/MS (Liquid Chromatograph-Tandem Mass Spectrometry, 액체크로마토그래프-질량분석기)를 사용하여 분석하였다. 분석용 컬럼은 Poroshell 120 EC $C_{18}$ (2.1 mm I.D.×50 mm, 1.9 μm, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분리하였다. 컬럼 온도는 40°C를 유지하였으며 이동상 용매로는 5 mM 포름산암모늄, 0.1% 포름산 함유 물과 5 mM 포름산 암모늄, 0.1% 포름산 함유 메탄올을 이용하여 기울기 용리 방식을 선택하였으며 유속은 0.2 mL/min 속도로 유지시켰고, 주입량은 5 μL로 하였다. 대상 성분의 이온화법으로는 electrospray ionization (ESI)법의 positive-ion mode를 사용하였다(Table 1). 감도가 우수한 이온을 정량이온(Quantification ion) 및 정성이온(Qualification ion)으로 선택하여 MRM (multiple reaction monitoring) 조건을 확립하였다.

### 추출 및 정제

균질화된 검체는 각각 5 g을 정밀히 달아 50 mL 원심분리관에 넣고 지방의 경우 2 g을 50 mL 원심분리관에 넣어 사용하였다. 지방을 제외한 검체에는 1% 아세트산을 함유한 아세토니트릴:아세톤(1:1) 혼합액 20 mL을 가하였으며 지방의 경우 10 mL을 가하여 10분간 진탕 후 무수황산마그네슘 6 g, 아세트산나트륨 1.5 g을 넣고 교반진탕기(Eyela

**Table 1.** Analytical conditions of LC-MS/MS for the determination of methoprene

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Instrument** | | | | | |
| LC | 1290 Infinity II (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) | | | | |
| MS/MS | 6470 LC/TQ (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) | | | | |
| **LC condition** | | | | | |
| Column | Poroshell 120 EC $C_{18}$ (2.1 mm I.D. × 50 mm, 1.9 μm) | | | | |
| Flow rate | 0.2 mL/min | | | | |
| Injection volume | 5 μL | | | | |
| Oven temp. | 40°C | | | | |
| Mobile phase | A: 5 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in water<br>B: 5 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in methanol | | | | |
| Gradient | Time (min) | A (%) | B (%) | | |
| | 0.0 | 60 | 40 | | |
| | 1.0 | 60 | 40 | | |
| | 2.0 | 10 | 90 | | |
| | 4.0 | 0 | 100 | | |
| | 7.0 | 0 | 100 | | |
| | 7.1 | 60 | 40 | | |
| | 10.0 | 60 | 40 | | |
| **LC-MS/MS condition** | | | | | |
| Capillary voltage | 3.5 kV | | | | |
| Gas temp. | 250°C | | | | |
| Sheath gas temp. | 350°C | | | | |
| Gas flow | 8 L/min | | | | |
| Sheath gas flow | 12 L/min | | | | |
| MRM condition | Molecular weight | Exact mass | Precursor ion (*m/z*) | Product ion (*m/z*) | CE[1] (eV) | RT[2] (min) |
| | 310.5 | 310.25 | 311 | 191[3] | 12 | 4.2 |
| | | | | 279 | 5 | |

[1] CE: Collision energy.
[2] RT: Retention time.
[3] Quantitation ion.

MMV-1000W, Tokyo Rikakikai Co. Ltd., Tokyo, Japan)로 1분간 진탕하였다. 시료는 원심분리기(Heraeus Megafuge 16R Centrifuge, Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Germany)를 사용하여 4°C, 4,000 × *G*에서 10분간 원심분리하였으며, 상층액은 새로운 15 mL 원심분리관에 옮겨 -20°C에서 1시간 방치한 후 -4°C, 4,000 × *G*에서 10분간 원심분리하였다. 상층액 5 mL을 취하여 $C_{18}$ 125 mg, PSA 125 mg 및 무수 황산마그네슘 500 mg이 담긴 15 mL 원심분리관에 넣고 1분간 진탕한 뒤 원심분리기를 이용하여 4°C, 4,000 × *G*에서 10분간 원심분리하였다. 정제된 상층액 3 mL는 40°C이하 질소 농축한 후 메탄올 3 mL에 녹여 멤브레인 필터(PTFE, 0.2 μm×13 mm, Teknokroma, Barcelona, Spain)로 여과한 후 이를 시험용액으로 사용하였다.

### 시험법 유효성 검증

확립된 메토프렌 분석법의 유효성은 Codex 가이드라인(CAC/GL 40-1993, 2003) 및 식품의약품안전평가원의 식품 등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인에 따라 선택성(Selectivity), 직선성(Linearity), 기기상 검출한계(Limit of detection; LOD), 기기상 정량한계(Limit of quantification; LOQ), 시험법 정량한계, 정확성(Accuracy) 및 반복성(Repeatability) 확인을 통해 검증하였다[18,19]. 선

택성은 축산물 검체 6종의 무처리 시료와 표준용액을 첨가한 시료의 크로마토그램을 비교하여 확인하였다. 직선성 확인을 위해 메토프렌을 검체의 무처리 시료 시험용액으로 희석하여 표준용액 0.001-0.15 mg/L의 농도로 제조하였다. 또한 농도 범위에 대한 각각의 피크 면적을 토대로 검량선을 작성하고 검량선의 결정계수(Coefficient of determination; $R^2$)를 구하여 직선성을 확인하였다. 기기상 검출한계와 정량한계는 크로마토그램상에서 검출된 피크의 신호 대 잡음비(Signal-to-noise ratio; S/N) 각각 3, 10 이상으로 구하였고 최소검출농도와 전처리과정 중 희석배율을 계산하여 시험법 정량한계로 구하였다. 정확성 및 반복성은 축산물 검체 6종에 정량한계, 정량한계 10배 및 정량한계 50배에 해당하는 농도를 5반복 처리한 다음 회수율의 평균과 상대표준편차(Relative Standard Deviation; RSD)를 산출하여 평가하였다.

## Results and Discussion

### 기기분석 조건 확립

축산물 중 메토프렌 시험법은 기체크로마토그래프-불꽃이온화검출기(Gas Chromatograph-Flame Ionization Detector, GC-FID)를 사용하여 분석하도록 되어있으며 정량한계는 0.05 mg/kg으로 설정되어 있다. 그러나 최근 보고된 사례로는 축산물 중 메토프렌을 LC-MS/MS를 사용하여 정량한계 0.002 mg/kg 수준까지 분석할 수 있다[17]. 2024년부로 축산물 중 잔류농약 허용물질목록관리제도(Positive List System)의 도입 예정에 따라 선택성이 높고, 낮은 농도(정량한계 0.01 mg/kg) 수준을 확보할 수 있는 분석 방법이 요구되므로 LC-MS/MS를 분석기기로 선정하였다. 분석용 컬럼으로는 비극성 물질과 극성 물질 모두 분리가 가능한 $C_{18}$ 컬럼을 선정하였다. 대상성분의 이온화법으로는 ESI법의 positive-ion mode를 사용하였고 Table 1에 나타낸 분석조건을 바탕으로 TIC (Total ion chromatogram)와 mass spectrum을 통해 SIM (Selected-ion monitoring)분석을 위한 최적 특성이온을 선정하였다. 관측질량 310.25 g/mol인 메토프렌 표준용액을 질량검출기에 주입한 결과 질량이 $[M+H]^+$ 형태인 311 *m/z* 값을 확인하였다. 분석의 선택성과 검출강도를 높이기 위해 MS/MS 분석 시 MRM (multi reaction monitoring) mode로 분석하였으며, product ion의 검출강도가 가장 높은 collision energy를 선택하였다.

### 추출 및 정제조건 최적화

최적 추출법을 확립하기 위해 돼지고기 시료를 이용하였으며, 앞선 문헌들을 참고하여 아세트산나트륨을 이용하여 추출하는 AOAC 2007.01법을 활용하였다[13]. 추출 효율이 우수한 추출 용매 선정을 위하여 대표적인 수용성 유기용매인 아세토니트릴, 아세톤 및 메탄올에 각각 1% 아세트산을 첨가한 뒤 회수율을 비교한 결과 1% 아세트산을 첨가한 메탄올의 경우 평균 회수율이 31.2%로 저조하게 나타났다. 반면 1% 아세트산을 첨가한 아세토니트릴과 아세톤은 평균 회수율이 비교적 높아 이를 100:0, 70:30, 50:50, 30:70 및 0:100(v:v) 비율로 혼합하여 돼지고기에서의 추출 효율을 비교하였다(Fig. 1). 그 결과 1% 아세트산을 함유한 아세토니트릴과 아세톤을 50:50 비율로 혼합하여 사용하였을 때 회수율이 가장 높아 1% 아세트산 함유 아세토니트릴:아세톤(1:1) 혼합용액을 추출 용매로 선정하였다. 또한 모든 검체에 적용하여 추출 효율을 비교한 결과 평균 회수율이 소고기에서 83.1%, 돼지고기에서 93.4%, 닭고기에서 87.7%, 우유에서 89.1%, 계란에서 88.7%로 우수하였다. 축산물 시료는 특성상 지방함량이 매우 높으므로 시료 중 지방 등의 비극성 간섭물질을 제거하기 위하여 -20°C에서 1시간 동안 정치시킨 후 원심분리하여 응고된 지질을 제거하고 상층액을 취하여 정제에 이용하였다. 추출액 중 존재하는 불순물 제거를 위해 유기산, 당, 유지성분 등이 간섭물질을 제거할 수 있는 d-SPE 정제법을 검토하였다. 수분을 제거하여 극성도를 낮추는 역할을 하는 황산마그네슘, 시료 중 지방 등의 비극성 간섭물질을 제

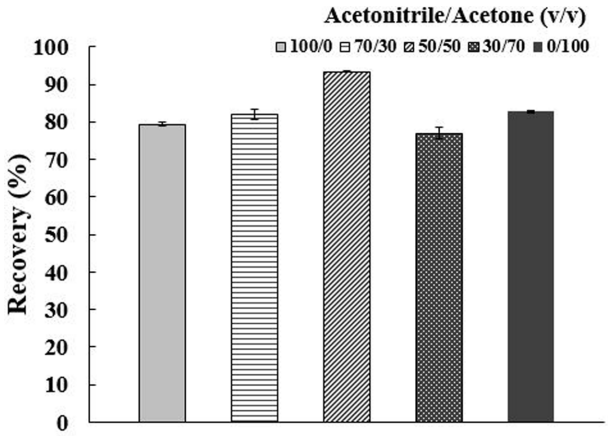


**Fig. 1.** Comparisons of extract solvent composition for methoprene.

**Table 2.** Comparisons of d-SPE for methorpene analysis in pork

| | Recovery±RSD[1] (%) | | |
|---|---|---|---|
| $MgSO_4$ | 100 mg/mL | 150 mg/mL | 200 mg/mL |
| | 88.5±16.5 | 87.5±3.1 | 78.3±6.6 |
| $C_{18}$ | 25 mg/mL | 50 mg/mL | 100 mg/mL |
| | 76.7±4.1 | 72.3±8.6 | 65.0±2.8 |
| PSA | 25 mg/mL | 50 mg/mL | 100 mg/mL |
| | 99.0±12.2 | 94.2±26.0 | 86.9±10.0 |

[1] Recovery±RSD: Mean values of 2 times replications with standard deviation.

거하는 $C_{18}$, 유기산과 당 등을 제거하는 PSA를 첨가한 뒤 모든 검체에서의 평균 회수율을 비교하였다[20,21]. 그 결과 황산마그네슘 100 mg/mL, $C_{18}$ 25 mg/mL, PSA 25 mg/mL에서 평균 회수율이 가장 높았다(Table 2). 따라서 황산마그네슘 100 mg/mL, $C_{18}$ 25 mg/mL, PSA 25 mg/mL을 동시에 첨가하는 d-SPE 정제법을 선정하여 모든 검체에서의 정제 효율을 비교하였다. 그 결과 소고기, 돼지고기, 닭고기, 우유, 계란 시료에서의 평균 회수율이 각각 76.7%, 74.2%, 84.9%, 108.2%, 84.9%로 우수하여 황산마그네슘 100 mg/mL, $C_{18}$ 25 mg/mL, PSA 25 mg/mL를 혼합한 d-SPE를 정제에 사용하였다.

### 시험법 유효성 검증

메토프렌은 표준용액, 무처리 시료, 표준용액을 첨가한 회수율 시료의 크로마토그램을 서로 비교하여 선택성을 확인하였다. 무처리 시료 중 메토프렌의 머무름시간과 질량 대 전하비(*m/z*)가 동일한 간섭물질은 검출되지 않아 대상물질들을 분석하는 것에 있어 본 시험법이 높은 분리능과 선택성을 확보한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 표준원액을 무처리 추출물로 희석하여 0.001, 0.025, 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.15 μg/mL 농도의 matrix-matched 표준용액을 조제한 뒤 LC-MS/MS에 5 μL를 주입하여 분석한 결과 모든 축산물 시료 표준용액에서 결정계수($R^2$)가 0.99 이상으로 높은 직선성을 확인하였다(Table 3). 본 연구에서 확립한 분석조건에서의 메토프렌에 대한 검출한계와 정량한계는 기기의 크로마토그램 상에서 신호 대 잡음비를 3 이상과 10 이상으로 결정하였다. 기기상 검출한계와 정량한계는 각각 0.00075 μg/mL과 0.0025 μg/mL으로 나타났고, 시험법 정량한계는 0.01 mg/kg으로 산출되었다. 이는 축산물을 대상으로 PLS가 시행되었을 때 최저기준인 0.01 mg/kg 이하의 정량한계 수준을 만족시킬 수 있는 충분한 감도로 확인되었다.

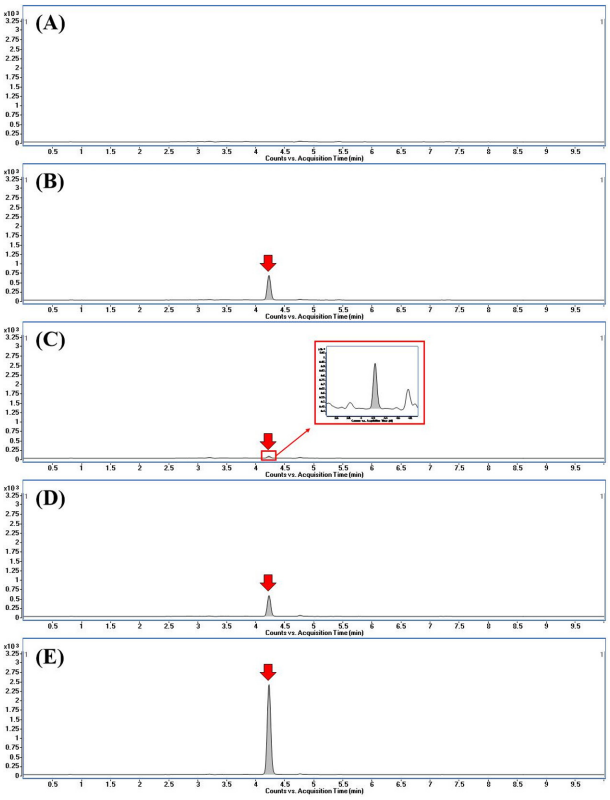


**Fig. 2.** Representative MRM (quantification ion) chromatograms of methoprene in pork corresponding to: (A) control sample, (B) matrix matched standard at 0.025 mg/L, (C) sample spiked at 0.01 mg/kg, (D) sample spiked at 0.1 mg/kg and (E) sample spiked at 0.5 mg/kg.

**Table 3.** Average recoveries and LOQ for the detection of methoprene residues in livestock products

| Sample | Linearity ($R^2$) | Recovery±RSD[1] (%) Fortification (mg/kg) | | | LOQ (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.01 | 0.1 | 0.5 | |
| Beef | 0.9974 | 92.9±4.2 | 97.2±2.4 | 104.0±5.7 | 0.01 |
| Pork | 0.9993 | 85.1±2.2 | 84.7±4.3 | 94.9±2.7 | |
| Chicken | 0.9989 | 95.3±3.0 | 90.9±3.9 | 100.5±1.7 | |
| Milk | 0.9995 | 85.5±5.3 | 79.5±9.9 | 97.8±3.2 | |
| Egg | 0.9964 | 91.1±4.8 | 95.7±3.4 | 105.1±3.1 | |
| Fat | 0.9997 | 80.4±14.2 | 82.8±7.9 | 86.2±1.9 | |

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

시험법의 정확성 및 정밀성을 확인하기 위하여 6종의 축산물 시료에 LOQ, LOQ 10배, LOQ 50배 수준인 0.01, 0.1 및 0.5 mg/kg의 처리하여 회수율 실험을 5반복 수행하였다. 그 결과 각 농도에서 메토프렌의 평균 회수율은 79.5-105.1%이었으며, 상대표준편차는 14.2% 이하로 나타났다(Table 3). 따라서 본 시험법은 Codex 가이드라인의 잔류농약 분석 기준 및 식품의약품안전평가원의 식품등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인에서 제시한 기준 처리농도 >1 μg/kg와 ≤0.01 mg/kg의 60-120%, >0.01 mg/kg와 ≤0.1 mg/kg의 70-120%, >0.1 mg/kg와 ≤1 mg/kg의 70-110% 회수율 범위에 적합함을 확인할 수 있었다[18,19].

본 연구에서는 국내 축산물 중 PLS 도입에 대비하여 정량한계가 0.01 mg/kg 이하이며 모든 축산물 품목에 적용할 수 있는 간편한 QuEChERS 시험법을 마련하여 기존 식품공전 시험법의 제한점을 개선하였으며 향후 국내·외의 축산물 안전관리의 기초자료로 활용 가능할 것으로 판단된다.

## Acknowledgement

This study was supported by the Ministry of Food and

Drug Safety, Republic of Korea (grant number: 20161농축산604).

## 국문요약

메토프렌은 살충제로 곤충의 성장을 방해하는 유충호르몬 유사체로 널리 사용되고 있다. 국내 축산물에 대한 MRL은 0.05-0.1 mg/kg 수준으로 설정되어 있지만 PLS제도가 축산물을 대상으로 확대될 수 있기 때문에 0.01 mg/kg 이하에서 정량이 가능한 시험법이 필요하다. 기존의 식품공전에 존재하던 시험법(식품의약품안전처 공고 제 2021-69호, '21.8.9.)은 우유와 그 외 축산물의 전처리 과정이 서로 상이할 뿐 아니라 충전칼럼을 사용하여 노후화되고 복잡하다는 단점이 있다. 본 연구에서는 비교적 간편하며 분석 시간이 적게 소요되는 QuEChERS법을 활용하여 0.01 mg/kg의 정량한계를 만족하는 메토프렌 시험법을 마련하고자 하였다. 메토프렌의 물리·화학적 특성을 고려하여 1% 아세트산을 함유한 아세토니트릴:아세톤(1:1) 혼합액을 이용하여 진탕 추출 후 d-SPE를 이용한 정제조건을 확립하여 LC-MS/MS를 이용한 시험법을 개발하였다. 메토프렌의 결정계수($R^2$)는 0.99 이상으로 높은 직선성을 보여주었고, 정량한계는 0.01 mg/kg으로 높은 감도를 나타내었다. 대표 축산물 6종(소고기, 돼지고기, 닭고기, 우유, 계란, 지방)에 대하여 정량한계, 정량한계 10배, 정량한계 50배 수준으로 처리한 다음 회수율 실험을 한 결과 평균 회수율이 79.5-105.1%이었으며 상대표준편차는 14.2% 이하로 확인되었다. 본 연구는 국제식품규격위원회 가이드라인(Codex Alimentarius Commission, CAC/GL40)의 잔류농약 분석 기준 및 식품의약품안전평가원의 '식품등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인(2016)'에 적합한 수준임을 확인하였다. 따라서 본 연구에서 개발한 시험법은 추후 교차검증을 거쳐 축산물 중 잔류할 수 있는 메토프렌의 안전관리를 위한 공정시험법으로 활용 가능할 것이다.

## Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

## ORCID

Eun-Ji Park https://orcid.org/0000-0002-5812-4888
Nam Young Kim https://orcid.org/0000-0001-7608-4122
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. LeDoux, M., Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of anmal origin. A review of the past two decades. *J. Chromatogr. A*., **1218**, 1021-1036 (2011).
2. Chanbang, Y., Arthur, F.H., Wilde, G.E., Throne, J.E., Subramanyam, B.H., Susceptibility of eggs and adult fecundity of the lesser grain borer, Rhyzopertha dominica, exposed to methoprene. *J. Insect Sci*., **8**, 48 (2008).
3. Wijayaratne, L.K.W., Arthur, F.H., Whyard, S., Methoprene and control of stored-product insects. *J. Stored Prod. Res*., **76**, 161-169 (2018).
4. Hu, X.L., Niu, J.J., Meng, Q., Chai, Y.G., Chu, K.H., Chan, K.M., Effects of two juvenile hormone analogue insecticides, fenoxycarb and methoprene on Neocardina davidi. *Environ. Pollut*., **253**, 89-99 (2019).
5. Pubchem, Methoprene. Retrieved from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5366546
6. CODEX, Pesticide Residue in Food and Feed. Retrieved from https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=147
7. EU (European Commission), Pesticide database. Retrieved from https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/?event=details&pest_res_ids=338&product_ids=&v=1&e=search.pr
8. Canada, Pesticide database. Retrieved from http://oasd-mz01.hc-sc.gc.ca/mrl-lrm/index-eng.php.
9. Japan, The Japan Food Chemical Research Foundation. Retrieved from http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=76100
10. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), MRLs for Pesticide in Foods. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/02_01_01.jsp?pesticide_code=P00042&s_option=EN&s_type=12
11. Gary B.Q., Luana E.S., David A.S., Environmental degradation of the insect growth regulator methoprene (Isopropyl(2E,4E)-11-Methoxy-3,7,11-trimethyl-2,4-dodecadienoate).I.metabolism by alfalfa and rice. *J. Agri. Food Chem*., **22(4)**, 582-589 (1974).
12. 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).
13. 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).
14. Lehotay, S.J., Son, K.A., Kwon, H., Koesukwiwat, U., Fu, W., Mastovska, K., Hoh, E., Leepipatpiboonc, N., Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Chromatogr. A*., **1217**, 2548-2560 (2010).
15. Li, S., Yu, P., Zhou, C., Tong, L., lI, D., Yu, Z., Zhao, Y., Analysis of pesticide residues in commercially available

chenpi using a modified QuEChERS method and GC-MS/MS determination. *J. Phanarm. Anal*., **10**, 60-69 (2020).
16. Han L., Sapozhnikova Y., Lehotay S.J., Method validation for 243 pesticides and environmental contaminants in meats and poultry by tandem mass spectrometry coupled to low-pressure gas chromatography and ultrahigh-performance liquid chromatography. *Food Control*., **66**, 270-282 (2016).
17. Choi, S., Kim, S., Shin, J.Y., Kim, M.K., Kim, J.H., Development and verification for analysis of pesticides in eggs and egg products using QuEChERS and LC-MS/MS. *Food Chem*., **173**, 1236-1242 (2015).
18. Codex Alimentarius Commission, Guidelines on good laboratory practice in residue analysis (2003).
19. Ministry of Food and Drug Safety, Guidelines on standard procedures for preparing analysis method (2016).
20. 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).
21. Wilkowska, A., Biziuk, M., Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chem*., **125**, 803-812 (2011).