

Research Article



CrossMark

Open Access

QuEChERS 기반 동시분석법을 이용한 국내 유통 축산물 중 Imidacloprid 총잔류량 평가

이승원¹, 윤지현¹, 김지유¹, 임다정², 조형욱³, 문준관³, 곽혜민⁴, 장희라⁴, 김인선^{1*}

¹전남대학교 농생명화학과, ²농축산용미생물산업육성지원센터, ³환경국립대학교 식물자원조경학부, ⁴호서대학교 제약공학과

Evaluation of Total Residues of Imidacloprid in Livestock Products from Domestic Markets by using a Simultaneous Analytical Method Based on QuEChERS

Seung Won Lee¹, Ji Hyun Yoon¹, Ji Yu Kim¹, Da Jung Lim², Hyung Wook Jo³, Joon Kwan Moon³, Hye-Min Gwak⁴, Hee-Ra Chang⁴ and In Seon Kim^{1*} (¹Department of Agricultural and Biological Chemistry, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea, ²Department of Research and Development, Center for Industrialization of Agricultural and Livestock Microorganisms, Jeongeup 56212, Korea, ³Department of Plant Life and Environmental Sciences, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea, ⁴Department of Pharmaceutical Engineering, Hoseo University, Asan 31499, Korea)

Received: 19 July 2023/ Revised: 22 August 2023/ Accepted: 7 September 2023

Copyright © 2023 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article 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.

ORCID

Seung Won Lee
<https://orcid.org/0009-0004-2965-4056>

Ji Hyun Yoon
<https://orcid.org/0009-0001-9147-9509>

Ji Yu Kim
<https://orcid.org/0009-0009-4697-2423>

Da Jung Lim
<https://orcid.org/0000-0001-5768-3322>

Hyung Wook Jo
<https://orcid.org/0000-0002-2271-9767>

Joon Kwan Moon
<https://orcid.org/0000-0001-9944-7475>

Hye-Min Gwak
<https://orcid.org/0000-0002-9979-129X>

Hee-Ra Chang
<https://orcid.org/0000-0002-0307-7703>

In Seon Kim
<https://orcid.org/0000-0003-1061-6848>

Abstract

Imidacloprid is a neonicotinoid insecticide widely used for insect control in a variety of crops. The evaluation of imidacloprid total residues in animal feeds derived from crop by-products is required to ensure the safety of livestock products. We performed simultaneous LC/MS/MS analyses of imidacloprid and its metabolites in five different livestock products including beef, pork,

chicken, milk and egg from domestic markets. The methods for sample preparation and instrumental analysis were established by modifying QuEChERS method to meet the Codex guidelines. The methods generated 0.0035 mg/kg of the limit of determination (LOD), 0.01 mg/kg of the limit of quantitation (LOQ) and standard calibration linearity with >0.983 of the coefficients of determination (R^2). The methods exhibited the recovery values of imidacloprid and its metabolites ranging from 65.66 to 119.27% without any interference between matrices. Imidacloprid total residues in the livestock products were found as values lower than the LOQ and

*Corresponding author: In Seon Kim
Phone: +82-62-530-2131; Fax: +82-62-530-2139;
E-mail: mindzero@jnu.ac.kr

maximum residue limits (MRLs). This study suggests that the methods are successfully applicable for the safety evaluation of imidacloprid total residues in livestock products from domestic markets.

Key words: Imidacloprid, Livestock product, Neonicotinoid, Pesticide, QuEChERS

서론

인구의 증가와 국민소득의 향상에 따라 축산물의 총소비량은 꾸준히 증가하고 있다. UN의 식량농업기구(Food and Agriculture Organization, FAO)에서 발표한 농업전망에 따르면 최근 3년간 OECD 국가의 국민 1인당 육류의 소비량은 소매무게(retail weight, rwt)로 기준하였을 때 69.5 kg rwt 수준으로서 지속적으로 증가해왔으며 향후 5년 이내 70.7 kg rwt로 증가할 것으로 예측되고 있다[1]. 이러한 증가는 지난 10년 대비 경제적인 상황이 현저하게 나아지고 있는 아시아 국가에서 두드러지게 나타나고 있다[2]. 우리나라 농촌경제연구원이 발표한 2022년 농업 및 농가의 경제동향과 전망을 살펴보면 농업생산액 상위 10개 품목으로서 쌀을 포함하여 돼지, 한육우, 우유, 육계, 계란 등등의 축산물로 알려져 있으며 2031년에는 돼지 및 한육우 품목이 쌀을 넘어설 것이며 축산물의 소비도 꾸준히 증가할 것으로 전망되고 있다[3]. 따라서 국민건강을 강화하기 위해서 농약 및 항생제와 같은 화학물질로부터 축산물의 안전성을 확보하는 노력이 필요하다.

축산물 중 농약의 잔류는 사료의 원료로 사용되는 농작물 유래 농업부산물에서 비롯될 수 있다[4-6]. 농작물 중 농약은 작목별로 잔류허용기준(Maximum Residue Limit, MRL)의 설정을 통해 엄격하게 관리되고 있기 때문에 작물의 섭취에 따른 잔류농약의 독성은 안전성에 영향을 줄 정도는 아니다. 하지만 농업부산물 유래 사료를 대량으로 섭취하는 동물의 경우 체내에 농약이 축적된 후 먹이사슬을 통해 사람에게 유입될 수 있으므로 축산물 중 잔류농약에 대한 주기적인 모니터링이 필요하다[7,8]. 축산물 중 잔류농약의 평가는 주로 GC/MS/MS와 LC/MS/MS 등의 질량분석기를 이용하여 정성 및 정량적으로 수행되고 있으며 이를 위한 시료의 전처리는 QuEChERS법에 기초하여 변형되는 방법으로 수행되고 있다[9,10]. 질량분석기를 이용하여 축산물 중 잔류농약을 분석할 때 시료에 함유된 다양한 지질성 매트릭스로 인해 분석에 영향을 미칠 수 있으므로 이러한 방해성 물질을 제거하는 과정이 필요하며 분석법은 검증 및 확인을 통해 확립되어야 한다[11,12]. 분석법의 검증 및 확인은 일반적으로 CODEX 가이드라인에 준하여 검출한계, 회수율시험, 매트릭스 검량선의 직선성 및 분석물질의 이온비율 등을 고려하여 수행된다[13]. 따라서 유통되고 있는 축산물 중 잔류농약의 분석은 QuEChERS에 기반하여 수행하되 CODEX 가이드라인을 만족하는 방법을 확립하여 수행되어야 공인을 받을 수 있다.

국내에서 유통되고 있는 축산물 중 잔류농약의 평가와 관련한 연구를 살펴보면 소고기, 돼지고기, 닭고기, 달걀 및 우유 등등의 축산물 중 살충제 spinetoram을 모니터링하기 위한 LC/MS/MS 분석법이 개발되어 관련 기관에 공정시험법으로 제안되었다[14]. 우리나라 식품의약품안전처는 최근 LC/MS/MS 동시분석법을 이용하여 55개 농약성분, 그리고 GC/MS/MS 동시분석법을 이용하여 66개 농약성분을 대상으로 국내에서 유통되는 133건의 축산물(돼지고기, 소고기, 닭고기, 양고기, 우유, 달걀)에서 잔류성을 조사하였다. 조사결과에 따르면 전체 시료의 1.5%에서 chlorpyrifos와 fenitrothion 등의 농약성분이 검출되었으며 잔류농도는 잔류허용기준 이내의 수준이라고 보고되었다[15]. 하지만 상기 연구에서 조사한 농약성분에 imidacloprid는 포함되어 있지 않다. 이것은 아마도 imidacloprid는 총잔류물을 imidacloprid와 6-chloropyridinyl을 가지고 있는 대사산물의 합으로 정해져 있으므로 동시분석 대상성분으로 적합하지 않아서 별도로 분석해야 하기 때문으로 사료된다. 따라서 범국민적 소비가 늘어나고 있는 축산물 중 농약의 안전성을 강화하기 위해서는 다양한 농작물을 대상으로 광범위하게 사용되고 있는 imidacloprid의 축산물 중 잔류성에 대한 평가가 필요하다.

Imidacloprid는 neonicotinoid계 침투성 살충제 중 하나로서 해충의 acetylcholine 수용체에 결합하여 신경작용을 저해함으로써 살충효과를 가져온다[16]. 농촌진흥청의 농약등록정보(<https://psis.rda.go.kr>)에 따르면 imidacloprid는 국내에서 벼, 과수 및 채소 등을 포함한 다양한 작물에서 발생하는 해충을 방제하기 위해 단일제형으로 1,506개 품목 그리고 혼합제형으로 1,797개 품목이 등록되어 널리 사용되고 있다. 또한 imidacloprid는 포유류와 어류에 대해 각각 저독성과 III급으로 독성이 비교적 높지 않지만 급성독성에 의한 중독의 잠재성이 보고되고 있다[17,18]. 그러므로 가축의 사료로 사용되는 농업부산물이 imidacloprid에 노출될 잠재적인 가능성이 존재하므로 축산물의 안전성을 확보하기 위해서 imidacloprid의 잔류물에 대한 주기적인 모니터링이 필요하다. 우리나라 식품의약품안전처는 현재 축산물 중 imidacloprid에 대한 잔류허용기준으로서 가금류 고기에 대해 0.02 mg/kg, 가금류 부산물에 대해 0.05 mg/kg, 그리고 알에 대해 0.02 mg/kg을 적용하고 있으며(<https://various.foodsafetykorea.go.kr>) 이를 기준으로 국내에서 유통되는 축산물 중 잔류농약을 관리하기 위해 주기적인 모니터링을 실시하고 있다. 하지만 축산물 중 imidacloprid의 잔류성을 조사한 결과는 아직까지 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 축산물 중 imidacloprid와 이의 대사산물로 구성된 총잔류물을 동시에 평가하기 위한 분석법을 확립하여 국내에서 유통되는 축산물 중 imidacloprid의 잔류물을 평가함으로써 축산물의 안전사용기준을 강화하기 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

농약성분 및 시약

농약성분(Fig. 1)의 표준품으로서 imidacloprid (순도 99.9%)와 6-chloronicotinic acid (순도 98.0%)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 imidacloprid urea (순도 98.0%)는 TRC (Toronto, ON, Canada)에서 구입하였다. 또한 imidacloprid olefin (순도: 99.1%)과 5-hydroxy imidacloprid (순도: 99.9%)는 Kemidas (Gunpo, Gyeonggi-do, Korea)에서 구입하였다. 시험에 사용한 유기용매는 HPLC급으로서 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였으며 기타 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 분석용으로 구입하여 사용하였다. 시료의 추출과 정제에 사용되는 QuEChERS kit는 Agilent (San Francisco, CA, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다.

분석시료의 선정 및 채취

국내에서 유통되는 축산물의 시료는 우리나라 식품공전 및 CODEX에서 제시한 가이드라인을 참고하여 선정하였다. 대표적인 축산물은 포유류 고기로서 소고기와 돼지고기, 가금류 고기로서 닭고기, 그리고 우유 및 육가공 식품으로서 우유와 계란 등이었으며 포유류와 가금류의 부산물도 포함하였다. 시료는 인구비율을 고려하여 7개의 특별 및 광역시, 그리고 6개의 도를 대상으로 선정된 상위 3개 도시의 24개 시단위에서 유통되는 축산물을 대상으로 채취하였다. 시료를 채취할 때는 각 축산물종당 50건 이상이 되도록 수집하였으며 총 409건을 채취하여 분석하였다.

시료의 추출 및 정제

시료의 추출과 정제는 QuEChERS 방법[17]을 기반으로 하여 수행하되 최적조건을 확립하기 위해 적절하게 변형하였다. 고기 시료의 경우 100 g의 근육부위와 부산물을 사용하였고 알의 경우 10개의 계란을 사용하였다. 시료를 믹서기로 균질화한 후 5.0 g을 50 mL 원심분리용 튜브에 칭량한 다음 3% (v/v) acetic acid가 함유된 10 mL의 acetonitrile를 가하여 vortex mixer로 2분 동안 격렬하게 진탕추출하였다. 추출 후 4.0 g의 무수 magnesium sulfate와 1.0 g의 무수 magnesium chloride를 첨가하여 상기와 같이 다시 추출한 다음 4°C 및 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후 상정액을 150 mg의 무수 magnesium sulfate와 25 mg의 C₁₈을 함유한 분말고체상추출용 튜브(dispersive SPE tube)에 넣고 2분 동안 정제한 다음 4°C 및 8,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후 얻어진 유기용매층을 PTFE-H membrane filter (0.2 µm)로 여과한 다음 LC/MS/MS의 분석에 이용하였다.

Imidacloprid 및 대사산물의 분석법 확립

시료 중 imidacloprid 및 대사산물의 분석법은 표준품의 matrix-matched 검량선에서 직선성, 결정계수(R²), 정량한계(LOQ), 회수율시험, ion ratio 등등을 고려하여 CODEX 가이드라인에 충족되도록 확립하였다. 표준품의 matrix-matched 검량선은 대조구용 시료의 추출액을 이용하여 작성하였다. Imidacloprid 및 대사산물 표준품을 10 mL의 acetonitrile에 용해하여 1,000 µg/mL의 stock solution을 조제한 후 이를 acetonitrile로 희석하여 100 µg/mL 수준의 working solution을 조제한 다음 대조구 시료의 추출액에 10 µL씩 첨가하여 농도가 1.0 µg/mL 수준

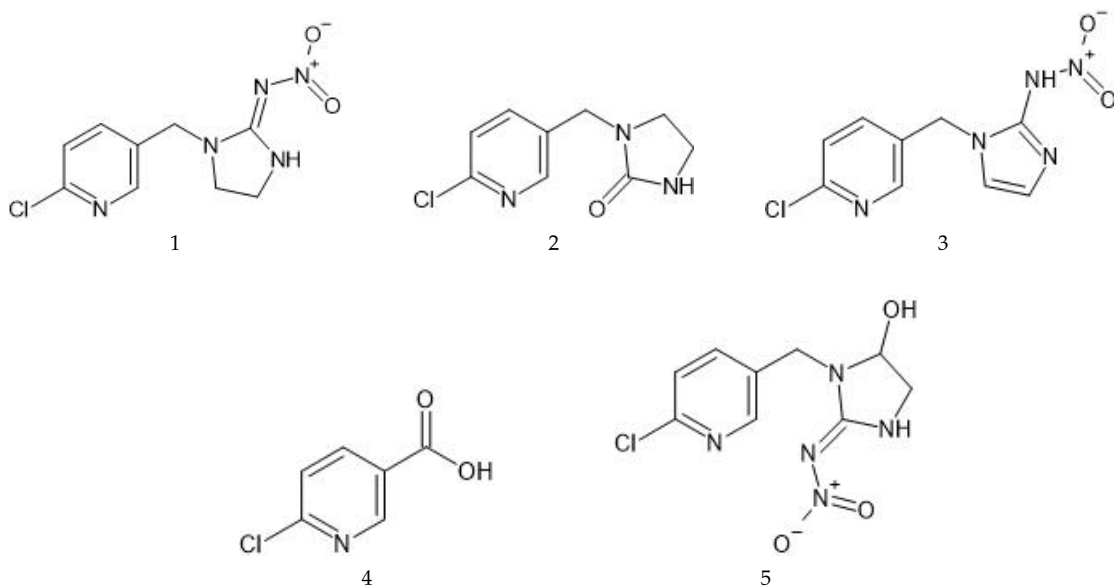


Fig. 1. Chemical structures of imidacloprid and its metabolites: 1. imidacloprid, 2. imidacloprid urea, 3. imidacloprid olefin, 4. 6-chloronicotinic acid, 5. 5-hydroxyimidacloprid.

Table 1. Multiple reaction monitoring (MRM) conditions of LC/MS/MS for the analysis of imidacloprid and its metabolites in livestock samples

Chemicals	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	
		Quantitative (CE, eV)*	Qualitative (CE, eV)
Imidacloprid	256.2	209.1 (16)	175.2 (21)
6-Cloronicotinic acid	158.1	122.1 (24)	78.1 (25)
Imidacloprid urea	212.1	128.1 (22)	126.1 (24)
Imidacloprid olefin	254.2	205.1 (13)	235.8 (11)
5-Hydorxyimidacloprid	272.0	255.2 (16)	191.2 (21)

* Collision energy

이 되도록 조제한 다음 대조구 시료의 추출액으로 희석하여 0.0025~0.1 µg/mL 범위의 matrix 기반 표준용액을 조제하였다. 표준검량선은 상기와 같이 조제한 표준용액 7 µL를 분석기기에 주입하여 나타난 chromatogram 상의 peak area를 기준으로 작성하였다. 분석법의 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ)는 신호잡음비(signal to noise, S/N)의 값이 10인 조건에서 다음과 같이 계산하였다: LOQ (mg/kg) = 최소검출량(ng) × [최종 희석부피(mL)/기기 주입량(µL)] × 1/시료량(g). 한편, 분석성분의 회수율 시험은 5반복용 대조구 시료 5.0 g에 imidacloprid 및 대사산물을 0.01 mg/kg (LOQ), 0.1 mg/kg (10LOQ)과 0.5 mg/kg (50LOQ) 수준으로 처리한 다음 상기와 같이 시료를 조제하여 수행하였다.

분석기기

사용된 LC/MS/MS는 Waters model ACQUITYTM UPLCTM 시스템이 구비된 Waters Xevo TQD triple quadrupole mass spectrometer로서 시료는 positive mode에서 electron spray ionization (ESI) 방법으로 이온화하였으며 분석성분별 multiple reaction monitoring (MRM) 조건은 Table 1과 같았다. 분석칼럼은 CAPCELL CORE C18 (150 × 2.1 mm, 2.7 µm, Shiseido, Osaka, Japan)이었으며 이동상은 0.1%(v/v) formic acid가 함유된 물(A)과 acetonitrile (B) 혼합용매로서 유속은 0.3 mL/min이었다. 이동상의 유출은 5% B (2.0 min) → 10% B (4.0 min) → 70% B (4.5 min) → 30% B (6.0 min) → 5% B (1.0 min)의 조건으로

수행하였다.

결과

분석법의 확립

축산물 중 imidacloprid를 분석하기 위한 LC/MS/MS 분석법의 확립은 정량과 정성이온의 ion ratio, 시료의 매트릭스 효과(matrix effect), 표준품 검량선의 직선성, 검출한계 및 회수율 등을 고려하여 수행하였다. Ion ratio의 경우 유기용매와 무처리 시료의 매트릭스에서 검출되는 정량과 정성이온 강도를 고려하여 이온강도의 평균값이 ±30% 범위가 되도록 분석조건을 확립하였다. 따라서 정성 및 정량 이온의 강도가 ±30%를 충족하지 않을 경우 imidacloprid의 잔류물이 검출되지 않은 것으로 간주하였다. Imidacloprid와 대사산물에 대한 매트릭스 효과는 모든 시료에서 약 -26.73~198.82%로 매우 다양하였다(Table 2). 특히, imidacloprid의 대사산물 중 6-chloronicotinic acid는 닭고기(닭다리살)를 제외한 모든 시료에서 이온강도를 상승시키는 매질효과를 보였으며 시료 간에 차이가 크게 나타났다. 연구결과에 따르면[18] 시료에 대한 매질효과가 절대값으로 ±10% 이내일 경우 시료의 매질이 분석결과에 미치는 영향은 크지 않으므로 matrix 검량선을 별도로 작성할 필요가 없다고 알려져 있다. Imidacloprid 잔류물의 경우 매질효과 차이가 시료에 따라 크므로 본 연구에서는 시료의 매질을 고려한 matrix-matched 검량선을 작성하여 분석에 이용하였다.

Table 2. Sample matrix effects on the calibration linearity of imidacloprid and its metabolites

Chemicals	Sample matrix effects (%)*				
	Milk	Egg	Pork	Beef	Chicken
Imidacloprid	-11.74	7.65	-8.58	-19.82	-25.33
6-Cloronicotinic acid	198.82	0.62	50.53	23.22	-5.50
Imidacloprid urea	-12.21	5.64	-7.45	-31.88	-26.73
Imidacloprid olefin	-21.18	-1.75	-1.02	-19.19	-24.19
5-Hydorxyimidacloprid	-3.09	0.67	6.05	-9.60	9.96

* [(Slope of linearity curve in matrix - slope of linearity curve in solvent only)/(slope of linearity curve in solvent only)] × 100%.

Table 3. Correlation factors of determination (R^2) of matrix-matched calibration curves of imidacloprid and its metabolites

Chemicals	R^2 in livestock sample matrices				
	Milk	Egg	Pork	Beef	Chicken
Imidacloprid	0.9964	0.9911	0.9948	0.9986	0.9833
6-Chloronicotinic acid	0.9982	0.9997	0.9967	0.9962	0.9979
Imidacloprid urea	0.9990	0.9997	0.9967	0.9994	0.9987
Imidacloprid olefin	0.9990	0.9994	0.9938	0.9975	0.9973
5-Hydroxyimidacloprid	0.9990	0.9968	0.9966	0.9991	0.9942

축산물 시료의 매트릭스효과를 고려하여 작성한 imidacloprid의 표준검량선은 결정계수(R^2)는 imidacloprid의 경우 0.983~0.996, 6-chloronicotinic acid의 경우 0.996~0.999, imidacloprid urea의 경우 0.997~0.999, imidacloprid olefin의 경우 0.994~0.999, 그리고 5-hydroxy imidacloprid의 경우 0.994~0.999 범위의 직선성을 보였다(Table 3). 이러한 결정계수 값은 농축산물 중 잔류농약 분석법에 대한 국내외 가이드라인으로 알려진 CODEX CAC/GL 40[13] 및 식품의약품안전처의 식품 등 시험법 마련 및 표준절차에 관한 가이드라인[19]에서 권장하는 결정계수인 0.980 이상의 직선성을 충족하였다. 상기의 가이드라인에 부합한 matrix-matched 표준검량선에서 imidacloprid의 최소검출량(ng)과 정량한계(LOQ)는 각각 0.0035 ng과 0.01 mg/kg이었으며, 산출된 LOQ의 1/10 수준인 0.001 mg/kg에서 back calculation 결과가 70% 이상이었다. 이와 같이 가이드라인을 충족하여 본 연구 확립한 분석법으로 imidacloprid와 이의 잔류물에 해당되는 대사산물을 동시에 분석할 수 있었다(Fig. 2). 따라서 본 연구에서 확립한 방법이 축산물 시료 중 imidacloprid 잔류물을 정량하는데 적합하게 적용될 수 있다는 것을 의미하였다.

축산물 시료 중 imidacloprid 잔류물을 정량하는데 있어서 시료의 전처리과정을 확립하기 위해 회수율 시험을 수행하였다. Imidacloprid와 대사산물을 대조구 시료에 LOQ 수준과 이의 10배 및 50배 수준의 농도로 처리한 후 5반복으로 회수율 시험을 수행한 결과 Table 4에서 보여준 바와 같았다.

Imidacloprid의 경우 우유, 계란, 돼지고기(삼겹살), 소고기(등심) 및 닭고기(닭다리살) 시료 중 회수율은 평균 89.66~119.27% 수준이었다. 대사산물의 회수율의 경우 6-chloronicotinic acid는 평균 82.03~111.57% 수준이었으며 imidacloprid urea의 경우 평균 65.65~99.21% 수준, imidacloprid olefin은 평균 79.59~118.31% 수준, 그리고 5-hydroxy imidacloprid는 평균 85.99~115.52% 수준이었다. 회수율 결과에서 상대표준편차(Relative Standard Deviation, RSD)는 약 1.6~17.7%이었다. 회수율을 볼 때 imidacloprid urea의 회수율이 상대적으로 낮았으며 이는 imidacloprid urea의 물에 대한 용해도가 5 mg/mL [20] 수준으로 높아 유기용매로 추출되는 비율이 낮아 비로써 비롯된 것으로 추측되었다. 이러한 회수율 시험의 결과는 시험농도를 고려한 CODEX 및 식품의약품안전처의 가이드라인에서 권장하는 60~120%와 RSD 20% 이내를 충족하였다. 따라서 본 연구에서 확립된 imidacloprid 잔류물의 분석법은 잔류농약을 평가할 때 요구되는 가이드라인에 부합하므로 축산물 시료 중 imidacloprid 잔류물을 모니터링하는 데 있어서 적합한 방법으로 판단되었다.

분석법의 교차검증

상기와 같이 확립된 imidacloprid 잔류물의 분석법에 대한 신뢰성을 확보하기 위해 공인 시험기관에 의뢰하여 분석법의 교차검증을 실시하였다. 분석법의 교차검증은 본 연구에서 확립한 동일한 방법으로 회수율을 시험을 수행하여 실시하였

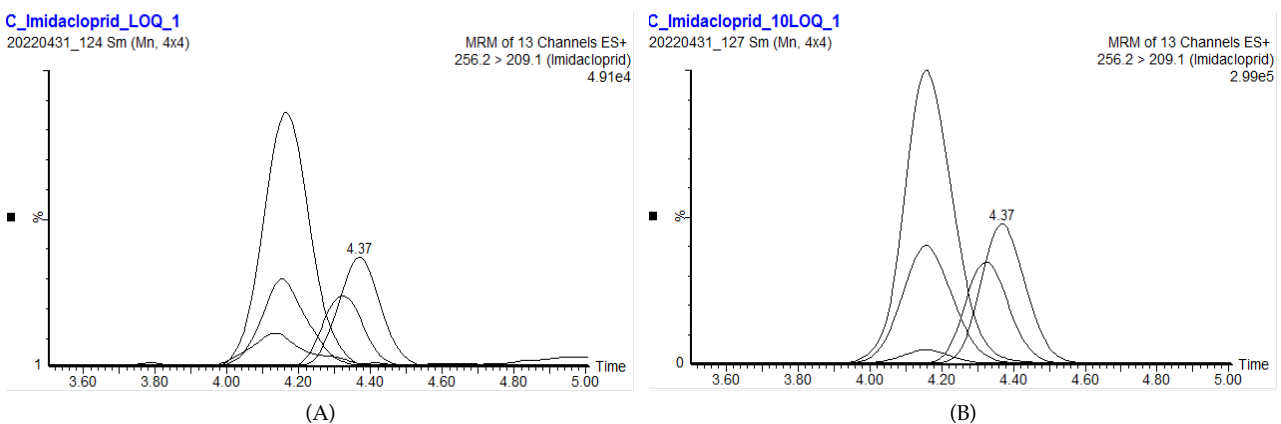


Fig. 2. Typical LC/MS/MS chromatograms of imidacloprid and its metabolites fortified in chicken samples at levels of LOQ (A) and 10LOQ (B).

Table 4. Recovery values of imidacloprid and its metabolites fortified in livestock samples

Chemicals	Samples	Recovery (%)*		
		Fortified level (mg/kg)		
		0.01 (LOQ)	10 x LOQ	50 x LOQ
Imidacloprid	Milk	89.66 ± 4.36	95.69 ± 3.14	94.28 ± 3.17
	Egg	119.27 ± 15.47	114.91 ± 5.07	106.61 ± 17.78
	Pork	114.57 ± 5.34	96.58 ± 4.15	100.94 ± 2.40
	Beef	96.07 ± 4.15	99.29 ± 2.74	105.52 ± 5.58
	Chicken	109.53 ± 5.32	106.94 ± 8.60	113.79 ± 6.35
6-Chloronicotinic acid	Milk	95.09 ± 5.15	98.28 ± 2.10	96.01 ± 2.68
	Egg	108.14 ± 11.55	111.57 ± 4.67	98.34 ± 9.31
	Pork	101.48 ± 6.86	85.45 ± 2.04	91.13 ± 2.26
	Beef	107.98 ± 19.07	82.03 ± 2.19	90.24 ± 3.85
	Chicken	82.56 ± 11.18	98.06 ± 3.47	97.67 ± 3.71
Imidacloprid urea	Milk	74.38 ± 2.70	79.54 ± 4.80	89.40 ± 2.66
	Egg	65.65 ± 10.16	89.15 ± 5.44	88.43 ± 5.47
	Pork	77.68 ± 4.13	77.72 ± 5.28	79.10 ± 2.54
	Beef	71.05 ± 12.10	78.24 ± 3.58	89.92 ± 1.60
	Chicken	81.36 ± 7.78	99.21 ± 3.44	95.33 ± 13.85
Imidacloprid olefin	Milk	93.33 ± 8.79	94.94 ± 3.81	91.95 ± 3.24
	Egg	88.27 ± 15.20	92.67 ± 4.00	94.81 ± 5.07
	Pork	114.58 ± 3.72	79.59 ± 3.54	93.09 ± 3.43
	Beef	91.26 ± 4.05	94.70 ± 4.32	89.74 ± 3.71
	Chicken	83.49 ± 13.57	118.31 ± 3.62	104.17 ± 12.39
5-Hydroxy-imidacloprid	Milk	89.20 ± 5.20	97.23 ± 1.75	96.79 ± 3.94
	Egg	100.01 ± 13.53	108.80 ± 5.37	108.06 ± 8.08
	Pork	106.82 ± 2.49	87.11 ± 1.39	99.22 ± 2.09
	Beef	85.99 ± 3.44	97.10 ± 1.88	97.44 ± 1.70
	Chicken	109.76 ± 8.30	114.21 ± 2.41	115.52 ± 9.81

* Data are means ± standard deviation of 5 replicates.

으며 그 결과는 Table 5에서 보여준 바와 같았다. 교차검증을 실시한 결과 imidacloprid의 경우 모든 축산물 시료에 대해 LOQ 수준과 10LOQ 및 50LOQ 수준에서 평균 회수율은 78.05~114.03%이었으며 RSD는 0.8~7.6%이었다. 대사산물의 평균 회수율은 6-chloronicotinic acid의 경우 86.12~116.79%이었으며 imidacloprid urea의 경우 73.47~92.01%, imidacloprid olefin의 경우 80.27~99.58%, 그리고 5-hydroxy imidacloprid의 경우 87.69~102.10%이었다. 이들 대사산물의 회수율에서 RSD는 약 0.3~15.6%이었다. 이러한 결과는 본 연구에서 확립한 분석법의 신뢰성이 높다는 것을 의미하였다. 따라서 본 연구에서 확립한 분석법은 imidacloprid 잔류물을 모니터링하는데 적합하게 사용될 수 있는 방법임을 의미하였다.

축산물 시료 중 imidacloprid 잔류물의 분석

국내에서 유통되고 있는 축산물 시료 중 imidacloprid와 이의 대사산물들의 잔류량을 조사한 결과는 Table 6에 제시한 바와 같았다. Imidacloprid와 대사산물들의 잔류량은 모든 시료에서 분석법의 정량한계(LOQ) 이하로 조사되었다. 매트릭스 표준검량선상 LOQ 이하에서 imidacloprid와 이의 대사산물들의 잔류량을 산출하는 것은 정확하지 않을 수 있지만 검량선의 back calculation이 70% 이상인 최저 농도(0.001 mg/kg)부터 LOQ 사이의 범위에서 검출되는 잔류물은 imidacloprid olefin으로서 닭고기 시료에서 약 0.003 mg/kg 수준이었으며 검출성분의 ion ratio는 25.87%로서 표준품 농도의 0.005 mg/kg가 갖는 ion ratio와 매우 유사하였다 (Fig. 3). 또한 imidacloprid urea의 경우 달걀 시료에서 0.005~0.007 mg/kg 수준으로 검출되었으며 검출성분의 ion ratio는 53.5~80.2%이었다. Ion ratio를 기준으로 분석성분의

Table 5. Inter-institutional recovery values of imidacloprid and its metabolites fortified in livestock samples

Chemicals	Samples	Recovery (%) [*]		
		Fortified level (mg/kg)		
		0.01 (LOQ)	10 × LOQ	50 × LOQ
Imidacloprid	Milk	90.87 ± 0.82	92.37 ± 1.20	91.74 ± 3.49
	Egg	114.03 ± 2.96	103.81 ± 1.14	104.50 ± 0.94
	Pork	105.05 ± 7.98	102.88 ± 0.62	100.54 ± 3.12
	Beef	107.10 ± 1.61	95.34 ± 0.29	90.89 ± 0.27
	Chicken	78.05 ± 2.73	95.17 ± 3.62	96.31 ± 0.77
6-Cloronicotinic acid	Milk	97.91 ± 3.04	93.67 ± 1.59	94.97 ± 1.61
	Egg	90.83 ± 3.09	91.11 ± 0.36	93.93 ± 1.41
	Pork	96.83 ± 2.03	94.04 ± 0.38	94.72 ± 1.04
	Beef	105.62 ± 2.64	87.75 ± 0.79	86.12 ± 1.55
	Chicken	116.79 ± 2.34	88.76 ± 0.53	86.47 ± 4.24
Imidacloprid urea	Milk	85.57 ± 1.88	90.05 ± 0.90	91.89 ± 2.48
	Egg	85.32 ± 2.05	90.18 ± 2.43	90.17 ± 1.44
	Pork	76.41 ± 0.83	89.47 ± 2.24	87.54 ± 2.80
	Beef	92.01 ± 0.46	83.90 ± 1.59	80.93 ± 2.43
	Chicken	73.47 ± 2.94	88.18 ± 0.97	88.50 ± 1.33
Imidacloprid olefin	Milk	88.62 ± 7.36	93.76 ± 4.88	98.72 ± 1.78
	Egg	88.35 ± 3.27	86.47 ± 1.12	87.01 ± 5.31
	Pork	82.02 ± 5.50	91.78 ± 4.50	94.34 ± 2.36
	Beef	99.58 ± 15.53	88.47 ± 7.17	80.27 ± 4.41
	Chicken	95.34 ± 6.01	91.27 ± 1.00	87.51 ± 1.93
5-Hydorxy-imidacloprid	Milk	95.52 ± 1.15	95.41 ± 0.67	99.26 ± 1.59
	Egg	91.30 ± 2.56	90.64 ± 1.99	92.35 ± 1.66
	Pork	87.27 ± 2.01	96.56 ± 1.16	95.38 ± 4.10
	Beef	102.10 ± 1.84	92.19 ± 0.46	87.69 ± 2.81
	Chicken	92.17 ± 2.30	92.24 ± 1.84	91.70 ± 2.48

* Data are means ± standard deviation of 5 replicates.

Table 6. Residues of imidacloprid and its metabolites in the livestock samples from domestic markets

Chemicals	Residue (mg/kg) [*]				
	Milk	Egg	Pork	Beef	Chicken
Imidacloprid	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
6-Cloronicotinic acid	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Imidacloprid urea	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Imidacloprid olefin	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
5-Hydorxyimidacloprid	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

* Data are obtained from analyses in triplicate.

잔류성을 판단하였을 때 닭고기 시료에서 약 0.003 mg/kg 수준으로 imidacloprid olefin이 잔류하는 것으로 예측되었다. 반면에, imidacloprid urea의 경우 back calculation 범위에서 0.005~0.007 mg/kg 수준으로 검출되었지만 CODEX

및 식품의약품안전처의 가이드라인에서 권장하는 ion ratio인 ±30%를 충족하지 않으므로 시료 중 imidacloprid urea가 실질적으로 잔류할 가능성은 낮은 것으로 판단되었다.

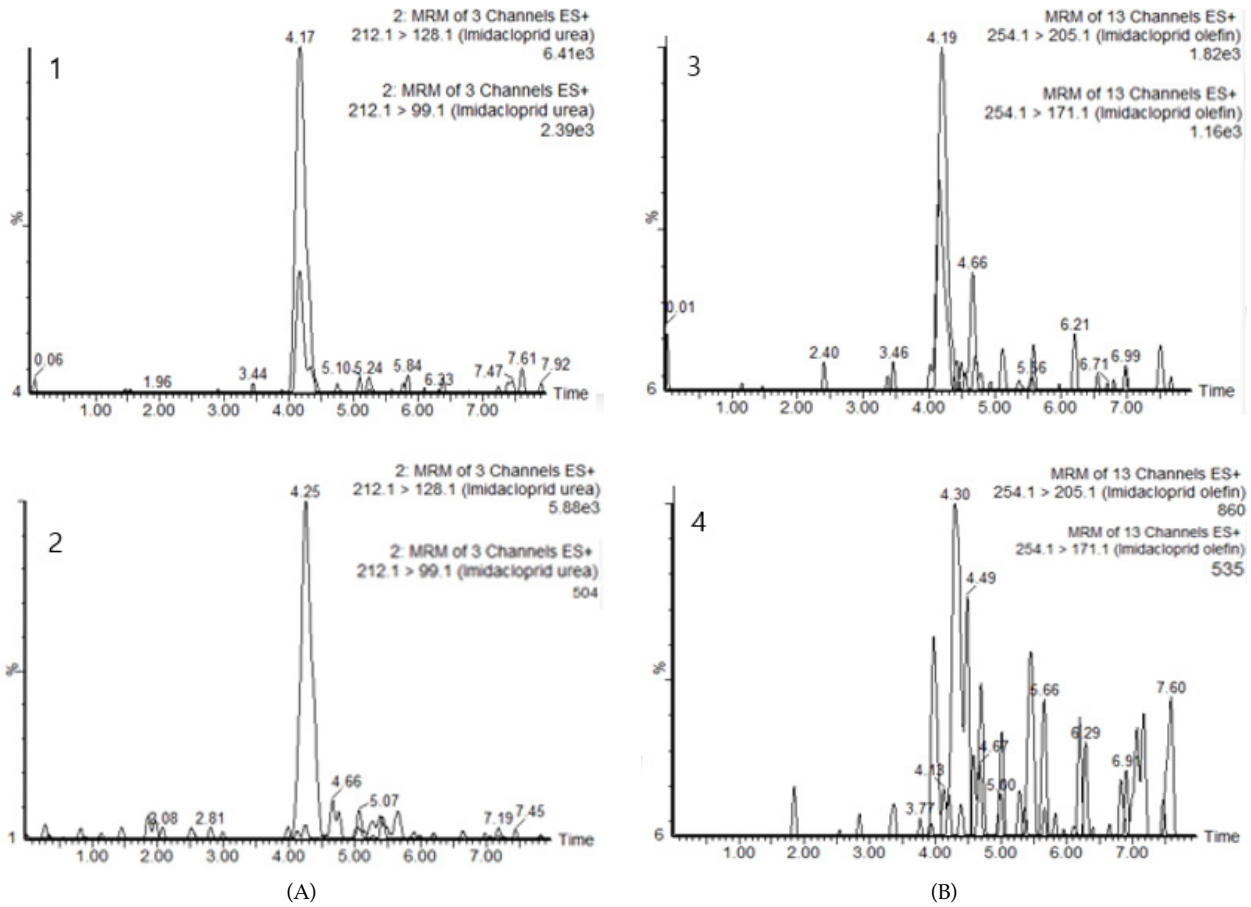


Fig. 3. Typical LC/MS/MS chromatograms of two transitions of imidacloprid urea (A) and imidacloprid olefin (B) in livestock product samples: 1,3. samples spiked at 0.005 mg/kg; 2,4. real egg and chicken samples from domestic markets.

고찰

국민소득의 향상에 따라 육류 및 우유류에 대한 소비량이 점점 증가하고 있는 상황에서 축산물에 잔류하는 농약과 같은 유해물질에 대한 안전성을 확보하는 일은 매우 중요하다. 축산물 중 농약의 안전성은 상시적으로 잔류수준을 모니터링함으로써 가늠할 수 있다[21]. 축산물에 잔류하는 농약은 가축사료의 원료가 되는 농업부산물에서 유래될 수 있다는 점을 고려할 때 농작물에 사용되는 농약은 축산물의 안전성을 평가하기 위한 주요 분석대상이라고 할 수 있다. 본 연구에서는 해충을 방제하기 위해 다양한 작물에 광범위하게 사용되고 있는 imidacloprid의 국내에서 유통되는 축산물에 대한 안전성을 조사하기 위해 이의 잔류량을 평가하였다. 잔류량을 평가하기 위한 분석방법은 CODEX 및 식품의약품안전처의 가이드라인에 충족하도록 확립하였으며 분석법의 신뢰성을 확보하기 위해 다른 시험기관에 의뢰하여 교차검증을 수행하였다. 본 연구에서 확립된 분석법은 상기 가이드라인들을 충족하였으며 다른 시험기관을 통한 교차검증에서도 분석법의 신뢰성이 높게 나타나 국내에서 유통되는 축산물 시료 중 imidacloprid의 잔류성을 평가하기 위한 적합한 방법으로 입증되었다.

상기와 같이 확립된 분석법을 이용하여 국내에서 유통되는

축산물 중 imidacloprid의 잔류량을 조사한 결과 전체 409개 모든 시료에서 정량한계(0.01 mg/kg) 미만의 수준이었다. 표준검량선에서 정량한계 미만의 농도범위까지 잔류량을 산출한 결과 imidacloprid urea가 일부 시료에서 0.005~0.007 mg/kg 수준으로 분석되었지만 분석성분의 ion ratio가 충족되지 않아 실질적으로 검출되지 않은 것으로 판단되었다. 한편, imidacloprid olefin은 0.003 mg/kg 수준으로 검출되었지만 이 농도를 imidacloprid로 환산하여 산출하여도 이와 유사한 수준으로서 가금류 고가에 설정되어 있는 잔류허용기준인 0.02 mg/kg (<https://various.foodsafetykorea.go.kr>)에 대비하여 안전한 수준이었다. 따라서 우리나라에서 유통되는 축산물은 imidacloprid의 잔류물에 대해 안전한 수준으로 관리되고 있음을 간접적으로 알 수 있었다. 우리나라 식품의약품안전처는 2018년에 국내에서 유통되고 있는 농축산물 중 농약의 잔류성을 모니터링하여 전체 분석시료 중에서 1.5%에 해당되는 건수가 농약이 검출되었다고 보고하였으며 1일섭취허용량에 대비하여 예측한 1일 추정섭취량을 고려하였을 때 그 잔류정도는 안전한 수준이라고 보고하였다[15]. 본 연구에서 수행된 결과는 이러한 배경에 부합하여 국내에서 유통되고 있는 축산물이 안전하게 관리되고 있음을 간접적으로 다시 확인 해주었다.

국내외에서 소비자에게 유통되는 축산물에 대한 농약의 안전성 평가는 비표적(notarget) 가축과 야생동물에게 발생할 수 있는 농약중독사고를 예측하는 자료로 활용될 수 있다[22]. 이러한 연구는 농약중독으로 인한 동물들의 행동적 및 심리적 변화에 관한 정성적 데이터와 농약의 종류와 잔류정도에 대한 정량적 데이터를 연관하여 대상농약의 위해성 평가를 위한 중요한 자료로 활용된다[23-25]. 뿐만 아니라 유통 축산물 중 잔류농약의 모니터링은 과거 국내에서 발생하였던 '살충제 계란' 이라는 사회적 이슈와 같이 농작물에 국한하여 허가된 농약성분이 가축에 사용됨으로서 축산물 식품의 농약오염을 초래할 수 있는 잠재성을 예측할 때 자료로 활용될 수 있다[26]. 이러한 점을 고려할 때 본 연구에서 비롯된 결과는 향후 국내에서 유통되는 축산물 중 imidacloprid의 잔류성을 주기적으로 평가할 때 기초자료로서 그 가치가 있다고 할 수 있다.

가축의 사료가 농업부산물에서 유래될 수 있다는 것을 고려할 때 축산물 중 잔류농약의 모니터링은 농작물에 사용이 허가된 모든 농약을 대상으로 다중잔류분석(multi residue analysis)을 수행함이 바람직하다[27-29]. 본 연구에서 축산물 중 imidacloprid의 잔류성은 주요 대사산물을 포함한 총잔류물을 대상으로 분석해야 하였기에 동일한 시료 전처리방법을 이용하여 동시분석이 불가능하였다. 따라서 식품의약품안전처의 연구용역사업으로 지원으로 수행된 본 연구에서는 다른 100여종의 농약성분과 별도로 분리해 imidacloprid 잔류물만을 대상으로 하는 단성분 분석법을 확립하여 모니터링을 수행하였다. 향후 유통중인 축산물 중 농약의 잔류량을 보다 빠르게 평가위해서는 imidacloprid 총잔류물을 다른 100여종의 농약 성분과 동시에 분석할 수 있는 분석법의 개발이 필요하다고 할 수 있다.

본 연구에서는 국내에서 유통되고 있는 축산물 중 imidacloprid의 잔류성은 안전한 수준으로 관리되고 있다는 결과를 제시하고 있으며, 이러한 결과는 국내외 시장에서 우리나라 축산물의 경쟁력을 강화하는데 도움을 줄 수 있는 자료라고 사료된다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This work was funded by the Ministry of Food and Drug Safety (Grants 21162MFDS366) of Republic of Korea.

References

1. OECD/FAO (2022) OECD agriculture statistics (database). OECD-FAO Agricultural Outlook, 2022-2031, 10. <https://doi.org/10.1787/agr-outl-data-en>.
2. Charles H, Godfray J, Aveyyard P, Garnett T, Ha JW, Key TJ, Lorimer J, Pierrehumbert RT, Scarborough P, Springmann M et al. (2018) Meat consumption, health, and the environment. *Science*, 361, 1-8. <https://doi.org/10.1126/science.aam5324>.
3. Jeong MK, Seo HS, Suh DJ, Kim JH, Kim JH (2022) Trends and Prospects of Agriculture and Farm Economy, in: Korea Rural Economic Institute. *Agricultural Outlook 2022*, pp. 1-36, Agricultural Outlook, Korea.
4. Bedi JS, Gill JPS, Kaur P, Aulakh RS (2018) Pesticide residues in milk and their relationship with pesticide contamination of feedstuffs supplied to dairy cattle in Punjab (India). *Journal of Animal and Feed Sciences*, 27, 18-25. <https://doi.org/10.22358/jafs/82623/2018>.
5. Kumar A, Thakur A, Sharma V, Koundal S (2019) Pesticide residues in animal feed: Status, safety, and scope. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 7, 73-80. <https://doi.org/10.21088/jafst.2321.1628.7219.3>.
6. Nag SK, Raikwar MK (2011) Persistent organochlorine pesticide residues in animal feed. *Environmental Monitoring and Assessment*, 174, 327-335. <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1460-1>.
7. Li Z, Xiong J, Fantke P (2022) Screening of pesticide distributions in foods of animal origin: a matrix-based approach for biotransfer factor modeling of grazing mammals. *Environmental Science Processes and Impacts*, 24, 609-624. <https://doi.org/10.1039/d1em00454a>.
8. Penagos-Tabares F, Sulyok M, Faas J, Krska R, Khiaosaard R, Zebeli Q (2022) Residues of pesticides and veterinary drugs in diets of dairy cattle from conventional and organic farms in Austria. *Environmental Pollution*, 316, 120626. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120626>.
9. Kim HS, Kim M, Kim EJ, Choe W (2020) Determination of 66 pesticide residues in livestock products using QuEChERS and GC-MS/MS. *Food Science and Biotechnology*, 29, 1573-1586. <https://doi.org/10.1005/s10068-020-00798-4>.
10. Kanda M, Nakajima T, Hayashi H, Hashimoto T, Kanai S, Nagano C, Matsushima Y, Tateishi Y, Yoshikawa S, Tsuruoka Y et al. (2015) Multi-residue determination of polar veterinary drugs in livestock and fishery products by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 98, 230-247. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.13-272>.

11. Lee S, Kwak S, Sarker A, Moon J, Kim J (2022) Optimization of a multi-residue analytical method during determination of pesticides in meat products by GC-MS/MS. *Foods*, 11, 2930. <https://doi.org/10.3390/foods11192930>.
12. Mandal S, Poi R, Ansary I, Hazra DK, Bhattacharyya S, Karmakar R (2020) Validation of a modified QuEChERS method to determine multiclass multi-pesticide residues in apple, banana and guava using GC-MS and LC-MS/MS and its application in real sample analysis. *SN Applied Sciences*, 2, 188. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-1990-2>.
13. Codex Alimentarius. Guidelines for the design and implementation of national regulatory food safety assurance programme associated with the use of veterinary drugs in food producing animals CAC/GL 71. 2009. Available online: http://www.fao.org/imp/ download/standards/11252/CXG_071e_2014.pdf (accessed on 2 August 2023).
14. Ko A, Kim H, Do JA, Jang J, Lee EH, Ju YJ, Kim JY, Chang M, Rhee S (2016) Development of analytical method for determination of spinetoram residues in livestock using LC-MS/MS. *Analytical Science and Technology*, 29, 94-103. <https://doi.org/10.5806/AST.2016.29.2.94>.
15. Jeong YH, Jo BH, Choi WJ, Lee SM, Do JA, Lee JM, Mo Ej, Lee SB, Jo SM et al. (2018) Monitoring of pesticide residues in agro-livestock products, in: National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Monitoring of Pesticide Residues in Agro-Livestock Products-2018, pp. 1-197, Ministry of Food and Drug Safety, Korea. <https://doi.org/10.23000/TRKO201900003465>.
16. Matsuda K, Buckingham SD, Kleier D, Rauh JJ, Grauso M, Sattelle DB (2001) Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, 22, 573-580. [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(00\)01820-4](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)01820-4).
17. Bhatta OP, Chand S, Chand H, Poudel RC, Lamichhane RP, Singh K, Subedi N (2023) Imidacloprid poisoning in a young female: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 17(43). <https://doi.org/10.1186/s13256-022-03742-8>.
18. Rogers KH, McMillin S, Olstad J, Poppenga R (2019) Imidacloprid poisoning of songbirds following drench application of trees in a residential neighborhood in California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38, 1724-1727. <https://doi.org/10.1002/etc.4473>.
19. Anastassiades M, Lehota SJ (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86, 412-431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>.
20. Wang J, Xu J, Ji X, Wu H, Yang H, Zhang H, Zhang X, Li Z, Ni X, Qian M (2020) Determination of veterinary drug/pesticide residues in livestock and poultry excrement using selective accelerated solvent extraction and magnetic material purification combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1617, 460808. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460808>
21. Ministry of Food and Drug Safety. Korean Food Code. 2020. Available online: https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_01.jsp?idx=263 (accessed on 2 August 2023).
22. Anhalt JC, Moorman TB, Koskinen WC (2008) Degradation and sorption of imidacloprid in dissimilar surface and surface soils. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 43, 207-213. <https://doi.org/10.1080/03601230701771107>.
23. Kim C-H, Kim C (2023) Determination of hazardous residues in livestock products using LC-MS/MS in Gyeongsang province. *Journal of Veterinary Nursing*, 2, 11-20. <https://doi.org/10.56878/jvn.2023.2.1.11>.
24. Taylor MJ, Melton LM, Sharp EN, Watson JE (2013) 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. *Analytical Methods*, 5, 248. <https://doi.org/10.1039/c2ay25555c>.
25. Witczak A, Abdel-Gawad H (2014) Assessment of health risk from organochlorine pesticides residues in high-fat spreadable foods produced in Poland. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49, 917-928. <https://doi.org/10.1080/03601234.2014.951574>.
26. Hamidi A, Yaqubi G, Ahmed SR, Aziz N (2017) Assessment of human health risk associated with the presence of pesticides in chicken eggs. *Food Science and Technology*, 37, 378-382. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.11616>.
27. Philip SW, Odongo VM, Wandiga SO, Omayio DG, Okumu MO (2022) Estimation and human health risk

- assessment of organochlorine and organophosphate pesticide residues in raw milk collected in Kenya. *Food Research*, 11, 1-14, <https://doi.org/10.12688/f1000research.74748.1>.
28. Song NE, Lee JY, Ahmad RM, Jang HW, Lim MC, Lee Y, Yoo M, Nam TG (2019) Determination of 60 pesticides in hen eggs using the QuEChERS procedure followed by LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Food Chemistry*, 298, 125050. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125050>.
29. Weng R, Loua S, Pangb X, Songa Y, Sub X, Xiaoc Z, Qiu J (2020) Multi-residue analysis of 126 pesticides in chicken muscle by ultra-high performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Food Chemistry*, 309, 25503. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125503>.
30. Huang Y, Huang Y-M, Lee H-J (2020) Simultaneous analysis of seven neonicotinoids in commercial milk samples using an UHPLC-MS/MS method. *Applied Sciences*, 10, 6775. <https://doi.org/10.3390/app10196775>.
31. Hajrulai-Musliu Z, Uzunov R, Jova S, Pendovski L, Sasanya JJ (2022) A new LC-MS/MS method for multiple residues/contaminants in bovine meat *BMC Chemistry*, 15, 62. <https://doi.org/10.1186/s13065-021-00788-5>.