

식품의약품안전처 공고 제2017-017호

식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안)
행정예고

2017. 1. 13.

식품의약품안전처

식품의약품안전처 공고 제2017-017호

「식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전처고시 제2016-154호, 2016. 12. 29.)을 일부 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 수렴하고자 그 취지, 개정 이유 및 주요 내용을 「행정절차법」 제46조에 따라 다음과 같이 공고합니다.

2017년 1월 13일

식품의약품안전처장

식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안) 행정예고

1. 개정 이유

미생물 공통규격 중 제조공정·섭취방법 등을 고려한 위생지표균 공통규격을 신설하여 식품 안전 관리를 강화하고자 함

과거 외국의 기준을 준용한 농약 잔류허용기준에 대해 과학적 근거자료에 따라 재평가하여 식품 중 잔류물질의 안전관리를 강화하고자 함.

국내에서 사용되는 동물용의약품의 잔류허용기준을 신설하고, 식품 중 잔류동물용의약품 동시 시험법 분석 대상을 확대하여 신속한 검사 업무를 추진하고자 함.

2. 주요 내용

가. 미생물 공통규격 중 위생지표균 신설[안 제2. 3. 4) (1) 가.]

1) 식품일반의 기준 및 규격 중 공통규격에 위생지표균을 설정·관리

- 2) 제조공정·섭취방법 등을 고려한 위생지표균 규격 신설로 식품 안전 관리 확보

나. 일반시험법 개정 [안 제7. 8.2.1.1, 제7. 8.2.1.2, 제7. 8.2.1.3, 제7. 8.3.12, 제7. 8.3.29, 제7. 8.3.45, 제7. 8.3.47, 제7. 8.3.48, 제7. 8.3.50, 제7. 8.3.65, 제7. 8.3.71, 제7. 8.3.88, 제7. 8.3.109, 제7. 8.3.110, 제7. 8.3.111, 제7. 8.3.112, 제7. 8.3.113, 제7. 8.3.114, 제7. 8.3.115, 제7. 8.3.116, 제7. 8.3.117, 제7. 8.3.118, 제7. 8.3.119]

- 1) 신규 기준설정 동물용의약품에 대한 시험법 신설 및 시험법의 동시 분석 대상 확대에 따른 시험법 개정 필요
- 2) 클라노부틴, 나프타존 등 36종 시험법 신설 및 개정
- 3) 식품 중 동물용의약품 시험법을 신설 및 개정하여 검사 신뢰도를 제고함으로써 국민에게 안전한 식품을 공급하고자 함

다. 농산물 중 농약 잔류허용기준 신설 및 개정[안 별표 3 중 (39) 메타미도포스, (66) 사이퍼메트린, (68) 사이할로트린, (78) 알라클로르, (95) 옥사덕실, (96) 옥사밀, (105) 이프로디온, (111) 카바릴, (112) 카벤다짐, (114) 카보퓨란, (115) 카복신, (118) 캡탄, (121) 클레토딤, (125) 클로로탈로닐, (131) 클로르피리포스, (133) 테부코나졸, (139) 톨클로포스메틸, (141) 트리아디메놀, (142) 트리아디메폰, (147) 트리포린, (149) 트리플루미졸, (150) 티아벤다졸,

(152) 티오벤카브, (162) 페니트로티온, (163) 펜디메탈린, (164) 펜발러레이트, (165) 펜뷰코나졸, (166) 펜뷰타틴옥사이드, (170) 펜토에이트, (171) 펜프로파트린, (178) 폭심, (179) 폴펫, (183) 플루아지포프-뷰틸, (185) 프로사이미돈, (187) 프로파닐, (188) 프로파모카브, (192) 프로피코나졸, (196) 피리미포스메틸, (255) 파목사돈]

- 1) 과학적 근거에 따른 농약 잔류허용기준 재평가 필요
- 2) 메타미도포스 등 농약 39종의 잔류허용기준 개정
- 3) 농산물에 농약 잔류허용기준을 합리적으로 개정하여 국민에게 안전한 식품 공급

라. 축산물 중 농약 잔류허용기준 개정[안 별표 4 중 (39) 카보퓨란, (43) 클로르피리포스, (49) 퍼메트린]

- 1) 과학적 근거에 따른 농약 잔류허용기준 재평가 필요
- 2) 카보퓨란의 농약 잔류허용기준 개정
- 3) 동물용의약품으로 허가된 품목의 잔류허용기준의 신설에 따라 중복되는 잔류허용기준 삭제
- 4) 축산물에 농약 잔류허용기준을 합리적으로 개정하여 국민에게 안전한 식품 공급

마. 식품 중 동물용의약품 잔류허용기준 신설[안 별표 5 중 (176)

클라노부틴, (177) 나프타존, (178) 디클로로보스, (179) 사이로마진, (180) 날리드, (181) 티바로신, (182) 에프로토마이신, (183) 메틸벤조쿠에이트, (184) 테트라크로르빈포스, (185) 메토밀, (186) 포스멧, (187) 클로르피리포스, (188) 카벤다짐, (189) 프로폭서, (190) 노시헵타이드, (191) 브로모프로필레이트, (192) 퍼메트린, (193) 이소유게놀]

- 1) 국내 허가되어 있으나 잔류허용기준이 없는 동물용의약품에 대한 기준 신설 필요
- 2) 클라노부틴 등 18종에 대한 잔류허용기준 신설
- 3) 동물용의약품 잔류허용기준을 확대하여 국민에게 안전한 식품 공급

3. 의견 제출

「식품의 기준 및 규격」 일부개정고시(안)에 대하여 의견이 있는 단체 또는 개인은 2017년 3월 14일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 식품의약품안전처장(우편번호 : 28159, 주소 : 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 오송보건의료행정타운 식품의약품안전처, 참조 : 식품기준과, 전화 043-719-2417, 팩스 043-719-2400)에게 제출하여 주시기 바랍니다.

가. 예고사항에 대한 항목별 의견(찬·반 여부와 그 이유)

나. 성명(단체의 경우 단체명과 그 대표자의 성명), 주소 및 전화번호

다. 기타 참고사항

식품의약품안전처 고시 제2017-00호

「식품위생법」 제7조제1항에 따른 「식품의 기준 및 규격」(식품의약품 안전처 고시 제2016-154호, 2016. 12. 29.)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2017년 0월 00일

식품의약품안전처장

식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안) 행정예고

식품의 기준 및 규격 일부를 다음과 같이 개정한다.

제2. 3. 4) (1) 가.를 다음과 같이 한다.

4) 식품일반

(1) 위생지표균

가. 식품일반

| 규격 항목 | 제품 특성 | | n | c | m | M |
|----------|--|---------|---|---|-------|--------|
| 세균수 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 | 액상제품 | 5 | 1 | 10 | 100 |
| | | 액상제품제외 | 5 | 2 | 1,000 | 10,000 |
| 대장균군 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 | | 5 | 0 | 0 | - |
| | 살균제품 | 액상제품 | 5 | 1 | 0 | 10 |
| | | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 0 | 10 |
| 대장균 | 비살균제품 중 더 이상의 가공, 가열 조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 제품 | 액상제품 | 5 | 1 | 0 | 10 |
| | | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 0 | 10 |

제7. 8. 8.2.1 생물학적 시험법을 다음과 같이 한다.

8.2.1 생물학적 시험법

8.2.1.1 6-plate법

8.2.1.2와 8.2.1.3을 다음과 같이 신설한다.

8.2.1.2 EEC 4-plate 법

1) 시험법 적용범위

식육에 적용한다.

2) 분석원리

Bacillus subtilis(Bs)와 *Micrococcus luteus*(MI) 두 종류의 균주를 사용하고 배지의 pH조건을 6.0, 7.2, 8.0으로 하여 항균물질을 확인한다.

3) 시험재료

가) 시험균

(1) *Bacillus subtilis* BGA

(2) *Micrococcus luteus* ATCC9341

나) 배지

(1) 계대용: Nutrient agar(NA)

- (2) 증균용: Tryptic soy broth(TSB)
- (3) 시험용: Test agar(pH 6.0, pH 7.2, pH 8.0)
- (4) 아포조제용 AK #2 sporulating agar(BBL)
- (5) 균수 측정용: Plate count agar(PCA) 또는 nutrient agar

다) 시험용 기구

- (1) 디스크: 평판검사용 감수성 디스크(직경 6 mm), 지육검사용 디스크(직경 10 mm)
- (2) 페트리접시: 87 × 15 mm 또는 이와 동등한 것
- (3) 기타: 균질기, 캘리퍼스 또는 눈금자, 원심분리관, 항온수조(50℃), 배양기(30℃), 멸균 피펫(10 mL), Roux bottle, 외과용 메스 등

4) 시험균액 조제

가) *B. subtilis* BGA 아포액 조제

증류수 1 L에 해당하는 AK #2 sporulating agar(BBL) 또는 $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.05 g을 보충한 nutrient agar에 agar 5 g을 보충하여 배양병(Roux bottle)에 250~300 mL를 분주하여 121℃에서 15분간 멸균한 후 굳힌다. Nutrient agar 사면배지에 37℃에서 12시간 배양한 종균을 멸균증류수 2~3 mL로 집균하여 Roux bottle에 이식한다. 37℃, 18~24시간 배양한 후 실온에 6일간 방치한 후 멸균 유리구슬(직경 4 mm)과 멸균증류수 25 mL를 넣고 조심스럽게 흔들어 집균하여 멸균 원심분리관에 옮긴 후 항온수조 65℃에서 30분간 가열한다. 3,000 rpm으

로 10분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고 침전물에 일정량의 증류수를 넣어 부유시켜 원심분리한다. 이와 같이 침전물에 멸균증류수로 부유하여 원심분리하는 세척과정을 총 3회 반복한다. 마지막으로 원심 분리하여 상층액을 버리고 남은 침전물에 20 mL의 멸균증류수로 재부유시켜 70°C에서 30분간 가열한다. 이 아포원액을 plate count agar(PCA) 또는 nutrient agar를 이용해 아포액의 농도를 측정하여 멸균수로 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL가 되도록 조정하고 4°C에서 냉장보관하면서 사용한다.

나) *M. luteus* ATCC 9341 균액

Tryptic soy broth (TSB) 20 mL에 계대 보존균을 백금이(직경 2 mm)로 1 loopful 접종한 후 32°C 항온수조에서 16시간동안 80 rpm으로 진탕배양한다. 이 균액 1 mL를 19 mL의 멸균증류수에 희석하여 냉장보관하면서 1주일간 사용한다. 이때 균액농도는 2×10^7 CFU/mL이다.

※ 아포액의 농도 측정

멸균수를 사용하여 아포원액을 단계 희석하여 $10^{-4} \sim 10^{-7}$ 이 되는 희석용액을 만든다. 희석용액 1 mL를 희석농도별 3개씩 패트리디쉬에 분주한다. 여기에 멸균하여 약 50 °C로 유지한 plate count agar 또는 nutrient agar 배지를 적당량 첨가하여 좌우로 잘 흔들어 희석균액과 배지를 고르게 혼합하여 굳힌다. 그 위에 같은 배지를 적당량 증충시켜 굳힌 후 30°C 배양기에서 48시간 배양한다. 집락수가 30~300개 되는 희석배수의 plate를 선택하여 평균집락수를 구하고 아포원액의 mL당 아포 농도를 환산한다. 예를 들어 10^{-6} 희석 농도에서 평균 집락수가 50개 일 경우, 아포 원액의 균수는 5×10^7 CFU/mL이다.

5) 시험용액의 조제

가) Penicillin G(PG) 용액

100 mL의 용량플라스크에 PG·Na 또는 PG·K 60 mg을 취하여 멸균수로 표시선까지 채운 후 1,000배 희석하여 1 IU/mL (또는 0.6 μ g/mL)가 되도록 희석하여 사용한다(PG 1 unit= 0.6 μ g).

나) Sulfamethazine(SMZ) 용액

100 mL의 용량플라스크에 100 mg의 SMZ를 취하여 10 mL의 메탄올로 녹인 후 멸균수로 표시선까지 채워 1 mg/mL가 되도록 한다. 이 용액을 50 μ g/mL 되도록 희석하여 사용한다.

다) Streptomycin(SM) 용액

100 mL 용량플라스크에 SM 100 mg을 취하여 표시선까지 멸균수로 채워 1 mg/mL가 되도록 한다. 이 용액을 50 μ g/mL 되도록 희석하여 사용한다.

라) Trimethoprim(TMP) 용액

100 mL 용량플라스크에 10 mg의 TMP를 취하여 100 mL의 용량플라스크에 취해 10 mL의 메탄올로 녹인 후 멸균수로 표시선까지 채워 10 mg/mL가 되도록 한다. 이 용액을 1 mg/mL가 되도록 희석하여 사용한다.

6) 시험용 평판 조제

※ 평판배지 조제

Peptone 6.9 g, NaCl 5.1 g, KH_2PO_4 1.0 g, agar 13.0 g과 증류수 1 L를 넣고 가열하여 녹인다. 4개의 삼각플라스크에 동일한 양을 분주한 후 고압증기 멸균하여 50 $^{\circ}$ C 항온

수조에서 2시간 동안 방치한다. 1 N NaOH 또는 1 N HCl을 사용하여 pH를 6.0, 7.2, 8.0으로 조정한다.(Bs:pH 6.0, 7.2, 8.0 / MI:pH 8.0)

가) *Bacillus subtilis*(Bs) 평판

3종류의 *B.s* 배지(pH 6.0, 7.2, 8.0)에 2×10^6 CFU/mL 농도로 희석한 *B.s* 아포액을 65°C에서 30분간 가열한 후 배지 100 mL당 1 mL씩을 첨가하여 혼합한다.(Bs pH 7.2 평판제조시에는 *B.s* 아포액을 첨가할 때 TMP 10 µg/mL 용액도 함께 배지 100 mL 당 1 mL 첨가하여 혼합한다.) 피펫으로 6 mL씩 페트리디쉬(87 × 15 mm)에 분주하여 뚜껑을 살짝 열어 둔 상태로 30분간 방치한 후 사용한다. 사용하고 남은 시험용 평판은 냉장보관하면서 2~3일 이내에 사용한다. 이때 제조한 *B.s*(pH 6.0, 7.2, 8.0)의 농도는 2×10^4 CFU/mL이다.

나) *Micrococcus luteus*(MI) 평판

M.I 배지(pH 8.0)에 약 2×10^7 CFU로 희석한 *M.I* 균액을 배지 100 mL당 1 mL를 첨가하여 혼합한다. 피펫으로 6 mL씩 페트리디쉬에 분주하여 뚜껑을 살짝 열어 둔 상태로 30분간 방치한 후 사용한다. 사용하고 남은 시험용 평판은 냉장보관하면서 1주일 이내에 사용한다. 이때 제조한 *M.I*(pH 8.0)의 농도는 2×10^5 CFU/mL이다.

6) 시험용 평판 및 시료의 검사

가) 시험용 평판의 검사

직경 6 mm 디스크에 Penicillin G, Sulfamethazine, Streptomycin 용액

을 10 µg씩 흡습시킨 후 주¹⁾의 표와 같이 해당되는 시험용 평판에 올려놓고, 32 °C에서 16시간 배양하여 시험균의 저지환을 확인한다. 저지환의 크기가 주¹⁾과 같이 디스크 직경 6 mm를 포함하여 12~14 mm 이상이어야 한다.

주1. 시험용평판의 검사조건

| 시험용평판 | 항균물질 | 표준용액농도 | 디스크당 함량 | 최소주변억제대 |
|-------------|-----------------|-----------|----------|---------|
| Bs (pH 6.0) | Penicillin G-Na | 0.6 µg/mL | 0.006 µg | 6 mm 이상 |
| Bs (pH 7.2) | Sulfamethazine | 50 µg/mL | 0.5 µg | 6 mm 이상 |
| Bs (pH 8.0) | Streptomycin | 50 µg/mL | 0.5 µg | 8 mm 이상 |
| MI (pH 8.0) | Streptomycin | 50 µg/mL | 0.5 µg | 6 mm 이상 |

나) 시료의 검사

(1) 디스크법

식육의 근육을 절개한 후 핀셋으로 시료 당 지육 검사용 10 mm 디스크 4개씩을 삽입하여 30~60분간 육즙을 흡수시킨다. 육즙을 흡수시킨 후 디스크를 꺼내어 4종류의 검사용 평판에 하나씩 올려놓고 가볍게 눌러주고 실온에 약 30분간 방치한 후 32°C 배양기에 넣어 16시간 배양하여 결과를 판정한다.

2) 직접법

식육을 사방 1 cm, 두께 2 mm 정도로 잘라 4 종류의 검사용 평판에 각각 올려놓고 실온에서 약 30분간 방치한 후 페트리디쉬를 뒤집지 않고 32 °C 배양기에 넣어 16시간 배양하여 결과를 판정한다.

7) 시험결과 판정

가) 결과판정 방법

디스크법의 경우 디스크 직경 10 mm를 포함하여 저지환이 14 mm 이상인 평판이 하나 이상일 경우 해당시료를 양성으로 판정하며, 직접법의 경우 저지환의 폭이 1 mm 이상인 평판이 하나 이상일 때 양성으로 판정한다. 세균오염 등으로 인해 저지환이 불분명할 경우는 시험을 반복하고 재시험시 양성이 아닐 경우에는 음성으로 판정한다.

나) 양성시료의 항균물질 계열 추정

각 항균물질의 표준용액을 각 디스크 당 75 μ L씩 흡수시킨 후 배양했을 때 주²⁾의 표와 같이 4종의 평판에서 저지환이 형성되는 양상을 비교하여 잔류 항균물질의 계열을 추정한다. 그러나 이 시험법은 잔류량이 매우 낮거나 높을 경우, 또는 여러 항균물질이 복합적으로 잔류할 경우는 추정이 불가능하므로 양성인 시료는 반드시 정량시험법에 따라 확인하여야 한다.

주2. EEC 4-plate 법의 표준 항균물질에 대한 최저검출한계 (μ g/mL)

| 항 균 물 질 | Bs 평판 pH 6.0 | Bs 평판 pH 7.2 | Bs 평판 pH 8.0 | MI 평판 pH 8.0 |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| β-Lactams | | | | |
| Penicillin G | 0.025 | 0.05 | 0.05 | 0.025 |
| Ampicillin | 0.1 | 0.05 | 0.05 | 0.025 |
| Amoxicillin | 0.25 | 0.1 | 0.25 | 0.05 |
| Cloxacillin | 1 | 1 | 2.5 | 2.5 |
| Nafcillin | 1 | 2.5 | 2.5 | 0.05 |
| Cephalexin | 1 | 5 | 10 | 2.5 |
| Cephazolin | 1 | 2.5 | 2.5 | 100 |

| 항 균 물 질 | Bs 평판 pH 6.0 | Bs 평판 pH 7.2 | Bs 평판 pH 8.0 | MI 평판 pH 8.0 |
|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Aminoglycosides | | | | |
| Streptomycin | 5 | 1 | 0.5 | 2.5 |
| Dihydrostreptomycin | 5 | 1 | 0.5 | 2.5 |
| Gentamicin | 10 | 0.5 | 0.5 | 5 |
| Neomycin | 50 | 2.5 | 1 | 5 |
| Macrolides | | | | |
| Erythromycin | 2.5 | 0.1 | 0.05 | 0.05 |
| Spiramycin | 2.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Tylosin | 2.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Oleandomycin | 10 | 0.25 | 0.5 | 0.1 |
| Lincomycin | 100 | 1 | 25 | 0.1 |
| Tetracyclines | | | | |
| Tetracycline | 0.25 | 1 | 5 | 10 |
| Chlortetracycline | 0.05 | 0.25 | 2.5 | 10 |
| Oxytetracycline | 0.25 | 0.5 | 2.5 | 10 |
| Sulfonamides | | | | |
| Sulfamethazine | 25 | 1 | 100 | >100 |
| Sulfamerazine | 10 | 0.5 | 100 | >100 |
| Sulfadimethoxine | 1 | 0.25 | 50 | >100 |
| Sulfamonomethoxine | 0.5 | 0.25 | 100 | 100 |
| Sulfaquinoxaline | 2.5 | 0.5 | 50 | >100 |
| Sulfathiazole | 10 | 0.25 | 50 | >100 |
| Polypeptides | | | | |
| Bacitracin | 100 | >100 | >100 | 10 |
| Polyethers | | | | |
| Monensin | 5 | 5 | 5 | 10 |
| Nitrofurans | | | | |
| Furazolidone | 0.25 | 0.1 | 0.1 | >100 |
| Quinolones | | | | |
| Oxolinic acid | 0.5 | 1 | 1 | >100 |
| Others | | | | |
| Spectinomycin | 50 | 25 | 25 | 50 |
| Chloramphenicol | 5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Trimethoprim | 5 | 2.5 | 2.5 | 25 |

8.2.1.3 TTC-II 법

1) 시험법 적용범위

우유에 적용한다.

2) 분석원리

Streptococcus thermophilus 균주에 무색의 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)가 산화환원 반응 후 적색 triphenyl formazan 형성 유무를 통해 설파계, 페니실린계 항균제를 확인한다.

3) 시험재료

가) 시험균

Streptococcus thermophilus(ATCC 14485)

나) 배지

항균물질이 없는 10% 멸균탈지유배지를 공시균주 배양용 배지로 사용한다.

다) 시약

- (1) Trimethoprim(TMP)
- (2) *p*-aminobenzoic acid(PABA)
- (3) 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)
- (4) Penicillinase(1,000 unit)

라) 시험기구

4) 시험용 배양균액 조제

㉠ *Streptococcus thermophilus* 균주를 10% 멸지탈지유배지에 접종하여

37 °C에서 12시간 배양한다. ⑥10% 멸균탈지유배지를 따로 준비한다.

④와 ⑥를 1:1로 혼합하여 시험용 배양균액으로 사용한다.

5) 시험 용액의 조제

가) TTC 용액

멸균 증류수와 TTC를 25:1의 비율로 섞어 4% TTC 용액을 제조한 후 발색되지 않도록 7°C이하의 냉장소에서 보관한다.

나) TMP 용액

100 mL 용량플라스크에 TMP 50 mg을 취해 methanol 10 mL에 녹인 후 멸균증류수로 표시선까지 채운다(500 ug/mL). 멸균증류수로 10배 희석하여 50 ug/mL가 되도록 제조한 후 시험용액으로 사용한다. 제조 후 냉장보관하고 2주 이내에 사용한다.

다) PABA 용액

100 mL 용량플라스크에 PABA 500 mg을 취해 멸균증류수 약 50 mL를 넣고 가온하여 녹인 후 멸균증류수로 표시선까지 채운다(5 mg/mL). 멸균증류수로 10배 희석하여 0.5 mg/mL가 되도록 제조한 후 시험용액으로 사용한다. 제조 후 실온보관하고 2주이내에 사용한다.

라) Penicillinase 용액

Penicillinase(1,000 IU)를 멸균증류수 1 mL에 녹여 시험용액으로 사용한다.

5) 시료의 검사

가) 스크리닝법

마개달린 멸균시험관 2개에 Zero control(TMP 무첨가 음성대조)과 TMP control(TMP 첨가 음성대조)로 표기하고 검사할 시료당 1개의 시험관에 시료번호를 기입한다. 검사할 시료의 멸균시험관에 시료 번호를 기입한 후 시료(우유)를 각각 8 mL씩 취한다. 이때 대조용^{주1)}으로 사용할 Zero 및 TMP control 시험관에는 항균물질이 들어있지 않는 우유 각 8 mL을 취한다. Zero control에는 멸균증류수 1 mL를 첨가하고, TMP control과 검사할 시료의 시험관에는 TMP 용액(50 ug/mL) 1 mL를 첨가하여 혼합한다. 80~84°C의 항온수조에서 2.5분간 가열한 후 바로 수돗물에 담구어 37°C 이하로 급냉시킨다. 시험용 배양균액(1:1 희석균액)을 무균적으로 각 1 mL씩 접종하여 혼합하고 36.5~37.5°C의 항온수조에서 2시간 동안 배양한다. 0.3 mL의 TTC 용액을 첨가한 후 36.5~37.5°C에서 30~60 분 동안 반응시킨다. TMP control 시료의 색상이 음성대조 시료의 색상과 거의 같은 시점을 반응 종료시간으로 한다.

주1. 대조용 시료

대조용 원유시료는 사료첨가제 혹은 치료약제 등을 투여하지 않은 원유를 채취하여 4°C 냉장보관하면서 사용하고, 2~3 일내 사용하지 못할 경우 -20°C 혹은 -80°C에 보관하여 필요시 해동하여 사용한다. 탈지우유를 검사할 경우 대조용 시료로는 항균물질이 들어 있지 않은 10% 멸균탈지우유를 사용한다.

나) 설파제 및 페니실린계 항균물질 확인시험

검사할 양성시료마다 마개달린 3개의 멸균시험관에 TMP tube, PABA tube 그리고 Penase tube로 표기하고 시료번호도 기입한다. 3개의 시험관에 양성시료를 각 8 mL씩 취한 후 TMP tube(TMP용액 첨가용 시험관)와 Penase tube(TMP 용액 및 Penicillinase용액 첨가용 시험관)에는 TMP 용액(50 µg/mL)을 각 1 mL씩 첨가하고, PABA tube(PABA용액 첨가용 시험관)에는 PABA 용액(500 µg/mL) 1 mL를 첨가하여 혼합한다. 80~84°C의 항온수조에서 2.5분간 가열한 후 바로 수돗물에 담구어 37°C 이하로 급냉시킨다. Penase tube에만 penicillinase 용액 100 µL를 첨가하여 혼합한다. 시험용 배양균액 (1:1 희석균액)을 무균적으로 각 1 mL씩 접종하여 혼합하고 36.5~37.5°C의 항온수조에서 2시간 동안 배양한다. 300 µL의 TTC 용액을 첨가한 후 36.5~37.5°C에서 30~60 분 동안 반응시킨다. TMP control 시료의 색상이 음성대조 시료의 색상과 거의 같은 시점을 반응 종료시간으로 한다.

6) 시험 결과 판정

가) 스크리닝법

TMP control의 색상을 기준으로 하여 시료의 색상이 TMP control 시료의 연분홍색보다 현저히 옅을 경우 양성으로 판정하고 같거나 진하면 음성으로 판정한다. 시료가 양성인 경우, 정량시험법에 따라 확인하여야 한다.

나) 설파제 및 페니실린계 항균물질 확인시험

TMP control의 색상을 기준으로 스크리닝법과 같이 판정하고, 주2 표

와 같이 결과를 추정할 수 있다.

주2. 판정기준

| TMP tube | Penase tube | PABA tube | 결과판정 |
|----------|-------------|-----------|------------|
| 음 성 | 음성 | 음성 | 음성 |
| 양 성 | 양성 | 음성 | 양성 (설파제) |
| 양 성 | 음성 | 양성 | 양성 (페니실린계) |
| 양 성 | 양성 | 양성 | 양성* |

* 항균물질이 복합적으로 잔류될 경우 설파제나 페니실린계 항균물질도 동시에 검출될 수 있음

제7. 8. 8.3.12를 다음과 같이 한다.

8.3.12 노르제스토메트(Norgestomet), 디에네스트롤(Dienestrol), 디에틸stil베스트롤(Diethylstilbestrol), 알트레노제스트(Altrenogest), 에스트라디올(Estradiol-17β), 제라놀(Zeranol), 초산메드록시프로게스테론(Medroxyprogesterone acetate), 초산멜렌게스트롤(Melengestrol acetate), 초산트렌볼론(Trenbolone acetate), 테스토스테론(Testosterone), 프로게스테론(Progesterone), 헥스트롤(Hexestrol)

1) 시험법 적용범위

축·수산물 등에 적용한다. 단, 프로게스테론(Progesterone)의 경우 유 및 알은 제외한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세트산 함유 아세토니트릴/메탄올 혼합 용액(1:1, v/v)으로 추출하고 헥산 또는 일차이차아민(Primary secondary amine, PSA)로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 각 동물용의약품 표준품을 100 mL 용량플라스크에 각각 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 잔류허용기준의 10배 농도가 되도록 취하여 혼합한 후 메탄올로 표시선까지 채워 조제한다. 혼합표준용액은 메탄올로 희석하여 사용한다.

마) 10 mM 아세테이트 완충용액(pH 4.6): 1,000 mL 용량플라스크에 아세트산나트륨(Sodium acetate) 0.82 g을 넣고 물로 표시선까지 채운다. 아세트산으로 pH 4.6이 되도록 조정하여

사용한다.

바) 1% 아세트산(Acetic acid) 함유 아세토니트릴/메탄올 혼합용액(1:1, v/v): 100 mL 용량플라스크에 아세트산 1 mL을 넣고 아세토니트릴/메탄올(1:1, v/v) 혼합용액으로 표시선까지 채운다.

사) 0.1 mM 불화암모늄(Ammonium fluoride) 용액: 1,000 mL 용량플라스크 불화암모늄 3.7 mg을 넣고 물로 표시선까지 채운다.

아) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 2 g을 50 mL 원심분리관에 취하여 10 mM 아세트이트 완충용액(pH 4.6) 2 mL을 넣고 2분간 초음파 처리하여 균질화한다. β -글루쿠로니다제/아릴설파타제(β -Glucuronidase/Arylsulfatase) 20 μ L를 첨가하고 65°C에서 1시간 중탕한 후 상온에서 냉각한다. 이 용액에 1% 아세트산 함유 아세토니트릴/메탄올(1:1, v/v) 혼합용액을 12 mL 가하여 10분간 초음파 처리 후 15분간 진탕하고 -4°C에서 9,300 G로 10분간 원심분리한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액을 취하여 헥산 12 mL을 넣고 2분간 진탕한다(돼지고기는 PSA 500 mg이 담겨진 50 mL 원심분리관에 상층액을 취하여 5분간 진탕한다). -4°C에서 9,300 G로 5분간 원심분리한 후 하층액을 취하여 감압농축한다. 잔류물에 50% 메탄올 1 mL을 넣어 녹이고 상온에서 15,800 G로 10분간 원심분리한 후 상층액을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼: C₁₈(Shim-pack, 2.1 mm × 100 mm, 2.0 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1 mM 불화암모늄 용액

(나) 이동상 B: 메탄올

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0.0 | 50 | 50 |
| 4.0 | 0 | 100 |
| 7.0 | 0 | 100 |
| 7.01 | 50 | 50 |
| 10.0 | 50 | 50 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 40°C

(5) 주입량: 5 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive, Negative)

(2) Capillary temperature: 300°C

(3) Collision gas: N₂ (질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

| 연번 | 물질명 (Compound) | 이온화 (Ionization mode) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision energy,eV) |
|----|--|-----------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 노르제스토메트 (Norgestomet) | Positive | 3.91 | 372.5 | 373.0 | 313.3 | -13.0 |
| | | | | | | 271.2 | -17.0 |
| | | | | | | 109.2 | -33.0 |
| 2 | 디에네스트롤 (Dienestrol) | Negative | 3.69 | 266.3 | 264.9 | 92.8 | 26.0 |
| | | | | | | 248.9 | 27.0 |
| | | | | | | 220.9 | 26.0 |
| 3 | 디에틸stil베스트롤 (Diethylstilbestrol) | Negative | 3.67 | 268.4 | 266.9 | 236.9 | 29.0 |
| | | | | | | 250.9 | 25.0 |
| | | | | | | 221.9 | 35.0 |
| 4 | 알트레노제스트 (Altrenogest) | Positive | 4.05 | 310.4 | 311.0 | 227.1 | -24.0 |
| | | | | | | 269.1 | -15.0 |
| | | | | | | 293.3 | -18.0 |
| 5 | 에스트라디올 (Estradiol-17 β) | Negative | 3.67 | 272.4 | 271.0 | 144.9 | 41.0 |
| | | | | | | 182.9 | 41.0 |
| | | | | | | 143.1 | 54.0 |
| 6 | 제라놀 (Zeranol) | Negative | 3.57 | 322.4 | 320.9 | 277.1 | 23.0 |
| | | | | | | 303.0 | 22.0 |
| | | | | | | 258.9 | 26.0 |
| 7 | 초산메드록시프로게스테론 (Medroxyprogesterone acetate) | Positive | 4.19 | 386.5 | 387.0 | 327.4 | -16.0 |
| | | | | | | 123.1 | -29.0 |
| 8 | 초산멜렌게스트롤 (Melengestrol acetate) | Positive | 4.26 | 396.5 | 397.1 | 279.3 | -21.0 |
| | | | | | | 337.4 | -16.0 |
| | | | | | | 221.3 | -41.0 |
| 9 | β -트렌볼론 (β -Trenbolone) | Positive | 3.38 | 270.4 | 271.0 | 199.2 | -22.0 |
| | | | | | | 253.3 | -21.0 |
| | | | | | | 165.1 | -52.0 |
| 10 | 테스토스테론 (Testosterone) | Positive | 3.73 | 288.4 | 289.0 | 97.1 | -25.0 |
| | | | | | | 109.2 | -27.0 |
| | | | | | | 79 | -49.0 |
| 11 | 프로게스테론 (Progesterone) | Positive | 4.28 | 314.5 | 315.0 | 96.9 | -26.0 |
| | | | | | | 109.2 | -23.0 |
| | | | | | | 297.3 | -16.0 |
| 12 | 헥스트롤 (Hexestrol) | Negative | 3.759 | 270.4 | 268.9 | 118.8 | 38.0 |
| | | | | | | 133.9 | 16.0 |
| | | | | | | 132.9 | 16.0 |

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변

경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

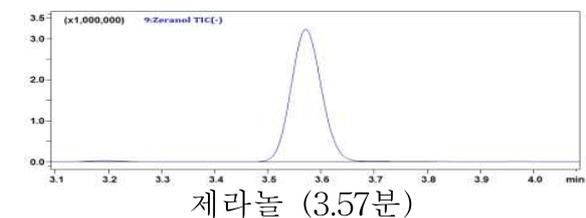
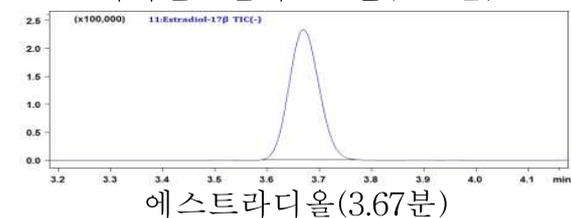
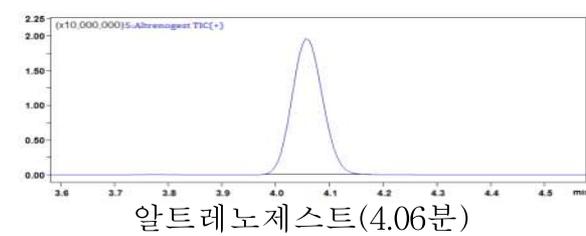
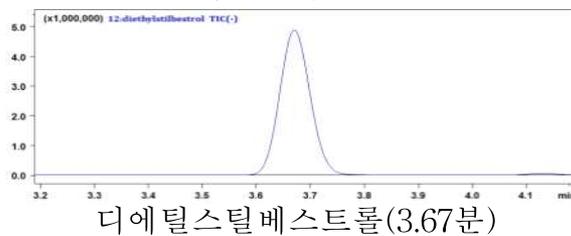
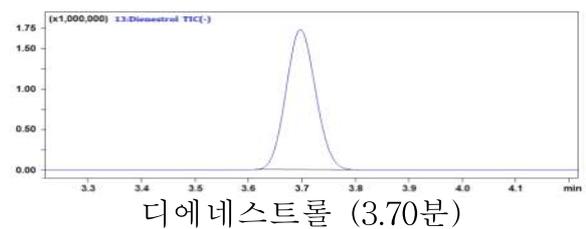
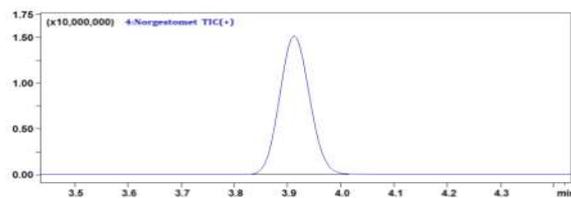
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

나) 표준품 크로마토그램



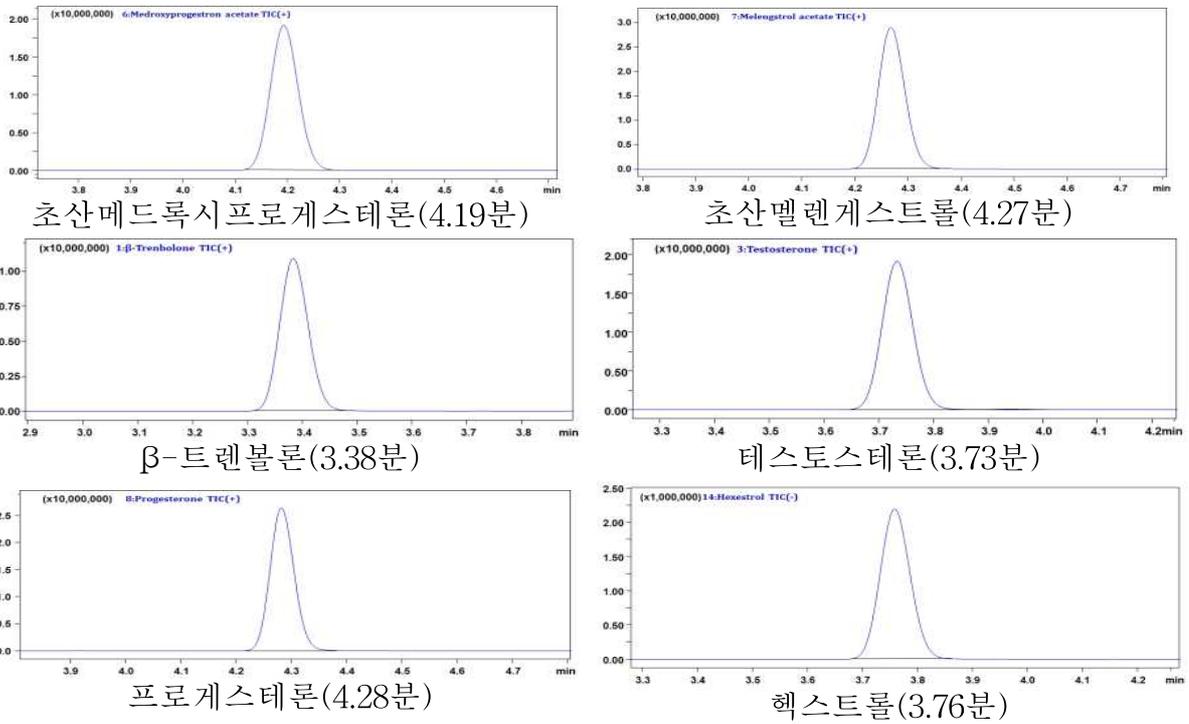


그림 1. 노르제스토메트, 디에네스트롤, 디에틸스틸베스트롤, 알트레노제스트, 에스트라디올, 제라놀, β-트렌볼론, 테스토스테론, 프로게스테론, 헥스트롤 표준품의 크로마토그램(각 0.01 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 음성검체에(Blank sample)에 혼합 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

| 동물용의약품 | 정량한계(mg/kg) | | | |
|---|-----------------------|---------|---------|--------|
| | 식육 | 우유 | 알 | 수산물 |
| 노르제스토메트(Norgestomet) | 0.002 (소: 0.00003) | 0.00006 | 0.0008 | 0.003 |
| 디에네스트롤(Dienestrol) | 0.003 | 0.004 | 0.003 | 0.003 |
| 디에틸stil베스트롤 (Diethylstilbestrol) | 0.0005 | 0.0004 | 0.0002 | 0.0004 |
| 알트레노제스트(Altrenogest) | 0.0002 | 0.0002 | 0.00004 | 0.0002 |
| 에스트라디올(Estradiol-17β) | 0.004 | 0.005 | 0.004 | 0.003 |
| 제라놀(Zeranol) | 0.001 (소: 0.0005) | 0.004 | 0.001 | 0.001 |
| 초산메드록시프로게스테론 (Medroxyprogesterone acetate) | 0.002 | 0.003 | 0.0008 | 0.002 |
| 초산멜렌게스트롤(melengestrol acetate) | 0.001 (소: 0.0003) | 0.002 | 0.0005 | 0.003 |
| β-트렌볼론(β-Trenbolone) | 0.004 (소: 0.0002) | 0.004 | 0.003 | 0.002 |
| 테스토스테론(Testosterone) | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.002 |
| 프로게스테론(Progesterone) | 0.004 | - | - | 0.002 |
| 헥스트롤(Hexestrol) | 0.003 | 0.005 | 0.002 | 0.003 |

제7. 8. 8.3.29를 다음과 같이 한다.

8.3.29 아자페론(Azapaperone), 카라졸롤(Carazolol)

1) 시험법 적용범위

축·수산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴로 추출하고 헥산으로 정제
한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 측정기기

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 아자페론, 아자페롤, 카라졸
를 표준품을 각각 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되
게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 적당한
농도가 되도록 취하여 혼합한 후 메탄올로 표시선까지 채워
냉동실에 보관한다. 혼합표준용액을 희석하여 사용 할 때는
50% 메탄올 용액에 희석한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미
산 1 mL을 넣고 물로 표시선까지 채운다.

사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 1 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 아세토니트릴
(장어, 넘치는 80% 아세토니트릴) 10 mL를 가하여 1분간 진탕한
후 상온에서 4,800 G로 10분간 원심분리한다. 상층액을 취하여 새

로운 50 mL 원심분리관에 옮기고 아세토니트릴 포화hex산 10 mL를 가한다. 10분간 진탕한 후 하층액을 취하여 40°C 수용액상에서 질소농축한다. 잔류물에 50% 메탄올 용액 2 mL를 가하여 재분산하고 10분간 초음파처리한 후 4°C에서 20,000 G로 15분간 원심분리한다. 상층액을 0.2 µm 막 여과지(PTFE membrane filter)로 여과하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프의 측정조건

(1) 칼럼: C₁₈(Xselect, 2.1 mm x 150 mm, 3.5 µm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액

(나) 이동상 B: 아세토니트릴

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 95 | 5 |
| 2.0 | 95 | 5 |
| 5.0 | 30 | 70 |
| 5.5 | 0 | 100 |
| 7.0 | 0 | 100 |
| 10.0 | 95 | 5 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 40°C

(5) 주입량: 5 µL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

- (2) Capillary temperature: 350°C
- (3) Capillary voltage: 0.8 kV
- (4) Collision gas: Ar(아르곤)
- (5) 분석대상 및 개별 조건(MRM 조건)

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy,eV) |
|-------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 아자페론(Azaparon) | 4.7 | 327.3 | 328.1 | 94.9 | 52 |
| | | | | <u>122.9</u> | <u>34</u> |
| | | | | 165.0 | 20 |
| 아자페롤(Azaperol) | 4.5 | 329.4 | 330.1 | 108.9 | 48 |
| | | | | <u>120.9</u> | <u>20</u> |
| | | | | 149.0 | 28 |
| 카라졸롤(Carazolol) | 4.9 | 298.3 | 299.1 | <u>116.0</u> | <u>18</u> |
| | | | | 193.9 | 26 |
| | | | | 222.0 | 18 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적 값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

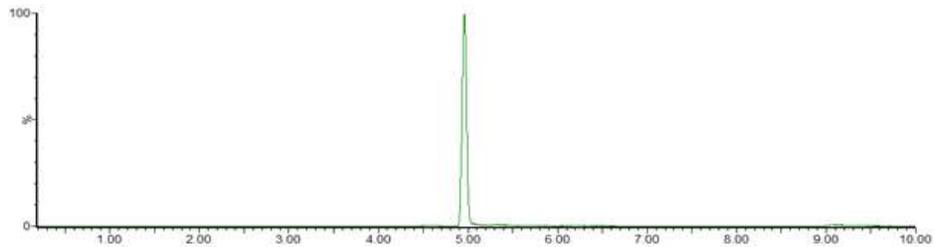
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

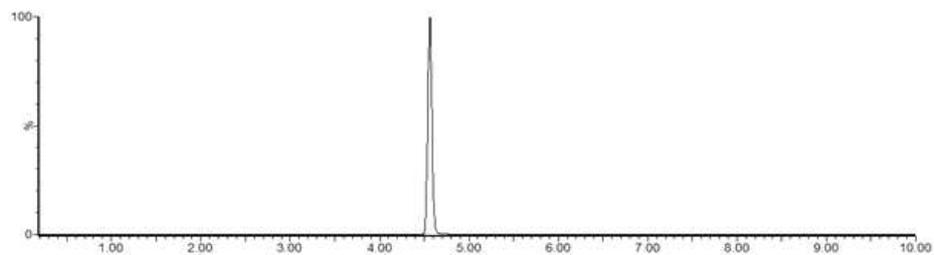
주¹⁾ 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

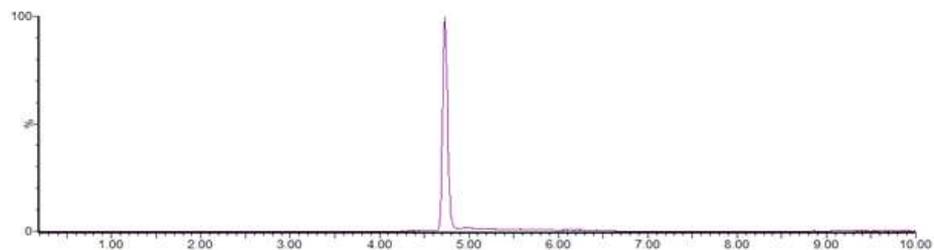
나) 표준품 크로마토그램



아자페론(4.7분)



아자페롤(4.5분)



카라졸롤(4.9분)

그림 1. 아자페론, 아자페롤, 카라졸롤 표준품의 크로마토그램(각 0.03 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

아자페론(Azaperone): 0.002 mg/kg

아자페롤(Azaperol): 0.0002 mg/kg

카라졸롤(Carazolol): 0.0002 mg/kg

제7. 8. 8.3.45을 삭제하고 8.3.46를 8.3.45로 한다.

제7. 8. 8.3.47~8.3.48을 삭제하고 8.3.49를 8.3.46으로 한다.

제7. 8. 8.3.50을 제7. 8. 8.3.47으로 하고 다음과 같이 한다.

8.3.47 콜치신(Colchicine), 피리메타민(Pyrimethamine)

1) 시험법 적용범위

축·수산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴 또는 에틸아세테이트로 추출하여
헥산으로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준품을 정밀히 달아 메
탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보
관한다.

라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 증류수
로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개
미산 1 mL를 넣고 물로 표시선까지 채운다.

바) 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액: 1,000 mL 용량플라스크
에 개미산 1 mL를 넣고 아세토니트릴로 표시선까지 채운다.

사) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 식육

균질화된 검체 2 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 아세토니트릴 10 mL를 가한다. 이를 10분간 진탕한 후 4°C에서 4,800 G로 10분간 원심분리하여 상층액 ①을 취한다. 잔류물에 다시 아세토니트릴 10 mL를 가하고 10분간 진탕한 후 4 °C에서 4,800 G로 10분간 원심분리하여 상층액 ②를 취한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액 ①과 ②를 합한 후 아세토니트릴포화 헥산 10 mL를 가하여 10분간 진탕하고 4°C에서 4,800 G로 10분간 원심분리한다. 하층액(아세토니트릴층)을 취하여 40°C 수용액상에서 질소농축한 후 25% 메탄올 1 mL를 가하여 재분산한다. 10분간 초음파 처리한 후 0.2 μm 막여과지(PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

나)수산물, 알, 유

균질화된 검체 2 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 증류수 2 mL를 첨가한 뒤 15분간 진탕하고 에틸아세테이트 10 mL를 첨가한다. 이를 10분간 진탕한 후 4°C에서 4,800 G로 10분간 원심분리하여 상층액 ①을 취한다. 잔류물에 다시 에틸아세테이트 10 mL를 가하고 10분간 진탕한 후 4°C에서 4,800 G로 10분간 원심분리하여 상층액 ②를 취한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액 ①과 ②를 합한 후 40°C에서 질소농축한다. 여기에 아세토니트릴 10 mL를 첨가하여 진탕한 후 아세토니트릴포화 헥산 10 mL를 가하여 10분간 진탕하고 4°C에서 4,800

G로 10분간 원심분리한다. 하층액(아세토니트릴층)을 취하여 40℃ 수 용액상에서 질소농축한 후 25% 메탄올 1 mL를 가하여 재분산한다. 10분간 초음파 처리한 후 0.2 μm 막여과지(PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Xbridge 2.1 × 150 mm, 3.5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0.0 | 90 | 10 |
| 1.0 | 90 | 10 |
| 10.0 | 20 | 80 |
| 10.1 | 90 | 10 |
| 15.0 | 90 | 10 |

(3) 유속: 0.25 mL/분

(4) 칼럼온도: 40℃

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 350°C

(3) Collision gas: Ar (아르곤)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy, eV) |
|----|--------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 콜치신 (Colchicine) | 5.9 | 399.43 | 400.18 | 310.18 | 24 |
| | | | | | 326.13 | 23 |
| | | | | | 358.17 | 20 |
| 2 | 피리메타민 (Pyrimethamine) | 5.5 | 248.74 | 249.09 | 177.03 | 29 |
| | | | | | 198.11 | 36 |
| | | | | | 233.07 | 29 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적 값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

나) 표준품 크로마토그램

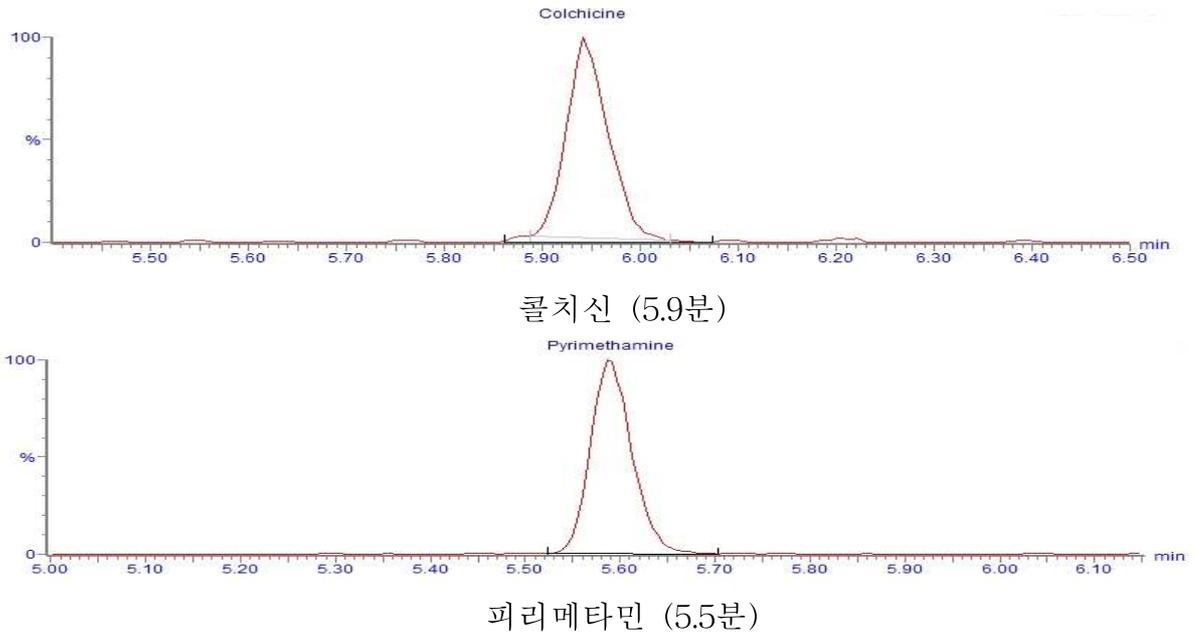


그림 1. 콜치신, 피리메타민 표준품의 크로마토그램(각 0.0001 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 음성검체에(Blank sample)에 혼합표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

콜치신(Colchicine): 0.0005 mg/kg

피리메타민(Pyrimethamine): 0.0001 mg/kg

제7. 8. 8.3.51~8.3.64을 각각 8.3.48~8.3.61로 한다.

제7. 8. 8.3.65를 삭제하고 8.3.66~8.3.70을 각각 8.3.62~8.3.66으로 한다.

제7. 8. 8.3.71을 삭제하고 8.3.72~8.3.87을 각각 8.3.67~8.3.82로 한다.

제7. 8. 8.3.88을 삭제하고 8.3.89~8.3.114를 각각 8.3.83~8.3.108로 하고 8.3.109~8.3.119를 다음과 같이 신설한다.

8.3.109 클라노부틴(Clanobutin), 나프타존(Naftazone), 디클로르보스(Dichlorvos)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액으로 추출하고 헥산으로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

- 가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것
- 나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것
- 다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.
- 라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게 하여 사용한다.
- 마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 아세토니트릴 용액 : 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 아세토니트릴로 표시선까지 채운다.
- 바) 0.1% 개미산 함유 10 mM 포름산암모늄(Ammonium formate) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 포름산암모늄 0.63 g을 넣어 물로 표시선까지 채운다.
- 사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고, 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액 8 mL를 가한다. 이를 10분간 진탕 혼합한 후 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심분리하여 상층액 ①을 취한다. 잔류물에 다시 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액을 7 mL 가하여 10분간 진탕한 후 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심분리하여 상층액 ②를 취한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액 ①과 ②를 합한 후 헥산 15 mL를 넣고

10분간 진탕하고 4℃에서 2,600 G로 15분간 원심분리한다. 하층액을 취하여 40℃ 수용액상에서 0.5 mL가 될 때까지 질소농축한 후 0.1% 개미산 함유 10 mM 포름산암모늄 용액:아세토니트릴(1:1, v/v) 혼합용액 2 mL를 가하여 재분산한다. 4℃에서 15,000 G로 10분간 원심분리 한 후 상층액을 0.45 µm 막여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Gemini-Nx 2.0 × 100 mm, 3.0 µm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 함유 10 mM 포름산암모늄 용액

(나) 이동상 B: 아세토니트릴

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 95 | 5 |
| 2 | 95 | 5 |
| 3 | 5 | 95 |
| 10 | 5 | 95 |
| 11 | 95 | 5 |
| 15 | 95 | 5 |

(3) 유속: 0.20 mL/분

(4) 칼럼온도: 30℃

(5) 주입량: 10 µL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive, Negative)

(2) Capillary Temperature: 350°C

(3) Collision gas: N₂ (질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 이온화 (Ionization mode) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy,eV) |
|----|------------------------|-----------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 나프타존 (Naftazone) | Positive | 8.04 | 215.208 | 216.141 | <u>199.2</u> | 13.00 |
| | | | | | | 143.2 | 27.00 |
| | | | | | | 173.3 | 13.00 |
| 2 | 디클로르보스 (Dichlotvos) | Positive | 8.13 | 220.98 | 221.012 | <u>109.0</u> | 21 |
| | | | | | | 127.2 | 35 |
| | | | | | | 79.000 | 13 |
| 3 | 클라노부틴 (Clanobutin) | Negative | 8.47 | 347.796 | 346.045 | <u>260.1</u> | -16 |
| | | | | | | 245.1 | -38 |
| | | | | | | 134.0 | -54 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

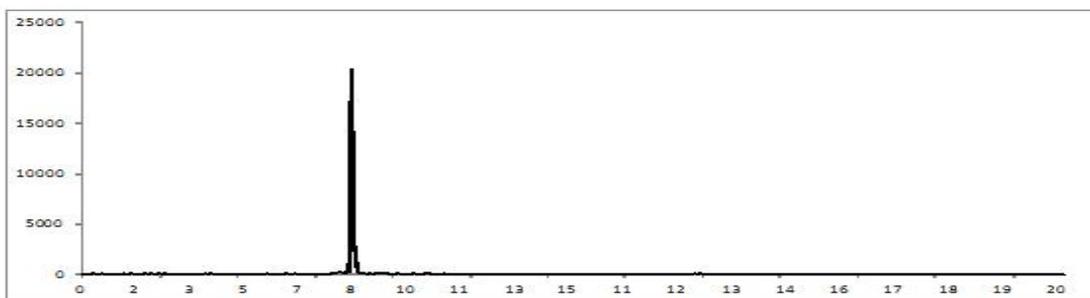
위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하

고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

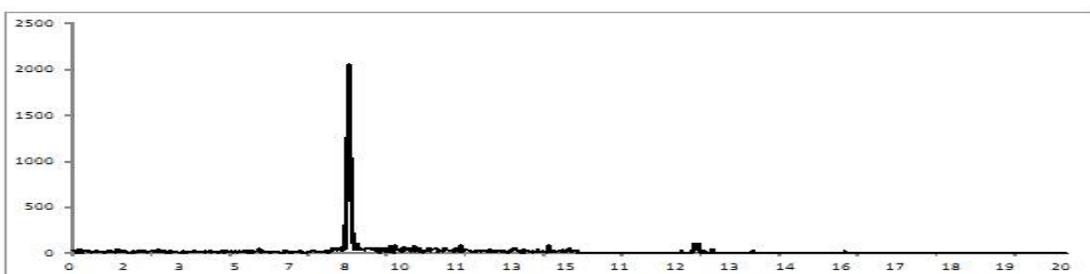
주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

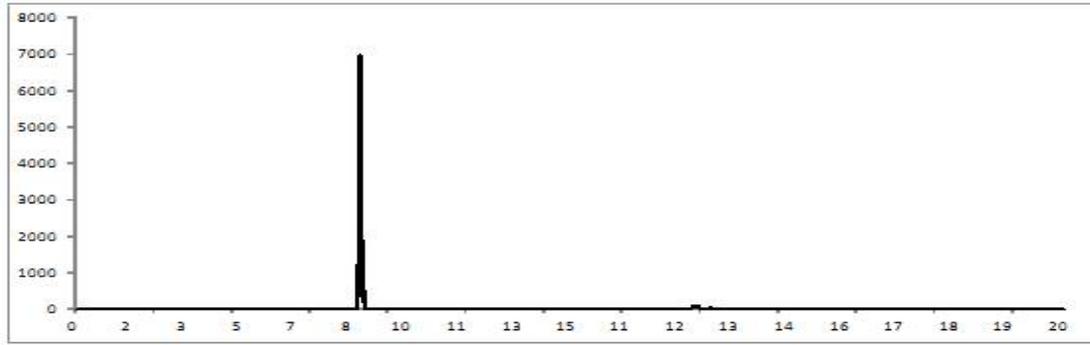
나) 표준품 크로마토그램



나프타존(8.04분)



디클로르보스(8.13분)



클라노부틴(8.47분)

그림 1. 나프타존, 디클로르보스, 클라노부틴 표준품의 크로마토그램 (각 0.005 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

클라노부틴(Clanobutin): 0.0001 mg/kg

나프타존(Naftazone): 0.0004 mg/kg

디클로르보스(Dichlorvos): 0.001 mg/kg

8.3.110 사이로마진(Cyromazine)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 개미산 함유 아세토니트릴 용액, 황산마그네슘, 염화나트륨, 시트르산나트륨, 시트르산수소나트륨으로 추출하고, 일차이차아민(Primary secondary amine), C₁₈, 황산마그네슘으로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 사이로마진 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동보관한다.

라) 표준용액: 100 mL 용량플라스크에 표준원액을 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 아세토니트릴 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 아세토니트릴로 표시선까지 채운다.

바) 0.1% 아세트산(Acetic acid) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 아세트산 1 mL를 넣고 물로 표시선까지 채운다.

사) 0.1% 아세트산 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량 플라스크에 아세트산 1 mL를 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

아) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 0.1% 아세트산 함유 아세토니트릴 용액 8 mL를 가한 후 10분간 진탕 혼합한다. 염화나트륨 1 g, 황산마그네슘 4 g, 시트르산나트륨 1 g, 시트르산수소나트륨 0.5 g을 첨가하여 진탕한 후, 4°C에서 2,600 G에서 15분간 원심분리하고 상층액 ①을 취한다. 잔류물에 다시 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액 7 mL 가하여 10분간 진탕하고 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심 분리하여 상층액 ②를 취한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액 ①과 ②를 합한 후 PSA 150 mg, C₁₈ 150 mg과 황산마그네슘 900 mg을 가하여 10분간 진탕한 후 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심분리한다. 상층액을 취하여 40°C에서 0.3 mL가 될 때까지 질소농축한다. 0.1% 아세트산 용액 : 0.1% 아세트산 함유 메탄올(1:1, v/v) 혼합용액 2.7 mL를 가하여 진탕한다. 4°C에서 15,000 G로 10분간 원심분리 한 후 상층액을 0.45 µm 막 여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

- (1) 칼럼: HILIC(Xbridge 2.1 × 100 mm, 3.5 µm) 또는 이와 동등한 것
- (2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 아세트산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 아세트산 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 60 | 40 |
| 10 | 60 | 40 |

(3) 유속: 0.20 mL/분

(4) 칼럼온도: 35°C

(5) 주입량: 10 µL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 350°C

(3) Collision gas: N₂ (질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy,eV) |
|-----------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 사이로마진 (Cyromazine) | 10.49 | 166.18 | 167.14 | 85.10 | 23 |
| | | | | 68.0 | 41 |
| | | | | 125.2 | 23 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

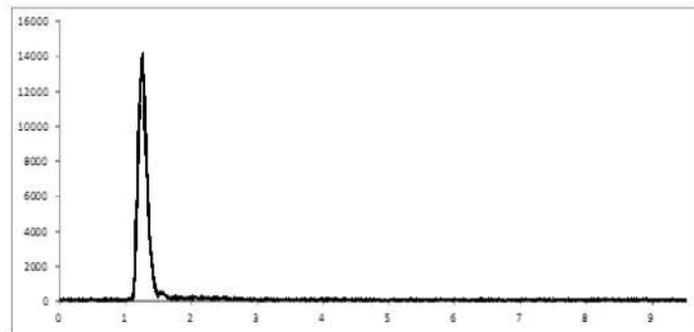
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

나) 표준품 크로마토그램



사이로마진 (1.31분, 0.005 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어

진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

사이로마진(Cyromazine): 0.001 mg/kg

8.3.111 티바로신(Tylvalosin)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액으로 추출하여 헥산으로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 티바로신, 3-AT(3-O-acetyltylosin, 티바로신 대사체) 표준품을 100 mL 용량플라스크에 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다.

라) 혼합표준용액: 각 표준원액을 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게

한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 아세토니트릴 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL을 넣고 아세토니트릴로 표시선까지 채운다.

바) 10 mM 개미산암모늄 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산암모늄 (Ammonium formate) 0.63 g을 넣고 물로 표시선까지 채운다.

사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액 7.5 mL를 가한다. 이를 10분간 진탕한 후 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심분리하여 상층액 ①을 취한다. 잔류물에 다시 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액 7.5 mL를 가하고 10분간 진탕한 후 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심분리하여 상층액 ②를 취한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액 ①과 ②를 합한 후 헥산 15 mL를 가하여 10분간 진탕하고 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심분리한다. 하층액을 취하여 40°C 수용액상에서 0.3 mL가 될 때까지 질소농축한다. 10 mM 개미산암모늄 용액:아세토니트릴(1:1,v/v) 혼합용액 1.7 mL를 가하여 진탕한다. 4°C에서 15,000 G로 10분간 원심분리 한 후 상층액을 0.45 μm 막 여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Phenomenex Luna 2.0 × 100 mm, 3.5 μm) 또는 이와 동등

한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 10 mM 개미산암모늄 용액

(나) 이동상 B: 아세트니트릴

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 90 | 10 |
| 3 | 90 | 10 |
| 5 | 10 | 90 |
| 13 | 10 | 90 |
| 15 | 90 | 10 |
| 20 | 90 | 10 |

(3) 유속: 0.25 mL/분

(4) 칼럼온도: 35°C

(5) 주입량: 10 µL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 350°C

(3) Collision gas: N₂(질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy,eV) |
|-----------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 틸바로신 (Tylvalosin) | 10.49 | 1042.25 | 1042.5 | 109.2 | 75 |
| | | | | 174.1 | 59 |
| | | | | 229.1 | 47 |
| 3-AT (3-O-acetyltylosin) | 10.07 | 958.14 | 958.6 | 772.0 | 45 |
| | | | | 772.5 | 41 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

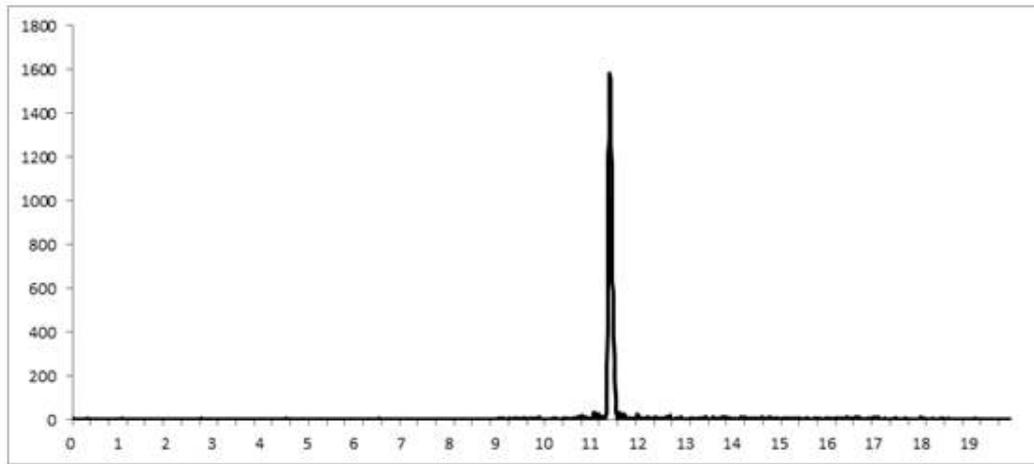
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

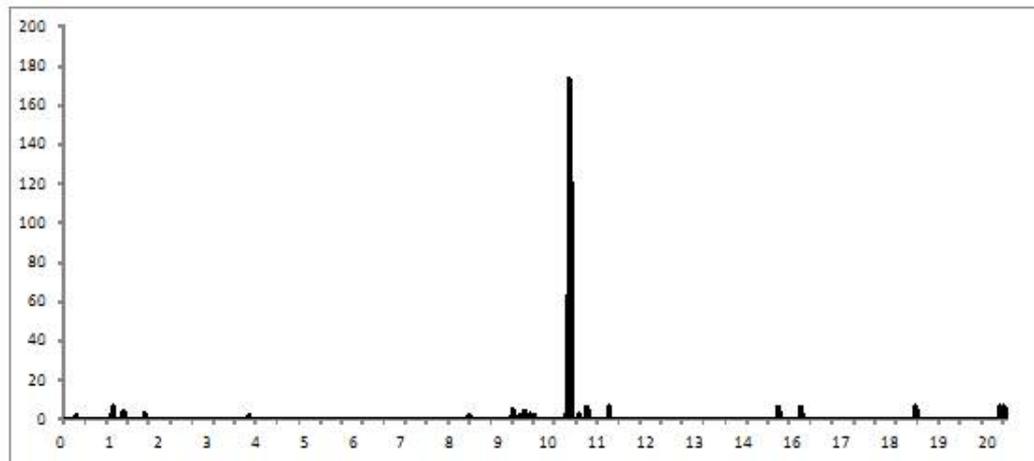
주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

나) 표준품 크로마토그램



틸바로신(11.2분)



3-AT (10.07분)

그림 1. 틸바로신, 3-AT 표준품의 크로마토그램 (0.005 mg/kg)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)

의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

틸바로신(Tylvalosin) : 0.002 mg/kg

3-AT(3-O-acetyltylosin) : 0.0005 mg/kg

8.3.112 메틸벤조쿠에이트(Metylbenzoquate) 에프로토마이신(Efrotomycin)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴로 추출하고 C₁₈ 분말로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준품을 정밀히 달아 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액(메틸벤조쿠에이트는, 디메틸포름아미드(Dimethylformamide, DMF)으로 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액으로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

바) 0.1% 개미산 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 물로 표시선까지 채운다.

사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 유를 제외한 축산물

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g과 아세토니트릴 15 mL를 가한다. 이를 15분간 진탕한 혼합한 후 2,000 G에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취한다. 여기에 C₁₈ 분말 500 mg을 넣고 30초간 진탕한 후 2,000 G에서 5분간 원심분리한 후 상층액 6 mL를 새로운 원심분리관에 취하여 50℃에서 질소농축한다. 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가하여 재분산 한 후 0.2 μm 막 여과지(PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

나) 유

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g, 아세트산나트륨 1 g, 아세토니트릴 15 mL를 가한다. 이를 15분간 진탕혼합한 후 2,000 G에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취한

다. 여기에 C₁₈ 분말 500 mg을 분산시킨 후 30초간 진탕한 후 2,000 G에서 5분간 원심분리한 후 상층액 6 mL를 새로운 원심분리관에 취하여 50℃에서 질소농축한다. 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가하여 재분산 한 후 0.2 μm 막 여과지(PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼: C₁₈(Kinetex 2.1 × 100 mm, 2.6 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 55 | 45 |
| 12 | 5 | 95 |
| 17 | 5 | 95 |
| 17.1 | 55 | 45 |
| 20 | 55 | 45 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 45℃

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 250℃

(3) Collision gas: Ar(아르곤)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy, eV) |
|----|------------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 메틸벤조쿠에이트 (Methylbenzoate) | 7.8 | 365.4 | 366.0 | 228.0 | 41 |
| | | | | | 159.0 | 47 |
| | | | | | 215.0 | 34 |
| 2 | 에프로토마이신 (Efrotomycin) | 7.7 | 1145.3 | 1145.6 | 1127.5 | 13 |
| | | | | | 775.3 | 20 |
| | | | | | 151.9 | 55 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온 (product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

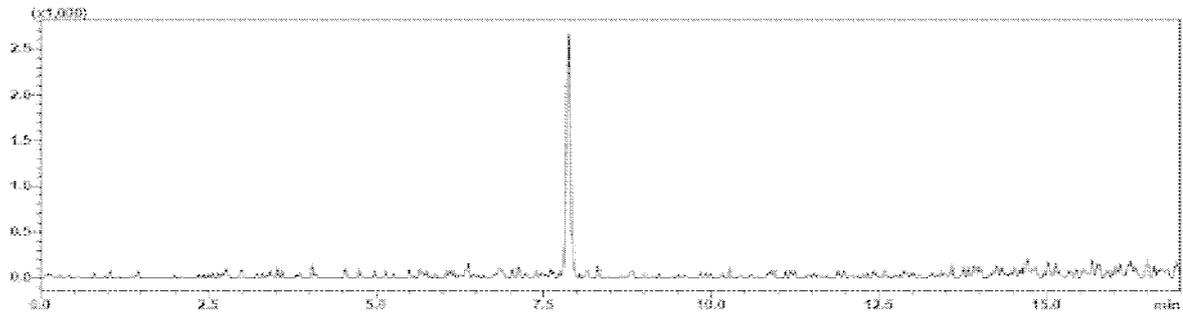
7) 정성시험

가) 위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온 (Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율 (Response ratio)을 비교하여 그 비율이 주¹⁾과 일치하여야 한다.

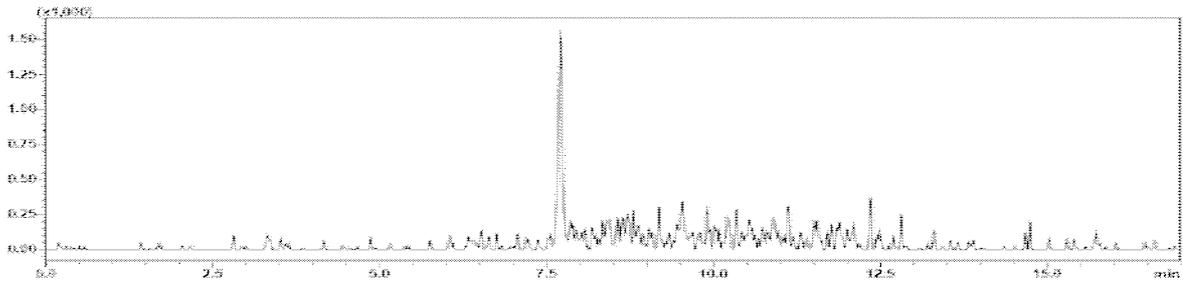
주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50 % | ≤20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤30 % |

나) 표준품 크로마토그램



메틸벤조쿠에이트 (7.8분)



에프로토마이신 (7.7분)

그림 1. 메틸벤조쿠에이트, 에프로토마이신 표준품의 크로마토그램(각 0.01 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

메틸벤조쿠에이트(Methylbenzoquate): 0.005 mg/kg

에프로토마이신(Efrotomycin): 0.005 mg/kg

8.3.113 클로르피리포스(Chlorpyrifos)

제9. 4. 4.3. 4.3.1 4.3.1.2 클로르피리포스(Chlorpyrifos), 다이아지논(Diazinon), 에치온(Ethion), 페니트로치온(Fenitrothion), 메티다치온(Methidathion), 클로르펜빈포스(Chlorfenvinphos), 디크로보스(Dichlovos) 및 펜설폴티온(Fensulfothion) 의 시험법에 따른다.

8.3.114 메토밀(Methomyl), 카벤다짐(Carbendazim), 프로폭서(Propoxur)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴, 염화나트륨으로 추출하고 일차 이차아민(Primary Secondary Amine, PSA), C₁₈, 황산마그네슘(MgSO₄) 로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준품을 정밀히 달아 메탄

올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 혼합 표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 50% 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 물로 표시선까지 채운다.

바) 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 2 g을 15 mL 원심분리관에 취하고 아세트니트릴 5 mL와 염화나트륨 1 g을 가한다. 이를 10분간 진탕 혼합한 후 4°C에서 2,700 G로 10분간 원심분리한다. 상층액을 PSA 37.5 mg, C₁₈ 37.5 mg, 황산마그네슘(MgSO₄) 225 mg이 담겨진 15 mL 원심분리관에 취하여 1분간 진탕하고 4°C에서 2,700 G로 10분간 원심분리한다. 상층액을 취하여 50°C에서 질소농축한 후 잔류물에 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액 0.5 mL와 0.1% 개미산 용액 0.5 mL로 재분산한다. 이를 5분간 초음파처리한 후 4°C에서 13,500 G로 3분간 원심분리하여 상층액을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼: C₁₈(Phenomenex Luna 2.0 × 150 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 90 | 10 |
| 3 | 20 | 80 |
| 9 | 20 | 80 |
| 10 | 90 | 10 |
| 15 | 90 | 10 |

(3) 유속: 0.25 mL/분

(4) 칼럼온도: 40°C

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 350°C

(3) Collision gas: N₂(질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy, eV) |
|----|-----------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 메토밀 (Methomyl) | 6.22 | 162.20 | 163.015 | 88.10 | 13 |
| | | | | | 105.90 | 15 |
| | | | | | 57.90 | 27 |
| 2 | 카벤다짐 (Carbendazim) | 5.56 | 191.19 | 192.057 | 160.10 | 25 |
| | | | | | 64.80 | 59 |
| | | | | | 104.90 | 47 |

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy, eV) |
|----|--------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 3 | 프로폭서 (Propoxur) | 7.92 | 209.25 | 210.071 | 110.90 | 21 |
| | | | | | 92.90 | 35 |
| | | | | | 65.00 | 49 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

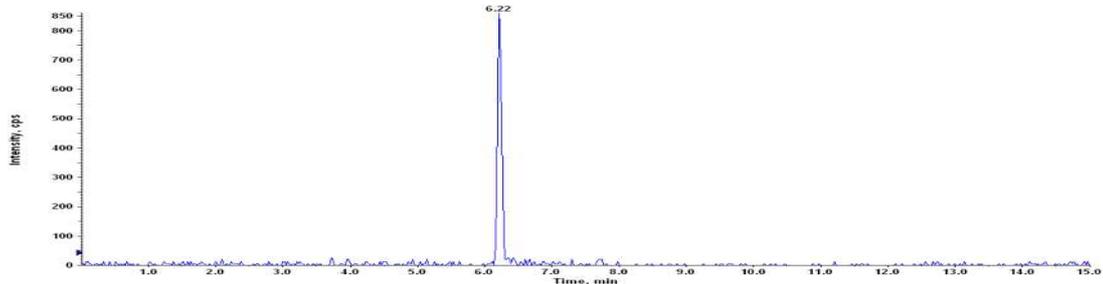
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율이 주¹⁾과 일치하여야 한다.

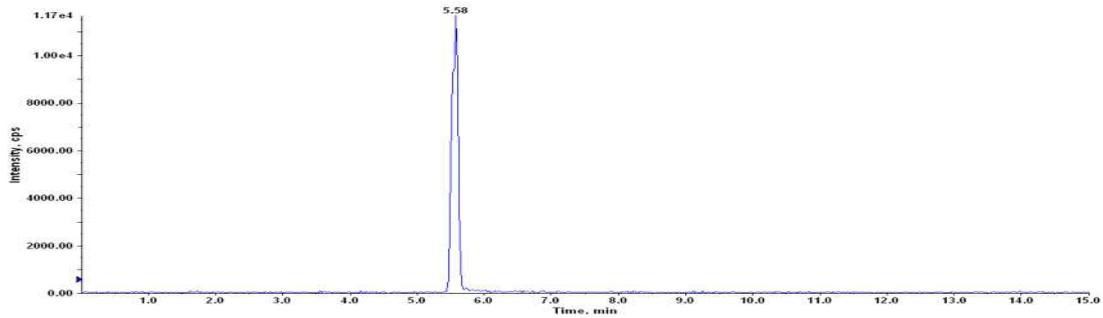
주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50% | ≤ 20% |
| > 20% ~ ≤ 50% | ≤ 25% |
| > 10% ~ ≤ 20% | ≤ 30% |

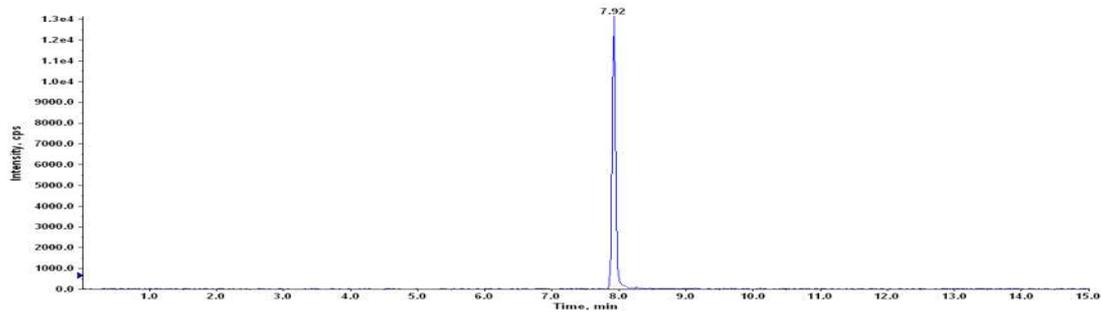
나) 표준품 크로마토그램



메토밀(6.22분)



카벤다짐(5.56분)



프로폭서(7.92분)

그림 1. 메토밀, 카벤다짐, 프로폭서 표준품의 크로마토그램(각 0.005 mg/L)

8) 정량시험

가)정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

메토밀(Methomyl): 0.001 mg/kg

카벤다짐(Carbendazim): 0.0001 mg/kg

프로폭서(Propoxur): 0.0001 mg/kg

8.3.115 포스멧(Phosmet), 테트라클로르빈포스(Tetrachlorvinphos)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 80% 아세토니트릴로 추출하고, 헥산으로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기 (LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준품을 정밀히 달아 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액으로 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액으로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

바) 0.1% 개미산 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 물로 표시선까지 채운다.

사) 80% 아세토니트릴 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 아세토니트릴 800 mL를 넣고 물로 표시선까지 채운다.

아) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 유, 알을 제외한 축산물

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g, 염화나트륨 1 g, 80% 아세토니트릴 15 mL를 가하여 15분간 진탕한 후 2,000 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취한 후 헥산 15 mL를 가하여 30초간 진탕하고 2,000 G에서 5분간 원심분리 한다. 새로운 원심분리관에 하층액 1.5 mL를 취하여 50°C에서 질소농축한다. 여기에 0.1% 개미산 용액:메탄올(1:1, v:v) 혼합용액 0.5 mL를 가하여 재분산 한 후 0.2 μm 막여과지(PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

나) 알, 유

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g(유는 6 g), 염화나트륨 1 g, 황산나트륨 1 g과 80% 아세토니트릴 15 mL를 가하여 15분간 진탕한 후, 2,000 G에서 10분간 원심분리

한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취한 후 헥산 15 mL를 가하여 30초간 진탕하고 2,000 G에서 5분간 원심분리 한다. 새로운 원심분리관에 하층액 1.5 mL 취하여 50℃에서 질소농축한다. 여기에 0.1% 개미산 용액:메탄올(1:1, v:v) 혼합용액 0.5 mL를 가하여 재분산 한 후 0.2 μm 막여과지(PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

- (1) 칼럼 : C₁₈(Kinetex 2.1 × 100 mm, 2.6 μm) 또는 이와 동등한 것
- (2) 이동상
 - (가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액
 - (나) 이동상 B: 0.1% 개미산을 함유한 메탄올

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 55 | 45 |
| 7 | 5 | 95 |
| 12 | 5 | 95 |
| 12.1 | 55 | 45 |
| 15 | 55 | 45 |

- (3) 유속: 0.2 mL/분
- (4) 칼럼온도: 45℃
- (5) 주입량: 5 μL

나) 질량분석기 조건

- (1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 250℃

(6) Collision gas: Ar (아르곤)

(7) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy,eV) |
|----|--|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 포스멧 (Phosmet) | 4.8 | 317.3 | 318.0 | <u>160.0</u> | 12 |
| | | | | | 77.1 | 53 |
| | | | | | 133.0 | 36 |
| 2 | 테트라클로르빈 포스 (Tetrachlorvinp hos) | 6.2 | 366.0 | 367.0 | <u>127.0</u> | 15 |
| | | | | | 205.9 | 35 |
| | | | | | 240.9 | 20 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50 % | ≤20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤30 % |

나) 표준품 크로마토그램

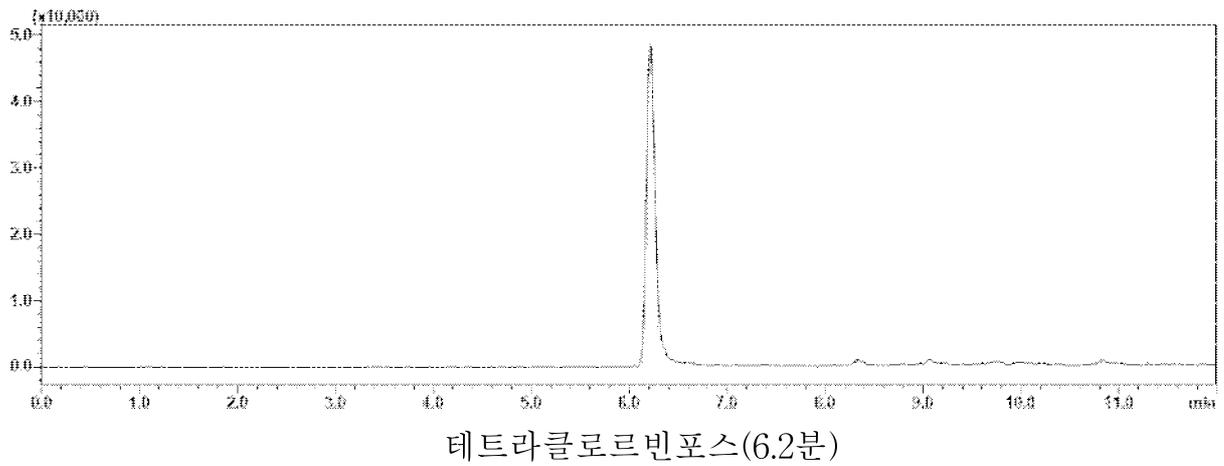
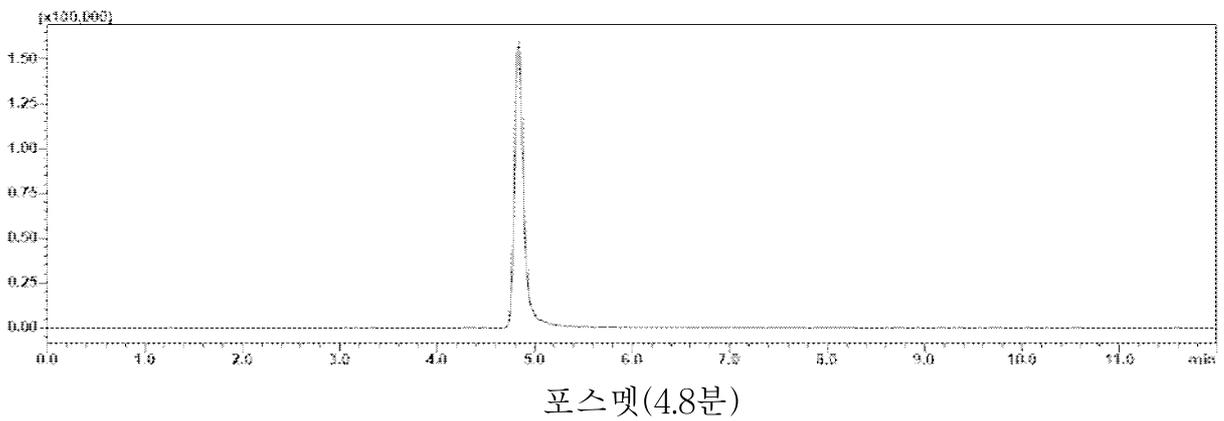


그림 1. 포스멧, 테트라클로르빈포스 표준품의 크로마토그램(각 0.01 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

포스멧(Phosmet) : 0.005 mg/kg

테트라클로르빈포스(Tetrachlorvinphos) : 0.005 mg/kg

5.3.116 노시헵타이드(Nosiheptide)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴로 추출하고, C₁₈ 분말로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 노시헵타이드 표준품을 정밀히 달아 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액에 녹여 100 mg/L이 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

마) 표준용액: 100 mL 용량플라스크에 표준원액을 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액으로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

바) 0.1% 개미산(Formic acid) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL을 넣고 물로 표시선까지 채운다.

사) 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL을 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

아) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g과 아세트니트릴 15 mL를 가하여 15분간 진탕한 후, 2,000 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취한 후 C₁₈ 분말 500 mg을 첨가하여 분산시킨 후 30 초간 진탕한다. 2,000 G로 5분간 원심분리한 후 상층액 6 mL를 새로운 원심분리관에 취하여 50°C에서 질소농축한다. 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가한 뒤 0.2 μm 막 여과지 (PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Kinetex, 2.1 × 100 mm, 2.6 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 55 | 45 |
| 12 | 25 | 75 |
| 12.1 | 5 | 95 |
| 17 | 5 | 95 |
| 17.1 | 55 | 45 |
| 20 | 55 | 45 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 45℃

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 250℃

(3) Collision gas: Ar(아르곤)

(4) 분석대상물질의 조건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) ¹ | 충돌에너지 (Collision Energy,eV) |
|-------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|--|-----------------------------------|
| 노시헵타이드 (Nosiheptide) | 10.1 | 1222.4 | 1222.2 | 238.9 | 55 |
| | | | | 169.8 | 49 |
| | | | | 188.2 | 44 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50 % | ≤20 % |
| > 20 %~≤ 50 % | ≤25 % |
| > 10 %~≤ 20 % | ≤30 % |

나) 표준품 크로마토그램

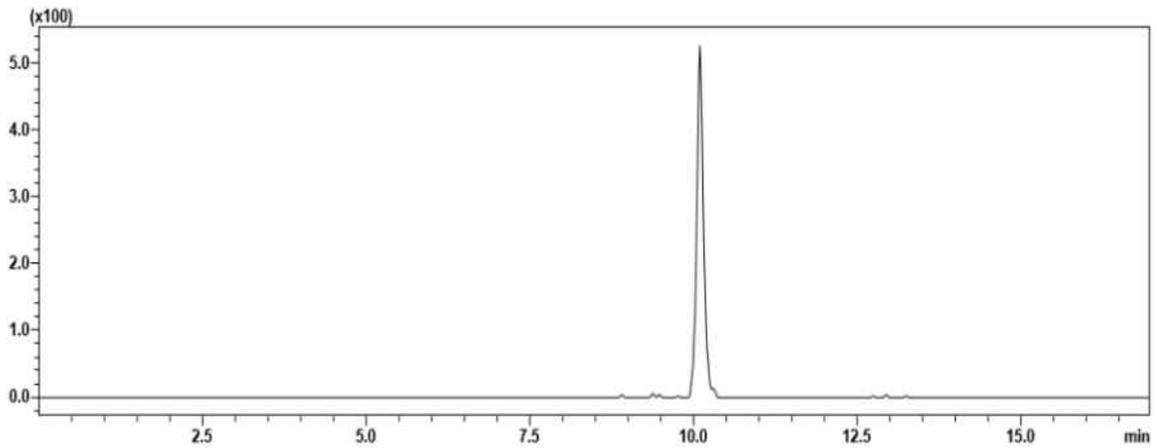


그림 1. 노시헵타이드 표준품의 크로마토그램(10.1분, 0.01 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

노시헵타이드(Nosiheptide) : 0.005 mg/kg

8.3.117 브로모프로필레이트(Bromopropylate)

1) 시험법 적용범위

축산물 등(벌꿀 포함)에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴로 추출하고 C₁₈ 분말로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 브로모필레이트 표준품을 정밀히 달아 5 mM 개미산암모늄 함유 메탄올 용액으로 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 표준용액: 100 mL 용량플라스크에 표준원액을 5 mM 개미산 암모늄 함유 메탄올 용액으로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 5 mM 개미산 암모늄(Ammonium formate) 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 암모늄 315.3 mg을 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

바) 5 mM 개미산 암모늄 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 암모늄 315.3 mg을 넣고 물로 표시선까지 채운다.

사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 꿀을 제외한 축산물

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g과 아세트니트릴 15 mL를 가하여 15분간 진탕한 후, 2,000 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취하고 C₁₈ 분말 500 mg을 첨가하여 분산시킨 후 30 초간 진탕한다. 2,000 G에서 5분간 원심분리 후 상층액 6 mL를 새로운 원심분리관에 취한 후 50°C에서 질소농축한다. 5 mM 개미산 암모늄 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가한 뒤 0.2 µm 막여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

나) 꿀

균질화한 검체 2 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 물 2 g를 가한 후 1분간 진탕한다. 여기에 염화나트륨 2 g과 아세트니트릴 8 mL를 가하여 15분간 진탕한 후, 2,000 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취하여 C₁₈ 분말 500 mg을 분산시킨 후 30 초간 진탕하고 2,000 G에서 5분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 모두 취하여 50°C에서 질소농축한다. 5 mM 개미산 암모늄 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가한 뒤 0.2 µm 막여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Kinetex, 2.1 × 100 mm, 2.6 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 5 mM 개미산 암모늄 용액

(나) 이동상 B: 5 mM 개미산 암모늄 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 35 | 65 |
| 4 | 5 | 95 |
| 9 | 5 | 95 |
| 9.1 | 45 | 65 |
| 11.5 | 45 | 65 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 45°C

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary temperature: 250°C

(3) Collision gas: Ar(아르곤)

(4) 분석대상물질의 조건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy,eV) |
|-------------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 브로모프로필레이트 (Bromopropylate) | 3.7 | 428.1 | 446.0 | 324.8 | 23 |
| | | | | 209.0 | 39 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적 값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50 % | ≤20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤30 % |

나) 표준품 크로마토그램

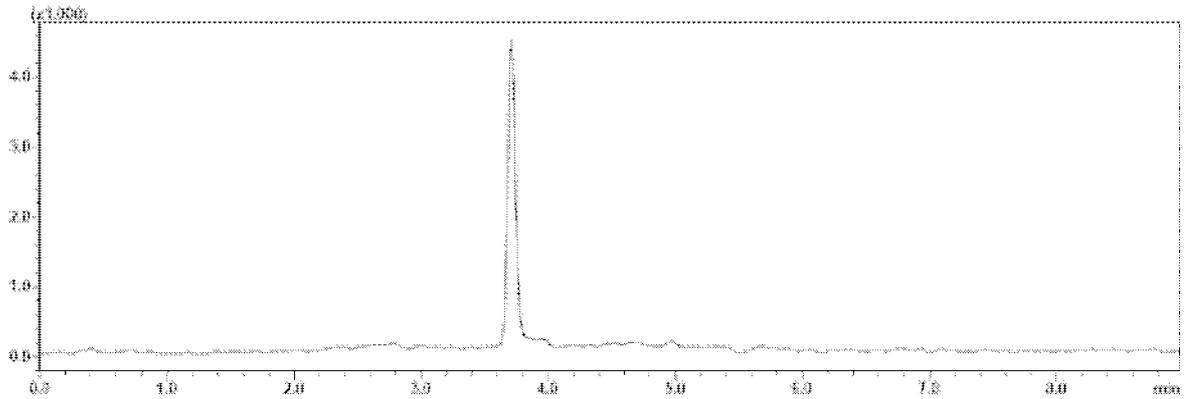


그림 1. 브로모프로필레이트 표준품의 크로마토그램(3.7분, 0.01 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

브로모프로필레이트(Bromopropylate): 0.005 mg/kg

8.3.118 퍼메트린(Permethrin)

제9. 4. 4.3. 4.3.1 4.3.1.4 클로르단(Chlordane), 사이퍼메트린(Cypermethrin), 델타메트린(Deltamethrin), 에트림 포스(Etrimfos), 펜발러레이트(Fenvalerlate), 퍼메트린(Permethrin), 포레이트(Phorate), 포사론

(Phosalone), 피리미포스메틸(Pirimiphos methyl), 프로파자이트 (Propargite), 빈클로졸린(Vinclozolin) 의 시험법에 따른다.

8.3.119 이소유게놀(Isoeugenol)

1) 시험법 적용범위

어류 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴로 추출하고 SPE 카트리지로 정제한 후 기체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

기체크로마토그래프/질량분석기 (GC/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 잔류농약 시험용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 이소유게놀 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 표준용액: 100 mL 용량플라스크에 표준원액을 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 아세토니트릴 10 mL를 가하여 15분간 진탕한 후 2,200 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액 4 mL를 취해 물 30 mL을 넣고 5분간 진탕하여 추출액으로 한다. 미리 메탄올 2 mL와 물 2 mL로 활성화 시킨 C₁₈ 카트리지에 추출액을 흡착시킨다. 물 2 mL로 세척한 후, 감압하여 물을 완전히 제거하고, 2 mL의 메탄올로 용출하여 15 mL 원심분리관에 취한다. 무수황산나트륨 500 mg을 가하여 5분간 진탕하고, 상층액 1 mL를 마이크로 원심분리기 튜브에 취한다. 2,200 G에서 2분간 원심분리한 후 0.2 µm 막 여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 기체크로마토그래프 측정조건

- (1) 칼럼 : HS-5MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm) 또는 이와 동등한 것
- (2) 운반기체(Carrier gas) 및 유량 : 헬륨(He), 1 mL/분
- (3) 주입부 온도 : 280°C
- (4) 주입량 : 1 µL
- (5) 주입모드 : Split mode(Split ratio 2:1)
- (6) 오븐온도

| 시간 (분) | 온도 (°C) | 유지시간 (분) |
|--------|---------|----------|
| 0 | 120 | 2 |
| 7 | 190 | 0 |
| 10 | 280 | 10 |

나) 질량분석기 측정조건

- (1) 이온 모드: EI
- (2) 인터페이스 온도: 280℃
- (3) 이온에너지: 70 eV
- (4) 모드: SIM
- (5) 분석대상물질의 개별 조건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 생성이온 (Fragment ion, m/z) |
|-----------------------|--------------|-------------|-----------------------------|
| 이소유게놀 (Isoeugenol) | 5.8 | 164.1 | 164.1 |
| | | | 103.2 |
| | | | 131.1 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Fragment ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

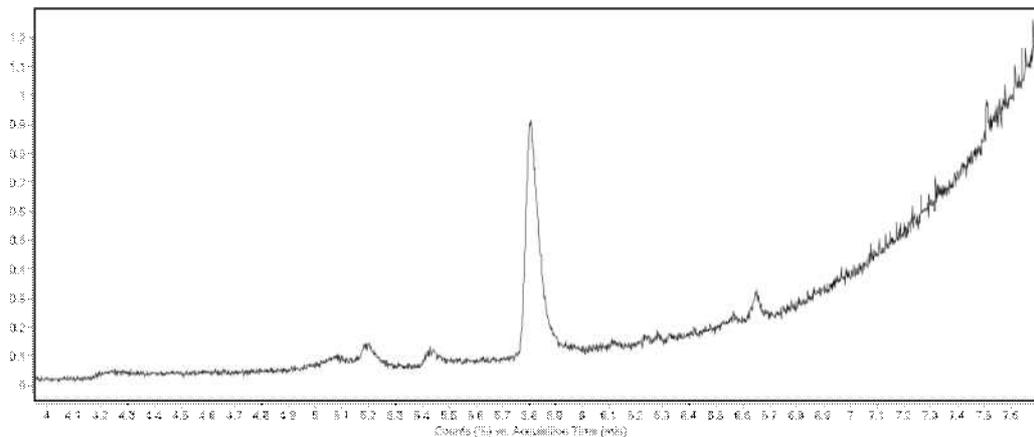
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 생성이온(Fragment ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 10 % |
| > 20 %, ≤ 50 % | ≤ 15 % |
| > 10 %, ≤ 20 % | ≤ 20 % |

나) 표준품 크로마토그램



이소유계놀

그림 1. 이소유계놀(5.8분, 0.01 mg/kg) 표준품의 크로마토그램

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온 (Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

이소유게놀(Isoeugenol) : 0.005 mg/kg

[별표 3], (39) 메타미도포스(Methamidophos) 중 “감귤 0.5”을 “감귤 0.2”로 하고, “피망 2.0”를 “피망 1.0”으로 하며, “복숭아 1.0”을 “복숭아 0.2”로 하고, “쌀 0.5”를 “쌀 0.2”로 하며, “오이 1.0”을 “오이 0.2”로 하고, “토마토 2.0”을 “토마토 0.2”로 하며, “배추 1.0”을 “배추 0.7”로 한다.

[별표 3], (66) 사이퍼메트린(Cypermethrin) 중 “아몬드 2.0”, “피칸 2.0”을 삭제하고, “견과류 2.0”을 “견과류 0.05[†]”로 한다.

[별표 3], (68) 사이할로트린(Cyhalothrin) 중 “면실 0.02”를 “면실 0.01[†]”로 한다.

[별표 3], (78) 알라클로르(Alachlor) 중 “대두 0.2”을 “대두 0.05”로 한다.

[별표 3], (95) 옥사딕실(Oxadixyl) 중 “쌀 1.0”을 “쌀 0.1”로 하고, “양파 5.0”을 “양파 0.5”로 한다.

[별표 3], (96) 옥사밀(Oxamyl) 중 “면실 0.2”을 “면실 0.15[†]”로 하고, “땅콩 0.1”을 “땅콩 0.04[†]”로 한다.

[별표 3], (105) 이프로디온(Iprodione) 중 “배 10”을 “배 5.0”으로 하고, “복숭아 10”을 “복숭아 2.0”으로 하며, “사과 10”을 “사과 5.0”으로 하고, “쌀 3.0”을 “쌀 0.2”로 하며, “아몬드 0.3”을 “아몬드 0.2[†]”로 하고, “양파 0.1”을 “양파 0.05”로 하며, “토마토 5.0”을 “토마토 2.0”으로 한다.

[별표 3], (111) 카바릴(Carbaryl) 중 “감자 0.2”를 “감자 0.05”로 한다.

[별표 3], (112) 카벤다짐(Carbendazim) 중 “마늘 1.0”을 “마늘 0.2”로 한다.

[별표 3], (114) 카보퓨란(Carbofuran) 중 “감자 0.5”를 “감자 0.05”로 하며, “고추 0.7”을 “고추 0.05”로 하고, “당근 0.5”를 “당근 0.05”로 하며, “땅콩 0.5”를 “땅콩 0.05”로 하고, “멜론 0.4”를 “멜론 0.05”로 하며, “배추 0.3”을 “배추 0.05”로 하고, “엇갈이배추 0.3”을 “엇갈이배추 0.05”로 하며, “복숭아 0.2”를 “복숭아 0.05”로 하고, “사과 0.5”를 “사과 0.2”로 하며, “수박 0.1”을 “수박 0.05”로 하고, “쌀 0.3”을 “쌀 0.02”로 하며, “양파 0.1”을 “양파 0.05”로 하고, “오이 0.5”를 “오이 0.05”로 하며, “옥수수 0.1”을 “옥수수 0.05”로 하고, “참외 0.1”을 “참외 0.05”로 하며, “토마토 0.1”을 “토마토 0.05”로

하고, “과 0.5”를 “과 0.05”로 하며, “포도 0.1”을 “포도 0.05”로 한다.

[별표 3], (115) 카복신(Carboxin) 중 “쌀 0.2”를 “쌀 0.05”로 한다.

[별표 3], (118) 캡탄(Captan) 중 “배 5.0”을 “배 3.0”으로 하고, “보리 5.0”을 “보리 0.05”로 하며, “수박 5.0”을 “수박 2.0”으로 하고, “아몬드 2.0”을 “아몬드 0.2[†]”로 하며, “양파 5.0”을 “양파 0.05”로 한다.

[별표 3], (121) 클레토딴(Clethodim) 중 “대두 10.0”을 “대두 0.05”로 하고, “감자 0.2”를 “감자 0.05”로 하며, “도라지 0.1”을 “도라지 0.05”로 하고, “딸기 0.1”을 “딸기 0.05”로 하며, “마늘 0.2”를 “마늘 0.05”로 하고, “무(뿌리) 0.1”을 “무(뿌리) 0.05”로 하며, “무(잎) 0.1”을 “무(잎) 0.05”로 하고, “양파 0.2”를 “양파 0.05”로 하며, “참깨 0.1”을 “참깨 0.05”로 하고, “과 0.1”을 “과 0.05”로 한다.

[별표 3], (125) 클로로탈로닐(Chlorothalonil) 중 “당근 1.0”을 “당근 0.05”로 하고, “땅콩 0.3”을 “땅콩 0.05”로 하며, “양파 1.0”을 “양파 0.5”로 하고, “참외 5.0”을 “참외 2.0”으로 한다.

[별표 3], (131) 클로르피리포스(Chlorpyrifos) 중 “마늘 0.5”를 “마늘 0.05”로 하고, “밤 0.2”를 “밤 0.05”로 하며, “양파 0.5”를 “양파

0.05”로 한다.

[별표 3], (133) 테부코나졸(Tebuconazole) 중 “땅콩 0.1”을 “땅콩 0.05”로 한다.

[별표 3], (139) 톨클로포스메틸(Tolclofos-methyl) 중 “감자 0.2”를 “감자 0.05”로 한다.

[별표 3], (141) 트리아디메놀(Triadimenol) 중 “배 0.5”를 “배 0.1”로 한다.

[별표 3], (142) 트리아디메폰(Triadimefon) 중 “배 0.5”를 “배 0.2”로 하고, “사과 0.5”를 “사과 0.1”로 하며, “포도 1.0”을 “포도 0.05”로 한다.

[별표 3], (147) 트리포린(Triforine) 중 “가지 0.5”를 “가지 0.2”로 하고, “보리 0.1”을 “보리 0.05”로 한다.

[별표 3], (149) 트리플루미졸(Triflumizole) 중 “가지 1.0”을 “가지 0.2”로 하고, “멜론 2.0”을 “멜론 0.05”로 한다.

[별표 3], (150) 티아벤다졸(Thiabendazole) 중 “사과 10”을 “사과 5.0”으로 한다.

[별표 3], (152) 티오벤카브(Thiobencarb) 중 “마늘 0.2”를 “마늘 0.05”로 하며, “무(뿌리) 0.2”를 “무(뿌리) 0.05”로 하고, “무(잎) 0.2”를 “무(잎) 0.05”로 하며, “배추 0.2”를 “배추 0.05”로 하고, “엇갈이배추 0.2”를 “엇갈이배추 0.05”로 하며, “보리 0.1”을 “보리 0.05”로 하고, “쌀 0.2”를 “쌀 0.05”로 하며, “양파 0.2”을 “양파 0.05”로 한다.

[별표 3], (162) 페니트로티온(Fenitrothion : MEP) 중 “대두 0.1”을 “대두 0.05”로 하고, “땅콩 0.2”를 “땅콩 0.05”로 하며, “밤 0.1”을 “밤 0.05”로 하고, “포도 0.5”를 “포도 0.3”으로 한다.

[별표 3], (163) 펜디메탈린(Pendimethalin) 중 “감자 0.2”를 “감자 0.05”로 하고, “고구마 0.2”를 “고구마 0.05”로 하며, “대두 0.2”를 “대두 0.05”로 하고, “생강 0.2”를 “생강 0.05”로 하며, “양배추 0.2”를 “양배추 0.05”로 하고, “양파 0.2”를 “양파 0.05”로 하며, “파 0.2”를 “파 0.05”로 한다.

[별표 3], (164) 펜발러레이트(Fenvalerate) 중 “밤 0.2”를 “밤 0.05”로 하고, “아몬드 0.2”를 “아몬드 0.15[†]”로 하며, “호두 0.2”를 “호두

0.04[†]”로 한다.

[별표 3], (165) 펜뷰코나졸(Fenbuconazole) 중 “바나나 0.3”을 “바나나 0.02[†]”로 하고, “사과 2.0”을 “사과 0.7”로 한다.

[별표 3], (166) 펜뷰타틴옥사이드(Fenbutatin oxide) 중 “배 5.0”을 “배 1.0”으로 하고, “사과 5.0”을 “사과 2.0”으로 한다.

[별표 3], (170) 펜토에이트(Phenthoate : PAP) 중 “옥수수 0.2”를 “옥수수 0.05”로 한다.

[별표 3], (171) 펜프로파트린(Fenpropathrin) 중 “배 5.0”을 “배 0.5”로 하고, “사과 5.0”을 “사과 1.0”으로 하며, “수박 5.0”을 “수박 0.2”로 한다.

[별표 3], (178) 폭심(Phoxim) 중 “고추 0.1”을 “고추 0.05”로 한다.

[별표 3], (179) 폴펫(Folpet) 중 “딸기 5.0”을 “딸기 3.0”으로 하고, “오이 5.0”을 “오이 0.5”로 한다.

[별표 3], (183) 플루아지포프-뷰틸(Fluazifop-butyl) 중 “고구마 0.5”를

“고구마 0.05”로 하고, “당근 2.0”을 “당근 0.05”로 하며, “대두 1.0”을 “대두 0.05”로 하고, “양파 0.5”를 “양파 0.05”로 한다.

[별표 3], (185) 프로사이미돈(Procymidone) 중 “복숭아 10.0”을 “복숭아 0.5”로 하고, “수박 2.0”을 “수박 0.2”로 하며, “포도 5.0”을 “포도 2.0”으로 한다.

[별표 3], (187) 프로파닐(Propanil) 중 “쌀 0.2”를 “쌀 0.05”로 한다.

[별표 3], (188) 프로파모카브(Propamocarb) 중 “양파 1.0”을 “양파 0.1”로 한다.

[별표 3], (192) 프로피코나졸(Propiconazole) 중 “수수 1.0”을 “수수 0.3”으로 하고, “바나나 0.1”을 “바나나 0.06[†]”으로 한다.

[별표 3], (196) 피리미포스메틸(Pirimiphos-methyl) 중 “사과 2.0”을 “사과 0.7”로 한다.

[별표 3], (255) 파목사돈(Famoxadone) 중 “감자 0.1”을 “감자 0.05”로 하고, “참깨 0.1”을 “참깨 0.05”로 한다.

[별표 4], (39) 카보퓨란(Carbofuran) 중 “유 0.05”를 “유 0.02”로 한다.

[별표 4], (43) 클로르피리포스(Chlorpyrifos) 중 “돼지고기 0.02(f)” “돼지부산물 0.01”, “소간 0.01” “소신장 0.01” “소고기 1.0(f)”, “알 0.01” “유 0.02”를 삭제하고, “가금류고기”를 “가금류고기(닭고기 제외)”로, “가금류부산물”을 “가금류부산물(닭부산물 제외)”로 한다.

[별표 4], (49) 페메트린(Permethrin) 중 “알 0.1” “유 0.1(F)”를 삭제하고, “가금류고기”를 “가금류고기(닭고기 제외)”로, “포유류고기”를 “포유류고기(소고기, 돼지고기 제외)”로, “포유류부산물”을 “포유류부산물(소부산물, 돼지부산물 제외)”로 한다.

[별표 5] (176) 클라노부틴(Clanobutin)을 다음과 같이 신설한다.

(176) 클라노부틴(Clanobutin): 기타

◎ 잔류물의 정의 : Clanobutin

| | |
|------|------|
| 소근육 | 0.01 |
| 돼지근육 | 0.01 |
| 양근육 | 0.01 |
| 염소근육 | 0.01 |
| 말근육 | 0.01 |

[별표 5] (177) 나프타존(Naftazone)을 다음과 같이 신설한다.

(177) 나프타존(Naftazone): 기타

◎ 잔류물의 정의 : Naftazone

소근육 0.01

돼지근육 0.01

말근육 0.01

[별표 5] (178) 디클로르보스(Dichlorvos)을 다음과 같이 신설한다.

(178) 디클로르보스(Dichlorvos): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Dichlorvos

소근육 0.05

돼지근육 0.05

닭근육 0.05

유 0.02

알 0.01

[별표 5] (179) 사이로마진(Cyromazine)을 다음과 같이 신설한다.

(179) 사이로마진(Cyromazine): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Cyromazine

닭근육 0.05

알 0.05

[별표 5] (180) 날리드(Naled)을 다음과 같이 신설한다.

(180) 날리드(Naled): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Dichlorvos

(178) 디클로르보스(Dichlorvos) 잔류허용기준에 따른다

[별표 5] (181) 틸바로신(Tylvalosin)을 다음과 같이 신설한다.

(181) 틸바로신(Tylvalosin): 항균제

◎ 잔류물의 정의 : Tylvalosin과 3-O-acetyltylosin(3-AT)의 합

| | |
|------|-------|
| 돼지근육 | 0.05 |
| 돼지간 | 0.05 |
| 돼지신장 | 0.05 |
| 돼지지방 | 0.05 |
| 닭근육 | 0.025 |
| 닭간 | 0.05 |
| 닭지방 | 0.05 |

[별표 5] (182) 에프로토마이신(Efrotomycin)을 다음과 같이 신설한다.

(182) 에프로토마이신(Efrotomycin): 항균제

◎ 잔류물의 정의 : Efrotomycin

| | |
|------|------|
| 돼지근육 | 0.01 |
|------|------|

[별표 5] (183) 메틸벤조쿠에이트(Methylbenzoate)을 다음과 같이 신설한다.

(183) 메틸벤조쿠에이트(Methylbenzoate, Nequinat): 항원충제

◎ 잔류물의 정의 : Methylbenzoate

| | |
|-----|------|
| 닭근육 | 0.01 |
|-----|------|

[별표 5] (184) 테트라크로르빈포스(Tetrachlorvinphos)을 다음과 같이 신설한다.

(184) 테트라크로르빈포스(Tetrachlorvinphos): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Tetrachlorvinphos

| | |
|-----|------|
| 소근육 | 0.01 |
|-----|------|

| | |
|------|------|
| 돼지근육 | 0.01 |
|------|------|

| | |
|-----|------|
| 말근육 | 0.01 |
|-----|------|

| | |
|-----|------|
| 닭근육 | 0.01 |
|-----|------|

| | |
|------|------|
| 염소근육 | 0.01 |
|------|------|

| | |
|-----|------|
| 양근육 | 0.01 |
|-----|------|

| | |
|------|------|
| 사슴근육 | 0.01 |
|------|------|

| | |
|---|------|
| 유 | 0.01 |
|---|------|

| | |
|---|------|
| 알 | 0.01 |
|---|------|

[별표 5] (185) 메토밀(Methomyl)을 다음과 같이 신설한다.

(185) 메토밀(Methomyl): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Methomyl

| | |
|------|------|
| 소근육 | 0.02 |
| 돼지근육 | 0.02 |
| 닭근육 | 0.01 |
| 유 | 0.02 |
| 알 | 0.01 |

[별표 5] (186) 포스멧(Phosmet)을 다음과 같이 신설한다.

(186) 포스멧(Phosmet): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Phosmet

| | |
|------|------|
| 소근육 | 1.0 |
| 돼지근육 | 0.01 |
| 유 | 0.02 |

[별표 5] (187) 클로르피리포스(Chlorpyrifos)을 다음과 같이 신설한다.

(187) 클로르피리포스(Chlorpyrifos): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Chlorpyrifos

| | |
|-----|--------|
| 소고기 | 1.0(f) |
| 소신장 | 0.01 |

| | |
|-------|----------|
| 소간 | 0.01 |
| 돼지고기 | 0.02(f)* |
| 돼지부산물 | 0.01 |
| 닭고기 | 0.01(f)* |
| 닭부산물 | 0.01 |
| 유 | 0.02 |
| 알 | 0.01 |

[별표 5] (188) 카벤다짐(Carbendazim)을 다음과 같이 신설한다.

(188) 카벤다짐(Carbendazim): 구충제

◎ 잔류물의 정의 : Carbendazim

| | |
|------|------|
| 돼지근육 | 0.01 |
|------|------|

[별표 5] (189) 프로폭서(Propoxur)을 다음과 같이 신설한다.

(189) 프로폭서(Propoxur): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Propoxur

| | |
|------|------|
| 소근육 | 0.05 |
| 돼지근육 | 0.05 |
| 닭근육 | 0.01 |
| 유 | 0.01 |
| 알 | 0.01 |

[별표 5] (190) 노시헵타이드(Noshiheptide)을 다음과 같이 신설한다.

(190) 노시헵타이드(Noshiheptide): 향균제

◎ 잔류물의 정의 : Noshiheptide

돼지근육 0.01

닭근육 0.01

[별표 5] (191) 브로모프로필레이트(Bromopropylate)을 다음과 같이 신설한다.

(191) 브로모프로필레이트(Bromopropylate): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Bromopropylate

소근육 0.01

돼지근육 0.01

닭근육 0.01

벌꿀 0.01

[별표 5] (192) 퍼메트린(Permethrin)을 다음과 같이 신설한다.

(192) 퍼메트린(Permethrin): 살충제

◎ 잔류물의 정의 : Permethrin 이성질체의 합

소고기 1.0(f)*

소부산물 0.1

| | |
|-------|---------|
| 돼지고기 | 1.0(f)* |
| 돼지부산물 | 0.1 |
| 닭고기 | 0.1 |
| 유 | 0.1(F)* |
| 알 | 0.1 |

[별표 5] (193) 이소유게놀(Isoeugenol)을 다음과 같이 신설한다.

(193) 이소유게놀(Isoeugenol): 진정제

◎ 잔류물의 정의 : Isoeugenol

| | |
|----|------|
| 어류 | 0.01 |
|----|------|

[별표 5] 주1 및 주2를 다음과 같이 신설한다.

* 주 1. (f) : 고기중 지방에 대한 기준

주 2. (F) : 2% 이상의 지방을 함유하는 유제품의 잔류기준은 유의 잔류기준에 25배를 하여 지방에 대한 기준으로 적용하며, 2% 미만의 지방을 함유하는 유제품의 잔류기준은 유의 잔류기준에 50%를 적용함.

부칙

제1조(시행일) 이 고시는 고시한 날부터 시행한다. 다만, 제2. 3. 4) (1) 가.의 개정규정은 2018년 1월 1일부터 시행하고, 별표 3, 별표 4의

(39)의 개정 규정은 고시 후 2개월이 경과한 날부터 시행하며, 별표 4의 (43), (49)와 별표 5의 (176)~(193) 및 제7. 8.3.109~119의 개정 규정은 고시 후 1년이 경과한 날부터 시행한다.

제2조(적용례) 이 고시는 이 고시 시행 이후 최초로 제조·가공 또는 수입한 식품(선적일 기준)부터 적용한다.

제3조(경과조치) 이 고시는 이 고시 시행 당시 제조·가공·판매 또는 수입되어 검사가 진행 중인 사항에 대하여는 종전의 규정에 따른다.

신 · 구조문 대비표

| 현 행 | 개 정(안) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---------|---|-------|--------|----|-----|-----------------------------------|---|---|----|-----|---------|---|---|-------|--------|------|---------------------------|---|---|---|---|--|-------|-------|---|---|---|---|-----|-----------------------------------|---|---|----|-----|---------|---|---|-------|--------|------|---------------------------|---|---|---|---|------|------|---|---|---|----|---------|---|---|---|----|-----|---|---|---|---|----|---------|---|---|---|----|
| <p>제1. (생 략)</p> <p>제2. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격</p> <p>1. ~ 2. (생 략)</p> <p>3. 식품일반의 기준 및 규격</p> <p>1) ~ 3) (생 략)</p> <p>4) 위생지표군 및 식중독균</p> <p>(1) 위생지표군</p> <p>가. 식품일반</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin: 10px 0;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">규격 항목</th> <th style="width: 20%;">제품 특성</th> <th style="width: 5%;">n</th> <th style="width: 5%;">c</th> <th style="width: 5%;">m</th> <th style="width: 5%;">M</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2" style="text-align: center;">세균수</td> <td>6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 액상제품</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">10</td> <td style="text-align: center;">100</td> </tr> <tr> <td>액상제품 제외</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">1,000</td> <td style="text-align: center;">10,000</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">대장균군</td> <td>6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">나. ~ 다. (생 략)</p> <p>(2) (생 략)</p> <p>5) ~ 17) (생 략)</p> <p>4. (생 략)</p> <p>제3. ~ 제6. (생 략)</p> | 규격 항목 | 제품 특성 | n | c | m | M | 세균수 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 액상제품 | 5 | 1 | 10 | 100 | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 1,000 | 10,000 | 대장균군 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 | 5 | 0 | 0 | - | <p>제1. (현행과 같음)</p> <p>제2. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격</p> <p>1. ~ 2. (현행과 같음)</p> <p>3. 식품일반의 기준 및 규격</p> <p>1) ~ 3) (현행과 같음)</p> <p>4) 식중독균 및 위생지표군</p> <p>(1) 위생지표군</p> <p>가. 식품일반</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin: 10px 0;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">규격 항목</th> <th style="width: 20%;">제품 특성</th> <th style="width: 5%;">n</th> <th style="width: 5%;">c</th> <th style="width: 5%;">m</th> <th style="width: 5%;">M</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2" style="text-align: center;">세균수</td> <td>6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 액상제품</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">10</td> <td style="text-align: center;">100</td> </tr> <tr> <td>액상제품 제외</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">1,000</td> <td style="text-align: center;">10,000</td> </tr> <tr> <td rowspan="3" style="text-align: center;">대장균군</td> <td>6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">-</td> </tr> <tr> <td rowspan="2" style="text-align: center;">살균제품</td> <td>액상제품</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">10</td> </tr> <tr> <td>액상제품 제외</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">10</td> </tr> <tr> <td rowspan="2" style="text-align: center;">대장균</td> <td>비살균제품 중 더 이상의 가공, 가열조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 제품 액상제품</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">10</td> </tr> <tr> <td>액상제품 제외</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">10</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">나. ~ 다. (현행과 같음)</p> <p>(2) (현행과 같음)</p> <p>5) ~ 17) (현행과 같음)</p> <p>4. (현행과 같음)</p> <p>제3. ~ 제6. (현행과 같음)</p> | 규격 항목 | 제품 특성 | n | c | m | M | 세균수 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 액상제품 | 5 | 1 | 10 | 100 | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 1,000 | 10,000 | 대장균군 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 | 5 | 0 | 0 | - | 살균제품 | 액상제품 | 5 | 1 | 0 | 10 | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 0 | 10 | 대장균 | 비살균제품 중 더 이상의 가공, 가열조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 제품 액상제품 | 5 | 1 | 0 | 10 | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 0 | 10 |
| 규격 항목 | 제품 특성 | n | c | m | M | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 세균수 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 액상제품 | 5 | 1 | 10 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 1,000 | 10,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 대장균군 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 | 5 | 0 | 0 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 규격 항목 | 제품 특성 | n | c | m | M | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 세균수 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 액상제품 | 5 | 1 | 10 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 1,000 | 10,000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 대장균군 | 6개월 미만의 영유아를 대상으로 하는 가공식품 | 5 | 0 | 0 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 살균제품 | 액상제품 | 5 | 1 | 0 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 0 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 대장균 | 비살균제품 중 더 이상의 가공, 가열조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 제품 액상제품 | 5 | 1 | 0 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 액상제품 제외 | 5 | 2 | 0 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

제7. 일반시험법

1. ~ 7. (생 략)

8. 식품 중 잔류동물용의약품시험법

8.1 (생 략)

8.2 정성시험법

8.2.1 생물학적 시험법

<신 설>

(생 략)

<신 설>

제7. 일반시험법

1. ~ 7. (현행과 같음)

8. 식품 중 잔류동물용의약품시험법

8.1 (현행과 같음)

8.2 정성시험법

8.2.1 생물학적 시험법

8.2.1.1 6-plate법

(현행과 같음)

8.2.1.2 EEC 4-plate 법

1) 시험법 적용범위

식육에 적용한다.

2) 분석원리

Bacillus subtilis(Bs)와 Micrococcus luteus(MI) 두 종류의 균주를 사용하고 배지의 pH조건을 6.0, 7.2, 8.0으로 하여 항균물질을 확인한다.

3) 시험재료

가) 시험균

(1) Bacillus subtilis BGA

(2) Micrococcus luteus ATCC9341

나) 배지

(1) 계대용: Nutrient agar(NA)

(2) 증균용: Tryptic soy broth(TSB)

(3) 시험용: Test agar(pH 6.0, pH 7.2, pH 8.0)

| | |
|--|--|
| | <p>(4) <u>아포조제용 AK #2 sporulating agar(BBL)</u></p> <p>(5) <u>균수 측정용: Plate count agar(PCA) 또는 nutrient agar</u></p> <p>다) <u>시험용 기구</u></p> <p>(1) <u>디스크: 평판검사용 감수성 디스크(직경 6 mm), 지육검사용 디스크(직경 10 mm)</u></p> <p>(2) <u>페트리접시: 87 × 15 mm 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>(3) <u>기타: 균질기, 캘리퍼스 또는 눈금자, 원심분리관, 항온수조(50℃), 배양기(30℃), 멸균 피펫 (10 mL), Roux bottle, 외과용 메스 등</u></p> <p>4) <u>시험균액 조제</u></p> <p>가) <u><i>B. subtilis</i> BGA 아포액 조제</u> <u>증류수 1 L에 해당하는 AK #2 sporulating agar (BBL) 또는 $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.05 g 을 보충한 nutrient agar에 agar 5 g을 보충하여 배양</u> <u>병(Roux bottle)에 250~300 mL를 분주하여 121℃에서 15분간 멸균한 후 균힌다.</u> <u>Nutrient agar 사면배지에 37℃에서 12시간 배양한 중 균을 멸균증류수 2~3 mL로</u></p> |
|--|--|

집균하여 Roux bottle에 이식한다. 37℃, 18~24시간 배양한 후 실온에 6일간 방치한 후 멸균 유리구슬(직경 4 mm)과 멸균증류수 25 mL를 넣고 조심스럽게 흔들어 집균하여 멸균 원심분리관에 옮긴 후 항온수조 65℃에서 30분간 가열한다. 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 침전물에 일정량의 증류수를 넣어 부유시켜 원심분리한다. 이와같이 침전물에 멸균증류수로 부유하여 원심분리하는 세척과정을 총 3회 반복한다. 마지막으로 원심분리하여 상층액을 버리고 남은 침전물에 20 mL의 멸균증류수로 재부유시켜 70℃에서 30분간 가열한다. 이 아포원액을 plate count agar(PCA) 또는 nutrient agar를 이용해 아포액의 농도를 측정하여 멸균수로 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL가 되도록 조정하고 4℃에서 냉장보관하면서 사용한다.

나) *M. luteus* ATCC 9341 균액 Tryptic soy broth (TSB)

20 mL에 계대 보존균을 백금이(직경 2 mm)로 1 loopful 접종한 후 32℃ 항온수조에서 16시간동안 80 rpm으로 진탕배양한다. 이 균액 1 mL를 19 mL의 멸균증류수에 희석하여 냉장보관하면서 1주일간 사용한다. 이때 균액농도는 2×10^7 CFU/mL이다.

※ 아포액의 농도 측정

멸균수를 사용하여 아포원액을 단계 희석하여 $10^{-4} \sim 10^{-7}$ 이 되는 희석용액을 만든다. 희석용액 1 mL를 희석농도별 3개씩 패트리디쉬에 분주한다. 여기에 멸균하여 약 50 °C로 유지한 plate count agar 또는 nutrient agar 배지를 적당량 첨가하여 좌우로 잘 흔들어 희석균액과 배지를 고르게 혼합하여 균힌다. 그 위에 같은 배지를 적당량 증충시켜 균힌 후 30℃ 배양기에서 48시간 배양한다. 집락수가 30~300개 되는 희석배수의 plate를 선택하여 평균집락수를 구하고 아포원액의 mL당 아포 농도를 환산한다. 예를 들어 10^{-6} 희석 농도에서 평균 집락수가 50개일 경우, 아포 원액의 균수는 5×10^7 CFU/mL이다.

5) 시험용액의 조제

가) Penicillin G(PG) 용액

| | |
|--|--|
| | <p>100 mL의 용량플라스크에 PG·Na 또는 PG·K 60 mg 을 취하여 멸균수로 표시선 까지 채운 후 1,000배 희석하여 1 IU/mL (또는 0.6 μg/mL)가 되도록 희석하여 사용한다(PG 1 unit= 0.6 μg).</p> <p>나) Sulfamethazine(SMZ) 용액 100 mL의 용량플라스크에 100 mg의 SMZ를 취하여 10 mL의 메탄올로 녹인 후 멸균수로 표시선까지 채워 1 mg/mL가 되도록 한다. 이 용액을 50 μg/mL 되도록 희석하여 사용한다.</p> <p>다) Streptomycin(SM) 용액 100 mL 용량플라스크에 SM 100 mg을 취하여 표시선까지 멸균수로 채워 1 mg/mL가 되도록 한다. 이 용액을 50 μg/mL 되도록 희석하여 사용한다.</p> <p>라) Trimethoprim(TMP) 용액 100 mL 용량플라스크에 10 mg의 TMP를 취하여 100 mL의 용량플라스크에 취해 10 mL의 메탄올로 녹인 후 멸균수로 표시선까지 채워 10 mg/mL가 되도록 한다. 이 용액을 1 mg/mL가 되도록</p> |
|--|--|

록 희석하여 사용한다.

6) 시험용 평판 조제

※ 평판배지 조제

Peptone 6.9 g, NaCl 5.1 g, KH₂PO₄ 1.0 g, agar 13.0 g과 증류수 1 L를 넣고 가열하여 녹인다. 4개의 삼각 플라스크에 동일한 양을 분주한 후 고압증기 멸균하여 50℃ 항온수조에서 2시간 동안 방치한다. 1 N NaOH 또는 1 N HCl을 사용하여 pH를 6.0, 7.2, 8.0으로 조정한다.(Bs:pH 6.0, 7.2, 8.0 / MI:pH 8.0)

가) *Bacillus subtilis*(Bs) 평판
3종류의 *B.s* 배지(pH 6.0,
7.2, 8.0)에 2×10⁶ CFU/mL
농도로 희석한 *B.s* 아포액을
65℃에서 30분간 가열한 후
배지 100 mL당 1 mL씩을
첨가하여 혼합한다.(Bs pH
7.2 평판제조시에는 *B.s* 아
포액을 첨가할 때 TMP 10
µg/mL 용액도 함께 배지
100 mL 당 1 mL 첨가하여
혼합한다.) 피펫으로 6 mL
씩 페트리디쉬(87 × 15
mm)에 분주하여 뚜껑을 살
짝 열어 둔 상태로 30분간
방치한 후 사용한다. 사용하
고 남은 시험용 평판은 냉
장보관하면서 2~3일 이내에

사용한다. 이때 제조한 *B.s*(pH 6.0, 7.2, 8.0)의 농도는 2×10^4 CFU/mL이다.

나) *Micrococcus luteus*(M) 평판 *M.I* 배지(pH 8.0)에 약 2×10^7 CFU로 희석한 *M.I* 균액을 배지 100 mL 당 1 mL를 첨가하여 혼합한다. 피펫으로 6 mL씩 페트리디쉬에 분주하여 뚜껑을 살짝 열어 둔 상태로 30분간 방치한 후 사용한다. 사용하고 남은 시험용 평판은 냉장보관하면서 1주일 이내에 사용한다. 이때 제조한 *M.I*(pH 8.0)의 농도는 2×10^5 CFU/mL이다.

6) 시험용 평판 및 시료의 검사

가) 시험용 평판의 검사

직경 6 mm디스크에 Penicillin G, Sulfamethazine, Streptomycin 용액을 10 µg씩 흡습시킨 후 주¹⁾의 표와 같이 해당되는 시험용 평판에 올려놓고, 32 °C에서 16시간 배양하여 시험균의 저지환을 확인한다. 저지환의 크기가 주¹⁾과 같이 디스크 직경 6 mm를 포함하여 12~14 mm 이상이어야 한다.

주1. 시험용평판의 검사조건

| 시험용 평판 | 항균물질 | 표준 용액 농도 | 디스 크당 함량 | 최소주 변역제 대 |
|---------------|---------------------|------------------------|--------------------|-----------------|
| Bs(pH 6.0) | Penicilli n G-Na | 0.6 µg/m L 50 | 0.006 µg 0.5 | 6 mm 이상 |
| Bs(pH 7.2) | Sulfame thazine | µg/m L 50 | µg | 6 mm 이상 |
| Bs(pH 8.0) | Strepto mycin | µg/m L 50 | µg 0.5 | 8 mm 이상 |
| Ml(pH 8.0) | Strepto mycin | L 50 µg/m L | µg 0.5 | 6 mm 이상 |

나) 시료의 검사

(1) 디스크법

식육의 근육을 절개한 후 핀셋으로 시료 당 지육 검사용 10 mm 디스크 4개씩을 삽입하여 30~60분간 육즙을 흡수시킨다. 육즙을 흡수시킨 후 디스크를 꺼내어 4종류의 검사용 평판에 하나씩 올려놓고 가볍게 눌러주고 실온에 약 30분간 방치한 후 32℃ 배양기에 넣어 16시간 배양하여 결과를 판정한다.

2) 직접법

식육을 사방 1 cm, 두께 2 mm 정도로 잘라 4 종류의 검사용 평판에 각각 올려

놓고 실온에서 약 30분간 방치한 후 페트리디쉬를 뒤집지 않고 32 ℃ 배양기에 넣어 16시간 배양하여 결과를 판정한다.

7) 시험결과 판정

가) 결과판정 방법

디스크법의 경우 디스크 직경 10 mm를 포함하여 저지환이 14 mm 이상인 평판이 하나 이상일 경우 해당시료를 양성으로 판정하며, 직접법의 경우 저지환의 폭이 1 mm 이상인 평판이 하나 이상일 때 양성으로 판정한다. 세균오염 등으로 인해 저지환이 불분명할 경우는 시험을 반복하고 재시험시 양성이 아닐 경우에는 음성으로 판정한다.

나) 양성시료의 항균물질 계열 추정

각 항균물질의 표준용액을 각 디스크 당 75 μL씩 흡수시킨 후 배양했을 때 주²⁾의 표와 같이 4종의 평판에서 저지환이 형성되는 양상을 비교하여 잔류 항균물질의 계열을 추정한다. 그러나 이 시험법은 잔류량이 매우 낮거나 높을 경우, 또는 여러 항

균물질이 복합적으로 잔류할 경우는 추정이 불가능하므로 양성인 시료는 반드시 정량시험법에 따라 확인하여야 한다.

주2. EEC 4-plate 법의 표준
항균물질에 대한 최저검출한계 (µg/mL)

| 항 균 물 질 | Bs 평균 pH 6.0 | Bs 평균 pH 7.2 | Bs 평균 pH 8.0 | MI 평균 pH 8.0 |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| β-Lactams | | | | |
| Penicillin G | 0.025 | 0.05 | 0.05 | 0.025 |
| Ampicillin | 0.1 | 0.05 | 0.05 | 0.025 |
| Amoxicillin | 0.25 | 0.1 | 0.25 | 0.05 |
| Cloxacillin | 1 | 1 | 2.5 | 2.5 |
| Nafcillin | 1 | 2.5 | 2.5 | 0.05 |
| Cephalexin | 1 | 5 | 10 | 2.5 |
| Cephazolin | 1 | 2.5 | 2.5 | 100 |
| Aminoglycosides | | | | |
| Streptomycin | 5 | 1 | 0.5 | 2.5 |
| Dihydrostreptomycin | 5 | 1 | 0.5 | 2.5 |
| Gentamicin | 10 | 0.5 | 0.5 | 5 |
| Neomycin | 50 | 2.5 | 1 | 5 |
| Macrolides | 2.5 | 0.1 | 0.05 | 0.05 |
| Erythromycin | 2.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Spiramycin | 2.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Tylosin | 10 | 0.25 | 0.5 | 0.1 |
| Oleandomycin | 100 | 1 | 25 | 0.1 |
| Lincomycin | | | | |
| Tetracyclines | 0.25 | 1 | 5 | 10 |
| Tetracycline | 0.05 | 0.25 | 2.5 | 10 |
| Chlortetracycline | 0.25 | 0.5 | 2.5 | 10 |
| Oxytetracycline | | | | |
| Sulfonamides | 25 | 1 | 100 | >100 |
| Sulfamethazine | 10 | 0.5 | 100 | >100 |
| Sulfamerazine | 1 | 0.25 | 50 | >100 |
| Sulfadimethoxine | 0.5 | 0.25 | 100 | 100 |
| Sulfamonomethoxine | 2.5 | 0.5 | 50 | >100 |

| 항균물질 | Bs 평균 pH 6.0 | Bs 평균 pH 7.2 | Bs 평균 pH 8.0 | MI 평균 pH 8.0 |
|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Sulfaquinoxaline | 10 | 0.25 | 50 | >100 |
| Sulfathiazole | | | | |
| Polypeptides | 100 | >100 | >100 | 10 |
| Bacitracin | | | | |
| Polyethers | 5 | 5 | 5 | 10 |
| Monensin | | | | |
| Nitrofurans | 0.25 | 0.1 | 0.1 | >100 |
| Furazolidone | | | | |
| Quinolones | 0.5 | 1 | 1 | >100 |
| Oxolinic acid | | | | |
| Others | 50 | 25 | 25 | 50 |
| Spectinomycin | 5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Chloramphenicol | 5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Trimethoprim | | | | |

<신 설>

8.2.1.3 TTC-II 법

- 1) 시험법 적용범위
우유에 적용한다.
- 2) 분석원리
Streptococcus thermophilus 균주에 무색의 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)가 산화환원 반응 후 적색 triphenyl formazan 형성 유무를 통해 설과계, 페니실린계 항균제를 확인한다.
- 3) 시험재료
 - 가) 시험균
Streptococcus thermophilus (ATCC 14485)
 - 나) 배지
항균물질이 없는 10 % 멸균 탈지유배지를 공시균주 배양용 배지로 사용한다.

| | |
|--|---|
| | <p>다) 시약</p> <p>(1) <u>Trimethoprim(TMP)</u></p> <p>(2) <u>p-aminobenzoic acid(PABA)</u></p> <p>(3) <u>2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)</u></p> <p>(4) <u>Penicillinase(1,000 unit)</u></p> <p>라) 시험기구</p> <p>4) <u>시험용 배양균액 조제</u></p> <p>① <u><i>Streptococcus thermophilus</i> 균주를 10% 멸균탈지유배지에 접종하여 37 °C에서 12시간 배양한다.</u></p> <p>② <u>10% 멸균탈지유 배지를 따로 준비한다.</u></p> <p>③ <u>①와 ②를 1:1로 혼합하여 시험용 배양균액으로 사용한다.</u></p> <p>5) <u>시험 용액의 조제</u></p> <p>가) <u>TTC 용액</u></p> <p><u>멸균 증류수와 TTC를 25:1의 비율로 섞어 4% TTC 용액을 제조한 후 발색되지 않도록 7°C이하의 냉암소에서 보관한다.</u></p> <p>나) <u>TMP 용액</u></p> <p><u>100 mL 용량플라스크에 TMP 50 mg을 취해 methanol 10 mL에 녹인 후 멸균증류수로 표시선까지 채운다(500 ug/mL).</u></p> <p><u>멸균증류수로 10배 희석하여 50 ug/mL가 되도록 제조한 후 시험용액으로 사용</u></p> |
|--|---|

한다. 제조 후 냉장보관하고 2 주 이내에 사용한다.

다) PABA 용액

100 mL 용량플라스크에 PABA 500 mg을 취해 멸균증류수 약 50 mL를 넣고 가온하여 녹인 후 멸균증류수로 표시선까지 채운다(5 mg/mL). 멸균증류수로 10배 희석하여 0.5 mg/mL가 되도록 제조한 후 시험용액으로 사용한다. 제조 후 실온보관하고 2주 이내에 사용한다.

라) Penicillinase 용액

Penicillinase(1,000 IU)를 멸균증류수 1 mL에 녹여 시험용액으로 사용한다.

5) 시료의 검사

가) 스크리닝법

마개달린 멸균시험관 2개에 Zero control(TMP 무첨가 음성대조)과 TMP control(TMP 첨가 음성대조)로 표기하고 검사할 시료당 1개의 시험관에 시료번호를 기입한다. 검사할 시료의 멸균시험관에 시료 번호를 기입한 후 시료(우유)를 각각 8 mL씩 취한다. 이때 대조용^{주1)}으로 사용할 Zero

| | |
|--|---|
| | <p> <u>및 TMP control 시험관에는</u> <u>항균물질이 들어있지 않는</u> <u>우유 각 8 mL을 취한다.</u> <u>Zero control에는 멸균증류</u> <u>수 1 mL를 첨가하고, TMP</u> <u>control과 검사할 시료의 시</u> <u>험관에는 TMP 용액(50</u> <u>ug/mL) 1 mL를 첨가하여</u> <u>혼합한다. 80~84℃의 항온수</u> <u>조에서 2.5분간 가열한 후</u> <u>바로 수돗물에 담구어 37℃</u> <u>이하로 급냉시킨다. 시험용</u> <u>배양균액 (1:1 희석균액)을</u> <u>무균적으로 각 1 mL씩 접</u> <u>종하여 혼합하고 36.5~37.</u> <u>5℃의 항온수조에서 2시간</u> <u>동안 배양한다. 0.3 mL의</u> <u>TTC 용액을 첨가한 후</u> <u>36.5~37.5℃에서 30~60 분</u> <u>동안 반응시킨다. TMP</u> <u>control 시료의 색상이 음성</u> <u>대조 시료의 색상과 거의</u> <u>같은 시점을 반응 종료시간</u> <u>으로 한다.</u> </p> |
|--|---|

주1. 대조용 시료

대조용 원유시료는 사료첨가제 혹은 치료약제 등을 투여하지 않은 원유를 채취하여 4℃ 냉장보관하면서 사용하고, 2~3 일내 사용하지 못할 경우 -20℃ 혹은 -80℃에 보관하여 필요시 해당하여 사용한다. 탈지우유를 검사할 경우 대조용 시료로는 항균물질이 들어 있지 않은 10% 멸균탈지우유를 사용한다.

나) 설파제 및 페니실린계 항균물질 확인시험

검사할 양성시료마다 마개 달린 3개의 멸균시험관에 TMP tube, PABA tube 그리고 Penase tube로 표기하고 시료번호도 기입한다. 3개의 시험관에 양성시료를 각 8 mL씩 취한 후 TMP tube(TMP용액 첨가용 시험관)와 Penase tube(TMP 용액 및 Penicillinase용액 첨가용 시험관)에는 TMP 용액(50 µg/mL)을 각 1 mL씩 첨가하고, PABA tube(PABA용액 첨가용 시험관)에는 PABA 용액(500 µg/mL) 1 mL를 첨가하여 혼합한다. 80~84℃의 항온수조에서 2.5분간 가열한 후 바로 수돗물에 담구어 37℃

이하로 급냉시킨다. Penase tube에만 penicillinase 용액 100 μ L를 첨가하여 혼합한다. 시험용 배양균액 (1:1 희석균액)을 무균적으로 각 1 mL씩 접종하여 혼합하고 36.5~37.5°C의 항온수조에서 2시간 동안 배양한다. 300 μ L의 TTC 용액을 첨가한 후 36.5~37.5°C에서 30~60 분 동안 반응시킨다. TMP control 시료의 색상이 음성 대조 시료의 색상과 거의 같은 시점을 반응 종료시간으로 한다.

6) 시험 결과 판정

가) 스크리닝법

TMP control의 색상을 기준으로 하여 시료의 색상이 TMP control 시료의 연분홍색보다 현저히 옅을 경우 양성으로 판정하고 같거나 진하면 음성으로 판정한다. 시료가 양성인 경우, 정량시험법에 따라 확인하여야 한다.

나) 설파제 및 페니실린계 항균물질 확인시험

TMP control의 색상을 기준으로 스크리닝법과 같이

판정하고, 주2 표와 같이 결과를 추정할 수 있다.

주2. 판정기준

| TMP tube | Penase tube | PABA tube | 결과판정 |
|----------|-------------|-----------|---------------|
| 음 성 | 음성 | 음성 | 음성 |
| 양 성 | 양성 | 음성 | 양성 (설파제) |
| 양 성 | 음성 | 양성 | 양성 (페니실린계) |
| 양 성 | 양성 | 양성 | 양성* |

* 항균물질이 복합적으로 잔류될 경우 설파제나 페니실린계 항균물질도 동시에 검출될 수 있음

8.2.2 (생 락)

8.3 정량시험법

8.3.1~8.3.11 (생 락)

5.3.12 디에틸스틸베스트롤 (Diethylstilbestrol, DES), 제라놀 (Zeranol)

1) 시험법 적용범위

축·수산물 등에 적용한다.

8.2.2 (현행과 같음)

8.3 정량시험법

8.3.1~8.3.11 (현행과 같음)

5.3.12 노르제스토메트(Norgestomet), 디에네스트롤(Dienestrol), 디에틸스틸베스트롤(Diethylstilbestrol), 알트레노제스트(Altrenogest), 에스트라디올(Estradiol-17β), 제라놀(Zeranol), 초산메드록시프로게스테론(Medroxyprogesterone acetate), 초산멜렌게스트롤(Melengestrol acetate), 초산트렌볼론(Trenbolone acetate), 테스토스테론(Testosterone), 프로게스테론(Progesterone), 헥스트롤(Hexestrol)

1) 시험법 적용범위

축·수산물 등에 적용한다. 단,

2) 분석원리

검체 중의 디에틸stilbestrol, DES) 및 제라놀(Zeranol)을 분해효소제를 사용하여 조직에서 분해한 후 냉동 및 카트리지를 이용하여 지방 및 단백질을 제거한 후 유도체화 하여 기체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

기체크로마토그래프/질량분석기(GC-MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매 : 잔류농약 시험용 또는 이와 동등한 것

나) 물 : 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액 : 디에틸stilbestrol, DES) 및 제라놀(Zeranol) 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 µg/mL로 한다.

라) 표준용액 : 표준곡선을 작성하기 위하여 5가지 농도로 표준원액을 메탄올로 희석한 후 각각 시험관에

프로게스테론(Progesterone)의 경우 유 및 알은 제외한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세트산 함유 아세토니트릴/메탄올 혼합용액(1:1, v/v)으로 추출하고 헥산 또는 일차이차아민(Primary secondary amine, PSA)로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 각 동물용의약품 표준품을 100 mL 용량 플라스크에 각각 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 잔류허용기준의 10배

| | |
|---|---|
| <p>100 μL를 취하고 내부 표준물질 용액 100 μL를 가한 후 농축 및 건조시킨다. 시험관에 유도체화 용액 100 μL를 넣고 밀봉하여 60°C에서 20분간 반응시킨 후 원심분리하여 상층액을 각각의 표준용액으로 한다.</p> <p>마) 내부 표준물질 표준원액 : <u>디에틸스틸베스트롤 (diethylstilbestrol, DES) D8 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 μg/mL로 한다.</u></p> <p>바) 내부 표준물질 용액 : <u>내부 표준물질 표준원액을 메탄올로 희석하여 100 μg/L가 되도록 한다.</u></p> <p>사) 분해효소제 : <u>β-글루쿠로니다제/아릴설파타제 (β-glucuronidase/arylsulfatase)</u></p> <p>아) <u>유도체화용액 : B S T F A (N , O-Bistrimethyl-trifluoroacetamide)와 TMSI (N - T r i m e t h y l silylimidazole)의 혼합액 (98 : 2)</u></p> | <p><u>농도가 되도록 취하여 혼합한 후 메탄올로 표시선까지 채워 조제한다. 혼합표준용액은 메탄올로 희석하여 사용한다.</u></p> <p>마) 10 mM 아세테이트 완충용액(pH 4.6): 1,000 mL 용량플라스크에 아세트산나트륨(Sodium acetate) 0.82 g을 넣고 물로 표시선까지 채운다. 아세트산으로 pH 4.6이 되도록 조정하여 사용한다.</p> <p>바) 1% 아세트산(Acetic acid) 함유 아세토니트릴/메탄올 혼합용액(1:1, v/v): 100 mL 용량플라스크에 아세트산 1 mL을 넣고 아세토니트릴/메탄올(1:1, v/v) 혼합용액으로 표시선까지 채운다.</p> <p>사) 0.1 mM 불화암모늄(Ammonium fluoride) 용액: 1,000 mL 용량플라스크 불화암모늄 3.7 mg을 넣고 물로 표시선까지 채운다.</p> <p>아) 기타시약: <u>특급 또는 이와 동등한 것</u></p> |
|---|---|

자) C8 카트리지(500 mg, 6 mL) 및 아미노(NH₂) 카트리지(500 mg, 6 mL) 또는 이와 동등한 것
차) 기타시약 : 특급

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 증류수 5 mL를 가한 후 균질화하여 마이크로파(microwave)로 30 초간 추출한다. 이 추출액에 분해효소제 80 μ L를 가하고 균질화시켜 배양기에 넣고 52°C에서 15시간 이상 반응시킨다. 실온으로 냉각한 후 내부 표준물질 용액 100 μ L와 메탄올 30 mL를 가하고 20분간 초음파 추출한 후 4,000 G에서 5분간 원심분리한다. 이 추출용액을 -20°C의 냉동고에 30분 이상 넣어두어 지질을 응고시킨 후 상층액을 취한다. 이 때 석출된 지방질을 거름종이로 제거하고 용기를 메탄올로 씻어 준다. 상층액과 세척액을 합한 후 40°C에서 감압 농축하여 메탄올을 제거한다. 미리 메탄올 5 mL와 증류수 5 mL로 활성화시킨 C8 카트리지

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 2 g을 50 mL 원심분리관에 취하여 10 mM 아세테이트 완충용액(pH 4.6) 2 mL을 넣고 2분간 초음파 처리하여 균질화한다. β -글루쿠로니다제/아릴설파타제(β -Glucuronidase/Arylsulfatase) 20 μ L를 첨가하고 65°C에서 1시간 중탕한 후 상온에서 냉각한다. 이 용액에 1% 아세트산 함유 아세토니트릴/메탄올(1:1, v/v) 혼합용액을 12 mL 가하여 10분간 초음파 처리 후 15분간 진탕하고 -4°C에서 9,300 G로 10분간 원심분리한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액을 취하여 헥산 12 mL을 넣고 2분간 진탕한다(돼지고기는 PSA 500 mg이 담겨진 50 mL 원심분리관에 상층액을 취하여 5분간 진탕한다). -4°C에서 9,300 G로 5분간 원심분리한 후 하층액을 취하

에 농축 후 남은 액을 10% 메탄올 수용액 15 mL에 녹여 흡착시킨다. 증류수 5 mL로 용기와 카트리지를 세척하여 버리고 메탄올 5 mL로 용출시킨다. 이 용출액을 60°C에서 질소로 농축시킨 후 에틸아세테이트 : 메탄올 (80 : 20) 혼합용액 2 mL에 녹여 추출액으로 한다. 미리 물포화에틸아세테이트 5 mL와 에틸아세테이트 : 메탄올 (80:20) 혼합용액 5 mL로 활성화시킨 아미노(NH₂) 카트리지에 추출액을 흡착시키고 에틸아세테이트 : 메탄올 (80 : 20) 혼합용액 6 mL로 용출시킨다. 이 용출액을 60°C에서 질소로 농축시키고 완전히 농축시킨 시험관에 유도체화 용액 100 µL를 넣고 밀봉한 후 60°C에서 20분간 반응시킨다. 반응액을 4,000 G에서 5분간 원심분리하고 상층액을 취하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 측정조건

(1) 기체크로마토그래프 조건

(가) 칼럼 : Ultra 2, DB

여 감압농축한다. 잔류물에 50% 메탄올 1 mL을 넣어 녹이고 상온에서 15,800 G로 10분간 원심분리한 후 상층액을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼: C₁₈(Shim-pack, 2.1

mm × 100 mm, 2.0 µm)

5(5%-phenyl-methylpolysiloxane)(50 m × 0.2 mm, 0.33 μ m) 또는 이와 동등한 것

(나) 운반기체(carrier gas) 및 유량 : 헬륨, 1 mL/분

(다) 검체주입부 : Split(5:1)

(라) 주입부온도 : 280 $^{\circ}$ C

(마) 오븐온도 : 초기온도

160 $^{\circ}$ C에서 10 $^{\circ}$ C/분 비율로 270 $^{\circ}$ C까지 승온한 후 10분간 유지하고 5 $^{\circ}$ C/분 비율로 315 $^{\circ}$ C까지 승온한 후 10분간 유지

(바) 검체주입량 : 1 μ L

(2) 질량분석기 조건

(가) 이온 mode : EI

(나) 이온에너지 : 70 eV

(다) Interface 온도 : 350 $^{\circ}$ C

(라) SIM ion : m/z 412(디에틸스틸베스트롤), m/z 433(제라놀), m/z 420(디에틸스틸베스트롤 D8)

또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1 mM 불화암모늄 용액

(나) 이동상 B: 메탄올

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0.0 | 50 | 50 |
| 4.0 | 0 | 100 |
| 7.0 | 0 | 100 |
| 7.01 | 50 | 50 |
| 10.0 | 50 | 50 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 40 $^{\circ}$ C

(5) 주입량: 5 μ L

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive, Negative)

(2) Capillary temperature: 300 $^{\circ}$ C

(3) Collision gas: N₂ (질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 이온화 모드 (Ionization mode) | 머무 름 시간 (분) | 분자 량 (MW) | 선구 이온 (Precursor ion, m/z) | 생성 이온 (Product ion, m/z) | 충돌에 너지 (Collision energy, eV) |
|----|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------|-----------------|--|--------------------------------------|---|
| 1 | 노르게스토 메트 (Norgestom et) | Posit ive | 3.91 | 372.5 | 373.0 | 313.3 | -13.0 |
| | | | | | | 271.2 | -17.0 |
| | | | | | | 109.2 | -33.0 |
| 2 | 디에네스트롤 (Dienestrol) | Nega tive | 3.69 | 266.3 | 264.9 | 92.8 | 26.0 |
| | | | | | | 248.9 | 27.0 |
| | | | | | | 220.9 | 26.0 |
| 3 | 디에틸스틸베 스트롤 (Diethylstilb) | Nega tive | 3.67 | 268.4 | 266.9 | 236.9 | 29.0 |
| | | | | | | 250.9 | 25.0 |

| 연번 | 물질명 (Compound) | 이온화 (Ionization mode) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision energy, eV) |
|----|---|--------------------------|--------------|-------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| | estrol) | | | | | 221.9 | 35.0 |
| 4 | 알트레노제스트 (Altrenogest) | Positive | 4.05 | 310.4 | 311.0 | 227.1 | -24.0 |
| | | | | | | 269.1 | -15.0 |
| | | | | | | 293.3 | -18.0 |
| 5 | 에스트라디올 (Estradiol-17 β) | Negative | 3.67 | 272.4 | 271.0 | 144.9 | 41.0 |
| | | | | | | 182.9 | 41.0 |
| | | | | | | 143.1 | 54.0 |
| 6 | 제라놀 (Zeranol) | Negative | 3.57 | 322.4 | 320.9 | 277.1 | 23.0 |
| | | | | | | 303.0 | 22.0 |
| | | | | | | 258.9 | 26.0 |
| 7 | 초산메드록시 프로게스테론 (Medroxyprogesterone acetate) | Positive | 4.19 | 386.5 | 387.0 | 327.4 | -16.0 |
| | | | | | | 123.1 | -29.0 |
| 8 | 초산멜렌게스트롤 (Melengestrol acetate) | Positive | 4.26 | 396.5 | 397.1 | 279.3 | -21.0 |
| | | | | | | 337.4 | -16.0 |
| | | | | | | 221.3 | -41.0 |
| 9 | β -트렌볼론 (β -Trenbolone) | Positive | 3.38 | 270.4 | 271.0 | 199.2 | -22.0 |
| | | | | | | 253.3 | -21.0 |
| | | | | | | 165.1 | -52.0 |
| 10 | 테스토스테론 (Testosterone) | Positive | 3.73 | 288.4 | 289.0 | 97.1 | -25.0 |
| | | | | | | 109.2 | -27.0 |
| | | | | | | 79 | -49.0 |
| 11 | 프로게스테론 (Progesterone) | Positive | 4.28 | 314.5 | 315.0 | 96.9 | -26.0 |
| | | | | | | 109.2 | -23.0 |
| | | | | | | 297.3 | -16.0 |
| 12 | 헥스트롤 (Hexestrol) | Negative | 3.759 | 270.4 | 268.9 | 118.8 | 38.0 |
| | | | | | | 133.9 | 16.0 |
| | | | | | | 132.9 | 16.0 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량 분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

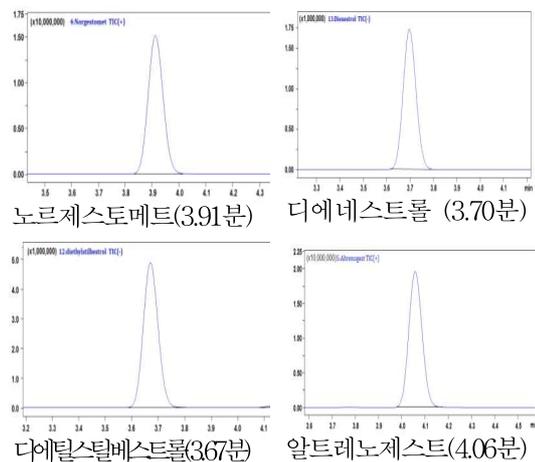
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

나) 표준품 크로마토그램



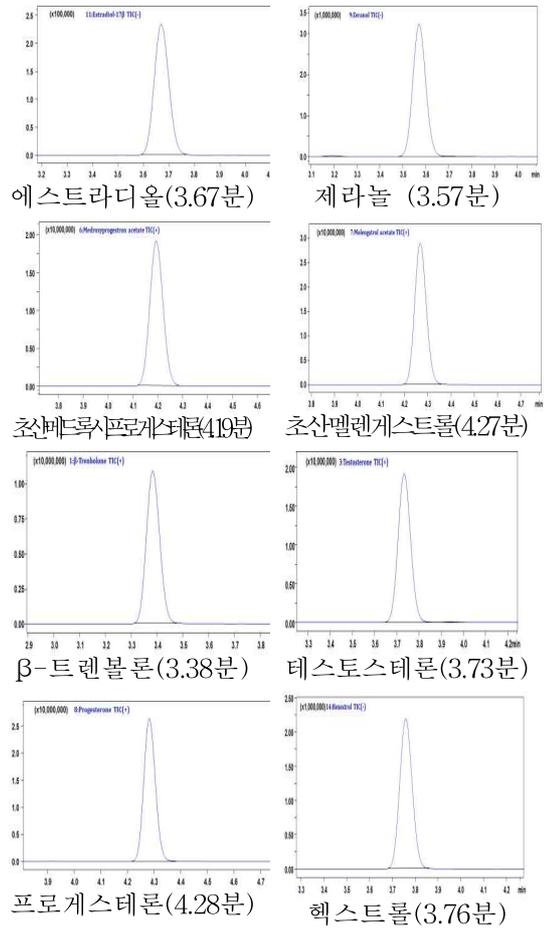


그림 1. 노르제스토메트, 디에네스트롤, 디에틸스틸베스트롤, 알트레노제스트, 에스트라디올, 제라놀, β -트렌볼론, 테스토스테론, 프로게스테론, 헥스트롤 표준품의 크로마토그램(각 0.01 mg/L)

7) 정량시험

가) 유도체화한 시험용액 및 표준용액을 질량분석기에 주입한 후, 각각에서 얻은 크로마토그램으로부터 머무름 시간을 비교하여 내

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 음성검체에(Blank sample)에 혼합표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그

부표준물질 디에틸스틸베스트롤(diethylstilbestrol, DES) D8의 Cis 및 Trans 피크 면적 또는 높이의 합에 대한 디에틸스틸베스트롤(diethylstilbestrol, DES)의 Cis 및 Trans 피크 면적 또는 높이의 합의 비 및 제라놀(Zeranol)의 피크 면적 또는 높이의 비를 구하고 각각의 검량선을 작성하여 시험용액 중 디에틸스틸베스트롤(diethylstilbestrol, DES) 및 제라놀(Zeranol)의 합량을 구한다. 각 물질에 대한 확인이온은 아래의 표와 같다. ※ 시험용액 중 디에틸스틸베스트롤(diethylstilbestrol, DES)의 합량 =

이온 412의 Cis 및 Trans 피크 면적 또는 높이의 합

이온 420의 Cis 및 Trans 피크 면적 또는 높이의 합

※ 시험용액 중 제라놀(Zeranol)의 합량 =

이온 433의 피크 면적 또는 높이의 합

이온 420의 Cis 및 Trans 피크 면적 또는 높이의 합

※ 확인이온

램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

| 동물용의약품 | 정량한계(mg/kg) | | | |
|---|-------------------------|---------|---------|--------|
| | 식육 | 우유 | 알 | 수산물 |
| 노르제스토메트 (Norgestomet) | 0.002 (소 0.00003) | 0.00006 | 0.0008 | 0.003 |
| 디에네스트롤 (Dienestrol) | 0.003 | 0.004 | 0.003 | 0.003 |
| 디에틸스틸베스트롤 (Diethylstilbestrol) | 0.0005 | 0.0004 | 0.0002 | 0.0004 |
| 알트레노제스트 (Altrenogest) | 0.0002 | 0.0002 | 0.00004 | 0.0002 |
| 에스트라디올 (Estradiol-17β) | 0.004 | 0.005 | 0.004 | 0.003 |
| 제라놀 (Zeranol) | 0.001 (소 0.0005) | 0.004 | 0.001 | 0.001 |
| 초산메드록시프로게스테론 (Medroxyprogesterone acetate) | 0.002 | 0.003 | 0.0008 | 0.002 |
| 초산멜레게스트롤 (Mestrol acetate) | 0.001 (소 0.0003) | 0.002 | 0.0005 | 0.003 |
| β-트렌볼론 (β-Trenbolone) | 0.004 (소 0.0002) | 0.004 | 0.003 | 0.002 |
| 테스토스테론 (Testosterone) | 0.002 | 0.002 | 0.001 | 0.002 |
| 프로게스테론 (Progesterone) | 0.004 | - | - | 0.002 |
| 헥스트롤 (Hexestrol) | 0.003 | 0.005 | 0.002 | 0.003 |

| 물질 | 확인이온 (m/z) |
|---|-----------------------|
| (가) 디에틸스틸베스트롤 (diethylstilbestrol, DES) | 412, 397, 383 |
| (나) 제라놀(Zeranol) | 538, 523, 433, 379 |
| (다) 디에틸스틸베스트롤 (diethylstilbestrol, DES) D ₈ | 420 |

나) 정량한계

- (1) 디에틸스틸베스트롤
(diethylstilbestrol, DES)
: 0.5 µg/kg
- (2) 제라놀(Zeranol) : 1 µg/kg

8.3.13 ~ 8.3.28 (생략)

8.3.29 아자페론(Azaperone)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중의 아자페론과 그 대사산물인 아자페롤(azaperol)을 아세토니트릴로 추출하여 실리카로 지방 제거 등 정제 과정을 거쳐 액체크로마토그래프/형광검출기로 분석한다.
정량은 지표물질(marker residue)인 아자페론과 아자페롤의 합으로 한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/형광검출기(Fluorescence detector)

8.3.13 ~ 8.3.28 (현행과 같음)

8.3.29 아자페론(Azaperone), 카라졸롤(Carazolol)

1) 시험법 적용범위

축·수산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴로 추출하고 헥산으로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 측정기기

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

| | |
|--|--|
| <p>4) <u>시약 및 시액</u></p> <p>가) <u>용매 : 액체크로마토그래프 용 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>나) <u>물 : 3차 증류수 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>다) <u>표준원액 : 아자페론 표준품을 정밀히 달아 아래의 이동상 A에 녹여 100 μg/mL로 하고 아자페롤 표준품은 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 μg/mL로 한다. 조제된 표준원액은 냉장 보관한다.</u></p> <p>라) <u>표준용액 : 표준원액을 이동상 A 용액으로 희석하여 사용한다.</u></p> <p>마) <u>0.05 M 인산완충용액(pH 4.5) : 1 L 메스플라스크에 제일인산나트륨(NaH_2PO_4) 6.87 g과 제이인산나트륨(Na_2HPO_4) 0.057 g을 넣고 증류수로 표시선까지 채우고 0.1M 염산으로 pH 4.5로 조정한다.</u></p> <p>바) <u>0.05 M 인산용액(pH 4) : 0.05 M 인산용액을 만들고 1 N 수산화나트륨으로 pH 4로 조정한다.</u></p> <p>사) <u>실리카(silica) 60 : 0.063-0.200 mm 입자크기,</u></p> | <p>4) <u>시약 및 시액</u></p> <p>가) <u>용매: 액체크로마토그래프 용 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>나) <u>물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>다) <u>표준원액: 100 mL 용량플라스크에 아자페론, 아자페롤, 카라졸롤 표준품을 각각 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.</u></p> <p>라) <u>혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 적당한 농도가 되도록 취하여 혼합한 후 메탄올로 표시선까지 채워 냉동실에 보관한다. 혼합표준용액을 희석하여 사용할 때는 50% 메탄올 용액에 희석한다.</u></p> <p>마) <u>0.1% 개미산(Formic acid) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL을 넣고 물로 표시선까지 채운다.</u></p> <p>사) <u>기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것</u></p> |
|--|--|

| | |
|--|--|
| <p>70-230 메쉬(mesh) 아) 실리카(Silica) 카트리지 (500 mg, 6 mL) 또는 이와 동등한 것 자) 기타시약 : 특급 5) 시험용액의 조제 균질화한 검체 2 g을 50 mL 원심 분리관에 취하고 아세트 니트릴 10 mL를 가한 후 1분 간 균질화 한다. 이 용액을 2,500 G에서 5분간 원심 분리 하여 농축플라스크에 상층액을 취하고 한 번 더 반복하여 상층 액을 합친 후 45°C에서 감압 농 축한다. 잔류물은 메탄올 5 mL를 가하여 녹인 후 실리카 60을 2 g 가하여 잘 혼합하고 이를 다시 감압 농축시켜 실 리카 60에 잔류물을 흡착시킨 다. 흡착된 실리카 60을 다시 헥산 5 mL에 녹여 미리 헥산 5 mL로 활성화시킨 실리카 카트리지에 옮긴다. 헥산 2 mL로 농축플라스크를 씻어주 고 이 액을 실리카 카트리지 에 옮긴다. 카트리지를 차례로 디클로로메탄 10 mL, 헥산 10 mL, 디클로로메탄 5 mL로 세 척한 후 메탄올 30 mL로 용 출시킨다. 용출액을 45°C에서</p> | <p>5) 시험용액의 조제 균질화한 검체 1 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 아세트 니트릴(장어, 넘치는 80% 아 세토니트릴) 10 mL를 가하여 1분간 진탕한 후 상온에서 4,800 G로 10분간 원심분리한 다. 상층액을 취하여 새로운 50 mL 원심분리관에 옮기고 아세트니트릴 포화헥산 10 mL를 가한다. 10분간 진탕한 후 하층액을 취하여 40°C 수 용액상에서 질소농축한다. 잔 류물에 50% 메탄올 용액 2 mL를 가하여 재분산하고 10 분간 초음파처리한 후 4°C에 서 20,000 G로 15분간 원심분 리한다. 상층액을 0.2 μm 막 여과지(PTFE membrane filter)로 여과하여 시험용액으 로 한다.</p> |
|--|--|

감압 농축하고 잔류물은 이동상 A 1 mL에 녹인 후 막 여과지(membrane filter)로 여과하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 측정조건

(1) 칼럼 : C₈(4 × 250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 칼럼온도 : 27°C

(3) 이동상

(가) 이동상 A : 0.05 M 인산완충용액(pH 4.5)/테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran)/아세토니트릴(60:5:35)

(나) 이동상 B : 0.05 M 인산용액(pH 4)

| 시간(분) | A (%) | B (%) |
|-------|-------|-------|
| 0.0 | 100 | 0 |
| 3.0 | 78 | 22 |
| 15.0 | 78 | 22 |
| 16.0 | 100 | 0 |
| 30.0 | 100 | 0 |

(4) 유속 : 0.7 mL/분

(5) 주입량 : 50 μL

(6) 측정파장 : 여기파장 245 nm, 측정파장 345 nm

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프의 측정조건

(1) 칼럼: C₁₈(Xselect, 2.1 mm x 150 mm, 3.5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액

(나) 이동상 B: 아세토니트릴

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 95 | 5 |
| 2.0 | 95 | 5 |
| 5.0 | 30 | 70 |
| 5.5 | 0 | 100 |
| 7.0 | 0 | 100 |
| 10.0 | 95 | 5 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 40°C

(5) 주입량: 5 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary temperature: 350°C

(3) Capillary voltage: 0.8 kV

(4) Collision gas: Ar(아르곤)

(5) 분석대상 및 개별 조건

(MRM 조건)

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간 (분) | 분자 량 (MW) | 선구 이온 (Precursor ion, | 생성 이온 (Product ion, | 충돌 에너지 (Collision Energy, |
|-------------------|------------------|-----------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
|-------------------|------------------|-----------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------------|

| | | | m/z) | m/z) ¹ | eV) |
|---------------------|-----|-------|-------|-------------------|-----------|
| 아자페론 (Azaperone) | 4.7 | 327.3 | 328.1 | 94.9 | 52 |
| | | | | 122.9 | 34 |
| | | | | 165.0 | 20 |
| 아자페롤 (Azaperol) | 4.5 | 329.4 | 330.1 | 108.9 | 48 |
| | | | | 120.9 | 20 |
| | | | | 149.0 | 28 |
| 카라졸롤 (Carazolol) | 4.9 | 298.3 | 299.1 | 116.0 | 18 |
| | | | | 193.9 | 26 |
| | | | | 222.0 | 18 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이
온이며 그 외 이온들은 정성이온
임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질
량분석기의 기기조건은 사용기기의
최적값으로 변경하여 사용할 수
있으며, 제시된 이외의 생성이온
도 적용이 가능함

7) 정성시험

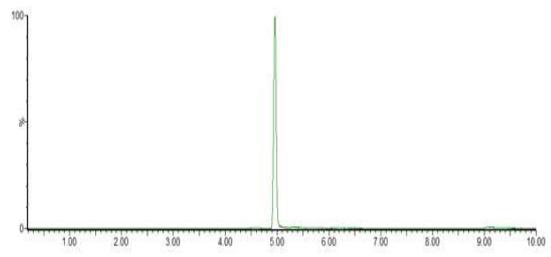
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마
토그램상의 피크는 표준용액
피크의 머무름 시간과 비교하
여 일치하여야 한다. 또한 표
준용액과 시험용액의 선구이
온(Precursor ion) 및 생성이
온(Product ion)이 일치하여야
하고, 표준용액과 시험용액의
생성이온간 반응세기의 비율
(Response ratio)을 비교하여
그 비율은 주¹⁾과 일치하여야
한다.

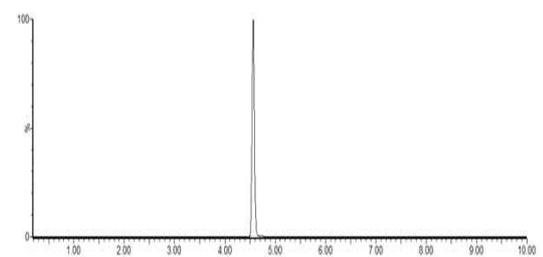
주¹⁾ 생성이온간 반응세기의
비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

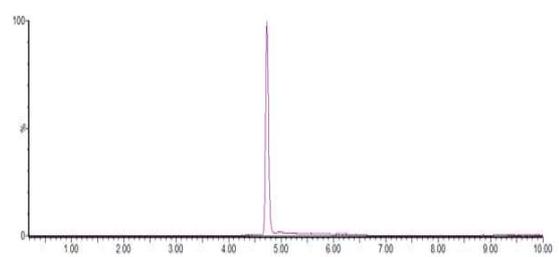
나) 표준품 크로마토그램



아자페론(4.7분)



아자페롤(4.5분)



카라졸롤(4.9분)

그림 1. 아자페론, 아자페롤, 카라졸롤 표준품의 크로마토그램(각 0.03 mg/L)

7) 정량시험

표준용액과 시험용액을 각각 액체크로마토그래프에 주입한다.

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조

얻어진 각각의 피크 머무름 시간을 비교하여 피크의 면적으로 검량선을 작성하여 검체 중 아자페론과 아자페롤의 합량을 각각 구한 후 합한 것을 검체 중 아자페론의 잔류량으로 한다.

8.3.30 ~ 8.3.44 (생 약)
8.3.45 (생 약)
8.3.46 (생 약)
8.3.47 ~ 8.3.48 (생 약)
8.3.49 (생 약)
8.3.58 콜치신(Colchicine)

1) 시험법 적용범위

축·수산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체를 0.05 M 인산완충용액으로 균질화한 후 2 M 염산으로 산성화하고 에틸아세테이트로 추출하여 감압 농축한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

아자페론(Azaperone) : 0.002 mg/kg

아자페롤(Azaperol) : 0.0002 mg/kg

카라졸롤(Carazolol) : 0.0002 mg/kg

8.3.30~8.3.44 (현행과 같음)

<삭 제>

8.3.45 (현행과 같음)

<삭 제>

8.3.46 (현행과 같음)

8.3.47 콜치신(Colchicine), 피리메타민(Pyrimethamine)

1) 시험법 적용범위

축·수산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴 또는 에틸아세테이트로 추출하여 헥산으로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

| | |
|---|---|
| <p><u>액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)</u></p> <p>4) <u>시약 및 시액</u></p> <p>가) <u>용매 : 액체크로마토그래프 용 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>나) <u>물 : 3차 증류수 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>다) <u>표준원액 : 콜치신 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 µg/mL로 한다.</u></p> <p>라) <u>표준용액 : 표준원액을 이 동상에 적당한 농도로 희석하여 사용한다.</u></p> <p>마) <u>0.05 M 인산완충용액(pH 7.4) : 1 L 메스플라스크에 1 M 제이인산칼륨(K₂HPO₄) 40.1 mL와 1 M 제일인산칼륨(KH₂PO₄) 9.9 mL를 넣고 증류수로 표시선까지 채운다.</u></p> <p>바) <u>2 mM 개미산완충용액(pH 3.0) : 2 mM 개미산암모늄(ammonium formate) 1 L에 2 mM 개미산 11 mL를 넣어 혼합한다.</u></p> <p>사) <u>기타시약 : 특급</u></p> <p>5) <u>시험용액의 조제</u></p> <p><u>균질화한 검체 5 g을 50 mL</u></p> | <p><u>액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)</u></p> <p>4) <u>시약 및 시액</u></p> <p>가) <u>용매: 액체크로마토그래프 용 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>나) <u>물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>다) <u>표준원액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.</u></p> <p>라) <u>혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 증류수로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.</u></p> <p>마) <u>0.1% 개미산(Formic acid) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 물로 표시선까지 채운다.</u></p> <p>바) <u>0.1% 개미산 함유 아세트니트릴 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 아세트니트릴로 표시선까지 채운다.</u></p> <p>사) <u>기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>5) <u>시험용액의 조제</u></p> <p>가) <u>식육</u></p> <p><u>균질화된 검체 2 g을 50 mL</u></p> |
|---|---|

원심분리관에 취하고 0.05 M 인산완충용액(pH 7.4) 10 mL를 넣어 10분간 균질화한 후 4°C에서 8,000 G로 10분간 원심분리하여 상층액을 새로운 50 mL 원심분리관에 취한다. 위 과정을 1회 반복하고 모아진 상층액은 2 M 염산용액으로 pH 3.5로 조정 후 염화나트륨 0.5 g을 넣고 에틸아세테이트 20 mL를 넣어 10분간 강하게 진탕한다. 4°C에서 8,000 G로 10분간 원심분리하고 에틸아세테이트층을 농축 플라스크에 취하고, 다시 에틸아세테이트 20 mL를 넣어 위 과정을 1회 반복한 후 40°C 이하 수욕 중에서 감압 농축하고, 잔류물은 이동상 5 mL에 녹인 후 막여과지(membrane filter)로 여과하여 시험용액으로 한다.

원심분리관에 취하고 아세토니트릴 10 mL를 가한다. 이를 10분간 진탕한 후 4°C에서 4,800 G로 10분간 원심분리하여 상층액 ①을 취한다. 잔류물에 다시 아세토니트릴 10 mL를 가하고 10분간 진탕한 후 4°C에서 4,800 G로 10분간 원심분리하여 상층액 ②를 취한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액 ①과 ②를 합한 후 아세토니트릴포화 헥산 10 mL를 가하여 10분간 진탕하고 4°C에서 4,800 G로 10분간 원심분리한다. 하층액(아세토니트릴층)을 취하여 40°C 수용액상에서 질소농축한 후 25% 메탄올 1 mL를 가하여 재분산한다. 10분간 초음파 처리한 후 0.2 μm 막여과지(PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

나) 수산물, 알, 유

균질화된 검체 2 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 증류수 2 mL를 첨가한 뒤 15분간 진탕하고 에틸아세테이트 10 mL를 첨가한다. 이를 10분간 진탕한 후 4°C에서 4,800 G로

| | |
|---|---|
| <p>6) 시험조작</p> <p>가) 측정조건</p> <p>(1) 액체크로마토그래프 조건</p> <p>(가) 칼럼 : C₁₈(1.5 × 150 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것</p> <p>(나) 칼럼온도 : 40℃</p> <p>(다) 이동상</p> | <p>10분간 원심분리하여 상층액 ①을 취한다. 잔류물에 다시 에틸아세테이트 10 mL를 가하고 10분간 진탕한 후 4℃에서 4,800 G로 10분간 원심분리하여 상층액 ②를 취한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액 ①과 ②를 합한 후 40℃에서 질소농축한다. 여기에 아세토니트릴 10 mL를 첨가하여 진탕한 후 아세토니트릴포화 헥산 10 mL를 가하여 10분간 진탕하고 4℃에서 4,800 G로 10분간 원심분리한다. 하층액(아세토니트릴층)을 취하여 40℃ 수용액상에서 질소농축한 후 25% 메탄올 1 mL를 가하여 재분산한다. 10분간 초음파 처리한 후 0.2 μm 막여과지 (PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.</p> <p>6) 시험조작</p> <p>가) 액체크로마토그래프 측정 조건</p> <p>(1) 칼럼 : C₁₈(Xbridge 2.1 × 150 mm, 3.5 μm) 또는 이와 동등한 것</p> <p>(2) 이동상</p> <p>(가) 이동상 A: 0.1% 개미산</p> |
|---|---|

① 이동상 A : 2 mM 개미산
산완충용액(pH 3.0)

② 이동상 B : 아세트니트릴

| 시간(분) | A(%) | B(%) |
|-------|------|------|
| 0.0 | 80 | 20 |
| 1.0 | 80 | 20 |
| 10.0 | 10 | 90 |
| 10.1 | 80 | 20 |
| 15.0 | 80 | 20 |

(라) 유속 : 0.2 mL/분

(2) 질량분석기 조건

(가) Ionization : ESI(positive)

(나) Capillary temperature : 360°C

(다) Collision gas : 아르곤(Ar)

(라) Collision energy : 25 V

용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미산
함유 아세트니트릴 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0.0 | 90 | 10 |
| 1.0 | 90 | 10 |
| 10.0 | 20 | 80 |
| 10.1 | 90 | 10 |
| 15.0 | 90 | 10 |

(3) 유속: 0.25 mL/분

(4) 칼럼온도: 40°C

(5) 주입량: 10 µL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 350°C

(3) Collision gas: Ar (아르곤)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무름시간(분) | 분자량(MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy, eV) |
|----|--------------------------|----------|---------|------------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| 1 | 콜치신 (Colchicine) | 5.9 | 399.43 | 400.18 | 310.18 | 24 |
| | | | | | 326.13 | 23 |
| | | | | | 358.17 | 20 |
| 2 | 피리메타민 (Pyrimethamine) | 5.5 | 248.74 | 249.09 | 177.03 | 29 |
| | | | | | 198.11 | 36 |
| | | | | | 233.07 | 29 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량

이온이며 그 외 이온들은 정성이
온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한
질량분석기의 기기조건은 사용기
기의 최적값으로 변경하여 사용
할 수 있으며, 제시된 이외의 생
성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

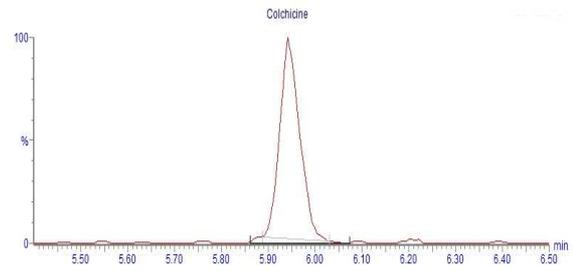
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마
토그램상의 피크는 표준용액
피크의 머무름 시간과 비교하
여 일치하여야 한다. 또한 표
준용액과 시험용액의 선구이
온(Precursor ion) 및 생성이
온(Product ion)이 일치하여야
하고, 표준용액과 시험용액의
생성이온간 반응세기의 비율
(Response ratio)을 비교하여
그 비율은 주¹⁾과 일치하여야
한다.

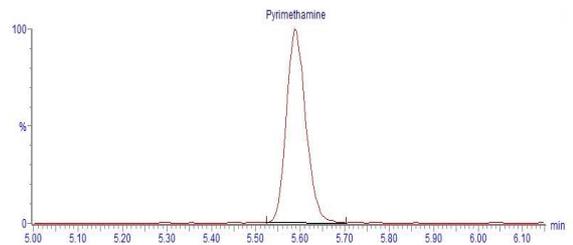
주1. 생성이온간 반응세기의
비율 허용범위

| <u>이온간 반응세기의 비율(%)</u> | <u>허용범위</u> |
|---------------------------|---------------|
| <u>> 50 %</u> | <u>≤ 20 %</u> |
| <u>> 20 % ~ ≤ 50 %</u> | <u>≤ 25 %</u> |
| <u>> 10 % ~ ≤ 20 %</u> | <u>≤ 30 %</u> |

나) 표준품 크로마토그램



콜치신 (5.9분)



피리메타민 (5.5분)

그림 1. 콜치신, 피리메타민 표준
 품의 크로마토그램(각 0.0001
 mg/L)

7) 정량시험

가) 시험용액 및 표준용액을 각각 질량분석기에 주입하여 아래표의 특이이온(specific ion)을 확인한다. 이후, 각각에서 얻은 크로마토그램으로부터 머무름 시간(retention time)을 비교하고, m/z 358의 피크에 대한 평균면적으로 검량선을 작성하여 검체 중 콜치신의 함량을 구한다.

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 음성검체에(Blank sample)에 혼합표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

| 물질 | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) |
|-----|------------------------------|----------------------------|
| 콜치신 | 400 | 295, 310, 326, 358 |

나) 정량한계 : 1 µg/kg

8.3.51 ~ 8.3.64 (생략)

8.3.65 (생략)

8.3.66 ~ 8.3.70 (생략)

8.3.71 (생략)

8.3.72 ~ 8.3.87 (생략)

8.3.88 (생략)

8.3.89 ~ 8.3.114 (생략)

<신설>

나) 정량한계

콜치신(Colchicine) : 0.0005 mg/kg

피리메타민(Pyrimethamine)

: 0.0001 mg/kg

8.3.48 ~ 8.3.61 (현행과 같음)

<삭제>

8.3.62. ~ 8.3.66 (현행과 같음)

<삭제>

8.3.67 ~ 8.3.82 (현행과 같음)

<삭제>

8.3.83 ~ 8.3.108 (현행과 같음)

8.3.109 클라노부틴(Clanobutin),
나프타존(Naftazone), 디클로르
보스(Dichlorvos)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을
0.1% 개미산 함유 아세토니
트릴 용액으로 추출하고 헥
산으로 정제한 후 액체크로
마토그래프/질량분석기로 분
석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석
기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

| | |
|--|--|
| | <p>가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것</p> <p>나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것</p> <p>다) 표준원액: 100 mL 용량 플라스크에 각 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.</p> <p>라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게 하여 사용한다.</p> <p>마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 아세토니트릴 용액 : 1,000 mL 용량 플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 아세토니트릴로 표시선까지 채운다.</p> <p>바) 0.1% 개미산 함유 10 mM 포름산암모늄(Ammonium formate) 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 포름산암모늄 0.63g을 넣어 물로 표시선까지 채운다.</p> <p>사) 기타시약: 특급 또는 이</p> |
|--|--|

와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 5 g을 50 mL
원심분리관에 취하고, 0.1%
개미산 함유 아세토니트릴
용액 8 mL를 가한다. 이를
10분간 진탕 혼합한 후 4℃
에서 2,600 G로 15분간 원심
분리하여 상층액 ①을 취한
다. 잔류물에 다시 0.1% 개미
산 함유 아세토니트릴 용액
을 7 mL 가하여 10분간 진
탕한 후 4℃에서 2,600 G로
15분간 원심분리하여 상층액
②를 취한다. 새로운 50 mL
원심분리관에 상층액 ①과
②를 합한 후 헥산 15 mL를
넣고 10분간 진탕하고 4℃에
서 2,600 G로 15분간 원심분
리한다. 하층액을 취하여 4
0℃ 수용액상에서 0.5 mL가
될 때까지 질소농축한 후
0.1% 개미산 함유 10 mM
포름산암모늄 용액:아세토니
트릴(1:1, v/v) 혼합용액 2
mL를 가하여 재분산한다.
4℃에서 15,000 G로 10분간
원심분리 한 후 상층액을
0.45 μm 막여과지(PTFE
membrane filter) 로 여과시

킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정

조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Gemini-Nx
2.0 × 100 mm, 3.0 μm)

또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미
산 함유 10 mM 포름
산암모늄 용액

(나) 이동상 B: 아세토니트릴

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 95 | 5 |
| 2 | 95 | 5 |
| 3 | 5 | 95 |
| 10 | 5 | 95 |
| 11 | 95 | 5 |
| 15 | 95 | 5 |

(3) 유속: 0.20 mL/분

(4) 칼럼온도: 30℃

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive,
Negative)

(2) Capillary Temperature: 350℃

(3) Collision gas: N₂ (질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

※ 밀줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이
며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량
분석기의 기기조건은 사용기기의 최

| 순번 | 물질명 (Compound) | 이온화 (Ionization mode) | 머무름 시간 (분) | 분 자 량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성 이온 (Product ion, m/z) | 충돌 에너지 (Collision Energy, eV) |
|----|-----------------------------------|--------------------------|------------------|---------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | 나프 타존 (Naftazone) | Posi tive | 8.04 | 215. 20 8 | 216. 141 | 199.2 | 13.00 |
| | | | | | | 143.2 | 27.00 |
| | | | | | | 173.3 | 13.00 |
| 2 | 디 클 로 보스 (Dichlorvos) | Posi tive | 8.13 | 220. .98 | 221. 012 | 109.0 | 21 |
| | | | | | | 127.2 | 35 |
| | | | | | | 79.000 | 13 |
| 3 | 클라 노부 틴 (Clanobutin) | Neg ative | 8.47 | 347. .79 6 | 346. 045 | 260.1 | -16 |
| | | | | | | 245.1 | -38 |
| | | | | | | 134.0 | -54 |

적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

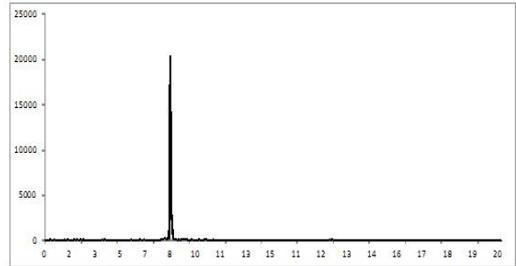
위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의

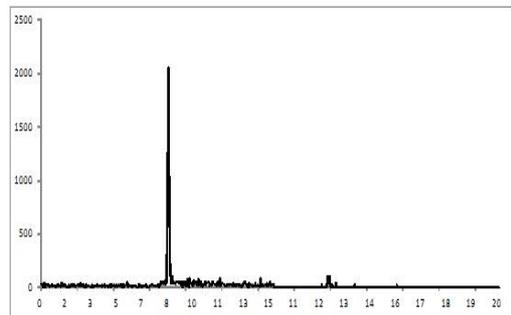
비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

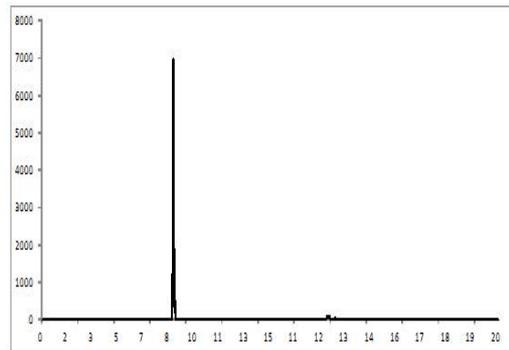
나) 표준품 크로마토그램



나프타존(8.04분)



디클로르보스(8.13분)



클라노부틴(8.47분)

그림 1. 나프타존, 디클로르보스, 클라노부틴 표준품의 크로마토그램(각 0.005 mg/L)

8) 정량시험

| | |
|--------------------|---|
| <p><신 설></p> | <p><u>가) 정량</u> <u>정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.</u></p> <p><u>나) 정량한계</u> <u>클라노부틴(Clanobutin) : 0.0001 mg/kg</u> <u>나프타존(Naftazone) : 0.0004 mg/kg</u> <u>디클로르보스(Dichlorvos) : 0.001 mg/kg</u></p> <p><u>8.3.110 사이로마진(Cyromazine)</u> <u>1) 시험법 적용범위</u> <u>축산물 등에 적용한다.</u> <u>2) 분석원리</u> <u>검체 중 분석대상물질을 개미산 함유 아세트니트릴 용액, 황산마그네슘, 염화나트륨, 시트르산나트륨, 시트르산수소나트륨으로 추출하고, 일차이차아민(Primary secondary amine), C₁₈, 황산마그네슘으로 정제한</u></p> |
|--------------------|---|

후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 사이로마진 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동보관한다.

라) 표준용액: 100 mL 용량플라스크에 표준원액을 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 아세트니트릴 용액: 1,000 mL 용량 플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 아세트니트릴로 표시선까지 채운다.

바) 0.1% 아세트산(Acetic acid) 용액: 1,000 mL 용량 플라스크에 아세트산 1 mL를 넣고 물로 표시선까

지 채운다.

사) 0.1% 아세트산 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량 플라스크에 아세트산 1 mL를 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

아) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액 8 mL를 가한 후 10분간 진탕 혼합한다. 염화나트륨 1 g, 황산마그네슘 4 g, 시트르산나트륨 1 g, 시트르산수소나트륨 0.5 g을 첨가하여 진탕한 후, 4°C에서 2,600 G에서 15분간 원심분리하고 상층액 ①을 취한다. 잔류물에 다시 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 용액 7 mL 가하여 10분간 진탕하고 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심 분리하여 상층액 ②를 취한다. 새로운 50 mL 원심분리관에 상층액 ①와 ②를 합한 후 PSA 150 mg, C₁₈ 150 mg과 황산마그네슘 900 mg을 가하여 10분간 진탕한 후 4°C에서 2,600 G로 15분간 원심

분리한다. 상층액을 취하여 4 0°C에서 0.3 mL가 될 때까지 질소농축한다. 0.1% 아세트산 용액 : 0.1% 아세트산 함유 메탄올(1:1, v/v) 혼합용액 2.7 mL를 가하여 진탕한다. 4°C에서 15,000 G로 10분간 원심분리 한 후 상층액을 0.45 µm 막 여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정 조건

(1) 칼럼: HILIC (Xbridge 2.1 × 100 mm, 3.5 µm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 아세트산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 아세트산 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 60 | 40 |
| 10 | 60 | 40 |

(3) 유속: 0.20 mL/분

(4) 칼럼온도: 35°C

(5) 주입량: 10 µL

나) 질량분석기 조건

- (1) Ionization: ESI(Positive)
- (2) Capillary Temperature: 350°C
- (3) Collision gas: N₂ (질소)
- (4) 분석대상물질의 개별 조건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간 (분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에 너지 (Collision Energy, eV) |
|-------------------------|------------------|-------------|------------------------------------|----------------------------------|---|
| 사이로 마진 (Cymazine) | 10.49 | 166.18 | 167.14 | 85.10 | 23 |
| | | | | 68.0 | 41 |
| | | | | 125.2 | 23 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량 분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

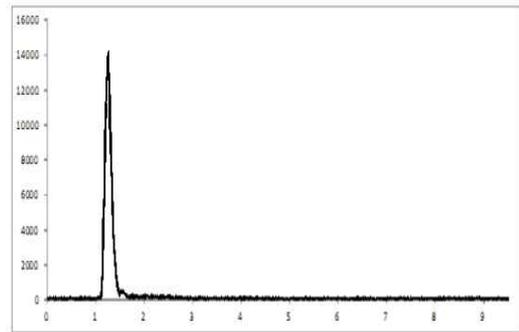
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

나) 표준품 크로마토그램



사이로마진 (1.31분, 0.005 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

사이로마진(Cyromazine) :

| | |
|---------------------------|---|
| <p><u><신 설></u></p> | <p>0.001 mg/kg</p> <p>8.3.111 <u>틸바로신(Tylvalosin)</u></p> <p>1) <u>시험법 적용범위</u> <u>축산물 등에 적용한다.</u></p> <p>2) <u>분석원리</u> <u>검체 중 분석대상물질을 0.1% 개미산 함유 아세트니트릴 용액으로 추출하여 헥산으로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.</u></p> <p>3) <u>장치</u> <u>액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)</u></p> <p>4) <u>시약 및 시액</u></p> <p>가) 용매: <u>액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>나) 물: <u>3차 증류수 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>다) <u>표준원액: 티바로신, 3-AT (3-O-acetyltylosin, 티바로신 대사체) 표준품을 100 mL 용량플라스크에 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다.</u></p> <p>라) <u>혼합표준용액: 각 표준원액을 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.</u></p> <p>마) <u>0.1% 개미산(Formic acid) 함유 아세트니트릴 용액:</u></p> |
|---------------------------|---|

| | |
|--|---|
| | <p><u>1,000 mL 용량플라스크에</u> <u>개미산 1 mL을 넣고 아세</u> <u>토니트릴로 표시선까지 채</u> <u>운다.</u></p> <p><u>바) 10 mM 개미산암모늄 용</u> <u>액: 1,000 mL 용량플라스</u> <u>크에 개미산암모늄</u> <u>(Ammonium formate)</u> <u>0.63 g을 넣고 물로 표시</u> <u>선까지 채운다.</u></p> <p><u>사) 기타시약: 특급 또는 이</u> <u>와 동등한 것</u></p> <p><u>5) 시험용액의 조제</u></p> <p><u>균질화된 검체 5 g을 50 mL</u> <u>원심분리관에 취하고 0.1%</u> <u>개미산 함유 아세토니트릴</u> <u>용액 7.5 mL를 가한다. 이를</u> <u>10분간 진탕한 후 4°C에서</u> <u>2,600 G로 15분간 원심분리</u> <u>하여 상층액 ①을 취한다. 잔</u> <u>류물에 다시 0.1% 개미산 함</u> <u>유 아세토니트릴 용액 7.5</u> <u>mL를 가하고 10분간 진탕한</u> <u>후 4°C에서 2,600 G로 15분간</u> <u>원심분리하여 상층액 ②를 취</u> <u>한다. 새로운 50 mL 원심분리</u> <u>관에 상층액 ①과 ②를 합한</u> <u>후 헥산 15 mL를 가하여 10</u> <u>분간 진탕하고 4°C에서 2,600</u> <u>G로 15분간 원심분리한다. 하</u></p> |
|--|---|

층액을 취하여 40℃ 수용액 상에서 0.3 mL가 될 때까지 질소농축한다. 10 mM 개미산 암모늄 용액:아세토니트릴 (1:1,v/v) 혼합용액 1.7 mL를 가하여 진탕한다. 4℃에서 15,000 G로 10분간 원심분리한 후 상층액을 0.45 µm 막 여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험 용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정 조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Phenomenex Luna 2.0 × 100 mm, 3.5 µm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 10 mM 개미산암모늄 용액

(나) 이동상 B: 아세토니트릴

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 90 | 10 |
| 3 | 90 | 10 |
| 5 | 10 | 90 |
| 13 | 10 | 90 |
| 15 | 90 | 10 |
| 20 | 90 | 10 |

(3) 유속: 0.25 mL/분

(4) 칼럼온도: 35℃

(5) 주입량: 10 µL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature:
350℃

(3) Collision gas: N₂(질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조
건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간 (분) | 분자 량 (MW) | 선구이 온 (Precursor ion, m/z) | 생성이 온 (Product ion, m/z) | 충돌에 너지 (Collision Energy, eV) |
|-----------------------------|------------------|-----------------|--|--------------------------------------|---|
| 틸바 로신 (Tylosin) | 10.49 | 1042.25 | 1042.5 | 109.2 | 75 |
| | | | | 174.1 | 59 |
| | | | | 229.1 | 47 |
| 3-AT (3-O-acetyltylosin) | 10.07 | 958.14 | 958.6 | 772.0 | 45 |
| | | | | 772.5 | 41 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온
이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질
량분석기의 기기조건은 사용기기의
최적값으로 변경하여 사용할 수 있
으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용
이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

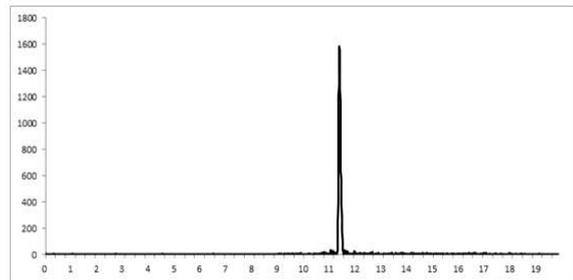
위의 조건으로 얻어진 크로
마토그램상의 피크는 표준용
액 피크의 머무름 시간과 비
교하여 일치하여야 한다. 또
한 표준용액과 시험용액의 선
구이온(Precursor ion) 및 생
성이온(Product ion)이 일치

하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

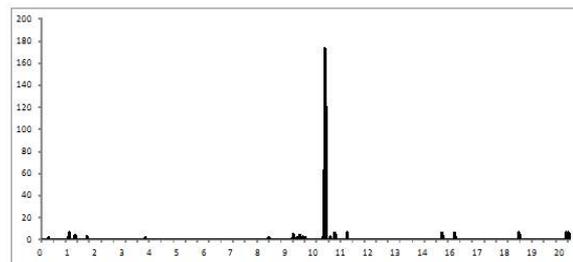
주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 30 % |

나) 표준품 크로마토그램



틸바로신(11.2분)



3-AT (10.07분)

그림 1. 틸바로신, 3-AT 표준품의 크로마토그램 (0.005 mg/kg)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에

| | |
|--------------------|--|
| <p><신 설></p> | <p>서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온 (Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각 정량한다.</p> <p>나) 정량한계</p> <p>틸바로신(Tylvalosin): 0.002 mg/kg</p> <p>3-AT(3-O-acetyltylosin): 0.0005 mg/kg</p> <p>8.3.112 메틸벤조쿠에이트 (Metylbenzoquate) 에프로토마이신(Efrotomycin)</p> <p>1) 시험법 적용범위</p> <p>축산물 등에 적용한다.</p> <p>2) 분석원리</p> <p>검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴로 추출하고 C₁₈ 분말로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.</p> <p>3) 장치</p> <p>액체크로마토그래프/질량분석기 (LC-MS/MS)</p> <p>4) 시약 및 시액</p> |
|--------------------|--|

| | |
|--|--|
| | <p>가) 용매: 액체크로마토그래프 용 또는 이와 동등한 것</p> <p>나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것</p> <p>다) 표준원액: 100 mL 용량플라 스크에 각 표준품을 정밀히 달아 0.1% 개미산 함유 메탄 올 용액(메틸벤조쿠에이트 는, 디메틸포름아미드 (Dimethylformamide, DMF)으로 녹여 100 mg/L 가 되게 한다. 조제된 표준 원액은 냉동 보관한다.</p> <p>라) 혼합표준용액: 100 mL 용 량플라스크에 각 표준원액 을 0.1% 개미산 함유 메탄 올 용액으로 희석하여 적 당한 농도가 되게 한다.</p> <p>마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 메탄올로 표 시선까지 채운다.</p> <p>바) 0.1% 개미산 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 물로 표시선 까지 채운다.</p> <p>사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것</p> <p>5) 시험용액의 조제</p> |
|--|--|

가) 유를 제외한 축산물

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g과 아세트니트릴 15 mL를 가한다. 이를 15분간 진탕한 혼합한 후 2,000 G에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취한다. 여기에 C₁₈ 분말 500 mg을 넣고 30초간 진탕한 후 2,000 G에서 5분간 원심분리한 후 상층액 6 mL를 새로운 원심분리관에 취하여 50°C에서 질소농축한다. 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가하여 재분산 한 후 0.2 μm 막 여과지 (PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

나) 유

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g, 아세트산나트륨 1 g, 아세트니트릴 15 mL를 가한다. 이를 15분간 진탕혼합한 후 2,000 G에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취한다. 여기에 C₁₈ 분말 500 mg을 분산시킨 후 30초간 진탕한 후 2,000 G에

서 5분간 원심분리한 후 상층액 6 mL를 새로운 원심분리관에 취하여 50℃에서 질소농축한다. 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가하여 재분산 한 후 0.2 μm 막 여과지(PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정 조건

(1) 칼럼 C₁₈(Kinetex 2.1 × 100 mm, 2.6 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 55 | 45 |
| 12 | 5 | 95 |
| 17 | 5 | 95 |
| 17.1 | 55 | 45 |
| 20 | 55 | 45 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 45℃

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 250℃

(3) Collision gas: Ar (아르곤)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자 량(MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌 에너지 (Collision Energy, eV) |
|----|--|--------------|-------------|---------------------------------|-------------------------------|---|
| 1 | 메틸벤 조쿠에 이트 (Methyl benzoate) | 7.8 | 365.4 | 366.0 | 228. 0 | 41 |
| | | | | | 159.0 | 47 |
| | | | | | 215.0 | 34 |
| 2 | 에프로 토마이 신 (Efroto mycin) | 7.7 | 1145. 3 | 1145. 6 | 1127. 5 | 13 |
| | | | | | 775.3 | 20 |
| | | | | | 151.9 | 55 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온
이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온 (product ion)에 대한 질
량분석기의 기기조건은 사용기기의
최적값으로 변경하여 사용할 수 있으
며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이
가능함

7) 정성시험

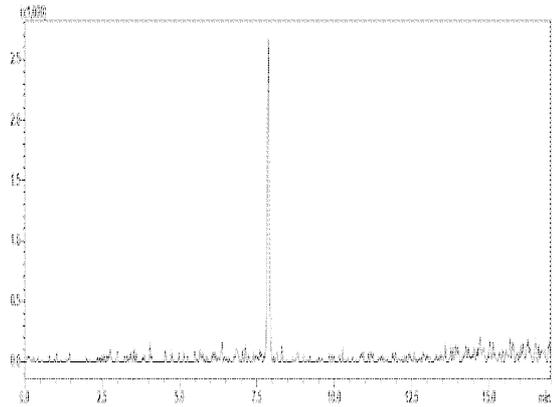
가) 위의 조건으로 얻어진 크
로마토그램상의 피크는 표
준용액 피크의 머무름 시간
과 비교하여 일치하여야 한
다. 또한 표준용액과 시험
용액의 선구이온(Precursor
ion) 및 생성이온 (Product
ion)이 일치하여야 하고, 표
준용액과 시험용액의 생성
이온간 반응세기의 비율
(Response ratio)을 비교하

여 그 비율이 주¹⁾과 일치하
여야 한다.

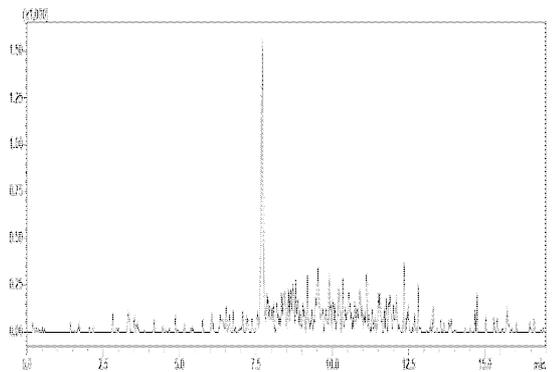
주1. 생성이온간 반응세기의
비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50 % | ≤20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤30 % |

나) 표준품 크로마토그램



메틸벤조쿠에이트 (7.8분)



에프로토마이신 (7.7분)

그림 1. 메틸벤조쿠에이트, 에
프로토마이신 표준품의 크로마
토그램(각 0.01 mg/L)

| | |
|--------------------|--|
| <p><신 설></p> | <p>8) <u>정량시험</u></p> <p>가) <u>정량</u></p> <p><u>정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.</u></p> <p>나) <u>정량한계</u></p> <p><u>메틸벤조쿠에이트(Methylbenzoquate): 0.005 mg/kg</u></p> <p><u>에프로토마이신(Efrotomycin): 0.005 mg/kg</u></p> <p>8.3.113. <u>클로르피리포스(Chlorpyrifos)</u></p> <p><u>제9. 4. 4.3. 4.3.1 4.3.1.2 클로르피리포스(Chlorpyrifos), 다이아지논(Diazinon), 에치온(Ethion), 페니트로치온(Fenitrothion), 메티다치온(Methidathion), 클로르펜빈포스(Chlorfenvinphos), 디크로보스(Dichlovos) 및 펜설폴티온(Fensulfothion)의 시험법에 따른다.</u></p> |
|--------------------|--|

<신 설>

8.3.114. 메토밀(Methomyl), 카벤다
짐(Carbendazim), 프로폭서
(Propoxur)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세
토니트릴, 염화나트륨으로 추
출하고 일차이차아민(Primary
Secondary Amine, PSA), C₁₈,
황산마그네슘(MgSO₄)로 정제
한 후 액체크로마토그래프/질
량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석
기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래
프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이
와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량
플라스크에 각 표준품을
정밀히 달아 메탄올에 녹
여 100 mg/L가 되게 한다.
조제된 표준원액은 냉동
보관한다.

라) 혼합 표준용액: 100 mL
용량플라스크에 각 표준원
액을 50% 메탄올로 희석

하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid)

용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 물로 표시선까지 채운다.

바) 0.1% 개미산 함유 메탄올

용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 2 g을 15 mL 원심분리관에 취하고 아세트 니트릴 5 mL와 염화나트륨 1 g을 가한다. 이를 10분간 진탕 혼합한 후 4°C에서 2,700 G로 10분간 원심분리한다. 상층액을 PSA 37.5 mg, C₁₈ 37.5 mg, 황산마그네슘 (MgSO₄) 225 mg이 담겨진 15 mL 원심분리관에 취하여 1분간 진탕하고 4°C에서 2,700 G로 10분간 원심분리한다. 상층액을 취하여 50°C에서 질소농축한 후 잔류물에 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액 0.5 mL와 0.1% 개미산

용액 0.5 mL로 재분산한다.
이를 5분간 초음파처리한 후
4 °C에서 13,500 G로 3분간
원심분리하여 상층액을 시험
용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정
조건

(1) 칼럼: C₁₈(Phenomenex
Luna 2.0 × 150 mm, 5 μ
m) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미
산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미
산 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 90 | 10 |
| 3 | 20 | 80 |
| 9 | 20 | 80 |
| 10 | 90 | 10 |
| 15 | 90 | 10 |

(3) 유속: 0.25 mL/분

(4) 칼럼온도: 40°C

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI (Positive)

(2) Capillary Temperature: 350°C

(3) Collision gas: N₂(질소)

(4) 분석대상물질의 개별 조건

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이
온이며 그 외 이온은 정성이온임

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무름시간 (분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy, eV) |
|----|-----------------------|--------------|-------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| 1 | 메토밀 (Methomyl) | 6.22 | 162.20 | 163.015 | 88.10 | 13 |
| | | | | | 105.90 | 15 |
| | | | | | 57.90 | 27 |
| 2 | 카벤다짐 (Carbendazim) | 5.56 | 191.19 | 192.057 | 160.10 | 25 |
| | | | | | 64.80 | 59 |
| | | | | | 104.90 | 47 |
| 3 | 프로폭서 (Propoxur) | 7.92 | 209.25 | 210.071 | 110.90 | 21 |
| | | | | | 92.90 | 35 |
| | | | | | 65.00 | 49 |

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

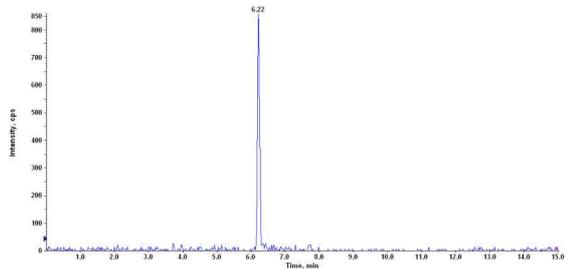
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율이 주¹⁾과 일치하여야 한다.

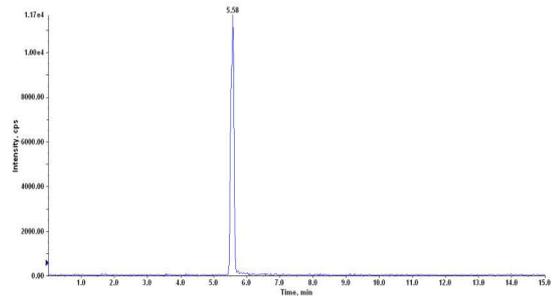
주1. 생성이온간 반응세기의
비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50% | ≤ 20% |
| > 20% ~ ≤ 50% | ≤ 25% |
| > 10% ~ ≤ 20% | ≤ 30% |

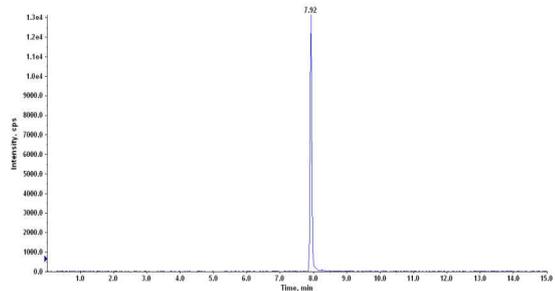
나) 표준품 크로마토그램



메토밀(6.22분)



카벤다짐(5.56분)



프로폭서(7.92분)

그림 1. 메토밀, 카벤다짐, 프로
폭서 표준품의 크로마토그램(각
0.005 mg/L)

| | |
|--------------------|---|
| <p><신 설></p> | <p>8) <u>정량시험</u></p> <p>가) <u>정량</u> <u>정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.</u></p> <p>나) <u>정량한계</u> <u>메토밀(Methomyl): 0.001 mg/kg</u> <u>카벤다짐(Carbendazim): 0.0001 mg/kg</u> <u>프로폭서(Propoxur): 0.0001 mg/kg</u></p> <p><u>8.3.115 포스멧(Phosmet), 테트라클로르빈포스(Tetrachlorvinphos)</u></p> <p>1) <u>시험법 적용범위</u> <u>축산물 등에 적용한다.</u></p> <p>2) <u>분석원리</u> <u>검체 중 분석대상물질을 80% 아세토니트릴로 추출하고, 헥산으로 정제한 후 액체크로</u></p> |
|--------------------|---|

마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기 (LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준품을 정밀히 달아 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액으로 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동보관한다.

라) 혼합표준용액: 100 mL 용량플라스크에 각 표준원액을 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액으로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 0.1% 개미산(Formic acid) 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.

바) 0.1% 개미산 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 1 mL를 넣고 물로 표

| | |
|--|--|
| | <p><u>시선까지 채운다.</u></p> <p><u>사) 80% 아세토니트릴 용액:</u> <u>1,000 mL 용량플라스크에</u> <u>아세토니트릴 800 mL를</u> <u>넣고 물로 표시선까지 채</u> <u>운다.</u></p> <p><u>아) 기타시약: 특급 또는 이</u> <u>와 동등한 것</u></p> <p><u>5) 시험용액의 조제</u></p> <p><u>가) 유, 알을 제외한 축산물</u> <u>균질화된 검체 5 g을 50</u> <u>mL 원심분리관에 취하고</u> <u>황산마그네슘 4 g, 염화나</u> <u>트륨 1 g, 80% 아세토니트</u> <u>릴 15 mL를 가하여 15분간</u> <u>진탕한 후 2,000 G에서 10</u> <u>분간 원심분리한다. 새로운</u> <u>원심분리관에 상층액을 취</u> <u>한 후 헥산 15 mL를 가하</u> <u>여 30초간 진탕하고 2,000</u> <u>G에서 5분간 원심분리 한</u> <u>다. 새로운 원심분리관에 하</u> <u>층액 1.5 mL를 취하여 50℃</u> <u>에서 질소농축한다. 여기에</u> <u>0.1% 개미산 용액:메탄올(1:1,</u> <u>v:v) 혼합용액 0.5 mL를 가</u> <u>하여 재분산 한 후 0.2 μm</u> <u>막여과지(PVDF membrane</u> <u>filter)로 여과시킨 것을 시험</u> <u>용액으로 한다.</u></p> |
|--|--|

나) 알, 유

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g(유는 6 g), 염화나트륨 1 g, 황산나트륨 1 g과 80% 아세토니트릴 15 mL를 가하여 15분간 진탕한 후, 2,000 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취한 후 헥산 15 mL를 가하여 30초간 진탕하고 2,000 G에서 5분간 원심분리 한다. 새로운 원심분리관에 하층액 1.5 mL 취하여 50℃에서 질소농축한다. 여기에 0.1% 개미산 용액:메탄올(1:1, v:v) 혼합용액 0.5 mL를 가하여 재분산 한 후 0.2 μm 막여과지 (PVDF membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정 조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Kinetex 2.1 × 100 mm, 2.6 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미

산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미

산을 함유한 메탄올

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 55 | 45 |
| 7 | 5 | 95 |
| 12 | 5 | 95 |
| 12.1 | 55 | 45 |
| 15 | 55 | 45 |

(3) 유속: 0.2 mL/분

(4) 칼럼온도: 45°C

(5) 주입량: 5 µL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary Temperature: 250°C

(6) Collision gas: Ar (아르곤)

(7) 분석대상물질의 개별 조건

| 연번 | 물질명 (Compound) | 머무 름 시 간(분) | 분자 량 (MW) | 선구 이온 (Pre cursor ion, m/z) | 생성이 온 (Produ ct ion, m/z) | 충돌에 너지 (Colli sion Energy, eV) |
|----|--|-------------------|-----------------|--|--|---|
| 1 | 포스멧 (phos met) | 4.8 | 317.3 | 318.0 | 160.0 | 12 |
| | | | | | 77.1 | 53 |
| | | | | | 133.0 | 36 |
| 2 | 테트라 클로르 빈포스 (tetrac hlorvin phos) | 6.2 | 366.0 | 367.0 | 127.0 | 15 |
| | | | | | 205.9 | 35 |
| | | | | | 240.9 | 20 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이
온이며 그 외 이온은 정성이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질
량분석기의 기기조건은 사용기기의
최적값으로 변경하여 사용할 수 있
으며, 제시된 이외의 생성이온도
적용이 가능함

7) 정성시험

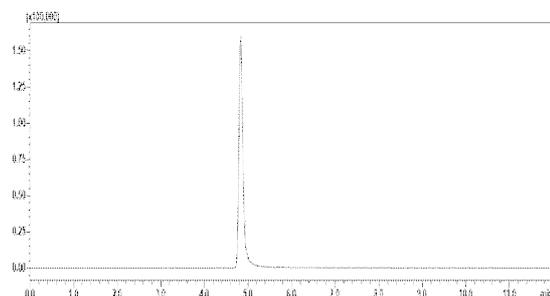
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

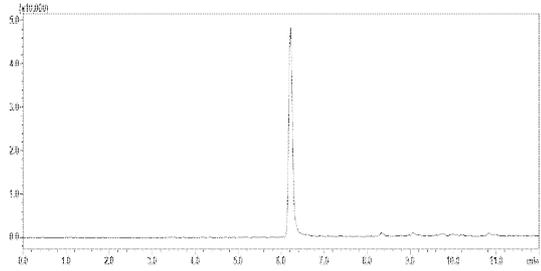
주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50 % | ≤20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤30 % |

나) 표준품 크로마토그램



포스멧(4.8분)



테트라클로르빈포스(6.2분)
그림 1. 포스멧, 테트라클로르빈포스 표준품의 크로마토그램(각 0.01 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

포스멧 (Phosmet) : 0.005 mg/kg

테트라클로르빈포스 (Tetrachlorvinphos) : 0.005 mg/kg

| | |
|--------------------|--|
| <p><신 설></p> | <p>8.3.116 노시헵타이드(Nosiheptide)</p> <p>1) <u>시험법 적용범위</u> <u>축산물 등에 적용한다.</u></p> <p>2) <u>분석원리</u> <u>검체 중 분석대상물질을 아세토니트릴로 추출하고, C₁₈ 분말로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.</u></p> <p>3) <u>장치</u> <u>액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)</u></p> <p>4) <u>시약 및 시액</u></p> <p>가) <u>용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>나) <u>물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것</u></p> <p>다) <u>표준원액: 100 mL 용량 플라스크에 노시헵타이드 표준품을 정밀히 달아 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액에 녹여 100 mg/L이 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.</u></p> <p>마) <u>표준용액: 100 mL 용량 플라스크에 표준원액을 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액으로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.</u></p> <p>바) <u>0.1% 개미산(Formic acid)</u></p> |
|--------------------|--|

| | |
|--|---|
| | <p><u>용액: 1,000 mL 용량플라스 크에 개미산 1 mL을 넣고 물로 표시선까지 채운다.</u></p> <p><u>사) 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스 크에 개미산 1 mL을 넣고 메탄올로 표시선까지 채운다.</u></p> <p><u>아) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것</u></p> <p><u>5) 시험용액의 조제</u></p> <p><u>균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g과 아세트니트릴 15 mL를 가하여 15분간 진탕한 후, 2,000 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취한 후 C₁₈ 분말 500 mg을 첨가하여 분산시킨 후 30 초간 진탕한다. 2,000 G로 5분간 원심분리한 후 상층액 6 mL를 새로운 원심분리관에 취하여 50°C에서 질소농축한다. 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가한 뒤 0.2 μm 막 여과지 (PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.</u></p> <p><u>6) 시험조작</u></p> <p><u>가) 액체크로마토그래프 측정</u></p> |
|--|---|

조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Kinetex, 2.1 × 100 mm, 2.6 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 0.1% 개미산 용액

(나) 이동상 B: 0.1% 개미산 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 55 | 45 |
| 12 | 25 | 75 |
| 12.1 | 5 | 95 |
| 17 | 5 | 95 |
| 17.1 | 55 | 45 |
| 20 | 55 | 45 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 45°C

(5) 주입량: 10 μL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI (Positive)

(2) Capillary Temperature: 250°C

(3) Collision gas: Ar (아르곤)

(4) 분석대상물질의 조건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간(분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) ¹ | 충돌에너지 (Collision Energy, eV) |
|----------------------|-----------|----------|---------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 노시헵타이드 (Nosiheptide) | 10.1 | 1222.4 | 1222.2 | 238.9 | 55 |
| | | | | 169.8 | 49 |
| | | | | 188.2 | 44 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이
온이며 그 외 이온들은 정성이온
임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한
질량분석기의 기기조건은 사용기
기의 최적값으로 변경하여 사용할
수 있으며, 제시된 이외의 생성이
온도 적용이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로
마토그램상의 피크는 표준용
액 피크의 머무름 시간과 비
교하여 일치하여야 한다. 또
한 표준용액과 시험용액의
선구이온(Precursor ion) 및
생성이온(Product ion)이 일
치하여야 하고, 표준용액과
시험용액의 생성이온간 반응
세기의 비율(Response ratio)
을 비교하여 그 비율은 주¹⁾
과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의
비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|-------|
| > 50 % | ≤20 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤25 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤30 % |

나) 표준품 크로마토그램

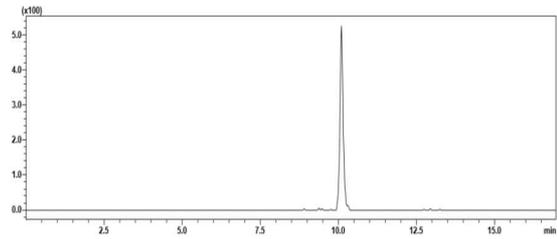


그림 1. 노시헵타이드 표준품의 크로마토그램(10.1분, 0.01 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

노시헵타이드(Nosiheptide) : 0.005 mg/kg

8.3.117 브로모프로필레이트(Bromopropylate)

1) 시험법 적용범위

축산물 등(벌꿀 포함)에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질은 아

<신 설>

세토니트릴로 추출하고 C₁₈ 분말로 정제한 후 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기(LC-MS/MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량 플라스크에 브로모필레이트 표준품을 정밀히 달아 5 mM 개미산암모늄 함유 메탄올 용액으로 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 표준용액: 100 mL 용량 플라스크에 표준원액을 5 mM 개미산 암모늄 함유 메탄올 용액으로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 5 mM 개미산 암모늄 (Ammonium formate) 함유 메탄올 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 암모늄 315.3 mg을 넣고 메

| | |
|--|---|
| | <p><u>탄올로 표시선까지 채운다.</u></p> <p><u>바) 5 mM 개미산 암모늄 용액: 1,000 mL 용량플라스크에 개미산 암모늄 315.3 mg을 넣고 물로 표시선까지 채운다.</u></p> <p><u>사) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것</u></p> <p><u>5) 시험용액의 조제</u></p> <p><u>가) 꿀을 제외한 축산물</u></p> <p><u>균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 황산마그네슘 4 g과 아세트 니트릴 15 mL를 가하여 15 분간 진탕한 후, 2,000 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취하고 C₁₈ 분말 500 mg을 첨가하여 분산시킨 후 30 초간 진탕한다. 2,000 G에서 5분간 원심분리 후 상층액 6 mL를 새로운 원심분리관에 취한 후 50°C에서 질소농축한다. 5 mM 개미산 암모늄 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가한 뒤 0.2 μm 막여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.</u></p> |
|--|---|

나) 꿀

균질화한 검체 2 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 물 2 g를 가한 후 1분간 진탕한다. 여기에 염화나트륨 2 g과 아세토니트릴 8 mL를 가하여 15분간 진탕한 후, 2,000 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 취하여 C₁₈ 분말 500 mg을 분산시킨 후 30 초간 진탕하고 2,000 G에서 5분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액을 모두 취하여 50°C에서 질소농축한다. 5 mM 개미산 암모늄 함유 메탄올 용액 0.4 mL를 가한 뒤 0.2 µm 막여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정 조건

(1) 칼럼 : C₁₈(Kinetex, 2.1 × 100 mm, 2.6 µm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A: 5 mM 개미산 암모늄 용액

(나) 이동상 B: 5 mM 개미산 암모늄 함유 메탄올 용액

| 시간(분) | 이동상 A(%) | 이동상 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0 | 35 | 65 |
| 4 | 5 | 95 |
| 9 | 5 | 95 |
| 9.1 | 45 | 65 |
| 11.5 | 45 | 65 |

(3) 유속: 0.3 mL/분

(4) 칼럼온도: 45°C

(5) 주입량: 10 µL

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization: ESI(Positive)

(2) Capillary temperature: 250°C

(3) Collision gas: Ar(아르곤)

(4) 분석대상물질의 조건

| 물질명 (Compound) | 머무름 시간 (분) | 분자량 (MW) | 선구이온 (Precursor ion, m/z) | 생성이온 (Product ion, m/z) | 충돌에너지 (Collision Energy, eV) |
|----------------------------|------------|----------|---------------------------|-------------------------|------------------------------|
| 브로모프로판레이트 (Bromopropylate) | 3.7 | 428.1 | 446.0 | 324.8 | 23 |
| | | | | 209.0 | 39 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량 이온이며 그 외 이온들은 정성 이온임

※ 각 생성이온(Product ion)에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용 기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의

생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 선구이온(Precursor ion) 및 생성이온(Product ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율(Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| <u>이온간 반응세기의 비율(%)</u> | <u>허용범위</u> |
|---------------------------|--------------|
| <u>> 50 %</u> | <u>≤20 %</u> |
| <u>> 20 % ~ ≤ 50 %</u> | <u>≤25 %</u> |
| <u>> 10 % ~ ≤ 20 %</u> | <u>≤30 %</u> |

나) 표준품 크로마토그램

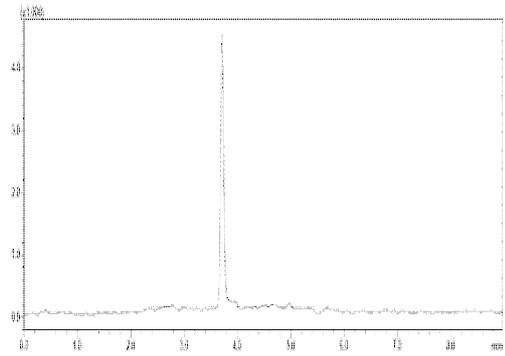


그림 1. 브로모프로필레이트 표준품의 크로마토그램(3.7분, 0.01 mg/L)

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온(Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

브로모프로필레이트(Bromopropylate): 0.005 mg/kg

<신 설>

8.3.118 퍼메트린(Permethrin)

제9. 4. 4.3. 4.3.1 4.3.1.4 클로르단

<신 설>

(Chlordane), 사이퍼메트린(Cypermethrin), 델타메트린(Deltamethrin), 에트림포스(Etrinfos), 펜발러레이트(Fenvalerate), 퍼메트린(Permethrin), 포레이트(Phorate), 포사론(Phosalone), 피리미포스메틸(Pirimiphos methyl), 프로파자이트(Propargite), 빈클로졸린(Vinclozolin) 의 시험법에 따른다.

8.3.119 이소유게놀(Isoeugenol)

1) 시험법 적용범위

어류 등에 적용한다.

2) 분석원리

검체 중 분석대상물질을 아세트니트릴로 추출하고, SPE 카트리지로 정제한 후 기체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

기체크로마토그래프/질량분석기 (GC-MS)

4) 시약 및 시액

가) 용매: 잔류농약 시험용 또는 이와 동등한 것

나) 물: 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액: 100 mL 용량플라스크에 이소유게놀 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다. 조

제된 표준원액은 냉동 보관한다.

라) 표준용액 : 100 mL 용량플라스크에 표준원액을 메탄올로 희석하여 적당한 농도가 되게 한다.

마) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화된 검체 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하고 아세토니트릴 10 mL를 가하여 15분간 진탕한 후 2,200 G에서 10분간 원심분리한다. 새로운 원심분리관에 상층액 4 mL를 취한 후 물 30 mL를 넣고 5분간 진탕하여 추출액으로 한다. 미리 메탄올 2 mL와 물 2 mL로 활성화시킨 C₁₈ 카트리지에 추출액을 흡착시킨다. 물 2 mL로 세척한 후, 감압하여 물을 완전히 제거하고, 2 mL의 메탄올로 용출하여 15 mL 원심분리관에 취한다. 무수황산나트륨 500 mg을 가하여 5분간 진탕하고, 상층액 1 mL를 마이크로 원심분리기 튜브에 취한다. 2,200 G에서 2분간 원심분리한 후 0.2 μm 막여과지(PTFE membrane filter)로 여과시킨 것을 시험용액으로 한다

6) 시험조작

가) 기체크로마토그래프 측정조

건

- (1) 칼럼 : HS-5MS(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 또는 이와 동등한 것
- (2) 운반기체(Carrier gas) 및 유량 : 헬륨(He), 1 mL/분
- (3) 주입부 온도: 280℃
- (4) 주입량: 1 μL
- (5) 주입모드: Split mode(2:1, split ratio)
- (6) 오븐온도:

| 시간 (분) | 온도 (℃) | 유지시간 (분) |
|--------|--------|----------|
| 0 | 120 | 2 |
| 7 | 190 | 0 |
| 10 | 280 | 10 |

나) 질량분석기 조건

- (1) 이온 모드: EI
- (2) 인터페이스 온도: 280℃
- (3) 이온에너지: 70 eV
- (4) 모드: SIM
- (5) 분석대상물질의 개별 조건

| 물질명 (Compound) | 머무 름 시간 (분) | 분자 량 (MW) | 생성이온 (Fragment ion, m/z) |
|-----------------------|----------------------|-----------------|--------------------------------|
| 이소유게놀 (Isoeugenol) | 5.8 | 164.1 | 164.1 |
| | | | 103.2 |
| | | | 131.1 |

※ 밑줄 표시 되어 있는 것은 정량이온이며 그 외 이온들은 정성이온임

※ 각 생성이온(Fragment ion)에 대한

질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함

7) 정성시험

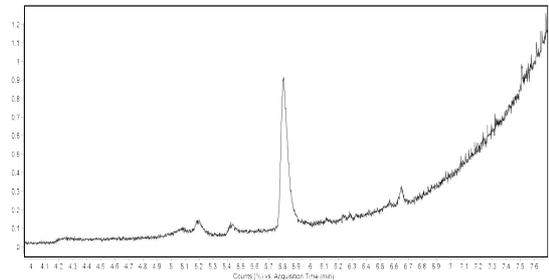
가) 정성

위의 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크는 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하여 일치하여야 한다. 또한 표준용액과 시험용액의 생성이온 (Fragment ion)이 일치하여야 하고, 표준용액과 시험용액의 생성이온간 반응세기의 비율 (Response ratio)을 비교하여 그 비율은 주¹⁾과 일치하여야 한다.

주1. 생성이온간 반응세기의 비율 허용범위

| 이온간 반응세기의 비율(%) | 허용범위 |
|-----------------|--------|
| > 50 % | ≤ 10 % |
| > 20 % ~ ≤ 50 % | ≤ 15 % |
| > 10 % ~ ≤ 20 % | ≤ 20 % |

나) 표준품 크로마토그램



이소유게놀 (isoeugenol)

그림 1. 이소유게놀(5.8분, 0.01 mg/kg) 표준품의 크로마토그램

8) 정량시험

가) 정량

정성시험과 똑같은 조건에서 표준용액을 일정농도로 제조한 후 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성하고, 시험용액의 크로마토그램으로부터 정량이온 (Quantitative ion)의 각 피크 높이 또는 피크 면적에 따라 각각 정량한다.

나) 정량한계

이소유게놀(Isoeugenol) : 0.005 mg/kg

[별표 3] 농산물의 농약 잔류허용기준

(1) ~ (38) (생 약)

(39) 메타미도포스(Methamidophos)
(생 약)

| | |
|-----|-----|
| 감귤 | 0.5 |
| 피망 | 2.0 |
| 복숭아 | 1.0 |
| 쌀 | 0.5 |
| 오이 | 1.0 |

[별표 3] 농산물의 농약 잔류허용기준

(1) ~ (38) (현행과 같음)

(39) 메타미도포스(Methamidophos)
(현행과 같음)

| | |
|-----|-----|
| 감귤 | 0.2 |
| 피망 | 1.0 |
| 복숭아 | 0.2 |
| 쌀 | 0.2 |
| 오이 | 0.2 |

| | |
|------------------------------------|---------------------------------------|
| <u>토마토</u> 2.0 | <u>토마토</u> 0.2 |
| <u>배추</u> 1.0 | <u>배추</u> 0.7 |
| (40) ~ (65) (생 약) | (40) ~ (65) (현행과 같음) |
| (66) 사이퍼메트린(Cypermethrin) (생 약) | (66) 사이퍼메트린(Cypermethrin) (현행과 같음) |
| <u>아몬드</u> 2.0 | <삭 제> |
| <u>피칸</u> 2.0 | <삭 제> |
| <u>견과류</u> 2.0 | <u>견과류</u> 0.05 [†] |
| (67) (생 약) | (67) (현행과 같음) |
| (68) 사이할로트린(Cyhalothrin) (생 약) | (68) 사이할로트린(Cyhalothrin) (현행과 같음) |
| <u>면실</u> 0.02 | <u>면실</u> 0.01 [†] |
| (69) ~ (77) (생 약) | (69) ~ (77) (현행과 같음) |
| (78) 알라클로르(Alachlor) (생 약) | (78) 알라클로르(Alachlor) (현행과 같음) |
| <u>대두</u> 0.2 | <u>대두</u> 0.05 |
| (79) ~ (94) (생 약) | (79) ~ (94) (현행과 같음) |
| (95) 옥사딕실(Oxadixyl) (생 약) | (95) 옥사딕실(Oxadixyl) (현행과 같음) |
| <u>쌀</u> 1.0 | <u>쌀</u> 0.1 |
| <u>양파</u> 5.0 | <u>양파</u> 0.5 |

| | |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| (96) 옥사밀(Oxamyl) (생 약) | (96) 옥사밀(Oxamyl) (현행과 같음) |
| <u>면실</u> 0.2 | <u>면실</u> 0.15 [†] |
| <u>땅콩</u> 0.1 | <u>땅콩</u> 0.04 [†] |
| (97) ~ (104) (생 약) | (97) ~ (104) (현행과 같음) |
| (105) 이프로디온(Iprodione) (생 약) | (105) 이프로디온(Iprodione) (현행과 같음) |
| <u>배</u> 10 | <u>배</u> 5.0 |
| <u>복숭아</u> 10 | <u>복숭아</u> 2.0 |
| <u>사과</u> 10 | <u>사과</u> 5.0 |
| <u>쌀</u> 3.0 | <u>쌀</u> 0.2 |
| <u>아몬드</u> 0.3 | <u>아몬드</u> 0.2 [†] |
| <u>양파</u> 0.1 | <u>양파</u> 0.05 |
| <u>토마토</u> 5.0 | <u>토마토</u> 2.0 |
| (106) ~ (110) (생 약) | (106) ~ (110) (현행과 같음) |
| (111) 카바릴(Carbaryl: NAC) (생 약) | (111) 카바릴(Carbaryl: NAC) (현행과 같음) |
| <u>감자</u> 0.2 | <u>감자</u> 0.05 |
| (112) 카벤다짐(Carbendazim) (생 약) | (112) 카벤다짐(Carbendazim) (현행과 같음) |
| <u>마늘</u> 1.0 | <u>마늘</u> 0.2 |
| (113) (생 약) | (113) (현행과 같음) |
| (114) 카보퓨란(Carbofuran) | (114) 카보퓨란(Carbofuran) |

| | | | |
|---------------------|-----|------------------------|------|
| (생 약) | | (현행과 같음) | |
| 감자 | 0.5 | 감자 | 0.05 |
| 고추 | 0.7 | 고추 | 0.05 |
| 당근 | 0.5 | 당근 | 0.05 |
| 땅콩 | 0.5 | 땅콩 | 0.05 |
| 멜론 | 0.4 | 멜론 | 0.05 |
| 배추 | 0.3 | 배추 | 0.05 |
| 엇갈이배추 | 0.3 | 엇갈이배추 | 0.05 |
| 복숭아 | 0.2 | 복숭아 | 0.05 |
| 사과 | 0.5 | 사과 | 0.2 |
| 수박 | 0.1 | 수박 | 0.05 |
| 쌀 | 0.3 | 쌀 | 0.02 |
| 양파 | 0.1 | 양파 | 0.05 |
| 오이 | 0.5 | 오이 | 0.05 |
| 옥수수 | 0.1 | 옥수수 | 0.05 |
| 참외 | 0.1 | 참외 | 0.05 |
| 토마토 | 0.1 | 토마토 | 0.05 |
| 과 | 0.5 | 과 | 0.05 |
| 포도 | 0.1 | 포도 | 0.05 |
| (115) 카복신(Carboxin) | | (115) 카복신(Carboxin) | |
| (생 약) | | (현행과 같음) | |
| 쌀 | 0.2 | 쌀 | 0.05 |
| (116) ~ (117) (생 약) | | (116) ~ (117) (현행과 같음) | |
| (118) 캡탄(Captan) | | (118) 캡탄(Captan) | |
| (생 약) | | (현행과 같음) | |
| 배 | 5.0 | 배 | 3.0 |
| 보리 | 5.0 | 보리 | 0.05 |

| | | | |
|---------------------------------------|-------------|--|------------------------|
| <u>수박</u> | <u>5.0</u> | <u>수박</u> | <u>2.0</u> |
| <u>아몬드</u> | <u>2.0</u> | <u>아몬드</u> | <u>0.2[†]</u> |
| <u>양파</u> | <u>5.0</u> | <u>양파</u> | <u>0.05</u> |
| (119) ~ (120) (생 약) | | (119) ~ (120) (현행과 같음) | |
| (121) 클레토딴(Clethodim) (생 약) | | (121) 클레토딴(Clethodim) (현행과 같음) | |
| <u>대두</u> | <u>10.0</u> | <u>대두</u> | <u>0.05</u> |
| <u>감자</u> | <u>0.2</u> | <u>감자</u> | <u>0.05</u> |
| <u>도라지</u> | <u>0.1</u> | <u>도라지</u> | <u>0.05</u> |
| <u>딸기</u> | <u>0.1</u> | <u>딸기</u> | <u>0.05</u> |
| <u>마늘</u> | <u>0.2</u> | <u>마늘</u> | <u>0.05</u> |
| <u>무(뿌리)</u> | <u>0.1</u> | <u>무(뿌리)</u> | <u>0.05</u> |
| <u>무(잎)</u> | <u>0.1</u> | <u>무(잎)</u> | <u>0.05</u> |
| <u>양파</u> | <u>0.2</u> | <u>양파</u> | <u>0.05</u> |
| <u>참깨</u> | <u>0.1</u> | <u>참깨</u> | <u>0.05</u> |
| <u>과</u> | <u>0.1</u> | <u>과</u> | <u>0.05</u> |
| (122) ~ (124) (생 약) | | (122) ~ (124) (현행과 같음) | |
| (125) 클로로탈로닐(Chlorothalonil) (생 약) | | (125) 클로로탈로닐(Chlorothalonil) (현행과 같음) | |
| <u>당근</u> | <u>1.0</u> | <u>당근</u> | <u>0.05</u> |
| <u>땅콩</u> | <u>0.3</u> | <u>땅콩</u> | <u>0.05</u> |
| <u>양파</u> | <u>1.0</u> | <u>양파</u> | <u>0.5</u> |
| <u>참외</u> | <u>5.0</u> | <u>참외</u> | <u>2.0</u> |
| (126) ~ (130) (생 약) | | (126) ~ (130) (현행과 같음) | |

| | |
|--|---|
| (131) 클로르피리포스(Chlorpyrifos) (생 약) | (131) 클로르피리포스(Chlorpyrifos) (현행과 같음) |
| <u>마늘</u> 0.5 | <u>마늘</u> 0.05 |
| <u>밥</u> 0.2 | <u>밥</u> 0.05 |
| <u>양파</u> 0.5 | <u>양파</u> 0.05 |
| (132) (생 약) | (132) (현행과 같음) |
| (133) 테부코나졸(Tebuconazole) (생 약) | (133) 테부코나졸(Tebuconazole) (현행과 같음) |
| <u>땅콩</u> 0.1 | <u>땅콩</u> 0.05 |
| (134) ~ (138) (생 약) | (134) ~ (138) (현행과 같음) |
| (139) 톨클로포스메틸(Tolclofos-methyl) (생 약) | (139) 톨클로포스메틸(Tolclofos-methyl) (현행과 같음) |
| <u>감자</u> 0.2 | <u>감자</u> 0.05 |
| (140) (생 약) | (140) (현행과 같음) |
| (141) 트리아디메놀(Triadimenol) (생 약) | (141) 트리아디메놀(Triadimenol) (현행과 같음) |
| <u>배</u> 0.5 | <u>배</u> 0.1 |
| (142) 트리아디메폰(Triadimefon) (생 약) | (142) 트리아디메폰(Triadimefon) (현행과 같음) |
| <u>배</u> 0.5 | <u>배</u> 0.2 |
| <u>사과</u> 0.5 | <u>사과</u> 0.1 |
| <u>포도</u> 1.0 | <u>포도</u> 0.05 |

| | |
|-------------------------------------|--|
| (143) ~ (146) (생 약) | (143) ~ (146) (현행과 같음) |
| (147) 트리포린(Triforine) (생 약) | (147) 트리포린(Triforine) (현행과 같음) |
| <u>가지</u> 0.5 | <u>가지</u> 0.2 |
| <u>보리</u> 0.1 | <u>보리</u> 0.05 |
| (148) (생 약) | (148) (현행과 같음) |
| (149) 트리플루미졸(Triflumizole) (생 약) | (149) 트리플루미졸(Triflumizole) (현행과 같음) |
| <u>가지</u> 1.0 | <u>가지</u> 0.2 |
| <u>멜론</u> 2.0 | <u>멜론</u> 0.05 |
| (150) 티아벤다졸(Thiabendazole) (생 약) | (150) 티아벤다졸(Thiabendazole) (현행과 같음) |
| <u>사과</u> 10 | <u>사과</u> 5.0 |
| (151) (생 약) | (151) (현행과 같음) |
| (152) 티오벤카브(Thiobencarb) (생 약) | (152) 티오벤카브(Thiobencarb) (현행과 같음) |
| <u>마늘</u> 0.2 | <u>마늘</u> 0.05 |
| <u>무(뿌리)</u> 0.2 | <u>무(뿌리)</u> 0.05 |
| <u>무(잎)</u> 0.2 | <u>무(잎)</u> 0.05 |
| <u>배추</u> 0.2 | <u>배추</u> 0.05 |
| <u>엇갈이배추</u> 0.2 | <u>엇갈이배추</u> 0.05 |
| <u>보리</u> 0.1 | <u>보리</u> 0.05 |
| <u>쌀</u> 0.2 | <u>쌀</u> 0.05 |
| <u>양파</u> 0.2 | <u>양파</u> 0.05 |

| | |
|--|---|
| (153) ~ (161) (생 약) | (153) ~ (161) (현행과 같음) |
| (162) 페니트로티온(Fenitrothion: MEP) (생 약) | (162) 페니트로티온(Fenitrothion: MEP) (현행과 같음) |
| <u>대두</u> 0.1 | <u>대두</u> 0.05 |
| <u>땅콩</u> 0.2 | <u>땅콩</u> 0.05 |
| <u>밤</u> 0.1 | <u>밤</u> 0.05 |
| <u>포도</u> 0.5 | <u>포도</u> 0.3 |
| (163) 펜디메탈린(Pendimethalin) (생 약) | (163) 펜디메탈린(Pendimethalin) (현행과 같음) |
| <u>감자</u> 0.2 | <u>감자</u> 0.05 |
| <u>고구마</u> 0.2 | <u>고구마</u> 0.05 |
| <u>대두</u> 0.2 | <u>대두</u> 0.05 |
| <u>생강</u> 0.2 | <u>생강</u> 0.05 |
| <u>양배추</u> 0.2 | <u>양배추</u> 0.05 |
| <u>양파</u> 0.2 | <u>양파</u> 0.05 |
| <u>과</u> 0.2 | <u>과</u> 0.05 |
| (164) 펜발러레이트(Fenvalerate) (생 약) | (164) 펜발러레이트(Fenvalerate) (현행과 같음) |
| <u>밤</u> 0.2 | <u>밤</u> 0.05 |
| <u>아몬드</u> 0.2 | <u>아몬드</u> 0.15 [†] |
| <u>호두</u> 0.2 | <u>호두</u> 0.04 [†] |
| (165) 펜뷰코나졸(Fenbuconazole) (생 약) | (165) 펜뷰코나졸(Fenbuconazole) (현행과 같음) |
| <u>바나나</u> 0.3 | <u>바나나</u> 0.02 [†] |
| <u>사과</u> 2.0 | <u>사과</u> 0.7 |

| | |
|--|---|
| (166) 펜부타틴옥사이드(Fenbutatin oxide) (생 약) <u>배</u> 5.0 <u>사과</u> 5.0 | (166) 펜부타틴옥사이드(Fenbutatin oxide) (현행과 같음) <u>배</u> 1.0 <u>사과</u> 2.0 |
| (167) ~ (169) (생 약) | (167) ~ (169) (현행과 같음) |
| (170) 펜토에이트(Phenthoate : PAP) (생 약) <u>옥수수</u> 0.2 | (170) 펜토에이트(Phenthoate : PAP) (현행과 같음) <u>옥수수</u> 0.05 |
| (171) 펜프로파트린(Fenpropathrin) (생 약) <u>배</u> 5.0 <u>사과</u> 5.0 <u>수박</u> 5.0 | (171) 펜프로파트린(Fenpropathrin) (현행과 같음) <u>배</u> 0.5 <u>사과</u> 1.0 <u>수박</u> 0.2 |
| (172) ~ (177) (생 약) | (172) ~ (177) (현행과 같음) |
| (178) 폭심(Phoxim) (생 약) <u>고추</u> 0.1 | (178) 폭심(Phoxim) (현행과 같음) <u>고추</u> 0.05 |
| (179) 폴펫(Folpet) (생 약) <u>딸기</u> 5.0 <u>오이</u> 5.0 | (179) 폴펫(Folpet) (현행과 같음) <u>딸기</u> 3.0 <u>오이</u> 0.5 |
| (180) ~ (182) (생 약) | (180) ~ (182) (현행과 같음) |

| | |
|---|--|
| (183) 플루아지포프-뷰틸 (Fluazifop-butyl) (생 약) | (183) 플루아지포프-뷰틸 (Fluazifop-butyl) (현행과 같음) |
| <u>고구마</u> 0.5 | <u>고구마</u> 0.05 |
| <u>당근</u> 2.0 | <u>당근</u> 0.05 |
| <u>대두</u> 1.0 | <u>대두</u> 0.05 |
| <u>양파</u> 0.5 | <u>양파</u> 0.05 |
| (184) (생 약) | (184) (현행과 같음) |
| (185) 프로사이미돈(Procymidone) (생 약) | (185) 프로사이미돈(Procymidone) (현행과 같음) |
| <u>복숭아</u> 10.0 | <u>복숭아</u> 0.5 |
| <u>수박</u> 2.0 | <u>수박</u> 0.2 |
| <u>포도</u> 5.0 | <u>포도</u> 2.0 |
| (186) (생 약) | (186) (현행과 같음) |
| (187) 프로파닐(Propanil) (생 약) | (187) 프로파닐(Propanil) (현행과 같음) |
| <u>쌀</u> 0.2 | <u>쌀</u> 0.05 |
| (188) 프로파모카브(Propamocarb) (생 약) | (188) 프로파모카브(Propamocarb) (현행과 같음) |
| <u>양파</u> 1.0 | <u>양파</u> 0.1 |
| (189) ~ (191) (생 약) | (189) ~ (191) (현행과 같음) |
| (192) 프로피코나졸(Propiconazole) | (192) 프로피코나졸(Propiconazole) |

| | |
|--|---|
| (생 약) | (현행과 같음) |
| <u>수수</u> 1.0 | <u>수수</u> 0.3 |
| <u>바나나</u> 0.1 | <u>바나나</u> 0.06 [*] |
| (193) ~ (195) (생 약) | (193) ~ (195) (현행과 같음) |
| (196) 피리미포스메틸(Primiphos-methyl) (생 약) | (196) 피리미포스메틸(Primiphos-methyl) (현행과 같음) |
| <u>사과</u> 2.0 | <u>사과</u> 0.7 |
| (197) ~ (254) (생 약) | (197) ~ (254) (현행과 같음) |
| (255) 파목사돈(Famoxadone) (생 약) | (255) 파목사돈(Famoxadone) (현행과 같음) |
| <u>감자</u> 0.1 | <u>감자</u> 0.05 |
| <u>참깨</u> 0.1 | <u>참깨</u> 0.05 |
| (256) ~ (462) (생 약) | (256) ~ (462) (현행과 같음) |
| [별표 4] 축산물의 농약 잔류허용기준 | [별표 4] 축산물의 농약 잔류허용기준 |
| (1) ~ (38) (생 약) | (1) ~ (38) (현행과 같음) |
| (39) 카보퓨란(Carbofuran) (생 약) | (39) 카보퓨란(Carbofuran) (현행과 같음) |
| <u>유</u> 0.05 | <u>유</u> 0.02 |
| (40) ~ (42) (생 약) | (40) ~ (42) (현행과 같음) |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---|---------|---------------|------|-------------|---------|--------------|--------|---------------|------|---|----------------------|------------|--------------------|----------|--------------------|----------|----------------------------|---|-------------------------------|---------|------------------------|------|--------------------|--|--------------------|--|--------------------|--|--------------------|--|--------------------|--|--------------------|--|
| <p>(43) 클로르피리포스(Chlorpyrifos) (생 약)</p> <table border="0"> <tr><td><u>가금류고기</u></td><td>0.01(f)</td></tr> <tr><td><u>가금류부산물</u></td><td>0.01</td></tr> <tr><td><u>돼지고기</u></td><td>0.02(f)</td></tr> <tr><td><u>돼지부산물</u></td><td>0.01</td></tr> <tr><td><u>소간</u></td><td>0.01</td></tr> <tr><td><u>소신장</u></td><td>0.01</td></tr> <tr><td><u>소고기</u></td><td>1.0(f)</td></tr> <tr><td><u>알</u></td><td>0.01</td></tr> <tr><td><u>유</u></td><td>0.02</td></tr> </table> | <u>가금류고기</u> | 0.01(f) | <u>가금류부산물</u> | 0.01 | <u>돼지고기</u> | 0.02(f) | <u>돼지부산물</u> | 0.01 | <u>소간</u> | 0.01 | <u>소신장</u> | 0.01 | <u>소고기</u> | 1.0(f) | <u>알</u> | 0.01 | <u>유</u> | 0.02 | <p>(43) 클로르피리포스(Chlorpyrifos) (현행과 같음)</p> <table border="0"> <tr><td><u>가금류고기(닭고기 제외)</u></td><td>0.01(f)</td></tr> <tr><td><u>가금류부산물(닭부산물 제외)</u></td><td>0.01</td></tr> <tr><td><u><삭 제></u></td><td></td></tr> <tr><td><u><삭 제></u></td><td></td></tr> <tr><td><u><삭 제></u></td><td></td></tr> <tr><td><u><삭 제></u></td><td></td></tr> <tr><td><u><삭 제></u></td><td></td></tr> <tr><td><u><삭 제></u></td><td></td></tr> </table> | <u>가금류고기(닭고기 제외)</u> | 0.01(f) | <u>가금류부산물(닭부산물 제외)</u> | 0.01 | <u><삭 제></u> | |
| <u>가금류고기</u> | 0.01(f) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>가금류부산물</u> | 0.01 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>돼지고기</u> | 0.02(f) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>돼지부산물</u> | 0.01 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>소간</u> | 0.01 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>소신장</u> | 0.01 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>소고기</u> | 1.0(f) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>알</u> | 0.01 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>유</u> | 0.02 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>가금류고기(닭고기 제외)</u> | 0.01(f) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>가금류부산물(닭부산물 제외)</u> | 0.01 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u><삭 제></u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u><삭 제></u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u><삭 제></u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u><삭 제></u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u><삭 제></u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u><삭 제></u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>(44) ~ (48) (생 약)</p> | <p>(44) ~ (48) (현행과 같음)</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>(49) 퍼메트린(Permethrin)</p> <table border="0"> <tr><td><u>가금류고기</u></td><td>0.1</td></tr> <tr><td><u>알</u></td><td>0.1</td></tr> <tr><td><u>유</u></td><td>0.1(F)</td></tr> <tr><td><u>포유류고기</u></td><td>1.0(f)</td></tr> <tr><td><u>포유류부산물</u></td><td>0.1</td></tr> </table> | <u>가금류고기</u> | 0.1 | <u>알</u> | 0.1 | <u>유</u> | 0.1(F) | <u>포유류고기</u> | 1.0(f) | <u>포유류부산물</u> | 0.1 | <p>(49) 퍼메트린(Permethrin)</p> <table border="0"> <tr><td><u>가금류고기(닭고기 제외)</u></td><td>0.1</td></tr> <tr><td><u><삭 제></u></td><td></td></tr> <tr><td><u><삭 제></u></td><td></td></tr> <tr><td><u>포유류고기(소고기, 돼지고기 제외)</u></td><td>1.0(f)</td></tr> <tr><td><u>포유류부산물(소부산물, 돼지부산물 제외)</u></td><td>0.1</td></tr> </table> | <u>가금류고기(닭고기 제외)</u> | 0.1 | <u><삭 제></u> | | <u><삭 제></u> | | <u>포유류고기(소고기, 돼지고기 제외)</u> | 1.0(f) | <u>포유류부산물(소부산물, 돼지부산물 제외)</u> | 0.1 | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>가금류고기</u> | 0.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>알</u> | 0.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>유</u> | 0.1(F) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>포유류고기</u> | 1.0(f) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>포유류부산물</u> | 0.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>가금류고기(닭고기 제외)</u> | 0.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u><삭 제></u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u><삭 제></u> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>포유류고기(소고기, 돼지고기 제외)</u> | 1.0(f) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <u>포유류부산물(소부산물, 돼지부산물 제외)</u> | 0.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>(50) ~ (85) (생 약)</p> | <p>(50) ~ (85) (현행과 같음)</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>[별표 5] 식품 중 동물용의약품 잔류허용기준 (1) ~ (172) (생 약)</p> | <p>[별표 5] 식품 중 동물용의약품 잔류허용기준 (1) ~ (172) (현행과 같음)</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p><u><신 설></u></p> | <p><u>(176) 클라노부틴(Clanobutin): 기타</u> <u>◎ 잔류물의 정의 : Clanobutin</u></p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | |
|--------------------|---|------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| | <table border="1"> <tbody> <tr><td><u>소근육</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> <tr><td><u>돼지근육</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> <tr><td><u>말근육</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> <tr><td><u>양근육</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> <tr><td><u>염소근육</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> </tbody> </table> | <u>소근육</u> | <u>0.01</u> | <u>돼지근육</u> | <u>0.01</u> | <u>말근육</u> | <u>0.01</u> | <u>양근육</u> | <u>0.01</u> | <u>염소근육</u> | <u>0.01</u> |
| <u>소근육</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u>돼지근육</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u>말근육</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u>양근육</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u>염소근육</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u><신 설></u> | <p>(177) <u>나프타존(Naftazone): 기타</u> <u>◎ 잔류물의 정의 : Naftazone</u></p> | | | | | | | | | | |
| | <table border="1"> <tbody> <tr><td><u>소근육</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> <tr><td><u>돼지근육</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> <tr><td><u>말근육</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> </tbody> </table> | <u>소근육</u> | <u>0.01</u> | <u>돼지근육</u> | <u>0.01</u> | <u>말근육</u> | <u>0.01</u> | | | | |
| <u>소근육</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u>돼지근육</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u>말근육</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u><신 설></u> | <p>(178) <u>디클로르보스(Dichlorvos): 살충제</u> <u>◎ 잔류물의 정의 : Dichlorvos</u></p> | | | | | | | | | | |
| | <table border="1"> <tbody> <tr><td><u>소근육</u></td><td><u>0.05</u></td></tr> <tr><td><u>돼지근육</u></td><td><u>0.05</u></td></tr> <tr><td><u>닭근육</u></td><td><u>0.05</u></td></tr> <tr><td><u>유</u></td><td><u>0.02</u></td></tr> <tr><td><u>알</u></td><td><u>0.01</u></td></tr> </tbody> </table> | <u>소근육</u> | <u>0.05</u> | <u>돼지근육</u> | <u>0.05</u> | <u>닭근육</u> | <u>0.05</u> | <u>유</u> | <u>0.02</u> | <u>알</u> | <u>0.01</u> |
| <u>소근육</u> | <u>0.05</u> | | | | | | | | | | |
| <u>돼지근육</u> | <u>0.05</u> | | | | | | | | | | |
| <u>닭근육</u> | <u>0.05</u> | | | | | | | | | | |
| <u>유</u> | <u>0.02</u> | | | | | | | | | | |
| <u>알</u> | <u>0.01</u> | | | | | | | | | | |
| <u><신 설></u> | <p>(179) <u>사이로마진(Cyromazine): 살충제</u> <u>◎ 잔류물의 정의 : Cyromazine</u></p> | | | | | | | | | | |
| | <table border="1"> <tbody> <tr><td><u>닭근육</u></td><td><u>0.05</u></td></tr> <tr><td><u>알</u></td><td><u>0.05</u></td></tr> </tbody> </table> | <u>닭근육</u> | <u>0.05</u> | <u>알</u> | <u>0.05</u> | | | | | | |
| <u>닭근육</u> | <u>0.05</u> | | | | | | | | | | |
| <u>알</u> | <u>0.05</u> | | | | | | | | | | |
| <u><신 설></u> | <p>(180) <u>날리드(Naled): 살충제</u> <u>◎ 잔류물의 정의 : Dichlorvos</u> <u>(178) 디클로르보스(Dichlorvos)</u> <u>잔류허용기준에 따른다</u></p> | | | | | | | | | | |

| | |
|--------------------|--|
| <p><신 설></p> | <p>(181) <u>틸바로신(Tylvalosin): 항균제</u> ◎ <u>잔류물의 정의 : Tylvalosin 과 3-O-acetyltylosin(3-AT)의 합</u> <u>돼지근육</u> 0.05 <u>돼지간</u> 0.05 <u>돼지신장</u> 0.05 <u>돼지지방</u> 0.05 <u>닭근육</u> 0.025 <u>닭간</u> 0.05 <u>닭지방</u> 0.05</p> |
| <p><신 설></p> | <p>(182) <u>에프로토마이신(Efrotomycin): 항균제</u> ◎ <u>잔류물의 정의 : Efrotomycin</u> <u>돼지근육</u> 0.01</p> |
| <p><신 설></p> | <p>(183) <u>메틸벤조쿠에이트(Methylbenzoquate, Nequate): 항원충제</u> ◎ <u>잔류물의 정의 : Methylbenzoquate</u> <u>닭근육</u> 0.01</p> |
| <p><신 설></p> | <p>(184) <u>테트라클로르빈포스(Tetrachlorvinphos): 살충제</u> ◎ <u>잔류물의 정의 : Tetrachlorvinphos</u> <u>소근육</u> 0.01 <u>돼지근육</u> 0.01 <u>닭근육</u> 0.01 <u>말근육</u> 0.01 <u>염소근육</u> 0.01 <u>양근육</u> 0.01</p> |

| | |
|--------------------|---|
| <p><신 설></p> | <p>사슴근육 0.01</p> <p>유 0.01</p> <p>알 0.01</p> |
| <p><신 설></p> | <p>(185) 메토밀(Methomyl): 살충제</p> <p>◎ 잔류물의 정의 : Methomyl</p> <p>소근육 0.02</p> <p>돼지근육 0.02</p> <p>닭근육 0.01</p> <p>유 0.02</p> <p>알 0.01</p> |
| <p><신 설></p> | <p>(186) 포스멧(Phosmet): 살충제</p> <p>◎ 잔류물의 정의 : Phosmet</p> <p>소근육 1.0</p> <p>돼지근육 0.01</p> <p>유 0.01</p> |
| <p><신 설></p> | <p>(187) 클로르피리포스(Chlorpyrifos): 살충제</p> <p>◎ 잔류물의 정의 : Chlorpyrifos</p> <p>소고기 1.0(f)*</p> <p>소신장 0.01</p> <p>소간 0.01</p> <p>돼지고기 0.02(f)*</p> <p>돼지부산물 0.01</p> <p>닭고기 0.01(f)*</p> <p>닭부산물 0.01</p> <p>유 0.02</p> |

| | |
|---------------------------|--|
| <p><u><신 설></u></p> | <p><u>알</u> <u>0.01</u></p> <p>(188) 카벤다짐(Carbendazim): 구충제 <u>◎ 잔류물의 정의 : Carbendazim</u></p> <p><u>돼지근육</u> <u>0.01</u></p> |
| <p><u><신 설></u></p> | <p>(189) 프로폭서(Propoxur): 살충제 <u>◎ 잔류물의 정의 : Propoxur</u></p> <p><u>소근육</u> <u>0.05</u> <u>돼지근육</u> <u>0.05</u> <u>닭근육</u> <u>0.01</u> <u>유</u> <u>0.01</u> <u>알</u> <u>0.01</u></p> |
| <p><u><신 설></u></p> | <p>(190) <u>노시헵타이드</u> <u>(Noshiheptide): 항균제</u> <u>◎ 잔류물의 정의 : Noshiheptide</u></p> <p><u>돼지근육</u> <u>0.01</u> <u>닭근육</u> <u>0.01</u></p> |
| <p><u><신 설></u></p> | <p>(191) <u>브로모프로필레이트</u> <u>(Bromopropylate): 살충제</u> <u>◎ 잔류물의 정의 :</u> <u>Bromopropylate</u></p> <p><u>소근육</u> <u>0.01</u> <u>돼지근육</u> <u>0.01</u> <u>닭근육</u> <u>0.01</u> <u>벌꿀</u> <u>0.01</u></p> |

| | |
|--|--|
| <p><신 설></p> | <p>(192) 퍼메트린(Permethrin): 살충제 ◎ 잔류물의 정의 : <u>Permethrin</u> <u>이성질체의 합</u> 소고기 1.0(f)* 소부산물 0.1 돼지고기 1.0(f)* 돼지부산물 0.1 닭고기 0.1 유 0.1(F)* 알 0.1</p> |
| <p><신 설></p> | <p>(193) 이소유게놀(Isoeugenol): 진정제 ◎ 잔류물의 정의 : <u>Isoeugenol</u> 어류 0.01</p> |
| <p><신 설></p> | <p>* 주 1. (f) : <u>고기중 지방에 대한 기준</u></p> |
| <p><신 설></p> <p>[별표 6] (생 략)</p> | <p>주 2. (F) : <u>2% 이상의 지방을 함유하는 유제품의 잔류기준은 유의 잔류기준에 25배를 하여 지방에 대한 기준으로 적용하며, 2% 미만의 지방을 함유하는 유제품의 잔류기준은 유의 잔류기준에 50%를 적용함.</u></p> <p>[별표 6] (현행과 같음)</p> |