

LC-ESI/MS/MS를 이용한 소고기와 우유에서의 클렌부테롤 분석

홍세령★ · 정지윤 · 박혜진 · 이순호 · 이종욱

식품의약품안전청, 식품 잔류약품과
(2008. 10. 31. 접수, 2008. 12. 8. 승인)

Analysis of clenbuterol in bovine muscle and milk by LC-ESI/MS/MS

Selyung Hong★, Jiyeon Jeong, Hyejin Park, Soonho Lee and Jongok Lee

Pesticide & Veterinary Drug Residues Division, Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

(Received October 31, 2008, Accepted December 8, 2008)

요 약: 본 연구에서는 소고기와 우유에서의 클렌부테롤의 확인과 정량을 위하여 LC-ESI/MS/MS를 이용한 방법을 개발하였다. 클렌부테롤과 내부표준물질로 클렌부테롤-D9을 사용한 시료를 가수분해 한 후 에틸아세테이트로 추출하고 농축하였다. 그리고 추출물을 20% 메탄올에 용해하여 HLB 카트리지로 정제 후 C₁₈ 칼럼을 이용한 LC-ESI/MS/MS로 분석하였다. 높은 감도를 얻기 위하여 positive ion mode에서 SRM(selected reaction monitoring)방법을 이용하였다. MS/MS의 SRM방법으로 클렌부테롤과 클렌부테롤-D9의 선구이온(precursor ion), 생성이온(product ion)을 각각 m/z 227→203, m/z 286→204로 분석한 결과 소고기에서의 클렌부테롤의 정량한계와 회수율은 각각 0.2 µg/kg과 84.3~91.1%이었고, 우유에서의 정량한계와 회수율은 각각 0.05 µg/kg과 87.7~98.3%이었다.

Abstract: A liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI/MS/MS) method was developed for the determination and confirmation of clenbuterol in bovine muscle and milk. Clenbuterol and clenbuterol-D9 using as an internal standard in samples were extracted with ethyl acetate after hydrolysis and evaporated to dryness. The extracts were dissolved in 20% methanol and cleaned using HLB solid-phase extraction cartridge. The analytes were detected by LC-ESI/MS/MS on a C₁₈ column. Mass spectral acquisition was done in selected reaction monitoring (SRM) in positive ion mode to provide a high degree of sensitivity. Using MS/MS with SRM mode, the transitions (precursor to product) monitored were m/z 277→203 for clenbuterol, and m/z 286→204 for internal standard. The limits of quantitation (LOQ) and mean recoveries of clenbuterol in bovine muscle were 0.2 µg/kg and 84.3~91.1%, respectively. The LOQ and mean recoveries in milk were 0.05 µg/kg and 87.7~98.3%, respectively.

Key words : clenbuterol, LC-ESI/MS/MS, bovine muscle, milk

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-355-6037 Fax : +82-(0)2-355-6037

E-mail : selhong@kfda.go.kr

1. 서 론

베타-아고니스트(Beta-agonist)는 구조와 약리학적 성질이 카테콜아민(catecholamine)과 비슷한 화합물로 aromatic ring과 아미노기로 치환된 phenyl β -ethanolamine이다.¹ 이들은 주로 인간과 동물에게 기관지 확장제로 사용되나 동물에게 고용량을 투여하였을 때 동화작용을 일으켜 성장촉진제로도 사용되어진다.² 업계에서는 가축의 성장을 촉진시키고 돼지고기와 소고기의 육질을 향상시키기 위해 사료에 첨가하는 등 불법으로 가축에 사용하여 왔다. 이와 같은 목적으로 클렌부테롤은 1980년대부터 가장 널리 사용된 베타-아고니스트 중 하나이다.¹ 클렌부테롤은 1-(4-amino-3,5-dichloro-phenyl)-2-(tert-butylamino)ethanol의 화학구조(Fig. 1)를 가지고 있으며, β_2 -adrenergic receptor에 선택성이 강하여 상대적으로 다른 약물보다 심장에 대한 부작용이 적기 때문에 사람에게는 기관지 천식 및 만성 폐쇄성 호흡기 질환에 사용되는 약물이다.³ 클렌부테롤로 장기간 치료를 받게 되면 G-단백질 결합 수용체(G-protein coupled receptor) 신호에 의해 베타-아드레날린 수용체(beta-adrenergic receptor)가 조절되는 과정에서 이상 현상이 유도되기 때문에 천식 치료 효과는 사라지고 오히려 기도 수축에 대한 과민증상이 생기고 천식이 제대로 조절되지 못한다.⁴ 또한 클렌부테롤 등의 베타-아고니스트는 간, 눈의 망막과 같은 색소성 조직에 축적되어 오랫동안 잔류되어 소비자에게 근육강직, 경련, 심한 편두통과 같은 부작용을 초래할 수 있다.^{5,6} 이러한 이유로 European Community (EC)에서는 1996년부터 가축에 대해 베타-아고니스트의 사용을 금하고 있고,⁷ 우리나라에서도 식품에서 검출되어서는 아니되는 물질로 분류하여 “불검출” 기준으로 설정하여 관리하고 있다.⁸ 클렌부테롤 분석법에 관한 연구로는 radioimmunoassay(방사면역측정법)⁹와 enzyme immunoassay (EIA)¹⁰를 이용한 시험법과 HPLC¹¹, HPTLC¹², GC/MS¹³를 이용한

시험법등이 있다. 이러한 시험방법들은 미량까지 검출하는데 한계가 있고, 오랜 시간의 시료 전처리 과정이 필요하며 특히 GC/MS의 경우에 있어서는 유도체화 과정을 거쳐야하는 번거로움이 있다.¹³ 따라서 최근에는 LC/MS를 사용하여 화학적 유도체화 과정 없이 극성이면서 열에 불안정한 물질을 상당히 낮은 검출한계까지 분석할 수 있는 연구가 많은 관심을 보이며 개발되고 있으며, 망막, 간, 혈장, 뇨, 혈청 중의 베타-아고니스트의 검출한계(limit of detection)는 0.01~0.5 $\mu\text{g/kg}$ 수준인 것으로 보고되고 있다.¹⁴⁻¹⁸ 또한 C_{18} 과 SCX 카트리지를 사용하여 송아지 고기와 돼지 간 중의 클렌부테롤의 정량과 확인에 관한 연구¹⁹ 등의 보고가 있다. 이와 같이 외국의 경우 소비자들의 안전성 확보를 위하여 대표적인 베타-아고니스트인 클렌부테롤의 분석에 관한 연구가 다수 이루어져 왔으나 국내의 경우 식품 중에 잔류되어 있는 클렌부테롤의 분석에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 대표적인 소비식품인 소고기와 우유 중에서 안전성에 논란이 되고 있는 클렌부테롤을 분석하기 위하여 전처리 방법 및 LC-ESI/MS/MS를 이용한 기기분석조건을 확립하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 시약 및 기기

분석에 사용된 클렌부테롤 표준물질과 클렌부테롤-D9 내부표준물질, protease, Trizma Base (Tris[hydroxymethyl]aminomethane)는 Sigma사(St. Louis, Mo, USA)에서 구입하였고, β -glucuronidase/arylsulfatase 효소제는 Merck사(Darmstadt, Germany)에서 구입하였다. 추출용매로 사용되어진 에틸아세테이트, 아세토니트릴은 J.T. Baker사(Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였다. 아세트산, 인산일수소칼륨(K_2HPO_4), 인산이수소칼륨(KH_2PO_4), 수산화나트륨, 염산 시약은 특급 또는 일급으로 Wako사(Osaka, Japan)의 것을 사용하였고,

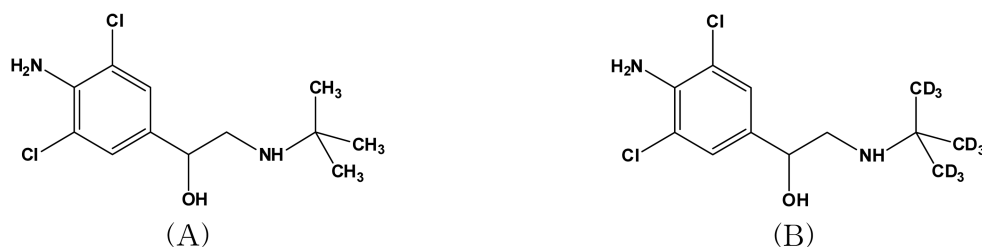


Fig. 1. Chemical structures of (A) clenbuterol, (B) clenbuterol-D9 (I.S.).

실험에 사용한 모든 완충액은 Milli Q (Millipore Co., Milford, USA)로 정제한 증류수(18 M Ω -cm)를 사용하여 제조하였다. 0.1 M 트리스 완충용액(pH 9.5)은 Trizma Base 1.21 g을 100 mL 용량플라스크에 취한 다음 증류수에 녹여 표지선까지 채우고 염산으로 pH 9.5를 맞추었다. 정제 과정에 사용되는 카트리지는 HLB (Divinylbenzene-N-vinylpyrrolidone copolymer) (200 mg, 6 mL)로 Waters사 (Milford, Massachusetts, USA)로부터 구입하였다. 소고기를 균질화하기 위해서 사용한 믹서기는 (주)한국후지공업(국내산) MN-22S를 사용하였다. 본 실험에서 사용한 HPLC는 Shiseido Nanospace SI-2 (Shiseido, Yokohama, Japan)를 사용하였고, 탠덤질량분석기(MS/MS)는 TSQ Quantum Ultra (Thermo Finnigan, San Jose, CA, USA)를 사용하였다. HPLC 칼럼은 Shiseido Capcell Pak C₁₈ (1.5 $\times$ 150 mm, 5 μ m) (Shiseido, Yokohama, Japan)를 사용하였다. 데이터 처리장치로는 Thermo Electron사의 Xcalibur (Ver.2.0)를 사용하였다.

2.2. 시료

소고기는 한우 등심부위를 사용하여 믹서기로 균질화한 다음 100 g씩 포장하여 약 -20°C에서 냉동 보관하였고, 분석할 때 실온에서 녹인 후 사용하였으며 우유는 국내산으로 구입하여 실험하였다.

2.3. 표준 검정곡선 작성

클렌부테롤 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 μ g/mL가 되도록 표준원액을 제조한 후 메탄올로 희석하여 10 ng/mL의 표준용액을 제조한다. 또한 내부표준물질인 클렌부테롤-D9도 메탄올에 녹여 2 μ g/mL를 제조한 후 메탄올로 희석하여 10 ng/mL이 되도록 표준용액을 만든 다음 표준원액과 표준용액은 약 4°C에서 보관하였다. 검정곡선 작성을 위해서 6개의 시험관에 표준용액을 각각 적당량 취하였는데 소고기에서는 클렌부테롤의 농도를 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ng/mL가 되도록 하고, 내부표준물질은 모두 2 ng/mL가 되도록 하였다. 우유에서는 클렌부테롤의 농도를 0, 0.0625, 0.1, 0.125, 0.25, 0.5 및 1.0 ng/mL가 되도록 하고, 내부표준물질은 1.0 ng/mL가 되도록 하였다. 그리고 50°C에서 질소농축한 후 메탄올 : 물(1 : 9) 혼합용액 2 mL에 녹인 용액을 0.2 μ m 멤브레인 필터 후 10 μ L를 질량분석기에 주입하여 클렌부테롤과 클렌부테롤-D9의 특성이온을 확인하였다. 이후 크로마토그램으로부터 얻은 피크의 머무름 시간

을 확인하고, 내부표준물질의 피크 면적에 대한 클렌부테롤의 피크 면적비를 가지고 검정곡선을 작성하였다.

2.4. 소고기 속의 클렌부테롤 추출

균질화한 시료 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하여 내부표준용액 400 μ L를 넣고, 트리스 완충용액(pH 9.5) 5 mL와 protease 5 mg을 넣어 60°C에서 약 16시간 반응시켰다. 실온까지 냉각한 후 아세트산 15 μ L와 2 M 암모늄 아세테이트 완충용액(pH 5.2) 1 mL를 넣고 β -glucuronidase/arylsulfatase 40 μ L를 가하였다. 37°C에서 2시간 동안 가수분해한 후 포화염화나트륨용액 2 mL를 넣고 10 M 수산화나트륨용액을 사용하여 pH 12 이상으로 하였다. 이 용액에 에틸아세테이트 10 mL를 가하여 진탕하고 6,000 G에서 5분간 원심분리하여 상층액을 취한 다음 다시 에틸아세테이트 10 mL를 가해 재추출하였다. 합해진 상층액을 50°C 수욕 상에서 감압농축한 후 잔류물은 메탄올 : 물(2 : 8) 혼합용액을 가하여 용해하고 염산으로 pH 1.0으로 맞추었다. 그리고 헵테인 3 mL를 가하여 섞은 다음 4,000 G, 5분간 원심분리하고 유기용매층(상층)은 제거하였다. 물층에 0.1 M 인산완충용액(pH 6.0) 2 mL와 10 M 수산화나트륨 용액을 가하여 pH 7.0이 되도록 한 것을 추출용액으로 하였다.

2.5. 우유 속의 클렌부테롤 추출

우유 5 g을 50 mL 원심분리관에 취하여 내부표준용액 200 μ L를 넣은 다음 아세트산 200 μ L를 넣고 아세토나이트릴 5 mL와 에틸아세테이트 10 mL를 가하여 10분간 균질화한 후 4,000 G에서 5분간 원심분리하였다. 상층액을 취하고 다시 에틸아세테이트 10 mL를 사용하여 재추출한 다음 50°C에서 감압 농축한 후, 잔류물에 메탄올 : 물(2 : 8) 혼합용액을 가하여 용해하고 염산으로 pH 1.0으로 맞추었다. 그리고 헵테인 3 mL를 가하여 섞은 다음 4,000 G, 5분간 원심분리하고 유기용매층(상층)을 제거하였다. 물층에 0.1 M 인산완충용액(pH 6.0) 2 mL와 10 M 수산화나트륨 용액을 가하여 pH 7.0이 되도록 한 것을 추출용액으로 하였다.

2.6. HLB 카트리지를 사용한 정제

소고기와 우유의 추출용액을 미리 메탄올 5 mL, 물 3 mL로 활성화시킨 HLB 카트리지(충진제 200 mg, 6 mL)에 흡착시키고 물 3 mL로 세척한 후 메탄올 5 mL로 용출하였다. 용출액은 50°C에서 질소농축

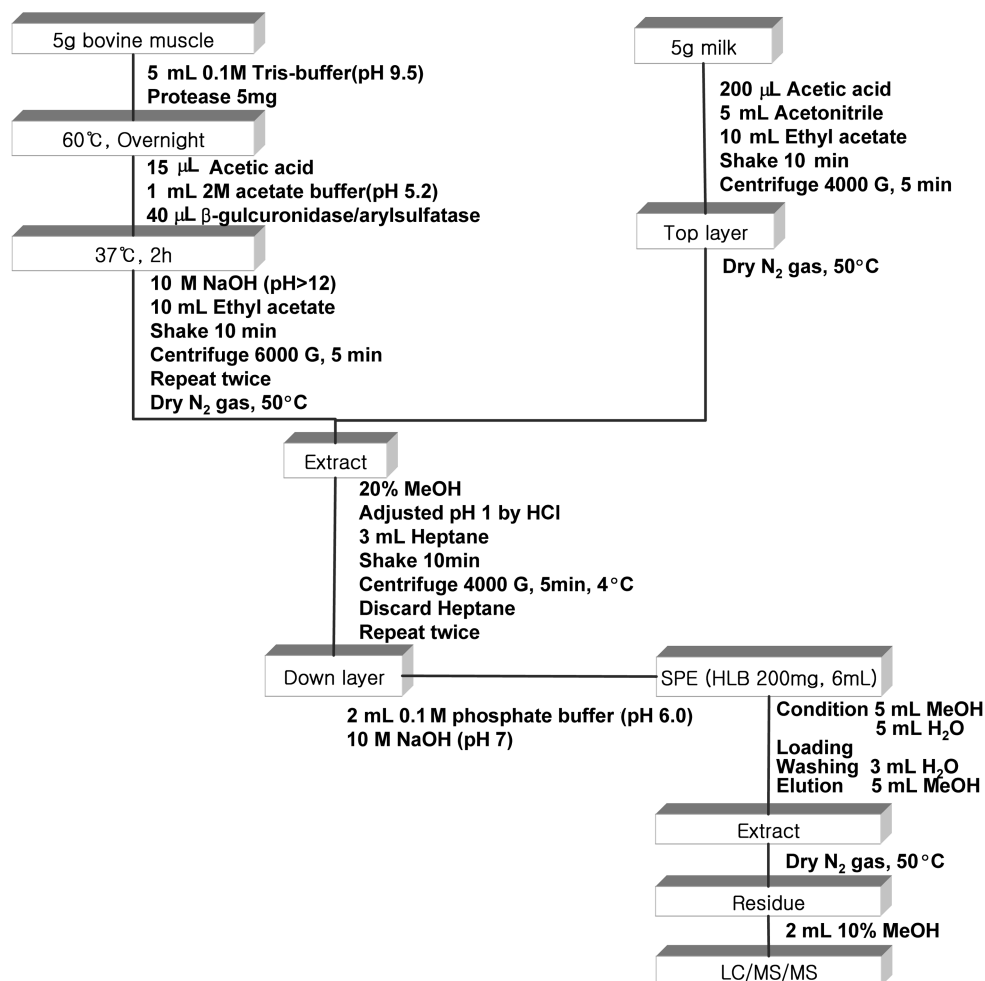


Fig. 2. Scheme of the sample preparation.

하고 잔류물은 메탄올 : 물(1 : 9) 혼합용액 2 mL에 녹인 후 PTFE 0.2 µm 멤브레인 필터로 여과하여 LC-ESI/MS/MS로 분석하였다.

시료의 전처리 과정은 Fig. 2에 나타내었다.

2.7. LC-ESI/MS/MS에 의한 분석

클렌부테롤의 분석에서 HPLC 조건은 Table 1의 방법에 따랐다. 분석컬럼은 Shiseido Capcell Pak C₁₈ (1.5 × 150 mm, 5 µm)의 역상컬럼을 이용하였고, 이동상 A는 물 : 아세토니트릴(95 : 5) 용액에 10 mM 암모늄 아세테이트가 되도록 녹인 후 아세트산으로 pH 4.3으로 조정 한 것을, 이동상 B는 아세토니트릴을 이용하였다. 분석시간 0분에서 2분까지 이동상 A 100%로 용리하고, 2분에서 6분까지 linear gradient로

Table 1. Analytical conditions of HPLC for analysis of clenbuterol

Flow rate	150 µL/min
Injection vol.	10 µL
Column Temp.	40°C
Detector	Quadrupole MS/MS analyzer
Mobile Phase	A : 0.01 M ammonium acetate(in 5% ACN, pH 4.3)
	B : ACN
Analytical conditions	0-2 min (100:0), 6 min (10:90), 8min (0:100), 10-15 min (100:0)

이동상 B가 90%가 되도록 한 다음 8분까지 100%로 이동상 B를 유지하면서 150 µL/min의 유속으로 분석을 실시하였다. 분석컬럼의 오븐 온도는 40°C로 일정

하게 하였다.

검출을 위한 MS/MS 분석조건으로 ESI (electrospray ionization) 이온화방식을 선택하였고, positive ion mode에서 SRM방법을 사용하였다. Nebulizing gas로 질소가스, collision gas로 아르곤 가스(99.999%)를 사용하였고, 기타 MS/MS 분석 파라미터는 spray voltage 3,500 V, sheath gas pressure 60 psi, aux gas pressure 20 psi, capillary temperature 330°C, tube lens offset 78(클렌부테롤), 57(클렌부테롤-D9)로 설정하여 분석하였다. 클렌부테롤과 내부표준물질인 클렌

부테롤-D9의 선구이온은 각각 m/z 277, 286의 유사 분자이온($[M+H]^+$)을 사용하였으며, 생성이온 각각 m/z 203, 204를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

소고기와 우유에 잔류하고 있는 클렌부테롤을 분석하기 위하여 LC-ESI/MS/MS를 사용하였고, 분석조건은 Table 2에 나타내었다.

클렌부테롤과 내부표준물질인 클렌부테롤-D9의 분

Table 2. Mass detection conditions of LC-ESI/MS/MS for analysis of clenbuterol

	Q1 mass Precursor ion (m/z)	Q3 mass Product ions (m/z)	Collision Energy (eV)	Tube lens
Clenbuterol	277.25	258.94, 202.93	16	78
Clenbuterol-D9	286.14	268.05, 204.00	16	57

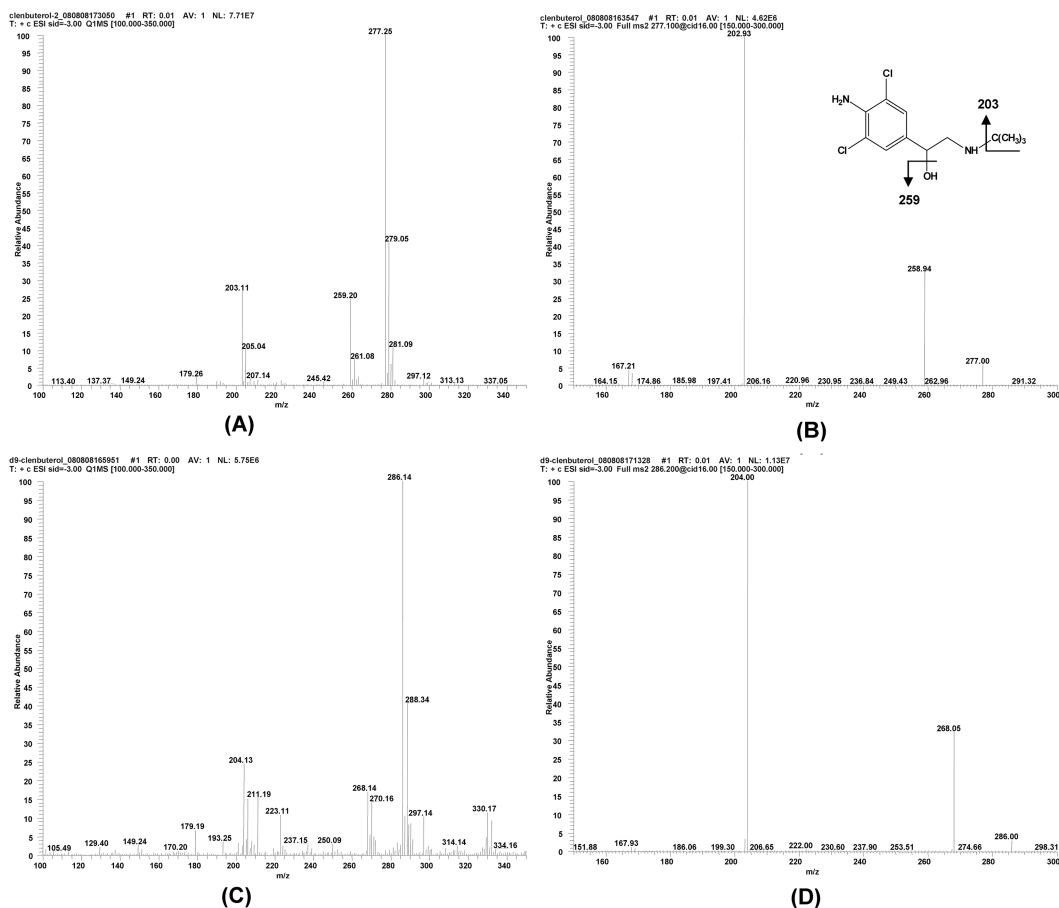


Fig. 3. Full scan electrospray mass spectra of (A) clenbuterol (C) clenbuterol-D9 and daughter ion mode spectra of (B) clenbuterol($[M+H]^+$ 277) (D) clenbuterol-D9($[M+H]^+$ 286) with a collision energy set at 16 eV.

자이온의 확인을 위하여 positive ion mode에서 Q1 scan을 실시하였고, SRM(selective reaction monitoring) 방식으로 생성이온을 얻었는데 이것을 Fig. 3(A), (C)에 나타내었다. 이 그림에서 보면 클렌부테롤은 m/z

277에서, 클렌부테롤의 수소원자를 중수소원자로 치환시킨 클렌부테롤-D9의 선구이온은 클렌부테롤보다 m/z가 9가 증가한 m/z 286에서 강한 검출세기를 보였다. 선구이온 대하여 16 eV의 collision energy를 가

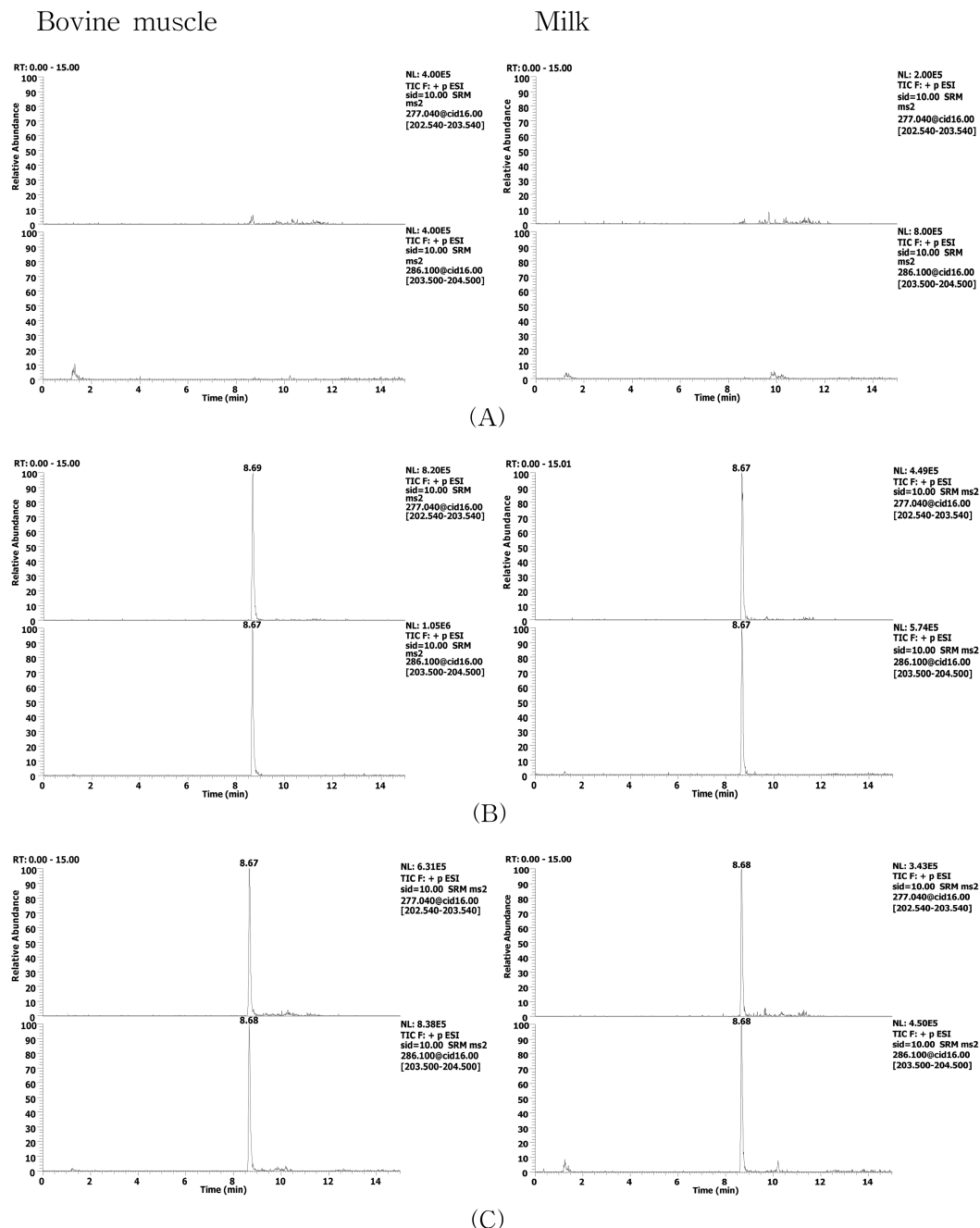


Fig. 4. Chromatograms of (A) blank sample (B) standard and internal standard (C) bovine muscle spiked at 0.4 µg/kg and milk spiked 0.1 µg/kg.

지고 product ion scan을 하였을 때 클렌부테롤은 m/z 259, 203, 클렌부테롤-D9은 m/z 268, 204에서 이온세기를 보였다. 이것은 각각의 선구이온에서 benzylic hydroxyl group에 있는 -OH와 N-substituted isobutene 일부분이 떨어져 나간 결과이다.¹⁹ Fig. 3(B), (D)의 생성 이온들 중 검출세기가 가장 큰 m/z 203, 204를 클렌부테롤과 클렌부테롤-D9의 정량분석 이온으로 선정하였고, 클렌부테롤의 m/z 259와 클렌부테롤-D9의 m/z 268은 확인이온으로 사용하였다.

Fig. 4(A)는 소고기와 우유의 blank 시료이고 Fig. 4(B)는 클렌부테롤 표준물질과 클렌부테롤-D9 내부표준물질, Fig. 4(C)는 시료에 클렌부테롤과 내부표준물질을 함께 첨가한 시료로서 본 시험방법에 따라 전처리한 후 LC-ESI/MS/MS로 분석하여 얻은 대표적인 크로마토그램이다. Fig. 4(A)에서 보면 blank 시료에서는 어떠한 피크도 검출되지 않았고, Fig. 4(B)의 클렌부테롤과 클렌부테롤-D9의 피크는 약 8.6분대에 동일하게 나타났으며 Fig. 4(C)에서와 같이 시료에서의 각 성분들의 머무름 시간도 표준물질과 일치하였다. 또한 피크의 모양도 양호하였으며 MS/MS의 높은 선택성으로 인해 클렌부테롤과 클렌부테롤-D9의 피크 외에는 어떠한 피크도 검출되지 않았다.

소고기 시료는 잔류되어 있는 클렌부테롤의 추출율을 높이기 위하여 protease를 사용하여 단백질을 분해시킨 다음 β -glucuronidase/arylsulfatase로 가수분해하였다. 그리고 에틸아세테이트를 사용하여 시료의 지용성 성분과 수용성 성분을 함께 추출한 다음 헵테인을 사용하여 지방성분을 제거하였고, HLB 카트리지를 사용하여 정제하고 메탄올 용출액을 이용하여 남아있는 방해물질을 제거하였다. 보고에 의하면 클렌부테롤을 포함한 베타-아고니스트 성분들을 분리하기 위하여 베타-아고니스트에 매우 선택적인 카트리지인 SupelMIP(Supelco)를 사용하였으나²⁰ 본 연구에서는 일반적으로 사용되는 카트리지를 사용하였고, 그 결과 또한 만족할 만하였다. 검출한계(limit of detection, LOD)는 $LOD=(3.3 \times \sigma)/S$ 로 계산하였고, 소고기는 0.066 $\mu\text{g/kg}$, 우유는 0.0165 $\mu\text{g/kg}$ 이었다. 정량한계(limit of quantitation, LOQ)는 $LOQ=(10 \times \sigma)/S$ 로 계산하였고, 소고기는 0.2 $\mu\text{g/kg}$ 이고, 우유는 0.05 $\mu\text{g/kg}$ 이었다. 소고기의 LOD와 LOQ가 우유에 비하여 다소 높게 나타났으며 여기에서 S는 검정곡선의 기울기, σ 는 blank 시료를 분석한 표준편차이다.

Fig. 5(A)는 소고기에서의 검정곡선으로 $y=0.8485x-0.0182$, 상관계수(r^2)는 0.9994이고, Fig. 5(B)는 우유

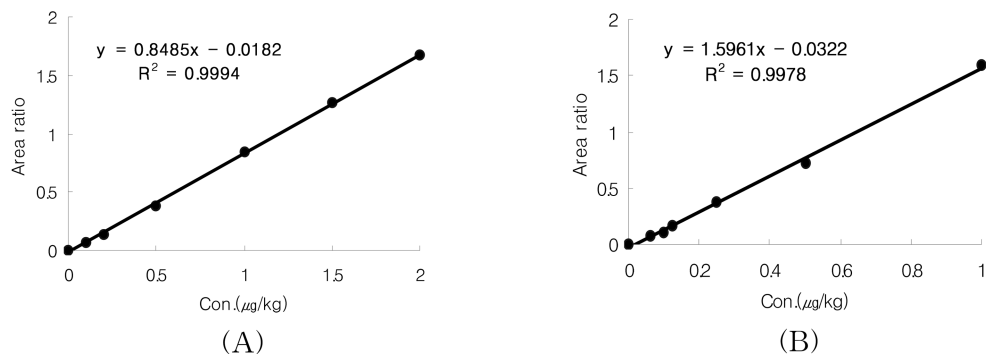


Fig. 5. Linear regression lines of clenbuterol in (A) bovine muscle and (B) milk. (area ratio = standard area/internal standard area)

Table 3. Recoveries of clenbuterol using clenbuterol-D9 as an internal standard in the spiked bovine muscle and milk

Foods	Spiked Conc. ($\mu\text{g/kg}$)	Number of trial	Mean Recovery (%)	Coefficient of Variation (%)
Bovine muscle	0.2	3	91.1	2.0
	0.4	3	85.9	2.6
	0.6	3	84.3	2.0
Milk	0.05	3	98.3	7.2
	0.1	3	87.7	1.8
	0.2	3	93.7	5.1

에서의 검정곡선으로 $y=1.5961x-0.0322$, r^2 가 0.9978이며 높은 상관관계를 나타내었다. 이것으로 0.0~2.0 ng/mL 농도 범위에서 양호한 직선성을 나타냈으며, Codex(국제식품규격위원회)에서 제시하는 기준인 $r^2 \geq 0.95$ 에 만족하는 수준이었다.²¹

각 시료에 대하여 농도별 회수율을 구하기 위하여 내부표준물질을 사용하였는데 소고기에서는 2.0 ng/mL의 내부표준물질을 사용하고, 우유에서는 1.0 ng/mL의 것을 사용하였다. 소고기에는 클렌부테롤 표준물질을 0.20, 0.40, 0.60 µg/kg의 농도로 가하고, 우유에서는 0.05, 0.10, 0.20 µg/kg의 농도로 첨가한 다음 전처리하여 분석한 후 회수율의 결과를 Table 3에 나타내었다. Table 3에서 보면 소고기의 회수율은 각 농도범위에서 84.3~91.1%이고, 우유는 87.7~98.3%로 전반적으로 좋은 회수율을 보였다. 또한 정밀성(C.V., %)은 각각 소고기에서는 2.0~2.6%이고, 우유에서는 1.8~7.2%이었으며 이것은 Codex 기준²¹에 만족할 만한 결과를 보였다. 따라서 본 연구의 LC-ESI/MS/MS 분석법은 식품 내 잔류하고 있는 클렌부테롤의 정량과 확인에 이용될 수 있는 충분한 감도와 특이성, 직선성, 정밀성 및 정확성을 갖고 있다고 사료된다.

4. 결 론

본 연구에서는 소고기와 우유에서의 클렌부테롤 회수율을 높이기 위하여 효소를 사용하여 가수분해 하였고, 에틸아세테이트를 추출용매로 사용하였다. 그리고 추출과정에서 얻어진 지방 등 방해물질은 헵테인 세척 과정을 통하여 제거하였으며, HLB 카트리지를 사용하여 정제하였다. LC-ESI/MS/MS를 사용하여 클렌부테롤을 정량 분석하였는데 MS/MS의 생성이온들 중에서 클렌부테롤은 m/z 203에서 내부표준물질인 클렌부테롤-D9은 m/z 204에서 가장 높은 감도를 보였다. 내부표준물질을 사용하여 클렌부테롤의 정량한계와 회수율을 측정할 결과 소고기는 각각 0.2 µg/kg, 84.3~91.1% 이었고, 우유에서는 0.05 µg/kg, 87.7~98.3%이었다. 또한 그라디언트 조건을 사용하여 적당한 분석시간과 양호한 피크모양도 얻을 수 있었고, LC-ESI/MS/MS를 사용하여 시료 내 잔류되어 있는 미량까지 검출할 수 있어 보다 정밀한 확인정량법이라 판단된다.

따라서 본 연구에서 개발된 분석법은 향후 유통식품의 안전을 확보하기 위하여 최근 베타-아고니스트의 잔류여부로 논란의 대상이 되고 있는 식품에 매우 유용하게 적용할 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

1. J. Blanca, P. Munoz, M. Morgado, N. Mendez, A. Aranda, T. Reuvers and H. Hooghuis, *Anal. Chim. Acta*, **529**, 199-205(2005).
2. L. C. Dickson, J. D. Macneil, S. Lee and A. C. E. Feser, *J. AOAC Int.*, **88**(1), 46-56(2005).
3. H. G. Choi, J. D. Rhee, B. K. Yu and C. S. Yong, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **33**(1), 29-36(2003).
4. D. W. McGraw, K. F. Almoosa, R. J. Paul, B. K. Kobilka and S. B. Liggett, *J. Clin. Invest.*, **112**, 619 (2003).
5. L. Salleras, A. Donguez, E. Mata, J. L. Taberner, I. Moro and P. Salva, *Public Health Rep.*, **110**, 338(1995).
6. J. F. Navarro-martinez, *Lancet*, **336**, 1311(1990).
7. Council directive 96/22/EU, *Off. J. Eur. Commun.* L125, 3(1996).
8. 식품공전 [제 1권], 식품의약품안전청, 2008.
9. D. Boyd, P. Shearan, J. P. Hopkins, M. O'Keefe and M. R. Smyth, *Anal. Chim. Acta*, **275**, 221(1993).
10. H. H. D. Meyer, L. Rinke and I. Dursch, *J. Chromatogr., A*, **564**, 551(1991).
11. C. Eddins, J. A. Hamann and K. Johnson, *J. Chromatogr. Sci.*, **23**, 308(1985).
12. J. Henion, G. A. Maylin and B. A. Thomson, *J. Chromatogr.*, **271**, 107(1983).
13. W. J. Blanchflower, S. A. Hewitt, A. Cannavan, C. T. Elliott and D. G. Kennedy, *Biol. Mass Spectrom.*, **22**, 326(1993).
14. D. R. Doerge, M. I. Churchwell, C. L. Holder, L. Rowe and S. Bajic, *Anal. Chem.*, **68**, 1918(1996).
15. B. P. Y. Lau, D. Lewis and J. F. Lawrence, *J. Mass Spectrom.*, **32**, 655(1997).
16. D. R. Doerge, S. Bajic, S. Lowe and R. Commun., *Mass Spectrom.*, **7**, 462(1993).
17. J. Cai and J. Henion, *J. Chromatogr., B*, **691**, 357(1997).
18. E. A. Hogendoorn, P. Van Zoonen, A. Poletini, G. M. Bouland and M. Montagna, *Anal. Chem.*, **70**, 1362(1998).
19. P. A. Guy, M. C. Savoy and R. H. Stadler, *J. chromatogr., B*, **736**, 209-219(1999).
20. P. R. Kootstra, C. J. P. F. Kuijpers, K. L. Wubs, D. van Doorn, S. S. Sterk, L. A. van Ginkel and R. W. Stephany, *Anal. Chim. Acta*, **529**, 75-81(2005).
21. Codex guidelines for the establishment of a regulatory programme for control of veterinary drug residues in foods, CODEX, CAC/GL 16 (1993).