

벌꿀 중 동물용의약품 잔류량 모니터링

강은귀* · 정용현 · 정지혜 · 김미란 · 이경진 · 정진주 · 박종석 · 반경녀 · 장영미 · 강찬순
경인지방식품의약품안전청 시험분석센터

Monitoring of Veterinary Medicine Residues in Honey

Eun Gui Kang*, Yung Hyeun Jung, Ji Hye Jung, Mi Ran Kim, Kyung Jin Lee, Jinjoo Jung,
Jong Seok Park, Kyeong Nyeo Bahn, Young Mi Jang, and Chan Soon Kang
Center for Food and Drug Inspection, Gyeongin Regional Korea Food and Drug Administration

Abstract This research was carried out to investigate residues of neomycin, streptomycin, dihydrostreptomycin, amitrax, 2,4-dimethylaniline (one of amitrax's metabolites), and coumaphos in honey in order to intensively control their use following the establishment of Korean maximum residue limits (MRLs) for veterinary drugs in honey in 2007. To monitor for residues, 110 honeys and food products with honey were collected and analyzed. The collected honeys included acasia, mixed flower, chestnut, rape flower, jujube, and native types. Neomycin, streptomycin, dihydrostreptomycin, oxytetracycline, and amitrax were not detected among samples. Coumaphos was found in the Korean acasia honey at 0.02 mg/kg, but its concentration was under the MRL (0.1 mg/kg) for coumaphos. According to the results, there were no violations of the Korean MRLs of veterinary drugs in honey.

Key words: honey, neomycin, (dihydro)streptomycin, amitrax, coumaphos

서 론

꿀벌은 좁은 장소에서 집단생활하기 때문에 각종 전염병이 발병될 가능성이 높고 발병하였을 경우 봉군 전체에 급속하게 전파되기 쉬어 벌꿀 생산량에 심각한 피해를 입을 수 있다. 따라서 양봉농가에서는 질병 예방 및 치료를 위해 다양한 동물용의약품(살충제 및 항생제)을 사용하고 있고, 사용된 약제의 벌꿀 내 잔류로 인해 벌꿀 및 양봉생산물을 섭취하는 사람에게도 약제 저항성에 대한 문제를 유발할 수 있다(1,2). 국내에서는 이런 동물용의약품의 오남용에 따른 약제 저항성에 대한 문제를 막기 위해 2007년 벌꿀에 주로 사용되는 동물용의약품인 네오마이신(0.1 mg/kg), 디히드로스트렙토마이신/스트렙토마이신(불검출), 옥시테트라사이클린(0.3 mg/kg), 아미트라즈(그 대사산물 포함하여 0.2 mg/kg), 코마포스(0.1 mg/kg), 플루메쓰린(0.01 mg/kg), 플루발리네이트(0.05 mg/kg)에 대한 기준을 설정하여 관리하고 있다(3). 아미노글리코사이드계인 네오마이신, 디히드로스트렙토마이신/스트렙토마이신과 테트라사이클린계인 옥시테트라사이클린은 세균성 질병 치료에 널리 사용되는 항생제로서 네오마이신과 옥시테트라사이클린은 꿀벌의 질병 중 가장 흔하면서 치명적인 미국부저병과 유럽부저병 치료에 사용되고 있다(4). 디히드로스트렙토마이신/스트렙토마이신의 경우 양봉용 동물용의약품으로 허가되어 있지 않

음에도 불구하고 국내를 비롯하여 스위스, 벨기에, 네덜란드 등(5-7)에서 검출되었다는 보고가 있어 불검출 기준으로 관리하고 있다. 포름아미딘계 살충제인 아미트라즈와 유기인계 살충제인 코마포스는 살충제 및 진드기 구충제로서 플루메쓰린, 플루발리네이트와 함께 꿀벌의 응애 방제용으로 주로 사용되고 있다. 아미트라즈는 산성조건에서 *N*-methyl-*N'*-(2,2-dimethylphenyl) formamidine(DMF)로 분해된 후 다시 2,4-dimethylaniline(DMA)로 최종 분해되므로(8-10) pH가 3-4.5 정도의 약산성인 벌꿀에 존재하는 아미트라즈는 빠르게 분해되어 대부분 2,4-dimethylaniline로 존재하기도 한다(9). 따라서 벌꿀의 아미트라즈 잔류량은 아미트라즈와 그의 최종 분해산물인 2,4-dimethylaniline의 합으로 관리하고 있으며, 코마포스의 주요 대사산물은 없는 것으로 알려져 있어 원물질인 코마포스로 관리하고 있다(5). 본 연구에서는 기준 설정 후 국내 유통되고 있는 벌꿀이 안전하게 관리되고 있는지에 대한 실태조사를 위해 벌꿀 중 신규기준 설정된 동물용의약품 중 네오마이신, 디히드로스트렙토마이신/스트렙토마이신, 아미트라즈, 코마포스에 대한 벌꿀 중 잔류량을 조사하였다.

재료 및 방법

시료

전국 주요도시에 유통되는 국산 및 수입산 벌꿀을 대상으로 하였으며, 국내산 벌꿀의 경우 전국 7개 권역(서울, 경기, 충청, 경상, 전라, 강원, 제주)에서 벌꿀 집합지와 소분지가 중복되지 않도록 고려하여 수거하였다. 벌꿀 103건과 벌꿀 함유제품 7건을 포함하여 전체 110건을 수거하였고, 벌꿀 함유제품을 제외한 벌꿀 103건 중 국내산이 99건이었으며 수입산이 4건이었다. 수거한 벌꿀의 종류는 양봉꿀로 아카시아꿀, 잡화꿀, 밤꿀, 유채꿀, 대추꿀 등이 있고 토종꿀도 포함하였으며, 벌꿀 함유제품으로 꿀의

*Corresponding author: Eun Gui Kang, Center for Food and Drug Inspection, Gyeongin Regional Korea Food and Drug Administration, Incheon 402-835, Korea
Tel: 82-32-450-3211
Fax: 82-32-442-4622
E-mail: egkang06@korea.kr
Received November 26, 2009; revised July 13, 2010;
accepted July 15, 2010

함유량이 높은 홍삼꽃차, 복분자꽃차, 오미자꽃차, 생강꽃차 등을 포함하였다.

표준품 및 시약

네오마이신 표준품인 황산네오마이신(neomycin sulfate, 98%, Sigma, St. Louis, MO, USA)을 물에 녹이고 제조한 표준원액(100 µg/mL)을 0.1 N 염산으로 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 스트렙토마이신과 디히드로스트렙토마이신 표준품인 황산스트렙토마이신(streptomycin sulfate, 95%, Fluka, Buchs, Switzerland)과 황산디히드로스트렙토마이신(dihydrostreptomycin sesquisulfate, 98%, Sigma) 각각 물에 녹여 표준원액(100 µg/mL)을 제조하였다. 이 각각의 표준원액을 1:1로 혼합 후 0.01 M 헥산설폰산(hexanesulfonic acid, sodium salt, ≥98.0%, Wako, Osaka, Japan) 완충용액으로 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 아미트라즈(amtiraz, 99%, Supelco, Bellefonte, PA, USA), 2,4-디메틸아닐린(2,4-dimethylaniline, 99+, Aldrich, St. Louis, MO, USA), 코마포스(coumaphos, 99.0%, Supelco) 표준품을 100% 아세트니트릴에 녹여 표준원액(100 µg/mL)을 제조하였다. 이 각각의 표준원액을 혼합하여 2:2:1로 혼합 후 70% 아세트니트릴로 희석하여 표준용액으로 사용하였다.

네오마이신 추출과 정제에 사용된 시약인 10% 메탄올성 수산화암모늄은 25% 암모니아수(ammonia solution, 25%, Merck, Darmstadt, Germany) 40 mL를 메탄올 100 mL로 정용하여 제조하였고, 0.1 M 염산은 진한 염산(hydrochloric acid, 36-37%, Wako)을 희석하여 제조하였다. 정제 카트리지로 MCX(mixed mode cation exchange, 60 mg, 3 cc, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였고, 이동상 A는 heptafluorobutyric acid(97%, Aldrich)을 0.01 M이 되도록 5% 아세트니트릴에 녹이고 이동상 B는 heptafluorobutyric acid를 0.01 M이 되도록 50% 아세트니트릴에 녹여 제조하였다. 스트렙토마이신과 디히드로스트렙토마이신 추출과 정제에 사용된 시약인 0.2 M 헥산설폰산 완충용액은 1-헥산설폰산 나트륨(1-hexanesulfonic acid sodium salt, 98.0%, Aldrich) 20.225 g을 증류수 50 mL에 녹여 제조하였다. 0.01 M 헥산설폰산 완충용액은 1-헥산설폰산나트륨 2.0225 g을 증류수 1 L에 녹여 제조한 후 아세트산을 가하여 pH 3.3으로 조정 한 후 사용하였다. 정제 카트리지로 HLB(hydrophilic lipophilic balance, 200 mg, 6 cc, Waters)을 사용하였다. 이동상은 0.01 M 헥산설폰산 완충용액 850 mL에 1,2-나프토퀴논-4-설폰산 나트륨(1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid, sodium salt, 97%, Aldrich) 0.10408 g을 녹인 용액과 아세트니트릴 150 mL를 혼합하고 아세트산을 사용하여 pH 3.5로 조정하여 제조하였다. 이동상은 1,2-나프토퀴논-4-설폰산 나트륨의 광분해를 막기 위해 알루미늄 호일로 빛을 차단하였고 분석할 때마다 새로 제조하여 사용하였다. 아미트라즈, 2,4-디메틸아닐린, 코마포스 추출 및 정제에 사용된 아세트:헥산 용액은 1:49의 혼합액을 사용하였고, 0.25% 암모니아수는 25% 암모니아수를 100배 희석하여 사용하였다. 이동상 A는 100% 탈이온수를, 이동상 B는 100% 아세트니트릴을 사용하였다. 분석에 필요한 이동상 제조 및 전처리에 사용된 메탄올(Methanol, HPLC grade, Burdick & Jackson, Ulsan, Korea), 아세트니트릴(Acetonitrile, HPLC grade, Burdick & Jackson), 아세톤(Acetone, HPLC grade, Burdick & Jackson), 헥산(Hexane, HPLC grade, Merck)은 HPLC급을 사용하였고, 증류수는 저항값이 18 MΩ 이상인 탈이온수를 사용하였다.

시료의 추출 및 정제

네오마이신 분석(11)을 위해 균질화된 시료 5 g에 물 20 mL를 넣고 진탕하여 충분히 녹인 후 0.1 M 염산을 사용하여 pH 2로 조정하였다. 이 용액을 미리 메탄올 5 mL와 물 5 mL로 활성화시킨 MCX 카트리지에 흡착시키고, 10 mL의 10% 메탄올성 수산화암모늄용액으로 용출하였다. 용출액은 45°C 이하의 수욕조에서 감압하여 농축하고 잔류물을 0.1 M 염산 1 mL로 녹인 후 0.2 µm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

스트렙토마이신과 디히드로스트렙토마이신(12)을 위해 균질화한 시료 5 g을 물 20 mL에 녹여 균질화한 후 0.2 M 헥산설폰산 완충용액 1 mL를 가하였다. 이 용액을 미리 메탄올 5 mL, 물 5 mL로 활성화시킨 HLB 카트리지에 흡착시키고, 5 mL 물로 세척한 후 5 mL의 메탄올로 용출하였다. 이 용출액을 45°C 이하의 수욕조에서 감압하여 농축하고 잔류물은 0.01 M 헥산설폰산 완충용액 2 mL에 녹인 후 0.2 µm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

아미트라즈, 2,4-디메틸아닐린(13) 및 코마포스(14)를 위해 균질화한 시료 5 g을 삼각플라스크에 정밀히 측정하고 물 70 mL와 암모니아수 10 µL를 넣어 알칼리 조건에서 5분간 균질화한 후 분액깔때기에 옮기고 추출용액(아세트:헥산=1:49) 70 mL로 삼각플라스크를 2회 세척하여 분액깔때기에 합했다. 분액깔때기를 5분간 진탕한 후 정지하여 물층(아래층)은 다른 분액깔때기에 옮기고 여기에 추출용액 30 mL를 넣어 위와 같이 반복한 후 물층(아래층)은 버리고 유기용매층(윗층)을 앞의 분액 깔때기에 합했다. 0.25% 암모니아수 50 mL를 넣고 5분간 진탕한 후 정지하여 물층(아래층)을 버리고 유기용매층을 적당량의 무수황산나트륨을 넣은 No. 1 여지로 여과하였다. 추출용매 20 mL씩 두 번 분액 깔때기를 씻고, 이 씻은 액으로 여지상의 잔류물을 2회 반복하여 씻어 여과하였다. 여액을 합쳐 35°C 이하의 수욕조에서 유기용매를 감압 하에 날려 보낸 후 70% 아세트니트릴 2 mL에 녹여 0.2 µm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

분석기기 및 분석조건

네오마이신 분석을 위해 Shiseido Nanospace II System HPLC (Shiseido, Tokyo, Japan)가 API 4000 Qtrap mass spectrometer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)에 장착된 LC/MS/MS를 사용하였고, 분석 컬럼은 Unison UK-C18(2.0 mm I.d.×75, 3 µm, Imtakt, Kyoto, Japan)을 사용하였다. 기온기온리 조건은 0-1.5분까지 이동상 B를 20% 유지하고 7.0분까지 95%로 증가시킨 후 8.0분까지 95% 유지시켰다. 이때의 이동상 유속은 분당 0.2 mL였으며, 시료는 10 µL 주입하였다. MS/MS 조건은 Table 1과 같이 ESI positive 모드에서 네오마이신의 분자이온 [M+H]⁺인 m/z 615.3을 precursor 이온으로 선택하였고, 615.3을 깨트려 얻은 fragment ion으로 m/z 455, 323, 161, 163을 선택하였다.

스트렙토마이신과 디히드로스트렙토마이신 분석을 위해 컬럼 후 유도체화 장치가 장착된 HPLC/FLD(Shiseido Nanospace II System, Shiseido)을 사용하였으며, 분석 컬럼은 Capcell pack C18(2.0 mm I.d.×250 mm, 5 µm, Shiseido)을 사용하였다. 이동상 유속은 분당 0.25 mL였으며, 시료는 30 µL 주입하였고, 측정 파장으로 여기파장이 260 nm이며, 형광파장은 435 nm에서 측정하였다. 10 m 반응 코일이 장착된 컬럼 후 유도체화 장치의 이동상은 0.2 M 수산화나트륨(sodium hydroxide, Ducksan, Ansan, Korea)로 유속은 분당 0.15 mL였으며, 반응 온도는 70°C였다.

Table 1. MS/MS operating conditions for analysis of neomycin

Parameter	Condition				
Instrument	API 4000 Qtrap (Applied Biosystems)				
Ionization mode	ESI positive mode				
	MRM mode				
Detection	Precursor (m/z)	Fragmentation (m/z)	DP ¹⁾	CE ²⁾	CXP ³⁾
	615.3	455	95	35	6
		323	95	32	7
		161	95	47	12
	163	95	47	12	
Ion spray voltage	4500 eV				

¹⁾Declustering potential, ²⁾collision potential, ³⁾collision cell exit potential

아미트라즈, 2,4-디메틸아닐린 및 코마포스 분석을 위해 PDA(photo diode array, Shiseido) 검출기가 장착된 HPLC(Shiseido Nanospace II System, Shiseido)을 사용하였으며 분석 컬럼은 Capcell pack C₁₈(4.6 mm I.d.×250 mm, 5 µm, Shiseido)을 사용하였다. 기울기용리 조건은 0-32분까지 이동상 B를 45-100%까지 증가시킨 후 35분까지 이동상 B를 100%로 유지시키고 36분까지 이동상 B를 45%로 낮춘 후 40분까지 유지시켰다. 이때의 이동상 유속은 분당 1.0 mL였으며, 시료는 20 µL 주입하였고, 검출 파장은 매트릭스에 의한 방해가 적은 파장으로 선택하여 아미트라즈와 코마포스는 313 nm에서, 2,4-디메틸아닐린은 233 nm에서 분석하였다.

결과 및 고찰

특이성 및 검량선

네오마이신의 검량선은 0, 0.025, 0.050, 0.100, 0.200, 0.300 µg/mL의 6개 표준용액을 LC/MS/MS로 분석하여 각 농도의 피크 면적에 대해 검량선을 작성한 결과 검량선의 계산식은 $y=136.25x-452.84$ 이고, 상관계수(r^2)는 0.9998였다. 스트렙토마이신과 디히드로스트렙토마이신의 검량선은 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25 µg/mL의 6개 표준용액을 HPLC/FLD로 분석하여 각 농도의 피크 면적에 대해 검량선을 작성한 결과 스트렙토마이신의 검량선 계산식은 $y=12675.4x+73124$ 이고, 상관계수(r^2)는 0.9998이며, 디히드로스트렙토마이신의 검량선 계산식은 $y=1264.0x+45312$ 이고, 상관계수(r^2)는 0.9994였다. 아미트라즈와 2,4-디메틸아닐린의 검량선은 0, 0.125, 0.250, 0.500, 1.000, 2.000 µg/mL로, 코마포스의 검량선은 0, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, 1.000 µg/mL이 되도록 혼합한 표준용액을 HPLC/PDA에 주입하여 각 농도의 피크 면적에 대해 검량선을 작성한 결과, 각각의 검량선의 계산식은 $y=848356.8x-3392.9$, $y=749067.1x-70595.7$, $y=499862.4x-1216.9$ 이고 각각의 검량선의 상관계수(r^2)는 0.9998, 0.9974, 0.9997이었다. Figs. 1-3와 같이 매트릭스의 영향 없이 피크가 잘 분리되어 지는 것을 확인하였다.

회수율

시료(벌꿀) 5g에 최종 농도가 잔류허용기준의 0.5, 1, 2배가 되도록 표준용액을 가한 후 각각의 전처리법에 준하여 실험 후 LC/MS/MS, HPLC/FLD, HPLC/PDA 분석한 결과, 네오마이신의 회수율은 72.1-80.2%이며 상대표준편차(CV, %)가 10.0 이하였고, 스트렙토마이신과 디히드로스트렙토마이신의 회수율은 각각 108.2-

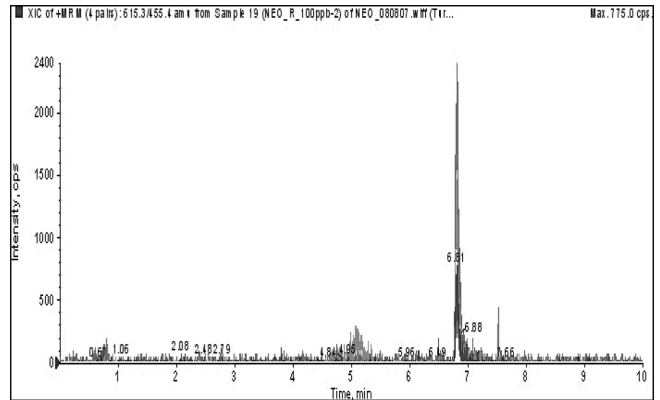


Fig. 1. Total ion chromatogram of honey spiked with neomycin.

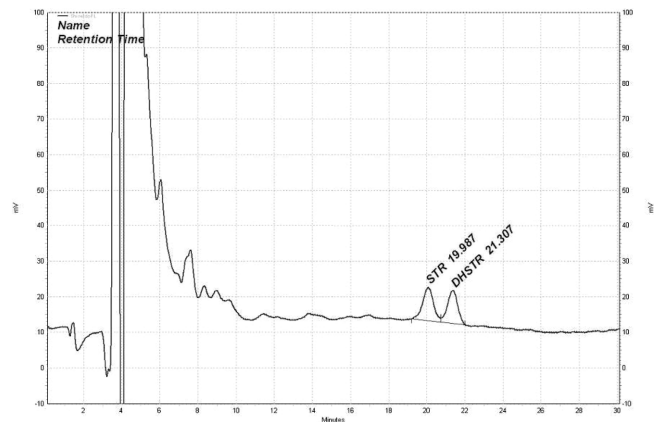


Fig. 2. LC chromatogram of honey spiked with (dihydro) streptomycin.

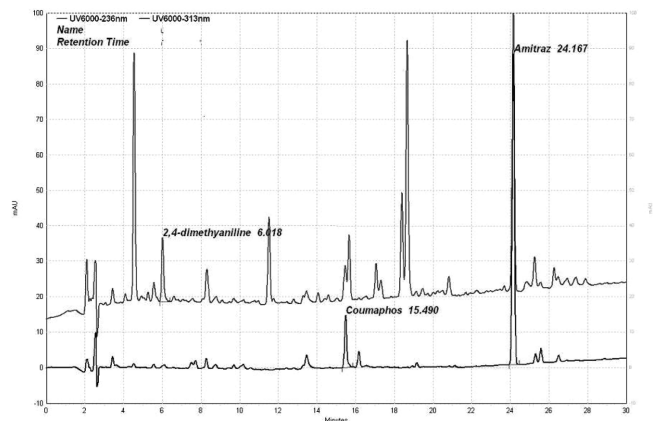


Fig. 3. LC chromatogram of honey spiked with amitraz, 2,4-dimethylaniline, and coumaphos.

113.5%와 98.6-104.2%이며 상대표준편차(CV, %)는 5 이하였다. 아미트라즈, 2,4-디메틸아닐린, 코마포스의 회수율은 각각 90.9-100.1%, 50.6-59.6%, 92.6-95.9%로 상대표준편차(CV, %)는 10.0 이하였다(Table 2).

검출한계 및 정량한계

크로마토그램상에서 얻어진 피크의 신호 대 잡음비(S/N ration) 3.3을 검출한계로 하고, 신호 대 잡음비 10을 정량한계로 구한 결과 네오마이신의 검출한계는 0.005 mg/kg이었고, 정량한계는 0.015

Table 2. Recoveries and CVs of each veterinary medicine analyzed by the present method

Analyte	Concentration spiked per garm of the honey (mg/kg)	Mean recovery (%)	CV (%)
Neomycin	0.05	72.1	9.7
	0.10	77.0	4.3
	0.20	80.2	5.4
Streptomycin	0.10	113.5	4.7
	0.20	108.2	1.9
Dihydrostreptomycin	0.10	98.6	1.4
	0.20	104.2	0.7
Amitraz	0.10	90.9	2.1
	0.20	100.1	2.2
	0.40	99.4	0.2
2,4-dimethylaniline	0.10	50.6	7.9
	0.20	59.6	7.9
	0.40	53.3	7.7
Coumaphos	0.05	94.9	0.9
	0.10	95.9	3.5
	0.20	92.6	0.8

mg/kg였으며, 스트렙토마이신과 디히드로스트렙토마이신의 검출 한계는 0.03, 0.10 mg/kg이었다. 아미트라즈, 2,4-디메틸아닐린, 코마포스의 검출한계는 각각 0.005, 0.008, 0.006 mg/kg였고, 정량한계는 0.015, 0.024, 0.020 mg/kg였다.

잔류량 조사

전국 주요도시에 유통되는 벌꿀 103건과 벌꿀 함유제품 7건을 포함하여 전체 110건에 대한 네오마이신, 디히드로스트렙토마이신/스트렙토마이신, 아미트라즈, 코마포스 잔류량 조사결과 네오마이신, 스트렙토마이신/디히드로스트렙토마이신, 스트렙토마이신과 디히드로스트렙토마이신, 아미트라즈와 2,4-디메틸아닐린은 모두 검출되지 않았고, 코마포스는 국내산 아카시아꿀 1건에서 0.02 mg/kg 검출되었으나 잔류허용기준(0.1 mg/kg) 이하였다(Table 3 & 4).

요 약

기준 설정 전인 2006년 식품의약품안전청에서 실시한 연구과제의 결과보고서에 의하면 200건 벌꿀 중 네오마이신은 검출되

Table 3. Residues of neomycin, streptomycin, and dihydrostreptomycin in 110 samples

Sample	Neomycin	Streptomycin Dihydrostreptomycin
Domestic honey	Mixed flower	40 (ND) ¹⁾
	Acasia	36 (ND)
	Chestnut	6 (ND)
	Native	15 (ND)
	Rape flower	1 (ND)
	Jujube	1 (ND)
Imported honey	4 (ND)	4 (ND)
Products with honey	7 (ND)	7 (ND)
Total	110 (ND)	110 (ND)

¹⁾Not detected

지 않았고, 스트렙토마이신의 경우 23건이 검출되었으며, 아미트라즈(그 대사산물 포함), 코마포스의 경우 각각 10건, 9건의 검출되었다(8). 그러나 기준 설정 후인 본 연구의 모니터링 결과 해당 동물용의약품의 검출율이 현저하게 떨어진 것으로 미루어 볼 때 07년 기준 설정 후 설정된 잔류허용기준에 맞춰 관리되고 있음을 알 수 있었다.

문 헌

1. Won SY, Kang HI, Jang HS, Lee HJ, Kim SH. Monitoring of acaricide residues in honey. Annu. Rep. KFDA. 11: 189-201 (2007)
2. Rial-Otero R, Gaspar EN, Moura I, Capelo JL. Gas chromatography mass spectrometry determination of acaricides from honey after a new fast ultrasonic-based solid phase micro-extraction sample treatment. Talanta 71: 1906-1914 (2007)
3. KFDA. Food Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 2-1-13-14 (2008)
4. Mutineli F. Practical application of antibacterial drugs for the control of honey bee diseases. APIACTA 38: 149-155 (2003)
5. Bruijnsvoort MV, Ottink JM, Jonker KM, Boer ED. Determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk and honey by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. B 1058: 137-142 (2004)
6. Edder P, Cominoli A, Corvi C. Determination of streptomycin residues in food by solid-extraction and liquid chromatography with post-column derivatization and fluorometric detection. J. Chromatogr. A 830: 345-351 (1999)

Table 4. Residues of amitraz, 2,4-dimethylaniline, and coumaphos in 110 samples

Sample	Amitraz	2,4-dimethylaniline	Coumaphos
Domestic Honey	Mixed Flower	40 (ND) ¹⁾	40 (ND)
	Acasia	36 (ND)	36 (ND)
	Chestnut	6 (ND)	6 (ND)
	Native	15 (ND)	15 (ND)
	Rape flower	1 (ND)	1 (ND)
	Jujube	1 (ND)	1 (ND)
Imported honey	4 (ND)	4 (ND)	4 (ND)
Products with honey	7 (ND)	7 (ND)	7 (ND)
Total	110 (ND)	110 (ND)	109(ND), 1(D) ²⁾

¹⁾Not detected, ²⁾detected

7. Reybroeck W. Residues of antibiotics and sulphonamides in honey on the Belgian market. *APIACTA* 38: 23-30 (2003)
8. Hong JG. Risk assessment study on veterinary drug residue in honey. *Annu. Rep. KFDA, Korea* 11: 28-90 (2006)
9. Jimenez JJ, Bernal JL, Nozal MJ, Toribio L, Atienza J. Characterization and monitoring of amitraz degradation products in honey. *J. High Res. Chromatog.* 20: 81-84 (2005)
10. Caldow M, Fussell RJ, Smith F, Sharman M. Development and validation of an analytical method for total amitraz in fruit and honey with quantification by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Addit. Contam. A* 24: 280-284 (2007)
11. KFDA. Food Code. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 10-5-11-12 (2008)
12. KFDA. Food Code. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 10-5-55-56 (2008)
13. KFDA. Food Code. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 10-5-68-69 (2008)
14. KFDA. Food Code. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 10-5-113-114 (2008)