

HPLC-UVD/MS를 이용한 농산물 중 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 분석법 확립

이수진 · 김영학 · 송이슬 · 황영선 · 임정대 · 손은화 · 임무혁¹ · 도정아² · 오재호² · 권기성² · 이종근³ · 이영득⁴ · 정명근*

강원대학교 생약자원개발학과, ¹식품의약품안전청 식품기준과, ²식품의약품안전평가원 화학물질과,

³한국보건산업진흥원, ⁴대구대학교 생명환경학부

(2011년 9월 14일 접수, 2011년 9월 23일 수리)

Development of Analytical Method for Fenoxycarb, Pyriproxyfen and Methoprene Residues in Agricultural Commodities Using HPLC-UVD/MS

Su-Jin Lee, Young-Hak Kim, Lee-Seul Song, Young-Sun Hwang, Jung-Dae Lim, Eun-Hwa Sohn, Moo Hyeog Im¹, Jung-Ah Do², Jae-Ho Oh², Kisung Kwon², Joong-Keun Lee³, Young Deuk Lee⁴ and Myoung-Gun Choung*

Dept. of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 245-907, Korea, ¹Food Standard Division, Korea Food and Drug Administration, Chungbuk 363-951, Korea, ²Food Chemical Residues Division, National Institution of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongwon-Gun 363-951, Korea, ³Korea Health Industry Development Institute, Chungbuk 363-951, Korea, ⁴Division of Life and Environmental Science, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea

Abstract

Fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene are juvenile hormone mimic insecticide. These insecticides have been widely used for mosquito, fly, scale insects, and Lepidoptera. The purpose of this study was to develop a simultaneous determination procedure of fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene residues in crops using HPLC-UVD/MS. These insecticide residues were extracted with acetone from representative samples of four raw products which comprised brown rice, apple, green pepper, and Chinese cabbage. The extract was diluted with saline water, and then *n*-hexane/dichloromethane partition was followed to recover these insecticides from the aqueous phase. Florisil column chromatography was additionally employed for final clean up of the extract. The analytes were quantitated by HPLC-UVD/MS, using a C₁₈ column. The crops were fortified with each insecticide at 3 levels per crop. Mean recovery ratios were ranged from 80.0 to 104.3% in four representative agricultural commodities. The coefficients of variation were less than 4.8%. Quantitative limit of fenoxycarb, pyriproxyfen, and methoprene was 0.04 mg/kg in crop samples. A HPLC-UVD/MS with selected-ion monitoring was also provided to confirm the suspected residues. The proposed simultaneous analysis method was reproducible and sensitive enough to determine the residues of fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene in the agricultural commodities.

Key words fenoxycarb, pyriproxyfen, methoprene, HPLC-UVD/MS, residue, agricultural commodity

서 론

Fenoxycarb(ethyl 2-(4-phenoxyphenoxy) ethylcarbamate)

*연락처 : Tel. +82-33-540-3321, Fax. +82-33-540-3329

E-mail: cmg7004@kangwon.ac.kr

는 곤충생장조절제로서 화학식은 C₁₇H₁₉NO₄(분자량 301.34)이며(Fig. 1), 면화, 올리브, 덩굴식물 등에 해를 끼치는 나비목과 개각충 방제에 주로 사용되고, 또한 곤충 산란작용 억제 효과가 보고된바 있으며(Charmillot 등, 2001; Bortolotti 등,

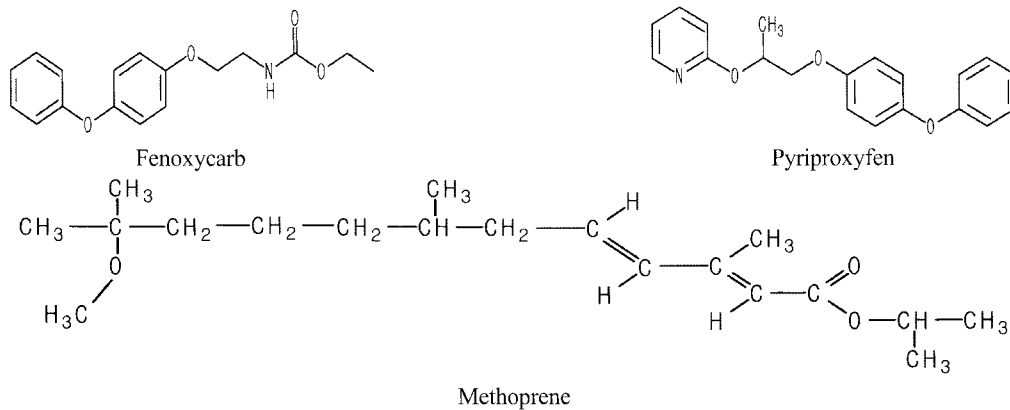


Fig. 1. Chemical structures of fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene.

2000), 벼룩, 모기, 바퀴벌레, 나방 등의 성장조절에도 사용된다(Grenier 등, 1993). 토양에서의 이동성이 낮고, 쉽게 분해가 되며, 생체 내에서는 축적되지 않으며(Michel 등, 2001), 유럽에서는 과수원과 포도밭 등에서 나비목 방제에 주로 사용된다(Oliver 등, 2004).

한편 pyriproxyfen(2-[1-(4-phenoxyphenoxy)propan-2-yloxy]pyridine)은 곤충의 성장과 호르몬 메커니즘을 방해하는 곤충 성장조절제로 비정상적인 성충을 만들거나 번데기로의 변태 과정을 억제하며(Ishaaya 등, 1992; Schaefer 등, 1991), 집파리, 모기, 바퀴벌레와 같은 해충방제에 사용되기도 하고, 농업과 원예부분에서는 가루이, 목화다래벌레, 매미충, 진딧물, 거세미 등의 방제에 사용되고, 이스라엘, 남아프리카, 스페인, 이탈리아 등에서는 신맛이 나는 과일에도 사용하며, 캘리포니아에서는 불개미 방제에도 사용한다(WHO, 2008). 화학식은 $C_{20}H_{19}NO_3$ (분자량 321.37)이며(Fig. 1), 녹는점은 $48 \sim 50^\circ\text{C}$ 이고, 토양이 호기성 상태일 때는 급속히 분해되며, 반수치사량이 $5,000 \text{ mg/kg}$ 이상으로 저독성의 특성을 나타낸다(Darabi 등, 2011).

또한 methoprene(1-methylethyl(*E,E*)-11-methoxy-3,7,11-trimethyl-2,4-dodecadienoate)은 번데기 혹은 성충에서는 유해하지 않으나, 유충이 번데기로 되는 과정에 작용하는 유충 살충제로 딱정벌레, 벼룩, 파리, 개미, 매미, 키클리벌레, 담배나방 및 모기 방제에 사용되며, 물속에서 생존하는 무척추 동물에서 높은 독성을 나타내고(EPA, 2001; WHO, 2008), 화학식은 $C_{19}H_{34}O_5$ (분자량 310.48)이며(Fig. 1), 끓는점은 100°C 이다.

Juvenile hormone(JH) mimic 살충제인 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 물리화학적 특성을 살펴보면 대상농약의 *n*-octanol/water 분배계수(log Pow, 25°C)가 4.1~5.4 범위에 비극성 화합물이며, 증기압은 모두 $0.3 \times 10^{-3} \sim 2.4 \times 10^{-5} \text{ mPa}$ 미만으로 휘발성이 낮은 특성을 나타내고, 낮은 휘

발성으로 인해 gas chromatography(GC) 분석시에는 시료의 유도체화 과정이 필요하므로 개별성분에 대해 high performance liquid chromatography(HPLC)를 이용한 분석법이 보고된 바 있다(Michel 등, 2001).

대상농약에 대한 선행연구는 대부분 개별성분의 방제에 대한 연구로서 애집개미(Rupes 등, 2008; Lim 등, 2005), 누에나방(Mamatha 등, 2008), 파밤나방(Lasa 등, 2007), 해충억제(Tunaz 등, 2004), 갑각류 번데기방제(Mckenney, 2005; Tuberty 등, 2005), 집파리 방제(Kočišová 등, 2004), 통조림에서 fenoxycarb와 pyriproxyfen의 소멸(Payá 등, 2007) 등에 대한 연구가 수행된 바 있으며, 선행 연구 결과들은 곤충 체내에서의 작용과 곤충의 성장과정 방해 정도에 대한 결과가 대부분이며, 농산물 잔류분석을 위한 동시 전처리 및 정량분석에 관한 논문은 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 JH mimic 살충제인 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 정확성 및 정밀성이 확보된 농산물에 적용 가능한 효율적인 동시 분석법을 확립하여 국내 농산물 잔류 농약 검사의 분석효율 향상 및 수입 농산물의 잔류농약 분석에 활용 가능한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 기구

Fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 분석용 표준품은 순도 98% 이상의 분석용 표준품을 Sigma-Aldrich(USA)로부터 구입하여 사용하였다. 표준품의 stock solution은 methanol에 각 500 mg/L 의 농도로 조제하여 -20°C 냉동고에 보관하면서 필요시마다 보관 중인 stock solution을 소정의 농도로 희석하여 사용하였다. Florisil[®](60~100 mesh, 잔류분석용)은 J. T. Baker(USA)로부터 구입하여 130°C 에서 하룻밤 가열하여 탈

수시킨 후 활성화하여 사용하였다. *n*-Hexane, dichloromethane, acetonitrile 및 ethyl acetate는 잔류분석용을 acetone, methanol, 및 deionized water는 HPLC용을 J. T. Baker(USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타 유기용매 및 무기시약은 시약특급 또는 잔류분석용을 사용하였다. 감압농축기는 Eyela NE-1000SW (Japan)를 사용하였고, 농산물 시료는 호모게나이저(IKA, Ultra-Turrax T-25, Germany)를 이용하여 마쇄 및 균질화 하였다.

농산물 시료

본 연구의 분석대상 대표 농산물은 식품 중 농약 잔류허용 기준(식품의약품안전청, 2009)에 3종의 대상성분으로 등록되어 있는 농산물 17종과 Codex Alimentarius Commission에서 정한 농산물 부류별 대표시료 분류표를 참조하여(Codex Alimentarius Commission, 2003) 곡류에서는 현미, 채소류에서 고추 및 배추, 과실류에서는 사과를 대표시료로 선정하였다. 분석에 사용된 현미, 고추, 배추 및 사과의 무농약 시료는 지역 대형마트에서 유기농 인증시료를 구입한 후 식품공전 상 검체 처리방법에 따라 전처리하였으며(식품의약품안전청, 2009), 대조구 시료는 잔류농약 검사를 실시하여 무농약 시료임을 확인한 후 사용하였다.

HPLC-UVD/MS 기기분석 조건

농산물 중 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 기기분석은 분석의 재현성을 극대화하기 위한 조건으로 수행하였다. 즉, HPLC는 Agilent 1200 series(USA)를 사용하였고, 칼럼은 YMC-Pack pro C₁₈ RS(250 × 4.6 mm I.D., S-5 μm, 8 nm, Japan)을 사용하였고, 기타 분석조건은 Table 1과 같다. 한편 LC/MS분석은 Agilent 6110 Quadropole LC/MS를 사용하였고, 분석 조건 중 일부는 HPLC 분석과 달리하여 분석을 실시하였으며, 자세한 분석조건은 Table 2에 나타내었다.

분배용매별 분배효율 검증

Acetone 150 mL에 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 표준용액 1 mL를 첨가하고, 포화식염수 50 mL와 증류수 450 mL를 첨가한 뒤 분액여두에 옮겨 각 분배용매로 *n*-hexane 100 mL, *n*-hexane/dichloromethane(90/10, v/v) 100 mL, *n*-hexane/dichloromethane(80/20, v/v) 100 mL 및 *n*-hexane/dichloromethane(60/40, v/v) 100 mL로 처리를 달리하여 각각 추출하였다. 각 분배 추출액을 무수 sodium sulfate에 통과시켜 수분을 제거하였고, 40°C 이하에서 감압 농축하였다. 농축된 잔류물은 10 mL의 80% acetonitrile에 재용해하

Table 1. HPLC operating conditions of fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene

HPLC system	Agilent 1200 series		
Column	YMC-Pack pro C ₁₈ RS (250 X 4.6 mm I.D., S-5 μm, 8 nm, Japan)		
Wavelength	fenoxycarb	pyriproxyfen	methoprene
	230 nm	230 nm	265 nm
Mobile phase	fenoxycarb	pyriproxyfen	methoprene
	65% ACN	85% ACN	95% ACN
Flow rate	1 mL/min		
Injection vol.	20 μL		
Column temp.	30°C		

Table 2. LC/MS operating conditions of fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene

LC/MS system	Agilent 6110 Quadropole LC/MS		
Column	YMC-Pack pro C ₁₈ RS (150 × 2.0 mm I.D., S-3 μm, 8 nm, Japan)		
Column temp.	30°C		
Mobile phase	5 mM Ammonium acetate-H ₂ O(A) : 5 mM Ammonium acetate-ACN(B)		
	fenoxycarb : 65% B, pyriproxyfen : 85% B, methoprene : 95% B		
Flow rate	0.3 mL/min		
Injection vol.	5 μL		
Ionization	ESI positive-ion mode		
Gas temp.	350°C		
Drying gas	N ₂ , 10 mL/min		
Capillary voltage	4.0 kV		
Mass range (m/z)	200~600		

여 HPLC로 분석하였으며, 분배용매별 3반복으로 실험을 수행하여 회수율을 계산하였다.

한편 현미와 같이 비극성인 지용성 물질이 다량 함유되어 있는 농산물에서는 비극성 유지성분의 제거를 위한 추가적 액-액 분배과정의 효율을 검토하였으며, 분배용매별 효율 검증에서 가장 우수한 분배용매로 결정된 추출액을 무수 sodium sulfate 20 g에 통과시켜 수분을 제거하고 40°C 이하에서 감압농축한 후, acetonitrile이 포화된 *n*-hexane 20 mL를 첨가하고, *n*-hexane이 포화된 acetonitrile 40 mL씩 1~3회 분배 추출한 후 40°C 이하에서 감압농축 하였으며, 농축된 잔류물은 10 mL의 80% acetonitrile에 재용해하여 HPLC로 분석하였고, *n*-hexane/acetonitrile 분배 회수율을 계산하였다.

Florisil 흡착 크로마토그래피 정제 조건의 검토

130℃에서 하룻밤 동안 가열하여 탈수시킨 활성 florisil 10 g을 내경 1.5 cm, 길이 40 cm의 유리 칼럼에 건식 충전한 후, 3 g의 무수 sodium sulfate를 위에 첨가하였다(이하 florisil 칼럼). 충전된 florisil 칼럼에 dichloromethane 50 mL를 가하여 상단에 소량의 dichloromethane이 남을 정도로 유출시켜 활성화시킨 후 dichloromethane 10 mL에 용해한 검체용액을 가하고 약 3 mL/min으로 유출시켰다. 충전제 표면이 노출되기 직전 *n*-hexane/dichloromethane 혼합용액(70/30, v/v) 100 mL를 가하여 pre-washing한 후 *n*-hexane/ethyl acetate 혼합용액의 조성별로 각각 50 mL씩 3회 용리시켰으며, 각 혼합용액의 조성별 용리액을 농축시킨 후 80% acetonitrile 10 mL를 첨가하여 재정용하고, 이 용액 20 µL를 HPLC로 분석하여 용리액의 조성별 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 회수율을 검토하였다.

표준검량선 및 정량한계(Limit of quantitation, LOQ)

Fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 농도별 표준용액은 stock solution을 0.1~5 mg/L의 농도가 되도록 희석하고, 20 µL를 HPLC에 주입하여 peak의 면적을 기준으로 표준검량선을 작성하였다. 분석법의 정량한계는 무농약 농산물 시료에서 간섭물질이 존재하지 않음을 확인한 후, 분석기기의 정량한계(LOQ)와 시료량 그리고 분석과정 중의 농축배율을

계상, 아래의 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{LOQ}(\text{mg/kg}) = [\text{기기 정량한계}(\text{ng})/\text{주입량}(\mu\text{L})] \times [\text{시료용액}(\text{mL})/\text{시료량}(\text{g})]$$

대표 농산물에 대한 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 회수율 검정

본 연구에서 확립한 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 잔류분석법의 효율 및 신뢰성을 검정하기 위하여 회수율 시험을 수행하였다. 즉, 무농약 농산물 시료를 마쇄하고 시료 25 g에 정량한계, 정량한계의 10 및 50배에 해당하는 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 표준용액을 첨가한 다음 상기 분석과정을 행하여 회수율을 측정하였다.

결과 및 고찰

HPLC 분석조건 확립

Fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 최적 HPLC 분석파장을 선정하기 위하여 메탄올에 용해한 표준품을 이용하여 최대흡수파장(λ_{max})을 검토하였다. 그 결과 fenoxycarb는 192 및 228 nm에서, pyriproxyfen은 192, 228 및 272 nm에서, methoprene은 264 nm에서 가장 높은 흡광력을 나타내었다(Fig. 2). 대상 3종 농약 성분의 흡광력을 고려할 때,

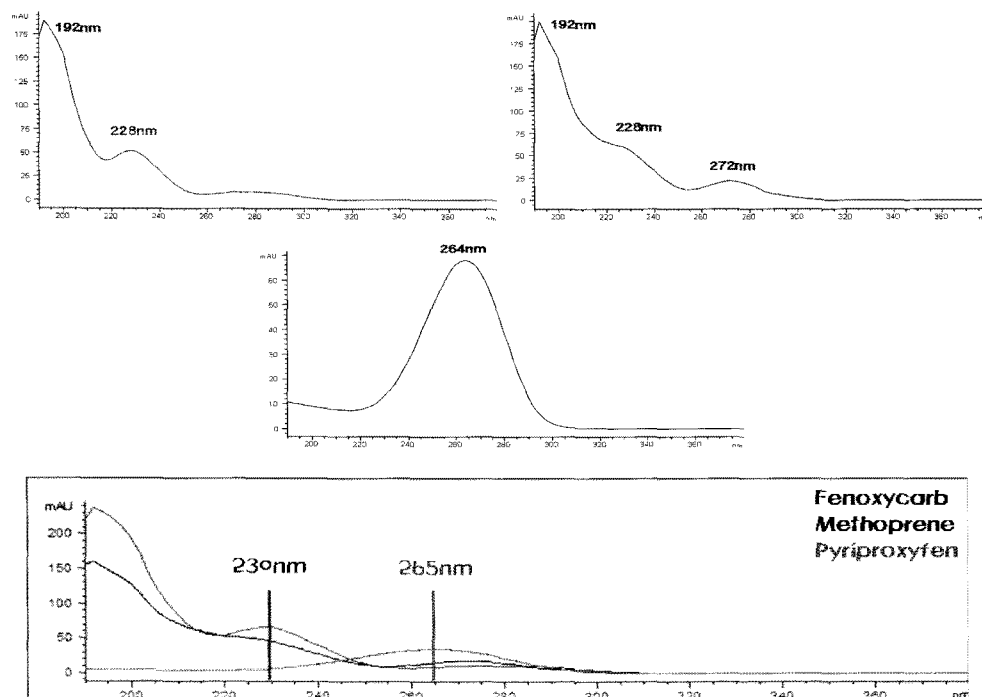


Fig. 2. UV absorption spectra of fenoxycarb (left), pyriproxyfen (right), and methoprene (center).

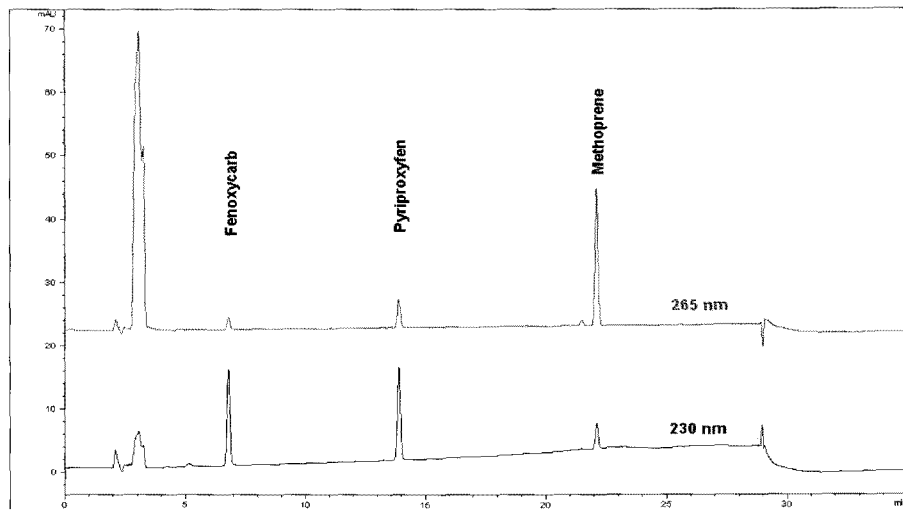


Fig. 3. Chromatograms of fenoxycarb, pyriproxyfen, and methoprene standard at different wavelength.

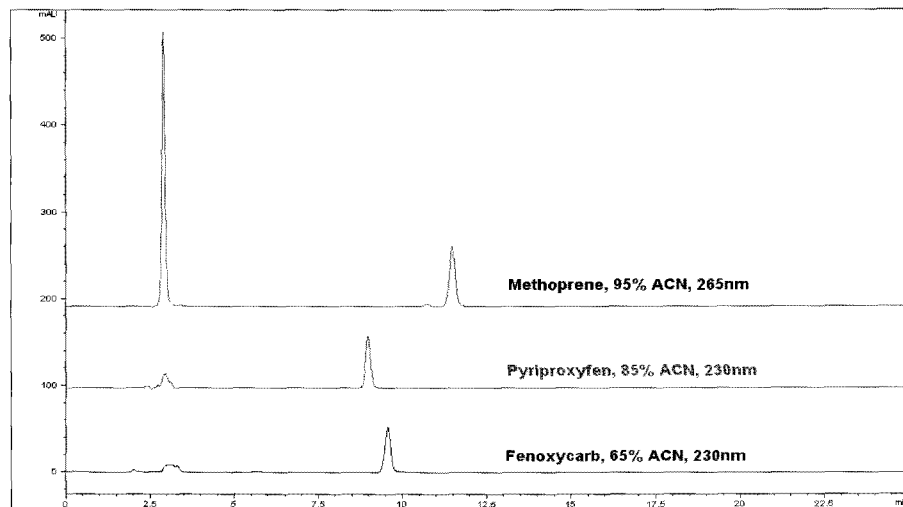


Fig. 4. Comparison on the retention time of fenoxycarb, pyriproxyfen, and methoprene at optimal HPLC conditions.

fenoxycarb 및 pyriproxyfen의 검출파장으로 약 200 nm 범위가 가장 감도가 우수할 것으로 예상되나, 210 nm 이하의 파장영역에서는 용매에 의한 노이즈 현상이 극히 심할 것으로 판단되고, 특히 분석성분 중 methoprene은 230 nm 부근까지는 거의 흡광력이 발생하지 않고, 264 nm 부근이 되어야 높은 흡광력을 나타내므로, 이들 성분의 최대 흡광영역이 서로 상이한 양상을 나타내므로 분석 감도 면에서 세 가지 성분의 동시분석을 위한 파장설정은 불가능할 것으로 판단되어(Fig. 3), fenoxycarb 및 pyriproxyfen의 검출파장으로는 용매에 의한 노이즈가 감소되며 분자구조에 의해 비교적 높은 흡광력을 나타내는 230 nm를, methoprene의 경우 분자구조에 의해 최대 흡광력을 나타내는 265 nm를 분석파장으로 각각 설정하였다.

분석용 HPLC 칼럼은 C₁₈ 계열의 YMC-Pack pro C₁₈ RS (250 × 4.6 mm I.D., S-5 μm, 8 nm)를 이용하였고, 이동상으로

물과 acetonitrile의 혼합 용매계를 이용하여 각 성분의 머무름 시간을 검토한 결과, 3종 성분의 극성차이가 극히 심해 특정 혼합용매 조건에서 isocratic 분석으로는 과도한 분석시간이 소요되거나, 극도로 낮은 분리 효율 등으로 인해 3종 성분의 동시분석이 불가능하였으며(Table 3), 아울러 용매계의 농도 구배(gradient) 분석을 적용하고자 하여도 이미 앞에서 언급한 것처럼 분석파장의 차이로 인해 gradient를 실시하여 동시에 분리가 가능하다 하여도 각 성분의 검출 파장이 서로 상이하므로 검출기를 diode array 방식의 적용에 의한 다파장 동시분석이 아닐 경우 동시분석의 의미가 없으므로 각 성분에 대해 용리조건을 각 성분의 극성에 맞추어 최적화 하였다.

즉, 각 성분별 HPLC 분석 용매 및 파장의 최적화 조건으로서 fenoxycarb는 65% acetonitrile 조건으로 230 nm 검출 시 9.5분대에, pyriproxyfen은 85% acetonitrile 조건으로 230 nm

검출 시 8.9분대에, methoprene은 95% acetonitrile 조건으로 265 nm 검출 시 11.4분대에 각각 효율적으로 분석이 가능하였다(Fig. 4). 따라서 상기 3종 성분의 잔류분석 시 전처리하는 동시에 하더라도 기기적 정량 분석은 서로 다르게 최적화된 조건으로 실시하는 것이 바람직하다는 결과를 도출하였다.

분석기기의 검출한계 및 정량한계 설정

분석기기의 검출한계는 기기분석 시 크로마토그램에서 peak로 검출할 수 있는 한계농도를 의미하는 것으로 크로마토그램 상에서 S/N(signal/noise)비가 3이상을 나타내는 성분의 농도를 의미한다. 한편 정량한계는 크로마토그램의 해석 시 신뢰성 있게 정량할 수 있는 한계농도로서, 크로마토그램 상에서 검출된 peak의 S/N(signal/noise)의 비가 10 이상(LOD

의 3배 이상)을 나타내는 성분의 농도를 의미한다(Fong 등, 1999; Miller, 2005).

Table 1의 HPLC 조건에서 다양한 농도의 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 표준용액을 분석하여 S/N비를 계산한 결과 정량한계(S/N \geq 10)는 0.1 mg/kg 수준이었다(Fig. 5).

검량선의 직선성

Fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 농도별 표준용액(0.1~5 mg/L)을 조제하고, 각 20 μ L를 상기 Table 1의 조건인 HPLC에 주입, 분석하여 얻은 농도별 표준검량식을 측정된 결과 각각의 성분 모두 $R^2=0.999$ 이상으로 고도의 직선성을 유지하였다(Fig. 6).

Table 3. Retention time of fenoxycarb, pyriproxyfen, and methoprene at different isocratic elution conditions

Mobil phase	Retention time (min)		
	Fenoxycarb	Pyriproxyfen	Methoprene
60% acetonitrile	12.8	ND	ND
65% acetonitrile	9.5	ND	ND
70% acetonitrile	7.3	24.1	ND
80% acetonitrile	5.0	12.1	ND
85% acetonitrile	4.3	8.9	20.5
90% acetonitrile	3.8	6.7	16.7
95% acetonitrile			11.4

시료 추출 및 분배과정의 확립

농산물 시료로부터 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene을 추출하기 위한 용매로는 acetone을 사용하였다. Acetone은 US FDA법이나 AOAC법에서 대상성분과 유사한 물리화학적 특성을 나타내는 농약 잔류분을 추출하는데 보편적으로 사용되는 표준적 용매로서 이미 많은 연구자들에 의하여 농약 추출에 그 효율과 재현성이 인정된 바 있다(Kwon 등, 2008).

농산물 추출액으로부터 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 성분 외에 함께 추출되는 농산물 유래 방해물질을 1차적으로 제거하기 위한 조정제법으로 액-액 분배법을

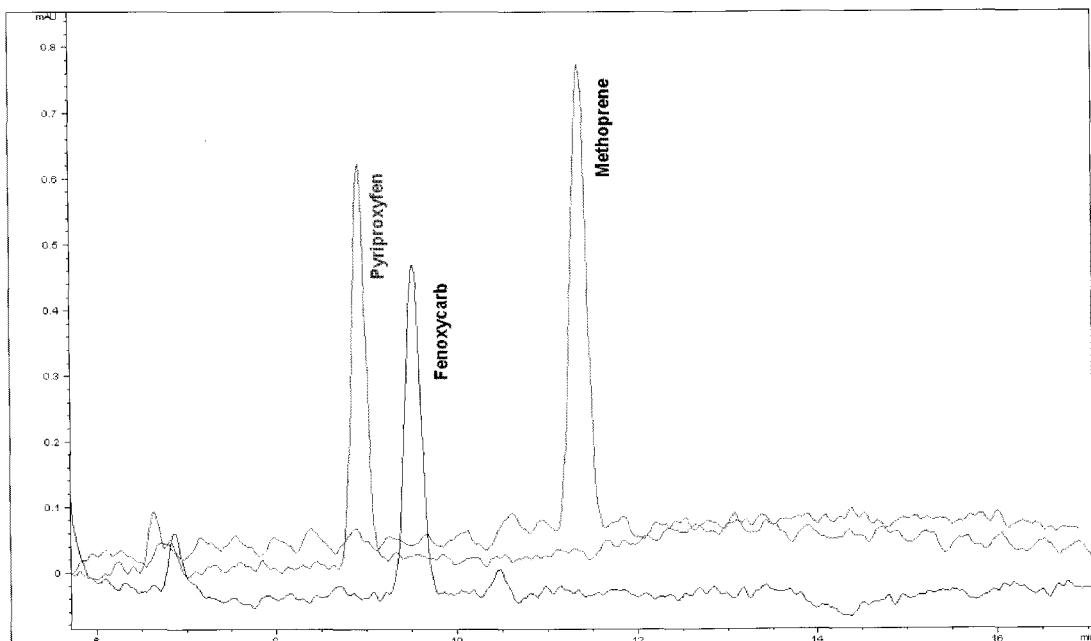


Fig. 5. LOQ for fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene standard (0.1 mg/L).

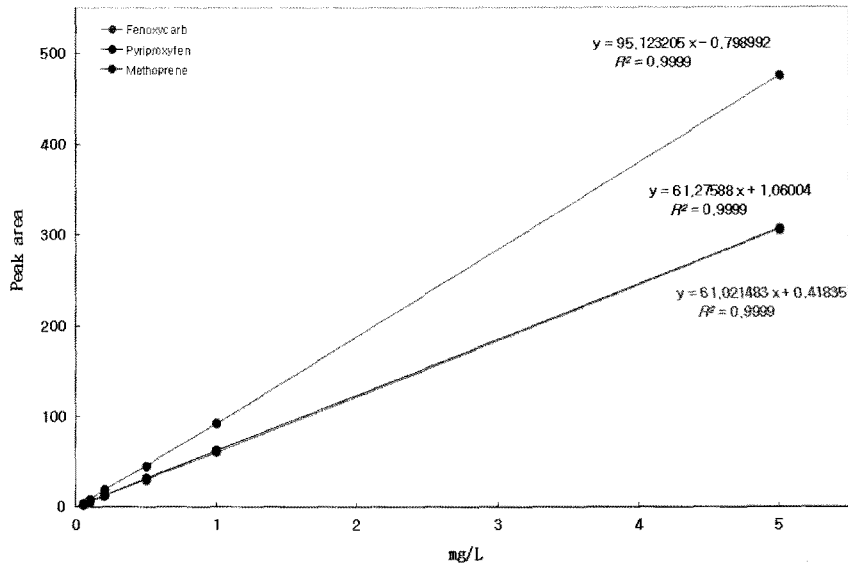


Fig. 6. Calibration curves of fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene standard solution using HPLC (0.1 ~5 mg/L, triplicate analysis).

Table 4. Efficiency of liquid-liquid partition of crude extract by solvents composition changes for fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene

Pesticide	Recovery ratio ¹⁾ (%)			
	Partition I ²⁾	Partition II	Partition III	Partition IV
Fenoxycarb	90.1	96.5	98.6	104.7
Pyriproxyfen	95.0	96.6	96.4	98.2
Methoprene	94.4	96.3	96.0	98.3

¹⁾Mean values of triplicate samples.

²⁾Partition mixture : 150 mL acetone + 50 mL saturated NaCl + 450 mL distilled water.

I : 100 mL *n*-hexane, II: 100 mL *n*-hexane/dichloromethane(90:10, v/v), III: 100 mL *n*-hexane/dichloromethane(80/20, v/v),

IV: 100 mL *n*-hexane/dichloromethane(60/40, v/v)

사용하였다. 즉, 수용성 유기용매 추출액을 다량의 포화식염수/증류수로 희석한 후 직접 비극성 용매로 분배 추출하는 방법을 사용하였는데, 이는 US FDA법이나 AOAC법에서 중간~비극성 농약 성분에 대하여 보편적으로 사용되며(AOAC, 2000; Lee 등, 2008), 번거로운 추출액의 농축 과정을 생략할 수 있는 장점이 있다.

분배용매로 *n*-hexane 및 dichloromethane/*n*-hexane 혼합액 4종을 공시, 3종의 대상성분의 분배효율을 조사한 결과는 Table 4에 나타내었다. 대상성분들의 액-액 분배조건에 따른 분배효율을 조사한 결과 분획용매 I의 조건인 *n*-hexane 용액 100 mL로 분획하였을 때 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 성분의 회수율은 각각 90~95%였으며, 분획용매 II의 조건인 *n*-hexane/dichloromethane(90:10, v/v)용액 100 mL로 분획하였을 때 회수율은 각 성분 모두 96% 수준을, 분획용매 III의 조건인 *n*-hexane/dichloromethane(80:20, v/v)용액 100 mL로 분획하였을 때 회수율은 각각 약 96~98% 수준을, 분획용매 IV의 조건인 *n*-hexane/dichloromethane

(60:40, v/v)용액 100 mL로 분획하였을 때 회수율은 각각 약 98~105% 수준을 나타내었다. 이들 각 분획용매 조건에서 분획용매 III 및 IV의 조건이 분획용매 II의 조건보다 다소 높은 회수율을 나타내었으나 큰 차이가 없는 것으로 평가되었고, 대상 성분이 비교적 비극성이라는 점을 감안할 때 분획용매에 *n*-hexane 대비 극성이 높은 dichloromethane의 비율이 높아질수록 상대적으로 극성물질의 혼입이 증가되는 양상을 나타낼 것이므로 분획용매 II를 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 성분의 분배용매로 선정하였다.

n-Hexane/dichloromethane(90:10, v/v)을 이용한 액-액 분배과정에 의하여 시료 중에 포함된 상당량의 극성 및 기타 방해물질이 제거될 것으로 기대되나, 액-액 분배과정에 의하여 제거되지 않은 유지성분 등 일부 비극성 간섭물질은 기기 분석 시 치명적 간섭 또는 분리용 column의 급격한 분리능 저하를 초래하므로 반드시 제거하여야 할 간섭물질이다. 대상 시료 중 현미는 지방함량이 약 2.7~2.9% 수준 함유되어 있는 유지시료이므로 이러한 유지성분의 제거를 위하여 *n*-hexane/

Table 5. Efficiency of liquid-liquid partition with *n*-hexane/acetonitrile for fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene

Pesticide	Recovery ratio ¹⁾ (%)					
	Partition I ²⁾	Partition II	Partition III	Partition IV	Partition V	Partition VI
Fenoxycarb	94.5	95.8	96.4	98.0	94.7	94.5
Pyriproxyfen	94.6	99.6	97.2	98.5	96.8	97.2
Methoprene	51.6	68.2	73.0	86.2	69.0	80.0

¹⁾Mean values of triplicate samples.

²⁾Partition mixture :

I : 40 mL ACN satd. with *n*-hexane + 40 mL *n*-hexane satd. ACN(× 2)

II: 40 mL ACN satd. with *n*-hexane + 40 mL *n*-hexane satd. ACN(× 3)

III: 20 mL ACN satd. with *n*-hexane + 40 mL *n*-hexane satd. ACN(× 2)

IV: 20 mL ACN satd. with *n*-hexane + 40 mL *n*-hexane satd. ACN(× 3)

V: 20 mL *n*-hexane + 40 mL *n*-hexane satd. ACN(× 2)

VI: 20 mL *n*-hexane + 40 mL *n*-hexane satd. ACN(× 3)

Table 6. Elution profile of fenoxycarb, pyriproxyfen, and methoprene on florisil column

Elution solvent (v/v)	Recovery ratio (%) ¹⁾											
	0 - 50 mL			51 - 100 mL			101 - 150 mL			Total		
	Feno.	Pyri.	Meth.	Feno.	Pyri.	Meth.	Feno.	Pyri.	Meth.	Feno.	Pyri.	Meth.
70 : 30 (<i>n</i> -hexane:CH ₂ Cl ₂)										0	0	0
50 : 50 (<i>n</i> -hexane:CH ₂ Cl ₂)										0	0	0
95 : 5 ²⁾		87.9	86.0		10.9	11.8				0	98.8	97.8
90 : 10 ²⁾				21.4	0	0	35.4	0	0	56.8	0	0
85 : 15 ²⁾	18.2			71.9			7.6			97.7	0	0

¹⁾10 g of activated florisil (60-100 mesh) was dry packed.

²⁾Pre-washed 100 mL of *n*-hexane/dichloromethane (70/30, v/v) and then eluted with mixture of *n*-hexane/EtoAc (v/v).

acetonitrile 분배법을 추가하였다(US FDA, 1999; AOAC, 2000).

대상성분별 *n*-hexane/acetonitrile 분배법에서의 분배효율을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 다양한 조건의 *n*-hexane/acetonitrile 분배용매로 회수율을 검토한 결과 대부분의 조건에서 fenoxycarb 및 pyriproxyfen의 회수율은 95% 이상을 나타내었으나, 상대적으로 극성이 낮은 methoprene은 대부분의 분배용매 조건에서 80% 미만의 회수율만을 나타내었고, 단지 분획조건 IV인 20 mL의 헥산으로 포화된 아세트나이트릴과 40 mL 아세트나이트릴로 포화된 헥산 용액으로 분배를 3회 수행함으로써 86.2% 수준의 회수가 가능하였고, 3종 성분 모두 86.2~98.5% 이상의 회수율을 나타내어 유지 등 비극성 간섭물질의 제거를 위한 *n*-hexane/acetonitrile 분배법은 분획조건 IV로 분배하는 것으로 설정하였다. 이 방법은 고유지 시료로 판단되는 현미 시료에 적용할 계획이며, 유지 함량이 0.2~0.4%로 비유지 시료로 분류되는 배추, 사과, 고추에서는 제거되는 불순물의 양이 매우 작고, 크로마토그램

상에서 그 정제 효과 또한 미미하였으므로 *n*-hexane/acetonitrile 분배과정을 생략할 수 있었다.

Florisil 흡착 크로마토그래피 정제조건외의 검토

액-액 분배 및 *n*-hexane/acetonitrile 분배법을 거친 추출액은 색소 등 여전히 상당한 간섭물질이 존재하였으므로 기기분석에 앞서 추가적 정제과정이 필요하였다. 흡착 크로마토그래피는 잔류농약 분석 시 가장 많이 이용하는 추가적 정제방법이며, 흡착제로는 silica gel, florisil 및 alumina가 많이 사용되고 있는데, 이 중 florisil은 색소와 유지의 제거가 뛰어나 가장 보편적으로 사용되는 흡착제이다(US FDA, 1999; AOAC, 2000).

본 연구에서도 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 극성을 고려하여 florisil을 흡착제로 선정 하였으며, 용매의 극성 조절을 위해 *n*-hexane/ethyl acetate의 용매체계를 이용한 최적의 용출체계를 확립하고자 하였다(Table 6).

Florisil 흡착크로마토그래피용 용매의 다양한 극성 조절

을 이용하여 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 회수율을 검토한 결과 *n*-hexane/dichloromethane(70:30, v/v) 용액 100 mL로 pre-washing한 후, *n*-hexane/ethyl acetate (95:5, v/v)의 혼합용매 150 mL로 용출할 경우 세 종류의 분석 대상 성분 중 상대적으로 극성이 낮은 pyriproxyfen 및 methoprene 성분은 98~99%의 회수율을 나타내며 용출되었지만, 상대적으로 극성이 높은 fenoxycarb는 전혀 회수되지 않는 양상을 나타내었고, 계속하여 동일 florisol 칼럼에 *n*-hexane/ethyl acetate(90:10, v/v)의 혼합용매 150 mL를 연속하여 용출할 경우 fenoxycarb가 56.8% 수준 회수되었으나 만족스럽지 못한 양상을 나타내었다. 반면 *n*-hexane/ethyl acetate(95:5, v/v)의 혼합용매 150 mL로 용출하여 3종의 분석대상 성분 중 pyriproxyfen 및 methoprene 성분을 회수한 후 연속하여 *n*-hexane/ethyl acetate(85:15, v/v)의 혼합용매 150 mL로 용출할 경우 나머지 분석 대상성분인 fenoxycarb도 약 98% 수준 회수되는 양상을 나타내어 검토된 용매체계 중 가장 우수한 양상을 나타내어 florisol 흡착크로마토그래피법을 이용한 간섭물질 제거법으로 확립하였으며, 흡착제 1 g 당 10 mL의 용출용매를 사용하는 표준적 흡착 크로마토그래피 용출체계

와도 비교적 잘 부합하였다(US FDA, 1999; AOAC, 2000).

분석정량한계 및 농산물 적용 시 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 회수율

본 연구에서 확립한 시료추출 및 정제, 그리고 기기분석 과정을 무농약 시료에 적용한 결과 모든 무농약 농산물의 최종 시료액에서 대상 농약과 동일한 머무름시간에 간섭물질이 존재하지 않음을 확인하였고, 대표농산물 중 현미시료의 분석 크로마토그램을 Fig. 7~9에 나타내었다. 따라서 분석기기의 정량한계(LOQ)와 시료량, 그리고 분석과정 중의 농축배율을 계상하여 분석법의 정량한계를 산출할 수 있었다. 산출된 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 정량한계는 0.04 mg/kg으로 계산되어 국제기준인 Codex(Codex Alimentarius Commission, 2003) 및 식품공전 잔류농약분석법 실무 해설서(이, 2009)에서 권장하는 잔류농약 분석법 기준인 0.05 mg/kg 이하 또는 허용기준의 1/2 이하의 정량한계 기준에 적합하였다.

각각의 농산물 무처리 시료에 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 표준용액을 정량한계, 정량한계의 10 및 50배의 농도가 되도록 첨가하고, 상기 확립된 분석방법에 의하여

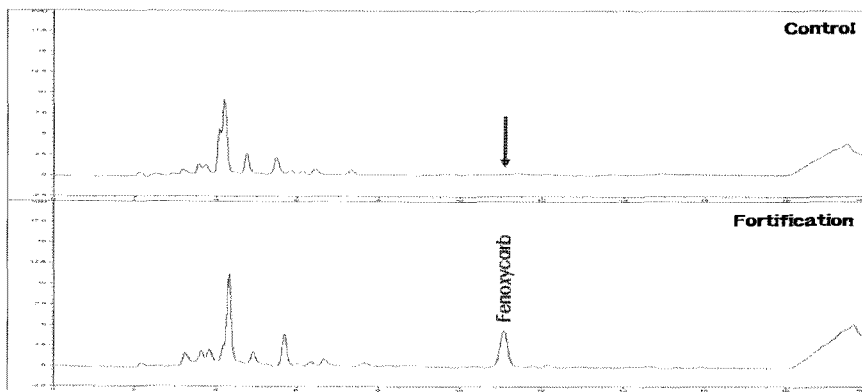


Fig. 7. HPLC chromatograms of fenoxycarb in brown rice.

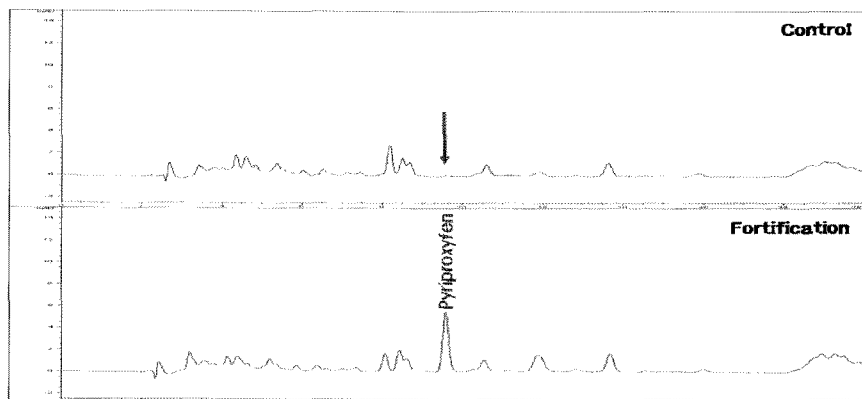


Fig. 8. HPLC chromatograms of pyriproxyfen in brown rice.

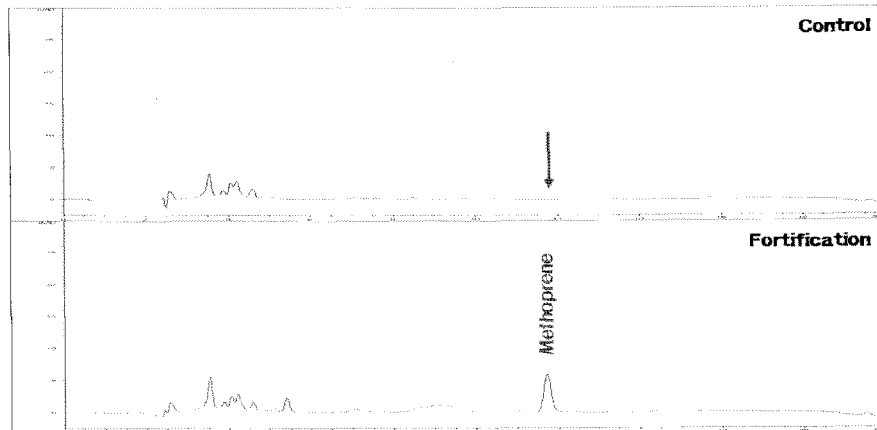


Fig. 9. HPLC chromatograms of methoprene in brown rice.

Table 7. Recovery ratios of fenoxycarb in various crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%) ¹⁾	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Brown rice	0.04	102.2 ± 2.9	2.8	0.04
	0.4	98.3 ± 2.3	2.3	
	2	98.4 ± 3.9	4.0	
Apple	0.04	104.3 ± 3.9	3.8	0.04
	0.4	97.8 ± 3.3	3.4	
	2	97.2 ± 1.5	1.5	
Chinese cabbage	0.04	95.3 ± 1.3	1.3	0.04
	0.4	99.0 ± 2.6	2.6	
	2	99.3 ± 3.2	3.2	
Green pepper	0.04	90.6 ± 5.4	5.9	0.04
	0.4	87.6 ± 2.9	3.3	
	2	88.4 ± 1.7	1.9	

¹⁾Mean values of triplicate samples with standard deviations.

Table 8. Recovery ratios of methoprene in various crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%) ¹⁾	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Brown rice	0.04	84.3 ± 4.0	4.8	0.04
	0.4	81.6 ± 2.1	2.6	
	2	88.9 ± 3.4	3.8	
Apple	0.04	94.6 ± 1.9	2.0	0.04
	0.4	93.9 ± 2.1	2.2	
	2	94.2 ± 1.2	1.3	
Chinese cabbage	0.04	93.6 ± 0.4	0.5	0.04
	0.4	93.3 ± 1.1	1.1	
	2	96.0 ± 1.9	2.0	
Green pepper	0.04	88.7 ± 1.9	2.1	0.04
	0.4	86.3 ± 0.9	1.1	
	2	89.8 ± 0.5	0.6	

¹⁾Mean values of triplicate samples with standard deviations.

대표 농산물에 3반복으로 회수율을 검토한 결과, fenoxycarb 및 methoprene의 경우 처리수준 및 농산물 시료 종류에 관계 없이 잔류분석기준인 회수율 70~120% 범위와 분석오차 10%

이내를 만족하였다(Table 7 및 8).

한편 분석대상 성분 중 pyriproxyfen의 경우 현미, 사과 및 배추시료의 경우 처리수준에 관계없이 86~97% 범위와 분석오차 0.7~4.7% 수준으로 잔류분석 기준을 만족하였으나, 고추 시료의 경우 처리수준에 관계없이 회수율이 30% 미만의 수준을 나타내어 잔류분석의 기준을 충족시키지 못하였다(Table 9 및 Fig. 10). 이는 florisol 칼럼 정제 시 고추에 함유된 특정 성분이 pyriproxyfen의 용출에 영향을 주었거나, 칼럼 정제 시 pyriproxyfen 성분이 고추 함유성분에 의해 분해되었을 가능성을 시사하고 있다. 그러나 후자의 경우 빈번히 발생하는 양상이 아니므로 florisol 칼럼 정제 시 고추에 함유된 특정 성분과의 상호작용에 의한 용출양상 변이를 검증하기 위해 추가로 고추 등 특정 시료에 적합한 florisol 흡착 크로마토그래피의 용매별 용출특성을 추가 검증하였다(Table 10).

그 결과 고추시료에 대한 pyriproxyfen의 분석 시 florisol 흡착 크로마토그래피의 용출조건은 100 mL의 *n*-hexane/dichloromethane(70/30, v/v)으로 pre-washing 후 *n*-hexane/ethyl acetate(60:40, v/v)의 농도로 회수할 경우 약 81% 수준의 회수가 가능한 양상을 확인하였고, 회수율을 향상시키기 위해 극성이 높은 ethyl acetate의 비율을 증가시켜도 회수율은 높아지지 않는 양상을 나타내었다(Fig. 11).

따라서 상기 대상 3종의 농약성분 중 pyriproxyfen의 잔류분석 시 고추시료의 경우 기타 농산물과 달리 *n*-hexane/ethyl acetate(60:40, v/v)의 조건으로 정제하는 것이 바람직한 것이며, 고추의 경우 상기 정제조건으로 정제하는 과정을 새롭게 적용하여 농산물 시료 중 pyriproxyfen의 회수율 및 검출한계를 재정리한 결과는 Table 11과 같다. Table 11에 의하면 pyriproxyfen의 경우에도 처리수준 및 농산물 시료종류에 관계없이 회수율 및 분석오차는 잔류분석 기준인 70~120% 범

위와 10%이내를 만족하였으며, 무처리 시료에서 분석에 간섭하는 방해물질은 전혀 관찰되지 않았고, 정량한계는 0.04 mg/kg 수준이었다. 이상의 결과에서 본 연구에서 확립된 fenoxycarb,

pyriproxyfen 및 methoprene 분석법은 국내 · 외 농산물의 잔류 농약분석 및 검사에 충분히 적용이 가능함을 알 수 있었다.

Table 9. Recovery ratios of pyriproxyfen in various crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%) ¹⁾	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Brown rice	0.04	94.4 ± 4.4	4.7	0.04
	0.4	96.7 ± 1.7	1.8	
	2	92.7 ± 2.2	2.4	
Apple	0.04	85.6 ± 2.9	3.4	0.04
	0.4	93.6 ± 1.1	1.2	
	2	95.1 ± 2.2	2.3	
Chinese cabbage	0.04	90.4 ± 0.6	0.7	0.04
	0.4	91.9 ± 1.9	2.0	
	2	91.1 ± 1.9	2.1	
Green pepper	0.04	31.1 ± 2.2	7.1	0.04
	0.4	20.6 ± 1.7	8.2	
	2	25.7 ± 0.5	2.1	

¹⁾Mean values of triplicate samples with standard deviations.

Table 10. Elution profile of pyriproxyfen in green pepper on florisil column

Elution solvent (v/v)	Recovery ratio (%) ¹⁾			
	0-50 mL	51-100 mL	101-150 mL	Total
70 : 30 (<i>n</i> -hexane: CH ₂ Cl ₂)	0	0	0	0
90 : 10 ²⁾	10.9	2.9	2.4	16.2
80 : 20 ²⁾	11.5	3.4	3.6	18.5
70 : 30 ²⁾	8.9	6.4	5.3	20.5
65 : 35 ²⁾	8.9	7.0	5.1	21.0
60 : 40 ²⁾	79.0	1.4	0.9	81.3
55 : 45 ²⁾	79.1	1.3	0.9	81.3
50 : 50 ²⁾	76.9	1.6	1.0	79.5

¹⁾10 g of activated florisil(60-100 mesh) was dry packed.

²⁾Pre-washed 100 mL of *n*-hexane/dichloromethane(70/30, v/v) and then eluted with a mixture of *n*-hexane/EtoAc(v/v).

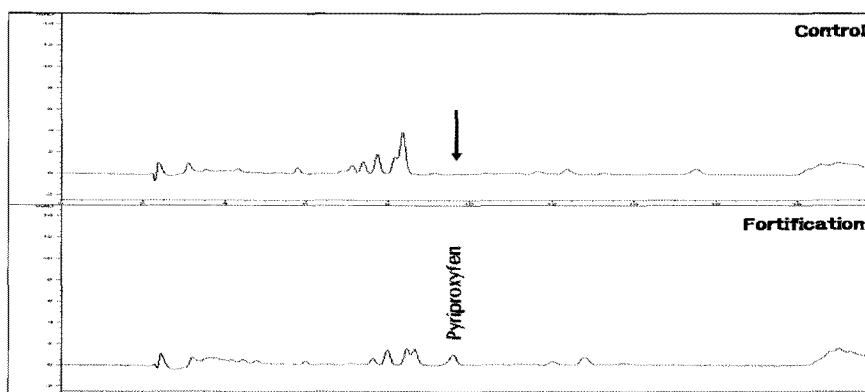


Fig. 10. HPLC chromatograms of pyriproxyfen in green pepper.

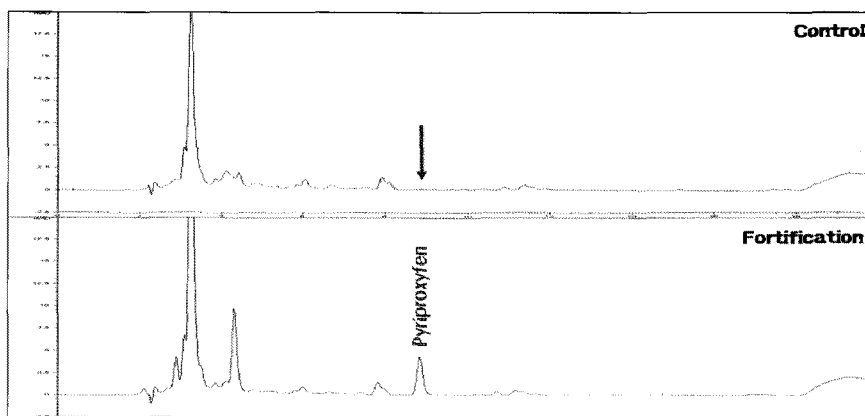


Fig. 11. HPLC chromatograms of pyriproxyfen using new elution profile in green pepper.

Table 11. Final recovery ratios of pyriproxyfen in various crop samples

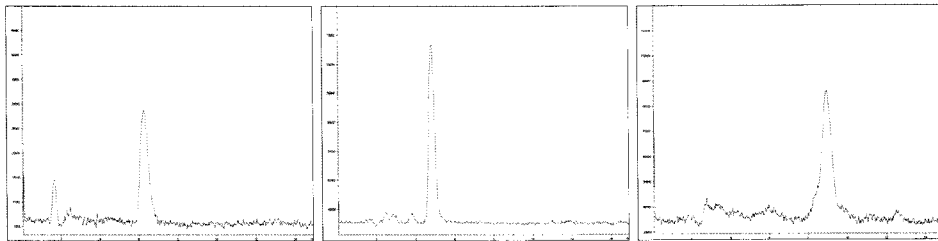
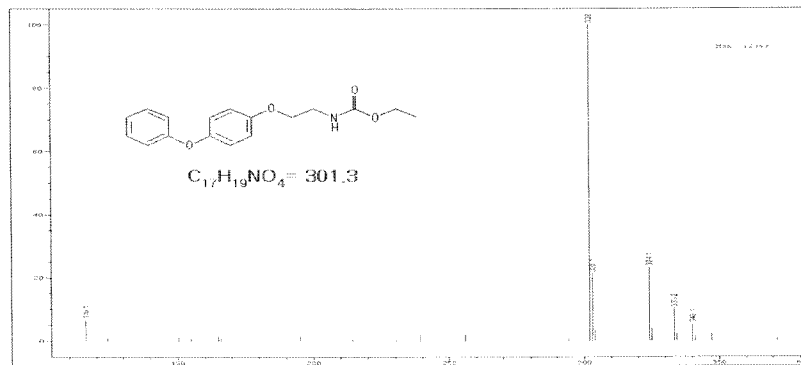
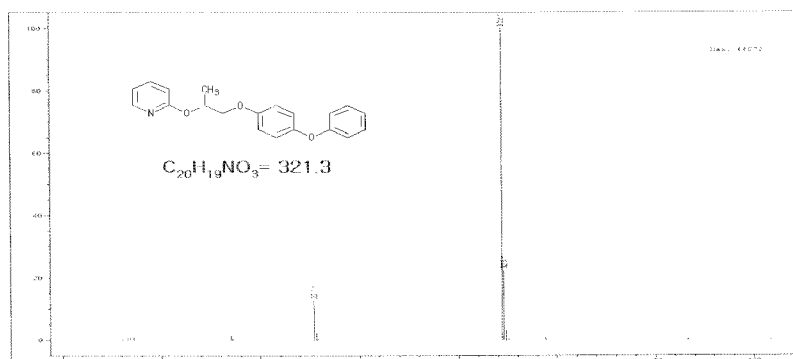
Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%) ¹⁾	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Brown rice	0.04	94.4 ± 4.4	4.7	0.04
	0.4	96.7 ± 1.7	1.8	
	2	92.7 ± 2.2	2.4	
Apple	0.04	85.6 ± 2.9	3.4	0.04
	0.4	93.6 ± 1.1	1.2	
	2	95.1 ± 2.2	2.3	
Chinese cabbage	0.04	90.4 ± 0.6	0.7	0.04
	0.4	91.9 ± 1.9	2.0	
	2	91.1 ± 1.9	2.1	
Green pepper	0.04	80.0 ± 2.2	2.8	0.04
	0.4	80.3 ± 1.7	2.2	
	2	81.8 ± 2.7	3.3	

¹⁾Mean values of triplicate samples with standard deviations.

LC/MS를 이용한 잔류분의 재확인

한편, 개발된 분석법의 정성적 신뢰성을 확보하기 위하여 LC/MS에 의한 재확인 과정을 추가하였다. LC/MS 분석 시 분석대상 성분의 분자구조로부터 유도되는 분자이온과 주요 fragment ion을 확인함으로써 보다 신뢰성 있는 정성확인이 가능하다는 장점이 있다(Kwon 등, 2008). Fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 이온화를 돕기 위하여 HPLC 분석에 이용된 이동상 용매에 5 mM ammonium acetate를 첨가하여 분석을 실시하였고, ESI positive-ion mode에서 높은 감도를 나타내었으며, TIC(total-ion chromatogram)는 Fig. 12에, 대상성분의 mass spectrum은 Fig. 13-15에 나타내었다.

Fig. 16-18은 본 실험에 사용된 농산물 시료 중 현미를 대상으로 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 잔류분을

**Fig. 12.** Total-ion chromatograms (TICs) of fenoxycarb, pyriproxyfen, and methoprene standards.**Fig. 13.** Mass spectrum of fenoxycarb.**Fig. 14.** Mass spectrum of pyriproxyfen.

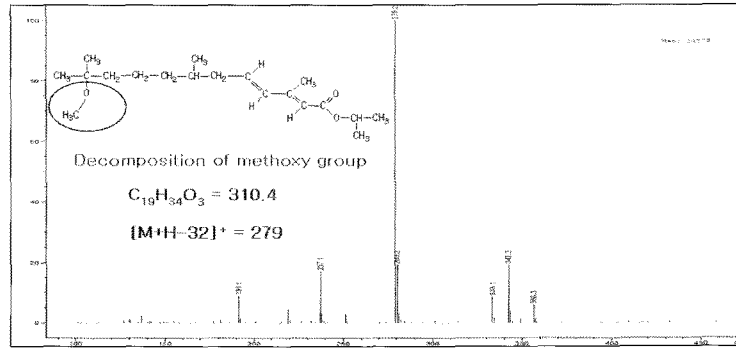


Fig. 15. Mass spectrum of methoprene.

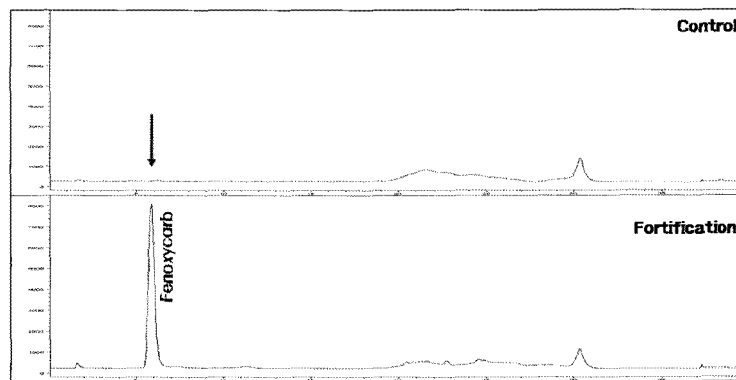


Fig. 16. SIM chromatograms of fenoxycarb in brown rice matrix.

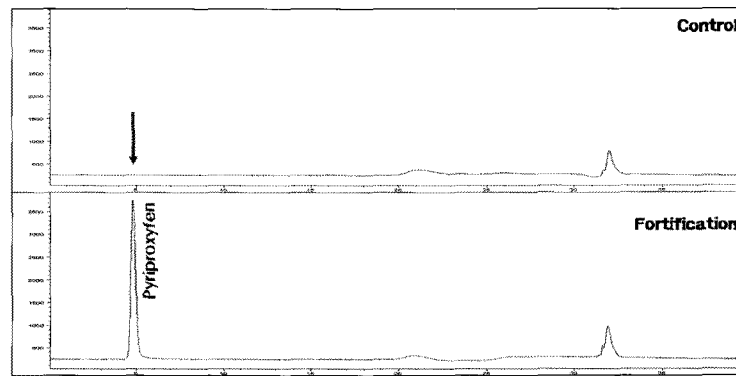


Fig. 17. SIM chromatograms of pyriproxyfen in brown rice matrix.

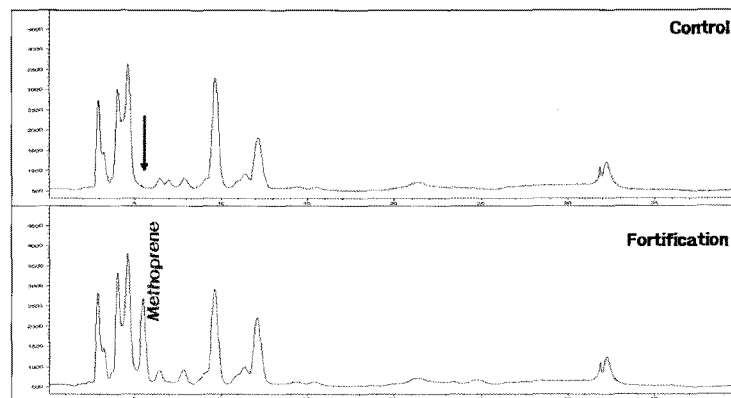


Fig. 18. SIM chromatograms of methoprene in brown rice matrix.

재확인한 SIM(selected-ion monitoring) chromatogram이다. 본 실험에서 사용된 모든 농산물의 무처리 시료에서는 대상 농약성분의 peak가 전혀 관찰되지 않았으며, 인위 첨가된 시료에서는 동일한 머무름 시간대에 정확하게 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 잔류분만을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에서 사용한 LC/MS의 SIM조건을 이용할 경우에도 HPLC-UVD를 이용한 정량법과 더불어 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene 잔류분의 추가적 정성분석법으로도 완벽하게 사용할 수 있을 것으로 판단되었다.

결 론

HPLC-UVD/MS를 이용하여 농산물 시료에서 JH mimic 살충제인 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 잔류 분석법을 확립하였다. 농산물 시료에 acetone을 가하여 추출된 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 잔류분은 *n*-hexane/dichloromethane 분배법과 florisil 흡착 크로마토그래피법으로 정제하여 분석대상 시료로 하였다. C₁₈ 칼럼을 이용한 HPLC 분석 시 불순물의 간섭은 없었으며, 대표 농산물 중 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 정량한계(LOQ)는 0.04 mg/kg이었다. 전체 농산물에 대한 회수율은 80.0~104.3%였으며, 농산물 시료 및 처리수준에 관계없이 10%미만의 분석오차를 나타내어 잔류분석 기준이내를 만족하였다. 본 연구에서 확립한 JH mimic 살충제인 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 잔류분석법은 검출한계, 회수율 및 분석오차 면에서 국제적 분석기준을 만족할 뿐만 아니라, LC/MS SIM을 이용한 잔류분의 재확인과정 및 회수율 검증의 결과를 총괄해 볼 때 분석과정의 편이성 및 신뢰성이 확보된 공정분석법으로 사용이 가능 할 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 2010년도 식품의약품안전청 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(09072 잔류약 997-3402)에 의해 수행 되었으며, 이에 감사드립니다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

AOAC (2000) Pesticide and industrial chemical residues, In official method of analysis, 17th ed., pp:1~88, AOAC

- International, Arlington, VA, USA.
- Bortolotti, L., C. Porrini, A. M. Sbrenna, and G. Sbrenna (2000) Ovicidal action of fenoxycarb on a predator, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Appl. Entomol. Zool. 35(2):265~271.
- Charmillot, P. J., A. Gourmelon, A. L. Fabre, and D. Pasquier (2001) Ovicidal and larvicidal effectiveness of several insect growth inhibitors and regulators on the codling moth *Cydia pomonella* L. (Lep., Tortricidae). J. Appl. Entomol. 125:147~153.
- Codex Alimentarius Commission (2003) Guidelines on good laboratory practice in residue analysis, CAC/GL 40-1993, Rev.1-2003, Rome, Italy.
- Darabi, H., H. Vatandoost, M. R. Abaei, O. Gharibi, and F. Pakbaz (2011) Effective of methoprene, an insect growth regulator, against malaria vectors in fars, iran: A field study. Pakistan Journal of Biological Sciences 14(1):69~73.
- Environmental Protection Agency (2001) Pesticide Fact Sheet.
- Fong, W. G., H. A. Moye, J. N. Seiber and J. P. Toth (1999) Pesticide residues in food: Methods, technologies, and regulations. Wiley Interscience. pp: 3~4, 40~44, Canada.
- Grenier, S., and A. M. Grenier (1993) Fenoxycarb, a fairly new insect growth regulator: a review of its effects on insect. Ann. Appl. Biol. 122:369-403.
- International Uniform Chemical Information Database (2000). European Commission - European Chemicals Bureau
- Ishaaya, I, A. R. Horowitz (1992) Novel phenoxy hormone analog (pyriproxyfen) suppresses embryogenesis and adult emergence of sweet potato whitefly. J Econ. Entomol. 85:2113~2117.
- Kočišová, A., M. Petrovsky, J. Toporcak, and P. Novak (2004) The potential of some insect growth regulators in housefly (*Musca domestica*) control. Biologia. Bratislava. 59(5):661~668.
- Kwon, C. H., M. I. Chang, M. H. Im, H. Choi, D. I. Jung, S. C. Lee, J. Y. Yu, Y. D. Lee, J. O. Lee, and M. K. Hong (2008) Determination of mandipropamid residues in agricultural commodities using high-performance liquid chromatography with mass spectrometry. Analytical Sci. & Technology 21(6):518~525.
- Lasa, R., C. Primitivo, T. Williams (2007) Juvenile hormone analogs greatly increase the production of a nucleopolyhedrovirus. Biological Control 41:389~396.
- Lee, J., H. Park, Y. Keum, C. Kwon, Y. Lee, and J. Kim (2008) Dissipation pattern of boscalid in cucumber under green house condition. Korean Journal of Pesticide Science 12:67~73.
- Lim, S. P. and C. Y. Lee (2005) Effects of juvenile hormone analogs on new reproductives and colony growth of pharaoh ant (Hymenoptera: Formicidae). J. Econ. Entomol. 98(6): 2169~2175.
- Mamatha, D. M., V. K. Kanji, H. H. P. Cohly, and M. R. Rao (2008) Juvenile hormone analogues, methoprene and fenoxycarb dose dependently enhance certain enzyme activities in the

- silkworm *Bombyx mori* (L). Int. J. Environ. Res. Public Health 5(2):120~124.
- Mckenney, C. L (2005) The influence of insect juvenile hormone agonists on metamorphosis and reproduction in estuarine crustaceans. Integr. Comp. Biol. 45:97~105.
- Michel, M., A. Krause, and B. Buszewski (2001) Column switching and liquid chromatographic technique for the rapid determination of fenoxycarb insecticide residue in apples. Polish Journal of Environmental Studies 10(4):283~287.
- Miller, J. M. (2005) Chromatography : concepts and contrasts (2nd), Wiley Interscience, p:286~287, USA.
- Oliver, L., D. Jungmann, K. U. Ludwichowski, R. Nagel (2004) Long-term effects of fenoxycarb on two mayfly species in artificial indoor streams. Ecotoxicology and Environmental Safety 50:246~255.
- Paya, P., J. Oliva, M. A. Camara, and A. Barba (2007) Dissipation of fenoxycarb and pyriproxyfen in fresh and canned peach. Journal of Environmental Science and Health Part B 42:767~773.
- Rupes, V., J. Chmela, L. Mazanek, and J. Vlckova (2008) A novel imidacloprid bait for control of *Monomorium pharaonis* (Hymenoptera: Formicidae). Proceedings of the Sixth International Conference on Urban Pests. pp:77~84.
- Schaefer, C. H., and F. S. Mulligan (1991) Potential for resistance to pyriproxyfen: A promising new mosquito larvicide. Journal of the American Mosquito Control Association 7(3):409~411.
- Tuberty, S. R., and C. L. McKenney (2005) Ecdysteroid responses of estuarine crustaceans exposed through complete larval development to juvenile hormone agonist insecticides. Inter. Comp. Biol. 45:106~117.
- Tunaz, H., and N. Uygun (2004) Insect growth regulators for insect pest control. Turk. J. Agric. 28:377~387.
- United States Environmental Protection Agency (2007) Registration review ecological risk assessment problem formulation for fomesafen. Washington D.C., 20460.
- US FDA (1999) 'Pesticide Analytical Manual, Vol 1: Multi residue Methods (3rd ed.), US Food and Drug Administration, USA.
- World Health Organization. Guidelines of Drinking-Water Quality, 3rd edition, including first and second addenda (2008).
- 식품의약품안전청 (2009) 식품공전.
- 이영득 (2009) 식품공전 잔류농약분석법 실무 해설서, 식품의약품 안전청.

HPLC-UVD/MS를 이용한 농산물 중 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 분석법 확립

이수진 · 김영학 · 송이슬 · 황영선 · 임정대 · 손은화 · 임무혁¹ · 도정아² · 오재호² · 권기성² · 이종근³ · 이영득⁴ · 정명근*

강원대학교 생약자원개발학과, ¹식품의약품안전청 식품기준과, ²식품의약품안전평가원 화학물질과,
³한국보건산업진흥원, ⁴대구대학교 생명환경학부

요 약 HPLC-UVD/MS를 이용하여 농산물 시료에서 JH mimic 살충제인 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 잔류 분석법을 확립하였다. 농산물 시료에 acetone을 가하여 추출된 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 잔류분은 *n*-hexane/dichloromethane 분배법과 florisil 흡착 크로마토그래피법으로 정제하여 분석대상 시료로 하였다. C₁₈ 칼럼을 이용한 HPLC 분석 시 불순물의 간섭은 없었으며, 대표 농산물 중 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 정량한계(LOQ)는 0.04 mg/kg이었다. 전체 농산물에 대한 회수율은 80.0~104.3%였으며, 농산물 시료 및 처리수준에 관계없이 10%미만의 분석오차를 나타내어 잔류분석 기준이내를 만족하였다. 본 연구에서 확립한 fenoxycarb, pyriproxyfen 및 methoprene의 잔류분석법은 검출한계, 회수율 및 분석오차 면에서 국제적 분석기준을 만족할 뿐만 아니라, LC/MS SIM을 이용한 잔류분의 재확인과정 및 회수율 검증의 결과를 총괄해 볼 때 분석과정의 편이성 및 신뢰성이 확보된 공정분석법으로 사용이 가능할 것으로 판단된다.

색인어 fenoxycarb, pyriproxyfen, methoprene, HPLC-UVD/MS, 잔류분, 농산물