

HPLC-UVD/MS를 이용한 농산물 중 Cyromazine의 잔류분석법

송이슬 · 김영학 · 이수진 · 황영선 · 권찬혁¹ · 도정아² · 오재호² · 임무혁¹ · 장우석³ · 이영득⁴ · 정명근*강원대학교 생약자원개발학과, ¹식품의약품안전청 식품기준과,²식품의약품안전평가원 화학물질과, ³텍사스주립대학교 생물학과, ⁴대구대학교 생명환경학부

(Received on August 21, 2012. Revised on August 31, 2012. Accepted on September 7, 2012)

Determination of cyromazine residues in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS

Lee-Seul Song, Young-Hak Kim, Su-Jin Lee, Young-Sun Hwang, Chan Hyeok Kwon¹, Jung-Ah Do², Jae-Ho Oh², Moo Hyeog Im¹, Woo-Suk Chang³, Young Deuk Lee⁴ and Myoung-Gun Choung*

Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 245-907, Korea

¹Food Standards Division, Korea Food and Drug Administration, Cheongwon 363-951, Korea²Food Chemical Residues Division, National Institution of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongwon 363-951, Korea³Department of Biology, University of Texas-Arlington, Arlington, TX 76019, USA⁴Division of Life and Environmental Science, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea

Abstract A high-performance liquid chromatographic (HPLC) method was developed to determine residues of cyromazine, a triazine insecticide, in agricultural commodities. Cyromazine was extracted with 90% aqueous methanol from representative crops which comprised brown rice, oyster mushroom, oriental melon, watermelon, and Chinese cabbage. Following to evaporation of methanol in the extract, the aqueous concentrate was acidified to form the protonated cyromazine. Dichloromethane partition was then applied to remove nonpolar co-extractives in the aqueous phase. Strong cation-exchange chromatography using Dowex 50W-X4 resin was employed for final purification of the extract. Cyromazine was successfully separated on a Zorbax SB-Aq C₁₈ column showing high retention for polar compounds. Cyromazine was sensitively quantitated by ultraviolet absorption at 214 nm. Limit of quantitation (LOQ) of the method was 0.04 mg/kg irrespective of sample types. Each crops were fortified at 3 different concentrations of cyromazine for recovery test. Mean recoveries from samples fortified at LOQ~2.0 mg/kg in triplicate ranged 80.2~103.3% in five agricultural commodities. Relative standard deviations in recoveries were all less than 6%. A selected-ion monitoring LC/MS method with electrospray ionization in positive-ion mode was also provided to confirm the suspected residue. The proposed method was reproducible and sensitive enough to routinely determine and inspect the residue of cyromazine in agricultural commodities.

Key words Cyromazine, Residue, HPLC-UVD/MS

서론

Cyromazine[N-cyclopropyl-1,3,5-triazine-2,4,6-triamine]은 해충의 탈피작용 등을 교란하여 살충작용을 나타내는 곤

충성장 조절제(insect growth regulator, IGR) 계통의 살충제이다. 주로 수화제 형태로 사용되는 침투성 살충제로서 채소, 과일 및 식량작물의 경엽 처리를 통해 잎굴애벌레 등의 방제뿐만 아니라 가축 사육시의 파리 방제에도 사용된다(Yokley 등, 2000). 최근 물에 대한 높은 용해도 및 이행특성을 이용하여 순환식 수경재배 시 양액에도 첨가하여 사용하고 있으며(Patakioutas 등, 2007), 국내 식품의약품안전청에서 설정하고 있는 채소 및 버섯류 농산물 중 잔류허용기

*Corresponding author

Tel: +82-33-540-3321, Fax: +82-33-540-3329

E-mail: cmg7004@kangwon.ac.kr

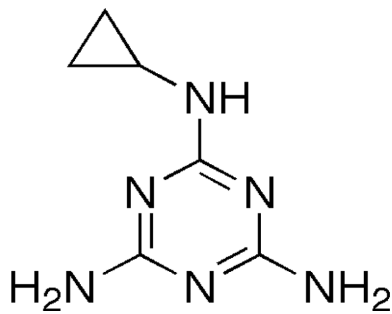


Fig. 1. Molecular structure of cyromazine.

준은 0.3~5.0 mg/kg 범위이다.

Cyromazine은 Fig. 1에 나타난 바와 같이 분자 내에 triazine ring과 3개의 유리 또는 결합형 amino기를 함유하고 있으며, *n*-octanol/water 분배계수(log Pow, pH 7)는 -0.061, 짝산의 pKa가 5.22(25°C)로 알려진 극성이 높은 약염기성 화합물이다.

현재까지 cyromazine에 대한 연구현황은 곤충 유충조절제로서의 효과 및 저항성(Walker 등, 1997; Daborn 등, 2000; Pinto 등, 2001; Weintraub, 2001; Crespo 등, 2002; Carvalho 등, 2003; Kamaruzzaman 등, 2006; Vazirianzadeh 등, 2007), cyromazine의 분해산물 및 델라민(Chou 등, 2003; Sancho 등, 2005; Patakioutas 등, 2007), 지하수 등 물에 잔류하는 cyromazine의 특성에 관한 연구(Yokley 등, 2000), 상업적으로 유통되는 cyromazine 제품의 함량평가(Armenta 등, 2004) 등으로 한정되어 있다. Cyromazine은 국내에서 채소 및 벼싯류 등 농산물에 등록, 사용되고 있으며, 최종 농산물 중 잔류 수준도 규제되고 있음에도 불구하고, 등록된 농산물을 대상으로 대상 농약의 정량적 분석조건 확립 및 회수율 등이 검토된 연구는 거의 전무한 실정이다.

Cyromazine은 극성이 매우 높고, 또한 해리하는 특성을 나타내므로 대부분의 비극성~중간 극성을 나타내는 비해리성의 농약 화합물 분석에 적용되는 분석 원리를 직접 적용하는 것은 불가능하다. 따라서 본 연구에서는 cyromazine의 분석 시 기존 식품공전 상에 수채된 방법에 비해 추출, 정제 및 정량적 기기분석 측면에서 편이성, 정확성 및 정밀성이 확보된 효율적 분석방법을 확립하고, 실제 농산물 적용 시 회수율을 체계적으로 검토하여 국내 농산물 잔류농약 검사의 분석효율 향상 및 수입 농산물의 잔류농약 분석에 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 기구

Cyromazine의 분석용 표준품(순도 98.0%)은 Sigma-Aldrich (USA)로부터 구입하여 사용하였다. 표준품의 stock solution은 500 mg/L의 농도로 methanol에 녹여 조제하고 -20°C 냉

동고에 보관하면서 필요시마다 보관 중인 stock solution을 소정의 농도로 희석하여 사용하였다. 칼럼 정제법에 사용된 양이온교환수지인 Dowex 50W×4-400은 Sigma-Aldrich (USA)로부터 구입하였다. *n*-Hexane 및 dichloromethane은 잔류분석용, methanol 및 deionized water는 HPLC용을 J. T. Baker(USA)에서 구입, 사용하였다. 기타 무기시약은 시약특급 또는 잔류분석용을 사용하였다.

농산물 시료

식품의 농약 잔류허용기준(Korea Food and Drug Administration, 2009) 중 cyromazine에 사용등록 되어 기준이 설정된 농산물과 기타 국내 대표 농산물을 포괄하여 곡류에서는 현미, 채소류에서는 배추, 과일류에서는 참외 및 수박, 벼싯류 중에서는 느타리버섯을 대표시료로 선정하였다. 분석에 사용된 현미, 배추, 참외, 수박 및 느타리버섯의 무농약 시료는 지역 대형마트에서 유기농 인증시료를 구입한 후 식품공전 상 검체 처리방법에 따라 전처리 하였으며(Korea Food and Drug Administration, 2009), 대조구 시료는 잔류농약 검사를 실시하여 무농약 시료임을 확인한 후 사용 하였다.

시료 추출 및 정제

분쇄 또는 잘게 썰은 농산물 시료 25 g에 90% methanol 수용액 100 mL를 첨가한 후 균질기(IKA, Ultra-Turrax T-25, USA)를 이용하여 고속 마쇄, 추출하였다. 추출물을 감압 여과하고, 여분의 90% methanol 수용액 50 mL로 시료 잔류물 및 용기를 씻어 내려 앞서의 여액과 합하였다. 합친 여액을 40°C에서 감압 농축, methanol을 날려 보낸 후 농축액을 분액여두에 정량적으로 옮기고 0.1 N HCl 수용액 100 mL를 첨가하였다. 분액여두에 dichloromethane 50 mL를 가하고 1분간 격렬하게 진탕한 후 정치, 하부의 dichloromethane 층을 폐기하였다. 여두에 재차 dichloromethane 50 mL씩을 가하여 위의 과정을 2회 반복하였다. 내경 1.5 cm, 길이 40 cm의 유리제 칼럼에 증류수를 사용하여 Dowex 50W-X4-400 resin 5 g을 미리 습식 충전하였다. 충전된 칼럼에 증류수 50 mL를 가하여 약 3 mL/min의 유속으로 유출, 충전제를 세척하였다. 충전제 표면이 노출되기 직전 분액여두에서 분리된 수용액층 전량을 가한 후 흘려버리고, methanol 50 mL 및 28% ammonium hydroxide 수용액/methanol(5/95, v/v) 혼합액 50 mL를 차례로 흘려버렸다. 표면이 노출되기 직전 재차 28% ammonium hydroxide 수용액/methanol(20/80, v/v) 혼합액 50 mL를 흘려보내어 cyromazine을 용출시켜 받았다. 이 용출액을 40°C 이하의 수욕 상에서 감압 농축한 후, 건조물에 10 mM phosphoric acid 수용액(pH 2.0) 9.5 mL를 가하여 잘 녹이고, methanol 0.5 mL를 첨가하여 혼합, HPLC 분석용액으로 사용 하였다.

Table 1. HPLC operating conditions for cyromazin analysis

HPLC system	Agilent 1200 series
Column	Zorbax SB-Aq(4.6 × 250 mm, 5 μm, USA)
Column Temp.	35°C
Mobil phase	Methanol/10 mM phosphoric acid (pH 2.0), (5:95, v/v), isocratic
Flow rate	0.8 mL/min
Detection	UV 214 nm
Injection vol.	20 μL

Table 2. LC/MS operating conditions for cyromazine analysis

LC/MS system	Agilent 6110 Quadrupole LC/MS
Column	Zorbax SB-Aq(4.6 × 250 mm, 5 μm, USA)
Column temp.	35°C
Mobile phase	Methanol/10 mM ammonium acetate (5:95, v/v), isocratic
Flow rate	0.6 mL/min
Sample size	5 μL
Ionization	ESI positive-ion mode
Probe temp.	350°C
Needle voltage	4.0 kV
Mass range(m/z)	80~500

HPLC-UV/MS 기기분석

농산물 중 cyromazine의 잔류분을 분석하기 위한 HPLC 분석조건은 Table 1과 같다. 이 조건에서 cyromazine의 머무름 시간은 12.5분이었으며, 기기 상 정량한계는 0.1 mg/L이었다. 또한 잔류분의 재확인용을 위하여 사용한 LC/MS 분석조건은 Table 2와 같다.

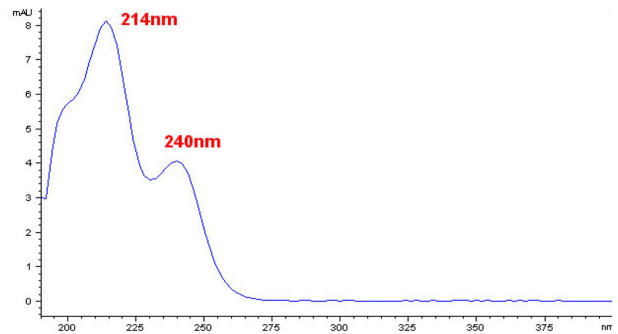
분석법의 대표 농산물에 대한 cyromazine의 회수율 검증

본 연구에서 확립한 cyromazine 잔류분석법의 효율 및 신뢰성을 검증하기 위하여 3수준 3반복으로 회수율 시험을 수행하였다. 즉, 무농약 농산물 시료 각 25 g에 정량한계, 정량한계의 10배 및 50배에 해당하는 cyromazine 표준용액을 첨가한 후 위의 분석과정을 수행하여 회수율과 분석오차를 측정하였다.

결과 및 고찰

HPLC 분석조건 확립

HPLC 분석 시 cyromazine의 최적 분석과장을 선정하기 위하여 메탄올에 용해한 2 mg/L의 표준용액에 대하여 cyromazine 분자 내 발색단의 최대흡수과장(λ_{max})을 조사한 결과, Fig. 2에 나타난 바와 같이 214 nm에서 가장 높은 흡광도를 나타내었고, 다음으로 흡광도가 높은 파장은 240 nm

**Fig. 2.** Ultraviolet absorption spectrum of cyromazine.

이었다. 비교적 장파장인 240 nm가 214 nm에 비하여 시료 중 함께 추출되는 불순물에 의한 간섭이 적을 것으로 예상되었으나 흡광계수가 작아 잔류분석법에서 요구되는 시료 중 0.05 mg/kg 이하의 정량한계를 만족하는 감도를 얻기 힘들었다. 따라서 선택성은 상대적으로 열등하나 감도가 높은 214 nm를 검출과장으로 선정하였으며, 시료 추출액의 정제 정도를 높임으로써 간섭을 최소화하고자 하였다.

분석용 HPLC 칼럼은 C₁₈ 계열 중 극성물질에 대한 머무름 특성이 특히 강하게 나타나는 Zorbax SB-Aq 칼럼을 이용하였다. 즉, cyromazine은 log Pow -0.06인 극성이 매우 높은 화합물이므로, 일반적인 C₁₈ 칼럼을 사용할 경우 100% 수용액을 이동상으로 사용하여도 머무름 시간이 너무 짧게 나타나 간섭물질과의 분리가 충분하지 않다. 또한 100% 수용액에 가까운 이동상을 사용할 경우 일반적인 C₁₈ 칼럼에서는 비극성 stationary phase의 wetting 불량에 따른 hydrophobic collapse 현상이 일어나 모든 화합물이 큰 공극을 통하여 dead time에 용출되는 등의 단점이 있다. 따라서 본 분석법에서는 수용성 이동상을 사용하여도 collapse 현상이 없고, 극성 화합물에 대하여 긴 머무름 특성을 나타내는 칼럼을 사용하였다. 이동상은 여러 종류의 용매체계를 검토한 결과, methanol/10 mM phosphoric acid(pH 2)(5:95, v/v) 혼합액을 isocratic 조건으로 사용하였다. 상기 조건에서 cyromazine은 protonation되어 이온성을 나타내에도 불구하고 머무름 시간은 12.5분으로 길게 나타났으며 분리능도 양호하였다.

HPLC 기기분석의 재현성을 검증하기 위하여 cyromazine 0.5 mg/L 표준용액을 10회 연속 주입하여 크로마토그램 상의 머무름 시간과 peak area의 변이를 조사한 결과, 각각 12.47±0.1분 및 195.5±1.8 mAU로 나타나 1% 미만의 변이를 나타내었다. 또한 cyromazine의 표준용액을 0.025~1 mg/L의 농도별 5 수준으로 조제하고, 각 20 μL를 HPLC에 3반복으로 주입하여 얻은 표준검량선의 회귀방정식은 $Y(\text{area}) = 218.27X(\text{ng}) - 2.28 (R^2 = 0.999^*)$ 로 나타나 정량 시 직선성이 우수하였다. 본 분석법의 HPLC 조건에서 다양한 농도의 cyromazine 표준용액을 분석하여 S/N비를 계산한 결과 정

량한계(S/N = 10)는 0.1 mg/L 수준이었다.

시료 추출 및 분배과정의 확립

농산물 시료로부터 cyromazine 성분을 추출하기 위한 용매로는 90% methanol을 사용하였다. Methanol은 US FDA 법에서(USFDA, 1999) 대상성분인 cyromazine과 유사한 물리화학적 특성을 나타내는 carbendazim(짜산의 pKa 4.2) 등 약염기성 농약 잔류분을 해리성 조절과정 없이 다양한 식품 시료로부터 직접 추출하는데 보편적으로 사용된다.

농산물 추출액으로부터 cyromazine 성분 외에 함께 추출되는 농산물 유래 불순물을 1차적으로 제거하기 위한 조정 제법으로 액-액 분배법을 사용하였다. 분석대상 농약인 cyromazine이 높은 극성을 나타낼 뿐만 아니라, 산도 조절에 의하여 이온화시킬 수 있다는 점을 이용하여 즉, methanol 추출액을 40°C 이하에서 감압농축한 후 농축액에 0.1 N HCl 100 mL를 첨가, 산성화하면 cyromazine은 짜산의 pKa가 5.2이므로 거의 100% protonated ion으로 존재하며 수용성이 된다. 따라서 분액여두 상에서 *n*-hexane 혹은 dichloromethane과 같은 극성이 낮은 용매로 분배하면 농산물로부터 유래한 비극성 불순물을 효과적으로 제거할 수 있다. 예비 실험으로 농축액을 산성화한 후 dichloromethane 및 *n*-hexane 용액 각 50 mL로 3회 반복 분배하여 cyromazine의 분배율을 조사한 결과, cyromazine은 두 종류의 유기용매 층으로 전혀 분배되지 않았다. 두 용매의 극성 지수는 *n*-hexane과 dichloromethane이 각각 0.1 및 3.1이므로 간섭 물질의 포괄적 제거에는 dichloromethane이 보다 우수할 것으로 판단되었다.

양이온교환크로마토그래피의 최적화

농산물에 적용한 cyromazine 분석 시 상기 액-액 분배과정을 통해 비극성 및 중간극성의 불순물 대부분이 제거될 것으로 판단되나, 여전히 농산물 시료에 따라 시료로부터 유래한 다양한 색소 및 기타 간섭물질이 존재할 것으로 예상되고, 또한 HPLC 분석 시 정량과장이 짧아 간섭의 가능성이 높으므로 이온크로마토그래피법을 추가, 추출물의 정제도를 높이고자 하였다. 이온교환수지로는 cyromazine이 약염기성이며, 산성조건에서 protonation되어 양이온으로 존재하므로 양이온교환수지인 Dowex 50W-X4를 사용하였다. 불순물 제거 및 cyromazine 용출을 순차적으로 수행하기 위하여 methanol/물 및 ammonium hydroxide/methanol의 용매체계를 이용하여 최적의 용출체계를 확립하고자 하였으며, 그 결과는 Table 3과 같다. Dowex 50W-X4 칼럼의 용출이 온강도조절을 위한 다양한 용매체계에서 cyromazine의 회수율을 검토한 결과 100% methanol, 70% methanol 및 50% methanol 조건에서는 cyromazine이 전혀 용출되지 않았고, 또한 ammonium hydroxide/methanol(v/v) 5/95 및 10/

Table 3. Elution profile of cyromazine on Dowex 50W-X4-400 cation-exchange column

Elution solvent(v/v/v) (NH ₄ OH/water/methanol)	Recovery of cyromazine(%) ^{a)}		
	0-25 mL	26-50 mL	Total
0/0/100	0	0	0
0/25/75	0	0	0
0/50/50	0	0	0
5/0/95	0	0	0
10/0/90 ^{b)}	0	0	0
15/0/85 ^{b)}	22.9	70.1	93.0
20/0/80 ^{b)}	85.5	9.8	95.3
25/0/75 ^{b)}	93.2	1.4	94.6

^{a)} 5 g of Dowex 50W-X4-400 resin was wet packed.

^{b)} Pre-washed 50 mL of ammonium hydroxide/methanol(5/95, v/v).

90의 혼합용액에서도 cyromazine은 전혀 용출되지 않았다. 그러나 ammonium hydroxide/methanol(v/v) 15/85의 혼합용액에서는 93%, 20/80의 혼합용액에서는 95%, 25/75의 혼합용액에서는 95%의 cyromazine이 용출됨을 확인할 수 있었으므로 용출용액으로는 ammonium hydroxide/methanol(20/80, v/v) 혼합액을 선정하였다.

분석정량한계 및 농산물 적용 시 cyromazine의 회수율

본 연구에서 확립한 시료 추출 및 정제, 그리고 기기분석

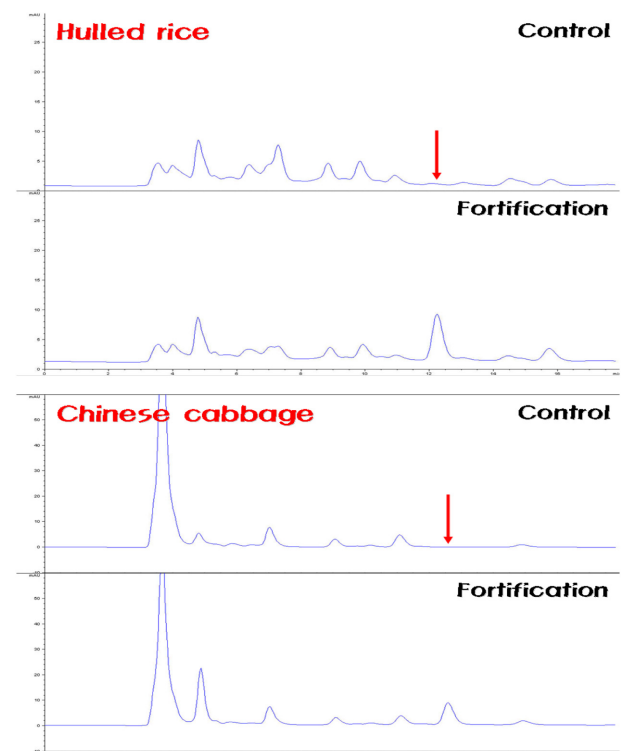


Fig. 3. HPLC chromatograms of extracts of brown rice and Chinese cabbage. Fortified samples were spiked with cyromazine at 0.4 mg/kg equivalent to ten-fold of LOQ.

Table 4. Recovery and LOQ of cyromazine residues in various crop samples

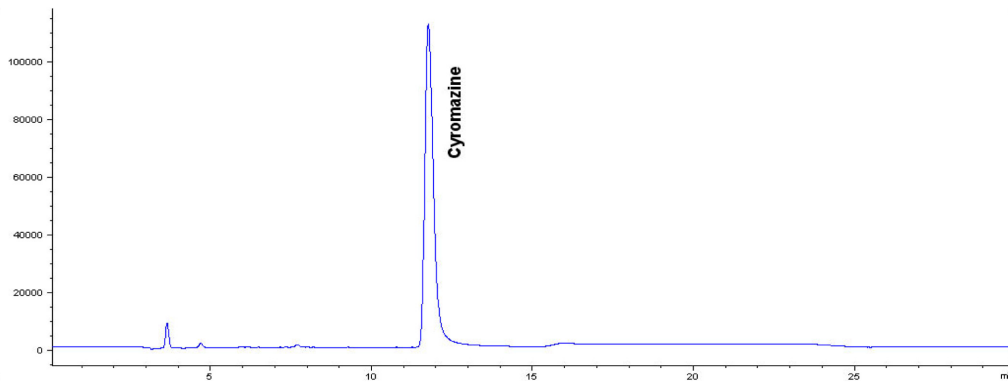
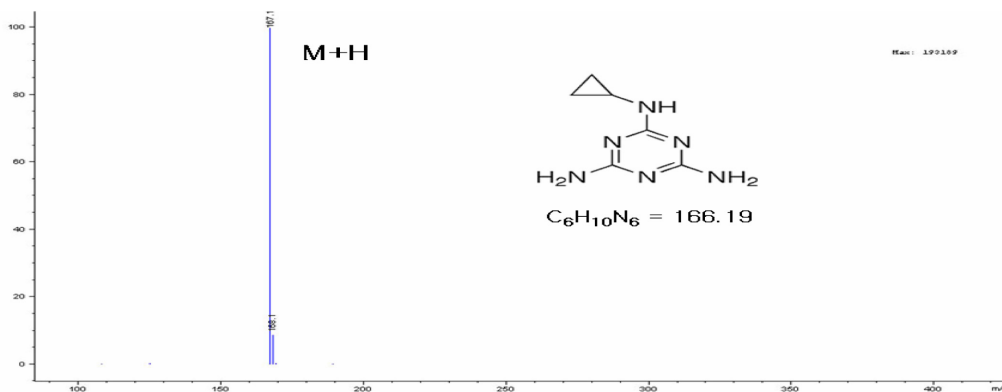
Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery±SD (%) ^{a)}	LOQ (mg/kg)
Brown rice	0.04	96.5±3.9	0.04
	0.4	86.9±0.5	
	2.0	92.2±0.7	
Oyster mushroom	0.04	88.0±4.8	0.04
	0.4	80.2±1.1	
	2.0	83.7±1.1	
Oriental melon	0.04	103.3±2.5	0.04
	0.4	89.4±0.6	
	2.0	91.6±1.3	
Watermelon	0.04	90.7±5.1	0.04
	0.4	87.6±0.4	
	2.0	91.3±1.9	
Chinese cabbage	0.04	93.2±0.6	0.04
	0.4	91.1±0.9	
	2.0	95.0±1.1	

^{a)}Mean values of triplicate samples with standard deviations.

과정을 무농약 농산물 시료에 적용한 대표적 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 무농약 농산물의 최종 시료용액에서 대상농

약과 동일한 머무름 시간에 간섭물질이 존재하지 않음을 확인하였고, 분석기기의 정량한계와 시료량, 그리고 분석과정 중의 농축배율을 계상하여 분석법의 정량한계를 산출할 수 있었다. 식품공전 잔류농약분석법 실무 해설서(Lee, 2012)에는 0.05 mg/kg 이하 또는 MRL의 1/2 이하까지 정량이 가능하도록 추천하고 있다. 본 연구에서 무농약 농산물 시료에서 간섭물질이 존재하지 않음을 확인한 후 산출된 cyromazine의 정량한계는 0.04 mg/kg으로 계산되어 국제기준인 Codex (Codex Alimentarius Commission, 2003) 및 식품공전 잔류농약분석법 실무 해설서(Lee, 2012)에서 권장하는 잔류농약 분석법 기준인 0.05 mg/kg 이하 또는 허용기준의 1/2 이하의 정량한계 기준에 적합하였다.

각각의 농산물 무처리 시료에 cyromazine 표준용액을 정량한계, 정량한계의 10배 및 50배의 농도가 되도록 첨가하고, 상기 확립된 분석방법에 의하여 대표 농산물에 3반복으로 회수율을 조사한 결과, 정량한계 수준에서는 88.0~103.3%, 정량한계 10배 수준에서는 80.2~91.1%, 정량한계 50배 수준에서는 83.7~95.0%의 양호한 회수율을 보였고, 재현성도 양호하여 분석오차는 최대 5.7% 미만으로 관찰되었다. 따라서, 처리수준 및 농산물 시료 종류에 관계없이 잔류분석 기준인 회수율 70~120% 범위와 분석오차 10% 이내를 만족하였다(Table 4). 이상의 결과에서 볼 때, 본 연구에서 확

**Fig. 4.** Total-ion chromatogram(TIC) of cyromazine(5 mg/L).**Fig. 5.** ESI mass spectrum of cyromazine.

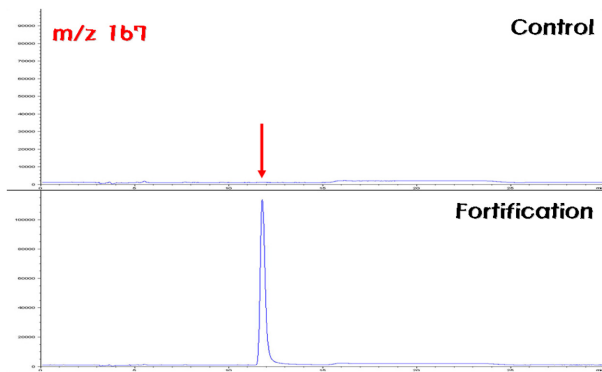


Fig. 6. ESI(+)-SIM chromatograms of brown rice extracts. Upper, control rice sample; lower, rice sample fortified at 0.04 mg/kg.

립된 cyromazine 분석법은 국·내외 농산물의 잔류농약 분석 및 검사에 충분히 적용 가능함을 알 수 있었다.

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). 이동상 용매로 10 mM ammonium acetate/methanol을 사용하였을 때 Fig. 4 및 5에 나타난 TIC 및 mass spectrum으로부터 cyromazine은 electrospray ionization(ESI) 조건에서 용이하게 protonation 되어 $[M+H]^+$ 를 형성함을 알 수 있었다. Mass spectrum에서 fragment ion은 거의 관찰되지 않고 $[M+H]^+$ 가 base peak로 나타나며, $[M+1+H]^+$ 의 상대적 intensity는 자연적 동위원소 비율을 잘 반영하였다. 따라서 selected-ion monitoring(SIM)용 ion으로는 $[M+H]^+$ 이온만을 이용하여도 충분한 정성적 확인이 가능하였다.

Fig. 6은 본 실험에 사용된 농산물 시료 중 현미를 대상으로 cyromazine의 잔류분을 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 cyromazine 잔류분만을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에서 사용한 LC/MS의 SIM조건을 이용할 경우에도 HPLC-UVD를 이용한 정량법과 더불어 cyromazine 잔류분의 추가적 정성 분석법으로 충분히 사용할 수 있으며, 특히 matrix-matched calibration법을 병용할 경우에는 정량법으로도 이용 가능할 것으로 판단되었다.

결 론

HPLC-UVD/MS 분석법을 이용하여 농산물 시료에서

triazine계 살충제인 cyromazine의 잔류 분석법을 확립하였다. 농산물 시료에 90% methanol을 가하여 추출된 cyromazine의 잔류분은 dichloromethane 분배법과 Dowex 50W-X4-400 이온크로마토그래피법으로 정제하여 분석대상 시료로 사용하였다. C_{18} 칼럼을 이용한 HPLC 분석 시 불순물의 간섭은 없었으며, 현미, 배추, 참외, 수박 및 느타리버섯을 포함한 5종의 대표 농산물 중 cyromazine의 정량한계(LOQ)는 0.04 mg/kg이었다. 전체 대표 농산물에 대한 회수율은 80.2~103.3%이었으며, 농산물 시료 및 처리수준에 관계없이 10%미만의 분석오차를 나타내어 잔류분석 기준이내를 만족하였다. 본 연구에서 확립된 triazine계 살충제인 cyromazine의 잔류 분석법은 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.

Literature Cited

- Armenta, S., G. Quintás, S. Garrigues and M. de la Guardia (2004) Determination of cyromazine in pesticide commercial formulations by vibrational spectrometric procedures. *Analytica Chimica Acta* 524: 257~264.
- Carvalho, G. A., P. R. Reis, L. C. D. Rocha, J. C. Moraes, L. C. Fuini and C. C. Ecole (2003) Side-effects of insecticides used in tomato fields on *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Acta Scientiarum-Agronomy* 25(2): 275~279.
- Chou, S. S., D. F. Hwang and H. F. Lee (2003) High performance liquid chromatographic determination of cyromazine and its derivative melamine in poultry meats and eggs. *Journal of Food and Drug Analysis* 11(4): 292~295.
- Codex Alimentarius Commission (2003) *Guidelines on Good Laboratory Practice in Residue Analysis*, CAC/GL 40-1993, Rev. 1-2003, Rome, Italy.
- Crespo, D. C., R. E. Lecuona and J. A. Hogsette (2002) Strategies for controlling house fly populations resistant to cyromazine. *Neotropical Entomology* 31(1): 141~147.
- Daborn, P. J., J. A. Mckenzie and P. Batterham (2000) A genetic analysis of cyromazine resistance in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *J. Econ. Entomol.* 93(3): 911~919.
- Kamaruzzaman, A. H. M., A. M. S. Reza, K. A. M. S. H. Mondal and S. Parween (2006) Morphological abnormalities in *Tribolium castaneum*(Herbst) and *Tribolium confusum* Duval due to cyromazine and pirimiphos-methyl treatments alone or in combination. *Invertebrate Survival J.* 3: 97~102.
- Korea Food and Drug Administration (2009) Korean Food Standards Codex. Seoul, Korea.

- 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.
- Lee, Y. D (2012) Handbook for the pesticide residue analytical methods of food code, 3rd ed., National Institution of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongwon, Korea.
- Patakioutas, G., D. Savvas, C. Matakoulis, T. Sakellarides and T. Albanis (2007) Application and fate of cyromazine in a closed-cycle hydroponic cultivation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *J. Agric. Food Chem.* 55: 9928~9935.
- Pinto, M. C. and A. P. D. Prado (2001) Resistance of *Musca domestica* L. populations to cyromazine (Insect Growth Regulator) in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro 96(5): 729~732.
- Sancho, J. V., M. Ibanez, S. Grimalt, O. J. Pozo and F. Hernandez (2005) Residue determination of cyromazine and its metabolite melamine in chard samples by ion-pair liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 530: 237~243.
- Vazirianzadeh, B., M. A. Jervis and N. A. C. Kidd (2007) The effect of oral application of cyromazine and trifluoruron of house-fly larvae. *Iranian J. Arthropod-Borne Dis.* 1(2): 7~13.
- Walker, J. T., R. D. Oetting, J. C. Marcia and J. B. Melin (1997) Evaluation of newer chemicals for control of foliar nematode on begonia. *J. Environ. Hort.* 15(1): 16~18.
- Weintraub, P. G. (2001) Effects of cyromazine and abamectin on the ea leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoid *Diflyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae) in potatoes. *Crop Protection* 20: 207~213.
- Yokley, R. A., L. C. Mayer, R. Rezaaiyan, M. E. Manuli and M. W. Cheun (2000) Analytical method for the determination of cyromazine and melamine residues in soil using LC-UV and GC-MSD. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3352~3358.
- US FDA (1999) Pesticide Analytical Manual, Vol 1: Multi-residue methods, Method 404 Benzimidazoles, 3rd ed., US Food and Drug Administration, USA.

HPLC-UVD/MS를 이용한 농산물 중 Cyromazine의 잔류분석법

송이슬 · 김영학 · 이수진 · 황영선 · 권찬혁¹ · 도정아² · 오재호² · 임무혁¹ · 장우석³ · 이영득⁴ · 정명근*

강원대학교 생약자원개발학과, ¹식품의약품안전청 식품기준과,

²식품의약품안전평가원 화학물질과, ³텍사스주립대학교 생물학과, ⁴대구대학교 생명환경학부

요약 HPLC-UVD/MS를 이용하여 triazine계 살충제인 cyromazine의 농산물 중 잔류분석법을 확립하였다. 현미, 참외, 수박, 느타리버섯 및 배추 등 농산물 시료로부터 cyromazine을 90% methanol로 추출한 후 산성화에 의하여 이온화시킨 후 dichloromethane으로 세척함으로써 대부분의 비극성 간섭물질을 분배과정에서 제거할 수 있었다. 추출액은 최종적으로 양이온교환크로마토그래피법으로 정제하여 방해물질을 최소화하였다. 극성 화합물에 대하여 긴 머무름 특성을 나타내는 C₁₈ 칼럼을 선정, 이용함으로써 간섭물질과의 최적 분리조건을 확립하였다. 농산물 중 cyromazine의 정량한계(LOQ)는 0.04 mg/kg이었으며 정량한계, 정량한계의 10배 및 50배 수준으로 처리한 농산물 시료로부터의 회수율은 80.2~103.3% 범위였다. 농산물 시료의 종류 및 처리수준에 관계없이 분석오차는 6% 미만이었다. 또한 LC/MS SIM을 이용한 잔류분의 재확인법을 추가로 확립하였다. 본 연구에서 확립한 triazine계 살충제인 cyromazine의 잔류분석법은 검출한계, 회수율 및 분석오차 면에서 국제적 잔류분석기준을 만족할 뿐만 아니라 분석과정의 편이성을 고려할 때 일상적 잔류량 정량 및 검사를 위한 공정분석법으로 충분히 사용이 가능할 것으로 판단된다.

색인어 Cyromazine, 농산물, 잔류, 분석법, HPLC-UVD/MS