

Application  
News

No.C202K

Liquid Chromatography Mass Spectrometry

삼중사중극자 LC-MS/MS를 이용한  
우유와 계란 중의 클로르프로마진 분석

Analysis of Chlorpromazine in Milk and Chicken Egg  
Extracts Using Triple Quadrupole LC-MS/MS

클로르프로마진 염산염은 신경안정제(의약품)로 이용되고 있습니다. 한편 클로르프로마진을 유효성분으로 하는 동물용 의약품은 '식품으로 출하되는 동물과 우유, 계란 등을 생산하는 대상 동물'에게는 사용이 금지되어 있습니다. (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries Ordinance No. 44, 2013)

또한 포지티브 리스트 제도(Positive List System)에서 클로르프로마진은 식품 중에 함유되어서는 안 되는 물질로 분류되며, LC-MS분석은 식품, 첨가물 등에 관한 기준 등 (Ministry of Health and Welfare Notification No. 370, 1959)에서 이를 위한 시험방법으로 인용되어 왔습니다.

그러나 이 시험방법을 모든 가축과 수산물에 적용할 수 없으며 식품에 따라서는 양호한 분석결과를 얻을 수 없는 경우도 있어 시험법 개정이 추진되고 있습니다.

2019년 3월 약사·식품위생심의회(식품위생소위, 농약, 동물용 의약품 부회)에서 개발이 완료된 새로운 클로르프로마진 시험법에 대한 협의서(Ministry of Health, Labour and Welfare Notification 0220-4)를 보고하였습니다.

본 자료는 협의서에 기술된 시험방법에 따라 우유와 계란에 함유된 클로르프로마진을 분석한 예를 소개하겠습니다.

M. Horiike

■ 시료의 전처리

시험법에 따라 우유 및 계란 10 g을 아세톤으로 두 번 추출한 후 100 mL로 정량 하였습니다.

10 mL를 취하여 초순수 및 포름산을 첨가하고, sulfonate-modified methacrylate copolymer mini-column을 이용하여 고체상 추출을 실시하였습니다.

용출액을 40°C에서 약 1 mL까지 농축한 후 0.1% 포름산 용액과 0.1% 포름산 아세토니트릴 용액을 혼합(3:2)하여 5 mL로 정확하게 조제하고 이를 측정용 시료로 삼았습니다.

검체의 커버리지가 넓어졌지만 기존 시험법에 비해 처리 과정을 줄여 쉽게 전처리가 가능합니다.

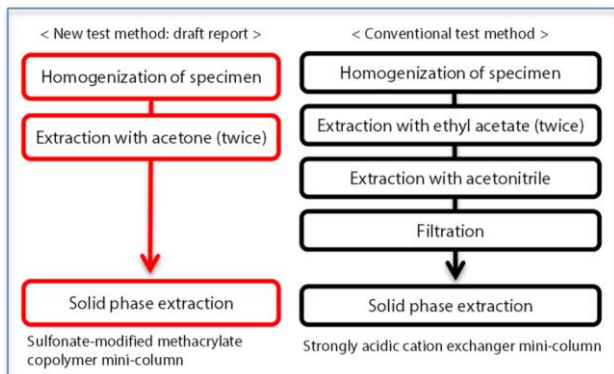


Fig. 1 시료의 전처리

■ MRM 크로마토그램과 클로르프로마진 표준용액의 검량선

클로르프로마진 표준용액(10 ng/L)을 분석하였으며 그 결과는 그림 2와 같습니다. 시험법에서는 검출 하한값이 주입량 5 µL에서 20 ng/L로 되어 있습니다만, LCMS™-8050을 사용하면 주입량을 2 µL로 줄여도 정량 하한 농도 10 ng/L부터 측정이 가능합니다.

그림 3은 10~1,000 ng/L에서의 검량선입니다. R<sup>2</sup>>0.9998로 양호한 직선성을 얻을 수 있었으며 이에 대한 분석조건은 표 1과 같습니다.

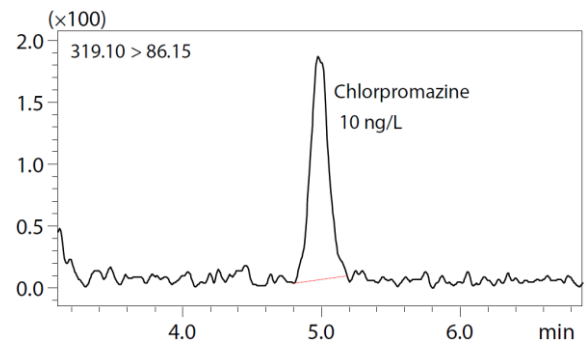


Fig. 2 클로르프로마진 표준용액의 MRM 크로마토그램

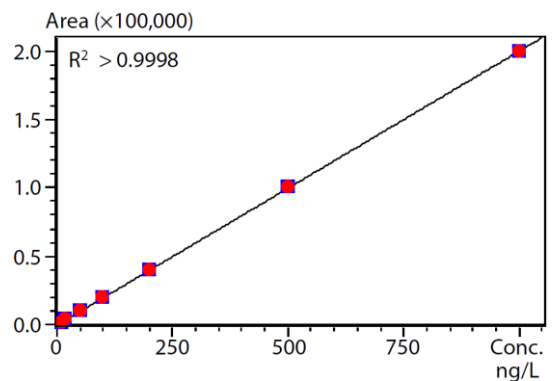


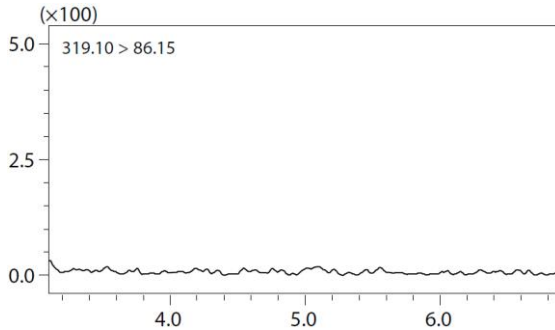
Fig. 3 검량선

**Table 1 Measurement Conditions**

Column	: Shim-pack™ HR-ODS (150 mm L × 2.1 mm i.d., 3 μm)
Mobile phases	: 0.1% formic acid water / 0.1% formic acid acetonitrile = 72 / 28 (v/v)
Flow rate	: 0.20 mL/min
Column Temp.	: 40°C
Injection volume	: 2 μL
Probe Voltage	: +1.0 kV (ESI-positive)
DL Temp.	: 250°C
Block heater Temp.	: 350°C
Interface Temp.	: 300°C
Nebulizing gas flow	: 2 L/min
Drying gas flow	: 5 L/min
Heating gas flow	: 15 L/min
MRM transition	: m/z 319.10>86.15 (quantifier ion) 321.10>58.10 (qualifier ion)

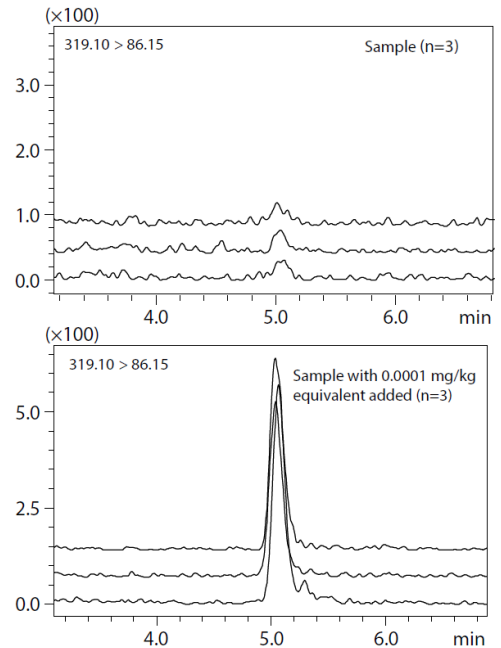
■ **우유와 계란 시료 분석**

전처리를 포함한 블랭크를 측정하여 분석물질이 검출되지 않음을 확인했습니다. (그림4 참조)



**Fig. 4 블랭크의 MRM 크로마토그램**

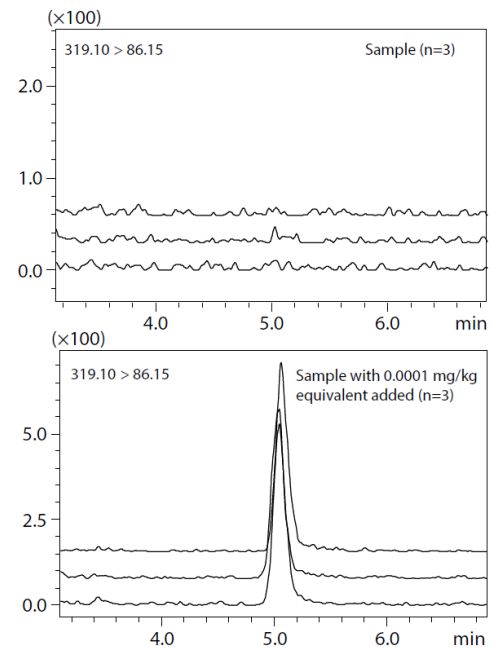
일본에서 생산된 우유와 계란을 전처리하였으며 각각의 추출물을 측정하여 얻은 MRM 크로마토그램을 그림 5(위)와 그림 6(위)에 나타냈습니다. 우유에서는 경미한 피크가 검출되었지만 대체로 정량 하한 농도의 1/5보다 적은 수준이며 계란에서는 불검출 되었습니다. 또한 0.0001 mg/kg의 클로르프로마진 표준용액을 첨가한 우유와 계란을 그림 1의 전처리를 사용하여 시험용액을 조제하였습니다. 각각의 시험용액에 대한 MRM 크로마토그램을 그림 5(아래)와 그림 6(아래)에 나타냈습니다. 시료 중 0.0001 mg/kg에 해당하는 시험용액의 농도는 20 ng/L가 됩니다. 표 2와 표 3에 나타난 바와 같이 회수율은 우유 추출액에서 103%, 계란 추출액에서 102%로 매우 양호한 결과를 얻을 수 있었습니다. 이와 같이 LCMS-8050을 이용하여 정확하게 클로르프로마진을 측정할 수 있습니다.



**Fig. 5 MRM 크로마토그램 (n=3, 우유)**

	Average concentration	Average recovery	Area %RSD
Spiked sample	20.69 ng/L	103%	5.71

**Table 2 회수율 (n=3, 우유)**



**Fig. 5 MRM 크로마토그램 (n=3, 계란)**

	Average concentration	Average recovery	Area %RSD
Spiked sample	20.50 ng/L	102%	2.45

**Table 3 회수율 (n=3, 계란)**