

QuEChERS 전처리와 LC-MS/MS를 이용한 고추 중 침투성농약 Imidacloprid 및 대사물질 동시분석법

서은경 · 김택겸* · 홍수명 · 권혜영 · 권지형 · 손경애 · 김장억¹ · 김두호

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부

¹경북대학교 응용생명과학부

Analysis of Systemic Pesticide Imidacloprid and Its Metabolites in Pepper using QuEChERS and LC-MS/MS

Eun-Kyung Seo, Taek-Kyum Kim*, Su-Myeong Hong, Hye-Yong Kwon, Ji-Hyung Kwon, Kyung-Ae Son, Jang-Eok Kim¹ and Doo-Ho Kim

Department of Agro-food Safety, National Academy of Agriculture Science,
Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea,

¹School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Received on October 24, 2013. Revised on November 8, 2013. Accepted on November 22, 2013)

Abstract Imidacloprid is a systemic insecticide which act as an insect neurotoxin. It used for control of pest such as aphids and other sucking insects in fruits and vegetables. Systemic pesticides move inside a crop following absorption by the plant, and these were converted into a variety of metabolites. Sometimes these metabolites make a problem about safety of agricultural products. So a simultaneous determination method of pesticide and its metabolites is needed, to monitor their presence in agricultural product and study on the fate of pesticide in a plant. This study's aim is to investigate simultaneous analysis method of imidacloprid and its metabolites, imidacloprid guanidine, imidacloprid olefin, imidacloprid urea, and 6-chloronicotinic acid in red pepper using QuEChERS method and LC-MS/MS systems. QuEChERS method was modified because $MgSO_4$ salts decreased the recoveries of 6-chloronicotinic acid in extraction procedure. Imidacloprid and its metabolites were extracted by acetonitrile with 1% glacial acetic acid and the extracts were purified through QuEChERS with primary secondary amine (PSA) and C_{18} and analyzed with LC-MS/MS in ESI positive mode. Standard calibration curves were made by matrix matched standards and their correlation coefficients were higher than 0.999. Recovery studies were carried out on spiked pepper blank sample at four concentration levels (0.01, 0.04 and 0.1, 0.4 mg/kg). The average recoveries of imidacloprid and its metabolites were in the range of 70~120% with <20% RSD. This result indicated that the method using QuEChERS and LC-MS/MS was suitable for the simultaneous determination of imidacloprid and its metabolites in red pepper.

Key words QuEChERS, Systemic pesticide, Metabolites, Analysis method

서 론

Imidacloprid(1-(6-chloro-3pyridylmethyl-N-nitroimida-

zolidin-2-ylideneamine)는 1991년 Bayer AG사에 의해 개발된 neonicotinoid계 침투성 살충제로써 작용기작은 신경계의 nicotinic 수용체와 결합하여 acetylcholine을 축적시켜 해충의 전신 마비를 유발시키는 것이다(Tomizawa 등, 1995). 이 약제는 저약량으로 높은 살충활성을 나타내어 매우 광범위하게 사용되고 있으며, 국내에서는 은무늬굴나방, 진딧물, 온실가루이, 각지벌레, 벼멸구, 먹노린재, 총채벌레,

*Corresponding author

Tel: +82-31-290-0517, Fax: +82-31-290-0506

E-mail: ktkiii@korea.kr

솔잎혹파리, 벼물바구미, 갈다구류 꽃매미 등의 해충 방제에 사용되고 있다(KCPA, 2012).

Imidacloprid와 같은 침투성 농약은 작물체 내부로 흡수 이동되어 살충 및 살균효과를 지속시키는 농약으로서 작물체내에서 다양한 대사산물들이 생성될 수 있다. Imidacloprid도 작물체내에서 imidacloprid olefin, imidacloprid guanidine, imidacloprid urea, 6-chloronicotinic acid 등을 포함한 다양한 대사산물들이 생성되는 것으로 알려져 있다(Sur and Stork, 2003). 이렇게 생성되는 대사산물 중 일부는 농산물의 안전성에 문제가 되기도 한다. Imidacloprid는 약효가 좋고 해충에 대한 선택성이 높은 농약으로 알려져 폭넓게 사용되고 있으나 꿀벌에 대한 독성이 높아 문제가 되고 있다. Imidacloprid의 꿀벌에 대한 급성독성 LD₅₀은 18-200 ng으로 상당히 강하고, Imidacloprid의 대사산물 Imidacloprid olefin의 경우 살충효과와 꿀벌에 대한 급성독성이 imidacloprid보다 강한 것으로 보고되고 있다(Nauen 등, 1998; Suchail 등, 2001). 이러한 점 때문에 imidacloprid 및 대사물질의 동시분석법에 대한 다양한 연구가 이루어져오고 있으며(Carretero 등, 2003; Schoning and Schimuck, 2003; Kamel, 2010), 농약과 대사산물의 분석법 연구는 작물체 내에서의 농약의 동태연구 및 농산물의 안전성을 확인하기 위해 필요하다.

QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) 분석법은 2003년 Anastassiades에 의해 처음 소개된 분석법으로 AOAC 및 European Committee에서 농약다성분분석법으로 인정받았으며(Anastassiades 등, 2003; Lehotay, 2007; Lehotay 등, 2010), 분석방법이 간단하고 개발이 쉬운 장점을 가지고 있어 여러 가지 시료를 대상으로 전 세계적으로 연구되고 있다(Nguyen 등, 2007; Pay 등, 2007; Lesueur 등, 2008; Nguyen 등, 2008; Hkov 등, 2009; Koesukwiwat 등, 2010; Bong 등, 2011). QuEChERS 분석법은 농약의 다성분분석 뿐만 아니라 작물체 등에서 생성되는 농약의 대사물질을 동시 분석하는데도 응용이 가능하다.

본 연구에서는 QuEChERS분석법을 사용하여 침투성농약인 imidacloprid 및 그 대사물질의 동시분석 방법을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

시험작물 및 전처리

본 실험에는 고추 식물체를 대상으로 하였으며 고추시료는 경기도 수원시 서둔동 소재 국립농업과학원의 온실에서 직접 재배하여 이용하였으며, 품종은 마니파였다. 준비된 시료의 전처리는 씨, 받침, 꼭지를 부분을 제거한 후 2 cm 정도로 세절하고 mix homogenizer (Artlon Gold Mix DA338-G, Korea)를 이용하여 드라이아이스를 첨가한 후 분쇄하여 분

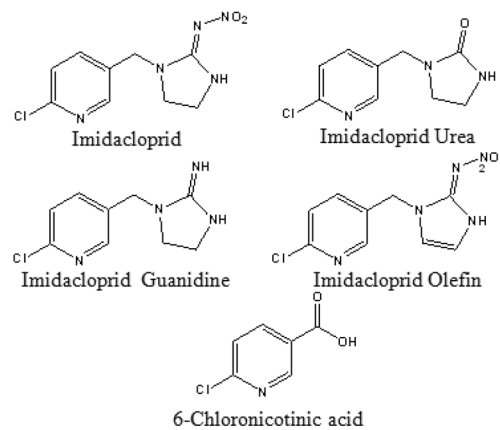


Fig. 1. Chemical structures of imidacloprid and its metabolites.

석시까지 -20°C에서 냉동보관하였다.

농약표준용액 및 시약

분석대상은 침투성 살충제인 imidacloprid와 대사물질인 imidacloprid urea, imidacloprid guanidine, imidacloprid olefin, 6-chloronicotinic acid 등 5성분이었다(Fig. 1). 사용한 표준품은 Dr. Ehrenstorfer(Germany)에서 구입하였으며 각각 acetonitrile을 이용하여 1,000 mg/L의 stock solution을 제조하였다.

분석에 사용된 용매인 acetonitrile은 Merck사(Merck KGaA, Germany)의 HPLC grade로 구입하여 사용하였으며, formic acid (>98% purity)와 ammonium acetate (99% purity)는 Sigma Aldrich (St. Louis, USA)에서, glacial acetic acid (100%)는 Merck사(Merck KGaA, Germany)에서 각각 구입하여 사용하였다. 시험에 사용된 3차 증류수는 Millipore사의 Milli-Q system(Bedford, USA)을 이용하여 제조한 후 사용하였다. QuEChERS 전처리를 위한 시약 magnesium sulfate anhydrous (MgSO₄), primary secondary amine (PSA), C₁₈ (Octadecylsilane)은 각각 Sigma Aldrich (St. Louis, USA)에서 구입하여 사용하였다.

Imidacloprid 및 대사물질 분석을 위한 QuEChERS 전처리

시료는 각각 10 g을 50 mL Falcon® tube에 칭량한 후, 1% glacial acetic acid가 포함된 acetonitrile용액을 20 mL 첨가하고 진탕기(엔바이오텍, NB-101MTH, Korea)를 사용하여 250 rpm에서 30분간 진탕하여 추출하였다. 원심분리(3,000 rpm, 5 min)하여 상정액 1 mL를 취하였다. 추출한 상정액 1 mL를 50 mg PSA, 50 mg C₁₈, 150 mg MgSO₄가 담긴 centrifuge tube에 옮겨 30초간 vortex mixer를 이용하여 진탕한 후 원심분리(12,000 rpm, 5 min)하였다. 분석용 시료 상정액 0.5 mL를 취하여 Triphenylphosphate (TPP) 5 mg/L 용액 50 µL, 0.1% formic acid 수용액 4 mL 및 acetonitrile 50 µL를 함께 섞은 후, 0.2 µm PTFE syringe filter (Pall

Corporation, Ann Arbor, USA)로 여과하였고 기기분석조건에 따라 LC-MS/MS를 이용하여 분석하였다. 시험에 사용된 triphenylphosphate는 기기의 검출능력 검증을 위해 내부 표준물질로 사용하였으며 정량에는 이용하지 않았다.

LC-MS/MS 기기분석

분석에 사용된 기기는 Agilent 1200 series HPLC에 Agilent 6410 triple-quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies, Palo Alto, USA)가 장착된 LC-MS/MS를 이용하였다. 이동상은 0.1% formic acid가 첨가된 10 mM NH₄OAc buffer용액과 아세토나이트릴(MeCN)용액을 사용하였으며, 분석 column은 YMC-Pack Pro C18 RS column (100 × 3.0 mm I.D., 3 μm, YMC Co., Ltd., Kyoto, Japan)을 사용하였다.

Imidacloprid 및 그 대사물질의 정량분석을 위해 LC-MS/MS의 ionization mode는 ESI positive mode를 이용하였고 MRM mode를 이용하여 분석하였다. 데이터 처리는 Mass Hunter® Workstation data acquisition 프로그램을 사용하였으며, 기기분석조건은 Table 1과 같다. 정량분석은 무처리 추출물에 녹여진 혼합표준용액(matrix matched standard)을 이용한 표준 검량선을 작성하여 계산하였다.

회수율 시험

회수율 시험은 고추시료 10 g에 각각 4, 10, 40 mg/L의

imidacloprid 및 대사물질 혼합표준용액을 100 μL씩 첨가하여 0.04, 0.1, 0.4 mg/kg이 되도록 처리하였다. 이후의 과정은 위에 기술한 방법으로 전처리와 기기분석을 수행하였다.

결과 및 고찰

Imidacloprid 및 그 대사물질의 LC-MS/MS 분석조건

Imiacloprid 및 그 대사물질인 imiacloprid olefin, imiacloprid guanidine, imiacloprid urea, 6-chloronicotinic acid의 LC-MS/MS 분석조건은 Table 1과 같으며, LC-MS/MS 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 각각의 Retention time은 imidacloprid guanidine 3.12, imidacloprid olefin 8.20, imidacloprid urea 8.35, imidacloprid 9.27, 6-chloronicotinic acid 9.8분이었으며, TIC 크로마토그램을 보면 olefin과 urea의 peak가 겹쳐 보이나 LC-MS/MS 정량분석에는 영향을 주지 않았다(Fig. 2).

검출한계, 정량한계 및 표준검량선

분석을 위한 검출한계(limit of detection, LOD) 및 정량한계(limit of quantitation, LOQ)를 측정하기 위해 100 μg/L 표준품을 무처리 추출시료로 희석하여 측정하였으며 각각 3 반복하여 분석하였다. Imidacloprid 및 그 대사산물들(imidacloprid olefin, imidacloprid urea, imidacloprid guanidine, 6-chloronicotinic acid)의 LOD는 S/N ratio = 3 인

Table 1. LC-MS/MS conditions for analyzing imidacloprid and its metabolites

Instrument	Agilent 1200 HPLC with Agilent 6410 triple-quadrupole MS			
Column	YMC-Pack Pro C18 RS 100 × 3 mm I.d. 3 μm			
Mobile phase	A: 0.1% Formic acid and 10 mM NH ₄ OAc in water B: 0.1% Fomic acid in MeCN			
Gradient table	Time (min)	A (%)		B (%)
	0	95		5
	2	30		70
	10	30		70
	15	10		90
	20	5		95
	23	95		5
	25	95		5
Flow rate	0.5 mL/min			
Column temp.	40°C			
Injection volume	10 μL			
MRM condition	MRM Pair	Q1	Q3	Retention time (min)
	Imidacloprid	256.1	175.2, 209.1	9.27
	Imidacloprid Olefin	254.0	236.1, 205.1	8.20
	Imidacloprid Urea	212.1	128.1, 99.2	8.35
	Imidacloprid Quanine	211.1	126.1, 90.1	3.12
	6-Chloronicotinic acid	158.0	122.1, 78.2	9.80
Ionization mode	ESI Positive			

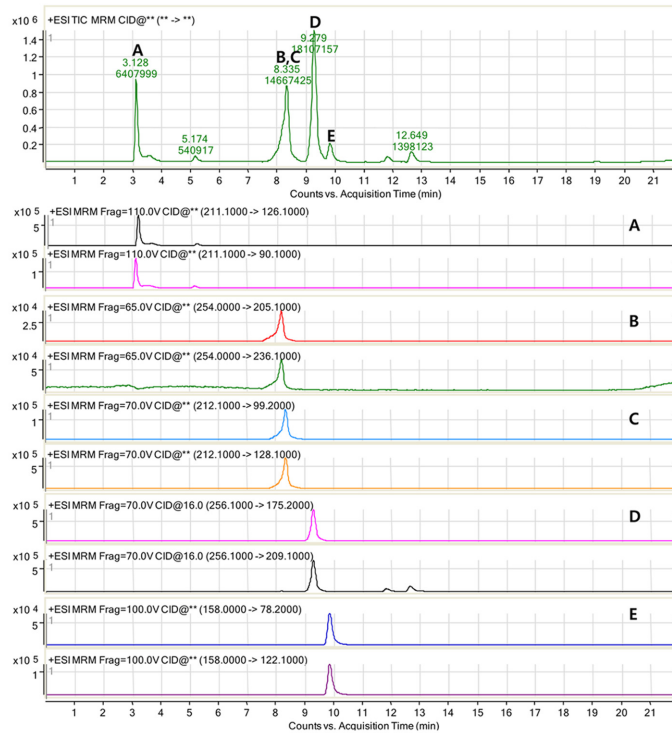


Fig. 2. The chromatogram of imidacloprid and its metabolites in LC-MS/MS A, Imidacloprid guanidine, B, Imidacloprid Olefin, C, Imidacloprid Urea, D, Imidacloprid, E, 6-Chloronicotinic acid.

Table 2. The linearity and regression coefficients of matrix matched standard curves of imidacloprid and its metabolites by LC-MS/MS

Analyte	Calibration Equation	R ²
Imidacloprid	Y = 626876.7X-106.6	0.9989
Imidacloprid olefin	Y = 148061.7X+173.9	0.9996
Imidacloprid urea	Y = 1777998.8X+238.7	0.9999
Imidacloprid guanidine	Y = 2633740.9X-3584.9	0.9998
6-Chloronicotinic acid	Y = 16083.1X-19.6	0.9993

농도로 계산한 결과, 각각 1, 20, 1, 4, 20 ppb이었고 LOQ는 S/N ratio = 10 인 농도로 각각 2, 40, 2, 8, 40 ppb이었다.

혼합표준곡선의 직선성을 조사하기 위해 0.5~100 µg/L 사이의 농도의 표준혼합용액을 이용하여 혼합표준곡선을 작성하였다. Imidacloprid 및 그 대사물질들의 혼합표준곡선의 결정 계수 R²값은 모두 0.999 이상으로 매우 양호하였다(Table 2).

QuEChERS 추출과정의 최적화

QuEChERS 방법 중의 AOAC 2007.01법으로 imidacloprid 및 그 대사물질들의 회수율 시험을 실시하였다. 각각의 회수율은 imidacloprid 95.5~101.9%, imidacloprid olefin 102.0~107.1%, imidacloprid urea 90.4~96.3%, imidacloprid guanidine 73.1~79.1%로 양호하였으나 극성이 큰 6-chloronicotinic acid의 회수율은 7.3~15.5%로 극히 낮았다(Table 3). 그리하

Table 3. Average recoveries of imidacloprid and it metabolites from fortified pepper crops using AOAC 2007.01 QuEChERS approach

Analyte	Fortified concentrations (% ^a)	
	0.04 mg/kg	0.4 mg/kg
Imidacloprid	101.9 ± 1.3	95.5 ± 0.1
Imidacloprid olefin	107.1 ± 1.0	102.0 ± 5.1
Imidacloprid urea	96.3 ± 3.4	90.4 ± 1.5
Imidacloprid guanidine	79.1 ± 0.5	73.1 ± 0.1
6-Chloronicotinic acid	15.5 ± 0.3	7.3 ± 0.8

^a) Values are average recovered percent ± standard deviation

여 imidacloprid 및 그 대사물질들의 동시분석을 위해 기존의 QuEChERS 전처리과정 중의 일부분을 수정하여 진행하였다.

Xu 등 (2011)은 flonicamid 및 그 대사물질의 QuEChERS 동시분석 결과, 추출과정에서 salting-out 시키기 위해 첨가한 염이 flonicamid 대사물질들의 회수율을 크게 떨어뜨린다고 보고하였으며, 이를 해결하기 위해 시료추출단계에서 염을 사용하지 않은 추출법을 이용하여 90% 이상의 회수율 결과를 얻었다고 보고하였다. 이 실험에서 6-chloronicotinic acid와 구조적으로 비슷한 flonicamid의 대사물질 중의 하나인 4-trifluoromethylnicotinic acid (TFNA)의 회수율이 84~96%로 유효한 결과를 나타내었다. 이에 본 연구에서는 기존

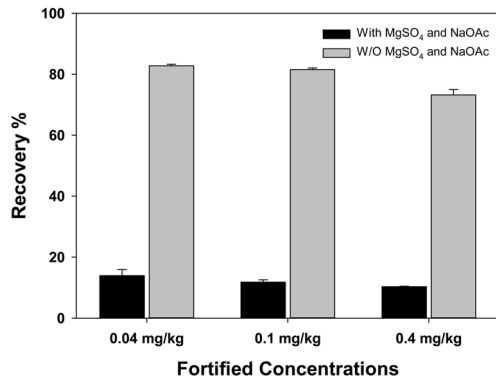


Fig. 3. The recoveries of 6-chloronicotinic acid between extraction step with and without MgSO₄ and NaOAc salt in extraction process.

의 QuEChERS 추출과정 중에서 MgSO₄ 및 NaOAc 염의 첨가 유무에 따른 6-chloronicotinic acid의 회수율을 비교분석하기 위하여 0.04, 0.1, 0.4 mg/kg 수준에서 3반복으로 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다. 추출과정에 염을 첨가할 경우의 회수율은 10.3~13.9%로 낮았으나, 염을 첨가하지 않은 경우에는 73.2~82.8%의 높은 회수율 결과를 나타내었다. 이 결과는 6-chloronicotinic acid처럼 극성이 높은 물질은 추출과정 중 물층에 주로 존재하여 과량의 MgSO₄를 첨가하는 salting-out 과정에서 salt 층에 갇혀 유기용매층으로 충분히 전이되지 못하기 때문인 것으로 판단된다.

QuEChERS 정제방법의 최적화

QuEChERS 방법을 이용하여 잔류농약 검출을 위한 전처리 과정을 진행할 경우에 낮은 회수율을 나타내는 농약들 위에 나타낸 바와 같이 추출과정에서 salt에 의한 간섭에 의한 경우 이외에 흡착과정에서 흡착제에의 흡착에 의하여 추출 효율이 떨어져서 일어난 결과라고 볼 수 있다.

Kamel (2010)은 QuEChERS 분석법을 이용하여 imidacloprid 및 그 대사물질을 포함한 여러 종류의 neonicotinoid계 농약들의 회수율을 분석해 본 결과, 본 연구와 같이 6-chloronicotinic acid 등 극성이 큰 대사물질은 매우 낮은 회수율을 나타내었다. 이는 6-chloronicotinic acid가 carboxylic acid group을 가진 구조로 정제과정에서 PSA에 흡착되어 나타난 결과로 보여진다(Koesukiwat 등, 2010). QuEChERS 전처리방법을 이용하여 사과와 상추에서의 회수율 시험을 실행한 결과에서도 carboxylic acid group을 가진 2,4-D, 4-CPA, dicamba, MCPA, oxolinic acid, triclopyr 등과 같은 농약의 회수율은 저조한 결과를 나타내었다(Kwon 등, 2011). 그러나 Xu 등(2011)의 결과에 따르면 PSA의 사용량을 증가시킴으로써 인하여 flonicamid 및 그 대사물질의 matrix effect가 17~34%에서 3~6%로 현저히 감소되었고 carboxylic acid group을 가진 TFNA의 회수율도 유효한 결

Table 4. Effect of dispersive agents on the recovery of imidacloprid and its metabolites from fortified pepper fruit (0.1 mg/kg)

	Average recoveries (± SD) at spiking level (%)	
	C ₁₈	GCB
Imidacloprid	88.2 ± 0.4	69.9 ± 18.9
Imidacloprid olefin	87.0 ± 2.0	86.5 ± 2.9
Imidacloprid urea	83.4 ± 0.5	81.4 ± 4.8
Imidacloprid guanidine	85.9 ± 1.1	85.6 ± 0.3
6-Chloronicotinic acid	80.5 ± 4.4	57.3 ± 4.6

과를 나타내었기에 본 연구에서는 50 mg의 PSA를 기본으로 사용하면서 다른 종류의 흡착제인 C₁₈과 graphite carbon black (GCB)의 첨가에 따른 회수율의 차이를 비교해보았다. 50 mg PSA, 150 mg MgSO₄를 기본으로 첨가하고 C₁₈ 및 GCB를 각각 50 mg 첨가하여 0.1 mg/kg 수준에서 3반복으로 회수율 시험을 실시한 결과, C₁₈ 첨가시, imidacloprid 및 대사물질들에서 80%이상의 양호한 회수율을 나타내었으나 GCB의 경우에는 6-chloronicotinic acid의 회수율이 57%로 감소되었다(Table 4). Xu 등(2011)의 실험에서 TFNA의 회수율에 있어서 GCB의 영향은 크지 않은 것으로 밝혀졌기에 GCB에 의한 흡착여부는 추후 더 검증이 필요하다고 판단된다. 이상의 결과로부터 본 연구에서는 소량의 MgSO₄ 및 PSA에 의한 회수율 저하는 크지 않았고 C₁₈ 첨가시 유효한 회수율을 나타내었기에 3가지 종류의 흡착제를 이용한 정제과정을 거쳐 회수율 시험을 실시하였다.

Imidacloprid 및 그 대사물질의 회수율 시험

Imidacloprid 및 그 대사물질 4종의 농약 혼합표준용액을 고추에 0.01, 0.04, 0.1, 0.4 mg/kg이 되도록 처리한 후 앞서 확립한 QuEChERS 분석방법을 이용하여 3반복으로 회수율 실험을 수행하였으며, 그 결과는 Table 5와 같다.

Imidacloprid, imidacloprid olefin, imidacloprid urea, imidacloprid guanidine 및 6-chloronicotinic acid의 회수율은 각각 86.0~101.7%, 85.3~89.1%, 81.8~88.5%, 82.8~122.5%, 71.8~89.1%를 나타내어 양호하였다. Imidacloprid olefin과 6-chloronicotinic acid는 LOQ 값이 높아 0.01 mg/kg 농도에서는 분석이 이루어지지 않았으나 imidacloprid 및 imidacloprid urea, imidacloprid guanidine은 0.01 mg/kg 농도에서도 양호한 회수율을 나타내었다. 이상의 결과에서 imidacloprid와 그 대사산물의 회수율이 70~120%의 유효한 범위 내에 있었고, RSD는 20%이하였으며, 표준혼합곡선의 R²값이 0.99이상으로 나타난 것으로부터 본 시험에서 확립된 QuEChERS 분석법을 활용하여 고추 식물체 중 imidacloprid 및 그 대사산물의 동시분석이 가능하며 농산물 중의 잔류농약의 분석이 가능하리라 판단된다.

Table 5. Recoveries and relative standard deviations (RSDs) of imidacloprid and its metabolites from fortified fruit samples

	Average recoveries (\pm SD) at spiking concentrations (mg/kg)							
	0.01		0.04		0.1		0.4	
	Recovery	RSD	Recovery	RSD	Recovery	RSD	Recovery	RSD
Imidacloprid	101.7 \pm 3.0	3.0	95.4 \pm 2.3	2.4	86.0 \pm 0.4	0.5	90.2 \pm 1.3	1.5
Imidacloprid olefin	N.D. ^{a)}	-	86.3 \pm 5.0	5.8	89.1 \pm 1.9	2.1	85.3 \pm 1.1	1.3
Imidacloprid urea	81.8 \pm 3.4	4.2	88.5 \pm 0.9	1.1	85.2 \pm 0.4	0.5	88.1 \pm 1.0	1.2
Imidacloprid guanidine	122.5 \pm 1.3	1.1	90.3 \pm 0.5	0.5	84.5 \pm 1.1	1.3	82.8 \pm 0.3	0.4
6-Chloronicotinic acid	N.D.	-	89.1 \pm 2.5	2.8	77.9 \pm 4.6	5.9	71.8 \pm 0.3	0.4

^{a)} N.D. : not detected.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구 개발사업 (과제번호 : PJ009185)의 지원에 의해 수행되었음.

Literature Cited

- Anastassiades, M., S. J. Lehotay, D. tajnbaher and F. J. Schenck (2003) Fast and Easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*. 86:412-431.
- Bong, M. S., S. Y. Yang, S. H. Lee, J. M. Seo and I. S. Kim (2011) Simultaneous analysis of conazole fungicides in garlic by Q-TOF mass spectrometer coupled with a modified QuEChERS method. *Korean Journal of Environmental Agriculture*. 30(3):323-329.
- Carretero, A. S., C. C. Blanco, S. P. Duran and A. F. Gutierrez (2003) Determination of imidacloprid and its metabolite 6-chloronicotinic acid in greenhouse air by application of micellar electrokinetic capillary chromatography with solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. 1003:189-195.
- Húšková, R., E. Matisová, S. Hrouzková and E. Švorc (2009) Analysis of pesticide residues by fast gas chromatography in combination with negative chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1216, 6326-6334.
- Kamel, A. (2010) Refined methodology for the determination of neonicotinoid pesticides and their metabolites in Honey Bees and Bee products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(10):5926-5931.
- Koesukwiwat, U., S. J. Lehotay, K. Mastovska, K. J. Dorweiler and N. Leepipatpiboon (2010) Extension of the QuEChERS Method for Pesticide Residues in Cereals to Flaxseeds, Peanuts, and Doughs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58:5950-5958.
- Korea crop protection association (KCPA) 2012. pesticide application manual. seoul. Korea. p. 622-623.
- Kwon, H. Y., C. S. Kim, B. J. Park, Y. D. Jin, K. A. Son, S. M. Hong, J. B. Lee and G. J. Im (2011) Multiresidue analysis of 240 pesticides in apple and lettuce by QuEChERS sample preparation and HPLC-MS/MS analysis. *The Korean Journal of Pesticide Science*. 15(4):417-433.
- Lehotay, S. J. (2007) Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 90(2):485-520.
- Lehotay, S. J., K. A. Son, H. Y. Kwon, U. Koesukwiwat, W. Fu, K. Mastovska, E. Hoh and N. Leepipatpiboon (2010) Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*. 1217:2548-2560.
- Lesueur, C., P. Knittl, M. Gartner, A. Metntler and M. Fuerhacker (2008) Analysis of 140 pesticides from conventional farming foodstuff samples after extraction with the modified QuEChERS method. *Food Control*. 19:906-914.
- Nauen, R, K. Tietjen, K. Wanger and A. Elbert (1998) Efficacy of plant metabolites of imidacloprid against *Myzus Persicae* and (Homoptera : Aphididae), *Pesticide Science*. 52:53-57.
- Nguyen, T. D., B. S. Lee, B. R. Lee, D. M. Lee and G. H. Lee (2007) A multiresidue method for the determination of 109 pesticides in rice using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) sample preparation method and gas chromatography/mass spectrometry with temperature control and vacuum concentration. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*. 22(18):3115-3122.
- Nguyen, T. D., J. E. Yu, D. M. Lee and G. H. Lee (2008) A multiresidue method for the determination of 107 pesticides in cabbage and radish using QuEChERS sample preparation method and gas chromatography mass spectrometry. *Food Chemistry*. 110:207-213.
- Payà, P., M. Anastassiades, D. Mark, I. Sigalova, B. Tasdelen, J. Oliva and A. Barba (2007) Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe

- (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical chemistry*. 389(6):1697-1714.
- Schoning, R. and R. Schimuck (2003) Analytical determination of imidacloprid and relevant metabolite residues by LC MS/MS, *Bulletin of Insectology*, 56(1):41-50.
- Suchail, S, D. Guez and L. P. Belzunces (2001) Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20(11):2482-2486.
- Sur, R., and A. Stork (2003) Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plant. *Sulltetin of insectology*, 56(1):35-40.
- Tomizawa, M., H. Otsuka, T. Miyamoto, M. E. Eldefrawi and I. Yamamoto (1995) Pharmacological effects of imidacloprid and its related compounds on the nicotinic acetylcholine receptor with its ion channel form the torpedo electric organ. *Journal of Pesticide Science*. 20:57-64.
- Xu, Y., L. F. Shou and Y. L. Wu (2011) Simultaneous determination of flonicamid and its metabolites in vegetables using QuEChERS and reverse-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*. 1218:6663-6666.

QuEChERS 전처리와 LC-MS/MS를 이용한 고추 중 침투성농약 Imidacloprid 및 대사물질 동시분석법

서은경 · 김택겸* · 홍수명 · 권혜영 · 권지형 · 손경애 · 김장억¹ · 김두호

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부

¹경북대학교 응용생명과학부

요 약 Imidacloprid는 곤충의 신경 독으로 작용하는 침투성 살충제이며, 과일과 채소에 진딧물 등의 해충 방제에 이용되고 있다. 침투성 농약은 작물체 내부로 흡수 이동되어 다양한 대사산물들이 생성되며 이중 일부 대사산물들은 농산물의 안전성에 문제가 되기도 한다. 따라서 농약과 대사산물의 동시분석법은 작물체 내에서 농약의 동태연구 및 농산물의 안전성을 확인하기 위해 필요하다. 본 연구의 목적은 고추 식물체 내에서 imidacloprid와 그 대사산물 4종, imidacloprid urea, imidacloprid olefin, imidacloprid guanidine, 그리고 6-chloronicotinic acid의 QuEChERS 법과 LC-MS/MS 시스템을 사용한 동시 분석법을 개발하고자 하였다. 실험방법은 고추 식물체 시료에 1% glacial acetic acid와 아세트니트릴 첨가한 후 추출하였고 그 추출물을 일정량 분취한 후 PSA와 C₁₈을 이용하여 정제하였다. 정제된 추출물은 LC-MS/MS로 분석하였으며, 표준정량곡선은 혼합표준용액(Matrix matched standard)를 제조하여 작성하였다. 표준정량곡선의 상관계수는 0.998 이상이었으며, LOQ도 0.05 mg/kg 이하였다. 0.01, 0.04, 0.1, 0.4 mg/kg 4개 수준으로 회수율시험을 수행하였으며, 그 결과 imidacloprid와 그 대사산물의 회수율은 70~120%이었고, RSD는 20%이하였다. 이러한 결과는 본 시험방법이 고추 식물체에서 imidacloprid 및 그 대사산물을 분석하는데 적합하다는 것을 보여준다.

색인어 QuEChERS, 침투성농약, 대사물질, 분석법