

## HPLC-UVD를 이용한 농산물 중 살충제 sulfoxaflor의 시험법 개발 및 검증

도정아 · 이미영 · 박혜진 · 권지은 · 장효진 · 조윤제 · 강일현 · 이상목 · 장문익 · 오재호 · 황인균\*  
식품의약품안전청 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 화학물질과

### Development and Validation of an Analytical Method for the Insecticide Sulfoxaflor in Agricultural Commodities using HPLC-UVD

Jung-Ah Do, Mi-Young Lee, Hyejin Park, Ji-Eun Kwon, Hyojin Jang, Yoon-Jae Cho,  
Il-hyun Kang, Sang-Mok Lee, Moon-Ik Chang, Jae-Ho Oh, and In-Gyun Hwang\*

Food Chemical Residues Division, Department of Food Safety Evaluation,  
National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Food and Drug Administration

**Abstract** Sulfoxaflor is a new active ingredient within the sulfoximine insecticide class that acts via a unique interaction with the nicotinic receptor. The MRLs (maximum residue limit) of sulfoxaflor in apple and pear are set at 0.4 mg/kg and that in pepper is set at 0.5 mg/kg. The purpose of this study was to develop an analytical method for the determination of sulfoxaflor residues in agricultural commodities using HPLC-UVD and LC-MS. The analysis of sulfoxaflor was performed by reverse phase-HPLC using an UV detector. Acetone and methanol were used for the extraction and aminopropyl (NH<sub>2</sub>) cartridge was used for the clean-up in the samples. Recovery experiments were conducted on 7 representative agricultural products to validate the analytical method. The recoveries of the proposed method ranged from 82.8% to 108.2% and relative standard deviations were less than 10%. Finally, LC-MS with selected ion monitoring was also applied to confirm the suspected residues of sulfoxaflor in agricultural commodities.

**Keywords:** sulfoxaflor, insecticide, agricultural commodities, HPLC-UVD

## 서 론

세계 각국은 농산물 및 식품에 대한 잔류 농약의 안전성을 평가하기 위하여 잔류허용기준(maximum residue limit, MRL)을 설정하여 규제할 뿐만 아니라 자국 및 수입 농산물 중 잔류농약을 분석하고 그 실태를 조사하고 있다. 우리나라도 국내 생산 및 수입 농산물 중 잔류농약을 분석하고, 매년 국내 유통 중인 농약의 잔류 현황을 파악하여 농산물 및 식품의 잔류농약을 관리하고 있으며, 농산물 중 잔류농약 안전관리를 위하여 잔류 허용기준을 설정하고 잔류농약 시험법을 매년 제·개정하고 있다. 선진국 역시 매년 잔류농약 모니터링에 관한 보고가 끊이지 않고 있으며 미국 FDA와 유럽의 EFSA에서는 잔류농약 모니터링 프로그램을 통해 자국 내 식품 만 아니라 수입식품과 영유아 식품에 대해 보다 엄격한 기준을 두고 검사하고 있다. EU의 경우 특히 유기농 식품에 대해서는 MRL이 아닌 EU level (Defra 기준)을 적용하고 있다(1-3). 우리나라는 1968년 이후 국립보건원에서 국내 유통 농

산물에 대한 잔류농약 모니터링을 실시해 온 이래, 1989년부터는 보건복지부에서 검사 농약 및 식품 등 검사대상을 대폭 확대하여 실시하여 왔으며 1998년부터는 식품의약품안전청에서 국가적 차원의 잔류농약 모니터링을 전국적인 수준으로 실시하고 있다(4). 이러한 잔류농약에 대한 관리가 철저하게 이루어지고 있는 정책하에서 신규농약에 대한 관리는 더욱더 강화되고 있고 이를 위한 시험법 분석 및 기준안 제시 등이 이루어지고 있다.

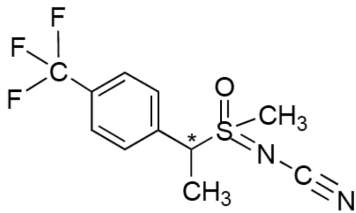
농작물 재배시 여러 해충들에 의한 피해가 날로 증가하고 있는 추세이므로 적절한 살충제 개발이 필요한데, Snodgrass (5)의 연구에 의하면 장님노린재과는 해충들이 기존의 살충제에 대한 저항성이 발생하기 시작하면서 기존의 제품들이 적당하지 않아 새로운 살충제 개발이 필요하다고 보고하고 있다. 이에 Dow Agrosiences가 살충제로 개발한 농약 sulfoxaflor는 목화진딧물, 각지 벌레류, 사과혹진딧물 등에 효과를 나타내는 sulfoximine 계통의 새로운 살충효과를 나타내는 농약(6)으로 진딧물과, 멸구과 기타 Aleyrodidae, Margarodidae, and Miridae가 포함된 종들에 대한 살충효과를 가지고 있는 신규 농약이라 보고되었다. 기존의 살충제들보다 적은 양으로 방제 효과가 뛰어나며 특히 acephate 계통 살충제보다 적은 양으로 보다 높은 살충효과를 나타내었다(7,8).

Sulfoxaflor는 한 개의 부제탄소(피리딘 링 3번째 구조에 sulfur 원자와 carbon 원자가 결합되어 있는 것)가 포함되어 있고 또한 입체이성체가 섞여 있어 (E)-와 (Z)-이성질체가 존재하거나 또는 그들이 온도의 영향과 내부 변화가 발생 할 수 있다. 따라서 분석 시에도 이성질체의 존재를 확인 할 수 있을 것으로 판단된다. Sulfoxaflor는 증기압이  $\leq 1.4 \times 10^{-6}$  Pa로 휘발성이 낮고 LogP<sub>ow</sub>가

\*Corresponding author: In-Gyun Hwang, Food Chemical Residues Division, Department of Food Safety Evaluation, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Food and Drug Administration, Cheongwon, Chungbuk 363-700, Korea  
Tel: 82-43-719-4207  
Fax: 83-43-719-4200  
E-mail: jado@kfda.go.kr  
Received September 28, 2012; revised December 17, 2012;  
accepted January 5, 2013

**Table 1. Properties of physical chemistry of sulfoxaflor**

IUPAC name	[methyl(oxo){1-[6-(trifluoromethyl)-3-pyridyl]ethyl}-λ6-sulfanylidene]cyanamide
CAS No.	946578-00-3
Classification	Unclassified insecticides
Melting point	119.2°C
Molecular weight	277.3 (C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> OS)
Boiling point	-
Density	1.51 (19.6)
Log P <sub>ow</sub>	0.802 (pH 7)
Vapor pressure	≤1.4×10 <sup>-6</sup> Pa (20°C)
pK <sub>a</sub>	-
Stability	-
Solubility	Water, 670 mg/L; Methanol, 93.1 g/L; Acetone, 217 g/L; Xylene, 0.743 g/L; n-octanol, 1.66 g/L
Toxicity	ADI: 0.05 mg/kg bw/day

**Fig. 1. Chemical structure of sulfoxaflor.**

0.802로 비교적 극성이 높은 화합물로 비헤리성을 나타내고 있다 (Table 1). 특히 구조내에 있는 cyanamide기의 경우 유도체화 시켜서 FLD (Fluorescence Detector)로 분석이 가능하나 sulfoxaflor의 구조에서 예상되는 바와 같이 UV에서 강한 흡광성을 나타낼 것으로 판단되어 UVD에서 분석을 결정하였다. Sulfoxaflor의 구조식과 물리화학적 특성은 Table 1과 Fig. 1에 나타내었다.

Sulfoxaflor는 현재 우리나라에서 고추(0.5 mg/kg), 사과(0.4 mg/kg) 및 배(0.4 mg/kg)에 대해 신규 잔류허용기준(안)이 설정된 농약(식품의약품안전청 고시 제2012-100호, '12.9.5)이고 CODEX에는 보리(0.6 mg/kg), 마늘(0.01 mg/kg), 포도(2.0 mg/kg) 등 총 35종에 대해 MRL이 설정 예정되어 있어 다양한 농산물에 적용할 수 있는 잔류농약 시험법 개발이 필요하다. 일반적으로 잔류농약 분석을 위해서는 첫째, 시료로부터 농약을 추출하는 과정과 둘째, 시료 추출물 중에 공존하는 여러 가지 방해 성분을 제거하는 정제 과정을 확립하여야 한다. 특히 sulfoxaflor 분석은 미국 FDA의 PAM (Multi-Residue Method Test guidelines in the Pesticide Analytical Manual)에서도 낮은 회수율과 감도 때문에 시험법 적용이 쉽지 않다고 이야기하고 있다(9,10). 그러나 신규 농약 sulfoxaflor의 사용이 일반화될 가능성과 잔류 가능성을 가지고 있어 이를 확인하기 위한 시험분석법이 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 신규 등록 농약 sulfoxaflor에 대해서 정량 및 정성 확인 시험까지 수행하여 보다 정확하고 확실한 잔류농약시험법을 개발할 수 있도록 하였다. 특히 신규 농약으로 활성이 큰 점을 감안하여 잔류량이 설정된 농산물 뿐만 아니라 기타 허가되지 않은 다른 농산물에도 사용 가능성이 있어서 본 시험법 개발이 요구되어 보다 정확하고 신뢰할 수 있는 공정한 시험법을 개발하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료, 시약 및 장비

본 연구에서 사용한 시료는 기준이 설정된 품목인 사과, 배, 고

추 외 대표농산물로 곡류 중 현미, 콩류 중 대두, 서류 중 감자를 추가하여 분석하였다. 모든 재료는 회수율 시험재료로써 무농약, 친환경 제품을 대형유통마트에서 구입하였으며 상하였거나 원형이 훼손되지 않은 것에 한하여 구입 후 즉시 잔류농약분석용 식품 전처리 방법에 준하여 손질 후(식품공전에 제시된 방법에 따라 현미, 대두의 경우 분쇄, 사과, 배, 고추의 경우 꼭지 부분 제거만을 하였으며 수세 과정은 거치지 않았고 감자의 경우 겉에 묻어 있는 흙을 제거하기 위한 간단한 수세 후 외피제거 작업 없이 전처리하여 준비하였다.) 균질화하여 밀봉된 용기에 담아 -50°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

Sulfoxaflor 표준품(99%)은 Dow Agro-sciences LLC에서 분양받아 사용하였고, n-hexane, dichloromethane, acetone, acetonitrile 등은 HPLC grade로 Merck (Darmstadt, Germany)에서 구입하여 사용하였다. 무수황산나트륨과 염화나트륨은 Wako (Osaka, Japan)로부터 구입하여 사용하였다. 여과지는 silicone treated filter paper (IPS) 제품을 Whatman International Ltd. (London, UK)으로부터 구입하여 사용하였으며 또한 추출물의 정제과정 비교 실험을 위해 Waters사의 Sep-pak alumina, silica, florisil 추출카트리지를 사용하였고 본 실험에 사용된 기타 일반시약은 특급시약을 사용하였다.

### 표준용액조제

Sulfoxaflor 표준물질은 정밀히 달아 acetonitrile에 녹여 농도가 1,000 µg/mL가 되도록 조제하여 갈색병에 담아 4°C에서 보관하였다. 분석 시에 표준원액을 acetonitrile/0.2% acetic acid in water (50/50, v/v)로 희석하여 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 및 5.0 µg/mL가 되도록 표준용액을 만들어서 검량선을 작성하였다.

### 분석기기

식품 중 sulfoxaflor를 분석하기 위하여 자외부흡광광도검출기(UVD, Ultra Violet Detector)가 장착된 HPLC system (Waters 2695)를 이용하였으며, 칼럼으로는 Capcellpak C<sub>18</sub> (5 µm, 250 mm × 4.6 mm I.D., Shiseido)를 사용하였다. 이동상은 acetonitrile과 water를 적절한 농도구배조건으로 혼합하여 1.0 mL/min의 유속으로 사용하였다. 검출된 sulfoxaflor를 확인하기 위하여 LC-MS (Quattro Premier XE, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였고 칼럼은 HPLC packed column UG 120 C<sub>18</sub> (3 µm, 150 mm × 2.0 mm I.D., Shiseido)를 사용하였다.

### 시료 중 대상물질 추출 및 정제

검체 1 kg을 분쇄하여 균질화한 후 20 g을 정밀히 달아 균질기

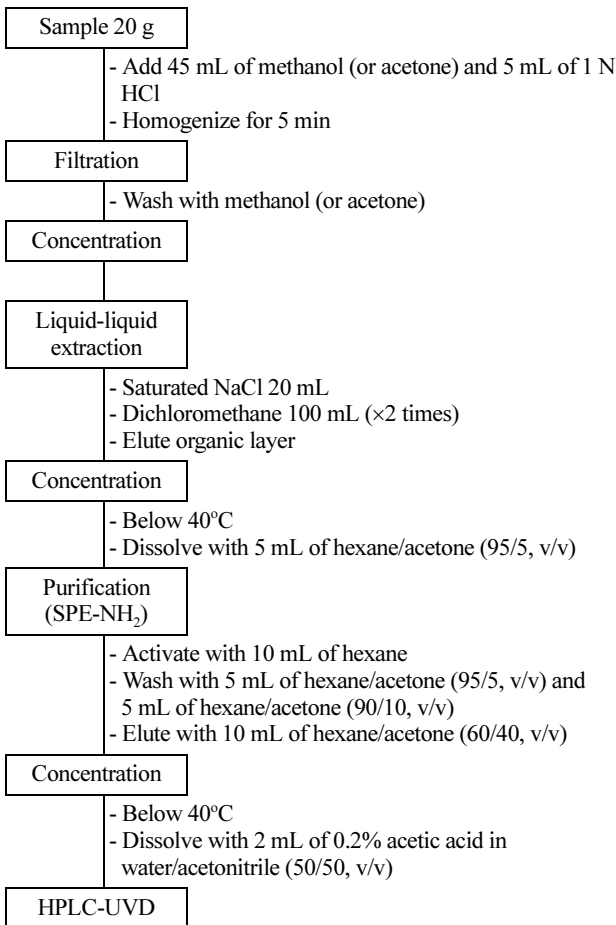


Fig. 2. Sample preparation for analysis of sulfoxafloer in sample.

용기에 넣고, 1 N HCl 용액 5 mL와 methanol(현미, 감자, 감귤, 대두의 경우 acetone) 45 mL를 가하여 혼합추출분쇄기로 5분간 균질화한다. 이를 여과지가 깔려있는 부호너깔때기로 흡인여과하고, 잔류물을 methanol 30 mL로 씻어내려 앞의 여액과 합하여 40°C 이하 수욕상에서 감압농축한다(추출물이 여과가 잘 되지 않을 경우 여과지에 Celite 545를 깔고 여과한다.). 농축액을 포화 NaCl 20 mL와 dichloromethane 100 mL를 가하여 심하게 흔들여 층이 완전히 분리 될 때까지 정치 한 후, dichloromethane층을 무수황산나트륨에 통과시켜 감압농축플라스크에 받는 과정을 2회 반복한다. 이를 40°C 이하 수욕상에서 감압농축한 후 잔류물을 hexane/acetone 혼합액(95/5, v/v) 5 mL로 재용해한다. 이 추출물을 정제하기 위하여 아미노프로필 카트리지에 hexane 10 mL를 넣고 고정상 상단이 노출되기 전에 hexane/acetone 혼합액(95/5, v/v) 5 mL와 hexane/acetone 혼합액(90/10, v/v) 5 mL를 가하여 유출시켜 버리고, hexane/acetone 혼합액(60/40, v/v) 10 mL로 유출시켜 감압농축플라스크에 취한다. 이 유출액을 40°C 수욕상에서 감압농축하고 잔류물에 acetonitrile/0.2% acetic acid in water 혼합액(50/50, v/v)을 가하여 최종부피 2 mL가 되게 하여 시험용액으로 한다(Fig. 2).

#### 기기 분석

HPLC-UVD와 LC-MS의 기기 분석 조건은 각각 Table 2, 3에 나타내었다. Sulfoxafloer는 PDA 확인 결과 220 nm로 분석하였으며, 주입량은 40 µL이었다.

Table 2. Analytical conditions of HPLC-UVD for sulfoxafloer

Instrument	HPLC-UVD (Waters 2695)		
Column	Capcellpak C <sub>18</sub> (5 µm, 250 mm × 4.6 mm I.D., Shieseido)		
Column temperature	25°C		
Mobile phase	Time (min)	Water (%)	Acetonitrile (%)
	0	70	30
	5	70	30
	18	30	70
	20	70	30
	25	70	30
Flow	1.0 mL/min		
Detection	UVD (220 nm)		
Injection volume	40 µL		

Table 3. Validated conditions of LC-MS for sulfoxafloer

Instrument	LC-MS(Quattro Premier XE, Waters, USA)		
Column	HPLC Packed column UG 120 C <sub>18</sub> (3 µm, 150 mm × 2.0 mm I.D., Shieseido)		
Flow	0.2 mL/min		
Mobile phase	Time (min)	0.01% formic acid in water (%)	0.01% formic acid in ACN (%)
	0	0	100
	5	30	70
	12	70	30
	13	30	70
	15	0	100
Column temperature	25°C		
Ionization mode	ESI positive-ion mode		
Cone voltage	23 V		
Injection volume	5 µL		

#### 회수율 측정

분석방법에 따른 회수율을 측정하기 위하여 각 농산물(사과, 배, 고추, 현미, 감자, 감귤, 대두)에 표준용액을 첨가하여 분석하였다. 수분함량이 낮은 시료(현미, 대두)의 경우에는 물을 첨가하여 수화하고 난 후에 표준용액을 첨가하였다. 이와 같이 준비된 시료를 30분 이상 방치하여 대상 sulfoxafloer가 조직 내부로 충분히 침투할 수 있도록 하여 사용하였다. 각 시료 중 sulfoxafloer의 최종농도는 0.05 및 0.5 mg/kg이 되도록 하였으며, 사과, 배의 경우 잔류허용기준인 0.4 mg/kg으로 검증하였다. 회수율 측정은 각각의 농도 및 시료에 대하여 3번 반복하여 평균과 상대표준편차를 계산하였다.

## 결과 및 고찰

#### Sulfoxafloer의 기기 분석 조건 확립

Sulfoxafloer의 분자내부에 conjugation system이 내재하는 화학구조에서 예상되는 바와 같이 UV에서 강한 흡광성을 나타낼 것으로 판단되어 UVD에서 분석을 결정하였고 분석 시 적합한 측정 파장대를 찾기 위해 PDA를 측정한 결과 최대 흡수파장대로 220,

260 nm를 확인 할 수 있었다. 260 nm가 장파장대로 간섭물질에 영향을 받지 않을 것으로 판단되었지만 분석 결과 sulfoxaflor의 이성질체에 대한 감도가 낮음을 확인하였다. 따라서 220 nm가 짧은 파장으로 다소 용매 및 다른 물질에 간섭을 받을 수 있지만 260 nm에 비해 감도와 이성질체의 분리가 확실하게 확인되어 분석을 위한 최적파장으로 결정하였다. 대신 간섭물질에 의한 sulfoxaflor 분리는 추출조건과 용매 및 이동상 조건을 변경하여 해결하였다. 분석 시 이동상의 조건은 머무름 시간을 가능한 한 길게 설정하여 충분한 분리가 이루어지도록 이동상 조건을 조절하여 불순물들을 충분히 세정할 수 있도록 하였다. 이동상의 조건은 distilled water와 acetonitrile을 적당한 농도구배 조건으로 하여 분석한 결과 머무름 시간이 10.3분으로 확인되었으나 sulfoxaflor를 acetonitrile에 희석하여 분석하였을 때는 이성질체가 분리되지 않아 이를 해결하고자 재용해하는 용매를 0.2% acetic acid in water/acetonitrile (50/50, v/v)에 용해하여 두 이성질체 사이에 어느 정도 이온 억압을 줄 수 있도록 하여 이성질체의 분리도를 높여 주었다(11).

이렇게 확립된 분석 조건에서 얻은 표준물질의 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었으며 HPLC-UVD에서 높은 직선성을 확인할 수 있었다. 기기 분석조건 중 주입량 선정은 sulfoxaflor의 기기적 감도가 0.5 mg/kg에서도 검출한계가 낮은 점( $S/N=1.39 < 3.0$ )을 고려하여 주입량의 부피를 40  $\mu$ L로 설정하여 검출감도를 증가시키는 조건으로 선정하였다(Fig. 3, 4).

#### Sulfoxaflor의 추출 및 정제 조건 확립

농산물 검체로부터 극성 대상성분을 추출하기 위한 용매로는 acetone과 methanol이 일반적으로 많이 사용되고 있다(11,12). 따라서 예비실험에서 두 용매를 비교 실험 한 결과 시료 중 사과, 배, 고추에 대해서는 높은 회수율을 보였지만 현미, 감자, 감귤, 대두의 경우 sulfoxaflor와 같은 머무름 시간대에 항상 간섭물질이 존재하였으며 정제 조건 및 기타 기기 분석 조건 등을 변경하였으나 해결되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 농산물의 종류에 따라 추출 용매선정을 다르게 결정하였다. 사과, 배, 고추의 경우에는 methanol 추출 시 간섭물질이 추출되지 않지만 지방이 있는 현미, 감귤, 대두와 탄수화물 다당체가 많은 감자 시료의 경우는 methanol을 이용한 추출 시 분석이 용이하지 않다고 판단되어 그와 비슷한 극성도를 추출 할 수 있는 용매인 acetone을 이용하여 추출하였다. Acetone은 US FDA법이나 AOAC법에서 대상성분에서 유사한 물리화학적 특성을 나타내는 농약 잔류분을 추출하는데 보편적으로 사용되는 표준용매로서 이미 많은 연구자들에 의하여 유기인계 및 카바메이트계 농약뿐만 아니라 유사 특성의 극성 농약의 추출에 그 효율과 재현성이 인정된 바 있다(11). 이렇게 acetone 추출 결과 머무름 시간에 영향을 주었던 간섭 물질이 제거됨을 확인할 수 있었는데 이는 문제가 되었던 현미, 감귤, 감자, 대두의 경우에서만 좋은 회수율을 보였고 methanol 추출에서 회수율이 좋았던 사과, 배, 고추의 경우에는 sulfoxaflor의 이성질체 분리가 용이하지 않게 되는 특징을 보여서 시료별로 추출용매 조건을 다르게 하였다. 특히 현미, 감귤, 감자, 대두에서 methanol에 가수분해하여 추출액을 제조한 실험에서는 회수율은 좋았지만 감압 농축 시 돌비(bumping)현상이 많이 일어나서 분석 결과의 재현성이 떨어짐을 확인할 수 있었다. 또한 추출 조건에서 1 N HCl을 첨가하였는데 이는 sulfonylurea계 대상성분들은 약산성에서 해리 가능 화합물이므로 알칼리 조건에서는 수용성, 산성에서는 유용성을 나타내어 dichloromethane을 이용한 액체-액체 분배 시 우수한 분배효율로 회수 할 수 있

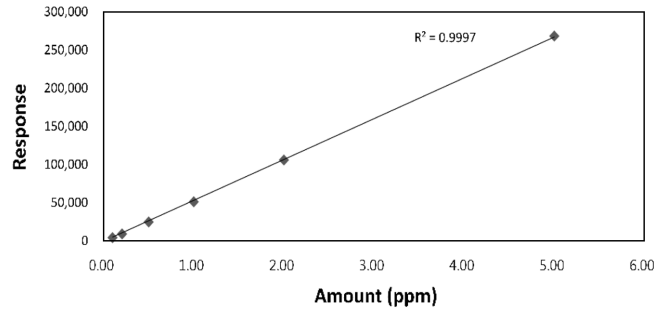


Fig. 3. Calibration curve of sulfoxaflor standard using HPLC-UVD.

고 또한 sulfoxaflor의 안정성을 확보하기 위한 것으로 분석 중 이성질체에서 다른 형태의 화합물로 전환되는 불안정성을 제거하기 위해 초기 추출에 산을 첨가하여 보다 안정성 있고 재현성이 좋은 조건으로 추출을 시행하였다.

검체 추출물로부터 불순물을 1차적으로 제거하기 위한 액체-액체 분배법을 실시하였는데 이때 acetone 추출액을 농축하지 않은 상태로 물로 희석하고 NaCl 등을 첨가하여 dichloromethane으로 직접 분배하는 방법은 극성 성분들에 대한 분배 효율이 0-43%로 저조하여 사용할 수 없었다. 따라서 추출용매인 acetone을 증발, 제거하고 NaCl 등을 포화시켜 ionic strength를 최대한 증대시킨 조건에서 액체-액체 분배를 하였을 때 우수한 분배효율로 원하는 성분을 회수 할 수 있다(11). 그러나 잔류농약 분석에서 액체-액체 분배법만으로는 기기분석을 위한 정제 정도가 미흡하여 추가 정제를 위한 흡착크로마토그래피법이 필요하다. 흡착제 선정을 위해서 분석하고자하는 sulfoxaflor의 극성이 높은 점을 감안하여 florisil과 silica gel 및 amioprophyl ( $NH_2$ ) cartridge를 비교 실험 한 결과 florisil과 silica cartridge 경우 sulfoxaflor가 흡착이 잘 이루어 지지 않아 모두 씻어내는 용매에서 검출 되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 추출 시 물질의 안정성을 위해 첨가한 1 N HCl에 의해 약산화된 sulfoxaflor가 극성도가 크지만 pH에 흡착성이 저조한 florisil과 silica에서는 흡착이 잘 일어나지 않는다는 것을 알 수 있었다. 따라서 극성은 비슷하지만 산성물질을 잘 흡착 할 수 있는 aminopropyl ( $NH_2$ ) cartridge의 경우 sulfoxaflor 표준품을 이용한 정제 회수율 실험 결과 95% 이상의 높은 회수율을 얻을 수 있어서 정제조건으로 선정하였다. 다음으로 sulfoxaflor의 흡착분배 조건 결정을 위해 여러 극성 단계별 실험 결과 hexane/acetone (95/5, v/v) 혼합액과 hexane/acetone (90/10, v/v) 혼합액으로 단계적으로 유출하여 버림으로 간섭물질을 제거하였으며 hexane/acetone (60/40, v/v) 혼합액을 이용하여 sulfoxaflor를 회수할 수 있었다. 추출 용매와 정제에 이용된 SPE-cartridge 비교 실험결과는 다음 Table 4에 나타냈다.

#### Sulfoxaflor의 시험법의 검증 및 정량 한계

Sulfoxaflor의 직선성을 확인하기 위하여 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 및 5.0  $\mu$ g/mL의 범위에서 분석한 결과 상관계수( $R^2$ )는 0.9997로써 높은 직선성과 재현성을 보여주었다. Sulfoxaflor의 검출한계는 20  $\mu$ L 주입하였을 때 매우 낮은 것을 감안하여 40  $\mu$ L 주입하는 조건으로 분석하였다. 이렇게 확립된 기기시험법을 이용하였을 때 최소 검출량은 4 ng ( $S/N=3$ )이었고, 이때의 검출한계는 0.01 mg/kg이었다. 본 시험법의 정량한계는 20 ng ( $S/N=10$ )으로 0.05 mg/kg이었다. 현재 식품공전 잔류농약 시험법은 해당농약 MRL의 1/2 이하의 농도이거나 0.05 mg/kg 이하의 정량한계를 요

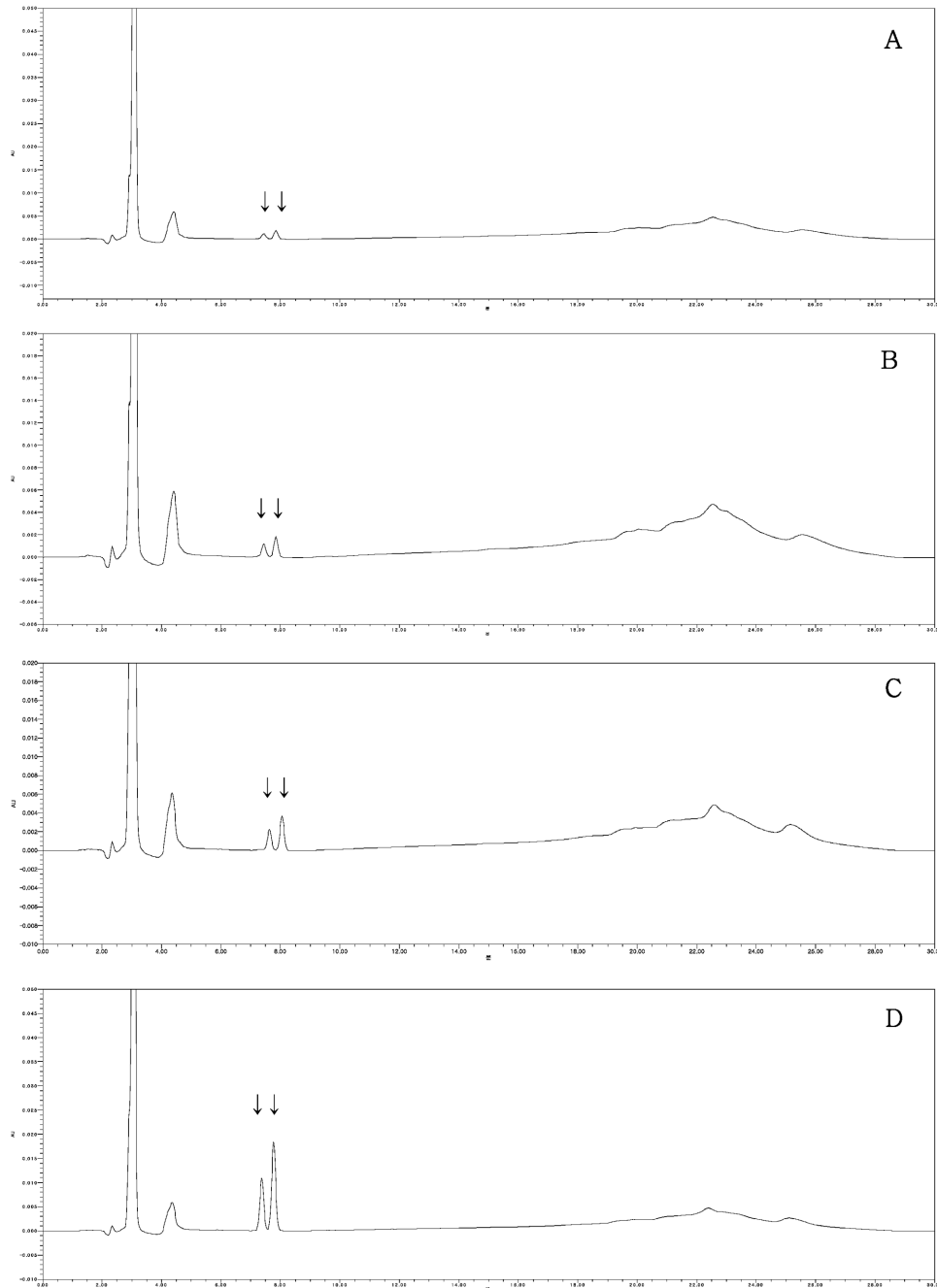


Fig. 4. HPLC-UV-D chromatograms of sulfoxaflo standard solution at A, 0.5 µg/mL; B, 1.0 µg/mL; C, 2.5 µg/mL; and D, 5.0 µg/mL.

구하고 있어 농산물에서 sulfoxaflo의 MRL값이 0.4, 0.5 mg/kg임을 감안할 때 본 시험법에 의해 분석된 정량한계인 0.05 mg/kg은 공전법에 의한 정량한계 조건을 충분히 만족하는 것을 확인할 수 있었다.

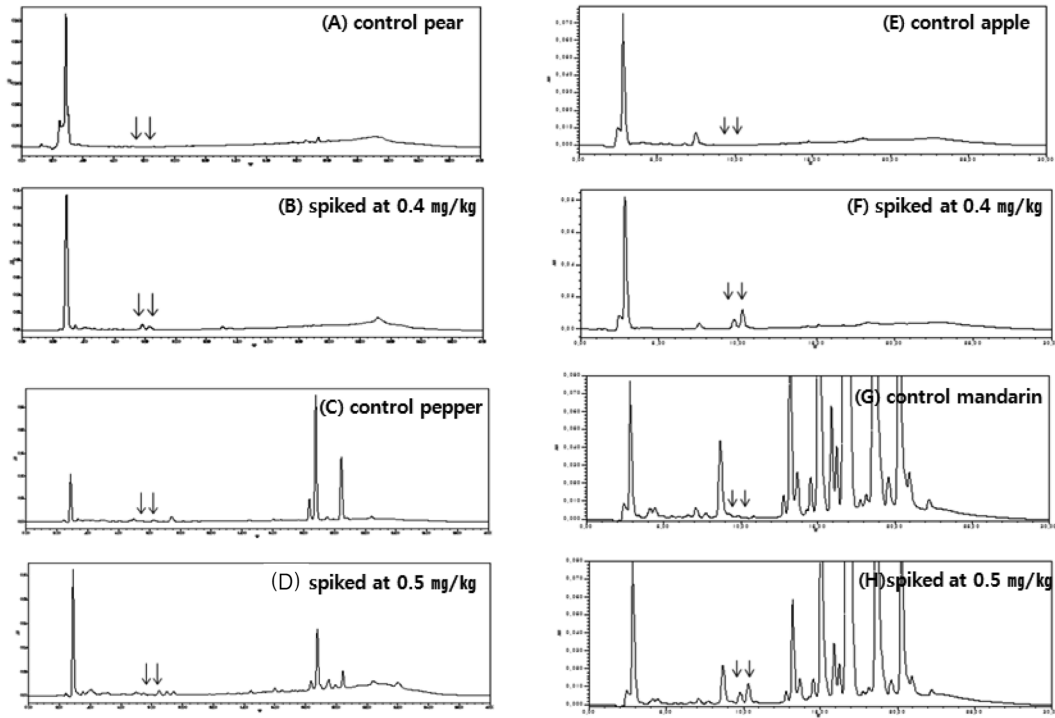
Sulfoxaflo의 선택성은 표준용액과 사과, 배, 고추, 현미, 대두, 감귤, 감자, 무치리 시료, 표준용액을 첨가한 각각의 시료의 크로마토그램을 서로 비교함으로써 평가하였다(Fig. 5).

#### Sulfoxaflo 시험법의 회수율

시험법의 정확성을 평가하기 위하여 처리농도 0.05, 0.4 및 0.5 mg/kg에서 회수율 시험 3반복을 수행한 결과를 Table 4에 나타내었다. 회수율을 비교해 보면 사과, 고추, 배의 경우 methanol

Table 4. Comparison of recovery percentages by SPE-cartridge and eluting solvents for sulfoxaflo (unit: %)

	Florisil cartridge	Silica cartridge	NH <sub>2</sub> cartridge
Hexane (washing solution)	85.4	91.2	0.0
Hexane/acetone (90/10, v/v) (washing solution)	11.2	6.4	1.02
Hexane/acetone (60/40, v/v) (Eluting solution)	0.0	0.0	98.4



**Fig. 5.** HPLC-UVD chromatograms of sulfoxaflor control pear (A), spiked at 0.4 mg/kg in pear (B), control pepper (C), spiked at 0.5 mg/kg in pepper (D), control apple (E), spiked 0.4 mg/kg in apple (F), control mandarin (G), spiked 0.5 mg/kg in mandarin (H).

추출물에서 모두 높은 재현성과 선택성 및 회수율 88.2-103.1%로 높은 회수율을 보여주었다. 다음 acetone으로 추출한 현미, 감자, 감귤, 대두의 경우는 methanol 추출 시에는 회수율도 낮고 간섭물질에 의한 영향이 커서 회수율을 구할 수 없었으나 acetone 추출의 경우 82.8-108.2%로 높은 회수율을 관찰 할 수 있었고 상대표준편차는 10% 이하로 조사되었다. 현미, 감자, 감귤, 사과, 배, 고추, 대두 모두 무처리 시료군에서 sulfoxaflor와 같은 머무름 시간을 갖는 어떤 방해물질도 검출되지 않아 본 시험법은

sulfoxaflor를 분석하기에 높은 분리능과 선택성을 가짐을 확인할 수 있었고 본 연구에서 적용한 추출 및 정제 방법이 농산물 중 잔류하는 sulfoxaflor를 분석하는데 적합함을 확인할 수 있었다.

**Sulfoxaflor의 재확인 및 시험법의 유효성 재검증**

본 연구에서 확립된 시험법을 이용하여 분석된 잔류분의 신뢰성을 확보하기 위해 재확인 과정을 수행하였다. 검체 중 sulfoxaflor를 확인하기 위하여 LC-MS를 사용하였고 0.1% formic acid in acetonitrile과 0.1% formic acid in water를 적절한 농도구배조건으로 하여 0.2 mL/min의 유속으로 하여 5 µL 주입하여 분석하였으며 분자량 범위는 50-400 m/z이었고 확인조건은 Table 3에 나타내었다.

Sulfoxaflor의 분자량이 277.3으로 확인 조건에서 얻은 total ion chromatogram (TIC) mass spectrum으로 selected-ion monitoring (SIM) 분석한 결과 sulfoxaflor의 분자에 포함된 sulfone체들은 electrospray ionization (ESI) 조건에서 용이하게 이온화 되고, positive-ion mode에서 쉽게 관찰되므로 감도에 문제가 없었다. 분자 구조로 살펴보면 sulfonyl group에 인접한 carbon에 결합된 hydrogen이 쉽게 해리되는 특성을 이용하여 ESI negative-ion법으로 분석이 가능하지만 약산성의 이동상을 사용하므로 이온화가 억압되어 적절하지 않고 감도가 좋지 않을 수 있다(11). 이러한 분자 구조적 특성으로 sulfonyl group과 chiral center가 연결된 ethylene기가 결합력이 약해 이 구조를 중심으로 이온화가 쉽게 이루어짐을 확인 할 수 있었고 결과적으로 174 m/z와 154 m/z를 최적 특성이온으로 선정하였으며 주요 특성이온의 m/z값은 Table 6에 나타내었다. Chiral 구조에 의한 입체이성질체를 가지고 있는 sulfoxaflor는 두 피크 머무름 시간이 각각 8.9와 9.1분대로 이성질체가 확실하게 분리된 피크를 얻을 수 있었다.

**Table 5.** Recovery results and Limit of quantification (LOQ) of sulfoxaflor from sample spiked with solution of sulfoxaflor (n=3)

Sample	Fortification (mg/kg)	Recovery ± RSD (%)	LOQ (mg/kg)
Apple	0.05	101.1±4.7	0.05
	0.4	93.2±5.1	
Pear	0.05	91.8±3.0	
	0.4	94.8±1.1	
Pepper	0.05	88.2±1.1	
	0.5	101.1±8.7	
Hulled rice	0.05	87.9±1.2	
	0.5	94.0±0.8	
Potato	0.05	97.2±2.4	
	0.5	99.4±1.5	
Mandarin	0.05	108.2±0.5	
	0.5	90.0±2.3	
Soybean	0.05	82.8±1.2	
	0.5	93.1±1.3	

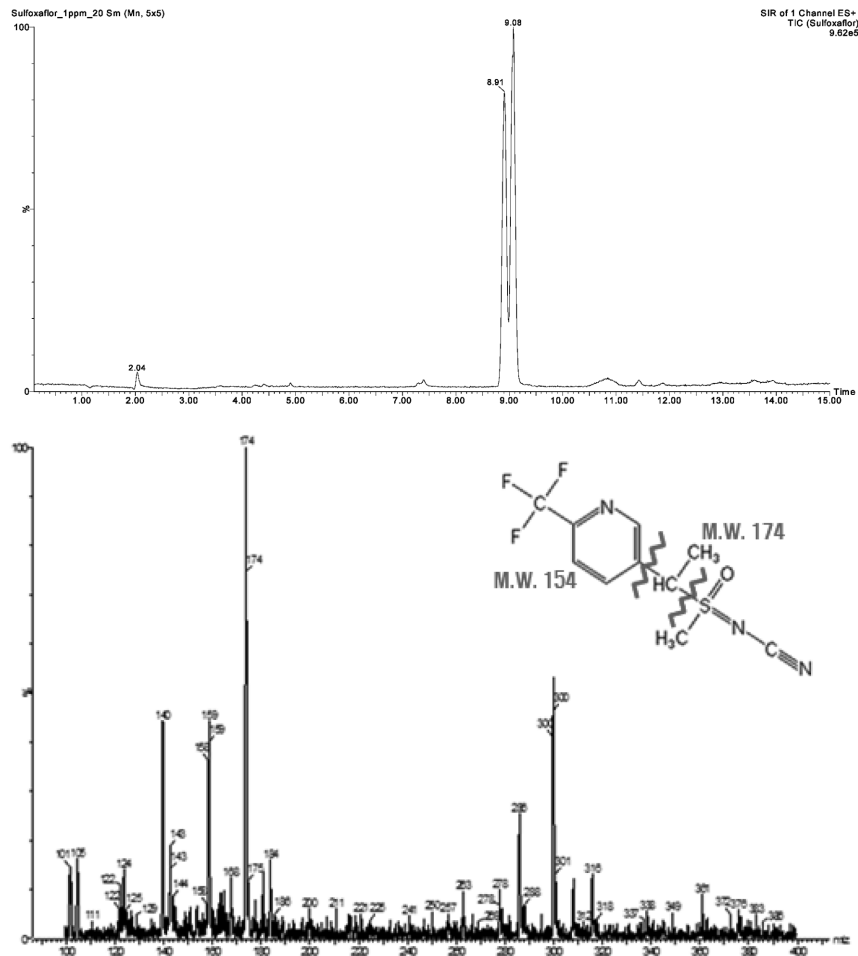


Fig. 6. Total ion chromatogram (A) and LC-MS spectrum (B) of sulfoxaflor.

Table 6. Selected-ion of LC-MS for sulfoxaflor

Retention time (min)	Molecular weight	Precursor ion (m/z)	Fragment ion (m/z)	Collision energy (V)
8.9, 9.1	277	300	174, 154	20

요 약

국내 신규 살충제로 등록되어진 sulfoxaflor에 대해 농산물 중 잔류실태를 조사하기 위하여 HPLC-UVD와 LC-MS를 이용한 시험법을 개발하였다. Sulfoxaflor 시험법의 회수율은 시료별 적당한 추출 및 정제 방법을 적용한 결과 현미, 감자, 감귤, 사과, 배, 고추, 대두에서 0.05, 0.4 및 0.5 mg/kg 수준에서 82.8-108.2%이었다. 회수율에 대한 모든 분석오차는 10% 미만으로 CODEX 잔류물질 분석 가이드라인에 만족하였다. 분석을 위한 기기 조건에서 sulfoxaflor의 정량한계는 0.05 mg/kg이었으며 0.1-5.0 mg/kg 범위에서 상관계수(R<sup>2</sup>) 0.999 이상의 높은 직선성을 보여주었다. 따라서 본 연구에서 개발된 잔류농약 시험법은 농산물을 대상으로 효과적인 시료 전처리 방법과 최적의 정제 과정을 확립하여 다양한 농산물에 대한 잔류량 검출이 적당함을 확인할 수 있었다. 이와 같이 확립한 sulfoxaflor의 잔류시험법은 국제적 분석 기준을 만족할 뿐만 아니라 LC-MS를 이용한 잔류분석의 재확인한 결과를 살펴볼 때 분석과정의 신뢰성 또한 확보할 수 있어 식품공전 공정시험법으로 사용될 것이다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 식품의약품안전청의 연구개발비(12161식품안016)로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Food and Drug Administration. Pesticide, Residue Monitoring. Available from: <http://www.fda.gov/Food/Foodsafety/FoodcontaminantsAdulteration/Pesticides/ResidueMonitoringreports/>. Accessed Nov. 7, 2012.
2. European Commission. Monitoring of pesticide Residues in Products of plant origin in the European Union, Norway and Iceland and Liechtenstein 2002 Report. Available from: [http://ec.europa.eu/food/fs/inspections/finaoi/reports/annual\\_eu/index\\_en.html/](http://ec.europa.eu/food/fs/inspections/finaoi/reports/annual_eu/index_en.html/). Accessed Dec. 7, 2012.
3. Kim HY, Choi SH, Chung SO. Development of analytical methods of spinosad in agricultural commodities by HPLC with UV detector and monitoring. Korean J. Food Sci Technol. 43: 125-133 (2011)
4. Do JA, Oh JH. Research on the Pesticide Residue Monitoring in agricultural products. Annual Report of KFDA, Cheongwon, Korea. pp. 558-590 (2010)
5. Snodgrass GL, Gore J, Abel CA, Jackson R. Acephate resistance in populations of the tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) from the Mississippi river delta. J. Econ. Entomol. 102: 699-707 (2009)
6. Watson GB, Loso MR, Babcock JM, Hasler JM, Letherer TD,

- Young CD, Y. Zhu, JE, TC. Casida, Sparks. Novel nicotinic action of the sulfoximine insecticide sulfoxaflor. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 41: 432-439 (2011)
7. Babcock JM, Gerwick CB, Huang JX, Loso MR, Nakamura G, Nolting SP, Rogers RB, Sparks TC, Thomas J, Watson GB, Zhu Y. Biological characterization of sulfoxaflor, a novel insecticide. *Pest. Manag. Sci.* 67: 329-334 (2003)
8. Zhu Y, Loso MR, Watson GB, Sparks TC, Rogers RB, Huang JX, Gerwick BC, Babcock JM, Kelley D, Hegde VB, Nugent BM, Renga JM, Denholm I, Gorman K, DeBoer GJ, Hasler J, Meade T, Thomas JD. Discovery and characterization of sulfoxaflor, a novel insecticide Targeting sap-feeding pests. *J. Agr. Food Chem.* 59: 2950-2957 (2010)
9. Food and Agricultural Organization/World Health Organization. Available from: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/PestsPesticides/JMPR/Report11/sulfoxaflor.pdf/>. Accessed Nov. 30, 2012.
10. AOAC. Official Method of the Analysis of AOAC Intl. 17<sup>th</sup> ed. Method 29.011. Pesticide and industrial chemical residues, Arlington, VA, USA (2000)
11. Lee YD. Practical book of Korea Food Code pesticide residue analysis method. 3<sup>rd</sup> ed. KFDA, Cheongwon, Korea. pp. 11-14 (2012)
12. U.S. Food & Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Plant. Pesticide Analytical Manual-multiresidue methods. 3<sup>rd</sup> ed., Vol. I. R.O.W. Sciences Inc. USA p. 103 (1997)