

## LC-MS/MS를 이용한 농산물 중 파목사돈 분석

강서지소

박소현 · 황래홍 · 김정곤 · 김지영 · 이용철  
박선희 · 박정현 · 박성규 · 김무상 · 정 권

### **Analysis of Famoxadone in Agricultural Products Using LC-MS/MS**

*Inspection Branch of Gangseo*

**So-hyun Park, Lae-hong Hwang, Jeong-gon Kim,  
Ji-young Kim, Yong-cheol Lee, Sun-hee Park, Jung-hyun Park,  
Sung-kyu Park, Moo-sang Kim and Kweon Jung**

#### **Abstract**

In this study, a multi-class pesticide multi-residue method combined with LC-MS/MS was developed to analyze famoxadone in agricultural products. The concentration linearity ranged from 0.001 to 0.1 mg/kg ( $R^2 > 0.999$ ). The detection and quantitation limits were 0.001 mg/kg and 0.003 mg/kg, respectively. Recoveries from five agricultural commodities at the spiked levels of 1.0 mg/kg and 0.1 mg/kg were 85.00~102.00% and 80.33~106.33%, respectively. The relative standard deviations at two recovery test levels were both less than 10%. The method used in this study was more precise than the individual pesticide analysis method used by the Korean Food Standards Codex. These results suggest that the multi-class pesticide multi-residue method combined with LC-MS/MS can be used to determine the presence of famoxadone in agricultural products.

**Key words** : Famoxadone, LC-MS/MS, multi-class pesticide multi-residue method, agricultural products

## 서 론

농약은 농작물의 보호와 성장촉진 등에 사용되는 화학적 및 생물학적 약제를 의미한다. 농약은 농업의 효율성 증진 및 재배의 편의성을 위해 중요하게 사용되거나 농작물에 살포 후 토양 및 재배 환경에 잔존하는 잔류농약이 농산물의 섭취 단계에서 인체에 흡수, 축적되어 인체에 유해를 끼칠 우려가 있어 이들 농약에 대한 철저한 사후관리와 감시체계가 반드시 필요하다(1~3).

파목사돈은 1990년대 미국 Dupont사가 개발한 옥사졸린디온계 살균제로서 미생물 *Strobilurus tenacellus*로부터 추출된 천연항균물질 *strobilurin*의 유도체로 화학적 구조는 그림 1과 같다(4, 5). 병원균의 미토콘드리아에 작용하여 호흡을 저해하는 기전으로 작용한다. 기존 살균제에 저항성인 병원균에 탁월한 약효를 나타내는 장점이 있어 최근에 사용량이 급증하고 있으며 곡류, 채소 및 과실에 광범위하게 사용되고 있다(6, 7).

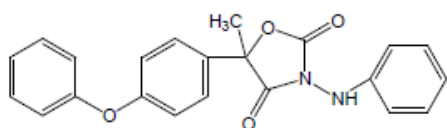


Fig. 1. Chemical structure of famoxadone.

파목사돈은 국제잔류농약전문위원회(JMPR)에서 일일섭취허용량(acceptable daily intake, ADI)을 0.006 mg/kg b.w./day로 정하고 있으며 국내 식품 중 농약의 잔류농약허용기준은 감자 등 17가지 품목에 대하여 0.05~5.0 mg/kg 수준으로 관리하고 있다(7).

최근 몇 년간 강서지역 유통 농산물에 대한 잔류농약 검사 시 GC-MSD의 라이브러리를 통한 파목사돈 검출 이력을 확인할 수 있었다. 농산물의 잔류농약 검사는 식품공전의 고시에 의해 단성분 분석법 및 다중농약다성분 분석법으로 나뉘어져 있다(8, 9). 파목사돈은 현재 식품공전 중 단성분 분석법의 분석 대상 농약이며 다중농약다성분 분석법에는 포함되어 있지 않다. 단성분 분석법의 경우 시료의 추출 및 정제 단계를 따로 거쳐야 하므로 많은 시간과 인력이 소모되며 유기용매 소요

량도 많아 신속하고 정밀한 분석이 어려운 실정이다(9, 10).

따라서 본 연구에서는 다중농약다성분 분석법 중 LC-MS/MS를 이용하여 파목사돈의 정량 및 정성 가능성을 검토하고 분석법을 연구하여 안전한 농산물 확보에 기여하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험 재료

시험에 사용한 상추 및 엇갈이배추는 강서농산물도매시장에서 출하된 농산물을 수거하였고 예비시험 결과 파목사돈이 잔류하지 않은 것으로 확인된 시료를 시험에 사용하였으며 감귤, 포도와 감자는 시중 마트에서 판매하는 무농약 시료를 구매하여 예비시험을 통해 파목사돈이 검출되지 않은 것으로 확인 후 시험에 사용하였다.

### 2. 시약 및 기구

파목사돈 표준품은 Kemidas(1,000 ug/kg in acetonitrile, Korea) 제품을 구입하여 사용하였다. 시험에 사용한 용매인 acetonitrile은 J.T. Baker(USA)사의 HPLC grade 제품을 사용하였으며, methanol과 dichloromethane은 KANTO CHEMICAL(Japan)사의 잔류농약용을 사용하였다. sodium chloride와 formic acid는 JUNSEI(Japan)사의 시약특급을 사용하였으며, ammonium formate(97%)는 sigma aldrich(USA)사 제품을 구입하여 사용하였다.

전처리에 사용된 NH<sub>2</sub> SPE(solid-phase extraction) cartridge(1,000 mg/6 mL)는 phenomenex(USA)사 제품을 사용하였으며, 시료의 분쇄 및 균질화에는 robot coupe(USA)와 omni macro homogenizer(USA)를 사용하였다. 추출시료의 농축 건조에는 선일아이라(Korea)의 EYELA MG-2200 제품을 사용하였다. 시험에 사용된 초자기구, 마이크로 피펫 및 전자저울은 모두 교정받은 제품을 사용하였으며, 분석에 사용된 LC-MS/MS는 agilent(USA)사의 6495 Triple Quad LC/MS 제품을 사용하였다.

### 3. 표준용액 조제

파목사돈 표준품은 아세토니트릴을 사용하여 100 mg/kg의 농도로 제조하여 표준원액으로 사용하였다. 표준원액은 -20°C 이하에서 냉동 보관하고 사용시 아세토니트릴로 단계적으로 희석하여 표준용액으로 사용하였다.

### 4. 시료 추출 및 전처리

파목사돈 분석을 위한 시료의 전처리 방법은 식품공전의 식품 중 잔류농약 분석법의 다중농약다성분 분석법 제2법에 따라 전처리하여 LC-MS/MS를 이용하여 분석하였다(그림 2).

### 5. 기기분석 조건

본 시험에 사용된 기기분석 조건은 표 1과 같으

며, 정성 및 정량분석을 동시에 진행하기 위해 질량분석기를 통과한 모분자 이온(precursor ion)으로부터 생성되는 자분자 이온(product ion) 2개를 선정하였다. 이들 이온 중 강도가 높은 이온을 정량분석 이온으로 설정하고, 다음 이온을 정성분석 이온으로 설정하여 MRM(multiple reaction monitor)을 통한 positive mode로 분석을 실시하였다(표 2).

### 6. 검출한계 및 정량한계

검출한계와 정량한계는 파목사돈 표준용액을 0.001~0.1 mg/kg으로 단계적으로 희석하여 조제한 후 3회 이상 반복 주입하여 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantitation, LOQ)를 측정하였다. 계산 방법은 y절편의

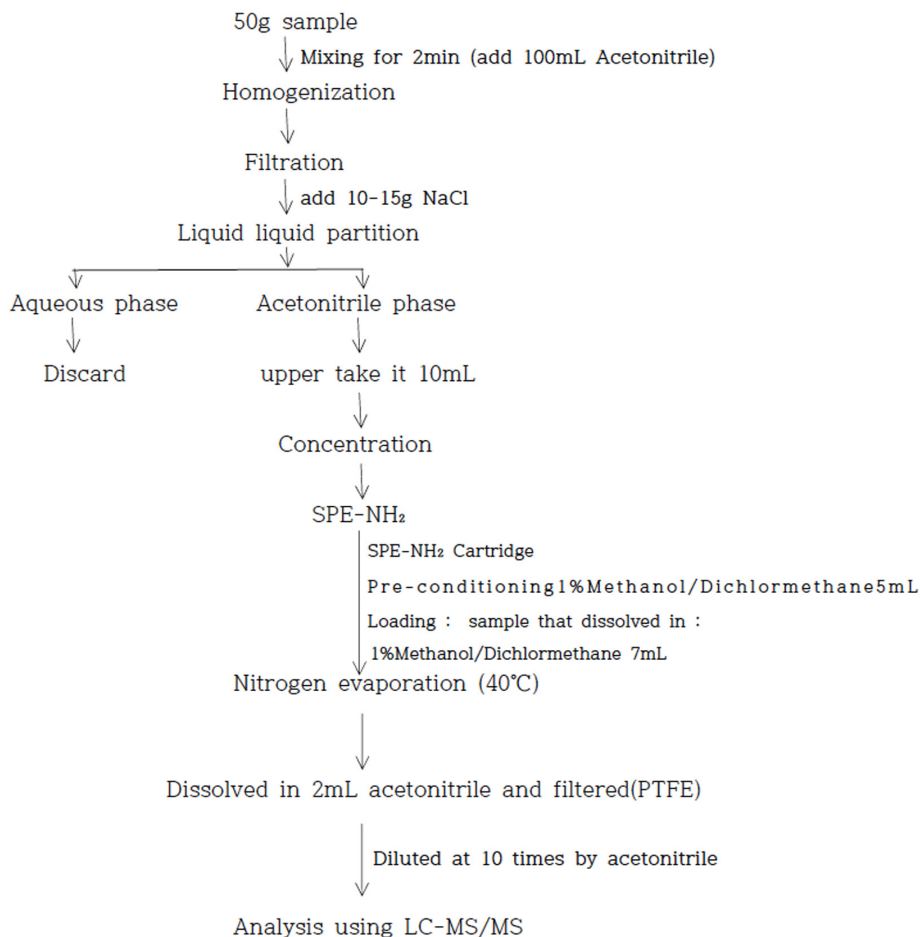


Fig. 2. Schematic diagram of sample preparation for famoxadone analysis.

표준편차(standard deviation, SD)를 검량선의 기울기로 나눈 값으로 구하였고, 그 식은 아래와 같다.

$$\text{검출한계} = 3.3 \times (\sigma/S)$$

$$\text{정량한계} = 10 \times \sigma/S$$

S : 검량선의 기울기  $\sigma$  : 반응의 표준편차

**Table 1. Analytical conditions of LC-MS/MS**

Instrument	Agilent Technologies 6495 Triple Quad LC/MS		
Ionization mode	Electrospray ionization(AJS ESI, positive)		
Capillary voltage	3500 v		
Drying gas flow	11 L/min		
Drying gas temp.	200°C		
Nebulizer gas	45 psi		
Sheath gas flow	11 L/min		
Sheath gas temp.	300°C		
Scan type	MRM(multiple reaction monitoring)		
Column	Eclipse plus-C18(2.1 × 100 mm, 1.8 $\mu$ m)		
Column oven	35°C		
Injection vol.	5 $\mu$ L		
Flow rate	0.3 mL/min		
Mobile phase	A : 0.1% formic acid, 5 mM ammonium formate in water		
	B : 0.1% formic acid, 5 mM ammonium formate in methanol		
Gradient program	Time(min)	A(%)	B(%)
	0.0	40	60
	1.0	40	60
	5.0	5	95
	7.0	5	95
	7.1	40	60
	13.0	40	60

**Table 2. Analytical conditions of the multiple reaction monitor(MRM) transitions**

Compound name	RT <sup>1)</sup> (min)	Precursor ion(m/z)	Product ion(m/z)	Fragmentor(V)	CE <sup>2)</sup> (V)	CA <sup>3)</sup> (V)	Polarity
Famoxadone	4.8	331.01	238.2	380	16	3	Positive
Famoxadone	4.8	331.01	194.9	380	14	3	Positive

RT<sup>1)</sup> = Retention time

CE<sup>2)</sup> = Collision energy

CA<sup>3)</sup> = Cell Accelerator

## 결과 및 고찰

### 1. 분석법의 검출한계 및 정량한계

본 시험에서 수행한 파목사돈 분석방법의 검출한계 및 정량한계는 각각 0.001 mg/kg, 0.003 mg/kg으로 조사되어 검출감도가 우수한 것으로 나타났는데(표 3, 그림 3). 이 결과는 국내의 식품 중 잔류농약 분석법 검출한계로 규정하고 있는 0.05 mg/kg 이하를 만족시키면서 동시에 잔류허용기준의 1/2~1/10까지 검출하도록 하는 규정을 충족시키는 결과였다(9, 11). 정량한계의 경우 국내의 규정은 없으나 김 등(1)에 의하면 0.004 mg/kg의 정량한계가 유럽연합에서 규정하고 있는 국제기준을 만족하는 수준이라고 하여 본 시험에

서 조사된 검출한계와 정량한계가 모두 만족스러운 것으로 조사되었다.

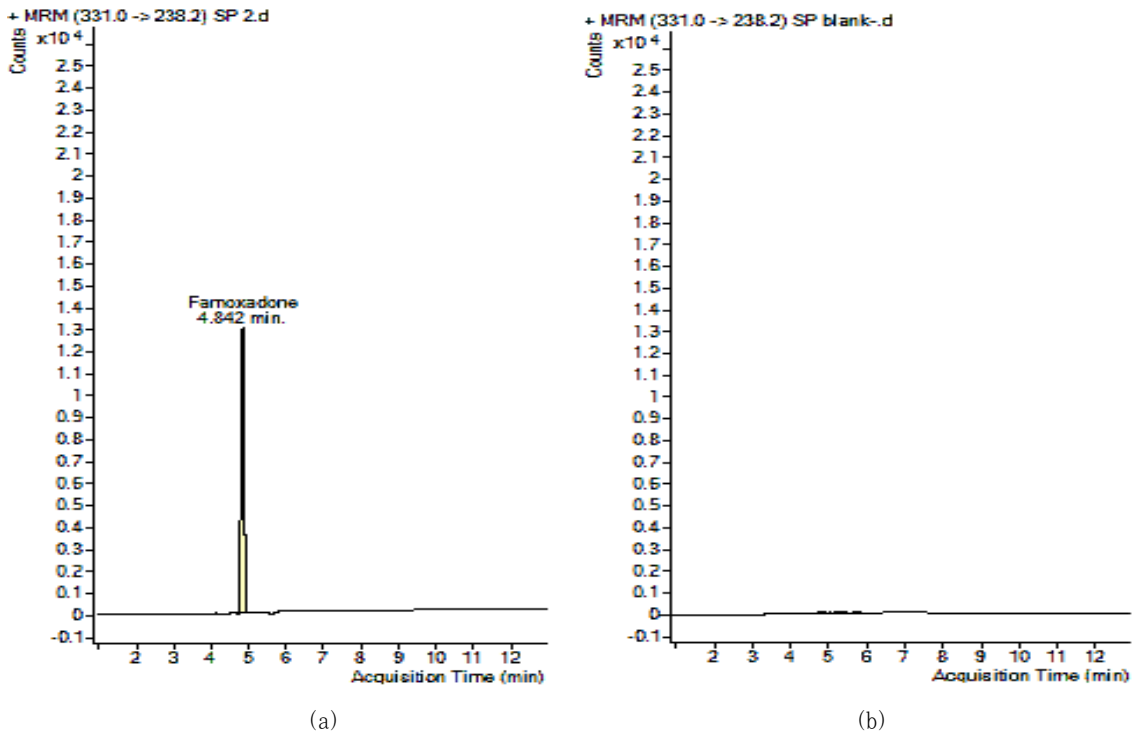
### 2. 직선성 및 회수율

본 시험에서는 파목사돈 표준용액을 0.001, 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1 mg/kg의 농도로 희석하여 보정선의 직선성을 확인한 결과 상관계수가 0.9995로 양호한 직선성을 나타내는 것으로 조사되었다(그림 4).

파목사돈의 정량분석에는 상추 등 5종의 시료에 파목사돈 표준용액을 1.0 mg/kg, 0.1 mg/kg 2가지 농도로 첨가 후 회수율을 측정하였다(표 4). 그 결과 상추의 회수율이 102.00~106.33% 로 가장 높게 나타났고 감귤이 80.33~85.00%로 가장 낮

**Table 3.** Calibration curve equation, correlation( $R^2$ ), LOD, and LOQ of LC-MS/MS

Calibration curve equation	Coefficient( $R^2$ )	LOD(mg/kg)	LOQ(mg/kg)
$y = 21156.883342x - 30491.685802$	0.999	0.001	0.003



**Fig. 3.** MRM extract ion chromatogram for famoxadone in lettuce.  
(a) : spiked at 0.003 mg/kg (b) : blank

았다. 감귤, 포도에서 상대적으로 낮은 회수율이 측정된 것은 향과 색등이 강해 실험시 matrix의 영향을 많이 받기 때문인 것으로 보여진다. 현재 국내에서 분석법 검증을 위한 회수율 및 상대표준편차 허용범위는 0.1 mg/kg 농도범위에서 회수율 70~120%, 20% 이하이고, 1.0 mg/kg 농도범위에서는 70~110%와 15% 이하로 5종의 시료 모두에서 회수율 및 분석오차를 만족시키는 결과를 나타내었다(11).

### 3. 다중농약다성분 분석법과 단성분 분석법 비교

본 연구에서는 기존 식품공전 단성분 시험법과의 비교를 위해 엇갈이배추를 대상으로 파목사돈 1.0 mg/kg을 첨가하여 회수율 및 정량한계 등을 비교하여 보았다(표 5). 회수율의 경우 LC-MS/MS를 이용한 다중농약다성분 분석법은 94.25%, GC-NPD를 이용한 단성분 분석법은 80.33%로 다중농약다성분 분석법의 회수율이 높았다. 이는 단성분 분석법의 경우 추출액 분배와 농축, 정제

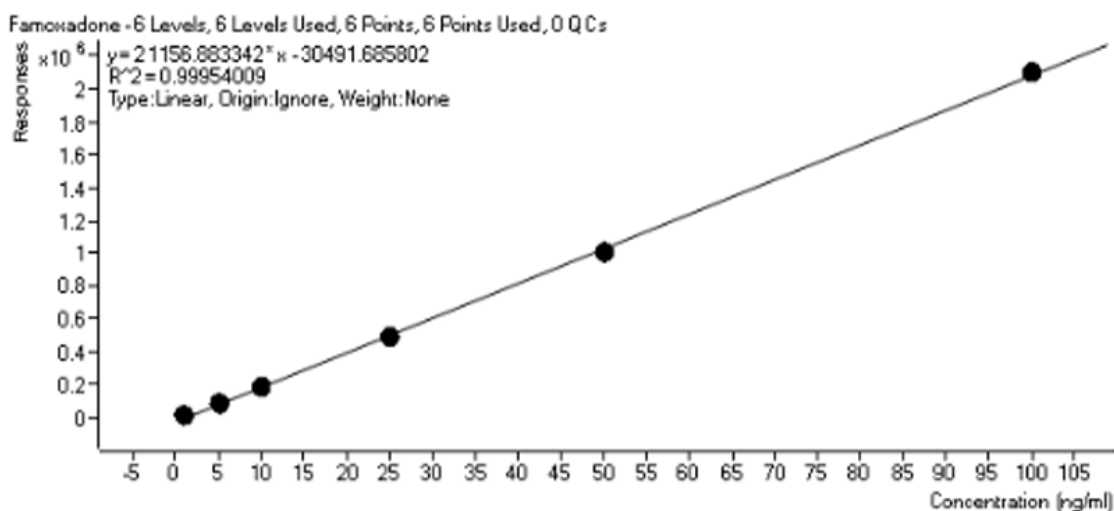


Fig. 4. Calibration curve for famoxadone.

Table 4. Recovery rates of famoxadone in agricultural products by multi-class pesticide multi-residue method

Agricultural product	Spiked amount(mg/kg)	Recovery(%) ± RSD(%) (n=3)
Lettuce	0.1	106.33 ± 2.71
	1.0	102.00 ± 2.59
Ssam cabbage	0.1	97.33 ± 2.97
	1.0	94.25 ± 8.68
Potato	0.1	90.00 ± 0.91
	1.0	96.67 ± 3.98
Mandarin	0.1	80.33 ± 0.72
	1.0	85.00 ± 8.24
Grape	0.1	87.00 ± 3.04
	1.0	91.33 ± 9.87

**Table 5.** Recoveries of famoxadone by multi-class pesticide multi-residue and individual pesticide analysis

Analysis method	Spiked amount(mg/kg)	Recovery(%)	±SD	RSD(%)	LOQ(mg/kg)	Instrument
Multi-class pesticide multi-residue(II)	1.0	94.25	8.18	8.68	0.003	LC-MS/MS
Individual pesticide analysis	1.0	80.33	7.97	9.93	0.05	GC-NPD

등의 과정이 다중농약다성분 분석법에 비해 복잡하기 때문인 것으로 판단된다. 국내 잔류농약 분석법 검증에 위한 회수율 및 상대표준편차 허용범위는 1.0 mg/kg 농도 범위에서는 70~110%와 15% 이하로 두 분석법 모두 허용기준에 만족하였고 분석오차는 모두 10% 미만을 나타내었다(11).

GC-NPD를 이용한 단성분 분석법의 정량한계는 0.05 mg/kg으로 이는 분석법의 감도가 그다지 뛰어나지 않으나 잔류허용기준을 판정하거나 분석법기준 0.05 mg/kg까지는 분석되는 것으로 알려진 식품공전 실무해설서의 결과와 유사한 것으로 조사되었다(6). LC-MS/MS를 이용한 다중농약다성분 분석법의 정량한계는 0.003 mg/kg으로 김등(1)의 연구결과 0.004 mg/kg과 유사한 결과를 나타냈으며 단성분 분석법의 정량한계보다 우수한 것으로 보여졌다(표 5). 과목사돈을 GC-NPD를 이용한 분석시 휘발성이 비교적 낮고 분자내 -NH기를 함유하고 있어서 충분히 컨디셔닝된 컬럼을 사용하지 않을 경우 backward tailing이 발생하고 decomposition이 나타나는 단점이 있는 것으로 알려져 있다(12). 본 연구에서는 과목사돈 분석장비로 감도가 높은 LC-MS/MS를 사용하여 정량함으로서 기존의 시험법에 비해 적절한 회수율과 보정선, 우수한 검출 감도로 분석이 가능하여 과목사돈 분석에 적합한 시험법으로 판단된다.

## 요 약

본 연구는 LC-MS/MS를 이용하여 과목사돈 분석법을 연구하였다. 다중농약다성분 분석법 제2법을 이용하여 전처리를 수행하였으며 검출한계와

정량한계는 각각 0.001 mg/kg과 0.003 mg/kg 이었다. 상관계수값( $R^2$ )은 0.999 이상으로 직선성은 양호하였다. 5종의 농산물에 각각 1.0 mg/kg 및 0.1 mg/kg 농도의 과목사돈을 첨가하여 분석시 회수율은 상추가 102.00% 및 106.33%, 엇갈이배추가 94.25% 및 97.33, 감자가 96.67% 및 90.00%, 감귤이 85.00% 및 80.33%, 포도가 91.33% 및 87.00%로 조사되었다. 다중농약다성분 분석법과 단성분 분석법을 비교한 결과 회수율은 94.25% 및 80.33%로 조사되었다. 다중농약다성분 분석법으로 LC-MS/MS를 이용하여 분석시 과목사돈의 검출한계, 정량한계, 회수율 등의 결과를 고려할 때 다중농약다성분 분석법을 이용한 과목사돈 분석법 적용이 가능하였다.

## 참고문헌

1. 김종율, 정유민, 오한솔, 강성태 : LC-MS/MS를 이용한 수도권에 유통되는 친환경 농산물의 잔류농약 모니터링 및 안전성 평가. 한국식품과학회지, 47(3):306~320, 2015.
2. 김종환, 김영진, 권영상, 서중수 : LC-MS/MS와 GC-MS/MS를 이용한 사과와 쌀 시료에서 320종 농약의 다성분 분석. 농약과학회지, 20(2):104~127, 2016.
3. 황래홍, 이성득, 김정근, 김지영, 박소현, 김지혜, 박정현, 한창호, 김무상 : LC-MS/MS를 이용한 농산물 중 카벤다짐 분석. 한국식품위생안전성학회지, 32(2):141~146, 2017.
4. Jeffrey, AS, Detlef, G, John, B, AJ, Reiner, P, Charlene, GS, Carlton, LC

- and William, KM : Famoxadone : the discovery and optimisation of a new agricultural fungicide. Pest Manag Sci., 57:143~152, 2001.
5. Congyun, L, Dongmei, Q, Yuzhen, Z, Cnnping, P, Shuren, J and Fengmao, L : Famoxadone residue and dissipation in watermelon and soil. Ecotoxicology and Environmental Safety., 73:183~188, 2010.
  6. 식품의약품안전처 : 식품공전 잔류농약분석법 실무해설서, 4:575~578, 2013.
  7. 식품의약품안전처 : 식품의 농약 잔류농약허용기준(Pesticide MRLs in food), p.130~131, 2017.
  8. 식품의약품 안전처 : 식품공전시험법 I. p.257~265, 533~534.
  9. 국제식품규격위원회, <http://www.codexalimentarius.org>
  10. 도정아, 이희정, 신용운, 최원조, 채갑용, 강찬순, 김우성 : 국내 유통 농산물 중 잔류농약 모니터링. 한국식품영양과학회지, 39(2):902~908, 2010.
  11. Rural Development Administration Bulletin of pesticide Resistration Investigator (guidance of pesticide residue test) : Notice of Rural Development Administration No. 2009-1. Suwon, Korea, 2009.
  12. EURL datapool, <http://eurl-pesticides-datapool.eu>