pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 35, No. 4, pp. 312~318 (2020)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2020.35.4.312

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

LC-MS/MS를 이용한 농산물중 Neonicotinoid 계 농약분석

황래홍* · 양혜란 · 이재규 · 김창규 · 김민정
서울특별시 보건환경연구원

Determination of Neonicotinoid Pesticides in Commercial Agricultural Products by LC-MS/MS

Lae-hong Hwang*, Hye-ran Yang, Jae-kyoo Lee, Chang-kyu Kim, Min-jung Kim
Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Gwacheon, Korea

(Received May 19, 2020/Revised June 17, 2020/Accepted June 18, 2020)

ABSTRACT - A method using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was developed for neonicotinoid pesticide analysis in agricultural products. Four compounds (imidacloprid, clothianidin, acetamiprid, thiacloprid) were extracted with acetonitrile from agricultural products and cleaned up by NH_2 solid-phase extraction procedure, and eluted with 0.1% formic acid in methanol/dichloromethane (5/95, v/v). The limit of detection and quantification were 0.0001-0.0005 mg/kg and 0.001 mg/kg, respectively. The mean recoveries of neonicotinoid pesticide from agricultural products were in the range of 90.7-100.9% and 94.4-99.8%, as spiked at 0.2 mg/kg and 0.02 mg/kg, respectively. This validation satisfied the national criteria for pesticide analytical methods. In summary, The present method is fast, precise and sensitive enough for the Positive List System (PLS), and we conclude that the method is also suitable for neonicotinoid pesticide determination in a wide range of agricultural products.

Key words : Neonicotinoid Pesticide, LC-MS/MS, Agricultural product

농산물의 생산증대를 위해서는 농약의 사용이 필연적이라 할 수 있겠으며 동시에 잔류농약으로 인한 안전성 우려도 높아지게 된다.

현재까지 세계적으로 다양한 종류의 농약이 개발되고 판매되고 있는데 그 중 해충방제에 활용되고 있는 네오니코티노이드(neonicotinoid)계 살충제는 니코틴과 유사한 신경활성 살충제의 부류로서 1991년 Bayer사에 의해 최초로 계발된 이후 현재까지 그 사용량이 급속히 확산되어 가고 있는 침투이행성 살충제이다[1,2]. 네오니코티노이드 계 살충제는 곤충의 중추신경계에 nicotinic acetylcholine receptor (nAChR)에 대한 선택적 길항제로 작용하여 신경전달을 저해함으로서 해충을 치사시키는 농약으로 농산물에 잔류가능성이 높은 것으로 알려져 있으며[3-9] 저독성 농약이기 때문에 90년대 이후 전 세계적으로 널리 사용되고 있으나 꿀벌 생태계에 영향을 미친다는 의혹이 계속되고 있는 실정이다[10]. 2006년 미국에서 30-90% 꿀벌이 의문의 집단 떼죽음을 당하면서 그 위험성이 부각 되었는데 네오니코티노이계 농약이 벌들의 집단폐사, 꿀벌들의 방향 능력 상실에 영향을 끼쳐 벌 개체 수 감소를 유발한다는 연구가 잇달아 발표되면서 전 세계적으로 네오니코티노이드 함유 살충제에 대한 우려의 목소리가 높아졌다[11]. 우리나라에서도 네오니코티노이드 살충제는 벼와 과수농사 등에 광범위하게 사용되고 있어[10] 이들 농약의 잔류로 인한 농산물의 안전성에 대한 우려가 높아지고 있는 실정이다.

농약잔류로 인한 농산물의 안전성을 확보를 위해서는 다양한 농약을 신속히 모니터 할수 있는 정밀하고 간편한 시험방법, 특히 최근 시행되고 있는 농약 허용물질목록 관리제도(Positive List System (PLS))에 따른 최소검출한계 0.01 mg/kg을 만족시킬수 있는 시험방법이 요구되고 있다. 과거에는 주로 액액 추출 등 기계적 추출법을 이용하여 전처리에 많은 시간과 노력이 요구되었으나 현재는 SPE

*Correspondence to: Lae-hwong Hwang, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, 30, Janggunmaeul 3-gil, Gwacheon-si, Gyeong gi, Gyeonggi 13818, Korea
Tel: +82-2-2640-6600, Fax: +82-2-2640-6604
E-mail: chadoli64@seoul.go.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

cartridge 등을 이용한 고상추출법을 주로 사용하여 신속하고 편리한 전처리가 가능하게 되었고 분석장비에서도 단순히 정량만 가능한 Gas chromatography (GC) 또는 liquid chromatrography (LC)에서 μg/kg 단위까지 정밀한 정성 및 정량이 가능한 Gas chromatography-mass spectromety (GC-MS/MS) 또는 LC-MS/MS 등에 의한 분석이 가능하게 되고있다[12,15]. 이에 본 연구에서는 최근 많이 활용되고 있는 LC-MS/MS를 이용하여 농산물중 잔류하는 네오니코티노이드계 농약을 분석하는 방법을 제시하여 안전먹거리 확보를 위한 기초자료로 활용코자 한다.

Materials and Methods

시험재료

시험에 사용한 농산물(호박, 파프리카, 엇갈이배추)은 대형 유통점(강서농수산물도매시장내 수협마트)에서 구매 후 예비시험을 거쳐 네오니코티노이드계 농약이 잔류하지 않은 것으로 확인된 시료를 시험에 사용하였다.

시약 및 장비

네오니코티노이드계 농약 분석에 사용되는 표준품(imidacloprid (99.5%), clothianidin (100.1%), acetamiprid (99.1%), thiacloprid (99.1%))은 methanol을 이용하여 100 mg/kg의 농도로 제조한 표준원액을 보성과학(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

표준원액은 -20°C 이하에서 냉동 보관하고 사용 시 0.1% formic acid 와 5 mM ammonium formate in methanol/water (5/5, v/v) 으로 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 분석에 사용되는 acetonitrile은 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)사의 HPLC grade 제품을 사용 하였으며, methanol 과 dichloromethane은 KANTO CHEMICAL (Tokyo, Japan)에서 구입한 잔류농약용을 사용하였다. sodium chloride 와 formic acid 는 JUNSEI (Tokyo, Japan)사의 시약특급을 사용하였으며, ammonium formate (97%) 는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사 제품을 구입하여 사용하였다.

전처리에 사용된 NH_2 SPE(solid-phase extraction) cartridge (1000 mg/6 mL)는 Phenomenex (Torrance, CA, USA)사의 제품을 사용하였으며, 시료의 분쇄와 균질화를 위해 Robot coupe와 Omni macro homogenizer (Omni, Kennesaw, GA, USA)를 사용하였다. 추출시료의 원심분리에는 Thermo Scientific (Am-Kalkberg, Germany)사의 ST16 centrifuge 를 사용하였다. 시험에 사용된 초자기구, 마이크로 피펫 및 전자저울은 모두 교정 받은 제품을 사용 하였으며, 분석에 사용된 LC-MS/MS는 Agilent (Banden-Wrttemberg, Germany)사의 6495 Triple Quad LC-MS/MS 제품을 사용하였다.

분석방법

네오니코티노이드계 농약은 acetonitrile 로 추출 후 NH_2 SPE cartridge를 이용하여 정제(clean-up) 하였으며, 용출용액으로는 0.1% formic acid를 함유한 메탄올/디클로로메탄 혼합액(5/95, v/v)을 사용하여 Fig. 1과 같이 분석하였다. 분석에 사용된 LC-MS/MS의 기기조건은 Table 1과 같다.

분석시 정성 및 정량분석을 동시에 진행하기 위해 질량분석기를 통과한 precursor ion으로 부터 생성되는 product ion 2개를 선정 하였으며, 이들 이온 중 강도가 높은 이온을 정량분석 이온으로 설정하고, 다른 이온을 정성분석 이온으로 설정하여 multiple reaction monitoring (MRM)을 통한 positive mode로 분석을 실시하였다(Table 2).

시험법 검증

본 연구에서는 시험방법 검증을 위해 호박 등 농산물 3종의 시료에 4종의 네오니코티노이드계 농약 표준액을 0.2 mg/kg과 0.02 mg/kg 두 가지 농도가 되도록 각각 첨가한 후 Fig. 1 및 Table 1에 제시된 전처리 방법과 기기조건으로 3회 반복 분석 후 회수율, 정밀성, 검출한계 및 정량한계를 측정하였다. 측정된 회수율 및 상대표준편차는 식품공전 잔류농약 분석법 실무해설서[13] 에서 분석법 검증에 요구되는 회수율 70-120% 및 분석오차 즉 변이계수 또는 상대표준편차 20% 이하를 검증 기준으로 적용

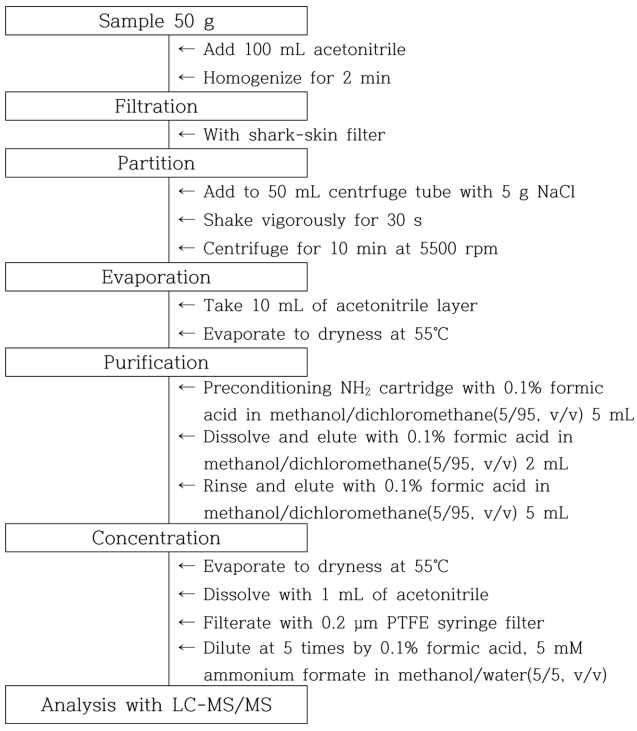

Fig. 1. Schematic sample preparation diagram for neonicotinoid pesticide analysis.

하였다.

또한 네오니코티노이드계 농약 표준용액을 0.0008-0.5 mg/L 의 농도로 희석한 후 Table 1에 제시된 기기조건 하에 분석하여 검량선의 직선성 을 확인하였다.

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	4000 v		
Drying gas flow	11 L/min		
Drying gas temp.	250°C		
Nebulizer gas	45 psi		
Sheath gas flow	12 L/min		
Sheath gas temp.	350°C		
Scan type	multiple reaction monitoring (MRM)		
Column	ZORBAX Eclipse Plus C_{18} (2.1×100 mm, 1.8 μm)		
Column oven	40°C		
Injection vol.	5 μL		
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	95	5
	1.0	95	5
	4.0	45	55
	6.0	40	60
	7.0	10	90
	8.0	10	90
	9.0	95	5
	10.0	95	5

시험법 비교

본 연구에서 제시한 LC-MS/MS를 이용한 시험법과 식품공전 시험법[14]으로 분석한 농산물중 네노니코티노이드계 살충제의 회수율 및 정량한계 등을 비교하였다.

Results and Discussion

분석법의 검출한계 및 정량한계

호박 등 3종의 농산물에 대해 니코티노이드계 농약 4종을 첨가하여 분석후 조사된 분석기기의 검출한계(S/N=3과 Fragment ion 간 Response ratio = ±20-30% 이내)는 0.0001-0.0005 ng 이었으며 정량한계(S/N=10과 Fragment ion 간 Response ratio=±20-30% 이내)는 0.001 ng 으로 조사 되었는데, 이를 식품공전 잔류농약 분석법 실무 해설서[13]에 제시된 분석법의 검출 및 정량한계 계산법에 따라 계산한 검출한계 및 정량한계는 각각 0.0001~0.0005 mg/kg, 0.001 mg/kg 으로 조사되어 우수한 검출 감도를 나타내었다(Table 3, Fig. 2) 이러한 결과는 국내의 식품 중 잔류농약 분석법 검출한계로 규정하고 있는 0.05 mg/kg 이하를 만족하면서 동시에 잔류허용기준의 1/2~1/10 까지 검출하도록 하는 규정[13]을 충족시키는 것이었다. 정량한계의 경우 국내의 명문화된 규정은 없으나 대체적으로 국제기준을 수용하고 있는데 유럽연합의 경우 잔류허용기준이 0.1 mg/kg 초과인 경우 0.1 mg/kg 이하, 0.05 mg/kg 미만인 경우 허용기준의 1/2 이하를 분석법의 정량한계로 규정하고 있어[13] 본 시험법의 정량한계가 유럽연합의 기준을 만족시키는 수준이라는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Kim 등[15]의 결과와 유사하였고 농약 허용물질목록제도(PLS)에 따른 기준 미설정 농산물에 대한 농약 허용기준 0.01 mg/kg 를 만족시키는 것이었다.

* 분석법의 검출 및 정량한계 = (A/B) × (C/D) (mg/kg)
A : 분석기기의 검출 및 정량한계 (ng)
B : 검체 주입량 (μL)
C : 최종검체 용액의 부피 (mL), D : 분석검체량 (g)

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

Compound name	RT (min)	Precusor ion (m/z)	Product ion (m/z)		Fragmentor voltage (V)	CE (V)	CA (V)	Ionization mode
Imidacloprid	4.745	256.0	175.0	209.0	380	25/21	5	positive
Clothianidin	4.795	250.1	169.1	132.1	380	17/17	5	positive
Acetamiprid	5.031	223.1	126.0	99.1	380	29/49	5	positive
Thiacloprid	5.303	253.1	126.1	186.1	380	27/19	5	positive

RT = Retention time.
CE = Collision energy.
CA = Cell accelerator voltage.

Table 3. Recoveries, precision, LOQ and LOD of neonicotinoid pesticides using the determination method in the study by LC-MS/MS

Compound name	LOQ[1] (mg/kg)	LOD[2] (mg/kg)	Sample	MRL[3] (ppm)	Spiked level (mg/kg)	Recovery(%) ±RSD[4](%) (n=3)	Precision (%)
Imidacloprid	0.001	0.0005	Squash	0.5	0.2	96.4±1.7	1.8
					0.02	99.0±1.3	1.3
			Paprika	1.0	0.2	90.7±2.2	2.4
					0.02	99.5±1.5	1.5
			Ssam cabbage	1.0	0.2	92.8±3.0	3.2
					0.02	99.8±6.0	6.0
Clothianidin	0.001	0.0005	Squash	0.5	0.2	100.2±1.2	1.2
					0.02	99.0±1.3	1.3
			Paprika	2.0	0.2	94.5±1.2	1.3
					0.02	95.2±1.9	2.0
			Ssam cabbage	3.0	0.2	98.6±0.3	0.3
					0.02	98.3±1.6	1.7
Acetamiprid	0.001	0.0001	Squash	0.5	0.2	95.1±1.2	1.3
					0.02	94.4±1.3	1.3
			Paprika	0.05	0.2	91.7±1.3	1.4
					0.02	95.3±1.4	1.4
			Ssam cabbage	3.0	0.2	100.9±1.4	1.4
					0.02	95.9±1.5	1.5
Thiacloprid	0.001	0.0001	Squash	0.01	0.2	97.7±1.6	1.7
					0.02	94.4±2.1	2.2
			Paprika	1.0	0.2	93.5±1.0	1.0
					0.02	96.1±1.8	1.8
			Ssam cabbage	0.5	0.2	100.7±2.5	2.4
					0.02	97.6±0.4	0.4

[1]LOQ : Limit of quantitation.
[2]LOD : Limit of detection.
[3]MRL : Maximum residue limit.
[4]RSD : Relative standard deviation.

검량선, 회수율 및 정밀성

총 4종의 네오니코티노이드계 농약 표준용액을 0.0008, 0.004, 0.02, 0.1, 0.5 mg/L의 농도로 희석하여 LC-MS/MS로 분석후 검량선의 직선성을 확인한 결과 상관계수가 0.9994-0.9980로 양호한 직선상을 나타내는 것으로 조사되었다(Fig. 3).

정량분석을 위해 호박 등 3종의 농산물 시료에 4종의 네오니코티노이드계 농약 표준액를 각각 0.2 mg/kg, 0.02 mg/kg 2가지 농도로 첨가한 후 Fig. 1 및 Table 1에 제시된 전처리 방법과 기기조건으로 3회 반복 분석 후 회수율과 정밀성을 측정하였다. 그 결과(Table 3) 모든 시료에서 적정 회수율 범위 70-120%, 와 분석오차 즉 상대표준편차(RSD) 20%이하[13] 를 만족시키는 결과를 나타내었으며 우수한 정밀도를 보이는 것으로 조사되었다.

회수율의 경우 첨가농도가 0.2 mg/kg 경우 90.7-100.9% 이었으며, 첨가농도가 0.02 mg/kg 의 경우에는 94.4-99.8%로 첨가농도에 따른 차이가 없었으며 정밀도의 경우에서도 0.3-6.0% 의 범위로 모두 우수한 결과를 보였다.

시험법 비교

본 연구에서는 호박을 대상으로 4종의 네오니코티노이드계 농약을 0.2 mg/kg 농도로 첨가하여 시험한 결과와 식품공전 시험법에 의한 의한 회수율 및 정량한계 등을 비교하여 보았다. 그 결과 LC-MS/MS를 이용한 본 시험법이 기존 식품공전의 다성분분석법(multi-residue method)[14] 이나 다종농약 다성분분석법(multi class pesticide multi-

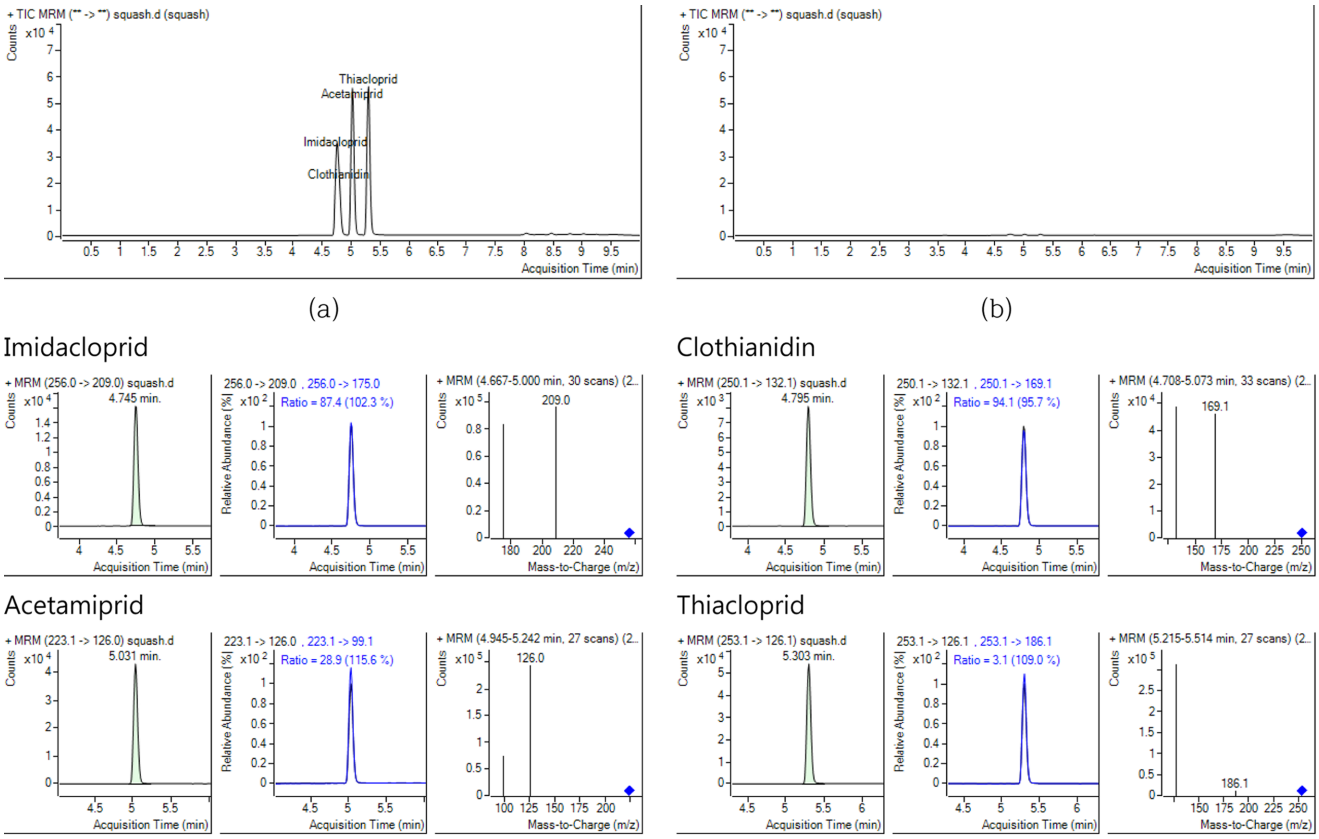

Fig. 2. Mass chromatogram of neonicotinoid pesticides. (a): spiked at 0.012 mg/kg (Imidacloprid, Clothianidin) and 0.004 mg/kg (Acetamiprid, Thiacloprid), (b): blank.

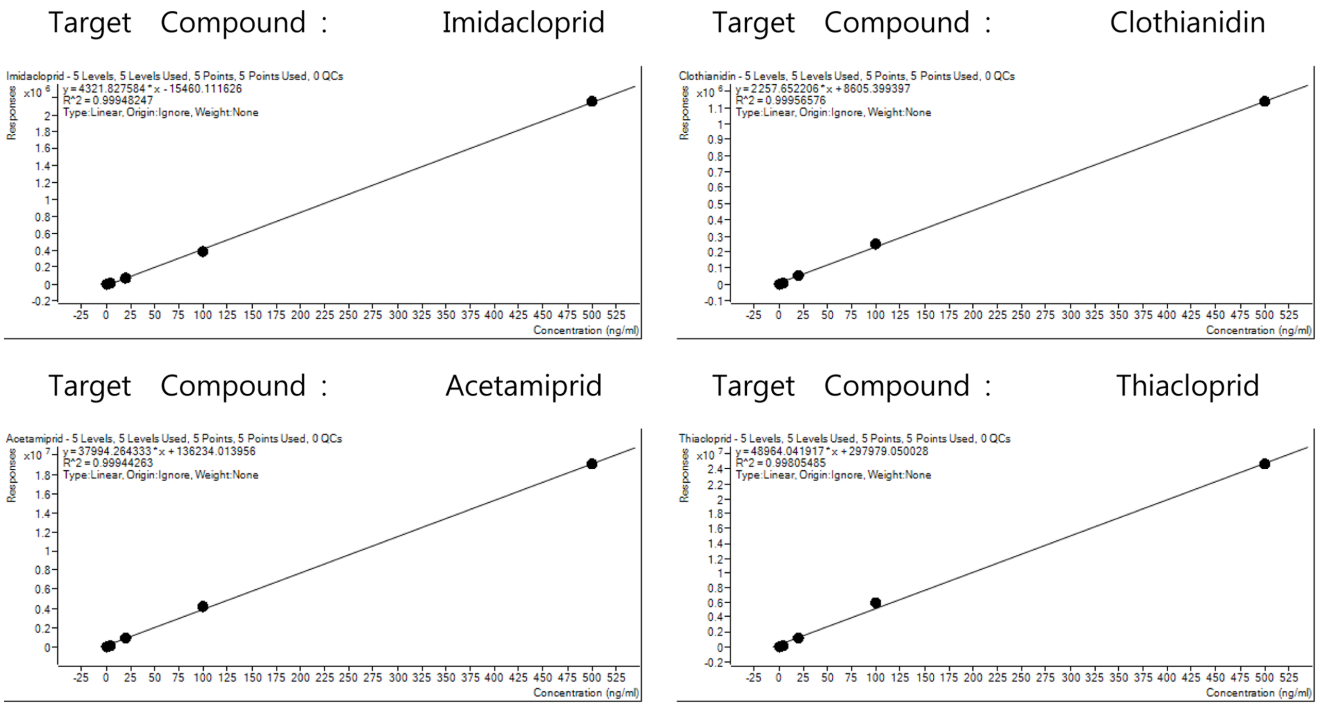

Fig. 3. Calibration curves for neonicotinoid pesticides.

Table 4. Comparison of neonicotinoid pesticide analysis method

Analysis method	LC-MS/MS method	Multi-residue method	LC-MS/MS method	Multi-residue method
Pesticides	Recovery (%)		Limit of quantitation (mg/kg)	
Imidacloprid	96.4±1.7	95.7±1.5	0.001	0.02
Clothianidin	100.2±1.2	94.2±1.1	0.001	0.02
Acetamiprid	95.1±1.2	90.1±1.0	0.001	0.02
Thiacloprid	97.7±1.6	91.9±0.8	0.001	0.03

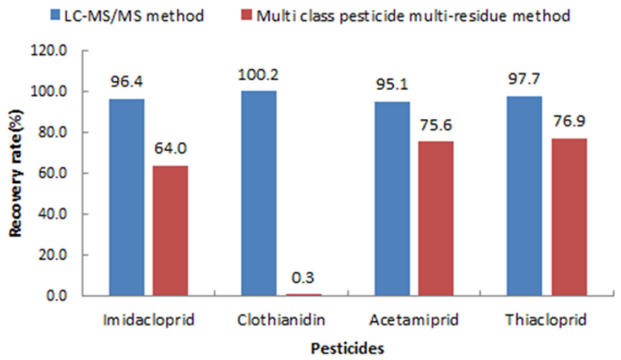

Fig. 4. Percentage of recovery rate by analysis method.

residue method)[14]에 비해 매우 우수한 것으로 조사되었다 (Table 4, Fig. 4).

현재 네오니코티노이드계 농약의 식품공전상 시험법은 다성분분석법(multi-residue method)이 적용되고 있는데 이 분석법은 전처리 방법이 액-액 분배법에 의한 것으로 많은 유기용매와 분석시간이 소모되며, 또한 낮은 정량한계로 인해 최근 도입된 농약 허용물질목록관리제도(PLS)의 적용에 어려움이 있다. 식품공전 잔류농약 분석법 실무해설서[13] 에 따르면 다성분 분석법에 의한 네오니코티노이드계 농약 분석 시 정량한계가 0.02 mg/kg 이라고 하여 본 연구의 LC-MS/MS를 이용한 시험법에 의한 정량한계인 0.001 mg/kg 보다 매우 큰 차이가 나는 것으로 조사되었다 (Table 4). 분석시간에 있어서도 다성분분석법의 경우 약 8시간 이상 많은 시간이 소요되어 출하 농산물에 대한 잔류농약 검사 후 부적합 농산물의 유통 방지를 위한 신속한 수거·폐기에 어려움이 따른다는 것을 알 수 있었다[12].

이러한 이유들로 인해 현재 농산물이나 식품에 대한 잔류농약 분석 시 다종농약 다성분분석법(multi class pesticide multi-residue method)을 많이 적용하고 있는데 이 방법은 SPE cartridge를 이용하여 유기용매 사용량을 줄이고 전처리 시간을 단축할 수 있는 장점이 있으나 휘발성이 낮고 극성이 높은 네오니코티노이드계 살충제의 경우 분석 회수율이 낮은 단점이 있어(Fig. 4) 시험법으로 적용할 수 없는 문제가 있다. 이러한 낮은 회수율은 전처리 과정에서 사용되는 SPE cartridge에 의한 clean-up시 용출용액(1% 메탄올 함유 디클로로메탄)의 극성도(polarity index = 3.12)가 낮아 NH_2 SPE cartridge 에 강하게 결합되어 있는 네오니코티노이드계 살충제를 용출하지 못하기 때문인데 이는 다종농약 다성분분석법이 극성도가 낮은 농약 등 다양한 많은 농약을 동시분석 하기 위한 것이기 때문이다[12].

따라서 본 시험에서는 용출용액의 극성도를 증가시킨 (polarity index=3.20) 0.1% formic acid를 함유한 메탄올/디클로로메탄 혼합액(5/95, v/v)를 NH_2 SPE cartridge 의 용출용액으로 사용하여 네오니코티노이드계 살충제 회수율을 높일 수 있었다. 특히 1% 메탄올 함유 디클로로메탄 용출액에서는 전혀 용출되지 않는 클로티아니딘의 경우 100% 회수율을 나타내는 것으로 조사되었다. 용출용액의 극성도 증가에 따른 방해물질의 증가는 최종단계에서 0.1% formic acid와 5 mM 포름산 암모늄을 함유한 메탄올/물 혼합용매 (5/5, v/v)를 사용하여 5배로 희석함으로서 상쇄 시킬 수 있었다. 또한 일반 high-performance liquid chromatography-UV (HPLC-UV)에 비해 감도가 10-1000배 이상 높은[15] LC-MS/MS를 사용하여 정량함으로서 분석결과에 대한 신뢰도를 대폭 향상 시킬 수 있었다.

이상 LC-MS/MS에 의한 네오니코티노이드계 농약 시험법은 기존의 시험법에 비해 우수한 회수율과 검출감도 그리고 4시간 이내의 신속한 분석이 가능하여 유통 농산물이나 도매시장 출하농산물에 대한 부적합 농산물의 신속한 수거 및 폐기가 가능하고 또한 허용물질목록관리제도 (PLS) 적용이 가능한 정밀한 시험법이라고 생각된다.

국문요약

LC-MS/MS를 이용하여 네오니코티노이드계 농약을 분석하는 방법을 연구하였다. 농산물 중 네오니코티노이드계 농약은 acetonitrile로 추출한 후 NH_2 SPE cartridge을 이용하여 전처리를 수행하였으며, 용출액은 0.1% formic acid를 함유한 메탄올/디클로로메탄 혼합액(5/95, v/v)를 사용하였다. 4종의 네오니코티노이드계 농약(imidacloprid, clothianidin, acetamiprid, thiacloprid)의 최소 검출한계 및 정량한계는 경우 각각 0.0001-0.0005 mg/kg 및 0.001 mg/kg 이었다. 농산물에 각각 0.2 mg/kg 및 0.02 mg/kg 농도의 네오니코티노이드계 농약 4종을 첨가하여 분석 시 회

수율은 각각 90.7-100.9%, 94.4-99.8% 범위였다. 본 시험법은 신속하고 정밀한 분석법으로 농약 허용물질목록제도(Positive List System (PLS))제도 적용에 필요한 충분한 검출감도를 나타내어 유통농산물에 대한 네오니코티노이드계 농약 분석에 적합한 것으로 조사되었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Lae-hong Hwang https://orcid.org/0000-0003-0840-4168
Hye-ran Yang https://orcid.org/0000-0001-7260-6616
Jae-kyoo Lee https://orcid.org/0000-0002-6419-8445
Chang-kyu Kim https://orcid.org/0000-0003-1920-2481
Min-jung Kim https://orcid.org/0000-0003-2432-677X

References

1. Park, B.J., Son, K.A., Paik, M.K., Kim, J.B., Hong, S.M., Im, G.J., Hong, M.K., Monitoring of neonicotinoid pesticide residues in fruit vegetable and human exposure assessment. *Korean J. Pestic. Sci.,* **14(2)**, 104-109 (2010).
2. Kim, N.K., Lee, S.H., Nam, Y.J., Moon, K.M., Park, M.H., Yun, M.H., Kim, M.Y., Jang, H.M., Shin, B.S., Monitoring of neonicotinoid pesticide residues in paprika using UPLC-MS/MS from Gyeongnam Region. *Korean J. Pestic. Sci.,* **15(1)**, 15-21 (2011).
3. Bai, D., Lummis, S., Leicht, W., Breer, H., Sattelle, D., Actions of imidacloprid and a related nitromethylene on cholineric receptors of an identified insect motor neurone. *Pestic. Sci.,* **33(2)**, 197-204 (1991).
4. Matsuda, K., Buckingham, S., Kleier, D., Rauh, J., Grauso, M., Sattelle, D., Neonicotinoids ; insecticides action on insect nicotinic acetylcholine receptor. *Trends Pharmacol. Sci.,* **22(11)**, 573-580 (2001).
5. Zhang, A., Kaiser, H., Maienfisch, P., Casida, J., Insect nicotinic acetylcholine receptor ; conserved neonicotinoid specificity of (3H) imidacloprid binding site. *J. Neurochem.*, **75(3)**, 1294-1303 (2000).
6. Lee, E.Y., Noh, H.H., Park, Y.S., Kang, K.W., Lee, K.H., Park, H.K., Yun, S.S., Jin, C.W., Han, S.K., Kyung, K.S., Residual characteristics of neonicotinoid insecticide dinotefuran and thiacloprid in cucumber, *Korean J. Pestic. Sci.,* **13(2)**, 96-104 (2009).
7. Kim, J.W., Lee, J.M., Lee, D.S., Kang, S.T., Kim, D.W., Lee, D.S., Riu, K.Z., Boo, K.H., Residual chracteristics of insecticide acetamiprid in asparagus under greenhouse condition. *Korean J. Pestic. Sci.,* **19(3)**, 204-209 (2015).
8. Kim, E.H., Lee, J.H., Sung, J.H., Lee, J.H., Shin, Y.H., Kim, J.H., Exposure and risk assessment for operator exposure to insecticide acetamiprid during water melon cultivation in greenhouse using whole body dosimetry, *Korean J. Pestic. Sci.,* **18(4)**, 247-257 (2014).
9. Manuel, M.S., Mercedes, M., F.Javier A., Jose, L.M.V., Analysis of acetamiprid in vegetables using gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Anal. Sci.*, **19**, 701-704 (2003).
10. Korea Rural Economic Institute, (2020, January 20), Insecticide "Neonicotinoid" banned in EU, Retrieved from https://www.krei.re.kr/wldagr/selectBbsNttView. do?key=162&bbsNo=66&nttNo=45049
11. Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation, (2020, January 20), Insecticide "Neonicotinoid" banned in EU, Retrieved from https://www.kati.net/board/exportNewsView.do?board_seq=86035
12. Hwang, L.H., Lee, S.D., Kim, J.G., Kim, J.Y., Park, S.H., Kim, J.H., Park, J.H., Han, C.H., Kim, M.S., Determination of carbendazim in commercial agricultural products by LC-MS/MS. *J. Food Hyg. Saf.*, **32(2)**, 1-6 (2017).
13. Lee, Y.D., 2012. Handbook for the pesticide residue analytical methods of food code, National Institution of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongwon, pp. 78-82.
14. Ministry of Food and Drug Safety : Korea food code, https://www.mfds.go.kr., 235-380 (2015).
15. Kim, J.Y., Jung, Y.M., Oh, H.S., Kang, S.T., Monitoring and risk assessment of pesticide residues in commercial environment-friendly agricultural products distributed using LC-MS/MS in seoul metropolitan area. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **47(3)**, 306-320 (2015).