

다공성 구조토 컬럼을 이용한 지방함량이 다른 농산물 시료 중 잔류농약 분석법 개선

조수인¹, 조혜인¹, 김장억², 황정인^{1*}, 임치환^{1*}

Analysis of Residual Pesticides in Agricultural Products with Different Lipid Contents Using Macroporous Diatomaceous Earth Column

Suin Cho ¹, Hey-In Cho ¹, Jang-Eok Kim ², Jeong-In Hwang ^{1*} and Chi-Hwan Lim ^{1*}

¹충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과, ²(주)분석기술과미래

¹Department of Bio-Environmental Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea,

²Analysis Technology and Tomorrow, Ltd., Daegu 42703, Korea

* Correspondence: chlim@cnu.ac.kr (CH Lim); jihwang@cnu.ac.kr (JI Hwang)

Abstract: Due to their similar properties to pesticides, lipids in agricultural products can interfere with the analysis of pesticide residues. This study tested the analytical recoveries of three pesticides with varying polarities, namely, bifenthrin, chlorpyrifos, and acetamiprid, across three agricultural products with different lipid contents: oriental melon, brown rice, and peanuts. The analysis was conducted using a method established by the Ministry of Food and Drug Safety. The results indicated that higher lipid content in agricultural products and lower polarity of pesticides were associated with lower recovery rates, leading to significant emulsion during the liquid-liquid partitioning process. To resolve the recovery issue, the liquid-liquid partition was replaced with acetonitrile as an extraction solvent and a macroporous diatomaceous earth column. The recovery rates using these improved analytical methods ranged from 81.8% to 94.8%, with coefficients of variation for triplicates between 0.7% and 5.6%. These results meet the criteria for pesticide residue analysis, which require recoveries of 70-120% and CVs of <10%. The methods developed in this study effectively enhance pesticide extraction from agricultural products while minimizing the effects of lipids and emulsion.

Keywords: Agricultural product, Lipid, Liquid-liquid partition, MDE column, Pesticide residue analysis method

<https://doi.org/10.5338/KJEA.2025.44.18>

Agric. Environ. Sci. 2025, 44, 170-179

Received: March 24, 2025

Revised: April 7, 2025

Accepted: April 29, 2025

Published: June 4, 2025

Online ISSN: 2233-4173

Print ISSN: 1225-3537



© The Korean Society of Environmental Agriculture 2025



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://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.

서론

농산물 생산 및 유통 과정에서 사용된 농약은 최종 가식부에 잔류하여 독성학적 안전성 문제를 야기할 수 있다. 또한 살포된 농약의 대부분은 인근지역 토양 및 수중에 유입될 수 있으며[1] 그 잔류물 중 일부가 다음에 재배되는 작물의 뿌리를 통해 흡수되어 가식부에 잔류할 수 있다[2]. 이에 우리나라 식품의약품안전처, 농촌진흥청 및 국립농산물품질관리원 등의 기관에서는 농식품 중 잔류하는 농약의

정량 및 정성 평가법을 확립하고 모니터링을 실시함으로써 작물별 농약의 안전사용기준과 잔류허용기준(maximum residue limits, MRLs)을 설정하기 위해 최선을 다하고 있다. 그 결과 2024년 12월 현재, 식품의약품안전처에서는 농산물에 대하여 444종 농약의 잔류허용기준을 설정하고 있다(식품의약품안전처 고시 제2024-71호 [별표 4]).

농산물 중 잔류하는 농약의 정량 및 정성평가를 위해서는 농산물의 특성과 농약의 물리화학적 성질을 고려한 적절한 분석법이 필요하다. 농산물 시료에 함유된 성분(matrix)은 농산물마다 다르고 다양하기 때문에 이러한 성분은 잔류농약 분석 시 간섭물질로 작용하여 분석 효율을 떨어뜨릴 수 있다[3]. 특히 시료의 지방 성분은 소수성 및 친유성을 가지는 유기합성 농약과 그 성질이 비슷하여 정제 후에도 제거되지 않고 잔존하는 문제가 발생하기도 한다[4]. 따라서 잔류농약을 정확하게 분석하기 위해서는 효과적인 정제 과정이 필수적이다. 기존의 정제 기술인 겔 투과 크로마토그래피(Gel Permeation Chromatography)는 고분자량 지방을 저분자량 분석 대상 성분과 분리하는 데 효과적이며, 고체상 추출법(Solid Phase Extraction, SPE)은 다양한 흡착제를 이용하여 간섭물질을 제거하는 유용한 정제 과정으로 사용된다[5]. 하지만 이 방법들은 시간 소모가 크고, 노동력이 많이 필요하며, 상대적으로 많은 양의 시료 및 유기용매를 소비해야 하는 단점이 있다[6].

식품의약품안전처는 식품공전(식품의약품안전처 고시 제2024-71호)을 통해 식품 중 잔류농약 분석을 위한 다성분 분석법 및 단성분 분석법을 고시하고 있다. 이 중 「다성분 분석법 - 제2법」은 질량분석법과 QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) 추출법에 기반하고 있으며 현재까지 분석 가능한 농약의 수는 가스크로마토그래프-질량분석기(gas chromatograph-mass spectrometer; GC-MS/MS)로 272종, 액체크로마토그래프-질량분석기(liquid chromatograph-mass spectrometer; LC-MS/MS)로 242종이다. 하지만 이 분석법은 시료 성분의 영향(matrix effects)을 많이 받는 질량분석기 특성과 단순한 정제 방법 때문에 잔류농약 모니터링에 주로 사용되며 검출되는 농약 중 일부는 단성분 분석법을 사용한 정밀 재분석이 요구될 수도 있다. 또한 두류와 같이 지방을 많이 함유하는 시료에 대해서는 지방제거 방법을 도입하도록 하고 있으나 지방제거 과정에서 사용되는 acetonitrile 포화 n-hexane 혼합 용매에 의해 소량의 농약 성분도 함께 소실되는 문제가 발생할 수도 있다.

시료 성분의 간섭이 심하거나 QuEChERS법 추출이 용이하지 않은 경우, 다양한 LC 및 GC 검출기를 활용하는 「다성분 분석법 - 제3법」(식품의약품안전처 고시 제2024-71호)을 사용할 수 있다. 하지만 이 분석법 역시 시료의 지방제거에 acetonitrile 포화 n-hexane 혼합 용매를 사용하고 있으며, 액-액 분배 단계에서 dichloromethane과 같은 발암가능 물질(International Agency for Research on Cancer Monographs에서 Group 2B 물질로 분류; IARC 웹사이트 참조)을 사용하고 있다. 또한 액-액 분배 시 상당량의 유기 폐액이 발생하여 처리 비용이 많이 들고 환경오염을 일으킬 가능성이 있다. 한편 다공성 규조토(Macroporous diatomaceous earth, MDE) 컬럼은 친수성 물질은 흡착시키고 소수성 물질을 용출시키는 성질을 가지고 있어 잔류농약 분석 시 액-액 분배 과정을 대체할 수 있다. Hwang 등은 4가지 한약재 중 endosulfan과 그 분해산물 endosulfan sulfate 분석을 위해 액-액 분배 대신 다공성 규조토 컬럼을 적용하여 기존 대비 노동력 및 전처리 시간의 절감, 폐액 감소, emulsion 현상의 해소를 확인하였다[7].

본 연구에서는 식품공전 「다성분 분석법 - 제3법」을 적용하였을 때 시료의 지방함량과 농약의 극성이 잔류농약 분석에 미치는 영향을 알아보고자 참외, 현미 및 땅콩 시료 중 acetamiprid, chlorpyrifos 및 bifenthrin의 회수율을 분석하였다. 또한 기존의 액-액 분배법을 이용한 분석 결과와 MDE 컬럼으로 대체한 추출법으로 분석한 결과를 비교하여 분석법의 개선 가능성을 평가하였다.

재료 및 방법

농약 및 시약

Acetamiprid 및 bifenthrin의 표준품은 Wako Pure Chemical Industries Ltd. (Japan)로부터 구입하여 사용하였으며, chlorpyrifos의 표준품은 Dow Chemical Co. (Germany)로부터 구입하여 사용하였다. 다공성 규조토(Macroporous diatomaceous earth, MDE) 컬럼은 Varian Inc. (USA)에서 제작된 10 mL Chem Elut™ cartridge를 사용하였으며, 시료의 전처리 과정에 사용된 acetone, acetonitrile, dichloromethane, n-hexane, ethanol 및 ethyl acetate는 Burdick & Jackson Inc. (USA)의 농약잔류분석용을 사용하였다. 시료의 정제시 Florisil SPE cartridge (1 g, 6 mL)는 Varian Inc. (USA)로부터 구입하여 사용하였으며, sodium chloride (EP급) 및 sodium sulfate (GR급)는 Junsei Chemical Co. (Japan) 제품을 사용하였다.

농산물 중 지방함량 측정법

이전 연구에서 제안된 지방함량 측정법을 이용하여 무작위로 선정된 7가지 농산물 참외, 사과, 현미, 깻잎, 참깨, 호두, 땅콩 중 지방함량을 측정하였다[8,9]. 각각의 농산물 시료 5 g에 ethanol/n-hexane(50/50, v/v) 혼합 용매 25 mL를 첨가하고 sonicator에 2시간 동안 추출한 후, 미리 건조하여 무게를 측정해 둔 농축 플라스크에 감압 여과하여 받았다. 이 여과액을 40°C 수욕상에 농축한 후 건조하여 그 무게를 측정하고 앞선 빈 농축 플라스크와의 무게차를 이용하여 지방함량을 산출하였다. 산출된 지방함량의 상대적인 값에 따라 각 농산물 시료를 무지방, 저지방 및 고지방으로 구분하고 연구에 사용하였다. 농산물 시료는 각각 1 kg씩 무처리 시료를 분쇄기로 분쇄한 후 이를 폴리에틸렌 비닐백에 밀봉하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

「다성분 분석법-제3법」을 이용한 회수율 시험

식품공전 「다성분 분석법 - 제3법」 중 분액깔때기를 이용한 액-액 분배 단계를 포함하는 acetone 추출법에 따라, 각각의 농산물 시료 5 g에 각 농약을 4.0 mg/kg이 되도록 첨가한 후 용매가 날아갈 때까지 1시간 동안 흡후드에 방치하였다. 참외를 제외한 현미와 땅콩 시료에는 증류수 30 mL를 첨가하여 습윤화하고 100 mL acetone을 가한 후 균질화시켜 여과하였다. 이 여과액을 100 mL 증류수 및 50 mL 포화식염수가 가해진 1 L 분액여두에 옮기고 50 mL dichloromethane으로 2회 분배 추출하였다. 무수 sodium sulfate로 탈수한 추출액을 농축하여 4 mL acetone/n-hexane (20/80, v/v)에 재용해한 후, 미리 n-hexane과 acetone/n-hexane (20/80, v/v)으로 활성화시킨 Florisil SPE cartridge 상부에 가하고 acetamidrid는 10 mL acetone/n-hexane (50/50, v/v) 혼합 용매로, bifenthrin과 chlorpyrifos는 5 mL acetone/n-hexane (20/80, v/v) 혼합 용매로 용출시켜 받아 감압 농축하고 2.0 mL acetone/n-hexane (20/80, v/v)에 재용해하였다. 각각의 시료액 1.0 µL를 분석기기에 주입하여 나타나는 크로마토그램 피크 면적에 따라 농약의 회수율을 분석하고 비교하였다. 분석기기는 DB-5 capillary column [30 m (L.) × 0.25 mm (I.D.) × 0.25 µm (film thickness)]을 장착한 gas chromatography-electron capture detector (GC-ECD; Shimadzu GC-2010, Japan)와 DB-5MS capillary column [30 m (L.) × 0.25 mm (I.D.) × 0.25 µm (film thickness)]을 장착한 GC-MS (Shimadzu GC-2010 with GC-MS QP-2010 Plus, Japan)를 사용하였다.

지방 성분 간섭 확인

Chlorpyrifos 처리된 시료를 식품공전 「다성분 분석법 - 제3법」의 acetone 추출법에 따라 전처리하되 acetonitrile 포화 n-hexane 용매를 이용한 지방제거 과정을 추가하여 회수율 시험하였다. 전처리 중 지방제거 방법은 추출된 dichloromethane을 농축하고 acetonitrile 포화 n-hexane 용매 30 mL에 재용해하여 250 mL의 분액여두에 옮긴 후 동일한 용매 30 mL로 2회 분배하여 hexane 층은 버리고 acetonitrile 층을 수집하여 농축하는 방식으로 수행되었다.

추가적으로 지방을 미리 제거한 시료에 chlorpyrifos를 처리하여 「다성분 분석법 - 제3법」에 따라 회수율 분석하였으며 이 결과를 전처리 중 지방제거를 실시했던 결과들과 비교하였다. 지방제거 된 시료는 ethanol/n-hexane (50/50, v/v) 혼합 용매로 지방 성분을 추출하여 버리고 남은 carbohydrate의 건조물로[10], 앞서 언급한 지방함량 측정법을 응용하여 준비하였다[8,9]. 무지방의 참외 시료는 지방제거 처리를 하지 않았다.

추출 용매 선택 및 MDE 컬럼 적용

Acetone 추출 용매 대신, 지방과 섞이지 않으면서 농약 성분 추출에 효과적인 acetonitrile을 적용하여[4] chlorpyrifos의 회수율을 시험하였다. 또한 acetonitrile을 추출 용매로 하고 MDE 컬럼을 적용하여 세 가지 시험농약의 회수율을 시험하였다. MDE 컬럼을 적용한 분석 방법은 다음과 같다. 농산물 시료 5 g에 각 농약을 4.0 mg/kg이 되도록 첨가한 후 용매가 충분히 날아갈 때까지 방치하여 반응시키고 증류수 10 mL와 acetonitrile 100 mL를 가하여 균질화 하였다. 균질화된 시료는 여과 후 수용액이 10 mL가 남을 때까지 농축하여 MDE 컬럼에 가하였다. 약 10분 이상 정지시켜 수분을 충분히 흡수시킨 후 컬럼 상부에 50 mL ethyl acetate를 2회 가하여 무수 sodium sulfate층에 탈수시켜 받아 농축하였다. 정제는 미리 n-hexane과 acetone/n-hexane (20/80, v/v)으로 활성화시킨 Florisil SPE cartridge를 사용하였으며, 시료를 4 mL n-hexane에 재용해한 후 cartridge 상부에 가하고 acetamidrid는 10 mL acetone/n-hexane (50/50, v/v) 혼합용매로, bifenthrin과 chlorpyrifos는 5 mL acetone/n-hexane (20/80, v/v) 혼합용매로 용출시켜 감압 농축하고 2.0 mL acetone/n-hexane (20/80, v/v)에 재용해하였다. 각각의 시료액 1.0 µL를 GC-ECD

및 GC-MS에 주입하여 나타나는 크로마토그램의 피크를 이용하여 농약을 분석하였다.

시험농약의 정성 및 정량분석

Bifenthrin과 chlorpyrifos의 분석 및 구조 동정은 GC-MS로 실시하였으며, GC-MS에 감도가 없는 acetamiprid의 분석은 GC-ECD로 분석하였다. GC-MS의 선택 이온 모니터링(selected ion monitoring; SIM) 분석을 위해 설정한 조각 이온은 bifenthrin에 대해 m/z 165, 181, chlorpyrifos에 대해 m/z 197, 314였다. 매트릭보정(matrix-matched) 검량선은 acetamiprid, bifenthrin 및 chlorpyrifos 표준품 각각을 전처리한 공시료 용액에 녹여 0.1~10.0 mg/L이 되도록 차례로 희석하고 각 1.0 μ L씩 GC-MS 또는 GC-ECD에 주입하여 나타나는 peak의 면적을 기준으로 작성하였다. 분석을 위한 정량한계(Limit of quantification, LOQ)는 기기 상에서 측정가능한 최소검출량을 이용하여 아래 식에 의하여 산출하였다[11].

$$\text{LOQ (mg/kg)} = [\text{기기상의 최소검출량 } (\mu\text{g})/\text{주입량 } (\mu\text{L})] \times [\text{시료용액 (mL)}/\text{시료량 (g)}]$$

결과 및 고찰

지방함량 측정

임의로 선정한 7가지 농산물 시료로부터 각각의 지방함량을 측정하고 그 측정치의 상대적인 값에 따라 무지방, 저지방 및 고지방으로 시료 그룹으로 나누었다(Table 1). 영국의 식품표준국(Food Standard Agency)의 기준에 따라 지방함량이 없을 경우 무지방 그룹, 4.5% 이하일 경우 저지방 그룹, 4.5~25%일 경우 중지방 그룹, 25% 이상일 경우 고지방 그룹으로 구분하였다. 땅콩, 참깨 및 호두의 지방함량은 각각 44.1%, 52.5%, 45.1%로 고지방 그룹에 속하였으며 현미와 들깨잎은 각각 3.5%, 2.3%로 저지방 그룹에 속하였다. 이를 제외한 참외와 사과는 모두 지방함량을 가지고 있지 않아 무지방 그룹에 속하였다. 농산물의 지방함량 차이가 잔류농약의 분석에 미치는 영향을 알아보기 위해 참외(Oriental melon), 현미(Brown rice) 및 땅콩(Peanut)을 각각 무지방, 저지방 및 고지방 시료로 선정하여 연구를 수행하였다.

Table 1. Lipid contents (%) of seven agricultural products

Group	Agricultural product	Lipid content (%)	Group	Agricultural product	Lipid content (%)
High Lipid	Peanut	44.1	Low Lipid	Brown rice	3.5
	Sesame seed	52.5		Perilla leaf	2.3
	Walnut	45.1	No Lipid	Oriental melon	< 0.0
				Apple	

지방함량에 따른 회수율 차이와 문제점

이전 연구에서 사용된 농약 극성별 구분 방법에 따라[4,12,13], 농약의 log Kow 값이 3 미만일 경우 상대적인 고극성 농약으로, 3과 5 사이일 경우 중극성 농약, 5 이상일 경우 저극성 농약으로 구분하였다. 본 연구에서는 acetamiprid (log Kow=0.8), chlorpyrifos (log Kow=4.7) 및 bifenthrin (log Kow>6)을 각각 상대적인 고극성, 중극성 및 저극성 농약으로 선정하였다(Table 2).

지방함량이 회수율에 미치는 영향을 명확히 확인하기 위해 각 농약을 4.0 mg/kg 고농도로 처리한 후 식품공전 「다성분 분석법 - 제3법」의 acetone 추출법에 따라 회수율 시험한 결과, 무지방 참외에 대하여서는 세 가지 농약의 회수율이 90% 이상으로 농약 간에 회수율 차이가 거의 없었지만 현미나 땅콩과 같이 지방을 함유하는 시료에 대하여서는 지방함량이 높을수록 세 가지 농약의 회수율이 낮고 농약 간에 회수율 차이도 큰 것을 확인할 수 있었다(Table 3). 즉, 농산물 시료의 지방함량이 높을수록 그리고 농약의 극성이 낮을수록 농약의 회수율이 낮았다. 이는 농약 추출 시 시료의 지방 성분에 의한 간섭 때문일 것으로 사료되며, 지방의 영향을 배제하기 위해 적합한 추출 용매의 선택이 필요하였다.

Table 2. Chemical structures and physicochemical properties of tested pesticides

	Acetamiprid	Chlorpyrifos	Bifenthrin
Structure			
M.W.	222.7	350.6	422.9
log Kow	0.80	4.7	> 6
Solubility	In water 4250 mg/L (25°C). Soluble in acetone, methanol, ethanol, dichloromethane, chloroform, acetonitrile and tetrahydrofuran.	In water 1.4 mg/L (25°C). In benzene 7900, acetone 6500, chloroform 6300, carbon disulfide 5900, diethyl ether 5100, xylene 5000, iso-octanol 790, methanol 450 (all in g/kg, 25°C).	In water <1 µg/L. Soluble in acetone, chloroform, dichloromethane, diethyl ether, and toluene. Slightly soluble in heptane and methanol.

Table 3. Analytical recoveries of acetamiprid, chlorpyrifos, and bifenthrin in three agricultural products with different lipid contents using the acetone-extraction method established by MFDS

Agricultural product	Fortification level (mg/kg)	Recovery rate(%) ^{a)} ± SD ^{b)}			MDA ^{c)} (µg)	LOQ ^{d)} (mg/kg)
		Acetamiprid	Chlorpyrifos	Bifenthrin		
Oriental melon	4.0	96.2 ± 3.9	96.0 ± 3.2	93.5 ± 6.3	0.1	0.04
Brown rice	4.0	90.1 ± 2.1	88.4 ± 1.0	82.9 ± 2.2		
Peanut	4.0	71.1 ± 5.5	68.4 ± 1.6	58.3 ± 3.6		

^{a)}Mean of triplication; ^{b)}SD, Standard Deviation; ^{c)}MDA, Minimum detectable amount; ^{d)}LOQ, Limit of quantification.

게다가 전처리 과정 중 액-액 분배 시 emulsion 현상이 발생하는 문제점이 있었다(Fig. 1). 참외의 경우에는 emulsion 현상 없이 층분리가 용이하였지만 현미와 땅콩의 경우에는 emulsion 현상이 발생하여 층분리에 어려움을 주고 전처리 시간을 증가시켰다. 따라서 전처리 시간의 감소와 간소화를 위해 액-액 분배를 대신할 수 있는 분석법의 개선이 필요하다.

지방 성분 간섭 확인

Acetonitrile을 지방 성분과 잘 혼합되는 성질을 가진 n-hexane과 함께 분배하여 주면 지방 성분은 n-hexane층으로 상당량

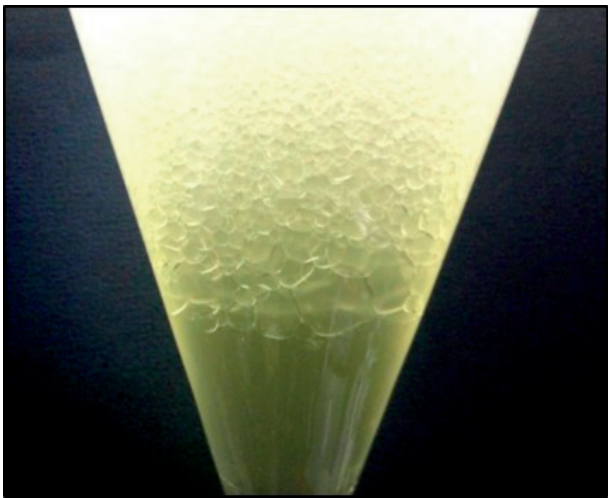


Fig. 1. Photographic evidence of emulsion formation observed during liquid-liquid partitioning of a peanut sample.

제거되고 농약 성분은 acetonitrile층으로 추출될 수 있다. 농산물 중 잔류농약 분석 시 회수율 차이에 영향을 미치는 요인이 지방 성분의 간섭임을 알아보기 위하여 「다성분 분석법 - 제3법」에 acetonitrile 포화 n-hexane을 이용한 지방제거 과정을 적용하여 chlorpyrifos의 회수율을 시험하였다(Table 4의 “Later-removal” 결과 참조). 지방제거 후 chlorpyrifos의 평균 회수율이 참외에서 88.5%, 현미에서 90.1%, 땅콩에서 80.1%로 나타나 전체적으로 지방함량에 의한 영향이 줄어들었으며, 땅콩의 경우에는 지방제거 과정을 적용하였을 때 회수율이 약 10% 이상 증가하였다. 반대로 참외의 회수율은 지방제거 과정을 적용하였을 때 더 낮게 나타났는데 그 이유는 지방제거 중 n-hexane층으로 소량의 농약 성분이 이동하여 소실되었기 때문일 것으로 사료된다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, 시료 중 지방 성분이 잔류농약 분석 시 회수율에 영향을 미친다는 것을 확인할 수 있다.

Table 4. Analytical recoveries of chlorpyrifos in three agricultural products with lipid removal treatment

Pesticide	Agricultural product	Fortification level (mg/kg)	Mean of recoveries $\pm$ SD ^{a)} (%)	
			Pre-removal	Later-removal
Chlorpyrifos	Oriental melon	4.0	96.0 $\pm$ 3.2	88.5 $\pm$ 5.3
	Brown rice	4.0	89.6 $\pm$ 5.4	90.1 $\pm$ 1.6
	Peanut	4.0	90.8 $\pm$ 5.3	80.1 $\pm$ 2.3

^{a)}SD, Standard Deviation.

The ‘pre-removal’ sample is the residues filtered after sonication extraction with ethanol/ n-hexane (50/50, v/v), and the ‘later-removal’ sample is the sample from which lipids were removed during the sample preparation using the hexane-extraction method recommended by MFD5.

추가적으로 현미와 땅콩 시료의 지방을 미리 제거하고 chlorpyrifos를 처리하여 회수율 시험을 실시한 결과, 시료의 지방이 농약의 회수율 감소에 영향을 미친다는 것을 더 명확히 확인할 수 있었다(Table 4의 “Pre-removal” 결과 참조). 지방의 사전 제거로 전체 농산물 시료 중 chlorpyrifos의 회수율이 약 89.6% 이상으로 증가하였으며 이는 지방 성분의 적절한 제거가 회수율 감소 문제를 해결하기 위한 주요 대안이 될 수 있다는 것을 보여준다.

추출 용매 선택 및 MDE 컬럼 적용

잔류농약 분석 시 많이 사용되는 추출 용매로는 acetone, acetonitrile 및 methanol 등이 있으며[14], 농약의 물리화학적 성질이나 시료의 특성에 따라 그 선택을 달리하여 줄 필요가 있다. 예비실험에서 acetone, acetonitrile 및 methanol 용매에 식용유를 약 8:2 비율로 혼합해본 결과, acetone의 경우 식용유와 혼화되어 층분리가 일어나지 않지만 acetonitrile과 methanol의 경우 식용유와 용매가 서로 혼화되지 않고 층 분리가 일어났다. 이러한 특성을 이용하고자 「다성분 분석법 - 제3법」에 추출 용매를 acetonitrile로 바꾸고 액-액 분배 과정을 적용하여 chlorpyrifos의 회수율을 분석하였다. 그 결과 농약의 회수율이 80.8~96.6%로 나타나 acetone으로 추출한 결과보다 더 양호하였으며(Table 5), 이는 acetonitrile을 추출 용매로 사용하는 것이 지방성 시료를 분석하는데 더 적합함을 보여준다. 그러나 현미와 땅콩 시료의 액-액 분배 과정에서 발생하는 emulsion 현상은 여전히 해결할 수 없었으며 이를 해결하기 위해서는 액-액 분배를 대체할 대안이 필요하였다.

Table 5. Comparison of recovery rates of chlorpyrifos in three agricultural products with different lipid contents using acetonitrile as a extraction solvent instead of acetone

Pesticide	Agricultural product	Fortification level (mg/kg)	Recovery rate (%)			
			1	2	3	Mean $\pm$ SD ^{a)}
Chlorpyrifos	Oriental melon	4.0	99.9	92.7	97.2	96.6 $\pm$ 3.6
	Brown rice	4.0	89.2	95.1	91.3	91.8 $\pm$ 3.0
	Peanut	4.0	83.6	74.0	84.9	80.8 $\pm$ 6.0

^{a)}SD, Standard Deviation.

MDE 컬럼의 일종인 Chem Elut™ cartridge는 규조토와 hydro-material로 이루어져 있고 약 10 mL 가량의 수분을 흡수 및 보유하는 능력을 가지고 있다. 다공성 규조토는 조류(藻類)의 유해가 해저에 퇴적되어 만들어진 단백질(蛋白質)의 일종으로 다양하고 복잡한 공극과 다량의 규산질을 함유하고 있기 때문에 여과보조제나 흡수제로 많이 사용되고 있다[15]. 이러한 MDE 컬럼을 이용하면 분석 시 간섭물질이 될 수 있는 친수성 물질은 흡수시키고 농약 성분을 포함한 소수성 물질은 분리, 추출할 수 있어 액-액 분배 과정을 대신할 수 있다. 이러한 연구의 일환으로 Tseng 등은 5가지 과일과 채소 중 136가지 농약의 다성분 동시분석 연구에 액-액 분배를 대신하여 MDE 컬럼을 적용함으로써 액-액 분배 시 emulsion 현상을 해소하고 전처리 시 시간과 노동력을 절감할 수 있었다[16].

추출 용매로 acetonitrile을 사용하고 액-액 분배 대신 MDE 컬럼을 적용하여 회수율 시험한 결과(Table 6), 참외, 현미 및 땅콩 시료 모두에 대해 회수율이 acetamiprid 88.9~98.0%, chlorpyrifos 87.4~98.5%, bifenthrin 86.9~95.7%로 나타나 식품의약품 안전처에서 고시한 잔류농약 분석법 유효성 검증 기준인 70~120% 이내의 정확성을 만족하였다. 변이계수(coefficient of variation; CV) 역시 1.6~5.2% 수준으로 나타나 10% 미만의 기준을 만족하며 우수한 정밀성을 보여주었다. 분석 크로마토그램 상에 간섭 피크는 존재하지 않았으며(Fig. 2), 매질보정 검량선의 직선성은 상관관계수가 0.99 이상으로 나타나 양호하였다. 세 가지 농약의 정량한계는 0.04 mg/kg으로 나타나 허용물질목록관리제도(positive list system; PLS)에서 요구하는 LOQ인 0.01 mg/kg을 초과하였지만[17], 이 연구에서 사용한 GC-ECD 및 GC-MS 기기를 텐덤(tandem) 질량분석기로 대체할 경우 PLS 요구 정량한계를 충분히 만족할 것으로 판단되었다.

Table 6. Means of recovery rates and detection limits of acetamiprid, chlorpyrifos, and bifenthrin in three agricultural products with different lipid contents using acetonitrile and MDE column

Agricultural product	Fortification level (mg/kg)	Recovery rate(%) ^{a)} ± SD ^{b)}			MDA ^{c)} (μg)	LOQ ^{d)} (mg/kg)
		Acetamiprid	Chlorpyrifos	Bifenthrin		
Oriental melon	4.0	95.1 ± 3.4	95.4 ± 4.0	91.5 ± 2.1	0.1	0.04
Brown rice	4.0	93.3 ± 1.7	93.0 ± 4.8	92.9 ± 3.4		
Peanut	4.0	91.9 ± 4.4	89.9 ± 2.4	88.4 ± 1.4		

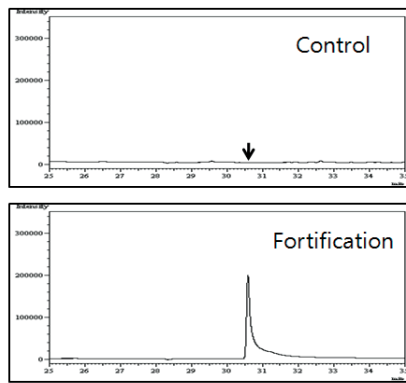
^{a)}Mean of triplication; ^{b)}SD, Standard Deviation; ^{c)}MDA, Minimum detectable amount; ^{d)}LOQ, Limit of quantification.

추가적으로, 20분 이상의 시간을 요구하는 액-액 분배 과정을 생략하고 10분 안팎의 추출시간을 요구하는 MDE 컬럼을 적용함으로써 emulsion 현상을 해소하고 전처리 시간 및 노동력을 절감할 수 있었다. 잔류농약 분석 시 액-액 분배에 주로 사용하는 dichloromethane은 국제암연구소에 의해 발암가능 물질(group 2B)로 분류되어 있으며 끓는점이 약 40°C로 휘발성이 높아 노출 시 대기 중으로 휘발되기 쉬워 잔류농약 분석자에게 흡입 독성을 유발할 수 있다. 하지만 본 연구에서 MDE 컬럼을 이용한 분석법 개선을 통해 dichloromethane 대신 다양한 저독성 유기용매의 사용이 가능해져 분석자의 안전성을 증대시키고 발생하는 폐액의 양을 감소시킬 수 있었다. 이전에 수행된 많은 잔류농약 분석 연구에서도 MDE 컬럼 적용의 유용성에 대해 기술하고 있다[7,18,19].

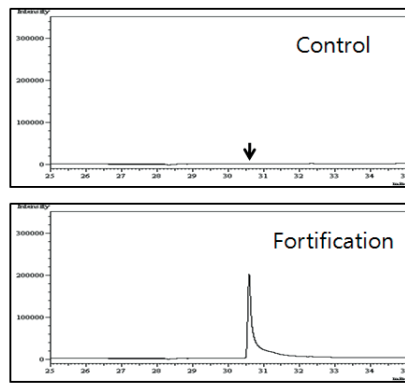
시료에 함유된 지방 성분이 잔류농약 분석 시 회수율에 미치는 영향과 그 문제점을 개선하기 위해 실시된 본 연구의 결과는, 잔류농약 분석자의 분석능력 향상과 우리나라 먹거리 안전성 강화에 중요한 기초자료가 될 수 있다. 기존 잔류농약 분석에 주로 사용하는 QuEChERS 방법에 비교하면 분석 회수율과 작업 용이성 면에서 성능이 다소 부족한 면이 있지만, 본 연구에서 개발된 MDE 컬럼 적용 분석법은 지방성 시료 대상으로 높은 분석 정밀성을 요구하는 연구에서 유용할 것으로 판단된다.

(a) Acetamiprid

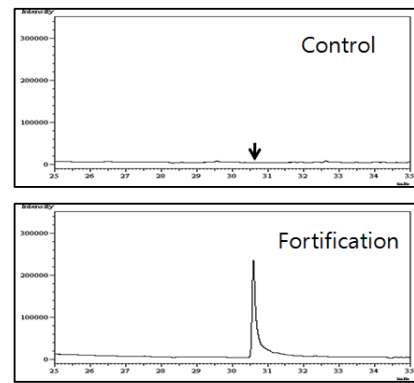
Oriental Melon



Brown Rice

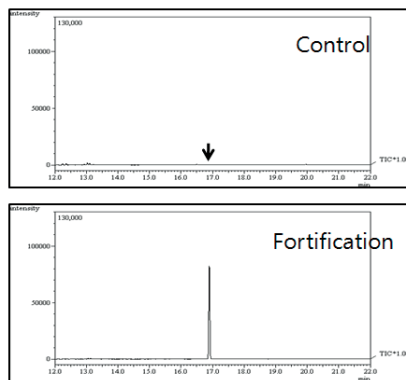


Peanut

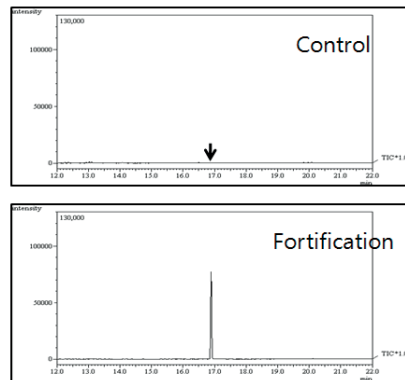


(b) Chlorpyrifos

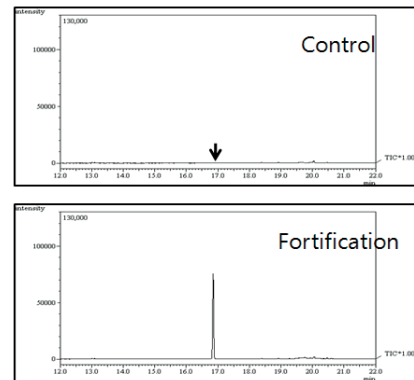
Oriental Melon



Brown Rice

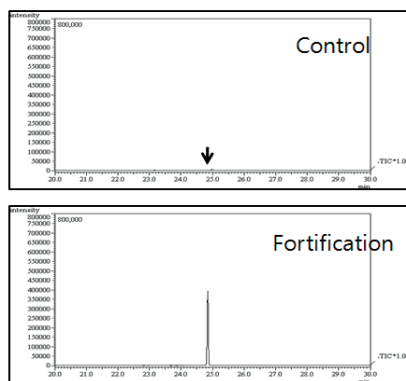


Peanut

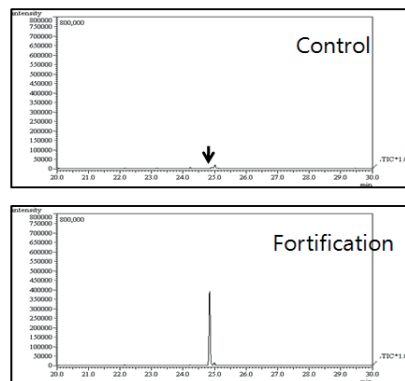


(c) Bifenthrin

Oriental Melon



Brown Rice



Peanut

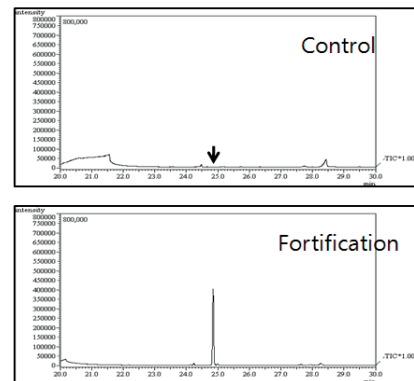


Fig. 2. Chromatograms for recovery tests of acetamiprid (a), chlorpyrifos (b), and bifenthrin (c) in three agricultural products with different lipid contents using acetonitrile and MDE column.

결론

농산물 중 지방은 농약의 성질과 비슷하여 잔류농약 분석 시 방해 물질로 작용할 수 있다. 식품공전에 고시된 「다성분 분석법 - 제3법」에 따라 지방함량이 서로 다른 참외, 현미 및 땅콩 시료에 대하여 극성이 다른 acetamiprid, chlorpyrifos 및 bifenthrin 농약의 잔류 분석을 실시한 결과, 시료의 지방함량이 높을수록 그리고 농약의 극성이 낮을수록 잔류농약의 회수율이 낮았고

액-액 분배과정에서 심각한 emulsion 현상을 발생시켰다. 이를 개선하기 위하여 추출 용매로 acetonitrile을 사용하고 액-액 분배 과정 대신 MDE 컬럼을 적용하여 회수율 분석한 결과, 전체 시료에 대해 잔류농약 분석기준인 70~120%의 회수율과 10% 이내의 변이계수를 만족하였다. 뿐만 아니라, MDE 컬럼 적용에 따른 액-액 분배과정의 생략으로 emulsion 현상을 회피할 수 있었으며, 발생하는 폐액 감소와 전처리 시간 및 노동력 절감 등의 효과를 얻을 수 있었다. 또한 발암가능 물질로 분류된 dichloromethane 사용을 배제할 수 있어 분석자의 안전성을 증대시킬 수 있었다.

Data Availability: All data are available in the main text or in the Supplementary Information.

Author Contributions: S.C., H.I.C., and J.I.H. deigned the present research; S.C. and H.I.C. performed the analysis and collected data; S.C., H.I.C., and J.I.H. wrote the first manuscript; J.E.K. got the research grant; J.I.H., J.E.K., and C.H.L. revised the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Notes: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments: This work was supported by research funds of Chungnam National University, South Korea (2024-0889-01) and National Research Foundation of Korea (RS-2025-00513348).

Additional Information:

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.5338/KJEA.2025.44.18>

Correspondence and requests for materials should be addressed to Chi-Hwan Lim and Jeong-In Hwang.

Peer review information Korean Journal of Environmental Agriculture thanks the anonymous reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Reprints and permissions information is available at <http://www.korseaj.org>

References

1. Dissanayake WMN, Heo JM, Yi YJ (2023) Adverse effects of pesticide/metabolites on boar spermatozoa. *Korean Journal of Agricultural Science*, 50, 941-952. <https://doi.org/10.7744/kjoas.500428>.
2. Hwang JI, Zimmerman AR, Kim JE (2018) Bioconcentration factor-based management of soil pesticide residues: Endosulfan uptake by carrot and potato plants. *Science of the Total Environment* 627, 514-522. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.208>.
3. Katarzyna Madej, Tatyana K. Kalenik, Wojciech Piekoszewski (2018) Sample preparation and determination of pesticides in fat-containing foods, *Food Chemistry* 269, 527-541. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.007>.
4. Hwang JI, Lee SE, Kim JE (2014) Effects of lipids on analysis of residue pesticides in herbal medicines. *Journal of Korean Applied Biological Chemistry* 57(3), 347-354. <https://doi.org/10.1007/s13765-014-4094-0>.
5. LeDoux M (2011) Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin. A review of the past two decades. *Journal of Chromatography A*, 1218(8), 1021-1036. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.097>.
6. Han YK, Jin X, Liu Y, Cai L, Zhao X, Wang J, Zhou JL, He M, Li D (2021) Gas-liquid microextraction coupled with magnetic-assisted dispersive solid-phase extraction clean-up for multi-residue pesticide analysis in fatty foods of animal origin. *LWT*, 137, 110448. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110448>.
7. Hwang JI, Jeon YH, Kim HY, Kim JH, Lee YJ, Park JY, Kim DH, Kim JE (2011) Application of macroporous diatomaceous earth column for residue analysis of insecticide endosulfan in herbal medicines. *Korean Journal of Environmental Agriculture* 30(1), 60-67. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2011.30.1.60>.
8. Simonich SL, Hites RA (1994) Vegetation-atmosphere partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science and Technology* 28, 939-943. <https://doi.org/10.1021/es00054a028>.
9. Wagrowski DM, Hites RA (1997) Polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation in urban, suburban, and rural vegetation. *Environmental Science and Technology* 31, 297-282. <https://doi.org/10.1021/es960419i>.
10. Li H, Sheng G, Chiou CT, Xu O (2005) Relation of organic contaminant equilibrium sorption and kinetic uptake in plants. *Environmental Science and Technology* 39, 4864-4870. <https://doi.org/10.1021/es050424z>.

11. Jang SY, Kim YS, Lim CH (2024) Residual characteristics of picoxystrobin, flufenoxuron, and teflubenzuron in Chinese matrimony vine by heat-drying treatment. *Korean Journal of Agricultural Science*, 51, 775-785. <https://doi.org/10.7744/kjoas.510427>.
12. Gunold R, Schäfer RB, Paschke A, Schüürmann G, and Liess M (2008) Calibration of the Chemcatcher® passive sampler for monitoring selected polar and semi-polar pesticides in surface water. *Environmental pollution*, 155(1), 52-60. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.10.037>.
13. Kouzayha A, Rabaa AR, Iskandarani MA, Beh D, Budzinski H, and Jaber F (2012) Multiresidue method for determination of 67 pesticides in water samples using solid-phase extraction with centrifugation and gas chromatography-mass spectrometry. *American Journal of Analytical Chemistry*, 3(3), 257-265. <https://doi.org/10.4236/ajac.2012.33034>.
14. Stajnbaher D, Zupancic-Kralj L (2003) Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1015(1-2), 185-198. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01211-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01211-1).
15. Korean Society of Food and Technology (2004) *Encyclopedia of Food Science and Technology*, p. 131, Kwangil, Korea.
16. Tseng SH, Lin YJ, Lee HF, Su SC, Chou SS, Hwang DF (2007) A multiresidue method for determining 136 pesticides and metabolites in fruits and vegetables: Application of macroporous diatomaceous earth column. *Journal of Food and Drug Analysis* 15(3), 8. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2411>.
17. Lim HJ, Kim YS, Lim CH (2024) Residual characteristics and safety assessments of prochloraz and its metabolites in *Aster yomena* using QuEChERS and LC-MS/MS. *Korean Journal of Agricultural Science*, 51, 205-216. <https://doi.org/10.7744/kjoas.510211>.
18. Watanabe E, Baba K, Eun H (2007) Simultaneous determination of neonicotinoid insecticides in agricultural samples by solid-phase extraction cleanup and liquid chromatography equipped with diode-array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 3798-93804. <https://doi.org/10.1021/jf063140m>.
19. Sicbaldi F, Sarra A, Copeta GL (1997) Diatomaceous earth-assisted extraction for multiresidue determination of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 765, 23-30. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(96\)00998-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(96)00998-3).