

상추 중 Fluopyram, Isofetamid 및 Acequinocyl의 잔류특성 및 위해성 평가

이정훈^{1,2}, 송민호², 최은송^{1,2}, 이지호^{1,2*}

Residual Characteristics and Dietary Risk Assessment of Fluopyram, Isofetamid and Acequinocyl in *Lactuca sativa* L.

Jung-Hoon Lee ^{1,2}, Min-Ho Song ², Eun-Song Choi ^{1,2} and Ji-Ho Lee ^{1,2*}

¹강원대학교 농업생명과학대학 식품환경융합학과, ²강원대학교 농업생명과학대학 환경융합학부
바이오자원환경학전공

¹Department of Food Biotechnology and Environmental Science, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea, ²School of Natural Resources and Environmental Science, Department of Biological Environment, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

* Correspondence: micai@kangwon.ac.kr

<https://doi.org/10.5338/KJEA.2025.44.36>

Agric. Environ. Sci. 2025, 44, 365-376

Received: April 11, 2025

Revised: May 30, 2025

Accepted: September 3, 2025

Published: December 8, 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.

Abstract: This study evaluated the residual characteristics and dietary risks of three pesticides—fluopyram, isofetamid, and acequinocyl—applied to lettuce. Each pesticide was applied under identical greenhouse conditions, and lettuce samples were collected at 0, 1, 3, 5, and 7 days after application. LC–MS/MS analysis revealed biological half-lives of 5.29, 4.38, and 4.15 days for fluopyram, isofetamid, and acequinocyl, respectively. Fluopyram exhibited the longest persistence due to its high chemical stability, whereas isofetamid showed a shorter residue persistence owing to rapid formation of its metabolite GPTC. Acequinocyl dissipated faster because of its susceptibility to photodegradation. Based on the percentage of the acceptable daily intake (%ADI), fluopyram showed a dietary risk level of 155.2% on day 0, but the value decreased below 100% after 3 days. Isofetamid (47.6%) remained below the safety threshold, and acequinocyl showed less than 10% from day 1, indicating negligible risk. Three days after the final application, the risk from all pesticides was low, and consumer exposure was within a safely manageable level.

Keywords: Acequinocyl, Fluopyram, Isofetamid, *Lactuca sativa* L., Residual characteristics, Risk assessment

서론

농약은 농작물의 생산성과 품질을 유지하기 위한 필수적인 농자재로 사용되고 있으나, 작물체에 잔류할 경우 인체 건강과 환경에 잠재적 위해를 초래할 수 있다 [1]. 이에 따라 대부분의 국가에서 농약의 안전사용기준과 최대잔류허용기준(Maximum Residue Limit, MRL)을 설정하여 관리하고, 잔류특성에 대한 과학적 근거를 확보하기 위한 다양한 연구를 수행하고 있다[2]. 특히 상추(*Lactuca sativa* L.)는 국

내에서 재배면적과 소비량이 높은 대표적인 엽채류이며, 생식 형태로 섭취되는 경우가 많아 농약 잔류에 의한 인체 노출 가능성이 높다[3]. 따라서 상추에서의 농약 잔류소멸특성을 구명하는 것은 식품 안전성 확보뿐 아니라 환경 중 농약 거동을 이해하는데도 중요한 의미를 가진다.

널리 사용되는 살충·살균제인 fluopyram, isofetamid, acequinocyl은 작물 병해 방제에 높은 효율을 나타내며, 상추를 비롯한 채소 재배에 널리 적용되고 있다. Fluopyram과 isofetamid는 succinate dehydrogenase inhibitor (SDHI) 계열로 미토콘드리아 전자 전달계의 복합체 II를 저해하고, acequinocyl은 mitochondrial complex III inhibitor로 작용하여 에너지 대사를 차단한다[4-6]. 이들 약제는 구조적·화학적 특성이 상이하되, 모두 낮은 수용해도(fluopyram 16 mg/L, isofetamid 12 mg/L, acequinocyl 0.003 mg/L 수준)와 강한 지용성(log P 3.0-7.0)을 갖는다[7-9]. 이러한 특성은 엽면 부착성과 침투성을 높여 식물체 표면에서의 흡착 및 잔류성을 강화시키는 동시에, 생체 내 이동성과 대사속도를 지연시킬 가능성이 있다. 특히 지용성이 높은 약제는 큐티클 왁스층에 강하게 흡착되어 광분해 및 휘발에 의한 손실이 감소하고, 이에 따라 작물 중 농약의 잔류기간이 길어질 수 있다[10]. 반면 낮은 수용해도는 세포 내 침투 및 수계 이동을 제한하여 환경 중 확산 가능성은 낮지만 잔류 지속성은 높아지는 경향을 보인다[11]. 따라서 이러한 물리화학적 요인들은 약제별 반감기의 주요 결정인자로 작용하며, 식물체 내·외에서의 농약 거동을 이해하는데 필수적이다[12].

농약의 반감기는 제형, 살포방법, 온도, 일사량, 상대습도, 식물체의 생리적 특성 등 다양한 요인에 의해 복합적으로 결정된다. FAO/WHO 합동농약잔류전문가회의(Joint. FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, JMPR)에서는 동일 약제라 하더라도 작물의 형태 및 기후조건에 따라 반감기가 2-10일 수준으로 다양한 범위를 보일 수 있다고 보고한 바 있다[13]. 그러나 국내에서는 살충·살균제의 잔류특성에 대한 체계적인 비교 연구가 부족하며, 국내 재배환경에 적합한 실증적 데이터의 확보가 필요한 실정이다.

또한, 농약의 잔류량 변화만으로는 소비자 안전성을 충분히 설명할 수 없기 때문에, 식이노출 기반의 위해성평가가 병행되어야 한다[14]. 농약의 독성시험 결과를 토대로 설정된 1일섭취허용량(Acceptable Daily Intake, ADI, mg/kg-bw/day)을 기준으로, 실제 식품 섭취를 통해 예상되는 일일섭취추정량(Estimated Daily Intake, EDI, mg/kg-bw/day)을 산정하여 두 값을 비교함으로써 안전성을 평가한다[15]. FAO/WHO에 따르면, EDI를 ADI로 나눈 비율인 %ADI가 100% 미만일 경우 소비자 위해가 우려되지 않는 수준으로 평가된다[15-17]. 이와 같은 노출평가 방식은 특정 농약이 단기간에 다량 섭취되더라도 평균적·누적적 노출을 고려하여 안전성을 정량적으로 표현할 수 있다는 점에서, 최근 국내외 농약 위해성 평가의 핵심 근거로 활용되고 있다[17]. 작물 내 잔류량을 단순히 측정하는 것을 넘어, 인체 노출량과 비교한 안전성 검토는 필수적이며, 이는 PLS 제도 하에서 농약의 등록 및 관리 근거로 활용된다.

이에 본 연구는 상추에 처리된 fluopyram, isofetamid, acequinocyl의 잔류특성과 위해성을 종합적으로 평가하였다. 동일한 온실 환경에서 약제를 살포하고, 처리 후 0, 1, 3, 5, 7일 시료를 채취하여 LC-MS/MS로 정량분석하였다. 각 약제의 반감기를 산출하고, 물리화학적 특성과 반감기 간의 상관성을 규명하였으며, 분석된 잔류량을 기반으로 섭취량 대비 %ADI를 산출하여 소비자 위해성을 평가하였다. 본 연구 결과는 상추 재배환경에서의 농약 거동 이해와 더불어 향후 농약안전사용기준 설정의 과학적 근거로 활용될 수 있을 것이다.

결과 및 고찰

시험농약의 분석법 검증

연구대상 농약 및 그 대사체의 LC-MS 분석법은 0.01-0.4 mg/L 농도 범위에서 결정계수(r^2) 0.99 이상으로 직선성을 나타내었다(Table 1). 상추 시료 중 fluopyram의 평균 회수율은 0.1 mg/kg과 0.5 mg/kg 수준에서 각각 86.8-95.2%로 평가되었다. Isofetamid와 GPTC는 동일 농도 수준에서 회수율이 81.0-119.7% 범위로 확인되었다. 또한 acequinocyl과 acequinocyl-OH는 73.8-91.9%의 회수율을 보였다. 저장안정성 시험 결과, 모든 분석 대상 물질은 0.5 mg/kg 수준에서 73.8-99.5%의 회수율을 유지하며, 180-208일 간의 저장 기간 동안 안정한 상태를 나타냈다. 3회 반복 회수율 시험의 상대표준편차는 전 항목에서 10% 이하로 산출되어 반복성이 확보되었으며, 전체 분석법의 정확성, 반복성, 직선성은 모두 잔류성 시험의 기준 및 방법 검증 기준을 충족하였다(Table 1).

Table 1. Method validation of the pesticides in *Lactuca sativa* L. (linearity of calibration curves, recovery and storage stability)

Pesticide	Calibration equation ($y^a=ax^b+b$)	r^2	Fortification level (mg/kg)	Recovery (%)			RSD ^c (%)
				1	2	3	
Fluopyram	$y=677,615x-5,902.2$	0.9986	0.1	86.8	89.4	87.9	1.3
			0.5	92.7	92.2	95.2	1.6
			0.5 ^d	96.1	91.3	93.6	2.4
Isofetamid	$y=590,374x+29,848$	0.9908	0.1	116.5	119.7	114.1	2.8
			0.5	110.7	112.4	109.1	1.7
			0.5 ^d	96.1	99.5	98.7	1.8
GPTC	$y=121,941x-351.17$	0.9994	0.1	82.1	81.0	81.9	0.6
			0.5	82.7	85.0	82.3	1.5
			0.5 ^d	88.4	87.0	84.7	1.9
Acequinocyl	$y=304,307x-2,090.8$	0.9957	0.1	91.9	85.8	81.1	5.4
			0.5	80.7	82.4	75.0	3.9
			0.5 ^d	78.2	73.8	74.5	2.4
Acequinocyl-OH	$y=371,585x-4,174.9$	0.9960	0.1	75.9	82.1	73.8	4.3
			0.5	89.8	91.8	88.7	1.6
			0.5 ^d	92.9	79.4	85.5	6.8

^a) Peak area, ^b) Residual amount (ng), ^c) Relative standard deviation, ^d) Storage stability test

상추 중 acequinocyl, fluopyram 및 isofetamid의 잔류 특성

상추에 처리된 세 농약(fluopyram, isofetamid, acequinocyl)의 반감기($t_{1/2}$)는 fluopyram 5.29일, isofetamid 4.38일, acequinocyl 4.08일로 fluopyram이 가장 긴 반감기를 보였다(Table 2, Fig. 1). 세 농약 모두 동일한 제형(액상수화제)과 재배환경에서 시험이 수행된 점을 고려할 때, 약제 간 물리화학적 특성, 대사 경로, 광분해 감수성 등의 차이에 기인한 것으로 해석된다.

Table 2. Half-life of the pesticides in *Lactuca sativa* L. and dissipation equation

Pesticide	Dissipation equation ($y^a=ae^{-bx}$, x =half-life)	r^2	Half-life (day)
Fluopyram	$y = 22.838e^{-0.131x}$	0.9557	5.29
Isofetamid	$y=35.397e^{-0.158x}$	0.9235	4.38
Acequinocyl	$y=3.5922e^{-0.17x}$	0.9318	4.08

^a) Residual concentration of pesticides at time

Fluopyram은 분자 구조 내의 플루오르 치환기와 피리딘 고리 구조에 의해 우수한 화학적 안정성을 보이며, 이전 연구들에서도 긴 토양반감기(DT50>300일)와 안정성을 가진 것으로 보고되었다[18]. 또한 log P가 약 3.3 수준으로 지용성을 가지며, 수용해도가 낮기 때문에 엽면의 큐티클층에 강하게 흡착하여 다른 농약에 비해 분해가 지연되는 것으로 판단된다. JMPR(2014)에서는 상추를 포함한 엽채류에서 fluopyram의 반감기를 4-6일로 보고하였으며, 이는 본 연구 결과(5.29일)와 일치한다(Table 2). 본 실험의 살포 시 세 약제의 유효성분 농도를 희석배수(Fluopyram: 4000배, isofetamid: 1500배, acequinocyl: 1000배)를 고려하여 산출했을 때, 각각 100, 240, 150 mg/L로 fluopyram의 농도가 가장 낮은 것을 확인할 수 있다. 반면, 상추 0일차 잔류량을 비교해 봤을 때, 살포 시 유효성분 농도가 높은 acequinocyl에 비해 잔류량(24.52 mg/kg)이 큰 것을 알 수 있다(Table 3). 이와 같은 결과는 fluopyram이 광분해보다는 화학적 안정성과 엽면흡착에 따라 잔류성이 유지된다는 선행연구의 경향과도 일관된다[19]. Isofetamid는 fluopyram과 동일한 SDHI계 살균제이지만, 상대적으로 짧은 반감기(4.38일)를 보였다(Table 2). 이는 isofetamid가 식물체 내에서 빠르게 대사되어 글루코사이드가 결합된 GPTC로 전환되기 때문이다. 본 연구에서도 살포 직후 수확 시료에서

GPTC가 검출되어 살포 직후부터 대사가 활발히 일어남을 확인하였다. Acequinocyl은 fluopyram, isofetamid보다 낮은 초기 잔류농도에도 불구하고 반감기가 4.08일로 나타나 비교적 완전한 소실을 보였다(Table 3). Acequinocyl은 높은 지용성(log P = 6.2)과 낮은 수용해도(0.003 mg/L)로 인해 작물체 내에서 느리게 분해된다. 일반적으로 이와 같은 비극성 구조는 큐티클 왁스층과의 결합을 강화하여 체류성을 높이는 경향을 갖는다. 그러나 acequinocyl은 광분해에 민감하여 부분적으로 빠르게 산화되어 acequinocyl-OH로 전환된다. 수용액 상태에서 acequinocyl은 광분해 반감기는 약 6일이며, 작물체 내에서는 머위에서 3일, 들깨잎에서는 2.8-3.1일로 보고된 바가 있다[20]. 또한, fluopyram에 비해 acequinocyl이 높은 유효성분 농도(150 mg/L)를 가지지만 0일차 잔류량이 3.51 mg/kg으로 fluopyram (24.52 mg/kg)에 비해 낮은 것은 acequinocyl이 광분해에 민감하며 빠르게 산화되며 분해된다는 선행 연구와 일치한다(Table 3).

Table 3. Residual characteristics of pesticides

(A) Fluopyram

Pesticides	Fluopyram (mg/kg)				
Replicate	1	2	3	Mean	RSD ^{a)} (%)
0	24.23	25.44	23.88	24.52	3.3
1	20.57	18.35	18.36	19.09	6.7
3	14.29	13.74	14.11	14.05	2.0
5	13.79	12.07	12.77	12.88	6.7
7	9.02	9.66	8.38	9.02	7.1

^{a)} Relative standard deviation

(B) Isofetamid, GPTC

Pesticides	Isofetamid (mg/kg)				
Replicate	1	2	3	Mean	RSD ^{a)} (%)
0	40.72	41.27	40.66	40.88	0.8
1	27.85	27.80	27.20	27.62	1.3
3	19.93	22.79	19.79	20.84	8.1
5	13.46	14.49	13.80	13.92	3.8
7	13.59	13.22	13.43	13.41	1.4

Pesticides	GPTC (mg/kg)				
Replicate	1	2	3	Mean	RSD ^{a)} (%)
0	0.08	0.08	0.09	0.08	6.9
1	0.09	0.11	0.11	0.10	11.2
3	0.13	0.12	0.12	0.12	4.7
5	0.09	0.08	0.09	0.09	6.7
7	0.05	0.07	0.04	0.05	19.3

^{a)} Relative standard deviation

(C) Acequinocyl, Acequinocyl-OH

Pesticides	Acequinocyl (mg/kg)				
Replicate	1	2	3	Mean	RSD ^{a)} (%)
0	3.68	3.84	3.01	3.51	12.5
1	2.25	2.57	2.15	2.32	9.4
3	2.49	2.26	2.37	2.37	4.8
5	1.17	1.52	1.47	1.39	13.7
7	0.90	0.76	1.10	0.93	18.6

Pesticides	Acequinocyl-OH (mg/kg)				
Replicate	1	2	3	Mean	RSD ^{a)} (%)
0	0.12	0.09	0.09	0.10	17.3
1	0.26	0.32	0.3	0.29	10.4
3	0.13	0.13	0.11	0.12	9.4
5	0.19	0.25	0.25	0.23	15.1
7	0.06	0.08	0.06	0.07	17.3

^{a)} Relative standard deviation

Table 4. Total residual characteristics of isofetamid and acequinocyl

Pesticides	Isofetamida) (mg/kg)				
Replicate	1	2	3	Mean	RSD ^{d)} (%)
0	40.78	41.33	40.73	40.95	0.8
1	27.92	27.88	27.28	27.69	1.3
3	20.03	22.88	19.88	20.93	8.1
5	13.53	14.55	13.87	13.98	3.7
7	13.63	13.27	13.46	13.45	1.3

Pesticides	Acequinocylb) (mg/kg)				
Replicate	1	2	3	Mean	RSD ^{d)} (%)
0	3.81	3.94	3.11	3.62	12.4
1	2.53	2.92	2.47	2.64	9.1
3	2.63	2.40	2.49	2.51	4.6
5	1.38	1.79	1.74	1.64	13.8
7	0.96	0.85	1.16	0.99	16.2

^{a)} Total amount of isofetamid = amount of isofetamid + (GPTC $\times$ 1.08^{d)}), ^{b)} Total amount of acequinocyl = amount of acequinocyl + (acequinocyl-OH $\times$ 1.12^{e)}), ^{c)} Relative standard deviation, ^{d)} Molecular weight of isofetamid (387.8)/molecular weight of GPTC (357.79), ^{e)} Molecular weight of acequinocyl (384.51)/molecular weight of acequinocyl-OH (342.47).

살포 시 세 약제의 유효성분 농도를 희석배수(Fluopyram: 4000배, isofetamid: 1500배, acequinocyl: 1000배)를 고려하여 산출했을 때, 각각 100, 240, 150 mg/L로 fluopyram의 농도가 가장 낮지만 잔류성이 큰 것을 알 수 있다. 이는 acequinocyl이 지용성이 높은 화합물이지만 광분해와 산화로 인해 반감기가 fluopyram, isofetamid에 비해 상대적으로 짧게 나타난 것으로 해석된다.

식품의약품안전처에서 고시한 상추 중 acequinocyl의 국내 잔류허용기준(Maximum residue limits, MRLs)은 설정되어 있지 않지만, 엽채류(leaf vegetable)의 기준으로 15.0 mg/kg이 적용된다. Fluopyram과 isofetamid은 각각 2.0 mg/kg, 7.0 mg/kg로 고시되어있다. 상추의 isofetamid 36% 및 fluopyram 40% 제제의 안전사용기준은 설정되어 있지 않았으나, acequinocyl 15% 액상수화제의 경우 안전사용기준이 수확 3일 전로 본 실험에서 3일차 잔류량(2.51 mg/kg)이 MRL 이하로 나타나 상추에 대한 안전사용기준에 적합한 것으로 판단되었다. 본 연구에서 세 농약 모두 수확 7일 이후에는 잔류량이 초기 대비 70%가량 감소하였으나, acequinocyl을 제외한 두 농약은 MRLs 이하로 수준이 저감되지 않았다(Table 3, 4, Fig. 1). 이는 fluopyram 40%와 isofetamid 36% 액상수화제의 높은 초기잔류량이 원인으로 판단된다. 잔류량 예측 결과, isofetamid는 10.3일, fluopyram은 18.6일 경과 후 MRL 이하로 저감될 것으로 예측되었다(Fig. 1). 이는 수확 후 21일에는 MRLs 수준 이하로 저감된다는 것을 의미하며 이를 농약안전사용기준 설정에 활용할 수 있을 것이다.

위해성 평가

상추 시료의 0일차 잔류농도를 바탕으로 일일섭취허용량(ADI) 대비 섭취비율(%ADI)을 산정한 결과, fluopyram을 제외한 두 농약에서는 대부분의 시나리오에서 소비자 건강에 대한 위해 우려가 낮은 수준으로 평가되었다(Table 5).

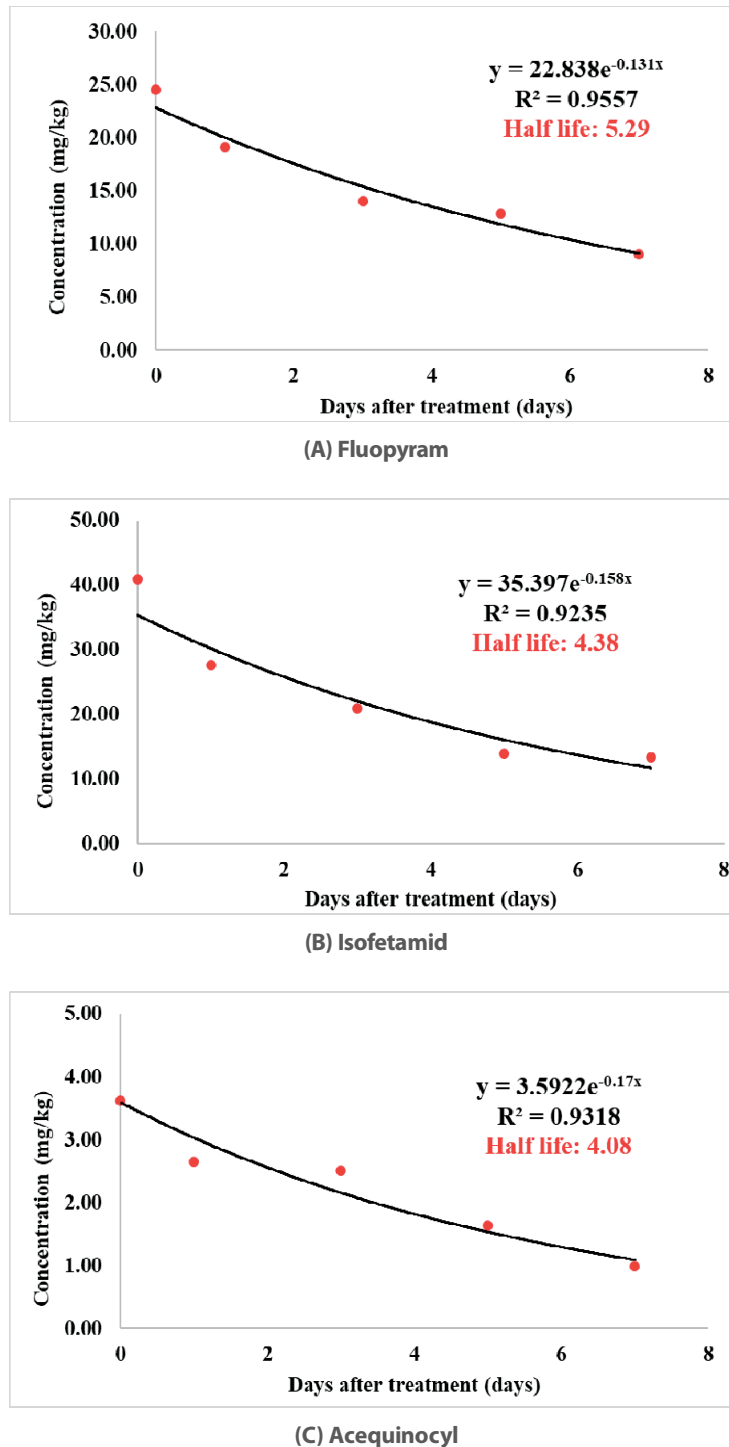


Fig. 1. Dissipation pattern of fluopyram (A), isofetamid (B) and acequinocyl (C)

국내 전체 인구집단을 기준으로 산출된 0일차 기준 %ADI는 Fluopyram 155.2%, isofetamid 47.6%, acequinocyl 10.5%로 나타났으며, fluopyram은 ADI를 초과하여 잠재적 위해 가능성이 있으나 살포 후 시간 경과에 따라 잔류량이 급격히 감소하였다, 나머지 두 농약은 모두 안전한 범위에 속하는 것으로 평가되었다[21]. 그러나 실제 농약 살포 직후 상추를 바로 섭취하는 경우는 드물기 때문에, 보다 현실적인 시나리오를 반영한 경과일별(0, 1, 3, 5, 7일차) 노출 평가가 필요하다. 이에 각 농약의 시간 경과에 따른 %ADI를 분석한 결과, fluopyram은 살포 직후(0일차)에는 155.2%로 ADI를 초과했으나, 살포 3일차 이후에는 100% 이하로

Table 5. %ADI of the time after final pesticide application

Pesticide	Day after treat	%ADI (%)
Fluopyram	0	155.2
	1	125.5
	3	87.2
	5	84.1
	7	58.9
Isofetamid	0	47.6
	1	32.1
	3	26.3
	5	16.7
	7	15.7
Acequinocyl	0	10.5
	1	7.8
	3	7.0
	5	4.8
	7	3.1

감소하였고, 7일차에는 58.9%로 떨어져 모두 안전기준 이하였다. 즉, fluopyram의 경우 살포 후 일정 시간이 경과함에 따라 잔류량이 급격히 감소하여, 3일 이후에는 인체 위해 우려가 낮은 것으로 판단된다. Isofetamid는 초기(0일차) %ADI가 47.6%으로 평가되어 이미 위해우려수준 이하를 유지하였으며, 이후 7일차 시료에서 15.7%까지 낮아져 노출 가능성이 더욱 감소하였다. Acequinocyl 역시 살포 직후 10.5%로 나타났으며, 1일차 시료부터 이미 10% 미만으로 떨어졌으며, 7일차 시료에서는 %ADI가 3.1%까지 감소하여, 소비자 노출 위험이 크게 우려되지 않는 범위에 도달하였다[22]. 세 농약 모두 시간 경과에 따라 %ADI가 점진적으로 감소하는 경향을 보였으며, 살포 후 3일이 지난 시점부터는 모든 성분의 %ADI가 100% 이하로 안정화되었다(Table 5). 이러한 결과는 상추 내 잔류농약의 광분해, 대사, 휘발 등에 의한 자연적 감소를 반영한 결과로 판단된다[23]. 따라서 최종 살포 후 3일 이상 경과한 상추의 섭취는 인체 위해 가능성이 낮은 것으로 판단된다. 더 나아가 실제 소비 과정에서는 수확 후 유통, 보관, 세척, 가공 등 여러 단계에서 잔류량이 추가로 감소하므로 최종 섭취시점의 위해성은 더 낮아질 것으로 예측된다.

재료 및 방법

시험약제 및 시약

본 연구에 사용된 시험약제는 fluopyram 40% 액상수화제, isofetamid 36% 액상수화제, acequinocyl 15% 액상수화제로, 각각 Bayer CropScience (Germany), Ishihara Sangyo Kaisha (Japan), 및 DuPont (Wilmington, USA)사에서 제조된 상용 제품을 사용하였다. 표준품은 acequinocyl ($\geq 99.0\%$, HPC, Germany), acequinocyl-OH ($\geq 99.8\%$, HPC, Germany), fluopyram ($\geq 98.0\%$, Wako, Japan), isofetamid (203.6 $\mu\text{g/mL}$, MRI), GPTC (219.3 $\mu\text{g/mL}$, MRI)을 구입하여 사용하였다. 분석용 용매로는 acetonitrile (HPLC grade, Sigma-Aldrich, St. Louis in USA) 및 formic acid (Honeywell, North Carolina in USA)를 사용하였으며, Ultrapure water는 Ultra 370 Series (영린기기, Korea)을 이용하여 제조하였다. 시료 추출에는 QuEChERS extraction kit (MgSO_4 4.0 g, NaCl 1.0 g, CTX, Korea)를 사용하였다.

포장시험

상추(*Lactuca sativa* L.)의 농약 잔류특성을 조사하기 위한 포장시험은 충청북도 음성군 대소면 미곡리에 위치한 시설하우스에서 수행하였다. 시험포장은 동일한 온실 환경 내에서 작물과 농약별로 구획을 설정하였으며, 각 처리구는 3반복으로 배치하였다. 3종의 약제 처리구는 무처리구를 포함하여 한 처리구 당 31.5 m^2 로 구획을 설정하였으며, 처리구 사이에 1 m의 완충구를

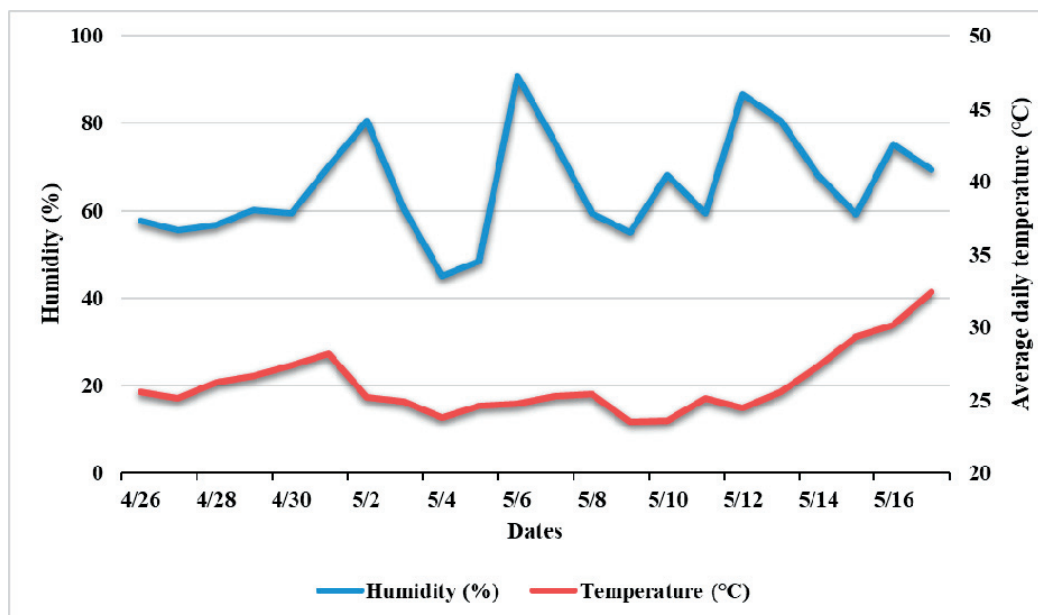


Fig. 2. Average daily temperature and humidity during the pesticide application (Eumseong-gun Chungcheongbuk-do, 2018.4.26.-5.17).

포함하였다. 살충제 acequinocyl 15% 액상수화제는 7일 간격으로 2회 살포하였고, 살균제 fluopyram 40% 및 isofetamid 36%는 7일 간격으로 총 3회 처리하였다. 살포 시 약제별 분사량은 10a 기준 fluopyram은 수확 14일 전 254 L, 수확 7일 전 222 L, 수확 당일 206.3 L, isofetamid는 각각 238.1 L, 238.1 L, 206.6 L, acequinocyl은 수확 7일 전 190.5 L, 수확 당일 206.3 L을 살포하였다. 모든 살포는 동일한 분사 압력과 입자 분포를 유지하기 위해 Maruyama사(MSB-1500Li, Japan)의 충전식 분무기를 사용하였다. 최종 약제 처리 후 시료는 경과일에 따라 0, 1, 3, 5, 7일차에 수확하였으며, 각 처리구에서 1 kg 이상의 시료를 채취하였다. 채취한 상추는 P.E. bag(polyethylene film bag)에 밀봉하여 실험실로 운반하였고, 변색 또는 손상된 잎을 제거한 후 드라이아이스와 함께 균질화기(Hanil, Korea)를 이용해 균질화하였다. 균질화된 시료는 분석 전까지 -20°C 에서 냉동 보관하였다. 시험기간 동안의 기상 조건은 Fig. 2에 제시하였으며, 평균 기온은 $23\text{--}32^{\circ}\text{C}$, 평균 상대습도는 45–90% 범위였다. 시험 중 비산 및 강우에 의한 오염이나 약제 손실을 방지하기 위해 포장 간격을 유지하고, 모든 처리구는 동일한 환경조건에서 관리되었다.

표준용액 및 검량선 작성

Fluopyram 및 acequinocyl과 그 대사물의 표준원액(Primary stock solution)은 표준품을 각각 0.02 g씩 정확히 취하여 acetonitrile 20 mL에 용해시켜 1,000 mg/L 농도로 조제하였다. Isofetamid ($203.6\text{ }\mu\text{g/mL}$) 및 GPTC ($219.3\text{ }\mu\text{g/mL}$)의 경우, 각각의 표준 용액 5 mL에 acetonitrile 5.180 mL, 5.965 mL를 각각 희석하여 100 mg/L의 표준원액을 조제하였다. 표준혼합용액은 모화합물과 대사물을 혼합하여 10 mg/L의 fluopyram, isofetamid 그리고 acequinocyl 표준혼합용액을 각각 조제하였다. 이들 용액을 각각 acetonitrile로 희석하여 0.01, 0.02, 0.1, 0.2, 0.4 mg/L의 농도를 갖는 working solution을 조제하였다. 시료의 매질 효과를 보정하기 위해 무처리 상추 시료를 동일한 전처리법으로 추출 후 추출액을 working solution과 1:1 (v/v)로 혼합하여 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 mg/L의 농도를 갖는 matrix-matched(매질보정) working solution을 조제하였다. 조제한 matrix-matched working solution을 LC-MS/MS로 분석해 표준검량선을 작성하였다.

분석법 검증

확립된 분석법의 신뢰성을 평가하기 위하여 정확성(accuracy), 반복성(repeatability), 직선성(linearity) 및 정량한계(limit of quantitation, LOQ)를 검증하였다[24]. 각 성분의 기기 정량한계(Instrumental Limit of Quantitation, ILOQ)는 chromatogram 상 분석물질 피크의 signal-to-noise ratio (S/N)이 10 이상인 농도로 설정하였으며, 주입량을 곱하여 최소 검출량(Minimum Detectable Amount, MDA)을 산출하였다. 이후 시료 무게(g), 기기 주입량(μL), 분석용액의 최종 부피(mL) 및 희석배수를 고려하

여 다음 식에 따라 분석법 정량한계(Method Limit of Quantitation, MLOQ)를 계산하였다[22].

$$MLOQ (mg/kg) = \frac{MDA (ng) \times \text{최종 부피} (mL) \times \text{희석배수}}{\text{기기 주입량} (\mu L) \times \text{시료 무게} (g)}$$

직선성은 matrix-matched 표준용액으로 작성한 검량선의 회귀식으로부터 도출된 결정계수(r^2) 값으로 평가하였다. 분석법의 정확성 및 반복성은 0.1, 0.5 mg/kg 수준에서 무처리 시료에 표준용액을 첨가한 후 회수율 시험을 수행하여, 3반복으로 분석한 회수율의 평균과 상대표준편차(Relative Standard Deviation, RSD)를 산출함으로써 검증하였다[25]. 저장안정성 평가를 위해 무처리 상추 10 g에 fluopyram, isofetamid와 acequinocyl 및 각 대사물(GPTC, acequinocyl-OH)의 표준용액 5 mg/L을 각각 1 mL씩 첨가하고 30분간 방치, 밀봉한 후 다음 분석 시까지 냉동보관하였다.

시료 추출 및 기기분석

Fluopyram, isofetamid 그리고 acequinocyl 모두 같은 방법으로 시료를 추출 및 정제하였다. 10.00 ± 0.01 g의 상추를 칭량하여 분석에 사용하였다. 시료에 acetonitrile 10 mL를 가한 후 1분간 진탕 추출하였다. 미리 준비한 얼음을 채워놓은 아이스박스에 추출한 시료를 꽂고, MgSO₄ 4.0 g, NaCl 1.0 g을 첨가한 후 1분간 진탕하였다. 4000 rpm에서 5분간 원심분리를 한 후 상등액 500 µL를 1.5 mL vial에 옮긴 후 acetonitrile 500 µL를 넣고 잘 섞어준 후 LC-MS/MS로 분석하였다. Fluopyram과 isofetamid는 Agilent사의 6460 triple Quadrupole LC-MS/MS를 사용하였으며, acequinocyl은 Shimadzu사의 LCMS-8050을 사용하여 분석하였다. 세 성분 모두 동일한 C18 컬럼(OSAKA SODA C18 3 µm, 2.1 x 100 mm)과 이동상 용매(A: 0.1% formic acid in water, B: 0.1% formic acid in acetonitrile), 유속(0.3 mL/min)를 사용해 분석했으며, Fluopyram과 isofetamid는 gradient elution으로 물질을 분리시켰으며, acequinocyl은 isocratic elution으로 분석하였다. 자세한 기기분석조건은 Table 6에 제시하였다.

상추 중 농약의 총 잔류량 산출

시료 중 농약의 잔류농도는 matrix-matched calibration curve를 기반으로 정량하였다. 한편, 대사체를 포함한 총 잔류량은 isofetamid 및 acequinocyl의 모화합물과 그 대사체인 GPTC 및 acequinocyl-OH의 검출량을 합산하여 각각 산출하였다. 이때 각 대사체의 잔류량은 모화합물과의 분자량 차이를 고려한 환산계수를 적용하여 보정한 후 최종적으로 총 잔류량을 계산하였다 (1,2)[26].

$$(1) \text{모화합물의 총 잔류량} \left(\frac{mg}{kg} \right) = \text{모화합물의 잔류량} + [\text{대사물의 잔류량} \times (2)]$$

$$(2) \text{대사물의 환산계수} = \frac{\text{모화합물의 분자량}}{\text{대사물의 분자량}}$$

잔류농약의 반감기 산출

잔류농약의 소실 곡선과 반감기 식은 다음과 같다(3,4)[27].

$$(3) \text{농약 살포 후 잔류 농약의 추정농도}(C(t)) = ae^{-bt} \quad (a = \text{초기 농도}(mg/kg), b = \text{분해 속도 상수}, t = \text{시간})$$

$$(4) \text{농약의 반감기} \left(t_{\frac{1}{2}} \right) = \frac{\ln 2}{b} \quad (b = \text{분해 속도 상수})$$

산출한 세 가지 농약성분의 소실 곡선과 반감기는 Table 3, Fig 2에 제시하였다.

Table 6. Analytical condition of HPLC-MS/MS for quantitative analysis**(A) Fluopyram**

Pesticides	Fluopyram		
Instrument	Agilent 6460 Triple Quadrupole LC-MS/MS		
Column	OSAKA SODA C18 3 μ m, 2.1 x 100 mm		
Ionization mode & type	Electrospray ionization (ESI), Positive (+)		
	A: 0.1% formic acid in water, B: 0.1% formic acid in acetonitrile		
Mobile phase	Time (min)	A(%)	B(%)
	0.0	90	10
	1.0	90	10
	4.0	5	95
	7.0	5	95
	7.5	90	10
	10.0	90	10
Retention time	5.9 min	6.2 min	4.8 min
Injection volume	5 μ L		
Quantifier (CE ^a)	396.9/172.9 (25)		
Qualifier (CE ^a)	396.9/207.9 (20)		

(B) Isofetamid and GPTC

Pesticides	Isofetamid	GPTC	
Instrument	Agilent 6460 Triple Quadrupole LC-MS/MS		
Column	OSAKA SODA C18 3μm, 2.1 x 100 mm		
Ionization mode & type	Electrospray ionization (ESI), Positive (+)		
	A: 0.1% formic acid in water, B: 0.1% formic acid in acetonitrile		
Mobile phase	Time (min)	A(%)	B(%)
	0.0	90	10
	1.0	90	10
	4.0	5	95
	7.0	5	95
	7.5	90	10
	10.0	90	10
Retention time	6.2 min	4.8 min	
Injection volume	5 μL		
Quantifier (CE ^a)	360.0/182.0 (10)	480.2/182.0 (10)	
Qualifier (CE ^a)	360.0/125.0 (30)	480.2/125.0 (40)	

^a) CE: Collision energy**(C) Acequinocyl and acequinocyl-OH**

Pesticides	Acequinocyl	Acequinocyl-OH	
Instrument	Shimadzu LCMS-8050 with UHPLC Nexera		
Column	OSAKA SODA C ₁₈ 3 μm, 2.1 x 100 mm		
Ionization mode & type	Electrospray ionization (ESI), Positive (+)		
	A: 0.1% formic acid in water, B: 0.1% formic acid in acetonitrile		
Mobile phase	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.0	10	90
	7.0	10	90
Retention time	5.5 min		4.9 min
Injection volume	2 μL		
Quantifier (CE ^a)	343.1/189.2 (-22)		343.1/115.2 (-50)
Qualifier (CE ^a)	343.1/189.2 (-22)		343.1/115.2 (-50)

^a) CE: Collision energy

위해성 평가

3가지 농약의 위해성 평가는 일일섭취허용량(ADI, Acceptable Daily Intake) 대비 일일섭취추정량(EDI, Estimated Daily Intake)의 비율로 산출된 %ADI를 이용하였다. ADI는 식품의 농약 잔류허용기준(식품의약품안전처, 2023)을 이용하였으며, EDI는 아래 식에 따라 계산하였다(5). %ADI 산출에 필요한 식이섭취량은 국민영양통계의 상추 섭취량 데이터를 이용하였다. 위해성 평가는 국내 전체 인구의 체중 kg당 섭취량 데이터를 이용하였으며 일일 섭취 허용량은 농약의 일일섭취허용량을 참고하였다. %ADI는 아래의 식을 이용하여 산출하였다(6)[22].

$$(5) \text{ EDI (mg/kgbw} \cdot \text{day)} = \frac{C_r \times F}{BW}$$

(= 평균 잔류량(mg/kg), F = 1일 평균 섭취량(g/day), BW = 체중(kg))

$$(6) \% \text{ADI} = \frac{\text{EDI(mg/kgbw} \cdot \text{day)}}{\text{ADI(mg/kgbw} \cdot \text{day)}} \times 100$$

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

Author Contributions: J-H.L. conceived and designed the research, J-H.L. collected the data, J-H.L. contributed data or analysis tools, J-H.L. revised the manuscript, J-H.L., M-H.S. and E-S.C. performed the analysis, J-H.L. wrote the first manuscript.

Notes: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments: This work was supported by Rural Development Administration (RDA), Republic of Korea (Project No. RS-2024-00396930).

Additional Information:

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.5338/KJEA.2025.44.36>

Correspondence and requests for materials should be addressed to Ji-Ho Lee.

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. Hamilton D, Crossley S (2004) Pesticide Residues in Food and Drinking Water: Human Exposure and Risks, p. 3, John Wiley & Sons, U.S.A.
2. MacLachlan DJ, Hamilton D (2010) Estimation methods for maximum residue limits for pesticides. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 58(2), 208-218. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.05.012>.
3. Park DW, Kim KG, Choi EA, Kang GR, Kim TS, Yang YS, Moon SJ, Ha DR, Kim ES, et al. (2016) Pesticide residues in leafy vegetables, stalk and stem vegetables from South Korea: A long-term study on safety and health risk assessment. Food Additives & Contaminants: Part A, 33(1), 105-118. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1108524>.
4. Vargas-Pérez M, Egea González FJ, Garrido Frenich A (2020) Dissipation and residue determination of fluopyram and its metabolites in greenhouse crops. Journal of the Science of Food and Agriculture, 100(13), 4826-4833. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10542>.
5. Brancato A, Brocca D, Carrasco Cabrera L, De Lentdecker C, Ferreira L, Greco L, Jarrah S, Kardassi D, Leuschner R (2018) Modification of the existing maximum residue levels for isofetamid in tomatoes, peppers, aubergines, okra and cucurbits with edible peel. EFSA Journal, 16(5), e05264. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5264>.

6. Na TW, Rahman MM, Park JH, Yang A, Park KH, Abd El-Aty A, Shim JH (2012) Residual pattern of acequinocyl and hydroxyacequinocyl in perilla leaf grown under greenhouse conditions using ultra performance liquid chromatography-photo diode array detector with tandem mass confirmation. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 55(5), 657-662. <https://doi.org/10.1007/s13765-012-2101-x>.
7. Ying X, Cheng H, Hao X, Gao H, Zhang M, Wu L, Wang H (2015) Determination of acequinocyl and hydroxyacequinocyl residues in food by ultra-high performance liquid chromatography separation and tandem mass spectrometric detection. *Food Analytical Methods*, 8(3), 578-585. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9932-5>.
8. Rathod PH, Shah PG, Parmar KD, Kalasariya RL(2022) The fate of fluopyram in the soil–water–plant ecosystem: A review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 260(1), 1. <https://doi.org/10.1007/s44169-021-00001-7>.
9. Food Safety Commission of Japan (2017) Isofetamid (Pesticides). *Food Safety*, 5(1), 31-33. <https://doi.org/10.14252/foodsafetyfscj.2016031s>.
10. Lichiheb N, Personne E, Bedos C, Van den Berg F, Barriuso E (2016) Implementation of the effects of physicochemical properties on the foliar penetration of pesticides and its potential for estimating pesticide volatilization from plants. *Science of the Total Environment*, 550, 1022-1031. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.058>.
11. Farha W, Abd El-Aty Aá, Rahman MM, Shin HC, Shim JH (2016) An overview on common aspects influencing the dissipation pattern of pesticides: A review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(12), 693. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5709-1>.
12. Fantke P, Juraske R, (2013) Variability of pesticide dissipation half-lives in plants. *Environmental Science & Technology*, 47(8), 3548-3562. <https://doi.org/10.1021/es303525x>.
13. Hamilton D, Yoshida M, Wolterink G, Solecki R (2017) Food safety assessment of pesticide residues. pp. 113-196, World Scientific, Singapore. https://doi.org/10.1142/9781786341693_0004.
14. Subasekaran R, Kaithamalai B, Angappan S, Thiruvengkatasamy S, Narayanan M (2023) Dissipation kinetics, decontamination, consumer risk assessment and monitoring of flonicamid and imidacloprid residues in capsicum under open field and polyhouse condition. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(54), 116039-116051. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-30522-8>.
15. Goumenou M, Tsatsakis A (2019) Proposing new approaches for the risk characterisation of single chemicals and chemical mixtures: The source related hazard quotient (HQS) and hazard index (HIS) and the adversity specific hazard index (HIA). *Toxicology Reports*, 6, 632-636. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.06.010>.
16. Chun OK, Kang HG (2003) Estimation of risks of pesticide exposure, by food intake, to Koreans. *Food and Chemical Toxicology*, 41(8), 1063-1076. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(03\)00044-9](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(03)00044-9).
17. Alla SAG, Loutfy NM, Shendy AH, Ahmed MT(2015) Hazard index, a tool for a long term risk assessment of pesticide residues in some commodities, a pilot study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 985-991. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.016>.
18. European Food Safety Authority (EFSA), Anastassiadou M, Bernasconi G, Brancato A, Carrasco Cabrera L, Greco L, Jarrah S, Kazocina A, Leuschner R, et al. (2020). Review of the existing maximum residue levels for fluopyram according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. *EFSA Journal*, 18(4), e06059. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6059>.
19. Kim LS, Choi GH, Noh HH, Kim TG, Choi DS, Kyung KS, Ro JH (2023) Persistence and degradation pattern of acequinocyl and its metabolite, hydroxyl-acequinocyl and fenpyroximate in butterburs (*Petasites japonicus* Max.). *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 42(2), 93-103. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2023.42.2.12>.
20. Heo SH, Kim SJ, Kim JW, Jeon KW, Kim CS, Boo KH (2025) Residual characteristics and risk assessments of acetamiprid, afdopyropen and emamectin benzoate in noni. *Agricultural and Environmental Sciences*, 44, 121-130. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2025.44.13>.
21. Fenner K, Canonica S, Wackett LP, Elsner M (2013) Evaluating pesticide degradation in the environment: Blind spots and emerging opportunities. *Science*, 341(6147), 752-758. <https://doi.org/10.1126/science.1236281>.
22. Lee JH, Song MH, Yu JW, Ahn HY, Shin JW, Park GW, Keum YS, Lee JH (2025). A comprehensive analysis of simultaneous chlorate and perchlorate detection methods in a wide range of food products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 107937. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2025.107937>.
23. Tabb DL, Vega-Montoto L, Rudnick PA, Variyath AM, Ham A-JL, Bunk DM, Kilpatrick LE, Billheimer DD, Blackman RK, et al. (2010) Repeatability and reproducibility in proteomic identifications by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Proteome Research*, 9(2), 761-776. <https://doi.org/10.1021/pr9006365>.
24. Lee JH, Song MH, Yu JW, Ahn HY, Lee JH (2024) Residual characteristics and risk assessment of insecticides flonicamid and sulfoxaflor in dwarf goat's beard. *The Korean Journal of Pesticide Science*, 28(3), 205-214. <https://doi.org/10.7585/kjps.2024.28.3.205>.
25. Galletta G, Egana E, Gemelli F, Maeso D, Casco N, Conde P, Nunez S (2010) Pesticide dissipation curves in peach, pear and tomato crops in Uruguay. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 46(1), 35-40. <https://doi.org/10.1080/03601234.2010.515504>.