

LC-MS/MS를 활용한 현미와 볏짚 중 azoxystrobin과 difenoconazole 분석법 확립 및 살포량과 전착제에 따른 무인항공방제 효과 비교

백재운¹, 은혜란¹, 김수민¹, 이예진¹, 이윤희¹, 이호승², 민이기², 신용호^{1*}

Analysis of Azoxystrobin and Difenoconazole in Brown Rice and Dried Straw Using LC-MS/MS, and Comparison of Efficacy by UAV Spraying with Different Dosages and Adjuvants

Jae-Woon Baek ¹, Hye-Ran Eun ¹, Su-Min Kim ¹, Ye-Jin Lee ¹, Yoon-Hee Lee ¹, Ho-Seung Lee ²,
Yi-Gi Min ² and Yongho Shin ^{1*}

¹동아대학교 생명자원과학대학 응용생명과학과, ²한국농업무인항공협회

¹Department of Applied Bioscience, Dong-A University, Busan 49315, Korea, ²Korea Agricultural Unmanned Aerial Vehicle Association (KAUAVA), Suwon 16432, Korea

* Correspondence: yong6103@dau.ac.kr

<https://doi.org/10.5338/KJEA.2024.43.35>

Korean J. Environ. Agric. 2024, 43, 365-375

Received: November 29, 2024

Revised: December 9, 2024

Accepted: December 11, 2024

Published: December 19, 2024

Online ISSN: 2233-4173

Print ISSN: 1225-3537



Check for
updates

© The Korean Society of Environmental Agriculture 2024



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 aimed to evaluate residue levels and the efficacy of UAV-based fungicide application using different dosages and adjuvants to control of rice brown leaf spot (*Cochliobolus miyabeanus*). Method for analyzing azoxystrobin and difenoconazole residues in brown rice and dried straw were established using LC-MS/MS, achieving method limit of quantitation (MLOQ) values of 0.005 mg/kg for brown rice and 0.008 mg/kg for straw. Recovery rates ranged from 73.7 to 110.3%, meeting the required accuracy standards. Brown rice residue levels were below the MLOQ for all treatment groups. The application of 75% dosage with Adj. II resulted increased residue levels (mean; 0.27-0.53 mg/kg) in straw compared to the same dosage without adjuvants (0.23-0.27 mg/kg), showing residue levels comparable to those observed at 100% dosage (0.34-0.39 mg/kg). Disease control efficacy, evaluated by the infested leaf area, improved by 32.9% with the use of Adj. II at 75% dosage compared to 100% dosage without adjuvant. These findings suggest that optimized UAV spraying strategies, including the use of specific adjuvants, can effectively control rice brown leaf spot while reducing fungicide usage.

Keywords: Adjuvant, Disease control efficacy, Fungicide, Residue analysis, Rice brown leaf spot, UAV spraying

서 론

깨씨무늬병은 진균류인 *Cochliobolus miyabeanus*에 의해 발병하며, 포자가 수도 작에 감염하여 군사는 잎, 이삭 등에 담갈색의 작은 반점을 형성하고 나아가 괴사

성 병증을 초래하는데, 이는 쌀의 수확량 감소와 품질 저하로 이어져 상당한 농업 경제적 손실을 초래할 수 있다[1,2]. 이러한 진균병 방제를 위해 수도작에 대한 주기적인 살균제 처리는 필수적이다. 최근에는 농가인구의 감소 및 고령화에 따른 농약 살포의 어려움을 해결하고자, 무인항공기(unmanned aerial vehicle; UAV)를 활용한 병해충 방제가 주목받고 있다[3]. 특히 수도작 재배 지에서의 무인항공기의 장점은 더욱 부각되는데, 담수된 논과 같이 포장 내부로의 접근이 어려운 지역도 비행을 통해 쉽게 접근하여 살포가 가능하며, 넓은 면적도 신속하게 처리할 수 있으며, 노동력과 비용을 대폭 절감하고 살포액 제조에 필요한 물 사용을 수십~수백 배 절감할 수 있는 등의 상당한 이점을 제공한다. 이러한 무인항공방제 산업은 현재 우리나라를 포함하여 중국, 일본 등 동아시아에서 급격히 성장하고 있다[4].

무인항공방제 시 작물체와 비행체의 살포 노즐과의 거리 차로 인한 비산(off-target drift)이 발생할 수 있어 유의할 필요가 있다. 높은 비산률은 화학물질의 낭비를 초래할 뿐만 아니라 주변 생태계에 대한 위험을 높인다. 특히 무인항공기의 적재량 한계로 인하여 살포액량이 제한되어 관행살포 대비 고농도 약제 살포가 불가피한데, 농약 비산이 적절히 관리되지 않으면 고농도 유효성분으로 인한 생태 독성문제가 발생할 수 있으며, 그 결과 환경오염 및 비표적 생물에 대한 위험을 초래할 수 있다[5]. 이러한 문제를 해결하기 위한 방법 중 하나로 전착제(adjuvants) 사용이 있다[6]. 전착제는 노즐로부터 분사된 살포액의 점적(droplet) 크기를 증가시키거나 표면장력을 조절하여 살포 중 비산량을 줄여 목표 지점에서의 살포 효율을 향상시킬 수 있다[7-9]. 이는 농약 유효성분 사용량 저감 전략에도 활용될 수 있어, 더 적은 약량으로 약효를 유지시키거나 더 향상시킬 수 있도록 도움을 준다[10].

깨씨무늬병을 방제할 수 있는 농약 유효성분으로는 azoxystrobin, difenoconazole 등이 있다. Azoxystrobin [methyl (E)-2-(2-((6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl)oxy)phenyl)-3-methoxyacrylate]은 strobilurin계 살균제로(Fig. 1a), 미토콘드리아 호흡 복합체 III (complex III)의 ubiquinol 산화 부위(Qo)에서 cytochrome b와 cytochrome c1 간 전자 전달을 차단하여 에너지 생성 기작을 억제하여 병원균의 성장을 저해한다[11]. Difenoconazole [1-((2-(2-chloro-4-(4-chlorophenoxy)phenyl)-4-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)methyl)-1H-1,2,4-triazole]은 triazole계 살균제로(Fig. 1b), 곰팡이의 스테롤 14 α -탈메틸화효소를 억제하여 에르고스테롤(ergosterol) 생합성을 저해하는 살균 기작을 가진다[12]. 이들은 각각의 고유한 작용기작을 통해 깨씨무늬병에 탁월한 약효를 발휘한다[13,14]. 특히 서로 다른 작용기작을 가진 두 농약을 병용할 경우, 단계 사용에서 얻는 방제효과 뿐만 아니라 병원균의 저항성 관리에도 기여하여 더 지속적이고 안정적인 방제효과를 기대할 수 있다[15]. 실제로 무인항공방제 연구 중 하나로 브라질에서 고정익항공기를 이용하여 수도작 포장에 azoxystrobin과 difenoconazole 합제를 살포할 때 노즐 종류에 따른 초기부착량을 평가한 사례가 있다[16]. 그러나 우리나라에 주로 활용하는 무인항공기 중 하나인 멀티콥터(드론)에서 해당 약제에 대한 잔류 평가나 약효 평가는 수행한 바 없으며, 무인항공방제 시 전착제의 효과에 대한 연구도 미흡한 실정이다.

본 연구의 목적은 무인항공기인 멀티콥터를 활용하여 깨씨무늬병에 대한 효과적인 무인항공방제법을 확인하기 위해 설계된

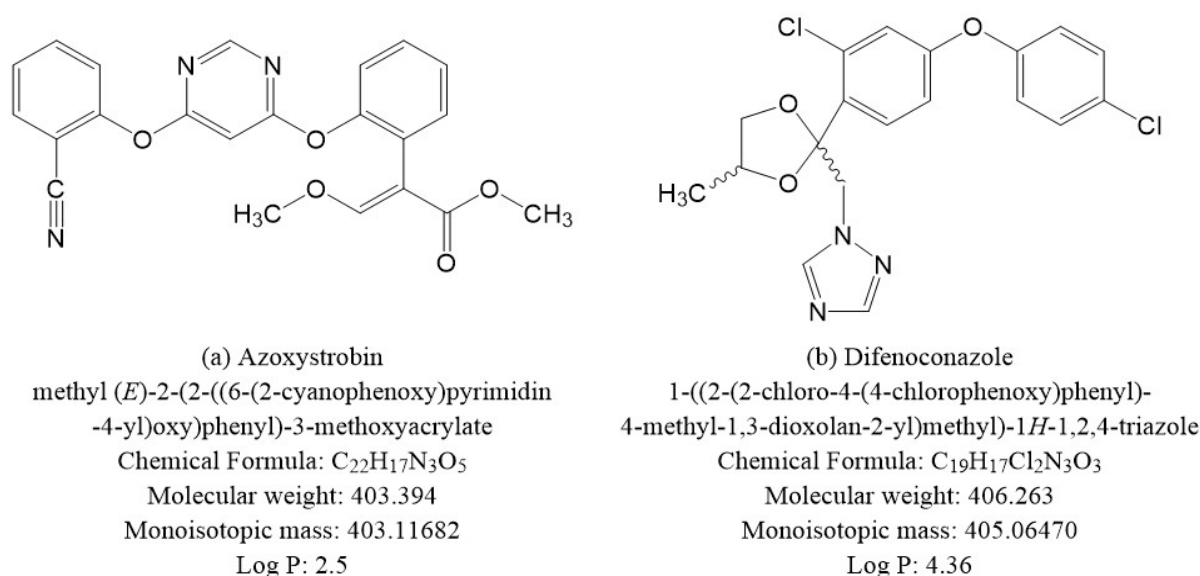


Fig. 1. Systematic names and physicochemical properties of (a) azoxystrobin and (b) difenoconazole.

다양한 살포량과 전착제 조건에서 azoxystrobin과 difenoconazole 합제의 잔류량과 방제효과를 비교한 것이다. 신뢰성 있는 잔류량 평가를 위해 LC-MS/MS 기기를 이용하여 현미와 벧짚 중 살균제 분석법을 확립하고, 그 유효성을 평가하였다. 잔류량 및 약효 평가를 통해 무인항공방제 시 최적 조건을 도출하여 전착제 첨가에 따른 농약 효율성 향상 및 화학물질의 저감화 방안을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 재료

Azoxystrobin (순도 99.3%)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, difenoconazole (99.3%)은 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany)에서 구입하였다. Formic acid (>99%)와 methanol (LC-MS급)은 Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA)에서 구입하였다. Water (LC-MS급)는 Merck (Darmstadt, Germany)에서 구입하였으며, HPLC급 acetonitrile (MeCN)과 ethyl acetate (EtOAc)은 Samchun Chemical (Seoul, Korea) 및 Duksan Pure Chemical (Seoul, Korea)에서 각각 구입하였다. QuEChERS 염 중 magnesium sulfate (MgSO_4)는 Daejung Chemical & Metals (Siheung, Korea)에서 구입하였으며, sodium chloride (NaCl)은 Junsei Chemical (Tokyo, Japan)에서 구입하였다. Dispersive solid-phase extraction (dSPE; primary secondary amine; PSA 25 mg, octadecyl; C_{18} 25 mg 및 MgSO_4 150 mg) tube는 Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA)에서 구입하였다. 농약 제품은 아미스타탑 17.4% azoxystrobin 및 11.3% difenoconazole 액상수화제(suspension concentrate; SC)로 Syngenta Korea (Seoul, Korea)에서 구입하였다. 전착제 Leytron (Adj. I) 및 Cares (Adj. II)는 Kyungnong (Daegu, Korea) 및 Dongbangagro (Seoul, Korea)에서 각각 구입하였다.

개별 표준용액 및 매질보정 표준용액(matrix-matched standard solution) 제조

Azoxystrobin 및 difenoconazole 표준품을 acetonitrile로 용해하여 각각 1,000 mg/L 표준원액이 되도록 제조하였다. 표준원액은 혼합하여 개별 농도가 200 mg/L인 표준용액이 되도록 제조하였으며, 이후 acetonitrile로 단계적 희석하여 0.002~50 mg/L (2~50,000 ng/mL) 범위의 표준용액을 추가 제조하여 회수율 시료 제조 및 검량선 작성용 등에 활용하였다. 매질보정 표준용액을 제조하기 위해 농약 무처리구 시료 추출물 0.3 mL과 표준용액 0.3 mL를 혼합하여 1:1 (v/v) 비율이 되도록 하여 현미 시료 중 1.25~250 ng/mL 및 벧짚 시료 중 1.0~250 ng/mL가 되도록 하였다. 모든 용액은 분석 전까지 -20°C에서 보관하였다.

수도작 내 처리구 설정 및 UAV를 활용한 농약 살포

처리구 설정을 위한 시험 장소는 충청남도 서천군 서부면으로 선정하였으며, 품종은 친들벼를 사용하였다. 농약안전사용기준에 따라 처리구 G1은 권장량(50 mL/10 a)을 기준으로 8배 희석(100% dosage)하여 항공살포하였으며, G2~G4는 G1 살포약량의 75% dosage가 되도록 10.7배 희석하였다. G1과 G2는 전착제를 첨가하지 않아 전착제 처리의 유무와 약량 차이에 따른 약효 변화를 비교하기 위한 기초 처리구로 설정하였다. 반면 G3에는 Leytron을 살포액 중 0.5% 함량이 되도록 추가 처리하였으며 G4에는 Cares를 2% 함량이 되도록 처리하여, 전착제 유형에 따른 효과를 비교할 수 있도록 하였다. 모든 전착제는 제품의 권장 사용량을 준수하였다. 교차오염을 방지하기 위해 각 처리구 사이 3 m의 완충 구역을 설정하였다. 처리구당 전체 처리 면적은 80 m² (4~20 m)로, 이를 3등분하여 처리구당 반복구를 3개씩 두었다.

멀티콧터(SG-10S, Hankooksamgong, Seoul, Korea)를 활용한 무인항공살포는 깨씨무늬병 발병시기에 맞추어 8월에 3회 살포하였다. 살포 조건은 외부 풍속이 2 m/s 이하인 조건에서 고도 3 m, 비행속도 11 km/h로 설정하였고, 노즐은 XR-11001 (Spraying Systems Co., Glendale Heights, IL, USA)로 압력 40 psi에서 작동하였으며 방출 속도는 13 m/s였다.

깨씨무늬병 방제 효과(약효) 확인 방법

처리구에 따른 깨씨무늬병 방제 효과 평가는 농촌진흥청 '농약 및 원제의 등록기준'의 '약효 시험기준과 방법'을 참고하여 수행하였다(농촌진흥청, 2023). 처리구별로 작물체 30주에서 잎 전체 면적 중 발병 비율을 확인하였으며, 이에 따른 병반면적률은

다음과 같이 분류하였다: 병반 없음(0.0%); 하위 잎에 큰 병반 1개와 작은 병반 1~2개 또는 작은 병반 10개 이내(0.2%); 하위 잎에 큰 병반 2~3개 또는 약 20개의 작은 병반이 산재(0.5%); 큰 병반 4~5개와 주변에 작은 병반 산재 또는 30~40개의 작은 병반이 산재(1.0%); 하위 잎 1~2장이 거의 병반으로 덮이거나 하위 잎에 주로 큰 병반 10~15개가 산재(2.0%); 하위 잎 2~3장이 부분적으로 시들고 큰 병반만 30~40개 산재(5.0%); 하위 잎 2~3장이 완전히 시들고 단일 잎에 큰 병반 5~6개가 산재(11.0%); 상위 잎을 포함하여 7~8장의 잎이 완전히 또는 부분적으로 시들고 각 잎에 약 10개의 병반이 균등하게 산재(25.0%).

통계분석 프로그램은 MYSTAT (version 0.72, DOSBox platform; Systat Software Inc., San Jose, CA, USA)을 사용하였으며, 처리구 간 병반면적률 평균의 유의성을 확인하기 위해 던컨의 다중 범위 검정(Duncan's Multiple Range Test; DMRT)을 사용하였다. 분산분석(analysis of variance; ANOVA) 결과에 따라 유의도가 확인될 경우, DMRT는 처리구 간 병반면적률의 평균을 비교하기 위한 사후 검정(post-hoc test)으로 적용되었다.

시료 수거 및 전처리

시료는 수도작 수확기인 10월(최종 살포일로부터 51일 후)에 처리구별 현미와 벧짚을 3반복씩 수거한 후, 8일 동안 건조하였다. 현미는 추가적으로 탈곡 및 도정작업을 관행적인 방법으로 수행하였다. 모든 시료는 드라이아이스를 사용하여 마쇄한 후, 분석 전까지 -20°C에서 농약 저장안정성 시료와 함께 냉동 시설에 보관하였다. 시료 전처리를 위해 현미 5 g (벧짚 3 g)을 7 mL (벧짚 12 mL) water로 습윤화(15분)한 후, 0.1% formic acid 함유 MeCN/EtOAc (1:1, v/v) 10 mL (벧짚의 경우, MeCN/EtOAc (1:1, v/v) 12 mL)를 넣고 Geno/Grinder (1600 Mini-G, SPEX SamplePrep, Metuchen, NJ, USA)를 사용하여 1,300 rpm에서 1분간 진탕하였다. 이후 QuEChERS 염(MgSO₄ 4 g, NaCl 1 g)을 넣은 후 1,300 rpm에서 1분간 추가진탕한 다음, 원심분리기(1248, Labogene, Lillerød, Denmark)를 사용하여 3,500 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 상등액 1 mL를 dSPE (PSA 25 mg, C₁₈ 25 mg, MgSO₄ 150 mg)로 처리한 후 마이크로원심분리기(M15R, Hanil Scientific, Gimpo, Korea)를 사용하여 13,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 매질보정을 위해 상등액 0.3 mL를 MeCN 0.3 mL와 혼합하였으며, 최종추출물 1 µL를 취하여 LC-MS/MS로 분석하였다.

LC-MS/MS 기기 조건

농약 분석은 Shimadzu (Kyoto, Japan) Nexera 액체 크로마토그래프(liquid chromatograph)와 연결된 LCMS-8040 삼중-사중극자 질량분석기(triple quadrupole mass spectrometer)를 사용하여 수행하였다. 시료 매질로부터 분석 물질을 분리하기 위해 Cadenza CD-C₁₈ column (3 µm, 2 × 150 mm; Imtakt Corp., Kyoto, Japan)을 사용하였다. 이동상 A는 0.1% formic acid 함유 water로 구성되었으며, 이동상 B는 0.1% formic acid 함유 methanol로 구성되었다. 이동상 B의 농도구배는 90%로 시작하여 0.2분 동안 유지한 후, 3.3분 동안 93%까지 상승하였다. 이후 0.1분 동안 98%까지 증가한 뒤 2.4분 동안 유지하여 column 내 불순물을 제거하였다. 후속 시료 주입을 위해 이동상은 0.1분 동안 98%에서 다시 90%로 조정 후 3.4분간 유지하였다. Column oven 온도는 40°C로 유지하였으며, 유속(flow rate)은 0.2 mL/min, 주입량(injection volume)은 1 µL로 설정하였다.

탠덤 질량분석기(tandem mass spectrometer)는 positive electrospray ionization (ESI+)를 사용하였다. Collision-induced dissociation (CID)용 가스로 아르곤(Ar, 순도 99.999%)을 사용하였다. Ion source 내 desolvation line (DL)과 heat block의 온도는 각각 250°C와 400°C로 설정하였다. Drying gas와 nebulizing gas의 유속은 각각 15 L/min 및 3 L/min이었다. 데이터 분석은 Shimadzu LabSolutions 소프트웨어(version 5.60 SP2)를 사용하여 수행하였다. Azoxystrobin과 difenoconazole의 multiple reaction monitoring (MRM) transition 조건 및 머무름 시간(retention time; t_R)은 Table 1과 같다.

Table 1. Multiple reaction monitoring (MRM) transitions and retention times (t_R) for azoxystrobin and difenoconazole in LC-MS/MS

Pesticide	t _R	Monoisotopic mass	Ionization type	MRM transition	
				Precursor ion > Product ion (CE, V)	
				Quantifier	Qualifier
Azoxystrobin	1.86	403.1	[M+H] ⁺	404.4 > 344.4 (21)	404.4 > 183.3 (40)
Difenoconazole	2.73	405.1	[M+H] ⁺	406.3 > 251.2 (27)	406.3 > 337.3 (17)

분석법 검증

확립된 분석법의 분석법상 정량한계(Method Limit of quantitation; MLOQ)는 매질보정 표준용액 중 signal-to-noise ratio (S/N)가 10을 초과하는 최소 농도로 결정되었다. 검량선의 직선성은 1차 회귀 분석에서 도출된 상관계수(r^2)를 이용해 평가하였다. 회수율 시험($n=3$)을 수행하기 위해, 시료에 개별 표준용액을 처리하여 0.01, 0.1, 5 mg/kg이 되도록 한 후 전처리하여 분석한 농약의 크로마토그램상의 signal (area)을 확인하여 회수율을 도출하였다. 매질효과(matrix effect, ME)는 매질보정 표준용액의 검량선 기울기(a)를 용매 표준용액의 기울기(b)와 비교하여 정량화되었다. 이 값은 백분율(%ME)로 환산할 수 있으며, 그 수식 (1)은 다음과 같다.

$$\%ME = (a - b) \div b \times 100 \quad (1)$$

결과 및 고찰

확립된 분석법의 유효성 검증

전처리법은 개선된 QuEChERS법으로 MeCN과 EtOAc를 1:1 비율로 혼합한 용매로 추출하고 PSA 및 C_{18} 혼합 sorbent를 활용한 dSPE로 정제하는 과정이 포함되어, 현미와 벧짚 중 ferimzone과 tricyclazole에 대해 우수한 회수율과 최소의 매질효과 (ME)를 보인 바 있다[17-19]. Azoxystrobin과 difenoconazole은 각각 log P 2.5와 4.36의 다소 비극성인 유기화합물(Fig. 1)로, 해당 전처리법을 적용할 수 있을 것으로 판단하였다[20]. 확립된 분석법의 유효성 검증을 위해 MLOQ, 검량선 농도 범위 및 직선성, ME 및 회수율을 확인하였다.

분석대상 농약의 MLOQ를 확인하는 방법에는 검량선의 기울기와 MLOQ 예상 농도의 signal의 표준편차를 이용하여 계산하는 방식과, 크로마토그램상의 피크(peak)에 대한 S/N로 결정하는 방식이 있다[21]. 본 연구에서는 후자의 방법을 이용, S/N이 10 이상을 만족하는 최소 매질보정 표준용액으로 결정하였다. 현미 시료 중 azoxystrobin과 difenoconazole의 MLOQ는 0.005 mg/kg이며(Table 2), 벧짚 시료 중 두 성분의 MLOQ는 0.008 mg/kg이었다(Table 3). 두 시료에서 MLOQ 차이가 발생하는 것은 시료 대비 추출용매의 비율이 벧짚에서 더 높아서 발생하는 희석배수의 차이 때문이다. 벧짚은 현미 대비 건물 중량의 비율이 높아 다량의 용매가 들어가야 추출 효율이 상승하는 것으로 알려져 있다[19]. 두 농도 모두 FAO나 Codex에서 요구하는 잔류시험 권장 정량한계(또는 최저정량농도)인 0.01 mg/kg 이하를 만족하는 것으로 나타나, 무인헬기 농약 살포 시의 잔류농약 평가에도 유용하게 활용할 수 있다(FAO, 2016; Codex Alimentarius Commission, 2017).

검량선의 농도 범위는 표준용액 농도 기준 현미 시료 중 1.25~250 ng/mL, 벧짚 시료 중 1.0~250 ng/mL로 시료 중량으로 환산하였을 때 각각 0.005~1.0 mg/kg 및 0.008~2.0 mg/kg에 해당하는 농도이다. 검량선의 최대 농도가 LOQ 기준 200~250배에

Table 2. Method limit of quantitation (MLOQ), recovery rate, and storage stability for azoxystrobin and difenoconazole in brown rice at three different fortification levels

Compound name (MLOQ)	Concentration (mg/kg)	Recovery in brown rice (%)			Mean $\pm$ SD ^{a)} (%)	RSD ^{b)} (%)
		Trial 1	Trial 2	Trial 3		
Azoxystrobin (0.005 mg/kg)	0.01	82.9	86.0	88.2	85.7 $\pm$ 2.7	3.1
	0.1	109.6	109.9	103.0	107.5 $\pm$ 3.9	3.7
	5	98.3	96.0	92.2	95.5 $\pm$ 3.1	3.3
	0.1 (stability ^{c)})	108.1	107.2	93.4	102.9 $\pm$ 8.2	8.0
	0.01	83.6	90.6	89.9	88.0 $\pm$ 3.8	4.4
Difenoconazole (0.005 mg/kg)	0.1	109.3	112.1	109.6	110.3 $\pm$ 1.6	1.4
	5	100.1	93.9	86.8	93.6 $\pm$ 6.6	7.1
	0.1 (stability ^{c)})	101.1	98.6	104.5	101.4 $\pm$ 2.9	2.9

^{a)} Standard deviation; ^{b)} Relative standard deviation; ^{c)} Storage period: 9 d.

Table 3. Method limit of quantitation (MLOQ), recovery rate, and storage stability for azoxystrobin and difenoconazole in dried rice straw at three different fortification levels

Compound name (MLOQ)	Concentration (mg/kg)	Recovery in dried straw (%)			Mean±SD ^{a)} (%)	RSD ^{b)} (%)
		Trial 1	Trial 2	Trial 3		
Azoxystrobin (0.008 mg/kg)	0.01	86.5	96.1	115.9	99.5±15.0	15.0
	0.1	86.3	86.5	86.4	86.4±0.1	0.1
	5	86.1	88.1	88.4	87.5±1.3	1.4
	0.1 (stability ^{c)})	84.5	86.1	82.0	84.2±2.1	2.4
Difenoconazole (0.008 mg/kg)	0.01	77.9	70.2	73.0	73.7±3.9	5.3
	0.1	81.6	81.9	88.9	84.1±4.1	4.9
	5	81.6	98.0	97.2	92.3±9.3	10.0
	0.1 (stability ^{c)})	86.7	82.6	84.1	84.6±2.0	2.3

^{a)} Standard deviatio; ^{b)} Relative standard deviation; ^{c)} Storage period: 24 d.

달하며, 이는 수 ppm (mg/kg) 수준으로 고농도 시료에서도 검출기(detector)에서의 농도포화(signal saturation) 없이 농도-signal 간의 비례관계가 유지됨을 알 수 있다. 보다 정확한 검량선의 직선성을 확인하고자 상관관계 r^2 를 확인하였으며, 매질보정 표준용액 기준 현미 시료에서 r^2 0.9981-0.9982 (Fig. 2a, b), 볏짚 시료에서 r^2 0.9980-0.9990 (Fig. 2c, d)로 나타나 검량범위 내에서 회귀 방정식은 농약 농도와 signal과의 관계를 잘 설명하는 것으로 확인되었다. 특히 용매 표준용액에서의 검량선의 r^2 0.9965~0.9992로 나타나(Fig. 2) 매질보정 표준용액의 r^2 범위와 유사하며, 따라서 현미와 볏짚에서 공추출된 매질이 이러한 농도-signal 간 비례성을 훼손하지 않음을 확인하였다.

ME는 특정 농도에서의 매질보정 표준용액과 용매 표준용액의 signal의 비율을 이용하여 평가하는 방법[22]과 두 표준용액의 검량선 기울기의 비를 이용해서 산출하는 방법[23]이 있다. 농약 분석법에서는 검량범위 전구간에 대한 공통된 ME를 도출하기

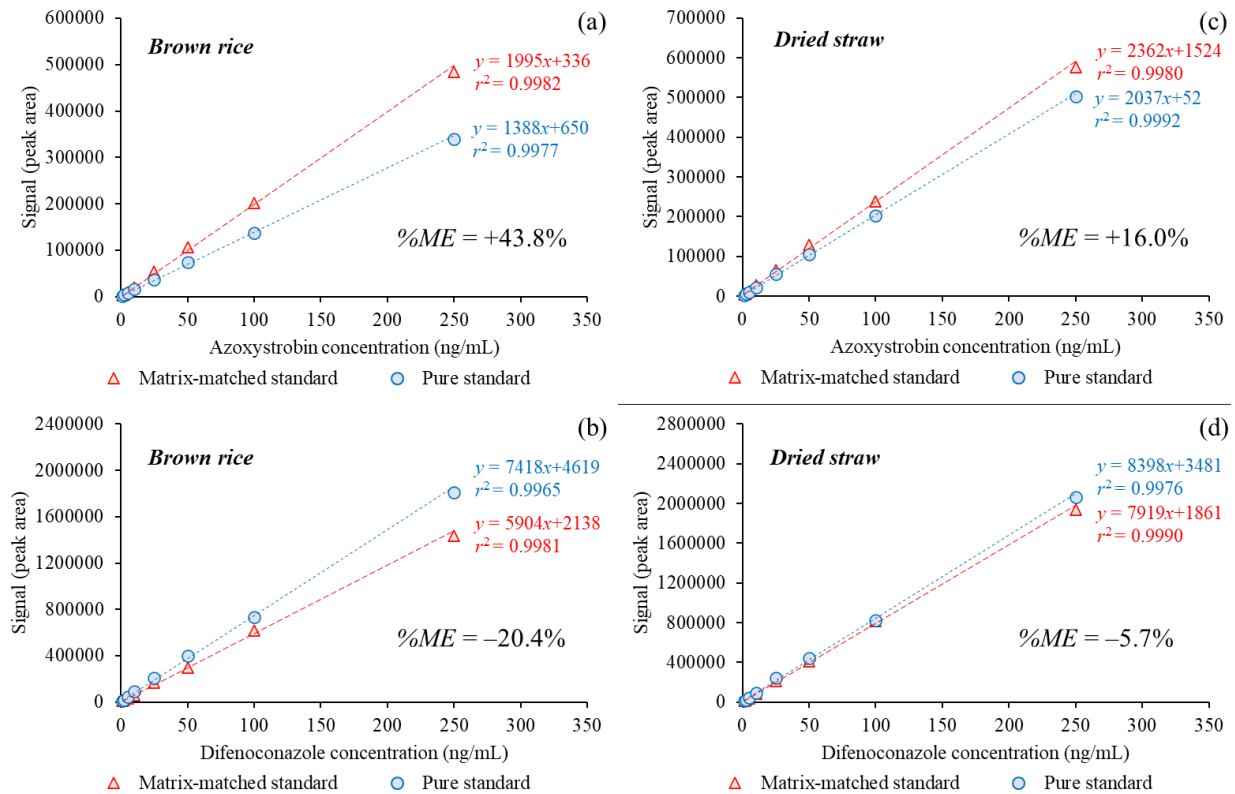


Fig. 2. Comparison of matrix-matched standard and pure standard calibration curves for azoxystrobin (a and c) and difenoconazole (b and d) in brown rice (a and b) and dried straw (c and d), and their matrix effect values (%ME).

위해 주로 후자의 방법을 사용하며, 수식 (1)과 같이 계산하여 나온 %ME 범위가 $\pm 20\%$ 이내인 경우 soft effect, -50% 이상 -20% 미만이거나 $+20\%$ 초과 $+50\%$ 이하의 범위인 경우 medium effect, -50% 미만이거나 $+50\%$ 초과인 경우 strong effect로 분류하고 있다[24,25].

현미의 경우 azoxystrobin과 difenoconazole에서 각각 %ME +43.8% 및 -20.4%로 나타나, 모두 medium effect 범위였다(Fig. 2a, b). 이는 동일 시료 및 분석법에서의 ferimzone과 tricyclazole의 soft effect 범위로 확인된 것과는 다른 양상이었다[17,18]. 본 연구의 잔류 분석 결과는 동일 장소에서 재배한 동일 품종의 대조구 시료를 이용하여 매질보정하였으므로, 모든 시료에 대해 분석성분은 동일한 매질효과를 받아 분석법의 정량성에는 문제가 없다. 그러나 해당 분석법을 출처가 다른 모니터링 시료에 적용할 경우, 동일 품종에서도 영양성분 함량에 따라 매질효과가 달라질 수 있으므로 정량에 유의해야 한다[26,27]. 이 같은 현상은 매질조성, 농약 고유의 물리화학적 성질, 용해도, Ion source 내에서의 이온화를 등 다양한 요인이 복합적으로 작용한 결과로 추정되며, 매질효과를 보다 체계적으로 줄이기 위해서는 추가적인 정제 방법의 도입이나 희석 등의 전처리 절차가 추가되어야 할 것으로 사료된다. 벼짚의 경우 azoxystrobin과 difenoconazole에서 각각 %ME +16.0% 및 -5.7%로 나타나, 모두 soft effect 범위였다(Fig. 2c, d). 현미 시료 대비 매질효과가 감소한 이유 중 하나는 희석배수 차이인 것으로 보인다. 현미와 벼짚의 시료 대비 추출용매 비율은 각각 2 mL/g (10 mL/5 g)와 4 mL/g (12 mL/3 g)으로 벼짚에서 매질이 두 배 더 희석되었다. 다양한 문헌에서 추가 정제 없이 매질의 희석으로 인한 %ME 값의 감소를 보고한 바 있다[23,28]. 끝으로 azoxystrobin에서는 두 시료 모두에서 signal enhancement, difenoconazole에서는 signal suppression을 보여 분석성분별로 서로 다른 매질효과 양상을 보였으며, 해당 원인에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

처리 농도 0.01 및 0.1 mg/kg 수준에서의 azoxystrobin과 difenoconazole의 회수율 평가 결과 현미에서는 평균 85.7~110.3% (relative standard deviation; RSD 1.4~4.4%, Table 2), 벼짚에서는 평균 73.7~99.5% (RSD 0.1~15.0%, Table 3)로 SANTE/11312/2021 (2023) 가이드라인에서 요구하는 회수율 허용 범위(70-120%, RSD 20% 이하)를 충족하였다. 해당 결과는 현미와 벼짚 중 azoxystrobin과 difenoconazole에 대한 분석법의 정확성과 재현성을 입증한다. 검량선을 초과하는 초기 잔류성 시료의 경우 매질보정용 농약무처리 추출물을 이용하여 희석하여 분석하는데, 이때의 정확도와 정밀도 또한 희석회수율로 평가할 필요가 있다[27]. 고농도(5 mg/kg)에서의 평균 회수율은 현미에서 평균 93.6~95.5% (RSD 3.3~7.1%), 벼짚에서는 평균 87.5~92.3% (RSD 1.4~10.0%)로 나타나, 확립된 분석법은 검량선을 초과하는 수준의 시료에서도 희석을 통해 신뢰도 있는 분석이 가능한 것으로 확인되었다. 마지막으로 시료 저장기간인 9일(현미) 및 24일(벼짚)에서의 분석성분의 저장안정성 정확도 또한 평균 84.2~102.9% (RSD 2.3~8.0%)를 만족하여, 해당 기간 중 azoxystrobin과 difenoconazole의 추가적인 분해는 발생하지 않았음을 확인하였다.

무인항공방제 조건에 따른 시료 중 농약 잔류량

확립된 분석법을 바탕으로 무인항공방제 시 농약 처리량 및 전착제 여부에 따른 azoxystrobin과 difenoconazole 잔류량을 확인하였다(Table 4). 현미 시료의 경우 모든 처리구에서 분석대상 농약의 잔류량은 MLOQ 미만이었다. 이는 수확 후 벼 이삭을 탈곡, 도정하는 과정에서 이삭 표면에 주로 잔류하고 있는 농약이 왕겨와 함께 제거된 것으로 보인다[29].

벼짚에서의 잔류량은 농약 안전사용기준에 따른 항공살포 시(처리구 G1), azoxystrobin에서 0.34 mg/kg, difenoconazole에서 0.39 mg/kg의 평균 잔류량을 보였다. ‘사료 등의 기준 및 규격’(농림축산식품부, 2015) 중 ‘사료용 벼짚의 잔류농약 허용기준’에서는 해당 분석성분에 대한 허용기준이 제시되어 있지 않다. Codex Alimentarius (2024)에서는 azoxystrobin의 MRL을 15 mg/kg, difenoconazole의 MRL을 17 mg/kg으로 설정하여, 수확기 벼짚의 잔류량은 허용 기준의 3% 미만임이 확인되었다. 관행살포방식(배부식)을 통한 azoxystrobin과 difenoconazole의 수도작 처리구에 대한 잔류량은 수확기(40 d)에서 정량한계 미만(이삭)과 0.017~0.3 mg/kg(작물체)으로 검출되어[30], 본 연구의 무인항공살포 조건에서의 잔류량 양상과 유사함을 확인할 수 있었다.

G2는 안전사용기준의 75% dosage로 처리되었으며, 벼짚에서의 잔류량 평균은 0.23~0.27 mg/kg으로, 100% dosage 기준 67.6~69.2%로 확인되었다(Table 4). 이는 초기 처리량인 75% dosage보다는 다소 낮은 비율인데, 이전 연구에서도 ferimzone과 tricyclazole 합제도 동일한 방식으로 처리하였을 때 수확기 벼짚의 100% dosage (1.05~3.11 mg/kg) 잔류량 기준 75% dosage (0.78~2.06 mg/kg) 잔류량 비율은 59.0~71.3%로 나타나 본 연구의 잔류 양상과 비슷하였다[31]. 이는 수도작 포장에 농약을 3회 처리하여 생긴 차이로 보이며, 선행(1~2회) 처리 시의 농약 유효성분이 경시적 분해 등으로 인해 일부 소실되어 후행(3회) 처리 시 누적 잔류하였을 것으로 예상된다.

Table 4. Residue levels for azoxystrobin and difenoconazole in brown rice and dried straw as affected by dosages and adjuvants

Sample	Group	Treatment	Azoxystrobin residue			Difenoconazole residue			a.i. ratio ^{d)}
			Range (mg/kg)	Mean±SD ^{a)} (mg/kg)	Relative ratio ^{c)}	Range (mg/kg)	Mean±SD (mg/kg)	Relative ratio	
Brown rice	G1	100% dosage	<MLOQ ^{b)}	<MLOQ	-	<MLOQ	<MLOQ	-	-
	G2	75% dosage	<MLOQ	<MLOQ	-	<MLOQ	<MLOQ	-	-
	G3	75% dosage + Adj. I	<MLOQ	<MLOQ	-	<MLOQ	<MLOQ	-	-
	G4	75% dosage + Adj. II	<MLOQ	<MLOQ	-	<MLOQ	<MLOQ	-	-
Dried straw	G1	100% dosage	0.33-0.34	0.34±0.00	100%	0.32-0.43	0.39±0.06	100%	0.87
	G2	75% dosage	0.19-0.26	0.23±0.04	67.6%	0.25-0.29	0.27±0.02	69.2%	0.85
	G3	75% dosage + Adj. I	0.09-0.13	0.11±0.02	32.4%	0.27-0.30	0.27±0.02	69.2%	0.40
	G4	75% dosage + Adj. II	0.26-0.28	0.27±0.01	79.4%	0.47-0.58	0.53±0.05	136%	0.51

^{a)} Standard deviation; ^{b)} Analyte was determined below the MLOQ; ^{c)} (relative ratio, %) = (mean residue at each group) ÷ (mean residue at G1) × 100; ^{d)} (active ingredient ratio) = (mean residue of azoxystrobin) ÷ (mean residue of difenoconazole).

G3과 G4는 농약 75% dosage에 각각 서로 다른 전착제를 추가한 처리구로, 벼짚에서의 잔류량 범위는 각각 0.11~0.27 mg/kg 및 0.27~0.53 mg/kg이었다. 이는 100% dosage 기준 G3 32.4~69.2%, G4 79.4~136%로 완전히 다른 잔류 양상을 나타내었다 (Table 4). 이는 전착제의 주성분에 따라 수확기 작물의 잔류 효율이 달라질 수 있음을 의미한다. 특히 G4의 Adj. II를 사용할 경우 G2 (75% dosage)보다 잔류량이 높으며, 100% dosage 대비 difenoconazole의 잔류량 비율은 136%로 높게 나타났다. 이는 전착제의 사용이 약량 저감 조건에서도 잔류 효율을 향상시킬 수 있음을 의미한다. Marutani et al. (2006)은 전착제 활용 시 청정채 중 carbaryl의 반감기가 2일에서 최대 6.5일까지 증가한다고 보고하여[32], 전착제 사용에 따른 농약 제형의 물리화화적인 성질 개선의 가능성을 확인할 수 있다. 처리구 G4의 벼짚에서의 잔류량은 MRL 기준 3% 미만이므로, 전착제의 사용은 잔류 안정성 측면에서도 문제가 없음이 확인되었다.

마지막으로 유효성분의 종류에 따른 벼짚 중 잔류량 비율을 확인한 결과, 전착제 무처리구인 G1과 G2에서 azoxystrobin과 difenoconazole의 잔류량 비율은 각각 0.87과 0.85로 처리 약량에 상관없이 일정하였다 (Table 4). 액상수화제의 유효성분 함량비인 1.54 (17.3%/11.3%)와 비교하면, 수도작 처리 후 azoxystrobin이 보다 빠르게 소실되었음을 알 수 있다. 전착제 처리구인 G3과 G4의 경우, 이러한 azoxystrobin의 소실은 더 가속화되어 0.40 및 0.51의 유효성분 비율을 보였다. 따라서 전착제는 서로 다른 유효성분의 소실률에도 영향을 미치는 것을 확인할 수 있으며, 농약의 최적화된 사용과 작물 내 잔류량 관리를 위해 전착제의 선택과 사용 조건에 대한 추가적인 연구가 필요함을 시사한다.

무인항공방제 조건에 따른 농약의 깨씨무늬병에 대한 약효 비교

전착제의 사용에 따른 처리 약량 저감 전략은 병해에 대한 약효를 저하시킬 수 있다는 우려가 있다. 따라서 농약 처리방법에 따른 작물 내 발병률 또한 확인할 필요가 있다. 깨씨무늬병에 대한 약효는 작물 중 병반면적률의 비율로 평가하였다 (Table 5). 병반면적률의 평균은 G1 15.8%, G2 16.8%, G3 15.7%, G4 10.6%로 G4에서의 약효가 가장 우수하였음을 확인하였다. 방제가 순서가 처리구에 따른 벼짚 내 잔류량 순서와 정확히 일치하지는 않으나 (Table 4), Adj. II에 의한 잔류 효율의 개선은 깨씨무늬병

Table 5. Efficacy in the control of brown leaf spot by different dosages and adjuvants on infested leaf area

Group	Treatment	Infested leaf area (%)				Relative efficacy (%)
		Trial 1	Trial 2	Trial 3	Mean±SD ^{a)}	
G1	100% dosage	14.8	13.8	18.7	15.8±2.6 ab ^{b)}	-
G2	75% dosage	18.0	18.2	14.2	16.8±2.3 b	-6.3
G3	75% dosage + Adj. I	14.8	15.5	16.8	15.7±1.0 ab	0.6
G4	75% dosage + Adj. II	8.5	10.5	12.8	10.6±2.2 a	32.9

^{a)} Standard deviation; ^{b)} Significant differences ($p<0.05$) by DMRT are indicated by differing letters.

방제에 도움을 주는 것으로 판단된다. 이는 처리구 G2와 G4가 병반면적률에 있어 통계적인 유의성을 보인 것(Table 5)으로 확인할 수 있다. 또한 처리구 G1 대비 G4는 75% dosage임에도 불구하고 잔류량은 비슷하였으며, 방제효과는 오히려 32.9% 향상되었음을 통해 전착제 Adj. II가 깨씨무늬병의 방제에 유의미한 도움을 주는 것으로 판단된다.

무인항공방제 시 첨가한 전착제 관련 연구에서도 유사한 결과가 보고되었다. Ferimzone과 tricyclazole 합제에서 전착제 Gondor를 첨가하면, 안전사용기준 대비 75% dosage에서도 벼 도열병에 대한 약효가 유의하게 더 우수한 것으로 나타났다[31]. Kao Adjuvant A-200®를 사용할 경우 수도작에서 살포 능률 및 병해충에 대한 약효를 증진시켜 농약 사용량을 30% 저감할 수 있음이 확인되었다[10]. Wang et al. (2022)은 다양한 전착제에 대한 맥류의 줄기녹병(wheat rust) 방제 효율이 56.8~69.7% 범위로 나타나, 대조군에서의 44.8%와 비교하여 유의미한 상승효과가 있음을 보고하였다[33]. 이러한 결과는 무인항공살포 시 전착제가 화학물질 사용량을 줄이면서도 효과적인 병해충 방제를 가능하게 하는 중요한 역할을 한다는 점을 강조한다.

결론

본 연구에서는 무인항공방제 시 다양한 살포 조건에 따른 azoxystrobin과 difenoconazole 잔류량을 평가하고 깨씨무늬병 방제 효과를 확인하였다. 현미와 벧짚 중 살균제 유효성분의 잔류량을 정확하게 분석하기 위해 LC-MS/MS 기반의 분석법을 확립하였다. 확립된 분석법은 우수한 정량한계와 양호한 회수율을 나타내어 신뢰성 있는 분석 결과를 제공하였으며, 이는 무인항공방제 시 농약의 잔류 평가에 유용하게 활용될 수 있음을 입증하였다. Azoxystrobin과 difenoconazole의 합제의 여러가지 항공살포 조건에 따른 깨씨무늬병 방제 효과를 확인한 결과, 전착제 Adj. II (Cares)를 사용한 경우, 약제 사용량을 25% 줄여도 잔류 지속성과 방제효과가 기존의 안전사용기준 대비 유사하거나 더 우수했음이 확인되었다. 이는 무인항공기 방제 시 전착제가 농약의 물리화학적 특성을 개선하여 농약의 유효성을 증가시킬 수 있음을 시사한다. 이러한 결과는 무인항공기를 통한 농약 살포 시 효율적인 방제를 위해 전착제 선택이 중요함을 강조하며, 향후 무인항공 방제 시스템의 최적화에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

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

Author Contributions: Conceptualization, Y.-G.M.; methodology, J.-W.B.; software, S.-M.K.; validation, H.-R.E.; formal analysis, J.-W.B.; investigation, H.-R.E. and H.-S.L.; resources, Y.-H.L. and H.-S.L.; data curation, Y.-J.L.; writing—original draft preparation, J.-W.B.; writing—review and editing, Y.S.; visualization, Y.S.; supervision, Y.S.; project administration, Y.S.; funding acquisition, Y.S.

Notes: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments: This study was carried out with the support of “Cooperative Research Program for Agriculture Science and Technology Development (Project No. PJ017000)”, Rural Development Administration, Republic of Korea.

Additional Information:

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.5338/KJEA.2024.43.35>

Correspondence and requests for materials should be addressed to Yongho Shin.

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

- Ou SH (1985) Rice Diseases, pp.201-205, 2nd edition, Commonwealth Mycological Institute, Surrey, UK.
- Nazari S, Javan-Nikkhah M, Fotouhifar K-B, Khosravi V, Alizadeh A (2015) Bipolaris species associated with rice plant: Pathogenicity and genetic diversity of *Bipolaris oryzae* using rep-PCR in Mazandaran province of Iran. *Journal of Crop Protection*, 4(4), 497-508.
- Shin I, Choi K (2020) An analysis of agricultural drone use using news big data: Focusing on the agricultural cooperative's pest control project. *Cooperative Economics and Management Review*, 52, 61-80.
- Li X, Giles DK, Niederholzer FJ, Andaloro JT, Lang EB, Watson LJ (2021) Evaluation of an unmanned aerial vehicle as a new method of pesticide application for almond crop protection. *Pest Management Science*, 77(1), 527-537. <https://doi.org/10.1002/ps.6052>.
- Kim CJ, Yuan X, Kim M, Kyung KS, Noh HH (2023) Monitoring and risk analysis of residual pesticides drifted by unmanned aerial spraying. *Scientific Reports*, 13(1), 10834. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36822-w>.
- Kim J-Y, Jung Y, Oh H, Kang S-T (2015) Monitoring and risk assessment of pesticide residues in commercial environment-friendly agricultural products distributed using LC-MS/MS in Seoul metropolitan area. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 47(3), 306-320. <https://doi.org/10.1002/ps.7942>.
- Henry RS, Fritz BK, Hoffmann WC, Kruger GR (2015) An evaluation of three drift reduction adjuvants for aerial application of pesticides. *GSTF Journal on Agricultural Engineering (JAE)*, 2(1), 39-48. <https://doi.org/10.7603/s40872-015-0006-3>.
- Milanowski M, Subr A, Combrzyński M, Różańska-Boczula M, Parański S (2022) Effect of adjuvant, concentration and water type on the droplet size characteristics in agricultural nozzles. *Applied Sciences*, 12(12), 5821. <https://doi.org/10.3390/app12125821>.
- Stevens PJG, Kimberley MO, Murphy DS, Policello GA (1993) Adhesion of spray droplets to foliage: The role of dynamic surface tension and advantages of organosilicone surfactants. *Pesticide Science*, 38(2-3), 237-245. <https://doi.org/10.1002/ps.2780380219>.
- Wang X, Zhang Y, Hu H, Liu B, Wang F, Zhang Y, Wang W, Li X, Xu W (2023) Evaluation of the droplet deposition and control effect of a special adjuvant for unmanned aerial vehicle (UAV) sprayers. *Journal of Pesticide Science*, 48(3), 78-85. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D22-048>.
- Rodrigues ET, Lopes I, Pardal MÁ (2013) Occurrence, fate and effects of azoxystrobin in aquatic ecosystems: A review. *Environment International*, 53, 18-28. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.12.005>.
- Hamada MS, Yin Y, Ma Z (2011) Sensitivity to iprodione, difenoconazole and fludioxonil of *Rhizoctonia cerealis* isolates collected from wheat in China. *Crop Protection*, 30(8), 1028-1033. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.04.004>.
- Giorni P, Rolla U, Romani M, Mulazzi A, Bertuzzi T (2019) Efficacy of azoxystrobin on mycotoxins and related fungi in Italian paddy rice. *Toxins*, 11(6), 310. <https://doi.org/10.3390/toxins11060310>.
- Asghar M, Baig M, Chaudhary S, Ali M (2019) Evaluation of difenoconazole along with macronutrients spray for the control of brown leaf spot (*Bipolaris oryzae*) disease in rice (*Oryza sativa*) crop. *Sarhad Journal of Agriculture*, 35,1-6. <https://doi.org/10.17582/journal.sja/2019/35.1.1.6>.
- Chen H, Shan Y, Cao L, Zhao P, Cao C, Li F, Huang Q (2021) Enhanced fungicidal efficacy by co-delivery of azoxystrobin and diniconazole with cauliflower-like metal-organic frameworks NH₂-Al-MIL-101. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10412. <https://doi.org/10.3390/ijms221910412>.
- Bayer T, Cabezas-Guerrero MF, Gadanha Jr CD, Loeck AE (2018) Systems and rates of aerial application of fungicides in irrigated rice. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 22(2), 143-147. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n2p143-147>.
- Lee Y-J, Kim S-H, Eun H-R, Kim S-M, Jeong M-J, Baek J-W, Lee Y-H, Noh HH, Shin Y (2024) Enhancement of tricyclazole analysis efficiency in rice samples using an improved QuEChERS and its application in residue: A study from unmanned aerial spraying. *Applied Sciences*, 14(13), 5607. <https://doi.org/10.3390/app14135607>.
- Jeong M-J, Kim S-H, Eun H-R, Lee Y-J, Kim S-M, Baek J-W, Lee Y-H, Shin Y (2023) Column comparison for the separation of ferimzone Z and E stereoisomers and development of trace residue analysis method in brown rice using HPLC-MS/MS. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 42(3), 203-210. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2023.42.3.24>.
- Kim S-H, Baek J-W, Eun H-R, Lee Y-J, Kim S-M, Jeong M-J, Lee Y-H, Noh HH, Shin Y (2024) Optimization of ferimzone and tricyclazole analysis in rice straw using QuEChERS method and its application in UAV-Sprayed residue study. *Foods*, 13(21), 3517. <https://doi.org/10.3390/foods13213517>.
- Turner JA (2021) The Pesticide Manual: A World Compendium, pp. 68-365, 19th edition, British Crop Production Council (BCPC), Cambridge, UK.
- Kruve A, Rebane R, Kipper K, Oldekop M-L, Evard H, Herodes K, Ravio P, Leito I (2015) Tutorial review on validation of liquid chromatography-mass spectrometry methods: Part I. *Analytica Chimica Acta*, 870, 29-44. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.017>.
- Skov K, Johansen SS, Linnet K, Nielsen MKK (2024) Automated enzymatic hydrolysis of urine samples for improved systematic toxicological analysis of drug-facilitated sexual assault cases. *Drug Testing and Analysis*, 16(11), 1254-1270. <https://doi.org/10.1002/dta.3640>.
- Panuwet P, Hunter RE, D'Souza PE, Chen X, Radford SA, Cohen JR, Marder ME, Kartavenka K, Ryan PB, et al. (2016) Biological matrix effects in quantitative tandem mass spectrometry-based analytical methods: Advancing biomonitoring. *Critical Reviews in Analy-*

- tical Chemistry, 46(2), 93-105. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.980775>.
24. Kmellár B, Fodor P, Pareja L, Ferrer C, Martínez-Uroz MA, Valverde A, Fernandez-Alba AR (2008) Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi-class vegetables by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1215(1), 37-50. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.121>.
25. Varela-Martínez DA, González-Curbelo MÁ, González-Sálamo J, Hernández-Borges J (2019) Analysis of multiclass pesticides in dried fruits using QuEChERS-gas chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 297, 124961. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124961>.
26. Damale RD, Dutta A, Shaikh N, Pardeshi A, Shinde R, Babu KD, Gaikwad NN, Banerjee K (2023) Multiresidue analysis of pesticides in four different pomegranate cultivars: Investigating matrix effect variability by GC-MS/MS and LC-MS/MS. *Food Chemistry*, 407, 135179. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135179>.
27. Kim S-H, Lee Y-H, Jeong M-J, Gwon D-Y, Lee J-H, Shin Y, Choi H (2023) LC-MS/MS method minimizing matrix effect for the analysis of bifenthrin and butachlor in Chinese chives and its application for residual study. *Foods*, 12(8), 1683. <https://doi.org/10.3390/foods12081683>.
28. Yang P, Chang JS, Wong JW, Zhang K, Krynskiy AJ, Bromirski M, Wang J (2015) Effect of sample dilution on matrix effects in pesticide analysis of several matrices by liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(21), 5169-5177. <https://doi.org/10.1021/jf505168v>.
29. Lee H, Cho M, Park M, Kim M, Seo J-A, Kim DH, Bae S, Kim MS, Kim JA et al. (2024) Effect of rice milling, washing, and cooking on reducing pesticide residues. *Food Science and Biotechnology*, 33(3), 557-567. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01345-7>.
30. Teló GM, Marchesan E, Zanella R, Limberger de Oliveira M, Coelho LL, Martins ML (2015) Residues of fungicides and insecticides in rice field. *Agronomy Journal*, 107(3), 851-863. <https://doi.org/10.2134/agronj14.0475>.
31. Baek J-W, Eun H-R, Kim S-H, Lee Y-H, Jeong M-J, Han X, Min Y-G, Noh HH, Shin Y (2024) Reduction of pesticide dosage and off-target drift with enhanced control efficacy in unmanned aerial vehicle-based application using lecithin adjuvants. *Pest Management Science*, <https://doi.org/10.1002/ps.8551>.
32. Marutani M, Edirveerasingam V (2006) Influence of irrigation methods and an adjuvant on the persistence of carbaryl on pakchoi. *Journal of Environmental Quality*, 35(6), 1994-1998. <https://doi.org/10.2134/jeq2005.0484>.
33. Wang S, Li X, Zeng A, Song J, Xu T, Lv X, He X (2022) Effects of adjuvants on spraying characteristics and control efficacy in unmanned aerial application. *Agriculture*, 12(2), 138. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020138>.