تعیین باقیمانده ۱۹۸ آفت‌کش مختلف در انواع متفاوت خرمای موجود در بازار ایران با روش استخراج کچرز اصلاح‌شده و کروماتوگرافی گازی طیف‌سنجی جرمی متوالی

عزیمه خضری[۱،۲]، مهدی انصاری[۳]، مریم کاظمی‌پور*[۴]، مریم امیراحمدی[۵]، مهدی شهیدی[۶]

۱- دانشجوی دکتری، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، کرمان، ایران

۲- معاونت غذا و دارو، مرکز تحقیقات سلامت غذا، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

۳- استاد، گروه کنترل غذا و دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۴- استاد، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، کرمان، ایران

۵- استادیار، آزمایشگاه مرکز تحقیقات غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، تهران، ایران

۶- دانشیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، کرمان، ایران

* نویسنده مسئول: m.kazemipour@iauk.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۵/۱۴، پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۸

چکیده

هدف از این مطالعه توسعه یک روش تجزیه‌ای راحت، سریع، مؤثر و ایمن (QuEChERS) برای تعیین باقی‌مانده ۱۹۸ آفت‌کش در خرما با استفاده از کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی متوالی (GC/MS/MS) بود. استخراج با استونیتریل و آبگیری توسط سولفات منیزیم در حضور سدیم کلرید و پاک‌سازی توسط PSA برای حذف مواد تداخل‌کننده غیرقطبی مثل لیپیدها انجام شد. اثر دو متغیر زمان استخراج و مقدار آب افزوده شده به نمونه مورد بررسی قرار گرفت. برای رفع اثر ماتریکس منحنی کالیبراسیون با استفاده از آنالیز نمونه‌های اسپایک شده و با در نظر گرفتن نسبت سطح زیر پیک منحنی آفت‌کش‌ها به سطح زیر پیک استاندارد داخلی رسم گردید. منحنی‌های کالیبراسیون برای اکثر آفت‌کش‌ها در محدوده ۱۵۰-۱۵ میکروگرم بر کیلوگرم، با ضرایب رگرسیون (r^2) بالاتر از ۰/۹۹۳۴ خطی بودند. به منظور تعیین و بررسی درصد بازیافت نیز از نمونه‌های اسپایک در سطوح غلظتی ۱۵۰ng/ml و ۱۰۰، ۵۰، ۳۰، ۱۰ به همراه افزودن استاندارد داخلی در سطح ۱۵۰ng/ml در ۳ روز کاری مختلف استفاده شد. میانگین میزان بازیابی آفت‌کش‌ها ۷۰ تا ۱۲۰ درصد و حدود تشخیص (LODs) و حدود تعیین کمی (LOQs) به ترتیب در محدوده ۱۴-۵ میکروگرم بر کیلوگرم و ۴۰-۱۴ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین شدند و انحراف استاندارد نسبی برای همه آفت‌کش‌ها ≥۲۰٪ بود. در نهایت روش تایید شده برای پایش باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در ۳۰ نمونه خرمای تازه مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد، روش استخراج QuEChERS اصلاح شده در تجزیه‌ی باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در خرما کارآمد بوده و هیچ یک از نمونه‌ها دارای باقی‌مانده بالاتر از حد بیشینه باقی¬مانده آفت‌کش‌ها (MRL) نبودند.

واژه‌های کلیدی: خرما، آفت‌کش‌ها، باقیمانده آفت‌کش‌ها، روش کچرز، طیف‌سنجی جرمی متوالی

مقدمه

آفت‌کش‌ها در ایران مانند بسیاری از کشورهای جهان به عنوان مهمترین روش کنترل آفات مطرح بوده و سالانه حدود ۲۰ تا ۲۵ هزار تن از این ترکیبات شیمیایی در کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیبات، یکی از قوی‌ترین ابزار قابل دسترس جهت استفاده در مدیریت آفات هستند که دارای طیف تأثیر گسترده بوده و در عمل کاربرد وسیعی دارند. همچنین، در برخورد با تغییرات زراعی و شرایط اکولوژیکی قابلیت انعطاف دارند و اقتصادی می باشند. در مواردی، آفت‌کش‌ها تنها وسیله در مدیریت آفات هستند که وقتی جمعیت آفت به آستانه زیان اقتصادی و یا بیشتر از آن می‌رسد، استفاده از آنها ضروری به نظرمی‌رسد. از طرفی، هنگامی که آفت‌کش‌ها در چارچوب برنامه مدیریت آفات و با در نظر گرفتن جنبه‌های اکولوژیکی و زیست‌محیطی بکار روند، به عنوان ابزار قابل اعتماد و با ارزش به حساب می‌آیند. شایان ذکر است ارزش اقتصادی آفت‌کش‌های مورد استفاده در جهان بیش از ۳۶ میلیارد دلار و از نظر وزنی معادل ۴ میلیون تن در سال می‌باشند [۱].

ضرورت مصرف آفت‌کش‌ها از یک طرف و احتمال بروز مشکلات بهداشتی و زیست‌محیطی ناشی از مصرف آنها از طرف دیگر، ایجاب می‌کند تا برنامه‌ریزی اصولی از زمان ورود و تولید تا مصرف آنها صورت پذیرد.

استفاده از آفت‌کش‌ها منشاء مشکلات عدیده‌ای برای انسان و محیط زیست می‌باشد که باقیمانده آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی و محیط زیست، یکی از این معضلات است. اکنون بسیاری از متخصصان به این عقیده رسیده‌اند که علاوه بر مسمومیت‌های حاد، شیوع روزافزون بیمارهای خطرناک و مخصوصا انواع سرطان ارتباط مستقیم و غیرمستقیم با مصرف آفت‌کش‌ها و باقیمانده آن در محصولات کشاورزی دارد. همچنین، بسیاری از ناراحتی‌های ژنتیکی، عقیم‌سازی و ناباروری، اختلالات عصبی و روانی، کاهش حافظه و کندذهنی در کودکان، اختلالات دستگاه ایمنی و سیستم هورمونی در انسان و آلرژی را هم ناشی از مصرف آفت‌کش‌ها و باقیمانده آن در محصولات کشاورزی می‌دانند. براساس آنچه بیان شد تعیین حدود مجاز باقیمانده آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار بوده و ارائه‌ی روش‌های تجزیه‌ای آسان، سریع، مؤثر، ایمن، با دقت و صحت بالا در این زمینه بسیار ضروریست [۱].

در سالهای اخیر رشد بی‌سابقه‌ای در توسعه روش‌های دستگاهی آنالیز نمونه صورت پذیرفته است اما هنوز هم علی‌رغم وجود این روش‌های پیشرفته و قدرتمند، اندازه‌گیری مستقیم نمونه‌های زیست‌محیطی و زیست‌شناختی به علت غلظت کم گونه‌های مورد بررسی و وجود مزاحمت، کاری دشوار است. در اغلب موارد یک یا تعداد بیشتری مراحل پیش آماده‌سازی برای نمونه‌ها با هدف تغلیظ، پاک‌سازی و بهبود علامت تجزیه‌ای گونه مورد آنالیز اجتناب‌ناپذیر است. چون آماده‌سازی نمونه زمان و انرژی زیادی را در طی فرایند آنالیز می‌گیرد، تلاش‌های زیادی در راستای بهبود این مرحله با هدف افزایش سرعت، حساسیت و بهبود قابلیت اطمینان آن انجام گرفته است [۲].

آماده‌سازی نمونه خود می‌تواند شامل چندین مرحله مجزا مانند استخراج، تغلیظ و پاک‌سازی باشد که با توجه به نوع نمونه، بافت نمونه، سطح غلظتی آن و روش دستگاهی مورد استفاده در آنالیز آن، انتخاب می‌گردد. به عنوان مثال اندازه‌گیری گونه‌ها در مقادیر ناچیز نیازمند به‌کارگیری مراحل آماده‌سازی سختگیرانه‌تری نسبت به اندازه‌گیری گونه‌ها در غلظت‌های بالا می‌باشد. هر چند، در بعضی موارد یک روش آماده‌سازی نمونه می‌تواند به طور همزمان در برگیرنده تمام مراحل ذکر شده باشد [۳].

به‌طور کلی می‌توان گفت مرحله آماده‌سازی نمونه برای رسیدن به اهداف زیر طراحی شده است:

۱) حذف مزاحمت‌ها از نمونه به منظور افزایش گزینش‌پذیری روش

۲) پیش تغلیظ آنالیت مورد نظر و افزایش غلظت آن به نحوی که بتوان آن را با دستگاه‌های تجزیه‌ای اندازه‌گیری کرد.

۳) تبدیل آنالیت‌ها به شکلی که برای شناسایی با دستگاه تجزیه‌ای مناسب باشد.

۴) ایجاد یک روش مطمئن و تکرارپذیر مستقل، از تنوع موجود در بافت نمونه‌های مورد بررسی

استخراج یکی از بخش‌های فرایند آماده‌سازی نمونه محسوب می‌گردد و معمولاً با هدف جداسازی گونه مورد بررسی از بافت اصلی‌اش به کار می‌رود. گاهی اوقات استخراج علاوه بر این که منجر به جداسازی گونه می‌گردد، منجر به تغلیظ و پاک‌سازی آن نیز می‌شود. روش‌های استخراج سنتی (مانند استخراج مایع- مایع[1] و استخراج سوکسله[2])، به دلیل استفاده از مقادیر زیاد حلال‌های سمی باعث ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی می‌شوند که این آلودگی‌ها خطر ابتلا به سرطان را افزایش می‌دهد و منجر به تخریب لایه ازن می‌گردد. لذا روش‌های با مصرف حلال کمتر، مانند: استخراج فاز جامد[3] (SPE)، استخراج جدید سیال تحت فشار[4] (PFE)، استخراج آب

[1] Liquid-Liquid Extraction
[2] Soxhlet Extraction
[3] Solid Phase Extraction
[4] Pressurized Fluid Extraction

داغ[1]، استخراج به کمک مایکروویو[2] و انواع روش‌های ریزاستخراج[3] به عنوان روش‌های جایگزین مطرح شدند [۴].

دانشمندان با توجه به اصول ۱۲ گانه‌ی «شیمی تجزیه‌ی سبز[4]» و با هدف کاهش آلودگی زیست‌محیطی، سعی در کاهش مصرف حلال‌ها و واکنش‌دهنده‌های آلی، به کمینه‌سازی اندازه و تعداد نمونه‌های مورد نیاز و استفاده از تکنیک‌های مینیاتوری (دارای ابعاد کوچک) و خودکار دارند. تمام مراحل یک روش تجزیه‌ای (از جمع‌آوری نمونه تا پردازش داده‌ها) باید با موشکافی هرچه تمام‌تر اصلاح شوند تا روش‌های سازگار با محیط زیست حاصل شوند. با توجه به اینکه آماده‌سازی نمونه معمولاً به حجم زیادی از منابع (حلال‌ها، مواد شیمیایی، انرژی، زمان و موارد دیگر) نیاز دارد، جای تعجب نیست که دست‌اندرکاران روش‌های تجزیه‌ای انرژی زیادی صرف توسعه‌ی روش‌های استخراجی کارآمدتر نمایند. در میان انبوهی از روش‌های موجود، روش QuEChERS (به معنای سریع، آسان، ارزان، کارآمد، قدرتمند و ایمن[5]) برای اولین بار در کارگاه اروپایی آفت‌کش‌ها[6](EPRW) ۲۰۰۲ در رم معرفی گردید، که در سال ۲۰۰۳ توسط آناستاسیادس و همکاران منتشر گردید و متعاقباً توسط لیهوتای و همکاران تأیید گردید. رویکرد اصلی برای بازیابی بقایای آفت‌کش‌ها از میوه‌ها و سبزیجات که طیف گسترده‌ای از آنالیت را پوشش می‌دهند، از آفت‌کش‌های غیرقطبی تا بسیار قطبی توسعه داده شد. به دنبال این گزارش‌های اولیه، این روش به سرعت و به طور گسترده توسط جامعه علمی پذیرفته شد [۵].

گواه انقلاب واقعی روش QuEChERS این است که دو سازمان استاندارد بین‌المللی (کمیته استانداردسازی اروپا CEN و سازمان بین‌المللی AOAC، نسخه‌هایی بینابینی از این تکنیک را به‌عنوان روش‌های رسمی جهت تعیین باقیمانده‌های آفت‌کش‌ها در میوه و سبزیجات اتخاذ کرده‌اند. در واقع، جستجوی سریع عبارت QuEChERS در ابتدای فوریه‌ی ۲۰۱۹ منجر به بیش از ۲۲۶۰ مورد در Scopus (عنوان چکیده و کلمات کلیدی)، ۲۷۳۰ مورد در Web of Science (موضوع) و ۳۱۰۰۰ مورد در Google Scholar (مقالات) شد [۵].

توسعه‌ی روش مذکور ریشه در تجربه‌ی قبلی آناستاسیادس و لیهوتای جهت جایگزینی «روش لوک» به‌منظور آنالیز آفت‌کش‌ها دارد. تحقیقات مستقل آن‌ها (اواسط دهه‌ی ۱۹۹۰) با اضافه شدن آناستازیادس به تیم تحقیقاتی لیهوتای به نتیجه رسید. آن‌ها به لطف تجربه و دانش خود توانستند این روش را در چهارمین کارگاه اروپایی باقیمانده آفت‌کش‌ها در ایتالیا ارائه کنند. نیاز به یک نام باعث شد که آن‌ها از مخفّفی استفاده کنند که از حروف اول ویژگی‌های اصلی رویکردشان تشکیل شده است. این روش بعداً در قالب یک مقاله‌ی پژوهشی منتشر شد. در این مقاله، دو روش مختلف شناخته‌شده به روشی خلاقانه ترکیب شدند: استخراج مایع- جامد[7] (SLE)/ تقسیم[8] (جداسازی) یا (همراه با فرآیند نمک‌زدایی) و یک مرحله‌ی پاک‌سازی از طریق استخراج فاز جامد پراکنده[9] (dSPE)، با استفاده از جاذب‌های بکاررفته در کارتریج‌های (خشاب‌های) استخراج فاز جامد (SPE) رایج. شاید مزیت اصلی این رویکرد ترکیبی، که به سایر محققین انگیزه می‌داد، سادگی روش نهایی بود. در عین حال، این روش نتایج خوبی را با استفاده از رویه‌های موثر و کم‌هزینه ارائه می‌دهد، به‌طوری که محققان حتی گزارش کرده‌اند که نمونه‌ها را می‌توان با کمتر از ۱ دلار آمریکا به ازای هر نمونه در زمان نسبتاً کوتاهی تهیه کرد. این ویژگی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است، چراکه اضافه کردن مراحل تجزیه‌ای به روش‌ها باعث پیچیده‌تر شدن دستورالعمل شده و امکان وقوع خطا افزایش می‌یابد. تیمی از محققان مطالعه‌ای جامع و نظام‌مند جهت به‌دست آوردن شرایط بهینه به‌منظور استخراج آفت‌کش‌ها از

[1] Hot-Water Extraction
[2] Microwave-Assisted Extraction
[3] Microextation Methods
[4] Green Analytical Chemistry
[5] quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe
[6] European Pesticide Residue Workshop
[7] solid-liquid extraction
[8] partitioning
[9] dispersive solid phase extraction

میوه‌ها و سبزیجاتی با میزان آب بالا انجام دادند. متغیرهای تأثیرگذار بر راندمان استخراج، از جمله مقدار نمونه، ترکیب (pH و مواد تشکیل‌دهنده‌ی بافت) و خرد کردن، نوع حلال مورد استفاده و نسبت آن با توجه به اندازه‌ی نمونه، روش برهم زدن (اختلاط یا تکان دادن)، دما و زمان استخراج، افزودن نمک و حلال کمکی و همچنین نوع و مقدار جاذب پاک‌سازی‌کننده مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور دستیابی به بیشینه بازیابی، گزینش‌پذیری، سرعت و سهولت انجام کار، و همچنین موادی که به صورت همزمان استخراج می‌شوند و اثرات بافت نمونه بر شرایط آشکارسازی دستگاه کروماتوگرافی، متغییر بافت نمونه، بهینه گردید. بعدها، لیهوتای و همکاران او خاطرنشان کردند که بازیابی آفت‌کش‌های وابسته به pH را می‌توان با استفاده از مرحله‌ی جداسازی با کاربرد یک بافر استات بهبود بخشید. آناستاسیادس و همکاران او به‌صورت جداگانه به‌جای این بافر، از یک بافر سیترات استفاده کردند. این روش به‌دلیل انعطاف‌پذیری اثبات شده‌ی آن، به‌سرعت گسترش پیدا کرد و اصلاحات متعددی (اندازه‌ی نمونه، حلال‌ها، جاذب‌ها، امکان ترکیب با روش‌های دیگر و...) روی آن انجام گرفت. امروزه، دستورالعمل QuEChERS امکان تجزیه‌ی انواع مختلفی از ترکیبات آلی را در تقریباً تمام انواع محصولات کشاورزی غذایی، زیست‌محیطی و بیولوژیکی فراهم کرده است [۵].

هدف اصلی این مطالعه با توجه به مزایای عمده کچرز، بررسی، بهینه سازی و کالیبراسیون در معتبرسازی متغیرهایی همچون زمان، حجم حلال استخراج و مقدار آب اضافه شده به نمونه، برای سازگار نمودن روش کچرز به منظور اندازه‌گیری باقیمانده آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی است. در واقع هدف اصلاح روش کچرز، برای دستیابی به شرایط آسان، قابل اعتماد به منظور اندازه‌گیری باقیمانده آفت‌کش‌ها در انواع مختلف محصولات خرما می‌باشد.

بخش تجربی

مواد و تجهیزات

اطلاعات مربوط به مواد شیمیایی و تجهیزات مورد استفاده در این پژوهش به ترتیب در جدول‌های (۱) و (۲) خلاصه شده است.

جدول ۱- مواد شیمیایی مورد استفاده

مواد شیمیایی	نام شرکت	کشور
اتیل‌استات LC grade	Merck	آلمان
استونیتریل LC grade	Merck	آلمان
تولوئن LC grade	Merck	آلمان
فرمیک اسیدLC grade	Merck	آلمان
تری‌فنیل متان -Purity 99%	Merck	آلمان
استانداردهای آفت‌کش‌ها (۹۵-۱۰۰)٪	Dr.Ehrnestofer Co.(Augsburg, Germany)	آلمان
تری‌سدیم سیترات دی‌هیدرات (۲ آبه) ≥۹۹٪	Sigma Aldrich	آمریکا
سدیم هیدروژن سیترات سسکوئی هیدرات (۱/۵ آبه) ≥۹۹٪	Sigma Aldrich	آمریکا
سدیم کلراید ۹۹/۹۹٪	Merck	آلمان
منیزیم سولفات ۹۹/۹۸ ٪	Merck	آلمان

جدول ۲- لیست دستگاه‌ها و وسایل مورد استفاده

نام دستگاه و وسایل	مدل	شرکت	کشور
گاز کروماتوگرافی با دتکتور طیف‌سنج جرمی- جرمی (GC/MS/MS)[1]	7890B	Agilent	آمریکا
دتکتور طیف‌سنج جرمی با مدل حاوی یون‌ساز با تکنیک EI و آنالایزر Triple quadropole	7000 C	Agilent	آمریکا
اتوسمپلر	7683 B	Agilent	آمریکا
ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم	ME204	Mettler Toledo	سوییس
دستگاه تهیه آب بدون یون	Direct-Q® 3 UV	Merck	آلمان
دستگاه ورتکس	Reax	Heidolph	آلمان
دستگاه ورتکس چندتایی	Multi Reax	Heidolph	آلمان
دستگاه تبخیرکننده نیتروژنی	EYEL4, MG-2200	Merck	آلمان
سانتریفوژ یخچالدار	5810 R	Eppendorf	آلمان
گاز هلیم به عنوان گاز حامل	-	شرکت فن‌آوری	ایران
لوله‌های فالکن ۵۰ میلی‌لیتری	-	Fisher Scientific	انگلیس
لوله‌های فالکن ۱۵ میلی‌لیتری	-	Fisher Scientific	انگلیس
ویال‌های کهربایی ۵ میلی‌لیتری	-	Fisher Scientific	انگلیس
بالن ژوژه ۱۰ میلی‌لیتری	Witteg	Fisher Scientific	انگلیس
سمپلر، ۱۰۰ میکرولیتر، ۵۰۰ میکرولیتر، ۱۰۰۰ میکرولیتر	Brand	Brand	آلمان

محلول‌سازی

ماده خالص آفت‌کش‌ها از شرکت دکتر ارنستوفر آلمان خریداری و بدون خالص‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. به این منظور از هر استاندارد به کمک اتیل‌استات محلول‌هایی با غلظت mg/ml ۱ و نیز محلول اتیل‌استاتی استاندارد داخلی تری‌فنیل متان (TPM) در غلظت ۱mg/ml تهیه و بعد از کدگذاری و ثبت در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شده‌اند. فرمیک اسید ۵ درصد در استونیتریل ۵۰۰ میکرولیتر به حجم ده میلی‌لیتر رسانده شده است.

تهیه محلول استاندارد آفت‌کش‌ها

از استاندارد هر آفت‌کش، محلولی با غلظت ۱mg/ml در اتیل‌استات تهیه شد سپس کدگذاری و تازمان آنالیز، در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. و همچنین محلول استاندارد داخلی تری‌فنیل متان (TPM) در غلظت ۱mg/ml در اتیل‌استات تهیه گردید.

محلول دو مخلوط ۱۰۰ تایی و ۵۰ تایی آفت‌کش به غلظت ۱۰ µg/ml از هر آفت‌کش در اتیل‌استات تهیه شده است. ابتدا از هرسم ۱mg/ml ساخته می‌شود و سپس از هر کدام ۱ میلی‌لیتر برداشته در بالن ژوژه ۱۰ میلی‌لیتری ریخته، ابتدا مخلوط ده تایی ۱۰۰ µg/ml درست کرده و از این محلول، مخلوط صدتایی ۱۰ µg/ml درست می‌شود.

[1] Gas Chromatography Mass Mass

مشخصات دستگاه GC/MS/MS

جهت آنالیز آفت‌کش‌ها از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7890B مجهز به آشکارساز جرمی متوالی (MS) از نوع چهارقطبی سه‌تایی[1] استفاده شد. جداسازی ترکیبات در ستون موبینه[2] با مشخصات:

Agient Technologies, Inc.HP-5 MS UI 19091S-433UI

30 m×0.25 mm 1micron

-60 to 325/350℃

صورت گرفت. حجم تزریق به اندازه ۲ میکرولیتر بود و از حالت تزریق غیر انشعابی برای تزریق استفاده شد. دمای محل تزریق[3] برابر با ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. هلیوم با خلوص ٪۹۹/۹۹۹ و با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. آشکارساز دستگاه در حالت MRM و با منبع برخورد الکترون[4] (EI) با ولتاژ ۷۰ الکترون ولت تنظیم شد. دمای خط انتقال، منبع یون و کوادراپل به ترتیب در ۲۸۰ و ۲۵۰، ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. همچنین برنامه دمایی مناسب آون برای جداسازی مناسب ترکیبات در جدول (۳) خلاصه شده است.

جدول ۳- برنامه دمایی آون دستگاه GC

	Rate (°C/min)	Temp (°C)	Hold Time (min)	Run Time (min)
(Initial)	-	75	3	3
Ramp 1	25	120	0	4.8
Ramp 2	3	300	10	74.8

تزریق آفت‌کش‌ها به دستگاه GC/MS/MS

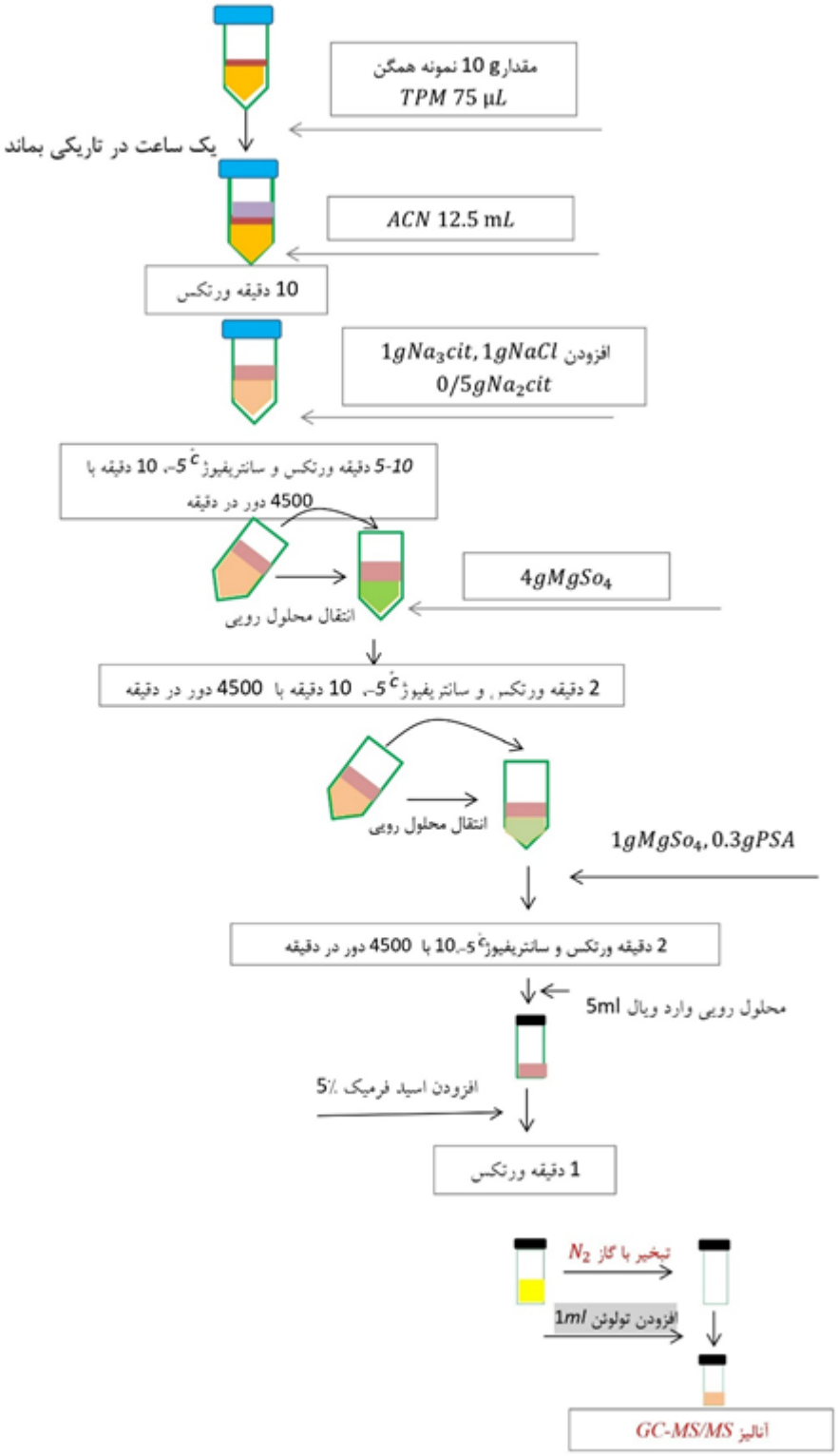
ابتدا تمام آفت‌کش‌های مورد مطالعه به صورت انفرادی به دستگاه GC/MS/MS به منظور تعیین زمان بازداری هر آنالیت، شناسایی کروماتوگرام، محاسبه مساحت زیر منحنی و محاسبه نسبت یونی[5] برای هر ترکیب در راستای انجام تعیین مقدار تزریق شدند.

در ادامه تمام ترکیبات به صورت مخلوط به دستگاه تزریق شدند؛ در ادامه به کمک تغییرات دمای جداسازی، شناسایی کروماتوگرام هر یک از ترکیبات صورت گرفت و MRM مربوط به هر یک از آن‌ها تدوین می‌شود.

آماده‌سازی نمونه‌ها

ابتدا مقداری از نمونه شاهد فریز شده را به نسبت یک به یک با آب دیونیزه مخلوط کرده و بوسیله مخلوط‌کن به صورت همگن و یکنواخت درآمد و سپس ۶ عدد فالکون برداشته شد و ده گرم از مخلوط نمونه- آب (یک به یک که قبلا تهیه شده و معادل ۵ گرم نمونه شاهد است) با ترازوی یک ده هزارم وزن گردید. در ادامه نمونه‌ها به ترتیب در سطح غلظت‌های ۱۵۰ و ۱۰۰، ۵۰، ۳۰، ۱۰ نانوگرم بر گرم با استفاده از محلول‌های استاندارد مخلوط آفت‌کش‌ها و استاندارد داخلی اضافه شدند. برای اضافه کردن محلول استاندارد به نمونه شاهد در سطح غلظت‌های (ppb)۱۵۰ و ۱۰۰، ۵۰، ۳۰، ۱۰ به ترتیب ۷۵ و۵۰، ۲۵، ۱۵، ۵ میکرولیتر از استاندارد مخلوط آفت‌کش‌ها با غلظت ppm ۱۰ برداشته شد و به طور مستقیم به نمونه‌های شاهد افزوده شد. افزون بر این، استاندارد داخلی تری‌فنیل متان با غلظت ۱۵۰ نانوگرم بر گرم در نمونه شاهد استفاده شد که بدین منظور ۷۵ میکرولیتر از محلول استاندارد ppm ۱۰به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌هایی که محلول استاندارد با حجم‌های مختلف به آن اضافه شده است[6]. در نهایت به مدت یک ساعت در جای خنک و تاریک نگه داشته شدند. فلوچارت آماده‌سازی و استخراج آفت‌کش‌ها در شکل (۱) نشان داده شده است.

[1] Tandem triple quadrupole mass detector
[2] Capillary column
[3] Injector
[4] Electron impact
[5] Ion ratio
[6] Spike sample



شکل ۱- مراحل آماده‌سازی نمونه خرما برای اندازه‌گیری آفت‌کش‌ها

روش استخراج

در این مرحله ابتدا ۱۲,۵ میلی‌لیتر استونیتریل به فالکون‌های حاوی نمونه‌های آماده‌سازی شده اضافه گردید و ۱۰-۵ دقیقه (بسته به نوع خرما) ورتکس شد. سپس یک گرم سدیم کلراید و یک گرم تری‌سدیم سیترات دی‌هیدرات و نیم گرم سدیم هیدروژن سیترات سیسکو هیدرات به هر یک از فالکون‌ها اضافه گردید و ۱۰-۵ دقیقه تحت ورتکس قرار گرفت و در نهایت به مدت ده دقیقه با سانتریفوژ یخچال‌دار در ۴۵۰۰ دور در دقیقه و دمای ۵- درجه سانتریفوژ شد. در ادامه و پس از سانتریفوژ، محلول رویی به طور کامل برداشته شد و در فالکون ۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۴ گرم منیزیم سولفات وارد شد و سپس به مدت ۲ دقیقه ورتکس گردید و در نهایت به مدت ده دقیقه با سانتریفوژ یخچال‌دار در ۴۵۰۰ دور در دقیقه و دمای ۵- درجه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد مایع رویی با دقت برداشته شده و به فالکون ۱۵ میلی‌لیتری حاوی ۱ گرم منیزیم سولفات و ۰/۳ گرم PSA منتقل شد. سپس ۲ دقیقه ورتکس شده و به مدت ده دقیقه با سانتریفوژ یخچال‌دار در ۴۵۰۰ دور در دقیقه و دمای ۵- درجه سانتریفوژ شد. در گام بعدی، محلول رویی برداشته و به یک ویال منتقل شد و به ازای هر یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۱۰ میکرولیتر محلول فرمیک اسید ۵ درصد در استونیتریل اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد. در نهایت استونیتریل درون ویال با استفاده از گاز نیتروژن تبخیر شد و سپس ۱ میلی‌لیتر تولوئن به باقیمانده خشک شده اضافه شد و به مدت ۳ دقیقه ورتکس گردید و در نهایت ۲ میکرولیتر از آن به دستگاه GC/MS/MS تزریق شد. مراحل آماده‌سازی استخراج در شکل ۱ آمده است.

معتبرسازی روش

به منظوراعتبارسازی روش، محدوده حد تشخیص LODs، محدوده تعیین مقدار LOQs، انحراف استاندارد نسبی RSD و درصد بازیابی بر اساس استاندارد SANCO تعیین شد [۶]. تعیین و بررسی مشخصه‌های کارایی[1] (محدوده حد تشخیص، محدوده تعیین مقدار، انحراف استاندارد نسبی و درصد بازیابی) در نمونه‌هایی انجام شد که به آنها محلول استاندارد با غلظت‌های ۱۵۰ng/ml و ۱۰۰، ۵۰، ۳۰، ۱۰ و استاندار داخلی با غلظت ۱۵۰ ng/ml اضافه شده بود و استخراج در ۳ روز کاری مختلف انجام شد. محدوده حد تشخیص پایین‌ترین میزان غلظت محلول استاندارد اعتبارسنجی شده ng/ml (۵-۱۴) بررسی گردید و محدوده تعیین مقدار ng/ml (۱۴-۴۰) میانگین بازیافت بین ۱۲۰-۷۰ درصد است و RSD کمتر از ۲۰ درصد است.

آنالیز باقیمانده آفت‌کش‌ها در نمونه‌های خرما

به منظور بررسی وضعیت آلودگی احتمالی خرماهای مورد مصرف به باقیمانده آفت‌کش‌های مورد مطالعه و با توجه به انواع مختلف خرما مصرفی توسط مردم، جمعا ۳۰ نمونه خرما بر اساس دسترسی و همچنین محل‌هایی که مردم برای خرید بیشتر به آن مراکز مراجعه می‌کنند از جمله بازار کرمان و بندرعباس خریداری شد. لازم به توضیح است که دستورالعمل‌های اتحادیه اروپا در طول کل فرآیند دریافت[2]، پردازش[3] و ذخیره‌سازی[4] نمونه‌ها استفاده شد [۸-۷].

بحث و نتیجه‌گیری

بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر بر روش استخراج کچرز

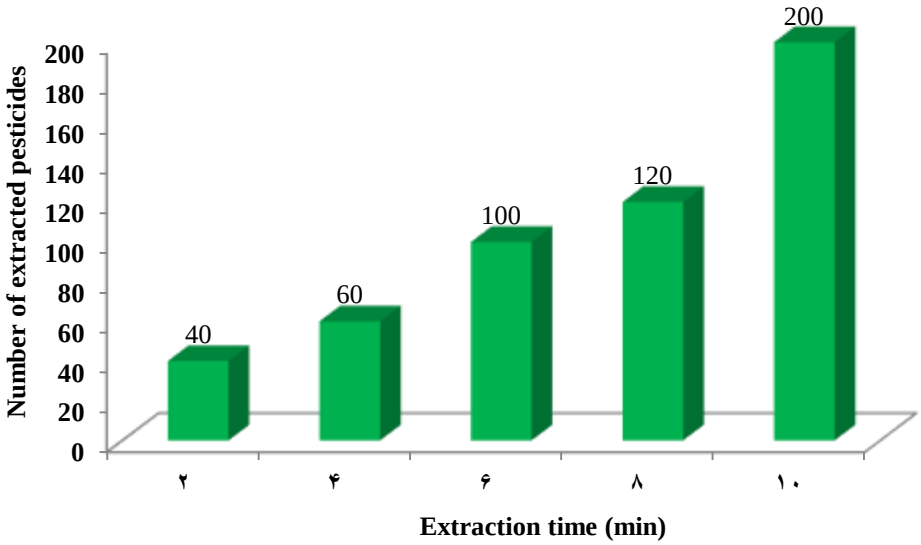
در این پژوهش سعی شد با بهینه کردن پارامترهای مؤثر بر روش کچرز، از یک سو حساسیت روش افزایش یافته و از سوی دیگر مزاحمت‌های مربوط به بافت نمونه تا

[1] Performance characteristics
[2] Receiving
[3] Processing
[4] Storing

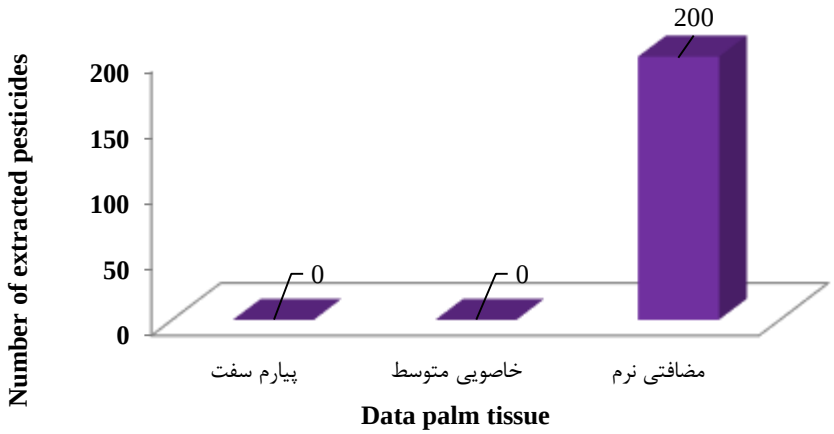
حد ممکن کم شوند. بدین منظور و برای حصول شرایط بهینه، روش بررسی یک متغیر در زمان به کار گرفته شد (در این روش هنگام تغییر یک متغیر، مقدار متغیرهای دیگر ثابت نگه داشته می‌شود). در ادامه اثر دو متغیر زمان استخراج و میزان آب افزوده شده به نمونه‌های خرما با بافت‌های متفاوت (نرم، متوسط، سفت) مورد بررسی قرار گرفت.

برای مطالعه اثر زمان استخراج بر روی تعداد آفت‌کش‌های استخراج شده، زمان‌های مختلفی در محدوده ۲ تا ۱۰ دقیقه بررسی شد (شکل ۲). نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش زمان استخراج تعداد آفت‌کش‌های استخراج شده افزایش می‌یابد به نحوی که در مدت زمان ۱۰ دقیقه تمام آفت‌کش‌ها استخراج گردیدند. لازم به توضیح است که میزان انتقال گونه‌ها به فاز گیرنده تا حد زیادی به زمان استخراج وابسته است. در هنگام تعادل بیشترین انتقال جرم صورت گرفته و اثر مثبت زمان استخراج موید این موضوع است [۹]. بنابراین مدت زمان ۱۰ دقیقه به عنوان زمان بهینه استخراج برای آزمایش‌های بعدی در نظر گرفته شد. در زمان‌های بیشتر از ده دقیقه هم استخراج آفت‌کش‌ها کمتر بود.

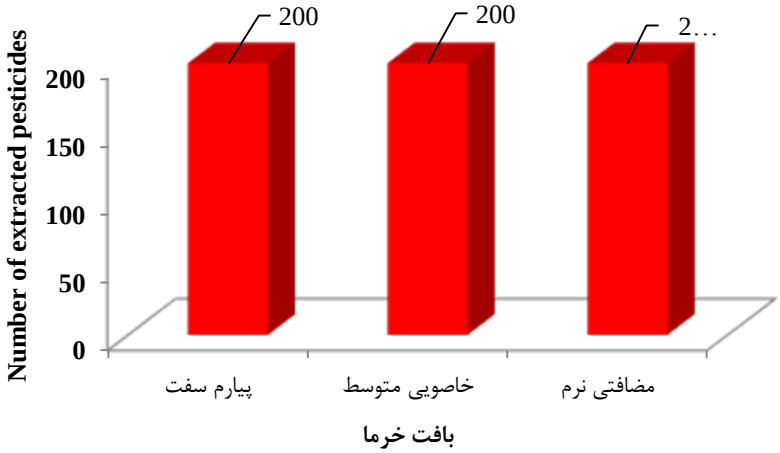
در ادامه اثر افزودن آب به نمونه‌های خرما با بافت‌های متفاوت (نرم، متوسط، سفت) مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا حجم آب افزوده شده صفر بود که نتایج نشان داد استخراج آفت‌کش‌ها از خرماهای با بافت متوسط و سفت به طور چشم‌گیری کمتر از خرما با بافت نرم است. دلیل این موضوع مربوط به نفوذ بسیار ضعیف حلال استخراجی در بافت نمونه است که سبب می‌شود عملاً استخراج انجام نشود. به منظور رفع این موضوع آب به میزان یک به یک حجمی به نمونه‌های خرما با بافت‌های مختلف اضافه شد. شکل (۴)، تعداد آفت‌کش‌های استخراج شده با اضافه شدن آب به انواع خرماهای با بافت سفت، متوسط و نرم را نشان می‌دهد. نتایج این بررسی نشان داد که افزودن آب سبب سهولت جریان‌پذیری حلال در بافت نمونه‌ها شده به گونه‌ای که با افزایش آب، در عمل تاثیر بافت خرما بر تعداد آفت‌کش‌های استخراج شده حذف گردیده است.



شکل ۲- تاثیر زمان استخراج بر تعداد آفت‌کش‌های استخراج شده



شکل ۳- تاثیر بافت خرما بر تعداد آفت‌کش استخراج شده بدون افزودن آب



شکل ۴- تاثیر افزایش آب (به نسبت یک به یک) بر تعداد آفت‌کش استخراج شده

بهینه‌سازی شرایط دستگاه GC/MS/MS

در ابتدا برای اینکه بتوان اطلاعات مربوط به هر آفت‌کش را استخراج کرد یک کروماتوگرام کلی یون (TIC)[1] به‌دست آمد (شکل ۵). به‌منظور آنالیز همزمان دسته‌ای از آفت‌کش‌ها، ضروریست تا ابتدا یک سری داده به نرم‌افزار دستگاه و کتابخانه آن وارد شود. این داده‌ها بوسیله استاندارد تک تک آفت‌کش‌ها به کتابخانه نرم‌افزار وارد شد. لازم به توضیح است که در دستگاه GC/MS/MS برای تایید و شناسایی یک آفت‌کش، از نمودارهای طیف منفرد جرمی MRM استفاده می‌شود.

برای شناسایی اجزاء کروماتوگرام، در شکل ۵ اطلاعات تک تک آفت‌کش‌ها استاندارد شامل یون‌های مادر و دختر به دستگاه داده شد و پیک‌های هر یک شناسایی گردید. به عنوان نمونه شکل (۶) MRM مربوط به ۴ آفت‌کش بوتیلیت، اتریدیازول، نیتروپایرن، EPTC در محدوده زمانی ۱۲/۳-۶ دقیقه می‌باشد. در پنجره زمانی اول که به‌صورت خط عمود است در بازه زمانی ۱۲/۳-۶ دقیقه می‌باشد که در این پنجره در شکل (۶)، ۴ نوع سم گنجانده شده است.

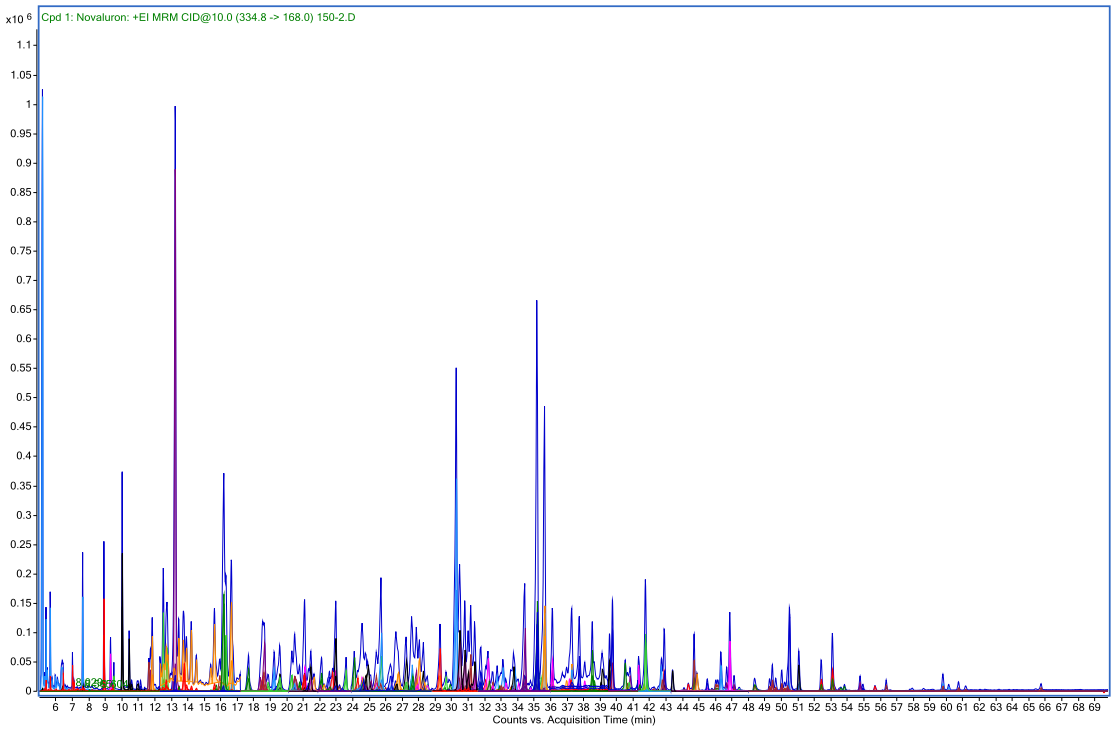
[1] Total ion chromatogram

پنجره بعدی که برای تعدادی آفت‌کش‌ها تعریف شـــد در زمان ۱۷/۲ دقیقه می‌باشد که بقیه پنجره زمانی در جدول ۴ نشـان داده شـده اسـت. به این ترتیب از TIC به دسـت آمده در شـکل ۵ می‌توان کروماتوگرام MRM را اسـتخراج نمود.

بـه این روش که ترکیب هدف (آفت‌کش) زمانی که در منبع یونیزاسـون قرار می‌گیرند بمباران الکترونی می‌شوند، در کوادروپل اول یون پیش‌ساز[1] به همراه یون‌های کوچکتر تولید می‌شـود و وارد مرحله بعد می‌شود که کوادروپل دوم می‌باشـد که در این مرحله یون تولید شـده[2]، از اینجا عبور کرده و بـه گـازهـای نیتروژن برخورد می‌کنـد و یون‌هـای دختری که از قبل به کتابخانه نرم‌افزار دسـتگاه داده شـده است، تولید می‌شود. بسته به نوع سم، انتخاب یون‌های بارز صـــورت پذیرفته و این مطلب منجر به افزایش اطمینان از شناسایی آفت‌کش‌ها آنالیز شده می‌گردد.

طیف جرمی حاصل از هر کدام از آفت‌کش‌ها که دارای تعداد زیادی فرگمنت می‌باشـد. این نکته سـبب می‌شـود زمانیکه تعداد زیادی سـم بخصوص از خانواده‌های یکسان، بطور هم‌زمـان مورد آنـالیز قرار می‌گیرنـد. بخشـــی از این فرگمنت‌ها با همدیگر همپوشـانی نموده و باعث سردرگمی در تفسیر طیف‌های حاصله گردد.

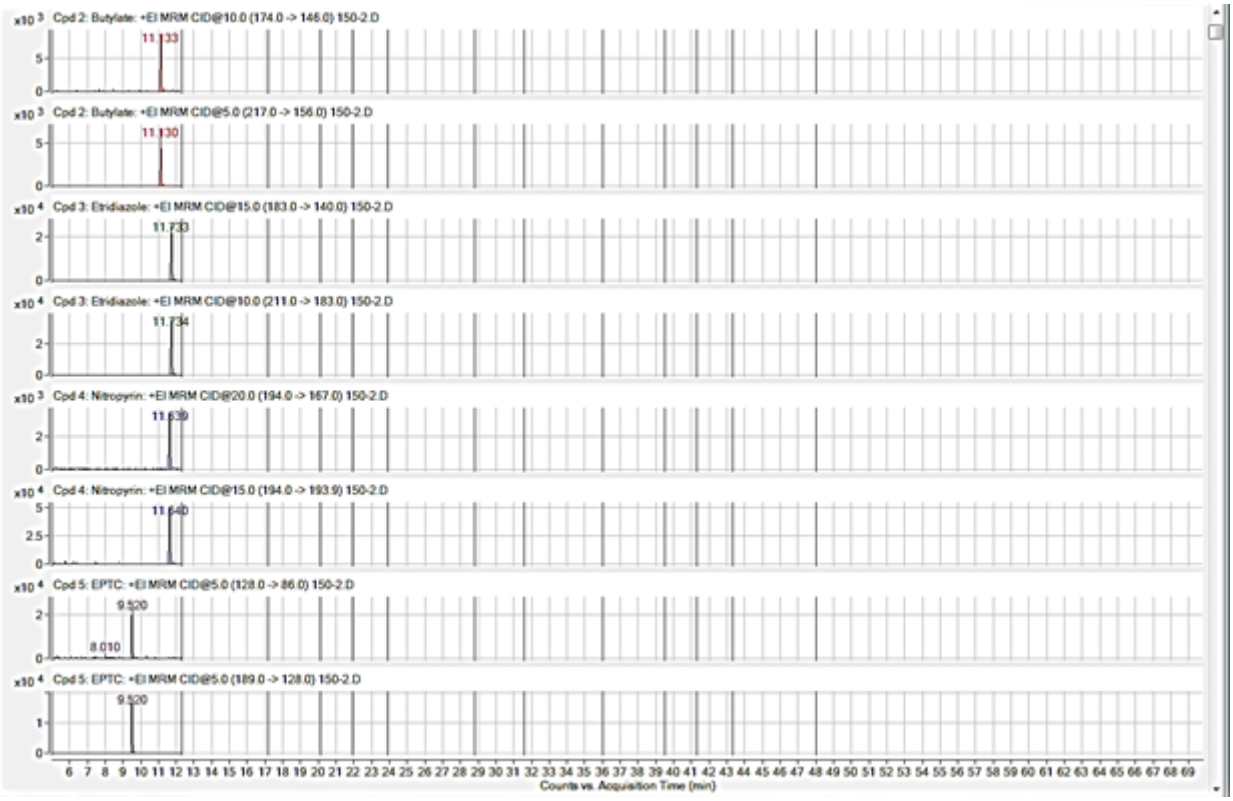
در جدول (۴)، ۱۹۸ ســـم اســـتخراج شـــده به همراه مشخصات آن‌ها و شرایط دستگاه GC/MS/MS آورده شده است. ستون اول پنجره مربوط به برنامه دستگاه می‌باشد تا بتوان آفت‌کش‌ها را به صورت تک تک در کروماتوگرام کلی شـلوغ شناسایی نمود. ستون دوم مربوط به زمان باقیمانده هر سـم می‌باشـد. سـتون‌های بعدی مربوط به جرم به بار شکست یون‌ها در دو مرحله می‌باشد.



شکل ۵- TIC آفت‌کش‌ها با سطح غلظت‌های مختلف

[1] Precursor ion

[2] Product ion



شکل ۶- MRM مربوط به ۴ نوع سم مختلف

جدول ۴- بررسی پارامترهای اعتبارسنجی و دستگاهی GC/MS/MS

	Name	Window	T_R[a] (min)	Pre I[b] 1	Pro I[c] 1	CE[d]	Pre I 2	Pro I 2	CE	DT[e]	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Rec[f] (%)	RSD[g] (%)
1	Novaluron	5	9.2	334.8	168	10	168	140	10	40	5	14	94–104	7.5–20
2	Propham		12.2	179	137	8	137	93	10	30	5	14	78–108	7–16
3	Crimidine	12.3	13.8	171	142	10	142	104.7	20	70	5	14	82–112	4–17
4	Cycloate		17.1	154	83	5	83	55	5	40	5	14	79–86	4–8
5	Ethoprophos		16.8	157.8	114	5	157.8	97	15	40	5	14	95–109	4–8
6	Propoxure		16.7	110	110	10	110	63	25	40	5	14	89–107	3–9
7	Tecnazene		15.9	261	203	10	203	143	25	40	5	14	70–110	14–20
8	Thianazine		16.4	175	79	10	143	79	10	30	10	30	70–90	9–18
9	Alpha HCH		19.1	218.4	182.9	9	181	145	11	60	5	14	81–86	8–20
10	Atrazine	17.2	21.0	215	200	5	215	58	10	60	5	14	97–105	1–20
11	Benfluralin		19.0	292	264	10	292	206	10	40	5	14	74–103	2–13
12	Beta HCH		20.7	219	183	9	181	145	11	40	5	14	79-93	0.1–16
13	Clomazone		20.9	204	204	20	204	107	20	40	5	14	98–106	0.7–15
14	Cyanophos		21.6	243	109	10	243	79	30	30	5	14	90–97	0.7–7
15	Dicloran		19.9	206	176	10	160	124	10	40	5	14	81–101	2–13

16	Dimetoate		20.1	229	87	5	87	46	15	70	5	14	94–109	0.9–11
17	Dioxabenzofos		18.2	216	201	10	216	137	25	40	5	14	82–104	1–12
18	Ethalfluralin		18.3	315.6	275.5	10	276	105	35	70	5	14	82–12	2–12
19	Gamma HCH		21.1	218.4	182.8	9	181	145	15	40	5	14	79–92	0.02–11
20	Hexachlorobenzene		19.4	284	249	15	284	214	20	40	5	14	81–96	12–20
21	Monocrotophos		19.0	127	109	10	127	95	15	40	5	14	91–112	3–14
22	Pentachloroanisole		19.8	280	237	20	265	237	12	40	5	14	92–106	9–20
23	Phorate		19.0	231	175	10	231	128.7	25	60	5	14	111–115	14–15
24	Profluralin		22.2	318	199	15	318	55	10	70	5	14	86–93	1–17
25	Promecarb		19.1	150	135	5	135	91	20	40	5	14	92–98	0.5–8
26	Propazine		21.3	229	187	3	229	58	10	40	5	14	92–104	7–8
27	Propetamphos		22.0	138	110	10	138	64	15	30	5	14	92–101	4–8
28	Propyzamide		22.0	173	145	15	173	109	25	40	5	14	91–105	3–13
29	Pyrimethanil		22.2	198	198	25	198	183	15	40	5	14	74–99	3–20

ادامه جدول ۴- بررسی پارامترهای اعتبارسنجی و دستگاهی GC/MS/MS

	Name	Window	T_R[a] (min)	Pre I[b] 1	Pro I[c] 1	CE[d]	Pre I 2	Pro I 2	CE	DT[e]	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Rec[f] (%)	RSD[g] (%)
30	Quintazone	17.2	21.3	295	237	16	237	143	30	40	5	14	84–90	5–20
31	Terbufos		21.6	231	175	10	231	129	25	40	5	14	90–120	7–13
32	Terbuthylazine		21.8	229	173	10	173	172	5	40	5	14	74–99	3–15
33	Thiomethone		19.5	125	79	10	125	47	20	40	5	14	91–102	1–12
34	Trifluralin		18.9	306	264	5	306	160	30	50	5	14	85–109	5–12
35	[1]DCBP[h]	22.35	25.9	250.1	139	16	139	111	12	40	5	14	88–111	4–11
36	Acetochlor		25.1	222.9	132.2	20	174	146	10	40	5	14	98–105	4–8
37	Alachlor		25.7	222.9	132.2	20	174	146	10	40	5	14	72–107	1–14
38	Carbaryl		25.4	144	115	20	144	89	50	40	5	14	85–103	2–7
39	Chlorpyrifos methyl		24.7	288	93	20	286	93	20	40	5	14	97–113	2–9
40	Diazinon		22.3	304	179	15	137	84	10	40	5	14	97–103	4–8
41	Chlortalonil		24.2	266	265.9	17	263.4	168	25	40	14	40	75–101	5–14
42	Delta HCH		22.82	219	183	9	217	181	5	40	5	14	71–94	0.1–20
43	Dimethenamid		24.7	232	154	10	230	154	10	40	10	30	88–98	3–10
44	Etrimfos		23.5	181	153	5	168	153	5	40	5	14	94	2–9
45	Fenchlorphos		25.6	287	272	15	285	270	15	30	5	14	90–97	3–8
46	Fluchloralin		23.0	306	264	5	306	206	15	40	5	14	90–110	2–14
47	Formothion		23.97	170	93	5	125	79	6	40	5	14	87–97	2–11
48	Heptachlor		25.2	272	237	14	272	117	40	40	5	14	99–106	0.5–20

[1] 2,4–dichlorobenzophenone

49	Isazophos		23.4	161	146	5	161	119	10	40	5	14	95–104	4–7
50	Metalaxyl		25.6	234	174	10	234	146	20	50	5	14	99–103	5–13
51	Metribuzin		24.9	198	82	15	198	55	30	40	5	14	94–102	2–19
52	Parathion methyl		25.19	263.2	109	15	263	79	30	40	5	14	86–117	2–11
53	Pentachloroanilin		23.79	265	194	20	265	192	20	40	5	14	108–120	2–17
54	Pirimicarb		24.2	238	166	10	166	55	20	40	5	14	100–111	4–9
55	Prometryn		25.9	226	184	10	199	184	5	40	5	14	78–109	0.6–17
56	Tefluthrin		23.5	177	137	20	177	127	20	40	5	14	93–100	1–6
57	Terbacil		23.1	161	144	10	161	88	20	40	5	14	94–106	2–20
58	Tolclofos methyl		25.2	265	265	15	265	250	15	30	5	14	90–98	7.5–9
59	Transfluthrin		25.9	335	163	20	163.1	90.2	15	40	5	14	94–104	3–18
60	Tri-allate		23.2	143	83	15	268	184	20	40	5	14	89–100	1–20
61	Pirimiphos methyl		25.2	290	233	10	290	125	20	70	5	14	94–108	6–10
62	Vinclozolin		25.3	285	212	15	187	124	20	40	5	14	89–105	8–17

ادامه جدول ۴- بررسی پارامترهای اعتبارسنجی و دستگاهی GC/MS/MS

	Name	Window	T_R[a] (min)	Pre I[b] 1	Pro I[c] 1	CE[d]	Pre I 2	Pro I 2	CE	DT[e]	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Rec[f] (%)	RSD[g] (%)
63	Alderin	26.1	27.2	263	193	20	255	220	20	70	5	14	78–102	6–14
64	Dicofol		26.5	251	139	5	139	111	5	40	5	14	95–120	9–20
65	Ethofumesate		27.3	207	161	5	207	137	10	40	5	14	78–96	6–12
66	Fenitrothion		26.9	277	260	5	277	109	15	60	5	14	84–107	1–11
67	Malathion		27.3	173	99	15	158	125	5	40	5	14	97–112	0.6–10
68	Metholachlor		27.4	237.9	162.2	10	162.2	132.2	15	40	5	14	85–108	1–14
69	`MPCPS[i]		27.3	296	263	15	263	262.9	10	40	5	14	95–102	2–19
70	Phorate sulfon		27.5	153	125	5	152.5	97	10	50	10	30	70–100	4–18
71	Thiobencarb		27.1	256.7	100	5	125	89	15	40	5	14	83–110	1.3–20
72	Bromophos methyl	27.4	29.1	330.7	315.9	20	328.8	313.8	15	40	5	14	84–95	2–12
73	Anthraquinone		27.5	208	180	10	180	152	15	40	5	14	95–101	2–11
74	Alpha endosulfan		30.1	241	206	10	195	159	8	40	5	14	85–103	7–13
75	Chlorpyrifos		28.0	197	169	15	197	107	40	40	5	14	92–101	8–9
76	Chlortal dimethyl		28.2	301	223	25	299	221	25	40	5	14	95–102	7–8
77	fenthion		28.2	278.2	125	20	278.2	109	20	40	5	14	96–120	1–11
78	Dicapton		28.8	262.1	216.1	15	262	123	40	40	5	14	89–105	6–14
79	Dodemorph		28.22	154	136	10	154	82	20	40	5	14	78–115	4–20
80	Isobenzane		28.4	311	275	10	275	240	15	40	5	14	96–103	5–15
81	Fenson		28.9	268	141	10	268	77	20	40	5	14	84–107	6–17

[1]Methyl-pentachlorophenyl sulfide

82	[1]HCEnE[j]		30.1	289	253	15	289	219	15	70	5	14	80–106	3–20
83	[2]HCExE[k]		30.0	353	263	15	353	253	15	70	5	14	100–105	5–15
84	Triadimefon		28.6	208	181	5	208	111	20	70	5	14	95–105	0.9–10
85	Isocarbofos		29.7	230	212	10	230	155	15	60	5	14	88–112	4–9
86	Isodrin		28.75	263	191	30	193	123	30	40	5	14	89–105	2–17
87	Isofenphos methyl		30.4	241	199	10	199	121	10	40	5	14	98–107	6–8
88	Isopropalin		29.9	280	180	15	264	222	5	40	5	14	86–104	9–14
89	Methidathion		29.9	145	85	15	145	58	15	40	5	14	89–97	3–10
90	Parathion ethyl		28.3	297	269	14	291	109	10	40	5	14	83–101	3–13
91	Penconazole		30.2	248	192	15	248	157	25	40	5	14	90–104	0.8–11
92	Pirimiphos ethyl		29.9	318	166	10	304	168	15	40	5	14	98–105	5–9
93	Procymidone		30.52	283	96	10	283	283	40	40	5	14	85–109	6–12
94	Quinalphos		30.2	146	118	10	146	91	30	30	5	14	95–100	4–11
95	Tetraconazole		30.4	336	218	20	170.9	136	10	60	5	14	77–97	5–14

ادامه جدول ۴- بررسی پارامترهای اعتبارسنجی و دستگاهی GC/MS/MS

	Name	Window	T_R[a] (min)	Pre I[b] 1	Pro I[c] 1	CE[d]	Pre I 2	Pro I 2	CE	DT[e]	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Rec[f] (%)	RSD[g] (%)
[3]	TPM[l]		28.6	244	167	10				60				
96	Trichloronate	27.4	28.9	299	271	10	297	269	14	40	5	14	95–100	3–10
97	Pyrifenox		30.5	171	171	15	171	171	15	50	5	14	96–110	3–10
98	Phosfolan		30.6	196	140	10	168	140	5	40	5	14	97–120	9–13
99	4,4 DDE	30.65	33.7	317.3	247	20	246	176	28	40	5	14	84–112	6–14
100	2,4 DDE		31.8	248	176	30	246	176	30	50	5	14	86–108	5–18
101	Barban		34.3	257	222	10	222	69	10	50	10	30	70–99	13–16
102	Bromophos ethyl		31.7	358.7	302.8	15	302.8	284.7	15	40	5	14	92–102	6–9
103	Buprimate		31.9	316	208.3	10	272.9	193.1	5	40	5	14	91–120	1–15
104	Butachlor		32.6	237	160	5	176	146	35	40	5	14	80–111	7–10
105	Buprofezin		34.9	305	172	5	104.3	76.1	20	40	5	14	82–105	1–11
106	[4]CPM[m]		35.05	313.8	157	10	167	121	20	40	5	14	83–113	9–15
107	Chlorfenson		32.7	175	111	10	111	75	15	40	5	14	76–119	10–15
108	Chlorfenapyr		33.8	247	246.8	10	247	227	10	40	5	14	79–120	6–20
109	Cyproconazole		34.8	139	111	15	139	74.7	20	50	5	14	74–113	0–13
110	Dieldrin		33.5	277	241	5	262.8	192.9	35	40	5	14	87–120	3–17
111	Disulfoton sulfon		32.4	213	153	5	213	97	15	40	5	14	72–120	2–11
112	Dinobuton		31.3	211	163	8	211	117	18	40	5	14	95–120	9–20

[1] Heptachlor-endo-epoxide
[2] Heptachlor-exo-epoxide
[3] Triphenylmethane
[4] Carbophenothion methyl

113	Ditalimphos		32.7	271	243	5	130	102	10	50	5	14	83–120	4–17
114	Endrin		34.7	271	243	5	130	102	10	50	5	14	75–118	3–17
115	Fipronil		31.3	367	255	10	367	213	20	40	5	14	95–106	6–17
116	Fludioxonil		34.1	248	182	10	248	154	20	40	5	14	84–120	0–15
117	Flumethralin		32.7	157	129	20	143	107.2	20	40	5	14	77–111	2–11
118	Flusilazole		34.6	233	165.2	15	233	152	20	40	5	14	91–120	2–13
119	Flutriafol		32.6	219	123.1	15	123	95	10	40	5	14	86–111	7–14
120	Genite		32.4	302	141	5	302	77	15	30	5	14	77–116	3–20
121	Hexaconazol		33.1	231	175	10	214	172	15	60	5	14	95–120	0–10
122	Imazalil		33.6	216.9	175	5	215	173	5	60	5	14	73–120	2–14
123	Iodofenphos		33.1	377	362	20	377	93	35	40	5	14	90–108	3–12
124	kresoxim methyl		35.0	131	89	20	116	89	15	40	5	14	87–111	2–14

ادامه جدول ۴- بررسی پارامترهای اعتبارسنجی و دستگاهی GC/MS/MS

	Name	Window	T_R[a] (min)	Pre I[b] 1	Pro I[c] 1	CE[d]	Pre I 2	Pro I 2	CE	DT[e]	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Rec[f] (%)	RSD[g] (%)
۱	TPM[1]		28.6	244	167	10				60				
96	Trichloronate	27.4	28.9	299	271	10	297	269	14	40	5	14	95–100	3–10
97	Pyrifenox		30.5	171	171	15	171	171	15	50	5	14	96–110	3–10
98	Phosfolan		30.6	196	140	10	168	140	5	40	5	14	97–120	9–13
99	4,4 DDE	30.65	33.7	317.3	247	20	246	176	28	40	5	14	84–112	6–14
100	2,4 DDE		31.8	248	176	30	246	176	30	50	5	14	86–108	5–18
101	Barban		34.3	257	222	10	222	69	10	50	10	30	70–99	13–16
102	Bromophos ethyl		31.7	358.7	302.8	15	302.8	284.7	15	40	5	14	92–102	6–9
103	Buprimate		31.9	316	208.3	10	272.9	193.1	5	40	5	14	91–120	1–15
104	Butachlor		32.6	237	160	5	176	146	35	40	5	14	80–111	7–10
105	Buprofezin		34.9	305	172	5	104.3	76.1	20	40	5	14	82–105	1–11
106	[2]CPM[m]		35.05	313.8	157	10	167	121	20	40	5	14	83–113	9–15
107	Chlorfenson		32.7	175	111	10	111	75	15	40	5	14	76–119	10–15
108	Chlorfenapyr		33.8	247	246.8	10	247	227	10	40	5	14	79–120	6–20
109	Cyproconazole		34.8	139	111	15	139	74.7	20	50	5	14	74–113	0–13
110	Dieldrin		33.5	277	241	5	262.8	192.9	35	40	5	14	87–120	3–17
111	Disulfoton sulfon		32.4	213	153	5	213	97	15	40	5	14	72–120	2–11
112	Dinobuton		31.3	211	163	8	211	117	18	40	5	14	95–120	9–20
113	Ditalimphos		32.7	271	243	5	130	102	10	50	5	14	83–120	4–17
114	Endrin		34.7	271	243	5	130	102	10	50	5	14	75–118	3–17
115	Fipronil		31.3	367	255	10	367	213	20	40	5	14	95–106	6–17

[1] Triphenylmethane
[2] Carbophenothion methyl

116	Fludioxonil		34.1	248	182	10	248	154	20	40	5	14	84–120	0–15
117	Flumethralin		32.7	157	129	20	143	107.2	20	40	5	14	77–111	2–11
118	Flusilazole		34.6	233	165.2	15	233	152	20	40	5	14	91–120	2–13
119	Flutriafol		32.6	219	123.1	15	123	95	10	40	5	14	86–111	7–14
120	Genite		32.4	302	141	5	302	77	15	30	5	14	77–116	3–20
121	Hexaconazol		33.1	231	175	10	214	172	15	60	5	14	95–120	0–10
122	Imazalil		33.6	216.9	175	5	215	173	5	60	5	14	73–120	2–14
123	Iodofenphos		33.1	377	362	20	377	93	35	40	5	14	90–108	3–12
124	kresoxim methyl		35.0	131	89	20	116	89	15	40	5	14	87–111	2–14

ادامه جدول ۴- بررسی پارامترهای اعتبارسنجی و دستگاهی GC/MS/MS

	Name		T_R[a] (min)	Pre I[b] 1	Pro I[c] 1	CE[d]	Pre I 2	Pro I 2	CE	DT[e]	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Rec[f] (%)	RSD[g] (%)
125	Myclobutanil		34.4	179	125.2	15	179	90	30	40	5	14	93–115	1–12
126	Nitrofen		34.9	283	253	10	202	139	21	40	5	14	71–120	5–17
127	Oxadiazone		34.7	283	253	10	202	139	21	40	5	14	92–114	4–12
128	Oxyfluorfen		34.8	252	196	20	252	146	30	40	5	14	80–113	5–15
129	Pertilachlor		33.9	262	202	5	162.1	132.2	20	40	5	14	70–120	3–20
130	Profenphos	30.65	33.6	208	99	25	208	63	40	40	5	14	92–120	0–12
131	Prothiophos		33.4	267	239	5	267	221	20	40	5	14	91–111	7–8
132	Pyrifenox		31.5	171	171	15	171	171	15	50	5	14	96–110	3–10
133	Tetrachlorovinphos		32.4	331	109	25	329	109	10	40	5	14	71–106	5–20
134	Tricyclazole		33.8	331	109	25	329	109	10	40	5	14	82–114	0–11
135	Tirflumizole		31.7	278	43	15	179	144	15	40	5	14	73–89	3–13
136	Triadimenol		31.1	168	70	10	128	100	10	60	5	14	101-102	4–20
137	2,4 DDT	35	33.5	237	165	20	235	165	30	40	5	14	81–119	2–13
138	4,4 DDD		36.1	237	165	20	235	165	23	40	5	14	83–120	1–13
139	4,4 DDT		38.2	237	165	20	235	165	30	40	5	14	85–113	3–12
140	Benalaxyl		37.4	266	148	5	148	77	35	40	5	14	95–120	0.7–13
141	Beta endosulfan		35.4	241	206	10	206	172	15	50	5	14	74–105	3–13
142	Carbophenothion		37.6	199	143	10	153	97	10	40	5	14	73-103	4–20
143	Chloridazone		38.3	220.8	77	20	220	193	23	40	5	14	79–120	10–16
144	Chlorobenzilate		35.8	251	139	15	139	111	10	40	5	14	80–120	1–12
145	Chlorthiophos		36.9	360	269	10	324.8	268.9	10	60	5	14	96–118	0–13
146	Diclofop methyl		39.3	340	253	10	253	162	15	40	5	14	92–120	5–14
147	Diniconazole		36.0	269.8	232	10	267.9	232	10	60	5	14	83–115	9–13
148	Edifenphos		37.8	201	109	10	172.7	109	5	40	5	14	98–120	4–10
149	Endosulfan sulphate		37.7	387	253	10	272	237	20	40	5	14	89–118	0.6–13
150	Ethion		36.7	231	175	10	230.9	128.9	20	40	5	14	80–119	6–20

151	Fipronil sulfon		35.7	255	228	10	383	282.2	15	40	5	14	85–120	4–17
152	Fluazifop p butyl		35.63	383	282.2	15	282	238	20	40	5	14	70–106	3–20
153	Imiprothrin		37.9	228	87	15	123	81	8	50	14	40	73–111	17–20
154	Propiconazole		38.8	259	69	10	173	74	45	40	5	14	86–120	5–12
155	Teboconazole		38.2	250	125	15	125	89	15	40	5	14	91–117	1–14
156	Tetrasul		36.8	254	219	20	252	182	35	40	5	14	86–109	1–12
157	Triazofos		37.9	161	134	5	161	134	5	40	5	14	96–118	0.8–10

ادامه جدول ۴- بررسی پارامترهای اعتبارسنجی و دستگاهی GC/MS/MS

	Name		T_R[a] (min)	Pre I[b] 1	Pro I[c] 1	CE[d]	Pre I 2	Pro I 2	CE	DT[e]	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Rec[f] (%)	RSD[g] (%)
158	Trifloxystrobin		39.1	116	89	15	116	63	30	40	5	14	87–120	3–17
159	Bioresmethrin	39.45	40.2	171	128	15	143	128	10	40	5	14	91–118	4–11
160	Endrin keton		40.2	317	145	20	317	101	20	40	14	40	96–120	0.5–17
161	Fenamiphos sulfone		41.3	314	292.2	10	292	214	10	40	5	14	76–120	10–20
162	Fenazaquin		42.1	160	145	10	145	117	15	40	5	14	70–120	2–16
163	Fenpropathrin		42.2	265	210	10	208	181	5	70	5	14	95–115	2–9
164	Fenarimol	39.45	45.1	251	139	10	219	107	10	50	5	14	82–119	4–15
165	Iprodione		41.1	314	245	10	187	124	25	40	5	14	84–113	6–15
166	Phosmet		41.0	160	133	10	160	77.1	20	60	14	40	90–108	2–7
167	Piperonyl butoxide		40.0	176	131	15	176	103	25	50	5	14	75–111	3–20
168	Resmethrin		40.2	123	95	5	123	81	5	40	5	14	93–120	4–15
169	Tebufenpyrad		42.1	333	171	20	267	171	10	40	5	14	94–120	1.9–10
170	Zoxamide		40.3	258	187	15	186.4	159	15	60	5	14	91–120	7–12
171	Azinphos ethyl		43.3	160	77	10	132	77	20	70	5	14	86–117	8–17
172	Cyphenothrin		45.2	208	181	15	181	181	10	40	10	30	83–120	8–11
173	Ioxynil octanoate		45.0	370.7	117.2	20	243	88	15	40	5	14	89–120	3–20
174	Lambda cyhalothrin		45.2	208	181	5	181	152	25	40	5	14	70–90	8–10
175	Leptophos		43.4	171	77	15	155	77	15	50	5	14	95–120	1.4–12
176	Mirex		43.2	272	237	15	272	117	40	40	5	14	82–120	2–14
177	Phenothrin		42.1	183	168	10	183	155	5	70	10	30	83–120	8–11
178	Phosalone		43.2	182	111	15	182	75	30	40	5	14	90–120	4–12
179	Pyriproxyfen		43.9	136	96	15	136	78	20	40	5	14	90–120	6–11
180	Tetradifon		42.8	356	229	10	227	199	15	40	5	14	99–120	4–9
181	Bitertanol	45.45	45.4	170	141	18	170	115	25	40	5	14	97–120	6–15
182	Permethrin		47.2	183	168	10	183	153	10	40	5	14	87–120	0.1–15
183	Prochloraz		48.0	196	97	30	180	138	15	70	5	14	94–120	4–18
184	Pyraclophos		46.0	359.9	194.2	15	194	138	15	60	5	40	96–120	1–11
185	Pyrazophos		46.08	221	193	10	194	138	15	40	5	14	96–117	0.5–12

186	Pyridaben		47.4	147	132	10	147	117	20	50	5	14	93–120	0.8–16
187	Azoxystrobin	48.4	48.4	388	345	15	344	329	20	30	10	30	73–120	12–20
188	Cyfluthrin		50.0	199	170	25	163	127	5	40	5	14	96–116	5–9
189	Deltamethrin		55.3	253	93	15	181	152	25	50	5	14	93–120	8–12
190	Esfenvalerate		53.6	166.5	125	17	125	89	16	50	5	14	85–118	5–20

ادامه جدول ۴- بررسی پارامترهای اعتبارسنجی و دستگاهی GC/MS/MS

	Name		T_R[a] (min)	Pre I[b] 1	Pro I[c] 1	CE[d]	Pre I 2	Pro I 2	CE	DT[e]	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Rec[f] (%)	RSD[g] (%)
191	Etofeprox		51.0	163	135	10	107	77	15	40	5	14	94–120	2–13
192	Fenbuconazole		48.9	197.6	129	10	129	102	15	80	10	30	73–120	7–17
193	Fenvalerate		53.6	167	125	5	125	124.7	10	70	5	14	76–116	5–19
194	Halfenprox		50.3	263	235	10	182.4	181	15	60	10	30	79–120	1–20
195	Indoxacarb		55.4	263	235	10	182.4	181	15	60	5	14	99-120	6–20
196	Pyridalyl		51.4	204	176	10	204	147.9	20	40	10	30	89–120	13–20
197	Silaflufen		51.5	286	207	8	178.8	151.1	10	40	5	14	80–111	2–17
198	Tau fluvalinate1		54.1	250	200	40	250	55	40	30	14	40	108–120	1–19

ارقام شایستگی روش و معتبرسازی

به منظور معتبرسازی روش، ارقام شایستگی آن شامل حد تشخیص، محدوده خطی، دقت و درصد بازیابی مورد ارزیابی قرار گرفت. منحنی‌های کالیبراسیون برای اکثر آفت‌کش‌ها در محدوده ۱۵۰-۱۵ میکروگرم بر کیلوگرم کل نمونه، با ضرایب رگرسیون (r^2) بالاتر از ۰/۹۹۳۴ خطی بودند. به منظور تعیین و بررسی درصد بازیافت نیز از نمونه‌هایی که به آنها محلول استاندارد با غلظت‌های ۱۵۰ng/ml و ۱۰۰، ۵۰، ۳۰، ۱۰ به همراه افزودن استاندارد داخلی در سطح ۱۵۰ng/ml و در ۳ روز کاری مختلف استفاده شد. میانگین میزان بازیابی آفت‌کش‌ها ۷۰ تا ۱۲۰ درصد و حدود تشخیص (LODs) و حدود تعیین کمی (LOQs) به ترتیب در محدوده ۱۴-۵ میکروگرم بر کیلوگرم و ۴۰-۱۴ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین شدند و انحراف استاندارد نسبی برای همه آفت‌کش‌ها ≤۲۰٪ بود. ارقام شایستگی به دست آمده نشان از دقت و صحت مناسب روش کچرز اصلاح شده دارد و می‌توان از آن به عنوان روشی سریع، آسان و قابل اعتماد به منظور اندازه‌گیری باقیمانده آفت‌کش‌ها در نمونه‌های غذایی بهره برد.

تعیین باقیمانده آفت‌کش‌ها در نمونه‌های خرما

به منظور بررسی کارایی روش ارائه شده در تعیین باقیمانده آفت‌کش‌ها در نمونه‌های حقیقی، ۳۰ نمونه‌ی خرمای تازه تهیه و تحت استخراج با روش اصلاح شده کچرز قرار گرفت و سپس با دستگاه GC/MS/MS آنالیز شد. جدول (۵) نتیجه آفت‌کش‌های شناسایی شده در نمونه‌های خرمای آنالیز شده را نشان می‌دهد که همه آن‌ها کمتر از محدوده مجاز استاندارد می‌باشند.

جدول ۵- تعیین باقیمانده آفت‌کش‌ها در نمونه‌های مختلف خرما

کد	نام خرما	شهر	آفت‌کش‌ها	حدود مجازاستاندارد PPb
۱	آلو مهتری	بندرعباس	Diazinon	۵۰
۲	هلیلی	حاجی‌آباد	-	-
۳	شاهانی ۱	جهرم	Chlorpyrifos	۲۰۰۰
۴	شاهانی ۲	جهرم	-	-
۵	مضافتی ۱	حاجی‌آباد	-	-
۶	زاهدی	جهرم	-	-
۷	قصب	جهرم	-	-
۸	رطب مضافتی ۲	بم	-	-
۹	رطب مضافتی تمرالممتاز ۳	کرمان	-	-
۱۰	رطب مضافتی تمرالممتاز ۴	بم	-	-
۱۱	رطب مضافتی صادراتی ۵	بم	Chlorpyrifos	۲۰۰۰
۱۲	رطب مضافتی صادراتی ۶	کرمان		-
۱۳	خرما گوشتی	رویدر		-
۱۴	مضافتی ۷	رویدر		-
۱۵	مضافتی ۸	جهرم	Piperonyl butoxide Tetradifon	۵۰ ۱۰۰
۱۶	خنیزی	حاجی آباد	-	-
۱۷	شاهانی ۳	جهرم	Tetradifon	۱۰۰
۱۸	خنیزی	جهرم	-	-
۱۹	مضافتی فله ۹	کرمان	Piperonyl butoxide	۵۰
۲۰	مضافتی فله ۱۰	بم	-	-
۲۱	پیارم ۱	حاجی آباد	-	-
۲۲	پیارم ۲	حاجی آباد	-	-
۲۳	مرداسنگ	رودخانه	-	-
۲۴	مرداسنگ	حاجی آباد	-	-
۲۵	کریته	رودخانه	-	-
۲۶	گرودیال	رودخانه	-	-
۲۷	خاصویی ۱	خوزستان	-	-
۲۸	خاصویی ۲	خوزستان	-	-
۲۹	کبکاب ۱	بوشهر	Diazinon	۵۰
۳۰	کبکاب ۲	بوشهر	-	-

مقایسه روش حاضر با روش‌های گزارش شده

در جدول (۶) برخی روش‌ها از نظر شاخص‌های اعتبار روش برای اندازه‌گیری باقیمانده آفت‌کش‌ها در خرما و برخی محصولات کشاورزی دیگر به‌صورت خلاصه ذکر شده است. همان‌گونه که در این جدول نشان داده شده است، تعداد آفت‌کش‌های اندازه‌گیری شده در این پژوهش

به جز یک مورد بیشتر از سایر پژوهش‌ها گزارش شده است که این موضوع قابلیت بالای روش پیشنهادی را نشان می‌دهد. از سوی دیگر تکرارپذیری و درصد بازیابی‌های روش حاضر قابل مقایسه با سایر روش‌هاست و دقت و صحت مناسب روش پیشنهادی را نشان می‌دهد.

جدول ۶- مقایسه پارامترهای اعتبار روش در تحقیقات مختلف برای اندازه‌گیری آفت‌کش‌ها در خرما و برخی محصولات کشاورزی دیگر

ردیف	سال پژوهش	روش مرجع	تعداد آفت‌کش‌ها گزارش شده	آفت‌کش‌ها بالاتر از حد مجاز	انحراف استاندارد نسبی (درصد)	حد کمی	حد تشخیص	ریکاوری (درصد)	نمونه
۱	۲۰۲۲	[۱۰]	۱۹۸	-	≤۲۰	۴۰-۱۴ (ng/g)	۱۴-۵ (ng/g)	۱۲۰-۷۰	خرما
۱	۲۰۲۱	[۱۱]	۳۴۳	۱۱	-	-	-	-	خرما
۲	۲۰۱۹	[۱۲]	۲۴	۱	-	-	-	-	خرما
۳	۲۰۱۹	[۱۳]	۱۳۳	-	۱۴/۴ -۰/۲	-	-	۱۱۲-۷۰/۲	میوه خشک مرکبات
۴	۲۰۱۷	[۱۴]	۱	-	-	-	۵۰-۱۰ (ng/g)	۷۱/۲ -۱۱۳/۸	۲۶ غذا با منشا گیاهی
۵	۲۰۱۷	[۱۵]	۵	-	عدم قطعیت کمتر از ۲۶ درصد	۰/۴ -۰/۲۲ (mg/kg)	۰/۲۸ -۰/۱۴ (mg/kg)	۱۰۴/۶ -۶۰/۳	پاپایا و آووکادو
۶	۲۰۱۷	[۱۶]	۹۸	-	کمتر از ۲۰	۱۰(mg/kg)	۳ (mg/kg)	۱۰۰-۷۰	کنگر فرنگی
۷	۲۰۱۶	[۱۷]	۱۰	-	کمتر از ۲۰	۱۰(ng/g)	۳ (ng/g)	۱۰۰-۷۰	نارگیل
۸	۲۰۱۵	[۱۸]	۱۰۹	-	-	۳۰/۴ -۱/۳ (ng/g)	۱۰/۸ -۰/۵ (ng/g)	۱۱۳/۱ -۷۷/۱	گوجه فرنگی
۹	۲۰۱۵	[۱۹]	۱۴	-	-	۴۹-۱۵ (ng/g)	۱۰-۴ (ng/g)	۱۱۵-۷۰	تمر
۱۰	۲۰۱۳	[۲۰]	۹	-	کمتر از ۱۵	۱۵-۳ (ng/g)	۴/۵-۰/۳ (ng/g)	۱۱۵-۹۰	میگو
۱۱	۲۰۱۱	[۲۱]	۱۱	-	کمتر از ۱۵	-	۰/۱ (ng/g)	۱۰۴-۸۲	قند

نتیجه‌گیری

در این مطالعه بهینه‌سازی روش به روز آنالیز همزمان آفت‌کش‌ها (روش اصلاح شده کچرز به همراه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی متوالی جرمی) و با ارائه نوآوری در روش، اثبات توانمندی علمی در پیشبرد علم آنالیز صحیح و دقیق همزمان آفت‌کش‌ها مورد بررسی قرار گرفت. از نقاط قوت این مطالعه می‌توان به استقرار این روش در آزمایشگاهای کنترل غذا و داروی کشور به عنوان یک قدم موثر در زمینه کنترل و پایش باقیمانده آفت‌کش‌ها در محصولات خرما مورد استفاده برداشته شده است.

برنامه پایش باقیمانده آفت‌کش‌ها یک برنامه انطباق است که برای نظارت بر سطح بقایای شیمیایی آفت‌کش‌ها در میوه‌های خرماهای داخل کشور و صادراتی ایران استفاده می‌شود تا اطمینان حاصل شود که آنها از محدودیت‌های MRL با استفاده از تکنیک‌های طیف‌سنجی جرمی مایع (MS/MS) تجاوز نمی‌کنند زیرا استفاده نادرست از آفت‌کش‌ها منجر به خطرات زیست‌محیطی و امنیت غذایی و سلامتی کشاورزان می‌شود، و نظارت بر باقیمانده‌های آفت‌کش‌ها به ارزیابی خطرات مواجهه مصرف‌کننده با این بقایا و تضمین سطح بالایی از حمایت از مصرف‌کننده کمک می‌کند.

Refrences

1-Heydari A, Tabrizian M, Ramezani K, Mahdavi M, Heydari V, Alizadeh B, Farvardeh L. Introduction, registration, formulation, application techniques of chemical pesticides, production of pheromones, research in the field of pesticide residues and determ-ination of their permissible limits (MRLs) in agricultural products, Botanical Research Institute Iran, Agricultural Research, Edu-cation and Promotion Organization. 2014; 51-94. [Persian]

2-Pyrzynska K. Use of nanomaterials in sample preparation. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2013; 1(43):8-100.

3-Mitra S. Sample preparation techniques in analytical chemistry, John Wiley & Sons, New Jearsy. 2003.

4-Qin Z. Thin film microextraction, PhD Thesis, University of Waterloo, Canada, 2010.

5-Santana-Mayor Á, Socas-Rodríguez B, Herrera-Herrera AV, Rodríguez-Delgado MÁ. Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2019; 1(116):35-214.

6-Pihlström T, Valverde A, Reynolds S, Masselter S, de Kok A, Fernández-Alba A, et al. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Document n. SANCO/12495 /2011. EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides European Commission 2011.

7-European Commission. 2019. SANTE/ 12682/2019: Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. p. 48. [accessed 2019]. https://www. Eurlpesticides. eu /userfiles/file

8-Halim N, Kuntom A, Shinde R, Banerjee K. High throughput residue analysis of indaziflam and its metabolites in palm oil using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of AOAC International. 2020; 103(5):42-1237.

9-Li G, Zhang L, Zhang Z. Determination of polychlorinated biphenyls in water using dynamic hollow fiber liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spe-

ctrumetry. Journal of chromatography A. 2008; 12;1204(1):22-119.

10-Khezri A, Ansari M, Amirahmadi M, Shahidi M, Mohamadi N, Kazemipour M. Pesticide residues in dates using a modified QuEChERS method and GC-MS/MS. Food Additives & Contaminants: Part B. 2022:1-9.

11-M Abd El-Mageed N, I Abu-Abdoun I, AH Kayaf K, S Janaan A. Monitoring of pesticide residues in imported datepalm fruits in United Arab Emirates. 2021.

12-Attia S, Zougari S, Sahraoui H, Aloui R, Nsir S, Hached W, et al. Pesticide residues surveillance of date palm (Phoenix dactyllifera) in the south of Tunisia. 2019.

13-Li S, Yu P, Zhou C, Tong L, Li D, Yu Z, et al. Analysis of pesticide residues in commercially available chenpi using a modified QuEChERS method and GC-MS/MS determination. Journal of Pharm-aceutical Analysis. 2019.

14-Jiang Z, Li H, Cao X, Du P, Shao H, Jin F, et al. Determination of hymexazol in 26 foods of plant origin by modified QuEChERS method and liquid chromatography tandem-mass spectrometry. Food Chemistry. 2017;228:9-411.

15-Pano-Farias NS, Ceballos-Magaña SG, Muñiz-Valencia R, Gonzalez J. Validation and assessment of matrix effect and uncertainty of a gas chromatography coupled to mass spectrometry method for pesticides in papaya and avocado samples. Journal of Food and Drug Analysis. 2017;25(3): 9-501.

16-Machado I, Gérez N, Pistón M, Heinzen H, Cesio MV. Determination of pesticide residues in globe artichoke leaves and fruits by GC-MS and LC-MS/MS using the same QuEChERS procedure. Food Chemistry. 2017;227:36-227.

17-Ferreira JA, Ferreira JMS, Talamini V, Facco JdF, Rizzetti TM, Prestes OD, et al. Determination of pesticides in coconut (Cocos nucifera Linn.) water and pulp using modified QuEChERS and LC-MS/MS. Food Chemistry. 2016;213:24-616.

18-Golge O, Kabak B. Evaluation of QuEChERS sample preparation and liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrumetry method for the determination of 109 pesticide residues in tomatoes. Food Chemistry. 2015;176:32-319.

19-Paz M, Correia-Sá L, Becker H, Longhinotti E, Domingues VF, Delerue-Matos C. Validation of QuEChERS method for organochlorine pesticides analysis in tamarind (Tamarindus indica) products: Pe-el, fruit and commercial pulp. Food Control. 2015;54:82-374.

20-Omar N, Bakar J, Muhammad K. Determination of organochlorine pesticides in shrimp by gas chromatography-mass spectro metry using a modified QuEChERS approach. Food Control. 2013;34(2):22-318.

21-Sinha SN, Bhatnagar VK, Doctor P, Toteja GS, Agnihotri NP, Kalra RL. A novel method for pesticide analysis in refined sugar samples using a gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS/MS) and simple solvent extraction method. Food Chemistry. 2011;126(1):86-379.

Vol.2/No.4/Spring 2023/Pages 13-36 https://www.qafj.iauk.ac.ir

Determining the Residue of 198 Different Pesticides in Various Types of Dates Available in the Iranian Market with the Modified QuEChERS Extraction Method and Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry

Azimeh Khezri[1,2], Mehdi Ansari[3], Maryam Kazemipour*[4], Maryam Amirahmadi[5], Mehdi Shahidi[6]

1-PhD Student, Department of Chemistry, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

2-Department of Food and Drug Administration, Food Health Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

3-Professor, Department of Drug and Food Control, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

4-Professor, Department of Chemistry, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

5-Assistant Professors, Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Organization, Tehran, Iran

6-Associate Professor, Department of Chemistry, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

* Corresponding Author: m.kazemipour@iauk.ac.ir

Received: 5/8/2022, Accepted: 28/1/2023

Abstract

The aim of this study was to develop a convenient, fast, effective and safe analytical method (QuEChERS) to determine 198 pesticide residues in multi-source date palm fruits using gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC/MS/MS). Extraction was performed with acetonitrile as the extracting solvent, magnesium sulfate in the presence of sodium chloride as the dehydration reagent, and PSA as purification phase to remove non-polar interfering substances such as lipids For this purpose, the effect of two affecting variables including extraction time and the volume of added water to the sample was investigated. To solve the effect of the matrix, the calibration curve was plotted using the analysis of spiked samples by dividing the peak area of the pesticides to the the peak area of the internal standard. The calibration curves for most pesticides were linear in the range of 15–150 µg/kg, with r^2 values higher than 0.9934 and the relative standard deviation for all pesticides was ≤20%. The mean recovery rate of pesticides was 70-120% and limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) were in the range of 5–14 µg/kg and 14–40 µg/kg, respectively. The validated procedure was used to monitor pesticide residues in 30 fresh date samples. It can be concluded that the modified QuEChERS extraction method was efficient in analyzing pesticide residues in dates palm and none of the samples contained residues above the (Maximum Residue Limit) MRLs.

Keywords: Date Palm, Pesticides, Pesticides Residues, QuEChERS Method, Tandem Mass Spectrometry