

“Research article”

DOI: 10.30495/JFH.2020.1899538.1272

Detection and determination of some pyrethroid pesticides in fruit and vegetable samples using Gas chromatography coupled to mass spectrometry

Khandaghi, J.¹, Afshar Mogaddam, M.R.^{2*}

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran
 2. Assistant Professor, Food and Drug Safety Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran; Assistant Professor, Pharmaceutical Analysis Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
- *Corresponding author: mr.afsharmogaddam@yahoo.com
(Received: 2020/5/9 Accepted: 2020/7/11)

Abstract

The measurement of harmful substances that may enter the food has particular importance. Pesticides are one of the most important compounds that are widely used in agricultural activities. Despite the positive effects of the application of pesticides in agriculture, many pesticides are harmful to the environment and are known or suspected to be toxic to humans. Pyrethroid pesticides are common pesticides used in agricultural and personal care products and due to their high efficiency in controlling different pests they are widely used. In the present work, an efficient and reliable microextraction method based on temperature-induced homogeneous liquid-liquid microextraction developed for the extraction of Delthamethrine, Biphenthrine, Permethrin, Cyhalothrin and Cypermethrine pyrethroid pesticides from potato, tomato, lettuce, and onion, and then its analyses performed using gas chromatography-mass spectrometry method. The optimized method was validated with recoveries ranging from 56 to 83%. The limits of detection were in the range of 4.3-9.4 ng mL⁻¹, indicating high repeatability of the proposed method in the extraction and analysis of pyrethroid pesticides. Other advantages of this method include low cost and simplicity, low organic solvents consumption, and short analysis time.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: pyrethroid pesticides, homogeneous liquid-liquid microextraction, gas chromatography coupled to mass spectrometry, vegetable

DOI: 10.30495/JFH.2020.1899538.1272

«مقاله پژوهشی»

تشخیص و اندازه‌گیری تعدادی از آفت‌کش‌های پایرتروئیدی در نمونه‌های سبزی با کروماتوگرافی گازی کوپل شده به اسپکترومتر جرمی

جلیل خندقی^۱، محمدرضا افشارمقدم^{۲*}

۱. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران

۲. استادیار مرکز ایمنی غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران؛ استادیار مرکز تحقیقات آنالیز دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: mr.afsharmogaddam@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۹/۲/۲۰ پذیرش نهایی: ۹۹/۴/۲۱)

چکیده

اندازه‌گیری ترکیبات مضر که امکان ورود به مواد غذایی را دارند، از اهمیت بالایی برخوردار است. آفت‌کش‌ها یکی از مواد مهمی هستند که در فعالیتهای کشاورزی از آنها استفاده می‌شوند و به‌رغم تأثیر مثبت این مواد در افزایش تولیدات کشاورزی، بسیاری از این مواد برای سلامتی انسان‌ها و محیط زیست مضر می‌باشند. پایرتروئیدها از حشره‌کش‌های رایج مورد استفاده در کشاورزی و سموم خانگی هستند و به‌دلیل توانایی بسیار خوب آنها در مبارزه با انواع آفات، به‌وفور مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این کار پژوهشی یک روش کارآمد و قابل اطمینان بر اساس میکرو استخراج مایع-مایع همگن القاشده با دما به‌منظور استخراج و پیش تغلیظ آفت‌کش‌های پایرتروئیدی دلتامترین، بی‌فترین، پرمترین، سالی‌هالوترین و سایپرترین از نمونه‌های سبزیجات کرفس، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، کاهو و پیاز و اندازه‌گیری آنها به کمک کروماتوگرافی گازی مجهز به شناساگر اسپکترومتر جرمی توسعه داده شده است. تحت شرایط بهینه، روش پیشنهادی اعتباربخشی شده و مقادیر بازده استخراج در محدوده ۵۶ الی ۸۳ درصد به‌دست آمد. هم‌چنین حدود تشخیص در بازه ۴/۳ تا ۹/۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر حاصل شد که نشان از قابلیت بالای روش مورد استفاده در استخراج و آنالیز سموم پایرتروئید دارد. از دیگر مزایای روش پیشنهادی می‌توان به سادگی و ارزان بودن آن، مصرف کم حلال‌های آلی و زمان کوتاه آنالیز اشاره کرد.

واژه‌های کلیدی: آفت‌کش‌های پایرتروئیدی، میکرو استخراج مایع-مایع همگن، کروماتوگرافی گازی کوپل شده به اسپکترومتر جرمی،

سبزیجات

مقدمه

در کل دنیا حدود ۴۵ درصد از محصولات کشاورزی توسط آفات مختلف از بین می‌روند لذا برای حفظ فرآورده‌های کشاورزی در برابر آفات، استفاده از سموم و آفت‌کش‌ها امری اجتناب‌ناپذیر است (Baig, 2009; Bhanti and Taneja, 2007). طبق تعریف آژانس حفاظت محیط‌زیست آمریکا، آفت‌کش ماده یا مخلوطی از مواد است که به‌منظور پیشگیری، نابودی، دفع و یا کاهش هرگونه آفت به‌کار می‌رود. این ترکیبات به فرم‌های پودری، اسپری یا امولسیون در دسترس بوده و مورد استفاده قرار می‌گیرند که بیشتر آن‌ها در محیط پایدار هستند. به‌طوری‌که اغلب محصولات کشاورزی که در معرض آفت‌کش‌ها قرار گرفته‌اند حاوی مقادیری از باقیمانده آفت‌کش‌ها می‌باشند (Gilden, et al., 2010). سازمان بهداشت جهانی در مورد بقایای آفت‌کش‌ها، حداکثر مقدار باقیمانده (MRLs) سموم را به‌عنوان یک معیار ارائه کرده است (EC, 396/2005).

سموم پائرتروئیدی از جمله حشره‌کش‌های معمول سنتزی هستند و به‌وفور در کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. لذا مقداری از این سموم می‌تواند در محصولات کشاورزی باقی بماند. این ترکیبات به‌شدت آب‌گریز بوده و حلالیت آن‌ها در آب بسیار کم است و عموماً از یک حلقه بنزنی و یک بنیان استری تشکیل شده‌اند که گروه‌های عاملی مختلفی بر روی آن‌ها قرار می‌گیرند. (Abd El Megid, et al., 2020). علایم مسمومیت با آن‌ها مشابه سموم اورگانوفسفره است (Tang, et al., 2018).

به‌طور کلی آنالیزهای شیمیایی از چهار مرحله عمده نمونه‌برداری، آماده‌سازی نمونه، شناسایی و اندازه‌گیری

آنالیت توسط دستگاه‌های تجزیه‌ای و ارزیابی و تحلیل آماری نتایج تشکیل می‌شوند. آماده‌سازی نمونه‌ها معمولاً با هدف حذف مزاحمت‌های ماتریکس، تغلیظ آنالیت‌های مورد نظر و تبدیل آنالیت‌ها به‌شکلی که منطبق با روش آنالیز و سیستم تجزیه‌ای باشند صورت می‌گیرد (Mitra, 2003). تاکنون روش‌های گوناگونی برای آماده‌سازی و استخراج آنالیت‌های مختلف از مواد غذایی ارائه شده است از جمله روش استخراج مایع-مایع یا LLE (Amini, et al., 2018; Jeddy and Khandaghi, 2019)، روش میکرواستخراج فاز مایع یا LLME (Psillakis and Kalogerakis, 2003; Saraji, 2005) که به‌منظور مینیاتوریزه کردن روش استخراج فاز مایع از طریق کاهش نسبت حلال آلی به فاز آبی ابداع شده است و به شیوه‌های مختلفی انجام می‌گیرد. از جمله روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی یا DLLME (Saad Louy and Khandaghi, 2018; Pil-) (Bala, et al., 2019) و میکرواستخراج مایع-مایع همگن یا HLLME که بر اساس فرایند جداسازی فاز در یک محلول همگن و استخراج آنالیت مورد نظر به درون فاز جداشده می‌باشد. در واقع در این روش استخراج به‌دلیل فصل مشترک بسیار بزرگ بین این دو فاز نیازی به هم زدن نیست، بنابراین حالت تعادل به‌سرعت حاصل می‌شود و زمان استخراج کوتاه است. در سیستم‌های همگن دوجزئی، جداسازی فازها بر اساس فرآیندهایی مانند جداسازی فاز با دما، جداسازی فاز با تشکیل زوج یون، جداسازی فاز بانمک و جداسازی فاز به کمک حلال سوم صورت می‌گیرد (Ghiasvand et al., 2005).

هدف این کار پژوهشی توسعه یک روش میکرواستخراج مایع-مایع همگن القا شده با دما برای

(از بین حجم‌های ۲۷، ۳۵، ۴۰ و ۵۰ میکرولیتر)، دمای فازآبی (از بین دماهای صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸- و ۱۰- درجه‌ی سلسیوس)، قدرت یونی (با افزودن ۰/۰، ۲/۵، ۵/۰، ۷/۵ و ۱۰/۰ درصد وزنی/حجمی از نمک کلریدسدیم)، مدت‌زمان میکروویو (زمان‌های ۱۰، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ ثانیه)، سرعت سانتریفیوژ (سرعت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ دور در دقیقه) و زمان سانتریفیوژ (زمان‌های ۲، ۳، ۵ و ۷ دقیقه) بر روی کارایی استخراج مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی پارامترهای مؤثر در روش پیشنهادی از روش «یک پارامتر در یک‌زمان» استفاده شد. تأثیر این عوامل با مقایسه سطح زیر پیک حاصل از آنالیت‌ها در شرایط مختلف مورد ارزیابی قرار گرفتند (Chandran and Singh, 2007).

- روش استخراج

مقدار ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه اسپایک شده با هر یک از آفت‌کش‌های مورد مطالعه و یا نمونه‌های حقیقی به غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد و به‌داخل یک لوله آزمایش منتقل و در داخل حمام یخ و نمک که در دمای منفی ۱۲ درجه سلسیوس تنظیم شده بود، قرار گرفت. پس از تثبیت دمای محلول آزمایشی، ۴۰ میکرولیتر از حلال کلروفرم در داخل محلول آزمایشی حل و سپس این محلول به‌مدت ۳ دقیقه تحت امواج میکروویو قرار گرفت. در اثر این عمل دمای محلول آزمایشی افزایش یافت و از حلالیت کلروفرم، برخلاف سایر حلال‌های آلی، کاسته شد و کلروفرم به‌صورت قطرات ریز از سراسر محلول آزمایشی پس‌زده شد. در این مرحله آفت‌کش‌های موجود در داخل فازآبی به داخل حلال آلی استخراج شده و محلول کدر حاصل به‌مدت ۵ دقیقه و

استخراج و پیش‌تخلیظ آفت‌کش‌های پایرتروئیدی دلتامترین (Delthamethrine)، بی‌فنترین (Biphenethrine)، پرمترین (Permethrine)، سای‌هالوترین (Cyhalothrin) و سایپرمترین (Cypermethrine) از نمونه‌های سبزیجات کرفس، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، کاهو و پیاز است.

مواد و روش‌ها

- نمونه‌برداری و مواد شیمیایی

نمونه‌های کرفس، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، کاهو و پیاز به‌صورت تازه از باغات مرکز تحقیقاتی شرکت گیاه در شهرستان کرج در تابستان سال ۱۳۹۷ تهیه شدند. این نمونه‌ها پس از سم‌پاشی طی یک دوره یک‌ماهه و در فواصل زمانی ده روزه برداشت و خرد و آب‌گیری شد و سپس منجمد گردید و برای انجام آزمایشات به مرکز تحقیقات ایمنی غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی تبریز منتقل شد. مخلوط حاصل با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بدون رقیق‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند. آفت‌کش‌های پایرتروئیدی دلتامترین، بی‌فنترین، پرمترین، سای‌هالوترین و سایپرمترین از شرکت سیگما انگلستان تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت (Merck, Germany) و با درجه خلوص تجزیه‌ای بودند.

- بهینه‌سازی شرایط استخراج

به‌منظور دستیابی به راندمان استخراج و فاکتور تخلیظ بالا برای آنالیت‌های مورد بررسی، اثر پارامترهای مختلف مانند نوع حلال استخراج‌کننده (از بین حلال‌های کلروفرم، دی‌کلرومتان و ۱-۲-دی‌برمو اتان)، حجم حلال

شرایط بهینه صورت گرفت. شرایط بهینه GC (Agilent 6890N, USA) برای آنالیز آفت‌کش‌های مورد مطالعه در جدول (۱) ذکر شده است.

با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (Hettich universal, Germany) و فاز ته‌نشین شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق گردید.

– شرایط آنالیز با دستگاه کروماتوگرافی

به‌منظور دستیابی به حداکثر تفکیک و نتایج قابل اعتماد در سیستم کروماتوگرافی، جداسازی آنالیت‌ها در

جدول (۱) – شرایط بهینه GC به‌منظور آنالیز آفت‌کش‌های پایرتروئیدی

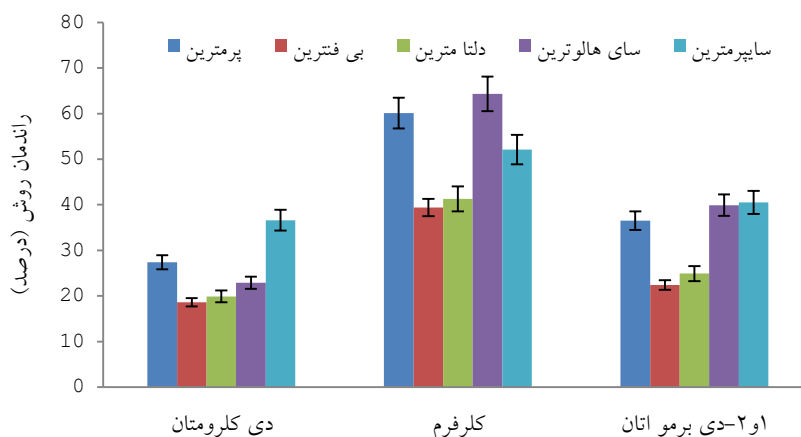
| | |
|-------------------|---|
| برنامه دمایی ستون | ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه، ۱۰ درجه افزایش دما در دقیقه تا ۳۰۰ درجه سلسیوس و تثبیت دما به مدت ۵ دقیقه |
| نوع ستون | HP-5: ۳۰ متر، ID: ۰/۲۵ میکرومتر، ضخامت فاز ساکن: ۰/۵ میکرومتر |
| تزریق کننده | Split/Splitless، دما: ۳۰۰، نوع کنترل جریان: سرعت خطی، نسبت اسپلیت: ۱:۱۰ |
| آشکارساز | MS، دما: ۳۰۰ درجه سلسیوس، دمای خط انتقال: ۲۸۰ درجه سلسیوس |
| گاز حامل | هلیوم با جریان خطی ۳۰ سانتی‌متر در ثانیه |
| گاز میک‌آپ | هلیوم با جریان ۳۰ میلی‌لیتر در دقیقه |

– مشخصات تجزیه‌ای

در این تحقیق، به‌منظور اعتبارسنجی روش به‌کار رفته برای آنالیز سموم ارگانوفسفره، پس از ترسیم نمودار معیارگیری، حد تشخیص (LOD)، حد اندازه‌گیری (LOQ)، مجذور ضریب همبستگی، تکرارپذیری و راندمان بررسی و فاکتور تغلیظ محاسبه شدند (Mitra, 2003).

یافته‌ها

– نتایج بهینه‌سازی عوامل مؤثر در استخراج
– نوع حلال استخراج کننده
مطابق نمودار (۱)، از بین سه حلال مورد استفاده، کلروفرم دارای قابلیت بیشتری در استخراج آنالیت‌های مذکور است. از این‌رو کلروفرم به‌عنوان مناسب‌ترین حلال برای مراحل بعدی انتخاب گردید.

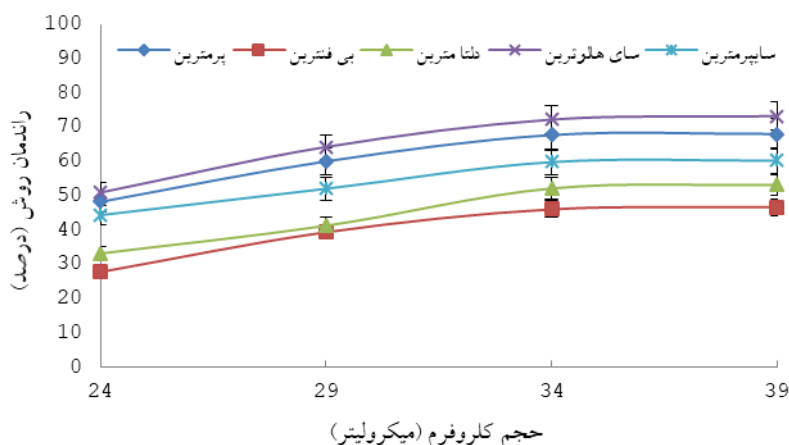


نمودار (۱)- تأثیر نوع حلال استخراج کننده در کارایی روش پیشنهادی

حجم حلال استخراج کننده

کلروفورم از ۲۷ به ۴۰ میکرولیتر کارایی روش پیشنهادی افزایش یافته و پس از آن ثابت باقی ماند. لازم به ذکر است که با افزایش حجم اولیه کلروفورم، حجم فاز جمع شده پس از اجرای روش پیشنهادی از ۷ به ۲۷

میکرولیتر افزایش یافت و در حجم های بالاتر از ۴۵ میکرولیتر به دلیل این که حلالیت کلروفورم در آب در دمای بررسی شده محدود می باشد محلول همگن حاصل نشد لذا ۴۰ میکرولیتر به عنوان حجم مناسب برای کلروفورم انتخاب گردید.



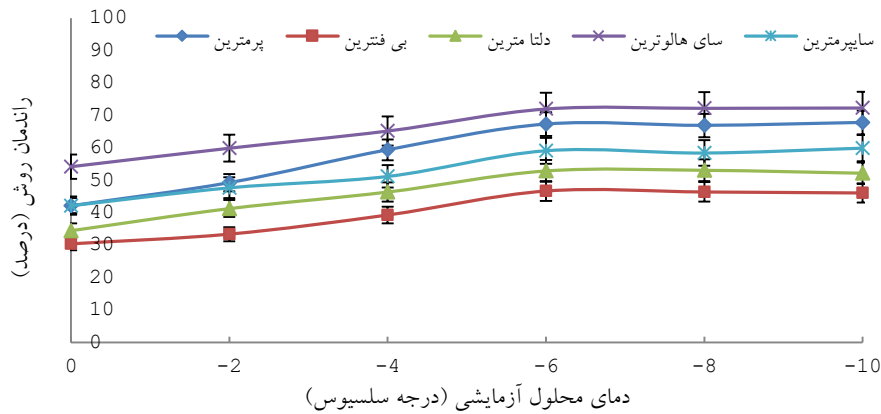
نمودار (۲)- تأثیر حجم حلال در کارایی روش پیشنهادی

- دمای فاز آبی

نتایج به دست آمده طبق نمودار (۳) نشان می دهند که کارایی استخراج روش پیشنهادی تا دمای ۶- درجه

سلسیوس افزایش یافته و سپس ثابت می ماند ولی با توجه به این نکته که در دماهای پایین تر تغییر دما با امواج میکروویو بیشتر بود و به دلیل ایجاد تغییر ناگهانی

در محلول آزمایشی دماهای پائین‌تر (۱۰- درجه سلسیوس) به‌عنوان دمای بهینه انتخاب شد.

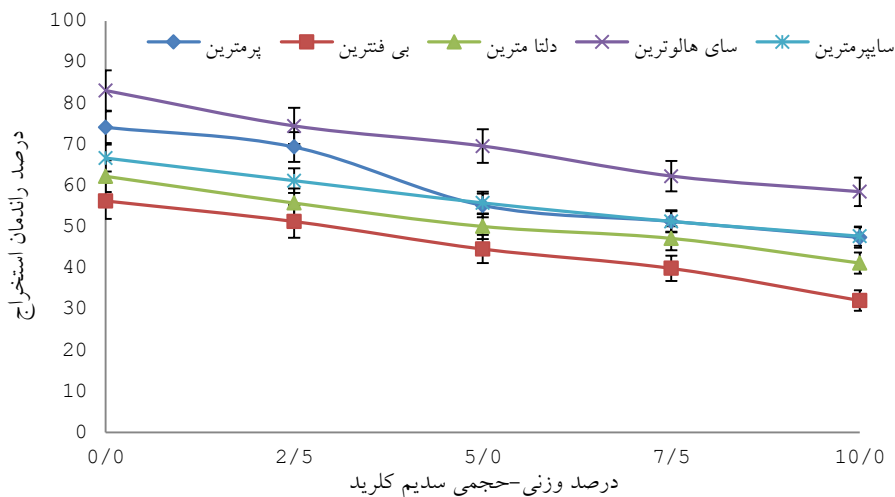


نمودار (۳)- تأثیر دمای فاز آبی در کارایی روش پیشنهادی

افزایش نمک باعث افزایش ویسکوزیته فاز آبی شده و ضریب انتشار و سرعت انتقال جرم آنالیت‌ها از داخل فاز آبی به داخل فاز آلی را کاهش می‌یابد و در نتیجه سبب کاهش راندمان استخراج می‌شود. از این رو مراحل بعدی بدون افزایش نمک انجام گرفت.

-قدرت یونی

به‌منظور بررسی تأثیر قدرت یونی در کارایی روش پیشنهادی مقادیر مختلفی از نمک سدیم کلرید به داخل فاز آبی اضافه شد. بررسی نتایج در نمودار (۴) نشان داد با افزایش نمک کارایی استخراج کاهش می‌یابد به‌عبارتی

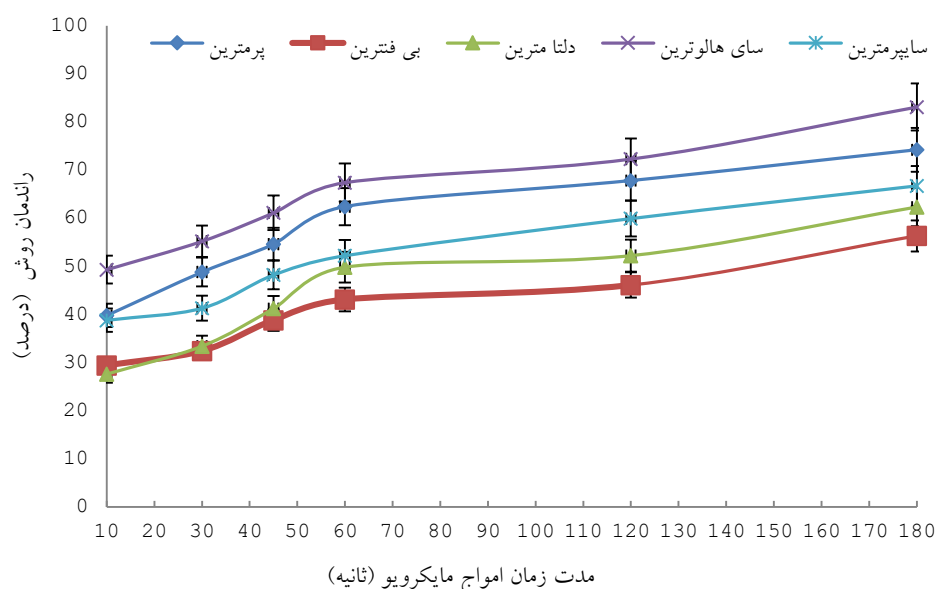


نمودار (۴)- تأثیر مقدار نمک در کارایی روش پیشنهادی

- مدت زمان ماکروویو

زمان بهینه انتخاب شد. دمای محلول آزمایشی باید به گونه‌ای باشد تا از جوشیدن محلول آزمایشی و تبخیر کلروفورم جلوگیری شود از این رو دماهای بیشتر از ۱۸۰ ثانیه مورد مطالعه قرار نگرفت.

همان گونه که در نمودار (۵) مشاهده می‌شود، با افزایش مدت زمان قرار گرفتن در امواج میکروویو، راندمان استخراج افزایش می‌یابد پس ۱۸۰ ثانیه به عنوان



نمودار (۵)- تأثیر مدت زمان ماکروویو در کارایی روش پیشنهادی

- سرعت و زمان سانتریفوژ

در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۳۰، ۶۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در لیتر از آفت‌کش‌ها به دست آمد. از منحنی کالیبراسیون مقدار مجذور ضریب همبستگی (r^2) و محدوده خطی روش (LDR) برای هر یک از آنالیت‌ها به دست آمد. حد تشخیص که عبارت از غلظتی از ترکیب آزمایشی است که پاسخی برابر با پاسخ نمونه بلانک به اضافه ۳ برابر انحراف معیار نمونه بلانک داشته باشد. حد اندازه‌گیری روش، کمترین غلظتی از آنالیت است که با درجه اطمینان قابل قبولی قابل آشکارسازی باشد. به ترتیب برابر غلظت‌هایی در نظر گرفته شدند که در آن‌ها نسبت $S/N=3$ و $S/N=10$ است. به منظور بررسی تکرارپذیری و دقت روش از انحراف

نتایج به دست آمده نشان داد که در دوره‌های بیشتر از ۴۰۰۰ دور در دقیقه و زمان‌های بیشتر از ۳ دقیقه، کلرفورم به خوبی از بطن محلول آزمایشی جدا می‌شود. از این رو ۴۰۰۰ دور بر دقیقه و ۵ دقیقه به عنوان سرعت و زمان سانتریفوژ مناسب انتخاب گردید.

- نتایج مشخصات تجزیه‌ای

برای محاسبه پارامترهای تجزیه‌ای روش حاضر، ۲۵ میلی‌لیتر نمونه‌ی آزمایشی حاوی آنالیت‌ها با غلظت‌های متفاوتی از آن‌ها اسپایک شده و تحت شرایط بهینه مورد استخراج و آنالیز قرار داده شدند. نمودار معیارگیری از رسم نسبت سیگنال تجزیه‌ای آنالیت‌های استخراج شده

استاندارد نسبی (% RSD) استفاده شد. برای این منظور تعداد ۵ محلول حاوی ۵ میکروگرم در لیتر از آنالیت‌ها با شرایط یکسان و در حالت بهینه استخراج شدند. درصد انحراف استاندارد نسبی بر اساس مساحت پیک در محدوده بین ۳/۹ و ۵/۶ درصد به دست آمد که نشان از تکرارپذیری بالای روش ارائه شده دارد جدول (۲).

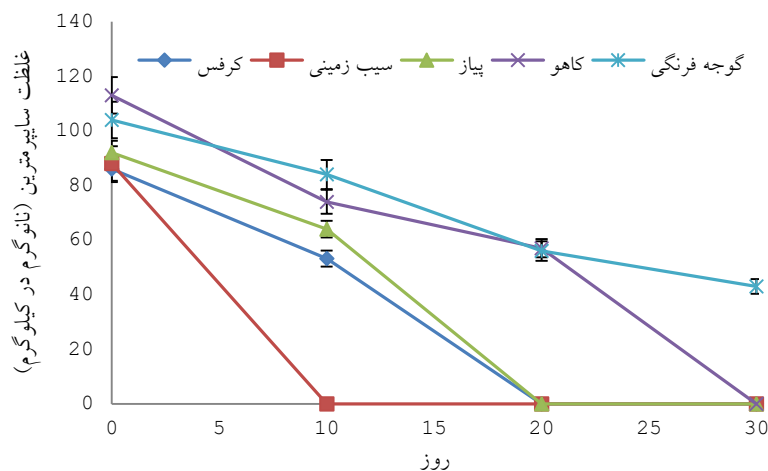
جدول (۲) - ارقام شایستگی روش پیشنهادی در استخراج آفت‌کش‌های مورد مطالعه

| آنالیت | محدوده خطی (mg/l) | حد تشخیص (mg/l) | حد اندازه‌گیری (mg/l) | مجذور ضریب همبستگی | انحراف استاندارد نسبی (%) (n=5) | راندمان استخراج ± انحراف استاندارد (n=5) | فاکتور تغلیظ ± انحراف استاندارد (n=5) |
|--------------|-------------------|-----------------|-----------------------|--------------------|---------------------------------|--|---------------------------------------|
| پرمترین | ۱۷/۴-۱۰۰۰۰۰۰ | ۶/۳ | ۱۷/۴ | ۰/۹۹۶ | ۵/۶ | ۷۴/۲ ± ۵ | ۳۷۱ ± ۲۵ |
| بی‌فترتین | ۲۹/۴-۱۰۰۰۰۰۰ | ۹/۳ | ۲۹/۴ | ۰/۹۹۶ | ۵/۴ | ۵۶/۳ ± ۶ | ۲۸۱ ± ۳۰ |
| دلناترین | ۳۰/۵-۱۰۰۰۰۰۰ | ۹/۴ | ۳۰/۵ | ۰/۹۹۵ | ۴/۳ | ۶۲/۳ ± ۵ | ۳۱۰ ± ۲۵ |
| سای‌هالوترین | ۱۴/۴-۱۰۰۰۰۰۰ | ۴/۳ | ۱۴/۴ | ۰/۹۹۷ | ۳/۹ | ۸۳/۱ ± ۵ | ۴۱۵ ± ۲۵ |
| سایپرمترین | ۱۸/۴-۱۰۰۰۰۰۰ | ۵/۵ | ۱۸/۴ | ۰/۹۹۸ | ۵/۲ | ۶۶/۷ ± ۴ | ۳۳۰ ± ۲۰ |

- نتایج آنالیز نمونه‌های حقیقی

کارایی روش پیشنهادی بر روی ۵ نمونه از سبزیجات تازه اجرا شد. تعداد ۳ نمونه از هر یک از سبزیجات پس از سم‌پاشی با سایپرمترین در یک دوره یک‌ماهه (به فواصل ده روز) مورد بررسی قرار گرفتند و تغییرات باقیمانده آفت‌کش در آن‌ها ثبت شد. نتایج به دست آمده در نمودار (۶) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد

که غلظت سایپرمترین در کرفس، سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی در مدت زمان ۲۰ روز به صفر رسیده است. در مورد نمونه‌های کاهو و پیاز به دلیل محتوی آب بالا جذب آفت‌کش به داخل بافت به طور مؤثری صورت گرفته و آفت‌کش‌ها دیرتر از بین رفته است (Lu, et al., 2019).



نمودار (۶) - بررسی تغییر غلظت سایپرمترین پس از مدت زمان سم‌پاشی

- بررسی اثر ماتریکس در نمونه‌های حقیقی

برای بررسی قابلیت روش پیشنهادی در اندازه‌گیری آفت‌کش‌های پایرتیروئیدی مورد مطالعه در نمونه‌های حقیقی، اقدام به اندازه‌گیری آفت‌کش‌ها در نمونه‌های سبزیجات تحت شرایط بهینه نمودیم. نمونه‌ها طبق شرایط بهینه با روش پیشنهادی تغلیظ و تخلیص شدند و سپس با GC مورد آنالیز قرار گرفتند. در این راستا همه نمونه‌ها با آفت‌کش‌های مورد مطالعه به

غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آلوده شدند و هم‌راستا با این نمونه‌ها نمونه آب دیونیزه با غلظت یکسان اسپایک شد و مقادیر بازیابی نسبی نسبت به آب دیونیزه محاسبه شد (ECD, 657/2002). نتایج به‌دست‌آمده در جدول (۳) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که روش پیشنهادی به‌طور مؤثری در نمونه‌های مورد مطالعه کارایی داشته و ماتریکس نمونه‌ها تأثیر محسوسی در کارایی روش پیشنهادی ندارد.

جدول (۳) - مقادیر بازیابی نسبی در نمونه‌های سبزیجات تازه

| آنالیت | بازیابی نسبی \pm انحراف استاندارد (n=۳) | | | | |
|--|---|------------|------------|------------|------------|
| | کرفس | سیب‌زمینی | گوجه‌فرنگی | کاهو | پیاز |
| نمونه‌های اسپایک‌شده با هریک از آنالیت‌ها به غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر | | | | | |
| پرترین | ۹۵ \pm ۵ | ۹۹ \pm ۵ | ۹۷ \pm ۵ | ۸۲ \pm ۵ | ۹۲ \pm ۴ |
| بایفترین | ۱۰۱ \pm ۴ | ۹۵ \pm ۶ | ۹۴ \pm ۶ | ۸۹ \pm ۶ | ۹۳ \pm ۵ |
| دلتمترین | ۹۴ \pm ۶ | ۹۴ \pm ۵ | ۹۷ \pm ۵ | ۹۹ \pm ۵ | ۹۴ \pm ۶ |
| سای‌هالوترین | ۹۷ \pm ۵ | ۹۶ \pm ۶ | ۹۸ \pm ۷ | ۹۷ \pm ۴ | ۸۹ \pm ۷ |
| سایپرترین | ۹۵ \pm ۶ | ۹۴ \pm ۷ | ۹۴ \pm ۶ | ۹۰ \pm ۷ | ۸۶ \pm ۵ |
| نمونه‌های اسپایک‌شده با هریک از آنالیت‌ها به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر | | | | | |
| پرترین | ۹۵ \pm ۵ | ۹۷ \pm ۵ | ۹۵ \pm ۵ | ۹۳ \pm ۷ | ۹۲ \pm ۵ |
| بایفترین | ۹۶ \pm ۵ | ۹۴ \pm ۶ | ۹۲ \pm ۶ | ۹۲ \pm ۴ | ۹۷ \pm ۴ |
| دلتمترین | ۹۷ \pm ۵ | ۹۹ \pm ۵ | ۹۳ \pm ۵ | ۹۸ \pm ۶ | ۹۴ \pm ۳ |
| سای‌هالوترین | ۹۸ \pm ۶ | ۹۰ \pm ۷ | ۹۰ \pm ۵ | ۹۷ \pm ۵ | ۹۲ \pm ۲ |
| سایپرترین | ۹۲ \pm ۴ | ۹۲ \pm ۶ | ۹۸ \pm ۷ | ۹۶ \pm ۶ | ۹۳ \pm ۶ |

بحث و نتیجه‌گیری

به‌منظور اجرای روش پیشنهادی در این کار پژوهشی حلال استخراج‌کننده بایستی در دماهای کم دارای حلالیت نسبتاً زیادتری نسبت به دماهای بالا داشته باشد به‌علاوه باید دارای ویژگی‌هایی از قبیل حلالیت پایین در آب، قابلیت اختلاط و تشکیل سیستم دوفازی با آب با تغییر دما، رفتار مطلوب کروماتوگرافیکی، سازگاری با

محیط‌زیست و ترجیحاً ارزان‌قیمت باشد. با در نظر گرفتن این ویژگی‌ها، سه حلال کلروفرم، دی‌کلرومتان و او-۲-دی‌برمو اتان به‌منظور اجرای روش پیشنهادی مورد مطالعه قرار گرفتند.

حجم حلال استخراج‌کننده نقش مهمی در کارایی روش‌های میکرو استخراج دارد. هر چه حجم حلال استخراج‌کننده اولیه بیشتر باشد در این صورت حجم

افزایش ویسکوزیته فاز آبی شده و ضریب انتشار آنالیت را در فاز آبی تحت تأثیر قرار داده و منجر به کاهش راندمان استخراج گردد (Farajzadeh, et al., 2015).

یکی پارامترهای اثرگذار در اجرای روش پیشنهادی، مدت‌زمان استفاده از امواج میکروویو است. در این روش امواج میکروویو به‌عنوان گرم‌کننده محلول آزمایشی و افزایش دهنده دمای محلول و کاهش حلالیت حلال استخراج کننده می‌باشد. از طرف دیگر به دلیل این‌که این امواج دارای طول‌موج‌های کوتاهی هستند منجر به افزایش تحرکات مولکولی و انرژی جنبشی آفت‌کش‌ها در داخل محلول نمونه شده و راندمان استخراج را افزایش می‌دهند (Lompart, et al., 2019).

به‌منظور ارزیابی کارایی روش پیشنهادی در استخراج آفت‌کش‌های پایرتروئیدی با سایر روش‌ها، برخی پارامترهای تجزیه‌ای روش حاضر از قبیل فاکتور تغلیظ، حد تشخیص، حد اندازه‌گیری، درصد انحراف استاندارد و فاکتور تغلیظ با چند روش به‌کار رفته برای استخراج آنالیت‌ها از نمونه‌های مختلف مقایسه شد که در جدول به آن اشاره شده است. تکرارپذیری روش حاضر در مقایسه با سایر روش‌های ذکر شده در جدول بسیار خوب است. مقادیر حد اندازه‌گیری به‌دست آمده در این مطالعه پایین‌تر یا قابل مقایسه با سایر روش‌ها حتی روش‌های انجام شده با GC-MS و GC-ECD است.

فاز جمع شده پس از استخراج نیز بیشتر می‌شود و فاکتور تغلیظ کاهش یافته و سیگنال‌های تجزیه‌ای نیز کاهش خواهند یافت. از طرفی با کاهش حجم حلال، کارایی استخراج و تکرارپذیری کاهش می‌یابد لذا حجم حلال‌های استخراج کننده و کمک پخش کننده باید بهینه‌سازی شوند (Jalili, et al., 2019).

از دیگر عوامل مؤثر در فرآیند پیشنهادی دمای فاز آبی است. تغییر دما از طریق تغییر ضرایب انتشار می‌تواند سرعت استخراج را تحت تأثیر قرار دهد. گرم شدن محلول آبی می‌تواند به‌عنوان نیروی محرک جهت پخش بهتر حلال استخراج کننده در محلول آبی باشد که در نتیجه، سطح تماس بین حلال و نمونه افزایش یافته و سرعت انتقال جرم آنالیت‌ها بهبود پیدا می‌کند. با این وجود افزایش دما می‌تواند با انتشار آنالیت‌ها به‌داخل فاز آبی و در نتیجه کاهش راندمان استخراج شود؛ بنابراین مقادیر سیگنال‌های تجزیه‌ای برای دماهای مختلف متفاوت خواهد بود (Lemos and Oliveira, 2015).

با توجه به این‌که در روش‌های استخراج افزایش نمک در محلول‌های آبی اثر دوگانه دارد یعنی هم حضور نمک می‌تواند باعث افزایش نیروی یونی و کاهش حلالیت آنالیت‌ها در فاز آبی شده و در نتیجه راندمان استخراج را افزایش دهد و هم این‌که باعث

جدول (۴)- مقایسه کارایی روش پیشنهادی در استخراج سموم پایرتیروئید با سایر روش‌ها

| روش | نمونه | حد تشخیص (ng mL ⁻¹) | حد اندازه‌گیری (ng mL ⁻¹) | انحراف استاندارد نسبی (%) | راندمان (%) | زمان استخراج (دقیقه) | منبع |
|----------|---------|------------------------------------|--|------------------------------|----------------|-------------------------|---------------------------------|
| الف | خاک | ۴/۵-۱۳/۱ | ۰/۵-۵۰۰ | ۴/۲-۶/۲ | ۸۳-۹۲ | ۱۵ | Wang <i>et al.</i> , 2012 |
| ب | آب | ۸۷۰-۱۳۹۰ | - | ۲/۷-۸/۲ | - | ۲ | Yea <i>et al.</i> , 2016 |
| ج | سبزیجات | ۲۰-۱۷۰ | ۵۵-۶۰۰ | ۵-۱۳ | ۴۰-۷۰ | ۱۰ | Farajzadeh <i>et al.</i> , 2014 |
| د | آب‌میوه | ۱۰-۵۰ | ۳۰-۶۰۰ | ۳/۴-۵/۹ | - | - | Arvand <i>et al.</i> , 2013 |
| روش حاضر | سبزیجات | ۱/۴-۳/۹ | ۰/۰۲۳-۵۰۰ | ۳/۹-۵/۶ | ۸۳-۵۶ | کمتر از ۱۰ | This work |

الف: استخراج فاز جامد پخشی تلفیق‌شده با میکرو استخراج مایع-مایع پخشی کمک شده با امواج اولتراسونیک کوپل‌شده با کروماتوگرافی گازی مجهز به دکتور ربایش الکترونی؛

ب: میکرو استخراج مایع-مایع پخشی کمک شده با گاز CO₂ کوپل‌شده با کروماتوگرافی گازی مجهز به اسپکترومتر جرمی؛

ج: استخراج مایع-مایع تلفیق‌شده با میکرو استخراج مایع-مایع پخشی کوپل‌شده با کروماتوگرافی گازی مجهز به دکتور یونیزاسیون شعله‌ای؛

د: میکرو استخراج با غشا توخالی کوپل‌شده با کروماتوگرافی گازی مجهز به اسپکترومتر جرمی

پیشنهادی به‌عنوان یک روش ساده، ارزان، تکرارپذیر و قابل‌اعتماد در استخراج و پیش‌تغلیظ آفت‌کش‌های تری‌آزولی از نمونه‌های مختلف قابل‌استفاده است. از دیگر مزایای روش پیشنهادی می‌توان به مصرف کم حلال‌های آلی و زمان آنالیز کوتاه و دارا بودن فاکتور تغلیظ بالاتر از سایر روش‌ها اشاره کرد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

در مطالعه حاضر از یک روش میکرو استخراج ساده و ارزان به‌منظور استخراج تعدادی از آفت‌کش‌های پایروتروئیدی استفاده شد. از طرف دیگر ارقام شایستگی این روش نشان می‌دهد که روش پیشنهادی قابلیت بالایی در استخراج ترکیبات مورد مطالعه دارد. حضور انواع ترکیبات معدنی و آلی در بافت نمونه‌های مورد مطالعه تأثیر محسوسی در کارایی روش پیشنهادی نداشت و اثر ماتریکس ناچیز می‌باشد. کوپلاژ روش پیشنهادی با کروماتوگرافی گازی مجهز به اسپکترومتر جرمی منجر به دستیابی به آنالیزهای حساس شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده روش

منابع

- Abd El Megid, A., Abd El Fatah, M.E., El Asely, A., El Senosi, Y. and Dawood, M.A.O. (2020). Impact of pyrethroids and organochlorine pesticides residue on IGF-1 and CYP1A genes expression and muscle protein patterns of cultured Mugil capito. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 188: 109-117.
- Amini, R., Khandaghi, J. and Afshar mogaddam, M.R. (2018). Combination of vortex-assisted liquid-liquid extraction and air-assisted liquid-liquid microextraction for the extraction of Bisphenol A and Bisphenol B in canned doogh samples. *Food Analytical Methods*, 11(11): 3267-3275.

- Arvand, M., Bozorgzadeh, E. and Shariati, S. (2013). Two-phase hollow fiber liquid phase microextraction for preconcentration of pyrethroid pesticides residues in some fruits and vegetable juices prior to gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(2): 275–283.
- Baig, S.A., Akhtera, N.A., Ashfaq, M. and Asi, M.R. (2009). Determination of the Organophosphorus Pesticide in Vegetables by High-Performance Liquid Chromatograph. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 6(5): 513-519.
- Bhanti, M. and Taneja, A. (2007). Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorous pesticides and related health risk assessment in northern India. *Chemosphere*, 69(1): 63-68.
- Chandran, S. and Singh, R. (2007). Comparison of various international guidelines for analytical method validation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(1): 4-14.
- EU Pesticides database. (2005). Pesticide EU-MRLs. Regulation EC No. 396, Available at: <http://ec.europa.eu/sanco-pesticides>.
- European Commission Decision. (2002). Concerning the performance of analytical methods. Implementing Council Directive 657/EC.
- Farajzadeh, M.A., Afshar Mogaddam, M.R. and Alizadeh Nabil, A.A. (2015). Polyol-enhanced dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography and nitrogen phosphorous detection for the determination of organophosphorus pesticides from aqueous samples, fruit juices, and vegetables. *Journal of Separation Science*, 38(23): 4086–4094.
- Farajzadeh, M.A., Khoshmaram, L. and Alizadeh Nabil, A.A. (2014). Determination of pyrethroid pesticides residues in vegetable oils using liquid-liquid extraction and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-flame ionization detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34(2): 128–135.
- Ghiasvand, A.R., S. Shadabi, E. Mohagheghzadeh and Hashemi, P. (2005). Homogenous liquid-liquid extraction method for the selective separation and preconcentration of ultra-trace molybdenum. *Talanta*, 66(4): 912–916.
- Gilden, R.C., Huffling, K. and Sattler, B. (2010). Pesticides and health risks. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 39(1): 103–110.
- Jalili, V., Barkhordari, A. and Ghiasvand A. (2019). New extraction media in microextraction techniques, a review of reviews. *Microchemical Journal*, 153: 104386. DOI: 10.1016/ 104386.
- Jeddy, M. and Khandaghi, J. (2019). Detection and quantification of phytosterols in yogurt using gas chromatography. *Food Hygiene*, 9(1): 59-71. [In Persian]
- Lemos, V.A., Oliveira, L.A. (2015). Ultrasound-assisted temperature-controlled ionic liquid microextraction for the preconcentration and determination of cadmium content in mussel samples. *Food Control*, 50: 901-906.
- Lompart, M., Celeiro, M. and Dagnac, T. (2019). Microwave-assisted extraction of pharmaceuticals, personal care products and industrial contaminants in the environment. *Trends in Analytical Chemistry*, 116:136-150.
- Lu, Z., Gan, J., Cui, X., Delgado-Moreno, L. and Kunde Lin, K. (2019). Understanding the bioavailability of pyrethroids in the aquatic environment using chemical approaches. *Environment International*, 129: 194-207.
- Mitra, S. (2003). Sample preparation techniques in analytical chemistry, John Wiley pub. New Jersey, pp. 12-35.
- Pil-Bala, B., Khandaghi J. and Afshar Mogaddam, M.R. (2019). Analysis of endocrine-disrupting compounds from cheese samples using pressurized liquid extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography. *Food Analytical Methods*, 12(7): 1604–1611.

-
- Psillakis, E. and Kalogerakis, N. (2003). Developments in liquid-phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*, 22(9): 565–574.
 - Saad Louy, F. and Khandaghi, J. (2018). Identification and quantification of fatty acids in edible and confectionary oils in Tabriz by gas chromatography. *Food Hygiene*, 8(2): 45-54. [In Persian]
 - Saraji, M. (2005). Dynamic headspace liquid-phase microextraction of alcohols. *Journal of Chromatography A*, 1062(1): 15–21.
 - Tang, W., Wang, D., Wang, J., Wu, Z. and Yan, D. (2018). Pyrethroid pesticide residues in the global environment: An overview. *Chemosphere*, 191: 990-1007.
 - Yea, J., Yao, Z., Wang, Z., Nie, J. and Lia, Z. (2016). Determination of sixteen pyrethroids in water by Dispersive liquid-liquid microextraction based on dissolved carbon dioxide flotation after emulsification microextraction by gas chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. *Analytical Methods*, 8(32): 6194–6201.
 - Wang, H., Yan, H. and Qiao, J. (2012). Miniaturized matrix solid-phase dispersion combined with ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of three pyrethroids in soil. *Journal of Separation Science*, 35(2): 292–298.