مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی فرایندهای شستشو و حرارت بر میزان باقی‌مانده‌ی سموم آفت‌کش انتخابی در برنج با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع- طیف سنج جرمی

زهره مردانی[۱]، لیلا نوری[۲]، فرزاد پیرویان[۳]، عطاءاله شکوری[٤]*

۱-دکترای صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.

۳- دانشیار، گروه اقتصاد دارو و مدیریت دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

٤- استادیار، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۰٤/۰٦

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰۳/۲٤

کلمات کلیدی:

کروماتوگرافی مایع ـ طیف‌سنج جرمی،

آفت‌کش،

شستشو،

حرارت،

برنج.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.343

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.6.7

* مسئول مکاتبات:

a.shakoori@sbmu.ac.ir

چکیده

در این پژوهش یک روش معتبر و مؤثر برای آنالیز همزمان ٦۰ نوع آفت‌کش در نمونه‌ی برنج با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع- طیف سنج جرمی راه‌اندازی شد و سپس اثرات فرایندهای شستشو و حرارت بر میزان باقی‌مانده‌ی سموم آفت‌کش مورد مطالعه در برنج تیمار شده بررسی گردید. آماده‌سازی نمونه بر اساس روش QuEChERS انجام شد. سموم مورد نظر به طور همزمان فقط طی یک تزریق با برنامه رصد واکنشی چندگانه (MRM) مورد آنالیز قرار گرفتند. اعتبار سنجی روش بر اساس، روش‌های اعتبارسنجی و کنترل کیفی SANTE 2019 اتحادیه‌ی اروپا انجام شد. در این راستا پارامترهای خطی بودن روش، مطالعات صحت و دقت، اختصاصیت، تعیین حد تشخیص (LOD) و حد تعیین مقدار (LOQ) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که منحنی کالیبراسیون حاصل برای تمام ترکیبات مورد مطالعه، خطی بوده و ضریب تعیین مقدار (R^2) آن‌ها بین دو مقدار ۰/۹۸٤ تا ۱/۰ قرار داشتند. میانگین درصد بازیافت آن‌ها در سه سطح اسپایک (۲۵، ۲۵۰ و ۱۰۰۰ng/g) بین ۱۱۰/۲٪ـ ۷٦/٤ ٪ بوده و همچنین انحراف استاندارد نسبی (RSD) بین ۱٦/۷٪ ـ ۲/۸ ٪ قرار گرفت.

پس از آنالیز نمونه‌های برنج تیمار شده با سموم آفت‌کش مورد پژوهش، نتایج نشان داد که هر دو فرایند شستشو و حرارت، در حالت‌های انفرادی و ترکیبی به طور کاملاً معنی‌داری سبب کاهش مقادیر سموم مورد مطالعه گردیدند.

۱- مقدمه

برنج به عنوان یکی از مهم‌ترین غلات کشاورزی، غذای اصلی بیش از ٦٠ درصد جمعیت کره‌ی زمین را تشکیل داده و به لحاظ جهانی، بیش از ۹۰ درصد آن در آسیا کشت و مصرف می‌شود [۱]. برنج ۲۰ درصد کالری مصرفی در سراسر جهان را تأمین کرده و منبع ارزشمندی از تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید برای انسان است [۲]. در طول دهه‌ی ۱۹۹۰ میلادی، کشت برنج در جهان ۰/٤ درصد رشد داشته است. یکی از عوامل مهم محدودکننده‌ی کشت و افزایش برداشت برنج، شیوع مکرر آفات برنج، به خصوص انواع حشره است که حتی می‌تواند مانع تولید برنج شود. لذا امروزه تعداد زیادی سموم آفت‌کش از جمله انواع علف‌کش و حشره‌کش به طور گسترده برای کنترل آفات در تولید برنج استفاده می‌شوند؛ که ممکن است باقی‌مانده‌های آن‌ها در خود محصول برنج، و حتی خاک و آب بروز نمایند [۳].

به دلیل اینکه فعلاً در سطح جهانی، جایگزین مطمئن و کاملی برای سموم آفت‌کش وجود ندارد، بنابراین نظارت و مدیریت اصولی بر سموم آفت‌کش در تمام مراحل تولید صنعتی و استفاده در کشاورزی، هم برای ارتقاء سلامت مواد غذایی و هم برای حفظ محیط زیست از جنبه‌ی حیاتی، اهمیت بسیار دارد [٤]. امروزه اسناد علمی فراوانی منتشر شده است که نشان‌دهنده‌ی سمیت و عوارض جدی باقی‌مانده‌ی سموم آفت‌کش برای سلامتی انسان و محیط زیست است. بنابراین برای اطمینان از سلامتی مصرف‌کننده و حفظ تجارت بین المللی، باقی‌مانده‌ی آفت‌کش‌ها در محصولات غذایی باید کنترل و نظارت شوند. با توجه به موارد فوق بسیاری از کشورها و سازمان‌های بین‌المللی یک مرز بیشینه‌ی باقی‌مانده برای تک‌تک سموم در انواع محصولات کشاورزی تعیین و ابلاغ نموده‌اند که رعایت آن‌ها برای تمام کشورها ضروری است[٥].

اثرات سمی ناشی از کاربرد آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی برسلامتی انسان بسیار متنوع بوده و طیف وسیعی از عوارض کوتاه مدت مانند سردرد و حالت تهوع، تا مزمن مانند سرطان‌های مختلف، نقایص جنینی، ناباروری و اختلالات هورمونی را شامل می‌گردد [۷،٦]. مطالعات نشان داده است قرار گرفتن طولانی مدت در معرض آفت‌کش‌ها منجر به ایجاد بیماری‌های تنفسی مانند آسم، عقیم شدن، اختلالات غدد درون‌ریز و سیستم ایمنی بدن می‌شود [۸]. یکی از انواع مهم سموم آفت‌کش، ترکیبات کلردار هستند که به دلیل حلالیت بالا در چربی در طول زنجیره‌ی غذایی در بدن موجودات زنده تجمع یافته و در نهایت با غلظت بالا به بدن انسان وارد می‌شود و لذا اثرات سوء آن‌ها در انسان بیشتر می‌گردد. همچنین این ترکیبات جزء آلاینده‌های آلی پایدار زمین بوده و گاهی تا صد سال در محیط زیست باقی می‌مانند و اثرات زیست‌محیطی مخربی ایجاد می‌کنند [۹].

همچنان که اشاره گردید، برای مصون ماندن از عوارض سمی آفت‌کش‌ها، باید یک مدیریت و نظارت کامل بر تولید و مصرف آن‌ها اعمال گردد. در این راستا شناسایی و تعیین مقدار باقی‌مانده‌ی سموم آفت‌کش در محصولات مختلف کشاورزی و آب و خاک از اهمیت حیاتی برخوردار است. زیرا این نظارت فقط با داشتن آمار دقیق از بود و نبود سموم آفت‌کش در محصولات کشاورزی میسر است. از طرف دیگر امروزه با توسعه‌ی دانش‌های کشاورزی و شیمی هم تنوع و مقدار محصولات کشاورزی تولید شده بسیار زیاد است و هم تعداد سموم آفت‌کش سنتزی افزایش چشم‌گیری یافته است. بنابراین با توجه به گستردگی تولید محصولات کشاورزی، از جمله برنج، و همچنین به دلیل تعداد فراوان سموم مصرفی، نیاز به روش‌های آنالیز سریع، دقیق و صحیح و سپس تجزیه و تحلیل نتایج حاصل بسیار مهم است تا بتوان یک مدیریت اصولی بر سموم اعمال نمود[۳،٥].

در سال‌های اخیر روش‌های آنالیز بقایای سموم آفت‌کش در محصولات کشاورزی از جمله برنج، دقیق‌تر، حساس‌تر، سریع‌تر و ساده‌تر شده‌اند. برای مثال در سال ۲۰۰۳ Anastassiades و همکاران یک روش آماده سازی نمونه با نام مخفف QuEChERS[1]، که بیانگر فواید آن یعنی یک روش سریع، راحت، ارزان و کارآمد بود را ارائه دادند. این روش استخراجی و آماده‌سازی مؤثر، دامنه وسیعی از آفت‌کش‌های قطبی، نیمه‌قطبی و غیرقطبی در ماتریکس‌های مختلف غذایی را شامل می‌شود [٥]. روش‌های سنتی برای استخراج و خالص‌سازی آفت‌کش‌ها شامل استخراج مایع مایع و مایع جامد است که به مقدار زیادی حلال آلی نیاز دارند و عملکرد آن‌ها پیچیده است. روش QuEChERS حلال کمتری مصرف می‌کند و یک استخراج با کارایی بالاتر ارائه می‌دهد. از نظر روش‌های دستگاهی، آنالیز سموم آفت‌کش در

1 . Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe

محصولات کشاورزی عمدتاً مبتنی بر دو روش کروماتوگرافی گازی و مایع با بهره‌گیری از آشکارسازهای مختلف مانند فرابنفش و طیف‌سنج جرمی است. روش آنالیز کروماتوگرافی مایع- طیف سنج جرمی انتخاب و دقت بالاتری را در مقایسه با روش‌های سنتی کروماتوگرافی مایع ارائه می‌دهد و در مقایسه با روش کروماتوگرافی گازی برای ترکیبات محلول در آب و غیرفرار یک روش مطمئن و انتخابی است [۳].

به دلیل این‌که ظهور و بروز بقایای سموم آفت‌کش در مواد غذایی همواره سبب نگرانی متخصصان و حتی مردم عادی می‌گردد، لذا امروزه تمهیدات و اقدامات مختلفی برای افزایش سلامت محصولات کشاورزی اتخاذ می‌گردد تا مصرف‌کنندگان کمترین میزان بقایای این سموم را دریافت نمایند. برای مثال استفاده از روش‌های کنترل بیولوژیک، استفاده‌ی بهینه از سموم توسط کشاورزان و عدم استفاده از سمومی که سالیان طولانی در محیط زیست پایدار می‌مانند از جمله این راهکارها هستند. خوشبختانه محصولات کشاورزی از جمله برنج کاملاً دست-نخورده و حتی خام مصرف نمی‌شوند و فرایندهای مختلفی روی این مواد خوراکی اعمال می‌شود. برخی از این فرآیندها عبارتند از: خشک کردن، فرآوری حرارتی، تخمیر، انجماد، آب‌گیری، آسیاب کردن، لایه‌برداری، پخت و پز، ذخیره‌سازی، فریز کردن و شستشو. طبق برخی گزارشات در اغلب موارد، فرآوری منجر به کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان باقی‌مانده سموم دفع آفات در مواد خوراکی آماده مصرف می‌شود، به ویژه از طریق شستشو ، پوست کندن و پخت و پز [۱]. بنابراین هدف از این تحقیق ابتدا تدوین، راه‌اندازی و معتبرسازی یک روش آنالیز همزمان، برای شناسایی ۶۰ نوع سم آفت‌کش در نمونه برنج با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع ـ طیف سنج جرمی و سپس ارزیابی تاثیر فرآیندهای شستشو و حرارت در میزان همان آفت‌کش‌های مورد مطالعه در نمونه‌های برنج تیمارشده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی و استانداردها

استاندارد آفت‌کش‌ها به تعداد ۶۰ عدد با خلوص٪ ۹۶ < ، از شرکت سیگما آلدریچ[1] آلمان تهیه شد. تری‌فنیل‌فسفات به عنوان استاندارد داخلی و سولفات منیزیم بدون آب، از شرکت سیگما آلدریچ آلمان، خریداری گردیدند. حلال‌های مورد استفاده شامل متانول، اتیل استات و استونیتریل، همگی با درجه آنالیزی HPLC-grade ، اسید استیک و اسید فرمیک با درجه آنالیزی HPLC-grade و استات سدیم، دی-متیل فرمامید از شرکت مرک[2] و PSA[3] از شرکت Interchim (France) تهیه شدند. آمونیوم فرمات از شرکت Acros (Belgium) و آب دیونیزه از سیستم آب خالص‌ساز (Millipore, Molsheim, France) به‌دست آمد.

۲-۲- نحوه‌ی انتخاب آفت‌کش‌ها

تعداد ۳۶ عدد از سموم مورد مطالعه بر اساس استاندارد ملی ایران [۱۰] و بقیه با توجه به مقالات بین المللی که قابلیت آنالیز با LC/MS داشتند برای این پژوهش انتخاب شدند. این آفت‌کش‌ها دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی کاملاً متفاوت بوده و به گروه‌های شیمیایی بسیار مختلف تعلق دارند. از نظر کاربردی، به عنوان حشره‌کش، قارچ‌کش، علف‌کش و غیره مورد مصرف دارند که نام آن‌ها در جدول ۱ ذکر شده است.

۲-۳- تهیه‌ی محلول‌های استاندارد ذخیره و کاری آفت‌کش‌ها

برای تهیه‌ی محلول استاندارد ذخیره‌ی منفرد از ترکیبات آفت-کش مورد مطالعه، پس از بررسی‌های لازم از نظر میزان حلالیت در حلال‌های آلی، تعداد ۵۷ مورد را به طور جداگانه در اتیل استات حل کرده و غلظت ۱۰۰۰/۰µg/g از آن‌ها تهیه گردید. سموم کاربندازیم، کلرمیکوات و مپیکوات در اتیل استات نامحلولند لذا استاندارد ذخیره‌ی آن‌ها در دی متیل فرمامید (کاربندازیم) و استونیتریل (کلرمکوات و مپیکوات) تهیه شدند. از ترکیب تری‌فنیل‌فسفات به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد و بدین منظور محلول ذخیره‌ی این ترکیب هم با غلظت ۱۰۰۰/۰µg/g در اتیل استات ساخته شد. تمام استانداردهای ذخیره‌ی تهیه شده کد گذاری و به دور از نور در فریزر ۲۰°C- نگهداری شد که در این شرایط حداقل شش ماه پایدار بودند. از تک تک محلول‌های استاندارد ذخیره‌ی فوق، محلول‌های استاندارد کاری با غلظت ۱۰۰۰/۰ng/g در متانول (MeOH) حاوی آمونیم فرمات ۵ میلی مولار تهیه گردید. از این محلول جهت تعیین شرایط دستگاه برای تک تک این

1. Sigma Aldrich, United states

2. Merk, Germany
3. primary secondry amin

ترکیبات و شناسایی یون‌های والد[4] آن‌ها و شکستن این یون‌های والد به یون‌های دختری[5] استفاده شد. با توجه به این که در این پژوهش آنالیز همزمان آفت‌کش‌های مورد مطالعه مد نظر است، لذا یک استاندارد کاری مخلوط از تمامی سموم مورد پژوهش با غلظت ۵۰۰۰/۰ng/g در متانول حاوی اسید استیک ۰/۱٪ ساخته شد. علت استفاده از اسید استیک آن است که طبق تحقیق ما و گزارشات قبلی [۱۱] اسید استیک از تخریب آفت کش‌ها در حالت مخلوط جلوگیری می‌کند. به منظور ترسیم منحنی کالیبراسیون با محلول استانداردهای خالص، از استاندارد مخلوط فوق، غلظتهای ۲۰ ، ٤۰، ۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۵۰۰ و ۱۰۰۰/۰ng/g در متانول حاوی اسید استیک ۰/۰۲٪ در حضور تری‌فنیل‌فسفات به عنوان استاندارد داخلی تهیه و جهت رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد.

۲-٤- آماده‌سازی نمونه‌های برنج تیمار شده

برای تهیه‌ی برنج تیمار شده با سموم مورد مطالعه، نیاز به برنج بلانک بود. لذا نمونه‌هایی از برنج‌های مختلف خریداری و پس از آماده‌سازی به دستگاه تزریق شد تا نمونه‌ی برنج بلانک که عاری از سموم مورد پژوهش بود حاصل گردد. پس از انتخاب برنج بلانک، ابتدا مقدار mL ۵ از محلول مخلوط استاندارد آفت‌کش‌ها (غلظت µg/g ۱۰۰۰) در یک ظرف تمیز حاوی ۲/۵ لیتر آب مقطر (دیونایز) ریخته شد (غلظت نهایی µg/mL ۲). سپس g۲۵۰ نمونه‌ی برنج در داخل محلول مذکور غوطه-ور گردید و به مدت ۲٤ ساعت در دمای محیط و در تاریکی قرار داده شد. نمونه‌ی برنج تیمار شده به این روش در یک محیط کاملاً بسته به دور از نور و هوای محیط در زیر هود قرار داده شد تا کاملاً خشک گردد. پس از خشک شدن g۵۰ از نمونه‌ی آماده شده آسیاب و به عنوان شاهد مورد آنالیز قرار گرفت و مابقی برای ارزیابی فرایندهای مختلف شامل شستشو و حرارت استفاده شد.

فرآیند شستشو: g۵۰ از نمونه‌ی آماده شده‌ی برنج (آلوده شده به سموم) دو بار با آب مقطر دیونیزه، شسته و به مدت ۲۰ دقیقه در آب خیسانده و آنالیز شد.

فرآیند حرارت: به g۵۰ از نمونه‌ی آماده شده‌ی برنج، mL ۵۰ آب، g ۲ نمک خوراکی و g ٤ روغن خوراکی اضافه شد. مخلوط فوق روی اجاق گاز حرارت داده شد و تا تبخیر کامل آب جوشانده شد. سپس درب ظرف را به طور کامل بسته و شعله‌ی اجاق گاز به حداقل رسانده شد تا نمونه‌ی برنج به مدت ۳۰ دقیقه بخار پز گردد. این نمونه پس از حرارت آسیاب و آنالیز شد.

استخراج: استخراج بر اساس روش QuEChERS معرفی شده در سال ۲۰۰۳ توسط Anastassiades و همکاران، بر پایه‌ی استخراج توسط استونیتریل و آبگیری با سولفات منیزیم در حضور یک نمک و پس از آن یک مرحله‌ی پاک سازی[1] توسط یک آمین انجام شد [۱۲]. برای این منظور، g ۵ برنج با دقت وزن شده و به یک فالکون mL ۵۰ میلی لیتری منتقل گردید. بر روی نمونه، µL ۱۰۰ استاندارد داخلی تری‌فنیل‌فسفات با غلظت ng/mL ۵۰۰۰ افزوده شد. سپس mL ۱۰ استونیتریل به نمونه افزوده و به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. بر روی نمونه g ۲ سولفات منیزیم و g ۱/۵ استات سدیم اضافه شده و مجدداً ۲ دقیقه ورتکس گردید. در این مرحله فالکون حاوی نمونه به مدت ۵ دقیقه با دور rpm ۹۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس mL ۵ از محلول صاف شده رویی برداشته شده و به لوله آزمایش محتوی µL ۱۰۰ متانول منتقل گردید. این محلول توسط گاز نیتروژن تبخیر شد تا کاملاً خشک گردد. بعد از آن به نمونه‌ی خشک شده در لوله mL ۰/۵ استونیتریل اضافه شده و به مدت ۲ دقیقه ورتکس، سپس ۵ دقیقه Sonicate و مجدداً ۲ دقیقه ورتکس گردید. در این مرحله تمام mL ۰/۵ نمونه موجود در لوله به یک لوله یک میلی لیتری حاوی mg ٦۰ سولفات منیزیم و mg ۲۰ آمین نوع اول دوم PSA منتقل و بعد به مدت ۱ دقیقه ورتکس گردید. سپس این مجموعه به مدت ۵ دقیقه با دور rpm ۹۰۰۰ سانتریفیوژ شد. در آخرین مرحله، محلول رویی با دقت برداشته شده و در نهایت µL ۱۰۰ به دستگاه تزریق شد.

۲-۵- آنالیز دستگاهی

آنالیز نمونه‌های برنج با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا مدل Alliance separations module 2695 (Waters, Milford, MA, USA) مجهز به Quaternary solvent delivery system ,Degasser ,Column heater ,Diode array detector (DAD) اتوسمپلر و دستگاه آشکار ساز طیف سنج جرمی مدل Quattro Micro Triple Quadrupole LC/MS,

4. Parent ions
5. Daughter ions

1. Clean-up

(Waters, Micromass, Manchester, UK) مجهز به نرم افزار پیشرفته MassLynx software, version 4.0 جهت انجام محاسبات اتوماتیک، انجام شد.

ستون مورد استفاده Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C_{18} (Narrow-Bore 2.1×150 mm,3.5-micron) بود و دمای آن در ۴۰°C تنظیم گردید. فاز متحرک به صورت ترکیبی از آمونیم فرمات ۵ میلی مول در متانول (حلال A) و آمونیم فرمات ۵ میلی مول در آب (حلال B) در حالت گرادیان بود. برنامه گرادیان فاز متحرک به شرح زیر بود: در ابتدا آنالیز با ۳۰ درصد حلال A و ۷۰ درصد حلال B، آغاز شد و بعد درصد حلال A در مدت ۲۰ دقیقه به ۱۰۰ درصد افزایش یافت. سپس به مدت ۵ دقیقه تا دقیقه ۲۵ ثابت مانده و در نهایت ترکیب حلال‌ها از دقیقه ۲۶ مجدداً به حالت اولیه خود یعنی ۳۰ درصد حلال A و ۷۰ درصد حلال B بازگشت. به منظور پیشگیری از تداخلات احتمالی تزریقات متوالی، بین دو تزریق متوالی پنج دقیقه فاصله قرار داده شد.

طیف‌سنج جرمی

ترکیبات مورد استفاده در این پژوهش با استفاده از تکنیک ^{1}ESI (+) به صورت یون مثبت در آمدند. در این پژوهش برای تولید یون مادر قبل از رسیدن آنالیت به قسمت یونساز، از یک سیستم بافری آمونیم فرمات استفاده شد. در این حالت اکثر مولکول‌های آنالیت به صورت $[M+H]^+$ و تعدادی به حالت $[M+NH_4]^+$ به یون مثبت والد تبدیل شدند و تعدادی هم از ابتدا به صورت $[M]^+$ بودند. یونهای تشکیل شده توسط فاز متحرک با سرعت ۰/۲ mL/min به درون سیستم یون‌ساز وارد گردید. در قسمت سیستم یون‌ساز چندین پارامتر مهم وجود دارد که برای نیل به مشاهده کروماتوگرام بهتر بهینه شدند. در ابتدای امر، جریان گاز نیتروژن بهینه شد. میزان جریان گاز نیتروژن در حالت بهینه ۵۰۰ L/hr تنظیم گردید. از طرف دیگر گاز نیتروژن باید داغ باشد تا حلال اطراف یون‌های آنالیت تبخیر گردد. برای این منظور دمای گاز نیتروژن ابتدا در دمای پایین ۲۰۰°C تنظیم گردیده و سپس میزان آن به طور مرتب ۱۰°C اضافه شد و به دمای ۳۵۰°C رسانده شد. بعد از مشاهده کروماتوگرام‌های حاصل دمای بهینه ۳۰۰°C به دست آمد. میزان بهینه برای Cone gas، ۵۰ L/hr به دست آمد. دستگاه طیف‌سنج جرمی مورد استفاده در این تحقیق مجهز به یک آنالیزور چهار قطبی سه‌گانه[2] است. در انتخاب Ion transition یون‌های حاصل، پایداری[3] یون دختر و نیز بزرگی مقدار جرم به بار (m/z)، ملاک عمل قرار گرفت و تبدیلات یونی (Ion transitions) انتخاب شدند که از یک سو پایدارترین و از سوی دیگر m/z بزرگ‌تری را ایجاد کردند.

۲-۶- اعتبارسنجی روش

به طور نظری، برنج به دلیل داشتن انواع مولکول‌های آلی می‌تواند تغییرات چشم‌گیری در کروماتوگرام سموم مورد مطالعه ایجاد نماید. این پدیده که به اثر ماتریکس معروف است می‌تواند هم اثر کاهشی در آنالیز سموم داشته باشد و هم اثر افزایشی [۱۳]. بنابراین باید اثر ماتریکس برنج به دقت بررسی و در آنالیز نمونه‌ها لحاظ گردد. برای بررسی اثر ماتریکس دو منحنی کالیبراسیون یکی با استاندارد آفت‌کش‌ها در حلال خالص (Solvent calibration curve) و دیگری به روش Matrix-matched calibration curve ، با غلظت‌های یکسان ۲۰ ، ۴۰ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ng/g رسم شد. سپس با در نظر گرفتن شیب منحنی دو خط فوق، و با استفاده از فرمول زیر درصد اثر ماتریکس محاسبه گردید:

Matrix effect (%) = (1-A) × 100

Where, A= Slope matrix/slope solvent

برای اعتبار سنجی روش، از دستورالعمل اتحادیه‌ی اروپا در آنالیز سموم (SANCO/12495/2019) تبعیت شد [۱۴] . و برای این منظور، پارامترهای خطی بودن روش، صحت و دقت روش و همچنین تعیین حدود تشخیص (LOD) و تعیین مقدار (LOQ) مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش به منظور غلبه بر اثر ماتریکس، از روش کالیبراسیون منطبق با ماتریکس (Matrix-matched calibration

1. Electro Spray Ionization

2. Tiple quadrupole
3. Intensity

curve) جهت رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شده است. بدین منظور در ۷ لوله فالکونی g ۵ نمونه‌ی برنج ریخته شده و استخراج صورت گرفت. در نهایت g ۰/۵ عصاره در mL ۰/۵ استونیتریل در هر لوله به‌دست آمد. سپس استونیتریل نمونه‌ها توسط گاز ملایم نیتروژن تبخیر شد. بعد در شش لوله دیگر از استاندارد خالص آفت‌کش‌ها، به ترتیب غلظت‌های ۲۰ ، ٤٠ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۵۰۰ و ng/g ۱۰۰۰ در متانول حاوی اسید استیک ٪۰/۰۲ تهیه و mL ۰/۵ از آن‌ها را به لوله‌های حاوی رسوب عصاره‌ی برنج که شرح تهیه‌ی آن داده شد، اضافه شد. در نهایت این لوله‌های حاوی رسوب عصاره و غلظت‌های متفاوت استاندارد آفت‌کش‌ها، به مدت ۲ دقیقه ورتکس و بعد به مدت ۵ دقیقه Sonicate شدند. بدین ترتیب در شش لوله غلظت‌های ۲۰ ، ٤٠ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۵۰۰ و ng/g ۱۰۰۰ به دست آمد که برای رسم منحنی به دستگاه تزریق شدند. برای ترسیم این منحنی از استاندارد داخلی تری‌فنیل‌فسفات استفاده شد.

برای بررسی پارامترهای دقت و صحت روش، نمونه‌های بلانک برنج در سه سطح ۲۵ ، ۲۵۰ و ng/g ۱۰۰۰ و برای هر سطح ۵ نمونه (جمعاً ۱۵ نمونه) اسپایک شده و استخراج و آنالیز انجام شد. با استفاده از منحنی کالیبراسیون غلظت آفت‌کش‌های اسپایک شده در نمونه‌ها محاسبه شد. عمل فوق در سه روز متوالی تکرار شده و میانگین درصد بازیافت[1] و میزان انحراف استاندارد نسبی[2] جهت مطالعات صحت و دقت روش تعیین گردید. برای محاسبه حد تشخیص (LOD) و حد مقدار (LOQ) از مطالعه بازیافت استفاده شد و برای این منظور پایین‌ترین غلظتی که مقدار بازیافت آن دقیقاً در محدوده ۱۲۰ـ ۷۰ ٪ قرار داشت به عنوان LOQ در نظر گرفته شد و سپس با تقسیم آن بر سه مقدار LOD به‌دست آمد. برای این منظور نمونه‌هایی از بلانک برنج در سه سطح ng/g ۵، ng/g ۱۰ وng/g ۲۰ اسپایک[3] و درصد بازیافت محاسبه گردید.

1. Recovery
2. %CV or %RSD
3.Spike

۲-۷- آنالیز نمونه‌های برنج

نمونه‌های برنج شاهد و تیمارشده با آفت‌کش‌های مورد مطالعه، با دقت آسیاب گردید و g ۵ از آن‌ها توزین و سپس با استفاده از روش اعتبار سنجی شده، که شرح آن داده شد، آنالیز و تعیین مقدار گردید. پس از شناسایی سموم، با در نظر گرفتن یون‌های شاخص، زمان بازداری و به ویژه بررسی دقیق نسبت یون‌ها، از منحنی کالیبراسیون رسم شده، جهت تعیین مقدار باقی‌مانده‌ی سموم، استفاده شد.

۳- نتایج

۳-۱- تعیین شرایط دستگاه کروماتوگرافی مایع- طیف سنج جرمی

به منظور بهینه‌سازی دستگاه کروماتوگرافی ـ طیف سنج جرمی، مطابق دستورالعمل شرکت سازنده ابتدا دستگاه با دقت تنظیم (Tunning) شد و سپس کالیبر گردید. با انجام تزریق-های متعدد پارامترهای دستگاه شامل نوع ستون، دما، شرایط طیف سنج جرمی و فاز متحرک، بهینه شد. از تمام استانداردهای سموم آفت‌کش مورد مطالعه جهت شناسایی یون‌های والد، به دستگاه طیف سنج جرمی تزریق گردید. بدین ترتیب ابتدا از هر کدام ترکیبات آفت‌کش یک طیف Full scan به طور مجزا تهیه شد و یون‌های والد سموم آفت‌کش شناسایی شد. با شکستن یون‌های والد در اثر بمباران با گاز آرگون در شرایط خلا، یون‌های دختر حاصل گردید. دو یون دختر که دارای بیشترین شدت بودند به عنوان یون‌های Quantitation و Confirmation انتخاب و دو پارامتر Cone voltage و Collision energy در مورد آن‌ها بهینه شد. همچنین در این بررسی زمان بازداری[4] و میزان نسبی دو یون دختری به دست آمده هم محاسبه شد. پارامترهای بهینه شده مذکور در ترکیبات مورد آنالیز در جدول ۱ ارائه شده است.

4. Retention Time

Table 1 Names, molar masses, MRM parameters, ion ratios and retention times of the studied pesticides for LC-MS/MS analysis.

No.	Pesticides	Molecular Mass (g/mol)	Parent ion	Cone voltage(V)	1st Transition (Quantitation)	Collision Energy (eV)	2nd Transition (Confirmation)	Collision Energy (eV)	Retention Time	Ion Ratio
1	Acephate	183	$[M+H]^+$	15	184→143	8	184→125	30	2.95	16.4
2	Acetochlor	269	$[M+H]^+$	20	270→224	15	270→148	15	19.93	1.54
3	Alachlor	269	$[M+H]^+$	22	270→238	17	270→162	17	19.95	1.52
4	Atrazine	215	$[M+H]^+$	36	216→174	20	216→96	24	15.72	1.11
5	Azinphos-methyl	317	$[M+H]^+$	20	318→160	10	318→261	10	17.99	11.34
6	Azoxystrobin	403	$[M+H]^+$	22	404→372	15	404→329	30	18.31	2.49
7	Benalaxyl	325	$[M+H]^+$	30	326→91	20	326→316	34	21.57	0
8	Bioallethrin	302	$[M+H]^+$	20	303→123	15	303→151	10	24.13	1.69
9	Bitertanol	337	$[M+H]^+$	20	338→70	17	338→99	8	21.32	4.71
10	Buprofezin	305	$[M+H]^+$	30	306→57	20	306→201	15	24.34	2.82
11	Carbendazim	191	$[M+H]^+$	30	192→160	20	192→132	26	9.48	3.06
12	Carbosulfan	380	$[M+H]^+$	40	381→118	25	381→76	34	26.87	1.57
13	Carboxin	235	$[M+H]^+$	32	236→143	16	236→87	22	14.61	3.39
14	Chlormequat	122	$[M]^+$	20	122 →58	20	124→58	20	2.66	3.08
15	Chlorpyrifos-methyl	321	$[M+H]^+$	34	322→125	20	322→290	18	22.93	2.74
16	Clodinafob-propargyl	349	$[M+H]^+$	20	350→266	22	350→91	20	20.18	1.35
17	Clofentezine	302	$[M+H]^+$	25	303→102	35	303→138	33	22.04	1.27
18	Cypermethrin	415	$[M+NH_4]^+$	15	433→191	15	433→127	41	25.7	5.02
19	Cyproconazole	291	$[M+H]^+$	30	292→125	28	292→70	20	20.29	2.72
20	Cyprodinil	225	$[M+H]^+$	40	226→93	38	226→108	27	22.04	1.26
21	Deltamethrin	505	$[M+H]^+$	30	506→281	44	506→93	12	25.73	2.95
22	Difenoconazole	405	$[M+H]^+$	40	406→251	25	406→337	20	22.02	16.72
23	Dimethenamid	275	$[M+H]^+$	23	276→244	18	276→168	24	17.61	2.5
24	Dimoxystrobin	326	$[M+H]^+$	25	327→116	12	327→205	20	19.98	2.61
25	Diniconazole	325	$[M+H]^+$	15	326→70	30	326→159	34	22.5	15.59
26	Disulfoton	274	$[M+H]^+$	18	275→89	22	275→61	35	22.79	2.4
27	Ethion	384	$[M+H]^+$	20	385→97	10	385→199	43	24.39	1.16
28	Ethoprophos	242	$[M+H]^+$	26	243→97	28	243→131	15	19.49	1.24
29	Fenamiphos	303	$[M+H]^+$	32	304→217	25	304→202	32	19.77	1.96
30	Fenarimol	330	$[M+H]^+$	20	331→268	20	331→81	20	19.78	2.57
31	Fenbuconazole	336	$[M+H]^+$	32	337→70	16	337→125	35	19.58	1.6
32	Fenhexamid	301	$[M+H]^+$	41	302→97	22	302→55	31	19.76	1.81
33	Fenpyroximate	421	$[M+H]^+$	32	422→366	15	422→138	35	25.59	1.92
34	Fenoxaprop-P-ethyl	361	$[M+H]^+$	20	362→121	25	362→288	25	23.64	1.2
35	Fenpropathrin	349	$[M+H]^+$	20	350→125	15	350→97	20	25.14	4.22
36	Flamprop-M-Isopropyl	363	$[M+H]^+$	20	364→105	20	364→77	50	20.43	2.7
37	Fluoxastrobin	458	$[M+H]^+$	30	459→188	36	459→427	24	19.56	1.3
38	Flutriafol	301	$[M+H]^+$	32	302→70	25	302→123	20	16.35	1.75
39	Foramsulfuron	452	$[M+H]^+$	32	453→182	20	453→272	15	6.05	4.52

40	Haloxyfop	361	$[M+H]^+$	10	362→91	35	362→316	12	23.5	46.32
41	Hexythiazox	352	$[M+H]^+$	26	353→228	15	353→168	30	24.85	1.95
42	Imazalil	296	$[M+H]^+$	35	297→69	30	297→159	22	20.39	1.08
43	Imazamethabenz-methyl	288	$[M+H]^+$	10	289→144	26	289→161	26	14.13	1.51
44	Isoproturon	206	$[M+H]^+$	35	207→72	18	207→47	18	16.62	69.45
45	Linuron	248	$[M+H]^+$	25	249→160	15	249→181	15	18.2	13.59
46	Mepiquat	114	$[M]^+$	30	114 →58	25	114 →70	25	2.73	4.58
47	Mesosulfuron-methyl	503	$[M+H]^+$	38	504→182	23	504→83	60	8.64	2.03
48	Metalaxyl	279	$[M+H]^+$	24	280→192	17	280→220	20	16.79	3.02
49	Penconazole	283	$[M+H]^+$	28	284→70	20	284→159	20	20.71	1.73
50	Phosalone	367	$[M+H]^+$	20	368→182	38	368→111	20	22.32	1.19
51	Phosmet	317	$[M+H]^+$	30	318→160	30	318→77	43	17.68	3.14
52	Pinoxaden	400	$[M+H]^+$	10	401→317	17	401→57	17	21.15	2.32
53	Prallethrin	300	$[M+H]^+$	15	301→105	8	301→133	8	23.06	1.55
54	Primicarb	238	$[M+H]^+$	27	239→72	25	239→182	15	15.34	4.17
55	Prochloraz	375	$[M+H]^+$	20	376→308	15	376→266	20	22.17	6.14
56	Profenofos	372	$[M+H]^+$	36	373→303	42	373→128	20	23.96	2.21
57	Spiroxamine	297	$[M+H]^+$	40	298→144	20	298→100	35	22.86	1.34
58	Sulfosulfuron	470	$[M+H]^+$	25	471→211	13	471→261	18	8.02	1.44
59	Tebuconazole	307	$[M+H]^+$	35	308→70	20	308→125	45	20.8	16.91
60	Thiodicarb	354	$[M+H]^+$	20	355→88	16	355→108	13	22.57	7.66
61	Triphenylphosphate (ISTD)	326	$[M+H]^+$	20	327→77	45	327→152	45	20.81	1.94

۳-۲- بررسی خطی بودن روش

نتایج به دست آمده از رسم منحنی کالیبراسیون به روش Matrix-matched calibration curve نشان داد که منحنی‌های کالیبراسیون برای تمام ترکیبات مورد مطالعه در محدوده ng/g ۱۰۰۰ ـ ۲۰ خطی بود. ضریب تعیین مقدار (R^2)، با احتساب سه رقم اعشار، برای تمام ترکیبات مورد مطالعه بیشتر از ۰/۹۸٤ بود. معادله خط و ضریب همبستگی مربوط به تمام سموم در جدول ۲ آورده شده است.

۳-۳- بررسی اثر ماتریکس

برای بررسی اثر ماتریکس دو منحنی کالیبراسیون با غلظت‌های ۲۰ ، ٤۰ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۵۰۰ و ng/g ۱۰۰۰ رسم گردید. یکی به روش کالیبراسیون مجاورت با ماتریکس (Matrix-matched calibration curve) و دیگری کالیبراسیون با محلول خالص (Solvent-base calibration curve) [۱۵]. سپس شیب این دو خط به عنوان معیار اثر ماتریکس با یکدیگر مقایسه شد که نتایج آن در جدول ۲ آمده است.

Table 2 matrix effect in analysis of studied Pesticides in Rice

No.	Pesticides	Solvent-base calibration curve		Matrix-matched calibration curve		A	Matrix Effect
		Slope	R^2	Slope	R^2		
1	Acephate	0.415	0.992	0.717	0.996	1.729	72.86
2	Acetochlor	0.111	0.997	0.097	0.997	0.875	-12.46
3	Alachlor	0.118	0.997	0.134	0.992	1.133	13.25
4	Atrazine	0.781	0.997	0.761	0.999	0.975	-2.51
5	Azinphos-methyl	1.212	0.998	1.305	0.998	1.076	7.61
6	Azoxystrobin	1.612	0.998	1.608	0.995	0.997	-0.25
7	Benalaxyl	0.578	0.997	1.124	0.994	1.943	94.32

8	Bioallethrin	1.274	0.999	0.365	0.995	0.286	-71.36
9	Bitertanol	0.390	0.997	1.610	0.999	4.127	312.69
10	Buprofezin	0.360	0.998	3.851	0.990	10.694	969.41
11	Carbendazim	0.815	0.988	2.230	0.998	2.737	173.67
12	Carbosulfan	0.868	0.986	1.462	0.993	1.683	68.35
13	Carboxin	1.424	0.997	1.065	0.997	0.748	-25.20
14	Chlormequat	0.329	0.993	0.212	0.993	0.644	-35.59
15	Chlorpyrifos-methyl	0.714	0.998	0.907	0.998	1.271	27.10
16	Clodinafob-propargyl	0.344	0.999	0.346	0.995	1.006	0.59
17	Clofentezine	0.404	0.994	0.587	0.987	1.453	45.33
18	Cypermethrin	0.216	0.991	0.146	0.995	0.677	-32.25
19	Cyproconazole	3.962	0.998	4.711	0.998	1.189	18.89
20	Cyprodinil	2.041	0.993	1.990	0.997	0.975	-2.48
21	Deltamethrin	0.594	0.993	0.424	0.998	0.713	-28.66
22	Difenoconazole	2.559	0.998	3.798	0.993	1.484	48.38
23	Dimethenamid	1.559	0.998	2.026	0.999	1.299	29.91
24	Dimoxystrobin	1.846	0.999	3.950	0.998	2.139	113.92
25	Diniconazole	0.586	0.999	0.889	0.999	1.516	51.62
26	Disulfoton	0.290	0.995	0.385	1.000	1.328	32.83
27	Ethion	3.057	0.989	5.307	0.999	1.736	73.57
28	Ethoprophos	1.757	0.996	1.823	0.998	1.038	3.79
29	Fenamiphos	2.857	0.999	4.577	0.996	1.602	60.17
30	Fenarimol	0.186	1.000	0.260	0.998	1.396	39.57
31	Fenbuconazole	1.923	0.997	2.653	0.999	1.380	38.00
32	Fenhexamid	1.506	0.998	0.383	0.986	0.254	-74.57
33	Fenpyroximate	3.800	0.991	2.368	0.999	0.623	-37.68
34	Fenoxaprop-P-ethyl	0.788	0.999	1.883	0.996	2.389	138.85
35	Fenpropathrin	5.685	0.997	4.509	0.999	0.793	-20.68
36	Flamprop-M-Isopropyl	2.285	0.994	3.254	0.994	1.424	42.40
37	Fluoxastrobin	0.370	0.998	0.455	0.997	1.228	22.81
38	Flutriafol	0.999	0.993	1.054	0.996	1.054	5.43
39	Foramsulfuron	0.396	0.995	0.006	0.984	0.015	-98.48
40	Haloxyfop	0.325	0.998	0.692	0.996	2.128	112.76
41	Hexythiazox	2.684	0.997	1.961	0.999	0.730	-26.96
42	Imazalil	2.950	0.994	2.877	0.994	0.975	-2.47
43	Imazamethabenz-methyl	0.215	0.992	0.183	0.990	0.850	-14.97
44	Isoproturon	2.252	0.995	2.182	0.996	0.969	-3.11
45	Linuron	0.434	0.995	0.626	0.996	1.443	44.26
46	Mepiquat	0.660	0.995	0.715	0.991	1.083	8.30
47	Mesosulfufuron-methyl	0.519	0.997	0.099	0.998	0.192	-80.83
48	Metalaxyl	0.458	0.998	0.457	0.993	0.996	-0.42
49	Penconazole	1.107	0.994	1.821	0.998	1.644	64.41
50	Phosalone	1.036	0.993	0.881	0.991	0.850	-14.95
51	Phosmet	0.245	0.996	0.217	0.996	0.885	-11.50

52	Pinoxaden	0.293	0.999	0.131	0.993	0.446	-55.40
53	Prallethrin	0.517	0.996	0.842	0.999	1.630	63.01
54	Primicarb	3.945	0.998	7.353	0.999	1.864	86.38
55	Prochloraz	0.752	1.000	1.456	0.997	1.937	93.73
56	Profenofos	0.948	0.998	1.936	0.997	2.042	104.19
57	Spiroxamine	14.060	0.997	6.319	0.997	0.449	-55.06
58	Sulfosulfuron	0.183	0.996	0.249	0.999	1.364	36.37
59	Tebuconazole	3.933	0.998	6.499	0.996	1.652	65.22
60	Thiodicarb	1.126	0.996	1.079	0.994	0.958	-4.18
61	Triphenylphosphate (TPP)	2.118	0.862	1.542	0.999	0.728	-27.20

A= Slope matrix/slope solvent; Matrix effect (%) = (1-A) × 100

۳-٤- بررسی صحت و دقت روش

محاسبه‌ی درصد بازیافت و تکرارپذیری روش، با اسپایک نمونه‌های بلانک برنج در سه سطح ۲۵ ، ۲۵۰ و ۱۰۰۰ng/g و برای هر سطح ۵ نمونه (جمعاً ۱۵ نمونه) آنالیز شد. همچنان‌که در جدول ۳ دیده می‌شود، مقادیر درصد بازیافت در تمام سطوح بین محدوده ٪۱۱۰/۲ ـ ۷٦/٤ و انحراف استاندارد نسبی در محدوده ٪۱٦/۷ ـ ۲/۸ واقع شده است. این مقادیر با محدوده‌های اعلام شده اتحادیه‌ی اروپا مطابقت دارد [١٤].

Table 3 Mean recoveries (%) and relative standard deviations, RSDr (%), LOQs and LODs (ng/g) obtained for 60 compounds in rice samples, spiked at 25, 250 and 1000 ng/g levels (n = 5).

NO.	Compound	Spik levels (n=5)						Total recovery (%) (n=15)	RSDr (%) (n=15)
		25 ng/g		250 ng/g		1000 ng/g			
		Mean recovery (%)	RSDr (%)	Mean recovery (%)	RSDr (%)	Mean recovery (%)	RSDr (%)		
1	Acephate	84.1	19.5	78.2	8.1	85.3	13.1	82.5	13.5
2	Acetochlor	113.2	9	86	16.7	79.1	4.5	92.8	10.1
3	Alachlor	104.5	18.7	82.9	10.3	76.9	8.0	88.1	12.3
4	Atrazine	82.2	10.5	89.1	16.5	84.3	5.2	85.2	10.7
5	Azinphos-methyl	89.3	6.0	83.9	7.1	80.4	2.8	84.5	5.3
6	Azoxystrobin	97.7	9.3	101.0	19.9	102.9	8.7	100.5	12.6
7	Benalaxyl	101.5	19.0	98.1	10.1	94.2	11.2	97.9	13.4
8	Bioallethrin	102.3	8.4	92.2	9.7	89.7	11.1	94.7	9.7
9	Bitertanol	96.1	19.7	95.9	15.4	97.9	14.1	96.6	16.4
10	Buprofezin	92.9	0.7	111.4	6.5	93.5	2.9	99.3	3.3
11	Carbendazim	92.1	4.9	83.6	13.2	85.7	12.6	87.1	10.2
12	Carbosulfan	109.3	5.4	108.0	2.1	104.4	2.1	107.2	3.2
13	Carboxin	72.1	4.2	90.5	18.7	82.7	12.7	81.8	11.9
14	Chlormequat	100.3	3.9	101.9	5.9	105.4	3.2	102.5	4.3
15	Chlorpyrifos-methyl	108.9	3.5	88.7	9.8	98.3	4.3	98.6	5.9
16	Clodinafob-propargyl	96.3	8.1	91.3	18.3	87.7	3.9	91.8	10.1
17	Clofentezine	110.7	6.0	111.6	2.0	94.6	10.6	105.6	6.2
18	Cypermethrin	89.4	8.1	82.5	3.1	85.9	5.7	86.0	5.6
19	Cyproconazole	100.8	5.0	85.9	8.1	90.3	10.4	92.3	7.9
20	Cyprodinil	115.3	1.4	96.3	1.4	97.1	11.4	102.9	4.7
21	Deltamethrin	85.0	9.6	80.7	3.3	82.5	3.4	82.8	5.4
22	Difenoconazole	112.1	2.6	108.4	6.6	104.6	7.6	108.4	5.6
23	Dimethenamid	111.3	3.0	99.9	3.7	88.7	11.4	100.0	6.0

24	Dimoxystrobin	93.9	6.6	84.7	10.2	84.0	9.1	87.5	8.6
25	Diniconazole	92.3	1.5	92.6	4.9	90.9	4.9	91.9	3.7
26	Disulfoton	111.9	2.3	95.9	10.3	98.9	17.8	102.2	10.1
27	Ethion	90.3	3.1	105.5	7.6	108.5	5.7	101.4	5.5
28	Ethoprophos	101.7	11.0	103.3	10.4	108.6	5.9	104.5	9.1
29	Fenamiphos	115.1	4.9	94.1	3.7	91.7	11.3	100.3	6.6
30	Fenarimol	109.1	2.3	87.8	3.8	84.3	4.2	93.7	3.4
31	Fenbuconazole	116.6	5.9	101.5	3.4	109.4	1.6	109.2	3.7
32	Fenhexamid	109.7	1.4	94.5	5.8	99.7	2.9	101.3	3.4
33	Fenpyroximate	78.4	7.9	73.6	5.0	77.3	6.9	76.4	6.6
34	Fenoxaprop-P-ethyl	116.8	0.5	106.9	4.6	99.5	13.5	107.8	6.2
35	Fenpropathrin	89.6	3.9	82.5	8.2	79.2	10.6	83.8	7.5
36	Flamprop-M-Isopropyl	76.5	4.2	86.3	13.7	87.4	11.2	83.4	9.7
37	Fluoxastrobin	78.3	7.4	92.6	15.5	91.7	8.6	87.5	10.5
38	Flutriafol	71.8	2.6	83.1	8.2	96.5	12.1	83.8	7.6
39	Foramsulfuron	112.0	4.4	98.0	6.9	94.7	4.7	101.6	5.3
40	Haloxyfop	84.3	3.1	102.9	4.7	99.9	2.2	95.7	3.3
41	Hexythiazox	101.6	7.5	83.6	14.1	79.0	5.1	88.1	8.9
42	Imazalil	110.4	2.0	82.7	18.7	103.3	7.3	98.8	9.3
43	Imazamethabenz-methyl	89.9	5.3	90.5	8.7	80.6	4.7	87.0	6.2
44	Isoproturon	86.1	4.0	86.9	8.8	89.1	9.7	87.4	7.5
45	Linuron	81.9	5.2	88.5	12.5	86.7	7.7	85.7	8.5
46	Mepiquat	105.5	3.3	107.4	2.9	109.7	2.3	107.5	2.8
47	Mesosulfufuron-methyl	76.9	3.1	88.8	7.1	90.1	4.9	85.3	5.0
48	Metalaxyl	74.6	5.4	83.0	7.4	75.2	6.8	77.6	6.5
49	Penconazole	94.4	2.4	88.5	4.8	92.7	5.2	91.9	4.1
50	Phosalone	75.0	2.2	109.5	6.5	110.5	4.6	98.3	4.4
51	Phosmet	77.5	4.4	80.6	15.3	80.2	11.3	79.4	10.3
52	Pinoxaden	82.0	15.0	78.8	6.0	77.1	7.6	79.3	9.6
53	Prallethrin	111.1	5.8	100.3	6.3	87.3	5.6	99.6	5.9
54	Primicarb	79.4	2.0	86.1	8.6	84.0	7.4	83.2	6.0
55	Prochloraz	116.3	2.1	103.9	6.1	110.4	0.8	110.2	3.0
56	Profenofos	108.7	2.1	100.5	4.6	105.7	5.5	104.9	4.1
57	Spiroxamine	113.7	6.4	100.3	15.9	91.0	8.6	101.7	10.3
58	Sulfosulfuron	74.0	2.7	81.7	21.6	89.0	25.9	81.6	16.7
59	Tebuconazole	96.0	1.0	95.7	3.7	106.7	6.8	99.4	3.8
60	Thiodicarb	100.0	9.0	107.7	6.7	106.7	16.8	104.8	10.8
61	Triphenylphosphate (TPP)	104.5	4.6	83.7	11.3	92.1	8.9	93.4	8.3

۳-۵- تعیین حد تشخیص (LOD) و حد تعیین مقدار (LOQ)

با توجه به معیار SANCO/12495/2019، نمونه‌هایی از بلانک برنج در سه سطح ۵ ng/g، ۱۰ ng/g و ۲۰ ng/g اسپایک و درصد بازیافت محاسبه گردید. از بین سه سطح فوق فقط در سطح اسپایک ۲۰ng/g میزان بازیافت دقیقاً در رنج ۱۲۰ـ ۷۰ ٪ مورد نظر SANCO قرار داشته و لذا برای تمام ترکیبات، LOQ به میزان ۲۰ng/g تعیین گردید. با توجه به LOQ به دست آمده میزان حد تشخیص (LOD) هم ۶/۶ng/g محاسبه گردید.

٤- آنالیز سموم آفت کش مورد مطالعه در نمونه‌های برنج

٤- ١- آنالیز نمونه های برنج اولیه بدون تیمار

به دلیل این‌که نمونه‌های برنج موجود در بازار ممکن است به سموم مورد مطالعه آلوده باشند، لذا برای اطمینان، نمونه‌ی برنج تهیه شده طبق روش استخراجی گفته شده آماده‌سازی شد و به دستگاه تزریق گردید. نتایج نشان داد که نمونه برنج خریداری شده فاقد سموم مورد مطالعه در حد تشخیص دستگاه بود. لذا از این برنج هم به عنوان بلانک و هم پس از تیمار برای بررسی اثر فرایندهای گوناگون استفاده شد (جدول ٤).

Table 4 Mean concentrations (± SD, n = 3), mean values of processing factors (PF) and reductions (%) of the pesticides in unprocessed rice samples, after washing and cooking.

NO.	Compound	Unprocessed samples	Washing			Cooking		
		Concentration (ng/g) (mean±SD)	Concentration (ng/g) (mean±SD)	PF	Reduction (%)	Concentration (ng/g) (mean±SD)	PF	Reduction (%)
1	Acephate	0.826 (±0.022)	0.753 (±0.014)	0.91	8.8	0.067 (±0.028)	0.08	91.9
2	Acetochlor	0.943 (±0.024)	0.670 (±0.024)	0.71	29.0	0.176 (±0.020)	0.19	81.3
3	Alachlor	0.853 (±0.028)	0.683 (±0.017)	0.80	19.9	0.194 (±0.010)	0.23	77.3
4	Atrazine	0.946 (±0.038)	0.877 (±0.028)*	0.93	7.3	0.444 (±0.042)	0.47	53.1
5	Azinphos-methyl	0.773 (±0.014)	0.497 (±0.010)	0.64	35.7	0.497 (±0.010)	0.64	35.7
6	Azoxystrobin	0.939 (±0.052)	0.614 (±0.110)	0.65	34.6	0.440 (±0.014)	0.47	53.1
7	Benalaxyl	0.943 (±0.036)	0.640 (±0.014)	0.68	32.1	0.207 (±0.045)	0.22	78.0
8	Bicallethrin	0.743 (±0.036)	0.340 (±0.014)	0.46	54.2	0.154 (±0.020)	0.21	79.3
9	Bitertanol	0.943 (±0.036)	0.854 (±0.020)	0.91	9.4	0.734 (±0.028)	0.78	22.2
10	Buprofezin	0.846 (±0.045)	0.634 (±0.028)	0.75	25.1	0.704 (±0.010)	0.83	16.8
11	Carbendazim	0.939 (±0.046)	0.637 (±0.053)	0.68	32.2	0.231 (±0.028)	0.25	75.4
12	Carbosulfan	0.966 (±0.036)	0.344 (±0.037)	0.36	64.4	0.478 (±0.070)	0.49	50.5
13	Carboxin	0.866 (±0.036)	0.448 (±0.033)	0.52	48.3	0.248 (±0.033)	0.29	71.4
14	Chlormequat	0.849 (±0.045)	0.748 (±0.033)	0.88	11.9	0.548 (±0.033)	0.65	35.5
15	Chlorpyrifos-methyl	0.836 (±0.038)	0.674 (±0.022)	0.81	19.4	0.608 (±0.037)	0.73	27.3
16	Clodinafob-propargyl	1.025 (±0.064)	0.802 (±0.067)	0.78	21.8	0.479 (±0.070)	0.47	53.3
17	Clofentezine	0.842 (±0.048)	0.242 (±0.031)	0.29	71.3	0.162 (±0.038)	0.19	80.8
18	Cypermethrin	0.929 (±0.070)	0.169 (±0.052)	0.18	81.8	0.702 (±0.095)	0.76	24.4
19	Cyproconazole	0.799 (±0.075)	0.762 (±0.048)*	0.95	4.6	0.492 (±0.085)	0.62	38.4
20	Cyprodinil	0.932 (±0.065)	0.259 (±0.043)	0.28	72.2	0.542 (±0.033)	0.58	41.8
21	Deltamethrin	0.969 (±0.024)	0.556 (±0.041)	0.57	42.6	0.322 (±0.051)	0.33	66.8
22	Difenoconazole	0.802 (±0.081)	0.652 (±0.047)*	0.81	18.7	0.519 (±0.151)	0.65	35.3
23	Dimethenamid	0.869 (±0.118)	0.419 (±0.054)	0.48	51.8	0.386 (±0.110)	0.44	55.6
24	Dimoxystrobin	0.935 (±0.068)	0.219 (±0.069)	0.23	76.6	0.452 (±0.064)	0.48	51.7
25	Diniconazole	0.702 (±0.081)	0.286 (±0.101)	0.41	59.3	0.219 (±0.052)	0.31	68.8
26	Disulfoton	0.802 (±0.081)	0.452 (±0.065)	0.56	43.6	0.286 (±0.041)	0.36	64.3
27	Ethion	0.902 (±0.074)	0.552 (±0.030)	0.61	38.8	0.439 (±0.034)	0.49	51.3
28	Ethoprophos	0.905 (±0.082)	0.626 (±0.034)	0.69	30.8	0.159 (±0.056)	0.18	82.4
29	Fenamiphos	0.638 (±0.044)	0.326 (±0.032)	0.51	48.9	0.432 (±0.096)	0.68	32.3
30	Fenarimol	0.918 (±0.061)	0.329 (±0.029)	0.36	64.2	0.358 (±0.031)	0.39	61.0
31	Fenbuconazole	0.910 (±0.014)	0.502 (±0.036)	0.55	44.8	0.416 (±0.007)	0.46	54.3
32	Fenhexamid	0.800 (±0.028)	0.491 (±0.096)	0.61	38.6	0.279 (±0.013)	0.35	65.1
33	Fenpyroximate	0.835 (±0.021)	0.229 (±0.044)	0.27	72.6	0.409 (±0.041)	0.49	51.0
34	Fenoxaprop-P-ethyl	0.915 (±0.007)	0.215 (±0.021)	0.23	76.5	0.077 (±0.041)	0.08	91.6
35	Fenpropathrin	0.896 (±0.042)	0.305 (±0.002)	0.34	66.0	0.489 (±0.036)	0.55	45.4
36	Flamprop-M-Isopropyl	0.995 (±0.028)	0.264 (±0.024)	0.27	73.5	0.299 (±0.057)	0.30	69.9
37	Fluoxastrobin	0.943 (±0.054)	0.374 (±0.036)	0.40	60.3	0.239 (±0.061)	0.25	74.7
38	Flutriafol	1.010 (±0.057)	0.586 (±0.043)	0.58	42.0	0.344 (±0.070)	0.34	65.9
39	Foramsulfuron	0.933 (±0.014)	0.233 (±0.005)	0.25	75.0	0.359 (±0.090)	0.38	61.5
40	Haloxyfop	0.995 (±0.064)	0.413 (±0.103)	0.42	58.5	0.247 (±0.087)	0.25	75.2
41	Hexythiazox	0.912 (±0.028)	0.246 (±0.021)	0.27	73.0	0.484 (±0.093)	0.53	46.9

42	Imazalil	0.832 (±0.039)	0.276 (±0.045)	0.33	66.8	0.456 (±0.060)	0.55	45.2
43	Imazamethabenz-methyl	0.982 (±0.029)	0.448 (±0.012)	0.46	54.4	0.232 (±0.052)	0.24	76.4
44	Isoproturon	0.742 (±0.028)	0.318 (±0.039)	0.43	57.1	0.484 (±0.075)	0.65	34.8
45	Linuron	1.000 (±0.078)	0.329 (±0.056)	0.33	67.1	0.284 (±0.013)	0.28	71.6
46	Mepiquat	0.792 (±0.032)	0.174 (±0.036)	0.22	78.0	0.347 (±0.024)	0.44	56.2
47	Mesosulfuron-methyl	0.889 (±0.101)	0.401 (±0.019)	0.45	54.9	0.194 (±0.014)	0.22	78.2
48	Metalaxyl	0.998 (±0.078)	0.452 (±0.084)	0.45	54.7	0.384 (±0.014)	0.38	61.5
49	Penconazole	0.836 (±0.056)	0.501 (±0.070)	0.60	40.1	0.394 (±0.056)	0.47	52.9
50	Phosalone	0.926 (±0.088)	0.444 (±0.026)	0.48	52.1	0.196 (±0.062)	0.21	78.8
51	Phosmet	0.740 (±0.049)	0.059 (±0.025)	0.08	92.0	0.239 (±0.060)	0.32	67.7
52	Pinoxaden	0.836 (±0.010)	0.198 (±0.039)	0.24	76.3	0.326 (±0.093)	0.39	61.0
53	Prallethrin	0.964 (±0.029)	0.421 (±0.036)	0.44	56.3	0.329 (±0.023)	0.34	65.9
54	Pirimicarb	0.996 (±0.054)	0.563 (±0.020)	0.57	43.5	0.248 (±0.034)	0.25	75.1
55	Prochloraz	0.837 (±0.032)	0.362 (±0.025)	0.43	56.8	0.124 (±0.038)	0.15	85.2
56	Profenofos	0.624 (±0.086)	0.070 (±0.020)	0.11	88.8	0.125 (±0.039)	0.20	80.0
57	Spiroxamine	0.927 (±0.097)	0.401 (±0.011)	0.43	56.7	0.236 (±0.072)	0.25	74.5
58	Sulfosulfuron	1.000 (±0.088)	0.346 (±0.040)	0.35	65.4	0.571 (±0.082)	0.57	42.9
59	Tebuconazole	0.801 (±0.076)	0.320 (±0.049)	0.40	60.0	0.524 (±0.092)	0.65	34.6
60	Thiodicarb	0.804 (±0.020)	0.235 (±0.031)	0.29	70.8	0.258 (±0.050)	0.32	67.9

* Values are not significantly different ($p > 0.05$).

٤-٢- نتایج آنالیز سموم آفت‌کش مورد مطالعه در نمونه‌های برنج تیمار شده

برای محاسبه میزان کاهش سموم در نمونه‌های برنج آلوده شده، پس از فرآیندهای شستشو و حرارت، ابتدا لازم بود غلظت آفت‌کش‌های مورد پژوهش در نمونه‌ی برنج آلوده شده‌ی بدون فرآیند، بررسی و محاسبه گردد. همانطور که در جدول شماره‌ی ٤ مشاهده می‌شود تمام ترکیبات مورد مطالعه در نمونه‌ی برنج آلوده به سموم بدون فرآیند، شناسایی و تعیین مقدار شد. این نتایج نشان داد که میانگین غلظت آفت‌کش‌های مورد مطالعه در محدوده ng/g ۱/۰۱۰– ۰/٦۲٤ قرار داشت.

٤-۳- نتایج آنالیز سموم در نمونه‌ی برنج آلوده شده به آفت‌کش‌های مورد مطالعه پس از فرآیند شستشو

همچنان‌که در جدول شماره‌ی ٤ دیده می‌شود، شستشو با روش گفته شده در این مطالعه، توانست میزان تمام آفت‌کش‌های مورد مطالعه را در محدوده ۹۲–٤/٦ درصد کاهش دهد.

٤-٤- نتایج آنالیز سموم در نمونه برنج آلوده شده به آفت‌کش‌های مورد مطالعه پس از فرآیند حرارت

همانطور که در جدول شماره‌ی ٤ نشان داده شده است، با فرآیند حرارت، باقی‌مانده تمام آفت‌کش‌های مورد مطالعه در محدوده ۹۱/۹–۱٦/۸ درصد کاهش پیدا کرد. در این فرایند در مقایسه با فرآیند شستشو، درصد بیشتری از باقی‌مانده آفت‌کش‌ها، حذف گردید. با بررسی جدول مشخص شد که بیشترین مقدار کاهش در سم آسفات روی داده در حالی‌که سم بوپروفزین کمترین مقدار کاهش را نشان داد.

٥- بحث

برای از بین بردن اثر ماتریکس، منحنی کالیبراسیون، به روش Matrix-matched calibration curve ترسیم شد [۱٥]. همچنان‌که در نتایج عنوان شد، روش راه‌اندازی شده طبق معیارهای SANCO/12495/2019 از اعتبار لازم برخوردار بوده و لذا با اطمینان برای انجام آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج آنالیز نمونه‌های برنج شاهد تیمار شده (بدون اعمال فرآیندهای شستشو و حرارت)، نشان داد میانگین غلظت آفت‌کش‌های مورد مطالعه در محدوده ng/g ۱/۰۱۰– ۰/٦۲٤ قرار داشته و لذا با دستورالعمل OECD (ng/g ۰/۱>) [۱٦]، جهت بررسی اثر فرآیندها مطابقت داشت.

یکی از اهداف اصلی این پژوهش، بررسی چگونگی رفتار سموم مورد مطالعه در برابر شستشو بود. شستشوی برنج یکی از مهم‌ترین فرآیندهایی است که قبل از مصرف برنج اعمال می‌شود. البته نحوه‌ی شستشو و مدت زمان آن در بین خانوارها متفاوت است. در این مطالعه سعی گردید همان روشی را که معمولاً خانواده‌های ایرانی در شستشوی برنج

استفاده می‌کنند، به‌کار برده شود.

نتایج آنالیز نشان داد که در اثر فرآیند شستشو در تمامی سموم آفت‌کش مورد مطالعه کاهشی در مقدارشان اتفاق افتاد. البته میزان کاهش ترکیبات مورد مطالعه در اثر فرآیند شستشو متفاوت بود. به طوری که بیشترین کاهش در سم فوسمت با ۹۲ درصد اتفاق افتاد که از نظر شیمیایی به خانواده‌ی ارگانوفسفره تعلق دارد، در حالی که کمترین میزان کاهش در سموم خانواده‌ی تریازول دیده می‌شود که مربوط به ترکیب سایپروکونازول با ٤/٦ درصد کاهش است. بنابراین در حالت کلی مقدار کاهش سموم در بازه‌ی ٤/٦ تا ۹۲ درصد مشاهده شد.

در بررسی نتایج مشخص گردید که ارتباط معنی‌داری بین خانواده یا گروه شیمیایی که آفت‌کش‌های مورد مطالعه در آن طبقه‌بندی می‌شوند و مقدار کاهش سطح باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در اثر شستشو وجود ندارد (جدول ٤). به طور مثال در گروه تریازول (Triazole) بیترتانول (Bitertanol) مقدار ۹/٤ درصد کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد که بسیار پائین‌تر از ترکیب دیگر این خانواده یعنی دینیکونازول (Diniconazole) با مقدار ۵۹/۳ درصد است، یعنی مقدار کاهش دینیکونازول ٦/۳ برابر است. همین موضوع در خانواده ارگانوفسفات (Organophosphate) در دو ترکیب فسمت (Phosmet) و آسفات (Acephate) مشاهده می‌شود که میزان کاهش ترکیب اول ۱۰/۵ برابر ترکیب دوم است.

از لحاظ نظری، با ملاک قرار دادن ساختار شیمیایی ترکیبات، به نظر می‌رسد میزان قطبیت مولکول و حلالیت آن در آب می‌تواند در کاهش سموم اثرگذار باشد. ولی مطالعه‌ی ما این ارتباط را رد نمود. برای مثال همچنان‌که در بالا گفته شد، مقادیر کاهش دو ترکیب بیترتانول (کاهش ۹/٤ درصد) و دینیکونازول (کاهش ۵۹/۳ درصد)، متعلق به یک گروه یکسان، تفاوت چشم‌گیری با یکدیگر دارند، در حالی که حلالیت آن‌ها در آب به ترتیب ۳/۸ و ٤/۰ گرم در لیتر است [۱۷-۲۱] که این مقادیر تفاوت فاحشی محسوب نمی‌شود.

برنج سرشار از مولکول‌های آلی با ساختارهای شیمیایی متفاوت است. سموم آفت‌کش وقتی وارد برنج می‌شوند، می‌توانند با مولکول‌های برنج اتصال برقرار نمایند. این اتصال با توجه به سارختار شیمیایی آفت‌کش‌ها می‌تواند ضعیف یا قوی باشد. این مطالعه نشان داد، سمومی که اتصال سست با ماتریس برنج برقرار می‌کنند به راحتی در اثر شستشو از سطح دانه جدا می‌شوند. بنابراین ارتباط مستقیمی بین حلالیت در آب و کاهش باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در اثر شستشو وجود ندارد. این نتیجه‌گیری در مطالعه والتر و همکاران [۲۲] هم دیده می‌شود که طبق نظر آن‌ها حلالیت در آب عامل اصلی در کاهش سموم نیست.

ما در این پژوهش با خیساندن نمونه‌ی برنج در آب آلوده به سموم مورد نظر، سپس آنالیز آن به این نتیجه رسیدیم که برخی از سموم به داخل دانه‌ی برنج نفوذ کرده و با اجزای آن پیوند برقرار می‌کنند. به همین دلیل حذف قابل ملاحظه‌ی این گونه ترکیبات را پس از شستشو مشاهده نکردیم. بنابراین قدرت نفوذ سموم به داخل بافت برنج و اتصال به اجزای ماتریکس، از عواملی است که فرآیند شستشو نمی‌تواند موجب از بین رفتن و یا کاهش قابل ملاحظه‌ی آن‌ها گردد. فرآیند شستشوی محصول کشاورزی قبل از مصرف، موجب حذف مقداری از سموم چسبیده به سطح محصول شده و همچنین بخش زیادی از اجزای قطبی را نیز از سطح محصول حذف می‌کند که این نظریه با بررسی‌های انجام شده مبنی بر موثر بودن فرآیند شستشو در حذف بخشی از باقی‌مانده سموم مطابقت داشت [۲، ۲٤،۲۳].

از طرف دیگر، نتایج اثرات حرارت بر میزان باقی‌مانده آفت-کش‌های مورد مطالعه در برنج نشان داد، کاهش مقادیر سموم با گروه شیمیایی آن‌ها مرتبط نبود (همانند آنچه که در اثر شستشو دیده شد). برای مثال در خانواده ارگانوفسفات (Organophosphate) میزان کاهش آسفات (Acephate) ۳/٤ برابر میزان کاهش کلرپیریفوس‌متیل (Chlorpyrifos-methyl) بود. همچنین در خانواده پیرتروئید (Pyrethroid) میزان کاهش بیوالترین (Bioallethrin) ۳/۳ برابر سایپرمترین (Cypermethrin) بود.

فشار بخار بیشتر ترکیبات مورد مطالعه پائین و لذا ترکیبات پایدار هستند [۱۷-۲۱]. ارتباط مستقیم بین فشار بخار ترکیب و درصد حذف آن در اثر پخت وجود ندارد. برای مثال در دو ترکیب اتوپروفوس با فشار بخار ۷۸ mPa در ۲۰°C و بیوآلدرین با فشار بخار ٤۳/۹ mPa در ۲۰°C [۱۷-۲۱] به ترتیب ۸۲/٤ درصد و ۷۹/۳ درصد حذف مشاهده شد که این یافته‌های ما با مطالعات قبلی [۲۵، ۲] سازگار است. این موضوع در ارتباط با نقطه‌ی ذوب هم صدق می‌کند. طبق

گزارشات موجود در فرآیند حرارت؛ تبخیر، هیدرولیز و دمای بالا منجر به کاهش بقایای آفت‌کش‌ها می‌شود [۲۶]. همچنین این مطالعه نشان داد، فرآیندهای شستشو و حرارت در مجموع در کاهش سطح باقی‌مانده آفت‌کش‌های مورد مطالعه در برنج بسیار موثر عمل کردند، به‌طوری‌که این دو فرآیند به طور افزایشی، در نهایت سبب کاهش ۳۱/۶ تا ۱۰۰ درصد سموم مورد پژوهش شدند. در مواردی که حذف سم از برنج به صورت کامل روی می‌دهد، حالتی ایده‌آل اتفاق می‌افتد ولی در مقادیر حذف اندک هم، این کاهش‌ها با توجه به مقادیر حد مجاز بیشینه‌ی سموم، می‌تواند حائز اهمیت باشد.

۶- نتیجه‌گیری

در این پژوهش ابتدا یک روش معتبر با استفاده از روش پیشرفته‌ی کروماتوگرافی مایع ـ طیف‌سنج جرمی در برنج راه‌اندازی شد. سپس توسط این روش، اثر فرآیندهای شستشو و حرارت در نمونه‌های برنج تیمار شده با ۶۰ نوع سم آفت‌کش بررسی شد. با وجود آنکه باقی‌مانده‌ی آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی از جمله برنج یک چالش اساسی در سلامت مواد غذایی است، این بررسی نشان داد که فرآیندهای قبل از مصرف، به طور قابل ملاحظه‌ای می‌توانند با کاهش مقادیر سموم موجود در محصولات کشاورزی، سبب کاهش جذب آن‌ها در بدن انسان شوند.

۷- منابع

[1] Shoeibi S, Amirahmadi M, Yazdanpanah H, PiraliHamedani M, Pakzad SR and Kobarfard F. (2011). Effect of cooking process on the residues of three carbamate pesticides in rice. Iran. J. Pharm. Res. (2011) 10: 119- 126.

[2] Shakoori A., Yazdanpanah H., Kobarfard F., Shojaee MH. and Salamzadeh J. (2018). The Effects of House Cooking Process on Residue Concentrations of 41 Multi-Class Pesticides in Rice. Iranian Journal of Pharmaceutical Research (2018), 17(2): 571-584.

[3] Li W., Zhang Y., Jia H., Zhou W., Li B., Huang H. (2019). Residue analysis of tetraniliprole in rice and related environmental samples by HPLC/MS. Microchemical Journal 150 (2019) 10468.

[4] Hou X., Han M., Dai X., Yang X., Yi Sh. (2013). A multi-residue method for the determination of 124 pesticides in rice by modified QuEChERS extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry. Food Chemistry 138 (2013) 1198-1205.

[5] Pareja L., Alba A.R.F., Cesio V., Heinzen H. (2011). Analytical methods for pesticide residues in rice. Trends in Analytical Chemistry. Volume 30, Issiue 2, February 2011, pages 270-291.

[6] Alavanja, M.C.R. ; Ross, M.K. ; Bonner, M.R. (2013). Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. Cancer J. Clin. 63, 120-142.

[7] Cecchi A., Rovedatti M.G., Sabino G., Magnarelli G.G.(2012). Enviromental exposure to organophosfate pesticides: Assessment of endocrine disruption and hepatoloxicity in pregnant women. Ecotoxicology and Environmental safety80, 280- 287

[8] Bo Hou & Linhai Wu. (2010). Safety impact and farmer awareness of pesticide residues. Food and Agricultural Immunology, 21:3, 191-200.

[9] Baharum N.A, Nasir H.M, Ishak M.Y, Isa N.M, Hassan M.A,Aris A.Z. (2020). Highly efficient removal of diazinon pesticide from aqueous solutions by using coconut shell-modified biochar. Arabian Journal of Chemistry Volume 13,Issue 7, July 2020,pages 6106-6121.

[10] Iranian National Standards Organization (INSO), Pesticides –Maximum residue limit of pesticides - Cereals, 13120, 1st Revision (2016).

[11] Sung W L, Jeong-Heui C, Soon-Kil C, Hyun-AY, Abdel-Aty AM and Jae-Han S. Development of a new QuEChERS method based on dry ice for the determination of 168 pesticides in paprika using tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* (2011) 1218:4366– 4377.

[12] Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D and Schenck FJ. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. Journal of AOAC International. 86 (2): 412-431

[13] Paul JT (2005). Matrix effects: The Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography–

electrospray–tandem mass spectrometry. *Clinical Biochemistry*. 38:328– 334.

[14] European Comission, directorate General Health and Consumer Protection, Comission working document SANCO/12495/2019, Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed.

[15] Kmellár B, Fodor P, Pareja L, Ferrer C, Martínez-Uroz MA , Valverde A and 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**: 37–50.

[16] Organisation for Economic Co-operation and Development. Guideline for testing of chemicals. Magnitude of the pesticide residues in processed commodities. No. 508, OECD, Paris (2008) 1-15.

[17] International Rice Research Institute. Rice almanac. IRRI, Manila (2013) 7-10

[18] Food and Agricultural Organization of the United Nations. FAO Statistical Yearbook. FAO, Rome (2013) 150-65.

[19] Lucía P, Verónica C, Horacio H and Amadeo RFA. Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC–MS/MS. Talanta (2011) 83: 1613-22.

[20] Joanna J, Wojciech H, Carolina J, Christofer L, Sandra C, Peter Van Den H, Margaret S and Rolf Z. Adverse health effects of children's exposure to pesticides: What do we really know and what can be done about it. Acta Paediatr. (2006) 95 (Suppl.): 71-80.

[21] European Council Directives 76/895/EEC, 86/362/ EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC

[22] Walter JK, Arsenault TL, Pylypiw HM and Mattina MJI. Reduction of pesticide residues on produce by rinsing. J. Agric. Food Chem. (2000) 48: 4666-70.

[23] Kauskik P., Yadav Y.K, Dilbaghi N. and K, G.V. (2008). Enrichment of vermicomposts prepared from cow dung spiked solid textile mill sludge using nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria. Environmentalist. Vol. 28, pp: 283-287.

[24] Yang A, Parc JH, A.M. Abd EL-Aty, Choi JH, Jae-HO oh, DO JA, Kwon K, Shim KH, Ok- Ja Choi, Jae- Han Shim (2012). Synergic effect of washing and cooking on the removal of multi- classes of pesticides from various food samples. Food Control volume 28, Issue 1, November 2012, pages 99-105.

[25] Amirahmadi M., Kobarfard F., Pirali-Hamedani M., Yazdanpanah H., Rastegar H., Shoeibi SH. & Mousavi Khaneghah A. (2017). Effect of Iranian traditional cooking on fate of pesticides in white rice. Iranian Journal of Pharmaceutical Pages 177-186.

[26] Keikotlhaile, B.M.; Spanoghe, P.; Steurbaut, W.(2010). Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: A meta-analysis approach. Food Chem. Toxicol., 48, 1–6.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of washing and heating processes on the residues of selected pesticides in rice using liquid chromatography-mass spectrometry

Mardani, Z. [1], Nouri, L. [2], Peiravian, F. [3], Shakoori, A. [4]*

1. PhD, Department of Science and Food Industry, Faculty of Agricultural Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Damghan.
2. Associate Professor, Department of Science and Food Industry, Faculty of Agricultural Science, Damghan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Damghan,.
3. Associate Professor, Department of Pharmacoeconomics and Pharma Management, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran.
4. Assistant Professor, Vice-Chancellor for Food and Drug Affairs, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 06/ 27
Accepted 2022/ 06/ 14

Keywords:

LC-MS/MS,
Pesticide,
Washing,
Heating,
Rice.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.343
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.6.7

*Corresponding Author E-Mail:
a.shakoori@sbmu.ac.ir

ABSTRACT

In this research a validated and effective method was developed for simultaneous analysis of 60 pesticides in rice, using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS), then, the effects of washing and heating processes on residues of studied pesticides were investigated. Extraction was performed by the original QuEChERS method. The pesticides were analyzed simultaneously in a single run with a multiple reaction monitoring (MRM) method. The validation study was performed based on the SANTE 2019 guideline. The method was tested to assess for linearity, trueness, precision, specificity, limit of quantification (LOQ) and limit of detection (LOD). The results showed that the calibration curves for all studied compounds were linear with a coefficient of determination (R^2) ranged between 0.984 -1.0. The mean recoveries obtained for three fortification levels (25, 250, 1000 ng/g) were 76.4 - 110.2 % with satisfactory precision (RSD ranged between 2.8 – 16.7%.

After analysis of treated rice samples with investigated pesticides, the results indicated that of both washing and heating processes, in individual and combinational cases, significantly reduced the amounts of studied pesticides.