مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هجدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۹۱-۸۱

آنالیز همزمان باقیمانده‌ی متابولیت‌های حاصل از تجزیه دی تیوکاربامات‌ها در غلات با استفاده از دستگاه کروماتوکرافی مایع همراه با طیف سنجی جرمی متوالی

مهدی علمی[۱]، سهیل اسکندری[۲و۴]، مریم امیر احمدی[۳و۴]

۱- کارشناس ارشد اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت ودرمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

۲- دانشیار اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت ودرمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

۳- نویسنده مسئول: استادیار اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت ودرمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
پست الکترونیکی: Maryamamir2001@yahoo.com

۴- مرکز تحقیقات آزمایشگاه غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: دی تیوکاربامات‌ها از گروه قارچ‌کش‌هایی هستند که در کنترل آفات بسیاری از محصولات کشاورزی کاربرد دارند. آنالیز این آفتکش‌ها با دستگاه‌های کروماتوگرافی مایع و گازی به علت وجود گروه‌های فلزی در ساختار این ترکیبات با مشکلات مختلف همراه است. یکی از راه‌های آنالیز آنها بررسی میزان متابولیت‌های تجزیه‌ای اتیلن تیواوره و پروپیلن تیواوره است. هدف از این مطالعه بهینه سازی و اعتبارسنجی روشی برای آنالیز اتیلن تیواوره و پروپیلن تیواوره در غلات با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع همراه با طیف سنجی جرمی متوالی است.

مواد و روش‌ها: آماده سازی بر اساس روش بهینه شده QuPP-OP Method بر پایه استخراج متانولی در حضور محلول EDTA و بدون مرحله خالص سازی است. جهت غلبه بر اثر ماتریکس منحنی کالیبراسیون با استفاده از آنالیز نمونه‌های اسپایک شده رسم شده است. پارامترهای اعتبارسنجی روش شامل خطی بودن و محدوده منحنی کالیبراسیون، مطالعات صحت، دقت میانی و تکرارپذیری و همچنین محاسبه حدود تشخیص(LOD) و اندازه گیری (LOQ) مورد بررسی قرار گرفته است.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد روش در محدوده ۴۰۰ -۱۰ نانوگرم برگرم خطی و نتایج آزمون از صحت و دقت لازم برخوردار است. همچنین میانگین درصد بازیافت و میزان ضریب تغییرات (CV%) برای مطالعات تکرارپذیری به ترتیب ۹۶/۴۲ درصد و ۱۲/۱ درصد برای پروپیلن تیواوره و ۹۷/۴۰ درصد و ۱۳/۸۶درصد برای اتیلن تیو اوره بوده است. LOQ و LOD روش برای هر دو ترکیب، بترتیب ۱۰ نانوگرم برگرم و۳/۳ نانوگرم برگرم بدست آمده است.

نتیجه‌گیری: مطالعه نشان می‌دهد روش آزمون ارائه شده دارای اعتبار لازم جهت آنالیز ترکیبات اتیلن تیواوره و پروپیلن تیواوره در غلات است.

واژگان کلیدی: اتیلن تیواوره، پروپیلن تیو اوره، QuPP-OP، غلات، کروماتوگرافی مایع همراه با طیف سنجی جرمی متوالی

• مقدمه

دی تیوکاربامات‌ها (DTCs) یکی از قدیمی‌ترین گروه آفت‌کش‌ها در جهان هستند که به عنوان قارچ‌کش در کنترل آفات بسیاری از محصولات کشاورزی کاربرد دارند. قارچ‌کش-های دی تیوکاربامات گروهی از ارگانوسولفورها با یک ساختار کلی بصورت SX -(R1R2) N-(C = S) هستند که در آن R را می‌توان با یک آلکیل، آلکیلن، آریل یا مشابه آن جایگزین کرد و X معمولا یک یون فلزی است (۱).

دی تیوکاربامات‌ها از نظر ساختار کربنی به چهار زیرگروه تقسیم بندی می‌شوند. گروه اول؛ مونومتیل دی تیو کاربامات‌ها (Monomethyl dithiocarbamate) مانند متام‌سدیم (Metam sodium)، گروه دوم؛ دی متیل دی تیوکاربامات‌ها (Dimethyldithiocarbamate) شامل تیرام (Thiram)، فربام *(Ferbam)* و زیرام *(Ziram)*، گروه سوم؛ اتیلن بیس دی تیو کاربامات‌ها (EBDTC) مانند مانب *(Maneb)*، مانکوزب

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

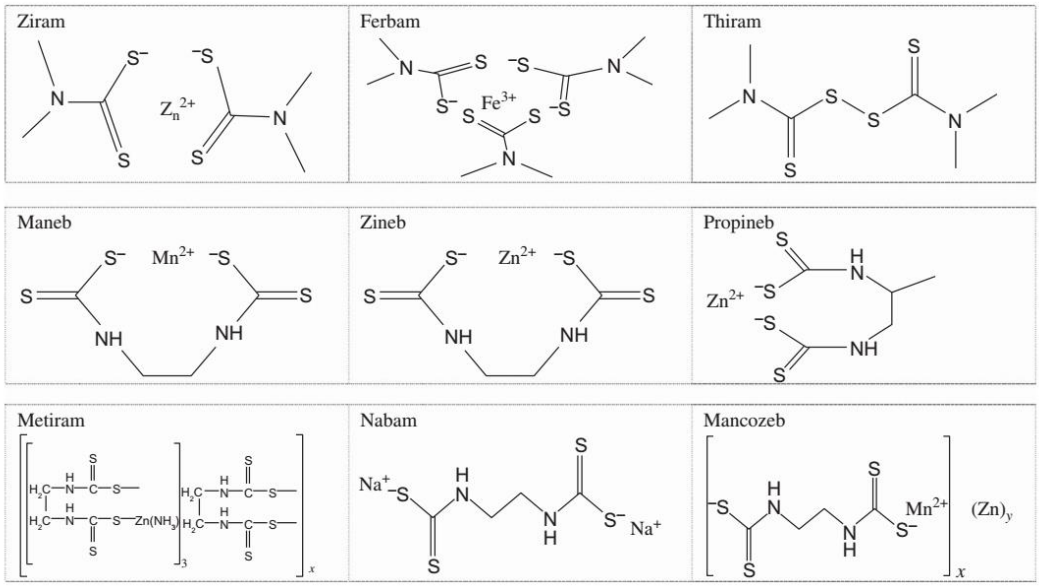
Mancozeb)، متیرام (*Methiram*)، نبام (*Nebam*)، زینب (*Zineb*) و گروه چهارم؛ پروپیلن بیس دی تیو کاربامات‌ها (PBDTC) مانند پروپینب (*Propineb*).

استفاده گسترده از آفت‌کش‌های دی‌تیوکاربامات در کشاورزی نگرانی در مورد اثرات مضر آنها در مواجهات شغلی و زیست محیطی را افزایش داده است. کمپلکس‌های DTC معمولاً دارای سطح سمیت پایینی هستند، اگرچه شواهد نشان می‌دهد برخی از آفت‌کش‌های استفاده شده برای سلامتی انسان اثرات نامطلوبی داشته است. اثرات سمی آفت‌کش‌های DTC می‌تواند از طریق تماس با پوست، بلع و استنشاق ایجاد شود. در واقع، ماهیت چربی دوست DTC ها آنها را برای عبور در سراسر غشای سلولی مناسب می‌کند (۳). علاوه بر این، DTC ها می‌توانند منجر به ایجاد اختلال در سیستم عصبی محیطی و مرکزی شوند (۴) و همچنین نوروپاتی محیطی دیستال ناشی از مانب، مانکوزب، متیرام، زیرام و تیرام گزارش شده است (۵). بنابراین، حضور این آفت‌کش ها به عنوان باقیمانده در مواد غذایی می‌تواند منجر به مشکلات جدی و باعث آسیب مزمن به سلامت انسان شود (۶). به همه این دلایل، شناسایی و تعیین مقدار باقیمانده این قارچ‌کش‌ها در محصولات غذایی و مقایسه با حدود مجاز مقرر ملی، یک ضرورت است.

بررسی مطالعات پیشین نشان می‌دهد اغلب متدها فقط بر آنالیز یک مورد خاص از DTCها، به ویژه EBDTCها و PBDTCها متمرکز شده اند (۸، ۷). مطالعات متعددی جهت تعیین میزان باقیمانده این آفت‌کش‌ها در محصولات غذایی انجام شده است که نشان دهنده اهمیت HPLC-DAD در آزمون این ترکیبات است (۹، ۸). تکنیک رسمی مورد استفاده توسط اتحادیه اروپا و ایالات متحده برای آنالیز DTC ها و متابولیت‌های آنها در محصولات زراعی بر اساس هضم اسیدی به منظور تبدیل DTC ها به دی سولفید کربن (CS_2) و بعد از آن تعیین مقدار توسط جذب اسپکتروفتومتری یا کروماتوگرافی گازی است (۱۱، ۱۰). در منابع اخیر روش‌های آنالیز بر اساس الکتروفورز مویینه‌ای، اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی گازی را می‌توان یافت (۱۲). استفاده از کروماتوگرافی مایع با طیف سنجی جرمی (MS) و طیف سنجی جرمی متوالی (MS/MS) هم برای تعیین میزان باقیمانده EBDCها گزارش شده است (۱۳). در واقع همه این روش ها برای استخراج و شناسایی برخی از دی تیوکاربامات‌ها استفاده شده است و بر اساس اطلاعات موجود، هیچ مطالعه قبلی با تمرکز بر آنالیز توام با شناسایی همه DTCها انجام نشده است.

آنالیز دی تیو کاربامات‌ها با دستگاه‌های کروماتوکروفی مایع و گازی به علت وجود گروه‌های فلزی در ساختارشان با مشکلات و چالش‌های مختلف مواجه است. بنابراین استفاده از تعیین میزان باقیمانده متابولیت‌های تجزیه‌ای این گروه از قارچ‌کش‌ها جهت آنالیز و تعیین مقدار باقیمانده آنها پیشنهاد می‌شود (۱۴).

اتیلن تیواوره (ETU) و پروپیلن تیواوره (PTU) متابولیت‌های حاصل از تجزیه‌ی اتیلن و پروپیلن بیس دی تیوکاربامات‌ها مانند مانب، مانکوزب، متیرام، نبام، زینب و پروپینب هستند. نتایج آزمایشگاهی نشان داده است کهETU و PTU با ایجاد اختلالات تیروئید، نقایص مادرزادی و سرطان در حیوانات آزمایشگاهی (۱۴) و یا اثرات ژنوتوکسیک (۱۵) نگرانی سم شناسی بسیار بیشتری نسبت به دی تیوکاربامت‌ها ایجاد کرده‌اند (۱۶).



شکل۱. ساختار شیمیایی دی تیوکاربامات‌ها (۲)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

در مقررات اتحادیه اروپا برای میزان قابل قبول باقیمانده اتیلن تیواوره (ETU) و پروپیلن تیواوره (PTU) حد مجاز (MRL) تعیین نشده است، بنابراین بر اساس قوانین اتحادیه اروپا حد پیش فرض ۰/۰۱ میلی‌گرم برکیلوگرم به عنوان حد گزارش دهی در نظر گرفته می‌شود (۱۷).

محققین در سراسر دنیا روش‌های مختلفی جهت آنالیز این ترکیبات راه اندازی و ارائه کرده اند (۱۵) که اکثرا عملکرد چندان مطلوبی نداشته است. روش رسمی AOAC بصورت استخراج همراه با اختلاط نمونه و خاک دیاتومه با متانول-آب پس از افزودن نمک طعام است و مراحل بعدی پاکسازی با خاک دیاتومه و آلومینا انجام می‌شود (۱۸).

استفاده از دستگاه GC در آنالیز این ترکیبات با مشکلاتی روبروست اکثر محققین از مشتق سازی برای آنالیز با GC استفاده کرده اند، با این حال استفاده از مشتق سازی بصورت بوتیلاسیون (S-butylation) نیاز به مراحل آماده سازی اضافی دارد که زمان صرف شده برای آنالیز را افزایش می‌دهد و همچنین ممکن است با افزایش بروز خطا و کاهش درصد بازیافت همراه باشد (۱۹). آنالیز بادستگاه HPLC این مزیت را دارد که نیازی به مشتق سازی نیست با این حال، ETU فقط یک کروموفور ضعیف با جذب حداکثر در حدود ۲۳۰ نانومتر دارد. چند محقق روش‌های مبتنی بر آنالیز با دستگاه UV را گزارش کرده اند، اما حد تشخیص روش ها معمولاً بیشتر از ۰/۰۱میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است (۲۳-۲۰). آنالیز الکتروشیمیایی نیز توسط تعدادی از دانشمندان به کار گرفته شده است و تکنیک از حساسیت خوبی برخوردار بوده است. اما این روش ها همچنان شامل مراحل خالص سازی خسته کننده هستند (۲۵، ۲۴، ۱۹). استفاده از LC-MS نیز برای تعیین ETU گزارش شده است اما LOQ روش بالاتر از حد پیش فرض اتحادیه اروپا بوده است (۲۶).

هدف از این مطالعه بهینه‌سازی و اعتبارسنجی روشی صحیح، دقیق و حساس برای آنالیز ترکیبات اتیلن تیواوره و پروپیلن تیواوره در غلات بر اساس روش سریع آنالیز آفت‌کش‌های با قطبیت بالا در ماتریکس‌های گیاهی QuPP-OP (Quick Method for highly Polar Pesticides- Plant Origin) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع همراه با طیف سنجی جرمی متوالی است و بر اساس اطلاعات موجود، این روش برای اولین بار در ایران راه اندازی و اعتبارسنجی شده است.

• مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و حلال ها: تمامی حلال‌های شیمیایی آزمایشگاهی و درجه HPLC بوده و از شرکت مرک آلمان خریداری شده اند. استانداردهای اتیلن تیواوره و پروپیلن تیواوره از شرکت آلمانی LGC خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده شامل متانول با خلوص بالای ۹۹/۸ درصد و استونیتریل با خلوص بالای ۹۹/۹درصد، آب دیونیزه، اتیلن دی آمین ترا استیک اسید تتراسدیم (EDTA-4Na)، محلول EDTA-4Na ۱۰درصد، اسید فرمیک با خلوص بالای ۹۸درصد و محلول متانول اسیدی (متانول ۱درصد اسید فرمیک) هستند.

اطلاعات دستگاهی: در این مطالعه دستگاه کروماتوگرافی مایع (UHPLC) مدل Dionex 3000 و طیف سنجی جرمی متوالی مدل Applied Bio system, API 3200، حاوی یونساز با تکنیک ESI^+ و آنالایزر جرمی کوادروپل سه گانه همراه با اتوسمپلر مدل Ultimate 3000 ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفته است. ستون کروماتوگرافی Kinetex XB-C18 100 mm × 2.1 mm i.d., 2.6 µm جهت جدا سازی و گارد ستون با مشخصات: Security Guard Ultra Holder for UHPLC column 2.1 to 4.6mm ID بکار رفته است. فاز متحرک متشکل از حلالA شامل اسید فرمیک ۰/۱ درصد (درآب) و حلال B شامل اسیدفورمیک ۰/۱ درصد (دراستونیتریل) بوده است. سرعت جریان فاز متحرک ۰/۳ میلی لیتر در دقیقه، حجم تزریق۱۰میکرولیتر و دمای ستون ۳۵ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شده است. برنامه تغییرات فاز متحرک مطابق جدول ۱ تعیین شده است.

جدول ۱. برنامه تغییرات فاز متحرک در سیستم کروماتوگرافی مایع

فاز B (درصد)	فاز A (درصد)	سرعت جریان (میلی لیتر بر دقیقه)	زمان کلی (دقیقه)
۹۷	۳	۰/۳	۰
۹۷	۳	۰/۳	۰/۵
۷۰	۳۰	۰/۳	۴/۰
۸۰	۲۰	۰/۳	۵/۰
۸۰	۲۰	۰/۳	۶/۰
۹۷	۳	۰/۳	۶/۱
۹۷	۳	۰/۳	۱۵/۰

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

آنالیز دستگاهی استانداردها

تهیه محلول‌های استاندارد: استاندارد استوک آنالیت‌ها در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در حلال استونیتریل تهیه شده و در دمای منهای ۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استاندارد حد واسط در غلظت یک میکروگرم بر میلی لیتر از استاندارد ذخیره ساخته شده است. در این مرحله برای تهیه استانداردها از اسید فرمیک ۰/۱درصد در آب استفاده گردیده است. استانداردهای مورد نظر برای تعیین و بهینه سازی پارامترهای طیف سنج جرمی متوالی جهت تولید یون والد و یون‌های دختر مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین محلول استاندراد مخلوط از آنالیت‌های مورد نظر در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر در حلال استونیتریل تهیه و در فریزر منهای ۱۸درجه سانتی‌گراد نگهداری شده است. استاندارد مخلوط جهت رسم منحنی کالیبراسیون، مطالعات صحت و دقت و بررسی سایر پارامترهای اعتبارسنجی استفاده شده است.

جهت بهینه سازی پارامترها مرتبط با تولید یون‌های والد و دختر در دتکتور طیف سنجی جرمی متوالی ابتدا محلول خالص هر استاندارد در غلظت یک میکرو گرم بر میلی لیتر در حلال (اسید فرمیک ۰/۱ درصد در آب) تهیه و در حالت اسکن کامل مستقیماً به دتکتور طیف سنجی جرمی متوالی تزریق شده است. ابتدا یون مادر انتخاب و سپس یون‌های دختر مرتبط با استانداردهای پروپیلن تیواوره و اتیلن تیواوره تعیین شده است. یون‌های مادر جهت دو آنالیت اتیلن تیواوره و پروپیلن تیواوره به ترتیب با جرم‌های ملکولی ۱۱۶/۰۴و ۱۰۲/۱۶ گرم بر مول در سیستم ESI^+ بصورت $[M+H]^+$ برابر با PTU=۱۱۷/۰۳ و ETU= ۱۰۳/۰۳ بدست آمده است. پارامترهای دتکتور طیف سنجی جرمی متوالی شامل پتانسیل دکلاسترینگ (DP)، پتانسیل ورودی (EP) ، انرژی سل تصادم (CE) و پتانسیل‌های ورودی و خروجی سل تصادم (CXP, CEP) (مطابق جدول ۲) برای بدست آمدن بیشترین فراوانی یون‌های مادر و دختر منتخب تعیین شده و سپس با مشخص شدن یون‌ها و پارامترهای بهینه شده برنامه پایش واکنش‌های چندگانه MRM (Multi Reaction Monitoring) نوشته شده است.

پارامترهای وابسته به منبع یونی و دتکتور طیف سنجی جرمی متوالی جهت تکنیک الکترو اسپری در مد مثبت با طیف سنجی جرمی متوالی (ESI^+/MS/MS) شامل کرتین گاز (CUR) (Curtain Gas) برابر ۱۰، گاز تصادم Collision Gas (CAD) برابر۱۰، ولتاژ اسپری یون(IS) Ion spray Voltage برابر ۵۰۰۰، دما Temperature (TEM) برابر ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد، گاز منبع یونی ۱ Ion source Gas1 (GS1) برابر ۶۰ و گاز منبع یونی ۲ Ion source Gas2 (GS2) برابر ۵۰ تعیین شده است.

با برقراری متد مناسب کروماتوگرافی مایع و دتکتور طیف سنجی جرمی متوالی ابتدا آنالیت‌ها بصورت مجزا و سپس مخلوط در حجم ۱۰میکرولیتر به دستگاه LC-MS/MS تزریق شده است.

استخراج و خالص سازی نمونه ها

اساس کار: آماده سازی بر اساس روش بهینه شده QuPP-OP Method (۲۷) بر پایه استخراج متانولی در حضور محلول EDTA و بدون مرحله خالص سازی انجام شده است. در این روش جهت استخراج سموم از محلول اسید فرمیک یک درصد در متانول استفاده گردیده و جهت رفع اثر ماتریکس منحنی کالیبراسیون با استفاده از آنالیز نمونه‌های اسپایک شده رسم شده است.

جدول ۲. مشخصات یون‌های والد، یون‌های دختر و پارامترهای بهینه شده جهت تهیه برنامه MRM در مد مثبت

یون والد (جرم بر بار)	یون دختر (جرم بر بار)	مدت زمان پایش Dw (میلی ثانیه)	نام متابولیت	DP[a]	EP[b]	CEP[c]	CE[d]	CXP[e]
۱۱۷/۰۳	۵۸/۲۰	۳۰	PTU-1	۳۶	۵	۱۶	۲۳	۲
۱۱۷/۰۳	۶۰/۱۰	۳۰	PTU-2	۳۶	۵	۱۶	۳۳	۲
۱۱۷/۰۳	۷۲/۰۰	۳۰	PTU-3	۳۶	۵	۱۶	۳۳	۲
۱۰۳/۰۳	۴۴/۲۰	۳۰	ETU-1	۲۶	۹	۱۶	۲۵	۲
۱۰۳/۰۳	۶۰/۲۰	۳۰	ETU-2	۲۶	۹	۱۶	۴۱	۲
۱۰۳/۰۳	۸۶/۰۰	۳۰	ETU-3	۲۶	۹	۱۶	۲۵	۲

[a]Declustering potential.
[b]Entrance potential.
[c] Collision Cell Entrance Potential
[d]Collision energies.
e Collision Cell Exit Potential

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

آماده سازی و استخراج: ابتدا آسیاب و همگن سازی نمونه انجام شده و پنج گرم نمونه آرد شده در داخل یک لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری وزن گردیده است.۱۰میلی‌لیتر از حلال استخراج کننده (اسید فرمیک یک درصد در متانول) به روی نمونه ها اضافه گردید. در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر اسید فرمیک به روی نمونه ها اضافه و نمونه ها به مدت یک دقیقه با استفاده از ورتکس جهت مخلوط شدن تکان داده شد. در مرحله بعد یک میلی لیتر محلول EDTA ۱۰درصد بر روی نمونه ها اضافه و با دست به مدت یک دقیقه تکان داده شد. سپس مخلوط کردن با استفاده از ورتکس با دور ۱۵۰۰ rpm و به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد.

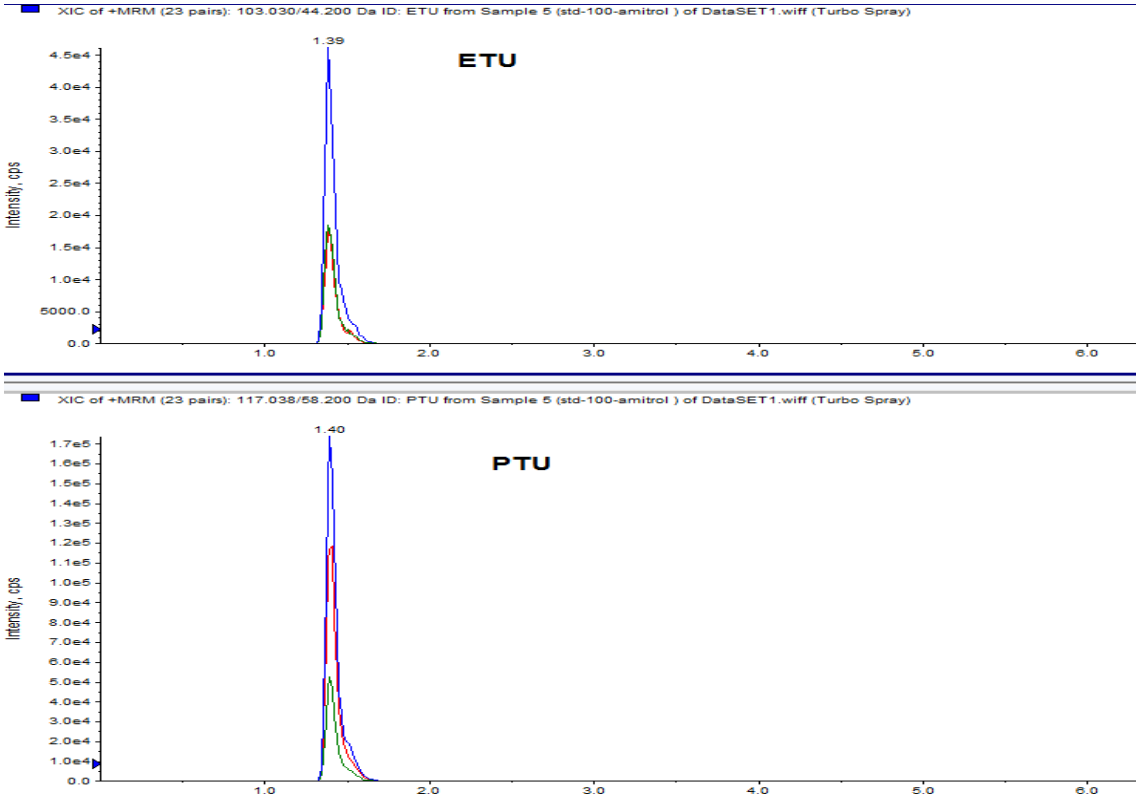
جهت فریزاوتینگ نمونه ها، بمدت یک و نیم ساعت در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس سانتریفیوژ بمدت ۲۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ rpm در دمای منهای۱۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از سانتریفیوژ سه میلی لیتر از محلول رویی به یک لوله فالکون ۱۵ میلی لیتری منتقل گردید. مجدد نمونه ها به مدت پنج دقیقه با دور ۶۰۰۰ rpm در دمای منفی ۱۰ درجه سانتی‌گراد در سانتریفیوژ قرار گرفتند.

در نهایت دو میلی لیتر از محلول رویی به فالکون پنج میلی‌لیتری منتقل و تحت گاز ازت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد (حداقل ۵۰ میکرولیتر از محلول استخراج باقی بماند) تغلیظ شده اند. یک میلی لیتر استونیتریل بر روی عصاره تغلیظ شده اضافه و به مدت سه دقیقه به منظور اختلاط و همگن شدن محلول ورتکس شدند. پاک سازی عصاره با فیلتر سر سرنگی ۰/۲میکرون (فیلتر سرسرنگی PTFE) انجام و۱۰ میکرولیتر از عصاره نهایی به دستگاه LC-MS/MS تزریق شده است.

اعتبار سنجی روش: جهت صحت سنجی روش آزمون پارامترهایی چون، تعیین محدوده و بررسی خطی بودن، صحت و دقت روش، اختصاصیت، تعیین حد تشخیص (LOD) و حد تعیین مقدار (LOQ) مورد بررسی قرار گرفته است. به منظور غلبه بر اثر ماتریکس منحنی کالیبراسیون با استفاده از نمونه‌های اسپایک شده رسم شده است. جهت بررسی نتایج، یافته ها با الزامات اتحادیه اروپا مقایسه گردیده است (۲۸).

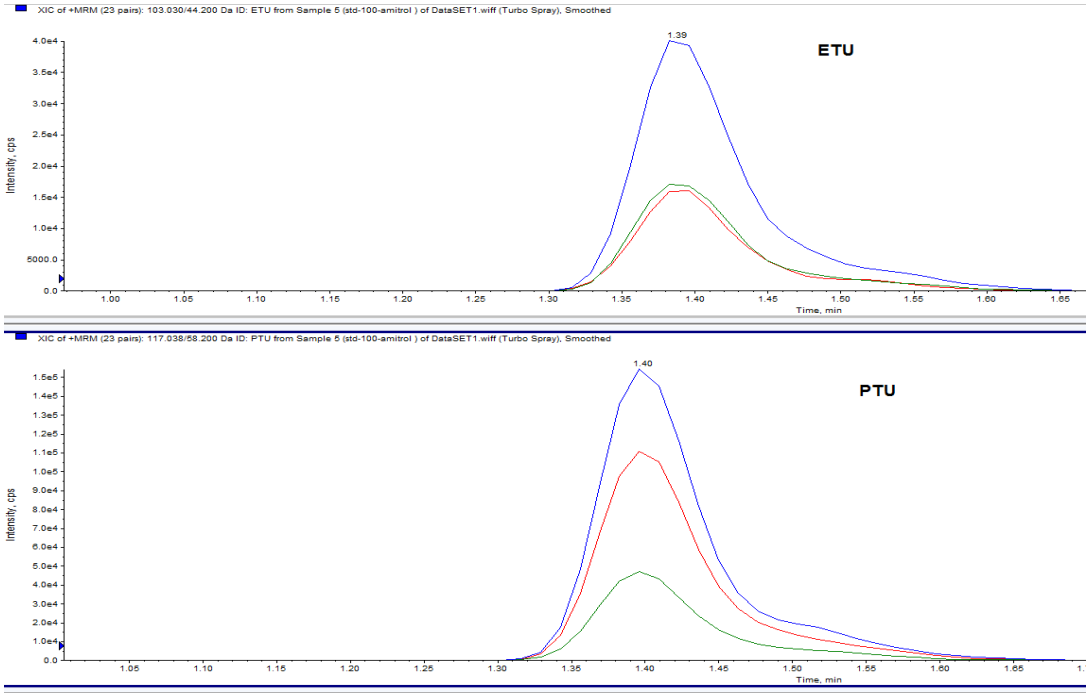
• یافته‌ها

در این مطالعه پس از بهینه سازی شرایط دستگاهی، استاندارد خالص آنالیت‌های مورد بررسی به دستگاه تزریق و کروماتوگرام مربوط به هر آنالیت به دست آمده است. در شکل‌های ۲ و ۳ نمونه‌ای از کروماتوگرام شناسایی همزمان اتیلن تیواوره (ETU) و پروپیلن تیواوره (PTU) در حلال استونیتریل در غلظت ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر نشان داده شده است.



شکل ۲. نمونه ای از کروماتوگرام شناسایی همزمان اتیلن تیواوره (ETU) و پروپیلن تیواوره (PTU) در حلال استونیتریل در غلظت ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر

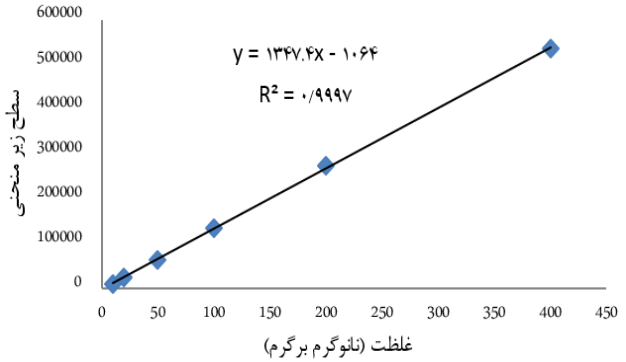
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]



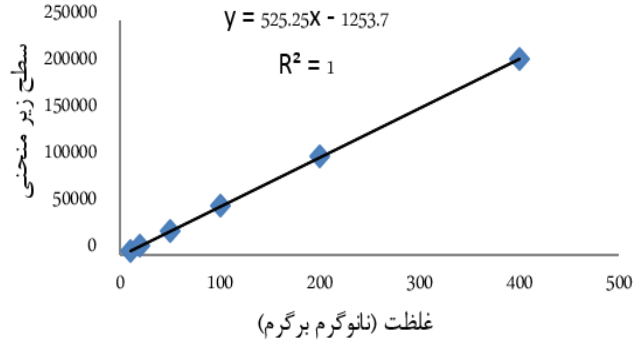
شکل ۳. نمونه ای از کروماتوگرام شناسایی همزمان اتیلن تیواوره (ETU) و پروپیلن تیواوره (PTU) به تفکیک ۳ ترانزیشن

اعتبار سنجی

بررسی خطی بودن و رسم منحنی کالیبراسیون: جهت غلبه بر اثر ماتریکس منحنی کالیبراسیون با استفاده از نمونه‌های اسپایک شده رسم شده است. بدین منظور اسپایک در شش سطح به غلظت‌های ۱۰-۲۰-۵۰-۱۰۰-۲۰۰ و۴۰۰ نانوگرم برگرم در نمونه بلانک انجام شده است. بلانک بودن نمونه با پنج بار آزمون مشخص شده است. بر روی نمونه ها طبق روش استخراجی توضیح داده شده مراحل آماده سازی و استخراج صورت گرفته است. این کار در چهار روز کاری مختلف تکرار شده و در نهایت منحنی کالیبراسیون با میانگین چهار نقطه و توسط نرم‌افزار اختصاصی دستگاه LC/MS-MS با نام Analyst محاسبه و رسم گردیده است (شکل‌های ۴ و ۵). همچنین میزان صحت و دقت نقاط خط نیز با استفاده از نرم افزار نامبرده تعیین و در جدول ۳ ارائه گردیده است.



شکل ۴. منحنی کالیبراسیون PTU با استفاده از نمونه‌های اسپایک شده



شکل ۵. منحنی کالیبراسیون ETU با استفاده از نمونه‌های اسپایک شده

تعیین درصد بازیافت و مطالعات صحت و دقت روش: برای بررسی درصد بازیافت، دقت وصحت روش، نمونه‌های بلانک درسه سطح ۳۰-۶۰-۱۲۰ نانوگرم برگرم و برای هر سطح سه نمونه (جمعا نه نمونه) اسپایک شده سپس با استفاده از روش گفته شده بر روی آنها استخراج صورت گرفته است. این نمونه‌ها آنالیز شده و درصد بازیافت با استفاده از منحنی کالیبراسیون تعیین گردیده است. این کار در سه روز کاری انجام شده و میانگین درصد بازیافت و میزان درصد ضریب تغییرات نسبی جهت مطالعات صحت و دقت میانی تعیین شده است (جدول ۴).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

جدول ۳. صحت (درصد بازیافت) و دقت (تکرار پذیری) بدست آمده از نقاط منحنی کالیبراسیون PTU و ETU

PTU				ETU				تعداد نمونه‌های اسپایک شده	غلظت اسپایک شده (نانوگرم بر گرم)
درصد بازیافت (٪)	درصد ضریب تغییرات (٪)	انحراف استاندارد	میانگین غلظت (نانوگرم برگرم)	درصد بازیافت (٪)	درصد ضریب تغییرات (٪)	انحراف استاندارد	میانگین غلظت (نانوگرم برگرم)		
۹۳/۸۰	۶/۴۷	۰/۶۱	۹/۳۸	۹۸/۲۱	۱۵/۷۴	۱/۵۵	۹/۸۲	۴	۱۰
۹۷/۰۹	۱۱/۵۵	۲/۲۴	۱۹/۴۲	۹۶/۱۳	۵/۹۶	۱/۱۵	۱۹/۲۳	۴	۲۰
۹۶/۴۳	۶/۸۰	۳/۲۸	۴۸/۲۱	۹۸/۸۲	۸/۲۵	۴/۰۷	۴۹/۴۱	۴	۵۰
۱۰۰/۲۴	۱۲/۱۲	۱۲/۱۵	۱۰۰/۲۴	۱۰۱/۸۶	۱۳/۲۴	۱۳/۴۸	۱۰۱/۸۶	۴	۱۰۰
۱۰۲/۵۴	۱۵/۲۹	۳۱/۳۶	۲۰۵/۰۷	۹۷/۸۴	۱۰/۰۸	۱۹/۷۲	۱۹۵/۶۷	۴	۲۰۰
۹۹/۴۲	۴/۸۸	۱۹/۴۲	۳۹۷/۶۷	۱۰۰/۰۷	۴/۳۲	۱۷/۳۱	۴۰۰/۲۹	۴	۴۰۰

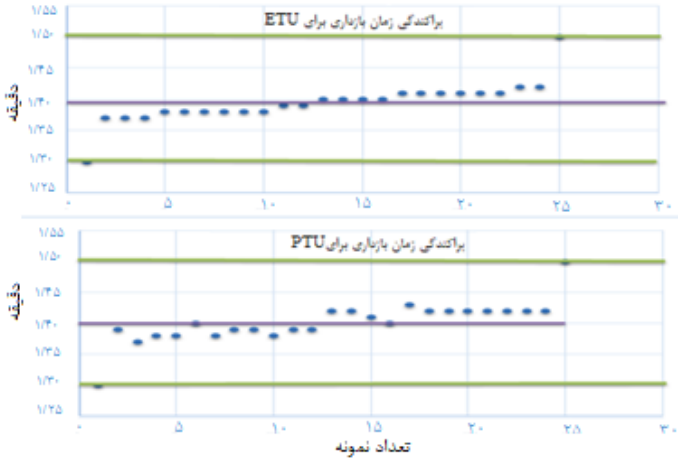
جدول ۴. مطالعات صحت (درصد بازیافت) و دقت میانی بدست آمده از روش آزمون PTU و ETU

PTU				ETU				تعداد نمونه‌های اسپایک شده	غلظت اسپایک شده (نانوگرم بر گرم)
درصد بازیافت (٪)	ضریب تغییرات (٪)	انحراف استاندارد	میانگین غلظت (نانوگرم برگرم)	درصد بازیافت (٪)	ضریب تغییرات (٪)	انحراف استاندارد	میانگین غلظت (نانوگرم برگرم)		
۹۳/۹۸	۸/۷۵	۲/۴۷	۲۸/۱۹	۹۸/۷۱	۷/۸۲	۲/۳۲	۲۹/۶۱	۳	۳۰
۸۷/۹۲	۵/۲۴	۲/۷۶	۵۲/۷۵	۹۷/۰۵	۲/۰۸	۱/۲۱	۵۸/۲۳	۳	۶۰
۸۶/۴۹	۱۳/۱۶	۱۳/۶۵	۱۰۳/۷۹	۹۰/۲۰	۱۹/۵۳	۲۱/۱۴	۱۰۸/۲۴	۳	۱۲۰

تکرار پذیری درون روزی: برای بررسی تکرار پذیری درون روزی، نمونه‌های بلانک در سطح ۵۰ نانوگرم برگرم به تعداد شش بار اسپایک گردید. سپس با استفاده از روش ارائه شده بر روی آنها استخراج صورت گرفته است. این نمونه‌ها مطابق روش آنالیز شده و درصد بازیافت و تکرار پذیری با استفاده از منحنی کالیبراسیون تعیین گردیده است. این کار در یک روز کاری انجام شده و میانگین درصد بازیافت و میزان CV٪ برای مطالعات تکرارپذیری درون روزی بترتیب ۹۶/۴۲ درصد و ۱۲/۱ درصد برای پروپیلن تیواوره و ۹۷/۴۰ درصد و ۱۳/۸۶ درصد برای اتیلن تیو اوره بدست آمده است.

LOD و LOQ: در نمونه‌های اسپایک در سطوح پایین با نسبت سیگنال به نویز ۳/۱ جهت LOD و سیگنال به نویز ۹/۱ جهت LOQ، حدود تقریبی تشخیص و تعیین مقدار تعیین گردیده است، سپس با بررسی صحت و دقت آزمون در سطح LOQ مقدار دقیق حد تعیین مقدار بدست آمده است. در این روش LOD و LOQ هر دو آنالیت به ترتیب برابر ۳/۳ نانوگرم برگرم و ۱۰ نانوگرم برگرم بوده است.

زمان بازداری (RT): طبق راهنمای SANTE/11312/2021 (۲۸) شیفت زمان بازداری در مطالعات اعتبارسنجی برای دستگاه LC-MS/MS برابر ۰/۱± دقیقه ذکر شده است. در این مطالعه انحراف معیار و ضریب تغییرات زمان بازداری نسبت به میانگین زمان بازداری در نمونه‌های اسپایک شده برای هر دو آنالیت بررسی شده است. زمان بازداری برای پروپیلن تیواوره ۱/۴۰ دقیقه با انحراف معیار (STD) برابر ۰/۰۲ و CV%=۱/۳۱ و برای اتیلن تیواوره ۱/۳۹دقیقه دقیقه با انحراف معیار (STD) برابر ۰/۰۲ و CV%=۱/۱۸ بدست آمده است. شکل ۶ پراکندگی زمان بازداری دو آنالیت در نمونه‌های اسپایک شده را نشان می‌دهد.



شکل۶. نمودار پراکندگی زمان بازداری دو آنالیت در نمونه‌های اسپایک شده

• بحث

توسعه روش‌های آزمون برای شناسایی و تعیین مقدار باقیمانده آفت‌کش‌هایی که به لحاظ خواص فیزیکوشیمیایی امکان آنالیز همزمان آنها با روش‌های متداول آنالیز همزمان مانند روش QuEChERS (Safe، Rugged، Effective، Cheap، Easy، Quick) وجود ندارد و به روش‌های تک باقی‌مانده SRM (Single Residue Methods) نیاز دارند، یکی از زمان‌برترین و

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

چالش‌برانگیزترین فعالیت‌های آزمایشگاه‌های آزمون باقیمانده آفت‌کش هاست. چالش‌های موجود در آنالیز این ترکیبات باعث شده که اکثر آزمایشگاه‌ها به طور کلی تمایلی به آزمون آفت‌کش‌های SRM نداشته باشند و در نتیجه داده‌های بسیار محدودی در مورد وضعیت باقیمانده بسیاری از این گروه آفت‌کش ها در محصولات غذایی وجود دارد. روش‌های آنالیز تک باقیمانده آفت‌کش‌ها معمولاً به اندازه روش‌های آنالیز همزمان چند باقیمانده کاربر و هزینه‌بر هستند، اما تنها یک یا تعداد محدودی آفت‌کش را پوشش می‌دهند. بنابراین تصمیم برای بکارگیری و اجرای یک روش SRM در آزمایشگاه نه تنها به در دسترس بودن ابزار دقیق لازم وابسته است، بلکه به نسبت هزینه و فایده اقتصادی نیز بستگی دارد (۲۹).

روش سریع آنالیز آفت‌کش‌های با قطبیت بسیار بالا در ماتریکس‌های گیاهی QuPP-OP برای آنالیز بقایای آفت‌کش‌های بسیار قطبی که با روش QuEChERS غیرقابل آزمون هستند در غذاهای با منشاء گیاهی ارائه شده است. این روش جهت آزمون باقیمانده برخی آفت‌کش‌ها در ماتریکس هایی مانند میوه ها، سبزیجات، غلات، حبوبات خشک، دانه‌های روغنی و مغزها و همچنین در عسل استفاده شده است. در این روش پس از تنظیم آب و افزودن متانول اسیدی، باقیمانده آفت‌کش ها استخراج می‌شوند. در مورد غلات، حبوبات، آجیل و دانه‌های روغنی، EDTA برای کمپلکس کردن یون‌های فلزی مانند کلسیم و منیزیم، که می‌تواند بر آزمون برخی از آفت‌کش-ها تأثیر بگذارند استفاده می‌شود. در حین فرایند عصاره استخراج و خالص سازی شده فیلتر و مستقیماً توسط دستگاه LC-MS/MS آنالیز می‌شود (۲۷).

در مطالعه حاضر با توجه به امکانات موجود در آزمایشگاه و سایر آزمایشگاه‌های کنترلی سراسر کشور روش QuPP-OP جهت آزمون ترکیبات ETU و PTU به گونه ای بهینه سازی شده است تا بصورت صحیح و دقیق قابل اجرا باشد. تغییر در شرایط فریزاوتینگ، زمان‌های مرتبط با سانتریفیوژ و نحوه فیلتراسیون و در نهایت تغلیظ عصاره نمونه ها تحت گاز ازت و دمای مناسب امکان دسترسی به حد تعیین مقدار مناسب با صحت و دقت لازم را فراهم کرده است.

اثر ماتریکس بصورت تغییر در شدت سیگنال یک آنالیت در محلول استخراج شده از نمونه در مقایسه با شدت سیگنال در حلال خالص دیده می‌شود. ترکیبات استخراج شده از ماتریکس نمونه که همراه با آنالیت استخراج شده‌اند می‌توانند به طور بالقوه بر یونیزاسیون آنالیت‌ها تأثیر گذاشته باعث سرکوب یا افزایش در شدت سیگنال آن‌ها شوند. به منظور رسیدن به نتایج دقیق و صحیح توجه به اثر ماتریکس و غلبه بر آن ضروری است. هر گونه روش آنالیز باقی مانده آفت‌کش‌ها با استفاده ازکروماتوگرافی و طیف سنجی جرمی با اثر ماتریکس همراه است. علت اصلی این اثرات وجود ترکیبات ناخواسته‌ای است که همراه آنالیت وجود دارند و بر فرایند یونیزاسیون تأثیر می‌گذارند (۳۰،۳۱). اثرات ماتریکس هم به آنالیت بستگی دارند و هم به نوع ماتریکس و انتخاب حالت یونیزاسیون (۳۲) و نوع منبع یونی (۳۳) در میزان این اثر تاثیر گذار است. از راه‌های پیشنهادی برای کاهش اثر ماتریکس پاکسازی نمونه (۳۷-۳۴) و اضافه کردن ترکیبات محافظ به فاز متحرک (۳۸) است. همچنین اتخاذ روش‌های رسم منحنی کالیبراسیون مبتنی بر حضور ماتریکس از جمله روش سازگار با ماتریکس (Matrix Match) استفاده از روش افزایش استاندارد، استفاده از استاندارد داخلی ایزوتوپ نشاندار آنالیت ها و استفاده از نمونه‌های اسپایک شده از این دسته روش هاست (۳۷).

در این مطالعه جهت غلبه بر اثر ماتریکس منحنی کالیبراسیون با استفاده از نمونه‌های اسپایک شده رسم شده است. استفاده از نمونه‌های اسپایک شده علاوه بر کاهش اثر ماتریکس باعث کاهش بسیاری از خطاهای حین مراحل استخراج و آماده سازی نمونه می‌شود (۲۸).

نتایج نشان داده است که منحنی‌های کالیبراسیون هر دو آنالیت اتیلن تیواوره (ETU) و پروپیلن تیواوره (PTU) در محدوده بررسی شده خطی است و نتایج از صحت و دقت مورد نظر برخوردار بوده است.

از پارامترهای مهم اعتبارسنجی روش‌های آزمون بررسی صحت، تکرار پذیری و بررسی دقت میانی است. نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که در هر سه فاکتور نامبرده روش کاملا مورد تأیید است و با الزامات مقررات اتحادیه اروپا مطابقت دارد.

حد شناسایی و حد تعیین مقدار دو پارامتر بسیار مهم از مشخصات یک روش آزمون است که می‌بایست بصورت دقیق تعیین شود. با توجه به اهمیت وجود صحت و دقت لازم در تعیین میزان آنالیت در سطح LOQ، در این مطالعه پایین ترین سطح نمونه اسپایک شده که درصد بازیافت آنالیت‌ها در آن از صحت و دقت لازم برخوردار بوده است، جهت هر دو آنالیت به عنوان حد تعیین مقدار در نظر گرفته شده است.

شیفت زمان بازداری، انحراف معیار و ضریب تغییرات زمان بازداری هر دو آنالیت اتیلن تیواوره (ETU) و پروپیلن تیواوره (PTU) نسبت به میانگین زمان بازداری در نمونه‌های اسپایک با راهنمای SANTE/11312/2021 مطابقت داشته است. قابل توجه است که زمان بازداری هر دو آنالیت بسیار به هم نزدیک است (PTU دقیقه ۱/۴ و ETU در دقیقه ۱/۳۹) و قابلیت

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

دستگاه طیف سنجی جرمی متوالی در افتراق یون‌های مادر و دختر توانمندی بسیار مهمی در شناسایی این ترکیبات از یکدیگر است.

در نهایت اینکه نتایج اعتبارسنجی روش آزمون ارائه شده، نشان می‌دهد که پارامترهای مورد مطالعه با مقررات اتحادیه اروپا مطابقت دارد و روش از اعتبار لازم جهت استفاده در آزمون‌های کنترلی توسط مراجع ذی صلاح برخوردار است.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر در راستای راه اندازی روش‌های نوین آزمون به منظور کنترل و پایش محصولات کشاورزی در اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو انجام شده است. بدین وسیله از آن سازمان تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع: نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی در قبال تحقیق انجام شده ندارند.

• References

1. Edwards, I.R., Ferry, D.H., Temple, W.A.; Fungicides and related compounds. In Hayes, W.J. Jr., Laws, E.R. Jr.; Handbook of pesticide toxicology, v3. Academic Press, San Diego, CA, 1991; 1409–1470.

2. Schmidt B, Christensen HB, Petersen A, Sloth JJ and Poulsen M E. Method validation and analysis of nine dithiocarbamates in fruits and vegetables by LC-MS/MS. Food Addit Contam: Part A, 2013; 30, No. 7:1287–1298.

3. Narayan CR, Komal SR, Rohana L, Gerry RH, William EH. Dithiocarbamate toxicity – an appraisal, pesticides in the modern world –effects of pesticides exposure, Margarita Stoytcheva (Ed.) 2011; ISBN: 978-953-307-454-2, InTech, Available from: http://www.intechopen.com/ books/pesticides-in-the-modern-world-effects-of-pesticidesexposure/dithiocarbamate-toxicity-an-appraisal

4. Segovia N, Crovetto G, Lardelli P, Espigares M. In vitro toxicity of several dithiocarbamates and structure–activity relationships; J. Appl. Toxicol 2002; 22: 353–357.

5. Protection Agency Washington DC. The grouping of a series of dithiocarbamate pesticides based on a common mechanism of Toxicity Health Effects Division Office of pesticide programs U.S. Environmental 20460, 2001, August 17.

6. Blasco C, Font G, Picó Y. Determination of dithiocarbamates and metabolites in plants by liquid chromatography–mass spectrometry; Journal of Chromatogr A 2004; 1028: 267–276.

7. Hanada Y, Tanizaki T, Koga M, Shiraishi H, soma M. LC/MS studies on characterization and determination of N, N'-ethylenebisdithiocarbamate fungicides in environmental water samples; Analytical Sciences 2002; 18: 441–444.

8. Crnogorac G, Schwack W. Determination of dithiocarbamate fungicide residues by liquid chromatography/mass spectrometry and stable isotope dilution assay; Rapid Communications in Mass Spectrometry 2007; 21:4009–4016.

9. López-Fernández O, Rial-Otero R, González-Barreiro C, Simal-Gándara J. Surveillance of fungicidal dithiocarbamate residues in fruits and vegetables; Food Chem 2012; 134: 366–374.

10. López-Fernández O, Rial-Otero, R, Cid A, Simal-Gandara J. Combined determination and confirmation of ethylenethiourea and propylenethiourea residues in fruits at low levels of detection Food Chem 2014; 145: 1002–1010.

11. Lishaut HV, Schwack W. Selective trace determination of dithiocarbamate fungicides in fruits and vegetables by reversed-phase ion-pair liquid chromatography with ultraviolet and electrochemical detection; J. AOAC Int. 2000; 83: 720–727.

12. Szolar OHJ. Environmental and pharmaceutical analysis of dithiocarbamates; Analytica Chimica Acta 2007; 582: 191–200.

13. Hayama T, Takada M. Simple and rapid method for the determination of ethylenebisdithiocarbamate fungicides in fruits and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometry; Analytical and Bioanalytical Chemistry 2008; 392: 969–976.

14. WHO. 1988. Environmental Health Criteria 78. Dithiocarbamate Pesticides, Ethylenethiourea and Propylenethiourea: A general introduction.World Health Organization, Geneva, Switzerland,ISBN 92 4 154278 0.

15. Dearfield KL. Ethylenethiourea (ETU)–A review of the genetic toxicity studies. Mutation Research 1994; 317:111–132.

16. Lentza-Rizos C. Ethylenethiourea (ETU) in relation to use of ethylenebisdithiocarbamate (EBDC) fungicides. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 1990; 115:1–37.

17. Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. https://www.legislation.gov.uk/eur/2005/396/contents#.

18. AOAC. AOAC Official Method 978.16 Ethylenethiourea, AOAC Official methods of analysis, 16th ed., AOAC, Arlington V.A. 1995; Chapter 10, p 48.

19. Bolzoni L, Sannino A, Bandini M. Determination of ethylenethiourea and propylenethiourea in tomato products and in fruit purees. Food Chem 1993; 47:299–302.

20. Lehotay J, Brandsteterova E, Oktavec D. High-performance liquid-chromatographic determination of ethylenethiourea in food. J. Liq. Chromatogr 1992; 15:525–534.

21. Kontou S, Tsipi D, Oreopoulou V, Tzia C. Determination of ETU in tomatoes and tomato products by HPLC-PDA.Evaluation of cleanup procedures. J. Agric. Food Chem.2001; 49:1090–1097.

22.Ahmad N, Guo L, Mandarakas P, Appleby S. Determination of dithiocarbamate and its breakdown product ethylenethiourea in fruits and vegetables. J. AOAC Int. 1995; 78:1238–1243.

23. Garcinuno RM, Fernandez-Hernando P, Camara C. Simultaneous determination of maneb and its main metabolites in tomatoes by liquid chromatography using

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

diode array ultraviolet absorbance detection. J. Chromatogr 2004; 1043:225–229.

24. Krause RT. Liquid-chromatographic–electrochemical determination of ethylenethiourea in foods by revised official method. J. AOAC Int. 1989; 72:975–979.

25. Maruyama M. Residue analysis of ethylenethiourea in vegetables by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. Fresenius. J. Anal. Chem 1994; 348:324–326.

26. Blasco C, Font G, Pico Y. Determination of dithiocarbamates and metabolites in plants by liquid chromatographymass spectrometry. Journal of Chromatogr A 2004; 1028: 267–276.

27.EURL-SRM, Quick Method for the Analysis of Numerous Highly Polar Pesticides in Food Involving Extraction with Acidified Methanol and LC-MS/MS Measurement I. Food of Plant Origin (QuPPe-PO-Method), Changes from V10.1 to V11 .VERSION 11.,12.02.2020).

28. SANTE. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANTE/11312/2021. Implemented by 01/01/2022.

29. Developement and Validation of Single Residue Methods - Strategy of EURL-SRM. https://www.eurl-pesticides.eu/Published 24-08-2010.

30. King R, Bonfglio R, Fernandez-Metzler C, MillerStien C, & Olah, T. Mechanistic investigation of ionization suppression in electrospray ionization. J. Am. Soc. Mass Spectrom 2000; 11,942–950.

31. Gosetti F, Mazzucco E, Zampieri D, & Gennaro MC. Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A 2010; 1217, 3929–937.

32. Remane D, Wissenbach DK, Meyer MR, & Maurer HH. Systematic investigation of ion suppression and enhancement effects of fourteen stable-isotope-labeled internal standards by their native analogues using atmospheric-pressure chemical ionization and electrospray ionization and the relevance for multi-analyte liquid chromatographic/mass spectrometric procedures. Rapid Commun. Mass Spectrom 2010; 24, 859–867.

33. Stahnke, H., Kittlaus, S., Kempe, G., Hemmerling, C., & Alder, L.2012. The influence of electrospray ion source design on matrix effects. J. Mass Spectrom. 47, 875–884.

34. Hogenboom AC, Hofman MP, Kok SJ, NiessenWMA & Brinkman UAT. Determination of pesticides in vegetables using large-volume injection column liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A 2000; 892, 379–390.

35. Henion J, Brewere E & Rule G. Sample preparation for LC/MS/MS: analyzing biological and environmental samples. Anal. Chem 1998; 70, 650A–656A.

36. Dijkman E, Mooibroek D, Hoogerbrugge R ,Hogendoorn E, Sancho JV, Pozo, O & Ferna'ndez, F. Study of matrix effects on the direct trace analysis of acidic pesticides in water using various liquid chromatographic modes coupled to tandem mass spectrometric detection. J. Chromatogr. A 2001; 926, 113–125.

37. Zrostliková J, Hajšlová J, Poustka, J, & Begany P. Alternative calibration approaches to compensate the effect of co-extracted matrix components in liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry analysis of pesticide residues in plant materials. J. Chromatogr A 2002; 973, 13–26.

38. Li LYT, Campbell DA, Bemmetti PK & Henion J. Acceptance Criteria for Ultratrace HPLC-Tandem Mass Spectrometry: Quantitative and Qualitative Determination of Sulfonylurea Herbicides in Soil. Anal. Chem 1996; 68, 3397–3404.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]

Simultaneous Analysis of Metabolite Residues from Degradation of Dithiocarbamates in Cereals Using Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry

*Elmi M[1], Eskandari S[2,4], Amirahmadi M [*3,4]*

1- Master of Science, Food and Drug Control Reference Labs, Food and Drug Organization, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

2- Associate Professor, Food and Drug Control Reference Labs, Food and Drug Organization, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

*3- *Corresponding author:Assistant Professor, Food and Drug Control Reference Labs, Food and Drug Organization, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran. Email:* Maryamamir2001@yahoo.com

4-Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Administration, MOH&MOE, Tehran, Iran.

Received 17 Oct, 2022 **Accepted 8 Jan, 2023**

Background and Objectives: Dithiocarbamates are groups of fungicides used to control pests of agricultural products. Analysis of these pesticides with liquid and gas chromatography instruments is associated with various problems due to the presence of metal groups in the structure of these compounds. Therefore, one of the ways for analysis the pesticides is to check the level of decomposition metabolites of ethylene thiourea and propylene thiourea. The purpose of this study was to establish and validate a method for the analysis of ethylene thiourea and propylene thiourea in grains using liquid chromatography tandem mass spectrometry.

Materials and Methods: Preparation was based on the optimized QuPP-OP method with methanolic extraction in presence of ethylenediaminetetraacetic acid solution without purification steps. To overcome the matrix effect, calibration curve was drawn using analysis of spike samples.

Results: Results showed that the method was linear in the range of 10–400 ng/g and assessment results were accurate and precise. The average recovery proportions and CV% for repeatability were 96.42, 12.1, 97.40 and 13.86% for propylene thiourea and ethylenethiourea, respectively. The LOD and LOQ of the method for the two compounds were 3.3, and 10 ng/g, respectively.

Conclusion: Results showed that the presented assessment method included necessary validity of the analysis of ethylene thiourea and propylene thiourea in cereals.

Keywords: Ethylene thiourea, Propylene thiourea, QuPP-OP, Cereals, Liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC/MS-MS

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1402.18.1.7.4]