

بررسی میزان باقی مانده سموم دیازینون و کلرپیریفوس در محصول سیب درختی رقم قرمز لبنان سردخانه‌های شهرستان میاندوآب با استفاده از HPLC-PDA

حسین شاهیان^۱، حسین شیخ لویی^{۲*}

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران

۲. استادیار گروه شیمی و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مراغه، مراغه، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: H.sheikhloie@iau-maragheh.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۴/۸/۱۹ پذیرش نهایی: ۹۵/۱۲/۲۳)

چکیده

در پژوهش حاضر برای بررسی آلودگی احتمالی محصول سیب درختی رقم قرمز لبنان (رد دلشیز) شهرستان میاندوآب نسبت به سموم کشاورزی مورد استفاده توسط باغبانان، میزان باقی مانده سموم دیازینون و کلرپیریفوس مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا نمونه برداری توسط روش تصادفی ساده انجام گرفت و پس از عصاره‌گیری و استخراج به روش استخراج فاز جامد (SPE) با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) میزان باقیمانده سموم دیازینون و کلرپیریفوس اندازه‌گیری شد. به طوری که میزان باقی مانده سموم ب ترتیب در سیب‌های شسته نشده با پوست، شسته شده با پوست و سیب‌های پوست‌گیری شده ppm ۰/۰۸، ۰/۳۱، ۰/۶۸ برای دیازینون و ۰/۵۴، ۰/۹۸ ppm برای کلرپیریفوس اندازه‌گیری شد. مقایسه نتایج آماری با استانداردهای جهانی مبین این موضوع است که میزان باقی مانده سم دیازینون در سیب‌های شسته نشده با پوست و میزان باقی مانده سم کلرپیریفوس در هر سه حالت: شسته شده با پوست، شسته شده بدون پوست و سیب‌های پوست‌گیری شده بیش از حد جهانی (دیازینون ppm ۰/۵ و کلرپیریفوس ppm ۰/۰۱) است؛ بنابراین ضرورت دارد مسئولان و باغداران منطقه توجه ویژه‌ای به میزان باقی مانده و زمان استفاده از سموم داشته باشند تا به این وسیله از به خطر افتادن بهداشت و سلامت جامعه و صادرات سیب درختی جلوگیری گردد.

واژه‌های کلیدی: سیب درختی، باقیمانده سموم، دیازینون، کلرپیریفوس، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

مقدمه

توسعه کشاورزی به عنوان عمده ترین راه تأمین مواد غذایی، تنها زمانی پاسخگوی جمعیت رو به رشد بشر خواهد بود که پیشرفت آن همگام و متناسب با روند افزایش جمعیت باشد (Rakhshani, 2010). از طرفی گسترش کشاورزی باعث ناپایداری در اکوسیستم های طبیعی شده و توازن آن ها را برهم زده است. در حقیقت کشاورزی نوعی انحراف از تعادل طبیعی در اکوسیستم است که هدف از آن به دست آمدن محصولات خاص می باشد؛ اما طبیعت به طور مطلق تسلیم این فشارها نشده و تدریجاً نوعی کشش به سمت برقراری مجدد تعادل به وجود می آورد که به صورت عوارض ناخواسته ای چون آفات و بیماری های گیاهی و نیز علف های هرز در کشاورزی بروز می کند. این همان مسئله ای است که بشر از اوایل زندگی کشاورزی خود با آن روبه رو بوده و همواره در تلاش است تا تأثیر این عوامل را در محصولات خود به حداقل برساند. همین تلاش ها منجر به ایجاد روش های مبارزه شیمیایی با آفات شده است که تولید و عرضه سموم مختلف از نتایج آن می باشد. به طور تقریبی حدود یک سوم از محصولات کشاورزی جهان در مراحل داشت و برداشت توسط آفات از بین می رود (Rakhshani, 2010).

کاربرد سموم از یک طرف با از بین بردن عوامل ناخواسته، باعث افزایش کمی و کیفی محصولات شده و از طرف دیگر باعث از بین بردن حشرات مفید و دشمنان طبیعی آفات، به وجود آمدن و شیوع آفات جدید، تأثیر بر روی سایر موجودات زنده و کسانی که در تماس مستقیم با آن ها هستند، کاهش تنوع زیستی و

مصرف انرژی های مستقیم و غیرمستقیم در تولید و مصرف آفت کش های شیمیایی می شوند (Zimdahl, 1999; Zand et al., 2007). همچنین تأثیر سوء سموم بر سایر موجودات، مسمومیت های ناشی از کاربرد آفت کش ها در بین افراد و نیز هزینه های تولید سموم شیمیایی از مواردی هستند که نیاز به استفاده اصولی و متفکرانه از این مواد را بیشتر نشان می دهند (Rakhshani, 2010). اگرچه کاربرد آفت کش ها در کشاورزی باعث افزایش تولید محصول می شود (Krol et al., 2000)؛ ولی امروزه به دلیل مشکلات زیست محیطی و تبعات ناشی از بقایای سموم در غذای مصرف کنندگان، کاهش استفاده از این سموم مورد توجه همگان قرار گرفته است (Torres et al., 1996).

سیب درختی از جمله مهم ترین محصولات باغی است که سطح بسیار زیادی از این باغات را ارقام رد دلشیز و گلدن دلشیز به خود اختصاص داده اند. در باغ های سیب آفات و بیماری های مختلفی وجود دارد که به منظور کنترل هر یک از آن ها، از سموم مختلفی استفاده می شود؛ به طوری که در فاصله زمانی اواخر اسفند تا اواخر مردادماه سم پاشی برای مبارزه با بیماری هایی همچون: سفیدک، شاکر، لکه سیاه و آفاتی همچون کنه قرمز اروپایی، کرم سیب، لپشه سیب، مینوزها، شته ها، آفات برگ خوار، انجام می گیرد؛ که از جمله سموم پرکاربرد برعلیه آفات می توان به دیازینون و کلرپیریفوس از گروه ترکیبات فسفره اشاره کرد (Mahey Al Agha and farahani, 2012).

سموم فسفره به کلیه سمومی اطلاق می شود که در ساختمان خود دارای اتم فسفر هستند. این گروه پرمصرف ترین و مهم ترین گروه از سموم به کار رفته در

عبارتند از آکسونی و انتقال سیناپسی، در انتقال سیناپسی یک واسطه شیمیایی به نام استیل کولین در محل سیناپس به عنوان ناقل پیام عصبی عمل می کند و بعد از ترشح آن تحریک عصبی به آکسون بعدی منتقل می شود. برای از بین بردن این ناقل و در نتیجه آماده شدن سیناپس برای انتقال پیام بعدی آنزیم کولین استراز وارد عمل می شود.

سموم فسفره با مهار این آنزیم باعث تجمع استیل کولین در محل سیناپس شده و در نتیجه تحریک به طور مستمر ادامه می یابد (Padilla, 1995). سمیت پوستی ترکیبات فسفره معمولاً زیاد نیست، اما بعضی سموم نظیر متیل پاراتیون سمیت پوستی زیادی دارند (Rakhshani, 2010). یکی دیگر از مکانیسم های ایجاد مسمومیت ارگانوفسفره ها تولید رادیکال های آزاد و اختلال در سیستم آنتی اکسیدانی بدن است که موجب استرس اکسیداتیو می شود. اگر این استرس شدید و طولانی باشد، می تواند باعث آسیب های جدی سلولی شود (Sedigh Ahmadi et al., 2012). از دیگر عوارض مهم ارگانوفسفره ها اثر آنها بر روی هورمون های جنسی است. ارگانوفسفره ها می توانند با تأثیر بر روی غدد درون ریز، باعث کاهش ترشح برخی از هورمون ها شوند (Maliji, et al., 2014).

در رابطه با بقایای سموم پژوهش های بسیاری انجام گرفته که از جمله می توان به بررسی باقیمانده آفت کش های ارگانوفسفره در خوراکی های بازار در منطقه شانسی چین (Bai et al., 2006) اندازه گیری سموم دیازینون و کلرپیریفوس بر روی واریته های سیب گلدن و رد منطقه دماوند (Makey Al Agha and farahani, 2012)؛ باقیمانده آفت کش ها در برزیل طی سال های ۲۰۰۱ تا ۲۰۱۰ (Anderia and Eloisa,)

دفع آفات می باشند که دارای ویژگی هایی همچون اثرات شدید حشره کشی و کنه کشی، طیف تأثیر وسیع بر آفات مختلف و اثرات سوء ناشی از آن مانند طغیان آفات، داشتن اثر ضربه ای شدید، میزان مصرف نسبتاً کم در واحد سطح، سمیت شدید برای انسان و جانوران خونگرم، بروز مقاومت سریع در آفات چند نسلی به این سموم در اثر فشار شدید می باشند (Svodova et al., 2001).

کلرپیریفوس حشره کش، نماتدکش، کنه کش فسفره آلی با فرمول $C_9H_{11}Cl_3NO_3P$ است که با نام های تجاری دورسبان، لورسبان و دتمول به فروش می رسد. این سم در خاک و روی اندام های گیاهی مصرف می شود. دوره کارنس کلرپیریفوس ۶-۷ روز است و ۴-۲ ماه در خاک دوام دارد (Christensen et al., 2009). دیازینون حشره کشی غیرسیستمیک، ارگانوفسفره با فرمول $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ است که کاربرد گسترده ای روی محصولات زراعی و باغی دارد و بر علیه آفات چون مگس مینوز، کرم سیب و کرم های برگ خوار توصیه شده است. دیازینون تحت نام های تجاری آفلاتوکس، بازودین، دازل، گاردنتوکس، کنوکسوت به فروش می رسد (Sarailoo, 1998). این ترکیب قادر است در محیط، به سایر ترکیبات دیگر تجزیه شود.

بیش از ۲۵ درصد دیازینون به کار رفته در سطح زمین می تواند دوباره به هوا برگردد (Gallo and lawryk, 1991).

مهم ترین و بارزترین اثر سموم فسفره که باعث ایجاد مسمومیت می شود، توانایی آنها در مهار کردن آنزیم حیاتی کولین استراز در سیستم عصبی می باشد. در سیستم عصبی دو نوع انتقال عصبی وجود دارد که

وارته‌های رد دلشز، به روش تصادفی ساده گردید. در زمان انجام آزمایش نمونه‌های تهیه‌شده به‌صورت جداگانه با چاقو به قطعات ریز تبدیل‌شده و باهم کاملاً مخلوط شدند. مقدار ۲۰۰ گرم از هر نمونه به‌صورت جداگانه به خردکن آزمایشگاهی منتقل شد تا نمونه‌ها کاملاً خرد و یکنواخت گردند. از نمونه‌های هموژن شده به‌صورت جداگانه مقدار ۲۰ گرم برای عملیات استخراج جدا شد و مابقی نمونه‌ها تا پایان آزمایش نگهداری شدند تا در صورت لزوم مورد استفاده قرار گیرند. ۲۰ گرم از هر نمونه انتخاب‌شده با ۱۰ میلی‌لیتر استونیتریل (Merck, Germany)، ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۱۰ میلی‌لیتر متانول (Merck, Germany) مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه توسط شکر به هم زده شدند. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سونیکاتور (Bandeline, Germany) قرار داده شد. در مرحله بعد نمونه‌ها را داخل لوله‌های مخصوص سانتریفوژ ریخته و بعد از تراز نمودن، به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ (Behdad, Iran) با دور ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. پس از سانتریفوژ محلول نمونه دوفازی می‌شود که فاز رویی را جدا کرده و با فیلتر میکرو لیتری (Biofile, Kanada) (اندازه منافذ ۰/۴۵ میکرومتر) صاف شد.

- استخراج با فاز جامد

مرحله بعد جداسازی آنالیت (سموم دیازینون و کلرپیریفوس) از عصاره و تصفیه آن است. برای این منظور از کارتریج‌های فاز جامد نوع C₁₈ (۶ میلی‌لیتر، ۵۰۰ میلی‌گرم) (Macherey-nagel, Germany) استفاده شد. ابتدا برای هر نمونه یک کارتریج جداگانه در نظر گرفته و به ترتیب ۱۰ میلی‌لیتر هگزان نرمال (Merck,

2012)؛ بررسی بقایای سموم کاربردی کلرپیریفوس و دل‌تام‌ترین در چغندرقله‌های استان اصفهان (Fakhari et al., 2011)؛ میزان باقی‌مانده سموم در شمال یونان و مقدونیه بر روی هلو (Danis et al., 2011)؛ بررسی میزان باقی‌مانده حشره‌کش دیازینون در محصول خیار گلخانه‌ای جیرفت (Morowati and Azadvar, 2013)؛ تعیین میزان بقایای سم دیازینون در گوجه‌فرنگی، خیار و خربزه (Rezvani Moghaddam et al., 2009)؛ در شمال شرق کشور لهستان بر روی سبزیجات مختلف از نوع براسیکا (Lozowicka et al., 2012)؛ اندازه‌گیری میزان باقی‌مانده حشره‌کش دیازینون در محصول خیار گلخانه‌ای عرضه‌شده در سطح میدین میوه و تره‌بار شهر تهران (Ostadi et al., 2009) اشاره کرد.

با توجه به گرم‌تر شدن هوا در منطقه در طی سال‌های اخیر و به‌تبع آن شیوع آفات و بیماری‌های مختلف و افزایش تعداد نسل‌های آفات، تعداد دفعات سم‌پاشی نیز افزایش یافته است. دیازینون و کلرپیریفوس از جمله سموم پرکاربرد در منطقه میان‌دوآب برای مبارزه با آفات محصول سیب‌درختی می‌باشند که در پژوهش حاضر میزان باقی‌مانده این سموم در سیب‌درختی رقم رد دلشز سردخانه‌های شهرستان میان‌دوآب به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و دتکتور فتو دیوداری (PDA) مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

- نمونه‌گیری و نحوه آماده‌سازی نمونه

به‌منظور تهیه نمونه در آبان ماه سال ۱۳۹۴ به سردخانه‌های موجود در شهرستان میان‌دوآب مراجعه و اقدام به تهیه ۲۵ نمونه یک کیلویی سیب‌درختی از

یافته‌ها

- کروماتوگرام استاندارد

برای تعیین کروماتوگرام استاندارد دیازینون و کلرپیریفوس محلول استاندارد سموم دیازینون و کلرپیریفوس تحت شرایط برنامه‌ریزی شده به دستگاه HPLC تزریق شد؛ کروماتوگرام شکل (۱) به دست آمد. تعیین کروماتوگرام استاندارد برای تشخیص و شناسایی نوع ترکیبات انجام می‌شود. سپس نمونه‌های مجهول به دستگاه HPLC تزریق و کروماتوگرام مربوط به هر یک از آن‌ها مشخص گردید (شکل ۲).

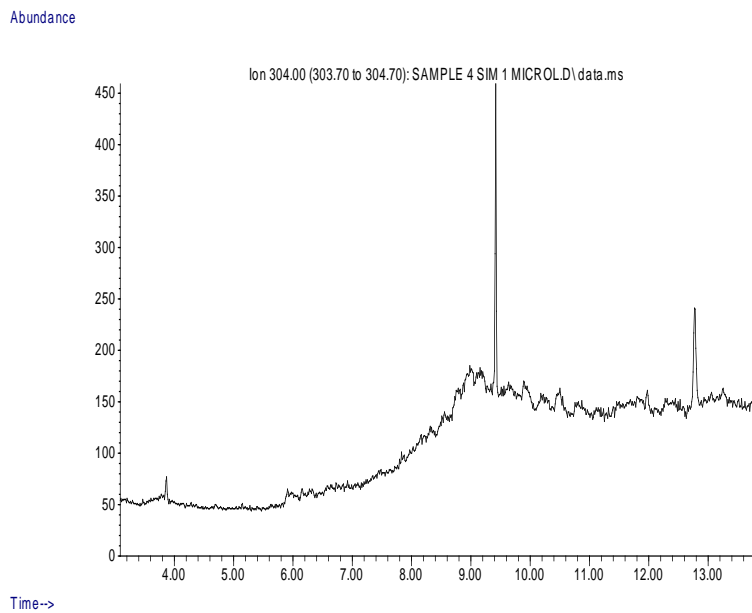
(Germany)، ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه و در نهایت ۵ میلی‌لیتر متانول (Merck, Germany) به آرامی از ستون‌های فاز جامد عبور داده شد. وقتی که سطح متانول در ستون پایین رفت و به سطح جاذب رسید؛ عصاره آماده‌شده از نمونه وارد ستون گردید و محلول خروجی دور ریخته شد. مرحله شستشو توسط ۵ میلی‌لیتر متانول (Merck, Germany) انجام گرفت و محلول خروجی دور ریخته شد. در مرحله شویش ستون فاز جامد به وسیله ۵ میلی‌لیتر اتیل استات (Merck, Germany) شسته شده و حشره‌کش باند شده به جاذب از این طریق جدا شده و در ویال‌های شیشه‌ای جمع‌آوری گردید. نمونه‌های تهیه‌شده تا زمان تزریق به دستگاه HPLC (Knauer, Germany) در یخچال نگهداری شدند.

- شرایط دستگاه HPLC

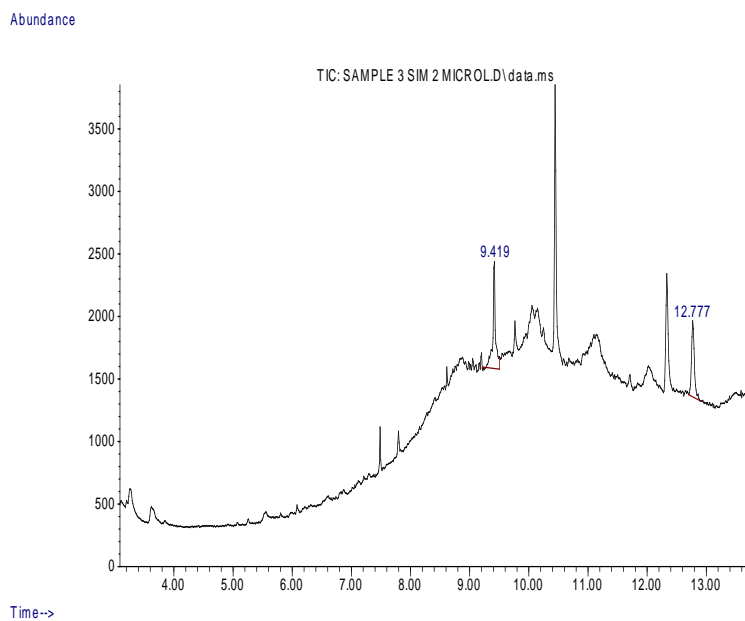
دتکتور از نوع فتو دیود اری (PDA)، ستون از نوع C₁₈، فاز متحرک مخلوط ۷۰ درصد استونیتریل-۳۰ درصد آب دیونیزه و طول موج دتکتور فتو دیود اری ۲۵۶ نانومتر است.

- تجزیه و تحلیل آماری

از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. سطح اطمینان مورد استفاده جهت آنالیز آماری ۹۵ درصد در نظر گرفته شد و کلیه آنالیزها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام پذیرفت.



شکل (۱) - کروماتوگرام استاندارد دیازینون (RT=9.42) و کلرپیرفوس (RT=12.78)



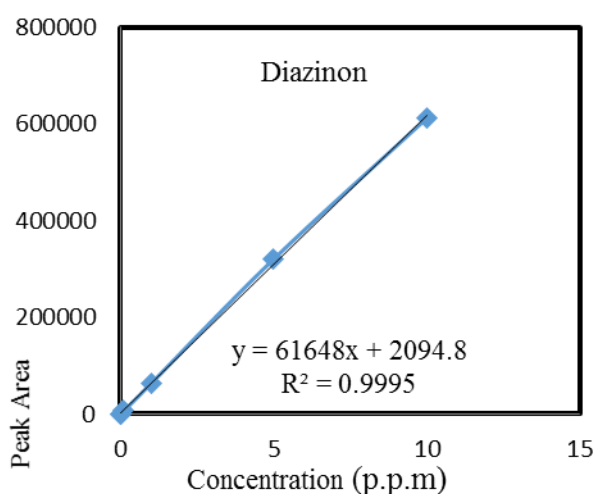
شکل (۲) - نمونه‌ای از کروماتوگرام دیازینون و کلرپیرفوس در روش SPE-HPLC

- نمودار کالیبراسیون

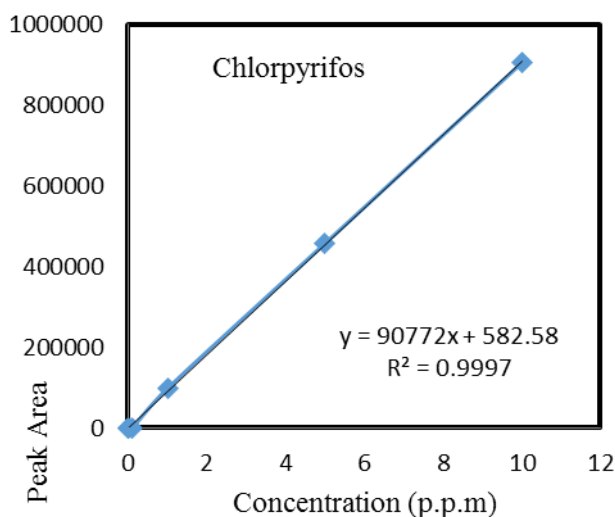
ابتدا چند محلول با غلظت‌های کاملاً دقیق از گونه مورد آنالیز تهیه کرده و به سیستم تزریق می‌شود و نمودار پاسخ سیستم در مقابل غلظت گونه رسم می‌شود. نمودار حاصل نمودار کالیبراسیون خوانده

معادله خط به دست آمده و جاگذاری مقدار ارتفاع و یا سطح زیر پیک نمونه مجهول در مقدار x ، غلظت آنالیت محاسبه می‌شود. رسم نمودار منحنی کالیبراسیون و محاسبه ضریب تصحیح با استفاده از نرم افزار اکسل (Excel, 2013) انجام شد.

می‌شود (شکل ۳ و ۴) بیشترین و کمترین غلظت‌های به کار برده شده از استاندارد، دامنه خطی بودن پاسخ آشکارساز را معین می‌کند (جدول ۳) میزان خطی بودن نمودار کالیبراسیون با کمیتی بنام ضریب تصحیح (r^2) (جدول ۳) سنجیده می‌شود. برای آنالیزهای ویژه این مقدار نباید کوچک‌تر از ۰/۹۹۵ باشد. با استفاده از



شکل (۳) - منحنی کالیبراسیون روش SPE-HPLC در اندازه‌گیری دیازینون



شکل (۴) - منحنی کالیبراسیون روش SPE-HPLC در اندازه‌گیری کلرپیریفوس

- آزمایش بازیافت

سیب‌درختی را ۹۱/۱۵ درصد برای دیازینون (جدول ۱) و ۹۳/۶۹ درصد برای کلرپیریفوس (جدول ۲) نشان می‌دهد. میزان درصد بازیافت سموم دیازینون و کلرپیریفوس در این روش بالا بود که نشان می‌دهد کاربرد این روش در استخراج سموم مذکور موفقیت‌آمیز بوده و نتایج قابل‌اعتماد و صحیح است.

برای انجام آزمایش بازیافت جهت ارزیابی صحت روش مقدار ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر محلول استاندارد به ۵ نمونه اضافه شد. سپس استخراج نمونه‌ها مشابه نمونه‌های مجهول انجام شد و پس از تهیه عصاره نهایی، بقایای سموم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت تا نسبت درصد بازیافت مشخص شود. نتایج آزمایش‌ها میانگین بازیافت حشره‌کش از تعداد پنج نمونه محصول

جدول (۱)- مطالعه بازیابی استخراج دیازینون از سیب‌درختی به روش SPE-HPLC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

نمونه	غلظت دیازینون	مقدار اضافه شده	مقدار یافت شده	درصد بازیابی
نمونه ۱	$0.41 \pm 0.031b^*$	۱	1.38 ± 0.052	۹۲/۶۸
نمونه ۲	$0.48 \pm 0.062a$	۱	1.37 ± 0.012	۷۷/۰۸
نمونه ۳	$0.37 \pm 0.012c$	۱	1.35 ± 0.044	۹۴/۵۹
نمونه ۴	$0.35 \pm 0.020d$	۱	1.36 ± 0.021	۱۰۲/۸۵
نمونه ۵	$0.35 \pm 0.042d$	۱	1.31 ± 0.019	۸۸/۵۷

* انحراف استاندارد \pm میانگینd, c, b, a: حروف لاتین متفاوت در ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).جدول (۲)- مطالعه بازیابی استخراج کلرپیریفوس از سیب‌درختی به روش HPLC -SPE ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

نمونه	غلظت کلرپیریفوس	مقدار اضافه شده	مقدار یافت شده	درصد بازیابی
نمونه ۱	$0.81 \pm 0.042e^*$	۱	1.78 ± 0.035	۹۶/۲۹
نمونه ۲	$0.88 \pm 0.039d$	۱	1.72 ± 0.042	۸۱/۸۱
نمونه ۳	$0.94 \pm 0.041c$	۱	1.86 ± 0.064	۹۱/۴۸
نمونه ۴	$1.02 \pm 0.062b$	۱	1.98 ± 0.058	۹۶/۰۷
نمونه ۵	$1.08 \pm 0.052a$	۱	2.11 ± 0.056	۱۰۲/۷۸

* انحراف استاندارد \pm میانگینe, d, c, b, a: حروف لاتین متفاوت در ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

- ارقام شایستگی روش SPE-HPLC

۳/۲۴ درصد و برای کلرپیریفوس ۲/۸۸ درصد بود که با تکرارپذیری انحراف استاندارد نسبی تعیین شده توسط اتحادیه اروپا (کمتر از ۲۰ درصد) به عنوان یکی از معیارهای روش‌های تجزیه آزمایشگاهی متناسب، همسویی دارد و نشان می‌دهد که روش برنامه‌ریزی شده از دقت کافی برخوردار است (جدول ۳).

برای کنترل پاسخ دکتور HPLC به تغییرات غلظت دیازینون، از استاندارد سموم غلظت‌های مختلف تهیه و به دستگاه تزریق شد. حد تشخیص دستگاه (LOD) و حد تعیین روش اندازه‌گیری (LOQ) بر اساس بازیابی‌های انجام شده مطابق جدول (۳) بود. تکرارپذیری انحراف استاندارد نسبی برای دیازینون

جدول (۳) - ارقام شایستگی روش SPE-HPLC در اندازه‌گیری دیازینون و کلرپیریفوس

حد تعیین ^۳ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	حد تشخیص ^۲ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	محدوده خطی ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	انحراف استاندارد نسبی ^۱ (%)	ضریب همبستگی (R^2)	آنالیت
۰/۰۱۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵-۱۰	۳/۲۴	۰/۹۹۹۵	دیازینون
۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲-۱۰	۲/۸۸	۰/۹۹۹۷	کلرپیریفوس

^۱ انحراف استاندارد نسبی (%RSD)

^۲ حد تشخیص (LOD) به صورت 3S/N محاسبه شده است.

^۳ حد تعیین (LOQ) به صورت 10S/N محاسبه شده است.

است. میزان استاندارد موجود برای باقی‌مانده سم دیازینون در سیب‌درختی از طرف آژانس حفاظت محیط‌زیست (EPA) برابر ۰/۵ ppm و برای سم کلرپیریفوس برابر ۰/۰۱ ppm تعیین شده است (EPA, 2009). نتایج مربوطه در جدول (۴) قابل مشاهده است.

از میان ۲۵ نمونه سیب‌درختی رقم رد دلشز آنالیز شده با روش برنامه‌ریزی شده کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، تعداد ۱۰ نمونه شسته نشده با پوست، ۸ نمونه شسته شده با پوست و ۷ نمونه بدون پوست بودند. بر اساس تجزیه و تحلیل‌های انجام شده، تقریباً در بیشتر نمونه‌ها مقادیری از سموم مورد بحث موجود

جدول (۴) - میانگین (انحراف استاندارد \pm میانگین) باقی‌مانده سموم دیازینون و کلرپیریفوس در نمونه‌های مختلف سیب‌درختی رقم رد دلشز به روش SPE-HPLC

نوع سم	سیب شسته نشده و با پوست ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	سیب شسته شده و با پوست ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	سیب بدون پوست ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
دیازینون	۰/۶۸ \pm ۰/۰۳a	۰/۳۱ \pm ۰/۰۵b	۰/۰۸ \pm ۰/۰۴c
کلرپیریفوس	۰/۶۸ \pm ۰/۰۳a	۰/۵۴ \pm ۰/۰۶b	۰/۲۴ \pm ۰/۰۴c

a, b, c: حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

بر اساس تجزیه و تحلیل انجام شده، در بیشتر نمونه‌های سیب درختی رقم رد دلشیز منطقه میان‌دوآب مقادیری از سموم مورد مطالعه وجود دارد. هم‌چنین مطابق جدول (۴) بقایای هر دو سم دیازینون و کلرپیریفوس در میوه‌های شسته نشده با پوست بیشتر از میوه‌های شسته شده با پوست و نیز بیشتر از میوه‌های بدون پوست بودند. لازم به ذکر است که تمام این تفاوت‌های مشاهده شده (برای هر دو نوع سم) از لحاظ آماری برای نمونه‌های مختلف سیب معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با توجه به این‌که تمرکز حشره‌کش‌های تماسی و تماسی نفوذی حاوی ترکیبات فسفره اغلب در پوست و بخش‌های سطحی میوه هست، لذا با پوست‌کنی و شستشو، قسمت اعظم حشره‌کش حذف می‌شود.

با توجه به مطالب ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که مقدار باقی مانده سم دیازینون تنها در میوه‌های شسته نشده با پوست بیش از حد مجاز جهانی است ولی میزان باقی مانده سم کلرپیریفوس در هر سه حالت بیش از حد مجاز جهانی است؛ که این مطلب می‌تواند برای سلامت و بهداشت جامعه و صادرات آن مخاطره‌انگیز باشد. علت این مشکل را می‌توان مربوط به مواردی همچون، سم‌پاشی بیش از حد مجاز و در نظر نگرفتن دوره کارنس سم و چیدن میوه قبل از اتمام این دوره دانست. از آنجاکه کلرپیریفوس از ترکیبات فسفره بادوام است تجزیه دیر هنگام آن منجر به تشدید اثرات سمی آن می‌گردد. با توجه به این مسئله که در منطقه میان‌دوآب در مرحله اول سم‌پاشی از سم دیازینون استفاده می‌شود و تا زمان چیدن میوه دوره کارنس این سم رو به اتمام

خواهد بود، بنابراین باقی مانده سم دیازینون در نمونه‌های سیب درختی منطقه کمتر خواهد بود؛ در حالی که سم کلرپیریفوس در آخرین مراحل سم‌پاشی می‌شود و زمان مناسب برای تجزیه شدن را در اختیار نخواهد داشت.

شایان ذکر است نتایج تحقیقات انجام گرفته بر روی واریته‌های سیب گل‌دن و رد نیز مبین این است که مقدار باقی مانده سم کلرپیریفوس در این سیب‌ها بیشتر از حد مجاز جهانی بوده است؛ علت این مشکل را می‌توان مربوط به مواردی همچون: سم‌پاشی بیش از حد مجاز و در نظر نگرفتن دوره کارنس سم و چیدن میوه قبل از اتمام این دوره دانست (Makey Al Agha and Farahani, 2012). نتایج مطالعه‌ای دیگر جهت تعیین میزان بقایای سم دیازینون نیز مبین حد مجاز باقی مانده این سم در چغندر قندهای اصفهان بود؛ که دلیل این امر مصرف بیش از حد سم در این منطقه است (Fakhari et al., 2009). نتایج تحقیقی جهت بررسی میزان باقی مانده حشره‌کش دیازینون در محصول خیار گلخانه‌ای جیرفت، میزان باقی مانده دیازینون را در حد مجاز نشان می‌دهد (Morowati and Azadvar, 2013). با توجه به این‌که در کشت خیار هر ۳ روز یک‌بار چین خیار انجام و محصول جمع‌آوری می‌شود و این محصول به سرعت به بازار عرضه می‌شود تا حالت تازه خود را حفظ کند، بنابراین نمی‌توان از دیازینون به عنوان حشره‌کش مناسبی برای محصول خیار استفاده کرد. هم‌چنین در مطالعه‌ای از مجموع ۲۹ میدان میوه و تره‌بار شهر کرج، ۱۰ میدان میوه و تره‌بار در نقاط مختلف شهر انتخاب و نمونه‌ها بعد از انتخاب اقدام به اندازه‌گیری گردید. داده‌های به دست آمده با حداکثر میزان مجاز بقایای آفت‌کش

بهداشت و سلامت جامعه و صادرات آن جلوگیری به عمل آید. بنابراین راه‌کارهای ذیل جهت کاهش باقی‌مانده سموم در محصولات کشاورزی پیشنهاد می‌شود: استفاده از روش‌های مدیریت تلفیقی در مبارزه با آفات، دادن اطلاعات به کشاورزان در خصوص چگونگی و زمان استفاده از سموم، آموزش کشاورزان در رابطه با عواقب سوء مصرف بی‌رویه سموم، استفاده از تجارب سایر کشورها در روش‌های مبارزه با آفات، نظارت بر تولید، واردات و فروش سموم در داخل کشور، تأسیس آزمایشگاه‌های مجهز برای آنالیز باقی‌مانده آفت‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

مقایسه گردیدند و نتایج نشان داد که ۶ و ۲۰ مورد یعنی ۲۴ و ۸۰ درصد به ترتیب بر اساس کد کس غذایی و ملی برای کلرپیریفوس و ۱۴ مورد یعنی ۵۶ درصد نمونه‌ها بر اساس کد کس غذایی برای دلتامترین دارای آلودگی بیش‌ازحد مجاز بودند (Mohammadi and Imani, 2012). در تحقیقی دیگر میزان باقی‌مانده سم دیازینون در پرتقال تامسون به روش GC/MS اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که در تمامی نمونه‌های به‌دست‌آمده از مناطق مختلف مقداری از سم دیازینون وجود دارد ولی در محدوده طبیعی بودند. محدوده طبیعی برای باقی‌مانده دیازینون در مرکبات بر اساس WHO حداکثر ۰/۰۷ ppm می‌باشد (Shokrzadeh et al., 2013).

یافته‌های مطالعه‌ای در شمال شرق لهستان بر روی سبزیجات براسیکا نشان‌دهنده باقی‌مانده زیاد سم کلرپیریفوس بود (Lozowicka et al., 2012). نتایج تحقیقاتی در کشور برزیل طی سال‌های ۲۰۰۱ تا ۲۰۱۰ بر روی سیب‌درختی ارقام رد دلشز و پایایا، فلفل شیرین و میوه توت‌فرنگی مبین زیاد بودن باقی‌مانده سموم کاربندازیم و کلرپیریفوس در نمونه‌ها بودند (Jardim and Caldas, 2012). نتایج تحقیق حاضر نیز مبین آن است که مقدار باقی‌مانده سم دیازینون در سیب‌های درختی شسته نشده با پوست و میزان باقی‌مانده سم کلرپیریفوس در هر سه حالت: شسته نشده با پوست، شسته شده با پوست و نیز سیب‌های درختی بدون پوست در شهرستان میاندوآب بیش‌ازحد مجاز جهانی است. پس ضرورت دارد که مسئولان و باغداران منطقه توجه ویژه‌ای به مسئله میزان و زمان استفاده از سموم کاربردی داشته باشند تا به این وسیله از به خطر افتادن

منابع

- Bai, y., Zhou, L. and Wang, J. (2006). Organophosphorous pesticide residues in market foods in shanxi area china. *Journal of Food Chemistry*, 98(2): 240-242.
- Christensen, K., Harper, B., Luukinen, B., Buhl, K. and Stone, D. (2009). Chlorpyrifos technical fact sheet, National pesticide information center, Oregon State University Extension Services. Available from: [http://www.npic.orst.edu/fact sheets/ Chlorpotech. Pdf](http://www.npic.orst.edu/fact%20sheets/Chlorpotech.Pdf).
- EPA. (2009). Pesticide Residues in Food. Food and Agriculture organization of the United Nations.
- Fakhari, H., Jalalizand, A.R., Abtahi, M. and Shayaghi, S.M. (2011). Study of Chloropyrifos & Deltamethrin residues in sugar beet in Isfahan province, 2010-2011. *Plant Protection Journal*, 3(1): 27- 36 [In Persian].
- Gallo, M.A. and Lawryk, N.J. (1991). Organic Phosphorus Pesticides. In: *Handbook of Pesticide toxicology Cass of pesticides*, Vol. 2, New York: Academic Press, 917-1123.
- Jardim A.N.O. and Caldas, E.D. (2012). Brazilian monitoring programs of pestiside residue in food – result from 2001 to 2010. *Food Control*, 25(2): 607-616
- Knezevic, Z. and Serdar, M. (2009). Screening of fresh fruit and vegetables for pesticide residues on Croatian market. *Food Control*, 20: 419-422.
- Krol, W.J., Arsenault, T.L., Pylypiw, H.M. and Mattina, M.J.I. (2000). Reduction of pesticide residues on produce by rinsing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4666-4670.
- Lozowicka, B., Jankowska, M. and Kaczynski, P. (2012). Pesticide residues in brassica vegetables and exposure assessment of consumers. *Journal of Food Control*, 25: 561-575.
- Makey Al Agha, M. and farahani, M. (2012). Determination of diazinon and chlorpyrifos pesticide residues in golden and red delicious apples of Damavand area. *Journal of Environmental Studies*, 38(62): 111-116 [In Persian].
- Maliji, Gh., Jorsaraei, S.Gh., Zabihi, E., Fattahi, E., Rezaie, E. and Sohan Faraji, A. (2014). Diazinon alters sex hormones, Interferon-gamma, Interleukin-4 and 10 in male Wistar rats. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 16(1): 22-28 [In Persian].
- Mohammad Shokrzadeh, M., Karami, M., Jafari Valoujaei, M. and Zamani Renani, A. (2013). Measuring Diazinon Residue in Thampson Orange. *Journal of Mazandaran university medical science*, 23(105): 91-99 [In Persian].
- Mohammadi, Sh. and Imani, S. (2012). Deltamethrin and Chloropyrifos residue determination on greenhouse tomato in Karaj by Solid Phase Extraction. *Plant Protection Journal*, 4: 57-66 [In Persian].
- Morowati, M. and Azadvar, M. (2013). Determination of Diazinon residue levels and preharvest intervals in green house Cucumbers in Jiroft. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 2(1): 29-36 [In Persian].
- Ostadi, Y., Yavari, Gh., Shojaei, M., Mirdamadi, S.M. and Imani, S. (2009). Determination of residual insecticide diazinon in greenhouse cucumber supplied to the fruit and vegetable market in Tehran. *Plant Protection Journal*, 1(4): 345-354 [In Persian].
- Padilla, S. (1995). The neurotoxicity of cholinesterase-inhibiting insecticides: past and present evidence demonstrating persistent effects. *Inhalation Toxicology*, 7: 903-907.
- Rakhshani, E. (2010). *The Principles of Toxicology in agriculture (pesticides)*. 3^d edition, comprehensive dictionary publication, Tehran, 376 p. [In Persian].
- Rezvani Moghaddam, P., Ghorbani, R., Kochehi, A.R., Alimoradi, L., Azizi, G. and Siahmergoei, A. (2009). Evaluation of pesticide residues in agricultural products of Iran Case Study: Evaluation of diazinon residue in tomato (*Solanum lycopersicum*), Cucumber (*Cucumis sativus*) and melon (*Cucumis melon*). *Environmental Sciences*, 6(3): 63-72 [In Persian].
- Sarailoo, M.H. (1998). *A Text Book of Insect Toxicology*. Gorgan: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resource, 528 p.

-
- Sedigh Ahmadi, S., Jafari, M., Asgari, A. and Salehi, M. (2012). Acute effect of diazinon on lipid peroxidation level and activities of antioxidant enzymes in rat spleen. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences*, 16(1): 1-9 [In Persian].
 - Svodova, M., Luskova, V., Drastichova, J. and Zlabek, V. (2001). The effect of diazinon on hematological indices of common carp. *Acta veterinaria Brno*, 70: 457-465.
 - Danis, T.G., Karagiozoglou, D.T., Tsakiris, I.N., Alegakis, A.K. and Tsatsakis, A.M. (2011). Evaluation of pesticides residues in Greek peaches during 2002–2007 after the implementation of integrated crop management. *Food Chemistry*, 126(1): 97-103.
 - Torres, C.M., Pico, Y. and Manes, J. (1996). Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. *Journal of Chromatography*, 754: 301-331.
 - Zand, E., Baghestani, M.A., Bitarafan, M. and Shimi, P. (2007). *A Guide line for Herbicides in Iran*. Mashhad, Jahad-e-Daneshgahi Press, 66 p.
 - Zimdahl, R.C. (1999). *Fundamentals of Weed Science*. 2nd edition, San Diego, Academic Press, 586 p.

Survey of Diazinon and Chlorpyrifos Pesticide Residues in the Corp of Apple (Red Delicious Variety) of Miyandoab's Springhouses by Using HPLC-PDA

Shahyan, H.¹, Sheikhloie, H.^{2*}

1. M.Sc. Graduate in Food Engineering, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
2. Assistant Professor of Department of Chemistry and Food Engineering, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran

*Corresponding Author E-mail: H.sheikhloie@iau-maragheh.ac.ir

(Received: 2015/11/10 Accepted: 2017/3/13)

Abstract

In this research to investigate the probable contamination of the apple tree to pesticides that is used by farmers in Miandoab, the residues of Diazinon and Chlorpirifos were investigated in this crop. First, the sampling is carried out by using the simple random sampling method and then, after Solid Phase Extraction (SPE) through High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), the residues of Diazinon and chlorpirifos were measured. So that, the pesticides residues in apples that were washed with skin, without skin and, in peeled apples were measured 0.08, 0.31, 0.68 ppm for Diazinon and 0.24, 0.54, 0.98 ppm for Chlorpirifos, respectively. Comparison of the statistical results with global standards reveals that the residues of Diazinon in Apples with the skin, and the residues of Chlorpirifos in three modes: Unwashed with the skin, washed with the skin and peeled is more than global standards (Diazinon 0.5 ppm and Chlorpirifos 0.01 ppm) Therefore, it is required that the authorities and farmers of this region pay special attention to residues and the time of applying pesticides; thereby, they can prevent endangering health society.

Keywords: Solid Phase Extraction, Pesticide Residues, Diazinon, Chlorpyrifos, High-Performance Liquid Chromatography