

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

حسین شاهیان<sup>۱</sup>، حسین شیخ‌لوئی<sup>۲\*</sup>

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 سیب‌درختی 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. طبق نتایج میزان باقی مانده سموم به 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 ۰/۲۴، ۰/۵۴، ۰/۹۸ ppm برای کلرپیریفوس اندازه‌گیری شد. مقایسه نتایج آماری با استانداردهای جهانی (دیازینون ppm ۰/۵ و کلرپیریفوس ppm ۰/۰۱) 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 بود؛ 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 سیب‌درختی جلوگیری گردد.

**واژه‌های کلیدی:** سیب‌درختی، باقیمانده سموم، دیازینون، کلرپیریفوس، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

## مقدمه

توسعه کشاورزی به‌عنوان عمده‌ترین 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 اکوسیستم‌های طبیعی شده و توازن آن‌ها را برهم زده است. در حقیقت کشاورزی نوعی انحراف از تعادل طبیعی در اکوسیستم است که هدف از آن به‌دست آمدن محصولات خاص می‌باشد؛ اما طبیعت به‌طور مطلق تسلیم این فشارها نشده و تدریجاً نوعی کشش به‌سمت برقراری مجدد تعادل به‌وجود می‌آورد که به‌صورت عوارض ناخواسته‌ای چون آفات و بیماری‌های گیاهی و نیز علف‌های هرز در کشاورزی بروز می‌کند. این همان مسئله‌ای است که بشر از اوایل زندگی کشاورزی خود با آن روبه‌رو بوده و همواره در تلاش است تا تأثیر این عوامل را در محصولات خود به حداقل برساند. همین تلاش‌ها منجر به ایجاد روش‌های مبارزه شیمیایی با آفات شده است که تولید و عرضه سموم مختلف از نتایج آن می‌باشد. به‌طور تقریبی حدود یک‌سوم از محصولات کشاورزی جهان در مراحل داشت و برداشت توسط آفات از بین می‌رود (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، به‌وجود آمدن و شیوع آفات جدید، تأثیر بر روی سایر موجودات زنده و کسانی که در تماس مستقیم با آن‌ها هستند، کاهش تنوع زیستی و

مصرف انرژی‌های مستقیم و غیرمستقیم در تولید و مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی می‌شوند (Zimdahl, 1999; Zand et al., 2007). هم‌چنین تأثیر سوء سموم بر سایر موجودات، مسمومیت‌های ناشی از کاربرد آفت‌کش‌ها در بین افراد و نیز هزینه‌های تولید سموم شیمیایی از مواردی هستند که نیاز به استفاده اصولی و متفکرانه از این مواد را بیشتر نشان می‌دهند (Rakhshani, 2010). اگرچه کاربرد آفت‌کش‌ها در کشاورزی باعث افزایش تولید محصول می‌شود (Krol et al., 2000)؛ ولی امروزه به‌دلیل مشکلات زیست‌محیطی و تبعات ناشی از بقایای سموم در غذای مصرف‌کنندگان، کاهش استفاده از این سموم مورد توجه همگان قرار گرفته است (Torres et al., 1996).

سیب‌درختی از جمله مهم‌ترین محصولات باغی است که سطح بسیار زیادی از این باغات را ارقام رد دلشیز و گلدن دلشیز به خود اختصاص داده‌اند. در باغ‌های سیب آفات و بیماری‌های مختلفی وجود دارد که به‌منظور کنترل هر یک از آن‌ها، از سموم مختلفی استفاده می‌شود؛ به‌طوری‌که در فاصله زمانی اواخر اسفند تا اواخر مردادماه سم‌پاشی برای مبارزه با بیماری‌هایی همچون: سفیدک، شاکر، لکه سیاه و آفاتی هم‌چون کنه قرمز اروپایی، کرم سیب، لیشه سیب، مینوزها، شته‌ها، آفات برگ‌خوار، انجام می‌گیرد؛ که از جمله سموم پرکاربرد بر علیه آفات می‌توان به دیازینون و کلرپیریفوس از گروه ترکیبات فسفره اشاره کرد (Makey Al Agha and Farahani, 2012).

سموم فسفره به کلیه سمومی اطلاق می‌شود که در ساختمان خود دارای اتم فسفر هستند. این گروه پرمصرف‌ترین و مهم‌ترین گروه از سموم به‌کار 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 می‌کند و بعد از ترشح آن تحریک عصبی به آکسون بعدی منتقل می‌شود. برای از بین بردن این ناقل و در نتیجه آماده شدن سیناپس برای انتقال پیام بعدی آنزیم کولین استراز وارد عمل می‌شود.

سموم فسفره با مهار این آنزیم باعث تجمع استیل کولین در محل سیناپس شده و در نتیجه تحریک به طور مستمر ادامه می‌یابد (Padilla, 1995). سمیت پوستی ترکیبات فسفره معمولاً زیاد نیست، اما بعضی سموم نظیر متیل پاراتیون سمیت پوستی زیادی دارند (Rakhshani, 2010). یکی دیگر از مکانیسم‌های ایجاد مسمومیت ارگانوفسفره‌ها تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن است که موجب استرس اکسیداتیو می‌شود. اگر این استرس شدید و طولانی باشد، می‌تواند باعث آسیب‌های جدی سلولی شود (Sedigh Ahmadi et al., 2012). از دیگر عوارض مهم ارگانوفسفره‌ها اثر آنها بر روی هورمون‌های جنسی است. ارگانوفسفره‌ها می‌توانند با تأثیر بر روی غدد درون‌ریز، باعث کاهش ترشح برخی از هورمون‌ها شوند (Maliji, et al., 2014).

در رابطه با بقایای سموم پژوهش‌های بسیاری انجام گرفته که از جمله می‌توان به بررسی باقیمانده آفت‌کش‌های ارگانوفسفره در خوراکی‌های بازار در منطقه شانسکی چین (Bai et al., 2006) اندازه‌گیری سموم دیازینون و کلرپیریفوس بر روی واریته‌های سیب گلدن و رد منطقه دماوند (Makey Al Agha and Farahani, 2012)؛ باقیمانده آفت‌کش‌ها در برزیل طی سال‌های ۲۰۰۱ تا ۲۰۱۰ (Anderia and Eloisa, )

دفع آفات می‌باشند که دارای ویژگی‌هایی همچون اثرات شدید حشره‌کشی و کنه‌کشی، طیف تأثیر وسیع بر آفات مختلف و اثرات سوء ناشی از آن مانند طغیان آفات، داشتن اثر ضربه‌ای 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 می‌باشند (Svodova et al., 2001).

کلرپیریفوس حشره‌کش، نماتدکش، کنه‌کش فسفره آلی با فرمول  $C_9H_{11}Cl_3NO_3P$  است که با نام‌های تجاری دورسبان، لورسبان و دتمول به فروش می‌رسد. این سم در خاک و روی اندام‌های گیاهی مصرف می‌شود. دوره کارنس کلرپیریفوس ۶-۷ روز است و ۴-۲ ماه در خاک دوام دارد (Christensen et al., 2009).

دیازینون حشره‌کشی غیرسیستمیک، ارگانوفسفره و با فرمول  $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$  است که کاربرد گسترده‌ای روی محصولات زراعی و باغی دارد و بر علیه آفات تجاری چون مگس مینوز، کرم سیب و کرم‌های برگ‌خوار توصیه شده است. دیازینون تحت نام‌های تجاری آفلاتوکس، بازودین، دازل، گاردنتوکس، کنوکسوت به فروش می‌رسد (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 می‌تواند دوباره به هوا برگردد (Gallo and Lawryk, 1991).

مهم‌ترین و بارزترین اثر سموم فسفره که باعث ایجاد مسمومیت می‌شود، توانایی آنها در مهار کردن آنزیم حیاتی کولین استراز در سیستم عصبی می‌باشد. در سیستم عصبی دو نوع انتقال عصبی وجود دارد که

واریته‌های رد دلشیز، به روش تصادفی ساده گردید. در زمان انجام آزمایش نمونه‌های تهیه شده به صورت جداگانه با چاقو به قطعات ریز تبدیل شده و باهم کاملاً مخلوط شدند. مقدار ۲۰۰ گرم از هر نمونه به صورت جداگانه به خردکن آزمایشگاهی منتقل شد تا نمونه‌ها کاملاً خرد و یکنواخت گردند. از نمونه‌های همگن شده به صورت 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. مقدار ۲۰ گرم از هر نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر استونیتریل (Merck, Germany)، ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۱۰ میلی‌لیتر متانول (Merck, Germany) مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه توسط شیکر هم‌زده 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 فاز رویی را جدا کرده و با فیلتر (Biofile, Kanada) با قطر 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 C<sub>18</sub> (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, Germany)، ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه و در نهایت ۵

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 عرضه شده در سطح میادین میوه و تره‌بار شهر تهران (Ostadi et al., 2009) اشاره کرد.

با توجه به گرم‌تر شدن هوا در منطقه آذربایجان طی سال‌های اخیر و به تبع آن شیوع آفات و بیماری‌های مختلف و افزایش دفعات سم‌پاشی نیز افزایش یافته است. دیازینون و کلرپیریفوس از جمله سموم پرکاربرد در منطقه میاندوآب برای مبارزه با آفات محصول سیب درختی می‌باشند. در پژوهش حاضر میزان باقی‌مانده این سموم در سیب درختی رقم رد دلشیز 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

به منظور تهیه نمونه در آبان ماه سال ۱۳۹۴ به سردخانه‌های موجود در شهرستان میاندوآب مراجعه و اقدام به تهیه ۲۵ نمونه یک کیلویی سیب درختی از

کلرپیریئوس 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).

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 شویس 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 C<sub>18</sub>، فاز متحرک مخلوط ۷۰ درصد استونیتریل-۳۰ درصد آب دیونیزه و طول موج دتکتور فوتودیود اری ۲۵۶ نانومتر است.

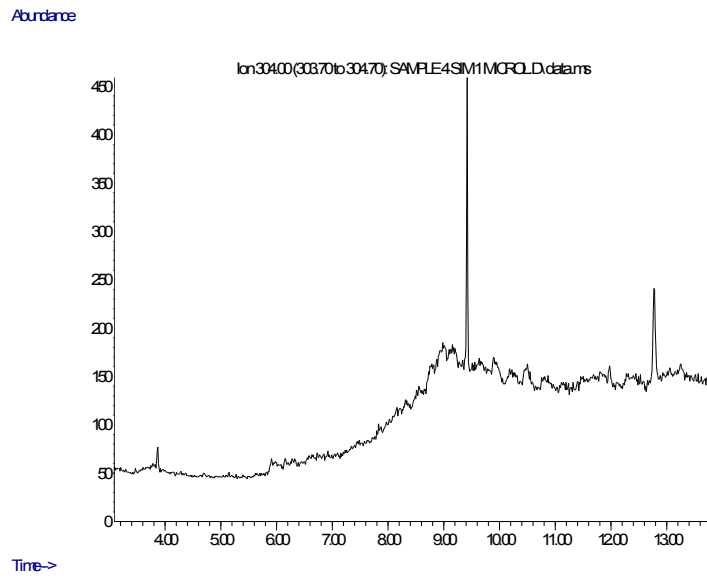
#### - تجزیه و تحلیل آماری

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.

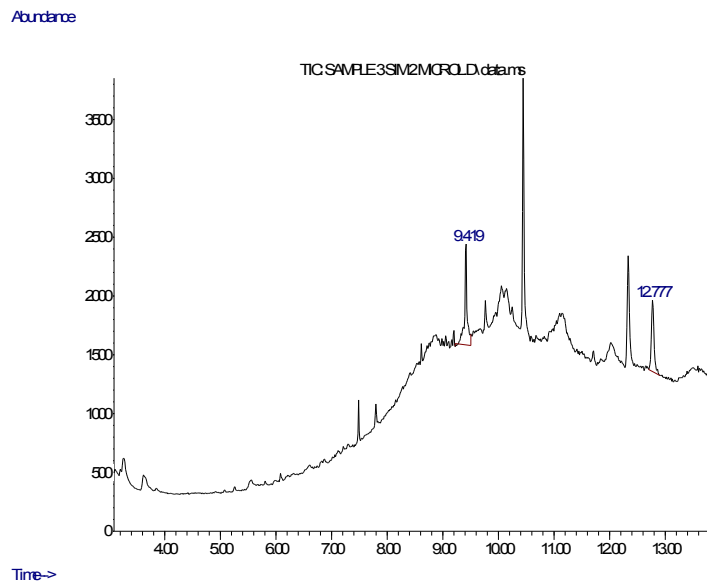
#### یافته‌ها

##### - کروماتوگرام استاندارد

برای تعیین کروماتوگرام استاندارد دیازینون و کلرپیریئوس محلول استاندارد سموم دیازینون و



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



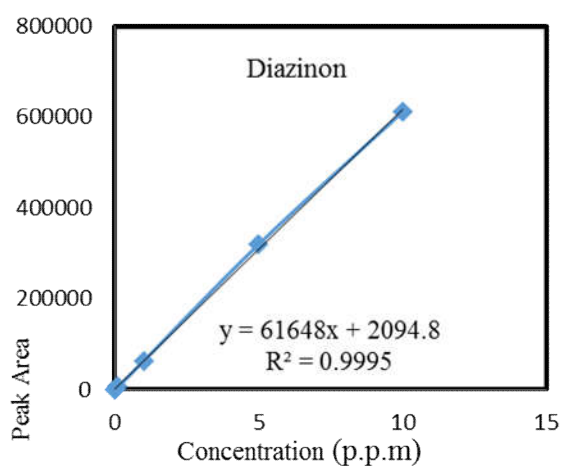
شکل (۲) - نمونه‌ای از کروماتوگرام دیازینون و کلریپروفوس در روش SPE-HPLC

### - نمودار کالیبراسیون

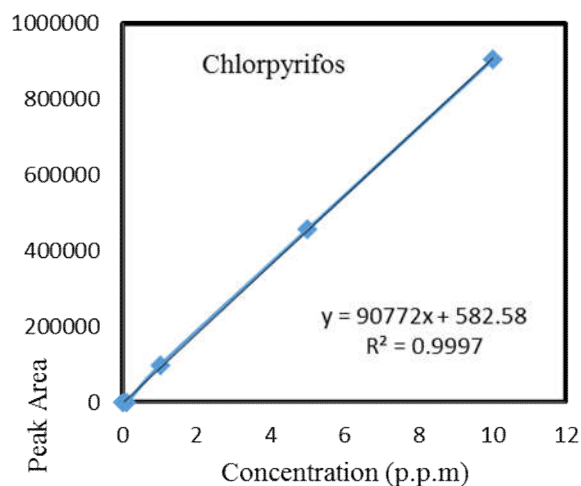
ابتدا چند محلول با غلظت‌های کاملاً دقیق از گونه مورد آنالیز تهیه کرده و به سیستم تزریق می‌شود و نمودار پاسخ سیستم در مقابل غلظت گونه رسم می‌شود. نمودار حاصل نمودار کالیبراسیون خوانده می‌شود.

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 نرم‌افزار اکسل (Excel, 2013) انجام شد.

می‌شود (شکل ۳ و ۴) بیشترین و کمترین غلظت‌های به‌کاربرده شده از استاندارد، دامنه خطی بودن پاسخ آشکارساز را معین می‌کند (جدول ۳) میزان خطی بودن نمودار کالیبراسیون با کمیتی بنام ضریب تصحیح ( $r^2$ ) سنجیده می‌شود (جدول ۳). 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

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

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 قابل اعتماد و صحیح است.

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

نمونه	غلظت دیازینون	مقدار اضافه‌شده	مقدار یافت شده	درصد بازیابی
نمونه ۱	$0.41 \pm 0.31b^*$	۱	$1.38 \pm 0.052$	۹۲/۶۸
نمونه ۲	$0.48 \pm 0.62a$	۱	$1.37 \pm 0.012$	۷۷/۰۸
نمونه ۳	$0.37 \pm 0.12c$	۱	$1.35 \pm 0.044$	۹۴/۵۹
نمونه ۴	$0.35 \pm 0.20d$	۱	$1.36 \pm 0.021$	۱۰۲/۸۵
نمونه ۵	$0.35 \pm 0.42d$	۱	$1.31 \pm 0.019$	۸۸/۵۷

\* انحراف استاندارد  $\pm$  میانگین<sup>d,c,b,a</sup> حروف لاتین متفاوت در ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).جدول (۲)- مطالعه بازیابی استخراج کلرپیریفوس ( $\mu\text{g/ml}$ ) از سیب‌درختی به روش HPLC -SPE

نمونه	غلظت کلرپیریفوس	مقدار اضافه‌شده	مقدار یافت شده	درصد بازیابی
نمونه ۱	$0.81 \pm 0.42e^*$	۱	$1.78 \pm 0.035$	۹۶/۲۹
نمونه ۲	$0.88 \pm 0.39d$	۱	$1.72 \pm 0.042$	۸۱/۸۱
نمونه ۳	$0.94 \pm 0.41c$	۱	$1.86 \pm 0.064$	۹۱/۴۸
نمونه ۴	$1.02 \pm 0.62b$	۱	$1.98 \pm 0.058$	۹۶/۰۷
نمونه ۵	$1.08 \pm 0.52a$	۱	$2.11 \pm 0.056$	۱۰۲/۷۸

\* انحراف استاندارد  $\pm$  میانگین<sup>e,d,c,b,a</sup> حروف لاتین متفاوت در ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

## - ارقام شایستگی روش SPE-HPLC

برای کنترل پاسخ دتکتور 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 انجام‌شده مطابق جدول (۳) بود. تکرارپذیری انحراف استاندارد نسبی برای دیازینون ۳/۲۴ درصد و برای کلرپیریفوس ۲/۸۸ درصد بود که



همسویی دارد و نشان می‌دهد که روش برنامه‌ریزی شده از دقت کافی برخوردار است (جدول ۳).

با تکرارپذیری انحراف استاندارد نسبی تعیین شده توسط اتحادیه اروپا (کمتر از ۲۰ درصد) به‌عنوان یکی از معیارهای روش‌های تجزیه آزمایشگاهی متناسب،

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

آنالیت	ضریب همبستگی (R <sup>2</sup> )	انحراف استاندارد نسبی <sup>۱</sup> (%)	محدوده خطی (µg/ml)	حد تشخیص <sup>۲</sup> (µg/ml)	حد تعیین <sup>۳</sup> (µg/ml)
دیازینون	۰/۹۹۹۵	۳/۲۴	۰/۰۰۵-۱۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱۵
کلرپیریفوس	۰/۹۹۹۷	۲/۸۸	۰/۰۰۲-۱۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷

<sup>۱</sup> انحراف استاندارد نسبی (%RSD)

<sup>۲</sup> حد تشخیص (LOD) به‌صورت 3S/N محاسبه شده است.

<sup>۳</sup> حد تعیین (LOQ) به‌صورت 10S/N محاسبه شده است.

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 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 است. میزان

جدول (۴) - میانگین (انحراف استاندارد ± 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 (µg/ml)	سیب شسته شده و با پوست (µg/ml)	سیب بدون پوست (µg/ml)
دیازینون	۰/۶۸±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۳۱±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۴ <sup>c</sup>
کلرپیریفوس	۰/۶۸±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۵۴±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۰/۲۴±۰/۰۴ <sup>c</sup>

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

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

## بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس تجزیه و تحلیل انجام شده، در بیشتر نمونه‌های سیب‌درختی رقم رد دلشز منطقه میاندوآب

باقی‌مانده 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 کانس 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 باقی‌مانده این سم در چغندرقله‌های اصفهان بود؛ که دلیل این امر مصرف بیش‌ازحد سم در این منطقه است (Fakhari et al., 2009) نتایج تحقیقی جهت بررسی میزان باقی‌مانده حشره‌کش دیازینون در محصول خیار گلخانه‌ای جیرفت، میزان باقی‌مانده 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 به‌سرعت به بازار عرضه می‌شود تا حالت تازه خود را حفظ کند، بنابراین نمی‌توان از دیازینون به‌عنوان 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 به‌دست‌آمده با حداکثر میزان مجاز بقایای آفت‌کش 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

بدون پوست بودند. لازم به ذکر است که تمام این تفاوت‌های مشاهده‌شده (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 ذکرشده می‌توان نتیجه گرفت که مقدار باقی‌مانده سم دیازینون تنها در میوه‌های شسته نشده با پوست بیش از حد مجاز جهانی است ولی میزان باقی‌مانده سم کلرپیریفوس در هر سه حالت بیش‌ازحد 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 آن‌جا که 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 باقی‌مانده سم دیازینون در نمونه‌های سیب درختی منطقه کمتر خواهد بود؛ درحالی‌که 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 وارسته‌های سیب گلدن و رد نیز مبین این است که مقدار

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.

اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که در تمامی نمونه‌های به‌دست آمده 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 پاپایا، 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 بیش از حد 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 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

## 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 at: [http://www.npic.orst.edu/fact\\_sheets/Chlorprtech.pdf](http://www.npic.orst.edu/fact_sheets/Chlorprtech.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 pesticide residues 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<sup>rd</sup> Edition, Comprehensive Dictionary Publication, Tehran, p. 376. [In Persian]
- Rezvani Moghaddam, P., Ghorbani, R., Kocheiki, 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, p. 528

- 
- 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, p. 66.
  - Zimdahl, R.C. (1999). *Fundamentals of Weed Science*. 2<sup>nd</sup> edition, San Diego, Academic Press, p. 586.

## Survey of Diazinon and Chlorpyrifos residues in apple (Red Delicious Variety) of Miyandoab Springhouses using HPLC-PDA

Shahyan, H.<sup>1</sup>, Sheikhloie, H.<sup>2\*</sup>

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's email: h.sheikhloie@iau-maragheh.ac.ir

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

### Abstract

The aim of this survey was to determine the probable contamination of apple to Diazinon and Chlorpyrifos pesticides used by the farmers in Miyandoab area. The sampling was carried out using simple random sampling method and after Solid Phase Extraction (SPE), the residues of Diazinon and Chlorpyrifos were measured through the High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). According to the results the pesticides residues in the unwashed unpeeled, washed unpeeled and peeled apple samples were 0.08, 0.31, 0.68 ppm for Diazinon and 0.24, 0.54, 0.98 ppm for Chlorpyrifos, respectively. Comparison of the achieved data with the international standards (0.5 ppm for Diazinon and 0.01 ppm for Chlorpyrifos) revealed that the residues of Diazinon in the unpeeled samples, Chlorpyrifos in all three modes (unwashed unpeeled, washed unpeeled and peeled apples) were found over the international standards. Based on results, it is required that the authorities and farmers pay special attention to residues and the time of applying pesticides; thereby, they can prevent endangering health society.

**Conflict of Interest:** None declared.

**Keywords:** Solid Phase Extraction, Pesticide Residues, Diazinon, Chlorpyrifos, HPLC