

## 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 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 باقی مانده 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  $0/08$  ppm،  $0/31$  و  $0/68$  برای دیازینون و  $0/24$ ،  $0/54$ ،  $0/98$  ppm برای کلرپیریفوس اندازه‌گیری شد. مقایسه نتایج آماری با استانداردهای جهانی (دیازینون  $0/5$  ppm و کلرپیریفوس  $0/01$  ppm) 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 سیب درختی جلوگیری گردد.

**واژه‌های کلیدی:** سیب درختی، 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).

سیب درختی 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 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 آن ها 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 شانسکی چین (Bai et al., 2006) اندازه گیری سموم دیازینون و کلرپیرفوس 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, 2011).

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).

کلرپیرفوس 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 کلرپیرفوس ۶-۷ روز است و ۴-۲ ماه در خاک دوام دارد (Christensen et al., 2009).

دیازینون حشره کشی غیرسیستمیک، ارگانوفسفره و 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 آن ها 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 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 میلی لیتر استونیتریل (Merck, Germany)، ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه و ۱۰ میلی لیتر 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 میلی لیتر، ۵۰۰ میلی گرم) (Macherey-nagel, Germany) استفاده شد. ابتدا برای هر نمونه یک کارتریج جداگانه در نظر گرفته و به ترتیب ۱۰ میلی لیتر هگزان نرمال (Merck, Germany)، ۵ میلی لیتر آب دیونیزه و در نهایت

(2012)؛ بررسی بقایای سموم کاربردی کلرپیریفوس و دل تام‌ترین در چغندرقله‌های استان اصفهان (Fakhari et al., 2011)؛ میزان باقی مانده سموم در شمال یونان و مقدونیه بر روی هلو (Danis et al., 2011)؛ بررسی میزان باقی مانده حشره کش 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 باقی مانده حشره کش دیازینون در محصول خیار گلخانه‌ای عرضه شده در سطح میدین 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 باقی مانده این سموم در سیب درختی 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

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

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).

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 فتودیوداری (PDA)، ستون از نوع  $C_{18}$ ، فاز متحرک مخلوط ۷۰ درصد استونیتریل-۳۰ درصد آب دیونیزه و طول‌موج دتکتور فوتودیوداری ۲۵۶ نانومتر است.

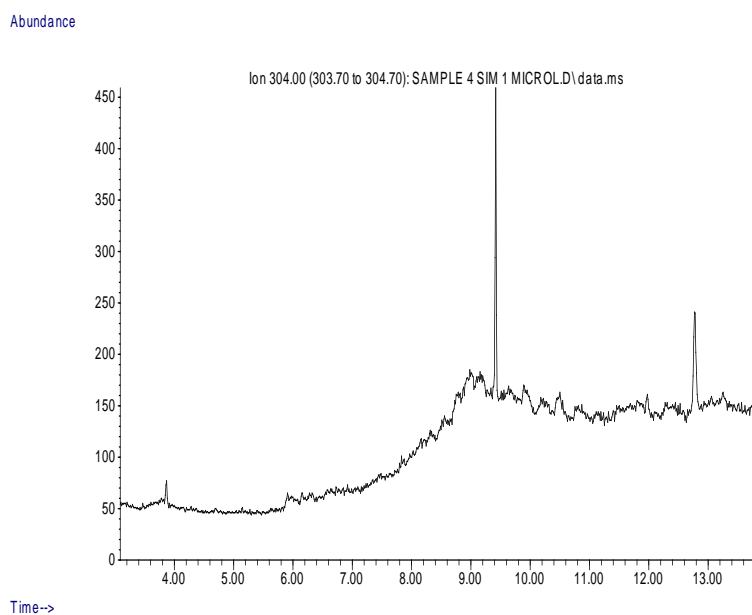
#### - تجزیه و تحلیل آماری

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.

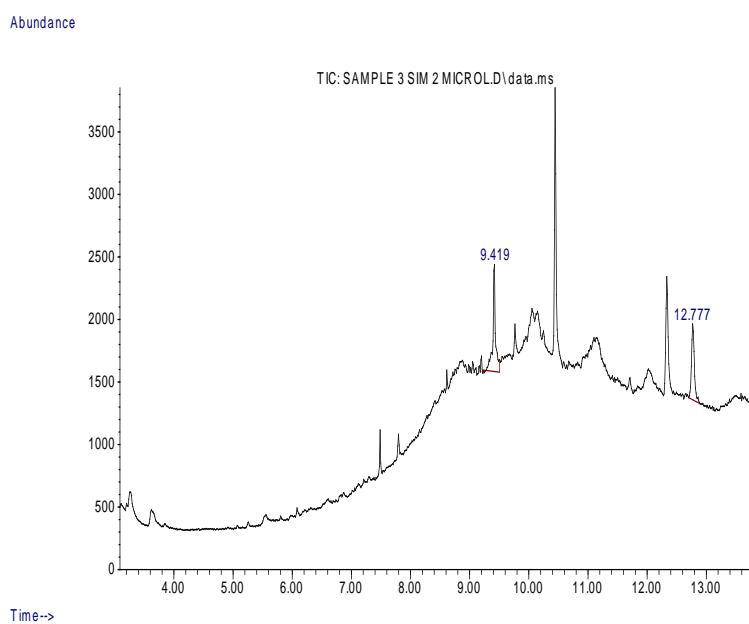
#### یافته‌ها

##### - کروماتوگرام استاندارد

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



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

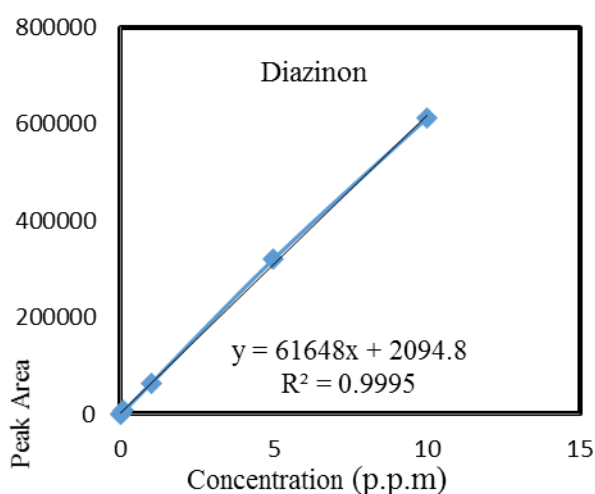
#### - نمودار کالیبراسیون

نمودار پاسخ سیستم در مقابل غلظت گونه رسم می‌شود. نمودار حاصل نمودار کالیبراسیون خواننده

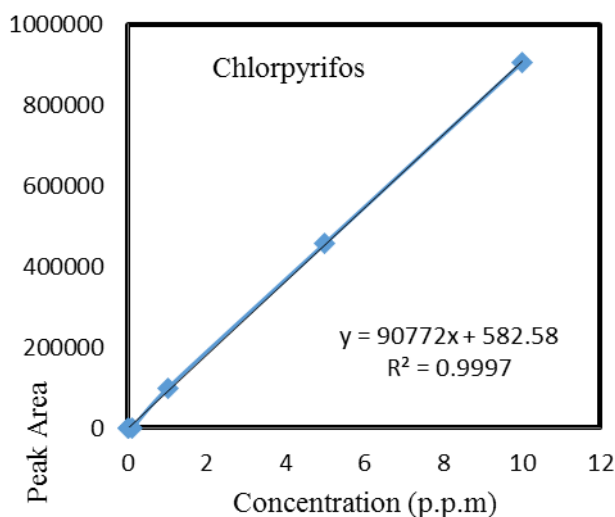
ابتدا چند محلول با غلظت‌های کاملاً دقیق از گونه مورد آنالیز تهیه کرده و به سیستم تزریق می‌شود و

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 کمیته بنام ضریب تصحیح ( $r^2$ ) سنجیده می‌شود (جدول ۳). برای آنالیزهای ویژه این مقدار نباید کوچک‌تر از ۰/۹۹۵ باشد. با استفاده از

معادله خط به‌دست 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.



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



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

## - آزمایش بازیافت

سیب درختی 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.

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 ( $\mu\text{g/ml}$ ) از سیب درختی به روش SPE-HPLC

نمونه	غلظت دیازینون	مقدار اضافه شده	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>a, b, c, d</sup> حروف لاتین متفاوت در ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).جدول (۲)- مطالعه بازیابی استخراج کلرپیریفوس ( $\mu\text{g/ml}$ ) از سیب درختی به روش HPLC -SPE

نمونه	غلظت کلرپیریفوس	مقدار اضافه شده	مقدار یافت شده	درصد بازیابی
نمونه ۱	$0.81 \pm 0.43^{e^*}$	۱	$1.78 \pm 0.035$	۹۶/۲۹
نمونه ۲	$0.88 \pm 0.39^d$	۱	$1.72 \pm 0.042$	۸۱/۸۱
نمونه ۳	$0.94 \pm 0.41^c$	۱	$1.86 \pm 0.064$	۹۱/۴۸
نمونه ۴	$1.02 \pm 0.62^b$	۱	$1.98 \pm 0.058$	۹۶/۰۷
نمونه ۵	$1.08 \pm 0.53^a$	۱	$2.11 \pm 0.056$	۱۰۲/۷۸

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

## - ارقام شایستگی روش SPE-HPLC

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

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



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.

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

از میان ۲۵ نمونه سیب درختی رقم رد دلشیز 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. براساس تجزیه و تحلیل‌های انجام شده، تقریباً در بیشتر نمونه‌ها مقادیری از سموم مورد بحث موجود است. میزان استاندارد

جدول (۴) - میانگین (انحراف استاندارد ± میانگین) باقی‌مانده سموم دیازینون و کلرپیریفوس در نمونه‌های مختلف سیب درختی رقم رد دلشیز 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 و c: حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

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 به‌ذکر است که تمام این

## بحث و نتیجه‌گیری

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

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 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 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 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 واریته‌های سیب گلدن و رد نیز مبین این است که مقدار 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 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 باقی‌مانده 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 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 به‌دست آمده 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 کدکس غذایی و ملی برای کلرپیریفوس و ۱۴ مورد یعنی درصد نمونه‌ها بر اساس کدکس غذایی برای دلتامترین دارای آلودگی بیش از حد 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

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.

به‌دست آمده از مناطق مختلف مقداری از سم دیازینون وجود دارد ولی در محدوده طبیعی بودند. محدوده طبیعی برای باقی‌مانده دیازینون در مرکبات براساس 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 سیب درختی ارقام رد دلشیز 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 از تجارب سایر کشورها در روش‌های

## 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/Chlorpotech.pdf](http://www.npic.orst.edu/fact_sheets/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 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 Thompson 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 D X W K R U I N V 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