فصلنامه گیاه‌پزشکی
۱۳۹۱-۴ : ۵۹-۶۸

اندازه گیری باقیمانده سموم کلرپیریفوس و دلتامترین در گوجه فرنگی‌های گلخانه‌ای کرج به روش استخراج با فاز جامد

شهرزاد محمدی*، سهراب ایمانی
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه حشره‌شناسی، تهران، ایران

چکیده

با توجه به کاربرد فراوان سموم کشاورزی، موضوع سموم و بررسی باقیمانده غیر مجاز آنها روی محصولات برداشت شده از اهمیت خاصی برخوردار است. به این منظور باید مطالعات گسترده و متعددی روی محصولات کشاورزی صورت گیرد تا از ورود نمونه‌های آلوده به چرخه مصرف جلوگیری شود. در این مطالعه از مجموع ۲۹ میدان میوه و تره بار شهر کرج، ۱۰ میدان میوه و تره بار در نقاط مختلف شهر انتخاب و ۲۵ نمونه کاملاً تصادفی به وزن ۲ کیلوگرم برای هر نمونه جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه با روش فاز جامد Solid Phase Extraction (SPE) استخراج و به کمک جریان ازت تغلیظ گردیدند. اندازه‌گیری عصاره‌های نهایی برای میزان باقیمانده توسط دستگاه‌های High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)، Gas Chromatograph/NPD (GC/NPD) Gas/Mass Spectrometer (GC/MS) صورت گرفت. داده‌های بدست آمده با حداکثر میزان مجاز بقایای آفت‌کش Maximum Residue Limit (MRL) کدکس غذایی و ملی مقایسه گردیدند و نتایج نشان داد که ۶ و۲۰ مورد یعنی ۲۴ و ۸۰ درصد به ترتیب براساس کدکس غذایی و ملی برای کلرپیریفوس و ۱۴ مورد یعنی ۵۶ درصد نمونه ها براساس کدکس غذایی برای دلتامترین دارای آلودگی بیش از حد مجاز بودند.

واژه‌های کلیدی: باقیمانده آفت‌کش، حداکثر حد مجاز، استخراج فاز جامد، کلرپیریفوس، دلتامترین

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Alborz_0261@yahoo.com

مقدمه

یکی از محصولاتی که در سال‌های اخیر کشت آن در گلخانه‌ها مرسوم گشته گوجه‌فرنگی می‌باشد. کشاورزان در طول کشت این محصول همواره با آفات بسیاری مواجه می‌باشند و لذا مهمترین دغدغه آنها کنترل خسارت این آفات است که از روش‌های مختلف کنترل از جمله مکانیکی، بیولوژیک و شیمیایی استفاده می‌کنند. با توجه به اینکه امروزه روش مبارزه شیمیایی بسیار متداول است (Krol *et al.*, 2000) همراه با مصرف بی‌رویه سموم در محصولات مختلف و نیز عدم رعایت دوره کارنس، احتمال بر جا ماندن بقایای ناخواسته و مضر سموم بسیار زیاد است. امروزه مطالعات زیادی در خصوص اندازه‌گیری بقایای سموم در ایران و جهان صورت گرفته و می‌گیرد (Abbassy, 1997; Imani, 2004; Wong, 2004). این موضوع در سبزیجات و میوه‌جاتی که به صورت خام مصرف می‌شوند بیشتر مطرح است و می‌تواند سبب ایجاد مسمومیت‌های حاد و مزمن و ... شود (Ahmed *et al.*, 2001; Dejonckheere *et al.*, 1996) این مساله در مورد گلخانه‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. زیرا شرایط بسته گلخانه‌ها فراریت آفت‌کش‌ها را تحت تاثیر قرار داده و شیشه‌ها و پلاستیک‌های به کار رفته در سقف و دیوارهای گلخانه موجب ممانعت از رسیدن طول موج‌های موثر در تجزیه نوری آفت‌کش‌ها می‌شود و روند تجزیه آفت‌کش‌ها را در مقایسه با شرایط مزرعه کاهش می‌دهد در نتیجه امکان دارد که بقایای آفت‌کش‌ها در محصولات گلخانه‌ای بیشتر از شرایط باز مزرعه باشد (Rafiei *et al.*, 2008; Sadlo, 2000). گوجه‌فرنگی یکی از محصولاتی است که علاوه بر مزرعه در گلخانه‌ها به صورت وسیع کشت و تولید می‌گردد و از آنجا که این محصول اغلب به شکل تازه و خام مصرف می‌شود وجود بقایای احتمالی سموم در آنها می‌تواند بسیار نگران کننده باشد (Aysal *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 1996). با توجه به اینکه مصرف نمونه‌های آلوده می‌تواند باعث ورود مقادیر زیادی آفت‌کش به بدن انسان شود، بقایای دو حشره‌کش پر مصرف کلروپیریفوس و دلتامترین در نمونه‌هایی از این محصول در شهرستان کرج بررسی شد.

مواد و روش ها

۱۰ میدان میوه و تره بار از مجموع ۲۹ میدان فروش میوه شهر کرج برای نمونه‌برداری انتخاب شدند و تعداد ۲۵ نمونه گوجه‌فرنگی بصورت کاملاً تصادفی از میادین فوق تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید (وزن تقریبی هر نمونه ۲ کیلوگرم بود).

نمونه‌های تهیه شده با چاقو به قطعات ریز تقسیم شده و پس از مخلوط شدن، ۲۰۰ گرم برای عملیات استخراج جدا گردید و پس از پالپ کردن با مخلوط‌کن، ۲۰ گرم برای اندازه گیری باقیمانده آفت‌کش جدا شد و با ۱۰ میلی‌لیتر استونیتریل، ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونایزر و ۱۰ میلی لیتر متانول به خوبی به کمک شکر به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد و سپس این

مخلوط را در بشر ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد پس از سانتریفوژ نمودن با دور ۳۰۰۰ – ۲۰۰۰ در دقیقه عصاره رویی را جدا کرده سپس آن را با فیلتر میکرولیتری صاف نموده و pH آن به کمک دستگاه pH متر اندازه گیری شد pH درحدود ۴/۵ یعنی درمحدوده قابل قبول بود. مرحله بعد جداسازی آنالیت از عصاره و تصفیه آن است برای این مرحله می‌بایست از کارتریج های فاز جامد استفاده شود با توجه به ویژگی‌های سموم مورد مطالعه از کارتریج‌های فاز جامد نوع C_{18} استفاده شد.

در ابتدا برای هر نمونه یک کارتریج بطور جداگانه در نظر گرفته، ۱۰ میلی‌لیتر هگزان نرمال و سپس ۵ میلی‌لیتر آب دیونایزر و در نهایت ۵ میلی‌لیتر متانول به ترتیب و به آرامی از ستون‌ها عبور داده شد وقتی که سطح متانول در ستون به سطح جاذب رسید عصاره ای که از قبل آماده شده بود را وارد ستون‌ها کرده و از آن عبور داده شد و سپس آنالیت مورد نظر به کمک ۵ میلی‌لیتر اتیل استات از ستون شسته و جمع‌آوری گردید. عصاره‌های به دست آمده برای اندازه‌گیری و تزریق به دستگاه‌های GC/NPD، GC/MS و HPLC در یخچال نگه‌داری شدند برای کنترل جداسازی آفت‌کش در یک مرحله اضافه پس از شستشوی ستون توسط اتیل استات ۵ میلی لیتر هگزان نرمال از کارتریج عبور داده شد و عصاره خروجی جمع‌آوری و شماره ۲ نامیده شد و برای کنترل وجود آفت‌کش برخی از آنها تست گردیدند.

شرایط دستگاه HPLC

نوع دستگاه ایزوکراتیک با دتکتور UV و ستون C18، فاز متحرک مخلوط ۳۰/۷۰ استونیتریل/آب دیونایزر و تزریق به حجم ۲۵ میکرولیتر در دمای محیط (حدود ۲۵ درجه سلسیوس) انجام شد.

شرایط دستگاه GC

ستون کاپیلاری HP-5- دتکتور از نوع NPD- دمای انژکتور ۲۰۰ درجه سلسیوس - دمای دتکتور۲۶۰ درجه سلسیوس و حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر.

برنامه دمایی دستگاه GC

دمای شروع ۸۰ درجه سلسیوس با شیب ۱۰ درجه سلسیوس بر دقیقه تا دمای۱۶۰ درجه سلسیوس سپس با شیب ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه تا ۲۶۰ درجه سلسیوس و ۵ دقیقه نگه داشتن در دمای ۲۶۰ درجه سلسیوس.

شرایط دستگاه GC/MS

ستون کاپیلاری HP-5 بطول ۳۰ متر- دمای انژکتور ۲۲۰ درجه سلسیوس - دمای دتکتور ۱۶۰ درجه سلسیوس، حجم تزریق ۱ میکرولیتر.

برنامه دمایی دستگاه GC/MS

دمای شروع ۸۰ درجه سلسیوس با شیب ۲۰ درجه سلسیوس بر دقیقه تا دمای ۱۶۰ درجه سلسیوس سپس با شیب ۱۰ درجه سلسیوس بر دقیقه تا ۲۱۰ درجه سلسیوس و در شیب نهایی با ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه به ۲۶۰ درجه سلسیوس رسانده شد و به مدت ۲ دقیقه در این دما نگه داشته شد.

آزمایش بازیافت (Recovery) به منظور کالیبراسیون دستگاهی و اندازه‌گیری‌های کمی در دو غلظت و چهار تکرار برای هر غلظت اجرا شد. برای انجام این آزمایش تعدادی بوته گوجه‌فرنگی در یک گلخانه جداگانه پرورش داده شد و بدون سم‌پاشی تا زمان آزمایش‌ها نگهداری گردیدند همچنین استانداردهای سموم مورد مطالعه از شرکت سیگما تهیه شد و به نمونه‌های مذکور اضافه شد تا غلظت در نمونه‌ها جداگانه به ۰/۲ ppm و ۲ برسد و سپس استخراج این نمونه‌ها مشابه نمونه‌های مجهول انجام شد و پس از تهیه عصاره نهایی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت تا نسبت درصد بازیافت تعیین شود و غلظت‌های مختلف از آنها (ppm ۱۰۰۰ - ۱۰۰ - ۱۰ - ۱ - ۰/۱ - ۰/۰۱) تهیه و به دستگاه‌های مورد مطالعه تزریق شد (بکار بردن غلظت ۱۰۰۰ppm به علت نزدیک بودن احتمالی به نهشت (Deposit) سم پس از سم‌پاشی می‌باشد) و داده‌ها برای رسم منحنی کالیبراسیون و ارزیابی پاسخ دتکتور مورد استفاده قرار گرفتند.

نتیجه گیری و بحث

میانگین درصد بازیافت برای سم کلرپیریفوس ۱۰۱٪ و برای سم دلتامترین ۹۴٪ محاسبه گردید. میزان درصد بازیافت سموم کلرپیریفوس و دلتامترین در روش SPE بالا بود در نتیجه روش مناسبی می باشد.

جدول ۱- نتایج آزمایش های بازیافت در دو سطح ۲ و ۰/۲ ppm برای آفت کش های کلرپیریفوس و دلتامترین در گوجه فرنگی، کرج

Table 1. The results of recovery tests in levels 2 and 0.2 ppm for Chlorpyrifos and Deltamethrin pesticides in tomato, Karaj

Pesticide	Concentration of standard(ppm)	Recovery percent average	Total average
Chlopyrifos	0/2	104%	101%
	2	98%	
Deltamethrin	0/2	91%	94%
	2	97%	

پس از مقایسه میزان آلودگی در نمونه‌های اخذ شده از بازار با MRL کدکس غذایی و ملی مشاهده شد که در برخی از آنها آلودگی بالاتر از حد مجاز است. از آنجایی که MRL ملی برای

دلتامترین روی محصول گوجه‌فرنگی تصویب نشده است و همچنین برای کلرپیریفوس سال‌های اولیه تدوین را سپری می کند، از MRL کدکس غذایی نیز بهره گرفته شد.

جدول۲- نتایج حاصل از نمونه های بازاری تهیه شده برای سم دلتامترین در گوجه فرنگی، کرج

Table 2. The results of prepared market samples for Deltamethrin pesticide in tomato, Karaj

sample	The average of measured eltamethrin (ppm)D	Contamination considering the Codex Alimentarius MRL[1]
1	0.27	–
2	0.44	*
3	1.21	*
4	0.82	*
5	0.004	–
6	0.83	*
7	0.35	*
8	0.19	–
9	0.67	*
10	0.62	*
11	0.021	–
12	0.88	*
13	0.53	*
14	0.077	–
15	0.038	–
16	0.45	*
17	1.53	*
18	0.15	–
19	0.19	–
20	0.27	–
21	0.79	*
22	0.081	–
23	0.093	–
24	1.01	*
25	0.44	*

[1] MRL کدکس غذایی کدکس غذایی 0.3 ppm می باشد (۲۰۱۰).

جدول۳- نتایج حاصل از نمونه های بازاری تهیه شده برای سم کلرپیریفوس در گوجه فرنگی، کرج

Table3. The results of prepared market samples for Chlopyrifos pesticide in tomato, Karaj

sample	The average of measured Chlopyrifos(ppm)	Contamination considering the Codex Alimentarius MRL[۲]	Contamination considering the National MRL[۱]
1	0.55	❋	❋
2	1.18	❋	❋
3	0.24	_	❋
4	0.3	_	❋
5	0.26	_	❋
6	0.99	❋	❋
7	0.41	_	❋
8	0.28	_	❋
9	0.25	_	❋
10	0.27	_	❋
11	1.26	❋	❋
12	0.09	_	_
13	0.26	_	❋
14	0.42	_	❋
15	0.51	❋	❋
16	0.16	_	❋
17	0.35	_	❋
18	0.46	_	❋
19	1.12	*	❋
20	0.22	_	❋
21	0.048	_	_
22	0.019	_	_
23	0.075	_	_
24	0.38	_	❋
25	0.028	_	_

همانطور که در جدول‌های بالا مشاهده می‌شود و پس از مقایسه با MRL کدکس غذایی و ملی مشخص شد که از ۲۵ نمونه تهیه شده از بازار ۱۴ مورد (۵۶٪) برای سم دلتامترین ۶ و ۲۰ مورد (۲۴٪ و ۸۰٪) برای سم کلرپیریفوس دارای آلودگی بیش از حد مجاز بودند. بر اساس تزریق غلظت‌های مختلف منحنی استاندارد رسم گردید و معادله خط مربوطه برای

[۱] MRL کدکس ملی 0.1 ppm می باشد (۱۳۸۹).

[۲] MRL کدکس غذایی 0.5 ppm می باشد (WHO/FAO, 2010).

دلتامترین Y= 2848/45x + 15172/74 و برای کلرپیریفوس Y= 5.065.56x بدست آمد. ضریب R^2، R برای دلتامترین 0.913 و 0.834 و برای کلرپیریفوس 0.993 و 0.987 محاسبه شد. همچنین حد تشخیص دستگاه‌های مزبور (Limit Of Detection) LOD به صورت زیر بود:

HPLC: ۰/۰۵ ppm

GC/NPD: ۰/۰۰۱ ppm

GC/MS: ۰/۰۷ ppm

نگاهی به جدول‌های اطلاعات مربوط به نمونه‌های گوجه‌فرنگی تهیه شده از میادین میوه و تره بار نشان می‌دهد مقدار آلودگی در بعضی از موارد بیش از حد مجاز می‌باشد که این موضوع نشانه عدم آگاهی کشاورز و تولید کننده از نحوه و زمان کاربرد سموم و همچنین عدم اطلاع از عوارضی است که در اثر عرضه محصول آلوده در جامعه و مردم ایجاد می نماید (Ipcs, 1988; Motamedzadegan, 2006; Thapar, 1995). لذا ارتقا سطح آگاهی کشاورزان از نظر نوع آفت کش مصرفی برای هر محصول، دز مصرف و رعایت دوره کارنس به منظور کاهش خطرات جذب آفت کش در جامعه توصیه می شود.(Shokrzade *et al.*, 2005). از طرفی نظارت مستمر و دقیق کارشناسان مجرب بر فعالیت سم پاشی و نوع آفت‌کش مصرفی روی محصولات مختلف لازم می‌باشد (Mohammadi & Imani, 2013). در ضمن می‌توان جهت کنترل نمودن میوه و سبزی از نظر باقیمانده آفت‌کش‌ها قبل از ورود به میادین میوه و تره بار و عدم صدور مجوز فروش برای آن گروه از میوه و سبزی هایی که دارای مقادیر بالاتر از حد مجاز باقیمانده آفت‌کش می باشند مراکزی را در نظر گرفت و در نهایت توصیه می شود که از آفت‌کشهای موثر و کم دوام به جای سموم سیستمیک و با دوام استفاده شود. البته در ضمن مطالعه آلودگی به سموم دیگری نظیر دیازینون مشاهده گردید که به دلیل نبودن هدف از درج نتایج مربوط به آنها خودداری شد.

نتایج آلودگی گوجه فرنگی به سم کلرپیریفوس با نتایج ایمانی و همکاران مشابه است. (Imani, 2004). همچنین نتایج حاصل با مطالعات انجام شده برای سموم کلرپیریفوس، دیازینون، فوزالون، پرمترین و برخی از کلره ها نظیر لیندن مشابهت دارد (Dejonkheere *et al.*, 1996).

Aysal *et al*. (2004) مطالعاتی در مورد باقیمانده سموم کلروپیریفوس و دیمتوات روی گوجه‌فرنگی انجام داده است که نتایج آن با نتایج بدست آمده در مورد کلرپیریفوس مطابقت دارد.

Ahmed *et al*. (2001) نیز گیاهان دارویی را از نظر آلودگی به سموم مالاتیون، پروفنوس و کلرپیریفوس مورد مطالعه قرار دادند که سطح آلودگی در مورد کلرپیریفوس با نتایج سطح

آلودگی نمونه‌های ما مشابهت دارد. نتایج نشان دهنده آلودگی نسبتاً بالا در محصولات پس از برداشت در کشاورزی می‌باشد که می‌تواند به دلیل مصرف بی‌رویه سموم یا مصرف سموم نامناسب که منجر به افزایش دز مصرفی توسط کشاورزان می‌گردد اما در هر حال وجود آلودگی را نمی‌توان انکار کرد که یک عامل خطر برای مصرف کنندگان است و باید به نحوی مورد توجه برنامه ریزان و حتی مصرف کنندگان قرار گیرد تا در این خصوص حساسیت بیشتری در زمینه کنترل مصرف بی‌رویه، زدودن آلودگی و عدم مصرف محصولات آلوده گردد لذا تاسیس آزمایشگاه‌های کنترل ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

Abbassy, M. S. 1997. Pesticide residues in selected vegetables and fruits in Alexandria city, Egypt. Department of Enviromental studies, Institute of Graduate studies and research, University of Alexandria, Egypt.

Ahmed, M. T., Loutfy, N & Yousef, Y. 2000. Contamination of Medicinal Herbs with organ phosphorus insecticides, plant protection department, Ismailia, Egypt.

Aysal, P., Tiryaki, O & Tuncbilek, A. S. 2004. 14C-Dimethoate Residue in tomatoes and Tomato Products. *Journal of Environmental contamination and Toxicology*, 73:351-357.

Dejonckheere, W., Steurbaut.T., Drieghe.s., Verstraeten,R. & ,Braeckman, H., 1996. Monitoring of pesticide residues in fresh vegetables,fruits and other selected food items in Belgium,1991-1993, *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists* ,79:97-110.

FAO & WHO. 2010. Codex Alimentarius Commission.Available from URL: http:// www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes.

Ipcs/Environmental health criteria. 1988; 134-136.

Krol, W., Arsenault, T., Pylypiw, H. & Mattina, M. 2000. Reduction of pesticide residue on produce by rinsing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4666-4670.

Mohammadi, Sh. & Imani, S. 2013. Investigation on residue of Deltamethrin and Chlorpyrifos on greenhouse tomatoes. *Journal of Entomological Research*, 4(2): 181-187.

Motamedzadegan, A., Mortazavi, A., Moghsoodloo, B. & Esmailzadeh Kenari, R. 2006. Evaluation of pesticide residues in melons sprayed three times diazinon in Khorasan Razavi province. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2:13-19.

Rafiei, B. 2008. *Deltamethrin and Permethrin residue determination on greenhouse cucumber samples of Arak area*. M.Sc. Thesis, Islamic Azad University, Arak

Sadlo, S. 2000. Quantitative relationship of application rate and pesticide residues in greenhouse tomatoes. *Journal of Association of Official Analytical*, 83:214-219.

Shokrzade, M., Vahedi, H. & Shaabankhani, B. 2005. Benomil and Mankozeb residue determination on cucumber in Mazandaran . *Journal of Food, Drug and Animal*, 13:65-70.

Thapar, S., Bhusham, R. & Mathur, R. P. 1995 Degradation of organophosphaus and carbamate pesticides in soils help determination. *Jounal of Tan-fed*, 9(1):18-22.

Torres, C.M., Pico, Y. & Manes, J. 1996. Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. *Journal of Chromatographic Science*, 6:301–331.

Wong S, 2004. A study of pesticide residue in agricultural produce. *Journal of Food, Drug and Animal*, 10:127-134.