

## بررسی سیستم‌های آنالیز مورد استفاده در تعیین غلظت آفت کش دیازینون در منابع آب آشامیدنی

\* زهره مقیسه: گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران (\*نویسنده مسئول). zmoqise@yahoo.com  
 علی اصغر نجف پور: مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. najafpoora@mums.ac.ir  
 محمد حسن زاده خیاط: گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. Hassanzadehkm@mums.ac.ir  
 یوسف دادبان شهامت: گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ydadban@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۲۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** روش کروماتوگرافی در اکثر پایش محیطی ترکیبات آلی از جمله آفت کش‌ها بخصوص در مقادیر کم مورد استفاده قرار می‌گیرد. **روش کار:** این مطالعه از نوع بررسی مقطعی بود. در این مطالعه استخراج مایع-مایع با استفاده از حلال دی کلرومتان برای ۶۰ نمونه آب به حجم ۲۵۰ سی‌سی از ۱۰ منبع چاه و چشمه روستاهای طرقله و شان‌دیز در فصل زمستان انجام گرفت و با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. سپس داده‌های حاصل از آنالیز با دستگاه‌های موجود مقایسه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 آنالیز و اختلاف آماری معنی داری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** نتایج مطالعه نشان داد که میانگین بازیافت روش استخراج با دی کلرومتان  $92/80 \pm 12/12\%$  بود. همچنین میانگین غلظت دیازینون در فصل زمستان با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) برابر با  $0/01$  و  $0/58$  مشاهده شد. در آنالیز با دستگاه HPLC، غلظت آفت کش دیازینون در چشمه‌های مناطق مورد بررسی، غیرقابل تشخیص و چاه‌های منطقه شان‌دیز با میانگین غلظت ( $0/7$ ) بیشتر از چاه‌های طرقله ( $0/52$ ) آلوده بودند. در آنالیز با دستگاه HPTLC در منابع آب (چاه و چشمه) منطقه طرقله دیازینونی مشاهده نشد ولی چاه‌های منطقه شان‌دیز ( $0/18$ ) از چشمه منطقه آلوده تر بود. **نتیجه‌گیری:** نسبت به دستگاه HPTLC، دستگاه HPLC دقت بیشتری برای آنالیز کردن دیازینون دارد که تفاوت آماری معنی داری بین این دو مشاهده شد ( $P=0/001$ ). با بررسی دو منطقه در فصل زمستان، منطقه شان‌دیز از طرقله آلوده تر بود.

**کلیدواژه‌ها:** دستگاه HPLC، HPTLC، TLC، دیازینون، منابع آب آشامیدنی

### مقدمه

یکی از موضوع‌های مهم در بهداشت محیط زیست، نگرانی جوامع از نقش آفت کش‌های پایدار در محیط و راهیابی آنها به چرخه غذایی می‌باشد. به همین علت شناخت و اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی در محیط زیست، مواد غذایی و بدن موجودات زنده ضروری است. بیشترین روشی که در پایش محیطی ترکیبات آلی (آفت‌کش‌ها) بخصوص در مقادیر کم مورد استفاده قرار می‌گیرد، کروماتوگرافی می‌باشد و این به دلیل حساسیت و سیستم آشکارسازی انتخابی روش مذکور است. در این مطالعه از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و کروماتوگرافی لایه نازک برای

آنالیز استفاده شد. کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا کاربرد وسیعی را در تجزیه آفت‌کش‌ها به ویژه در اندازه‌گیری مواد باقیمانده پیدا کرده است (۱). کروماتوگرافی مایع در درجه حرارت معمولی عمل کرده، بنابراین می‌توان ترکیباتی چون آفت‌کش‌ها که به دما حساس هستند را بدون مشتق‌سازی اندازه گرفت (۱). همچنین در سال‌های اخیر از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) در جهت استخراج، تشخیص و آنالیز کیفی و کمی آفت‌کش‌های مختلفی شامل سموم کلره، فسفره، پیروتریئید، کاربامات و نیز قارچ‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و بسیاری از

استفاده مکرر می تواند باعث آلودگی محیط زیست از جمله منابع آبی شود. بنابراین در این مطالعه غلظت دیازینون در منابع آب زیرزمینی توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC)، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) اندازه گیری شد.

### روش کار

در این مطالعه آب ۱۰ روستای منطقه طرقله و شاندیز در فصل زمستان ۱۳۹۱ جمع آوری گردید. تعداد ۳۰ نمونه برای آنالیز با دستگاه کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC)، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) (دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران) و ۳۰ نمونه برای آنالیز با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) (آزمایشگاه آنالیز دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی مشهد) بود (تعداد نمونه‌ها  $60 = 2 * 10 * 3$  می باشد که ۱ نمونه برداری در ۱ فصل و ۱۰ تعداد مناطق نمونه برداری ۳، تعداد تکرار در هر بار نمونه برداری و ۲ تعداد دستگاه است).

در هنگام نمونه برداری جهت جلوگیری از تجزیه دیازینون، در هر بطری بعد از برداشت نمونه ۱۰۰ cc دی کلرومتان اضافه شد. نمونه های جمع آوری شده در بطری ۲۵۰ cc با فویل پوشیده شد، در کنار کیسه های یخ تحت دمای بین صفر تا ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد. عملیات استخراج آفت کشها از نمونه ها بدین صورت است که ۲۵۰ میلی لیتر نمونه داخل قیف دکانتور ریخته و ۲۰۰ cc کلروسدیم اشباع به آن افزوده شد. عمل جداسازی حشره کش از محلول حاصل در سه مرتبه پی در پی با افزودن ۱۲، ۱۵/۵ cc، ۱۲/۵ cc دی کلرومتان ادامه یافت (۱۷). فاز آلی نمونه‌ها در هر مرحله جدا، سپس ۷ گرم سولفات سدیم انیدرید به آن اضافه گردید تا عاری از آب شود. حجم محلول آلی جدا شده در دمای آزمایشگاه تبخیر شد. سپس مواد باقیمانده با سمپلر ۱ cc استن حل شد (۱۸، ۱۹).

لکه گذاری با استفاده از ۱۰ μl از نمونه آماده

آفت کش‌های دیگر استفاده زیادی شده است (۲). از جمله آفت کش‌های مورد استفاده، آفت کش دیازینون است که نامی رایج برای یک آفت کش ارگانوفسفره سنتتیک می باشد و برای اولین بار در ایالات متحده در سال ۱۹۵۶ ثبت شده و به عنوان یک حشره کش، کنه کش و نماتد کش استفاده شده است (۳). دیازینون یک ترکیب ارگانوفسفره با فرمول تجربی  $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ ، وزن مولکولی ۳۵/۳۰۴ گرم در مول (۴) و لگاریتم ضریب اکتانول/آب  $(\log K_{ow})$  ۳/۴ است (۵). دیازینون در آب شیرین (۶-۱۱) و تقریباً در همه‌ی نمونه های آب دریا مشاهده شده است (۱۲).

دیازینون در  $pH=7$  پایدار و در محیط به مدت ۶ ماه مقاومت دارد. نیمه عمر دیازینون به علت هیدرولیز ۴۳/۳ روز در آب چاه در  $pH=7/4$  تا  $7/7$  و دمای  $16^{\circ}C$  بود (۱۳) و در  $pH=7/3$  و دمای  $21^{\circ}C$ ، نیمه عمر ۱۷۱ روز است (۱۴). این آفت کش به بندرت از طریق پوست جذب می شود ولی به راحتی از راه شش‌ها جذب شده و در سرتاسر بدن بدون تجمع در بافت های بدن پخش می شود. از آنجا که دیازینون محلول در چربی است، در صورت ذخیره مقادیر چشمگیر سم در بافت چربی سمیت تاخیری بوجود می آید (۱۵).

علائم سمیت حاد در عرض چند دقیقه تا چند ساعت پس از قرار گرفتن در معرض دیازینون، بسته به نوع مسیر قرار گرفتن در معرض متفاوت است. علائم اولیه شامل تهوع، سرگیجه، ترشح بزاق، سردرد، تعریق، اشک ریزش و آبریزش بینی است. علائم می تواند به استفراغ، دردهای پیچشی شکمی، اسهال، کشش عضلات، ضعف، لرزش، و عدم هماهنگی پیشرفت کند. تاری دید، اضطراب و بی قراری، و همچنین علائم روانی از قبیل افسردگی، از دست دادن حافظه و سردرگمی نیز گزارش شده است (۱۵). همچنین برای پرندگان فوق العاده خطرناک، ماهی ها و دیگر موجودات آبی متوسط سمی، زنبور خیلی خطرناک است (۱۶).

از آنجایی که آفت کش دیازینون به طور وسیعی در اکثر کشورها استفاده می شود، در اثر

کروسکال والیس و من-وینتی با اختلاف معناداری  $p < 0.05$  استفاده شد.

### یافته‌ها

در تعیین غلظت دیازینون با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC)، پلیت بعد از خشک شدن و قرار گرفتن در زیر لامپ UV، مشخص شد که ۱ مورد از ۳۰ نمونه دارای دیازینون بود. فاکتور  $R_f$  دیازینون در شرایط دمایی و فاز متحرک آزمایش انجام شده،  $0.2 \pm 0.05$  بود. شناسایی کیفی ترکیبات در کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) بر مبنای زمان بازداری قرار دارد. با تزریق استاندارد به دستگاه، زمان بازداری پیک دیازینون مربوط به استاندارد با توجه به شرایط آزمایش،  $15/4$  دقیقه بود.

استخراج برای محلول‌های استاندارد دیازینون با آب مقطر در محدوده غلظتی (۲ppb - ۰/۰۵) انجام شد. منحنی کالیبراسیون با تزریق  $20 \mu\text{l}$  در  $6$  غلظت استاندارد با معادله خطی  $Y = 28736X - 1305$  و ضریب رگرسیون  $R^2 = 0.992$  بدست آمد.

درصد بازیابی استخراج دیازینون از نسبت غلظت‌های استاندارد آب مقطر به استاندارد متانول بدست آمد. درصد بازیافت روش استخراج بین  $79/63\%$  تا  $110/90\%$  در محدوده غلظتی (۲ppb - ۰/۰۵) با میانگین  $92/8\%$  و انحراف معیار  $12/12 \pm$  می باشد. نتایج مطالعه نشان داد که حد تشخیص روش آنالیز فوق با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) برابر  $0.25$  (S/N  $\geq 3$ ) که نشان دهنده حساسیت بالای روش در آنالیز دیازینون و حداقل اندازه گیری برابر با  $0.05$  ppb بود.

با توجه به جدول ۱، دستگاه کروماتوگرافی مایع

شده مجهول و  $10 \mu\text{l}$  نمونه استاندارد بر روی پلیت انجام گردید. سپس پلیت‌ها را در تانک‌های محتوی حلال هگزان - استن به نسبت  $10+40$  cc قرار داده شدند. پس از خشک شدن لکه‌ها، برای دیدن لکه‌ها پلیت را در UV Cabinet با طول موج  $254\text{nm}$  لکه‌های موجود رویت شدند و در دستگاه HPTLC با استفاده از لامپ دوتریم با طول موج  $257\text{nm}$  اسکن شد و توسط نرم افزار CATS- نمونه‌ها تعیین مقدار شد.

نمونه‌های آماده شده برای تزریق به دستگاه HPLC دارای روش استخراج مانند روش ذکر شده در قسمت بالا بودند. شرایط کروماتوگرافی برای آنالیز دیازینون به صورت ایزوکراتیک با فاز معکوس در ستون C-18 با فاز متحرک حاوی متانول/آب (۷۰/۳۰) در دمای هوای آزاد توسط HPLC (مارک KNAUER) و نرم افزار EZ-chrome با دتکتور UV در طول موج  $220 \text{nm}$  انجام شد. ستون به اندازه  $150 \times 4/6 \text{mm}$  با سرعت جریان  $0.8 \text{ mL} / \text{min}$  و حداکثر فشار  $40 \text{ MPa}$  در نظر گرفته شد.

محلول‌های استاندارد ۲، ۱/۵، ۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵ با متانول ساخته شد. برای بدست آوردن درصد بازیابی، محلول‌های استاندارد دیازینون (۲ ppb، ۱/۵، ۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵) در آب مقطر ساخته شد. درصد بازیابی نسبت غلظت‌های استاندارد آب مقطر به استاندارد متانول که نشان دهنده کارایی استخراج می باشد.

در آزمایش، حد تشخیص حداقل مقدار ماده قابل تشخیص توسط روش آنالیز که به طور صحیح قابل اندازه گیری نیست و حداقل اندازه گیری، حداقل مقدار ماده قابل تعیین مقدار کمی با درجه صحت قابل قبول توسط روش است.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS۱۶ انجام شد. آزمون‌ها از روش‌های ناپارامتری مانند

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار غلظت دیازینون بر حسب روش (ppb)

نوع روش	میانگین	انحراف معیار	میانگین	حداقل	حداکثر
HPTLC, TLC	۰/۰۱	۰/۰۵	nd	nd	۰/۳۲
HPLC	۰/۵۸	۱/۰۴	nd	nd	۳/۶۶

$p=0.001$  و  $Z=3/99$

نتیجه آزمون من-وینتی

nd=غیر قابل تشخیص

جدول ۲- میانگین غلظت دیازینون برحسب روستا و روش های مورد استفاده (ppb)

نام روستا	روش	میانگین
ویرانی ۱	HPLC, TLC	۱/۵۹.nd
ویرانی ۲	HPLC, TLC	nd.nd
مایان علیا	HPLC, TLC	nd, nd
چاهشک ۱	HPLC, TLC	nd, nd
چاهشک ۲	HPLC, TLC	۰/۶۹, nd
خانرود	HPLC, TLC	۰/۹۷, nd
سربرج	HPLC, TLC	۱/۴, nd
چاه خاصه	HPLC, TLC	۰/۱۹, nd
ساقشک	HPTLC, TLC, HPLC	۰/۱, ۰/۴
نوجاه	HPLC, TLC	۰/۱, nd

علامت + = نمونه حاوی دیازینون و <LOD = not detectable

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار غلظت دیازینون برحسب روش HPTLC, TLC (ppb)

منطقه	فصل	نوع منبع	میانگین	انحراف معیار	حداکثر	نتیجه آزمون من-وبتنی
شاندیز	زمستان	چاه	۰/۰۱۸	۰/۰۷	۰/۳۲	-
		کل	۰/۰۱۸	۰/۰۷	۰/۳۲	
طرقبه	زمستان	چاه	nd	nd	nd	Z=0
		چشمه	nd	nd	nd	P=۱
		کل	nd	nd	nd	

جدول ۴- میانگین و انحراف معیار غلظت دیازینون برحسب روش HPLC (ppb)

منطقه	فصل	نوع منبع	میانگین	انحراف معیار	حداکثر	نتیجه آزمون من-وبتنی
شاندیز	زمستان	چاه	۰/۷۱	۱/۲۷	۳/۶۴	-
		کل	۰/۷۱	۱/۲۷	۳/۶۴	
طرقبه	زمستان	چاه	۰/۵۲	۱/۲۲	۳/۶۶	Z=۰/۱۸۵
		چشمه	nd	nd	nd	P=۰/۳۹
		کل	۰/۳۹	۱/۰۷	۳/۶۶	

\* نمونه تزریق شده رقیق سازی انجام شد و غلظت بدست آمده از معادله خطی منحنی استاندارد، غلظت نهایی است.

با بررسی فصل زمستان در روش کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) و کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) منبع چاه منطقه شاندیز بیشتر از منبع چاه منطقه طرقبه آلوده بود.

براساس جدول، در فصل زمستان منبع چاه منطقه شاندیز آلوده تر از منطقه طرقبه بود.

### بحث و نتیجه گیری

در جدول ۲ میانگین غلظت روستاهای مورد بررسی با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) را نشان می دهد که محدوده میانگین

با فشار بالا (HPLC) دارای دقت بیشتری بود. تفاوت آماری معنی داری در مقایسه روش مشاهده شد.

بنابراین با توجه به متفاوت بودن روش های مورد استفاده، نتایج به دو روش کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC)، کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) در جدول زیر گزارش شده است.

با توجه جدول، بیشترین و کمترین غلظت دیازینون در روش HPLC مربوط به روستای ویرانی با میانگین غلظت ۱/۵۹ μg/l و نوجاه با میانگین غلظت ۰/۱ μg/l بود.

تجن در طی ماه‌های ژوئن و اکتبر استفاده کردند، به این نتیجه رسیدند غلظت کل دیازینون در محدوده  $46/99 \mu\text{g/l}$  و  $0/01$  و درصد بازیافت این روش  $84\%$  بود (۲۲). همچنین مطالعه دیگری توسط عابدی (۲۳) انجام شد که میانگین درصد بازیابی دیازینون با روش مشابه با این مطالعه، حدود  $80/5\%$  بود که از میانگین بازیابی مطالعه در حال حاضر کمتر بود.

در مطالعه دیگر توسط هتريک و همکارانش اظهار کردند که استخراج مایع- مایع با دی کلرومتان و استخراج با فاز جامد با استفاده از کاتریج های  $C_{18}$  و دیسک های استخراج  $C_8$ ، درصد بازیافت  $95-75\%$  بدست آمد (۲۴) در این مطالعه درصد بازیافت مطابق با مطالعه فوق بود. همچنین در این مطالعه بیان کردند که روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) روشی است که برای آفت کش هایی که غیر فرار بوده و از لحاظ حرارتی ناپایدار و قطبی هستند، مناسب می‌باشد. به همین دلیل با توجه به نسبتا فرار بودن آفت کش دیازینون در مطالعه حاضر، می توان از دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) برای آنالیز استفاده کرد.

در مطالعه ای توسط لویز و همکارانش نشان دادند که تعیین آترازین، لیندان، پنتاکلوروفنل و دیازینون در آب و خاک با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی/جرمی، برای آنالیز بیش از  $300$  نمونه آب و  $300$  خاک موفقیت آمیز بود. محدوده های تشخیص به مقدار  $1-10 \text{ ppb}$  برای این ترکیبات بدست آمد (۲۵). در این مطالعه میانگین بازیافت بیشتر از  $86\%$  و دقت (انحراف معیار) کمتر از  $8\%$  بود. نمونه های آب با استفاده از دی کلرومتان استخراج شد که مشابه با روش استخراج مطالعه ما بود. همچنین محدوده غلظت منحنی کالیبراسیون مطالعه مذکور مانند محدوده غلظت مورد بررسی در این مطالعه بود. مطالعه انجام شده توسط لویز دارای دقت و صحت و حساسیت بیشتری نسبت به GC با دکتور NPD و FID بود.

در مطالعه دیگری توسط بالستروسو همکارانش به این نتیجه رسیدند که حد تشخیص روش

غلظت بین  $1/59 \mu\text{g/l}$  -  $0/1$  بود. بالا بودن دیازینون در مطالعه حاضر، می تواند به دلیل بالا بودن درصد شن موجود در خاک مناطق مورد مطالعه و مقدار مواد آلی خاک از حد متعادل (۲) -  $1/5$  کمتر است به طوری که دیازینون نمی تواند جذب سطحی خاک شود. حلالیت نسبتا بالای دیازینون ( $40-60 \text{ mg/l}$ ) می تواند در انتقال دیازینون کمک کند. در مطالعه آرینزوو و همکارانش گزارش کردند که آفت کش دیازینون در خاک های با جریان زیر اشباع و سبک با مقادیر مواد آلی کم (کمتر از  $2\%$ ) انتقال می یابد (۱۹).

در این مطالعه وجود دیازینون در نمونه های فصل زمستان می تواند به علت کاربرد دیازینون در اواخر فصل زمستان و رواناب ناشی از برف و بارندگی که در اکثر سالهای مورد بررسی، بیشترین مقدار بارندگی در ماه اسفند و فروردین است و قابلیت انحلال دیازینون در حد متوسط می باشد که برادی و همکارانش در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند انتقال جرمی Esfenvalerate (حشره کش پیرتروئید) در رواناب کمتر از انتقال جرمی دیازینون در شرایط یکسان است (۲۰). همچنین در مطالعه ای توسط رایزاس و همکارانش گزارش کردند غلظت های افزایش یافته حشره کش، در ابتدای فصل آبیاری یا بعد از وقوع زیاد بارندگی بود. پس از کاربرد حشره کش و بارندگی زیاد در طی دوره کاربرد باعث افزایش در غلظت شده بود (۲۱). همچنین نتایج حاصل از مطالعه رایزاس با نتایج بدست آمده از این تحقیق مطابقت داشت.

از آنجایی که جدول ۱ نشان می دهد در این مطالعه میانگین غلظت بدست آمده از دو روش استفاده شده، تفاوت آماری معنی داری مشاهده شد که دقت کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) بیشتر از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) بود. استخراج با دی کلرومتان و آنالیز توسط کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) با نسبت حلال مشابه با این مطالعه و کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) نیز در مطالعه ای توسط احمدی و همکارانش برای تعیین دیازینون در رودخانه

استفاده کردند. در این مطالعه دیازینون در چشمه ها ( $0/019 \mu\text{g/l}$ ) بیشتر از چاه ها ( $0/017 \mu\text{g/l}$ ) بود. همچنین در مطالعه رحمانی خواه، دیازینون نسبت به دیگر آفت کش مورد استفاده، دارای غلظت بیشتری بود که نشان دهنده میزان کاربرد بیشتر آن در مقایسه با دیگر آفت کش ها در منطقه بود. ظرفیت جذب خاک برای دیازینون نسبت به دیگر آفت کش ها کمتر است در نتیجه توانایی انتقال به آب چاه را داراست (۲۹). غلظت های مشاهده نشده دیازینون در منبع چشمه مطالعه حاضر، طبق جدول ۳ و ۴ ممکن است به علت تجزیه توسط خورشید باشد.

از جمله محدودیت های این مطالعه، عدم همکاری سازمان های مربوطه در جهت جمع آوری اطلاعات و مشکلات مربوط به دستگاه بود. نتایج مطالعه نشان داد روش استخراج با دی کلرومتان می تواند یک روش ساده، سریع و اقتصادی برای آنالیز کردن مقادیر جزئی آفت کش های ارگانوفسفره باشد. در این تحقیق از دستگاه HPLC با دتکتور UV برای آنالیز کردن غلظت های تعیین شده استفاده شد. البته می توان از دتکتورهای دقیق تر نیز برای غلظت های کمتر استفاده کرد.

### تقدیر و تشکر

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد کمال تشکر و قدردانی دارند که این طرح تحقیقاتی را با شماره ۹۰۰۹۲۰ به تصویب رساندند.

### منابع

1. Talebi KH. [Toxicology of pesticides]. Tehran University. 2007. 385-393. (Persian)
2. Sherma J. Pesticide Residue Analysis (1999-2000): A Review. Journal of AOAC International. 2001;84(5):1303-1312.
3. US environmental protection agency office of pesticide programs. Pesticides Organophosphate 2006.
4. Badawy MI. Use and impact of pesticides in Egypt. Int Environ Health Res. 1998;8(3):223-239.
5. WHO, environmental health criteria, 198 - Diazinon. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization. Geneva. 1998, p140.

کروماتوگرافی گازی با استفاده از فاز جامد برای ۱۰ ml نمونه بین  $50-130 \text{ ng/l}$  و  $11/7 \mu\text{g/l}$  -  $4/5$  به ترتیب با دتکتور NPD و FID بود. بنابراین برای غلظت های کمتر استفاده از دتکتور NPD نسبت به FID مناسب تر است همچنین از این روش برای تعیین آفت کش های ارگانوفسفره در رودخانه، برکه و چاه و آب های لوله کشی با درصد بازیافت  $93/8$  تا  $104/5$  درصد استفاده شد (۲۶) در مطالعه ما از روستای ویرانی تا نوچاه از کروماتوگرافی مایع با فشار بالا و دتکتور UV استفاده شد. با توجه به غلظت دیازینون در نمونه های مجهول آزمایش شده، محدوده استاندارد در حد  $2 \text{ ppb}$  -  $0/05$  در نظر گرفته شد و فقط ۳ روستا شناسایی نشدند. این روش دارای حد تشخیص  $0/025 \text{ ppb}$  با درصد بازیافت بین  $79/63\%$  تا  $110/90\%$  و میانگین  $92/80\%$  بود. همان طور که جدول ۲ نشان می دهد نمونه های آب روستاهای ویرانی تا نوچاه در فصل زمستان با روش های مورد استفاده آنالیز شد و آلودگی کمتری در نمونه های مورد بررسی با روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) نشان داد. در مطالعه دهقانی و همکارانش با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) بیشترین غلظت دیازینون در منابع آب کشاورزی بزرگ کاشان،  $10/85 \text{ ppm}$  در روز اول سم پاشی و کمترین غلظت بعد از ۲ ماه سم پاشی، صفر پی پی ام اندازه گیری کردند. نمونه ها در فصل بهار جمع آوری شدند. پیشنهاد کردند حداقل تا یک ماه بعد از سم پاشی از تماس غیر ضروری با منابع آب خوداری شود (۲۷). همچنین ارجمندی و همکارانش آفت کش دیازینون را در آب شالیزارهای آمل به وسیله تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک تعیین کردند (۲۸).

در این مطالعه بر طبق جدول ۳ و ۴ دیازینونی در چشمه مشاهده نشد. ولی در مطالعه ای توسط رحمانی خواه از روش GC با دتکتور NPD برای تعیین غلظت مواد باقیمانده ارگانوفسفره ها از جمله دیازینون در آب های سطحی و زیرزمینی

- comparative analysis of diazinon and esfenvalerate. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. ۲۰۰۶; 115(1-4),56- ۶۸
21. Vryzas Z, Vassiliou G, Alexoudis C, Papadopoulou-Mourkidou E. Spatial and temporal distribution of pesticide residues in surface waters in northeastern Greece. *Water Res*. 2009;1:10-43.
22. Ahmadi-Mamaqani Y, Khorasani N, Talebi K, Hashemi SH, Rafiee G, Bahadori-Khosroshahi F. Diazinon Fate and Toxicity in the Tajan River (Iran) Ecosystem. *Environ Eng Sci*. 2011;28(12):859-68.
23. Abedi j, Nasri Z, Talebi KH. [Chemical quality of water pollution in the river upstream of Zayndrod diazinon]. *Journal of Science & Technology of Agriculture and Natural Resources*. 2019; 15(56).(Persian)
24. Hatrick Š, Tekel J. Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. *J Chromatogr A*. 1996; 733(1): 217-233.
25. Lopez-Avil V, Hirata P, Kraska S, Flanagan M, John H. Taylor J. Determination of atrazine, lindane, pentachlorophenol, and diazinon in water and soil by isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Chem*. 1985; 57(14):801-2797.
26. Ballesteros E, Parrado M. Continuous solid-phase extraction and gas chromatographic determination of organophosphorus pesticides in natural and drinking waters. *J Chromatogr A*. 2004; 1029(1):267-273.
27. Dehghani R, Shayeghi M, Eslami H, Mosavi Gh, Rabani R, Hoseinshahi D. [Determination of organophosphorus pesticides (diazinon and chlorpyrifos) in Kashan water]. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2011;39-46. (Persian)
28. Arjmandi R, Shayghhi M, Tavakol M. [Determination of diazinon by the technique TLC in rices water Amol]. *Environmental Science and Technology*, 2010;12(2). (Persian)
29. Rahmanikhah Z, Esmaceli A, Bahramifar N, Shokri Z. Organophosphorous Pesticide Residues in the Surface and Ground Water in the Southern Coast Watershed of Caspian Sea, Iran. *World Applied Sciences Journal*. 2010;9(2):160-162.
6. Bailey HC, Deanovic E, Reyes T, Kimball K, Larson K, Cortright V, et al. Diazinon and chlorpyrifos in urban waterways in northern California, USA. *Environ Toxicol Chem*. 2000; 19(1):82-87.
7. Domagalski JL, Dubrovsky NM, Kratzer CR. Pesticides in the San Joaquin river, California: Inputs from dormant sprayed orchards. *J Environ Qual*. 1997;26:454-465.
8. Land LF, Brown MF. Water Quality assessment of the Trinity River Basin, Texas - Pesticides in streams draining an urban and an agricultural area, 1993-95. USGS Report 96-4114, Austin, TX 1996, p22.
9. Lowden GF, Saunders CL, Edwards RW. Organo-chlorine insecticides in water - Part II. *Water Treat Exam*. 1969;18:275-287.
10. McConnell LL, LeNoir JS, Datta S, Seiber JN. Wet deposition of current-use pesticides in the Sierra Nevada mountain range, California, USA. *Environ Toxicol Chem*. 1998;17(10):1908-1916.
11. Ritter WF, Johnson HP, Lovely WG, Molnau M. Atrazine, propachlor, and diazinon residues on small agricultural watersheds. Runoff losses, persistence, and movement. *Environ Sci Technol*. 1974;8(1): 38-42.
12. Kawai S, Fukushima M, Tsuchinaga T, Oda. K. Metals and synthetic organic compounds in plankton from the estuary and harbor in Osaka City. *Bull Jpn Soc Sci Fis*. 1984;50:1777-1783.
13. Morgan HG. Sublethal effects of diazinon in stream invertebrates. PhD dissertation NIG ۲WI Univ of Guelph, Ontario, Canada. 1976.
14. Mansour M, Feicht E, Behecti A, Schramm K-W, Kettrup A. Determination photostability of selected agrochemicals in water and soil. *Chemosphere*. 1999;39(4):575-585.
15. Reigart JR, Roberts JR, Agency USEP. Recognition and management of pesticide poisonings: US Environmental Protection Agency Washington, DC.1999.
16. Department of Plant Protection of Shahed University. [The Guide to Pesticides in Iran]. Tehran. 2009.(Persian)
17. Cia M, Zou Y. A rapid method for trace analysis of organophosphorous pesticides in drinking water. 2008. Available from [www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)
18. K.P B, C.E N, J s, H F, J H, P L. Occurrence of aquatic toxicity and dormant-spray pesticide detections in the San joaquin river watershed, Winter 1996-97. *Environmental Hazards Assessment Program*. 1998.
19. Arienzo M, Crisanto T, Sanchez-Martin MJ, Sanchez-Camazano M. Effect of Soil Characteristics on Adsorption and Mobility of (<sup>14</sup>C)Diazinon. *J Agric Food Chem*. 1994;42(8):1803-1808.
20. Brady JA, Wallender WW. Pesticide runoff from orchard floors in Davis, California, USA: A

## Survey of using of analysis methods in determination of diazinon pesticide concentration in drinking water resources

\***Zohre Moghiseh**, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran (\*Corresponding author). [zmoqise@yahoo.com](mailto:zmoqise@yahoo.com)

**Ali Asghar Najafpoor**, Health Sciences Research Center, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. [najafpooraa@mums.ac.ir](mailto:najafpooraa@mums.ac.ir)

**Mohammad Hassanzadeh-Khayyat**, Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Pharmaceutical Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. [Hassanzadehkm@mums.ac.ir](mailto:Hassanzadehkm@mums.ac.ir)

**Yousef Dadban Shahamat**, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Public Health, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [ydadban@yahoo.com](mailto:ydadban@yahoo.com)

### Abstract

**Background:** The most used method for environmental monitoring of organic compounds such as pesticides in small amounts particularly is chromatography.

**Methods:** The liquid-liquid extraction was performed using dichloromethane solvent for sixty water samples each with a volume of 250 cc, were gathered from 10 wells and springs in the villages of Shandiz and Torqabeh in winter season and the concentrations were measured using HPTLC and HPLC system. The data were analyzed by SPSS software (Version 16).  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

**Results:** The results indicated that an average of Recovery was  $92.80 \pm 12.12$ . Also, in winter season the average concentration of diazinon using HPTLC and HPLC were 0.01, 0.58  $\mu\text{g/l}$ , respectively. Any concentration of diazinon in the studied areas springs was not detected while the wells of Shandiz (with an average concentration of 0.71  $\mu\text{g/l}$ ) were contaminated more than the wells of Torqabeh (with an average concentration of 0.52  $\mu\text{g/l}$ ) measured by HPLC. Diazinon was not observed in water sources of Torqabeh. In Shandiz, wells (with an average concentration of 0.018  $\mu\text{g/l}$ ) were more contaminated than springs, measured by HPTLC.

**Conclusion:** HPLC system analysis measure the diazinon more accurately and it was observed a significant difference between HPTLC and HPLC systems ( $p = 0.001$ ). Comparison of two regions showed that Shandiz was more contaminated than Torqabeh in winter season.

**Keywords:** HPLC, HPTLC, TLC, Diazinon, Drinking water sources.