

*Diazinon Residues in *Rutilus Frisii Kutum*, *Cyprinus Carpio*, and Leaping Mullet in Central Coast of the Caspian Sea*

Mohammad Shokrzadeh¹,
Marziyeh Karimi²,
Hamidreza Mohammadi³

¹ Associate Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² MSc Student in Toxicology, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Assistant Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received October 7, 2015 ; Accepted January 24, 2016)

Abstract

Background and purpose: Pesticides are used in agriculture to increase crop production. Organophosphate pesticides are used more than other pesticides since they are inexpensive and more influential on a wide range of pests. Fish containing pesticides have significant human health consequences. In this study, three types of most consumed fish in the Caspian Sea were evaluated for Diazinon organophosphate levels.

Materials and methods: Twenty seven samples of three species of fish (*Rutilus frisii kutum*, *Cyprinus carpio*, *leaping mullet*) were randomly collected from three stations in central coast of Caspian Sea. The samples were digested and extracted and Diazinon residues were extracted. Diazinon concentrations were determined using a Gas chromatography (GC-MS) method. All results were statistically analyzed using One-way analysis of variance (ANOVA) and t-test. Then Tukey-post test was applied to compare the pesticide residues levels in the samples.

Results: Diazinon was found detected in all samples. The *leaping mullet* samples collected from Babolsar and Khazarabad stations showed higher levels of Diazinon (55.25 ± 48.03 , 55.17 ± 52.5 $\mu\text{g/kg}$, respectively) compared to others. ANOVA did not show any significant difference between all three types of fish in concentration of diazinon ($P=0.33$).

Conclusion: In this study, Diazinon was found at a high level in all samples ($115.78 \mu\text{g/kg}$) in *leaping mullet* sample from Babolsar region. However, it was not more than acceptable level determined by WHO (0.01 mg/kg). Hence, the three investigated species fish are considered to be safe for human consumption.

Keywords: organophosphorous, pesticide residues, fish, Diazinon

اندازه گیری باقیمانده سم دیازینون در ماهی سفید، کپور و کفال مناطق صیادی حاشیه مرکزی دریای خزر

محمد شکرزاده^۱
مرضیه کریمی^۲
حمید رضا محمدی^۳

چکیده

سابقه و هدف: آفت کش ها در کشاورزی به منظور افزایش تولید محصول مورد استفاده قرار می گیرند. آفت کش های ارگانوفسفره به علت تاثیر بر طیف وسیعی از آفات و همچنین ارزان قیمت بودن آنها، بیش تر از سایر آفت کش ها مورد استفاده قرار می گیرند. مصرف ماهی حاوی ترکیبات آفت کش یک خطر بزرگ برای سلامتی محسوب می گردد. لذا در این مطالعه میزان سم ارگانوفسفره دیازینون در سه نوع ماهی پر مصرف دریای خزر مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها: ۲۷ نمونه از سه گونه ماهی (سفید، کفال و کپور) از سه ایستگاه صیادی (فرح آباد، میانکاله و بابلسر) جمع آوری شدند. عملیات استخراج و خالص سازی سم دیازینون انجام و سپس با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی جرمی (GC-Mass) مورد سنجش کمی قرار گرفته و سپس میانگین هر سم در سه نوع ماهی در هر منطقه محاسبه و توسط روش آنالیز واریانس ها مورد ارزیابی آماری قرار گرفت و $p < 0/05$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: دیازینون در تمام نمونه ها یافت شد. بالاترین میزان سم دیازینون در ماهی کفال صید شده از ایستگاه فرح آباد و بابلسر به ترتیب با میانگین $55/17 \pm 52/5$ و $55/25 \pm 48/03$ مشخص گردید و با توجه به p حاصل از آزمون آنالیز واریانس ها ($p = 0/33$)، در هیچ یک از مناطق، بین میانگین غلظت سم در سه نوع ماهی تفاوت آماری معنی داری وجود نداشت.

استنتاج: مطالعه حاضر بیان می کند که سم دیازینون در تمامی نمونه های مورد بررسی (با بیش ترین میزان $115/7$ میکروگرم بر کیلوگرم) یافت شد ولی از آن جاکه میانگین غلظت سم در سه گونه ماهی از مقدار مجاز استاندارد سازمان جهانی بهداشت ($0/01 \text{ mg/kg}$) کم تر بود، نمونه ها از شرایط قابل قبولی برای مصارف انسانی برخوردار می باشند.

واژه های کلیدی: باقی مانده سموم، سم ارگانوفسفره، ماهی، دیازینون

مقدمه

آفت کش ها در کشاورزی به منظور افزایش تولید محصول مورد استفاده قرار می گیرند (۱). ولی امروزه به دلیل مشکلات زیستی و نگرانی از عوارض ناشی از باقی مانده سم در غذا، مصرف این سموم کاهش یافته است (۲). استفاده از سموم آفت کش و علف کش کشاورزی از گذشته در استان هایی نظیر مازندران به دلیل فراوانی مزارع کشاورزی و باغات مرکبات رواج زیادی داشته و از آن جایی که این ترکیبات ابتدا می بایست در آب حل

E-mail: hmohammadi@farabi.tums.ac.ir

مؤلف مسئول: حمیدرضا محمدی: ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، گروه سم شناسی و فارماکولوژی

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. استادیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۸/۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۱/۴

شده و سپس مورد استفاده قرار گیرند، لذا بسیاری از این سموم پس از استفاده از راه‌های مختلفی نظیر بارندگی، روان آب‌ها، زه‌کشی و غیره به منابع آب‌های سطحی و اکوسیستم‌های آبی راه یافته و از این طریق وارد بدن موجودات آبی از جمله ماهی‌ها می‌گردند (۳). عامل مهم در مسمومیت‌زایی مزمن آفت‌کش‌ها، ویژگی تجمع‌پذیری آن‌ها در بدن بوده و تجمع این مواد سمی در بدن به واسطه تماس مستقیم مانند خوردن غذاهای آلوده به این سموم و یا غیرمستقیم (تنفس، جذب پوستی)، صورت می‌پذیرد (۴). تحقیقات نشان داده که جذب ۹۰ درصد ترکیبات آفت‌کش از طریق غذاهای حیوانی صورت می‌گیرد و با این که ماهی و محصولات دریایی کم‌تر از ۱۰ درصد رژیم غذایی مردم را تشکیل می‌دهند، اما یکی از مسیرهای اصلی ورود این آلاینده‌ها به بدن انسان محسوب می‌گردند (۵).

از حدود ۸۰۰ آفت‌کش مورد مصرف، ۲۱۱ نوع ترکیب شیمیایی با فرمولاسیون‌های مختلف و کاربردهای متفاوت در کشور ما به ثبت رسیده است (۶). از سموم آفت‌کش مورد استفاده می‌توان به سموم ارگانوکلره، ارگانوفسفره، کاربامات و پیرتروئیدها اشاره نمود که در این میان ترکیبات ارگانوفسفره بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین آفت‌کش‌های موجود هستند (۷). این نوع از آفت‌کش‌ها به علت اثر بر طیف وسیعی از آفات و هم‌چنین قیمت ارزان، بیش‌تر از سایر ترکیبات توسط کشاورزان مورد استفاده قرار می‌گیرند و به شکل وسیعی برای کنترل حشرات و آفات در مزارع کشاورزی خصوصاً برنج و باغات مرکبات به کار گرفته می‌شوند (۸). میزان کارایی سموم ارگانوفسفره به نوع سم، مدت تماس، شرایط محیط و غیره بستگی دارد (۹) و در مقایسه با سایر سموم، به سبب وسع الطیف بودن و تاثیر سریع بر روی آفات، بیش‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرند. مکانسیم عمل سموم ارگانوفسفره از طریق اتصال به گروه هیدروکسیل آمینواسید سرین در جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز و ممانعت از فعالیت آنزیم انجام می‌گیرد. از نظر فارماکوکنتیک، این

سموم توسط سیستم سیتوکروم P450 در کبد دنوکسیفیه می‌شوند، ولی بعضی از سموم این دسته دارای متابولیت سمی‌تر از خود سم اولیه می‌باشند (۱۰). این دسته سموم با غیر فعال کردن آنزیم استیل کولین استراز، سبب تجمع استیل کولین در پایانه‌های سیناپسی و اتصالات عصبی و عضلانی شده و در نتیجه باعث تحریک شدید در گیرنده‌های کولینرژیک می‌گردند (۱۱). هم‌چنین این ترکیبات به دلیل اختلال در سیستم اعصاب مرکزی به عنوان یک تهدید جدی برای سلامتی انسان‌ها محسوب می‌شوند. با توجه به آمار جهانی، بیش‌ترین مرگ و میر ناشی از آفت‌کش‌ها مربوط به سموم ارگانوفسفره می‌باشد (۱۲). از عوارض بلند مدت تماس با این ترکیبات می‌توان به افزایش احتمال بروز مشکلات تنفسی، اختلال حافظه، افسردگی، نواقص عصبی، سرطان و عقیمی اشاره نمود (۱۳). مهم‌ترین ترکیبات ارگانوفسفره دیازینون و مالاتیون می‌باشند که جزء آنتی‌کولین استراژهای برگشت‌ناپذیر هستند (۱۴، ۱۵). دیازینون به خاطر سمیت بالا، بیش‌ترین مصرف را در میان سموم ارگانوفسفره دارد (۱۶). مکانسیم عملکرد مسمومیت این سم بر روی ماهی‌ها شبیه مسمومیت بر روی حیوانات خون‌گرم می‌باشد و بدین ترتیب فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک به خصوص استیل کولین هیدرولاز مهار می‌شود (۱۴). حساسیت ویژه ماهی به دیازینون تا حدود زیادی به قابلیت‌های جذب، مهار استیل کولین استراز و دفع مواد سمی به وسیله ماهی بستگی دارد (۱۷). ورود دیازینون به آب‌های سطحی و قرار گرفتن ماهی در معرض آن حتی در دوزهای پایین نه تنها موجب بروز اختلالات عصبی در ماهیان می‌گردد، بلکه سبب بروز برخی ناهنجاری‌ها در آبشش، سیستم ایمنی، بویایی و اختلال در بروز رفتارهای تولیدمثلی و هم‌چنین تخریب ساختار تخمدان نیز می‌شود (۱۸، ۱۹).

در سال‌های اخیر مصرف ماهی به دلیل مواد مغذی و ویتامین‌ها و هم‌چنین داشتن اسیدهای چرب امگا-۳، بسیار توصیه شده است و روغن ماهی منبع طبیعی خوبی

از اسیدهای چرب غیر اشباع مخصوصاً ایکوزا پنتانویک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید می‌باشند (۲۰). از طرفی استفاده گسترده از سموم کشاورزی در مزارع برنج و باغ مرکبات در استان‌های شمالی باعث افزایش میزان آلودگی انواع اکوسیستم‌های آبی از جمله رودخانه‌های منتهی به دریای خزر شده و متعاقب آن غلظت سموم مورد استفاده در مصب دریا افزایش یافته است. این موضوع باعث تجمع تدریجی این سم در بافت آبزیان خصوصاً ماهیان می‌گردد. لذا با مصرف انواع ماهیان آلوده، این سم می‌تواند وارد بدن انسان گردد. بنابراین ارزیابی و بررسی کمی و کیفی سموم کشاورزی خصوصاً سم فسفره پرمصرف دیازینون در ماهیان اقتصادی دریای خزر از جمله کپور، سفید و کفال از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. لذا هدف از این مطالعه اندازه‌گیری میزان باقی‌مانده سم آفت کش دیازینون در سه نوع ماهی پرمصرف (کپور، سفید و کفال) در مناطق صیادی حاشیه مرکزی دریای خزر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ماهیان پرمصرف مورد استفاده (سفید و کپور و کفال) ناحیه شمال کشور انتخاب گردیده و زمان و مکان نمونه‌برداری در این مطالعه بر اساس زمان اوج صید، زیستگاه اصلی ماهیان مورد مطالعه و منطقه دارای بیش‌ترین میزان صید انتخاب گردید. بر این اساس نمونه‌برداری طی فصل پاییز (اوج صید ماهی) و در منطقه مرکزی دریای خزر در استان مازندران (زیستگاه اصلی این ماهی‌ها که دارای بیش از ۹۵ درصد برداشت و صید این گونه در حوزه ایرانی دریای خزر است) صورت گرفت (۲۱). حجم نمونه با استفاده از فرمول $N = (Z^2_{1-\alpha} S^2) / d^2$ محاسبه و تعداد ۲۷ نمونه ماهی نر (۹ نمونه از هر یک از ماهیان) برآورد گردید که از ۳ ایستگاه صیادی (میانکاله، فرح‌آباد و بابلسر) و مستقیماً از صیادان دریا به صورت تصادفی طی ماه‌های مهر تا آذر ۱۳۹۳ جمع‌آوری گردید. هر کدام از نمونه‌های جمع‌آوری شده، در یونولیت‌های حاوی یخ جهت انجام

آزمایش به آزمایشگاه دانشکده داروسازی منتقل و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آماده‌سازی نمونه نگهداری شدند (۲۱). جهت آماده‌سازی نمونه‌های عضله، هر ماهی برای مدتی کوتاه در دمای محیط نگهداری شده تا از حالت انجماد خارج شوند و سپس توسط آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند (۲۲). روشی که برای آماده‌سازی نمونه‌ها به کار می‌رود، بر اساس متد پیشنهادی AOAC (Associated of Official Analytical Chemistry) بوده که به آن روش هضم یا استخراج می‌گویند (۲۳). بر اساس این روش، ۵ گرم از عضله سینه‌ای ماهی، جدا شده را پس از خشک کردن و پودر کردن در داخل ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل نموده جهت استخراج آفت کش، ۱۰۰ میلی‌لیتری حلال آلی (N-هگزان) به داخل ارلن مایر محتوی نمونه اضافه کردیم. ارلن مایر محتوی نمونه و حلال به مدت ۲۰ دقیقه در دور متوسط (۵۰ شیک در دقیقه) توسط همزن مخلوط گردید تا نمونه به درستی و کامل با حلال مخلوط شود. سپس ارلن محتوی نمونه را ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای محیط قرار دادیم و پس از گذشت این مدت زمان، نمونه با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف شد و مایع حاصل از صاف شده به بالن ته گرد مخصوص دستگاه روتاری (تقطیر در خلأ) در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد که برابر با نقطه جوش N هگزان است، منتقل گردید. بعد از تبخیر کامل حلال، محتویات باقی‌مانده در داخل بالن با ۵ سی‌سی متانول به حجم رسانده و در داخل ویال‌های مخصوص اپندورف ریخته و درب ویال‌ها به‌طور محکم بسته شد. نمونه نهایی استخراج شده به آزمایشگاه آنالیز دستگاهی آزمایشگاه جامع منتقل گردید (۲۴). در این مرحله، ویال‌های حاوی نمونه‌های آماده شده برای تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل GC Agilent Technologies 7890 آمریکا) و اندازه‌گیری سم ارگانوفسفره مورد نظر به همراه استاندارد مربوطه آماده شدند و مقادیر باقی‌مانده سم دیازینون با دقت

SPPS19 شده و سپس میانگین و انحراف از میانگین ($\pm SD$ میانگین) نمونه‌های مناطق مورد مطالعه محاسبه گردیده و سپس از آزمون‌های آماری ANOVA و T-test به منظور تحلیل داده‌ها استفاده شده و $p < 0/05$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

مقادیر دیازینون در ۳ نمونه ماهی (سفید، کفال و کپور) در ریای خزر اندازه‌گیری و در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از این تحقیق مشخص نمود که تقریباً تمامی نمونه‌ها دارای باقی مانده سم دیازینون هستند. بر اساس نتایج به دست آمده، نمونه‌های کفال دو منطقه فرح آباد و بابلسر دارای مقادیر بالاتری از سم دیازینون نسبت به سایر نمونه‌ها بودند. کل نمونه‌ها در محدوده قابل پذیرش غلظت باقی مانده دیازینون قرار داشتند. بر اساس نتایج به دست آمده (جدول شماره ۱)، بیش‌ترین میزان غلظت دیازینون مربوط به نمونه کفال بابلسر به میزان ۱۱۵/۷۸ میکروگرم بر کیلوگرم و کم‌ترین میزان به دست آمده، مربوط به ماهی سفید میانکاله به میزان ۱۳/۱۱ میکروگرم بر کیلوگرم می‌باشد. در مورد ماهی کپور، تفاوت آماری معنی‌داری از نظر میزان آلودگی به آفت کش دیازینون مشاهده نشد. بر اساس جدول شماره ۱، ماهی سفید در منطقه فرح آباد از نظر میزان آلودگی به سم دیازینون تفاوت آماری معنی‌داری را نشان داد ($p = 0/028$) که این تفاوت غلظت بین مناطق میانکاله و بابلسر نیز مشاهده گردید. مقایسه غلظت سم در سه نوع ماهی سفید، کفال و کپور در منطقه میانکاله تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد ($p = 0/04$). این تفاوت آماری مربوط به دو ماهی سفید و کفال این منطقه بود. به طور کلی نتایج تست آماری t-test نشان داد غلظت باقی مانده سم دیازینون در هر سه نوع ماهی و مناطق مورد مطالعه پایین‌تر از حد مجاز اعلام شده توسط سازمان WHO (۰/۰۱ میکروگرم بر گرم) می‌باشند.

میکروگرم بر کیلوگرم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. کنترل کیفیت نتایج با تکرارپذیری در نمونه‌ها از هر قطعه ماهی - در روش دستگاهی مقایسه با استاندارد کرب (غلظت‌های مشخص و تعیین سطح توسط دستگاه کروماتوگرافی و تکرار در قرائت نمونه‌ها) صورت پذیرفت و مقادیر قرائت شده توسط دستگاه در هر نمونه به صورت میانگین با انحراف معیار گزارش گردید. به منظور بررسی دقت داده‌ها، هر نمونه در سه تکرار انجام شد. مقادیر RSD مشخص شده، پایین‌تر از ۱۰ درصد بود. هم‌چنین برای کاهش خطاهای احتمالی مربوط به مراحل مختلف برای همه نمونه‌ها از نمونه‌های شاهد (بلانک) نیز استفاده شد.

این روش دارای حساسیت بالایی بوده و به علاوه از تجهیزاتی استفاده می‌شود که در دسترس می‌باشند (۲۵). مشخصات دستگاه شامل برنامه split.splitless بوده و مجهز به ستون DB-1ms، دتکتور: MS Agilent technologies 7683، هلیوم (He) به عنوان گاز حامل با flow یک ml در دقیقه، N_2 : Make Up، دمای تزریق ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت دتکتور ۳۲۵ درجه سانتی‌گراد، برنامه‌ریزی دمای oven هم به صورت: دمای ابتدایی ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، سپس با شدت ۲۰ درجه در دقیقه به ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت صفر دقیقه رسانده شد و سپس آرام آرام، دما افزایش یافت تا دمای حدود ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد که تقریباً آخرین پیک‌ها در آن محدوده مشاهده گردید. برای شناسایی سم فسفره در نمونه‌های مورد پژوهش، از زمان نگهداری (Rt) استفاده شد. ابتدا محلول استاندارد دیازینون به دستگاه تزریق گردید و Rt مربوط به آن ثبت شد. سپس نمونه‌ها به داخل دستگاه تزریق گردیدند و مقایسه‌های نهایی انجام گردید. کلیه آزمایش‌های مذکور در آزمایشگاه جامع معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام گردید. به منظور آنالیز آماری نتایج به دست آمده، ابتدا داده‌ها با استفاده از رایانه وارد نرم‌افزار

جدول شماره ۱: نتایج اندازه‌گیری غلظت سم در نمونه‌های ماهی سه ایستگاه صیادی حاشیه مرکزی دریای خزر (SD± میانگین) و غلظت بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم می‌باشد.

ایستگاه صیادی	نوع ماهی	تعداد نمونه	دiazinon		
			انحراف معیار ± میانگین (میکروگرم بر کیلوگرم)	بیشترین	کمترین
فرح آباد	سفید	۳	۱۷/۴۱±۴/۱۵	۲۲/۱۸	۱۴/۶۸
	کفال	۳	±۴۸/۰۳ ۵۵/۲۵	۱۰۹/۴۴	۱۷/۹۲
	کپور	۳	۲۶/۹۶±۸/۴۸	۳۵/۴۹	۱۸/۵۳
میانکاله	سفید	۳	۱۴/۱۲±۰/۹۵	۱۵/۰۰	۱۳/۱۱
	کفال	۳	۲۹/۳۶±۶/۰۴	۳۶/۰۸	۲۴/۳۷
	کپور	۳	۲۰/۰۶±۷/۳۸	۲۸/۳۷	۱۴/۶۰
	بابلسر سفید	۳	۲۰/۶±۰/۵۱	۲۱/۰۸	۲۰/۰۷
	کفال	۳	۵۵/۱۷±۵۲/۵۰	۱۱۵/۷۸	۲۳/۹۰
	کپور	۳	۲۲/۴۴±۱/۸۴	۲۴/۳۷	۲۰/۷۰
مجموع		۲۷	۲۹/۰۴±۵/۰۲	۱۱۵/۷۸	۱۳/۱۱

ماهی‌ها می‌گردند و نهایتاً از طریق تغذیه‌ی این آبزیان، مواد سمی به بدن انسان راه پیدا می‌نماید (۲۷).

در این مطالعه بافت عضله ماهی به سبب نقش مهم در تغذیه انسان و لزوم اطمینان از سلامت مصرف آن مورد استفاده قرار گرفت و باقیمانده سم Diazinon دریافت عضله سه نمونه ماهی پرمصرف جمع‌آوری شده از مناطق صیادی حاشیه مرکزی دریای خزر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تمام نمونه‌ها به سم Diazinon آلوده می‌باشند، ولی میزان باقی‌مانده سم Diazinon در تمام نمونه‌ها پایین‌تر از حد مجاز استاندارد تعیین شده (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) بود.

بحث

دریای خزر منبع بسیار غنی از انواع ماهیان می‌باشد. آب تمام نواحی و حوضه‌های آب ریز به دریای خزر پس از مشروب نمودن اراضی کشاورزی و عبور از مناطق مسکونی و صنعتی، وارد دریا شده و بدین ترتیب مقادیر عظیمی از پساب‌ها و ضایعات وارد به آب‌های جاری، سرانجام به دریای خزر وارد می‌شوند که در درازمدت دارای تاثیر شدید زیست محیطی بوده و موجب برهم خوردن تعادل اکولوژیکی محیط دریا خواهد شد. امروزه مصرف سموم آفت‌کش به صورت چشمگیری جهت از بین بردن آفت‌ها در مزارع برنج و باغات مرکبات افزایش پیدا کرده است. ترکیبات سمی موجود در پساب‌ها مانند آفت‌کش‌ها، پس از ورود به دریا، مورد مصرف میکروارگانیسم‌های موجود قرار گرفته و بدین ترتیب وارد چرخه غذایی آبزیان می‌شوند (۲۶، ۲۷). تجمع Diazinon در اکوسیستم‌های آبی و اثرات سمی آن بر موجودات یکی از مشکلات ورود این سموم به دریاها می‌باشد. وارد شدن این سموم به بدن آبزیان در دراز مدت ایجاد تجمع زیستی نموده و در نهایت از طریق تغذیه ماهی‌ها خصوصاً کفال (به دلیل ریزه‌خوار بودن) از این موجودات، سموم را وارد بدن خود می‌نمایند که در درازمدت سبب بروز تجمع زیستی در بدن این

نتایج این مطالعه نشان داد که بیش‌ترین میزان آلودگی به سم Diazinon مربوط به ماهی کفال می‌باشد که می‌تواند ناشی از نوع رژیم غذایی ماهی کفال باشد. ریزه‌خوار بودن، کفزی‌تر بودن و هم‌چنین عمر طولانی‌تر این ماهی می‌تواند عامل اصلی بالا بودن باقی‌مانده سم Diazinon در بدن این ماهی را توجیه نماید. هم‌چنین طبق نتایج به دست آمده، ملاحظه گردید که در بین هر سه منطقه از نظر باقیمانده سم در بدن ماهی‌ها، مناطق فرح آباد و بابلسر به ترتیب آلوده‌ترین مناطق می‌باشند که می‌تواند ناشی از سرریز شدن آب‌های کشاورزی به درون رودخانه تجن و بابلرود و از آن‌جا به درون دریای خزر باشد. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲ توسط ماشین مرادی بر روی بافت عضلانی ماهی کفال مصب رودخانه‌های تجن، گرگانرود و بابلرود انجام شد. در این مطالعه، میزان سه نوع آفت‌کش ارگانوفسفره Diazinon، مالاتیون و آزینفوس متیل در نمونه‌ها بررسی شد. یک تفاوت آماری معنی‌داری بین غلظت Diazinon (با میانگین ۰/۲۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نمونه‌های رودخانه بابلرود نسبت به دو ایستگاه دیگر یعنی رودخانه تجن و گرگانرود مشاهده گردید. بر اساس نتایج این بررسی، نمونه‌های جمع‌آوری شده از رودخانه بابلرود، دارای بالاترین سطح آفت‌کش‌های ارگانوفسفره در مقایسه با دو رودخانه

دیگر بودند. در این مطالعه آزینفوس متیل با بیشترین مقدار موجود به عنوان خطرناکترین آفت کش شناخته شد. بالاتر بودن میزان آلودگی در ماهی کفال با رژیم غذایی ریزه‌خواری و کفزی بودن این ماهی مرتبط می‌باشد (۲۷). دیازینون و آزینفوس متیل که در زمین‌های کشاورزی برای کنترل کرم ساقه خوار برنج استفاده می‌شوند (۲۷)، بیشترین غلظت این دو آفت کش در نمونه‌های جمع‌آوری شده از رودخانه بابلرود را داشتند که می‌تواند ناشی از وجود مزارع کشت برنج در حاشیه این رودخانه نسبت به دو رودخانه دیگر باشد (۲۸). این مطالعه با نتایج این تحقیق همخوانی دارد، ولی نتایج حاصل از مطالعه ما، میزان کمتری از سم دیازینون را در بافت عضله ماهی‌ها نشان داد. اکثر تحقیقات انجام گرفته بر روی ماهیان دریای خزر در خصوص اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین بوده است. لذا این تحقیق اولین تحقیق صورت پذیرفته در خصوص اندازه‌گیری میزان سم ارگانوفسفره پرمصرف یعنی دیازینون بر روی این سه نوع ماهی دریای خزر می‌باشد. در سال ۱۳۹۱، مطالعه‌ای با عنوان بررسی هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک (PAH 16) در رسوبات و عضله دو نوع ماهی کفال سالیس و سفید دریای خزر نشان داد که مقادیر آنها در اکثر ایستگاه‌ها بیش‌تر از حد مجاز نبوده است (۲۹). تحقیق مشروقه و و همکارانش نشان داد که میانگین غلظت کادمیوم، وانادیوم و روی در بافت‌های مختلف فیل ماهی و ازون برون و ریسک ناشی از مصرف بافت عضلانی آنها مربوط به حوضه جنوبی دریای خزر، از حد استاندارد تعیین شده توسط سازمان کشاورزی و ماهی‌گیری پایین‌تر می‌باشد (۳۰). هم‌چنین مطالعه نصراله‌زاده ساروی بر روی تجمع برخی از فلزات سنگین در بافت خوراکی ماهی کپور (Cyprinus Carpio) و برآورد میزان خطر در حوزه ایرانی دریای خزر در سال ۱۳۸۹ نشان داد که مقادیر فلزات نیکل، کادمیوم و سرب در عضله ماهی کپور دریای خزر در مقایسه با حد مجاز استانداردهای مختلف ناچیز بوده اما

غلظت جیوه بیش‌تر از حد مجاز تعیین شده توسط WHO مشخص گردید (۳۱). در این مطالعه ماهیان سفید نمونه‌برداری شده دارای میانگین آلودگی ۱۷/۳۷ میکروگرم بر کیلوگرم، کم‌ترین میزان آلودگی در بین ماهی‌ها را به خود اختصاص داد.

مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۷ توسط غلامی پور و همکارانش بر روی ماهی سفید رودخانه‌های شمالی کشور انجام شد، نشان داد که بالاترین سطح دیازینون در ماهی سفید ۰/۲۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد که این مقدار محاسبه شده بسیار بالاتر از حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد جهانی (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) می‌باشد (۳۳). بنابراین نتیجه حاصل از مطالعه غلامی پور وضعیت بدتری از نظر باقیمانده سم ارگانوفسفره دیازینون را در بافت ماهی‌ها نسبت به پژوهش فعلی نشان می‌دهد. مطالعه Vicent Belengue بر روی غلظت دیازینون در ماهی‌های رودخانه Júcar در اسپانیا نشان داد که غلظت دیازینون در ماهی‌های رودخانه بین ۰/۹۲-۳/۵۳ نانوگرم بر کیلوگرم بوده که در مقایسه با تحقیق صورت پذیرفته ما، نتایج بسیار کم‌تر و بهتری را نشان می‌دهد (۲۶).

آلودگی منابع آبی و خاک‌ها در اثر مصرف بی‌رویه سموم آفت‌کش‌ها در شمال کشور یکی از نگرانی‌های همیشگی نسبت به مصرف محصولات غذایی و کشاورزی و دریایی در این منطقه می‌باشد. لذا اندازه‌گیری باقیمانده سموم در مواد غذایی مختلف و خصوصاً در ماهی‌ها و حصول اطمینان مصرف آنها می‌تواند یکی از موارد مهم تشویق مردم به مصرف این دسته مواد غذایی مفید باشد. بنابراین تعیین میزان آلودگی آبزیان در کشورهای مختلف به صورت چند ساله و یا سالیانه انجام می‌گیرد که در کشور ما هم این امر ضروری به نظر می‌رسد. در سال ۲۰۱۱ در کشور مصر بر روی باقی‌مانده سموم ارگانوفسفره (دیازینون، مالاتیون، کلرپیریفسوس، کادوسافوس و پروتیفسوس) در نمونه‌های ماهی جمع‌آوری شده از انشعابات رودخانه نیل تحقیقی انجام پذیرفت و سم دیازینون فقط در یک نمونه ماهی مربوط

به شعبه El-Menofi و به میزان ۹/۲۳ میکروگرم بر کیلوگرم یافت شد. در نمونه‌های مثبت، غلظت سموم مورد ارزیابی پایین‌تر از حد مجاز باقی‌مانده‌ها (Maximum Residue Levels) مشخص گردید. بررسی این ۵ نمونه سم در نمونه‌های ماهی در مناطق مورد مطالعه جهت توصیف شدت فعالیت‌های کشاورزی در این مناطق و ارزیابی کاربرد سموم شیمیایی برای کنترل آفات بوده است. میزان آلودگی ماهی و دیگر آبزیان توسط سموم فسفره و متابولیت‌هایشان در این مطالعه بسیار پایین‌تر از حد مجاز تعیین شده توسط سازمان بهداشت جهانی تعیین گردید. با مقایسه این پژوهش با پژوهش فعلی این نتیجه حاصل می‌گردد که در بررسی ما بر خلاف این پژوهش، در تمام نمونه‌ها سم فسفره دیازینون مشاهده شد و مقدار باقی‌مانده آن بیش‌تر از مقداری است که در کشور مصر ملاحظه گردید (۳۰). ولی در هر دو مطالعه، میزان آلودگی ماهیان در محدوده مجاز از نظر مصرف قرار داشتند. بالاترین میزان باقیمانده سم در نمونه‌های مورد بررسی مربوط به نمونه کفال (۱۱۵/۷۸ میکروگرم بر کیلوگرم) و پایین‌ترین میزان آلودگی در میان ماهی‌های مورد بررسی مربوط به ماهی سفید (۱۳/۱۱ میکروگرم بر کیلوگرم) بود. عمر طولانی‌تر ماهی کفال می‌تواند تجمع سموم را در بدن این ماهی افزایش دهد که در این مطالعه، تجمع بالاتر سم دیازینون در این گونه ماهی مورد تایید قرار گرفت. به طور کلی و بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه (جدول شماره ۱) در تمام مناطق و هم‌چنین در تمام انواع ماهیان مورد بررسی، حشره‌کش دیازینون در بافت عضله مشخص و مثبت اعلام گردید. البته با توجه به استاندارد پیشنهادی WHO که میزان ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم را برای وجود ارگانوفسفره دیازینون در بافت

ماهی مجاز می‌داند، خوشبختانه در هیچ‌یک از نمونه‌های مورد آنالیز و در هیچ‌کدام از ایستگاه‌های صید ماهی، میزان آلودگی به حد مجاز نرسیده و در نتیجه ماهیان این مناطق از شرایط قابل پذیرش برای مصارف انسانی برخوردار می‌باشند. البته این نکته قابل ذکر می‌باشد که در این مطالعه، منطقه فرح‌آباد و بابلسر تقریباً بالاترین میزان باقی‌مانده سم ردیابی شده را در بدن ماهیان داشتند. یکی از دلایل آن می‌تواند مصرف بیش‌تر این سم در این مناطق باشد، از دلایل دیگر، کشاورزی بودن مناطق بالا دست رودخانه‌ها است که آب حاوی سم زمین‌های شالیزاری مستقیماً از طریق رودخانه‌ها به دریا می‌ریزند. به همین دلیل بررسی‌های متعدد در زمان‌های مختلف در خصوص آنالیز حشره‌کش‌های متفاوت (اورگانوکلره، اورگانوفسفره و کارباماتی) در آب دریای خزر و رودخانه‌هایی که به آن می‌ریزند را می‌بایست مدنظر و مورد بررسی قرار داد.

سپاسگزاری

این مطالعه در آزمایشگاه جامع معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام گردید. نویسندگان مراتب تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، به دلیل تامین هزینه این طرح (با شماره ۸۸۷) اعلام می‌دارند. این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه خانم مرضیه کریمی، دانشجوی کارشناسی ارشد سم‌شناسی دانشکده داروسازی ساری بوده است. هم‌چنین از زحمات پرسنل و مسئولین محترم آزمایشگاه قطب شمال کشور و آزمایشگاه دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و عزیزانی که در اجرای این پروژه با ما همکاری داشتند، کمال تشکر را داریم.

References

1. Kro WJ, Arsenault TL, Pylypiw HM, Mattina MJI, Incorvia MM. Reduction of pesticide

residues on produce by rinsing. J Agric Food Chem 2000; 48(10): 4666-4670.

2. Torres CM, Pico Y, Manes J. Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. *J Chromatogr A* 1996; 754(1-2): 301-331.
3. Carlton F, Simpson WM. Pesticides, the organophosphates and other insecticides. In: Haddad LM, Winchester JF. *Clinical management of poisoning and drug overdose*. 3rd ed. From WB Saunders Company. USA: Philadelphia; 1998.
4. Horwitz W, Latimer GW. *Official Analytical Chemists of AOAC international*. 18th ed. Maryland-USA: Gaithersburg, Md; 2005.
5. Perugini M, Cavaliere M, Giammarino A, Mazzone P, Olivieri V, Amorena M. Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in some edible marine organisms from the central Adriatic Sea. *Chemosphere* 2004; 57(5): 391-400.
6. Helferich W, winter CK. *Food Toxicology*. New Yourk: CRC Press; 2001.
7. Shayeghi M, Khoobdel M, Bagheri, F, Abtahi M. Azinphos-methyl and diazinon residues in Gorganrood and Gharesoo river Golestan province. *J School Pub Health Institute Public Health Res* 2008; 6(1): 75-82 (Persian).
8. Jaga K, Dharmani C. Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticides. *Rev Panam Salud Publica* 2003; 14(3): 171-185.
9. Khanjani M, Pourmirza AA. *Toxicology*. 2nd ed. Hamedan: Bu-Ali University Publisher; 2009. (Persian)
10. LitOvitz TL, Schwartz K. Pesticides: cholinesterase inhibition organophosphate parathion molathinon etc. *Current Med Diagnosis and Treatment*. 2002. Chap. 39. P: 1636.
11. Moore DH. Long term health effects of low dose exposure to nerve agent. *J Physiol Pairs* 1998; 92(3-4): 325-328.
12. Khazaei H, Korasani N, Talebi jahromi KH. Quality survey and health status mazandaran groundwater from use of diazinon insecticide (case study: mahmoudabad city). 12th Environmental Health Conference. 2010. Tehran, Iran. (Persian).
13. Khodadadi M, Samadi MT, Rahmani AR, Maleki, Rasaie AR, Shahidi R. Determination of organophosphorous and carbamat Pesticides residue in drinking water resources of Hamadan in 2007. *Int J Environ Res* 2010; 2(4): 250-257.
14. Moran KD (project Manager). TDC Environmental. Diazinon & Chlorpyrifos products: Screening for Water Quality Implication. Contract Report prepared for California Department of pesticide Regulation. San Mateo, California. 2001.
15. Roberts TR, Hutson DH, Lee PW, Nicholls PH, Plimmer JK (eds). *Metabolic pathways of Agrochemicals, part 2: Insecticides and fungicides*. UK Cambridge: Chemistry International (CI); 1998.
16. Banaee M, Sureda A, Mirvaghefi AR, Ahmadi K. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochem Physiol* 2011; 99(1): 1-6.
17. Oh HS, Lee SK, Kim YH, Roh JK. Mechanism of selective toxicity of diazinon to killifish (*Oryzias latipes*) and Loach (*Misgurnus anguilli caudatus*). *Aquatic Toxicology and Risk Assessment* 1991; 14: 343-353.
18. Dutta HM, Meijer HJ. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis. *Environ Pollut* 2003; 125: 355-360.
19. Moore A, Waring CP. Sublethal effects of the pesticide Diazinon on olfactory function in mature male Atlantic salmon parr. *J Fish Biol* 2005; 48(4): 758-775.

20. Mohammad Nejad Shamoushaki M, Soltani M, Sharifpour I, Imanpoor MR, Baharlouei A. Effect of organophosphate, diazinon on some organs in *Rutilus frisii kutum*. *J of Utilization and Cultivation of Aquatics* 2012; 1(2): 83-90 (Persian).
21. Shokrzadeh M, Ebadi AG. Investigating and Measurement of Residues of Chlorobenzilate (Organochlorine Pesticides) in Four Species of the Most Consumed Fishes in Caspian Sea (Iran). *Pakistan Journal of Nutritio* 2006; 5(1): 68-70.
22. Regional Organization for the Protection of the Marine Environment. *Manual of Oceanographic Observations and Pollutant Analysis Methods (MOOPAM)*. California: Regional Organization for the Protection of the Marine Environment. 2009.
23. Association of official analytical. AOAC: *Official Methods of Analysis*. Unites State; 1988.
24. Svoboda M, Luskova V, Drastichova J, Zlabek V. The effect of diazinon on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L). *Acta Veterinaria Brno* 2001; 70(4): 457-465.
25. Ueno E, Oshim Chun OK, Kang HG, Kim MH. Multiresidue method for the determination of pesticides in Korean domestic crops by gas chromatography. Mass selective detection. *J AOAC Int* 2003; 86(4): 823-831.
26. Belenguer V, Martinez-Capel F, Masiá A, Picó Y. Patterns of presence and concentration of pesticides in fish and waters of the Júcar River (Eastern Spain). *J Hazard Mater* 2014; 265: 271-279.
27. Mashian Moradi A, Golshani R. Determination of concentration of organophosphate pesticides (diazinon-malathion-azinfos methyl) in mullet (*Liza aurata*) muscle tissue from Babolrud, Gorganrud and Tajan river estuaries. *Int J Mar Sci Eng* 2012; 2(4): 255-258 (Persian).
28. SheykhiGorjan A, Najafi H, Abasi S, Saber F, Farshid M. *The Pesticide Guid of Iran*. Tehran: Ketab Paitakht Press; 2009. (Persian)
29. Nasrollahzadeh Saravi H, Pourgholam H, Unesipour H, Makhloogh A. Polyaromatic Hydrocarbons (16PAHs) at the Sediments and Edible Tissue of *Liza Saliens* and *Rutilus Frisii Kutum* in Caspian Sea. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2012; 22(94): 79-90 (Persian).
30. Mashroofeh A, Riyahi Bakhtiari AR, Pourkazemi M. Evaluation of Cadmium, Vanadium, Nickel and Zink Concentrations in Different Tissues of Beluga and Stellate Sturgeon and Risk Assessment Regarding Consuming Their Muscle Tissue in South Caspian Sea. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 22(96): 89-96 (Persian).
31. Nasrollahzadeh Saravi H, Pourgholam R, Pourang N, Rezaei M, Makhloogh A, Unesipour H. Heavy Metal Concentrations in Edible Tissue of *Cyprinus Carpio* and Its Target Hazard Quotients in the Southern Iranian Caspian Sea Coas (2010). *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 23(103): 33-44 (Persian).
32. Environmental Development Document of Mazandaran Province in the fifth Economic. Social and Cultural Development Plan of Islamic Republic of Iran. 2010.
33. Gholampour S, Safari R, Lalouyee F. determining the residual of phosphorus insecticides in fishes of estuary of the rivers of Iran northern provinces, Department of environment, 2007.
34. Malhat F, Nasr I. Organophosphorus Pesticides Residues in Fish Samples from the River Nile Tributaries in Egypt. *Bull Environ Contam Toxicol* 2011; 87(6): 689-692.