

دانش گیاهپزشکی ایران

دوره ۴۵، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۳ (ص ۳۲۸-۳۱۹)

باقی مانده حشره کش ایمیداکلوپرید در توت فرنگی گلخانه‌ای در شرایط نگهداری در یخچال

فرزانه نوروزی^۱، اورنگ کاوسی^{۲*}، خلیل طالبی جهرمی^۳، شهره محبی^۴ و مرتضی موحدی فاضل^۵

۱، ۲ و ۵. دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیاران گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۳. استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۴. استادیار گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۱۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۸/۲۷)

چکیده

ایمیداکلوپرید از جمله حشره‌کش‌های رایج برای آفات مکنده در گلخانه‌ها است و به همین دلیل اطلاع از باقی مانده آن روی محصولات ضروری است. در این پژوهش تأثیر مدت زمان انبارمانی بر روند کاهش باقی مانده حشره‌کش ایمیداکلوپرید در میوه توت فرنگی بررسی شد. سم‌پاشی بوته‌های توت فرنگی با محلول ایمیداکلوپرید (SC35) با غلظت یک در هزار انجام گرفت. آماده‌سازی نمونه به روش QuEChERS انجام شد که شامل استخراج باقی مانده آفت‌کش با استونیتریل و خالص‌سازی با استفاده از فاز جامد پخش‌شونده بود. برای اندازه‌گیری باقی مانده ایمیداکلوپرید در نمونه استخراج شده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارساز فرابنفش (UV) استفاده شد. حد تشخیص دستگاهی ۰/۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و میانگین بازیابی روش ۹۴/۸۰ درصد محاسبه شد. داده‌ها در دو مدل کینتیکی، مرتبه اول و دونمایی برازش داده شد. نتایج نشان داد بهترین مدل برای توصیف روند کاهشی ایمیداکلوپرید مدل کینتیک مرتبه اول است. نیمه‌عمر ایمیداکلوپرید در دمای ۴-۵ درجه سلسیوس ۱۰/۴۸ روز محاسبه گردید. میزان باقی مانده حشره‌کش ایمیداکلوپرید در اولین روز پس از سم‌پاشی در این محصول ۵/۳۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد که این مقدار ۱۰/۶۲ برابر بیشتر از حداکثر غلظت باقی مانده مجاز برای این حشره‌کش در توت فرنگی (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تعیین شده توسط سازمان کدکس غذایی است. میزان باقی مانده حشره‌کش ایمیداکلوپرید در میوه توت فرنگی پس از ۲۰ روز انبارمانی نیز ۳/۳۶ برابر (۱/۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) حد مجاز بود. بر این اساس، اگرچه نگهداری در یخچال ماندگاری میوه را بیشتر می‌کند، اما روند کاهش باقی مانده بسیار کند می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کچرز، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، مدل کینتیکی.

مقدمه

توت فرنگی (*Fragaria ananasa* Duch) یکی از کشت‌های وسیع گلخانه‌ای است و به خاطر عطر و طعم و ویتامین، قسمتی از رژیم غذایی منظم میلیون‌ها نفر از مردم را تشکیل می‌دهد. این میوه منبع خوبی از فیبر، ویتامین ث، فولات، پتاسیم و آنتی‌اکسیدان‌ها بوده و به

سم‌پاشی مکرر در گلخانه‌ها، برداشت زودهنگام محصولات بعد از سم‌پاشی و ارائه به بازار و مصرف این محصولات به صورت خام و تازه، سلامت مصرف‌کنندگان را به طور جدی تهدید می‌کند (Cooper & Niglli,)

انگور دوام داشته و نیمه عمر در هر دو غلظت ۱۶/۶ روز بوده است (Mohapatra *et al.*, 2011). مقایسه باقی مانده ایمیداکلوپرید در سه محصول گوجه فرنگی، بادمجان و بامیه نشان داده است که بیشترین میزان باقی مانده مربوط به بامیه است. پس از آن به ترتیب بادمجان و گوجه فرنگی قرار دارند (Banerjee *et al.*, 2012). ایمیداکلوپرید در قسمت سفید و نرم فیبر لایه میانی پوست (میان بر) و غشا، بین دانه انار نفوذ می کند، اما کمتر از MRL است. سم پاشی انار با غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی لیتر در هکتار انجام گرفته است، میزان باقی مانده بی درنگ پس از کاربرد در غلظت استاندارد ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم و در غلظت دو برابر ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم تشخیص داده شده است (Utture *et al.*, 2012).

همچنین تا کنون مطالعاتی درباره تأثیر نگهداری محصولات کشاورزی در دماهای پایین بر روند کاهش آفت کش ها در این محصولات صورت گرفته است. آفت کش تفلوبنزورون به طور مداوم در طول دوره ذخیره سازی گلایی در سردخانه کاهش می یابد، اما باقی مانده تری فلومورون تا ۶ هفته پس از عملیات سردخانه گذاری کاهش پیدا نمی کند و پس از آن به طور ثابت کاهش یافته و ۷ درصد از باقی مانده اولیه در پایان دوره ذخیره سازی کاسته می شود (Aplada-Sarlis *et al.*, 1999).

نیمه عمر آفت کش متیداتیون در انگورهای نگهداری شده در یخچال ۶۴ روز است؛ این در حالی است که نیمه عمر این آفت کش در شرایط مزرعه ای ۵ روز گزارش شده است (Kyriakidis *et al.*, 2000). تجزیه حشره کش آزینفوس متیل در طول ذخیره سازی سیب و لیمو در سردخانه مطالعه شده است. نیمه عمر این حشره کش در سیب ۱۲۲ و در لیمو ۴۶ روز گزارش شده است. نیمه عمر پایین تر در لیمو به اسیدیته بالا در این میوه نسبت داده شده است (Athanasopoulos & Pappus, 2000). Fenoll *et al.* (2009) نشان دادند که آفت کش های مختلف تحت تأثیر تیمار ذخیره سازی در یخچال با مقادیر متفاوتی کاهش می یابند که این کاهش به ویژگی های هر آفت کش و میزان پایداری در دماهای مختلف بستگی دارد. برای نمونه نیمه عمر برای

همین دلیل در رژیم های غذایی حائز اهمیت است (Alikhani *et al.*, 2009). ایمیداکلوپرید از جمله حشره کش های مؤثر در مدیریت آفات شته و سفیدبالک توت فرنگی در گلخانه است (Mossler & Nesheim, 2007). این حشره کش متعلق به گروه شیمیایی نئونیکوتینوئیدها است که با اثرات زیستی فوق العاده و بهترین خواص سیستمیک برای طیف وسیعی از آفات استفاده می شود (Sur & Stotk, 2003). بر اساس تحقیقات مختلف ایمیداکلوپرید و متابولیت اصلی آن ۶-کلرونیکوئینیک اسید به صورت گوارشی سبب مسمومیت های حاد و مزمن می شود (Carretero *et al.*, 2003).

سازمان های بین المللی مختلف از جمله کمیسیون کدکس غذایی (Codex Alimentarius Commission) و سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization) برای استفاده تجاری از آفت کش ها قوانینی را تنظیم کرده اند؛ از جمله این قوانین تعیین حداکثر باقی مانده مجاز است که به صورت بیشترین غلظت آفت کش ها در مواد غذایی که برای سلامت انسان خطری نداشته باشد تعریف می شود (Gupta *et al.*, 2008). حداکثر غلظت باقی مانده مجاز ایمیداکلوپرید در توت فرنگی که از سوی کمیسیون کدکس غذایی تعیین شده، ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم است (Codex Alimentarius Commission, 2009).

تا کنون روند کاهشی ایمیداکلوپرید در برخی از محصولات کشاورزی در جهان بررسی شده است. از جمله این محصولات می توان به انبه (Sharma & Awashi, 1998)، کلم (Dickshit *et al.*, 2001)، انگور (Mohapatra *et al.*, 2011)، برنج (YaHang *et al.*, 2012)، گوجه فرنگی، بادمجان و بامیه (Banerjee *et al.*, 2012)، انار (Utture *et al.*, 2012)، خیار (Talebi, 2005) اشاره کرد. با سم پاشی دو مرحله ای انبه با غلظت های ۰/۸ و ۱/۲ میلی لیتر در لیتر، نیمه عمر ایمیداکلوپرید به ترتیب ۵/۲ و ۸/۲ روز گزارش شده است (Sharma & Awashi, 1998). باقی مانده ایمیداکلوپرید در انگور نیز پس از سم پاشی با غلظت های ۸۰ و ۱۶۰ گرم در هکتار به ترتیب ۰/۷۴ و ۱/۲۶ میلی گرم بر کیلوگرم اندازه گیری شده است. باقی مانده تا ۶۰ روز روی

میوه‌ها در یخچال (دمای ۴-۵ درجه سلسیوس) نگهداری شد و به ترتیب در روزهای ۱، ۲، ۴، ۶، ۱۳ و ۲۰ میزان باقی‌مانده حشره‌کش تعیین گردید.

استخراج و خالص‌سازی نمونه‌ها برای آنالیز با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

آماده‌سازی بر اساس روش اصلی کچرز QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe)، استخراج با استونیتریل و خالص‌سازی با روش فاز جامد پخش‌شونده (d-SPE) انجام گرفت (Anastassiades, 2007). ۳۰۰ گرم توت‌فرنگی وزن شد و سپس توسط مخلوط‌کن (Blender) به حالت همگن تبدیل شد. در یک لوله فالكون از جنس پلی‌پروپیلن شفاف با حجم ۵۰ میلی‌لیتر، ۱۰ گرم از نمونه همگن‌شده وزن گردید و با ۱۰ میلی‌لیتر استونیتریل HPLC grade از شرکت کالدون (Caledon) کانادا مخلوط گردید و سپس به مدت ۱ دقیقه با شدت تکان داده شد. سپس ۴ گرم منیزیم سولفات بدون آب و ۱ گرم سدیم کلرید از شرکت مرک (Merck) آلمان به آن اضافه و پس از آنکه به مدت یک دقیقه تکان داده شد و با سانتریفیوژ یخچال‌دار، مدل 220R ساخت شرکت هتیش (Hettich) آلمان با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای این مرحله سه تکرار در نظر گرفته شد. سپس خالص‌سازی توسط ۱۵۰ میلی‌گرم منیزیم سولفات بدون آب و ۲۵ میلی‌گرم جاذب PSA (Primary secondary amine) از شرکت اجیلنت تکنولوژی (Agilent Technologies) آمریکا انجام گرفت. ۱ میلی‌لیتر از روشین به دست‌آمده از مرحله سانتریفیوژ، داخل هر کدام از لوله‌های فالكون ۱۵ میلی‌لیتری پر شده با مواد جاذب اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه به شدت تکان داده شد. لوله‌ها به دستگاه سانتریفیوژ منتقل و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. روشین به دست‌آمده در این مرحله جدا و به میکروتیوب منتقل شد. برای هر کدام از تکرارهای مرحله استخراج با استونیتریل سه تکرار خالص‌سازی منظور گردید. بدین ترتیب نمونه آماده تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با آشکارساز ماورا بنفش (Ultra Violet) گردید.

حشره‌کش بوپروپزین در یخچال ۵ تا ۹ برابر شرایط معمول است.

سطح توت‌فرنگی دارای خلل و فرج فراوانی است و پوست یکنواختی ندارد و به همین دلیل آفت‌کش‌ها به راحتی در آن نفوذ می‌کنند و باقی می‌مانند. چون این میوه بسیار ظریف بوده و بلافاصله پس از رسیدن باید آن را برداشت کرد، این پرسش مطرح می‌شود که آیا فرصت کافی برای تجزیه آفت‌کش و رسیدن مقدار آن به پایین‌تر از حد مجاز باقی‌مانده قبل از مصرف وجود دارد؟ توت‌فرنگی از جمله محصولات است که عملاً بدون رعایت دوره پیش از برداشت آفت‌کش‌ها برداشت شده و در انبارهایی با درجه حرارت پایین نگهداری می‌شود تا در کوتاه‌ترین فاصله زمانی به بازار مصرف ارائه شود. به همین جهت نیاز به بررسی تأثیر زمان انبارمانی بر تغییرات میزان آفت‌کش‌ها در این محصول در بین تحقیقات مختلف همیشه وجود داشته است. تعیین نیمه‌عمر و بررسی روند کاهش آفت‌کش‌ها درباره محصولات است که پس از برداشت مدتی در انبار نگهداری می‌شوند از جمله تحقیقاتی است که به انتخاب صحیح آفت‌کش‌ها کمک می‌کند. ایمیداکلوپرید از جمله حشره‌کش‌های کاربردی و رایج برای آفات مکنده در گلخانه‌ها است که باقی‌مانده آن روی محصول خطرات جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان در پی دارد. با توجه به اینکه اطلاعات چندانی در باب روند کاهشی ایمیداکلوپرید در دوره انبارمانی در دسترس نیست، تعیین نیمه‌عمر و بررسی روند کاهش این آفت‌کش در انبار با استفاده از مدل‌های کینتیکی هدف این تحقیق است.

مواد و روش‌ها

شیوه نمونه‌برداری و کاربرد تیمارها

سم‌پاشی بوته‌های توت‌فرنگی رقم کاماروسا در گلخانه با فرمولاسیون تجاری ایمیداکلوپرید (سوسپانسیون ۳۵ درصد محصول شرکت مشکفام ایران) با غلظت ۱ در هزار انجام گرفت. ۲ ساعت بعد میوه‌های کاملاً رسیده برداشت و در کوتاه‌ترین فاصله زمانی به آزمایشگاه منتقل شدند. نخستین آزمایش برای تعیین میزان باقی‌مانده در روز برداشت انجام گرفت. سپس بقیه

اندازه‌گیری باقی‌مانده ایمیداکلوپرید

برای اندازه‌گیری باقی‌مانده ایمیداکلوپرید از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (مدل Waters ساخت آمریکا) استفاده شد. ستون استفاده شده از نوع ODS (Octadecyl Silane) و با طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴/۶ سانتی‌متر و ضخامت لایه جاذب ۵ میکرومتر بود. آشکارساز دستگاه از نوع UV-Vis (UV-Visible Spectroscopy) بود. برای به‌دست آوردن مناسب‌ترین طول موج برای ردیابی ایمیداکلوپرید در سیستم HPLC با آشکارساز UV، جذب این ماده در بازه ۲۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر ارزیابی گردید و مناسب‌ترین طول موج ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. فاز متحرک (Mobile Phase) استونیتریل و آب دیونیزه با نسبت حجمی ۷۰ به ۳۰ درصد در نظر گرفته شد و جریان فاز متحرک (Flow Rate) ۰/۸ میلی‌لیتر بر دقیقه تعیین شد. حجم تزریق ۵۰ میکرولیتر بود و هر نمونه استخراج‌شده در سه تکرار به دستگاه تزریق گردید. در این شرایط زمان بازداری (Retention time) برای ایمیداکلوپرید ۴/۱ دقیقه مشاهده شد (شکل ۱).

اعتبارسنجی روش (Method validation)

خطی بودن (Linearity)، تهیه غلظت‌های استاندارد و رسم منحنی استاندارد
محدوده خطی بودن توسط رسم منحنی استاندارد و رگرسیون کمترین مربعات تعیین گردید.

به منظور تهیه محلول‌های استاندارد، ابتدا محلول استاندارد مادر (Stock Solution) با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فراهم آمد و سپس محلول‌های استاندارد توسط رقیق کردن برای ترسیم منحنی استاندارد و معادله رگرسیون تهیه شد. ۶ غلظت ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در متانول تهیه شد و سپس در سه تکرار و با حجم ۵۰ میکرولیتر به دستگاه کروماتوگرافی مایع تزریق گردید.

$$Y = mC + i \quad (1)$$

در این معادله Y ، C ، m و i به ترتیب پاسخ دستگاه، غلظت، شیب خط و عرض از مبدأ را نشان می‌دهند (Corley, 2003).

دقت (Precision)، آزمایش تکرارپذیری در یک روز (Repeatability) و دقت حد واسط (Intermediate precision)

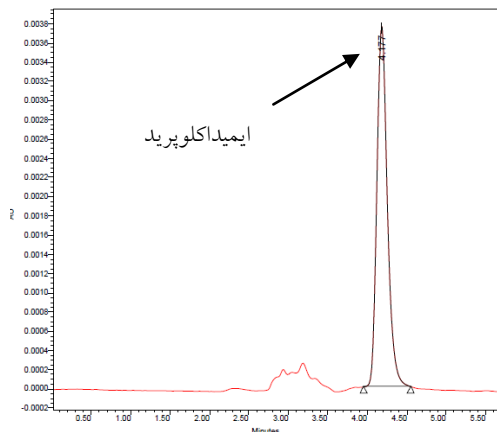
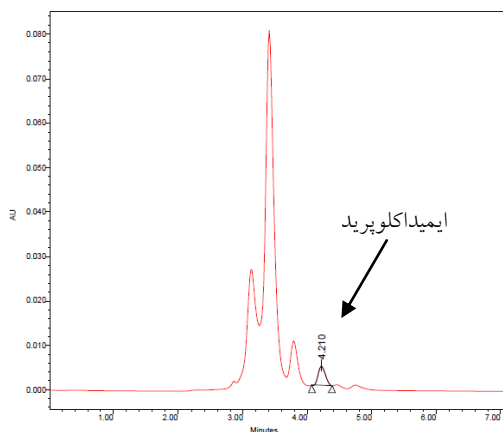
دقت روش با انجام دو آزمایش تکرارپذیری در یک روز و بین روزها بررسی شد. برای انجام آزمایش Repeatability، محلول استاندارد حشره‌کش ایمیداکلوپرید به نمونه همگن‌شده فاقد حشره‌کش ایمیداکلوپرید اضافه گردید. غلظت‌های کم (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، میانه (۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زیاد (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انتخاب و از هر کدام سه بار تکرار آماده شد و همگی در یک روز به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق گردید. سپس برای هر غلظت میانگین و سپس درصد انحراف معیار نسبی (Relative Standard Deviation) محاسبه گردید که این درصد در صورتی که کمتر از ۶ باشد، با توجه به محدوده تعیین‌شده توسط ICH، تکرارپذیری روش تأیید خواهد شد.

برای آزمایش Intermediate precision، محلول استاندارد ایمیداکلوپرید به نمونه همگن‌شده توت‌فرنگی اضافه گردید. در سه روز متناوب ۴ غلظت ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر کدام به‌صورت سه بار تکرار تهیه شد و به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق گردید. سپس درصد انحراف معیار نسبی برای هر غلظت با توجه به میانگین به‌دست‌آمده تعیین گردید که این درصد نیز کمتر از ۶ قابل قبول است.

صحت (Accuracy) و آزمایش بازیابی (Recovery)

صحت داده‌ها بر اساس محاسبه درصد بازیابی حاصل از غلظت‌های متفاوت نمونه به‌دست آمد. محدوده درصد بازیابی تعیین‌شده توسط ICH برای صحت آزمایش ۸۰ تا ۱۲۰ درصد است (International Conference on Harmonization, 1995).

برای انجام آزمایش بازیابی چهار غلظت متفاوت هر کدام به‌صورت سه بار تکرار از محلول استاندارد ایمیداکلوپرید به نمونه همگن‌شده توت‌فرنگی اضافه گردید. پس از استخراج که شرح روش به تفصیل بیان گردیده است، نمونه‌های حاصل به دستگاه کروماتوگرافی مایع تزریق گردید و درصد بازیابی برای هر غلظت محاسبه شد (شکل ۱).



شکل ۱. کروماتوگرام HPLC: الف) غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر ب) آزمایش بازایی ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم

Peak Summary with Statistics

	Sample Name	Vial	Inj.	RT (min)	Area (V * sec)	% Area	Height (V)	Amount	Units
1	1ppm.150PSA	1	7	4.210	34371	100.00	4400		
Mean				4.210	34370.898		4400.457		
Std. Dev .									
% RSD									

Peak Summary with Statistics

	Sample Name	Vial	Inj.	RT (min)	Area (V * sec)	% Area	Height (V)	Amount
1	1ppm	1	13	4.177	34784	100.00	3747	
Mean				4.177	34783.602		3746.998	
Std. Dev .								
% RSD								

محلول نهایی برای تزریق به دستگاه بر حسب میلی‌لیتر، M وزن نمونه بر حسب گرم و %Rec میانگین درصد بازایی برای روش است.

مدل‌های کینتیکی برای بررسی روند کاهشی آفت‌کش داده‌ها در دو مدل کینتیکی، مرتبه اول (first-order kinetics model) و دونمایی (Bi-exponential model) برازش داده شد. مدل کینتیک مرتبه اول یک معادله نمایی ساده با تنها دو پارامتر است. نیمه‌عمر (DT₅₀) در این مدل توسط معادله ۶ محاسبه می‌گردد.

$$[C]_t = [C]_1 e^{-kt} \quad (5)$$

$$DT_{50} = \ln(2) \times K^{-1} \quad (6)$$

[C]_t غلظت ترکیب (میلی‌گرم بر کیلوگرم) در زمان t، [C]₁ غلظت اولیه ترکیب در زمان صفر که از طریق رابطه کینتیک مرتبه اول تجزیه می‌شود، k ثابت سرعت تجزیه و t زمان (روز) است (Focus, 2006).

از آنجا که در مدل کینتیک دونمایی (معادله ۷) را نمی‌توان به فرم مشتق شده بیان کرد، محاسبه DT₅₀ در آن با روش تکرارشونده انجام می‌گیرد (Banerjee et al., 2008).

$$[C]_t = [C]_1 e^{-k_1 t} + [C]_2 e^{-k_2 t} \quad (7)$$

[C]_t غلظت ترکیب (میلی‌گرم بر کیلوگرم) در زمان t، [C]₁ و [C]₂ غلظت‌های اولیه ترکیب در زمان صفر که از

حساسیت (Sensitivity)

به منظور محاسبه حساسیت روش، از کمیت‌های حد تشخیص دستگاهی (Instrumental Detection Limit)، حد کمی شدن دستگاهی (Instrumental Quantification Limit) و حد تشخیص تخمینی روش (Estimated Limit Method Detection) استفاده شد. حد تشخیص و کمی شدن دستگاهی با استفاده از روش ریشه میانگین مربعات خطا و منحنی استاندارد، که آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده (US Environmental Protection Agency) آن را توصیه کرده است، محاسبه گردید. این روش زمانی به کار می‌رود که بین پاسخ آشکارساز و غلظت ترکیب مورد نظر یک رابطه خطی وجود دارد (Corley, 2003). در این روابط RMSE ریشه میانگین مربعات خطا و m شیب منحنی استاندارد است.

$$IDL = \frac{3 \text{ RMSE}}{m} \quad (2)$$

$$IQL = \frac{10 \text{ RMSE}}{m} \quad (3)$$

همچنین حد تشخیص تخمینی روش با استفاده از دو فاکتور حد تشخیص دستگاهی و درصد بازایی محاسبه شد (Singh et al., 2004).

$$\text{EMDL} = \frac{IDL \times V \times 100}{\% \text{Rec} \times M} \quad (4)$$

در این رابطه IDL حد تشخیص دستگاهی، V حجم

دقت، صحت و حساسیت روش

بر اساس داده‌های جدول ۱ درصد انحراف معیار نسبی در چهار غلظت آزمایش‌شده در یک روز به‌طور محسوسی کوچک‌تر از ۶ درصد است. همچنین درصد انحراف معیار نسبی برای هر چهار غلظت تحت آزمایش در سه روز متناوب نیز در بازه قابل قبول است (International Conference on Harmonization, 1995). نتایج بازیابی در جدول ۲ آمده است که نشان‌دهنده صحت روش است. منحنی استاندارد با استفاده از محلول‌های متانولی ایمیداکلوپرید استاندارد در غلظت‌های مختلف ترسیم شد. لذا غلظت‌های به‌دست‌آمده در آزمایش‌ها در نتایج بازیابی ضرب و به عنوان غلظت نهایی گزارش شد. میانگین بازیابی محاسبه‌شده برای غلظت‌های مختلف مقایسه آماری شد. بر اساس تجزیه واریانس اختلاف معناداری بین آنها دیده نشد (P -Value=۰/۱۰۲، $df=3$ ، $F=2/89$). بنابراین میانگین کل به‌دست‌آمده (۹۴/۸۰ درصد) برای همه محاسبات به‌کار رفت. حساسیت آزمایش با استفاده از کمیت‌های حد تشخیص دستگاهی، حد کمی شدن دستگاهی و حد تشخیص تخمینی روش در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۱. مقادیر تکرارپذیری و دقت حد واسط

غلظت تهیه‌شده (mg kg ⁻¹)	تکرارپذیری (RSD%)	دقت حد واسط (RSD%)
۰/۵	۱/۲۴	۱/۳۴
۱	۰/۶	۲/۱۲
۵	۲/۲۷	۱/۵۷
۱۰	۲/۴۳	۱/۷۷

جدول ۲. مقادیر بازیابی برای ایمیداکلوپرید در توت‌فرنگی

غلظت تهیه‌شده (mg kg ⁻¹)	میانگین بازیابی (%)	انحراف معیار نسبی
۰/۵	۹۶/۷۷	۱/۲۴
۱	۹۵/۵۱	۰/۶
۵	۹۳/۷۸	۲/۲۷
۱۰	۹۳/۱۱	۲/۴۳

جدول ۳. مقادیر حد تشخیص برای ایمیداکلوپرید در توت‌فرنگی

*IDL (mg kg ⁻¹)	**IQL (mg kg ⁻¹)	***EMDL (mg kg ⁻¹)
۰/۱۲	۰/۴۲	۰/۶

*: حد تشخیص دستگاهی، **: حد کمی شدن دستگاهی، ***: حد تشخیص تخمینی روش.

طریق رابطه کینتیک مرتبه اول ۱ و ۲ تجزیه می‌شوند و k_1 و k_2 ثابت سرعت تجزیه و t زمان (روز) است.

آماره‌های به‌کاررفته برای ارزیابی کارایی مدل‌ها

ریشه میانگین مربعات خطا (Root Mean Square Error) نشان‌دهنده میانگین اختلاف موجود بین داده‌های اندازه‌گیری‌شده و مقادیر برآوردشده توسط مدل است (معادله ۸) و ضریب جرم باقی‌مانده (Coefficient of the Residual Mass) گرایش مدل به تخمین بیشتر یا کمتر از مقادیر اندازه‌گیری‌شده را بیان می‌کند (معادله ۹).

$$RMSE = \frac{1}{\sqrt{n}} \sqrt{\sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2} \quad (8)$$

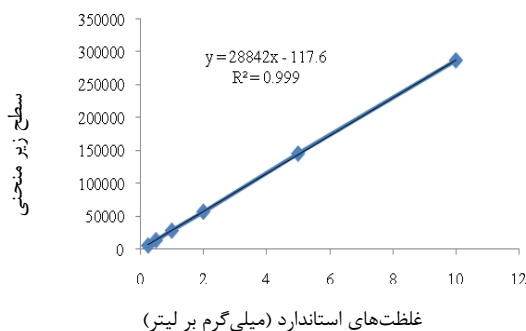
$$CRM = \frac{\sum_{i=1}^n (O_i - P_i)}{\sum_{i=1}^n (P_i)} \quad (9)$$

P_i مقادیر برآوردشده، O_i مقادیر اندازه‌گیری‌شده، \bar{O} میانگین مقادیر اندازه‌گیری‌شده و n تعداد مشاهدات است. برای بررسی مدل‌ها از نرم‌افزار SigmaPlot (v12.0) استفاده شد.

نتایج و بحث

خطی بودن و منحنی استاندارد

معادله استاندارد با سه بار تزریق ۶ غلظت محلول استاندارد ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر ایمیداکلوپرید به دستگاه کروماتوگرافی مایع به‌دست آمد (شکل ۲).



شکل ۲. منحنی استاندارد محلول ایمیداکلوپرید

با استفاده از منحنی کالیبراسیون و معادله رگرسیون خطی، خطی بودن در محدوده ۰/۲۵ تا ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر تأیید شد.

نمایش می‌دهد. بر این اساس، نیمه‌عمر ایمیداکلوپرید برای مدل‌های کینتیکی مرتبه اول و دونمایی به ترتیب برابر ۱۰/۴۸، ۹/۹۲ روز محاسبه شد. همچنین آماره‌های ریشه میانگین مربعات خطا و ضریب جرم باقی مانده و ضریب تبیین برای مدل کینتیکی مرتبه اول به ترتیب ۰/۰۷۹، ۰/۰۱۵۷ و ۰/۹۵ و در مدل کینتیکی دونمایی به ترتیب ۰/۰۷۶، ۰/۰۰۰۰۵۲ و ۰/۹۵ محاسبه گردید.

مقایسه میزان باقی مانده ایمیداکلوپرید در دوره نگهداری میوه توت‌فرنگی در یخچال در هر زمان بین مقادیر اندازه‌گیری شده و پیش‌بینی شده توسط دو مدل کینتیکی در جدول ۶ نشان داده شده است.

روند کاهش ایمیداکلوپرید در میوه توت‌فرنگی در فرایند نگهداری در یخچال

نتایج مربوط به برازش دو مدل کینتیکی مرتبه اول (معادله ۵) و دونمایی (معادله ۷) بر مقادیر باقی مانده ایمیداکلوپرید در دوره نگهداری میوه توت‌فرنگی در یخچال نشان داد هر دو مدل ($P < 0.01$) معنادارند ($P\text{-Value} = 0.0001$). پارامتر برآورد شده مدل‌ها در جدول ۴ آمده است. این پارامترها نیز در هر دو مدل مرتبه اول و دونمایی معنادار بودند. جدول ۵ شاخص‌های نیمه‌عمر حشره کش ایمیداکلوپرید در دوره نگهداری میوه توت‌فرنگی در یخچال و همچنین آماره‌های محاسبه شده به منظور ارزیابی و مقایسه کمی مدل‌ها را

جدول ۴. پارامترهای مدل کینتیکی برازش شده بر باقی مانده

مدل	پارامتر	واحد	مقدار	خطای معیار	P-Value
کینتیک مرتبه اول	K_1	Day ⁻¹	۰/۰۶۶۱	۰/۰۰۴۵	۰/۰۰۰۱
	C_1	Day	۵/۱۱۸	۰/۱۱۰	۰/۰۰۰۱
کینتیک دو نمايي	K_1	Day ⁻¹	۰/۰۸۶۶	۰/۱۴۱۶	۰/۵۴۸۹
	C_1	Day	۴/۴۹۴۰	۹/۶۸۷۱	۰/۶۴۸۶
نمايي	K_1	Day ⁻¹	۰/۰۰۰۰۵۲۹	۰/۴۲۴۸	۱/۰۰۰۰
	C_1	Day	۰/۶۹۱۰	۹/۷۵۲۴	۰/۹۴۴۳

جدول ۵. شاخص‌های حاصل از برازش مدل‌های کینتیکی ایمیداکلوپرید در توت‌فرنگی و آماره‌های مدل

مدل	شاخص / آماره	مقدار شاخص
کینتیک مرتبه اول	DT ₅₀	۱۰/۴۸
	RMSE	۰/۰۷۹
	CRM	۰/۰۰۱۵۷
کینتیک دو نمايي	R ²	۰/۹۵
	DT ₅₀	۹/۹۲
	RMSE	۰/۰۷۶
	CRM	-۰/۰۰۰۰۵۲
نمايي	R ²	۰/۹۵

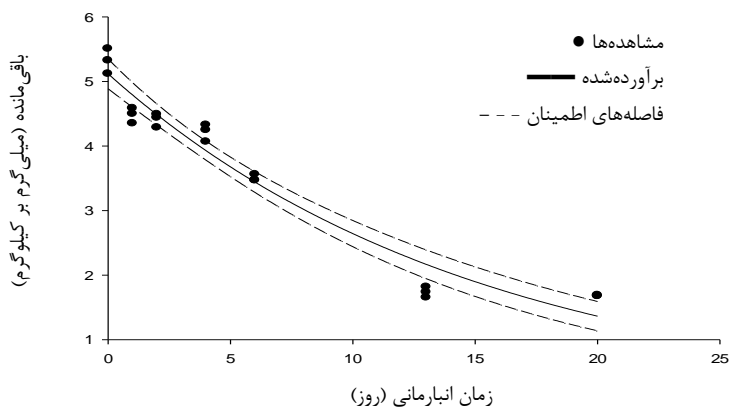
جدول ۶. مقایسه مقادیر اندازه‌گیری شده و پیش‌بینی شده در مدل‌های کینتیکی باقی مانده ایمیداکلوپرید در توت‌فرنگی

روزهای انبارمانی	باقی مانده \pm SD (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		درصد کاهش*
	پیش‌بینی مدل کینتیک مرتبه اول	پیش‌بینی مدل کینتیک دونمایی	
۰	۵/۳۱ \pm ۰/۱۹	۵/۱۲	-
۱	۴/۴۷ \pm ۰/۱۲	۵/۷۹	۱۵/۷۸
۲	۴/۴۰ \pm ۰/۱۱	۴/۴۸	۱۷/۱۳
۴	۴/۲۱ \pm ۰/۱۳	۳/۹۳	۲۰/۷۵
۶	۳/۵۰ \pm ۰/۰۵	۳/۴۴	۳۴/۱۵
۱۳	۱/۷۳ \pm ۰/۰۸	۲/۱۷	۶۷/۳۷
۲۰	۱/۶۸ \pm ۰/۰۰۷	۱/۳۶	۶۸/۳۸

* نسبت به مقدار اولیه

است، هیچ‌یک از پارامترهای محاسبه‌شده این مدل معنادار نیستند. به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که بهترین مدل برای توصیف روند کاهشی ایمیداکلوپرید مدل کینتیک مرتبه اول است (شکل ۳).

آماره‌های ضریب تبیین و میانگین مربعات خطا و ضریب جرم باقی‌مانده و شاخص‌هایی همچون نیمه‌عمر در مدل کینتیک دونمایی نشان از مناسب بودن این مدل دارند، اما همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده



شکل ۳. روند کاهشی باقی‌مانده ایمیداکلوپرید در دوره انبارمانی توت‌فرنگی و فاصله‌های اطمینان در مدل کینتیک مرتبه اول

عبارت دیگر، نیمه‌عمر طولانی تحت شرایط انبارمانی در سرما به دلیل کاهش فعالیت‌های بیولوژیک و شیمیایی است. سرما بسیاری از فرایندهای مهم تجزیه از جمله تبخیر، تجزیه نوری و تجزیه توسط میکروارگانیسم‌ها را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهد (Fantke & Juraske, 2013). تجزیه حشره‌کش آزینافوس متیل در طول ذخیره‌سازی سیب و لیمو در سردخانه مطالعه شده است. نیمه‌عمر این حشره‌کش در سیب ۱۲۲ و در لیمو ۴۶ روز گزارش شده است. نیمه‌عمر پایین‌تر در لیمو به اسیدیته بالا در این میوه نسبت داده شده است (Athanasopoulos & Pappas, 2000). کاهش باقی‌مانده آفت‌کش‌های پیریمیکارب (۵۲/۷ درصد)، سایپرودنیل (۳۳/۸۳ درصد) و تبوکونازول (۱۹/۳۴ درصد) که اثرات سیستمیک دارند با تجزیه آفت‌کش‌های فلودیوکسونیل (۲۸/۸ درصد)، پیری پروکسی فن (۸/۲۶ درصد) و بوپروفزین (۲/۵۵ درصد) در زمان انبارمانی میوه فلفل مقایسه شده است. همچنین ضریب تقسیم بین اکتانول و آب که با مکانیسم نفوذ آفت‌کش‌ها در ارتباط است، از عوامل مؤثر در میزان باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در محصول معرفی شده است (پیریمیکارب کمترین و پیری پروکسی فن بیشترین ضریب تقسیم را دارند) (Fenoll et al., 2009).

بررسی نشان داده است روند کاهشی ایمیداکلوپرید در گوجه‌فرنگی و بادمجان و بامیه از مدل کینتیک مرتبه اول پیروی می‌کند (Banerjee et al., 2012). همچنین روند کاهشی این آفت‌کش در یک دوره ۲۱ روزه بررسی شده و برازش داده‌ها با کینتیک مرتبه اول تأیید شده است (Hassanzadeh et al., 2012).

انحلال، تجزیه حرارتی، هیدرولیز، متابولیسم (تجزیه آنزیمی) تجزیه توسط میکروارگانیسم‌ها، اکسیداسیون، نفوذ، تجزیه نوری، تغییر فیزیکی در غلظت باقی‌مانده آفت‌کش با توجه به تغییر احتمالی وزن محصول و تبخیر از عوامل مؤثر بر سرنوشت باقی‌مانده آفت‌کش‌ها طی ذخیره‌سازی و فرآوری محصولات و مواد غذایی است. از میان این فرایندها تبخیر، نفوذ، متابولیسم یا تجزیه آنزیمی از طریق تنفس محصول، تأثیر در تجزیه آفت‌کش‌ها از طریق به تأخیر انداختن نرخ رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها، تغییرات غلظت باقی‌مانده آفت‌کش‌ها به ازای هر کیلوگرم وزن محصول به علت کاهش از دست دادن رطوبت یا از دست دادن وزن خشک از طریق تنفس و رشد محصول که سبب کاهش غلظت آفت‌کش در محصول خواهد شد، عوامل مؤثر بر تجزیه و تغییرات باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در طول دوره انبارمانی اند (Amvrazi, 2011). به

توت‌فرنگی رعایت نمی‌شود و همواره خطر ورود سم به بدن انسان وجود دارد.

نگهداری در دمای یخچال پس از ۲۰ روز سبب کاهش ۶۸/۳۸ درصدی در باقی مانده حشره کش ایمیداکلوپرید در میوه توت‌فرنگی شد. میزان باقی مانده حشره کش ایمیداکلوپرید در اولین روز پس از سم‌پاشی در این محصول ۵/۳۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد که این مقدار بسیار بیشتر از حداکثر غلظت باقی مانده برای این حشره کش در توت‌فرنگی (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تعیین شده توسط کدکس است (Codex Alimentarius Commission, 2009). این حشره کش با نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس یخچال با نیمه عمر ۱۰/۴۸ روز و با سرعت ۰/۰۶۶۱ روز^{-۱} بر اساس مدل انتخاب شده (کینتیک مرتبه اول) کاهش می‌یابد. اندازه‌گیری میزان باقی مانده ایمیداکلوپرید در این محصول پس از ۲۰ روز نگهداری در دمای ۴-۵ درجه سلسیوس نشان داد که میزان این باقی مانده در نهایت به ۱/۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌رسد. این مقدار نیز ۳/۳۶ برابر غلظت حداکثر باقی مانده مجازی است که از سوی سازمان کدکس غذایی تعیین شده است.

ایمیداکلوپرید حشره‌کشی سیستمیک است. ضریب تقسیم اکتانول به آب ۳/۷ (log K_{ow}=۰/۵۷)، قابل حل در آب و حلالیت آن ۰/۵۱ گرم بر لیتر است (Tomlin, 2006). بر این اساس، کاهش ۶۸/۳۸ درصدی در باقی مانده ایمیداکلوپرید در دوره انبارمانی توت‌فرنگی را می‌توان به حلالیت این حشره‌کش و سیستمیک بودن آن و همچنین پایین بودن ضریب تقسیم اکتانول به آب در این حشره‌کش نسبت داد.

نتیجه‌گیری کلی

توت‌فرنگی میوه‌ای است که دوره رشد و رسیدن کوتاهی دارد. از سوی دیگر این محصول پس از رسیدن قابلیت ماندگاری روی بوته را ندارد و در صورت برداشت دیر هنگام کیفیت و بازار پسندی خود را از دست می‌دهد. بنابراین پس از سم‌پاشی، میوه‌های رسیده بلافاصله برداشت و در انبار (دمای ۴-۵ درجه سلسیوس) نگهداری می‌شوند تا در کوتاه‌ترین زمان به بازار ارائه شوند، یا بلافاصله به دست مصرف‌کننده می‌رسند و در یخچال‌های خانگی قرار می‌گیرند. در نتیجه عملاً دوره پیش از برداشت برای میوه

REFERENCES

1. Alikhani, M., Sharifani, M., Azizi, M., S. J., Musavizadeh, S. J. & Rahimi, M. (2009). Increasing shelf life and maintaining quality of strawberry (*Fragaria ananassa* L.) with application of mucilage edible coating and plant essential oil. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 16(2), 203-212.
2. Amvrazi, E.G. (2011). Fate of Pesticide Residues on Raw Agricultural Crops after Postharvest Storage and Food Processing to Edible Portions, Pesticides-Formulations, Effects, Fate, Prof. Margarita Stoytcheva (Ed.), *InTech*, from: <http://www.intechopen.com/books/pesticidesformulations-effects-fate/fate-of-pesticide-residues-on-raw-agricultural-crops-after-postharvest-storage-andfood-processing-t>.
3. Anastassiades, M. (2007). prEN 15662: Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS (MS) following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE - QuEChERS method. *Brussels, Belgium, European Committee for Standardization*.
4. Aplada-Sarlis, P.G., Miliadis, G.E. & Tsiropoulos, N.G. (1999). Dissipation of teflubenzuron and triflumuron residues in field-sprayed and cold-stored pears. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2926-2929.
5. Athanasopoulos, P. E. & Pappas, C. (2000). Effects of fruit acidity and storage conditions on the rate of degradation of azinphos methyl on apples and lemons. *Food Chemistry*, 69, 69-72.
6. Banerjee, K., Oulkar, D.P., Patil, S.H., Dasgupta, S. & Adsule, P.G. (2008). Degradation kinetics and safety evaluation of tetraconazole and difenoconazole residues in grape. *Pest Management Science*, 64, 283-289.
7. Banerjee, T., Banerjee, D., Roy, S., Banerjee, H. & Pal, S. (2012). A comparative study on the persistence of imidacloprid and beta-cyfluthrin in vegetables. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89, 193-196.
8. Carretero, A., Cruces-Blanco, C., Perez Duran, S. & Fernandez Gutierrez, A. (2003). Determination of imidacloprid and its metabolite 6-chloronicotinic acid in greenhouse air by application of micellar electrokinetic capillary chromatography with solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1003, 189-195.
9. Cooper, J. & Niglli, U. (2002). Handbook of organic food safety and quality, Published by CRC Press Boca Raton Boston New York Washington, DC, 25-26.p.

10. Corley, J. (2003). Best practices in establishing detection and quantification limits for pesticide residues in foods. In *Handbook of Residue Analytical Methods for Agrochemicals*. John Wiley & Sons Ltd. pp: 59-75.
11. Fantke, P. & Juraske, R. (2013). Variability of Pesticide Dissipation Half-Lives in Plants. *Environmental Science and Technology*, 47, 3548-3562.
12. Dikshit, A., Pachauri, D.C. & Jindal, T. (2003). Maximum Residue Limit and Risk Assessment of Beta-Cyfluthrin and Imidacloprid on Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(6), 1143-1150.
13. Focus. (2006). Guidance document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration. Report of the FOCUS work group on degradation kinetics, EC document reference Sanco/10058/2005 version 2.0, 434 p.
14. Fenoll, J., Ruiz, E., Hellín, P., Lacasa, A. & Flores, P. (2009). Dissipation rates of insecticides and fungicides in peppers grown in greenhouse and under cold storage conditions. *Food Chemistry*, 113, 727-732.
15. Food Standards. (2008). Codex maximum residue limits (MRL) of agriculture compounds, From: http://www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes/jsp/pest_q-e.jsp.
16. Gupta, M., Sharma, A. & Shanker, A. (2008). Dissipation of imidacloprid in Orthodox tea and its transfer from made tea to infusion. *Food Chemistry*, 106, 158-164.
17. Hassanzadeh, N., Esmaili, S. & Bahramifar, N. (2012). Dissipation of Imidacloprid in Greenhouse Cucumbers at Single and Double Dosages Spraying. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 557-564.
18. Kyriakidis, N.B., Athanasopoulos, P.E., Thanos, A., Pappas, C. & Yialitaki, M. (2000). Decay of methidathion on Greek soultanina grapes during storage and on the vines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3095-3097.
19. Mohapatra, S., Ahuja, A.K., Sharma, D., Deepa, M., Prakash, G. S. & Kumar, S. (2011). Residue study of imidacloprid in grapes (*Vitis vinifera* L.) and soil. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 3, 24-27.
20. Mossler, M.A. & Nesheim, O.N. (2007). *Strawberry pest management strategic plan (PMSP)*. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS.
21. Sharma, D. & Awashi, M. (1998). Persistence of imidacloprid in mango fruits. *Horticultural Ecosystem*, 4, 75-77.
22. Singh, S. B., Foster, G. D & Khan, S. U. (2004). Microwave-Assisted Extraction for the Simultaneous Determination of Thiamethoxam, Imidacloprid, and Carbendazim Residues in Fresh and Cooked Vegetable Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 105-109.
23. Sur, R. & Stork, A. (2003). Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. *Bulletin of Insectology*, 56(1), 35-40.
24. Talebi Jahromi, KH. (1384). Measuring insecticide imidacloprid residues in cucumber. *Journal of Agricultural Sciences*, 36, 1317-1323.
25. Tomlin, C. D. S. (2006). *The Pesticide Manual, a World Compendium*. British Crop Protection Council: Surry, England. pp: 598-599.
26. Utture, S. C., Banerjee, K., Kolekar, S. S., Dasgupta, S., Oulkar, D. P., Patil, S. H., Wagh, S. S., Adsule, P. G. & Anuse, M.A. (2012). Food safety evaluation of buprofezin, dimethoate and imidacloprid residues in pomegranate. *Food Chemistry*, 131, 787-795.
27. Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B (CPMP/ICH/281/95), *International Conference on Harmonisation (ICH)*, 1995.
28. YaHang, Z., ZhiGuang, Y., LiQin, W. & Hao, X. (2012). Degradation dynamic and residue of Imidacloprid in rice and soil. *Acta agriculturae Zhejiangensis*, 12, 400-403.