

ارزیابی یک روش کچرز اصلاح شده جهت استخراج دیازینون و ادیفن فوس از دو خاک مختلف شالیزارهای برنج با استفاده از HPLC-UV

احسان ترابی^۱، خلیل طالبی جهرمی^{۱*}، احمدعلی پوربابایی^۲ و مسعود احمدزاده^۱

۱- گروه گیاه پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران، ۲- گروه خاکشناسی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۶)

چکیده

در این پژوهش، کارایی استخراج دیازینون و ادیفن فوس از دو خاک شالیزار با درصدهای ماده آلی متفاوت توسط یک روش کچرز اصلاح شده بررسی شد. روش‌ها شامل استخراج ۱۰ گرم خاک با استونیتریل بدون افزودن و همراه با افزودن آب به نمونه‌ها، استخراج ۵ گرم خاک با استونیتریل همراه با افزودن آب به نمونه‌ها و استخراج ۵ گرم خاک با اتیل استات همراه با افزودن آب به نمونه‌ها بودند. خالص‌سازی به کمک روش استخراج فاز جامد پخش شونده انجام شد. اندازه‌گیری کمی آفت‌کش‌ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع و آشکارساز فرابنفش/مرئی صورت گرفت. بر اساس نتایج، درصد ماده آلی خاک تأثیر معنی‌داری بر کارایی استخراج دو آفت‌کش داشت. عواملی همچون کاهش حجم نمونه و افزودن آب به آن پیش از استخراج و استفاده از اتیل استات به‌عنوان حلال تأثیر معنی‌داری در افزایش کارایی استخراج داشتند. بهترین درصدهای بازیابی (۷۰ تا ۱۱۰ درصد) و انحراف معیار نسبی (کمتر از ۲۰ درصد) با استفاده از استخراج ۵ گرم خاک توسط اتیل استات به همراه افزودن آب به نمونه‌ها به دست آمد. نتایج کالیبراسیون حاکی از خطی بودن این روش در محدوده غلظت‌های ۰/۵ تا ۱۰ میکروگرم بر گرم بود. حساسیت مناسب روش برای دو آفت‌کش در دو خاک با توجه به مقادیر حد تشخیص و کمی شدن تخمینی (۰/۰۷ تا ۰/۵۴ میکروگرم بر گرم) تأیید شد.

واژه‌های کلیدی: دیازینون، ادیفن فوس، کچرز، بازیابی، منحنی کالیبراسیون

مقدمه

امروزه یکی از راه‌های اصلی محافظت از محصولات کشاورزی در برابر خسارات آفات و جلوگیری از کاهش کمیت و کیفیت آن‌ها، استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی است (Damalas, 2009). نقش کلیدی این ترکیبات در مدیریت اقتصادی آفات، آن‌ها را تبدیل به یکی از ارکان مهم در کشاورزی نوین نموده است (Gouma, 2009). با وجود این، استفاده وسیع از آفت‌کش‌ها باعث ایجاد اثرات منفی بر اکوسیستم و حیات وحش شده است. تحقیقات نشان داده‌اند که تنها یک درصد از آفت‌کش‌های مصرف‌شده به هدف می‌رسند و بیش از ۹۹ درصد آن‌ها در هوا، آب و خاک پخش می‌شوند. در نتیجه، بقایای این ترکیبات همواره در هوا، آب‌های سطحی و زیرزمینی، رسوبات، خاک، گیاهان و تا حدی در مواد غذایی قابل‌رذیابی هستند (Gamón et al., 2010; Shalaby and Abdou, 2003). این امر نگرانی‌های جدی را در زمینه تأثیرات احتمالی این بقایا بر سلامت محیط‌زیست، انسان و سایر موجودات غیر هدف به وجود آورده است.

دیازینون و ادیفن فوس از جمله آفت‌کش‌های فسفره هستند که در مزارع برنج شمال کشور به ترتیب جهت کنترل آفاتی نظیر کرم ساقه خوار برنج (*Chilo suppressalis*) (Walker) و بلاست برنج (*Magnaporthe grisea*) (Hebert) به کار می‌روند. با وجود مصرف گسترده این دو آفت‌کش در مزارع برنج، اطلاعات چندانی در مورد میزان باقی‌مانده و پایداری آن‌ها در محیط وجود ندارد که این موضوع، اهمیت مطالعه باقی‌مانده آن‌ها را در اجزای مختلف محیطی (به‌ویژه خاک) بیش‌ازپیش آشکار می‌سازد. یکی از مهم‌ترین مراحل در اندازه‌گیری باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در نمونه‌های محیطی، آماده‌سازی و استخراج

نمونه‌ها است که بخش زیادی از زمان اندازه‌گیری را به خود اختصاص داده و تأثیر مهمی بر نتایج به‌دست‌آمده دارد. نمونه‌های خاک به‌طور عمده دارای ساختارهایی پیچیده و ناهمگنی هستند که استخراج آفت‌کش‌ها از آن‌ها را به یک موضوع پیچیده و چالشی تبدیل کرده است. استخراج آفت‌کش‌ها از خاک عموماً نیازمند کاربرد روش‌های قوی‌تر با توانایی استخراج آفت‌کش‌های جذب‌شده یا پیوند شده به اجزای خاک (به‌ویژه مواد آلی و رس) است (Rashid et al., 2010). همچنین یک روش استخراج باید دارای ویژگی‌هایی همچون سرعت بالا، سادگی کاربرد، ارزان بودن و سازگاری با محیط‌زیست بوده و توانایی خالص‌سازی بالای نمونه استخراج‌شده را داشته باشد. روش‌های قدیمی‌تر استخراج آفت‌کش‌ها از خاک شامل استخراج توسط سوکسله^۱ (Wang et al., 2007)، استخراج توسط حلال و امواج فراصوت^۲ (Tor et al., 2006)، استخراج توسط مایع تحت فشار^۳ (Hussen et al., 2006)، ریز استخراج با تک قطره^۴ (Fernandez et al., 2010)، استخراج به کمک امواج ماکروویو^۵ (Paíga et al., 2008) و استخراج به کمک سیال فوق بحرانی^۶ (Gonçalves et al., 2006) بوده که در برخی موارد همراه با آن‌ها یک مرحله خالص‌سازی به کمک ستون‌های استخراج فاز جامد^۷ (Hu et al., 2011) یا ریز استخراج فاز جامد^۸ (Fernandez et al., 2008) نیز انجام شده است. امروزه روش استخراج کچرز^۹ (QuEChERS) به‌عنوان یک روش با ویژگی‌های همچون نتایج باکیفیت بالا، مصرف حلال و تجهیزات کم، ساده و کم‌هزینه برای نمونه‌های خاک جایگزین روش‌های قدیمی‌تر استخراج شده است (Anastassiades et al., 2003). اساس این روش، استخراج آفت‌کش از نمونه با استفاده از استونیتریل و انجام

1. Soxhlet extraction

2. Ultrasonic solvent extraction

3. Pressurized liquid extraction

4. Single-drop microextraction

5. Microwave-assisted extraction

6. Supercritical fluid extraction

7. Solid-phase extraction

8. Solid phase microextraction

9. Quick, easy, cheap, efficient, rugged, and safe

مواد و روش‌ها

حلال‌ها و مواد شیمیایی

استانداردهای دو آفت‌کش دیازینون و ادیفن‌فوس (درجه خلوص ۹۸/۳ درصد) از شرکت سیگما آلد‌ریچ^{۱۰} (آلمان) خریداری شدند. ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی این دو آفت‌کش در جدول ۱ بیان شده‌اند. حلال‌های مورد استفاده (شامل متانول، استون، استونیتریل، اتیل استات و آب دیونیزه) همگی دارای خلوص کروماتوگرافی مایع بوده و از شرکت مرک^{۱۱} (آلمان) خریداری شدند. منیزیم سولفات بدون آب، آمین‌های اولیه و ثانویه (PSA) و کربن سیاه گرافیتی (GCB) با خلوص کروماتوگرافی از شرکت آجیلنت^{۱۲} (آمریکا) تهیه شدند. محلول‌های استاندارد اصلی هرکدام از آفت‌کش‌ها در متانول یا استون و در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شده و سایر غلظت‌های مورد نیاز از طریق رقیق‌سازی محلول‌های اصلی ساخته شدند. محلول‌های استاندارد آفت‌کش‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

نمونه‌برداری و ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی خاک

نمونه‌های خاک از دو شالیزار متفاوت واقع در شهرستان رشت (استان گیلان) جمع‌آوری شدند. نمونه‌برداری از لایه بالایی خاک (عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متر) توسط بیلچه استریل و در پنج نقطه از هر مزرعه به صورت تصادفی انجام شد. پس از مخلوط کردن نمونه‌های مربوط به هر شالیزار به صورت جداگانه، مقدار نهایی ۲۰ کیلوگرم نمونه از هر شالیزار به آزمایشگاه منتقل شده و تا زمان آزمایش در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. قبل از آزمایش، نمونه‌ها در مجاورت هوا خشک شدند و از الک دو میلی‌متری عبور داده شدند. ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی هرکدام از خاک‌های مورد آزمایش شامل درصد ماده آلی، اسیدیته و درصد کل

خالص‌سازی با به‌کارگیری استخراج فاز جامد پخش شونده و با استفاده از جاذب‌هایی همچون آمین‌های اولیه و ثانویه^{۱۰} (PSA) و کربن سیاه گرافیتی^{۱۱} (GCB) است (Maštovska and Lehotay, 2004; Lehotay *et al.*, 2005).

روش کچرز تاکنون برای استخراج دامنه وسیعی از آفت‌کش‌ها از نمونه‌های گیاهی شامل انواع میوه‌ها و سبزی‌ها بکار رفته است (Dashtbozorgi *et al.*, 2012; Dashtbozorgi *et al.*, 2013a,b; Ramezani and Shahriari, 2015)؛ با وجود این، گزارش‌ها در زمینه استخراج آفت‌کش‌ها توسط این روش از خاک محدود هستند (Lesueur *et al.*, 2009; Correia-Sá, *et al.*, 2012). همچنین پژوهش‌های مختلفی ثابت کرده‌اند که کارایی این روش در استخراج آفت‌کش‌ها از خاک به میزان زیادی به ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی آفت‌کش و خاک مورد آزمایش (به‌ویژه درصد ماده آلی خاک) بستگی دارد (Alvarez *et al.*, 2013). به‌علاوه تاکنون هیچ داده‌ای مبنی بر استفاده از این روش جهت استخراج آفت‌کش‌ها از خاک مزارع برنج گزارش نشده است. از این رو توسعه و بهینه‌سازی این روش برای استخراج آفت‌کش‌های متداول مورد استفاده در خاک شالیزار موضوعی ضروری به نظر می‌رسد.

در این تحقیق، با ایجاد تغییراتی در متغیرهای اصلی روش کچرز همچون مقدار نمونه مورد استفاده جهت استخراج، نوع حلال مورد استفاده و همچنین افزودن آب به نمونه‌های خاک قبل از استخراج، سعی بر بهینه‌سازی این روش جهت استخراج دو آفت‌کش دیازینون و ادیفن‌فوس از خاک مزارع برنج شد. همچنین تأثیر درصد ماده آلی خاک بر میزان کارایی استخراج این دو آفت‌کش مورد بررسی قرار گرفت.

10. Primary-secondary amines

11. Graphitized carbon black

12. Sigma Aldrich

13. Merck

14. Agilent

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی دیازینون و ادیفن فوس (Hornsby *et al.*, 1996; Tomlin, 2011)

Table 1. Physico-chemical properties of diazinon and edifenphos (Hornsby *et al.*, 1996; Tomlin, 2011)

| Pesticide | Physico-chemical characteristics | |
|------------|--|---|
| Diazinon | IUPAC name | <i>O</i> -diethyl <i>O</i> -2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate |
| | Chemical formula | C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS |
| | Vapor pressure (mPa) | 12 (25 °C) |
| | Log K _{ow} | 3.30 |
| | Water solubility (mg L ⁻¹) | 60 |
| | Soil half-life (days) | 11-21 |
| | Henry's law of constant (Pa.m ³ .mol ⁻¹) | 6.09×10 ⁻² (25 °C) |
| | K _{oc} | 609 |
| Edifenphos | IUPAC name | <i>O</i> -ethyl <i>S,S</i> -diphenyl phosphorodithioate |
| | Chemical formula | C ₁₄ H ₁₅ O ₂ PS ₂ |
| | Vapor pressure (mmHg) | 2.7×10 ⁻⁷ |
| | Log K _{ow} | 3.48 |
| | Water solubility (mg L ⁻¹) | 56 |
| | Soil half-life (days) | 21 |
| | Henry's law of constant (atm.m ³ .mol ⁻¹) | 7.6×10 ⁻¹⁰ |
| | K _{oc} | 1900 |

مرحله استخراج به لوله‌های فالکن ۱۰ میلی لیتری حاوی ۲۵ میلی گرم آمین‌های اولیه و ثانویه (PSA)، ۳ میلی گرم کربن سیاه گرافیتی (GCB) و ۱۵۰ میلی گرم منیزیم سولفات بدون آب افزوده شد و مخلوط به دست آمده به مدت ۳۰ ثانیه با شدت به هم زده شد. پس از سانتریفیوژ (۱ دقیقه، ۶۰۰ دور در دقیقه)، فاز رانشین به دست آمده درون ظروف شیشه‌ای تمیز منتقل شده و پس از تبخیر حلال توسط جریان گاز ازت، به صورت مجدد در ۰/۵ میلی لیتر متانول رقیق شد.

تجزیه دستگاهی

به منظور اندازه‌گیری باقی مانده دو آفت کش دیازینون و ادیفن فوس از کروماتوگرافی مایع مجهز به آشکارساز فوآبفش/مرئی استفاده شد. آشکارسازی برای دیازینون و ادیفن فوس به ترتیب در طول موج‌های ۲۵۰ و ۲۱۰ نانومتر صورت گرفت. جداسازی توسط ستون فاز معکوس^{۱۶} از نوع C₁₈ و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس انجام و فاز متحرک شامل مخلوطی از استونیتریل و آب دیونیزه (۳۰:۷۰) با سرعت جریان ۱/۵ میلی لیتر بر دقیقه بود. هر نمونه سه مرتبه و در حجم ۲۰ میکرو لیتر به دستگاه تزریق شد. در این شرایط زمان‌های

نیروژن بر اساس دستورالعمل‌های ایزو^{۱۵} (<http://www.iso.org>) اندازه‌گیری شدند. بافت خاک‌ها با استفاده از روش دی (Day, 1965) اندازه‌گیری شد.

استخراج آفت کش‌ها از خاک

به منظور بهینه‌سازی روش استخراج دو آفت کش دیازینون و ادیفن فوس از خاک، چهار روش مختلف بر پایه کچرز مورد آزمون قرار گرفتند که ویژگی‌های هر کدام از آن‌ها به شرح جدول ۲ می‌باشند. در روش اول، آفت کش موجود در نمونه‌های خاک بر پایه دستورالعمل استاندارد کچرز (Anastassiades, 2008) استخراج شد. در روش دوم، قبل از استخراج نمونه‌ها به آن‌ها ۳ میلی لیتر آب دیونیزه اضافه شد. در روش سوم از ۵ گرم خاک به عنوان نمونه استفاده شد. در روش چهارم، از ۵ گرم خاک به عنوان نمونه و اتیل استات به عنوان حلال استفاده شد.

خالص‌سازی نمونه‌های استخراج شده

خالص‌سازی با استفاده از روش استخراج فاز جامد پخش شونده (dsPE) (Anastassiades *et al.*, 2003) انجام شد. بدین منظور یک میلی لیتر از رو نشین به دست آمده از

¹⁵. ISO

¹⁶. Reverse phase

آزمون‌های اعتبارسنجی روی آن انجام شدند. دقت‌های روش‌های استخراج نیز با توجه تکرارپذیری و مقادیر استاندارد معیار نسبی^{۱۸} (RSD) حاصل از سه تکرار بازیابی‌ها ارزیابی شدند.

خطی بودن روش^{۱۹}

خطی بودن روش با استفاده از رسم منحنی‌های کالیبراسیون استاندارد^{۲۰} و کالیبراسیون مطابق با اجزای موردبررسی قرار گرفت. به‌منظور رسم منحنی کالیبراسیون استاندارد، پنج غلظت ۰/۵، ۱، ۲/۵ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر کدام از دو آفت کش دیازینون و ادیفن‌فوس در متانول تهیه شده و هر کدام سه مرتبه به دستگاه تزریق شدند. علاوه بر منحنی کالیبراسیون استاندارد و به‌منظور برآورد تأثیر اجزای موجود در نمونه‌های خاک بر منحنی کالیبراسیون، کالیبراسیون مطابق با اجزای نمونه با افزودن ۵ غلظت فوق از دو آفت کش به نمونه‌های خاک فاقد آفت کش و استخراج اندازه‌گیری آن‌ها با استفاده از روش بهینه‌شده نیز انجام شد.

بازداری برای دیازینون و ادیفن‌فوس به ترتیب ۷/۸ و ۱۰/۵ دقیقه بودند (شکل ۱).

اعتبارسنجی روش اندازه‌گیری صحت و دقت روش^{۱۷}

به‌منظور تخمین صحت روش، آزمون بازیابی با افزودن سه غلظت استاندارد دیازینون و ادیفن‌فوس (۰/۵، ۲/۵ و ۵ میکروگرم بر گرم) به‌صورت جداگانه به دو خاک مورد آزمایش (فاقد آفت کش) در سه تکرار انجام شد. پس از افزودن محلول استاندارد هر آفت کش (در استون) به خاک‌ها و تبخیر حلال، خاک‌های تیمار شده به مدت یک هفته در دمای ۴ درجه سلسیوس و محیط تاریک نگهداری شدند و سپس آفت کش موجود در آن‌ها مطابق چهار روش اشاره‌شده استخراج شد. پس از استخراج و خالص‌سازی، میزان باقی‌مانده هر کدام از آفت کش‌ها توسط کروماتوگرافی مایع اندازه‌گیری شد. در این مرحله، روشی که بیشترین میزان بازیابی را داشت به‌عنوان روش برتر انتخاب شد و سایر

جدول ۲- ویژگی‌های چهار روش به‌کاررفته جهت استخراج دیازینون و ادیفن‌فوس از خاک‌های مزرعه برنج

Table 2. Properties of the four methods used for extraction of diazinon and edifenphos from paddy soils

| Extraction method | Soil (g) | Water addition | Extraction solvent | Salt addition |
|-------------------|----------|---------------------|-----------------------------------|--|
| Method 1 | 10 | No | 10 mL acetonitrile (1 min vortex) | 4 g anhydrous MgSO ₄ + 1 g NaCl (1 min shaking+ 1 min centrifuging at 6000 rpm) |
| Method 2 | 10 | 3 mL (1 min vortex) | 7 mL acetonitrile (1 min vortex) | 4 g anhydrous MgSO ₄ + 1 g NaCl (1 min shaking+ 1 min centrifuging at 6000 rpm) |
| Method 3 | 5 | 3 mL (1 min vortex) | 7 mL acetonitrile (1 min vortex) | 4 g anhydrous MgSO ₄ + 1 g NaCl (1 min shaking+ 1 min centrifuging at 6000 rpm) |
| Method 4 | 5 | 3 mL (1 min vortex) | 7 mL ethylacetale (1 min vortex) | 4 g anhydrous MgSO ₄ (1 min shaking+ 1 min centrifuging at 6000 rpm) |

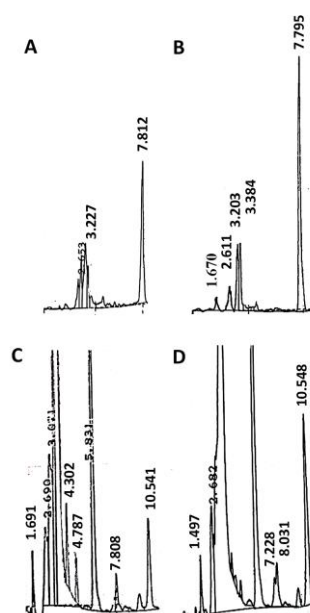
17. Method accuracy and precision

18. Relative standard deviation

19. Method of linearity

20. Standard calibration

21. Matrix-matched calibration



شکل ۱- اوج‌های مربوط به غلظت‌های (A) ۲/۵ میکروگرم بر گرم و (B) ۵ میکروگرم بر گرم دیازینون (زمان بازداری ۷/۸ دقیقه) استخراج شده از خاک (الف) و غلظت‌های (C) ۲/۵ میکروگرم بر گرم و (D) ۵ میکروگرم بر گرم ادیفن فوس (زمان بازداری ۱۰/۵ دقیقه) استخراج شده از خاک (ب)

Figure 1. Peaks related to the concentrations of A) 2.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, B) 5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of diazinon (RT: 7.8 min) extracted from the soil A and concentrations of C) 2.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, D) 5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of edifenphos (RT: 10.5 min) extracted from the soil B

کالیبراسیون استاندارد یا کالیبراسیون مطابق با اجزای نمونه)،
V حجم محلول نهایی برای تزریق به دستگاه برحسب
میلی‌لیتر، M وزن نمونه برحسب گرم و %Rec میانگین
درصد بازیابی برای روش هستند.

انتخابی بودن روش^{۲۶}

به منظور بررسی وجود تداخل‌های احتمالی
ناخالصی‌های موجود در نمونه‌های خاک با زمان بازداری
آفت‌کش‌های مورد تجزیه، نمونه‌های خاک فاقد آفت‌کش
توسط روش بهینه‌شده استخراج شده و به دستگاه
کروماتوگرافی مایع تزریق شدند.

محاسبات آماری و نرم‌افزارهای مورد استفاده

به منظور بررسی تأثیر سه عامل نوع خاک (دو نوع
خاک)، روش استخراج (چهار روش استخراج) و غلظت
تیمار آفت‌کش (سه غلظت ۰/۵، ۲/۵ و ۵ میکروگرم بر گرم)

حساسیت روش^{۲۲}

حساسیت‌های روش‌های استخراج و اندازه‌گیری با
محاسبه مقادیر حد تشخیص دستگاهی^{۲۳} (IDL) (معادله ۱)،
حد کمی شدن دستگاهی^{۲۴} (IQL) (معادله ۲) حد تشخیص
تخمینی روش^{۲۵} (EMDL) (معادله ۳) و حد کمی شدن
تخمینی روش (EMQL) (معادله ۴) مورد بررسی قرار گرفتند
(Corley, 2003).

$$IDL \left(\frac{g}{g} \right) = \frac{3 \times RMSE}{m} \quad (1)$$

$$IQL \left(\frac{g}{g} \right) = \frac{10 \times RMSE}{m} \quad (2)$$

$$EMDL \left(\frac{\mu}{g} \right) = \frac{IDL \times V \times 100}{\%Rec \times M} \quad (3)$$

$$EMQL \left(\frac{\mu}{g} \right) = \frac{IQL \times V \times 100}{\%Rec \times M} \quad (4)$$

در این معادله‌ها، m شیب منحنی کالیبراسیون
(کالیبراسیون استاندارد یا کالیبراسیون مطابق با اجزای نمونه)،
RMSE ریشه میانگین مربعات خطای منحنی کالیبراسیون

22. Method sensitivity

23. Instrumental detection limit

24. Instrumental quantification limit

25. Estimated method detection limit

26. Method selectivity

کالیبراسیون با استفاده از نرم افزار Sigma Plot 12 انجام شدند. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2013 رسم شدند.

نتایج

تعیین ویژگی‌های خاک‌های مورد آزمایش

ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی دو خاک مورد آزمایش در جدول ۳ بیان شده‌اند. دو نوع خاک جمع آوری شده از لحاظ نوع بافت مشابه بوده و تنها در درصد ماده آلی آن‌ها تفاوت وجود داشت. در نتیجه خاک‌های مورد آزمایش به دو گروه A (درصد ماده آلی پایین) و B (درصد ماده آلی بالا) گروه‌بندی شدند. علت تفاوت در میزان ماده آلی دو خاک به احتمال زیاد به دلیل تفاوت در نظام کشتی دو شالیزار مورد نمونه‌برداری بوده است (Tabrizi et al., 2015).

بر بازیابی دو آفت کش دیازینون و ادیفن فوس، آزمون‌های بازیابی در غالب طرح کاملاً تصادفی و آزمون فاکتوریل با سه تکرار انجام شدند. بدین منظور ابتدا نرمال بودن خطاها در هر گروه از تیمارها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک^{۲۷} بررسی شد و در صورت اثبات فرض نرمال بودن، آزمون تجزیه واریانس انجام شد. سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون^{۲۸} مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به همگن بودن واریانس‌ها، تأثیر هر کدام از عوامل بر درصد بازیابی دیازینون و ادیفن فوس توسط آزمون F بررسی شد و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون حداقل تفاوت‌های معنی‌دار^{۲۹} (LSD) صورت گرفت. مرتب‌سازی داده‌ها در نرم افزار Excel 2013 انجام شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 13 صورت گرفت (Colman and Pulford, 2006). محاسبه‌های مربوط به منحنی‌های

جدول ۳- ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی دو خاک مورد آزمایش

Table 3. Physico-chemical properties of the two experimental soils

| Physico-chemical properties | Soil type | |
|------------------------------------|--------------|--------------|
| | Soil A | Soil B |
| Soil Texture (USDA classification) | Silty clay | Silty clay |
| Sand (%) (50-2000 μm) | 10.03 (1.5)* | 0.12 (0.04) |
| Silt (%) (2-50 μm) | 41.01 (2.3) | 52.04 (2.11) |
| Clay (< 2 μm) | 49.02 (1.8) | 47.88 (1.05) |
| pH (Saturated soil) | 7.90 (0.32) | 6.07 (0.23) |
| C _{org} (%) | 1.25 (0.31) | 5.34 (0.32) |
| N _{tot} (%) | 0.11 (0.21) | 0.15 (0.11) |

* means of 3 replicates with standard deviations in parenthesis; USDA: United States Department of Agriculture; C_{org}: total organic matter content; N_{tot}: total nitrogen content.

دیازینون، برهمکنش سه عامل روش استخراج، نوع خاک و غلظت تیمار بر میزان بازیابی این آفت کش معنی‌دار شد. با توجه به شکل ۲، در دو خاک و سه سطح تیمار، بیشترین مقادیر بازیابی دیازینون متعلق به روش چهارم استخراج (جدول ۲) بود که با سایر روش‌ها (به ویژه روش‌های دوم و اول) اختلاف معنی‌داری نشان داد. همچنین در روش چهارم استخراج (با مقادیر بازیابی بالا)، خاک A نسبت به خاک B مقادیر بازیابی بالاتری را نشان داد که این تفاوت بین دو خاک در سطح سوم تیمار آفت کش (تیمار با غلظت بالای ۵

بهبودسازی روش استخراج

نتایج تجزیه واریانس مربوط به اثرات نوع خاک، روش استخراج و غلظت آفت کش اضافه شده به خاک و همچنین برهمکنش این سه عامل بر درصد بازیابی دیازینون و ادیفن فوس نشان داد که تأثیر هر کدام از متغیرهای نوع خاک و روش استخراج بر میزان بازیابی دیازینون و ادیفن فوس معنی‌داری شد ($p \leq 0.01$). این در حالی است که غلظت‌های تیمار خاک با دو آفت کش دیازینون و ادیفن فوس به تنهایی اثر معنی‌داری بر مقادیر بازیابی آن‌ها نگذاشتند. در مورد

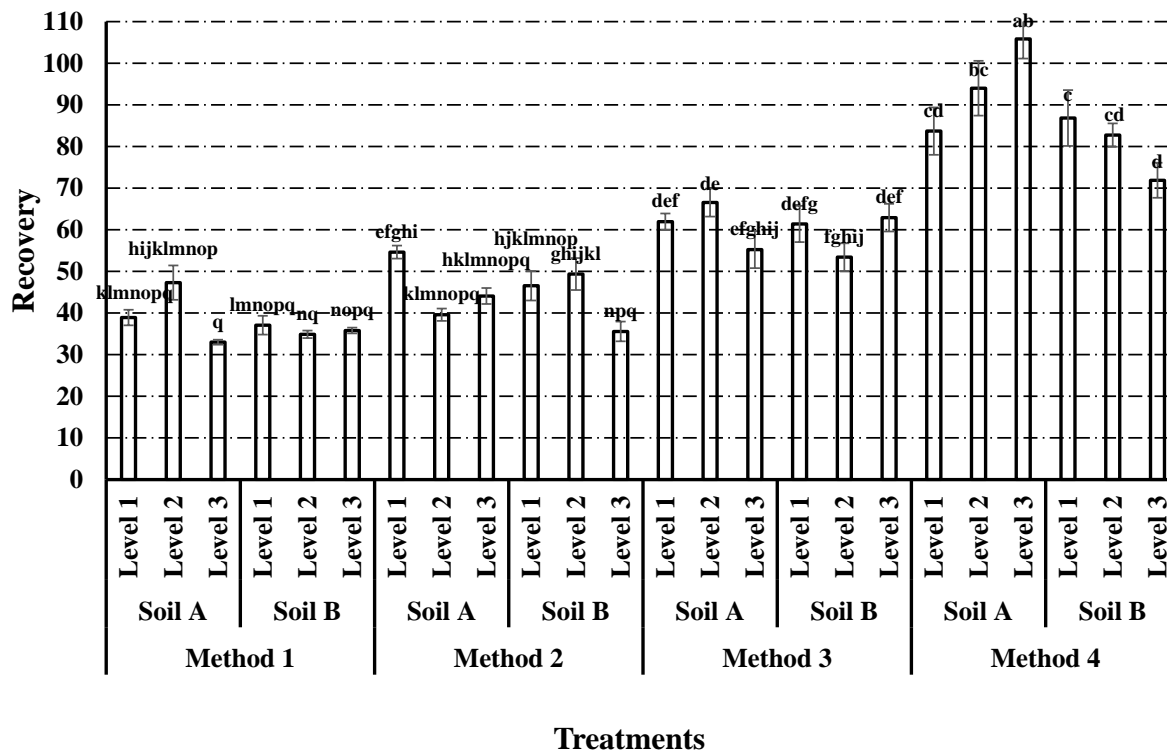
27. Shapiro-Wilk

28. Leven

29. Least significant difference

اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. این در حالی است که در روش‌های دارای بازیابی پایین (روش‌های اول و دوم)، اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های تیمار وجود نداشت.

میکروگرم بر گرم)، معنی‌دار شد. علاوه بر این در روش چهارم استخراج (بازیابی بالا)، بین سطوح تیمار خاک با دیازینون (به‌ویژه بین سطح تیمار اول و سوم که به ترتیب تیمار با غلظت‌های ۰/۵ و ۵ میکروگرم بر گرم هستند)



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر دو خاک (A و B) (جدول ۳)، چهار روش استخراج (جدول ۲) و سه سطح تیمار خاک با دیازینون بر میزان بازیابی این آفت کش. سطح یک، دو و سه تیمار به ترتیب نشان‌دهنده تیمار با غلظت‌های ۰/۵، ۲/۵ و ۵ میکروگرم بر گرم می‌باشند. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند (LSD, $P \leq 0.05$)

Figure 2. Mean comparison of the interactions between the effects of two soils (A and B) (Table 3), four extraction methods (Table 2) and three levels of soil spiking with diazinon on its recovery. Levels 1, 2 and 3 of spiking correspond to spiking with concentrations of 0.5, 2.5 and 5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. Columns with similar letters do not differ significantly (LSD, $P \leq 0.05$)

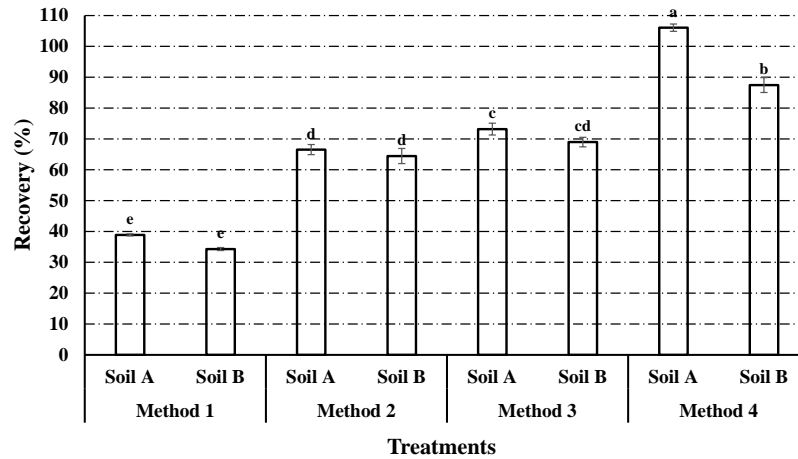
اختلاف بازیابی میان بین دو خاک A و B معنی‌دار نشد (شکل ۳A). به‌علاوه، در مورد ادیفن فوس و برخلاف دیازینون، در روش استخراج با کارایی بالا (روش چهارم) اختلاف معنی‌داری بین درصد بازیابی در سه سطح تیمار خاک دیده نشد (شکل ۳B).

به‌طور کلی و با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مقادیر بازیابی دیازینون و ادیفن فوس، بهترین روش استخراج روش چهارم با به‌کارگیری ۵ گرم خاک و ۷ میلی‌لیتر اتیل استات به‌عنوان حلال استخراج معرفی شد. مقادیر بازیابی کلی این روش برای دیازینون دو خاک A و B به ترتیب ۹۶/۵۱ و ۸۰/۴۹

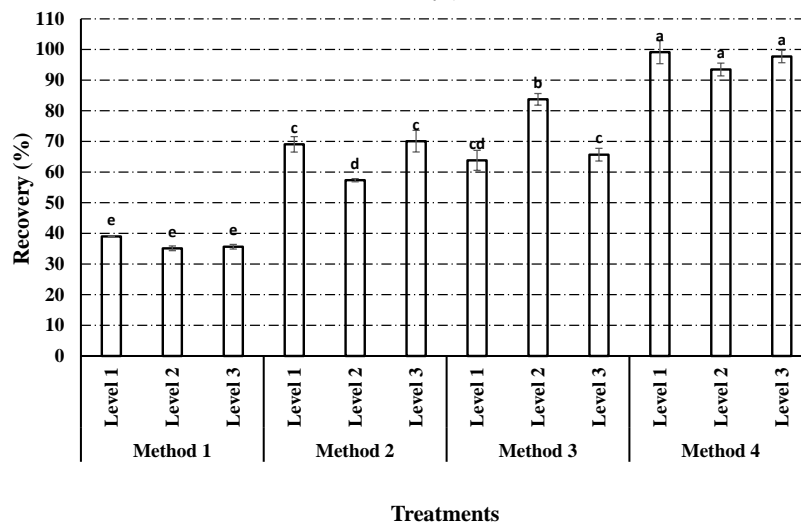
در مورد ادیفن فوس، برهمکنش بین روش استخراج و نوع خاک و همچنین روش استخراج و غلظت تیمار معنی‌دار شد ($p \leq 0.01$). همان‌گونه که شکل ۳A نشان می‌دهد، بیشترین میزان بازیابی در روش چهارم استخراج و خاک A (درصد مواد آلی پایین) به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر روش‌ها داشت. همچنین در روش چهارم استخراج، بین دو نوع خاک الف و ب از لحاظ میزان بازیابی ادیفن فوس اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. کمترین میزان بازیابی ادیفن فوس نیز مربوط به روش اول استخراج بود و با سه روش دیگر اختلاف معنی‌داری داشت. در روش اول استخراج،

مناسب این روش برای دو آفت کش و در دو خاک داشت. در نتیجه سایر آزمون‌های اعتبارسنجی با استفاده از روش چهارم استخراج انجام شدند.

درصد با مقادیر انحراف معیار نسبی به ترتیب ۱۱/۷۳ و ۹/۶۰ درصد و برای ادیفن فوس در این دو خاک به ترتیب ۱۰۶/۰۸ و ۸۷/۴۶ درصد با مقادیر انحراف معیار نسبی به ترتیب ۶/۴۶ و ۲/۱۰ درصد برآورد شدند که نشان از صحت و دقت



(A)



(B)

شکل ۳- مقایسه میانگین برهمکنش (A) روش‌های استخراج و نوع خاک و (B) روش‌های استخراج و سطوح تیمار خاک با ادیفن فوس بر میزان بازیابی این آفت کش از خاک. روش‌های استخراج یک تا چهار در جدول ۲ شرح داده شده‌اند. سطح یک، دو و سه تیمار به ترتیب نشان‌دهنده تیمار با غلظت‌های ۰/۵، ۲/۵ و ۵ میکروگرم بر گرم می‌باشند. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند (LSD, $P \leq 0.05$)

Figure 3. Mean comparison of the interactions between the effects of A) extraction methods and soil types, and B) extraction methods and spiking levels with edifenphos on the recoveries of this pesticide from soil. The extraction methods 1-4 are explained in Table 2. Levels 1, 2 and 3 of spiking correspond to spiking with concentrations of 0.5, 2.5 and 5 $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectively. Columns with similar letters do not differ significantly (LSD, $P \leq 0.05$)

بررسی خطی بودن و حساسیت روش

به دلیل پیچیده بودن ناخالصی‌های موجود نمونه‌های خاک، تأثیر آن‌ها بر کمی سازی دو آفت کش مورد اندازه‌گیری و پاسخ‌های دستگاه کروماتوگرافی می‌تواند معنی‌دار باشد. از این جهت و به منظور بررسی تأثیر این ناخالصی‌ها، دو نوع منحنی کالیبراسیون استاندارد (غلظت‌های بین ۰/۵ تا ۱۰ میکروگرم بر گرم دو آفت کش در حلال متانول) و کالیبراسیون مطابق با اجزای نمونه با غلظت‌های مشابهی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از این دو منحنی در جدول ۴ نشان داده شده‌اند.

همان گونه که در جدول ۴ نشان داده شده است، در مورد هر دو آفت کش و در هر دو خاک، شیب منحنی کالیبراسیون مطابق با اجزای نمونه اختلاف معنی‌داری با منحنی کالیبراسیون استاندارد در حلال داشت (عدم همپوشانی حدود اطمینان ۹۵ درصد) که نشان‌دهنده وجود اثر معنی‌دار ناخالصی‌های موجود در نمونه‌های خاک است. در نتیجه

محاسبه‌های مربوط به حساسیت روش بر مبنای منحنی کالیبراسیون مطابق با اجزای نمونه صورت گرفت تا اثرات ناخالصی‌های موجود در نمونه‌ها نیز در آن‌ها لحاظ شوند. در تمامی نمونه‌ها میزان خطی بودن با توجه به مقادیر r^2 گزارش شده در حد مطلوب بود.

جدول ۵ مقادیر حدود تشخیص و کمی شدن دستگاهی و روش استخراج (روش چهارم) را برای دیازینون و ادیفن فوس در دو خاک مورد آزمایش نشان می‌دهد. باینکه در برخی نمونه‌ها حدود تشخیص و کمی شدن دستگاهی (به ترتیب IDL و IQL) بالا بودند، وجود بازیابی‌های بالای روش استخراج و عدم نیاز به رقیق‌سازی محلول پس از استخراج امکان تشخیص و کمی شدن آفت کش موجود در نمونه‌ها را در غلظت‌های پایین و دقت مناسب فراهم ساخت. این موضوع به‌خوبی در مقادیر حدود تشخیص و کمی شدن تخمین روش (به ترتیب EMDL و EMQL) محاسبه شده مشاهده می‌شود (جدول ۵).

جدول ۴- ویژگی‌های منحنی‌های کالیبراسیون دیازینون و ادیفن فوس

Table 4. Calibration curve properties for diazinon and edifenphos

| Pesticide | Soil | Calibration type | Calibration parameters | Parameter amounts | 95% UCL | 95% LCL | r^2 |
|----------------|----------|------------------|------------------------|-------------------|----------|----------|---------|
| Diazinon | A | Standard | Slope | 38737.81 | 38940.77 | 38534 | 0.99542 |
| | | | Intercept | 344.90 | 1389/73 | -699.93 | |
| | | Matrix-matched | Slope | 35371.56 | 36322 | 34421 | |
| | | Intercept | 1176.14 | 6069.36 | -3717.08 | | |
| | Standard | Slope | 38737.81 | 38940.77 | 38534 | 0.99542 | |
| | B | | Intercept | 344.90 | 1389/73 | | -699.93 |
| Matrix-matched | | Slope | 31359.35 | 31879.08 | 30839.63 | | 0.99876 |
| | | Intercept | 2985.06 | 5660.52 | 309.59 | | |
| Edifenphos | A | Standard | Slope | 17775.31 | 17755.52 | 17395.10 | |
| | | | Intercept | 2154.63 | 3082.33 | 1226.92 | |
| | | Matrix-matched | Slope | 17569.60 | 18418.70 | 16720.52 | 0.99952 |
| | | Intercept | 3710.06 | 8081.59 | -660.40 | | |
| | Standard | Slope | 17775.31 | 17755.52 | 17395.10 | 0.99875 | |
| | B | | Intercept | 2154.63 | 3082.33 | | 1226.92 |
| Matrix-matched | | Slope | 16708.03 | 17394.76 | 16021.30 | | 0.99887 |
| | | Intercept | 1291.94 | 4827.10 | -2243.23 | | |

UCL: Upper Confidence Interval; LCL: Lower Confidence Interval

جدول ۵- حساسیت روش استخراج برای دیازینون و ادیفن فوس

Table 5. Extraction method sensitivity for diazinon and edifenphos

| Pesticide | Soil | IDL ($\mu\text{g.g}^{-1}$) | IQL ($\mu\text{g.g}^{-1}$) | EMDL ($\mu\text{g.g}^{-1}$) | EMQL ($\mu\text{g.g}^{-1}$) |
|------------|------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Diazinon | A | 0.47 | 1.56 | 0.10 | 0.33 |
| | B | 0.29 | 0.97 | 0.07 | 0.24 |
| Edifenphos | A | 0.84 | 2.81 | 0.16 | 0.52 |
| | B | 0.71 | 2.38 | 0.16 | 0.54 |

IDL: Instrumental detection limit; IQL: Instrumental Quantification limit; EMDL: Estimated method Detection Limit; EMQL: Estimated Method Quantification limit

باعث افزایش فضای داخل لوله استخراج شده که در نتیجه مراحل همگن کردن نمونه و حلال و جداسازی رو نشین (شامل حلال و آفت کش استخراج شده در آن) ساده تر می شوند.

محققین زیادی نشان داده اند که افزودن آب به نمونه های خشک قبل از استخراج باعث افزایش رطوبت و دسترسی ساده تر حلال به منافذ مختلف موجود در آنها می شود (Cruz *et al.*, 2003; Diez *et al.*, 2006; Rashid *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011).

علاوه بر این، ترکیبات هیومیک خاک در سطح خود دارای تعداد زیادی گروه های عاملی اکسیژن دار و هیدروکسیل هستند که قادرند با برخی از گروه های موجود در ساختار آفت کش ها پیوند هیدروژنی برقرار کنند. در نتیجه همواره رقابتی بین مولکول های آفت کش و آب جهت برقراری پیوند با گروه های موجود در ترکیبات هیومیک خاک وجود دارد که این موضوع در مورد آفت کش های غیر یونی (شامل دیازینون و ادیفن فوس) بیشتر مشاهده می شود (Gevao *et al.*, 2000). در نتیجه افزودن آب می تواند نقش مهمی را در افزایش کارایی استخراج آفت کش ها ایفا کند. در حالت استفاده از اتیل استات جهت استخراج، ایودرا و همکاران (Ivdra *et al.*, 2014) بیان کردند که به دلیل انحلال پذیری پایین این حلال در آب (۸۳ گرم بر لیتر)، افزودن بیش از حد آب به نمونه های خاک قبل از استخراج ممکن است اثر عکس داشته باشد و با بلوکه کردن ترکیبات آب گریز (آفت کش) داخل حفره های موجود در ذرات خاک، کارایی استخراج را کاهش دهد. در مقابل، پینتو و همکاران (Pinto *et al.*, 2010) نتیجه گرفتند که با در نظر گرفتن نسبت کمتر آب به نمونه و کاهش میزان آب افزوده شده، می توان کارایی

انتخابی بودن روش

انتخابی بودن روش از طریق استخراج نمونه خاک بدون آفت کش با استفاده از روش بهینه شده استخراج (روش چهارم) و تزریق آنها به کروماتوگرافی مایع برآورد شد. نتایج حاکی از عدم وجود اوج تداخلگر در زمان بازداری آفت کش ها بود.

کاربرد روش استخراج بهینه شده در نمونه های اصلی

جهت تعیین توانایی روش بهینه شده در استخراج دو آفت کش دیازینون و ادیفن فوس از خاک های مزارع برنج، سه نمونه خاک جمع آوری شده از مزارع مختلف برنج استان گیلان توسط این روش مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج نشان دادند تنها در یک نمونه از این خاک ها، غلظتی معادل ۰/۴ میکروگرم بر گرم دیازینون مشاهده شد. غلظت دیازینون و ادیفن فوس در سایر نمونه ها کمتر از حد کمی شدن تخمینی روش بودند. لازم به ذکر است که نمونه های خاک مورد اندازه گیری در خارج از فصل زراعی و به فاصله چندین ماه پس از سم پاشی ها جمع آوری شده بودند و در نتیجه عدم امکان شناسایی و کمی سازی این دو آفت کش در آنها توسط روش استخراج به کاررفته دور از انتظار نخواهد بود.

بحث

بر اساس نتایج این تحقیق، روش استخراج به کاررفته و همچنین نوع خاک مورد استفاده به تنهایی و در تقابل با یکدیگر تأثیر معنی داری بر مقادیر بازیابی دو آفت کش دیازینون و ادیفن فوس داشتند. برای هر دو آفت کش، عواملی همچون کاهش حجم نمونه و افزودن آب به نمونه های خاک پیش از استخراج از جمله عوامل مؤثر در افزایش میزان بازیابی بودند. کاهش میزان نمونه مورد استفاده در استخراج

نشان‌دهنده تمایل آن‌ها برای جذب به ذرات آلی غیر قطبی خاک است.

نتایج این تحقیق همچنین نشان دادند که در روش چهارم استخراج (روش با بازیابی بالا)، بین غلظت‌های تیمار خاک با دیازینون از لحاظ مقادیر بازیابی این آفت کش اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود، به طوری که درصد بازیابی در سطح سوم تیمار (غلظت ۵ میکروگرم بر گرم) نسبت به سطوح یک و دو تیمار (به ترتیب ۰/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیشتر است (شکل ۲). پژوهش‌های دیگر هم نشان داده‌اند که در صورت استفاده از روش استخراج با کارایی بالا، افزایش غلظت تیمار خاک با یک ترکیب شیمیایی خارجی باعث افزایش میزان بازیابی آن می‌شود که این امر عموماً به علت افزایش بخش محلول آفت کش (بخش غیر جذب شده به ذرات خاک) و در نتیجه دسترسی بیشتر حلال استخراج به آن است (Yoshida et al., 2007). با این حال، این موضوع در مورد ادیفن فوس صادق نبود و هیچ گونه اختلاف معنی‌داری بین درصدهای بازیابی در سه سطح تیمار خاک در روش استخراج با کارایی بالا (روش چهارم) مشاهده نشد. این موضوع احتمالاً به دلیل جذب بیشتر این آفت کش به ذرات خاک در غلظت‌های تیمار بالا بوده است (میزان Koc ادیفن فوس به مراتب بالاتر از دیازینون است).

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق، یک روش مناسب مبتنی بر کچرز جهت استخراج دو آفت کش دیازینون و ادیفن فوس از خاک مزارع برنج بهینه‌سازی شد. نتایج این پژوهش نشان دادند که عواملی همچون درصد پایین ماده آلی خاک، کاهش میزان نمونه استخراج شده از ۱۰ گرم به ۵ گرم، افزودن آب به نمونه‌های خاک پیش از استخراج و همچنین جایگزین کردن اتیل استات به جای استونیتریل به عنوان حلال استخراج می‌توانند تأثیر بسزایی در افزایش مقادیر بازیابی دو آفت کش داشته باشند. بر اساس نتایج این تحقیق، روش بهینه‌شده قادر به تولید درصدهای بازیابی بین ۷۰-۱۱۰ درصد با انحراف معیار نسبی کمتر از ۲۰ درصد بود. همچنین حساسیت اندازه‌گیری و مقادیر حد تشخیص و کمی شدن روش بهینه‌شده در حد قابل قبولی بودند.

استخراج توسط اتیل استات را افزایش داد که این موضوع در نتایج به دست آمده از پژوهش ما نیز اثبات شد.

بیشترین مقادیر بازیابی دیازینون و ادیفن فوس مربوط به روش استخراج چهارم با به کارگیری اتیل استات به عنوان حلال استخراج و ۵ گرم خاک به عنوان نمونه بود. حلال اتیل استات قطبیت کمتری نسبت به استونیتریل داشته و در نتیجه توانایی بیشتری برای استخراج آفت کش‌های غیر قطبی از جمله دیازینون و ادیفن فوس دارد. همچنین میزان اختلاط اتیل استات با آب نسبت به استونیتریل کمتر است که این امر باعث جداسازی بهتر دو فاز آلی و آبی از یکدیگر حین استخراج می‌شود. یکی از معایب اصلی اتیل استات، استخراج ناخالصی‌های غیر قطبی همانند لیپیدها و موم از نمونه است. با وجود این، از آنجا که نمونه‌های خاک (برخلاف نمونه‌های میوه‌ها و سبزی‌ها) فاقد مقدار بالای ترکیبات لیپیدی هستند، این کاستی اتیل استات مشکلی چندانی را در استخراج آفت کش‌ها از آن‌ها ایجاد نمی‌کند.

اختلاف معنی‌داری بین بازیابی دو آفت کش دیازینون و ادیفن فوس در دو خاک A (درصد مواد آلی کم) و B (درصد مواد آلی زیاد) به ویژه در روش چهارم (روش دارای بازیابی بالا) وجود داشت، به طوری که بازیابی این دو آفت کش در خاک با درصد ماده آلی کم بیشتر است. استخراج آفت کش‌ها از محیط‌های پیچیده‌ای همچون خاک به میزان زیادی تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی آن محیط قرار می‌گیرد (Wang et al., 2007). میزان ماده آلی موجود در خاک یکی از عوامل مهمی است که بازیابی آفت کش‌ها را در این محیط تحت تأثیر قرار می‌دهد (Coquet et al., 2002; Spark and Swift, 2002; Boivin et al., 2005; Alvarez et al., 2013). ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2011) در یک پژوهش ثابت کردند که ترکیبات آب‌گریز (همانند آفت کش‌های فسفره) جذب بیشتری به خاک‌های دارای بیش از ۲ درصد ماده آلی دارند. همچنین آلوارز و همکاران (Alvarez et al., 2013) نشان دادند بازیابی آفت کش کلرپایرفوس از خاک با افزایش درصد ماده آلی آن کاهش می‌یابد. مقادیر Koc برای دیازینون و ادیفن فوس به نسبت بالا است که این موضوع

References

- Álvarez, M., Du Mortier, C. and Cirelli, A. F.** 2013. Behavior of insecticide chlorpyrifos on soils and sediments with different organic matter content from Provincia de Buenos Aires, República Argentina. **Water, Air, and Soil Pollution** 224(3): 1-6.
- Anastassiades, M.** 2008. QuEChERS a mini-multiresidue method for the analysis of pesticide residues in low-fat products. Stuttgart: Chemisches und Veterin aruntersuchungsamt.
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D. and Schenck, F. J.** 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International** 86(2): 412-431.
- Boivin, A., Cherrier, R. and Schiavon, M.** 2005. A comparison of five pesticides adsorption and desorption processes in thirteen contrasting field soils. **Chemosphere** 61(5): 668–676.
- Colman, A. and Pulford, B.** 2006. A crash course in SPSS for Windows: updated for versions 10, 11, 12 and 13. Blackwell Publishers, Inc.
- Coquet, Y.** 2002. Variation of pesticide sorption isotherm in soil at the catchment scale. **Pest Management Science** 59(1): 69–78.
- Corley, J.** 2003. Best practices in establishing detection and quantification limits for pesticide residues in foods. In Lee, P. W., Aizawa, H., Barefoot, A. C. and Murphy, J. J. (Eds), Handbook of residue analytical methods for agrochemicals. Wiley, Chichester. pp. 59–75.
- Correia-Sá, L., Fernandes, V. C., Carvalho, M., Calhau, C., Domingues, V. F. and Delerue-Matos, C.** 2012. Optimization of QuEChERS method for the analysis of organochlorine pesticides in soils with diverse organic matter. **Journal of Separation Science** 35(12): 1521-1530.
- Cruz, S., Lino, C. and Silveira, M. I.** 2003. Evaluation of organochlorine pesticide residues in human serum from an urban and two rural populations in Portugal. **Science of the Total Environment** 317(1): 23-35.
- Damalas, C. A.** 2009. Understanding benefits and risks of pesticide use. **Research and Essays** 4(10): 945-949.
- Dashtbozorgi, Z., Ramezani, M. K. and Waqif-Husain, S.** 2012. Evaluation of matrix effects in gas chromatography mass spectrometry pesticide-residue analysis using QuEChERS sample preparation technique. **International Journal of Chemistry** 33 (10): 326-332.
- Dashtbozorgi, Z., Ramezani, M. K. and Waqif-Husain, S.** 2013a. Optimization and validation of a new pesticide residue method for cucumber and tomato using acetonitrile-based extraction-dispersive liquid-liquid microextraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Methods** 5(5): 1192-1198.
- Dashtbozorgi, Z., Ramezani, M. K. and Waqif-Husain, S. and Broumand, P.** 2013b. Validation of matrix matched calibration for analysis of insecticide and fungicide residues in cucumber and tomato using QuEChERS sample preparation followed by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of the Chilean Chemical Society** 58: 1701-1705
- Day, P. R.** 1965. Particle fractionation and particle-size analysis. In Black, C. A., Evans, D. D., Ensminger, L. E., White, J. L., Clark, P. E. and Dinauer, R. C. (Eds.), Methods of Soil Analysis. American Society of Agronomy, Madison, USA. pp. 545–567.
- Diez, C., Traag, W. A., Zommer, P., Marinero, P. and Atienza, J.** 2006. Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” method with classical multi-residue methods for the extraction of herbicide residues in barley samples. **Journal of Chromatography A** 1131(1): 11-23.
- Fernandes, V. C., Subramanian, V., Mateus, N., Domingues, V. F. and Delerue-Matos, C.** 2012. The development and optimization of a modified single-drop microextraction method for organochlorine pesticides determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Microchimica Acta** 178(1-2): 195-202.
- Fernandez-Alvarez, M., Llompert, M., Lamas, J. P., Lores, M., Garcia-Jares, C., Cela, R. and Dagnac, T.** 2008. Simultaneous determination of traces of pyrethroids, organochlorines and other main plant protection agents in agricultural soils by headspace solid-phase microextraction–gas chromatography. **Journal of Chromatography A** 1188(2): 154-163.
- Gamón, M., Sáez, E., Gil, J. and Boluda, R.** 2003. Direct and indirect exogenous contamination by pesticides of rice-farming soils in a Mediterranean wetland. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 44(2): 0141-0151.

- Gevao, B., Semple, K. T. and Jones, K. C.** 2000. Bound pesticide residues in soils: a review. **Environmental Pollution** 108(1): 3-14.
- Gonçalves, C., Carvalho, J. J., Azenha, M. A. and Alpendurada, M. F.** 2006. Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A** 1110(1): 6-14.
- Gouma S.** 2009. Biodegradation of mixtures of pesticides by bacteria and white rot fungi. Ph.D. thesis. School of Health, Cranfield University.
- Hornsby, A. G., Wauchope, R. D. and Herner, A.** 1995. Pesticide Properties in the Environment. Springer Science and Business Media.
- Hu, J. Y., Zhen, Z. H. and Deng, Z. B.** 2011. Simultaneous determination of acetochlor and propisochlor residues in corn and soil by solid phase extraction and gas chromatography with electron capture detection. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology** 86(1): 95-100.
- Hussen, A., Westbom, R., Megersa, N., Mathiasson, L. and Björklund, E.** 2006. Development of a pressurized liquid extraction and clean-up procedure for the determination of α -endosulfan, β -endosulfan and endosulfan sulfate in aged contaminated Ethiopian soils. **Journal of Chromatography A** 1103(2): 202-210.
- Ivdrá, N., Herrero-Martín, S. and Fischer, A.** 2014. Validation of user-and environmentally friendly extraction and clean-up methods for compound-specific stable carbon isotope analysis of organochlorine pesticides and their metabolites in soils. **Journal of Chromatography A** 1355: 36-45.
- Lehotay, S. J., Kok, A. D., Hiemstra, M. and Bodegraven, P. V.** 2005. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. **Journal of AOAC International** 88(2): 595-614.
- Lesueur, C., Gartner, M., Mentler, A. and Fuerhacker, M.** 2008. Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–ion trap–mass spectrometry. **Talanta** 75(1): 284-293.
- Li, Y., Dong, F., Liu, X., Xu, J., Li, J., Kong, Z. and Zheng, Y.** 2011. Simultaneous enantioselective determination of fenbuconazole and its main metabolites in soil and water by chiral liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A** 1218(38): 6667-6674.
- Maštovská, K. and Lehotay, S. J.** 2004. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. **Journal of Chromatography A** 1040(2): 259-272.
- Paíga, P., Morais, S., Correia, M., Alves, A. and Delerue-Matos, C.** 2008. A multiresidue method for the analysis of carbamate and urea pesticides from soils by microwave-assisted extraction and liquid chromatography with photodiode array detection. **Analytical Letters** 41(10): 1751-1772.
- Pinto, C. G., Laespada, M. E. F., Martín, S. H., Ferreira, A. M. C., Pavón, J. L. P. and Cordero, B. M.** 2010. Simplified QuEChERS approach for the extraction of chlorinated compounds from soil samples. **Talanta** 81(1): 385-391.
- Ramezani, M. K. and Shahriari, D.** 2015. Dissipation behaviour, processing factors and risk assessment for metalaxyl in greenhouse-grown cucumber. **Pest Management Science** 71(4): 579-583.
- Rashid, A., Nawaz, S., Barker, H., Ahmad, I. and Ashraf, M.** 2010. Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A** 1217(17): 2933-2939.
- Shalaby, S. E. M. and Abdou, G. Y.** 2010. The influence of soil microorganisms and bio- or - organic fertilizers on dissipation of some pesticides in soil and potato tube. **Journal of Plant Protection Research** 50 (1): 86-92.
- Spark, K. M. and Swift, R. S.** 2002. Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. **Science of the Total Environment** 298(1): 147-161.
- Tabrizi, A. A., NourMohammadi, G. and Mobasser, H. R.** 2015. Effects of different cropping systems on fertility of paddy soil. **Journal of Crop Ecophysiology** 9(2): 191-202 (In Farsi).
- Tomlin, C. D. S.** 2011. The Pesticide Manual: A World Compendium (15th ed). CABI.

- Tor, A., Aydin, M. E. and Özcan, S.** 2006. Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil. *Analytica Chimica Acta* 559(2): 173-180.
- Wang, J., Zhao, L., Li, X., Jiang, Y., Li, N., Qin, Z. and Pan, C.** 2011. Residue dynamic of pyrimorph on tomatoes, cucumbers and soil under greenhouse trails. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 86(3): 326-330.
- Wang, W., Meng, B., Lu, X., Liu, Y. and Tao, S.** 2007. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: a comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques. *Analytica Chimica Acta* 602(2): 211-222.
- Yoshida, N., Castro, M., Du Mortier, C. and Cirelli, A. F.** 2007. Environmental behavior of antibiotic monensin: preliminary studies in Argentina. *Environmental Chemistry Letters* 5(3): 157-160.
- Zhang, N., Yang, Y., Tao, S., Liu, Y. and Shi, K. L.** 2011. Sequestration of organochlorine pesticides in soils of distinct organic carbon content. *Environmental Pollution* 159(3): 700-705.

Plant Pest Research
2017- 7(1): 13-28

Evaluation of a modified QuEChERS method for extraction of diazinon and edifenphos from two paddy soils using HPLC-UV

E. Torabi¹, Kh. Talebi Jahromi^{1*}, A. Pourbabaee² and M. Ahmadzadeh¹

1. Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, 2. Department of Soil Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: November 2, 2016- Accepted: April 26, 2017)

Abstract

In this research, the efficiency of diazinon and edifenphos extraction from two paddy soils with different organic contents was investigated using a modified QuEChERS extraction method. The methods included extraction of 10 g soil using acetonitrile with or without the addition of water to the samples, extraction of 5 g soil using acetonitrile with the addition of water to the samples, and extraction of 5 g soil using ethylacetate with the addition of water to the samples. The clean-up was carried out using dispersive solid phase extraction (dSPE). The pesticides quantification was performed using a liquid chromatography system equipped with a UV/VIS detector. According to the results, soil organic matter contents affected the recoveries of the two pesticides significantly. Factors such as reducing the sample size to 5 g, hydrating of the samples prior to extraction, and using ethylacetate as the solvent increased the extraction efficiencies of the two pesticides significantly. Best recoveries (70-100%) and relative standards deviations (RSDs) (<20%) were achieved using 5 g soil as the sample with the addition of water and extraction using ethylacetate. The method had a good linearity within the range of 0.5-10 $\mu\text{g g}^{-1}$. The sensitivity of the method was confirmed by the estimated method detection and quantification limits between 0.07-0.54 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Key words: Diazinon, edifenphos, QuEChERS, recovery, calibration curve

*Corresponding author: khtalebi@ut.ac.ir