



Investigation of dissipation kinetics, safety evaluation and pre-harvest interval of some fungicides used in green-house cucumber and tomato

Vahideh Mahdavi^{1✉}, Fatemeh Khelghatibana², Ali Es-haghi³, Kasra Sharifi⁴,
Mahdieh Hoseini⁵, Hosein Parsa⁶, Hooman Nankali⁷

1. Corresponding Author, Department of Pesticides Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: v_mahdavi@areeo.ac.ir
2. Department of Plant Diseases Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: khelghati50@gmail.com
3. Department of Physical Chemistry, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: a.eshaghi@rvsri.ac.ir
4. Department of Plant Diseases Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: kasharifi@yahoo.com
5. Department of Pesticides Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: mahdieh.hosseini1987@gmail.com
6. Department of Pesticides Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: parsa1976@gmail.com
7. Qazvin Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: hooman68nk@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	Today, there is an urgent need to investigate the rate of reduction and degradation of pesticides after application in the field settings and to assess the safe pre-harvest intervals to ensure that pesticide residues in the crop are safe. In this study, the degradation and reduction kinetics of difenoconazole + fluxapyroxad as a combined suspension concentrate (SC 7.5/5 (Dagonis®) used to control powdery mildew on tomatoes were examined, as well as the fungicides dimethomorph + cymoxanil as a water dispersible granule (WG 70% (Pilarexanil®) used to control internal powdery mildew on cucumbers. The pre-harvest interval (PHI) of these pesticides in cucumber and tomato crops was estimated to be 3 days, derived from kinetic analyses of degradation and reduction under greenhouse conditions at both optimum and maximum rates. Monitoring of residues was conducted immediately after spraying and continued for 11 days, with three replicates. Residue levels were evaluated according to the national MRLs of these fungicides, and at all sampling times, the residues remained below the national MRLs. Consequently, the PHI of 3 days for both Dagonis® and Pilarexanil® is deemed acceptable. First-order kinetic analyses of the pesticides studied also support the 3-day PHI.
Article history: Received: 26 March 2025 Revised: 31 May 2025 Accepted: 31 May 2025 Published online: Spring and Summer 2025	
Keywords: <i>Fungicide,</i> <i>Kinetic,</i> <i>Residue,</i> <i>Pre-harvest interval.</i>	
Cite this article: Mahdavi, V., Khelghatibaba, F., Es-haghi, A., Sharifi, K., Hoseini, M., Parsa, H. & Nankali, H. (2025). Investigation of dissipation kinetics, safety evaluation and pre-harvest interval of some fungicides used in green-house cucumber and tomato. <i>Iranian Journal of Plant Protection Science</i> , 56 (1), 79-101. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.402094.1007091	
	

Extended Abstract

Introduction

Objective

Today, there is an urgent need to investigate the rate of pesticides reduction and degradation in field settings and to assess safe pre-harvest intervals to ensure that pesticide residues in the crop remain within regulatory limits (safe). In this study, the residues and dissipation kinetics of difenoconazole + fluxapyroxad as Dagonis[®] (SC 7.5/5) used to control powdery mildew on tomatoes, as well as the fungicides dimethomorph + cymoxanil as Pilarexanil[®] (WG 70%) used to control internal powdery mildew on cucumbers, were investigated. The pre-harvest interval (PHI) for these pesticides in cucumber and tomato crops was estimated to be 3 days, derived from kinetic analyses of degradation and reduction under greenhouse conditions at optimum and maximum application rates.

Materials and Methods

In this study, Certified Reference Materials (CRMs), acetonitrile and Poly Secondary Amin (PSA) were obtained from Sigma-Aldrich, Scharlau (Barcelona, Spain) and Agilent Technologies (USA), respectively. The pre-harvest interval (PHI) was evaluated at the optimal doses of the studied pesticides. Alverd[®] 240 SC insecticide at 1000 mL/ha and Proclaim Fit[®] UV 500 WG insecticide at 100 g/ha demonstrated the best efficiency. Consequently, residue analyses in tomato crops and the evaluation of the proposed PHI were conducted at these doses. A quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS)-based sample preparation method was employed. Pesticide analyses in cucumber and tomato samples were performed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) Pesticide analyses in cucumber and tomato samples were performed. The separation was performed on a Zorbax Eclipse SB-C₁₈ column (3.0 × 50.0 mm, 1.8 μm) using a mobile phase of acetonitrile and water containing 0.1% formic acid. The gradient program started at 10% acetonitrile, increasing linearly to 100% by 13 minutes, and returned to the initial conditions by 20 minutes, at a flow rate of 0.4 mL/min. The optimum MS conditions were determined with respect to fragmentation voltage and the collision energies of each pesticide. The standard solutions of each pesticide (1 mg kg⁻¹) were separately prepared in acetonitrile and injected directly into the MS using a single-syringe infusion pump.

Results and discussion

The method underwent validation, revealing a linear dynamic range (LDR) for matrix-matched calibration curves of 0.01–0.5 mg/kg, with coefficients of determination (R²) exceeding 0.99. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were 0.003–0.005 mg/kg and 0.01 mg kg⁻¹, respectively. Accuracy and precision were evaluated at two concentration levels. Recoveries ranged from 75.2 to 106.3%, with relative standard deviations (RSD%) for triplicate analyses below 14.2% for all analytes. The developed method was applied to tomato and cucumber samples collected from Alborz and Ghazvin province, and four pesticide residues were found at concentrations below their maximum residue limits (MRLs). Based on the residue results for difenoconazole and fluxapyroxad in tomatoes samples treated with these pesticides, the 3-day pre-harvest interval (PHIs) of Dagonis[®] and the 3-day pre-harvest interval of Pilarexanil[®], dimethomorph and cymoxanil in cucumber samples were investigated and confirmed.

Conclusions

In this study, the kinetics of degradation and reduction of difenoconazole plus fluxapyroxad as a SC 7.5/5 (Dagonis[®]) for controlling powdery mildew on tomatoes, and fungicides dimethomorph plus cymoxanil as a WG 70% (Pilarexanil[®]) for controlling internal powdery mildew on cucumbers, were investigated. The pre-harvest interval (PHI) for these pesticides in cucumber and tomato crops was estimated at 3 days. This interval was derived from the observed kinetics of degradation and reduction at optimum and maximum application rates in greenhouse cucumber and tomato crops. Residual monitoring was conducted immediately after spraying and continued for 11 days, with three replicates. Residue levels were assessed against national maximum residue limits (MRLs), and for all compounds, residues remained below the national MRLs at all sampling times. Consequently, the 3-day PHI for both Dagonis[®] and Pilarexanil[®] is deemed acceptable. The first-order kinetic models fitted to the pesticides studied also confirm the 3-day PHI.

Based on the results, the following recommendations are presented:

- Use of registered pesticides
- Use of pesticides at an appropriate time
- Use of pesticides in appropriate doses and concentrations, with recommended spraying intervals

- Use of appropriate spraying methods (appropriate to the type of pesticide, target pest, host and production space)
- Avoid the use of unauthorized, counterfeit, unknown, suspicious, and poorly qualified pesticides
- Compliance with the expiration date of pesticides and paying attention to the warnings on pesticide labels
- More practical supervision for the import, production, and packaging of agricultural pesticides

Author Contributions

Vahideh Mahdavi: Resources, Funding acquisition, Validation, Visualization, Supervision, Writing-original draft; **Fatemeh Khelghatibana:** Conceptualization, Sample treatment, planning, Investigation; **Ali Es-haghi:** Formal analysis, Data curation, Methodology, **Kasra Sharifi:** Conceptualization, Sample treatment, planning, Investigation; **Mahdieh Hoseini:** Software, Formal analysis, Data curation, Methodology; **Hosein Parsa:** Extraction and Writing-original draft; **Hooman Nankali:** Supervision for real samples, Sampling. All authors have read and approved the published version of the manuscript.

Data availability statement

Data will be available upon request.

Acknowledgements

The authors greatly thank the Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP) to provide the necessary facilities and equipment.

Ethical considerations

Not applicable.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.



سینتیک تخریب، ارزیابی ایمنی و دوره پیش برداشت برخی قارچکش‌های مورد استفاده در خیار و گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای

وحیده مهدوی^۱ | فاطمه خلقتی بنا^۲ | علی اسحاقی^۳ | کسری شریفی وشفام^۴ | مهدیه حسینی^۵ | حسین پارسا^۶
| هومن نانکلی^۶

۱. نویسنده مسئول، بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: v_mahdavi@areeo.ac.ir
۲. بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: khelghati50@gmail.com
۳. بخش فیزیوشیمی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: a.eshaghi@rvsri.ac.ir
۴. بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: kasharifi@yahoo.com
۵. بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: mahdieh.hosseini1987@gmail.com
۶. بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: parsa1976@gmail.com
۷. مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: hooman68nk@gmail.com

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۰۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۳/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۰

تاریخ انتشار: بهار و تابستان ۱۴۰۴

کلیدواژه‌ها:

قارچکش، سینتیک، باقیمانده، دوره پیش برداشت.

امروزه نیاز مبرمی به بررسی سرعت کاهش و تخریب آفتکش‌ها پس از کاربرد در مزارع و ارزیابی فاصله ایمن قبل از برداشت برای اطمینان از ایمن بودن بقایای باقیمانده آفت‌کش‌ها در محصول وجود دارد. در این مطالعات سینتیک تخریب و کاهش قارچکش‌های دیفنوکونازول + فلوکسپایروکساد (داگونیس®) با فرمولاسیون سوسپانسیون غلیظ (SC 7.5/5) که برای کنترل بیماری سفیدک پودری گوجه‌فرنگی استفاده می‌شوند و همچنین قارچ‌کش‌های دیمتومورف + سیموکسانیل WG 70% (پیلارکسانیل®) که برای کنترل بیماری سفیدک کرکی خیار بکار می‌روند مورد بررسی قرار گرفته‌اند. دوره پیش برداشت (کارنس) این آفت‌کش‌ها در محصولات خیار و گوجه‌فرنگی سه روز برآورد شده است که با بررسی سینتیک زوال و کاهش آن‌ها در محصولات خیار و گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای این موضوع در دوزهای بهینه و بیشینه مورد بررسی قرار گرفت. پایش مقادیر باقیمانده بلافاصله پس از سمپاشی تا یازده روز بعد از آن با سه بار تکرار انجام شد. مقادیر باقیمانده با توجه به MRLهای ملی این قارچکش‌ها ارزیابی شد که برای همه آن‌ها در همه زمان‌های نمونه برداری، مقادیر باقیمانده کمتر از MRL ملی بود. بنابراین، دوره پیش برداشت ۳ روزه برای هر دو قارچکش داگونیس و پیلارکسانیل قابل قبول می‌باشد. معادلات سینتیک مرتبه اول برای آفت‌کش‌های مورد مطالعه نیز تایید کننده دوره پیش برداشت سه روز می‌باشد.

استناد: مهدوی، وحیده؛ خلقتی بنا، فاطمه؛ اسحاقی، علی؛ شریفی وشفام، کسری؛ حسینی، مهدیه؛ پارسا، حسین و نانکلی، هومن (۱۴۰۴). سینتیک تخریب، ارزیابی ایمنی و دوره پیش برداشت برخی قارچکش‌های مورد استفاده در خیار و گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای. *نشریه دانش گیاهپزشکی ایران*، ۵۶ (۱)، ۷۹-۱۰۱. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.402094.1007091>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.402094.1007091>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

پایش باقیمانده آفت‌کش‌ها به عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌ها در مواد غذایی، یکی از الزامات اساسی برای آگاهی از شرایط ایمنی آنهاست. این پایش‌ها هر ساله توسط کشورهای مختلف در حال انجام است. اندازه‌گیری میزان باقیمانده آفتکش‌ها در محصولاتی که مستقیماً به مصرف تغذیه انسان می‌رسد از نظر بهداشت و سلامت جامعه از اهمیت بالایی برخوردار است. خطرات ناشی از مصرف آفتکش‌ها شیمیایی خیلی جدی و در خور اهمیت است به خاطر این‌که در هر سمپاشی فقط قسمت کمی آفتکش به هدف مورد نظر می‌رسد و بقیه از طریق شستشو و عوامل دیگر وارد چرخه محیط زیست شده و باعث تخریب آن و انتقال به زنجیره غذایی انسان می‌شود. از طرف دیگر اثرات ناخواسته آفتکش‌های شیمیایی و ترکیباتی که روز به روز فرمولی پیچیده‌تر می‌یابند در دراز مدت باعث انواع سرطان‌ها و اختلالات دیگر حتی ایجاد جهش‌های ژنتیکی در موجودات می‌شود (Pedroso *et al.*, 2022). برنامه‌های پایش وجود باقی مانده آفتکش‌ها در مواد غذایی، در راستای اطمینان حداکثر مجاز باقیمانده آن‌ها و میزان دریافت مصرف‌کننده از طریق رژیم غذایی در بسیاری از کشورها به طور مستمر انجام می‌شود. وزارت جهاد کشاورزی نیز به عنوان متولی تولید محصولات کشاورزی لازم است از کیفیت محصولات تولیدی به لحاظ آلاینده‌ها اطلاع داشته باشد. این اطلاعات می‌تواند کمک زیادی در برنامه‌ریزی‌ها و مدیریت مصرف آفتکش‌ها ایفا کند. علیرغم تایید کارایی و مناسب بودن قارچکش دیفنوکونازول + فلوکساپیروکساید با نام تجاری داگونیس® با فرمولاسیون سوسپانسیون تغلیظ شده (SC 7.5/5) و هم‌چنین قارچکش دیمتومورف + سیموکسانیل با نام تجاری پیلارکسانیل® (WG) 70% در مهار بیماری‌های مرتبط، آگاهی از وضعیت باقیمانده این قارچکش‌ها در دو محصول پرمصرف گوجه‌فرنگی و خیار بسیار قابل توجه است. بنابراین، در این مطالعه علاوه بر بررسی وضعیت باقیمانده قارچکش‌های مذکور، دوره پیش برداشت آن‌ها بر اساس سینتیک کاهش باقیمانده قارچکش‌ها راستی آزمایی شد.

پیشینه پژوهش

با توجه به سرانه مصرف بالا و محبوبیت خیار و گوجه‌فرنگی، آفات و بیماری‌های زیاد آنها و استفاده از آفتکش‌های متنوع در فرایند رشد این محصولات، مطالعات زیادی در دنیا در مورد بررسی باقیمانده آفتکش‌ها و دوره پیش برداشت این محصولات انجام شده است که به اختصار به برخی از آنها اشاره می‌شود: در سال ۲۰۰۷ باقیمانده سموم در نمونه‌های گوجه‌فرنگی بررسی شد و در برخی نمونه‌ها باقیمانده تبوکونازول و بوپروفزین مشاهده شد (Fenoll *et al.*, 2007). تیم تحقیقاتی در پرتغال در سال ۲۰۱۲ باقیمانده سموم را در انواع گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای شامل گوجه گیلاسی، آب گوجه‌فرنگی و رب را بررسی کردند. نتیجه نشان داد تنها یک نمونه دارای باقیمانده آفتکش بیشتر از حد مجاز سیپرودینیل بود (Melo *et al.*, 2012). در سال ۲۰۰۵ تیم تحقیقاتی در ایتالیا بعلت تازه‌خوری گوجه‌فرنگی و اهمیت طی شدن دوره پیش برداشت آن، بقایا و سینتیک تجزیه متومیل، متالاکسیل و کلروتالونیل را در گوجه‌فرنگی مزرعه‌ای بررسی کردند. بررسی‌ها نشان داد با حضور کوپراکسی کلراید در فرمولاسیون این سموم، سینتیک کند شده و دوره پیش برداشت این سموم افزایش می‌یابد (Gambacorta *et al.*, 2005). در ایران، باقیمانده متالاکسیل در خیار گلخانه بررسی و سلامت آن ارزیابی شده است. این بررسی نشان داد که مصرف دوزهای توصیه شده باقیمانده این آفتکش تهدیدی برای سلامت مردم و جامعه محسوب نمی‌شود (Ramezani *et al.*, 2014). در سال ۲۰۱۶ تیم تحقیقاتی از ایران بر مبنای سامانه نورسنجی Vis/NIR سیستم غیر مخربی جهت ارزیابی باقیمانده آفتکش‌ها در محصولات کشاورزی از جمله خیار معرفی کردند. با تلفیق روش‌های ساده نورسنجی با مدل‌های کمومتریکس مانند PLS توانستند باقیمانده دیازینون را در نمونه‌های خیار اندازه‌گیری کنند (Jamshidi *et al.*, 2016).

پژوهشگران ایرانی همچنین باقیمانده آفتکش‌های پر مصرف در نمونه‌های خیار و گوجه‌فرنگی موجود در سوپرمارکت‌های شهر تهران را بررسی کردند. در این مطالعه دیازینون و بعد از آن کارباریل و پرمترین بیشترین فراوانی باقیمانده را داشت (Amrollahi *et al.*, 2019).

مطالعات زیادی در خارج از کشور در مورد ارزیابی بقایای آفتکش‌ها در محصولات کشاورزی انجام شده است و استانداردهای زیادی در این راستا گسترش یافته که به عنوان نمونه به برخی مطالعات انجام گرفته در سال‌های اخیر اشاره می‌شود. در لهستان باقیمانده ۱۴۰ آفتکش مختلف در بیش از ۳۰۰ نمونه خیار و گوجه‌فرنگی که طی سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۴ جمع‌آوری شده بود، اندازه‌گیری شده است. نتایج نشان داد که در ۵۲٪ از نمونه‌ها میزان باقیمانده یکی از آفتکش‌ها بیش از حد مجاز بود (Walorczyk *et al.*, 2016). در سال ۲۰۱۵ استفاده از کلروتالونیل و کلرپیرفوس در خیار گلخانه‌ای و همچنین مواجهه پوستی کارگران مورد ارزیابی ریسک خطر قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده ریسک خطر کمتر از یک برای مصرف‌کنندگان بود که به معنی عدم نگرانی از بابت ایجاد بیماری است (An *et al.*, 2015). در سال ۲۰۱۹ مصر باقیمانده ۱۲۰ آفتکش مختلف را در بیش از ۵۵۰ نمونه خیار با استفاده از دستگاه LC-MS/MS پایش کرد. باقیمانده ۱۲ آفتکش مختلف در نمونه‌ها دیده شد. تیوفانات متیل کمی بیشتر از MRL دیده شد. بیشترین فراوانی مربوط به آفتکش‌های ایپرودیون و پروپاموکارب بود.

ارزیابی ریسک نشان داد هیچ تهدیدی برای مصرف‌کنندگان این محصولات از منظر سلامتی وجود ندارد (Ahmed *et al.*, 2019). در سال ۲۰۱۶ باقیمانده مخلوط کروزوکسیم متیل و فلوازفام در خیار مزرعه‌ای بررسی و ارزیابی ریسک شد. این مطالعه با استفاده از HPLC-DAD انجام گرفت (Wang *et al.*, 2016). در این تحقیق باقیمانده ۸ حشره‌کش نئونیکوتینوئیدی و متابولیت‌های مهم آن‌ها در نمونه‌های خاک و خیار ارزیابی شد. نتایج نشان داد چنانچه برداشت پس از طی شدن دوره پیش برداشت صورت گیرد مقادیر باقیمانده بسیار کمتر از MRL خواهد بود (Abdel ghany *et al.*, 2016). در سال ۲۰۱۶ تیم تحقیقاتی از چین باقیمانده ۷ آفتکش را با استفاده از اسپکترومتری تحرک یونی در نمونه‌های خیار، سیب و گوجه گیلاسی ردیابی کردند (Zou *et al.*, 2017). تعیین همزمان ۳ آفتکش نئونیکوتینوئیدی و متابولیت‌های آن‌ها در نمونه‌های سیب و خیار با HPLC و شناساگر DAD توسط تیمی مصری در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت (Farouk e *et al.*, 2016).

در سال ۲۰۱۸ یک تیم تحقیقاتی از کره جنوبی و آلمان اثر بافت‌آرا در آنالیز باقیمانده آفتکش‌ها در نمونه‌های خیار با استفاده از GC-MS/MS ارزیابی کردند، نتایج نشان داد بیش از ۸۵٪ از آفتکش‌های مورد مطالعه دارای اثر بافت کمتر از ۱۰٪ در کار با این دستگاه هستند (Hyeyoung *et al.*, 2018). همچنین باقیمانده ایمیداکلوپراید و آتامکتین در خیار با استفاده از HPLC بررسی شد. نتایج نشان داد مقادیر باقیمانده این دو حشره‌کش ۵ روز و ۱۰ روز بعد از سمپاشی بیشتر از مقدار MRL بود. باقیمانده آتامکتین از ایمیداکلوپراید بیشتر بود. میزان باقیمانده در خاک بیشتر از محصول دیده شد (Jodeh *et al.*, 2016). در تحقیقی که مهدوی و همکارانش در سال ۲۰۲۲ در ۱۰۰ نمونه خیار گلخانه جمع‌آوری شده از سطح استان تهران انجام دادند ۵۶ آفتکش با استفاده از دستگاه HPLC-MS/MS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که حداقل ۱۸ درصد از نمونه‌های خیار دارای باقیمانده آفتکش بودند (Mahdavi *et al.*, 2022). در همین سال خوشنام و همکارانش باقیمانده ۳۰ آفتکش را در ۴۵ نمونه خیار و گوجه‌فرنگی استان خوزستان بررسی کردند. مقدار ۹۳ درصد از نمونه‌های خیار دارای دست کم یک باقیمانده آفتکش بودند. البته همه مقادیر باقیمانده در حد مجاز و کمتر از آن بود. باقیمانده دیازینون در همه نمونه‌های گوجه‌فرنگی کمتر از حد مجاز مشاهده شد (Khoshnam *et al.*, 2022). در سال ۲۰۲۴ تیم تحقیقاتی از چین باقیمانده کاربندازیم را در نمونه‌های آب خیار با استفاده از اسپکتروسکوپی فلورسنت بررسی کردند. نتایج نشان داد تکنیک بکار رفته

1. Ion Mobility Spectrometry (IMS)

2. Matrix

می‌تواند اطلاعات خوبی برای سیستم‌های تشخیص سریع نمونه و غیر مخرب ارائه نماید (Xu et al., 2024). در سال ۲۰۲۴ تیم تحقیقاتی از چین به اندازه‌گیری عدم قطعیت در پایش باقیمانده سموم در نمونه‌های گوجه‌فرنگی با استفاده از LC-MS/MS پرداختند و ۲۶ آفتکش از گروه‌های شیمیایی مختلف مورد بررسی قرار گرفتند و در این بررسی مشخص شد اثرات بافت خیار در اندازه‌گیری آفتکش‌ها قابل اغماض است (Shrestha et al., 2024).

روش شناسی پژوهش

مواد و روش‌ها

مواد مرجع گواهی شده^۱ (استانداردهای تجزیه‌ای) دیفنوکونازول، فلوکسپایروکساید، دیمتومورف و سیموکسانیل از شرکت سیگما-آلدریج^۲ با برند پستانال^۳ خریداری شد و جهت اعتبارسنجی فرایند به منظور آنالیز باقیمانده‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. محلول اولیه ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در استونیتریل از هر قارچ‌کش بطور جداگانه تهیه و در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد. محلول‌های کاری روزانه از محلول مادری تهیه و مورد استفاده قرار می‌گرفت. فرمیک اسید (۹۸٪) و سدیم کلرید از سیگما آلدریج (Steinheim, Germany) تهیه شدند. فیلتر سُرْسُرنگی ۱۳- μm با سایز ۰/۲۲ میکرومتر از جنس (LabService) PTFE (Analytica, Bologna, Italy) برای صاف کردن نمونه‌ها پیش از تزریق به دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق از استونیتریل مخصوص کروماتوگرافی خریداری شده از کارلو^۴ (Barcelona, Spain) استفاده شد. سایر جاذب‌های مورد نیاز برای استخراج به روش کچرز، شامل منیزیم سولفات بدون آب، سدیم استات و پلی‌آمین ثانویه (PSA) از شرکت Agilent آمریکا سفارش داده شد. آب خالص مورد نیاز با استفاده از دستگاه آب خالص‌ساز با هدایت کمتر از ۰/۰۵ $\mu\text{s}/\text{cm}$ بصورت تازه و روزانه تهیه می‌شد.

تجهیزات

برای آنالیز نمونه‌ها از دستگاه HPLC-MS/MS از کمپانی Agilent مدل ۶۴۱۰ مجهز به آنالایزر triple quadrupole استفاده شد. جداسازی در LC مدل ۱۲۰۰ شرکت Agilent انجام شد. از ستون SB-C18, Zorbax Eclipse با مشخصات (۳/۰×۵۰/۰ mm و ۱/۸ μm) که در محفظه مجهز به ترموستات، در دمای ۴۰ °C ثابت تنظیم شده بود، استفاده شد. برای جداسازی از فازهای متحرک استونیتریل و آب ۰/۱ درصد فرمیک اسید استفاده شد که درصد فازهای آلی به طور خطی به این صورت تغییر می‌کرد: شروع جداسازی با ۱۰٪ استونیتریل بود که تا دقیقه ۱۳ به ۱۰۰٪ استونیتریل رسید و از دقیقه ۱۳/۱ تا ۲۰ به شرایط اولیه ستون (۱۰٪ استونیتریل) بر می‌گشت. لازم به ذکر است سرعت جریان فاز متحرک ۰/۴ میلی‌لیتر در دقیقه بود. بهینه‌سازی شرایط آشکارساز جرمی نیز به کمک تزریق استاندارد به آشکارساز انجام گرفت که نتایج آن در جدول (۱) آورده شده‌اند.

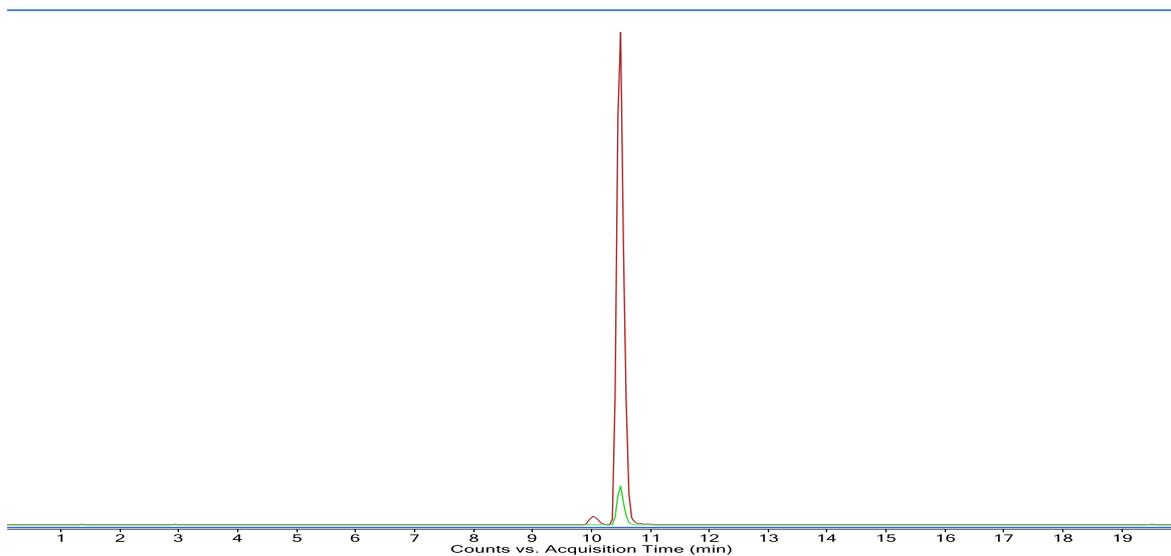
بهینه‌سازی شرایط شناساگر جرمی

1. Certified Reference materials (CRMs)
2. Analytical Standards
3. Sigma-Aldrich
4. PESTANAL@
5. Scharlau

در ابتدا باید بهترین شرایط شناساگر جرمی از نظر ولتاژ قطعه قطعه شدن (یون والد (یون مادر) و انرژی برخورد یون‌های دختر برای هر یک از قارچکش‌ها به منظور حصول بیشترین حساسیت بهینه شود. که برای این کار محلول خالص هر یک از آفتکش‌ها با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر به طور جداگانه در استونیتریل تهیه و به صورت مستقیم توسط پمپ به شناساگر جرمی تزریق شدند. اصطلاحاً در این مرحله دستگاه برای هر یک از آنالیت‌ها کالیبره یا تیون می‌شود، که نتایج بدست آمده در جدول (۱) آمده است. کروماتوگرام یون‌های کمی و کیفی استاندارد ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر قارچکش دیفنوکونازول در شکل (۱) نشان داده شده است:

جدول ۱. یون والد، زمان بازداری و مقادیر بهینه ولتاژ قطعه قطعه شدن و انرژی برخورد برای یون‌های کمی و کیفی.

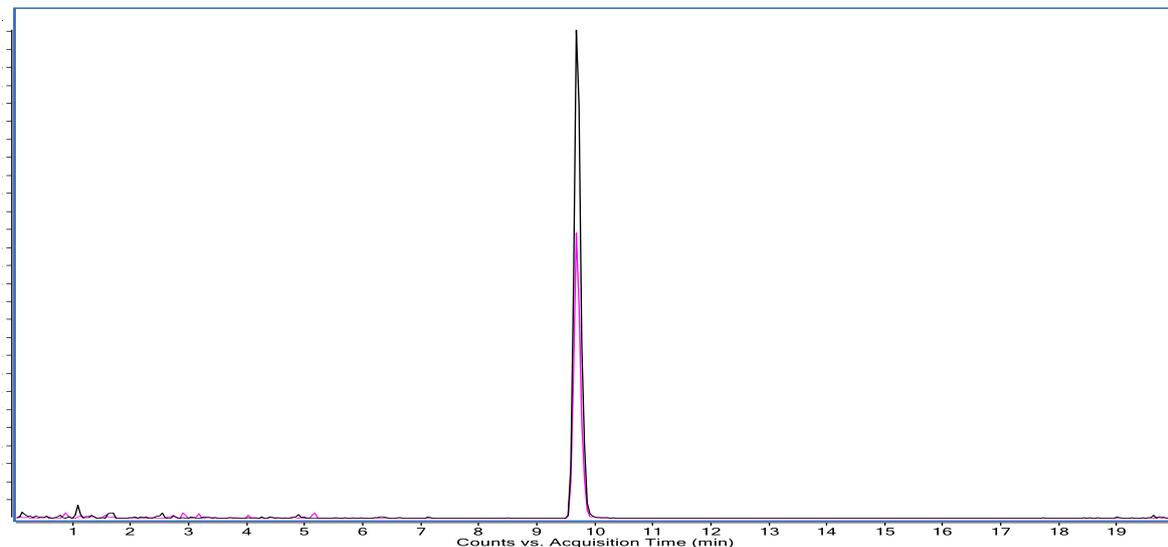
آفتکش	یون والد (m/z)	زمان بازداری (min)	ولتاژ قطعه قطعه شدن (Volt)	انرژی برخورد (یون کمی) (eV)	انرژی برخورد (یون کیفی) (eV)
دیفنوکونازول	۴۰۶	۱۰/۶	۱۱۰	۲۵۱ (۱۰)	۳۳۷ (۱۵)
فلوکساپیروکساد	۳۸۲	۹/۸	۷۵	۳۴۲ (۲۰)	۳۱۴ (۲۵)
دیمتومورف	۳۸۸	۹/۴	۹۰	۳۰۱ (۱۰)	۱۶۵ (۱۵)
سیموکسانیل	۱۹۹	۷/۸	۱۱۵	۸۳ (۱۵)	۱۱۱ (۱۰)



شکل ۱. یون کروماتوگرام یون‌های کمی و کیفی و کمی استخراج شده از TIC محلول ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر استاندارد دیفنوکونازول

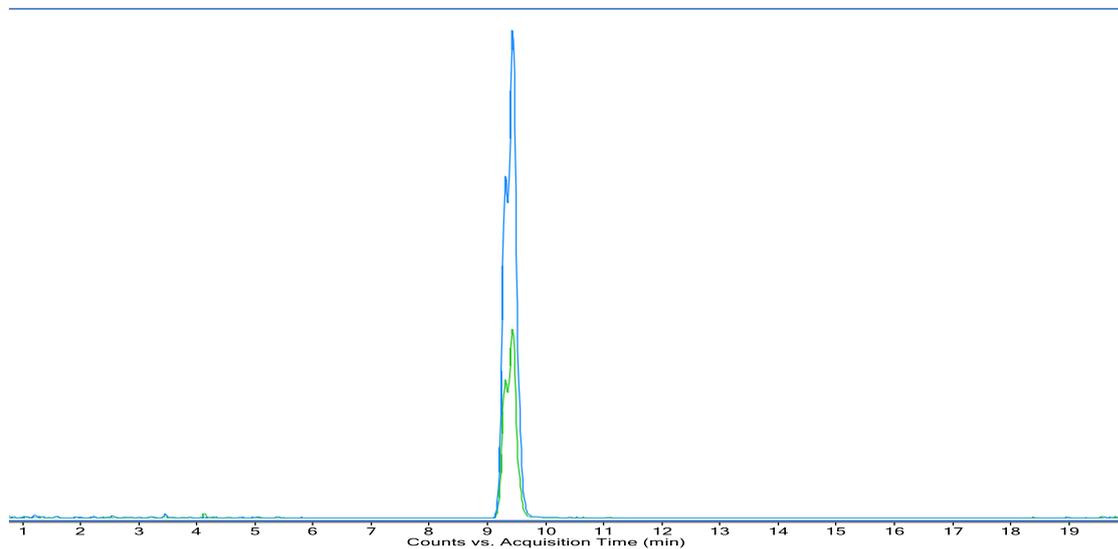
1. Fragmentation voltage
2. Precursor ion (Parent ion)
3. Collision energy
4. Daughter ion
5. Tune

کروماتوگرام یون‌های کمی و کیفی استاندارد ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر قارچکش فلوکساپیروکساید در شکل (۲) نشان داده شده است.



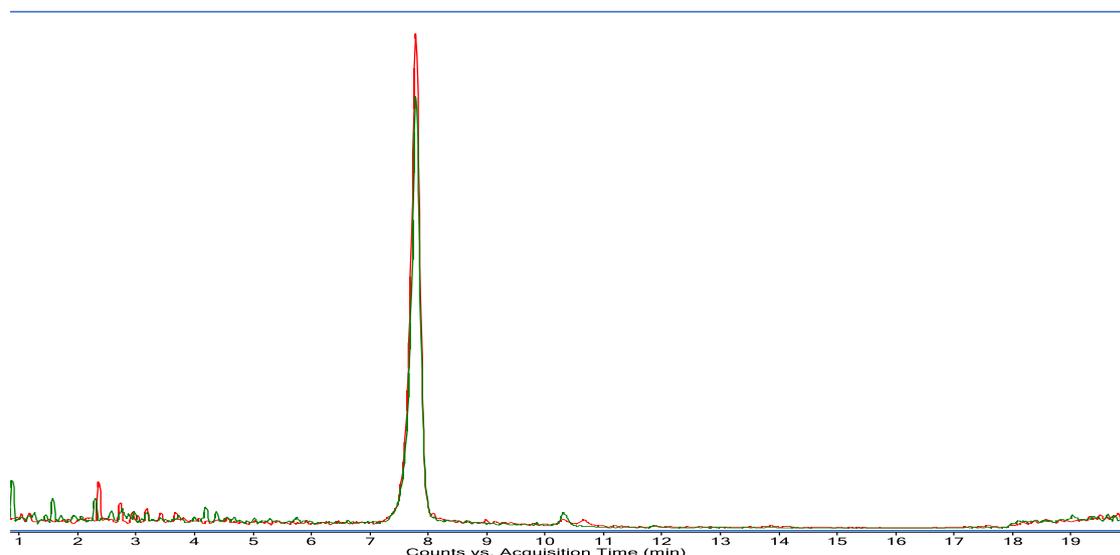
شکل ۲. یون کروماتوگرام یون‌های کمی و کیفی استخراج شده از TIC محلول ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر استاندارد فلوکساپیروکساید.

کروماتوگرام یون‌های کمی و کیفی استاندارد ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر قارچکش دیمتومورف در شکل (۳) نشان داده شده است.



شکل ۳. یون کروماتوگرام یون‌های کمی و کیفی استخراج شده از TIC محلول ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر استاندارد دیمتومورف.

کروماتوگرام یون‌های کمی و کیفی استاندارد ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر قارچکش سیموکسانیل در شکل (۴) نشان داده شده است.



شکل ۴. یون کروماتوگرام یون‌های کیفی و کمی استخراج شده از TIC محلول ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر استاندارد سیموکسانیل.

تیمار نمونه‌ها

آزمایش در قالب طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. پس از تهیه نشاء از بذور گوجه‌فرنگی (رقم رفح)، نشاء‌های شش برگی به زمین اصلی منتقل شده و در دو سوی پشته کوتاه با عرض ۶۰ سانتی‌متر و به فاصله ۲۵ سانتی‌متر از هم کشت‌داده شدند. برای محلول‌پاشی از سمپاش دستی، پس از کالیبراسیون استفاده شد. با ظهور اولین علائم بیماری در مزرعه، کرت‌های آزمایشی با دوزهای ۰/۶ و ۰/۷۵ لیتر در هکتار در چهار نوبت و در فواصل یک هفته‌ای، محلول‌پاشی شدند. در مجموع برای هر دوز ۴ خط کشت ۲۴ متری محلول‌پاشی شد. نمونه‌برداری از محصول سمپاشی شده برای هر دوز از نقاط مختلف کرت‌های آزمایشی به صورت تصادفی انجام شد. از کرت شاهد آب‌پاشی شده نیز یک نمونه به عنوان کنترل جمع‌آوری شد. نمونه‌های خیار نیز به روش مشابه تهیه شدند.

نمونه‌برداری

هر نمونه شامل ۸ تا ۱۲ عدد از محصول رسیده و آماده مصرف گوجه‌فرنگی و خیار تشکیل می‌شد. نمونه‌برداری بصورت تصادفی انجام شد و نمونه‌ها پس از نمونه‌برداری در فریزر یا شرایط یخچالی تا رسیدن به آزمایشگاه نگهداری شدند. جزئیات نمونه‌برداری در جدول (۲) آمده است.

دوز بهینه داگونیس برای کنترل بیماری سفیدک پودری در گوجه‌فرنگی، ۰/۶ لیتر در هکتار و دوز بیشینه ۰/۷۵ لیتر در هکتار می‌باشد. برای اطمینان از عدم ایجاد معضل باقیمانده، بررسی تیمارها با دوز بیشینه نیز انجام گرفت. تعداد کل تیمارهای تیمار شده با داگونیس ۲ تیمار (دو دوز) و برداشت در ۱۴ زمان مختلف در ۳ تکرار انجام گرفت لذا تعداد کل نمونه‌ها ۷۹ نمونه بود. دوز بهینه پیلارکسانیل جهت کنترل بیماری سفیدک کرکی خیار ۱/۱۵ گرم در هزار میلی‌لیتر تعیین شده که با دوز بیشینه آن برابر است. بنابراین نمونه‌برداری در این دوز با توجه به دوره پیش برداشت مورد ادعای شرکت که برابر با ۳ روز است، انجام شد. تعداد کل تیمارهای پیلارکسانیل ۱ تیمار (یک دوز) و برداشت در ۱۴ زمان مختلف در ۳ تکرار انجام گرفت لذا تعداد کل نمونه‌ها ۴۰ نمونه می‌باشد.

جدول ۲. برنامه زمانی نمونه‌برداری از نمونه‌های گوجه‌فرنگی و خیار پس از سمپاشی با داگونیس و پیلارکسانیل به منظور ارزیابی باقیمانده و دوره پیش‌برداشت.

تکرار	زمان (پس از سمپاشی)	دوز
تکرار ۳	۱ ساعت پس از آخرین سمپاشی	سمپاشی با داگونیس در دوز بهینه ۰/۶ و دوز بیشینه ۰/۷۵ لیتر در هکتار
تکرار ۳	۳ ساعت پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۵ ساعت پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۷ ساعت پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۱۲ ساعت پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۱ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۲ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۳ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۴ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۵ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۷ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۹ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۱۱ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۱	یک نمونه شاهد	
تکرار ۳	۱ ساعت پس از آخرین سمپاشی	سمپاشی با پیلارکسانیل در دوز بهینه (۱/۱۵ در هزار)
تکرار ۳	۳ ساعت پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۵ ساعت پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۷ ساعت پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۱۲ ساعت پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۱ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۲ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۳ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۴ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۵ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۷ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۹ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۳	۱۱ روز پس از آخرین سمپاشی	
تکرار ۱	یک نمونه شاهد	

روش استخراج

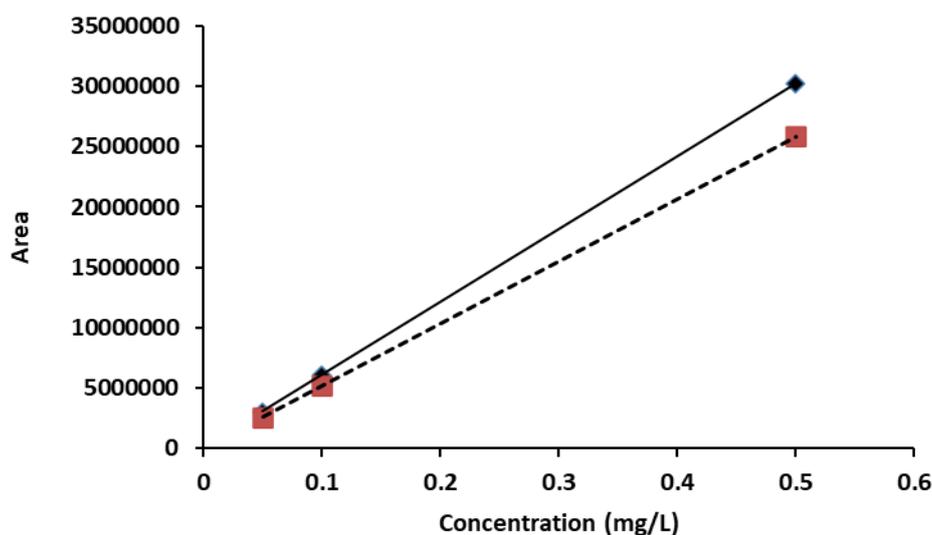
پس از ورود نمونه‌های گوجه‌فرنگی و خیار (نمونه آزمایشگاهی) همه نمونه‌ها آسیاب شدند. ۱۰ گرم از نمونه همگن و آسیاب شده به عنوان نمونه توزین شد. با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر استونیتربیل حاوی ۱٪ استیک اسید فرایند استخراج تام انجام شد. فالکن به مدت ۱ دقیقه به شدت تکان داده شد تا نفوذ حداکثری حلال به درون بافت نمونه اتفاق بیفتد. برای تکمیل فرایند استخراج از جاذب‌های منیزیم سولفات بدون آب، سدیم کلراید و سدیم استات استفاده شد. بدین ترتیب که ۴ گرم سولفات منیزیم بی‌آب، ۱ گرم کلراید سدیم و ۱/۵ گرم استات سدیم به فالکن حاوی نمونه افزوده شد. مخلوط سریعاً و به شدت به مدت ۱ دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۴۵۰rpm سانتریفوژ گردید.

۵ میلی لیتر از محلول فوقانی بدست آمده به فالکن ۱۵ میلی لیتر برای مرحله تصفیه^۱ منتقل گردید. برای تصفیه از جاذب های منیزیم سولفات به منظور حذف آب اضافی در محیط به مقدار ۶۰۰ میلی گرم، PSA^۲ به منظور حذف مولکول های درشت، اسیدهای آلی، پروتئین ها و سایر هم استخراج های مزاحم به مقدار ۲۰۰ میلی گرم و ۳۰ میلی گرم از GCB^۳ به منظور رنگ زدایی استفاده شد. مخلوط مجدداً به مدت ۱ دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۳ دقیقه با ۳۴۵۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. ۱ میلی لیتر از فاز فوقانی بدست آمده، برداشته و با فیلتر سرسرنگی PTFE، فیلتر گردید. محلول بدست آمده در این مرحله جهت تزریق به دستگاه HPLC-MS/MS آماده شد.

اعتبارسنجی روش

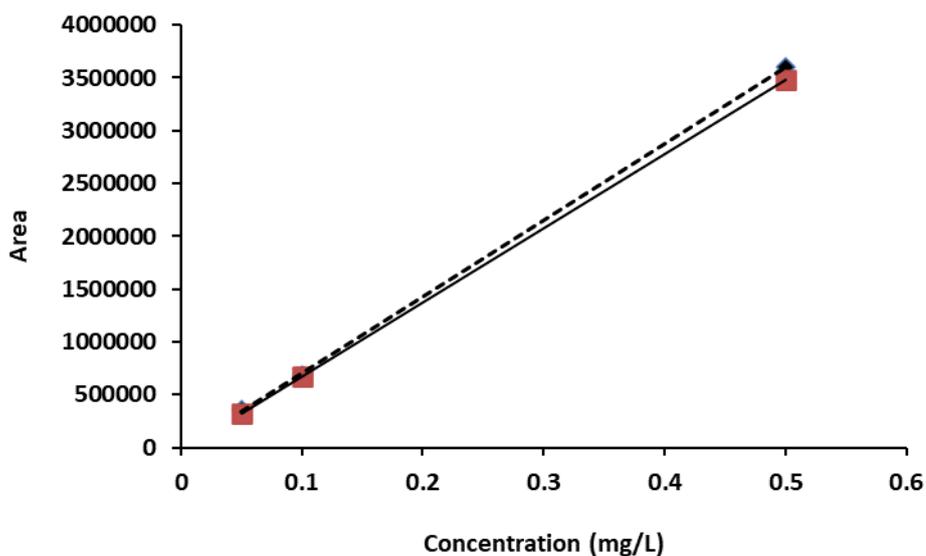
محلول های منحنی درجه بندی مبنا (کالیبراسیون)

محلول های کالیبراسیون، در استونیتریل و در بافت گوجه فرنگی و خیار ساخته شدند. به این منظور با رقیق سازی مناسب محلول مادری که در قسمت مواد و روش ها توضیح داده شد، محلول هایی در ۵ سطح غلظتی متفاوت، با غلظت های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ میلی گرم در لیتر از قارچکش های دیفنو کونازول، فلوکساپیروکساد، سیمو کسانیل و دیمتومورف در حلال و بافت تهیه شدند. نمودارهای کالیبراسیون که در شکل های (۵) تا (۸) نشان داده شده است، خطی بودن بسیار مطلوب با حساسیت بالای قارچکش های مورد مطالعه را در دستگاه HPLC-MS/MS نشان می دهد.

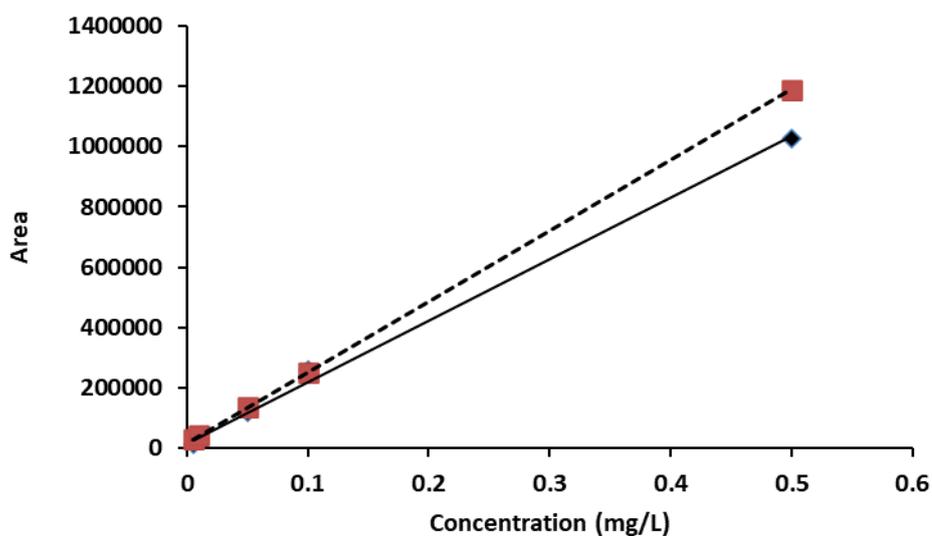


شکل ۵. منحنی کالیبراسیون استاندارد دیفنو کونازول در استونیتریل (خط پیوسته) و محلول استخراج شده از بافت گوجه فرنگی (خط چین).

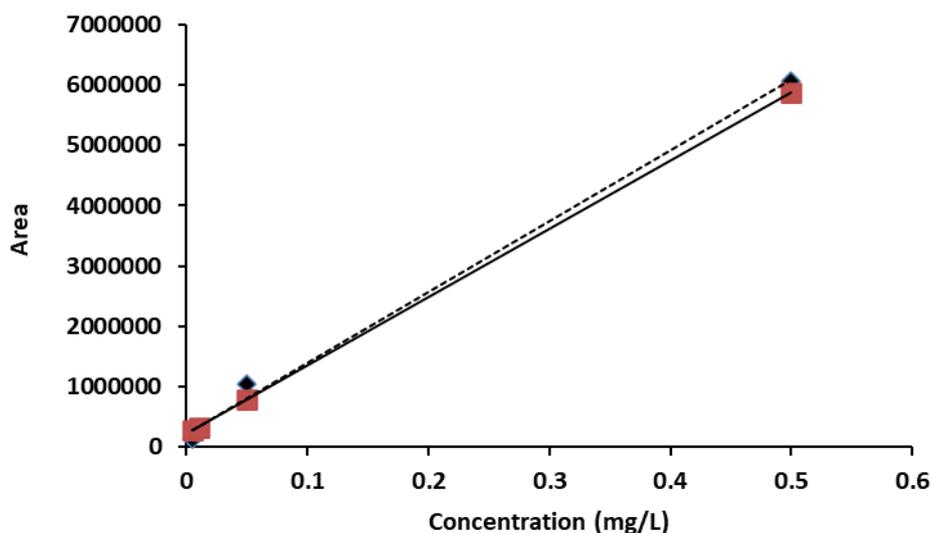
1. Clean-up
2. Primary-secondary Amine
3. Co-extractive
4. Graphitized Carbon Bonded



شکل ۶. منحنی کالیبراسیون استاندارد فلوکسازول در استونیتریل (خط پیوسته) و محلول استخراج شده از بافت گوجه‌فرنگی (خط چین)



شکل ۷. منحنی کالیبراسیون استاندارد سیموکسانیل در استونیتریل (خط پیوسته) و محلول استخراج شده از بافت خیار (خط چین).



شکل ۸. منحنی کالیبراسیون استاندارد دیمتومورف در استونیتریل (خط پیوسته) و محلول استخراج شده از بافت خیار (خط چین).

ارقام شایستگی^۳ قارچکش‌های مورد مطالعه در جدول (۳) نشان داده شده است.

جدول ۳. ارزیابی فرایند آماده سازی نمونه با بررسی ارقام شایستگی شامل اثرات بافت، حد تشخیص^۴ LOD، حد اندازه گیری کمی^۳ LOQ و محدوده دینامیک خطی^۴ LDR بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم.

اقتکش	اثر بافت %	حد تشخیص	حد کمی سازی	محدوده دینامیک خطی
دیفنوکونازول	-۱۴	۰/۰۰۳	۰/۰۱	۰/۰۱-۰/۵
فلوکساپیروکساد	۱۱	۰/۰۰۳	۰/۰۱	۰/۰۱-۰/۵
دیمتومورف	۱۳	۰/۰۰۵	۰/۰۱	۰/۰۱-۰/۵
سیموکسانیل	۱۷	۰/۰۰۳	۰/۰۱	۰/۰۱-۰/۵

برای محاسبه اثر بافت، شیب خط منحنی کالیبراسیون در حلال از شیب خط منحنی کالیبراسیون در بافت کسر گردید و به شیب خط منحنی کالیبراسیون در حلال تقسیم شد. عدد بدست آمده اثر بافت را نشان می دهد. برای این محاسبه از فرمول زیر استفاده شد.

$$\text{اثر بافت} = \frac{\text{شیب منحنی کالیبراسیون در حلال} - \text{شیب منحنی کالیبراسیون در بافت}}{\text{شیب منحنی کالیبراسیون در حلال}}$$

1. Figure of merits
2. Limit of Detection
3. Limit of Quantification
4. Linear Dynamic Range

تعیین درصد بازیابی و مطالعات صحت و دقت روش

به این منظور عملیات استخراج و تصفیه بر روی نمونه شاهد خیار و گوجه در دو حالت غنی‌سازی^۱ و همسان‌سازی بافت استاندارد صورت گرفت. پس از گذشت ۱ ساعت که آفتکش در بافت خیار و گوجه نفوذ کرد، بقیه مراحل کچرز انجام و عصاره آن به دستگاه HPLC-MS/MS تزریق شد. در حالت همسان‌سازی بافت، روش کچرز روی همان نمونه‌ای که برای غنی‌سازی بکار رفته بود، اعمال و عصاره بدست آمده در این مرحله جهت همسان‌سازی بافت به جای حلال استفاده شد. نتایج بازیافت در دو سطح غلظتی ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به همراه درصد انحراف استاندارد نسبی^۳ در جدول (۴) برای بافت خیار و گوجه نشان داده شده است.

جدول ۴. بازیافت و تکرارپذیری محاسبه شده برای آفت‌کش‌های مورد مطالعه در دو غلظت ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم.

۰/۱ mg/kg		۰/۵ mg/kg		آفتکش
درصد بازیافت	% RSD	درصد بازیافت	% RSD	
۸۵/۲	۱۱/۴	۸۷/۱	۸/۸	دیفنوکونازول
۷۷/۰	۱۳/۱	۷۵/۲	۱۲/۷	فلوکسپایروکساید
۸۸/۳	۹/۸	۹۰/۷	۹/۰	دیمتومورف
۱۰۶/۳	۱۴/۲	۹۸/۲	۱۰/۰	سیموکسانیل

حصول بازیافت در بازه ۷۷ تا ۱۰۶ درصد با توجه به انحراف معیار کمتر از ۱۴ درصد در کنار ارقام شایستگی قابل قبول طبق استاندارد بین‌المللی SANCO نشان از قابل قبول بودن روش استخراج و آنالیز برای آفتکش‌های مورد مطالعه دارد. با عنایت به این نتایج، فرایند استخراج و آنالیز برای نمونه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با دوزهای بهینه و بیشینه داگونیس و خیار تیمار شده با دوز بهینه (بیشینه) پیلاکسانیل انجام گرفت که نتایج حاصل از آنالیز در ادامه خواهد آمد.

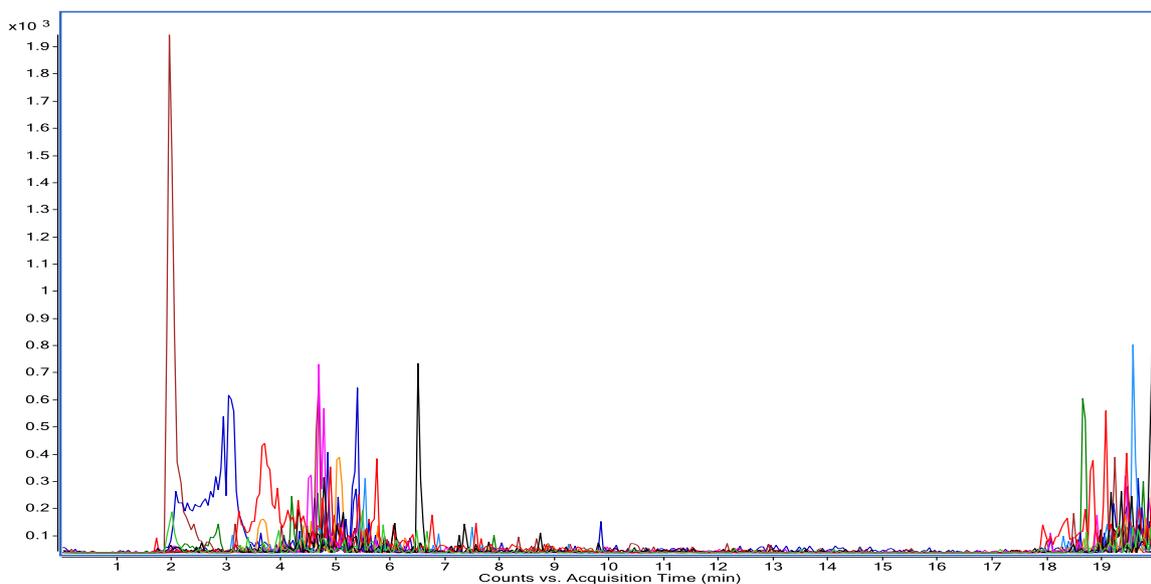
یافته‌های پژوهش و بحث

پس از اعتبارسنجی روش، نمونه‌های حقیقی شناسنامه دار که در مهر ماه سال ۱۴۰۳ تیمار و جمع‌آوری شده بودند، مورد آنالیز باقیمانده قرار گرفتند که نتایج آن در ادامه آمده است:

آنالیز نمونه‌های حقیقی

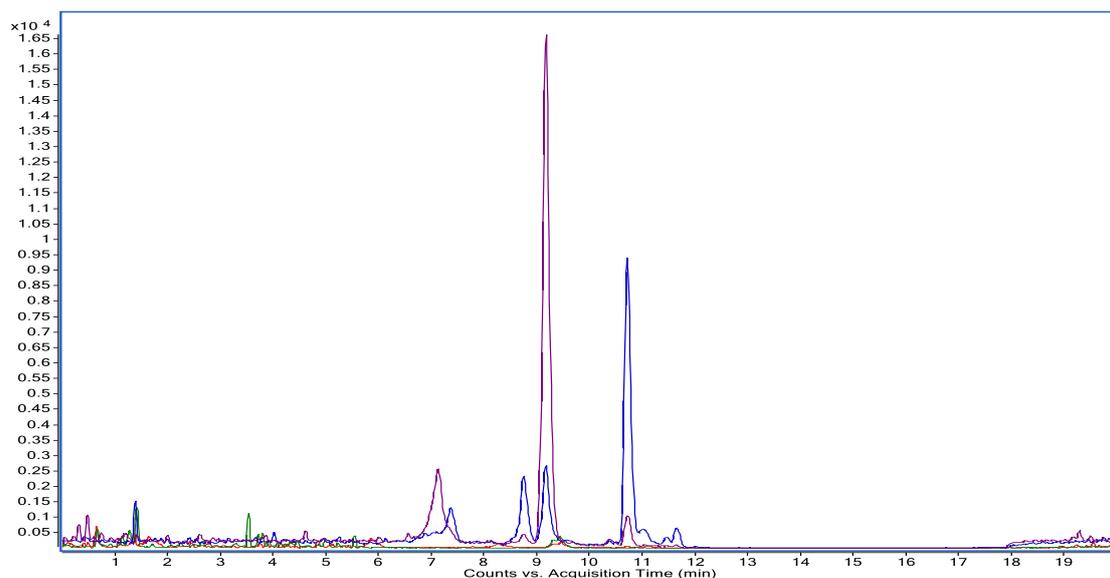
در ابتدا منحنی کالیبراسیون برای استانداردهای دیفنوکونازول، فلوکسپایروکساید، دیمتومورف و سیموکسانیل در حلال استونیتریل رسم شد. به منظور بررسی اثر بافت مجدداً منحنی کالیبراسیون این قارچکش‌ها در بافت خیار و گوجه‌فرنگی نیز تهیه شد. معادله خط، شیب و ضریب همبستگی محاسبه شد و مقدار LOQ با استفاده از استاندارد سانکو بدست آمد (European Commission Directorate General For Health And Food Safety, 2019). مقادیر r^2 بالاتر از ۰/۹۹ برای قارچکش‌های مورد مطالعه و بازیافت با RSD قابل قبول نشان از مناسب بودن روش استخراج دارد. کروماتوگرام یکی از نمونه‌های تیمار شده گوجه‌فرنگی (نمونه برداشت شده یازده روز بعد از سمپاشی) در شکل (۹) نشان داده شده است:

1. Spike
2. Matrix-match
3. Relative Standard Deviation



شکل ۹. یون کروماتوگرام یون‌های کیفی و کمی استخراج شده از TIC نمونه گوجه فرنگی تیمار شده با داگونیس ۱۱ روز پس از سمپاشی.

در شکل (۱۰) کروماتوگرام یکی از نمونه‌های تیمار شده خیار (نمونه برداشت شده چهار روز بعد از سمپاشی) نشان داده شده است.



شکل ۱۰. یون کروماتوگرام یون‌های کیفی و کمی استخراج شده از TIC نمونه خیار تیمار شده با پیلارکسانیل ۴ روز پس از سمپاشی.

نتایج باقیمانده قارچکش داگونیس در نمونه‌های گوجه فرنگی در دوزهای بهینه و بیشینه

نتایج آنالیز باقیمانده قارچکش دیفنوکونازول در نمونه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با داگونیس در دوز بهینه ۰/۶ لیتر در هکتار در جدول (۵) نشان داده شده است.

جدول ۵. مقادیر باقیمانده دیفنوكونازول و فلوکسایپروکساد در نمونه‌های تیمار شده گوجه‌فرنگی در دوز بهینه ۰/۶ لیتر در هکتار و میانگین تکرارها.

تیمار	دیفنوكونازول میانگین باقیمانده	فلوکسایپروکساد میانگین باقیمانده
یک ساعت بعد	۰/۰۸	<LOQ
۳ ساعت بعد	۰/۰۱۹	<LOQ
۵ ساعت بعد	۰/۰۴۰	<LOQ
۷ ساعت بعد	۰/۰۶۶	<LOQ
۱۲ ساعت بعد	۰/۰۳۸	<LOQ
۱ روز بعد	۰/۰۴۳	<LOQ
۲ روز بعد	۰/۰۴۸	<LOQ
۳ روز بعد	۰/۰۳۹	<LOQ
۴ روز بعد	۰/۰۲۶	<LOQ
۵ روز بعد	۰/۰۳۹	<LOQ
۷ روز بعد	۰/۰۱۷	<LOQ
۹ روز بعد	۰/۰۲۵	<LOQ
۱۱ روز بعد	۰/۰۱۳	<LOQ
شاهد	یافت نشد	یافت نشد

واحد مقدار باقیمانده، میلی گرم بر کیلوگرم است.

همانطور که در جدول (۵) دیده می‌شود همه مقادیر باقیمانده در همه زمان‌های مورد بررسی از آخرین سمپاشی کمتر از MRL ملی می‌باشند.

نتایج آنالیز باقیمانده قارچکش فلوکسایپروکساد در نمونه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با داگونیس در دوز بهینه ۰/۶ لیتر در هکتار در جدول (۵) نشان داده شده است که مقادیر باقیمانده فلوکسایپروکساد در همه نمونه‌ها کمتر از حد تشخیص دستگاه می‌باشد.

در جدول (۶) نتایج آنالیز باقیمانده قارچکش دیفنوكونازول در نمونه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با داگونیس در دوز بیشینه ۰/۷۵ لیتر در هکتار نشان داده شده است.

جدول ۶. باقیمانده دیفنوكونازول و فلوکسایپروکساد در نمونه‌های تیمار شده گوجه‌فرنگی در دوز بیشینه ۰/۷۵ لیتر در هکتار و میانگین تکرارها.

تیمار	میانگین باقیمانده دیفنوكونازول	میانگین باقیمانده فلوکسایپروکساد
۱ ساعت بعد	۰/۰۵۵	<LOQ
۳ ساعت بعد	۰/۰۵۴	<LOQ
۵ ساعت بعد	۰/۰۸۱	<LOQ
۷ ساعت بعد	۰/۰۹۳	<LOQ
۱۲ ساعت بعد	۰/۰۹۳	<LOQ
۱ روز بعد	۰/۰۳۲	<LOQ
۲ روز بعد	۰/۰۳۵	<LOQ
۳ روز بعد	۰/۰۵۳	<LOQ
۴ روز بعد	۰/۰۲۶	<LOQ
۵ روز بعد	۰/۰۲۴	<LOQ
۷ روز بعد	۰/۰۱۲	<LOQ
۹ روز بعد	۰/۰۱۲	<LOQ
۱۱ روز بعد	۰/۰۱۱	<LOQ
شاهد	یافت نشد	یافت نشد

واحد مقدار باقیمانده، میلی گرم بر کیلوگرم است.

همانطور که در این جدول دیده می شود همه مقادیر باقیمانده در همه زمان های مورد بررسی کمتر از MRL ملی می باشند. نتایج آنالیز باقیمانده قارچکش فلوکسپایروکساد در نمونه های گوجه فرنگی تیمار شده با داگونیس در دوز بیشینه ۰/۷۵ لیتر در هکتار نشان می دهد مقادیر باقیمانده فلوکسپایروکساد در همه نمونه ها کمتر از حد تشخیص دستگاه می باشد و نتایج در دوز بهینه مشابه دوز بیشینه بدست آمد.

نتایج باقیمانده قارچکش پیلارکسانیل در نمونه های خیار

نتایج آنالیز باقیمانده قارچکش دیمتومورف و سیموکسانیل در نمونه های خیار تیمار شده با پیلارکسانیل در دوز بهینه ۱/۱۵ در هزار در جدول (۷) نشان داده شده است و مقادیر باقیمانده دیمتومورف در همه نمونه ها کمتر از حد تشخیص دستگاه می باشد و مقادیر باقیمانده سیموکسانیل در همه نمونه ها کمتر از MRL ملی بوده و از روز سوم به بعد نیز به کمتر از حد تشخیص دستگاه رسید.

جدول ۷. مقادیر باقیمانده دیمتومورف و سیموکسانیل در نمونه های تیمار شده خیار در دوز بهینه ۱/۱۵ در هزار و میانگین تکرارها.

تیمار	میانگین باقیمانده دیمتومورف	میانگین باقیمانده سیموکسانیل
۱ ساعت بعد	<LOQ	۰/۰۱۲
۳ ساعت بعد	<LOQ	۰/۰۱۰
۵ ساعت بعد	<LOQ	۰/۰۱۳
۷ ساعت بعد	<LOQ	۰/۰۱۱
۱۲ ساعت بعد	<LOQ	۰/۰۱۲
۱ روز بعد	<LOQ	۰/۰۱۱
۲ روز بعد	<LOQ	۰/۰۱۰
۳ روز بعد	<LOQ	<LOQ
۴ روز بعد	<LOQ	<LOQ
۵ روز بعد	<LOQ	<LOQ
۷ روز بعد	<LOQ	<LOQ
۹ روز بعد	<LOQ	<LOQ
۱۱ روز بعد	<LOQ	۰/۰۱۳
شاهد	یافت نشد	یافت نشد

واحد مقدار باقیمانده، میلی گرم بر کیلوگرم است.

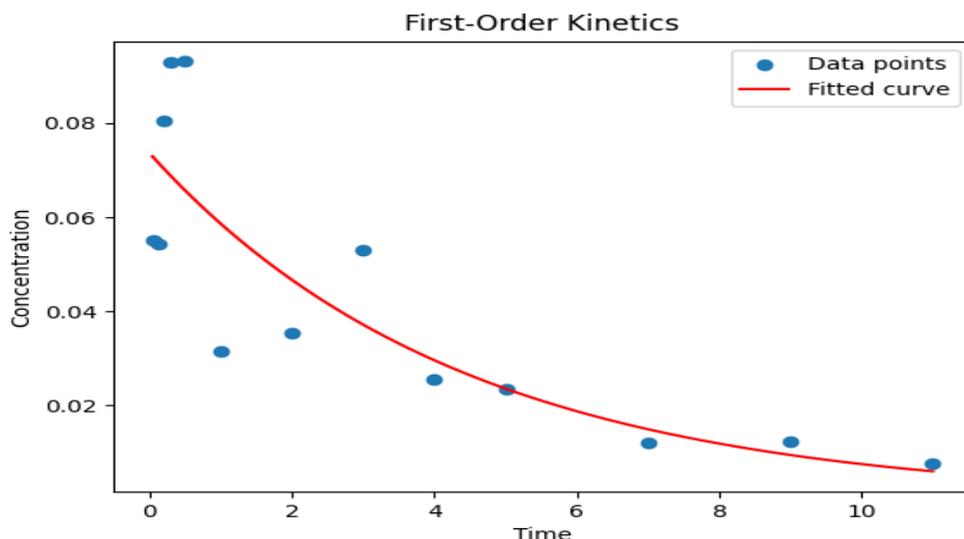
نتیجه گیری

مبنای تصمیم گیری برای ارزیابی مقدار باقیمانده قارچکش های مورد مطالعه در نمونه های گوجه فرنگی و خیار، مقایسه آنها با شاخص MRL می باشد. بیشینه مانده آفت کش های کشور ایران (ملی)، اتحادیه اروپا و کدکس آفتکش های مورد مطالعه در جدول (۸) آمده است.

جدول ۸. بیشینه مانده آفت کش های دیفنوکونازول، فلوکسپایروکساد، دیمتومورف و سیموکسانیل در کشور ایران، اتحادیه اروپا و کدکس (میلی گرم در کیلوگرم).

محصول	آفتکش	ملی	کدکس	اتحادیه اروپا
گوجه فرنگی	دیفنوکونازول	۰/۶	۰/۶	۲
	فلوکسپایروکساد	۰/۶	۰/۶	۰/۶
خیار	دیمتومورف	۰/۵	۱/۵	۰/۵
	سیموکسانیل	۰/۳	-	۰/۰۸

با توجه به مقادیر باقیمانده و نیز MRL ملی، مقادیر مشاهده شده از باقیمانده آفتکش‌های مورد مطالعه قابل اغماض بوده لذا دوره پیش برداشت ۳ روزه برای قارچکش داگونیس در گوجه‌فرنگی و پیلاکسانیل در خیار مورد تایید است. روند کاهش داگونیس در گوجه‌فرنگی نشان داد که همانند غالب آفت‌کش‌ها از سینتیک مرتبه اول پیروی می‌کند (شکل ۱۱).

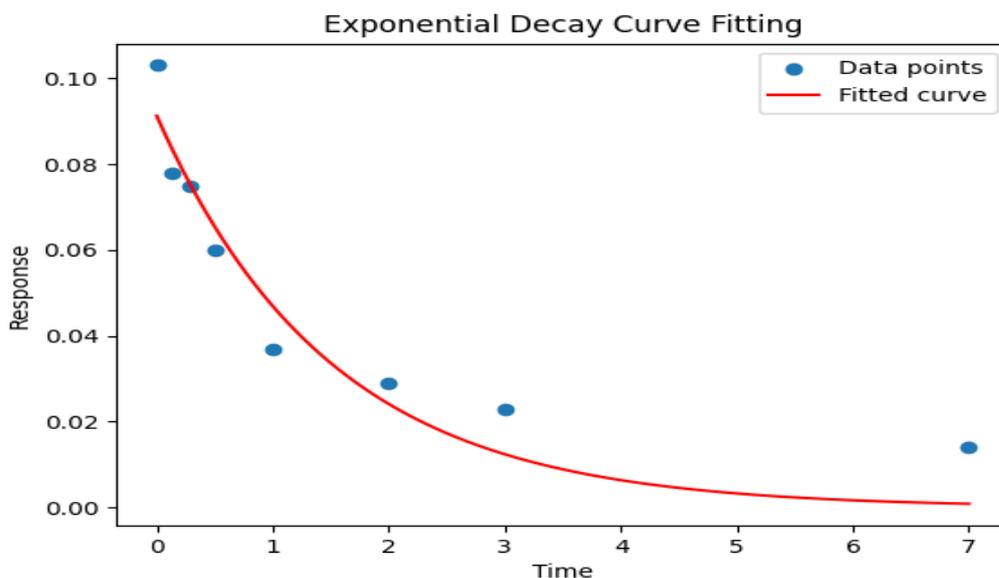


شکل ۱۱. سینتیک کاهش داگونیس در گوجه‌فرنگی در مدت زمان ۱۱ روز پس از سمپاشی.

نتایج نشان داد که سینتیک مرتبه اول کاهش داگونیس در گوجه‌فرنگی در مدت زمان ۱۱ روز پس از سمپاشی از معادله (۱) تبعیت می‌کند.

$$C=0.073e^{-0.23t} \quad \text{معادله (۱)}$$

همانطور که در نمودار فوق دیده می‌شود با فرض MRL حداقلی ۰/۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم دوره پیش برداشت از سه روز کمتر بوده و می‌توان دوره پیش برداشت ۳ روزه را با اطمینان پیشنهاد داد. بررسی تغییرات باقیمانده پیلاکسانیل در خیار نشان داد که روند کاهش باقیمانده این آفت‌کش از سینتیک مرتبه اول (شکل ۱۲) پیروی می‌کند.



شکل ۱۲. سینتیک کاهش پیلارکسانیل در خیار در مدت زمان ۱۱ روز پس از سمپاشی.

بنابراین سینتیک مرتبه اول کاهش پیلارکسانیل در خیار در مدت زمان ۱۱ روز پس از سمپاشی از معادله (۲) تبعیت می کند.

$$C=0.011e^{-0.11t}$$

معادله (۲)

دوره پیش برداشت به عنوان فاصله زمانی میان آخرین کاربرد آفتکش تا زمان برداشت محصول تعریف می شود. این شاخص برای اطمینان از پایین بودن باقیمانده آفتکش زیر حد مجاز (MRL) بسیار مهم است. ارزیابی دوره پیش برداشت مناسب بر اساس نتایج تجربی و بررسی باقیمانده آفتکش ها در شرایط واقعی، برای رعایت استانداردهای بین المللی و الزامات بازارهای صادراتی الزامی است. با توجه به اهمیت باقیمانده آفتکش ها برای سلامت مصرف کنندگان و تجارت بین المللی، اطمینان از درست بودن دوره پیش برداشت بر پایه مطالعات باقیمانده یکی از ضرورت های تحقیقاتی به شمار می آید. اجرای آزمایشات باقیمانده آفتکش ها بر روی گوجه فرنگی و خیار تیمار شده با قارچکش های مورد مطالعه می تواند اطلاعات کاربردی مهمی را برای تدوین دستورالعمل های ایمن مصرف آفتکش ها فراهم کند. اطمینان از مقادیر باقیمانده کمتر از حد مجاز و انطباق با استانداردهای حدود مجاز کشورهای مختلف منجر به تسهیل تجارت بین المللی و امکان صادرات محصولات می شود. همچنین استفاده آگاهانه از قارچکش ها و رعایت دوره پیش برداشت می تواند اثرات منفی آن ها بر محیط زیست را به حداقل برساند. تولید محصول سالم و با کیفیت، اعتماد مصرف کنندگان به محصولات کشاورزی را افزایش می دهد. ثبت ترکیبات جدید در کنترل آفات و بیماری های گوجه فرنگی به جهت جایگاه آن ها در سبد غذایی خانوار ایرانی و امکان صادرات آن به کشورهای همسایه اهمیت زیادی دارد. با توجه به اهمیت این موضوع مطالعات زیادی در مورد نحوه کاهش، سینتیک کاهش و مرتبه آن، تاثیر دوز و فرمولاسیون بر دوره پیش برداشت، نیمه عمر و باقیمانده آفتکش های مورد مطالعه در محصولات مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است از جمله این که در مطالعه ای که اخیراً انجام شده مشخص شده است که نحوه کاهش دیفنوکونازول در گوجه فرنگی مانند مطالعه حاضر از سینتیک مرتبه اول تبعیت می کند و دوره پیش برداشت ۷ روز برای این قارچکش بدست آمد (Maldonado-Reina et al., 2024). همچنین در بررسی دوره پیش برداشت و سینتیک فلوکوساپیروکساید در انگور تبعیت این قارچکش مانند مطالعه حاضر از واکنش کاهش مرتبه اول تایید شد (Cui et al., 2025). نتایج بررسی تجزیه

سیموکسانیل و دیمتومورف در خیار نیز تبعیت کاهش باقیمانده در خیار را از مرتبه اول تایید کرد، ضمن اینکه دوره پیش برداشت ۵ تا ۷ روز برای آن مشابه با مطالعه حاضر پیشنهاد شد (Fan et al., 2022; Yang et al., 2025).

نتیجه‌گیری

سینتیک شیمیایی، به عنوان یکی از شاخه‌های مهم شیمی، به مطالعه سرعت و مکانیسم واکنش‌های شیمیایی می‌پردازد. سینتیک شیمیایی به بررسی فرآیندهای شیمیایی و سرعت واکنش‌ها می‌پردازد و مفاهیم کلیدی آن به درک عمیق‌تری از چگونگی وقوع این فرآیندها کمک می‌کند. مدل‌های مختلفی وجود دارد که توضیح دهنده رفتار و الگوهای واکنش‌ها هستند. مدل‌های سینتیکی بر مبنای قوانین فیزیکی و ریاضی ساخته شده‌اند و به موجب آن‌ها می‌توان سرعت واکنش‌ها را به طور دقیق محاسبه کرد. هدف از مدل‌سازی ریاضی بیان ساده فرآیند تجزیه آفتکش در فرایندهای پیچیده بیولوژیکی در گیاه می‌باشد. بدین منظور نتایج بدست آمده را می‌توان با پنج مدل سینتیکی درجه صفر، درجه یک، دو و سه با استفاده از نرم‌افزارهای مختلفی مانند MATLAB و پایتون برازش کرد که در این مطالعه از نرم افزار پایتون ۳/۱۲ استفاده شده است. بیشتر واکنش‌های کاهش آفتکش‌ها از سینتیک مرتبه اول پیروی می‌کنند. این مدل از سینتیک از معادله زیر تبعیت می‌کند.

$$\text{Ln } C_t = \text{Ln } C_0 + Kt \quad \text{معادله (۳) مدل درجه یک}$$

در این مدل تغییرات مقدار باقیمانده آفتکش در زمان، با توان اول مقدار اولیه آفتکش ارتباط مستقیم دارد. در این رابطه C_t مقدار باقیمانده و غلظت آفتکش در زمان t ، C_0 مقدار اولیه آفتکش و K ثابت کاهش درجه اول می‌باشد. با تعیین معادله سینتیک واکنش در این مبحث به مفاهیمی مانند دوره پیش برداشت، بیشینه مانده مجاز (MRL) و نیمه عمر آفتکش می‌توان دست یافت که در معادلات زیر نشان داده شده‌اند.

$$\text{MRL} = \text{Ln } C_0 - (K \times \text{PHI}) \quad \text{معادله (۴): تعیین MRL بر اساس معادله سینتیک مرتبه اول}$$

$$\text{PHI} = \frac{\text{Ln } C_0 - \text{MRL}}{K} \quad \text{معادله (۵): تعیین دوره پیش برداشت بر اساس معادله سینتیک مرتبه اول}$$

$$T_{1/2} = \frac{\text{Ln } C_0}{2K} \quad \text{معادله (۶): تعیین نیمه عمر بر اساس معادله سینتیک مرتبه اول}$$

در این مطالعه بر اساس MRL ملی کشور دوره پیش برداشت قارچکش‌های دیفنوکونازول و فلوکسپایروکساد در گوجه‌فرنگی و قارچکش‌های دیمتوات و سیموکسانیل در خیار تعیین شد.

به منظور رعایت و اطمینان از دوره پیش برداشت تعیین شده توصیه‌های ترویجی زیر ارائه می‌شود.

- توجه به زمان مناسب کاربرد قارچکش‌ها
- استفاده از قارچکش‌ها در دوز و غلظت مناسب با رعایت فواصل سم‌پاشی توصیه شده
- استفاده از روش‌های مناسب سم‌پاشی
- توجه به هشدارهای مندرج در برچسب بسته‌بندی‌ها
- عدم استفاده مکرر به منظور جلوگیری از ظهور پدیده مقاومت

سپاسگزاری

نگارندگان از موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور به جهت فراهم نمودن امکانات و تجهیزات مورد نیاز اجرای این پروژه تحقیقاتی سپاسگزاری می‌نمایند.

REFERENCES

- Abdel-ghany M.F., Hussein, L.A., El, N.F., El-khatib, A.H., Linscheid, M.W., 2016. Simultaneous determination of eight neonicotinoid insecticide residues and two primary metabolites in cucumbers and soil by liquid chromatography – tandem mass spectrometry coupled with QuEChERS. *Journal of Chromatography B.*, 1031, 15–28. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.06.020>
- Ahmed, M. A., Hashem, D. A., Ahmed, S. A., & Khalid, N. S. (2019). Monitoring of pesticide residues in cucumber samples marketed in Egypt. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 10(4), 225-228.
- Amrollahi A., R.P. and S.I., 2019. Pesticide Multiresidue Analysis in Tomato and Cucumber Samples Collected from Fruit and Vegetable Markets in Tehran, Iran. *Middle East Journal of Rehabilitation and Health Studies*. <https://doi.org/10.5812/mejrh.64271>
- An, X., Ji, X., Jiang, J., Wang, Y., Wu, C., & Zhao, X. (2015). Potential dermal exposure and risk assessment for applicators of chlorothalonil and chlorpyrifos in cucumber greenhouses in China. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. 21(4), 972-985.
- Cui, K., Fang, L., Ding, R., Ni, R., Liang, J., Li, T., ... & Zheng, Y. (2025). Dissipation and metabolism of fluxapyroxad, oxathiapiprolin and penthiopyrad in grapes: A comprehensive risk assessment from field to raisins. *Food Chemistry*, 144510.
- Fan, J., & Li, L. (2022). Residues, dissipation, and dietary risk assessment of oxadixyl and cymoxanil in cucumber. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 917334.
- Farouk M., Hussein, L.A.E.A., El Azab, N.F., 2016. Simultaneous determination of three neonicotinoid insecticide residues and their metabolite in cucumbers and soil by QuEChERS clean up and liquid chromatography with diode-array detection. *Analytical Methods*. 8, 4563–4575.
- Fenoll, J., Hellín, P., Martínez, C.M., Miguel, M., Flores, P., 2007. Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *Food Chemistry*. 105, 711–719. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.060>
- Hyeyoung Kwon, Michelangelo Anastassiades, Daniela Dörk, Su-Myoung Hong, B.-C.M., 2018. Compensation for matrix effects in GC analysis of pesticides by using cucumber extract. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00216-018-1197-1>.
- Gambacorta, G., Faccia, M., Lamacchia, C., Di Luccia, A., La Notte, E., 2005. Pesticide residues in tomato grown in open field. *Food Control*. 16, 629–632. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.07.002>
- Jamshidi B., Ezeddin Mohajerani, J.J., 2016. Developing a Vis/NIR spectroscopic system for fast and non-destructive pesticide residue monitoring in agricultural product. *Measurement*. 89, 1–6.
- Khoshnam, F., Ziaee, M., Daei, M., Mahdavi, V., & Mousavi Khaneghah, A. (2022). Investigation and probabilistic health risk assessment of pesticide residues in cucumber, tomato, and okra fruits from Khuzestan, Iran. *Environmental Science and Pollution Research*. 29(17), 25953-25964.
- Mahdavi V., Eslami, Z., Gordan, H., Ramezani, S., Peivasteh-roudsari, L., Ma'mani, L., Mousavi Khaneghah, A., 2022. Pesticide residues in green-house cucumber, cantaloupe, and melon samples from Iran: A risk assessment by Monte Carlo Simulation. *Environmental Research*. 206. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112563>.

- Maldonado-Reina, A. J., López-Ruiz, R., Sáez, J. M., Romero-González, R., & Frenich, A. G. (2024). Tracing the dissipation of difenoconazole, its metabolites and co-formulants in tomato: A comprehensive analysis by chromatography coupled to high resolution mass spectrometry in laboratory and greenhouse trials. *Environmental Pollution*, 349, 123924.
- Melo, A., Cunha, S.C., Mansilha, C., Aguiar, A., Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., 2012. Monitoring pesticide residues in greenhouse tomato by combining acetonitrile-based extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas-chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*. 135, 1071–1077. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.112>
- Pedroso, T. M. A., Benvindo-Souza, M., de Araújo Nascimento, F., Woch, J., Dos Reis, F. G., & de Melo e Silva, D. (2022). Cancer and occupational exposure to pesticides: a bibliometric study of the past 10 years. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(12), 17464-17475.
- Ramezani MK., 2014. Dissipation behaviour, processing factors and risk assessment for metalaxyl in greenhouse-grown cucumber. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.3859>.
- Shrestha, S., Lamichhane, B., & Chaudhary, N. 2024. Method Validation and Measurement Uncertainty Estimation for Determination of Multiclass Pesticide Residues in Tomato by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). *International Journal of Analytical Chemistry*. 2024(1), 3846392.
- Walorczyk, S., Kopeć, I., Szpyrka, E., 2016. Pesticide residue determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry as applied to food safety assessment on the example of some fruiting vegetables. *Food Analytical Methods*. 9, 1155–1172.
- Wang Q., Peng Wei , Mengchao Cao , Yanan Liu , Mengcen Wang, Y.G.& G.Z., 2016. Residual behavior and risk assessment of the mixed formulation of benzene kresoxim-methyl and fluazinam in cucumber field application. *Environmental Monitoring and Assessment* 188–341.
- Xu, X., Yan, K., Xiao, J., Guo, J., Lu, X., Wang, L., & Zhang, Y. 2024. Fluorescence spectroscopy detection of carbendazim residue in cucumber juice based on BC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 130, 106157.
- Yang, K., Wang, J., Gao, S., Wei, J., & Chen, T. (2025). The determination methods of pesticide multi-residues and the degradation dynamics in bitter melon and cucumber. *Journal of Food Science and Technology*, 1-8.