

# بررسی بقایای سموم الی کلره در ۴۰ نمونه از شیر مادران تهران ۱۳۷۳ (روش گاز کروماتوگرافی)

دکتر مهشید افشار - دانشیار گروه پزشکی قانونی و طب کار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران  
دکتر افیال طاهری - مدیر اداره نظارت بر مواد خوراکی - آرایشی - بهداشتی - وزارت بهداشت - درمان و آموزش پزشکی  
دکتر دارا السی - کارشناس دارویی آزمایشگاهی کنترل دارو - غذا و تشخیص طبی وزارت بهداشت - درمان و آموزش پزشکی

## Investigation of Organochlorine Pesticide Residues in Samples of 40 Nursing Mothers Residing in Tehran

### ABSTRACT

Organochlorine pesticides are a group of persistent compounds which have been used for a long time.

Due to their stability, some of them such as DDT, BHC and their derivatives are still used in the areas with malaria epidemic condition, hence the chance of food contamination always exists.

The present survey demonstrated that human milk is one of the best indicator substances in monitoring the environment and human body contamination by organochlorine compounds. We studied the level of residues in the milk of nursing mothers who could be exposed to these compounds through food chain in their contaminated environment.

In this investigation, we collected 40 samples from the nursing mothers of two hospitals located in the north and south of Tehran.

Detection was carried out by Gas chromatography (GC) with 3% OV17 column and Ni63 ECD (Electron Capture Detector). Reference substances were obtained from WHO.

Results are discussed in the text.

### خلاصه

سموم ارگانوکلره از مهمترین سموم آلی بوده و دسته بزرگی از حشره کشهای دفع آفات را تشکیل می دهند. این دسته از سموم از دیرباز بطور وسیعی بر علیه بیماری مالاریا و نیز آفات و حشرات مختلف مورد استفاده قرار می گرفته و هم اکنون نیز بدلیل تأثیر بالا هنوز مصرف آن در موارد مختلف متداول می باشد. این گروه از سموم از طرق مختلفی در طبیعت گسترده شده و به راحتی می توانند از راههای گوناگون وارد چرخه زندگی انسان شوند.

نظر به خواص تجمعی این دسته از سموم در بافتها و مایعات بیولوژیکی حاوی چربی، بقایای بعضی از آنها را می توان بعد از سالها ردیابی نمود. وجود بقایای این سموم در شیر مادر می تواند شاخص کیفی و کمی بارزی از حضور این حشره کشها در بدن انسان باشد.

با توجه به اثرات سوء، متعدد و دراز مدت این دسته از سموم در

بدن انسان اقدام به تعیین مقدار تعدادی از مهمترین آنها در شیر مادران تهران نمودیم. در این تحقیق بقایای ۵ ترکیب مهم ارگانوکلره در ۴۰ نمونه از شیر مادران توسط دستگاه کروماتوگرافی مجهز به سیستم برنامه ریزی، شناسایی و تعیین مقدار گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که میانگین بقایای ۵ سم انتخاب شده یعنی لیندن، آروکلر، pp DDT، op DDT و pp DDE در شیر مادران بترتیب ۲۳/۰۲-۱۱۰/۶۶-۲/۴-۴/۳ و ۱۴/۹۶ ppb می باشد، در حالیکه میانگین مقادیر استاندارد این سموم در شیر مادران به همان ترتیب ذکر شده برابر ۵/۰-۱۰/۰-۱/۰-۱/۰-۱/۰ ppb می باشد. نتایج آماری تحقیق در متن مقاله آورده شده اند.

### مقدمه

تأثیر شگرف تغذیه با شیر مادر در سلامتی و بهداشت، رشد و نمو، کاهش مرگ و میر و جلوگیری از معلولیت شیرخواران

## بخش تجربی

برای این بررسی و به منظور شناسایی و تعیین مقدار بقایای سموم ارگانوکلره در شیر مادران بستری در زایشگاههای بیمارستان هدایت و بیمارستان مادر نمونه‌گیری از ۴۰ مادر بعمل آمد. لازم به تذکر است این تعداد با توجه به مطابقت با معیارهای آماری (بیش از ۲۵ نمونه) بعنوان یک بررسی Randomal تا حد بالایی می‌تواند نشانگر توزیع موارد موجود در جامعه مورد مطالعه باشد (۲). در طی این نمونه‌گیری‌ها اطلاعات لازم در خصوص نام و نام خانوادگی، سن، شغل، وزن، تعداد زایمان، محل زندگی، میزان تحصیلات، نوع تغذیه و داروهای مصرفی می‌گردد یادداشت گردید.

بدلیل پایداری فوق‌العاده بالای این دسته از سموم، نه تنها تحقیق بر روی بقایای آنها در محیط زیست و بدن انسان ضروری است بلکه کنترل مداوم و ادواری آنها نیز مورد توجه کلیه مراکز تحقیقاتی دنیا و بخصوص WHO می‌باشد، بطوری که این سازمان بطور مستمر کنترل اینگونه موارد را در اکثر کشورها به مرحله اجرا در می‌آورد. این بررسی نیز با توجه به همین امر به اجرا در آمده است.

با توجه به موارد فوق، چون شیر مادر یکی از مهمترین معرفها برای نشان دادن آلودگیهای محیطی ناشی از این دسته از سموم است اقدام به شناسایی تعدادی از مهمترین سموم آلی کلره در شیر مادران استان تهران گردید.

لازم بتذکر است که بدلیل تعدد سموم آلی کلره، در این بررسی پنج ترکیب مهم زیر مورد ارزیابی قرار گرفت.

الف - pp DDT و op DDT: بعنوان دو ایزومر DDT

ب - pp DDT: بعنوان یکی از متابولیت‌های فعال و مهم DDT

ج - لیندن: بعنوان نماینده گروه HCBS (هگزاکلروبنزن‌ها)

د - آروکلر: بعنوان نماینده دسته PCBs (پلی‌کلروای‌فنیل‌ها)

## روش کار

در این تحقیق پس از انجام نمونه‌گیریها اقدامات زیر انجام گرفت:

۱- انتخاب روش خاصی جهت آماده‌سازی و استخراج سموم مورد نظر در شیر مادران: برای رسیدن به این هدف روشهای مختلف بررسی شد و متد بهینه شده زیر مورد استفاده قرار گرفت (۳، ۴، ۵).

الف - در مرحله اول، بدلیل خاصیت تجمع‌پذیری کلر در فاز

انکارناپذیر است. شیر مادر اولین واکسن کودک بوده و او را بر علیه عوامل میکروبی، ویروسی و فارچی بدلیل مقادیر زیادی آنتی‌بادی و سلولهای زنده محافظت می‌کند.

حشره‌کش‌ها ترکیباتی هستند که به منظور از بین بردن آفات نباتی و جانوری در کشاورزی، دامپروری، صنعت و نیز منازل مورد استفاده قرار می‌گیرند.

یکی از مهمترین حشره‌کش‌ها سموم دسته ارگانوکلره هستند که ترکیبات آریل-کربوکسیلیک (Aryl Carboxylic) و هتروکربوکسیلیک (Hetero Carboxylic) با وزن ملکولی بین ۲۹۱ تا ۵۴۵ و دارای ساختمان حلقوی و پایداری بالایی می‌باشند، و به پنج دسته تقسیم می‌شوند:

۱- DDT و آنالوگ‌های آن.

۲- BHCs (بهنزن هگزاکلروسیکلوهگزانها)

(Benzenhexachlorocyclohexanes)

۳- سیکلودی‌ان‌ها (Cyclodienes) و ترکیبات وابسته

۴- توکسافن‌ها (Toxaphenes) و ترکیبات وابسته

۵- PCBs - بای‌فنیل‌های پلی‌کلرینه (Polychlorinated

biphenyls)

این سموم می‌توانند از طریق پوست، دستگاه تنفسی و گوارشی جذب شوند.

سموم ارگانوکلره در هوا (به فرم بخار) بندرت به حد غیرمجاز می‌رسند، و در حالت آئروسول در اندازه‌های مناسب، از راه اپیتلیوم دستگاه تنفسی می‌توانند به خوبی جذب شوند. در ادامه دریافت دوزهای واحد یا مستمر، بیشتر این ترکیبات نهایتاً به تراکم بالایی در بافتهای چربی و یا با غلظتهای پایتتر در بافتهای کم چربی‌تر می‌رسند. دلیل این امر در برخی مواقع درجه بالای حلالیت در چربی (لیپوفیلیته) (Lipophilicity) آنهاست که به عنوان فاکتور مهم و تعیین کننده‌ای می‌تواند مطرح شود. البته در این میان چگونگی متابولیسم و دفع متعاقب آن بخصوص از شیر مادر نیز از اهمیت خاصی برخوردار است (۱).

عمده‌ترین تأثیر این دسته از سموم روی CNS با تغییر خواص الکتروفیزیولوژیکی آنزیمهای غشاء سلولهای عصبی و آکسونها می‌باشد. از علائم دیگر سموم آلی کلره اثرات سمی آن بر روی کبد می‌باشد، بطوری که ارتباط DDT و سرطان‌زائی کبد در حیوانات از راه گوارشی و نیز رابطه دوزسپانس آن به اثبات رسیده است. از دیگر اثرات این ترکیبات می‌توان به فیبریلاسیون بطنی اشاره کرد (۱).

۷- حلال نهایی، هگزان نورمال کارخانه Merck

۸- استاندارد درونسی: هپتاکلرواپوکساید (Heprachloroepaxide)

۹- CHSP (سرعت حرکت کاغذ کروماتوگرام) ۱ cm/min

۱۰- حدود دقت دستگاه ۱۰-۱۲

۱۱-  $AT = (۴)$

بعد از کالیبراسیون و بدست آمدن خط پایه مناسب، یک میکرولیتر از مخلوط استاندارد های خارجی هر یک از ۵ ماده مورد بررسی را همراه استاندارد داخلی یاد شده (به نسبت های حجمی یکسان و با غلظت های معلوم) مخلوط و به دستگاه GC تزریق گردید. بعد از این مرحله، هر یک از نمونه ها را به ترتیب با حلال نورمال هگزان رقیق نموده و از اینترنال استاندارد (یعنی هپتاکلرواپوکساید) به همان نسبت حجمی و غلظت معلوم به آنها افزوده شده و سپس ۱ میکرولیتر از هر کدام از نمونه ها به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد.

به عنوان نمونه ای از پیک های بدست آمده و متعاقباً تفسیر کامپیوتری دستگاه، کروماتوگرام مربوط به یکی از نمونه ها آورده شده است که نشانگر حضور لیندن: به میزان (6 ppb)، آروکلر: به میزان (94 ppb) و DD pp به میزان (11 ppb) می باشد.

### نتایج و بررسی داده ها

جامعه مورد نظر در این تحقیق مادران شیرده شهر تهران بوده است که به بررسی بقایای سموم ارگانوکلره در شیر آنها پرداخته شده است.

تعداد کل مادرانی که از آنها نمونه گیری شیر بعمل آمده ۴۰ نفر، با محدوده سنی بین ۱۶ تا ۴۱ سال بوده و ضمناً داروی خاص یا بیماری مشخصی در هیچیک از موارد مشاهده نشد.

ضمناً خلاصه ای از نتایج آماری و هیستوگرام های توزیع فراوانی هر کدام از سموم مورد بررسی در جداول موجود مشاهده می شود (۲).

چربی، قبلاً باید چربی نمونه ها کاملاً استخراج گردد که به این منظور از روش جداسازی به طریق ابتدا افزودن اگزالات پتاسیم و سپس بکارگیری حلال دی اتیل اتر استفاده شد.

ب- در مرحله دوم، به منظور جداسازی سموم موجود از چربی به روش Partitioning، از حلال استونیتریل و اتر دوپترول ۱/۱ استفاده گردید، که به این ترتیب سموم احتمالی مورد نظر به طور خام از فاز چربی جدا شدند.

ج- در مرحله سوم، جهت خالص سازی سموم، از عمل Clean up استفاده شد. بدین منظور ستون کروماتوگرافی فلوروزیل فعال بکار رفت.

۲- انتخاب روش دقیق و حساس جهت شناسایی و تعیین مقدار سموم:

نظر به اینکه امروزه تکنیک پیشرفته کروماتوگرافی در تحقیقات سم شناسی جهت تشخیص و تعیین مقدار سموم آلی از اهمیت ویژه ای برخوردار است در این تحقیق از این روش استفاده گردید. همچنین استانداردهای مرجع نیز مطابق نمونه های رفرنس سازمان بهداشت جهانی (WHO) در دسترس قرار گرفت.

بدین منظور پس از جمع آوری محلول های استخراجی و تبخیر آنها تا حد چند میلی لیتر، توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی تشخیص و اندازه گیری سموم مورد نظر به شرح زیر انجام گرفت.

اختصاصات و شرایط کلی دستگاه GC مورد استفاده در این بررسی به این ترتیب می باشد.

۱- مارک و مدل دستگاه VARIAN 6000

۲- ستون OV17% 3 (Chromosord mesh : 80-100)

۳- نوع دتکتور (detector): (با منبع Ni63) ECD

۴- دماهای بکار رفته:

Injector = 210 °C

Detector = 230 °C

Column = 200 °C

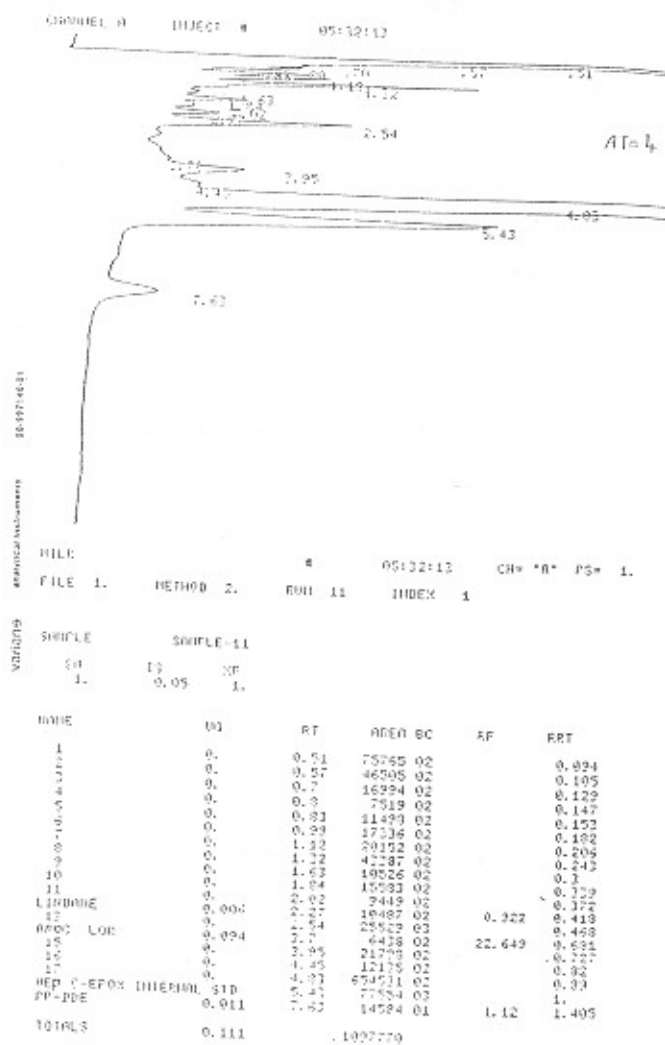
۵- حامل (Carrier) گاز N2

۶- سرعت جریان گاز ۶۰ ml/min

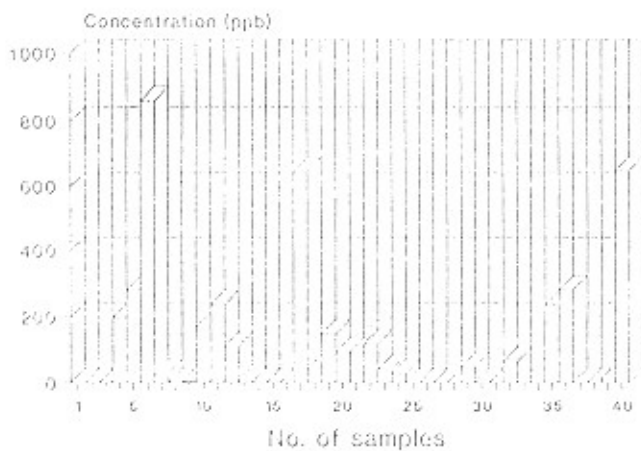
جدول شماره ۱- تعداد افراد واجد و فاقد هر یک از سموم مورد بررسی، میانگین مقادیر و حد استاندارد هر کدام

متغیرها	درصد افراد واجد ماده	درصد افراد فاقد ماده	میانگین مقادیر نمونه ها (برحسب ppb)	مقدار مجاز جامعه (برحسب ppb)	ماده
	٪۹۰/۰	٪۱۰/۰	۲۳/۰۲	۰/۵	لیندن
	٪۶۲/۵	٪۳۷/۵	۱۱۰/۶۶	۱۰/۰	آروکلر
	٪۴۲/۵	٪۵۷/۵	۱۴/۶۹	۱/۰	pp DDE
	٪۱۰/۰	٪۹۰/۰	۴/۳۰	۱/۰	op DDT
	٪۷/۵	٪۹۲/۵	۲/۴۴	۱/۰	pp DDT

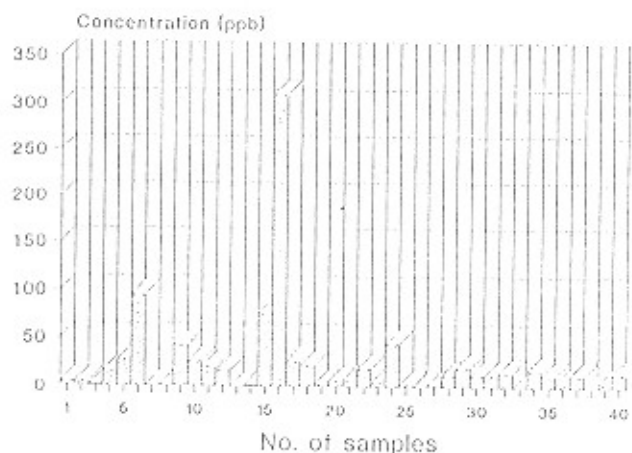
شکل ۱- کروماتوگرام مربوط به فرد شماره ۱۱



نمودار شماره ۲- غلظت آروکلر در شیر ۴۰ فرد مورد بررسی در تهران ۴-۱۳۷۳



نمودار شماره ۱- غلظت لیندن در شیر ۴۰ فرد مورد بررسی در تهران ۴-۱۳۷۳



## بحث و نتیجه گیری

امروزه با توجه به پیشرفت‌های کشاورزی و صنعتی مصارف آفت‌کشها و به خصوص حشره‌کشهای ارگانوکلره و متعاقباً مسمومیت‌های ناشی از کاربرد آنها افزایش یافته است. تحقیقات انجام گرفته در سالهای اخیر بر روی بقایای حشره‌کشهای آلی کلره در شیر مادران کشورهای مختلف نشان می‌دهد که مقادیر بالای HCBs (هگزاکلوبنزن‌ها) و DDT و نیز PCBs (پلی‌کلروای فنیل‌ها) می‌تواند بعلت زندگی در مناطق آلوده تشدید شود (۶،۷).

به همین منظور سازمان جهانی بهداشت برای جلوگیری و کاهش آثار احتمالی این مسمومیت‌ها توجه خاصی به ماهیت و حضور این مواد در مایعات بیولوژیک و از جمله شیر معطوف داشته است.

با توجه به خواص تجمع‌پذیری و پایداری بالای این سموم و دفع آنها از طریق شیر و با عنایت به دستورالعمل‌های WHO اقدام به این تحقیق گردید.

ضمناً لازم به تذکر است که نتایج بررسیهای انجام گرفته به بخش سم‌شناسی WHO ارسال گردید.

### پیشنهادها

با توجه به نکات زیر یعنی:

- ۱- آثار سوء متعدد سموم آلی کلره روی بدن انسان
- ۲- پایداری بالای سموم آلی کلره و متابولیت‌های آنها در طبیعت و بدن انسان
- ۳- مصرف سموم ارگانوکلره (از جمله لیندن، اندوسولفان، دی‌کوفول و توکسافن) در برخی از مناطق ایران (۸)
- ۴- وجود شیر مادر به عنوان بهترین معرف حضور بقایای این سموم در بدن انسان

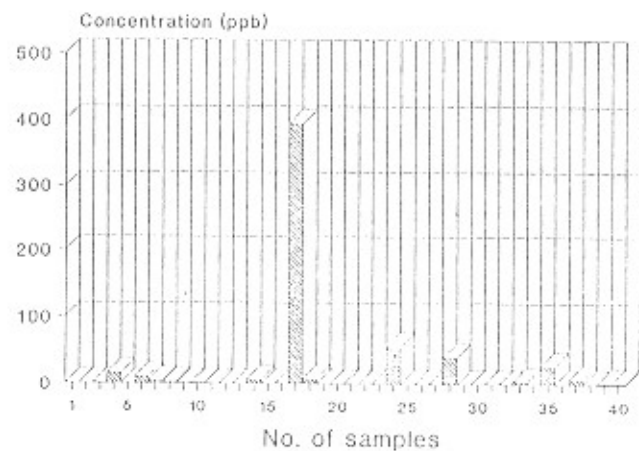
- ۵- اثبات اهمیت شیر مادر در تغذیه نوزادان طی سالهای اخیر
- ۶- استعداد خاص زنان و بالاخص کودکان برای بسیاری از مسمومیت‌ها و بیماریهای مزمن

توصیه‌های قابل پیشنهاد عبارتند از:

- الف - جلوگیری از مصرف بی‌رویه سموم آلی کلره در سطح کشور
- ب - جایگزینی سایر سموم دفع آفات (تا حد امکان) با پایداری و خطرات کمتر به جای این دسته از سموم
- ج - کنترل ادواری میزان بقایای این سموم در محیط زیست و مواد غذایی
- د - پیگیری و Monitoring درازمدت بقایای این دسته از سموم در نوزادانی که از شیر آلوده چنین مادرانی تغذیه کرده‌اند (به منظور شناسایی علل برخی از بیماریهای ناشناخته مختلف CNS، کبد، قلب و غیره در بعضی از کودکان).

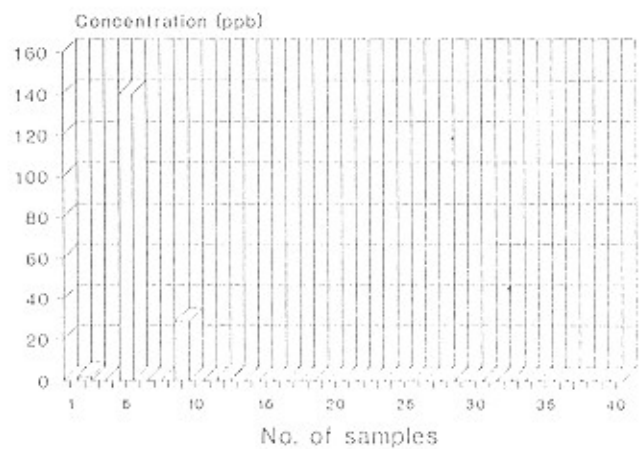
نمودار شماره ۳- غلظت pp DDE در شیر ۴۰ فرد

مورد بررسی در تهران ۴-۱۳۷۳



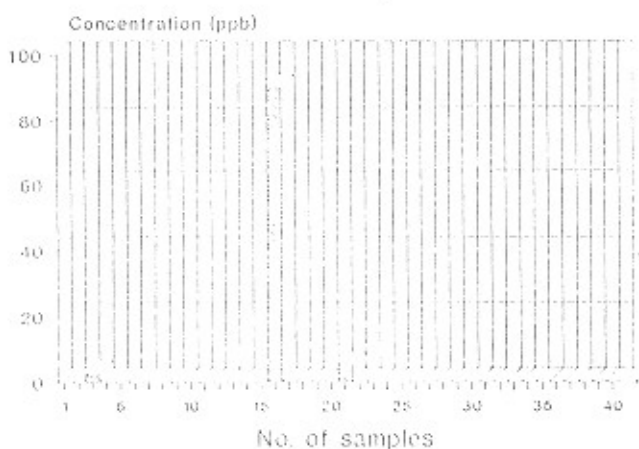
نمودار شماره ۴- غلظت op DDT در شیر ۴۰ فرد

مورد بررسی در تهران ۴-۱۳۷۳



نمودار شماره ۵- غلظت pp DDT در شیر ۴۰ فرد

مورد بررسی در تهران ۴-۱۳۷۳



## منابع

- 1- Wayland J. Hayes, Jr. MD, ph.D. "Pesticides Studied in Man" 1982. Pages: 172-178, Aut: Waverly.
  - ۲- دکتر السنی، مرتضی - عنوان "اصول روشهای آماری". انتشارات دانشگاه تبریز (آذربایجان سابق)، سال ۱۳۵۶، صفحات ۲۲ الی ۸۸
  - 3- Joint FAO/UNEP/WHO. "Food Contamination monitoring program (WHO, 1991) Page: 117.
  - 4- Joint FAO/UNEP/WHO. "Analytical Quality Assurance" (1989-1990) Geneva. Pages: 20-50.
  - 5- Codex Alimentarius (Vol 14, 1989) Page: 280.
  - 6- Abbet - DC, Goulding - R - Holmec - DC, Hoodles R.A "Journal of Japanese Association of Rural Medicine." Title : Chlorinated insecticides in the body fat. July 1984, Aut: Takamatsu. M
  - 7- Violate. FS, Gennari, P, Raffi - GB, Coltelli . E "Arch Environ Health" Vol 41, ISS 2, 1986, Pages: 117-119 L. Title: Orgnano chlorinated pesticides in the human milk. Aut: Krauthacker, B.
- عنوان نویسندگان: مهندس مجتبی تاشی، مهندس فیروز نیکخواه، مهندس کوروش سپهر، مهندس محمدرضا میرزالی از کمیته تعیین انواع سموم دفع آفات نباتی و روش کاربرد آنها فهرست آفات و بیماریهای گیاهی و علفهای هرز مهم محصولات عمده کشاورزی و سموم توصیه شده علیه آنها صفحه ۱ الی ۲۰، سال ۲-۱۳۷۱. انتشارات کمیته سموم دفع آفات نباتی سازمان حفظ نباتات وزارت کشاورزی