

# بررسی میزان باقی مانده آفت کش های مالاتیون و دیازینون در زیتون تخمیری طی فرآیند تولید و فرآوری

مصطفی کرمی<sup>۱\*</sup>، سمانه پاشایی<sup>۲</sup>، رضوان اسماعیلی<sup>۳</sup>

- ۱- عضو هیأت علمی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان  
 ۲- دانش آموزخته مقطع کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران  
 ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان  
 (تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۶)

## چکیده

استفاده از ترکیبات شیمیایی، روشی بسیار ساده و موثر برای حفاظت از محصولات کشاورزی در برابر آفات است. افزایش مصرف بی‌رویه این آفت‌کش‌ها، باعث نگرانی است، زیرا باقی‌ماندن این آفت‌کش‌ها در میوه‌ها و سبزی‌ها باعث ایجاد عوارض بسیار خطرناکی در انسان می‌شود. زیتون یکی از میوه‌های بسیار مفید و پر مصرف در جامعه ایرانی است که می‌تواند به صورت تخمیری مصرف گردد؛ لذا در این پژوهش توانایی تخمیر در کاهش میزان باقی‌مانده دو سم مالاتیون و دیازینون و همچنین میزان اسیدیته، pH و نمک در طی فرآیند آماده‌سازی و تخمیر بررسی گردید. نتایج آماری نشان داد که عملیات‌های شست‌وشو و تلخی زدایی، سم مالاتیون و دیازینون را به ترتیب به میزان ۷۳/۵۹٪ و ۹۳/۳۸٪ کاهش داد. این در حالی است که میزان کاهش آنها در طی ۲۰ روز تخمیر برابر با ۶۳/۴۸٪ و ۶۹/۵۷٪ بود و پس از فرآیند تخمیر و در انتهای تولید این کاهش تقریباً برابر با ۹۰/۵٪ و ۹۷/۹۸٪ بوده است. میزان باقی‌مانده آفت‌کش مالاتیون در روزهای ۱، ۱۰ و ۲۰ تخمیر تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $P < 0.05$ ) درحالی‌که میانگین این میزان برای دیازینون معنی‌دار نبود. بطورکلی نتایج آماری نشان داد که فرآیند تخمیر اثر معنی‌داری بر میزان مالاتیون دارشته ( $P < 0.05$ ) ولی بر دیازینون تأثیری نداشت. همچنین تخمیر اثر معنی‌داری بر میزان درصد نمک، اسیدیته و pH داشت ( $P < 0.05$ ). در آخر فرآیند تخمیر، هیچ کپکی مشاهده نگردید ولی مخمرها رشد اندکی نشان دادند ( $1.45 \times 10^5$  CFU/g) ولی بسیار پایین‌تر از تعدادی بودند که بتوانند بر کیفیت محصول اثر بگذارند. به‌طورکلی فرآیند تخمیر به‌طور موثری باعث کاهش میزان باقی‌مانده آفت‌کش‌ها می‌شود ولی عملیات یا تیمارهای انجام گرفته در تولید زیتون تخمیری بیش‌تر از خود فرآیند تخمیر در کاهش میزان باقی‌مانده سموم نقش دارند. البته به نظر می‌رسد که توانایی تخمیر در کاهش آنها بستگی به نوع سم، مدت زمان تخمیر و سایر شرایط محیطی نیز دارد.

کلید واژگان: آفت کش، تخمیر، سبزی، غذا، میوه

\*مسئول مکاتبات: mkarami@basu.ac.ir

## ۱- مقدمه

گیاه زیتون متعلق به تیره اوله آسه، جنس اوله آ و گونه اروپه آ هست [۱]. زیتون با اقلیم مدیترانه‌ای و شبه مدیترانه‌ای سازگار است و ارتفاع از سطح دریا تأثیر قطعی روی ترکیب آن دارد. این میوه تنها گونه قابل خوردن پیدا شده از جنس اوله آ است که در مناطق مدیترانه‌ای و شبه مدیترانه‌ای رشد می‌کند [۲]. زیتون در ارتفاع ۴۰۰ تا ۲۰۰۰ متری به خوبی عمل می‌آید [۳]. درختان زیتون مستعد ابتلا به بیماری‌های مختلف ناشی از آفات و قارچ‌ها مانند آفت پسیل می‌باشند که از سموم کنفیدر با غلظت ۵/۰ در هزار، دیازینون ۵/۱ در هزار و مالاتیون ۲ در هزار برای مبارزه با آنها استفاده می‌شود. همچنین علف‌های هرز نیز بر درختان زیتون تأثیر می‌گذارد [۴].

هم اکنون در سطح ۱۰۳ هزار هکتار از زمین‌های کشاورزی، در ۲۶ استان کشور، زیتون کشت می‌شود که در این سطح، سالانه بیش از ۱۰۲ هزار تن میوه ی زیتون تولید و عرضه می‌شود. حدوداً ۶۰ درصد از زیتون تولیدی در کشور به صورت کنسرو درآمده و بقیه ی آن برای استحصال روغن استفاده می‌شود. ارقام مهم و شناخته شده زیتون در ایران عبارتند از: زیتون سیاه، زیتون زرد، زیتون سبز، زیتون گرد، زیتون ماری و زیتون فیشمی؛ که از بین آنها ارقام سیاه و سبز فقط برای روغن‌کشی، ارقام ماری و فیشمی برای کنسروسازی و ارقام زرد و گرد، هم برای تهیه کنسرو و هم برای روغن‌کشی استفاده می‌شوند. بیشتر باغ‌های اقتصادی زیتون ایران از ارقام زرد و روغنی محلی تشکیل شده‌اند و ارقام فیشمی، شنگه و ماری نیز در سطوح بسیار محدودی مشاهده می‌گردد [۱]. رقم زرد، بومی ایران می‌باشد و بیشترین سطح زیر کشت زیتون کشور را تشکیل می‌دهد که رقمی پرمحصول و دومنظوره است، میوه آن به صورت رسیده سبز به منظور کنسروسازی و روغن‌کشی برداشت می‌شود. رقم روغنی محلی نیز بومی ایران بوده و از نظر سطح زیر کشت دومین رقم ایرانی با درصد روغن میوه بسیار بالا است. میوه‌های آن بیضی‌شکل بوده و اولین میوه‌های آن در سال سوم زراعی تشکیل می‌شود [۵]. میوه و روغن زیتون منبع غنی از اسیدهای چرب تک غیراشباعی هستند، به طوری که روغن آن حاوی بیش از ۷۰٪ اسید چرب تک غیراشباعی است. علاوه بر این، زیتون دارای ترکیباتی مانند، پیگمنت‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی

می‌باشند که به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و باعث ایجاد خواص سلامتی‌بخش می‌گردند [۶ و ۷]. روغن زیتون بهترین ترکیب اسیدهای چرب را در بین منابع گیاهی دارا است، زیرا علاوه بر داشتن ترکیب چربی مناسب، به طور طبیعی، سرشار از آنتی‌اکسیدان‌ها و ویتامین E است. همچنین مطابق با یافته‌های محققان، بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان، چاقی و انواع دیابت جمعاً عامل بیش از ۸۰ درصد مرگ‌ومیر انسان‌ها می‌باشند. مصرف بالای چربی‌های اشباع و چربی‌های بافت حیوانی باعث افزایش احتمال ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، انواع سرطان و چاقی می‌شوند، در صورتی که اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا ۶ و امگا ۳ به عنوان اسیدهای چرب ضروری مانع از ابتلا به بیماری‌های مذکور می‌شوند [۸]. آفت‌کش‌ها همواره بخشی از عملیات کشاورزی و باغبانی هستند. سالانه بیش از ۴ بیلیون پوند سموم دفع آفات نباتی در دنیا مصرف می‌شود. در ایران میزان خریداری این سموم سالانه حدود ۲۴۰۰۰ تن برآورد شده است [۹]. آفت‌کش‌ها در مراحل تولید میوه، نگه‌داری در انبار و ترابری و پخش آن‌ها به کار می‌رود. "مانده آفت‌کش" هر ماده زهرآگینی در میوه‌ها است که پس از به کار بردن آفت‌کش‌ها، در آن‌ها باقی مانده باشد. این اصطلاح، هرگونه مشتقات یک آفت‌کش مانند هرگونه متابولیت، مواد خاص حاصل از تجزیه آفت‌کش‌ها، محصولات ناشی از واکنش آفت‌کش‌ها و ناخالصی‌هایی که زهرآگین باشند را دربرمی‌گیرد [۱]. سموم شیمیایی از منظر مکانیسم اثر به چند دسته تقسیم می‌شوند: سموم گوارشی، سموم تماسی، سموم تنفسی، سموم فاسد کننده و سموم سیستماتیک؛ که دو دسته مهم آن‌ها عبارت‌اند از: سموم سیستماتیک و سموم نفوذی که در صورت استفاده از این دو دسته در محصولات جالیزی و میوه‌ها، اگر دوره خاص طی نشده باشد، به هیچ عنوان با شستن، حرارت دادن و فریز کردن، باقی‌مانده سموم در محصولات از بین نمی‌رود و در محصولات کشاورزی و میوه‌ها باقی می‌ماند. از این رو، همواره توصیه می‌شود استفاده از سموم شیمیایی به عنوان آخرین راهکار مبارزه مورد استفاده قرار گیرد. متأسفانه کشاورزان به جای استفاده از راهکارهای کنترل غیر شیمیایی، برای کنترل آفات، بلافاصله از سموم شیمیایی استفاده می‌کنند. مرز بیشینه مانده آفت‌کش‌ها، در بیشتر کشورها به منظور حفظ سلامت مصرف کنندگان و ترغیب عملیات مناسب کشاورزی در

باقیمانده ی سموم می شوند. این روش ها شامل پختن، خشک کردن، فرآیند حرارتی، تخمیر، انجماد، آب گیری، آسیاب کردن، پیش پز کردن، پوست گیری و شستشو می باشد [۱۵]. همچنین، نشان داده شد که در میوه جات و سبزیجات، با استفاده از فرآیندهایی مانند آنزیم بری، جوشاندن، کنسرو کردن، سرخ کردن، آب گیری، پوست گیری و شستشو می توان به میزان ۱۰ تا ۸۲ درصد از سموم باقیمانده را از بین برد [۱۶].

بررسی غلظت باقیمانده آفتکشها در محصولات کشاورزی به عنوان یک اولویت مهم امنیت غذایی مصرف کننده مطرح است و تاکنون تحقیقات زیادی در این زمینه انجام گرفته است. با توجه به اهمیت و میزان مصرف زیتون در کشور، هدف از این تحقیق تعیین غلظت باقیمانده دو آفتکش پرمصرف مالاتیون و دیازینون در زیتون تخمیری و بررسی عملیات مختلف آماده سازی و تخمیر بر کاهش غلظت آن ها و مقایسه آن ها با استانداردهای ملی است.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد

زیتون رقم کنسروالیا از طارم تهیه گردید. نمک خالص، محیط کشت میکروبی مورد نیاز (DG18) از آلمان و محلول های استاندارد سموم مالاتیون و دیازینون از شرکت و مالاتیون از شرکت غزال شیمی خریداری شد. سولفات سدیم خشک، اتر نفت با درجه خلوص ۴۰-۶۰ درصد، سموم آفتکش (عاری از هیدروکربور)، فلورسیل فعال شده، محلول دی اتیل اتر و اسید نیتریک غلیظ از شرکت Fulka، نیترات نقره، معرف فرو سیانات آمونیوم، تیوسیانات آمونیوم و NaOH از شرکت Across تهیه شدند.

### ۲-۲- روش تولید

۱۰ کیلوگرم زیتون رقم کنسروی و بدون سم، از طارم خریداری شده و به عنوان نمونه شاهد بدون سم مورد آزمایش قرار گرفت تا عاری بودن آن از باقیمانده ی سموم و عدم استفاده از آنها ثابت گردد. این مرحله به عنوان مرحله قبل از سم پاشی یا S0 نامیده شده و کلیه آزمون های ذکر شده بر روی آن انجام شد. سپس به اندازه کافی به کلیه زیتون ها سموم

کاربرد حشره کش ها، قارچ کش ها و علف کش ها تعیین و تدوین می شود [۱۰]. بررسیهای اپیدمیولوژی اخیر نشان می دهد که بیش از ۸۰ درصد از باقیمانده سموم دفع آفات نباتی در انسان مخاطرات جدی دربر دارد (هادیان و همکاران، ۱۳۸۵). تماس غیرمستقیم با آفتکشها ناشی از خوردن غذاهایی است که سموم آفتکش در آن نفوذ کرده اند که به طور معمول، بودن درازمدت در معرض این آفتکشها ممکن است منجر به بیماری شود [۹]. همچنین ثابت شده است که آفتکشها باعث اختلال در تولید مثل، بیماری های عصبی، ایجاد سرطان و ناقص الخلقگی می شود. دیازینون از گروه ارگانوفسفره ها است و سمیت آن به علت بازدارندگی آنزیم استیل کولین استراز موجود در سیستم عصبی موجود زنده می باشد [۱۱].

برای نگهداری مواد غذایی مختلف، بسته به محصول، شرایط نگهداری و هزینه های تولید، از روش های مختلفی استفاده می گردد. باید اذعان کرد که در واقع یکی از بهترین روش های نگهداری مواد غذایی، استفاده از فرآیند تخمیر است. در فرآیند تخمیر، به دلیل رشد و فعالیت میکروفلور طبیعی زیتون، خصوصیات عطری و طعمی جدیدی حاصل می گردد که با تغییر بیوشیمیایی ویژه، مواد مولد عطر و طعم تولید می شود. در فرآیند تخمیر طبیعی، شرایط برای رشد میکروارگانیسم های طبیعی موجود در میوه آماده می شود. در عمل تلخی زدایی با محلول رقیق سود سوزآور، عمل شستشوی زیتون ها برای رفع قلیائیت از گوشت آن ها صورت می گیرد. شستشوی زیتون ها باید به درستی انجام گیرد زیرا شستشوی زیاد باعث شسته شدن و از بین رفتن کربوهیدرات های موجود در میوه می گردد [۱۲]. زیتون و محصولات آن سرشار از باکتری های مولد اسید لاکتیک (LAB) می باشد که در طی فرآوری زیتون اثرات مفیدی در محصول ایجاد می کنند [۱۳]. در فرآیند تخمیر طبیعی زیتون، تجزیه اولئوروپین و عمل تلخی زدایی توسط باکتری های مولد اسید لاکتیک به خصوص لاکتوباسیلوس ها انجام می گیرد. باکتری های اسید لاکتیک میکروارگانیسم های اصلی مورد استفاده برای تولید محصولات غذایی تخمیری سنتی و جدید می باشند، آن ها هم مسئول حفاظت و هم مسئول ویژگی های حسی محصول نظیر رنگ، طعم و بافت آن هستند [۱۴]. همچنین، برای از بین رفتن باقیمانده ی سموم در مواد غذایی مختلف روشهای متفاوتی استفاده می گردد که ثابت گردیده است که تمامی روش های مورد اشاره باعث کاهش

را به بالن برگردانده و می‌گذاریم حلال موجود در بالن که حاوی چربی نمونه است، به وسیله ستون کودراندانش بر روی حمام بخار آب ۹۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شود تا حدود ۱۰ میلی‌لیتر در ته بالن باقی بماند. سپس چربی حاصل را با کمی اتر نفت به داخل یک کریستالیزور وزن شده، منتقل و باقی مانده را روی حمام آب ۶۰-۶۵ درجه سانتی‌گراد تبخیر می‌نماییم تا فقط چربی نمونه داخل کریستالیزور بماند، سپس مدت کمی در گرمخانه‌ای که درجه حرارت آن از ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تجاوز نکند حرارت داده و پس از خنک کردن در دسیکاتور آن را وزن می‌کنیم، اختلاف وزن کریستالیزور حاوی ماده چربی و کریستالیزور خالی، مقدار چربی موجود در نمونه مورد آزمون را نشان می‌دهد. سپس از این چربی به میزان حداکثر ۲ گرم به دقت وزن کرده و آن را به یک قیف جداکننده ۱۲۵ میلی‌لیتری منتقل می‌نماییم و آنقدر به آن اتر نفت اضافه می‌کنیم تا حجم مجموع روغن و اتر ۱۵ میلی‌لیتر شود؛ سپس به آن ۳۰ میلی‌لیتر استونیتریل اشباع شده با اتر نفت اضافه می‌کنیم، یک دقیقه به شدت تکان داده و می‌گذاریم لایه‌ها جدا شوند. لایه استونیتریلی را وارد یک قیف جداکننده یک لیتری که حاوی ۶۵۰ میلی‌لیتر آب، ۴۰ میلی‌لیتر محلول نمک طعام اشباع شده و ۱۰۰ میلی‌لیتر اتر نفت است می‌نماییم، قسمت اتری باقی مانده در قیف جداکننده ۱۲۵ میلی‌لیتر را ۳ بار دیگر و هر بار با ۳۰ میلی‌لیتر استونیتریل اشباع شده با اتر استخراج کرده و هر بار یک دقیقه به شدت تکان می‌دهیم. همه مواد استخراج شده را به یک قیف جداکننده یک لیتری منتقل کرده، قیف جداکننده را به صورت افقی نگه داشته و ۳۰ تا ۴۵ ثانیه خوب تکان می‌دهیم و می‌گذاریم لایه‌ها از یکدیگر کاملاً جدا شوند. سپس لایه آبکی (لایه زیرین) را به قیف جداکننده یک لیتری دوم منتقل می‌کنیم. به این قیف ۱۰۰ میلی‌لیتر اتر نفت اضافه کرده و مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان می‌دهیم. از لایه آبکی صرف نظر کرده و لایه اتری (لایه بالایی) را به اتر نفت قیف جداکننده یک لیتری اول منتقل می‌کنیم، قیف جداکننده یک لیتری اول را دو بار و هر بار با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب شسته و از آب‌های شستشو صرف نظر می‌شود، لایه اتری را به یک ستون کروماتوگرافی ۵۰ سانتی‌متری با قطر خارجی ۲۵

دیازینون و مالاتیون اسپری کرده و بعد از ۲۴ ساعت مجدداً نمونه‌گیری شده و آزمون‌های مورد نظر بر روی آن‌ها انجام شد. زیتون‌ها در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۸ الی ۱۰ دقیقه شسته شده و آزمون‌های مورد نظر بر روی آن‌ها انجام گرفت. سپس عمل تلخی زدایی به وسیله سود ۲/۵\_۱/۲۵٪ و برای مدت زمان ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام و زیتون‌ها وارد مرحله تخمیر خودبه‌خودی یا طبیعی شده و مجدداً آزمون‌های مربوطه در روزهای اول، دهم و بیستم انجام شد. کل مرحله تخمیر، مرحله S نامیده می‌شود [۱۷].

## ۲-۳- آماده‌سازی و نمونه‌گیری

زیتون‌ها مطابق استاندارد شماره ۸۳۶۶ [۱۸] نمونه‌گیری و آماده گردیده، میوه‌ها هسته‌گیری شده و سپس به مقدار ۲۰۰ گرم در دستگاه مخلوط‌کن یا آسیاب ریخته و به‌طور کامل مخلوط و آسیاب شدند.

## ۲-۴- روش‌ها

### ۲-۴-۱- اندازه‌گیری باقیمانده آفت‌کش‌ها

تعیین باقیمانده سموم آفت‌کش در مواد غذایی و محصولات کشاورزی معمولاً شامل سه مرحله زیر است:

- استخراج سموم آفت‌کش از نمونه

- تصفیه و خالص کردن ماده استخراج شده و جداسازی سموم موجود در آن

- آزمایش کیفی و کمی سموم آفت‌کش (شناسایی و اندازه‌گیری)

### ۲-۴-۱-۱- استخراج چربی

۲۵ تا ۳۰ گرم نمونه آماده شده را در کاغذ صافی یا کارتوشی که قبلاً با اتر استخراج شده است قرار داده و روی آن پشم‌شیشه گذاشته و داخل دستگاه سوکسله قرار می‌دهیم و بالن مربوطه را تا نیمه با اتر نفت ۴۰-۶۰ درصد عاری از هیدروکربور پر کرده و برای مدت ۵ ساعت طوری حرارت می‌دهیم که تعداد قطرات ریخته شده از مبرد روی نمونه در دستگاه سوکسله حداکثر حدود ۶۰ قطره در دقیقه باشد. بعد از این مدت حرارت را قطع و پس از متوقف شدن ریختن قطرات حلال از مبرد دستگاه، کلیه حلال موجود در سوکسله

مقدار هر باقی مانده را بر حسب قسمت در میلیون از فرمول زیر محاسبه می‌کنیم [۱۹].

مشخصات دستگاه GC/MS مورد استفاده به شرح زیر بود: MS مدل ۵۹۷۵C با GC مدل ۷۸۹۰N (Agilent) و MS Mode EI آشکارساز با گاز حامل هلیوم با سرعت ۱ ml/min و مشخصات ستون (HP-5MS) Capillary شامل: طول ۳۰ متر، قطر ۵/۰ میلی متر و ضخامت داخلی ۲۵/۰ میکرومتر. دمای تزریق در آن ۲۵۰ درجه سانتی گراد، دمای شناساگر ۲۶۰ درجه و میزان تزریق ۱ میکرولیتر بود. برنامه‌ی دمایی به این صورت بود که دما با نرخ ۳۰ درجه در هر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۶۰ رسیده و مدت ۱۸ دقیقه در این دما نگهداری شد.

برای محاسبه‌ی مقدار آفت کش باقیمانده از رابطه‌ی زیر

استفاده شد:

$$\frac{V_2 * W_2 * d_2}{V_1 * W_1 * d_1} \quad \text{فرمول ۱:}$$

مقدار آفت کش باقی مانده بر حسب ppm بر اساس وزن نمونه:

$$V_1 = \text{حجم عصاره تزریق شده بر حسب میکرولیتر}$$

$$V_2 = \text{حجم عصاره نهایی بر حسب میلی لیتر}$$

$$W_1 = \text{وزن نمونه بر حسب گرم}$$

$W_2 =$  وزن سم آفت کش نمونه استاندارد تزریق شده بر حسب نانوگرم

$$d_2 = \text{ارتفاع پیک مورد آزمون تزریق شده بر حسب میلی لیتر}$$

$$d_1 = \text{ارتفاع پیک آفت کش استاندارد تزریق شده}$$

#### ۲-۴-۲- آزمون‌های شیمیایی (pH، اسیدیته و نمک)

اندازه‌گیری pH، درصد اسیدیته و نمک مطابق با استاندارد ملی شماره ۹۸۷ انجام گرفت [۲۰].

برای اندازه‌گیری pH ابتدا آن را با بافرهای ۴ و ۷ استاندارد کرده و سپس ۵۰ گرم نمونه را در داخل بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و یکنواخت می‌کنیم و pH آن را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به وسیله pH متر رومیزی کمپانی WTW (مدل Inolab level2) اندازه‌گیری می‌کنیم.

میلی‌متری که حاوی ۵ سانتی متر سولفات سدیم بی‌آب است وارد کرده و یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری درسمباده‌ای زیر ستون قرار داده تا مایع خروجی وارد آن شود. قیف جداکننده و بعد از آن ستون را سه بار و هر بار با حدود ۱۰ میلی لیتر اتر نفت به داخل ستون شسته و اجازه می‌دهیم حاصل شستشو وارد ارلن مایر شود. مجموعه فوق را روی حمام بخار تا حجم تقریباً ۱۰ میلی لیتر بخار می‌دهیم [۱۹].

#### ۲-۴-۲- تصفیه

به ستون کروماتوگرافی ۱۰ سانتی متر مکعب فلورسیل فعال شده و روی آن حدود ۵/۱ سانتی متر مکعب سولفات سدیم بدون آب اضافه می‌کنیم و با ۲۵ میلی لیتر اتر نفت مرطوب می‌کنیم. یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری درب سمباده‌ای زیر ستون قرار داده سپس بلافاصله عصاره اتر نفتی یا عصاره ۱۰ میلی لیتری تغلیظ شده از مرحله استونتریلی را وارد ستون فوق نموده و می‌گذاریم در دبی حجمی کم تر یا مساوی ۵ میلی لیتر در دقیقه از آن عبور کند. ظروف مربوط به عصاره اتر نفتی را دوبار و هر بار با تقریباً ۵ میلی لیتر اتر می‌شویم و آن‌ها را وارد ستون می‌کنیم. جدار ستون را نیز با مقدار کمی اتر شستشو می‌دهیم. پس از عبور عصاره اتر نفتی از ستون، بلافاصله ۲۰۰ میلی لیتر محلول ۶ درصد دی‌اتیل‌اتر در اتر نفت را از بالای ستون می‌ریزیم تا حدود ۵ میلی لیتر در دقیقه از آن خارج شود. سپس ارلن مایر حاوی این قسمت را عوض کرده و یک ارلن مایر دیگر زیر ستون قرار می‌دهیم و از بالای ستون ۲۰۰ میلی لیتر محلول ۱۵ درصد دی‌اتیل‌اتر در اتر نفت را می‌ریزیم و با همان سرعت خارج می‌کنیم. این قسمت را به نام ۱۵ درصد کنار می‌گذاریم [۱۹].

#### ۳-۴-۱- اندازه گیری کمی با دستگاه GC/MS

در حدود ۳ تا ۸ میکرولیتر از نمونه‌ی استخراج و تصفیه شده را با سرنگ ۲۵ میکرولیتری به دستگاه تزریق می‌نماییم و پس از تزریق و رسم منحنی‌های مربوط، قله مربوط به هر باقی مانده را از روی مقایسه با زمان بازداری قله‌های مخلوط استاندارد سموم آفت کش که حاوی مقادیر مختلف بر حسب نانوگرم در میلی لیتر حلال است مشخص کرده و با محاسبه مساحت قله‌ها به وسیله مساحت سنج یا ارتفاع آن‌ها نسبت به استاندارد،

روی سطح محیط‌های کشت پخش کرده تا همه مایعات به طور کامل جذب شود. پلیت‌های کشت داده شده را به صورت هوازی، با درپوش بالا و ایستاده در انکوباتور در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  به مدت زمان پنج تا هفت روز گرمخانه‌گذاری و شمارش می‌کنیم. پلیت‌های دارای کمتر از ۱۵۰ کلنی، پروپاگول یا جوانه را انتخاب کرده و همه آن‌ها را شمارش می‌نماییم [۲۲].

#### ۲-۴-۴- بررسی‌های آماری

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver21 در مورد همه ی نمونه‌ها در ۳ تکرار و اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌ها در سطح ۵٪ بررسی شد. برای بررسی اثر مراحل مختلف تولید و تخمیر، متغیرهای مورد آزمون به عنوان متغیر مستقل و مراحل تولید و تخمیر به عنوان متغیر فاکتور انتخاب گردید و آزمون Anova یک طرفه بر روی آن‌ها انجام گرفت. برای مقایسه میانگین باقی‌مانده سموم در زیتون تولیدی با حدود ذکر شده در استاندارد ایران از آزمون One sample T Test استفاده گردید. برای مقایسه میانگین متغیرها در دو دوره قبل و بعد از تخمیر یا به عبارتی بررسی اثر تخمیر بر میانگین متغیرها از Paired sample T Test استفاده شده است.

#### ۳- نتایج

##### ۳-۱- باقیمانده سم

##### ۳-۱-۱- مالاتیون

نتایج آماری نشان داد که حداکثر و حداقل میزان مالاتیون اندازه‌گیری شده در طی فرآیند تولید زیتون تخمیری به ترتیب برابر با ۰/۰۳ و ۰/۶۱ ppm بوده و میانگین آن برابر با ۰/۱۶۵ ppm است. متوسط میزان این سم در روزهای ۱، ۱۰ و ۲۰ تخمیر به ترتیب برابر با ۱۵۵/۰، ۱۰۳/۰ و ۰۵۷/۰ ppm بوده است. همچنان که در شکل ۱ نشان داده شده است، پس از اضافه کردن سم، به دلیل نفوذ بیشتر سم، مقدار آن افزایش پیدا کرده ولی پس از شست و شو بسیار سریع کاهش یافته و با شیب کمتری این روند ادامه پیدا کرده و در نهایت از ۰/۵۹ به ۰/۰۶ ppm رسیده است. همانطور که از نتایج برمی آید در نهایت پس از ۲۰ روز تخمیر، میزان میانگین باقیمانده این سم بسیار پایین‌تر از حد استاندارد (۸ ppm) بوده و تفاوت آن‌ها معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

برای اندازه‌گیری اسیدیته، ۲۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و چند قطره معرف فنیل فتالین را به آن اضافه کرده و به وسیله محلول سود ۰/۱ نرمال تیترو می‌کنیم. سپس درصد اسیدیته را از فرمول زیر محاسبه می‌کنیم:

$$\frac{W * 0.009 * 100}{S}$$

درصد اسیدیته =

فرمول ۲ (محاسبه اسیدیته)

که در آن N برابر حجم سود مصرفی و S مقدار نمونه است. برای اندازه‌گیری درصد نمک، ۳ گرم نمونه را وزن کرده و به بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال می‌دهیم و آن را به حجم ۵۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم، سپس ۲ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ و ۲۵ میلی‌لیتر محلول نترات نقره ۰/۱ نرمال به آن اضافه کرده و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم. ۲۵ میلی‌لیتر از این محلول را به ارلن ۳۰۰ میلی‌لیتری منتقل کرده و چند قطره فری سولفات آمونیوم به آن اضافه می‌کنیم و با تیوسانات آمونیوم ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ آجری تیترو می‌کنیم. میزان نمک از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

فرمول ۳ (محاسبه میزان نمک)

$$S = \frac{4T * 0.00585 - N}{W} * 100$$

که در آن:

T: میلی لیتر تیوسانات آمونیوم مصرفی

N: میلی لیتر نترات نقره

S: درصد کلرور سدیم

W: وزن نمونه به گرم

##### ۲-۴-۳- آزمون‌های میکروبی

برای آماده‌سازی آزمایش از استاندارد ملی ایران به شماره ۸۹۲۳-۱ استفاده شد [21]. با استفاده از پیت سترون مقدار یک‌دهم میلی‌لیتر از سوسپانسیون اولیه را به یک پلیت حاوی محیط کشت (Merck, Darmstadt, DG18 Germany) انتقال می‌دهیم. با استفاده از یک پیت سترون دیگر مقدار یک‌دهم میلی‌لیتر از رقت ۱۰ به یک پلیت دارای محیط کشت DG18 دیگر منتقل می‌کنیم. عملیات یاد شده را برای رقت‌های دیگر با استفاده از یک پیت سترون جدید تکرار می‌کنیم. به کمک پخش کننده سترون مایعات تلقیحی را

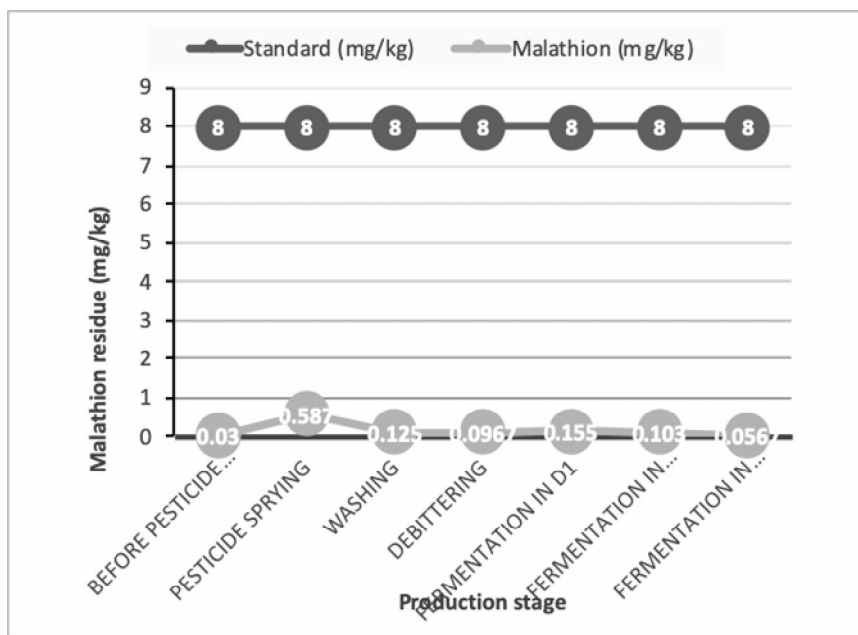


Fig 1 Malathion residue in pickled olive during different processings conditions

است. هم‌چنان که در شکل ۲ نشان داده شده است پس از اضافه کردن سم، مقدار آن افزایش پیدا کرده ولی پس از شست و شو، کاهش سریعی داشته و با شیب کمتری این روند ادامه پیدا کرده و در نهایت از ۳۸۹/۸۵ به ۷/۸۶ ppm رسیده است. هم‌چنین، میزان میانگین این سم بسیار کمتر از حد استاندارد باقیمانده آن در زیتون (۵/۰ ppm) است.

### ۳-۱-۲- دیازینون

نتایج آماری نشان داده که حداکثر و حداقل میزان دیازینون اندازه‌گیری شده در طی فرآیند تولید زیتون تخمیری به ترتیب برابر با ۳۹۳/۵ و ۰/۴۵ ppm بوده و میانگین آن برابر با ۵۳/۸۴ ppm است. متوسط میزان این سم در روزهای ۱، ۱۰ و ۲۰ تخمیر به ترتیب برابر با ۲۵/۸، ۱۶/۹۳ و ۷/۸۶ ppm بوده

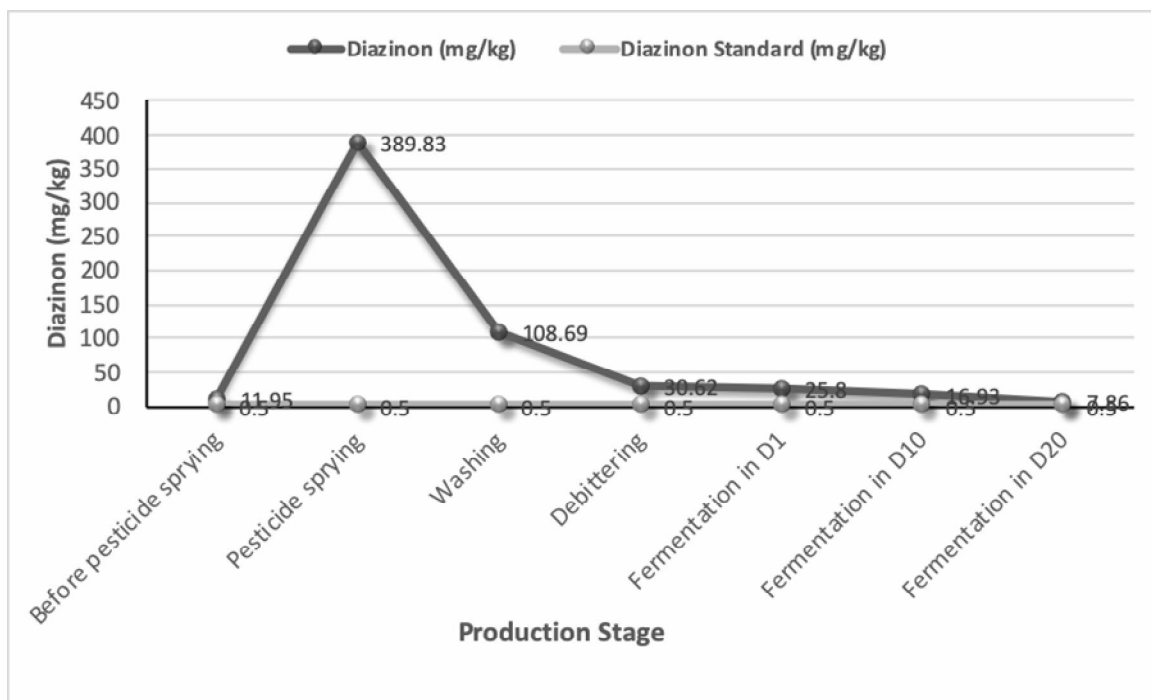


Fig 2 Diazinon residue in pickled olive during different processings conditions

تلخی‌زدایی، در طی دوره تخمیر، با شیب تندی افزایش پیدا کرده ولی نهایتاً به ۰/۰۹٪ رسیده است. آنالیز آماری انجام شده نشان داد که مابین میزان میانگین اسیدیته در تمام طول تخمیر اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ).

### ۲-۲-۳- نمک

میزان حداکثر و حداقل نمک به ترتیب برابر با ۲/۹۴ و ۰/۱٪ بوده است. میانگین آن در طول تولید نیز برابر با ۱/۲۲٪ بود. میانگین میزان نمک در روزهای ۱، ۱۰ و ۲۰ تخمیر به ترتیب برابر با ۲/۹۲، ۲/۷۷ و ۱/۲۲٪ بوده است. همچنان که در شکل ۳ دیده می‌شود میزان نمک تقریباً در طی مراحل آماده‌سازی ثابت است و با شروع تخمیر میزان آن به شدت افزایش پیدا کرده ولی پس از ۱۰ روز با شیب بیش‌تری کاهش می‌یابد. تفاوت معنی‌داری بین میانگین آن در طول دوره تخمیر وجود دارد ( $P < 0.05$ ). هم‌چنین میانگین درصد نمک در طول دوره آماده‌سازی با تخمیر نیز تفاوت معنی‌داری دارد ( $P < 0.05$ ).

نتایج آنالیز آماری نشان داد که ضرایب همبستگی بین میانگین مالاتیون و دیازینون به ترتیب ۰/۱۹- و ۰/۲۳۹- است بنابراین همبستگی آن‌ها ناقص و معکوس است. همچنین مطابق بررسی‌های آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۵٪ بین میانگین مالاتیون در مرحله قبل (عملیات آماده‌سازی) و بعد از تخمیر وجود ندارد ولی تفاوت معنی‌داری بین میانگین دیازینون در این دو مرحله وجود دارد ( $P < 0.05$ ).

### ۲-۳- ویژگی‌های شیمیایی

#### ۱-۲-۳- اسیدیته

همانطور که در شکل ۳ نیز نشان داده شده است، میزان حداکثر و حداقل اسیدیته به ترتیب برابر با ۰/۴۵ و ۰/۰۰۹٪ بوده است. میانگین آن در طول تولید نیز تقریباً برابر با ۰/۲٪ بود. میانگین میزان اسیدیته در روزهای ۱، ۱۰ و ۲۰ تخمیر به ترتیب برابر با ۰/۰۱، ۰/۱۹ و ۰/۰۹٪ می‌باشد. همچنان که در نمودار شماره ۳ دیده می‌شود، در طی مرحله شست‌وشو میزان آن به سرعت کاهش پیدا کرده و پس از ثبات در مرحله

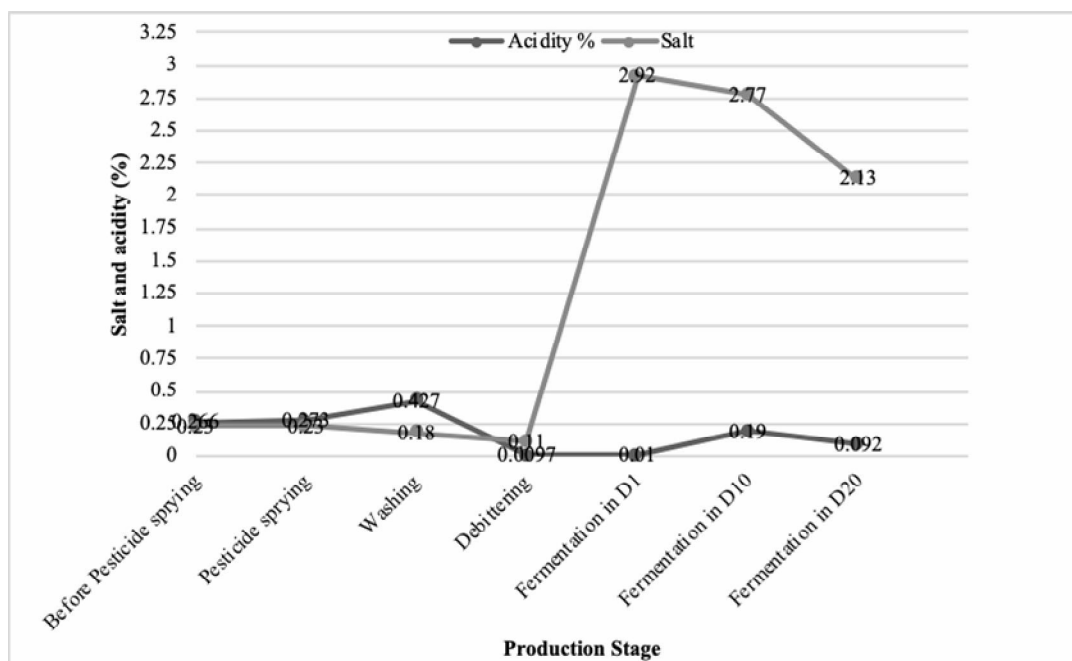


Fig 3 Mean of salt and acidity (%) in pickled olive during different processings conditions pH

میانگین میزان آن در روزهای ۱، ۱۰ و ۲۰ تخمیر به ترتیب برابر با ۸/۹۲، ۷/۳ و ۶/۶۳ است. همان‌طور که از نمودار شماره ۴ پیداست، در طی فرآیند تلخی‌زدایی به دلیل استفاده از سود

نتایج مربوط به آمار توصیفی میزان pH نشان دهنده آن است که، میزان حداکثر و حداقل pH، به ترتیب برابر با ۹/۵۵ و ۸/۴ است. میانگین آن در طول تولید نیز تقریباً برابر با ۶/۹ بود.



مختلف pH در تمام مراحل تولید تفاوت معنی‌داری با همدیگر دارند ( $P < 0.05$ ).

برای تلخی زدایی، میزان آن به شدت افزایش پیدا کرده است ولی پس از آن به خصوص در طی دوره تخمیر کاهش یافته است. بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که مقادیر

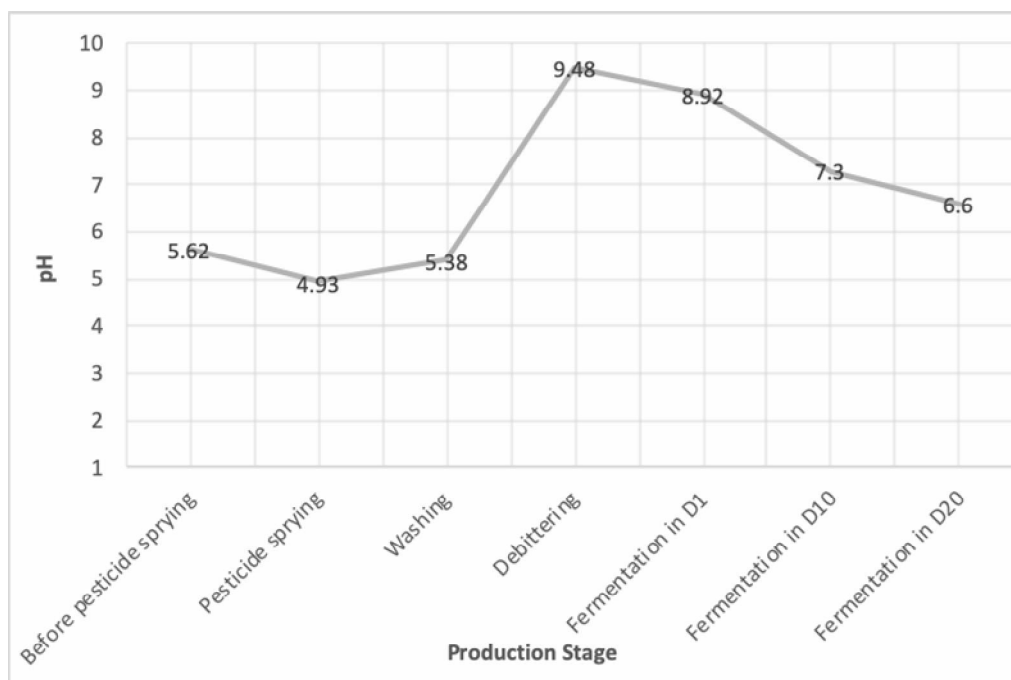


Fig 4 Mean of pH changes in pickled olive during different processings conditions

مراحل اضافه کردن سم و شست‌وشو میزان آن کاهش پیدا کرد و در نهایت در مراحل تلخی‌زدایی و روز اول تخمیر هیچ مخمیری دیده نشد ولی در روزهای دهم و بیستم تخمیر تعداد آن‌ها به ترتیب به  $2033/3$  و  $1450$  CFU/g رسید. میانگین تعداد مخمرها در طول تولید برابر با  $823/6$  CFU/g بود. مطابق با آنالیزهای آماری تفاوت معنی‌داری بین میانگین تعداد آن‌ها در روزهای ۱، ۱۰ و ۲۰ تخمیر وجود داشته ( $P < 0.05$ ) ولی تفاوت معنی‌داری بین میانگین آن‌ها در مراحل اضافه کردن سم، شست‌وشو، تلخی‌زدایی و تخمیر روز اول وجود نداشت.

#### ۴-۱- سموم باقیمانده

با اضافه کردن سم‌های فوق به زیتون مقدار آن افزایش یافته ولی طی عملیات شست‌وشو و تلخی‌زدایی با شیب بسیار تندی کاهش می‌یابد به این معنی که مقدار سم مالاتیون و دیازینون به ترتیب از  $0/587$  ppm و  $389/8$  به  $0/155$  ppm و  $25/8$  رسیده و در طی عملیات آماده‌سازی، سم مالاتیون به اندازه  $73/59$ % و دیازینون به اندازه  $93/38$ % کاهش نشان داده است.

مطابق با بررسی‌های آماری، ضرایب همبستگی pH و نمک مثبت ولی با اسیدیته منفی و به ترتیب برابر با  $0/936$ ،  $0/522$  و  $-0/019$  بود که به ترتیب نشان‌دهنده همبستگی ناقص و مستقیم در pH و نمک ولی همبستگی ناقص و معکوس در میانگین اسیدیته است. همچنین اختلاف معنی‌داری در بین میانگین هر سه متغیر در قبل و بعد از تخمیر وجود داشت ( $P < 0.05$ ).

#### ۳-۳- آزمون‌های میکروبی

##### ۳-۳-۱- کپک و مخمر

مقدار شمارش کپک در زیتون خام برابر با  $103/33$  CFU/g بوده و در مرحله اسپری کردن سم، بسیار کاهش یافته و به  $6/66$  CFU/g رسید و سپس هیچ کپکی در طول عملیات آماده‌سازی و تخمیر مشاهده نگردید (نمودار شماره ۵). واضح است که میانگین آن در طی این دو مرحله تفاوت معنی‌داری با همدیگر دارد ( $P < 0.05$ ). در خصوص تعداد مخمرها باید گفت که تعداد اولیه آن برابر با  $18267$  CFU/g بود و طی

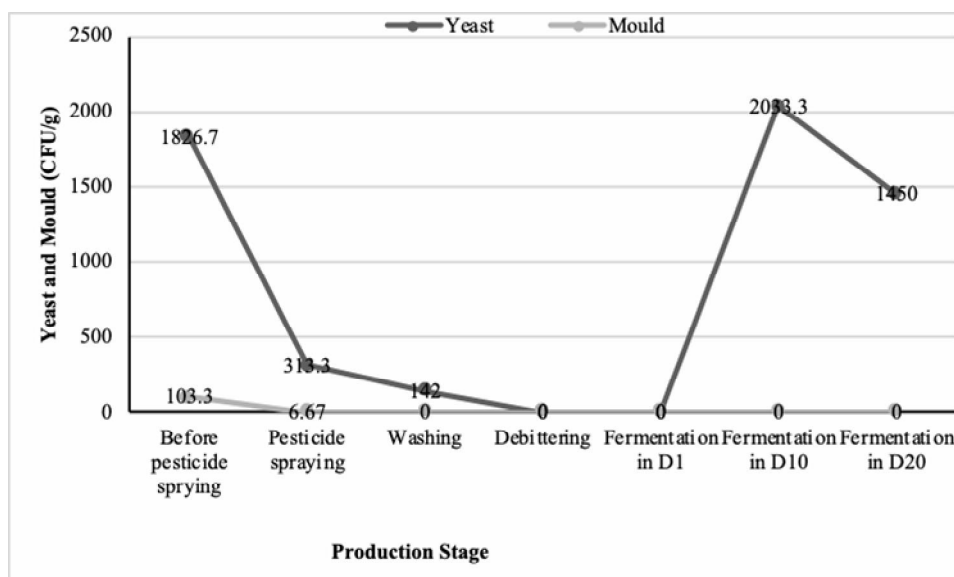


Fig 5 Mean of yeast and mould changes in pickled olive during different processings conditions

#### ۴- بحث

رسیده آن انجام شود، تجمع باقی مانده آفت کش در محصول محتمل تر است. همچنین، تاثیر شستشو بر باقی مانده سم بسته به عواملی چون محل وجود حشره کش روی گوجه فرنگی، مدت زمانی که از سم پاشی گوجه فرنگی گذشته است، میزان حلالیت سم در آب، دمای آب شستشو و نحوه فرایند شستشو وابسته و در نهایت به این نتیجه کلی رسیدند که فرایندهای شستشو و آبیگری جزء فرایندهای اصلی در کاهش باقیمانده سموم در طی تولید رب گوجه فرنگی هستند [۱۱].

ابوعرب (۱۹۹۹) نشان داد که فرایند شست و شو در گوجه فرنگی توانست میزان مالاتیون را تا ۲۳٪ کاهش دهد. نتایج فوق نشان دهنده تأثیر مثبت شست و شو در کاهش میزان سموم از سطح است. بسیاری از پژوهشگران از جمله هلند و همکاران (۱۹۹۴)، سولیمان (۲۰۰۱)، اویسال و آسان (۲۰۰۶)، جونهر و همکاران (۱۹۹۶) و کابراس و همکاران (۱۹۹۷) نیز نشان داده اند که شست و شو در کاهش میزان سموم در میوه و سبزی ها بسیار مؤثر است [۳۰-۲۶]. تفاوت هایی که در میزان کاهش این سموم در این پژوهش و سایر پژوهش ها وجود دارد ممکن است که در نتیجه وجود تفاوت در نوع میوه، شرایط نگهداری، درجه حرارت [۲۴ و ۲۳] اندازه میوه و همچنین روش های شست و شو و آماده سازی و البته نوع و ترکیب سم [۳۱] باشد. برخی از تحقیقات نشان داده است که اکثر قارچ کش ها و حشره کش هایی که برای محصولات غذایی استفاده می شوند، پس از سم پاشی، دست خوش جابجایی اندکی

بنابراین می توان گفت که این دو عملیات در کاهش آن ها نقش مهمی را ایفا می کنند. در پژوهشی مشابه، میزان باقی مانده سم مالاتیون در خیار پس از تیمارهای شست و شو با آب، شست و شو با مایع شوینده و پوست گیری، اندازه گیری شد و نتایج تجزیه و تحلیل واریانس این بررسی نشان داد که میزان باقی مانده سم مالاتیون در تیمارهای شست و شو با آب آشامیدنی و شست و شو با مایع شوینده تفاوت معنی داری با یکدیگر داشتند. همچنین تفاوت معنی داری با نمونه شاهد (بدون شست و شو) وجود داشت. نتایج این بررسی نشان داد که تیمار شست و شو با مایع شوینده نسبت به نمونه شاهد موجب ۲/۴۴٪ کاهش و فرایند شست و شو با آب آشامیدنی موجب ۴/۳۴٪ کاهش سم مالاتیون شده است [۲۳]. تاکنون تحقیقات زیادی بر روی خیار و تأثیر فرایندهای مختلف مانند: پوست گیری و شست و شو، و همچنین مقایسه میزان باقی مانده دیازینون در خود میوه و پوست آن صورت گرفته است، در همه آن ها به این نکته اشاره شده است که غلظت سم در پوست میوه شسته نشده بسیار بالاتر از سایر بخش های میوه بوده است [۲۴ و ۲۵].

طی پژوهشی که براتیان قرقی و همکاران (۱۳۹۴) با موضوعیت تاثیر مراحل تولید رب گوجه فرنگی بر کاهش باقی مانده دیازینون انجام دادند، مشخص گردید که اگر سم پاشی خصوصا در مرحله رنگ اندازی گوجه فرنگی و میوه

۱۰ و ۱۵ تأثیر معنی‌دارتر بوده است ( $P < 0.05$ )، به طوری که میزان کاهش سم بعد از ۲۰ روز به ۱۰۰٪ رسید [۳۱]. برخی محققین نشان داده‌اند که میزان اثر هر کدام از فرآیندها از جمله تخمیر بر باقی‌مانده سموم به نوع و مکانیسم آفت‌کش، pH، دما و میزان آب بستگی دارد [۳۵ و ۳۴]. تحقیقات نشان داده است که غلظت نمک و اسید و مدت زمان غوطه‌وری محصولات تخمیری در آن‌ها بر میزان سموم مؤثر است و هرچه مدت زمان تخمیر بیشتر باشد (زمان ماندگاری در اسید و نمک) میزان کاهش بیش‌تر است به این دلیل که نمک و اسید باعث انحلال بهتر این سموم می‌گردند [۳۱]. تجزیه و از بین رفتن آفت‌کش‌ها به عواملی از جمله گونه گیاهی، فرمولاسیون شیمیایی ترکیب، روش کاربرد آن‌ها، شرایط محیطی، پدیده‌های فیزیکی (عمدتاً فراریت) و تجزیه شیمیایی (که در آن نور خورشید نقش مهمی دارد) بستگی دارد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که برای بررسی تجزیه آفت‌کش‌ها در یک گیاه زراعی، انجام آزمایش در شرایط خاصی که آن آفت‌کش مصرف می‌شود ضرورت دارد تا بتوان فاصله زمانی مورد نیاز برای رسیدن باقی‌مانده آفت‌کش‌ها به حد مجاز آن قبل از برداشت محصول مورد نظر را به دست آورد [۳۶].

میزان باقی‌مانده سم مالاتیون و دیازینون در انتهای تخمیر به ترتیب تقریباً برابر ۸/۷ و ۰۶/۰ ppm بوده است که در خصوص دیازینون بیش از حد استاندارد تعیین شده در استاندارد شماره ۱۳۱۱۸ است. بر اساس استاندارد ملی ایران میزان باقی‌مانده مالاتیون و دیازینون در زیتون به ترتیب برابر با ۸ و ۰۵/۰ ppm است [۱۰]. تحقیقات زیادی در خصوص تعیین میزان باقیمانده سموم مختلف در محصولات مختلف و تعیین دوره کارنس آن‌ها انجام گرفته است [۸، ۲۵، ۳۷-۴۱]. نتایج ارائه شده توسط محققین فوق بسیار متفاوت بوده و در بسیاری از موارد میزان باقی‌مانده سموم از حدود استاندارد مربوطه بالاتر و یا پایین‌تر بوده که ناشی از عوامل مختلف است که به برخی از آن‌ها اشاره شد.

علاوه بر اثر تخمیر در کاهش سموم، محققین مختلفی در سراسر دنیا مقدار این مواد را پس از حرارت‌دهی و تغلیظ نیز بررسی کردند. نتایج تحقیقات مختلف انجام شده روی اثر تغلیظ بر باقیمانده آفت‌کشها در محصولات متعدد نشان دادند که تغلیظ از لحاظ کاهش آب موجود در نمونه، سبب افزایش غلظت سم در داخل آن میشود [۱۱ و ۴۲]. هولاند و همکاران

شده و بسته به نوع ماده شیمیایی استفاده شده، در لایه مومی و کوتیکول گیاه نفوذ می‌کنند [۳۲ و ۳۰]. حشره‌کش مالاتیون یک آفت‌کش غیر نفوذی و سطحی است [۲۳]. در حالی که دیازینون علاوه بر خاصیت سطحی، دارای خاصیت نفوذی نیز می‌باشد و با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً ضریب نفوذ دیازینون بالاتر بوده است. به همین دلیل مقدار کاهش این سم طی این دو فرآیند (شست‌وشو و تلخی‌زدایی) بیشتر است. در واقع میزان باقی‌مانده مالاتیون به سطح بیرونی محصول محدود شده و طی شست‌وشو و تلخی‌زدایی قابلیت جدا شدن بالاتری داشته است. البته در این تحقیق با توجه به فرآیند تلخی‌زدایی، انتظار می‌رفت که میزان کاهش این سموم بیشتر نیز باشد. همچنین مدت‌زمان و اثر درجه حرارت و غلظت سود در فرآیند تلخی‌زدایی نیز بسیار مؤثر است. اثر فرآیندهای پوست‌گیری، شست‌وشو و نگه‌داری در درجه حرارت یخچال، بر روی ماندگاری سم بنومیل بررسی گردید و نشان داده شد که میزان پوست‌گیری تأثیر کمی ولی یخچال‌گذاری تأثیر به‌سزایی در کاهش آن داشته است [۳۳ و ۲۴]. از طرفی دیگر پوست‌گیری از محصولات خام بیشتر از ۵۰٪ باقیمانده دیازینون در گوجه فرنگی را حذف می‌کند. بنابراین، حذف پوست اغلب فرایند کاملی برای حذف باقیمانده‌ها است. این موضوع خصوصاً برای میوه‌هایی که به همراه پوست خورده نمی‌شوند مانند موز و مرکبات با اهمیت‌تر است [۱۱]. در طی فرآیند تخمیر میزان کاهش مالاتیون و دیازینون به ترتیب برابر با ۶۳/۴۸٪ و ۶۹/۵۷٪ بوده است. در این مرحله نیز همانند مرحله آماده‌سازی میزان کاهش سم دیازینون بیشتر بود. می‌توان به این نتیجه رسید که عوامل مختلفی در کاهش این سم‌ها در طی دوره تخمیر مؤثر بوده‌اند، مانند: دما و زمان تخمیر، نوع تخمیر، نوع و بار میکروبی زیتون خام و ویژگی‌های شیمیایی مانند اسیدیته، pH و درصد نمک. به‌طور کلی می‌توان گفت که در انتهای فرآیند تولید، سموم مالاتیون و دیازینون به ترتیب به میزان تقریباً ۹۰/۵٪ و ۹۷/۹۸٪ کاهش پیدا کرده‌اند. پرواضح است که تفاوت توانایی کاهش باقی‌مانده این دو سم در مراحل آماده‌سازی و تخمیر بسیار متفاوت است و فرآیندهای شست‌وشو و تلخی‌زدایی درصد بیشتری از باقیمانده سموم را کاهش داده است. نشان داده شده است که فرآیند تهیه خیارشور اثر معنی‌داری بر میزان سم متالاکسیل داشته است، همچنین اثر تخمیر در روزهای ۵،

روش های مختلفی نیز برای تصفیه و استخراج آفت کش ها وجود دارد که یکی از رایج ترین تکنیک های مورد استفاده برای تشخیص این سموم در میوه ها و سبزیجات روش QuEChERS است [۴۴]. این روش عمدتاً نوعی روش تصفیه است که باعث حذف ناخالصی ها (آب بیش از حد، فندها، اسیدهای ارگانیک و چربی ها) می شود [۳۴]. همچنین طبق نظر Calvo و همکاران، (۲۰۱۹) میتوان از عوامل اکسید کننده مانند آب الکترولیز (EW)، دی اکسید کلر (ClO<sub>2</sub>) و فوتوکاتالیز (photocatalysis) طی مرحله پس از برداشت، جهت حذف بقایای سایپرودینیل (Cyprodinil)، تبوکونازول (Tebuconazole) و ایپرودیون (Iprodione) از سطح هلو، شلیل و زردآلو استفاده کرد [۴۷].

#### ۴-۲- اسیدیته، pH و نمک

مقادیر اسیدیته و pH همواره با یکدیگر در ارتباط بوده اند، مقدار اسیدیته بعد از سم پاشی از ۰/۲۷٪ به ۰/۴۳٪ رسید و به طور معنی داری افزایش پیدا کرده و پس از شست و شو به شدت کاهش پیدا کرد ( $P < 0.05$ ). در مرحله تلخی زدایی، میزان آن به ۰/۰۹۷٪ رسید که تقریباً تا تخمیر روز اول ثابت ماند. اسیدیته در این مراحل ممکن است تحت تأثیر اسیدهای آلی موجود در خود میوه باشد که با عمل شست و شو میزان آن کاهش یافته و در مرحله تلخی زدایی با توجه به pH بالای ماده تلخ زدا، طبیعتاً میزان آن به شدت کاهش می یابد که البته تغییرات pH (نمودار ۴) مؤید همین موضوع است. با شروع دوره تخمیر و فعالیت میکروارگانیسم ها میزان اسیدیته و pH به صورت پیوسته و معنی داری ( $P < 0.05$ ) به ترتیب افزایش و کاهش را نشان می دهند و در روز دهم تخمیر میزان آن ها به ترتیب تقریباً به ۰/۲٪ و ۷/۳٪ رسید. در اواخر دوره تخمیر میزان اسیدیته افزایش پیدا کرده که با توجه به کاهش pH و وجود مخمرها می توان گفت که ممکن است با رشد و فعالیت مخمرها، اسیدهای تولیدی در محیط را متابولیزه کرده و در نتیجه اسیدیته افزایش می یابد. حال با توجه به ترکیبات موجود در میوه زیتون و وجود ترکیبات پروتئینی و نیتروژنی می توان یک محیط تامپونی ایجاد کرده و از این طریق از تغییرات شدید pH جلوگیری کرد. در پژوهشی میزان اسیدیته انواع زیتون تخمیری که با تلقیح کشت آغازگر لاکتیک و بدون آن تولید شده بود با هم مقایسه گردید و نشان داده شد که میزان اسیدیته بین ۰/۱٪ و ۰/۶٪ متفاوت بود ولی در انواع

(۱۹۹۴)، گزارش کردند که طی فرایند جوشاندن گوجه فرنگی ها به مدت ۳۰ دقیقه سبب کاهش ۶۹٪ باقیمانده کارباریل شد [۲۶]. آنگ و همکاران (۱۹۹۶)، تنها ۱۳ تا ۱۴٪ باقیمانده پاراتیون در گوجه فرنگی را در عصاره یا کچاپ کنسروی آنها اندازه گیری کردند. همچنین، برخی محققان چنین گزارش کردند که فرایندهایی که در طی پختن رخ می دهند شامل تبخیر باقیمانده، آبکافت و تجزیه حرارتی سم میباشند [۳۴ و ۴۳]. نتیجه این که تأثیر حرارت، بسیار بیشتر از تأثیر فرایند تغلیظ در طی تولید رب گوجه فرنگی از آب گوجه فرنگی می باشد [۱۱].

یکی از مباحث مهم در این محور پژوهشی، تشخیص و تعیین مقدار سموم آفت کش در محصولات مختلف است، که روشهای مختلفی دارد. در حال حاضر GC/MS به عنوان یک روش بسیار مناسب و متداول برای اندازه گیری باقیمانده سموم در انواع سبزی و میوه توصیه میشود؛ چرا که این روش به طور همزمان تعداد زیادی از ترکیبات مختلف نامعلوم موجود در یک نمونه را با حد تشخیص کم و توأم با قابلیت جداسازی بالا شناسایی و میزان آن را تعیین می نماید [۹].

روش دیگر که توسط مورنو گونزالس و همکاران (۲۰۱۸) مورد مطالعه قرار گرفت، تشخیص باقی مانده آفت کش ها به صورت مرکب، برای تعیین ۱۶۲ کود آلی در ترکیب باهم در نمونه های روغن زیتون، با استفاده از سیستم کروماتوگرافی مایع نانولوله ای همراه با طیف سنجی جرمی با وضوح بالا (Nanoflow LC/ESI Q-Orbitrap-MS) میباشد [۴۴]. مجموعه روشهای کروماتوگرافی که رزاقی و همکاران در طی پژوهش های خود بر روی روغن زیتونهای موجود در ایران، در جهت تشخیص و تعیین سموم آفتکش ارائه دادند شامل GC و HPLC مجهز به آشکارسازهای مختلف (FID: یونیزاسیون شعله، NPD: آشکارساز فسفر نیتروژن، ECD: آشکارساز الکترونی) و (UV: آشکارساز اشعه ماوراء بنفش، DAD: آشکارساز دیود، MSD: آشکارساز جرمی) بودند که توانستند بیشتر سموم مورد نظر را با روش های به کار رفته اندازه گیری کنند [۴۵].

کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی مایع همراه با طیف سنجی جرمی، به عنوان روشی طلایی برای ارزیابی باقیمانده ی آفت کش ها در نظر گرفته می شوند چرا که دامنه وسیعی از آفت کش ها را پوشش می دهند [۴].

در خصوص تعداد مخمرها باید گفت که شمارش آن‌ها با گذشت زمان و پیشرفت در مراحل تولید کاهش یافت به طوری که در اوایل تخمیر آن‌ها مشاهده نشدند ولی با گذشت ۱۰ روز از زمان تخمیر به یکباره تعداد آن‌ها افزایش یافت ولی در اواخر تخمیر تعداد آن‌ها کاهش یافت که این نوسان در تعداد شمارش آن‌ها می‌تواند دلایل متفاوتی داشته باشد. معمولاً مخمرها در شرایط بسیار مختلف و متنوعی قادر به رشد هستند، باید توجه داشت که تخمیر مورد نظر یک تخمیر اسیدلاکتیکی بود ولی همواره همراه با این تخمیر، مخمرها نیز مشاهده می‌شوند. در برخی از پژوهش‌ها به این مطلب اشاره شده است که تعداد مخمرها در کیفیت محصول مؤثر بوده و وجود بیش از ۷ سیکل لگاریتمی باعث ایجاد فساد و تولید گاز می‌گردد. نشان داده شده است که در اوایل تخمیر رشد باکتری‌های لاکتیکی به آرامی آغاز شده و سپس در اواخر تخمیر تعداد آن‌ها کاهش می‌یابد. رشد مخمرها در انواع زیتون تلقیح شده و نشده در تمام طول تخمیر، بدون اینکه تفاوت معنی‌داری در بین آن‌ها دیده شود، مشاهده گردیده است. البته تعداد آن‌ها از ۳ سیکل لگاریتمی بیش‌تر نشده بود [۵۰-۴۸].

## ۵- نتیجه گیری کلی

این تحقیق نشان داد که عملیاتی مانند شست‌وشو، تلقیح زدایی و تخمیر توانایی کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقدار سموم مورد استفاده را دارد. محصولات تخمیری و به ویژه زیتون تخمیری دارای خواص بسیار مفید و بالاتری نسبت به زیتون تازه و یا سایر میوه‌ها و سبزی‌های غیر تخمیری دارد که می‌توان توانایی تخمیر در کاهش میزان باقی‌مانده آفت‌کش‌ها را به آنها اضافه کرد. نکته مهم دیگر این است که با مقایسه سایر پژوهش‌های انجام گرفته در این خصوص در سایر محصولات گیاهی می‌توان نتیجه گرفت که با انجام تخمیر و مدیریت زمان این عمل و همچنین با انجام برخی فرآیندها و تیمارهای ساده و از طرفی با بهینه کردن شرایط آماده‌سازی و تخمیر از قبیل دما و زمان، می‌توان محصولی ایمن از نظر ویژگی‌های شیمیایی و با کیفیت بالاتر تولید کرد که همواره باعث تضمین سلامتی نیز می‌گردد. همچنین نشان داده شده است که عملیات آماده‌سازی در تولید زیتون تخمیری توانایی بالاتری نسبت به خود فرآیند تخمیر در کاهش باقی‌مانده سموم دارد. علاوه بر تمامی روشهای مورد آزمایش در این مطالعه، میتوان از سایر

تلقیح شده باکتری‌های آغازگر از رشد باکتری‌های لاکتیکی وحشی به ویژه کوکسی‌های لاکتیکی جلوگیری می‌کنند و این باعث می‌شود که دیرتر به حداکثر میزان خود برسند [۴۸].

میزان نمک در طی مراحل آماده‌سازی تقریباً ثابت بوده و با شیب ملایمی کاهش پیدا می‌کند ولی بعد از مرحله تلقیح زدایی و در روز اول تخمیر میزان آن به صورت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) افزایش پیدا کرده و به ۹۲/۲٪ رسید که در روز دهم مقداری کاهش نشان داد ولی در انتهای تخمیر میزان آن با شیب تندتری کاهش پیدا کرد و به حدود ۱/۲۲٪ رسید. ممکن است که در اوایل تخمیر هنوز فرصت کافی برای نفوذ نمک به داخل بافت وجود نداشته باشد ولی سپس کم‌کم نفوذ آن به داخل بافت در اثر کاهش فشار دیواره میوه افزایش می‌یابد، البته با توجه به بالا بودن فشار اسمزی در اوایل تخمیر و گرادایان غلظت نمک انتظار می‌رفت که شیب کاهش میزان نمک در محیط اطراف میوه‌ها بیش‌تر باشد. نتایج آماری نشان داد که ضرایب همبستگی نمک و pH مثبت ولی ناقص است بدین معنی که ارتباط و تأثیر آن‌ها در مرحله قبل و بعد از تخمیر بر روی هم‌دیگر زیاد است و البته تخمیر اثر بیش‌تری بر روی آن‌ها دارد. تأثیر تخمیر بر اسیدیته، pH و نمک معنی‌دار است، اگرچه ضریب همبستگی اسیدیته منفی بود. نشان داده شده است که با افزایش غلظت اسید استیک و نمک در شست‌وشوی میوه‌ها میزان سموم باقیمانده در آن‌ها کاهش پیدا کرده‌اند [۲۷]. در پژوهشی نشان داده شد که سطح نمک در زیتون‌های تولیدی در یک بازه زمانی ۱۶۰ روزه از ۴٪ تا ۶٪ متفاوت بوده و در اوایل تخمیر میزان آن کاهش و سپس به یک ثبات نسبی رسیده است (سلامی و همکاران، ۱۳۹۰). دلیل عدم ثبات میزان نمک در این تحقیق ممکن است به کوتاه بودن زمان تخمیر مربوط باشد. به‌طور کلی میزان اسیدیته، pH و نمک مطابق استاندارد شماره ۹۸۷، بایستی به ترتیب برابر با حداقل ۰/۴٪، حداکثر ۴/۳ و حداکثر ۰/۵ باشد [۲۰] و نتایج آماری نشان می‌دهد که میانگین اسیدیته و pH در این تحقیق به دلیل کم بودن زمان ارزیابی تحقیق، مطابق با استاندارد نبوده است و باید این پارامترها تا پایان زمان تولید ارزیابی شوند.

## ۴-۳- کپک و مخمر

نتایج آماری نشان داد که کپک‌ها در اوایل به میزان خیلی کمی وجود داشته‌اند ولی بعد از مرحله اسپری کردن سم، دیده نشدند که می‌تواند به دلیل مناسب نبودن شرایط محیطی باشد.

- [3] Radha, T., and Mathew, L. (2007). Fruit crops. New India Publishing; pp. 256-257.
- [4] Hakme, E., Lozano, A., Ferrer, C., Díaz-Galiano, F. J., Fern, A. R. and de Alba, Z. (2018). Analysis of pesticide residues in olive oil and other vegetable oils. Trends in Analytical Chemistry, 100, 167-179.
- [5] Mirmansouri A. (1997). Olive. Agricultural education. Karaj Press; p. 108 [in Persian].
- [6] Yada, S., Harris, L. J., York, G., and Vaughn, R. (2007). Olives: safe methods for home pickling. University of California.
- [7] Tura, D., Gigliotti, C., Pedo, S., Failla, O., Bassi, D., and Serraiocco, A. (2007). Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*olea Europea L.*) and correlations with oxidative stability. Sci Hort, 112, 108-119.
- [8] Morowati, M., Azadvar, M. (2013). Determination of Diazonin residue levels and preharvest intervals in green house cucumbers in Jiroft. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 2(1), 29-36. [In Persian].
- [9] Hadian, Z., Azizi, M. H., and Ferdosi, R. (2006). Determination of chlorinated pesticide residues in vegetables by gas chromatography/mass spectrometry. Food science and technology, 3(1), 67-74.
- [10] Iranian national standard organization. (2016). Pesticides- maximum residue limit of pesticides- tropical and subtropical fruits. 13118.
- [11] Baratian Ghorghi, Z., Sadeghi Mahoonak, A. R., Ghorbani, M., Shaeghi, M. (2014). Journal of food science and technology, 46 (12), 177-186.
- [12] Kiritsakis. A., and Markatis, P. (1987). Olive Oil: A review. Advances in Food Research, 31, 453-482.
- [13] Borcakli, M., Ozay, G., Alperden, L. (1993). Fermentation of Turkish olives with traditional and aerated systems, In: Food flavours, ingredients, and composition. Elsevier Science Publisher. B.V. Charalambous, 265-277.
- [14] Esamili, T., Emam, Z, D., Ahadi, A, M., Shahanipoor, K., and Shafiqhi, M. (2012). Enumeration of *Lactobacillus Plantarum* extracted from olive with PCR-RFLP method. Microbiological biotechnology, 12 (4), 22-27.
- [15] Kaushik, G., Satya, S., and Naik, S. N. (2008). Food processing a tool to pesticide residue dissipation- A review. Food Research International, 42(1), 26-40.

روشها که در بخش بحث به آنها اشاره شد استفاده کرد. با توجه به حذف کم مالاتیون در روشهای مورد استفاده در این پژوهش از حرارت نیز، با توجه به اینکه تاثیر مستقیمی بر تجزیه و حذف مالاتیون دارد (مثال: حذف کامل مالاتیون در گوجه فرنگی) می توان استفاده کرد. از طرفی در استفاده از حرارت باید به این نکته توجه کرد که باید از دمایی استفاده شود که در عین حال که حداکثر اثر نابودی بر مالاتیون را دارد، حداقل اثر تخریبی بر کیفیت بافت، حسی و تغذیه ای زیتونها را داشته باشد. البته باید این نکته را در نظر گرفت که فرآیند تخمیر به خودی خود، تا حدی باعث نرم شدن بافت زیتونها می شود و این نوع زیتون بیشتر مورد قبول و مصرف مردم است در نتیجه می توان از حرارت نیز برای حذف بیشتر مالاتیون و رسیدن به نتیجه ای مطلوب تر استفاده کرد.

#### ۶- پیشنهادات

با توجه به اثر حرارت روی تجزیه سموم آفت کش، به خصوص مالاتیون که یکی از دو سم مورد بررسی در این پژوهش بود، می توان در جهت رسیدن به درجه حرارت اپتیمم جهت تیمار حرارتی در ترکیب با سایر روشها استفاده کرد. البته باید در نظر گرفت که این دما، دمایی باشد که علاوه بر داشتن حداکثر اثر نابودی بر مالاتیون، حداقل اثر تخریبی بر کیفیت بافت، حسی و تغذیه ای زیتونها را داشته باشد.

#### ۷- تقدیر و تشکر

این تحقیق با حمایت های مالی و آزمایشگاهی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا و دانشکده صنایع غذایی بهار و با مشارکت کارخانه ی صنایع غذایی سحر همدان انجام شده است. نویسندگان لازم می دانند از موسسات فوق مراتب قدردانی خود را اعلام نمایند.

#### ۸- منابع

- [1] Iranian national standard organization. (2013). Iran good agricultural practices, (Iran GAP) - Olive. 16542.
- [2] Fernandez, A. G., Fernandez Diez, M. J., and Adams, M. R. (1997). Table olives: Production and processing. Chapman & Hall, London, UK. pp: 495.

- 17th Plant Protection Congress, Tehran, Vol. 1, Pests, pp. 147 (In Farsi).
- [26] Holland, P. T., Hamilton, D., Ohlin, B., and Skidmore, M. W. (1994). Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products. IUPAC Reports on Pesticides (31). Pure and Applied Chemistry, 66 (2), 335-356.
- [27] Soliman, K. M. (2001). Changes in concentration of pesticide residues in potatoes during washing and preparation. Food and Chemical Toxicology, 39, 887-891.
- [28] Uysal, P. C., and Arsan, B. (2006). Fate of Endosulfan and Deltamethrin residues during tomato paste production. Journal of Central European Agriculture, 7 (2), 343-348.
- [29] Dejonckhere, W., Steurbaut, W., Drieghe, S., Verstraeten, R., and Braeckman, H. (1996). Pesticide residue concentrations in the Belgian total diet 1991-1993. Journal of Association of Official Analytical Chemists of AOAC international, 79 (2), 520-528.
- [30] Cabras, P., Angioni, A., Garau, V. L., Melis, M., Pirisi, F. M., Karim, M., and Minelli, E. V. (1997). Persistence of insecticide residues in olives and olive oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 2244-2247.
- [31] Noohi, V., Keramat, J., and Shahedi, M. (2011). Reduction of Methalaxyl residue during pickled cucumber. 20<sup>th</sup> national congress of food science. Sharif university.
- [32] Chin, H. B. (1997). The effect of processing on pesticide residues in processed fruits and vegetables. Book of Abstracts, 213th ACS National Meeting. San Francisco, 189p.
- [33] Hasan Zadeh, N., Bahramifar, N., and Mokhtari, H. (2010). Ethion pesticide residue and its reduction by different methods in cucumber. Journal of plant protection, 24 (1), 29-34.
- [34] Balinova, A. M., Mladenova, R. I. and Shtereva, D. D. (2006). Effects of processing on pesticide residues in peaches intended for baby food. Food Addit. Contam, 23, 895-901.
- [35] Beena, K. (2008). Effects of household processing on reduction of pesticide residues in vegetables. J. Agr. Biol Sci, 3, 46-51.
- [36] Brouwer, D. H., De Haan, M., Leenheers, L. H., De Vreede, S. A.F., Van Hemmen, J. J. (1997). Half-lives of pesticides on greenhouse crops. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58, 976-984.
- [37] Salahi, A., Morowati, M., Entesari, M. (2013). Determination of Endosulfan and Diazinon residue levels in tomato and
- [16] Keikotlhaile, B. M., Spanoghe, P., and Steurbaut, W. (2009). Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: A meta-analysis approach. Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 48(1), 1-6.
- [17] Martinez N., Gassan H., Casanova, M. S. (2009). Elimination of pesticide residues from virgin olive oil by ultraviolet light: Preliminary results. Journal of Hazardous Materials, 168, 555-559.
- [18] Iranian national standard organization. (2006). Pesticides- determination of residues in agricultural and veterinary products-methods sampling. 1<sup>st</sup> edition, 8366.
- [19] Iranian national standard organization. (1987). Analytical methods for determination of phosphorus and chlorine pesticides residues in food and agricultural crops. 1<sup>st</sup> edition, 2664.
- [20] Iranian national standard organization. (2016). Table olive oil in brine- specifications and test methods. 5<sup>th</sup> revision, 987.
- [21] Iranian national standard organization. (2006). Microbiology of food and animal feeding stuffs- preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, part 1: general rules for the preparation of initial suspension and decimal dilutions. 1<sup>st</sup> edition, 8923-1.
- [22] Iranian national standard organization. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs- horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds- part 2: colony count technique in products with water activity less than or equal to 0.95. 1<sup>st</sup> edition, 10899-2.
- [23] Dehghan Sekachaie, A., Ghorbani, M., Shokrzadeh, M., Maghsoudlou, Y., and Babaee, Z. (2011). The effect of conventional processes on residual content of Malathion in cucumber fruit. Electronic journal of food processing and preservation, 2 (2), 1-15.
- [24] Hasan Zadeh, N., Bahramifar, N., and Esmaili Sari, A. (2008). Pesticides residues in food stuffs (Fruits and vegetables) as critical anti-health for consumers. 18<sup>th</sup> national congress of food science and technology, Mashhad, Iran.
- [25] Imani, S., Talebi, K., Shojaei, M., Kamali, K. (2006). Multi-residue determination of eight types of pesticides used on greenhouse cucumber and Tomato. Proceedings of the

- resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1562, 27-35.
- [45] Razzaghi, N., Ziarati, P., Rastegar, H., Shoeibi, S., Amirahmadi, M., Conti, G. O., Ferrante, M., Fakhri, Y., Mousavi Khaneghah, A. (2018). The concentration and probabilistic health risk assessment of pesticide residues in commercially available olive oils in Iran. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 32-40.
- [46] Rizzeti, M., Kemmerich, M., Martins, M. L., Prestes, O. D., Adaime, M. B., and Zanella, R. (2016). Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC-MS/MS. *Food chemistry*, 196, 25-33.
- [47] Calvo, H., Redondob, D., Remóna, S., María, E., Venturinia Ariasc, E. (2019). Efficacy of electrolyzed water, chlorine dioxide and photocatalysis for disinfection and removal of pesticide residues from stone fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 148, 22-31.
- [48] Salami, F., Rashedi, M., Mahdian Naser, M. (2011). Use of lactobacillus plantarum starter culture during green olive fermentation processing with aerated condition. *Journal of food science and technology*, 8(28), 99-106.
- [49] Garcia Garcia, P., and Dura Quintana (1985). Fermentacion de aceitunas negras maduras en salmuera. *Grasas y Aceites* 36, 14-20.
- [50] Todar K. (2010). textbook of bacteriology. MadisonWiscons. Available from: [http://textbookofbacteriology.net/lactics\\_1.html](http://textbookofbacteriology.net/lactics_1.html).
- cucumber in Kohgiloye and Boyer Ahmad province. *Genetic Engineering and Biosafety*, 1(2), 113- 120. (In Farsi).
- [38] Yadegarian, L. (2000). Diazinon residue levels and its pre-harvest interval in onion and Spring onion. Final project report, Iranian Research Institute of Plant Protection. (In Farsi).
- [39] Prodhan, M. D. H., Akon, M. W., and Alam, S. N. (2018). Determination of pre-harvest interval for Quinalphos, Malathion, Diazinon and Cypermethrin in major vegetables. *Journal of environmental and analytical toxicology*. 8(1), 553.
- [40] Weinzierl, R. (2000). Insect pest management for commercial vegetable crops, Illinois agricultural pest management handbook, Department of crop sciences, Illinois.
- [41] Torres, C. M., Pico, Y., Marin, R., and Manes, J. (1997). Evaluation of organophosphorus pesticide residues in citrus fruits from the Valencia Community (Spain). *J. of AOAC International*, 80, 1122-1128.
- [42] Romeh, A. A., Mekky, T. M., Ramadan, R. A., Hendawi, M. Y. (2009). Dissipation of Profenophos, Imidacloprid and Propiconazole in tomato fruits and products. *Bull Environment Contam Toxicology*, 83(6), pp. 812-817.
- [43] Abou Arab, A. A. K. (1999). Behavior of pesticide in tomatoes during commercial and home preparation. *Food Chemistry*, 65, 509-514.
- [44] Moreno-González, D., Alcántara-Durána, J., Silvina, M. A. (2018). Multi-residue pesticide analysis in virgin olive oil by nanoflow liquid chromatography high



## The evaluation of Malathion and Diazinon residues in pickled olive during preparation and production.

Karami, M. <sup>1\*</sup>, Pashayi, S. <sup>2</sup>, Esmaili, R. <sup>3</sup>

1. Faculty Member of Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan.

2. M.Sc. of Food Science and Technology, Islamic Azad University of Sanandaj, Sanandaj.

3. M.Sc. student of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamedan.

(Received: 2018/08/19 Accepted:2019/01/29)

The use of chemical compounds is a very simple and effective way to protect agricultural products, against pests. Increasing the unplanned use of these pesticides is a concern because the pesticides residue in fruits and vegetables can lead to very dangerous side effects in humans. Olive is one of the most useful and consuming fruits in the Iranian community that can be used as pickled olive. Therefore, in this study, fermentation ability to reduce residues of two commonly used pesticides, Malathion and Diazinon studied, and their changes due to product acidity, pH and salt content during the preparation and fermentation processes were measured. The results showed that washing and debittering operations reduced Malathion and Diazinon to 73.59 and 93.38%, respectively. However, after 20 days fermentation, their reduction was 63.68% and 69.57%, and after 40 days, at the end of production, this decrease was approximately 90.5% and 97.98%, respectively. The residue of Malathion pesticide was significantly different in fermentation days; 1, 10 and 20 ( $P<0.05$ ), while the mean value for Diazinon was not significant. Overall, the results showed that the fermentation process had a significant effect on Malathion residue ( $P<0.05$ ) but did not affect Diazinon residue. Also, fermentation had a significant effect on the percentage of salt, pH and acidity ( $P<0.05$ ). At the end of the fermentation process, no mold growth was observed, but the yeast grow was showed (CFU/g 1450), much lower than the number that could affect the quality of the product. Generally, the fermentation process effectively reduced the amount of residual pesticides, and the operations carried out in the production of pickled olives are more effective to reduce the amount of pesticide residues than the fermentation process itself. It seems that the fermentation ability to reduce of pesticides depends on the type of pesticides, the duration of fermentation and other environmental conditions.

**Keywords:** Fermentation, Food, Fruits, Pesticides, Vegetables

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: mkarami@basu.ac.ir