بررسی تجزیه میکروبی حشره کش توکسافن در رسوبات آبهای شیرین

دکتر سیدقوام میرستاری *

چکیده:

سابقه و هدف : توکسافن از جمله حشره کش های آلی کلردار است که به دلیل تجمع زیستی و تغلیظ در زنجیره غذایی به عنوان یکی از آلاینده های خطرناک محیط زیست شناخته شده است. در این مطالعه تجزیه توکسافن در رسوبات آبهای شیرین توسط میکروارگانیسم هایی که با منابع مختلف انرژی تغذیه می شدند مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار : مطالعه به مدت ۶۰ روز در چهار بخش با غلظت های متفاوت توکسافن در محیط استریل و غیر استریل با روش غرقاب در آزمایشگاه انجام شد. هر بخش شامل سه نمونه : رسوبات تقویت نشده ، رسوبات تقویت شده با پودر یونجه و رسوبات تقویت شده با نوترینت براس بود. در فواصل معین زمانی یک لوله از هر بخش از نمونه ها انتخاب و پس از استخراج باقیمانده توکسافن با روش گاز کروماتوگرافی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج : در نمونه های استریل شده ، صرف نظر از نوع منبع انرژی و غلظت توکسافن ، هیچگونه نشانه ای دال بر تجزیه توکسافن مشاهده نشد. در حالیکه در کلیه نمونه های استریل نشده توکسافن تجزیه شده و ترتیب کلی افزایش سرعت تجزیه در نمونه ها به ترتیب عبارت بود از : رسوبات تقویت نشده ، رسوبات تقویت شده با نوترینت براس و رسوبات تقویت شده با پودر یونجه .

نتیجه نهائی : نتایج بدست آمده نشان داد که توکسافن در رسوبات آبهای شیرین از طریق روند بیولوژیک تجزیه می گردد و منبع انرژی برای میکروارگانیسم ها موجب تسریع در روند تجزیه می گردد.

کلید واژه ها: توکسافن ـ تجزیه / رسوبات / میکرو ارگانیسمها

مقدمه:

مصرف گسترده حشره کش های آلی کلردار در طول چند دهه گذشته موجب آلودگی اجزای بیوسفر شامل آبهای سطحی ، آبهای زیرزمینی ، رسوبات ، خاک ، هوا ، پرندگان ، ماهی ها ، انسان ، گیاهان و بسیاری از موجودات زنده دیگر گردیده است (۳-۱). این گروه از حشره کش ها به دلیل داشتن اثرات سمی گوناگون از جمله سرطان زایی ، ایجاد ناهنجاریهای مادرزادی ، اختلال در تولید مثل ، نارسایی در سیستم آنزیمی و سمیت کبدی در انسان و جانوران (۶-۴) و نیز به دلیل پایداری در محیط ، تجمع زیستی و تغلیظ در زنجیره غذایی به عنوان یک گروه مهم از آلاینده های محیط

* استادیار گروه بهداشت حرفه ای دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

زیست شناخته می شوند که می توانند سلامت همگانی را به مخاطره اندازند (۷،۸). توکسافن از پرمصرف ترین این گروه حشره کش ها می باشد که سالیانه میلیون ها کیلوگرم از آن در سرتاسر دنیا از جمله شمال ایران بر روی بیش از ۷۰ محصول کشاورزی و بر علیه بیش از ۲۰۰ گونه مختلف آفت مصرف می گردید. امروزه ، به رغم ممنوعیت مصرف ، هنوز همانندD.D.T و PCBs و دیگر ترکیبات آلی کلر دار یکی از آلاینده های مهم جهانی محسوب می گردد ، بنحوی که حتی در آب باران و شیر انسان نیز دیده شده است (۱،۹). این حشره کش توسط کمیته محیط زیست سازمان ملل متحد به عنوان یکی از ۱۲ ترکیب شیمیایی شناخته شده که از خطرناکترین آلاینده های آلی محیط بوده و نیاز به توجه خاص دارد معرفی شده است (۵). توکسافن یک ترکیب شیمیایی ساده نبوده بلکه مخلوطی است از حدود ۸۰۰ ترکیب شیمیایی مختلف که دوام و سمیت آنها متفاوت بوده و تنها در شرایط محیطی معینی تجزیه می شوند (۱۰،۱۱).

به رغم اینکه حشره کش های آلی کلر دار از جمله توکسافن به عنوان آلاینده های پایدار محیط در نظر گرفته می شوند و نیمه ـ عمر آنها در برخی شرایط ممکن است به دهها سال برسد ، برخی میکروارگانیسم ها در شرایط مناسب قادر به تجزیه آنها بوده و ممکن است در شرایط بی هوازی نظیر لجن فاضلاب ، رسوبات رودخانه ها و دریاچه ها و خاک غرقاب مزارع نیمه ـ عمر آنها به چند روز برسد(۵،۱۲).

هدف از این مطالعه بررسی امکان تجزیه توکسافن در رسوبات آبهای شیرین و اثر منابع مختلف انرژی برای میکروارگانیسم ها بر روند تجزیه می باشد.

مواد و روش کار :

مواد : ۱- رسوبات شامل ، شن ۴۸/۹۵ درصد ، سیلت ۲۳/۴ درصد ، رس ۲۷/۶۵ درصد ، مواد آلی ۰/۸۵ درصد با pH=۷/۸ از قشر ۱۰ سانتی متری سطح رسوبات کانال آبیاری مزرعه پنبه کاری تهیه گردید. رسوبات که به علت آلودگی محیط حاوی ۰/۹ ppm باقیمانده توکسافن بود پس از خشک شدن در هوا بصورت پودر با قطر ذرات کمتر از ۲ میلی متر آماده گردید. ۲- پودر یونجه شامل ازت ۲۵ درصد و کربن آلی ۴۰ درصد با آسیاب کردن یونجه خشک و عبور آن از .لک ۴۰ مش آماده گردید. ۳- نوترینت براس (Bacto nutrient broth dehydrated) از لابراتوار دیفکو شهر دترویت میشگان آمریکا تهیه شد. ۴- توکسافن تکنیکال ، از شرکت هرکولس آمریکا تهیه گردید.

روش : در این بررسی روند تجزیه توکسافن در رسوبات آبهای شیرین در شرایط غرقاب در داخل لوله های آزمایش (۲۰۰×۲۵ میلی متر) در چهار بخش که هر کدام شامل سه نمونه بود به شرح زیر مورد مطالعه قرار گرفت :

بخش اول ، در این بخش لوله های محتوی ۲۰ گرم مواد رسوبی حاوی ۰/۹ ppm باقیمانده اولیه توکسافن به سه گروه شامل لوله های حاوی مواد رسوبی تقویت نشده ، لوله های تقویت شده با ۰/۲ گرم پودر یونجه ، بر پایه ۱ درصد وزن خشک مواد رسوبی و لوله های تقویت شده با ۱/۲۵ گرم نوترینت براس ، بر پایه ۵ درصد آب اضافه شده (۲۵ میلی لیتر) تقسیم شدند. بخش دوم ، نمونه های

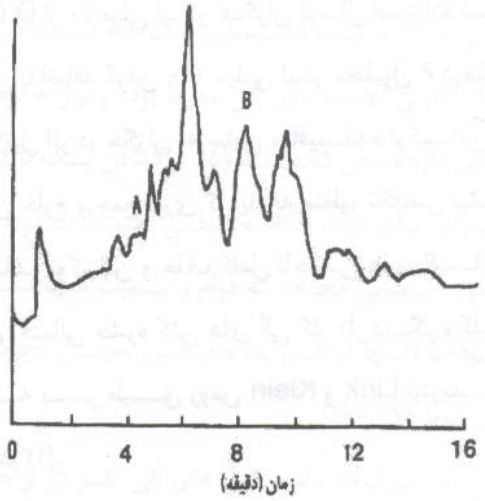
این بخش مانند بخش اول تهیه گردید ، با این تفاوت که کلیه نمونه ها در اتوکلاو (در فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع و ۱۲۱ درجه سانتیگراد) برای سه دوره یک ساعته با فاصله ۲۴ ساعت استریل شدند. بخش سوم ، نمونه های این بخش مانند بخش اول تهیه گردید با این تفاوت که به رسوبات هر لوله علاوه بر ۰/۹ ppm باقیمانده اولیه توکسافن مقدار ۰/۲ میلی گرم توکسافن بازای هر ۲۰ گرم رسوبات اضافه شد. لذا ، غلظت نهایی توکسافن در این نمونه ها ۱۰/۹ ppm بر حسب وزن خشک گردید. بخش چهارم ، نمونه های این بخش مانند بخش سوم تهیه و همانند بخش دوم استریل گردید. شرایط غرقاب و در نتیجه محیط بی هوازی با افزودن مقدار ۲۵ میلی لیتر آب مقطر استریل شده به هر لوله برقرار گردید. دهانه کلیه لوله ها با یک قطعه اسفنج مسدود شد. آزمایش برای مدت ۶۰ روز در ۲۵ درجه سانتیگراد ادامه یافت. در فواصل زمانی ۱۰ ، ۲۰ ، ۴۰ و ۶۰ روز یک لوله از هر نمونه انتخاب و باقیمانده توکسافن در آن با استفاده از روش گاز کروماتوگرافی مورد تجزیه قرار گرفت. یک سری از لوله ها حاوی مواد رسوبی استریل شده بخش دوم و چهارم ۶۰ روز بعد از شروع آزمایش با افزودن یک میلی لیتر از سوسپانسیون ۱ درصد مواد رسوبی در آب تلقیح و روند تجزیه توکسافن در آنها نیز به همان شیوه قبلی بررسی شد.

روش استخراج توکسافن از رسوبات : باقیمانده هر نمونه با استفاده از ۳۵۰ میلی لیتر مخلوط ایزوپروپیل و بنزن به نسبت حجمی ۲ و ۱ و برای مدت ۲۴ ساعت در دستگاه سوکسله استخراج و پس از عبور از Na_2So_4 بی آب و خشک شدن در دستگاه خلاء دوار آماده تخلیص شد. برای تخلیص نمونه ها از ستون جاذب فلوریسیل (۱۱۰×۲۰ میلی لیتر مجهز به مخزن ۱۵۰ میلی لیتر) حاوی ۲۵ میلی لیتر فلوریسیل (۱۰۰-۶۰ مش فعال شده در ۱۳۰ درجه سانتیگراد برای مدت حداقل ۲۴ ساعت) و یک سانتی متر Na_2So_4 بی آب استفاده گردید. پس از شستشوی ستون با ۵۰ میلی لیتر هگزان نرمال باقیمانده استخراج و تغلیظ شده با استفاده از ۱۵ میلی لیتر هگزان توسط پی پت یکبار مصرف به ستون منتقل گردید. برای جداسازی بیشتر ناخالصی ها ، از جمله حشره کش های آلی کلر دار دیگر نظیر D.D.T و D.D.E از ۳۰ میلی لیتر هگزان نرمال استفاده شد. سپس با اضافه کردن ۱۲۰ میلی لیتر محلول ۶ درصد دی اتیل اتر در هگزان به ستون ، باقیمانده توکسافن از ستون خارج و جمع آوری گردید. به منظور تخلیص بیشتر باقیمانده توکسافن و حذف کامل ناخالصی ها و باقیمانده های احتمالی حشره کش های آلی کلر دار دیگر ، کلیه نمونه بر طبق روش Klein و Link نیتریفیه شدند(۱۳).

دستگاه مورد استفاده : برای تجزیه نمونه ها از دستگاه کروماتوگراف گاز مایع Varian model 66LB ساخت شرکت واریان آمریکا مجهز به دتکتور Dohrmann microcoulometric model C200C در مداکسیداتیو برای یون کلر باسل مدل T300 که گاز سوزاننده آن اکسیژن به همراه ازت بود استفاده شد. گاز حامل این دستگاه ازت می باشد. کروماتوگرام توکسافن تکنیکال حاصل از این دستگاه در شکل یک دیده میشود.

شاخص تجزیه توکسافن : در جریان تجزیه میکروبی

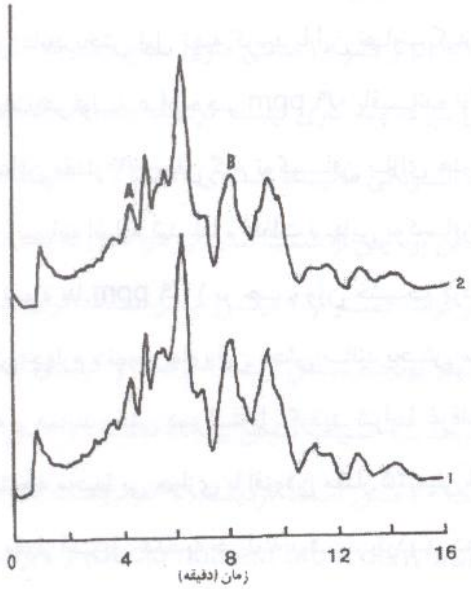
توکسافن در خاک در شرایط آزمایشگاهی و همچنین در شرایط طبیعی پیک های دیرهنگام گاز کروماتوگرام توکسافن بتدریج ناپدید می شوند ، در صورتی که ارتفاع بعضی از پیک های زود هنگام افزایش می یابد(۱۴). در اینجا یکی از پیک هایی که افزایش ارتفاع آن مشهود است به عنوان پیک A و یکی از پیک هایی که در اثر تجزیه بتدریج ناپدید می شود به عنوان پیک B مشخص گردید (شکل ۱). نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیک B به عنوان شاخص تجزیه توکسافن در رسوبات در نظر گرفته شد.



شکل ۱ : گاز کروماتوگرام توکسافن استاندارد

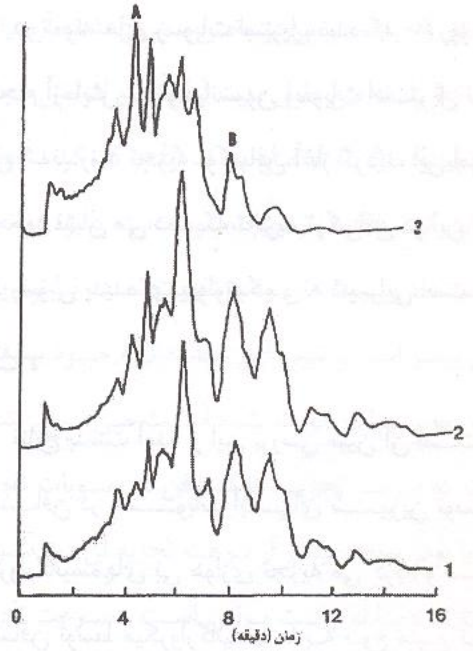
نتایج :

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در کلیه نمونه های استریل شده شامل نمونه های بخش دوم و چهارم گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن پس از ۶۰ روز بدون تغییر باقی ماند. به عبارتی در نمونه های مواد رسوبی استریل شده ، صرف نظر از غلظت توکسافن و وجود یا عدم وجود منبع انرژی برای میکروارگانیسم ها ، تجزیه توکسافن مشاهده نشد (شکل ۲).

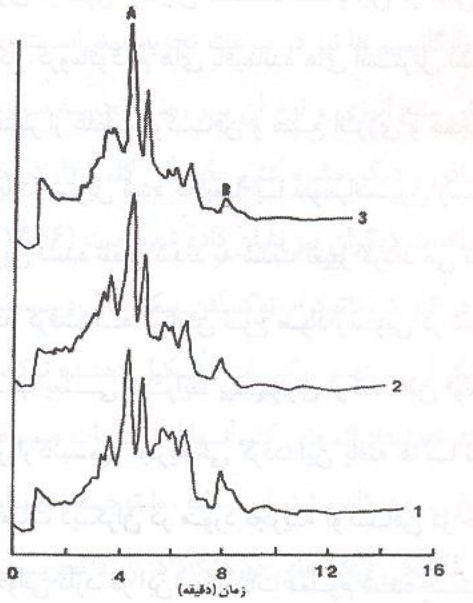


شکل ۲ : گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن در رسوبات استریل شده حاوی ۱۰/۹ ppm توکسافن و تقویت شده با پودر یونجه ۱- در نخستین روز شروع آزمایش (۱۸۲ng) ۲- ۶۰ روز پس از شروع آزمایش (۱۶۲ ng)

در کلیه نمونه های رسوبات استریل نشده شامل نمونه های بخش اول و سوم ، صرفنظر از غلظت توکسافن و منبع انرژی ، تجزیه توکسافن پس از شروع آزمایش آغاز گردید و ارتفاع پیک های زود هنگام کروماتوگرام های باقیمانده توکسافن به تدریج افزایش یافت. کروماتوگرام های باقیمانده توکسافن در رسوبات استریل نشده و تقویت شده با پودر یونجه در نخستین روز ازمایش و همچنین ۱۰ ، ۲۰ ، ۴۰ و ۶۰ روز پس از شروع آزمایش در شکلهای ۳و۴ مشاهده می شود.



شکل ۳ : گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن در رسوبات استریل نشده حاوی ۱۰/۹ ppm توکسافن و تقویت شده با پودر یونجه ۱- توکسافن استاندارد (۱۷۵ ng) ۲- در نخستین روز شروع آزمایش (۱۸۲ ng) ۳- ۱۰ روز پس از شروع آزمایش(۱۳٤ ng)



شکل ٤ : گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن در رسوبات استریل نشده حاوی ۱۰/۹ ppm توکسافن و تقویت شده با پودر یونجه ۱- ۲۰ روز بعد از شروع آزمایش (۱٤۲ng) ۲- ٤۰ روز پس از شروع آزمایش (۹۲ng) ۳- ٦۰ روز پس از شروع آزمایش (۹۷/٥ ng)

همانگونه که در قسمت روش کار گفته شد نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیک B در گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن به عنوان شاخص تجزیه توکسافن در رسوب در نظر گرفته شده است. جداول ۱ و ۲ این نسبتها را برای کلیه نمونه های دو بخش استریل نشده بخش اول و سوم نشان می دهند.

جدول ۱ : نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیک B در گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن در رسوبات حاوی ۰/۹ ppm باقیمانده اولیه توکسافن و تقویت شده با منابع مختلف انرژی برای میکروارگانیسم ها

	نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیکB در طول آزمایش				
منبع انرژی	۰	۱۰	۲۰	۴۰	۶۰*
پودر یونجه	۳/۴۹	۴/۰۸	۵/۷۵	۸/۶۰	۱۱/۹۸
نوترینت براس	۳/۴۷	۴/۷۷	۵/۱۳	۶/۵۳	۷/۶۴
بدون تقویت	۳/۴۷	۳/۹۸	۴/۰۲	۵/۸۹	۶/۶

*** روز پس از شروع آزمایش**

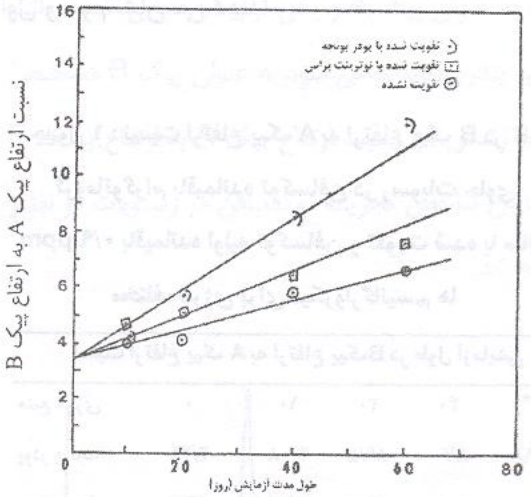
جدول ۲ : نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیک B در گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن در رسوبات حاوی ۱۰/۹ ppm توکسافن و تقویت شده با منابع مختلف انرژی برای میکروارگانیسم ها

	نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیکB در طول آزمایش				
منبع انرژی	۰	۱۰	۲۰	۴۰	۶۰*
پودر یونجه	۰/۶۶	۲/۶۵	۳/۹۷	۶/۹۹	۹/۷۲
نوترینت براس	۰/۵۴	۲/۰۲	۲/۸۳	۵/۰۰	۷/۴۶
بدون تقویت	۰/۶۵	۱/۵۷	۲/۵۶	۴/۱۳	۶/۰۳

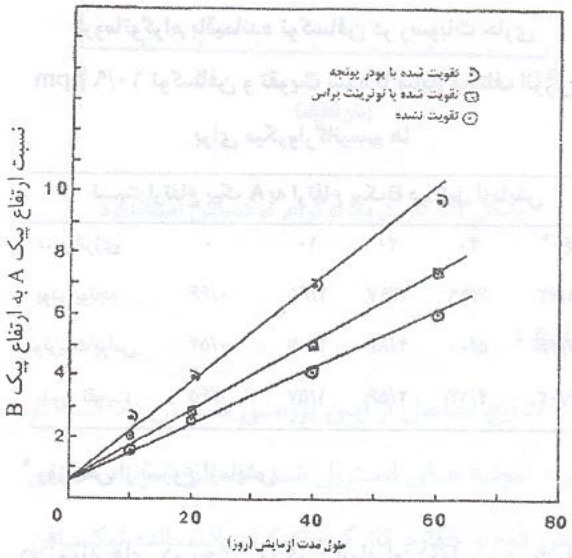
*** روز پس از شروع آزمایش**

در نمونه های دو بخش مذکور رابطه ای خطی بین طول مدت آزمایش و افزایش نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیک B مشاهده شد (شکل ۵،۶).

به علاوه ، در نمونه های هر دوبخش شیب خط مربوط به رسوبات تقویت شده با پودر یونجه بیشتر از شیب خط مربوط به رسوبات تقویت شده با نوترینت براس است و شیب این خط به نوبه خود از شیب خط رسوبات تقویت نشده بهتر است.



شکل ۵ : نمودار نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیک B در طول مدت آزمایش در گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن در مواد رسوبی استریل نشده حاوی ۰/۹ ppm باقیمانده اولیه توکسافن



شکل ٦ : نمودار نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیک B در طول مدت آزمایش در گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن در مواد رسوبی استریل نشده حاوی ۱۰/۹ ppm توکسافن

در نمونه های رسوبات استریل شده که ۶۰ روز بعد از انجام آزمایش با سوسپانسیون رسوبات استریل نشده تلقیح شدند روند تجزیه توکسافن آغاز گردید. این امر به نوبه خود نشان می دهد که تجزیه توکسافن در این نوع مواد رسوبی پدیده ای بیولوژیک و نه شیمیایی است.

بحث :

نتایج بدست آمده از این بررسی مبین آن است که توکسافن در رسوبات آبهای شیرین توسط میکروارگانیسمهای بی هوازی تجزیه می گردد و سرعت توکسافن توسط میکروارگانیسم ها به نوع منبع تأمین انرژی برای آنها بستگی دارد.

از آنجا که در گاز کروماتوگرام های باقیمانده های توکسافن در رسوبات استریل شده ، صرفنظر از غلظت توکسافن و وجود یا عدم وجود منبع انرژی ، هیچگونه تغییری در طول آزمایش مشاهده نشد و این در حالی بود که گاز کروماتوگرام های باقیمانده های استریل نشده ، صرفنظر از غلظت توکسافن و منبع انرژی و همچنین رسوبات استریل شده که بعداً با سوسپانسیون رسوبات استریل نشده تلقیح شدند به شدت تغییر کردند می توان نتیجه گرفت که در این نوع مواد رسوبی در شرایط غرقاب یعنی شرایط بیهوازی توکسافن توسط میکروارگانیسمها تجزیه می گردد. این یافته ها با نتایج مطالعات دیگران در مورد تجزیه توکسافن در خاک همخوانی دارد. در این مطالعات معلوم شده است که تجزیه توکسافن در خاک روندی است میکروبی که در شرایط بی هوازی صورت می پذیرد (۱۵). همچنین با گزارش های مربوط به تجزیه سایر حشره کش های کلردار در خاک منطبق است (۱۶).

نظر به اینکه در هر دو بخش استریل نشده آزمایش شیب خط رابطه بین طول مدت آزمایش و افزایش نسبت ارتفاع پیک A به ارتفاع پیک B در گاز کروماتوگرام باقیمانده توکسافن در رسوبات تقویت شده با پودر یونجه از شیب خط مربوط به رسوبات تقویت شده با نوترینت براس بیشتر است و شیب این خط به نوبه خود بیشتر از شیب خط رسوبات تقویت نشده است می توان نتیجه گرفت که سرعت تجزیه توکسافن در رسوبات تقویت شده با پودر یونجه بیشتر از سرعت تجزیه آن در رسوبات تقویت شده با نوترینت براس است و سرعت تجزیه رسوبات تقویت شده با نوترینت براس به نوبه خود بیشتر از سرعت تجزیه در رسوبات تقویت نشده است. بنابراین ، میتوان گفت که افزودن منبع انرژی فعالیت میکروارگانیسم های تجزیه کننده توکسافن در رسوبات را افزایش می دهد و نوع منبع تأمین انرژی برای میکروارگانیسم ها نیز در سرعت تجزیه موثر است. تأثیر افزایش منبع انرژی و نوع آن بر روند تجزیه میکروبی توکسافن و دیگر حشره کش های آلی کلر دار در خاک در مطالعات دیگران نیز نشان داده شده است (۱۴،۱۶).

در گاز کروماتوگرام توکسافن پیک های دیر هنگام نمایانگر آن دسته از ترکیبات تشکیل دهنده توکسافن هستند که تعداد اتمهای کلر آنها از ترکیبات مربوط به پیکهای زودهنگام بیشتر است. لذا ، با توجه به ناپدید شدن تدریجی پیک های دیرهنگام در روند تجزیه و افزایش ارتفاع پیک های زودهنگام می توان گفت که تجزیه این حشره کش از طریق روند دکلره و یا دهیدروکلره صورت می پذیرد (۱).

در کل نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که توکسافن در رسوبات آبهای شیرین از طریق روند میکروبی بی هوازی تجزیه می گردد و شرایط غرقاب و افزایش منبع انرژی برای میکروارگانیسم ها محیط موثری برای تجزیه آن فراهم می نماید. لذا ، می توان نتیجه گرفت که مدیریت عملیات آبیاری و بقایای گیاهی می تواند کاربرد عملی در سم زدایی و تجزیه توکسافن در خاک های مناطق آلوده داشته باشد. به علاوه ، می توان گفت که حشره کش های آلی کلر دار که می توانند به هزاران کیلومتر دورتر منتقل شوند ، در محیط باقی بمانند ، موجب آلودگی منابع آبی شوند و ممکن است تجزیه آنها قرنها طول بکشد(۱،۵،۱۷) نباید کاملا" مقاوم به تجزیه میکروبی در نظر گرفته شوند ، بلکه پایداری آنها در محیط به دلیل مهیا نبودن شرایط و میکرواگانیسمهای مناسب برای تجزیه آنها است. بنابراین ، با استفاده از میکروارگانیسم ها و برقراری شرایط مناسب می توان موجبات تجزیه آنها را در محیط فراهم نمود.

امروزه پیشرفتهای شگفت انگیز علم ژنتیک و امکان تولید میکروارگانیسم های جدید از طریق ایجاد جهش میتواند نوید بخش امکان سم زدایی و تجزیه حداقل بخشی از آلاینده های آلی پایدار محیط زیست باشد.

منابع :

1. Saleh MA. Toxaphene : chemistry , biochemistry , toxicity and environmental fate. *Rev Environ Contam Toxicol* 1991; **118**: 1-85.
2. Rought SE , Yau PM , Chuang LF , et al. Effect of the chlorinated hydrocarbons , heptachlor , chlordane , and toxaphene on retionblastoma tumor suppressor in human lymphocytes. *Toxicol Lett* 1999; **104** (1-2):127-135.

3. Adnan A , Turkan Y. Residuse of organochlorine insecticides in water sources of Istanbul. *Water Air Soil Pollution* 1999; **111**: 385-398.
4. Chaudhry GR , Chapalamadugu S. Biodegradation of halogenated organic compounds. *Microbiol Rev* 1991; **55**(1): 59-79.
5. Fisher BE. Most unwanted . *Environ Health Prespect* 1999; **107**(1): A18-23.
6. Ree GE , Payne JF. Effect of toxaphene on reproduction of fish. *Chemosphere* 1997; **34**(4): 855-67.
7. Swackhamer DL , Pearson RF , Schottler SP. *Toxaphene in the Great Lakes*. Chemosphere 1998; (9-12): 2545-61.
8. Whittle DM , Kiriluk RM , Carswell AA , et al. Toxaphene congeners in the Canadian Great Lakes basin : temporal and spatial food web dynamices. *Chemosphere* 2000 ; **49**(9-11): 1221-61.
9. Newsome WH , Rayan JJ. Toxaphene and other chlorinated compounds in human milk from Northern and Southern Canada : A comparison. *Chemosphere* 1999; **39**(3): 519-26.
10. Calciu C , Chan HM , Kubow S . Toxaphene congeners differ from toxaphene mixtures in their dysmorphogenic effects on cultured rat embryos. *Toxicology* 1997; **124**(2): 153-162.
11. Jos PM Vink , Gosse S , Sjoerd EA. Nutrient effects on microbial transformation of pesticides in nitrifying surface waters. *Environ Toxicol* 1999; **14**: 329-338.
12. Buser RH , Haglund P , Muller MD , et al. Rapid anaerobic degradation of toxaphene in sewage . *Chemosphere* 2000; **49**(9-11): 1213-20.
13. Klein AK , Link JD. Elimination of interferences in the determination of toxaphene residues. *J Assoc Offic Anal Chemists* 1970; **50**: 586-591.
14. Mirsatari SG , McCheseny MM , Craigmill AC , et al. Anaerobic microbial dechlorination. An approach to on site treatment of toxaphene contamination soil. *J Environ Sci Health* 1987; **B 22**(6): 663-690.
۱۵. میرستاری س ق. تجزیه میکروبی بی هوازی توکسافن در خاک. هفتمین همایش سم شناسی و مسمومیتها. اصفهان ، اردیبهشت ۱۳۸۱.
16. Parr JF , Willis SH , Smith S. Soil anaerbiosis II , effect of selected environments and energy sources on the degradation of DDT. *Soil Sci* 1970; **110**: 306-312.
17. Fendick EA , Mether-Mihaich E , Houck KA, et al. Ecological toxicology and human health effects of heptachlor. *Rev Environ Contam Toxicol* 1990; **111**: 61-142.