

# دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی  
- پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال پانزدهم -  
شماره 76  
شهریور 1387

وصول: 86/6/24  
پذیرش: 86/8/7

## آنالیز کمی و کیفی مواد دورکننده حشرات با استفاده از متد پیشرفته کروماتوگرافی لایه نازک (HPTLC)

نویسندگان: دکتر مهدی خوبدل<sup>1</sup>، دکتر یونس پناهی\*<sup>2</sup>،  
دکتر منصوره شایقی<sup>3</sup> و دکتر افشین زرقي<sup>4</sup>

1. استادیار مرکز تحقیقات بهداشت‌نظامی، پژوهشکده طب نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)
  2. استادیار مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)
  3. دانشیار گروه حشره‌شناسی پزشکی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
  4. دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی
- \* نویسنده مسئول:

Email: yunespanahi@BMSU.ac.ir

### چکیده

سابقه و هدف: روش پیشرفته کروماتوگرافی لایه نازک (HPTLC) یک متد ارزان قیمت، سریع و آسان نسبت به سایر روش‌های آنالیز مواد است. آنالیز مواد دافع حشرات عموماً به روش کروماتوگرافی گاز (GC) صورت می‌گیرد. در این مطالعه از متد پیشرفته کروماتوگرافی لایه نازک برای تعیین کمی و کیفی همزمان دی‌اتیل‌متاتولوآمید (DEET) و دی‌متیل‌فتالات (DMP) که عناصر اصلی تشکیل‌دهنده بیشتر مواد دورکننده حشرات هستند، استفاده شده است. بنابراین با کمک این روش، سه ماده دورکننده حشرات، شامل پماد سنگر، لوسیون DMP60 و قلم دافع حشرات که همگی در داخل کشور فرمول‌بندی شده‌اند، مورد آنالیز قرار گرفت.

روش بررسی: مقادیر مشخصی از شکل تجاری سه نوع ماده دافع حشرات، شامل پماد سنگر، قلم دافع حشرات و DMP60 در حلال اتیل‌استات حل گردید. سپس از روش پیشرفته کروماتوگرافی لایه نازک برای تعیین میزان و نوع مواد تشکیل‌دهنده دورکننده‌های فوق استفاده شد؛ به طوری که لکه‌گذاری به روش استفاده از غلظت‌های مختلف از مواد استاندارد و نمونه‌های مجهول بر روی صفحات سیلیکاژل (60F<sub>254</sub>) که به‌عنوان فاز ثابت محسوب می‌شوند، انجام شد. برای رشد لکه‌ها از ترکیب فاز بنزن- دی‌اتیل‌اتر- هگزان به ترتیب به نسبت حجمی 50، 30 و 20 درصد به‌عنوان فاز متحرک استفاده گردید. برنامه نرم‌افزاری CATS4 نیز برای اسکن پلیت‌های آماده شده به کار رفت و در نهایت لکه‌ها با لامپ دوتریوم و با نور UV با طول موج 230nm مورد اسکن قرار گرفت.

یافته‌ها: بر طبق یافته‌های حاصل از این مطالعه، نوع مواد دافع موجود در دورکننده لوسیون DMP60، فقط از نوع دی‌متیل‌فتالات به میزان 61/8 گرم در هر 100 cc از لوسیون دافع و در قلم دافع حشرات از نوع DEET به میزان 0/8 ± = (SE 31/3) گرم در هر صد گرم از فرم تجاری ماده دافع است. همچنین مواد مؤثره موجود در ترکیب پماد سنگر ترکیبی از دی‌متیل‌فتالات و DEET به ترتیب به میزان 5/5 (SE = ±0/2) و 25 (SE = ±1) گرم در هر 100 گرم از پماد دافع تعیین گردید. در این بررسی، شاخص R<sub>f</sub> برای دو ماده DMP و DEET به ترتیب 0/71 (±0/02) و 0/32 (±0/02) محاسبه شد. نتیجه‌گیری: متد HPTLC روش بسیار مناسبی برای تعیین کمی و کیفی مواد دورکننده حشرات با ماده مؤثر DEET و DMP است. با توجه به این‌که اکثر مواد دورکننده موجود در داخل کشور دارای ماده مؤثر از این نوع است، تنظیم و راه‌اندازی متد HPTLC برای این منظور می‌تواند حائز اهمیت باشد، زیرا در این روش، علاوه بر کم هزینه بودن و سهولت کار، تشخیص و تعیین دو نوع ماده دافع فوق به‌طور همزمان صورت می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: کروماتوگرافی لایه‌نازک، HPTLC، مواد دافع حشرات، دی‌متیل‌فتالات، دی‌اتیل‌متولوآمید

این مقاله، بخشی از یک پروژه تحقیقاتی است که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج) به انجام رسیده است.

مقدمه

مواد دافع حشرات عمدتاً شامل ترکیبات شیمیایی هستند و برای حفاظت انسان از گزش حشرات و بیماری‌های منتقله به وسیله آنها، بر روی پوست و لباس مورد استفاده قرار می‌گیرد [1]. دو ماده دی‌اتیل‌متاتولوآمید (DEET) و دی‌متیل‌فتالات (DMP) از رایج‌ترین مواد شیمیایی موجود در ساختمان دورکننده‌های حشراتند که به‌تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر و نیز با سایر ترکیبات شیمیایی فرمول‌بندی می‌شوند [2]. این مواد، علاوه بر استفاده گسترده به‌عنوان مواد دورکننده حشرات، کاربردهای فراوان دیگری در صنایع شیمیایی و پلاستک‌سازی، مواد آرایشی و صنایع دیگر دارند [3].

آنالیز کمی و کیفی مواد دافع حشرات، همانند اکثر مواد شیمیایی و سوم حشره‌کش عمدتاً به وسیله روش‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و کروماتوگرافی مایع (HPLC) صورت می‌گیرد [4 و 5] و در موارد محدودی از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) برای تعیین نوع و میزان مواد دورکننده DMP و DEET استفاده شده است [6].

با توجه به این‌که کروماتوگرافی لایه نازک یک روش ارزان قیمت، سریع و آسان نسبت به دو روش HPLC و GC است [7]، بنابراین، تنظیم و راه‌اندازی این روش برای تعیین کیفی و کمی مواد دافع حشرات می‌تواند کارایی فراوان داشته باشد. آنالیز کمی و کیفی مواد دافع حشرات در داخل کشور در موارد محدودی با استفاده از متد کروماتوگرافی گازی صورت گرفته [8] و تاکنون از روش کروماتوگرافی لایه نازک برای این امر استفاده نشده است.

پماد سنگر اولین ماده شیمیایی دافع حشرات است که در داخل کشور فرمول‌بندی شده و در طول سال‌های جنگ تحمیلی به‌ویژه طی سال‌های 64-67 در سطح گسترده مورد استفاده رزمندگان ایران قرار گرفته است [9]. این ماده دافع حشرات، علی‌رغم برخی معایب، رضایت نسبی رزمندگان را در طول سال‌های جنگ جلب کرد، به‌طوری‌که

پماد سنگر پس از جنگ نیز تاکنون مورد استفاده نیروهای نظامی ایران قرار گرفته است [10]. مطالعات انجام گرفته نیز نشان داده که این ماده دافع کارایی نسبتاً خوبی در مقابل کاهش گزش پشه‌ها دارد [11 و 12].

قلم دافع حشرات نیز به شکل ماتیکی (استیک) در سال‌های اخیر در داخل کشور تولید و به بازار عرضه شده است. این دو ماده دافع به همراه لوسیون DMP60 که در داخل کشور سنتز و فرمول‌بندی شده [13]، عمده‌ترین مواد دافع حشرات داخلی هستند.

در مطالعه حاضر سعی شده متد پیشرفته کروماتوگرافی لایه نازک (HPTLC) برای تعیین کمی و کیفی همزمان DEET و DMP که مواد مؤثر و عناصر اصلی تشکیل‌دهنده سه ماده دافع پماد سنگر، قلم دافع حشرات و لوسیون DMP60 هستند، تنظیم گردد و در نهایت میزان و نوع مواد تشکیل‌دهنده سه ماده دورکننده فوق با همین روش تعیین شود.

#### مواد و روش‌ها

دافع حشرات پماد سنگر از شرکت تولید دارو تهیه شد. این ماده دورکننده در داخل تیوب فلزی با فرمولاسیون کرم و به وزن خالص 25 گرم به بازار عرضه می‌شود. لوسیون DMP60 در دانشگاه بقیه‌ا... با همکاری گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه شهید بهشتی، سنتز شده و در شکل محلول و لوسیون در بسته‌بندی شیشه‌ای به حجم 50 سی‌سی فرمول‌بندی شده است.

قلم دافع حشرات نیز که در دانشکده داروسازی شیراز ساخته شده، از داروخانه‌های داخل کشور خریداری گردید. این دورکننده به فرم استوانه‌ای یا قلمی شکل بوده، وزن خالص دافع آن 8/5 گرم است.

کلیه حلال‌های مورد استفاده در این مطالعه نیز از شرکت Merck خریداری شد.

صفحات سیلیکاژل (60F<sub>254</sub>) که در این تکنیک به‌عنوان فاز ثابت محسوب می‌شوند، در ابعاد 20×20 سانتی‌متر از نمایندگی‌های شرکت Merck خریداری شد. استانداردهای DEET

استانداردها استفاده شد.

رشد و ظهور لکه‌ها: برای رشد لکه‌ها ترکیب حلال بنزن- دی‌اتیل‌اتر- هگزان به ترتیب در نسبت حجمی 25، 15 و 10 میلی‌لیتر را در داخل تانک کروماتوگرافی ریخته، پس از 30 دقیقه که فضای داخل تانک به حالت اشباع رسید، صفحات لکه‌گذاری شده در داخل تانک حاوی حلال قرار گرفت. برای رشد لکه‌ها و صعود حلال تا انتهای پلیت‌ها (0/5 سانتی‌متر قبل از انتهای پلیت) در دمای 26°C- 25 در حدود 22-25 دقیقه زمان لازم بود.

اسکن پلیت: پس از این‌که پلیت رشد یافت و لکه‌های مواد دافع موجود بر روی آن ظاهر شد، لکه‌ها در داخل UV کابینت با طول موج 254 نانومتر مشاهده گردید و از رشد مناسب لکه‌ها اطمینان حاصل شد، اسکن پلیت‌ها با استفاده از دستگاه TLC اسکنر 3 (ساخت شرکت CAMAG سوییس) و برنامه نرم‌افزاری CATS4 صورت گرفت. برای اسکن پلیت روش جذبی- انعکاسی در برنامه نرم‌افزاری انتخاب شد و در نهایت، لکه‌ها با استفاده از لامپ دوتریوم و با نور UV با طول موج 230nm مورد اسکن قرار گرفت [6].

مسافت مهاجرت لکه‌ها برای لکه‌های رشد یافته از فاصله محل لکه‌گذاری شده تا فاصله‌ای که لکه‌ها در طی مرحله رشد صعود کرده بودند، تعیین شد. همچنین شاخص رشد لکه‌ها یا همان فاکتور  $R_f$ ، ثابت صعود حلال یا (K) در سطح صفحه سیلیکاژل، و سرعت متوسط رشد حلال (V) نیز از فرمول‌بندی زیر محاسبه گردید:

$$V = \frac{Z_f}{t}$$

$$K = \frac{Z_f \cdot 2}{t}$$

$$R_f = \frac{Z_s}{Z_f - Z_0}$$

$Z_s$ : مسافت پیموده شده به وسیله لکه از خط لکه‌گذاری

$Z_f$ : مسافت پیموده شده به وسیله حلال از خط حلال

$Z_0$ : فاصله بین خط حلال تا خط لکه‌گذاری

t: مدت زمان لازم برای رشد حلال

و DMP از نمایندگی آکواستاندارد سوئیس در ایران تهیه شد. مواد استاندارد در حلال اتیل‌استات (اکستراپیور) رقیق‌سازی شد، به طوری که هر  $1\mu\text{l}$  از محلول حاصل، حاوی  $1\mu\text{g}$  از ماده استاندارد بود.

استخراج و جداسازی: سه نوع ماده دافع حشرات مورد مطالعه، دارای 3 نوع فرمولاسیون مختلفند، به طوری که پماد سنگر در فرمولاسیون کرم (با ماده زمینه اتیلن گلیکول)، قلم دافع حشرات در فرمولاسیون استیک (به صورت ژل) و DMP60 در فرمولاسیون لوسیون (با ماده زمینه ایزوپروپیل الکل و توین 80) ساخته شده‌اند.

مقدار  $200\text{mg}$  از دو دافع پماد سنگر و قلم دافع حشرات و نیز  $200\mu\text{l}$  از محلول لوسیون DMP60 به‌طور جداگانه در حجم  $20\text{cc}$  از حلال اتیل‌استات در داخل بالون ژوژه حل گردید. برای جداسازی مواد زمینه موجود در محلول از دکانتور استفاده شد. سپس مقدار  $5\text{cc}$  از محلول خالص حاصل برداشت و مجدداً در  $10\text{cc}$  از حلال اتیل‌استات حل گردید و جهت لکه‌گذاری بر روی صفحه سیلیکاژل مورد استفاده قرار گرفت. البته در آخر برای برآورد قدرت این روش در تعیین حداقل میزان قابل تشخیص، مجدداً محلول حاصل رقیق‌سازی شد.

لکه‌گذاری: لکه‌گذاری بر روی صفحات سیلیکاژل ( $\text{SiO}_2$ ) (60F<sub>254</sub>) و با استفاده از دستگاه لکه‌گذار (اپلیکیتور) و به‌صورت دستی انجام گرفت. برای لکه‌گذاری از لوله‌های مویین 1، 2 و 5 میکرولیتری استفاده و لکه‌گذاری‌ها طوری انجام شد که حتی‌الامکان میزان ماده موجود در هر لکه در حدود 0/1-20 میکروگرم باشد. در هر صفحه سیلیکاژل تعداد 16 لکه، شامل 4 لکه استاندارد و 12 لکه مجهول (از محلول تهیه شده از مواد دافع) با فاصله 1cm از یکدیگر و نیز با فاصله 2 سانتی‌متری از کناره‌های پلیت لکه‌گذاری صورت گرفت (شکل 1). در این مطالعه از روش لکه‌گذاری با غلظت‌های مختلف از

ترتیب با پیک استاندارد های DEET و DMP مطابقت دارد (شکل 2).

مسافت مهاجرت لکه ها (MD) برای دو ماده DMP و DEET به صورت زیر محاسبه و تعیین شد:

$$MD_{DMP} = 56/7 \pm 1/6$$

$$MD_{DEET} = 25/9 \pm 1/1$$

شاخص  $R_f$  نیز برای دو ماده DMP و DEET به صورت زیر تعیین شد:

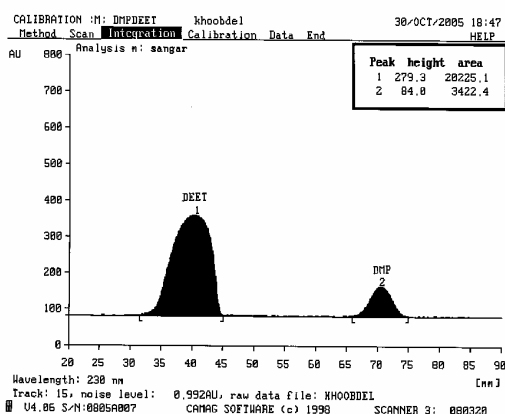
$$R_{fDMP} = 56/7 \div 80 = 0/71$$

$$R_{fDEET} = 25/9 \div 80 = 0/32$$

ثابت صعود حلال (K) و سرعت متوسط رشد حلال (V) نیز به صورت زیر محاسبه گردید:

$$K = \frac{307/5}{(85)^2} \div 23/5$$

$$V = \frac{23/5}{85} = \frac{3/62}{85}$$

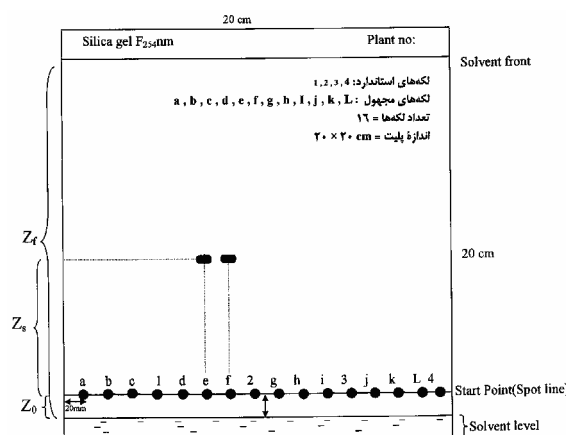


شکل 2. نمایش مرحله انتگرال گیری پس از اسکن لکه های حاصل از پماد سنگر بر روی صفحه سیلیکاژل به وسیله دستگاه TLC-Scanner 3 (سطح زیر نمودارها به ترتیب میزان DEET و DMP موجود در پماد سنگر را نشان می دهد).

محاسبه مقادیر مواد DMP و DEET موجود در هر لکه به وسیله برنامه نرم افزاری CATS4 انجام و متعاقب آن در محلول های تهیه شده، میزان و درصد این مواد در هر یک از سه ماده دورکننده تعیین شد (جدول 1).

در این مطالعه، حداقل میزان قابل تشخیص روش HPTLC برای هر دو ماده DEET و DMP در حدود 50-100ng تعیین شد.

جدول 1. میزان DEET و DMP موجود در مواد دافع حشرات مورد مطالعه (بر



شکل 1. نمایش شماتیک صفحه سیلیکاژل لکه گذاری شده در این مطالعه

آنالیز آماری داده ها، شامل تعیین میانگین مقادیر ماده موجود در هر لکه به وسیله برنامه محاسباتی موجود در نرم افزار CATS4 به صورت اتوماتیک به وسیله دستگاه انجام گرفت. در نهایت با تناسب ساده، میزان مقادیر DEET و DMP موجود در محلول های تهیه شده و همچنین در واحد حجم و یا وزن هر دافع به صورت درصد تعیین گردید. مقایسه میانگین مقادیر تعیین شده DEET و DMP به روش HPTLC برای سه ماده دافع مورد مطالعه، با مقادیر اعلام شده به وسیله شرکت های تولیدکننده که به روش GC آنالیز شده است، با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت.

### نتایج

نتایج حاصل از اسکن و آنالیز لکه های موجود بر روی صفحات سیلیکاژل نشان داد که نوع ماده دافع موجود در دافع لوسیون DMP60، فقط از نوع DMP و در قلم دافع حشرات از نوع DEET است. همچنین مواد مؤثر موجود در پماد سنگر، ترکیبی از DMP و DEET است (شکل 2). بر اساس همین اسکن و نموداری که به وسیله برنامه نرم افزار CATS4 ترسیم می شود، لوسیون DMP60 و قلم دافع حشرات، هر کدام دارای یک پیک در نمودار خود هستند؛ در صورتی که پماد سنگر دارای 2 پیک است که به

سهولت استفاده از روش HPTLC در مقایسه با سایر روش‌های آنالیز مواد دافع، این روش برای آنالیز مواد دافع حشرات، که ماده اصلی تشکیل‌دهنده اکثر آن‌ها DEET و DMP است، مناسب است. البته این روش قبلاً به وسیله مارکوویچ (Morkovic) و همکاران او نیز در کشور صربستان برای تعیین میزان DEET و DMP موجود در مواد آرایشی و مواد دافع حشرات آزمایش شده و قابلیت آن مورد تأیید قرار گرفته بود، با این تفاوت که آن‌ها از ترکیب حلال بنزن - دی‌اتیل اتر - سیکلو هگزان به عنوان فاز متحرک، برای رشد و ظهور لکه‌های مواد استفاده کرده بودند [6]؛ ولی در مطالعه ما به دلیل سمیت بالای سیکلو هگزان، به جای آن از هگزان استفاده شد. با این ترکیب حلال، حداقل میزان قابل تشخیص برای DEET و DMP بسیار مطلوب بوده، در حدود 50-100ng برای هر دو ترکیب تعیین شد. در مطالعه مارکوویچ و همکارانش حداقل میزان قابل تشخیص (LL) برای DEET و DMP به ترتیب 37 و 25 نانوگرم تعیین شده است که نسبت به مطالعه ما شاخص حداقل تشخیص آن بهتر است. البته نوع حلال‌های مورد استفاده در مرحله رشد و ظهور لکه‌ها و کیفیت پللیت‌های مورد استفاده نیز می‌تواند در این امر مؤثر باشد.

در سایر مطالعات انجام گرفته نیز حداقل میزان قابل تشخیص ماده DEET به روش HPLC، در حدود 10-100ng ذکر شده است [16 و 19] که تفاوت چندانی با روش کروماتوگرافی لایه نازک ندارد.

حسب گرم در هر 100 گرم یا 100 سی‌سی از فرم تجاری مواد دافع)

ترکیبات سازنده		مواد دافع
% DMP±(SE)	% DEET±(SE)	
61/8 (±1/6)	-	لوسیون DMP60
-	31/3 (±0/8)	قلم دافع حشرات
5/5 (±0/2)	25 (±1)	پماد سنگر

#### بحث و نتیجه‌گیری

ماده شیمیایی دی‌اتیل‌متاتولوآمید (DEET) امروزه به عنوان رایج‌ترین و کارآمدترین ماده دورکننده حشرات است که به همراه دی‌متیل‌فتالات، ترکیبات اصلی اکثر مواد دافع حشرات را تشکیل می‌دهند [15 و 14]. تشخیص مواد مذکور در داخل سایر ترکیبات شیمیایی و یا در پلاسمای خون انسان و سایر پستانداران عمدتاً به وسیله روش‌های GC و HPLC صورت می‌گیرد [16]. روش HPTLC نسبت به دو روش مذکور، کم‌هزینه بوده، به سهولت قابل تنظیم است [17 و 18].

ترکیبات سه ماده دافع پماد سنگر، لوسیون DMP60 و قلم دافع حشرات که در این مطالعه از لحاظ کمی و کیفی به روش HPTLC تعیین گردید، با مشخصات ارائه شده به وسیله شرکت‌ها و مراکز سازنده این مواد دافع مطابقت دارد. مقایسه میانگین مقادیر تعیین شده DEET و DMP به روش HPTLC برای سه ماده دافع مورد مطالعه، با مقادیر اعلام شده به وسیله شرکت‌های تولیدکننده که به روش GC آنالیز شده است، نشان می‌دهد که اختلاف معناداری بین دو روش فوق در تعیین میزان و نوع مواد دافع مذکور وجود ندارد ( $p > 0/05$ ) (جدول 2). لذا با توجه به

جدول 2. مقایسه نتایج حاصل از آنالیز مواد دافع به روش HPTLC با نتایج شرکت سازنده (نوع مواد و میزان آن)

نتایج آنالیز کروماتوگرافی (درصد و نوع دافع)		مواد دافع
GC (شرکت سازنده)	HPTLC	
DMP %60	DMP %61/8 (±1/6)	لوسیون DMP60
DEET %32	DEET %31/3 (±0/8)	قلم دافع حشرات
DEET (%24-35) DMP (%4-5)	DEET 25 (±1) DMP %5/5 (±0/2)	پماد سنگر

8. جعفر اکبری، محمدعلی ابراهیمزاده، حسین عسکری‌رادی، عبدالحمید کوزه‌گرکاجی. سنتز و فرمولاسیون دی‌متیل‌فتالات به‌عنوان دافع حشرات. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، 1383؛ دوره 6، شماره 1: صفحات 37-42.
9. مهربانی‌توانا علی، وطنی هادی. (1380). مروری بر مبارزه با حشرات و دیگر بندبایان در طول 8 سال دفاع مقدس، مجله طب نظامی، سال سوم، شماره 1 و 2؛ صفحات: 43-47.
10. خوبدل مهدی، عباسی محمدرضا، مهربانی‌توانا علی، رازقی فام عادل، اصائلو صادق، وطنی هادی، نقوی خانعلی. بررسی میزان رضایت‌مندی پرسنل بهداشتی حاضر در مناطق جنگی غرب کشور از پماد سنرگر (دافع حشرات) در طی سال‌های جنگ تحمیلی. سومین کنگره طب نظامی. 1384، تهران 13-15 اسفند. صفحات 368-369.
11. Khoobdel M., Oshaghi A., Jonaidi N., Shayeghi M., Abaei MR., Panahi Y., et al. Laboratory evaluation of dimethyl phthalate (DMP) against *Anopheles stephensi* and *Culex pipiens*. Pak J Bio Sci. 2007, 10(5): 745-750.
12. خوبدل مهدی، عشاقی محمدعلی، آخوند محمدرضا، پناهی یونس، عطایی رمضانعلی.، رضانی حامد. بررسی دور مؤثر دافع حشرات دی‌متیل‌فتالات (ایرانی و خارجی) در مقابل *Anopheles stephensi* و *Culex pipiens* با استفاده از متد استاندارد و مدل اصلاح شده. مجله طب نظامی. 1385، 8 (1): 52-62.
13. شفاعتی، علی‌رضا. سنتز و کنترل کمی و کیفی فرمولاسیون دافع حشرات حاوی دی‌متیل‌فتالات (DMP)، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله... پژوهشکده طب رزمی، پایان‌نامه طرح تحقیقاتی، 1379 صفحات 25-8.
14. Debboun M., Daniel A., Strickman D., Klun A. Repellents and the military: Our first line of defense. J Am Mosq Contr Assoc. 2005, 21(4) Supplement: 4-6.
15. Fradin MS., Day JF. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. New Eng J Med. 2002, 342: 13-18.
16. Cherstniakova SA, Garcia GE, Strong J, Bi D, Weitz J, Roy MJ, et al. Rapid determination of N,N-diethyl-m-toluamide and permethrin in human plasma by gas chromatography mass spectrometry and pyridostigmine bromide by high performance liquid chromatography. J Anal Toxicol. 2006, 30(1): 21-6.
17. Denistrop HE. The documentation of thin-layer Chromatograms by non-densitometric methods. J. Planar Chromatogram. 1991, 4: 154-157.
18. Chen ZM., Wang YH. Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, food and environmental samples. Journal of Chromatography A, 1996, 754: 367-395.
19. Kasichayanula S., House JD., Wang T., Gu X. Simultaneous analysis of insect repellent DEET, sunscreen oxybenzone and five relevant metabolites by reversed-phase HPLC with UV detection: application to an in vivo study in a piglet model. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2005, 822 (1-2): 271-7.

گفتنی است با آن‌که حداقل میزان قابل تشخیص در مطالعه ما نسبت به سایر مطالعات بیشتر بود و نیازمند اصلاح روش و تنظیم دقیق‌تر است، ولی اهمیت این مطالعه به لحاظ تشخیص عناصر تشکیل‌دهنده مواد دافع و تعیین میزان آن‌ها با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک است که علاوه بر آن‌که در داخل کشور برای اولین بار صورت می‌گیرد، صرف هزینه کم‌تر و سهولت انجام آن نیز می‌تواند مورد توجه محققین قرار گیرد.

نهایت این‌که متد HPTLC روش سریع، ارزان قیمت و بسیار مناسبی برای تعیین کمی و کیفی مواد دورکننده حشرات با ماده مؤثر DEET و DMP است و با توجه به این‌که اکثر مواد دورکننده موجود در داخل کشور دارای ماده مؤثری از این نوع هستند، تنظیم و راه‌اندازی متد HPTLC برای این منظور می‌تواند حائز اهمیت باشد، زیرا در این روش، تشخیص و تعیین دو نوع ماده دافع فوق به‌طور همزمان صورت می‌گیرد.

#### تقدیر و تشکر

از همکاری آقای دکتر شفاعتی در تهیه لوسیون DMP60 و مساعدت شرکت مدیسه نوین در تهیه استانداردها تشکر می‌کنیم. همچنین از آقای دکتر جنیدی جعفری به جهت اسکن اشکال قدردانی می‌کنیم.

#### منابع

1. Frances SP., Writz RA. Repellents: Past present and future. J Am Mosq Contr Assoc. 2005, 21(4) Suppl: 1-3.
2. Debboun, M., Daniel A., Strickman D., Klun A. Repellents and the military: Our first line of defense. J Am Mosq Contr Assoc. 2005, 21(4) Supplement: 4-6.
3. Spurr EB., McGregor PG. Potential invertebrate antifeedants for toxin baits used for vertebrate pest control: A Literature review. Sc Conserve New Zealand. 2003, 232.
4. Selim S., Hartngel R.E Jr., Osimitz TG, Gabriel KL., Schoening GP. Absorption, metabolism and excretion of N,N-diethyl-m-toluamide following dermal application to human volunteers. Fundam Appl Toxicol. 1995, 25(1): 95-100.
5. Taylor WG., Danielson TJ., Orcutt RL. Thin layer chromatography detection of ivermectin in cattle serum. J. Chromatogr. Biomed. Appl. 1994, 661(2): 327-33.
6. Markovic G., Agbaba D., Zivanov Stakic D., Vladimirov S. Determination of some insect repellents in cosmetic products by high performance thin-layer chromatography. J Chromatogr A. 1999, 847: 365-368.
7. Denistrop EH. Applied thin layer chromatography: Best practice and avoidance of mistakes. Published by Wiley-Vch. 2000, P: 1-304.

