الفصـــل العاشـــر

– عمليات التحليل الجيدة لتقدير مخلفات المبيدات

Good analytical practice in the determination of pesticide residues

- القائم بالتحليل The analyst
- المتطلبات الاساسية Basic resources
- المعمل The laboratory
- الأجهزة والمعدات وعناصر التشغيل Equipments and supplies
- عناصر التشغيل Supplies
- الاجهزة المناسبة Adequate equipment s
- التحليل The Analysis
  - * تجنب التلوث Avoidance of contamination
  - * التلوث من البيئة المحيطة فى المعمل
    Contamination from the working environment.
  - * التلوث عن طريق التحليل المستخدم
    Contamination from the procedure being used.
  - * تجنب التلوث Avoidance of contamination
  - * التلوث من البيئة المحيطة فى المعمل
    Contamination from the working environment.
  - * التلوث عن طريق التحليل المستخدم
    Contalmination from the procedure being used.
  - * تجنب الفقد Avoidance of losses.
  - * الفقد خلال التحليل Losses during analysis
- صلاحية الطرق Validation of methods.
- المحافظة على كفاءة التحليل
  Maintenance of over-all analytical performance.
- دراسات الاسترجاع Revovery studies.

- اختبار لتحديد دور التداخلات Blank responses of interferences
- ثبات المواد القياسية Stability of standards
- تحليل عينات المقارنة Analysis of check samples
- الاشتراك فى دراسات مشتركة / اختبارات الحلقة
Participation in collaborative studies/ring tests.
- الاختبارات التأكيدية Codfirmatory tests
- مصادر الاخطاء المسئولة عن اختلاف بيانات المخلفات
Sources of error which contribute to variability of residue data.
- التأكيـــد Confirmation
- الحساب Calculation
- الاخطاء Errors
- تدوين النتائج Reporting results
- تقرير عن تجربة تحليل مخلفات المبيد – الجزء الثانى (B) الخاص بالتحليل .
* تعريف العينة .
* التحليل .
* النتائج .
- رسم تخطيطى لمراحل تحليل المبيدات
- الاحتياجات والمتطلبات .
- الرموز والقواعد
- الاستخدامات
- اسلوب وصف العمل داخل المعمل .
- تمثيل الطرق البديلة .
- نماذج الطرق الالية .

عمليات التحليل الجيدة لتقدير مخلفات المبيدات

Good Analytical Practice in the determination of Pesticide Residues

لقد عرفت دلائل التحليل الجيدة GAP هذا المفهوم فى ثلاثة اتجاهات تشمل القائم بالتحليل Analyst والمتطلبات الأساسية Basic Resources وكذلك طرق التحليل The Analysis :

* القائم بالتحليل The Analyst :

يتكون تحليل مخلفات المبيدات من سلسلة من الخطوات معظمها معروف او مفهوم جيدا من قبل الكيميائى المتمرن ونظرا لان مجال الخطأ قليلا بالمقارنة بما هو موجود فى الانواع الاخرى من التحليل واى خطأ يمكن ان يؤدى الى عدم صلاحية التحليل الكلى لذلك يمكن الالمام بكل تفاصيل خطوات التحليل . يجب ان تكون هناك استمرارية واشتراك مناسب للقائمون على التحليل وهم فى حاجة كبيرة للتدريب والخبرة فى التحليل خلال سنوات كافية . يجب ان يتدرب مسئولى التحليل على الاستخدام الصحيح للاجهزة والمهارات المعملية الاساسية وكذا اساسيات تحليل مخلفات المبيدات ويجب عليهم ان يتفهموا الغرض من كل خطوة من خطوات التحليل المستخدمة واهمية اتباع الطريقة بحذافيرها كما وصفت تماما ومراعاة اية مسببات قد تغير من النتائج . كما ان الفهم الواضح للمصطلحات والمسميات فى مجال تحليل المخلفات من اكبر الضروريات . ومن الناحية النموذجية انه عند انشاء معمل لتحليل المخلفات يجب ان يقضى من سيقومون بهذا العمل بعضا من فترة التدريب فى معمل مجهز ويعمل جيدا وبه خبرات على درجة عالية من الكفاءة . واذا كان المعمل سيضطلع بمهام تحليل مدى واسع من مخلفات المبيدات قد يصبح من الضرورى ان يتمرن العاملون فى أكثر من معمل متقدم واحد .

المتطلبات الاساسية Basic Resources

المعمل The Laboratory :

فى الظروف النموذجية يجب ان يصمم المعمل بحيث يكون الهدف من انشاؤه واضحا الا وهو التحديد الدقيق للمناطق ذات الامان العالى والتى يكون فيها فرصة تلوث العينات بالمخلفات اقل ما يمكن . وكذلك يجب ان تكون مكونات المعمل مجهزة من مواد تقاوم فعل الكيميائيات التى قد تستخدم فيها . وفى هذه الظروف النموذجية يجب توفر حجرات منفصلة لاستقبال العينات وتخزينها وتجهيزها للاستخلاص والتنظيف وللأجهزة المستخدمة فى خطوات التقدير . والمنطقة المعدة للاستخلاص والتنظيف يجب ان توائم مواصفات المذيبات المعملية وكذلك امكانيات ووسائل استخلاص الابخرة والتى يجب ان تكون من نوعية جيدة . واقل متطلبات لتحليل مخلفات المبيدات تلك التى تتمثل فى توفر الإمكانيات المناسبة لتفادى حدوث التلوث .

يجب ان يؤخذ فى الاعتبار أمان المعمل من مفهوم ضرورة توفير الظروف المناسبة والتى تتمشى مع المعامل المتقدمة مع التسليم بان الظروف السائدة فى معمل ما قد لا تتوافق بالمرة مع المعامل الاخرى . لا يجب السماح بالتدخين او الاكل او الشرب او استخدام مواد التجميل فى منطقة العمل . ويجب الا تترك إلاّ كميات صغيرة من المذيبات فى منطقة العمل حيث تخزن بقية المذيبات فى اماكن منفصلة عن منطقة العمل الرئيسية . يجب تجنب استعمال المذيبات السامة والجواهر الكشافة طالما كان ذلك ممكنا . يجب تخزين المذيبات التالفة بأمان ويتخلص منها باستمرار .

يجب معاملة منطقة العمل الرئيسية كمعمل للمذيبات وجميع الاجهزة مثل مصادر الاضاءة والخلاطات والثلاجات تكون منفصلة عن بعضها من حيث مصدر القوى . يجب اجراء الاستخلاص والتنظيف وتركيز المستخلصات فى منطقة جيدة التهوية ويفضل ان تكون داخل خزانات الغازات .

يجب عمل مصافى امان عندما تستخدم الادوات الزجاجية تحت ضغط او تفريغ . كما يجب ان يكون هناك مصدر موثوق به للتزويد بالزجاجيات المأمونة والقفازات وغيرها من الملابس الواقية وامكانيات غسيل الطوارئ ووحدات الشطف والغسيل الجاهزة . يجب على العاملون فى المعمل ان يتدربوا على استخدام هذه الوسائل مع الالمام الكافى بالأخطار الممكنة . والعاملون لابد ان تكون لهم دراية بان العديد من المبيدات ذات صفات سامة وان هناك خطر بسيط قد يحدث من جراء تداول معظم العينات كما يجب اتخاذ العناية الكافية عند تداول المركبات القياسية . ويجب ان يزود المعمل باجهزة اطفاء الحريق المناسبة . ويجب ان يتعرض العاملون بالمعمل للفحوصات الطبية بصفة دورية . واذا كان المعمل مزود بكاشفات الكترونية تحتوى على التريتيوم يجب الكشف الدورى عن H3 فى البول .

* الاجهزة والمعدات وعناصر التشغيل Equipments and supplies

** عناصر التشغيل Supplies :

يجب تزويد المعامل بعناصر التشغيل مثل الكهرباء والماء والغازات المختلفة سواء فى انابيب او اسطوانات ذات جودة عالية . ومن الضرورى تزويد المعامل بصفة منتظمة بالجواهر الكشافة والمذيبات والادوات الزجاجية والاوساط الثابتة ... وغيرها . كما يجب توفير خدمات صيانة واجهزة الكروماتوجرافى الغازى والموازين والاسبكتروفوتومترات ... الخ . كما يجب الاحتفاظ ببعض قطع الغيار وكذلك بعض الاجزاء الاخرى .

** الاجهزة المناسبة Adequate equipment :

فى الحالة النموذجية يجب ان تكون الاجهزة متمشية مع التكنولوجيات الحديثة مثل

الكروماتوجرافى الغازى المزود بالكمبيوتر وهذا الجهاز يتطلب صيانة كافية لكى يؤدى العمل بطرق مرضية . ان متطلبات استكشاف المخلفات فى السلع عند المستويات المسموح بها اقل صرامة من تلك المطلوبة فى البحوث . جميع المعامل تتطلب مدى مناسب من المبيدات القياسية ذات نقاوة معروفة وعالية . يجب ان يغطى هذا المدى جميع المركبات الاصلية التى يقوم المعمل بالكشف عنها وكذلك نواتج التمثيل الاكثر شيوعا ومعظم هذه المركبات موجودة حالياً على المستوى التجارى .

* التحليل The Analysis :

** تجنب التلوث Avoidance of contamination

من اكثر الاسباب شيوعا والتى تؤدى الى اختلاف نتائج تحليل مخلفات المبيدات عن نتائج التحليل الاقل دقة macro analysis مشكلة التلوث . ان وجود آثار من اى ملوث فى العينة النهائية التى تستخدم فى مرحلة التقدير النهائية قد تحدث زيادة فى نسبة الخطأ كأن تعطى نتائج ايجابية زائفة وقد تؤدى الى فقد حساسية الطريقة والتى تمنع القائم بعملية التحليل من تحقيق الحدود الضرورية للتقدير . التلوث قد ينشأ من البيئة أو من طريقة التحليل .

** التلوث من البيئة المحيطة فى المعمل

Contamination from the working environment

دهانات الرفوف والشموع والدهون الحاجزة والصابون المحتوى على مضادات الجراثيم والرش ضد الذباب والعطور ومواد التجميل جميعها اشياء تزيد من تلوث المعمل وتكون ذات تأثير كبير عندما يستخدم كاشف صائد الالكترونات فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى . وليس هناك حل حقيقى لهذه المشكلة الا بايقاف استخدام هذه الاشياء .

الشحوم والبلاستيكات واغطية الكاوتشوك والانابيب الكاوتشوك والزيت من الخطوط الهوائية واوانى الإستخلاص واوراق الترشيح والصوف الزجاجى يمكن ان تزيد من تلوث محلول الاختبار النهائى .

يجب تخزين العينات القياسية للمبيدات فى غرفة منفصلة عن معمل التحليل الرئيسى . العينات الحقلية وتجهيز العينات وتحليل المستحضرات يجب ان تجرى منفصلة عن معمل تقدير المخلفات الرئيسى وكل منها منفصل عن الآخر .

** التلوث من طريقة التحليل المستخدمة

Contamination from the procedure being used

تلوث الادوات الزجاجية والحقن واعمدة الكروماتوجرافى الغازى قد تنتج من العينات السابقة . جميع الادوات الزجاجية يجب ان تنظف بالمنظفات وتغسل بعناية ثم تشطف بالمذيب . ويجب ان تتوفر فى المعمل كمية من الزجاجيات لتحليل مخلفات المبيدات . الجواهر الكشافة الكيميائية ومواد الامتصاص ومذيبات المعامل قد تحتوى على مكونات تتداخل مع التحليل . ومن الضرورى ان تجرى عمليات تنقية للجواهر الكشافة ومواد الادمصاص عن طريق التسخين ومن الضرورى استخدام المذيبات المعاد تقطيرها . الماء الغير متأين عليه شكوك والماء المعاد تقطيره يفضل . وفى حالات كثيرة يمكن استخدام ماء الحنفية أو الآبار .

لا يجب السماح باستخدام اى اجهزة تحتوى على ال PVC فى معمل تحليل المخلفات . المواد الاخرى المحتوية على بلاستيك مثار شك ولكن مشتقات PTEE وكاوتش السليكون عادة تكون مقبولة والاخرى تقبل تحت ظروف خاصة والعبوات المحتوية على العينات المخزنة قد تسبب التلوث والعبوات الزجاجية مع الاغطية الزجاجية الخاصة دائماً ما تستعمل . ان طبيعة واهمية التلوث قد تختلف تبعا لنوع التقدير المستخدم ومستوى مخلفات المبيدات المطلوب تقديرها . والمشاكل المتعلقة بالتلوث والتى ترتبط اهميتها بطرق التقدير التى تعتمد على الكرماتوجرافى الغازى او HPLC قد تكون اقل اهمية اذا تم التقدير بالطرق الاسبكتروفوتومترية والعكس صحيح . مع المستويات العالية من المخلفات فان التداخلات التى قد تحدث من المذيبات وغيرها من المواد تصبح غير مؤثرة معنويا بالمقارنة بكمية المخلفات الموجودة . بينما يمكن حل العديد من المشاكل باستخدام الكاشفات المتخصصة . اذا لم تتداخل الملوثات مع المخلفات الموجودة فان وجودها قد يصبح مقبولا .

**** تجنب الفقد Avoidance of losses**

الفقد خلال التخزين Losses during storage

فى الظروف النموذجية يجب ان تخزن العينات تحت ظروف حرارة معتدلة البرودة بعيدا عن ضوء الشمس المباشر كما يجب ان تحلل فى خلال ايام قليلة . وتحت بعض الظروف قد تتطلب العينات التخزين لفترة اطول (٦ – ٩ شهور) قبل التحليل وهنا يجب اتخاذ الاحتياطات التالية :

حرارة التخزين تقارب – ٢٠ م عندما يكون انهيار مخلفات المبيدات بفعل الانزيمات منخفضا جدا . واذا كان هناك أية شكوك يمكن مقارنة العينات بتلك المقواة بنفس المبيد والمخزنة تحت نفس الظروف . يجب اعادة تجانس جميع العينات بعد التجمد حيث هناك ميل للماء ان يخرج ويتجمع كبللورات ثلج . وهذه اذا استبعدت ستؤثر على نتائج التحليل . والبديل لتجنب هذا الوضع ان تقسم العينة الى وحدات للتحليل قبل التجميد . يجب الا تسمح العبوات المستخدمة للتخزين ولا السدادات للمادة الكيميائية المحتوية عليها بالتسرب . العبوات لا يجب ان تسمح بالتسرب . جميع العينات يجب ان ترقم بوضوح ببطاقات دائمة وتسجل فى سجل العينات .

* الفقد خلال التحليل Losses during analysis

المستخلصات ومحاليل الاختبار النهائية لا يجب ان تتعرض لضوء الشمس المباشر .

** صلاحية الطرق Validation of methods :

يختلف المجهود الذى يبذل لتحقيق صلاحية الطرق بدرجة مؤثرة . فى المعامل التى تقوم بالاستكشاف الروتينى للمخلفات تبعا لمستويات الدستور او تلك المحددة على المستوى القومى تستخدم طرق قياسية فى معظم الحالات ومن ثم تكون مجهودات الصلاحية اقل ما يمكن . فى جميع المعامل تجرى اختبارات منتظمة عن التأثيرات التى تحدثها الاختلافات فى مصادر توريد الكيميائيات والمذيبات وغيرها . يجب اختبار كفاءة الطريقة عن طريق استرجاع المبيد القياسى الذى يضاف بمستويات مناسبة الى العينة وحدها او فى وجود كل من المواد الوسيطة . يجب دراسة تأثير الضوء والتخزين عند مرحلة وسيطة من خطوات التحليل والحرارة وغيرها على ثبات الجواهر الكشافة والعينات . من الاهمية بمكان تقييم كفاءة نظم التقدير (مثال ذلك الكروماتوجرافى الغازى والسائل) من حيث تأثير معدل الانسياب والحرارة .. الخ . وفى المعامل التى يجرى فيها تطوير و / أو تحوير للطريقة السائدة يجب دراسة تأثير بعض العوامل الاخرى مثل تأثير اختلاف حجم العينة ونسب التوزيع .. الخ وكذلك كفاءة ومقدرة الفصل وثبات العمود فى نظم الكروماتوجرافى السائل والغازى وكذلك الاختلافات فى كفاءة نظم اعمدة التنظيف .

** المحافظة على كفاءة التحليل

Maintenance of Over-all Analytical performance

يوجد فى جميع المعامل المعنية بتحليل مخلفات المبيدات حاجة لتقييم كفاءة الطرق المستخدمة فى التحليل بصورة منتظمة على مستوى الحدود المسموح بها tolerance او فى اقل حدود للتقدير .

** دراسات الاسترجاع Recovery studies :

يجب استرجاع المبيدات من العينات المقواة Spike samples كاختبار شائع لقياس كفاءة الاستخلاص والخطوات التالية ولكن تجدر الاشارة الى ان هذه الدراسات ذات قيمة محدودة . ومعظم الآراء تعول على اجراء الاسترجاع على المخلفات فى حالتها الحقيقية real state اى فى مجموع العينات aged . وتجدر الاشارة كذلك الى ان الطريقة التى تعطى استرجاع مناسب من العينات التى عوملت او قويت باضافة المركبات الاصلية من المبيدات قد تكون غير مناسبة لقياس نواتج التمثيل المؤثرة والتى تتكون خلال الاحتفاظ بالعينة . ويجب ان تتراوح نسبة الاسترجاع من ٧٠ - ١١٠ ٪ بمتوسط يزيد عن ٨٠ ٪ بعد ازالة الشوائب .

* * اختبار لتحديد دور التداخلات Blank responses of interferences :

التحليل الدورى والمنتظم للأوساط المعروف خلوها من مخلفات المبيدات ذات ضرورة للتأكد من عدم حدوث تلوث .

* * ثبات المواد القياسية Stability of standards

ان الحقن المنتظم للمركبات القياسية خلال تحليل مجموعات العينات تسمح بالتأكد من كفاءة خطوة التقدير . بالاضافة الى ذلك يجب اتخاذ العناية للتأكد من ان المحاليل القياسية للمبيدات لا تتحلل من جراء تأثير الضوء او الحرارة خلال التخزين او تتركز نتيجة لتبخير المذيبات . يجب اتخاذ نفس العناية للتأكد من ثبات المركبات القياسية المرجعية .

* * تحليل عينات المقارنة Analysis of Check samples :

من افضل الوسائل لاستكشاف كفاءة طريقة التحليل (أو القائم بالتحليل) هو تحليل عينات مقارنة على فترات منتظمة . وهذه العينات يجب ان تقدم كعينات روتينية بدون اى علامات أو توضحيات تدل على طبيعتها .

* * الاشتراك فى دراسات مشتركة / اختبارات الحلقة

Participation in collablorative studies/ring tests

تنظم مختلف الهيئات القومية والدولية دراسات مشتركة على طرق خاصة أو / و اختبارات الحلقة على مواد وسيطة خاصة . وهذه الدراسات تقدم اسلوب نموذجى فى المعامل لتقدير كفاءتها الخاصة . واذا كان فى الامكان تؤخذ عينات مشتركة توزع بشكل روتينى حتى لا يضطر القائم بالتحليل لعمل جهد خاص مما قد يفقد العينات صلاحيتها فى الكشف عن كفاءة المعمل .

* * الاختبارت التأكيدية Confirmatory tests :

بالنسبة للاختبارات الروتينية عندما يكون مدى القيم الناتجة على الاقل ولحد معين معروفة قبل اجراء الاختبارات لذلك لا يكون للاختبارات الروتينية اية اهمية . وفى حالة ما اذا كانت هناك شكوك فان صلاحية النتائج تكون فى حاجة لاختبارات تأكيدية . وهذه الاختبارات يمكن ان توضع تحت عدد من السبل مثال ذلك :

- استعمال الفصل الجزئى بالمذيبات مثل قيم « أ »

- استعمال اعمدة الكروماتوجرافى الغازى المتعددة . وبالرغم من ان هذا الاسلوب مستخدم على نطاق واسع الا ان قيمته محدودة لأنه فى جميع الحالات تكون اساسيات الطريقة

الكروماتوجرافية متماثلة .

– استعمال طرق كروماتوجرافية مختلفة . فى حالات عديدة يمكن تأكيد النتائج التى تحصل عليها من الكروماتوجرافى السائل ذ ى الكفاءة العالية HPLC . وكلاهما له مميزات واضحة تفوق الكروماتوجرافى الغازى فى بعض الحالات خاصة اذا كان التحليل يتضمن مواد غير ثابتة حراريا . وبقدر الامكان يفضل ان تجرى الاختبارات التأكيدية بدلا من الاعتماد الكلى على كفاءة اعمدة الكروماتوجرافى الغازى كطريقة للتعريض .

– استعمال كاشفات مختلفة .

– استعمال طرق التحول الكيميائى derivatisation . هناك طرق عديدة وكتيبات متوفرة عن انواع التحولات الكيميائية التى يمكن عملها . ومن الطرق المشتركة استخدام الاشعة الفوق بنفسجية لتغيير التركيب الكيميائى للمركب تحت الدراسة .

– الكروماتوجرافى الغازى مع اسبكترومترى الكتلة GC-mass spectrometry من اكثر الطرق شيوعا فى المعامل جيدة التجهيز ولكنه غير متوفر فى غالبية معامل تحليل المخلفات .

– طرق الفصل الكروماتوجرافى الغازى السائل الاولية وهى تعطى تعريف عن مكونات المخلفات حيث انها تعتمد على مواصفات المخلفات الموجودة .

مصادر الأخطاء المسئولة عن اختلاف بيانات المخلفات :

Sources of error which contribute to variability of residue data.

الطريقة المعملية لتقدير تركيز المخلفات عبارة عن سلسلة متتابعة من الخطوات والاخطاء المنتظمة والعشوائية والتى قد تحدث مع كل منها . الخطوات النموذجية التى تحدث بعد استقبال العينة فى المعمل هى بالترتيب :

– تجزئ العينات sub-sampling

– الاستخلاص extraction

– خطوات التنظيف clean-up steps

التحليل بما فيها تجهيز واستخدام المحاليل القياسية Analysis (standard solutions)

- التأكيد Confirmation
- الحساب Calculation

ان العمليات التى تجرى على العينات الاصلية هى نفسها التى تجرى على العينات المجزأة بمعنى ان كل جزء أو قطعة من العينة يجب ان يكون لها نفس الفرصة المتاحة لعينة التحليل . من الاهمية أخذ عينة مجزأة (تحت عينة) ذات حجم مناسب . عن طريق الطرق الحديثة اصبح فى الامكان تحليل عينة صغيرة جدا ومع هذا يعتبر هذا التحليل ذو قيمة عملية قليلة . طرق أخذ عينات مجزأة ممثلة موجودة فى دوريات تحليل مخلفات المبيدات المنشورة فى دول عديدة ومنها Pesticide analytical manual of the US food and drug administration وفيها كل تفصيلات الاختبارات المشتركة .

يمكن تقسيم طرق الاستخلاص الى نوعين الاول الذى يستهدف ازالة كل المخلفات من العينة حيث يؤخذ كمية كبيرة من المادة النباتية فى المحلول والثانية تحاول ازالة مخلفات معينة بالاختيارية وهذا يستدعى مجهودات لتقليل تركيز المواد المتداخلة وهى تسمح بجعل كفاءة استخلاص المخلفات غير كمى . وبوجه عام يفضل الاختيار او القسم الاول خاصة مع المبيدات التى تمتص او تتركز فى اجزاء خاصة من المواد الغذائية او التى تنهار الى مركبات ذات صفات طبيعية مختلفة .

ان الدراسات التى تستهدف تحقيق استخلاص كامل لمخلفات المبيد من الوسط الموجود فيه يجب ان تكون جزء اساسى وهام عند تطوير الطريقة المناسبة للتحليل . يمكن تقدير درجة كفاءة استخلاص المخلفات عن طريق الاستخلاص من العينات الميدانية Weathered residues الناتجة من استخدام المبيد على المحصول النامى بطرق تزيد من البساطة . ويمكن اجراء التطبيق بالمركب المشعع او غير المشعع . استخدام المركب المشعع radio-labelled ذات ميزة حيث يمكن تقدير كل المخلفات واى مادة مشعة باقية بدون استخلاص مع اى طريقة خاصة يمكن الكشف عنها . بالاضافة الى ذلك يعنى وجود المادة المشععة ان نواتج التكسير يمكن تعريضها وتقدير كفاءة استخلاص مخلفاتها . وعلى العكس فان المركب الغير مشعع وضعت له افتراضات مؤداها ان معظم الطرق تزيل المركب تماما وان المذيبات والطرق الاخرى تقارن به كأساس .

بالنسبة للمركبات التى يصعب إستخلاصها مثل المخلفات المنقولة فى الجذور تكون العوامل المؤثرة هى المذيب المناسب والتلامس الكافى بين المذيب والمخلفات وكذلك المكون القطبى اذا كان مخلوط المذيب يحرر المخلفات ويحتمل الحرارة .

اذا استخدمت طرق للاستخلاص الكمى فان خطوات التنظيف المتتالية قد تؤخذ فى الاعتبار وهذا هو الجزء الذى يستغرق معظم وقت طريقة التحليل حيث احتمال حدوث اخطاء معروفة كبير . ومن الاهمية بمكان عند هذه المرحلة اجراء تحليل لعينات لتقدير الاسترجاع فى كل مجموعة

تقدير للتأكد من حدوث اى فقد .

تحدث الاخطاء خلال مراحل متعددة من التحليل الخاص بتقديرالمخلفات وفى خطوة التقدير نفسها . وعلى سبيل المثال مع الكروماتوجرافى الغازى فان اساس معظم طرق تقدير المخلفات يتمثل فى حجم من مستخلص العينة بمحقن ذات نسبة خطأ عشوائى قليل والتى يمكن تصحيحها اذا استخدم نفس الحجوم من المحاليل القياسية عند المعايرة . وربما يكون اكثر الاخطاء خطورة تلك التى تحدث فى الطرق الكروماتوجرافية لان المواد الموجودة فى المستخلصات co-extracted ذات صفات متماثلة لتلك المميزة للمبيد تحت الدراسة من حيث مواصفات الفصل Retention char-acteristics تحت نفس ظروف عملية التقدير . وهذا التداخل يعنى ان اى قمة منحنى peak موجودة عند زمن الفصل الصحيح قد تكون ممثلة للمبيد او تمثل المواد المتداخلة او مخلوط من الاثنين . لذلك فان كمية المبيد المقدر من اى قمة منحنى منفردة على الكرماتوجرافى دائما تمثل اقصى مستويات ممكن للمخلفات المقاسة تحت هذه الظروف وليس من الضرورى ان تمثل التركيز الحقيقى للمبيد .

من مصادر الخطأ التقليدى فى تحليل المستخلصات تجاهل نقاوة المادة القياسية المستخدمة فى التحليل وتصحيح تركيزات المحاليل الاولية والمستخدمة فى الطريقة . ليس مطلوبا ان تكون المواد القياسية المستخدمة فى تحليل المخلفات انقى ما يمكن ولكن المطلوب ان تكون النقاوة معروفة كما يكون ثبات المركب معروفا تحت الظروف التى سيخزن فيها . وهذا حقيقى كذلك فى حالة المحاليل القياسية حيث يجب ان يكون ثباتها معروف كما يجب تجديدها واحلالها على فترات منتظمة .

التأكيد Confirmation :

يجب ان تبنى الطرق التأكيدية على الاقترابات والطرق التى تختلف بقدر الامكان عن طريقة التحليل الاساسية فى الاساسيات الطبيعية والكيميائية . لذلك فان وقت الفصل على وسط ثابت آخر فى جهاز الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC يعطى بعض التأكيدات ولكنها طفيفة حيث ان العديد من المركبات لها درجة عالية من الارتباط بين فترات الفصل على الاوساط المختلفة . وهناك طرق تعطى تأكيد واضح فيما يتعلق بتعريف المركب مثل طيف الكتلة . وهناك طريقة اخرى تعتمد على تحويل المبيد الى احد المشتقات التى تناسب الفصل الكروماتوجرافى اللاحق والعديد من طرق التحويل نشرت فى الحقبة الماضية .

الحساب Calcultion :

فى الدراسات المشتركة وجد انه عندما يقدر تركيز المخلفات من صور ضوئية للخريطة الكروماتوجرافية المتحصل عليها من التحليل تكون دقة النتائج فقيرة بدرجة تثير الدهشة . ان وضع خط اساس مقبول acceptable base-line والتصحيح الخاص بالمواد المتداخلة (ذات القمم الصغيرة) يبدو انها تجرى فى ظل اختلافات واسعة تبعا لإختيار الفرد . هذا اتجاه بسيط ولكن هناك حسابات اكثر صعوبة فى الاصل مثل تعريف مخاليط قمم المنحنيات العديدة التى ظهرت

على الكروماتوجرام كما فى حالة الكلوردان . ان الحساب بالنسبة للمركب القياسى الخارجى قد يعتمد على المساواة normalisation (اذا كان ذلك ممكنا) او على واحد أو اثنين من القمم او على وقت الفصل الطويل او القسم الخاصة بالعينات الغير ميدانية أو بالمقارنة مع المنتج التجارى . كل هذه الحسابات تعطى نتيجة مختلفة وكل منها يمكن اعتباره صحيحا .

على القائم بالتحليل ان يقرر ما اذا كان سيستعمل عامل التصحيح لتركيز المخلفات المحسوب تبعا للإسترجاع خلال مراحل التنظيف والتقدير . فى تجارب الاسترجاع recovery التى تجرى جنبا الى جنب مع العينات المختبرة فان المبيد المضاف يمكن استرجاعه بشكل كمى . اذا عمل حساب الاخطاء العشوائية التى تحدث فى اثناء التنظيف والتحليل يمكن اعتبار الاسترجاع كميا اذا كانت النسبة الموجودة تقع بين ٧٠ – ١١٠ ٪ من تلك التى اضيفت فى البداية . اذا كان الاسترجاع اقل من ذلك ولكنه دقيق بناء على تجارب متعددة يمكن استخدام التصحيح الخاص بالاسترجاع . اذا كان الاسترجاع منخفضا ومتغير يجب فحص خطوات الطريقة لمعرفة بعض العوامل الغير مرغوبة والتى تحدث فقدا غير منتظما .

التصحيح بالنسبة للعينة القياسية الخالية من المبيد Blank يعتبر سؤالا صعبا فى مجال تحليل المخلفات . من غير المقبول خصم تركيز المخلفات الظاهرى apparent فى العينة الغير معاملة (اذا كان هناك عينة غير معاملة) من التركيز فى العينة المعاملة . هناك اعتباران ، فى حالة واحدة فقط اذا كانت قمة منحنى الفصل فى الكرماتوجرام الخاص بالعينة الغير معاملة ترجع الى التداخل من جراء مادة موجودة فى المستخلص co-extracted يكون السؤال هل يمكن التصحيح بالـ sBlank . بالرغم من صعوبة تأكيد ذلك خاصة انه ليس مستغربا ان تحتوى عينة المقارنة على تركيز صغير من المبيد من جراء انجراف المبيد من مكان المعاملة أو تلوث العينة . اذا كانت قمة الفصل فى كروماتوجرام العينة الغير معاملة كما هو فى الوضع الحقيقى متسببة بالمبيد لا يجب اجراء تصحيح باستخدام عام الـ Blank .

الاخطاء Errors :

الاختلاف فى النتائج الخاصة بمخلفات المبيدات فى العينات قد تنشأ من عدد كبير من العوامل الغير مرتبطة ببعضها وكل منها قد يساهم فى احداث خطأ عشوائى او غير عشوائى او كلاهما معا . يمكن حساب الخطأ العشوائى الكلى من الأخطاء الفردية عن طريق قانون تزايد الاخطاء Law of propagation of errors حيث ان التباين الكلى يساوى مجموع الاختلاف الناتجة من العوامل الغير مرتبطة (التباين = مربع الانحراف القياسى) .

الخطأ العادى Systematic لأى طريقة يحدد دقة النتائج أو مدى قرب النتائج من القيم الحقيقية وكلما زاد الخطأ كلما قلت دقة الطريقة وكلما بعدت عن النتيجة الحقيقية . ان تجارب الاسترجاع تعتبر مقياس للخطأ العادى (مؤكدا ان الطريقة تحقق استخلاص كمى نظرا لأن تجارب الاسترجاع لا تقيس الاخطاء فى عملية الاستخلاص) . فى معمل التحليل معروف الخبرة فى تحليل مخلفات المبيدات والذى يستخدم طرق صالحة ومناسبة فان الانحراف عن قيمة الاسترجاع

الكلى ١٠٠٪ فى متوسط مجموعة من تجارب الاسترجاع عادة تقل عن ١٠ ٪ . لذلك يمكن القول ان العديد من طرق تقدير المخلفات الشائعة الاستخدام والمشتركة تكون بالضرورة كمية .

من المكونات الاخرى للخطأ الكلى ما يعرف بالخطأ العشوائى random error وهو يحدد دقة نتائج اى طريقة وكذلك قربها من اى طريقة اخرى . وكلما زاد الخطأ كلما افتقرت الدقة وبعد النتائج بعضها عن الاخر . المقاييس العادية للخطأ العشوائى هى الانحراف القياسى والانحراف القياسى النسبى (نسبة الانحراف القياسى الى المتوسط) . ان قياس الخطأ العشوائى فى معمل ما فى حالة قيام متخصص واحد بالتحليل و الحصول على نتائج متتابعة عند استخدام نفس الجهاز وتحت ظروف تشغيل ثابتة على مادة اختبار متماثلة يسمى « تكرارية الطريقة Repeatability of the method » . بالنسبة لطرق تقدير المخلفات الشائعة الاستعمال والمقبولة بناء على الدراسات المشتركة يعبر عن تكرارية الطريقة على اساس الانحراف القياسى النسبى بالقيمة القصوى واحد . وهذه القيمة تتحقق مع العاملون ذوى الخبرة الكبيرة والعاملون فى معمل جيد التجهيز مع استخدام طرق مناسبة فى حدود التركيزات التى يكشفون عنها .

تدوين النتائج Reporting results

يعتمد هذا الجزء من تحليل مخلفات المبيدات بدرجة كبيرة على متطلبات الجهات المعنية بالتحليل ومن الصعب وضع قواعد صارمة لتدوين البيانات والنتائج او حتى عن الدقة المطلوبة . ومن المتفق عليه ان كلا من القائم بالتحليل ومن سيقوم باستخدام معلومات تحليل المخلفات يكونا على رضاء تام بقدرات الطرق المستخدمة وتمثيل النتائج والبيانات التى تسفر عنها قبل بداية العمل . يعتمد صلاحية تمثيل البيانات الخاصة بالمخلفات على المعلومات المتاحة عن كيفية تأثير العوامل المختلفة ودورها فى اختلاف النتائج . ومن ثم فان عدد التحليلات يجب ان تجرى لتوضيح مدى الخطأ الموجود كما يجب حساب الانحراف القياسى .

يجب ان تشمل جميع بيانات التحليل الناتجة من العينات ما يتعلق بالمركب الاصلى ونواتج التمثيل وليس مجرد ملخصات او ارقام متوسطات . كما يجب توضيح كيفية حساب المخلفات وسبل التعبير عنها .

فى حالة الضرورة يجب كتابة مذكرات توضيحية تشرح اسباب التفاوت فى النتائج . فى معظم السلع يجب التعبير عن مخلفات المبيدات ونواتج تمثيلها على اساس المركب الكلى كما هو مسوق تجاريا . او كما هو مجهز للتسويق ومثال ذلك الخضروات بدون الاوراق الخارجية او الخضروات الجذرية بعد ازالة الاجزاء الهوائية ... الخ .

يجب ان تعضد بيانات المخلفات بواسطة :

١ – وصف كامل وشامل او الاشارة لطريقة التحليل المستخدمة بما فيها الاجهزة والجواهر الكشافة .

٢ – بيانات عن تخصص الطريقة المستخدمة .

٣ – بيانات عن حدود التقدير فى الطريقة المستخدمة على السلعة المعينة .

٤ – بيانات كافية عن الاسترجاع على مستويات محددة ذات صلة بتلك التى توجد فى الواقع العملى .

٥ – قيمة العينة الغير معاملة (المقارنة) والانحراف القياسى الخاص بها بما فيها عدد العينات التى بنى على اساسها الانحراف القياسى .

٦ – توضيح ما اذا كانت النتائج تعرضت للتصحيح ام لا بناء على (المقارنة غير المعاملة) او معدل الاسترجاع أو كلاهما .

٧ – توضيح كافى عن المعاملات السابقة لخطوات التحليل والتى اجريت على العينة مثل الغسيل والتقشير والتخلص من التربة أو اى طريقة تجهيز حدثت قبل التحليل . كل هذا يجب ان يذكر عن كمية مخلفات المبيد الموجودة .

FURTHER READING قراءات اضافية

Burke, J., and McMahon, B. "Analysis of Food for Residues of Pesticides", FDA By-Lines, No. 4. January 1977.

Cochane, W.P., Whithey, W. The Canadian Cheek Sample Programme on pesticide Residue analysis : Reliability and Performance. Pesticide Residues, 1979, Pergamon Press.

Car, M. Internal laboratory Quality Control in the Routine Determination of Chlorinated Pesticide Residues. Pesticide Residues, 1979 pergamon Press.

Telling, G.M. Good Analytical Practice in Pesticide Residue Analysis. Proc. Analyt. Div. Chem. Soc. Jan. 1979.

"Guidelincs on Analytical Methodology for Pesticide Residues Monitoring", Federal Working Group on Pest Management, Washington, D.C. 20460, June 1975.

Sherma, J. "Manual of Quality Control for pesticides and Related compounds in Human and Environmental Samples", USA Environmental Protection Agency, EPA 600/1 76 017. February 1976.

"Pesticide analytical Manual", Volume 1, US Department of Health, Education and Welfare, food and Drug Administration.

تقرير عن تجربة تحليل مخلفات المبيد – الجزء الثانى (B) الخاص بالتحليل

الشخص او الاشخاص المسئولون عن التحليل :

....

* تعريف العينة Identity of sample :

المحصول السلعة	تعريف العينة او العدد
المبيد أو المبيدات المستخدمة على العينة أو السلعة	

* ظروف ومعاملات العينة أو العينات Condition and treatment of sample

تاريخ استلام العينة أو العينات فى المعمل	تاريخ أو تواريخ التحليل
طريقة التخزين وظروف العينة أو العينات	
جزء العينة أو العينات التى تحلل	

* التحليل Analysis

طريقة التحليل (او المرجع) أو / و التحويرات	
الاستخلاص : التنظيف	
طريقة التقدير والتعبير عن المخلفات	
الاسترجاع	
حدود التقدير	

* النتائج Results :

معدل الجرعة	
الفترة من المعاملة وحتى اخذ العينات	
المخلفات* (بدون تصحيح للاسترجاع أو المقارنة)	
المقارنة (بما فيها الانحراف القياسى)	

أى معلومات اخرى مثل ثبات المخلفات تحت ظروف التخزين

* على صورة متوسطات او مدى او عدد التحليلات .

رسم تخطيطى لمراحل تحليل المبيدات

Schematic flow diagram for pasticide analysis

فى الغالب يكون وصف طريقة تقدير مخلفات المبيد طويلا ومعقدا نظرا لأنه يشتمل على العديد من الخطوات المتتابعة منذ بداية الإستخلاص وحتى التقدير والتأكيد . ومن الناحية العملية يصعب تمييز النقطة أو الخطوة المتميزة من خلال التفاصيل التجريبية العديدة وصعوبة متابعة الفصلات الكثيرة والخلطات العديدة . ومن هذا المنطلق يصبح من الاهمية بمكان وجود اسلوب مختصر واضح لطريقة التحليل . والاشكال التخطيطية لمراحل التحليل المتتابعة Schematic Flow Diagrams تستخدم على نطاق واسع فى مجال الالكترونيات وتكنولوجيا الكيمياء وغيرها من فروع المعرفة ولكنها لم تستخدم بعد فى الكيمياء التحليلية بالرغم من النشرات الخاص بهذا الموضوع .

الاحتياجات والمتطلبات Needs and Requirements

تحقق الرسوم التخطيطية لتحليل المبيدات بعض المتطلبات الاساسية والضرورية :

أ – يجب ان تمثل طرق التحليل بالاساسيات وليس بنوعية الاجهزة لأنها تتغير مع التقدم التقنى .

ب – يجب ان توضح خطوات الفصل خطوات التجزئة والعزلات Fractionations و Isolations وغيرها والتى يجب ان توضح طبيعة المواد المساعدة مثل المذيبات بالاضافة الى مكونات العينة .

جـ – مسارات النقل والانسياب يجب ان توضح وبتكامل بقدر الامكان .

د – قواعد عمل خريطة العمل يجب ان تكون دقيقة بقدر الإمكان حتى يمكن استبعاد الاستنتاجات الخاطئة ولكنها تسمح كذلك باختيار اى الطريقين اما التفصيلات او الاختصارات ..

هـ – يجب ان تكون الرموز من عناصر بسيطة ما امكن تكفى لتسهيل التذكرة كما تكون سهلة الرسوم .

وبناء على هذه المعايير الخمسة وضعت المفاهيم التالية فى عام ٦١/١٩٦٠ باستخدام بعض العناصر الاساسية الموجودة فى النماذج القياسية الالمانية الخاصة بتكنولوجيا الكيمياء (DIN 7091) وتستخدم هذه الرسوم فى العديد من المجالات دون الحاجة لاجراء تغييرات ضرورية كما ثبت ضرورتها وملائمتها للعمليات الخاصة بالتحليل فى المعمل .

الرموز والقواعد Symbols and Rules :

جميع العينات الاصلية والعينات الصغيرة Subsamples والفصلات Fractions تمثل بمثلثات وجميع طرق التحليل بمربعات ، جميع مساحات المادة تمثل بالاسهم (شكل ١) . عمليات التحليل توصف ببعض العناصر الاضافية التى يمكن ان تدمج بطرق عديدة (شكل ١ رقم ٤ – ١٠) . الخط الرأسى يمثل الفصل الطبيعى لوسطين موجودين والقسمين الناتجين فى المربع يمثلا الوسطين والتى يمكن وصفهما بالعناصر S (9, I). لو تكون الوسطين بوسائل اخرى للفصل الجزئى يوصف النظام بخط افقى بعلامات متقاربة للوسطين . ويستخدم القطر لوصف جميع التفاعلات الكيميائية كما يستخدم ايضا الرموز S (9, I) . ومن النادر ان تستخدم الرمزين الاخيرين منفردين ولكنهما يستخدما غالبا مع بعضهما او مندمجين مع رمزين آخرين . ويرمز للوسط المتحرك بنصف سهم ، والخط المزدوج يرمز الى وجود مواد اضافية التى تساعد فى الفصل كما فى حالة المذيب او التفاعل الكيميائى مع جوهر كشاف .. وفى النهاية توصف جميع القياسات بشكل ثمانى الاضلاع يزود ايضا بالكمية المقدرة ووحدتها والاختصارات الشائعة لها .

الاساسيات الضرورية لأساليب الفصل الحديث يمكن ان توصف بوضوح بدمج بعض العلامات والرموز (شكل ١ رقم ٢ ، ٦ ، ٧ ، ٨ ، ٩) وبطريقة تجعل المدخلات والمخرجات الخاصة بمادة التحليل واضحة كأشياء مرئية فى خريطة التحليل Flow sheet . ولعمل تفريعات وتوصيلات بين العمليات المختلفة تستخدم علامات مناسبة لتوضيح التشابك والارتباط بين العمليات كوحدة متكاملة (شكل ١ رقم ١١ ، ١٢) .

وليكن معلوما ان القواعد والرموز السابق الاشارة لها اجبارية والرسم التخطيطى المقترح يمثل الهيكل الاساسى لاى حالة ويمكن استكمالها واضافة عناصر اخرى .. مثال ذلك استخدام الضغط الزائد او التفريغ ويسمح كذلك باية تفسيرات شفوية عند الحاجة .

الاستخدامات Application :

القواعد الخاصة بعمل الشكل التوضيحى لطريقة التحليل تعطى الفرصة للاختيار بين التفصيل والاختصار وهو يفيد فى اغراض مختلفة داخل معامل التحليل .

*** اسلوب وصف العمل داخل المعمل Procedure descriptions for lab. work**

فى العمل اليومى يلعب الرسم التوضيحى دور التذكرة المختصر لحظة العمل خاصة ما يتعلق بحجم العينات والفصلات والقياسات وغيرها (شكل ٢) . ويحتوى الرسم كذلك على قائمة مرئية ومسلسلة زمنيا للاجهزة (الأقماع – المرشحات .. الخ) والكيميائيات المطلوبة (مذيبات .. جواهر كشافة .. وغيرها) فى خطوات متتابعة للتحليل .

* **تمثيل الطرق البديلة Presentations of alternative methods**

فى بعض الاحيان تكون طرق تحليل المبيد معقدة وتمثل مشكلة نظرا لأن الطريقة المناسبة تعتمد على طبيعة العينات وتوفير الجهاز المناسب وغيرها من العوامل الاخرى . يمكن تمثيل الطرق البديلة فى رسم تخطيطى يستخدم فيه وسائل معينة مثل الرموز والعلامات الخاصة بقرار معين او حذف جميع الخطوات ذات الاهمية القليلة (شكل ٣) . وهنا توضح خطوات التحليل الضرورية بوضع خط تحتها ومن ثم تصبح نقاط القرارات الهامة والمؤثرة واضحة تماما .

* **نماذج الطرق الالية Flow patterns of automated methods** :

التدفق المستمر للمادة خلال النظم الالية مثال جهاز التحليل الذاتى Auto analyser (R) غالبا يحدث سوء فهم . لذلك فان نموذج الانسياب مع التاكيد على معدلات الانسياب تساعد فى توضيح وفهم الاسلوب الخاص بالتحليل (شكل ٤) .

استحدث اسلوب الشكل التخطيطى او انسياب خطوات التحليل لتسهيل مهمة القائم بالتحليل فى عمله اليومى وهو يحقق المتطلبات والمعايير التى ذكرت من قبل والرموز والقواعد قابلة للتغيير والاجتهاد مع تقدم التقنيات الخاصة بالتحليل .

ومن الافضل ان توضع الاشكال الأربعة كما هى وباللغة الانجليزية .

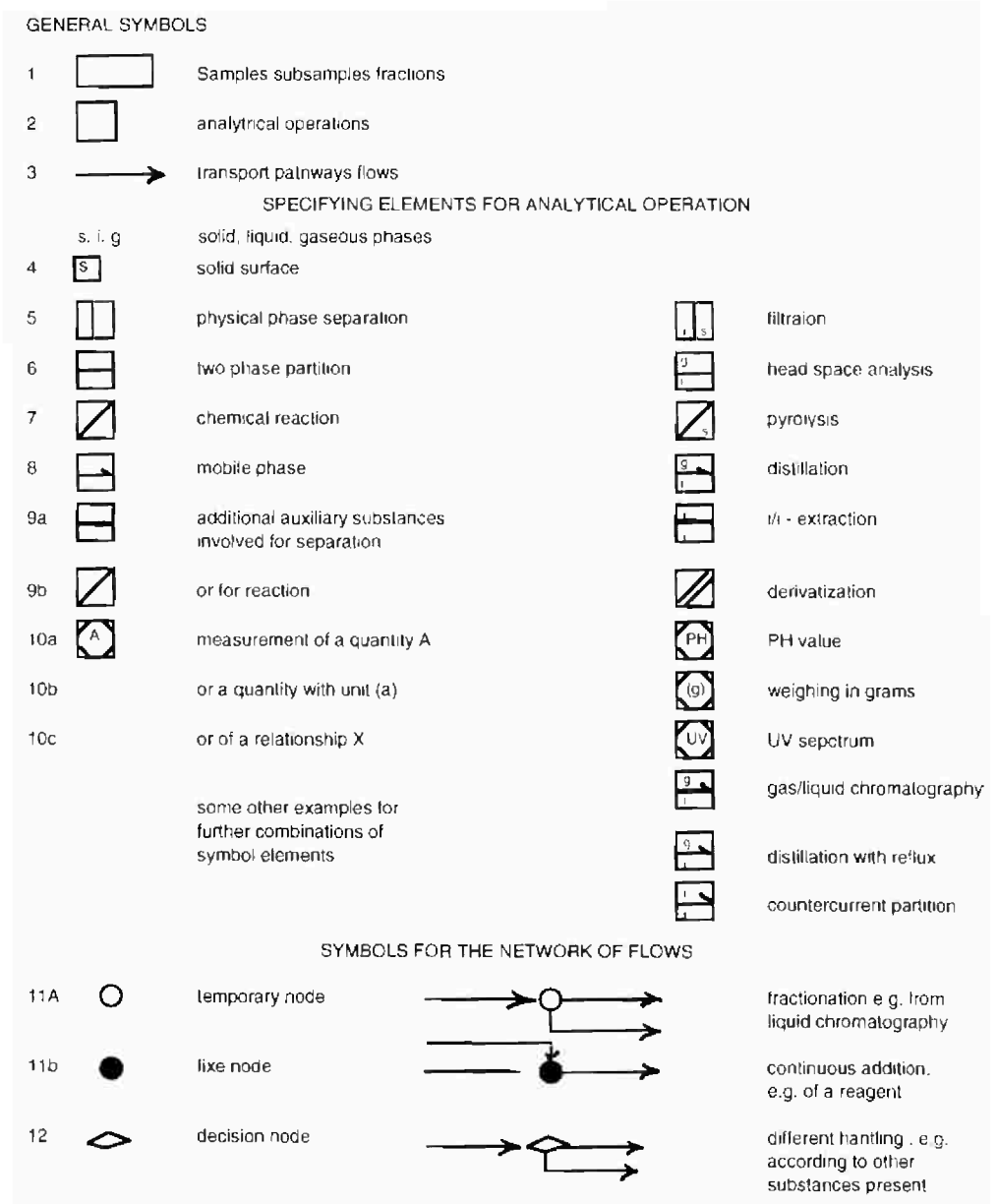

Fig. 1. Construction of symbols from 12 basic elements and examples of application.

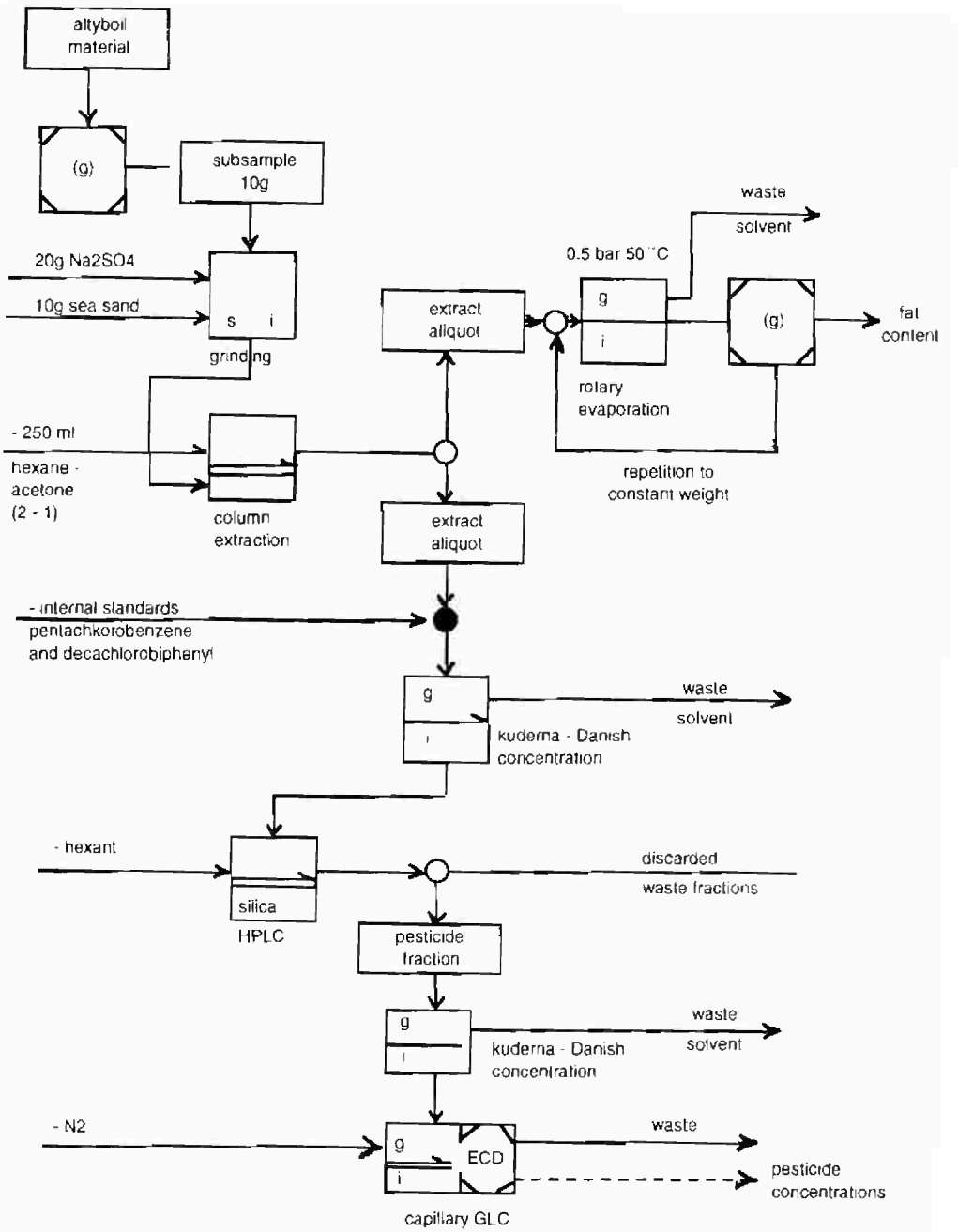

Fig. 2. Example of a procedure description with details for laboratory work : Analysis of lipophilic organochlorine pesticides in fatty biological material.

تحليل المبيدات الكلورينية العضوية المحبة للدهون فى المواد الحيوية .

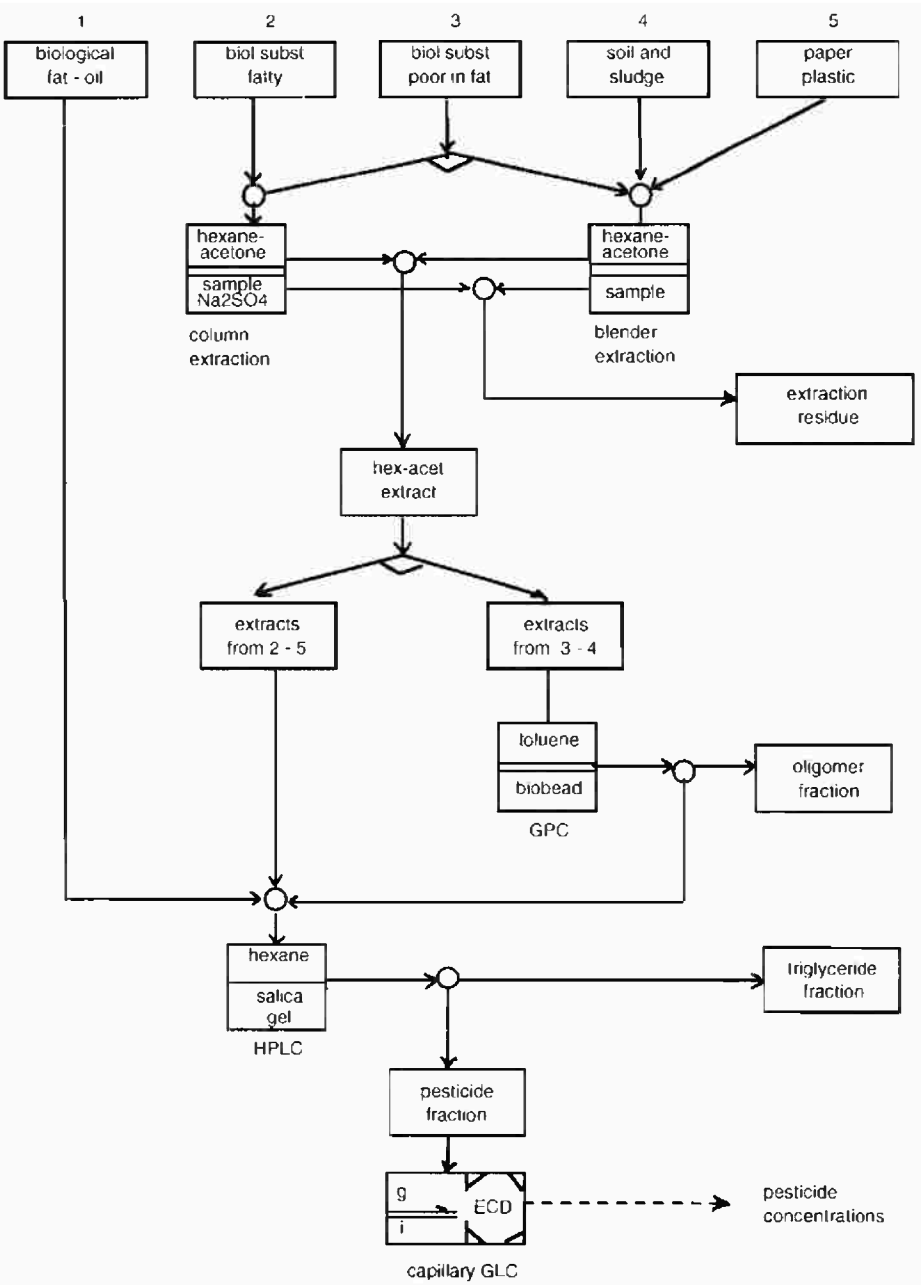

Fig. 3. Example of a summarizing presentation of alternative methods : Analysis of organochlorine pesticides in different sample materials. (Steps of minor limportance omitted).

مثال يلخص إستعراض الطرق البديلة

تحليل المبيدات الكلورينية العضوية فى مختلف الأوساط (ثم حزف الخطوات قليلة الأهمية)

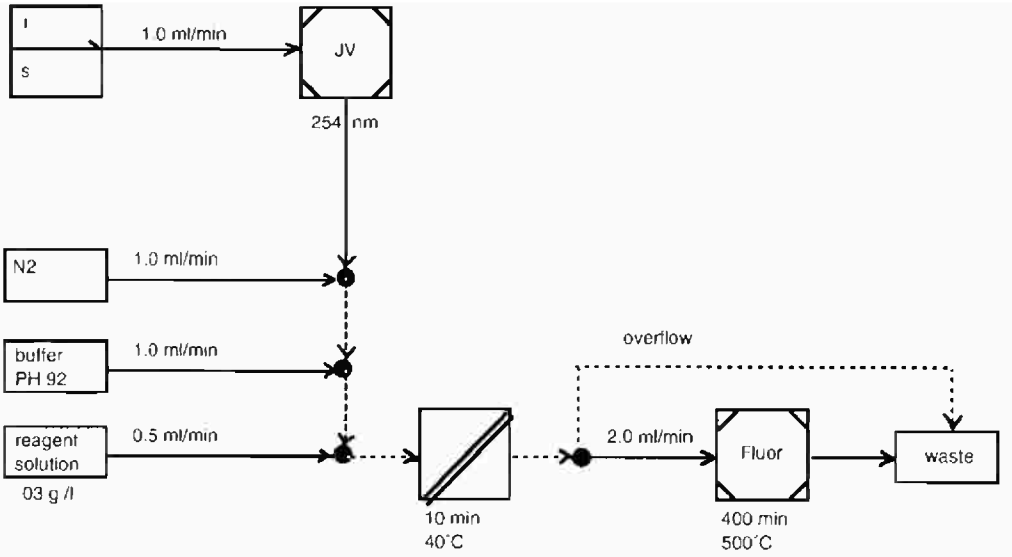

Fig. 4. Example of a flow diagram for automated methods :
Post-column reaction of anilines with fluorescamin for HPLC.
(Dashed line : air-segmented flow)

مثال توضيحى للطرق الآلية

تفاعل ما بعد العمود للأنيلات مع الفلورسكابين لجهاز الكروماتوجرافى فائق المقدرة

(الخط المنقط المتقطع يمثل إنسياب حلقات الهواء)