الفصل السادس والعشرون

– الوضع الحالى والمستقبلى للطرق المتعددة لتقدير مخلفات المبيدات :

- مقدمـــــة .
- عملية التحليل :

١ – فحص مستخلص الاسيتون بواسطة الكروماتوجرافى الغازى .

٢ – اختبارات اضافية لمستخلص الاسيتون .

٣ – الكشف عن المستخلص المائى .

٤ – الكشف عن المواد الصلبة .

ى– الاعتبارات الحالية والمستقبلية .

قائمة المراجع

الوضع الحالى والمستقبلى للطرق المتعددة لتقدير مخلفات المبيدات

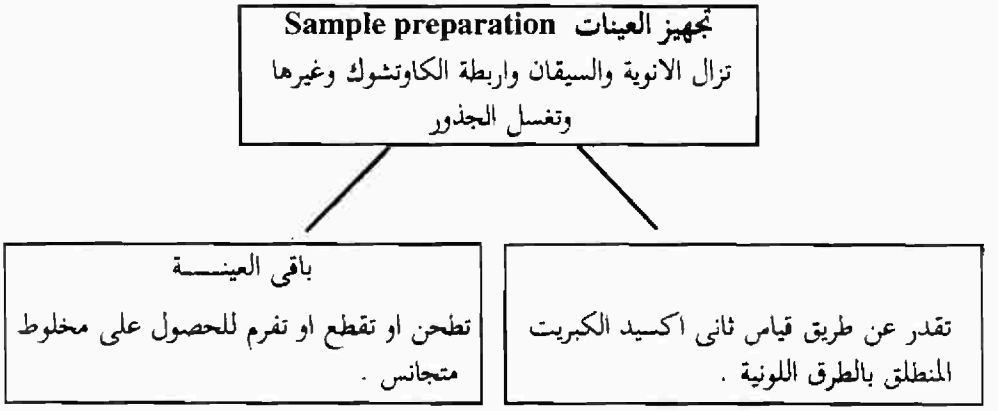
Current and Future Status of Pesticide Multiresidue Methodology

مقدمـــــة Introduction :

قد تختلف متطلبات الطريقة التى تستخدم لتقدير العديد من مخلفات المبيدات الموجودة معا فى العينة Multi residue method تبعا لمسئوليات المعامل وعاملى الوقت وعمق التحليل . يتضمن البرنامج الامريكى لهيئة الغذاء والادوية هدفين رئيسيين : الاول لتحديد ما اذا كانت مخلفات المبيد فى الغذاء والاعلاف تزيد عن الحدود المسموح بها او ليست لها حد مسموح وتخضع لاجراء تنظيمى تشريعى مناسب . والهدف الثانى جمع بيانات عن مخلفات المبيدات فى الغذاء والاعلاف لتقييم درجة الامان وتحديد موقف الانشطة المباشرة والتخطيط للبرامج المستقبلية . تشترط سلطات ولاية لوس انجلوس ضرورة استكمال تحليل العينات فى نفس يوم وصول العينات حتى يمكن اتخاذ اية اجراءات تنظيمية اذا تطلب الامر ذلك . ان نقص المعلومات عن المبيد المستخدم على اى منتج خاص تتطلب اجراء مسح شامل خلال ساعات قليلة من وصول العينة للمعمل . الطرق الرسمية المذكورة فى AOAC (١٩٩٠) مقصورة على المبيدات الكلورينية والفوسفورية العضوية ، بينما مستخلص الاسيتون يحتوى على مخلفات اى مبيد عضوى الغير ايونية ، وحتى بعض المركبات الايونية . لقد استمر تطوير طريقة Luke بالتكامل مع الطرق المحدودة لتقدير المخلفات المتعددة لمركبات Benzimidazole (٥) و Cyhexatin (٦) والكاربامات (٧) والبيرثرويدز المخلقة (٨ – ١٠) والفينيل يوريا (١١) واحماض الكلوروفينوكس (١٢) والجليفوسات و Formetanate HCL والباراكوات (١٣) . وكل من هذه المبيدات او مجموعات المبيدات تستخلص من العينة النباتية باستخدام الاسيتون والماء او من السليلوز باستخدام الحامض . بعض المواد تتطلب ظروف خاصة لجهاز الكروماتوجرافى الغازى GC بينما يحتاج البعض الاخر الى عمليات ترشيح او تنظيف قبل الادخال فى جهاز HPLC . ولكنها جميعا يمكن ان تستكمل خلال ساعات قليلة وتنتهى عمليات التحليل .

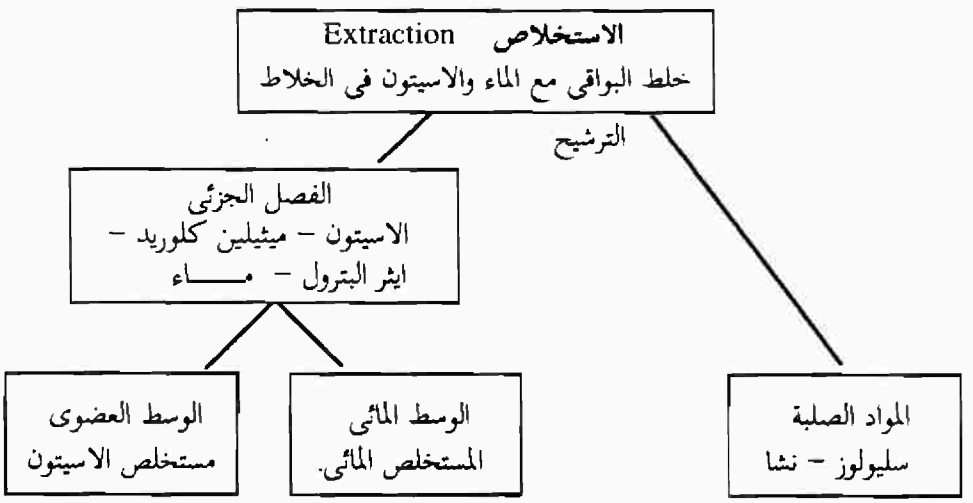
عملية التحليل The analytical process :

يعمل الكيميائيون فى معامل تقدير المخلفات فى لوس انجلوس كفريق متكامل يضطلع بمهام تجهيز العينات وتقدير المخلفات الموجودة . وانسياب عمليات التحليل يتم بالتتابع او فى نفس الوقت باستخدام خط او سلسلة من الكيميائيات والاجهزة . يبدأ الفريق عملية التحليل باخذ ثمرة او ثمرتان فاكهة او عينة خضروات لتقدير ELBDC (ethylene-bis-dithiocarbamate) من خلال انطلاق ثانى اكسيد الكبريت بينما تستخدم بقايا العينات للاستخلاص (شكل رقم ١) .



شكل (١) : رسم تخطيطى لتجهيز الثمار والخضروات للاستخلاص المتتابع تبعا لطريقة Luke .

يتم وضع ١٠٠ جم من البواقى فى الخلاط مع ٢٠٠ ملليلتر من الاسيتون . ثم يرشح مستخلص الماء / اسيتون للتخلص من الاتربة . ثم يؤخذ ٨٠ ملليلتر من السائل للفصل الجزئى ويعاد استخلاص الجزء الصلب مرتان بالاسيتون قبل اجراء الاستخلاص بالحامض لمبيدى الباراكوات والدايكوات . ثم يجرى الفصل الجزئى باستخدام ايثر البترول وكلوريد الميثيلين لفصل المذيبات العضوية عن الوسط المائى الذى يحتفظ به لتحليل الجليفوسات والفورميتنتات يد كل او اية مخلفات اخرى ذائبة فى الماء . ثم يركز الوسط العضوى فى مبخر كودربنادانيش عن طريق اضافة ايثرا لبترول لازالة كل اثار الميثيلين كلوريد تاركا المستخلص فى الاسيتون (شكل ٢) .

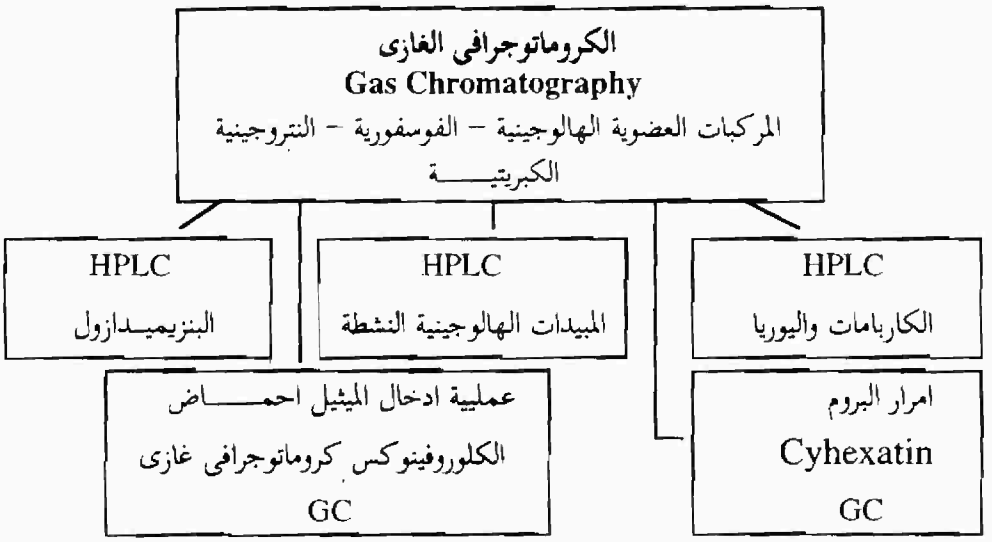


شكل (٢) : رسم توضيحى لعملية التحليل الموجودة فى الإستخلاص/ الفصل الجزئى من خلال طريقة ليوك .

١ – فحص مستخلص الاسيتون بواسطة الكروماتوجرافى الغازى :

تبدأ عملية فحص مستخلص الاسيتون لتقدير مخلفات المبيدات باختبارات الغربلة باستخدام

عدة نظم للكروماتوجرافى الغازى (شكل ٣) . وتقوم معامل لوس انجلوس بعمل ١٦ عملية كروماتوجرافى غازى يستخدم فيها اعمدة معبأة على درجة ٢٠٠ م . هذه النظم تستخدم كاشفات اللهب اللونى (FPD-P) للمبيدات الفوسفاتية وكاشفات الفصل الكهربى Hall electrolytic conductivity للمواد الهالوجينية (ELCD-X) والمبيدات المحتوية على النتروجين (ELCD - N) . وتستخدم ثلاثة اوساط سائلة OV - ١٠١ و OV - ١٧ و DEGS وهى تعطى قطبية مختلفة لتعريف المركبات ذات الازاحة المتقاربة . قيم فترات الفصل Retention time لمئات من مبيدات الافات على هذه الاعمدة متوفرة فى كتاب التحليل (الجزء الاول) FDA Pesticide Analytical Manual . هناك العديد من الانظمة تعمل على ٢٢٠ م مع الأعمدة اقل من ١ م فى الطول وذلك للمركبات التى تنساب متأخرا مثل الجوثيون والبرمثرين (الاشكال من ٤ - ٩).



شكل (٣) : رسم توضيحى لمختلف طرق التقدير للكشف عن مخلفات المبيدات الموجودة فى مستخلص الاسيتون تبعا لطريقة ليوك .

٢ – اختبارات اضافية لمستخلص الاسيتون Additional examination :

عند انتهاء واستكمال الغربلة الاولى باستخدام الكروماتوجرافى الغازى GC يمكن تجهيز مستخلص الاسيتون للتقديرات الخاصة بالدراسات الاخرى بالـ HPLC والتحولات الكمية للمركب الاصلى Derivatization . يستخدم جزء من المستخلص لكل اختبار اضافى او للتقديرات جميعا فى التحليلات الخاصة . يمكن تقدير مركبات البنزيميد ازول كمجموعة باستخدام HPLC . تحلل المبيدات بينوميل والثيوفينات ميثايل الى الكربيندازيم وهو يمثل المخلفات الموجودة فى مستخلص الاسيتون بعد عملية الفصل الجزئى . يضاف ١ ملليلتر من المحلول الايونى المزدوج ثم يوضح المخلوط خلال C18 - Sep - Pak ويرشح السائل خلال مرشح سعته

٤٥ر ميكرون ثم يحقن جزء فى HPLC المزود بكاشف الاشعة فوق البنفسجية UV والفلورسنت . يقدر الاللومينات وهى ناتج تحليلى اخر من مركب الثيوفينات ميثايل مع المركبات الاخرى . كما يوجد ايضا الناتج الثيوبندازول يمكن تحليله وتقديره بجهاز الكروماتوجرافى الغازى المزود بكاشف حساس للنتروجين .

كما يوجد فى مستخلص الاسيتون المركبين Cyhexatin و Fenjbutatin ولكنهما لا يكتشفا جيدا بالكروماتوجرافى الغازى مع معظم الاعمدة . يمكن تكوين مشتق البرومين البسيط مع السيهاكسيتن يفصل جزئيا مع الوسط العضوى . يمكن ان نقدر المركبين باستخدام الكروماتوجرافى الغازى باستخدام حامض الفوسفوريك فى العمود وكذلك بالكاشف صائد الالكترونات .

مستخلص الاسيتون
الكروماتوجرافى الغازى
انظمة الازاحة العادية فى اجهزة الكرماتوجرافى الغازى
لمبيدات الافات الهالوجينية

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المالئة	OV-101	٢٠٠ م	٢ متر	ELCD-X
المادة المالئة	OV-17	٢٠٠ م	٢ متر	ELCD-X
الميجابور	Rtx-50	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-X

لقد تم فصل وتعريف ١٤٠ مبيد ونواتج تمثيل بالكروماتوجرافى الخاص بالهالوجينات من ٣ر – ٧ بالنسبة للكلوربيريفوس (سادس كلورور البنزين والميثوكسى كلور)

شكل (٤) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للكشف عن المبيدات الهالوجينية المزاحة بالطرق العادية .

مستخلص الاسيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الازاحة المتأخرة فى اجهزة الكرماتوجرافى الغازى

لمبيدات الافات الهالوجينية

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المالئة	OV-101	٢٠٠ م	١ متر	ELCD-X
المادة المالئة	الالترا بوند	٢٠٠ م	١ متر	ELCD-X

هذه النظم تتبع اساسا للبيرثرويدز المخلقة مثل البيرومثرين والفينفاليرات والسيبرمثرين

شكل (٥) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للكشف عن المبيدات الهالوجينية المزاحة المتأخرة .

مستخلص الاسيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الازاحة العادية

للمبيدات المحتوية على الفوسفور

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشف
المادة المالئة	OV-101	٢٠٠ م	٢ متر	FPD-P
المادة المالئة	OV-17	٢٠٠ م	٢ متر	FPD-P
المادة المالئة	DEGS	٢٠٠ م	١ متر	FPD-P

تم الكشف عن اكثر من ١٢٠ مبيدا ونواتج تمثيل تحتوى على الفوسفور بطريقة الفصل الكروماتوجرافى الغازى (من ١ر – ٤ بالقياس للكلوربيريفوس) (TEPP والثيون) يمكن فصل المركبات ذات القطبية العالية مثل الميثاميدوفوس والاسيفات والاميثوات والمونوكروتوفوس باستخدام المادة المالئة DEGS .

شكل (٦) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى لمبيدات الافات المحتوية على الفوسفور المزاحة بالطرق العادية .

مستخلص الاسيتون

الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الازاحة المتأخرة للمبيدات المحتوية على الفوسفور

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشـــف
المادة المالئة	OV-101	٢٢٠ م	٥ر متر	FPD-P
المادة المالئة	OV-17	٢٢٠ م	٥ر متر	FPD-P
الميجابور	Rtx-1	٢٢٠ م	١٥ متر	FPD-P

هذهة الانظمة تمكن من الكشف الكروماتوجرافى لاكثر من ٢٠ مبيد من تلك التى تزاح متأخراً مثل الكاربوفينيثيون والازينوفوس ميثايل والفوسالون .

شكل (٧) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى لمبيدات الافات المحتوية على الفوسفور والتى تزاح متأخرا .

مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافى الغازى

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشـــف
الميجابور	Rtx-1	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N
الميجابور	Rtx-35	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N
االميجابور	Rtx-50	٢٠٠ م	١٥ متر	ELCD-N

هذه الانظمة تكشف عن اكثر من ٤٠ مبيد مختلف او نواتج تمثيل تحتوى على النتروجين او الكبريت وليس الهالوجين او الفوسفور . يتراوح معدلات الإزاحة النسبية مقارنة بالكلوربيريفوس من ١ ر – ٥ (من الـ EPTC وحتى الفينيروباثرين) . المركبات ذات الاهتمام الاكبر فى هذه النظم هى الكاربايل والميتاليكسيل والثيابندازول. تحتاج مركبات الالديكارب سلفوكسيد والميثوميل ظروف خاصة .

شكل (٨) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للمبيدات التى تزاح بالنظم العادية والمحتوية على النتروجين .

مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافى الغازى

انظمة الإزاحة العادية GC للمبيدات المحتوية على الكبريت

العمود	الوسط السائل	درجة الحرارة	طول العمود	الكاشـــف
الميجابور	Rtx-50	٢٠ م	١٥ متر	FPD-5

يمكن تقدير مخلفات مبيدات البروباجاريب والـ ET4 بهذا النظم وكذلك يستخدم كاختبار تأكيدى لوجود المركبات المحتوية على الكبريت .

شكل (٩) : ظروف التقدير بالكروماتوجرافى الغازى للمبيدات التى تزاح بالنظم العادية والمحتوية على الكبريت .

يمكن تقدير معظم الكربامات باستخدام GC الكروماتوجرافى الغازى مع الكاشف الحساس للنتروجين ولو ان بعض المركبات (مثل الالديكارب والميثوميل) تحتاج الى ظروف خاصة . البديل اخذ مستخلص الاسيتون للكروماتوجرافى الغازى قرب الجفاف ثم يخفف فى ٥ر ملليلتر من الاسيتون . يوضع ٤ر ملليلتر من هذا المستخلص فى العمود C18 SEP-1.Ak ثم يزاح باستخدام ٥٠ ٪ محلول الاسيتونيتريل / ماء . يرشح المزاح خلال مرشح ٤٥ر ميكرون ثم يحقن فى APlc بعد التحول الى امينات الميثيل والفلورسنت التى تقدر . هذا النظام قادر على تقدير اكثر من ٣٠ مركب كارباماتى ونواتج التمثيل metabolites . يؤدى احلال وحدة التحلل القلوى بنظام التحلل فى الاشعة فوق البنفسجية UV الى زيادة عدد ونوعية المبيدات التى يكشف عنها بما فيها مركبات الفينيل يوريا والمركبات النتروجينية .

يجرى فصل جزئى للبيرثرويدز المخلقة مثل البيرمثرين والفينفاليرات والسيبرمثرين وغيرها فى وسط عضوى ويسهل تقديرها بالكروماتوجرافى الغازى GC . الجهاز يجب ان يشغل على درجات حرارة عالية او ظروف خاصة لتحقيق حساسيات عالية . يمكن تقدير هذه المبيدات بجهاز HPLC المزودة بكاشفات النشاط الضوئى . يجرى تبخير للاسيتون حتى الجفاف باستخدام تيار من النتروجين الجاف ويؤخذ المخلفات فى الاسيتونيتريل . يرشح وسط الاسيتونيتريل فى مرشح ٤٥ر ميكرون قبل الحقن فى جهاز HPLC . نظام الجهاز HPLC يفيد ايضا فى الكشف عن بعض المبيدات الهالوجنية التى لا يكشف عنها جيدا بالكروماتوجرافى الغازى مثل الكابتان والفولبيت والديكوفول والميثوكسى كلور ... الخ .

يمكن تقدير مركبات الفينيل يوريا باستخدام مستخلص الاسيتون الكروماتوجرافى extract GC aceton . العديد من هذه المركبات يمكن الكشف عنها كروماتوجرافيا والبعض حساس جدا للحرارة ومن ثم يجب تحويلها الى مركبات اخرى يمكن تقديرها بالـ GC . التحليل يجرى بنفس طريقة تقدير الكاربامات باستخدام HPLC باستخدام عمود بعد التحول مع استبدال وحدة التحلل بالاشعة فوق البنفسجية للتحلل القلوى .

احماض الكلوروفينوكس مثل ٢,٤ – د والكلوروفينوكس اسيتيك اسيد ومركب الدايكامب والهلوكسيفوب تستخلص بالأسيتون / ماء وتفصل جزئيا فى الوسط العضوى للاسيتون . هذه تجرى لها عملية المثلة methelation باستخدام يوديد الميثيل والترابيوتئيل امونيوم هيدروكسيد (TBAH) فى مستخلص الاسيتون لمدة ساعة . ثم يحقن المستخلص فى الكروماتوجرافى الغازى المزود بكاشف حساس للهالوجينات .

٣ – الكشف عن المستخلص المائى Aqueous extract :

قد يحتوى الوسط المائى للفصل الجزئى على مجموعة كبيرة من المبيدات الايونية مثل الداميتوزيد والجليفوسات والفورماتينات يد كل . والداميتوزيد يمكن ان يتحلل مائيا بقاعدة قوية وبعد ذلك يقطر UdmH للتقدير بالكروماتوجرافى الغازى او من خلال التفاعلات اللونية – كما يمكن ان يقدر الجليفوسات والفرماتينات يد كل بواسطة جهاز HPLC . قد توجد مبيدات اخرى

تحتوى على ايونات ذائبة فى الوسط المائى يمكن ان تقدر بالاجهزة المناسبة .

٤ – الكشف عن المواد الصلبة Solid materials :

المادة الصلبة التى تتبقى على المرشح بعد الاستخلاص الاساسى بالاسيتون يمكن استخلاصها مرتان بالاسيتون حتى ينتج مسحوق ابيض نظيف . يمكن استخلاص الباراكوات والدايكوات باستخدام حامض قوى . وهذا المستخلص النظيف ينظم فى محلول منظم buffered ثم تحقن فى جهاز HPLC المزود بكاشف الاشعة فوق البنفسجية . لا يرتبط الدايفينزوكوات بشدة على السليلوز ومن ثم تفصل جزيئاته وسط الاسيتون العضوى .

الاعتبارات الحالية والمستقبلية Current & future considerations :

لقد طورت طريقة Luke حتى وصلت الى النقطة التى تحققت من خلالها وجود عمليات تحليل واسعة تقدم خيارات كثيرة امام القائم بالتحليل وهذا يعتمد على نوعية المخلفات المطلوب تقديرها . هناك العديد من مبيدات الآفات، ونواتج تمثيلها لم تدرج فى دراسات الاسترجاع وهذه يمكن تقديرها اذا توفرت اجهزة وطرق متقدمة . لقد قيمت العديد من التكنولوجيات فى بحوث تحليل مخلفات المبيدات . بالطبع تمر كل طريقة بالعديد من الاختبارات للحكم على فائدتها . بعض هذه الطرق ستصبح من ضمن الخيارات فى طريقة ليوك والبعض الآخر ستكون منافسة لها

طريقة السائل الفائقة التميز Super critical fluids قد تحقق الحصول على مستخلصات متخصصة او مستخلصات كلية . التغير فى الحرارة والضغط قد يغير من المركبات التى تستخلص . والتغيرات الاضافية فى الغازات ودرجة الحموضة تزود هذا التكنيك بامكانية فائقة فى الاستخلاص المتخصص والتى تعمل على تنظيف العينة فى نفس الوقت Clen-up . قد تستخدم هذه السوائل SCFS فى اجهزة التحليل للفصل الكروماتوجرافى . هذا التكنيك يفيد جدا فى تقدير المركبات التى تنهار بالحرارة .

لقد طور تكنيك نظم التقدير الحيوى باجهزة المناعة (immunoassays) لتقدير العديد من المبيدات ومنتجات تمثيلها وكذلك لمجموعات من المركبات المتشابهة . قد يستخدم هذا التكنيك بصورة منفصلة او بالتكامل مع غيرها من طريق التقدير المتعدد للمخلفات .

العديد من المعامل تستخدم الكروماتوجرافى الشعرى واعمدة الميجابور والتى حلت محل الاعمدة المعبأة وتتميز الاعمدة الجديدة بطولها الزائد ويوجد فى معامل لوس انجلوس انواع مختلفة من الميجابور ذات القطبية المختلفة . عندما توضح الاختبارت قبول صلاحية هذه الاعمدة فى التعريف والتقدير الكمى للمخلفات يمكن ان تستخدم مكان الاعمدة المعبأة .

REFERENCES قائمة المراجع

1. P. S. Mills. J. H. Onley. R. A. Gaither, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 46 (1963) 186.

2. M. A. Luke. J. E. Froberg, H. T. masumoto J. Assoc. Off. Anal. chem. 58 (1975) 1020.

3. M. A. Luke. J. E. Froberg, G. M. Doose. H. T. masumoto J. Assoc. Off. Anal. chem. 64 (1981) 1187.

4. Official Methods of Analysis, 15th Edition, Edited by kenneth Helrich. Association of Official Analytical Chemists, Wahsington D. C. Volume 1, 982.22 (1990)

5. S. M. Walters, D. M. Gilvydis Laboratory Information Bulletin # 3217. U. S. Food & Drug Administration. Washington D. C. (1988).

6. T. James, dW. Langham. laboratory Information Bulletin #2292. U. S. Food & Drug administration, Washinton D. C. (1985).

7. Official methods of Analysis, 15th Edition, Edited by Kenneth heirich. Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C., Volume 1, 975.40 (1990).

8. M. A. Luke. H. T. masumoto in Analytical methods for pesiticides and Plant Growth Regulators. Ed. Sherma and Zweig. Academic press. Vol XV. Chapter 6, page 161-200.

9. J. E. Forbergl. G. M. Doose in Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Ed. Sherma and Zweig, Academic Press, Vol XIV. Chapter 2, page 41-74.

10. T. Cairns. E. G. Siegmund in Analytical methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Ed. Sherma and Zweig, Academic Press. Vol. XIV. Chapter 6. page 193-253.

11. R. G. Luchtefeld. J. Chromatogr. Sci. 23 (1985) 516.

12. pesticide Analytical Manual, U. S. Food & Drug Administration, Washington D. C. (1990).

13. L. Needham, D. paschal. Z. J. Rollen, J. Liddle, D. Bayse, J. Chromatogr, Sci. 17 (1979) 87.