

الفصل الثامن

التقدم فى طرق التنقية والاشتقاق لتحليل متبقيات مبيدات الآفات

- * مقدمة .
- * التنقية المبسطة والكرماتوجرافى السائل لتقدير متبقيات الأوكساميل فى درنات البطاطا .
- * طريقة بسيطة وفعالة للتنقية والتحليل الكرماتوجرافى الغازى الشعري لمتبقيات الالديكارب ونوايح تأكسده فى اوراق الكريزانتيم .
- * تقدير الأوكساميل بالكرماتوجرافى الغازى بعد اشتقاقه الى داى نيترو فينيل ميثيل امين .
- * اتجاه تحليلي جديد للنبات واستخلاص وتقدير متبقيات البينوميل والكاربندازيم فى اوراق اشجار التفاح بدون تنقية .
- * طريقة الكرماتوجرافى السائل عالى الكفاءة للتقدير التلقائي للبينوميل والكاربندازيم فى وسط مائى .

التقدم في طرق التنقية والاشتقاق لتحليل متبقيات مبيدات الآفات

Progress in clean-up and derivatization techniques for pesticide residue analysis

طريقة التنقية السريعة لتحليل متبقيات الأوكساميل في درنات البطاطا قد تطورت مع استخدام كبسولات SEP-PAK Florisil Cartridges . وطريقة التنقية الأخرى التي تطورت باستخدام الفصل الكروماتوجرافي الغازي (GC) لتقدير متبقيات الالديكارب (التيهيك) ونواتج تأكسده السامة في أوراق الكريزانتيم مع استخدام عمود من ماصة معبأة بـ ٢, ٠ جم من Nuchar - Attaclay . وطريقة الفصل الكروماتوجرافي الغازي المستخدمة لتقدير متبقيات الأوكساميل بعد اشتقاقه إلى (داى نيتروفينيل ميثيل أمين) (dinitro phenylmethylamine) . وطريقة وحيدة بدون استخدام تنقية تستخدم للتحليل الفردي لمبقيات البينوميل ومادة هدمه (carbendazin) في أوراق التفاح بالطور العادي للـ HPLC . وفي طريقة أخرى يشتق البينوميل في وسط مائي إلى STB بينما مرافق الكاربيندازيم (co- carbendazim) الموجود يظل بدون تغيير وحينئذ يقدر كل منهما منفردا بالطور المنعكس للـ HPLC (للكروماتوجرافي السائل عالي الكفاءة) ومع ذلك تشتق وتتحول متبقيات البينوميل والكاربندازيم في التفاح إلى BBU ، AB - 2 على التوالي ، وتقدر بالطور المنعكس للـ HPLC . وفي عمود التنقية يتم تحليل الالديكارب واثنين من مركباته المؤكسدة في التربة بواسطة الكروماتوجرافي السائل عالي الفاعلية مع استخدام عمود الفصل الحجمي .

مقدمة Introduction :

تعتبر التنقية خطوة متطورة للتقدير الدقيق لمبقيات مبيدات الآفات . حيث ان كثير من الطرق التقليدية تكون مكلفة ماديا ومضیعة للوقت (تستغرق وقتا طويلا) . وهي على ذلك غير عملية . وبالتالي نأمل الحصول على طريقة للتنقية تكون مفيدة بوجه عام وبسيطة في نفس الوقت لأن خواص التحليل تختلف اختلافات غير معلومة وطبيعة الشوائب وامكانية ازالتها معقدة جدا .. وطرق التنقية المألوفة الاستخدام تشمل :

- 1 - Liquid - Liquid partitioning
- 2 - Open column chromatography.
- 3 - thin layer chromatography
- 4 - distillation and low temperature precipitation

هناك عدة اتجاهات جديدة وناجحة مستخدمة في طرق البحث الحديثة تستخدم اعمدة صغيرة قد تكون أكثر شهرة ووضوحا .

تستخدم الاشتقاق (عملية الاشتقاق Derivatization) مرارا وتكرارا في تحليل المتبقيات وذلك لتغيير خواص التحليل حيث ان منتجات الاشتقاق (المنتجات المشتقة) تكون أكثر ملائمة

لنظم التحليل المتخصصة خاصة طريقة الفصل الكروماتوجرافي الغازي (GC) وطريقة الفصل الكروماتوجرافي السائل العالي الكفاءة (HPLC) حيث ان اهم الخصائص في هذه الطرق تكون متغيرة ، وحساسة ، واختيارية .. ولتحسين الحساسية والاختيارية فان تقدما اكثر وضوحا يتم عمله في عمود الاشتقاق (Post - column derivatization) على انظمة الكروماتوجرافي السائل عالي الصلاحية (HPLC) . وان اعظم تقدم في هذا الاتجاه هو تبسيط الاحتياجات ولوازم التنقية .

يوجد اتجاه واضح في نطاق التنقية والاشتقاق لتسهيل وتبسيط اجراءات التنقية بالارتفاع بكلا المواد (المادة ومشتقاتها) وفهم وادراك وسائل التنقية والاشتقاق بحكمة . وفي هذه المقالة عدة امثلة لطرق جديدة اكثر نجاحا واستخداما في معاملنا المتخصصة لتحليل متبقيات مبيدات الآفات . هذه الامثلة تشمل طرق التنقية البسيطة وطرق الاشتقاق ، والاتجاهات الحديثة اللازمة لاتمام عملية التنقية .. وقد بذل جهد وافر في هذه الدراسات لتطوير الطرق المستخدمة لتقدير المركبات الاساسية (Parent compounds) يفضلها بوضوح عن مركبات هدمها الطبيعية .

التنقية المبسطة والكروماتوجرافي السائل لتقدير متبقيات الاوكساميل في درنات البطاطا :

تستخلص عينة البطاطا بالميثانول ، ويجفف المستخلص بكبريتات الصوديوم ١٠ ٪ ثم توضع في مقسم او مجزئ تلقائيا (داى كلوروميثان) . ٤ مل مجزئ (مقسم) من مستخلص الداى كلوروميثان بعد التركيز (٢ جم بطاطا) فتمرر خلال جهاز (SEP-PAK Florisil cartridge) . وتم الازاحة ب ٤ مل ميثانول + داى كلوروميثان (بنسبة ١ : ٩) . وبعد التطاير بالمزاج يعاد اعادة ذوبان المتبقى في الماء (٢ جم بطاطا/١ مل ماء) . ويتم تقدير الكروماتوجرافي السائل (LC) باستخدام (Zorbax PSM 60) لتعبئة عمود الطرد الحجمى Size exclusion column مع اسيتونيتريل + ماء (بنسبة ١ : ٩) الطور المتحرك كاشف الاشعة الفوق بنفسجية في ٢٥٤ ميكرومتر . والنتيجة انه ليس هناك مواد متداخلة وان اقل تركيز يمكن الكشف عنه للأوكساميل كان ٠,٠١ ميكروجرام اوكساميل /١ جم بطاطا .

طريقة بسيطة وفعالة للتنقية والتحليل الكروماتوجرافي الغازي الشعري لمتبقيات الالديكارب ونواتج تأكسده في اوراق الكريزانثيم :

استخلصت عينة الاوراق بالميثانول ونقيت المستخلصات باستخدام اعمدة تحتري على ٠,٠٢ جم من مادة (Nuchar - attaclay) على قمة وسادة من الصوف الزجاجي في ماصة (٢ مل) من مجزئ مستخلص الميثانول (٠,٢٤ جم اوراق) مررت خلال العمود . وتحليل المزاج مع اضافة ١ مل ميثانول . ثم بعد تطاير الميثانول يعاد ذوبان المتبقى في خللات الايثيل acetate ethyl . والمحلول حينئذ يكون جاهزا للتقدير بالكروماتوجرافي الغازي الشعري مع حقن (splitless) وكشف متخصص لتعديل التيار . الالديكارب والالديكارب سلفوكسيد والالديكارب سلفون يعاد ذوبانها جميعا ثم يقدر كل مركب على حدة بحقن ١ ميكروليتر .

تقدير الاوكساميل بالكروماتوجرافى الغازى بعد اشتقاقه الى داي نيتروفينيل

ميثيل امين :

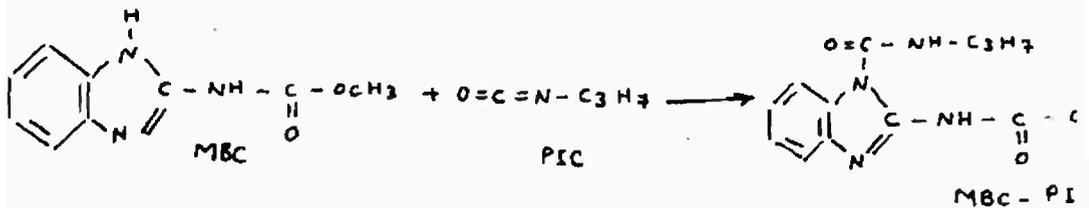
بعد التحليل المائى القلوى للاوكساميل يشتق الى داي نيتروفينيل ميثيل أمين (DNPMA) ويقدر بالكروماتوجرافى الغازى مع الكاشف الماسك (الأسر) للالكترن . ويتم التحليل المائى فى درجة حموضة ١٢ ، وحرارة ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق مما يحرق مجموعة الميثيل أمين والتي تتفاعل مع داي نيتروفلورونزين فى درجة حرارة ٨٠ م لمدة ١٠ دقائق ايضا وبالتالى تعطى (DNPMA) كمنصلة للتفاعل . والعمود المستخدم طوله يكون ١,٨ متر وقطره ٢,٥ م وبعبأ العمود الزجاجى بـ ٣ ٪ من XE-60 على كروم غازى ١٠٠/٨٠ mesh .

بهذه الطريقة يمكن تقدير الاوكساميل بدون تداخل من اوكريمات المكافحة (المتناظرة) والتي من المعروف عنها انها مركبات هدم غير سامة للاوكساميل وموجودة بالضرورة فى كل العينات المعاملة بالاوكساميل .. والمتبقى الحقيقى للاوكساميل فى اوراق التبغ (الدخان) والارضى عند تحليلها كانت اقل مستوى من ١,٠ جزء فى المليون .

اتجاه تحليلى جديد لثبات واستخلاص وتقدير متبقيات البينوميل والكريندازيم فى اوراق اشجار التفاح بدون تنقية :

توضع عينات الاوراق فى وعاء مجففة بالتبريد ثم تخلط او تقلب لعمل المستخلص فى كلوروفورم يحتوى على ٥٠٠٠ ميكروجرام من n - propyl isocyanate (PIC) ١/ مل فى درجة حرارة ١ م ، وتضاف ٥٠٠٠ ميكروجرام من ن - بيوتيل ايزوسيانيد (BIC) ١/ مل الى المستخلص ، ثم تحقن من هذا الخليط او المزيج ٢٠ ميكروليتر الى نظام الكروماتوجرافى السائل العالى الصلاحية . حيث تتحول متبقيات الكاريندازيم التى تذوب بصعوبة فى الكلوروفورم الى ١ - (ن - بروبييل كاربامول) - ٢ - بنزيميد ازول كاربامات MBC - PIC خلال الاستخلاص

MBC - PIC مع البينوميل تستخلص اسهل فى الكلوروفورم عند ١ م غير انه فى هذه الدرجة من الحرارة يكون هدم البينوميل غير واضحا ولذلك فان اضافة BIC تكون مهمة جداً بعد الاستخلاص للكروماتوجرافى السائل عالى الصلاحية (HPLC) وذلك لمنع تحليل وهدم البينوميل فى غرفة حرارية . واستخدام الوسط العادى للـ (HPLC) مع مزيج الوسط المتحرك (كلوروفورم + هكسان بنسبة ٤ : ١) المشبع بالماء مع كاشفة الاشعة فوق البنفسجية (UV detection) فى ٢٨٠ نانوميتر . وعدم التنقية هنا مهم نظرا لأن كمية صغيرة فقط من الشوائب هى التى إستخلصت مع الكلوروفورم فى ١ م .



طريقة الكروماتوجرافى السائل على الكفاءة للتقدير التلقائى للبينوميل والكاريندازيم فى وسط مائى :

من المحال تقدير الدقيق المضبوط او التقدير الفردى لتركيزات البينوميل الصحيحة وكذلك تركيزات الكاريندازيم فى المحاليل . وذلك لأن البينوميل يتحلل الى كاريندازيم . بالإضافة الى ان التحليل الدقيق والفردى لكلا المركبين بالكروماتوجرافى السائل على الكفاءة (HPLC) غير عملى لأن الاختلاف بين المركبين فى القطبية واسعا .

وفى هذه الطريقة يقدر البينوميل فى وسط مائى حيث يتحول خلال ٢٠ دقيقة الى ٣ - بيوتيل - ١ - ٢ ، ٤ داي او كسو - س - تراى ازينو (١ و ٢ - ٩) بنزيميدازول .

مع هيدروكسيد الصوديوم عند حموضة ١٣ وتقدر كـ (STB) . وعلى النقيض من ذلك فان الكاريندازيم يكون موجودا فى كل العينات المعاملة بالبينوميل ويكون عدم التأثر بهذه المعاملة القلوية ويقدر ككاريندازيم .. وعموما فان كلا من الـ (STB) والكاريندازيم يقدران فرديا بالطور المنعكس للـ (HPLC) . والـ (STB) المتكون حينئذ تكون ثابتة ويكون تحللها من الكاريندازيم اسهل وامثل مع مخاليط الطور المتحرك والمتكونة من اسيتونيتريل ووسط مائى عند حموضة (7PH) وذلك للاختلافات النسبية بينهم . وتطبق هذه الطريقة لكل العينات المائية المشتملة على مخاليط الرش والمياه فى البيئة . واقل تقدير امكن الحصول عليه هو ٠,٠٥ ميكروجرام/١ مل مع ٥٠ ميكروليتر من المحقون .

