الفصل الثالث والعشـــرون

الموقف الراهن لفن تحليل المخلفات المتعددة :

- مقدمـــــة .
- طرق الاستخلاص .
- الاستخلاص بالاسيتونيتريل .
- الاستخلاص بالأسيتون .
- طرق استخلاص اخرى .
- طرق التنظيف .
- طرق التحليل والتأكيد .

* طرق الكشف .
* الاوساط الثابتة السائلة .
* الطرق التأكيدية

obeikandl.com

obeikandl.com

الموقف الراهن لفن تحليل المخلفات المتعددة

Present state of the Art of Multi-residue Analysis

مقدمـــــة :

طرق تحليل المخلفات المتعددة تقدم الوسائل الاساسية للقائم بالتحليل لتقدير المخلفات فى العينات ذات التاريخ المعلوم وبدرجة اكثر تلك المجهولة الخفية . فى التقديرات الروتينية ينحصر الهدف فى الغربلة السريعة والتعريف والتحديد الكمى لاكبر عدد من المخلفات . وهذا يتطلب التحسين والتطوير المستمر فى طرق الاستخلاص والتنظيف والكشف مما يؤدى الى تحسين الطرق السابقة وتطوير طرق جديدة . فى هذا المجال نتناول المقارنات بين الطرق التى يشار اليها بالاختصارات :

Official Methods of Analysis, 13 th Ed, AOAC, Washington, DC, = AOAC (1980).

Pesticide Analytical manual, Vol. I, Food and Drug Administration = FDA Washington, DC, (1979).

Canadian manual on Analytical methods for pesticide Residues in Food, Information Canada, Ottawa, Canada, Analytical methods

Sissons * Abbot * Rueckstansanalytik *

Specht * Ambrus

طرق الاستخلاص Extraction procedures :

لقد درس باستفاضة كبيرة كفاءة عملية الإستخلاص مع نظم مختلفة من المذيبات العضوية والهدف المنشود يتمثل فى ايجاد نظم مذيبات قادرة على انتزاع مخلفات المبيدات التابعة للمجاميع المختلفة فى نفس المستخلص . يعتبر الحصول على الظروف الملائمة للفصل الجزئى للعديد من الكيميائيات ذات المدى الواسع من القطبية من اهم التحديات التى تجابه طرق الاستخلاص الناجحة والتى تمكن من الانتقال الكمى من عينة المستخلص المائى الى الوسط العضوى . لتحقيق ذلك تستخدم طرق تعتمد على تجانس العينة فى مذيب واحد او مخلوط من مذيبين او متجانسين منفصلين فى مذيبات مختلفة أحدهما للمركبات القطبية والاخر للغير قطبية . بعد الإستخلاص يجرى فصل جزئى بمذيب واحد او بمذيبين منفصلين كما حدث فى خطوة التجانس . ويعتبر مذيبى الاسيتونيتريل والاسيتون من اكثر المذيبات شيوعا فى الاستخلاص المتجانس . لقد بنى استخدام هذين المذيبين على اساس ان المذيب المناسب لإستخلاص المبيد هو الذى عنده القدرة على الامتزاج بالماء والمذيبات غير القطبية . ومن ثم لا يكون المذيب المستخلص الفعلى مجرد مذيب قابل للمزج فقط ولكنه عبارة عن محلول مائى من العينة والمذيب المستخدم .

الاستخلاص بالاسيتونيتريل Acetonitrile extraction :

يناسب الإستخلاص بالاسيتونيتريل مدى واسع من انواع مبيدات الآفات وغيرها من المركبات . تحتوى طرق AOAC و FDA على نتائج التجارب الشاملة لمعدلات الاسترجاع لأكثر من ٢٠٠ مبيد مختلفة بالاضافة الى الكيميائيات الصناعية . فى هذه الطرق فقد العديد من المركبات الذائبة فى الماء (القطبية) بصورة جزئية او كلية خلال استخلاص المبيدات من الاسيتونيتريل المائى مع ايثر البترول وكذلك خلال الفصل الكروماتوجرافى على الفلوريسيل . ولتقليل هذا الفقد استخدم Storherr ومعاونوه المثييلين كلوريد بدلا من ايثر البترول فى خطوة الفصل الجزئى . وبذلك نحصل على استرجاع عالى للمبيدات الفوسفورية القطبية . عند دمج طريقة ستورهر مع طريقة الـ FDA زاد عدد المركبات التى كشف عنها ويؤخذ على هذه الطريقة طول الوقت وزيادة التكاليف .

بدلا من المثييلين كلوريد استخدم Abbott ومعاونوه مذيب الكلوروفورم فى الفصل الجزئى بالاسيتونيتريل . لتحسين استخلاص المبيدات الفوسفورية العضوية عالية القطبية وكذلك نواتج تمثيل المبيدات اقترحت عدة تحويرات بسيطة على هذه الطريقة . أدى تشبيع مستخلص الاسيتونيتريل بمحلول ١٠ ٪ كبريتات الصوديوم واجراء الفصل الجزئى بعد ذلك بمذيب الكلوروفورم إلى تحقيق كفاءة عالية .

الإستخلاص بالاسيتون Acetone extraction :

استخدم الاسيتون فى العديد من الطرق نظرا لبعض المميزات التى يتمتع بها فهو غير سام وتسهل تنقيته وتطايره وقلة تكاليفه بالمقارنة بالاسيتونيتريل وبعض المذيبات الاخرى . بالاضافة لذلك يمكن استسخدام الاسيتون بخلاف الاسيتونيتريل مع العينات ذات المحتوى العالى من السكر نظرا لعدم تكوينه لنظام مزدوج الوسط مع الماء فى وجود السكر .

لقد ثبت صلاحية الاسيتون من الناحية العملية فى استخلاص مدى واسع من انواع مختلفة من المركبات والعينات ، الجدول رقم (٢) يشتمل على طرق لاكثر من ١٠٠ مبيد . من الاساسيات ان مستخلصات الاسيتون لأية عينة تحتوى على أى من المبيدات المستخدمة فيما عدا المحتوية على شحنة ايونية دائمة . فى العديد من الطرق يجرى تشبيع مستخلص الاسيتون بمحاليل كلوريد او كبريتات الصوديوم بواسطة الفصل الجزئى فى الميثيلين كلوريد . وهذا حقق فصل جزئى مناسب لمختلف المركبات علاوة على سرعة الفصل . كذلك اعلن عن استخدام الكلوروفورم وخلات الايثايل فى خطوة الفصل الجزئى بدلا من الميثيلين كلوريد .

طرق استخلاص اخرى Other extraction procedures :

عادة ما تستخدم المذيبات مثل الايثايل اسيتات والبنزين او الميثانول والميثيلين كلوريد فى استخلاص المركبات الفو سفورية العضوية . طريقة Watts المحورة والتى فيها تستخلص العينة

بخلات الايثايل ثم ينظف المستخلص مباشرة فى عمود يحتوى على الشاركول/اكسيد المغنسيوم/ السيليت اعطت معدلات استرجاع جيدة للمركبات الفوسفورية العضوية عالية القطبية . لقد وصف Laws and Webley طريقة تم فيها الاستخلاص بواسطة الميثيلين كلوريد وتبع ذلك خطوتين للفصل الجزئى الاولى مع ايثر البترول للمركبات التى تذوب فى البترول والثانية مع مخلوط الميثانول والماء للمبيدات الحشرية الفوسفورية التى تذوب فى الماء . لقد استخدم Estres ومعاونوه مخلوط من خلات الايثايل والميثيلين كلوريد فى الاستخلاص مبتوعا بخطوات من الفصل الجزئى للمركبات الذائبة فى الماء وتلك الغير قطبية وقاما بتدوين معدلات الاسترجاع لاكثر من ٤٠ مركب تتبع المجموعات المختلفة من مبيدات الآفات .

النظم المحتوية على مخلوط من المذيبات التى تقبل وتلك التى لا تقبل المزج مع الماء لم تستخدم على نطاق واسع نظرا لمشاكل الاستحلاب والصعوبات التى تواجه فصل كميات معقولة للتحليل . لقد استخدم Sissons ومعاونوه مخلوط الاسيتون والهكسان لاستخلاص المبيدات الغير قطبية دون اية مشاكل تتعلق بالاستحلاب وكذلك الاستخلاص المائى المنفصل للمركبات التى تذوب فى الماء .

طرق التنظيف Clean-up procedures :

لا توجد طرق نموذجية قادرة على تنظيف كل المستخلصات النباتية المرافقة من المبيدات ، ومن ثم فانه لتحقيق كلا التنظيف المناسب لمستخلصات المحاصيل المختلفة وفى نفس الوقت الحصول على نسب استرجاع عالية لمدى واسع من مبيدات الآفات تستخدم طرق تنظيف متوازية وهذا يتطلب وقت طويل والمدى الكبير من مراحل الفصل والازاحة تساعد فى التعريف . من اكثر مواد الادمصاص استعمالا فى اعمدة التنظيف الفلوريسيل والالومينا والشركول والسليكاجيل وغيرها من المخاليط المختلفة . كذلك استخدم كروماتوجرافى الجيل المنفذ بنجاح مع المواد الدهنية وغير الدهنية . والفلوريسيل يمكن من الحصول على مدى واسع من المركبات فى العينات المختلفة ولكن يحدث فقد للمواد الأكثر قطبية . بتغيير سائل الازاحة يمكن استرجاع المبيدات الاكثر قطبية .

لتحليل المركبات الفوسفورية العضوية عالية القطبية يستخدم الكربون المنشط فى عملية التنظيف . ولقد ثبت صلاحية وكفاءة مخلوط الادمصاص المكون من الكربون المنشط / اكسيد الماغنسيوم / الارض الدياتومية فى تنظيف العينات ذات المحتوى العالى من الكلوروميثيل ولكنها غير ملائمة للتخلص من الشمع النباتى . من المعروف ان استخدام الالومينا تستهلك الكثير من الوقت وقد امكن التغلب على هذا الوضع باستعمال كميات صغيرة من مواد الادمصاص والازاحة بحجوم صغيرة من المذيبات والضغط بالنتروجين . عندما استخدمت الالومينا القاعدية ظهر حدوث تحلل مائى لبعض المبيدات الحشرية الفوسفورية العضوية نتيجة للقلوية بينما لم يحدث ذلك مع الالومينا المتعادلة . لقد ثبت امكانية ازالة المبيدات من المستخلصات بواسطة الالومينا فقط او متبوعة بالسليكا جيل . تحقق تنظيف مقبول مع العديد من المستخلصات النباتية من خلال الفصل الجزئى بالمذيبات

مثل الميثيلين كلوريد والكلوروفورم وخلات الايثايل . وهذه المستخلصات نظفت بدرجة كافية لتحليل المركبات الفوسفورية العضوية المحتوية على النتروجين والكبريت بالكاشفات المتخصصة فى الكروماتوجرافى الغازى . من هنا يمكن القول ان صلاحية طريقة الكروماتوجرافى الغازى GC تعتمد على الاستخلاص والكروماتوجرافى . فى المقابل فانه بسبب الطبيعة الغير متخصصة نسبيا للكاشفات صائدات الالكترونات EC فانه يجب اجراء تنظيف اضافى لتحليل المركبات الكلورينية العضوية . وبناء على خبرة مؤلفى هذا الجزء Arto kiviranta بفنلندا مع اكثر من ٢٠٠٠٠ عينة من مختلف المحاصيل بطريقة Luke ثبت ان معظم المستخلصات النباتية (باستثناء بعض الجذور والخضروات عالية الكلوروفيل) ليست بحاجة لعمليات التنظيف . فالمستخلصات النباتية لا تؤثر على كفاءة كاشفات EC المتطورة الحديثة بدرجة كبيرة . وعلى سبيل المثال فان استخدام الكاشف المحلل للالكترونات ذات التخصص الهالوجينى Halogen specific Hall electrolytic conductivity detector يقلل من الحاجة للتنظيف عند تحليل عينات الكيميائيات المحتوية على الهالوجين .

طرق التحليل والتأكيد Analysis and confirmation procedures

* طرق الكشف Mode of detections

لابد من التأكيد عند الفصل والكشف والتقدير الكمى لمبيدات الآفات على ضرورة استخدام الكروماتوجرافى الغازى/ السائل المزود بالانواع المختلفة من الكاشفات مثل ECD و FPD و AFID و NPD وكذلك HECD (جدولى ١ و ٢) . ولقد ادى تطوير الكاشفات فى السنوات الاخيرة الى الحصول على انواع اكثر تخصصا وحساسية لتحليل الكيميائيات المحتوية على الفوسفور والنتروجين والكبريت . ومثال ذلك الكشف عن النواتج الايونية الضوئية . من اهم مميزات الكروماتوجرافى رقيق الطبقة (TLC) سرعة الإجراء وقلة التكلفة ومن العيوب قلة الحساسية والكفاءة المحدودة للتقدير الكمى . ومن ثم يستخدم الـ TLC فى البداية لاغراض الغربلة والتأكيد . وتتضمن طرق الكشف عن المركبات الكلورينية العضوية التشعيع بنترات الفضة والاشعة فوق البنفسجية (UV) بينما استخدم التثبيط الانزيمى وغيره من الطرق للمركبات الفوسفورية العضوية . ولقد اختبر Ambrus ومعاونوه ١٨٨ مبيدا (الفوسفورية ، الكاربامات ، اليوريا ، الترايزين ، المبيدات الفطرية ، المركبات المحتوية على الهالوجين) بخمسة طرق كشفية ونجح فى تقدير الكميات الدنيا بكل طريقة . ومن اكثر الاوساط الصلبة (الثابتة) الشائعة للـ TLC هى السليكا جيل واكاسيد الالومنيوم .

لقد ازداد استخدام الكروماتوجرافى السائل ذو الضغط المرتفع (HPLC) لتحليل المركبات الغير ثابتة والغير متطايرة وذات القطبية العالية . لقد تحقق ذلك نتيجة للتحسن الاخير الذى طرأ على حساسية الكاشفات وطرق التحولات الكيميائية بعد المرور من عمود الكروماتوجرافى .

* الاوساط الثابتة السائلة Stationary liquid phases :

فى الكروماتوجرافى الغازى يوجد العديد من الاوساط السائلة الثابتة ولكن معظم فصلات مخاليط المبيد يمكن تقديرها بثلاثة او اربعة انواع من القطبيات المختلفة . من اكثر الاوساط الشائعة الغير قطبية DC- 200 و SE 30 ومتوسطة القطبية QF-1 والقطبية DEGS وتختلف سلاسل الـ OV من الغير قطبى (OV - 1) الى القطبى (OV - 225) أو المخاليط مثل DC-200/QF-1 كما هو واضح فى جدول (٣) فان إستخدام عملية متعادلة الحرارة isothermal فان تحليل واحد يتطلب فترة طويلة نظرا لطول فترة الفصل retention time الخاصة بقمة المنحنى الاخير كما ان الاستجابة ستكون منخفضة . ولتقليل هذه الظاهرة تستخدم درجات حرارة عالية فى الاعمدة او يعمل برمجة للحرارة او يقصر طول العمود المستخدم . ولقد استعمل Ambrus ومعاونوه اعمدة بطول ٤٥ – ٩٠ سم لعمليات الغربلة واشاروا الى ان قلة قوة فصل الاعمدة القصيرة تؤدى الى خلق قليل من العيوب بدرجة تفوق المميزات . ومن ثم كان وقت تكرار عملية التحليل اقصر وكذلك كانت اقل الكميات الممكن الكشف عنها بنفس الكاشف تقل بمقدار ٥ – ١٠ مرات عن الحالة العادية كما ان استخدام حرارة عمود واطية تمكن من تحليل المركبات الحركية مثل الكاربامات واليوريا .

* الطرق التأكيدية Confiramtory procedures :

عادة تجرى تأكيد كمى ونوعى لنتائج التحليل الاولية باستخدام واحد على الاقل من الاعمدة البديلة ذات القطبية المختلفة . بالمقارنة بالاعمدة المملوءة تعتبر الاعمدة الشعرية ممتازة فى هذا الخصوص نظرا للقوة العالية للفصل . لقد وصف Ambrus و معاونوه نظام يتم فيه تأكيد عمود واحد للكرماتوجرافى الغازى GC بالتكامل بين الـ TLC ومكونات ازاحة السليكا جيل . بالاضافة للعمود البديل توجد طرق تأكيدية متعددة تعتمد على الـ TLC والتحول الكيميائى وقيم التوزيع الجزئى للإستخلاص (P. values) .

جدول (٣) : الوقت الاقصى لتحليل مخلوط قياسى على بعض الأعمدة .

مادة العمود	انسياب الغاز ملليلتر/دقيقة	حرارة العمود (°م)	ميعاد ظهور اخر منحنى (دقيقة)
١٠ ٪ DC-200 (١,٨٢ متر)	١٢٠	٢٠٠	٥٥
١٠ ٪ DC-200 / ١٥ ٪ PF1 (١,٨٢ متر)	١٢٠	٢٠٠	٩٨
٣ ٪ OV-225 (١,٨٢ متر)	٦٠	٢٠٠	٥٠

جدول (١) : طرق تعتمد على مستخلصات الاسيتونتريل .

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clena-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
FDA (2a) AOAC d(1a)	non fatty AOAC official status : 42 crops e : acetonitrile or H2O/acetonitrile p : pet. ether	c : Florisil e : pet./Et ethers (6, 15, 50%)	0.01 heptachlr. epox. 0.02 parathion others	recovery : 276 organochlorine, organophosphates, fungicides, herbicides, industr. chemicals	det: GLC (ECD, TID, FPD, NPD), TLC saturation : satd. NaCI-solution, large RRT-data for DC-200, DC-200/QF-1 and DEGS columns, large elution patterns for Florisil col. time demand 3-3 hr/sample
FDA (2b) AOAC (1a)	fatty foods official status : 4	as above	0.02 heptachlr. epox. 0.13 parathion	212 as above	
FDA (2c) AOAC (1b)	non fatty e : acetonitrile or H2O/acetonitrile p : pet. ether	c : Florisil c : CH2CI2/acetonitrile/hexane	0.01/0.02 0.02/0.13	162, organochlorine organophosphates, fungicides, herbicides, industr. chemicals	imporved clean-up for fats and oils, improved recovery for more polar comp. as (1a)
FDA (2d) AOAC (1c) Storrherr (12)	non fatty c : acetonitrile or H2O/acetonitrile p : CH2CI2	organophosphates : c : charcoal/MgO/celite e : acetonitrile/benzene organochlorine : ;c : Florisil e : pet./Et ether 2.5%	0.006-0.4 organophophates, 0.002 parathion	66 organophosphates, 7 organochlorine	det: GLC (TID, FPD) recovery for non-polar, polar organophosphates and their metabolites, used together method (1a), delayed Florisil clean-up for EC-detecst-able compounds

obeikan.com

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clena-up Limits of detection column/eluate	Compounds (ppm)	Remarks
Candian Manual (3)	non fatty e : acetonitrile or H2O/acetonitrile p : H2O/hexane or hexane	1) c : Florisil e : 1 5-30% CH2CI2/ hexane, 2 5-30% EtOAc/hexane 2) c : carbon-cellulose e : 1 1:5% acetoni-trile/hexane 2 CHCI3 3 henzene	c. 55 organocblorine, organophosphates, carbamates, fungicides, 40, as above	det : GLC (AFID, FPD, ECD), TLC acetonitrile distilled away before hexa-ne partition or diluted with H2O and saturated with Na2So4 solution, Ch2CI2 added to increase partition of more polar compounds, elution patt. for florisil and carbon-cellulose columns; inproved Florisil elution for more polar comp. as (1a), RRT-data for DC-200, OV-210, DEGS, SE-30/ QF-1 columns
Ahhot (5) Panel (13)	non fatty e : acetonitrile p : chloroform fatty foods e : hexane and acetonitrile p : Ch2CI2	no column clean-up 0.01 parthion no column clean-up	c. 60 organophosphates and their polar metabolites	det : GLC (TID), total org. phosphorus, for non fatty, repeated acetonitr. extr. and saturation with 10% Na2SO4 solut., recoveries the most polar organophosph. time demand : c. 1 hr/sample

obeikandl.com

جدول (٢) : طرق تعتمد على مستخلصات الاسيتون .

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clena-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
FDA (d2f)	non fatty	no column clean-kup for organo-	0.005	113 organochlorine,	deter : GLC)FPD, HECD,NPD,ECD)
Luke (14, 15)	15 crops	phosphorus, -nitrogen and		organophosphates	saturation : NaC1
	e : acetone	- sulphur compounds,		and metabolites,	RRT=data for DEGS=column,
	p : pet. ether/CH2C12	delayed Florisil clean-up for		carbamates, fungi-	time demand : 1 1/4 hr/sample
		EC-detectable compounds		cides, triazines	
Rueckstand. (41)	non fatty	no column clean-up for organo-	0.002	28 organochlorine,	det : GLC (TID, ECD)
	22 crops	phosphates,		organophosphates	sat : Na2SO4 solution
	e : acetone	for organochlorine compounds :			RRT-data for DC-200 column
	p : chloroform or	c : alumina			
	CH2CI2	e : pet. ehter			
Reuckstand (4b)	non fatty	c : active carbon/siliga get	0.005	75 organochlorine,	det : GLC (AFID, FPC,ECD)
Becker (16)	25 crops	e : CH2CI2/benzene/acetone		prgamp[jps[jates,	sat : satd. NaC` solution,
	e : acetonc			fungicides,	RRT-data for SE-30, QF-1 col.
	p : H2O/CH2CI2			triazines	time demand : 2 hr/sample
Rueckstand (4c)	20 crops	sweep co-distillajtion	0.002-0.005	62 organochlorine	det : GLC (TID, ECD)
	e : acetone		orglanochlorine	organophosphates,	sat : satd. NaC` solution
	p : CH2CI2		0.05-0.1		RRT-data for SE-30, QF-1 col.
			organophosphates	time demand : 1 1/2 hr/sample	

obeikandl.com

Ref.	Sample material and extraction/Partition	Clena-up column/eluate	Limits of detection (ppm)	Compounds	Remarks
Ambrus (8-10)	6 main groups of foodstuffs e : acetone p : Ch2CI2	1)c : active carbon/MgO/diatom. e : CH2CI2 2) c : alumina N and B, e : 1 hexane 2 hezane/Et ether 3)c : siliga gel, e : 1 hexane 2 hex/benz, 3 benzene 4 sbenz/EtOAc 5° EtOAc	0.002 orlganochlorine 0.05 organophosphates 0.01 carbamatesw 0.02 triazines	143 organochlorine, organophosphates, carbamates, fungicides, ureaherbicides	det : GLC (NP-, P-TID, FPD, ECD) sat : Na2So4 sol. TLC repeated acetone extr. for phtalimide compounds, elution patt. for clean-up c. RRT-data for OV-22, .OV-101, SE-30, SP2401/2250, NPCS-columns
Specht (11)	non fatty and fatty foods e : H2O/acetone p : CH2CI2	1) polystyrene gel, e : EtOAc/ cyclohexane for polar and non polar compounds, extral; ;clean-up for organochlorine : 2) c : siliga gel, e : 1 toluene/bex, 2° tol, 3° acetone/tol, 4 acetone		90 organochlorine, organophosphates and polar metabolites, other insecticides fungicides	det : GLC (FPD, NPD, ECD, MS) sat : NaC1 elution patterns for siliga gel column
Sissons (6.7)	non fatty 21 corps e : acetone/hexane or H2O p : hexane or chloro-form	for polar organophosphorus commpounds : c : alumina N e : chloroform for hexane soluble compounds : C : alumina e : 1° hexane, 2° acetone/hexane 3° subsequent acetone/hexane	organochlorine 0.002-0.01 organophosphates 0.002-0.02	31 organochlorime, organophosphates and polar metabolites	det : GLC (TID, ECD, colorim. total phosphorus, for non polar : acetone/hexane extraction, for polar compounds : H2O-extr. RRT-data for OV-17 column, elution pattern for alumina column.

obeikandl.com