الفصـــل الســـابـع

– اساسيات عمليات الاستخلاص والتنظيف فى تقدير المخلفات

* مقدمـــــة
* الاستخلاص بالمذيبات
* طرق تنظيف العينات
* تركيز العينات فى المستخلصات
* طرق عامة للفصل

obeikandl.com

obeikandl.com

اساسيات عمليات الاستخلاص والتنظيف فى تقدير المخلفات

Extraction and clean-up procedure

مقدمـــــة :

الخطوة الأولى فى تحليل مخلفات المبيدات تتمثل فى عزلها وفصلها من المواد النباتية أو الحيوانية من خلال الاستخلاص بالمذيبات العضوية . يجب اختيار المذيب المناسب بحيث يكون قادرا على فصل المبيد باسلوب مناسب وبكفاءة مؤكدة ومستمرة دون أن يستخلص كميات كبيرة من المواد المتداخلة فى العملية وكذلك تكون له المقدرة على تأدية العمل مع مجموعة كبيرة من النباتات (المحاصيل) بدون حاجة الى تحويرات جوهرية مع كل محصول . نود الاشارة فى هذا السبيل الى ان عدم فهم القائم بالتحليل لأهمية وأصول عمليات الاستخلاص والعوامل المحددة للكفاءة وكذلك عدم المعرفة الى فشل فى كثير من الحالات التى اضطلع بها المؤلف خاصة مع المبيد ات الكلورينية ومازلت اذكر ما حدث عندما كنت استخلص المبيدات من التربة المعاملة باستخدام الكلوروفورم وتكوين كريات صغيرة جدا أدت الى نقص فى كفاءة الاستخلاص بما لا يزيد عن ٤٠ ٪ وبعد القراءات تأكد ضرورة تجفيف العينات أولا ثم اجراء عمليات الاستخلاص بالمذيب المناسب . ويعتقد بعض البحاث امكانية اجراء الإستخلاص والتقدير مباشرة اذا كان الوسط هو الماء المحتوية على المبيد وهذا لا يصلح تحت جميع الظروف ومع جميع المبيدات . على الباحث ان يعرف معنى القطبية وكيفية اختيار المذيب والتوافق بين مخاليط المذيبات وعليه ان يلم كذلك بمواصفات ومحتويات العينات محل التحليل .

ولقد استحدثت التكنولوجيا الحديثة امكانية استخلاص العينات بطرق متقدمة جدا وسهلة وبسيطة ولكنها مكلفة فى البداية بسبب ارتفاع اسعار الاجهزة ذات الكفاءة العالية وما يترتب عليها كما شاهدتها فى معامل وزارة الزراعة الامريكية فى ولاية ميرلاند عام ١٩٩٤ . وهناك طرق للتحليل والكشف عن مخلفات المبيدات لا تجرى فيها عمليات الاستخلاص . وليكن معلوما ان لكل طريقة مميزات وعيوب وعلى الباحث ان يركز على المميزات ويتلافى العيوب والاساس الذى لا يقبل الخطأ هو معدل الاسترجاع واى طريقة او مذيب تعطى معدل استرجاع عالية يمكن الوثوق فيها ولا يجب ان يكون العامل محددا لاختيار طرق قليلة النفقات خاصة اذا كنا بصدد الاضطلاع بمشكلة المخلفات فى المواد الغذائية أو الهواء أو الماء وغير ذلك من المكونات البيئية ذات الصلة الوثيقة بصحة الانسان . لا يجب ان يختار المذيب بصورة عشوائية وانما ينصح بالرجوع الى الجداول المعنية فى كتب ونشرات تحليل المبيدات ..

*** الاستخلاص بالمذيبات Solvent extraction :**

فى السنوات الاخيرة إستحدثت العديد من نظم استخلاص المبيدات من المحاصيل المختلفة . ولن نتعرض فى هذا المقام لهذه النظم بالتفصيل ولكن سنكتفى فقط بالنظم والخطوات التى ثبت

نجاحها فى تحقيق استخلاص معقول تبعا لاحتياجات التحليل . كما سبق القول على القائم بالتحليل ان يراعى وبدقة فهم طريقة التحليل قبل ان يحدد ويشرع فى الاستخلاص ، وعلى سبيل المثال اذا كان التحليل يشمل مبيد اللندين والطريقة المتبعة تعتمد على الكشف عن حلقات البنزين فى المركب فلا يجب بل لا يمكن التفكير فى الاستخلاص بالبنزين . ونفس الشئ مع الكلثين (وهو مبيد اكاروسى واسع الانتشار) يعتمد التقدير النهائى له على الكشف عن الكلوروفورم لذلك لا يمكن استخدام الكلوروفورم فى الاستخلاص . ولا يمكن استخدام المذيبات الكلورينية فى حالة الكشف عن وتقدير المبيدات الكلورينية العضوية فى عمليات الاستخلاص .

اذا لم تكن بيانات نقاوة المذيبات العضوية التى تستخدم فى الاستخلاص متوفرة ودقيقة يجب تقدير هذه المذيبات للتأكد من نقاوتها خاصة المذيبات الكلورينية مثل الكلوروفورم والميثيلين كلوريد ورابع كلوريد الكربون . لأن هذه المذيبات تكون الفوسجين وهو غاز سام لا يخشى من تداخله مع طريقة الكشف فقط ولكن يخشى من خطورته على القائم بالتحليل . المذيبات يجب ان تقطر فى اجهزة زجاجية مع تفادى ملامستها لأية اغطية بلاستيكية أو مطاطية بخلاف التيفلون . المذيبات الايثيرية يجب ان تقطر لمدة قصيرة بما يتيح التخلص من البيروكسيدات . وليكن معلوما ان الاوانى الزجاجية المحتوية على بيروكسيدات الايثير لا يجب ان يسمح بجفاف المستخلص فيها . لقد ثبت حدوث فقد كبير عند تجفيف المستخلصات المحتوية على المبيدات الكلورينية العضوية وكذلك الفوسفورية لقلة ثباتها .

لقد ثبت ان الاستخلاص بالمذيبات (المبلول) Wet processing extracts ملائمة لاسترجاع معظم مخلفات المبيدات الموجودة فى المستخلصات وهناك طريقتان لاستخلاص المبيدات فيما عدا الذائب فى الماء تتمثل فى استخدام مخلوط البنزين والكحول او الكلوروفورم من المواد الزراعية الخام او المجهزة . الأولى تتمثل فى بالإستخلاص بالرج مع المذيب وهذه تتميز بالمقدرة على استخلاص المبيد دون المواد المتداخلة وهى تفيد وينصح بها فى حالة الخضر والفاكهة المحتوية على المبيدات السطحية التى لا تمتص فى الداخل فى الانسجة النباتية . تقطع العينات النباتية الى قطع صغيرة لا تتعدى البوصة كما فى الكرنب والتفاح والخوخ وتوضع فى وحدة الإستخلاص مع حجم من المذيب يساوى او ضعف وزن العينة ويتم الرج لمدة نصف ساعة على الاقل وبعد ذلك يتم الترشيح على الورق او من خلال كبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من الماء . يجب التأكد من ان المواد الجافة المستخدمة لا تدمص المبيد .

الطريقة الثانية تتمثل بخلط العينة وتكسيرها مع مذيب او اكثر فى الخلاط الكهربى وهى تصلح مع معظم المبيدات ولقد ثبت ان استخدام مذيبين افضل . يفضل ان يكون الخلاط مناسبا لإستخدام المذيبات العضوية (زجاج) ويتفادى الغطاء البلاستيك ، كما يجب ان يكون الخلاط غير قابل للكسر ويفضل العديد من البحاث تكسير العينات النباتية مع كحول الايثايل او الايزوبروبايل قبل اضافة المذيب الغير قابل للخلط مع الماء والاخير يضاف فى حدود ٢ ملليلتر لكل جرام مادة نباتية ..

هناك طرق كثيرة للإستخلاص نذكر منها : (١) الطريقة العامة باستخدام زوج من المذيبات وهذه تتميز بالسرعة والكفاءة العالية فى الاسترجاع وعدم تكوين مستحلبات . لكل جزء عينة يضاف ٢ جزء بنزين واربعة اجزاء من الكحول الايثيلى او الايزوبروبيل ثم يتم الخلط فى الخلاط لمدة ٤ – ٥ دقائق ويسكب فى انابيب جهاز الطرد المركزى حيث تتركز المادة الصلبة فى قاع الانبوبة بعد الرج . تؤخذ الطبقة العليا السائلة فى قمع فصل سعة واحد لتر (٣٠٠ – ٤٠٠ ملليلتر فى كل قمع) ثم يضاف حوالى ١٠٠ ملليلتر من محلول ملحى مشبع لكسر المستحلبات ثم يضاف الماء حتى إمتلأ القمع تقريبا . يتم الرج حيث ينفصل البنزين ويتم استبعاد طبقة الماء . يتم غسل مستخلص البنزين بالماء ويجفف بكمية من كبريتات الصوديوم اللامائية . ان استخدام كمية كبيرة من الكحولات تعمل على تجفيف العينات ومنع تكوين المستحلبات التى تسبب مشكلة كبيرة مع المحاصيل الرطبة . لا يفضل استخدام اقماع الفصل الاكبر من واحد لتر لأن كسرها يحدث إضراراً ويفضل ان يزود القمع بصنبور من التيفلون . ولقد تأكد بالتجريب افضلية استخدام مذيبان فى الإستخلاص بالمقارنة بمذيب واحد فى استرجاع مبيد DDD من السبانخ المجهزة والمحفوظة فى العلب وكانت النظم بنزين منفرد بالمقارنة مع نظام البنزين – ايروبروبايل .

فى حالة المبيدات الفوسفورية العضوية الجهازية والتى تمثل فى داخل الانسجة النباتية يستخدم مذيب الكلوروفورم لاستخلاص نواتج التمثيل بمعدل ٤ – ٥ اجزاء كلوروفورم لكل جزء نباتى . ان استخلاص المواد الدهنية والزيتية من اصعب المشاكل التى تجابه القائم بالكشف عن مخلفات المبيدات لأن المهمة تتمثل فى فصل المبيد من الدهن أو الزيت . من احس الطرق اجراء الاستخلاص بمذيب الاسيتونتريل فى الخلاط مع العينة ثم يجرى طرد مركزى للمخلوط ثم تفصل طبقة الاسيتونتريل ويعاد الإستخلاص للمواد الدهنية مرة اخرى بنفس المذيب ويفضل استخدام ٢ جزء من الاسيتونتريل لكل جزء مادة نباتية وتكرر عملية الاستخلاص ثلاثة مرات وهذه كافية لاسترجاع معظم المبيد . بالنسبة للفصل من دهن الحيوانات تتبع نفس الطريقة فيما عدا فصل الاسيتونتريل بالترشيح على ورق واتمان رقم (١٢) ونحصل على نتائج افضل اذا تم تبريد المذيب والعينة قبل الاستخلاص .

فى حالة بعض المواد الدهنية كثمار الافوكادو يتم الاستخلاص بالهكسان ثم يفصل بالطرد المركزى ويعاد الاستخلاص بالاسيتونتريل حيث ان الاستخلاص المباشر بالاسيتونتريل يسمح باستخلاص العديد من المواد الذائبة فى الماء . يمكن نزع المبيد من الاسيتونتريل باضافة الماء بحيث لا يزيد تركيز الاسيتونتريل عن ٢٠ ٪ ثم يستخلص المخلوط بالهكسان او الكلوروفورم او البنتان . فى بعض الحالات يكون الاسيتونتريل محتويا على كميات كبيرة من المواد الدهنية وهذه يمكن ازالتها بتخفيف الاسيتونتريل بالماء حتى تركيز ٦٥ ٪ ثم يمرر المخلوط خلال عمود من الالومينا .

هناك جدل كبير بين رجال تحليل المبيدات عن تخزين المستخلصات ويمكن ببساطة شديدة الرجوع لما نشره البحاث Patterson and Lehonan عام ١٩٥٣ من ان المحاليل المستخلصة

يجب ان تخزن تحت ظروف لا تسمح بحدوث اى تغير فى المبيد حتى يحين موعد التحليل النهائى . اذا لم يكن هناك مفر من التأخير فى التحليل يجب اجراء تجربة استرجاع recovery تحت نفس ظروف الاستخلاص . وحتى تحت الظروف المناسبة لا ينصح بتخزين المستلخلصات لمدة طويلة . يجب ان تخزن المستخلصات على درجة الصفر المئوى فى زجاجيات محكمة الغلق حولها الومنيوم ويجب تجنب لف الاغطية بالشمع حيث انه يذوب بسهولة فى المذيبات العضوية وليكن معلوما انه حتى على درجات الحرارة المنخفضة يحدث فقد للمبيدات ومثال ذلك ما يحدث من فقد لمبيد السيفين فى الكلوروفورم على درجات الحرارة الواطية جدا ولو ان اضافة القليل من الايثانول يساعد فى حفظ السيفين من الانهيار . وخلاصة القول انه يجب تحليل المستخلصات فور اعدادها الا اذا كانت هناك ادلة موثوق فيها تؤكد ثبات المادة الفعالة للمبيد فى المذيب . يفيد جدا اتباع اسلوب التجريب باضافة كمية معلومة من المبيد الى كمية معلومة من المستخلص النباتى الخام منه (المقارنة) وتخزن العينة المقواة تحت نفس الظروف . ويتم تقدير معدل الاسترجاع . اما كمية المبيد المقوى تتوقف على الكمية المحتمل وجودها فى العينات وينصح بان تكون فى حدود ١٠ امثال الكمية التى تحدها حساسية الطريقة والجهاز .

* طرق تنظيف العينات Clean-up procedures :

مع زيادة عدد المبيدات وتعاظم دورها فى المكافحة والتوسع المخيف فى استخدامها كان لا بد من تطوير طرق مختلفة للكشف عنها فى المكونات البيئية وكلما كانت الطريقة اكثر حساسية امكن الكشف عن الكميات الضئيلة وهذا يستدعى اجراء عمليات تنظيف وتخليص العينات من الشوائب والمواد المتداخلة . وكان المنطق القديم يقضي بأنه لزيادة حساسية التحليل يجب زيادة حجم العينة وهذا شئ ليس بالسهل او حتى فى المتناول فى كثير من الاحيان . ان معظم إن لم تكن جميع طرق التحليل تحتاج لتخليص العينات من الصبغات والدهون والشموع وغيرها وهناك طرق تنظيف متخصصة لكل مبيد وما يعنينى هنا تناول طريقة أو اكثر عامة تفيد مع معظم انواع المبيدات فيما عدا تلك التى تذوب فى الماء .

معظم طرق التحليل الحديثة تعتمد على اجراء تفاعل مع بعض المواقع او المجاميع الخاصة الموجودة فى جزئ المبيد ومثال ذلك لتكوين لون تتداخل المستخلصات النباتية والحيوانية بطريقتين الاولى ان المستخلص يمكن ان يمنع المبيد من التفاعل مع الجوهر الكشاف الملون او المكون للون او ان المستخلص نفسه قد يعطى لون او منتجات لونية عادة صفراء او بنية مع الجوهر الكشاف الملون . ولتحقيق حساسية الطريقة يجب التخلص من جميع المواد المتداخلة .

فى معظم الاحوال يتوقف نوع ودرجة التنظيف على طبيعة التحليل المطلوب فى المستخلص . اذا كان التحليل يتضمن طريقة يحدث معها تداخل من جميع المواد العضوية يجب ان يتوخى الحذر فى عمليات التنظيف ومثال ذلك عند تقدير مبيد ٢ و ٤ – د حيث يحدث التفاعل اللونى النهائى فى حامض الكبريتيك المركز الساخن . وعلى النقيض عندما يجرى الكشف عن

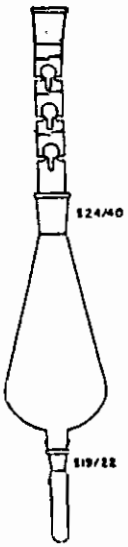
الـ د د ت فى المستخلصات الخالية من الدهن بطريقة Schechter-Haller لا تحتاج الا لتنظيف بسيط. وخلاصة القول انه يجب اجراء عمليات التنظيف كلما كان ذلك ضروريا حيث انه حتى احسن الطرق فى التحليل تزيل كمية من المبيدات . وأى طريقة تنظيف يجب الا يقل معدل الاسترجاع عن ٧٥ – ٨٠ ٪ من المبيد المضاف . يفضل ان يجرى اختبار اولى للتأكد من كفاءة عملية التنظيف بتجربة او تجربتين للاسترجاع ، وقبل البدء فى تحليل العينات يجب مع كل سلسلة من العينات اجراء عينة او اثنين مقواة باضافة كمية معلومة من المبيد للمستخلصات ، كما يجب اجراء تحليل مقارن قياسى بدون مادة نباتية او حيوانية بحيث تجرى عليها جميع خطوات التنظيف مع كل مجموعة من العينات محل التحليل .

*** ١ – تركيز العينات فى المستخلصات :**

بعد استخلاص المبيد من المادة النباتية او الحيوانية يكون تركيز المبيد قليلا للغاية بدرجة لا تسمح بقياس كميته مباشرة أو يكون ذلك من الصعوبة بمكان لذلك وجب تركيز المبيد عن طريق التخلص من المذيب . التركيز والإزالة يمكن ان تتم بطرق متعددة ولكن تظل طريقتى التقطير والتبخير اكثرها سهولة من الناحية العملية .

* التبخير بالهواء Air evaporation فى العديد من الحالات يتم التبخير بامرار تيار هواء دافئ على سطح العينة أو بامرار هواء نقى من خلال مرشح او غاز النيتروجين على العينة الموجودة فى حمام مائى ساخن ويمكن الحصول على الهواء الساخن من خلال سخان كهربى مزود بمروحة أو بواسطة مجفف للشعر ، واذا كان التبخير سيجرى بالهواء المار فى انابيب المعمل يجب مروره خلال مرشح قبل الاستخدام مباشرة والمرشح يجب ان يختار بعناية بحيث يكون قادرا على ازالة الماء والزيت وجسيمات التراب . يجب الا تزيد درجة حرارة حمام الماء عن ٥٠ ° م وفى بعض الحالات يجب ان تكون الحرارة اقل من ذلك . اخر كمية من المذيب بعد التبخير يمكن التخلص منها عن طريق تيار من الهواء الهادئ على درجة حرارة الغرفة . وليكن معلوما على سبيل التذكرة – أنه كلما كانت كمية المواد المستخلصة قليلة كلما كانت فرصة فقد الماء بالتبخير كبيرة . ومن المفيد اضافة بعض نقاط من ايثيلين جليكول او حامض الاستياريك او اى زيت ابيض حيث تعمل كمواد حافظة خاصة المبيدات القياسية لتقليل فقدها بالتطاير خلال المراحل الاخيرة من التبخير .

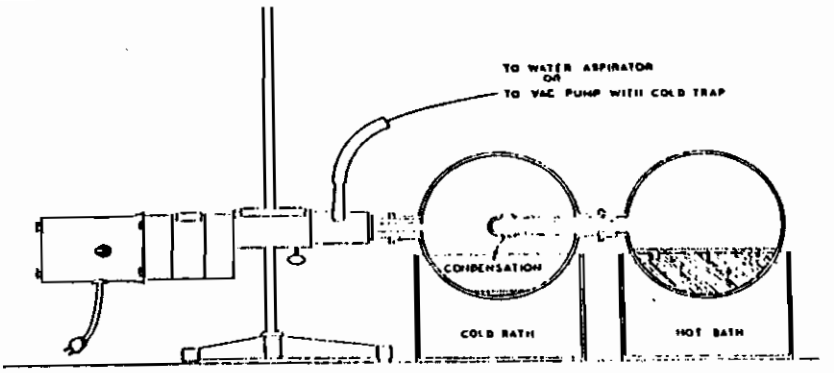
* هناك التركيز باستخدام وحدات كودرينا – دانيش kuderna - Danish وهو مناسب جدا لتركيز المستخلصات المحتوية على المبيدات والشكل التالى يعطى نموذج شائع جدا فى معامل التحليل .



شكل (٢) : مبخر ومركز ، عمود سيندر .

تملأ الوحدة الخاصة بالاستقبال بالمستخلص حتى العلامة الوسطية ثم تضاف قطعتان من مساعدات الغليان وتوضع الوحدة كلها فى حمام بخر بحيث يغمس الجزء السفلى (الثلث على الاقل) فى الحمام . توضع الوحدة فى خزانة الغازات الملائمة والمجهزة خصيصا لذلك حيث تسمح بخروج البخار بعيدا عن عمود سيندر synder column يمنع الفقد بسبب سريان الجسيمات فى المذيب حيث تصطاد الجسيمات بواسطة المذيب العائد للمستقبلة . البخار الذى يتكثف يعود مرة اخرى الى جوانب القابلات وعندما يقل حجم السائل يتم غسل المبيد فى المستقبل ثم ينقل كميا إلى المستقبل . عندما يتم النقل يزال المستقبل من القابلة ثم يزال المذيب المتبقى باستخدام تيار هادئ من الهواء . ويجب ان نتأكد من كفاءة هذا المبخر عن طريق اضافة كمية معينة من المبيد فى المذيب المراد تركيزه ونقدر معدل الاسترجاع .

* هناك التبخير بالتفريغ Vacum وهو يستخدم غالبا فى تركيز المحاليل الحساسة للحرارة . مبخر Rinco يستخدم الأساس الخاص بنشر فيلم رقيق من المحلول على سطح كبير، تدور ثم تعرض الى ضغط سالب . هذه الطريقة تناسب تركيز المستخلصات المحتوية على المبيدات . الشكل (٣) يعطى رسما لهذا النوع من المبخر . عندما يستخدم فى تبخير مركز ذو طبيعة مختلفة يجب ان تجرى تجربة استرجاع للتأكد من الكفاءة .



شكل (٣) : مبخر رينو الدوار والذى يعمل بالتفريغ مع وحدة مكثف المذيب واسترجاعه .

يقترح للحمام الخاص بالتبريد :

(١) ثلج جاف واسيتون ، (٢) ماء مثلج ، (٣) ماء حنفية مستمر (دائرى)

* هناك طرق ذات صفة العالمية للعمل الروتينى لتقدير المبيدات مثل الكروماتوجرافى الورقى والغازى وطرق التقييم الحيوية وهذه تتطلب مستخلصات خالية تماما من المواد المتداخلة . لقد ثبت الكفاءة العالية لتنظيف العينات المحتوية على المبيدات تمكن من الحصول على مستخلصات خالية من الصبغات والدهون والشموع . توضع العينة فى البداية فى البنزين فيما يسمى بالطريقة المبتلة wet benzene والتى طورت بواسطة Cassiol وآخرون (١٩٦٠) ثم تمرر بعد ذلك فى عمود يحتوى على البولى ايثلين – الومينا . طريقة البنزين المبتلة تعتمد على ادمصاص الصبغات المتداخلة على الكربون النشط المغسول بالحامض والأتكلاى . ويستخدم مذيب البنزين المشبع مع الماء فى حالة المستخلصات النباتية . الماء يعمل على تحوير عمل مواد الادمصاص بحيث تصبح غير قادرة على ادمصاص المبيد . بسبب اهمية هذه الطريقة وللتاريخ حيث مر عليها ما يقرب من ٣٥ عاما حتى الآن نشير اليها بالتفصيل : تخلط خمسة اجزاء بالوزن من الأتكلاى مع جزء من الفحم المنشط . يتم تنشيط الفحم بالتسخين مع التقليب لكميات ٤٠٠ ملليلتر فحم مع ١٠٠ ملليلتر ماء مع ٣٠٠ ملليلتر حمض كبرتيك مركز عالى النقاوة لمدة ١ – ٢ ساعة فى حمام بخار . يتم ترشيح العجينة من خلال قمع بوخنر ثم تغسل بالماء الساخن حتى تتم معادلة المرشح ونتأكد من ذلك باستخدام دليل ميثيل البرتقالى . يتم التجفيف لمدة ٤٨ ساعة فى فرن مضبوط على درجة ١٣٠ م . تبرد ثم ترج حتى يتكون المسحوق . يتم تجهيز البنزين المبتل برج البنزين مع ماء مقطر ثم نستبعد طبقة الماء . يتم إستخلاص العينة بالخلط فى الخلاط مع البنزين والكحول ثم يطرد المخلوط فى جهاز الطرد المركزى لفصل وازالة المواد الصلبة ثم يزال الكحول من البنزين بالغسيل بالماء فى قمع الفصل . لا يجب ان يجفف المستخلص قبل الاستعمال . يضاف الى مستخلص البنزين فى ٥٠٠ ملليلتر دورق معيارى ١٠٠ جم من المادة النباتية ثم يضاف ١٠ جم من مخلوط الادمصاص ثم يرج القابلة لمدة ١,٥ دقيقة . بعد ان يستقر مخلوط الادمصاص يستبعد محلول البنزين خلال ورق ترشيح واتمان رقم ١٢ فى دورق معيارى سعة ٥٠٠ ملليلتر . يغسل مخلوط الادمصاص خمسة مرات باستخدام ٥٠ ملليلتر من البنزين المبتل وفى كل مرة يستبعد

الطبقـة الرائقة فى دورق معيارى . يتم تبخير البنزين حتى يصل حجمه الى ٣٠ ملليلتر باستخدام عمود سنبدر ذو الكرات الثلاثة هنا يصبح المحلول جاهزا للتحليل او لعمليات تنقية اكثر . ولقد اتضح ان هذه الطريقة غير ضرورية فى جميع الاحوال بينما البنزين المبتل يمنع ادمصاص المبيدات مع الكربون .

* طريقة عمود البولى ايثلين – الومينا .. درس الباحثان حونز وزيديك عام ١٩٥٢ التوزيع الجزئى للعديد من المبيدات بين الهكسان والأسيتونتريل . ولقد وجد ان الدهون والشموع تبقى فى طبقة الهكسان بينما تتوزع معظم المبيدات فى طبقة الاسيتونتريل . وفى عام ١٩٥٥ قام الباحث Eovin وزملاؤه باستبدال الهكسان بالبارافين المحمل على اكسيد الالومنيوم فى عمود وبعد ذلك تتم ازاحة المبيدات من العمود باستخدام مخلوط ٦٥ : ٣٥ اسيتونتريل : ماء بينما تتبقى الشموع والدهون على المادة الادمصاصية فى العمود . ولسوء الحظ ان بعضا من البارافين يزاح فى العينة ويلوثها . وبعد ذلك استبدل Hoskins وزملاؤه عام ١٩٥٨ البارافين بالالومينا المغلفة بالبولى ايثيلين . هذه الطريقة تزيل معظم الدهون والشموع من المستخلص مع فقد ضئيل جدا فى كمية المبيد . العديد من المبيدات تزال من العمود باستخدام ٦٥ ٪ اسيتونتريل . ولن اكتب هذه الطريقة بالتفصيل منعا لضياع الوقت وعلى الباحث ان يبذل الجهد ويبحث فى المراجع للحصول على الطرق المناسبة بما يمكنه من تحقيق أعلى معدلات استرجاع .

* فى عام ١٩٦١ تم تطوير طريقة التنظيف باستخدام عمود سليكات الالومنيوم (Coulson وآخرون ١٩٦١) واستخدمت فى تحليل المبيدات فى المستخلصات النباتية . عندما حدثت نتائج متضاربة مع استخدام عمود الفلوروسيل قام البحاث بتجهيز عمود سليكات الالومنيوم من كلوريد الالومنيوم ورابع كلوريد السليكون . فى هذه الطريقة يتم استخلاص العينات بالطرق المناسبة ثم يبخر المذيب . يذاب الجزء الصلب المحتوى على المبيدات فى ١٠٠ ملليلتر Skellysolve - B ويجهز العمود بطول عشرة بوصات وقطر داخلى ٨ ملليمتر ويجهز عمودين من التيفلون المملوء باربعة بوصات من سليكات الالومنيوم ٦٠/٤٠ مش مع طبقة ١ بوصة من كبريتات الصوديوم اللامائية فى قمة العمود . وهذه تمثل من ٣ – ٤,٥ جم من سليكات الالومنيوم . يوضع المذيب SK. B المحتوى على المبيد مباشرة على العمود . يمكن ازاحة الالدرين وال د د ت باستخدام المذيب Skel-ly Solve- B الذى جمع مع مذيب العينة ، اما معظم المبيدات الكلورينية الأخرى تزاح بواسطة ١٠٠ ملليلتر من الداى ايثيل ايتر فى الـ Sk. B اذا لم يكن هناك داعى للفصل يمكن الازاحة مباشرة باستخدام ١٠ ٪ داى ايثيل ايتر فى الـ Sk. B . يتم تركيز المترشح باستخدام مبخر كودرنا – دانيش ثم التحليل بعد ذلك . عندما نشرت هذه الطريقة لم تكن هناك بيانات كافية تؤكد امكانية هذا المذيب على إزاحة المبيدات الفوسفورية العضوية من العمود ويظل الفيصل فى كفاءة اى طريقة هو معدل استرجاع العينة المنقاة . ولقد طور coulson وزملاؤه عام (١٩٦١) هذه الطريقة لتحليل المبيدات الكلورينية فى الزبد حيث يتم الفصل الجزئى للمبيدات فى الاسيتو نتريل من محلول الهكسان للزبدة ثم تعاد لمذيب SK. B ثم يمرر فى عمود سليكات الالومنيوم .

* طرق عامة للفصل **General separation procedures** :

لقد نوقشت العديد من طرق الفصل والتنظيف والعديد منها اثبت كفاءة عالية وتم تحويره ليناسب نوع واحد من المبيدات ، وعلى الباحث ان يتاكد من كفاءة العملية عند العمل على مركب جديد من خلال العينات المقواة .. ومن هذه الطرق :

* **التوزيع الجزئي partition distribution** .. حيث يستخدم نوعان من المذيبات الغير قابلة للامتزاج والمبيد يجب ان يكون قابلا للذوبان فى كلا المذيبين بمعدل توزيع جزئى اكبر من (١) اما المواد او المستخلصات الخاصة بالمواد الحيوية يجب ان يكون معامل التوزيع لها اقل من (١) . المذيبان يجب ان يكونا غير قابلين للذوبان ولهما نقط غليان منخفضة ومن ثم يمكن فصلهما من المبيد . المذيبان يجب ان يختلفا فى الكثافة بحيث ان مخلوطهما يكون طبقتان .. ولتوضيح ذلك نقول ان السيكلوهكسان والاسيتونتريل غير قابلين للامتزاج حيث ان كثافتهما على درجة حرارة الغرفة تجعلهم لا يكونا طبقتان . لقد درس ريديك (١٩٥٢) التوزيع الجزئى بين الاسيتونتريل والهكسان العادى حيث يتم استخلاص النسيج النباتى بالهكسان العادى ثم يتبع ذلك استخلاص بالاسيتونتريل لطبقة الهكسان . تنتقل المبيدات من طبقة الهكسان العادى الى الاسيتونتريل بينما تظل معظم الدهون والزيوت والشموع فى طبقة الهكسان . تنقل طبقة الاسيتونتريل الى قمع فصل نظيف ثم يضاف الماء والهكسان النظيف ثم يرج القمع . الآن اصبحت المبيدات اكثر ذوبانا فى الهكسان عنه فى طبقة الاسيتونتريل والماء ، ثم تستبعد طبقة الاسيتونتريل – الماء ثم تجفف طبقة الهكسان العادى وتخزن للتحليل .

يمكن القول ان الهكسان والاسيتونتريل يمثلا زوجان مناسبان من المذيبات تستخدم لفصل المبيدات من العينات النباتية والحيوانية ... والجدول التالى يعتبر نموذج ولو انه قديم جدا منذ عام ١٩٥٢ (ريديك وجونز) لتوزيع المبيدات بين طبقتى الاستونتريل والهكسان . وقد وجد Bureb fied and storrs (١٩٥٣) افضلية مذيب ن.ن – داى ميثيل فورماميد عن الاسيتونتريل فى فصل مبيدى الـ ددت واللندين . ويفضل استبعاد النيتروميثان من ازواج المبيدات لخطورة الانفجار فى الوسط القلوى . ونفس الشئ مع مركبات الايثيلين والفورفورال والفينول التى قد تتداخل مع التحليل اللونى للمبيدات .

* هناك طريقة فصل الدهون والشموع عن المبيدات من خلال بلورة الشموع والدهون الموجودة فى المستخلصات النباتية وهذا يتوقف على عدم ذوبانها فى الاسيتون البارد . يتم تبخير عينة الاستخلاص ثم يذاب الراسب فى حجم صغير من الأسيتون الذى يبرد مما يؤدى الى ترسيب الدهون والشموع دون تكسير للمركب . والمواد المغسولة تزال بالترشيح تاركة المبيد فى مرشح الاسيتون ولقد استخدمت هذه الطريقة لتحليل المثوكسى كلور . ولقد دمج الباحثان Anglin and Mckinley .

جدول (٣) : توزيع المبيدات بين الاسيتونتريل والهكسان على درجة حرارة الغرفة .

المبيـــد	نسب المذيبيات : الحجم اسيتونتريل وهكسان							
	١ : ٣ (أ) (هـ)		١ : ٣ (أ) (هـ)		١ : ٣ (أ) (هـ)		١ : ٣ (أ) (هـ)	
ريلدان	٨١	١٩	٩١	٩	٩٦	٤	٩٨	٢
ميثوكسى كلور	٨١	١٩	٩١	٩	٩٦	٤	٩٨	٢
باراثيون	٦٨	٣٢	٧٠	٣٠	٨٧	١٣	٩٦	٤
لندين	٦٨	٣٢	٧٠	٣٠	٨٦	١٤	٩٤	٦
كلوردين	٣٤	٦٦	٤١	٥٩	٥٩	٤١	٧٨	٢٢
د د ت	٣٢	٦٧	٤٠	٦٠	٥٧	٤٣	٧٥	٢٥

طريقة الاسيتون على درجة – ٧٠° م مع عمود الفلوروسيل ويمكن التوصية بهذا الاسلوب لتحليل الـ ددت والمركبات الشبيهة له ويصلح مع العديد من المحاصيل .

* هناك طريقة التنظيف من خلال عملية التصبن وهى محدودة الكفاءة Saponification حيث ان هناك القليل من المبيدات تقاوم التحلل فى الوسط القلوى مثل الالدرين والديلدرين والاندرين حيث يمكن تقديرها بالطريقة اللونية بطريقة الفينيل آزيد .

* من الممكن التخلص من المواد المتداخلة مع بعض المبيدات من خلال عمليات الاكسدة المتحكم فيها بشرط ان يكون المركب ثابتا تحت ظروف الاكسدة بينما المواد المراد التخلص منها تكون قابلة للأكسدة . جميع طرق الاكسدة يجب ان تؤكد كفاءتها من خلال العينات المقواة قبل ان تستخدم فى الكشف عن المخلفات . من احسن النجاحات فى هذه الطريقة ما اجرى على المبيدات الفوسفورية العضوية حيث تتأكسد الى الفوسفات غير العضوى بواسطة احماض البيركلوريك والناتج يقدر باجراء تفاعل لونى مع المولبيدات .

* يمكن استخدام طريقة الاختزال للتخلص من الصبغات النباتية الموجودة فى المستخلصات . يتم تبخير المذيب ثم يذاب الراسب فى الميثانول ثم يشبع المحلول بأكسيد الكبريت . يبخر الميثانول ثم يضاف الماء ويعاد إستخلاص المبيد ثانية فى مذيب بترولى . من الأمثلة الناجحة اختزال مجموعة النيترو فى جزئ مبيد الباراثيون وتحويلها الى مجموعة أمينو ثم تتغير مجموعة النيترو الغير ذائبة فى الماء الى مركب امينو يذوب فى الاحماض المخففة وهذا يصبح الباراثيون المختزل متحررا من بقايا المواد المتداخلة الذائبة فى المذيب .

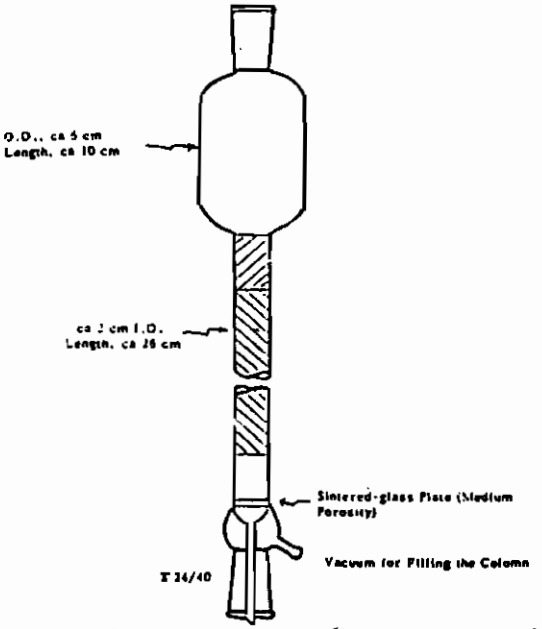
* يمكن تطوير طريقة التقطير بالبخار steam distillation لتنظيف العينات المحتوية على المبيدات . يمكن التخلص من بعض الزيوت الطبيعية والشموع بالتقطير البخارى ثم تفصل من

المبيدات الغير متطايرة الموجودة معها . بعض المبيدات تحلل مائيا لتكوين امينات عطرية أو فينولات . معظم الفينولات تتطاير بالبخار فى المحاليل الحامضية بينما الامينات العطرية تتطاير فى الوسط القلوى . يمكن استخدام هذه الطريقة للتخلص من المبيد او نواتج تحلله المائية من الانسجة النباتية ومن ثم تزيد كفاءة وحساسية طريقة التحليل .

* هناك التنظيف بطريقة الكروماتوجرافى chromatography وهو يشمل كروماتوجرافى الادمصاص adsorption والكروماتوجرافى الورقى paper وتبادل الايونات بالراتنجات ion - ex-change resins .. وسنشير فى عجالة بسيطة لهذه الطرق :

** بالنسبة لكرماتوجرافى الادمصاص ثبت كفاءة العديد من مواد الادمصاص مثل اكسيد الالومنيوم والفلوروسيل والأتكلاى وحمض السليسيك فى تنقية المستخلصات قبل التحليل . ولقد بدأت اول محاولة ناجحة عام ١٩٥٩ بواسطة Mckinley and Mahon حيث استخدما عمود الفلوروسيل مع مذيبات البترواليم ايثير والايثيل ايتر للازاحة وتمكنا بذلك من فصل المبيدات من المستخلصات المحتوية على الدهون . ولقد استخدم O'Donnell وآخرون عام ١٩٥٤ نظام مزدوج مكون من الادمصاص فى كأس الاستخلاص ثم عمود الكروماتوجرافى فى تقدير مبيد الالدرين فى البداية يعامل مستخلص الهكسان برجه مع خليط الكربون – ايثانول – حامض سيليسيك متبوعا بعمود كروماتوجرافى مع الاناسول . ولقد استخدم نفس البحاث اكسيد الماغنسيوم (الماجنيزيا) المسحوقة فى فصل المواد النباتية من مبيد الديلدرين . ويعيب الماجنيزيا ضرورة معايرتها قبل اى تحليل ومن الشائع استخدام الفحم المنشط والكربون فى تنقية المستخلصات قبل التحليل . ومن الضرورى معايرة كفاءة مواد الادمصاص والتأكد من خلال تجارب العينات المقواة ، لأن معظم المواد الادمصاصية تحتاج لمعايرة مستمرة بعد التخزين . وكفاءة مواد الادمصاص تقاس بحجم المزاح التى تعطى اقصى معدل استرجاع مع اقل فقد فى المبيد . المعايرة قد تتطلب وقتا كبيرا خاصة اذا كان تقدير المبيد يتم فى خطوات متتابعة بعد الكروماتوجرافى . يمكن الكشف عن مخلفات المبيدات بعد ازاحتها من العمود بالطرق الحيوية باستخدام حشرة الدروسوفيلا او الذبابة حيث يبخر المذيب ويعرض الحشرات لفيلم المبيد ولقد وجد ان معظم الحشرات تقتل بتركيزات فى حدود ١٠٠ ميكروجرام .

من الطرق التى يمكن ان تبسط معايرة كفاءة العمود اضافة كمية من المبيد المعلم بالاشعاع فى مكان معين من الجزئ إلى المستخلص ثم تجرى عملية الفصل الكروماتوجرافى وتجمع القطفات وتبخر ويقدر المبيد فى كل قطفة . وهناك العديد من مواد الادمصاص التى ثبت كفاءتها مع المبيدات مثل الالومينا المنشطة والكربون والأتكلاى والسيليكا جيل واكسيد الماغنسيوم والالومينا بولى ايثيلين ى. ولقد وجد ان الانبوبة الموضحة فى الشكل التالى مناسبة جدا لوضع مادة الادمصاص . وهى قد تستخدم مع التفريغ أو الضغط الخفيف . فى حالة الحجوم الصغيرة من المذيبات التى تقل نقطة غليانها عن ١٠٠° م يساعد الضغط فى الحصول على محلل جيد . يمكن تخزين مواد الادمصاص فى اوانى مغلقة تفتح عند الحاجة والعمل فقط . يجب الكشف عن سلوك



شكل (٤) : انبوبية الكروماتوجرافى المناسبة للعمل مع التفريغ أو الضغط

المادة الادمصاصية على فترات منتظمة وكذلك يجب الكشف عن سلامة المبيدات للتأكد من سلامتها لمادة العمود .

يمكن للكروماتوجرافى الورقى ان يعمل بنظام الفصل الجزئى حيث تعضد شرائط أو ألواح الورق بالوسط الغير متحرك بينما قوى الخاصة الشعرية تتحكم فى حركة المذيب على الورقة . الاستخدام الاساسى للكروماتوجرافى الورقى يتمثل فى فصل المبيدات بعد تنقية المستخلص . يفضل بل يجب تنقية المستخلص قبل اجراء عملية التنقيط على الورق . فى احد التقديرات ثم تنقيط مستخلص الاسيتون من جسم الصرصور على الورق وتم تنقية المستخلص بازاحة مذيب الاسيتونتريل لمسافة قصيرة ثم تزال الدهون الموجودة فى البقعة الاصلية وبعد ذلك يجرى الكروماتوجرافى بالمذيب المناسب .

فى السنوات الاخيرة تم تطوير جهاز الكروماتوجرافى الغازى لفصل وتعريف وتقدير المبيدات . ولقد قام Zweig وآخرون (١٩٦٠) بتمرير المستخلص خلال الجهاز ثم قاموا بامتصاص او تجميد المبيد الخارج مع تيار الغاز المتدفق ثم يقاس المبيد باستخدام طيف الاشعة فوق الحمراء أو بأى وسيلة كيميائية أو حيوية . وننصح فى هذا المقام بضرورة تنظيف العينات قبل حقنها فى الكروماتوجرافى الغازى وهذا يعطى فصل جيد ويطيل من عمر العمود .

* إن إستخدام نظام تبادل الايونات بالراتنجات محدود للمركبات التى تتفاعل مع المركبات الايونية . وقد قام بعض البحاث باستخدام الراتنجات Dowex لادمصاص الامينو ترايازول من مستخلص الميثانول والماء للنسيج النباتى . الراتنجات الانيونية تستخدم احيانا لادمصاص مبيدات الحشائش الحامضية من المستخلصات المائية للانسجة النباتية مثل ٢ ، ٤ – د . معدل الاسترجاع الواطى قد يرجع الى التفاعل الغير عكسى للمادة الحامضية مع الراتنج .

المراجـــع

Anglin, C., and McKinley, W. P. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 186.

Burchfield, H. P., and Storrs, dE. E. (1953). Contribs. Boyce Thompson Inst. 17, 333.

Cassil, C. C., Cortner. W., and Stoner, H. d(1960). Private communication.

Coulson, D. M., and Cavanach. L. A. (1961) 140th dNatl. Am. Chem. Soc. Meeting, Chicago, September.

Coulson, D. M., Cavanagh, L. A., DEVries J. E., and Walther, B. (1960). J. Agr. food Chem. 8, 899.

Coulson, D. M., Cavanagh, L. A., and Wilton, V. (1961), 18th Intern. Congr. Pure and Appl. Chem., Montreal, August.

Craig, L. C., and Craig. D. (1950). In "Technique of Organic Chemistry" (Weissberger, A., ed.), Vol. III. Chapter IV. Interscience, New York.

Erwin, ;W. R., Schiller, D., and Hoskins, W. M. (1955)k, J. Agr. Food Chem. 3, 676.

Fairing, J. D., and Warrington. H. P. (1950). In Advances in Chem. Ser. 1. p. 260.

Gunther, F. A., and Blinn, R. C. (1955). "Analysis of Insectricides and Acaricides," pp. 215-218. Interscience, New York.

Hoskins, W. M., Erwin. W. R., dMiskus, kR., Thornburg, W. W., and Werum, L. N. (1958). J. Agr. Food Chem. 6, 914.

Jones, L. R., and Riddick, J. A. (1952). Anal. Chem. 24, 569.

Major. kA., Jr., and Barry, H. C. d(1960). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 44, 202.

McKinley, W. P., and Mahon. J. H. (1959). J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 42, 727.

Menn, J. J., Eldefrawi, M. E., and Gordon, H. T. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 41.

Mills, P. A. (1959). dJ. Assoc. Offic. Agr. Chemists 42. 784.

O'Donnell, A. E., Neal, M. M., Weiss, dsF. T., BAnn. J. M., DeCino. T. J., and Lau, S. C. (1954), J. Agr. Food Chem. 2. 373-80.

Patterson, W. I., and Lehman, A. J. d(1953), Assoc. Food & Drug Officials U.S. Quart. Bull. 17, 3-12.

Rosenthal, I., Frisone, G. J., and Gunther. F. A. (1957). J. Agr. Food Chem. 5, 514-17.

Schechter, M. S., and Hornstein, I. (1952). Anal. Chem. 24, 544-8.

Storherr, R. W., and Burke. J. (1960). In "Determination of 3-Amino 1, 2, 4-Traizole in Crops." div. of Food & Drug Admin., U.S. Dept. of Health. Education and Welfare, Washington, D. C.

Zweig, dG., Archer, T. E., and Rubenstein. kD. (1960). J. Agr. Food Chem. 8, 403-5.

Zweig, G. (1960). Private communication.

هذه المراجع بالرغم من مرور فترة طويلة تعدت الثلاثين عاما الا انها ضرورية ، ولكى تكتمل الصورة امام اى باحث عليه الرجوع الى المرجع الاساسى والرئيسى فى تحليل المبيدات :

Pesticide Analytical Manual

Vol. 1, Foods and Feeds.

الجزء الخاص بالاستخلاص والتنظيف وفيها قائمة بالمراجع الخاصة بهذا الجزء لكل نوع من الغذاء .

(١) المبيدات الكلورينية (الغير ايونية)

*** طرق عامة للأغذية الدهنية :**

Johnson, L., JAOAC 48, 668-675 (1955)

Wells, C., JAOAC 50, 1205-1215 (1967)

Carr. R. L., JAOAC 53, 152-154 (1970)

Carr. R. L., JAOAC 54, 525-527 (1971)

Krause, R.T., JAOAC 56, 721-727 (1973)

Sawyer, L. D., JAOAC 56, 1015-1023 (1973)

Sawyer, L. D., JAOAC 61, 282-1291 (1978)

*** طرق عامة للأغذية الغير دهنية :**

Krause, R. T., JAOAC 49, 460-463 (1966)

Gaul. J., JAOC 49, 463-467 (1966)

Davidson, A. W., JAOAC 49, 468-472 (1966)

Wells, C., JAOAC 50, 1205-1215 (1967).

Burke, J. A., JAOAC 51, 311-314 (1968)

Burke, J. A., JAOAC 53, 355-357 (1970)

Burke, J. A., JAOAC 54, 325-327 (1968)

Krause, R. T., JAOAC 56, 721-727 (1973)

Finsterwalder, kC. W., JAOAC 59, 169-172 (1976)

* **طرق تقدير احماض الكلوروفينوكسى والبنتاكلوروفينول :**

Hopper, M. L., J. Agr. Food Chem. (1982) 30, 1038-1041.

Hopper, M. L., LIB 2306, April 30, 1979.

Richelleu, M. E., Griffitt, K.R. and Cline, K., Private communication. April. 1982.

Griffitt, K.R. Cline, J. K., and Schmidt, R. J. LIB 2695. Feb. 15. 1983.

Hopper, M. L., J. Agr. Food Chem. (1987) 35, 1265-269.

(٢) المبيدات الفوسفورية العضوية :

* **طرق تقدير الأغذية الدهنية**

تستخلص الدهون بواسطة الفصل الجزئى بالاسيتونتريل وتجرى التنقية فى عمود الفلوروسيل والمرجع هو :

231.101 References. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytica Chemists 11th Eddition, Section 29.001, 29,005, 29.008 , 29.010-29.014 , 29.017. The AOAC method for fatty foods is officidal only for certain organochlorine and not for organo-phosphorous compounds.

* **طرق تقدير الاغذية الغير دهنية :**

الاستخلاص بالاسيتونتريل – الاستخلاص بالماء / الاسبتونتريل – النقل الخاص بالاسيتونتريل المائى الى البترولييم ايثر والتنظيف فى عمود الفلوروسيل والمرجع هو :

232.101 References. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analyti Chemsis 11the Edition, Section 29.001, 29.002, 29.005, 29.008 , 29.009 , 29.012-29.014 , 29.0

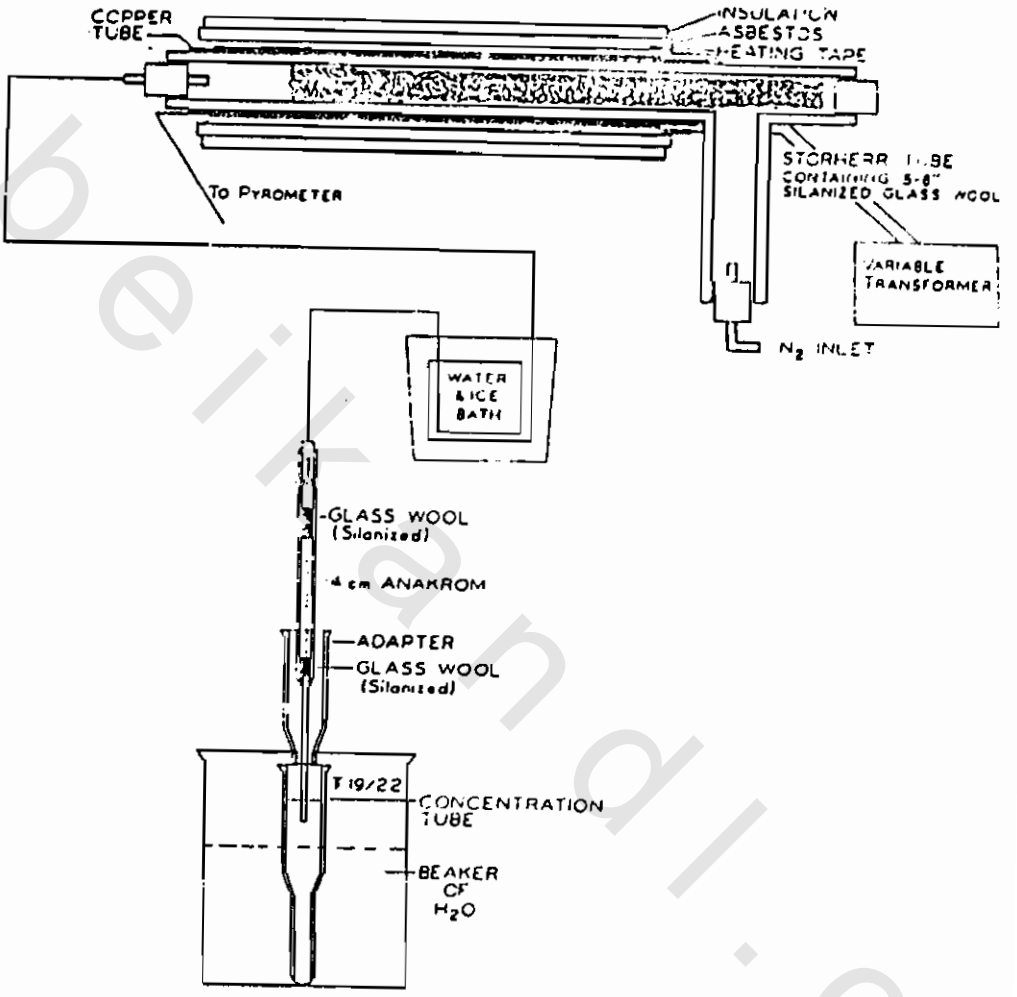
Studies or recommendations leading to AOAC official status :

Wassel, J. R., JAOAC 50, 430-439 (1967)

Wells, C. E., JAOAC 50, 1205-1215 (1967).

Burke, J. A., JAOAC 54, 325-327 (1971)

يمكن اجراء عملية تنظيف العينات المحتوية على المبيدات الفوسفـــــورية بعملية التقطير Sweep - Co - distillation والمرجع الخاص بها والمبيدات التى تنجح معها وكذلك الجهاز موضح فى الشكل التالى :



232.201Reference, Changes in Official methodls of Analysis, JAOAC 51, 482-485 (1968). paragraph 24 (5). Method is official, first action, for parent organophosphate residues of carbophenothion, diazinon, ethion, malathion, methyl parathion, and parathion in kale, endive, carrots, lettuce, apples, potatoes, and strawberries (fresh or no-sugared frozen).

(1) Storherr, R. W. and Watts, R. R., JAOAC 48, 1145-1158 (1965)

(2) Watts, R. R. and Storherr, R. W., JAOAC 48, 1158-1160 (1965)

(3) Storherr, R. W. and Watts, R. R., JAOAC 51, 1662-665 (1968)

يمكن اجراء التنقية بعمود الكربون Carbon column والمرجع :

232.301 References. Storherr. R. W., Ott. P., and Watts, R. R., JAOAC 54, 513-516 (1971) Official Methods of Analysis of the Aslsociation of Official analytical Chemists 12th Edition. Section 29.002 (k), 29.005 , 29.008 (d) (1) or (2) , (e) , (f), and (k) , 29.001 (a) , (b) , 29.033 , 29.037 , 29.039 (i) , (j) and (k) ; Changes in Methods 29.034 (e), JAOAC 58, 397 (1975).

Study leading to AOAC offficial status :

Laski, R. R., JAOAC 57, 930-933 (1974).

(٣) مخلفات المبيدات العضوية النيتروجينية :

* فى المواد الغذائية الغير دهنية .

يتم الاستخلاص بالاسيتون والمرجع هو :

242.101 References. Luke, M. A., Froberg. J.E., and Masumoto, H. T., JAOAC 58 1020-1026 (1975).

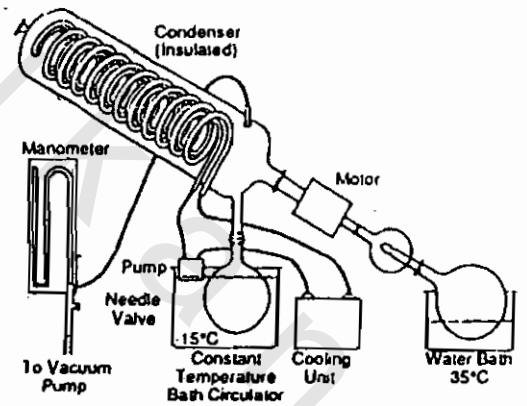
(٤) مخلفات مبيدات ن – ميثيل كاربامات :

يتم الاستخلاص بالميثانول ويتم الفصل الجزئى فى الاسيتونتريل فى وجود كلوريد الصوديوم . يتم التخلص من مرافقات الاستخلاص بالفصل الجزئى فى البترولييم ايثر . المخلفات تفصل جزئيا فى الميثيلين كلوريد فى وجود محلول كلوريد الصوديوم وبعد ذلك يجفف محلول الميثلين كلوريد – اسيتونتريل حتى الجفاف ثم تجرى عملية تنقية اضافية باستخدام عمود الكربون والسيليت والازاحة بمحلول التولوين – اسيتونتريل . والمرجع هو :

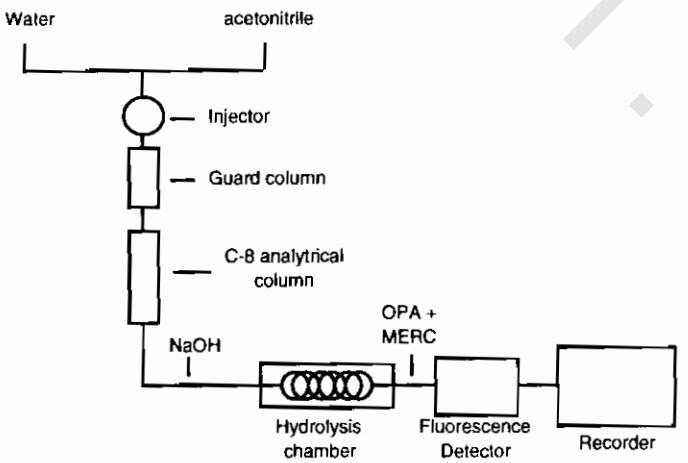
Extralct residues from product with methanol
↓
Partition residues into acelonltrile
↓
shake with petroleum ether; discard petroleum ether
↓
Partition residues into methylene chloride; evaporate
↓
Cleanup on charcoal-sllanized Celite
↓
column; elute with toleuene-acetonitrile
↓
Evaporate eluate; dissolve in methanol
↓
HPLC determinajtion;
reverse phase separation with in-line hydrolysis and
derivatization, and determination by fluorescence detector

References :
(1) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 1114-1124 (1980)
(2) Krause, R.T. J. Chromatogr. Sci. 16, 281-288 (1978)
(3) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68, 726-733 (1985) [collaborative study]
(4) Krause, R.T. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68, 734-741 (1985)
(5) Krause, R.T. J. Chromatogr. 158, 615-624 (1979)
(6) Krause, R.T. J. Chromatogr. 442, 333-343 (1988)

والشكل التالى يوضح جهاز التبخير الدائرى (الدوار) الخاص بمخلفات الكاربامات ونواتج تمثيلها على ان يتم الكشف والتقدير النهائى باستخدام جهاز HPLC ....



Vacuum Rotary Evaporator



HPLC System

الجدول التالى يوضح قائمة الكيميائيات التى يتم الكشف عنها بكاشف الفلورسنس مع عمليات التحلل المائى والتحول التى تلى التنقية فى الاعمدة الكروماتوجرافية .

Chemicals Determined by Fluorescence Detector
Follow9ing Post-Column Hydrolysis and Derivatization [1,2]

EPA/FDA Std. No.	Chemical	Recovery	C.8 Column Retention Time Relative to Carbofuran	Response (ng to cause 50% FSD)[3]
60	aldicarb[4]	C	0.83	14
62	aldoxycarb4 (aldicarb sulfone)	C	0.40	9
61	aldicarb sulfoxide	P (50-60%)	0.33	9
472	bendiocarb	C	1.00	10
0791	BPMC	C	1.47	10
960	bufencarb[4]	C	1.44[5]	19
F758	butocarboxim	C	0.75	15
1060	carbaryl[4]	C	1.06	7
1040	carbofuran[4]	C	1.00	10
2573	dioxacarb	C	0.67	15
F864	ethiofencarb	P (70-82%)[6]	1.10	15
4062	isoprocarb	C	1.13	8
4500	methiocarb[4]	C	1.26	10
F600	methiocarb sulfone	C	0.79	11
F599	methiocarb sulfoxide	C	0.64	12
4520	methomyl[4]	C	0.46	10
F827	metholcarb	C	0.85	10
5186	oxamyl[4]	C	0.44	10
5752	promecarb	C	0.56	10
440	propoxur	C	1.98	8
F681	thiodicarb	P (40-60%)[7]	0.99	11
F430	trimethacarb, 2,3,5-isomer	C		
F431	trimethacarb, 3,4,5-isomer	C		
F922	XMC	C	1.06	10
1041	3-hydroxycarbofurna[4]	C	0.60	10
	3-hydroxymethyl-2,5-dimethyl-pheny methlcarblamate[8]	P (ca 70%)		
	3-hydroxymethyl-4,5-dimethyl-			

pheny methlcarblamate[8]	C
3-hydroxymethyl-3,5-dimethyl-pheny methlcarblamate[8]	C

1 . Detector excitation : 340 nm. 15 n m slit width; detector emission ; 455 nm. 12 nm slit width.

2 . Codes : C; complete (> 80%) recovery; P : partial (< 80%) recovery, with apporximate percent recovery given in parentheses, when known.

3 . When detector sensitivity is adjusted to provide 50% FSD to 10 ng carbofuran.

4 . Chemical for which method 242.2 is official AOAC on grapes and potatoes.

5 . Major peak.

6 . Breaks down to two peaks during analysis.

7 . Thlodicarb breaks down partially to methomyl during analysis. Complete recovery is calculated when methomyl level is included.

8 . Metabolites of trimethacarb.

obeikandl.com

الجدول التالى يوضح قائمة المركبات الكارباماتية التى يتم الكشف عنها بدون اجراء عمليات التحول بعد التنقية :

Naturally Fluuorescing Chemicals Determined by Fluorescence Detector Without Post-Column Derivatization[1,2]

EPA/FDA Std. No.	Chemical	Recovery	Retention Time Relative to Carbofuran	Excitation Wavelenght nm	Emission Wavelength nm
1060	carbaryl	C		288	330
1040	carbofuran	C		288	330
2573	dioxacarb	C		265	294
4062	isoprocarb	C		264	292
4880	naphthalene acetamide	P (77)[3]		288	330
F214	naphthaleneacetic acid methyl ester	C		288	330
2010	napropamide	C		288	330
5520	phosalone	C		288	330
F642	phosalone oxygen analog	C		288	330
5620	piperonyl butoxide	C		288	330
440	propoxur	C		276	330
	triasulfuron[4] triasulfuron metabolite		0.81	288	330
	CGA-161149 triasulfuron metabolite	V(43-99%)	0.73	288	330
	CGA-195654	V(15-132%)	0.73	288	330

1 . Hydrolysis chamber maiantained at am bient temperature. Optimum detector excitation and emission wavelengths listed for each chemical.

2 . Codes ; C : complete (>80%) recovery; O : partial (<80%) recovery, with approximate percent drecovery given in parentheses, when known; dV : variable (aaporximate percent range).

3 . complete recovery can be obtained by eluting charcoal-silanized Celite column, 242.223. with additional 100 mL petroleum ether.

4 . Chromatography not reliable reproducible, so method recoveries not run.

* وحتى لا أطيل على القارئ اضع بين يديه محتويات الباب الثانى من المؤلف الخاص بتحليل مخلفات المبيدات فى الاغذية والعلائق – الجزء الاول .. حيث يتناول هذا الباب كل ما يتعلق بالاستخلاص والتنظيف .

Chapter 2

EXTRACTION AND CLEANUP

Table of Contents

201: Pestgicides and Other Chemicals Tested Through PAM 1 dMultiresidue Methods
Introduction 9/91
Table 201-A. Part 1 : Chemicals Tested Through PAM 1211.1 9/91
Table 201-A. Part II : Chemicals Tested Through PAM 1212.1 9/91
Table 201-B : Chemicals recovered through PAM 1211.15 b, c and d 9/91
Table 201-C: Chemicals Recovered Through PAM 1211.14 c 9/91
Table 201-D: Chemicals Tested Through PAM 1221.1 9/91
Table 201-E: Chemicals Recovered Through PAM 1232.2 9/91
Table 201-F: Chemicals Recovered Through PAM 11 251 9/91
Table 201-H: Chemicals Recovered Through PAM 1232.3 9/91
Table 201-1, Part 1: Chemicals Tested Through PAM 1 232.4/242.1 9/91
Table 201-1, Part II: Chemicals Tested Through PAM 1 212.1 9/91
Table 201-K: Chemicals Recovered in 250 mL Petroleum Ether Forerun 9/91
Index to lMethods: chemicals Tested Through PAM I Methods 9/91
Index to Names : Alternate Names for Chemicals Through Methods 9/91
202: Proximate Percentage Water, Fat, and Sugar in Foods and Feeds 6/1/73
202.01 References
202.02 purpose of table
202.1 Foods
202.11 Dairy products
202.12 Fruits
202.13 Eggs, chicken
202.14 Fish and shellfish
202.15 Nuts
202.16 Oils, fats, salad dressings
202.17 Vegetables
202.2 animal feeds and grains
202.21 General
202.22 Dry roughages
2020.23 Green roughages, roots
202.24 Silages
202.25 Grains, concentrates, by-products, etc.

1. Date indicates current version.

210 : Oragnochlorine Residues (Nonionic)

211 : General Methods for Fatty Foods

211.1 : Extraction of fat - acetonitrile partition - Florisil column 1/82 cleanup-partition chromatography clean up-supplemental cleanup

211.101 References

211.102 principles of AOAC method

211.103 Application

211.104 Chemicals recovered

211.11 Apparatus

211.12 Reagents

211.12a General reagents

211.12b Reagent mixtures

211.13 Extraction

211.13a Animal tissues

211.13b Butter

211.13c Cheese

211.13d Eggs and egg products

211.13e Feeds and feeding materials

211.13f Fish

211.13g Grains

211.13h Milk

211.13i Nuts

211.13j Oils

obeikandl.com

211.13k Oilseeds

211.14 Extraction dof pesticides from isolate fat and oil - cleanup of extracts containing fat and oil.

211.14a Petr ether-acetonitrile partitioning

211.14b Optional acetonitrile-petr ether backwash

211.14c Partition chromatography

211.14d Florisil column

211.15 Supplemental cleanup

211.15a Second Florisil column

211.15b Acid-Celite column

211.15c MgO-Celite

211.15d Alkaline hydrolysis

211.15e References to procedures useful for supplemental cleanup

211.16 Determination

211.17 References to additional procedures

212: General methods for Nonlfatty Foods

212.1 : Acetonitrile extralction-water/acetonitrile extraction 3/1/77 -aqueous acetonitrile to pletr ether transfer-Florisil coumn cleanup

212.101 References

212.102 Principles of AOAC mtehod

212.103 Application

obeikandl.com

21.104 Pesticides and other chmicals recovered

212.11 Apparatus

212.12 Reagents

212.12a General reagents

212.12b Reagent mixtures

212.13 Acetonitrile extraction - water/acetonitrile extraction - aqueous acetonitrile to petr ether transfer.

212.13a High moisture products (> 75% H20) with less than 5% sugar

212.13b Dry products and products of intermediate moisture (< about 75% H20)

212.13c Products containing 5-15% sugar.

212.13d Products containing 15-30% sugar.

212.14 Florisil column cleanup

212.15 Supplemental cleanup

212.16 Determianation

212.17 References to additional procedures

212.2 : Acetone extraction - isolation in organic phase - optional Florisil column cleanup. 5/1/78

212.201 Reference

212.202 Principles

212.203 Application

212.204 Residues recovered

212.21 Apparatus

212.22 Reagents

obeikandl.com

212.22a General reagents

212.22b Reagent mixtures

212.23 Acetone extration - isolation in organic phase

212.24 Florisil column cleanup

212.25 Calculation of equivalen sample weight

212.26 Determination

212.26a By electron capture detector

212.26b By flame ionization detector

220 : Organochlorine Residues (ionic)

221 : General Methods for chlorophenoxy Acids and Pentachlorophenol

221.1 : Gel permeation chromatography (GPC) method 9/91

Principles

Applicability

Pesticides Recovered

References

Equipment

Standard Reference Materials

Apparatus

Reagents

preparatory Activities

Preparation of GPC Column

Calibration of GPC Column

Florisil Check

obeikandl.com

Method

Extraction

GPC Cleanup

Methylation

Florisil Cleanup

Determination

230 : orglanophosphorus Residues

230.1 A brief review of opganophosphate chemistry 6/1/73

230.101 Rferences

230.11 Nomenclature

230.12 Syntheses and reactions

Exhibit 230.1-A 1/1/68

Exhibit 230.1-B 1/1/68

Exhibit 230.1-C 6/1/73

231 : General Methods for Fatty Foods

231.1 : Extraction of fat - acetonitrile partition - Florisil column cleanup 4/1/71

231.101 References

231.102 principles

231.103 Application

231.104 chemicals revovered

231.11 Apparatus

231.12 Reagents

231.13 Extraction of fat

obeikandi.com

231.14 extraction of pesticides from isolated fat and oil - cleanup of extracts containing fat and oil.

231.15 Supplemental cleanup

231.16 Determination

232 : General Methods for Nonfatty Foods

232.1 : Acetonitrile extraction - water/acetonitrile extraction 4/1/71 - aqueous acetonitrile to petr ether transfer - florisil column cleanup.

232.101 References

232.102 Principles of AOAC method

232.103 Application

232.104 pesticides and other chemicals recovered

232.11 Apparatus

232.12 Reagents

232.13 Acetonitrile extraction - water/acetonitrile extraction- aqueous acetonitrile to petr ether transfer.

232.14 Florisil column cleanup

232.15 Supplemental cleanup

232.16 Determination

obeikandl.com

232.2 : Sweep co-distillation cleanup 7/1/69

232.201 References

232.202 Principles

232.203 Application

232.204 Residues recovered

232.21 Apparatus

232.21a General apparatus and materials

232.21b Sweep co-distillation apparatus

232.22 Reagents

232.23 Standard pesticide solution

232.24 Extraction of crops

232.25 Sweep co-distillation apparatus adjustment

232.26 Sample injection into sweep co-distillation apparatus

232.27 Determination

232.28 Authors' Notes

232.29 Additional references

Exhibit 232.2-A Sweep co-distillation apparatus

232.3 : Carbon column cleanup 3/1/75

232.301 References

232.302 principles

232.303 Application

232.304 Residues recovered

232.31 Apparatus

232.32a General reagents

obeikandi.com

232.32b Reagent mixtures

232.33 Acetonitrile extraction - water/acetonitrile extraction - aqueous acetonitrile to methylene chlorid transfer

232.33a High moisture products

232.33b products containing 5-15% sugar

232.34 Charcoal column

232.35 Determination

232.4 : Acetone extraction - isolation in organic phase 1/82

232.401 Reference

23.402 principles

232.403 Application

232.404 Residues recovered

232.41 Apparatus

232.42 Reagents

232.43 Acetone extraction-isolation in organic phase

232.44 Calculation of equivalent sample weight

232.45 Determination

240 : Organonitrogen Residues

241 : General Methods for Fatty Foods (Reserved)

obeikandl.com

242 : General Methods for Nonfatty Foods

242.1 : Acetone extraction - isolation in organic phase 5/1/78

242.101 Reference

242.102 principles

242.103 Application

242.104 Residues recovered

242.11 Apparatus

242.12 Reagents

242.13 Acetone extraction-isolation in organic phase

242.14 Calculation of equivalent sample weight

242.15 Determination

242.2 : Method for N-methylcarbamates 6/90

Principles

Applicability

References

242.21 Equipment

242.211 Standard Reference materials

242.212 Apparatus

242.213 Reagents

242.214 Basic HPLC Operating parameters

242.215 System Suitability Test

242.22 Method

242.221 Extraction

242.222 Partition

obeikandl.com

242.223 Charcoal-silanized Celite cleanup

242.224 Determination

242.225 Confirmation

Table 242.2-1 chemical Determined With Post-Column Derivatization

Table 242.2-2 Chemicals Determined Without Post-Column Derivatization.

242.3 : Method for Bdenzimidazoles 9/91

Principles

Applicability

References

242.31 Equipment

242.311 Standard Reference Materials

242.312 Apparatus

242.312a Apparatus for Extraction and Cleanup

242.312b Apparatus for HPLC

242.313 Reagents

242.313a Reagents for Extraction and Cleanup

242.313b Reagents for HPLC

242.314 Basic HPLC Operating Parameters

242.315 System Suitability Test

242.32 Method

242.321 Extraction

242.322 Extraction of Coffee Beans

242.323 Determination

242.324 Determination in Coffee Beans and Citrus

obeikandl.com

242.4 Method for substituted Urca Herbicides 6/90

Principles

Applicability

References

242.41 Equipment

242.1411 Standard Reference Materials

242.412 Apparatus

242.413 Reagents

242.414 HPLC Operating Parameters

242.42 Method

242.421 Extraction

242.422 Partition

242.423 Florisil Cleanup

242.424 Determination

242.425 confirmation

Table 242.4-1 Pesticides Recovered Through Method

250 : Auxiliary Procedures and Techniques

250.1 Introduction 1/1/72

251 : Separation of Some Polychlorinated Biphenyls from Certain Organochlorine Pesticides 1/82

251.1 : Silicic acid column chromatography for separation of some polychlorinated biphenyis from certain organochlorine pesticides. 3/1/77

251.101 References

251.102 Principles

obeikandi.com

251.103 Application

251.104 Chemicals recovered

251.11 Apparatus

251.12 Reagents

251.12a General reagents.

251.12b Preparation of reagents

251.13 Polychlorinated biphenyl references

251.14 Separation of PCB from organochlorine pesticides

251.15 Determination of polychlorinated biphenyls

251.2 : Derivatization and micro-column chromatography for removal of DDT-compounds from extracts containing PCB 3/1/77

251.201 Reference

251.202 principles

251.203 Application

251.204 Chemicals recovered

251.21 Apparatus

251.22 Reagents

251.22a General reagents

251.22b Reagent mixtures.

obeikandl.com

251.23 Polychlorinated biphenyl references

251.24 Separation of PCB grom DDT and its analogs

251.24a Dehydrochlorination

251.24b Oxidation

251.24c Florisil separation of PCB from dichlorobenzophenone

251.25 Determination of polychlorinated biphenyls

251.26 Other references

252 : Alternate Florisil Elution System 1/82

252.101 Reference

252.102 Principles

252.103 Application

252.104 Chemicals recovered

252.11 Apparatus

252.12 Reagents

252.12a General reagents

252.12b preparation of eluant mixtures

252.13 Florisil column

252.131 Florisil column, optional single elution : eluant C only

253 : Exhaustive Extraction of Organochlorine Residues 9/1/72

253.1 Introduction

253.101 References

253.102 principles

253.103 Application

obeikandl.com

253.104 Chemicals recovered

253.11 Apparatus

253.12 Reagents

253.12a General reagents

253.12b Reagent mixtures

253.13 Preliminary extraction-Soxhlet extraction-transfer of residues to petr ether

253.13a Fatty foods

253.13b nonfatty foods : high moisture.

253.13c Nonfatty foods : dry procucts and products of intermediate moisture (< about 75% H20)

253.14 Florisil column cleanup

253.15 use of exhaustive extraction

253.15a analysis of samples with difficult-to-extract residues

253.15b Obtaining results for comparison of extraction procedures (exhaustive extraction)

obeikandl.com