قسم: وقاية النبات الفرقة: الرابعة الشعبة: الكيمياء المادة: تحليل المبيدات

نموذج إجابة إمتحان الفصل الدراسى الثانى للعام الجامعى 2012/ 2013

إجابة *السؤال الأول* **(15 درجة)**

أ- **عرف المصطلحات الآتية:-**

- **صفر التحمل Zero tolerance** وهذا يعني عدم السماح بوجود ولو جزيء واحد من المبيد أو المادة الإضافية في الغذاء الناتج من معاملة النباتات بهذا المركب الكيميائي . أما من الناحية العملية ، فإنه يعني عدم تواجد أي كمية من المخلفات الخاصة بهذا المركب تبعا لمقدرة وسائل الكشف في معامل التحليل
- **التناول اليومى المحسوب Estimated daily intake**

وهو يعبر عن التنبؤ بمستوى المخلفات اليومى بناءً على التقديرات السليمة لمستويات المخلفات فى الطعام والبيانات الدقيقة لمعدلات استهلاك الغذاء لمجتمع معين. وحساب المخلفات يبنى على اعتبارات الاستخدام والتطبيق ومدى تلوث المواد الغذائية المعاملة وكمية التلوث فى المواد المحلية أو المستوردة ويعبر عن هذا المعيار ملليجرام مبيد لكل فرد.

- **مخالفات المبيدات** اى مادة او مخلوط من المبيدات الموجودة فى او على وسط استخدام المبيد ويشمل ذلك جميع نواتج تحول المركب وممثلاته ونواتج التفاعلات والشوائب

ب- **ماالمقصود** بفلسفة تحليل مستحضرات المبيدات ؟

(أ) التأكد من مدي مطابقة المستحضرات للمواصفات القياسية Quality Control

حيث يقوم مصنع التخليق أو التجهيز بتقريب وتحوير طريقة التحليل الكيميائي ، بحيث تكشف – وبسرعة وبكفاءة مقبولة – عن مدي مطابقة المستحضر للكيف المطلوب ، وغالبا ما يكون لكل مصنع وحدة أو أكثر ملحقة به ومجهزة لهذا الغرض .

(ب) المتابعة الدورية المنتظمة للتأكيد من مطابقة المستحضر للمواصفات Regulatory Control

ويكون ذلك عن طريق أخذ عينات دورية ومنتظمة من التحضيرات المختلفة بواسطة رجال المصنع ، وكذلك رجال المتابعة التابعين للوزارة أو الهيئة للتأكيد من مدى مطابقة التحضير للمواصفات المسجلة للمبيد . وهذا يتيح الكشف عن أخطاء التحضيرات ، وتحديد إن كانت عارضة أم مقصودة ، كما يمكن الحكم علي صلاحية التخزين أو وجود الغش التجاري .

(ج) تدوين أو تسجيل النتائج الخاصة بالتحليل Reporting of results

يجب أن تسجل النتائج التي أسفرت عنها التحليلات بصفة منتظمة في دوريات موثقة لهذا الغرض ، حتى تكون في متناول كل شخص يعمل في هذا المجال . وتقوم الشركات الكبيرة غالبا بتوزيع النشرات والنماذج المطبوعة لهذا الغرض .

(د) ربط طريقة تحليل المستحضرات وتقدير المخلفات Formulation versus residue analysis

من الضروري أن تتبع نفس طريقة تقدير المخلفات الصغيرة عند تحليل المستحضرات للتأكيد من مواصفاتها . ومن الصعب تحقيق ذلك من الناحية العملية . ويفي بالغرض إيجاد طرق تحليل غير عالية الحساسية ، ولكنها سريعة ، وتنجز وتحقق الهدف المطلوب في فترة بسيطة ، حيث يقوم المصنع بتجهيز ما يقرب من 100 تحضيره في اليوم الواحد . أما طريقة تقدير المخلفات الدقيقة Residues ، فتصبح ضرورية ، ويجب إتباعها إذا لم يكن هناك بديل لها ، أو إذا كان المستحضر الناتج

سيخفف بدرجة كبيرة .وفي هذه الحالة لابد من إجراء عمليات تنقية أو تنظيف Clean – up للتخلص من الشوائب التي لابد أن تتدخل وتؤثر في كفاءة التقدير ، وما يستتبع ذلك من أحكام خاطئة . أما في حالة تقدير المستحضرات ، فليس هناك ضرورة لعملية التنقية

– أذكر الخطوات الأساسية لتحليل متبقيات المبيدات؟

أخذ العينات

تعتبر الطرق السليمة لأخذ العينات وإعدادها وخلطها البداية الصحيحة وأساس التحليل الناجح لمتبقيات المبيدات فى المكونات المختلفة للبيئة، ولذا فإنه يراعى للحصول على عينة دقيقة وممثلة للمادة المطلوب تحليل متبقيات المبيدات بها أن تكون عشوائية حتى يكون لكل وحدة منها فرصة متساوية لاختبار ومتطابقة مع المادة التى أخذت منها أصلاً

أ– التخزين

ينصح بالاسراع فى عملية الاستخلاص حيث أن المتبقيات تكون أكثر ثباتاً فى المستخلص عنها فى العينات غير المستخلصة، ولكنه من الناحية العملية فإن هذا يكون غير ممكناً من الأحوال ، ولذا فإن العينات قد تخزن لفترة ما قبل استخلاصها ويجب ألا تطول هذه الفترة عن حدود معينة، وعادة فإنه يجب استخلاص عينات الأنسجة الحيوانية أو البشرية خلال 24 ساعة ويمكن أن تحفظ خلالها على درجة حرارة الثلاجة (+2 : +4ْ م)

ب– النقل والتداول

يجب أن تستعمل أسرع وسيلة نقل ممكنة، ومن الضرورى شحن عينات الأنسجة (دهن ، دم ، بول .....) والماء والمنتجات الزراعية الغضة بصناديق خاصة تحفظ فى الثلاجات، وأيضاً فإنه قد يكون من الضرورى نقل العينات بوسائل النقل الخاصة إذا لم تكن الوسائل العامة متاحة

– الاستخلاص

المقصود من هذه الخطوة نقل متبقيات المبيدات بطريقة ميكانيكية أو طبيعية من المواد والأنجسة المختلفة إلى مذيب عضوى مناسب، وتتوقف فعالية الاستخلاص على اختيار المذيب القادر على إذابة أكبر كمية ممكنة من متبقيات المبيدات بأكبر عدد من المواد أو أنواع الأنسجة النباتية والحيوانية دون تعديل كبير بالنسبة لكل نوع.

– التنقية

يحتوى المستخلص بالإضافة إلى متبقيات المبيدات ونواتجها التحويلية على شوائب أخرى من المادة المستخلصة مثل الأنسجة والصبغات والشموع والدهون وغيرها ، ومنعاً لتداخل هذه الشوائب فى طريقة التقدير فإنه يلزم تنقية المستخلص منها

– التقدير

يمكن تقدير متبقيات المبيدات فى العينات التى سبق استخلاصها وتنقيتها وتركيزها باستخدام أى من الطرق الكيماوية أو الطبيعية أو البيولوجية أو الإنزيمية، ويتوقف اختيار الطريقة المناسبة على نوعية المعلومات المستهدفة من إجراء التحليل، ومستويات المتبقيات المطلوب تقديرها ودرجة الحساسية اللازمة.

– تسجيل النتائج وإعداد تقارير تجارب المتبقيات

يجب تسجيل كل النتائج المتعلقة بالمعاملة وتاريخ المتبقيات، وعادة فإنه يتم تسجيل هذه النتائج باستمارات قياسية

إجابة السؤال الثانى **(15 درجة)**

أ– **ماهى الأعتبارات** التى يجب مراعاتها عند أخذ العينات لتقدير متبقيات المبيدات فى كلا من :–

ويراعى إعتبارات الآتية عند أخذ العينة :

1- **حجم العينات:-** علي الأقل عشرة أمثال الحجم المطلوب فعلا لتحليل العينة. ولكي تكون العينة ممثلة تمثيلا حقيقيا للمعاملة يجب توفر عاملين أساسين:

الأول: هو أخذ العينات عشوائيا، بحيث تؤخذ من كل ابعاد واعماق مختلفة دون تميز.

الثاني.. أن تكون العينة الممثلة للمجموع ذات حجم كبير ومتشابهة تماما، أي أنة عند أخذ مجموعة من العينات من المجموع الكلي يجب ألا يكون هناك فرق مميز بين المجاميع المختلفة. وعموما.. تجب مراعاة الاعتبارات الاقتصادية لتقدير حجم العينة.

عينة المياة === 2لتر عينة التربة ==== 50جم عينة الاسماك ==== سمكة واحدة

2- **مكررات العينة** :- حدد نظام جميع العينات ومكرراتها عدة عوامل أهمها: الاعتبارات الاقتصادية، وتوفر العمال، ومدي الإمكانيات والاستعدادات المتوفرة في معامل التحليل. وعموما، وكقاعدة عامة يمكن القول إن كل معاملة يجب تكررها علي الأقل ثلاث مرات. ويجب علي الأقل أخذ ثلاث عينات من كل تكرار .

3- الوقت وعلاقة بسلوك المواد المتخلفة :_ إن ميعاد أخذ العينة للتحليل يعتبر ذا قيمة علمية ، علاوة على أنه إجابة طبيعية للأسئلة العملية الخاصة بالمدة اللازمة لاحتفاء وتلاشى المواد المختلفة فى المواد الغذائية للدرجة الآمنة للاستعمال.

4- النقل والتداول :- بالنسبة لعينات الماء فيمكن تجميعها فى الزجاجيات الفاغرة للمذيبات العضوية (وعلى سبيل المثال فإن زجاجيات الهكسان أو الاسيتون الفارغة تعتبر عبوات ممتازة لعينات المياه) مع استعمال غطاء مقلوظ مبطن من الداخل برقائق الألمونيوم أو التفلون

5- **إعداد العينات:-** العينات السائلة والمحاليل فإنها لا تحتاج أساساً لإعداد.

6- **تخزين العينات** :- العينات السائلة والمحاليل تخزن مباشرة فى الفريزر او تحلل.

7- تحليل العينة (استخلاص – وتنقية

8- وكتابة التقارير وتفسير النتائج.

فرق بين الفصل الكروماتوجرافي و الفصل الكيميائي.

الفصل الكروماتوجرافي **Chromatographic Separation**

ويشمل الأعمدة الكروماتوجرافية والورق الكروماتوجرافي :

أعمدة الكروماتوجرافي **Column Chromatography**

كثير من مواد الادمصاص لها درجات مختلفة من القطبية . واختيار مادة الادمصاص المناسبة يعتمد لحد كبير علي قطبية المركب نفسه . فالمركبات ذات القطبية المنخفضة يمكن فصلها عن المواد الموجودة في المستخلص ولها قطبية عالية باستخدام أنواع مختلفة من مواد الادمصاص. أما الكيميائيات ذات القطبية المساوية أو أكثر من تلك الموجودة معها المستخلصات فيمكن تنقيتها باستخدام مواد لها قابلية كبيرة لادمصاص المركب المطلوب عزلة ، حيث يسمح للمواد المتداخلة بالنزول من العمود وترك المبيد فيه . وبإضافة كمية كبيرة من مذيب قطبي نحصل علي المبيد محل الدراسة والتقدير .

ورق الكروماتوجرافي **Paper Chromatography**

تستخدم هذه الطريقة عندما يحتوي المستخلص علي مركبات غير معروفة في حالة احتواء العينة علي أكثر من مبيد

واحد . وهي سهلة التطبيق وبسيطة ، كما أنها علي درجة عالية من الحساسية ، ولها القدرة عل فصل وتعريف العديد من المركبات .

الكروماتوجرافي **Gas Chromatography**

وفيها يتم فصل المركبات وهي علي حالة غازية (أبخرة) تتنوع بين وسط ثابت وأخر متحرك وهو الغاز ، وفي حالة GLC فإن الوسط الثابت يكون سائلا غير متطاير موزعا علي وسط صلب . وتجب معرفة الاصطلاح Retention Volume وهو عبارة عن حجم الغاز اللازم لفصل المركب ، ويحسب في المعادلة VR = TR EC ، وإن TR هي Retention time أو الوقت اللازم حتى يصل المنحني الخاص بالمركب العضوي إلي قيمته . أما ال FC عبارة عن ال Flow rate الخاص بالغاز الحامل للعينة تحت الضغط المعين والحرارة المعينة المضبوط عليها الجهاز ، ولكل مبيد ظروف خاصة للفصل .

الفصل الكيميائي:- Chemical Removal

عندما يكون الفصل الكروماتوجرافي غير كاف ، نظرا لدخول بعض المواد الغريبة في تفاعلات كيميائية مع الأحماض والقواعد والمواد المؤكسدة معطية نواتج تختلف في درجة ذوبانها عن المركب المراد تقديره ... وهناك عديد من الطرق الكيميائية نذكر منها :

الأكسدة **Oxidation** في بعض الأحيان تحدث أكسدة لمحاليل الفصل الجزئي ، وتعطي مستخلصات مناسبة تنتج أنواع مختلفة من المركبات العديمة اللون أقل تداخلا في عملية تقدير وفصل المركب المطلوب ، ويمكن فصلها عنه ، وفي هذا الحالة فإن المركب نفسه يجب أن يكون غير قابل للأكسدة . وهذه الطريقة تقيد في التخلص من كثير من المركبات التي تتدخل في عملية التقدير . وقد تلجأ لأكسدة المركب ، حيث يعطي مشتقات يمكن فصلها بسهولة عن أنسجة النبات أو الحيوان . وفي المبيدات الفوسفرية نجد أن كثيرا منها في حاجة إلي الأكسدة ، وخاصة عندما يكون قياسها معتمد علي تثبيط إنزيم الكولين إستريز ، وبعض المبيدات عندما تستخدم علي النباتات في حالتها الأصلية وبدون أكسدة تكون مثبطات ضعيفة للكلولين إستريز . ويمكن عمل أكسدة خارجية للمبيدات بواسطة حمض فوق ألخليك أو غيرة من المواد لتكون نواتج التأكسدة النهائية .

التصبن **Specification** إذا كان المطلوب تحليل كميات ثابتة في القلويات ، فإن التصبن مع الكحولات يكون طريقة فعالة جدا لتنظيف العينات التي تحتوي علي جلسريدات كبيرة . وعندما يكون المركب غير قابل للأكسدة ، فإن كثيرا من المواد المتداخلة المشبعة يمكن التخلص منها بأكسدتها وجعلها أقل ذوبانا في عديد من المذيبات العضوية .

التحليل المائي **Hydrolysis** التحليل المائي بواسطة الأحماض القوية يعتبر من أحسن طرق الفصل خلال الأعمدة . ولقد استخدم Hoskins & Messenger عام 1950 مخلوطا من حمض الكبريتيك المركز والمداخن بنسبة 1:1 مع الأنسجة النباتية ... ولقد استخدام Gunthur & Blinn عام 1950 ، 10% من حامض الأيدروكلوريك لتقدير الباراثيون . ولقد وجد أن اللندين ثابت ثباتا كيمياوئيا في وجود 30% حمض كبريتيك مدخن .

الاختزال **Reduction** نستخدم هذه الطريقة لفصل المركب وبسهولة ، وعند تقدير الباراثيون يؤدي الزنك وحمض الكلوردريك إلي اختزال مجموعة النيترو في الجزئ وتحويلها إلي صورة الأمينو ، ثم تكوين معقد مع ملح الديازونيوم 3-

ج – ما المقصود بعملية التنقية Clean up يحتوى المستخلص بالإضافة إلى متبقيات المبيدات ونواتجها التحويلية على شوائب أخرى من المادة المستخلصة مثل الأنسجة والصبغات والشموع والدهون وغيرها ، ومنعاً لتداخل هذه الشوائب فى طريقة التقدير فإنه يلزم تنقية المستخلص منها

د – من خلال دراستك لعلم تحليل المبيدات حدد بأختصار قائمة ومهام ومسئوليات واحد فقط من العاملين بمعمل تحليل مستحضرات ومخلفات المبيدات؟ يترك للطالب لقياس مهارة المعرفة والفهم

إجابة السؤال الثالث

1- Loading percent

هى نسبة التحميل وهى نسبة الوجه الثابت السائل على حبيبات المادة الصلبة الدعامية وتتراوح بين 1–10% مثل 5% SE-30/ Cromosorb P 80-100

2- Theoretical Plates (T.P.)

لو قسم العمود الى قطاعات عرضيا عرض الطبقة يسمح بحدوث اتزان أى أن k ثابتة للمكون بين الوجهين فإن كل قطعة تسمى قطعة نظرية **Theoretical Plate (T.P.)** ويحسب عددها من المعادلة التالية

$$N = 16(TR/\Delta T)^2$$

N= TP

TR= Retention Time

3- Noise

هو عبارة عن إنخفاض وإرتفاع ال **Base line** على **Chromatogram** لل **Peak** ووجود شوائب فى الغاز يؤدى الى حدوث **Noise** فى الإستجابة

4- Linearity response

الإستجابة الخطية و هو الجزء الذى فيه العلاقة خطية بين الإستجابة وتركيزات المادة بزيادة مدى الـ **Linearity** فى الكشاف كلما كان هناك حرية فى التقدير.

5- Chromatogram

هو عبارة عن نتيجة التحليل والتى تظهر فى صورة **Peak** واحد أو أكثر.

ب– علل ما يأتى:

1– عدم الدقة فى الإعتماد على قيمة t_R المطلقة.

وذلك لأن عند تحضير عمود معين وتحت ظروف تشغيل معينة ولنفس المبيدات فعند حقن مخلوط من 3 مبيدات وعند تكرار نفس المخلوط بنفس المواصفات لابد من الحصول على نفس المنحنيات بنفس القيم t_R ولكن قد لا يمكن التحكم فى كل ظروف التشغيل ولذلك لا يعتمد فى التعرف على المبيدات من خلال قيمة t_R المطلقة ولكن يتم الإعتماد على قيمة تسمى **(Relation Ratio Relative to Internal Standard) RRR**

$$RRR = t_{R1} / t_{R\ internal\ standard}$$

2- يلزم إستخدام Precolumn فى بعض الحالات فى HPLC

وذلك لأن ال **Precolumn** عادة ما يصمم بقطر كبير ويعبأ بالوجه الثابت السائل **Stationary phase** بنسب عالية أعلى من المستخدمة فى العمود وذلك لتشبيع المذيب (الوجه المتحرك **Mobile phase**) بالوجه الثابت السائل وهذا يقلل من ذوبان الوجه الثابت السائل فى الوجه المتحرك مما يطيل فترة عمر العمود وحدوث إتزان بين الوجه المتحرك و الوجه الثابت السائل فى الكروماتوجرافى السائل **HPLC** .

ج- ماهو الفرق بين

1- Packed column & Capillary column

Packed Column هو العمود الذى يعبأ بمواد مالئة (بالوجه الثابت السائل + المادة الدعامية) ويصنع من الزجاج أما العمود الشعرى Capillary Column ويملئ فقط بالوجه الثابت السائل ويصنع من Fused Silica

2- Detection Limit & Minimum Detectable Quantity

حد الكشف Detection Limit

هو عبارة عن كمية المادة اللازمة اتعطى إرتفاع المنحنى الـ PeaK مرتان إرتفاع الـ Noise .

Minimum Detectable quantity

أقل كمية يمكن حسابها وهى كمية العينة التى تعطى 4 أضعاف **ال** peak Noise أى أنها ضعف ال **Detection limit**

3- Specific & Non Specific Detector

1) Specific Detector كشاف متخصص – نوعى.

ومن أمثلتها **Hal Detector, FPD, AFID**

Alkali Flame Ionization Detector (AFID) متخصص فى نقدير المركبات المحتوية على **P, N**

Flame Photometric Detector (FPD) متخصص فى نقدير المركبات المحتوية على **P, S**

Hall Differential Conductivity Detector =

Hall Electrolytic Conductivity Detector (Hal Detector) متخصص فى نقدير المركبات التى بها هالوجين أو بها **N, S**

وفى نفس الكشاف المتخصص نجد أنه متخصص أو أكثر إستجابة لنوع من العناصر عن الآخر.

2) Non Specific Detector كشاف غير متخصص (عامة)

ومن أمثلتها **FID, ECD**

4- Destructive & Non Destructive Detector

Destructive Detector هو الكشاف التى يتحطم فيه المركب أثناء مروره خلال الكشاف مثل **AFID** و **FPD** بينما **Non Destructive Detector** هو الكشاف الذى لا يتحطم به المركب ويمكن الحصول عليها مرة أخرى مثل **ECD** وال **UVD**

إجابة السؤال الرابع

أ- فكرة عمل **Electron Capture Detector**

يعتبر كشاف **Electron Capture Detector** من النوع **Non Specific Detector**

- الكشاف القابض للإلكترونات

تعتمد فكرة عمل الـ **Detetor** على أن الغاز الحامل يتأين أثناء مروره على مصدر مشع يعطى جسيمات (بيتا) ونتيجة لذلك يخرج سيل من الإلكترونات المتحركة ببطء وهذا السيل من الإلكترونات يعطى ما يسمى **Peak Ground Current**

$$B^- + N_2 \rightarrow N^+ + e^-$$

- وعند مرور الغاز الخامل المحمل ببخار المبيد المفصول على العمود والذى له القدرة على سحب الإلكترونات فيحدث قبض للإلكترونات ويظهر ذلك فى صورة نقص فى التيار يتم الاحساس به فى صورة **Signal**

ب- يعتبر جهاز HPLC مكمل لجهاز GC فى تحليل مبيدات الآفات:

بصفة عامة لا يمكن القول أن أى من ال GC أو LC يمكن أن يقوم بمفرده فى مجال تحليل متبقيات المبيدات ولكن لصعوبة تحليل المبيدات ضعيفة التطاير مثل مبيدات الحشائش وكذلك المبيدات سهلة التحكم بالحرارة مثل الكربامات ظهرت الحاجة إلى نظام يقدر على فصل وتقدير هذه المركبات وهذا النظام LC وله

بعض المميزات يمكن إيجازها فيما يلى :

1- تحليل المبيدات الغير ثابتة لدرجة الحرارة المرتفعة .

2- وكذلك المواد الغير متطايرة دون الحاجة إلى تكوين مشتقات جديدة

3- فى معظم الحالات لا نحتاج لعمل تنقية للعينة وكذلك يمكن فصل المخاليط المعقدة وذلك بسبب دور الوجه المتحرك فى عملية الفصل إلا أن صورة ليست مميزات بالكامل حيث هناك بعض العيوب منها

1- الكشافات المستخدمة فى LC حساسيتها لا تصل لحد حساسية الكشافات المستخدمة فى GC فبينما تصل حدود التقدير فى مدى البيكوجرام فى حالة GC Pg لا تكاد تصل إلى نانوجرام فى LC

2- سهولة انتشار ال GC جعل معظم المشتغلين فى حقل تحليل المبيدات أكثر دراية به من ال LC غير انه بصفة عامة لا يمكن القول أن أى من ال GC أو LC يمكن أن يكون بمفرده فى مجال تحليل متبقيات المبيدات.

شرح ميكانيكية الفصل الكروماتوجرافى فى HPLC.

1- يعتمد الفصل فى الكروماتوجرافى السائل على الذائبية للمواد المفصولة.

2- الوجه المتحرك فى الLC يلعب دور اً هاماً فى الفصل وتختلف الصورة فى حالة ما استخدم الهكسان العادى أو الاستيو نتريك أو الماء كوجه متحرك.

3- تلعب درجة الحرارة دور ثانوى فى الـ LC نتيجة إعتمادها على ذائبية المواد المفصولة.

مع أطيب التمنيات بالتوفيق

د/ صفاء محمود حلاوة ***د/محمد محمد عزب***