وحدة ضمان الجودة
كلية الزراعة جامعة بنها
QAUFABU

**قسم: وقاية النبات  الفرقة: الثالثة  الشعبة: البيوتكنولوجى  المادة: تحليل المبيدات**

## نموذج إجابة إمتحان الفصل الدراسى الأول للعام الجامعى 2014/2013

---

### ***السؤال الأول***

أ- **عرف المصطلحات ألآتية :-** **(8 درجات)**

1. صفر التحمل 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 .

2. التناول اليومى المحسوب 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.
3. نواتج التحلل هى تلك المواد التى تنتج من تحول المركب الأصلى بفعل العوامل الطبيعية الحيوية أو الكيميائية.
4. العينة المقواة هى عبارة عن عينة من المادة المراد تقدير المبيدات بها ولكن لم تعامل مطلقا بالمبيدات ويتم تلويثها بالمبيد المراد تقديرة وتعامل بالطريقة التى سوف تستخدم لاستخلاص المبيد منها . ويجب استرجاع المبيدات من العينات المقواه كاختبار شائع لقياس كفاءة الاستخلاص و الخطوات التاليه .

ب- **ما هو المقصود** بصورة المبيد المجهزة Pesticide formulation ؟ ثم وضح بالرسم التخطيطى الخطوات التى يجب اتباعها عند تحليل عينة مبيدات سواء مكونة من مبيد واحد أو خليط من المبيدات؟ **(7 درجات)**

**مستحضر المبيد** : هو عبارة عن ناتج عملية تجهيز المادة الفعالة Active Ingredient في أفضل صورة لأداء الغرض منها

### ***السؤال الثانى***

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

المياة – التربة –الأسماك؟ (6 درجات)

**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.

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 :ـ** 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.

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

ب- أذكر قائمة مهام ومسئوليات العاملين بمعمل تحليل مستحضرات ومتبقيات المبيدات ثم حدد بأختصارمهام ومسئوليات واحد فقط من العاملين ؟ ..... يترك للطالب لقياس مهارة المعرفة والفهم

**(3 درجات)**

## ج – فرق بين الاستخلاص بالطريقة الجافة والطريقة المبتلة (3 درجات)

- **بالطريقة الجافة كما يلى:** تجفف العينة ثم تطحن طحناً مناسباً ، ثم تتم عملية الاستخلاص فى جهاز مثل "سوكسلت" أو تنقع العينة فى المذيب المناسب لمدة مناسبة، ثم يؤخذ الراشح للتحليل. وعندما ظهرت المبيدات العضوية وجد أن هذه الطريقة غير عملية ، فقد وجد أن أى تغير أو اختلاف فى طريقة التجفيف يؤدى إلى اختلاف أو فقد فى كمية المبيد المقدرة. علاوة على ذلك.. فبعض المبيدات العضوية تفقد نتيجة الحرارة والأبخرة.
- **الطريقة المبتلة** تجرى هذه العملية فى أجهزة خاصة ، مثل الجافة تحتاج إلى تقسيم العينة إلى أجزاء دقيقة أو فرمها. وتجرى هذه العملية فى أجهزة خاصة، مثل الخلاط ، وقد تجرى عملية الفرم مع المذيب مباشرة أو بدونه. ففى حالة العينات ذات التركيب المائى، مثل: الطماطم، والعنب. فإن عملية الفرم مع المذيبات غير قابلة للمزج بالماء قد تؤدى إلى تكوين مستحلبات، وفى هذه الحالة يفضل فرم العينة الفرعية أولاً، دون إضافة مذيب ، أو بواسطة مذيب قابل للمزج بالماء، مثل: الأسيتون أو كحول الأيزوبروبانول. وفى النهاية يضاف المذيب المناسب للعملية. وفى حالة تكوين مستحلبات يجب كسرها. ويتم ذلك بإضافة كمية كبيرة من كبريتات الصوديوم اللامائية، أو استعمال جهاز الطرد المركزى ، أو يحرك المخلوط على درجة حرارة 10 م لمدة 2-3 أيام فقى أوعية خاصة محكمة القفل. حتى عمليات التنظيف التى تجرى قبل التحليل.

## د- ما هو المقصود بالفصل الطبيعى لمتبقيات المبيدات؟ (3 درجات)

– طرق الفصل الطبيعية Physical Separation

عبارة عن تقطير بالبخار تجميد – بلورة – فصل باستخدام السائل.

1– الفصل بالمذيبات Solvent partition:

هذه الطريقة فى حالة ما يكون للمبيد أفضلية للذوبان فى أحد المذيبات المستعملة بينما المواد التى تتداخل لها قبل للمذيب الأخر وللحصول على أحسن نتائج فإن المذيبين المستعملين يجب أن لا يذوبا فى بعضهم البعض والمبيد سوف يذوب فى المذيبين ولكن يميل إلى أحدهما أكثر من الآخر. عملية solvent partition استعملت بكثرة فى فصل مبيدات من الزيوت والشموع أما المستخلصات التى تحتوى على أصباغ pigments فإنه يجب التخلص من هذه الأصباغ قبل عملية الفصل حيث أن هذه الأصباغ يحدث لها توزيع بين المذيبين.

2– التقطير بالبخار Steam Distillation:

تستعمل فى حالة بعض المبيدات التى تتطاير بالبخار فيمكن فصلها من المواد التى تتداخل والأقل تتطايراً. وذلك مثل حالة تقدير النيكوتين.

3– التجميد والبلورة Freezing and Crystallization

فى حالة وجود دهون وشموع فى المستخلصات بتركيزات عالية فإنه يمكن ترسيبها من حجم صغير من المستخلص فى حمام به Dryice ( –70° م – أسيتون). واستعملت هذه الطريقة بواسطة Fimming 1950 لفصل وبلورة المواد المتداخلة لفصل الدهون عن مبيد كلورينتد Chloronatied كما استعملت هذه الطريقة لفصل D.D.t من مستخلصات الزيوت.

4– الفصل بالطرق الحيوية Biological Activity

استعملت هذه الطريقة سنة 1947 حيث استخدمت طريقة التحلل بواسطة إنزيمات الليبولينك فوجد أن 5 جم من دهن أمكن تقليله إلى 100 ملجم من 48 ساعة وذلك بتعريفها لغدة بنكرياس الخنزير.

## *إجابة السؤال الثالث* (20 درجة)

**- 5% SE-30/ Cromosorb P 80-100**

**يقصد بذلك أن الوجه الثابت السائل Stationary phase وهو SE-30 من النوع القطبى محمل بتركيز 5% على حبيبات المادة الصلبة الدعامية Solid support وهى من التربة الدياتومية من النوع Cromosorb P وذات حجم حبيبات من 80–100 mesh.**

**– 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.**

**– Gradient Elution**

**يعنى تغير تركيب المذيب تغيراً بطيئاً مع الزمن والذى يعد من العوامل الهامة فى الكروماتوجرافى السائل وتعتبر هى المقابل للبرنامج الحرارى فى الكروماتوجرافى الغازى وال Gradient Elution يحتاج كشاف حساس للتغير فى تركيب المذيب و كشاف مثل .UV-Vis D أو Fluorescence .D تسطيع توفير هذا الإحتياج على عكس ال .RI D يصلح فى بعض الحالات فقط.**

- **Chromatogram**

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

**ب- الفرق بين:**

**1- Off column & On column**

**On column**

**هو عبارة عن حقن العينة على العمود مباشرة فى ال GC ويفضل فى حالة المبيدات التى تتأثر بالحرارة وفى هذه الحالة درجة حرارة الحقن هى نفسها درجة حرارة العمود ومن عيوبها ترسب المواد المتداخلة مع العينة على المادة الملئة للعمود كما تؤدى إلى تسمم كشاف ECD وبالتالى تلف الجهاز.**

**Off column**

**هو عبارة عن حقن العينة خارج العمود فى ال GC وغالباً درجة حرارة الحقن تكون أعلى من درجة حرارة العمود فتتحول العينة إلى الصورة البخارية ويترسب جزء من المواد المتداخلة أو الشوائب على جدار ال Glass insert ولا تدخل إلى العمود لذلك فمن مميزاتها إطالة عمر الجهاز ومن عيوبها تحطم سريع للمركبات التى تتأثر بالحرارة وفى هذه الحالة تفضل On column**

**2- 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**

**3- 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**

**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**

ج- 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 RRR (Relation Ratio Relative to Internal Standard)

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

2- يجرى حساب قيمة (Theoretical Plates (T.P. وذلك للحكم على كفاءة العمود بحساب عدد القطع النظرية N والتى قد تتراوح بين 3000- 7000 وإذا قلت كفاءة العمود عن 2700 ولم يكن الفصل جيد يكون العمود غير صالح للعمل.

3- 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 .

## إجابة السؤال الرابع (10 درجة)

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.**

***مع أطيب التمنيات بالتوفيق***

**د/ صفاء محمود حلاوه  د/ محمد محمد عزب**