

## التحليل الكروماتوغرافي والطيفي للإندوسلفان في الخضروات

خالد محمد الحسن

معهد بحوث ودراسات العالم الإسلامي || جامعة أم درمان الإسلامية || السودان

الملخص: تم استعمال طريقتين لكشف وتحديد مبيد ألفانندوسولفان { $\alpha$ -Endosulfan}، وبيتا اندوسولفان { $\beta$ -Endosulfan} وكبريتيد الأندوسولفان {Endosulfan Sulphate} إحداهما بواسطة كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة والطريقة الأخرى بواسطة الكشف الطيفي في الطماطم. طريقة الفصل الكروماتوغرافي قد بنيت على مبدأ الفصل باستخدام سائلين غير ممتزجين أو ما يطلق عليه بتقنية الفصل (سائل-سائل) {Liquid-Liquid Chromatography Technique}، تم استخدام خليط من الأسيتونايتريل/الماء بنسبة (30/70، ح/ح %) على الترتيب كطور متحرك. جهاز الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة كان مقترنا بكاشف يعمل على مبدأ الأشعة فوق البنفسجية/الضوء المرئي، نفذت عملية الفصل باستخدام عمود فصل أبعاده هي 4,0 \* 125 ملم وبقطر بلغ 5 ميكرون (10-6 Micron) {meters} باستعمال الفلوريسيل المنشط {Activated Florisil} وذلك لإزالة أي مواد قد تتداخل مع المستخلص. التجارب الكروماتوغرافية أجريت عند 3 مستويات (تراكيز) من التلوين وهي 2,1 و 3 جزء من المليون بحيث تم إجراء 3 تجارب لكل مستوى. كاشف جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة أظهر سلوكا خطيا للكشف عن المبيدات ومع قيم معاملات تصحيح تقع في مدى أكبر من 0,99، قيم حد الحساسية كانت 0,020071، 0,002352 و 0,01619، وقيم حد الكشف كانت 0,066903، 0,0078414 و 0,05396. نسب المتبقي من المبيدات المدروسة تراوحت قيمها من 88,13 % إلى 98,77 %، 84,60 % إلى 96,86 % و 82,90 % إلى 94,85 % وقيم معاملات التغير تراوحت من 0,003 إلى 0,005، 0,005 إلى 0,004 و 0,004 إلى 0,007 وذلك للألفانندوسولفان والبيتانندوسولفان وكبريتيد الأندوسولفان. على الترتيب. الطريقة الطيفية قد بنيت على مبدأ انطلاق غاز ثاني أكسيد الكبريت بعد إضافة هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي، غاز ثاني أكسيد الكبريت المنطلق قد مرر خلال محلول فوق أكسيد الهيدروجين وثنائي فينيل الأمين وقيس اللون البنفسجي الباهت الناتج باستخدام جهاز المطيافية عند 605 نانومتر. التجارب الطيفية أجريت عند 3 مستويات (تراكيز) من التلوين وهي 5,3 و 7 جزء من المليون بحيث تم إجراء 3 تجارب لكل مستوى، جهاز المطيافية {Spectrophotometer} أظهر استجابة خطية للكشف عن المبيد ومع قيمة معاملات تصحيح تقع في مدى أكبر 0,99، قيمة حد الحساسية كانت 0,089953، وقيمة حد الكشف كانت 0,299843، نسب المتبقي من المبيد المدروس تراوحت قيمها من 89,23 % إلى 99,02 % وقيم معاملات تغير تراوحت من 0,01407 إلى 0,02820. مستويات (تراكيز) مبيد الأندوسولفان المتبقية في الطماطم في كلتا الطريقتين جميعها كانت فوق (المستوى لأعلى) المسموح به للأندوسولفان وهو (0,5 جزء من المليون).

الكلمات المفتاحية: كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة، الأندوسلفان، كروماتوغرافي، طيفي، مبيدات

### مقدمة:

يُعد استخدام المبيدات لمكافحة الآفات والأمراض ممارسة شائعة تُجرى في الحقول، من أجل زيادة الانتاجية من غلال المحاصيل. ومع ذلك، يمكن لهذه المواد الكيميائية الوصول إلى الأنسجة النباتية، وترك المخلفات والرواسب التي يمكن الكشف عنها في الخضروات على سبيل المثال: إندوسلفان. وقد يسبب ذلك إحدى الطرق الهامة لتعرض الإنسان للإصابة بهذه المركبات السامة. ومن أجل حماية صحة المستهلك، فقد تم إنشاء مستويات الحد الأقصى للمخلفات في هذه الخضروات في مختلف البلدان وعلى الصعيد الدولي من قبل الدستور الغذائي (مسودة السلامة الغذائية). ويتطلب ارتفاع عدد المبيدات التي يتعين رصدها في تلك المصنوفات، إلى جانب الحدود القصوى المنخفضة التركيز لتلك المخلفات، أساليب حساسة للغاية ومنتقاه بدقة. وبالتالي، يصبح إعداد العينات خطوة أساسية في الإجراء التحليلي. ففي الآونة الأخيرة، هناك جهود مضمينة قد بُذلت لتطوير أساليب إعداد العينات

الجديدة التي توفر الوقت، والمال، والأيدي العاملة، واستنفاد الحلول المختلفة، من أجل تحسين الأداء التحليلي للإجراءات. وهناك حاجة إلى أداة تحليلية لتحديد وتقدير وتأكيد بقايا ومخلفات المبيدات في الخضروات لأغراض البحث والتنظيم على حد سواء. يتم تحليل المبيدات بشكل عام من خلال المطيافية (5، 9)، والطبقة الكروماتوغرافية الرقيقة (13، 14 TLC)، والفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (4، 8 HPLC)، والفصل الكروماتوغرافي للغاز (3، 1 GC)، والفصل الكروماتوغرافي للغاز (2، 16 GC-MS). وتصف هذه الدراسة طريقة استخلاص وتنظيف وتحديد المبيدات باستخدام الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الأداء والمطيافية، من أجل فصل وتحديد وتقدير كمية الإندوسلفان على الطماطم التي تم تطويرها، والتحقق من صحتها. وأخيرا، تم تطبيق الطريقة لتحديد هذه المبيدات في العينات التجارية التي تم جمعها من الأسواق المحلية. وبناءً على ذلك، فقد كان الغرض من هذه الدراسة هو تطوير مخطط التحليل لتحديد الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة، والكشف الطيفي لهذه المبيدات في الطماطم.

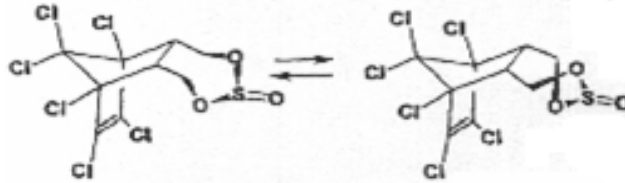
الاندوسلفان (40) (Endosulfan) هو مبيد ينتهي إلى مجموعة المبيدات التي تسمى الكلوريدات العضوية (Organochlorine)، وتحت مجموعة فرعية تسمى سايكلودايين (Cyclodiene). ظهر في خمسينيات القرن الماضي وبرز كمادة كيميائية رئيسية استعملت ضد نطاق واسع من الحشرات في مجال الزراعة والقطاعات المتوافقة مع ذلك. استعمل في محاصيل الخضار، الفاكهة، القطن، الجوز، الشاي، القهوة، التبغ والخشب. الاندوسلفان ظهر في وقت عندما كان الوعي البيئي والمعرفة عن المصير البيئي وعلم السموم لمثل هذه المركبات الكيميائية ضعيفا وليس اجباريا بموجب القوانين الدولية. لكن الان يعتبر من اهم الاسباب للسمم في الكثير من الدول. تقنيا الاندوسلفان هو خليط من صيغتين وهما الفا اندوسلفان ( $\alpha$ - Endosulfan) وبيتا اندوسلفان ( $\beta$ -Endosulfan) بنسبة 3:7 على الترتيب. المستوى التقني (Technical Grade) من الاندوسلفان يحتوي على 94% الفا اندوسلفان وبيتا اندوسلفان ومركبات اخرى لها علاقة مثل اندوسلفان الكحول (Endosulfan Alcohol)، اندوسلفان ايثر (Endosulfan Ether) وكبريتيد الاندوسلفان (Endosulfan Sulfate).

الاسم العلمي: 6، 7، 8، 9، 10، 10- سداسي كلورو- 1، 5، 5a، 6، 9، 9a- hexahydro ثنائي اوكسائيدين-3-اكسيد.

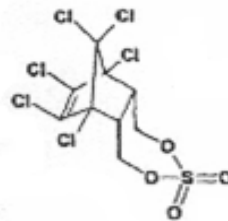
IUPAC Name: 6,7,8,9,10,10- hexa chloro- 1,5,5a,6,9,9a- hexahydro-methano- 2,4,3- benzodioxathiepine-3-oxide -6,9

الصيغة الكيميائية (Chemical Formula):  $C_9H_6Cl_6O_3S$

التركيب الكيميائي (Chemical Structure):



بيتا اندوسلفان ( $\beta$ -Endosulfan) الفا اندوسلفان ( $\alpha$ - Endosulfan)



كبريتيد الاندوسلفان (Endosulfan Sulfate)

أصبح الاندوسلفان قيد الاستعمال حول العالم منذ أن ظهر في خمسينيات القرن الماضي، كان يعتبر بديلاً آمناً للمبيدات الأخرى من مجموعة الكلوريدات العضوية في العديد من الدول في سبعينيات القرن الماضي. لكن في آخر عقدين الكثير من الدول أدركت المخاطر من الاستعمال الواسع لهذا المبيد وقامت بحظر أو حصر استعماله. يمكن التعرض للاندوسلفان عن طريق تنفس الهواء القريب من مكان استعماله ورشه، شرب مياه الشرب الملوثة، الاحتكاك بالتربة الملوثة، أكل الطعام الملوث والعمل في مصانع إنتاج الاندوسلفان مما قد يسبب العديد من المخاطر والأضرار، هناك نوعان من الأضرار النوع الأول يسمى بالأضرار الحادة (Acute Effects) والتي تؤدي إلى حدوث تشنجات عنيفة و- أيضاً- الموت عند استنشاقها أو هضمها بكميات كبيرة، وهو يؤثر مباشرة في الجهاز العصبي المركزي، الرئة والكبد، يؤدي إلى تكرار ازيمات الصرع وتهيج العين والجلد، وفي حالات أخرى يؤدي إلى التسمم ومن أعراضه النشاط المفرط، ضيق التنفس، العاب مفرز، الغياب عن الوعي، الاسهال، فقر الدم، الغثيان والارق. النوع الثاني من الأضرار يسمى بالأضرار المزمنة (Chronic Effects) ومن أخطر هذه الأضرار تأثير الاندوسلفان على الجهاز التناسلي للذكر، تأخير النضوج الجنسي، التداخل مع تخليق الهرمونات الجنسية والاختلال بالافراز الداخلي للغدد الصماء (Endocrine Disruption)، الاندوسلفان ينافس هرمون الاستراديول (Estradiol) على الارتباط بمستقبلات هرمون الاستروجين (Estrogen) وبالتالي تثبيط العمل الهرموني، هو يحث على توالد خلايا (MCF7) الحساسة لهرمون الاستروجين الخاص بالثدي وبالتالي يزيد خطر الإصابة بسرطان الثدي. وجد أن الاندوسلفان يدمر خلايا الدم الحمراء للإنسان عند تراكيز تتراوح ما بين (واحد جزء من المليون part per million - واحد جزء من البليون part per billion)، وكلا من الفا اندوسلفان وبيتا اندوسلفان مسمم جيني (Genotoxic) لخلايا (HepG2)، ووجد - أيضاً- انه سام للكبد (Hepatotoxic)، مسبب للطفرة الجينية (Mutagenic)، مكسر للصبغيات (Clastogenic) ويحث على الاختلال بدورة حياة الخلية.

أسوأ كوارث التسمم بسبب الاندوسلفان التي حصلت إلى يومنا هذا قد حدثت في كل من كوبا، بنين والهند. التسمم الذي حصل في كوبا كان مسؤولاً عن موت 15 شخصاً في الجزء الغربي من إقليم ماتانزس، كوبا (فبراير 1999) و63 شخصاً أصبحوا مرضى بعد استهلاكهم الطعام الملوث بالاندوسلفان طبقاً للسلطات الكوبية. في مقاطعة بورجو في بنين، سبب تسمم الاندوسلفان العديد من الوفيات أثناء موسم القطن (1999-2000). تنص سجلات رسمية أن على الأقل 37 حالة موت حدثت و36 حالة كانت وضع مرض خطير. في نفس المنطقة عام (1999) مات ولد بعد أن أكل ذرة ملوثة بالاندوسلفان. اشخاص في 15 قرية في منطقة كاسارجود الواقعة في ولاية كيرالا جنوب الهند تعرضوا بصورة مستمرة للاندوسلفان والذي كان يرش في الهواء ثلاثة مرات في اليوم لمدة 24 عام (1976-2000)، مما أدى إلى عيوب خلقية عند الولادة، مشاكل صحية متتالية، السرطان، نقص المناعة، امراض عصبية وعقلية كل ذلك تم تقريره عن القرويين. هناك - أيضاً- تقارير أخرى عن حوادث تسمم بالاندوسلفان حول العالم، في السودان عام (1988) غسلت اسطوانات الاندوسلفان في قنوات الري مما سبب قتل الاسماك وموت 3 اشخاص بعد شربهم للماء من قناة الري، في الفلبين عام (1991) علل الاندوسلفان سبب اكبر عدد من الوفيات بسبب التسمم، في إقليم سولاوسي، اندونيسيا، 32 حالة تسمم بسبب الاندوسلفان تم إعلانها مابين عامي (1990 - 1993)، في كولومبيا، 155 حالة تسمم عام (1994) و60 حالة تسمم أخرى عام (1993) بسبب الاندوسلفان تم إعلانها، في سيريلانكا ومن عام (1994) ال عام (1998) تم ارتفاع عدد الوفيات بسبب الاندوسلفان، حالات تسمم بسبب استهلاك الطعام الملوث بالاندوسلفان تم إعلانها في تركيا عام (2003)، العديد من حالات التسمم والموت تم إعلانها في غواتيمالا، كوستاريكا وبعض دول أمريكا الوسطى الأخرى تم إعلانها.

بدائل الاندوسلفان لا تتضمن فقط المواد الكيميائية البديلة (39) والصديقة للبيئة ولللكائن الحي فقط، وانما - أيضاً- تتضمن تغييرات وتحورات مبتكرة والتي لا تتطلب استعمال الاندوسلفان أو حتى أي مواد كيميائية اخرى، من امثلة هذه البدائل ما يسمى بالبدائل الكيميائية (Chemical Alternatives) والتي بالرغم انها مركبات كيميائية مثل الاندوسلفان إلا أن اثرها تم ترقيته وتطويره بحيث انه تم التقليل من الاثار الضارة على الكائنات الحية التي تتعرض لها. بدائل اخرى تسمى بالبدائل شبه الكيميائية (Semi-Chemicals Alternatives) والتي تعرف - أيضاً- باسم الفيرومونات (Pheromones) وهي مركبات كيميائية تفرزها بعض الحشرات تؤدي إلى جذب هذه الحشرات إلى مجموعتها أو سريرها فعندما تضيع حشرة معينة كالنحلة مثلا عن السرب فبواسطة الفيرومونات تستطيع الرجوع إلى سريرها، حيث تجري حاليا التجارب لمعرفة مدى امكانية استخدام هذه الفيرومونات في نصب أفخاخ لجذب هذه الحشرات بعيدا عن المحاصيل الزراعية. - أيضاً- هناك بديل اخر يسمى بالتحكم الحيوي (38) (Biological Control Systems) والذي يعني استعمال بعض الكائنات الطفيلية والمفترسة مثل بعض انواع الديدان والحشرات والطيور للتغذي على الحشرات التي تضر بالمحصول، - أيضاً- الزراعة العضوية تعتبر بديل (Organic farming) وهي من اشكال الزراعة التي تعتمد على تدوير المحصول، السماد الطبيعي والحراثة الالية للحفاظ على انتاجية التربة والتحكم بالحشرات الضارة، من مميزاتهما انها تحظر استعمال المبيدات المخلقة نهائيا.

#### مشكلة البحث:

1. كيفية تجنب التأثيرات البيئية مثل الرطوبة، والحرارة وغيرها، من الاتصال مع عينة الاختبار.
2. كيفية التحكم في معامل التغير الفيزيائية وتحسينها على سبيل المثال، درجة الحرارة، الضغط
3. إيجاد طريقة مناسبة وملائمة لجمع العينات، أو كيفية جمع عينة مماثلة نموذجية.
4. التحقق من صلاحية العينة، مع الاخذ بعين الاعتبار نوع العينات المستخدمة في هذه التجربة.
5. التدهور والتحلل الحراري الذي يسبب ارتفاع درجات الحرارة في الحاقن والعمود، وزمن المكوث، المتعلقة بالحاقن بصفة أساسية.
6. كيفية العثور على إجراءات الفصل الكروماتوغرافي، والكشف الطيفي عالية الكفاءة والمحددة، التي سيتم تطبيقها على التحليل.
7. مصفوفة الآثار التي تسبب تعطيل نظام الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC)، من خلال المستخلصات المشتركة، الشمع، الملونات، إنشاء المواقع النشطة، العمليات المحفزة، ذات الصلة بكل من الحاقن / العمود، واختلال رد فعل اللون في التحليل الطيفي.
8. تتولد معظم المشكلات في التطبيق الطيفي، نتيجة الاختيار الخاطئ لحاوية الكوارتز المستخدمة للعينة التي تكون في متناول اليد من قبل المستخدم.

#### الفصل الكروماتوغرافي:

##### نظام الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC):

جهاز فصل كروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة موديل (التقنيات الحيوية - السلاسل 3000 Analytical) {Technologies 3000 series HPLC}، يحتوي على مضخة، وأداة استخراج العينات / مختبر العينات الاتوماتيكية، وفرن الدعامة أو الأعمدة، وكاشف يعمل بمبدأ الضوء المرئي / الأشعة فوق البنفسجية تم استخدامه لتحديد وتقدير المبيدات. تم استخدام عمود بونداباك C18 يعمل بمبدأ كروماتوغرافيا الطور المعكوس بأبعاد 125 × 0.4

مم، وقطر 5 ميكرون الجسيمات. وقد كانت حالة جهاز الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC) ثنائي التدرج، الطور المتحرك المُحسن المستخدم في جهاز الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC) التي تستخدم العمود المذكور كان خليطاً من أسيتونتريل/الماء (30/70، ح/ح %) على الترتيب، وكان معدل التدفق 0.8 مل/ دقيقة، وحجم الحقن 20 ميكرو لتر، والضغط 6-7 ميغاباسكال، بينما تم تحديد الطول الموجي للكاشف في 254 نانومتر.

#### الأدوات:

- 1- خلاط {Blender}، ذا سرعة عالية، خلاط واقٍ ضد الانفجارات، ابريق 1qt.
- 2- قمع {Buchner funnel} / أنبوب من البورسلين، قطر 12 سم.
- 3- مصفاة الورق {Filter paper} لتناسب الأنبوب.
- 4- اسطوانات أنبوبية مدرجة {Graduated cylinders}، سدادة زجاجية (g-s) سعة 100 مل، واخري فارغة سعة 250 مل.
- 5- دورق فاصل {Separatory funnel} سعة 1 لتر.
- 6- دورق تقطير فارغة {Vacuum filtration flask} سعة 500 مل.
- 7- دوارق حجمية {Volumetric flasks} سعة 250 مل.
- 8- ماصات {Pipettes} سعة 10 مل.
- 9- كؤوس {Beakers} سعة 250 مل.

#### المواد والكواشف الكيميائية:

1. مساحيق الفا وبيتا وكبريتيد الاندوسلفان النقية.
2. أسيتونتريل.
3. الايثر النفطي.
4. كبريتات الصوديوم اللامائية.
5. ماء مُقطر.
6. كلوريد الصوديوم.

#### إعداد المعايير:

حضر محلول الفا إندوسلفان، بيتا اندوسلفان وكبريتيد الاندوسلفان المعيارية (5 جزء من المليون) 5 Part per Million عن طريق إذابة الكمية المناسبة من المبيد في الأسيتونتريل، ثم حقن حجم 5 ميكرو لتر من كل محلول معياري في جهاز الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة، وسجل كلا من زمن الاحتفاظ ومساحة القمة، ثم حضرت المحاليل المعيارية ذات التركيزات المختلفة لكل مبيد من محلول المخزون عن طريق التخفيف باستخدام الطور المتحرك كمخفف. وقد تم تحضير السلسلة التالية من التركيزات المخففة مباشرة قبل الحقن: (0.01، 0.02، 0.03، 0.04، 0.05، 0.06، 0.07، 0.08، 0.09، 0.1 جزء من المليون). وتم حقن 5 ميكرو لتر من هذه المحاليل في جهاز الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة، ثم تم تسجيل الاستجابة الكروماتوغرافية في الظروف المذكورة أعلاه، ومن ثم سجلت مساحات القمم وتم رسمها بيانياً مقابل تركيز المبيدات، ثم تم تأكيد استقامة النظام.

### مخطط التلوين:

حضرت ثلاثة محاليل معيارية (1 ، 2 و 3 جزء من المليون) في الأسيتونتريل لكل من إندوسلفان ( $\alpha$ ،  $\beta$ )، وكبريتيد الإندوسلفان، واستخدمت لتلوين عينات الطماطم ، بعد عملية الاستخلاص والتنظيف، اخذت 3 عينات مكررة (حقن 5 ميكرو لتر) من كل مبيد عند كل تركيز تلوين، وسجل زمن الاحتفاظ ومساحات القمم المقابلة لها بعد مقارنتها بزمن الاحتفاظ ومساحات القمم للمحاليل المعيارية للمبيدات.

طريقة الاستخلاص:

وفقا ل (ميلز، ب أ 1963) وبورتر، M. (11 ، 1967) وزنت عينة نموذجية (100 جم) ووضعت في الخلاط، واضيف حجم 200 مل من الاسيتونتريل ، ومزج الخليط بسرعة عالية لمدة دقيقتين وصفي مع القيام بعملية الشفط والامتصاص للسائل من خلال القمع الذي تم تثبيته بورقة التقطير في قارورة التقطير الفارغة. ومن ثم نقل السائل المقطر إلى دورق فاصل سعة 1 لتر، بعد ذلك قيس حجم 100 مل من الايثر النفطي بعناية وذلك باستخدام اسطوانات المدرجة، ثم سكب في الدورق الفاصل وجميع الخليط هز بشدة لمدة دقيقتين. وأضيفت كمية من من كلوريد الصوديوم المشبع بمقدار 10 مل، متبوعا ب 600 مل من الماء المقطر، مسك الدورق الفاصل بوضع افقي وهز بشدة لمدة دقيقتين، بعدما فصلت الطبقتين الغير قابلة للامتزاج، استغني عن الطبقة المائية، وغسلت طبقة المحلول بواسطة دفتين من الماء المقطر بحجم 100 مل لكل دفعة، واستغني عن الغسيل ونقلت طبقة المحلول إلى اسطوانة مدرجة بحجم 100 مل، واضيف حجم 15 جرام من كبريتات الصوديوم وهز الخليط بشدة. واخيرا وبعد حوالي ساعة واحدة نقل المحلول إلى عمود فلويرسيل من أجل تنظيفه.

التنظيف بواسطة العمود الكروماتوغرافي: وفقاً لرأي (لوك، ما، (1975) (12)، تم تنظيف المُستخلص بواسطة العمود الكروماتوغرافي باستخدام الفلوريسيل المُنشط، وضع مقدار (4 جرام ) من الفلوريسيل المنشط في عمود بقطر 22 ملم، تم اضيف حجم 0.5 جرام من كبريتات الصوديوم اللامائية إلى العمود ثم غسل باستخدام 40-50 مل من الأيثر النفطي. خفف المستخلص إلى 10 مل باستخدام الأسيتون ونقل إلى اسطوانة مدرجة بحجم 100 مل، ومن ثم خفف باستخدام 100 مل الأيثر النفطي. وادخل المستخلص إلى العمود مع السماح له بالمرور من خلال معدل تدفق 5 مل / دقيقة. شطف العمود بمعدل 5 مل / دقيقة باستخدام 200 مل من خليط المحاليل إيثايل أثير / الايثر النفطي بنسبة 15٪، واخيرا، ركز السائل بواسطة المبخر الدوراني وترك في درجة حرارة الغرفة ليجف.

### الفصل الطيفي:

جهاز المطيافية: جهاز مطيافية (موديل: شيمادزو 1800) {spectrophotometer model Shimadzu 1800} يعمل باستخدام حزمة مزدوجة من الأشعة فوق البنفسجية مع حاويات من الكوارتز ذات طول ا سم.

جهاز الرقم الهيدروجيني {PH meter}: جهاز قياس الرقم الهيدروجيني موديل ( 211 هانا - ايطاليا) استخدم لقياسات الرقم الهيدروجيني

### الأدوات:

1. دوارق مخروطية سعة 250 مل.
2. دوارق حجمية سعة 250 مل.
3. ماصات سعة 10 مل.
4. كؤوس سعة 250 مل.

5. حمام مائي {Water Path} .
6. خلاط، ذا سرعة عالية، خلاط واقي ضد الانفجارات، ابريق 1 qtr .
7. قمع من البورسلين، قطر 12 سم.
8. مصفاة الورق لتناسب الأنبوب.

#### المواد والكواشف الكيميائية:

1. الإيثانول.
2. بيروكسيد الهيدروجين (N1 .0).
3. هيدروكسيد البوتاسيوم.
4. ثنائي الفينيل الأميني.
5. مسحوق إندوسولفان النقي.

#### إعداد المعايير:

حضر محلول المخزون القياسي من الإندوسلفان (5 جزء من المليون) عن طريق إذابة كمية مناسبة من الإندوسلفان في الإيثانول. واستخدم محلول المخزون القياسي لتحضير محاليل العمل القياسية باستخدام سلسلة من التخفيفات وهي (2، 4، 6، 8 و10 جزء من المليون) في خمسة من دوارق حجمية ذات حجم 250 مل، في كل محلول عمل معياري اضيف 1 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي، 10 مل من N1 .0 بيروكسيد الهيدروجين و0.1 مل من ثنائي الفينيل الأميني، لإعطاء اللون البنفسجي الفاتح، إلى دورق حجمي بحجم 250 مل اخر، اضيفت نفس الكميات من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي، 0.1 N بيروكسيد الهيدروجين وثنائي الفينيل الأميني، ثم ملئ للعلامة المحددة باستخدام الإيثانول لاستخدامه كعينة جوفاء أو فارغة. تركت المحاليل جانبا لمدة 5 دقائق قبل اخذ قيمة الامتصاص ثم بعد ذلك اخذت قيمة الامتصاص وسجلت عند 605 نانومتر ضد العينة الجوفاء أو الفارغة. تم حساب امتصاصية الإندوسلفان عن طريق طرح امتصاصية المحلول الفارغ من محلول الاختبار.

#### مخطط التلوين:

حضرت ثلاثة محاليل قياسية من الإندوسلفان (3 و5 و7 جزء من المليون) في الإيثانول، واستخدمت لتلوين عينات الطماطم. وبعد الانتهاء من عملية الاستخلاص والتنظيف، اخذت 3 عينات مكررة للمبيد عند كل تركيز تلوين، وقيس الامتصاص وسجل عند 605 نانومتر ضد العينة الجوفاء أو الفارغة.

#### الطريقة:

وفقا ل (إن في إس فينوغبوال وB. سومالاثا، 2011) (12) وزنت عينة نموذجية ذات وزن (5 جم) ووضعت في الخلاط وخلطت لمدة دقيقتين بسرعة عالية، ثم صفيت من خلال القمع الذي تم تثبيته بورقة التقطير في دورق التقطير الفارغ. ومن ثم تم نقله إلى الكوب سعة 1 مل، ومن ثم نقل إلى كأس، اضيف 1 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي بعناية باستخدام اسطوانة مدرجة، ثم اضيف 5 مل من بيروكسيد الهيدروجين N1 .0 متبوعة ب 0.1 مل من ثنائي الفينيل الأميني وتم الحصول على اللون البنفسجي، واخيرا، اخذت الامتصاصيات للمحاليل وسجلت عند 605 نانومتر ضد العينة الجوفاء أو الفارغة.

## النتائج:

### الكشف الكروماتوغرافي:

يوضح الجدول (1) زمن الاحتفاظ ومساحة القمم للمحاليل القياسية للمبيدات (5 جزء من المليون).

المبيدات	زمن الاحتفاظ / لكل دقيقة	مساحة القمة
الإندوسلفان $\alpha$	13.142	175381.39
الإندوسلفان $\beta$	10.374	150695.50
كبريتيد الإندوسلفان	7.598	132046.64

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (2) مساحات القمم المتحصل عليها لكل مبيد عند جميع تراكيز السلاسل المعيارية.

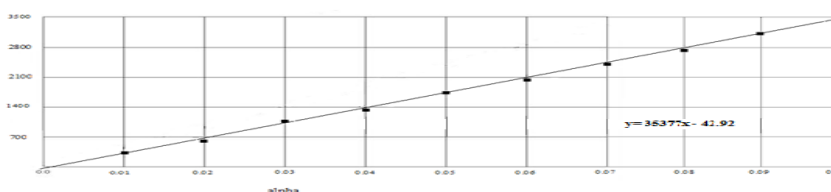
التسلسل	التركيز جزء من المليون	مساحة قمة الإندوسلفان $\alpha$	مساحة قمة الإندوسلفان $\beta$	مساحة قمة كبريتيد الإندوسلفان
1	0.01	307.20	287.43	270.87
2	0.02	642.12	594.86	533.65
3	0.03	1014.28	895.14	802.23
4	0.04	1371.54	1196.76	1064.94
5	0.05	1722.49	1493.24	1330.59
6	0.06	2078.33	1803.65	1594.61
7	0.07	2424.67	2104.36	1859.52
8	0.08	2781.58	2405.28	2124.46
9	0.09	3141.88	2701.73	2396.37
10	0.1	3487.78	3013.91	2660.93

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

منحنيات المعايرة:

الإندوسلفان  $\alpha$ :

يوضح الشكل (1): منحنى المعايرة من 10 محاليل متسلسلة من الإندوسلفان  $\alpha$ :

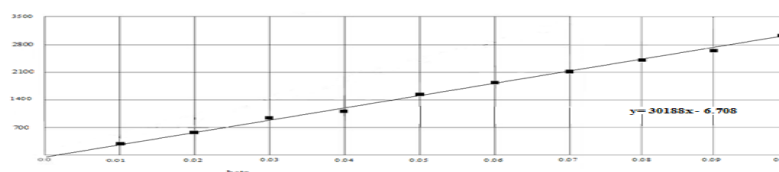


المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.



## الإندوسلفان $\beta$ :

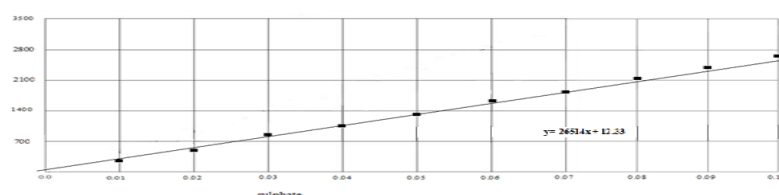
يوضح الشكل (2): منحنى المعايرة من 10 محاليل متسلسلة من الإندوسلفان  $\beta$ :



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

## كبريتيد الإندوسلفان:

يوضح الشكل (3): منحنى المعايرة من 10 محاليل متسلسلة من كبريتيد الإندوسلفان:



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (3) بيانات منحنيات المعايرة لكل سلسلة معايرة من المبيدات

معامل الارتباط (r)	معادلة الانحدار	المبيد
0.999978	$y = 35377x - 42.92$	الإندوسلفان $\alpha$
0.999997	$y = 30188x - 6.708$	الإندوسلفان $\beta$
0.999996	$y = 26514x + 12.33$	كبريتيد الإندوسلفان

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

قورنت أزمنة الاحتفاظ الناتجة عن كل 3 عينات مكررة لكل مبيد بمثلاتها للمحاليل المعايرة، واستخدمت مساحات القمم الناتجة للحصول على مقدار التراكيز المتبقية لكل 3 عينات تكرارية لكل مبيد وذلك عند الثلاث تراكيز التي استخدمت لتلوين عينات الطماطم باستخدام معادلات الانحدار الموضحة في الجدول (3).

يوضح الجدول (4): أزمنة الاحتفاظ ومساحات القمم للحقن الثلاثي للعينات الملوثة ذوات تركيز (1 جزء

من المليون)

يوضح الجدول رقم (4) أزمنة الاحتفاظ ومساحات القمم للحقن الثلاثي للعينات الملوثة

التكرار	مساحة قمة الإندوسلفان $\alpha$	زمن الاحتفاظ الإندوسلفان $\alpha$	مساحة قمة الإندوسلفان $\beta$	زمن الاحتفاظ الإندوسلفان $\beta$	مساحة قمة كبريتيد الإندوسلفان	زمن الاحتفاظ كبريتيد الإندوسلفان
1	31137.29	10.246	25786.28	13.082	22157.09	7.576
2	30843.35	10.324	25757.46	13.140	22306.18	7.506
3	30886.69	10.221	25533.88	13.096	21993.56	7.412

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (5) التركيزات المتبقية لكل مبيد عند (1 جزء من المليون).

التركيز في (واحد جزء من المليون)			التكرار
كبريتيد الإندوسلفان	الإندوسلفان $\beta$	الإندوسلفان $\alpha$	
0.8352	0.8544	0.8813	1
0.8408	0.8534	0.8730	2
0.8290	0.8460	0.8742	3

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (6) أزمدة الاحتفاظ ومساحات القمم للحقن الثلاثي للعينات الملوثة ذوات تركيز (2 جزء من المليون).

التكرار	مساحة قمة الإندوسلفان $\alpha$	زمن الاحتفاظ الإندوسولفان $\alpha$	مساحة قمة الإندوسولفان $\beta$	زمن الاحتفاظ الإندوسولفان $\beta$	مساحة قمة كبريتيد الإندوسولفان	زمن الاحتفاظ كبريتيد الإندوسولفان
1	67523.78	10.336	56233.66	13.102	48373.86	7.568
2	67468.03	10.348	56293.26	13.134	48819.10	7.597
3	67138.12	10.368	56752.74	12.936	48158.53	7.557

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (7) التركيزات المتبقية لكل مبيد عند (2 جزء من المليون).

التركيز في (2 جزء من المليون)			التكرار
كبريتيد الإندوسلفان	الإندوسلفان $\beta$	الإندوسلفان $\alpha$	
1.8239	1.8630	1.9099	1
1.8407	1.8649	1.9083	2
1.8158	1.8801	1.8990	3

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (8) أزمدة الاحتفاظ ومساحات القمم للحقن الثلاثي للعينات الملوثة ذوات تركيز (3 جزء من المليون).

التكرار	مساحة قمة الإندوسلفان $\alpha$	زمن الاحتفاظ الإندوسولفان $\alpha$	مساحة قمة الإندوسولفان $\beta$	زمن الاحتفاظ الإندوسولفان $\beta$	مساحة قمة كبريتيد الإندوسولفان	زمن الاحتفاظ كبريتيد الإندوسولفان
1	104788.81	10.315	86727.21	13.110	75071.58	7.526
2	104465.34	10.353	87722.53	13.078	75464.63	7.463
3	103943.76	10.311	87209.23	13.121	7475977	7.433

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (9) التركيزات المتبقية لكل مبيد عند (3 جزء من المليون).

التركيز في (3 جزء من المليون)			التكرار
كبريتيد الإندوسلفان	الإندوسلفان $\beta$	الإندوسلفان $\alpha$	
2.8309	2.8731	2.9632	1
2.8457	2.9060	2.9541	2
2.8191	2.8890	2.9393	3

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

تم استخدام البيانات في الجداول رقم (4 إلى 9) لإنشاء منحنيات لكل من المبيدات (متوسط مساحة القمم ضد تركيز التلوين)، وحساب الانحراف المعياري والتركيز المتبقي، وحد الحساسية، وحد الكم، ومعامل التباين (\*) يوضح الجدول رقم (10). المتوسط والانحراف المعياري، ومعامل التغير في مساحات قمم إندوسلفان  $\alpha$ ، عند تراكيز التلوين الثلاثة.

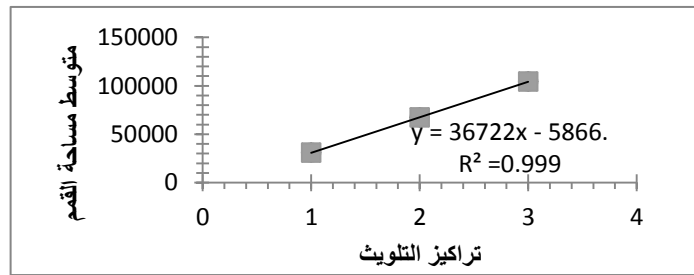
معامل التغير	الانحراف المعياري	متوسط مساحة القمة	مساحة القمة			تركيز التلوين
			التكرار 3	التكرار 2	التكرار 1	
0.005126	158.6818	78.30955	30886.69	30843.35	31137.29	واحد جزء من المليون
0.003094	208.4396	67376.64	67138.12	67468.03	67523.78	2 جزء من المليون
0.004084	426.3778	104399.30	103943.76	104465.34	104788.81	3 جزء من المليون

(\*)- الانحراف المعياري (SD): هو مقياس لتباعد مجموعة من البيانات من متوسطاتها.

المتبقي (R): كم كمية من العقاقير المستردة من قبل الأسلوب التحليلي المقترح بعد تلوين العينة بالعقاقير القياسية. حد الحساسية (LOD): هو أقل كمية للمادة التي يمكن تمييزها عن عدم وجود أو غياب تلك المادة (قيمة فارغة) ضمن حد الثقة المحددة (بصفة عامة بنسبة 1%).  
حد الكم (LOQ): هو أدنى تركيز للمادة الكيميائية التي تم قياسها وتحديدها، والتي لا يمكن الكشف عنها فقط ولكن يمكن قياسها كمياً ضمن الحدود المحددة والمؤكد، بعد إجراء قياسات مكررة على التركيزات المنخفضة المعلومة والفارغة.

معامل التغير (CV): معامل التغير هو مقياس إحصائي لتباعد نقاط البيانات في سلسلة البيانات حول المتوسط.

يوضح الشكل (4): تركيزات التلوين مقابل متوسط مساحات القمم للإندوسولفان  $\alpha$ .



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث .

يوضح الجدول رقم (11). معامل الارتباط  $r$ ، حد الكشف، وحد القياس الكمي لتركيزات الإندوسولفان  $\alpha$  المتبقية عند تراكيز التلوين الثلاثة.

$r$	LOD	LOQ
0.99949	0.020071	0.066903

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

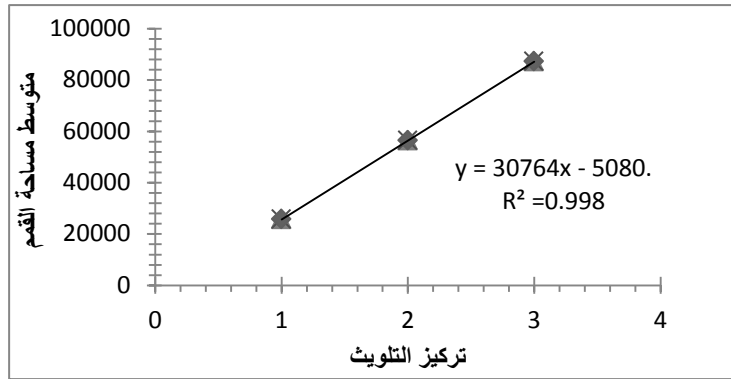
الإندوسولفان  $\beta$ :

يوضح الجدول رقم (12). المتوسط والانحراف المعياري ومعامل التغير في مساحات قمم إندوسولفان  $\beta$ ، عند تراكيز التلوين الثلاثة.

معامل التغير	الانحراف المعياري	متوسط مساحة القمة	مساحة القمة			تركيز التلوين
			التكرار 3	التكرار 2	التكرار 1	
0.005377	138.1571	25692.54	25533.88	25757.46	25786.28	واحد جزء من المليون
0.005034	284.0534	56426.55	56752.74	56293.26	56233.66	2 جزء من المليون
0.005707	497.7419	87219.66	87209.23	87722.53	86727.21	3 جزء من المليون

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث .

يوضح الشكل رقم (5): تراكيزات التلوين مقابل متوسط مساحات القمم للإندوسولفان  $\beta$



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث .

يوضح الجدول رقم (13). معامل الارتباط  $r$ ، حد الكشف، وحد القياس الكمي لتراكيزات إندوسولفان  $\beta$  المتبقية عند تراكيز التلوين الثلاثة.

$r$	LOD	LOQ
0.99899	0.002352	0.0078414

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث .

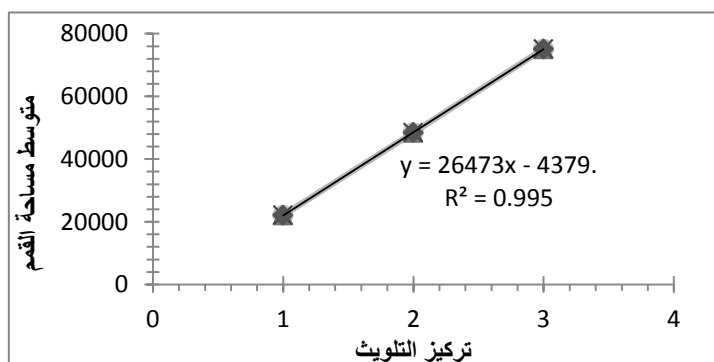
كبريتيد الإندوسلفان:

يوضح الجدول رقم (14). المتوسط والانحراف المعياري، ومعامل التغير في مساحات قمم كبريتيد الإندوسلفان عند تراكيز التلوين الثلاثة.

معامل التغير	الانحراف المعياري	متوسط مساحة القمة	مساحة القمة			تركيز التلوين
			التكرار 3	التكرار 2	التكرار 1	
0.007058	156.3656	22152.27	21993.56	22306.18	22157.09	واحد جزء من المليون
0.006953	336.8873	48450.49	48158.53	48819.1	48373.86	2 جزء من المليون
0.004703	353.2094	75098.66	7475977	75464.63	75071.58	3 جزء من المليون

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (6): تركيزات التلوين مقابل متوسط مساحات القمم لكبريتيد الإندوسلفان



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (15). معامل الارتباط  $r$ ، وحد الكشف، وحد القياس الكمي لتركيزات كبريتيد الإندوسلفان المتبقية عند تراكيز التلوين الثلاثة.

$r$	LOD	LOQ
0.99749	0.01619	0.05396

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (16). النسب المئوية للمتبقي للتركيزات المتبقية التي تم الحصول عليها من إندوسلفان  $\alpha$ ، في تركيزات التلوين الثلاثة.

تركيز التلوين	التكرار (1)	التكرار (2)	التكرار (3)	المتوسط
واحد جزء من المليون	88.13%	87.30%	87.42%	87.61%
2 جزء من المليون	95.49%	95.41%	94.95%	95.28%
3 جزء من المليون	98.77%	98.47%	97.97%	98.40%

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (17). النسب المئوية للمتبقي للتركيزات المتبقية التي تم الحصول عليها من الإندوسلفان  $\beta$ ، في تركيزات التلوين الثلاثة.

تركيز التلوين	التكرار (1)	التكرار (2)	التكرار (3)	المتوسط
واحد جزء من المليون	85.44%	85.34%	84.60%	85.12%
2 جزء من المليون	93.15%	93.24%	94.00%	93.46%
3 جزء من المليون	95.77%	96.86%	96.30%	96.31%

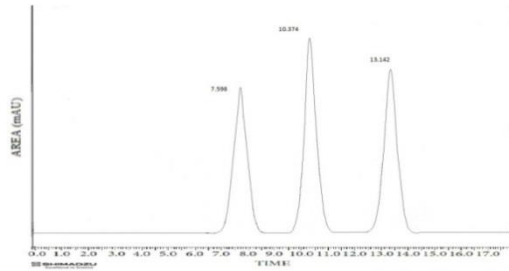
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (18). النسب المئوية للمتبقي للتركيزات المتبقية التي تم الحصول عليها من كبريتيد الإندوسلفان، عند تركيزات التلوين الثلاثة

تركيز التلوين	التكرار (1)	التكرار (2)	التكرار (3)	المتوسط
واحد جزء من المليون	83.52%	84.08%	82.90%	83.50%
2 جزء من المليون	91.19%	92.03%	90.79%	90.83%
3 جزء من المليون	94.36%	94.85%	93.97%	94.39%

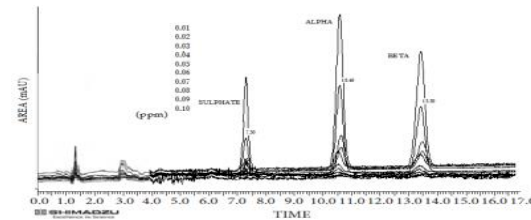
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (7): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC) للمحاليل المعيارية القياسية لكل من الإندوسلفان  $\alpha$ ، وإندوسلفان  $\beta$ ، وكبريتيد الإندوسلفان.



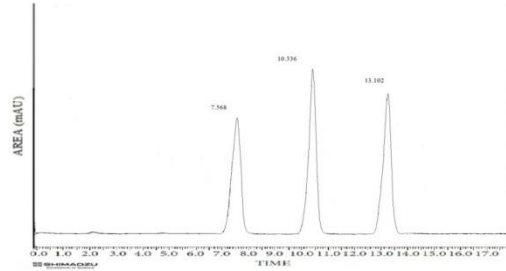
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (8): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC) (المركب) للسلاسل المعيارية المختلفة لكل من الإندوسلفان  $\alpha$  وإندوسلفان  $\beta$ ، وكبريتيد الإندوسلفان.



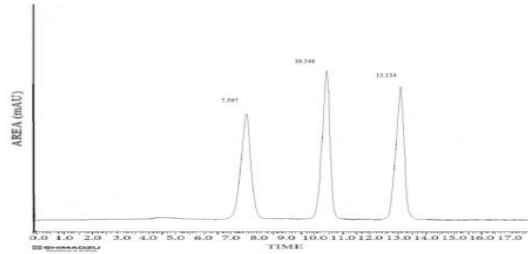
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم(9): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)، للتكرار الأول من العينة الملوثة بتركيز



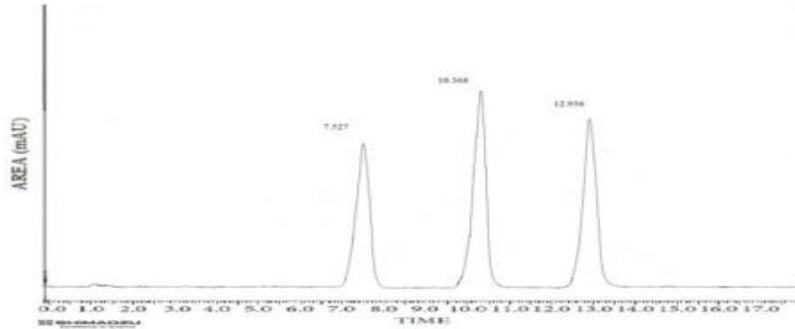
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (10): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)، للتكرار الثاني من العينة الملوثة بتركيز



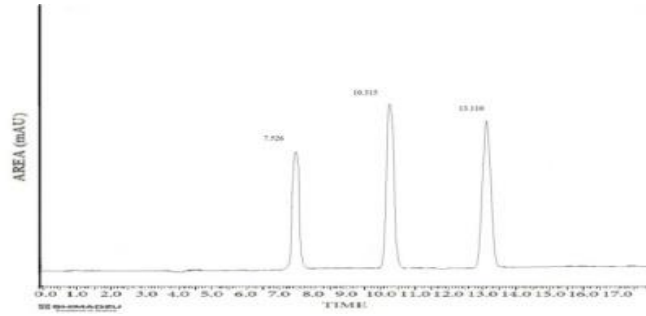
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (11): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)، للتكرار الثالث من العينة الملوثة بتركيز



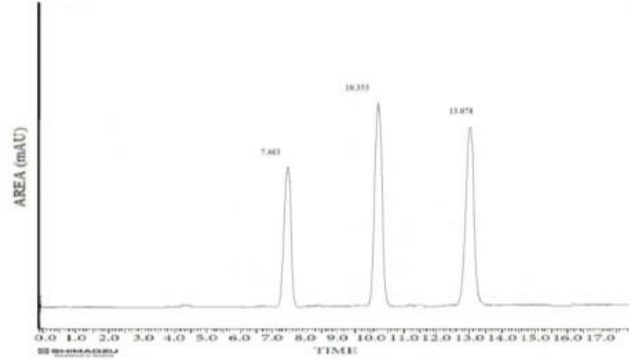
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (12): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)،  
للتكرار الأول من العينة الملوثة بتركيز



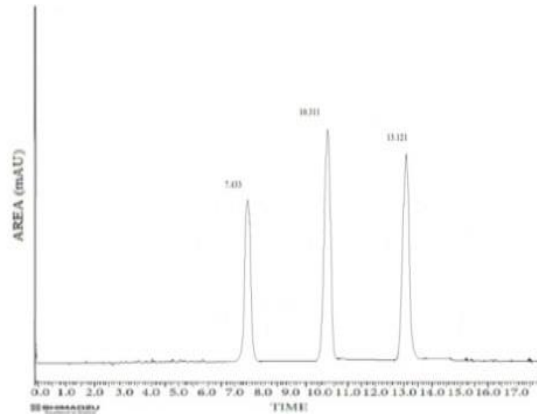
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (13): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)،  
للتكرار الثاني من العينة الملوثة بتركيز



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

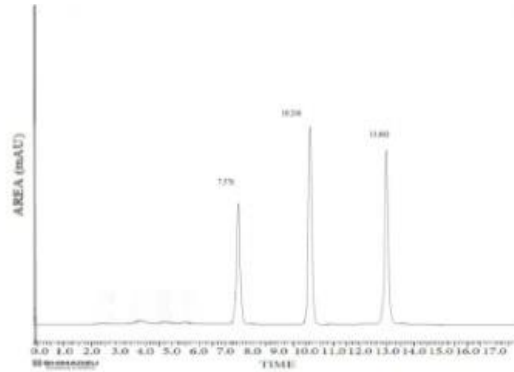
يوضح الشكل رقم (14): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)،  
للتكرار الثالث من العينة الملوثة بتركيز



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

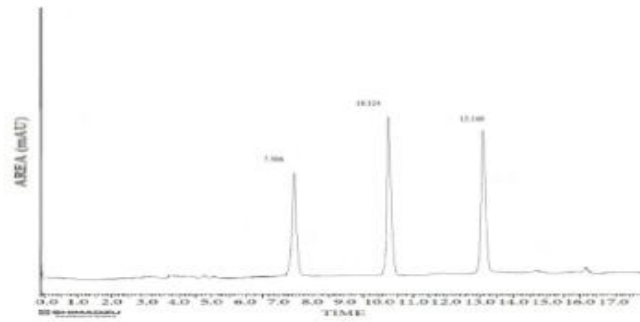


يوضح الشكل رقم (15): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)، للتكرار الأول من العينة الملوثة بتركيز



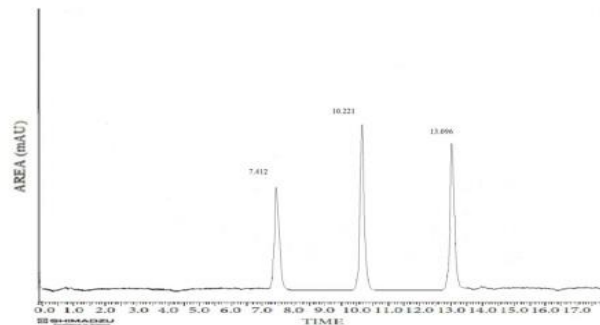
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (16): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)، للتكرار الثاني من العينة الملوثة بتركيز



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (17): الاستجابة الكروماتوغرافية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC)، للتكرار الثالث من العينة الملوثة بتركيز



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

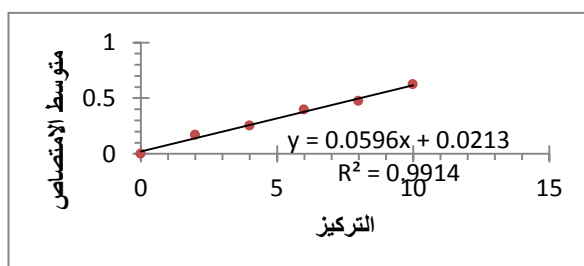
## الكشف الطيفي:

يوضح الجدول رقم (19) امتصاص الإندوسلفان الذي تم الحصول عليه عند كل تركيز

الامتصاص	التركيز (جزء من المليون)
0	0
0.169	2
0.254	4
0.396	6
0.475	8
0.623	10

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الشكل رقم (18): منحنى معايرة الإندوسلفان



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

يوضح الجدول رقم (20) متوسط الامتصاصات للإندوسلفان، التي تم الحصول عليها عند تركيزات التلوين الثلاثة

تركيز التلوين (جزء من المليون)	التكرار 1	التكرار 2	التكرار 3	المتوسط
3	0.188	0.185	0.179	0.184
5	0.310	0.302	0.306	0.306
7	0.423	0.430	0.418	0.423667

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

\* تم استخدام الامتصاصات الناتجة لحساب التركيز المتبقي باستخدام معادلة الانحدار لمنحنى المعايرة.

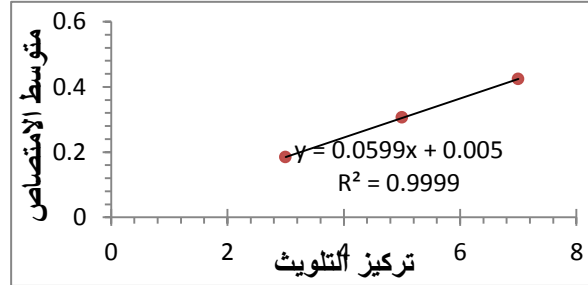
يوضح الجدول رقم (21) التركيزات المتبقية، المتوسط، والانحراف المعياري لتكرارات الإندوسلفان عند تركيزات التلوين الثلاثة.

تركيز التلوين (جزء من المليون)	التكرار 1	التكرار 2	التكرار 3	المتوسط	الانحراف المعياري	معامل التغير
3	2.83	2.779	2.677	2.762	0.077904	0.02820
5	4.898	4.762	4.830	4.83	0.068	0.01407
7	6.813	6.932	6.728	6.824333	0.102471	0.01501

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

\* تم استخدام البيانات في الجدول رقم (21) لتكوين منحني ( التركيز التلويث مقابل متوسط الامتصاصية) من أجل حساب قيم حد الحساسية (LOD)، حد الكم (LOQ) ومعامل الارتباط (r).

يوضح الشكل رقم (19): تركيزات التلويث مقابل متوسط الامتصاص للإندوسلفان



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث .

يوضح الجدول رقم (22). معامل الارتباط، حد الكشف، وحد القيم الكمية.

LOD	0.089953
LOQ	0.299843
r	0.99994

المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث

يوضح الجدول رقم (23): النسب المئوية للمتبقي للتركيزات المتبقية التي تم الحصول عليها من الإندوسلفان عند تركيزات التلويث الثلاثة

تركيز التلويث (جزء من المليون)	التكرار 1	التكرار 2	التكرار 3	المتوسط
3	94.33%	92.63%	89.23%	92.06%
5	97.96%	95.24%	96.60%	96.6%
7	97.32%	99.02%	96.11%	97.48%

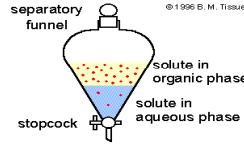
المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث

## المناقشة:

### الكشف الكروماتوغرافي:

- المبدأ: استخلاص سائل- لسائل (Liquid-Liquid Chromatography Technique)، وتُعرف - أيضاً- باسم استخلاص المذيبات (أو استخلاص المادة الفعالة من أوراق بعض النباتات)، والتقسيم (أو التجزئة)، وهو وسيلة لفصل المركبات على أساس الذوبانية في اثنين من السوائل المختلفة الغير قابلة للامتزاج، وتتكون عادة من الماء ومذيب عضوي. وهو - أيضاً- استخلاص مادة من سائل واحد إلى طور اخر سائل. ويتكون من نقل عنصر مذاب واحد (أو أكثر) الموجود في محلول التغذية، إلى سائل اخر غير قابل للامتزاج (المحلول). ويسمى السائل الذي تم تعزيزه وتقويته في المحلول، باسم المستخلص. بينما يسمى محلول التغذية الذي تم استهلاكه واستنفادة في المذاب باسم المادة المنقاة بالإذابة.

يوضح الشكل رقم (20): مفهوم استخلاص سائل - لسائل.



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث.

- إضافة عامل التجفيف: بعد احتكاك المذيب العضوي بمحلول مائي، سوف يكون على سبيل المثال "مبتلة ورطبة"، سوف يحتوي المذيب العضوي على بعض الماء المذاب، على الرغم من أن المذيب العضوي سيكون لها قابلية للإمتزاج المنخفض جدا مع الماء. كمية الماء المذابة تختلف من مذيب لآخر. لكي يزال الماء المذاب، يضاف عامل تجفيف وهنا استخدمنا كلوريد الصوديوم وكبريتات الصوديوم.

- الخطية: تم إجراء تحليل الانحدار الخطي من خلال رسم الاستجابة الكروماتوغرافية (مساحة القمة) لكل مبيد (المحور الصادي) مقابل التركيزات النهائية للمبيدات (المحور السيني). لتخمين المنحنيات المعيارية حضر محلول قياسي من كل مبيد وحضرت 10 محاليل مخففة مختلفة من كل منها بالتركيزات التالية (0.01، 0.02، 0.03، 0.04، 0.05، 0.06، 0.07، 0.08، 0.09، 0.1 جزء من المليون)، ثم حقنت هذه السلسلة لكل مبيد في جهاز الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC)، واستخدمت البيانات الكروماتوغرافية لتقييم الخطية. وأظهر تحليل الانحدار معاملات ممتازة من معامل الارتباطات (r) لكل مبيد، (الأشكال 1 و 2 و 3)، (الجدول 3). وبالنسبة لقياس كميات المبيدات، عينات الطماطم لوثت بثلاثة تراكيز (1 و 2 و 3 جزء من المليون) لكل مبيد، وحللت ثلاث مرات متكررة، وأظهر تحليل الانحدار معاملات ارتباط جيدة (r) (الأشكال 4 و 5 و 6)، (الجدول 4 و 6 و 8). ووفقاً لأوراشيم (1998) (6)، تعتبر الاستجابة التحليلية خطية عن بعض نطاقات التركيز المعينة، إذا تم الحصول على معامل الارتباط أعلى من 0.995. بناءً على ذلك، يمكن القول بأن الطريقة المستخدمة كانت خطية لتحليل المبيدات المختارة والمنتقاه في النطاقات الخطية المحددة.

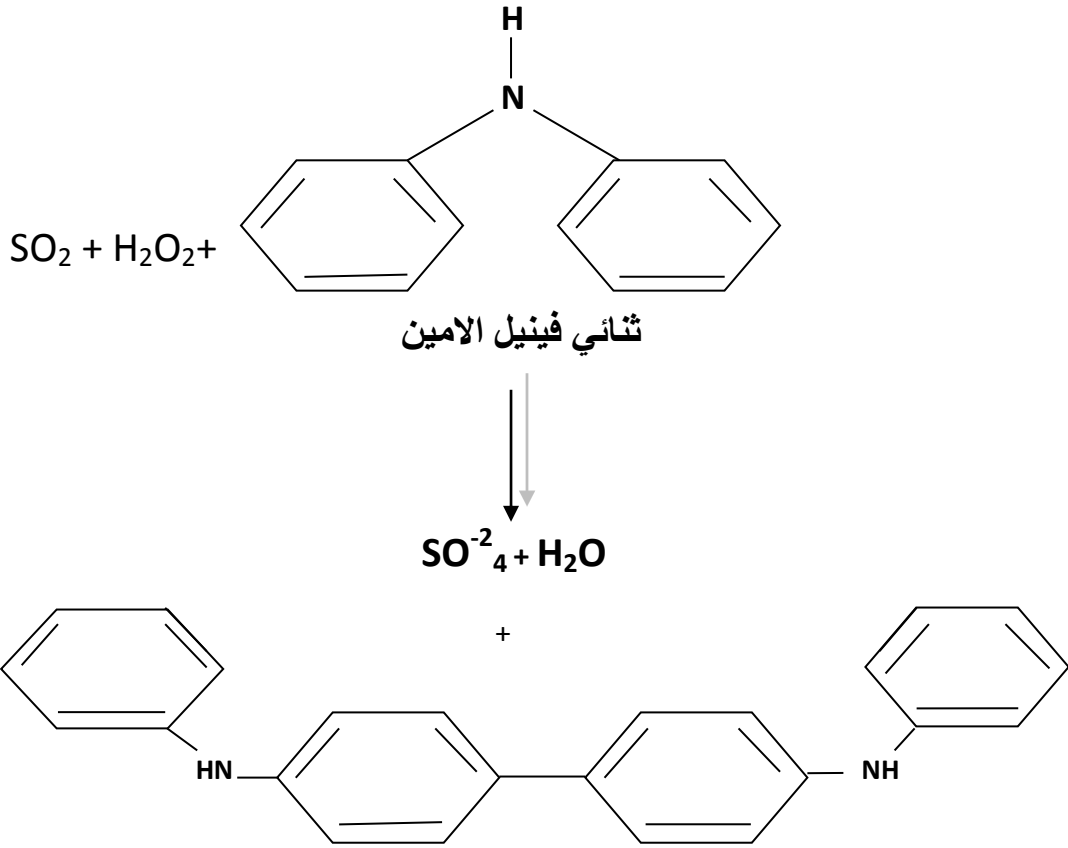
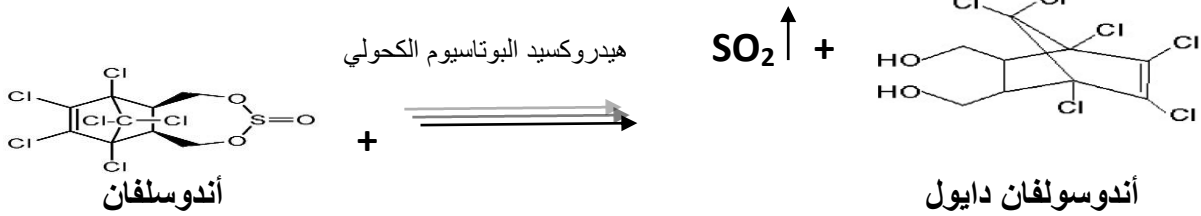
- الدقة: يتم تقييم دقة الطريقة التحليلية بشكل عام من خلال حساب معامل التغير (CV) لمجموعة من البيانات. تم فحص الدقة لطريقة الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC)، من أجل تقييم قابلية استعادة الانتاج لاستجابة الأداة لاستهداف المادة المراد تحليلها. ومن أجل تقييم دقة الطريقة التحليلية، فقد أجريت القياسات في ظل ظروف التكرار. وتم تقييم التكرار عن طريق قياس 3 عينات من الطماطم بعد لوثت بثلاثة تراكيز مختلفة من الاندوسلفان (1 و 2 و 3 جزء من المليون) تحت ظروف مماثلة (اليوم، والمحلول، والأداة، والعينة). قيم معامل التغير الذي تم الحصول عليه في الجداول 10 و 12 و 14. وفقاً لهورويتز، والذي استدل بقوله من (غونزاليز وهيرادور 2007) (7)، بأن الحد الأقصى لقيمة معامل التغير المقبولة لمستوى المادة المراد تحليلها من 1 جزء من المليون، هو 16٪. ولذلك، يمكن القول أن الطريقة المتقدمة أظهرت دقة جيدة. وقد تم حساب معامل التغير على ما يلي (معامل التغير =  $\sigma/M$ ، حيث  $\sigma$  هو الانحراف المعياري و M هو المتوسط).

- المتبقي: تم تقييم دقة الطريقة التحليلية في هذه الدراسة باستخدام طريقة الإضافة القياسية من خلال حساب قيم المتبقي لكل مبيد. أُجريت هذه الدراسات للتأكد وجود نقص في تركيز المادة تحت التحليل أثناء إعداد العينة وتداخلات المصفوفة أثناء خطوة القياس المطلوبة (أوراشيم، 1998). كما أُجريت دراسات الدقة باستخدام ثلاثة مستويات مختلفة من المحاليل المعيارية الملوثة، وهي هنا - (1 و 2 و 3 جزء من المليون). كما تم تنفيذ جميع الخطوات التحليلية في ثلاثة عينات مكررة. وتم عرض قيم نسبة المتبقي لدراسات الدقة في (الجدول 16 و 17 و 18). وفقا (للجنة الدستور الغذائي 2003) (15)، لمستوى المادة المراد تحليلها < 1 جزء من المليون إلى  $0.0 \geq 01$  جزء من المليون، وينبغي أن تكون قيم المتبقي في حدود 60 - 120%. ولذلك، فإن الطريقة المُطورة كانت دقيقة لتحديد كمية هذه المبيدات في الطماطم. وتم حساب المتبقي كما يلي: (R = التركيز النهائي / التركيز الأولي \* 100).

- الحساسية: تم تقييم حساسية جهاز الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC)، مع كاشف الأشعة فوق البنفسجية من خلال حساب قيم حد الكشف (LOD)، وحد الكم (LOQ). ومن أجل حساب قيم حد الكشف، وقيم حد الكم، فقد تم حسابها على التوالي كما يلي  $(3*STE/b \text{ and } STE/b)$ ، حيث (STE) هو الخطأ القياسي للمساحة الكروماتوغرافية لجهاز الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC)، و b هو ميل منحنى المعايرة. ومن ثم تم الحصول على قيم حدود الكشف (LOD)، والحدود الكمية (LOQ) في (الجدول 11 و 13 و 15).

الكشف الطيفي:

التفاعل المنتج اللون:



ثنائي الفينيل البيزيدين ( بنفسجي فاتح عند 605 نانومتر)

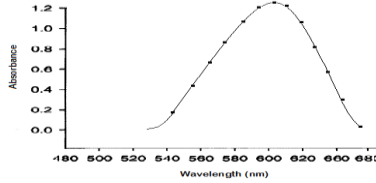
المبدأ:

يعتمد هذا التفاعل على انطلاق ثنائي أكسيد الكبريت بعد إضافة هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي، ثم يتم تمرير ثنائي أكسيد الكبريت المُحرر من خلال بيروكسيد الهيدروجين وثنائي الفينيل الأميني، وأخيراً يقاس اللون البنفسجي الفاتح من ثنائي الفينيل البيزيدين عند 605 نانومتر.

### الخصائص الطيفية:

كانت أطيايف الامتصاص لنواتج تفاعل الإندوسلفان مع ثنائي الفينيل الأميني عند أقصى درجة امتصاص عند 605 نانومتر، كما هو مبين في الشكل 21، بينما كان اللون بنفسجي فاتح، وكان للكاشف الفارغ امتصاص ضئيل في هذا الطول الموجي. وتم اختيار درجة حرارة 25-30 درجة مئوية لهذا التفاعل قانون بير كان خاضعا (الشكل 19) في مدى تركيز (2-10 جزء من المليون) من الإندوسلفان.

يوضح الشكل رقم (21). الحد الأقصى لامتصاص الإندوسلفان



المصدر: نتائج التجربة التي أجراها الباحث .

### لون إنتاج الكاشف:

يُعد معدل تكوين المركب في المحلول سريعاً بصفة عامة، حيث أن التغيرات في الطيف أو اللون ترتبط مع نقل / تبادل الإلكترونات عندما تخضع هذه الجزيئات للإصطدام الموجه بشكل صحيح، امتصاص اللون المتطور مستقر لأكثر من 9 ساعات عند 25-30 درجة مئوية.

### التطبيق:

نتائج الكشف وتحديد الإندوسلفان تظهر في الجداول (20، 21، 22 و 23) والتي تكشف الحساسية، الصلاحية وإعادة الانتاجية للطريقة التحليلية. الطريقة التحليلية - أيضاً- تعتبر دقيقة ومحكمة بصورة معقولة، كلا من حد الحساسية وحد الكم حسب لتخمين الحساسية لجهاز المطيافية بتطبيق الصيغ التالية (STE/b and \*STE/b) 10\*STE/b) لحد الحساسية وحد الكم على الترتيب، حيث أن (STE) هو الحطا المعياري و(b) هو الميل لمنحنى المعايرة. دقة التجربة انجزت بحساب المتبقي، والمتبقي تم حسابه باستعمال ثلاثة تراكيز من التلوين أو التحسين (3، 5 و 7 جزء من المليون) تحت نفس الظروف، بناء على ذلك، فإن الطريقة تثبت جودتها للتحليل الكمي للمبيدات في الخضار. تم حساب المتبقي باستخدام الصيغة ((R= final concentration/initial concentration\*100)).

معامل التغير حسب لكي يتم تقييم درجة اتقان الطريقة التحليلية ذات الشأن، معاملات التغير المحسوبة اظهرت درجة اتقان جيدة للطريقة المستخدمة. تم حساب معامل التغير باستخدام الصيغة (CV =  $\sigma/M$ ) حيث أن M هو المتوسط و  $\sigma$  هو الانحراف المعياري.

جهاز المطيافية اظهر سلوكا خطيا، بعد تنفيذ التحليل الانحداري نتجت قيم جيدة لمعامل الارتباط، لتحديد كمية المبيد، تم تلوين العينات بثلاثة تراكيز مختلفة من المبيد (3، 5 و 7 جزء من المليون) وحللت 3 عينات مكررة والتحليل الانحداري اظهر قيمة جيدة لمعامل الارتباط.

## الخاتمة:

تعتبر طريقة الأسلوب الطيفي لتحديد الإندوسلفان بسيطة وموثوقة وسريعة وحساسة. كما أنها تستغرق وقتاً أقل. كما يُعتبر التفاعل اللوني انتقائياً للإندوسلفان. علاوة على ذلك، فإن إحدى مميزات الإجراءات /الطريقة الحالية أنها لا تتطلب العديد من المذيبات، حيث أن إجراءات وطريقة الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC) طويلة، وشاقة، كما أنها مكلفة جداً، وتنطوي على العديد من الكواشف والمحاليل، ولا تنطوي على أي ظروف رد فعل صارمة، بينما تقوم بتوفير مزايا استقرار وثبات نظام التفاعل. يشكل التلوث في الخضار مع بقايا المبيدات خطراً صحياً كبيراً على المستهلكين من العامة عند استهلاك الثمار الملوثة، وبالتالي من المهم أن يتم وضع طريقة فعالة للكشف عن هذه المخلفات والرواسب. وقد تم تطبيق هذه الطريقة الكروماتوغرافية للسائل عالي الكفاءة (HPLC) بنجاح ضمن العينات المحصنة أو الملوثة. ولهذه الطريقة عدة مزايا تتفوق عن معظم الطرق التقليدية للتحليل بالطرق التالية:

- (1) تم تحقيق وتنفيذ الانفصال الجيد والحساسية المرتفعة من خلال طريقة الفصل الكروماتوغرافي للسائل عالي الكفاءة (HPLC) لجميع المبيدات، وبطريقة أقل استهلاكاً للوقت، مع انخفاض حدود الكشف.
- (2) أظهرت الإجراءات والطريقة التقليدية التي تنطوي على الاستخلاص بالماء وأستونيتريول، تنظيف الفلوريسيل النشط، كما أظهرت إزالة فعالة للتدخلات، وتوفير التحليل البسيط والسريع والموثوق للمبيدات في جميع المصفوفات.
- (3) تم قبول معظم المبيدات التي فحصت واختبرت فعالية الخصائص التي تم الحصول عليها ضمن دراسة الفعالية، وضمن متطلبات مراقبة الجودة.
- (4) تم الحصول على نسب مرتفعة للمبيد المتبقي، والطريقة المقترحة تقدم معدلات خطية وحساسية ممتازة لتحديد المبيدات المُستهدفة على مستويات التتبع.
- (5) استعمال وهدر المذيبات معتبر. فقد كانت هذه الطريقة مفيدة للكشف عن بقايا المبيدات الموجودة في الطماطم، كما أنها تُعد الطريقة الأكثر فعالية ومقبولة على نطاق واسع من حيث الدقة والموثوقية.

## التوصيات:

تشير النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح إلى الحالة الفعلية لسوء استخدام المبيدات التي قد تؤثر بدورها على صحة المستهلكين لفترة طويلة، مما يجعل ذلك خياراً موصى به من أجل التحديد الروتيني للمبيدات في المصفوفات البيولوجية. ووفقاً لقاعدة مستويات البيانات القصوى للمخلفات (MRLS)، فإن الحد الأقصى المسموح به للإندوسلفان في الطماطم هو (0.5 جزء من المليون) (17)، وهو أقل من جميع التركيزات المتبقية التي تم الحصول عليها هنا، حيث أن المبيدات - بصفة عامة - تسبب آثاراً ضارة على الإنسان والإندوسلفان بصورة خاصة. واستناداً إلى هذا البحث، فإننا نوصي بشدة لحظر ومنع وإنهاء استخدام وتصنيع هذه المبيد، وكذلك عدم الإتجار بها، كما أننا نوصي - أيضاً- بتطبيق أقصى العقوبات على أولئك الذين يتعاملون مع هذا السم.

## قائمة المراجع:

- 1- Abhilash, P. C. , V. Singh and N. Singh, Simplified determination of combined residues of lindane and HCH isomers in vegetables, fruits, wheat, pulses and medicinal plants by matrix solid-phase dispersion (MSPD) followed by GC-ECD, Food Chemistry, 2009. 113(1):267-271.



- 2- Amadou Diop, Yerim M. Diop, Diene D. Thiare, Fabrice Cazier, Serigne O. Sarr, Amaury Kasprowiak, David Landy and François Delattre, Monitoring survey of the use patterns and pesticide residues on vegetables in the Niayes zone, Senegal, *Chemosphere*, 2016. 144 (2016) 1715-1721.
- 3- Barrada, H. , M. Fernandez, M. J. Ruiz, J. C. Molto, J. Manes and G. Font, Surveillance of pesticide residue in fruits from Valencia during twenty months (2004/05), 2010. *Food Control*, 21(1):36-44.
- 4- Beena Kumari, Effect of household processing on reduction of pesticide residues in vegetables, 2008. *ARNP J. Agricultural and Biological Science*, 3(4):6-51.
- 5- C. M. Torres, Y. Pico and J. Manes, Determination of pesticide residues in fruit and vegetables, *Journal of Chromatography A*, 1996. 754 (1996) 301-331.
- 6- Ceshing Sheu and Hui-Chi Chen, Simultaneous Determination of Macrolide Pesticides in Fruits and Vegetables by Liquid Chromatography, 2009. *J. Food and Drug Analysis*, 17(3):198-208.
- 7- Chand Pasha and Badiadka Narayana, Spectrophotometric Determination of Endosulfan Using Thionin and Methylene Blue as Chromogenic Reagents, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008. 80:85–89.
- 8- Devendra Kumar, R. C. Sharma and Pratibha Chauhan, Estimation of multiclass pesticide residues in tomato (*Lycopersicon esculentum*) and radish (*Raphanus sativus*) vegetables by chromatographic methods, Publish year not noted, [http://www.academia.edu/3707458/Estimation\\_of\\_multiclass\\_pesticide\\_residues\\_in\\_vegetables\\_Lycopersicon\\_esculentum\\_and\\_vegetables\\_by\\_chromatographic\\_methods](http://www.academia.edu/3707458/Estimation_of_multiclass_pesticide_residues_in_vegetables_Lycopersicon_esculentum_and_vegetables_by_chromatographic_methods), Last visit: 16/3/2017.
- 9- Edouard Lehmann, Nuria Turrero, Marius Kolia, Yacouba Konaté and Luiz Felipe de Alencastro, Dietary risk assessment of pesticides from vegetables and drinking water in gardening areas in Burkina Faso, *Science of the Total Environment*, 2017. 601–602 (2017) 1208–1216.
- 10- Elosa D. Caldas, Maria Hosana conceicao Maria Clara C. Miranda, Luiz cesar K. R. De Souza and Joaq. Determination of dithiocarbamate fungicide residue in food by spectrophotometric method using a vertical disulfide reaction system, *J. Agric. Food Chem.* , 2001. 49(10):4521-4525.
- 11- Eurachem. The fitness for purpose of analytical method: A laboratory guide to method validation and related topics, 2011, <http://www.eurachem.org/guides/pdf/valid.pdf>, last visit: 9/11/2015.
- 12- Fang Zhanga, Chongtian Yub, Wenwen Wangb, Ruoqing Fana, Zhixu Zhangb and Yinlong Guo, Rapid simultaneous screening and identification of multiple pesticide residues in vegetables, *Analytica Chimica Acta*, 2012, 757 (2012) 39–47.
- 13- Gonzalez, A. G. and Herrador, M. A. A Practical Guide to Analytical Method Validation, Including Measurement Uncertainty and Accuracy Profiles, 2007. *Trends Anal. Chem*, 26(3):227-238.
- 14- Harikrishnan V. R. and Usha S. , Endosulfan - A Fact sheet and Answers to common questions, 2004. Pp: 3, 4, 5 and 8. [https://www.google.Com.sa/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKewjrn5avmPTYAhWHKewKHSpAcwQFghHMAM&url=http%3A%2F%2Fshodhganga.inflibnet.ac.in%2Fjspui%2Fbitstream%2F10603%2F131949%2F17%2F17\\_chapter%252010.pdf&usg=AOvVaw1tTx0O75nZHJl\\_fUloGuJ0](https://www.google.Com.sa/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKewjrn5avmPTYAhWHKewKHSpAcwQFghHMAM&url=http%3A%2F%2Fshodhganga.inflibnet.ac.in%2Fjspui%2Fbitstream%2F10603%2F131949%2F17%2F17_chapter%252010.pdf&usg=AOvVaw1tTx0O75nZHJl_fUloGuJ0), last visit: 29/6/2016.
- 15- Islam, S. , A. Nazneen, S. H. Mohammad, N. Nilufar, M. Mohammad and I. R. M. Mohammad, Analysis of some pesticide residues in cauliflower by high performance liquid chromatography. *American J. Environmental Science*, 2009. 5(3):325-329.

- 16- Jaishree Raju and V. K. Gupta, A simple spectrophotometric determination of endosulfan in river water and soil, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 1991. Vol. 339, Issue 6, 431-433.
- 17- Jaishree Raju and V. K. Gupta, Simple spectrophotometric determination of endosulfan in river water and soil, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 1991. 339:431-433.
- 18- Janghel, E. K. , J. K. Rai, M. K. Rai and V. K. Gupta, New sensitive spectrophotometric determination of Cypermethrin insecticide in environmental and biological samples, 2007. J. Braz. Chem. Soc. , 18:3.
- 19- Jon Lemos, M. Carmen Sampedro, Amaia de Ariño, Amaia Ortiz and Ramón J. Barrio, Risk assessment of exposure to pesticides through dietary intake of vegetables typical of the Mediterranean diet in the Basque Country, Journal of Food Composition and Analysis, 2016. S0889-1575(16)30038-2.
- 20- Kalpana Wani, M. K Rai and Raisa Khatoon, A New Spectrophotometric Determination of Endosulfan and its Application, International Journal of Science and Research, 2014. Vol. 3 Issue 6, 202-205.
- 21- Luke, M. A. , J. Assoc. Off. Anal. Chem. (1975), vol: 58, pp: 1020-1026.
- 22- Mills, P. A. , J. Assoc. Off. Agric. Chem. (1963), vol: 46, pp: 186-191 and Porter, M. , J. Assoc. (1967), Off. Anal. Chem. vol: 50, pp: 644-645.
- 23- Mohammad Reza Hadjmohammadi, Hosein Asri, S. Saman and S. J. Nazari, Determination of Malathion and  $\alpha$ -Endosulfan Residue in Khazar Rice Using Matrix Solid Phase Dispersion and HPLC, Caspian Journal of Chemistry, 2013. 2(2013) 37-44.
- 24- N. V. S. Venugopal and B. Sumalatha, 2nd International Conference on Environmental Science and Technology, vol: 6, pp: 195-197, 2011.
- 25- Nancy M. Endersby and Wendy C. Morgan, Biological Agriculture and Horticulture, 1991, Vol. 8. Pp: 33-52, <http://eap.mcgill.ca/MagRack/BAH/BAH%208.htm>, last visit: 19/11/2016.
- 26- Paranthaman, R. , A. Sudha and S. Kumaravel, Determination of Pesticide Residues in Banana by Using High Performance Liquid Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry, American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 2012. 8 (1): 1-6.
- 27- Patil, V. B. and M. S. Shingare, Thin- layer chromatographic spray reagent for the screening of biological material for the presence of carbaryl, Analyst, 1994. 119:415-416.
- 28- Rathore, H. S. and T. Begum, Thin-layer 16. Chromatographic behaviour of carbamate pesticides and related compound, J. Chromatogr. , 1993. 643:321-329.
- 29- S. K. Bais and A. V. Chandewar, Comparative evaluation of endosulfan content in Triphala churna marketed in Yavatmal district of India by HPLC method, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2011. Vol 3, Suppl 3, 35-40.
- 30- S. K. Dangwal and S. Mithbavkar, A spectrophotometric method of determination of Endosulfan (Thiodan) in air, The Annals of occupational Hygiene, 1995. Vol. 39, No. 1, 115-119.
- 31- Sharma S. S. and Kapadnis K. H. , Development of Method for Determination of Pesticide Residues from Chilly and Ladyfinger by Using HPLC and GC-MS, International Journal of Chemical and Physical Sciences, 2015. Vol. 4 Special Issue, 337-341.
- 32- Shashi B. Singh, Irani Mukherjee, Jaya Maisnam, Praveen Kumar, Madhuban Gopal and Gita Kulshrestha, Determination of pesticide residues in IPM and non-IPM samples of mango (*Mangifera indica*), Journal of Environmental Science and Health, 2008. 43, 300-306.
- 33- Sheikh S. A. , Nizamani S. M. , Panhwar A. A. and Mirani B. N. , Monitoring of pesticides residues in vegetables collected from markets of Sindh, Pakistan, Food Science and Technology Letters, 2013. Vol. 4, Issue 1, 41-45.

- 34- Spectrophotometric determination of Endosulfan in water and soil samples, Author and publish year not noted,
- 35- T rajkovska, V. , Petrovska-Jovanovi, S and Cvetkovski, M. Solid-Phase Extraction and HPLC/DAD for the Determination of Some Pesticides in Wine, 2003. Anal. Lett, 36(10):2291-2302.
- 36- T. Galeano, A. Guiberteau and F. Salinas, Rapid determination of  $\alpha$ -Endosulfan and  $\beta$ -Endosulfan in formulations and potatoes by high performance liquid chromatography, Analytical Letters, 1992. 25(9), 1797-1804.
- 37- Thanh, D. N. , E. Y. Ji, M. L. Dae and H. L. Gae, A multiresidue method for the determination of 107 pesticides in cabbage and radish using QuEChERS sample preparation method and gas chromatography mass spectrometry, Food Chemistry, 2008. 110(1):207-213.
- 38- The Japan Food Chemical Research Foundation, Table of MRLs for Agricultural Chemicals (Endosulfan), publish year not noted, [http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/agrdtl.php?a\\_inq=12400](http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/agrdtl.php?a_inq=12400), last visit: 17/5/2016.
- 39- UNECE Context by BiPRO GmbH, Risk Management Evaluation Endosulfan- Long version, Germany, May 2010. Pp: 24-25.
- 40- Yacoub Batta , Nidal Zatar and Nader Sadeq, Detection of Endosulfan Residues in the Soil of Western Jordan Valley, Jordan Journal of Agricultural Sciences, 2006. Vol. 2, No. 1, 57-64.

### Chromatographic and Spectrophotometric Analysis of Endosulfan in Vegetables

**Abstract:** A High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) and Spectroscopic methodologies have been validated for the determination of  $\alpha$  Endosulfan,  $\beta$  Endosulfan and Endosulfan Sulphate in tomato "*Lycopersicon esculentum Mill*". The chromatographic separation method was based on Liquid-Liquid Extraction (LLE) using two immiscible solvents. Acetonitrile/water mixture (70/30, v/v %) was used as a mobile phase. The HPLC was equipped with UV/visible detector, the separation was achieved on  $\mu$ -Bondapak C18 column with dimensions, 4.0 x 125 mm and 5-micron particle diameters using activated florisil to remove the interferences from the extract. The chromatographic experiments were carried out in triplicate at three fortifications levels 1, 2 and 3 Part per Million (ppm). HPLC's detector was linear for the determination of pesticides with Correlation Coefficient ( $r$ ) values  $>0.99$ . The Limit of Detection (**LOD**) values was 0.020071, 0.002352 and 0.01619 ng/ml. The Limit of Quantification (**LOQ**) values were 0.066903, 0.0078414 and 0.05396 ng/ml. The Recoveries percentage (**R**) of the pesticides studied ranged from 88.13% to 98.77%, 84.60% to 96.86% and 82.90% to 94.85% and the Coefficient of Variation (**CV**) values ranged from 0.003 to 0.005, 0.005 to 0.0057 and 0.004 to 0.007 for  $\alpha$  Endosulfan,  $\beta$  Endosulfan and Endosulfan Sulphate, respectively. The spectrophotometric method was based on the liberation of sulphur dioxide after addition of alcoholic potassium hydroxide, the liberated sulphur dioxide was passed through hydrogen peroxide and diphenylamine and the light violet color of diphenyl benzidine was measured at 605 nm using spectrophotometer. The Spectrophotometric experiments were carried out in triplicate at three fortifications levels 3, 5 and 7 Part per Million (ppm). The spectrophotometer showed a linear response for the detection of pesticide with ( $r$ ) value  $>0.99$ . The Limit of Detection (**LOD**) value was 0.089953ng/ml, the Limit of Quantification (**LOQ**) value was 0.299843ng/ml. The Recoveries percentage (**R**) values ranged from 89.23% to 99.02% and the Coefficient of Variation (**CV**) values ranged from 0.01407 to 0.02820. The levels of Endosulfan recovered in both methodologies were above the Maximum Residue Level (**MRL**) of Endosulfan in tomato (0.5 ppm).

**Keywords:** HPLC, Endosulfan, Chromatographic, Spectrophotometric, Pesticides.