الجزء الأول 1

تطبيقات عملية في مبيدات الافات

مبيدات الافات ، مكوناتها ، تصنيعها واليات استيرادها وطرائق استخدامها الفحوصات المخبرية للمواصفات الفنية والحيوية لمبيدات الافات

الأستاذ الدكتور
نزار الملاح

الأستاذ الدكتور
عبد الرزاق الجبوري

اليازوري
www.yazori.com

الإهداء

إلى المؤمنين بان ثمرة العلم هو التطبيق
وان أفضل العلم ما تم اتقائه وتطبيقه
خدمة للبشرية جمعاء..........
إلى الساعين لتحقيق حديث رسولنا الكريم
(ص) إن الله يحب أحدكم إذا عمل عملا أن يتقنه .
إلى المتقنين أعمالهم من اجل امة تنشد
النهوض والتقدم .
نقدم هذا القبس مساهمة متواضعة
في بناء نتمنى له الشموخ.

المؤلفان

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

فيس بك... كروب... رسائل وأطاريح في علوم الحياة

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.researchgate.net/profile//Salam_Ewaid

07807137614

المحتويات

الإهداء II
المقدمة 1
الباب الأول 3
التقييم الحيوي الحقلي 3
والكيميائي لمبيدات الآفات 3
الفصل الأول 5
تقييم وقياس التأثيرات الحيوية 5
لمبيدات الآفات مختبريا 5
المقدمة Introduction : 6
التأثيرات الحيوية لمبيدات الآفات Biological Effects Of Pesticides 6
اولا: التأثيرات الحادة والمزمنة لمبيدات الآفات 6
1- اختبارات السمية الحادة لنحل العسل : Acut Toxicity Test To Honey Bee 7
الطريقة الأولى اختبار السمية عن طريق المعاملة السطحية Topical Application: 8
الطريقة الثانية - اختبار السمية عن طريق الفم Oral Toxicity Test: 8
2 - تحديد سمية مستحضرات المبيدات الميكروبية 11
الأجهزة والمواد المستخدمة في الاختبار:- 12
تحديد السمية : 15
3- اختبار دليل السمية المزمنة Chronicity Index : 17
4 – اختبارات الأورام السرطانية Carcinogenesis Test : 18
5- اختبار التشوهات Teratogenesis test : 18
6- اختبار التكاثر Reproduction Test: 19
7- اختبارات السمية الجلدية Dermal Toxicity : 19

الإعاشة والتغذية Housing and Feeding:	20
الفحص Examination :	21
1- التآزر Synergism :	23
التقوية Potentiation :	24
طريقة الأنبوبة بشكل حرف (T) :-	40
طريقة قياس الانتحاء الكيميائي Chemotropometer :-	40
قياس نسبة المقاومة بدلالة السلالة الحساسة أو القياسية	42
قياس نسبة المقاومة بدلالة السلالة المقاومة	43
قياس نسبة المقاومة من ميل خط السمية :	47
آ- طريقة القرص الورقي الغذائي Leaf Disk Method :	55
طريقة وزن الكائن المختبر قبل وبعد التغذية :	56
1 – طريقة تدريج النتائج Graded Scoring Method:	59
ب- طريقة النتائج الكمية Quantal Scoring Method :	60
الفصل الثاني	67
تقييم الكفاءة الحيوية لمبيدات الآفات	67
المقدمة Introduction:	68
ثانياً : اختيار المبيد والتركيزات للتطبيق الحقلي :	88
ثالث) حقل التجربة Field Of Experiment:	89
الطرائق المباشرة Direct Methods	96
1- قياس فاعلية المبيدات ضد الديدان القارضة:	98
2- قياس الفاعلية ضد حشرة من الباقلاء الأسود *Aphis fabae* :	99
3- قياس الفاعلية ضد مسببات الأمراض :	100
طريقة حساب التثبيط النسبي:	106
التحويل الزاوي Angular transformation :	107
أمثلة تطبيقية	112
الفصل الثالث	130
التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات	130
المفهوم والطرائق والتطبيق	130
المقدمة Introduction	132
أنواع الاستخلاص Kinds Of Extraction	139

طرائق استخلاص متبقيات المبيدات من المكونات البيئية المختلفة 144
تهيئة العمود Column Conditioning : 158
طرائق الفصل Separation Methods: 162
1- الطريقة النازلة Descending Development Technique : 162
2- الطريقة الصاعدة Ascending Development Technique : 163
3- الطريقة المركزية الشعاعية Radial Development Technique : 163
4- الفصل الأفقي Horizontal Development Technique :164
5- الفصل المتعدد Multiple Development Technique : 165
6- الفصل في اتجاهين Tow- Dimensional Chromatography : 165
إظهار البقع Spots Detection: 165
التقدير الكمي Quantitative Determination : 192
المواد المحورة Modifiers : 205
تفسير نتائج التحليل الكروماتوغرافي Chromatography Result Explanation : 206
- قياس ارتفاع المنحنى Peak Height: 212
العداد التكاملي الرقمي Digital integrates: 214
العداد التكاملي الميكانيكي Mechanical Integrates Disk: 214
إعداد العينة Sample Preparation : 221
أولا - تقدير متبقيات مبيدات الكلور العضوية في دم الإنسان 238
ثانيا- تقدير متبقيات مبيد الكيبون Kepone في البيئة 239
ثالثا- تقدير متبقيات الملاثيون بطريقة لونية 240
رابعا - تقدير D.D.T بطريقة الكلورين الكلي 241
خامسا - تقدير مبيد Fenthion (مبيد فسفوري) 242
سادسا تقدير مبيد التديون 243
الملاحـــــــق 247
وحدات قياس الاوزان 250

وحدات قياس الحجوم	250
وحدات قياس السوائل	251
المراجــع	257
المراجع العربية	257
المراجع الاجنبية	263

المقدمة

منذ سبعينيات القرن الماضي ، بدأت الدعوات ترتفع من اجل التوقف عن استخدام مبيدات الآفات حماية للبيئة وللصحة العامة ، وقد رافق تلك الدعوات ظهور العديد من طرائق المكافحة كبدائل مقترحة للمكافحة الكيميائية منها المكافحة الحيوية والمكافحة المتكاملة والإدارة المتكاملة للآفات وأنظمة إدارة الآفات ، وبالرغم من النجاحات المتباينة التي حققتها تلك البدائل في مكافحة الآفات ، إلا أن الملاحظ أن الطريقة المعول عليها في السيطرة على الآفات المختلفة هي استخدام مبيدات الآفات ، ودليل ذلك هو الزيادة المطردة في الكميات المصنعة والمسوقة من مبيدات الآفات على مستوى العالم ، وان نسبة كبيرة من هذه المبيدات لازالت تستخدم في الدول المتقدمة التي تمتلك إمكانيات علمية جيدة في مجال تطبيق البدائل المشار إليها آنفا .

إن النظرة الواقعية لعملية استخدام المبيدات تقول أن المبيدات شر لابد منه فهي سموم خطيرة لها تأثيرات جانبية متباينة في مكونات البيئة المختلفة وان المتتبع للمشاكل التي أحدثتها المبيدات في البيئة يرجع بدرجة رئيسة إلى وجود قصور في فهم مميزات وصفات المركب او المادة الفعالة للمبيد فضلا عن عدم فهم سلوك المبيد في البيئة وفي الكائنات الحية المختلفة ، فضلا عن القصور الحاصل في عمليات تدريب القائمين على عمليات المكافحة في كيفية استخدام هذه المبيدات بطريقة آمنه ، ناهيك عن عدم توفر الوعي الكافي لدى المزارعين خاصة والمواطنين عامة في كيفية التعامل مع المبيدات ، لذلك فان تجاوز هذا القصور والخلل يجعل من عملية استخدام المبيدات أكثر أمانا للبيئة وللصحة العامة ، لذا فان هدف هذا الكتاب هو تحقيق الشعار القائل (علينا في وقاية النبات أن نستخدم المبيدات كخنجر وليس كمنجل) أي توجيه المبيد إلى الآفة المستهدفة بالمكافحة فقط ما أمكن ذلك .

إن تحقيق هذا الشعار يتطلب إتقان الجوانب الفنية والتطبيقية الصحيحة في عملية استخدام المبيدات والتي سعينا في هذا الكتاب إلى بيان أسرارها وتطبيقاتها بالشكل الصحيح مدعمين ذلك بالأمثلة ، آملين من الله سبحانه وتعالى أن نكون قد وفقنا في هدفنا من اجل توفير المعرفة اللازمة في الجانب التطبيقي لمبيدات الآفات .

والله ولي التوفيق .

المؤلفان

الباب الأول
التقييم الحيوي الحقلي
والكيميائي لمبيدات الآفات

الفصل الأول
تقييم وقياس التأثيرات الحيوية
لمبيدات الآفات مختبريا
الفصل الثاني
تقييم الكفاءة الحيوية لمبيدات الآفات في
الحقل ومستلزمات تنفيذها وتحليلها إحصائيا
الفصل الثالث
التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات
المفهوم والطرائق والتطبيق

الفصل الأول

تقييم وقياس التأثيرات الحيوية لمبيدات الآفات مختبريا

- المقدمة .
- التأثيرات الحيوية لمبيدات الآفات .
- التأثيرات الحادة والمزمنة لمبيدات الآفات .
- التنشيط .
- التأثير الجاذب والطارد.
- المقاومة والحساسية .
- التأثير العاقم .
- التأثير المانع للتغذية .
- تأثير مثبطات نمو الحشرات .
- دراسة تأثير الظروف الجوية في سمية المبيدات .

المقدمة Introduction :

إن تعرض الكائنات المختلفة للسموم ومبيدات الآفات قد لا يؤدي بالضرورة إلى موت الكائن المتعرض لهذه السموم دائما ، وإنما قد يؤدي ذلك التعرض خاصة عندما تكون تراكيز أو جرعات ذلك السم أو المبيد غير كافية لموته إلى ظهور العديد من التأثيرات الجانبية في ذلك الكائن والذي قد ينعكس في النهاية على الأداء الحياتي لذلك الكائن ، وإذا أضفنا إلى ذلك وجود العديد من المركبات الكيميائية الطبيعية والمصنعة والتي تعمل على إحداث تغيرات واستجابات سلوكية مختلفة في الكائن الحي والتي يسعى العاملون في مجال وقاية النبات إلى محاولة توظيفها في مكافحة الآفات المختلفة ، يتبين أننا أمام كم كبير من المركبات الكيميائية التي ينبغي اختبارها من حيث سميتها وتأثيراتها الحيوية في الآفة المستهدفة بعمليات المكافحة ، لذلك فإننا سنحاول في هذا الفصل التطرق إلى كيفية تقييم وقياس مجمل التأثيرات الحيوية التي يمكن أن تحدثها مبيدات الآفات على مستوى المختبر .

التأثيرات الحيوية لمبيدات الآفات Biological Effects Of Pesticides

يمكن القول أن التأثيرات الحيوية لمبيدات الآفات تتباين بشكل كبير وذلك تبعا لنوع المبيد المستخدم والتركيز أو الجرعة المعطاة لكائن الاختبار ونوع كائن الاختبار المستخدم في الدراسة ، فضلا عن ظروف التجربة . وقد تتباين هذه التأثيرات بين الموت إلى التأثير في تحوير سلوكية الآفة فتطردها وتمنعها من التغذية أو تعمل على خفض كفاءتها التناسلية أو التأثير في حيوية البيض وهكذا ، إن دراسة مثل هذه التأثيرات أصبحت اليوم ضرورة ملحة وذلك نتيجة السلبيات الكثيرة التي بدأت بالظهور في العقود الأخيرة من جراء استخدام المبيدات والكيميائيات المختلفة في مجال الزراعة والصناعة مما دفع المهتمين بحماية الإنسان والبيئة إلى الدعوة إلى إجراء المزيد من الدراسات السمية والبيئية والحياتية لتحديد درجة خطورة تلك المواد على النظام البيئي بالكامل ، وفيما يلي عرض لأهم الدراسات التي يمكن إجراؤها في هذا المجال:-

اولا: التأثيرات الحادة والمزمنة لمبيدات الآفات

Acute and Chronic Toxicity of Pesticides

السمية الحادة في الكائن الحي تتركز على ظهور أعراض مرضية سريريه على هيئة أعراض تسمم بصورة مفاجئة أو تدريجية بعد التعرض لجرعة ما من المادة السامة لمرة واحدة حيث يتم امتصاصها ونفاذها إلى داخل جسم الكائن

الحي وذلك خلال فترة زمنية تبدأ من اقل من يوم وقد تستمر الأعراض لمدة 14 يوما على الرغم من توقف التعرض وهذا التسمم قد يؤدي إلى الموت أو قد يحدث الشفاء الكامل أو الجزئي منها ، وفي الاختبارات الحادة يمكن متابعة الحيوان لمدة 14 يوما بينما في الاختبارات تحت الحادة يتم تقديم الجرعة المختبرة من المبيد تحت الاختبار لعدة مرات تبدأ من مرتين وحتى ثلاثين مرة . تمر المادة الكيميائية الجديدة بسلسلة من اختبارات السمية الحادة لغرض تحديد درجة سمية المادة الكيميائية تحت الاختبار حيث تعطى حيوانات الاختبار كميات مختلفة من المادة إما عن طريق الفم أو عن طريق حقنها بجرعة واحدة ثم تترك للمراقبة لمدة 14 يوما ، يتم بعدها تحديد قيمة LD50 وكذلك LD30 هذه القيمة تستخدم على أساس إنها أعلى جرعة تعطى في 14 يوما بصورة دورية وفي نهاية الاختبار يتم قتل الحيوانات ثم فحصها للتأكد من علامات وأعراض التسمم .

إن الغرض من دراسة تأثير تكرار إعطاء الجرعة أو التركيز هو لتحديد أعلى جرعة أو تركيز من المادة التي لا تسبب أي أعراض سمية في المدى القصير .

أما السمية المزمنة فهي السمية التي لا تظهر أعراضها إلا بعد مرور فترة زمنية طويلة من التعرض المستمر لجرعات أو تراكيز منخفضة من السموم ، لذلك فان نتائج هذه الدراسات قد تستغرق عدة سنوات . ففي الدراسات الخاصة بالسمية تحت المزمنة يتم تقديم الجرعة المختبرة من المبيد تحت الاختبار لمدة 90 يوما يتم خلالها متابعة الحيوان، بينما في اختبارات السمية المزمنة يتم تقديم الجرعة المختبرة من المبيد تحت الاختبار لمدة سنتين للفئران وسنة للكلاب يم خلالها متابعة حالة الحيوان . ومن الاختبارات الخاصة بالتأثيرات الحادة والمزمنة ما يأتي:-

1- اختبارات السمية الحادة لنحل العسل : Acut Toxicity Test To Honey Bee

تعتبر المبيدات إحدى الآفات الرئيسية لنحل العسل لما يشكله استخدامها في مكافحة الآفات في الحقول الزراعية من خطر الإبادة لنحل العسل . وعليه فقد أصبح من الضروري تحديد درجة سميتها للنحل قبل استخدامها في المكافحة . وقبل إجراء اختبارات السمية لنحل العسل لابد من تهيئة مستلزمات الاختبارات والمتمثلة بما يلي:

آ- تهيئة النحل للاختبار : حيث يؤخذ النحل الحساس والذي لم يسبق أن تعرض للمبيدات ، ويكون ذلك في وقت تكاثر ونشاط النحل . ويشترط عند اخذ النحل استخدام التدخين بصورة طفيفة ، ثم يزال النحل بهدوء من فوق الأقراص وينقل إلى أوان بلاستيكية تحتوي على ورق الترشيح لامتصاص الرطوبة من على جسم النحل .

ب – يقسم النحل وبواقع 20 نحلة لكل مكرر يوضع في قفص سلكي اسطواني بطول 11.25 سم وقطر 3.75 سم ثم تقفل الأقفاص من الجهتين بقطع من الفلين ، ويتم تغذية النحل بمحلول السكر تركيز 20% إذ يوضع في أنابيب زجاجية صغيرة تثبت في القفص . تحفظ الأقفاص والنحل على درجة حرارة 27 ± 1 ْم حيث يمكن للنحل البقاء لمدة أسبوع على الأقل .أما تعريض النحل للمبيد فيتم بإحدى الطريقتين التاليتين:

الطريقة الأولى اختبار السمية عن طريق المعاملة السطحية Topical Application:

يتم تعريض النحل وبالعدد المناسب من المكررات (ثلاثة كحد أدنى) لـ 5 – 6 تراكيز مختلفة من المبيد لكي يمكن رسم خط السمية للمبيد المستخدم ، ويتم ذلك بتخدير النحل ثم يتم وضع كل نحلة على ظهرها فوق ورقة ترشيح في طبق بتري ثم يتم وضع قطرة من المبيد مقدارها 1 مايكروليتر باستخدام ألـ Microapplicator فوق منطقة الصدر. يتم اخذ النتائج بعد 24 ساعة من المعاملة لحساب عدد الأفراد الميتة لتحديد قيمة LD50 .

الطريقة الثانية – اختبار السمية عن طريق الفم Oral Toxicity Test:

يتم تعريض النحل الموجود في الأقفاص السابقة للمبيد وذلك بإضافة المبيد بالتركيز المطلوب إلى الأسيتون ويخلط بمقدار 1 جزء مع 19 جزء من محلول السكروز تركيز 20 % ، ثم يتم عمل تخفيفات من هذا المحلول .يتم بعد ذلك تغذية كل مجموعة من النحل بـ 0.2 مل من المحلول السكري وذلك بوضع هذه الكمية في أنبوبة زجاجية تثبت في قفص النحل .بعد الانتهاء من تناول هذه الكمية يتم تغذية النحل بصورة اعتيادية بمحلول تركيز 20 % من السكر واخذ القراءات (عدد الميت من النحل) بعد مرور 24 ساعة من المعاملة لتحديد قيمة LC50.

يعتمد التحليل الإحصائي لاختبارات السمية لنحل العسل على تحديد ومعرفة القيم التالية:

- قيمة LD50 .
- قيمة الميل لخط السمية وهو ما يمثل درجة استجابة النحل للمبيد .
- تحديد قيمة الجرعة التي تستخدم في الحقل من المبيد لمكافحة الآفة .
- عامل التصحيح .

والمثال الآتي يوضح طريقة استخراج هذه القيم :

أراد احد الفلاحين مكافحة حشرة البق ألدقيقي على الحمضيات باستخدام مبيد الديازينون 60 % بجرعة مقدارها 600غم / دونم . ما هي نسبة القتل المتوقعة في نحل العسل نتيجة استخدام المبيد أعلاه ؟

خطوات الحل :

أ- من الجدول (20) يتم استخراج قيمة الميل والجرعة القاتلة لـ 50 % من النحل لمبيد الديازينون (أو نجدها كما مر بنا سابقا إذا لم تكن موجودة في الجداول) .

ب- في جدول (21) ابحث في القسم (آ) عن قيمة مساوية أو مقاربة لقيمة الجرعة القاتلة لـ 50 % من نحل العسل .

ت- ارسم خطا أفقيا من الجزء (آ) إلى الجزء (ب) من جدول (21) وابحث عن قيمة مساوية أو مقاربة لقيمة الجرعة المطلوب استخدامها في الحقل .

ث- انزل بخط عمودي إلى الجزء (ج) من جدول (21) لتجد أن هناك قيمة تمثل قيمة التصحيح .

الجدول (20) قيم الـ LD50 والميل لبعض المبيدات.

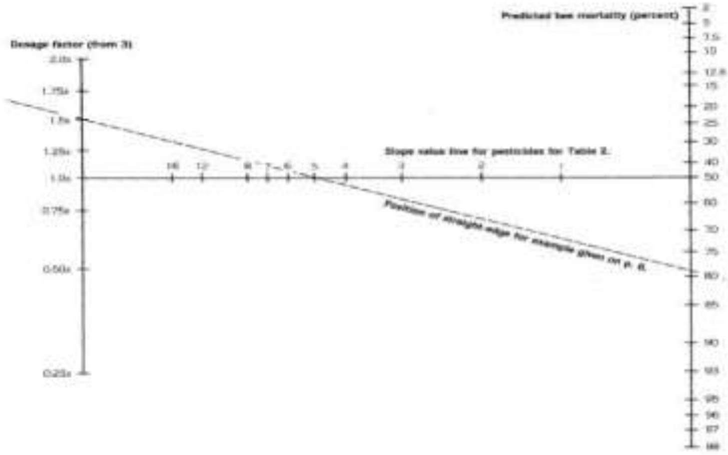
الميل	LD50	المبيد	الميل	LD50	المبيد	الميل	LD50	المبيد
10.02	1.71	Systox	3.35	0.372	Mesurol	0.68	0.002	TEPP
4.28	2.00	Trichloronate	4.46	0.408	Fenvalerate	3.95	0.035	Bioethanomethrin
4.06	2.04	Endrin	4.85	0.414	Famophos	4.17	0.062	Resmethrin
15.42	2.31	Ciodrin	7.43	0.428	Guthion	4.88	0.067	Decamethrin
5.08	2.62	Pyramat	3.28	0.428	Ficam	3.37	0.078	Pay-off
2.49	2.86	Metasystox	16.43	0.485	Dibrom	10.17	0.110	Dursban
5.96	3.46	Profenofos	8.61	0.501	Nogos	5.13	0.111	Methyl parathion
3.54	4.09	Tribufos	0.94	0.526	Heptachlor	2.51	0.133	Dieldrin
4.01	4.57	Perthane	6.61	0.606	Isogenphos	6.14	0.149	Furadan
4.66	5.56	Mocap	4.69	0.678	Carbosulfan	5.52	0.159	Permethrin
2.11	5.62	Ronnel	7.83	0.726	Malathion	4.96	0.175	Parathion
4.74	6.19	DDT	7.92	0.958	Azinophos-ethyl	5.75	0.176	Sumithion
1.99	6.85	Ethiofencarb	3.61	1.12	Amino carb	5.84	0.191	Dimethoate
3.52	7.08	Thiodicarb	3.55	1.13	Imidan	8.48	0.237	Superacide
5.53	7.22	Sulprofs	8.26	1.20	Orthene	4.31	0.237	EPN
3.15	7.81	Endosulfan	2.39	1.29	Lannate	5.13	0.241	Penncap –M

4.87	8.68	Dyfonate	3.23	1.34	Baygon	2.52	0.264	Etrimfos
2.34	8.8	Chlordane	10.61	1.37	Methamidophos	5.00	0.272	Temik
3.67	8.97	Zolone	13.66	1.39	Gardona	4.87	0.302	Zectran
4.21	9.21	Carzol	5.25	1.43	Nemauur	15.86	0.305	Bidrin
1.278	10.25	Phorate	12.74	1.45	Dimecron	7.77	0.305	Phosdrin
5.81	10.26	Vydate	3.04	1.54	Sevin	6.14	0.319	Fenthion
2.78	12.99	Trithion	4.95	1.65	Bofencarb	4.78	0.337	Dasanit
12.87	18.82	Pirimor	3.48	1.85	Pyurazophos	5.06	0.352	Aldrin
1.85	65.85	Mavrik	1.22	27.15	Arsenicals	8.31	0.357	Azodrin
			2.56	1.40	Abate	8.03	0.372	Diazinon

الجدول (21) قيم الـLD50 والجرعات الحقيقية وعامل التصحيح

- ب – الجرعة الحقيقية المطلوب استخدامها في الحقل مقدرة على أساس كغم أو لتر /دونم مادة فعالة								-أ- قيمة الـ LD50 للمبيـــدات على نحـــــــل العسل
0.475	0.421	0.353	0.398	0.237	0.176	0.122	0.543	0.237
0.815	0.720	0.611	0.516	0.407	0.312	0.203	0.108	0.407
0.087	0.951	0.815	0.679	0.542	0.407	0.271	0.135	0.543
1.359	1.195	1.019	0.856	0.679	0.516	0.339	0.176	0.679
1.902	1.371	1.355	0.195	0.951	0.720	0.475	0.244	0.951
2.718	2.378	2.038	1.698	1.359	1.019	0.679	0.339	1.359
3.397	2.975	2.554	2.120	1.698	1.277	0.856	0.421	1.698
4.077	3.574	3.057	2.038	1.535	1.535	1.019	0.516	2.038
5.436	4.756	4.077	3.397	2.718	2.038	1.359	0.679	2.72
6.795	5.979	5.164	4.253	3.397	2.254	1.698	0.856	3.397
8.154	7.134	6.115	5.096	4.077	3.057	2.038	1.019	4.077
10.872	9.513	8.154	6.795	5.436	4.077	2.718	1.359	5.436
13.590	11.959	10.192	8.561	6.795	5.164	3.397	1.698	6.795
13.590	11.959	12.231	10.192	8.154	6.115	4.077	2.038	8.154
20.385	17.667	14.949	12.774	10.192	4.701	5.164	2.582	10.192
23.180	23.783	20.385	15.443	11.590	10.192	6.795	3.397	13.590

ج- عامل التصحيح	0.25	0.5	0.75	1.0	1.25	1.5	1.75	2.0



الشكل (77) مخطط للتنبؤ بنسبة القتل بالاعتماد على قيمة الميل وعامل التصحيح.

ج- يتم تعيين قيمة عامل التصحيح على يسار الشكل (77) وكذلك قيمة الميل .

ح- اسحب خطا مستقيما يوصل بين قيمة معامل التصحيح والميل ثم اسحبه ليتقاطع مع الخط يمين الشكل ومحل التقاطع يمثل قيمة القتل المتوقعة في نحل العسل عند استخدام مبيد الديازينون بجرعة 200غم / دونم .

<u>2 – تحديد سمية مستحضرات المبيدات الميكروبية</u>

Determination Of Microbial Insecticides Toxicity

لتحديد سمية مستحضرات البكتريا *Bacillus thuringiensis* والبكتريا *Bacillus sphaericus* يجب مراعاة ما يأتي :-

أ- يجري اختبار الفعالية الحيوية (السمية) على أساس مقارنة الوفيات بين يرقات البعوض الناتجة عن استعمال المستحضر محل الاختبار بالوفيات الناتجة عن القياس المرجعي المناظر . وتقاس الفعالية الحيوية بوحدات السمية الدولية (ITU / مجم من المستحضر).

ب- يتوافر حاليا مسحوقين مرجعيين معترف بهما دوليا ، ويمكن بواسطتهما تحديد الفعالية الحيوية عن طريق إجراء تجارب حيوية باستخدام التحضيرات البكتيرية لمعاملة يرقات البعوض وفقا للطرائق الموضحة فيما بعد .

ت- تتم مقارنة سمية منتجات Bt بالنتائج المتحصل عليها من تجربة المسحوق المرجعي المجفف (مجفف في حالة التجمد) (IPS82 ، سلالة 1884) من هذا النوع من البكتريا على العمر المبكر من الطور اليرقي الرابع لبعوضة *Aedes aegypti*,(strain Bora Bora) . وقد اعتمدت سمية عشوائية لـ IPS82 تقدر بـ 15000 ITU/ ملغم من المسحوق عند معاملة هذه السلالة من البعوض .

ث- أما سمية منتجات Bsph فتحدد مقارنة بالمسحوق المرجعي المجفف (SPH88 ، سلالة 2362) من هذا النوع من البكتريا ، مع الطور اليرقي الرابع لبعوضة *Culex pipiens pipiens* (strain Montpellier) واعتمدت سمية عشوائية لـ SPH88 تقدر بـ 1700 ITU / ملغم من المسحوق عند معاملة هذه السلالة من البعوض.

جـ- يمكن تحديد سمية كافة المستحضرات البكتيرية *Bti* أو *Bsph* بالمقارنة مع هذه المساحيق العيارية . وتقدر سمية المنتجات المختبرة (ITU / ملغم) وفقا للمعادلة التالية :-

$$\text{التركيز العياري للمنتج المختبر (ITU/ ملغم)} = \frac{\text{تع x LC50 للمسحوق القياسي (ملغم / لتر)}}{\text{LC50 (ملغم / لتر) للمنتج المجهول (X)}}$$

حيث أن :

تع= التركيز العياري للمسحوق القياسي (ITU / ملغم)

يجب التعامل مع هذا الاختبار بحرص في حالة استخدام مسحوق قياسي مرجعي بديل قاتل لليرقات و / أو سلالة بديلة من البعوض ، حيث أن ذلك يؤدي حتما إلى اختلاف في النتائج المتحصل عليها . ويجب القيام بمعايرة دقيقة للبدائل المستخدمة (المسحوق القياسي و / أو سلالة البعوض) مقابل المساحيق المرجعية و / أو السلالات المحددة في الفقرات السابقة ، ومن الأفضل أن تقوم مجموعة مستقلة من المختبرات البحثية ذات الخبرة بأجراء تلك المعايرة . يجب أن تكون المساحيق / السلالات البديلة وبيانات المعايرة الداعمة لاستخدامها متاحة لكل من يرغب في استعمال أو في مراجعة هذا الاختبار باستخدام تلك البدائل.

الأجهزة والمواد المستخدمة في الاختبار:-

- حمام ثلجي (حاوية من الثلج المجروش).
- ميزان دقيق للتحاليل (مستوى الدقة ± 0.1 ملغم).
- ميزان كفة علوية (مستوى الدقة ± 10 ملغم) يفضل أن تكون له خاصية طرح الوزن الفارغ من الوزن الإجمالي .

- ماء غير مؤين.
- معامل تبليل (مثل Tween 80) .
- كاس زجاجي (من Borosilicate) أو كاس من البلاستيك سعة 200 مل .
- زجاجة شفافة ، متسعة العنق ، بسدادة لولبية ، سعة 500 مل .
- زجاجة شفافة ، بسدادة لولبية ، سعة 100 مل .
- ماصة مدرجة صغرى (ميكروبيبيت) .
- ماصة مدرجة 10 مل .
- أنابيب من البلاستيك مزودة بسدادة أو غطاء ، سعة 12 مل.
- أكواب من البلاستيك أو الورق المغطى بالشمع ، سعة 200 مل .

خطوات تنفيذ الاختبار :

أ- إعداد المعلقات القياسية المرجعية لمعايرة اختبار السمية :

يجب التأكد قبل إعداد المعلق من أن تقليب / خلط معامل التبلل / الماء الوارد في الفقرة التالية لا يؤدي إلى تكون الرغاوي . وفي حالة تكون الرغاوي يخفف معامل التبليل قبل الاستخدام (1:10 مثلا).

يوزن 30 ملغم من المسحوق القياسي المرجعي بدقة (يقرب الوزن إلى 0.1 ملغم) ويفرغ في كاس سعة 200 مل به 100 مل من الماء غير المؤين (يمكن إفراغ هذا الوزن في زجاج سعة 500 مل مباشرة إذا كان عنقها بالاتساع الكافي الذي يسمح بدخول رأس جهاز التقليب / الخلاط) . يترك الخليط لمدة 30 دقيقة حتى يستقر ، وتضاف قطرة صغيرة من معامل التبليل (حوالي 0.2 ملغم) . يوضع الكأس في حمام الثلج ويقلب أو يخلط لمدة دقيقتين ، يتم التأكد بصريا من عدم وجود جسيمات كبيرة بعد الخلط ، ويكرر التقليب / الخلط في حالة وجودها . توزن الزجاجة سعة 500 مل (ويطرح وزنها من الوزن الإجمالي النهائي) ، ثم تفرغ بها محتويات الكأس (المعلق / المحلول) مع الاهتمام بشطف الكأس وجهاز التقليب / الخلط بعناية ، للتأكد من إفراغ كافة محتويات الكأس . يستكمل الوزن ليصل إلى 500 غم (500 مل) بإضافة مزيد من الماء المؤين ، ثم تغلق الزجاجة وترج بشدة لخلط محتوياتها و تفحص عينة صغيرة بواسطة الميكروسكوب للتأكد من عدم بقاء كتل من ابواغ الجراثيم والبلورات ، وفي حالة وجودها يعاد تقليب / طحن المحتويات من جديد في حمام ثلجي . يحتوي هذا المعلق / المحلول الابتدائي على تركيز 1 ملغم/ 10 مل ، ويجب رجه بشدة قبل سحب العينات منه مباشرة .تنقل أجزاء متساوية ، كل منها 10 مل ، من المحلول / المعلق الابتدائي إلى أنابيب نظيفة سعة 12 مل وتوضع سدادات الأنابيب ، أو تغلق مباشرة بعد ذلك . في حالة نقل عدد من الأجزاء ، يراعى وضع السدادة ورج المعلق / المحلول الابتدائي على فترات لا تزيد عن 3 دقائق ، حيث أن ابواغ الجراثيم والبلورات

تترسب في الماء بسرعة . يمكن تخزين الأجزاء المنقولة إلى الأنابيب لمدة شهر كامل عند 4 درجة مئوية ، أو لمدة عامين عند درجة -18 درجة مئوية ، وتحتوي كل أنبوبة على 1 ملغم من المسحوق القياسي.

توزن زجاجة سعة 100 مل (ويطرح وزنها من الوزن الإجمالي النهائي) لإعداد المحلول الأم . يفرغ في الزجاجة احد محتويات الأنابيب ، ويراعى شطف الأنبوبة بعناية مرتين على الأقل باستخدام الماء غير المؤين ، ويستكمل الحجم إلى 100 مل(100 غم) بإضافة مزيد من الماء المؤين . يرج الخليط جيدا (أو يستخدم خلاط) للحصول على معلق متجانس . يجب إعادة التجانس تماما إلى الأجزاء المجمدة قبل استخدامها ، حيث أن الجسيمات قد تتجمع أثناء عملية التجميد ، يحتوي المحلول الأم على تركيز 10 ملغم / لتر.

تحضر كافة التخفيفات المستخدمة بعد ذلك من المحلول الأم مباشرة في أكواب من البلاستك تحتوي على 150 مل من الماء غير المؤين (تعين بالوزن) .تنقل إلى كوب ، 20 يرقة حديثة الانسلاخ من الطور الرابع لبعوضة *Aedes aegypti* (في حالة اختبار مستحضر *Bti*) أو *Culex pipiens* (في حالة اختبار مستخلص *Bsph*) بواسطة ماصة Pasteur ، وذلك قبل إضافة المعلق البكتيري . يتم التخلص من المياه الزائدة التي دخلت إلى محتويات الكوب مع يرقات البعوض المنقولة إليه ، وذلك بوزن الكوب وسحب المياه الزائدة وطرحها إلى الخارج .باستخدام الماصة الصغرى (الميكروبييت) تسحب الأحجام التالية من المحلول الأم وتضاف إلى أكواب منفصلة 600 ، 450 ، 300 ، 150 ، 120 ، 75 ميكروليتر . تخلط المحاليل جيدا للحصول على تركيزات نهائية قيمها 0.04 ، 0.03 ، 0.02 ، 0.01 ، 0.008 ، 0.005 ملغم /لتر ، بالترتيب من المسحوق القياسي المرجعي . تجرى 4 تكرارات متطابقة لكل تركيز ، بالإضافة إلى تكرار واحد ضابط للمقارنة . يحتوي التكرار الضابط على 150 مل ماء غير مؤين فقط.

ب- إعداد معلقات المستحضر محل الاختبار :

لاختبار سمية تحضيرات المنتجات الجافة (WT , WG , WP , TK) غير معروفة السمية ، يتم تحضير معلق متجانس من المادة موضع الاختبار بنفس الطريقة المتبعة مع المسحوق القياسي المرجعي باستثناء أن القياسات التكرارية تجرى على تخفيفات يتم إعدادها بوزن أجزاء منفصلة من المستحضر ، أي انه يجب إعداد 4 تكرارات من المعلق / المحلول الابتدائي .

أما في حالة اختبار سمية مستحضر سائل (SC) فيجب رج المستحضر بقدر كاف ثم وزن 100 ملغم منه بدلا من 50 ملغم (بحيث يصبح تركيز المحلول الأم 20 ملغم / لتر) . تعد أكواب التجارب واليرقات والتخفيفات المستعملة فيها بنفس الطريقة المتبعة عند اختبار المسحوق القياسي المرجعي .

عند تحديد سمية المنتجات غير المعروفة السمية ، تجري اختبارات تحديد النطاق الفعال ، باستخدام نطاق واسع من التركيزات أولا ، ثم تستخدم النتائج

لتحديد نطاق أضيق من التركيزات في اختبارات أكثر دقة لتحديد سمية المستحضر .

تحديد السمية :

لا تحتاج تجارب تحديد سمية مستحضرات *Bti* إلى إضافة غذاء ليرقات *Aedes}* . أما التجارب التي تستخدم فيها يرقات *Culex* فيضاف إلى الماء مستخلص ناعم من الخميرة (1.5 ملغم) ويخلط جيدا للحصول على تركيز 10 ملغم / لتر . تجري التجارب عند 28± 2 درجة مئوية تحت نظام إضاءة / ظلام (12 ساعة / 12 ساعة) ينبغي الحفاظ على الرطوبة النسبية في حدود 50 ± 15 % إن أمكن ، وذلك لتجنب الآثار السلبية التي قد تترتب على تبخر الماء في ظروف الرطوبة المنخفضة .

ينبغي أن تتضمن كل مجموعة من اختبارات الحيوية 6 تركيزات x 4 تكرارات x 25 يرقة بالنسبة للمسحوق القياسي المرجعي والمستحضر ، و 100 يرقة بالنسبة للتجربة الضابطة . يهدف الاختبار إلى تحديد نطاق من التركيزات يتسبب في وفيات نسبة تتراوح بين 5-95% من اليرقات (حيث يوجد 100 يرقة تحت الاختبار) . ثم يحسب التركيز نصف المميت LC50 مع تجاهل البيانات التي تتسبب في حدوث صفر أو 100% وفيات . تستخدم التركيزات التي تتسبب في وفيات تتراوح بين 95 و 5 % فقط ، في إعداد منحنى سليم عن الجرعة – الاستجابة ، على أن تتضمن نقاط المنحنى نقطتين لتخفيفين على الأقل أعلى من التركيز نصف المميت LC50 ونقطتين اقل منه ، وذلك لضمان صلاحية المنحنى . قد يتطلب الاختبار استخدام 6 مجموعات من التركيزات قليلة الاختلاف وذلك تبعا لحساسية مستعمرة البعوض المستخدمة .

تحدد الوفيات بعد 24 ساعة و48 ساعة ، وذلك بعد اليرقات المتبقية . في حالة تكون عذارى ، يجب إخراجها من التجربة وخصم أعدادها من الحسابات . يعتبر الاختبار غير صالح إذا تحول أكثر من 5% من اليرقات إلى عذارى ، حيث انه من الضروري أن اليرقات لا تتغذى خلال الساعات الأربع والعشرين التي تسبق تكوين العذارى . مما يعني أن عددا كبيرا من اليرقات التي استمرت حية لم تتناول الغذاء بسبب تقدمها في العمر واقترابها من التحول إلى عذارى . لا توجد اختلافات، عادة ، بين أعداد الوفيات عند 24 ساعة و48 ساعة ، ويرجع ذلك إلى التأثير القاتل السريع لبكتريا *Bti* . في هذه الحالة يعتبر عدد الوفيات بعد 48 ساعة تأكيدا لعدد الوفيات المسجل 48 ساعة ، كما يعتبر هذا العدد بمثابة مراجعة لتأثير أية عوامل محتملة ، غير مكونات *Bti* وفي المقابل تسجل الوفيات الناتجة عن استعمال مستحضرات *Bsph* بعد 48 ساعة ، وذلك بسبب بطء التأثير القاتل للبكتريا .

في حالة تخطي الوفيات في التجربة الضابطة نسبة 5% فيجب تصحيح الوفيات في مجموعة اليرقات المعاملة بالمستحضر باستخدام معادلة ابوت Abbott .

$$\text{نسبة الموت المصححة} = \frac{\text{\% للموت في الاختبار} - \text{\% للموت في المقارنة}}{100 - \text{\% للموت في المقارنة}} \times 100$$

لا يعتد بالتجارب التي تتجاوز وفيات المجموعة الضابطة فيها نسبة 10% أو التي يزيد فيها عدد اليرقات التي تتحول إلى عذارى عن 5% . يمكن رسم خطوط التراجع للمنحنى البياني الخاص بالتركيز – الوفيات على ورق رسم بياني لوغاريتمي، غير أن هذا الأمر يرجع إلى القائمين على التجربة . ومن الأفضل استخدام برنامج إحصائي يتضمن التحليل الاحتمال للوغاريتمات مثل برنامج Probit.exe والذي لا يتطلب استخدام معادلة ابوت حيث يقوم البرنامج أوتوماتيكيا بالتصحيح . تحدد سمية المستحضر المجهول بتقدير الجرعة نصف المميتة له ومقارنتها بتلك المتحصل عليها للتحضيرات القياسية المرجعية ، باستخدام الصيغة التي سبق توضيحها . تعين سمية مستحضرات *Bti* من خلال تحديد الوفيات بعد 24 ساعة من المعاملة ، بينما تعين سمية مستحضرات *Bsph* من خلال تحديد الوفيات بعد 48 ساعة .

ينبغي تكرار تجربة الفعالية الحيوية في ثلاثة أيام مختلفة على الأقل لكل من المستحضر محل الاختبار والتحضير القياسي المرجعي ، وذلك لزيادة مستوى الدقة . ثم تحدد المتوسطات الحسابية والانحراف المعياري للنتائج . وتعتبر نتائج الاختبار صالحة إذا كان الانحراف المعياري النسبي RSD أو معامل التباين CV اقل من 25%.

ت- توفير اليرقات المستخدمة في الاختبار :

تستخدم في الاختبار يرقات الطور الرابع للتعبير عن الحساسية الإجمالية للمجموعة المستهدفة ، وذلك لسهولة التعامل معها . من المهم للغاية استخدام مجموعة متجانسة عمريا تتكون من يرقات العمر المبكر من الطور اليرقي الرابع ، والذي تصل إليه اليرقات خلال 5 أيام من الفقس باستخدام طرائق التربية القياسية .

تضع بعوضة *Aedes aegypti* بيضها في أكواب مملوءة حتى ثلثها بماء غير مؤين ، ومبطنة بورق ترشيح . يجفف الورق في درجة حرارة الغرفة ويمكن الاحتفاظ بالبيض لعدة شهور في أكياس بلاستيكية محكمة الإغلاق عند درجة حرارة الغرفة . عند الاحتياج لليرقات تغمر الأوراق في ماء منزوع الكلور . لضمان تزامن فقس البيض ، يضاف غذاء اليرقات إلى الماء 24 ساعة قبل غمر البيض ، بحيث يؤدي نمو البكتريا خلال تلك الفترة إلى نزع الأوكسجين الذائب في الماء مما يترتب عليه إطلاق فقس البيض، إذ يفقس الطور الأول خلال ألاثني

عشر ساعة التالية.تنقل هذه اليرقات إلى حاوية (25 x 25 سم عمق) تحتوي على 2 لتر من الماء منزوع الكلور ، بحيث نحصل على مجموعة من 500-700 يرقة في كل حاوية . تحفظ درجة حرارة الحاوية عند 25 ± 2 درجة مئوية ، ويقدم غذاء لليرقات يتكون من قشور البروتين المستخدمة لتغذية اسماك أحواض الزينة ، أو من مسحوق بسكويت القطط مثلا ، على أن يراعى تقديم كميات قليلة من الغذاء لتجنب حدوث نمو بكتيري زائد يؤدي إلى موت اليرقات ، من الأفضل أن تتكرر التغذية عدة مرات بفاصل زمني يوم أو يومين ، مع الملاحظة اليومية لليرقات ، وعند تعكر المياه يتم تغييرها وذلك بفصل اليرقات عن طريق الترشيح ونقلها إلى حاوية أخرى بها غذاء ومياه نظيفة ، وبعد 5-7 أيام نحصل على مجموعة متجانسة العمر من يرقات في مرحلة مبكرة من الطور اليرقي الرابع (عمرها 5 أيام وطولها 4-5 ملم).

أما بالنسبة لبعوضة *Culex pipiens* pipiens ، فيصعب الحصول على مجموعة متجانسة من الطور اليرقي الرابع . يتطلب الأمر أولا ، تجميع عدد كبير من أطواف البيض حديثة الوضع في نفس اليوم ، ويمكن تخزينها عند 15-18 درجة مئوية حتى يتم تجميع عدد مناسب من البيض لبدء المجموعة . لا ينبغي نقل يرقات الطور الرابع حيث أنها رقيقة الجسم . بعد 3-4 أيام من وضع البيض تنسلخ اليرقات إلى الطور اليرقي الثاني (في درجة حرارة 25 ± 2 درجة مئوية . تجمع يرقات الطور الثاني في طبق متسع يحتوي على 3 لترات من الماء (منزوع الكلور) بعمق 4-6 سم ، وبكثافة تتراوح بين 800- 1000 يرقة في كل طبق . يقدم الغذاء عند الاحتياج (مستخلص الخميرة وبسكويت القطط أو الكلاب) تصل يرقات المجموعة إلى العمر المبكر من الطور اليرقي الرابع المناسب لإجراء الاختبار خلال 7 أيام وفي بعض الأحيان يتطلب ذلك 8-9 أيام .

3– اختبار دليل السمية المزمنة Chronicity Index :

يعتمد هذا الاختبار على تقدير قيمة الجرعة أو التركيز النصفي القاتل بعد معاملة 1 يوم و 90 يوما أي (1-Dose Ld50) , (90-Dose Ld50) ويتم الحصول على هذه القيم تجريبيا من خلال تقديم مجموعة متدرجة من الجرعات أو التراكيز تحت المميتة للكائن الحي وذلك لفترة زمنية تقدر بحوالي عشر فترة حياة الحيوان المستخدم في الاختبار والتي تقدر بحوالي 90 يوما في الفئران وعام كامل في الكلاب ، وقد تبين للباحثين انه بتقدير كل من قيمة الجرعة المميتة النصفية الفموية بعد 90 يوما فانه يمكن إدخال هذه القيم في معادلة رياضية ومن ثم يمكن حساب قيمة دليل السمية أو التأثير المزمن باستخدام المعادلة الآتية :

Chronicity Index = (1-Dose LD50)/ (90-Dose LD50)

وتكون وحدة القياس ملغم / كغم وإذا كانت النتيجة مساوية لـ 2 أو أكثر فان للمبيد تأثيرا تراكميا أما إذا كانت النتيجة اقل من 2 فان ذلك يعني أن للمبيد المختبر تأثيرات تراكمية قليلة .

4 – اختبارات الأورام السرطانية Carcinogenesis Test :

إن الأورام السرطانية هي نتاج عملية نمو الخلايا بصورة غير مسيطر عليها ويطلق على المواد المسببة للأورام السرطانية بالمسرطنات Carcinogenic ويتم هذا الاختبار بإتباع الخطوات التالية :

أ- تعريض حيوان الاختبار (فئران ، جرذان ، أرانب) لأعلى جرعة من المادة الكيميائية المختبرة والتي يمكن للحيوان أن يتحملها ، وتعطى هذه الجرعة يوميا لنفس الحيوانات وبنفس طريقة التعريض التي استخدمت في المرة الأولى ، ويفضل استخدام طريقة تعريض مشابهة للطريقة التي يتعرض بها الإنسان للمادة الكيميائية تحت الاختبار .

ب- تستمر هذه العملية لفترة تتراوح بين 18 – 24 شهرا .

ت- ترك حيوانات من نفس النوع والعمر بدون معاملة للمقارنة .

ث- مع تقدم الحيوانات بالعمر تبدأ الأورام السرطانية بالظهور حيث يتم مقارنتها بالحيوانات غير المعاملة .

جـ- بعد موت الحيوانات يتم تشريحها ودراسة الأورام السرطانية .

ولكي يتم اعتبار المادة الكيميائية مسببة للأورام السرطانية لابد من أن تنطبق عليها إحدى النقاط التالية :

جـ-أ) حدوث الأورام في الحيوانات المعاملة في الغالب .

جـ-ب) حدوث الأورام حالا في الحيوانات المعاملة مقارنة بالحيوانات غير المعاملة.

جـ-ت) ظهور أورام مختلفة الأشكال في حيوانات الاختبار .

جـ-ث) ظهور الأورام بأعداد اكبر من ظهورها في الحيوانات غير المعاملة .

5– اختبار التشوهات Teratogenesis test :

والمقصود بها هي عملية إنتاج تشوهات خلقية في أفراد الجيل الناتج نتيجة تسبب بعض الكيميائيات في إحداث تغيرات في تركيب ووظيفة الأعضاء عند تعرض الجنين لها قبل الولادة ومن هذه المواد مادة Thalidomide إلا أنها لا تؤثر على الصفات الوراثية للجيل الناتج ، لذلك فان هذه التشوهات تكون مرتبطة بأفراد الجيل الناتج فقط دون انتقالها إلى الأجيال التالية . هذا الاختبار يمكن أن يمر بالمراحل التالية:

المرحلة الأولى :

يتم تعريض ذكور الجرذان للمادة الكيميائية لمدة شهرين وتعرض الإناث لمدة 14 يوما ثم يسمح لها بالتزاوج . بعد ذلك تستمر معاملة الأنثى بالمادة

الكيميائية خلال فترة الحمل لحين وضع الصغار حيث يتم فحصها وملاحظة الأعراض الناتجة عن التعرض للمادة الكيميائية .

المرحلة الثانية :

وفيها يتم إعطاء المادة الكيميائية لنوعين من الحيوانات الحوامل خلال الفترة الحساسة من الحمل وهي فترة تكون أعضاء الجنين ، بعد ذلك يتم إخراج الجنين بعملية قيصرية ثم تفحص الأجنة لملاحظة التشوهات .

المرحلة الثالثة :

وفيها يتم تعريض الحيوانات الحوامل للمادة الكيميائية في الثلث الأخير من فترة الحمل ، وهي الفترة الأقل حساسية وفيها يفحص الصغار بعد الولادة .

في الاختبارات الثلاثة يتم مقارنة النتائج مع الحيوانات في معاملة المقارنة ، لتحديد نسبة الأفراد المشوهة في حيوانات المعاملة والمقارنة .

6- اختبار التكاثر Reproduction Test:

لبعض المواد الكيميائية تأثير في الجهاز التناسلي فمنها ما يؤدي إلى زيادة الذرية ومنها ما يسبب العقم في الإنسان والحيوان على السواء . ويتم هذا الاختبار بتعريض ذكور وإناث الجرذان للمادة الكيميائية ثم يسمح لها بالتزاوج ويتم بعد ذلك حساب عدد الأفراد الناتجة ومقارنتها مع حيوانات غير معاملة لملاحظة طبيعة تأثير تلك المادة في عملية التكاثر .

7- اختبارات السمية الجلدية Dermal Toxicity :

وصف طريقة الاختبار Description of Test Method:

يتم اختيار نوع الحيوان المعامل ، حيث توجد عدة أنواع من حيوانات التجارب الثديية الممكن استخدامها ، ويفضل استخدام القوارض كالفئران والأرانب وكذلك خنازير غينيا لتقييم السمية الجلدية . ويجب أن تكون الحيوانات المختارة صحيحة الجسم ومتماثلة في الحجم والوزن ، إذ تختار الفئران التي يتراوح وزنها بين 200- 300 غم وبالنسبة للأرانب 2 – 3 كغم وبالنسبة لخنازير غينيا 350 – 450 غم . أما الأعداد من الحيوانات فتكون بكل معاملة 10 (5 ذكور ، 5 إناث) . ويجب أن تكون الإناث المستخدمة في الاختبار بالغة وعذراء . يتم قبل المعاملة بخمسة أيام اختيار الحيوانات عشوائيا وتقسم على مجموعات وتعلم ثم تؤقلم على ظروف الاختبار ، ويتم إزالة الشعر بالحلاقة من المساحة الظهرية للجذع ، كما يجب ألا تقل المساحة المعاملة عن 10 % من مساحة سطح الجسم ، ثم تنظف بالكحول . تكرر عملية الحلاقة أسبوعيا في حالة تكرار التعريض .

الإعاشة والتغذية Housing and Feeding:

تربى الحيوانات معزولة وبصفة فردية أو في مجاميع حسب الجنس في حجرة تربية الحيوانات تحت درجة حرارة 23 ± 3 ْ م بالنسبة للفئران و20 ± 2 ْم بالنسبة للأرانب . وتكون درجة الرطوبة بين 30 – 70 % ، ونظام الإضاءة المتعاقب (12 ساعة إضاءة يعقبها 12 ساعة ظلام) .

تتم التغذية على بيئة صناعية تقليدية تحتوي على جميع الاحتياجات الغذائية للنوع المختبر وخالية من الشوائب . أما مياه الشرب فليس هناك تقييد على كمياتها شريطة أن تكون مياه معقمة ونظيفة.

ظروف الاختبار Test Conditions :

يجب أن يكون عدد الجرع أو التراكيز كافيا وبثلاث مستويات على الأقل وان تكون التركيزات متدرجة ومتباعدة وضمن مدى التأثيرات السامة حتى يتسنى رسم منحنى الجرعة – الاستجابة .يجب أن لا تسبب الجرع وقوع أفراد ميتة حتى لا تعيق عملية التقييم الحيوي .

الاختبارات Tests:

تقسم السمية الجلدية إلى اربعة أنواع وفيما يلي طريقة اختبار كل منها :

آ – السمية الجلدية الحادة Acute Dermal Toxicity :

وفيها يتم التعرض لجرعة واحدة من مادة الاختبار عن طريق الجلد (ملغم / كغم من وزن الجسم) . ويتم تعريض الجلد لمجموعات من الحيوانات المختبرة لوقت محدد مرة واحدة للمادة المختبرة في عدة جرعات متدرجة التركيز ، كل منها تعطى لمجموعة من الحيوانات (معاملة) ولمدة 6 – 7 ساعات . يتم تدوين الملاحظات عقب التعريض بما فيها الموت الحادث بعد 24 ساعة ، أما المقارنة فتعامل بالمذيب فقط . بعدها يتم تشريح الحيوانات التي تموت أثناء الاختبار أما التي مازالت على قيد الحياة فتذبح وتشرح إذا كان ذلك ضروريا ، أما إذا كانت أعراض السمية متأخرة ومنها الموت (وان الملاحظات غير محددة بدقة) فان فترة الملاحظة عقب التعريض مباشرة تستمر لمدة 14 يوما .

ب- السمية الجلدية شبه المزمنة Sub – Chronic Dermal Toxicity :

وفيها يتم تعريض جلد مجموعات من الحيوانات المختبرة للمبيد يوميا ولمدة 90 يوما ولوقت محدد في عدة جرعات متدرجة التركيز كل منها تعطى لمجموعة من الحيوانات .ويتم تدوين الملاحظات عقب كل تعريض يوميا ولمدة 90 يوما مع ملاحظة أن تعامل المقارنة بالمذيب فقط .يتم على أثرها تشريح الحيوانات التي تموت أثناء الاختبار ، والتي مازالت على قيد الحياة فتذبح وتشرح . أما من حيث وقت التعريض للمادة المختبرة والتي تكون في تلامس تام مع السطح المعرض فيستمر لمدة 5 – 7 ساعات يوميا لمدة 90 يوما .

ت – السمية الجلدية المزمنة Chronic Dermal Toxicity :

وفيها يتم تعريض جلد مجموعات من الحيوانات المختبرة يوميا ولمدة سنة كاملة ولوقت محدد للمادة المختبرة في عدة جرعات متدرجة التركيز كل منها يعطى لمجموعة من الحيوانات . يستمر تدوين الملاحظات عن الحيوانات المعاملة لمدة سنة كاملة بعد المعاملة ، ويتم في نهاية الفترة تشريح الحيوانات التي تموت أثناء الاختبار أما التي مازالت على قيد الحياة فتذبح وتشرح . تعامل المقارنة بالمذيب فقط . وتكون فترة التعريض 5 – 7 ساعات يوميا لمدة سنة وقد تكون لمدة 2 – 7 سنة .

ث- الالتهاب أو التآكل الجلدي الحاد Acute Dermal Irritation /Corrosion:

تعامل المادة المختبرة على الجلد بصورة جرعة منفردة للحيوانات المختبرة ، في نفس الوقت يستخدم حيوان كمقارنة ، وتدون الملاحظات عن تأثيرات الالتهاب (الآثار الجلدية) بعد المعاملة بالمادة المختبرة على فترات حيث يتم تقييم كامل للتأثيرات وتكون فترة التقييم الكامل للتأثيرات العكسية وغير العكسية ، فالتآكل الجلدي هو النتيجة غير العكسية للتلف النسيجي بالجلد عقب المعاملة بالمادة المختبرة جلديا . يعامل مكان الاختبار بحوالي 0.5 غم من المادة السامة الصلبة نثرا ، ويجب ترطيبها قبل نثرها بالماء للتأكد من التلامس التام لسطح الجلد بالمساحة المعاملة . أما بالنسبة للمواد المختبرة السائلة فيؤخذ نصف مل بدون تخفيف . أما بالنسبة للمواد المختبرة السائلة الحامضية (Ph = 2 فاقل) أو القلوية (Ph = 11 فأكثر) فلا تحتاج لإجراء اختبار أولي لها لتأثيرها ألتآكلي . تستمر فترة التعريض 4 ساعات بعدها تزال آثار ومتبقيات المركب بالغسيل بالماء أو المذيب المناسب . يتم تسجيل أعراض الإثارة الجلدية خلال 30 دقيقة ثم 24 ، 48 ، 72 ساعة من إزالة متبقيات المبيد من على السطح المعامل وأماكن الضرر والتأثيرات السامة الخاصة بالسمية الجلدية الحادة.

الفحص Examination :

يتم التسجيل الدوري المنتظم للملاحظات كما تحدث بالترتيب ، كذلك تسجل الملاحظات الفردية الظاهرة لكل حيوان بكل معاملة خاصة اليوم الأول عقب المعاملة . كذلك يتم تسجيل أي ملاحظات إضافية أخرى قد تكون مهمة وضرورية حتى يتسنى تقليل الفقد في عدد الحيوانات المدروسة ، علما بان هذه الفحوصات لا تشمل الالتهاب أو التآكل الجلدي الحاد :

آ – الفحص ألسريري Clinical Examination:

يجري كل يوم على الأقل حيث تسجل الملاحظات خاصة الارتجاف والانقباضات واللعاب والإسهال والنعاس غير السوي والغيبوبة ووقت الموت ، كذلك الأعراض الناشئة عن التغيير بالجلد والجفن خاصة العلوي والأغشية المخاطية والعين وكذلك الأعراض الناشئة عن الوظيفة اللاإرادية للجهاز التنفسي

والدوري والعصبي المركزي والنشاط الحركي ونمط السلوك .كما يتم تشريح الحيوانات الميتة أو تجميدها لحين تشريحها وفحصها مورفولوجيا لتسجيل الأعراض والتغيرات المرضية أو بعزل الحيوانات الضعيفة والمحتضرة لذبحها وتشريحها للغرض السابق . ويتم حساب التغير في الوزن عند الموت كذلك معدل استهلاك الطعام أسبوعيا قبل وبعد الاختبار كما يجب التأكد من أن النقص في عدد الحيوانات بالمعاملات مصدره الموت وليس الافتراس أو التحلل الذاتي أو الهرب .

ب- الفحص الباثولوجي Pathological Examination :

يتم بفحص أعراض السم على الحيوانات التي تم تشريحها وتسجيل التغيرات المرضية والمورفولوجية والداخلية للأعضاء المستهدفة كالكبد والكلى والبنكرياس والخصية (المبيض) ، فهي تعطي معلومات أكثر فائدة من التي ماتت بعد التعريض مباشرة أو بعد 24 ساعة حيث توزن الأعضاء قبل جفافها ويمكن حفظها بمحاليل فسيولوجية لاحتمال فحصها هستولوجيا مع ملاحظة أي نموات خطرة على الأعضاء أو تشوهات أو تغيرات وزنيه أو وجود أضرار .

ت- فحص الدم Hematology Examination :

يتضمن الفحص تقدير الهيماتوكريت Hematocriete والهيموكلوبين وعدد كريات الدم الحمراء والبيضاء بأنواعها وقياس جهد التجلط والذي يتضمن وقت التجلط ووقت تكون البروثرومبين والثرومبوبلاستين وعدد الصفائح الدموية ، خاصة تقديرها في نهاية الاختبار .

ث- الفحص الكيميائي الحيوي Biochemical Examination :

ويجري بنهاية الاختبار على الكائنات التي ما زالت على قيد الحياة (شبه مزمنة ومزمنة) فتقاس وظائف الكبد والكلى مثل :

- تقدير الصوديوم والكالسيوم والكلور والفسفور و البوتاسيوم و الكلوكوز .

- تقييم النشاط الإنزيمي لإنزيمات:

Glutamic - Pyruvic Transaminase (GPT)

Glutamic Oxalo- Acetic Transaminase (GOT)

Ornithine Dicarboxylase (ODC)

Cholinesterase

- تقدير محتوى اليوريا والنايتروجين والألبومين وكريات الدم والبيليروبين الكلي والبروتين الكلي وتحليل الدهونات والهورمونات والميثيموهيموكلوبين والحموضة والقاعدية وتحليل الإدرار.

ج- الفحص النسيجي Histological Examination :

يجري على الأعضاء السابق فحصها باثولوجيا لملاحظة التغيرات المرضية النسيجية مقارنة بمجاميع المقارنة من خلال عمل قطاعات وتصبغ بصبغات خاصة لبيان مناطق الضرر كالمخ والنخاع والقشرة وفص الشم والغدة الدرقية والثيموس والبنكرياس والطحال والكبد والادرينال والغدد اللعابية وأعضاء التناسل والمرئ والمعدة وألاثني عشر والأمعاء الدقيقة والغدد اللمفاوية والعصب المحيطي للعين .

ثانيا : زيادة فاعلية المبيد

Increase The Effectiveness Of Pesticide

عملية زيادة فاعلية المبيد أو المركب الكيميائي تعد اليوم احد الحلول المقترحة لخفض مشكلة التلوث البيئي بالمبيدات وذلك بخفض استخدام المبيدات بتراكيز عالية وذلك باستخدام المواد المؤازرة أو المقوية لغرض تحقيق ما يأتي :

1) تقليل الكميات المستخدمة من المبيدات وخفض الكلفة الاقتصادية لعملية المكافحة .

2) كسر صفة المقاومة .

3) تحسين خواص وصفات المبيد المستخدم .

وعلى العموم فان زيادة فاعلية المبيد تحدث بواحدة أو أكثر من الآليات أو الميكانيكيات الآتية:

أولا) التفعيل بالإضافة Activation by Adding:

ويقصد بها زيادة فاعلية المبيد بإضافة مادة أخرى تخلط مع المبيد بنسبة معينة لزيادة فاعليته ، وتشمل تلك العملية :

<u>1- التآزر Synergism :</u>

وتحدث عملية التآزر نتيجة إضافة مادة للمبيد تزيد من فاعلية المبيد دون أن يكون لها تأثير سام على الكائن الحي عند استخدامها بمفردها . والمادة المؤازرة تسلك هنا سلوك العامل المساعد في التفاعلات الكيميائية . والمادة المؤازرة إما أن تعمل على تسهيل عملية نفاذ المبيد ووصوله إلى موقع التأثير أو أنها تزيد من نشاط وحركة الكائن المستهدف وبذلك تزيد من قابلية الكائن على التقاط المبيد أو أن المادة المؤازرة ترتبط مع المنظومات الدفاعية الموجودة في أجسام الكائنات والتي تعمل على تأيض السموم والمواد الغريبة Xinobiotics مثال ذلك تثبيط بعض المواد المؤازرة لإنزيمات الأكسدة مختلطة الوظيفة Mixed Function Oxidases (MFO) المهمة في أيض المبيدات في الحيوانات مما يعطي المبيد فرصة اكبر في مهاجمة المواقع الحساسة في جسم الحيوان.

التقوية Potentiation :

وتنتج عن خلط مركبين كل منهما سام بطبيعته وتصبح قوة المخلوط الناتجة اكبر من قوة كل منهما عند استخدامه بمفرده وعند التعبير عن زيادة مستوى الاستجابة بمصطلح التقوية يلزم معرفة أي من مواد الخلط ترجع إليها زيادة درجة الاستجابة ، ويطلق عليها في هذه الحالة بالمقوي Potentiator . وإذا كان المقوي في هذه الحالة مبيد آخر فيطلق على عملية التقوية بالفعل المشترك Joint Action وهناك نوعين من التأثير المشترك :

أ) **الفعل المشترك المستقل Independent Joint Action** : ويسمى أيضا بالفعل المشترك غير المتشابه وذلك عندما تكون طريقة تأثير المبيد المضاف مختلفة مع طريقة تأثير المبيد الآخر .

ب) **الفعل المشترك المعتمد Dependent Joint Action** : ويسمى بالفعل المشترك المتشابه ، وذلك عندما تكون طريقة تأثير المبيد المضاف متشابهة مع طريقة تأثير المبيد الآخر .

أما إذا كانت نتيجة الخلط سلبية أي أن عملية الخلط أدت إلى خفض فاعلية المبيد فان هذه الحالة تسمى بالتضاد Antagonism أي تكون قوة الخليط اقل من قوة تأثير كل مادة عند استخدامها بمفردها .

وهناك عدة معادلات تستخدم لحساب التقوية أو معامل السمية المشتركة Co-toxicity Coefficient عند خلط مبيدين معا وكما يأتي :

معادلة Johnson عام 1960 :

Co toxicity Coefficient =Acute Toxicity Index of Mixture x 100 / Theoretical Toxicity Index of Mixture

- معادلة Mansour وآخرين عام 1966:

Co Toxicity Factor ={ Observed Mortality (%) – Expected Mortality (%)} / Expected Mortality (%).

إذا كانت النتيجة + 20 فأكثر فتعتبر تقوية .

إذا كانت النتيجة – 20 فأكثر فتعتبر تضاد.

إذا كانت النتيجة مابين – 20 ، + 20 فتعتبر إضافة .

- معادلة Salem عام 1970 :

Co Toxicity Factor ={ Acute Dose of A In Mixture / Estimated Dose of A Singly } – {Acute Dose of B In Mixture / Estimated Dose of B Singly} x 100

إذا كانت النتيجة +25 % فأكثر فتعتبر تقوية .

إذا كانت النتيجة – 25 % فأكثر فتعتبر تضاد .

إذا كانت النتيجة بين -25 ، +25 فتعتبر إضافة .

ثانيا - التنشيط Activation:

وفيه يصبح المركب الكيميائي بعد دخوله جسم الكائن الحي أكثر فاعلية من المركب الأصلي بسبب التغيير في التركيب الكيميائي للمركب بفعل الإنزيمات مثل إزالة ذرة كبريت من المركب حيث تتحول الآصرة P=S إلى P=O أو إضافة مجموعة (OH) أو غيرها من التفاعلات ومن ذلك مثلا تحول الباراثيون الى الباراكسون .

طرائق قياس تفعيل المبيد بالإضافة

Pesticide Activating by Adding Measurement Methods

قبل التطرق إلى طرائق قياس التفعيل بالإضافة لابد من استعراض خطوات إجراء التجارب أو لاختبارات المتعلقة بذلك والتي يمكن إجمالها في النقاط التالية :

1) تحديد المادة أو المواد المطلوب دراسة تأثيرها التفعيلي .

2) تحديد المبيد أو المبيدات التي سيتم دراسة التاثير التفعيلي للمواد التي تم تحديدها في الخطوة (1) وبعدة تراكيز لا تقل عن ثلاثة وعدة مكررات لكل تركيز .

3) تهيئة حيوانات الاختبار المرباة تحت ظروف قياسية من درجات حرارة ورطوبة وتقسيمها إلى مجاميع يشكل كل منها مكرر .

4) تعريض حيوانات الاختبار للمادة المفعلة فقط بمختلف تراكيزها .

5) تعريض مجموعات أخرى من حيوانات الاختبار للمبيدات بتراكيزها المختلفة .

6) تعريض مجموعات أخرى من حيوانات الاختبار لمخاليط تراكيز المبيدات مع تراكيز المادة المفعلة والتي تكون بنسب معينة (كان تكون 1 مادة مفعلة : 5 مبيد) .

7) معاملة المقارنة بالمبيد .

8) تحسب نسبة القتل وتصحح ثم ترسم خطوط السمية لحساب قيم LC50 للمبيد منفردا وللخليط لحساب نسبة التفعيل وتحديد فيما إذا كان التفعيل قد تم بالمؤازرة Synergism أم بالتقوية Potentiation ويمكن تحقيق ذلك باستخدام إحدى الطريقتين الآتيتين :

1- حساب نسبة التآزر للمواد غير السامة

Calculate The Proportion Of The Synergism Of Non-Toxic Materials

ويتم اعتماد هذه الطريقة عندما تكون المادة المفعلة غير سامة (مادة مؤازرة فقط) ويتم تحديد فيما إذا كانت المادة المفعلة غير سامة أو سامة من نتيجة الخطوة (4) من خطوات إجراء تجارب التفعيل . ومن ثم استخدام معادلة Metcalf لحساب نسبة المؤازرة .

$$\text{نسبة التنشيط بالمؤازرة} = \frac{LC50 \ \text{للمبيد}}{LC50 \ (\text{للمبيد + المادة المؤازرة})}$$

كما يطلق على المؤازرة مصطلحات أخرى مثل النشاط التآزري Synergistic Activity أو المعامل المساعد للتآزر Co- Toxicity Coefficient أو تأثير المؤازر Synergistic Effect .

مثال:

في تجربة لدراسة التأثير ألتازري لبعض الزيوت النباتية المستخلصة من بذور بعض الأعشاب الضارة في مبيدات الدلتامثرين 2.5% سوميسيدين 50% ، وسايبرمثرين 40% ، تم تجهيز تراكيز المبيدات المستخدمة وذلك بإذابتها في أسيتون مقطر ، ثم تمت معاملة حشرات خنفساء الطحين المتشابهة *Tribolium confusum* وذلك برش 1 مل من كل تركيز للمبيد وبواقع ثلاث مكررات / تركيز بواسطة برج بوتر على 2 غم من طحين الحنطة ، أما معاملة المقارنة فقد عوملت بالأسيتون المقطر فقط ، حيث وضع في كل طبق 25 حشرة بالغة وبعمر 3 – 4 أيام ثم وضعت الأطباق بعد التغطية في حضان على درجة 25 $\pm$ 5°م ورطوبة نسبية 70 $\pm$ 5 % أخذت القراءات بعد 24 و 72 ساعة من المعاملة ، تم بعد ذلك حساب نسبة القتل وتحديد قيمة LC50 . أعيدت نفس التجربة السابقة وذلك بخلط كل من المبيدات السابقة بصورة منفصلة مع الزيوت المستخدمة وبنسبة 1 : 5 (مبيد : زيت) أما معاملة المقارنة فقد عوملت بالزيوت المذابة بالاسيتون . أخذت القراءات بعد 24 و 72 ساعة من المعاملة وتحديد نسبة القتل وقيمة LC50 بعد تصحيح نسبة القتل في كلتا التجربتين باستخدام معادلة Abbott . ما هي نسبة التازر المتوقعة للزيوت المستخدمة ؟

الحل:

أ) : يتم رسم خطوط السمية للمبيدات الثلاثة المستخدمة وحدها ثم يتم رسم خطوط السمية لمخلوط كل مبيد مع كل زيت من الزيوت المطلوب اختبار تأثيرها التازري.

ب) : تحديد قيمة الجرعة أو التركيز القاتل لـ 50% لكل مبيد ولكل من مخاليط المبيدات والزيوت . انظر الجدول (22).

الجدول (22) التأثير التازري لزيوت بذور بعض الأدغال.

نـــوع الزيـــت المضاف	قيمة الـLC50 للمبيدات ومخاليطها ppm			نسبة التازر		
	سايبرمثرين	دلتامثرين	سوميسيدين	سايبرمثرين	دلتامثرين	سوميسيدين
بدون زيت	90	280	330	-	-	-
زيت الكطب	95	100	340	0.95	2.8	0.97
زيت الكعوب	90	290	340	1.00	0.96	0.97
زيت الزيوان	100	230	330	0.90	1.22	1.00
زيت الخباز	90	288	340	1.00	0.97	0.97
زيت الداتورة	110	185	280	0.81	1.51	1.17
زيت الكلغان	90	284	330	1.00	0.98	1.00

ت) : يتم حساب نسبة التازر بإتباع المعادلة الآتية :

$$\text{نسبة التآزر} = \frac{\text{قيمة الـــ LC50 للمبيد}}{\text{قيمة الـــ LC50 للمخلوط (المبيد + الزيت)}}$$

فمثلا لحساب نسبة التآزر لزيت الكطب على مبيد الدلتامثرين

$$= \frac{280}{100} = 2.8 \text{ وهكذا}$$

مما سبق يتضح أن لبعض الزيوت تأثيرا تآزريا جيدا في مبيد الدلتامثرين بينما لم تظهر الزيوت تأثيرا تآزريا مع مبيدي السايبرمثرين والسوميسيدين .

2- حساب التآزر للمواد السامة

Calculation Of The Synergism Of Toxic Substances

إن طريقة Metcalf تعد واحدة من أهم الطرائق المعتمدة في حساب نسبة التازر للمواد غير السامة . إلا أن هذه الطريقة تكون غير مفيدة عندما يكون للمادة المؤثرة تأثيرا قاتلا و مؤازرا في آن واحد . وعليه فان السؤال الذي يطرح نفسه هنا ، هو كم هي نسبة المؤازرة ونسبة التقوية في المادة موضوعة الدراسة ؟

وللإجابة على هذا السؤال فقد تمكن الجبوري من إجراء تعديل على طريقة Metcalf لكي يتم حساب نسبة التآزر بعد استبعاد نسبة التقوية والتي تمثل نسبة القتل التي تحدثها المادة المفعلة في حيوانات الاختبار . ويمكن تلخيص استخدام الطريقة المعدلة بالخطوات التالية :

أ) إيجاد نسبة القتل المصححة للتراكيز المستخدمة لكل من المادة المفعلة في زيادة فاعلية المبيد والمبيد كلا على انفراد .

ب) أيجاد نسبة القتل المصححة للتراكيز المستخدمة من الخليط.

ت) تصحيح نسبة القتل للخليط باستخدام معادلة Abbott وذلك للتخلص من التأثير القاتل للمادة المفعلة والتي تمثل نسبة التقوية وبذلك يتم الإبقاء على تأثيرها التآزري وكما في المعادلة الآتية :

$$\text{\%القتل المصححة للخليط} = \frac{\text{\% القتل للخليط} - \text{\% القتل للمادة المنشطة عند التركيز المستخدم في الخليط}}{100 - \text{\% القتل للمادة المنشطة عند التركيز المستخدم في الخليط}} \times 100$$

ث) ارسم خطوط السمية للخليط والمبيد كلا على انفراد من النسب المئوية المصححة للقتل لحساب قيم LC50 أو LD50 لكل من المبيد والخليط .

ج) حساب نسبة التأثير التآزري من معادلة Metcalf

$$\text{نسبة التأثير التآزري} = \frac{\text{قيمة } LC50 \text{ للمبيد}}{\text{قيمة } LC50 \text{ للخليط}}$$

إذا كانت نتيجة المعادلة مساوية لواحد أو أكثر فهذا يعني أن هناك تأثيرا تآزريا للمادة ، أما إذا كانت نتيجة المعادلة اقل من واحد فهي تضاد Antagonism.

3- حساب نسبة التفعيل بالإضافة للمواد السامة

Calculate the proportion of activation by adding to toxic substances

بما أن المواد السامة لها تأثيرين في أن واحد متمثلا في تأثيرها السام وتأثيرها التآزري فان هذا يعني أن لها تأثيرا مقويا للمبيد الأصلي ، ويتم حساب نسبة التفعيل بالإضافة بطريقة معادلة Metcalf وكما يأتي:

$$\text{نسبة التفعيل بالاضافة} = \frac{\text{قيمة } LC50 \text{ للمبيد}}{\text{قيمة } LC50 \text{ للخليط}}$$

4- حساب نسبة التقوية للمواد السامة

Calculating the Proportion of Potentiation For Toxic Substances

تحسب من المعادلة الآتية :

نسبة التفعيل بالإضافة = نسبة التقوية + نسبة التآزر

مثال:

في تجربة لدراسة التأثير ألتآزري لمادتي Piperonyl butoxide (غير سامة) وزيت بذور الكلغان (سام) في مبيد الدلتامثرين 2.5% مركز قابل للاستحلاب ، تم تجهيز تسع تراكيز لكل من المبيد والمواد المؤازرة وذلك بإذابتها في أسيتون مقطر ، ثم تمت معاملة حشرات خنفساء الطحين المتشابهة *Tribolium confusum* وذلك برش 1 مل من محلول كل تركيز للمبيد والمؤازرات وبواقع ثلاث مكررات / تركيز بواسطة برج بوتر على 2 غم من طحين الحنطة ، أما معاملة المقارنة فقد عوملت بالأسيتون فقط ، حيث وضع في كل طبق 25 حشرة بالغة وبعمر 3 – 4 أيام ثم وضعت الأطباق بعد التغطية في حضان على درجة 25 ± 5°م ورطوبة نسبية 70 ± 5 % . أعيدت نفس التجربة السابقة وذلك بخلط ثلاثة تراكيز من زيت الكلغان هي 0.1 ، 0.2 ، 0.3 % مع ثلاثة تراكيز من مبيد الدلتامثرين هي 0.02 ، 0.04 ، 0.06 % كلا على انفراد وبنسبة 1:5 (مبيد : مادة مؤازرة) نفس العملية كررت مع مادة الـ Piperonyl butoxide . أخذت النتائج بعد 24 ساعة وكانت نسب القتل المصححة كما في الجدولين (23 و24) :ما نوع التازر وما نسبته لكل من Piperonyl butoxide وزيت الكلغان ؟

الجدول (23) التأثير القاتل لمبيد دلتامثرين وزيت الكلغان والبايبيرونيل بيوتوكسيد على خنفساء الطحين المتشابهة .

المبيد أو المنشط	النسبة المئوية للقتل بعد 24 ساعة من معاملة الحشرة بالتراكيز (%)									
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
دلتامثرين	0	0.0	0.0	2.5	15.0	32.5	60.0	72.5	85.0	100
زيت الكلغان	0	0.2	4.0	7.0	12.5	20.0	27.5	32.5	40.0	52.5
بيبيرونيل بيوتوكسيد	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

الجدول (24) التأثير الكلي لمخاليط مبيد الدلتامثرين والمؤازرات في خنفساء الطحين المتشابهة

الخليط	تركيز الخليط %		% للقتل
	مؤازر	مبيد	
زيت الكلغان + مبيد الدلتامثرين	0.1	0.02	21.5
	0.2	0.04	27.5
	0.3	0.06	40.0
بيبيرونيل بيوتوكسيد + مبيد الدلتامثرين	0.1	0.02	10.0
	0.2	0.04	17.5
	0.3	0.06	22.5

الحل :

نحسب التراكيز الكلية للزيت والمبيد في الخليط لكون الأحجام المأخوذة منهما مختلفة حيث اخذ من الزيت جزء واحد مع خمسة أجزاء من المبيد وعليه فان التراكيز الموحدة لهما تساوي :

(ح1 x ت1) +(ح2 x ت2) = ح ن x ث ن

بالنسبة للتركيز الأول للخليط :

كان تركيز الزيت 0.1 % وحجمه 1

وتركيز المبيد 0.02 % وحجمه 5

إذا : (1 x 0.1) + (5 x 0.02) = 6 x ت

ت= 0.033 % التركيز الأول للخليط.

وهكذا سيكون التركيز الثاني للخليط = 0.07%

والتركيز الثالث = 0.15

وهذا ما ينطبق على خليط البيبيرونيل والمبيد.

وعليه فان الجدول أعلاه سيصبح كما يلي:

الخليط	تركيز الخليط %			% للقتل
	مؤازر	مبيد	التركيز الموحد	
زيت الكلغان + مبيد الدلتامثرين	0.1	0.02	0.033	21.5
	0.2	0.04	0.07	27.5
	0.3	0.06	0.15	40.0
بيبيرونيل بيوتوكسيد + مبيد الدلتامثرين	0.1	0.02	0.033	10.0
	0.2	0.04	0.07	17.5
	0.3	0.06	0.15	22.5

في حالة كون المواد المؤثرة في سمية المبيد غير سامة أي مؤازرة يمكن إيجاد نتائج التآزر بطريقة Metcalf وكما يأتي:

أ- يتم رسم خط السمية للمبيد ولمخلوط المبيد مع البيبيرونيل بيوتوكسيد (الشكل 78).

ب- تحديد قيمة الجرعة أو التركيز القاتل لـ 50% للمبيد ولمخلوطة من خط السمية والتي كانت للمبيد = 0.60 ، وللخليط = 0.44.

ت- يتم حساب نسبة التازر بإتباع المعادلة التالية:

نسبة التازر= قيمة الـ LC50 للمبيد / قيمة الـ LC50 للخليط.

=0.44/0.60 =1.36

أما في حالة كون المواد المؤثرة سامة أو غير سامة : فتستعمل الطريقة المعدلة من قبل (الجبوري) وكما يلي :

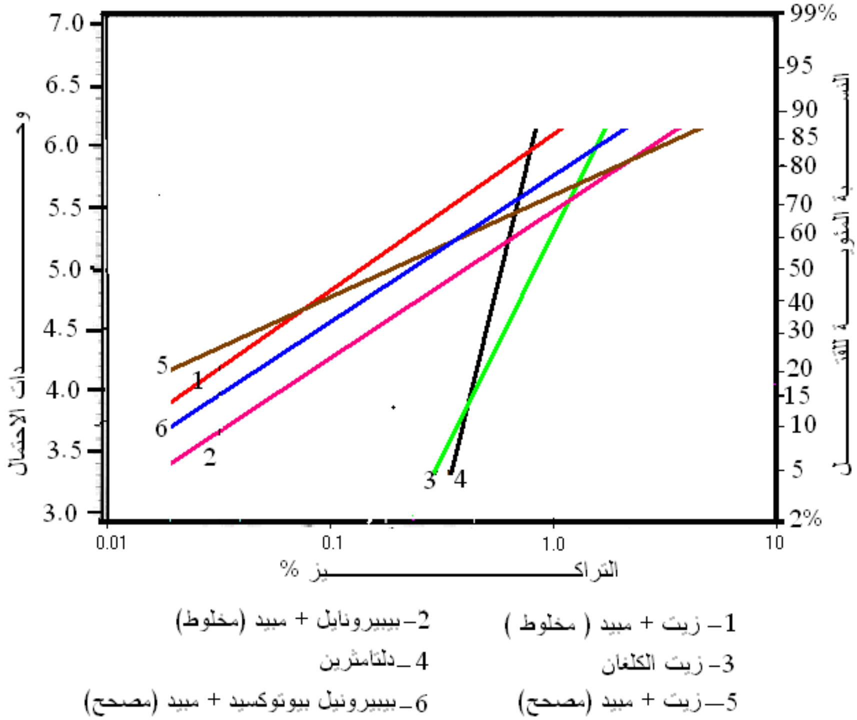
أ- نجد % للقتل لكل من المؤثرة في السمية والمبيد (الجدول 23) .

ب- نجد % للقتل للمخاليط (الجدول 24) .

ت- نجد % للقتل للمواد المؤثرة في سمية المبيد عند التركيز المساوي لكمية المؤثر في الخليط . فمن الجدول (23) نجد أن تركيز زيت الكلغان في الخليط كانت 0.3 % والتي قتلت عند استخدامها لوحدها 7.0%. وهكذا بالنسبة للجرعتين الثانية والثالثة واللتان هما 0.2 و0.1 % إذ بلغت تلك النسب 4 و 2 % على التوالي ، أما فيما يتعلق بتراكيز البايبيرونيل بيوتوكسيد في المخلوط فقد كانت 0.3 ، 0.2 و 0.1 % والتي قتلت عند استخدامها لوحدها صفر ، صفر و صفر %.

ج- نصحح % للقتل للمخاليط ، وذلك باستخدام معادلة ابوت للتخلص من التأثير القاتل للزيوت والإبقاء على تأثيرها ألتآزري للمبيد وكما يلي :

$$\text{للقتل المصححة للخليط \%} = \frac{\text{\% للقتل للخليط} - \text{\% للقتل للمادة المنشطة عند التركيز المستخدم فى الخليط}}{100 - \text{\% للقتل للمادة المنشطة عند التركيز المستخدم فى الخليط}} \times 100$$



الشكل (78) :خط السمية لمبيد الدلتامثرين وبعض المواد المؤثرة في السمية ومخاليطها في خنفساء الطحين المتشابهة .

ففي حالة مخلوط زيت الكلغان مع الدلتامثرين :

% للقتل المصححة عند تركيز المبيد 0.06%=(40 – 7) x 100/(100 -7) = 35.48 %

وهكذا بالنسبة لبقية التراكيز (جدول 25)

أما بالنسبة لمخلوط البايبيرونيل بيوتوكسيد مع الدلتامثرين :

% للقتل المصححة عند تركيز المبيد 0.06% =(22.5 – صفر) x 100/(100 –

صفر)= 22.5%

وهكذا بالنسبة لبقية التراكيز (جدول 25).

الجدول (25) : تأثير المبيد المؤزر ببعض المؤازرات في خنفساء الطحين المتشابهة .

الخليط	تركيز الخليط%	% للقتل

	منشط	مبيد	المصححة
زيت الكلغان + مبيد الدلتامثرين	0.3	0.06	35.48
	0.2	0.04	24.48
	0.1	0.02	20.00
بيبيرونيل بيوتوكسيد + مبيد الدلتامثرين	0.3	0.06	22.50
	0.2	0.04	17.50
	0.1	0.02	10.00

ح- نرسم خطوط السمية للمخاليط من النسب المئوية للقتل المصححة مع تركيز المبيد لنحصل على (الشكل 79) الذي نستخرج منه قيم LC50 للمخاليط المستثنى منها التأثير القاتل للمادة المؤازرة (التركيز للمبيد فقط وليس للمجموع).

خ- نحسب نسبة التآزر من العلاقة :

نسبة التآزر= قيمة الـ LC50 للمبيد / قيمة الـ LC50 للمبيد ضمن الخليط

بالنسبة للزيت مع مبيد الدلتامثرين = 0.15/0.56 = 3.73 تقوية .

فيما كانت نسبة التآزر للمبيد مع البايبيرونيل بيوتوكسيد = 0.56 / 0.28=2 تنشيط مؤازرة.وكما موضح في (جدول 26).

الجدول (26) التأثير ألتنشيطي لزيت الكلغان و البايبيرونيل بيوتوكسيد مع مبيد الدلتامثرين ضد خنفساء الطحين المتشابهة طبقا للطريقة المعدلة .

المخلوط	قيمة LC50 للمبيد المنشط	نسبة التازر
دلتامثرين	0.6	-
دلتامثرين +زيت الكلغان	0.19	3.15
دلتامثرين + بيبيرونيل بيوتوكسيد	0.25	2.4

ملاحظة:

إذا كانت % للقتل المصححة سالبة الإشارة فإننا نرسم خط السمية لها على ورق البروبيت المتدرج من الأعلى إلى الأسفل (الشكل 79).وعند ذلك ستكون

قيمة LC50 سالبة (حيث تمثل تلك القيمة مقدار الانخفاض في قيمة LC50 للمبيد والذي سببته المادة المضافة إلى المبيد) وبالتالي سيكون التأثير تضاد.

د- نجد نسبة التفعيل كما يأتي :

$$\text{نسبة التفعيل بالاضافة} = \frac{\text{قيمة LC50 للمبيد}}{\text{قيمة LC50 للخليط}}$$

بالنسبة لمبيد الدلتامثرين مع زيت الكلغان :

= 0.6 / 0.16 = 3.75 وهي نسبة التقوية والتآزر معا.

ذ- نجد نسبة التقوية للمواد السامة اعتمادا على المعادلة السابقة :

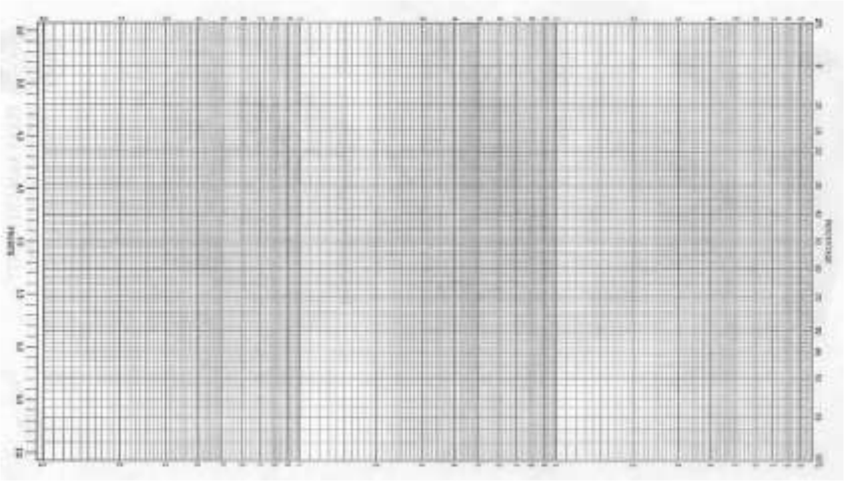
نسبة التفعيل بالإضافة = نسبة التقوية + نسبة التآزر

إذا: نسبة التقوية = نسبة التفعيل بالإضافة – نسبة التآزر

= 3.75 - 3.15 = 0.6 نسبة التقوية .

بالإضافة إلى نسبة التآزر فان هناك معيار آخر للمواد المفعلة وهو :

ميل الخط : ويفيد في تحديد طريقة فعل المؤازر أو المقوي ، فإذا كان الميل متساوي في حالة إضافة المؤازر او المقوي أو عدم إضافته أو كان الميل تقريبا متساوي دل هذا على أن طريقة التأثير لم تختلف بإضافة المؤازر او المقوي ، أي أن المادة عملت على زيادة دخول المبيد إلى جسم الكائن المختبر عن طريق الجلد مثلا وذلك نتيجة لان السمية قد ازدادت بإضافة تلك المادة كما يدل على ذلك قيمة LC50 . أما إذا اختلف الميل فهذا يعني أن المادة المضافة عملت على زيادة فعالية المبيد على مواقع التأثير في جسم الحشرة . وعلى العكس فان التضاد في حالة تساوي الميل يعني أن المادة قد عملت على تقليل أو إعاقة المبيد على الدخول إلى جسم الكائن المختبر وإذا كان الميل مختلف فان ذلك يعني أن المادة قد عملت على قلة فاعلية المبيد على مواقع التأثير في جسم الكائن المختبر.



Concentration or Dosage

الشكل (79) : ورقة Log – probit المتدرجة من الأعلى إلى الأسفل .

1) درجة التنشيط Degree Of Activation :-

تعتمد هذه الطريقة على إعطاء درجة للتعبير عن قوة التنشيط الحاصلة بفعل خلط مركبين معا وذلك باستخدام معادلة Plackett و Hewlelt وكما يأتي :

$$\text{درجة التنشيط} = \frac{50 - (P2 + P1)}{50} \times 100$$

حيث أن :

P1 = نسبة القتل الحاصلة في حيوانات الاختبار عند استخدام التركيز أو الجرعة القاتلة من المبيد لـ 50% من حيوانات الاختبار.

P2 = نسبة القتل في حيوانات الاختبار الناتجة عن استخدام التركيز أو الجرعة من المخلوط القاتلة لـ 50% من حيوانات الاختبار .

وعندما يكون ناتج المعاملة = صفرا دل ذلك على عدم وجود تنشيط وكلما اقتربت النتيجة من الـ 100 دل ذلك على وجود تأثير تنشيطي ، أما في حالة التضاد فان القيمة الناتجة تكون سالبة .

أيضا يمكن استخدام هذه المعادلة وبنفس الطريقة لحساب درجة التنشيط بالمؤازرة أو بالتقوية .

مثال :

في تجربة لدراسة التأثير التنشيطي لزيت السمسم في مبيد السوبراسيد وجد أن نسبة القتل لمبيد السوبراسيد كانت 30% عند استخدامه بالجرعة القاتلة لـ

50% من حيوانات الاختبار بينما أعطت نفس الجرعة نسبة قتل مقدارها 45 % لخنافس اللوبيا الجنوبية عند استخدامها مخلوطة مع زيت السمسم بنسبة 1:1 (مبيد : زيت) . والمطلوب حساب درجة التنشيط .

$$\text{درجة التنشيط} = \frac{50 - (p2 + P1)}{50} \times 100$$

$$= \frac{50 - (40 + 30)}{50} \times 100 = 40$$

إذا هناك تأثير تنشيطي جيد لزيت السمسم في مبيد السوبراسيد .

الطرائق الكمية لقياس التأثير التنشيطي أو ألتضادي

يقاس تأثير مخاليط المبيدات على الحشرات بقيم كمية لدرجة الاستجابة معبرا عنها إما بالموت أو التأثير الصاعق Knockdown . وعموما إذا أخذنا في الاعتبار الفعل المشترك للمواد ذات النشاط الفسيولوجي على الحشرات فأن درجة الاستجابة سوف تكون دالة لجرعات المواد المستخدمة ولزمن إجراء المعاملة وكذلك لزمن ملاحظة درجة الاستجابة ، ولذلك إذا كانت المعادلة بمادتين فسوف يكون عدد العوامل المختلفة المتداخلة تساوي ستة ، وبالتالي فأن تجربة تأثير الفعل المشترك لمبيدين يجب أن تكون عن طريق استخدام المبيدين في محلول واحد ، وعلى ذلك فأن زمن المعاملة سيكون واحدا بالنسبة للاثنين . وكذلك فأن تثبيت زمن تقدير درجة الاستجابة سيؤدي إلى تثبيت اكبر عدد ممكن من العوامل المختلفة المؤثرة على التجربة.

ولقد كان Bliss هو أول من فكر في تقديم تفسير كمي لدرجة الاستجابة لمخاليط المبيدات . كما أنه ميز ثلاثة أنواع من الفعل السام المشترك وهي :

1- فعل مشترك مستقل – وعليه يكون مخلوط سمين – تأثيرهما الفسيولوجي السام مختلف ومستقل .

2- فعل مشترك متماثل وفيه يكون طريقة فعل السمين متماثلة .

3- الفعل المنشط وهذا الأخير يشمل كل الأنواع الأخرى للفعل المشترك . والتضاد في هذه الحالة هو التنشيط السالب.

ولقد عمم Plackett , Hewlett معاملة Bliss لدرجة الاستجابة لسموم تعمل مستقلة وعلى الأخص عن طريق احتمال وجود ارتباط سالب لدرجة الاحتمال Negative Correlation of Tolerances وعلى ذلك وضعا المعادلات التالية :

إذا اعتبرنا أن نسبة الحشرات التي تتأثر بالمبيدين 1 ، 2 هما P1، P2

وأن P هي نسبة الحشرات المتأثرة بالمعاملة المشتركة من المبيدين بنفس الجرعات .

وإذا طبقنا ذلك على الفعل المستقل عندما تكون درجة الاحتمال مرتبطة ارتباطا موجبا كلية فنجد أن :

$$P = P1 \text{ or } P2$$ أيهما اكبر

وفي حالة درجات احتمال غير مرتبطة فأن :

$$P = P1 + P2 - P1P2$$

أما إذا كانت درجة الاحتمال مرتبطة ارتباطا سالبا كلية فأن المعادلة تصبح

$$P = (P - P2) \text{ or } 100$$ أيهما اقل

وبالتالي يمكن حساب درجة التنشيط أو التضاد عند مستوى الجرعة التي تقتل 50 % من الأفراد LD_{50} للفعل المشترك المستقل كالآتي:

$$\frac{(P1 + P2) - 50}{50} \times 100$$

وإذا لم يوجد تنشيط فسوف تكون قيمة المعادلة صفرا على أساس أن :

$$P1 + P2 = 50$$

أما إذا كان المبيدان غير نشطين بمفردهما واظهرا نشاطا كبيرا في المخلوط فأن قيمة المعادلة ستقترب من 100 . وفي حالة التضاد فأن القيمة الناتجة ستكون سالبة .

ولقد وضع Finney طريقة إحصائية لحساب درجة التنشيط في حالة ما إذا كانت المادتان في المخلوط لهما نفس التأثير الفسيولوجي وبالتالي تكون لهما خطوط سمية متوازنة ، ومن معادلة خط الانحدار Regression Line وضع Finney المعادلة الآتية لحساب درجة التنشيط .

$$Y = a + bx$$

حيث أن :

Y = درجة الاستجابة probit

a= ثابت

b= معامل الانحدار (ميل الخط)

x= لو الجرعة

وبما أن خطوط السمية متوازية فأن درجة التأثير النسبية P بين المركب الأول (المبيد) والمركب الثاني (المنشط) يمكن حسابها من المعادلة التالية :

$\log P = (a2-a1)\ b$ or $P= 10\ (a2-a1) / b$

ولقد قدر Finney درجة التنشيط $\triangle S$ من المعادلة الآتية :

$\triangle S = a2 - a1 - b\ \log (\pi 1 - P\ \pi 2)$

$\pi 1$ و $\pi 2$ هما نسبة كل من المركب (1) للمركب (2) في المخلوط على أساس أن

$\pi 1 + \pi 2 = 1$ كما أن Finney وضع معادلة أخرى لحساب معامل التنشيط K في المخلوط وهي كما يلي :

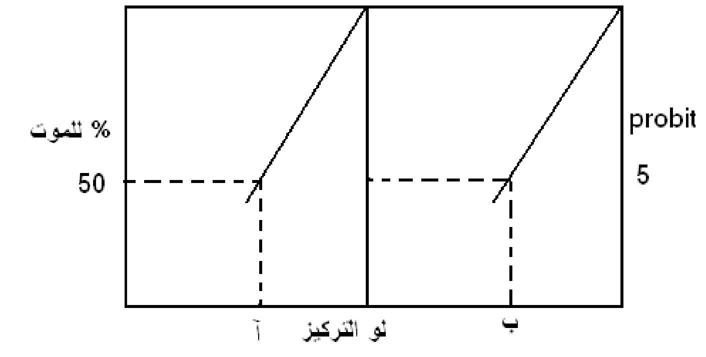
$$Y_m = a1 + b \log (\pi 1 + P\pi 2 + K\sqrt{P\pi 1 \times \pi 2}) + b\ x$$

حيث أن Y_m هي درجة الاستجابة للمخلوط Probit وتبعا لما ذكره Finney نجد أن K عندما تساوي صفرا فأنه لا يوجد أي زيادة في التأثير عند خلط المركبين . وإذا كانت قيمتها موجبة فيكون هناك تنشيط ، وإذا كانت قيمتها سالبة يكون هناك تضاد في التأثير .

وتوجد طريقة استخدمها Wadley يمكن استعمالها في حالة ما إذا كانت المادة المنشطة تظهر بعض النشاط لو استعملت بمفردها . وفي هذه الطريقة تحول كمية المادة المنشطة إلى ما يساويها من كمية المبيد عن طريق نسبة الموت التي تسببها ، وذلك يكون من خطوط السمية المقدرة لكل مادة منها على حدة . وبالتالي يكون تركيز المبيد في المخلوط يساوي تركيز المبيد المستخدم فعلا مضافا إليه كمية المادة المنشطة بعد تحويلها إلى ما يساويها من المبيد ، وتقارن نسبة الموت التي يحدثها المخلوط فعلا مع نسبة الموت المحسوبة نظريا من خط السمية للمبيد . كذلك يمكن من هذه الطريقة حساب نسبة التنشيط عند مستوى LD_{50} .

طريقة الحساب :

إذا كان المركبان في المخلوط 1 و 2 فيعمل لكل منهما خط سمية وتستخرج منه قيمة LD_{50} لكل بمفرده كالآتي :



أ ، ب هما قيمتا LD_{50} لكلا المركبين 1 ، 2

تؤخذ النسبة بين أ إلى ب بقسمة أ / ب

وبالتالي تحول كل التركيزات المستخدمة في المخلوط بالنسبة للمركب 1 كالآتي :

تركيز المخلوط بعد تحويل قيمة 2 يساويها من 1= تركيز 1 + تركيز 2 x أ / ب

ومن خط السمية للمبيد تستخرج نسبة الموت المتوقعة وتقارن بنسبة الموت الفعلية . ولحساب درجة التنشيط عند مستوى LD_{50} تستعمل المعادلة التالية :

$$\text{نسبة التنشيط (WSR)} = \frac{\text{كمية المبيد التي تقتل 50\% من الافراد عند استخدامه بمفردة}}{\text{كمية المبيد في المخلوط التي تقتل 50\% من الافراد بعد التعديل}}$$

والطريقة المستعملة على نطاق واسع في حالة ما اذا كانت المادة المنشطة ليس لها أي نشاط يذكر في مدى التركيزات المستخدمة في المخلوط ، وهي حساب التنشيط بأخذ النسبة بين قيمة LD50 للمبيد بمفرده الى LD50 للمبيد في المخلوط كما هو مبين من المعادلة الآتية:

$$\text{نسبة التنشيط} = \frac{\text{كمية المبيد التي تقتل 50\% من الافراد عند استخدامه بمفردة}}{\text{كمية المبيد التي تقتل 50\% من الافراد عند استخدامه مع المنشط}}$$

وتستخدم عدة اصطلاحات مختلفة لتعبر عن نسبة التنشيط وهي :

Cotoxicity Coefficient , Synergistic activity , Degree of Synergism , (SR) Synergistic ratio , Synergistic Effect.

ثالثا) التأثير الجاذب والطارد Attractions and Repellant Effects

إن إحدى البدائل التي يسعى العاملون في مكافحة الآفات إلى إشاعة استخدامها هي المواد الكيميائية التي تظهر تأثيرا طاردا أو جاذبا للآفات ، ويوجد العديد من المركبات الكيميائية التي تتميز بقدرتها على جذب الآفات ومنها الحشرات اعتمادا على حاسة الشم ومن هذه المواد ما يأتي :

a. مواد جاذبة جنسية Sex Attractants .

b. مواد جاذبة لوضع البيض Oviposition Attractants .

c. مواد جاذبة للتغذية Food Attractants .

أما المواد الطاردة فهي مواد عديمة أو قليلة السمية إلا أنها تمنع الضرر الذي يصيب النباتات أو الحيوانات بفضل تأثيرها الطارد وتستخدم المواد الطاردة في الحالات التي يتعذر فيها استخدام المبيدات لحماية الإنسان والحيوان

من مهاجمة بعض الآفات ولهذا يشترط في المواد الطاردة أن لا تسبب ضررا للإنسان أو الحيوان وبأي شكل من الأشكال . إن تحديد التأثير الجاذب والطارد لأي مادة كيميائية طبيعية أو صناعية يمكن أن يتم بواسطة العديد من الطرائق التي من أهمها ما يأتي :

طريقة الأنبوبة بشكل حرف (T) :-

هذه الطريقة استخدمت من قبل Geigy و Utzinger وتعتمد هذه الطريقة على ضخ تيار من الهواء يمر على حجرة أو قنينة تحتوي المادة المختبرة ليحمل رائحة المادة إلى حجرة تحوي مجموعة من الحشرات أو الكائنات المختبرة لملاحظة طبيعة الاستجابة التي تظهرها تجاه الرائحة .

طريقة قياس الانتحاء الكيميائي Chemotropometer :-

يستخدم في هذه الطريقة جهاز بسيط يتكون من صندوق خشبي قياس (98 x 20 x 20) سم وله غطاء متحرك ، وتوجد فيه فتحتان متقابلتان يمر فيهما أنبوب زجاجي بطول 100 سم وقطر 3 سم وفي وسط الأنبوب توجد فتحة لإدخال الحشرات فيها ، والأنبوبة الزجاجية مدرجة إلى سنتيمترات ، يسد طرفا الأنبوبة بقطع من القطن وتعامل قطعة القطن في احد الجوانب بـ 0.5 مل من المادة الكيميائية المطلوب اختبار تأثيرها الجاذب أو الطارد فيما تترك القطعة الأخرى بدون معاملة ، يتم إدخال الحشرات وبإعداد ثابتة لكل مكرر من الفتحة الوسطية ثم يتم تسجيل المسافة التي قطعتها الحشرات بعيدا عن أو باتجاه المادة الكيميائية بعد إطفاء نور الغرفة لمدة ربع ساعة ، تحسب النتائج باستخدام المعادلات الآتية :

$$\text{نسبة الجذب المئوية في المكرر} = \frac{\text{عدد الحشرات التي قطعت 25 سم عن المركز باتجاه المادة المختبرة}}{\text{المجموع الكلي للحشرات في المكرر}} \times 100$$

$$\text{نسبة الطرد المئوية في المكرر} = \frac{\text{عدد الحشرات التي قطعت 25 سم عن المركز عكس اتجاه المادة المختبرة}}{\text{المجموع الكلي للحشرات في المكرر}} \times 100$$

قوة الجذب =مجموع مسافات الحشرات باتجاه المستخلص / عدد المكررات .

قوة الطرد =مجموع مسافات الحشرات بالاتجاه المعاكس / عدد المكررات .

الموازنة : نسبة الجذب – نسبة الطرد = + جذب

- طرد

قوة الجذب – قوة الطرد = + جذب

- طرد

مثال :

في تجربة لتحديد التأثير الطارد والجاذب لبعض الزيوت المتطايرة المستخلصة من النارنج ، الينسون والأس في بالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callosobruchus maculates* باستخدام جهاز قياس الانتحاء الكيميائي وذلك بإدخال 10 حشرات بالغة / مكرر . تم بعد ذلك حساب عدد الحشرات المتحركة في الأنبوب ولمسافة 25 سم باتجاه الفتحتين ومنها تم حساب نسبة الجذب والطرد ونسبة الموازنة كما يلي(جدول 26):

الجدول (26) التأثير الجاذب والطارد لبعض الزيوت الطيارة .

اسم الزيت	معدل عدد الأفراد* المطرودة	معدل عدد الأفراد* المنجذبة	معدل المسافات للأفراد المطرودة (سم)	معدل المسافات للأفراد المنجذبة (سم)
زيت أوراق النارنج	4.3	1.7	352.5	157.5
زيت بذور الينسون	3.0	2.3	255.0	202.5
زيت أوراق الأس	4.7	1.2	382.5	120.0

كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات وكل مكرر يضم 10 حشرات .

نسبة الجذب لزيت أوراق النارنج = 1.7 x 100 /10 =17 %

نسبة الطرد لزيت أوراق النارنج = 4.3 x 100 / 10 = 43 %

الموازنة : نسبة الجذب - نسبة الطرد = 17 – 43 = - 26 طرد.

قوة الجذب لزيت أوراق النارنج = 157.5 / 3 = 52.5

قوة الطرد لزيت أوراق النارنج = 352.5 / 3 = 117.5

الموازنة : قوة الجذب – قوة الطرد = 52.5 – 117.5 = - 65

وهكذا بالنسبة لبقية أنواع الزيوت والتي يظهر الجدول (27) نتائجها .

الجدول (27) : نتائج التأثير الجاذب والطارد لبعض الزيوت المتطايرة .

اسم الزيت	النسبة المئوية لـ			قوة			التأثير
	الجذب	الطرد	الموازنة	الجذب	الطرد	الموازنة	
زيت أوراق النارنج	17	43	26-	52.5	117.5	65.0-	طرد
زيت بذور الينسون	23	30	7-	67.5	85.0	17.5-	طرد
زيت أوراق الأس	17	47	30-	40.0	127.5	87.5-	طرد

من الجدول السابق يتضح أن جميع الزيوت المتطايرة أظهرت صفة الطرد لهذه الحشرة وجاء زيت الأس بالمرتبة الأولى أعقبه زيت أوراق النارنج ثم زيت بذور الينسون حيث بلغت نسب الطرد 47 ، 43 ، 30% على التوالي .

رابعا) المقاومة والحساسية Resistance & Susceptibility

إن الآفة المقاومة لمبيد ما معناه أنها لا تقتل بالتركيزات التي كانت تقتلها في بداية استخدام ذلك المبيد وإنما يتطلب القضاء عليها استخدام جرعات أو تراكيز أعلى ورشات متعاقبة ، لذلك يمكن القول أن عملية استخدام المبيدات يشكل عامل ضغط انتخابي يعمل على تجميع الأفراد الحاملة لصفة المقاومة واستبعاد الأفراد الحساسة بما يؤدي في النهاية إلى أن يصبح اغلب أفراد مجموعة ذلك النوع مقاوم ، ومن المعروف أيضا أن هناك العديد من العوامل المؤثرة في ظهور صفة المقاومة منها عوامل خاصة بالمبيد وطريقة استخدامه وأخرى خاصة بالآفة من حيث الاختلاف في شكلها الظاهري والحالة الفسيولوجية والبايولوجية لها . كما أن المقاومة تختلف عن المناعة Immunity في كون المناعة إما أن تكون وراثية أو مكتسبة ، بينما المقاومة تورث فقط عن طريق انتقال ألجين أو الجينات الخاصة بالمقاومة من الآباء إلى الأبناء ولا يمكن للكائن الحساس أن يكتسب صفة المقاومة بل يبقى حساسا باستمرار والكائن المقاوم يبقى مقاوما ، والذي يحدث في مجموعة الكائنات المعرضة لضغط مبيد ما هو تغيير في نسبة الأفراد المقاومة إلى المجموع الكلي للأفراد .

إن اكتشاف صفة المقاومة لمبيد معين في نوع أو سلالة معينة من الكائنات يتطلب إجراء بعض الاختبارات لغرض تحديد درجة أو مستوى المقاومة . ومن أهم طرائق الكشف عن ظهور صفة المقاومة ما يأتي :

قياس نسبة المقاومة بدلالة السلالة الحساسة أو القياسية

Resistance Ratio Measurement By Susceptible Race

تعتمد هذه الطريقة على وجود سلالة حساسة قياسية من النوع المطلوب اختبار نسبة المقاومة فيه ويشترط في السلالة الحساسة القياسية أن تكون مرباة تحت ظروف مثالية من تغذية ودرجات حرارة ورطوبة ولم يسبق لها التعرض للمبيدات من قبل . ولتنفيذ هذا الاختبار تعتمد الخطوات التالية :

i. تعامل أفراد من السلالة الحساسة بعدة تراكيز من المبيد المطلوب دراسة ظهور المقاومة له وتحسب نسبة القتل وتصحح ويرسم خط السمية وتحسب قيمة الـ LC50 أو LD50 للمبيد على السلالة الحساسة .

ii. تكرر الخطوة (أ) مع أفراد من نفس النوع تجلب من الحقل الذي سبق معاملته بالمبيد ويعتقد ببدء ظهور صفة المقاومة للمبيد فيه .

ب- تحسب نسبة المقاومة من المعادلة الآتية :

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LC50 للسلالة او النوع الحقلي المختبر}}{\text{قيمة LC50 للسلالة الحساسة او القياسية}}$$

فـإذا كانـت نسـبة المقاومـة = 10 فـان ذلـك يعنـي أن السـلالة الحقليـة المختبـرة قد أصبحت سلالة مقاومة للمبيد المختبر.

وإذا كانت نسبة المقاومة = 6.5 فان ذلك يشير إلى أن السلالة الحقلية المختبرة قد أصبحت ذات تحمل فائق جدا للمبيد.

وعندما تصبح نسبة المقاومة = 2.9 فان ذلك يعني أن السلالة الحقلية المختبرة قد أصبحت ذات تحمل فائق للمبيد.

وإذا بلغت نسبة المقاومة = 2 فان ذلك يشير إلى أن السلالة الحقلية المختبرة ذات قدرة على تحمل المبيد .

أمـا عنـدما تكـون نسـبة المقاومـة =1 فـان ذلـك يعنـي أن السـلالة الحقليـة المختبـرة لازالت حساسة للمبيد بدرجة مساوية للسلالة المختبرة الحساسة .

إن صـعوبة انتخـاب سـلالة حساسـة والاطمئنـان إلـى حساسـيتها التامـة خـلال فتـرة زمنيـة محـددة يجعـل مـن اسـتخدام هـذه الطريقـة فـي حسـاب نسـبة المقاومـة أمـرا مشكوكا فيه.

قياس نسبة المقاومة بدلالة السلالة المقاومة

Resistance Ratio Measurement By Resistance Race

أساس هذه الطريقة يرجع إلى صعوبة انتخاب سلالة حساسة والاطمئنان إلى حساسيتها التامة خلال فترة زمنية محدودة في حين يسهل انتخاب سلالة مقاومة مختبريا من خلال تعريض السلالة الحقلية إلى ضغط انتخابي للمبيد المطلوب اختباره وبالتالي نستطيع بعد عدة أجيال محسوبة من الوصول إلى السلالة المقاومة تماما . ويتم انتخاب السلالة المقاومة من خلال عملية جمع أفراد مجتمع حشري معين مثلا من المناطق المعرضة لفعل المبيدات وتجلب إلى المختبر وتربى لجيل واحد ، يعقب ذلك تعريضها لتراكيز من المبيد المختبر (أي قياس نسبة المقاومة له) تقتل 75- 90 % ثم تترك الحشرات الباقية لتتكاثر لجيل آخر ثم تعامل أفراد هذا الجيل بنفس التركيز من المبيد وعند ذلك سنتخلص من الأفراد الحساسة جيلا بعد جيل وتبقى الأفراد المقاومة .

وعليه لو فرضنا أن لدينا عشيرة من الحشرات وتمثل الأفراد الحساسة فيها 98% من مجموعها والمقاومة تمثل 2% وان عدد الآباء في كل جيل 100 حشرة وان النسبة الجنسية 1:1 والكفاءة التناسلية للأفراد الحساسة والمقاومة متساوية نظريا وباستعمال مبيد حشري يقتل 90% من الأفراد في كل جيل فان صفة المقاومة ستظهر في الجيل الثالث، وكما في الجدول (28) .

الجدول (28): مراحل انتخاب السلالة المقاومة لاحدى الحشرات

الجيل	الحساسة	المقاومة	المجموع	% النظرية للقتل	% الفعلية للحساسة
الآباء	98	2	100	90	98
الأفـراد الباقيـة بعـد المعاملـة بالمبيد	9	2	11	90	
الجيل الأول	82	18	100	90	82
الباقية بعد المعاملة	8	18	26	90	
الجيل الثاني	30	70	100	90	30
الباقية بعد المعاملة	3	70	73	90	
الجيل الثالث	4	96	100	90	4
الباقية بعد المعاملة	-	96	96	90	

بعد تكوين السلالة الحشرية المقاومة يتم حساب نسبة المقاومة بدلالة السلالة المقاومة وفق الخطوات التالية :

أ- تعامل أفراد السلالة المقاومة بخمسة تراكيز مختلفة من المبيد المختبر وبواقع خمسة مكررات لكل تركيز إضافة إلى معاملة المقارنة ويوضع في كل مكرر عشرة حشرات وتحسب نسبة القتل بعد 48 ساعة من المعاملة ، تصحح نسبة القتل ويتم رسم خط السمية لإيجاد قيمة LC50 أو LD50 للسلالة المقاومة وستشكل هذه القيمة الأساس الذي يعتمد عليه في تحديد نسبة المقاومة للسلالة المختبرة أو الحقلية .

ب – ولتحديد قيمة LC50 أو LD50 للسلالة المختبرة أو الحقلية يتم جمع أفراد من تلك السلالة من الحقل وتعامل بعد 24 ساعة من جمعها بنفس التراكيز من المبيد المستخدمة في (أ) ثم تحسب قيمة LC50 أو LD50 .

ت- تحسب نسبة المقاومة وفق المعادلة الآتية :

نسبة المقاومة = قيمة LC50 أو LD50 للسلالة المقاومة / قيمة LC50 أو LD50 للسلالة الحقلية.

فإذا كانت نسبة المقاومة = 10 فان ذلك يعني أن السلالة الحقلية المختبرة هي سلاله حساسة .

أما إذا كانت نسبة المقاومة = 5 فان ذلك يشير إلى أن السلالة الحقلية المختبرة أصبحت ذات قدرة على تحمل المبيد .

وإذا كانت نسبة المقاومة = 3.4 فان ذلك يعني أن السلالة الحقلية المختبرة قد أصبحت ذات تحمل فائق لتراكيز المبيد.

وإذا بلغت نسبة المقاومة = 1.5 فان هذا الرقم يدل على أن السلالة الحقلية المختبرة قد أصبحت ذات تحمل فائق جدا لتراكيز المبيد .

أما عندما تبلغ نسبة المقاومة = 1 فان ذلك يعني أن السلالة الحقلية المختبرة قد أصبحت مساوية في مقاومتها للسلالة المختبرة المقاومة للمبيد .
طريقة اشتقاق معادلة حساب نسبة المقاومة بدلالة السلالة المقاومة :

Equation Derivation For Resistance Ratio Measurement:

لقد تم اشتقاق المعادلة الخاصة بحساب نسبة المقاومة بدلالة السلالة المقاومة على المعادلات القديمة الخاصة بحساب نسبة المقاومة بدلالة السلالة الحساسة ، وهي كما يأتي :

نسبة المقاومة =1 عندما تكون (قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (حساسة)) / (قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة)

نسبة المقاومة = 2 عندما تكون (قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (متحملة)) / (قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة)

نسبة المقاومة = 2.9 عندما تكون (قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (ذات تحمل فائق)) / (قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة)

نسبة المقاومة = 6.5 عندما تكون (قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (ذات تحمل فائق جدا)) / (قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة)

نسبة المقاومة =10 عندما تكون (قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (مقاومة)) / (قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة)

من المعادلة الأخيرة يتبين أن:

قيمة LC50 أو LD50 للسلالة المقاومة =قيمة LC50 أوLD50 للسلالة الحساسة x 10.....(1)

ولإجراء الاشتقاق يتم إتباع ما يلي :

أ- نضرب المقام لكل من المعادلات السابقة في 10 حيث تصبح المعادلات كما يلي:

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (حساسة)}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}} = \frac{1}{10}$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (متحملة)}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}} = \frac{2}{10}$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (ذات تحمل فائق)}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}} = \frac{2.9}{10}$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (ذات تحمل فائق جدا)}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}} = \frac{6.5}{10}$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (مقاومة)}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}} = \frac{10}{10}$$

ب - نقلب كل من المعادلات السابقة لكي يصبح البسط مقام والمقام بسط وكما يأتي:

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (حساسة)}} = \frac{10}{1}$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (متحملة)}} = \frac{10}{2}$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (ذات تحمل فائق)}} = \frac{10}{2.9}$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (ذات تحمل فائق جدا)}} = \frac{10}{6.5}$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (مقاومة)}} = \frac{10}{10}$$

ت- بالاستعاضة من المعادلة (1) (قيمة LC50 (أو LD50) للسلالة الحساسة x

10 = قيمتها للسلالة المقاومة) في بسط الطرف الأول من كل معادلة ، وتقسيم البسط على المقام في الطرف الثاني لكل معادلة من المعادلات السابقة نحصل على :

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (حساسة)}} = 10$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (متحملة)}} = 5$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (ذات تحمل فائق)}} = 3.4$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (ذات تحمل فائق جدا)}} = 1.5$$

$$\text{نسبة المقاومة} = \frac{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة القياسية الحساسة}}{\text{قيمة LD50 او LC50 للسلالة الحقلية المختبرة (مقاومة)}} = 1$$

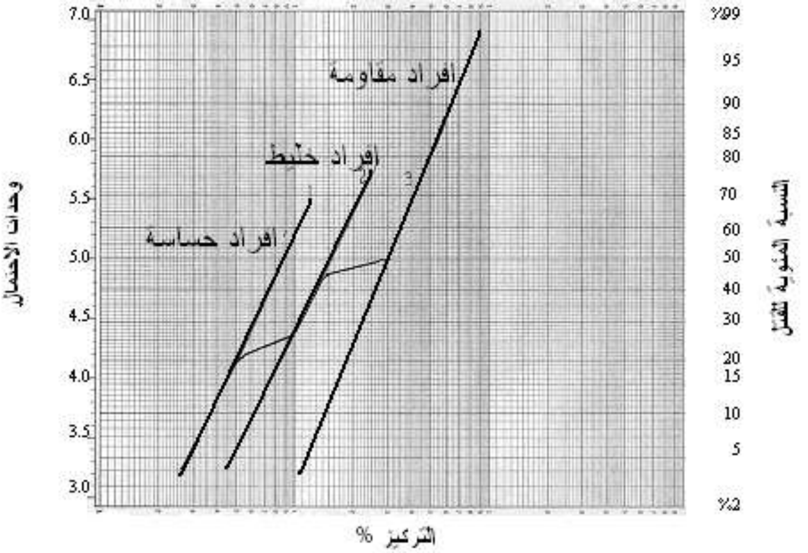
من هذا يتبين انه إذا كانت نسبة قيمة LC50 (أو LD50) للسلالة المقاومة (المرباة في المختبر) على قيمة LC50 (أو LD50) للسلالة المبهمة (الحقلية) تساوي 1 فان السلالة الحقلية تكون مقاومة ، وإذا تساوي 1.5 فالسلالة ذات تحمل فائق جدا ، وإذا تساوي 3.4 فالسلالة ذات تحمل فائق ، وإذا تساوي 5 فالسلالة ذات قدرة على التحمل ، وإذا تساوي 10 فالسلالة حساسة للمبيد .

قياس نسبة المقاومة من ميل خط السمية :

Resistance Ratio Measurement Using Slope Of Toxicity Line

إن الحصول على علاقة خطية (خط السمية) بين لوغاريتم تركيز المبيد

ونسبة القتل بالبروبيت يتطلب وجود تجانس وتماثل نسبي بين أفراد المجموعة أو العشيرة المعاملة بالمبيد ، وهذا يظهر بوضوح في حالة السلالة الحساسة أو السلالة الشديدة المقاومة . أما في الطبيعة فان السلالات أو الأنواع الموجودة تحتوي على خليط من حساسة وأخرى مقاومة وذلك نتيجة لاستعمال المبيدات وفي مثل هذه المجاميع من الكائنات إما أن تكون صفة المقاومة سائدة أو تكون صفة المقاومة متنحية . وهناك رأي آخر يقول أن المقاومة ليست سائدة تماما أو متنحية تماما ولذا فان الأفراد الهجين ذوات التركيب الوراثي المختلط سيختلف تحملها إلى حد ما عن الأفراد الحساسة أو المقاومة ، وفي هذه الحالة إذا تم اختيار تحمل مجموعة أو عشيرة مختلطة من نوع معين تحوي أفراد حساسة وأخرى هجينة فان خط السمية لن يكون مستقيما (الشكل 80) وينثني عند نسبة الموت المقابلة للأفراد الحساسة مكونا هضبة حيث لا تؤدي الزيادة في التركيز إلى زيادة مقابلة في نسبة القتل ثم ينثني مرة أخرى حال وجود أفراد ذات تحمل أو مقاومة ، وكلما زاد الفرق بين تحمل الأفراد الحساسة والهجينة كبرت الهضبة . كذلك فان الميل ستكون قيمته اكبر كلما كانت العشيرة متجانسة وذلك لان معظم الأفراد يستجيب لمدى ضيق من التراكيز ، فيما ينخفض الميل مع قلة تجانس أفراد العشيرة لان الأفراد تستجيب لمدى واسع من التراكيز .



الشكل (80) : استجابة خليط من الأفراد الحساسة والمقاومة لمبيد معين .

مثال :

في إحدى التجارب ألمختبريه على سلالة حشرية جمعت أفرادها من حقول تم فيها تعرض تلك الحشرة للمبيدات سابقا . تمت معاملة تلك المجاميع بتراكيز متدرجة من مبيد الملاثيون وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وفي كل مكرر 20 يرقة وقد سجلت نتائج القتل بعد تصحيحها بدلالة المقارنة في الجدول (29) :

جدول (29) : نتائج معاملة سلالة حشرية بمبيد الملاثيون.

الجرعة ملغم / حشرة	%للقتل
0.002	5
0.003	10
0.004	17
0.005	22
0.01	35
0.02	39
0.04	40
0.07	65
0.09	70
0.1	70
0.2	75
0.3	81
0.4	95
0.5	100

كما تم انتخاب مجموعة مقاومة من تلك الحشرة بالضغط الانتخابي للمبيد ولعدة أجيال وعرضت لتأثير مبيد الملاثيون فوجد أن قيمة LD50 لها = 0.2 ملغم /فرد . والمطلوب معرفة تجانس تلك السلالة الحقلية ونسب المقاومة لها .

الحل :

من منحنى السمية يتبين وجود أكثر من هضبة مما يشير إلى أن المجوعة الحشرية المختبرة هي مجموعة غير متجانسة ففيها أفراد حساسة وأخرى متحملة وأفرادا فائقة التحمل ، وهذا أدى إلى ظهور ثلاثة خطوط للسمية هي (1 ، 2 ، 3) . ويمكن ملاحظة هذا التباين في درجة حساسية أو مقاومة هذه المجموعة لمبيد الملاثيون من خلال حساب قيمة الميل لخطوط السمية الثلاثة .

ميل خط السمية :

ميل خط السمية الاول = $\frac{4.6 - 3.3}{\text{لو}(0.01) - \text{لو}(0.001)} = \frac{1.3}{-2 - (-3)} = \frac{1.3}{1} = 1.3$

ميل خط السمية الثاني $= \frac{5.55 - 4.7}{\text{لو}(0.09) - \text{لو}(0.04)} = \frac{0.85}{-1.045 - (-1.397)} = \frac{0.85}{0.352} = 2.4$

ميل خط السمية الثالث $= \frac{6.65 - 5.85}{\text{لو}(0.4) - \text{لو}(0.3)} = \frac{0.8}{-0.397 - (-0.523)} = \frac{0.8}{0.126} = 6.34$

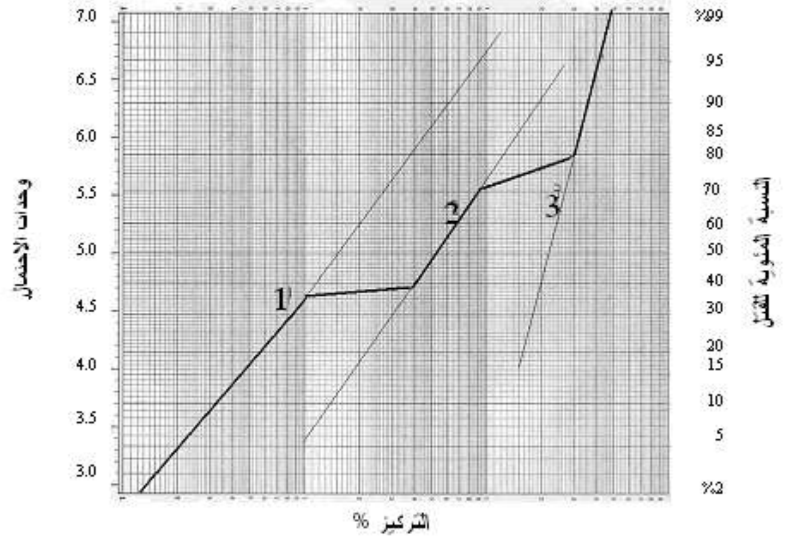
من قيم ميل خط السمية يتبين أن المجموعة الحشرية ضمت ثلاثة مجاميع متباينة في تجانسها أو مقاومتها لمبيد الملاثيون ، حيث أن خط السمية الأول يمثل الأفراد الأكثر حساسية بينما خط السمية الثاني يمثل الأفراد الأقل حساسية للملاثيون أما الخط الثالث فيشير إلى مجموعة الأفراد المتحملة . هذه النتائج تشير إلى أن الأفراد الحساسة بدأت بالانحسار وان المستقبل القريب سيشهد ظهور سلالة حشرية مقاومة للملاثيون ، كما أن ارتفاع قيمة الميل لخط السمية الثالث يشير إلى أن المجموعة المختبرة كانت الأكثر تجانسا . ويمكن إثبات نسبة المقاومة لمبيد الملاثيون من خلال حساب نسبة المقاومة باستخدام المعادلة الآتية:

نسبة المقاومة = قيمة LD50 للسلالة المقاومة / قيمة LD50 للسلالة الحقلية المختبرة .

نسبة المقاومة في المجموعة الأولى (الخط الأول) = 0.2 /0.02 = 10 فهي إذن مجموعة حساسة .

نسبة المقاومة في المجموعة الثانية (الخط الثاني)= 0.2/0.025= 3.8 فهي مجموعة ذات تحمل فائق للمبيد .

نسبة المقاومة في المجموعة الثالثة (الخط الثالث) = 0.2 / 0.2 = 1 فهي إذن مجموعة مقاومة للمبيد . (الشكل 81).



الشكل (81) : استجابة خليط من الأفراد الحساسة والمقاومة لإحدى الحشرات لفعل مبيد الملاثيون.

خامسا) التأثير العاقم **Chemosterilant Effect**

العاقمات الكيميائية هي مركبات طبيعية أو صناعية تعمل على خفض أو إيقاف القدرة التناسلية للكائن الحي وقد تعمل هذه المركبات كعاقمات للذكور أو للإناث أو لكلا الجنسين ، وقد يكون تأثيرها العاقم دائميا أو مؤقتا .

تتوفر اليوم العديد من المركبات الكيميائية العاقمة ، فضلا عن أن لكثير من المركبات الكيميائية تأثيرا عاقما كتأثير جانبي ومنها على سبيل المثال بعض مبيدات الآفات التي عند استخدامها بتراكيز أو جرعات تحت قاتلة تظهر تأثيرا عاقما في الآفات المستهدفة بالمكافحة.

الطرائق المستخدمة في تعريض تقييم المركبات العاقمة

Methods Used In Chemosterilants Evaluation

تختلف الطرائق المستخدمة في تعريض وتقييم كفاءة المركبات العاقمة تبعا لنوع كائن الاختبار (مفصليات أرجل ، فطريات ، قوارض ، طيور ....الخ) ونوعية المادة العاقمة المستخدمة وصورة تجهيزها وطريقة تغذية الكائن والبيئة التي يعيش فيها (مائية ، أرضية) والطور المستخدم ويمكن مراجعة (الفصل السادس) للاطلاع على طرائق التعريض المستخدمة واختيار الطريقة المناسبة منها لاختبار المركب العاقم . حيث يتم تعريض كائن الاختبار لتراكيز مختلفة من المركب العاقم لفترة معينة فيما تترك أفراد أخرى من الكائن دون معاملة بالمركب العاقم كمعاملة مقارنة ثم يتم تقييم كفاءة العاقم من خلال المعادلات الآتية :

1- النسبة المئوية لفقس البيض = عدد البيض الفاقس x 100 / عدد البيض الموضوع .

2- النسبة المئوية للعقم (معدل العقم) = 100 - % للفقس .

$$\text{3- النسبة المئوية للكفاءة التناسلية} = \frac{\text{عدد البيض في المعاملة}}{\text{عدد البيض في المقارنة}} \times 100$$

4- % للنقص في الكفاءة التناسلية = 100 - % للكفاءة التناسلية.

$$\text{5- نسبة التحكم فق الفقس} = \frac{\text{عدد البيض الفاقس في المقارنة} - \text{عدد البيض الفاقس المعامل}}{\text{عدد البيض في المقارنة}} \times 100$$

تقدير عامل الأمان للعاقمات الكيميائية

Estimating Chemosterilants Safety Factor

العاقمات الكيميائية هي مركبات كيميائية غير متخصصة في كثير من الأحيان، لذلك فان احد العوامل المحددة لاستخدامها هو الخوف من تسببها في إحداث حالات العقم في الإنسان وفي الكائنات الأخرى غير المستهدفة ، لذلك فان استخدامها يرتبط إلى حد كبير بتقدير درجة عامل الأمان لهذه المركبات ويتم تقدير عامل الأمان بإتباع الخطوات الآتية:

$$\text{1- حساب النسبة المئوية للعقم المصححة} = \frac{\text{\%للعقم في المعاملة} - \text{\%لعقم في المقارنة}}{100 - \text{\% للعقم في المقارنة}} \times 100$$

2- يتم رسم خط سمية للعاقم الكيميائي واستخراج قيمة LD50 أو LC50 للمركب.

3- رسم خط العقم واستخراج قيمة (ED50(Effective dose أو الجرعة المؤثرة أو التركيز المؤثر في نصف حيوانات الاختبار .

4- حساب عامل الأمان الأول من المعادلة الآتية :

عامل ألامان الأول (SF1) = LD50 / ED50

إذا كان الناتج يساوي (5) فأكثر يمكن استخدام المادة كعاقم ناجح .

5-حساب عامل الأمان الثاني من المعادلة الآتية :

عامل الأمان الثاني(SF2) = (LD0.01 - ED99.99) / ED99.99

إذا عامل الأمان الثاني هو عبارة عن الجرعة أو التركيز الكافي لقتل 0.01% من الحشرات مطروحا منها الجرعة الكافية لعقم 99.99 % من الحشرات مقسوما على الجرعة أو التركيز الكافي لعقم 99.99% من الحشرات

.عندما تكون نتيجة عامل الأمان الثاني مساوية أو اكبر من (الصفر) فانه يمكن أن يستخدم كعاقم كيميائي ناجح دون أن يسبب أية نسبة موت .

6- حساب عامل الأمان الثالث :

عامل الأمان الثالث (SF3) = اكبر جرعة مسموح بها / اقل جرعة مؤثرة .

فإذا كان الناتج يساوي أو اكبر من (1) ، فانه يمكن تطبيق العاقم الكيميائي بنجاح .

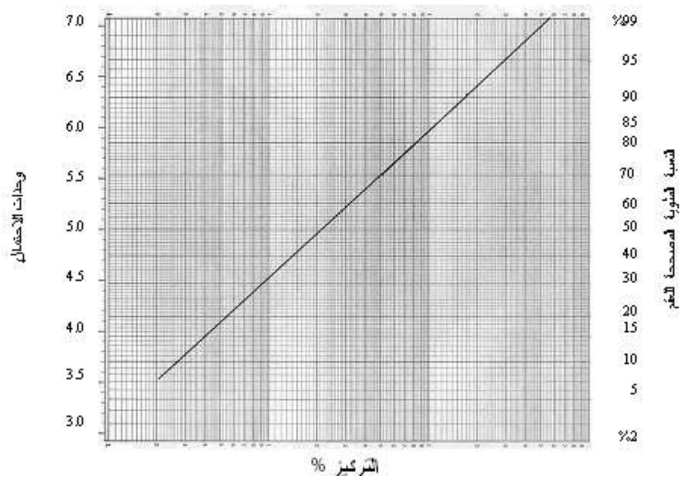
مثال:

في تجربة مختبريه استخدم العاقم Tepa وبجرع 0.5 ، 1 ، 4 ، 8 مايكروغرام / حشرة ، فكان عدد البيض الموضوع كما موضح في الجدول (30). والمطلوب حساب % للنقص في الكفاءة التناسلية لكل جرعة و % للفقس إذا كان عدد البيض بالمقارنة 2730 ،وكذلك حساب % المصححة للعقم وقيمة ED50.

الجدول (30): نتائج معاملة إحدى الحشرات بالمركب Tepa .

الجرعة	عدد البيض الموضوع	عدد البيض الفاقس	% للكفاءة التناسلية	% للنقص في الكفاءة التناسلية	% للفقس	% للعقم	%المصححة
0.0	2705	2557	-	-	95	5	-
0.5	1822	1427	67	33	78	22	18
1.0	1420	897	53	47	63	37	34
4.0	1287	423	48	52	32	68	66
8.0	889	180	32	68	20	80	79

من رسم خط العقم الشكل (82) تبين أن قيمة ED50 = 2.1 وهي الجرعة المؤثرة التي تسبب عقم 50 % من الأفراد المعاملة بها.



الشكل (82) : منحنى العقم لمادة Tepa

سادسا)تأثير مانعات للتغذية Anti Feedants Effect:

مانعات التغذية هي عبارة عن المواد الكيميائية التي تمنع بدء أو استمرار تغذية الكائن على العائل المناسب ، ولا يهم أن تكون هذه المواد ذات تأثير طارد أو سام.يتم التقييم الحيوي لمانعات التغذية من خلال التجارب ألمختبريه تحت ظروف قياسية بهدف دراسة التأثير السام (الإبادي) للمركب المختبر على الكائن المستهدف موضع الاختبار . ويتم ملاحظة :

1- سلوك الكائن عند تقديم الغذاء المفضل له قبل وبعد المعاملة بإحدى المركبات ذات التأثير المانع للتغذية من حيث الاقتراب أو الابتعاد عن العائل المفضل المعامل .
2- الاستجابة للقضم وعددها وشدتها .
3- حساب كمية الغذاء المستهلك / وحدة زمنية .
4- حساب كمية الفقد في وزن جسم الكائن / وحدة زمنية .
5- حساب عدد كرات البراز / كائن. أو المتوسط لعدد الكائنات .
6- حساب نمو الكائن (وزن وقياس الأطوال) خاصة قياس علبة الرأس .
7- قياس التأثير على عامل الخصوبة (عدد البيض الموضوع ، حيوية البيض).
8- عمر الطور .
9- الشكل الخارجي لكل طور .

وتختلف طريقة المعاملة بمانعات التغذية باختلاف نوع أجزاء الفم لدى الكائن المختبر، فالكائنات القارضة يعامل عائلها المفضل أو الغذاء الجاف الخاص

بها أو ما شابه ذلك ، في حين الأنواع ذوات أجزاء الفم الماصة فيعامل عائلها المفضل بالمركبات الجهازية أو بإضافة المركب لمياه الشرب أو مع البيئة الصناعية السائلة . وفيما يلي طرق معاملة الكائن الحي بمانعات التغذية :

آ– طريقة القرص الورقي الغذائي Leaf Disk Method :

يختار العائل المفضل للكائن الحي المختبر ، ثم تختار أفضل أجزاؤه كالورق الطري الطازج ومنها يعمل أقراص من مناطق الحواف بعيدا عن منطقة العروق لكثرة محتواها ألعصيري . تغمر هذه الأقراص لفترة محدودة في محاليل التراكيز للمادة المانعة وتقيم حيويا (مع مراعاة غمر أقراص المقارنة في المذيب وتجفيفها في الهواء) . تقدم الأقراص للتغذية ويفضل تجويع الطور المتغذي لفترة معينة يحددها الباحث .

يتم حساب المساحة المستهلكة نتيجة لتأثير مانع التغذية بقياس مساحة الورقة النباتية قبل المعاملة على ورق مربعات ، أو باستخدام جهاز البلانيمتر ، ثم قياس المساحة التي استهلكت بفعل الكائنات المختبرة بعد المعاملة بـ 24 ساعة ، ثم تحسب المقاييس الآتية :

المساحة المستهلكة = مساحة الورق قبل المعاملة – مساحتها بعد المعاملة .

معدل الاستهلاك (Consumption %) = مساحة الجزء المستهلك x 100 / مساحة الورقة قبل المعاملة .

$$\text{\% للحماية (\% Protection)} = \frac{\text{مساحة الورقة قبل المعاملة} - \text{مساحة الجزء المستهلك المعامل}}{\text{مساحة الورقة قبل المعاملة}} \times 100$$

$$\text{\% لمعدل التغذية (Feed Rate)} = \frac{\text{مساحة القرص} - \text{مساحة الجزء المتبقي المعامل}}{\text{مساحة القرص} - \text{مساحة الجزء المتبقي بالمقارنة}} \times 100$$

معدل منع التغذية Antifeedant Rate = 100 - % لمعدل التغذية .

معدل الاستهلاك / كائن = معدل التغذية / عدد الكائنات بالقرص الواحد .

مثال :

في تجربة لتقييم مانع تغذية بطريقة القرص كان متوسط مساحة القرص النموذجي = 8.85 سم2 ، ووضع 10 كائنات مختبرة على كل قرص وبعد 7 ساعات من التغذية أخذت الأقراص وتم حساب متوسط التغذية كما في الجدول (31) :

الجدول (31): نتائج إحدى تجارب التقييم الحيوي لمانعات التغذية .

التركيز	مساحة القرص الورقي المتبقي (سم 2)
مقارنة	2.1
3.15	2.11

3.5	6.25
4.7	12.50
5.58	25.00
6.8	50.00
7.9	100.00

ولحساب معدل التغذية Feeding rate (FR) ومعدل مانع التغذية (AFR) Antifeedant rate ومعدل استهلاك الكائن ومعدل التغذية ، طبقت المعادلات السابقة ووضعت النتائج في الجدول (32) :

الجدول (32):نتائج التحليل الإحصائي لتأثير احد مانعات التغذية على إحدى الحشرات.

معدل الاستهلاك/كائن	معدل منع التغذية	معدل التغذية %	المساحة المتبقية من القرص(سم2)	التركيز ppm
10.00	0.0	100.0	2.10	0.00
9.98	0.2	99.8	2.11	3.15
9.70	3.0	97.0	3.50	6.25
6.48	35.2	64.8	4.47	12.50
5.28	47.2	52.8	5.58	25.00
3.00	70.0	30.0	6.80	50.00
1.40	86.0	14.0	7.90	100.00

<u>طريقة وزن الكائن المختبر قبل وبعد التغذية :</u>

Organism Weight Before and After Feeding Method

كما في الطريقة السابقة نختار أفضل العوائل الغذائية للكائن المستهدف ثم نختار أفضل أوراق النبات الغضة الخضراء . يتم عمل أقراص من حواف هذه الأوراق بعيدا عن منطقة العروق ، تغمر هذه الأقراص لفترة محدودة في محاليل التركيزات المختلفة للمادة المانعة للتغذية والمقارنة في المذيب ثم تجفف في الهواء .تجوع الحيوانات لمدة لا تقل عن 7 ساعات ثم توزن بدقة ثم تقدم لها الأقراص للتغذية عليها (المعاملة ، المقارنة) ، وبعد التغذية يتم إعادة وزن الطور المتغذي بالأقراص المعاملة والمقارنة ، على أن يترك حيوانات صائمة بدون أي غذاء ، ثم يحسب :

$$\%\text{التجويع} \ (\text{Starvation}) = \frac{\text{الفرق في الوزن للافراد (قبل وبعد) للمقارنة} - \text{الفرق في الوزن للافراد في المعاملة}}{\text{الفرق في الوزن للافراد (قبل وبعد) للمقارنة} - \text{الفرق في الوزن للافراد الصائمة}} \times 100$$

$$\% \text{ للحماية } (\% \text{ Protection}) = \frac{\text{مساحة الورقة قبل المعاملة} - \text{مساحة الجزء المستهلك المعامل}}{\text{مساحة الورقة قبل المعاملة}} \times 100$$

مساحة الورق قبل المعاملة

معدل الاستهلاك (Consumption) = مساحة الجزء المستهلك x 100 / مساحة الورق قبل المعاملة.

مثال:

تم تقييم مانع تغذية بخمس تركيزات مختلفة هي :

12.5 ، 25 ، 50 ، 100 ، 200 جزء بالمليون واستخدم لكل تركيز 25 كائن مختبر ، تم وزنها قبل وبعد التجربة وكان الفرق في الوزن هو 50.72 ، 47.33 ، 42.62 ، 34.78 ، 30.49 ملغم (جدول 33) ، وكان فرق الوزن في المقارنة 52.05 ملغم وبالأفراد الصائمة 11.36ملغم والمطلوب:

- حساب % للتجويع .
- معادلة الانحدار البسيط للتركيز وفرق الوزن .
- معامل الارتباط بين التركيز وفرق الوزن .

الجدول (33) :نتائج معاملة احد الحيوانات بأحد موانع التغذية.

التركيز ppm	الفرق في الوزن ملغم	%للتجويع
12.5	50.72	2.09
25.0	47.33	7.40
50.0	42.62	14.80
100.0	34.78	27.23
200.0	30.49	34.00

- الفرق في الوزن للأفراد الصائمة يكون بالسالب (-) لأنها تفقد من وزنها بسبب صيامها ، وعليه تكون :

% للتجويع (للتركيز الأول) = (52.05 – 50.72) x 100 / [52.05 – (- 11.36)] = 2.09% وهكذا للبقية .

- ولايجاد :

معادلة الانحدار البسيط للتركيز وفرق الوزن و معامل الارتباط بين التركيز وفرق الوزن نستخدم برنامج SAS وكما يلي :

```
data a;
```

```
input conc weight;
cards;
0.0       52.05
12.5      50.72
25        47.33
50        42.62
100       34.78
200       30.49
proc glm;
model weight = conc;run;
proc corr;
var conc  weight;run;
```

لقد كانت نتائج تنفيذ الايعازات السابقة كما يلي:

Parameter	Estimate	T for H0: Paramete =0	Pr > |T|	Std Error of
INTERCEPT	50.17000000	29.81	0.0001	1.6829314314
CONC	-0.11104516	-6.22	0.0034	0.0178589057

حيث كانت معادلة الانحدار البسيط :

Weight = 50.170000 – 0.11104516 conc.

وعلى هذا الأساس يكون التركيز المتوقع أن يتوقف عنده النمو تماما يساوي

0.0 = 50.170000 – 0.11104516 conc

Conc = 451.798 جزء في المليون

أما معامل الارتباط فقد كان كما يلي :

	CONC	WEIGHT
CONC	1.00000	-0.95197

	0.0034	0.0000
WEIGHT	-0.95197	1.00000
	0.0000	0.0034

أي أن الارتباط بين الزيادة في الوزن وتركيز المبيد كان عكسيا وبمقدار 95%.

سابعا– تأثير مثبطات نمو الحشرات Insect Growth Inhibitor Effect :

مثبطات نمو الحشرات مجموعة من المركبات الكيميائية الطبيعية والصناعية والتي تعمل على إعاقة نمو الحشرات خاصة ومفصليات الأرجل عامة ، منها مثبطات تصنيع الكايتين ومشابهات هرمون الشباب JH وبعض البريكوسينات نباتية المصدر Precocense .

يتم قياس تأثيرها الحيوي عن طريق معاملة الحشرات بإحدى طرائق معاملة مفصليات الأرجل المذكورة في الفصل السادس ويتم تقييم تأثيرها الحيوي باعتماد ما يأتي:

1 – طريقة تدريج النتائج Graded Scoring Method:

عند معاملة اليرقة أو العذراء يمكن تقييم وحساب التأثير على التكوين الشكلي ، أو ما يطلق عليه تقدير النتيجة (Score) ، وذلك بضرب عدد العذارى أو الحشرات الكاملة في معدل نشاطها الحسابي Numerical activity range وقسمة الناتج على عدد اليرقات أو العذارى المعاملة ، على أساس أن الفرد العادي أو غير المتأثر يأخذ درجة صفر ، ويزداد معدل الدرجة بزيادة وحدة التأثير ، ومنها يمكن حساب التأثير الكلي ، حيث تعطى 4 درجات لتقدير الاستجابة هي :

صفر : حشرة كاملة غير مشوهة (يرمز لها آ).

1 : حشرة كاملة مشوهة (يرمز لها ب) .

2 : دور وسطي بين العذراء والحشرة الكاملة (يرمز لها ج).

3 : بقاء جميع الصفات للعذراء وعدم نشوئها (ميتة) (يرمز لها د).

ولاستخراج معامل التأثير تستخدم المعادلات الآتية :

(صفر x آ)+(1x ب)+(2 x ج)+(3 x د)

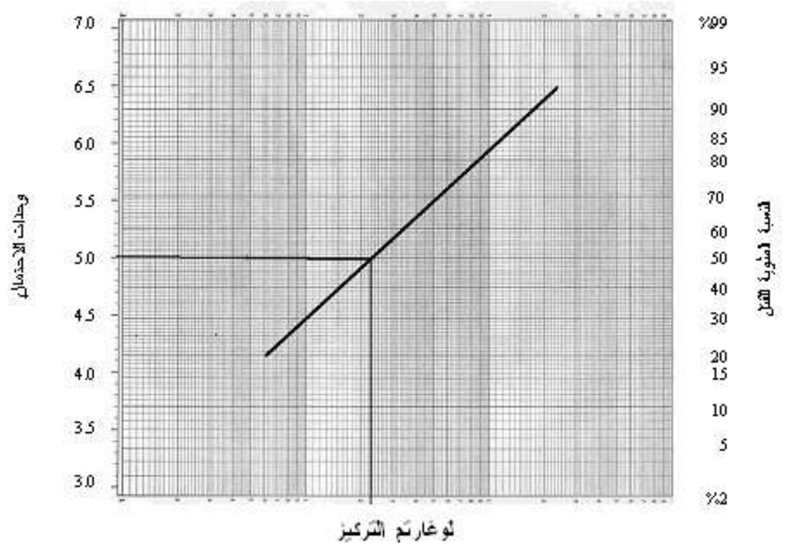
تقدير الهدف (أو الوسط المرجح) = ―――――

عدد الحشرات المعاملة

الوزن المئوي = تقدير الهدف x 100 / الدرجة القصوى .

ب- طريقة النتائج الكمية Quantal Scoring Method :

قام العديد من الباحثين بتقييم كفاءة هرمون الحداثة المخلق باستخدام الجرعة المؤثرة أو Effective dose (ED50)) وهي الجرعة الكافية لإحداث 50 % تأثير أو ما يطلق عليه Inhibitory dose (ID50) سواء أكان هذا التأثير في صورة فشل في تحول اليرقة إلى عذراء أم في تحول البيضة إلى يرقة أم في تحول العذراء إلى حشرة كاملة عادية عند معاملة العذراء . ويمكن تمثيل النتائج المتحصل عليها على ورق لوغاريتمي (الشكل 83) .



الشكل (83): كفاءة هورمون الحداثة في تشكل الحشرة

ت – التأثير العاقم Sterility Effect :

تحلل كما سبق ذكره في تمثيل نتائج العاقمات الكيميائية .

مثال:

عوملت عذارى حشرة معينة بالجرع 0.02 ، 0.04 ، 0.08 مايكروغرام من هرمون الحداثة . وكانت النتائج كما في جدول (34) :

الجدول (34): نتائج تأثير هورمون الحداثة في عذارى إحدى الحشرات.

الجرعة ug	عدد العذارى المعاملة	عدد العذارى الميتة	عدد العذارى الحية الباقية	رمز الحالة آ	ب	ج	د
0.02	40	20	20	20	0	0	20
0.04	40	26	14	11	3	0	26

0.08	40	30	10	4	4	2	30
المقارنة	40	0	40	40	0	0	0

والمطلوب :

احسب درجة التأثير (تقدير النتيجة ، الوزن المئوي).

احسب قيمة ID50 .

الحل:

$$\text{تقدير النتيجة للجرعة الاولى} = \frac{(\text{صفر} \times \text{أ}) + (1 \times \text{ب}) + (2 \times \text{ج}) + (3 \times \text{د})}{\text{عدد الحشرات}}$$

$$= \frac{(\text{صفر} \times 20) + (1 \times \text{صفر}) + (2 \times \text{صفر}) + (3 \times 20)}{40} = 1.5$$

الوزن المئوي في حالة الجرعة الأولى = تقدير النتيجة x 100 / الدرجة القصوى .

= 1.5 x 100 / 3 = 50

وهكذا بالنسبة لبقية التركيز ، حيث بلغت النتائج كما في الجدول (35) :

الجدول (35):نتائج التحليل الإحصائي لتأثير هورمون الحداثة على عذارى إحدى الحشرات.

الجرعة مايكروغرام	تقدير الهدف	الوزن المئوي
0.02	1.50	50.0
0.04	2.03	67.5
0.08	2.45	81.6
المقارنة	صفر	صفر

نحسب قيمة ID50 من رسم العلاقة بين الجرعة – الفشل (الشكل83) ، حيث يمثل الفشل (الدرجة ب + الدرجة ج) (جدول 36):

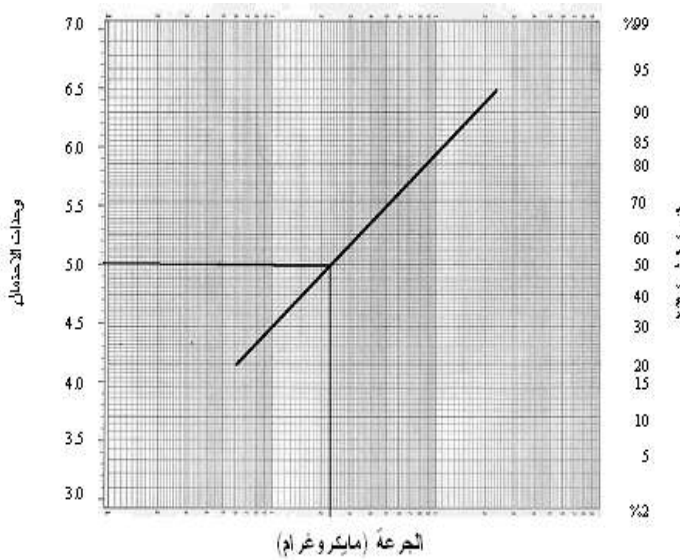
% للفشل = (ب + ج) x 100 / عدد الحشرات المعاملة.

الجدول (36): نتائج التحليل الإحصائي لتأثير هورمون الحداثة في عذارى إحدى

الحشرات.

الجرعة	مجموع الحشرات الفاشلة (ب+ ج)	% للفشل
0.02	صفر	صفر
0.04	3	7.5
0.08	6	15

من خط الفشل تبين أن ID50 = 0.45 مايكرو غرام / حشرة .



الشكل (83) خط الجرعة – الفشل لمعاملة إحدى الحشرات بهرمون الحداثة

دراسة تأثير الظروف الجوية في سمية المبيدات :

هناك العديد من العوامل الطبيعية المحيطة بحيوانات التجربة وجد أن لها تأثيرا مباشرا أو غير مباشر في سمية المبيدات . من هذه العوامل درجة الحرارة والرطوبة والضغط الجوي والضوء والإشعاع والاختلافات الموسمية . فعلى سبيل المثال وجد أن الحرارة من العوامل المعقدة والتي تتداخل مع تأثير المبيدات والتي يجب أخذها في الاعتبار عند تفسير النتائج المتحصل عليها . بمعنى آخر ، قد يكون هناك تداخل مابين المبيد وبين الحرارة من حيث ما تحدثه هذه الحرارة من تأثيرات حول معدلات ايض هذا المبيد . فقد تبين انه بزيادة الحرارة تزداد درجة سمية المبيد خاصة مع المبيدات ذات المعامل الحراري الموجب (مثل المبيدات الفسفورية العضوية) وقد تكون العلاقة سالبة ، بمعنى أن تزداد السمية بانخفاض الحرارة وذلك مع المبيدات ذات المعامل الحراري السالب (المبيدات الكلورينية والبيرثرينية المصنعة) . كذلك من المعروف أن الحرارة تساعد إلى حد كبير على إتمام العديد من التفاعلات الحيوية ومن ثم التأثير في المبيدات ووصولها إلى

أهدافها الحيوية .

من جهة أخرى وجد أن للرطوبة النسبية علاقة وثيقة من حيث تأثيرها في درجة سمية المبيدات سواء على الفقريات أو اللافقريات . فمن المعروف أن الرطوبة من الوسائل الطبيعية التي من خلالها يتم الحفاظ على حرارة الجسم بصورة طبيعية خاصة في البيئة الساخنة . وفي هذا المجال فهناك العديد من المبيدات التي تعمل على ارتفاع حرارة الجسم أو يكون لها تأثير على درجة التنظيم الحراري للجسم . من جهة أخرى فان حرارة الجسم يكون لها تأثير مباشر على معدلات امتصاص المبيد وتوزيعه ووصوله إلى أماكن فعله وتخزينه بل وإخراجه من الجسم .

مثال:

في دراسة أجريت على الحشرة نصف القياسة لمعرفة تأثير درجات الحرارة والرطوبة النسبية في سمية مبيد Naled بطريقة غمر الأوراق النباتية المستعملة في تغذية اليرقات في تراكيز مختلفة من المبيد وعلى درجات مختلفة من الحرارة والرطوبة النسبية ، وبعد إيجاد التراكيز النصفية القاتلة للمبيد عند كل درجة حرارة وما صاحبها من رطوبة نسبية تم الحصول على القيم التالية :

درجة الحرارة (ْم)	الرطوبة النسبية	قيمة LC50
4	70.5	21.0
10	61.3	14.0
16	48.7	12.0
21	39.7	11.0
26	34.25	10.0
32	**31.5**	**6.75**

والمطلوب دراسة تأثير درجات الحرارة والرطوبة النسبية في سمية المبيد للحشرة.

الحل :

- ممكن إيجاد قيم التركيز النصفي القاتل عند كل درجة من درجات الحرارة والرطوبة المصاحبة لها من نسب القتل وبالطريقة المارة سابقا وكذلك الحال بالنسبة للميل وحدود الثقة

- نجد باستخدام برنامج SAS في الحاسبة كل من :

1- معادلة الانحدار البسيط لكل من تأثير درجات الحرارة والرطوبة النسبية في سمية المبيد .

2- معادلة الانحدار المتعدد لتأثيرهما في السمية.

3- معامل الارتباط البسيط (r) بين كل من درجات الحرارة والرطوبة النسبية مع قيمة السمية والمعبر عنها بقيمة التركيز النصفي القاتل .

4- نسبة تأثير الحرارة والرطوبة في السمية والمعبر عنها بمعامل التحديد النسبي (R^2).

ويتم ذلك كما يلي:

```
Data a;
Input   temp     humidity    LC50;
Cards ;
4        70.5    21.0
10       61.3    14.0
16       48.7    12.0
21       39.7    11.0
26       34.25   10.0
32       31.5    6.75
;
Options pagesize=500 nodate nonumber ;
Proc  glm ;
Model   LC50= temp ;run;
Proc  glm ;
Model   LC50= humidity ;run;
Proc reg;
Model    LC50= temp  humidity /method=none ;run;
Proc corr;
Var    LC50  temp  humidity ;run;
Proc reg;
Model    LC50= temp  humidity /method=rsquare ;run;
```

حيث كانت نتائج تنفيذ الايعازات السابقة كما يلي:

- معادلة الانحدار البسيط لدرجة الحرارة مع التركيز النصفي القاتل :

T for H0: Pr>|T| Std Error of

Parameter Estimate Parameter=0 Estimate

INTERCEPT 20.46911167 12.96 0.0002 1.5794567024

TEMP -0.44096028 5.71 0.0046 0.0771768602

حيث تساوي

LC50 = 20.46911167 – 0.44096028 temp

- معادلة الانحدار البسيط للرطوبة النسبية مع التركيز النصفي القاتل :

T for H0: Pr > |T| Std Error of

Parameter Estimate Parameter=0 Estimate

INTERCEPT -1.388365498 -0.52 0.6295 2.6615087174

HUMIDITY 0.290540979 5.43 0.0056 0.0535144985

حيث تساوي

LC50 = -1.388365498 + 0.290540979 humidity

- معادلة الانحدار المتعدد لتأثير الحرارة والرطوبة على السمية.

Parameter Standard T for H0

Variable DF Estimate Error Parameter=0 Prob > |T

INTERCEP 1 12.761797 22.06158314 0.578 0.6035

EMP 1 -0.287970 0.44513615 -0.647 0.5638

HUMIDITY 1 0.103403 0.29500849 0.351 0.7491

حيث تساوي

LC50 =12.761797 – 0.287970 temp + 0.29500849 humidity

- قيم الارتباط بين المتغيرات الثلاثة

LC50 TEMP HUMIDITY

LC50 1.00000 -0.94385 0.93836

0.0056 0.0046 0.0000

TEMP -0.94385 1.00000 -0.98056

0.0006 0.0000 0.0046

1.0000 HUMIDITY		0.93836	-0.98056
0.0000	0.0006	0.0056	

- نسبة تأثير الحرارة والرطوبة على السمية والمعبر عنها بمعامل التحديد النسبي (R^2).

TEMP 0.89084639

HUMIDITY 0.88051222

TEMP HUMIDITY 0.89514057

الفصل الثاني

تقييم الكفاءة الحيوية لمبيدات الآفات
في الحقل ومستلزمات تنفيذها وتحليلها إحصائيا

- المقدمة .
- خطوات التقييم الحيوي الحقلي لمبيدات الآفات
- تصميم وتنفيذ التجربة الحقلية .
- اختيار المبيد والتركيزات للتطبيق الحقلي .
- حقل التجربة .
- توفير الظروف المثلى من الناحية الزراعية .
- التوقيت المناسب للمعاملة .
- دقة إجراء عمليات الرش والتعفير.
- حساب التركيز ومعدلات التخفيف .
- اختيار أدوات المكافحة ومعايرتها.
- تعريض الآفات للمبيدات في الحقل .
- تسجيل النتائج.
- طريقة حساب الفاعلية النسبية للمبيدات.
- أمثلة تطبيقية .

المقدمة Introduction:

بعد اجتياز الكيميائيات مرحلة التقييم الحيوي تحت ظروف المختبر وتقدير كفاءتها النسبية مقارنة بالمركبات الكيميائية الموصى باستخدامها في مكافحة الآفات يأتي دور الاختبارات الحقلية لتقدير كفاءتها تحت ظروف الحقل ، حيث تبدأ تجارب التقييم الحقلي بمساحات صغيرة وكلما اثبت المركب قدرته في مكافحة الآفة المطلوب مكافحتها تزداد مساحة التجربة لتصل إلى مساحات واسعة ، وتحتل بذلك بداية التطبيق على نطاق واسع للمركب الكيميائي تحت التقييم . ولما كان نجاح المركب الكيميائي في الاختبارات الحقلية هو الهدف من استخدام أي مركب جديد ، ولما كان هذا النجاح هو العامل المحدد لإمكانية التوصية بتعميم استخدام المبيد ، فانه يجب توفر كل مقومات الدقة في تصميم وتنفيذ التجربة الحقلية وفي تسجيل نتائجها وتحليلها إحصائيا وذلك لضمان دقة الاستنتاجات .

وتختلف التجربة الحقلية عن المشاهدة العملية في الحقل حيث تعني الأخيرة اخذ مساحتين من الأرض تعامل أحداهما بالمركب المقترح بينما لا تعامل المساحة الأخرى وتترك كمقارنة، أما التجربة الحقلية فيجب أن تتوفر فيها شروط التجربة العلمية وكل المقومات الإحصائية سواء في تصميمها او تنفيذها او تحليل نتائجها .

النقاط الواجب توفرها لإجراء التقييم الحيوي الحقلي للمبيدات :

Requirements For Pesticides Bioassay

1- ضرورة توفر الاهتمام الشخصي الكامل للباحث بحيث يشرف بنفسه على جميع مراحل العمل .

2- اختيار المشرفين على التجربة من بين الأخصائيين المدربين والذين يمكن الاعتماد عليهم في مثل هذه التجارب .

3- توفر الأدوات والآلات الجيدة من مرشات ومعفرات كما يجب أن يكون معلوما على وجه الدقة سرعة تصريف هذه الأدوات .

4- التأكد من مطابقة عينات المركبات المطلوب استخدامها في الحقل للمواصفات الخاصة بها للتأكد من عدم تحللها .

5- الإلمام التام بالمعلومات الدقيقة عن الجوانب الحياتية والبيئية للآفة المطلوب مكافحتها وعلاقة ذلك بالطريقة المثلى لاستخدام المبيد .

6- إذا كانت التوصيات المترتبة على نتائج التجربة الحقلية سوف يكون لها تطبيق واسع النطاق فانه يجب توفر ضمان الحصول على نتائج يعتد بها ولتأكيد ذلك يجب تكرار التجارب لعدة سنوات مع زيادة المساحة التي تجري عليها التجربة ، وفي كل سنة يجب توجيه الاهتمام نحو تحديد الوقت المناسب للتطبيق وبحيث يتفق مع نقطة الضعف في تاريخ حياة الآفة .

7- لتقدير نتائج التجربة الحقلية يلزم الحصول دائما على عينات لتقدير الأثر النسبي واختيار الطريقة المناسبة لقياس مدى السمية وتحديد الطريقة الدقيقة لأخذ العينات ، وبصورة عامة يتم تقييم الكفاءة النسبية للكيميائيات المستخدمة في المكافحة على أساس نسبة الإبادة او مستوى إصابة الآفة .

8- تقييم النتائج يجب أن يتم بالوسائل الإحصائية لبيان مدى دلالة الفرق بين المعاملات المنسوبة للمقارنة .

ولتوفير النقاط أعلاه فانه من الضروري وضع مشروع لتهيئة برنامج الاختبار الحقلي وذلك من خلال تحديد النقاط التالية:

1- **تحديد عنوان الدراسة** :- حيث أن هذا التحديد يرسم حدود البحث ويوضح أهدافه التي يجب مراعاتها سواء في التصميم أو التنفيذ أو الاستنتاج .

2- **تحديد مكان التجربة** :- ويقصد بها تحديد المزرعة أو المزارع التي سيتم فيها تنفيذ التجربة ويفضل رسم خريطة يحدد عليها مكان التجربة وأبعادها واتجاهاتها.

3- **تحديد القائمين بالتجربة** :- إن معرفة طبيعة التجربة سيجعل من السهولة اختيار الأشخاص المناسبين للإشراف على التجربة الحقلية .

4- **تحديد الجهات المتعاونة في البحث** :- ويتم ذلك بتعيين الأقسام والمزارعين والأفراد المساهمين في تنفيذ الدراسة .

5- **تحديد طريقة العمل في التجربة** :- من الضروري إعداد طريقة تنفيذ التجربة من حيث حجم التجربة وطريقة تصميمها ووحدات القياس فيها وطرائق تسجيل النتائج والبيانات كما يجب تحديد طريقة العمل في المعاملات المطلوبة ومواصفات الأجهزة والأدوات المستعملة ، ويجب أن تكون الطرائق المختارة متفقة مع احدث الدراسات والبحوث مع ضرورة اعتماد الدقة الكاملة في إعداد حقل التجربة وتنفيذها مع الدقة في جمع البيانات .

6- **تحديد مدة البحث** :- من الضروري تحديد بداية تنفيذ البحث والوقت اللازم لانجازه ، ويجب أن يكون الوقت كافيا لإكمال الدراسة بطريقة متكاملة .

7- **تفسير النتائج** :- يجب أن يتضمن مشروع الدراسة الطريقة الإحصائية التي ستتبع في تحليل النتائج وتفسيرها مع التأكيد على ما يأتي :

أ- عدم نشر أي نتائج او معلومات إلا بعد تجميع بيانات كافية وبعد تكرار التجربة على نطاق واسع لعدة سنوات وفي مناطق مختلفة .

ب- عدم التمادي في عمل تفسيرات للنتائج تتعدى حدود التجربة .

خطوات التقييم الحيوي الحقلي لمبيدات الآفات

Steps Of Field Bioassay Of Pesticides

اولا) تصميم وتنفيذ التجربة الحقلية

Design And Application Of The Field Experiment

من الضروري أن تتصف التجربة الحقلية ببساطة التصاميم ، خاصة إذا كانت هناك ضرورة لأخذ عينات لتقدير مستوى تعداد الآفة ، وهناك مجموعة من العوامل القياسية التي ينبغي مراعاتها عند تصميم التجربة الحقلية وهي :

I): التعبيرات الأساسية Principle Definitions

1- البحث Research: تنقيب مستمر عن معارف ومفاهيم جديدة ، وهو استمرار استقصاء المعرفة في سبيل حل مشاكل محددة في جميع مجالات الحياة وباعتماد طريقة علمية صحيحة

2- التجربة Experiment : وهي وسيلة الطريقة العلمية لاختبار الفرضيات واستكشاف علاقات جديدة بين المتغيرات . و لتنفيذ التجربة تؤخذ النقاط التالية في الاعتبار :

أ- تحديد المشكلة المطلوب حلها .

ب- اختيار المتغير المؤثر او المرتبط .

ت- تحديد العوامل التي سيجري تغييرها ، ونوعيتها ومستوياتها .

ث- الربط بين مستويات العوامل .

3- التجربة البسيطة Simple Experiment : تهتم بدراسة عامل واحد فقط او هي التي يطلب منها حل مشكلة واحدة فقط .

4- التجربة العاملية Factorial Experiment : الهدف منها دراسة تأثير عاملين فأكثر في وقت واحد ، أي يطلب منها حل أكثر من مشكلة واحدة .

5- المعاملات Treatments : مجموعة من الظروف المتغيرة يضعها الباحث تحت سيطرته لدراسة تأثيرها وهي تطبق على الوحدات التجريبية .

6- الوحدة التجريبية Experiment Unit : هي اصغر جزء او مادة من مواد التجربة وعليها تطبق المعاملات .

7- التكرار Replication : إعادة تطبيق نفس المعاملة على أكثر من وحدة تجريبية .

8- السيطرة على الظروف Local Condition Control: التعرف على الوحدات التجريبية والتحكم فيها .

9- التوزيع العشوائي Randomization: توزيع المتغيرات عشوائيا وبدون تحيز .

10- الخطأ التجريبي Experimental Error: هو مقياس للاختلافات التي تظهر بين قيم المشاهدات يتم تسجيلها من وحدات تجريبية طبقت فيها نفس المعاملة ،

ومصادره هي :

أ- مصادر ذاتية ناتجة عن الاختلافات في العامل الوراثي أو نتيجة التداخل بين الوراثة والبيئة .

ب- نتيجة الاختلافات في تطبيق نفس المعاملة على الوحدات التجريبية .

ت- نتيجة الأخطاء الفنية التي تحدث أثناء تسجيل القياسات عن الصفات المختلفة .

11- التحليل Analysis: هو المرحلة الأخيرة ويشمل طريقة جمع البيانات وترتيبها واختزالها ومن ثم إجراء الاختبارات التي يستعان بها في اتخاذ القرارات المناسبة لأهداف التجربة . وعند التحليل نرتب النتائج في جدول يدعى جدول تحليل التباين **Analysis of Variance Table (ANOVA)** :

قيمة f الجدولية Tab.F	قيمة F المحسوبة Cal.F	متوسط المربعات M.S	مجموع مربعات الانحرافات S.S	درجات الحرية d.f	مصادر الاختلاف S.O.V

II- نوع التصميم الإحصائي للتجربة Kind Of Experimental Design:

التصميم Design لتجربة ما هو التخطيط لها ، ولغرض اختيار تصميم معين لتجربة ما لابد من معرفة الأتي :

1- هل التصميم المطلوب لتجربة بسيطة أم عامليه .

2- هل أن الوحدات التجريبية التي ستنفذ عليها المعاملات متجانسة أم غير متجانسة، وإذا كانت غير متجانسة هل يمكن تجميعها في مجاميع متجانسة ؟ وهل أن هذا التجميع يعمل على إزالة تأثير واحد أم أكثر ؟.

3- هل أن جميع المعاملات البسيطة او العاملية ستكون جميعها موجودة في المجموعة الواحدة أم جزء منها ؟.

إن أهم التصاميم التي تستخدم مع التجارب هي :

التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) :-

هو التصميم الذي توزع فيه المعاملات عشوائيا على الوحدات التجريبية المتجانسة او بالعكس . من مميزاته :

1- ابسط أنواع التصاميم وأسهلها تطبيقا وتحليلا للبيانات .

2- يسمح باستخدام أعلى ما يمكن من درجات حرية الخطأ ، مما يؤدي إلى خفض القيمة المقدرة لتباين هذا الخطأ .

3- يمكن استخدام أي عدد من المعاملات وأي عدد من المكررات .

4- لا يشترط تساوي تكرارات جميع المعاملات .

5- إذا فقدت مشاهدات منه لا تتأثر بساطة التحليل الإحصائي .

ويعاب عليه ما يلي :

1- لا يصلح استخدامه إلا في حالة تجانس الوحدات التجريبية .

2- القيمة المقدرة لتباين الخطأ التجريبي عالية مقارنة بالتصاميم الأخرى وهذا يسبب عدم دقة وكفاءة التصميم في بيان تأثير المعاملات .

ولتخطيط التجربة فان المعاملات توزع على الوحدات التجريبية المتجانسة بحيث أن كل معاملة ti تظهر في r من الوحدات ، وان عدد الوحدات التجريبية الكلي هو tr . فمثلا عند استخدام خمسة معاملات بأربعة مكررات لكل معاملة فان مخطط التجربة التي ستتكون من 20 وحدة تجريبية هو :

T3	T5	T5	T1	T4
T5	T3	T3	T4	T2
T3	T1	T2	T5	T2
T2	T3	T1	T4	T1

والنموذج الرياضي للتجربة :

$$Yij = u + ti + eij \qquad i= 1 , 2, \ldots\ldots t ; \qquad j = 1, 2 , \ldots r$$

ولتحليل تجربة بسيطة بتصميم CRD باستخدام برنامج SAS في الحاسبة الالكترونية نتبع ما يلي :

نفرض أن نتائج التجربة السابقة كانت كما يلي:

المعاملات	المشـاهدات Y			
	1	2	3	4
T1	46	40	42	40
T2	51	48	47	42
T3	36	42	44	46
T4	42	42	45	43
T5	35	36	37	36

فإننـــا نرتـب تلـــك النتـــائج فـــي ملـــف File يكـــون قابـــل للتحليـــل فـــي البرنـــامج المـــذكور وكما يلي:

```
Data a;
        Input    t    y ;
```

```
Cards;
1       46
1       40
1       42
1       40
1       51
2       48
2       47
2       42
3       36
3       42
3       44
3       46
4       42
4       42
4       45
4       43
5       35
5       36
5       37
5       36
;
Options pagesize=500 nodate nonumber ;
Title ' CRD' ;
Proc ANOVA ; Classes  t ;
Model  y = t ;
Means t  / Duncan ; run ;
Proc means mean std  stderr cv sum max min range ;
Var  y ; run  ;
```

ملاحظات:

- إذا كان لدينا أكثر من متغير وليكن k , s ....الخ فإنها تطبع إلى جوار المتغير y بشكل أعمدة وهذه يترتب عليه ذكرها في المدخلات input t y s k وكذلك في النموذج الخطي (model y s k = t ;)

- إذا كان المطلوب أيجاد الارتباط القانوني بين متغيرين فيضاف الإيعاز التالي :

```
Proc cancorr ; var    y   with   s   ; run;
```

- وإذا كان المطلوب إيجاد كآي سكوير فيتم إضافة الإيعاز التالي :

```
Proc freq ; tables  y*s / chisq ; run ;
```

- و يمكن إيجاد معامل الارتباط (r) بين المتغيرات y s k .....الخ بإدخال الإيعاز التالي:

Proc corr ; var   y s   k …….; run ;

- أما إذا كان المطلوب إيجاد أي تحليل من التحليلات السابقة على مستوى كل معاملة على حدا فيمكن إضافة :

Proc sort ; by t ; proc ………التحليل المطلوب; by t ; run ;

ب- تصميم القطاعات العشوائية الكاملة(RCBD) Randomized Complete Block Design:

هو التصميم الذي تجمع فيه الوحدات التجريبية في مجاميع (قطاعات) بحيث أن وحدات كل مجموعة تكون متجانسة نسبياً وان عدد الوحدات في كل مجموعة يكون مساويا لعدد المعاملات ، والأخيرة توزع عشوائيا داخل كل قطاع على حدة .

مميزاته:

1- إن فصل مجموع مربعات القطاعات من الخطأ يؤدي إلى خفض تباين الخطأ ويزيد من كفاءة ودقة التجربة .

2- لا توجد قيود على عدد المعاملات او عدد القطاعات في التجربة .

3- سهولة التحليل الإحصائي للبيانات .

4- يمكن تقدير قيم المشاهدات المفقودة واستمرار التحليل الإحصائي .

5- الكفاءة النسبية أعلى مقارنة بالتصميم العشوائي الكامل .

عيوبه:

وجود اختلافات بين الوحدات التجريبية داخل القطاع يؤدي إلى زيادة الخطأ التجريبي ، ولهذا السبب فان التصميم لا يناسب الأعداد الكبيرة من المعاملات .

تخطيط التجربة :

مثال: Block   b= 4   Treatment   t=5

تقسم الوحدات التجريبية (سواء كانت ارض او حيوانات او غيرها) إلى أربعة قطاعات بحيث أن كل قطاع يكون متجانسا في جميع مواقعه نسبيا ، ثم يقسم كل قطاع إلى خمسة وحدات تجريبية وتوزع عليها المعاملات الخمسة عشوائيا وكما يلي :

القطاع الأول	T3	T3	T1	T5	T4	T2
القطاع الثاني	T5	T5	T2	T1	T3	T4

T5	T2	T3	T4	T1	T1	القطاع الثالث
T3	T1	T5	T4	T2	T2	القطاع الرابع

النموذج الرياضي :

Yij = u + ti + rj + eij   i= 1 , 2 ….t   j= 1 , 2 ,……r

ولتحليل تجربة بسيطة بتصميم RCBD باستخدام برنامج SAS في الحاسبة نتبع ما يلي :

نفترض أن النتائج كانت كما يلي :

t=4   b= 6   t b =24

Ti	القطـــــــــــاعات					
	B1	B2	B3	B4	B5	B6
T1	35	24	14	25	35	13
T2	26	14	8	23	34	9
T3	26	17	9	22	31	8
T4	29	21	14	23	33	1

ترتب النتائج في ملف وكما يأتي:

```
Data a;
Input     t   b   y ;
Cards ;
1       1       35
1       2       24
1       3       14
1       4       25
1       5       35
1       6       13
2       1       26
2       2       14
2       3       8
2       4       23
2       5       34
2       6       9
3       1       26
3       2       17
3       3       9
3       4       22
3       5       31
```

```
3	6	8
4	1	29
4	2	21
4	3	14
4	4	23
4	5	33
4	6	1
;
Options pagesize=500 nodate nonumber ;
Proc ANOVA ; Classes t   b ;
Model  y = t  b ;
Means t  b / Duncan ; run ;
Proc means mean std  stderr cv sum max min range ;
Var  y ; run  ;
```

كما يمكن تطبيق الملاحظات الإضافية الواردة في تحليل تصميم CRD .

ت- تصميم المربع اللاتيني (Latin Square Design (LSD :

هو التصميم الذي يتم فيه تجميع الوحدات التجريبية غير المتجانسة في مجموعات تضم كل منها وحدات تجريبية متجانسة بعدد المعاملات على أن يتم التجميع في اتجاهين ، صفوف وأعمدة ، وفيه عدد الصفوف وعدد الأعمدة مساو لعدد المعاملات.

مميزات التصميم :

1- باستخدام التجميع في اتجاهين يكون تباين الخطأ اصغر مما يؤدي إلى زيادة كفاءة ودقة التجربة .

2- التحليل الإحصائي للبيانات بسيط ويبقى كذلك حتى في حالة فقدان قيم بعض المشاهدات .

عيوب التصميم :

1- عدد المعاملات يتحدد بعدد الصفوف وعدد الأعمدة وفي ذلك تقييد للباحث عند تخطيط التجربة، وذلك لان زيادة معاملة واحدة يقابله زيادة كبيرة بعدد الوحدات التجريبية.

2- في حالة قلة عدد المعاملات تكون درجات حرية الخطأ قليلة وبالتالي ترتفع قيمة تباين الخطأ مما يؤدي إلى اتخاذ قرارات خاطئة.(ينصح باستخدام التصميم عندما يكون عدد المعاملات بين4 و 8)

تخطيط التجربة :

مثال :

في تجربة لدراسة تأثير أربعة معاملات . في هذه الحالة عدد المعاملات =

عدد الصفوف = عدد الأعمدة = 4 .

عليه تقسم ارض التجربة إلى أربعة صفوف (r = 4) وأربعة أعمدة (c = 4) ويتم عمل مخطط التجربة باختيار مربع لاتيني قياسي حجم 4 x 4 أولا ثم يتم توزيع الصفوف عشوائيا ثم الأعمدة عشوائيا وأخيرا توزع المعاملات على الحروف اللاتينية عشوائيا أيضا .

والمخطط التالي يبين الحالة النهائية وفيها كل معاملة تظهر مرة واحدة في كل صف وفي كل عمود .

c1	c2	c3	c4	
t4	t2	t1	t3	R1
t2	t1	t3	t4	R2
t3	t4	t2	t1	R3
t1	t3	t4	t2	R4

النموذج الرياضي:

$$Yrc(i) = u + ti + r_r + c_c + e_{rc(i)} \quad i = r = c = 1, 2, \ldots\ldots\ldots t$$

تحليل النتائج باستخدام برنامج SAS :

لنفترض أن نتائج المخطط السابق كانت كما يلي :

Columns الأعمدة				الصفوف Rows
C1	C2	C3	C4	
t4 50	t3 50	t1 54	t2 50	R1
t2 49	t1 53	t4 53	t3 51	R2
t3 50	t4 52	t2 51	t1 55	R3
t1 53	t2 50	t3 51	t4 54	R4

ترتب تلك النتائج في ملف وكما يأتي :

```
Data a ;
Input    r   c   t   y ;
Cards ;
1    1    4    50
1    2    3    50
1    3    1    54
1    4    2    50
2    1    2    49
2    2    1    53
2    3    4    53
2    4    3    51
3    1    3    50
3    2    4    52
3    3    2    51
3    4    1    55
4    1    1    53
4    2    2    50
4    3    3    51
4    4    4    54
;
Options pagesize=500 nodate nonumber ;
Proc ANOVA ; Classes  r  c  t ;
Model  y = r  c  t  ;
Means t   / Duncan ; run ;
Proc means mean std  stderr cv sum max min range ;
Var  y ; run  ;
```

مع الأخذ بنظر الاعتبار الملاحظات الواردة في تصميم CRD إذا كنا في حاجة إليها .

ث- التجارب العاملية Factorial Experiment :

وتعني التجارب التي يمكن من خلالها دراسة تأثير عاملين او أكثر ، او بمعنى آخر يمكن من خلالها حل أكثر من مشكلة واحدة.

Iً) التجارب ذات العاملين A , B :

1- **إذا كان العاملان بنفس الأهمية** من وجهة نظر الباحث ، في هذه الحالة تنفذ التجربة كتجربة عامليه اعتيادية وباستخدام احد التصاميم الثلاثة السابقة وذلك يعتمد على حالة التجانس بين الوحدات التجريبية . وعندها ستكون المعادلة الرياضية في حالة التصاميم الثلاثة كما يلي عندما يكون (مثلاً) AB = 3 x 4 = 12 : A = 3   B = 4

CRD: Yijk= u + Ai + Bj   ABij   + e ijk

RCBD : $Y_{ijk} = u + RK + Ai + Bj \quad ABij \quad + e\ ijk$

LSD : $Y_{rc(ij)} = u + r_r + c_c + Ai + Bj \quad ABij \quad + e\ rc(ij)$

تـوزع التوافيـق بـين B , A علـى الوحـدات التجريبيـة بشكل عشـوائي فـي تصـميم CRD أمـا فـي تصـميم RCBD فإنهـا تـوزع علـى القطاعـات بحيـث تـوزع جميع التداخلات في كل قطاع وبشكل عشوائي وكما يلي :

A = 3 B= 4 A * B = 12 block = 3

a2b1	a3b1	a1b3	a2b3	a1b1	a3b2	القطاع الاول
a3b3	a1b4	a2b2	a1b2	a3b4	a2b4	
a2b4	a1b2	a2b2	a2b1	a2b3	a1b4	القطاع الثاني
a1b3	a3b3	a3b2	a3b4	a3b1	a1b1	
a1b1	a3b2	a2b4	a3b1	a3b3	a2b1	القطاع الثالث
a2b3	a1b3	a3b4	a1b4	a2b2	a1b2	

وهكذا بالنسبة لتصميم LSD حيث توزع جميع التوافقات عشوائيا على كل عمود وعلى كل صف .

تحليل التجربة باستخدام برنامج SAS:

```
Data a ;
Input  A  B   Y ;                 إذا التصميم عشوائي بسيط
      A   B   Block     Y;        إذا التصميم قطاعات عشوائية
      A   B   r   c   y ;         إذا التصميم مربع لاتيني
Cards ;

-     -     -       ترتب القيم بشكل أعمدة وحسب تسلسلها في المدخلات

-     -     -
-     -     -
;
Options pagesize=500 nodate nonumber;
Proc ANOVA ;
```

Classes A B Y ; التصميم عشوائي بسيط

A B Block Y; إذا التصميم قطاعات عشوائية

A B r c y ; إذا التصميم مربع لاتيني

Model y =A | B;

y = A | b block ; أو

y = r c A| B ; أو(حسب التصميم)

Means A B / Duncan ; run;

A B block / Duncan ; run; أو

A B / Duncan ; run; أو

ملاحظات :

- عندما يطلب إيجاد تأثير التداخل بين A , B (A * B) ومقارنة المتوسطات باستخدام اختبار دنكن (أو غيره) فإننا نتبع ما يأتي:

Input
AB ;

Cards ;

11 نلاصق قيم العمودين A,B

11

11

Classes AB ;

Model y= AB ;

Means AB / Duncan ; run ;

- نأخذ الملاحظات التي وردت مع تصميم CRD بنظر الاعتبار .

2- **إذا كان العاملان يختلفان من حيث الأهمية** : ونعني بذلك اختلافهما من حيث الأهمية أو من حيث الإدارة أثناء التنفيذ ، في هذه الحالة يطبق نظام الألواح المنشقة باستخدام احد التصاميم LSD أو RCBD أو CRD حيث يوزع احد العوامل في قطع رئيسية Main Plots والآخر في قطع منشقة Split Plots .

مثال:

تجربة بعاملين a بثلاث مستويات و b بأربع مستويات وبثلاث مكررات ، فلو فرضنا استخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة فان مخطط التجربة يكون كما يأتي:

عدد مستويات العامل a = 3 (a1 , a2 , a3)

عدد مستويات العامل b = 4 (b1 , b2 , b3 , b4)

التوافيق بين المستويات = 3 x 4 = 12

توزع **ففي تصميم القطاعات العشوائية الكامل RCBD :**

– مستويات العامل A (الأقل أهمية) على القطع الرئيسية في كل قطاع .

القطاع الأول	a3	a1	A2
القطاع الثاني	a1	a2	A3
القطاع الثالث	a2	a1	A3

ثم توزع مستويات العامل b (الأكثر أهمية) على القطع الثانوية في كل قطعة رئيسية .

القطاع الاول	a3b3	A3b1	a1b4	A1b3	a2b3	a2b1
	a3b4	A3b2	a1b1	a1b2	a2b2	a2b4
القطاع الثاني	a1b1	A1b4	a2b4	a2b2	a3b1	a3b4
	a1b3	A1b2	a2b1	a2b3	a3b3	a3b2
القطاع الثالث	a2b4	A2b3	a1b2	a1b1	a3b1	a3b3
	a2b2	A2b1	a1b3	a1b4	a3b4	a3b1

أما بالنسبة للتصميم العشوائي الكامل CRD فإننا نوزع العامل A عشوائيا على المكررات (ولتكن خمسة مثلا) حيث يكون عدد المكررات = 15 وكما يلي :

a2	**a1**	**a2**	**a3**	**a1**
a3	**a2**	**a3**	**a1**	**a2**
a1	**a1**	**a2**	**a3**	**a3**

ثم يقسم كل مكرر إلى أربعة أقسام يوزع عليها مستويات العامل B عشوائيا فمثلا:

a2	**a1**
a3	**a4**

وهكذا .

أما في **تصميم المربع** اللاتيني LSD فإننا نوزع مستويات A عشوائيا على كل صف وعلى كل عمود ثم نوزع مستويات Bعشوائيا على كل مستوى من مستويات

A. c1 c2 c3

B1	b2	b4	b3	a3	a2	R1
A2				A1	A3	R r2
A3				A2	A1	Rr3

المعادلات الرياضية :

CRD: $Y_{ijk} = u + A_i + E(a) + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$

RCBD : $Y_{ijk} = u + R_K + A_i + E(a) + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$

LSD : $Y_{rc(ij)} = u + r_r + c_c + A_i + E(a) + B_j \; AB_{ij} + e_{rc(ij)}$

تحليل نتائج تجربة بعاملين في قطع منشقة بتصميم القطاعات العشوائية الكامل RCBD باستخدام برنامج SAS:

```
Data  a ;
Input  A  B block  t ;
Cards ;
-        -        -        -
-        -        -        -
;
Options pagesize=500 nodate nonumber;
Proc ANOVA ; Classes  A  B  block ;
Model  y = A | B  block    block*A ;
Test  H= A        E=block * A;
Test H= B  A*B;
Means  A   / Duncan     Error= block *A ; run;
Means b / Duncan ; run ;
```

3 – **إذا كان العاملان A و B بنفس الأهمية وان الاهتمام بالتداخل بينهما أكثر ،** أو أن كلا العاملين يحتاج إلى مساحة كبيرة عند تنفيذ مستوياتهما ، في هذه الحالة تنفذ التجربة بتصميم القطاعات المنشقة ، حيث تقسم الأرض إلى عدد من القطاعات ويقسم كل قطاع إلى أشرطة عمودية توزع عليها مستويات احد العوامل وأشرطة أفقية توزع عليها مستويات العامل الآخر

مثال:

تجربة بعاملين A بثلاث مستويات و B بأربعة مستويات باستخدام تصميم القطاعات المنشقة بثلاث قطاعات فان مخطط التجربة يكون كما يأتي :

عدد مستويات العامل A = 3

عدد مستويات العامل B = 4

عدد التوافيق = 3 X 4 = 12

يؤخذ القطاع الأول ويقسم إلى أشرطة عمودية بعدد مستويات العامل A وتوزع عليها المستويات عشوائيا :

a2	a3	a1

ثم يقسم نفس القطاع إلى أشرطة أفقية توزع عليها مستويات العامل B .

	a2	A3	a1
b4	a2b4	a3b4	a1b4
b1	a2b1	a3b1	a1b1
b2	a2b2	a3b2	a1b2
b3	a2b3	a3b3	a1b3

المعادلة الرياضية :

$$Yij= u + Rk + Ai + E(a) + Bj + E(b) + ABij + e(c)$$

I = 1 , ……..a

j = 1 ,………b

k = 1 ,……...r

تحليل نتائج التجربة باستخدام برنامج SAS بتصميم قطاعات منشقة Split block :

```
Data a;
Input  R   A  B   Y ;
Cards ;
        -       -       -       -
        -       -       -       -
        ;
        Options pagesize=500 nodate nonumber;
        Proc ANOVA ; Classes  R A  B  ;
        Model  y = A | B  R  R*A  R*B ;
        Test  H= A         E=R * A;
        Test H= B          E= R*B;
        Test H= A*B ;
        Means  A   / Duncan     Error= R *A ; run;
        Means B / Duncan        Error = R*B ; run ;
```

IIً: التجارب بثلاثة عوامل A , B , C:

1- إذا كانت العوامل متساوية الأهمية : تطبق كتجربة عامليه اعتيادية بأحد التصاميم الثلاثة السابقة الذكر على أساس حالة التجانس بين الوحدات التجريبية .

مثال : a = 3 , b = 2 , c = 3 بمكررين .

إذا عدد الوحدات التجريبية = 3 x 2 x 3 x 2 = 36

- عند استخدام تصميم CRD توزع التوافقات عشوائيا على الوحدات التجريبية. وعندها تكون المعادلة الرياضية :

$$Y_{ijkl} = u + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + e_{ijkl}$$

$i = 1, \ldots\ldots a \quad j = 1, \ldots b \quad k = 1, \ldots\ldots c \quad l = 1, \ldots\ldots r$

ولتحليل النتائج باستخدام برنامج SAS نرتب النتائج كما يأتي :

```
Data a;
Input   A  B C  Y ;
Cards ;
-       -       -       -
```

```
-      -      -      -
;
Options pagesize=500 nodate nonumber;
Proc ANOVA ; Classes  A  B  C;
Model  y = A | B | C ;
Means  A  B C / Duncan  ; run;
```

- عند استخدام تصميم القطاعات العشوائية الكامل RCBD يتم إنشاء قطاعين وتوزع توافيق العوامل (A * B * C) عشوائيا في كل منهما . والمعادلة الرياضية ستكون :

Yijkl = u + Rl + Ai + Bj + Ck + ABij +ACik + BCjk + ABCijk + e ijk

i= 1 ,……a   j= 1,….b   k= 1, ……c   l= 1,……r

وتحلل النتائج باستخدام برنامج SAS كما يلي :

```
Data a;
Input  block  A  B C  Y ;
Cards ;
-      -      -      -      -
-      -      -      -      -
;
Options pagesize=500 nodate nonumber;
Proc ANOVA ; Classes  block  A  B  C;
Model  y = block   A | B | C ;
Means  A  B C / Duncan  ; run;
```

2- إذا كانت العوامل مختلفة الأهمية او أنها تحتاج إلى تنظيمات خاصة من حيث إدارتها فتنفذ التجربة وفق نظام الألواح المنشقة – المنشقة Split – split plot . حيث توزع مستويات العامل الأقل أهمية A عشوائيا داخل القطع التجريبية الرئيسية ، ثم توزع مستويات العامل المتوسط الأهمية B عشوائيا داخل القطع المنشقة ، أما العامل الأكثر أهمية C فان مستوياته توزع داخل القطع المنشقة – المنشقة .

ويمكن تطبيق التجربة بأحد التصاميم LSD أو RCBD أو CRD وذلك على أساس حالة التجانس بين الوحدات التجريبية التي ستستخدم في التجربة .

وتحلل نتائج تجربة بثلاث عوامل في قطع منشقة – منشقة بتصميم

RCBD باستخدام برنامج SAS كما يلي :

```
Data a;
Input  R  A  B C  Y ;
Cards ;
-         -         -         -         -
-         -         -         -         -
;
Options pagesize=500 nodate nonumber;
Proc ANOVA ; Classes  R  A  B  C;
Model  y = R  R*A   R*B(A)    A | B | C ;
Test  H= A         E=R * A;
Test H= B  A*B        E= R*B(A);
Test H=  C  A*C  B*C  A*B*C ;
Means  A   / Duncan     Error= R *A ; run;
Means B / Duncan        Error = R*B(A) ; run ;
Means  C / Duncan  ; run;
```

3- عندما يكون العامل A اقل أهمية من C , B اللذين بدورهما لهما نفس الأهمية من وجهة نظر الباحث . في هذه الحالة تحتل مستويات العامل **A** القطع الرئيسية والتوافيق بين مستويات **B** , **C** القطع الثانوية . ويسمى النظام التجريبي في هذه الحالة : تجربة عامليه في قطع منشقة Factorial Experiment within split plots والمعادلة الرياضية لها :

Yijkl = u + Rl + Ai + E(a) + Bj + Ck + ABij +ACik + BCjk + BCJK + ABCijk + e (b)

i= 1 ,……a j= 1,….b k= 1, ……c l= 1,……r

ولتحليل نتائج التجربة باستخدام نظام SAS فإننا نتبع ما يأتي:

```
Data a;
Input  R  A  B C  Y ;
Cards ;
-              - -         -         -
-              - -         -         -
;
```

```
Options pagesize=500 nodate nonumber;
Proc ANOVA ; Classes  R  A  B  C;
Model  y = R  R*A   A | B | C ;
Test  H= A         E=R * A;
Test H= B  C A*B  A*C B*C A*B*C ;
Means  A  B  C  / Duncan  ; run;
```

4- عندما يكون العاملان B , A بنفس الأهمية و C أكثر أهمية منهما ، في هذه الحالة توزع التوافيق بين مستويات العاملين A , B في القطع الرئيسية ومستويات C في القطع الثانوية داخل كل قطعة رئيسية ، ويسمى النظام التجريبي الذي يستخدم أي من التصاميم الثلاثة وعلى أساس حالة التجانس بين الوحدات التجريبية (قطع منشقة داخل تجربة عامليه) والمعادلة الرياضية هي :

Yijkl = u + Rl + Ai + Bj + ABij + E(a) + Ck + ACik +ACik + BCjk + BCJK + ABCijk + e (b)

i= 1 ,……a   j= 1,….b   k= 1, ……c   l= 1,……r

ولتحليل نتائج التجربة باستخدام SAS نتبع ما يلي :

```
Data a;
Input  R  A  B C  Y ;
Cards ;
-    -    -    -    -
-    -    -    -    -
;
Options pagesize=500 nodate nonumber;
Proc ANOVA ; Classes  R  A  B  C;
Model  y = R  R*A*B   A | B | C ;
Test  H= A B A*B        E=R * A*B ;
Test H= C  A*C  B*C  A*B*C ;
Means  A  B  C  / Duncan  ; run;
```

ثانياً : اختيار المبيد والتركيزات للتطبيق الحقلي :

Choosing Pesticides and Concentration For Application

عند إجراء تجارب التقييم الأولي للمبيدات الحديثة تحت ظروف المختبر تجري عمليات التحليل الإحصائي لاستخراج مستوى سمية المبيدات تحت الاختبار . وقد أشار Sun عام 1966 إلى وجود علاقة بين مستوى الكفاءة للمبيدات والجرعات والتراكيز اللازمة للتطبيق الحقلي . ومن المعروف أن الآفة أكثر تحملا للمبيد تحت الظروف الحقلية ، ولذا فان الجرعة الحقلية او معدل التطبيق الحقلي يكون تقريبا حوالي عشرة أضعاف قيمة الكفاءة السمية للمبيد تحت الظروف ألمختبريه . وحتى يمكن الوصول إلى معدل التطبيق يلزم إجراء العديد من التجارب الحقلية ، وهذه عملية مكلفة اقتصاديا . وقد قام Sun بإجراء التجارب ألمختبريه لتقدير الكفاءة النسبية لمجموعة من المبيدات ضد عدة أنواع من الآفات مع توحيد طريقة المعاملة ، ثم قارنها مع معدلات التطبيق الفعالة لهذه المبيدات تحت الظروف الحقلية ، والتي حصل عليها من المراجع . وتم تمثيل النتائج على ورق لوغاريتمي لدراسة مدى الارتباط . وقد أظهرت نتائجه أن خط الانحدار الذي تقع فيه النقاط الممثلة يظهر العلاقة التالية :

$$\text{Log .Y} = 0.0041 + 0.4875 \text{ Log. X}$$

حيث أن :

X = معدل السمية في المختبر .

Y = معدل الجرعة المستخدمة في الحقل .

وقد طبق Sun هذه المعادلة لتحديد معدلات استخدام المبيدات ضد خمسة أنواع من الآفات ، وأظهرت النتائج معدلات عالية من الإبادة لهذه الآفات في الحقل، ويمكن تطبيق هذه المعادلة على مبيدات الحشرات الحديثة تحت نظرية (من أنبوب الاختبار إلى الحقل) . وتعتمد صلاحية هذه العلاقة على مدى انعكاس التقييم الحقلي على كفاءة المبيدات تحت الظروف الحقلية .

أما المبيد المستخدم في التقييم فيجب أن تتوفر فيه بعض المواصفات الفنية حيث أصبحت مسالة اختيار المبيدات وتحديد مواصفاتها الفنية اليوم ضرورة ملحة للعديد من الأسباب منها :

1- معرفة الغرض الذي من اجله صنع المبيد ولأي الأغراض يستخدم .

2- مدى التزام المصانع بالمواصفات الفنية للمبيدات .

3-شروط السلامة البيئية والصحية وحاجة المستهلك لمبيدات من نوعيات ومواصفات معينة .

4- تأثير الخزن والظروف غير الطبيعية في مواصفات المبيد .

ثالث) حقل التجربة Field Of Experiment:

آ – شروط اختيار حقل التجربة:

يجب أن تتوفر في حقل التجربة عدة شروط لضمان دقة النتائج ومنها :

1- تجانس الخصوبة : وهي من المشاكل الرئيسة التي تواجه الباحث في الاختبارات الحقلية ويجب التأكد من تجانس خصوبة الحقل بدراسة خواص التربة فيه والتأكد من تماثل معدلات إنتاج المحاصيل السابقة في كل بقعة منه وكذلك التأكد من تماثل درجات الرطوبة ونسبة النتروجين في كل بقعة من الحقل .

2- تمثيل الحقل للمنطقة : في كثير من الأحيان قد يكون الحقل متجانسا من حيث الخصوبة ولكنه لا يمثل معظم أنواع التربة في المنطقة الزراعية التي تنفذ بها التجربة لذلك يجب أن يختار الحقل بحيث يكون ممثلا لمعظم أنواع التربة في المنطقة وإذا تعذر ذلك فيفضل تكرار نفس التجربة في مناطق مختلفة تمثل أنواع التربة المختلفة .

3- يجب أن يكون الحقل مستويا بقدر الإمكان أو أن يكون منحدرا انحدارا بسيطا حتى يسهل ريه بانتظام .

4- يجب أن يكون الحقل بعيدا عن الأشجار التي قد يؤثر ظلها في المعاملات وان يكون خالياً من أية عوائق تجعل ترتيب القطع صعباً .

ب- حجم التجربة :

من الواضح أن زيادة حجم التجربة الحقلية يؤدي إلى زيادة حساسيتها بمعنى أنها تسمح بالتعرف وبالحصول على نتائج أكثر دقة مما لو كان حجم التجربة الكلي صغيرا وتكون زيادة حجم التجربة عن طريق زيادة عدد المكررات أو المعاملات كما أن تكرار نفس التجربة لعدة سنوات وفي أنواع مختلفة من التربة يزيد من دقة النتائج.

ت- مساحة قطعة الاختبار :

من الصعب تحديد مساحة القطعة في تجارب وقاية النبات كما انه لا يمكن وضع قواعد محددة لتحديد مساحة القطعة وذلك لاختلاف الظروف من حالة لأخرى ومن عام لآخر ومن موقع لآخر مما يؤدي إلى تفاوت مساحة قطعة الاختبار وفق مقتضيات الظروف فمثلا يلزم أن تكون القطعة صغيرة في حالة عدم توفر البذور ، والمواد والأرض ، والقوى البشرية رغم أن النتائج المتحصل عليها تكون محدودة الفائدة أما القطع الكبيرة جدا فقد تكون مفيدة في المصائد الفرمونية وبعض صور المبيدات كالايروسولات وفي هذه الحالة نجد أن تكرار المعاملة يكاد يكون مستحيلا ، ومع هذا يمكن وضع قواعد يمكن الاسترشاد بها عند تحديد

مساحة قطعة الاختبار وهي كما يلي:

1- توفير التجانس بين كل قطع التجربة:- من حيث مستوى الإصابة خاصة أن تقييم تجارب وقاية النبات يعتمد على تقدير نسبة الإصابة أو الإبادة كمعيار لفاعلية المبيد أو المركب الكيميائي المختبر .

2- تحديد درجة نشاط الآفة وقابليتها:- حيث كلما زادت مساحة القطعة قل الاختلاف في معدلات الإصابة والانتشار .

3- نوع المبيد او المركب الكيميائي وصور ة تجهيزه:- تحدد بشكل أو بآخر مساحة قطعة الاختبار حيث أن استخدام الفيرمونات او المبيدات بصورة ايروسولات يتطلب زيادة مساحة قطعة الاختبار .

4- تأثير العوامل الفردية :- حيث كلما أمكن الحد من تأثير العوامل الفردية للاختلافات بالنسبة لآفة معينة أمكن تقليل مساحة قطعة الاختبار.

وعموما فانه من المتفق عليه أن الحد الأدنى لمساحة قطع الاختبار في مجال وقاية النبات يقع بين 25-100 م^2 وذلك لأغراض قياس الكفاءة النسبية لمبيدات الحشرات أما في تجارب مبيدات الفطريات ومبيدات الأدغال فانه من الممكن استخدام قطع اصغر لا يقل متوسطها عن 10 م^2 . أما في حالة أشجار الفاكهة فان حجم القطعة أو عدد الأشجار المعاملة يمكن تحديده أساسا تبعا لكثافة الإصابة على أن لا يقل عدد الأشجار عن خمسة أشجار في كل معاملة .

ث- شكل قطعة الاختبار :

قد لا يكون لشكل قطعة الاختبار تأثيرا يذكر على مدى دقة النتائج مادامت ارض التجربة متجانسة تماما في التجارب الخاصة بتربية الأصناف أو التسميد . أما إذا كانت ارض التجربة غير متجانسة فان القطع الطويلة والضيقة تعطي أفضل النتائج وكذلك في سائر التجارب الزراعية فان المستطيلات الطويلة تعد أفضل من المربعات وعموما في هذه الحالة يفضل أن يكون الضلع الذي يمثل طول المستطيل قدر عرضه بحوالي 5-10 مرات . أما في حالة تجارب وقاية النبات فان العامل المهم هو تلافي تأثير التفاوت في درجة الإصابة بين القطع المختلفة في التجربة وهذا العامل في حالة اختبار المبيدات يفوق بكثير عامل الاختلاف في تجانس التربة ، كما ثبت انه في حالة القطع المستطيلة الشكل تكون فروق درجة الإصابة موزعة بانتظام اكبر عنها في حالة القطع على شكل مربعات بالإضافة إلى ذلك فان تأثير الحواف وتأثير الجوار في عمليات توزيع المبيد هي العوامل المحددة للشكل الأمثل لقطع الاختبار . فعند إجراء عمليات الرش أو التعفير لقطعة ما فانه لا يمكن أن يقتصر وصول المبيد إلى حدود القطعة المعاملة فقط إذ تكفي حركة بسيطة من الهواء المحمل بالمبيد ليندفع نحو حدود القطع المجاورة وقد وجد من ناحية التطبيق العملي انه في القطع المستطيلة فان هذا الاندفاع نحو القطع المجاورة يزداد عنه في حالة شكل المربعات لذا فان شكل المربع يفضل عن المستطيل لأنه يضمن على الأقل نواة مركزية متماثلة في كل قطعة يمكن الحصول

منها على عينات يمكن استخدامها كأساس لتقويم نتائج المعاملات . أما في حالة عدم وجود تأثير يخشى منه فانه يمكن استخدام قطع مستطيلة الشكل .

ج- تأثير حواف القطع :-

من الملاحظ أن النباتات في الحواف تصاب بدرجة اكبر من النباتات في داخل القطعة . ففي دراسة لتأثير مشكلة حواف القطع وعلاقتها بدرجة الإصابة بالحشرات مثل حشرة المن ، في حالة طيران هذه الحشرات لمهاجمة النبات وهذا النوع من الطيران يختلف عن الطيران البعيد المدى لمسافات طويلة حيث يتميز طيران الغزو بان الأفراد تطير مباشرة فوق الأرض فتصطدم بالنباتات التي تنمو على الحواف اصطداما ميكانيكيا وبذلك تبدأ الإصابة بنباتات الحواف مما يؤدي إلى زيادة تركيز الإصابة في الحواف عنها في داخل القطع وهذا يفسر ظاهرة أن الإصابة بالمن او الفيروس الذي قد ينقله المن يتركز في صفوف النباتات المواجهة للخارج على الحواف . أما في حالة الأمراض الفطرية فان تأثير الحواف يكاد أن يكون منعدما وذلك لان جراثيم الفطر تستطيع أن تتغلغل بسهولة الصفوف المتتالية من النباتات وأكثر من ذلك فان الإصابة ببعض الفطريات مثل فطر الـ *Phytophthora* sp تقل في الحواف لزيادة الفرصة في الجفاف وزيادة الحرارة نسبيا بعكس الجو في الأجزاء الوسطية من القطع ، لذلك يجب استبعاد بيانات النباتات النامية في الحواف من نتائج هذه التجارب وبذلك يمكن تلافي تأثير حواف القطع على دقة نتائج التجربة .

ح- تأثير تجاور القطع:

ويقصد بذلك التأثير الناتج عن تجاور القطع المختبرة وتزداد قيمة هذا العامل في تجارب المبيدات مقارنة بالتجارب الحقلية الأخرى ويمكن أن يتمثل هذا التأثير في النقاط الآتية :

1- درجة نشاط وحركة الآفات الحشرية او مسببات الأمراض : فمن المعروف أن انتشار الآفات يتم بالهجرة أو الطيران أو أن تكون مصاحبة للأمطار والرياح او عن طريق الكائنات الحية التي تتحرك وسط النباتات ومن بينها الإنسان لذلك فان قدرة الآفات على الحركة ستؤدي إلى تداخل بين درجات الإصابة الحقيقية في كل قطعة نتيجة تجاور قطع التجربة وتأثير تجاور القطع ، هذا يؤدي إلى عدم الدقة في النتائج ويمكن التغلب على ذلك باختيار قطع مربعة كبيرة مع اخذ العينات من وسط القطع .

2- الكميات المندفعة من سوائل الرش أو مساحيق التعفير مع التيارات الهوائية إلى القطع المجاورة وكذلك تسرب أبخرة المواد المتطايرة : وتختلف الكمية المندفعة إلى القطع المجاورة حسب سرعة الريح ويمكن الحد من هذه الآثار باستخدام مصدات من قماش وقد ثبت نجاح هذه التجربة في حالة المحاصيل الحقلية والشجيرات والأشجار القصيرة ولكن يصعب تنفيذها في حالة الأشجار العالية وفي هذه الحالة يمكن اختيار قطع اكبر مع استبعاد مناطق الحواف من كل قطعة .

خ- معاملة المقارنة:-

وهي إحدى معاملات التجربة التي تدخل لمقارنة معاملات التجربة المختلفة بها وتعامل معاملة المقارنة كجزء من التجربة أي بنفس معاملات التجربة دون استخدام الكيميائيات المختبرة . إن وجود معاملة المقارنة في التجربة هو شرط أساسي وذلك لان اختبار معنوية النتائج وتفسيرها يكون على أساس الكفاءة النسبية عن طريق نسبة النتائج إلى تجربة المقارنة لتوضيح مدى فاعلية المبيدات والكيميائيات في قتل الآفة أو كائن الاختبار . كما انه لا يمكن تفسير النتائج على أساس مطلق وهذا يوضح أهمية وجود معاملة للمقارنة تتم تحت نفس الظروف القياسية المشتركة في التجربة وكل ما يميزها أنها تتم دون استخدام أي من المبيدات او الكيميائيات المختبرة.

د- الممرات :

يفضل ترك ممرات بين القطع قدر الإمكان بحيث تكون حواف القطع واضحة حتى يمكن فحص القطع باستمرار وبسهولة كما تفيد الممرات عند استخدام المرشات الظهرية بحيث تسهل الحركة .

ذ- عدد المكررات :-

من الثابت أن دقة النتائج تدعمها زيادة عدد المكررات بدرجة كافية ، إلا أن هناك حد أقصى لعدد المكررات تصل عنده دقة النتائج إلى ما يقرب من الحد الأقصى للدقة المطلوبة وعند ذلك يكون الزيادة في عدد المكررات عن هذا الحد مضيعة للجهد والمال . وعموما فان هناك العديد من العوامل تلعب دورا مهما في تحديد عدد المكررات وهي :-

1- مدى الفروق المتوقعة للتأثيرات المختبرة ، فكلما زادت الفروق وضوحا بين المعاملات أمكن تنفيذ التجربة بعدد قليل من المكررات والعكس صحيح .

2- الأساس الذي تقاس عليه النتائج : فإذا كانت كمية المحصول هي أساس قياس نتائج المعاملات فان العدد الأمثل للمكررات سيتفاوت من محصول لأخر .

3- مدى تجانس مستوى الإصابة : كلما زادت درجة التجانس في مستوى الإصابة قلت الحاجة إلى زيادة عدد المكررات .

4- مستوى الإصابة : كلما انخفضت نسبة الإصابة احتاج الأمر إلى عدد اكبر من المكررات لتوضيح الفروق بين المعاملات .

ر- المساحة المخصصة لأخذ العينات :-

يعتمد حجم المساحة التي تؤخذ منها العينات بالنسبة إلى القطعة المعاملة على العديد من العوامل منها :-

1- نوع المحصول او المعاملة :- حيث كلما كان حجم النباتات أو المعاملة كبيرا اقتضى ذلك زيادة المساحة المخصصة من المعاملة لأخذ العينة منها .

2- مدى تحرك الآفة :- فعندما يكون تحرك الآفة عاليا فانه يجب أن تكون المنطقة التي تؤخذ منها العينة صغيرة لتفادي تأثير التداخل بين القطع .

3- البيانات المطلوبة :- كلما تنوعت البيانات المطلوبة وتعددت تطلب الأمر زيادة مساحة العينة .

4- عدد العينات :- إن زيادة عدد العينات يتطلب زيادة المساحة التي ستؤخذ منها العينة وذلك لتقليل تأثير حركة العاملين داخل المساحة وللسماح بفحص اكبر عدد من النباتات .

رابعا) توفير الظروف المثلى من الناحية الزراعية :-

Optimum Agricultural Condition Availability

إن الحصول على نتائج جيدة يمكن الاعتماد عليها يتطلب توفير كل الظروف الجيدة لنجاح التجربة من الناحية الزراعية ، ابتداء من اختيار الأرض المناسبة المتجانسة وتهيئتها وتسميدها وإجراء كل العمليات الزراعية في المواعيد المناسبة ، لان الفشل في إنتاج المحصول او غيره من مصادر قياس الفاعلية في بعض النباتات يؤدي إلى فقدان التجربة لأهميتها كمصدر لتقدير الكفاءة النسبية للمبيدات والكيميائيات موضوع الدراسة .

خامسا) التوقيت المناسب للمعاملة Suitable Time For Treatment:

يعتمد نجاح تحديد كفاءة المبيد في الحقل على التوقيت المناسب لعملية الرش أو التعفير بحيث يتوافق مع فترة وجود الآفة في الحقل ، فدودة ثمار الرمان مثلا تضع بيضها على سطح الثمرة وعندما تفقس البيضة تخرج اليرقة وتتجول على الثمرة ثم تختفي داخلها وكذلك دودة جوز القطن لها نفس السلوك ، فلابد أن تتم المعاملة في هذا الوقت بحيث تتعرض اليرقات الصغيرة للمبيد أثناء تجوالها ، إلا إذا كان المبيد المختبر من النوع ألجهازي فانه يمكن معاملته بعد دخولها الثمرة . كما يجب تجنب المعاملة بالمبيد وقت التزهير ، ففي حالة دودة أوراق الحمضيات مثلا لو جرت المعاملة في وقت الأزهار فان الرش بالمبيد سوف يضر بالنموات الجديدة كما يضر بالإزهار، لذا تتم المعاملة قبل التزهير مباشرة . الآفات الموجودة طوال العام أو معظم شهور السنة مثل المن والعنكبوت الأحمر فتتم دراسة الكثافة العددية لها على مدار السنة قبل تحديد مواعيد المعاملة .كما يجب قبل المعاملة بالمبيدات ملاحظة احتمال هطول الأمطار فيجب تأجيل المعاملة لمدة **2- 3** يوم لغاية زوال احتمال هطول الأمطار . كما يجب أن لا تتم المعاملة أثناء الحرارة المرتفعة إذ تضر القائمين بالرش كما تضر البراعم والأجزاء الحديثة .

سادسا) دقة إجراء عمليات الرش والتعفير

:Precision Spraying and Dusting

إن الدقة في إجراء عمليات الرش والتعفير يؤدي بلا شك إلى خفض الخطأ التجريبي بين المعاملات ، حيث من الضروري أن تتم العمليات بصورة متجانسة بحيث تضمن تغطية السطح المعامل بالمبيدات بالكامل إلا أن هناك العديد من العوامل التي تؤثر على كفاءة عملية الرش والتعفير وهي كما يلي :

1- الرياح : إذا زادت سرعة الرياح قلت الكميات المتخلفة من مساحيق التعفير كما تقل درجة استقرار مسحوق التعفير ويزداد انتقاله باندفاعه مع التيارات الهوائية إلى القطع المجاورة ، والسرعة المناسبة هي بحدود 1- 2 كم/ساعة كما يجب أن تتم عمليات الرش والتعفير باتجاه الريح.

2- ضوء الشمس: عندما تكون الأرض معرضة لأشعة الشمس بحيث يتم تسخينها فان تيارات الحمل الهوائية تتجه لأعلى فتقاوم سقوط قطرات الرش أو حبيبات مسحوق التعفير فوق السطح المعامل . كذلك فان الحرارة الناتجة من أشعة الشمس تعمل على الإسراع في إحداث التأثير الإبادي ضد معظم الآفات ماعدا المبيدات والكيميائيات ذات المعامل الحراري السالب كذلك تعمل أشعة الشمس على سرعة تحلل متبقيات المبيدات خاصة بالأكسدة . كما تزيد من فاعلية المبيد عدا المبيدات ذات المعامل الحراري السالب .

3- الرطوبة: يجب أن لا يرش أثناء الضباب لان الرطوبة تزيد من فاعلية المبيد بينما تقلل الرطوبة النسبية المنخفضة من فاعلية المبيد كما أنها قد تقلل من نشاط بعض الآفات في تغذيتها مما يؤدي إلى تقليل كمية المبيد التي تدخل جسمها. كذلك فان التربة الرطبة تعيق حركة آلات الرش في الحقل .

سابعا) حساب التراكيز ومعدلات التخفيف:

لاشك أن التقييم الحيوي الحقلي الصحيح يعتمد بالنتيجة على دقة إجراء الحسابات الخاصة بالتراكيز و التخفيفات الخاصة بالمبيدات وصور تجهيزها المطلوب اختبار كفاءتها في الحقل ، وان أي خطا في هذه الحسابات سيؤدي إلى إعطاء نتائج غير دقيقة وان الإرشادات التي ستبنى عليها قد تقود إلى أخطاء كارثية . لذلك يفضل إجراء هذه الحسابات من قبل المختصين والممارسين لهذا العمل خاصة وان هناك عدد كبير من المعادلات التي تستخدم في هذا المجال ، ولتسهيل هذه العملية قام الجبوري باشتقاق معادلة موحدة في هذا المجال (ولمزيد من التفاصيل يرجى مراجعة الفصل الخاص بطرائق استخدام مبيدات الآفات).

ثامنا) اختيار أدوات المكافحة ومعايرتها

Choosing and Adjusting Application Equipment

إن اختيار أداة المكافحة يعتمد في كثير من الأحيان على صورة تجهيز المبيد ونوع الآفة المطلوب مكافحتها فضلا عن سلوكية الآفة في التغذية وأماكن وجودها ، كذلك فان كفاءة الأداة المستخدمة في المكافحة تعتمد إلى حد كبير على حداثة الآلة ودقة معايرتها لأنها تشكل عاملا مهما في تحديد كفاءة المبيد في

مكافحة الآفة المستهدفة (لمزيد من المعلومات حول أهمية هذا الموضوع وكيفية إجراء عمليات المعايرة يمكن الاطلاع على الفصل الخاص بطرائق استخدام مبيدات الآفات).

تاسعا) تعريض الآفات للمبيدات في الحقل

Pest Exposure To Pesticides In The Field

إن الحصول على نتائج دقيقة حول الفاعلية الحيوية لأي مبيد في الحقل يتطلب اختيار طريقة التعريض المناسبة للآفة للمبيد موضوع الدراسة ، وهذا بطبيعة الحال يعتمد على نوع المبيد وصورة التجهيز ونوع الآفة المستهدفة وأدوات المكافحة المتوفرة وتم شرح طرائق استخدام وتعريض الآفات للمبيدات بإسهاب في الفصل الخاص بطرائق استخدام مبيدات الآفات.

عاشراً: تسجيل النتائج Result Registration

عند التخطيط للتجربة الحقلية لابد من وضع مخطط بالدلالات التي ينبغي تسجيلها وكذلك عدد وتواريخ القراءات مع ضرورة القيام بالزيارات الدورية للحقل لتسجيل الملاحظات التي قد يغفلها التسجيل الروتيني حيث أن تلك الملاحظات قد تكون نافعة جدا في عملية تفسير النتائج ويراعى في عملية تسجيل النتائج ما يأتي :

آ – أن تكون طريقة الفحص والتسجيل سهلة .

ب- وضع مقاييس تقييم فاعلية المبيدات والكيميائيات في التجربة الحقلية حيث أن اختيار منهج مناسب لقياس الفاعلية يعتبر عاملا محددا لنجاح الاختبار الحقلي وعلى الباحثين اختيار المنهاج الأفضل لقياس الفاعلية ويعتمد هذا الاختيار على:

1- طبيعة الآفة المستخدمة في الدراسة حيث أن المقياس المستخدم في حالة الديدان القارضة سيختلف بلا شك عن ذلك المقياس المستخدم في حالة المسببات المرضية .

2- أن يكون في الإمكان تنفيذ هذا المنهج على نطاق واسع وطول فترة الدراسة .

3- أن يتضمن توفر النتائج التي يمكن تحليلها إحصائيا .

4- وقت استخدام المنهج لقياس الفاعلية حيث أن التوقيت لا يقل أهمية عن منهج القياس نفسه وهو يساوي في أهميته توقيت المعاملات في التجربة . لذلك يجب أن يتوافق منهج القياس مع الوقت المناسب لاستخدامه في التجربة . حيث أن موعد قياس الفاعلية يرتبط بالهدف من التجربة وخصائص المركبات المختبرة ونوع التأثير المتوقع من المركب ، ففي حالة التأثير الإبادي السريع يتطلب الأمر التبكير في اخذ النتائج على العكس من حالة التأثير الوقائي البطئ كما يعتمد موعد قياس الفاعلية على تاريخ حياة الآفة ونوعها والطور المطلوب تسجيل تأثير المركبات المستخدمة عليه . ومن الضروري القول أن التبكير في تسجيل نتائج قياس الفاعلية يعطي نتائج

خاطئة تماما مثل التأخير في تسجيلها لذلك يجب انجاز عملية قياس الفاعلية عند التوقيت المناسب بالضبط .

قد يتعذر في كثير من الأحيان فحص كل النباتات لغرض حصر الآفات الموجودة عليها أو لحصر أجزاء النبات المصابة لذلك يمكن الاكتفاء بعينات ممثلة للنباتات المعاملة مع مراعاة توفر العدد الكافي من العينات الممثلة لحقل التجربة وذلك لضمان دقة النتائج .

ويمكن قياس نتائج تقييم فاعلية المبيدات والكيميائيات المختلفة بالطرائق الآتية:

الطرائق المباشرة Direct Methods

ويقصد بها تقدير الأعداد الحية أو الميتة من الآفة . بعد معاملة النباتات بالمركبات المختبرة وقد يصعب في كثير من الأحيان إحصاء أعداد الأفراد الميتة التي تتساقط في الغالب على التربة وخاصة في حالات الآفات الصغيرة كالمن والحلم ، حيث أنها تختفي في الغالب بين النباتات وشقوق التربة لذلك فان الجهد ينصب بالدرجة الأساس على إحصاء أعداد الأفراد الحية التي تبقى على أجزاء النباتات المعاملة ويفضل إجراء عملية العد بعد المعاملة في جميع مكررات التجربة في نفس اليوم حتى يمكن الاعتماد على قيمة النتائج لذلك يفضل استخدام طرائق سريعة بقدر الإمكان في إحصاء الآفات أو تقدير عددها ، وتختلف الطرائق المتبعة في عد أفراد الآفات باختلاف نوع الآفة وحجمها ومظهر الإصابة الذي تسببه إضافة إلى حجم التربة وعدد العينات .

وتعتمد هذه الطريقة على عزل أفراد الآفة من النباتات المصابة وعدها بصورة مباشرة سواء كانت حية او ميتة وتضم ما يأتي :

آ – عد أفراد الآفة صغيرة الحجم Counting The No. Of Small Pest:

وتشمل أنواعا عديدة من الآفات الحشرية والاكاروسية كالمن والثربس والبق المطرز وأنواع مختلفة من الاكاروسات وغيرها والطريقة المتبعة مع هذه الآفات تعتمد على اخذ عدد معين من الأوراق لتقدير الكثافة العددية لها حيث من الممكن مثلا اخذ عينات تتراوح بين 50-100 ورقة نبات من كل معاملة ومن الممكن زيادة عدد الأوراق عن المائة في حالة بيان الفروق الدقيقة بين المركبات المختبرة . بعد اخذ العينة المناسبة حجما وتمثيلا للحقل يأتي دور عملية فصل وعد الأفراد الموجودة في العينة والتي تتم بالعديد من الوسائل منها :

1- العد المباشر : باستخدام العدسة اليدوية الصغيرة .

2- طريقة الطبع : وتتم بوضع الورقة النباتية المصابة بين قطعتين من الورق الأبيض والضغط فوقهما حيث تترك الأفراد الموجودة في كل مراحل نموها أثرا مطبوعا فوق الورق الأبيض وبذلك يتم تسجيل عدد الأفراد على الورقة

المصابة إلا أن هذه الطريقة لا تميز بين الأنواع المختلفة من الآفات أو ألأعداء الحيوية والتي قد تكون موجودة على الورقة النباتية .

3- التخدير : ويتم بوضع العينة في إناء محكم الغلق وتعرض العينة لأحد الغازات أو المواد المخدرة حيث تتساقط أفراد الآفة في أسفل الإناء ثم يتم عدها مباشرة .

4- طريقة الغسيل : يتم غسل الأوراق النباتية غسلا جيدا لإزالة أطوار الآفة واستقبالها في إناء معين وذلك باستخدام بعض المحاليل مثل محلول الصابون أو محلول كحولي مخفف أو مواد خاصة مثل البنزين الساخن لعزل طور البيضة الملتصق بالنبات .

5- استخدام مواد كيمائية طاردة : حيث تستخدم لطرد أفراد الآفة عن أوراق النبات واستقبالها في إناء خاص لجمعها وعدها ومن هذه المواد مادة Methyl Isobutyl Kenton كما يمكن استخدام زيت الكافور والتربنتين لنفس الغرض.

6- استخدام جهاز الفرش أو جهاز هندرسن : وهو عبارة عن وسيلة ميكانيكية لفصل الحشرات الصغيرة والاكاروسات من على أجزاء النبات ويتركب من فرشتين من شعر ناعم مركبتين بشكل أفقي وقريبتين جدا من بعضهما ومتحركتين بواسطة محرك صغير حركة دورانية إلى الداخل كما يوجد أسفل منهما وعلى بعد عدة سنتمترات قرص معدني دائري متحرك حركة دورانية بواسطة المحرك وتغطي المساحة بين القرص وأعلى الفرشتين قليلا اسطوانة من الصفيح لتمنع تطاير الحشرات والاكاروسات خارج القرص وقبل التشغيل يوضع قرص زجاجي مع القرص المعدني ويدهن من سطحه العلوي بمادة لاصقة وعند التشغيل تدور الفرشتان ثم توضع ورقة النبات المطلوب فحصها بين الفرشتين فتتساقط جميع أطوار الحشرة أو الاكاروس على القرص الزجاجي وتلتصق به حيث يتم عدها .

ب- عد أفراد الآفات كبيرة الحجم Counting The No. Of Large Pest :

وتشمل هي الأخرى مجموعة كبيرة من الأنواع الحشرية كاليرقات القارضة والعديد من الخنافس والحشرات التي تصيب الأجزاء الزهرية والثمرية ومنها ديدان جوز القطن ودودة ثمار التفاح وغيرها . وفي هذه الطريقة يتم عد اليرقات التي تصيب الأزهار والثمار من بدء موسم الإزهار وعلى فترات زمنية معينة وحتى نضج المحصول وجمعه ويكتفي في هذه الحالة في معظم الحالات بعينات تتراوح بين 50- 100 زهرة او ثمرة تجمع عشوائيا لتمثل كل معاملة حيث يتم عد اليرقات الموجودة .

II) الطرائق غير المباشرة Indirect Methods:

وتستند هذه الطرائق على تقدير أعداد الآفات بالاعتماد على مظاهر الإصابة على النباتات دون الحاجة إلى حساب أعداد الآفة نفسها حيث من المعروف أن شدة الإصابة تتناسب طرديا مع عدد أفراد الآفة الموجودة وعن

طريق قياس الأضرار التي تحدثها الآفة يمكن قياس تأثير المبيدات في الآفة المسببة لهذه الأضرار وتستخدم هذه الطريقة عادة في الحالات الآتية :

1- مع الآفات التي تتغذى نهارا وتختفي ليلا كالديدان القارضة والقوارض.

2- مع الحشرات والاكاروسات التي توجد بأعداد كبيرة جدا يصعب عدها .

3- مع مسببات الأمراض النباتية وخاصة المتسببة عن الفطريات والديدان الثعبانية .

ومن المهم في هذا المجال التأكد من الكائن المسبب لمظهر الإصابة على النبات قبل تسجيل هذه الأعراض أو نسبتها إلى كائن معين وذلك لاحتمال تشابه بعض أعراض الإصابة بين الآفات المختلفة . إضافة إلى ضرورة التمييز بين أعراض الإصابة بالآفات وبين الأضرار التي قد تحدث للنموات الخضرية بتأثير مبيدات الآفات نفسها. كما يجب أن تكون جميع البيانات والمعلومات معروفة للباحث عن الآفة وتاريخ حياتها ومظاهر الإصابة بها وذلك لكي يمكن الحصول على استنتاجات دقيقة من نتائج هذه الاختبارات والتي يمكن عن طريقها الربط بين فاعلية المبيدات وبين منع الأضرار الناجمة عن آفة معينة . لذلك فان الطرائق التقديرية تعتمد على وضع مراحل متسلسلة وكل مرحلة تمثل مدىً معينا لقياس مدى الضرر او مدى فاعلية المبيد وكما في الأمثلة الآتية:

<u>1- قياس فاعلية المبيدات ضد الديدان القارضة:</u>

تجمع عينة من الأوراق ثم تعزل الأوراق المصابة عن السليمة وتحسب نسبة الإصابة او المساحة المأكولة من الأوراق فتحسب بوضع الأوراق المصابة ورقة بعد أخرى أسفل ورق شفاف مقسم إلى سنتمترات مربعة وتحسب مساحة الأوراق الكلية ثم مساحة الجزء المأكول وتستخرج النسبة المئوية للضرر كذلك تجمع المساحات المأكولة لجميع الأوراق ثم يقدر عدد الحشرات التي أكلتها وذلك بحساب المعدل الذي تأكله اليرقة منذ بداية فقس البيض وحتى تصبح عذراء وتنسب إلى عدد الأوراق الكلية في اللوح المأخوذ كما في المعادلات الآتية :

$$\text{المساحة الكلية الماكولة من اوراق المكرر} = \frac{\text{المساحة الكلية من اوراق العينة الماكولة x متوسط عدد الاوراق الكلية في المكرر}}{\text{عدد الاوراق في العينة}}$$

$$\text{عدد اليرقات في العينة} = \frac{\text{المساحة الكلية من اوراق المكرر الماكولة}}{\text{متوسط ماتستهلكه اليرقة خلال حياتها}}$$

وبهذه الطريقة يمكن تقدير عدد اليرقات قبل وبعد المعاملة لقياس فاعلية المبيد كما يمكن على ضوء المعادلات السابقة وضع التدريج المبين في الجدول (37) .

وعن طريق جمع درجات الإصابة المعطاة لكل ورقة من العينة يمكن مقارنة المجموع بمثيله من عينات المعاملات الأخرى من المبيدات وكذلك بمعاملة

المقارنة .

الجدول (37): تدريجات حساب شدة إصابة النباتات بالديدان القارضة.

درجة الإصابة	صفات الورقة
صفر	الورقة سليمة
1	إصابة ضعيفة جدا (ثمن الورقة مأكول)
2	إصابة ضعيفة(سدس الورقة مأكول)
3	إصابة متوسطة (ربع الورقة مأكول)
4	إصابة شديدة (نصف الورقة مأكول)
5	إصابة شديدة جدا (أكثر من نصف الورقة مأكول)

2– قياس الفاعلية ضد حشرة من الباقلاء الأسود *Aphis fabae* :

قد يصعب في كثير من الأحيان عد أفراد المن على النبات المصاب نتيجة تجمعه بأعداد كبيرة لذلك يمكن قياس الكثافة العددية لحشرة المن عن طريق قياس أعراض وشدة الإصابة وكما في الجدول (38)

الجدول (38): تدريجات حساب شدة إصابة النباتات بحشرة المن .

تدرج الكثافة العددية	أعراض الإصابة
صفر	لا توجد أعراض للإصابة
1	مستعمرات قليلة من الإناث لا تظهر إلا بالفحص الدقيق
2	يغطى المن القمة النامية الرئيسية فتبدو سوداء
3	إضافة إلى القمة النامية الرئيسية يغطي المن جميع قمم الفروع خاصة الثمرية فيما يخلو الساق من الإصابة .
4	ساق النبات الرئيس مغطى بمستعمرات كثيفة من المن ابتداء من القمة النامية حتى الصف الثالث من الأوراق ويبدو على النبات الضعف نتيجة الإصابة
5	المستعمرات الكثيفة السوداء تغطي كل الساق الرئيس حتى الأرض ومظهر النبات ينبئ عن تأثره الشديد بالإصابة
6	بدأت حشرات المن المجنحة في الهجرة تاركة فراغات سوداء والنباتات قد أصيبت بأضرار بالغة
7	القمة النامية منحنية ومازال النبات مخضرا لحد ما .

8	كل أجزاء النبات مغطاة باللون البني المسود والنبات قد ذبل تماما واختفت فيه معالم الحياة

علاوة على التدريج السابق فان هناك تدريجا آخر لقياس الفاعلية ضد المن عن طريق استعمال نطاق أو مدى معين لأعداد الحشرة على الأجزاء المصابة وكما في الجدول (39).

الجدول(39): تدريجات حساب شدة إصابة النباتات بحشرة المن .

التدريج	عدد حشرات المن
1	من صفر – 1
2	من 1-5 حشرات
3	من 6-20 حشرة
4	من21-100حشرة
5	أكثر من 100 حشرة

3– قياس الفاعلية ضد مسببات الأمراض :

نظرا لان جميع مسببات الأمراض النباتية هي كائنات صغيرة جدا يصعب في كثير من الأحيان رؤيتها بالعين المجردة لذلك فان اعتماد طريقة العد المباشر لهذه المسببات تعتبر عملية غير مجدية وغير ممكنة في الاختبارات الحقلية . لذلك فان قياس فاعلية المبيدات ضد مسببات الأمراض النباتية يعتمد بالدرجة الأساس على تحويل مستويات الإصابة إلى درجات إصابة يمكن اعتمادها لمعرفة نسبة فاعلية المبيدات المستخدمة في الاختبار . وكما في الأمثلة التالية :

أ- قياس فاعلية المبيدات ضد مرض البياض ألدقيقي على القرعيات :

يتسبب هذا المرض عن الفطريات وتظهر الإصابة على الأوراق بشكل مسحوق ابيض يشغل مساحات مختلفة من الورقة تتناسب وشدة الإصابة لذلك فان قياس فاعلية المبيدات ضد هذا المرض يتم بأخذ عينة من 100-200 ورقة وتقدر المساحات المصابة من هذه الأوراق بمرض البياض ألدقيقي وفقا للتدريج المبين في الجدول (40):

الجدول(40): تدريجات حساب شدة إصابة القرعيات بمرض البياض ألدقيقي

درجة الإصابة	صفات الورقة
صفر	لا توجد أعراض
1	إصابة ضعيفة جدا (يغطي البياض ثمن الورقة)
2	إصابة ضعيفة (يغطي البياض سدس الورقة)
3	إصابة متوسطة(يغطي البياض ربع الورقة)
4	إصابة شديدة(يغطي البياض نصف الورقة)
5	إصابة شديدة جدا(يغطي البياض أكثر من نصف الورقة)

ب- تقدير فاعلية المبيدات ضد الديدان الثعبانية :

عند التقييم الحيوي لمركب نيماتودي سام أقترح التدرج التالي لقياس الفاعلية الحيوية خاصة للنيماتودا التي تعطي مظهر إصابة في شكل تدرن (جدول 41):

الجدول(41): تدريجات حساب شدة إصابة جذور النباتات بالديدان الثعبانية (النيماتودا) .

المرتبة	مظهر الإصابة
1	**لا توجد مظاهر للإصابة بعد المعاملة .**
2	**الجذور عليها درنات صغيرة كثيرة العدد .**
3	**الجذور عليها درنات كبيرة قليلة العدد .**
4	**الجذور عليها درنات كبيرة وكثيرة العدد .**
5	**الجذور كلها متدرنة لشدة الإصابة ،او لضعف المركب او التركيز المستخدم منه.**

وتكون النسبة المئوية المعدلة للإصابة (الأعراض أو الضرر) = عدد العينات لكل مرحلة x القيمة العددية للمرتبة x 100 / العدد الكلي للعينات .

أما إذا تم اعتماد المظهر العام لنمو النبات في تجارب مبيدات الديدان الثعبانية فيمكن إتباع التدرج المبين في جدول(42):

الجدول(42): تدريجات حساب شدة إصابة النباتات بالديدان الثعبانية (النيماتودا)

التدريج	المظهر العام للنبات
صفر	نمو قوي مماثل لتجربة المقارنة
1	نمو ضعيف عن تجربة المقارنة

2	نمو ضعيف جدا لشدة الإصابة
3	نباتات ميتة تماما

من خلال الأمثلة السابقة يتضح أن تقدير فاعلية المبيدات ضد مسببات الأمراض النباتية يعتمد بالدرجة الأساس على تحويل مظاهر الإصابة الوصفية إلى قيم رقمية يمكن استخدامها فيما بعد لقياس فاعلية المبيدات. إن هذه القيم في الحقيقة ما هي إلا أساس تدريجي يتم الاتفاق عليه بين الباحثين من خلال ملاحظتهم مستويات مختلفة من الإصابة والمهم في هذا الموضوع هو اعتماد نفس منهاج القياس هذا طول مدة التجربة وبعد المعاملة بالمبيدات لكي يمكن بعد ذلك الخروج بنتائج دقيقة يمكن الاعتماد عليها .

حادي عشر) طرائق حساب الفاعلية النسبية للمبيدات

: Method Of Calculating Pesticides Efficacy

كقاعدة عامة فان قيمة المبيدات يعبر عنها بدرجة فاعليتها ، والمقصود بالفاعلية هو مقدار النسبة المئوية لخفض الكثافة العددية للآفة أو النسبة المئوية لخفض الأضرار التي تحدثها الآفة في معاملة المقارنة التي لا تستخدم فيها أية مبيدات ، أي أن فاعلية المبيد تقدر بنسبة تأثيره في المعاملة إلى تأثير الآفة بمفردها في تجربة المقارنة. إلا انه لا يمكن الاعتماد على زيادة المحصول وحده كمقياس للفاعلية النسبية للمبيدات لان هناك عوامل أخرى عديدة تتحكم في كمية المحصول ، وقد لا يكون للمبيدات المستعملة تأثيرا في ذلك لذلك لا يعتمد على قياس زيادة المحصول إلا في الحالات التي يكون مطلوبا فيها بيان ما إذا كانت مقارنة الآفة بالمبيدات ذات صلة بزيادة المحصول ، أما في حالة مقارنة الفاعلية النسبية لعدد من المبيدات المختلفة فانه لا يمكن أن يحتكم فيها فقط إلى الزيادة في المحصول ولكن من الضروري الاعتماد أصلا على تأثير المبيدات النسبي في خفض أعداد هذه الآفات او خفض الأضرار التي تسببها للنباتات.من خلال ما سبق يتضح أن هناك طريقتين لتقدير فاعلية المبيدات هما:

1- تقدير فاعلية المبيدات بدرجة تأثيرها في خفض الكثافة العددية للآفة .

2- تقدير فاعلية المبيدات عن طريق قدرة هذه المبيدات في خفض الأضرار التي تحدثها الآفة .

وكلتا الطريقتين تعتمدان على تحديد مظاهر الإصابة وباستخدام طرائق تقدير الخفض في شدة الإصابة أو الأضرار الناتجة عنها للدلالة على فاعلية المبيدات بطريقة غير مباشرة . وسواء أكان تقدير الفاعلية بالطريقة الأولى أو الثانية فإننا سننتهي إلى أرقام تمثل النسبة المئوية لخفض الكثافة العددية أو لخفض الأضرار على النبات ، إلا أن هذه الأرقام لا تصلح للتحليل الإحصائي مباشرة

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?
user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

فيس بك... كروب... رسائل وأطاريح في علوم الحياة

https://www.facebook.com/
salam.alhelali

https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid
07807137614

لذلك لابد من تصحيح هذه الأرقام قبل استخدامها في عمليات التحليل الإحصائي للمقارنة بين فاعلية المبيدات المختلفة ، وفيما يلي استعراض لأهم المعادلات المستخدمة في هذا المجال :

1- في حالة الإبادة الفورية تستخدم معادلة ابوت Abbott :

عدد الأفراد الحية في   عدد الأفراد الحية في

المقارنة (قبل الرش)   x   المعاملة (بعد الرش)

% لفاعلية المبيد = ———————— x 100

عدد الأفراد الحية في المقارنة (قبل الرش)

او أن :

عدد الحشرات في التجربة بعد المعاملة

% للتصحيح= 1- ——————— x 100

عدد الحشرات في المقارنة بعد المعاملة

2-عندما يكون المقياس هو درجة الإصابة وليس عدد الأفراد الحية او الميتة فتستخدم نفس المعادلة أعلاه وكما يلي :

درجة الإصابة في المقارنة - درجة الإصابة في المعاملة (بعد الرش)

% لفاعلية المبيد = ———————— x 100

درجة الإصابة في معاملة المقارنة

3-عندما يكون المقياس هو في شكل نسب مئوية للقتل للآفة المختبرة ، فتستخدم معادلة Shneider and Orell **:**

نسبة القتل في المعاملة – نسبة الموت في المقارنة

% لفاعلية المبيد =———————— x 100

100 - نسبة الموت في المقارنة

وهي عبارة عن تحوير لمعادلة ابوت وتعتمد على اخذ النسبة المئوية للموت الطبيعي في الاختبار .

4-في حالة الأثر الباقي فتستخدم معادلة Henderson and Tilton والتي تمثل تحويرا لمعادلة أبوت حيث ادخلا في الاعتبار زيادة الكثافة العددية للآفة بين القراءة المأخوذة قبل المعاملة بالمبيدات وبعدها وذلك في مكررات معاملة المقارنة وهي كما يلي :

$$\% \text{ لفاعلية المبيد} = \left(1 - \frac{\text{عدد أفراد الآفة في المعاملة(بعد الرش)} \times \text{عدد أفراد الآفة في المقارنة (قبل الرش)}}{\text{عدد أفراد الآفة قبل المعاملة} \times \text{عدد أفراد الآفة في المقارنة}}\right) \times 100$$

5- في حالة معالجة الخطأ الناجم عن إهمال عامل التغيير الذي يطرأ على الكثافة العددية الطبيعية للآفة أثناء فترة المعاملة بالمبيد وبين تواريخ تسجيل القراءات للتجارب الحقلية فتستخدم معادلة Sun and Shephard:

$$\% \text{ لفاعلية المبيد} = \frac{\text{ع مع} +(\text{او} -) \text{ ع مق}}{100 + \text{ع مق}} \times 100$$

حيث أن :

ع مع : تمثل (**%** للفرق بين عدد أفراد الآفة قبل المعاملة وبعد المعاملة بالمبيد في المكررات المعاملة بالمبيد) أي أنها تمثل الأفراد التي اختفت نتيجة المعاملة بالمبيد (التي قتلها المبيد).

ع مق : تمثل (للتغيير الحاصل في الكثافة العددية للآفة سلبا او إيجابا) أي انه يمثل قيمة ايجابية إذا كانت الكثافة العددية للآفة قد زادت بعد المعاملة ، وقيمة سالبة إذا كانت الكثافة العددية للآفة قد انخفضت بتأثير الظروف الطبيعية .

او أن :

$$\% \text{ للتصحيح} = \frac{\% \text{ للقتل في قطاع المعاملة} \pm \% \text{ للتغير في قطاع المقارنة}}{100 \pm \% \text{ للتغير في قطاع المقارنة}} \times 100$$

حيث أن :

عدد الحشرات في المقارنة – عدد الحشرات في المقارنة

$$\text{\% للتغير في قطاع المقرنة} = \frac{\text{بعد المعاملة} \quad \text{قبل المعاملة}}{\text{عدد الحشرات في المقارنة قبل المعاملة}} \times 100$$

طريقة حساب التثبيط النسبي:

في حالة تدريج الإصابة وأعراضها فيعتبر الحد الأقصى للإصابة 100% وبداية التدريج الخالي من الإصابة صفر % ثم تقسم الوحدات المائة على عدد مراحل تقسيم التدريج فإذا كانت خمسة فتصبح كل مرحلة تمثل 20% ابتداء من الصفر حتى 100% . ونظرا لكون استخدام هذه الطريقة يمثل تقريبا واضحا تضيع فيه الكثير من اعتبارات الدقة لذلك فانه يمكن استخدام المعادلة الآتية في تقدير النسبة المئوية للإصابة :

$$\text{\% لدرجة الإصابة} = \frac{\text{مجموع (ع x ح)}}{\text{م x ل}} \times 100$$

حيث أن:

ع= عدد الأوراق في كل مرحلة من مراحل التدريج .

ح= القيمة العددية لمرحلة التدريج .

ل= العدد الكلي لأوراق العينة .

م= قيمة أعلى مرحلة من مراحل التدريج .

ولإيجاد النسبة المئوية للتثبيط نطبق المعادلة التالية :

$$\text{\% للتثبيط} = \frac{\text{\% لدرجة إصابة المقارنة - \% لدرجة إصابة العينة المعاملة}}{\text{\% لدرجة إصابة المقارنة}} \times 100$$

وبعد إيجاد **%** لفاعلية المبيد أو **%** للتثبيط نكمل مراحل التحليل الإحصائي وكما ورد في موضوع التقييم الحيوي حيث نجد :

- خط السمية من خلال العلاقة بين تركيز المبيد و% لفاعلية التركيز (او رسم خط التثبيط من خلال العلاقة بين تراكيز المبيد و% للتثبيط).
- قيمة LC50 أو IC50 والميل وحدود الثقة للمبيد .

- السمية النسبية أو التثبيط النسبي إذا كان لدينا أكثر من مبيد .
- الحساسية النسبية إذا استعمل المبيد في معاملة أكثر من نوع او أكثر من طور من أطوار الكائن الحي .

التحويل الزاوي Angular transformation :

في تحليل التباين يفضل تحويل البيانات التي تكون بشكل نسب مئوية (مثل نسب القتل) إلى قيم زاوية ، حيث أن مثل هذه البيانات تتبع التوزيع ذو الحدين ، ومن خصائص هذا التوزيع أن التباينات تتناسب مع المتوسطات حيث تميل البيانات إلى الصغر عند نهايات مدى القيم ، أي قريبا من الصفر % و100% بينما المعتاد هو إعطاء أهمية اكبر للفرق بين الصفر و 8 % أو بين 92 % و 100 % مقارنة بالفرق بين 46 % و 54 % رغم أن قيمة الفرق متساوية . ولتلافي ذلك يفضل تحويل النسب المئوية للقتل إلى قيم زاوية ويتم ذلك بإحدى الطريقتين التاليتين :

1- طريقة استخدام الحاسبة (برنامجٍ SAS) :

حيث تطبع المعاملات و% للقتل المصححة بشكل أعمدة متجاورة ، وتدخل ايعازات التحويل إلى القيم الزاوية ضمن Input (يتم ذلك كإحدى مراحل التحليل الإحصائي للبيانات) وكما يلي :

```
 Data    a;
Input     treat      percent ;
       Var1= percent /100 ;
       Var2=SQRT(var1) ;;
       Var3=Arsine(var2)  *  57.3258 ;
Cards ;
-          -
-          -
;
Options pagesize = 500 nodate nonumber ;
Proc anova ; classes  treat    var3;
Model    var3 = treat  ; run ;
```

أما اختبارات المتوسطات فتتم على القيم الأصلية (النسب المئوية percent)

2- طريقة استخدام جداول تحويل النسب المئوية إلى قيم زاوية (جدول 43) :

من أهم خصائص هذا التوزيع أن التباينات تتناسب مع المتوسطات ولكن بصورة مختلفة عما لاحظناه سابقا ففي هذا التوزيع تميل التباينات إلى أن تكون صغيرة عند نهايتي مدى القيم (أي قريبا من 0% و 100%) . ومن المعتاد دائما أن يعطى أهمية اكبر للفرق بين الصفر و 8% أو بين 92% و 100% عنه من الفرق بين 44% و 52% مثلا رغم أن قيمة الفروق واحدة .

إن التحويل المناسب لهذه البيانات هو ما يسمى بالتحويل الزاوي ونحصل عليه بإيجاد الزاوية التي يكون مقلوب قيمة جيبها مساويا لقيمة الجذر ألتربيعي للنسبة المراد تحويلها وتكتب باختصار arsine SQR y (حيث أن SQR تعني الجذر ألتربيعي).

ويمكن استخدام جدول التحويل الزاوي للحصول على قيم التحويل المقابلة للنسب المئوية مباشرة وذلك بقراءة الرقم الذي يقع عند ملتقى العدد الصحيح للنسبة المئوية في العمود الأول من الجدول والذي يحمل علامة % ، وقيمة الكسر لتلك النسبة في السطر الأول من الجدول . وبعد تحويل البيانات يجري تحليل التباين على القيم المحولة كالمعتاد .

الجدول (43): جدول التحويل الزاوي

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.0	0	0.57	0.81	0.99	1.15-	1.28	1.40	1.52	1.62	1.72
0.1	1.81	1.90	1.99	2.07	2.14	2.22	2.29	2.36	2.43	2.50
0.2	2.56	2.63	2.69	2.75-	2.81	2.87	2.92	2.98	3.03	3.09
0.3	3.14	3.19	3.24	3.29	3.34	3.39	3.44	3.49	3.53	3.58
0.4	3.63	3.67	3.72	3.76	3.80	3.85-	3.89	3.93	3.97	4.01
0.5	4.05+	4.09	4.13	4.17	4.21	4.25+	4.29	4.33	4.37	4.40
0.6	4.44	4.48	4.52	4.55+	4.59	4.62	4.66	4.69	4.73	4.76
0.7	4.80	4.83	4.87	4.90	4.93	4.97	5.00	5.03	5.07	5.10
0.8	5.13	5.16	5.20	5.23	5.26	5.29	5.32	5.35+	5.38	5.41
0.9	5.44	5.47	5.50	5.53	5.56	5.59	5.62	5.65+	5.68	5.71
1	5.74	6.02	6.29	6.55-	6.80	7.04	7.27	7.49	7.71	7.92
2	8.13	8.33	8.53	8.72	8.91	9.10	9.28	9.46	9.63	9.81
3	9.98	10.14	10.31	10.47	10.63	10.78	10.94	11.09	11.24	11.39
4	11.54	11.68	11.83	11.97	12.11	- 12.25	12.39	12.52	12.66	12.79
5	12.92	13.05+	13.18	13.31	13.44	13.56	13.69	13.81	13.94	14.06
6	14.18	14.30	14.42	14.54	14.65+	14.77	14.89	15.00	15.12	15.23
7	15.34	15.45+	15.56	15.68	15.79	15.89	16.00	16.11	16.22	16.32
8	16.43	16.54	16.64	16.74	16.85-	16.95+	17.05+	17.16	17.26	17.36

9	17.46	17.56	17.66	17.76	17.85+	17.95+	18.05-	18.15-	18.24	18.34
10	18.44	18.53	18.63	18.72	18.81	18.91	19.00	19.09	19.19	19.28
11	19.37	19.46	19.55+	19.64	19.73	19.82	19.91	20.00	20.09	20.18
12	20.27	20.36	20.44	20.53	20.62	20.70	20.79	20.88	20.96	21.05-
13	21.13	21.22	21.30	21.39	21.47	21.56	21.64	21.72	21.81	21.89
14	21.97	22.06	22.14	22.22	22.30	22.38	22.46	22.55-	22.63	22.71
15	22.79	22.87	22.95-	23.03	23.11	23.19	23.26	23.34	23.42	23.50
16	23.58	23.66	23.73	23.81	32.89	23.97	24.04	24.12	24.20	24.27
17	24.35+	24.43	24.50	24.58	24.65+	24.73	24.80	24.88	24.95+	25.03
18	25.01	25.18	25.25+	25.33	25.40	25.48	25.55-	25.62	25.70	25.77
19	25.84	25.92	25.99	26.06	26.13	26.21	26.28	26.35-	26.42	26.49
20	26.56	26.64	26.71	26.78	26.85+	26.92	26.99	27.06	27.13	27.20
21	27.28	27.35-	27.42	27.49	27.56	27.63	27.69	27.76	27.83	27.90
22	27.97	28.04	28.11	28.18	28.25-	28.32	28.38	28.45+	28.52	28.59
23	28.66	28.73	28.79	28.86	28.93	29.00	29.06	29.13	29.20	29.27
24	29.33	29.40	29.47	29.53	29.60	29.67	29.73	29.80	29.87	29.93
25	30.00	30.07	30.13	30.20	30.26	30.33	30.40	30.46	30.53	30.59
26	30.66	30.72	30.79	30.85+	30.92	30.98	31.05-	31.11	31.18	31.24
27	31.31	31.37	31.44	31.50	31.56	31.63	31.69	31.76	31.82	31.88
28	31.95-	32.01	32.08	32.14	36.20	32.27	32.33	32.39	32.46	32.52
29	32.58	32.65-	32.71	32.77	32.83	32.90	32.96	33.02	33.09	33.15-
30	33.21	33.27	33.34	33.40	33.46	33.52	33.58	33.65-	33.71	33.77
31	33.83	33.89	33.96	34.02	34.08	34.14	34.20	34.27	34.33	34.39
32	34.45-	34.51	34.57	34.63	34.70	34.76	34.82	34.88	34.94	35.00
33	35.06	35.12	35.18	35.25	35.30	35.37	35.43	35.49	35.55-	35.71
34	35.67	35.73	35.79	35.85-	35.91	35.97	36.03	36.09	39.15+	36.21
35	36.27	36.33	36.39	36.45+	36.51	26.57	36.63	36.69	36.75+	36.81
36	36.87	36.93	36.99	37.05-	37.11	37.17	37.23	37.29	37.35-	37.41
37	37.47	37.52	37.58	37.64	37.70	37.76	37.82	37.88	37.94	38.00
38	38.06	38.12	38.17	38.23	38.29	38.35+	38.4	38.47	38.53	38.59
39	38.65-	38.70	38.76	38.82	38.88	38.94	39.00	39.06	39.11	39.17
40	39.23	39.29	39.35-	39.41	39.47	39.52	39.58	39.64	39.70	39.76
41	39.82	39.87	39.93	39.99	40.05-	40.11	40.16	40.22	40.28	40.34
42	40.40	40.46	40.51	40.57	40.63	40.69	40.74	40.80	40.86	40.92
43	40.98	41.03	41.09	41.15-	41.21	41.27	41.32	41.38	41.44	41.50
44	41.55+	41.61	41.67	41.73	41.78	41.84	41.90	41.96	42.02	42.07
45	42.13	42.19	42.25-	42.30	42.36	42.42	42.48	42.53	42.59	42.65-

46	42.71	42.76	42.82	42.88	42.94	42.99	43.05-	43.11	43.17	43.22
47	43.28	43.34	43.39	43.45+	43.51	43.57	43.62	43.68	43.74	43.80
48	43.85+	43.91	43.97	44.03	44.08	44.14	44.20	44.25+	44.31	44.37
49	44.43	44.48	44.54	44.60	44.66	44.7	44.77	44.83	44.89	44.94
50	45.00	45.06	45.11	45.17	23..45	45.29	45.34	45.40	45.46	45.52
51	45.57	45.63	45.69	45.75-	45.80	45.86	45.92	45.97	46.03	46.09
52	46.15-	46.20	46.26	46.32	46.38	46.43	46.49	46.55-	46.61	46.66
53	46.72	46.78	46.83	46.89	46.95+	47.01	47.06	47.12	47.18	47.24
54	47.29	47.35+	47.41	47.47	47.52	47.58	47.64	47.70	47.75+	47.81
55	47.87	47.93	47.98	48.04	48.10	48.16	48.22	48.27	48.33	48.39
56	48.45-	48.50	48.56	48.62	48.68	48.73	48.79	48.85+	48.91	48.97
57	49.02	49.08	49.14	49.20	49.26	49.31	49.37	49.43	49.49	49.54
58	49.60	49.66	49.72	49.78	49.84	49.89	49.95+	50.01	50.07	50.13
59	50.18	50.24	50.30	50.36	50.42	50.48	50.53	50.59	50.65+	50.71
60	50.77	50.83	50.89	50.94	51.00	51.06	51.12	51.18	51.24	51.30
61	51.35+	51.41	51.47	51.33	51.59	51.65-	51.71	51.77	51.83	51.88
62	51.94	52.00	52.06	52.12	52.18	52.24	52.30	52.36	52.42	52.48
63	52.53	52.59	52.65+	52.71	52.77	52.83	52.89	52.95+	53.01	53.07
64	53.13	53.19	53.25-	53.31	53.37	53.43	53.49	53.55-	53.61	53.67
65	53.73	53.79	53.85-	53.91	53.97	54.03	54.09	54.15+	54.21	54.27
66	54.33	54.39	54.45+	54.51	54.57	54.63	54.70	54.76	54.82	54.88
67	54.94	55.00	55.06	55.12	55.18	55.24	55.30	55.37	55.43	55.49
68	55.55+	55.61	55.67	55.73	55.80	55.86	55.92	55.98	56.04	56.11
69	56.17	56.23	56.29	56.35+	56.42	56.48	56.54	56.60	56.66	56.73
70	56.79	56.85+	56.91	56.98	57.04	57.10	57.17	57.23	57.29	57.35+
71	57.42	57.48	57.54	57.61	57.67	57.73	57.80	57.86	57.92	57.99
72	58.05+	58.12	58.18	58.24	58.31	58.37	58.44	58.50	58.56	58.63
73	58.65	58.76	58.82	58.89	58.95+	59.02	59.08	59.15-	59.21	59.28
74	59.34	59.41	59.47	59.54	59.60	59.67	59.74	59.80	59.87	59.93
75	60.00	60.07	60.13	60.20	60.27	60.33	60.40	60.47	60.53	60.60
76	60.67	60.73	60.80	60.87	60.94	61.00	61.07	61.14	61.21	61.27
77	61.54	61.41	61.48	61.55-	61.62	61.68	61.75+	61.8	61.89	61.96
78	62.03	62.10	62.17	62.24	62.31	62.37	62.44	62.51	62.58	62.65+
79	62.72	62.80	62.87	62.94	63.01	63.08	63.15-	63.22	63.29	63.36
80	63.44	63.51	63.58	63.65+	63.72	63.78	63.87	63.94	64.01	64.08
81	64.16	64.23	64.30	64.38	64.45+	64.52	64.60	64.67	64.75-	64.82
82	64.90	64.97	65.05-	65.12	65.20	65.27	65.35-	65.42	6550	65.57

83	65.65-	65.73	65.80	65.88	65.96	66.03	66.11	66.19	66.27	66.34
84	66.42	66.50	66.58	66.66	66.74	66.81	66.89	66.97	67.05+	67.13
85	67.21	67.29	67.37	67.45+	67.54	67.62	67.70	67.78	67.86	67.94
86	68.03	68.11	68.19	68.28	68.36	68.44	68.53	68.61	68.70	68.78
87	68.87	68.95+	69.04	69.12	69.21	69.30	69.38	69.47	69.56	69.64
88	69.73	69.82	69.91	70.00	70.09	70.18	70.27	70.36	70.45-	70.54
89	70.63	70.72	70.81	70.91	71.00	71.09	71.19	71.28	71.37	71.47
90	71.56	71.66	71.76	71.85+	71.95+	72.05-	72.15-	72.24	72.34	72.44
91	72.54	72.64	72.74	72.84	72.95-	73.05-	73.15+	73.26	73.36	73.46
92	73.57	73.68	73.78	73.89	74.00	74.11	74.21	74.32	74.44	74.55-
93	74.66	74.77	74.88	75.00	75.11	75.23	75.35-	75.46	75.58	75.70
94	75.82	75.94	76.06	76.19	76.31	76.44	76.56	76.69	76.82	76.95-
95	77.08	77.21	77.34	77.48	77.61	77.75+	77.89	78.03	78.17	78.32
96	78.46	78.61	78.76	78.91	79.06	79.22	79.37	79.53	79.69	79.86
97	80.02	80.19	80.37	80.54	80.72	80.90	81.09	81.28	81.47	81.67
98	81.87	82.08	82.29	82.51	82.73	82.96	83.20	83.45+	83.71	83.98
99	84.26	84.29	84.32	84.35-	84.38	84.41	84.44	84.47	84.50	84.53
99.1	84.56	84.59	84.62	84.65-	84.68	84.71	84.74	84.77	84.80	84.84
99.2	84.87	84.90	84.93	84.79	85.00	85.03	85.07	85.10	85.13	85.17
99.3	85.20	85.24	85.27	85.31	85.34	85.38	85.41	85.45-	85.48	85.52
99.4	85.56	85.60	85.63	85.67	85.71	85.75-	85.79	85.83	85.87	85.91
99.5	85.95-	85.99	86.03	86.07	86.11	86.15-	86.20	86.24	86.28	86.33
99.6	86.37	86.42	86.47	86.51	86.56	86.61	86.66	86.71	86.76	86.81
99.7	96.86	86.91	86.97	87.02	87.08	87.13	87.19	87.25+	87.31	87.37
99.8	87.44	87.50	87.57	87.64	87.71	87.78	87.86	87.93	88.01	88.10
99.9	88.19	88.28	88.38	88.48	88.60	88.72	88.85+	89.01	89.19	89.43
100	90.00									

* في التجارب الحقلية قد يتطلب الأمر تحديد طبيعة الفروقات الموجودة بين المركبات المستخدمة في الدراسة وتحديد أفضل هذه المركبات في عملية مكافحة الآفات لذلك يتطلب الأمر إجراء عملية تحليل إحصائي لنتائج الدراسة وذلك لإثبات حقيقة الفروقات بين المعاملات المختلفة ، وذلك باستعمال تحليل التباين والذي يمكن بواسطته تقدير مدى دلالة هذه الفروقات بين نتائج

المعاملات المختلفة ومستوى معنوية هذه الفروقات . ويتم إجراء التحليل إما يدويا (وحسب نوع تصميم التجربة) او باستخدام برمجيات التطبيقات الجاهزة مثل برنامج Sas أو Spss أو Statgraph وما شابه ذلك .إن عملية التحليل الإحصائي تتطلب تحويل النسب المئوية للقتل او النسب المئوية للفاعلية أو للتثبيط إلى قيم زاوية .

أمثلة تطبيقية

مثال 1:

في تجربة لدراسة تأثير نوعين من المبيدات هما Karathane و Kelthane على الانتشار الموسمي لحلم الفستق الأحمر الكاذب تم رش الأشجار بالتراكيز 0.5 ، 1، 2 % لكل مبيد وبواقع ثلاث مكررات ، وضم كل مكرر ثلاث أشجار فستق ومع بداية تفتح الأوراق وانتقال بالغات الحلم إلى الأوراق تم اخذ عينات كل 15 يوما وبواقع 45 ورقة لكل تركيز وكذلك لمعاملة المقارنة والتي عوملت بالماء ، حيث تجلب العينات إلى المختبر لحساب ما عليها من أطوار متحركة للحلم ، وقد وزعت جميع المعاملات عشوائيا طبقا للتجارب ألعامليه باستخدام التصميم العشوائي الكامل. والجدول (44) يوضح نتائج الدراسة :

جدول (44): نتائج معاملة بعض الأشجار المصابة بحلم الفستق الأحمر بمبيدي Kelthane Karathane

التركيز %	المكررات	معدل عدد الأطوار المتحركة / ورقة Karathane	Kelthane	المقارنة
0.5	1	84	94	100
	2	82	94	100
	3	92	85	100
1	1	67	59	100
	2	72	72	100
	3	67	67	100
2	1	57	21	100
	2	56	27	100
	3	43	27	100

الحل:

1- نجد معدل عدد الأطوار المتحركة/ ورقة للمكررات الثلاثة في كل تركيز، ففي :

التركيز 0.5% لمبيد Karathane = (84 +82 +92) / 3 = 86

وهكذا لبقية التراكيز إذ يصبح الجدول كما يلي :

جدول (45): نتائج معاملة بعض الأشجار المصابة بحلم الفستق الأحمر بمبيدي **Kelthane Karathane**

التركيز %	معدل عدد الأطوار المتحركة / ورقة Karathane	Kelthane	المقارنة
0.5	86	91	100
1	69	66	100
2	52	25	100

عدد الأفراد الحية في المقارنة - عدد الأفراد الحية في المعاملة

2- نجد % لفاعلية المبيد (التركيز)= ———————— x 100
عدد الأفراد الحية في معاملة المقرنة

بالنسبة للتركيز 0.5% لمبيد Karathane = (100-86) x 100/100 =14%

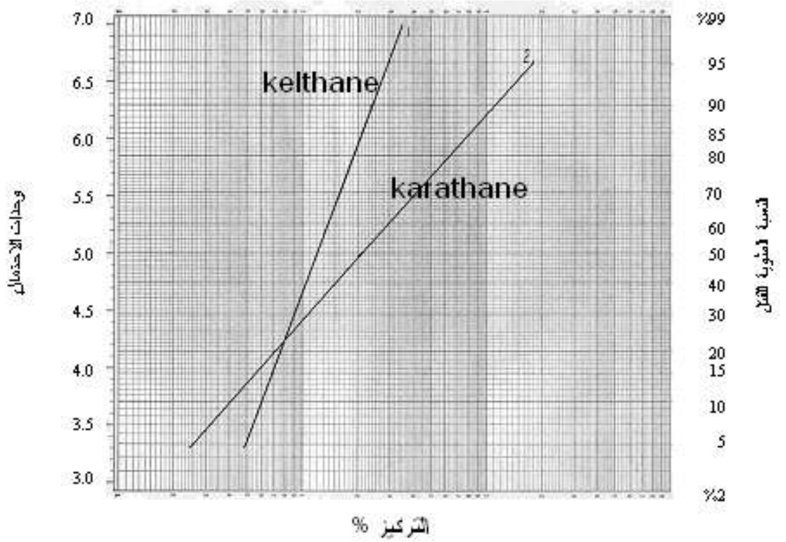
وهكذا بالنسبة لبقية التراكيز ، حيث بلغت % للفاعلية كما يلي :

جدول (46): نتائج معاملة بعض الأشجار المصابة بحلم الفستق الأحمر بمبيدي Karathane Kelthane

التركيز %	% للفاعلية لمبيدي	
	Karathane	Kelthane
0.5	14	9
1	31	34
2	48	75

3- نرسم خط السمية للمبيدين (الشكل 84) ، ومنه يتبين أن :

قيمة LC50 لمبيد Karathane = 2.1% ولمبيد Kelthane = 1.3%



الشكل (84) : استجابة الحلم الأحمر الكاذب لمبيدي Karathane و Kelthane

.

4- نجد قيم الميل وحدود الثقة بإحدى الطرائق السابقة الذكر حيث وجد باستخدام

برنامج Probit.exe إنها تساوي كما في جدول (47) :

جدول (47): نتائج التحليل الإحصائي لمعاملة بعض الأشجار المصابة بحلم الفستق الأحمر

بمبيدي Karathane Kelthane

المبيد	الميل	حدود الثقة لـ LC50	
		الحد الأدنى	الحد الأعلى
Karathane	1.69	1.61	3.33
Kelthane	3.37	1.15	1.45

مبيد الكاراثين:

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM

USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES

Version 1.5

karathane

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
0.5000	100	14	0.1400	0.1400	0.1469
1.0000	100	31	0.3100	0.3100	0.2946
2.0000	100	48	0.4800	0.4800	0.4880

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.177

Chi - Square for Heterogeneity

(tabular value at 0.05 level) = 3.841

Mu = 0.318820

Sigma = 0.590544

Parameter Estimate Std. Err. 95% Confidence Limits

Intercept 4.460125 0.079380 (4.304541, 4.615709)
Slope 1.693353 0.327304 (1.051837, 2.334870)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000
karathane

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.088	0.019	0.180
LC/EC 5.00	0.223	0.081	0.357
LC/EC10.00	0.365	0.177	0.519
LC/EC15.00	0.509	0.298	0.673
LC/EC50.00	2.084	1.614	3.336
LC/EC85.00	8.528	4.721	30.650
LC/EC90.00	11.903	6.035	52.228
LC/EC95.00	19.508	8.669	115.227
LC/EC99.00	49.272	17.057	509.683

مبيد الكلثين:

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES
Version 1.5

kelthane

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding

0.5000	100	9	0.0900	0.0900	0.0832
1.0000	100	34	0.3400	0.3400	0.3567
2.0000	100	75	0.7500	0.7500	0.7419

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.217
Chi - Square for Heterogeneity
(tabular value at 0.05 level) = 3.841

Mu = 0.108738
Sigma = 0.296137

Parameter Estimate Std. Err. 95% Confidence Limits
--
Intercept 4.632813 0.084743 (4.466717, 4.798910)
Slope 3.376816 0.368203 (2.655139, 4.098493)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000
kelthane
Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

	Exposure	95% Confidence Limits	
Point	**Conc.**	**Lower**	**Upper**
LC/EC 1.00	0.263	0.174	0.346
LC/EC 5.00	0.418	0.312	0.511
LC/EC10.00	0.536	0.424	0.632
LC/EC15.00	0.634	0.520	0.731
LC/EC50.00	1.285	1.150	1.454
LC/EC85.00	2.604	2.175	3.380
LC/EC90.00	3.078	2.508	4.162

LC/EC95.00	**3.943**	**3.091**	**5.675**
LC/EC99.00	**6.275**	**4.558**	**10.190**

5- نجد السمية النسبية ودليل السمية:

السمية النسبية= قيمة LC50 لأكثر المبيدات المختبر كفاءة / قيمة LC50 للمبيد الآخر .

السمية النسبية لمبيد Karathane =1.3/1.3=1

السمية النسبية لمبيد Kelthane =2.1/1.3= 0.61

دليل السمية = السمية النسبية x 100

دليل السمية لمبيد Karathane =0.61 x 100=61%

دليل السمية لمبيد Kelthane = 1 x 100= 100%

6- الكفاءة النسبية= (قيمة LC50 لأقل المبيدات المختبر كفاءة / قيمة LC50 للمبيد الآخر .) x 100

الكفاءة النسبية لمبيد Karathane =2.1/2.1=1

الكفاءة النسبية لمبيد Kelthane =1.3/2.1 = 1.615

7- الحساسية النسبية: لا يمكن إيجادها لان المعاملة كانت لنوع واحد من الكائنات الحية .

8- نجري تحليل التباين ومقارنة المتوسطات باختبار دنكن Duncan أو T أو أي اختبار آخر،ويتم ذلك أما بطريقة التحليل اليدوي أو باستخدام الحاسبة الالكترونية وكما يلي (باستخدام برنامج sas) :

data a;

input pesticid concent death ;

نحول **%** للقتل إلى القيم الزاوية كما يلي(علما بان **1**هو **karathane** و **2** هو **kelthane**):

var1=death/100;

var2=sqrt(var1);

death2=arsine(var2)*57.3258;

cards ;

1 0 0

```
1     0     0
1     0     0
1     0.5   16
1     0.5   18
1     0.5   8
1     1     33
1     1     28
1     1     33
1     2     43
1 2   44
1 2   57
2 0   0
2 0   0
2 0   0
2 0.5 6
2 0.5 6
2 0.5 15
2 1   41
2 1   28
2 1   33
2 2   79
2 2   73
2 2   73
;
options pagesize=500 nodate nonumber;
```

نحلل على أساس قيم التحويل الزاوي للحصول على تحليل التباين فقط كما يلي:

```
proc ANOVA;
classes  pesticid   concent;
model  death2=  pesticid |  concent;
run;
```

ثم نحلل على أساس قيم النسب المئوية للحصول على المتوسطات واختبار دنكن لها كما يلي:

```
proc ANOVA;
classes  pesticid   concent;
```

```
model death= pesticid | concent;
means pesticid concent/Duncan; run;
```

نتائج التحليل :

SAS
Analysis of Variance Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
PESTICID	2	1 2
CONCENT	4	0 1 2 0.5

Number of observations in data set = 24

SAS

تحليل التباين على أساس القيم الزاوية:

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: DEATH2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	9256.3736474	1322.3390925	116.59	0.0001

Error 16 181.4671238 11.3416952

Corrected Total 23 9437.8407712

R-Square	C.V.	Root MSE	DEATH2 Mean
0.980772	12.685483	3.3677433	26.54801100

Source	DF	ANOVA SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PESTICID	1	64.565251	64.565251	5.69	0.0297
CONCENT	3	8826.652934	2942.217645	259.42	0.0001
PESTICID*CONCENT	3	365.155462	121.718487	10.73	0.0004

SAS

Analysis of Variance Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
PESTICID	2	1 2
CONCENT	4	0 1 2 0.5

Number of observations in data set = 24

SAS

تحليل التباين على أساس النسب المئوية للقتل (يهمل لأنه لا يمكن الاستفادة منه) :

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: DEATH

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	14283.166667	2040.452381	91.02	0.0001
Error	16	358.666667	22.416667		
Corrected Total	23	14641.833333			

R-Square	C.V.	Root MSE	DEATH Mean
0.975504	17.922868	4.7346242	26.41666667

Source	DF	ANOVA SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PESTICID	1	228.166667	228.166667	10.18	0.0057
CONCENT	3	13141.500000	4380.500000	195.41	0.0001
PESTICID*CONCENT	3	913.500000	304.500000	13.58	0.0001

SAS

المتوسطات واختبار دنكن على أساس النسب المئوية للقتل:

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: DEATH

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate,not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 22.41667

Number of Means 2

Critical Range 4.0906158

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping Mean N PESTICID

A	29.500	12	2
B	23.333	12	1

SAS

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: DEATH

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate,not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 16 MSE= 22.41667

Number of Means	2	3	4
Critical Range	5.7850043	6.0703271	6.2666899

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	CONCENT
A	61.500	6	2
B	32.667	6	1
C	11.500	6	0.5
D	0.000	6	0

ملاحظات:

1- راجع الملاحظات السابقة بشان إضافة تحليلات أخرى .

2- لإجراء التحليل يدويا راجع كتاب (تصميم وتحليل التجارب الزراعية لمؤلفيه د.خاشع محمودالراوي و د. عبد العزيز خلف الله)

مثال 2 :

في إحدى التجارب الحقلية تم اختبار تأثير مبيدي الكلثين والاكركس بتركيز 0.005 لمكافحة العنكبوت الأحمر الاعتيادي على القطن . أخذت القراءات بعد يومين من المعاملة ، وكان متوسط عدد الأفراد الحية في معاملة المقارنة = **7** ، فيما كان متوسط عدد الأفراد الحية في القطعة المعاملة بمبيد الكلثين = 11 وفي

القطعة المعاملة بمبيد الاكركس =7 . احسب النسبة المئوية لفاعلية كل مبيد وأيهما أحسن ؟

الحل:

تستخدم معادلة ابوت لحساب فاعلية المبيدين وكما يلي:

عدد الأفراد الحية في المقارنة - عدد الأفراد الحية في المعاملة

% لفاعلية المبيد = ـــــــــــــــــــــــــــ x 100

عدد الأفراد الحية في معاملة المقرنة

% لفاعلية مبيد الكلثين = (71-11) x 71/100 = 84.5%

% لفاعلية مبيد الاكركس = (71-7) x 71/100 = 90.1%

أي أن السمية النسبية لمبيد الاكركس =90.1/90.1=1

والسمية النسبية لمبيد الكلثين = 90.1/84.5 = 0.93

أي أن مبيد الاكركس هو الأكثر فاعلية في مكافحة العنكبوت الأحمر .

مثال 3 :

في دراسة حقلية لاختبار تأثير مبيد السوبراسيد في مكافحة قفاز أوراق العنب وجد أن نسبة موت القفاز في معاملة المقارنة كانت 6% فيما كانت نسبة الموت في القطعة المعاملة بمبيد السوبراسيد 73% . ما هي النسبة المئوية لفاعلية مبيد السوبراسيد في مكافحة قفاز أوراق العنب ؟

الحل : بما أن الأرقام المستخدمة في المثال تمثل النسب المئوية للموت في الآفة فانه يمكن استخدام معادلة Schneider and Orell وهي :

نسبة القتل في المعاملة – نسبة الموت في المقارنة

% لفاعلية المبيد = ـــــــــــــــــــــــــــ x 100

100 - نسبة الموت في المقارنة

% لفاعلية مبيد السوبراسيد = (73-6) x 100 / (100-6)= 71.27 %.

مثال 4 :

في تجربة لاختبار تأثير أربعة مبيدات حشرية في مكافحة حشرات بسليد الفستق تم اخذ عينات قبل الرش بـ 24 ساعة وأخذت العينات من نفس الأشجار بعد

معاملتها بالمبيدات المختبرة وبمعدل 60 ورقة لكل معاملة وتم تسجيل أعداد الحوريات الحية والمتحركة فوق الأوراق قبل وبعد المعاملة بالمبيدات وكانت النتائج كما في الجدول(48) .

جدول (48) : نتائج معاملة بعض الأشجار المصابة ببسليد الزيتون ببعض المبيدات

نوع المبيد	مجموع الحي قبل الرش	مجموع الحي بعد الرش
كارات 5%	414	77
هوست كويك 50%	621	314
دانيتول 10%	375	101
بريمور 5%	954	352
المقارنة	1065	2210

احسب النسبة المئوية لفاعلية المبيدات المستخدمة في الدراسة وأيهما أكثر فاعلية؟

الحل:

لحساب النسبة المئوية لفاعلية المبيدات الأربعة يمكن استخدام معادلة Henderson and Telton وهي:

% لفاعلية المبيد =

$$\left(1 - \frac{\text{عدد أفراد الآفة المعاملة(بعد الرش)} \times \text{عدد أفراد الآفة في المقارنة (قبل الرش)}}{\text{عدد أفراد الآفة قبل المعاملة} \times \text{عدد أفراد الآفة في المقارنة بعد الرش}}\right) \times 100$$

% لفاعلية مبيد الكارات =

$$\left(1 - \frac{1065 \times 77}{2210 \times 414}\right) \times 100 = 91.03\%$$

% لفاعلية مبيد هوست كويك =

$$\left(1 - \frac{1065 \times 314}{2210 \times 621}\right) \times 100 = 75.63\%$$

$$\% \text{لفاعلية مبيد دانيتول} = \left(1 - \frac{1065 \times 101}{2210 \times 375}\right) \times 100 = 87.02\%$$

$$\% \text{لفاعلية مبيد البريمور} = \left(1 - \frac{1065 \times 352}{2210 \times 954}\right) \times 100 = 82.21\%$$

وعليه فان السمية النسبية للمبيدات كما يلي:

مبيد الكارات = 91.03 / 91.03 =1

مبيد هوست كويك = 75.63 / 91.03 =0.83

مبيد دانيتول = 87.02 /91.03 = 0.95

مبيد البريمور = 82.21 / 91.02 = 0.90

إذن أكثر المبيدات سمية مبيدات الكارات يليه مبيد دانيتول ثم البريمول واقلها سمية مبيد هوست كويك .

مثال 5:

في دراسة لتحديد فاعلية مبيد السوميثيون لمكافحة حشرة البق المطرز على أشجار الكمثرى تم استخدام هذا المبيد بتركيز 0.005 حيث أخذت 100 ورقة كمثرى لحساب فاعليتها من حشرات حية قبل وبعد المعاملة وكانت النتائج كما يلي:

متوسط عدد حشرات البق المطرز في معاملة المقارنة قبل المعاملة = 413

متوسط عدد حشرات البق المطرز في معاملة المقارنة بعد المعاملة = 580

وكان متوسط عدد حشرات البق المطرز قبل المعاملة = 315 وبعد المعاملة بالمبيد = 29 حشرة . احسب النسبة المئوية لفاعلية مبيد السوميثون .

الحل:

لإيجاد النسبة المئوية لفاعلية السوميثيون يمكن استخدام إحدى المعادلتين الآتيتين:

- معادلة Henderson and Telton :

423 x 29

% لفاعلية السوميثيون = (10- ————) x 100 =93.44%

580 x 315

- معادلة Sun and Shephard :

ع مع - ع مق

% لفاعلية المبيد =———— x 100

100 + ع مق

% للموت (ع مع) = (29-315) x 315/100 = 90.79%

نسبة التغير في عدد الآفة (ع مق)= (413-580)x 413/100=40.43%

40.43 + 90.79

إذن % لفاعلية المبيد =———— x 100=93.44%.

40.43 + 100

مثال 6:

في دراسة لتحديد درجة إصابة أوراق العنب بمرض البياض ألزغبي تم اخذ عينة من 40 ورقة تم فحصها لتسجيل درجات إصابتها بهذا المرض فوقعت في المراحل الآتية من التدريج (جدول 49):

جدول (49) : نتائج تقدير إصابة بعض أشجار العنب بالبياض ألزغبي .

مرحلة التدريج (ج)	عدد الأوراق في كل مرحلة (ع)
7	15
5	4
4	7
3	9
2	1
1	1
صفر	3

إذن م x ل = 7 x 40= 280

مجموع (ع x ج) = 105 + 20 + 28 + 27 + 2 + 1= 183 .

إذن % لدرجة الإصابة = 183 x 283/100 = 64.66% .

ولو فرضنا أن هذا التدريج ناجم عن تأثير تراكيز معينة لمبيد فطري فان المقارنة أخذت التدريج 8 (أي % لدرجة إصابتها = 80 %) عند ذلك يمكن حساب % للتثبيط من :

$$\text{\% للتثبيط} = \frac{\text{\% لدرجة إصابة المقارنة - \% لدرجة إصابة العينة المعاملة}}{\text{\% لدرجة إصابة المقارنة}} \times 100$$

= (80 – 64.66) x 80/100 = 19.17 %.

ولو كان لدينا عدة تراكيز فإننا نحسب **%** للتثبيط لكل منهما ، ومنها نرسم خط التثبيط، ونحسب الميل وحدود الثقة والسمية النسبية (إذا كان هنالك أكثر من مبيد) والحساسية النسبية إذا عومل بكل مبيد أكثر من نوع من المسببات المرضية للنبات.

الفصل الثالث

التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات

المفهوم والطرائق والتطبيق

- المقدمة .
- التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات ، المفهوم والمزايا.
- خطوات إجراء التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات .
- اخذ العينات .
- استخلاص متبقيات المبيدات .
- التنقية.
- التحوير.
- التقدير النهائي لمتبقيات المبيدات .
- تقييم تأثير متبقيات المبيدات في بعض الأنظمة الحيوية .
- أمثلة تطبيقية في تقدير متبقيات بعض المبيدات .

المقدمة Introduction

إن عملية تقدير مبيدات الآفات ونواتج تحليلها في البيئة يتطلب بلاشك استخدام طرائق عديدة لتقييمها كيميائيا وذلك من خلال تقدير متبقيات المبيدات في مكونات البيئة المختلفة من تربة وماء وهواء ونبات وحيوان وكائنات دقيقة فضلا عن تتبع نواتج تحللها وهدمها وتحديد نسبة تحللها وفترة بقاءها في البيئة.وهي عمليات دقيقة تتطلب أجهزة ومختبرات متطورة وبالرغم من إمكانية متابعة سلوك المبيدات في البيئة عن طريق التقييم الحيوي للمبيدات والذي سبق الإشارة إليه في الفصول السابقة من هذا الكتاب إلا أن دقتها لا ترقى إلى دقة وسرعة إجراء مثل هذه الدراسات باستخدام طرائق التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات . لذلك ولأهمية التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات في البيئة فإننا سنحاول في هذا الفصل تسليط الضوء على أهم جوانب هذا الموضوع .

التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات ، المفهوم والمزايا :

Chemoassay Of Pesticides , Definition and Characters

يقصد بالتقييم الكيميائي لمبيدات الآفات استخدام كل الطرائق والتقنيات المتاحة من اجل متابعة مصير مبيدات الآفات في مكونات النظام البيئي المختلفة . وتقدير مخلفاتها ونواتج أيضها من اجل حماية الإنسان والبيئة ، ولعل من أهم ايجابيات التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات ما يأتي :

1) إن الطرائق المستخدمة في التقييم الكيميائي هي طرائق متعددة ومتباينة مما يتيح فرصة اختيار الطريقة التي تناسب ظروف وإمكانيات المختبر الذي يقوم بعملية التحليل الكيميائي فضلا عن ملائمتها لطبيعة المركب الكيميائي .

2) أكثر دقة وحساسية من الطرائق الحيوية وتعطي صورة واضحة عن كميات وطريقة توزيع وانتشار المبيد موضوع الدراسة في عناصر البيئة المختلفة .

3) يمكن انجازها في وقت قصير مقارنة بالطرائق الحيوية .

4) تعتبر من طرائق التحليل الكمي Quantitative والوصفي Qualitative للمبيدات.

5) اعتماد طرائق التقييم الكيميائي من قبل المنظمات الدولية وذلك نظرا لدقة وسرعة هذه الطرائق .

وبالرغم من الايجابيات السابقة إلا أن هناك بعض العوامل التي تحد من شيوع استخدامها وهي :

1- الحاجة إلى مختبرات ذات تقنية عالية ومواد كيميائية خاصة ذات درجة عالية من النقاوة لا تتوفر في اغلب الأحيان خاصة في الدول النامية .

2- طرائقها مكلفة جدا وتحتاج إلى فنيين على درجة عالية من الكفاءة والتدريب .

3- صعوبة مواكبة التطور الحاصل في أجهزة التحليل الكيميائي نظرا لارتفاع أسعارها.

4- إن الاتفاق على طريقة كيميائية متفق عليها عالميا لتحليل مركب كيميائي معين يحتاج إلى اختبارات شاقة ومعقدة تستغرق وقتا طويلا .

خطوات إجراء التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات

Chemoassay Steps Of Pesticides

تمر عملية التقييم الكيميائي لأي مبيد أو مركب كيميائي بالعديد من الخطوات والمراحل والتي يمكن إيجازها بما يلي :

أولا) اخذ العينات.

ثانيا) استخلاص متبقيات المبيد .

ثالثا) التنقية .

رابعا) التحوير .

خامسا) التقدير النهائي لمتبقيات المبيدات .

وفيما يلي عرض مفصل لكل خطوة أو مرحلة من المراحل السابقة.

الخطوة الأولى : اخذ العينات Sampling

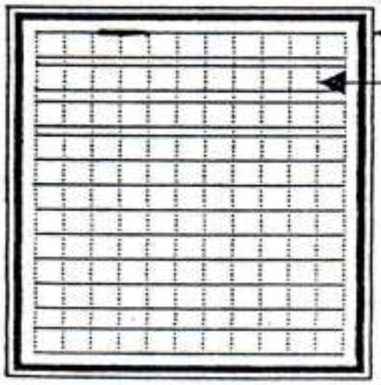
تعد عملية اخذ العينات من أهم الخطوات المحددة لنجاح عملية التقييم الكيميائي لمبيدات الآفات ولنجاح هذه الخطوة لابد من مراعاة ما يأتي :

أولا:- اعتبارات تراعى قبل اخذ العينات Pre-sampling Consideration :

آ- الوسط الذي تؤخذ منه العينه Sampling Media:

1- الهواء Air :

تؤخذ عينات الهواء بطرائق مختلفة أهمها غربال من القماش Cloth screen والمشبع بخليط 10% ايثيلين كليكول في الأسيتون والمثبتة في إطار خشبي وتوضع في أماكن اخذ العينة لمدة 24 ساعة, الشكل (85). وهناك وحدة اخذ العينات الصلبة Solid sampler وهي عبارة عن أنبوبة زجاجية تحتوي على مادة ادمصاص يمر عليها الهواء المحمل بالسموم والملوثات التي يمكن الحصول عليها بإزاحتها من على مادة الادمصاص ، وهناك أيضا وحدة – Aremburg Smith Impinger System والتي يوضع بداخلها ايثيلين كليكول ثم يمرر الهواء خلالها بمعدل 28.3 لتر/ دقيقة لمدة 12 ساعة .



الشكل (85) : وحدة اخذ عينات الهواء.

2- الماء Water:

وفيه تستخدم وحدات خاصة لأخذ عينات الماء من مصادرها المختلفة من الأعماق المختلفة المرغوبة وبالأحجام المطلوبة وابسط هذه الأنواع زجاجة اخذ العينات المائية.

3- التربة Soil:

يتم اخذ عينة التربة السطحية عن طريق الكشط أو الحفر حتى عمق **5** سم ، أما باطن التربة فتؤخذ العينة منه باستخدام أجهزة متخصصة لأخذ العينات من على أعماق مختلفة . أما التربة الرسوبية فتؤخذ عيناتها من قاع الوسط المائي بواسطة معدات خاصة تشبه إلى حد كبير المعدات التي تستخدم في تطهير الترع والمصارف .

4- أسطح النباتات Plant Surfaces:

يؤخذ عدد من العينات من كل وحدة تجريبية ويتوقف عدد العينات على المساحة المربعة ، فمن المعروف أن المترسب من المبيد على الأوراق اكبر من المترسب على الثمار بنفس النبات ، كما أن كمية المترسب على الأوراق الكبيرة اكبر من المترسب على مثيلاتها الصغيرة ، كما تنخفض كمية المترسب على السطح السفلي للورقة عن السطح العلوي المقابل للمعاملة . أما على النبات الواحد فاكبر كمية من المترسب تكون على القمة ثم يليها المنطقة الوسطى واقلها منطقة القاعدة .

5- **العينات الحيوية Biological Sample:**

قد يتطلب الأمر متابعة متبقيات المبيدات في الأنسجة الحيوانية أو

البشرية وتشمل اخذ غرام واحد من الدهن وإذا كانت العينة من الدم فيكفي اخذ **8-10** مل وإذا إدرار فيكفي **25** مل وإذا اسماك صغيرة فيكفي بضع سمكات تعطي **100** غم بروتين أما الأسماك الكبيرة فتقدر السموم في العضلات أو الرأس أو الأحشاء الداخلية .

ب- مراعاة المعاملة السابقة Previous Treatment Consideration :

عند تحليل متبقيات المبيدات في أو على سطح ما سبق معاملته من قبل فانه يتم أولا تقدير مستوى المتبقيات عن المعاملة السابقة وكذلك نوعيتها وذلك كعامل ثابت يؤخذ في الاعتبار عند تقييم مستويات المتبقيات الجديدة .

ت- طريقة المعاملة بالمبيد Method Of Treatment By Pesticides:

أثناء تصميم التجربة يراعى توحيد طريقة المعاملة بالمبيد وزيادة عدد مكررات المعاملة الواحدة للحد من الخطأ التجريبي .

ث- الظروف الجوية Climate Condition:

إذ تتأثر كمية متبقيات المبيدات بالرياح أثناء عملية المعاملة وكذلك سطوع الشمس والذي يسرع من عملية تدهور المبيد أو الأمطار التي تعمل على غسل المبيد من على النباتات والترب المعاملة بالمبيدات .

ثانيا:- اعتبارات تراعى عند اخذ العينات During Sampling Condition:

1- حجم العينة Sample Size:

يفضل أن يكون حجم العينة عشرة أمثال الحجم اللازم لعملية التحليل ويتوقف ذلك على حساسية الطريقة المستخدمة في التحليل والجهاز المستخدم في القياس، على أن تؤخذ هذه العينات عشوائيا . تكرر العينة ثلاث مرات وكل مكرر تؤخذ منه ثلاث عينات فيصبح في النهاية موجود تسعة عينات تقسم كل عينة لعينتين فرعيتين تستخلصان ثم يؤخذ من كلأهما حجمين مناسبين للقياس .

عينات الماء تجمع على فترات مختلفة مع نقلها للمختبر خلال أسبوع حيث تحلل العينات لقياس المادة المراد معرفة التلوث بها خلال أسبوع من اخذ العينة في حين يتم تحليل العينات لتقدير متبقيات الأملاح خلال 14 يوما .

2- تخزين العينات Sample Storage:

تحفظ العينات في أكياس أو زجاجات محكمة القفل وبعيدة عن الضوء خاصة إذا ما كانت العينات حساسة للانهيار الضوئي ، وتحفظ في درجة حرارة منخفضة (ظروف تجميد) إذا كانت مدة التخزين طويلة وعلى درجة حرارة 5-10ْم إذا كانت فترة التخزين قصيرة . مع مراعاة وضع بطاقة Label مع العينة في الداخل وأخرى من الخارج يتضمن (مصدرها – حجمها – نوع التحليل المطلوب ....الخ) .

ثالثا:- اعتبارات تراعى عند تجهيز العينات للتحليل

Condition During Sample Preparation For Analysis

1- **تجهز عينات الحبوب والبذور الغذائية** مثلا بطحنها أو جرشها ثم تؤخذ وزنة منها للتحليل وبثلاث مكررات على الأقل .

2- **تجهيز عينات الخضراوات والفواكه** و يتم بأخذ الجزء المأكول منها ويقطع إلى قطع صغيرة لتسهيل عملية الاستخلاص خاصة مع الخضر و الفواكه ذات الثمار كبيرة الحجم .

3- **العينات السائلة** لا تحتاج لتجهيز لتجانسها .

4- **عينات الأسماك** تجهز بإزالة قشورها وزعانفها والرأس والعظام والذنب ويتم طحنها بعد تجميدها .

5- **عبوات الدهن والجبن** وما شابه تقسم العبوة تبعاً لشكلها العام حيث يؤخذ أجزاء متفرقة منها ولا حاجة لاستهلاكها .

الخطوة الثانية : استخلاص المبيدات Extraction Of Pesticides Residues

ويقصد بها نقل المبيد بطرائق ميكانيكية أو طبيعية من الأجزاء المعاملة بالمبيدات إلى المذيب المناسب ويشترط أن تكون هذه العملية كمية كما يجب أن تعطي عملية الاستخلاص نفس النتيجة لو تكررت تحت نفس الظروف . ويلاحظ أن عملية الاستخلاص تزيد برج وخلط العينة المستخلصة مع المذيب .

وقبل إجراء عملية الاستخلاص لابد من معرفة كفاءة عملية وطريقة الاستخلاص وهو ما يتم التوصل إليه من خلال تجربة مبدئية يتم إجرائها لتقييم معدل الاسترجاع ، ويتم ذلك عن طريق إضافة كمية معلومة من المركب النقي إلى عينة غير معاملة بالمركب موضع الدراسة ثم تطبق خطوات عملية الاستخلاص على العينة ثم عملية التنقية وبعدها عملية التقدير، ومنه تحسب نسبة الاسترجاع من المعادلة الآتية :

معدل الاسترجاع = كمية المركب المقدرة من الاستخلاص x 100 / كمية المركب المضافة.

تعتمد كفاءة عملية الاستخلاص على :

1- طبيعة العينة المستخلص منها متبقيات المركب ، فاغلب السموم تتوزع بين الشموع والأنسجة الدهنية .

2- نوعية التركيب الكيميائي والبنائي لجزيئة المبيد المراد استخلاصه .

3- نوعية المذيب المستخدم ، والذي يراعى فيه ما يأتي :

آ- كلما كان المذيب مناسب لاستخلاص مجموعة مختلفة من العينات كلما كانت الكفاءة أحسن .

ب- يجب إعادة تقطير المذيب قبل استخدامه للتأكد من نقاوته .

ت- غالبا ما يكون حجم المذيب المستخدم في الاستخلاص ضعف العينة وهذا يختلف باختلاف نوع العينة فقد تصل لأربع أو لثمان أضعاف حجم العينة لإعطاء مستخلص رائق بدرجة كافية .

ث- عند استخدام الايثر يجب التأكد من خلوها من البيروكسيدات وذلك بأخذ 1 مل أيثر ومن ثم إضافة 10 مل من محلول 15 % يوديد البوتاسيوم حديث التحضير مع الرج في أنبوبة اختبار بغطاء محكم لمدة دقيقة ، فإذا تكون لون اصفر دل ذلك على وجود البيروكسيدات ، وهنا يلزم إزالتها بوضع حجم من الايثر مع حجم ونصف ماء مقطر بقمع فصل وترج جيدا لغسلها وتكرر عدة مرات ثم يؤخذ طبقة الايثر ويضاف إليها 100 مل من محلول كلوريد الصوديوم مشبع وترج بشدة ثم تترك لتكوين سطح الانفصال ثم تؤخذ طبقة الايثر و تهمل الطبقة المائية السفلى ثم يمرر الايثر بعد تجميعه على عمود كبريتات الصوديوم اللامائية لإزالة آثار الرطوبة منه ثم يضاف للايثر النازع بعد ذلك 2 مل كحول ايثانول لجعله أكثر ثباتا وهنا يجب ملاحظة أن وجود نسبة 2% كحول تزيد درجة قطبية الايثر .

ج- في حالة تكوين مستحلب دائم مع المحتوى المائي المرتبط مع مكونات العينة فإننا نلجأ إلى زيادة نسبة المذيب حتى 4-8 سم مكعب / حجم من حجوم العينة، لكسر المستحلب كيميائيا وذلك باستخدام مذيب مساعد حيث تخلط العينة بحجم مماثل من مذيب مساعد مثل كحول الايزوبروبانول و يضاف المذيب المستخدم ، كما يمكن كسر المستحلب ميكانيكيا عن طريق الطرد المركزي للعينة (أو التحكم في فترة وقوة عملية الخلط أو الهرس)،كما يمكن استخدام مواد كيميائية من شانها تغيير قوى الجذب السطحي .

ح- عند استخلاص المتبقيات من التربة يحدث العديد من المتغيرات الكيميائية المؤثرة على مستوى ادمصاصها خاصة مع المحتوى الرطوبي العالي بالتربة والذي يؤثر على قدرتها الادمصاصية ، لذا يستخدم مذيب عالي القطبية ليعطي نتائج جيدة بدون حدوث تداخلات .

خ- عينات الأنسجة الحيوانية يجب طحنها أولا ، والثابتة منها في الوسط القلوي يتم فصلها من خلال عملية الصوبنة المباشرة ثم الاستخلاص بمذيب هيدروكاربوني مع كبريتات الصوديوم اللامائية ، أما المركبات غير الثابتة في الوسط القلوي فيتم استخلاصها في البداية بمذيب مناسب ثم تفصل بعد ذلك بالتحلل في وسط حامضي .

د- إن استخدام الماء في الاستخلاص يؤدي إلى خطا في الحساب الكمي بسبب التخفيف الناتج عن المحتوى المائي للعينة لذا يستخدم الكلوروفورم مع العينات أثناء طحنها .

ومن أشهر المذيبات المستخدمة في الاستخلاص ما يأتي:

- **الأسيتون** : يغلي عند درجة حرارة (56.5 ْم) ويستخدم في استخلاص الكثير

من المركبات خاصة غير القطبية منها ويدمص بقوة إلى الزجاجيات Glass ware.

- **اسيتونتريل :** يغلي عند درجة حرارة (81.6ْم) ويستخدم في استخلاص الكثير من المركبات ويمتزج مع العديد من المذيبات الأخرى بما فيها الماء ولا يمتزج مع الهيدروكاربونات المشبعة ، يذيب بعض الأملاح العضوية وأبخرته سامة لذلك يتوخى الحذر عند استعماله .
- **البنـــزين :** يغلي عند درجة حرارة (80.1ْم) ويستخدم في استخلاص الكثير من المركبات غير القطبية . غير قابل للامتزاج مع العديد من المذيبات الأخرى، يسهل تطايره حتى في وجود الماء .
- **الهكسان :** يستخدم في استخلاص المركبات غير القطبية أو ضعيفة القطبية ولا يمتزج بالماء ولكنه يمتزج مع الكحولات والايثر والكلوروفورم ويغلي عند درجة حرارة 60-70ْم.
- **الكحولات :** تستخدم في استخلاص التربينات والسكريات والأمينات والببتيدات المعقدة والصمغيات والليسين . وتغلي الكحولات عند درجة حرارة 64.7-82.5ْم.
- **الكلوروفورم :** يغلي عند درجة حرارة 62ْم ويستخدم في استخلاص المركبات القطبية وغير القطبية ونواتج تمثيلها . وجود آثار ماء فيه يصعب تبخيره .
- **ثنـائي اثيـل الايثـر (داي – ايثيـل أيثـر) :** يغلـي عنـد درجـة حـرارة 34.5ْم ويستخدم في استخلاص العديد من المركبات غير القطبية كالتربينات مثلا ونواتج تمثيلها .
- **ايثربترولي (بتروليم أيثر) :** يستخدم مع العديد من المركبات غير القطبية ، وله درجات غليان متعددة وهي (60-40) , (80-60) ، (100-80) ْم.
- **خلات الاثيل :**تغلي عند درجة حرارة **77**ْم ، تستخدم مع العديد من المركبات خاصة المركبات الفلافينويدية وكذلك الهيدروكربونية العضوية الفسفورية .
- **كلوريـد المثيلـين :** يغلـي عنـد درجـة حـرارة 39.8ْم ، يستخدم في استخلاص العديد من المركبات خاصة في عينات الهواء ، ومن الصعب تنقيته كما يصعب الاحتفاظ به نقيا .
- **داي ميثيل سلفوكسيد :**يستخدم مع الكثير من المركبات القطبية ويصعب تبخيره ويمتزج مع الماء ويغلي عند 189ْم.
- **نيتروميثان :** يغلي عند 101.2ْم ويستخدم في استخلاص العديد من المركبات وخلطه مع القلويات يسبب فرقعة ويصعب تبخيره لذوبانه في الماء .

أنواع الاستخلاص Kinds Of Extraction

1.استخلاص كلي :

وفيه يتم استخلاص المتبقيات السامة من سطح العينة والمسماة بالمتبقيات السطحية وكذلك المتبقيات السامة الموجودة داخل الأنسجة ، وهنا يستخدم الخلاط وأجهزة الهرس اليدوية والميكانيكية (الحبوب والبذور).

2- استخلاص سطحي :

يتم استخلاص المتبقيات السامة الموجودة على السطح الخارجي فقط سواء بالغسيل بتيار هادئ من المذيب أو باستخدام أجهزة الرج Shaker لفترة محدودة أو النقع لفترة قصيرة حتى لا تتاح الفرصة ليتخلل المذيب بالداخل حاملا معه بعض المتبقيات الخارجية للداخل أو الداخلة إلى الخارج نتيجة حدوث الاتزان .

3- استخلاص داخلي:

يتم استخلاص المتبقيات الداخلية بعد إتمام استخلاص المتبقيات السطحية واستبعادها وبعد ذلك يجري تجزئ للعينة ومن ثم تستخلص بالخلاط أو النقع أو بالنقع والهز.

طرائق الاستخلاص Extraction Methods:

تتوفر اليوم العديد من الطرائق التي يمكن استخدامها لاستخلاص متبقيات المبيدات لكي تناسب الطبيعة الفيزيائية والكيميائية للمبيد وكذلك لطبيعة ومواصفات البيئات التي يتطلب الأمر استخلاص المبيدات ومنها ما يأتي :

أولا) طرائق الاستخلاص العامة General Extraction Methods:

وتستخدم لاستخلاص متبقيات المبيدات من المواد المختلفة وتضم :

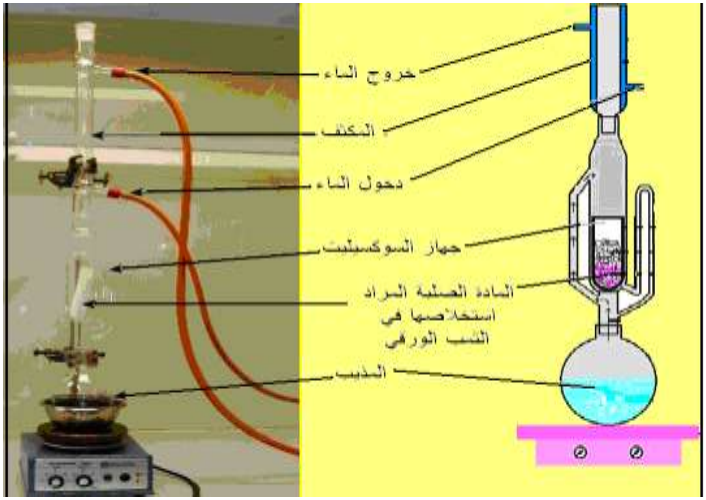
1- الاستخلاص من المواد الجافة Extraction From Dry Materials:

وتستخدم مع العينات المحتوية على مركبات سامة ومتبقياتها غير ثابتة بالوسط المائي ، حيث يتم تجفيف العينة ثم طحنها وتؤخذ منها وزنة معلومة للاستخلاص بإحدى الطريقتين الآتيتين :

آ- باستخدام وحدة سوكسليت Soxhlet Unit:

وتبنى نظرية الاستخلاص على الاستخلاص المتعاقب للعينة ، حيث يحدث استخلاص مستمر في المذيب المناسب للمركب المراد استخلاصه ومن المفروض نقع العينة قبل يوم من عملية الاستخلاص وكلما كان دوران المذيب سريعا كلما كان الاستخلاص غير تام وإذا كان بطيئا فانه يسبب ارتفاع درجة حرارة المكثف مما يسبب خروج بعض أبخرة المذيب ومعها متبقيات السم دون تكثيف وتنتهي

عملية الاستخلاص عندما لا يكون جهاز السوكسيليت يحتوي على لون العينة التي تم نقعها . الشكل (86).



الشكل (86) جهاز السوكسليت

ب-طريقة النقع Soaking Method :

تخلط العينة مع ضعف حجمها من المذيب المناسب وتترك لمدة 12- 24 ساعة مع رجها بين فترة وأخرى أو تهز بواسطة الهزاز Shaker مع مراعاة أن تكون في زجاجات بنية محكمة القفل لاحتمال أن يكون المركب السام المستخلص غير ثابت ضوئيا . بعد ذلك يتم ترشيح الخليط ويؤخذ الراشح لاستكمال باقي العمليات بعد حساب التركيز في حجم العينة معلومة الوزن .

2- الاستخلاص من المواد الرطبة Extraction From Wet Materials:

وتستخدم مع العينات الحاوية على مركبات سامة ثابتة ضد التحلل المائي أو ضد الحرارة وحينذاك يمكن استخدام هذه العينات دون الحاجة إلى تجفيف ومنها :

آ – طريقة الخلط Blending Method:

حيث تقطع العينة إلى قطع صغيرة ، يؤخذ منها وزنة مناسبة بكاس الخلاط عالي السرعة (الشكل 87) مع ضعف وزنها من المذيب ويجري الخلط لمدة يحددها المحلل حسب طبيعة العينة والمركب ، ثم يرشح الخليط خلال عمود كروماتوغرافي أو قمع بخنر مع ملاحظة نقل محتويات كاس الخلاط كميا للعمود (القمع) ثم يمرر المرشح على كبريتات الصوديوم اللامائية لتجفيفه .

الشكل (87) الخلاط عالي السرعة .

ب- طريقة النقع :كما مر سابقا .

ت- التقطير Distillation:

وفيه يتم فصل المركب السام عن باقي محتويات العينة وذلك تبعا لاختلاف الضغط البخاري للمركب فعند درجة حرارة وضغط معينين نجد أن التركيزات عند الاتزان يكون في صورة سائلة أو بخارية وعليه يكون الاتزان k . فعند تواجد الصورتين معا (السائلة والغازية) فان :

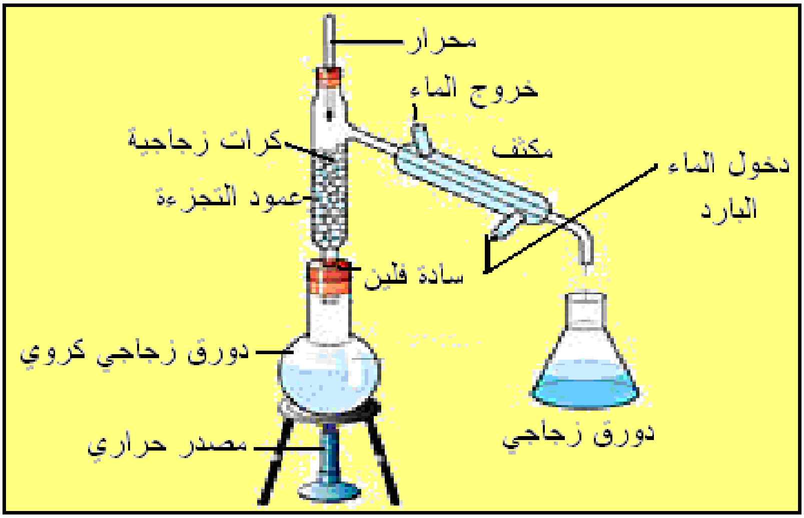
قيمة $k > 1$ وذلك عندما يكون المركب اقل تطايراً.

وقيمة $k < 1$ وذلك عندما يكون المركب أكثر تطايراً.

وتستخدم أعمدة التجزئة المبينة في (الشكل 88) ، وهي أنابيب زجاجية مملوءة بكرات زجاجية أو تمتد إلى تجويفها الداخلي نتوءات زجاجية من سطحها تكون متشابكة وذلك لتكوين سطحا واسعا يعمل على تبريد جزء من الأبخرة وتكاثفها ثم رجوعها إلى دورق التقطير . فالأبخرة التي تكون اقل تطايرا هي التي تتكاثف أولا وتنزل إلى الأسفل ويعرقل نزولها باستمرار تلك الأبخرة المتصاعدة من دورق التقطير وفي الوقت نفسه يحدث تبادل حراري بين السائل والبخار ، فيتبخر السائل الأكثر تطايرا ويتكاثف البخار الأقل تطايرا ويحدث هذا الاتزان في جميع أجزاء العمود ، فالبخار الذي يمر خلال المكثف يكون غنيا بالجزء الأكثر تطايرا أما الجزء المتكاثف والذي يتقاطر راجعا إلى دورق التقطير خلال العمود يكون غنيا بالجزء الأقل تطايراً.

وللحصول على نتيجة جيدة يجب استخدام لهب ضئيل جدا وينظم غليان السائل ببطء وانتظام للحصول على حالة اتزان تامة بين السائل والبخار في العمود . إن عمود التجزئة المستخدم هو عبارة عن أنبوب بفتحة جانبية مملوءة بكرات

زجاجية. أما الدورق المستخدم للتقطير فهو دورق زجاجي (100 مل) يربط إلى عمود التجزئة ويستخدم مكثفا صغيرا (50 سم) يتصل بدورق لاستقبال السائل المكثف. إن نجاح عملية التقطير يعتمد على مدى ثبات سرعة التقطير ويمكن إحاطة اللهب بصندوق من المعدن أو الاسبست للحصول على لهب ثابت وتسخين منتظم .



الشكل (88) جهاز التقطير

ث- طريقة التوزيع ألتجزيئي Partition Distribution Method :

وفيه يتوزع السم بين مذيبين غير قابلين للامتزاج ويحكم عملية الفصل معامل الانتشار k حيث :

k = تركيز السم في المذيب الأول (C1) / تركيزه في المذيب الثاني (C2) .

ومعامل الانتشار ذو قيمة ثابتة ومساوية لدرجة ذوبان المركب بالمذيبين وغالبا ما يكون إحداهما هو الماء (حيث يستحوذ على كل جزيئات السم القطبية) والآخر مذيب عضوي تتواجد فيه بتركيز عالي المركبات غير القطبية .

فعندما تكون قيمة k كبيرة جدا (< 100) فيمكن استخلاص المركب باستخدام دفعة واحدة من المذيب المناسب والذي لا يمتزج مع المذيب الذي يحمل المركب في العينة من خلال القمع . عندما تكون قيمة k صغيرة (>1) فانه يفضل استخلاص المركب على عدة دفعات باستخدام نفس الحجم من المذيب حتى يتسنى الحصول على اكبر كفاءة ممكنة معتمدين على كفاءة التوزيع ، أي انه :

إذا كانت قيمة k > 1 في المذيب الأول و < 1 في المذيب الثاني فان الاستخلاص على مرة واحدة يكون كافي لحدوث فصل تام بينهما . أما إذا كانت

المادتين لهما معامل توزيع (k) متقارب فان الاستخلاص على دفعة واحدة يعطي فصل جزئي للمركب وهنا يفضل الاستخلاص على عدة دفعات باستخدام نفس الحجم من المذيب .

ج- طريقة التقطير البخاري Steam distillation Method:

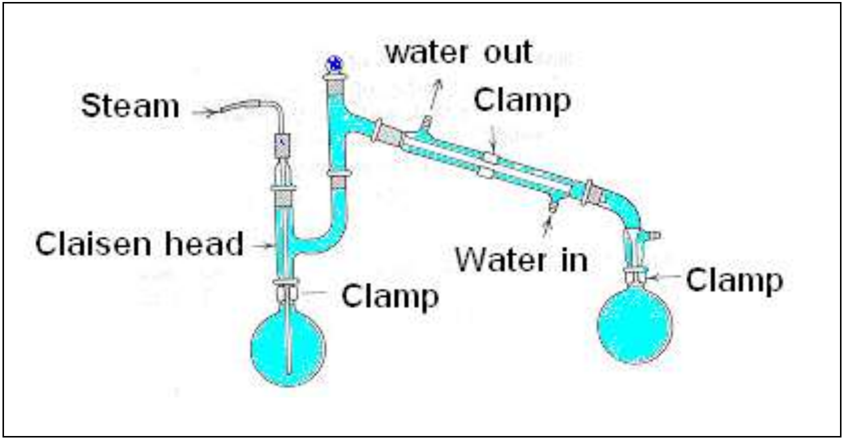
إن بعض المركبات ذات درجات الغليان العالية تتفكك عند درجات غليانها ويمكن تنقيتها من الشوائب بالتقطير البخاري عند درجة حرارة واطئة حيث تكون ثابتة عند هذه الدرجة . ويستفاد من عملية التقطير البخاري في فصل بعض المواد عن بعضها حيث أن بعض المواد غير الممتزجة مع الماء تكون متطايرة مع البخار والبعض تكون غير متطايرة وبعضها يتطاير ببطء . وتطبق هذه الطريقة في الحصول على الزيوت والراتنجات والتي يمكن فصلها كمواد متطايرة ومواد غير متطايرة بالبخار .

إن درجة الغليان تبقى ثابتة خلال عملية التقطير البخاري وخلال الفترة التي يكون فيها المحيط البخاري مشبعا بالماء والمادة العضوية . وحساب درجة الغليان وأي انحراف في الضغط يكون بحساب كمية الماء المطلوبة لتقطير كمية معينة من المادة العضوية وحسب قانون دالتون :

$$\text{وزن الماء/غرام من المادة العضوية} = \frac{\text{ضغط الماء} \times 18}{\text{وزن المادة العضوية} \times (760 - \text{ضغط الماء})}$$

إن الوزن الجزيئي الواطئ للماء يجعل منه سائلا مناسبا للتقطير البخاري .

ويتم التقطير بربط دورق التقطير (250 مل) إلى مكثف ومولد البخار(الشكل 89) ، ثم يدخل باستخدام القمع (50 مل) من المادة مع 100 مل ماء . يوضع حجر غليان ثم نبدأ التقطير إذ يلاحظ درجة الغليان لكل 10 مل من المتقطر ثم يبعد اللهب . بعد جمع 50 مل ، يعين حجم السائل بدقة ثم يحسب وزن الماء/ غرام من المادة. يستمر التقطير حتى تقطر المادة تماما ثم يوقف التسخين تماما ويبرد الدورق.



الشكل (89) جهاز التقطير البخاري

طرائق استخلاص متبقيات المبيدات من المكونات البيئية المختلفة

1-العينات المائية Water Samples :

يتم استخلاص متبقيات المبيدات الفسفورية العضوية غير القطبية والكلورينية العضوية غير القطبية من العينات المائية باستخدام 15 % مثيلين كلوريد في الهكسان وباستخدام مثيلين كلوريد فقط في حالة المبيدات الفسفورية العضوية القطبية (ن- أريل ، أ – أريل) وكذا مركبات الكربامات والتراي أزين واليوريا حيث يجفف المستخلص من الرطوبة وذلك بإمراره على عمود كبريتات صوديوم لا مائية ثم يركز لحجم نهائي قدره 5 مل لاستكمال باقي عمليات التحليل (التنقية Clean up والتقدير Determination).

2- عينات التربة والتربة الرسوبية Solid and Sediment Samples :

حيث يراعى التخلص من الرطوبة التي قد تتواجد في العينة وذلك في حالة :

- **التربة الجافة** : تفرش في أطباق زجاجية أو على شرائح ألمنيوم لمدة ليلة .

- **التربة الرسوبية** : تفرش في أطباق زجاجية أو على شرائح ألمنيوم لمدة ثلاث أيام حتى تتوازن الرطوبة الموجودة بها مع الرطوبة الجوية . وقد يتطلب الأمر إضافة كبريتات صوديوم لا مائية وتخلط جيدا حتى تصبح جافة تماما .

حيث تستخلص المبيدات الكلورينية والفسفورية العضوية منها باستخدام نظام مذيبي مكون من الهكسان والأسيتون (1 : 1) باستخدام وحدة السوكسليت أو بالرج في زجاجيات ذات غطاء محكم لمدة 12 ساعة على 180 دورة / دقيقة في جهاز الرج الكهربائي Shaker حيث يؤخذ المستخلص بعد ذلك ويجزئ مع الماء في قمع فصل وتؤخذ طبقة الهكسان العلوية لاستقبال باقي مراحل التحليل .

3- عينات الهواء Air Samples:

يتم استخلاص المبيدات الكلورينية والفسفورية العضوية من عينات الهواء عن طريق امتصاصها في الايثيلين كلايكول لمدة 12 ساعة والموجود في وعاء وحدة Greensburg-Smith Impinger تحت نظام سحب لعينة الهواء أو عن طريق وضع الوعاء مفتوح لمدة أسبوع في المكان المراد التقدير فيه بعدها ينقل الايثيلين كلايكول إلى قمع فصل باستخدام الماء ويتم التجزئة بالهكسان حيث تؤخذ بعد ذلك طبقة الهكسان (العلوية) لاستكمال باقي مراحل التقدير .

4- الأغذية غير الدهنية (الدهن فيها اقل من **2 %) Non Fatty Foods** :

آ – الأغذية غير الدهنية اقل من 2% دهن عالية الرطوبة (أكثر من 75%) وذات مستوى سكريات اقل من 5%: يتم استخلاص المبيدات منه عن طريق خلط عينة 100 غم مع الاسيتونتريل 200 مل لمدة 2-5 دقيقة ثم يتم الترشيح خلال قمع بخنر ويستقبل الراشح ويقاس حجمه بدقة (f) ثم ينقل لقمع فصل ويستخلص عدة مرات بالبتروليم أيثر(100 مل) بعد إضافة حجم معين من الماء(6 مل) ويقاس حجم المذيب المستخلص (p) حيث من الممكن حساب وزن العينة الموضوعة في عمود الفلورسيل بالغرام باستخدام المعادلة التالية :

$$G = S.(F / T) . (P / 100)$$

حيث أن :

G= وزن العينة بالغرام الموضوعة في عمود الفلورسيل .

S= وزن العينة .

F= حجم الاسيتونتريل الراشح .

T = الحجم الكلي للماء في العينة + حجم الاسيتونتريل .

P= حجم البتروليم أيثر المسترجع .

فعلى سبيل المثال عند تحليل عينة وزنها 100غم باستعمال 200 مل اسيتونتريل وكان الحجم الكلي للماء والاسيتونتريل (T) 280 مل (200 مل اسيتونتريل + 80 مل ماء في العينة) وحجم المسترجع (F) هو 195 مل وحجم المسترجع من 100 مل بتروليم أيثر 85 مل (P).

الحل:

$$\text{وزن العينة بالغرام التي وضعت على عمود الفلورسيل} = 100 \times \frac{195}{280} \times \frac{85}{100} = 59.2$$

ب- أغذية غير دهنية اقل من 2%دهن عالية الرطوبة (أكثر من 75%) وذات مستوى سكريات من 5-15%: يتم استخلاصها بخلط 100غم من العينة مع

50 مل ماء و200 مل اسيتونتريل لمدة 5 دقائق ثم إتباع نفس الخطوات السابقة . وهنا تكون قيمة (T) = حجم الماء في العينة مع مراعاة عدم استخدام أكثر من 250 مل مسترجع اسيتونتريل (245 مل).

ت- أغذية غير دهنية اقل من 2% دهن عالية الرطوبة (أكثر من 75%) وذات مستوى سكريات من 15-30 %: يتم الاستخلاص للمركبات السابقة باستخدام مخلوط الاسيتونتريل (200 مل) والماء الساخن (50 مل/ 75° م) حيث يخلط مع 100 غم عينة لمدة 5 دقائق وإتباع نفس الخطوات السابقة بعد التبريد وهنا تكون قيمة (T) = حجم الماء في العينة + 245 مل.

ث- أغذية غير دهنية اقل من 2% دهن متوسطة الرطوبة (اقل من 75%) والجافة وذات مستوى سكريات اقل من 5% : يتم استخلاص المركبات السابقة الذكر عن طريق خلط العينة (5- 20غم) مع 350 مل اسيتونتريل في الماء 35% لمدة خمسة دقائق وإتباع نفس الخطوات السابقة . وفي هذه الحالة تكون :

قيمة (T) = حجم الماء في العينة + 350 مل اسيتونتريل

مع مراعاة عدم استخدام أكثر من 250 مل من مسترجع الاسيتونتريل .

فعلى سبيل المثال عند استخلاص 25غم من عينة تحتوي على نسبة 10.3 % رطوبة فان الحجم الكلي:

T = 350 + (25غم x 10.3%) = 352.575 مل تقريبا.

5- الأغذية الدهنية (أكثر من 2% دهن) Fatty Food:

آ – الأنسجة الحيوانية Animal Fatty Tissues:

تخلط الأنسجة الحيوانية المحتوية على أكثر من 2% دهن (25-50غم) مع 100 غم كبريتات صوديوم لا مائية في الخلاط لمدة 2-5 دقيقة مع مراعاة أن يكون وزن العينة المستخلصة لا يحتوي على أكثر من 5غم دهن ثم يتم بعد ذلك الاستخلاص بإضافة 150 مل بتروليم أيثر إلى كاس الخلاط ويتم الخلط لمدة دقيقتين ثم يرشح المستخلص خلال قمع بخنر ويعاد الاستخلاص مرة ثانية على المتبقي من الأنسجة في كاس الخلاط باستخدام 100 مل بتروليم أيثر لمدة دقيقتين ويتم الترشيح أيضا كما سبق خلال قمع بخنر مع مراعاة غسيل جدران ألكاس بثلاث دفعات من البتروليم أيثر(25-50 مل) والترشيح أيضا ثم يمرر الراشح على عمود نزع الرطوبة المعبأ بكبريتات صوديوم لا مائية حيث يتم بعدها تركيز المستخلص باستعمال تيار من الهواء أو النيتروجين ويسجل وزن الدهن المستخلص حيث يؤخذ وزن (3غم) منه للتحليل بالفصل ألتجزيئي باستعمال الاسيتونتريل ومن الممكن حساب وزن العينة الأصلية المستخدمة في التحليل عن طريق المعادلة الآتية :

وزن العينة الأصلية(المستعمل في التحليل)= وزن الدهن الذي اخذ للتحليل

/ وزن الدهن المستخلص x وزن العينة الأصلية

ب- الزبد Butter:

يتم تسخينه في حمام مائي على درجة 50° م حتى ينفصل الدهن ثم يرشح خلال قمع ترشيح من نوع Fluted Filter Paper حيث يؤخذ 3غم من الدهن للفصل ألتجزيئي باستعمال الاسيتونتريل .

ت- الجبن Cheese:

يؤخذ عينة من الجبن من 25-100غم (ليتسنى منها الحصول على وزنة 3 غم دهن) حيث تخلط مع اوكسالات صوديوم أو بوتاسيوم (2 غم) في وجود كحول الايثايل أو الميثايل (100 مل) لمدة 2-3 دقائق على السرعة العالية للخلاط ثم تنقل محتويات الكأس إلى أنبوبة طرد مركزي سعة 500 مل حيث يضاف إلى هذه المحتويات 50 مل داي ايثايل أيثر ويتم الرج لمدة دقيقة ثم يتم إضافة 50 مل بتروليم أيثر ويتم الرج أيضا لمدة دقيقة ثم يتم الطرد المركزي على سرعة 1500 دورة /دقيقة لمدة 5 دقائق حيث تؤخذ الطبقة العلوية بعد ذلك وتنقل إلى قمع فصل يحتوي على 600 مل ماء و30 مل كلوريد الصوديوم المشبع ويتم الرج ويعاد الاستخلاص مرتين باستخدام 25 مل داي ايثايل أيثر و25 مل بتروليم أيثر على الطبقة المائية حيث تجزئ الطبقة المائية وتؤخذ طبقة المذيب وتمرر على عمود نزع الرطوبة ويتم التركيز باستعمال تيار من الهواء أو النيتروجين للحصول على 3 غم دهن للفصل ألتجزيئي بالاسيتونتريل .

ث-اللبن Yogurt:

يؤخذ عينة 100 مل من اللبن (يخفف اللبن المركز بحجم مساوي من الماء) في زجاجة طرد مركزي سعة 500 مل حيث يضاف إليها 1غم اوكسالات الصوديوم أو البوتاسيوم في وجود كحول الايثايل أو الميثايل (100 مل) ويتم الخلط ثم يتم إضافة 50 مل داي ايثايل أيثر والرج لمدة دقيقة ثم يضاف 50 مل بتروليم أيثر والرج لمدة دقيقة ثم يتم الطرد المركزي على سرعة 1500 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق وكذلك يكرر ما سبق في عينات الجبن .

ج- الزيوت Oils :

يؤخذ 3 غم زيت وتستخلص بالبتروليم أيثر ثم يتم التوزيع ألتجزيئي بالاسيتونتريل ثم التنقية بعمود الفلورسيل .

ح- الأنسجة البشرية Human Tissues:

تسحق الأنسجة البشرية وخاصة الدهنية في وجود الرمل النظيف وكبريتات الصوديوم اللامائية والتقليب باستعمال المجنس مع إضافة كبريتات الصوديوم اللامائية حتى يتم الحصول على كتل محببة جافة يؤخذ منها 5 غم للاستخلاص باستعمال البتروليم أيثر والترشيح كما سبق .

خ- الدم أو السيرم Blood or Serum:

تؤخذ عينة من الدم أو السيرم بحجم 2 مل ويتم إضافة 6 مل هكسان إليها ثم ترج على جهاز الرج الدائري على سرعة 50-55 دورة/دقيقة لمدة ساعتين بعدها توضع في جهاز الطرد المركزي على سرعة 200 دورة /دقيقة لمدة 5 دقائق حيث يؤخذ 5 مل من مستخلص الهكسان الناتج (الطبقة العلوية) ويتم التركيز لحجم نهائي يتناسب وطريقة التقدير .

تركيز المستخلصات قبل تنقيتها Extraction Concentration Before Purification

تتم عملية تركيز المستخلصات قبل تنقيتها بإحدى الطرائق الآتية على أن تحفظ العينات بعدها في أوعية محكمة الغلق على درجة الصفر ويمكن استخدام الشريط اللاصق لمنع تسرب أبخرتها:

1- التبخير باستخدام تيار هوائي Air Evaporation :

يوضع المستخلص في كاس ذو فوهة واسعة لزيادة السطح المعرض لتيار هواء بارد أو ساخن باستخدام حمام مائي تضبط درجة حرارته على الدرجة المطلوبة تتناسب ودرجة ثبات المركب المراد تركيزه ، حيث يوضع به كاس العينة . أو قد يستخدم مجفف الشعر أو قد يستخدم غاز النيتروجين في عملية التبخير خاصة مع المستخلصات التي يخشى عليها من أكسدة مكوناتها لو استخدم تيار الهواء . ويراعى جفاف تيار الهواء المستخدم خاصة أثناء المراحل الأخيرة من التبخير ويجب أن يكون تيار الهواء هادئ مع خفض درجة الحرارة حتى لا يحدث فقد في التركيز . وقد يضاف كمية (ميكروليترات) من الايثيلين كلايكول أو حامض الاستياريك أو زيت خفيف شفاف لمنع تقشر المتبقيات الجافة وتطايرها .

2- الكيودرنا دانيش Kuderna Danish :

يوضع المستخلص المراد تبخيره بالمخزن السفلي ذو السعات المختلفة ويوضع معه قطع من الزجاج لمنع الفوران ثم تثبت فوهتها في عمود سنيدر ذو الثلاث أو الخمس كرات (حيث ترتكز الكرات الزجاجية على وسائد زجاجية فتسمح بتسريب المذيب على دفعات) حيث ترتد دفعات من المذيب مذيبة مخلفات العينة المراد تركيزها والمترسبة على جدران العمود الداخلية وباقي الوحدة وتعود في النهاية إلى المخزن . وتستمر عملية التبخير بوضع أنبوبة التركيز السفلية المدرجة في حمام مائي على درجة الحرارة المطلوبة .

وعند وصول حجم المستخلص بأنبوبة التركيز المدرجة إلى المخزن السفلي ترفع من الحمام المائي وتبرد وتفصل عن الأجزاء الأخرى حيث تؤخذ (الأنبوبة السفلى) وتغطى بإحكام وتحفظ في الثلاجة لحين إكمال باقي خطوات التحليل على أن لا يقل حجم المحلول عن 0.5 مل ولا يزيد عن 5 مل . الشكل (90) .

الشكل(90) جهاز الكيودرنا دانيش

3- التركيز تحت التفريغ Concentration Under Vacuum:

ويتم باستخدام جهاز التبخير الفراغي الدوار ، ويكون ذلك تحت ضغط مرتفع مع السموم الثابتة أو تحت ضغط منخفض مع السموم غير الثابتة ، حيث عند دوران الخزان Flask في حمام مائي تتناسب درجة حرارته مع درجة حرارة تبخير المذيب ، يتكون على جدران الخزان طبقة رقيقة من المذيب والمذاب ، حيث يتبخر المذيب بتأثير الحرارة الملامسة للخزان . الشكل (91).

الشكل (91) جهاز التبخير الفراغي الدوار .

الاستخلاص بالطور الصلب Solid Phase Extraction :

استخدمت أعمدة الاستخلاص ذات الطور الصلب خلال السنوات الماضية بنجاح لإعداد وتجهيز العينات ، (الشكل 92) . وتصنع هذه الأعمدة من مادة البولي بروبيلين Poly propylene ويتم تصنيعها بمقاييس مختلفة (0.4 ، 0.8 ، 1.8 مل) تحفظ بداخلها مادة الادمصاص وبأوزان مختلفة بين مرشحين ذات

مقاومة لفعل ألمذيبات، كذلك توجد أعمدة زجاجية ذات أحجام مختلفة (1 أو 3 أو 6) .

تتضمن طرائق الاستخلاص بالعمود الصلب الخطوات الرئيسية الآتية :

1- تهيئة مادة الادمصاص : تبلل مادة الادمصاص بالنظام ألمذيبي المستخدم / حيث تهيئ مواد الادمصاص غير القطبية عادة بمذيبات تقبل الخلط بالماء مثل الميثانول والايزوبروبانول وبحجم يتراوح بين **2-3** حجم العمود المستخدم ثم يتبع بالمذيب القادر على إذابة المركب مجال التحليل ، أما في حالة مواد الادمصاص القطبية فتهيئ بمذيبات غير قطبية ويجب عدم ترك مادة الادمصاص بالعمود للجفاف بعد إجراء عملية التهيئة. (الجدول 50) .

الشكل (92):عمود الاستخلاص ذو الطور الصلب

2- معاملة العينة على مادة الادمصاص : تعامل العينة على مادة الادمصاص عقب عملية التهيئة مباشرة وللحصول على أداء عالي تعامل العينة تحت ضغط موجب أو سالب بمعدل جريان 3 مل/دقيقة سواء باستخدام حقنة جاهزة للاستعمال أو باستخدام مضخة دورق بخنر أو مضخة تسع 24 عمود أو باستخدام الطرد المركزي.

3- غسيل مادة الادمصاص : يتم غسيل العينة على مادة الادمصاص بسوائل غسيل خاصة وقد تكون عملية الغسيل في بعض الأحيان غير ضرورية ، ومما هو جدير بالذكر انه في حالة اختلاف القطبية بين محلول الغسيل والمزاح بدرجة كبيرة أو بمعنى آخر عدم قابليتها للامتزاج يكون من الضروري جفاف مادة الادمصاص بعد عملية الغسيل.

جدول (50) : أهم المذيبات المستخدمة في الوسط الصلب ومدى قابليتها للمزج مع الماء .

درجة القطبية	المذيب	قابلية المزج مع الماء
	هكسان	لا يمتزج
	ايزواوكتان	لا يمتزج
	بتروليم ايثر	لا يمتزج
	سيكلوهكسان	لا يمتزج
	رابع كلوريد الكربون	لا يمتزج
زيادة	كلوروفورم	لا يمتزج
	مثيلين كلورايد	لا يمتزج
القطبية	داي ايثيل أيثر	لا يمتزج
	تتراهيدروفيوران	يمتزج
	ايثيل اسيتات	يمتزج
	أسيتون	يمتزج
	اسيتونتريل	يمتزج
	ايزوبروبانول	يمتزج
	ميثانول	يمتزج
	ماء	يمتزج
	حامض ألخليك	يمتزج

4- الإزاحة : يجب أن تكون عملية إزاحة المزاح غير سريعة وهي تعتمد على قطر وطول العمود وكمية مادة الادمصاص به (تقريبا 1 مل/دقيقة) .

الخطوة الثالثة :تنقية المستخلصات Purification

وهي عملية فصل أو تجريد جزيئات المكونات المراد استخلاصها من المواد المتداخلة معها وهو ما يتطلب إجراء واحد أو أكثر من العمليات الآتية :

أولا) التنقية الكيميائية Chemical Purification:

وهي الطرائق الكيميائية المستخدمة في فصل المركبات عن المواد المتداخلة معها مثل :

1-) الأكسدة Oxidation: وفيها يتم تنقية المركبات من المواد المتداخلة معها في المستخلص بعملية أكسدة متحكم فيها مع الأخذ في الاعتبار أن تكون عينات

السم ثابتة كيميائيا تحت ظروف الأكسدة ، بينما تتأكسد المواد المتداخلة (الشوائب) لمركبات قابلة للذوبان في القلويات فيتم فصلها بمذيب مناسب . وتجري عملية الأكسدة باستخدام حامض ألخليك أو الهايبوكلوريك أو النتريك أو كلورات البوتاسيوم . وقد يحدث العكس فتتأكسد بعض السموم (الفسفورية العضوية) وتتحول إلى فوسفات غير عضوية بأبخرة حامض النتريك أو الهيبوكلوريك ثم تقدر في صورة فوسفات غير عضوية . تقدر لونيا أو إنزيميا.وهنا يجب إجراء اختبارات تأكيدية في عينة المستخلص للتأكد من خلوها من السم المطلوب وعدم تأثر متبقيات المركب بالطريقة المستخدمة .

2- التصبن Saponification : وينحصر استخدامها في تنقية السموم الثابتة كيميائيا تحت الظروف القلوية العضوية وتتم عملية التصبن باستخدام الكحول حيث ينقى المركب من بقايا المحتوى الكليسيريدي العالي لمكونات العينة البيئية أو البيولوجية ، وتتم هذه العملية بنجاح على الاندرين – الالدرين – الديلدرين لشدة ثباتها بالوسط القلوي وهنا يتم التخلص من العديد من المواد المتداخلة غير المشبعة بتصبنها وجعلها اقل ذوبانا في المذيبات العضوية .

3- الاختزال Reduction :

وتعتمد عملية الاختزال على إذابة المتبقيات في الميثانول ثم يشبع المحلول بثاني اوكسيد الكبريت ثم يبخر الميثانول ويضاف الماء ثم يستخلص المذيب ثانية بأي مذيب بترولي . ينقى مركب الباراثيون من خلال اختزال بقايا المركب بمحلول 15% حامض الهيدروكلوريك والزنك حيث تختزل مجموعة النيترو بالمركب وتتحول إلى مجموعة أمين فيتحول الباراثيون من مركب غير ذائب في الماء إلى اينو باراثيون ذائبا في الماء أو في الأحماض المخففة . وهنا يصبح الباراثيون المختزل متحررا من بقايا المواد المتداخلة كالشموع والدهون والتي لا تذوب في الماء وهنا يتم فصلها بالترشيح أو الترسيب .

4- التحليل المائي Hydrolysis :

وتتم عملية التحليل المائي باستخدام الأحماض القوية مثل مخلوط من حامض الكبريتيك المركز أو النيتريك بنسبة 1:1 خاصة مع العينات النباتية أو يستخدم محلول 10% من حامض الهيدروليك (كما في حالة الباراثيون) و حامض الكبريتيك المدخن (كما في حالة أللندين).

ثانيا -عمليات التنقية الطبيعية Natural Purification Operations:

وهي طرائق طبيعية تعتمد على الصفات الطبيعية للمستخلص ومن أمثلتها :

1- التقطير البخاري Steam Distillation :

يتم فصل متبقيات المركب غير القابلة للتطاير عن المواد المتداخلة معه والقابلة للتطاير من خلال عملية تقطير بخاري فيتم تطاير الشموع والزيوت ويتبقى

في النهاية متبقيات السم مع جزيئات من المذيب وقد تتحلل متبقيات السم خلال هذه العملية لتكوين صورة عطرية امينية أو فينولات متطايرة مع البخار وهنا يتم استقبالها أولا أثناء عملية التقطير .

2- التجميد والبلورة Freezing and Crystallization:

وفيها يعتمد فصل متبقيات السموم من الدهون أو الشموع على درجة ذوبانها في الأسيتون المبرد (-70 ْم) فتذوب متبقيات المركب السام بالأسيتون المبرد بينما تترسب الشموع والدهون المتبلورة ويتم ترشيحها تاركة جزيئات السم ذائبة بالأسيتون المبرد .

3- التوزيع ألتجزيئي Partition Distribution:

تفصل جزيئات المركب المذابة بين أزواج سائلة غير ممتزجة من المذيبات لاختلاف كثافتهما ودرجة قطبيتهما وكذلك ذو درجة غليان منخفضة ويكون احد المذيبين هو الوسط الثابت والآخر هو المتحرك (يجب أن يكون المركب قابل للذوبان في كليهما بمعامل توزيع اكبر من الواحد ، بينما يكون معامل تجزئ المواد المتداخلة معه كالشوائب اقل من الواحد الصحيح) حيث ترج جيدا وبعد الاتزان توزع جزيئات السم في كليهما وبمعدلات متباينة تبعا لمعامل التجازئ لهذا المركب بين الوسطين (المذيبين) خاصة عند ثبات درجة الحرارة وهنا ينفصل المخلوط في طبقتين إحداهما قطبية والأخرى غير قطبية ويكون:

المعامل ألتجزيئي kp = تركيز السم في المذيب الأول / تركيز السم في المذيب الثاني .

وعند استخلاص مركب DDT في الهكسان يضاف إلى المستخلص النهائي حجم مماثل من الاسيتونتريل ثم يرج في قمع فصل فتوزع متبقيات السم بين الهكسان و الاسيتونتريل ، بينما تبقى المواد المتداخلة بطبقة الهكسان حيث تصرف و تهمل .

ولمزيد من التنقية يضاف لطبقة الاسيتونتريل المتبقي بالقمع حجم آخر من الهكسان والماء ثم ترج بشدة وهنا تذاب متبقيات السم بدرجة اكبر من الهكسان والماء (قطبيته أعلى من الاسيتونتريل) حيث تهمل طبقة الاسيتونتريل .

ومن أمثلة أزواج المذيبات :

الهكسان	:	اسيتونتريل	(قطبي)
أيثر بترولي	:	نيتروايثان	(قطبي)
حامض الكبريتيك	:	رابع كلوريد الكربون	(قطبي)

ثالثا - التنقية بالفصل الكروماتوغرافي Purification By Chromatograph:

يعرف الفصل الكروماتوغرافي بأنه عملية مختبريه تسمح بفصل خليط من المكونات كلا على حدة على شكل مناطق يلاحظ فيها كل مكون على حدة وذلك من خلال توزيع هذه المكونات بين وسطين يعرف احدهما بالوسط الثابت والآخر بالوسط المتحرك .

فالطور الثابت : يتمثل في إحدى المواد المدمصة والمتميزة بدقة حجم الحبيبات وبالتالي كبر مساحة سطحها الخارجي فتحجز وتدمص إحدى مكونات المخلوط المراد فصلها عن باقي مخلوط العينة بقوة تسمى (قدرة الادمصاص) بينما تمر المكونات الأخرى للمخلوط بدون ادمصاص مع النظام آو الطور المتحرك حيث تتوقف درجة الادمصاص على قوة ونوعية الشحنات الموزعة على سطح حبيبات مادة الادمصاص.

الطور المتحرك : يدفع أمامه جزيئات المكون أو المكونات التي لم تدمص على حبيبات مادة الادمصاص .

ومن أهم الطرائق المستخدمة في هذا المجال ما يأتي :

1- كروماتوغرافيا الأعمدة Column Chromatography
2- كروماتوغرافيا الصفائح الرقيقة Thin Layer Chromatography
3- كروماتوغرافيا الورقة Paper chromatography

هذه الطرائق وغيرها سيتم تناولها في الخطوة الخامسة .

الخطوة الرابعة : التحوير Modification:

في بعض الأحيان قد تتطلب عملية التحليل والتقدير لبقايا مبيد معين من تحويل تلك المتبقيات إلى صورة أخرى يمكن الكشف عنها بسهولة بطريقة التحليل المتبعة ومن أمثلة ذلك ضرورة أكسدة مبيد الـ Paraxon إلى Parathion عند استخدام طريقة تثبيط إنزيم الـ Acetyl Choline Esterase طريقة للتقدير الكمي وذلك لان ما نحتاجه من الـ Parathion للحصول على تثبيط 50% يقدر بحوالي 42.5 مايكروغرام في حين يحتاج إلى 0.03 مايكروغرام من الـ Paraxon للحصول على نفس التثبيط ، كذلك يفضل تحويل مبيد الـDDT إلى مركب DDE وخاصة عند استخدام كاشف اسر الالكترونات عند استخدام طريقة الكروماتوغرافيا الغازي في عملية تقدير المتبقيات وذلك لان المركب الثاني أكثر قابلية على سلب الالكترونات من المركب الأصلي وبذلك يمكن زيادة حساسية الجهاز على كشف الكيمياويات الدقيقة جدا.

الخطوة الخامسة : طرائق التقدير النهائي لمتبقيات المبيدات

End- Determination Of Pesticides Residues Methods

هناك العديد من الطرائق التي يمكن استخدامها في تحديد وقياس متبقيات المبيدات كما ونوعا إلا أنها تتباين في درجة حساسيتها ودقتها نظرا لاختلافها في

الأساس الذي تستند إليه في عملها بالإضافة إلى الاختلاف في درجة تطور التقنيات المستخدمة فيها حيث أن منها البسيط ومنها المعقد ، إلا أنها تبقى طرائق مفيدة في دراسة ومتابعة متبقيات المبيدات في البيئة .

أنواع التحليلات المستخدمة في تقدير متبقيات المبيدات

Kinds Of Analysis Used In Pesticides Residue Determination

من أهم التحاليل المستخدمة في هذا المجال ما يأتي:

1- **التحليلات الوصفية :**

وتهدف إلى معرفة قيم معدل الجريان لكل مركب مفصول ومقارنتها مع قيم معدل الجريان لمركبات قياسية وذلك لأغراض تشخيصية . حيث تضاف قيمة السريان النسبي إلى الاختبارات الأخرى اللازمة للتشخيص والمتمثلة في :

تقدير الوزن الجزيئي للمركب – تقدير درجة الغليان – تقدير درجة الوميض والتي هي عبارة عن درجة الحرارة التي تبدأ عندها أبخرة المادة الكيميائية بالاشتعال – تقدير الكثافة النوعية – تقدير درجة ذوبان المادة في الماء والمذيبات العضوية – تقدير لزوجة المادة الكيميائية – تقدير الضغط البخاري – تحديد القوام واللون والرائحة وتحديد نوع الشكل البلوري للمادة عند تبلورها – تحديد طول الموجة التي يحصل عندها أقصى امتصاص – دراسة توزيع البروتونات في المركب باستخدام جهاز الرنين النووي المغناطيسي NMR .

2- التحليلات الكمية :

وفيها يتم تقدير المكونات والتي سبق فصلها وتعريفها تقديرا كميا ، ويتم ذلك بإحدى الطرائق التالية :

آ- يتم قطع البقعة (والتي سبق إظهارها بإحدى الكواشف) مع ورقة الكروماتوغرام الملتصقة بها ، ثم تستخلص بمذيب مناسب ، ثم يتم تقدير الكثافة الضوئية للمركب باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer وباستخدام المنحنى القياسي لهذا المركب يمكن تحديد التركيز .

ب- يمكن قياس مساحة البقعة باستخدام بلانيميتر ومن ثم تترجم هذه المساحة إلى تركيز من خلال منحنى قياسي يربط بين مساحة البقع الناتجة من عدة تركيزات متدرجة .

ت- تعامل ورقة الكروماتوغرام بالكليسرين فتصبح شفافة ومنفذة للضوء . تقرأ الكثافة الضوئية للبقعة كما سبق ومن خلال المنحنى القياسي الذي تم إعداده سابقا يمكن معرفة تركيز البقعة .

الأجهزة والتقنيات المستخدمة في تقدير متبقيات المبيدات

Equipment and Techniques Used In Pesticides Residue Determination

ومن أهمها ما يأتي :

أولا) كروماتوغرافيا الأعمدة

Column Chromatography

وفيه يكون الطور الثابت مادة الادمصاص التي تم تعبئة العمود بها وبطريقة منتظمة ومتجانسة ، أما الطور المتحرك فهو مذيب مناسب أو مخلوط من عدة مذيبات تختلف في درجة قطبيتها ويسمى مخلوط الإزاحة Eluting Mixture وتكون المذيبات المستخدمة في هذا النظام إما :

آ – مذيبات قطبية Polar Solvents : وتستخدم مع مادة ادمصاص غير قطبية (مثل كبريتات الكالسيوم وسيليكا الكالسيوم وتراب فوللر) لفصل المكونات غير القطبية .

ب- مذيبات غير قطبية Non-polar Solvents : تستخدم مع مادة ادمصاص قطبية مثل اوكسيد الألمنيوم و اوكسيد المغنيسيوم وحامض السليسيك والفحم لفصل المركبات القطبية.

ويتوقف الموضع النسبي لجزيئات مركب ما بالعمود على :

1- تركيز المكون : والذي يجب أن يكون منخفض كي يتسنى انتشار ايوناته في السائل وحتى لا يحدث تداخل بينه وبين المكونات الأخرى .

2- التركيز الطبيعي والكيميائي للمكون : فالمركب الأكثر أيونية أكثر ادمصاصا ، والاسترات أكثر ادمصاصا من الهيدروكربونات وهي (الاسترات) اقل ادمصاصا من الالديهيدات والكيتونات والاخيرات اقل ادمصاصا من كحولاتهما المناظرة .والمركبات الحامضية أو القاعدية أكثر ادمصاصا من الفينولات والهالوجينات ، والهالوجينات والاسترات أكثر من الهيدروكربونات غير المشبعة .

3- التركيب الطبيعي والكيميائي لمادة حشو العمود : فاوكسيد المغنيسيوم قوة ادمصاصه عالية للمركبات غير المشبعة ومنخفضة للمركبات المحتوية على مجاميع هيدروكسلية . والسيليت Cellite قوة ادمصاصه عالية للمركبات المحتوية على مجاميع هيدروكسيل عن المحتوية على روابط زوجية والفحم قوة ادمصاصة عالية للمركبات غير المشبعة أما الفلوريسيل فقوة ادمصاصة عالية للمركبات الاسترية والايثرية .

4- نوع وطبيعة وقطبية المذيب المتحرك والذي لا بد وان يذيب كل جزيئات المكون المراد فصله .

5- سرعة المذيب خلال العمود والتي يجب أن تكون منخفضة بعض الشئ .

6- حجم المذيب المستخدم للإزاحة : إذ كلما زاد كلما زاد ادمصاص المركب الأقوى حيث يحل محل المركب الأضعف ادمصاصا على العمود .

7- درجة الحرارة : حيث يزيد ارتفاعها من سرعة هجرة الجزيئات .

تعبئة العمود Column Packing:

يبلغ طول العمود الشائع (الحد الأدنى) الاستعمال (**30** سم) وقطره (2.2 - 2.4 سم) ومزود بصنبور(حنفية) من الأسفل ، ولتعبئة العمود يتبع الآتي :

1- يغسل بالماء والصابون ومن ثم بالأسيتون ثم يجفف .

2- يتم وضع وسادة من الصوف الزجاجي (أو القطن النظيف) داخل العمود فوق الصنبور لمنع تسرب مادة التعبئة إلى الخارج .

3- يتم تعبئة مادة الادمصاص (الشكل93) بإحدى الطرائق التالية :

آ- التعبئة الرطبة Wet Packing: ويتم بإحدى الطريقتين الآتيتين :

أ-أ- طريقةٍ Sprinkling :

بعد وضع وسادة الصوف الزجاجي وقفل الصنبور يسكب نظام الفصل المتحرك ويسمح لفقاعات الهواء بالخروج ثم توضع مادة الحشو داخل العمود فتنساب في جزيئات المذيب تدريجيا حتى الارتفاع المطلوب . ثم يتم فتح الصنبور ويسكب المذيب فتترتب حبيبات مادة الادمصاص جيدا (يفضل الهكسان) .

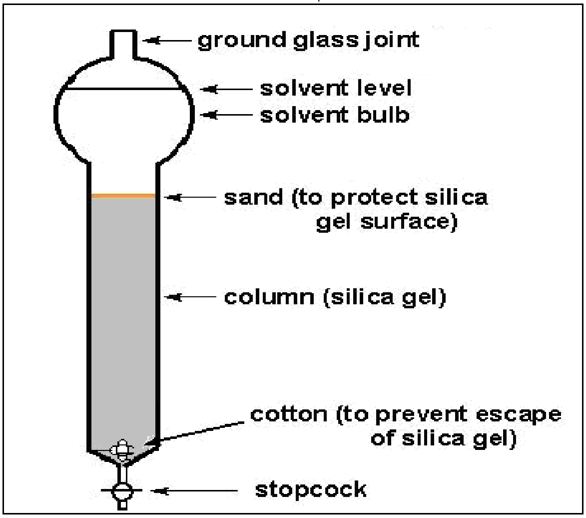
أ-ب- طريقة Slurry :

وفيها يتم خلط مادة الادمصاص مع المذيب المتحرك المطور فيصبح بشكل محلول سائل ثم يعبا في العمود للارتفاع المطلوب فتنساب بفعل الجاذبية الأرضية ويتم إنزال ما يعلق بالجدران من كتل لمادة الادمصاص بواسطة قضيب زجاجي ، وبعد فترة يتم فتح الصنبور لصرف المذيب .

ب- التعبئة الجافة Dry Packing :

وتصلح هذه الطريقة مع مواد الادمصاص ذات الحبيبات الكبيرة الحجم نسبيا كاوكسيد الألمنيوم ، فيتم إضافتها على دفعات مع النقر على جدران العمود بقطعة من الخشب أو كارتون لانتظام توزيع مادة التعبئة حتى لا تظهر جيوب أو فراغات أو شقوق . أما في حالة مواد الادمصاص ذات أحجام الحبيبات الدقيقة كالتراب ألكفري أو كربونات الكالسيوم فتضاف على دفعات مع الهز فقط . يضاف

إلى العمود طبقة من الرمل بسمك 1 سم لزيادة سرعة الفصل .



الشكل (93) عمود الكروماتوغرافي

تهيئة العمود Column Conditioning :

قبل إجراء عملية الفصل يتم تنشيط مواد الادمصاص والتي تؤدي إلى تحسين الصفات السطحية لمادة الادمصاص لتتلاءم وطبيعة المكون أو المكونات المراد فصلها عليها وكما يلي :

1- التنشيط بالتسخين : كما في حالة عمود الالومينا عند حرارة تصل إلى 200ْم بينما في حالة السيليكا فتنشط بالتسخين لمدى يتراوح بين 180-200ْم مع تيار بطئ من غاز خامل ، أما أعمدة الفلورسيل فتسخن في مدى يتراوح بين 120-130ْم في حين أعمدة الفحم تسخن بلطف ثم بشدة ويبرد في مجفف ، ويتم عادة التسخين في فرن .

2- التنشيط بالغسيل بمذيبات خاملة دافئة .

3- التنشيط بالغسيل بمذيبات معاد تنشيطها وإزالة المواد المتداخلة معها .

4- التنشيط بالأحماض والقواعد كما في حالة أعمدة الالومنيا .

5- التنشيط بتغير السطح عن طريق تغطية حبيبات مادة الادمصاص بمعادن أو أحماض دهنية .

وفي كل الأحوال يتم تبليل العمود قبل وضع العينة المستخلصة لفصل مكوناتها حيث يستخدم المذيب المناسب ويسمح بالسريان خلال العمود وقبل نزول آخر قطرة من المذيب المستخدم وقبل انكشاف سطح مادة الادمصاص بالعمود يتم قفل الصنبور لحين وضع العينة المراد فصلها (يفضل أن يكون ارتفاع المذيب **2**

ملم على قمة مادة الادمصاص وذلك لمنع حدوث تشققات أو فجوات داخل العمود مما يؤثر على نظام الإزاحة المستخدم) بعدها ينتخب نوع المذيب الذي يستخدم لإزاحة الرواسب من مستخلص المادة التي توضع في العمود الكروماتوغرافي لان هناك قوى جذب أو ادمصاص بين رواسب المادة الكيميائية والسطح القطبي للمادة الصلبة أو الطور الثابت. بعد أن تجمع كميات قليلة من المذيب المزاح مع رواسب المادة الكيميائية من أسفل العمود تبخر للحصول على رواسب المبيد ثم تستخدم أجهزة حساسة لمعرفة نوعها وتقدير كمياتها .

ويقسم التحليل الكروماتوغرافي بالأعمدة إلى عدة أقسام تبعا لقوة وكمية وطريقة إضافة المذاب إلى الطور المتحرك :

1- تحليل قمي Frontal Column Chromatography :

عند سكب مخلوط مكون من ثلاث مركبات (م1 ، م2 ، م3) مع كمية كبيرة من المذيب (Elute) دفعة واحدة خلال العمود تنفصل المركبات الثلاثة تبعا لقوة ادمصاص كل منها . فالأقوى يدمص بمادة التعبئة ويتبعه المركب الثاني (الأقل) فالثالث (الأقل) وهكذا .

وعند غسيل العمود بنفس المذيب واستقبال الراشح من العمود على دفعات، كل دفعة في أنبوبة منفصلة وعلى فترات متماثلة ثم يقاس تركيز كل مركب بكل أنبوبة نحصل على منحنى يسمى Stepwise Diagram حيث نجد أن الحجم الأول يحتوي على المركب (م1) فقط وبصورة نقية ، والحجم الثاني يحتوي على المركب (م2) وبقايا من المركب (م1) والحجم الثالث يحتوي على المركب (م3) وبقايا من المركبين م2 و م1 .

2- تحليل بالإزاحة Elution Column Chromatography :

وفيه تستخدم مذيبات خاملة حيث تتنافس مع قوة الادمصاص في إزاحة المركب حيث يعمل نظام إزاحة متدرج ، ومن خلال الفصل بمذيب يذيب المكون (م1) جيدا ثم يستقبل هذا المترشح في وعاء (ف1) نجد انه يحتوي على المركب م1 فقط وهكذا باستخدام مذيب آخر يناسب المركب الثاني فقط وأخر يناسب المركب الثالث .

3- التحليل بالإحلال Displacement Chromatography :

وفيه يكون المذيب فعالا حيث يتنافس بدون حد فاصل مما يؤدي إلى تداخل المواد المراد فصلها في منطقة مختلفة وهو ما يعيب هذه الطريقة . ولهذا النوع من الإحلال صورتين :

أ) **إحلال حامل Carrier Displacement**: وفيه تستخدم مادة ادمصاص لها قوة ادمصاص وسطية تعمل على وجود فواصل فتبتعد الطبقات عن بعضها فيسهل فصل كل طبقة (مركب) على حدة .

ب) **إحلال تدريجي** Gradual Displacement: يستخدم لتقليل التذييل في الفصل

بالإزاحة حيث تزداد قوة المذيب المزيج تدريجيا بزيادة الكمية المضافة مما يؤدي لظهور الطبقات وكل منها في صورة منضغطة ، أي بدلا من الإضافة في خطوة واحدة كما سبق تتم بإضافة تدريجية مستمرة من المذيب المزيج .

بعض أعمدة الكروماتوغرافي الشائعة Some Common Chromatography Columns:

1- عمود الالومنيا Aluminum Column :

يتكون من 92% اوكسيد الألمنيوم و1% اوكسيد الصوديوم و0.1% اوكسيد ألحديديك و0.1% اوكسيد التيتانيوم (TiO_2) . عند تعبئته يضاف فوق الصوف الزجاجي طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائية . تنشط الالومنيا قبل تعبئيها عند درجة حرارة 455-528ْم .

2- عمود الفحم Charcoal Column:

يتكون من فحم سكري أو عظمي . ينقى الفحم المطحون بحجم (300 مش) ويخلط في وعاء ألمنيوم مع حامض الهيدروكلوريك ليكون عجينة ، حيث يدفأ بلطف أثناء إضافة الحامض ثم يسخن حتى يزال الحامض ويغسل بالماء المقطر عدة مرات من خلال قمع بخنر ثم يجفف ويحرق في معزل عن الهواء .

3- عمود السيليكا Silica Column:

من أمثلتها السيليكا جيل باحجامها المختلفة و حامض السيليسيك.

4- عمود السيليت ألحامضي Acidic Cellite Column :

يتم تعبئة العمود بمادة السيليت 545 بعد طحنها جيدا في هاون مع حامض الكبريتيك الداخن (30 مل حامض / 10غم سيليت) ثم بحامض النتريك المركز (30 مل حامض / 10غم سيليت) ويستخدم معه للتبليل والإزاحة رابع كلوريد الكربون .

5- عمود اوكسيد المغنيسيوم والسيليت Magnesium Oxide and Cellite Column يتم تعبئة العمود بخليط متساو من المادتين ، ويستخدم معه للتبليل والإزاحة البتروليم أيثر.

6- عمود البنتونايت Bentonite Column:

وهي مواد ادمصاص بعضها سيليكاتي وبعضها يحتوي على ايون الصوديوم والكالسيوم أو البوتاسيوم والمنغنيز والتالك. ويستخدم معها البيريدين المائي لفصل صبغات الازو المكبرتة .

7- عمود التراب ألكفري Al-kufri Soil Column:

وهي مواد ادمصاص طبيعية مثل Filler Cel , Hyphlo Super Cel , Dicalt and Speed Plus .

8- عمود الفلوراسيل Flouracil Column:

يعبا العمود بمادة الفلورسيل وينشط على درجة حرارة 120- 130 ْم لمدة ست ساعات . ويستخدم البتروليم أيثر لتبليل العمود ويستخدم للإزاحة ثلاث محاليل تضاف بالتعاقب هي:

آ- داي ايثيل أيثر مع كحول الايثانول مع البتروليم أيثر بنسبة (6: 2 : 92) على التوالي.

ب- 15% داي ايثيل أيثر في البتروليم أيثر .

ت- **50%** داي ايثيل أيثر في البتروليم أيثر .

ويستقبل المترشح لكل من هذه المحاليل الثلاثة على انفراد .

ثانيا) كرومــاتوغرافيا الورقــة

Paper chromatography

وفيه يكون الطور الثابت ورق سليلوز نقي ، ولهذا الورق ثلاث أنواع تبعا لمعدل سرعة الجريان Rate of flow(Rf):

- ورق بطئ : مثل ورق واتمان رقم 20 .
- ورق متوسط : مثل ورق واتمان رقم 1 و واتمان رقم 3m.
- ورق سريع : مثل ورق واتمان رقم 15 و ورق واتمان رقم 4 .

وقد يعامل الوسط الثابت بمعاملات خاصة بإمرار الورق في مذيب معين كالسيلكون فيغطي سطح الورقة فتصبح طبقة السيلكون هي الوسط الثابت ، ثم تجفف بعد معاملتها وتكون وظيفة هذه الطبقة هو تأخير حركة المناطق على الورقة ، وبذلك يصبح الورق (ليبوفيلي) مما يستدعي أن يكون الطور المتحرك (هيدروفيلي) قطبي .

أما الطور المتحرك فانه يتحرك على الورقة بالخاصية الشعرية عبر الأنابيب الشعرية بالورقة والتي يتوقف على كثافتها معدل السريان . ويستخدم الطور المتحرك العالي القطبية مع المركبات العالية القطبية والعكس صحيح . وتختلف المذيبات في درجة قطبيتها حيث تتدرج كما يلي :

Water (10.2) > Dimethyl Sulfoxide > Dimethyl Formamide > Acetonitrile > 2-methoxy Ethanol > Pyridine > Methanol > Acetone > 1.4 Dioxane > Ethyl acetate > Ethanol Absolute > Chloroform > Tetrahydro Furan > Propanol > 1.2 Dichloro Ethane > Octan-1-ol > Dichloromethane > Diethyl Ether > Benzene > Methyl-tetra – butylether > Toluene > Carbon Tetrachloride > 1- chlorobutane > Cyclohexane > 2.24 Trimethylpentane > Petroleum ether > Hexane > Heptane (0.1)

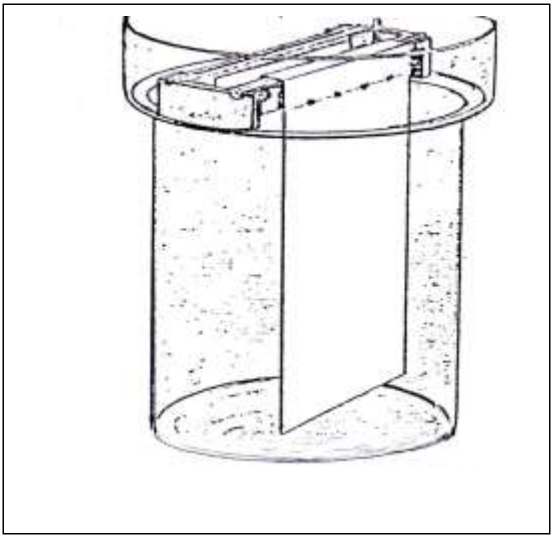
طرائق الفصل Separation Methods:

1- الطريقة النازلة Descending Development Technique :

وفيها يحدد خط البداية على الورقة وبما لا يقل عن 3-4 سم من حافة الورقة، ثم ينقط عليه مكونات العينة المراد فصلها بحيث تكون المسافة بين نقطة وأخرى 3-5 سم (أو توضع مكونات العينة على الخط بشكل شريط إذا كان الغرض هو التنقية) ويتم ذلك باستخدام Microliter Pipette أو سرنجة دقيقة . يتم بعد ذلك تجفيف سائل العينة .

يغمس طرف الورقة القريب من خط البداية في إناء المذيب Trough Tank (المثبت بأعلى الكابينة) والذي يحتوي على النظام المتحرك في وضع أفقي تماما ، على أن تكون المنطقة المنغمسة في المذيب بعيدة عن خط البداية حتى لا يلامس المذيب نقطة البداية . تقفل الكابينة جيدا وبعد فترة مناسبة ووصول النظام المتحرك الهابط لأسفل قرب خط النهاية Front line ترفع الورقة من الكابينة ثم تجفف بالهواء (الشكل94) . بعد ذلك يتم إظهار البقع برشها بالمظهر بواسطة مرشة Atomizer ومن ثم يتم حساب قيمة معدل السريان كما يلي :

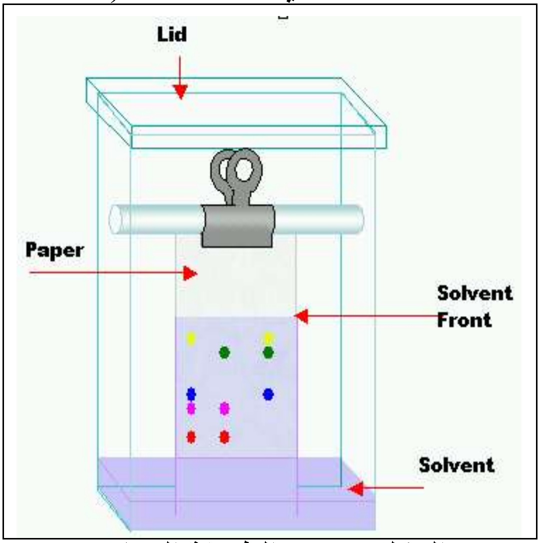
$$\text{معدل الجريان} = \frac{\text{المسافة التي قطعتها البقعة من خط البداية حتى مركز البقعة}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب (من خط البداية)}}$$



الشكل (94): الفصل بالطريقة النازلة

2- الطريقة الصاعدة Ascending Development Technique :

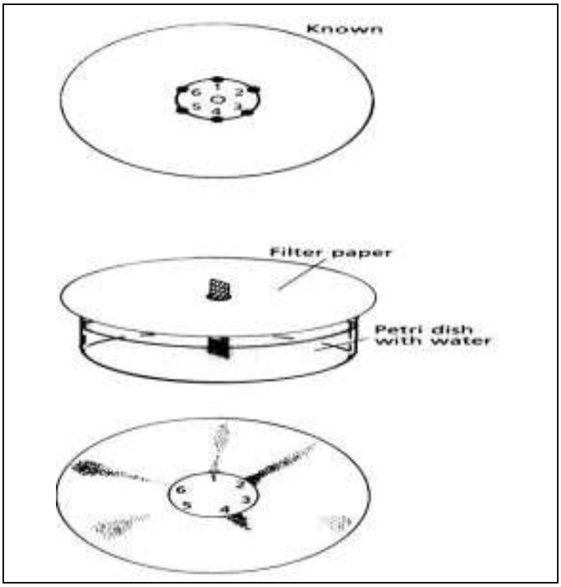
تـتم نفس الطريقـة السـابقة عـدا أن الطـور المتحـرك يكـون فـي أسـفل الكابينة وتعلق الورقة من طرفها العلوي بقمة الكابينة (الشكل 95)



الشكل (95) الطريقة الصاعدة

3- الطريقة المركزية الشعاعية Radial Development Technique :

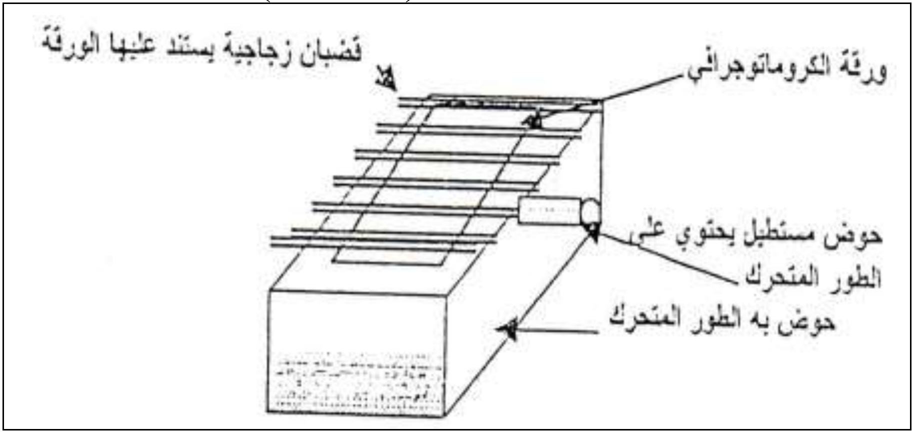
وفيهـا تكـون ورقـة الكرومـاتوغرافي دائريـة ويـتم التنقـيط فـي مركزهـا . يوضع الطور المتحرك في طبق بتري وتوضـع الورقـة فوق الطبق ويـربط مركز الورقـة بـالطور المتحـرك بخـيط رفيـع أو شـريط مـن الـورق حيـث ينتقـل الطـور المتحرك عن طريق الخاصية الشـعرية خـلال الخيط أو الشريط إلـى مركـز البقعة حيث ينتشـر بعـد ذلـك دائريـا فـي جميـع الاتجاهـات فـي شـكل دوائـر منفصـلة عـن بعضـها ، كل منها يعبر عن إحدى المكونات المفصول بها (الشكل 96) .



الشكل (96): الفصل المركزي الشعاعي

4- الفصل الأفقي Horizontal Development Technique :

وفيه يتم وضع ورقة الكروماتوغرافي التي تم تنقيطها على قضبان زجاجية في وضع أفقي على حافة إطار داخلي لكابينة الكروماتوغرافي ، ويغمس طرفها القريب من خط البداية في الوعاء الحاوي على النظام المتحرك . كما يوضع لوحين من الزجاج أعلى وأسفل الورقة وهذه تفيد في فصل المواد المتطايرة ، وكذلك الفصل على درجات حرارة مختلفة (الشكل 97).



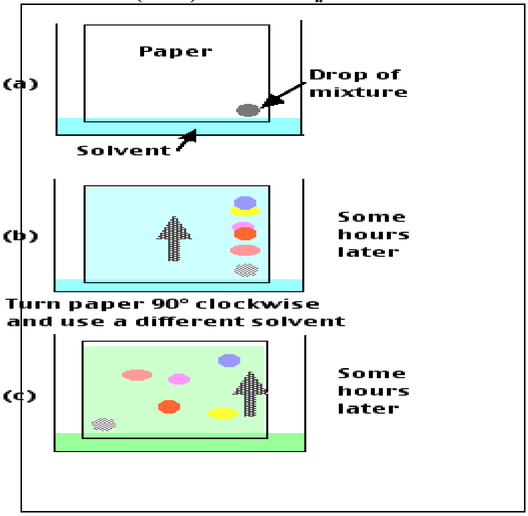
الشكل (97): التطوير الأفقي .

5- الفصل المتعدد Multiple Development Technique :

وفيه تجري عدة عمليات فصل على نفس الورقة وعلى نفس الاتجاه وبنفس الطور المتحرك أو باستخدام طور آخر للحصول على اكبر فصل ممكن حيث تزيد مسافة الفصل بين المركبات .

6- الفصل في اتجاهين Tow- Dimensional Chromatography :

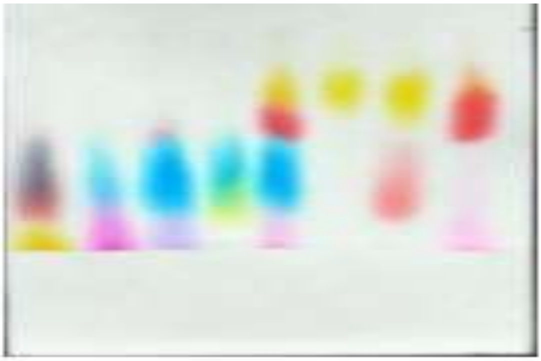
وفيه يتم الفصل بإحدى الطرائق السابقة وبتنقيط عينة واحدة فقط في إحدى أركان الورقة ، وبعد تجفيف الورقة يتم الفصل الثاني باستخدام نفس الطور المتحرك أو طور آخر وذلك بتحريك الورقة 90° مما يجعل اتجاه الفصل الثاني متعامد مع اتجاه الفصل الأول . وهذا يفيد في زيادة كفاءة الفصل خاصة المواد المتقاربة في قيم معدل الجريان النسبي . الشكل (98) .



الشكل (98): الفصل باتجاهين متعامدين .

إظهار البقع Spots Detection:

ويكون هدف الإظهار هو تحديد أماكن المواد المفصولة سابقا باستخدام كواشف كيميائية أو الأشعة فوق البنفسجية بطول موجي معين أو بتثبيط إنزيمات معينة ، ليتسنى إجراء القياسات(الشكل 99).



الشكل (99) إظهار البقع على ورقة الكروماتوغرام

وتتنوع طرائق الإظهار كما يلي :

1- طرائق إظهار كيميائية Chemical Detection Methods:

بعد تجفيف البقع يتم إظهار البقع من خلال معاملات كيميائية تعتمد على تفاعل الكاشف مع محتوى البقعة المفصولة فيعطي معقد معين ذو لون مميز أو ضوءً متوهجا . وتتم المعاملة بإحدى الطرائق التالية :

- الغمر : وذلك بغمر الكروماتوغرافي في محلول المواد المظهرة .
- الرش: وفيها يتم رش المظهر على ورق الكروماتوغرافي بالشكل رذاذ باستخدام رشاشة زجاجية خاصة glass continuous atomizer .
- إضافة المظهر للطور المتحرك : وذلك بخلط الكاشف مع الطور المتحرك مما يجعل البقع أثناء حركتها مرئية .

ويمكن استخدام اليود من خلال وضع قطعة صلبة من اليود مع ورق الكروماتوغرام في وعاء مغلق حيث يتسامى اليود ويظهر البقع.

2- طرائق إظهار طبيعية Physical Detection Methods :

هناك الكثير من المركبات العضوية تمتص الأشعة فوق البنفسجية عند مدى بين 260- 240 مليمايكرون فتظهر كبقعة مظلمة يمكن تحديدها بقلم رصاص أو ترش البقع بمحلول الفلورسيل أو محلول 2- 5 داي فينيل اوكسازول ثم تجفف مما يجعل البقعة تظهر بشكل أكثر وضوحا تحت أشعة UV . كما أن بعض المواد تتألق عند الطول ألموجي 360 مليميكرون للأشعةUV .

3- طرائق إظهار بالمركبات المشعة Radio Active Compounds :

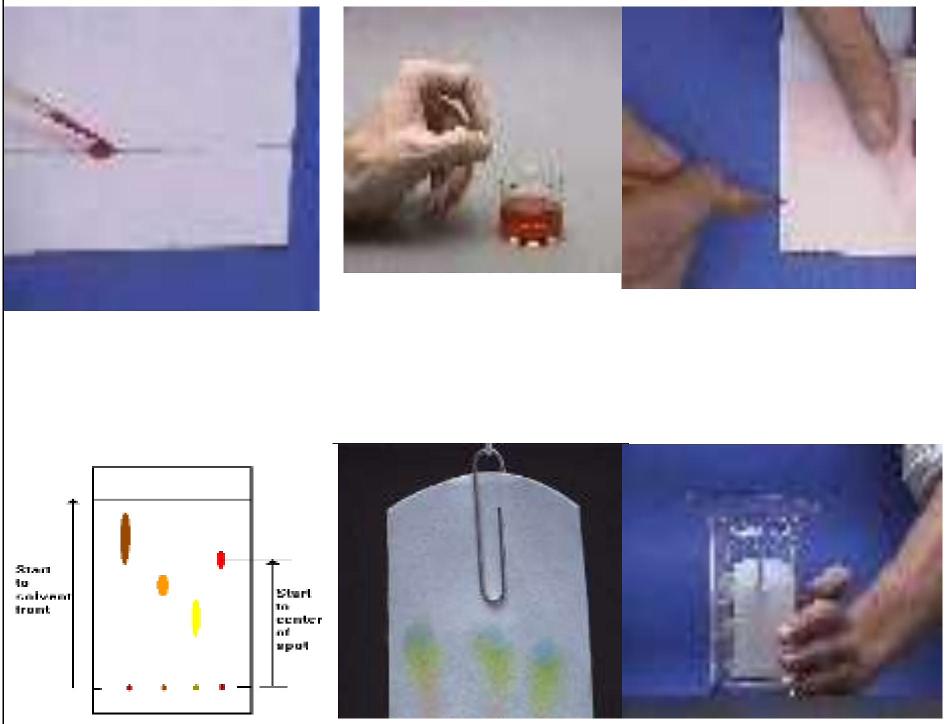
حيث يمكن تحديد أماكن البقع إشعاعيا باستخدام جهاز Auto Radiography.

4- طرائق إظهار حيوية Biological Detection Methods :

وتبنى فكرتها على أساس تثبيط إنزيمات معينة حيث ترش ورقة الكروماتوغرام بعد تجفيفه بمستخلص الإنزيم ومادة تفاعله الأساسية ثم ترش بكاشف يتفاعل إما مع مادة تفاعل الإنزيم والتي لم يحللها لتثبيطه أو يتفاعل مع خلفية الكروماتوغرام (ورقة الكروماتوغرافي التي تم الفصل عليها) حيث توجد جزيئات الإنزيم غير المثبطة ، كما يحدث مع إنزيم الكولين استريز وجزيئات السموم الفسفورية والكارباماتية والتي تثبط الإنزيم . كما في حالة استعمال ورق ازرق البروموثيمول كمادة مظهرة حيث يسبب ظهور مواقع التثبيط على الكروماتوغرام باللون الأزرق أما الخلفية فتظهر صفراء نتيجة لعدم تثبيط الإنزيم بها وتفاعلها مع الكاشف .

بعد إظهار البقع في أي من الطرائق السابقة يتم ما يلي :

- تحدد البقع بقلم الرصاص .
- يرسم خريطة للألوان القياسية للمساعدة في تحديد الألوان .
- يتم قياس معدل الجريان Rf أو قيم (Rf x 100).
- يصور الكروماتوغرام لأغراض التوثيق .



الشكل (100) مراحل الفصل بطريقة الكروماتوغرافي الورقي

ثالثا) كروماتوغــرافي الصفائــح الرقيقـــة

Thin-Layer Chromatography (TLC)

وتكون هذه الصفائح إما جاهزة وعندها يوضع على العبوة نوعية مادة الادمصاص وسمكها (سيليكا جيل أو اوكسيد الألمنيوم أو السليلوز أو التربة الدياتومية أو سيليكات المغنيسيوم) ، أو يتم فرش الطبقة الرقيقة بسمك معين وتحسب كمية المادة المدمصة لكل شريحة من :

كمية مادة الادمصاص/لوح=سمك الطبقة(ملم) x طول اللوح (ملم) x عرض اللوح(ملم)= سم^3

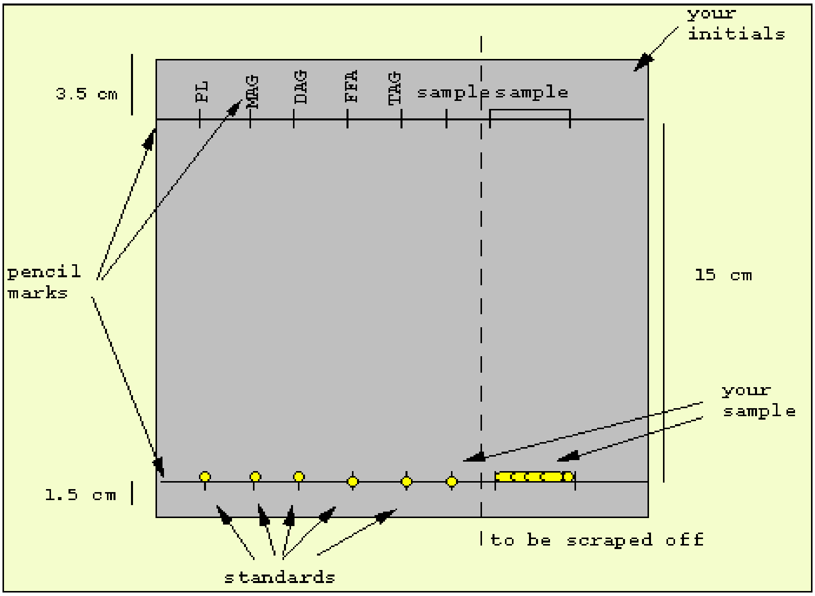
تخلط هذه الكمية مع ضعف حجمها ماء مقطر وترج لمدة ثلاث دقائق وتعجن ثم تترك لثلاث دقائق أخرى لكي تخرج فقاعات الهواء .

يتم فرش المادة على لوح زجاجي نظيف (أو لوح ألمنيوم) بواسطة

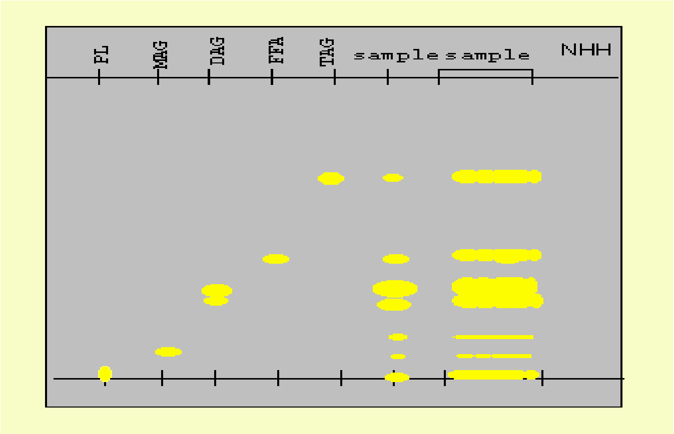
جهاز Thin Layer Roler على سمك 0.25 أو 0.5 أو 0.75 أو 1.0 ملم وقد يضاف للعجينة نسبة 5% كبريتات الكالسيوم بهدف تحسين خواص وشدة تماسك الطبقة على اللوح .بعد ذلك يتم تجفيف الألواح في فرن على درجة حرارة 100 ْم لمدة نصف ساعة ، ثم تحفظ بعد ذلك في مجفف يحتوي على كلوريد الكالسيوم .

ولاستخدام الصفيحة في الفصل تتم عملية تنقيط مخلوط مكونات العينة المراد فصل مكوناتها على إحدى جوانب اللوح وعلى بعد 1.5-2 سم من حافته ، حيث يتم التنقيط على خط وهمي يسمى خط البداية بواسطة أنبوبة شعرية ، كما يتم معها تنقيط المركبات القياسية في حالة توقع نوعية المكونات المكونة للخليط الشكل (101).

وتجري عملية الفصل بوضع النظام المتحرك في كابينة الفصل Jar وتغطيته قبل وضع الألواح ، يتم بعد ذلك وضع الألواح وقفل الكابينة ثم تترك لفترة حتى يرتفع النظام لأعلى مسافة مناسبة . بعد ذلك ترفع الألواح وتجفف مع تعليم خط النهاية Front line الشكل (102)، أما عملية الإظهار فتتم برش اللوح بإحدى أنواع الكواشف المناسبة لنوع المكون المراد فصله(جدول 51).



الشكل (101) أماكن تنقيط العينات على لوحة **TLC**



الشكل (102) الفصل على TLC

الجدول (51) نماذج مختلفة للكواشف المظهرة للألوان في التحليل الكروماتوغرافي

المجموعة	الجوهر الكشاف
هيدروكاربونات عضوية محتوية على الكلور	1- محلول 1% نترات فضة للرش ويحضر بإذابة 0.1غم في 1 مل ماء مقطر ثم يضاف إليه 20مل من محلول2- فينوكسي ايثانول ثم يخفف حتى100 مل بالأسيتون ثم يضاف إليه قطرة من هيبوا وكسيد الهيدروجين ويحفظ بعيدا عن الضوء ولا يجب استخدامه بعد 5 أيام 2- الرش بمحلول Chromotropic acid
هيدروكربونات عضوية محتوية على الفسفور	1- محلول 2% p-nitro benzyl pyridine في الأسيتون ، محلول 10% tetra ethylene pent amine في الأسيتون . حيث يتم رش الكروماتوغرام بالمحلول الأول ثم يوضع في الفرن على درجة حرارة 110 ْم لمدة 10 دقائق ثم يخرج ويرش بغزارة بالمحلول الثاني فتظهر البقع بلون بنفسجي مزرق على خلفية بيضاء بالكروماتوغرام. 2- الرش بمحلول Bromine ثم بمحلول نترات الفضة . 3- الرش بمحلول مولبيدات الامونيوم ثم محلول حامض البيركلوريك. 4- الرش بمحلول Rhoda mine B

هيدروكربونات عضوية محتوية على فسفور وكبريت	1- يرش بمحلول حامض ألستريك (5غم حامض ألستريك في 5 مل ماء ثم يكمل الحجم حتى100 مل أسيتون) فيتحول لون الكروماتوغرام إلى الأزرق ، ثم يرش بمحلول نترات الفضة (5غم في 25 مل ماء مقطر ثم يخفف حتى 100 مل بالأسيتون ويحفظ بعيدا عن الضوء) فيتحول للبنفسجي المزرق . يرش الكروماتوغرام بعد ذلك بمحلول تترااثيلين بنتامين في الأسيتون فتظهر البقع بلون ازرق والخلفية صفراء أو خضراء مزرقة . 2- يرش بمحلول 1% تترابروموفينول فيثالين المخفف بالأسيتون فيتحول لون الكروماتوغرام للون الأزرق . ثم يرش بعد ذلك وبغزارة في المرة الأولى ثم يرش خفيفا في المرة الثانية بواسطة محلول نترات الفضة 5% (5غم نترات الفضة في 25مل ماء مقطر ثم تخفف إلى 100 مل بالأسيتون) فيتحول للون **bullish purple** وقبل ظهور البقع وبعد دقيقتين يرش رش متوسط بحامض ألستريك (5غم حامض في 5 مل ماء ثم يخفف إلى 100مل بالأسيتون) فتظهر البقع بلون ازرق أو بنفسجي مزرق تبعا لنوعية المكون وتتحول الخلفية إلى اللون الأصفر . وتحدد البقع بسرعة قبل تحول الخلفية إلى اللون الأزرق المخضر والذي يتداخل مع البقعة . 3- الرش بمحلول 1، 2 داي كلورو-4، 5 –داي سيانو بنزوكينون . 4- الرش بمحلول 4- بيكولين ثم بمحلول بارا-بتروبترين. 5- الرش بمحلول نترات الفضة ثم بمحلول البلاتينات .
الفينولات	محلول كلوريد الحديديك
أحماض امينية	محلول **Ninhydrine**
سكريات امينية	محلول نترات الفضة وهيدروكسيد الامونيوم
هيدروكربونات عضوية كرباماتية ومشتقات اليوريا	1- يرش كروماتوغرام السيليكاجيل بمحلول 50% حامض الكبريتيك ثم تسخن لدرجة 110°م لمدة ربع ساعة ثم يبرد ويرش بمحلول النتروز (1غم نترات صوديوم + 20مل حامض الهيدروكلوريك 0.2ع حيث يخلطا معا قبل الرش مباشرة) ثم محلول 1% 1-نافثول فتظهر البقع بلون البنفسجي المزرق . 2- الرش بمحلول برومين ثم الفلورسين . 3- الرش بمحلول الرودامين ثم التعريض للأشعة فوق البنفسجية .
هيدروكربونات عضوية كرباماتية ومشتقات اوكسجينية	1- يرش كروماتوغرام السيليكاجيل بمحلول 0.2غم من 2،6-داي بروكينون كلوراميد في 20 مل كلورفورم ثم يسخن على 110°م لمدة ربع ساعة ثم يرش بمحلول منظم (0.1عياري بورات صوديوم في الماء المقطر. 2- الرش بمحلول نترات الفضة ثم محلول 1- نافثول . 3- الرش بمحلول فانيلين ثم محلول حامض الكبريتيك . 4- الرش بمحلول بارا-داي ميثيل امينو بنزالديهيد .
حامض الكلوروفينوكسي ومشتقاته الميثيلينيه.	ترش ألواح الألمنيوم والمطورة بالهكسان والاسيتونتريل بمحلول نترات الفضة(0.1غم نترات فضة في 1مل ماء مقطر ثم 20مل من فينوكسي ايثانول وخفف بالأسيتون حتى 200 مل مع قطرة فوق اوكسيد الهيدروجين) ثم يعرض للأشعة فوق البنفسجية فتظهر بقع بنية .

تراي ارينات	1- عملية كلورة ثم الرش بالتلويدين ثم ايوديد البوتاسيوم ونترات الفضة. 2- استخدام **Brilliant green** والبرومين .
مركبات داي نيتروفينول	1- الرش بمحلول كلوريد القصديروز ثم بارا-داي ميثيل امينو بنزالدهايد. 2- الرش بهيدروكسيد البوتاسيوم ثم التعريض للأشعة فوق البنفسجية .
اليوراسيل	استخدام **Brilliant green** والبرومين .
الداي ثيكرباميت	1- الرش بمحلول كلوريد النحاس ثم الهيدروكسيل أمين . 2- الرش بمحلول الصوديوم أزايد .
كربوهيدرات	محلول **Anisialdehyde** في حامض ألخليك أو حامض الكبريتيك .
استيرويدات و ا. الكليكوزيدية	محلول ثالث كلوريد الانتيمون في الكلوروفورم
الديهيدات وكيتونات	محلول 2-4 داي نيتروفينيل هيدرازين .
قلويات وقواعد	الجوهر الكشاف الخاص بتفاعل **Dragendroff**
امينوفوسفوتيدات	محلول نترات الفضة وهيدروكسيد الامونيوم
لبيدات وفيتامين A	بروموكريزول البنفسجي
أحماض	بروموكريزول الاخضر

أما إذا كان مطلوب تنقية اكبر قدر ممكن من العينة فيتم وضع المركب في صورة حزمة وبعد الفصل يتم إظهار شريط راسي من اللوح ولا يتم إظهار اللوح كله وذلك لغرض معرفة أماكن المكونات المراد تنقيتها حيث تقشط هذه المسافات بعد ذلك وتجمع في أنابيب اختبار حيث يتم إذابتها في المذيب المناسب لاستكمال باقي عمليات التحليل . يتم توثيق الكروماتوغرام بطرائق مختلفة منها التصوير الفوتوغرافي والذي يعتبر من الطرائق المفضلة في ذلك . كما يتم حساب قيم الجريان النسبي لكل بقعة . (الجدول رقم 52) .

رابعا) كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة ذات البعدين

Tow-Dimensional Thin Layer Chromatography:

يتم فيها الفصل بنفس الطريقة التي سبق ذكرها في حالة الكروماتوغرافي الورقي ذي البعدين .

خامسا) كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة ذات الطور المنعكس

Reverse-phase TLC

وفيها يكون الطور الثابت غير قطبي (غير محب للماء Hydrophobic) فيما يكون النظام المتحرك قطبي (محب للماء Hydrophilic) كالماء أو الكحولات

أو مخاليط منها , كما يفضل معاملة الألواح قبل عملية الفصل بزيت معدني أو سليكون (غير قطبي) أو حامض السيليسيك Silicic Acid.

سادسا) كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة بالإنزيم المثبط

TLC-Enzyme Inhibition

وتستخدم لكشف وتقدير المركبات ذات القدرة على تثبيط النشاط الإنزيمي مثل المبيدات الفسفورية والكارباماتية العضوية . حيث تحول المشتقات الكبريتية (p=s) إلى مشتقات اوكسيجينية (p=o) قبل تتبعها إنزيميا وذلك عن طريق معاملتها ببخار أو ماء البرومين أو N-bromosuccinimide مع مراعاة إزالة البرومين الزائد قبل رش الألواح بمحلول الإنزيم ، كما تقوم الأشعة فوق البنفسجية بأكسدة المشتقات الكبريتية إلى اوكسجينية ، أما الإنزيمات (الاستريز)التي تستخدم في هذه الطريقة فيتم الحصول عليها من كبد الأغنام والخنازير والبقر والقرود والفئران وبلازما دم الإنسان ومصل دم الحصان وكذلك رؤوس الذباب والنمل تعد من المصادر الجيدة للإنزيم . كما تعد استريزات الكبد متاحة تجاريا .

ولتحضير المستخلص الإنزيمي يمزج (50 غم) من الكبد مع (180 مل) ماء مقطر بارد أو محلول منظم للنيكوتيناميد (pH8.3) لمدة دقيقتان ثم يجري طرده مركزيا على سرعة 2000 دورة لكل دقيقة لمدة 5 دقائق عند درجة حرارة 4ْم . يحفظ المستخلص الرائق في أنابيب اختبار في المجمدة . قبل الاستعمال يخفف المستخلص بمحلول منظم (Tris) بمعدل 1 جزئ من المستخلص : 8 جزئ محلول منظم . بعد إجراء عملية الفصل للمركبات على الألواح يتم رش محلول الإنزيم بلطف على اللوح كله وبدرجة تكفي لتبليله دون حدوث سيلان لمحلول الرش من على اللوح . بعد ذلك تحفظ الألواح أفقيا حتى تجف في المختبر ثم يتم إظهار البقع .

الجدول (52): يوضح قيم معدل الجريان (Rf x 100) للسموم على الفلورسيل بعدة أنظمة مختلفة .

المركب المفصول	أسيتون تولولين 9:1	تولولين	داي ايثيل أيثر:هكسان 85 : 15	داي ايثيل أيثر:هكسان 15 : 85	هكسان
Hexachorobenzene	90	90	80	76	70
Aldrin	90	90	77	71	61
Chlordane	90	90	69.64.57	69.48.22	2028.37.45
DDT	88	87	80	69	51
Isobenan:I1chloro-2,2 bis(4-ch.ph)	90	90	78	71	48
Ethylene	89	88	78	69	48
Quintozene	89	87	82	68	43

40	58	67	87	88	**DDT**
35	61	68	85	86	**&-BHC**
26	51	61	86	87	**Y-BHC**
24	46	63	83	86	**TDE**
19	74	76	88	88	**Trifluralin**
19	55	65	80	87	**Penta chlorophenyl acetate**
12	63	74	83	90	**Benfluralin**
13	57	64	83	84	**Bromophos-ethyl**
7	57	65	78	89	**Dichlofenthion**
3	55	65	77	89	**Dursban**
3	50	60	74	87	**Fenporop butyl**
2	47	58	63	87	**4,4dichloropenzophenone**
9	39	57	74	85	**Endrin**
7	39	53	75	85	**Dielderin**
2	33	50	79	89	**Ethion**
4	32(50)	48(60)	63	87	**Dicofol**
4	34	48	62	84	**Fenopropl**
2	31	50	57	86	**Fenoprop methyl**
2	31	50	57	86	**2,4,5-n-butyl**
صفر	30	50	61	88	**Dinocap**
صفر	32	50	52	87	**2,4,5-T-isobutyl**
صفر	32	50	53	87	**2,4,5-T isopropyl**
2	30	47	65	87	**Tetradifon**
صفر	28	46	57	86	**Bromoxynil octanoate**
صفر	27	45	49	87	**2,4,5-n-propyl**
2	26	43	78	85	**Nitrofen**
صفر	26	41	42	84	**N,N-Dimethyl-p-phenylazoaniline**
صفر	25	41	43	86	**2,4,5-T ethyl**
صفر	23	44	51	83	**2,4-D sec-butyl**
4	23	38	51	85	**Parathion**
صفر	21	39	43	86	**2,4-D isobutyl**

2	21	25	45	73	**Dicloran**
صفر	20	37	74	84	**2,4-D n-butyl**
صفر	19	38	46	84	**2,4-D isopropyl**
1	18	33	43	82	**2,4,5-T-methyl**
صفر	17	31	43	82	**2,4-Di ethyl**
1	16	28	65	75	**Phenothiazine**
4	18	27	37	59	**2,4-Dichlorophenol**
4	14	28	80	84	**&-BHC**
2	14	28	30	84	**Diazinon**
صفر	13	21	32	79	**2,4-Dmethy**
صفر	11	23	26	83	**2,4,5-T butoxy ethyl**
2	11	23	29	63	**A-Naphthol**
4	7	13	42	84	**3,4-Dichloroaniline**
صفر	7	22	23	65	**Mercapto diethyl**
3	8	17	32	86	**Dioxathion**
2	5	14	22	79	**Malathion**
صفر	4	13	14	84	**2,4-D butoxyethyl**
صفر	صفر	12	27	80	**Folper**
صفر	4	10	24	68	**p-phenylazoaniline**
2	3	4	13	86	**Trichlorophenol**
صفر	صفر	6	13	70	**Captan**
صفر	2	5	11	68	**Linuron**
صفر	صفر	صفر	13	81	**Dithianon**
صفر	صفر	3	10	73	**Imidan**
صفر	1(11)	4(24)	11(30)	(64)	**Carbaryl**
1	4	6	10	59	**Ametryne**
صفر	2	3	8	52	**2,4-Dichlorophenoxy ethanol**
صفر	صفر	5	6	60	**Propazine**
صفر	صفر	4	5	73	**Azinphos-ethyl**
صفر	صفر	2	4	68	**Azinphos-methyl**
صفر	2	4	5	60	**Atrazine**
صفر	2	5	8	45	**Thiram**

Dazomet	**45**	**8**	**1**	**صفر**	**صفر**
Simazine	**43**	**1**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Cyolane	**41**	**3**	**3**	**2**	**صفر**
4-Nitrophenol	**35**	**5**	**4**	**3**	**1**
Crotoxyphos	**41**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Demeton-methyl	**39**	**3**	**1**	**صفر**	**صفر**
Diuron	**41**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Bromacil	**41**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Monuron	**35**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Fluometuron	**33**	**3**	**2**	**صفر**	**صفر**
Methomyl	**25**	**6**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Fenuron	**25**	**3**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Haloxon	**25**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Coumaphos	**14**	**6**	**5**	**صفر**	**صفر**
Dimethoate	**17**	**2**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Thiabendazole	**11**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Warfarin	**11**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Trichlorofon	**7**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Pentachlorophenol	**7**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Amitrole	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**

برش اللوح بأحد المواد المظهرة للون مثل (1-نافثيل اسيتات) أو (برومو اندوكسيل اسيتات) أو (اندوفينيل اسيتات) والمذابة في الميثانول أو الايثانول أو الأسيتون ويمكن تخفيف هذه المحاليل بمحلول منظم بارد . كما يمكن رش مادة الاسيتيل كولين كمادة تفاعل لإنزيم الكولين استيريز قبل رش الإنزيم والتي يقوم الإنزيم بتحليلها إلى قاعدة الكولين وحامض ألخليك وعند استعمال دليل الحامضية ازرق البروموفينول كمادة مظهرة فان البقع تظهر بلون ازرق . وبمجرد ظهور البقع يتم رش الألواح المعاملة بخلات الاندوكسيل بالبرومين وذلك لإيقاف نشاط الإنزيم ، وبعد إيقاف التفاعل يمكن تغطية اللوح بلوح زجاجي وتحكم حوافه باللصق لحفظ لوح الكروماتوغرام .

أهم الكواشف المستخدمة في إظهار السموم Poison Reagent

1- المبيدات الكلورينية العضوية Chlorinated Pesticides:

إن أهم الكواشف المستخدمة في إظهارها نترات الفضة والتي تحضر من إذابة 1.7غم من نترات الفضة في 20 مل ماء ثم يضاف 10 مل من مركب (2-

فينوكسي ايثانول) ثم يخفف إلى 190 مل بالأسيتون . وقبل الرش به يضاف 1 مل هيدروكسيد الامونيوم المركز الى19 مل من نترات الفضة كمحلول قياسي . يتم رش الألواح بكثافة بمحلول نترات الفضة ثم يجفف في الهواء لعشرة دقائق ثم يعرض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 3-5 دقائق وعند زيادة الرطوبة في المختبر يسخن في فرن على درجة حرارة 110 ْم لمدة خمسة دقائق وتعاد عملية الرش إذا لم تظهر البقع بشكل واضح ثم تعرض للأشعة فوق البنفسجية لمدة 2-3 دقائق . ومن الكواشف الأخرى التي يمكن استخدامها البرولين والفلورسين والبروموفينول بلو مع محلول نترات الفضة ، كما يمكن استخدام Rhodamine-B ثم التعريض للضوء فوق البنفسجي .

2- المبيدات الفسفورية العضوية Organophosphorus Pesticides:

يمكن استخدام نترات الفضة مع ازرق البروفينول أو مع تترابروموفينول فثالين ايثيل استر ككاشف .كما يمكن استخدام محلول 2% بارا- نيتروبنزين بيريدين في الأسيتون ككاشف ثم يعرض اللوح لدرجة حرارة 110 ْم لمدة 10 دقائق ، ثم يرش اللوح بمحلول 10% تتراايثيلين بنتامين في الأسيتون بغزارة حيث تظهر بقع المركب بلون ازرق بنفسجي .

أما المبيدات الفسفورية الحاوية على الكبريت فيتم الكشف عنها بـ Iodoplatinate (3 مل كلوريد البلاتينيوم 10% + 97 مل ماء + 100 مل يوديد البوتاسيوم 6% ويخزن في الظلام) أو 2,6 dibromo-chloro-p-benzoquinon imine أو Chlorplatinete او يرش اللوح بتترابروموفينول فثالين ايثيل استر (0.2 %) ثم يرش رشة خفيفة بمحلول نترات الفضة (السابق) ثم بعد دقيقتين يرش بحامض ألستريك فتظهر البقع زرقاء على خلفية صفراء ويتم التقدير خلال عشرة دقائق .

3- المبيدات من مشتقات اليوريا و ن-أريل كارباميت Derivates Of Urea and N-Aryl Carbamete:

ترش الألواح بحامض الكبريتيك المخفف (1:1) ثم تسخن لمدة ربع ساعة على درجة حرارة 110 ْم وبعد التبريد ترش بحامض النتروز (2 عياري نترات صوديوم + 20 مل حامض الهيدروكلوريك 0.2 عياري) وبعد جفافها ترش بمحلول (1- نافثول) فتظهر البقع بلون بنفسجي .

4- المبيدات من مشتقات O-Aryl Carbamate:

ترش الألواح بمحلول (2 ، 6-داي بروموكينون كلورامين) 1% في الكلوروفورم ثم تسخن لمدة ربع ساعة على درجة حرارة 110 ْم ثم ترش بمحلول منظم لبورات الصوديوم 0.1 عياري في الماء ، وفي كلتا الحالتين تقارن ببقع المحاليل القياسية .

5- المبيدات من مشتقات الروتينون Rrotenon Derivatives:

ترش الألواح بكاشف Dragendroff حيث يخلط 10 مل من المحلول القياسي للكاشف مع 25 مل حامض ألخليك الثلجي مع 60 مل خلات الايثيل فتظهر البقع باللون البرتقالي.

6- المبيدات البيرثرويدية والمؤازر Pyrethroids and Piperonyl Butoxide:

يمكن إظهار البقع برش الألواح بمحلول حامض الفوسفوموليبدك والذي يجهز بإذابة 10غم منه في 100 مل ايثانول ، حيث يحضر قبل الرش مباشرة ويعطي بقع زرقاء على خلفية صفراء .

التقدير الكمي بكروماتوغرافي الطبقة الرقيقة

Quantitative Determination By TLC

يجري التقدير الكمي للمركب بعد فصله وتعريفه بإحدى الطرائق التالية:

1- الطرائق المرئية : حيث يتم التقدير بالعين المجردة من خلال المقارنة مع المركبات القياسية المستخدمة تحت نفس الظروف .

2- قياس مساحة البقعة :كما مر سابقا في حالة الكروماتوغرافي الورقي .

3- طريقة القشط :وفيها يتم قشط طبقة الطور الثابت بحدود البقعة المراد قياس تركيزها كميا ثم يجمع الطور المتحرك مع البقعة في أنبوبة اختبار ثم يضاف إليها حجم معين من المذيب المناسب (3 مل) لإزاحة البقعة من مادة الادمصاص ثم يتم تقدير الكثافة الضوئية للون الناتج . يتم تحديد البقعة إما باستخدام UV أو بتعريضها لبخار اليود في جار مقفل فتتلون بلون بني مصفر .

4-طريقة قياس كثافة اللون : وتبنى فكرتها على النفاذية للضوء خلال البقعة ثم تحسب كمية الضوء الممتص أو النافذ خلال البقعة .

ملاحظات: هنالك بعض العيوب التي تظهر على الطبقة الرقيقة بعد انتهاء عملية فصل المركبات عليها ، وهذه العيوب تتمثل في :

1- جريان المركب بشكل شريط بدلا من بقعة : السبب في ذلك زيادة التحميل مما يتطلب الأمر تخفيف محلول العينة . وقد يكون السبب هو أن المحلول يحتوي على العديد من المركبات مما يخلق العديد من البقع المتجاورة مما يجعلها تظهر بشكل شريط .

2- تجري العينة بشكل مسحة أو هلال صاعد :المركبات التي تسبب ذلك هي الحوامض والقواعد(Amines or Carboxylic Acids). ولتفادي ذلك أضفْ بضع قطرات من هيدروكسيدِ الأمونيومِ أَو حامض ألخليك إلى محلول الإزاحة .

3- تجري العينة بشكل هلال نازل: ويعود السبب في ذلك إلى تعكير مادة الادمصاص أثناء عملية التحميل.

4-مقدمة المذيب تجري بشكل غير مستقيم : ويعود السبب في ذلك إلى تقشر مادة الادمصاص عند حواف الطبقة الرقيقة أو تلامس حواف تلك الطبقة لجدران الوعاء الموضوعة فيه .

5- ظهور الكثير من البقع بشكل عشوائي على الطبقة : قد يكون السبب في ذلك تطاير ذرات من المركب العضوي إلى طبقة الفصل عند تركها على المنضدة أثناء عملية التهيئة للتجربة .

6- لا تظهر على الطبقة أي بقع : ربما يكون السبب في ذلك هو التخفيف الزائد للمحلول ، حاول تركيز المحلول أو أعد التنقيط في نفس المكان عدة مرات مع السماح للمحلول بالجفاف بين كل مرة وأخرى. وأحيانا بعض المواد لا تظهر تحت الأشعة فوق البنفسجية لذا يتطلب الأمر تغيير طريق الإظهار للمركبات. أو قد لا يكون المحلول يحتوي على أية مادة لان التجربة مخطوءة . أو لربما كان عمق المذيب أعمق من ارتفاع البقع مما يتسبب في ذوبان البقع في المذيب بدلا من سريانها إلى الأعلى بالخاصية الشعرية .

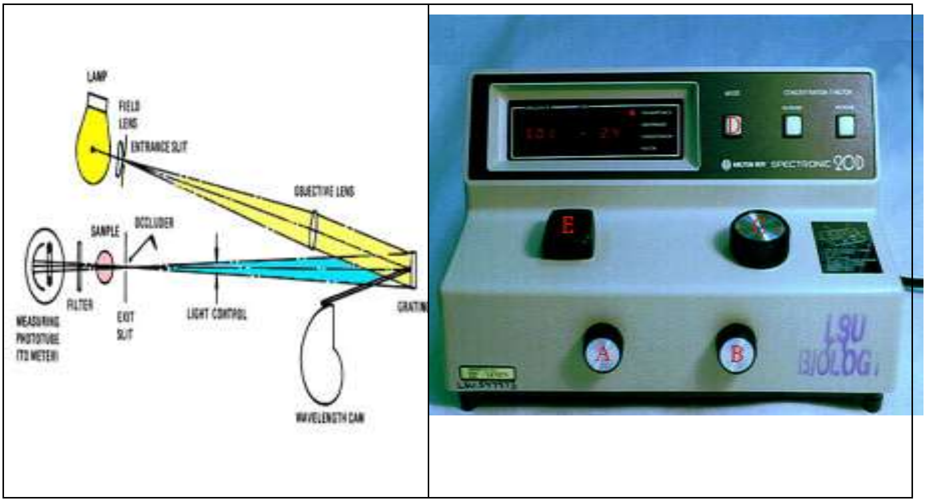
7- تلاحظ لطخة زرقاء على الطبقة : ويرجع السبب في ذلك إلى استخدام قلم حبر للتأشير بدلا من قلم الرصاص.

سابعا) المطيـــاف الضوئـــي

Spectrophotometer

غالبا ما تختلف الوحدات المكونة للجهاز بعض الشئ في جزء من وحدة أو عدة أجزاء في وحدة أو أكثر ولكن تظل الفكرة الأساسية التي يبنى عليها تصميم الجهاز واحدة وثابتة (الشكل103) وهي:

- مصدر للضوء Light Source.
- وحدة وضع العينة Cuvett .
- وحدة قياس الطاقة Photocell .
- مكبر الإشارة Amplifier .
- المسجل Galvanometer.



الشكل (103): صورة ومخطط لأجزاء جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer

ويعتمد عمل الجهاز على قياس كمية الضوء النافذ خلال المحلول المراد قياس تركيز المادة الموجودة فيه (عند مرور موجة ضوئية ذات مدى ضيق من خلال محلول ملون فان الكثافة البصرية تتناسب تناسبا طرديا مع تركيز ذلك المحلول وعمق الممر الضوئي) بالاعتماد على قانون بير-لامبرت Bear-Lambert law. وهذا يعني أن الكمية الممتصة من الضوء من قبل المحلول A تتناسب طرديا مع كل من تركيز المحلول C وقطر الأنبوبة L . أي أن :

$A \& C \quad L .$

$A = K \quad C \quad L .$

وبتطبيق المعادلة على كل من عينة الاختبار المراد معرفة تركيزها T والعينة القياسية St نحصل على :

$A_T = K \;\; C_T \;\; L \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots(1)$

$A_{St} = K \;\; C_{St} \;\; L \ldots\ldots\ldots\ldots(2)$

وبقسمة المعادلة (1) على المعادلة (2) نحصل على :

$$\frac{A_T}{A_{St}} = \frac{K \;\; C_T \;\; L}{K \;\; C_{St} \;\; L}$$

وبشطب كل من الثابت K وقطر الأنبوبة L من البسط والمقام نحصل على :

$$\frac{A_T}{A_{St}} = \frac{C_T}{C_{St}}$$

إذن :

$$C_T = \frac{A_T}{A_{St}} \times C_{St}$$

وبطرح قيمة الامتصاص للمحلول الصوري Blank والتي يرمز لها A_B من البسط والمقام نحصل على :

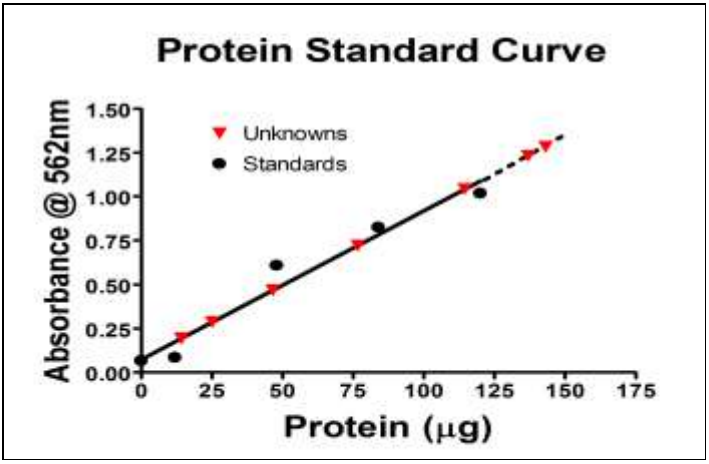
$$C_T = \frac{A_T - A_B}{\mathbf{A_{St} - A_B}} \times \mathbf{C_{St}}$$

وهو ما يسمى بقانون بير لامبرت .

المنحنى القياسي أو المعياري Standard (Calibration) Curve :

وهو منحنى يربط بين تركيزات متدرجة من المادة المراد قياس تركيز مجهول منها والامتصاص المقابل لكل تركيز ، ويجري تنفيذه كما يلي :

- يتم إعداد عدة تركيزات متدرجة ومعلومة من المادة النقية للمادة المراد قياس تركيز محاليل لها .
- يؤخذ احد التراكيز المعلومة ويقاس في الجهاز مع تغيير الطول ألموجي للجهاز حتى نحصل على أعلى امتصاص حيث يكون عنده انسب طول موجي للقياس . نقرأ قيم الامتصاص للتراكيز المتدرجة عند الطول ألموجي الذي تم تحديده في الخطوة السابقة.
- يتم إسقاط قيم الامتصاص للتركيزات السابقة على المحور الصادي والتركيزات المقابلة لها على المحور السيني فنحصل على خط مستقيم وهو ما يعرف بالمنحنى القياسي أو المعياري.(الشكل104).



الشكل (104): المنحنى القياسي (للبروتين مثلا).

– من المنحنى وبطريقة مباشرة يمكن الحصول على تركيز أي عينة مجهولة التركيز من نفس المادة ، أو يتم الحصول عليها باستخدام قانون بير لامبرت بعد قراءة الامتصاص لكل من العينة المراد معرفة تركيزها والعينة القياسية والمحلول الصوري بواسطة جهاز Spectrophotometer .

تخفيف العينة Sample Dilution :

يحتاج الأمر عند قراءة الكثافة الضوئية لبعض العينات إجراء عملية تخفيف للعينة نتيجة القراءة العالية جدا للكثافة اللونية والتي قد تخرج عن نطاق المدى المناسب للقياس والتي تزيد من قيمة الخطأ النسبي في حالة عدم التخفيف وفي هذه الحالة يتم التخفيف للنصف أو أعلى حسب قراءة الكثافة الضوئية بالمدى المناسب للقياس (0.2-0.8) ثم تترجم لتركيز حيث تضرب بعد ذلك في قيمة معامل التخفيف.

يعبر عن كمية الضوء الممتص بطريقتين مختلفتين هما :

كنسبة مئوية للضوء الممتص بالنفاذ (Transmittance , %T) أو الكثافة الضوئية (Optical density O.D) أو تسمى بالامتصاص (Absorbance , A) A = 2 – log T%

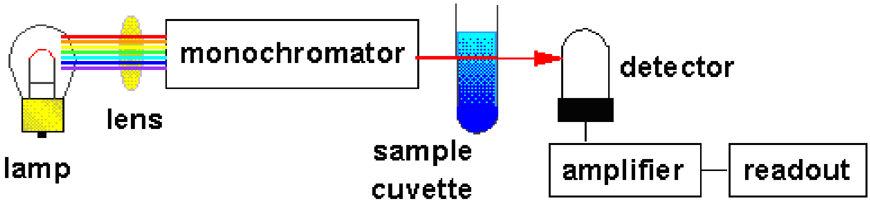
ثامنا) طيف الامتصاص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية

Ultraviolet Absorption Spectroscopy

يؤدي امتصاص جزيئات المادة للأشعة الكهرومغناطيسية في منطقة الأشعة فوق البنفسجية إلى انتقالات الكترونية نتيجة لإثارتها فتصبح غير مستقرة بتوزيعها الالكتروني الجديد ، وهو ما يطلق عليه التحليل الطيفي الالكتروني Electron Spectroscopy . والجهاز المستخدم في ذلك غالبا ما تتفاوت الوحدات المكونة له من جهاز إلى آخر بعض الشئ في جزء من وحدة أو عدة أجزاء من وحدة أو أكثر من وحدة ، ولكن الفكرة الأساسية المبني عليها تصميم الجهاز واحدة

حيث يتكون(شكل 105) من :

- مصدر الأشعة : تستخدم مصابيح تفريغ كهربائي للهيدروجين أو الديوتيريم .
- وحدة التحكم في الأطوال الموجية : تكون موشور أو محزز او مرشح .
- وحدة قياس الأشعة Photo Multiplier Ttube .
- وحدة وضع العينة Cuvett .
- وحدة التسجيل Registration Unit.



الشكل(105):مخطط وصورة لجهاز مطياف الامتصاص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية .

يتوقف الطول ألموجي للأشعة الممتصة على طاقة الانتقال الالكتروني في الجزئ (أي على التركيب الجزيئي) أي أن التحليل للمادة وصفي . وفي نفس الوقت تتناسب كثافة الأشعة الممتصة مع عدد الجزيئات بالمحلول المار عليه (أي تحليل كمي للمادة) وتشمل منطقة الأشعة فوق البنفسجية منطقة الطيف ذات الطول ألموجي ما بين 10-380 نانوميتر .

آ – التحليل الوصفي للمركبات العضوية Qualitative Analysis:

يعد التحليل الطيفي للامتصاص الجزيئي للأطوال الموجية في نطاق الأشعة فوق البنفسجية لتحديد المنطقة التي يحدث عندها الامتصاص وكثافة الامتصاص وسيلة محدودة للتعرف على تركيب الجزئ أو الكشف عن نوع معين من المجموعات أو المركبات من عدمه ، حيث أن الامتصاص في هذه المنطقة

ليس خطي بل حزمي Bands يشمل مستويات طاقة اهتزازية متقاربة عديدة والمتوقفة على نوع الذرات وعددها وطريقة ارتباطها بالجزئ ، بالإضافة لتأثير المذيب ويرجع ذلك للانتقالات الالكترونية العديدة والمتقاربة في الطاقة والتي لا يمكن فصلها . ويتم عرض النتائج في صورة منحنى طيف امتصاص.

ب- التحليل الكمي Quantitative Analysis :

يمكن استخدام الامتصاص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية للتقدير الكمي للمركب أو أيون يمتص الأشعة الكهرومغناطيسية في نطاق الأطوال الموجية لهذه المنطقة بفرض عدم حدوث تداخل مع مركبات أخرى في هذا المدى . كما يمكن إجراء التحليل الكمي لمركب أو أيون لا يمتص الأشعة الضوئية عند هذا المدى بتحويلها لمشتقات تمتص الأشعة عند هذا المدى ، ويمكن تقدير المركبات حتى تركيز يصل إلى 10^{-7} - 10^{-4} مولاري.

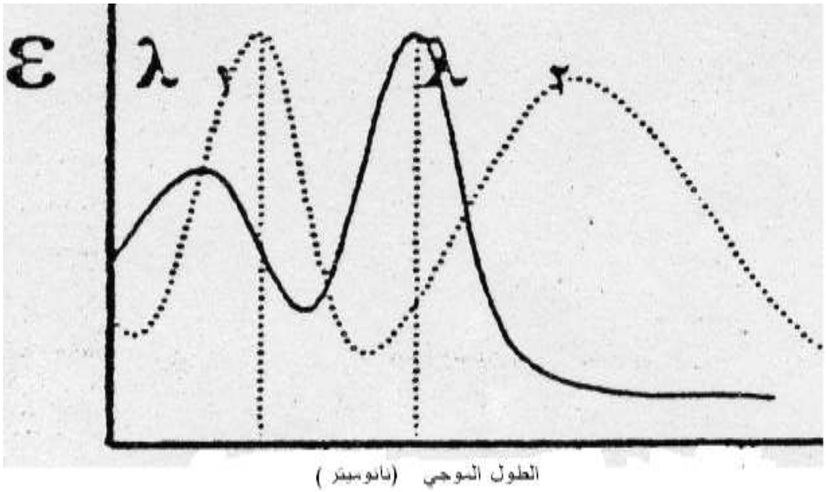
ويتم التقدير الكمي من منحنى الامتصاص مباشرة أو من معامل الامتصاص المولي (□) إذا كان معروفاً عند الطول ألموجي المستخدم **C = A / □ .L**

كذلك يمكن تقدير مركب في مخلوط بافتراض عدم وجود تداخل بينه وبين المركبات الأخرى بالمخلوط على الطول ألموجي الخاص بالمركب ، أما إذا وجد تداخل بين امتصاص المركب وامتصاص مركبات أخرى بالمخلوط عند الطول ألموجي الخاص بالمادة فيمكن إجراء تصحيح بإجراء القياس على طول موجي آخر بجانب القياس على الطول ألموجي الأول ، أي انه يعتمد على اختلاف المادة والمركبات (المخلوطة معها في المخلوط) في مقدرة امتصاصها للضوء عند أطوال موجية في طيف الأشعة المقدر عليها :

فإذا احتوى المخلوط على مركبين 1 و 2 لهما طيف امتصاص كما بالمنحنى التالي فانه يمكن تقدير تركيز كل مركب بالمخلوط وذلك بتقدير الامتصاص للمخلوط على طولين موجيين $\square_1$ ، $\square_2$

$$\square_1 \ \square_2 \ C_2 + \square_1 \ \square_1 \ C_1 = A_1$$

$$\square_2 \ \square_1 \ C_1 + \square_2 \ \square_2 \ C_2 = A_2$$



الشكل(106)

حيث الامتصاص المولي :

□1 □1 , □2 □1 , □2 □2 , □1 □2 □2 □ تقدر لمحلول كل مادة على حدة .

وبحل المعادلتين يمكن إيجاد قيم C1 , C_2 ويلاحظ أن هذا ما يحدث عند تقدير مركب النيكوتين السام مع مركب DDT السام . ولدقة العمل يجب :

آ – أن يكون المذيب عالي النقاوة .

ب- تنقية المركب المقاس جيدا .

ت- ألا تتفاعل مواد العينة مع الدليل المعطي للون .

ث- اختيار الطول ألموجي المناسب .

وخلاصة القول نجد أن القياس بالأشعة فوق البنفسجية يمكن من خلاله إجراء القياس النوعي حيث يعرف المركب بناء على الطول ألموجي الذي يعطي أعلى امتصاص وذلك من خلال رسم منحنى الامتصاص ، إن طيف الأشعة فوق البنفسجية (الشكل 107) هو الرسم البياني لشدة الامتصاص (الاحداثي الراسي) والطول ألموجي (الاحداثي الأفقي) بالانكستروم أو النانوميتر (نم) وشدة الامتصاص إما أن ترسم لـ □ أو □ **log** وتكتب كـ □**max** التي تعني ذروة الامتصاص . ويكتب الطول ألموجي للامتصاص بشكل □ max والتي تعني ذروة الامتصاص . أما في حالة المواد المجهولة ، حيث يكون وزنها الجزيئي M مجهولا ، وبالتالي يمكن تقدير تركيزها المولاري ووزنها الجزيئي ، فان شدة

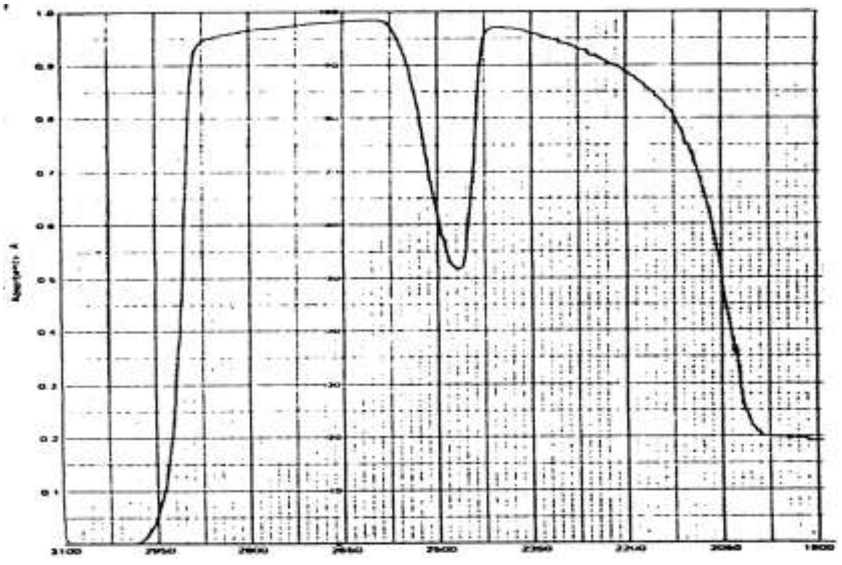
الامتصاص لمحلول 1% من المادة يعين عادة في خلية طولها 1 سم .وتدون هذه بشكلE^{1cm} حيث تشيرE إلى القيمة العددية للامتصاص لمحلول يحتوي على وحدة وزنية واحدة في حجم معين من المحلول في خلية طولها وحدة طول واحدة. وعليه تعرف E بمعامل الامتصاص النوعي . وتكون العلاقة بين معامل الامتصاص النوعي ومعامل الامتصاص المولاري بالشكل الآتي :

$□=E^{1cm}$ x **0.1 m**

كما وان بعض الأجهزة تكون مزودة بنظام فحص أو مسح أوتوماتيكي والذي من خلاله يمكن معرفة طول الموجة الذي يعطي أعلى امتصاص للعينة مجال التعريف كما يمكن إجراء القياس الكمي من خلال عمل المنحنى القياسي الكمي وذلك من خلال عمل المنحنى القياسي لمادة التقدير وإيجاد قيمة الثابت k ومن خلالها يمكن معرفة تركيز العينة المجهولة والتي تساوي قيمة الكثافة الضوئية (O.D) مقسومة على الثابت K .

كما يمكن حساب تركيز العينة المجهولة من خلال نقطة واحدة للمركب القياسي من المعادلة الآتية :

تركيز العينة المجهولة= امتصاص العينة / امتصاص القياسي x تركيز المحلول القياسي .



الشكل (107): طيف الأشعة فوق البنفسجية النموذجي .

تاسعا) طيف الامتصاص بمنطقة الأشعة تحت الحمراء

Infrared Absorption Spectroscopy

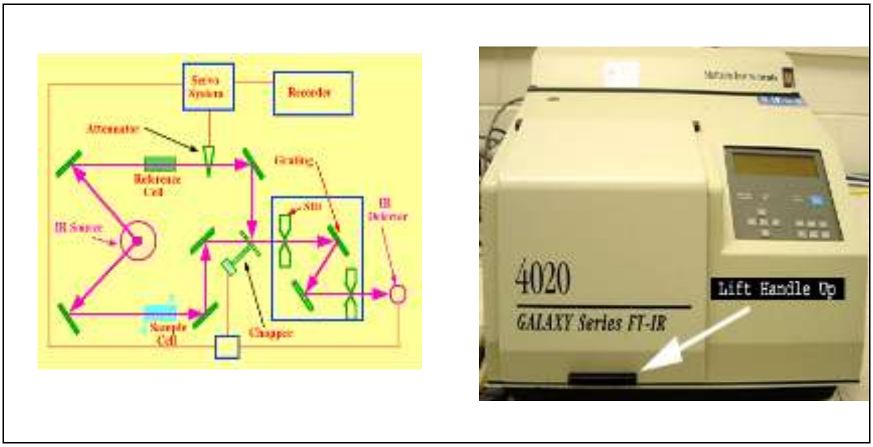
تقع الأشعة تحت الحمراء بين الأشعة المرئية (**700** نانوميتر)

والموجات القصيرة (**0.1** سم) . و يتكون الجهاز من الوحدات الآتية (الشكل 108) :

آ- مصدر الأشعة : يؤدي تسخين بعض المواد الصلبة لدرجة حرارة 1500-2000ْم إلى إنتاج الأشعة تحت الحمراء بصورة مستمرة وثابتة . ومن ذلك مصباح نرنست المتوهج ، القضيب المتوهج و مصباح الزئبق ألقوسي .

ب- وحدة التحكم في الأطوال الموجية : يستخدم موشور أو محزز معه مرشح.

ت- وحدة وضع العينة : خلية دقيقة معدنية لها نافذتان لمرور الأشعة خلال العينة وغالبا ما تصنع النوافذ من هاليدات العناصر القلوية ففي المواد الغازية توضع العينة في خلية خاصة مفرغة من الهواء مصنوعة من زجاج البيركس طولها 10 سم ونوافذها من NaCl (الشكل 109) .



الشكل (108) صورة ومخطط لأجزاء جهاز طيف الأشعة تحت الحمراء.

الشكل (109) :وحدة وضع العينة في جهاز طيف الأشعة تحت الحمراء

أما المواد السائلة فتوضع كمية صغيرة تتراوح بين 1-10 ملغم بين شريحتين من NaCl فيتكون بينهما فيلم رقيق من العينة. أما المواد الصلبة فتكون في صورة فيلم رقيق أو قرص مضغوط ، حيث يطحن من 2-5 ملغم من المادة ثم يضاف إليها قطرات من زيت هيدروكربوني(Nujol) ثم تشكل كفيلم بالضغط .

ث- وحدة قياس طاقة الأشعة الحرارية : ويكون إما مزدوج حراري أو بولوميتر أو خلية كولاي .

ج- وحدة تسجيل الامتصاص : مشابه لما في جهاز قياس الأشعة فوق البنفسجية . (الشكل 108).

التقدير النوعي والكمي باستخدام الأشعة تحت الحمراء

Qualitative and Quantitative Analysis By Infrared

إن الأشعة تحت الحمراء تستخدم للتقدير الوصفي والكمي للسموم وغيرها من المركبات شانها في ذلك شان الطرائق اللونية وطرائق الأشعة فوق البنفسجية ، ولكن يجب الأخذ في الاعتبار قلة الحساسية في تتبع مخلفات السموم ولكن قد تستخدم لتحديد نوع المركب وكميته .

ولذلك فان لها دور كبير في تحليل مستحضرات المبيدات . فمن المعروف أن المركبات العضوية تظهر في 5- 30 حزمة امتصاص يعتبر موضعها من أهم خصائص الجزئ التي يمكن تمييزه والتعرف على تركيبه أو نواتج تحوله وتقاس حزم الامتصاص بالميكرون ، وهي تمثل طول الموجة أو يحدد العدد ألموجي بالسنتمتر $^{-1}$ (Cm^{-1}) وللتقدير النوعي يتم مقارنة الحزم بطيف امتصاص العينة مع طيف امتصاص المركب القياسي ، ويلاحظ أن أكثر استخدامات الأشعة تحت الحمراء يكون في منطقة تتراوح بين 660- 4000 سم $^{-1}$ (2.5- 15) مايكرون والجدول (53) يمثل امتصاصات المجاميع الكيميائية المختلفة .

الجدول (53): جدول الامتصاص لأواصر المركبات العضوية في جهاز IR

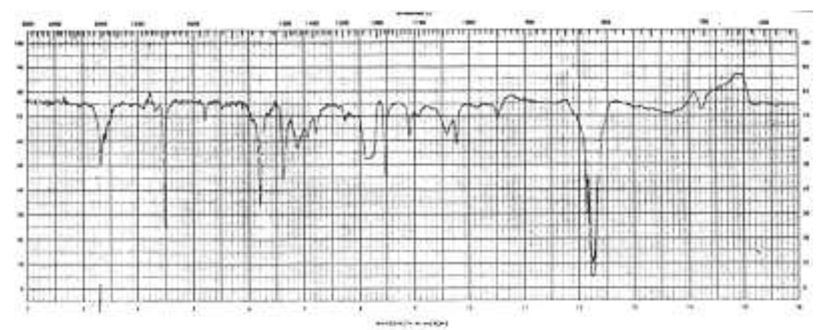
Bond	**Type of bond**	**Specific type of bond**	**Absorption range and intensity**
C-H	alkyl	Methyl	1380 cm^{-1} (weak), 1260 cm^{-1} (strong) and 2870, 2960 cm^{-1} (both strong to medium)
		methylene	1470 cm^{-1} (strong) and 2850, 2925 cm^{-1} (both strong to medium)
		methyne	2890 cm^{-1} (weak)
	vinyl	$C=CH_2$	900 cm^{-1} (strong) and 2975, 3080 cm^{-1} (medium)
		C=CH	3020 cm^{-1} (medium)
		Monosubstituted alkenes	900, 990 cm^{-1} (both strong)
		cis-disubstituted	670-700 cm^{-1} (strong)

		alkenes	
		Trans-disubstituted alkenes	965 cm^{-1} (strong)
		Trisubstituted alkenes	800-840 cm^{-1} (strong to medium)
	aromatic	benzene/sub. Benzene	3070 cm^{-1} (weak)
		Monosubstituted benzene	700-750 cm^{-1} (strong) and 700±10 cm^{-1} (strong)
		Ortho-disub. Benzene	750 cm^{-1} (strong)
		Meta-disub. Benzene	750-800 cm^{-1} (strong) and 860-900 cm^{-1} (strong)
		Para-disub. Benzene	800-860 cm^{-1} (strong)
	alkynes		3300 cm^{-1} (medium)
	aldehydes		2720, 2820 cm^{-1} (medium)
C-C	acyclic C-C	monosub. Alkenes	1645 cm^{-1} (medium)
		1,1-disub. Alkenes	1655 cm^{-1} (medium)
		cis-1,2-disub. Alkenes	1660 cm^{-1} (medium)
		Trans-1,2-disub. Alkenes	1675 cm^{-1} (medium)
		trisub., tetrasub. Alkenes	1670 cm^{-1} (weak)
	conjugated C-C	Dienes	1600, 1650 cm^{-1} (strong)
		with benzene ring	1625 cm^{-1} (strong)
		with C=O	1600 cm^{-1} (strong)
	aromatic C=C		1450, 1500, 1580, 1600 cm^{-1} (strong to weak) - always ALL 4!
	triple C-C	terminal alkines	2100-2140 cm^{-1} (weak)
		disubst. Alkines	2190-2260 cm^{-1} (very weak, sometimes not visible)
C=O	aldehyde/ketone	Saturated aliph./cyclic 6-membered	1720 cm^{-1}
		α,β-unsaturated	1685 cm^{-1} (goes for aromatic ketones as well)
		cyclic 5-membered	1750 cm^{-1}
		cyclic 4-membered	1775 cm^{-1}
		Aldehydes	1725 cm^{-1} (influence of conjugation like with ketones)
	carboxylic acids/derivates	Saturated carboxylic acids	1710 cm^{-1}
		unsat./aromatic carb. Acids	1680-1690 cm^{-1}
		esters and lactones	1735 cm^{-1} (influence of conjugation and ring size like with ketones)
		Anhydrides	1760 and 1820 cm^{-1} (both!)
		halogenides	1800 cm^{-1}
		amides	1650 cm^{-1} (associated amides)
		carboxylates (salts)	1550-1610 cm^{-1} (goes for

			aminoacid zwitterions as well)
O-H	alcohols, phenols		3610-3670 cm^{-1} (concentrating samples broadens the band and moves it to 3200-3400 cm^{-1})
	carboxylic acids		3500-3560 cm^{-1} (concentrating samples broadens the band and moves it to 3000 cm^{-1})
N-H	primary amines		doublet between 3400-3500 cm^{-1} and 1560-1640 cm^{-1} (strong)
	secondary amines		above 3000 cm^{-1} (medium to weak)
	ammonium ions		broad bands with multiple peaks between 2400-3200 cm^{-1}
C-O	alcohols	Primary	1050±10 cm^{-1}
		Secondary	around 1100 cm^{-1}
		Tertiary	1150-1200 cm^{-1}
	phenoles		1200 cm^{-1}
	ethers	Aliphatic	1120 cm^{-1}
		Aromatic	1220-1260 cm^{-1}
	carboxylic acids		1250-1300 cm^{-1}
	esters		1100-1300 cm^{-1} (two bands - distinction to ketones, which do not possess C-O!)
C-N	aliphatic amines		1020-1220 cm^{-1} (often overlapped)
	C=N		1615-1700 cm^{-1} (similar conjugation effects to C=O)
	nitriles (triple C-N bond)		2210-2260 cm^{-1} (unconjugated 2250, conjugated 2230 cm^{-1})
	isonitriles (R-N-C bond)		2165-2110 cm^{-1} (2140 - 1990 cm^{-1} for R-N=C=S)
C-X (X=F, Cl, Br, I)	fluoroalkanes	Ordinary	1000-1100 cm^{-1}
		Trifluromethyl	two strong, broad bands between 1100-1200 cm^{-1}
	chloroalkanes		540-760 cm^{-1} (medium to weak)
	bromoalkanes		below 600 cm^{-1}
	iodoalkanes		below 600 cm^{-1}
N-O	nitro compounds	Aliphatic	1540 cm^{-1} (stronger band) and 1380 cm^{-1} (weaker band) - ALWAYS BOTH!
		Aromatic	1520, 1350 cm^{-1}

			(conjugation usually lowers the wave number)

فيما يمثل (الشكل 110) أطياف الأشعة تحت الحمراء لطبقة رقيقة جدا من البولي ستايرين ، أما (الجدول 54) فانه يبين كيفية ترتيب حزم الأشعة تحت الحمراء الرئيسة والتي تمثل ملخصا للشكل السابق .



الشكل (110): طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب بارا-تلونتريل .

الجدول (54) : يمثل ملخص لحزم الامتصاص في الأشعة تحت الحمراء للشكل السابق.

رقم الحزمة	الطول ألموجي □ , مايكرون	العدد ألموجي $\bar{v}$, سم $^{-1}$	الاستنتاج
1.1	3.32	3012	مط C-H= (متعددة)
1.2	3.45	2899	مط C-H–, -CH3 ,-CH-, -CH2-
1.3	4.50	2222	مط C=N - ،اريل نتريل أو نتريل غير مشبع عند ألفا وبيتا.
1.4	6.23	1605	مط C=C- ، مركب بنزينويد أحادي أو ثنائي التعويض .
1.5	6.64	1506	مط C=C،مركب بنزينويد أحادي2:1 أو4:1 ثنائي او4:2:1 ثلاثي التعويض .
1.6	8.50	1176	تشوه C-C- في المستوى ، مركب بنزينويد أحادي ، 4:1 ثنائي أو 3:2:1 ، 4:2:1 أو 5:3:1 ثلاثي التعويض .
1.7	12.25	816	تشوه C-H- خارج المستوى ، مركب بنزينويد 4:1 ثنائي أو 3:2:1ثلاثي التعويض .
1.8	14.22	7.3	

عاشرا) طيف الانبعاث الذري

Atomic Emission Spectrophotometry

ويتم تقدير العنصر عن طريق تقدير كثافة الانبعاث الذري له وذلك من

خلال تحويله من الصورة المرتبطة إلى الصورة الذرية الحرة بالطاقة الحرارية ثم بمزيد من الطاقة يتحول إلى الحالة المثارة Exited state وأثناء رجوع الذرات المثارة لحالتها العادية Ground state تخرج طاقة الإثارة في صورة انبعاث إشعاعي خطي مميز لكل عنصر حيث يعبر كل شعاع (خط) عن إحدى الانتقالات الالكترونية .وهنا يميز كل عنصر بواسطة :

- عدة انتقالات اليكترونية محددة : تقدير وصفي أو نوعي .
- وتتناسب كثافة خطوط الانبعاث مع عدد ذرات كل عنصر : تقدير كمي .

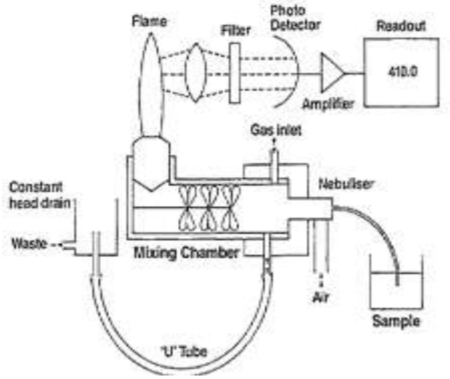
ومن الأجهزة التي تعمل على هذا الأساس جهاز Flame Photometer .

يتكون الجهاز من الأجزاء التالية (الشكل 110):

1- اللهب .

2- وحدة فصل الأطوال الموجية (Filter أو موشور أو محزز).

3- وحدة قياس كثافة الأشعة : الخلية الضوئية .



الشكل (110) صورة ومخطط لأجزاء جهاز مطياف الانبعاث الذري .

التقدير الكمي Quantitative Determination :

ويتم بإتباع الخطوات الآتية :

1- تذاب المواد المراد تقديرها بمذيب مناسب غير قابل للاشتعال مع تحديد درجة حرارة اللهب وتحديد الطول ألموجي الأمثل للتقدير .

2- تصفر الكثافة الضوئية برش رذاذ ماء نقي على اللهب .

3- تضبط أقصى استجابة للكثافة الضوئية بمحلول قياسي عالي التركيز .

4- تصحيح الأشعة المتداخلة من العناصر الأخرى باستخدام عينة مقارنة تحتوي

على كل المكونات عدا العنصر المقدر ثم تطرح قيمة هذه القراءة من قيمة قراءة المحلول القياسي ومحلول العينة تحت نفس الظروف .

5- يتم رسم منحنى قياسي بربط العلاقة بين التركيزات المتدرجة المختارة (التي يقع في نطاقها قراءة العينات المقدرة) والكثافة الضوئية لهذه التركيزات .

6- من المنحنى يتم ترجمة أي كثافة ضوئية لعينة مقدرة (مجهولة التركيز) إلى تركيز سواء بالطريقة المباشرة وذلك من المنحنى مباشرة أو من خلال الطريقة الحسابية .

احدعشر) الامتصاص الذري

Atomic Absorption

يشكل الطيف الذري جانبا هاما بالكيمياء التحليلية خاصة للعناصر القلوية حيث يعتبر مناسب لتقدير معظم الفلزات وغير مناسب لتقدير اللافلزات بطريقة مباشرة .

يتم التقدير بعمل منحنى قياسي لمادة قياسية تحتوي على هذا العنصر وبصورته الكيميائية والطبيعية فمن تركيز هذا العنصر في المادة القياسية وكثافة الامتصاص يمكن رسم المنحنى والذي يربط بين الامتصاص الضوئي وعدة تركيزات متدرجة من هذا العنصر ذلك مع اختيار الطول ألموجي المناسب والذي يحدث عنده أقصى امتصاص لهذا العنصر دون عناصر أخرى قد تكون موجودة معه في العينة . ولهذا يجب أولا تحويل العناصر من صورتها المرتبطة بالجزيئات إلى صورتها الذرية الحرة بتكسير الروابط الكيميائية فتنفرد الذرات .

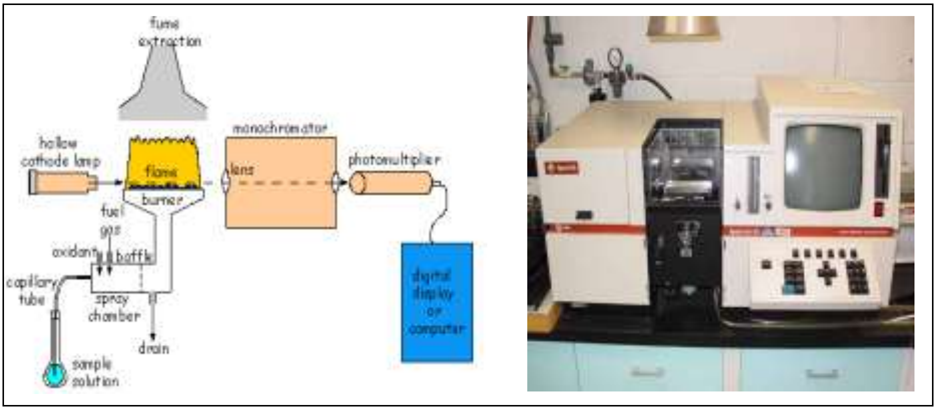
والوحدات المكونة لجهاز الامتصاص الذري (الشكل 111) هي :

1- مصدر الأشعة : مصباح كاثود مفرغ Hollow Cathode Lamp للعناصر غير الطيارة ومصباح تفريغ كهربائي بدون أقطاب كمصدر ضوئي للعناصر الطيارة .

2- وحدة تحويل العناصر للصورة الذرية .

3- وحدة فصل الأطوال الموجية .

4- وحدة قياس الأشعة : خلية ضوئية .



الشكل (111) صورة ومخطط لأجزاء جهاز الامتصاص الذري .

طريقة القياس Measuring Method:

1- يحدد الطول ألموجي الأمثل باستخدام مصباح الكاثود المناسب .

2- تحدد درجة الحرارة المناسبة والمتوقف عليها الصورة الكيميائية للعنصر من خلال تحديد نوعية الوقود والمادة المؤكسدة .

3- تحضير محلول قياسي مناسب التركيز للعنصر المقدر مع مراعاة تقارب لزوجته للزوجة العينة لمنع التداخل .

4- عمل المنحنى القياسي باستخدام عدة تراكيز متدرجة 2 ، 4 ، 6 ، 8 ، 10 بحيث يكون مدى امتصاصها من صفر إلى 80%.

5- يضبط الجهاز على صفر بالماء المقطر .

6- يقدر الامتصاص للتراكيز المختلفة للمنحنى ثم يرسم وتقدر محاليل العينات على نفس الظروف .

7- يمكن قياس العينة (بتراكيز ضئيلة)الموجودة في حالة تداخل (اللزوجة) وهو ما يسمى بتقدير التركيز بالإضافة الى القياسية حيث يقدر الامتصاص لمخلوط العينة والمادة القياسية السابق تقديرها .أي معاملة التراكيز بنفس معاملة العينة.

اثنا عشر) الوميض الجزيئي : الفلوروسنس والفوسفورسنس

Molecular Luminescence :Fluorescence and Phosphorescence

يستخدم الفلوروسنس في تقدير المركبات العضوية المحتوية على أواصر هيدروجينية متعاقبة أو مع المركبات غير العضوية من خلال تفاعلها مع جواهر كشافة فتعطي مشتقات فلورسينية .

أما الوميض الكيميائي والذي هو احد أنواع الوميض للجزيئات ذات الطاقة الناتجة عن التفاعل الكيميائي في الحالة المثارة حيث تتم إثارة الجزئ لتزوده بطاقة

ناتجة خلال التفاعل الكيميائي وهو ما يشاهد في فراشة النار والفراشة المضيئة كوميض متوهج والذي تمثله المعادلة التالية :

$$LH_2 \Longrightarrow LH_2 - AMP \Longrightarrow Products + AMP$$

نواتج مصحوبة بانبعاثات ضوئية

تتناسب طرديا وكمية الطاقة ATP .

ولهذا التفاعل أهميته في دراسة التمثيل كما يمكن استغلال فكرته في الكشف عن السموم والملوثات البيئية خاصة أول اوكسيد النايتروجين NO كملوث للهواء الجوي في وجود الأوزون والعقاقير والكائنات الدقيقة بالأغذية الإنسانية أو الحيوانية.

$$NO + O3 \Longrightarrow NO2 + O2 + \square$$

الوحدات الأساسية المكونة للجهاز(الشكل 112) :

1- مصدر الأشعة (مصباح زينون أو مصباح زئبق).

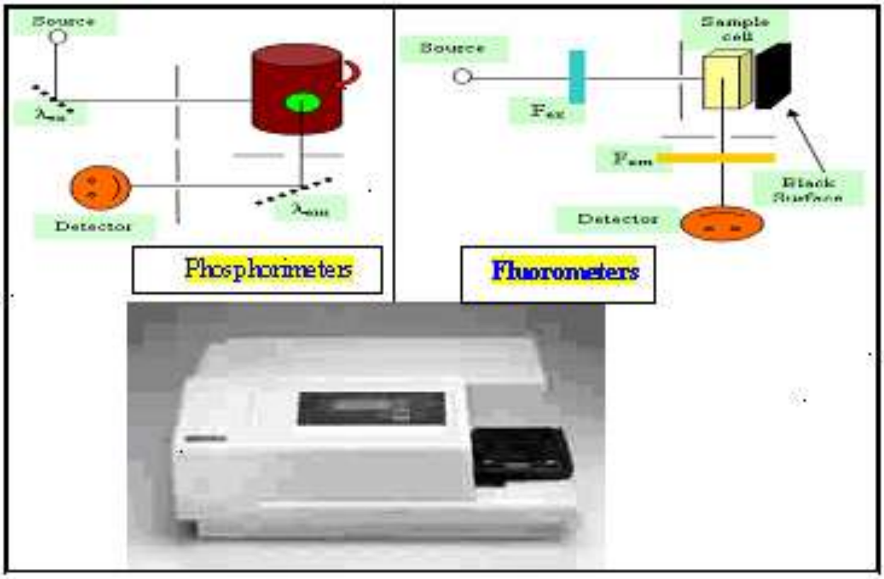
2- وحدة فصل الأطوال الموجية (مرشح أولي أو مرشح ثانوي) .

3- خلية وضع العينة .

4- وحدة قياس الأشعة (الخلايا الضوئية والكلفانوميتر) .

5- وحدة تسجيل النتائج .

وقد يزود الجهاز بحاجز دوار (فوسفورسكوب) لتفرقته عن الفلورسنس حيث يعطي فرق في الزمن بين إثارة العينة وبين وميض الفوسفورسينس ، أو تستخدم طريقة النبض كمصدر للإشعاع فتخرج الأشعة في صورة نبضات يقاس البريق الفسفوري لها وهنا توضع الخلية في نيتروجين سائل ويكون مذيب العينة هو ايثانول : بنتان : أيثر بترولي بنسبة **2 : 5 :5** .



الشكل (112): مخططان وصورة لنوعي جهاز الوميض الجزيئي

ثلاثة عشر) التحليل الطيفي بالتردد (الرنين) النووي المغناطيسي

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy

إن دراسة الالكترونات بهذه الطريقة تسمى بالرنين الاليكتروني المغناطيسي وهو محدود الاستعمال على المركبات المحتوية على إليكترون غير مزدوج بإحدى المدارات كالشقوق والعناصر الانتقالية . أما أبحاث الرنين النووي المغناطيسي للبروتونات فتسمى الرنين النووي المغناطيسي للبروتون . ويتم هذا التحليل الطيفي بوضع الجسيمات بمجال مغناطيسي خارجي حيث يؤثر على مستويات الطاقة الفردية الخاصة بالحركة المغزلية بمستويين :

آ- مستوى يعبر عن الحركة المغزلية الناتج عنها العزم في اتجاه المجال المغناطيسي الخارجي وطاقته منخفضة بالنسبة لمستوى الطاقة الأصلي وهو المستوى المفضل للجسيم تحت هذه الظروف .

ب- مستوى يعبر عن الحركة المغزلية الناتج عنها العزم في اتجاه مضاد للاتجاه المغناطيسي الخارجي وطاقته مرتفعة بالنسبة لمستوى الطاقة الأصلي ويزداد الفرق في الطاقة بين هذه المستويات بزيادة شدة المجال المغناطيسي الخارجي .

ونشأة هذين المستويين في وجود المجال المغناطيسي الخارجي يتيح للجسيمات إمكانية امتصاص الأشعة الكهرومغناطيسية فتنتقل من مستوى طاقة منخفض لآخر مرتفع ويتغير اتجاه الحركة المغزلية للجسم . ويمكن الكشف عن

امتصاص الطاقة وتكبيره كطيف خطي يسمى بإشارة الرنين Resonance Signal .

تصميم أجهزة الرنين النووي المغناطيسي :

يختلف الجهاز المستخدم في دراسة أنوية عنصر عن العنصر الآخر لان كل نوع من الأنوية يمتص طاقة الأشعة على تردد مختلف ، وبشكل عام يتكون الجهاز (الشكل 113) من الأجزاء الآتية:

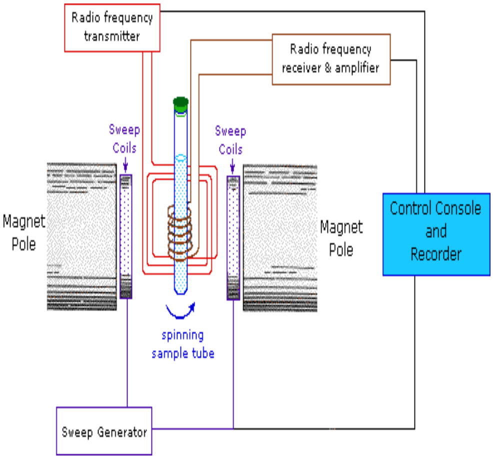
1- المغناطيس Magnet .

2- وحدة تغيير شدة المجال المغناطيسي Magnetic Field Sweep Generator .

3- مصدر أشعة الراديو Radio Frequency .

4- وحدة الكشف عن الامتصاص Absorption Detection.

5- وحدة وضع العينة Sample Unit.



الشكل (113):مخطط وصورة لجهاز NMR

تجهيز العينة Sample Preparation :

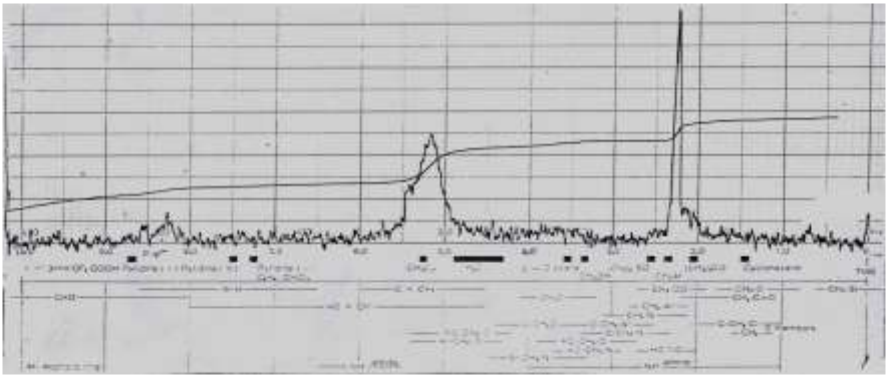
تجهز العينات بصورة محاليل في مذيبات مختلفة لا تحتوي على مركبات معينة مثل رابع كلوريد الكاربون أو D_2O , Deutrochloroform , Deutrobenzene , Trifluoro Acetic Acid بإذابتها في المذيب المناسب وبتركيز 10% بالوزن . وتوضع في أنابيب الجهاز والتي توضع بدورها في الجهاز حيث تلف حول نفسها بحركة دورانية سريعة حتى يتم تعرض جميع الجزيئات الموجودة للمجال المغناطيسي بدرجة واحدة .

وتجري معايرة لضبط الامتصاص الناتج عن المادة القياسية باستخدام تردد معروف لتقدير قيمة الانتقال ، ويستخدم ورق بياني معاير (الشكل 114) لتسجيل طيف الامتصاص وهنا يكون المطلوب ضبط امتصاص TMS على صفر انتقال كيميائي . وعند إجراء القياس لمادة ، تضاف كمية صغيرة من المادة القياسية ويصفر الجهاز بحيث يعطي صفر انتقال ويرجع لكبر الكثافة الالكترونية حول بروتوناتها بالمقارنة بمعظم البروتونات الموجودة في المركبات العضوية الأخرى فيظهر امتصاصها على تردد أعلى من كل بروتونات المواد العضوية .

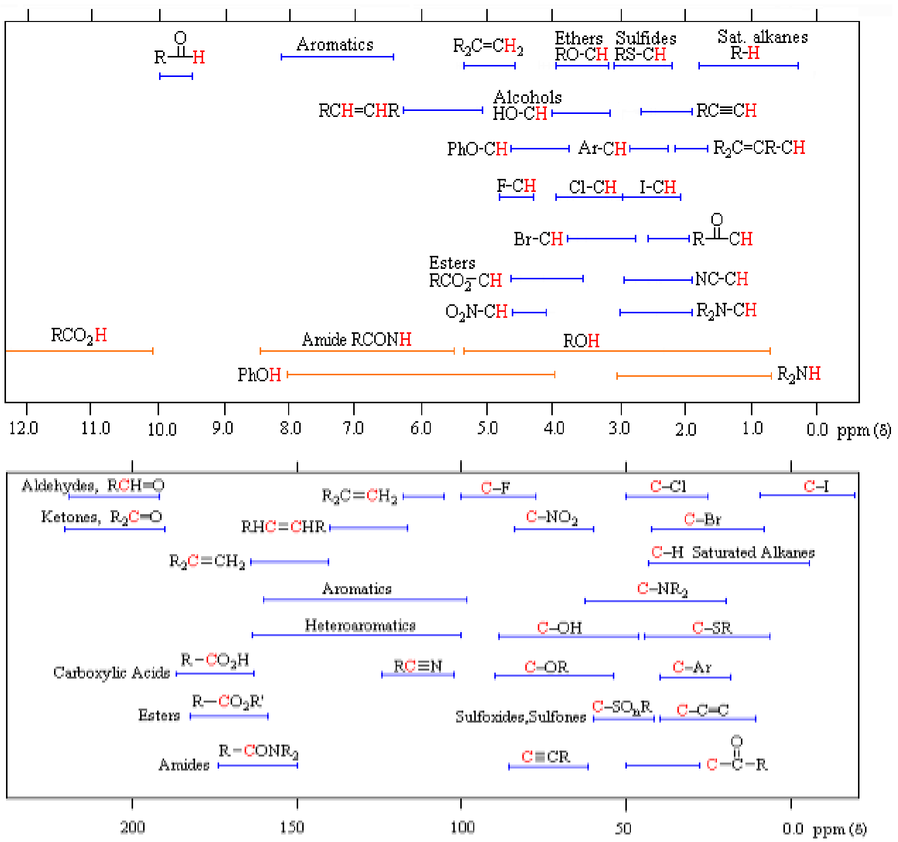
ونتيجة دراسة امتصاص الجزيئات في طيف الرنين النووي يمكن التوصل لمعرفة التركيب الكيميائي للجزيئات وخاصة ما يأتي :

- من معرفة قيمة الانتقال الكيميائي يمكن التوصل إلى تحديد نوع الهيدروجين الموجود من حيث الكثافة الالكترونية المحيطة به وبالتالي طبيعة المجاميع الفعالة الموجودة بالجزئ .
- من مساحة الامتصاص يمكن تحديد الأعداد النسبية لذرات الهيدروجين الموجود .
- من عدد الانقسامات الموجودة في كل امتصاص يمكن التوصل إلى وضع المجموعة الفعالة في الجزئ بالنسبة للمجاميع الأخرى .

ويوضح الشكل(115) قيم الانتقال الكيميائي لبعض المركبات العضوية شائعة الاستعمال حيث يمكن استخدام قيم الانتقال الكيميائي في التعرف على المجموعات الكيميائية المختلفة بالجزئ والتي تتغير قيمتها من مجموعة لأخرى .



الشكل (114) : طيف الرنين النووي المغناطيسي لأحد الزيوت النباتية .



الشكل (115) قيم الانتقال الكيميائي لبعض المركبات العضوية شائعة الاستعمال

يوضح الجدول (55) المعلومات المستنتجة من الشكل عن مجاميع الحزم.

رقم الإشارة	موقع الإشارة		ارتفاع السلم التكاملي	العدد النسبي للبروتونات	الاستنتاج
	δ	□			

اربعة عشر) مطيــاف الكتــلة

Mass Spectrometer

فـي مطيـاف الكتلـة تتعـرض جزيئـات المـادة إلـى شـعاع مـن الاليكترونـات تؤدي إلى تـأين الجزئ وتكسيره إلـى ايونـات اصـغر وزنـا وبتحليـل هذه الايونـات الناتجة يمكن التوصـل إلـى التركيـب الكيميـائي لتلك المـادة . أي انـه بدراسـة طيف الكتلة يمكن الوصول لمعرفة الايون الجزيئي والوزن الجزيئـي والصـيغة الجزيئيـة والتركيب الجزيئي .

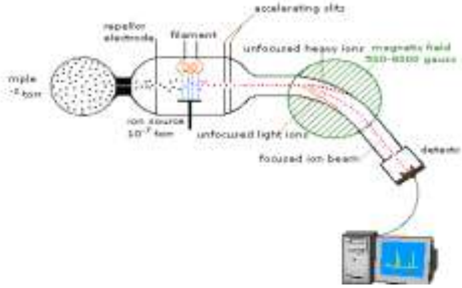
ويعد مطياف الكتلة من اعقد الأجهزة الاليكترونية والميكانيكية في تركيبها وتشـغيلها رغـم بسـاطة الفكـرة المبنـي عليهـا تصـميم الجهـاز والـذي يتركـب مـن الأجزاء الآتية (الشكل116):

آ- وحدة وضع العينات:(فتحة إدخال العينات الغازية والسائلة وفتحة إدخال العينات الصلبة).

ب- وحدة التأين : (التأين بالتصادم الالكتروني والتأين الكهربائي والتأين الكيميائي).

ت- وحـدة فصـل الايونـات أو محلـل الكتلـة (فصـل باسـتخدام الانحـراف فـي مجـال مغناطيسي – فصل باستخدام التركيز البؤري المزدوج – فصـل بـؤري دائـري – فصل يعتمد على اختلاف سرعة الايونات – فصل بالأقطاب الرباعية).

ث- وحدة جمع الايونات وقياسها .



الشكل (116): صورة ومخطط لجهاز مطياف الكتلة .

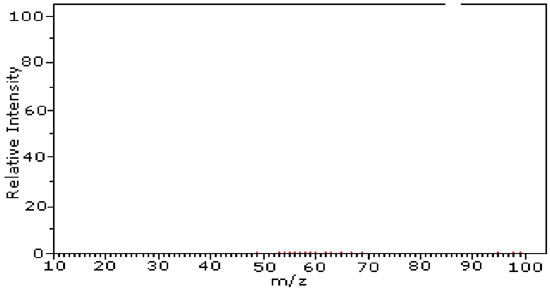
وتعـرض نتـائج التحليـل فـي صـورة تسـجيل كتـابي بالاوسـيلوغراف باسـتخدام 3-5 كلفـانوميتر مختلفـة فـي درجـة حساسـيتها ، أو تسـتخدم لوحـة فوتوغرافيـة وتعطـي درجـة أفضـل للقيـاس الالكترونـي خاصـة وإنهـا تعـد جهـاز متكامـل زمنـي . فالايونـات الخارجـة تصـل إلـى جهـاز القيـاس والـذي يقوم بقيـاس تركيز الايونات الواصلة له على جهاز التسجيل .

إن الرسم البياني لطيف الكتلة يربط العلاقة بين (m/e) للايونات وتركيزها فموضع الخطوط بالاحداثي الأفقي يوضح قيمة (m/e) للايونات المختلفة أما ارتفاع الخط فيعبر عن التركيز النسبي للايون ، هذا بالإضافة إلى ظهور النتائج في صورة جدول يوضح كتلة الايونات وتركيزها ...كما موضح بخصائص طيف الكتلة لمركب التلوين ، جدول (56).

الجدول (56) : الأوزان الذرية لبعض عناصر المركبات العضوية.

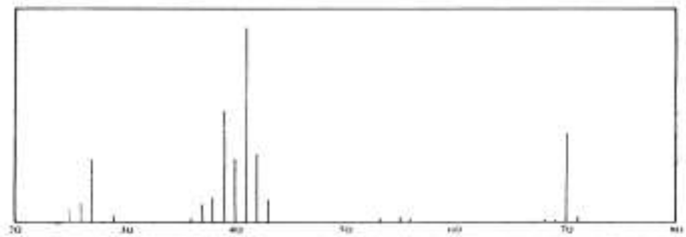
الكتلة	النظير الذري	الوزن الذري	العنصر
1.00783	H^1	1.00797	Hydrogen
2.01410	H^2		
12.0000	C^{12}	12.01115	Carbon
13.00336	C^{13}		
14.0031	N^{14}	14.0067	Nitrogen
15.0001	N^{15}		
15.9949	O^{16}	15.9994	Oxygen
17.9992	O^{18}		
		18.9984	Fluorine
		30.974	Phosphor
31.9721	S^{32}	32.064	Sulfur
32.9715	S^{33}		
33.9679	S^{34}		
34.9689	Cl^{35}	35.453	Chlorine
36.9659	Cl^{37}		
78.9183	Br^{79}	79.909	Bromine
80.9163	Br^{81}		

أما الشكل التالي فانه يمثل الرسم البياني لطيف الكتلة.الشكل (117).



الشكل (117) الرسم البياني لطيف الكتلة

فيما يمثل الشكل (118) الرسم البياني الخطي لطيف الكتلة للثنائي مثيل كيتين.



الشكل (118) : الرسم البياني الخطي لطيف الكتلة للثنائي مثيل كيتين

أما الجدول(57) فانه يلخص تلك البيانات:

m/e	% of base peak	m/e	% of base Peak	m/e	% of base Peak	m/e	% of base Peak
25	3	26	10	27	31	29	4
36	2	37	10	38	13	39	58
40	31	41	100	42	35	43	12
33	2	55	3	56	2	68	1
69	0.7	70	46.5M	71	2.4(M+1)		

خمسة عشر) الكروماتوغرافي الغازي

Gas Chromatography

يعد الكروماتوغرافي الغازي من أدق وأسرع وابسط وأهم طرائق التحليل الأساسية لفصل مكونات أي مخلوط من المركبات ثم تعريفها ، وهو ما يسمى بالتحليل الوصفي ، ثم تقدير كل مكون (مركب) على حدة كميا وهو ما يعرف بالتحليل الكمي وبدرجة عالية من الحساسية والدقة والتي قد تصل إلى جزء في التريليون (أي لمستوى البيكوغرام) علاوة على السرعة في الفصل والتعريف والتقدير .

وتقوم الفكرة الأساسية لعمل الجهاز على تجزئة مكونات مخلوط العينة الموجودة بين طورين هما :

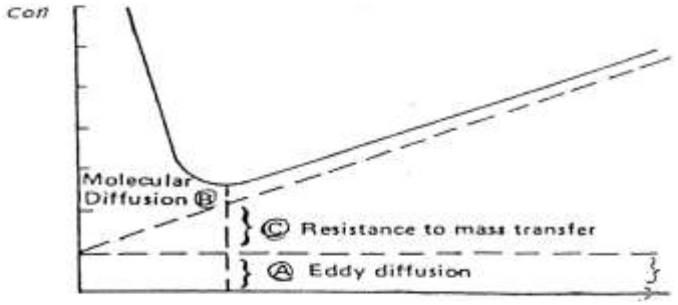
آ- الطور المتحرك : الغاز النقي الحامل الخامل والمنساب داخل العمود .

ب- الطور الثابت : ويتمثل في طور سائل غير متطاير وغير متبخر يغلف حبيبات المادة المدمصة المدعمة المعبأ بها العمود .

باستمرار تعريض المكونات لدرجة حرارة الفرن تبدأ جزيئات مكونات العينة في الانتشار خلال جزيئات مادة تعبئة العمود المغلفة بالطور السائل ثم يتبع ذلك انتقال هذه المكونات تبعا لوزنها الجزيئي و قطبيتها مما يحدث تفاوت تأخير في زمن خروج هذه المكونات تباعا من العمود وهو ما يشير إلى أن عملية

الانتشار السابقة عملية انتشار محكومة ومسيطر عليها وتستلزم وقت معين يعتمد على مربع المسافة التي تتحركها الجزيئات والتي بدورها تتناسب عكسيا مع مربع الانتشار .

وعند رسم العلاقة بين تركيز كل مكون وحجم الطور المتحرك نحصل على منحنى ناقوسي متماثل وتسمى المنطقة التي يظهر فيها المنحنى بمنطقة الانتشار ألدوامي (الشكل119)



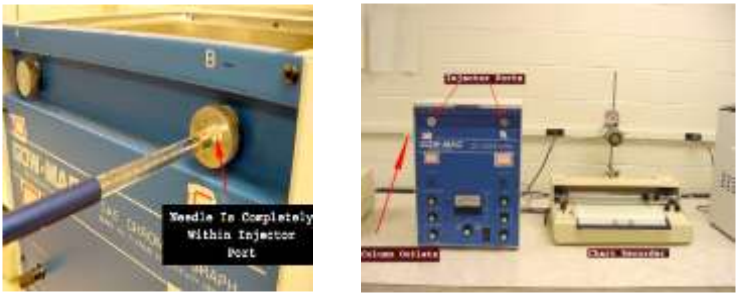
الشكل (119) : منحنى الانتشار ألدوامي والذي يربط العلاقة بين تركيز المكون وحجم الطور المتحرك.

يتكون جهاز الكروماتوغرافي الغازي من الوحدات الأساسية الآتية (الشكل 120):

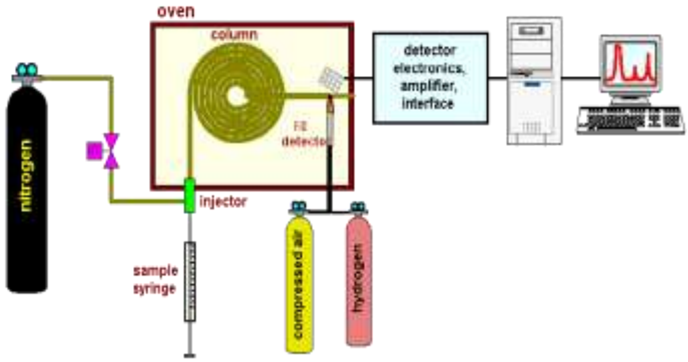
آ- نظام الحقن : الحقن للعينة في الجهاز باستخدام محقن دقيق ميكرومتري .

ب- نظام تدفق الغاز : حيث يستخدم غاز (النيتروجين – الهيليوم) أو (النيتروجين – الارجون) أو (النيتروجين – الهيليوم- الهيدروجين) . حيث ينساب الغاز المضغوط من مصدره والذي غالبا ما يكون اسطوانة بمواصفات خاصة إلى فلتر أو مرشح للتنقية ثم إلى فلتر لتجفيف الغاز ومنه إلى الروتاميتر إلى صمام التدفق ثم إلى العمود ومنه للكاشف وهو نظام تدفق محكم .

ت- الأعمدة الكروماتوغرافية : يتكون من الطورين الثابت والمتحرك ويثبت في الفرن وغالبا ما يصل طوله إلى ستة أقدام وقطره الخارجي ربع انج ويصنع من الزجاج البورسيليكاني أو النحاس أو الصلب أو الالومينيوم أو التيفلون .



الشكل (120-أ): جهاز كروماتوغرافي الغاز



الشكل (120-ب): مخطط لأجزاء جهاز كروماتوغرافي الغاز .

ولاختيار العمود المناسب للعمل بتحليل السموم يؤخذ بنظر الاعتبار مكونات العينات المراد تحليلها في المختبر ، حيث تستخدم الأعمدة القطبية في فصل المكونات القطبية في حين الأعمدة غير القطبية تستخدم لفصل المركبات غير القطبية . ومن هنا نحصل على فصل مناسب باستخدام طور ثابت غير قطبي أو ذو قطبية قليلة لمكونات مخلوط يتكون من مركبات تختلف في درجة قطبيتها . وعموما يختار السائل الذي ينجح قي فصل جميع مكونات مخلوط العينة .

والأعمدة التالية يوصى بها في تحليل متبقيات السموم الهيدروكاربونية العضوية والسيكلودايينات والتتراسيكلينات :

- عمود 6 قدم معبأ بمادة كروموسورب ج 100-120 مش عالي الادمصاص ومعامل بطور سائل: 101- 1%OV .
- عمود 6 قدم معبأ بمادة كروموسورب ج 100-120 مش عالي الادمصاص ومعامل بطور سائل: 17- 1.5%OV .
- عمود 6 قدم معبأ بمادة كروموسورب ج 100-120 مش عالي الادمصاص

ومعامل بطور سائل :101- OV 2%.

المواد المحورة Modifiers :

عند تحليل المركبات النشطة يستحسن تغطية المادة المدعمة ببعض الكيميائيات المحورة قبل إضافة الطور السائل ، فعلى سبيل المثال عند فصل الأمينات يستخدم هيدروكسيد البوتاسيوم كمادة محورة أما عند فصل الأحماض الدهنية فيستخدم 10% حامض تترافيثاليك وهناك مواد أخرى مثل حامض الفسفوريك .

الطور السائل Liquid Phase:

يعد اختيار الطور السائل عامل هام له دوره في عملية الفصل الجيد لمكونات مخلوط العينة . وتعد مركبات السليكون انسب وأشيع الأطوار السائلة استخداما . وتوصي منظمة الأغذية والعقاقير الأمريكية باستخدام الأطوار التالية في فصل السموم والملوثات البيئية من الأغذية :

- 10 % DC-200
- 5 % QF-1

على درجة حرارة 200°م وبمعدل سريان 120 مل/ دقيقة حيث يكون نزيف الأعمدة منخفض خاصة عند التحميل ومعدل السريان البطئ مما يعطي استجابة عالية للكاشف وفصل جيد في النهاية .

تجهيز الأعمدة Column Preparation:

وتتلخص خطوات تجهيز العمود قبل أن يتم حشوه أو تعبئته بمادة الادمصاص سواء بدون أو بعد تغطيتها بالطور السالب ، بالخطوات التالية :

- غسل العمود جيدا بالماء والصابون من الداخل ثم بالأسيتون وأخيرا بمذيب مناسب كالهكسان ثم يجفف استعدادا لحشوه .
- تعبئة العمود : ويتم بملئه بالمادة المدمصة والتي يتم تغليفها بالطور السائل الثابت .
- تهيئة العمود : يتم تهيئة العمود والذي تم تعبئتة بمادة الادمصاص الدعامية سواء بمعاملتها أو بدون معاملتها بالطور السائل حتى يصبح جاهزا لاستخدامه في الفصل بإحدى الطرائق التالية:
  - الحرق الحراري .
  - المعاملة بالسيللة Silylation Treatment .
  - التهيئة بالترسيب ببخار الشمع .

ث- ضابط حرارة الفرن : غالبا ما يكون من نوع Isothermal Controller .

ج- الكاشفات Detectors : ومن الكاشفات الشائعة الاستخدام في تعريف وتقدير متبقيات السموم والملوثات البيئية :

- كاشف الاقتناص الالكتروني Electron Capture Detector .
- كاشف اللهب الضوئي.Flam Photometric Detector .
- كاشف اللهب المتاين Flam Ionization Detector
- كاشف اللهب المتاين القلوي Alkaline Flam Ionization Detector .
- كاشف التوصيل الكهربائي Electrolytic Conductivity Detector .
- كاشف التوصيل الحراري Thermal Conductivity Detector .
- كاشف الميكروكلومتريك Micro Coulometric Detector .

ح- المكبرات Amplifiers : تكبر الإشارة الناتجة من الكاشف قبل أن تصل إلى المسجل.

خ- المسجل Recorder : يستجيب المسجل لأي إشارة كهربائية يستقبلها من المكبر .

تفسير نتائج التحليل الكروماتوغرافي Chromatography Result Explanation :

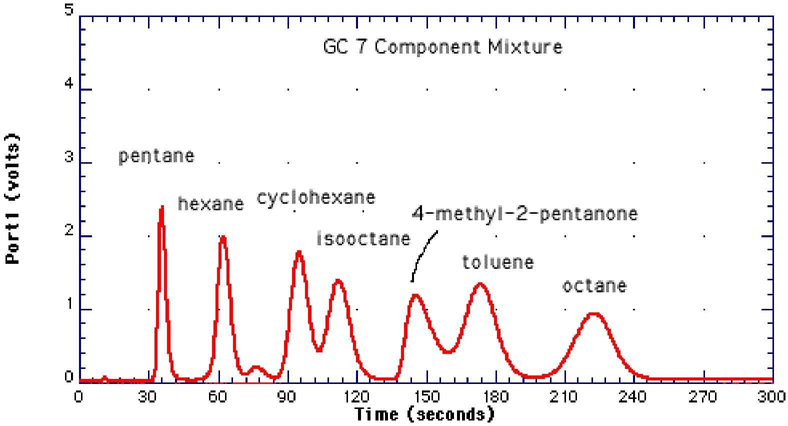
آ- تفسير نتائج التحليل الوصفي Quantitative Results Explanation:

يعتمد التحليل الوصفي على معرفة قيمة وقت الحبس المطلق أو وقت الحبس النسبي لأي مركب طالما أن ظروف التحليل ثابتة من حيث مواصفات العمود والمادة المعبأة وكذا درجة حرارة العمود ومعدل جريان الغاز الحامل حيث أن أول خطوة في التعرف تكون مقارنة قيمة وقت الحبس المطلق للمركب المجهول مع مثيلتها لمركب معروف سبق فصله تحت نفس الظروف وقد يستدعي الأمر تأكيد النتائج باستعمال أعمدة أخرى معبأة بمواد أخرى الشكل (121) .

ولتفسير نتائج التحليل الوصفي يلزم الحصول على بعض المعلومات الأولية عن نوعية هذه المركبات وهو ما يفيد خاصة إذا ما كان القائم بالتحليل قليل الخبرة .

ففي حالة ظهور منحنيات متداخلة أو منحنيات غير منتظمة فان هذا يشير إلى وجود مركبات أخرى غير المكون المراد فصله ويلزم فصلها عن بعضها في صورة منحنيات حادة غير متداخلة خاصة في حالات التحليل المتعدد للسموم

ويلاحظ أن وقت الاستبقاء المطلق قد يحدث به تغير عند إعادة حسابه وتقديره وهو ما يحدث عندما يعاد التقدير مع زيادة عمر



الشكل (121) صورة لقراءة جهاز الكروماتوغرافي الغازي لنتائج التحليل .

العمود أو كثرة استخدامه ، لذا يجب إعادة تعبئتة أو استبداله بآخر أو بسبب التذبذبات الحرارية أو لتغير في معدل الجريان وهنا يعاد الفصل مرة أخرى ولكن على ظروف مختلفة للتأكد . ويتم التعريف بقياس وقت الحبس المطلق بمدلولية المسافة التي ظهر عندها مركز المنحنى الخاص بالمركب ابتداء من وقت ظهور منحنى المذيب المذاب في مكون العينة .

أما وقت الحبس فهو النسبة بين الوقت اللازم مروره ابتداء من ظهور منتصف قمة منحنى المركب المجهول منسوبا للوقت المستغرق واللازم حتى ظهور منتصف منحنى المكون القياسي أو المرجع :

وقت الحبس النسبي $RR_t = R_t$ (المكون) / R_t (المرجع) .

التعريف المبدئي أو المؤقت Tentative Identification (TI) :

أمكن استخدام فكرة وقت الحبس النسبي في التعريف المبدئي لمخلوط من عدة مركبات وذلك من خلال :

- حقن تركيز معين من المركبات القياسية النقية كل على حدة حيث يتم حساب قيمة وقت الحبس المطلق لكل منها تحت ظروف تشغيل ثابتة . ولزيادة التأكيد يمكن حقن مخلوط من المركبات القياسية السابقة معا تحت نفس الظروف فنجدها مطابقة لقيمة وقت الحبس لكل مركب قياسي بمفرده .
- يحقن المركب المجهول تحت نفس الظروف السابقة وتقارن قيمة وقت الحبس المطلق له مع القيم السابقة للمركبات القياسية ومنها يمكن معرفة اسم المركب المجهول.
- ولقد طورت هذه الفكرة بمعامل EPA , FDA حيث تم حقن جميع مركبات

المجموعة الواحدة :جميع المركبات الفسفورية العضوية أو جميع المركبات العضوية الهيدروكربونية في عدة أعمدة مختلفة ثم تقدير قيم وقت الحبس لكل منها وبكل عمود عند درجات حرارة مختلفة مع تثبيت باقي الظروف الأخرى .

- ثم يختار إحدى مركبات كل مجموعة ويعتبر مرجع خاص لهذه المجموعة تحت عمود واحد ولكن باختلاف درجات الحرارة حيث يعتبر مركب الالدرين هو المرجع للمركبات الهيدروكاربونية العضوية ومركب ميثيل باراثيون هو المرجع للمركبات الفسفورية العضوية ثم تنسب إليها قيم وقت الحبس لباقي المركبات الأخرى وتسجل في جدول .
- وعندما يراد التعرف على مركب مجهول من هذه المجاميع يتم حقنه في احد الأعمدة السابقة التي حقن المركب عليها وعلى نفس ظروف الفصل ثم تحسب قيمة وقت الحبس النسبي له ثم تقارن بمثيلتها في الجدول الخاص بنفس العمود وتحت نفس ظروف الفصل وبعد التعرف المبدئي أو المؤقت عليها ومعرفة اسمها يؤخذ هذا المركب ويتم عمل تركيز منه ثم يحقن على نفس الظروف وهنا نجد أن قيمة وقت الاحتباس المطلق للمركب المجهول هي نفسها للجدول .
- ولزيادة التأكد يتم حقن 10 ميكروليتر من المركب المتعرف عليه مضافاً إليه 10 ميكروليتر من المركب القياسي ويحقنا معا وهنا نجد أن المنحنى الناتج منهما منحنى واحد ولكن مساحته كبيرة (لتضاعف التركيز) .
- كما انه قد يتم التأكد سواء باستخدام كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة بمدلولية قيمة معدل الجريان R_f أو باستخدام المعامل ألتجزيئي p-value بتقديرها كما سبق للمركب القياسي والمركب مجال التعريف وتحت نفس الظروف ومقارنة القيمتين أو باستخدام جهاز مطياف الكتلة والذي قد يرتبط في بعض المعامل بجهاز الكروماتوغرافي الغازي كما سبق . والجدول (58) يوضح أساس فكرة التعريف المؤقت والمبدئي لمركب مجهول .

الجدول (58) : وقت الاحتباس النسبي لـ 108 مبيد فسفوري عضوي وعاقمات كيميائية .

PESTICIDE OR RELATED COMPOUND	**RATIO OF t_n OF COMPONENT TO PARATHION (1.00) t_R**				
	Dexsil 300	**Ov-101**	**Ov-17**	**Ov-210**	**Ov-225**
Abate	**2.57**	**2.67**	**3.06**	**2.43**	**-**
Amidithion	**0.94**	**0.95**	**1.04**	**1.01**	**1.15**
Apholate	**1.60**	**1.83**	**1.83**	**1.41**	**-**
Azinphosethyl	**1.68**	**1.85**	**1.85**	**1.75**	**1.72**
Azinphosmethy	**1.62**	**1.75**	**1.79**	**1.70**	**-**
Bay30911	**0.64**	**0.65**	**0.67**	**0.42**	**0.61**
Bay37289	**0.98**	**1.08**	**0.96**	**0.68**	**0.80**
Bay37342	**0.97**	**1.01**	**1.05**	**0.73**	**0.92**

Carbopheothion	**1.37**	**1.48**	**1.41**	**1.08**	**1.22**
Carbopheothion o-analog	**1.26**	**1.35**	**1.33**	**1.18**	**1.21**
Chipman Rp11783	**1.40**	**1.42**	**1.49**	**1.45**	**1.45**
Chlorpyrifos	**0.92**	**1.00**	**0.98**	**0.65**	**0.82**
Chlorpyrifos o-analog	**0.93**	**0.97**	**1.00**	**0.95**	**0.93**
Chlorthion	**1.04**	**1.00**	**1.05**	**1.03**	**1.08**
Ciba C-2307	**0.55**	**0.53**	**0.64**	**0.69**	**0.70**
Ciba C-8874	**1.25**	**1.39**	**1.30**	**0.93**	**1.08**
Ciba C9491	**1.16**	**1.25**	**1.23**	**0.86**	**1.06**
Ciba C-9491 o-analog	**1.10**	**1.15**	**1.18**	**1.01**	**1.09**
Compound4072	**1.04**	**1.13**	**1.10**	**0.98**	**1.00**
Coumaphos	**1.88**	**1.97**	**1.88**	**2.10**	**1.81**
Coumaphos o-analog	**1.80**	**1.90**	**1.83**	**2.29**	**1.86**
Crotoxyphos	**1.17**	**1.14**	**1.16**	**1.14**	**1.07**
Crufomate	**0.98**	**1.02**	**1.04**	**1.00**	**1.03**
Dasanit	**1.34**	**1.36**	**1.43**	**1.56**	**1.42**
Dasanit sulfone	**1.38**	**1.38**	**-**	**1.62**	**-**
Dasanit o-analog	**1.28**	**1.27**	**1.36**	**1.72**	**1.43**
Dasanit o-analog sulfone	**1.31**	**1.28**	**-**	**1.73**	**-**
DEF	**1.16**	**1.32**	**1.16**	**0.89**	**0.95**
Demeton	**0.48**	**0.48**	**0.50**	**0.31**	**-**
	0.64	**0.62**	**0.67**	**0.55**	**0.63**
Diazinon	**0.66**	**0.73**	**0.71**	**0.41**	**0.58**
Diazoxon	**0.64**	**0.69**	**0.70**	**0.60**	**0.63**
Dicapthon	**1.02**	**1.01**	**1.03**	**0.98**	**1.03**
Dichlorvas	**0.17**	**0.17**	**0.18**	**0.17**	**0.21**
Dicrotophas	**0.60**	**0.55**	**0.67**	**0.81**	**0.78**
Dimethoate	**0.68**	**0.61**	**0.78**	**0.72**	**0.96**
Dimethoate o-analog	**0.51**	**0.49**	**-**	**0.71**	**-**
Dioxathion	**0.15**	**0.23**	**0.23**	**0.16**	**0.20**
	0.66	**0.67**	**0.76**	**0.51**	**0.71**
	1.44	**2.10**	**-**	**1.67**	**-**
Disulfoton	**0.71**	**0.75**	**0.74**	**0.47**	**0.66**
Disulfoton sulfoxide	**1.19**	**1.18**	**1.25**	**1.42**	**1.36**
Disulfoton sulfone	**1.19**	**1.18**	**1.24**	**1.43**	**1.36**
Disulfoton o-analog	**0.63**	**0.63**	**0.66**	**0.55**	**0.65**
Disulfoton o-analog sulfoxide	**1.08**	**1.02**	**-**	**-**	**-**

Disulfoton o-analog sulfone	**1.08**	**1.01**	**1.16**	**1.46**	**-**
Dition	**2.25**	**2.34**	**2.23**	**2.40**	**2.16**
Dyfonate	**0.72**	**0.72**	**0.75**	**0.46**	**0.66**
Dyfonate o-analog	**0.61**	**0.60**	**0.65**	**0.54**	**0.64**
EPN	**1.57**	**1.66**	**1.59**	**1.58**	**1.46**
Ethion	**1.29**	**1.41**	**1.36**	**1.12**	**1.19**
Famphur	**1.44**	**1.46**	**1.50**	**1.75**	**1.55**
Fenitrothion	**0.92**	**0.93**	**1.00**	**0.93**	**1.00**
Fenitrothion o-analog	**0.83**	**0.81**	**0.91**	**1.08**	**1.00**
Fenthion	**0.93**	**1.00**	**1.02**	**072**	**0.93**
Fenthion sulfoxide	**1.36**	**1.36**	**1.47**	**1.60**	**1.44**
Fenthion sulfone	**1.35**	**1.36**	**1.47**	**1.66**	**1.50**
Fenthion o-analog	**0.83**	**0.89**	**0.99**	**0.88**	**0.95**
Fenthion o-analog sulfoxide	**1.27**	**1.27**	**1.42**	**1.76**	**1.45**
Fenthion o-analog sulfone	**1.27**	**1.27**	**1.42**	**1.80**	**1.54**
Formothion	**0.81**	**0.77**	**-**	**0.88**	**-**
Gardona	**1.11**	**1.21**	**1.19**	**1.05**	**1.09**
Geigy G-28029	**1.53**	**1.69**	**1.58**	**1.27**	**1.36**
Hempa	**0.24**	**0.23**	**0.22**	**0.30**	**0.25**
Imidan	**1.53**	**1.64**	**1.68**	**1.60**	**1.6**
Imidoxon	**1.41**	**1.51**	**1.59**	**1.75**	**-**
Leptophos	**1.58**	**1.79**	**1.66**	**1.32**	**1.40**
Leptophos 0-analog	**1.48**	**1.66**	**1.59**	**1.40**	**1.39**
Malathion	**0.89**	**0.98**	**0.97**	**0.87**	**0.92**
Malaoxon	**0.82**	**0.85**	**0.88**	**0.99**	**0.92**
Menazon	**1.43**	**1.63**	**1.75**	**1.39**	**-**
Merphos	**1.00**	**1.13**	**0.97**	**0.51**	**0.68**

	1.16	1.39	1.17	0.88	0.95
Metepa	**0.39**	**0.41**	**0.44**	**0.44**	**0.54**
Methiotepa	**0.41**	**0.43**	**0.43**	**0.28**	**0.39**
Methyl parathion	**0.88**	**0.85**	**0.93**	**0.90**	**0.97**
Methyl trithion	**1.29**	**1.36**	**1.36**	**1.00**	**1.21**
Mevinphos	**0.30**	**0.29**	**0.34**	**0.34**	**0.38**
Monocrotophos	**0.59**	**0.55**	**0.73**	**0.82**	**0.95**
Naled	**0.52**	**0.55**	**0.61**	**0.43**	**0.57**
Nemacide	**0.81**	**0.84**	**0.80**	**0.54**	**0.69**
Oxydemetonmethyl sulfone	**0.95**	**0.88**	**1.08**	**1.38**	**-**
Parathion	**1.00**	**1.00**	**1.00**	**1.00**	**1.00**
Paraoxon	**0.90**	**0.90**	**0.95**	**1.14**	**1.00**
Phorate	**0.57**	**0.60**	**0.60**	**0.35**	**0.53**
Phorate sulfoxide	**0.98**	**0.96**	**1.05**	**1.05**	**1.16**
Phorate sulfone	**0.99**	**0.97**	**1.05**	**1.14**	**1.16**
Phorate o-analog	**0.48**	**0.50**	**0.54**	**0.43**	**0.51**
Phorate o-analog sulfoxide	**0.87**	**0.83**	**0.97**	**1.17**	**1.14**
Phorate o-analog sulfone	**0.87**	**0.83**	**0.97**	**1.18**	**1.14**
Phosalone	**1.66**	**1.77**	**1.68**	**172**	**1.58**
phosfon	**0.70**	**0.75**	**0.60**	**0.81**	**0.64**
Phosphamidon	**0.84**	**0.85**	**0.89**	**1.12**	**0.97**
Phoxim	**1.14**	**-**	**-**	**-**	**-**
Phoxim o-analog	**0.92**	**0.94**	**-**	**1.16**	**-**
Pirazinon	**0.48**	**0.50**	**0.56**	**0.52**	**0.57**
Potasan	**1.70**	**1.73**	**1.70**	**1.98**	**1.70**
Ronnel	**0.85**	**0.93**	**0.88**	**0.60**	**0.76**
Schradan	**0.73**	**0.70**	**0.73**	**0.31**	**0.81**
Shell SD-8280	**1.07**	**1.00**	**1.04**	**0.89**	**0.97**
Shell SD-8436	**1.15**	**1.24**	**1.29**	**1.09**	**1.18**
Shell SD-8448	**1.19**	**1.33**	**1.25**	**1.14**	**1.11**
Stauffer N-2788	**0.84**	**0.83**	**0.86**	**0.57**	**0.75**
Tepa	**0.37**	**0.33**	**0.46**	**0.40**	**0.58**
Tepp	**0.12**	**0.12**	**0.12**	**0.14**	**0.12**
Thiometon	**0.61**	**0.63**	**-**	**0.43**	**-**
Thiometon sulfoxide	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Thiometon sulfone	**1.10**	**1.05**	**-**	**1.32**	**-**

ب- تفسير نتائج التحليل الكمي

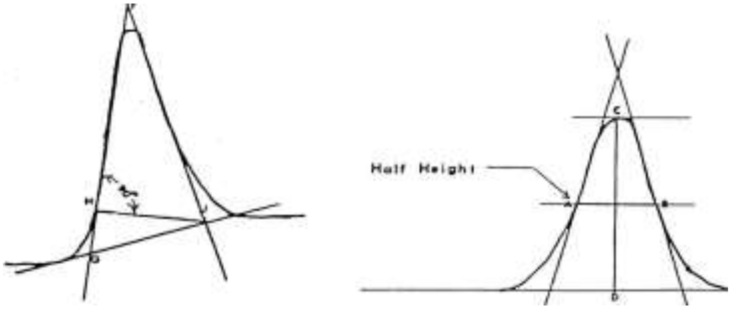
The Explanation Of Quantitative Analysis Results:

يتم تفسير نتائج التحليل الكمي للمركبات التي تم فصلها من خلال حساب قيم تركيزاتها من خلال إحدى الطرائق الآتية :

- قياس ارتفاع المنحنى Peak Height:

حيث يقاس ارتفاع المنحنى كدلالة على تركيز المركب فتوجد علاقة خطية بين التدرج في زيادة التركيز وارتفاع المنحنيات الناتجة عن هذه التركيزات . وهنا يتم عمل منحنى قياس Standard Curve نتيجة عدة تراكيز متدرجة من المركب النقي ثم قياس ارتفاع كل منحنى ناتج عن كل تركيز ثم يقسم ارتفاع المنحنى على التركيز الناتج منه فنحصل على قيمة الثابت k_1 للتركيز C_1 وهكذا مع باقي التراكيز حتى نحصل على ثوابت كل التراكيز وبجمعها وقسمتها على عدد التراكيز نحصل على الثابت العام k (الشكل 121).

وعليه فعند قياس تركيز مجهول لمركب ثم حقنه يقاس ارتفاع المنحنى الناتج عنه ويقسم على الثابت الخاص بهذا المركب لنحصل على تركيزه . ويعاب على هذه الطريقة في حساب التركيز عدم إمكان القياس الدقيق للمنحنيات الصغيرة .



الشكل (121) : حساب مساحة المنحنى بدلالة قياس ارتفاعه .

قياس مساحة المنحنى Peak area:

وفيها تقاس مساحة المنحنى الناتج عن التركيز كدلالة على هذا التركيز وذلك من خلال عدة طرائق حيث يوجد ارتباط خطي بين التركيز المحقون ومساحة المنحنى الناتج عنه مثل :

- قياس المساحة بواسطة البلانيميتر Planimeter فيتم تمرير إبرة البلانيميتر بدقة على حدود المنحنى ثم تقرا بعد ذلك دورانية البلانيميتر فتعطي المساحة بدقة بالغة في هذه الطريقة في حالة المنحنيات غير المنتظمة .
- أو بحساب مساحة المنحنى باعتباره مثلث وذلك بضرب نصف القاعدة x الارتفاع.
- أو بحساب المنحنى بطريقة تكاملية Integration حيث تحسب طول قاعدة المنحنى عند منتصف ارتفاعه وتكون المساحة كما بالشكل(122) هي:

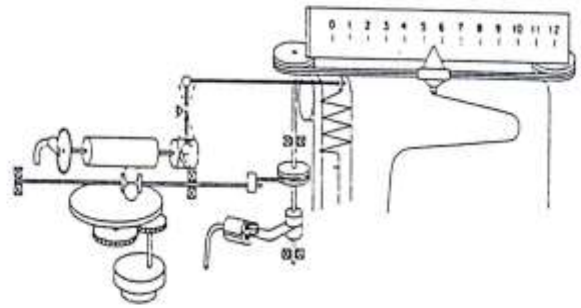
= طول القاعدة عند منتصف الارتفاع x الارتفاع .

وتكون المساحة الحقيقية للمنحنى هي= ارتفاع المنحنى x الانحراف القياسي x $(2.5)^{2/1}$.

ويقاس الانحراف القياسي بنصف اتساع المنحنى عند 0.67 من طول المنحنى:

أي أن : المساحة = ارتفاع المنحنى x اتساع القاعدة عند منتصف الارتفاع .

وهذه المساحة تطابق 0.94 من مساحة المنحنى الحقيقي . وهنا يتم عمل منحنى قياسي للمركب المراد قياس تركيزه كما سبق وتحقن هذه التراكيز وتحسب مساحة المنحنى الناتج من كل تركيز وتحسب قيمة الثابت k لكل تركيز ثم يحسب متوسط الثوابت للتركيزات المستخدمة k كما سبق .



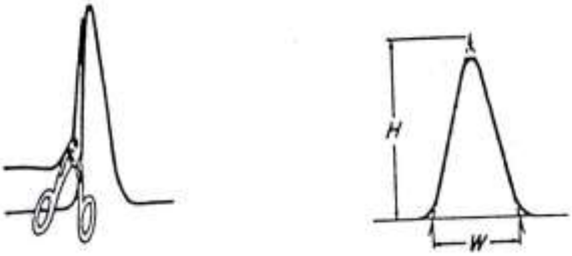
الشكل(122): حساب التراكيز بدلالة قياس مساحة المنحنى .

قياس المنحنى المقطوع ووزنه Peak Cutting Out And Weight :

حيث يتم قطع المنحنى على محيطه الخارجي بدقة ثم يوزن كدلالة على تركيز المركب حيث يزداد وزن المنحنى بزيادة التركيز وهنا يتم عمل منحنى قياسي لتركيزات متدرجة من المركب وتفصل ثم يقطع المنحنى من كروماتوغرام كل تركيز ويوزن وبقسمة وزن كل منحنى على التركيز الناتج نحصل على الثابت k وهكذا كما سبق فنحصل على k (الشكل 123).

وعليه فعند قياس تركيز مركب ما تم حقنه فانه يتم قطع المنحنى الناتج ويوزن ثم يقسم على k الخاص بالمنحنى القياسي لهذا المركب ونحصل على

التركيز . وتتوقف هذه الطريقة على تجانس الورق والمحتوى الرطوبي والدقة في قص المنحنيات وغالبا لا تستخدم هذه الطريقة .



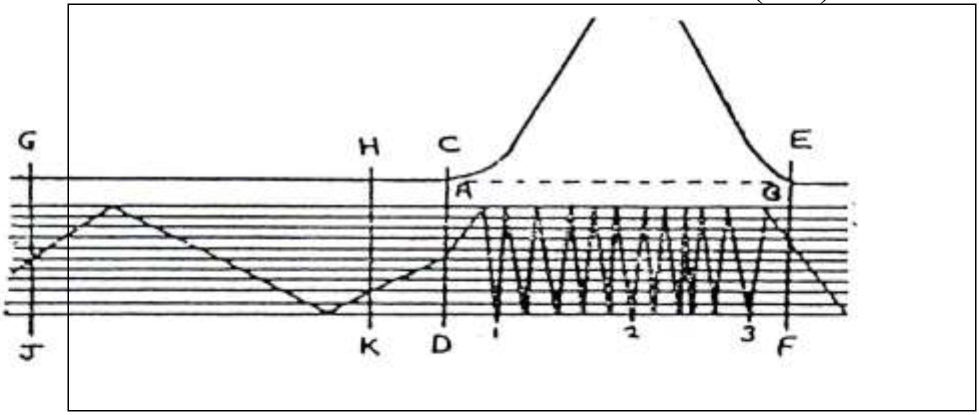
الشكل (123): حساب التركيز بدلالة وزن المنحنى .

العداد التكاملي الرقمي Digital integrates:

وهنا يظهر التركيز في صورة قراءة رقمية لعدد رقمي تكاملي . وهو عداد اليكتروني يقوم بحساب المساحة تحت المنحنى كشرائط طولية ثم يتم تجميعها وتحويلها إلى إشارات اليكترونية مستمرة (ملي فولت) تلتقط وتحول إلى مليفولت .

العداد التكاملي الميكانيكي Mechanical Integrates Disk:

وهنا يتم حساب المساحة يدويا برسم خط الأساس أسفل المنحنى ثم يسقط إسقاطا راسيا من قمة المنحنى على قاعدته ثم تسقط الخطوط الراسية التالية عند بداية قمة المنحنى من الجانبين (c d ، f e) فيتقاطعا مع العدادات التكاملية ، وكل تقاطع (ضربة) = 10.0 أما الضربات الجزئية فتكون قيمتها من (1-10) تبعا للخطوط المارة عليها ففي الضربات السريعة تكون أطول بعد كل 10 ضربات لذا لا يوصى باستخدامها في المنحنيات الصغيرة السريعة (سريعة الإزاحة) لكبر الخطأ .الشكل (124) .



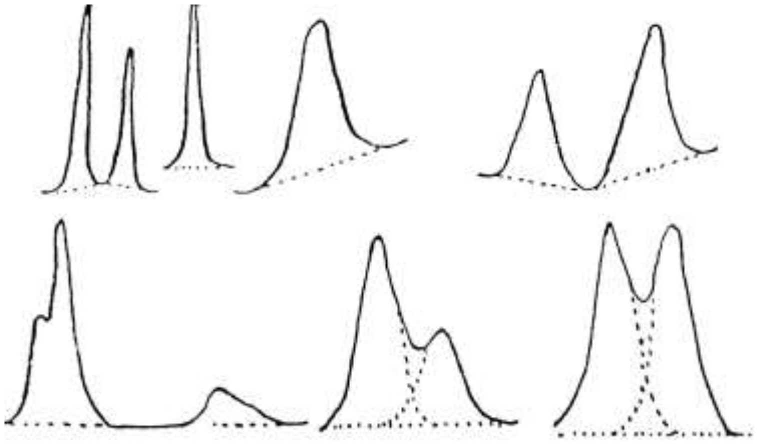
الضربة الجزئية الأولى Partial stroke	**=5**
الضربة الكاملة Full stroke	**= 10**
الضربات من 1-2	**=100**
الضربات من 2-3	**=100**
ضربة كاملة أخيرة	**= 10**
ضربة جزئية أخيرة	**= 3**

وحيث أن ضربات خط الأساس غير مستقيمة لذا يلزم التصحيح بطرح مسافة متساوية من خط الأساس (kj) تساوي (ec) ويسقط منها خطوط راسية (h k) و (g j) لتقاطع العدادات التكاملية وتطرح من المجموع الكلي للحصول على مساحة المنحنى.

الشكل (124): حساب التركيز بدلالة حساب المساحة تحت المنحنى بالعداد التكاملي الميكانيكي .

ومما هو جدير بالذكر أن طريقة الحساب الالكتروني تعتبر من أفضل الطرائق للتقدير الكمي حيث تتغلب على مشاكل انحراف خط الأساس وكذلك المنحنيات غير المفصولة وتعطي الحاسبات الالكترونية تقرير يبين فيه قيمة وقت الحبس لكل مكون في العينة ومساحة المنحنى و **%** لتركيز المكون وتركيز المركب المراد تقديره بمعلومية حقن المركب القياسي .

ويلاحظ أن مساحة كل منحنى ما هي إلا تقدير لكمية مكون موجود بالعينة حيث تتناسب المساحة تحت المنحنى طرديا مع كمية المكون الموجود وتلعب أشكال المنحنيات دورا كبيرا في عملية التحليل الكمي من حيث هل هي متناسقة أو غير متناسقة مستعرضة داخل أو خارج حدود الكروماتوغرام مفصولة أو مفصولة فصلا جزئيا والشكل (125) يبين كيفية رسم خط الأساس تحت المنحنى للمنحنيات المفصولة فصلا .



الشكل (125) : يبين كيفية رسم خط الأساس تحت المنحنى .

ستة عشر) كروماتوغـرافي السـائل عالـي الأداء

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

يعتبر كروماتوغرافي السائل عالي الأداء احد الطرائق الأساسية لتحليل مخلفات السموم في بعض مكونات الأنظمة البيئية ، حيث يقوم الجهاز بفصل مكونات العينة ثم التعرف عليها وتقديرها كميا ، ويتم الفصل عن طريق توزيع العينة بين طورين:

آ- طور متحرك سائل .

ب- طور ثابت سائل أو صلب يكون في عمود طوله حوالي 25 سم وقطره الداخلي 4 ملم وتعتمد كفاءة الفصل على مواصفات العمود وبصفة خاصة على قطر جزيئات المادة المعبأة ويلاحظ أن خفض قطر الجزيئات فضلا عن نعومة الحبيبات يؤدي إلى تحسين أداء العمود ومن ناحية أخرى يرفع الضغط للحصول على معدل جريان مناسب للطور المتحرك خلال العمود ولهذا السبب فانه يعبر عنها بالضغط العالي للكروماتوغرافي السائل .

أما مكونات الجهاز فتشمل (الشكل 126):

آ- خزان الطور المتحرك Storage Of Moving Phase.

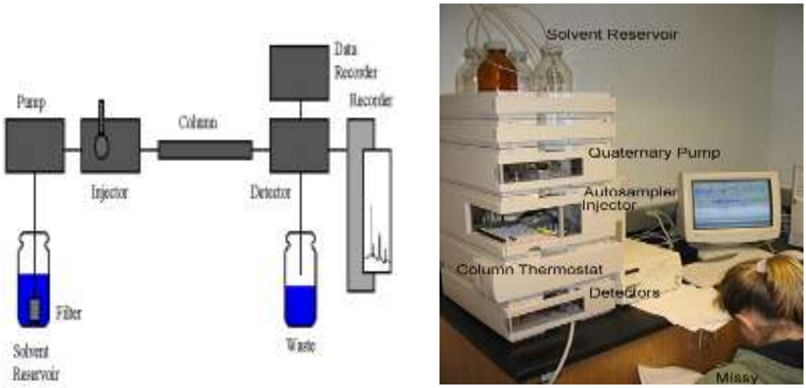
ب- المضخة Pump.

ت- الحاقن Injuctor.

ث- الأعمدة Columns .

ج- الكشافات Detectors .

ح- المسجل Recorder.



الشكل (126) صورة ومخطط لجهاز كروماتوغرافي السائل عالي الأداء .

المذيبات والكواشف Solvents and Reagents :

يتم اختيار الطور المتحرك تبعا لقدرته على التوافق مع عمود الفصل المجدد للحصول على كفاءة فصل عالية للمواد المراد تحليلها ويجب أن تكون المذيبات المستخدمة في تجهيز الطور المتحرك على درجة عالية من النقاوة وهناك عوامل أخرى هامة تتضمن التكلفة – اللزوجة- السمية- درجة الغليان –درجة نفاذ الأشعة خاصة إذا كان الكاشف المستخدم UV وعوامل الانكسار خاصة إذا كان الكاشف المستخدم Refractive Index - الضغط البخاري – درجة الوميض هذا بالإضافة إلى ما يتعلق بمركبات العينة وعموما فان اختيار المذيبات والجواهر الكشافة لا يمكن أن يتم إلا بأخذ العوامل السابقة الذكر في الاعتبار .

ويجب أن يتوفر في المذيبات والجواهر الكشافة المستخدمة في خطوة التقدير وكذا المستخدمة في تجهيز العينة ما يلي :

1- ألا تتسبب في انهيار المادة مجال التحليل أو تحدث معها تفاعلات كيميائية.

2- ألا تسبب ضرر بعمود التحليل .

3- ألا تسبب ضررا للكاشف .

4- ألا تسبب شوشرة تؤدي لزيادة أو نقص استجابة الكاشف للمركب .

مشاكل الإجهاد Potential Problems :

تظهر كثير من المشاكل للطور المتحرك لوجود الشوائب والمواد الإضافية وكذلك الأتربة والمواد الجزيئية الأخرى والهواء الذائب مثل :

- الانهيار **Degradation :**

قد تتحلل المواد المراد فصلها بالمذيبات والجواهر المستخدمة في خطوات الاستخلاص والتنقية أو أثناء التقدير ولذا يجب تجنبها وذلك من خلال المعرفة المسبقة بكيميائية المواد المراد تحليلها وقد يحدث تفاعل غير متوقع لوجودها فآثار من العوامل المؤكسدة في المذيبات تؤدي إلى تحليل مركبات N-methyl Carbamate قبل التقدير.

- الغازات الذائبة Dissolved Gasses:

وجود الغازات الذائبة في المذيبات المستخدمة كطور متحرك تسبب مشاكل فقد تتجمع فقاعات الغاز في المضخات أو بخلية الكاشف أو أي مواقع أخرى بالجهاز فتؤثر على الضغط الواصل من المضخة كما قد تسبب الفقاعات الكبيرة توقف تام للمضخة وقد تتأثر عمليات الكشف نفسها بعدة طرائق فمثلا مع كاشف UV نجد أن الهواء يسبب زيادة الضوضاء أو الامتصاص العالي كما أن الأوكسجين الذائب قد يتداخل مع الكاشف بالأطوال الموجية القصيرة لامتصاص الأوكسجين للإشعاع تحت 200 نانوميتر وللتخلص من الغازات الذائبة يوضع الطور المتحرك تحت ظروف تفريغ Vacuum ، حرارة وتقليب بالموجات فوق الصوتية وحاليا توجد وحدات تلحق تقوم بإزالتها .

- تلف الأعمدة Damage To Columns :

من السهل إتلافها بسوء الاستعمال فالقواعد يمكنها إزالة المجاميع الفعالة وعليه يجب عدم استخدامها فالأطوار المرتبطة عادة تكون ثابتة في مدى pH يتراوح بين 2-8 كما أن الجزيئات الميكروسكوبية والكائنات الدقيقة يمكنها إتلاف شرائح العمود مما يؤدي لزيادة ضغط العمود تدريجيا ويغلق العمود تماما ولإزالة هذه الجزيئات يتم ترشيح محلول العينة والوسط المتحرك واستخدام العمود الأولي المناسب والعمود الحارس لحماية عمود التحليل أما الجزيئات الأقل من 5 ميكروميتر ربما تفصل ببعض الأعمدة والكشافات .

والأوساط المتحركة المحتوية على الماء أو الميثانول يمكنها إزالة السيليكا جيل بالأعمدة المرتبطة ولذا يجب استخدام الأعمدة الأولية المحتوية على السيليكا جيل حتى لا يتم إزالة مادة عمود التحليل . وتلف الأعمدة بالجواهر المستخدمة في أعمدة الاشتقاق الثانوية يكون غير محتمل ولكنه قد يحدث فإذا توقف جريان الطور المتحرك فان جواهر العمود الثانوي يمكنها أن تنتشر للخلف فتؤدي لفساد تعبئة العمود .

- ضرر الكاشفات **Damage To Detectors :**

يختلف ضرر الجواهر مع كل كاشف فوجود غازات أو أوكسجين بخلية الكاشف يؤثر على استجابته لأنها قد تؤثر أيضا على الكاشفات الاليكترونية كيميائيا والتي تعمل بنظام الاختزال لذا يتطلب نزعها من المذيبات فترشيحها خلال فلتر 22 ميكروميتر ضروري في حالة الكاشفات اللونية.

المذيبات المتخصصة Specific Solvents:

- **الماء Water** :

يعتبر الماء المذيب الشائع الاستعمال وخاصة بالأطوار المتحركة ويعتبر من أصعب المذيبات للحصول والحفاظ عليه في حالة نقية حيث أن عدم النقاوة تؤثر في نتائج التحليل خاصة عند عمل الكاشفات بحساسية عالية وقد استخدمت أنظمة الماء Millipore Millio Water بدرجة كبيرة للتنقية وذلك بضخ الماء خلال أعمدة ترشيح من طبقات متتالية من الفحم النباتي لإزالة الشوائب العضوية ثم عمود منتجات تبادل ايوني لإزالة المواد غير العضوية والعضوية المتاينة ثم عمود Q-Organic لإزالة أي متبقيات عضوية ثم تمرر العينة المائية على فلتر 0.22 ميكروميتر لإزالة الجزيئات الميكروسكوبية والكائنات الدقيقة والتي لم تزال في المراحل السابقة حيث تخزن هذه المياه المنقاة في أوعية زجاجية نظيفة مع إضافة 0.02% Sodium Azide أو اسيتونتريل حيث أن الكائنات الدقيقة كالطحالب والبكتريا تتكاثر بسرعة في الماء لذا يفضل التخلص من المياه المنقاة بعد كل أسبوع مع غسيل عمود بالميثانول تختبر من خلال الخطوات المتتابعة الآتية:

- ضخ 100 مل ماء خلال عمود C.8 (16 سم x 2 مليمتر).
- يتم عمل متدرج خطي من صفر - 100 % ميثانول بمعدل 1مل/ دقيقة لمدة 10 دقائق ثم التوقف لمدة 15 دقيقة وذلك على كاشف UV .
- إذا كان خط الأساس عند 0.08 (AUFS) اقل من 10% والمنحنيات القليلة جدا اقل من 3-5 % يلاحظ انحراف تدريجي كامل وهنا يكون الماء نقيا تماما .

- **الاسيتونتريل Acetonitrile** :

شائع استخدامه في الأطوار المتحركة Rp فمواصفات التصنيف لنقاوة المذيبات تكون معتمدة أساسا على ملائمتها لكاشفاتUV بينما كاشفات الفلوروسنس والتوصيل الكيميائي تكون مواصفاتها صعبة جدا .

- **الميثانول Methanol** :

مذيب شائع الاستخدام في HPLC-Rp ويماثل عدم ملائمة المواصفات الاسيتونتريل ومن مساوئ الميثانول إحداث درجة من اللزوجة النسبية بالمحاليل الناتجة من مزجه بالماء فيسبب زيادة الضغوط العالية مقارنة بالأطوار المتحركة الأخرى .

- **مذيبات كلورينية Chlorinated Solvents** :

بعض هذه المذيبات ثابتة عند التحليل بالأكسدة بإضافة كميات قليلة من الميثانول يؤدي لزيادة قطبية الأطوار المتحركة وقصر وقت الإزاحة في عمود

NP HPLC وقد تتأثر المقدرة على استعادة النتائج باختلاف تركيز المثبت المضاف والذي يختلف من عبوة لأخرى وعليه يمكن شراؤها بدون مثبت أو إزالته بالامتصاص على الالومينا أو باستخلاصه بالماء ثم تجفيفه . والمذيبات الكلورينية غير ثابتة تتحلل ببطء منتجة HCl الذي يعمل على انهيار الأعمدة وصدا الصلب ويمكن إزالته بإمرار المذيب على السيليكا المنشطة أو كربونات الكالسيوم .

- **الايثرات Ethers:**

تحتوي على إضافات تعمل على ثباتها عند تكوين فوق اكاسيد فعلى سبيل المثال يتم تثبيت التتراهيدروفيوران بإضافة كميات قليلة من الهيدروكينون وقد لوحظ أن هذا المركب يمتص أشعة UV ويمكن إزالته بتقطير المذيب بأقراص هيدروكسيد البوتاسيوم. والجدول(59) يوضح أهم خصائص المذيبات المستخدمة .

الجدول (59) : أهم خصائص المذيبات الشائعة الاستخدام .

solvent strength parameter	solvent polarity	viscosity	bioling	refractive Index	Uv cut-off Nm	المذيب
0.01	0.1	0.47	99	1.389	197	Isooctane
0.01	0.1	0.30	69	1.372	190	n-hexane
0.35	2.5	0.27	56	1.369	210	Methyl t-butyl ether
0.32	2.7	0.65	81	1.501	278	Benzene
0.42	3.1	0.41	40	1.421	233	Methylene chloride
0.82	4.0	1.90	97	1.385	240	n-propanol
0.82	4.0	0.46	66	1.405	212	Tetrahydrofuran
0.58	4.4	0.43	77	1.370	256	Ethyl acetate
0.40	4.1	0.53	61	1.443	245	Chloroform
0.56	4.6	1.20	101	1.420	215	Dioxane
0.56	5.1	0.30	56	1.356	330	Acetone
0.88	4.3	1.08	78	1.356	210	Ethanol
Large	6.0	1.10	118	1.370		Acetic acid
0.65	5.8	0.34	82	1.341	190	Acetonitrile
0.95	5.1	0.54	65	1.326	205	Methanol
Very large	10.2	0.89	100	1.333		Water

إعداد العينة Sample Preparation :

1- تنقية العينة Sample Clean up :

تنقى محاليل العينة بإزالة الشوائب المرافقة لعمليات الاستخلاص ولتجنب أي أضرار تحدث حيث أن الحقن بمستخلصات غير نقية قد تضعف أو تفسد الأعمدة والكاشفات خاصة عند تحليل عدد كبير من هذه العينات فقد وجد أن الشوائب المتداخلة والذائبة في محلول العينة قد تظهر في كروماتوغرام الفصل كمنحنيات زائدة تتداخل مع المادة المحللة مما يجعل نتائج التحليل غير موثوق بها كما أن المواد المدمصة بشدة قد تؤثر على الخصائص الكروماتوغرافية للعمود فيسبب معها انحرافات بخط الأساس ومنحنيات مضللة ومن الممكن إزالة هذه الشوائب المدمصة بقوة من العمود قبل عملية الحقن التالية وذلك بدفع أحجام من مذيب قوي بنظام Isocratic Technique وتعني استخدام مذيب واحد فقط طوال عملية الفصل أو بدفع مذيب آخر بعد المذيب السابق أعلى منه في القوة بنظام Gradient Technique وتعني التغير التدريجي في تركيب المذيب المستخدم مع الزمن أو استخدام مذيبين طول عملية الفصل ثم يتبع ذلك إعادة الاتزان بالطور المتحرك المستخدم لذا يكون من الضروري التأكد من عمليات التنقية التي تسبق الحقن والتحليل .

2- ترشيح العينة Sample Filtration :

إن الأحجام الجزيئية في محلول العينة تؤثر بدرجة كبيرة في شرائح الأعمدة مقارنة بالكروماتوغرافي الغازي بالإضافة إلى مقدمة العمود لذا يلزم إمرار العينات خلال جهاز ترشيح ذو مرشح بقطر 5 ميكروميتر قبل الحقن وفي حالات التحليل المتعدد الدقيق تمر العينات على مرشح بقطر اقل من 1 ميكروميتر وفي بعض أنواع الكاشفات يجب الترشيح على مرشحات دقيقة لإزالة الجزيئات الأكبر من 0.2 ميكروميتر وحديثا يتم استخدام مرشحات توضع في مقدمة العمود In Line Filter لمنع سد شرائح العمود مع ضرورة التأكد من أن مادة التحليل لا تفقد خلال هذه المرشحات الوسطية وخاصة في حالات التقدير الكمي لذا يجب تحليل عينات مقواة بتركيزات معلومة من المركب وتقدير معدلات استرجاعها .

3- مذيبات العينة منزوعة الغاز Sample Solvent Degassing :

يجب أن تجهز العينات للحقن باستخدام مذيبات منزوعة الغاز بنفس الطريقة التي أعدت لمذيبات الأطوار المتحركة فتقل المشاكل السابقة ومحلول العينة نفسه يجب ألا يكون منزوع الغاز لان ذلك قد يغير من تركيزه .

4- اختيار مذيب العينة Choice of Sample Solvent :

يجب ذوبان العينة في الطور المتحرك حيث يؤدي ذلك إلى خفض حجم منحنى المذيب مما يسهل التعرف على منحنيات العينة المزاحة بسرعة كذلك نتجنب ترسيب العينة على أو قبل العمود مما يتسبب في فقد منحنيات العينة المحللة

وظهور منحنيات مزاحة عشوائيا وغير معروفة على الكروماتوغرام ومزج العينات بالموجات فوق الصوتية يساعد إلى حد كبير في ذوبان العينة في الطور المتحرك أو في المحاليل المشابهة.

وفي حالة إزالة العينة في مذيب مختلف عن الطور المتحرك فيجب أن يكون متوافق مع العمود وتركيب الطور المتحرك ، وإذا تطلب الأمر الحقن في مذيب قوي فيجب أن يكون حجم الحقن صغير حتى لا تتسبب قوة المذيب في إظهار تذييل بالمنحنيات .

5- المواد القياسية الداخلية Internal Standards :

تستخدم بصورة شائعة في التحليلات لتقليل الأخطاء الناجمة عن الاختلافات في طريقة التحليل والتشغيل وكذا اختلافات عمليات الحقن ولا تستخدم بصورة عامة في تحليل مخلفات المبيدات . والمواصفات الجيدة هي :

- منحنى المادة القياسية يجب أن يكون مفصول تماما عن باقي المنحنيات مع الأخذ في الاعتبار إزاحتها بنفس الوقت الذي يتم إزاحة المركب المحلل خلاله .
- يجب أن تكون متقاربة في الخواص الكيميائية والتركيب مع المادة المحللة وتعطي استجابة مماثلة مع الكاشف المستخدم .
- يجب أن تكون ذات نقاوة عالية وخاملة كيميائيا .

المواد القياسية المرجعية Reference Standards :

وهي مواد عالية النقاوة ومستخدمة في تحضير المحاليل القياسية الأساسية والمستخدمة في تحضير المحاليل القياسية العاملة Working Standard Solutions . ومن المعروف أن المواد القياسية الصلبة تكون ثابتة بصفة عامة تجاه التحولات الكيميائية تحت ظروف الحفظ بالثلاجة أو التجميد ، ولما كانت طبيعية التقدير تجعله الطريقة المفضلة في تقدير كثير من المركبات غير الثابتة والسهلة التحليل لذا فان ثبات هذه المركبات في المذيبات المستخدمة في تحضير المحاليل القياسية تحتاج إلى عناية خاصة.

آ- المحاليل القياسية الأساسية Stock Solutions :

أسس اختيار المذيب المستخدم في تحضير المحاليل تكون هي نفسها الأسس المتبعة في اختيار المذيب الذي سيتم حقن العينات به ، وإذا كانت القابلية للثبات تسمح فانه يفضل المحاليل القياسية في الطور المتحرك المستخدم في نظام التحليل ومع ذلك نجد أن كثير من المبيدات تكون ذات ثبات محدود في المذيبات كالميثانول أو الماء والتي غالبا ما تستخدم في الأطوار المتحركة كما في مبيدات الفطريات (Captan , Thiophanate Methyle , Captasol , Folpet) والتي يمكن تخزينها لفترات غير محدودة في البنزين والأسيتون والايزواوكتان ولكنها سرعان ما تتحلل عند تخزينها في الميثانول / ماء . وقد وجد أن البنزين يعتبر مذيب جيد لمعظم المبيدات القياسية ولكن سميته تجعلنا لا ننصح باستخدامه ويعتبر

الايزواوكتان والهكسان مذيبات جيدة لمعظم المبيدات الكلورينية العضوية كما أن انخفاض نسبة التطاير للايزواوكتان تقلل من نسبة الفقد بالتبخير أثناء التخزين ونجد انه لا ينصح باستخدامه أيضا في الحالات التي يتطلب فيها تبخيره للإذابة في الطور المتحرك كما لوحظ أن الكلوروفورم يكون مفيد في استخدامه مع الترياز نيلت كما يفيد المثلين كلورايد أو الميثانول مركبات الكارباميت والأسيتون لمبيدات الفطريات القريبة للبنزيميدازول و الميثانول لمبيدات الحشائش كالفينيل يوريا .

وأهم مشاكل سلامة المحلول القياسي ترجع إلى تبخير المذيب وعدم الثبات لذا يكون من الضروري عمل محاليل قياسية أساسية وبصفة دورية ونتيجة لاستخدام كميات ضئيلة من المواد القياسية (< 100 ملغم) يلزم استخدام ميزان حساس والتحضير المباشر للمحاليل المخففة بهذه الطريقة يقلل من عدد التخفيفات اللازمة لعمل المحاليل القياسية العاملة من المحلول القياسي الأساس .

ب- المحاليل القياسية العاملة Working Standard Solutions :

وتحضر بتركيزات مناسبة للكشف وفي حدود المستويات المتوقعة للمخلفات في مستخلصات العينات فلابد وان تكون قريبة جدا لما هو موجود في المستخلص ليسهل مقارنة مساحات أو ارتفاع المنحنيات . وفي حالات الكشف المتعدد للمتبقيات يتم عمل المحاليل القياسية العاملة كمخاليط قياسية للتحليل بالطريقة المتبعة مع التأكد من ثبات المحاليل القياسية العاملة بصفة دورية من خلال مقارنتها بالمحاليل المحضرة حديثا أو بالتخفيفات الحديثة للمحاليل القياسية وأيضا فان المذيبات المستخدمة مع المحاليل القياسية العاملة يجب أن تتوافق أيضا مع مذيب العينات والجهاز مع مراعاة فحصها للتأكد من عدم تلوثها والذي قد يؤثر في نتائج التحليل .

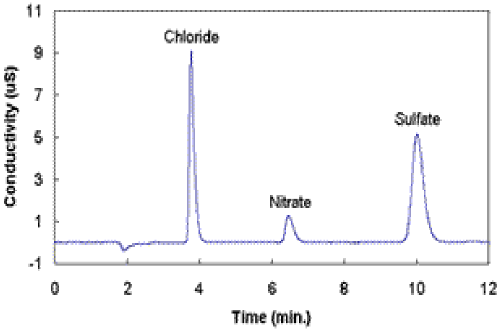
ت- التخزين Storage :

يجب تخزين المحاليل القياسية في ثلاجات على درجات حرارة اقل من أو تساوي 4°م ويلاحظ أن محاليل البنزين يمكن أن تتجمد في هذه الدرجات وقد يؤدي ذلك إلى كسر الأوعية الخاصة بها ويتم تخزين المحاليل القياسية الأساسية للمتبقيات الكلورينية العضوية لمدة 6 أشهر على الأقل دون أن يحدث لها ضرراً أما محاليل الكارباميت والفسفورية العضوية فتكون اقل ثباتا ويجب استبعادها كل 3-4 أشهر من التحضير وبعض المحاليل القياسية الأخرى نجد أنها لا تقبل التخزين لذا يجب تحضيرها عند الاستخدام مباشرة .

التقدير الوصفي والكمي Qualitative and Quantitative Determination:

يتم التعريف والتقدير الكمي للعينات التي تم فصلها هنا بطرائق مماثلة لتلك المستخدمة في جهاز الكروماتوغرافي الغازي والتي تعتمد على مطابقة قيمة فترة الحبس أو فترة الاحتجاز النسبي لمركبات العينات القياسية المفصولة مع قيم العينات مجال التعريف والتقدير (تقدير وصفي) (الشكل 127) . والمقصود تحت

نفس ظروف الفصل للمركبات القياسية كما ويحدث التحليل الرياضي للمنحنيات والتقدير الكمي للمركبات المفصولة والمعروفة تعريفا مبدئيا بنفس الطرائق التي سبق ذكرها .



الشكل (127): منحنى الفصل لأحد المركبات بواسطة جهاز كروماتوغرافي السائل عالي الأداء .

سبعة عشر) الطرائق الحيوية

Bioassay Methods

يمكن استخدام الطرائق الحيوية المختلفة المذكورة في الفصل السادس والسابع لتقدير متبقيات المبيدات في البيئة .

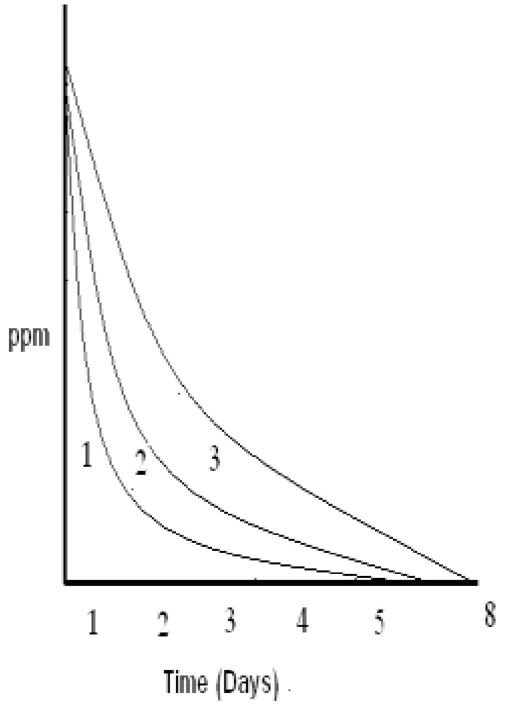
تقييم تأثير متبقيات المبيدات في بعض الأنظمة الحيوية

Effect Evaluation Of Pesticides Residues In Some Biological Systems

ويتم ذلك من خلال إتباع ما يأتي:

أولا) منحنيات الثبات والهدم للمبيدات Persistence and Degradation Curves

لو أخذنا عينات من الحقل وقدرت المتبقيات للمبيد بأجزاء المليون ppm ورسمت العلاقة كما يلي :

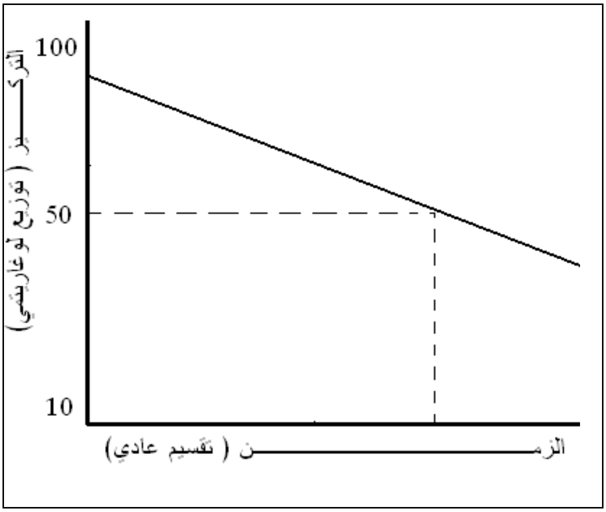


الشكل (128): يمثل العلاقة بين تركيز المبيد وفترة التدهور بالأيام.

فان المنحنى سيكون بالشكل أعلاه ، إذ تختلف المبيدات في فترات ثباتها وأكثرها بقاء في هذه الحالة هو المبيد (3) .

ولتحويل هذه المنحنيات إلى شكل آخر يتم تحويلها إلى منحنيات الثبات والهدم إذ يمثلها قيمة إحصائية تسمى Half life . حيث تحول هذه الخطوط إلى خطوط مستقيمة باستخدام ورق نصف لوغاريتمي .ويتم ذلك بأخذ عينات بعد جفاف الرش (من الأوراق) ويقدر عليها المبيد وتسمى هذه العينة Initial deposit ثم بعد ذلك تنسب القيم التي يتم الحصول عليها فيما بعد إلى الكمية السابقة .

ففي أول يوم تكون 100% لأنها نسبت إلى نفسها ، وفي اليوم الثاني تكون النسبة اقل وفي اليوم الثالث اقل ....ولغاية 50% من الكمية الموجودة بعد الرش مباشرة . لذا يكون المنحنى خط مستقيم . لذا يعطى عند 50 % عدد الأيام التي لابد أن تنقضي حتى يفقد المبيد 50% من تركيبة وهي ما تسمى نصف العمر Half life .الشكل (129).



الشكل (129): منحنى تحديد نصف عمر المبيد

ثانيا) تقييم حدود التحمل أو الأمان المفترضة Safety Limits Evaluation

من المفيد اختيار مثال متخصص لفهم خطوات تقييم حدود الأمان لمبيد حديث تجري معاملته على البطاطا لمكافحة آفة حشرية ما . ونفترض هنا أن الدراسات الخاصة بالمتبقيات والتي تتضمن تحليل البطاطا بعد المعاملة الحقلية بالمبيد توضح أن أقصى متبق ناتج من استخدام المبيد هو جزء واحد في المليون . كما يفترض أن هذا المستوى جزء واحد في المليون يتساوى مع مستوى الأمان الذي يمثل متبقي المبيد الناتج بعد المعاملة الزراعية الجيدة (جزء واحد في المليون = 1 ملغرام من متبقي المبيد /كغم من البطاطا) . ونفترض أن البطاطا تمثل 7% من غذاء المجتمع ، كما أن متوسط وزن الفرد العادي يساوي 60 كغم ، ويستهلك حوالي 1.5 كغم من الغذاء يومياً. أي أن أقصى مستوى نظري لتناول متبقيات المبيد في البطاطا يمكن أن يحسب كما يلي :

اقصى مستوى نظري لتناول متبقي المبيد = مستوى المتبقي في الغذاء(البطاطا) x نسبة تناول ذلك الغذاء x معدل الغذاء اليومي

= 1 ملغم/كغم x 0.07 x 1.5 كغم/يوم= 0.105 ملغم/يوم

توضح الحسابات السابقة الحد الأعلى للمتبقي الذي يمكن أن يتناوله الشخص يوميا ، ولاستكمال تقييم الحد الآمن للمبيد فانه من الأهمية بمكان معرفة مستوى متبقي المبيد الذي يمكن اعتباره آمنا في غذاء الإنسان ، مع افتراض أن المستوى المؤثر غير ملحوظ في التغذية المزمنة حوالي 2 جزء من المبيد/مليون جزء من الغذاء ، وان الفار هو الحيوان التجريبي. وبالنسبة للفار فمن المعروف أن 20 جزء في المليون مع الغذاء تساوي 1 ملغم من المبيد/كلغم من وزن الجسم/يوم وعند حساب كمية المبيد الممكن قبولها يوميا Acceptable Daily Intake (ADI).

للإنسان تلزم المعاملة بحوالي 100 ضعف عامل الأمان إلى قيمة المستوى المؤثر غير الملاحظ No Observable Effect Level (NOEL) وذلك في دراسة التغذية خلال فترة حياة الحيوان .ويمكن حساب عامل الأمان بقياس الاختلافات في الحساسية بين الأفراد وبين النوع . فعند المعاملة بقيمة عامل الأمان لمستوى 1 ملغرام /كغم يوميا للفار يمكن حساب كمية المبيد الممكن قبولها يوميا (ADI) للإنسان ، وهو عبارة عن 0.01 ملغم / كغم يوميا ، ويصل أقصى مستوى يتعرض له شخص وزنه 60 كغم حوالي 0.6 ملغم مبيد يومياً .

وإذا كانت البطاطا تتضمن نظريا (0.105) ملغم يوميا ، بالمقارنة بأقصى كمية من المبيد يمكن أن يتعرض لها الإنسان يوميا ، وهي 0.6 ملغم يوميا فان المبيد المستخدم يمكن قبوله .

يجب أن يؤخذ في الاعتبار عند تطبيق المثال السابق احتمال استخدام المبيد على محاصيل أخرى غير البطاطا . ولذا يلزم معرفة حدود الأمان وتكرار تقييم عمليات حدود الأمان لكل محصول يحتمل تواجد متبقيات المبيد فيه . ونفترض نظريا أن المبيد المستخدم في مثالنا السابق سوف يكرر استخدامه على القطن وبعض أصناف الخضراوات ، ومن المعروف أن بذور القطن تقدم كغذاء للمواشي والدواجن ، ولذا تجب معرفة متبقياته في اللحوم واللبن والبيض الناتج من الدواجن . ويوضح الجدول (60) تفاصيل تحليل المتبقيات المقترحة عند استخدام المبيد على محاصيل متعددة . ويجب ملاحظة أن التراكم اليومي لمتبقيات المبيد الممكن تناوله ، والناتجة من جميع الاستخدامات المفترضة للمنتج الغذائي هو 0.222 ملغم /يوم ، وان تحليل نتائج السمية تؤكد أن أقصى كمية مسموح بقبولها يوميا هي 0.6 ملغم يوميا ، وعليه فان جميع حدود الأمان المفترضة يمكن قبولها ، كما يمكن استخدام المبيد لجميع المحاصيل المقترحة، طالما أن خطوات التسجيل تم تخطيها بنجاح .

جدول (60): تفاصيل تحليل المتبقيات المقترحة عند استخدام المبيد على محاصيل متعددة .

المنتج الغذائي	نسبته في الغذاء (%)	معدل تناوله يوميا (غم)	الحد الأمن جزء/مليون	معدل التعرض للمتبقيات في الغذاء يومياً (ملغم)	معدل تناوله (ملغم)
البطاطا	0.7	105	1.00	0.105	0.105
زيت بذور القطن	2.29	34.4	0.50	0.017	0.122
اللحم والدواجن	11.47	172	0.05	0.009	0.151
القرنبيط –اللهانة-الخس	3.61	54.15	1.00	0.054	0.205
البيض	3.00	45	0.05	0.002	0.207
فول الصويا-الفول السوداني	1.00	15	1.00	0.015	0.222

ثالثا) تقييم إمكانية استخدام مياه النهر الملوثة بالكيميائيات لأغراض الري

Evaluation The Possibility Of Using Contaminated River Water In Irrigation .

بالرغم من أن معايير وجود المياه لأغراض الري الزراعي مقبولة بوجه عام ومدونة في المراجع والدلائل بالنسبة للمواد غير العضوية (المقاومة) وكذلك للملوثـــات الميكروبية (البكتريا...الخ) فان المشكلة مازالت بدون حل للملوثات العضوية الموجودة كآثار . وفي هذا سنتناول تقييم التأثير المؤثر للماء من نهر بورميدا على المحاصيل الحقلية (يقع نهر بورميدا في شمال ايطاليا في منطقة ليوريا حيث المصانع) . تقوم شركة ANCA C.O. بصرف العديد من المركبات من مصنع معالجة المياه إلى النهر . تم دراسة عشرين مركب تبعا لقائمة الأولويات التي وضعتها ووافقت عليها اللجنة العلمية الاستشارية للسموم في ايطاليا والتي اضطلعت بمسؤولية وضع معايير جودة المياه للأحياء المائية في ايطاليا .اللجنة استندت عند وضع معايير الجودة على معايير اللجنة الاستشارية العلمية لدول المجموعة الأوربية في مجال السمية البيئية (جدول 61).

يمكن تعريف عوامل أو معايير مختلفة وأخذها في الاعتبار لوضع تقييم كامل عن هذه المشكلة منها:

1. إمكانية إحداث تأثيرات ضارة على النباتات .
2. التأثيرات على ميكروبات وكائنات التربة الدقيقة .
3. التراكم الحيوي في الخضراوات .
4. الخطورة على صحة الإنسان الناجمة عن استهلاك الخضراوات.

الجدول (61) : معايير جودة المياه بالنسبة للجزيئات التي تطرح من مصانع شركة C.O. ANCA

جزئ مادة التلوث	**التركيز* (ميكروغرام / لتر)**
Naphthalene	**10**
2-Amino-1-naphthalenesulfonic ac.	
2-Amino-6-naphthalenesulfonic ac.	**10**
2-Amino-8-naphthalenesulfonic ac.	
1-naphthalenesulfonic ac.	
2-naphthalenesulfonic ac.	**10**
4-Chloro-2-nitroaniline	
2-Chloro-4-nitroaniline	**10**
o-nitroaniline	

10	p-nitroaniline
	o-Chloroaniline
10	p-Chloroaniline
	3,4-Dichloroaniline
1	2,3-Dichloroaniline
0.1	1,2,4-Trichloroaniline
20	Nitrobenzene
10	Chlorobenzene
	p-Chloronitrobenzene
10	o-Chloronitrobenzene
10	1,2-Dichlorobenzene

* المتشابهات تجمع كمياتها

1- القدرة على إحداث تأثيرات ضارة على النباتات Ability For Damaging Plants:

عند تحديد وتعريف معايير جودة المياه في علاقتها بالحياة المائية فان بيانات السمية عن الطحالب دائما ينظر إليها باهتمام عندما تكون متاحة . فمن المفروض أن مستوى التركيز القادر على حماية الأحياء المائية سيكون قادرا أيضا على حماية المجموع الخضري. لقد قدر وجود معيار جودة المياه على الأحياء المائية من خلال لجنة السمية العامة الايطالية في المدى 0.1- 20 مايكروغرام / لتر .كما وجد أن التركيز السام لمبيدات الأدغال كما هو مدون في المراجع يصل إلى بضع مليغرامات لكل لتر .لقد سجلت حالات سمية قليلة على الطحالب عند مستويات من 10-20 مايكروغرام /لتر والغالبية تحدث سمية عند مستوى مئات من الميكروغرامات . علما بأن المبيدات التي تصرف من المصنع ليست من مجموعة مبيدات الأدغال حيث أن سميتها غير متخصصة.

والجدول (62) يوضح المركبات التي درست مع التأثيرات السامة الملاحظة والتركيزات المرتبطة بالتأثيرات الضارة علما بان جميع الأرقام في الجدول مأخوذة من المراجع وهي أعلى من 1 مليغرام / لتر فيما عدا قيمة واحدة هي 0.35 مليغرام / لتر .

الجدول (62) : سمية المركبات المدروسة ضد الطحالب .

التركيز ملغرام/لتر	نوع السمية	نوع الطحلب	المركب
33	LD50	*Chlorella vulgaris*	Naphthalene
33	LD50	*Chlorella vulgaris*	2-Amino-1-naphthalenesulfonic ac.

33	LD50	*Chlorella vulgaris*	2-Amino-6-naphthalenesulfonic ac.
33	LD50	*Chlorella vulgaris*	2-Amino-8-naphthalenesulfonic ac.
1.7	تثبيط النمو	*Scenedesmus obliquus*	1-naphthalenesulfonic ac.
1.7	تثبيط النمو	*Scenedesmus obliquus*	2-naphthalenesulfonic ac.
24	LD50	*Scenedesmus ponnonic*	4-Chloro-2-nitroaniline
12	LD50	Several	2-Chloro-4-nitroaniline
20 0.35	LD50 LD50	*Microcystis aeruginosa*	o-nitroaniline
-	-	-	p-nitroaniline
-	-	-	o-Chloroaniline
-	-	-	p-Chloroaniline
2.2 3.2	LD50 LD50	*Ssecnedesmus quadrica* *Chlorella spp*	3,4-Dichloroaniline
-	-	-	2,3-Dichloroaniline
1.4	LD50	*Selenastrum Capricornutum*	1,2,4-Trichloroaniline
1.9 33	LD50 LD50	*Microcystis aeruginosa* *Secnedesmus quadrica*	Nitrobenzene
12.5 120	LD50 LD50	*Selenastrum capricorn* *Microcystis aeruginosa*	Chlorobenzene
5.5	LD50	*Secnedesmus quadrica*	p-Chloronitrobenzene
			o-Chloronitrobenzene
2.2	LD50	*Selenastrum capricorn*	1,2-Dichlorobenzene

السمية النباتية Phytotoxicity

معظم بيانات التأثيرات الضارة على النباتات Phytoxicity الموجودة في المراجع تشمل مبيدات الأدغال ، مثال ذلك بيانات الأنواع الحساسة من الخضراوات والمحاصيل والتي توضح أن مدى السمية يقع في حدود مليغرامات لكل لتر مع بعض القيم حول 10-100 مايكروغرام/لتر .

للحصول على فكرة سليمة عن كمية مبيدات الأدغال المستخدمة على المحاصيل ولكي نعمل مقارنة مع تأثير أو حمل الجزيئات الموجودة في الماء خلال الري يمكن عمل حسابات بسيطة .

مثال ذلك مبيد الاترازين المستخدم على المحاصيل كجرعات بحدود 1كغم/هكتار أي حوالي 100ملغرام/متر مربع . إن حساب جرعة ري 5000 م^3/هكتار (وهو يعتبر تركيز عالي من وجهة نظر الكيمياء الزراعية) وتركيز المركب في الماء 20 ميكروغرام / لتر (أعلى قيمة من الجزيئات المدروسة) فان الري قد يحمل 10 مليغرام / كم أي حوالي عشر كمية الاترازين . هذه عادة قيم نظرية لان الجزيئات لا تدمص جميعها على التربة .

بعض النباتات تكون متاحة أمام السمية النباتية لمركب 3 , 4 – دايكلوروانيلين. هذا المركب اقل سمية من مبيدات الأدغال التي اشتقت منها (لينورون- بروبانيل) والتركيز السام على البصل حوالي 20 مليغرام / لتر .

2- كفاءة تثبيط نشاط ميكروبات التربة Inhibiting Efficacy To Soil Microorganisms

الخطر الممكن حدوثه من استخدام ماء نهر بورميدا قد ينجم من تثبيط أو نقص أو تحول في أنشطة ميكروبات التربة . هذه الأنشطة في غاية الأهمية خاصة دورة النيتروجين أو فقدان المواد العضوية .

معظم المركبات الموجودة في الجدول (62)قابلة للانهيار الحيوي ومن ثم يمكن استبعاد احتمال تراكمها في التربة . بعض الجزيئات ذات قابلية عالية للتطاير والآخر له ميل جزئي للتربة ومن ثم يبقى ويظل ثابتا .

بعض المعلومات عن الانهيار الحيوي للمركبات يمكن الحصول عليها من البيانات المتعلقة بالنباتات التي تنقي المياه أو من التجارب الحقلية والمختبرية . فعلى سبيل المثال فان تركيزات 100 ملغرام/لتر من الكلوروبنزين لا تثبط أي نشاط ميكروبي بينما 15 ملغرام/لتر من دايكلوروبنزين يوقف النمو الميكروبي ، أما 5 ملغرام /لتر من مركب 1, 2, 4 دايكلوروبنزين يثبط نشاط ميكروبي في الصرف الصحي . ومركب 4- دايكلوروبنزين على مستوى 100 ملغرام /لتر والنيتروبنزين بتركيز 30 ملغرام /لتر تثبط الانهيار الحيوي .

توضح البيانات المذكورة أعلاه أن التركيزات العالية (ملغرام/لتر أو عشرات الملغرامات/لتر) ضرورية لتثبيط النشاط الميكروبي في التربة . التركيزات القصوى المسموح بها في مدى 0.1 وحتى 20 ميكروغرام/لتر . هذه

المستويات توضح أن تثبيط النشاط الميكروبي يمكن اعتباره غير محتمل الحدوث . يمكن الحصول على تراكم في التربة مع بعض مركبات الكلوروانيلين وذلك بسبب كمياتها الصغيرة وميلها للارتباط على جسيمات التربة ، يمكن القول إن احتمالات إحداثها لأية أخطار مستبعدة.

3- مقدرة التراكم الحيوي في النباتات Bioconcentration Ability In Plants:

إن مشكلة التراكم الحيوي للكيميائيات في الخضراوات ترتبط بشكل تقليدي بوجود مخلفات المبيد في النباتات المعاملة . لتقييد والسيطرة على احتمال وجود المخلفات تم وضع وتطوير قواعد وقوانين تنظيم استخدام المبيدات في الزراعة وكذلك تم تحديد الحدود والتركيزات القصوى من المخلفات المسموح بتواجدها في النباتات المعاملة . لقد برز في السنوات الأخيرة احتمالات تراكم المركبات ومن ضرورة أخذها في الحسبان في ظل التلوث بالمبيدات . ولتقييم هذا الوضع استخدمت وسائل للتنبؤ جنبا إلى جنب مع الاستكشاف الكيميائي. وسوف نتناول فيما بعد وصف بعض المعادلات التي استخدمت للتنبؤ مع ظروف التعريض الناشئة عن استخدام مياه نهر بورميدا .

أ- معدلات التراكم الحيوي Averages Of Bioconcentration :

لقد استخدمت معادلات عديدة لحساب كفاءة التراكم الحيوي في النباتات . المعادلة الأولى افترضت بواسطة Briggs وآخرون 1982 ، وهي تسمح بحساب تركيز المادة الكيميائية في الجذور باستخدام عامل التركيز Root Concentration Factor (RCF) .

$$\text{عامل التركيز الجذري} = \frac{\text{التركيز في الجذور مايكروغرام / غم وزن طازج}}{\text{التركيز في المحلول الخارجي (مايكروغرام/مليمتر)}}$$

عادة هذا العامل لا يعتمد على تركيز المحلول المخفف. المعادلة المقترحة هي :

لوغاريتم (عامل التركيز الجذري -0.82)=0.77 لوغاريتم Kow - 1.52

المعادلة الثانية التي استخدمت لحساب التراكم الحيوي في السيقان مأخوذة من معادلة Briggs وآخرون 1990 . يمكن الحصول على التركيز في الساق من عامل التركيز في الساق RCF كما ياتي :

$$\text{عامل التركيز الجذري RCF} = \frac{\text{التركيز في الساق مايكروغرام / غم وزن طازج}}{\text{التركيز في المحلول الخارجي (مايكروغرام/مليمتر)}}$$

ويوصف من المعادلة الآتية:

RCF=[10 $^{0.95}$لو$_1$ – 2.05 + 0.82] x 0.784 لو$_1$ - [(لو$_1$ – 1.788) / 244]

هنـاك معادلـة أخـرى يمكـن اسـتخدامها لتقدير التـراكم الحيـوي فـي الأوراق خـلال الهواء :

BCF = 0.024 kaw / kow

حيث أن :

Kow = معامل التوزيع الجزئي بين الاوكتانول العادي والماء

Kaw = معامل التوزيع الجزئي بين الهواء والماء

RCF = التركيز في الأوراق (مول/ م^2 وزن طازج) / التركيز في الهواء (مول / م^2)

حيث أن : kaw = H/ RT

هذه المعادلة لم تستخدم في العمل الحـالي لان ظروف التعرض لا يمكن تحديدها كما أن النتائج تصبح عديمة المعنـى . يمكن استخدام المعادلـة فـي مواقف وظروف أخرى أذا كان تركيز الجزئ في الهواء معروفا .

ب- الصفات الطبيعية الكيميائية في الجزيئات وصلاحية تطبيق النموذج :

Physical and Chemical Characters Of Molecules and Model Application

إن المعيـار المطلـوب لحسـاب التـراكم الحيـوي المـؤثر للكيميائيـات فـي الجذور والسيقان يتمثل في معامل التوزيـع الجزئـي بـين الاوكتـانول العـادي والمـاء (kow) ، أخذت هذه القيم من Di Guardo , 1990 . تم استبعاد خمسة مركبـات من القائمـة من الحسـاب بسبب القيم المنخفضـة ممـا يجعلهـا تتفرق علـى درجـة حموضـة البيئـة . لقـد أشـار Briggs 1987 إلـى أن الأحمـاض العضـوية تـدخل الأنسجة النباتية أساسا في صورة غير متفرقة ولكنها أكثر سهولة في الانتقال خلال الأغشـية الحيويـة عمـا هـو الحـال من الايونـات المقابلـة . الجزيئـات الأخـرى مثـل الانيلين لها قيمة لا تسمح لها بتكوين البروتينات على درجة حموضـة البيئـة . لهذا السـبب تـم إدخـال الانيلـين فـي الحسـاب . نتـائج حسـاب معامـل التركيـز الجـذري والساقي في الجدول (63).

التقييم الكامل لظاهرة التراكم الحيوي من جراء الري بمياه نهر بورميدا مع التركيزات القصوى المسموح بها من الجزيئات في المـاء (معـايير جـودة الميـاه كما في الجدول (61) استخدمت مع فرض أن الجذور قد غمست فـي المـاء . إن تأثير مقدرة التربـة علـى الادمصـاص قد تم استبعاده ممـا أدى إلـى وضـع فرضـية

أخرى تتمثل في القابلية الحيوية الكاملة للجزيئات

الجدول (63) : عوامل التركيز الحيوي للجزيئات المدروسة

الجزئ	التركيز الحيوي في الجذر	التركيز الحيوي في الساق
Naphthalene	**11.13**	**3.92**
4-Chloro-2-nitroaniline	**2.16**	**1.32**
2-Chloro-4-nitroaniline	**2.12**	**1.03**
o-nitroaniline	**1.20**	**0.76**
p-nitroaniline	**1.19**	**0.75**
o-Chloroaniline	**1.24**	**0.87**
p-Chloroaniline	**1.34**	**0.87**
3,4-Dichloroaniline	**8.05**	**3.30**
2,3-Dichloroaniline	**8.05**	**3.30**
1,2,4-Trichloroaniline	**58.39**	**6.31**
Nitrobenzene	**1.65**	**1.08**
Chlorobenzene	**5.45**	**2.61**
p-Chloronitrobenzene	**3.75**	**2.01**
o-Chloronitrobenzene	**3.75**	**2.01**
1,2-Dichlorobenzene	**17.17**	**4.74**

المدروسة . لا توجد بيانات متوفرة عن مركب 4- كلورو – 2- نيترو انيلين 2- كلورو – 4 – نيترو انيلين ومع هذا افترضت القيمة 10 مايكروغرام / لتر . حيث أن معيار مجموع قيم المتشابهات اتخذ كأساس ، حيث أن كل مشابه افترض وجوده منفردا بأقصى تركيز داخل الوسط التركيزات المؤثرة المحسوبة في الجذور والسيقان للجزيئات المدروسة موضحة في الجدول (64) .تم استبعاد أحماض النافثالين سلفونيك من الحسابات لنفس الأسباب التي ذكرت أعلاه .

الجدول (64) : التركيز المحسوب في الجذور والسيقان .

الجزئ	الجذور ميكروغرام/كغم	الساق ميكروغرام/كغم	متوسط النبات ميكروغرام/كغم
Naphthalene	**111.3**	**39.17**	**68.02**
4-Chloro-2-nitroaniline	**21.62**	**13.25**	**16.59**
2-Chloro-4-nitroaniline	**21.15**	**13.01**	**16.27**
o-nitroaniline	**12.01**	**7.63**	**9.38**

9.26	7.52	11.88	p-nitroaniline
10.59	8.69	13.44	o-Chloroaniline
10.59	8.69	13.44	p-Chloroaniline
5.2	3.3	8.05	3,4-Dichloroaniline
5.2	3.3	8.05	2,3-Dichloroaniline
2.71	0.63	5.84	1,2,4-Trichloroaniline
25.90	21.14	33.03	Nitrobenzene
37.48	26.05	54.63	Chlorobenzene
27.07	20.13	37.48	p-Chloronitrobenzene
27.07	20.13	37.48	o-Chloronitrobenzene
97.12	47.40	171.70	1,2-Dichlorobenzene

تم حساب التركيز في النبات مع افتراض أن النسبة بين الجذر والساق 40 ، 60 % على التوالي . هذه النتائج يمكن مقارنتها بالبيانات التجريبية عن التركيز الحيوي للنيتروبنزين تحت نفس الظروف الحسابية (محلول بتركيز 20 ميكروغرام/لتر) . النتائج موجودة في الجدول (65) ومنها يتضح وجود فروق عالية نسبيا بين التركيز المحسوب والتجريبي .

الجدول (65): مقارنة بين البيانات المحسوبة والتجريبية فيما يتعلق بالتركيزات الحيوية للنيتروبنزين .

البيانات التجريبية	البيانات المحسوبة	المعايير
2.60	1.65	التركيز الحيوي في الجذر
0.55	1.06	التركيز الحيوي في السيقان
52 ميكروغرام /كغم	33.03 ميكروغرام /كغم	تركيز الجذور
11 ميكروغرام /كغم	21.14 ميكروغرام /كغم	تركيزالسقان
32 ميكروغرام /كغم	25.90 ميكروغرام /كغم	متوسط التركيز

هذا يؤكد فرضية التراكم الحيوي للجزئ في النبات ومن ثم تكون القيم المحسوبة للجزيئات الأخرى واجبة التأكد من خلال البيانات التجريبية .

ب- تقييم السمية من البيانات Toxicity Evaluation From The Data

في الجدول (66) تم وضع بيانات متعلقة بحد التناول اليومي للجزيئات كما هي مدونة في القوائم مع البيانات المحسوبة (المتوسط على النبات) . لقد ثبت أن متوسط التركيز بعيدا بشكل غير كبير عن التناول اليومي المقبول ADI حتى مع استهلاك واحد كيلوغرام من الخضر .

الجدول (66) : مقارنة بين التناول اليومي المقبول ADI ومتوسط قيم التركيز المحسوب لبعض المركبات المدروسة .

جزئ المركب	التركيز في النبات ميكروغرام/كغم	حد التناول اليومي المقبول ميكروغرام /شخص/يوم
Naphthalene	68.02	3.700
1,2,4-Trichloroaniline	2.71	4.000
Chlorobenzene	37.48	18.000
Nitrobenzene	25.90	1.000

هناك بعض البيانات المتوفرة عن الحد الأقصى المسموح بتواجده من مخلفات 3 ، 4-دايكلوروانيلين في الخضراوات في ألمانيا مثل :

الاسبركس 1 ملغم / كغم ، الحبوب 0.2 ملغم/كغم ، الجزر 0.2 ملغم/كغم، أنواع أخرى 0.1 ملغم/كغم.

القيم المحسوبة لمركب 3 ، 4-دايكلوروانيلين هي 5.2 مايكروغرام لكل كغم كما هو واضح في الجدول رقم (63) .

ت- تقييم النتائج Evaluation of The Results :

لقد أمكن وضع بعض الاستنتاجات عن المشكلة الناجمة من تحليل بيانات التأثيرات والتداخلات من جراء استخدام مياه الري من نهر بورميدا كما

يأتي:

ث- أ- التأثيرات الضارة على النبات Phytoxicity :

معظم القيم الخاصة بالتأثيرات الضارة لمبيدات الأدغال على الطحالب عادة في حدود أعلى من 0.1 ملغم/لتر بينما قيم المركبات المدروسة كانت اقل من 1 ملغم/لتر مع استثناء واحد (0.35 ملغم/لتر) . هذه الحقيقة توضح السمية النسبية المنخفضة للمركبات المدروسة على الطحالب ومجتمع الأحياء المائية الخضرية . البيانات الخاصة بسمية مبيدات الأدغال على النباتات الأرضية عادة تتراوح حول 1 ملغم/لتر. بالنسبة للكيميائيات الصناعية المدروسة في هذا المجال على النباتات الراقية فقد افترض أن سميتها لا تمثل أي خطورة لدرجة انه يمكن تجاهلها . المعلومات الوحيدة المتوفرة تتناول 3 ، 4-دايكلوروانيلين في البصل حوالي 20 ملغم/لتر وهي بعيدة عن معايير جودة المياه لنفس المركب (1 مايكروغرام / لتر).

ث-ب- التأثيرات على نشاط ميكروبات التربة Effect Of Soil Microorganism Activity :

بسبب قلة البيانات عن المركبات المدروسة فانه يمكن عمل مقارنات لبعض الأوضاع الخاصة التي يحدث منها تثبيط للبكتريا ومثال ذلك الصرف الصحي والنباتات التي تقوم بالتنقية . التركيزات التي تثبط النشاط الميكروبي تصل لمدى عشرات الملغرامات للتر وكان أكثر المواد فاعلية مركب 1 ، 2، 4-ترايكلوروبنزين (5 ملغم/لتر) .هذه التركيزات عالية بدرجة كبيرة عن الحد الأقصى المسموح به في نهر بورميدا (1 إلى 10 مايكروغرام/لتر).

ث-ت- التراكم الحيوي في الخضراوات Bioconcentration In Vegetables:

التركيزات المحسوبة في النباتات تتراوح بين 10-30 مايكروغرام / لتر مع قيمة قصوى 100 مايكروغرام / لتر بالمقارنة بالحد اليومي للتناول ADI بالملغرامات لكل شخص لكل يوم . هذه القيم تؤكد التعرض القليل جدا الناجم عن التركيز الحيوي للمركب في النباتات .

بعض النواحي مازالت بعيدة عن الحل بسبب قلة المعلومات المتوفرة خاصة مشكلة تلوث الخضراوات بالرائحة والطعم . وهناك مشكلة المخاليط حيث توضح البيانات المتوفرة حدوث تأثير إضافي وليس تنشيطي على الجرعات المنخفضة على الأقل للأحياء المائية .

أمثلة تطبيقية في تقدير متبقيات بعض المبيدات

Applied Examples Of Determination Of Some Pesticides Residues

أولا – تقدير متبقيات مبيدات الكلور العضوية في دم الإنسان

Organochlorine Residues Determination In The Human blood

يتم اخذ عينة الدم من المتبرع وهي بحدود **7**-15 مل ، يتم نقلها إلى قنينة نظيفة ذات غطاء مغلف بالقصدير (ومن الضروري عدم استخدام قناني ذات غطاء بلاستيكي أو مطاطي). يتم حفظ العينة في الثلاجة لمدة نصف ساعة لضمان تخثر العينة ، بعد ذلك توضع في جهاز طرد مركزي لفصل كمية من مصل الدم بحدود 3 مل على الأقل وذلك بتشغيل الجهاز لمدة 10 دقائق على سرعة 2500 دورة في الدقيقة . وفي حالة عدم تحليل العينة مباشرة تخزن على درجة حرارة 2-5ْم في الثلاجة وإذا كانت عملية التحليل ستتم بعد عدة أيام فتخزن في مجمدة تحت درجة حرارة بين -15ْم إلى -25ْم .

طريقة العملٍ:

1- امزج عينة مصل الدم بصورة جيدة وبواسطة الماصة انقل 2 مل منها إلى أنبوبة اختبار.

2- أضف 6 مل هكسان ثم سد فتحة الأنبوبة بغطاء مغلف بورق قصدير .

3- ضع الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي على سرعة 1500 دورة في الدقيقة ولمدة ساعتين .

4- انقل بعد ذلك 5 مل من مستخلص الهكسان إلى أنبوبة اختبار أخرى سعة 10 مل .

5- ضع الأنبوبة في حمام مائي على درجة حرارة 100ْم إلى أن يصبح الحجم المتبقي في الأنبوبة بحدود 1-1.5 مل .

6- اترك الأنبوبة بعد ذلك لتبرد ثم اغسل جوانب الأنبوبة بقليل من الهكسان .

7- أغلق الأنبوبة ثم ضعها على خلاط بسرعة عالية لمدة 30 دقيقة .

8- بعد ذلك تكون العينة جاهزة للحقن في جهاز الكروماتوغرافي السائل .

9- يتم إجراء نفس الخطوات السابقة على عينة دم ثانية تحتوي على كمية معلومة من احد مبيدات الكلور العضوية .

الحسابات :

لتحديد كمية الكلور العضوية الموجودة في عينة الدم يمكن أتباع المعادلة الآتية:

$$PpB = ABX \quad x \quad 0.6 \ / \ CY$$

حيث أن:

ppB = جزء في البليون.

A = كمية المبيد بالنانوغرام في قمة منحنى العينة القياسية .

B = ارتفاع قمة المنحنى للعينة .

C = ارتفاع قمة المنحنى للعينة القياسية .

X = الحجم النهائي للمستخلص مقدرا بالميكروميللتر .

Y = حجم المستخلص بالميكروميللتر الذي حقن في الجهاز .

مثال ذلك :

A = 0.3

B = 80 mm

C = 90 mm

X = 1000 ml

Y = 5 ml

Ppb = (0.3 x 80 x 1000) x 0.6 / (90 x 5) = 32 ppb

ثانيا– تقدير متبقيات مبيد الكيبون Kepone في البيئة

Kepone Determination In Environment

يتم اخذ العينات من الماء والتربة وغيرها من عناصر البيئة وتوضع في قناني نظيفة أعدت لهذا الغرض ويفضل خزن العينات في الثلاجة لحين القيام بعملية التحليل.

أ : تقدير الكيبون في الماء Kepone Determination In Water.

1- انقل 50 مل من عينة الماء بعد رجها بصورة جيدة إلى قمع فصل سعة 125 مل ثم أضف 5 مل من البنزين .

2- أغلق قمع الفصل ثم رج محتوياته لمدة دقيقتين إلى أن يحدث فصل بين الماء والبنزين ، بعد ذلك يتم سحب طبقة الماء في اسطوانة مدرجة سعة 50 مل .

3- يتم إمرار طبقة البنزين خلال كمية صغيرة من حبيبات كبريتات الصوديوم في أنبوبة طرد مركزي سعة 15 مل .

4- يتم إعادة طبقة الماء إلى قمع فصل آخر وغسل الاسطوانة بـ 2.5 مل من البنزين ثم أضافته إلى قمع الفصل أيضا .

5- كرر الخطوتان 2 ، 3 مرة أخرى ، بعدها تخلص من الماء بعد أن تم سحب

جميع متبقيات الكيبون منه .

6- يتم تركيز المستخلص في أنبوبة طرد مركزي تحت تيار من النيتروجين إلى أن يصبح حجم المستخلص بكمية مناسبة للحقن في جهاز الكروماتوغرافي الغازي السائل .

7- يتم تقدير كمية الكيبون بحقن 5 مايكروليتر في جهاز الكروماتوغرافي الغازي السائل .

ب :تقدير الكيبون في التربة Kepone Determination In Soil.

1- يتم خلط العينة بصورة جيدة وتجفف بتعريضها للهواء في زجاجة ساعة .

2- يتم اخذ 20 غم ويستخلص باستخدام الـ Soxhlet لمدة 16 – 18 ساعة مع 300 مل من خليط Methanol – Benzene .

3- يسخن المستخلص لاختزال حجمه إلى 75 مل .

4- ينقل المستخلص إلى دورق سعة 100 مل ويكمل الحجم بالبنزين .

5- يتم تقدير كمية الكيبون بحقن كمية من المستخلص في جهاز الكروماتوغرافي الغازي السائل .

ثالثا– تقدير متبقيات الملاثيون بطريقة لونية

Malathion Determination By color

تعتمد هذه الطريقة على تحلل جزيئات الملاثيون عند تفاعلها مع هيدروكسيد الصوديوم المذاب في كحول الـ Ethyl وكما يأتي :

Malathion O,O-Dimethyl S-[1,2-di O,O dimethyl (ethoxycarboxyl)] phosphorodithioate —NaOH / كحولي⟶ Sodium Fumonate + Sodium Phosphorodithioate

حيث أن المشتق الصوديومي الناتج يمكن تحويله إلى مركب مزدوج مع النحاس القابل للذوبان في رابع كلوريد الكربون وله لون اصفر يتناسب مع التركيز وبذلك يمكن تقدير الملاثيون الموجود في عينة مجهولة بقراءة الكثافة اللونية للمحلول ثم تستخرج قيمة تركيز المادة النقية من الملاثيون المقابلة لهذه الكثافة اللونية باستخدام المنحنى القياسي .وكما يلي :

1- ضع 10- 15 غم من المادة الفعالة للملاثيون في دورق سعة 750 مل .

2- أكمل الحجم إلى 250 مل باستخدام كحول ايثايل لا مائي ورجه بصورة جيدة .

3- انقل 25 مل من المحلول بواسطة ماصة إلى دورق سعة 250 مل ثم أكمل الحجم بواسطة كحول ايثايل لا مائي مع الرج الجيد .

4- انقل 25 مل منه إلى قمع فصل سعة 250 مل ثم أضف 2 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم عياريه 0.5 مع الرج الخفيف المستمر ثم اترك المحلول لمدة دقيقتين .

5- أضف 75 مل من محلول كلوريد ألحديديك مع الرج الجيد ثم اترك القمع لمدة 5 دقائق

6- أضف 50 مل من رابع كلوريد الكربون ثم 2 مل من كبريتات النحاس تركيز 1% . رج المزيج لمدة دقيقة ثم اترك الطبقات لتنفصل في القمع .

7- يتم بعد ذلك اخذ أحجام من محلول رابع كلوريد الكربون كمزدوج النحاس ذي اللون الأصفر وتقدر كثافته اللونية باستخدام جهاز Spectrophotometer.

8- من المنحنى القياسي (لمبيد الملاثيون النقي) يتم تحديد كمية الملاثيون التي تقابل درجة الكثافة اللونية للعينة المجهولة .

رابعا – تقدير D.D.T بطريقة الكلورين الكلي

D.D.T Determination By Total Chlorine

لا تستخدم في تقدير متبقيات المبيدات وإنما فقط عندما تكون عينة فيها تركيز معين، كان يراد قياس 50% من D.D.T حيث أن حساسيتها ضئيلة لذا لا تستخدم لتقدير الكميات الضئيلة جدا وإنما تكون للتركيزات العالية (طريقة فولهارد) .

يتم التقدير على مرحلتين :

1- الاستخلاص باستخدام طريقة ايزوبروبيلات الصوديوم Sodium isopropylate، في هذه الطريقة يتم معاملة المبيد بمعدن الصوديوم ثم تسخن تحت مكثف عاكس لإتمام عملية الهضم مع كحول الايزوبروبيل لينطلق الكلورين بصورة حرة . وكما يلي :

– يؤخذ نصف غرام من العينة (السطح المعامل بالمبيد) وينقل كميا باستخدام 50 مل من كحول الايزوبروبيل 99% إلى دورق مصنفر (فوهته خشنة) . أضف 2.5 غم من معدن الصوديوم النقي بعد تقطيعه مع الرج .

– اغلي المحلول لمدة ساعة تحت مكثف عاكس مع إضافة كمية أخرى من معدن الصوديوم إذا احتاج الأمر ورج الدورق من حين لآخر .

– برد ثم أضف ببطء 10 مل من كحول الايزوبروبيل 50% خلال المكثف العاكس بمعدل 1-2 نقطة / ثانية حتى تتخلص من معدن الصوديوم الزائد .

- اغلي المخلوط ثم أضف 2-3 نقطة من دليل الفينول نفثالين ثم عادل المخلوط بواسطة حامض النتريك المخفف (6 عياري) حتى يختفي لون الدليل وبعد انتهاء التعادل أضف (1) مل من الحامض زيادة .

2- تقدير الكلورين المنفرد بطريقة فولهارد : يعتمد أساس تقدير الكلورين بهذه الطريقة على إضافة كمية معلومة الحجم والعيارية من $AgNO_3$ تكفي لترسيب الكلورين وزيادة ، مكونة AgCl ثم تقدر الزيادة من $AgNO_3$ باستخدام محلول معلوم العيارية من ثايوسيانات الامونيوم . وكما يلي :

- أضف إلى المستخلص الكلوريني(5 مل) كمية تكفي للترسيب وزيادة من محلول نترات الفضة (0.1 عياري) (15 مل من نترات الفضة).
- أضف إلى المحلول 3 مل من حامض النتريك المخفف (6 عياري).
- أضف 3 مل من نيتروبنزين مع الرج لمدة 15 ثانية بشدة .
- أضف 2 مل من دليل شب الحديد .
- عاير الزيادة من نترات الفضة باستخدام محلول ثايوسيانات الامونيوم (0.1 عياري) لاحظ بدقة نقطة النهاية إذ يكون لونها بني محمر .
- احسب النسبة المئوية للكلورين في العينة من المعادلة التالية :

%Chlorine = [(Am x An) - (Bm x Bn)] x 3.546 / W

حيث أن :

Am = حجم محلول نترات الفضة .

An = عيارية نترات الفضة .

Bm = حجم ثايوسيانات الامونيوم .

Bn = عيارية ثايوسيانات الامونيوم .

W = وزن العينة (0.5 غم) .

%Chlorinated insecticide = %Chlorine x Mw / N x 35.46

N = عدد ذرات الكلور في جزيئة D.D.T = 5

Mw=الوزن الجزيئي لـ D.D.T = 355

خامسا – تقدير مبيد Fenthion (مبيد فسفوري)

Fenthion Determination

الجهاز المستخدم Spectronic 2D ، يحتوي على خلية ضوئية (كما مر سابقا)، يوضع المبيد في أنبوبة في الجهاز وبواسطة حزمة ضوئية موجهة خلال

الأنبوبة يحصل امتصاص لجزء من الضوء ونفاذ الجزء الآخر . وتختلف المواد في قابلية امتصاصها للضوء على نوعية المادة وتركيزها . كل مادة تحتاج إلى ضوء بطول موجي معين ، فالمبيدات الفسفورية يتم تقديرها عند طول موجي مقداره 520 ملي مايكرون والمادة الموجود فيها المبيد لها تأثير على التفاعل .

نأخذ أولا قراءة للمادة التي يذوب فيها المبيد على اعتبار أنها تسمح بمرور كامل للحزمة الضوئية . أي أن الكثافة الضوئية لهذه المادة تساوي صفر ثم بعد ذلك يؤخذ القراءات المختلفة لمحلول المبيد .

طريقة العمل :

- عمل منحنى قياسي للمبيد الفسفوري Fenthion.
- يؤخذ تراكيز متدرجة من المبيد في الأسيتون ، يبخر الأسيتون في حمام مائي .
- بعد تبخير الأسيتون يضاف (0.2 مل من Paranitro benzyl pyridine تركيزها 2% في الأسيتون مع 0.2 مل من مادة Cyclo hexyl amine تركيزها 2% في الأسيتون)
- يوضع في حمام زيتي لمدة 3 دقائق على درجة حرارة 175-180ْم ثم يبرد .
- يضاف خلات الايثايل لعمل حجم نهائي مقداره 3 مل .
- يقاس اللون عند طول موجي مقداره 520 ملي مايكرون وذلك خلال 10 دقائق ، ويكون الـ blank خلات الايثايل (البلانك يسمح 100% للضوء بالمرور).

سادسا تقدير مبيد التديون

Tedion Determination Tedion

يقدر بالطرائق اللونية ، إذ يقاس عند طول موجي مقداره 520 ملي مايكرون إذ يتكون اللون بسبب عملية Nitration للمركب ثم يضاف محلول Pyridine و KOH فيتكون لون احمر يقاس على طول موجي 520 ملي مايكرون .

خطوات العمل :

- نأخذ عينة تحتوي 5-50 مايكروغرام مبيد . توضع التركيزات المختلفة في بيكرات مختلفة سعة 50 مل .
- يضاف 5 مل من محلول لانولين (1غم /100مل كلوروفورم لكي يكون غشاء رقيق على المبيد لمنع التطاير) ومن ثم يبخر في الهواء .
- نبرد في حمام ثلجي ثم يضاف 3 مل من مخلوط Nitration البارد (حامض

خليك مدخن + حامض كبريتيك مركز بنسبة 2:1) ويجب أن تبلل هذه الكمية كل قاع البيكر لضمان حصول نترتة كاملة للمبيد . يستمر وضع البيكر في حمام ثلجي لمدة 5 دقائق ثم على حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة .

- يوضع ألكاس في حمام مائي على درجة 20-25ْم ثم ترفع الحرارة تدريجيا حتى 90 ْم في خلال نصف ساعة .نواصل عملية Nitration على درجة الحرارة 90ْم لمدة 45 دقيقة ثم نبرد ثانية في حمام ثلجي ، ثم تنقل محتويات الكأس إلى قمع فصل سعته 250 مل ويستخدم بعملية النقل ماء مقطر بارد لكي لا يحصل فوران مع الحامض لغاية ما يصل حجم الجزء المنقول 50-60 مل ويتم ذلك على دفعات في حدود 10-15 مل .
- يضاف 18 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم 33% وتمزج لمدة دقيقتين لذا فان هيدروكسيد البوتاسيوم يعادل الحموضة الموجودة لذا يصبح الوسط قلوي .
- نضيف 25 مل من الكلوروفورم بالضبط وتكون الكمية محدودة لان النسب يرجع إليها فيما بعد ، يفضل أولا وضع **25** مل في البيكر الأول ثم ينقل إلى قمع الفصل للتأكد من بقاء أي مادة منه .
- يرج القمع بشدة ثم ينتظر لحين تكوين سطح انفصال .
- تفصل طبقة الكلوروفورم الرائقة وتمرر على ورقة ترشيح صغيرة (لامتصاص أي قطرة ماء تنزل مع الكلوروفورم) . ينقل 25 مل إلى البيكر الصغير مع احتراس نزول أي جزء من الماء معها .
- نأخذ 20 مل بالضبط من هذه الكمية وينقل إلى دورق سعة 25 مل ثم يبخر حتى الجفاف على حمام بخار للتخلص من أي آثار من الكلوروفورم والذي يسبب وجوده خطا في تقدير اللون .
- يبرد على حرارة الغرفة ثم يتم تكوين اللون بإضافة 10 مل من البريدين 96% (46% ماء) ثم يغطى البيكر بزجاجة ساعة ثم يسخن في حمام بخاري لمدة نصف ساعة على درجة حرارة 80ْم ، ثم يرج البيكر بين وقت وآخر لكي يتم الاختلاط .
- نبرد على درجة حرارة الغرفة ثم نضيف 2 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم ونرج لمدة 2-5 دقيقة فيتكون اللون الأحمر .
- يقرا على طول موجي مقداره 520 ملي ميكرون إذ يكون هذا اللون ثابت لمدة نصف ساعة إذ يعطي نفس القراءة لو أعيدت خلال هذا الوقت .

مثال :

تم رش محصول خضر بتركيز 0.002 من مبيد فوليثين ثم أخذت عينة مقدارها 100 غم من أوراق الخضر المرشوشة واستخلصت بالكلوروفورم 200

مل، وتم الاستخلاص . ثم أخذت كمية 200 مل وتم تبخيرها إلى أن أصبح الحجم 2 مل من المستخلص المركز ثم أجريت عملية التنظيف للمستخلص المركز بطريقة عمود الكروماتوغرافي (شاركول سيليت 1: 9) وبذلك أمكن الحصول على المبيد النقي مذاب في 50 مل بنزين . ثم اخذ من هذه الكمية 5 مل لتقدير اللون بطريقة Getz . احسب التركيز للمبيد على الأوراق بوحدات جزء/مليون ، علما بان قيمة k = 0.009 و O.D= 0.18 (الكثافة الضوئية) .

الحل :

التركيز = الكثافة الضوئية / الثابت .

= 0.009/0.18 = 20 مايكروغرام وجدت في 5 مل من المحلول الذي حجمه 50 مل .

الحجم (مل)	المبيد (مايكروغرام)
5	20
50	س

س= 50 x 20 /5 = 200 مايكروغرام في 50 مل مستخلص البنزين والذي يمثل 20 مل من المستخلص الكلوروفورمي (والذي مجموع حجمه 200 مل).

إذن كمية المبيد في 200 مل من المستخلص الكلوروفورمي هي :

الحجم (مل)	المبيد (مايكروغرام)
20	200
200	س

س= 200 x 200 /20= 2000 مايكروغرام في المستخلص الكلوروفورمي المأخوذ من 100 غم من أوراق الخضر .

بما أن الغرام = 1000000 مايكروغرام .

إذن 100 غم نبات = 100 x 1000000 =100 000 000 مايكروغرام

إذن :

كمية النبات (مايكروغرام)	المبيد (مايكروغرام)
100000000	200
1000000	س

س= 1000000 x 2000 /100000000= 20 جزء في المليون تركيز المبيد على الاوراق .

الملاحــــــق

ملحق (1)

الأوزان والإعداد الذرية للعناصر الداخلة في التركيب الكيميائي للمبيدات

الوزن الذري	العدد الذري	الرمز	العنصر
26.97	13	Al	Aluminum
74.91	33	As	Arsenic
137.36	56	Ba	Barium
10.82	5	B	Boron
79.916	35	Br	Bromine
40.08	20	Ca	Calcium
12.01	6	C	Calcium
35.457	17	Cl	Chlorine
52.51	24	Cr	Chromium
63.54	27	Co	Cobalt
19	9	F	Fluorine
4003	2	He	Helium
1008	1	H	Hydrogen
126.92	53	I	Iodine
55.85	26	Fe	Iron
207.21	82	Fb	Lead
24.32	12	Mg	Magnesium
54.93	25	Mn	Manganese
200.61	80	Hg	Mercury
58.69	28	Ni	Nickel
14.008	7	N	Nitrogen
16	8	O	Oxygen
30.98	15	P	Phosphorous
195.23	78	Pt	Platinum
39.06	19	K	Potassium
87.96	34	Sc	Selenium
28.06	14	Si	Silicon
107.88	47	Ag	Silver
22.997	11	Na	Sodium
65.38	3	Zn	Zinc

ملحق (2)

بعض التحويلات المفيدة

غرام واحد	= 0.035	من الاونس
كيلو غرام واحد	=2.2	باوند او لبرة
الطن المتري	=1000 كيلوغرام	=2205 باوند
الهكتار	=5.2 اكر	=1000 متر
المتر	=39.4 انج	= 100 سنتمتر
الكيلومتر	=0.6 ميل	=1000 متر
الكيلوغرام	=1000 غرام	=2.2 باوند
الغرام	=1000 مليغرام	=0.035 أونس
اللتر	=1000 مليتـــــر او سم^3	=1.058 كوارت
مليتــــر او الســـــنتمتر المكعب	=0.034 من الاونس السائل	
مليتــــر او الســـــنتمتر المكعب	= غرام واحد	
لتر واحد من الماء	= كيلوغرام واحد	
الباوند الواحد	=453.6 غرام	
الاونس الواحد	=28.35 غرام	
جـزء واحـد بـالمليون 1 ppm	= مليغرام / لتر	
	= مليغرام/ كيلوغرام	
	= 0.0001 %	
	= 0.013 اونـس فـي 100 غالون ماء	
1% = 10.000	جزء بالمليون	
= 10	غرام/ لتر	
= 10	غرام/ كيلوغرام	
= 1.33	اونس/ غالون ماء	
= 8.34	باونـــد/ 100 غـــالون ماء	

%0.1 = 1000	جزء بالمليون	= 1000 مليغرام/ لتر
%0.01 = 100	جزء بالمليون	= 100 مليغرام/ لتر
%0.001= 10	جزء بالمليون	= 10 مليغرام/ لتر
%0.0001= 1	جزء بالمليون	= 1 مليغرام/ لتر

وحدات قياس الاوزان

الغرام	= 1000 مليغرام
المليغرام	= 1000 مايكروغرام
المايكروغرام	= 1000 نانوغرام
النانوغرام	= 1000 بيكوغرام
الاونس	=28.35 غرام
الرطل او اللبرة او الباوند	=16 اونس = 453.59 = 0.454 كيلوغرام الكيلوغرام= 2.2 رطل او باوند= 1000 غرام
وحدات قياس الأطوال	
المتر = 100 سنتمتر =	1.094 ياردة = 3.281 قدم = 39.37 بوصة
الكيلومتر =1000م	=0.621 ميل
الميل = 1760 ياردة	= 5280 قدم
الياردة = 3 اقدام	= 91.44 سم
القدم = 12 بوصة	= 30.48 سم
البوصة = 2.54 سم	
وحدات قياس المساحة	
البوصة المربعة	= 6.45 سنتمتر مربع
القدم المربع	= 929 سنتمتر مربع
الياردة المربعة	= 9أقدام مربعة
المتر المربع	=10.76 قدم مربع = 1.196 ياردة مربعة
الكيلومتر المربع	= 0.386 ميل مربع
الميل المربع	= 2.59 كيلومتر مربع
الهكتار	= 1000 متر مربع = 2.47 ايكر
الايكر	= 4047 متر مربع = 43.56 قدم مربع
الدونم	= 2500 متر مربع

وحدات قياس الحجوم

البوصة المكعبة = 16.39 سنتمتر مكعب

القدم المكعب = 28.320 سنتمتر مكعب

الياردة المكعبة = 0.7646 متر مكعب

السنتمتر المكعب= 0.061 بوصة مكعبة

المتر المكعب= 53.31 قدم مكعب

المتر المكعب=264.2 غالون امريكي

وحدات قياس السوائل

اللتر= 1000سم^3

اللتر=1.075 كوارت=2.113 باينت

الكوارت quart= 32 أونس=0.95 لتر

الباينت=16 اونس=0.475 لتر

الاونس السائل=29.57 سم^3

الغالون الامريكي=3.785 لتر =8.34 رطل ماء

الغالون الانكليزي=4.546 لتر=10 رطل ماء

البوشل Bushel =35.238 لتر

ملعقة شاي = سنتمتر مكعب

ملعقة كوب=5 سنتمتر مكعب

ملعقة طعام= 10 سنتمتر مكعب

كوب كبير=180 سنتمتر مكعب

كوب صغير=90 سنتمتر مكعب

استكان شاي=60 سنتمتر مكعب

ملحق (3)

بعض التحويلات القياسية المفيدة في مجال استخدام المبيدات

التحويل من	إلى	اضرب في
الاكر	قدم مربع	43560
الاكر	متر مربع	4047
الاكر	ميل مربع	0.0016
الاكر	ياردة مربعة	4840
اكر قدم	قدم مكعب	43560
اكر قدم	متر مكعب	1233.48
برميل زيت	غالون	42
سنتمتر	بوصة	0.3937
سنتمتر	متر	0.01
سنتمتر	مليمتر	10
سنتمتر زئبقي	كيلوغرام/م^2	136
سنتمتر زئبقي	باوند/قدم^2	27.85
سنتمتر زئبقي	باوند/ بوصة مربعة	0.1934
سنتمتر/ثانية	قدم/ ثانية	0.0328
سنتمتر/ثانية	كيلومتر/ ساعة	0.063
سنتمتر/ثانية	متر/ دقيقة	0.6
سنتمتر/ثانية	ميل / ساعة	0.0224
سنتمتر/ثانية	ميل/ دقيقة	0.004
ياردة مكعبة	قدم مكعب	27
ياردة مكعبة	متر مكعب	0.7645
ياردة مكعبة	بوصة مكعبة	46.656
ياردة مكعبةغالون	غالون	202
ياردة مكعبة	لتر	764.5
ياردة مكعبة	باينت سائل	1616
ياردة مكعبة	كوارت سائل	807.9
ياردة مكعبة/ دقيقة	قدم مكعب/ ثانية	0.45
ياردة مكعبة/ دقيقة	غالون / ثانية	3.367
قدم	سنتمتر	30.48
قدم	بوصة	12
قدم	متر	0.3048
قدم	ياردة	0.3333
قدم/ دقيقة	سنتمتر / ثانية	0.5080
قدم/ دقيقة	كيلومتر/ ساعة	0.0183
قدم/ دقيقة	متر/ دقيقة	0.3048
قدم/ دقيقة	ميل/ ساعة	0.0114
قدم/ ثانية	سنتمتر/ ثانية	30.48
قدم/ ثانية	كيلومتر/ ساعة	0.097
قدم/ ثانية	متر/ دقيقة	18.29
قدم/ ثانية	ميل/ ساعة	0.6818

قدم/ ثانية	ميل/ دقيقة	0.114
غالون	سنتمتر مكعب	3785
غالون	قدم مكعب	0.1337
غالون	بوصة مكعبة	231
غالون	متر مكعب	0.0038
غالون	لتر	3.785
غالون	باينت سائل	8
غالون	كوارت سائل	4
غالون امريكي	غالون	0.8327
غالون	غالون امريكي	1.2009
غرام	اونس	0.0332
غرام	باوند	0.0022
غرام/ سم^3	باوند/ بوصة مكعبة	0.0361
بوصة	سنتمتر	2.540
بوصة -زئبقية	كيلوغرام/متر مربع	345.3
بوصة-زئبقية	باوند/ مقدم مربع	70.73
كيلوغرام	باوند	2.205
كيلومتر	قدم	3.281
كيلومتر	متر	1000
كيلومتر	ياردة	1094
كيلومتر/ ساعة	قدم/ دقيقة	54.68
لتر	قدم مكعب	0.0353
لتر	بوصة مكعبة	61.02
لتر	متر مكعب	0.0010
لتر	غالون	0.2643
لتر	باينت سائل	2.113
لتر	كوارت سائل	1.507
متر	قدم	3.281
المتر	بوصة	39.37
المتر	كيلومتر	0.001
المتر	ياردة	1.094
المتر/دقيقة	قدم/ دقيقة	3.281
سنتمتر مكعب	قدم/ مكعب	3.531×10^{-5}
سنتمتر مكعب	بوصة مكعبة	0.0610
سنتمتر مكعب	متر مكعب	1×10^{-6}
سنتمتر مكعب	ياردة مكعبة	1.3079×10^{-6}
سنتمتر مكعب	غالون	2.642×10^{-4}
سنتمتر مكعب	لتر	0.0010
سنتمتر مكعب	باينت Pint	0.0021
سنتمتر مكعب	كوارت سائل Quart	0.0011
قدم مكعب	بوصة مكعبة	1728
قدم مكعب	متر مكعب	0.0283
قدم مكعب	غالون	7.4805

قدم مكعب	لتر	28.32
قدم مكعب	باينت سائل Pint	59.84
قدم مكعب	كوارت سائل Quart	29.92
قدم مكعب/ دقيقة	غالون/ ثانية	0.1247
قدم مكعب/ دقيقة	لتر/ ثانية	0.4719
قدم مكعب/ ثانية	غالون/ دقيقة	448.831
بوصة مكعبة	قدم مكعب	0.0005787
بوصة مكعبة	متر مكعب	1.6378×10^{-5}
بوصة مكعبة	ياردة مكعبة	2.1433×10^{-5}
بوصة مكعبة	غالون	0.04329
بوصة مكعبة	لتر	0.0164
بوصة مكعبة	باينت سائل	0.0346
بوصة مكعبة	كوارت سائل	0.0173
متر مكعب	سنتمتر مكعب	1×10^{6}
متر مكعب	قدم مكعب	35.31
متر مكعب	ياردة مكعبة	1.308
متر مكعب	بوصة مكعبة	61023
متر مكعب	غالون	264.2
متر مكعب	لتر	1000
متر مكعب	باينت سائل	2113
متر مكعب	موارت سائل	1057
متر/دقيقة	كيلومتر/ساعة	0.06
متر/دقيقة	ميل/ ساعة	0.0373
متر/ثانية	قدم/دقيقة	196.8
متر/ثانية	قدم/ثانية	3.281
متر/ثانية	كيلومتر/ساعة	3.6
متر/ثانية	ميل/دقيقة	0.03728
مايكرون	متر	1×10^{6}
ميل	قدم	5280
ميل	كيلومتر	1.609
ميل	ياردة	1760
ميل/ساعة	سنتمتر /ثانية	44.7
ميل/ساعة	قدم/دقيقة	88
ميل/ساعة	قدم/ دقيقة	1.467
ميل/ساعة	كيلومتر/ساعة	1.609
ميل/ساعة	متر/دقيقة	26.82
ميل/دقيقة	سنتمتر/ثانية	2682
ميل/دقيقة	قدم/ثانية	88
ميل/دقيقة	كيلومتر/دقيقة	1.609
ميل/دقيقة	ميل/ ساعة	60
مليغرام	غرام	0.001
مليمتر	سم	0.1
مليلتر	لتر	0.001

مليمتر	بوصة	0.0394
الاونس	باوند	0.0625
الاونس	طن متري	2.8349×10^{-5}
باوند	اونس	16
باوند/ بوصة مكعبة	باوند/ قدم مكعب	1728
باوند/ قدم	كيلوغرام/ متر	1488
باوند/ قدم مربع	كيلوغرام/ متر مربع	4.882
سنتمتر مربع	قدم مربع	0.0011
سنتمتر مربع	بوصة مربعة	0.1550
سنتمتر مربع	متر مربع	0.0001
سنتمتر مربع	مليمتر مربع	100
قدم مربع	اكر	2.2957×10^{-5}
قدم مربع	سنتمتر مربع	929
قدم مربع	بوصة مربعة	144
قدم مربع	متر مربع	0.0929
قدم مربع	ميل مربع	3.5870×10^{-8}
قدم مربع	ياردة مربعة	0.1111
بوصة مربعة	سنتمتر مربع	6.452
بوصة مربعة	قدم مربع	0.0069
كيلومتر مربع	اكر	247.1
كيلومتر مربع	قدم مربع	1×10^{6}
كيلومتر مربع	ميل مربع	0.3861
كيلومتر مربع	ياردة مربعة	1.1960×10^{6}
متر مربع	قدم مربع	10.76
ميل مربع	اكر	640
ميل مربع	كيلومتر مربع	2.590
ميل مربع	ياردة مربعة	3.0976×10^{6}
مليمتر مربع	بوصة مربعة	0.0016
مليمتر مربع	سنتمتر مربع	1.01
ياردة مربعة	قدم مربع	9
ياردة مربعة	متر مربع	0.8361
ياردة مربعة	ميل مربع	32283×10^{-7}
طن متري	كغم	1000
طن متري	باوند	2205
ياردة	سنتمتر	91.44
ياردة	قدم	3
ياردة	بوصة	36
ياردة	متر	0.9144

المراجــع

المراجع العربية

إبراهيم ، بسام يحيى (1996) دراسة مرضية وسمية الفطر ***Alternaria citri*** *في الحمضيات* .أطروحة ماجستير ، جامعة الموصل كلية الزراعة والغابات.

أبو بكر ، صدر الدين نور الدين (2000). الآفات الزراعية وأسس مكافحتها. مطبعة أوفسيت أربيل ، جمهورية العراق.

أبو الحب ، جليل ، 1982 الحلم الضار بالنباتات الاقتصادية ، الجزء الأول ، مطبعة جامعة بغداد ، العراق .

أبو الحب ، جليل ، 1987 ، القوارض أضرارها ومكافحتها . مركز بحوث الوقاية ، الهيئة العامة للبحوث الزراعية التطبيقية ، بغداد ، العراق.

احمد ، جاسم محمد ، خالد حسن طه (1987) دراسات على تبقع أوراق اللوبيا الالترناري في نينوى ،العراق ، مجلة زراعة الرافدين 19(2) : 323-336.

أمين ، عادل حسن ، نزار مصطفى الملاح وسهل كوكب الجميل ، 1987 دراسة حياتية مع المكافحة للبزاق البني المرقط . مجلة وقاية النيات العربية 5:31-34.

أمين ، عادل حسن ، نزار مصطفى الملاح ، سهل كوكب الجميل ، 1988 ، حصر لأنواع البزاقات في منطقة الموصل مع دراسة حياتية للبزاق المخطط . مجلة زراعة الرافدين ، 20(3) : 355-362.

البطش ، محمد وليد ، خالد العجلوني (1994) دليل استخدام الحاسوب في التحليل الإحصائي (الرزمة الإحصائية sas) الجامعة الاردنيه-كلية العلوم التربوية .

بهجت ، إحسان محمد و عزيزة موسى شعبان (1985): الكيمياء السريرية . مطبعة مؤسسة المعاهد الفنية / بغداد .

الجابري ، إبراهيم عبد الرسول (1987) أسس مكافحة الآفات ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة الموصل.

الجبوري ،عبد الرزاق يونس احمد (1997) التقييم الحيوي لمستخلصات بعض النباتات الطبية في حشرة خنفساء الحبوب الشعرية .أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل كلية الزراعة والغابات.

الجبوري ، عبد الرزاق يونس احمد (2002)تعديل طريقة متكالف لتقدير التأثير التآزري للمبيدات . مجلة تكريت للعلوم الزراعية 2(1):74-82.

الجبوري ، عبد الرزاق يونس احمد (2005) توحيد معادلات حساب تراكيز المبيدات.بحث غير منشور.

الجبوري ، عبد الرزاق يونس احمد (2006) تحديد صفة الحساسية للحشرات من خلال صفة المقاومة .بحث غير منشور.

جرجيس ، سالم جميل ، عبد الرزاق يونس الجبوري (1999) دراسة مقارنة لأهم طريقتين من طرائق تقويم سمية المبيدات . مجلة الزراعة العراقية 4(8): 71-77.

جرجيس ، سالم جميل ، نزار مصطفى الملاح وسعاد ارديني عبد الله ، 1986 ، تحديد مصدر الإصابة بحشرة خنفساء الجلود واختيار أفضل المبيدات لمكافحتها في محافظة نينوى ، مجلة زراعة الرافدين 18 (1) 151-160.

حساوي ، غانم سعد الله وباقر عبد خلف ، 1982 ، الأدغال وطرائق مكافحتها مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .

الخياط ، علي عبدالعزيز ، حنيفة مرسي ، عيسى شحاته و عبدالرزاق عبداللطيف (بدون تاريخ) علم الأدوية والسموم البيطرية،العراق– وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .

داؤد ، عواد شعبان ، حمزة كاظم عبيس ونزار مصطفى الملاح ، 1986 ، دراسات على تأثير بعض مبيدات البيريثرويدات المحضرة صناعياً ضد حشرة الأرضة مع إشارة إلى حساسية بعض الأصناف الخشبية . مجلة زراعة الرافدين 18(1) : 161-170.

داؤد ، عواد شعبان ، عمر فوزي عبد العزيز ، ونزار مصطفى الملاح ، 1991 دراسة تأثير بعض الزيوت المتطايرة والثابتة المستخلصة من بعض النباتات في خنفساء اللوبيا الجنوبية ، مجلة زراعة الرافدين ، 23(2) : 179-185.

داؤد ،عواد شعبان ، نبيل عزيز قاسم ، نزار مصطفى الملاح (1990) دراسة مقارنة لتأثير بعض المستخلصات النباتية والمبيدات في بعض الفطريات المسببة لأمراض النبات ، مجلة زراعة الرافدين 22(4): 237-245.

داؤد ، عواد شعبان ، نزار مصطفى الملاح ، 1989 ، استجابة الأطوار المختلفة لقراد الدجاج لبعض المبيدات الاكاروسية والحشرية . مجلة زراعة الرافدين ، 21(3) : 311-320.

داؤد ،عواد شعبان ، نزار مصطفى الملاح (1993) المبيدات .مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل.

داؤد ، عواد شعبان ، نزار مصطفى الملاح وسهل كوكب الجميل ، 1987 ، استخدام زيوت نباتية لتنشيط سمية بعض مبيدات البايروثرويد المحضرة صناعياً ضد خنفساء الطحين الصدئية مجلة زراعة الرافدين ، 19(1) : 247-253.

داؤد ، عواد شعبان ، نزار مصطفى الملاح وسهل كوكب الجميل ، 1988 ، استخدام طعوم السكر الجافة لمكافحة الذباب المنزلي . مجلة زراعة الرافدين ، 20(1) : 255-262.

داؤد ، عواد شعبان ونزار مصطفى الملاح ووفاء عبد يحيى (1990) تأثير بعض العوائل الغذائية ودرجة حرارة التربية في حساسية يرقات خنفساء الحبوب الشعرية لمبيدي الفيكام والبيرمثرين . مجلة زراعة الرافدين ، 22(4) : 247-258.

الراوي ، خاشع محمود ، عبد العزيز محمد خلف الله (1980) تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، دار الكتب للطباعة والنشر / جامعة الموصل .

زعزوع ، حسين ، عبد المنعم ماهر ومحمد أبو الغار ، 1972 ، أسس مكافحة الآفات . دار المعارف بمصر.

زيد ، محمود ، 1963 ، مقاومة الآفات ، دار المعارف بمصر.

زيد ، محمود وعبد الخالق السباعي ، 1969 ، أسس اختيار وتحليل واستخدام مبيدات الآفات، دار المطبوعات الجامعية ، الإسكندرية .

زيني ، محسن علي ، 1981 ، المبيدات الحشرية ومكافحة الحشرات ، مطبعة سلمان الاعظمي – بغداد ، العراق .

السباعي ، عبد الخالق ، 1966 ، كيمياء وسمية مبيدات الآفات واختباراتها معملياً وحقلياً ، دار المعارف بمصر .

السباعي ، عبد الخالق ، جمال الدين طنطاوي ونبيلة بكري 1974 ، أسس مكافحة الآفات ، دار المطبوعات الجديدة ، القاهرة .

سليم ، عبد الفتاح عبد الحفيظ وعادل حسن أمين ، 1975 ، القوارض في العراق نشرة فنية ، قسم وقاية النبات ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل ، العراق .

شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح 1993 . المبيدات ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، العراق.

الطائي،فائز عبدالشهيد عبدالحسين (2005) التقييم الحيوي والتأثيرات الهستوباثولوجية لبعض المبيدات الكيميائية والميكروبية ومخاليطها في عثة درنات البطاطا ، أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل كلية الزراعة والغابات.

طبوزادة ، أميرة حسن ، 1966 ، مقاومة الحشرات والقراد والحلم لمبيدات الآفات . دار المعارف ، القاهرة ، مصر.

طه ، خالد حسن ، نبيل عزيز قاسم ، نضال يونس محمد ، 1988 ، المقاومة الكيمياوية لمرض موت بادرات واعفان جذور الطماطة . مجلة زراعة الرافدين 20(1) : 275-287.

طه ، خالد حسن ، نزار مصطفى الملاح ، علي كريم الطائي ، 1986 ، دراسة تأثير مبيدي الباساميد وبروميد المثيل في مقاومة مرض موت بادرات التبغ المتسبب عن الفيوزاريوم والرايزكتونيا والماكروفيمينا . زانكو ، 4 : 211-218.

العادل ، خالد محمد ومولود كامل عبد 1979 ، المبيدات الكيمياوية في وقاية النبات ، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، العراق .

عبد الحميد ، زيدان هندي(2000) السمية البيئية والتفاعلات الحيوية للكيميائيات والمبيدات . الدار العربية للنشر ولتوزيع – القاهرة.

عبد الحميد ، زيدان هندي ومحمد إبراهيم عبد المجيد ، 1988 ، الاتجاهات الحديثة في المبيدات ومكافحة الحشرات ، الدار العربية للنشر والتوزيع ، جمهورية مصر العربية.

عبد الخالق ، علاء الدين بيومي (2002) سمية المبيدات والمعادن . دار النشر للجامعات – مصر.

عبيس ، حمزة كاظم ، عواد شعبان داؤد ، سعاد ارديني عبد الله ، نزار مصطفى الملاح 1987 ، دراسات على دودة ثمار الفستق مع طرائق مكافحتها باستخدام مبيدات البايروثرويد . مجلة زراعة الرافدين 19(1) : 221-232.

العزاوي ، عبد الله فليح ومحمد طاهر مهدي ، 1983 ، حشرات المخازن . مديرية مطبعة الجامعة ، جامعة الموصل ، العراق .

عفيفي ، فتحي عبد العزيز (2000) أسس علم السموم ، دار الفجر للنشر والتوزيع – القاهرة.

عفيفي ، فتحي عبد العزيز ، خالد عبد العزيز محمد (2000) التحليل الدقيق لمتبقيات السموم والملوثات البيئية في مكونات النظام البيئي . دار الفجر للنشر والتوزيع – القاهرة.

عفيفي ، فتحي عبد العزيز ، محمد السيد عطي (2002) المستخلصات النباتية والفاعلية البيولوجية . مصر-بورسعيد – مكتبة الثقافة الدينية.

عواد ، هاشم إبراهيم وإبراهيم جدوع الجبوري وصلاح مجيد كسل (2002) المبيدات المسجلة والمستخدمة في الزراعة والصحة العامة في العراق . اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات ، وزارة الزراعة ، جمهورية العراق.

عويس ، محمد عطية وعادل حسن أمين ، 1984 ، الآفات الحيوانية غير الحشرية . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل ، العراق .

فلتشروكيرك دود ، 1988 ، المبيدات ومنظمات النمو النباتية . ترجمة الدكتور دارا محمد أمين وعبد الغني عمر ، مطبعة التعليم العالي ، جامعة صلاح الدين ، العراق.

في . ام . بارخ (1985) أطياف امتصاص الجزيئات العضوية (ترجمة عبدالحسين خضير شربة وآخرون) . جامعة الموصل ، مديرية مطبعة الجامعة.

قنصوه ، عبد السلام حسين(1975) محاضرات في أسس مكافحة الآفات.

محمد ، عبد الكريم محمد وعواد شعبان ونزار مصطفى الملاح (1989) دراسات حياتية وسمية لبعض المبيدات على حشرة من اللهانة ، مجلة زراعة الرافدين ، 21(4) : 293-304.

الملاح ، نزار مصطفى (1988) علامة المبيد الأهمية والمكونات . نشرة فنية ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل ، العراق .

الملاح ، نزار مصطفى ، (1987) طريقة علمية لتحديد سمية المبيدات لنحل العسل ، مجلة المهندس الزراعي ، العدد الأول .

الملاح ، نزار مصطفى ورنا رياض السبع (2003) التأثير الحيوي لنوع العائل الغذائي ومعاملة عذارى حشرتي عثة التين وعثة الزبيب بالتركيز تحت القاتل من بعض مثبطات النمو الحشرية في بعض الصفات الحياتية للحشرتين . مجلة التربية والعلم ، 15(1) : 71-82.

الملاح ، نزار مصطفى ورنا رياض السبع (2005) تأثير العائل في بعض مثبطات النمو في يرقات حشرتي عثة التين والزبيب . مجلة الزراعة العراقية ، 10(2) : 77-88.

الملاح ، نزار مصطفى ورنا رياض السبع (2005) تأثير نوع العائل الغذائي وبعض مثبطات النمو الحشرية في معدل الفقد في الغذاء ومعدل الزيادة لحشرتي عثة التين وعثة الزبيب . مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، 10(1) : 25-29.

الملاح ، نزار مصطفى ورنا رياض السبع (2005) تأثير نوع العائل الغذائي ومعاملة البيض بالتركيز تحت القاتل من بعض مثبطات النمو الحشرية في بعض الصفات الحياتية لحشرتي عثة التين وعثة الزبيب . مجلة علوم الرافدين ، 16(6) : 135-149.

الملاح ، نزار مصطفى وعبدالرزاق يونس الجبوري (تحت الطبع). الأسس النظرية والتطبيقية لمبيدات الآفات. دار طويق للطباعة والنشر ، الرياض ، المملكة العربية السعودية.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده احمد المخلافي (2002) تأثير تراكيز مختلفة من مثبط النمو الحشري تريكارد وطريقة المعاملة ودرجة الحرارة في النشاط الحيوي لحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية . مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، 8(2) : 40-53.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده احمد المخلافي (2002) تأثير مثبط النمو الحشري تريكارد وطريقة المعاملة ودرجة الحرارة في النشاط الحيوي لخنفساء اللوبيا الجنوبية المرباة على ألماش . مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، 8(2) : 27-39.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده احمد المخلافي (2003) تأثير التريكارد وطريقة المعاملة ودرجة الحرارة في النشاط الحيوي لخنفساء اللوبيا الجنوبية المرباة على البزاليا . المجلة العراقية للعلوم الزراعية ، 4(4) : 159-167.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده احمد المخلافي (2003) تأثير ثلاث تراكيز من مثبط النمو الحشري تريكارد وطريقة معاملة الدرنات في بعض الصفات الحياتية لعثة درنات البطاطا . المجلة العراقية للعلوم الزراعية ، 4(2) : 124-131.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده المخلافي (2005) تأثير التراكيز المختلفة من تريكارد وطريقة المعاملة ودرجة حرارة التربية في النشاط الحيوي لخنفساء اللوبيا الجنوبية . مجلة زراعة الرافدين ، 33(3) : 118-125.

الملاح ، نزار مصطفى ومحمد عبد الكريم محمد ونبيل مصطفى الملاح (1997) تأثير بعض المواد الحاملة والحرارة في كفاءة مبيدي الفيكام والسيفين في وقاية تقاوي الحنطة من الإصابة ببعض حشرات المخازن . مجلة زراعة الرافدين ، 29(1) : 109-114.

الملاح ، نزار مصطفى ومحمد عبد الكريم محمد ونبيل مصطفى الملاح (1998) دراسة تأثير درجات الحرارة والرطوبة النسبية وبعض الزيوت العضوية في ديناميكية حلم الفستق الكاذب . مجلة التربية والعلم 38 : 12-19.

الملاح ، نزار مصطفى وهيثم محي الدين البدراني (2000) . الحد الاقتصادي الحرج والمكافحة الكيميائية لدودة ثمار العنب . مجلة الزراعة العراقية 5(1) : 15-20.

الملاح ، نزار مصطفى ووليد عبودي قصير وشاهين عباس مصطفى (2005) التأثير السام لمستخلصات الخشب العصاري والصميمي لبعض أنواع الأشجار العراقية في حشرة الارضة . مجلة زراعة الرافدين ، 33(3) : 112-117.

الموسوي ، عبد الصاحب حسين ، 1982 ، القوارض وطرائق مكافحتها . شركة التايمس للطبع والنشر ، بغداد ، العراق .

الناظر ، إبراهيم ، بركات أبو رميلة (2003) مبيدات الآفات ، عمادة البحث العلمي – الجامعة الأردنية.

النواوي ، احمد سيد ، 1972 ، أسس وقاية المزروعات . دار المعارف بمصر .

المراجع الاجنبية

Abbott, W.S. (1925)Method for computing the effectiveness of insecticides .J.econ.ent.18(2):265-267.

Agrious , G.N. 1969 . Plant pathology , Academic Press , London, pp629

Akesson, N.B. and Yates, W.E. (1964). Problems relating to application of agricultural chemicals and resulting drift resides. Ann. Rev. Entomol. 9 : 285-318.

Anderson , L.D. Atkins E.L. , Tedd, F.K. and Levin . M.D. 1968 . Research on the effect of pesticides on honey bees . Amer. Bee Jou . 108(7) : 277-279.

Anderson , W.P. , 1977 . Weed science principles ; West Publ. Company . Los Angeles , pp. 598.

Argauer , R.J. and Bontoyan , W. 1970 . Fluorometric analysis of carbaryl insecticides in mixed formulations . Jour . Assoc. of Anal. Chem. 53(6) : 1166-1169.

Atkins , E.L. , Macdenal, R.L., McGevern , T.P., Berwa M., Hale G.W, 1975. Repellent additives to reduce Pesticides hazards to honey bees: laboratory tests. Jour. Apic. Res. 14(2) 85-97.

Atkins , E.L. 1975 . Injury to honey bees by poisoning . in the hive and the honey bee . Rev, Ed. Hamilton . 111, Dadant and Sons. Pp. 740.

Australian Center For International Agricultural Research Canberra (ACIAP) (1989):Suggested Recommendations For The Fumigation Of Grain In The ASEAN Region .Part 1. principles and general practice .

Busvine, J.R., 1971. A critical review of the techniques for testing insecticides. Commonwealth Agricultural Bureax, Doreset Press, London. pp 345.

Casida, J.E. 1973 . Pyrethrum : the natural insecticides. Academic Press , London , pp. 323.

Chany , S.C. and Keans , C.W. 1964. Effect of sesamex on toxicities of individual pyrethrins. J.Ec. Ent. 55(6) : 919-922.

Cremlyn , R. , 1978. Pesticides preparation and mode of action . John Wiley and Sons . New York , pp 239.

Dethier , V. G.(1947) Chemical insect attractants and repellents.Philadelphia : Blackstone Co. 289 pp

Dougall , D.M. 1962 .The use of fluorometric measurements for determination of pesticides residues . Residue Rev. 1 : 24-36.

Dreisbach , R.H. 1980 . Handbook of poisoning . 19^{th} . edition Lange Medical Publications , California , pp. 578.

Edward , C.A. 1973 . Environmental pollution by pesticides . Plenum Press , London , pp. 542.

Edward , C.A. 1981 . Persistent pesticides in the environment 4^{th}.ed , Boca Paton , Florida CRC. Press, Inc. pp. 165.

Ehab , B (2006) : Ldp Line , software to calculate probit analyses . http ://www.ehabsoft.com

Finney , D.J.(1971) Probit analysis . third edition. London Cambridge University Press 333p.

Fisher, H.H. and Sabio, E.A. (1984). Lever-operated knapsack sprayer calibration and herbicide calculations for weed research. Tropical Pest Management. 30(4) : 360-366.

Gains, T.B. 1969. Acute toxicity of pesticides. Toxico. Appl. Pharmacol, 14 : 515-534.

Gardener ,J. M.Kono , Y; Tatum , J.H.;Suzuki , Y. and Takenchi ,S. 1985 Plant pathotoxin from *Alternaria citri* the major toxin specific for rough lemon .Phytochemistry .24:2861-2867

Glenn C. Klingman (1973). Weed control as a science , Wiley eastern private limited new delhi.

Glotfelty , D.E. 1978 . The atmosphere as a sink for applied pesticides, J. of Air Pollution Control Association , Vol. 28 No. 9 : 977.

Gunther , F.A. , Westlake , W.E. , Barkley . J.H. , Winterlin , W. and Langbehn , L. 1973 . Establishing dislodgeable pesticides residues on leaf surfaces . Bull. Environ . Contam . Toxicol. 9 : 243-249.

Hamnock , B.D. and Quistad, G,B. 1980 . Juvenile hormone analogs : mode of action and metabolism , Vol. 1 John Wiley and Sons , Chichester , England.

Harborne , J.B. (1973) Photochemical methods .Halsted press .John Wiley and Sons New York.

Harris , G.R. 1966 . Influence of Soil type on the activity of insecticides in soil , J.Ec. Ent. 59(5) : 1221-1224.

Hartley . G.S. and West. , T.F. 1969 . Chemicals for pest Control . Pergamon Press , London , pp. 316.

Harvery, L.T. , 1989 . A guide to agricultural spray adjuvants used in the United States , Thomson Publication , Calif. Pp. 168.

Hassall, K.A. , 1969. World Crop protection , Vol.2 Pesticides Iliffe Books LTD , London , pp. 249.

Hough, W.S. and Mason, A.F. (1951). Spraying, dusting and fumigation of plant. The Macmillan Company, New York.

Irons, F. (1967). Hand sprayers and dusters. USDA, Bull. No. 53.

Irvine , D.E.G. , Knights , B., 1974. Pollution and the use of chemicals in agriculture . Butter Worth's , London , pp. 136.

Kendrick, J.B. and Swift, J.E. 1978. Insects , mites and other invertebrates and their control in California . Division of Agricultural Sciences , University of California pp. 136.0

Kodama ,M ; Nishmura ,S and Nakatsuka ,S 1993 Isolation and biological activities of tow host specific toxin from the Tangerine pathotype of *Alternaria Alternaria* Phytopathology 83: 495-50

Lichtenstein , E.P. and Schulz, K.R. 1959. Persistence of some chlorinated hydrocarbon insecticides as influenced by soil types, temperature and rate of application. J.Ec. Ent. 52 : 124.

Lichtenstein , E.P., Schulz, K.R. 1964. The effects of moisture and microorganisms on the persistence and metabolism of Some organo . Phosphorus insecticides in soils , with special emphasis on parathion . J. Ec. Ent. 57 : 618.

Lichtenstein, E.P. 1959 , Absorption of some chlorinates hydrocarbon insecticides from soils into crops. Jour. Agr. Food Chemistry 7 : 430.

Litchfield , J.R. and Wilcoxon , F. 1949 . A simplified method of evaluating dose effect experiments. Jour. Pharmacology and Experimental Therapy A. 96 : 99-113.

Marer, P.J., Flint, M.L., and Stimmann, M.W. (1988). The safe and effective use of pesticides. Oakland, Calif. : University of California Statewide Integrated Pest Management Project Division of Agriculture and Natural Resources.

Mass, W. (1971). ULV application and formulation techniques. Crop Protection Division, Amsterdam, Netherland.

Mathews, G.A. (1979). Pesticides application methods Longman, London, U.K..

Matsumura, F. 1975 . Toxicology of insecticides , Plenum Press. New York. Pp. 503.

Maybank, J. Yosida , K. and Grover , R. 1978. Spray drift from agricultural pesticides applications . Jour. Of Air Pollution Control Association vol. 28 No. 10 , p. 1009.

Meister, R.T. (2001). Farm chemicals handbook. Meister Publishing Company, Willoughby, O.H. U.S.A.

Menzie , C.M., 1969 . Metabolism of pesticides , Bureau of Sport Fisheries and Wildlife . Special Scientific Report Wild Life No.127.

Metcalf, B.L. 1967. Mode of Action of Insecticides Synergist. Ann, Rev. Entom. 12 : 229-256.

Metcalf, R.L. and Luckman , W.H., 1975 . Introduction to insect pest management. Wiley-Inter-Science New York. pp.587.

Mrak, E. 1969. Report of the secretary's commission on pesticides and their relationship to environmental Health. Part II, U.S. Dept. of Health Education and Welfare.

Negi, N.S., Funderburk, H.H. and Davis, D.E. 1964. Metabolism of atrazine by susceptible and resistant plants. Weeds 12:53-57.

O Brien, B.D. 1970. Biochemical toxicology of insecticides. Academic Press, London pp. 218.

Parrella, M. and Morshita, P., 1985. Snails and slugs in ornamentals. California Agriculture, Vol. 39 No. 1 and 2p-6-7.

Paul Becher, 1973. The emulsifier in pesticides formulations. Wade Van Valkenburg, Marcel Dekker Inc., New York pp 481.

Penner, D. and Ashton, F. M., 1968. Biochemical and metabolic changes in plants induced by chlorophenoxy herbicides. Residue Reviews, 14:39-113.

Pyenson, L.L. (1979). Fundamentals of entomology and plant pathology. AVI Publishing Co., Inc. West Port, Connecticut

Reynolds , H.T.(1962) : Standardized laboratory detection methods for resistance determination in agricultural arthropod pests.Bull.Entomol.Soc.Amer.8:9-14.

Rodewald, W., and Wite, H. (1961). Technical fundamentals-pest control in agriculture. Leipzig.

Smith, E.H. 1978. Pest control Strategies, Academic. Press, New York, pp. 329.

Spear, R.C., Lee, Y.S., Leffing Well, J.T. and Jenkins, D, 1978. Conversion of parathion to paraxon in foliar residues. J. Agric. Food Chm. 26(2) 434-436.

Tanski , V.D. Bulgak (1981) . Effectiveness of using economic damage threshold for codling moth *Laspeyresia pomonella* (Toricidae : Lepidoptera) and tetranychid mites (Acarina) in the Crimean obtast , Ukranian SSR ,USSR. Entomol .Bbozr 60(2): 241-251.

Thompson, C.R., Olszyk, D.M., Kats, G., Bytnerowicz, A., Dawson, PJ., Wolf. J., 1984. Air pollutant injury on plants of the Mojave desert. Air Pollution Research Center, UCR, South California, Edison Company pp. 31.

Truman, L.C. , Bennett, G.W., and Butt, W.L. (1988). Scientific guide to pest control operations. Purdue Univ. U.S.A.

Vance, A.M. and App, B.A. (1971). Lawn insects-how to control them, U.S.D.A. Bull. No. 53.

Vincent, C. Dethier, A.M. 1984. Chemical insect attractants and repellents. H.K. Lewis Co. Ltd London, pp. 271.

Ware, G.W. (1994). The pesticides book. Fresno, Calif. Thompson Publication

Watts, R.R. 1980. Analysis of pesticides residues in human and environmental samples. U.S. Environmental Protection Agency, Health Effects Research Laboratory Environmental Toxicology Division, North Carolina pp. 685.

WHO, 1973. Specifications for pesticides used in public health. 4th ed. World Health Organization Geneva, pp. 333.

Wood, D.L., Siverstein, R.M. and Nakajima, M., 1970 Control of insect behavior by natural products; Academic Press, New York, pp. 331.

Woodrow , A.W., Green , N., Tucker , H., Schonhorst , M.H. and Hamilton ,K.C. (1965) . Olfactometer studies : attractants and repellents of bees .J.econ.ent. 58:1094..

Carbopheothion	1.37	1.48	1.41	1.08	1.22
Carbopheothion o-analog	1.26	1.35	1.33	1.18	1.21
Chipman Rp11783	1.40	1.42	1.49	1.45	1.45
Chlorpyrifos	0.92	1.00	0.98	0.65	0.82
Chlorpyrifos o-analog	0.93	0.97	1.00	0.95	0.93
Chlorthion	1.04	1.00	1.05	1.03	1.08
Ciba C-2307	0.55	0.53	0.64	0.69	0.70
Ciba C-8874	1.25	1.39	1.30	0.93	1.08
Ciba C9491	1.16	1.25	1.23	0.86	1.06
Ciba C-9491 o-analog	1.10	1.15	1.18	1.01	1.09
Compound4072	1.04	1.13	1.10	0.98	1.00
Coumaphos	1.88	1.97	1.88	2.10	1.81
Coumaphos o-analog	1.80	1.90	1.83	2.29	1.86
Crotoxyphos	1.17	1.14	1.16	1.14	1.07
Crufomate	0.98	1.02	1.04	1.00	1.03
Dasanit	1.34	1.36	1.43	1.56	1.42
Dasanit sulfone	1.38	1.38	-	1.62	-
Dasanit o-analog	1.28	1.27	1.36	1.72	1.43
Dasanit o-analog sulfone	1.31	1.28	-	1.73	-
DEF	1.16	1.32	1.16	0.89	0.95
Demeton	0.48	0.48	0.50	0.31	-
	0.64	0.62	0.67	0.55	0.63
Diazinon	0.66	0.73	0.71	0.41	0.58
Diazoxon	0.64	0.69	0.70	0.60	0.63
Dicapthon	1.02	1.01	1.03	0.98	1.03
Dichlorvas	0.17	0.17	0.18	0.17	0.21
Dicrotophas	0.60	0.55	0.67	0.81	0.78
Dimethoate	0.68	0.61	0.78	0.72	0.96
Dimethoate o-analog	0.51	0.49	-	0.71	-
Dioxathion	0.15	0.23	0.23	0.16	0.20
	0.66	0.67	0.76	0.51	0.71
	1.44	2.10	-	1.67	-
Disulfoton	0.71	0.75	0.74	0.47	0.66
Disulfoton sulfoxide	1.19	1.18	1.25	1.42	1.36
Disulfoton sulfone	1.19	1.18	1.24	1.43	1.36
Disulfoton o-analog	0.63	0.63	0.66	0.55	0.65
Disulfoton o-analog sulfoxide	1.08	1.02	-	-	-

Disulfoton o-analog sulfone	**1.08**	**1.01**	**1.16**	**1.46**	**-**
Dition	**2.25**	**2.34**	**2.23**	**2.40**	**2.16**
Dyfonate	**0.72**	**0.72**	**0.75**	**0.46**	**0.66**
Dyfonate o-analog	**0.61**	**0.60**	**0.65**	**0.54**	**0.64**
EPN	**1.57**	**1.66**	**1.59**	**1.58**	**1.46**
Ethion	**1.29**	**1.41**	**1.36**	**1.12**	**1.19**
Famphur	**1.44**	**1.46**	**1.50**	**1.75**	**1.55**
Fenitrothion	**0.92**	**0.93**	**1.00**	**0.93**	**1.00**
Fenitrothion o-analog	**0.83**	**0.81**	**0.91**	**1.08**	**1.00**
Fenthion	**0.93**	**1.00**	**1.02**	**072**	**0.93**
Fenthion sulfoxide	**1.36**	**1.36**	**1.47**	**1.60**	**1.44**
Fenthion sulfone	**1.35**	**1.36**	**1.47**	**1.66**	**1.50**
Fenthion o-analog	**0.83**	**0.89**	**0.99**	**0.88**	**0.95**
Fenthion o-analog sulfoxide	**1.27**	**1.27**	**1.42**	**1.76**	**1.45**
Fenthion o-analog sulfone	**1.27**	**1.27**	**1.42**	**1.80**	**1.54**
Formothion	**0.81**	**0.77**	**-**	**0.88**	**-**
Gardona	**1.11**	**1.21**	**1.19**	**1.05**	**1.09**
Geigy G-28029	**1.53**	**1.69**	**1.58**	**1.27**	**1.36**
Hempa	**0.24**	**0.23**	**0.22**	**0.30**	**0.25**
Imidan	**1.53**	**1.64**	**1.68**	**1.60**	**1.6**
Imidoxon	**1.41**	**1.51**	**1.59**	**1.75**	**-**
Leptophos	**1.58**	**1.79**	**1.66**	**1.32**	**1.40**
Leptophos 0-analog	**1.48**	**1.66**	**1.59**	**1.40**	**1.39**
Malathion	**0.89**	**0.98**	**0.97**	**0.87**	**0.92**
Malaoxon	**0.82**	**0.85**	**0.88**	**0.99**	**0.92**
Menazon	**1.43**	**1.63**	**1.75**	**1.39**	**-**
Merphos	**1.00**	**1.13**	**0.97**	**0.51**	**0.68**

	1.16	**1.39**	**1.17**	**0.88**	**0.95**
Metepa	**0.39**	**0.41**	**0.44**	**0.44**	**0.54**
Methiotepa	**0.41**	**0.43**	**0.43**	**0.28**	**0.39**
Methyl parathion	**0.88**	**0.85**	**0.93**	**0.90**	**0.97**
Methyl trithion	**1.29**	**1.36**	**1.36**	**1.00**	**1.21**
Mevinphos	**0.30**	**0.29**	**0.34**	**0.34**	**0.38**
Monocrotophos	**0.59**	**0.55**	**0.73**	**0.82**	**0.95**
Naled	**0.52**	**0.55**	**0.61**	**0.43**	**0.57**
Nemacide	**0.81**	**0.84**	**0.80**	**0.54**	**0.69**
Oxydemetonmethyl sulfone	**0.95**	**0.88**	**1.08**	**1.38**	**-**
Parathion	**1.00**	**1.00**	**1.00**	**1.00**	**1.00**
Paraoxon	**0.90**	**0.90**	**0.95**	**1.14**	**1.00**
Phorate	**0.57**	**0.60**	**0.60**	**0.35**	**0.53**
Phorate sulfoxide	**0.98**	**0.96**	**1.05**	**1.05**	**1.16**
Phorate sulfone	**0.99**	**0.97**	**1.05**	**1.14**	**1.16**
Phorate o-analog	**0.48**	**0.50**	**0.54**	**0.43**	**0.51**
Phorate o-analog sulfoxide	**0.87**	**0.83**	**0.97**	**1.17**	**1.14**
Phorate o-analog sulfone	**0.87**	**0.83**	**0.97**	**1.18**	**1.14**
Phosalone	**1.66**	**1.77**	**1.68**	**172**	**1.58**
phosfon	**0.70**	**0.75**	**0.60**	**0.81**	**0.64**
Phosphamidon	**0.84**	**0.85**	**0.89**	**1.12**	**0.97**
Phoxim	**1.14**	**-**	**-**	**-**	**-**
Phoxim o-analog	**0.92**	**0.94**	**-**	**1.16**	**-**
Pirazinon	**0.48**	**0.50**	**0.56**	**0.52**	**0.57**
Potasan	**1.70**	**1.73**	**1.70**	**1.98**	**1.70**
Ronnel	**0.85**	**0.93**	**0.88**	**0.60**	**0.76**
Schradan	**0.73**	**0.70**	**0.73**	**0.31**	**0.81**
Shell SD-8280	**1.07**	**1.00**	**1.04**	**0.89**	**0.97**
Shell SD-8436	**1.15**	**1.24**	**1.29**	**1.09**	**1.18**
Shell SD-8448	**1.19**	**1.33**	**1.25**	**1.14**	**1.11**
Stauffer N-2788	**0.84**	**0.83**	**0.86**	**0.57**	**0.75**
Tepa	**0.37**	**0.33**	**0.46**	**0.40**	**0.58**
Tepp	**0.12**	**0.12**	**0.12**	**0.14**	**0.12**
Thiometon	**0.61**	**0.63**	**-**	**0.43**	**-**
Thiometon sulfoxide	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Thiometon sulfone	**1.10**	**1.05**	**-**	**1.32**	**-**

ب- تفسير نتائج التحليل الكمي

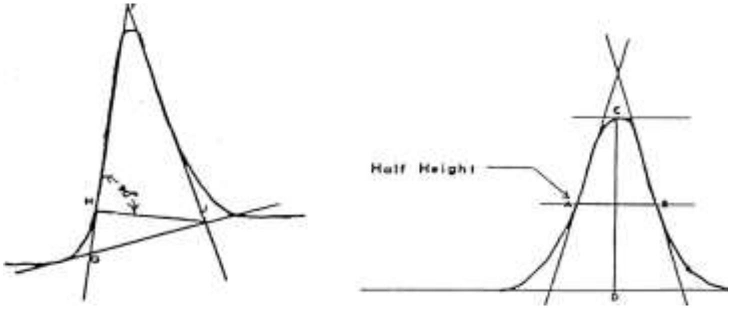
The Explanation Of Quantitative Analysis Results:

يتم تفسير نتائج التحليل الكمي للمركبات التي تم فصلها من خلال حساب قيم تركيزاتها من خلال إحدى الطرائق الآتية :

– قياس ارتفاع المنحنى Peak Height:

حيث يقاس ارتفاع المنحنى كدلالة على تركيز المركب فتوجد علاقة خطية بين التدرج في زيادة التركيز وارتفاع المنحنيات الناتجة عن هذه التركيزات . وهنا يتم عمل منحنى قياس Standard Curve نتيجة عدة تراكيز متدرجة من المركب النقي ثم قياس ارتفاع كل منحنى ناتج عن كل تركيز ثم يقسم ارتفاع المنحنى على التركيز الناتج منه فنحصل على قيمة الثابت k_1 للتركيز C_1 وهكذا مع باقي التراكيز حتى نحصل على ثوابت كل التراكيز وبجمعها وقسمتها على عدد التراكيز نحصل على الثابت العام k (الشكل 121).

وعليه فعند قياس تركيز مجهول لمركب ثم حقنه يقاس ارتفاع المنحنى الناتج عنه ويقسم على الثابت الخاص بهذا المركب لنحصل على تركيزه . ويعاب على هذه الطريقة في حساب التركيز عدم إمكان القياس الدقيق للمنحنيات الصغيرة .



الشكل (121) : حساب مساحة المنحنى بدلالة قياس ارتفاعه .

قياس مساحة المنحنى Peak area:

وفيها تقاس مساحة المنحنى الناتج عن التركيز كدلالة على هذا التركيز وذلك من خلال عدة طرائق حيث يوجد ارتباط خطي بين التركيز المحقون ومساحة المنحنى الناتج عنه مثل :

- قياس المساحة بواسطة البلانيميتر Planimeter فيتم تمرير إبرة البلانيميتر بدقة على حدود المنحنى ثم تقرا بعد ذلك دورانية البلانيميتر فتعطي المساحة بدقة بالغة في هذه الطريقة في حالة المنحنيات غير المنتظمة .
- أو بحساب مساحة المنحنى باعتباره مثلث وذلك بضرب نصف القاعدة x الارتفاع.
- أو بحساب المنحنى بطريقة تكاملية Integration حيث تحسب طول قاعدة المنحنى عند منتصف ارتفاعه وتكون المساحة كما بالشكل(122) هي:

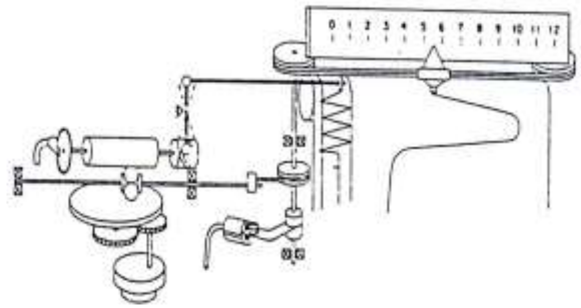
= طول القاعدة عند منتصف الارتفاع x الارتفاع .

وتكون المساحة الحقيقية للمنحنى هي= ارتفاع المنحنى x الانحراف القياسي x $(2.5)^{2/1}$.

ويقاس الانحراف القياسي بنصف اتساع المنحنى عند 0.67 من طول المنحنى:

أي أن : المساحة = ارتفاع المنحنى x اتساع القاعدة عند منتصف الارتفاع .

وهذه المساحة تطابق 0.94 من مساحة المنحنى الحقيقي . وهنا يتم عمل منحنى قياسي للمركب المراد قياس تركيزه كما سبق وتحقن هذه التراكيز وتحسب مساحة المنحنى الناتج من كل تركيز وتحسب قيمة الثابت k لكل تركيز ثم يحسب متوسط الثوابت للتركيزات المستخدمة k كما سبق .



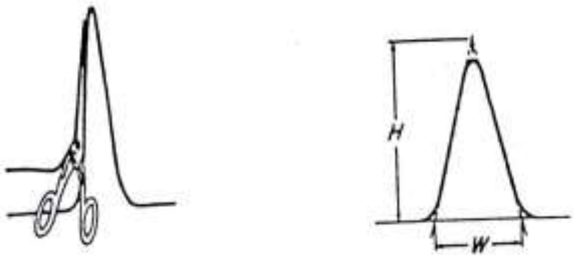
الشكل(122): حساب التراكيز بدلالة قياس مساحة المنحنى .

قياس المنحنى المقطوع ووزنه Peak Cutting Out And Weight :

حيث يتم قطع المنحنى على محيطه الخارجي بدقة ثم يوزن كدلالة على تركيز المركب حيث يزداد وزن المنحنى بزيادة التركيز وهنا يتم عمل منحنى قياسي لتركيزات متدرجة من المركب وتفصل ثم يقطع المنحنى من كروماتوغرام كل تركيز ويوزن وبقسمة وزن كل منحنى على التركيز الناتج نحصل على الثابت k وهكذا كما سبق فنحصل على k (الشكل 123).

وعليه فعند قياس تركيز مركب ما تم حقنه فانه يتم قطع المنحنى الناتج ويوزن ثم يقسم على k الخاص بالمنحنى القياسي لهذا المركب ونحصل على

التركيز . وتتوقف هذه الطريقة على تجانس الورق والمحتوى الرطوبي والدقة في قص المنحنيات وغالبا لا تستخدم هذه الطريقة .



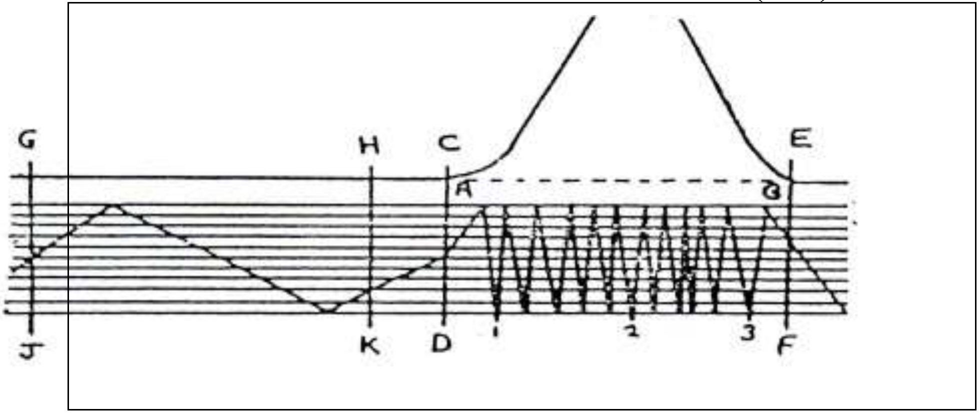
الشكل (123): حساب التركيز بدلالة وزن المنحنى .

العداد التكاملي الرقمي Digital integrates:

وهنا يظهر التركيز في صورة قراءة رقمية لعدد رقمي تكاملي . وهو عداد اليكتروني يقوم بحساب المساحة تحت المنحنى كشرائط طولية ثم يتم تجميعها وتحويلها إلى إشارات اليكترونية مستمرة (ملي فولت) تلتقط وتحول إلى مليفولت .

العداد التكاملي الميكانيكي Mechanical Integrates Disk:

وهنا يتم حساب المساحة يدويا برسم خط الأساس أسفل المنحنى ثم يسقط إسقاطا راسيا من قمة المنحنى على قاعدته ثم تسقط الخطوط الراسية التالية عند بداية قمة المنحنى من الجانبين (c d ، f e) فيتقاطعا مع العدادات التكاملية ، وكل تقاطع (ضربة) = 10.0 أما الضربات الجزئية فتكون قيمتها من (1-10) تبعا للخطوط المارة عليها ففي الضربات السريعة تكون أطول بعد كل 10 ضربات لذا لا يوصى باستخدامها في المنحنيات الصغيرة السريعة (سريعة الإزاحة) لكبر الخطأ .الشكل (124) .



الضربة الجزئية الأولى Partial stroke =5

الضربة الكاملة Full stroke = 10

الضربات من 1-2 =100

الضربات من 2-3 =100

ضربة كاملة أخيرة = 10

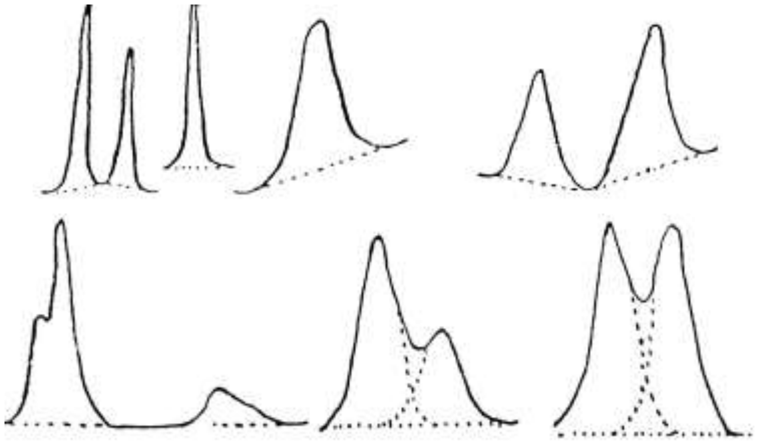
ضربة جزئية أخيرة = 3

وحيث أن ضربات خط الأساس غير مستقيمة لذا يلزم التصحيح بطرح مسافة متساوية من خط الأساس (kj) تساوي (ec) ويسقط منها خطوط راسية (h k) و (g j) لتقاطع العدادات التكاملية وتطرح من المجموع الكلي للحصول على مساحة المنحنى.

الشكل (124): حساب التركيز بدلالة حساب المساحة تحت المنحنى بالعداد التكاملي الميكانيكي .

ومما هو جدير بالذكر أن طريقة الحساب الالكتروني تعتبر من أفضل الطرائق للتقدير الكمي حيث تتغلب على مشاكل انحراف خط الأساس وكذلك المنحنيات غير المفصولة وتعطي الحاسبات الالكترونية تقرير يبين فيه قيمة وقت الحبس لكل مكون في العينة ومساحة المنحنى و **%** لتركيز المكون وتركيز المركب المراد تقديره بمعلومية حقن المركب القياسي .

ويلاحظ أن مساحة كل منحنى ما هي إلا تقدير لكمية مكون موجود بالعينة حيث تتناسب المساحة تحت المنحنى طرديا مع كمية المكون الموجود وتلعب أشكال المنحنيات دورا كبيرا في عملية التحليل الكمي من حيث هل هي متناسقة أو غير متناسقة مستعرضة داخل أو خارج حدود الكروماتوغرام مفصولة أو مفصولة فصلا جزئيا والشكل (125) يبين كيفية رسم خط الأساس تحت المنحنى للمنحنيات المفصولة فصلا .



الشكل (125) : يبين كيفية رسم خط الأساس تحت المنحنى .

ستة عشر) كروماتوغـرافي السـائل عالـي الأداء

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

يعتبر كروماتوغرافي السائل عالي الأداء احد الطرائق الأساسية لتحليل مخلفات السموم في بعض مكونات الأنظمة البيئية ، حيث يقوم الجهاز بفصل مكونات العينة ثم التعرف عليها وتقديرها كميا ، ويتم الفصل عن طريق توزيع العينة بين طورين:

آ- طور متحرك سائل .

ب- طور ثابت سائل أو صلب يكون في عمود طوله حوالي 25 سم وقطره الداخلي 4 ملم وتعتمد كفاءة الفصل على مواصفات العمود وبصفة خاصة على قطر جزيئات المادة المعبأة ويلاحظ أن خفض قطر الجزيئات فضلا عن نعومة الحبيبات يؤدي إلى تحسين أداء العمود ومن ناحية أخرى يرفع الضغط للحصول على معدل جريان مناسب للطور المتحرك خلال العمود ولهذا السبب فانه يعبر عنها بالضغط العالي للكروماتوغرافي السائل .

أما مكونات الجهاز فتشمل (الشكل 126):

آ- خزان الطور المتحرك Storage Of Moving Phase.

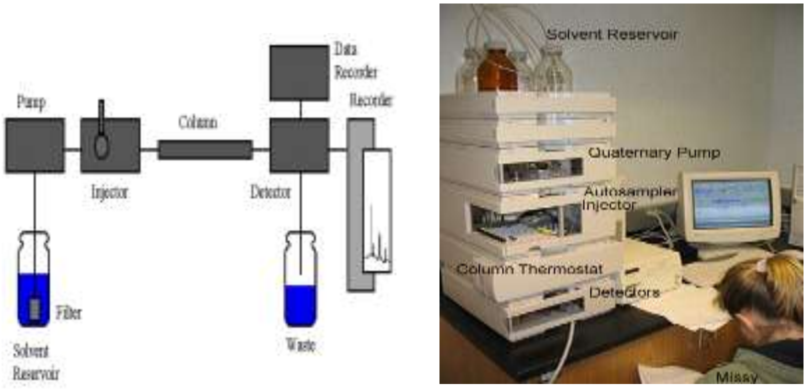
ب- المضخة Pump.

ت- الحاقن Injuctor.

ث- الأعمدة Columns .

ج- الكشافات Detectors .

ح- المسجل Recorder.



الشكل (126) صورة ومخطط لجهاز كروماتوغرافي السائل عالي الأداء .

المذيبات والكواشف Solvents and Reagents :

يتم اختيار الطور المتحرك تبعا لقدرته على التوافق مع عمود الفصل المجدد للحصول على كفاءة فصل عالية للمواد المراد تحليلها ويجب أن تكون المذيبات المستخدمة في تجهيز الطور المتحرك على درجة عالية من النقاوة وهناك عوامل أخرى هامة تتضمن التكلفة – اللزوجة- السمية- درجة الغليان –درجة نفاذ الأشعة خاصة إذا كان الكاشف المستخدم UV وعوامل الانكسار خاصة إذا كان الكاشف المستخدم Refractive Index - الضغط البخاري – درجة الوميض هذا بالإضافة إلى ما يتعلق بمركبات العينة وعموما فان اختيار المذيبات والجواهر الكشافة لا يمكن أن يتم إلا بأخذ العوامل السابقة الذكر في الاعتبار .

ويجب أن يتوفر في المذيبات والجواهر الكشافة المستخدمة في خطوة التقدير وكذا المستخدمة في تجهيز العينة ما يلي :

1- ألا تتسبب في انهيار المادة مجال التحليل أو تحدث معها تفاعلات كيميائية.

2- ألا تسبب ضرر بعمود التحليل .

3- ألا تسبب ضررا للكاشف .

4- ألا تسبب شوشرة تؤدي لزيادة أو نقص استجابة الكاشف للمركب .

مشاكل الإجهاد Potential Problems :

تظهر كثير من المشاكل للطور المتحرك لوجود الشوائب والمواد الإضافية وكذلك الأتربة والمواد الجزيئية الأخرى والهواء الذائب مثل :

- الانهيار **Degradation :**

قد تتحلل المواد المراد فصلها بالمذيبات والجواهر المستخدمة في خطوات الاستخلاص والتنقية أو أثناء التقدير ولذا يجب تجنبها وذلك من خلال المعرفة المسبقة بكيميائية المواد المراد تحليلها وقد يحدث تفاعل غير متوقع لوجودها فآثار من العوامل المؤكسدة في المذيبات تؤدي إلى تحليل مركبات N-methyl Carbamate قبل التقدير.

- الغازات الذائبة Dissolved Gasses:

وجود الغازات الذائبة في المذيبات المستخدمة كطور متحرك تسبب مشاكل فقد تتجمع فقاعات الغاز في المضخات أو بخلية الكاشف أو أي مواقع أخرى بالجهاز فتؤثر على الضغط الواصل من المضخة كما قد تسبب الفقاعات الكبيرة توقف تام للمضخة وقد تتأثر عمليات الكشف نفسها بعدة طرائق فمثلا مع كاشف UV نجد أن الهواء يسبب زيادة الضوضاء أو الامتصاص العالي كما أن الأوكسجين الذائب قد يتداخل مع الكاشف بالأطوال الموجية القصيرة لامتصاص الأوكسجين للإشعاع تحت 200 نانوميتر وللتخلص من الغازات الذائبة يوضع الطور المتحرك تحت ظروف تفريغ Vacuum ، حرارة وتقليب بالموجات فوق الصوتية وحاليا توجد وحدات تلحق تقوم بإزالتها .

- تلف الأعمدة Damage To Columns :

من السهل إتلافها بسوء الاستعمال فالقواعد يمكنها إزالة المجاميع الفعالة وعليه يجب عدم استخدامها فالأطوار المرتبطة عادة تكون ثابتة في مدى pH يتراوح بين 2-8 كما أن الجزيئات الميكروسكوبية والكائنات الدقيقة يمكنها إتلاف شرائح العمود مما يؤدي لزيادة ضغط العمود تدريجيا ويغلق العمود تماما ولإزالة هذه الجزيئات يتم ترشيح محلول العينة والوسط المتحرك واستخدام العمود الأولي المناسب والعمود الحارس لحماية عمود التحليل أما الجزيئات الأقل من 5 ميكروميتر ربما تفصل ببعض الأعمدة والكشافات .

والأوساط المتحركة المحتوية على الماء أو الميثانول يمكنها إزالة السيليكا جيل بالأعمدة المرتبطة ولذا يجب استخدام الأعمدة الأولية المحتوية على السيليكا جيل حتى لا يتم إزالة مادة عمود التحليل . وتلف الأعمدة بالجواهر المستخدمة في أعمدة الاشتقاق الثانوية يكون غير محتمل ولكنه قد يحدث فإذا توقف جريان الطور المتحرك فان جواهر العمود الثانوي يمكنها أن تنتشر للخلف فتؤدي لفساد تعبئة العمود .

- ضرر الكاشفات **Damage To Detectors :**

يختلف ضرر الجواهر مع كل كاشف فوجود غازات أو أوكسجين بخلية الكاشف يؤثر على استجابته لأنها قد تؤثر أيضا على الكاشفات الاليكترونية كيميائيا والتي تعمل بنظام الاختزال لذا يتطلب نزعها من المذيبات فترشيحها خلال فلتر 22 ميكروميتر ضروري في حالة الكاشفات اللونية.

المذيبات المتخصصة Specific Solvents:

- **الماء Water** :

يعتبر الماء المذيب الشائع الاستعمال وخاصة بالأطوار المتحركة ويعتبر من أصعب المذيبات للحصول والحفاظ عليه في حالة نقية حيث أن عدم النقاوة تؤثر في نتائج التحليل خاصة عند عمل الكاشفات بحساسية عالية وقد استخدمت أنظمة الماء Millipore Millio Water بدرجة كبيرة للتنقية وذلك بضخ الماء خلال أعمدة ترشيح من طبقات متتالية من الفحم النباتي لإزالة الشوائب العضوية ثم عمود منتجات تبادل ايوني لإزالة المواد غير العضوية والعضوية المتاينة ثم عمود Q-Organic لإزالة أي متبقيات عضوية ثم تمرر العينة المائية على فلتر 0.22 ميكروميتر لإزالة الجزيئات الميكروسكوبية والكائنات الدقيقة والتي لم تزال في المراحل السابقة حيث تخزن هذه المياه المنقاة في أوعية زجاجية نظيفة مع إضافة 0.02% Sodium Azide أو اسيتونتريل حيث أن الكائنات الدقيقة كالطحالب والبكتريا تتكاثر بسرعة في الماء لذا يفضل التخلص من المياه المنقاة بعد كل أسبوع مع غسيل عمود بالميثانول تختبر من خلال الخطوات المتتابعة الآتية:

- ضخ 100 مل ماء خلال عمود C.8 (16 سم x 2 مليمتر).
- يتم عمل متدرج خطي من صفر - 100 % ميثانول بمعدل 1مل/ دقيقة لمدة 10 دقائق ثم التوقف لمدة 15 دقيقة وذلك على كاشف UV .
- إذا كان خط الأساس عند 0.08 (AUFS) اقل من 10% والمنحنيات القليلة جدا اقل من 3-5 % يلاحظ انحراف تدريجي كامل وهنا يكون الماء نقيا تماما .

- **الاسيتونتريل Acetonitrile** :

شائع استخدامه في الأطوار المتحركة Rp فمواصفات التصنيف لنقاوة المذيبات تكون معتمدة أساسا على ملائمتها لكاشفاتUV بينما كاشفات الفلوروسنس والتوصيل الكيميائي تكون مواصفاتها صعبة جدا .

- **الميثانول Methanol** :

مذيب شائع الاستخدام في HPLC-Rp ويماثل عدم ملائمة المواصفات الاسيتونتريل ومن مساوئ الميثانول إحداث درجة من اللزوجة النسبية بالمحاليل الناتجة من مزجه بالماء فيسبب زيادة الضغوط العالية مقارنة بالأطوار المتحركة الأخرى .

- **مذيبات كلورينية Chlorinated Solvents** :

بعض هذه المذيبات ثابتة عند التحليل بالأكسدة بإضافة كميات قليلة من الميثانول يؤدي لزيادة قطبية الأطوار المتحركة وقصر وقت الإزاحة في عمود

HPLC NP وقد تتأثر المقدرة على استعادة النتائج باختلاف تركيز المثبت المضاف والذي يختلف من عبوة لأخرى وعليه يمكن شراؤها بدون مثبت أو إزالته بالامتصاص على الالومينا أو باستخلاصه بالماء ثم تجفيفه . والمذيبات الكلورينية غير ثابتة تتحلل ببطء منتجة HCl الذي يعمل على انهيار الأعمدة وصدا الصلب ويمكن إزالته بإمرار المذيب على السيليكا المنشطة أو كربونات الكالسيوم .

- **الايثرات Ethers:**

تحتوي على إضافات تعمل على ثباتها عند تكوين فوق اكاسيد فعلى سبيل المثال يتم تثبيت التتراهيدروفيوران بإضافة كميات قليلة من الهيدروكينون وقد لوحظ أن هذا المركب يمتص أشعة UV ويمكن إزالته بتقطير المذيب بأقراص هيدروكسيد البوتاسيوم. والجدول(59) يوضح أهم خصائص المذيبات المستخدمة .

الجدول (59) : أهم خصائص المذيبات الشائعة الاستخدام .

المذيب	Uv cut-off Nm	refractive Index	bioling	viscosity	solvent polarity	solvent strength parameter
Isooctane	**197**	**1.389**	**99**	**0.47**	**0.1**	**0.01**
n-hexane	**190**	**1.372**	**69**	**0.30**	**0.1**	**0.01**
Methyl t-butyl ether	**210**	**1.369**	**56**	**0.27**	**2.5**	**0.35**
Benzene	**278**	**1.501**	**81**	**0.65**	**2.7**	**0.32**
Methylene chloride	**233**	**1.421**	**40**	**0.41**	**3.1**	**0.42**
n-propanol	**240**	**1.385**	**97**	**1.90**	**4.0**	**0.82**
Tetrahydrofuran	**212**	**1.405**	**66**	**0.46**	**4.0**	**0.82**
Ethyl acetate	**256**	**1.370**	**77**	**0.43**	**4.4**	**0.58**
Chloroform	**245**	**1.443**	**61**	**0.53**	**4.1**	**0.40**
Dioxane	**215**	**1.420**	**101**	**1.20**	**4.6**	**0.56**
Acetone	**330**	**1.356**	**56**	**0.30**	**5.1**	**0.56**
Ethanol	**210**	**1.356**	**78**	**1.08**	**4.3**	**0.88**
Acetic acid		**1.370**	**118**	**1.10**	**6.0**	**Large**
Acetonitrile	**190**	**1.341**	**82**	**0.34**	**5.8**	**0.65**
Methanol	**205**	**1.326**	**65**	**0.54**	**5.1**	**0.95**
Water		**1.333**	**100**	**0.89**	**10.2**	**Very large**

إعداد العينة Sample Preparation :

1- تنقية العينة Sample Clean up :

تنقى محاليل العينة بإزالة الشوائب المرافقة لعمليات الاستخلاص ولتجنب أي أضرار تحدث حيث أن الحقن بمستخلصات غير نقية قد تضعف أو تفسد الأعمدة والكاشفات خاصة عند تحليل عدد كبير من هذه العينات فقد وجد أن الشوائب المتداخلة والذائبة في محلول العينة قد تظهر في كروماتوغرام الفصل كمنحنيات زائدة تتداخل مع المادة المحللة مما يجعل نتائج التحليل غير موثوق بها كما أن المواد المدمصة بشدة قد تؤثر على الخصائص الكروماتوغرافية للعمود فيسبب معها انحرافات بخط الأساس ومنحنيات مضللة ومن الممكن إزالة هذه الشوائب المدمصة بقوة من العمود قبل عملية الحقن التالية وذلك بدفع أحجام من مذيب قوي بنظام Isocratic Technique وتعني استخدام مذيب واحد فقط طوال عملية الفصل أو بدفع مذيب آخر بعد المذيب السابق أعلى منه في القوة بنظام Gradient Technique وتعني التغير التدريجي في تركيب المذيب المستخدم مع الزمن أو استخدام مذيبين طول عملية الفصل ثم يتبع ذلك إعادة الاتزان بالطور المتحرك المستخدم لذا يكون من الضروري التأكد من عمليات التنقية التي تسبق الحقن والتحليل .

2- ترشيح العينة Sample Filtration :

إن الأحجام الجزيئية في محلول العينة تؤثر بدرجة كبيرة في شرائح الأعمدة مقارنة بالكروماتوغرافي الغازي بالإضافة إلى مقدمة العمود لذا يلزم إمرار العينات خلال جهاز ترشيح ذو مرشح بقطر 5 ميكروميتر قبل الحقن وفي حالات التحليل المتعدد الدقيق تمر العينات على مرشح بقطر اقل من 1 ميكروميتر وفي بعض أنواع الكاشفات يجب الترشيح على مرشحات دقيقة لإزالة الجزيئات الأكبر من 0.2 ميكروميتر وحديثا يتم استخدام مرشحات توضع في مقدمة العمود In Line Filter لمنع سد شرائح العمود مع ضرورة التأكد من أن مادة التحليل لا تفقد خلال هذه المرشحات الوسطية وخاصة في حالات التقدير الكمي لذا يجب تحليل عينات مقواة بتركيزات معلومة من المركب وتقدير معدلات استرجاعها .

3- مذيبات العينة منزوعة الغاز Sample Solvent Degassing :

يجب أن تجهز العينات للحقن باستخدام مذيبات منزوعة الغاز بنفس الطريقة التي أعدت لمذيبات الأطوار المتحركة فتقل المشاكل السابقة ومحلول العينة نفسه يجب ألا يكون منزوع الغاز لان ذلك قد يغير من تركيزه .

4- اختيار مذيب العينة Choice of Sample Solvent :

يجب ذوبان العينة في الطور المتحرك حيث يؤدي ذلك إلى خفض حجم منحنى المذيب مما يسهل التعرف على منحنيات العينة المزاحة بسرعة كذلك نتجنب ترسيب العينة على أو قبل العمود مما يتسبب في فقد منحنيات العينة المحللة

وظهور منحنيات مزاحة عشوائيا وغير معروفة على الكروماتوغرام ومزج العينات بالموجات فوق الصوتية يساعد إلى حد كبير في ذوبان العينة في الطور المتحرك أو في المحاليل المشابهة.

وفي حالة إزالة العينة في مذيب مختلف عن الطور المتحرك فيجب أن يكون متوافق مع العمود وتركيب الطور المتحرك ، وإذا تطلب الأمر الحقن في مذيب قوي فيجب أن يكون حجم الحقن صغير حتى لا تتسبب قوة المذيب في إظهار تذييل بالمنحنيات .

5- المواد القياسية الداخلية Internal Standards :

تستخدم بصورة شائعة في التحليلات لتقليل الأخطاء الناجمة عن الاختلافات في طريقة التحليل والتشغيل وكذا اختلافات عمليات الحقن ولا تستخدم بصورة عامة في تحليل مخلفات المبيدات . والمواصفات الجيدة هي :

- منحنى المادة القياسية يجب أن يكون مفصول تماما عن باقي المنحنيات مع الأخذ في الاعتبار إزاحتها بنفس الوقت الذي يتم إزاحة المركب المحلل خلاله .
- يجب أن تكون متقاربة في الخواص الكيميائية والتركيب مع المادة المحللة وتعطي استجابة مماثلة مع الكاشف المستخدم .
- يجب أن تكون ذات نقاوة عالية وخاملة كيميائيا .

المواد القياسية المرجعية Reference Standards :

وهي مواد عالية النقاوة ومستخدمة في تحضير المحاليل القياسية الأساسية والمستخدمة في تحضير المحاليل القياسية العاملة Working Standard Solutions . ومن المعروف أن المواد القياسية الصلبة تكون ثابتة بصفة عامة تجاه التحولات الكيميائية تحت ظروف الحفظ بالثلاجة أو التجميد ، ولما كانت طبيعية التقدير تجعله الطريقة المفضلة في تقدير كثير من المركبات غير الثابتة والسهلة التحليل لذا فان ثبات هذه المركبات في المذيبات المستخدمة في تحضير المحاليل القياسية تحتاج إلى عناية خاصة.

آ- المحاليل القياسية الأساسية Stock Solutions :

أسس اختيار المذيب المستخدم في تحضير المحاليل تكون هي نفسها الأسس المتبعة في اختيار المذيب الذي سيتم حقن العينات به ، وإذا كانت القابلية للثبات تسمح فانه يفضل المحاليل القياسية في الطور المتحرك المستخدم في نظام التحليل ومع ذلك نجد أن كثير من المبيدات تكون ذات ثبات محدود في المذيبات كالميثانول أو الماء والتي غالبا ما تستخدم في الأطوار المتحركة كما في مبيدات الفطريات (Captan , Thiophanate Methyle , Captasol , Folpet) والتي يمكن تخزينها لفترات غير محدودة في البنزين والأسيتون والايزواوكتان ولكنها سرعان ما تتحلل عند تخزينها في الميثانول / ماء . وقد وجد أن البنزين يعتبر مذيب جيد لمعظم المبيدات القياسية ولكن سميته تجعلنا لا ننصح باستخدامه ويعتبر

الايزواوكتان والهكسان مذيبات جيدة لمعظم المبيدات الكلورينية العضوية كما أن انخفاض نسبة التطاير للايزواوكتان تقلل من نسبة الفقد بالتبخير أثناء التخزين ونجد انه لا ينصح باستخدامه أيضا في الحالات التي يتطلب فيها تبخيره للإذابة في الطور المتحرك كما لوحظ أن الكلوروفورم يكون مفيد في استخدامه مع الترياز نيلت كما يفيد المثلين كلورايد أو الميثانول مركبات الكارباميت والأسيتون لمبيدات الفطريات القريبة للبنزيميدازول و الميثانول لمبيدات الحشائش كالفينيل يوريا .

وأهم مشاكل سلامة المحلول القياسي ترجع إلى تبخير المذيب وعدم الثبات لذا يكون من الضروري عمل محاليل قياسية أساسية وبصفة دورية ونتيجة لاستخدام كميات ضئيلة من المواد القياسية (< 100 ملغم) يلزم استخدام ميزان حساس والتحضير المباشر للمحاليل المخففة بهذه الطريقة يقلل من عدد التخفيفات اللازمة لعمل المحاليل القياسية العاملة من المحلول القياسي الأساس .

ب- المحاليل القياسية العاملة Working Standard Solutions :

وتحضر بتركيزات مناسبة للكشف وفي حدود المستويات المتوقعة للمخلفات في مستخلصات العينات فلابد وان تكون قريبة جدا لما هو موجود في المستخلص ليسهل مقارنة مساحات أو ارتفاع المنحنيات . وفي حالات الكشف المتعدد للمتبقيات يتم عمل المحاليل القياسية العاملة كمخاليط قياسية للتحليل بالطريقة المتبعة مع التأكد من ثبات المحاليل القياسية العاملة بصفة دورية من خلال مقارنتها بالمحاليل المحضرة حديثا أو بالتخفيفات الحديثة للمحاليل القياسية وأيضا فان المذيبات المستخدمة مع المحاليل القياسية العاملة يجب أن تتوافق أيضا مع مذيب العينات والجهاز مع مراعاة فحصها للتأكد من عدم تلوثها والذي قد يؤثر في نتائج التحليل .

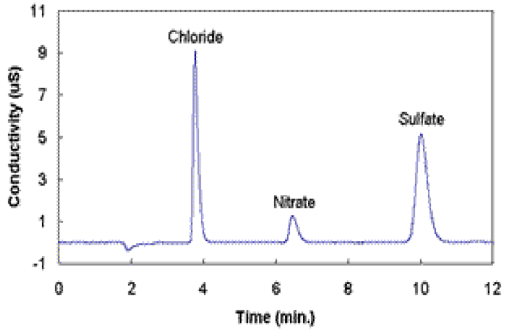
ت- التخزين Storage :

يجب تخزين المحاليل القياسية في ثلاجات على درجات حرارة اقل من أو تساوي 4 ْم ويلاحظ أن محاليل البنزين بمكن أن تتجمد في هذه الدرجات وقد يؤدي ذلك إلى كسر الأوعية الخاصة بها ويتم تخزين المحاليل القياسية الأساسية للمتبقيات الكلورينية العضوية لمدة 6 أشهر على الأقل دون أن يحدث لها ضرراً أما محاليل الكارباميت والفسفورية العضوية فتكون اقل ثباتا ويجب استبعادها كل 3-4 أشهر من التحضير وبعض المحاليل القياسية الأخرى نجد أنها لا تقبل التخزين لذا يجب تحضيرها عند الاستخدام مباشرة .

التقدير الوصفي والكمي Qualitative and Quantitative Determination:

يتم التعريف والتقدير الكمي للعينات التي تم فصلها هنا بطرائق مماثلة لتلك المستخدمة في جهاز الكروماتوغرافي الغازي والتي تعتمد على مطابقة قيمة فترة الحبس أو فترة الاحتجاز النسبي لمركبات العينات القياسية المفصولة مع قيم العينات مجال التعريف والتقدير (تقدير وصفي) (الشكل 127) . والمقصود تحت

نفس ظروف الفصل للمركبات القياسية كما ويحدث التحليل الرياضي للمنحنيات والتقدير الكمي للمركبات المفصولة والمعروفة تعريفا مبدئيا بنفس الطرائق التي سبق ذكرها .



الشكل (127): منحنى الفصل لأحد المركبات بواسطة جهاز كروماتوغرافي السائل عالي الأداء .

سبعة عشر) الطرائق الحيوية

Bioassay Methods

يمكن استخدام الطرائق الحيوية المختلفة المذكورة في الفصل السادس والسابع لتقدير متبقيات المبيدات في البيئة .

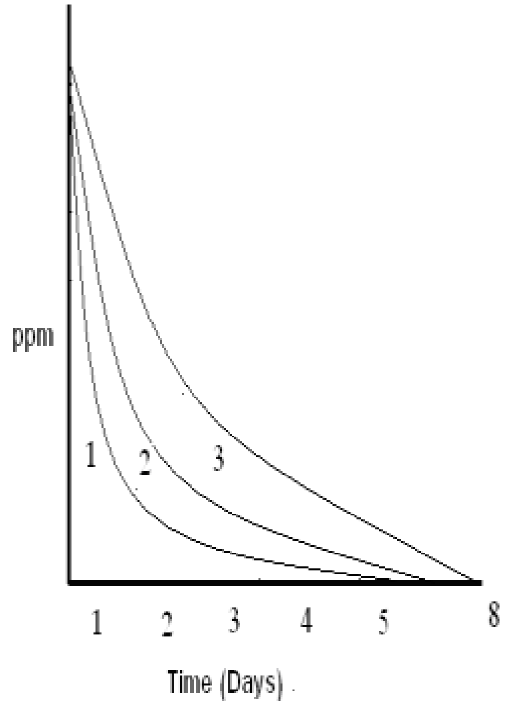
تقييم تأثير متبقيات المبيدات في بعض الأنظمة الحيوية

Effect Evaluation Of Pesticides Residues In Some Biological Systems

ويتم ذلك من خلال إتباع ما يأتي:

أولا) منحنيات الثبات والهدم للمبيدات Persistence and Degradation Curves

لو أخذنا عينات من الحقل وقدرت المتبقيات للمبيد بأجزاء المليون ppm ورسمت العلاقة كما يلي :

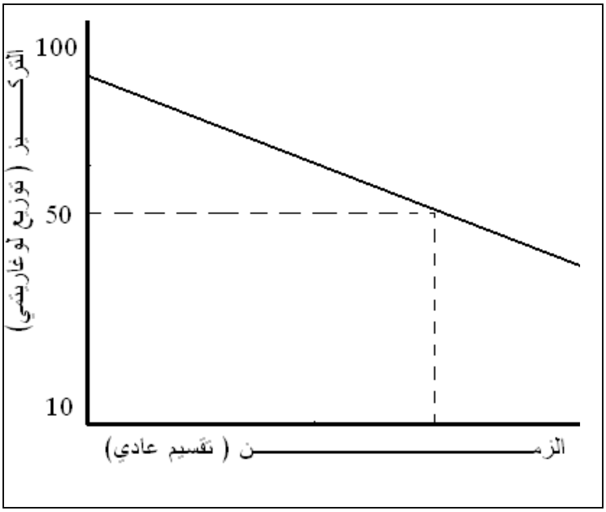


الشكل (128): يمثل العلاقة بين تركيز المبيد وفترة التدهور بالأيام.

فان المنحنى سيكون بالشكل أعلاه ، إذ تختلف المبيدات في فترات ثباتها وأكثرها بقاء في هذه الحالة هو المبيد (3) .

ولتحويل هذه المنحنيات إلى شكل آخر يتم تحويلها إلى منحنيات الثبات والهدم إذ يمثلها قيمة إحصائية تسمى Half life . حيث تحول هذه الخطوط إلى خطوط مستقيمة باستخدام ورق نصف لوغاريتمي .ويتم ذلك بأخذ عينات بعد جفاف الرش (من الأوراق) ويقدر عليها المبيد وتسمى هذه العينة Initial deposit ثم بعد ذلك تنسب القيم التي يتم الحصول عليها فيما بعد إلى الكمية السابقة .

ففي أول يوم تكون 100% لأنها نسبت إلى نفسها ، وفي اليوم الثاني تكون النسبة اقل وفي اليوم الثالث اقل ....ولغاية 50% من الكمية الموجودة بعد الرش مباشرة . لذا يكون المنحنى خط مستقيم . لذا يعطى عند 50 % عدد الأيام التي لابد أن تنقضي حتى يفقد المبيد 50% من تركيبة وهي ما تسمى نصف العمر Half life .الشكل (129).



الشكل (129): منحنى تحديد نصف عمر المبيد

ثانيا) تقييم حدود التحمل أو الأمان المفترضة Safety Limits Evaluation

من المفيد اختيار مثال متخصص لفهم خطوات تقييم حدود الأمان لمبيد حديث تجري معاملته على البطاطا لمكافحة آفة حشرية ما . ونفترض هنا أن الدراسات الخاصة بالمتبقيات والتي تتضمن تحليل البطاطا بعد المعاملة الحقلية بالمبيد توضح أن أقصى متبق ناتج من استخدام المبيد هو جزء واحد في المليون . كما يفترض أن هذا المستوى جزء واحد في المليون يتساوى مع مستوى الأمان الذي يمثل متبقي المبيد الناتج بعد المعاملة الزراعية الجيدة (جزء واحد في المليون = 1 ملغرام من متبقي المبيد /كغم من البطاطا) . ونفترض أن البطاطا تمثل 7% من غذاء المجتمع ، كما أن متوسط وزن الفرد العادي يساوي 60 كغم ، ويستهلك حوالي 1.5 كغم من الغذاء يومياً. أي أن أقصى مستوى نظري لتناول متبقيات المبيد في البطاطا يمكن أن يحسب كما يلي :

اقصى مستوى نظري لتناول متبقي المبيد = مستوى المتبقي في الغذاء(البطاطا) x نسبة تناول ذلك الغذاء x معدل الغذاء اليومي

= 1 ملغم/كغم x 0.07 x 1.5 كغم/يوم= 0.105 ملغم/يوم

توضح الحسابات السابقة الحد الأعلى للمتبقي الذي يمكن أن يتناوله الشخص يوميا ، ولاستكمال تقييم الحد الآمن للمبيد فانه من الأهمية بمكان معرفة مستوى متبقي المبيد الذي يمكن اعتباره آمنا في غذاء الإنسان ، مع افتراض أن المستوى المؤثر غير ملحوظ في التغذية المزمنة حوالي 2 جزء من المبيد/مليون جزء من الغذاء ، وان الفار هو الحيوان التجريبي. وبالنسبة للفار فمن المعروف أن 20 جزء في المليون مع الغذاء تساوي 1 ملغم من المبيد/كلغم من وزن الجسم/يوم .وعند حساب كمية المبيد الممكن قبولها يوميا Acceptable Daily Intake (ADI)

للإنسان تلزم المعاملة بحوالي 100 ضعف عامل الأمان إلى قيمة المستوى المؤثر غير الملاحظ No Observable Effect Level (NOEL) وذلك في دراسة التغذية خلال فترة حياة الحيوان .ويمكن حساب عامل الأمان بقياس الاختلافات في الحساسية بين الأفراد وبين النوع . فعند المعاملة بقيمة عامل الأمان لمستوى 1 ملغرام /كغم يوميا للفار يمكن حساب كمية المبيد الممكن قبولها يوميا (ADI) للإنسان ، وهو عبارة عن 0.01 ملغم / كغم يوميا ، ويصل أقصى مستوى يتعرض له شخص وزنه 60 كغم حوالي 0.6 ملغم مبيد يومياً .

وإذا كانت البطاطا تتضمن نظريا (0.105) ملغم يوميا ، بالمقارنة بأقصى كمية من المبيد يمكن أن يتعرض لها الإنسان يوميا ، وهي 0.6 ملغم يوميا فان المبيد المستخدم يمكن قبوله .

يجب أن يؤخذ في الاعتبار عند تطبيق المثال السابق احتمال استخدام المبيد على محاصيل أخرى غير البطاطا . ولذا يلزم معرفة حدود الأمان وتكرار تقييم عمليات حدود الأمان لكل محصول يحتمل تواجد متبقيات المبيد فيه . ونفترض نظريا أن المبيد المستخدم في مثالنا السابق سوف يكرر استخدامه على القطن وبعض أصناف الخضراوات ، ومن المعروف أن بذور القطن تقدم كغذاء للمواشي والدواجن ، ولذا تجب معرفة متبقياته في اللحوم واللبن والبيض الناتج من الدواجن . ويوضح الجدول (60) تفاصيل تحليل المتبقيات المقترحة عند استخدام المبيد على محاصيل متعددة . ويجب ملاحظة أن التراكم اليومي لمتبقيات المبيد الممكن تناوله ، والناتجة من جميع الاستخدامات المفترضة للمنتج الغذائي هو 0.222 ملغم /يوم ، وان تحليل نتائج السمية تؤكد أن أقصى كمية مسموح بقبولها يوميا هي 0.6 ملغم يوميا ، وعليه فان جميع حدود الأمان المفترضة يمكن قبولها ، كما يمكن استخدام المبيد لجميع المحاصيل المقترحة، طالما أن خطوات التسجيل تم تخطيها بنجاح .

جدول (60): تفاصيل تحليل المتبقيات المقترحة عند استخدام المبيد على محاصيل متعددة .

المنتج الغذائي	نسبته في الغذاء (%)	معدل تناوله يوميا (غم)	الحد الأمن جزء/مليون	معدل التعرض للمتبقيات في الغذاء يومياً (ملغم)	معدل تناوله (ملغم)
البطاطا	0.7	105	1.00	0.105	0.105
زيت بذور القطن	2.29	34.4	0.50	0.017	0.122
اللحم والدواجن	11.47	172	0.05	0.009	0.151
القرنبيط –اللهانة-الخس	3.61	54.15	1.00	0.054	0.205
البيض	3.00	45	0.05	0.002	0.207
فول الصويا-الفول السوداني	1.00	15	1.00	0.015	0.222

ثالثا) تقييم إمكانية استخدام مياه النهر الملوثة بالكيميائيات لأغراض الري

Evaluation The Possibility Of Using Contaminated River Water In Irrigation .

بالرغم من أن معايير وجود المياه لأغراض الري الزراعي مقبولة بوجه عام ومدونة في المراجع والدلائل بالنسبة للمواد غير العضوية (المقاومة) وكذلك للملوثـــات الميكروبية (البكتريا...الخ) فان المشكلة مازالت بدون حل للملوثات العضوية الموجودة كآثار . وفي هذا سنتناول تقييم التأثير المؤثر للماء من نهر بورميدا على المحاصيل الحقلية (يقع نهر بورميدا في شمال ايطاليا في منطقة ليوريا حيث المصانع) . تقوم شركة ANCA C.O. بصرف العديد من المركبات من مصنع معالجة المياه إلى النهر . تم دراسة عشرين مركب تبعا لقائمة الأولويات التي وضعتها ووافقت عليها اللجنة العلمية الاستشارية للسموم في ايطاليا والتي اضطلعت بمسؤولية وضع معايير جودة المياه للأحياء المائية في ايطاليا .اللجنة استندت عند وضع معايير الجودة على معايير اللجنة الاستشارية العلمية لدول المجموعة الأوربية في مجال السمية البيئية (جدول 61).

يمكن تعريف عوامل أو معايير مختلفة وأخذها في الاعتبار لوضع تقييم كامل عن هذه المشكلة منها:

1. إمكانية إحداث تأثيرات ضارة على النباتات .
2. التأثيرات على ميكروبات وكائنات التربة الدقيقة .
3. التراكم الحيوي في الخضراوات .
4. الخطورة على صحة الإنسان الناجمة عن استهلاك الخضراوات.

الجدول (61) : معايير جودة المياه بالنسبة للجزيئات التي تطرح من مصانع شركة C.O. ANCA

جزئ مادة التلوث	التركيز* (ميكروغرام / لتر)
Naphthalene	**10**
2-Amino-1-naphthalenesulfonic ac.	
2-Amino-6-naphthalenesulfonic ac.	**10**
2-Amino-8-naphthalenesulfonic ac.	
1-naphthalenesulfonic ac.	
2-naphthalenesulfonic ac.	**10**
4-Chloro-2-nitroaniline	
2-Chloro-4-nitroaniline	**10**
o-nitroaniline	

10	p-nitroaniline
	o-Chloroaniline
10	p-Chloroaniline
	3,4-Dichloroaniline
1	2,3-Dichloroaniline
0.1	1,2,4-Trichloroaniline
20	Nitrobenzene
10	Chlorobenzene
	p-Chloronitrobenzene
10	o-Chloronitrobenzene
10	1,2-Dichlorobenzene

* المتشابهات تجمع كمياتها

1- القدرة على إحداث تأثيرات ضارة على النباتات Ability For Damaging Plants:

عند تحديد وتعريف معايير جودة المياه في علاقتها بالحياة المائية فان بيانات السمية عن الطحالب دائما ينظر إليها باهتمام عندما تكون متاحة . فمن المفروض أن مستوى التركيز القادر على حماية الأحياء المائية سيكون قادرا أيضا على حماية المجموع الخضري. لقد قدر وجود معيار جودة المياه على الأحياء المائية من خلال لجنة السمية العامة الايطالية في المدى 0.1- 20 مايكروغرام / لتر .كما وجد أن التركيز السام لمبيدات الأدغال كما هو مدون في المراجع يصل إلى بضع مليغرامات لكل لتر .لقد سجلت حالات سمية قليلة على الطحالب عند مستويات من 10-20 مايكروغرام /لتر والغالبية تحدث سمية عند مستوى مئات من الميكروغرامات . علما بأن المبيدات التي تصرف من المصنع ليست من مجموعة مبيدات الأدغال حيث أن سميتها غير متخصصة.

والجدول (62) يوضح المركبات التي درست مع التأثيرات السامة الملاحظة والتركيزات المرتبطة بالتأثيرات الضارة علما بان جميع الأرقام في الجدول مأخوذة من المراجع وهي أعلى من 1 مليغرام / لتر فيما عدا قيمة واحدة هي 0.35 مليغرام / لتر .

الجدول (62) : سمية المركبات المدروسة ضد الطحالب .

التركيز ملغرام/لتر	نوع السمية	نوع الطحلب	المركب
33	LD50	*Chlorella vulgaris*	Naphthalene
33	LD50	*Chlorella vulgaris*	2-Amino-1-naphthalenesulfonic ac.

33	LD50	*Chlorella vulgaris*	**2-Amino-6-naphthalenesulfonic ac.**
33	LD50	*Chlorella vulgaris*	**2-Amino-8-naphthalenesulfonic ac.**
1.7	تثبيط النمو	*Scenedesmus obliquus*	**1-naphthalenesulfonic ac.**
1.7	تثبيط النمو	*Scenedesmus obliquus*	**2-naphthalenesulfonic ac.**
24	LD50	*Scenedesmus ponnonic*	**4-Chloro-2-nitroaniline**
12	LD50	Several	**2-Chloro-4-nitroaniline**
20 0.35	LD50 LD50	*Microcystis aeruginosa*	**o-nitroaniline**
-	-	-	**p-nitroaniline**
-	-	-	**o-Chloroaniline**
-	-	-	**p-Chloroaniline**
2.2 3.2	LD50 LD50	*Ssecnedesmus quadrica* *Chlorella spp*	**3,4-Dichloroaniline**
-	-	-	**2,3-Dichloroaniline**
1.4	LD50	*Selenastrum* *Capricornutum*	**1,2,4-Trichloroaniline**
1.9 33	LD50 LD50	*Microcystis aeruginosa* *Secnedesmus quadrica*	**Nitrobenzene**
12.5 120	LD50 LD50	*Selenastrum capricorn* *Microcystis aeruginosa*	**Chlorobenzene**
5.5	LD50	*Secnedesmus quadrica*	**p-Chloronitrobenzene**
			o-Chloronitrobenzene
2.2	LD50	*Selenastrum capricorn*	**1,2-Dichlorobenzene**

السمية النباتية Phytotoxicity

معظم بيانات التأثيرات الضارة على النباتات Phytoxicity الموجودة في المراجع تشمل مبيدات الأدغال ، مثال ذلك بيانات الأنواع الحساسة من الخضراوات والمحاصيل والتي توضح أن مدى السمية يقع في حدود مليغرامات لكل لتر مع بعض القيم حول 10-100 مايكروغرام/لتر .

للحصول على فكرة سليمة عن كمية مبيدات الأدغال المستخدمة على المحاصيل ولكي نعمل مقارنة مع تأثير أو حمل الجزيئات الموجودة في الماء خلال الري يمكن عمل حسابات بسيطة .

مثال ذلك مبيد الاترازين المستخدم على المحاصيل كجرعات بحدود 1كغم/هكتار أي حوالي 100ملغرام/متر مربع . إن حساب جرعة ري 5000 م^3/هكتار (وهو يعتبر تركيز عالي من وجهة نظر الكيمياء الزراعية) وتركيز المركب في الماء 20 ميكروغرام / لتر (أعلى قيمة من الجزيئات المدروسة) فان الري قد يحمل 10 مليغرام / كم أي حوالي عشر كمية الاترازين . هذه عادة قيم نظرية لان الجزيئات لا تدمص جميعها على التربة .

بعض النباتات تكون متاحة أمام السمية النباتية لمركب 3 , 4 – دايكلوروانيلين. هذا المركب اقل سمية من مبيدات الأدغال التي اشتقت منها (لينورون- بروبانيل) والتركيز السام على البصل حوالي 20 مليغرام / لتر .

2- كفاءة تثبيط نشاط ميكروبات التربة Inhibiting Efficacy To Soil Microorganisms

الخطر الممكن حدوثه من استخدام ماء نهر بورميدا قد ينجم من تثبيط أو نقص أو تحول في أنشطة ميكروبات التربة . هذه الأنشطة في غاية الأهمية خاصة دورة النيتروجين أو فقدان المواد العضوية .

معظم المركبات الموجودة في الجدول (62)قابلة للانهيار الحيوي ومن ثم يمكن استبعاد احتمال تراكمها في التربة . بعض الجزيئات ذات قابلية عالية للتطاير والآخر له ميل جزئي للتربة ومن ثم يبقى ويظل ثابتا .

بعض المعلومات عن الانهيار الحيوي للمركبات يمكن الحصول عليها من البيانات المتعلقة بالنباتات التي تنقي المياه أو من التجارب الحقلية والمختبرية . فعلى سبيل المثال فان تركيزات 100 ملغرام/لتر من الكلوروبنزين لا تثبط أي نشاط ميكروبي بينما 15 ملغرام/لتر من دايكلوروبنزين يوقف النمو الميكروبي ، أما 5 ملغرام /لتر من مركب 1, 2, 4 دايكلوروبنزين يثبط نشاط ميكروبي في الصرف الصحي . ومركب 4- دايكلوروبنزين على مستوى 100 ملغرام /لتر والنيتروبنزين بتركيز 30 ملغرام /لتر تثبط الانهيار الحيوي .

توضح البيانات المذكورة أعلاه أن التركيزات العالية (ملغرام/لتر أو عشرات الملغرامات/لتر) ضرورية لتثبيط النشاط الميكروبي في التربة . التركيزات القصوى المسموح بها في مدى 0.1 وحتى 20 ميكروغرام/لتر . هذه

المستويات توضح أن تثبيط النشاط الميكروبي يمكن اعتباره غير محتمل الحدوث . يمكن الحصول على تراكم في التربة مع بعض مركبات الكلوروانيلين وذلك بسبب كمياتها الصغيرة وميلها للارتباط على جسيمات التربة ، يمكن القول إن احتمالات إحداثها لأية أخطار مستبعدة.

3- مقدرة التراكم الحيوي في النباتات Bioconcentration Ability In Plants:

إن مشكلة التراكم الحيوي للكيميائيات في الخضراوات ترتبط بشكل تقليدي بوجود مخلفات المبيد في النباتات المعاملة . لتقييد والسيطرة على احتمال وجود المخلفات تم وضع وتطوير قواعد وقوانين تنظيم استخدام المبيدات في الزراعة وكذلك تم تحديد الحدود والتركيزات القصوى من المخلفات المسموح بتواجدها في النباتات المعاملة . لقد برز في السنوات الأخيرة احتمالات تراكم المركبات ومن ضرورة أخذها في الحسبان في ظل التلوث بالمبيدات . ولتقييم هذا الوضع استخدمت وسائل للتنبؤ جنبا إلى جنب مع الاستكشاف الكيميائي. وسوف نتناول فيما بعد وصف بعض المعادلات التي استخدمت للتنبؤ مع ظروف التعريض الناشئة عن استخدام مياه نهر بورميدا .

أ- معدلات التراكم الحيوي Averages Of Bioconcentration :

لقد استخدمت معادلات عديدة لحساب كفاءة التراكم الحيوي في النباتات . المعادلة الأولى افترضت بواسطة Briggs وآخرون 1982 ، وهي تسمح بحساب تركيز المادة الكيميائية في الجذور باستخدام عامل التركيز Root Concentration Factor (RCF) .

$$\text{عامل التركيز الجذري} = \frac{\text{التركيز في الجذور مايكروغرام / غم وزن طازج}}{\text{التركيز في المحلول الخارجي (مايكروغرام/مليمتر)}}$$

عادة هذا العامل لا يعتمد على تركيز المحلول المخفف. المعادلة المقترحة هي :

لوغاريتم (عامل التركيز الجذري -0.82)=0.77 لوغاريتم Kow - 1.52

المعادلة الثانية التي استخدمت لحساب التراكم الحيوي في السيقان مأخوذة من معادلة Briggs وآخرون 1990 . يمكن الحصول على التركيز في الساق من عامل التركيز في الساق RCF كما ياتي :

$$\text{عامل التركيز الجذري RCF} = \frac{\text{التركيز في الساق مايكروغرام / غم وزن طازج}}{\text{التركيز في المحلول الخارجي (مايكروغرام/مليمتر)}}$$

ويوصف من المعادلة الآتية:

RCF=[10 $^{0.95}$لو$_1$ – 2.05 + 0.82] x 0.784 لو$_1$ - [(لو$_1$ – 1.788) / 244]

هناك معادلة أخرى يمكن استخدامها لتقدير التراكم الحيوي في الأوراق خلال الهواء :

BCF = 0.024 kaw / kow

حيث أن :

Kow = معامل التوزيع الجزئي بين الاوكتانول العادي والماء

Kaw = معامل التوزيع الجزئي بين الهواء والماء

RCF = التركيز في الأوراق (مول/ م ^{2} وزن طازج) / التركيز في الهواء (مول / م^2)

حيث أن : kaw = H/ RT

هذه المعادلة لم تستخدم في العمل الحالي لان ظروف التعرض لا يمكن تحديدها كما أن النتائج تصبح عديمة المعنى . يمكن استخدام المعادلة في مواقف وظروف أخرى أذا كان تركيز الجزئ في الهواء معروفا .

ب- الصفات الطبيعية الكيميائية في الجزيئات وصلاحية تطبيق النموذج :

Physical and Chemical Characters Of Molecules and Model Application

إن المعيار المطلوب لحساب التراكم الحيوي المؤثر للكيميائيات في الجذور والسيقان يتمثل في معامل التوزيع الجزئي بين الاوكتانول العادي والماء (kow) ، أخذت هذه القيم من Di Guardo , 1990 . تم استبعاد خمسة مركبات من القائمة من الحساب بسبب القيم المنخفضة مما يجعلها تتفرق على درجة حموضة البيئة . لقد أشار Briggs 1987 إلى أن الأحماض العضوية تدخل الأنسجة النباتية أساسا في صورة غير متفرقة ولكنها أكثر سهولة في الانتقال خلال الأغشية الحيوية عما هو الحال من الايونات المقابلة . الجزيئات الأخرى مثل الانيلين لها قيمة لا تسمح لها بتكوين البروتينات على درجة حموضة البيئة . لهذا السبب تم إدخال الانيلين في الحساب . نتائج حساب معامل التركيز الجذري والساقي في الجدول (63).

التقييم الكامل لظاهرة التراكم الحيوي من جراء الري بمياه نهر بورميدا مع التركيزات القصوى المسموح بها من الجزيئات في الماء (معايير جودة المياه كما في الجدول (61) استخدمت مع فرض أن الجذور قد غمست في الماء . إن تأثير مقدرة التربة على الادمصاص قد تم استبعاده مما أدى إلى وضع فرضية

أخرى تتمثل في القابلية الحيوية الكاملة للجزيئات

الجدول (63) : عوامل التركيز الحيوي للجزيئات المدروسة

الجزئ	التركيز الحيوي في الجذر	التركيز الحيوي في الساق
Naphthalene	11.13	3.92
4-Chloro-2-nitroaniline	2.16	1.32
2-Chloro-4-nitroaniline	2.12	1.03
o-nitroaniline	1.20	0.76
p-nitroaniline	1.19	0.75
o-Chloroaniline	1.24	0.87
p-Chloroaniline	1.34	0.87
3,4-Dichloroaniline	8.05	3.30
2,3-Dichloroaniline	8.05	3.30
1,2,4-Trichloroaniline	58.39	6.31
Nitrobenzene	1.65	1.08
Chlorobenzene	5.45	2.61
p-Chloronitrobenzene	3.75	2.01
o-Chloronitrobenzene	3.75	2.01
1,2-Dichlorobenzene	17.17	4.74

المدروسة . لا توجد بيانات متوفرة عن مركب 4- كلورو – 2- نيترو انيلين 2- كلورو – 4 – نيترو انيلين ومع هذا افترضت القيمة 10 مايكروغرام / لتر . حيث أن معيار مجموع قيم المتشابهات اتخذ كأساس ، حيث أن كل مشابه افترض وجوده منفردا بأقصى تركيز داخل الوسط التركيزات المؤثرة المحسوبة في الجذور والسيقان للجزيئات المدروسة موضحة في الجدول (64) .تم استبعاد أحماض النافثالين سلفونيك من الحسابات لنفس الأسباب التي ذكرت أعلاه .

الجدول (64) : التركيز المحسوب في الجذور والسيقان .

الجزئ	الجذور ميكروغرام/كغم	الساق ميكروغرام/كغم	متوسط النبات ميكروغرام/كغم
Naphthalene	111.3	39.17	68.02
4-Chloro-2-nitroaniline	21.62	13.25	16.59
2-Chloro-4-nitroaniline	21.15	13.01	16.27
o-nitroaniline	12.01	7.63	9.38

9.26	7.52	11.88	p-nitroaniline
10.59	8.69	13.44	o-Chloroaniline
10.59	8.69	13.44	p-Chloroaniline
5.2	3.3	8.05	3,4-Dichloroaniline
5.2	3.3	8.05	2,3-Dichloroaniline
2.71	0.63	5.84	1,2,4-Trichloroaniline
25.90	21.14	33.03	Nitrobenzene
37.48	26.05	54.63	Chlorobenzene
27.07	20.13	37.48	p-Chloronitrobenzene
27.07	20.13	37.48	o-Chloronitrobenzene
97.12	47.40	171.70	1,2-Dichlorobenzene

تم حساب التركيز في النبات مع افتراض أن النسبة بين الجذر والساق 40 ، 60 % على التوالي . هذه النتائج يمكن مقارنتها بالبيانات التجريبية عن التركيز الحيوي للنيتروبنزين تحت نفس الظروف الحسابية (محلول بتركيز 20 ميكروغرام/لتر) . النتائج موجودة في الجدول (65) ومنها يتضح وجود فروق عالية نسبيا بين التركيز المحسوب والتجريبي .

الجدول (65): مقارنة بين البيانات المحسوبة والتجريبية فيما يتعلق بالتركيزات الحيوية للنيتروبنزين .

البيانات التجريبية	البيانات المحسوبة	المعايير
2.60	1.65	التركيز الحيوي في الجذر
0.55	1.06	التركيز الحيوي في السيقان
52 ميكروغرام /كغم	33.03 ميكروغرام /كغم	تركيز الجذور
11 ميكروغرام /كغم	21.14 ميكروغرام /كغم	تركيزالسقان
32 ميكروغرام /كغم	25.90 ميكروغرام /كغم	متوسط التركيز

هذا يؤكد فرضية التراكم الحيوي للجزئ في النبات ومن ثم تكون القيم المحسوبة للجزيئات الأخرى واجبة التأكد من خلال البيانات التجريبية .

ب- تقييم السمية من البيانات Toxicity Evaluation From The Data

في الجدول (66) تم وضع بيانات متعلقة بحد التناول اليومي للجزيئات كما هي مدونة في القوائم مع البيانات المحسوبة (المتوسط على النبات) . لقد ثبت أن متوسط التركيز بعيدا بشكل غير كبير عن التناول اليومي المقبول ADI حتى مع استهلاك واحد كيلوغرام من الخضر .

الجدول (66) : مقارنة بين التناول اليومي المقبول ADI ومتوسط قيم التركيز المحسوب لبعض المركبات المدروسة .

حد التناول اليومي المقبول ميكروغرام /شخص/يوم	التركيز في النبات ميكروغرام/كغم	جزئ المركب
3.700	68.02	Naphthalene
4.000	2.71	1,2,4-Trichloroaniline
18.000	37.48	Chlorobenzene
1.000	25.90	Nitrobenzene

هناك بعض البيانات المتوفرة عن الحد الأقصى المسموح بتواجده من مخلفات 3 ، 4-دايكلوروانيلين في الخضراوات في ألمانيا مثل :

الاسبركس 1 ملغم / كغم ، الحبوب 0.2 ملغم/كغم ، الجزر 0.2 ملغم/كغم، أنواع أخرى 0.1 ملغم/كغم.

القيم المحسوبة لمركب 3 ، 4-دايكلوروانيلين هي 5.2 مايكروغرام لكل كغم كما هو واضح في الجدول رقم (63) .

-ت- تقييم النتائج Evaluation of The Results :

لقد أمكن وضع بعض الاستنتاجات عن المشكلة الناجمة من تحليل بيانات التأثيرات والتداخلات من جراء استخدام مياه الري من نهر بورميدا كما

يأتي:

ث- أ- التأثيرات الضارة على النبات Phytoxicity :

معظم القيم الخاصة بالتأثيرات الضارة لمبيدات الأدغال على الطحالب عادة في حدود أعلى من 0.1 ملغم/لتر بينما قيم المركبات المدروسة كانت اقل من 1 ملغم/لتر مع استثناء واحد (0.35 ملغم/لتر) . هذه الحقيقة توضح السمية النسبية المنخفضة للمركبات المدروسة على الطحالب ومجتمع الأحياء المائية الخضرية . البيانات الخاصة بسمية مبيدات الأدغال على النباتات الأرضية عادة تتراوح حول 1 ملغم/لتر. بالنسبة للكيميائيات الصناعية المدروسة في هذا المجال على النباتات الراقية فقد افترض أن سميتها لا تمثل أي خطورة لدرجة انه يمكن تجاهلها . المعلومات الوحيدة المتوفرة تتناول 3 ، 4-دايكلوروانيلين في البصل حوالي 20 ملغم/لتر وهي بعيدة عن معايير جودة المياه لنفس المركب (1 مايكروغرام / لتر).

ث-ب- التأثيرات على نشاط ميكروبات التربة Effect Of Soil Microorganism Activity :

بسبب قلة البيانات عن المركبات المدروسة فانه يمكن عمل مقارنات لبعض الأوضاع الخاصة التي يحدث منها تثبيط للبكتريا ومثال ذلك الصرف الصحي والنباتات التي تقوم بالتنقية . التركيزات التي تثبط النشاط الميكروبي تصل لمدى عشرات الملغرامات للتر وكان أكثر المواد فاعلية مركب 1 ، 2، 4-ترايكلوروبنزين (5 ملغم/لتر) .هذه التركيزات عالية بدرجة كبيرة عن الحد الأقصى المسموح به في نهر بورميدا (1 إلى 10 مايكروغرام/لتر).

ث-ت- التراكم الحيوي في الخضراوات Bioconcentration In Vegetables:

التركيزات المحسوبة في النباتات تتراوح بين 10-30 مايكروغرام / لتر مع قيمة قصوى 100 مايكروغرام / لتر بالمقارنة بالحد اليومي للتناول ADI بالملغرامات لكل شخص لكل يوم . هذه القيم تؤكد التعرض القليل جدا الناجم عن التركيز الحيوي للمركب في النباتات .

بعض النواحي مازالت بعيدة عن الحل بسبب قلة المعلومات المتوفرة خاصة مشكلة تلوث الخضراوات بالرائحة والطعم . وهناك مشكلة المخاليط حيث توضح البيانات المتوفرة حدوث تأثير إضافي وليس تنشيطي على الجرعات المنخفضة على الأقل للأحياء المائية .

أمثلة تطبيقية في تقدير متبقيات بعض المبيدات

Applied Examples Of Determination Of Some Pesticides Residues

أولا – تقدير متبقيات مبيدات الكلور العضوية في دم الإنسان

Organochlorine Residues Determination In The Human blood

يتم اخذ عينة الدم من المتبرع وهي بحدود **7**-15 مل ، يتم نقلها إلى قنينة نظيفة ذات غطاء مغلف بالقصدير (ومن الضروري عدم استخدام قناني ذات غطاء بلاستيكي أو مطاطي). يتم حفظ العينة في الثلاجة لمدة نصف ساعة لضمان تخثر العينة ، بعد ذلك توضع في جهاز طرد مركزي لفصل كمية من مصل الدم بحدود 3 مل على الأقل وذلك بتشغيل الجهاز لمدة 10 دقائق على سرعة 2500 دورة في الدقيقة . وفي حالة عدم تحليل العينة مباشرة تخزن على درجة حرارة 2-5°م في الثلاجة وإذا كانت عملية التحليل ستتم بعد عدة أيام فتخزن في مجمدة تحت درجة حرارة بين -15°م إلى -25°م .

طريقة العملٍ:

1- امزج عينة مصل الدم بصورة جيدة وبواسطة الماصة انقل 2 مل منها إلى أنبوبة اختبار.

2- أضف 6 مل هكسان ثم سد فتحة الأنبوبة بغطاء مغلف بورق قصدير .

3- ضع الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي على سرعة 1500 دورة في الدقيقة ولمدة ساعتين .

4- انقل بعد ذلك 5 مل من مستخلص الهكسان إلى أنبوبة اختبار أخرى سعة 10 مل .

5- ضع الأنبوبة في حمام مائي على درجة حرارة 100°م إلى أن يصبح الحجم المتبقي في الأنبوبة بحدود 1.5-1 مل .

6- اترك الأنبوبة بعد ذلك لتبرد ثم اغسل جوانب الأنبوبة بقليل من الهكسان .

7- أغلق الأنبوبة ثم ضعها على خلاط بسرعة عالية لمدة 30 دقيقة .

8- بعد ذلك تكون العينة جاهزة للحقن في جهاز الكروماتوغرافي السائل .

9- يتم إجراء نفس الخطوات السابقة على عينة دم ثانية تحتوي على كمية معلومة من احد مبيدات الكلور العضوية .

الحسابات :

لتحديد كمية الكلور العضوية الموجودة في عينة الدم يمكن أتباع المعادلة الآتية:

$$PpB = ABX \quad x \quad 0.6 \ / \ CY$$

حيث أن:

ppB = جزء في البليون.

A = كمية المبيد بالنانوغرام في قمة منحنى العينة القياسية .

B = ارتفاع قمة المنحنى للعينة .

C = ارتفاع قمة المنحنى للعينة القياسية .

X = الحجم النهائي للمستخلص مقدرا بالميكروميللتر .

Y = حجم المستخلص بالميكروميللتر الذي حقن في الجهاز .

مثال ذلك :

A = 0.3

B = 80 mm

C = 90 mm

X = 1000 ml

Y = 5 ml

Ppb = (0.3 x 80 x 1000) x 0.6 / (90 x 5) = 32 ppb

ثانيا– تقدير متبقيات مبيد الكيبون Kepone في البيئة

Kepone Determination In Environment

يتم اخذ العينات من الماء والتربة وغيرها من عناصر البيئة وتوضع في قناني نظيفة أعدت لهذا الغرض ويفضل خزن العينات في الثلاجة لحين القيام بعملية التحليل.

أ : تقدير الكيبون في الماء Kepone Determination In Water.

1- انقل 50 مل من عينة الماء بعد رجها بصورة جيدة إلى قمع فصل سعة 125 مل ثم أضف 5 مل من البنزين .

2- أغلق قمع الفصل ثم رج محتوياته لمدة دقيقتين إلى أن يحدث فصل بين الماء والبنزين ، بعد ذلك يتم سحب طبقة الماء في اسطوانة مدرجة سعة 50 مل .

3- يتم إمرار طبقة البنزين خلال كمية صغيرة من حبيبات كبريتات الصوديوم في أنبوبة طرد مركزي سعة 15 مل .

4- يتم إعادة طبقة الماء إلى قمع فصل آخر وغسل الاسطوانة بـ 2.5 مل من البنزين ثم أضافته إلى قمع الفصل أيضا .

5- كرر الخطوتان 2 ، 3 مرة أخرى ، بعدها تخلص من الماء بعد أن تم سحب

جميع متبقيات الكيبون منه .

6- يتم تركيز المستخلص في أنبوبة طرد مركزي تحت تيار من النيتروجين إلى أن يصبح حجم المستخلص بكمية مناسبة للحقن في جهاز الكروماتوغرافي الغازي السائل .

7- يتم تقدير كمية الكيبون بحقن 5 مايكروميلتر في جهاز الكروماتوغرافي الغازي السائل .

ب :تقدير الكيبون في التربة Kepone Determination In Soil.

1- يتم خلط العينة بصورة جيدة وتجفف بتعريضها للهواء في زجاجة ساعة .

2- يتم اخذ 20 غم ويستخلص باستخدام الـ Soxhlet لمدة 16 – 18 ساعة مع 300 مل من خليط Methanol – Benzene .

3- يسخن المستخلص لاختزال حجمه إلى 75 مل .

4- ينقل المستخلص إلى دورق سعة 100 مل ويكمل الحجم بالبنزين .

5- يتم تقدير كمية الكيبون بحقن كمية من المستخلص في جهاز الكروماتوغرافي الغازي السائل .

ثالثا– تقدير متبقيات الملاثيون بطريقة لونية

Malathion Determination By color

تعتمد هذه الطريقة على تحلل جزيئات الملاثيون عند تفاعلها مع هيدروكسيد الصوديوم المذاب في كحول الـ Ethyl وكما يأتي :

Malathion O,O-Dimethyl S-[1,2-di O,O dimethyl (ethoxycarboxyl)] phosphorodithioate —NaOH / كحولي⟶ Sodium Fumonate + Sodium Phosphorodithioate

حيث أن المشتق الصوديومي الناتج يمكن تحويله إلى مركب مزدوج مع النحاس القابل للذوبان في رابع كلوريد الكربون وله لون اصفر يتناسب مع التركيز وبذلك يمكن تقدير الملاثيون الموجود في عينة مجهولة بقراءة الكثافة اللونية للمحلول ثم تستخرج قيمة تركيز المادة النقية من الملاثيون المقابلة لهذه الكثافة اللونية باستخدام المنحنى القياسي .وكما يلي :

1- ضع 10- 15 غم من المادة الفعالة للملاثيون في دورق سعة 750 مل .

2- أكمل الحجم إلى 250 مل باستخدام كحول ايثايل لا مائي ورجه بصورة جيدة .

3- انقل 25 مل من المحلول بواسطة ماصة إلى دورق سعة 250 مل ثم أكمل الحجم بواسطة كحول ايثايل لا مائي مع الرج الجيد .

4- انقل 25 مل منه إلى قمع فصل سعة 250 مل ثم أضف 2 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم عياريه 0.5 مع الرج الخفيف المستمر ثم اترك المحلول لمدة دقيقتين .

5- أضف 75 مل من محلول كلوريد ألحديديك مع الرج الجيد ثم اترك القمع لمدة 5 دقائق

6- أضف 50 مل من رابع كلوريد الكربون ثم 2 مل من كبريتات النحاس تركيز 1% . رج المزيج لمدة دقيقة ثم اترك الطبقات لتنفصل في القمع .

7- يتم بعد ذلك اخذ أحجام من محلول رابع كلوريد الكربون كمزدوج النحاس ذي اللون الأصفر وتقدر كثافته اللونية باستخدام جهاز Spectrophotometer.

8- من المنحنى القياسي (لمبيد الملاثيون النقي) يتم تحديد كمية الملاثيون التي تقابل درجة الكثافة اللونية للعينة المجهولة .

رابعا – تقدير D.D.T بطريقة الكلورين الكلي

D.D.T Determination By Total Chlorine

لا تستخدم في تقدير متبقيات المبيدات وإنما فقط عندما تكون عينة فيها تركيز معين، كان يراد قياس 50% من D.D.T حيث أن حساسيتها ضئيلة لذا لا تستخدم لتقدير الكميات الضئيلة جدا وإنما تكون للتركيزات العالية (طريقة فولهارد) .

يتم التقدير على مرحلتين :

1- الاستخلاص باستخدام طريقة ايزوبروبيلات الصوديوم Sodium isopropylate، في هذه الطريقة يتم معاملة المبيد بمعدن الصوديوم ثم تسخن تحت مكثف عاكس لإتمام عملية الهضم مع كحول الايزوبروبيل لينطلق الكلورين بصورة حرة . وكما يلي :

- يؤخذ نصف غرام من العينة (السطح المعامل بالمبيد) وينقل كميا باستخدام 50 مل من كحول الايزوبروبيل 99% إلى دورق مصنفر (فوهته خشنة) . أضف 2.5 غم من معدن الصوديوم النقي بعد تقطيعه مع الرج .
- اغلي المحلول لمدة ساعة تحت مكثف عاكس مع إضافة كمية أخرى من معدن الصوديوم إذا احتاج الأمر ورج الدورق من حين لآخر .
- برد ثم أضف ببطء 10 مل من كحول الايزوبروبيل 50% خلال المكثف العاكس بمعدل 1-2 نقطة / ثانية حتى تتخلص من معدن الصوديوم الزائد .

- اغلي المخلوط ثم أضف 2-3 نقطة من دليل الفينول نفثالين ثم عادل المخلوط بواسطة حامض النتريك المخفف (6 عياري) حتى يختفي لون الدليل وبعد انتهاء التعادل أضف (1) مل من الحامض زيادة .

2- تقدير الكلورين المنفرد بطريقة فولهارد : يعتمد أساس تقدير الكلورين بهذه الطريقة على إضافة كمية معلومة الحجم والعيارية من $AgNO_3$ تكفي لترسيب الكلورين وزيادة ، مكونة AgCl ثم تقدر الزيادة من $AgNO_3$ باستخدام محلول معلوم العيارية من ثايوسيانات الامونيوم . وكما يلي :

- أضف إلى المستخلص الكلوريني(5 مل) كمية تكفي للترسيب وزيادة من محلول نترات الفضة (0.1 عياري) (15 مل من نترات الفضة).
- أضف إلى المحلول 3 مل من حامض النتريك المخفف (6 عياري).
- أضف 3 مل من نيتروبنزين مع الرج لمدة 15 ثانية بشدة .
- أضف 2 مل من دليل شب الحديد .
- عاير الزيادة من نترات الفضة باستخدام محلول ثايوسيانات الامونيوم (0.1 عياري) لاحظ بدقة نقطة النهاية إذ يكون لونها بني محمر .
- احسب النسبة المئوية للكلورين في العينة من المعادلة التالية :

$$\%Chlorine = [(Am \times An) - (Bm \times Bn)] \times 3.546 / W$$

حيث أن :

Am = حجم محلول نترات الفضة .

An = عيارية نترات الفضة .

Bm = حجم ثايوسيانات الامونيوم .

Bn = عيارية ثايوسيانات الامونيوم .

W = وزن العينة (0.5 غم) .

$$\%Chlorinated\ insecticide = \%Chlorine \times Mw / N \times 35.46$$

N = عدد ذرات الكلور في جزيئة D.D.T = 5

Mw=الوزن الجزيئي لـ D.D.T = 355

خامسا – تقدير مبيد Fenthion (مبيد فسفوري)

Fenthion Determination

الجهاز المستخدم Spectronic 2D ، يحتوي على خلية ضوئية (كما مر سابقا)، يوضع المبيد في أنبوبة في الجهاز وبواسطة حزمة ضوئية موجهة خلال

الأنبوبة يحصل امتصاص لجزء من الضوء ونفاذ الجزء الآخر . وتختلف المواد في قابلية امتصاصها للضوء على نوعية المادة وتركيزها . كل مادة تحتاج إلى ضوء بطول موجي معين ، فالمبيدات الفسفورية يتم تقديرها عند طول موجي مقداره 520 ملي مايكرون والمادة الموجود فيها المبيد لها تأثير على التفاعل .

نأخذ أولا قراءة للمادة التي يذوب فيها المبيد على اعتبار أنها تسمح بمرور كامل للحزمة الضوئية . أي أن الكثافة الضوئية لهذه المادة تساوي صفر ثم بعد ذلك يؤخذ القراءات المختلفة لمحلول المبيد .

طريقة العمل :

- عمل منحنى قياسي للمبيد الفسفوري Fenthion.
- يؤخذ تراكيز متدرجة من المبيد في الأسيتون ، يبخر الأسيتون في حمام مائي .
- بعد تبخير الأسيتون يضاف (0.2 مل من Paranitro benzyl pyridine تركيزها 2% في الأسيتون مع 0.2 مل من مادة Cyclo hexyl amine تركيزها 2% في الأسيتون)
- يوضع في حمام زيتي لمدة 3 دقائق على درجة حرارة 175-180 ْم ثم يبرد .
- يضاف خلات الايثايل لعمل حجم نهائي مقداره 3 مل .
- يقاس اللون عند طول موجي مقداره 520 ملي مايكرون وذلك خلال 10 دقائق ، ويكون الـ blank خلات الايثايل (البلانك يسمح 100% للضوء بالمرور).

سادسا تقدير مبيد التديون

Tedion Determination Tedion

يقدر بالطرائق اللونية ، إذ يقاس عند طول موجي مقداره 520 ملي مايكرون إذ يتكون اللون بسبب عملية Nitration للمركب ثم يضاف محلول KOH و Pyridine فيتكون لون احمر يقاس على طول موجي 520 ملي مايكرون .

خطوات العمل :

- نأخذ عينة تحتوي 5-50 مايكروغرام مبيد . توضع التركيزات المختلفة في بيكرات مختلفة سعة 50 مل .
- يضاف 5 مل من محلول لانولين (1غم /100مل كلوروفورم لكي يكون غشاء رقيق على المبيد لمنع التطاير) ومن ثم يبخر في الهواء .
- نبرد في حمام ثلجي ثم يضاف 3 مل من مخلوط Nitration البارد (حامض

خليك مدخن + حامض كبريتيك مركز بنسبة 2:1) ويجب أن تبلل هذه الكمية كل قاع البيكر لضمان حصول نترتة كاملة للمبيد . يستمر وضع البيكر في حمام ثلجي لمدة 5 دقائق ثم على حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة .

- يوضع ألكاس في حمام مائي على درجة 20-25ْم ثم ترفع الحرارة تدريجيا حتى 90 ْم في خلال نصف ساعة .نواصل عملية Nitration على درجة الحرارة 90ْم لمدة 45 دقيقة ثم نبرد ثانية في حمام ثلجي ، ثم تنقل محتويات الكأس إلى قمع فصل سعته 250 مل ويستخدم بعملية النقل ماء مقطر بارد لكي لا يحصل فوران مع الحامض لغاية ما يصل حجم الجزء المنقول 50-60 مل ويتم ذلك على دفعات في حدود 10-15 مل .
- يضاف 18 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم 33% وتمزج لمدة دقيقتين لذا فان هيدروكسيد البوتاسيوم يعادل الحموضة الموجودة لذا يصبح الوسط قلوي .
- نضيف 25 مل من الكلوروفورم بالضبط وتكون الكمية محدودة لان النسب يرجع إليها فيما بعد ، يفضل أولا وضع **25** مل في البيكر الأول ثم ينقل إلى قمع الفصل للتأكد من بقاء أي مادة منه .
- يرج القمع بشدة ثم ينتظر لحين تكوين سطح انفصال .
- تفصل طبقة الكلوروفورم الرائقة وتمرر على ورقة ترشيح صغيرة (لامتصاص أي قطرة ماء تنزل مع الكلوروفورم) . ينقل 25 مل إلى البيكر الصغير مع احتراس نزول أي جزء من الماء معها .
- نأخذ 20 مل بالضبط من هذه الكمية وينقل إلى دورق سعة 25 مل ثم يبخر حتى الجفاف على حمام بخار للتخلص من أي آثار من الكلوروفورم والذي يسبب وجوده خطا في تقدير اللون .
- يبرد على حرارة الغرفة ثم يتم تكوين اللون بإضافة 10 مل من البريدين 96% (46% ماء) ثم يغطى البيكر بزجاجة ساعة ثم يسخن في حمام بخاري لمدة نصف ساعة على درجة حرارة 80ْم ، ثم يرج البيكر بين وقت وآخر لكي يتم الاختلاط .
- نبرد على درجة حرارة الغرفة ثم نضيف 2 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم ونرج لمدة 2-5 دقيقة فيتكون اللون الأحمر .
- يقرا على طول موجي مقداره 520 ملي ميكرون إذ يكون هذا اللون ثابت لمدة نصف ساعة إذ يعطي نفس القراءة لو أعيدت خلال هذا الوقت .

مثال :

تم رش محصول خضر بتركيز 0.002 من مبيد فوليثين ثم أخذت عينة مقدارها 100 غم من أوراق الخضر المرشوشة واستخلصت بالكلوروفورم 200

مل، وتم الاستخلاص . ثم أخذت كمية 200 مل وتم تبخيرها إلى أن أصبح الحجم 2 مل من المستخلص المركز ثم أجريت عملية التنظيف للمستخلص المركز بطريقة عمود الكروماتوغرافي (شاركول سيليت 1: 9) وبذلك أمكن الحصول على المبيد النقي مذاب في 50 مل بنزين . ثم اخذ من هذه الكمية 5 مل لتقدير اللون بطريقة Getz . احسب التركيز للمبيد على الأوراق بوحدات جزء/مليون ، علما بان قيمة k = 0.009 و O.D= 0.18 (الكثافة الضوئية) .

الحل :

التركيز = الكثافة الضوئية / الثابت .

= 0.009/0.18 = 20 مايكروغرام وجدت في 5 مل من المحلول الذي حجمه 50 مل .

الحجم (مل)	المبيد (مايكروغرام)
5	20
50	س

س= 50 x 20 /5 = 200 مايكروغرام في 50 مل مستخلص البنزين والذي يمثل 20 مل من المستخلص الكلوروفورمي (والذي مجموع حجمه 200 مل).

إذن كمية المبيد في 200 مل من المستخلص الكلوروفورمي هي :

الحجم (مل)	المبيد (مايكروغرام)
20	200
200	س

س= 200 x 200 /20= 2000 مايكروغرام في المستخلص الكلوروفورمي المأخوذ من 100 غم من أوراق الخضر .

بما أن الغرام = 1000000 مايكروغرام .

إذن 100 غم نبات = 100 x 1000000 =000 000 100 مايكروغرام

إذن :

كمية النبات (مايكروغرام)	المبيد (مايكروغرام)
100000000	200
1000000	س

س= 1000000 x 2000 /100000000= 20 جزء في المليون تركيز المبيد على الاوراق .

الملاحـــــــق

ملحق (1)

الأوزان والإعداد الذرية للعناصر الداخلة في التركيب الكيميائي للمبيدات

الوزن الذري	العدد الذري	الرمز	العنصر
26.97	13	Al	Aluminum
74.91	33	As	Arsenic
137.36	56	Ba	Barium
10.82	5	B	Boron
79.916	35	Br	Bromine
40.08	20	Ca	Calcium
12.01	6	C	Calcium
35.457	17	Cl	Chlorine
52.51	24	Cr	Chromium
63.54	27	Co	Cobalt
19	9	F	Fluorine
4003	2	He	Helium
1008	1	H	Hydrogen
126.92	53	I	Iodine
55.85	26	Fe	Iron
207.21	82	Fb	Lead
24.32	12	Mg	Magnesium
54.93	25	Mn	Manganese
200.61	80	Hg	Mercury
58.69	28	Ni	Nickel
14.008	7	N	Nitrogen
16	8	O	Oxygen
30.98	15	P	Phosphorous
195.23	78	Pt	Platinum
39.06	19	K	Potassium
87.96	34	Sc	Selenium
28.06	14	Si	Silicon
107.88	47	Ag	Silver
22.997	11	Na	Sodium
65.38	3	Zn	Zinc

ملحق (2)

بعض التحويلات المفيدة

غرام واحد	= 0.035	من الاونس
كيلو غرام واحد	=2.2	باوند او لبرة
الطن المتري	=1000 كيلوغرام	=2205 باوند
الهكتار	=5.2 اكر	=1000 متر
المتر	=39.4 انج	= 100 سنتمتر
الكيلومتر	=0.6 ميل	=1000 متر
الكيلوغرام	=1000 غرام	=2.2 باوند
الغرام	=1000 مليغرام	=0.035 أونس
اللتر	=1000 مليتر او سم^3	=1.058 كوارت
مليتر او السنتمتر المكعب	=0.034 من الاونس السائل	
مليتر او السنتمتر المكعب	= غرام واحد	
لتر واحد من الماء	= كيلوغرام واحد	
الباوند الواحد	=453.6 غرام	
الاونس الواحد	=28.35 غرام	
جزء واحد بالمليون 1 ppm	= مليغرام / لتر	
	= مليغرام/ كيلوغرام	
	= 0.0001 %	
	= 0.013 اونس في 100 غالون ماء	
%1 = 10.000	جزء بالمليون	
= 10	غرام/ لتر	
= 10	غرام/ كيلوغرام	
= 1.33	اونس/ غالون ماء	
= 8.34	باوند/ 100 غالون ماء	

1000 = %0.1	جزء بالمليون	= 1000 مليغرام/ لتر
100 = %0.01	جزء بالمليون	= 100 مليغرام/ لتر
10 =%0.001	جزء بالمليون	= 10 مليغرام/ لتر
1 =%0.0001	جزء بالمليون	= 1 مليغرام/ لتر

وحدات قياس الاوزان

الغرام	= 1000 مليغرام
المليغرام	= 1000 مايكروغرام
المايكروغرام	= 1000 نانوغرام
النانوغرام	= 1000 بيكوغرام
الاونس	=28.35 غرام
الرطل او اللبرة او الباوند	=16 اونس = 453.59 = 0.454 كيلوغرام الكيلوغرام= 2.2 رطل او باوند= 1000 غرام
وحدات قياس الأطوال	
المتر = 100 سنتمتر =	1.094 ياردة = 3.281 قدم = 39.37 بوصة
الكيلومتر =1000م	=0.621 ميل
الميل = 1760 ياردة	= 5280 قدم
الياردة = 3 اقدام	= 91.44 سم
القدم = 12 بوصة	= 30.48 سم
البوصة = 2.54 سم	
وحدات قياس المساحة	
البوصة المربعة	= 6.45 سنتمتر مربع
القدم المربع	= 929 سنتمتر مربع
الياردة المربعة	= 9أقدام مربعة
المتر المربع	=10.76 قدم مربع = 1.196 ياردة مربعة
الكيلومتر المربع	= 0.386 ميل مربع
الميل المربع	= 2.59 كيلومتر مربع
الهكتار	= 1000 متر مربع = 2.47 ايكر
الايكر	= 4047 متر مربع = 43.56 قدم مربع
الدونم	= 2500 متر مربع

وحدات قياس الحجوم

البوصة المكعبة = 16.39 سنتمتر مكعب

القدم المكعب = 28.320 سنتمتر مكعب

الياردة المكعبة = 0.7646 متر مكعب

السنتمتر المكعب= 0.061 بوصة مكعبة

المتر المكعب= 53.31 قدم مكعب

المتر المكعب=264.2 غالون امريكي

وحدات قياس السوائل

اللتر= 1000سم^3

اللتر=1.075 كوارت=2.113 باينت

الكوارت quart= 32 أونس=0.95 لتر

البابنت=16 اونس=0.475 لتر

الاونس السائل=29.57 سم^3

الغالون الامريكي=3.785 لتر =8.34 رطل ماء

الغالون الانكليزي=4.546 لتر=10 رطل ماء

البوشل Bushel =35.238 لتر

ملعقة شاي = سنتمتر مكعب

ملعقة كوب=5 سنتمتر مكعب

ملعقة طعام= 10 سنتمتر مكعب

كوب كبير=180 سنتمتر مكعب

كوب صغير=90 سنتمتر مكعب

استكان شاي=60 سنتمتر مكعب

ملحق (3)

بعض التحويلات القياسية المفيدة في مجال استخدام المبيدات

التحويل من	إلى	اضرب في
الاكر	قدم مربع	43560
الاكر	متر مربع	4047
الاكر	ميل مربع	0.0016
الاكر	ياردة مربعة	4840
اكر قدم	قدم مكعب	43560
اكر قدم	متر مكعب	1233.48
برميل زيت	غالون	42
سنتمتر	بوصة	0.3937
سنتمتر	متر	0.01
سنتمتر	مليمتر	10
سنتمتر زئبقي	كيلوغرام/م^2	136
سنتمتر زئبقي	باوند/قدم^2	27.85
سنتمتر زئبقي	باوند/ بوصة مربعة	0.1934
سنتمتر/ثانية	قدم/ ثانية	0.0328
سنتمتر/ثانية	كيلومتر/ ساعة	0.063
سنتمتر/ثانية	متر/ دقيقة	0.6
سنتمتر/ثانية	ميل / ساعة	0.0224
سنتمتر/ثانية	ميل/ دقيقة	0.004
ياردة مكعبة	قدم مكعب	27
ياردة مكعبة	متر مكعب	0.7645
ياردة مكعبة	بوصة مكعبة	46.656
ياردة مكعبةغالون	غالون	202
ياردة مكعبة	لتر	764.5
ياردة مكعبة	باينت سائل	1616
ياردة مكعبة	كوارت سائل	807.9
ياردة مكعبة/ دقيقة	قدم مكعب/ ثانية	0.45
ياردة مكعبة/ دقيقة	غالون / ثانية	3.367
قدم	سنتمتر	30.48
قدم	بوصة	12
قدم	متر	0.3048
قدم	ياردة	0.3333
قدم/ دقيقة	سنتمتر / ثانية	0.5080
قدم/ دقيقة	كيلومتر/ ساعة	0.0183
قدم/ دقيقة	متر/ دقيقة	0.3048
قدم/ دقيقة	ميل/ ساعة	0.0114
قدم/ ثانية	سنتمتر/ ثانية	30.48
قدم/ ثانية	كيلومتر/ ساعة	0.097
قدم/ ثانية	متر/ دقيقة	18.29
قدم/ ثانية	ميل/ ساعة	0.6818

قدم/ ثانية	ميل/ دقيقة	0.114
غالون	سنتمتر مكعب	3785
غالون	قدم مكعب	0.1337
غالون	بوصة مكعبة	231
غالون	متر مكعب	0.0038
غالون	لتر	3.785
غالون	باينت سائل	8
غالون	كوارت سائل	4
غالون امريكي	غالون	0.8327
غالون	غالون امريكي	1.2009
غرام	اونس	0.0332
غرام	باوند	0.0022
غرام/ سم^3	باوند/ بوصة مكعبة	0.0361
بوصة	سنتمتر	2.540
بوصة -زئبقية	كيلوغرام/متر مربع	345.3
بوصة-زئبقية	باوند/ مقدم مربع	70.73
كيلوغرام	باوند	2.205
كيلومتر	قدم	3.281
كيلومتر	متر	1000
كيلومتر	ياردة	1094
كيلومتر/ ساعة	قدم/ دقيقة	54.68
لتر	قدم مكعب	0.0353
لتر	بوصة مكعبة	61.02
لتر	متر مكعب	0.0010
لتر	غالون	0.2643
لتر	باينت سائل	2.113
لتر	كوارت سائل	1.507
متر	قدم	3.281
المتر	بوصة	39.37
المتر	كيلومتر	0.001
المتر	ياردة	1.094
المتر/دقيقة	قدم/ دقيقة	3.281
سنتمتر مكعب	قدم/ مكعب	3.531×10^{-5}
سنتمتر مكعب	بوصة مكعبة	0.0610
سنتمتر مكعب	متر مكعب	1×10^{-6}
سنتمتر مكعب	ياردة مكعبة	1.3079×10^{-6}
سنتمتر مكعب	غالون	2.642×10^{-4}
سنتمتر مكعب	لتر	0.0010
سنتمتر مكعب	باينت Pint	0.0021
سنتمتر مكعب	كوارت سائل Quart	0.0011
قدم مكعب	بوصة مكعبة	1728
قدم مكعب	متر مكعب	0.0283
قدم مكعب	غالون	7.4805

قدم مكعب	لتر	28.32
قدم مكعب	باينت سائل Pint	59.84
قدم مكعب	كوارت سائل Quart	29.92
قدم مكعب/ دقيقة	غالون/ ثانية	0.1247
قدم مكعب/ دقيقة	لتر/ ثانية	0.4719
قدم مكعب/ ثانية	غالون/ دقيقة	448.831
بوصة مكعبة	قدم مكعب	0.0005787
بوصة مكعبة	متر مكعب	1.6378×10^{-5}
بوصة مكعبة	ياردة مكعبة	2.1433×10^{-5}
بوصة مكعبة	غالون	0.04329
بوصة مكعبة	لتر	0.0164
بوصة مكعبة	باينت سائل	0.0346
بوصة مكعبة	كوارت سائل	0.0173
متر مكعب	سنتمتر مكعب	1×10^{6}
متر مكعب	قدم مكعب	35.31
متر مكعب	ياردة مكعبة	1.308
متر مكعب	بوصة مكعبة	61023
متر مكعب	غالون	264.2
متر مكعب	لتر	1000
متر مكعب	باينت سائل	2113
متر مكعب	موارت سائل	1057
متر/دقيقة	كيلومتر/ساعة	0.06
متر/دقيقة	ميل/ ساعة	0.0373
متر/ثانية	قدم/دقيقة	196.8
متر/ثانية	قدم/ثانية	3.281
متر/ثانية	كيلومتر/ساعة	3.6
متر/ثانية	ميل/دقيقة	0.03728
مايكرون	متر	1×10^{6}
ميل	قدم	5280
ميل	كيلومتر	1.609
ميل	ياردة	1760
ميل/ساعة	سنتمتر /ثانية	44.7
ميل/ساعة	قدم/دقيقة	88
ميل/ساعة	قدم/ دقيقة	1.467
ميل/ساعة	كيلومتر/ساعة	1.609
ميل/ساعة	متر/دقيقة	26.82
ميل/دقيقة	سنتمتر/ثانية	2682
ميل/دقيقة	قدم/ثانية	88
ميل/دقيقة	كيلومتر/دقيقة	1.609
ميل/دقيقة	ميل/ ساعة	60
مليغرام	غرام	0.001
مليمتر	سم	0.1
مليلتر	لتر	0.001

مليمتر	بوصة	0.0394
الاونس	باوند	0.0625
الاونس	طن متري	2.8349×10^{-5}
باوند	اونس	16
باوند/ بوصة مكعبة	باوند/ قدم مكعب	1728
باوند/ قدم	كيلوغرام/ متر	1488
باوند/ قدم مربع	كيلوغرام/ متر مربع	4.882
سنتمتر مربع	قدم مربع	0.0011
سنتمتر مربع	بوصة مربعة	0.1550
سنتمتر مربع	متر مربع	0.0001
سنتمتر مربع	مليمتر مربع	100
قدم مربع	اكر	2.2957×10^{-5}
قدم مربع	سنتمتر مربع	929
قدم مربع	بوصة مربعة	144
قدم مربع	متر مربع	0.0929
قدم مربع	ميل مربع	3.5870×10^{-8}
قدم مربع	ياردة مربعة	0.1111
بوصة مربعة	سنتمتر مربع	6.452
بوصة مربعة	قدم مربع	0.0069
كيلومتر مربع	اكر	247.1
كيلومتر مربع	قدم مربع	1×10^{6}
كيلومتر مربع	ميل مربع	0.3861
كيلومتر مربع	ياردة مربعة	1.1960×10^{6}
متر مربع	قدم مربع	10.76
ميل مربع	اكر	640
ميل مربع	كيلومتر مربع	2.590
ميل مربع	ياردة مربعة	3.0976×10^{6}
مليمتر مربع	بوصة مربعة	0.0016
مليمتر مربع	سنتمتر مربع	1.01
ياردة مربعة	قدم مربع	9
ياردة مربعة	متر مربع	0.8361
ياردة مربعة	ميل مربع	32283×10^{-7}
طن متري	كغم	1000
طن متري	باوند	2205
ياردة	سنتمتر	91.44
ياردة	قدم	3
ياردة	بوصة	36
ياردة	متر	0.9144

المراجــع

المراجع العربية

إبراهيم ، بسام يحيى (1996) دراسة مرضية وسمية الفطر ***Alternaria citri*** *في الحمضيات* .أطروحة ماجستير ، جامعة الموصل كلية الزراعة والغابات.

أبو بكر ، صدر الدين نور الدين (2000). الآفات الزراعية وأسس مكافحتها. مطبعة أوفسيت أربيل ، جمهورية العراق.

أبو الحب ، جليل ، 1982 الحلم الضار بالنباتات الاقتصادية ، الجزء الأول ، مطبعة جامعة بغداد ، العراق .

أبو الحب ، جليل ، 1987 ، القوارض أضرارها ومكافحتها . مركز بحوث الوقاية ، الهيئة العامة للبحوث الزراعية التطبيقية ، بغداد ، العراق.

احمد ، جاسم محمد ، خالد حسن طه (1987) دراسات على تبقع أوراق اللوبيا الالترناري في نينوى ،العراق ، مجلة زراعة الرافدين 19(2) : 323-336.

أمين ، عادل حسن ، نزار مصطفى الملاح وسهل كوكب الجميل ، 1987 دراسة حياتية مع المكافحة للبزاق البني المرقط . مجلة وقاية النيات العربية 5:31-34.

أمين ، عادل حسن ، نزار مصطفى الملاح ، سهل كوكب الجميل ، 1988 ، حصر لأنواع البزاقات في منطقة الموصل مع دراسة حياتية للبزاق المخطط . مجلة زراعة الرافدين ، 20(3) : 355-362.

البطش ، محمد وليد ، خالد العجلوني (1994) دليل استخدام الحاسوب في التحليل الإحصائي (الرزمة الإحصائية sas) الجامعة الاردنيه-كلية العلوم التربوية .

بهجت ، إحسان محمد و عزيزة موسى شعبان (1985): الكيمياء السريرية . مطبعة مؤسسة المعاهد الفنية / بغداد .

الجابري ، إبراهيم عبد الرسول (1987) أسس مكافحة الآفات ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة الموصل.

الجبوري ،عبد الرزاق يونس احمد (1997) التقييم الحيوي لمستخلصات بعض النباتات الطبية في حشرة خنفساء الحبوب الشعرية .أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل كلية الزراعة والغابات.

الجبوري ، عبد الرزاق يونس احمد (2002)تعديل طريقة متكالف لتقدير التأثير التآزري للمبيدات . مجلة تكريت للعلوم الزراعية 2(1):74-82.

الجبوري ، عبد الرزاق يونس احمد (2005) توحيد معادلات حساب تراكيز المبيدات.بحث غير منشور.

الجبوري ، عبد الرزاق يونس احمد (2006) تحديد صفة الحساسية للحشرات من خلال صفة المقاومة .بحث غير منشور.

جرجيس ، سالم جميل ، عبد الرزاق يونس الجبوري (1999) دراسة مقارنة لأهم طريقتين من طرائق تقويم سمية المبيدات . مجلة الزراعة العراقية 4(8): 71-77.

جرجيس ، سالم جميل ، نزار مصطفى الملاح وسعاد ارديني عبد الله ، 1986 ، تحديد مصدر الإصابة بحشرة خنفساء الجلود واختيار أفضل المبيدات لمكافحتها في محافظة نينوى ، مجلة زراعة الرافدين 18 (1) 151-160.

حساوي ، غانم سعد الله وباقر عبد خلف ، 1982 ، الأدغال وطرائق مكافحتها مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .

الخياط ، علي عبدالعزيز ، حنيفة مرسي ، عيسى شحاته و عبدالرزاق عبداللطيف (بدون تاريخ) علم الأدوية والسموم البيطرية،العراق– وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .

داؤد ، عواد شعبان ، حمزة كاظم عبيس ونزار مصطفى الملاح ، 1986 ، دراسات على تأثير بعض مبيدات البيريثرويدات المحضرة صناعياً ضد حشرة الأرضة مع إشارة إلى حساسية بعض الأصناف الخشبية . مجلة زراعة الرافدين 18(1) : 161-170.

داؤد ، عواد شعبان ، عمر فوزي عبد العزيز ، ونزار مصطفى الملاح ، 1991 دراسة تأثير بعض الزيوت المتطايرة والثابتة المستخلصة من بعض النباتات في خنفساء اللوبيا الجنوبية ، مجلة زراعة الرافدين ، 23(2) : 179-185.

داؤد ،عواد شعبان ، نبيل عزيز قاسم ، نزار مصطفى الملاح (1990) دراسة مقارنة لتأثير بعض المستخلصات النباتية والمبيدات في بعض الفطريات المسببة لأمراض النبات ، مجلة زراعة الرافدين 22(4): 237-245.

داؤد ، عواد شعبان ، نزار مصطفى الملاح ، 1989 ، استجابة الأطوار المختلفة لقراد الدجاج لبعض المبيدات الاكاروسية والحشرية . مجلة زراعة الرافدين ، 21(3) : 311-320.

داؤد ،عواد شعبان ، نزار مصطفى الملاح (1993) المبيدات .مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل.

داؤد ، عواد شعبان ، نزار مصطفى الملاح وسهل كوكب الجميل ، 1987 ، استخدام زيوت نباتية لتنشيط سمية بعض مبيدات البايروثرويد المحضرة صناعياً ضد خنفساء الطحين الصدئية مجلة زراعة الرافدين ، 19(1) : 247-253.

داؤد ، عواد شعبان ، نزار مصطفى الملاح وسهل كوكب الجميل ، 1988 ، استخدام طعوم السكر الجافة لمكافحة الذباب المنزلي . مجلة زراعة الرافدين ، 20(1) : 255-262.

داؤد ، عواد شعبان ونزار مصطفى الملاح ووفاء عبد يحيى (1990) تأثير بعض العوائل الغذائية ودرجة حرارة التربية في حساسية يرقات خنفساء الحبوب الشعرية لمبيدي الفيكام والبيرمثرين . مجلة زراعة الرافدين ، 22(4) : 247-258.

الراوي ، خاشع محمود ، عبد العزيز محمد خلف الله (1980) تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، دار الكتب للطباعة والنشر / جامعة الموصل .

زعزوع ، حسين ، عبد المنعم ماهر ومحمد أبو الغار ، 1972 ، أسس مكافحة الآفات . دار المعارف بمصر.

زيد ، محمود ، 1963 ، مقاومة الآفات ، دار المعارف بمصر.

زيد ، محمود وعبد الخالق السباعي ، 1969 ، أسس اختيار وتحليل واستخدام مبيدات الآفات، دار المطبوعات الجامعية ، الإسكندرية .

زيني ، محسن علي ، 1981 ، المبيدات الحشرية ومكافحة الحشرات ، مطبعة سلمان الاعظمي – بغداد ، العراق .

السباعي ، عبد الخالق ، 1966 ، كيمياء وسمية مبيدات الآفات واختباراتها معملياً وحقلياً ، دار المعارف بمصر .

السباعي ، عبد الخالق ، جمال الدين طنطاوي ونبيلة بكري 1974 ، أسس مكافحة الآفات ، دار المطبوعات الجديدة ، القاهرة .

سليم ، عبد الفتاح عبد الحفيظ وعادل حسن أمين ، 1975 ، القوارض في العراق نشرة فنية ، قسم وقاية النبات ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل ، العراق .

شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح 1993 . المبيدات ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، العراق.

الطائي،فائز عبدالشهيد عبدالحسين (2005) التقييم الحيوي والتأثيرات الهستوباثولوجية لبعض المبيدات الكيميائية والميكروبية ومخاليطها في عثة درنات البطاطا ، أطروحة دكتوراه ، جامعة الموصل كلية الزراعة والغابات.

طبوزادة ، أميرة حسن ، 1966 ، مقاومة الحشرات والقراد والحلم لمبيدات الآفات . دار المعارف ، القاهرة ، مصر.

طه ، خالد حسن ، نبيل عزيز قاسم ، نضال يونس محمد ، 1988 ، المقاومة الكيمياوية لمرض موت بادرات واعفان جذور الطماطة . مجلة زراعة الرافدين 20(1) : 275-287.

طه ، خالد حسن ، نزار مصطفى الملاح ، علي كريم الطائي ، 1986 ، دراسة تأثير مبيدي الباساميد وبروميد المثيل في مقاومة مرض موت بادرات التبغ المتسبب عن الفيوزاريوم والرايزكتونيا والماكروفيمينا . زانكو ، 4 : 211-218.

العادل ، خالد محمد ومولود كامل عبد 1979 ، المبيدات الكيمياوية في وقاية النبات ، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، العراق .

عبد الحميد ، زيدان هندي(2000) السمية البيئية والتفاعلات الحيوية للكيميائيات والمبيدات . الدار العربية للنشر ولتوزيع – القاهرة.

عبد الحميد ، زيدان هندي ومحمد إبراهيم عبد المجيد ، 1988 ، الاتجاهات الحديثة في المبيدات ومكافحة الحشرات ، الدار العربية للنشر والتوزيع ، جمهورية مصر العربية.

عبد الخالق ، علاء الدين بيومي (2002) سمية المبيدات والمعادن . دار النشر للجامعات – مصر.

عبيس ، حمزة كاظم ، عواد شعبان داؤد ، سعاد ارديني عبد الله ، نزار مصطفى الملاح 1987 ، دراسات على دودة ثمار الفستق مع طرائق مكافحتها باستخدام مبيدات البايروثرويد . مجلة زراعة الرافدين 19(1) : 221-232.

العزاوي ، عبد الله فليح ومحمد طاهر مهدي ، 1983 ، حشرات المخازن . مديرية مطبعة الجامعة ، جامعة الموصل ، العراق .

عفيفي ، فتحي عبد العزيز (2000) أسس علم السموم ، دار الفجر للنشر والتوزيع – القاهرة.

عفيفي ، فتحي عبد العزيز ، خالد عبد العزيز محمد (2000) التحليل الدقيق لمتبقيات السموم والملوثات البيئية في مكونات النظام البيئي . دار الفجر للنشر والتوزيع – القاهرة.

عفيفي ، فتحي عبد العزيز ، محمد السيد عطي (2002) المستخلصات النباتية والفاعلية البيولوجية . مصر-بورسعيد – مكتبة الثقافة الدينية.

عواد ، هاشم إبراهيم وإبراهيم جدوع الجبوري وصلاح مجيد كسل (2002) المبيدات المسجلة والمستخدمة في الزراعة والصحة العامة في العراق . اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات ، وزارة الزراعة ، جمهورية العراق.

عويس ، محمد عطية وعادل حسن أمين ، 1984 ، الآفات الحيوانية غير الحشرية . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل ، العراق .

فلتشروكيرك دود ، 1988 ، المبيدات ومنظمات النمو النباتية . ترجمة الدكتور دارا محمد أمين وعبد الغني عمر ، مطبعة التعليم العالي ، جامعة صلاح الدين ، العراق.

في . ام . بارخ (1985) أطياف امتصاص الجزيئات العضوية (ترجمة عبدالحسين خضير شربة وآخرون) . جامعة الموصل ، مديرية مطبعة الجامعة.

قنصوه ، عبد السلام حسين(1975) محاضرات في أسس مكافحة الآفات.

محمد ، عبد الكريم محمد وعواد شعبان ونزار مصطفى الملاح (1989) دراسات حياتية وسمية لبعض المبيدات على حشرة من اللهانة ، مجلة زراعة الرافدين ، 21(4) : 293-304.

الملاح ، نزار مصطفى (1988) علامة المبيد الأهمية والمكونات . نشرة فنية ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل ، العراق .

الملاح ، نزار مصطفى ، (1987) طريقة علمية لتحديد سمية المبيدات لنحل العسل ، مجلة المهندس الزراعي ، العدد الأول .

الملاح ، نزار مصطفى ورنا رياض السبع (2003) التأثير الحيوي لنوع العائل الغذائي ومعاملة عذارى حشرتي عثة التين وعثة الزبيب بالتركيز تحت القاتل من بعض مثبطات النمو الحشرية في بعض الصفات الحياتية للحشرتين . مجلة التربية والعلم ، 15(1) : 71-82.

الملاح ، نزار مصطفى ورنا رياض السبع (2005) تأثير العائل في بعض مثبطات النمو في يرقات حشرتي عثة التين والزبيب . مجلة الزراعة العراقية ، 10(2) : 77-88.

الملاح ، نزار مصطفى ورنا رياض السبع (2005) تأثير نوع العائل الغذائي وبعض مثبطات النمو الحشرية في معدل الفقد في الغذاء ومعدل الزيادة لحشرتي عثة التين وعثة الزبيب . مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، 10(1) : 25-29.

الملاح ، نزار مصطفى ورنا رياض السبع (2005) تأثير نوع العائل الغذائي ومعاملة البيض بالتركيز تحت القاتل من بعض مثبطات النمو الحشرية في بعض الصفات الحياتية لحشرتي عثة التين وعثة الزبيب . مجلة علوم الرافدين ، 16(6) : 135-149.

الملاح ، نزار مصطفى وعبدالرزاق يونس الجبوري (تحت الطبع). الأسس النظرية والتطبيقية لمبيدات الآفات. دار طويق للطباعة والنشر ، الرياض ، المملكة العربية السعودية.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده احمد المخلافي (2002) تأثير تراكيز مختلفة من مثبط النمو الحشري تريكارد وطريقة المعاملة ودرجة الحرارة في النشاط الحيوي لحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية . مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، 8(2) : 40-53.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده احمد المخلافي (2002) تأثير مثبط النمو الحشري تريكارد وطريقة المعاملة ودرجة الحرارة في النشاط الحيوي لخنفساء اللوبيا الجنوبية المرباة على ألماش . مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، 8(2) : 27-39.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده احمد المخلافي (2003) تأثير التريكارد وطريقة المعاملة ودرجة الحرارة في النشاط الحيوي لخنفساء اللوبيا الجنوبية المرباة على البزاليا . المجلة العراقية للعلوم الزراعية ، 4(4) : 159-167.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده احمد المخلافي (2003) تأثير ثلاث تراكيز من مثبط النمو الحشري تريكارد وطريقة معاملة الدرنات في بعض الصفات الحياتية لعثة درنات البطاطا . المجلة العراقية للعلوم الزراعية ، 4(2) : 124-131.

الملاح ، نزار مصطفى وفهد عبده المخلافي (2005) تأثير التراكيز المختلفة من تريكارد وطريقة المعاملة ودرجة حرارة التربية في النشاط الحيوي لخنفساء اللوبيا الجنوبية . مجلة زراعة الرافدين ، 33(3) : 118-125.

الملاح ، نزار مصطفى ومحمد عبد الكريم محمد ونبيل مصطفى الملاح (1997) تأثير بعض المواد الحاملة والحرارة في كفاءة مبيدي الفيكام والسيفين في وقاية تقاوي الحنطة من الإصابة ببعض حشرات المخازن . مجلة زراعة الرافدين ، 29(1) : 109-114.

الملاح ، نزار مصطفى ومحمد عبد الكريم محمد ونبيل مصطفى الملاح (1998) دراسة تأثير درجات الحرارة والرطوبة النسبية وبعض الزيوت العضوية في ديناميكية حلم الفستق الكاذب . مجلة التربية والعلم 38 : 12-19.

الملاح ، نزار مصطفى وهيثم محي الدين البدراني (2000) . الحد الاقتصادي الحرج والمكافحة الكيميائية لدودة ثمار العنب . مجلة الزراعة العراقية 5(1) : 15-20.

الملاح ، نزار مصطفى ووليد عبودي قصير وشاهين عباس مصطفى (2005) التأثير السام لمستخلصات الخشب العصاري والصميمي لبعض أنواع الأشجار العراقية في حشرة الارضة . مجلة زراعة الرافدين ، 33(3) : 112-117.

الموسوي ، عبد الصاحب حسين ، 1982 ، القوارض وطرائق مكافحتها . شركة التايمس للطبع والنشر ، بغداد ، العراق .

الناظر ، إبراهيم ، بركات أبو رميلة (2003) مبيدات الآفات ، عمادة البحث العلمي – الجامعة الأردنية.

النواوي ، احمد سيد ، 1972 ، أسس وقاية المزروعات . دار المعارف بمصر .

المراجع الاجنبية

Abbott, W.S. (1925)Method for computing the effectiveness of insecticides .J.econ.ent.18(2):265-267.

Agrious , G.N. 1969 . Plant pathology , Academic Press , London, pp629

Akesson, N.B. and Yates, W.E. (1964). Problems relating to application of agricultural chemicals and resulting drift resides. Ann. Rev. Entomol. 9 : 285-318.

Anderson , L.D. Atkins E.L. , Tedd, F.K. and Levin . M.D. 1968 . Research on the effect of pesticides on honey bees . Amer. Bee Jou . 108(7) : 277-279.

Anderson , W.P. , 1977 . Weed science principles ; West Publ. Company . Los Angeles , pp. 598.

Argauer , R.J. and Bontoyan , W. 1970 . Fluorometric analysis of carbaryl insecticides in mixed formulations . Jour . Assoc. of Anal. Chem. 53(6) : 1166-1169.

Atkins , E.L. , Macdenal, R.L., McGevern , T.P., Berwa M., Hale G.W, 1975. Repellent additives to reduce Pesticides hazards to honey bees: laboratory tests. Jour. Apic. Res. 14(2) 85-97.

Atkins , E.L. 1975 . Injury to honey bees by poisoning . in the hive and the honey bee . Rev, Ed. Hamilton . 111, Dadant and Sons. Pp. 740.

Australian Center For International Agricultural Research Canberra (ACIAP) (1989):Suggested Recommendations For The Fumigation Of Grain In The ASEAN Region .Part 1. principles and general practice .

Busvine, J.R., 1971. A critical review of the techniques for testing insecticides. Commonwealth Agricultural Bureax, Doreset Press, London. pp 345.

Casida, J.E. 1973 . Pyrethrum : the natural insecticides. Academic Press , London , pp. 323.

Chany , S.C. and Keans , C.W. 1964. Effect of sesamex on toxicities of individual pyrethrins. J.Ec. Ent. 55(6) : 919-922.

Cremlyn , R. , 1978. Pesticides preparation and mode of action . John Wiley and Sons . New York , pp 239.

Dethier , V. G.(1947) Chemical insect attractants and repellents.Philadelphia : Blackstone Co. 289 pp

Dougall , D.M. 1962 .The use of fluorometric measurements for determination of pesticides residues . Residue Rev. 1 : 24-36.

Dreisbach , R.H. 1980 . Handbook of poisoning . 19th . edition Lange Medical Publications , California , pp. 578.

Edward , C.A. 1973 . Environmental pollution by pesticides . Plenum Press , London , pp. 542.

Edward , C.A. 1981 . Persistent pesticides in the environment 4th.ed , Boca Paton , Florida CRC. Press, Inc. pp. 165.

Ehab , B (2006) : Ldp Line , software to calculate probit analyses . http ://www.ehabsoft.com

Finney , D.J.(1971) Probit analysis . third edition. London Cambridge University Press 333p.

Fisher, H.H. and Sabio, E.A. (1984). Lever-operated knapsack sprayer calibration and herbicide calculations for weed research. Tropical Pest Management. 30(4) : 360-366.

Gains, T.B. 1969. Acute toxicity of pesticides. Toxico. Appl. Pharmacol, 14 : 515-534.

Gardener ,J. M.Kono , Y; Tatum , J.H.;Suzuki , Y. and Takenchi ,S. 1985 Plant pathotoxin from *Alternaria citri* the major toxin specific for rough lemon .Phytochemistry .24:2861-2867

Glenn C. Klingman (1973). Weed control as a science , Wiley eastern private limited new delhi.

Glotfelty , D.E. 1978 . The atmosphere as a sink for applied pesticides, J. of Air Pollution Control Association , Vol. 28 No. 9 : 977.

Gunther , F.A. , Westlake , W.E. , Barkley . J.H. , Winterlin , W. and Langbehn , L. 1973 . Establishing dislodgeable pesticides residues on leaf surfaces . Bull. Environ . Contam . Toxicol. 9 : 243-249.

Hamnock , B.D. and Quistad, G,B. 1980 . Juvenile hormone analogs : mode of action and metabolism , Vol. 1 John Wiley and Sons , Chichester , England.

Harborne , J.B. (1973) Photochemical methods .Halsted press .John Wiley and Sons New York.

Harris , G.R. 1966 . Influence of Soil type on the activity of insecticides in soil , J.Ec. Ent. 59(5) : 1221-1224.

Hartley . G.S. and West. , T.F. 1969 . Chemicals for pest Control . Pergamon Press , London , pp. 316.

Harvery, L.T. , 1989 . A guide to agricultural spray adjuvants used in the United States , Thomson Publication , Calif. Pp. 168.

Hassall, K.A. , 1969. World Crop protection , Vol.2 Pesticides Iliffe Books LTD , London , pp. 249.

Hough, W.S. and Mason, A.F. (1951). Spraying, dusting and fumigation of plant. The Macmillan Company, New York.

Irons, F. (1967). Hand sprayers and dusters. USDA, Bull. No. 53.

Irvine , D.E.G. , Knights , B., 1974. Pollution and the use of chemicals in agriculture . Butter Worth's , London , pp. 136.

Kendrick, J.B. and Swift, J.E. 1978. Insects , mites and other invertebrates and their control in California . Division of Agricultural Sciences , University of California pp. 136.0

Kodama ,M ; Nishmura ,S and Nakatsuka ,S 1993 Isolation and biological activities of tow host specific toxin from the Tangerine pathotype of *Alternaria Alternaria* Phytopathology 83: 495-50

Lichtenstein , E.P. and Schulz, K.R. 1959. Persistence of some chlorinated hydrocarbon insecticides as influenced by soil types, temperature and rate of application. J.Ec. Ent. 52 : 124.

Lichtenstein , E.P., Schulz, K.R. 1964. The effects of moisture and microorganisms on the persistence and metabolism of Some organo . Phosphorus insecticides in soils , with special emphasis on parathion . J. Ec. Ent. 57 : 618.

Lichtenstein, E.P. 1959 , Absorption of some chlorinates hydrocarbon insecticides from soils into crops. Jour. Agr. Food Chemistry 7 : 430.

Litchfield , J.R. and Wilcoxon , F. 1949 . A simplified method of evaluating dose effect experiments. Jour. Pharmacology and Experimental Therapy A. 96 : 99-113.

Marer, P.J., Flint, M.L., and Stimmann, M.W. (1988). The safe and effective use of pesticides. Oakland, Calif. : University of California Statewide Integrated Pest Management Project Division of Agriculture and Natural Resources.

Mass, W. (1971). ULV application and formulation techniques. Crop Protection Division, Amsterdam, Netherland.

Mathews, G.A. (1979). Pesticides application methods Longman, London, U.K..

Matsumura, F. 1975 . Toxicology of insecticides , Plenum Press. New York. Pp. 503.

Maybank, J. Yosida , K. and Grover , R. 1978. Spray drift from agricultural pesticides applications . Jour. Of Air Pollution Control Association vol. 28 No. 10 , p. 1009.

Meister, R.T. (2001). Farm chemicals handbook. Meister Publishing Company, Willoughby, O.H. U.S.A.

Menzie , C.M., 1969 . Metabolism of pesticides , Bureau of Sport Fisheries and Wildlife . Special Scientific Report Wild Life No.127.

Metcalf, B.L. 1967. Mode of Action of Insecticides Synergist. Ann, Rev. Entom. 12 : 229-256.

Metcalf, R.L. and Luckman , W.H., 1975 . Introduction to insect pest management. Wiley-Inter-Science New York. pp.587.

Mrak, E. 1969. Report of the secretary's commission on pesticides and their relationship to environmental Health. Part II, U.S. Dept. of Health Education and Welfare.

Negi, N.S., Funderburk, H.H. and Davis, D.E. 1964. Metabolism of atrazine by susceptible and resistant plants. Weeds 12:53-57.

O Brien, B.D. 1970. Biochemical toxicology of insecticides. Academic Press, London pp. 218.

Parrella, M. and Morshita, P., 1985. Snails and slugs in ornamentals. California Agriculture, Vol. 39 No. 1 and 2p-6-7.

Paul Becher, 1973. The emulsifier in pesticides formulations. Wade Van Valkenburg, Marcel Dekker Inc., New York pp 481.

Penner, D. and Ashton, F. M., 1968. Biochemical and metabolic changes in plants induced by chlorophenoxy herbicides. Residue Reviews, 14:39-113.

Pyenson, L.L. (1979). Fundamentals of entomology and plant pathology. AVI Publishing Co., Inc. West Port, Connecticut

Reynolds , H.T.(1962) : Standardized laboratory detection methods for resistance determination in agricultural arthropod pests.Bull.Entomol.Soc.Amer.8:9-14.

Rodewald, W., and Wite, H. (1961). Technical fundamentals-pest control in agriculture. Leipzig.

Smith, E.H. 1978. Pest control Strategies, Academic. Press, New York, pp. 329.

Spear, R.C., Lee, Y.S., Leffing Well, J.T. and Jenkins, D, 1978. Conversion of parathion to paraxon in foliar residues. J. Agric. Food Chm. 26(2) 434-436.

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

فيس بك... كروب... رسائل وأطاريح في علوم الحياة

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.researchgate.net/profile//Salam_Ewaid

07807137614

Tanski , V.D. Bulgak (1981) . Effectiveness of using economic damage threshold for codling moth *Laspeyresia pomonella* (Toricidae : Lepidoptera) and tetranychid mites (Acarina) in the Crimean obtast , Ukranian SSR ,USSR. Entomol .Bbozr 60(2): 241-251.

Thompson, C.R., Olszyk, D.M., Kats, G., Bytnerowicz, A., Dawson, PJ., Wolf. J., 1984. Air pollutant injury on plants of the Mojave desert. Air Pollution Research Center, UCR, South California, Edison Company pp. 31.

Truman, L.C. , Bennett, G.W., and Butt, W.L. (1988). Scientific guide to pest control operations. Purdue Univ. U.S.A.

Vance, A.M. and App, B.A. (1971). Lawn insects-how to control them, U.S.D.A. Bull. No. 53.

Vincent, C. Dethier, A.M. 1984. Chemical insect attractants and repellents. H.K. Lewis Co. Ltd London, pp. 271.

Ware, G.W. (1994). The pesticides book. Fresno, Calif. Thompson Publication

Watts, R.R. 1980. Analysis of pesticides residues in human and environmental samples. U.S. Environmental Protection Agency, Health Effects Research Laboratory Environmental Toxicology Division, North Carolina pp. 685.

WHO, 1973. Specifications for pesticides used in public health. 4th ed. World Health Organization Geneva, pp. 333.

Wood, D.L., Siverstein, R.M. and Nakajima, M., 1970 Control of insect behavior by natural products; Academic Press, New York, pp. 331.

Woodrow , A.W., Green , N., Tucker , H., Schonhorst , M.H. and Hamilton ,K.C. (1965) . Olfactometer studies : attractants and repellents of bees .J.econ.ent. 58:1094..