

Determination of Optimal Conditions for The Analysis of Methyl Parathion Using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Dr. Tareq arraj ARRAJ* 

(Received 24 / 6 / 2026. Accepted 31 / 8 / 2026)

□ ABSTRACT □

Methyl parathion pollution poses a growing environmental threat, necessitating the development of sensitive and accurate analytical methods for its monitoring. This study aims to determine the optimal operational conditions for analyzing this pesticide using high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with a (DAD). The methodology relied on the independent investigation of three key variables: detection wavelength, mobile phase flow rate, and column oven temperature. The results demonstrated that the highest analytical response (peak area) and best precision (RSD < 1%) were achieved at a wavelength of 200nm, a flow rate of 1 ml/min, and a temperature of 40°C. The application of these optimal conditions significantly enhanced sensitivity, with an improvement in peak area of approximately 23.3% at 50 ppm compared to the reference conditions. The (LOD) and (LOQ) were calculated following the ICH guidelines, yielding values of 0.0015 ppm and 0.0044 ppm, respectively, while maintaining excellent linearity ($R^2=0.999$). These findings provide a reliable and sensitive analytical protocol that can be efficiently applied for monitoring methyl parathion residues in environmental matrices, thereby contributing to environmental surveillance and risk assessment efforts.

Keywords: HPLC-DAD, Organophosphorus pesticides, Methyl parathion, Residue analysis

Copyright



:Latakia University Journal (formerly Tishreen) -Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* Assistant Professor, Department of Environmental Chemistry, Higher Institute for Environmental Research, Latakia University (formerly Tishreen), Latakia, Syria.
tareq.arraj@latakia-univ.edu.sy

تحديد بعض الشروط المثلى لتحليل مبيد ميثيل باراثيون (Methyl Parathion) باستخدام تقانة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

د. طارق عراج عراج*

(تاريخ الإيداع 24 / 6 / 2026. قبل للنشر في 31 / 8 / 2026)

□ ملخص □

يشكل التلوث بمبيد ميثيل باراثيون خطراً بيئياً متزايداً، مما يستلزم تطوير طرائق تحليلية حساسة و دقيقة لرصده في البيئات المختلفة، يهدف هذا البحث إلى تحديد بعض الشروط التشغيلية المثلى لتحليل هذا المبيد باستخدام تقانة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) المزودة بكاشف المصفوفة الثنائية (DAD). اعتمدت المنهجية على دراسة تأثير ثلاثة متغيرات رئيسية بشكل مستقل: طول موجة الكشف، معدل تدفق الطور المتحرك و درجة حرارة عمود الفصل. أظهرت النتائج أن أعلى استجابة تحليلية (مساحة قمة) وأفضل دقة (نسبة انحراف معياري نسبي أقل من 1%) تحققت عند طول موجة 200nm و معدل تدفق 1ml/min ودرجة حرارة عمود 40°C. أدى تطبيق هذه الشروط المثلى إلى تحسين الحساسية بشكل ملحوظ حيث بلغ التحسن في مساحة القمة عند التركيز 50ppm حوالي 23.3% مقارنة بالشروط المرجعية. تم حساب حد الكشف الكيفي (LOD) و حد الكشف الكمي (LOQ) بطريقة ICH فكانا 0.0015ppm و 0.0044ppm على التوالي، مع الحفاظ على خطية ممتازة ($R^2=0.999$). تشكل هذه النتائج بروتوكولاً تحليلياً موثقاً و حساساً يمكن تطبيقه بكفاءة لرصد متبقيات ميثيل باراثيون في العينات البيئية و الغذائية، مما يساهم في تعزيز جهود المراقبة البيئية وتقييم المخاطر.

الكلمات المفتاحية: HPLC-DAD، مبيدات فوسفوري عضوي، ميثيل باراثيون، أثر متبقي.



حقوق النشر : مجلة جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) - سوريا، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب

الترخيص CC BY-NC-SA 04

*مدرس، قسم الكيمياء البيئية، المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً)، اللاذقية، سورية.

tareq.arring@latakia-univ.edu.sy

مقدمة:

يعد الاعتماد المكثف على المبيدات الكيميائية العضوية من الركائز الأساسية لزيادة الانتاجية الزراعية في مختلف أنحاء العالم، إلا أن هذا الاستخدام الواسع النطاق أدى إلى تلوث بيئي متزايد للمياه السطحية والتربة و السلاسل الغذائية [1]. تشير تقييمات المخاطر البيئية الحديثة إلى أن تراكيز المبيدات في المياه السطحية ضمن المناطق الزراعية غالباً ما تتجاوز الحدود الآمنة المسموحة، حيث أظهرت البيانات أن ما يقارب 40% من القياسات للأثر المتبقي للمبيدات في اثيوبيا على سبيل المثال، تتعدى هذه الحدود مما يشكل مخاطر حادة على النظم البيئية المائية، مع تسجيل معدلات ارتفاع للمبيدات الحشرية بشكل أكبر بكثير مقارنة بالمبيدات الفطرية [2]. أدت المخاوف المتعلقة بالاستمرارية البيئية للمبيدات العضوية الكلورية إلى توجهات تقيد استخدامها، مما أسهم في التحول نحو المبيدات الفوسفورية العضوية التي تتميز بانخفاض تراكمها في السلاسل الغذائية و تحليلها الأسرع [3,4]. رغم ذلك، تتمتع هذه المجموعة التي يندرج تحتها مبيد ميثيل باراثيون (Methyl Parathion) ($C_8H_{10}NO_5PS$)، بسمية حادة عالية تؤثر بشكل مباشر على الجهاز العصبي للكائنات الحية [5,6,7]. لا يقتصر خطرها على البيئة، بل يمتد إلى صحة الانسان، حيث أثبتت الدراسات أن التعرض المهني لمبيد ميثيل باراثيون يحدث بشكل رئيسي عبر الامتصاص الجلدي و أن نفاذيته عبر الجلد البشري تزداد بشكل معنوي عند استخدامه في صيغته التجارية مقارنة بالمادة الفعالة النقية [8]. كما تم رصد انتقال هذا المبيد إلى السلسلة الغذائية، حيث تمت دراسة مصيره و متبقيات أثناء عمليات تصنيع مشتقات الحليب [1]. تستلزم هذه الخطورة البيئية والصحية إجراء رصد دقيق و مستمر للأثر المتبقي للمبيدات في مختلف المصفوفات البيئية [2,7,9]. وضعت الهيئات التنظيمية، مثل الاتحاد الأوروبي، حدوداً قصوى لمتبقيات المبيدات تبلغ $0.1\mu g/L$ للمبيدات المفردة و $0.5\mu g/L$ لمجموع المبيدات في مياه الشرب [9-11]. ونظراً للتعقيد الشديد للمصفوفات البيئية والغذائية، تعتبر مرحلة تحضير و تحليل العينة هي المرحلة الأكثر تحدياً؛ حيث تم تطوير تقانات الاستخلاص الحديثة كبديل للطرائق القديمة، حيث تعتبر طريقة كويكرز و طريقة الاستخلاص سائل-سائل [12] إضافة إلى الاستخلاص باستخدام الطور الصلب (SPE) (Solid Phase Extraction) من أشهر الطرائق في الاستخلاص [1,4,10,13,14]. على الصعيد التحليلي، تعتبر الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة بطيف الكتلة (GC-MS) تقانة تحليلية عالية الكفاءة، حيث تسمح بحدود كشف تصل إلى مستوى ppb للمبيدات الفوسفورية العضوية [15]، و مع ذلك تواجه تقانة الكروماتوغرافيا الغازية قيوداً حرجية عند تحليل المبيدات الفوسفورية العضوية؛ إذ يعد مبيد ميثيل باراثيون مركباً غير مستقر حرارياً، حيث قد يتحول عند تعرضه للحرارة لفترة طويلة إلى مماكبه (Isomer)، مما يؤدي إلى نتائج غير موثوقة [3,16]. في المقابل، توفر الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) نظاماً متفوقاً لتحليل هذه المبيدات، وذلك لأن عمليات الفصل تتم في درجات حرارة منخفضة مما يمنع تفكك المركبات المحللة وتعتبر هذه التقانة مناسبة للمركبات المنحلة في الماء [3,9]. يعتبر كاشف المصفوفة الثنائية (DAD) الخيار الأكثر شيوعاً في مختبرات تحليل المبيدات نظراً للتكاليف المقبولة للتحليل [4,14]. لكن تحديد المبيدات الفوسفورية العضوية باستخدام الأشعة فوق البنفسجية يواجه صعوبات جوهرية، فمعظم هذه المركبات تفتقر إلى مجموعات كروموفورية مناسبة، وبالتالي تقاس عادة عند أطوال موجية منخفضة تصل إلى 215nm، وهو نطاق تتداخل فيه العديد من المكونات العضوية و الشوائب في المصفوفات المعقدة، مما يستوجب بداية إجراء عمليات تنظيف معقدة قبل التحليل [17]، إضافة إلى تحديد الشروط المثلى لعملية التحليل في جميع مراحلها كطول الموجة المناسب و تدفق الطور المتحرك و حرارة عمود وذلك لضمان أقصى درجات الحساسية التحليلية والدقة في الكشف عن الأثر المتبقي من مبيد ميثيل باراثيون في العينات البيئية و الغذائية [1,9].

أهمية البحث و أهدافه:

- أهمية البحث: تسليط الضوء على ضرورة مراقبة الآثار المتبقية للمبيدات المستخدمة في القضاء على الآفات المؤثرة على المنتجات الزراعية والتي تصل إلى التربة والمصادر المائية وبالتالي ستؤثر بشكل أكيد على صحة الكائنات الحية و على رأسها الانسان. كما تهدف الدراسة إلى توطين هذا التحليل في مخابر المعهد العالي لبحوث البيئة بغية المتابعة و الاستقصاء و الرقابة البيئية الدائمة لوجود المبيدات الفوسفورية العضوية عموماً و مبيد ميثيل باراثيون خصوصاً في البيئة من مياه و تربة و غذاء.

- أهداف البحث: يهدف هذا البحث بشكل رئيس إلى تحديد الشروط المثلى لتحليل مبيد ميثيل باراثيون، وذلك من خلال تحديد أفضل طول موجة للكشف و معدل التدفق الأمثل للطور المتحرك، إضافة إلى درجة حرارة فرن العمود، وذلك للحصول على أعلى حساسية ممكنة (أكبر مساحة قمة) وأفضل دقة وتكرارية (أقل انحراف معياري نسبي) إضافة إلى تحديد كل من حد الكشف الكيفي (LOD) وحد الكشف الكمي (LOQ).

- تصميم التجربة و المعالجة الاحصائية: اعتمدت الدراسة التجريبية منهجية (One Factor at a Time) حيث تم تغيير معامل واحد مع تثبيت العوامل الأخرى في كل مرة، ثم اعتماد القيمة المثلى للانتقال للباراميتتر التالي، وتم تقييم النتائج بناءً على:

- ✓ الاستجابة (Response): متمثلة بمساحة القمة.
- ✓ الدقة (Precision): متمثلة بالانحراف المعياري النسبي (RSD%) لثلاثة مكررات لكل قياس.

طرائق البحث و مواد:

- المواد المستخدمة:

* ستاندر Methyl parathion تركيز 1000ppm من انتاج شركة AccuStandard®

* اسيتونتريل Grade HPLC انتاج Sigma-Aldrich®

و قد استخدم في التحليل طور متحرك هو أسيتونتريل:ماء بنسبة 70 : 30 وفق نظام تدفق isocratic وبحجم حقنة مقداره 20µL

- الأجهزة المستخدمة:

جهاز HPLC نوع Shimadzu ياباني والمزود بالملحقات التالية:

* مضخة ثنائية نوع LC-20AT

* حاقن آلي نوع SIL-M20A

* كاشف Diode Array Detector (DAD) نوع SPD-M20A

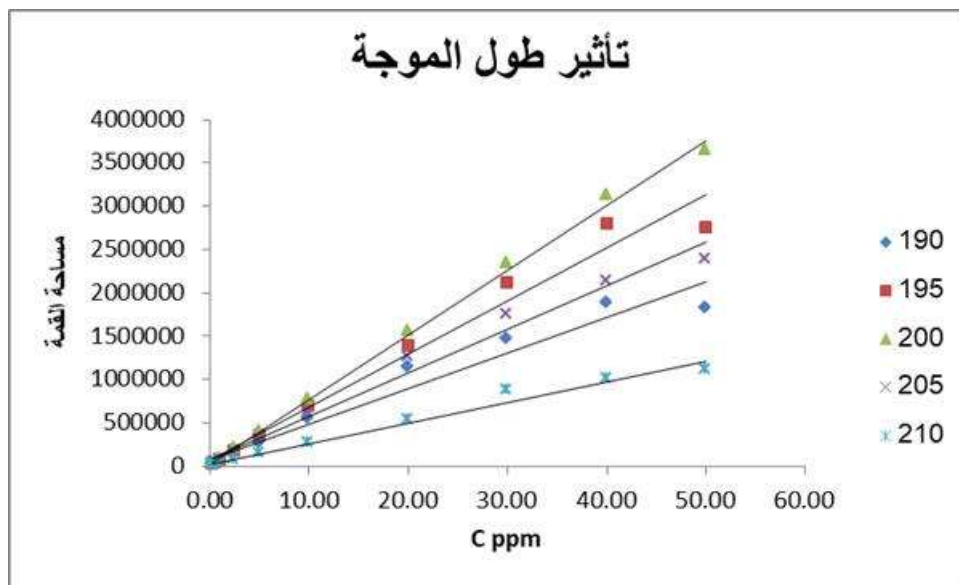
* عمود كروماتوغرافي نوع Kromasil 100 C18 (25 * 0.46 * 5µm)

النتائج و المناقشة:

عموماً وفي معظم الدراسات المرجعية لتحليل المبيدات الفوسفورية تم اعتماد طول موجة 195nm [18] أو 215nm [17] وبعضها وصل إلى 270nm [3]، [19] كما تم اعتماد تدفقات مختلفة تتراوح بين 0.7 – 1.1 ml/min وتراوحت الحرارة المعتمدة بين 30 – 40 °C

1- تحديد طول موجة الكاشف

تمت دراسة تأثير طول الموجة على مجموعة من التراكيز من المبيد (0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20, 30, ppm) وذلك عند مجموعة من الأطوال الموجية (190, 195, 200, 205, 210)nm كما يظهر في الشكل 1، علماً بأن التدفق الذي اعتمد مرجعياً لإجراء هذه التجربة هو 1ml/min و حرارة العمود المستخدمة 30°C [18].



الشكل 1: تأثير طول الموجة على مجموعة من تراكيز مبيد ميثيل باراثيون

تظهر النتائج أن العلاقة هي علاقة خطية عند جميع الأطوال الموجية مع انحراف طفيف عند التركيز 50ppm خصوصاً عند طولي الموجة (195-190)nm وميله الى الابتعاد عن الخطية بينما يقل هذا الانحراف مع الأطوال الموجية الأعلى، مع الملاحظة بأن الخطية بالعموم تتأثر بعد التركيز 40ppm ، وكان أفضل طول موجة مستخدم هو 200nm وذلك يعود أولاً إلى معامل الارتباط الأعلى الجدول 1 $R^2=0.998$ و إلى قيمة مساحات قمم الامتصاص التي تعتبر الأعلى والمحسوبة تجريبياً من الجهاز الجدول 2.

الجدول 1 : معاملات الارتباط المتعلقة بمعادلات المستقيم عند كل طول موجة

طول الموجة nm	معادلة المستقيم	معامل الارتباط R^2
190	$y=41102x+77354$	0.959
195	$y=61344x+60731$	0.975
200	$y=74867x+19547$	0.998
205	$y=50436x+66245$	0.984
210	$y=23703x+24687$	0.980

الجدول 2: مساحات القمة الكروماتوغرافية و الانحراف النسبي المئوي لكل تركيز مقاس عند كل طول موجة

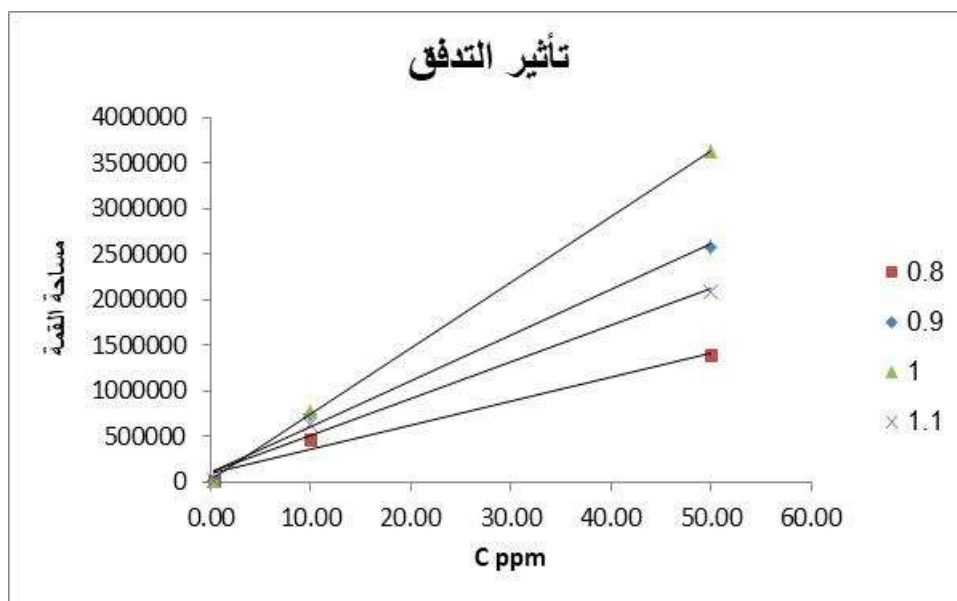
طول الموجة nm	190	195	200	205	210
التركيز ppm	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$
0.25	5569±8.57	16540±1.66	19199±0.85	12793±1.01	11475±7.13
0.5	26037±7.05	36391±2.79	38783±0.29	31994±1.04	15869±4.09
1	57150±7.95	72927±1.67	78547±0.89	62975±1.94	29355±5.73
2.5	133887±2.68	175505±1.09	194720±0.97	156242±1.52	65103±5.45
5	266573±1.90	354355±1.47	387045±0.47	308852±1.05	136675±2.05
10	535113±1.22	686096±2.08	771291±0.24	618799±0.86	265896±1.58
20	1136075±10.22	1389789±0.59	1553425±0.93	1248720±0.92	529723±1.42
30	1466729±2.76	2111872±0.74	2330781±0.83	1748106±1.46	874862±5.26
40	1869159±2.28	2790324±0.75	3112187±0.41	2132901±0.61	994748±2.65
50	1822802±1.13	2742614±0.45	3632002±0.95	2373047±0.64	1097933±2.65

يلاحظ أيضاً من الجدول السابق بأن قيم الانحراف المعياري النسبي لجميع القياسات هي قيم جيدة ولكن يظهر أفضلها عند طول الموجة 200nm و هو ما يؤكد اختيار طول الموجة هذا لاعتماده كشرط من الشروط المثالية لتحليل مبيد ميثيل باراثيون. يمكن تفسير سبب كون طول الموجة 200nm هو الأفضل باليتين أو عاملين أساسيين: الأول يرتبط بالبنية الجزيئية للمبيد، أما الثاني فيتعلق بالحساسية الطيفية. يحتوي جزيء ميثيل باراثيون على مجموعة نيترو فينيل (-C₆H₄-NO₂)، و هي المجموعة الكروموفورية الرئيسية المسؤولة عن امتصاص الأشعة فوق البنفسجية. تبدي المجموعات العطرية المزدوجة حزمتي امتصاص رئيسيتين: حزمة قوية عند أطوال موجية قصيرة (190-210)nm و هي ناتجة عن انتقالات $\pi \rightarrow \pi$ ، و حزمة أضعف عند أطوال موجية أطول نسبياً (260-280)nm وهي ناتجة عن انتقالات $n \rightarrow \pi$ ، وبما أن مجموعة النترو هي مجموعة مستقطبة بقوة، فإنها تزيد من قابلية الإلكترونات للإثارة، و بالتالي تزيد معامل الامتصاص في المنطقة القصيرة و هذا يتقاطع مع أعلى استجابة تم الحصول عليها في هذا البحث و هو ما يفسر كون مساحات القمم عند هذا الطول هي الأعلى.

أما بالنسبة لانخفاض الخطية عند الأطوال 190nm و 195nm وبخاصة عند التركيز 50ppm فيمكن أن يعزى إلى ظاهرة تشبع الكاشف، عند هذه الأطوال القصيرة جداً يكون الامتصاص شديداً لدرجة أن شدة الضوء النافذ تصبح ضئيلة أو قريبة من الصفر في بعض الأحيان، مما يدفع الكاشف إلى منطقة غير خطية بوضوح في منحنى الاستجابة، هذه الظاهرة تؤكد بأن اختيار طول الموجة 200nm هو اختيار مثالي لضمان الخطية الجيدة.

2- تحديد معدل تدفق الطور المتحرك

درس معدل التدفق للطور المتحرك و ذلك باستخدام ثلاثة تراكيز هي (0.25, 10, 50)ppm وذلك عند أربعة تدفقات مختلفة وهي (0.8, 0.9, 1, 1.1)ml/min باعتماد طول الموجة 200nm والحرارة 30°C، فكانت النتائج كما في الشكل 2:



الشكل 2: تأثير تدفق الطور المتحرك على مجموعة من تراكيز مبيد ميثيل باراثيون

تظهر النتائج أن التدفقات المدروسة تعطي نتائج جيدة جداً و بمعاملات ارتباط مقاربة وممتازة من حيث الخطية الجدول 3 حيث أن جميع معاملات الارتباط تقترب بشدة من القيمة 1 ولكن أقربها هو معامل الارتباط $R^2=0.999$ و الناتج من معادلة المستقيم للتدفق 1ml/min، إلا أن الاختلاف ظهر من حيث مساحات قمم الامتصاص التجريبية، فكانت أعلى القمم ناتجة هي من التدفق 1ml/min مع أفضل نسبة انحراف معياري نسبي كما في

الجدول 4

الجدول 3 : معاملات الارتباط المتعلقة بمعادلات المستقيم عند كل تدفق

التدفق ml/min	معادلة المستقيم	معامل الارتباط R
0.8	$y=26569X+88806$	0.981
0.9	$y=49986X+107437$	0.992
1	$y=72300x+22147$	0.999
1.1	$y=40246x+102114$	0.988

الجدول 4 : مساحات القمة الكروماتوغرافيا و الانحراف النسبي المئوي لكل تركيز مقياس عند كل تدفق

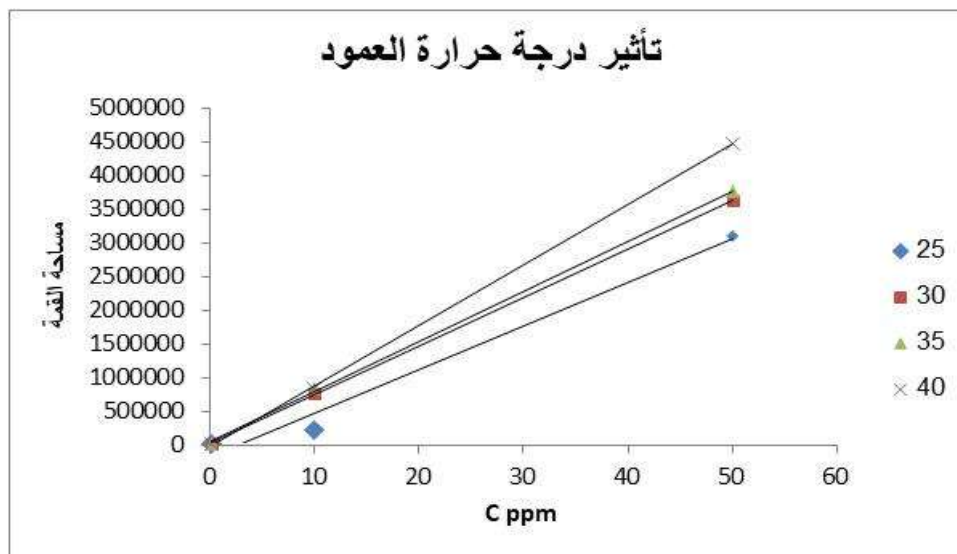
التدفق ml/min	0.8	0.9	1	1.1
التركيز ppm	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$
0.25	10567±4.94	17037±1.06	19199±0.85	11917±7.40
10	460064±9.42	735277±1.21	771291±0.24	629277±1.51
50	1396550±26.30	2581667±5.05	3632002±0.95	2090000±1.71

وبالتالي يمكن اعتماد التدفق 1ml/min كتدفق مثالي يندرج ضمن الشروط المثلى لتحليل مبيد ميثيل باراثيون. يمكن تفسير ذلك من خلال تأثير التدفق على كفاءة العمود الكروماتوغرافي وفق معادلة فان دييمتر (Van Deemter) حيث أنه عند التدفق المنخفض أي مثلاً (0.8ml/min) تسود مساهمة انتشار الجزيئات في الطور المتحرك مما يؤدي إلى اتساع غير مرغوب فيه للقمم، و كذلك عند قيم التدفق العالية أي مثلاً (1.1ml/min) تسود مساهمة مقاومة انتقال

الكتلة، مما يسبب اتساعاً للقمة أيضاً، و هنا يمكن أن يمثل التدفق (1ml/min) نقطة وسط يكون عندها عرض القمة في حده الأدنى و كفاءة الفصل في العمود في حدها الأقصى.

3- تحديد حرارة فرن العمود

درس تأثير حرارة فرن العمود أيضاً باستخدام ثلاثة تراكيز هي (0.25, 10, 50)ppm و ذلك عند طول الموجة 200nm و تدفق طور متحرك 1ml/min حيث تم اعتماد أربع درجات حرارة هي على التوالي (25, 30, 35, 40)°C و تم رصد القيم الأمثل وذلك من خلال مساحة قمة الامتصاص و نسبة الانحراف المعياري النسبي فكانت النتائج بحسب الجدول 6



الشكل 3: تأثير حرارة فرن العمود على مجموعة من تراكيز مبيد ميثيل باراثيون

يظهر من الشكل 3 و من الجدول 5 بأن درجات الحرارة المدروسة تعطي خطية جيدة مع اختلاف ميل المستقيمات، و يظهر أعلى معامل ارتباط عند درجتَي الحرارة 30°C و 40°C رغم أن باقي درجات الحرارة تعتبر مقبولة أيضاً للتحليل مع ظهور خلل في قيم الانحراف المعياري النسبي وذلك عند درجة الحرارة 25°C حيث وصلت القيمة الى 21.91% وعند المساحات الخاصة بالتركيز 0.25ppm لذلك فإن الاختيار و كما في الشرط السابق وقع على الحرارة التي تعطي قمماً ذات مساحة أكبر الجدول 6 ولذلك تم اختيار الحرارة 40°C لتكون هي الحرارة المثلى للتحليل وفي ذات الوقت كانت قيم الانحراف المعياري النسبي عند هذه الدرجة ممتازة مع معامل ارتباط وصل إلى $R^2=0.999$

الجدول 5 : معاملات الارتباط المتعلقة بمعادلات المستقيم عند كل درجة حرارة

معامل الارتباط R^2	معادلة المستقيم	حرارة العمود °C
0.984	$y=64880x-190619$	25
0.999	$y=72300x+22147$	30
0.999	$y=74632x+36683$	35
0.999	$y=90017x+29646$	40

الجدول 6: مساحات القمة الكروماتوغرافيا و الانحراف النسبي المنوي لكل تركيز مقاس عند كل درجة حرارة

الحرارة °C	25	30	35	40
التركيز ppm	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$	$\bar{X} \pm RSD\%$

0.25	16983±2.28	19198±0.85	21500±0.66	20980±0.19
10	220150±5.64	771291±0.24	825094±1.11	835543±0.08
50	3100030±1.94	3632002±0.95	3760043±0.21	4478034±0.05

يمكن تفسير زيادة مساحة القمة مع ازدياد درجة الحرارة من خلال ثلاثة عوامل متداخلة هي: انخفاض لزوجة الطور المتحرك بارتفاع درجة الحرارة مما يخفف ضغط العمود و يحسن انتقال الكتلة وبالتالي كفاءة الفصل و جودة القمة، و تغير معامل الامتصاص المولي حيث أن درجة الحرارة قد تؤثر، بشكل طفيف عند الأطوال الموجية القصيرة، نتيجة تفكك المجموعات الجزيئية أو تغير البنية الدقيقة لحزمة الامتصاص، و هو ما قد يحسن الامتصاص عند طول الموجة المختار، إضافة إلى العامل الثالث وهو تأثير درجة الحرارة على التوازن الكروماتوغرافي (على زمن الاحتباس) و ذلك من خلال معادلة فانت هوف (Van't Hoff)

4- حساب حد الكشف الكيفي LOD و حد الكشف الكمي LOQ

اعتمد في حساب حدود الكشف طريقة (ICH (International Council for Harmonization) و هي الطريقة النظرية الأكثر دقة لأنها تأخذ جميع نقاط منحني المعايرة بعين الاعتبار من قيمة SD (Standard Deviation) للتركيز الأقل و الميل الأفضل الناتج.

عند استخدام الشروط الأفضل في جميع الشروط المدروسة نلاحظ بأن أفضل قيمة للميل موجودة في الجدول 5 عند طول الموجة 200nm والتدفق 1ml/min و الحرارة 40°C وهي S=90017 بينما بحساب قيمة SD للتركيز الأصغر 0.25ppm نجد بأنها تساوي SD=40 وذلك بحسب الجدول 7 التالي:

الجدول 7: قيم تكراريات مساحات القمم عند التركيز 0.25ppm بهدف حساب SD و RSD%

التركيز ppm	تكرارية مساحات القمم			$\bar{X}$	SD	RSD%
	1	2	3			
0.25	21020	20940	20980	20980	40	0.19

و من خلال قوانين حساب حدود الكشف والتي هي:

$$LOD = \frac{3.3 \times SD}{S} \quad (1)$$

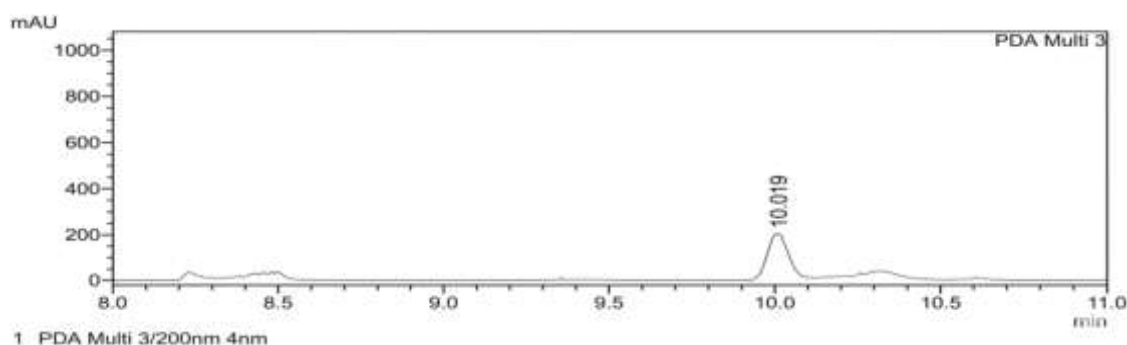
$$LOD = \frac{10 \times SD}{S} \quad (2)$$

فتكون لدينا القيم هي:

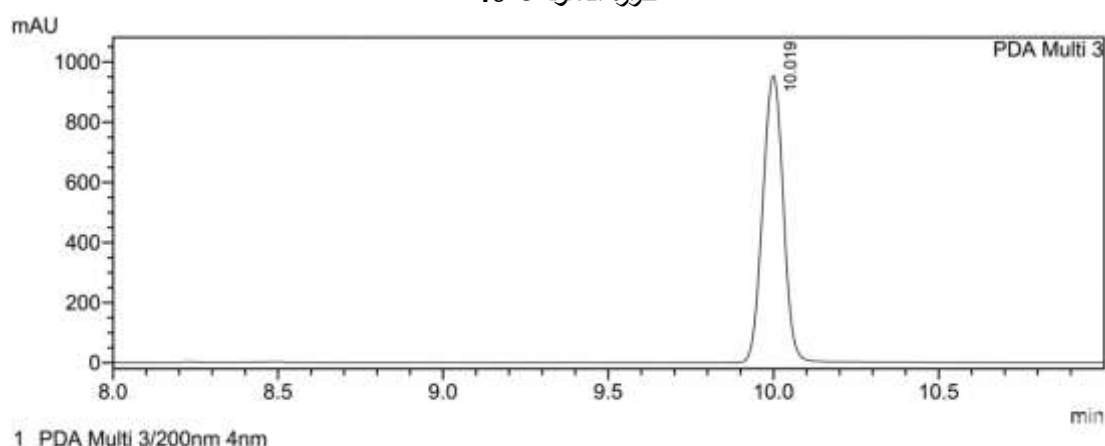
$$LOD = 0.0015 \text{ ppm}$$

$$LOQ = 0.0044 \text{ ppm}$$

و يظهر الشكلان الشكل 4 و الشكل 5 كروماتوغراما تحليل مبيد ميثيل باراثيون عند التركيز 10ppm و 50ppm على التوالي عند الشروط التي اعتمدت كشروط مثلى حيث لوحظ زمن الاحتفاظ عند 10.019min.



الشكل 4: كروماتوغرام يظهر قمة ميثيل باراثيون بالتركيز 10ppm عند طول الموجة 200nm والتدفق 1ml/min ودرجة حرارة العمود 40°C



الشكل 5: كروماتوغرام يظهر قمة ميثيل باراثيون بالتركيز 50ppm عند طول الموجة 200nm والتدفق 1ml/min ودرجة حرارة العمود 40°C

5- حساب تحليل التباين الأحادي (One-Way ANOVA) و المقارنات المتعددة (Tukey's HSD) أجري تحليل التباين الأحادي لدراسة تأثير درجة حرارة العمود (25,30,35,40 °C) على مساحة القمة عند ثلاثة مستويات للتركيز، كشف التحليل الاحصائي عن وجود تباين معنوي واضح لدرجة الحرارة عند جميع التراكيز المدروسة ($P < 0.05$). يظهر لنا الجدول 8 نتائج الحسابات الخاصة بالدراسة الاحصائية وذلك باستخدام الحروف (a,b,c,d) حيث تعني الأحرف المتشابهة عدم وجود فرق معنوي بينما تظهر الأحرف المختلفة وجود فرق معنوي بين القيم

الجدول 8: النتائج الاحصائية لتباين درجات الحرارة عند ثلاثة مستويات للتركيز

الحرارة C	25	30	35	40	F	P
التركيز ppm	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$		
0.25	16983±387.6 a	19198±162.5 B	21500±141 C	20980±40 C	284.02	<0.05
10	220150±12413.8 a	771291±1846.15 B	825094±9173.3 C	835543±682.6 c	4903.07	<0.05
50	3100030±60066.99 a	3632002±34470.08 B	3760043±8029.5 C	4478035±2266.12 d	906.01	<0.05

تم في هذه الدراسة حساب المتوسط العام X كما حسبت قيمة المعامل F وذلك لمقارنته بالقيمة الحرجة $F_{critical}$ من خلال حساب مجموع المربعات بين المجموعات $SS_{between}$ وقيمة مجموع المربعات داخل المجموعات SS_{within} أيضاً حسبت متوسطات المربعات بين المجموعات $MS_{between}$ ومتوسطات المربعات داخل المجموعات MS_{within} وأخيراً حسبت قيمة المعامل F وذلك لمقارنته بالقيمة الحرجة $F_{critical}$.
تم حساب قيمة HSD لعلاقة Tukey من العلاقة:

$$HSD = q \times \sqrt{\frac{MS_{within}}{n}}$$

حيث تكون قيمة q عند درجات الحرية (3,9)، في هذا البحث، و مستوى المعنوية 0.05 مساوية للقيمة 4.415. من النتائج السابقة نلاحظ أنه بالنسبة للتركيز الأصغر (25 ppm) أن مساحة القمة ارتفعت معنوياً عند الانتقال من الحرارة 25°C إلى الحرارة 30°C ومنها إلى الحرارة 35°C ومع ذلك لم يتم تسجيل أي فرق معنوي عند الانتقال من 35°C إلى 40°C حيث أن الفرق بينهما كانت قيمته 520.00 و هو أصغر من قيمة $HSD=534.82$ وبالمثل كانت الحالة عند التركيز (10 ppm) حيث لم تظهر استجابة للفرق المعنوي عند الانتقال من 35°C إلى 40°C حيث كان الفرق 10449 أصغر من قيمة $HSD=18699.12$ ، في المقابل أظهرت النتائج عند التركيز المرتفع (50ppm) سلوكاً مختلفاً حيث كان الفرق معنوياً في درجات الحرارة المنخفضة بشكل مشابه للتركيزات السابقة أما الانتقال من الحرارة 35°C إلى 40°C فقد أظهر فرقاً معنوياً أيضاً حيث كان الفرق هو 717991.67 وهو أكبر بكثير من قيمة $HSD=83245.36$. تشير هذه النتائج إلى أن الاستجابة للحرارة تعتمد بشكل كبير على تركيز المحلول، حيث تصل الاستجابة إلى درجة استقرار عند التراكيز المنخفضة و المتوسطة عند درجة حرارة 35°C بينما تستمر الزيادة الخطية مع الحرارة في التراكيز الأعلى.

الاستنتاجات والتوصيات:

تم في هذه الدراسة تحديد الشروط الكيميائية المثلى لتقدير مبيد ميثيل باراثيون باستخدام كاشف المصفوفة الثنائية (DAD) المقترن بتقانة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)، تحققت أعلى استجابة تحليلية عند طول موجة كشف قدرها 200nm، و معدل تدفق طور متحرك مقداره 1ml/min، و درجة حرارة لفن العمود 40°C، تحت هذه الشروط المثلى لوحظ تحسن ملحوظ في مساحات القمم كاستجابة معتمدة في البحث حيث بلغ التحسن ما يقارب 23.3% عند التركيز 50ppm مقارنة بالظروف التشغيلية الأولية. أظهرت الطريقة خطية ممتازة ($R^2=0.999$) و دقة عالية، وكانت قيم الانحراف المعياري النسبي (RSD%) كمؤشر لدقة العمل أقل من 1%. تم تحجيج حد الكشف الكيفي (LOD) و حد الكشف الكمي (LOQ) بقيم 0.0015ppm و 0.0044ppm على التوالي، مما يعكس حساسية عالية للطريقة المقترحة، نلاحظ بأن قيمة حد الكشف الكيفي 0.0015ppm و التي تقابل $5.7 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$ والتي تقارب قيمة حد الكشف الكيفي لدى Li و آخرون والذي كان $3.4 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ رغم أنهم اعتمدوا في دراستهم على الكترودات بوليميرية أساسها الذهب وهو ما يزيد كلفة التحليل بشدة [7]، بينما كانت الطريقة المتبعة في هذا البحث أفضل من طريقة Tuzimski و آخرون والذين اتبعوا نفس تقانة التحليل المتبعة في هذا البحث مسبقة بتقانة الفصل بالطور الصلب SPE وكان حد الكشف الكيفي لديهم هو 0.1ppm وهو أقل بكثير من قيمته في هذا البحث

[10]. بالإضافة إلى ذلك، أكد تحليل التباين الأحادي و اختبار المقارنات المتعددة لتوكي أن لدرجة الحرارة تأثيراً ذو دلالة احصائية ($P < 0.05$) على مساحة القمة، مع وجود سلوك استجابة يعتمد على التركيز. تشكل هذه النتائج بروتوكولاً تحليلياً موثقاً و حساساً لرصد الأثر المتبقي لمبيد ميثيل باراثيون في المصفوفات البيئية و الغذائية، مما يدعم جهود الباحثين في مجال البيئة و تقييم الخطر البيئي.

References:

- [1] H. F. Ahmed, "Monitoring Methyl Parathion Residues in Milk and Yogurt, and Fate of [14 C] Methyl Parathion During Milk Processing," *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 65, no. 2, pp. 207–214, Aug. 2000.
- [2] E. M. Asefa, M. T. Mergia, S. Ayele, Y. T. Damtew, B. M. Teklu, and E. D. Weldemariam, "Pesticides in Ethiopian surface waters: A meta-analytic based ecological risk assessment," *Sci. Total Environ.*, vol. 911, p. 168727, Feb. 2024.
- [3] D. C. Paschal, Richard. Bicknell, and David. Dresbach, "Determination of ethyl and methyl parathion in runoff water with high performance liquid chromatography," *Anal. Chem.*, vol.49, no.11, pp.1551–1554, Sep. 1977.
- [4] X. Lin, X. Chen, X. Huo, Z. Yu, K. Bi, and Q. Li, "Dispersive liquid–liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-diode array detection for the determination of *N* -methyl carbamate pesticides in vegetables," *J. Sep. Sci.*, vol.34, no.2, pp. 202–209, Jan. 2011.
- [5] S. Parimi, M. E. Scharf, L. J. Meinke, L. D. Chandler, and B. D. Siegfried, "Inheritance of Methyl-parathion Resistance in Nebraska Western Corn Rootworm Populations (Coleoptera: Chrysomelidae)," *J. Econ. Entomol.*, vol.96, no.1, pp. 131–136, Feb. 2003.
- [6] M. A. Caprio, T. Nowatzki, B. Siegfried, L. J. Meinke, R. J. Wright, and L. D. Chandler, "Assessing Risk of Resistance to Aerial Applications of Methyl-Parathion in Western Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae)," *J. Econ. Entomol.*, vol. 99, no. 2, pp. 483–493, Apr. 2006.
- [7] H. Li, Z. Wang, B. Wu, X. Liu, Z. Xue, and X. Lu, "Rapid and sensitive detection of methyl-parathion pesticide with an electropolymerized, molecularly imprinted polymer capacitive sensor," *Electrochimica Acta.*, vol. 62, pp. 319–326, Feb. 2012.
- [8] P. Sartorelli, C. Aprea, R. Bussani, M. T. Novelli, D. Orsi, and G. Sciarra, "In vitro percutaneous penetration of methyl-parathion from a commercial formulation through the human skin.," *Occup. Environ. Med.*, vol. 54, no. 7, pp. 524–525, Jul. 1997.
- [9] T. Tuzimski and J. Sobczyński, "Application of HPLC-DAD and TLC-DAD after SPE to the Quantitative Analysis of Pesticides in Water Samples," *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, vol. 32, no. 9, pp. 1241–1258, Apr. 2009.
- [10] T. Tuzimski and T. Rejczak, "Application of HPLC–DAD after SPE/QuEChERS with ZrO₂ -based sorbent in d-SPE clean-up step for pesticide analysis in edible oils," *Food Chem.*, vol.190, pp.71–79, Jan.2016.
- [11] T. ARRAJ, J.-L. BERSILLON, and G. ECHEVARRIA, "Conception d'un système d'élimination du glyphosate des eaux de drainage agricole," Ph.D., Université de Lorraine, Nancy, France, 2015.
- [12] M. MAAROUF, T. ARRAJ, and A. Al SHAER, "Optimization of Ultrasound-Assisted and Soxhlet Extraction Conditions for the Determination of Dimethoate in

- Agricultural Soil Samples Using HPLC” *Latakia Univ. J.-Basic Sci. Ser.* (in Arabic), vol. 43, no. 1, 2021.
- [13] T. G. Chatzimitakos, J. L. Anderson, and C. D. Stalikas, “Matrix solid-phase dispersion based on magnetic ionic liquids: An alternative sample preparation approach for the extraction of pesticides from vegetables,” *J. Chromatogr. A.*, vol. 1581–1582, pp. 168–172, Dec. 2018.
- [14] A. Melo, C. Mansilha, O. Pinho, and I. M.P.L.V.O. Ferreira, “Analysis of Pesticides in Tomato Combining QuEChERS and Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Followed by High-Performance Liquid Chromatography,” *Food Anal. Methods*, vol. 6, no. 2, pp. 559–568, Apr. 2013.
- [15] P. G. Nielsen, “Quantitative analysis of parathion and parathion-methyl by combined capillary column gas chromatography negative ion chemical ionization mass spectrometry,” *Biol. Mass Spectrom.* , vol. 12, no. 12, pp. 695–698, Dec. 1985.
- [16] E. R. Jackson, “High-Performance and Gas-Liquid Chromatography of Methyl Parathion Formulations,” *J. AOAC Int.* , vol. 59, no. 4, pp. 740–744, Jul. 1976.
- [17] G. Huang, J. Ouyang, W. R. G. Baeyens, Y. Yang, and C. Tao, “High-performance liquid chromatographic assay of dichlorvos, isocarbophos and methyl parathion from plant leaves using chemiluminescence detection,” *Anal. Chim. Acta.* , vol. 474, no. 1–2, pp. 21–29, Dec. 2002.
- [18] H. Nasser, T. Arraj, and D. Ali, “Determination of Dimethoate and Dichlorvos Pesticides Residues in Greenhouses Soils in Burj Islam, Lattakia, Syria,” *J. Chromatogr. Sci.* , vol. 47, no. 2, pp. 110–115, 2020.
- [19] G. J. Clark, R. R. Goodin, and J. W. Smiley, “Comparison of ultraviolet and reductive amperometric detection for the determination of ethyl and methyl parathion in green vegetables and surface water using high-performance liquid chromatography,” *Anal. Chem.* , vol. 57, no. 12, pp. 2223–2228, Oct. 1985.