

تحديد تراكيز مبيد الأعشاب "غلايفوسات" في بعض مصادر المياه في محافظة اللاذقية لونيًا بعد الأكسدة إلى أورثوفوسفات

د. معروف الخير*

نور رسلان**

(تاريخ الإيداع 13 / 4 / 2021. قُبل للنشر في 5 / 7 / 2021)

□ ملخص □

يعد "الغلايفوسات" أكثر مبيدات الأعشاب استخداماً عالمياً نظراً لفعاليتها الفريدة ورخص ثمنه. في عام 2015 صنفت الوكالة الدولية لأبحاث السرطان التابعة لمنظمة الصحة العالمية الغلايفوسات في المجموعة 2A كمادة مسرطنة محتملة اعتماداً على أدلة كافية على السرطنة عند حيوانات التجربة وأدلة محدودة لدى البشر. نتيجةً لما سبق ولكون الغلايفوسات مستخدماً في منطقتنا بشكل غير مضبوط كان لابد من تحديد تراكيزه في البيئة. يهدف هذا البحث إلى تحديد تراكيز الغلايفوسات في بعض مصادر المياه في محافظة اللاذقية عن طريق تطبيق طريقة طيفية لونية باستخدام كاشف Mo(VI)-Mo(V).

ضمت الدراسة 48 عينة من آبار قليلة العمق وعميقة ونهر الكبير الشمالي. لوحظ عند مقارنة التراكيز المقاسة في الدراسة مع القيم المرجعية العالمية أن جميعها كانت ضمن الحدود المسموحة من قبل وكالة حماية البيئة الأمريكية (700 مكغ/ل لمياه الشرب و1800 مكغ/ل لحماية الحياة المائية) ووزارة البيئة الكندية (280 مكغ/ل لمياه الشرب و800 مكغ/ل لحماية الحياة المائية)، بينما تجاوزت الحدود المسموحة في الاتحاد الأوروبي (0.1 مكغ/ل لمياه الشرب)، وعند مقارنتها مع الدراسات المرجعية أنها كانت أعلى من أغلب الدراسات.

كما لوحظ أن تراكيز الغلايفوسات كانت الأعلى في عينات الآبار قليلة العمق إذ تراوحت القيم بين 11.58-72.41 مكغ/ل، تليها عينات النهر التي تراوحت قيمتها بين 6.59-48.25 مكغ/ل، ثم عينات الآبار العميقة التي تراوحت بين 2.46-23.65 مكغ/ل، وإجمالاً كانت التراكيز في فصل الخريف أعلى منها بقية الفصول.

الكلمات المفتاحية: غلايفوسات، مياه، نهر الكبير الشمالي، طريقة طيفية.

* أستاذ - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية - كلية الصيدلة-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية

** طالبة ماجستير - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية-كلية الصيدلة-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية

Determination of "glyphosate" herbicide in some water sources in Latakia Governorate after oxidation to orthophosphate

Dr. Maarouf Al-Khayer*
Nour Raslan**

(Received 13 / 4 / 2021. Accepted 5 / 7 / 2021)

□ ABSTRACT □

glyphosate is the most widely used herbicide worldwide due to its low cost and unmatched ability to harm weeds. In 2015, the International Agency for Research on Cancer classified glyphosate in Group 2A as 'probably carcinogenic.' This was based on "sufficient" evidence of cancer in experimental animals and "limited" evidence of cancer in humans. As a result of the above, and the fact that glyphosate is used in our region in uncontrolled methods, it was necessary to determine its concentrations in the environment.

This research aims to determine glyphosate concentrations in some water sources in Latakia Governorate by applying a colorimetric method that uses Mo (V) -Mo (VI) reagent.

The study included 48 samples from several shallow and deep wells and a river in Lattakia – Syria. When comparing the measured concentrations in the study with the international reference values, it was observed that all of them were within the limits permitted by the Environmental Protection Agency (700 µg/l in drinking water and 1800 µg/l for the protection of aquatic life) and the Canadian Ministry of Environment (280 µg/l in drinking water and 800 µg/l for the protection of aquatic life), while they exceeded the limits permitted in the European Union (0.1 g/l in drinking water) and when comparing the concentrations measured in our study with those of reference studies it was observed that the concentrations in our study were higher than most of the other studies.

Glyphosate concentrations were the highest in shallow-well samples (11.58-72.41) µg/l, followed by river samples (6.59-48.25) µg/l and then deep-well samples (2.46-23.56) µg/l. Overall, the concentrations peaked in the spring and summer seasons.

Key words: glyphosate, water, Al-Kabeer Al-Shamali river, spectrophotometric method.

*Professor - Department of Analytical and Food Chemistry - Faculty of Pharmacy - Tishreen University - Lattakia - Syria

** Postgraduate Student – Department of Analytical and Food Chemistry - Faculty of Pharmacy - Tishreen University - Lattakia - Syria

مقدمة

الغلايفوسات N-(phosphonomethyl) glycine هو مبيد أعشاب جهازى غير انتقائى واسع الطيف يستخدم للسيطرة على النباتات المعمرة والحولية ذات الأوراق الرفيعة والعريضة بعد ظهور البادرات (أو قبل ظهورها في حال تطبيقه في حقول المحاصيل المقاومة للغلايفوسات).

وجدت بعض الدراسات وجود ارتباط بين استخدام الغلايفوسات والتهاب المفاصل الرثياني، والتهاب الأنف، والربو التأتبي. والتهاب البروستات، واضطراب نقص الانتباه وفرط الحركة، وزيادة خطر الإصابة بالإجهاد [1]، وتوصلت الأبحاث المتعلقة بقدرته على إحداث السرطان إلى نتائج متضاربة، إذ أكد بعضها أن الغلايفوسات مسرطن بينما نفت أخرى ذلك. أدى ذلك إلى توصل المنظمات الدولية إلى استنتاجات متضاربة، إذ خلصت كل من هيئة سلامة الأغذية الأوروبية ووكالة حماية البيئة الأمريكية إلى أنه من غير المرجح أن يشكل الغلايفوسات خطراً مسرطناً على البشر، بينما توصلت منظمة الصحة العالمية إلى استنتاج مفاده أنه من المحتمل أن يكون مسرطناً استناداً إلى أدلة محدودة على السرطنة في البشر وأدلة كافية عليها في حيوانات التجربة [2]. كان من تبعات هذا الاستنتاج قيام العديد من الدول بحظر استخدام الغلايفوسات على أراضيها كالنمسا ولوكسمبورغ ودول الخليج العربي وتقييد استخدامه وتداوله في دول أخرى، بالإضافة إلى قيام مظاهرات حاشدة احتجاجاً على استمرار استخدامه، خاصة في أوروبا بعد موافقة البرلمان الأوروبي على تجديد السماح باستخدامه لخمس سنوات قادمة [3].

على الرغم من كل الشكوك التي تحوم حول أمان استخدام الغلايفوسات، إلا أنه يعد مبيد الأعشاب الأكثر مبيعاً واستخداماً على مستوى العالم [4]، وخاصة في المحاصيل المحورة وراثياً المقاومة له [5] التي قامت الشركة المنتجة الأساسية للغلايفوسات (Monsanto) بتصنيع بذورها وتسويقها تحت العلامة التجارية Roundup ready® بغرض إتاحة الفرصة أمام المزارعين لتطبيق الغلايفوسات غير الانتقائى في أوقات زراعة المحاصيل دون أن يتسبب لها في أضرار [6]. لا تُزرع حالياً في سورية أصناف المحاصيل المقاومة للغلايفوسات، إلا أن استخدام الغلايفوسات شائع وغير مضبوط ولا توجد معلومات حول حجم تواجده سواء في النباتات أو المسطحات المائية بالقرب من حقول المحاصيل أو حتى في أجسام الكائنات الحية. على الرغم من كون الغلايفوسات يطبق عادةً على أوراق النباتات عن طريق الرش [7]، إلا أنه يمكن أن يلوث بسهولة التربة والمياه السطحية والمياه الجوفية أحياناً عن طريق التسرب كما يمكن أن يصل إلى الحيوانات والنباتات ومنها إلى الإنسان. يمكن تحليل الغلايفوسات بطرائق عدة أشهرها الطرائق الطيفية، والكروماتوغرافية (كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، كروماتوغرافيا التفاعل المحبة للماء، الكروماتوغرافيا الغازية والكروماتوغرافيا السائلة)، الرحلان الكهربائى الشعري ومقاييسه المتميز المناعي المرتبط بالأنزيم [8, 9].

تم في هذه الدراسة تحديد تراكيز الغلايفوسات في بعض مصادر المياه في المنطقة الساحلية بواسطة طريقة طيفية تعتمد على أكسدة الفوسفات العضوية في الغلايفوسات إلى أورثوفوسفات التي تقاس لونيأ كمعقد فوسفومولبيدات أزرق اللون بمقياس الطيف الضوئى Spectrophotometer عند طول موجة 830 نم.

أهمية البحث وأهدافه

أهمية البحث

يستخدم مبيد الأعشاب الغلايفوسات بشكل واسع ومتزايد باستمرار في المنطقة الساحلية للقضاء على الأعشاب الضارة في بساتين الحمضيات والأراضي المعدة لزراعة الخضار مما يدعونا إلى الاهتمام بتحديد تراكيزه في منطقتنا نظراً لتأثيراته المحتملة على الصحة.

أهداف البحث

تحديد تراكيز الغلايفوسات في بعض مصادر المياه في المنطقة الساحلية باستخدام طريقة طيفية لونية ريشما تتكامل نتائج الدراسات العلمية العالمية حول تحديد مستويات الخطورة لهذه المادة ومقارنة هذه التراكيز في الوقت الراهن مع أهم القيم المسموح بها عالمياً لتقييم الخطر المحتمل على الصحة والبيئة.

طرائق البحث ومواده

• المواد والتجهيزات المستخدمة

استخدمت في الدراسة مجموعة من التجهيزات المخبرية المتوفرة في مخابر كلية الصيدلة والمذكورة في الجدول (1) كما استخدمت مجموعة من المواد المذكورة في الجدول (2).

الجدول (1): الأجهزة المستخدمة في الدراسة.

الطرز	الجهاز
RADWAG, AS 220/C/2	ميزان ذو حساسية 0.0001 غ 0.0001g digital analytical balance
Jasco v-530 Visible	مقياس الطيف الضوئي spectrophotometer
Hach, Sension 3	مقياس الرقم الهيدروجيني pH meter
K & H industries	حمام مائي water bath
Variomag	سخان كهربائي hot plate

الجدول (2): المواد والمحالل المستخدمة في الدراسة.

الشركة	المادة
Riedel-De Haen AG, Germany	رباعي هيدرات موليبدات الأمونيوم Ammonium molybdate tetrahydrate
Merck, Germany	فوسفات ثنائية البوتاسيوم Di-potassium hydrogen Phosphate
CARLO ERBA, Italy	حمض الكبريت Sulphuric acid
CARLO ERBA, Italy	حمض كلور الماء Hydrochloric Acid
Tekkim, Turkey	كلور الصوديوم Sodium chloride
Sigma-Aldrich, Switzerland	راتنج مبادل شوارد شرسبي Anion exchanger resin AMBERLITE®IRA-900

BDH, England	ماء أوكسيجيني Hydrogen pyroxide
Riedel-De Haen AG, Germany	غلايفوسات عياري Standard glyphosate
Merck, Germany	زنك zinc
---	ماء مقطر حديثاً Distilled water

تحضير المحاليل والكواشف

• محلول حمض كلور الماء 6 M

يحضر بتمديد 12.4 مل من حمض كلور الماء المركز تركيزه 37% وكثافته 1.19 بالماء المقطر إلى 25 مل.

• محلول حمض كلور الماء 2.5 M

يحضر بتمديد 10.3 مل من حمض كلور الماء المركز بالماء المقطر إلى 50 مل.

• محلول حمض كلور الماء 0.1 M

يحضر بتمديد 0.8 مل من حمض كلور الماء المركز بالماء المقطر إلى 1 ل.

• كاشف الموليبدنيوم الخماسي والسداسي 1 M

Molybdenum (VI)-Molybdenum (V) reagent (Mo(VI)-Mo(V) reagent)

يحضر بحل 1.75 غ من موليبدات الأمونيوم (حاوية على 4 جزيئات ماء) في 20 مل حمض كلور الماء 6 M، ثم إضافة 0.15 غ من الزنك مع التبريد، ثم تتم إضافة 10 مل من حمض كلور الماء المركز و 20 مل من حمض الكبريت المركز ببطء ثم التمديد بالماء المقطر حتى 50 مل [10].

• محلول كلوريد الصوديوم 0.1 M

يحضر بحل 2.92 غ من كلوريد الصوديوم في حجم معين من الماء المقطر ثم الإكمال بالماء المقطر حتى 500 مل.

• محلول عياري أم من الفوسفور 17.78 ملغ/ل

يحضر بحل 10 ملغ من الفوسفات ثنائية البوتاسيوم اللامائية (محتواها من الفوسفور 1.778 ملغ) بكمية من الماء في اللون معايرة سعة 100 مل وإكمال الحجم حتى خط العيار بالماء المقطر.

• سلسلة الفوسفور العيارية

تم تحضير محاليل فوسفور بتركيز (0.889-3.556-6.223-8.89-11.558-14.225) ملغ/ل بدءاً من محلول أم بتركيز 17.78 ملغ/ل. تم تحضير كل تركيز 3 مرات ثم إجراء التفاعل مع كاشف Mo(VI)-Mo(V) وقياس الامتصاصية.

طرائق البحث

أنجز هذا البحث في كلية الصيدلة بجامعة تشرين في الفترة الممتدة بين شهري شباط و تشرين الثاني من عام 2020 بالاعتماد على طريقة مرجعية لونية للباحث Glass [11].

1-الاعتيان

شملت الدراسة عدداً من مصادر المياه في محافظة اللاذقية وهي عبارة عن آبار قليلة العمق وآبار عميقة مستخدمة للري وفي حالات قليلة للشرب ونهر.

تم جمع عينات من 4 آبار قليلة العمق (لا يتجاوز عمقها 4 أمتار) موجودة في بساتين في قرى سنجوان وبكسا وسقوبين والبهلولية و4 آبار عميقة في نفس القرى السابقة و4 مواقع على مجرى نهر الكبير الشمالي مرة واحدة في كل من أشهر شباط (شتاء) ونيسان (ربيع) وتموز (صيف) وتشرين الثاني (خريف).

جمعت من كل موقع عينات مبدئية تم غسل عبواتها 3-4 مرات بالمياه المراد أخذ العينات منها ثم تم إفراغ محتواها في عبوات جمع العينات الرئيسية بهدف الحصول على عينات أكثر تمثيلاً للوسط.

جمعت عينات مياه النهر من عمق مناسب والآبار قليلة العمق من عمق بين 0.25-1 م أما الآبار العميقة فجمعت بعد تشغيل المضخة لمدة 15 دقيقة قبل الاعتيان.

بعد جمع العينات تم ترشيحها ونقلها في حافظات عازلة للحرارة حاوية على ثلج وصولاً إلى مكان التحليل [12]. وحفظها في عبوات زجاجية كهربائية سعتها 1 ل مغسولة بمحلول ممدد من حمض كلور الماء في الظلام في درجة حرارة +4 إلى حين تحليلها خلال فترة لا تتجاوز الأسبوعين.

الموقع العام:

تقع مصادر المياه المدروسة شمال غرب أراضي الجمهورية العربية السورية على الساحل الشرقي للبحر الأبيض المتوسط في محافظة اللاذقية.

نهر الكبير الشمالي من أكبر وأطول أنهار المنطقة الساحلية. ينبع من هضبة البايير على ارتفاع 1100 م ليصب في البحر المتوسط في منطقة البصة جنوب اللاذقية بطول يبلغ 96 كم، منها 60 كم في الأراضي السورية. يبلغ تدفقه الوسطي 5 م³/ثا ويصل تدفقه الأعظمي في موسم الفيضان إلى 40 م³/ثا [13].

الأمطار:

تتميز المنطقة بغزارة الهطولات المطرية. يتراوح معدل الهطول المطري بين (600-1200) ملم سنوياً. تتوزع الهطولات بدءاً من شهر تشرين الثاني إلى شهر نيسان بمعدلات متباينة يهطل معظمها بين شهري كانون الأول وشباط، والقليل منها خلال أشهر تشرين الأول والثاني وآذار ونيسان، ومن النادر حدوث هطولات مطرية خلال أشهر الصيف [14].



الشكل (1): مناطق جمع العينات

الجدول (3) : مصادر المياه المدروسة ومواعيد جمع العينات

موعد جمع العينات				العمق	مصدر المياه	الموقع	
خريف	صيف	ربيع	شتاء				
25/11/2020 بعد ثلاثة أيام من أحدث هطول مطري*	19/7/2020	12/4/2020	26/2/2020 بعد عشرين يوماً من أول هطول مطري في الفصل	30 م	آبار عميقة	البهلوية	1
				40 م		سنجوان	2
				9 م		الهنادي	3
				15 م		بكسا	4
7/11/2020 بعد ثلاثة أيام من أحدث هطول مطري*	19/7/2020	12/4/2020	26/2/2020 بعد يومين من أول هطول مطري في الفصل	4 م	آبار قليلة العمق	البهلوية	5
				3 م		سنجوان	6
				4 م		الهنادي	7
				4 م		بكسا	8
8/11/2020 بعد يومين من أحدث هطول مطري*	21/7/2020	14/4/2020	25/2/2020 بعد ثلاثة أيام من أول هطول مطري في الفصل	-	نقاط على النهر	خان الجوز	9
				-		خان زعرور	10
				-		جبريون	11
				-		البصة	12

* حدثت عدة هطولات مطرية قبل الجمع.

2- تحضير سلسلة عيارية من الفوسفور

تم تحضير سلسلة عيارية بوضع 10 ملغ من الفوسفات ثنائية البوتاسيوم في بالون معايرة سعته 100 مل وحله بماء مقطر، ثم الإكمال بالماء المقطر حتى خط العيار، ليكون تركيز الفوسفور 17.78 ملغ/ل.

تم رسم منحني عياري بوضع (0.5-2-3.5-5-6.5-8) مل من المحلول الأم ذي تركيز الفوسفور 17.78 ملغ/ل أي ما يعادل (8.89-35.56-62.23-88.9-115.57-142.24) ملغ فوسفور في بوالين معايرة سعته 10 مل ومن ثم إضافة 2 مل من كاشف Mo(VI)-Mo(V) وماء مقطر حتى خط العيار والتسخين على حمام مائي (درجة حرارة 100 م°) لمدة 10 دقائق ومن ثم تعويض الماء المتبخر.

تم تحضير كل تركيز 3 مرات وأخذ المتوسط الحسابي لامتناسية المكررات الثلاثة وتمثيل السلسلة العيارية بخط بياني والحصول على معادلته الخطية، ودراسة خطيتها.

3- اختبار طريقة Glass المرجعية

تم الاعتماد على طريقة الباحث Robert Glass. تعد هذه الطريقة من الطرق الطيفية اللونية التي تسمح بتحديد تركيز الغلايفوسات اعتماداً على حساب تركيز الفوسفور الموجود في بنيته، إذ يتم فيها أكسدة الغلايفوسات بالماء الأوكسجيني مما يؤدي إلى انفصام الرابطة C-P في بنيته وتشكل أورثوفوسفات تتفاعل مع موليبيدات الأمونيوم في وسط حمضي لتعطي معقد Molybdophosphoric acid الذي يتم إرجاعه بوساطة الزنك إلى معقد أزرق اللون يدعى الأزرق الموليبيدي ثم يتم قياس امتناسية هذا المعقد بمقياس الطيف الضوئي عند طول موجة 830 nm [15, 11].

تم تحضير سلسلة عيارية بإضافة 2 مل من كاشف Mo (V)-Mo (VI) إلى 0.5-5 مل من محلول فوسفات ثنائية البوتاسيوم بتركيز 50 مكغ/مل وإضافة ماء مقطر حتى 22 مل والتسخين على حمام مائي بدرجة حرارة 100 م لمدة 20 دقيقة. تم قياس امتناسية المعقد المتشكل بوساطة مقياس الطيف الضوئي عند طول موجة 830 nm. تم أخذ عينات ماء حجمها 50 مل وتعديل درجة pH (التي كانت أعلى من 5) بإضافة 0.1 N HCl لتصبح 5، ثم تمت إضافة 1 مل من الماء الأوكسجيني، والتسخين حتى الجفاف، وحل البقايا بـ 20 مل 0.25 M HCl. وضع 10 مل من المحلول السابق في بالون معايرة سعته 25 مل، وأضيف لها 2 مل من كاشف Mo (V)-Mo (VI) وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار والتسخين على حمام مائي بدرجة حرارة 100 م لمدة 20 دقيقة وتعويض الماء المتبخر وقياس الامتناسية عند طول موجة 830 nm.

تبين عند تجربة الطريقة لتحديد تراكيز الغلايفوسات في عينات المياه أنها كانت دون جدوى، مما يوجه إلى كون تركيز الغلايفوسات في العينات أدنى من حد كشف الطريقة التحليلية. تم اللجوء إلى تركيز الغلايفوسات في العينات في محاولة جعل التراكيز قابلة للقياس.

4- تطوير الطريقة التحليلية

تمت الاستفادة من خاصيتين يتمتع بهما الغلايفوسات وهما الثباتية في درجات الحرارة العالية نوعاً ما (يتدرك في درجة حرارة 187 [16]) والثانية هي ميله للادمصاص على راتنج مبادل شوارد شرسبي. تم تبخير عينات المياه (1 ل) حتى 100 مل ومن ثم تعديل درجة الـ pH لتصبح 5 بإضافة حجم مناسب من 0.1 M HCl. بعد ذلك تمت تعبئة الراتنج الشرسبي AMBERLITE®IRA-900 في عمود زجاجي ضيق، وغسل الراتنج بكمية كافية من الماء المقطر، ثم تم إمرار عينة الماء المدروسة (100 مل) ضمن الراتنج مما أدى إلى ادمصاص الغلايفوسات على العمود (يحمل جزي الغلايفوسات في ماء ذي pH=5 شحنة صافية سالبة واحدة فيميل إلى شغل موقع فعال واحد على العمود [17]) وبالتالي يكون ادمصاص الغلايفوسات على العمود أفضل ما يمكن). تمت بعد ذلك إزالة مكونات الوسط المتداخلة عن المادة المدمصة للغلايفوسات عن طريق الغسل بـ (10 مل) ماء مقطر، وفي النهاية تم استخلاص (انتزاع) الغلايفوسات بوساطة 20 مل من كلور الصوديوم 0.1 M على دفعتين [18].

بعد ذلك تم التأكد من كون درجة pH=5 ثم تمت أكسدة الغلايفوسات إلى أورثوفوسفات بوساطة 1 مل من الماء الأوكسجيني (30%)، والتسخين بمعدل معتدل حتى الجفاف ثم تم التبريد بالماء، فحل البقايا بـ 2 مل من حمض كلور الماء 2.5 M، ثم وضع المحلول السابق في بالون معايرة سعته 10 مل، وإضافة 2 مل من كاشف Mo(V) Mo(VI)، والتمديد بالماء المقطر حتى خط العيار، ثم التسخين على حمام مائي بحرارة 100 م لمدة 15 دقيقة وتعويض الماء المتبخر. نلاحظ ظهور لون ازرق نتيجة تشكل معقد أزرق الموليبيدي. بعد انتظار فترة من الزمن يتم قياس امتصاصية المعقد المتشكل عند طول موجة 830 nm مع اعتبار الناصع ماء مقطر.

تم تكرار العملية السابقة على عينة ماء مماثلة ولكن مع حذف خطوة الأكسدة ثم تم حساب كمية الفوسفور في العينتين، مع خطوة الأكسدة (الفوسفور العضوي والفوسفور المعدني)، ومع حذفها (الفوسفور المعدني فقط) بالرجوع إلى سلسلة الفوسفور العيارية، والحصول على تركيز فوسفور الغلايفوسات بطرح تركيز الفوسفور المقاس بدون أكسدة من التركيز المقاس معها، ومن ثم ضرب الناتج بالعامل 5.46 (ناتج من كون مول واحد من الغلايفوسات (وزنه 169.073 غ) يحوي مول واحد من الفوسفور (وزنه 30.97 غ)) والضرب بـ 10 (بدلاً من الضرب بـ 1000 للتحويل من ملغ إلى مكغ والقسمة على 100 لحساب التركيز في العينة الأصلية لكون حجم العينة المقطعة 1000 مل والحجم النهائي 10 مل) وهكذا نكون قد حصلنا على تركيز الغلايفوسات مقدراً بعدد ميكروغرامات الغلايفوسات الموجودة في 1 ل ماء. تم تطبيق التجربة بثلاثة مكررات لكل عينة وحساب التراكيز بالرجوع إلى المعادلة الخطية لسلسلة الفوسفور العيارية ومن ثم التعبير عن النتائج بالمتوسط الحسابي للمكررات الثلاثة.

5-دراسة مصدوقية الطريقة التحليلية

• دراسة تكرارية الطريقة التحليلية ضمن اليوم الواحد

قسمت عينة ماء إلى 5 أقسام متساوية، ثم تم تحديد تركيز الغلايفوسات في كل قسم باستخدام الطريقة الطيفية ومن ثم حساب المتوسط الحسابي \bar{x} لتراكيز الأقسام الخمسة والانحراف المعياري (SD) Standard Deviation والانحراف المعياري النسبي (RSD) Relative Standard Deviation أي معامل التباين Coefficient Of Variation (CV) [19].

• دراسة تكرارية الطريقة التحليلية خلال عدة أيام

قسمت عينة ماء إلى 5 أقسام متساوية، ثم تم تحديد تركيز الغلايفوسات خلال خمسة أيام متتالية باستخدام الطريقة الطيفية، بعد ذلك حسب المتوسط الحسابي \bar{x} لتراكيز الأقسام الخمسة والانحراف المعياري (SD) والانحراف المعياري النسبي (RSD) أي معامل التباين (CV) للتراكيز المقاسة [19].

• تحديد حد الكشف الكيفي (LOD) Limit of Detection

حدد حد الكشف الكيفي للطريقة التحليلية بأخذ جزء من عينة ماء وقياس تركيز الغلايفوسات فيها ثم تحضير تمديدات مختلفة من أجزاء أخرى منها وقياس تركيز الغلايفوسات فيكون حد الكشف الكيفي هو أقل تركيز غلايفوسات يمكن تمييزه عن الصفر [20].

• تحديد حد الكشف الكمي (LOQ) Limit of Quantification

حدد حد الكشف الكمي للطريقة التحليلية بأخذ جزء من عينة ماء وقياس تركيز الغلايفوسات فيه ثم تحضير تمديدات مختلفة من أجزاء أخرى من عينة الماء نفسها وقياس تراكيز الغلايفوسات فيها، فيكون حد الكشف الكمي هو أقل تركيز غلايفوسات يمكن قياسه بدقة ومضبوطة مناسبتين [21].

• دراسة النسبة المئوية للاسترداد للطريقة التحليلية:

تم تحديد النسبة المئوية للاسترداد وذلك بتحديد تركيز الغلايفوسات في قسم من عينة ماء حجمه 1 ل، ثم أخذ 3 أقسام أخرى من هذه العينة حجم كل منها 1 ل وإضافة (0.1-0.5-2) مل من محلول غلايفوسات بتركيز 0.1 ملغ/مل إلى هذه الأقسام الثلاثة. أي تمت إضافة 10 مكغ و 50 مكغ و 200 مكغ غلايفوسات عياري إلى الأقسام الثلاثة. أخيراً تم اتباع الطريقة الطيفية باستخدام كاشف Mo(V)-Mo(VI) لتحديد الفوسفور ومن ثم الغلايفوسات. حسب النسبة المئوية الاسترداد بتطبيق القانون التالي:

$$\%recovery = \frac{\bar{x}}{xr} \times 100$$

حيث:

\bar{x} : المتوسط الحسابي للقيمة المقاسة من الغلايفوسات في العينة التي أضيف لها 10 أو 50 أو 200 مكغ غلايفوسات عياري.

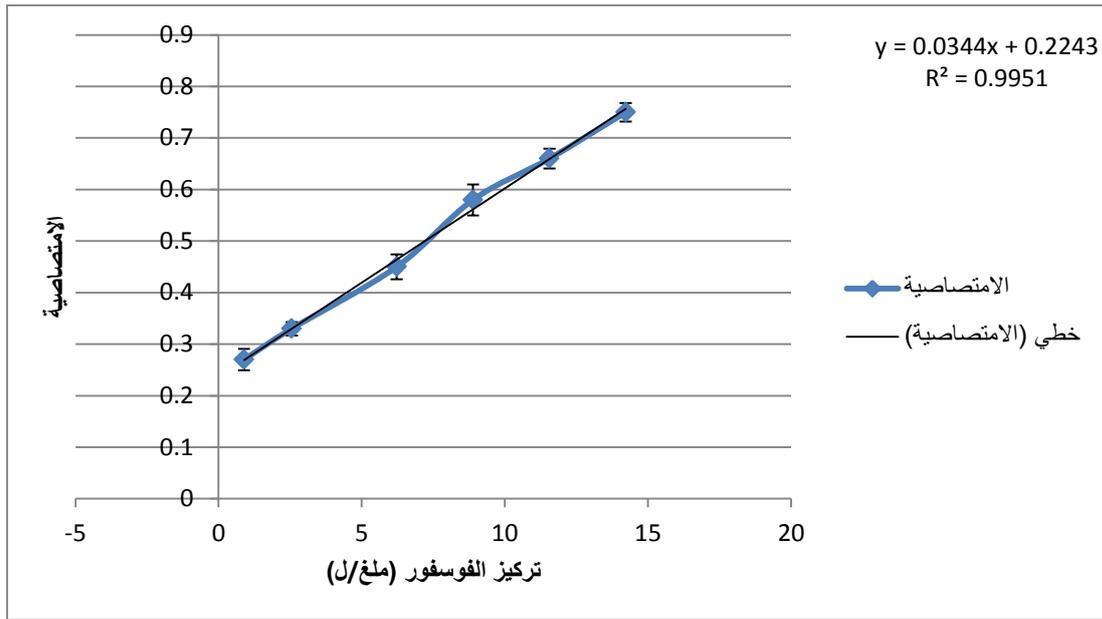
xr : القيمة الحقيقية والتي حسب جمع تركيز الغلايفوسات في عينة الماء الأصلية (دون إضافة غلايفوسات) مع 10 مكغ، أو 50 مكغ، أو 200 مكغ على الترتيب.

كررت التجربة ثلاث مرات وحسب المتوسط الحسابي لها. ثم تمت مقارنة نتائج استرداد الأقسام الثلاثة مع القيم المقبولة للاسترداد التي تتراوح ما بين 90-110% بعد تحديد تراكيز الغلايفوسات في العينة الأصلية دون إضافة الأقسام التي أضيفت إليها كميات من الغلايفوسات العياري وتطبيق قانون النسبة المئوية للاسترداد [19].

النتائج والمناقشة

1- تحضير سلسلة عياريّة من الفوسفور

تم حساب تركيز الغلايفوسات أثناء دراسة مصدوقية الطريقة التحليلية وكذلك في عينات المياه استناداً إلى المعادلة الخطية للسلسلة العياريّة للفوسفور ذات التراكيز (0.889-3.556-6.223-8.890-11.558-14.225) ملغ/ل والموضحة في المخطط (6-1) إذ كانت المعادلة الخطية $Y=0.0344X+0.2243$ وكانت قيمة معامل التحديد R^2 تساوي 0.9951.



المخطط (1): سلسلة الفوسفور العيارية المستخدمة في تحديد تركيز الغلايفوسات في عينات مصادر الماء.

2-دراسة مصدوقية الطريقة التحليلية

عند دراسة تكرارية الطريقة التحليلية ضمن اليوم كان متوسط تراكيز الغلايفوسات في 5 أقسام من العينة $20.71 \pm$ 1.7 مكغ/ل ومعامل التباين $CV = 8.21\%$. بما أن معامل التباين أقل من 10% إذا توجد دقة جيدة ضمن اليوم الواحد. أما عند دراسة التكرارية بين عدة أيام فكان متوسط تراكيز الغلايفوسات في الأقسام الخمسة المدروسة 21.47 ± 0.9 مكغ/ل، أما معامل التباين فكان $CV = 4.21\%$ أي أقل من 10%، بالتالي توجد دقة جيدة بين الأيام للطريقة التحليلية المتبعة.

بلغ حدا الكشف الكيفي والكمي للطريقة التحليلية 0.41 مكغ/ل و 2.1 مكغ/ل على التوالي، أما النسبة المئوية للاسترداد recovery فقد وجدت الدراسة الحالية القيم التالية: استرداد بقيمة 95.1% بعد إضافة 10 مكغ غلايفوسات عياري إلى 1 ل ماء، واسترداد بقيمة 93.04% بعد إضافة 50 مكغ غلايفوسات عياري إلى 1 ل ماء، واسترداد بقيمة 92.46% بعد إضافة 200 مكغ غلايفوسات عياري إلى 1 ل ماء. هذا ويتراوح المجال المقبول للاسترداد ما بين 90-110% أي أن قيم الاسترداد المحسوبة بعد كل إضافة كانت تقع ضمن المجال المقبول، وبالتالي يمكن القول بأن استرداد الطريقة التحليلية جيد.

إن المعايير التي درست لمصدوقية الطريقة التحليلية وهي التكرارية وحدي الكشف الكيفي والكمي بالإضافة إلى النسبة المئوية للاسترداد تشير إلى أن الطريقة التحليلية مصدوقة.

3-تحديد تراكيز الغلايفوسات في عينات المياه

تم تحديد تراكيز الغلايفوسات في بعض عينات مصادر المياه استناداً إلى السلسلة العيارية المحضرة باستخدام فوسفات ثنائية البوتاسيوم عيارية بتراكيز فوسفور تتراوح ما بين (0.889-14.225) ملغ/ل وعبر عن النتائج بعدد ميكروغرامات الغلايفوسات في 1 ل ماء.

الجدول (4): تراكيز الغلايفوسات في عينات مصادر المياه المدروسة (مكغ/ل).

الموقع	نوع مصدر المياه	الشتاء 2/2020	الربيع 4/2020	الصيف 7/2020	الخريف 11/2020
1	بئر عميق	9.48 ± 0.36	5.03 ± 0.27	3.35 ± 0.3	6.04 ± 0.14
2	بئر عميق	7.7 ± 0.63	2.46 ± 0.21	7.29 ± 0.62	18.14 ± 0.31
3	بئر عميق	12.23 ± 0.74	10.3 ± 0.53	17.15 ± 0.32	14.38 ± 0.52
4	بئر عميق	4.47 ± 0.35	2.9 ± 0.17	4.37 ± 0.11	23.65 ± 0.56
5	بئر قليل العمق	16.59 ± 0.94	11.58 ± 0.25	33.38 ± 0.56	50.8 ± 0.86
6	بئر قليل العمق	28.96 ± 0.43	22.83 ± 0.39	31.07 ± 0.66	72.41 ± 0.49
7	بئر قليل العمق	46.52 ± 1.85	24.43 ± 0.29	19.22 ± 0.41	44.95 ± 0.8
8	بئر قليل العمق	25.15 ± 0.32	13.74 ± 0.15	26.43 ± 0.72	55.78 ± 0.17
9	موقع على النهر	15.85 ± 0.16	6.59 ± 0.24	12.03 ± 0.5	16.62 ± 0.57
10	موقع على النهر	24.91 ± 0.22	9.28 ± 0.26	14.04 ± 0.48	38.14 ± 0.34
11	موقع على النهر	28.15 ± 0.32	39.14 ± 0.41	25.89 ± 0.7	23.9 ± 1.16
12	موقع على النهر	30.21 ± 0.25	23.46 ± 0.64	32.07 ± 0.33	48.25 ± 0.31

نلاحظ أن تراكيز الغلايفوسات تراوحت في عينات آبار المياه السطحية بين 11.58-72.41 مكغ/ل، أما في عينات آبار المياه الجوفية فكانت بين 2.46-23.65 مكغ/ل، بينما تراوحت في عينات النهر بين 6.59-48.25 مكغ/ل.

4-مقارنة النتائج:

تم إجراء العديد من المقارنات اعتماداً على الاختبارات الإحصائية [ANOVA) Analysis of Variance] one-- sample t test] باستخدام برنامج SPSS لمقارنة النتائج:

• المقارنة مع الدراسات المرجعية

كانت تراكيز الغلايفوسات في دراستنا أدنى من التراكيز المقاسة في دراسة أجراها الباحث peruzzi وزملاؤه عام 2008 في الأرجنتين على عينات مياه سطحية باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء موصولة بمقياس الطيف الضوئي في مجال الأشعة فوق البنفسجية UV (تراوحت التراكيز فيها ما بين 100 مكغ/ل إلى 700 مكغ/ل [22]. من المحتمل أن يعود السبب في ذلك إلى كون المحاصيل المزروعة في منطقة الدراسة عبارة عن محاصيل فول صويا معدل جينياً ليكون مقاوماً للغلايفوسات، الأمر الذي يترافق عادةً مع استخدام كميات أكبر من المبيد [23]. خلافاً للسابق كانت التراكيز في دراستنا أعلى من العديد من الدراسات كالدرستين المجرتين من قبل Ruiz-Toledo وزملائه في المكسيك (التراكيز

بين $(0.13 - 36.71$ مكغ/ل) [23] و *Mária Mörtl* وزملائها في هنغاريا (التركيز الأعلى المقاس 0.98 مكغ/ل) على عينات مياه سطحية وجوفية باستخدام طريقة مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA [24] والدراسة المجراة من قبل الباحث *Byer* وزملائه على عينات مياه سطحية بوساطة مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم أيضاً، إذ عثر على الغلايفوسات في 33% من العينات وكان التركيز الأعلى المقاس 12 مكغ/ل [25].

يمكن تفسير كون التراكيز مرتفعة في دراستنا بالمقارنة مع العديد من الدراسات بالاعتماد شبه الكامل للمزارعين على الغلايفوسات في التخلص من الأعشاب كونه الأقل تكلفةً، مع ارتفاع تكاليف الحراثة بالمقارنة مع مستوى دخل الفرد في محافظة اللاذقية (وفي سورية عامةً). عادةً ما يكون الغلايفوسات هو الوسيلة الوحيدة المستخدمة للتخلص من الأعشاب، مما يؤدي إلى تطوير الأعشاب مقاومة له، الأمر الذي يتطلب تطبيق كميات أكبر من المبيد للحصول على النتيجة المرغوبة، ويمكن أن تلعب قلة نوعية الطريقة المتبعة في دراستنا دوراً في الحصول على قيم أعلى بقليل من القيم الحقيقية خلافاً لبقية الطرق الحديثة المستخدمة والمعروف عنها أنها أكثر نوعيةً. يمكن أيضاً لعوامل أخرى أن تلعب دوراً في الفروقات في التراكيز أهمها اختلاف خواص التربة، فمثلاً من شأن محتوى التربة العالي من الفوسفات أن يؤدي إلى زيادة تسرب الغلايفوسات إلى المياه الجوفية [23] والفاصل الزمني بين تطبيق الغلايفوسات وحصول هطول مطري فيمكن لهطول مطري غزير تالي لتطبيق المبيد أن يكون مؤثراً في شدة تسرب الغلايفوسات إلى المياه الجوفية في المواسم الماطرة [24].

● المقارنة تبعاً لمصدر المياه

كانت التراكيز في عينات مياه الآبار قليلة العمق هي الأعلى، تليها عينات مياه النهر، ومن ثم عينات مياه الآبار العميقة. يمكن تفسير ذلك بأن قلة كمية مياه الآبار قليلة العمق (السطحية) مقارنةً بالنهر يجعلها أكثر تأثراً بالغلايفوسات منه إضافةً إلى كون سرعة حركة مياهها أقل وقابلية تجدها أقل لذا يبقى الغلايفوسات فيها فترة أطول [26]، ويكون محتوى مياه الآبار العميقة (الجوفية) من الغلايفوسات الأقل كون ألفة الغلايفوسات للتربة عالية، إذ يمدص عليها مما يقلل فرصه بالتغلغل ضمن طبقات التربة والوصول إليها بكميات كبيرة [27, 28].

يتوافق كون تراكيز الغلايفوسات في مياه الآبار العميقة (المياه الجوفية) أدنى منها في كل من مياه النهر والآبار قليلة العمق (المياه السطحية) مع ما توصل إليه الباحث *Battalgin* وزملاؤه في دراسة أجريت عام 2007 في الولايات المتحدة الأمريكية إذ كانت مستويات الغلايفوسات أعلى بكثير في المياه السطحية منها في المياه الجوفية (كانت التراكيز القسوى المقاسة في عينات المياه السطحية والجوفية 9.6 و 0.67 نغ / مل على التوالي) [29]، كما يتفق مع ما توصل إليه الباحث *Lutri* وزملاؤه (كانت التراكيز القسوى المقاسة في عينات المياه السطحية والجوفية 167.4 و 2.0 مكغ/ل على التوالي) [26]، إلا أنه يخالف نتيجة الدراسة المجراة في عام 2012 من قبل الباحثة *Mörtl* وزملائها في هنغاريا، إذ لم تشر إلى وجود فرق هام إحصائياً بين التراكيز التي تم كشفها في المياه السطحية والجوفية، إذ كان متوسط التراكيز في المياه السطحية 0.442 ± 0.274 نغ / مل، بينما كان متوسط التراكيز المقابلة في المياه الجوفية 0.537 ± 0.224 نغ / مل [24].

● المقارنة تبعاً للفصل

لوحظ أن تراكيز الغلايفوسات كانت أعلى في فصل الخريف مقارنةً مع بقية الفصول. يمكن تفسير ذلك بأنه على الرغم من كون الصيف والربيع يمثلان أوقات الذروة لاستخدام الغلايفوسات، إلا أن الجزء الأكبر منه يبقى مدمصاً على أجزاء

التربة إلى حين حدوث هطولات مطرية، إذ يؤدي الجريان السطحي والتسرب إلى وصول الغلايفوسات إلى المياه السطحية والجوفية. وعلى الرغم من كون الخريف والشتاء يمثلان أوقات الذروة للهطولات المطرية، تكون التراكيز الغلايفوسات أعلى في الخريف نظراً لبعدها فترة جمع العينات في الشتاء عن التطبيق الأعظمي للغلايفوسات وكون العمر النصفي للغلايفوسات في التربة والماء قصيراً (نصف العمر الوسطي للغلايفوسات في الأدبيات في التربة 2-197 يوماً وفي الماء 2-91 يوماً) مما يوجه إلى تدرك قسم كبير من الغلايفوسات إلى حين حلول وقت الجمع في فصل الشتاء، بالإضافة إلى ذلك يمكن للهطولات المطرية الغزيرة والمتكررة في الشتاء بالمقارنة مع الخريف أن تسبب نقصاناً في التركيز نتيجة الفعل التمديدي.

يخالف ذلك ما توصل إليه Reynoso وزملاؤه في دراستهم، إذ كانت التراكيز أعلى في فصلي الصيف والشتاء. يمكن تفسير الاختلاف باختلاف مواعيد تطبيق الغلايفوسات والهطولات المطرية. ففي دراسة المكسيك تكون ذروة التطبيق في الصيف والشتاء وتحدث هطولات مطرية غزيرة في مختلف الفصول حتى في الربيع والصيف [30]، أما محلياً فذروة التطبيق في الصيف والربيع إلا أن الأمطار نادرة الحدوث في هذين الفصلين، وبالتالي من غير المتوقع وصول كميات كبيرة من الماء إلى المصادر المائية في هذين الفصلين.

• المقارنة مع الحدود المرجعية

لا تحتوي المواصفات القياسية السورية على الحد الأعلى المسموح وجوده من الغلايفوسات في المياه لذا تمت مقارنة التراكيز المقاسة في الدراسة الحالية مع الحدود العليا المسموحة في أهم التشريعات الدولية، إذ تمت مقارنة التراكيز في آبار المياه العميقة وقليلة العمق مع المستوى الأعظمي للغلايفوسات في مياه الشرب المحدد من قبل وكالة حماية البيئة الأمريكية وهو 700 مكغ/ل والقيمة الحدية المحددة في الدليل التوجيهي الأوروبي وهي 0.1 مكغ/ل والتركيز الأقصى المقبول في الدليل التوجيهي الكندي وهو 280 مكغ/ل، بينما قورنت التراكيز في مياه النهر مع خط الأساس للحياة المائية (الأسماك) المحدد من قبل EPA والبالغ 1800 مكغ/ل والعتبة طويلة الأجل المحددة من قبل وزارة البيئة الكندية لحماية الحياة المائية والبالغة 800 مكغ/ل [31].

على الرغم من أن التراكيز المقاسة لم تتجاوز الحدود المسموحة في الولايات المتحدة وكندا، إلا أنها تجاوزت تلك المسموحة في الاتحاد الأوروبي، إضافة إلى كونها مرتفعة بالمقارنة مع أغلب الدراسات المرجعية. الأمر الذي يستوجب المراقبة الدائمة، خاصة مع إعلان منظمة الصحة العالمية أنه من المحتمل أن يكون الغلايفوسات مسرطناً، ومع ذهاب دراسات إلى أنه من الممكن أن يسبب تأثيرات ضارة حتى تحت القيم المسموحة، إذ توصل الباحث Hokansom وزملاؤه في دراستهم أنه من الممكن للغلايفوسات أن يسبب نقصاً في اصطناع التستوستيرون، وتعطيلاً في المورثات المنظمة للإستروجين مؤدياً إلى تطور أورام في الثدي بتراكيز أدنى من القيم المرجعية المسموحة (>1 مكغ/ل) [25]، كما وجد Richard وزملاؤه، و Benachour و Seralini في دراستهم أن تراكيز غلايفوسات أقل بـ 100 مرة من التراكيز الموصى بها في الزراعة تعد سامة للخلايا الجنينية والمشيمية البشرية [33، 34].

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

- حددت في الدراسة الحالية تراكيز الغلايفوسات في عدد من مصادر المياه في المنطقة الساحلية (آبار قليلة العمق، آبار عميقة، نهر)، وكانت قيم الغلايفوسات في جميع مصادر المياه ضمن الحدود المسموحة من قبل وكالة حماية البيئة الأمريكية والدليل التوجيهي الكندي، بينما تجاوزت القيم المقاسة في الآبار الحدود المسموحة من قبل الاتحاد الأوروبي.

- كانت تراكيز الغلايفوسات في دراستنا أعلى من معظم الدراسات.

- كانت تراكيز الغلايفوسات الأعلى في عينات مياه الآبار قليلة العمق (11.58-72.41) مكغ/ل تليها عينات مياه النهر (6.59-48.25) مكغ/ل ومن ثم عينات مياه الآبار العميقة (2.46-23.65) مكغ/ل.

- كانت تراكيز الغلايفوسات أعلى في فصل الخريف (6.04-72.41) مكغ/ل من بقية الفصول (2.46-46.52) مكغ/ل.

التوصيات

- محاولة الحد من استخدام الغلايفوسات والبحث عن وسائل بديلة لا توجد شكوك حول أمان استخدامها.
- ضرورة احتواء المواصفات القياسية السورية على الحد الأعلى المسموح للغلايفوسات في المياه بأنواعها والبقاء على اطلاع على آخر المستجدات المتعلقة باحتمالية كونه مسرطناً.
- استخدام طرائق كشف كمي أكثر نوعية.
- متابعة الدراسة على مصادر أخرى للمياه مع ضرورة المراقبة الدورية.
- تحديد مستويات الغلايفوسات في البشر (دم وبول) وفي الحيوانات والنباتات خاصة تلك التي يعتمد عليها البشر في غذائهم.
- متابعة الدراسة لكشف تلوث المياه بمبيدات أخرى.

Reference

1. Pohl H, Chou S, Fay M, Harper C, Buser M. Toxicological profile for glyphosate. Atlanta Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2020
2. Portier CJ, Armstrong BK, Baguley BC, Baur X, Belyaev I, Belle R, et al. Differences in the carcinogenic evaluation of glyphosate between the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the European Food Safety Authority (EFSA). J Epidemiol Community Health. 2016;70(8):741-5.
- 3- Bazzan G, Migliorati M. Expertise, politics and public opinion at the crossroads of the European Commission's decision-making: The case of Glyphosate. International Review of Public Policy. 2020;2(2):1.
- 4- Okada E, Allinson M, Barral MP, Clarke B, Allinson G. Glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) are commonly found in urban streams and wetlands of Melbourne, Australia. Water research. 2020; 168:115139 . .
- 5- Cuhra M, Bohn T, Cuhra P. Glyphosate: too much of a good thing? Frontiers in Environmental Science. 2016;4:28.

- 6-Bøhn T, Cuhra M, Traavik T, Sanden M, Fagan J, Primicerio R. Compositional differences in soybeans on the market: glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food chemistry*. 2014;153:207-15.
- 7- Silva V, Montanarella L, Jones A, Fernández-Ugalde O, Mol HG, Ritsema CJ, Geissen V. Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union. *Science of the Total Environment*. 2018;15;621:1352-9.
- 8- Qian K, Tang T, Shi T, Wang F, Li J, Cao Y. Residue determination of glyphosate in environmental water samples with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with 4-chloro-3, 5-dinitrobenzotrifluoride. *Analytica Chimica Acta*. 2009;9;635(2):222-6.
- 9- Rubio F, Veldhuis LJ, Clegg BS, Fleeker JR, Hall JC. Comparison of a direct ELISA and an HPLC method for glyphosate determinations in water. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 2003;51(3):691-6.
- 10- Yoza N, Ishibashi K, Ohashi S. Gel and ion-exchange chromatographic purification of the reaction products between diphosphate and diphosphonate. *Journal of Chromatography A*. 1977;134(2):497-506.
- 11- Glass RL. Colorimetric determination of glyphosate in water after oxidation to orthophosphate. *Analytical Chemistry*. 1981; 1;53(6):921-3.
- 12- The Government of Colombia's Institute of Agriculture and Husbandry. Sampling Bodies of Water for Glyphosate and AMPA Residues Analysis. 2003.
- 13- Husein HH, Beda M, Ali EF, Zaghteti I, Karbouj A. Hydrological Study and Monitoring of Some Pollution Indexes of Nahr Al-Kabir Al-Shamali Basin. *Syrian Journal of Agricultural Research*. 2017;(4):80-95.
- 14- Sabbouh H. Evaluation of Water Quality of Lakes of Small Surface Dams in the Area of Latakia and Determine its Suitability to Drink. *Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies*. 2020;42:11-31.
- 15- Dick WA, Tabatabai MA. Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. *American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America*; 1977.
- 16- Baer KN, Marcel BJ. *Glyphosate*; 2014.
- 17- Delmonico EL, Bertozzi J, de Souza NE, Oliveira CC. < b> Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid for assessing the quality tap water using SPE and HPLC. *Acta Scientiarum. Technology*. 2014;26;36(3):513-9.
- 18- Corbera M, Hidalgo M, Salvado V, Wieczorek PP. Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in natural water using the capillary electrophoresis combined with enrichment step. *Analytica Chimica Acta*. 2005;17;540(1):3-7.
- 19- Guideline ICH. Validation of analytical procedures: text and methodology. Q2 (R1). 2005;1(20):05.
- 20- Currie LA. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Pure and applied chemistry*. 1995;1;67(10):1699-724.
- 21- Munch DJ, Wasko M, Flynt E, Wendelken SC, Scifres J, Mario JR, Hunt M, Gregg D, Schaeffer T, Clarage M, Lumpkin MS. Validation and Peer Review of US Environmental Protection Agency Chemical Methods of Analysis. *Forum on Environmental Measurements, US Environmental Protection Agency, Washington, DC 2005*.

- 22-Peruzzo PJ, Porta AA, Ronco AE. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution*. 2008;156(1):61-6.
- 23- Ruiz-Toledo J, Castro R, Rivero-Pérez N, Bello-Mendoza R, Sánchez D. Occurrence of glyphosate in water bodies derived from intensive agriculture in a tropical region of southern Mexico. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 2014;93(3):289-93.
- 24- Mörtl M, Németh G, Juracsek J, Darvas B, Kamp L, Rubio F, Székács A. Determination of glyphosate residues in Hungarian water samples by immunoassay. *Microchemical Journal*. 2013;107:143-51.
- 25- Byer JD, Struger J, Klawunn P, Todd A, Sverko ED. Low cost monitoring of glyphosate in surface waters using the ELISA method: an evaluation. *Environmental science & technology*. 2008;42(16):6052-7.
- 26- Lutri VF, Matteoda E, Blarasin M, Aparicio V, Giacobone D, Maldonado L, Quinodoz FB, Cabrera A, Albo JG. Hydrogeological features affecting spatial distribution of glyphosate and AMPA in groundwater and surface water in an agroecosystem. Córdoba, Argentina. *Science of The Total Environment*. 2020;711:134557.
- 27- Lupi L, Bedmar F, Puricelli M, Marino D, Aparicio VC, Wunderlin D, Miglioranza KS. Glyphosate runoff and its occurrence in rainwater and subsurface soil in the nearby area of agricultural fields in Argentina. *Chemosphere*. 2019;225:906-14.
- 28- Syan HS, Prasher SO, Pageau D, Singh J. Dissipation and persistence of major herbicides applied in transgenic and non-transgenic canola production in Quebec. *European journal of soil biology*. 2014 Jul 1;63:21-7.
- 29- Battaglin WA, Rice KC, Focazio MJ, Salmons S, Barry RX. The occurrence of glyphosate, atrazine, and other pesticides in vernal pools and adjacent streams in Washington, DC, Maryland, Iowa, and Wyoming, 2005–2006. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2009;155(1):281-307.
- 30- Reynoso EC, Peña RD, Reyes D, Chavarin-Pineda Y, Palchetti I, Torres E. Determination of Glyphosate in Water from a Rural Locality in México and Its Implications for the Population Based on Water Consumption and Use Habits. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(19):7102.
- 31- Sasal M, Wilson M, Sione S, Beghetto S, Gabioud E, Oszust J, Paravani E. Monitoring of glyphosate in surface water in the province of Entre Ríos. *Participatory action research as a collaborative methodology*. 2017.
- 32- Hokanson R, Fudge R, Chowdhary R, Busbee D. Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural herbicide glyphosate. *Human & experimental toxicology*. 2007;26(9):747-52.
- 33- Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, Benachour N, Seralini GE. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environmental health perspectives*. 2005;113(6):716-20.
- 34- Benachour N, Seralini GE. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. *Chemical research in toxicology*. 2009;19;22(1):97-105.