

AGROTECHNIKA	N O R M A   B R A N Ż O W A	BN-83
	<b>Gleba i materiał roślinny</b> <b>Oznaczenie pozostałości herbicydów</b> <b>Substancje aktywne</b> <b>— pochodne acetanilidów</b>	9180-24
		Grupa katalogowa 1502

## 1. WSTĘP

**1.1. Przedmiot normy.** Przedmiotem normy jest metoda oznaczania pochodnych acetanilidów w glebie i materiale roślinnym (o nazwach zwyczajowych: metolachlor i dimethachlor), przy zastosowaniu chromatografii gazowej.

**1.2. Zakres stosowania normy.** Norma ma zastosowanie do oznaczania pochodnych acetanilidów w przypadku:

- a) kontroli pozostałości w glebie i materiale roślinnym w celu określenia stopnia ich skażenia,
- b) analiz pozostałości w wyniku incydentalnego uszkodzenia upraw, analiz arbitrażowych i sądowych.

## 2. METODA OZNACZANIA

**2.1. Zasada oznaczania** polega na wydzieleniu substancji aktywnej z badanej próbki w procesie ekstrakcji metanolem, oczyszczeniu ekstraktu metodą chromatografii kolumnowej oraz oznaczeniu ilościowym badanej substancji metodą chromatografii gazowej z wykorzystaniem detektora jonizacyjno-rekombinacyjnego lub termojonowego.

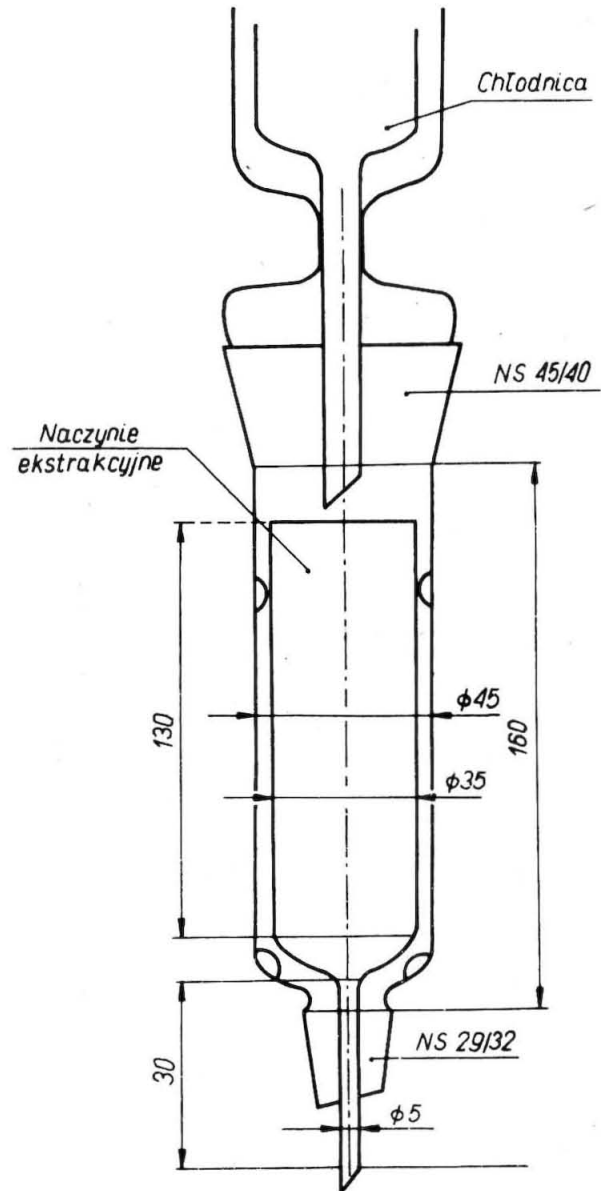
### 2.2. Aparatura, przyrządy i materiały

- a) Chromatograf gazowy z detektorem jonizacyjno-rekombinacyjnym (Ni 63 10 mc) lub detektorem termojonowym specyficznym dla azotu.
- b) Aparat do ekstrakcji ciągłej (rysunek).
- c) Kolumna chromatograficzna szklana długości 300 mm i średnicy wewnętrznej 20 mm.
- d) Wyparka rotacyjna.

e) Młynek lub inne urządzenie do rozdrabniania próbek roślinnych.

f) Mikrostrzykawka pojemności 10 mm<sup>3</sup>.

g) Zamrażarka (do przechowywania próbek).



Zgłoszona przez Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa  
Ustanowiona przez Dyrektora Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa dnia 29 marca 1983 r.  
jako norma obowiązująca od dnia 1 listopada 1983 r.  
(Dz. Norm. i Miar nr 6/1983 poz. 12)

### 2.3. Odczynniki i roztwory

- a) Chlorek sodowy cz.d.a. — roztwór nasycony.
- b) Eter etylowy do narkozy.
- c) Gas-Chrom Q 80-100 mesh.
- d) *n*-heksan destylowany z aparatury szklanej.
- e) Metanol cz.d.a.
- f) Olej silikonowy OV-101.
- g) Olej silikonowy XE-60.
- h) Siarczan sodowy bezwodny cz.d.a.
- i) Tlenek glinu — kwaśny, III aktywności do chromatografii kolumnowej firmy Woelm lub Merck.
- j) Wzorce do chromatografii gazowej o czystości minimum 99,0 %: metolachlor 2-etylo-6-metylo-N-(1-metylo-2-metoksyetylo)-chloroacetanilid, dimetachlor 2,6-dwumetylo-N-(metoksyetylo)-chloroacetanilid.

### 2.4. Przygotowanie roztworów wzorcowych

**Roztwór A.** W kolbie pomiarowej pojemności 100 cm<sup>3</sup> rozpuścić w *n*-heksanie 0,0100 g poszczególnego wzorca odważonego z dokładnością do 0,0001 g, uzupełnić *n*-heksanem do kreski i dobrze wymieszać.

**Roztwór B.** Do kolby pomiarowej pojemności 100 cm<sup>3</sup> odmierzyć 10,0 cm<sup>3</sup> roztworu A, uzupełnić *n*-heksanem do kreski i wymieszać. 1 cm<sup>3</sup> tak przygotowanego roztworu zawiera 10 µg substancji wzorcowej.

**Roztwór C.** Do kolby pomiarowej pojemności 100 cm<sup>3</sup> odmierzyć 10,0 cm<sup>3</sup> roztworu B, uzupełnić *n*-heksanem do kreski i wymieszać. 1 cm<sup>3</sup> tak przygotowanego roztworu zawiera 1 µg substancji wzorcowej.

W przypadku prowadzenia oznaczeń z zastosowaniem detektora termojonowego, roztwory A, B, C należy sporządzić w metanolu. Przygotowane roztwory wzorcowe należy przechowywać w temperaturze 3 ÷ 5 °C (w lodówce). Okres przechowywania nie może być dłuższy niż 6 miesięcy.

### 2.5. Pobieranie, przygotowanie i przechowywanie próbki

#### 2.5.1. Pobieranie próbki — wg PN-78/R-04011.

**2.5.2. Przygotowanie próbki do analizy.** Ze średniej próbki gleby pobranej wg 2.5.1 należy usunąć kamienie, resztki roślin itp. zanieczyszczenia, następnie dokładnie próbkę rozdrobnić w młódku porcelanowym lub młynku i wymieszać. Z tak przygotowanej próbki pobrać odpowiednią naważkę do bezpośredniej analizy laboratoryjnej.

Średnią próbkę materiału roślinnego (ziarno, części zielone, bulwy lub korzenie) pobraną wg 2.5.1 należy rozdrobnić w młynku lub mikserze i wymieszać. Z tak przygotowanej próbki należy pobrać odpowiednią naważkę do bezpośredniej analizy laboratoryjnej.

**2.5.3. Wyznaczanie masy gleby powietrznosuchej.** Z każdej próbki gleby przygotowanej wg 2.5.2 odważyć 100 g gleby z dokładnością do 0,1 g, rozsypać cienką warstwą na plastikowej tacy o wymiarach około 20 × 20 cm i pozostawić przez 48 h w temperaturze pokojowej. Po tym czasie glebę należy ponownie zważyć. Różnicę mas przyjąć za wilgotność gleby. Współczynnik przeliczeniowy (*W*) należy obliczyć wg wzoru

$$W = 1 - \frac{W_g}{100} \quad (1)$$

w którym *W<sub>g</sub>* — wilgotność gleby oznaczona po 48 h, %.

**2.5.4. Przechowywanie próbki do badań.** Średnią próbkę pobraną wg 2.5.1 i przygotowaną wg 2.5.2, w celu zabezpieczenia przed rozkładem substancji aktywnej, przechowuje się w temperaturze -20 °C w zamkniętym pudełku z tworzywa sztucznego lub parafinowanym, tekturowym lub też w woreczku foliowym z widocznym na wierzchu numerem próbki. Do analizy należy pobrać naważkę gleby po uprzednim całkowitym rozmrożeniu próbki.

### 2.6. Wykonanie oznaczania

**2.6.1. Ekstrakcja.** 50 ÷ 100 g gleby przygotowanej wg 2.5 umieścić w naczyniu ekstraktora (rysunek) zatkanego zwitkiem waty szklanej. Naczynie umieścić w ekstraktorze. Ekstraktor połączyć z kolbą kulistą pojemności 250 cm<sup>3</sup>, zawierającą 150 cm<sup>3</sup> metanolu (dopuszcza się zastosowanie innego rozpuszczalnika, jeżeli powoduje to wydatne zwiększenie procentu odzysku w przypadku szczególnego materiału roślinnego). Ekstraktor zamknąć od góry chłodnicą zwrotną. Kolbę umieścić w elektrycznej łaźni grzewczej i rozpocząć ogrzewanie do takiej temperatury, aby skraplający się w chłodnicy metanol słuwał cienkim strumieniem przez naczynie z próbką z powrotem do kolby. Utrzymywać ogrzewanie przez 2 h, licząc czas od momentu gdy metanol rozpocznie słuwać poprzez naczynie z próbką. Po tym czasie ogrzewanie przerwać i odczekać do spłynięcia metanolu z naczynia z próbką i ostygnięcia ekstraktu do temperatury pokojowej. Uzyskany ekstrakt metanolowy umieścić w rozdzielaczu pojemności 1000 cm<sup>3</sup> i rozcieńczyć przy użyciu 350 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Prowadzić reekstrakcję za pomocą trzech porcji *n*-heksanu, używając każdorazowo po 50 cm<sup>3</sup> (w przypadku złego rozdziału dodać kilka cm<sup>3</sup> nasyconego roztworu NaCl). Połączone ekstrakty heksanowe przesączyć przez niewielką ilość bezwodnego Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> do kolby kulistej pojemności 250 cm<sup>3</sup> i odparować do sucha na wyparce rotacyjnej w temperaturze 40 °C. Suchą pozostałość rozpuścić w 3 ÷ 5 cm<sup>3</sup> *n*-heksanu.

**2.6.2. Chromatografia kolumnowa.** Do kolumny chromatograficznej wlać około 70 cm<sup>3</sup> *n*-heksanu. Cylindrem pomiarowym odmierzyć 30 cm<sup>3</sup> kwaśnego tlenku glinu III aktywności. Przy otwartym kranie kolumny wsypać tlenek glinu, *n*-heksan wypuszczać do momentu pozostania nad warstwą adsorbentu 2 mm warstwy *n*-heksanu. Na tak przygotowaną kolumnę nanieść ilościowo zagęszczony ekstrakt. Kolbę z resztkami ekstraktu przemyć dwukrotnie 3 ÷ 5 cm<sup>3</sup> *n*-heksanu, który również nanieść na kolumnę. Po naniesieniu ekstraktu na kolumnę prowadzić wymywanie zanieczyszczeń za pomocą 100 cm<sup>3</sup> mieszaniny o składzie 9 części objętościowych *n*-heksanu i 1 części objętościowej eteru etylowego. Po odebraniu z kolumny 100 cm<sup>3</sup> tej mieszaniny, którą należy odrzucić, prowadzić wymywanie związków oznaczanych. Wymywanie prowadzić mieszaniną o składzie 2 części objętościowych *n*-heksanu i 1 części objętościowej eteru etylowego z szybkością

około 0,7 cm<sup>3</sup>/min. Metolachlor wymywa się z kolumny w pierwszych 100 cm<sup>3</sup> tej mieszaniny, dimethachlor w drugich 100 cm<sup>3</sup>. Wyciek z kolumny zbierać do kolby kulistej pojemności 250 cm<sup>3</sup>, następnie odparować do sucha na wyparce rotacyjnej w temperaturze 40 °C. Suchą pozostałość rozpuścić w 4 cm<sup>3</sup> *n*-heksanu w przypadku oznaczania na detektorze jonizacyjno-rekombinacyjnym lub w 4 cm<sup>3</sup> metanolu w przypadku oznaczania na detektorze termojonowym.

**2.6.3. Chromatografia gazowa.** Roztwór suchej pozostałości otrzymany wg 2.6.2 wprowadzić przy użyciu mikrostrzykawki na kolumnę chromatograficzną. Chromatografię prowadzić w następujących warunkach:

- a) — detektor jonizacyjno-rekombinacyjny Ni 63 10 mc,  
 — kolumna chromatograficzna — długość 2,5 m, średnica wewnętrzna 3 mm,  
 — wypełnienie — 4 części wagowe 1 % XE-60 + 1 część wagowa 10 % OV-101 na Gas Chrom Q 80-100 mesh, wypełnienie stabilizowane minimum 150 h w temperaturze 230 °C,  
 — temperatura kolumny w czasie analizy 190 °C,  
 — przepływ gazu nośnego dobrać w zależności od rodzaju aparatu, zgodnie z jego instrukcją,  
 — temperatura komory nastrzykowej 190 °C,  
 — temperatura detektora 250 °C,  
 b) — detektor termojonowy specyficzny dla azotu,  
 — kolumna chromatograficzna — długość 2 m, średnica wewnętrzna 3 mm,  
 — wypełnienie jak w poz. a),  
 — temperatura kolumny 200 °C, gaz nośny argon 30 cm<sup>3</sup>/min,  
 — temperatura komory nastrzykowej 200 °C,  
 — temperatura detektora 200 °C,  
 — gazy do palnika: przepływy gazów dobrać w zależności od rodzaju aparatu, zgodnie z jego instrukcją.

Przy tak dobranych warunkach chromatografii czasy retencji oznaczanych związków powinny mieścić się w granicach 12 ÷ 20 min.

**2.6.4. Obliczanie wyniku oznaczania.** Pozostałości pochodnych acetanilidów (*X*) należy obliczyć w mg/kg wg wzoru

$$X = \frac{V_p \cdot a \cdot 100}{V_n \cdot m \cdot r \cdot w} \quad (2)$$

w którym:

- $V_p$  — całkowita objętość roztworu próbki do analizy chromatograficznej, cm<sup>3</sup>,  
 $a$  — ilość związku odczytana z krzywej cechowania detektora, ng (wg 2.8),  
 $V_n$  — wprowadzona do kolumny chromatograficznej objętość próbki, mm<sup>3</sup>,  
 $m$  — naważka próbki wziętej do analizy, g,  
 $n$  — odzysk metody, % (wg 2.7),  
 $w$  — współczynnik przeliczeniowy na głębę powietrznosuchą (wg 2.5.3), dla prób roślinnych przyjmując  $w = 1$ .

**2.7. Wyznaczanie odzysku metody.** Przygotować głębę powietrznosuchą nie traktowaną badanymi związkami. Odważyć 12 próbek po 50 g z dokładnością 0,1 g. Próbki umieścić w naczyniach ekstraktora. Do trzech próbek dodać po 1 cm<sup>3</sup> roztworu A (wg 2.4), co odpowiada pozostałości 2 mg/kg, do trzech próbek dodać po 1 cm<sup>3</sup> roztworu B, co odpowiada pozostałości 0,2 mg/kg, do trzech próbek dodać po 1 cm<sup>3</sup> roztworu C, co odpowiada pozostałości 0,02 mg/kg.

Trzy próbki pozostawić bez dodatku wzorca. Po upływie 3 h przeprowadzić oznaczania wg 2.6. Przy wyznaczaniu odzysku w materiale postępować analogicznie. Wynik obliczyć w procentach odzyskanej substancji aktywnej, przy czym odzysk dla każdego poziomu nie może być mniejszy niż 80 %. Za odzysk do obliczeń przyjmując średnią arytmetyczną uzyskanych wyników dla trzech poziomów.

Odzysk sprawdzać wrywkowo co pewien czas oraz każdorazowo przy zmianie materiału analizowanego i partii odczynników (szczególnie tlenku glinu), dla jednego wybranego poziomu.

**2.8. Wyznaczanie krzywej cechowania detektora.** Z roztworu B (wg 2.4) poprzez rozcieńczanie sporządzić 4 roztwory pomocnicze o stężeniach w granicach 10 — 1 ng/mm<sup>3</sup>. Roztwory poddać oznaczaniu chromatograficznemu wg 2.6.3. Sporządzić wykres zależności wysokości pików chromatograficznych w mm od ilości analizowanego związku w ng. Wykres powinien mieć charakter prostoliniowy. Krzywą cechowania należy sprawdzać codziennie przez wstrzyknięcie znanej ilości wzorca.

**2.9. Wynik końcowy oznaczania.** Za wynik oznaczania należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej 2 oznaczeń różniących się między sobą nie więcej niż 0,005 mg/kg dla detektora jonizacyjno-rekombinacyjnego lub 0,02 mg/kg dla detektora termojonowego.

K O N I E C

#### INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Puławy.

2. Normy związane

PN-78/R-04011 Materiał roślinny i gleba. Pobieranie próbek do ilościowego oznaczania pozostałości pestycydów

3. Autor projektu normy — dr Jerzy Sadowski — IUNG, Zakład Ekologii i Zwalczenia Chwastów.