

| | | |
|--------------|-------------------------------|-----------------------|
| AGROTECHNIKA | N O R M A B R A N Ż O W A | BN-84 |
| | Gleba i materiał roślinny | 9180-29 |
| | Oznaczenie | |
| | pozostałości herbicydów | |
| | Substancja aktywna — nitrofen | Grupa katalogowa 1502 |

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest metoda oznaczania pozostałości nitrofenu w materiale roślinnym i glebie przy zastosowaniu chromatografii gazowej.

1.2. Zakres stosowania normy. Norma ma zastosowanie do oznaczania pozostałości nitrofenu będącego składnikiem czynnym preparatów, takich jak: Trazalex, TOK WP-50, TOK Ultra, Mixi-TOK S, Rapsol, dla każdego zakresu stężeń w przypadkach:

- a) kontroli pozostałości nitrofenu w materiale roślinnym i glebie w celu określenia stopnia ich skażenia i ewentualnego wpływu na rośliny następce,
- b) analiz pozostałości w wyniku incydentalnych uszkodzeń upraw, analiz arbitrażowych i sądowych.

2. METODA OZNACZANIA

2.1. Zasada oznaczania polega na wydzieleniu nitrofenu z badanej próbki gleby lub materiału roślinnego przez ekstrakcję metanolem, oczyszczeniu ekstraktu od zanieczyszczeń 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) Homogenizator z pojemnikiem szklanym lub ze stali nierdzewnej.
- c) Kolumna chromatograficzna ze szkła borokrzemowego długości 2 m i średnicy 2 i 3 mm.
- d) Kolumna chromatograficzna szklana długości 300 mm i średnicy wewnętrznej 20 mm.
- e) Mikser lub młynek do rozdrabniania próbek roślinnych.
- f) Mikrostrzykawka pojemności 10 mm³.
- g) Wyparka rotacyjna.
- h) Zamrażarka (do przechowywania próbek).

2.3. Odczynniki i roztwory.

- a) Chlorek sodowy cz.d.a.
- b) Eter etylowy do narkozy.
- c) Eter naftowy cz.d.a. t.w. $30 \div 50^{\circ}C$, destylowany z aparatury szklanej.
- d) Florysil 60 \div 120 mesh.
- e) Gas Chrom Q 20 \div 100 mesh.
- f) *n*-Heksan destylowany z aparatury szklanej.
- g) Metanol cz.d.a. destylowany z aparatury szklanej.
- h) Olej silikonowy OV-101.
- i) Olej silikonowy XE-60.
- j) Olej silikonowy OV-225.
- k) Siarczan sodowy bezwodny cz.d.a.
- l) Wzorzec nitrofenu (2,4-dwuchloro-4-nitrodwufenylo eter), o czystości 99,9%, otrzymany z firmy Rohm and Has.
- ł) Wata szklana.

2.4. Przygotowanie roztworów wzorcowych

Roztwór A. W kolbie pomiarowej pojemności 100 cm³ rozpuścić w *n*-heksanie 0,1000 g wzorca nitrofenu, odważonego z dokładnością do 0,0002 g, uzupełnić *n*-heksanem do kreski i dobrze wymieszać. 1 cm³ tak przygotowanego roztworu zawiera 1000 µg; nitrofenu.

Roztwór B. Do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³ odmierzyć 10,0 cm³ roztworu A, uzupełnić *n*-heksanem do kreski i wymieszać. 1 cm³ tak przygotowanego roztworu zawiera 100 µg nitrofenu.

Roztwór C. Do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³ odmierzyć 10,0 cm³ roztworu B, uzupełnić *n*-heksanem do kreski i wymieszać. 1 cm³ tak przygotowanego roztworu zawiera 10 µg nitrofenu.

Roztwór D. Do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³ odmierzyć 10,0 cm³ roztworu C, uzupełnić *n*-heksanem do kreski i wymieszać. 1 cm³ tak przygotowanego roztworu zawiera 1 µg nitrofenu.

W przypadku prowadzenia oznaczeń z zastosowaniem detektora termojonowego, roztwory wzorcowe należy sporządzić w metanolu. Przygotowane roztwory wzorcowe należy przechowywać w temperaturze $3 \div 5^{\circ}C$ (w lodówce). Okres przechowywania nie może być dłuższy niż 6 miesięcy.

Zgłoszona przez Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Ustanowiona przez Dyrektora Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa dnia 1 marca 1984 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 stycznia 1985 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 4/1984 poz. 7)

2.5. Pobieranie, przygotowanie i przechowywanie próbek

2.5.1. Pobieranie próbek gleby materiału roślinnego — wg PN-78/R-04011.

2.5.2. Przygotowywanie próbki gleby do analizy. Ze średniej próbki gleby pobranej wg 2.5.1, należy usunąć kamienie, resztki rośliny, itp. zanieczyszczenia, następnie dokładnie próbkę rozdrobnić w moździerzu porcelanowym i wymieszać. Z tak przygotowanej próbki pobrać odpowiednią naważkę do bezpośredniej analizy laboratoryjnej.

2.5.3. Wyznaczanie masy gleby powietrzniesuchej. Z każdej próbki glebowej przygotowanej wg 2.5.2, odważyć 100 g gleby z dokładnością do 0,1 g, rozsypać cienką warstwę 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 (W , %). Współczynnik przeliczeniowy (W) należy obliczyć wg wzoru

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

w którym Wg — wilgotność gleby oznaczona po 48 h, %.

2.5.4. Przygotowanie próbki materiału roślinnego do analizy. Średnią próbkę (ziarno, słoma, części zielone roślin itp.) 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.

2.5.5. Przechowywanie próbek do analiz. Próbki pobrane wg 2.5.1 i przygotowane wg 2.5.2 lub 2.5.4 w celu zabezpieczenia przed rozkładem substancji aktywnej, przechowywać w temperaturze 20°C w zamkniętych pudełkach z tworzywa sztucznego lub parafinowych, tekturowych albo w woreczkach foliowych z widocznymi na wierzchu numerami próbek. Do analizy należy pobrać naważkę po uprzednim całkowitym rozmrożeniu próbki.

2.6. Wykonanie oznaczenia

2.6.1. Ekstrakcja próbek. 50 g gleby przygotowanej wg 2.5.2 lub 50 g materiału roślinnego przygotowanego wg 2.5.4, umieścić w pojemniku homogenizatora. Do pojemnika dodać metanolu w ilości 200 cm³ w przypadku gleby lub 400 cm³ w przypadku materiału roślinnego i miksować 2 razy po 15 min. Zmiksowaną próbkę przesączyć przez bibułowy sączek i zebrać dla gleby 100 cm³, a dla materiału roślinnego 200 cm³ przesączu, co odpowiada 25 g próbce. Zebrany przesącz przelać do rozdzielacza pojemności 1 dcm³, dodać trzykrotną ilość wody i 1 ÷ 2 g NaCl. Ekstrahować czterokrotnie 50 cm³ *n*-heksanu, wytrząsając przez 2 ÷ 3 min. Warstwę heksanową każdorazowo suszyć przepuszczając przez warstwę około 5 g bezwodnego siarczanu sodowego umieszczonego na lejku z watą szklaną. Połączone ekstrakty heksanowe odparować do sucha na wyparce rotacyjnej w łaźni wodnej o temperaturze 40°C.

2.6.2. Chromatografia kolumnowa. 200 g florisilu aktywować przez 2 h w temperaturze 200°C, następnie przenieść do eksykatora i ostudzić do temperatury pokojowej. Ostudzony florisil przenieść do kolby Erlenmayera pojemności 500 cm³ z korkiem szlifowanym i dezaktywować dodając 0,5 cm³ wody destylowanej. W celu równomiernego rozprowadzenia wody dobrze wymieszać (czas mieszania około 30 min) i szczelnie zamknięty pozostawić na noc.

Każdą przygotowaną partię florisilu należy sprawdzić przez przeprowadzenie chromatografii kolumnowej znanej ilości wzorca poddając analizie na chromatografie gazowym zarówno eluat wymywający zanieczyszczenia, jak i właściwą frakcję. Pojawienie się nitrofenu w pierwszej frakcji świadczy o niewłaściwej dezaktywacji florisilu, tzn. dodaniu zbyt dużej ilości wody.

Do kolumny szklanej wlać około 80 cm³ heksanu. Przy ciągłym wypływie heksanu, kolumnę napełnić przygotowanym uprzednio florisilem na wysokość 7 cm, a następnie 1 cm warstwą bezwodnego siarczanu sodu. Aby uzyskać równomierne ucięcie wypełnienia, należy w czasie usypywania wprawić kolumnę w lekkie drgania przez uderzanie przecikiem szklanym, kawałkiem węża gumowego lub przez zastosowanie odpowiedniego wibratora. Po napełnieniu kolumny pozostawić nad adsorbentem 2 mm warstwę heksanu. Na tak przygotowaną kolumnę nanieść ekstrakt otrzymany wg 2.6.1 po uprzednim rozpuszczeniu w 5 cm³ heksanu. Przemycić kolbę dwukrotnie 2 cm³ heksanu i nanieść każdą porcję na kolumnę, gdy górny poziom cieczy obniży się na wysokość 2 mm nad powierzchnię adsorbenta (nie dopuścić do całkowitego wycieku cieczy z kolumny). Zanieczyszczenie z kolumny wymywać 100 cm³ 6% roztworu, a substancję aktywną 100 cm³ 20% roztworu eteru etylowego w heksanie. Szybkość wymywania zanieczyszczeń i nitrofenu — około 3 cm³/min. Wyciek z kolumny zawierający substancję aktywną zbierać do kolby kulistej pojemności 250 cm³, następnie odparować do sucha na wyparce w temperaturze łaźni 40°C. Suchą pozostałość rozpuścić w 4 cm³ *n*-heksanu w przypadku oznaczania na detektorze jonizacyjno-rekombinacyjnym lub w 4 cm³ metanolu w przypadku oznaczania na detektorze termojonowym.

Zamiast heksanu można w tej metodzie używać eteru naftowego, z tą tylko różnicą, że do wymywania substancji aktywnej należy używać 30% roztworu eteru etylowego w eterze naftowym. Ilość zbieranego eluatu pozostaje taka sama.

2.6.3. Chromatografia gazowa. Roztwór otrzymany wg 2.6.2 w ilości 2 mm³ wprowadzić przy użyciu mikrostrzykawki na kolumnę chromatograficzną. Chromatografię prowadzić w następujących warunkach:

- a) detektor jonizacyjno-rekombinacyjny Ni⁶³ 10 mC
- kolumna chromatograficzna długości 2,0 m, średnicy wewnętrznej 3 mm,
- wypełnienie: 4 części wagowe 1% XE — 60 + 1 część wagową 10% OV-101 na Gas Chrom Q 80 ÷ 100 mesh,
- temperatura kolumny 190°C,
- temperatura komory nastrzykowej 190°C,

- temperatura detektora 250°C,
- gaz nośny: Argon 50 cm³/min,
- oznaczalność 0,02 ng,
- czas retencji 14,5 min.

- b) detektor termojonowy specyficzny dla azotu,
- kolumna chromatograficzna długości 2 m, średnicy wewnętrznej 2 mm,
 - wypełnienie: 4% OV 225 na Chromoserbieg C AW DMCS 80 ÷ 100,
 - temperatura pieca 200°C,
 - temperatura komory nastrzykowej 210°C,
 - temperatura detektora 220°C,
 - gaz nośny: Argon 35 cm³/min,
 - oznaczalność 0,2 ng,
 - czas retencji 10 min.

2.6.4. Obliczanie wyniku oznaczania. Pozostałość nitrofenenu (X) należy obliczyć w mg/kg wg wzoru

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

w którym:

- V_p — całkowita objętość roztworu próbki do analizy chromatograficznej, cm³,
- a — ilość związku odczytana z krzywej cechowania detektora, ng (wg 2.8),
- Vn — wprowadzona do kolumny chromatograficznej objętość próbki, mm³,
- m — naważka próbki wziętej do analizy, g,
- n — odzysk metody, % (wg 2.7),
- w — współczynnik przeliczeniowy na głębę powietrzniesuchą (wg 2.5.3), dla próbek roślinnych przyjąć $w = 1$.

2.7. Wyznaczanie odzysku metody. Przygotować glebę powietrzniesuchą nie traktowaną nitrofenem. Odważyć 12 próbek po 50 g z dokładnością do 0,1 g. Próbki umieścić w kolbach Erlenmayera. Do trzech próbek

dodać po 1 cm³ roztworu A (wg 2.4), co odpowiada pozostałości 2 mg/kg, do trzech próbek po 1 cm³ roztworu B co odpowiada pozostałości 0,2 mg/kg, do trzech próbek dodać po 1 cm³ 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 roślinnym 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 przyjąć średnią arytmetyczną uzyskanych wyników dla trzech poziomów. Odzysk sprawdzać wyrywkowo co pewien czas oraz każdorazowo przy zmianie materiału analizowanego i partii odczynników dla jednego wybranego poziomu.

Ponieważ do analizy bierze się połowę przesączu, należy to uwzględnić przy obliczaniu odzysku. Dla każdego poziomu analizie poddawana jest połowa danej substancji aktywnej.

2.8. Wyznaczanie krzywej cechowania detektora. Dla detektora jonizacyjno-rekombinacyjnego z roztworu C (wg 2.4) poprzez rozcieńczenie sporządzić 4 roztwory pomocnicze o stężeniach w granicach 0,1 ÷ 1 ng/mm³. Natomiast dla detektora termojonowego z roztworu B sporządzić 4 roztwory o stężeniach 1 ÷ 10 ng/mm³. Po analizie chromatograficznej sporządzić wykres zależności wysokości piku chromatograficznego (mm) od ilości analizowanego związku (ng). Wykres powinien mieć charakter prostoliniowy. Krzywą cechowania należy sprawdzać codziennie przez wstrzyknięcie znanej ilości wzorca.

2.9. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik oznaczenia należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej 2 oznaczeń różniących się między sobą nie więcej niż 0,005 mg/kg dla detektora jonizacyjno-rekombinacyjnego lub 0,05 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 hab. Barbara Kostowska — Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Zakład Ekologii i Zwalczania Chwastów, Wrocław.