

AGROTECHNIKA	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-84
	Gleba i materiał roślinny Oznaczenie pozostałości herbicydów	9180-33
	Substancja aktywna — pendimetalina	Grupa katalogowa 1502

1. WSTĘP

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

1.2. Zakres stosowania normy. Normę stosuje się do oznaczania pozostałości pendimetaliny będącej składnikiem czynnym preparatu Stomp 330 E, dla każdego zakresu stężeń w przypadkach:

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

2. METODA OZNACZANIA

2.1. Zasada oznaczania polega na wydzieleniu pendimetaliny z badanej próbki gleby lub materiału roślinnego przez ekstrakcję acetonitrylem, oczyszczeniu ekstraktu od zanieczyszczeń metodą chromatografii kolumnowej oraz oznaczeniu ilościowym badanej substancji metodą chromatografii gazowej z wykorzystaniem detektora jonizacyjno-rekombinacyjnego.

2.2. Aparatura, przyrządy i materiały

- a) Chromatograf gazowy z detektorem jonizacyjno-rekombinacyjnym (Ni⁶³ 10 mC).
- b) Homogenizator z pojemnikiem szklanym lub ze stali nierdzewnej.
- c) Kolumna chromatograficzna ze szkła borokrzemowego o długości 2 m i średnicy 4 mm.
- d) Kolumna chromatograficzna szklana o 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) Wytrząsarka laboratoryjna.
- i) Zamrażarka (do przechowywania prób).

2.3. Odczynniki i roztwory

- a) Acetonitryl (destylowany z nad pięciotlenku fosforu).
- b) Benzen cz.d.a. (destylowany z aparatury szklanej).
- c) Benzen, roztwór w *n*-heksanie 6% i 30% (v/v).
- d) Chlorek sodowy cz.d.a., nasycony roztwór wodny.
- e) Florisil. 60 ÷ 120 mesh.
- f) Gas Chrom Q 80 ÷ 100 mesh.
- g) *n*-heksan (destylowany z aparatury szklanej).
- h) Kwas solny cz.d.a.
- i) Kwas solny 0,1N, roztwór.
- j) Mieszanina ekstrahująca (780 cm³ acetonitrylu + 200 cm³ wody destylowanej + 20 cm³ stężonego kwasu solnego).
- k) Olej silikonowy OV-101.
- l) Olej silikonowy XE-60.
- ł) Siarczan sodowy bezwodny cz.d.a.
- m) Wzorzec pendimetaliny (N-/1-etylopropylo/-3,4-dwumetylo-2,6-dwunitroanilina) — otrzymany z firmy Rohm and Hass Company, o czystości 99%.
- n) Wata szklana.

2.4. Przygotowanie roztworów wzorcowych

Roztwór A. W kolbie pomiarowej pojemności 100 cm³ rozpuścić w *n*-heksanie 0,1000 g wzorca pendimetaliny odważonego z dokładnością do 0,0001 g, uzupełnić *n*-heksanem do kreski i dobrze wymieszać; 1 cm³ tak przygotowanego roztworu zawiera 1000 µg pendimetaliny.

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

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 pendimetaliny.

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

Zgłoszona przez Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa
Ustanowiona przez Dyrektora Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa dnia 29 listopada 1984 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1985 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 5/1985 poz. 5)

Przygotowane roztwory należy przechowywać w temperaturze $3 \div 5^\circ\text{C}$ (w lodówce). Okres przechowywania nie może być dłuższy niż 6 miesięcy.

2.5. Pobieranie, przechowywanie i przygotowanie próbek

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

2.5.2. Przygotowanie próbki gleby do analizy. Ze średniej próbki gleby, pobranej wg 2.5.1, należy usunąć kamienie, resztki roślin 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 powietrznosuchej. Z każdej próbki glebowej 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 (około 20°C). 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_g — wilgotność gleby oznaczona po 48 h, %.

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

2.5.5. Przechowywanie próbek do analizy. 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 parafinowanych, tekturowych, w woreczkach foliowych z widocznymi na wierzchu numerami próbek. Do analizy należy pobrać odważkę po uprzednim całkowitym rozmrożeniu próbki.

2.6. Wykonanie oznaczania

2.6.1. Ekstrakcja próbek. 50 g gleby przygotowanej wg 2.5.2 lub 50 g materiału roślinnego (w przypadku słomy 25 g) przygotowanego wg 2.5.4 umieścić w pojemniku homogenizatora. Do pojemnika dodać 150 cm^3 mieszaniny ekstrahującej (2.3j) i miksować przez 15 min. Następnie całość wytrząsać przez 6 h na wytrząsarce.

Ekstrakt przesączyć i przenieść do rozdzielacza pojemności 1 dm^3 .

Pozostałość na sączku przemyć dwukrotnie 20 cm^3 mieszaniny ekstrakcyjnej i przesącz dołączyć do poprzedniego ekstraktu. Do rozdzielacza dodać 400 cm^3 $0,1\text{N HCl}$ i 10 cm^3 nasyconego roztworu chlorku sodowego. Próbkę ekstrahować heksanem trzykrotnie, używając każdorazowo 50 cm^3 . Warstwę heksanową każdorazowo suszyć, przepuszczając przez warstwę bezwodnego siarczanu sodowego (około 5 g) umieszczone-

go na leju z watą szklaną. Połączone ekstrakty heksanowe odparować do sucha na wyparce rotacyjnej, w łaźni wodnej o temperaturze 40°C .

2.6.2. Chromatografia kolumnowa. 100 g florisilu aktywować przez 2 h w temperaturze 200°C , następnie przenieść do eksykatora i ostudzić do temperatury pokojowej. Ostudzony florisil zdezaktywować dodając 6 cm^3 wody destylowanej. W celu równomiernego rozprowadzenia wody dobrze wymieszać i pozostawić na noc w szczelnie zamkniętym naczyniu w eksykatorze.

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

Do kolumny szklanej (2.2d) wlać około 80 cm^3 heksanu. Przy ciągłym wypływie heksanu, kolumnę napełnić przygotowanym uprzednio florisilem na wysokość 8 cm, a następnie 1 cm warstwą bezwodnego siarczanu sodowego. Aby uzyskać równomierne ucięcie wypełnienia, należy w czasie usypywania wprawić kolumnę w lekkie drgania przez uderzanie pręcikiem szklanym, kawałkiem węża gumowego lub przez zastosowanie odpowiedniego wibratora. Po napełnieniu kolumny pozostawić nad adsorbentem 2 mm warstwę heksanu. Na tak przygotowaną kolumnę nanieść otrzymany wg 2.6.1 ekstrakt, po uprzednim rozpuszczeniu w 5 cm^3 heksanu. Przemyć kolbę dwukrotnie 2 cm^3 heksanu i nanieść każdą porcję na kolumnę, gdy górny poziom cieczy obniży się na wysokość 2 mm nad powierzchnią adsorbenta (nie dopuścić do całkowitego wycieku cieczy z kolumny). Zanieczyszczenia z kolumny wymywać 100 cm^3 6-procentowego roztworu z szybkością $2 \text{ cm}^3/\text{min}$, a substancję aktywną 120 cm^3 30-procentowego roztworu benzenu w heksanie z szybkością $1 \text{ cm}^3/\text{min}$.

Wyciek z kolumny, zawierający substancję aktywną, zbierać do kolumny kulistej pojemności 250 cm^3 , następnie odparować do sucha na wyparce rotacyjnej o temperaturze łaźni 40°C . Suchą pozostałość rozpuścić w 4 cm^3 heksanu.

2.6.3. Chromatografia gazowa. Roztwór otrzymany wg 2.6.2 w ilości 2 mm^3 wprowadzić przy użyciu mikrostrzykawkki na kolumnę chromatograficzną. Chromatografię prowadzić w następujących warunkach:

- kolumna chromatograficzna (wg 2.2c),
- wypełnienie: 4 cz. wag. 1-procentowego XE-60 + 1 cz. wag. 10-procentowego OV-101 na Gas Chrom Q, $80 \div 100$ mesh,
- temperatura kolumny 190°C ,
- temperatura komory nastrzykowej 190°C ,
- temperatura detektora 250°C ,
- gaz nośny, Argon $50 \text{ cm}^3/\text{min}$,
- oznaczalność 0,1 ng,
- czas retencji 10 min,
- czas wykonania całej analizy około 25 min.

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

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

w którym:

V_p — całkowita objętość roztworu próbki do analizy chromatograficznej, cm^3 ,

a — ilość związku odczytana z krzywej cechowania detektora, ng (wg 2.8),

V_n — wprowadzona do kolumny chromatograficznej objętość próbki, mm^3 ,

n — odzysk metody, % (wg 2.7),

m — odważka próbki wziętej do analizy, g,

w — współczynnik przeliczeniowy na glebę powietrznosuchą (wg 2.5.3), dla prób roślinnych przyjąć $w = 1$.

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

Do trzech próbek dodać po 1 cm^3 roztworu B (wg 2.4), co odpowiada pozostałości 2 mg/kg, do trzech próbek dodać po 1 cm^3 roztworu C, co odpowiada pozostałości 0,2 mg/kg, do trzech próbek dodać po 1 cm^3 roztworu D, co odpowiada pozostałości 0,02 mg/kg. Trzy próbki pozostawić bez dodatku wzorca. Po upływie 3 h

przeprowadzić oznaczanie wg 2.6. Przy wyznaczaniu odzysku w materiale roślinnym postępować analogicznie.

W przypadku słomy do analizy należy odważyć 25 g próbki i nanosić po 0,5 cm^3 odpowiedniego wzorca, uzyskując ten sam poziom pozostałości jak i dla gleby.

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.

2.8. Wyznaczenie liniowości cechowania detektora.

Z roztworu D (wg 2.4) przez rozcieńczenie sporządzić 4 roztwory pomocnicze o stężeniu w granicach 0,1—1 ng/mm^3 . Następnie po analizie chromatograficznej sporządzić wykres zależności wysokości piku chromatograficznego (mm) od ilości analizowanego związku (ng). Wykres powinien mieć charakter prostoliniowy. Liniowość należy sprawdzać codziennie przez wstrzyknięcie znanej ilości wzorca.

2.9. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik końcowy oznaczania należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej 2 oznaczeń różniących się między sobą nie więcej niż 25%.

Dla pozostałości leżących na granicy wykrywalności metody, dopuszczalna jest różnica między oznaczeniami do 60%.

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 gleby. Pobieranie próbek do ilościowego oznaczania pozostałości pestycydów.

3. Autor normy — doc. dr hab. Barbara Kostowska — Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa, Zakład Ekologii i Zwalczania Chwastów, Wrocław.