

AGROTECHNIKA	N O R M A B R A N Ź O W A	BN-91
	Gleba i materiał roślinny	9180-43
	Oznaczanie pozostałości herbicydów — substancja aktywna napropamid	Grupa katalogowa 1502

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest metoda oznaczania pozostałości napropamidu (preparat Devrinol) w glebie i materiale roślinnym przy zastosowaniu chromatografii gazowej.

1.2. Zakres stosowania normy. Norma ma zastosowanie przy oznaczaniu pozostałości napropamidu w przypadkach:

- kontroli pozostałości napropamidu w glebie i materiale roślinnym w celu określenia ich skażenia,
- analiz pozostałości przy stwierdzeniu incydentalnego uszkodzenia upraw,
- analiz arbitrażowych i sądowych.

2. METODA OZNACZANIA

2.1. Zasada oznaczania. Oznaczanie polega na wydzieleniu substancji aktywnej z próbki gleby w procesie ekstrakcji metanolem na gorąco, a z materiału roślinnego — acetonem na gorąco; oczyszczeniu ekstraktów metodą chromatografii kolumnowej oraz oznaczeniu w badanej próbce napropamidu metodą chromatografii gazowej z wykorzystaniem detektora termojonowego.

2.2. Aparatura, przyrządy i materiały

- Chromatograf gazowy z detektorem termojonowym wyposażony w szklaną kolumnę długości 2 m i średnicy wewnętrznej 2 mm wypełnioną 3% OV÷17 na Gas Chrom Q 80÷100 mesh.
- Kolumna chromatograficzna z kranikiem i dnem ze szkła spiekane o porowatości zero, długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 10 mm.
- Aparat Soxhleta.
- Krajalnica lub inne równorzędne urządzenie.
- Młynek wirówkowy (np. taki jak do mielenia kawy).
- Sito laboratoryjne o średnicy oczek 3÷5 mm.
- Zamrażarka do przechowywania próbek.
- Wyparka próżniowa rotacyjna.

2.3. Odczynniki i roztwory

- Alkohol metylowy cz.d.a. przedestylowany z aparatury szklanej.

- Aceton cz.d.a. przedestylowany z aparatury szklanej.

- Acetonitryl cz.d.a. przedestylowany z aparatury szklanej.

- n*-heksan cz.d.a. przedestylowany z aparatury szklanej.

- Benzen cz.d.a. przedestylowany z aparatury szklanej.

- Tlenek glinowy — kwaśny I aktywności Merck.

- Wzorzec napropamidu (czystości minimum 99%): N,N-dwuetylo-2-(1-naftyloksy) propionamid.

2.4. Przygotowanie roztworów wzorcowych

Roztwór A. W kolbie pomiarowej pojemności 100 ml rozpuścić w alkoholu metylowym 0,0500 g wzorca napropamidu, uzupełnić do kreski alkoholem metylowym i dokładnie wymieszać. 1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 500 µg substancji wzorcowej.

Roztwór B. Do kolby pomiarowej pojemności 100 ml odmierzyć 20 ml roztworu A i dopełnić do kreski alkoholem metylowym. 1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 100 µg substancji wzorcowej.

Roztwór C. Do kolby pomiarowej pojemności 100 ml odmierzyć 2 ml roztworu A i dopełnić do kreski alkoholem metylowym. 1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 10 µg substancji wzorcowej.

Roztwór D. Do kolby pomiarowej pojemności 100 ml odmierzyć 1 ml roztworu B i uzupełnić do kreski alkoholem metylowym. 1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 1 µg substancji wzorcowej.

2.5. Pobieranie, przygotowanie i przechowywanie próbek

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

2.5.2. Przygotowanie próbek do analizy

2.5.2.1. Gleba. Ze średniej próbki glebowej pobranej wg 2.5.1 należy usunąć kamienie, resztki roślinne itp. zanieczyszczenia, następnie wymieszać i przesiać przez sito o średnicy oczek 3÷5 mm. Z tak przygotowanej próbki należy pobrać odpowiednią odważkę do dalszej analizy.

2.5.2.2. Materiał roślinny. Średnią próbkę materiału roślinnego (nasiona, słoma, części zielone rośliny), pobraną wg 2.5.1, należy rozdrobnić (na krajalnicy lub w młynku): słomę do około 0,5 cm długości, części zie-

Zgłoszona przez Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Ustanowiona przez Dyrektora Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa dnia 25 stycznia 1991 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1991 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 2/1991, poz. 5)

lone $0,5 \div 1$ cm i wymieszać. Z tak przygotowanej próbki należy pobrać odpowiednią odważkę do dalszej analizy.

2.5.3. Przechowywanie próbek. W celu zabezpieczenia przed rozkładem oznaczanego związku, próbkę pobraną wg 2.5.1 należy przechowywać w temperaturze -20°C w zamkniętym woreczku foliowym lub pojemniku szklanym. Odważkę do analizy należy pobierać po uprzednim rozmrożeniu próbki.

2.6. Wykonywanie oznaczania

2.6.1. Ekstrakcja próbek

2.6.1.1. Gleba. 40 g gleby przygotowanej wg 2.5.2.1 umieścić w gilzie ekstrakcyjnej aparatu Soxhleta i ekstrahować przez 3 h za pomocą 300 ml metanolu. Otrzymany ekstrakt odparować do sucha w wyparce rotacyjnej.

2.6.1.2. Nasiona rzepaku, części zielone roślin. 50 g nasion, części zielonych lub 30 g słomy roślin przygotowanych wg 2.5.2.2 umieścić w kolbie okrągłodennej, dodać 400 ml acetonu (E_1) i ogrzewać pod chłodnicą zwrotną przez 1 h. Po ochłodzeniu zdekantować 200 ml (E_2) ekstrahować i odparować do sucha w wyparce rotacyjnej. Pozostałość przenieść do rozdzielacza za pomocą 20 ml heksanu i reekstrahować przez wytrząsanie z dwoma porcjami acetonitrylu nasyconego heksanem po 30 ml każda. Połączone ekstrakty acetonitrylowe odparować do sucha, stosując wyparkę rotacyjną.

2.6.2. Chromatografia kolumnowa. Do kolumny szklanej (2.2b) wsypać mieszaninę złożoną z: 10 g kwaśnego tlenku glinowego I aktywności (suszony 24 h w temperaturze 60°C), 0,2 g węgla aktywnego i 1 g bezwodnego siarczanu sodowego. Na wierzchu wypełnienia umieścić zwitek waty szklanej i zalać heksanem. Na tak przygotowaną kolumnę nanieść za pomocą 10 ml heksanu (dwukrotnie po 5 ml) suchą pozostałość próbki otrzymanej wg 2.6.1.2. Po naniesieniu próbki przepuścić przez kolumnę 100 ml heksanu, wyciek odrzucić. Za pomocą 60 ml mieszaniny aceton-benzen (1:1 V/V) prowadzić wymywanie napropamidu. Zebrany eluat odparować do sucha w wyparce rotacyjnej.

2.6.3. Chromatografia gazowa. Poszczególne otrzymane wg 2.6.1.1 i 2.6.1.2 próbki rozpuścić w 4 ml metanolu każda i poddać oznaczeniu za pomocą chromatografu gazowego z detektorem termojonowym w następujących warunkach:

— kolumna:

długość 2 m,

średnica wewnętrzna 2 mm,

temperatura kolumny 220°C ,

temperatura dozownika (injektora) 220°C ;

— wypełnienie 3% OV \div 17: na Gas-Chrom \varnothing 80 \div 100 mesh, gaz nośny azot lub argon — 20 ml/min.

Pozostałe parametry wg instrukcji obsługi posiadanego chromatografu gazowego.

W powyższych warunkach wprowadzić do komory dozownika za pomocą mikrostrzykawki 2 μl roztworu próbki. W tych samych warunkach poddać oznaczeniu

roztwory wzorcowe C i D, w celu sprawdzenia prawidłowości wskazań detektora.

Ilość napropamidu w analizowanej próbce odczytać z wykresu kalibracji detektora. Za wysokość pików przyjmując średnią dwu nastrzyków, których wysokości pików nie różnią się między sobą więcej niż 10%.

2.6.4. Obliczenie wyniku oznaczania. Pozostałość napropamidu (X) w mg/kg obliczyć wg wzoru

$$X = \frac{V_p \cdot a \cdot E_1 \cdot 100}{V_n \cdot m \cdot E_2 \cdot n}$$

w którym:

V_p — całkowita objętość, w której rozpuszczono próbkę do oznaczania wg 2.6.3, ml,

a — ilość napropamidu odczytana z krzywej kalibracji wg 2.7, ng,

E_1 — całkowita objętość ekstraktu wg 2.6.1.2, ml,

V_n — objętość próbki wprowadzona mikrostrzykawką na chromatograf wg 2.6.3, μl ,

m — odważka próbki wziętej do analizy, g,

E_2 — objętość ekstraktu wzięta do analizy wg 2.6.1.2, ml,

n — odzysk metody wg 2.8, %.

2.7. Kalibracja detektora. Przez rozcieńczenie roztworów wzorcowych B i C metanolem sporządzić serię roztworów o stężeniach pośrednich. Roztwory te poddać oznaczeniu wg 2.6.3. Zmierzyć na chromatogramach wysokość pików napropamidu z dokładnością 1 mm. Na papierze milimetrycznym sporządzić wykres zależności: wysokość pików (mm) — ilość napropamidu (ng). Zależność powinna mieć charakter liniowy.

2.8. Wyznaczanie odzysku metody. Przygotować jak w 2.5 próbki materiału (gleba lub roślina) nietraktowane napropamidem (dla każdego rodzaju materiału należy wyznaczyć odzysk oddzielnie). Odważyć 10 próbek materiału, dla którego będzie wyznaczony odzysk wg 2.6. Do trzech prób dodać po 1 ml roztworu wzorcowego B, co odpowiada poziomowi 3,33 — 2 mg/kg (w zależności od odważki próbki); do trzech prób dodać po 2 ml roztworu wzorcowego C, co odpowiada poziomowi 0,066 — 0,4 mg/kg; do trzech prób dodać po 2 ml roztworu wzorcowego D, co odpowiada poziomowi 0,066 — 0,04 mg/kg. Jedną próbkę pozostawić jako kontrolną. Po upływie 2 h przeprowadzić analizy wg 2.6.

Wynik obliczyć w procentach odzyskanego napropamidu, przy czym odzysk dla każdego poziomu nie może być niższy niż 70%.

Za odzysk do obliczenia przyjmując średnią arytmetyczną wyników uzyskanych dla trzech poziomów. Odzysk wyznaczyć dla każdego rodzaju analizowanego materiału i sprawdzać wrywkowo co pewien czas, dla jednego wybranego poziomu.

2.9. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik oznaczania należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej 2 oznaczeń różniących się między sobą nie więcej niż 25% (dla wyższych poziomów). Dla stężeń bliskich granicy wykrywalności różnica może dochodzić do 50%.

Równoległe z oznaczaniem napropamidu w badanej próbce przeprowadzić oznaczanie próbki kontrolnej tego samego materiału, dla oznaczania i wykluczenia ewentualnego zanieczyszczenia o tym samym czasie retencji co napropamid.

3. CHARAKTERYSTYKA METODY

- a) wykrywalność 0,2 ng,
- b) oznaczalność 0,005-0,01 mg/kg (oznaczalność w zależności od badanego materiału przy założeniu 100% odzysku).

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. Autorzy projektu normy — doc. dr hab. Barbara Kostowska, dr inż. Jerzy Sadowski — Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Zakład Ekologii i Zwalczania Chwastów.