CH 5.9.
Stanovenie amitrazu v mede metódou GC

1 PRINCÍP METÓDY

Amitraz je zo vzorky medu extrahovaný hexánom s propan-1-olom, extrakt sa odparí dosucha a následne je prevedená alkalická hydrolýza. Produkt hydrolýzy 2,4- dimetylanilín je vyextrahovaný izooktánom a prevedie sa derivatizácia s HFBA pri laboratórnej teplote. Po pridaní saturovaného vodného roztoku $NaHCO_3$ a pretrepaní, sa organická fáza napichuje do GC.

2 POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie amitrazu v mede.

3 CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

3.1 Čisté chemikálie

3.1.1 n-hexán p.a.
3.1.2 1-propanol p.a.
3.1.3 n-nonán
3.1.4 kyselina octová 100% p.a.
3.1.5 izooktán
3.1.6 heptafluorobutyric anhydride
3.1.7 hydrogénuhličitan sodný p.a.
3.1.8 2,4 – dimetylanilín
3.1.9 redestilovaná voda

3.2 Reagencie a roztoky

3.2.1 0,5 M NaOH)
3.2.2 hydrogénuhličitan sodný – nasýtený roztok
3.2.3 extrakčná zmes hexán:1-propanol (8:2)

3.3 Štandardné roztoky

3.3.1 Zásobný roztok štandardu
Zásobný roztok 2,4 – dimetylanilínu s koncentráciou 1000mg/l pripraviť navážením 25 mg štandardu (3.1.8) do 25 ml odmernej banky a doplniť po rysku izooktánom (3.1.5). Uchovávať v mrazničke. Doba expirácie roztoku je 3 mesiace.

3.3.2 Základný roztok štandardu
Základný roztok 2,4 – dimetylanilínu (1 mg/l) – zobrať 25 µl zásobného roztoku (3.3.1) do 25 ml odmernej banky a doplniť po rysku izooktánom (3.1.5). Uchovávať v chladničke do 6°C. Doba expirácie roztoku je 1 mesiac.

3.3.3 Kalibračné roztoky štandardov
Navážiť 2,5 g negatívneho medu a pridať základný roztok (3.3.2) a redestilovanú vodu (3.1.9) podľa tabuľky 1.

Tabuľka 1 – príprava kalibračných roztokov

Koncentrácia 2,4-dimetylanilínu v kalibračnom roztoku (mg/kg)	Prídavok základného roztoku (3.3.2) (µl)	Prídavok redestilovanej vody (ml)
0	0	2,5
0,050	125	2,375
0,100	250	2,25

Ďalej postupovať podľa bodu 5.2.

4 PRÍSTROJE A POMÔCKY

4.1 Analytické váhy
4.2 Odstredivka
4.3 Termovap
4.4 Sušiareň
4.5 Plynový chromatograf UNICAM s ECD detektorom, kapilárna chromatografická kolóna: VARIAN CP-Sil8 CB lowbleed/MS, 30m x 0,25mm ID, DF= 0,25µm
4.6 Laboratórne sklo

5 PRACOVNÝ POSTUP

5.1 Príprava kvality kontrol vzoriek:

K 2 g vzorky pridať 0,5 ml základného roztoku (3.3.2) a ďalej postupovať podľa bodu 5.2.

5.2 Príprava vzorky na analýzu

5.2.1 Extrakcia

2,5g medu navážiť do PP centrifugačnej banky so závitom, doplniť do 5g redestilovanou vodou (2,5ml) a premiešať.

Na zistenie výťažnosti jednu paralelnú vzorku spraviť so štandardným prídavkom 2,4 – dimetylanilínu.

Vzorku extrahovať 3ml zmesi hexán: propan-1-ol (8:2) (3.2.3), miešať na vortexe po dobu 1 min., potom centrifugovať pri 3000 otáčkach 10min. Po odstredení vrchnú hexánovú vrstvu odobrať do 9ml odparovacích nádobiek. Extrakciu opakovať 2-krát. Spojené extrakty okysliť kvapkou kyseliny octovej (3.1.4) a po pridaní 50 µl nonánu (3.1.3) odpariť prúdom dusíka v Termovape pri 40ºC na objem približne 0,1 ml.

5.2.2 Alkalická hydrolýza

K odparku pridať 2ml 0,5 M NaOH (3.2.1), nádobku uzavrieť uzáverom so závitom a vzorku hydrolyzovať 60min. pri 95°C v sušiarni.

Po ochladení na laboratórnu teplotu pridať 2ml izooktánu (3.1.5) a prudko trepať (ručne) asi 1 min.

5.2.3 Derivatizácia

1ml izooktánovej vrstvy odobrať do zábrusovej skúmavky, pridať 2,5 µl HFBA (3.1.6), uzavrieť a nechať stáť 30 min. pri laboratórnej teplote.
Potom pridať 1ml nasýteného roztoku $NaHCO_3$ (3.2.2), pretrepať a vrchnú organickú vrstvu odobrať k analýze.

5.3 Príprava slepého pokusu (chemikálie)

K 5ml izooktánu pridať 2,5 µl HFBA (3.1.6), uzavrieť uzáverom so závitom, nechať stáť 30 min. pri laboratórnej teplote. Potom pridať 1ml nasýteného roztoku $NaHCO_3$ (3.2.2), pretrepať a vrchnú izooktánovú vrstvu odobrať k analýze.

Poznámka: V prípade, že sa vzorka koncentračne vymyká z rozsahu meranej kalibračnej krivky je pri opakovanom meraní upravená tak, aby koncentračne spadala do kalibračného rozsahu.

5.4 Chromatografická analýza

GC podmienky:

Plynový chromatograf UNICAM s ECD detektorom
Nosný plyn: vodík, prietok: 103,4 kPa (15 PSI)
Make-up: dusík, prietok: 137,9 kPa (20 PSI)
Teplota detektora: 300 ^oC
Teplota injektora: 250 ^oC
Injektor splitless

Teplotný režim kolóny:
1min. pri 45 ^oC,
1. teplotná rampa: 25 ^oC /min. do 100 ^oC
2. teplotná rampa: 5 ^oC /min. do 150 ^oC, 5 min. pri 150 ^oC

Objem nástreku: 1µl

6 VYHODNOTENIE VÝSLEDKOV MERANIA

Koncentrácia zložky je úmerná hodnotám výšky píkov. Ich vyhodnotenie je vykonané porovnaním týchto výšok s výškami píkov nameraných v kalibračných roztokoch .

$$Cv = Cs.R$$

Cv- koncentrácia analytu v mg/kg
Cs- koncentrácia vzorky určená z kalibračnej krivky v mg/kg
R - stupeň riedenia

Prepočet 2,4 – DMA na amitraz ($mg.kg^{-1}$)

amitraz = 0,82597 x 2,4 - DMA ($mg.kg^{-1}$)

7 ZOZNAM SKRATIEK

GC – plynová chromatografia
HFBA – heptafluorobutyric anhydride
ECD – Electron capture detector
LOD – limit detekcie
LOQ – limit kvantifikácie

8 POUŽITÁ LITERATÚRA

1. M.B.Taccheo, M. dePaoli, C. Spessotto: Determination of Total Amitraz Residue in Honey by Electron Capture Capillary Gas Chromatography - A Simplified Method, Pestic.Sci.1988,23,59-64.