



Uniwersytet
Gdański



Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku



Katedra Analizy Środowiska

Instrukcja do ćwiczeń laboratoryjnych

Ćwiczenie 1

Procedury wyodrębniania, wzbogacania, wykrywania i oznaczania śladowych zanieczyszczeń w różnych komponentach środowiska

Gdańsk, 2023



Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku

Cel ćwiczenia

Ćwiczenie 1 jest ćwiczeniem dyskusyjno-obliczeniowym mającym na celu powtórzenie zagadnień i usystematyzowanie wiedzy z zakresu analityki środowiska. Wykonanie zadań zaplanowanych w ramach tego ćwiczenia jest podstawą do poprawnego przeprowadzenia eksperymentów i interpretacji otrzymanych wyników w późniejszych etapach zajęć laboratoryjnych.

1. Śladowe zanieczyszczenia

a) Co się kryje pod pojęciem „śladowe” zanieczyszczenia?

b) Jak inaczej nazywane są obecnie zanieczyszczenia śladowe?

c) Podaj po 3 przykłady zanieczyszczeń:

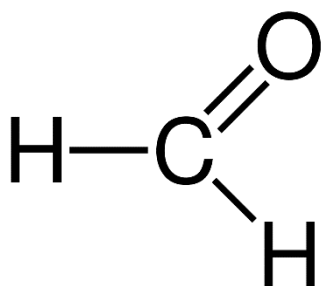
powietrza:

gleby:

wody:

Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku

d) Na podstawie właściwości fizykochemicznych oraz struktury poniższych zanieczyszczeń środowiska, określ który z podanych związków chemicznych będzie miał największe prawdopodobieństwo skażenia powietrza, który skażenia wody a który skażenia gleby.



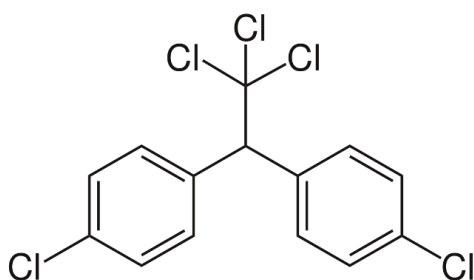
Aldehyd mrówkowy, formaldehyd

Masa molowa: 30,031 g/mol

Temperatura wrzenia: -19 °C

Log K_{ow}: 0,35

Największe prawdopodobieństwo skażenia przez formaldehyd.



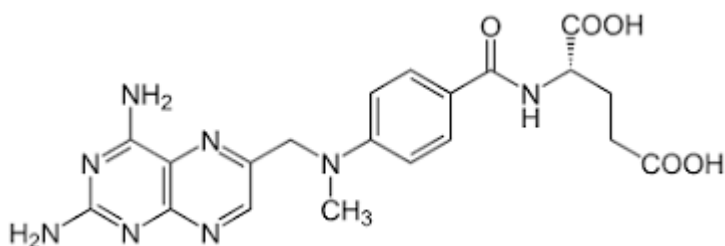
Dichlorodifenylotrichloroetan (DDT), insektycyd

Masa molowa: 354,49 g/mol

Temperatura wrzenia: 260 °C

Log K_{ow}: 6,2

Największe prawdopodobieństwo skażenia przez DDT.



Metotreksat, lek przeciwnowotworowy

Masa molowa: 454,4 g/mol

Temperatura wrzenia: 561 °C

Log K_{ow}: -1.85

Największe prawdopodobieństwo skażenia przez metotreksat.



Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku

2. Metody wyodrębniania i wzbogacania zanieczyszczeń z próbek środowiskowych

- a) Co oznacza wyodrębnianie związku chemicznego z matrycy próbki?
- b) Co oznacza wzbogacanie związku chemicznego z matrycy próbki?
- c) Zaproponuj metodę wyodrębniania i wzbogacania dieldryny (insektycyd) z gleby.

Właściwości związku chemicznego:

Masa molowa: 380,91 g/mol

Temperatura wrzenia: 385 °C

Log K_{ow} : 5,7

- d) Zaproponuj metodę wyodrębniania i wzbogacania metronidazolu (farmaceutyk) z wody.

Właściwości związku chemicznego:

Masa molowa: 171.15 g/mol

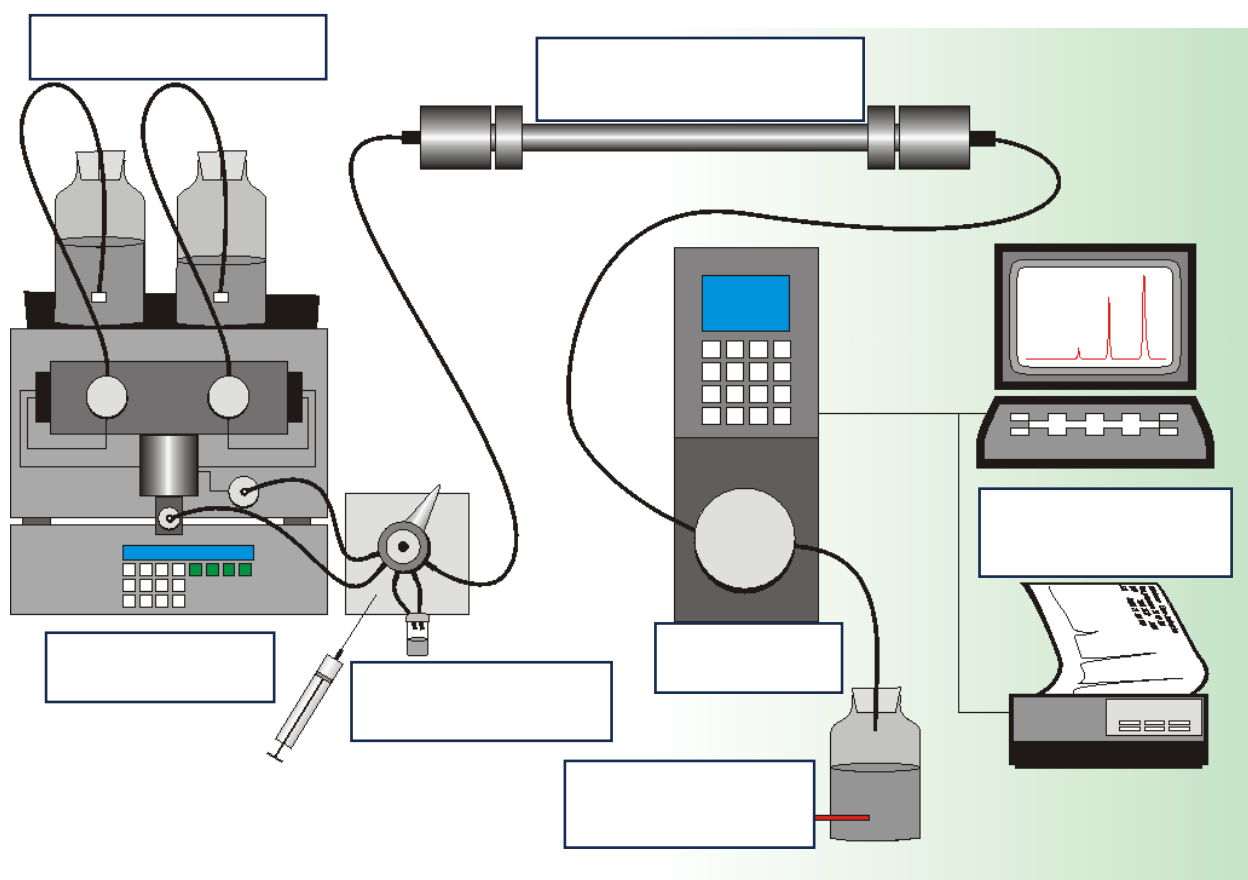
Temperatura wrzenia: 301 °C

Log K_{ow} : -0,02

3. Wykrywanie śladowych zanieczyszczeń w środowisku

3.1. Chromatografia cieczowa

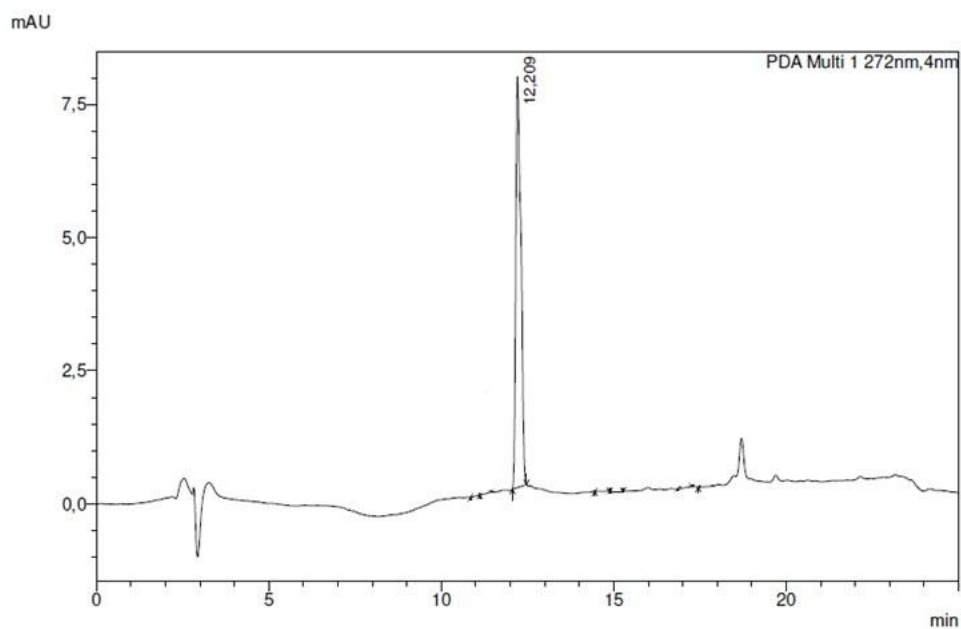
a) Podpisz elementy schematu chromatografu cieczowego i zaznacz kierunek przepływu fazy ruchomej



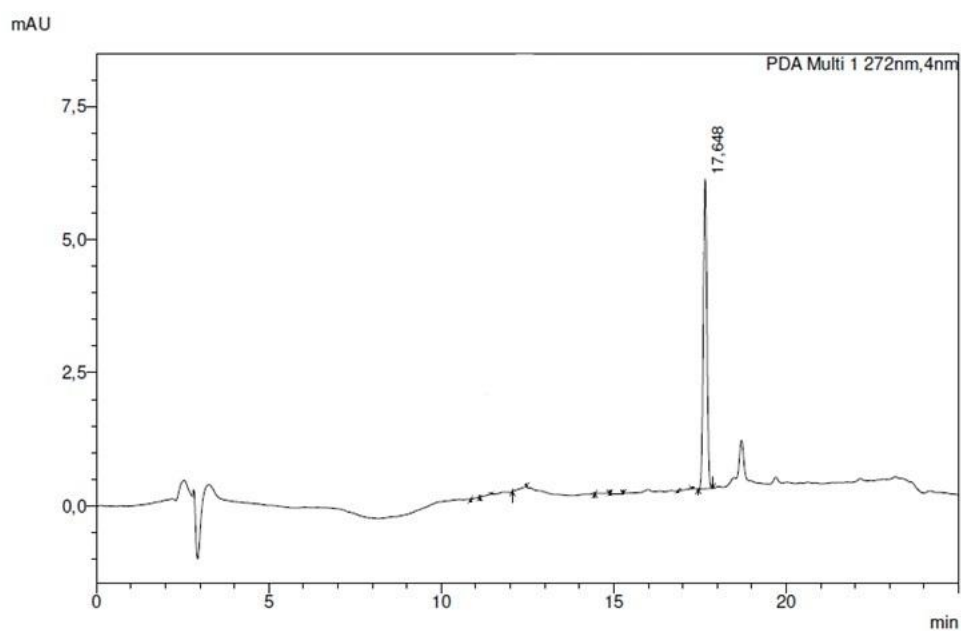
b) Podaj po jednym przykładzie fazy ruchomej i fazy stacjonarnej stosowanych w chromatografii cieczowej

c) Do laboratorium przywieziono dwie próbki wody, jedną z rzeki (500 ml) prawdopodobnie skażonej wyciekami ścieków z kanalizacji szpitalnej a drugą ze stawu (500 ml) sąsiadującego ze szpitalem. Zlecono analizę danych próbek w celu potwierdzenia obecności ibuprofenu i paracetamolu. Przywiezione próbki przygotowano do analizy instrumentalnej poprzez ekstrakcję do fazy stałej i zateżenie z 500 ml do 1 ml. Wykonano analizy chromatograficzne próbki wzorcowej ibuprofenu (Rys. 1) oraz paracetamolu (Rys. 2) a następnie analizy chromatograficzne próbki pobranej z rzeki (Rys. 3) oraz próbki pobranej ze stawu (Rys. 4).

Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku

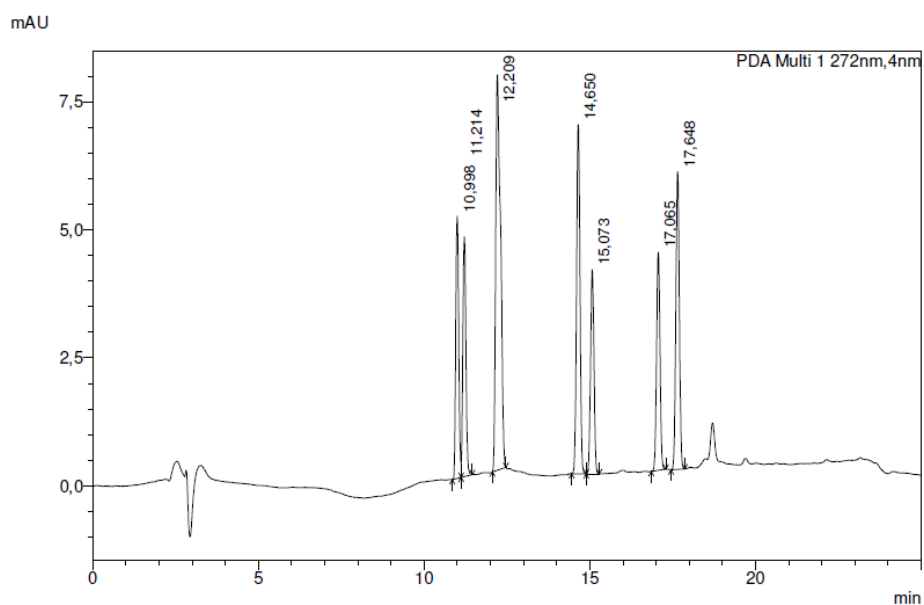


Rys. 1 Chromatogram uzyskany z analizy roztworu wzorcowego ibuprofenu

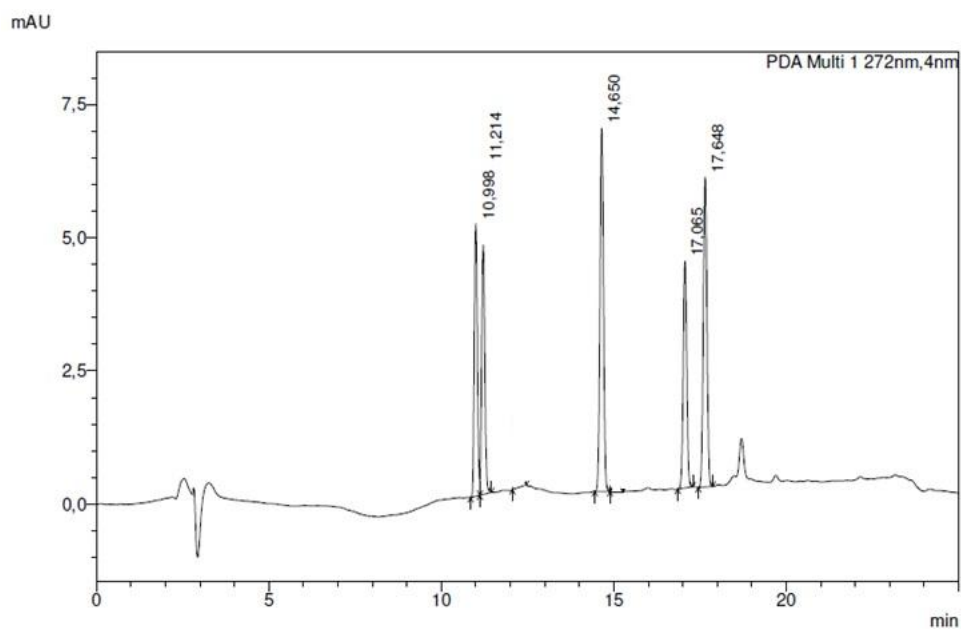


Rys. 2 Chromatogram uzyskany z analizy roztworu wzorcowego paracetamolu

Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku



Rys. 3 Chromatogram uzyskany z analizy ekstraktu z próbki wody z rzeki

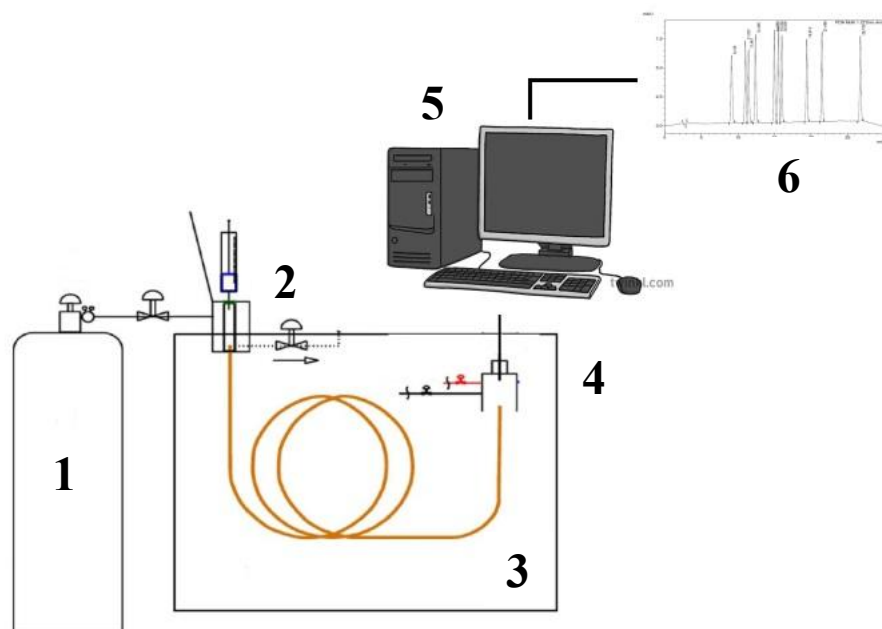


Rys. 4 Chromatogram uzyskany z analizy ekstraktu z próbki wody ze stawu

Czy w badanych próbkach wykryto ibuprofen oraz paracetamol? Jeśli tak to jaki parametr służy do identyfikacji związków chemicznych w chromatografii?

3.2. Chromatografia gazowa

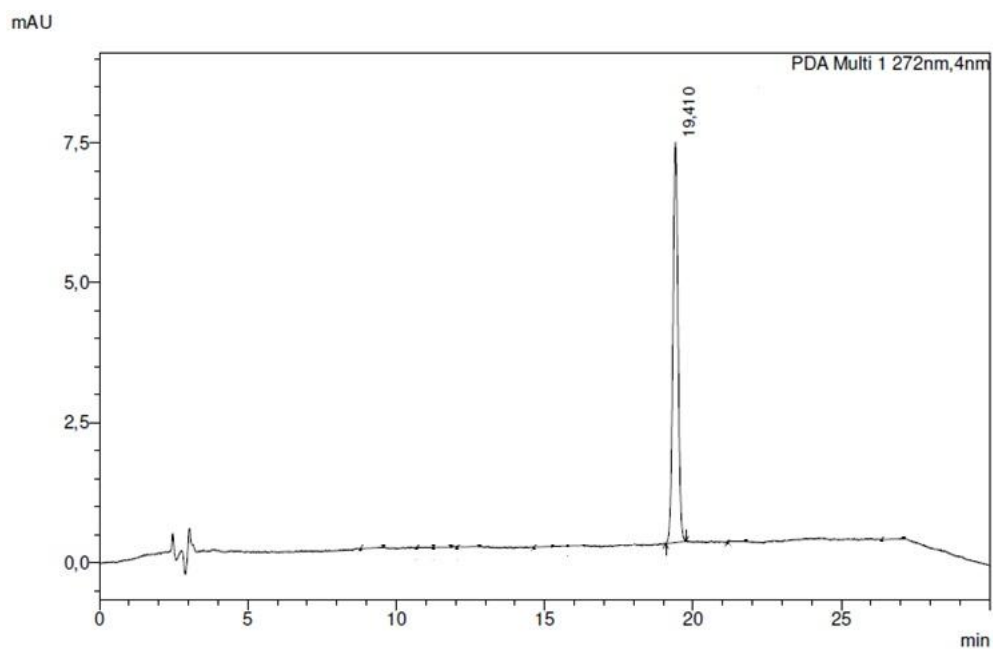
a) Podpisz elementy schematu chromatografu gazowego i zaznacz kierunek przepływu fazy ruchomej



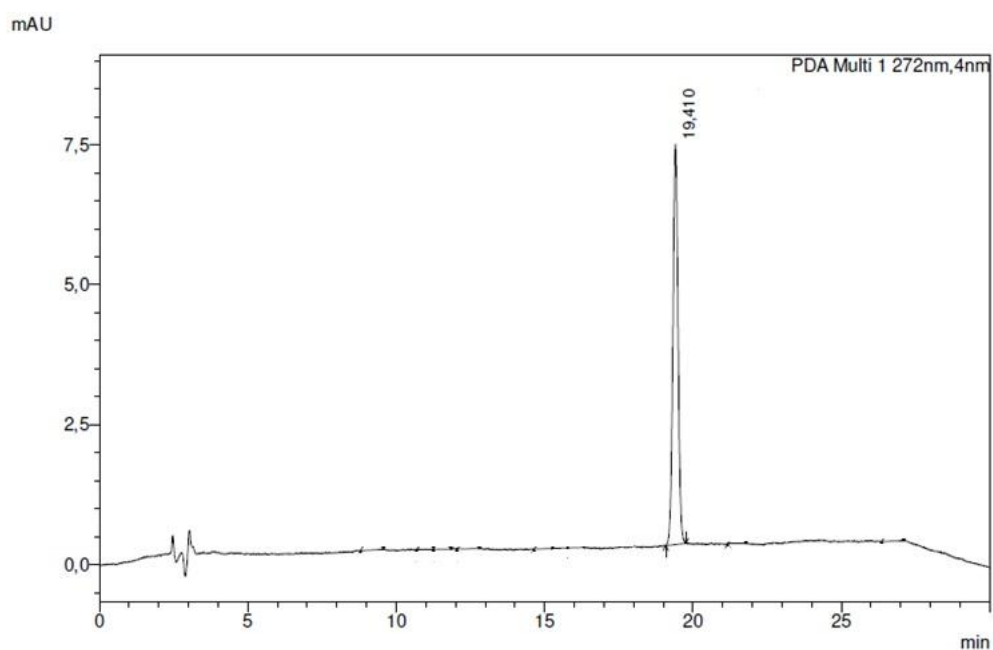
b) Podaj po jednej fazie ruchomej i fazie stacjonarnej stosowanej w chromatografii gazowej

c) Do laboratorium przywieziono próbkę gleby prawdopodobnie skażonej wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA). Zlecono analizę danej próbki w celu potwierdzenia obecności antracenu i fluorantenu. Przywiezioną próbkę przygotowano do analizy instrumentalnej poprzez ekstrakcję rozpuszczalnikiem wspomaganą ultradźwiękami. Wykonano analizy chromatograficzne próbki wzorcowej antracenu (Rys. 5) oraz fluorantenu (Rys. 6) a następnie analizy chromatograficzne ekstraktu z próbki gleby (Rys. 7).

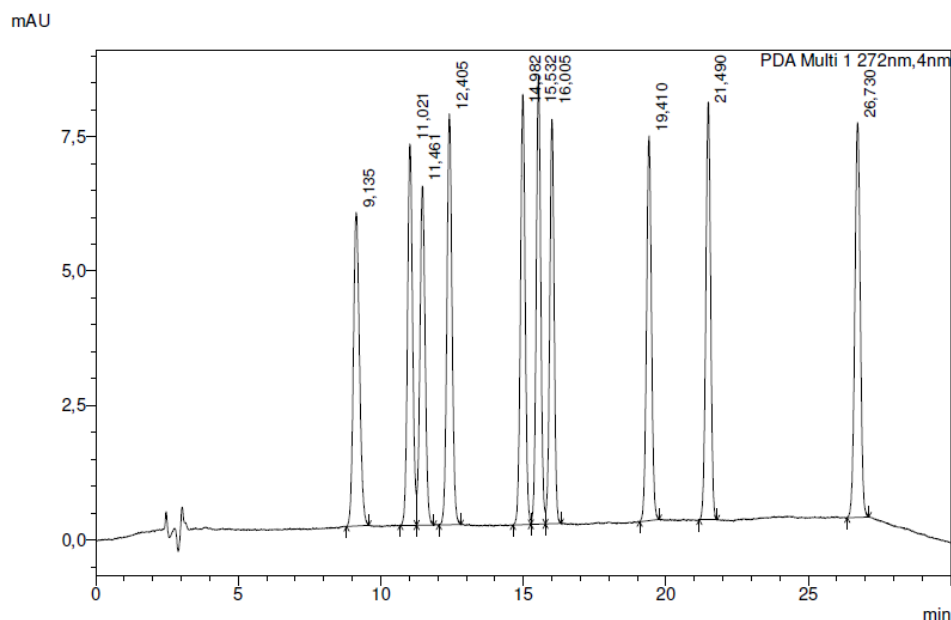
Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku



Rys. 5 Chromatogram otrzymany z analizy roztworu wzorcowego antracenu



Rys. 6 Chromatogram otrzymany z analizy roztworu wzorcowego fluorantenu



Rys. 7 Chromatogram otrzymany z analizy ekstraktu z próbki gleby

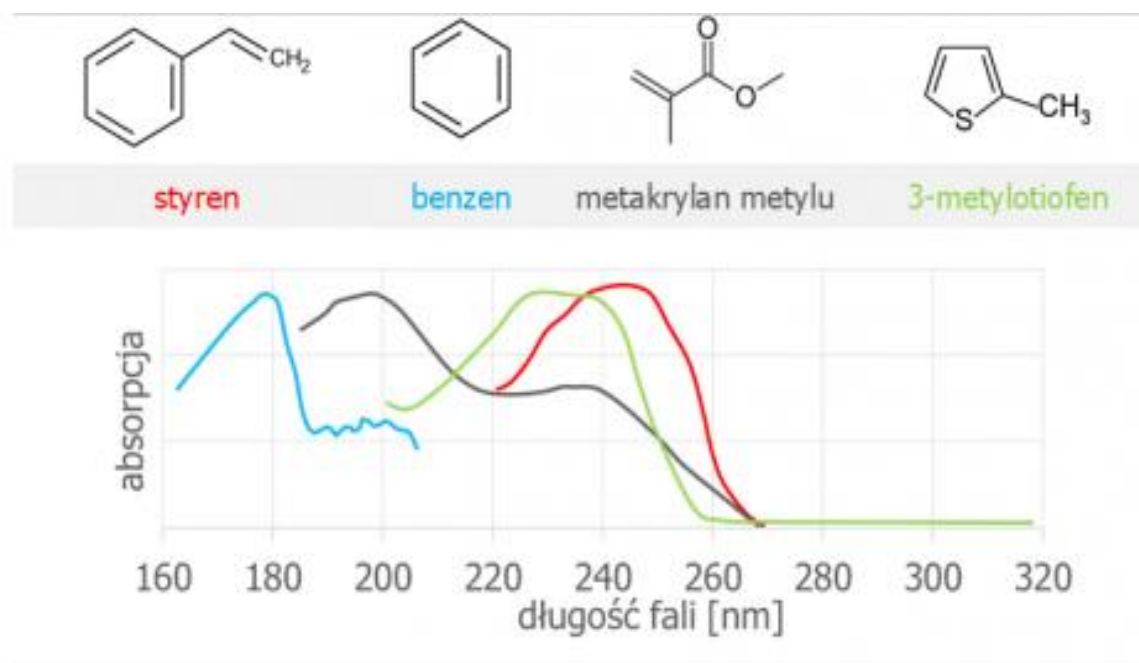
Czy na podstawie uzyskanych wyników możliwe jest potwierdzenie lub też zaprzeczenie obecności antracenu i flouurantenu w próbce gleby? Jeśli tak to na podstawie jakiego parametru jest możliwa analiza jakościowa w chromatografii gazowej? Jeśli nie podaj propozycję co można zmienić, żeby umożliwić analizę jakościową?

3.3. Spektrofotometra UV-Vis

a) Wyjaśnij różnicę między adsorpcją a absorpcją?

b) Co oznacza UV-Vis?

c) Co to jest grupa chromoforowa? Podaj przykład.



d) Na podstawie powyższych widm otrzymanych z analizy spektrofotometrycznej UV-Vis, określ optymalne długości fali dla podanych związków chemicznych, przy których należy wykonywać pomiar absorbancji.



Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku

4. Metody oznaczania śladowych zanieczyszczeń w środowisku

4.1. Oznaczanie zawartości żelaza w próbkach wody metodą krzywej kalibracyjnej za pomocą spektrofotometrii UV-Vis

a) Do oznaczania ogólnej zawartości żelaza zastosowanie znajduje metoda kolorymetryczna, która polega na redukcji jonów Fe^{3+} do Fe^{2+} za pomocą hydroksylaminy i przeprowadzeniu reakcji barwnej z fenantroliną. Jony Fe^{2+} tworzą z tym związkiem pomarańczowy kompleks. Intensywność zabarwienia jest proporcjonalna do stężenia żelaza w próbce i oznaczana jest spektrofotometrycznie metodą krzywej kalibracyjnej.

Przeprowadzono pomiar absorbancji roztworów żelaza o znanym stężeniu (od 0 do 8 $\mu\text{g/ml}$) oraz próbki wody z rzeki (1), próbki wody z jeziora (2) oraz próbki wody z morza (3), w których należy oznaczyć jego zawartość. Wyniki zestawiono w Tabeli 1. Wykreśl krzywą kalibracyjną na podstawie danych zestawionych w Tabeli 1 i oblicz zawartości żelaza w próbkach analizowanych wód metodą krzywej kalibracyjnej.

Tabela 1 Wyniki pomiaru absorbancji w zależności od zawartości żelaza w próbce

Stężenie [$\mu\text{g/ml}$]	Absorbancja
0	Ślepa próba
0,4	0,003
0,8	0,007
1,6	0,015
4	0,038
8	0,054
Próbka 1	0,026
Próbka 2	0,081
Próbka 3	0,002



Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku

Równanie krzywej kalibracyjnej:

Czy możliwe jest obliczenie zawartości żelaza we wszystkich badanych próbkach? Jeśli nie zaproponuj działania, które umożliwią wyznaczenie stężenia żelaza w próbkach.

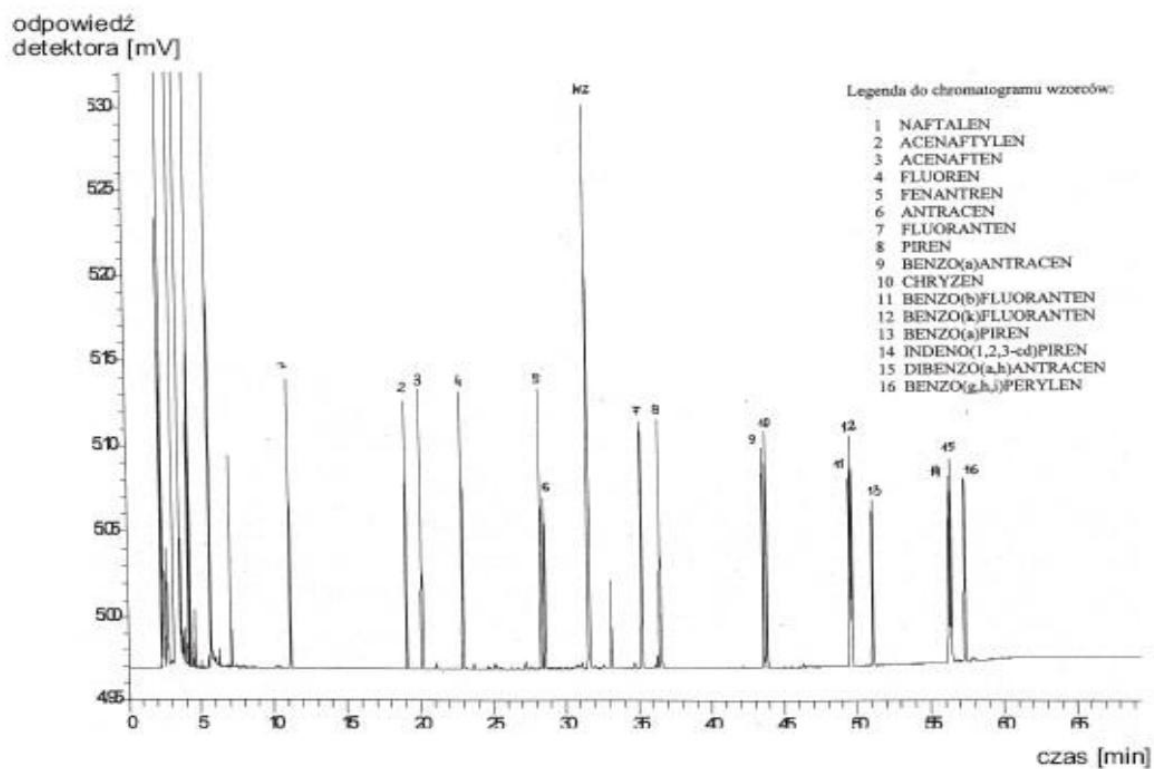
4.2. Oznaczanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) metodą wzorca wewnętrznego za pomocą chromatografii gazowej (GC)

a) Jednym z podejść do oznaczania ilościowego WWA w wodzie metodą wzorca wewnętrznego jest wyizolowanie frakcji węglowodorów z próbki wody metodą ekstrakcji do fazy stałej (SPE) a następnie oznaczenie ich zawartości w wodzie techniką chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC/FID). Etapy procedury:

- odmierzenie próbki wody (250 ml),
- dodanie odpowiedniej objętości roztworu wzorca wewnętrznego (9-metyloantracenu o stężeniu $128 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) do próbki analitycznej,
- ekstrakcja do fazy stałej i elucja 1 ml dichlorometanu,
- analiza GC/FID roztworu kalibracyjnego wzorców WWA i wzorca wewnętrznego (stężenie $12 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) oraz analiza ekstraktu z próbki wody

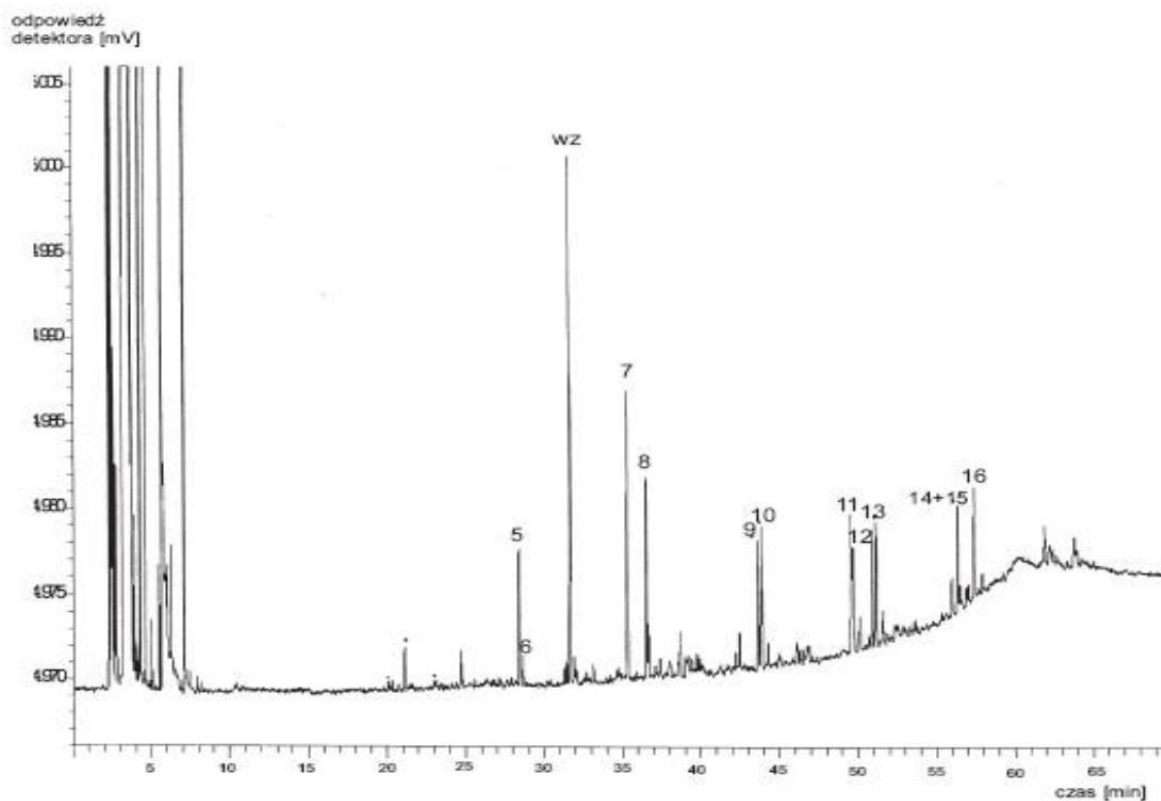
a) oblicz objętość roztworu wzorca wewnętrznego o stężeniu $128 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ jaką powinno się dodać do 250 ml próbki wody wiedząc, iż ilość wzorca w próbce powinna być ~2 razy większa niż analitu. Zakłada się, że stężenie poszczególnych WWA w wodzie wynosi ~0,65 ppm.

Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku



Rys. 8 Chromatogram uzyskany z analizy GC roztworu kalibracyjnego wzorców WWA i wzorca wewnętrznego

Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku



Rys. 9 Chromatogram otrzymany z analiz GC ekstraktu z próbki wody

Tabela 2 Zestawienie danych uzyskanych z analiz GC

Analit	Pole powierzchni (wzorce)	Pole powierzchni (próbka)
1	100457	-
2	101328	-
3	100114	-
4	100289	-
5	70128	4008
6	60163	1003
7	90898	11276
8	90967	8493
9	80967	6932
10	100005	7004
11	80345	7125
12	100034	5997
13	60178	7065
14	70968	6128
15	90785	
16	80126	6773
Wzorzec wewnętrzny	200178	20746



Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku

b) Co to jest wzorzec wewnętrzny?

c) Na podstawie wyników otrzymanych z analizy GC roztworu kalibracyjnego wzorców WWA i wzorca wewnętrznego (stężenie $12 \mu\text{g}/\text{cm}^3$) wyznacz współczynnik odpowiedzi dla fenantrenu korzystając z poniższego wzoru:

$$f = \frac{A_a \times m_w}{A_w \times m_a} \quad \text{lub} \quad f = \frac{A_a \times C_w}{A_w \times C_a} \quad (1)$$

gdzie,

f – współczynnik odpowiedzi,

A_a – pole powierzchni piku analitu,

m_a – masa analitu, C_a – stężenie analitu,

A_w – pole powierzchni piku wzorca wewnętrznego,

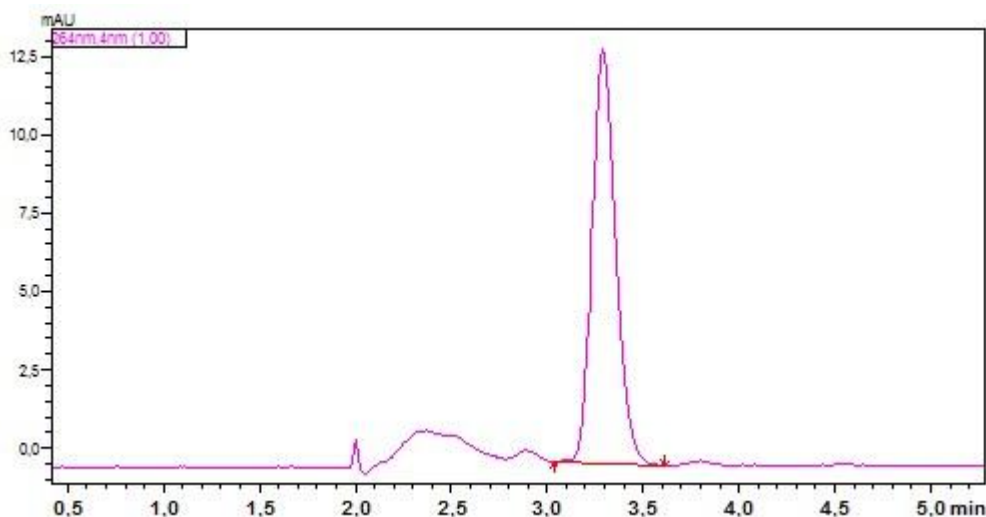
m_w – masa wzorca wewnętrznego, C_w – stężenie wzorca wewnętrznego.

d) Na podstawie wyznaczonej wartości współczynnika odpowiedzi oraz wyników otrzymanych z analizy GC ekstraktu próbki wody oblicz stężenie fenantrenu w badanej próbce wody korzystając z powyższego wzoru (1).

4.3. Oznaczanie zawartości antracenu w próbce gleby metodą dodatku wzorca przy użyciu HPLC

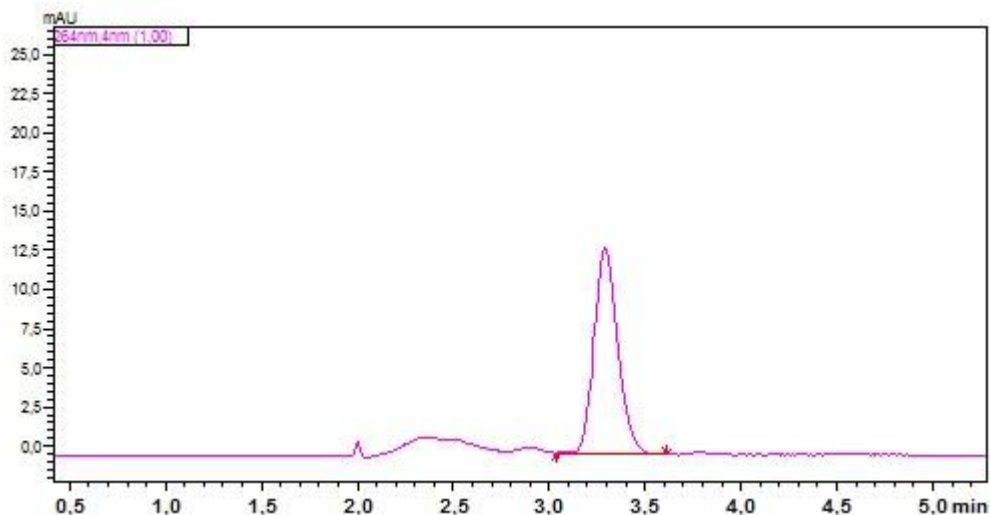
a) Jednym z podejść do oznaczania antracenu w glebie metodą dodatku wzorca jest wyizolowanie analitu z próbki za pomocą ekstrakcji rozpuszczalnikami i analiza HPLC. Etapy procedury:

- Naważenie 1,5 g próbki gleby
- Ekstrakcja gleby rozpuszczalnikami (20 ml)
- Zatężenie (wzbogacenie) za pomocą wyparki próżniowej do objętości 2 ml
- Rozdzielenie ekstraktu na dwie równe części A i B
- Analiza HPLC roztworu wzorcowego antracenu
- Analiza HPLC ekstraktu A
- Dodanie do ekstraktu B odpowiedniej objętości roztworu wzorcowego antracenu o stężeniu 80 $\mu\text{g/ml}$ i analiza HPLC

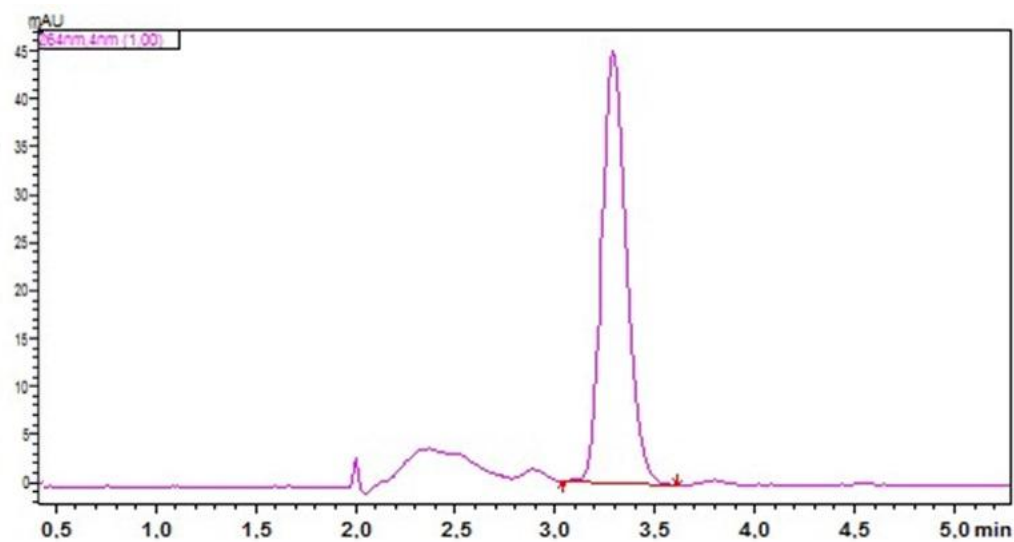


Rys. 10 Chromatogram HPLC roztworu wzorcowego antracenu

Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku



Rys. 11 Chromatogram otrzymany z analizy HPLC ekstraktu A z gleby bez dodatku wzorca



Rys. 12 Chromatogram otrzymany z analizy HPLC ekstraktu B z gleby z dodatkiem wzorca



Analiza śladowych zanieczyszczeń w środowisku

Tabela 3 Zestawienie danych uzyskanych z analiz HPLC

Analit	Czas retencji [min]	Pole powierzchni (bez dodatku wzorców)	Pole powierzchni (z dodatkiem wzorców)
Antracen	3,3	80497	241651

a) Oblicz objętość roztworu wzorca antracenu o stężeniu $80 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ jaką powinno się dodać do 1 ml ekstraktu z próbki gleby wiedząc, iż ilość wzorca w próbce powinna być ~2 razy większa niż analitu. Zakłada się, że stężenie antracenu w wodzie wynosi ~0,4 ppm.

b) Oblicz stężenie antracenu w badanej próbce gleby.

$$m = \frac{A_A \times m_w}{A_B - A_A} \quad (2)$$

gdzie,

A_A – pole powierzchni analitu w próbce bez dodatku wzorca,

A_B – pole powierzchni analitu w próbce z dodatkiem wzorca,

m_w – masa dodanego wzorca do próbki,

m – masa analitu w próbce.