



Pracownia studencka  
**Katedra Analizy Środowiska**

# Instrukcja do ćwiczeń laboratoryjnych

**Ćwiczenie nr 2**

**OZNACZANIE BTEX ORAZ N-ALKANÓW  
W WODZIE ZANIECZYSZCZONEJ  
BENZYNĄ METODĄ GC/FID ORAZ GC/MS**

**Monitoring Środowiska w Przedsiębiorstwie**

Gdańsk, 2015

## 2. Oznaczanie BTEX 2

### 1. Cel ćwiczenia


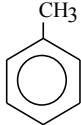
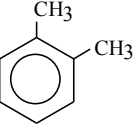
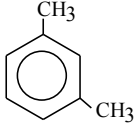

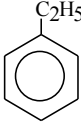
Celem ćwiczenia jest zastosowanie chromatografii gazowej (GC/FID) oraz połączenia chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GC/MS) do analizy próbki wody zanieczyszczonej benzyną. Próbkę wody zostanie wyekstrahowana za pomocą dichlorometanu a uzyskany ekstrakt będzie analizowany za pomocą GC/FID oraz GC/MS. Analiza ilościowa zostanie wykonana metodą wzorca wewnętrznego. Identyfikacja analitów zostanie przeprowadzona metodą GC/MS.

### 2. Część teoretyczna

Benzyna jest mieszaniną węglowodorów; składa się przede wszystkim z prostolanicznych węglowodorów alifatycznych o liczbie atomów węgla od 6 do 12. Występują w niej również węglowodory nienasycone oraz aromatyczne typu BTEX, tj. benzen, toluen, styren, etylobenzen i izomery ksyleny. Do benzyn bezołowiowych dodaje się kilka procent węglowodorów aromatycznych oraz eterów z grupami aromatycznymi w celu poprawienia jej liczby oktanowej.

Węglowodory monoaromatyczne BTEX występują także w oleju napędowym, paliwie lotniczym, smarach, rozpuszczalnikach, lakierach do paznokci, odpadach olejowych. Są stosunkowo dobrze rozpuszczalne w wodzie, w której się rozprzestrzeniają najlepiej ze związków ropopochodnych. Dodatkowo, mogą działać toksycznie i odgrywają rolę w ocenie skażeń antropogenicznych środowiska.

Tabela 2. Wybrane właściwości fizyczne benzenu i jego pochodnych.

własność fizyczna	BENZEN	TOULEN	ORTO -KSYLEN	META -KSYLEN	PARA -KSYLEN	ETYLOBENZE N
struktura						
masa cząsteczkowa [g·mol <sup>-1</sup> ]	78	92	106	106	106	106
rozpuszczalność w wodzie [mg·dm <sup>-3</sup> ]	1700 1760	515 533	175 178	-	198	152 169
temperatura wrzenia [°C]	80,1	110,6	144,5	139,1	138,3	136,0
temperatura topnienia [°C]	5,53	-95,00	-25,18	-47,55	13,26	-95,00
gęstość w temp. 20	0,8787	0,8669	0,8802	0,8642	0,8610	0,8670

## 2. Oznaczanie BTEX 3

°C [g·cm <sup>-3</sup> ]						
gęstość par względem powietrza	2,70	3,18	3,66	3,66	3,66	-
prężność pary w temp. 20 °C [mm Hg]	95,2	28,4	6,6	-	-	9,5
moment dipolowy w 20 °C [D]	0,00	0,36	0,45	0,37	0,00	0,35
współczynnik podziału oktanol - woda w temp. 20 °C [log K <sub>ow</sub> ]	2,13	2,69	2,77	3,20	3,15	3,15
stała z prawa Henry'ego w temp. 25 °C [kPa·m <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup> ]	0,55	0,67	0,50	0,70	0,71	0,80

Metoda GC/MS polega na połączeniu chromatografu gazowego ze spektrometrem mas. Jest stosowana zarówno do identyfikacji składników mieszanin związków organicznych jak i do oznaczania ilościowego poszczególnych związków. Oznaczanie ilościowe metodą GC/MS stosuje się w tych przypadkach, gdy badana mieszanina składa się z wielu składników, zaś stężenie oznaczanego składnika jest niewielkie. W takim przypadku, stosując tylko analizę chromatograficzną, często nie uzyskuje się wystarczającego rozdziału chromatograficznego a także nie ma pewności, czy dany sygnał odpowiada oznaczanemu związkowi.

Rozdział mieszaniny związków organicznych znajdujących się w badanej próbce zachodzi w kolumnie chromatograficznej. Kolumna podłączona jest do źródła jonów spektrometru mas. Związki organiczne eluują (czyli schodzą z fazą ruchomą) kolejno z kolumny do źródła jonów, gdzie zachodzi ich jonizacja.

W metodzie GC/MS spektrometr mas może spełniać rolę detektora:

- nieselektywnego, czyli czułego na wszystkie składniki mieszaniny,
- selektywnego, czyli czułego jedynie na określony związek lub grupę związków.

Jako detektor nieselektywny, spektrometr mas rejestruje całkowity prąd jonowy w czasie. Całkowity prąd jonowy jest proporcjonalny do ilości jonów, która jest z kolei proporcjonalna do zawartości eluującego się składnika analizowanej mieszaniny. Tak więc zapis całkowitego prądu jonowego w czasie jest odpowiednikiem chromatogramu uzyskanego przy zastosowaniu nieselektywnego detektora chromatografu gazowego np. detektora płomieniowo-jonizacyjnego czyli FID. Rejestrację całkowitego prądu jonowego stosuje się przy identyfikacji składników

## 2. Oznaczanie BTEX 4

mieszaniny. Spektrometr mas działający jako detektor selektywny rejestruje jedynie wybrane jony charakterystyczne dla danego związku lub grupy związków i w ten sposób wykrywa jedynie określone związki.

W metodzie wzorca wewnętrznego do badanej próbki dodaje się określoną ilość wzorca (substancji standardowej), dobrze oddzielającego się w danych warunkach analizy od wszystkich badanych składników próbki. Wzorzec powinien mieć właściwości fizyko-chemiczne maksymalnie zbliżone do właściwości substancji badanej, nie może być składnikiem analizowanej próbki, poza tym powinien być nielotny, trwały i dostępny w postaci czystej. Ilość dodanego wzorca powinna być porównywalna z ilością badanej substancji.

Współczynnik odpowiedzi jest wartością charakterystyczną dla określonej pary związków chemicznych, analitu i wzorca wewnętrznego, zależną od warunków przeprowadzanej analizy. W przypadku, gdy nie dysponujemy wzorcami wszystkich oznaczanych substancji i nie możemy wyznaczyć eksperymentalnie współczynników odpowiedzi, przyjmuje się w obliczeniach, że współczynniki odpowiedzi są równe 1. Wynik takiej analizy jest jednak obarczony błędem. Równania stosowane w metodzie wzorca wewnętrznego są następujące:

$$\frac{h_a}{h_w} = f \frac{c_a}{c_w}$$

$$\frac{h_a}{h_w} = f \frac{m_a}{m_w}$$

gdzie:

ha – wysokość piku analitu,

ca – stężenie analitu w próbce,

ma – masa analitu w próbce,

hw – wysokość piku wzorca,

cw – stężenie wzorca w próbce.

mw – masa wzorca w próbce,

f – współczynnik detekcji (współczynnik odpowiedzi).

### **Regulacje prawne**

Ze względu na toksyczność benzenu, oraz szkodliwość toluenu, etylobenzenu i ksylenów, większość krajów wprowadza surowe przepisy ograniczające ich obecność zarówno w wodzie pitnej, jak i w ściekach przemysłowych.

## 2. Oznaczanie BTEX 5

Tabela 3. Dopuszczalne stężenia węglowodorów z grupy BTEX w różnych typach wód

instytucja	rodzaj wody	związek	NDS [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]	dokument
European Union	woda pitna	Benzen	1	Dyrektywa 98/83/EC 03.11.98, Off.J.Eur. Commun 330, 05.12.1998
US Environmental Protection Agency	woda pitna	Benzen toluen etylobenzen ksyleny	5 1000 700 10000	40 CFR Part 141, National Primary Drinking Water Regulations, 17.04.2002
Minister Środowiska	ścieki wprowadzane do wód i do ziemi	suma BTEX	100	Dz.U.Nr 27, poz.169 28.01.2009
Minister Budownictwa	ścieki wprowadzane do urzędzeń kanalizacyjnych	suma BTEX	1000	Dz.U.Nr 136, poz.964 14.07.2006
Minister Zdrowia	pitna, gospodarcza, kąpieliskowa,	benzen toluen etylobenzen ksyleny	1 20 20 20	Dz.U.Nr 82, poz.937 04.10.2000 uchylone
Minister Zdrowia	pitna	benzen	1	Dz.U.Nr 61, poz. 417 29.03.2007

### 3. Część doświadczalna

Studenci pracują w 2 grupach. Zadaniem studentów jest dobór odpowiedniego wzorca wewnętrznego do analiz ilościowych. W tym celu każda grupa wykonuje analizę roztworu wzorca wewnętrznego (toluenu lub cyklopentanolu) oraz wstępną analizę ekstraktu próbki wody (wcześniej przygotowanego). Po przedyskutowaniu wyników analiz i wybraniu odpowiedniego wzorca wewnętrznego każda grupa wykonuje analizę GC/FID badanej próbki wody z zastosowaniem metody wzorca wewnętrznego. Wyniki analiz ilościowych należy następnie porównać i skomentować. Pomiar GC/MS przeprowadza operator przyrządu. Należy zidentyfikować wybrane anality za pomocą uzyskanych widm mas.

#### 3.1. Przygotowanie wody do analiz chromatograficznych

Zanieczyszczoną wodę należy dobrze wymieszać poprzez wytrząsanie w ciągu 5 minut w celu jej ujednorodnienia dla pobrania reprezentatywnej próbki wody. Pobrać do rozdzielacza próbkę wody

## 2. Oznaczanie BTEX 6

o objętości 50 ml i następnie dodać 2 ml roztworu wybranego wzorca wewnętrznego (4 ml/l). Próbkę ekstrahować w rozdzielniku 20 ml dichlorometanu i pozostawić aż do rozdzielenia się warstw. Warstwę organiczną wysuszyć bezwodnym siarczanem sodu i przesączyć do kolbki stożkowej. Tak przygotowany ekstrakt analizować metodą GC/FID (analiza ilościowa). Wyniki analiz jakościowych uzyskanych techniką GC/MS zostaną przedyskutowane na forum grupy.

### 3.2. Analizy chromatograficzne GC/FID

1. Ustawić odpowiednie warunki pracy chromatografu gazowego:

- kapilarna kolumna chromatograficzna, pokrytą fazą ciekłą RTX-5 (niepolarną), długość kolumny 30 m, średnica wewnętrzna 0,25 mm, grubość filmu fazy ciekłej 0,25 µm,
- początkowa temp. kolumny 35°C, narost 4°C/min do 100°C, następnie narost 20°C/min do 200°C, czas analizy 21 min,
- temperatura dozownika 220°C,
- temperatura detektora 320°C,
- gaz nośny Ar, stały przepływ 1 ml/min, splitter 1:50.

2. Wykonać kolejno analizy chromatograficzne roztworów wzorcowych toluenu oraz cyklopentanolu dozując około 1,0 µl każdego roztworu w celu wyznaczenia czasów retencji poszczególnych wzorców. Strzykawkę myć za każdym razem za pomocą chlorku metylenu.

3. Wykonać wstępną analizę chromatograficzną ekstraktu wody. Wybrać odpowiedni wzorec wewnętrzny.

4. Przygotować próbkę wody do analizy chromatograficznej według punktu 3.1. i wykonać analizę chromatograficzną GC/FID.

**5. Obliczyć zawartość poszczególnych analitów w ekstrakcie metodą wzorca wewnętrznego przyjmując współczynniki odpowiedzi równe 1. Podać wynik w µg/l wody i porównać z normami.**

4. Na podstawie uzyskanych widm mas zidentyfikować składniki próbki poprzez porównanie otrzymanych widm mas z widmami w bibliotece spektrometru mas oraz widmami katalogowymi:

- <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
- <http://www.massbank.jp/QuickSearch.html> - poszukując odpowiedniego widma mas należy zaznaczyć nazwę w języku angielskim (patrz rys. 1), wzór sumaryczny (formuła) oraz rodzaj widma mas (EI-MS).

## 4. Wymagania dotyczące sprawozdania

## 2. Oznaczenie BTEX 7

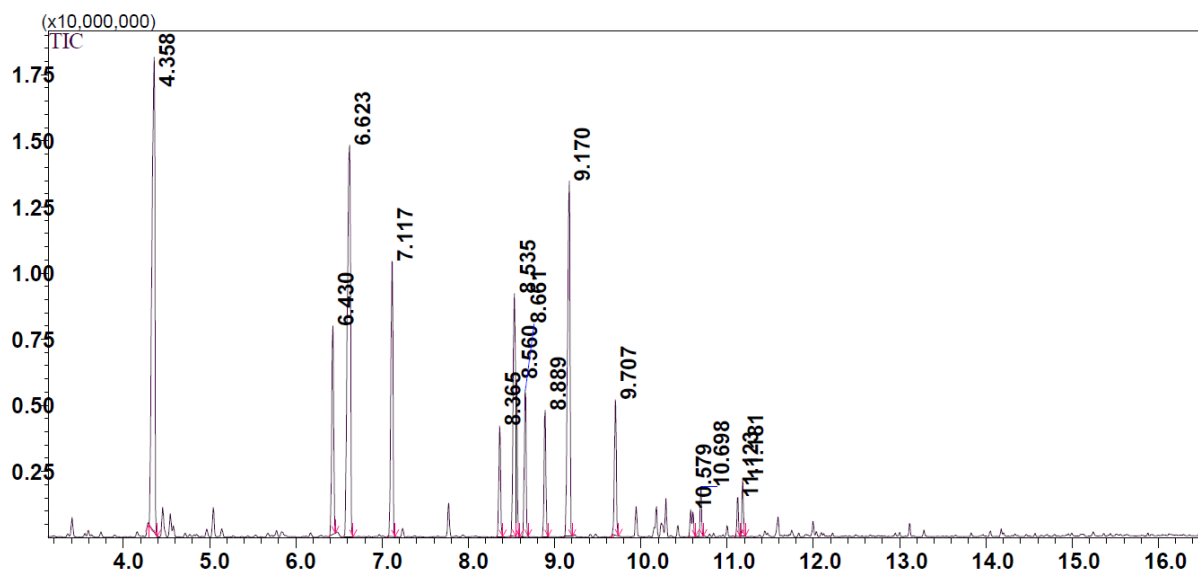
Należy opisać wszystkie czynności wykonane podczas ćwiczenia oraz podać wszystkie wyniki pomiarów, widma mas i ich interpretację, obliczenia i wyniki analizy. Zawartość poszczególnych węglowodorów w analizowanej wodzie należy podać w  $\mu\text{g/L}$ . Wyniki porównać do odpowiednich norm.

### 5. Literatura

1. W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN W-wa, 1997.
2. W. Zieliński, A. Rajca (red.), *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*, WNT W-wa, 1995.
3. R. M. Silverstein, G. C. Bassler, *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*, PWN W-wa, 1970.
4. R. A. W. Johnstone, *Spektrometria masowa w chemii organicznej*, PWN W-wa, 1975.
5. Stepnowski P., Synak E., Szafrank B., Kaczyński Z. *Monitoring i analityka zanieczyszczeń w środowisku*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2010

### Załączniki

#### 1. Chromatogram GC/MS



#### 2. Widmo mas toluenu i etylobenzenu

