



ANALIZA ŚLADOWYCH ZANIECZYSZCZEŃ ŚRODOWISKA I ROK OŚ II

Ćwiczenie 1

Przygotowanie próbek do oznaczania ilościowego analitów metodami wzorca wewnętrznego, dodatku wzorca i krzywej kalibracyjnej

1. Wykonanie ćwiczenia

1.1. Oznaczanie ilościowe wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) metodą wzorca wewnętrznego i technikami chromatograficznymi

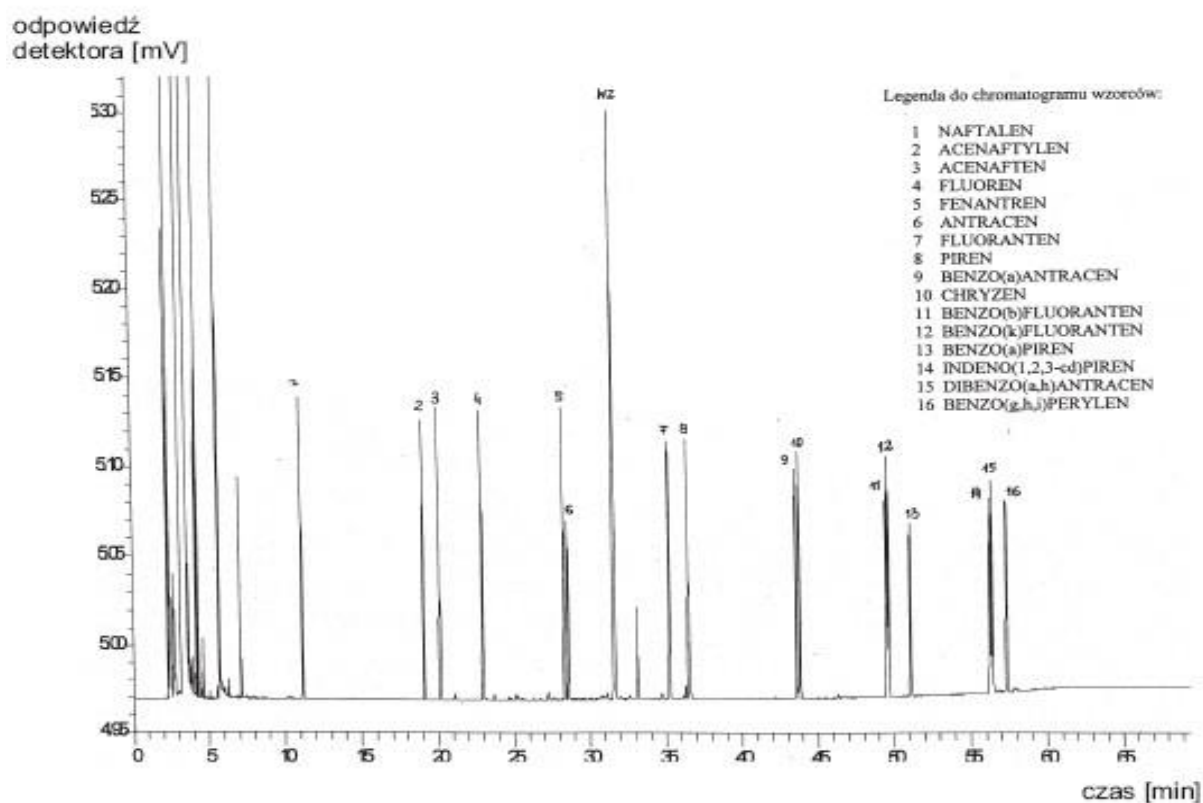
Oznaczanie ilościowe WWA w glebie metodą wzorca wewnętrznego poprzez wydzielenie frakcji węglowodorów przy użyciu cieczowej chromatografii adsorpcyjnej i oznaczenie właściwe wykonane techniką chromatografii gazowej obejmuje następujące etapy:

- a) uśrednienie próby gleby,
- b) odważenie próbki na oznaczanie suchej masy gleby (o masie 5 g) i wyznaczenie suchej masy gleby.
- c) odważenie próbki analitycznej (o masie 5 g),
- d) dodanie roztworu wzorca wewnętrznego (o stężeniu 0,45 µg/ml) do próbki analitycznej,
- e) ekstrakcja próbki analitycznej 50 ml eteru naftowego (wydajność ekstrakcji ok. 65%),
- f) zatężenie ekstraktu,
- g) wydzielanie frakcji WWA z ekstraktu metodą adsorpcyjnej chromatografii cieczowej (wydajność ok. 80%),
- h) zatężenie frakcji WWA,

- i) analiza GC/FID zatężonej frakcji WWA – analiza właściwa,
- j) wyznaczenie współczynników detekcji,
- k) obliczenie wyników.

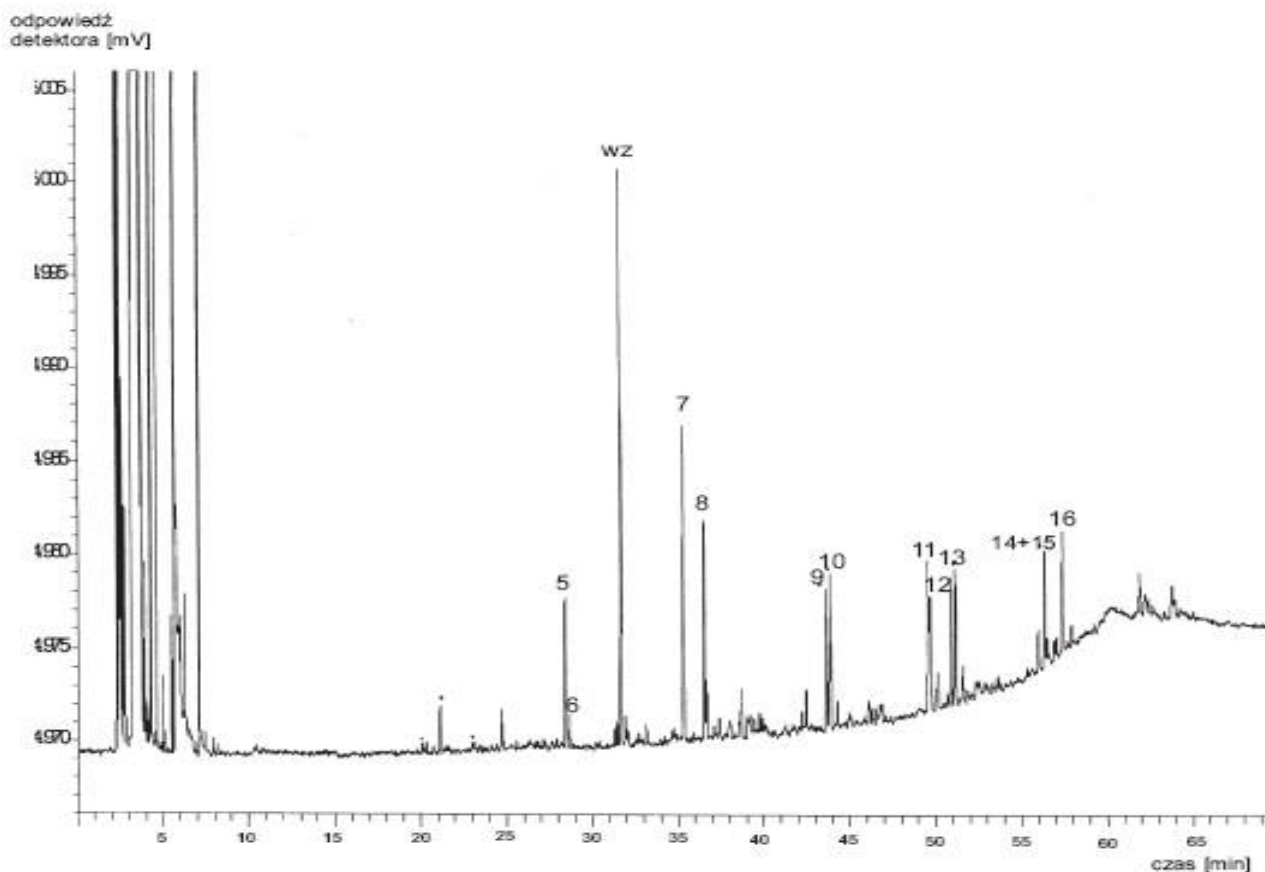
Wzorcem wewnętrznym jest 2-metyloantracen, ilość wzorca wewnętrznego w próbce analitycznej powinna być 1,5-2 razy większa niż analitu. Zakłada się, że stężenie poszczególnych WWA w glebie wynosi od 0,1 – 0,3 ppm.

Zadaniem studenta jest obliczenie wg powyższych danych ilości wzorca wewnętrznego jaką należy dodać do próbki analitycznej, przygotowanie próbki gleby do analizy (*patrz*: punkty a-f), wyznaczenie współczynników detekcji na podstawie Rys.1 oraz obliczenie na podstawie Rys.2 zawartości WWA w glebie.



Rys. 1. Chromatogram wzorców WWA do wyznaczenia współczynników odpowiedzi uzyskany z analizy GC (stężenie każdego WWA 1 mg/ml, stężenie wzorca wewnętrznego 2 mg/ml)

Wyznaczenie suchej masy gleby: Naważyć około 5g próbki gleby do naczynka wagowego z dokładnością do 0,0001g (zanotować tarę naczynka) i wysuszyć próbkę w suszarce w 105°C. Po wystygnięciu naczynka w eksykatorze ponownie je zważyć i wyznaczyć wilgotność wagową gleby określoną jako stosunek masy wody zawartej w glebie M_w do suchej masy gleby M_s (%). Obliczyć zawartość suchej masy gleby w próbce pobranej do ekstrakcji.

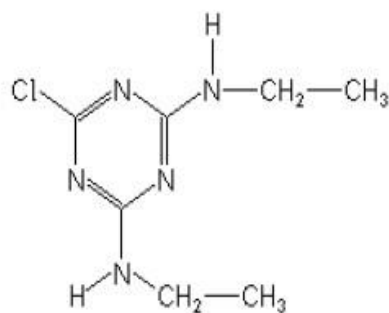


Rys. 2. Chromatogram WWA wyizolowanych z gleby uzyskany z analizy GC (wz-wzorzec wewnętrzny)

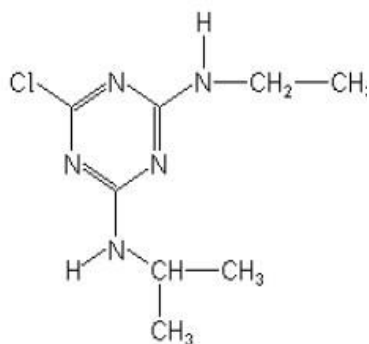
1.2. Oznaczanie herbicydów z grupy triazyn: symazyny, atrazyny i propazyny metodą dodatku wzorca i techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem spektrofotometrycznym UV

Herbicydy z grupy triazyn stanowią grupę zanieczyszczeń środowiska bardzo często występujących zarówno w wodach powierzchniowych jak i gruntowych. Ich największe stężenia rejestruje się przeważnie w okresie spływu wód roztopowych oraz wykonywania zabiegów agrochemicznych. Z uwagi na ich bardzo dobrą rozpuszczalność w wodzie związki te znacznie szybciej przenikają do wód gruntowych i powierzchniowych.

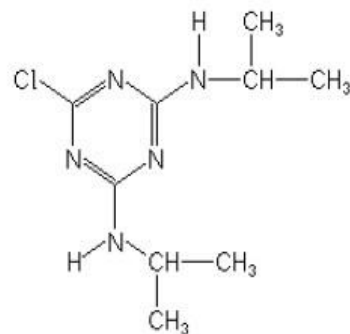
Zawartość herbicydów w wodzie można oznaczyć z wykorzystaniem metody HPLC w układzie faz odwróconych przy długości fali w zakresie 220-450 nm (najczęściej 270nm).



symazyna



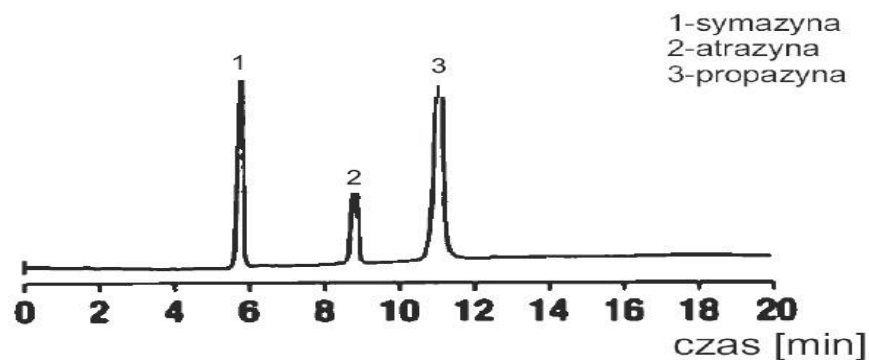
atrazyna



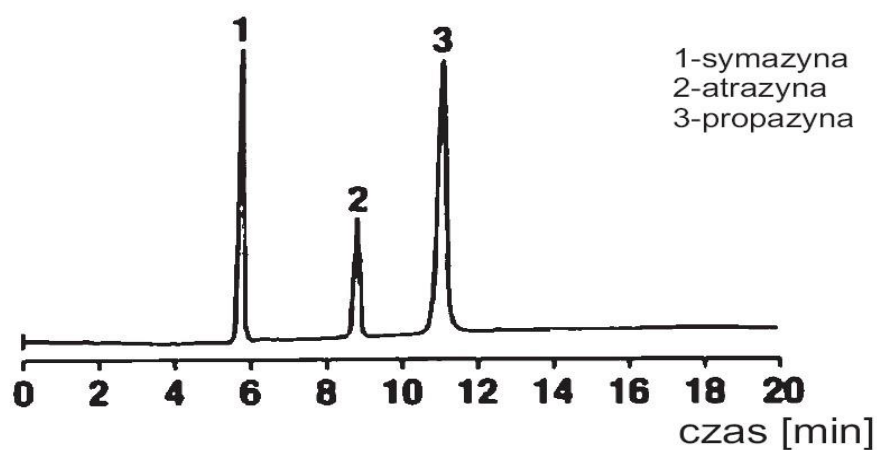
propazyna

Rys.3. Budowa chemiczna omawianych herbicydów

[http://www.alanwood.net/pesticides/class_herbicides.html#chlorotriazine_herbicides]



Rys. 4. Chromatogram herbicydów wyizolowanych z wody bez dodatku wzorców



Rys. 5. Chromatogram herbicydów wyizolowanych z wody po dodaniu mieszaniny wzorców

Oznaczanie symazyny, atrazyny i propazyny w wodzie metodą dodatku wzorca przy użyciu chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem spektrofotometrycznym UV obejmuje następujące etapy:

- a) uśrednienie próbki wody: należy pobrać po 50 ml wody z próbki A oraz próbki B i wymieszać,
- b) odmierzenie dwu równoległych próbek analitycznych po 10 ml każda,
- c) dodanie roztworów wzorcowych do jednej z próbek analitycznych (o stężeniach: symazyna - 0,06 mg/ml, atrazyna 0,05 mg/ml, propazyna 0,04 mg/ml),
- d) wykonanie analiz chromatograficznych obu próbek analitycznych – analiza właściwa,
- e) obliczenie wyników.

Zakłada się, że stężenie poszczególnych analitów w wodzie wynosi od 0,15 do 0,25 ppm. Stężenie analitów w próbce po dodaniu wzorców powinno być 1,5-2 razy większe od ich stężenia natywnego.

Zadaniem studenta jest obliczenie wg powyższych danych ilości wzorców, jaką należy dodać do próbki analitycznej, przygotowanie próbki wody do analizy od punktu a do c oraz obliczenie zawartości herbicydów w próbce wody na podstawie załączonych wyników analizy (Rys.4 i 5).

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

Istniejące metody oznaczania żelaza w wodzie nie dają możliwości ilościowego określenia wszystkich postaci żelaza, w jakich występuje ono w przyrodzie. Obecnie znane metody analityczne pozwalają na określenie jedynie ogólnej zawartości żelaza w wodzie, występującego w postaci dwuwartościowego lub trójwartościowego żelaza. 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 ppm) oraz próbki wody (x), w której należy oznaczyć jego zawartość. Wyniki zestawiono w tabeli 1. Zadaniem studenta jest obliczenie na podstawie danych zestawionych w tabeli 1 zawartości żelaza w próbce analizowanej wody metodą krzywej kalibracyjnej.

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

<i>Stężenie [ppm]</i>	<i>Absorbancja</i>
0	0
0,4	0,00302
0,8	0,00681
1,6	0,01511
4	0,03812
8	0,05360
x	0,02565

1.4. Sporządzenie sprawozdania

Sprawozdanie powinno zawierać:

- zwięzły opis stosowanych metod oznaczania ilościowego,
- schemat blokowy każdej analizy,
- schemat obliczeń stosowanych w poszczególnych metodach,
- obliczenie zawartości analitów wg danych podanych przez prowadzącego,
- wnioski.

2. Zakres wymaganych wiadomości

- podstawy chromatografii cieczowej i gazowej
- metoda krzywej kalibracyjnej,
- metoda dodatku wzorca,
- metoda wzorca wewnętrznego,
- obliczanie stężeń, w tym wyrażonych w ppm.

LITERATURA

1. Stepnowski P., Synak E., Szafranek B., Kaczyński Z. *Monitoring i analityka zanieczyszczeń w środowisku*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2010.
2. Szczepaniak W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN, W-wa, 1996.
3. Minczewski J., Marczewski Z., *Chemia analityczna, tom III*, PWN, W-wa, 1986.
4. Ewing G.W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN, W-wa, 1980.
5. Witkiewicz Z., *Podstawy chromatografii*, WNT, W-wa, 1995, 2005.

UWAGA!!! Na zajęcia proszę przynieść kalkulator, ołówek, gumkę i linijkę oraz papier milimetrowy!!!