



# ANALIZA ŚLADOWYCH ZANIECZYSZCZEŃ ŚRODOWISKA

## I ROK OŚ II

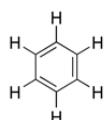
### Ćwiczenie 5

## Oznaczanie BTEX oraz n-alkanów w wodzie zanieczyszczonej benzyną metodą GC/FID oraz GC/MS

### 1. Wstęp

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.

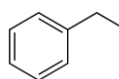
Benzyna jest mieszaniną węglowodorów; składa się przede wszystkim z prostoańcuchowych węglowodorów alifatycznych o liczbie atomów węgla od 6 do 12. Występują w niej również węglowodory nienasycone oraz aromatyczne (BTEX). Do benzyn bezołowiowych dodaje się kilka procent węglowodorów aromatycznych oraz eterów z grupami aromatycznymi w celu poprawienia jej liczby oktanowej.



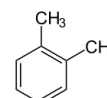
benzen (m.cz. 78)

ang. *benzene*

toluen (m.cz. 92)

*toluene*

etylobenzen (m.cz. 106)

*ethylbenzene*

orto-ksylen (m.cz. 106)

*xylene*

Rys. 1. Wzory strukturalne wybranych związków BTEX: benzen, toluen, ksylen, etylobenzen

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 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.

## **2. Metoda wzorca wewnętrznego**

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:

$$\frac{h_a}{h_w} = f \frac{c_a}{c_w} \qquad \frac{h_a}{h_w} = f \frac{m_a}{m_w}$$

gdzie:

$h_a$  – wysokość piku analitu,

$c_a$  – stężenie analitu w próbce,

$m_a$  – masa analitu w próbce,

$h_w$  – wysokość piku wzorca,

$c_w$  – stężenie wzorca w próbce.

$m_w$  – masa wzorca w próbce,

$f$  – współczynnik detekcji (współczynnik odpowiedzi).

### 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 4  $\mu$ L/10 mL) 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 o objętości 50 mL i następnie dodać 2 mL roztworu wybranego wzorca wewnętrznego (4 mL/L). Próbkę ekstrahować w rozdzielaczu 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) oraz GC/MS (analiza jakościowa) w warunkach podanych poniżej.

### 3.2. Analizy chromatograficzne GC/FID

1. Ustawić odpowiednie warunki pracy chromatografu gazowego:

- kapilarna kolumna chromatograficzna, pokryta fazą ciekłą RTX-5 (niepolarną), długość kolumny 30 m, średnica wewnętrzna 0,25 mm, grubość filmu fazy ciekłej 0,25  $\mu\text{m}$ ,
- 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, czułość (range)  $1 \times 10^{-1}$ ,
- 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  $\mu\text{L}$  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 wzorzec 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  $\mu\text{g/L}$  wody i porównać z normami.

### 3.3. Analizy chromatograficzne GC/MS

1. Warunki pracy zestawu GC/MS:

- kapilarna kolumna chromatograficzna, pokryta fazą ciekłą RTX-5 (niepolarną), długość kolumny 30 m, średnica wewnętrzna 0,25 mm, grubość filmu fazy ciekłej 0,25  $\mu\text{m}$ ,
- temperatura początkowa kolumny chromatograficznej - 35°C, narost temperatury 4°C/min do 100°C, następnie narost 20°C/min do 200°C, czas analizy 21 min,
- temperatura dozownika 220°C,
- temperatura źródła jonów 200°C, linia łącząca GC z MS 240°C,

- jonizacja strumieniem elektronów (70eV),
  - gaz nośny – hel, 1 ml/min, podział strumienia gazu nośnego 1:10.
2. Wykonać analizę chromatograficzną przygotowanego ekstraktu wody według punktu 3.1.
  3. Wydrukować chromatogram GC/MS i widma mas wybranych składników.
  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

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 µg/L.

#### 5. Wymagany zakres wiadomości

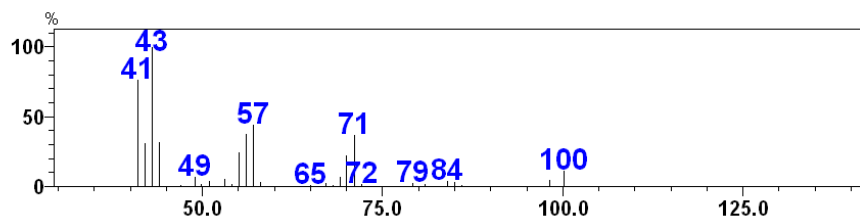
- znajomość budowy i zasad działania spektrometru mas oraz chromatografu gazowego,
- rola spektrometru mas jako detektora,
- korzyści wynikające z korzystania z zestawu GC/MS w porównaniu z analizą GC/FID,
- interpretacja widm mas węglowodorów alifatycznych oraz węglowodorów BTEX,
- metodyka oznaczeń metodą wzorca wewnętrznego.

#### 6. Literatura

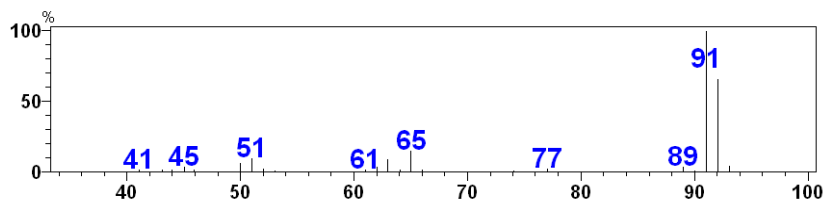
1. W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, PWN W-wa, 1997.
2. W. Zieliński, A. Rajca (red.), *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*, WNT W-wa, 1995.
3. R. M. Silverstein, G. C. Bassler, *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*, 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.

### 6.1. Odczynniki i szkło laboratoryjne:

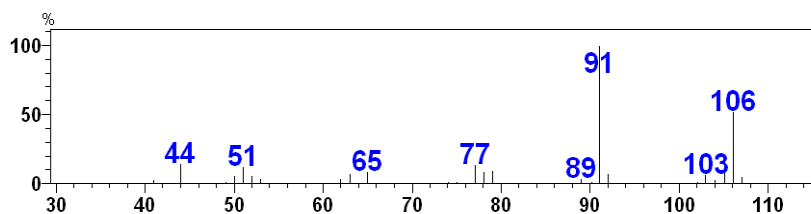
1. rozdzielacz V = 100 mL z korkiem teflonowym – 2 szt
2. statyw do rozdzielacza – 2 szt,
3. cylinder miarowy V = 50 mL – 2 szt
4. lejek średni (2 szt) + pasujące sączi,
5. kolbka płaskodenna Erlenmajera V = 25 mL (2 szt) + pasujące korki
6. bezwodny siarczan sodowy
7. łyżka metalowa mała
8. chlorek metylenu cz.d.a V = 100 ml,
9. chlorek metylenu do mycia strzykawek V = 25 mL,
10. mikrostrzykawka do GC o pojemności 10 µl – 1 szt.
11. pisak do szkła
12. pipeta V = 2 mL + pompka do pipet
13. roztwory toluenu oraz cyklopentanolu do wyznaczania czasów retencji (4 µL substancji w 10 mL chlorku metylenu)
14. roztwory wzorca wewnętrznego w chlorku metylenu (5 mg/mL) V = 25 mL
15. próbka wody zanieczyszczona benzyną bezołowiową 95 (zawierająca około 5 ml benzyny/L wody)
16. ekstrakt z próbki wody (4 µL benzyny w 10 mL chlorku metylenu)



Heptan (m.c.z. 100)



Toluen (m.c.z. 92)



Ksylen (m.c.z. 106)

Rys. 2. Widma mas wybranych węglowodorów.