

Název projektu: Digitalizace chemických experimentů pro zlepšení kvality a podporu výuky chemie na středních školách
Akronym: ChemIQSoc
Číslo projektu: 2021-1-SK01-KA220-VET-000027995



Název: Stanovení polyaromatických uhlovodíků v povrchových vodách pomocí GC-MS

Návod na práci

Zadání:

1. Připravte a vyhodnoťte roztokovou kalibrační křivku polyaromatických uhlovodíků (PAU) v rozsahu koncentrací 0,1 – 10 µg/l.
2. Připravte 1 ml extraktu PAU v n-hexánu extrakcí 1 l vzorku vody metodou extrakce kapalina-kapalina (LLE).
3. Analyzujte připravený extrakt metodou plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) a vyhodnoťte obsah PAU ve vzorku pomocí metody kalibrační křivky.

Teorie

Polyaromatické uhlovodíky (PAU) jsou sloučeniny složené ze dvou a více aromatických jader. Vznikají především během nedokonalého spalování organického materiálu. Vybrané PAU se sledují ve vzorcích životního prostředí. Významnými zdroji znečištění polyaromatickými uhlovodíky jsou chemické podniky, elektrárny, spalovny, petrochemický průmysl a jiné. Jejich zvýšená koncentrace v životním prostředí má negativní vliv na živé organismy, negativní účinek na člověka se může projevit vznikem nádorových onemocnění.

Plynová chromatografie je separační metoda založená na různé interakci analyzovaných sloučenin se stacionární fází v kapilární koloně. Mobilní fází v GC je nosný plyn, obvykle helium, vodík nebo dusík. Nadávkované sloučeniny jsou v dávkovači splyněny účinkem vysoké teploty, proto je tato metoda vhodná pro analýzu těkavých až středně těkavých sloučenin (s teplotou varu obvykle do 400 °C). Jedním z detektorů, který se používá v kombinaci s GC je hmotnostní spektrometr (MS), ve kterém se separované sloučeniny ionizují, přičemž vznikají fragmenty charakterizované poměrem jejich hmotnosti a náboje m/z. Fragmenty jsou rozlišeny a separovány v hmotnostním analyzátoru. Závislostí relativní četnosti od poměru m/z získáváme pro každou sloučeninu hmotnostní spektrum, které lze porovnat s knihovnou hmotnostních spekter, což výrazně přispívá k možnosti identifikace analyzovaných sloučenin.

Pomůcky: plynový chromatograf s PTV dávkovačem, hmotnostní spektrometr s kvadrupólovým analyzátozem, aparatura na filtraci (laboratorní stojan, železný kruh, filtrační nálevka, kádinka, skleněná tyčinka, filtrační papír), odměrná baňka (1 l), oddělovací nálevka (1 l) automatické pipety se špičkami, mikrostříkačka, kádinky, dělená pipeta (25 ml), balónek

Název projektu: Digitalizace chemických experimentů pro zlepšení kvality a podporu výuky chemie na středních školách
Akronym: ChemIQSoc
Číslo projektu: 2021-1-SK01-KA220-VET-000027995



na pipetování, orbitální třepačka, srdeční baňka (100 ml), rotační vakuová odparka (rotavap), skleněná Pasteurová pipeta, skleněné vialky (1 ml) se šrouby se septem

Chemikálie: referenční materiál 16 polyaromatických uhlovodíků, n-hexan s čistotou pro GC-MS, síran sodný bezvodý, vzorek povrchové vody (alespoň 1 l)

Postup

Příprava roztokové kalibrační křivky

1. Ředěním zásobního roztoku referenčního materiálu připravte 5 kalibračních roztoků po 1 ml s koncentracemi 0,1; 0,5; 1; 5 a 10 $\mu\text{g/l}$. Roztoky zřed'te do n-hexanu.
2. Analyzujte jednotlivé kalibrační roztoky metodou GC-MS. Pro získání ploch píků je ve vyhodnocovacím softwaru integrujte stejným způsobem pro kvantifikační iont.
3. V tabulkovém editoru vytvořte graf závislosti plochy analytu na jeho koncentraci a sestrojte kalibrační křivku přeložením bodů lineární trendovou spojnicí. Ze získaných hodnot směrnice a úseku později vypočtete koncentraci analytů v reálném vzorku.

LLE extrakce vzorku

1. Pomocí jednoduché filtrační aparatury přefiltrujte dostatečný objem vzorku (alespoň 1 l) od možných nečistot. Pokud ve vzorku nejsou přítomny pouhým okem viditelné tuhé nečistoty tento krok lze vynechat.
2. Na extrakci připravte do odměrné baňky přesně 1 l přefiltrovaného vzorku. Tento objem vzorku pomocí nálevky opatrně přelijte do připravené oddělovací nálevky.
3. Pomocí dělené pipety a pipetovacího balonku ke vzorku do oddělovací nálevky přidejte 15 ml extrakčního rozpouštědla – n-hexanu. Stejným objemem hexanu promyjte i odměrnou baňku, ve které se nacházel vzorek – promíchejte a také přelijte do oddělovací nálevky. Na hladině vzorku vody přibude tenká organická vrstva hexanu.
4. Oddělovací nálevku vložte do orbitální třepačky a zapněte třepání na středních otáčkách (obsah nálevky se má jemně protřepávat) na dobu 30 minut.
5. Následně oddělovací trychtýř vraťte na laboratorní stojan, počkejte dokud se ustálí organická a vodní vrstva a pomocí otočného kohoutu vypusťte vodní vrstvu vzorku. Vrstvu extrakčního rozpouštědla zachyťte do připravené kádinky.
6. Vypuštěný objem vzorku opět nalijte do dělicí nálevky. 6 až 8 zopakujte ještě dvakrát. Podíly extrakčního činidla společně sbírejte do jedné kádinky.
7. Do kádinky s extraktem přidejte 3 kopcovité lžíce bezvodého síranu sodného a nechte usadit na dno kádinky. Extrakt přelijte do srdeční baňky a pomocí pipety kádinku se síranem promyjte n-hexánem (2 x po 5 ml) a také přidejte do srdeční baňky.

Odpaření a zpracování extraktu

1. Pro zakoncentrování extraktu je třeba organické rozpouštědlo odpařit pomocí rotační vakuové odparky. Spusťte rotavap zapnutím vyhřívání vodní lázně na 40 °C, spusťte přívod vody do chladiče a zapněte vakuovou pumpu.

Název projektu: Digitalizace chemických experimentů pro zlepšení kvality a podporu výuky chemie na středních školách
Akronym: ChemIQSoc
Číslo projektu: 2021-1-SK01-KA220-VET-000027995



- Po připojení baňky na rotavap nastavte tlak na 300 mbar, nastavením výšky ramene ponořte baňku do vodní lázně a zapněte otáčení.
- Po odpaření asi 2/3 hexanu vyprázdněte obsah baňky pro zachytávání zkondenzovaného rozpouštědla do nádoby pro sběr nechlorovaného organického odpadu.
- Extrakt odpařujte přibližně do objemu menšího než 0,5 ml.
- Po ukončení extrakce reziduum ze srdeční baňky přeneste skleněnou Pasteurovou pipetou do 1 ml vialky, srdeční baňku promyjte malým množstvím n-hexanu a opět přeneste do vialky.
- Objem konečného extraktu doplňte do 1 ml n-hexanem a takto připravený extrakt analyzujte GC-MS metodou podle instrukcí vyučujícího. Výsledné píky integrujte obdobným způsobem jako při zpracování kalibračních roztoků a metodou kalibrační křivky vyhodnoťte obsah PAU ve vzorku. Přepočtení výtěžností extrakce lze zanedbat.

Nakládání s chemickými látkami

Chemikálie	Forma	H-věty	P-věty
n-Hexan	Kapalina	H225, H304, H315, H336, H361f, H373, H411	P202, P210, P273, P301 + P310, P303 + P361 + P353, P331, P403 + P233
Na ₂ SO ₄	Pevná	---	---
RM 16 PAU	Roztok standardů	H225, H302 + H312 + H332, H319, H412	P210, P273, P280, P301 + P312, P303 + P361 + P353, P304 + P340 + P312

Zdroje rizik a vyhodnocení závažnosti rizika

n-Hexan je velmi hořlavá kapalina, dráždí kůži, může být smrtelný po požití a vniknutí do dýchacích cest. Je podezřelý z poškozování plodnosti. Je toxický pro vodní organismy, z dlouhodobými účinky. Žáci pracují pouze s nezbytným objemem n-hexanu, přičemž používají osobní ochranné prostředky. Potřebné množství n-hexanu do kádinky nalije odborný pracovník. Přijatelné riziko.

Referenční materiál polyaromatických uhlovodíků je nejčastěji rozpuštěn v hořlavém organickém rozpouštědle. Je zdraví škodlivý při styku s kůží, při požití nebo vdechování. Způsobuje vážné podráždění očí. Je toxický pro vodní organismy, z dlouhodobými účinky. Žáci pracují s předem zředěným zásobním roztokem a minimálním objemem. Přijatelné riziko.

Název projektu: Digitalizace chemických experimentů pro zlepšení kvality a podporu výuky chemie na středních školách
Akronym: ChemIQSoc
Číslo projektu: 2021-1-SK01-KA220-VET-000027995



Způsob nakládání s odpady

Zbytky roztoků vylijte do nádoby určené ke sběru nechlorovaného organického odpadu. Tuhý zbytek síranu sodného zlikvidujte vysypáním do koše.

Opatření k omezení rizika

Vyhnete se přímé expozici, používejte ochranné prostředky Nevystavujte se dlouhodobé nebo opakované expozici V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, okamžitě informujte vyučujícího. omyjte ruce teplou vodou a mýdlem. 16 nebo jejich obaly musí být likvidovány jako nebezpečný odpad.

Literatura

1. Purdešová, A. – Tarapčík, P. a i.: *Praktikum z analytickej chémie*. Bratislava: STU, 2016. ISBN 978-80-227-3555-1.

Pracovní list

Experimentální údaje

1. Kolik μl je třeba odpipetovat ze zásobního roztoku PAU o koncentraci 100 ppb pro přípravu 1 ml roztoků o koncentraci 0,1; 0,5; 1; 5 a 10 ppb?

	0,1 ppb [μl]	0,5 ppb [μl]	1 ppb [μl]	5 ppb [μl]	10 ppb [μl]
Objem zásobního roztoku PAU o koncentraci 10 $\mu\text{g/ml}$					

2. Z analýzy standardů zaznamenejte eluční časy jednotlivých 16 PAU.

Název	t_R [min]	Název	t_R [min]
Naftalen		Benzo[a]antracen	
Acenaftylen		Chryzen	
Acenaften		Benzo[b]fluoranten	
Fluoren		Benzo[k]fluoranten	
Fenantren		Benzo[a]pyren	
Antracen		Indeno[1,2,3-cd]pyren	
Fluoranten		Dibenz[a,h]antracen	
Pyren		Benzo[g,h,i]perylen	

3. Zaznamenejte tři nejhlavnější hmotnostní fragmenty pro 16 PAU.

Název	t_R [min]	m/z (1)	m/z (2)	m/z (3)
Naftalen				
Acenaftylen				
Acenaften				
Fluoren				
Fenantren				
Antracen				
Fluoranten				
Pyren				
Benzo[a]antracen				
Chryzen				
Benzo[b]fluoranten				
Benzo[k]fluoranten				
Benzo[a]pyren				
Indeno[1,2,3-cd]pyren				
Dibenz[a,h]antracen				
Benzo[g,h,i]perylen				

Výpočty

1. Do excelovské tabulky zaznamenejte hodnoty elučních časů jednotlivých standardů PAU, plochy a výšky píků naměřených pro jednotlivé standardní roztoky při nejintenzivnějších hmotnostních fragmentech.

roztok	0,1 ppb	0,5 ppb	1 ppb	5 ppb	10 ppb
Eluční čas [min]					
Plocha píku					
Výška píku					

2. Do excelovské tabulky zaznamenejte hodnoty elučních časů jednotlivých standardů PAU, plochy a výšky píků naměřených pro vzorek u nejintenzivnějších hmotnostních fragmentů.

Název	Eluční čas [min]	Plocha píku	Výška píku
Naftalen			
Acenaftylen			
Acenaften			
Fluoren			
Fenantren			
Antracen			
Fluoranten			
Pyren			
Benzo[a]antracen			
Chryzen			
Benzo[b]fluoranten			
Benzo[k]fluoranten			
Benzo[a]pyren			
Indeno[1,2,3-cd]pyren			
Dibenz[a,h]antracen			
Benzo[g,h,i]perylen			

3. Do kalibračního grafu vynesete závislosti A (plocha píku) na c (koncentrace standardu). Vyhodnoťte jej metodou nejmenších čtverců a zapište rovnici kalibrační křivky a koeficient korelace pro jednotlivé PAU

Název projektu: Digitalizace chemických experimentů pro zlepšení kvality a podporu výuky chemie na středních školách
Akronym: ChemIQSoc
Číslo projektu: 2021-1-SK01-KA220-VET-000027995



4. Pomocí plochy píků zjištěných pro jednotlivé PAU ve vzorku odečtěte jejich koncentraci.
5. Vypočítejte množství PAU ve vzorku a vyjádřete obsah jednotlivých PAU na 1 litr vzorku.

Název	Koncentrace [$\mu\text{g/ml}$]	Koncentrace [mg/l]
Naftalen		
Acenaftýlen		
Acenaften		
Fluoren		
Fenantren		
Antracén		
Fluoranten		
Pyren		
Benzo[a]antracén		
Chryzen		
Benzo[b]fluoranten		
Benzo[k]fluoranten		
Benzo[a]pyren		
Indeno[1,2,3-cd]pyren		
Dibenz[a,h]antracén		
Benzo[g,h,i]perýlen		

Otázky

1. Zdůvodněte proč se ustálila hladina hexanu nad hladinou vzorku vody a ne naopak. Jak by se ustálily hladiny směsi dichlormethan-voda a směsi methanol-voda?
2. Diskutujte důvod přidávání bezvodého síranu sodného k extraktu.
3. Popište, jak změna koncentrace sloučenin ve vzorku ovlivňuje eluční čas a plochu píků.
4. Jaký typ stacionární a mobilní fáze a používá při GC-MS stanovení PAU.

Název projektu: Digitalizace chemických experimentů pro zlepšení kvality a podporu výuky chemie na středních školách
Akronym: ChemIQSoc
Číslo projektu: 2021-1-SK01-KA220-VET-000027995



5. Uveďte chyby a jejich zdroje při stanovení PAU. Navrhněte možná řešení.

6. Popište z jakých částí/modulů se skládá GC zařízení.

7. Definiujte a popište kroky extrakce kapalina-kapalina.

Závěr

Shrňte stručně cíl experimentu, hlavní výsledky a porovnejte je s očekávanými hodnotami.

Název projektu: Digitalizace chemických experimentů pro zlepšení kvality a podporu výuky chemie na středních školách
Akronym: ChemIQSoc
Číslo projektu: 2021-1-SK01-KA220-VET-000027995



Prohlášení o vyloučení odpovědnosti

Financováno Evropskou unií. Vyjádřené názory a postoje jsou názory a prohlášeními autora(ů) a nemusí nutně odrážet názory a stanoviska Evropské unie nebo Slovenské akademické asociace pro mezinárodní spolupráci, Národní agentury programu Erasmus+ pro vzdělávání a odbornou přípravu. Evropská unie ani organizace udělující grant za ně nepřebírají žádnou odpovědnost.