



CHEMIA ANALITYCZNA ZAAWANSOWANA

(chemia, studia II stopnia, I rok, I semestr)

ĆWICZENIE

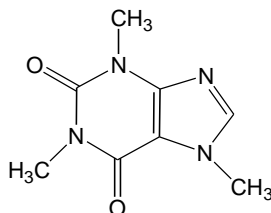
SPEKTROFOTOMETRYCZNE OZNACZANIE KOFEINY

W KAWIE I NAPOJACH ENERGETYZUJĄCYCH

(Opracowała: dr Marta Hryniewicka)

Kofeina jest jednym z alkaloidów zaliczanych do pochodnych puryny (związku zawierającego człon pirymidynowy oraz imidazolowy). Substancją podstawową zasad purynowych jest ksantyna.

Kofeina (rys. 1) jest głównym alkaloidem nasion krzewu kawowego *Coffea arabica*, *Coffea liberica* i in., występuje w ilości około 1,5%. Bogate w ten składnik są liście herbaty (ok. 1%), orzeszki cola, pepsi, coca - cola, a także coraz bardziej popularne napoje energetyzujące.



Rys.1. Wzór strukturalny kofeiny ($C_8H_{10}N_4O_2$, $M = 194,19 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$)

1,3,7-trimetyloksantyna lub 3,7-dihydro-1,3,7-trimetylo-1H-puryno-2,6-dion

Kofeina po spożyciu jest gwałtownie wchłaniana i metabolizowana, maksymalne stężenie we krwi występuje po ok. godzinie. Kofeina rozmięsza się w tkankach proporcjonalnie do ich uwodnienia, nie ulega kumulacji, a jej biologiczny okres półtrwania wynosi 2,5 - 4,5h.

Działanie kofeiny, zaliczanej do analeptyków, polega na pobudzaniu ośrodkowego układu nerwowego oraz ośrodka oddechowego. Poza tym pobudza równomiernie korę mózgową, zwiększa sprawność myślenia, znosi zmęczenie psychiczne i fizyczne, przyspiesza przemianę materii, zwiększając zapotrzebowanie na tlen, eliminuje senność, podtrzymuje wysiłek intelektualny. Nadmierne spożywanie produktów zawierających w swym składzie kofeinę może doprowadzić do uzależnienia. Pobudzenie psychiczne i ruchowe połączone z drżeniem mięśni i niemiernym biciem serca jest konsekwencją zbyt dużego stężenia kofeiny we krwi. Dawka śmiertelna wynosi 0,12g/kg wagi ciała.

Napoje energetyzujące (energy drink) od kilku lat cieszą się rosnącą popularnością na naszym rynku. Ze względu na ich specyficzne działanie skierowane są głównie do kierowców, ludzi aktywnych fizycznie, uprawiających sporty ekstremalne. Działanie energy drinków w znacznym stopniu różni się od działania typowych napojów orzeźwiających. Podstawowe ich zadanie można określić jako dodanie energii lub odświeżenie umysłu. Efekt ten osiągnięty zostaje dzięki obecności substancji o działaniu pobudzającym - stąd nazwa „energetyzujące”. Nie należy mylić tych napojów z napojami izotonicznymi, które zawierają odpowiednio dobrane składniki mineralne czy też napojami węglowodanowymi, które są źródłem energii w postaci węglowodanów. Substancje decydujące o właściwościach napojów energetyzujących to substancje biologicznie aktywne: kofeina, tauryna, inozytol, guarana, glukuronolakton, karnityna oraz odpowiednie witaminy





(głównie z grupy B). W niektórych energy drinkach znajdziemy również wyciągi roślinne, np. z żeń-szenia, miłorzębu japońskiego czy innych egzotycznych roślin.

Aparatura, sprzęt i odczynniki:

- Spektrofotometr UV/VIS, U-1900, Hitachi, Japonia;
- Kuwety kwarcowe o grubości 10 mm;
- Waga laboratoryjna, RADWAG WPS 210/C/2, Polska;
- Młynek;
- Płyta grzejna;
- Zestaw do sączenia (statyw, lejek ilościowy, sączki);
- Zestaw do ekstrakcji ciecz – ciecz (10 rozdzielaczy);
- Naczynka wagowe (2szt.);
- Łyżeczka do ważenia;
- Krystalizator (2szt.);
- Szkiełka zegarkowe (3szt.);
- Kolby miarowe o pojemności: 10mL (1szt.), 50mL (8szt.), 100mL (2szt.), 500mL (1szt.);
- Probówki miarowe o pojemności 10 lub 15mL z korkami szklanymi (10szt.);
- Probówki miarowe o pojemności 20mL z korkami szklanymi (3szt.);
- Pipety miarowe: 2mL (1szt.), 5mL (2szt.), 10mL (3szt.), 25mL (3szt.);
- Zlewki: 25mL (1szt.), 50mL (3szt.), 100mL (3szt.), 600mL (1szt.);
- Kofeina;
- Tlenek magnezu MgO;
- Dichlorometan CH₂Cl₂;
- 0,5 mol L⁻¹ H₂SO₄.

Cel ćwiczenia:

Celem ćwiczenia jest wydzielenie i oznaczenie zawartości kofeiny w kawie rozpuszczalnej, prażonych ziarnach kawy oraz napojach energetyzujących np. Tiger, M-Power itp. metodą spektrofotometrii w nadfiolecie.

Wykonanie ćwiczenia:

A: Oznaczenie zawartości kofeiny w kawie rozpuszczalnej

Przygotowanie krzywej wzorcowej:

- 1) Przygotować wodny roztwór podstawowy kofeiny o stężeniu 1,2mg·mL⁻¹ rozpuszczając odpowiednią ilość naważki w 100mL wody.
- 2) W kolbce na 10mL przygotować wodny roztwór roboczy kofeiny o stężeniu 0,6mg·mL⁻¹.
- 3) Do 8 kolb miarowych o pojemności 50mL odmierzyć: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4mL roztworu roboczego kofeiny, uzupełnić wodą do kreski i dokładnie wymieszać.
- 4) Obliczyć stężenia (mg·mL⁻¹ oraz mol·L⁻¹) przygotowanych roztworów wzorcowych.

Przygotowanie badanej próbki:

- 1) Odważyć 0,4 g kawy rozpuszczalnej i wsypać do kolby miarowej o poj.500mL.
- 2) Dopełnić wodą redestylowaną i wymieszać.
- 3) Do zlewki o pojemności 500mL odmierzyć: 25mL przygotowanego roztworu kawy, 25mL 0,05M roztworu H₂SO₄ (wcześniej sporządzonego poprzez odpowiednie rozcieńczenie roztworu 0,5 M), 200mL wody.
- 4) Zawartość zlewki nakryć szkiełkiem zegarkowym i gotować 20 minut.
- 5) Dodać (powoli!) 12,5g tlenku magnezu.
- 6) Wymieszać bagietką i ogrzewać przez dalsze 20 minut.
- 7) Roztwór ochłodzić i przesączyć.





Wykonanie oznaczeń spektrofotometrycznych:

Zarejestrować widma roztworów wzorcowych oraz przygotowanej próbki metodą spektrofotometrii UV – VIS w zakresie 200 – 400nm wobec wody redestylowanej jako odnośnika.

B: Oznaczenie zawartości kofeiny w prażonych ziarnach kawy i napojach energetyzujących

Przygotowanie krzywej wzorcowej:

- 1) Do 8 rozdzielaczy wprowadzić po 10mL roztworów wzorcowych przygotowanych do poprzedniej krzywej wzorcowej.
- 2) Dodać 5mL dichlorometanu i zawartość rozdzielacza wytrząsać przez 2 minuty.
- 3) Po rozdzieleniu faz dolną warstwę organiczną przenieść do próbówki miarowej na 10mL, a do wodnej warstwy dodać drugą porcję dichlorometanu i przeprowadzić ekstrakcję wytrząsając przez ok.2 minuty.
- 4) Połączyć ekstrakty i w razie potrzeby uzupełnić próbówki dichlorometanem do objętości końcowej równej 10mL.
- 5) Zmierzyć absorbancję roztworów wzorcowych stosując dichlorometan jako odnośnik.

Przygotowanie próbki ziarna:

Ziarna kawy prażonej (ok. 10 sztuk) rozdrobnić w młynku. Odważyć 0,2g rozdrobnionych ziaren kawy i umieścić w krystalizatorze. Przeprowadzić dwukrotną ekstrakcję (2×10mL CH₂Cl₂).

Uwaga: ekstrakcja powinna trwać co najmniej 20 minut. Podczas ekstrakcji krystalizator powinien być przykryty szkiełkiem zegarkowym.

Połączyć ekstrakty, zmierzyć absorbancję i wyznaczyć stężenie kofeiny w badanej próbce. Stosując odpowiednie założenia obliczyć zawartość kofeiny w filiżance kawy o pojemności 150mL.

Przygotowanie próbki napoju energetyzującego:

- 1) Pobrać 5mL napoju energetyzującego i przenieść do kolby miarowej o pojemności 100mL, dodać 5 kropel 0,05 M roztworu H₂SO₄. Kolbę uzupełnić wodą redestylowaną do kreski i dokładnie wymieszać.
- 2) Zawartość kolby przenieść do zlewki i ogrzewać na płycie grzejnej przez 15 minut.
- 3) Pobrać 10mL ostudzonego roztworu i przeprowadzić dwukrotną ekstrakcję (2×10mL CH₂Cl₂). Zmierzyć absorbancję, a następnie wyznaczyć stężenie kofeiny. Uzyskany wynik porównać z stężeniem kofeiny podanej na etykiecie produktu. Obliczyć błąd względny.

Wymagania:

- 1) Alkaloidy ze szczególnym uwzględnieniem kofeiny.
- 2) Właściwości, mechanizm działania i metody oznaczania kofeiny.
- 3) Metody wydzielania analitów.
- 4) LLE i parametry charakteryzujące ten typ ekstrakcji.

Literatura:

- 1) Belay A., Ture K., Redi M., Asfaw A. (2008). *Measurement of caffeine in coffee beans with UV/VIS spectrometer*. Food Chemistry 108, 310 – 315.
- 2) Nebesny E., Budryn G. (2000). *Charakterystyka ziarna kawowego*. Chemia spożywcza i biotechnologia (Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej) z.62, nr 832, 85 – 99 (do wglądu u prowadzącego ćwiczenie).
- 3) Kohlmünzer S., (2000). *Farmakognozja*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL.





- 4) Mandel H.G. (2002). *Update on caffeine consumption, disposition and action*. Food and Chemical Toxicology 40, 1231 – 1234.



Oznaczanie jonów chlorkowych w wodach naturalnych z użyciem jonoselektywnej elektrody chlorkowej

Sprzęt, szkło i odczynniki:

Pehametr, elektroda jonoselektywna chlorkowa, elektroda kalomelowa, statyw, mieszadło elektryczne, 10 kolb miarowych o pojemności 100 cm³, naczynko wagowe, zlewka na 100 cm³, bufor octanowy o pH = 6, KCl cz. d. a., KBr cz. d. a.

1. Oznaczanie jonów chlorkowych

1.1 Kalibracja elektrody

Po odważeniu odpowiedniej ilości KCl należy sporządzić 100 cm³ 1 mol/dm³ roztworu wzorcowego, po czym metodą kolejnych rozcieńczeń po 100 cm³ (w kolbach miarowych) roztworów o stężeniach : 10⁻¹, 5·10⁻², 10⁻², 5·10⁻³, 10⁻³, 5·10⁻⁴, 10⁻⁴, 5·10⁻⁵ mol/dm³. Po uzupełnieniu wodą destylowaną do kreski, należy dodać jeszcze ponad kreskę 2 cm³ buforu do każdej z kolb w celu uzyskania jednakowej mocy jonowej wszystkich roztworów. Roztwory dokładnie wymieszać.

Na mieszadle elektrycznym umieszczamy zlewkę o pojemności 100 cm³, a nad nią w statywie elektrodę chlorkową i kalomelową elektrodę odniesienia, tak, aby swobodnie można było zanurzać obie elektrody przy każdym pomiarze. Należy uważać, aby nie zbić mieszadłem obudowy elektrody kalomelowej. Poczynając od niższych stężeń mierzymy różnicę potencjałów powstałego ogniwa trzykrotnie dla każdego roztworu w celu obliczenia wartości średniej. Po każdym pomiarze płuczemy obie elektrody wodą z tryskawki i osuszamy bibułą. Do pomiaru bierzemy każdorazowo ok. 50 cm³ roztworu. Podczas pomiaru mieszadło powinno powoli mieszać roztwór.

UWAGA! W przypadku niższych stężeń, czas ustalania się stałej wartości potencjału może wynosić ok. 1 min.

1.2 Wyznaczenie stężenia jonów chlorkowych w próbkach wód naturalnych

W ten sam sposób mierzymy potencjał dla próbek wód naturalnych, do których dodano 2 cm³ buforu do 100 cm³ wody.

Wykreśliamy zależność: potencjał – ujemny logarytm stężenia. Należy zwrócić uwagę, w jakim zakresie stężeń zależność jest prostoliniowa (przebieg zgodny z równaniem Nernsta). Z powstałej krzywej wzorcowej należy wyznaczyć stężenie jonów chlorkowych w badanej wodzie i podać ją w mg/dm³. Należy także wyznaczyć nachylenie krzywej wzorcowej w mV/”dekadę”, czyli zmianę logarytmu stężenia o jedną jednostkę (dziesięciokrotna zmiana stężenia) i porównać z wartością teoretyczną wynikającą ze wzoru Nernsta.

2. Wyznaczenie współczynnika selektywności elektrody względem jonów bromkowych

Po odważeniu odpowiedniej ilości KBr sporządzamy w kolbie o pojemności 100 cm³ roztwór wzorcowy o stężeniu 1 mol/dm³. W kolbach o pojemności 100 cm³ umytych po poprzedniej części ćwiczenia sporządzamy roztwory zawierające 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ mol/dm³ jonów chlorkowych i 10⁻² mol/dm³ jonów bromkowych. Do tych roztworów dodajemy po 2 cm³ buforu octanowego ponad kreskę, tak, jak w pkt. 1.1. Mierzmy różnicę potencjałów dla poszczególnych roztworów i wykreślamy krzywą jak w pkt. 1.1. Aby wyznaczyć punkt przegięcia krzywej przedłużamy na





wykresie obie jej gałęzie. Punkt przecięcia obu linii wyznacza stężenie a_i jonów chlorkowych w poniższym wzorze:

$$K_{ij} = a_i / a_j^{z_i/z_j},$$

gdzie:

K_{ij} – współczynnik selektywności.

a_i – aktywność jonu głównego – Cl^- ,

a_j – aktywność jonu przeszkadzającego – Br^- ,

z_i i z_j – ładunki jonów.

Stężenie jonów bromkowych jest stałe i wynosi 10^{-2} mol/dm³. Na podstawie podanego wzoru należy obliczyć współczynnik selektywności elektrody.

Pytanie:

Czy elektroda chlorkowa jest selektywna, a jeśli tak, to w jakim stopniu względem jonów bromkowych?

SPRAWOZDANIE:

W sprawozdaniu powinny się znaleźć oba wykresy, obliczona wartość stężeń jonów chlorkowych w wodach, obliczone nachylenie krzywej wzorcowej zestawione z wartością teoretyczną, obliczona wartość współczynnika selektywności, odpowiedź na zadane pytanie.

WYMAGANIA:

1. Chlorki w wodach powierzchniowych i ściekowych (ich źródła, występowanie, działanie i dopuszczalne stężenia).
2. Metody oznaczania jonów chlorkowych w wodzie i ściekach ze szczególnym uwzględnieniem Polskiej Normy.
3. Elektrody jonoselektywne – budowa, podział, potencjał. Zastosowanie elektrod jonoselektywnych. Parametry charakteryzujące przydatność elektrod jonoselektywnych w analizie chemicznej.

LITERATURA OBOWIĄZKOWA:

1. *Fizykochemiczne metody kontroli zanieczyszczeń środowiska*, praca zbiorowa pod red. J. Namieśnika i Z. Jamrógiwicza, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1998. (rozdz. 2.3. „Elektrody jonoselektywne” T. Górecki)
2. *Chemia Środowiska. Ćwiczenia i seminaria (część 1)*, red. E. Szczepaniec-Cięciak i P. Kościelniak, Wyd. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 1999. (rozdz. 3.11. „Oznaczanie jonów chlorkowych w wodzie przy zastosowaniu elektrody jonoselektywnej” T. Bieszczad; rozdz. 3.13. „Oznaczanie chlorków w wodach powierzchniowych i ściekowych” A. Wyroba.)
3. *Chemia Środowiska*. E. Kociołek-Balawejder, E. Stanisławska, Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu, Wrocław 2012.
4. *Chemia wód powierzchniowych*, J. R. Dojlido, Wydawnictwo Ekonomia i Środowisko, Białystok 1995.
5. *Chemia wody i powietrza*, E. Gomółka, A. Szaynok, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1997.
6. *Instrumentalne metody badania wody i ścieków*, J. Dojlido, J. Zerbe, Wydawnictwo Arkady, Warszawa 1997.





LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA:

1. *Fizykochemiczne metody kontroli zanieczyszczeń środowiska (część I)*, red. R. Gadzała-Kopciuch i B. Buszewski, Wyd. Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń 2003. (rozdz. 6. „Oznaczanie azotanów i chlorków w materiale roślinnym za pomocą elektrod jonoselektywnych”).



Badanie mobilności metali ciężkich w glebie

Nieustanny rozwój przemysłu wiąże się z coraz silniejszym zanieczyszczeniem środowiska glebowego metalami ciężkimi, do których należą m.in. żelazo, miedź, chrom, cynk, ołów, kadm, rtęć i tal. Metale ciężkie obecne w glebie stają się częścią łańcucha pokarmowego, ponieważ stosunkowo łatwo przenikają do organizmów żywych. Rośliny będące źródłem pokarmu dla ludzi i zwierząt pobierają metale ciężkie z gleby, akumulują je, a następnie przenoszą na wyższe poziomy troficzne. Negatywne oddziaływanie metali ciężkich na środowisko nie jest warunkowane jedynie ich całkowitą zawartością w glebie. O toksyczności decyduje forma metalu oraz jego mobilność i biodostępność, które zależą od właściwości form pierwiastka i jego wiązania ze składnikami fazy stałej gleby. Na mobilność i biodostępność metali ciężkich w glebie wpływa wiele czynników, które mogą je zwiększać (rozpuszczanie, desorpcja, mineralizacja) lub ograniczać (sorpcja specyficzna, biologiczna oraz wymienna, zjawisko strącania). Istotny wpływ na mobilność metali ma również sama gleba, jej właściwości fizykochemiczne, a zwłaszcza jej odczyn, kationowa pojemność sorpcyjna, potencjał oksydo-redukcyjny, zawartość substancji organicznej, zawartość węgla wapnia, skład granulometryczny, forma metali i ich zawartość.

Metalem ciężkim, stanowiącym poważne zagrożenie dla środowiska glebowego jest chrom. Do zanieczyszczenia gleby chromem w głównej mierze dochodzi na skutek działalności człowieka. Wynika to z nieodpowiedniego odprowadzania ścieków przemysłowych do wód i gleb, składowania odpadów stałych oraz emisji pyłów z zakładów przemysłowych. W środowisku glebowym chrom występuje głównie na III stopniu utlenienia w formie unieruchomionej (nierozpuszczalny $\text{Cr}(\text{OH})_3$, w postaci nierozpuszczalnych i nieruchliwych kompleksów wielkocząsteczkowych z materia organiczną). Chrom na VI stopniu utlenienia pochodzi głównie z działalności człowieka i występuje w glebie w postaci anionów chromianowych(VI) (CrO_4^{2-}) oraz wodorochromianowych(VI) (HCrO_4^-), które są bardzo mobilne. Oznacza to, że mogą one przenikać do wód gruntowych i powodować skażenia wód, gleb i roślin na nich rosnących, co stanowi zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Badanie mobilności chromu w glebie jest ważnym zagadnieniem, ponieważ pozwala określić stopień zagrożenia tym metalem środowiska przyrodniczego oraz ocenić negatywny wpływ na stan zdrowia oraz życia człowieka i zwierząt. Dzięki uzyskanym wynikom, odpowiednie służby nadzorujące stan jakości środowiska, takie jak Wojewódzkie Inspektoraty Ochrony Środowiska mogą podjąć decyzję o działaniach rekultywacyjnych na glebach zanieczyszczonych bądź zdegradowanych.

Celem ćwiczenia jest zapoznanie z metodą ekstrakcji mobilnych frakcji metali ciężkich z gleby wspomaganą ultradźwiękami oraz porównanie efektywności ekstrakcji form Cr(VI)





z zastosowaniem różnych ekstrahentów. Do oznaczania formy Cr(VI) w otrzymanych ekstraktach zastosowano metodę spektrofotometryczną z difenylokarbazonem.

Wykonanie ćwiczenia

Przygotowanie ekstraktów gleby

Badane próbki gleby pobrano z terenu dawnej garbarni zgodnie z Polską Normą PN-R-04031, z zastosowaniem techniki losowej przy użyciu laski glebowej. Próbkę ogólną składającą się z 10-20 próbek pierwotnych (0,2 kg), przetransportowano do laboratorium, gdzie oddzielono od niej zanieczyszczenia dużych rozmiarów i przesiano przez sito o średnicy 2 mm. Część próbek pozostawiono do przeprowadzenia podstawowych badań fizykochemicznych (skład granulometryczny, zawartość węgla organicznego, zawartość materii organicznej, pH, wilgotność, całkowita zawartość Cr). Pozostałą część zamrożono w temp. -18°C , aby zapobiec zmianom oryginalnej specjacji chromu. Całkowita zawartość chromu w niektórych próbkach przekraczała dopuszczalne stężenia tego pierwiastka dla gruntów rolniczych (RMŚ z dn. 9 września 2002r).

Do wydzielania form chromu z gleb zanieczyszczonych zastosować 0,1 mol/L roztwór Na_2CO_3 oraz 0,43 mol/L CH_3COOH . Ekstrakcję chromu z gleby przeprowadzić w łaźni ultradźwiękowej zgodnie z następującą procedurą.

Do probówek szklanych odważyć po 1 g gleby i zalać 50 mL 0,1 mol/L roztworu Na_2CO_3 o pH=9,5 (trzy równoległe próbki) lub 50 mL 0,43 mol/L roztworu CH_3COOH (trzy równoległe próbki). Probówki umieścić w statywie i wstawić do łaźni ultradźwiękowej. Ekstrakcję gleby prowadzić przy mocy ultradźwięków 100% przez 45 min w temperaturze ok. 30°C . Temperaturę w łaźni utrzymywać poprzez wymianę wody po każdym 10-15 minutowym cyklu. Otrzymane ekstrakty odwirować przez 15 minut z prędkością 3000 obrotów na minutę. Roztwór z nad osadu przenieść do 40 mL pojemników polietylenowych i szczelnie zamknąć. Przygotowywane ekstrakty przechować w lodówce w temperaturze około 5°C . Wszystkie ekstrakty przefiltrować przed analizą i odpowiednio rozcieńczyć.

W celu zbadania poprawności metody w analogiczny sposób przeprowadzić ekstrakcję Cr(VI) z certyfikowanego materiału odniesienia CRM 060-gleby z certyfikowaną zawartością formy Cr(VI).





Spektrofotometryczne oznaczenie jonów chromu(VI) z difenylokarbazydem

Odczynniki :

Roztwór wzorcowy jonów Cr(VI) o stężeniu 200 $\mu\text{g/mL}$.

Roztwór roboczy jonów Cr(VI) o stężeniu 10 $\mu\text{g/mL}$ sporządzić przez rozcieńczenie 10 mL roztworu wzorcowego do objętości 200 mL.

Roztwór difenylokarbazydu o stężeniu 0,2% przygotowano przez rozpuszczenie 0,1 g związku w 50,0 mL acetonu z dodatkiem 0,5 mL HNO_3 (1+9).

Roztwór HNO_3 o stężeniu 1 mol/L.

Przygotowanie wykresu wzorcowego

1. Do kolejnych kolbek miarowych o pojemności 50 mL odmierzyć pipetą 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 i 3,5 mL roztworu wzorcowego Cr(VI) o stężeniu 10 $\mu\text{g/mL}$.
2. Do każdego roztworu dodać 5 mL 1 mol/L HNO_3 , a następnie 1,0 mL difenylokarbazydu. Rozcieńczyć wodą destylowaną do kreski.
3. Pomiary absorbancji wykonać przy długości fali $\lambda = 540$ nm względem wody jako odnośnika i grubości warstwy $l = 1$ cm.
4. Wykreślić zależność $A = f(c)$.

Oznaczenie chromu(VI) w otrzymanych ekstraktach gleby

1. Odpowiednio rozcieńczyć ekstrakty gleby w kolbie miarowej o poj. 100 mL.
2. Do dwóch kolbek miarowych o poj. 50 mL pobrać po 1 mL rozcieńczonego ekstraktu gleby, dodać 5 mL 1 mol/L HNO_3 , a następnie 1,0 mL difenylokarbazydu. Rozcieńczyć wodą destylowaną do kreski.
3. Wykonać pomiary absorbancji przy długości fali $\lambda = 540$ nm względem wody jako odnośnika i grubości warstwy $l = 1$ cm.
4. Korzystając z krzywej wzorcowej odczytać stężenie jonów Cr(VI) w badanych roztworach i przeliczyć na ich zawartość w glebie pobranej do ekstrakcji.

Sprawozdanie:

W opisie należy umieścić wykres wzorcowy Cr(VI) oraz wyniki oznaczania Cr(VI) w otrzymanych ekstraktach gleby. Należy porównać zawartości Cr(VI) wyekstrahowane z gleby oraz materiału odniesienia CRM-060 roztworami 0,1 mol/L Na_2CO_3 oraz 0,43 mol/L CH_3COOH i na tej podstawie ocenić moc ekstrakcyjną zastosowanych roztworów. Porównać otrzymane wyniki z danymi literaturowymi i ocenić zanieczyszczenie gleby formą Cr(VI).





Wymagania

1. Metale ciężkie w glebie. Wpływ różnych czynników na mobilność metali w glebie.
2. Źródła i skutki zanieczyszczenia gleby chromem. Toksyczność chromu.
3. Metody ekstrakcji formy Cr(VI) z gleby i stosowane ekstrahenty.
4. Oznaczanie spektrofotometryczne Cr(VI).

Literatura

1. D. Barałkiewicz, E. Bulska, Specjacja chemiczna - problemy i możliwości, Wydawnictwo Malamut, Warszawa 2009
2. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi. Dziennik Ustaw Nr 165 Poz. 1359
3. Z. Marczenko, M. Balcerzak, Spektrofotometryczne metody w analizie nieorganicznej, PWN Warszawa, 1998
4. A. Ociepa - Kubicka, E. Ociepa, Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi, Inżynieria i Ochrona Środowiska 15 (2012) 170 - 180.
5. B. Leśniewska, M. Gontarska, B. Godlewska-Żyłkiewicz, Selective separation of chromium species from soil by single-step extraction methods: a critical appraisal, Water, Air and Soil Pollution, 2017, 228:274.



ANALIZA LOTNYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH WYDZIELANYCH DO ATMOSFERY PRZEZ ROŚLINY METODĄ GC-MS

UWAGA!!!

Na zajęcia studenci przynoszą materiał badawczy – świeże igliwie drzew iglastych: sosny, świerku lub jodły, ok. 5 g

Wprowadzenie

Świat roślinny emituje do atmosfery ponad miliard ton niemetanowych lotnych związków organicznych i jest głównym źródłem niemetanowych LZO, których całkowita roczna emisja naturalna i antropogeniczna kształtuje się na poziomie 1,3 mld ton. Badania składu LZO emitowanych przez rośliny do atmosfery rozpoczęły się w latach 60-tych XX wieku. Wykazały one, że skład wydzielanych związków jest charakterystyczny dla określonego gatunku, a także zależy od różnych czynników o charakterze wewnętrznym, takich jak wiek rośliny, uszkodzenia, infekcje oraz czynników o charakterze zewnętrznym, czyli ogólnie pojętych warunków życia rośliny. Rośliny emitują do atmosfery przede wszystkim dużą grupę związków organicznych, zawierających w cząsteczce od 1 do 15 atomów węgla i charakteryzujących się bardzo różną strukturą. Związki chemiczne emitowane do atmosfery przez niektóre rośliny leśne podano w tabeli 1. Ponad 75% związków wprowadzanych do atmosfery przez rośliny stanowią związki terpenowe produkowane przede wszystkim przez drzewa iglaste. W grupie związków terpenowych rozróżniamy węglowodory o wzorach sumarycznych $C_{10}H_{16}$ i $C_{15}H_{24}$ oraz ich tlenowe pochodne. Również rośliny z grup drzew liściastych, roślin uprawnych oraz innych wydzielają pewną, niewielką ilość substancji terpenowych. Inne związki z grupy LZO emitowane przez te rośliny to m.in. izopren, węglowodory alifatyczne i aromatyczne, alkohole, aldehydy i ketony alifatyczne, furany oraz chlorowcopochodne węglowodorów alifatycznych.

Wydzielane przez rośliny lotne związki organiczne uczestniczą w reakcjach fotochemicznych oraz mają wpływ na kształtowanie utleniających właściwości atmosfery. Jeżeli stężenia zanieczyszczeń antropogenicznych w atmosferze są znaczne, wówczas np. monoterpény reagują z nimi a ostatecznymi produktami reakcji są ozon, nadtlenuk wodoru, nadtlenuki organiczne. Uważa się, że za degradację ekosystemów leśnych w Europie Środkowej i Wschodniej odpowiedzialne są fotochemiczne reakcje zachodzące pomiędzy tlenkami azotu i siarki a terpenami i izoprenem emitowanymi przez rośliny.




Tabela 1. Skład LZO wydzielanych przez niektóre gatunki drzew leśnych

Związek	Gatunek rośliny	Związek	Gatunek rośliny
Metan	1	Cyklofenchen	8-10,15
Etan	1	Bornylen	8-17
Propan	1	Tricyklen	7-10
n-Butan	1	α -Tujen	9,10,13,17
2-Metylobutan	1-8,12,18	α -Pinen	9-13,18,19
n-Pentan	1-9	β -Pinen	3-11,15,18,19
Etylen	1	δ -Fenchen	8,10,12
Propylen	1,8,9	ϵ -Fenchen	9-12
Butylen	1-12,15,16,18	α -Fenchen	7-17
Penten	1,2,5-9,13-15	β -Fenchen	7,10,12
Nonen	1,6,11,16	Kamfen	3-17,19
Izopren	1-17	Sabinen	12
2,3-Dimetylobutadien	8,13,14	Mircen	7-19
p-Cymen	7-17	3-Karen	7-18
Etanol	3-5,10,12-19	α -Felandren	3,8-11
Propanol	3,4	β -Felandren	8-11,14,18,19
3-Heksen-1-ol	1,2,5,7,8	α -Terpinen	8-10,17
Acetaldehyd	1,3,18	β -Terpinen	3,8-10,13-15
Propanal	2,22	γ -Terpinen	9,13-15,17
Izobutanal	16	Limonen	3,7-19
Krotonal	17,18	Terpinolen	9-17
α -Metyloakroleina	1-4,7,9,18	Longifolen	9
Benzaldehyd	16,18	Kariofilen	9
Aceton	1-19	α -Muurolen	9
2-Butanon	8,13-15,18	ϵ -Muurolen	9
2-Buten-2-on	6,18	β -Humulen	9
2-Pentanon	6,8,15,19	β -Bizabolen	9
3-Pentanon	5,7-10,15-19	Izofenchon	9,16
Octan etylu	9	Fenchon	9,16
Octan 3-heksen-1-olu	1,4-8	Fenchol	9
Maślan metylu	14	γ -Terpineol	9
Kapronian metylu	14	Izoborneol	9
2-Metylofuran	1-5,12,13,18	Borneol	7-11
3-Metylofuran	1-5,12,13,18	Kamfora	8
Furan	6,18	Octan bornylu	7-11
Winylofuran	1,2,4,8	Octan terpinylu	9
Chloroform	16	Mentan	14
Oktanon	19	Santen	8,11
2-Metylobutan-3-on	18	2-Metylo-1-buten-3-on	18

1 – wierzba iwa, 2 - osika, 3 - topola balsamiczna, 4 - dąb szypułkowy, 5 – brzoza brodawkowata, 6 – jarzębina, 7 – modrzew syberyjski, 8 – świerk europejski, 9 - sosna zwyczajna, 10 – sosna syberyjska, 11 – jodła syberyjska, 12 – jałowiec pospolity, 13 – jałowiec perski, 14 – jałowiec wirgilijski, 15 – cyprys wiecznie zielony, 16 – żywotnik zachodni, 17 – żywotnik wschodni, 18 – klon biały, 19 – jesion.





Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest zapoznanie się ze składem i wielkością biogenicznej emisji lotnych związków organicznych oraz z metodyką oznaczania i identyfikacji roślinnych LZO.

Zakres materiału naukowego

1. LZO – reakcje w atmosferze, wpływ na organizmy żywe.
2. Schemat i zasada działania chromatografu gazowego. Analiza jakościowa w chromatografii gazowej. Wykorzystanie danych retencyjnych i zależności między nimi. Zastosowanie indeksów retencji. Istota rozdzielania chromatograficznego.
3. Zasada mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME). Budowa urządzenia do SPME. Parametry wpływające na efektywność wydzielania związków w SPME. Rodzaje faz stacjonarnych stosowanych w analizie związków organicznych.
4. Połączenie SPME z technikami rozdzielczymi.

Literatura

1. Z. Witkiewicz, J. Kałużna-Czaplińska, Podstawy chromatografii i technik elektromigracyjnych, WNT, Warszawa 2012.
2. Rozdział: Ekstrakcja w układzie ciecz-ciało stałe, P. Stepnowski, E. Synak, B. Szafranek, Z. Kaczyński, Techniki separacyjne, Wydawnictwo UG, Gdańsk 2010 (dostępne online).
3. Rozdział: Oznaczanie lotnych związków organicznych za pomocą chromatograficznych technik sprzężonych, B. Buszewski, T. Ligor, A. Ulanowska. Praca zbiorowa pod redakcją Ireny Baranowskiej, Analiza śladowa, zastosowania, Malamut, Warszawa 2013.

Sprzęt i materiał badawczy

1. Chromatograf gazowy Agilent Technologies z detektorem MS i kolumną kapilarną HP-5MS (95% metylopolisiloksanu z 5% grup fenyłowych) 30 m x 0,25 mm, 25µm film fazy stacjonarnej, Sprężone gazy: hel;
2. Urządzenie i włókna do SPME: pokryte 100 µm warstwą polidimetylosiloksanu (PDMS);
3. Mieszadło magnetyczne z płytką grzejącą;
4. Fiolka chromatograficzna o poj. 15 mL;
5. Nożyczki;
6. Materiał badawczy – świeże igliwie drzew iglastych: sosny, świerku lub jodły, ok. 5 g (przynoszą studenci).
7. Roztwór mieszaniny *n*-alkanów C₇–C₁₆ w *n*-heksanie oraz heksan do płukania strzykawki.



Sposób wykonania

1. Izolacja związków z materiału roślinnego

Niewielką ilość materiału (igliwie) rozdrobnić na kawałki o długości od 0,5 do 1 cm, odważyć 1,5 g materiału i umieścić w fiolce o pojemności 15 mL zamykanej septą. Fiolkę zanurzyć w łaźni o temperaturze 40°C, przez septę wprowadzić igłę urządzenia do SPME z włóknem PDMS 100. Włókno ekstrakcyjne wprowadzić do fazy nadpowierzchniowej nad próbką na 30 minut. Bezpośrednio po zakończeniu procesu pobierania próbki włókno wprowadzić do portu nastrzykowego chromatografu gazowego i przeprowadzić termodesorpcję i analizę zaabsorbowanych analitów.

2. Warunki analizy chromatograficznej

Po zakończeniu procesu mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej przeprowadza się analizę chromatograficzną przy użyciu chromatografu HP 6890 z detektorem mas MS 5973 firmy Agilent Technologies w następujących warunkach:

- kolumna HP-5Ms (metylofenylosiloksanowa): 30 m x 0,25 mm x 25 µm,
- temperatura dozownika: 250°C;
- temperatura detektora: 250°C;
- przepływ gazu nośnego 1mL/min, bez podziału strumienia;
- prąd jonizacji 70 eV;
- temperatura źródła jonów 280°C;
- temperatura kwadrupola 150 °C;
- skanowanie w zakresie od 27 do 600 amu;
- czas termodesorpcji: 15 min.,
- program temperaturowy od 37°C (3 min.) do 150°C z szybkością nagrzewania 5°C/min.

3. Analiza mieszaniny wzorców n-alkanów

1 µl roztworu n-alkanów poddać analizie w takich samych warunkach jak związki zatrzymane na włóknach. Czasy retencji alkanów uzyskane podczas analizy posłużą do wyznaczenia indeksów retencji LZO wyizolowanych z próbek roślin.





4. Identyfikacja związków

Przeprowadzić komputerowe porównanie widm mas wyznaczonych podczas analiz z widmami w bazie danych. Dla każdego z pików wybrać pięć związków o widmie najbardziej podobnym do zarejestrowanego. Dla każdego z wybranych związków podać wartość indeksu retencji na podstawie bazy danych identyfikacyjnych Zakładu Chemii Środowiska.

Indeksy retencji wykrytych związków obliczyć ze wzoru na arytmetyczny indeks retencji van Den Doola i Kratza:

$$RI = 100 \times n + 100 \times \frac{(t_x - t_n)}{(t_{n+1} - t_n)}$$

gdzie:

t_n , t_{n+1} , t_x – niezredukowane czasy retencji wzorcowych n-alkanów o liczbach atomów n i n+1, oraz badanego związku x. Wielkości te powinny spełniać następującą zależność: $t_n < t_x < t_{n+1}$.

Na podstawie indeksu retencji dokonać ostatecznej identyfikacji związków.

Opracowanie wyników

W sprawozdaniu podać krótki opis wykonanych czynności oraz wyniki przeprowadzonej identyfikacji w postaci tabelaryzowanej, obejmujące nazwę związku, numer CAS związku, indeks retencji eksperymentalny i literaturowy, trzy główne piki z widma mas, pole powierzchni pod pikiem, względną (procentową) zawartość związku w stosunku do całej emisji LZO przez roślinę oraz wskaź grupę związków do której należy zidentyfikowana substancja.

Lp.	Nazwa związku	Numer CAS	Czas retencji t_r	Indeks retencji $IR_{exp.}$	Indeks retencji $IR_{lit.}$	3 główne piki m/z	Pole powierzchni pod pikiem	Procentowa zawartość [%]	Grupa związków
1									
2									
3									
4									
5									
6									



CHROMATOGRAFICZNE OZNACZANIE NIKOTYNY W DYMIE PAPIEROSOWYM

Wprowadzenie

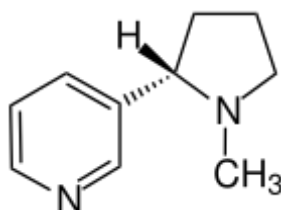
Palenie tytoniu należy do najważniejszych czynników sprzyjających powstawaniu chorób układu krążenia, układu oddechowego i nowotworów. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) podała, że w 2005 roku odnotowano 5,4 mln zgonów z powodu chorób odtytoniowych oraz przewiduje, że w 2030 roku liczba ta wzrośnie do 8,3 mln. Istnieje zatem ciągła potrzeba monitorowania aktywnych jak i biernych palaczy, czyli osób narażonych na środowiskowy dym tytoniowy (ETS, *environmentaltobaccosmoke*).

Dym tytoniowy powstaje w wyniku niecałkowitego spalania tytoniu i zachodzących w tym czasie reakcji pirolizy, pirosyntezy i destylacji. Wyróżnia się główny strumień dymu (MS, *mainstream smoke*) oraz strumień boczny (SS, *sidestreamsmoke*) powstający w przerwach między zaciąganiem. Osoby niepalące są narażone na ETS, który jest sumą głównego (20–4%) i bocznego strumienia dymu (80–96%).

Skład jakościowy dymu tytoniowego jest bardzo złożony. Stanowi go ok. 4000 związków chemicznych i kilkaset substancji, których dotąd nie zidentyfikowano. Jest on mieszaniną składającą się z fazy gazowej i cząstkowej. Faza gazowa głównego strumienia dymu składa się m.in. z: azotu i jego tlenków, tlenu i dwutlenku węgla, amoniaku, cyjanowodoru, węglowodorów, ketonów, amin, zasad organicznych, lotnych N-nitrozoamin, nikotyny, kotyniny i wolnych rodników. Główny składnik fazy cząstkowej stanowią alkaloidy pirydynowe, gdzie największy swój udział ma nikotyna, której zawartość wynosi 85–90% ogólnej masy alkaloidów, co stanowi od 0,004 do 0,02 mg/mL. Pozostałe składniki to: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, fenole, alkohole, kwasy organiczne, fitosterole, składniki nieorganiczne (potas, wapń, nikiel, ołów, selen, kadm, cynk), pierwiastki promieniotwórcze, N-nitrozoaminy swoiste dla tytoniu i wolne rodniki.

Nikotyna została po raz pierwszy wyizolowana w 1828 roku, jej chemiczna budowa została odkryta w 1843 roku, zaś otrzymana po raz pierwszy w 1904 roku. Nikotyna to organiczny związek chemiczny w grupy alkaloidów pirydynowych. Zbudowana jest z dwóch pierścieni heterocyklicznych: pirydiny i pirolidyny (rys. 1). Nazwa nikotyny pochodzi od francuskiego lekarza Jeana Nicota, który w XVI wieku zalecał tytoń jako lek.





Rys. 1. Wzór strukturalny nikotyny

Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest wykonanie analizy ilościowej nikotyny w dymie tytoniowym oraz zapoznanie się z aspirometryczną techniką przygotowania próbki i oznaczenia techniką chromatograficzną.

Zakres materiału naukowego

1. Nikotyna: budowa chemiczna, działanie na organizm.
2. Dym tytoniowy: pojęcie, skład chemiczny.
3. Metoda aspiracyjna pobierania próbek gazowych.
4. Budowa i zasada działania spektrometru mas (MS). Rodzaje jonizacji w MS. Połączenie chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GC-MS). Analiza ilościowa w GC-MS.

Literatura

1. Z. Witkiewicz, J. Kałużna-Czaplińska, Podstawy chromatografii i technik elektromigracyjnych, WNT, Warszawa 2012.
2. Rozdział: Połączenie chromatografii ze spektrometrią mas, P. Stepnowski, E. Synak, B. Szafrank, Z. Kaczyński, Techniki separacyjne, Wydawnictwo UG, Gdańsk 2010 (dostępne online).

Sprzęt i materiał badawczy

1. Chromatograf gazowy Agilent Technologies z detektorem MS i kolumną kapilarną HP-5MS (95% metylopolisiloksanu z 5% grup fenylowych) 30 m x 0,25 mm, 25µm film fazy stacjonarnej, Sprężone gazy: hel;
2. Wyparka rotacyjna;
3. Zestaw do aspirometrycznego pobierania próbek: aspirator bądź pompka elektryczna, płuczka z nasadką, gumowe węże do łączenia, lufka;
4. Kolba okrągłodenna o poj. 100 mL;
5. Kolby miarowe o poj. 10 mL – 6 szt.;





6. Pipeta jednomiarowa o poj. 50 mL;
7. Pipeta wielomiarowa o poj. 5 mL;
8. Fiolki chromatograficzne o poj. 2 mL – 6 szt.;
9. Nikotyna, cz.d.a.;
10. Heksan o czystości chromatograficznej;
11. Materiał badawczy – papieros.

Sposób wykonania

1. Izolacja nikotyny z papierosa

Odmierzyć pipetą jednomiarową 50 mL heksanu i przenieść do płuczki. Następnie zmontować zestaw do aspirometrycznego pobierania analitów znajdujących się w dymie tytoniowym. Etap izolacji analitów prowadzić do momentu wypalenia całego papierosa. Roztwór z płuczki przenieść do kolby okrągłodennej i odparować do sucha na wyparce rotacyjnej. Następnie otrzymaną suchą pozostałość rozpuścić w 1 mL heksanu, przenieść do fiolki chromatograficznej i poddać analizie GC-MS.

2. Oznaczanie nikotyny w papierosie

a) Sporządzenie krzywej wzorcowej nikotyny

W kolbie miarowej o pojemności 10 mL przygotować roztwór podstawowy nikotyny o stężeniu 1 mg/mL.

Ze sporządzonego roztworu podstawowego przygotować roztwory wzorcowe nikotyny o następujących stężeniach: 0,004, 0,01; 0,015 i 0,02 mg/mL w kolbach miarowych o pojemności 10 mL. W fiolkach chromatograficznych umieścić ok. 1 mL roztworów wzorcowych i poddać analizie GC-MS.

b) Analiza chromatograficzna

Analizę chromatograficzną przy użyciu chromatografu HP 6890 z detektorem mas MS 5973 firmy Agilent Technologies przeprowadzić w następujących warunkach:

- kolumna HP-5Ms (metylofenylosiloksanowa): 30 m x 0,25 mm x 25 μ m,
- temperatura dozownika: 250°C;
- temperatura detektora: 250°C;
- przepływ gazu nośnego 1 mL/min, bez podziału strumienia;
- prąd jonizacji 70 eV;
- temperatura źródła jonów 280°C;





- temperatura kwadrupola 150 °C;
- skanowanie w zakresie od 27 do 600 amu;
- odcięcie rozpuszczalnika: 5 minut;
- program temperaturowy: temperatura początkowa pieca 70°C, narost 5°C/min do 130°C, narost 20°C/min do temperatury 280°C.

Opracowanie wyników

1. W oparciu o uzyskane pola powierzchni i krzywej wzorcowej obliczyć stężenie nikotyny w dymie tytoniowym.
2. Zamieścić chromatogram przeprowadzonej analizy.



OZNACZANIE ŻELAZA W WODACH NATURALNYCH METODĄ ATOMOWEJ SPEKTROMETRII ABSORPCYJNEJ PO WSTĘPNYM WZBOGACANIU TECHNIKĄ EKSTRAKCJI DO FAZY STAŁEJ

Związki żelaza są pospolitymi domieszkami wód naturalnych, zwłaszcza wód podziemnych. Rozpuszczanie minerałów w wodach podziemnych zachodzi na skutek hydrolizy i działania agresywnego dwutlenku węgla rozpuszczonego w wodzie. W żelazo zasobne są zasadowe skały magmowe oraz ilaste skały osadowe, np. piryt. Źródłem żelaza w wodach naturalnych są ponadto ścieki i odpady przemysłowe oraz korozja rurociągów, zbiorników i innych urządzeń żelaznych. Znaczne ilości żelaza występują w wodach z kopalni i ściekach z zakładów wzbogacania rud lub zakładów chemicznych.

W wodach naturalnych żelazo występuje w różnych stężeniach od ilości śladowych do kilku mg L^{-1} . Czasami spotyka się wody o zawartości kilkunastu, a nawet kilkudziesięciu mg L^{-1} , szczególnie w obecności związków organicznych, amoniaku i CO_2 . Wody powierzchniowe zawierają żelazo w setnych i dziesiątych częściach mg L^{-1} , wody podziemne mają go do 10 mg L^{-1} , wody mineralne około 1 mg L^{-1} , czasem powyżej 10 mg L^{-1} (są to wody żelaziste). Bogate w żelazo są także wody towarzyszące pokładom alunów, łupków pirytowych i siarczkowych rud oraz wody pochodzące z torfowisk i wody bagienne. W wodzie morskiej stężenie żelaza wynosi około $0,01 - 0,02 \text{ mg L}^{-1}$.

Wody o dużej zawartości żelaza mają odczyn kwaśny, gdyż zawarte w nich żelazo występuje w postaci humusów (sole kwasów humusowych) i siarczanów żelaza. W wodach podziemnych żelazo występuje w postaci $\text{Fe}(\text{HCO}_3)_2$. Podwyższona zawartość żelaza w wodach powierzchniowych może wpływać na wzrost zużycia tlenu rozpuszczonego tj. wzrost deficytu tlenu w wodzie, oraz zwiększać ilość zawiesin w wodzie wskutek wytrącania się wodorotlenku żelaza, co powoduje mętnienie i brunatnienie wód. Atramentowy i metaliczny smak wody wyczuwany jest przy stężeniu żelaza powyżej $0,5 \text{ mg L}^{-1}$. Dopuszczalne stężenie żelaza w wodzie do picia i na potrzeby gospodarcze nie może przekraczać $0,5 \text{ mg L}^{-1}$.



I. Wybór parametrów pomiarowych i przygotowanie krzywej wzorcowej

1. Z roztworu roboczego żelaza o stężeniu $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (ppm) przygotować następujące roztwory wzorcowe w $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$:

- w kolbach na 100 mL roztwory żelaza o stężeniach: $0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, $1 \mu\text{g mL}^{-1}$
- w kolbach na 50 mL roztwory żelaza o stężeniach: $0 \mu\text{g mL}^{-1}$ (ślepa próba), $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, $5 \mu\text{g mL}^{-1}$, $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $15 \mu\text{g mL}^{-1}$.

2. Zarejestrować absorpcję roztworu żelaza o stężeniu $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ przy długości fali 247,7 nm. Następnie zbadać wpływ wysokości obserwacji nad palnikiem oraz przepływu gazów powietrze – C_2H_2 na wysokość absorbancji żelaza. Na podstawie wykresów przedstawiających zależność wartości sygnału analitycznego od każdego z badanych parametrów wybrać optymalne warunki oznaczania żelaza.

W wybranych warunkach zarejestrować absorpcję żelaza w przygotowanych roztworach wzorców stosując jako odczynnik w $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$. Przedstawić wykresy wzorcowe żelaza jako wartości absorbancji w funkcji stężenia żelaza.

II. Przygotowanie próbki wody do zatężania

Pobrana próbkę wody (~ 200 mL) przesączyć, a następnie zakwasić kwasem azotowym do pH około 0,7 i podzielić na 3 porcje o objętości 50 mL.

III. Wzbogacanie żelaza

W celu zatężenia żelaza przygotowane roztwory wzorcowe żelaza o stężeniach: $0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ oraz przygotowane 3 próbki wody o objętości 50 mL należy przepuścić przez kolumnę SPE zawierającą jako wypełnienie silny kationit Dowex 50Wx8.

Procedura wzbogacania:

- Oczyszczanie kolumny: przez wypełnienie należy przepuścić ok. 10 mL $4 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$, a następnie przemyć kolumnę wodą destylowaną do uzyskania odczynu obojętnego.
- Zatężanie: do 3 zlewek odmierzyć po 50 mL badanego roztworu, a następnie za pomocą pipet Pasteura przepuszczać przez kolumny z prędkością nie większą niż 3 mL min^{-1} .
- Wymywanie żelaza z kolumny: przez kolumnę należy przepuścić 5 mL $3 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$. Eluat należy zebrać do kolbek na 5 mL.





- W celu przygotowania kolumn do kolejnego etapu zateżania kolumny należy oczyścić czyli powtórzyć pierwszy punkt w procesie zateżania.

IV. Oznaczanie analitu w wodzie

Zarejestrować absorbancję roztworów wzorcowych żelaza oraz wody powierzchniowej (eluatów z kolumny) poddanych procedurze wzbogacania. Porównać nachylenie krzywej wzorcowej przygotowanej bezpośrednio i po zateżaniu. Z krzywej wzorcowej po zateżaniu wyznaczyć stężenie żelaza w badanych próbkach. Przy obliczeniach stężenia żelaza w wodzie należy pamiętać o zmianie objętości roztworu.

Wymagania

1. Metody wzbogacania związków nieorganicznych i organicznych w próbkach środowiskowych.
2. Zastosowanie jonitów w praktyce analitycznej.
3. Metody pobierania i przygotowywania próbek wody do analizy.
4. Formy występowania oraz przemiany żelaza i jego związków w wodach naturalnych.
5. Podstawy techniki atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją elektrotermiczną.

Literatura

1. J. Minczewski, Z. Marczenko, Analiza instrumentalna t. III, PWN, Warszawa
2. J. Namieśnik, Z. Jamrógiewicz, M. Pilarczyk, L. Torres, Przygotowanie próbek środowiskowych do analizy, WNT, Warszawa 2000
3. E. Gomółka, A. Szaynok, Chemia wody i powietrza, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1997.
4. Z. Sadowski, Biogeochemia żelaza i manganu, Wiad. Chem. 51 (1997) 757.
5. W. Żyrnicki, J. Borkowska-Burnecka, E. Bulska, E. Szmyd, Metody analitycznej spektrometrii atomowej - teoria i praktyka, Wydawnictwo Malamut 2010

