Analiza środowiskowa, żywności i leków, 03CHE1-25S302O04359L

Ćwiczenie 2: Oznaczanie ortofosforanów rozpuszczonych metodą kolorymetryczną
(wg: PN-EN ISO 6878:2006, PN-EN ISO 6878:2006 + Ap1:2010, PN-EN ISO 6878:2006 + Ap2:2010 [1])

Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest oznaczenie zawartości rozpuszczonych ortofosforanów w próbkach wody metodą spektrofotometryczną z wykorzystaniem reakcji tworzenia błękitu fosforomolibdenowego. W ramach ćwiczenia zostanie wykonana kalibracja metody, oznaczenie ortofosforanów w próbkach środowiskowych oraz podstawowa kontrola jakości uzyskanych wyników. Ponadto zostanie porównana skuteczność wybranych związków glinu, żelaza i wapnia w usuwaniu fosforanów z roztworu.

WPROWADZENIE

[na podstawie: 2 - 5]

Fosfor występujący w postaci różnych związków należy do naturalnych składników wód powierzchniowych. Rodzaj i ilość występujących w wodzie połączeń fosforu zależą od ich pochodzenia oraz złożonych przemian, którym one ulegają w wodzie.
Występujący w wodach naturalnych fosfor może pochodzić z rozkładu substancji organicznych pochodzenia roślinnego i zwierzęcego, z gleb nawożonych nawozami fosforowymi oraz ze ścieków. Źródłem związków fosforu przenikających do wód ze ścieków są ścieki przemysłowe (*wody zużyte w procesach technologicznych i wody chłodnicze np. z zakładów produkujących nawozy sztuczne, zapałki i syntetyczne środki piorące, kopalniane wody dołowe*), ścieki bytowo-gospodarcze (*wody zużyte w gospodarstwach domowych*) oraz ścieki z rolnictwa (*pochodzące z intensywnej hodowli bydła i trzody chlewnej*). Znaczne ilości fosforu przenikają do wód powierzchniowych poprzez wody opadowe, które spłukują (*tzw. spływ powierzchniowy*) oraz wypłukują zanieczyszczenia z terenu, po którym opady spływają. Fosfor występuje w wodzie i ściekach w formie rozpuszczonej, w postaci koloidów i zawiesin. Związki fosforu zawarte w wodzie i ściekach dzieli się na trzy główne grupy: ortofosforany, polifosforany (*stanowiące główny składnik syntetycznych środków piorących*) i fosfor związany organicznie (*wchodzący w skład komórek organizmów, wirusów, witamin, dostających się do środowiska w czasie rozkładu organizmów żywych i wydalin tych organizmów*). Fosfor ogólny jest sumą trzech wymienionych form fosforu. W wyniku hydrolizy polifosforanów oraz dysocjacji kwasu fosforowego(V) fosfor może występować w postaci różnych jonów i w kompleksach w zależności od pH. W wodach naturalnych o odczynie obojętnym dominują jony HPO_4^{2-} i $H_2PO_4^-$ oraz $H_2P_2O_7^{2-}$ i $HP_2O_7^{3-}$. Chemiczne formy, w których fosforany i polifosforany występują w wodach i ściekach, zależą od składu roztworów, przede wszystkim od odczynu oraz obecności kationów, w szczególności: Ca, Mg, Al, Zn. W wodach powierzchniowych czystych zawartość fosforu mieści się w granicach 0,01 - 0,1 g PO_4^{3-}/m^3. Stężenie związków fosforu w ściekach surowych kształtuje się w granicach od kilkunastu do kilkudziesięciu mg/l. Przenikanie do wód powierzchniowych substancji bogatych w pierwiastki biogenne prowadzi do masowego rozwoju bakterii, glonów i innych roślin, tworząc tzw. zakwity wody. Ten naturalnie przebiegający w przyrodzie proces, przyspieszony nadmiernym wzbogacaniem wód w substancje pokarmowe, nosi nazwę eutrofizacji. Postępująca eutrofizacja zbiorników

wodnych powodowana jest nadmierną ilością związków azotu pochodzących ze ścieków i spływów z powierzchni gleby pozostałości nawozów azotowych oraz związków fosforu pochodzących ze ścieków, nawozów fosforowych i środków ochrony roślin. Ortofosforany występujące w typowych stężeniach środowiskowych nie stanowią zwykle bezpośredniego zagrożenia toksycznego, jednak ich nadmierna obecność w wodach sprzyja eutrofizacji. Przykładowo, 1 g fosforu może spowodować przyrost około 1700 g substancji roślinnej (masy glonów).

Poziom stężenia fosforu w wodach i ściekach może być obniżany przy zastosowaniu chemicznych i biologicznych metod oczyszczania. Związki fosforu występujące w układach koloidalnych mogą być usuwane w procesie koagulacji objętościowej. Inną metodą usuwania fosforu jest wytrącanie trudnorozpuszczalnych osadów fosforanów przy użyciu m.in. jonów wapnia, glinu i żelaza. Nieorganiczne formy fosforu zawarte w ściekach przekształcane są w trudno rozpuszczalne osady fosforanów metali, a jednocześnie w wyniku hydrolizy powstają wodorotlenki metali ($Fe(OH)_3$, $Al(OH)_3$), które wiążą strącone fosforany metali i inne substancje zawieszone w ściekach, w tym również fosfor związany organicznie.
Najczęściej stosowane do tego celu są:
– wapno w postaci CaO lub $Ca(OH)_2$ oraz związki magnezu, np. $Mg(OH)_2$,
– siarczan glinu,
– chlorek żelaza(III),
– siarczan żelaza(II).

Zasada oznaczenia [1, 6]

Oznaczanie jonów fosforanowych metodą błękitu fosforomolibdenowego polega na tworzeniu przez ortofosforany z molibdenianem amonowym w środowisku kwaśnym w obecności jonów antymonu związku kompleksowego, z którego po redukcji kwasem askorbinowym powstaje błękit fosforomolibdenowy. Intensywność powstałego zabarwienia jest proporcjonalna do zawartości ortofosforanów i jest oznaczana spektrofotometrycznie. Absorbancję błękitu fosforomolibdenowego można mierzyć przy długości fali 880 nm; pomiar przy 700 nm jest również możliwy, jednak charakteryzuje się mniejszą czułością. W niniejszym ćwiczeniu pomiary wykonywane są przy długości fali 700 nm.

Jony ortofosforanowe tworzą z molibdenianem amonu w kwaśnym środowisku kwas molibdenofosforanowy $H_3[P(Mo_3O_{10})_4]$ o żółtym zabarwieniu. W wyniku redukcji tego kwasu powstaje błękit fosforomolibdenowy o przybliżonym wzorze $(NH4)_3P(Mo_3O_7)_4$. Do redukcji stosuje się hydrazynę, kwas askorbinowy, chlorek cyny(II), siarczany(IV) i inne reduktory.

W oznaczaniu przeszkadzają: krzemionka w postaci jonowej w stężeniu powyżej 25 mg/l, arseniany(V), duże ilości chlorków, azotany(III), jony Fe(III) powyżej 1 mg/l, jony Fe(II) powyżej 100 mg/l, związki organiczne, mętność, barwa. Wpływ krzemionki można wyeliminować np. przez rozcieńczenie próbki. Wpływ żelaza można usunąć przez odpowiednie rozcieńczenie próbki lub dodanie roztworu wersenianu sodu. Mętność próbki usuwa się przez odwirowanie lub przesączenie roztworu. Wpływ związków organicznych i barwy, w zależności od rodzaju oznaczanych fosforanów, eliminuje się na drodze mineralizacji próbki lub przez odpowiednie rozcieńczenie.

Sposób wyrażania wyniku

Wyniki oznaczenia mogą być wyrażane jako stężenie ortofosforanów (mg PO_4^{3-}/l) lub jako stężenie fosforu zawartego w ortofosforanach (mg P/l). W sprawozdaniu należy każdorazowo jednoznacznie podać, do której postaci odnosi się przedstawiony wynik.

Ogólny schemat wykonania ćwiczenia

W ramach ćwiczenia należy:

1. przygotować roztwory do wykonania krzywej kalibracyjnej;
2. przeprowadzić kalibrację metody oraz wykonać przewidziane oznaczenia kontrolne;
3. przygotować próbki środowiskowe do analizy;
4. oznaczyć zawartość rozpuszczonych ortofosforanów w próbkach metodą spektrofotometryczną;
5. obliczyć stężenie ortofosforanów oraz odpowiadającą mu zawartość fosforu;
6. przeprowadzić doświadczenie dotyczące usuwania fosforanów z roztworu z zastosowaniem wybranych związków glinu, żelaza i wapnia oraz porównać ich skuteczność.

Zakres stosowania procedury [1]

Metodę stosuje się do oznaczania ortofosforanów rozpuszczonych w różnych rodzajach wód, w tym w wodach morskich i odpływach, oraz w ściekach.

W próbkach bez rozcieńczenia można oznaczać stężenie fosforu w zakresie od 0,005 mg/l do 0,8 mg/l, w przeliczeniu na fosfor. W zależności od stosowanej objętości próbki i długości drogi optycznej można dostosować zakres oznaczenia.

Odczynniki, materiały i przygotowanie roztworów:

1. woda do rozcieńczeń
   należy stosować wodę demineralizowaną, po drugim stopniu oczyszczenia;

2. kwas askorbinowy, 10 % roztwór wodny
   rozpuścić 10 g kwasu askorbinowego ($C_6H_8O_6$) w wodzie destylowanej w kolbie o pojemności 100 cm^3, uzupełnić wodą do kreski, wymieszać;

UWAGA: roztwór przechowywany w lodówce, w butelce z ciemnego szkła jest trwały przez dwa tygodnie i może być stosowany dopóki jest bezbarwny;

3. kwas siarkowy, roztwór wodny 1:1 (v:v)
   do zlewki pojemności 500 ml wlać 150 ml wody, następnie bardzo ostrożnie 150 ml stężonego kwasu siarkowego (1,84 g/ml); dokładnie wymieszać i pozostawić roztwór do ostygnięcia; następnie przelać do butelki szklanej i pozostawić do dalszej analizy;

4. odczynnik mieszany

→ 13 % roztwór wodny molibdenianu amonowego
rozpuścić 13 g molibdenianu $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot 4H_2O$ w 100 ml wody destylowanej;

→ 0,35 % roztwór wodny winianu antymonu i potasu
rozpuścić 0,35 g winianu $K(SbO)C_4H_4O_6\cdot 1/2H_2O$ w 100 ml wody destylowanej;

do 300 ml ochłodzonego roztworu kwasu siarkowego (przygotowanego według procedury opisanej w punkcie 3) dodać kolejno: 100 ml roztworu molibdenianu amonowego i 100 ml roztworu winianu antymonylo-potasowego;

UWAGA: odczynnik przechowywany w lodówce w ciemnej butelce jest trwały 2 miesiące;

5. roztwór wzorcowy podstawowy WP_{PO_4} - 1000 mg PO_4^{3-}/l, przygotowany z KH_2PO_4, stosować wzorzec handlowy z certyfikatem laboratorium posiadającego akredytację na ISO/IEC 17025 lub nie gorszy.
6. roztwór wzorcowy roboczy WR_{PO_4} - KH_2PO_4: 1,00 ml = 0,01 mg (PO_4)
   do kolby o pojemności 100,0 ml wprowadzić 1,00 ml roztworu WP_{PO_4}, dopełnić wodą do kreski i wymieszać;

UWAGA: roztwór jest nietrwały; należy go przygotowywać każdorazowo w dniu sporządzania wzorców do kalibracji;

7. roztwór wzorcowy kontrolny WK_{PO_4} - fosforan jednopotasowy (KH_2PO_4)
   przygotować minimum dwa roztwory dokonując odpowiedniego rozcieńczenia roztworu wzorca podstawowego WP_{PO_4}, tak by uzyskać stężenia: 0,03; 0,100; 1,0; 4,0; 50 mg/l;
   w celu przygotowania roztworów wzorcowych kontrolnych należy:

→ odpipetować 30 µl r-ru WP_{PO_4} do kolby 1000 ml; tak uzyskany r-r zawiera 0,030 mg/l (PO_4)
→ odpipetować 100 µl r-ru WP_{PO_4} do kolby 1000 ml; tak uzyskany r-r zawiera 0,100 mg/l (PO_4)
→ odpipetować 0,500 ml r-ru WP_{PO_4} do kolby 500 ml; tak uzyskany r-r zawiera 1,0 mg/l (PO_4)
→ odpipetować 2,00 ml r-ru WP_{PO_4} do kolby 500 ml; tak uzyskany r-r zawiera 4,0 mg/l (PO_4)
→ odpipetować 5,00 ml r-ru WP_{PO_4} do kolby 100 ml; ten r-r zawiera 50,0 mg/l (PO_4);

   następnie, po dokładnym wymieszaniu roztworu, pobrać 5,00 ml tego r-ru do kolby o pojemności 50 ml i uzupełnić do kreski - w przypadku tego roztworu, dalej postępować jak z próbką rozcieńczoną;
   do bieżącej kontroli jakości należy wybrać co najmniej dwa roztwory kontrolne, których stężenia w roztworach pomiarowych mieszczą się w zakresie krzywej kalibracyjnej;
   w razie potrzeby roztwory kontrolne należy odpowiednio rozcieńczyć, uwzględniając zastosowane rozcieńczenie przy opracowywaniu wyników;

UWAGA: roztwory kontrolne przechowywane w lodówce są ważne 1 miesiąc (należy zanotować datę przygotowania roztworów);

8. sączek membranowy o wielkości porów 0,45µm
   stosowane mogą być sączki firmy Whatman nr kat 10406870 lub inne, w tym twardy lub średni sączek bibułowy, dla których potwierdzono, że nie zawierają fosforanów;
9. kwas siarkowy, roztwór o stężeniu: c(H_2SO_4) = 2,00 mol/l
   do zlewki pojemności 1 l wlać 300 ml wody, ciągle mieszając i ochładzając, wlać ostrożnie 110 ml r-ru kwasu siarkowego (przygotowanego według procedury opisanej w punkcie 3.; przenieść ilościowo zawartość zlewki do kolby o pojemności 500,0 ml, a następnie uzupełnić wodą do kreski i dokładnie wymieszać;
10. wodorotlenek sodu, roztwór o stężeniu: c(NaOH) = 2,00 mol/l
    rozpuścić w wodzie 80 g pastylek NaOH, ochłodzić i rozcieńczyć wodą do 1,00 l;
11. roztwór kompensujący mętność i barwę

zmieszać dwie części objętościowe kwasu siarkowego 4,5 mol/l i jedną część objętościową 10% roztworu kwasu askorbinowego; odczynnik przechowywany w chłodziarce,w butelce z brązowego szkła, jest trwały przez kilka tygodni (zmętnienie roztworu świadczy o braku przydatności);

Przed rozpoczęciem ćwiczenia należy wykonać obliczenia potrzebne do przygotowania roztworów opisanych w punktach 12 i 13.

12. roztwór wzorcowy ortofosforanów o stężeniu 1000 mg PO_4/l, przygotowany KH_2PO_4, UWAGA: Obliczyć masę diwodorofosforanu potasu (KH_2PO_4), którą należy odważyć w celu przygotowania 100 ml roztworu wzorcowego o stężeniu 1000 mg PO_4^{3-}/l. W obliczeniach należy uwzględnić udział masowy jonów PO_4^{3-} w KH_2PO_4;
13. roztwór wodorofosforanu(V) amonu o stężeniu ok. 0,85 mmol PO_4^{3-} /l, *UWAGA: proszę obliczyć jaką masę wodorofosforanu(V) amonu należy odważyć, by przygotować 100 ml roztworu wzorca o stężeniu 0,85 mmol/l ze względu na jon PO_4^{3-}*;

Przyrządy pomiarowe i urządzenia pomocnicze

- spektrofotometr UV-Vis o zakresie pomiarowym obejmującym długość fali 700 nm
- kuwety o długości drogi optycznej 1 cm i 5 cm
- zestaw do filtracji
- szkło laboratoryjne: kolby miarowe o pojemności: 1000, 500, 100 i 50ml, zlewki, pipety szklane miarowe lub pipety automatyczne
- waga analityczna
- wytrząsarka laboratoryjna z łaźnią wodną
- wirówka laboratoryjna

WYKONANIE OZNACZENIA:

Przygotowanie szkła laboratoryjnego (patrz załącznik 1, na końcu instrukcji)

Naczynia do pobierania próbek powinny być umyte w zmywarce laboratoryjnej albo myjce ultradźwiękowej i kilkukrotnie przepukane wodą redestylowaną. Naczynia szklane stosowane do przeprowadzania reakcji barwnej myte przy użyciu wody destylowanej należy przepłukiwać okresowo roztworem wodorotlenku sodu (2,00 mol/l), a następnie dokładnie przepłukać wodą.

UWAGA: Do mycia szkła wykorzystywanego podczas oznaczania fosforanów nie należy stosować detergentów zawierających fosforany.

Kalibracja - sporządzenie krzywej kalibracyjnej

Roztwory kalibracyjne sporządzić przez odpowiednie rozcieńczenie roztworu wzorcowego roboczego WR_{PO_4} fosforanu jednopotasowego, tak aby uzyskać prostoliniowy zakres krzywej kalibracji.

Sporządzenie krzywej kalibracyjnej (wzorcowej)

W kolbie o pojemności 100,0 ml przygotować roztwór wzorcowy roboczy (WR_{PO_4}) diwodorofosforanu potasu (KH_2PO_4), o stężeniu 0,010 mg PO_4/ml korzystając z roztworu

wzorcowego podstawowego (WP_{PO_4}) o stężeniu podanym na etykiecie. Roztwór jest nietrwały. Należy go przygotować bezpośrednio przed wykonaniem oznaczenia.

Do sporządzenia krzywej wzorcowej przygotować 8 kolb miarowych o pojemności 50,00 ml.

Do każdej kolby wlać ok 10 ml wody, a następnie wprowadzić do nich odpowiednio: 0,00; 0,100; 0,250; 0,500; 1,0; 2,5; 5,0 i 10,0 ml roztworu wzorcowego roboczego WR_{PO_4} fosforanu jednopotasowego. Do każdego wzorca dodać 2,00 ml odczynnika mieszanego - zawartość kolby wymieszać - a następnie 1,00 ml kwasu askorbinowego - i ponownie wymieszać. Kolby miarowe uzupełnić wodą do objętości 50 ml i wymieszać. Tak sporządzone roztwory zawierają odpowiednio: 0,000; 0,020; 0,050; 0,100; 0,200; 0,500; 1,0; 2,0 mgPO_4/l. Po upływie 10 min od momentu przygotowania roztworów, ale przed upływem 20 min zmierzyć absorbancję barwnego roztworu przy długości fali 700 nm, stosując pierwszy roztwór jako próbkę odniesienia.

Krzywe wzorcowe powinny mieć charakter prostoliniowy i, jeżeli spektrofotometr był zerowany na ślepą próbę wzorca, przechodzić przez początek układu współrzędnych.

Bieżąca kontrola jakości badania

W celu sprawdzenia poprawności przebiegu oznaczenia oraz wiarygodności uzyskiwanych wyników należy wykonać próbę ślepą, oznaczenie próbek kontrolnych oraz oznaczenie powtórzone.

W dniu, w którym wykonuje się badanie próbek, należy przeprowadzić:

→ **<u>badanie próbki ślepej</u>** - należy zarejestrować absorbancję próbki ślepej względem pustego toru pomiarowego spektrofotometru; wykonanie: do kolby o pojemności 50,00 ml wprowadzić ok. 10 ml wody destylowanej, dodać 2,00 ml odczynnika mieszanego oraz 1,00 ml kwasu askorbinowego, uzupełnić kolbę do kreski wodą; dalej z tak przygotowanym roztworem postępować jak z próbką badaną

→ <u>badanie kontrolnych próbek wzorcowych</u>

Należy wykonać oznaczenie co najmniej dwóch roztworów kontrolnych (WK_{PO_4}) o stężeniach mieszczących się w zakresie krzywej kalibracyjnej. Roztwory kontrolne poddać reakcji barwnej i zmierzyć ich absorbancję, postępując tak samo jak w przypadku próbek badanych. Na podstawie krzywej kalibracyjnej wyznaczyć stężenia ortofosforanów w roztworach kontrolnych (mg PO_4^{3-}/l) i porównać je z wartościami nominalnymi.

→ <u>oznaczenie porównawcze z zastosowaniem testu kuwetowego</u>

Dla wybranej próbki środowiskowej należy dodatkowo wykonać oznaczenie ortofosforanów z zastosowaniem komercyjnego testu kuwetowego, zgodnie z instrukcją producenta. Przed wykonaniem oznaczenia należy sprawdzić zakres pomiarowy testu oraz sposób wyrażania wyniku. W razie potrzeby próbkę należy odpowiednio rozcieńczyć, a zastosowane rozcieńczenie uwzględnić w obliczeniach.

Wynik uzyskany z zastosowaniem testu kuwetowego należy porównać z wynikiem otrzymanym metodą błękitu fosforomolibdenowego stosowaną w ćwiczeniu. Jeżeli wyniki są

wyrażone w różnych postaciach, np. jako mg PO_4^{3-}/dm^3 i mg P/dm^3, przed ich porównaniem należy dokonać odpowiedniego przeliczenia.

→ **<u>badanie próbki powtórzonej</u>** - dla jednej z oznaczanych próbek lub próbki kontrolnej wykonać oznaczenie w dwóch powtórzeniach

Przygotowanie próbki środowiskowej do oznaczenia

Próbka na oznaczanie ortofosforanów rozpuszczonych powinna być przesączona w ciągu 4 godzin od pobrania. W przypadku, gdy próbka była schłodzona należy ją ogrzać do temperatury pokojowej przed sączeniem. Próbkę sączy się przez sączek membranowy o wielkości porów wynoszącej 0,45 µm lub sączek bibułowy.
Sposób utrwalania i przechowywania próbek powinien być zgodny z aktualnym, zaakceptowanym „Wykazem metod pobierania, utrwalania, przechowywania i transportu próbek wód i ścieków" (patrz załącznik 1., na końcu instrukcji).

UWAGA: jeżeli pH przesączu próbki badanej nie mieści się w zakresie 3–10, należy je skorygować przy użyciu roztworu NaOH (2,00 mol/l) lub H_2SO_4 (2,00 mol/l).

UWAGA: jeżeli próbka jest mętna i/lub barwna, do próbki analitycznej o wybranej objętości należy dodać 3,00 ml odczynnika kompensującego, a następnie uzupełnić wodą do objętości 50,00 ml i zmierzyć absorbancję. Otrzymaną wartość absorbancji należy odjąć od absorbancji próbki oznaczonej zgodnie z właściwą procedurą.

Oznaczenie ortofosforanów w próbkach środowiskowych

Przed ostatecznym oznaczeniem fosforanów należy dobrać optymalną objętość próbki analitycznej: do kolby miarowej o pojemności 50,00 ml wprowadzić np. 2,00 ml przesączonego roztworu próbki, dodać 2,00 ml tzw. odczynnika mieszanego (wymieszać), dodać 1,00 ml kwasu askorbinowego (wymieszać), a następnie uzupełnić wodą destylowaną do kreski i sprawdzić, czy absorbancja roztworu mieści się w prostoliniowym zakresie krzywej wzorcowej.
Następnie, dla ustalonej objętości próbki, wykonać trzy niezależne oznaczenia według tego samego schematu: do każdej kolby miarowej wprowadzić odpowiednią objętość próbki, dodać 2,00 ml odczynnika mieszanego i wymieszać, następnie dodać 1,00 ml roztworu kwasu askorbinowego, ponownie wymieszać i uzupełnić wodą destylowaną do kreski.

Pomiar absorbancji i obliczenie wyniku

Pomiar absorbancji roztworu barwnego należy wykonać po 10 minut od ostatniego mieszania, ale przed upływem 20 minut przy długości fali 700 nm, stosując roztwór próby zerowej jako odnośnik. Jeżeli absorbancja próbki znajduje się poza zakresem krzywej kalibracyjnej, oznaczenie należy powtórzyć, stosując odpowiednio mniejszą objętość próbki. Przy obliczaniu stężenia należy uwzględnić zastosowane rozcieńczenie.

Końcowy wynik należy podać jako:

- ⇒ stężenie ortofosforanów w mg PO_4^{3-}/l,
- ⇒ stężenie ortofosforanów w mmol/l,
- ⇒ odpowiadające im stężenie fosforu w mg P/l.

Ocena skuteczności usuwania fosforanów z zastosowaniem związków glinu, żelaza i wapnia

Przygotować roztwór wodorofosforanu(V) amonu o stężeniu ok. 0,85 mmol/l. Do czterech probówek z korkiem, oznaczonych jako 0, Al, Fe i Ca, odmierzyć po 10,0 ml przygotowanego roztworu.

Probówkę **0** pozostawić bez dodatku badanego związku. Do pozostałych probówek dodać odpowiednio po ok. 0,500 g:
– $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ – do probówki Al,
– $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ – do probówki Fe,
– $CaCO_3$ – do probówki Ca.

Probówki szczelnie zamknąć i wytrząsać przez 20 min w jednakowych warunkach. Następnie wirować przez 10 min przy prędkości obrotowej 5000 obr./min. Po zakończeniu wirowania nie mieszać ponownie osadu z cieczą nadosadową.

Z każdej probówki pobrać ostrożnie po 0,50 ml klarownej cieczy nadosadowej, nie naruszając osadu, i przenieść do kolb miarowych o pojemności 50,00 ml. Do każdej kolby dodać 2,00 ml odczynnika mieszanego i wymieszać, następnie dodać 1,00 ml 10% roztworu kwasu askorbinowego, ponownie wymieszać i uzupełnić wodą destylowaną do kreski. Zastosowane rozcieńczenie umożliwia wykonanie pomiaru w zakresie krzywej kalibracyjnej.

Po upływie 10 min, lecz przed upływem 20 min od zakończenia reakcji barwnej, zmierzyć absorbancję przy długości fali 700 nm względem próby zerowej.

Obliczyć efektywność usuwania fosforanów osobno dla $AlCl_3 \cdot 6H_2O$, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ i $CaCO_3$. Porównać uzyskane wartości i wskazać, który z badanych związków wykazał największą efektywność usuwania fosforanów w warunkach przeprowadzonego doświadczenia. Efektywność usuwania fosforanów obliczyć ze wzoru:

$$\eta = \frac{c_0 - c}{c_0} \cdot 100\%$$

gdzie: c_0– stężenie fosforanów w roztworze bez dodatku badanego związku (próbka „0”), c– stężenie fosforanów po zastosowaniu badanego związku.

SPRAWOZDANIE powinno zawierać:

1. bardzo krótkie wprowadzenie zawierające cel ćwiczenia;
2. dane eksperymentalne - krótki opis eksperymentów, stężenia stosowanych reagentów i zebrane w opisanych tabelach wyniki **wszystkich** pomiarów i oznaczeń;
3. zachodzące reakcje chemiczne, wykonane (przykładowe) obliczenia, wykres krzywej wzorcowej;
4. tabele z obliczonymi stężeniami ortofosforanów i odpowiadającymi im stężeniami fosforu oraz wyniki efektywności usuwania fosforanów z zastosowaniem związków glinu, żelaza i wapnia; wyniki oznaczeń wykonanych w powtórzeniach należy przedstawić jako wartości średnie wraz z odchyleniem standardowym;
5. wynik oznaczenia ortofosforanów w wybranej próbce środowiskowej z zastosowaniem testu kuwetowego oraz porównanie go z wynikiem uzyskanym metodą błękitu

fosforomolibdenowego; przed porównaniem wyniki należy wyrazić w tych samych jednostkach i w odniesieniu do tej samej postaci analitu; ewentualne różnice między wynikami należy krótko skomentować;

6. podsumowanie i wnioski; we wnioskach wskazać działania i procedury zastosowane podczas wykonywania ćwiczenia w celu kontroli jakości oznaczenia oraz weryfikacji poprawności uzyskanych wyników. (sprawozdania niezawierające tych zagadnień będą oceniane o jedną ocenę niżej).

LITERATURA:

1. PN-EN ISO 6878:2006, PN-EN ISO 6878:2006 + Ap1:2010, PN-EN ISO 6878:2006 + Ap2:2010
2. Klimiuk E., Łebkowska M. *Biotechnologia w ochronie środowiska*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003
3. Hermanowicz W., Dojlido J., Dożańska W., Koziorowski B., Zerbe J., *Fizyczno-chemiczne badania wody i ścieków*, Arkady, Warszawa 1999
4. *Ćwiczenia z chemii środowiska*. Praca zbiorowa pod red. E. Szczepaniec-Cięciak i P. Kościelniaka, Skrypt Uniwersytetu Jagiellońskiego nr. 733 t. 2 i 3, Kraków 1995
5. *Chemia: związki fosforu w chemii, rolnictwie, medycynie i ochronie środowiska*. Praca zbiorowa. Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu 2008 Nr 4 (1204). Wrocław 2008
6. Marczenko Z., Balcerzak M., *Spektrofotometryczne metody w analizie nieorganicznej*, PWN, Warszawa 1998
7. Namieśnik J., Łukasiak J., Jamrógiewicz Z. *Pobieranie próbek środowiskowych do analizy*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1995
8. Konieczka P., Namieśnik J. *Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych,* Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2007

Zakres zagadnień obowiązujących do ćwiczenia

1. Formy występowania fosforu w wodach i ściekach oraz główne źródła związków fosforu w środowisku.
2. Znaczenie fosforu jako pierwiastka biogennego i jego udział w procesie eutrofizacji.
3. Zasada spektrofotometrycznego oznaczania ortofosforanów metodą błękitu fosforomolibdenowego.
4. Substancje przeszkadzające w oznaczeniu oraz sposoby ograniczania ich wpływu.
5. Zasady przygotowania próbki do oznaczania rozpuszczonych ortofosforanów.
6. Krzywa kalibracyjna i zasada wyznaczania stężenia analitu na jej podstawie.
7. Podstawowe elementy kontroli jakości oznaczenia: próba ślepa, próbka kontrolna i oznaczenie powtórzone.
8. Sposoby wyrażania zawartości ortofosforanów i fosforu w próbce.
9. Chemiczne metody usuwania fosforanów z wody z zastosowaniem związków glinu, żelaza i wapnia.

Załącznik 1. Wykaz metod pobierania, utrwalania, przechowywania i transportu próbek wód i ścieków

POBIERANIE, UTRWALANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK WODY [3,7]

Do pobierania próbek wody należy używać butelek szklanych lub z tworzywa sztucznego ze szczelnymi zamknięciami. Materiał, z którego wykonane jest naczynie, nie powinien wpływać na skład chemiczny wody. Naczynie nie powinno zanieczyszczać próbki (np. szkło sodowe może zwiększać zawartość sodu, a szkło borokrzemowe zawartość krzemu). Jego wewnętrzna powierzchnia nie powinna adsorbować oznaczanych substancji. Zalecane są naczynia nieprzezroczyste, np. z ciemnego szkła. Szklane naczynia do pobierania próbek muszą być dokładnie umyte wodą z detergentami niezaweirającymi fosforanówi następnie starannie (kilkakrotnie) wypłukane wodą redestylowaną lub dejonizowaną. Należy pamiętać, że detergenty zawierające fosforany nie mogą być stosowane w przypadku oznaczeń fosforanów. Naczynia polietylenowe należy myć przez napełnienie ich 1M kwasem azotowym lub solnym na 1-2 dni i następnie staranne wypłukanie wodą dejonizowaną. Pobrane próbki wody powinny być natychmiast badane, ponieważ w czasie przechowywania skład chemiczny ulega zmianie. Całkowite napełnienie naczynia pobraną wodą ogranicza wstrząsanie, jakiemu próbka podlega w czasie transportu (dotyczy przede wszystkim roztworów glebowych, wód podziemnych i powierzchniowych). Jeżeli woda nie może być poddana analizie w ciągu doby, to należy przechowywać ją w chłodni w temp. 4-8^{o}C lub też w lodzie. Należy unikać wymrażania próbki, ponieważ może ono spowodować zmiany fizyczne próbki (tworzenie osadów oraz stratę składników gazowych). Przed przeprowadzeniem analizy próbkę należy przesączyć (poza przypadkami, kiedy zalecono odmienną procedurę postępowania). Należy używać sączków membranowych o średnicy porów 0,45µm przemytych przed użyciem wodą redestylowaną lub dejonizowaną. Należy unikać sączków wykonanych z bibuły, gdyż ich stosowanie może przyczynić się do zanieczyszczenia próbek azotem.

Należy pamiętać, że środki utrwalające nie powinny przeszkadzać wykonywaniu oznaczeń. Dodatek środków konserwujących może powodować rozcieńczenie próbek, o czym należy pamiętać przy wykonywaniu analiz i przy obliczaniu wyników. Dlatego zaleca się stosowanie środków utrwalających o dużym stężeniu. Mała objętość dodawanego środka konserwującego pozwala w wielu przypadkach pominąć wpływ rozcieńczenia. Próbki przekazywane do laboratorium wykonującego oznaczenia powinny zawierać etykietę, na której powinno być odnotowane:

1. miejsce pobrania próbki i jej opis
2. datę pobrania próbki

3. rodzaj wstępnej obróbki (próbka przesączona, utrwalona lub nie, w jaki sposób – należy podać stężenie i objętość użytego środka utrwalającego)
4. wyniki wstępnych oznaczeń wykonanych w miejscu poboru próbki (pH, przewodność elektryczną itp.).

W tabeli zamieszczonej na następnej stronie zestawiono szczegóły dotyczące rodzaju naczyń do poboru, objętości próbek, sposobu utrwalenia i czasu przechowywania próbek wód ścieków, w których ma być oznaczny fosfor.

szczegóły dotyczące rodzaju naczyń do poboru, objętości próbek, sposobu utrwalenia i czasu przechowywania [3]

Badany parametr	Rodzaj naczynia do pobierania i przechowywania próbek*	Objętość próbki [ml]	Utrwalanie i warunki temperaturowe transportu/przechowywania	Miejsce wykonania analizy	Dopuszczalny czas przechowywania próbki/analizy	*Uwagi*
fosforany (ortofosforany)	S (zalecane) lub P	200	schłodzenie do temp. 2 do 5 ^{o}C; w ciemności	laboratorium	24 h	*PN-EN ISO 6878:2006 +Ap1:2010+Ap2:2010* próbkę przesączyć i oznaczyć jak najszybciej
Fosfor ogólny metoda spektrofotometryczna	S lub SB lub P		H_2SO_4 lub HNO_3 do pH 1÷2	laboratorium	1 miesiąc	*PN-EN ISO 6878:2006 +Ap1:2010+Ap2*
Fosfor ogólny metoda spektrofotometryczna	P		zamrożenie do temp. poniżej -18^{o}C	laboratorium	6 miesięcy	*PN-EN ISO 5667-3:2018-08*

*S - szkło, SB - szkło borokrzemianowe, P - tworzywo sztuczne (np. polietylen, PTFE (teflon), PVC polichlorek winylu), P