

## Analiza środowiskowa, żywności i leków

CHC023057L

**Ćwiczenie 11:** 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])

### 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 zanieczyszczeń ściekami. Źródłem fosforu/fosforanów przenikających do wód ze ścieków są ścieki przemysłowe (*wody zużyte w procesach technologicznych i wody chłodnicze np. z zakładów produkujących nawozy sztuczne, zapalki i syntetyczne środki piorące, kopalniane wody dolowe*), 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. *splływ 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 (*stanowią około 50-70% fosforu ogólnego*), polifosforany (*stanowiące główny składnik syntetycznych środków piorących*) i fosfor organicznie związany (*wchodzących w skład komórek organizmów, wirusów, witamin, dostających się do środowiska w czasie rozkładu organizmów żywych i wydaliny tych organizmów*). Fosfor ogólny jest sumą trzech wymienionych form fosforu. W wyniku hydrolizy i dysocjacji polifosforanów i 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  $\text{HPO}_4^{2-}$  i  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  oraz  $\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$  i  $\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{3-}$ . 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 waha się w granicach 0,01 - 0,1 g  $\text{PO}_4^{3-}/\text{m}^3$ . Stężenie związków fosforu w ściekach surowych kształtuje się w granicach od kilkunastu do kilkudziesięciu  $\text{mg}/\text{dm}^3$ .

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. Związki fosforu nie są toksyczne, lecz z uwagi na proces asymilacji fosforanów przez mikroorganizmy są czynnikiem powodującym eutrofizację. Przykładowo, 1g fosforu może spowodować przyrost około 1700 g substancji roślinnej (masy glonów).

Poziom stężenia fosforu w wodach i ściekach może być obniżony 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 trudno rozpuszczalnych 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 ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ), które wiążą stracone fosforany metali i inne substancje zawieszane w ściekach, w tym również fosfor związany organicznie.

Najczęściej stosowane do tego celu są:

- wapno w postaci  $\text{CaO}$  lub  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  i  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ,
- siarczan glinu,
- chlorek żelaza(III),
- siarczan żelaza(II).

### Zakres stosowania procedury [1]

Metodę stosuje się do oznaczania ortofosforanów rozpuszczonych we wszystkich rodzajach wód, obejmujących wody morskie i odpływy oraz w ściekach.

W próbkach bez rozcieńczenia można oznaczać stężenie fosforu w zakresie: od 0,04 mg/l do 0,4 mg/l.

### Odczynniki, materiały, roztwory wzorców:

1. woda do rozcieńczeń  
należy stosować wodę demineralizowaną, po drugim stopniu oczyszczenia;
2. kwas askorbinowy, 10 % roztwór wodny  
rozpuścić 10 g kwasu askorbinowego ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ) w wodzie destylowanej w kolbie o pojemności 100  $\text{cm}^3$ , 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 kwasu siarkowego stężonego (1,84 g/l); 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 ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) w 100 ml wody destylowanej;  
→ 0,35 % roztwór wodny winianu antymonu i potasu  
rozpuścić 0,35 g winianu  $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$  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  $\text{WP}_{\text{PO}_4}$  - fosforan jednopotasowy -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1000 mg/l)  
stosować wzorzec handlowy z certyfikatem laboratorium posiadającego akredytację na ISO/IEC 17025 lub nie gorszy.
6. roztwór wzorcowy roboczy  $\text{WR}_{\text{PO}_4}$  -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 1 ml = 0.01 mg ( $\text{PO}_4$ )  
do kolby o pojemności 100 ml wprowadzić 1,00 ml roztworu  $\text{WP}_{\text{PO}_4}$ , dopełnić wodą do kreski i wymieszać;

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

7. roztwór wzorcowy kontrolny  $\text{WK}_{\text{PO}_4}$  - fosforan jednopotasowy ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )  
przygotować minimum dwa roztwory dokonując odpowiedniego rozcieńczenia roztworu wzorca podstawowego  $\text{WP}_{\text{PO}_4}$ , tak by uzyskać stężenia: 0,03; 0,100; 1,0; 4,0; 50 mg/l;  
w celu przygotowania roztworów wzorcowych kontrolnych należy:

- odpipetować 30  $\mu$ l r-ru  $WP_{PO_4}$  do kolby 1000 ml; tak uzyskany r-r zawiera 0,030 mg/l ( $PO_4$ )
- odpipetować 100  $\mu$ l 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;

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

8. sączek membranowy o wielkości porów 0,45 $\mu$ m  
stosowane mogą być sączki firmy Whatman nr kat 10406870 lub inne, w tym twarde lub średni sączek bibułowy, dla których potwierdzono, że nie zawierają fosforanów;
9. kwas siarkowy, roztwór o stężeniu:  $c(H_2SO_4) = 2 \text{ mol/l}$   
do zlewki pojemności 1l 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 ml, a następnie uzupełnić wodą do kreski i dokładnie wymieszać;
10. wodorotlenek sodu, roztwór o stężeniu:  $c(NaOH) = 2 \text{ mol/l}$   
rozpuścić w wodzie 80 g pastylek NaOH, ochłodzić i rozcieńczyć wodą do 1l;
11. roztwór kompensujący mętność i barwę  
zmieszać dwie części objętościowe kwasu siarkowego 4,5 mol/l i jedną część objętościową kwasu askorbinowego; odczynnik przechowywany w chłodziarce, w butelce z brązowego szkła, jest trwały przez kilka tygodni (zmętnienie roztworu świadczy o braku przydatności)  
oraz
12. wzorzec fosforu o stężeniu 1000 mg/l ( $PO_4$ ) przygotowany z  $KH_2PO_4$   
*UWAGA: proszę obliczyć jaką masę diwodorofosforanu potasu należy odważyć, by przygotować 100 ml roztworu wzorca o stężeniu 1000 mg/l ze względu na jon  $PO_4^{3-}$ ;*
13. roztwór wodorofosforanu(V) amonu o stężeniu ok. 0,85 mmol/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 z widzialnym zakresem długości fal (300 nm-880 nm)
- kuwety 1cm i 5cm
- zestaw do filtracji
- szkło laboratoryjne: kolby miarowe o pojemności: 1000, 500, 100 i 50 ml, zlewki, pipety szklane miarowe lub pipety automatyczne  
oraz
- waga analityczna
- wytrząsarka laboratoryjna z łaźnią wodną
- wirówka laboratoryjna

## Zasada oznaczania [1, 6]

Oznaczanie jonów fosforanowych metodą błękitu fosfomolibdenowego 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 fosfomolibdenowy. Intensywność wywołanej barwy jest proporcjonalna do zawartości ortofosforanów i mierzona jest poprzez spektrofotometryczny pomiar absorbancji przy długości fali równej 700 nm i 880 nm dla bardzo niskich stężeń (charakterystycznych dla opadów atmosferycznych).

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 fosfomolibdenowy o przybliżonym wzorze  $(NH_4)_3P(Mo_3O_7)_4$ . 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. Związki organiczne, barwę w zależności od rodzaju oznaczanych fosforanów, eliminuje się na drodze mineralizacji próbki lub przez odpowiednie rozcieńczenie.

## 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 kilkakrotnie przepukane wodą redestylowaną. Naczynia szklane stosowane do przeprowadzania reakcji barwnej myte przy użyciu wody destylowanej należy przepłukiwać okresowo roztworem wodorotlenku sodu (2mol/l), a następnie dokładnie przepłukać wodą.

UWAGA: do mycia szkła nie należy stosować detergentów zawierających fosforany.

### Wzorcowanie (kalibracja)

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

#### *Sporządzenie krzywej wzorcowej*

W kolbie o pojemności 100,0 ml przygotować roztwór wzorcowy roboczy ( $WR_{PO_4}$ ) diwodorofosforanu potasu ( $KH_2PO_4$ ), o stężeniu 0,01 mg  $PO_4/cm^3$  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 kolbek miarowych o pojemności 50 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 ml odczynnika mieszanego - zawartość kolby wymieszać - a następnie 1 ml kwasu askorbinowego lub chlorku cyny - 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<sub>4</sub>/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 ślepią próbę wzorca, przechodzić przez początek układu współrzędnych.

#### *Bieżąca kontrola jakości badania*

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

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

→ **badanie kontrolnej próbki wzorcowej**

#### *wybrane dwa (minimum dwa) stężenia kontrolne z zakresu kalibracji*

rejestruje się zmierzoną wartość stężenia ortofosforanów w roztworach kontrolnych (WK<sub>PO<sub>4</sub></sub> w [mgPO<sub>4</sub>/l]); wykonanie: należy wykonać pomiar absorbancji roztworów podobnie jak pomiry próbek badanych

→ **badanie próbki powtórzonej** - dla jednej z oznaczanych próbek lub próbki kontrolnej wykonać badanie podwójnie

#### *Przygotowanie próbki do badań*

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 sączonek membranowy o wielkości porów wynoszącej 0,45 μm lub sączonek 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: próbka pobrana do oznaczenia nie może mieć odczynu zasadowego (reakcja barwna zachodzi w środowisku kwaśnym). Jeśli pH przesączonej próbki badanej nie mieści się w przedziale 3-10, należy je skorygować NaOH (2 mol/l) lub H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 mol/l).

UWAGA: jeśli próbka jest mętna i/lub barwna należy do próbki analitycznej o wybranej objętości dodać 3 ml odczynnika kompensującego (punkt 11). Rozcieńczyć do 50 ml zmierzyć absorbancję. Absorbancje tego roztworu odjąć od wartości zmierzonej w próbce zgodnie z opisem wykonania oznaczania fosforanów w próbkach środowiskowych, zamieszczonym poniżej.

#### *Opis wykonania oznaczania fosforanów w próbkach środowiskowych*

Przed ostatecznym oznaczeniem fosforanów należy dobrać optymalną objętość próbki analitycznej: do kolby miarowej o pojemności 50 ml wprowadzić np. 2,0 ml przesączonego roztworu próbki, dodać 2 ml tzw. odczynnika mieszanego (wymieszać), dodać 1 ml kwasu askorbinowego lub chlorku cyny (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 takiego samego schematu (próbka + 2 ml tzw. odczynnika mieszanego, 1 ml kwasu askorbinowego lub chlorku cyny, uzupełnienie wodą destylowaną do kreski).

W przypadku obecności ortofosforanów rozpuszczonych powinno pojawić się niebieskie zabarwienie.

#### *Pomiar absorpcji*

Pomiar absorpcji 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. W przypadku, gdy absorpcja nie mieści się w zakresie krzywej wzorcowej należy powtórzyć oznaczenie wychodząc z mniejszej objętości próbki.

Zawartość jonów fosforanowych podać w ppm i mmol/dm<sup>3</sup>. Proszę również podać zawartość fosforu wynikającego z obecności ortofosforanów w próbce w mg/l.

Wynik badania należy podać z ustaloną dokładnością.

#### *Chemiczne usuwanie fosforanów solami glinu, żelaza i wapnia*

W kolbie o pojemności 100 ml przygotować roztwór wodorofosforanu(V) amonu o stężeniu ok. 0,85 mmol/l. Do 4 plastikowych probówek z korkiem (podpisanych, np: 0, a, b, c) wprowadzić po 10,0 ml wodnego roztworu wodorofosforanu(V) amonu. Następnie do trzech z nich (a, b i c) dodać odpowiednio po ok. 0,500 g następujących soli:

- a. AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O,
- b. FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O,
- c. CaCO<sub>3</sub>.

Otrzymane mieszaniny wytrząsać w łaźni wodnej przez 20 minut, po czym probówki wstawić do wirówki i wirować 10 min przy szybkości 5000 obr./min.

W roztworze wodorofosforanu(V) amonu bez koagulantu (probówka '0') oraz w roztworach otrzymanych po odwirowaniu osadów oznaczyć zawartość fosforanów stosując metodę błękitu fosforomolibdenowego. W tym celu z każdej z probówek pobrać po 0,50 ml roztworu, wprowadzić do kolby o pojemności 50,00 ml, dodać 1 ml kwasu askorbinowego, 2 ml molibdenianu(VI) amonu, czyli tzw. odczynnika mieszanego i uzupełnić wodą destylowaną do kreski. Po upływie 10 min zmierzyć absorpcję przy długości fali  $\lambda = 700$  nm. Pomiar absorpcji wykonać 3 razy dla każdego roztworu.

Określić efektywność zastosowania badanych soli do usuwania jonów fosforanowych z roztworów.

#### **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 fosforanów i fosforu oraz wyniki wydajności procesu usuwania fosforanów solami glinu, żelaza i wapnia; końcowe wyniki powinny zostać podane z odchyleniem standardowym;
5. podsumowanie i wnioski; we wnioskach należy wyszczególnić (można w punktach) działania i procedury zastosowane podczas wykonywania ćwiczenia pozwalające na walidację metody i weryfikację poprawności uzyskanych wyników (sprawozdania nie zawierające 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

## 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 i następnie starannie (kilkakrotnie) wypłukane wodą redestylowaną lub dejonizowaną. Należy pamiętać, że detergenty zawierają fosforany dlatego 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°C lub też w lodzie. Wymrażania próbki należy unikać, 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 por 0,45µm (np. Whatmana 42, GFC) przed użyciem przemytych 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. Probki 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 oznaczony fosfor.



## WODA i ŚCIEKI

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 °C; w ciemności                   | laboratorium              | 24h   | <i>PN-EN ISO 6878:2006 +Ap1:2010+Ap2:2010</i><br>próbkę przesączyć i oznaczyć jak najszybciej |
| Fosfor ogólny metoda spektrofotometryczna | S lub SB lub P   |                      | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> lub HNO <sub>3</sub> do pH 1÷2 | laboratorium              | 1 miesiąc                                       | <i>PN-EN ISO 6878:2006 +Ap1:2010+Ap2</i>  |
| Fosfor ogólny metoda spektrofotometryczna | P  |                      | zamrożenie do temp. poniżej -18°C                             | laboratorium              | 6 miesięcy                                      | <i>PN-EN ISO 5667-3:2018-08</i>   |

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