

Úloha č. 4 - Vytěkávání z půdy: Stanovte K_{sa} fenolu s využitím HPLC

Úkol:

Stanovte K_{sa} fenolu s využitím HPLC

- 4.A Příprava experimentu a odběr vzorku vzduchu nad kontaminovanou půdou
- 4.B Extrakce vzorku půdy ultrazvukem
- 4.C Extrakce exponovaného filtru ultrazvukem
- 4.D Stanovení fenolu pomocí HPLC
- 4.E Vyhodnocení HPLC chromatogramu

4.A – Příprava experimentu a odběr vzorku vzduchu nad kontaminovanou půdou

Pomůcky:

- ✓ 1 x odpařovací komora
 - ✓ 1 x nízkoobjemové čerpadlo
 - ✓ Pasteurovy pipety
 - ✓ 4 x polyuretanový filtr (2x čištěný, 2x nečištěný)
 - ✓ analytické váhy
 - ✓ laboratorní rukavice
-
- ✓ půda – více uhlíku, málo jílu (5,5%)



Chemikálie:

- ✓ roztok fenolu v methanolu (100 mg/l)

Postup práce:

- ✓ do předem připravené odpařovací komory umístěte ~ 5g přesáté půdy
- ✓ na půdu pomocí Pasteurovy pipety aplikujte ve formě kapek 1 ml roztoku fenolu v methanolu
- ✓ přes noc nechejte ustavit rovnováhu
- ✓ na vstupu odpařovací komory umístěte nečištěný PUF
- ✓
- ✓ na výstupu odpařovací komory umístěte nízkoobjemové čerpadlo spolu s čištěným PUF
- ✓ ráno spusťte 24-hodinový odběr
- ✓ zapište stav timeru před odběrem do protokolu
- ✓ po 24 hodinách vypněte čerpadlo a zapište stav timeru
- ✓ vyjměte exponovaný filtr a zabalte ho do dvou vrstev alobalu a uskladněte v mrazícím boxu

4.B – Extrakce vzorku půdy ultrazvukem

Pomůcky:

- ✓ ultrazvuková lázeň
- ✓ analytické váhy
- ✓ vakuové filtrační zařízení Baker
- ✓ 2 x kádinka (100 ml)
- ✓ 1 x odměrný válec
- ✓ 2 x vialka (40 ml)
- ✓ 1 x vialka (2 ml)
- ✓ 1 x nylonový filtr
- ✓ dusík na odpařování

Chemikálie:

- ✓ methanol

Postup práce:

- ✓ připravte ultrazvukovou lázeň

- ✓ vysušenou půdu zvažte a nasypete do kádinky
- ✓ ke vzorku půdy nalijte 15 ml methanolu
- ✓ extrahujte 3x15 minut
- ✓ vždy po každém 15-minutovém cyklu extrakce odeberte Pasteurovou pipetou rozpouštědlo do předem připravené kádinky
- ✓ extrakt přefiltrujte přes Bakera
- ✓ objem roztoku ve vialce odpařte pod proudem dusíku na objem 1 ml
- ✓ pomocí Pasteurovy pipety převedte zahuštěný extrakt do předem připravené minivialky
a vialku vypláchněte malými dávkami methanolu
- ✓ je-li nutné, přefiltrujte vzorek přes filtřík
- ✓ vialku dobře uzavřete a uložte v ledničce do dalšího zpracování

4.C Extrakce exponovaného filtru ultrazvukem

Pomůcky:

- ✓ ultrazvuková lázeň
- ✓ Pasteurovy pipety
- ✓ 2 x kádinka
- ✓ 1 x odměrný válec
- ✓ 1 x vialka (20 ml)
- ✓ 1 x vialka (2 ml)

Chemikálie:

- ✓ methanol

Postup práce:

- ✓ připravte ultrazvukovou lázeň
- ✓ exponovaný PUF vložte do kádinky
- ✓ přilijte 100 ml methanolu
- ✓ extrahujte 45 minut
- ✓ po celém cyklu extrakce odeberte Pasteurovou pipetou rozpouštědlo do předem připravené kádinky
- ✓ objem roztoku ve vialce odpařte pod proudem dusíku na objem 1 ml
- ✓ pomocí Pasteurovy pipety převedte zahuštěný extrakt do předem připravené minivialky a vialku vypláchněte malými dávkami methanolu
- ✓ vialku dobře uzavřete a uložte v ledničce do dalšího zpracování

4.D Stanovení fenolu pomocí HPLC

Pomůcky:

- ✓ kapalinový chromatograf
- ✓ chromatografická kolona Supelcosil LC-18

Chemikálie:

- ✓ voda čištěná na zařízení Milli-Q
- ✓ kyselina fosforečná
- ✓ methanol

Postup práce:

1) *příprava mobilní fáze*

- ✓ solvent A: 150 ml redestilované vody + 80 μ l kyseliny fosforečné + 100 ml methanolu
- ✓ solvent B: 100 ml methanolu
- ✓ průtok mobilní fáze: 0,15 ml/min

- ✓ isokratická eluce: 90% A+10% B
- ✓ nástřik 20 μ l
- ✓ analýza 1 vzorku ~ 13 min

2) *detekce*

detekce – 230 nm, 280 nm

3) *metoda: c/2/hpchem/methods/Petra/fenol.m*

4.E - Vyhodnocení HPLC chromatogramu

Postup práce:

Úkoly:

- ✓ z koncentrací získaných z HPLC stanovení fenolu ve vzduchu a půdní frakci vypočítejte rozdělovací koeficient půda-vzduch K_{sa}