

Příloha k programu

Zpracování vzorků vzduchu v centru RECETOX

Manuál – postup práce - vytisknout pro každého účastníka



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

Celou dobu pracujeme v rukavicích, plášti a přezůvkách!

V případě úrazu okamžitě uvědomím lektory, i kdyby se jednalo o sebemenší škrábanec.

V případě, že se poliju rozpouštědlem, vyhazuju rukavice, umyju si ruce a nasadím si nové, čisté rukavice. V případě, že se poliju rozpouštědlem více, zajdu za lektory ohledně dalšího postupu.

Používám zdravý rozum a řídím se pravidly BOZP.

Když nevím, zeptám se.

V laboratoři běhám jen, když utíkám před výbuchem. 😊

Extrakce

Pokud chceme naměřit látky, které se nasorbovaly během vzorkování, musíme je nejprve z PUF disku dostat. K tomu slouží extrakce. Zvolením vhodného rozpouštědla postupně všechny sledované látky přejdou z PUF disku do rozpouštědla. Ke vzorku ještě přidáme recovery standardy. Jedná se o látky s přesně stanovenou koncentrací a podobnými vlastnostmi jako naše cílové látky. Když poté na konci změříme jejich koncentraci, víme, kolik jsme v průběhu naší práce ztratili látek a můžeme si tak udělat představu o kvalitě naší práce a přepočítat získané množství polutantů na skutečné množství v PUF disku.

1. Opatrně rozmontujeme pasivní vzorkovač a vytáhneme z něj PUF disk. Není k tomu potřeba žádný speciální nástroj.
2. Vložíme PUF disk do extrakční patrony. Vložíme sem také skleněnou trubičku, která má zajistit průtok rozpouštědla. Snažíme se tam disk poskládat co nejlépe, můžeme si pomoci čistou pinzetou.
3. Automatickou pipetou přidáme 50 µl směsného standardu izotopicky značených PAHs, 50 µl standardu pro PCBs a OCPs a 50 µl standardu 707 PBDEs. Před každým roztokem si vyměníme špičku. Standardy má každá skupina v označené vialce. Pokud jsme ještě s automatickou pipetou nepracovali, zeptáme se, jak na to.
4. Připravenou extrakční patronu vložíme do extraktoru.
5. Do extrakční baňky nasypeme varné kamínky a po okraj nalijeme rozpouštědlo - dichlormetan (DCM).
6. Extrakční baňku vložíme do extraktoru.
7. Zapneme extraktor, vodu a ujistíme se, že všechno dobře přiléhá.
8. Navolíme program 1 a spustíme extrakci. (1 hodina)
9. V průběhu hlídáme, aby nám nedošlo rozpouštědlo.
10. Po extrakci spustíme program 2 a zahustíme vzorek. (20 minut)
11. Vzorek by měl mít na konci +/- 10 ml. Podle potřeby buď odpaříme, nebo přidáme DCM.

Dichlormetan vře při 40 °C. I přes tuto relativně nízkou teplotu vždy alespoň chvíli počkáme, než extraktor vychladne a my s ním začneme manipulovat.

Dělení vzorku

V našem vzorku chceme stanovovat různé skupiny látek. Proto jej musíme rozdělit na 2 části v poměru 1:9. V každé z nich se budou měřit jiné látky. Představu přesnosti naší práce nám poskytne konečná



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



koncentrace již přidanych standardů. Před rozdělením vzorku jej musíme kvantitativně pomocí Pasteurovy pipety převést z extrakční baňky do vialky, extrakční baňku třikrát propláchneme malým objemem rozpouštědla (DCM) a taktéž přeneseme do vialky. Poté můžeme vzorek rozdělit.

1. Zvážíme si prázdnou vialku a vytárujeme analytické váhy.
2. Celý extrakt převedeme do prázdné předem zvážené vialky a následně jej zvážíme.
3. Výslednou váhu vynásobíme 0,9. *Tímto přepočtem zjistíme váhu 90 % vzorku.*
4. Čistou Pasteurovou pipetou odebíráme vzorek do původní vialky s extraktem, dokud nemáme na váze předem spočítané číslo, tj. 90 % váhy původního vzorku.
5. Obě vialky zavřeme a označíme.
6. 90 % alikvot zakoncentrujeme pod mírným proudem dusíku na objem přibližně 1 ml. Dbáme na to, abychom vzorky neodpařili do sucha!

Dichlormethan je velmi těkavé rozpouštědlo, a proto se váha nikdy neustálí. Dichlormethan se bude neustále odpařovat, a tak bude váha stále ukazovat menší a menší číslo. Nesnažte se být proto přesní na 3 desetinná čísla, není to reálně možné. Případné ztráty odhalí závěrečné koncentrace recovery standardů.

Přečištění vzorků

Během extrakce jsme nedostali z našeho vzorku pouze cílové látky, ale i různé nečistoty. V tomto kroku od nich vzorek vyčistíme. Jako čistící médium použijeme silikagel, který na sebe nasorbuje nečistoty i naše látky. Když jej ale poté propláchneme čistým rozpouštědlem, nečistoty (alespoň většina ☺) zůstanou zachycené a dále budou pokračovat jen naše látky a rozpouštědlo.

1. Vezmeme si skleněnou kolonu o vnitřním průměru 1 cm.
2. Pomocí pletací jehlice vložíme na dno smotek vaty.
3. Kolona pro frakci, kde se budou měřit PAHs:
 - a. 5 g aktivovaného silikagelu
 - b. 2 g síranu sodného
 - c. Vzorek kvantitativně přeneseme na kolonu. To znamená, že nanese vzorek a poté třikrát propláchneme vialku 1 ml DCM a po každém promytí nanese na kolonu i rozpouštědlo, které jsme použili na proplach.
 - d. Následně na kolonu nalijeme 10 ml hexanu a poté, co klesne jeho hladina na úroveň silikagelu, tak 20 ml DCM. Použijeme k tomu odměrný válec.
 - e. Obě frakce chytáme do stejné vialky.
4. Kolona pro frakci, kde se budou měřit PCBs, OCPs a PBDEs:
 - a. 1 g aktivovaného silikagelu
 - b. 8 g 44% modifikovaného silikagelu kys. sírovou
 - c. 1 g aktivovaného silikagelu
 - d. 2 g síranu sodného
 - e. Vzorek kvantitativně přeneseme na kolonu.
 - f. Následně na kolonu nalijeme 30 ml směsi DCM:hexan (1:1).

Kyselina sírová rozloží i PAHs. Proto na jejich přečištění používáme jiný postup. Zároveň je však dobré, že se PAHs rozloží v druhé frakci, kde by mohly působit potíže a ovlivňovat cílové látky této frakce.



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání

MSMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

V případě, že potřebujete 10 g 44 % silikagelu modifikovaného kyselinou sírovou, kolik ml kyseliny sírové a kolik g silikagelu budete potřebovat? Hustota kyseliny sírové je $1,8 \text{ g cm}^{-3}$. 44 % se vztahuje ke kyselině sírové. Hovoříme o hmotnostních procentech.

Převedení do minivialek

Závěrečným krokem práce je převod do minivialek. Je to speciální druh skla používaný pro měření na přístrojích, v našem případě na plynovém chromatografu. Do minivialek se přidává rozpouštědlo nonan, které zajišťuje stabilitu vzorku, a tzv. vnitřní standardy. To jsou látky, podle kterých stroj koriguje koncentraci látek ve vzorku.

1. Vzorky odpaříme a kvantitativně převedeme do minivialek.
2. Minivialka by měla obsahovat 50 μl nonanu a 50 μl vnitřního standardu, tj. terfenyl pro frakci PAHs, pro frakci PCBs, OCPs a PBDEs standard PCB95.
3. Odpaříme na závěrečný objem +/- 100 μl (plné „vemínko“).

A máme hotovo!

Měření na přístroji

Naše vzorky se změří na plynovém chromatografu, přátelsky zvaném plyňák. Jedná se o přístroj, na kterém dochází k separaci látek. Plyňák se skládá z injektoru sloužícího k nanášení vzorků, dále kolony a detektoru. Kolonou proudí inertní plyn, který unáší látky, a ty interagují (zachycují se) s náplní kolony. Každá interakce se liší v závislosti na povaze látky, a proto dochází k jejich separaci - některé se zdrží více, některé méně. Samotný plyňák by nám byl však k ničemu - nedokázali bychom změřit koncentraci látek a ani je identifikovat. Proto je nutné použít vhodný detektor, v tomto případě hmotnostní spektrometr. Ten látky na základě jejich poměru hmotnosti a náboje identifikuje a kvantifikuje. Celý proces je samozřejmě složitější a obsahuje další části, ale pro naši představu tohle stačí.

Závěrečné zamyšlení

Proč vlastně vzorek takto připravujeme? Proč prostě nevezmeme PUF disk, kousek neutrháme a nedáme to přímo na stroj? Především ze dvou jednoduchých důvodů. Koncentrace látek v tom kousku by byla velmi nízká a stroj by ji nedetekoval. Celý ten proces vlastně vedl k zakoncentrování našich látek. Druhý důvod jsou pak již zmiňované nečistoty. Když se jich zbavíme, sníží se nám na přístroji šum, a tak můžeme látky identifikovat a zároveň i změřit nižší koncentrace.

Slovník zkratk

PAHs - polycyklické aromatické uhlovodíky

PBDEs - polybromované difenylethery

PCBs - polychlorované bifenily

PUF - polyuretanová pěna (polyurethane foam)

OCPs - organochlorované pesticidy

DCM – dichlormethan



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání

MSMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY