

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

STUDIUM VLASTNOSTÍ SORPČNÍCH GELŮ PRO STANOVENÍ RTUTI
TECHNIKOU DGT.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

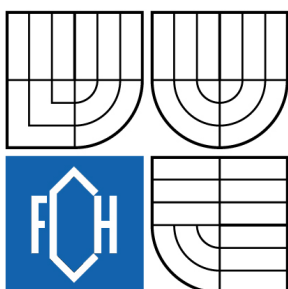
AUTHOR

Bc. HANA FRIŠHANSOVÁ

BRNO 2009



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

STUDIUM VLASTNOSTÍ SORPČNÍCH GELŮ PRO STANOVENÍ RTUTI TECHNIKOU DGT.

CHARACTERIZATION OF THE RESIN GELS FOR MERCURY DETERMINATION BY DGT
TECHNIQUE.

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

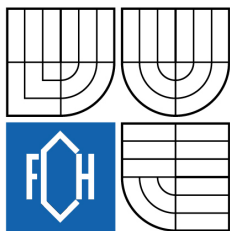
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. HANA FRIŠHANSOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. PAVEL DIVIŠ, Ph.D.

BRNO 2009



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0296/2008	Akademický rok: 2008/2009
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Bc. Hana Frišhansová	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí diplomové práce:	Ing. Pavel Diviš, Ph.D.	
Konzultanti diplomové práce:		

Název diplomové práce:

Studium vlastností sorpčních gelů pro stanovení rtuti technikou DGT.

Zadání diplomové práce:

Cílem práce je vzájemně porovnat doposud používaných sorpčních gelů v technice difuzního gradientu v tenkém filmu (DGT). V rámci práce bude stanovena kapacita sorpčních gelů a vliv ostatních kovů a přírodních ligandů na měření technikou DGT.

Termín odevzdání diplomové práce: 22.5.2009

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Hana Frišhansová
Student(ka)

Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.10.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá testováním sorpčních gelů používaných technikou difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT) pro stanovení rtuti v přírodních vodách. Pro přípravu sorpčních gelů byly vybrány tyto sorbenty: Duolit GT-73, Spheron-Thiol, Chelex-100 a nově modifikovaný sorbent Iontosorb AV.

Nejprve byla optimalizována příprava všech sorpčních gelů. Po optimalizaci přípravy byly sorpční gely testovány v modelových roztocích rtuti. Byl proveden test návratnosti a test závislosti nasycení sorbetu na čase. Po ukončení základních testů byl studován vliv přírodních ligandů (huminových látek a chloridů) a dalších parametrů, (především pH a iontová síla) na stanovení rtuti technikou DGT.

KLÍČOVÁ SLOVA

Technika difúzního gradientu v tenkém filmu, rtuť, sorpční gel, difúzní gel, Duolite GT-73, Chelex-100, Spheron-Thiol, Iontosorb AV

ABSTRACT

The aim of this thesis is testing of resin gels used in diffusive gradients in thin films technique (DGT) for determination of mercury in natural waters. The sorbents, chosen for preparation of resin gels were: Duolit GT-73, Spheron-Thiol, and Chelex-100 and newly modified sorbent Iontosorb AV.

At the beginning of work, the preparation procedure of all resin gels was optimized. After optimalization of preparation procedure the resin gels were tested in mercury model solutions. The recovery test and time dependence test were performed. When the basic tests were finished, they were followed by the tests of influence of natural ligand (humic matters and chlorides), and other parameters (above all pH and ionic strength), on mercury determination by DGT technique.

KEYWORDS

Diffusive gradients in thin films technique, mercury, resin gel, diffusive gel, Duolite GT-73, Chelex-100, Spheron-Thiol, Iontosorb AV

FRIŠHANSOVÁ, H.: *Studium vlastností sorpčních gelů pro stanovení rtuti technikou DGT*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 61 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis diplomanta

PODĚKOVÁNÍ

*Ráda bych tímto poděkovala
Ing. Pavlovi Divišovi, Ph.D. za
podnětné konzultace a cenné rady.
Ing. Romanovi Szkanderovi za
pomoc při realizaci této diplomové
práce.*

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	8
3. TEORETICKÁ ČÁST DIPLOMOVÉ PRÁCE	9
3.1. Rtuť	9
3.1.1. Chemicko-fyzikální vlastnosti rtuti	9
3.1.2. Vstup rtuti do životního prostředí	10
3.1.3. Koloběh rtuti v životním prostředí	11
3.1.4. Biologické a chemické přeměny rtuti v životním prostředí	12
3.1.5. Toxicita rtuti	15
3.1.5.1. Toxikologické rozdělení sloučenin rtuti	15
3.1.5.2. Toxicita rtuti pro člověka	16
3.1.6. Stanovení rtuti	17
3.1.6.1. Rozklad vzorku	17
3.1.6.2. Metody pro stanovení celkového obsahu rtuti	17
3.1.6.3. Metoda generování hydridů a jiných těkavých sloučenin	18
3.1.6.4. Analyzátory pro stanovení celkového obsahu rtuti	18
3.1.6.5. Atomová absorpční spektrometrie (AAS)	19
3.1.6.6. Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)	19
3.1.6.7. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)	19
3.1.6.8. Metody pro stanovení různých chemických forem rtuti	19
3.1.7. Stanovení <i>in situ</i>	20
3.2. Technika difúzního gradientu v tenkém filmu	21
3.2.1. Vzorkovací jednotky DGT	21
3.2.2. Princip techniky difúzního gradientu v tenkém filmu	22
3.2.2.1. Princip techniky DGT ve vodách	22
3.2.2.2. Princip techniky DGT pro analýzu půd a sedimentů	24
3.2.3. Difúzní gely v technice DGT	26
3.2.3.1. Polyakrylamidový gel	26
3.2.3.2. Agarózový gel	27
3.2.4. Sorpční gely	28
3.2.5. Charakteristika použitých iontoměničů	28
3.2.5.1. Chelex-100	28
3.2.5.2. Duolit GT-73	29
3.2.5.3. Spheron-Thiol	29
3.2.5.4. Iontosorb AV	30
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST DIPLOMOVÉ PRÁCE	31
4.1. Příprava gelů	32
4.1.1. Příprava difúzního gelu	32
4.1.2. Příprava sorpčního gelu	32
4.1.2.1. Příprava sorpčních gelů Chelex-100 a Spheron-Thiol	33
4.1.2.2. Příprava sorpčního gelu Duolit GT-73	33
4.1.2.3. Příprava sorpčního gelu z Intosorbu AV	33
4.2. Kompletace DGT jednotek	35
4.3. Modelový roztok rtuti	36
4.4. Zpracování exponovaných gelů	36
4.5. Stanovení rtuti pomocí přístroje AMA 254	36

4.5.1.	Popis analyzátoru AMA 254	36
4.5.2.	Popis analýzy vzorku přístrojem AMA 254	38
4.6.	Testování sorpčních gelů v roztoku rtuti (základní test)	39
4.7.	Test nasycení sorbentu v závislosti na čase	39
4.8.	Vliv různých faktorů na měření rtuti technikou DGT	40
4.8.1.	Vliv pH vnějšího roztoku	40
4.8.2.	Vliv huminových látek	40
4.8.3.	Vliv chloridů	40
4.8.4.	Vliv iontové síly	41
4.8.5.	Vliv konkurenčních kovů	41
5.	VÝSLEDKY A DISKUZE	42
5.1.	Příprava gelů	42
5.1.1.	Příprava difúzního gelu	42
5.1.2.	Příprava sorpčního gelu	42
5.1.2.1.	Příprava sorpčního gelu Chelex-100 a Spheron-Thiol	42
5.1.2.2.	Příprava sorpčního gelu Duolite GT-73	43
5.1.2.3.	Příprava sorpčního gelu z Iontosorb AV	43
5.2.	Testování sorpčních gelů v modelovém roztoku rtuti (základní test)	44
5.3.	Test nasycení sorbentu v závislosti na čase	45
5.4.	Vliv různých faktorů na měření rtuti technikou DGT	48
5.4.1.	Vliv pH vnějšího roztoku	48
5.4.2.	Vliv huminových látek	51
5.4.3.	Vliv chloridů	54
5.4.4.	Vliv iontové síly	54
5.4.5.	Vliv konkurenčních kovů	55
6.	ZÁVĚR	57
7.	LITERATURA	58
8.	SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	61
9.	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ	61

1. ÚVOD

Rtuť a její sloučeniny provázejí člověka již nejméně tři tisíce let jeho historie. Tyto sloučeniny jsou používány v různých průmyslových odvětvích, zemědělství, laboratorní technice i lékařství. Celou tuto dobu sbírá lidstvo zkušenosti s jejími toxickými účinky. Sloučeniny rtuti patří mezi jedny z nejtoxičtějších látek vyskytujících se v životním prostředí. Nalezneme je v půdách, v horninách, v atmosféře, ve vodách, ale také v různých organismech. Toxicita rtuti závisí na formě, ve které se rtuť nachází. Do organismu proniká obvyklými vstupními cestami, inhalací plyných sloučenin, či orálně, např. konzumací potravin. Problém kontaminace rtutí a jejími sloučeninami je všeobecně známý nejen ve vědeckých kruzích, ale i mezi laickou veřejností.¹⁻³

Rtuť se vyskytuje v životním prostředí ve velmi malých koncentracích ($\mu\text{g.l}^{-1}$ až ng.l^{-1}), proto je její stanovení velmi obtížné, a vyžaduje použití rychlých, přesných, selektivních a citlivých metod.^{3,5,10}

Velkým problémem při stopové analýze kovů je kontaminace vzorku a chyby vzniklé během odběru vzorků. Tyto problémy lze obejít měřením *in situ*. Klasickým odběrem a analýzou vzorku lze získat informaci o celkové, popř. celkové rozpuštěné koncentraci kovů. Tato informace se však stále více ukazuje být nedostačující a hledají se nové techniky, které umožňují odhadnout množství potenciálně dostupných kovů pro biotu. V poslední době se k těmto účelům s výhodou používá *in situ* technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT).⁴

Technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT) je relativně nová *in situ* technika pro stanovení kineticky labilních a potenciálně (bio)dostupných forem prvků v přírodních vodných systémech.³⁰ Přestože je tato technika v současnosti schopná měřit více než 50 prvků periodické tabulky, jen málo pozornosti bylo věnováno validaci této techniky pro měření rtuti.

První práce v této oblasti byly započaty na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně v roce 2003. Pro vyřešení problémů s akumulací rtuti v běžně používaném polyakrylamidovém difúzním gelu byl jako sorpční gel doporučen gel s iontoměničem Spheron-Thiol. Tento iontoměnič však v současné době není komerčně dostupný. Z tohoto důvodu byla další práce v této oblasti směřována na přípravu nových sorpčních gelů, které by mohly Spheron-Thiolový gel nahradit. Za poslední dva roky bylo navrženo několik takových gelů, jejich vlastnosti však doposud nebyly testovány.

2. CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo vypracovat literární rešerši týkající se řešené problematiky, optimalizovat přípravu nových (Hg) sorpčních gelů pro techniku DGT, testovat připravené gely v laboratoři a navzájem porovnat vlastnosti těchto gelů.

3. TEORETICKÁ ČÁST DIPLOMOVÉ PRÁCE

3.1. Rtuť

3.1.1. Chemicko-fyzikální vlastnosti rtuti

Rtuť je stříbrolesklý kov, který se nachází ve 12-té skupině Mendělejevovy periodické tabulky. Patří mezi přechodné prvky, jejichž valenční elektrony jsou umístěny v d-orbitalech. Rtuť nalezneme v přírodě nejčastěji se zinkem a kadmíem. Tyto prvky patří do skupiny tzv. chalkofilních kovů.^{1,3}

Elementární rtuť je jediným kovovým prvkem, který je při laboratorní teplotě tekutý. Je dobrým elektrickým vodičem, ale poměrně špatným vodičem tepla. Rtuť snadno tvoří slitiny (tzv. amalgámy) skoro se všemi běžnými kovy, včetně stříbra, hliníku a zlata. Se železem však rtuť slitinu netvoří. Rtuť je vysoce těkavá již při laboratorní teplotě. Kromě vzácných plynů je také jediným prvkem, jehož páry jsou téměř výhradně jednoatomové.^{1,2}

Rtuť vytváří širokou škálu sloučenin, které se liší jak svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi, tak i toxicitou. Rtuť se vyskytuje v omezeném množství oxidačních stavů (0,+I,+II, výjimečně i ve stavu +III).^{2,3}

Mezi nejběžnější chemické formy rtuti patří anorganické sloučeniny s oxidačním číslem +I, jako je např. kalomel (Hg_2Cl_2), a sloučeniny s oxidačním číslem +II, např. rumělka (HgS) nebo chlorokomplexy $[\text{HgCl}]^+$, $[\text{HgCl}_3]^-$ a $[\text{HgCl}_4]^{2-}$. Jelikož rtuť patří v periodické tabulce do skupiny B, má daleko větší tendenci k tvorbě kovalentních vazeb a preferuje ligandy s donorovými atomy dusíku, fosforu a síry s nimiž tvoří v oxidačním stavu +II komplexy, které patří k nejstabilnějším komplexům dvojmocných iontů rtuti. Kromě anorganických forem tvoří rtuť také organokovové sloučeniny.^{1,3}

Organokovové sloučeniny rtuti obsahují jeden nebo dva uhlovodíkové radikály navázané na atom kovu rtuti a vytváří tak sloučeniny typu RHgX nebo RHgR' . Nejčastějšími uhlovodíkovými radikály jsou $\cdot\text{CH}_3$, $\cdot\text{C}_2\text{H}_5$, $\cdot\text{C}_6\text{H}_5$. Tyto sloučeniny vznikají v přírodních vodách a sedimentech působením specifických mikroorganismů. Mechanismus vzniku je založen na přenosu methylové skupiny z methylkobalaminu na anorganické formy rtuti, Hg^{2+} .^{3,4,6}

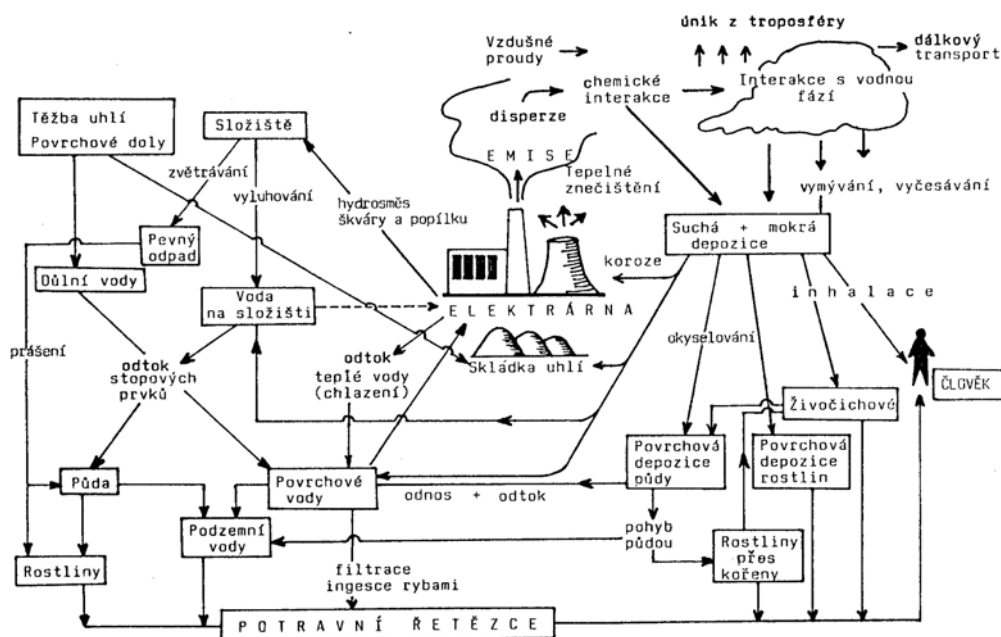
Tabulka 1. Vybrané chemicko-fyzikální vlastnosti rtuti.¹⁻⁶

Základní charakteristika rtuti			
latinský název	hydrargyrum	počet přírodních izotopů	7
atomové číslo	80	elektronová konfigurace	$[\text{Xe}] 4f145d106s2$
atomová hmotnost (amu)	200,59	teplota tání (°C)	- 38,9
hustota (25 °C) g.cm^{-3}	13,534	teplota varu (°C)	357,0
Toxicita rtuti			
akutní toxicita (orálně pro člověka)		1,49 g.kg^{-1}	
mořská voda		30 ng.l^{-1}	
vody		0,1 $\mu\text{g.l}^{-1}$	

3.1.2. Vstup rtuti do životního prostředí

Rtuť patří mezi kovy přirozeně se vyskytující ve všech složkách životního prostředí. Transport rtuti ve složkách životního prostředí je dán jejími interakcemi s jednotlivými složkami ekosystémů. Pohyb rtuti je ovlivněn především formou sloučeniny, ve které je rtuť vázána. Do životního prostředí je rtuť uvolňována jak z přírodních tak antropogenních zdrojů.^{4,7}

V globálním měřítku má největší podíl na emisích rtuti do životního prostředí lidská činnost. Mezi největší antropogenní zdroje rtuti lze zařadit spalování fosilních paliv, hutnictví a výrobní procesy, kde suroviny obsahují stopy rtuti. Další zátěží pro životní prostředí jsou procesy při získávání rtuti (těžba, regenerace použitých výrobků), výrobní procesy, kde je rtuť výchozí surovinou (chlor-alkalická výroba, produkce zářivek, výbojek, baterií, teploměrů, termostátů, zařízení k měření tlaku, navigačních zařízení, elektrod, amalgámů, fungicidních přípravků, apod.) a dále také úniky rtuti z odpadů (emise ze spaloven, výluhy ze skládek, odpadní vody z průmyslu a zdravotnictví). Celková emise antropogenní rtuti je zhruba 5000 tun ročně.⁷⁻¹⁰



Obr.1. Koloběh rtuti v přírodě v důsledku antropogenních zdrojů.⁷

Mezi přírodní zdroje rtuti patří především sopečná činnost, rtuť odpařená z povrchu moří a oceánů, dále zvětrávání minerálů, lesní požáry, tékání kovové rtuti z ložisek, či říční odnos. Přírodní zdroje mají za následek roční emise rtuti do životního prostředí okolo 1600 tun. Nejvíce uvolňovanou formou rtuti do životního prostředí je kovová rtuť (Hg^0), následují její oxidy, sulfidy, halogenidy a methylrtuť. Poměrně velké množství rtuti se do atmosféry uvolňuje ze sladkovodních a mořských sedimentů poté co projde vodním sloupcem. Takto uvolněná rtuť je schopna dálkového přenosu.^{7,8,9}

3.1.3. Koloběh rtuti v životním prostředí

Rtuť jakožto globální polutant se vyskytuje v různých koncentracích ve všech složkách životního prostředí. V atmosféře, pedosféře a ve vodách se snadno bioakumuluje a vstupuje do potravních řetězců. Páry rtuti a rtuť vázaná na pevné částice je unášena vzdušnými proudy kontaminující tak i polární oblasti.^{3,4}

Transport rtuti v životním prostředí popisuje bio-geochemický cyklus. Je charakterizován jako součet všech vstupů a výstupů sloučenin rtuti v daném ekosystému. Celý tento cyklus zahrnuje uvolnění rtuti a jejích nově vzniklých těkavých sloučenin z půd, hornin, povrchových a odpadních vod. Jejich transport za současné transformace atmosférou, ukládání sloučenin rtuti zpět na zemi a v povrchových vodách, sorpci sloučenin rtuti na částičky sedimentů nebo půdy, její absorpci živou přírodou, transformaci jednotlivých chemických forem rtuti a jejich bioakumulaci. Tento cyklus je neustále opakován, jen malá část rtuti je vázána do nerozpustných sloučenin následně uložených v půdách a v sedimentech, nebo akumulována ve vodních potravních řetězcích a z tohoto důvodu nemůže být znovu uvolněna do atmosféry.^{4,5,8}

V atmosféře je přes 95 % rtuti přítomno ve formě elementární rtuti (Hg^0), která má schopnost setrvat v atmosféře od 6 dnů až po 2 roky. Přibližně 5 % atmosférické rtuti je schopno navázat se na částičky, které se dostávají snadněji než samotná rtuť zpět na povrch Země ve formě suchého nebo mokrého spadu. Mokrou depozicí se vrací 66 % atmosférické rtuti. Rtuť může být vlivem cirkulace vzdušných mas deponována ve značné vzdálenosti od zdroje.^{4,9,10}

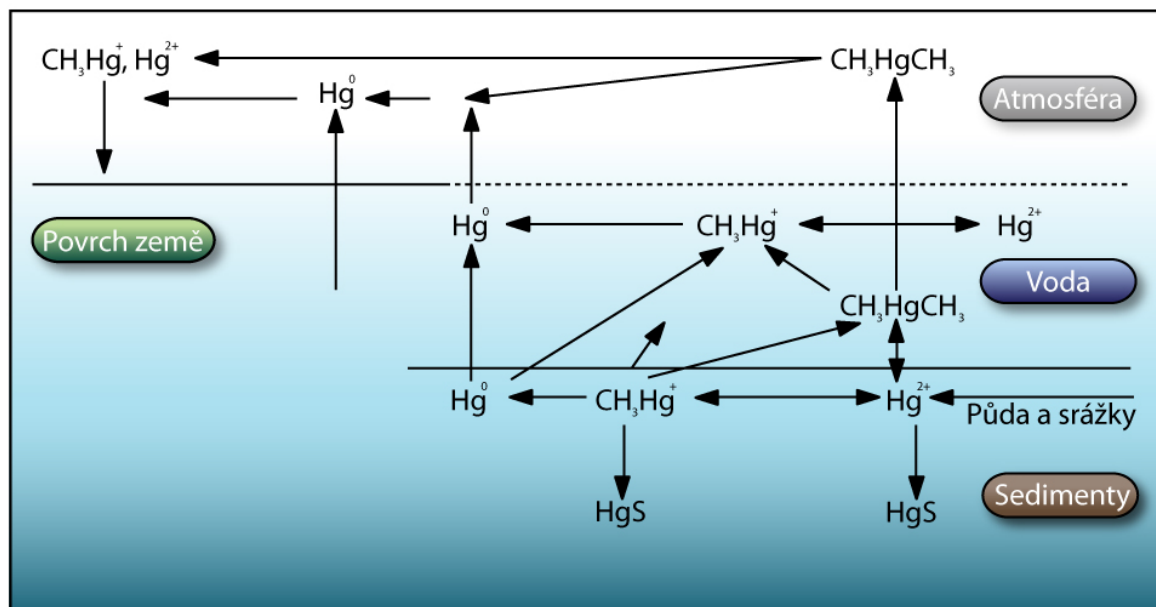
Ve vodě se rtuť nachází v plynné, v rozpuštěné a v nerozpuštěné formě. Až 70 % rtuti rozpuštěné ve vodách je vázáno na organickou hmotu. Sloučeniny rtuti vázané organickou hmotou mohou být transportovány odtokem do jiných ekosystémů nebo uvolněny z organické matrice chemickou redukcí na elementární rtuť. Nejvyšší koncentraci rtuti lze nalézt blízko rozhraní voda-sediment, kde probíhá řada biochemických procesů.^{3,10}

V sedimentech se rtuť vyskytuje nejčastěji v oxidačním stavu +II, kde je vázána na ligandy obsahující thiolové skupiny (-SH). Takto vzniklé sloučeniny mají velmi rozdílnou rozpustnost především ve vodě. Thiolové skupiny plní významnou funkci v biosféře, neboť nevratně váží rtuť. Převládajícím procesem, který má vliv na distribuci sloučenin rtuti v sedimentech je sorpce těchto sloučenin na částičky sedimentu, především obsahují-li hodně železa a hliníku. Rtuť se také velice snadno adsorbuje na materiály bohaté na organickou hmotu a rašelinu.^{3,10}

Stejně jako v sedimentu se rtuť ve vodách nejčastěji vyskytuje v oxidačním čísle +II, především ve formě anorganických komplexů, např. $[\text{HgOH}]^+$, $[\text{Hg}(\text{OH})_2(\text{aq})]^0$, $[\text{HgOHCl}]^0$ a také $[\text{HgCl}]^+$, až $[\text{HgCl}_4]^{2+}$. V odpadních vodách, kde je vysoká koncentrace chloridových iontů se rtuť vyskytuje jako tri- a tetrachlorortuťnatan.⁶

Z organických forem rtuti se nejvíce vyskytují methylderiváty, methylmerkurichlorid (CH_3HgCl) a dimethylrtuť ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$). Kation methylrtuti (CH_3Hg^+) existuje ve vodném roztoku v minoritním zastoupení. Vyskytuje se jako aquakomplex ($\text{CH}_3\text{HgOH}_2^+$), kdy za určitých podmínek převažuje ve formě hydroxymethylrtuti (CH_3HgOH) a při vyšší koncentraci chloridů jako methylmerkurichlorid (CH_3HgCl). Jednotlivé formy rtuti mají rozdílnou toxicitu. Organické formy rtuti, např. methylrtuť a ethylrtuť, z důvodu lipofilní povahy lehce vstupují do vodních potravních řetězců a jsou oproti anorganickým sloučeninám lépe vstřebávány a akumulovány biologickými tkáněmi.^{3,10}

V pevné fázi nalezneme nejčastěji rtuť jako oxid rtuťnatý (HgO) nebo jako málo rozpustný sulfid rtuťnatý (HgS). V alkalickém prostředí nebo při přebytku sulfidů se sulfid rtuťnatý může částečně rozpouštět za vzniku komplexů $[\text{Hg}(\text{HS})_2]^0$, $[\text{HgHS}_2]^-$ a $[\text{HgS}_2]^{2-}$.⁶

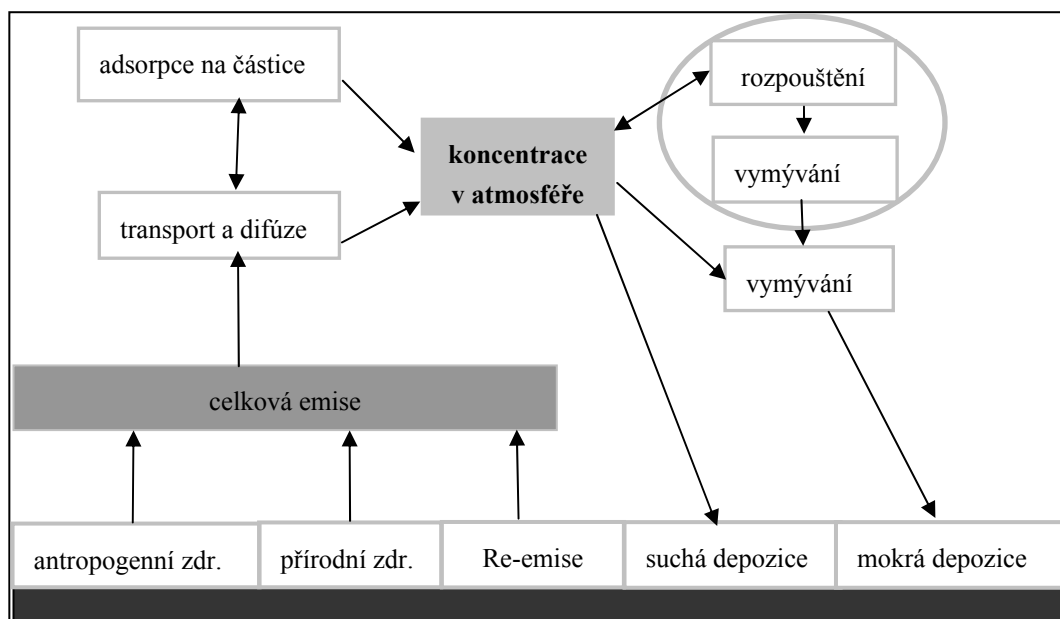


Obr.2. Některé z možných cest transportu rtuti v životním prostředí.⁹

3.1.4. Biologické a chemické přeměny rtuti v životním prostředí

Rtuť může být transformována biologickými přeměnami mezi organické a anorganické formy, např. fotolýzou organických sloučenin, biotickou či abiotickou redukcí a oxidací. Tyto přeměny probíhají ve všech složkách životního prostředí.⁴

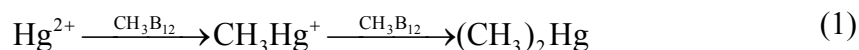
V atmosféře rtuť nalezneme v různých formách, především jako páry, rtuťnaté ionty (halogenidy), organické, ale i rtuť nasorbovanou na prachových částicích. Koncentrace rtuti v ovzduší je ovlivněna řadou faktorů, zejména meteorologickými podmínkami (směr a rychlost větru, intenzita srážek, aj.). Z oceánů se rtuť do atmosféry dostává pomocí fotoredukčních reakcí. Působením slunečního záření dochází k přeměně rtuťnatých solí na elementární rtuť, která se vypařuje do atmosféry.⁷ Odstranění rtuti z atmosféry je závislé na chemicko-fyzikálních reakcích probíhající v atmosféře (oxidačně-redukční reakce). Tyto reakce způsobují rozdělení rtuti a jejích sloučenin mezi základní fyzikální stavy. V atmosféře je nejnebezpečnější oxidovaná forma rtuti Hg^{2+} . Tato forma rtuti je velmi reaktivní, rozpustná ve vodě a doba jejího zdržení v atmosféře je kratší než 14 dní. K oxidaci rtuti v atmosféře dochází především působením UV záření a ozónu, k redukcí dochází především působením chloridů a siřičitanů.^{7,10} Mechanismus emise a depozice znázorňuje obr.3.



Obr.3. *Mechanismus emise a depozice rtuti.*⁸

Osud rtuti ve vodním prostředí je závislý na imobilizačních procesech (výměna iontů, adsorpce na nerozpuštěných látkách a sedimentech, srážení při zvýšení hodnoty pH, aj.), ale také i na remobilizačních procesech (redukční podmínky, snížení hodnoty pH, desorpce, aj.). Přirozený obsah rtuti ve vodách je dán jejím kontaktem s horninami, půdou a sedimenty. Důležité jsou také geologické podmínky a množství obsažené rtuti v zemském plášti dané lokality.^{4,6} Ve vodním prostředí je základním transformačním procesem rtuti její biotransformace. Anorganické sloučeniny rtuti, které vstupují do vodního ekosystému, jsou snadno přeměněny na methylrtuť.³

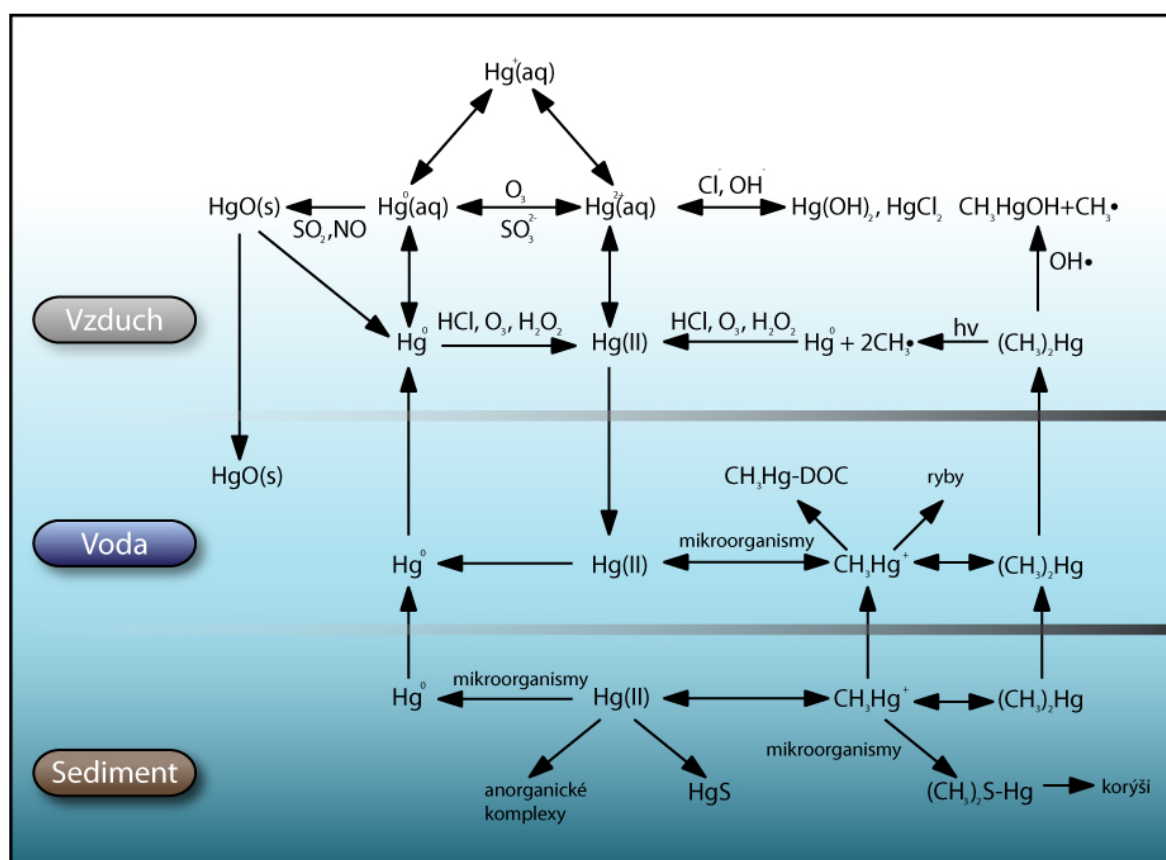
Methylace rtuti je mikrobiální proces probíhající za aerobních i anaerobních podmínek. Zahrnuje i neenzymatickou methylaci rtuťnatých iontů (Hg^{2+}) methylkobalaminovými sloučeninami v přítomnosti různých typů mikroorganismů (bakterie z rodů *Bifidobacterium*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Pseudomonas*), které se vyskytují v sedimentu (viz. rovnice č.1).



Rychlost tvorby methylrtuti je závislá na koncentraci rtuťnatých iontů, přítomnosti organických i anorganických komplexotvorných látek, koncentraci kyslíku ve vodě, teplotě, pH (optimální je $\text{pH} = 4,7$) a množství organismů. Zvýšením koncentrace rozpuštěného organického uhlíku dochází ke snižování methylace rtuti a k rychlé sorpci rtuťnatých iontů na organické částice. Tento proces způsobuje nedostupnost rtuťnatých iontů pro mikrobiální proces methylace. Ve vodním ekosystému převládá biotická methylace nad abiotickou. Pokud dochází k abiotické methylaci rtuti v přítomnosti velké koncentrace huminových látek, vznikají současně methylderiváty cínu a olova.^{3,4,10} Ve vodě probíhají také demethylační reakce kdy vzniká opět rtuťnatý iont.¹¹

Sloučeniny rtuti vyskytující se v sedimentech podléhají stejným chemickým a biochemickým transformacím jako ve vodním ekosystému. V sedimentech tvoří rtuťnaté ionty komplexy s hydroxidovými a chloridovými ionty. Organokovové sloučeniny rtuti jsou formovány a degradovány abiotickým nebo mikrobiálním procesem. Snížení rychlosti methylace rtuťnatých iontů v sedimentech je dáno především úhynem mikroorganismů. Proces methylace je podporován přísunem iontů síry a rtuti. Dále rozpuštěnými organickými látkami ve spodních vrstvách sedimentu s odvodem methylrtuti do okolní vody.³⁻⁵

Do koloběhu rtuti velmi zasahují malé vodní organismy zooplanktonu a zoobentosu. Způsobují shluky jemných částic nesoucí rtuť a jsou schopny adsorbovat anorganické formy rtuti. Tvoří začátek v potravním řetězci, kdy rtuť se začíná pohybovat k vyšším živočichům jako jsou obratlovci, kam patří i člověk.⁴



Obr.4. Koloběh rtuti v přírodě.³

aq – kapalná fáze, *s* – pevná fáze, *DOC* – rozpuštěné organické látky
hranice mezi složkami ŽP je znázorněna čarou

3.1.5. Toxicita rtuti

Rtuti je z toxikologického hlediska věnována velká pozornost. Její toxicita závisí na chemických a fyzikálních vlastnostech jednotlivých forem rtuti, tzn. na rozpustnosti, intoxikační cestě, době expozice, na jejím množství a především na mobilitě různých chemických forem. Platí, že čím mobilnější je forma rtuti, tím je toxičtější. Tyto vlastnosti určuje struktura molekuly (stabilita, chování v biosystémech, míra vylučování organismem, aj.). Mechanismy toxických účinků rtuti spočívají ve vazbě na bílkoviny, enzymy, biologické membrány, dochází k narušení jejich syntézy, aktivity i funkce.¹²⁻¹⁴

Na kontaminaci životního prostředí rtutí a její toxické účinky, bylo upozorněno v padesátých a šedesátých letech dvacátého století v Japonsku tzv. Minamatskou nemocí. Obyvatelé Japonska žijící v blízkosti Minamatského zálivu onemocněli Minamatskou nemocí v důsledku intoxikace sloučeninami methylrtuti, která se nacházela v těle konzumovaných ryb. Do těl konzumovaných ryb se organické sloučeniny rtuti dostaly chemickými a biochemickými přeměnami z odpadních vod nedaleké chemické továrny.^{6,13}

3.1.5.1. Toxikologické rozdělení sloučenin rtuti

Anorganické i organické sloučeniny rtuti se podle toxicity rozdělují do dvou skupin. První skupinu tvoří rozpustné anorganické a organické formy rtuti, které jsou charakteristické vysokou mobilitou. V rozpustných anorganických sloučeninách se rtuť vyskytuje v oxidačním stavu +II, např. chlorid rtuťnatý (HgCl_2), hydroxid rtuťnatý (Hg(OH)_2), aj. Obecně platí, že toxicita anorganických sloučenin rtuti je menší než toxicita organických sloučenin rtuti. Organické sloučeniny rtuti jsou lipofilní a lépe se kumulují v organismech než anorganické sloučeniny rtuti.^{3,9}

K již zmíněným organickým sloučeninám patří methylrtuť (MeHg^+), ethylrtuť (EtHg^+), fenylrtuť (PhHg^+). Nejznámější je hydroxid methylrtuti (MeHgOH), který je teratogenní a dobře se kumuluje v mozku. Další toxickou sloučeninou je chlorid methylrtuti (MeHgCl), projevující se psychickými účinky otravy na centrální nervovou soustavu. Při styku s kůží způsobuje chlorid methylrtuti puchýře. Chlorid fenylrtuti (PhHgCl) je pro centrální nervovou soustavu méně toxický než alkylrtuťnaté deriváty. Způsobuje však závažné poškození jater, srdce, vznik anémie, leukopenie (snížený počet bílých krvinek) a alergií. Z anorganických sloučenin rtuti je nejvíce toxický chlorid rtuťnatý (HgCl_2). Dermální expozice této anorganické sloučeniny způsobuje chronické otravy.^{12,14}

Do druhé skupiny patří semimobilní a nemobilní spíše rtuti. Tato skupina je charakteristická nízkou toxicitou z důvodu malé mobility. Mezi semimobilní patří elementární rtuť (Hg^0) a kovové amalgámy (biatomické sloučeniny rtuti).^{3,14} Nejčastější příčinou otravy elementární rtutí je expozice jejími parami, které se dobře vstřebávají kůží. Orální expozice není příliš závažná. K nemobilním speciím rtuti patří např. sulfid rtuťnatý (HgS). Tyto spíše jsou charakteristické svojí chemickou stabilitou a jsou nejméně toxické.^{3,13,14}

3.1.5.2. *Toxicita rtuti pro člověka*

Expoziční cesta rtuti je nejčastěji všemi obvyklými vstupními cestami, tj. inhalační, dermální a orální. Pro inhalační vstup je rozhodující, že elementární rtuť sublimuje při pokojové teplotě. Hlavním způsobem, jakým se rtuť dostává do těla člověka, je potravou nebo rybími produkty. Potrava obsahuje převážně anorganické formy rtuti. Pro vstřebávání z trávicího ústrojí má zásadní význam rozpustnost sloučenin rtuti ve vodě.³

Biologický poločas rtuti u člověka je 30-60 dní u anorganických specií, u organických 70-74 dní a u kovové rtuti 58 dní. Z těla se rtuť vylučuje močí a stolicí.¹³

Tkáně dýchacího ústrojí jsou velmi citlivé na přímé působení rtuti, která v nich vyvolává těžké záněty. Při chronické expozici nižšími dávkami se rtuť s krevním oběhem dostává k mozku a dalším nervovým tkáním, které jsou vysoce citlivé na toxické účinky rtuti. Nejprve je zasažena mozková kůra, zhoršuje se možnost soustředění, roste zapomnětlivost, dostavuje se pocit únavy, slabosti a nemohoucnosti. Nastoupí stádium třesu končetin, někdy i očních víček, rtů a jazyka. Charakteristickým projevem otravy rtutí v tomto stádiu je roztřesené písmo. V kritických stavech dochází k celkové zchátralosti organismu.^{10,12,14} Vliv rtuti na mozkovou kůru s následnými psychickými změnami osobnosti byl pozorován při profesních otravách výrobců plstěných klobouků již ve středověku.¹³

Kromě nervové soustavy jsou nejvíce z lidských orgánů zasažena játra a ledviny.¹³ V játrech se rtuť nachází ve formě methylrtuti. Játra methylrtuť rychle kumulují a vylučují ji žlučí do střeva. Jedna třetina methylrtuti se dostává žlučí do výkalů a je vyloučena z organismu. Zbylé dvě třetiny rtuti jsou vstřebávány do krve a dostávají se do organismu. Pro ledviny je mnohem toxičtější rtuť v anorganické formě.^{3,9,12} Těžké otravy rtutí končí smrtelně.³

3.1.6. Stanovení rtuti

Analytické metody pro stanovení rtuti závisí na povaze vzorku a koncentraci rtuti. Stanovení sloučenin rtuti v půdě a sedimentech patří vzhledem k heterogenitě materiálů k problematickým.^{3,15,16} Při odběru a úpravě chemických forem rtuti je třeba zajistit, aby nedošlo k celkovému poklesu množství rtuti ve vzorku. Nesmí dojít ani ke změně poměru jednotlivých forem rtuti.^{4,16,17}

Základním zdrojem ztráty rtuti ve vzorku je odpařování a transformace těkavých sloučenin rtuti. Nejčastěji dochází k přeměně methylrtuti na anorganickou rtuť, méně často k přeměně opačné. Ke ztrátám celkového obsahu rtuti dochází při absorpci rtuti na povrch částic rozpustné organické hmoty. Při odběru vodných vzorků se doporučuje v místě odběru provést odfiltrování rozpuštěné organické hmoty a upravit pH okyselením z důvodu zvýšené rozpustnosti chemických forem rtuti. Dalším zdrojem ztráty je absorpce rtuti na povrch odběrové nádoby. Proto se pro odběr vzorku rtuti doporučují skleněné nebo křemenné nádoby, neboť páry rtuti jsou schopny procházet teflonem i polyethylenem.^{3,17}

Stabilizace proti sorpci se provádí přidávkou minerálních kyselin, např. kyselina dusičná (HNO_3), kyselina sírová (H_2SO_4), kyselina chlorovodíková (HCl), popřípadě dalších činidel, jako manganistanu draselného (KMnO_4) nebo dichromanu draselného ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).¹⁷ Stabilitu vzorků je možné podpořit kromě použití odpovídajících lahví také zmrazením, uchováním extraktů v lednici nebo použitím konzervačních činidel.^{3,15,17} Zanedbatelný není ani vliv bakterií či ultrafialového záření na přeměny jednotlivých specií. Proto je třeba vzorky skladovat ve tmě při teplotě 4 °C.¹⁷ Po dobu jednoho měsíce jsou stabilní roztoky s koncentrací větší než 1 mg.l⁻¹, u roztoků s koncentrací nižší je stabilita kolem jednoho týdne.¹⁸

3.1.6.1. Rozklad vzorku

Pro stanovení celkového obsahu rtuti je důležitá mineralizace vzorku, která se nejčastěji provádí silnými minerálními kyselinami, např. konc. kyselina dusičná (HNO_3), konc. kyselina chlorovodíková (HCl), směsí konc. kyseliny dusičné a 30% peroxidu vodíku (H_2O_2) nebo směsí kyseliny dusičné s kyselinou sírovou (H_2SO_4) v poměru 1:1 či 1:4. Mineralizace vzorku probíhá při teplotě 100 až 200 °C pod zpětným chladičem či v mikrovlnných pecích.³

Důležitým krokem je převod všech různých chemických forem rtuti na jednu a to anorganickou. Vzniklou anorganickou rtuť je možné detekovat jako atomární rtuť. Oxidace chemických forem rtuti se provádí silnými kyselinami (kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina dusičná) a oxidačními činidly (peroxid vodíku, dichroman draselný, manganistan draselný) v kyselém prostředí, UV zářením a mikrovlnným zářením. Účinná je i fotooxidace, tj. kombinace chemické oxidace s působením UV záření.^{3,10,18}

3.1.6.2. Metody pro stanovení celkového obsahu rtuti

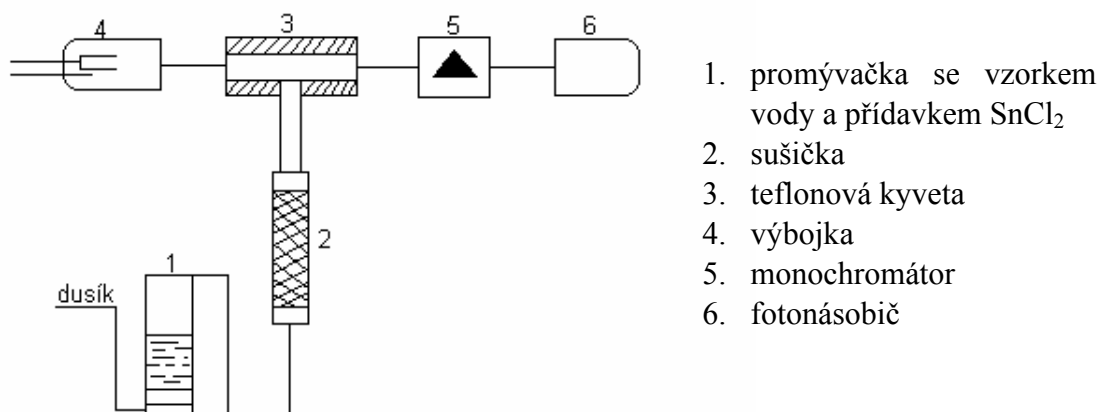
Ke stanovení celkové koncentrace rtuti se používá atomová absorpční spektrometrie (AAS), atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) nebo hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Velmi používaným přístrojem je jednoúčelový atomový absorpční spektrometr využívající pro stanovení techniku generování studených par.^{3,19}

3.1.6.3. Metoda generování hydridů a jiných těkavých sloučenin

Pro metody atomové spektrometrie platí, že vzorek může být přiváděn do atomizátoru v plynné nebo kondenzované formě. K převedení analytu do plynné fáze se využívá generování těkavých sloučenin, které spočívá v selektivním převedení analytu z kapalné do plynné fáze pomocí vhodné chemické reakce vedoucí ke vzniku těkavé sloučeniny analytu. Ke generování a atomizaci těkavých sloučenin se nejčastěji využívají kovalentní binární hydridy (astat, bismut, germanium, olovo, selen, aj.), alkyl-substituované hydridy (methyl-, ethyl- deriváty), cheláty nebo těkavé oxidy.²²

Při generování hydridů jsou sloučeniny rtuti redukovány, např. chloridem cínatým (SnCl_2) v kyselém prostředí, tetrahydroboritanem sodným (NaBH_4), formaldehydem (HCHO) nebo kyselinou askorbovou ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) při pH 11.^{3,16}

Uvolněná elementární rtuť je ze vzorku vytěsněna proudem inertního plynu a vedena do kyvety o délce 10-20 cm. Během transportu do kyvety hydridy procházejí přes trubici obsahující hygroskopický materiál a v kyvetě je změřena absorbance při vlnové délce 253,65 nm.¹⁶ Schématické znázornění této techniky je na obr.5.



Obr.5. Schéma zařízení pro stanovení rtuti metodou generovaných hydridů.¹⁶

3.1.6.4. Analyzátory pro stanovení celkového obsahu rtuti

Jak již bylo zmíněno pro stanovení celkového obsahu rtuti byly vyvinuty speciální analyzátory. Tyto přístroje byly pojmenovány TMA 254 (Trace Mercury Analyser) a AMA 254 (Advanced Mercury Analyser).⁴ Tyto analyzátory umožňují přímé stanovení rtuti v pevných, plynných a kapalných vzorcích bez potřeby předchozí chemické úpravy vzorku.

Principem těchto analyzátorů je termooxidační rozklad vzorku s následným zachycením rtuti na amalgamátoru. Na lodičku z niklu nebo platiny se dávkuje 250 mg, resp. 250 μl vzorku. Spalování vzorku probíhá v proudu kyslíku při 850 – 900 °C ve spalovací peci. Následně jsou spaliny transportovány proudem kyslíku do amalgamátoru, kterým je křemelina potažená zlatem. Zde je selektivně zachycena rtuť. Po nakoncentrování je rtuť vypuzena rychlým ohřevem do tzv. tandemových kyvet o různé optické délce. Absorbance rtuti je měřena při 253,65 nm. K zamezení kondenzace vodní páry slouží termostatovaný blok.^{3,20}

Metoda dosahuje mimořádně nízké meze detekce stanovení (0,01 ng Hg). Výsledky jsou nezávislé na matici vzorku.³

3.1.6.5. Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

Techniky atomové absorpční spektrometrie se liší citlivostí a způsobem atomizace vzorku. Z důvodu malé citlivosti plamenové atomové absorpční spektrometrie (F-AAS) a atomové absorpční spektrometrie s elektronovou atomizací (ET-AAS) se využívá atomová absorpční spektrometrie s metodou generování studených par rtuti (CV-AAS). Tato metoda se vyznačuje velmi dobrou citlivostí a vysokou selektivitou. Monoatomické páry rtuti, získané redukcí Hg^{2+} , jsou proudem argonu nebo dusíku přeneseny do absorpční průtokové kyvety.^{21,22}

3.1.6.6. Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)

Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) se nejčastěji používá v kombinaci s metodou generování studených par. Tato metoda vykazuje vysokou selektivitu, lineární dynamický rozsah a nízkou mez detekce. Proto CV-AFS využívá stejně jako CV-AAS amalgamační prekoncentrační jednotku, která zvyšuje citlivost pro stanovení rtuti.^{19,23}

Tabulka 2. Detekční limity atomové absorpční spektrometrie pro rtuť.²⁵

technika	AFS	ET-AAS	CV-AAS	ICP-MS
detekční limit ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	200	0,2	0,05	0,1

3.1.6.7. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) je ultrastopová analytická metoda, která slouží ke stanovení obsahu stopových množství jednotlivých prvků v analyzovaném vzorku. Umožňuje analyzovat téměř všechny prvky od lithia po uran s citlivostí až jednotek ppt po stovky ppm.²⁶

3.1.6.8. Metody pro stanovení různých chemických forem rtuti

Izolace sloučenin rtuti je jedním z nejobtížnějších kroků analýz vzorků životního prostředí. Nejpoužívanějšími postupy izolace organických sloučenin rtuti ze vzorků životního prostředí je klasická destilace, destilace s vodní parou, extrakce v systému kapalina – kapalina, superkritická fluidní extrakce (SFE), mikrovlnná extrakce (MWE) nebo extrakce rozpouštědlem za vysokých tlaků. Izolace chemických forem z biologického materiálu se provádí kyselou nebo alkalickou hydrolýzou.^{3,15} Při izolaci nesmí docházet k transformaci a úniku jednotlivých specií rtuti. Pro izolaci jednotlivých specií se používají různé mírné extrakční postupy, přičemž extrakční výtěžky musejí být kvantitativní a reprodukovatelné.²⁴ Rozhodující pro rozlišení jednotlivých forem rtuti jsou rozdíly v jejich chemických i fyzikálních vlastnostech.³

Dříve se využívaly selektivní jednokrokové extrakce, selektivní redukce chemických forem rtuti roztokem tetrahydroboritanu sodného o různé koncentraci nebo dvoukroková redukce roztoky chloridu cínatého a tetrahydroboritanu sodného ve spojení s atomovou absorpční spektrometrií (AAS) nebo atomovou fluorescenční spektrometrií (AFS).^{3,19}

V současné době se pro rozlišení specií rtuti nejvíce využívají kombinované, tzv. tandemové techniky. Tyto techniky jsou spojovány se separačními metodami. Nejčastěji s vysoce účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) nebo s plynovou chromatografií (GC). Separační metody umožňují prvkově, ale i izotopově selektivní detekci.³ Příklady některých technik jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3. Kombinované techniky pro speciální analýzu rtuti a jejich detekční limity.²⁵

formy rtuti	separace	detekce	detekční limit ($\mu\text{g.l}^{-1}$)		
			Hg(II)	MeHg	Me ₂ Hg
Hg (II), MeHg	GC	ICP-MS	0,257	0,016	
Hg (II), MeHg, Me ₂ Hg	GC	MIP-AES	6,48	1,30	0,21
Hg (II), MeHg	HPLC	CV AFS	0,01	0,01	
Hg (II), MeHg	HPLC	ICP-MS	5,20	5,60	
Hg (II), MeHg	HPLC	CV AAS	1,13	1,32	

3.1.7. Stanovení *in situ*

Sledování distribuce chemických forem kovů v jednotlivých složkách životního prostředí není jednoduché. Pro stanovení rtuti a jejích sloučenin je nejdůležitější odběr, uchování vzorků, izolace specií z matrice a separace rtuti. Při těchto krocích může dojít k fyzikálně-chemickým změnám ve vzorku. Tyto změny mohou mít za následek změnu rozdělení specií, což způsobuje chybné závěry při vyhodnocování naměřených výsledků.²⁷

Metody *in situ* těmto změnám zabraňují, eliminují rušivé vlivy při a po odběru, umožňují získání časových a prostorových dat, měření koncentračního gradientu a toků látek na přírodním rozhraní.^{27,29}

Mezi nejběžnější metody pracující *in situ* patří různé elektrochemické metody, (voltametrie, iontově selektivní elektrody) a dialýza. V poslední době začaly být hojně využívány tzv. gelové techniky, technika DET a technika DGT.^{29,30}

3.2. Technika difúzního gradientu v tenkém filmu

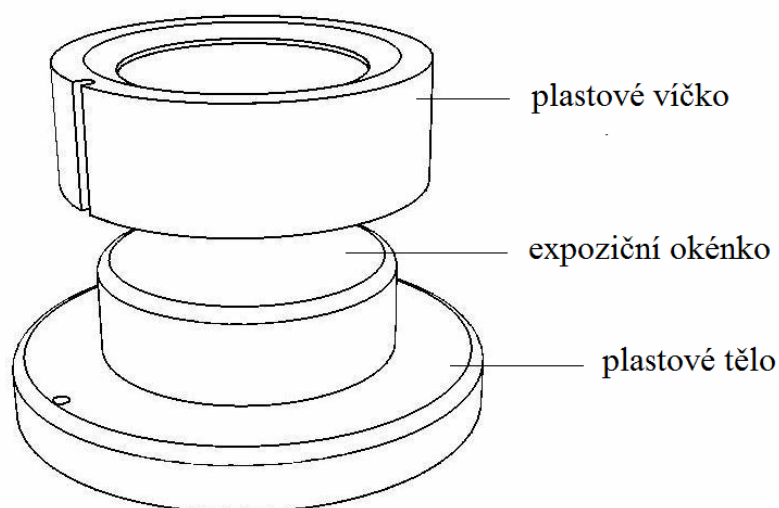
Techniku difúzního gradientu v tenkém filmu neboli DGT (Diffusive gradients in thin films technique) poprvé popsali Hao Zhang a William Davison v 90. letech 20. století. DGT je v současné době úspěšnou moderní technikou používanou k měření *in situ* stopových koncentrací nejen kovů, ale také fosfátů, sulfidů a radionuklidů v přírodních vodních ekosystémech (ve vodě, v půdě i v sedimentech).

K přednostem techniky DGT patří jednoduchost provedení, nízké náklady, vysoká citlivost, prekoncentrační schopnosti, stanovení více prvků najednou a možnost speciální analýzy.^{30,31}

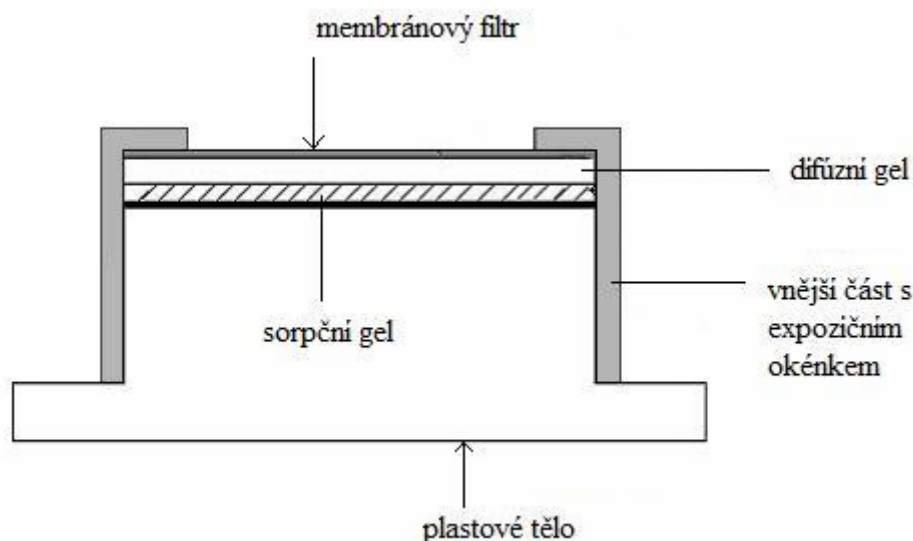
3.2.1. Vzorkovací jednotky DGT

Technika difúzního gradientu v tenkém filmu používá pro vzorkování jednoduché plastové zařízení ve tvaru pístu. Tvar vzorkovací jednotky a její průřez znázorňuje obrázek 6 a 7.

Na cylindrickou část vzorkovací jednotky DGT jsou uloženy dvě vrstvy gelu. Přímě na tělo jednotky DGT je uložen polyakrylamidový gel obsahující sorbenty specifické pro daný analyt, tzv. *sorpční gel*. Tento gel je překryt vrstvou *difúzního gelu*, v případě rtuti se jedná o agarózový gel. Obě tyto vrstvy gelu překrývá *membránový filtr* o velikosti pórů 0,45 μm , který zabraňuje během expozice mechanickému poškození vrstev gelu. Vzorkovací jednotka je uzavřena plastovým víčkem s expozičním okénkem o průměru 2 cm.³¹



Obr.6. Celkový pohled na vzorkovací jednotku DGT.³¹



Obr.7. Uložení gelů ve vzorkovací jednotce DGT.³¹

3.2.2. Princip techniky difúzního gradientu v tenkém filmu

Princip techniky difúzního gradientu v tenkém filmu je založen na Fickových zákonech difúze.^{28,31}

3.2.2.1. Princip techniky DGT ve vodách

Po ponoření jednotky DGT do měřeného roztoku difundují ionty přes difúzní gel o známé tloušťce Δg k sorpčnímu médiu (např. iontoměničči Chelex-100). Ionty, které projdou přes difúzní gel jsou na povrchu iontoměniče imobilizovány jeho funkčními skupinami až do nasycení jeho kapacity.

V difúzním gelu se velmi rychle ustanoví lineární koncentrační gradient, viz. obr.8. Je-li tento gradient během doby měření t konstantní, lze dle *I. Fickova zákona difúze* vypočítat tok chemických forem kovů z vnějšího prostředí do vzorkovací jednotky (rovnice č. 2):

$$F = D \frac{dC}{dx} \quad (2)$$

kde F je tok iontů kovů difúzní vrstvou, D je difúzní koeficient a dC/dx je koncentrační gradient.

Difúzní vrstva je tvořena difúzním gelem tloušťky Δg a hraniční difúzní vrstvou tloušťky δ . Rovnici (2) tak můžeme rozepsat:

$$F = \frac{D(C_{DGT} - C')}{(\Delta g + \delta)} \quad (3)$$

kde C_{DGT} je koncentrace iontů kovů ve vnějším roztoku, C' je koncentrace iontů na rozhraní sorpčního a difúzního gelu.

Za předpokladu že jsou látky pevně a dostatečně rychle vázány sorpční vrstvou, je koncentrace na rozhraní sorpčního a difúzního gelu C' nulová. V dobře míchaných roztocích je tloušťka hraniční difúzní vrstvy zanedbatelně malá ve srovnání s tloušťkou difúzní vrstvy Δg . Pokud sorpční gel není nasycen, může být rovnice (3) zjednodušena na tvar:

$$F = D \cdot \frac{C_{DGT}}{\Delta g} \quad (4)$$

Tok látky lze definovat i hmotnostním tokem:

$$F = \frac{M}{A \cdot t} \quad (5)$$

kde M je množství iontů akumulovaných sorpčním gelem, A plocha exponované části gelu, kterou prošly ionty za čas t .

Množství iontů akumulovaných v sorpčním gelu lze vypočítat dle vztahu:

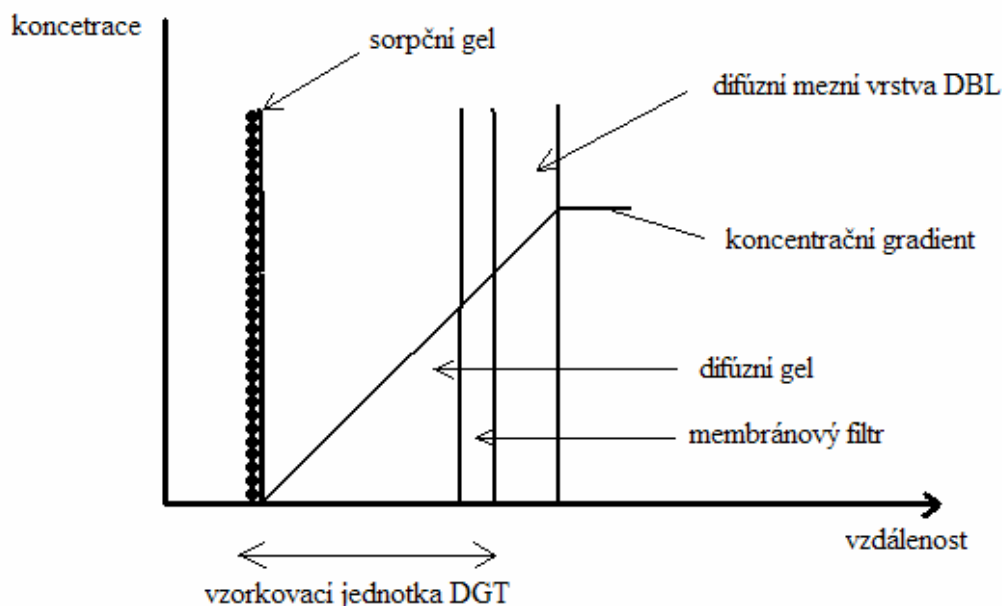
$$M = C_e \frac{V_g + V_e}{f_e} \quad (6)$$

kde V_g je objem sorpčního gelu, V_e je objem vhodného elučního činidla, C_e je koncentrace iontu v eluátu a f_e je eluční faktor. Ten je dán poměrem mezi množstvím kovu, který lze eluovat ze sorbentu a celkovým množstvím kovu vázaným během doby expozice v sorpční vrstvě. Udává množství kovu které se vyluhuje v jednom elučním kroku z celkového sorbovaného množství.

Spojením zjednodušené rovnice pro tok iontů a rovnice pro hmotnostní tok iontů získáme vztah pro výpočet koncentrace iontu ve vnějším roztoku, pomocí měřitelných hodnot a tabelovaného difúzního koeficientu (D):

$$C_{DGT} = \frac{M \cdot \Delta}{D \cdot t \cdot A} \quad (7)$$

kde M je množství iontů akumulovaných v sorpčním gelu, Δg je tloušťka difúzní vrstvy, D je difúzní koeficient při dané teplotě, t je doba expozice a A je plocha exponované části gelu.³¹⁻³³



Obr.8. Schématické znázornění koncentrace volných specií iontů v hydrogelu při kontaktu s vnějším roztokem.³³

Rtuť, je v sorpčním gelu vázána silnou kovalentní vazbou, proto ji nelze eluovat elučním činidlem jak tomu bývá u ostatních kovů. Z tohoto důvodu je analyzován přímo sorpční gel vhodnou metodou. V této diplomové práci byl s výhodou použit jednoúčelový atomový absorpční spektrometr AMA 254.³⁴

3.2.2.2. Princip techniky DGT pro analýzu půd a sedimentů

Techniku DGT je také možné využít pro přímé stanovení hmotnostních toků iontů kovů *in situ* v sedimentech a půdách.²⁹ Příklady použití techniky DGT v sedimentech a půdách jsou uvedeny v tabulce 4.³⁰

Tabulka 4. Příklady použití difúzního gradientu v tenkém filmu pro sledování koncentrace kovů ve vodě v pórech sedimentů a půd.²⁸

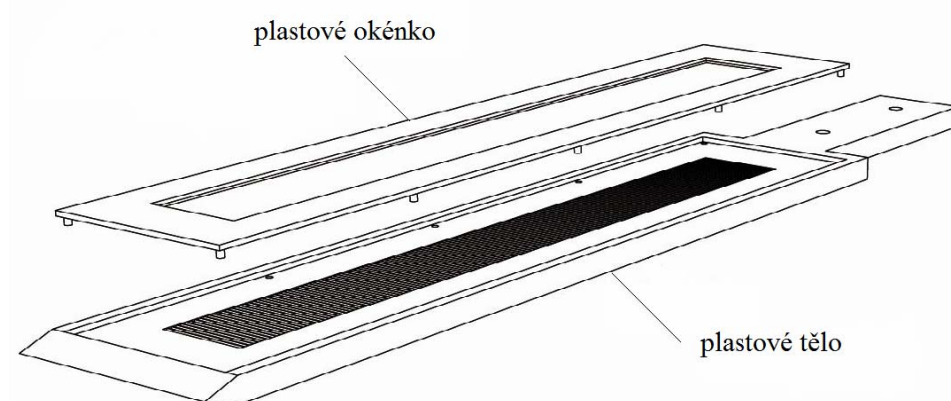
Kov (sedimenty)	Vzorkovací místo	Kov (půdy)	Vzorkovací místo
Cu, Co, Ni, Fe, Zn	Anglie, jezero	Zn, Cu, Cd, Ni	Německo, Braunschweig
Cd, Mn	Esthwaite	Zn, Cu, Cd, Ni, Pb, Zn	Skotsko, Lanarkshire
Zn, As, Fe, Mn	Anglie, řeka Sankey	Zn, Cu, Cd, Ni, Pb, Zn	Anglie, Stagnogley
Co, Cd, Fe, Mn	Černé moře	Cu	Anglie, Merseyside
Co, Ni, As, Mn, Fe	Skotsko, jezero Duich	Cd, Cr, Ni, Cu	ČR, Zlín
Cd, Pb, Mn, Fe	ČR, rybník Ochoz		

Princip techniky DGT při použití v půdách a sedimentech se liší od principu DGT pro vodní systémy. Pórové vody v sedimentech a půdní roztoky představují nepromíchaný systém. Nejsou-li ionty doplňovány z pevné fáze do roztoku, dochází k snižování koncentrace v blízkosti difúzního gelu s rostoucí dobou expozice. Koncentrace iontů u povrchu gelu v daném čase jsou definovány *II. Fickovým zákonem difúze*:

$$\frac{\partial c}{\partial d} = D \cdot \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \right) \quad (8)$$

Jednotka DGT pak měří střední hodnotu toku, kterou je možné vypočítat integrací *II. Fickova zákona difúze* pro dobu expozice (0,t).^{29,30}

$$F_{(t,x)} = D \cdot \left(\frac{\partial c_{(t,x)}}{\partial x} \right) \quad (9)$$



Obr. 9. Vzorkovací jednotka pro měření *in situ* v sedimentech technikou DGT.

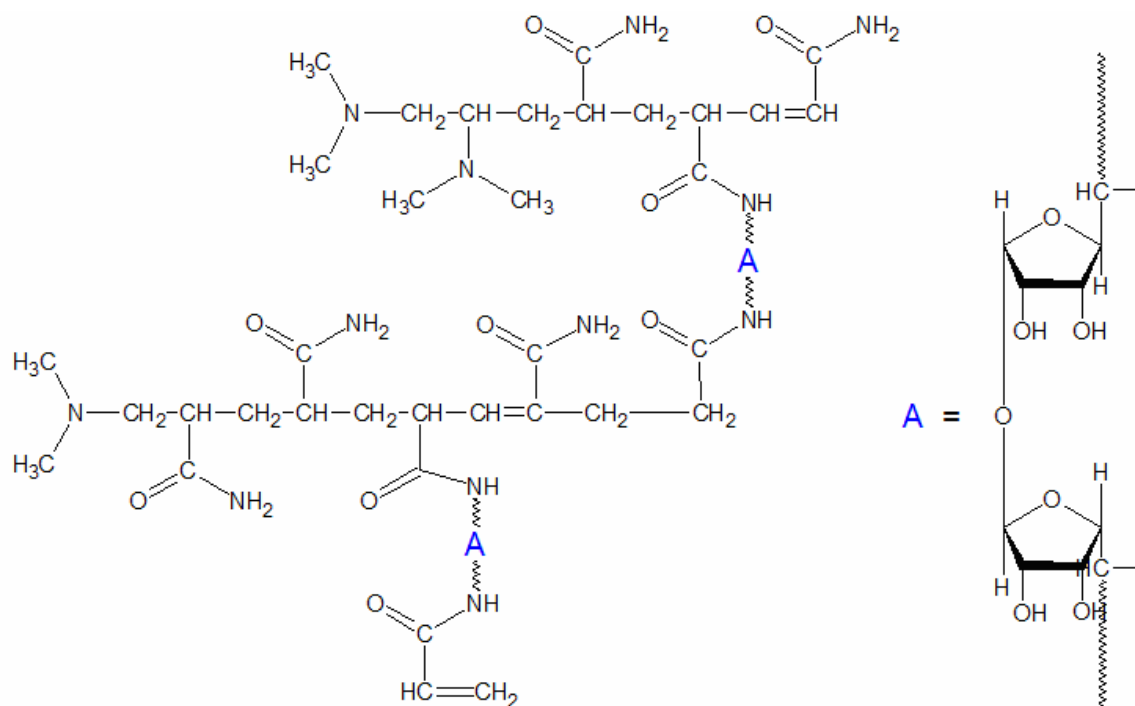
3.2.3. Difúzní gely v technice DGT

V technice DGT se difúzní gel používá pro vytvoření difúzní vrstvy. Hlavním principem difúzního gelu je zajistit definovaný transport kovů k sorpčnímu gelu. Technika DGT nejčastěji využívá polyakrylamidový hydrogel, ve výjimečných případech agarózový gel.³¹

3.2.3.1. Polyakrylamidový gel

Polyakrylamidový gel je připravován polymerizací směsi monomerního akrylamidu a agarózového síťovadla, ke kterým je přidáván katalyzátor reakce TEMED (N,N,N',N' – tetramethylethyldiamin) a iniciátor polymerizace peroxosíran amonný $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$.

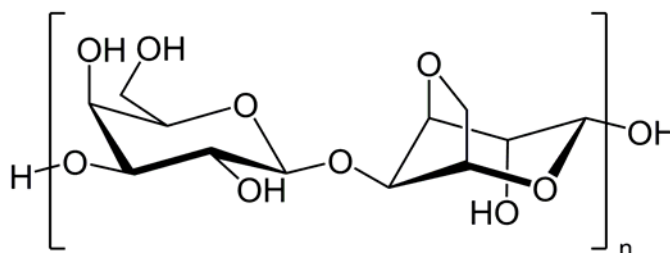
Připravený hydrogel je tvořen z více než 90 % vodou a velikost pórů připraveného gelu je 2-5 nm. Použitím vzorkovací jednotky DGT s difúzní vrstvou polyakrylamidového gelu je možno získat informace o kovech vázaných v kineticky labilních anorganických a menších kineticky labilních organických formách kovů ve sledovaném systému.³¹



Obr.10. Vzorec polyakrylamidu.⁴¹

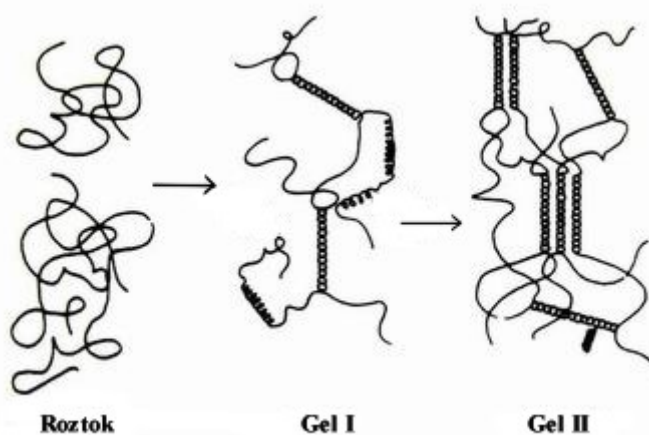
3.2.3.2. Agarózový gel

Agaróza je lineární polysacharid získávaný z mořských řas rodů *Gelidium*, *Pterocladia* nebo *Gracilaria*. Skládá se z opakujících se jednotek agarobiosy (vzájemně vázaná β -D-galaktopyranosa a 3,6-anhydro- α -L-galaktopyranosa) (obr.11). Agaróza má za nižších teplot podobu gelu (gelifikuje), působením vyšší teploty ve vodném roztoku taje. Bod tání závisí na koncentraci a typu agarózy.



Obr.11. Vzorec agarózy.³⁶

Agarózový gel vzniká při ochlazení povařeného roztoku agarózy na teplotu 40-45 °C. Tento proces je označován jako tzv. *gelifikace*, při ochlazování tvoří předtím volná vlákna agarózy postupně dvě formy prostorového šroubovicového uspořádání (obr.12), takže vytvoří trojrozměrnou prostorovou síť. Gelifikace tak vede ke vzniku želatinové hmoty, kde jsou mezery v síti vláken vyplněny vodou (resp. pufrem), který byl použit k přípravě roztoku agarózy. Z běžných agaróz lze připravit gel, obsahující 0,7 - 2,5 % agarózy. Vzniklý agarózový gel má póry o velikosti > 20 nm a umožňuje difúzi i velkých přírodních komplexů s rozpuštěnými organickými látkami.³⁶



Obr.12. Průběh gelifikace agarózy.³⁵

Agarózový gel je používán pro stanovení kineticky labilních forem kovů o větší velikosti molekul (velikost pórů agarózového gelu je kolem 20 nm). Tento gel byl také doporučen pro stanovení rtuti, neboť na rozdíl od polyakrylamidového gelu kovalentně neváže rtuť ve své struktuře a umožňuje volnou difúzi rtuti gelem.^{33,34}

3.2.4. Sorpční gely

Volba sorpčního gelu má značný vliv na formy kovů měřených technikou DGT. Mezi sorpční materiály, které využívá technika DGT patří iontoměniče (Chelex 100), iontové sloučeniny (oxidy železa) a minerální fáze (jodid stříbrný v sorpčním gelu).

Iontoměniče jsou gelové disperzní systémy pro které je disperzním prostředím voda. Disperzní podíl tvoří polymerní skelet iontoměniče, který může být povahy organické (měnič na bázi celulózy), tak i anorganické (hlinitokřemičitan). Trojrozměrný skelet je tvořen síťujícími vazbami (např. vodíkové můstky) a polymerními řetězci. Vzhledem k tomuto uspořádání jsou polymerní řetězce omezeny v pohybu a tvorbě roztoku při styku s rozpouštědlem.

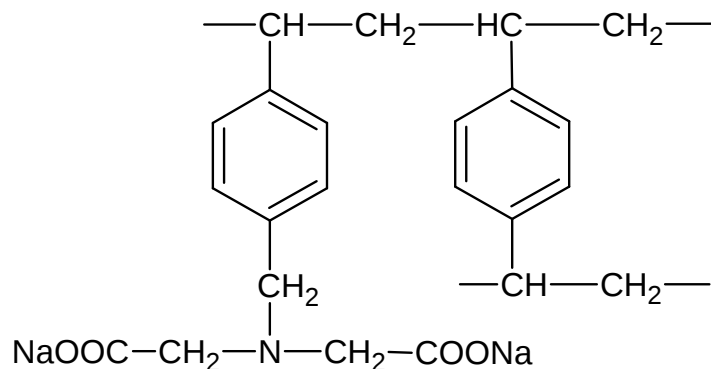
Pro výrobu sorpčních gelů je používán polyakrylamidový hydrogel, ve kterém je imobilizován sorbent vázající požadovaný analyt. V dnešní době je mnoho druhů selektivních iontoměničů lišících se zakotvením analytických funkčních skupin. Vazba funkční skupiny (např. $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NR}_2$, $-\text{SH}$) může být přímá nebo zprostředkovaná jinou skupinou. Ve funkčních skupinách probíhá iontová výměna, která je nejtypičtější interakcí mezi ionty v roztoku a iontoměničem. Při iontové výměně platí, že množství přijatých iontů iontoměničem je rovno množství iontů předaných iontoměničem do roztoku.³⁷

V této diplomové práci byly testovány sorbenty obsahující thiolové skupiny ($-\text{SH}$), konkrétně Spheron-Thiol, Duolite GT-73, a dále imidazolem modifikovaný Iontosorb AV. Vlastnosti těchto sorbentů v sorpčních gelech byly porovnávány s běžně používaným sorpčním gelem obsahujícím iontoměnič Chelex-100.

3.2.5. Charakteristika použitých iontoměničů

3.2.5.1. Chelex-100

Nejpoužívanějším sorpčním gelem pro stanovení kineticky labilních forem kovů technikou DGT je gel s iontoměničem Chelex-100. Chelex, kopolymer styrenu a divinylbenzenu, je řazen do skupiny slabě kyselých iontoměničů, který se od ostatních iontoměničů liší větší vazebnou silou a vysokou selektivitou pro kovové ionty. Selektivita Chelexu pro daný systém je závislá na pH, iontové síle a na přítomnosti dalších komplexotvorných specií.³⁸

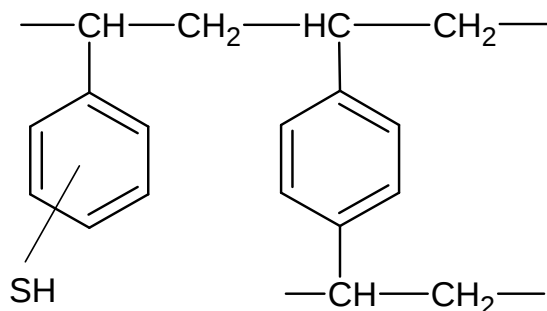


Obr.13. Vzorec Chelex-100.⁴⁰

3.2.5.2. Duolit GT-73

Duolit GT-73 je slabě kyselý selektivní iontoměnič obsahující thiolové skupiny navázané na styren-divinylbenzenovém kopolymeru. Tento iontoměnič váže ireverzibilně rtuť a to v jakémkoli z jejich tří možných oxidačních stavů.

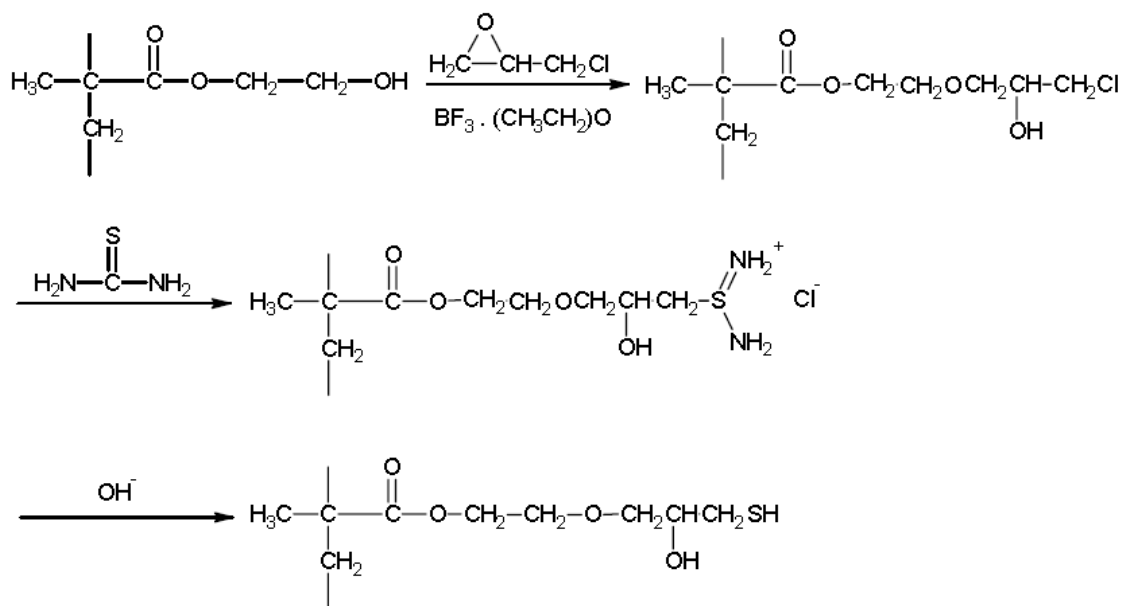
Používá se k odstraňování rtuti ze znečištěných vod, bývá používán při zkoncentrování rtuti a oddělení rtuti od matrice, která negativně ovlivňuje následnou analýzu rtuti.³⁹



Obr.14. Vzorec Duolitu GT-73.³⁹

3.2.5.3. Spheron-Thiol

Selektivní iontoměnič Sphreon-Thiol s navázanými thiolovými skupinami je modifikací hydroxyethylmethakrylátového gelu Spheron^R. V minulosti byl tento sorbent vyráběn firmou Lachema v Brně. Výroba Spheron-Thiolu ze Spheronu, (obr.15), zahrnuje modifikaci hydroxylové skupiny akrylátu reakcí s epichlorhydridem. Aktivní chloridová skupina bočního řetězce je převedena thiomocovinou na isothiurinovou sůl, která je v alkalickém prostředí štěpena na thiolové skupiny.³⁷

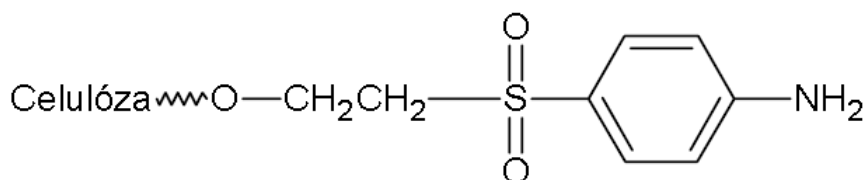


Obr.15. Příprava iontoměniče Spheron-Thiolu.³⁷

Gely na bázi Spheronu jsou výbornými nosiči komplexotvorných skupin. Výhodou těchto gelů je definovaná vysoká porozita, velká šířka pórů, malé bobtnací efekty, dobrá hydrofilita a vysoká hydrolytická stálost. Výhodou ve struktuře Spheronu je velký počet hydroxylových skupin, které umožňují navázání dalších funkčních skupin na postranní řetězce.^{34,37}

3.2.5.4. Iontosorb AV

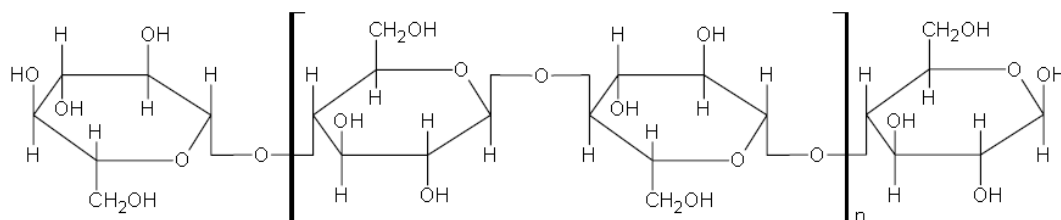
Iontosorb AV je komerčně vyráběný sorbent pro náplň do kolon pro afinitní chromatografii v různých velikostech částic od 30 do 500 μm . V Iontosorbu AV je aminoaryl- β -ethylsulfonová skupina vázána na flexibilním řetězci, (obr.16), který je označován jako makroporézní perlová celulóza (Perloza MT). Výhodou tohoto sorbentu je možnost modifikace, např. pomocí diazotačních a kopulačních reakcí, a tedy přípravy nových sorbentů. Makroporézní perlová celulóza, znázorněná na obr.18, byla připravena v Ústavu makromolekulární chemie Akademie věd v Praze v roce 1976, výroba začala o rok později.



Obr.16. Iontosorb AV.⁴⁰

Makroporézní perlová celulóza se připravuje solidifikací xantogenátu celulózy v interním rozpouštědle a následnou regenerací. Takto připravené částičky (perličky) mají heterogenní strukturu, tvořenou krystalickými a amorfními oblastmi polymerních řetězců s průměrným polymeračním stupněm mezi 300-500 jednotkami. Efektem těchto heterogenit je mechanická stabilita perlových částic i v případě gelů s velkými póry.

Polymerní struktura makroporézní perlové celulózy je tvořena D-glukopyranosovými jednotkami vázanými beta-glykosidickou vazbou. Přítomné hydroxylové skupiny na povrchu celulóзовých řetězců zaručují vysokou hydrofilitu všech typů Perlozy MT. Volné prostory mezi aglomeráty polymerních řetězců určují makroporozitu perlové celulózy. Vnitřní struktura perliček je stabilizována pouze vodíkovými můstky bez kovalentního zesíťení.⁴⁰



Obr.17. Perlová celulóza.⁴⁰

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST DIPLOMOVÉ PRÁCE

Tabulka 5. Použité chemikálie a jejich výrobci.

název chemikálie	výrobce
kyselina dusičná 65%	Lachema s.p. Brno, závod Neratovice, ČR
standardní roztok rtuti 1 g.l ⁻¹	Astasol®-Hg, Analytika Praha, ČR
agaróza	Merk, Darmstadt, Německo
ethanol 96%	ML Chemica, Troubsko, ČR
hydroxid sodný	Merci s.r.o., Brno, ČR
kyslík v tlakové nádobě	Linde gas, a.s., Brno
K přípravě modifikovaného Iontosorb s imidazolem byly použity tyto chemikálie	
Iontosorb AV 50 (50-80µm)	IONTOSORB, Ústí nad Labem, ČR
imidazol	Fluka, Buchs, Švýcarsko
kyselina chlorovodíková 35 %	ML Chemica, Troubsko, ČR
dusitan sodný	Lachema a.s., Brno, ČR
uhličitan sodný	Lachema a.s., odšt. závod Neratovice, ČR
chlorid sodný	Lachema a.s., Brno, ČR
K přípravě Chelexu-100, Duolitu GT-73, Spheron-Thiolu byly použity tyto chemikálie	
40% akrylamid	Merk, Darmstadt, Německo
2% agarózové síťovadlo (cross-linker)	DGT Research Lancaster, Velká Británie
TEMED (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamin)	Merk, Darmstadt, Německo
peroxosíran amonný	Merk, Darmstadt, Německo
Chelex-100 (200-400 µm)	Biorad Laboratories, Hercules, USA
Duolit GT-73 (60-123 µm)	Supelco, Bellefonte, USA
Spheron-Thiol (40-63 µm)	Lachema Brno, Česká republika

Tabulka 6. Použité přístroje a jejich výrobci.

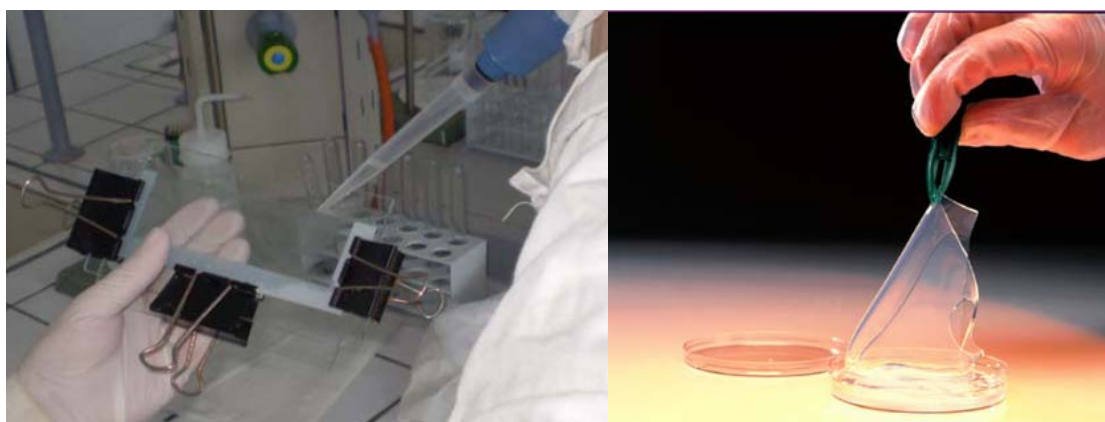
přístroj	výrobce
sušárna model 500	Memmert, Německo
elektronické analytické váhy	Denver Instruments, Německo
mikropipety	BIOHIT, Helsinky, Finsko
míchačka Lavat MM7	Chotutice, ČR
orbitální třepačka, MS2 Minishaker	IKA, Staufen, Německo
termostat s míchadlem	vlastní výroby
pH metr WTW 320	Weilheim, Německo
atomový absorpční spektrometr AMA 254	Altec, Česká republika

Použité chemikálie byly čistoty p.a.. Pro přípravu vodných roztoků byla vždy použita ultračistá voda (MQ) upravená přístrojem Milli-Q Academic firmy Millipore. Kvalita deionizované vody připravené tímto způsobem dosahovala na výstupu v jednotkách specifické vodivosti hodnot 0,055 µS.cm⁻¹.

4.1. Příprava gelů

4.1.1. Příprava difúzního gelu

Difúzní gel byl připraven z 1,5 % roztoku agarózy. Na analytických vahách bylo naváženo odpovídající množství agarózy. Toto množství bylo kvantitativně převedeno do Erlenmayerovy baňky umístěné ve vodní lázni o teplotě 80-90°C a následně bylo rozpuštěno při intenzivním míchání v 10 ml ultračisté vody. Po rozpuštění veškerého množství agarózy byl připravený roztok pomocí pipety přemístěn mezi dvě skla, která byla předem mírně zahřátá. Skla byla oddělená distanční folií o tloušťce 0,5 mm a sepnuta svorkami (obr.18). Skla s agarózou byla ponechána ve vertikální poloze při laboratorní teplotě asi 20 minut. Po vychladnutí a ztuhnutí agarózového roztoku byla skla rozebrána a ze vzniklého gelu byly vykrojeny gely o průměru 2,5 cm. Tyto gely byly dále uchovávány v ultračisté vodě.



Obr.18. Příprava difúzního gelu.

4.1.2. Příprava sorpčního gelu

Pro přípravu sorpčních gelů, kromě Iontosorbu AV, byl použit gelový roztok. Hmotnosti navážek pro přípravu sorpčních gelů shrnuje tabulka 7.

Gelový roztok byl připraven smícháním 18,75 ml 40% akrylamidu, ke kterému bylo přidáno 7,5 ml agarózového síťovadla a 23,75 ml ultračisté vody. Vzniklý roztok byl důkladně protřepán a uchován v plastové nádobě v lednici při teplotě 4°C.

Tabulka 7. Hodnoty navážek iontoměničů pro přípravu sorpčních gelů.

iontoměnič	Chelex-100	Spheron-Thiol	Duolít GT-73	MISAVI
navážka (g)	0,50	0,25	0,25	0,35

4.1.2.1. Příprava sorpčních gelů Chelex-100 a Spheron-Thiol

K příslušnému množství naváženého iontoměniče (tabulka 7), které bylo navázeno na analytických vahách do jednorázové zkumavky, byly pipetou přidány 2 ml gelového roztoku. Celá směs byla důkladně promíchána na orbitální třepačce a ponechána 20 minut botnat. Poté bylo ke směsi přidáno 10 μ l TEMEDu a 10 μ l peroxosíranu amonného, přičemž při každém nadávkování byla zkumavka důkladně promíchána. Směs byla pipetou nadávkována mezi dvě skla oddělená distanční folií o velikosti 0,3 mm a vložena horizontálně do sušárny temperované na 45 °C. Po 40 minutách byla skla rozebrána a vzniklý gel byl uložen v ultračisté vodě, která byla několikrát vyměněna. Po vypláchnutí nezreagovaných chemikálií a nabotnění gelu do konstantní tloušťky byla z gelu vykrojena kolečka, která byla opět uchována v ultračisté vodě až do doby jejich aplikování na vzorkovací jednotku DGT.

4.1.2.2. Příprava sorpčního gelu Duolít GT-73

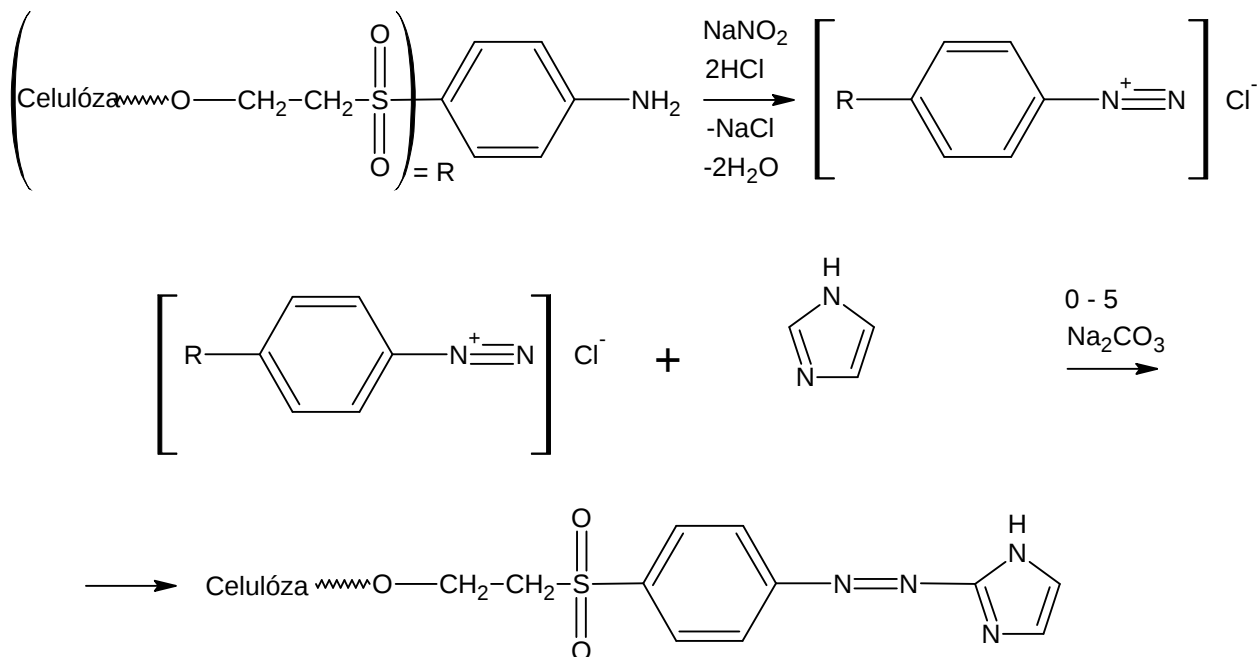
Duolít GT-73 byl rozdrcen ve třecí misce a poté přesít na automatické třepačce, ze které byla odebrána mezisítná vrstva o velikosti 60 až 123 μ m.

Na analytických vahách bylo do zkumavky navázeno 0,25 g již upraveného Duolitu GT-73. Dále bylo postupováno stejně jako při přípravě sorpčního gelu Chelex-100 a Spheron-Thiol.

4.1.2.3. Příprava sorpčního gelu z Intosorbu AV

Komerčně dostupný Iontosorb AV byl před modifikací ponechán ve 20 % roztoku ethanolu po dobu třech dnů, z důvodu odstranění azidu sodného, který je k sorbetu přidáván výrobcem. Poté byl odfiltrován na fritě o velikost pórů 10-16 μ m a vysušen na vzduchu v Petriho misce.

Modifikace komerčně dostupného sorbentu Iontosorb AV byla uskutečněna diazotací a následnou kopulací, jejichž reakční schéma je znázorněno na obr.19.



Obr.19. Schéma diazotace a kopulace.

Na analytických vahách bylo naváženo 3,5 g upraveného Iontosorbu AV, který byl promyt 2 mol.l^{-1} kyselinou chlorovodíkovou a následně studenou ultračistou vodou do neutrálního pH. Poté byla kádinka s Iontosorbem AV vložena do vodní lázně o teplotě $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ a k sorbetu bylo střídavě přidáváno po 1 ml kyseliny chlorovodíkové a dusitanu sodného o koncentracích 1 mol.l^{-1} . Směs byla vždy kápnuta na jodido-škrobový papírek a po změně barvy jodido-škrobového papírku, bylo přidávání ukončeno. Množství přidávaných činidel bylo cca 40 ml. Vzniklý produkt byl přefiltrován přes fritu o velikosti pórů $10\text{-}16 \text{ }\mu\text{m}$ a promyt studenou ultračistou vodou.

Vzniklý produkt (diazoniová sůl) byl přidán k roztoku imidazolu, který byl připraven rozpuštěním 2,5 g imidazolu ve 100 ml 10 % uhličitanu sodného. Kádinka se směsí byla vložena do termostatu nastaveného na teplotu $0 \text{ až } 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ a zde byla ponechána 24 hodin, přičemž každou hodinu byla směs 10 minut míchána.

Po 24 hodinách byl produkt přefiltrován přes fritu o velikosti pórů $10\text{-}16 \text{ }\mu\text{m}$ a promýván ultračistou vodou do neutrální reakce, dále byl promýván 2 mol.l^{-1} kyselinou chlorovodíkovou, a poté opět ultračistou vodou do neutrální reakce. Vzniklý červený produkt (obr.20) byl sušen na Petriho misce v exsikátoru po dobu 12 hodin.



Obr.20. *Modifikovaný Iontosorb AV.*

Poté byl produkt použit na přípravu sorpčního gelu následujícím způsobem. Do jednorázové zkumavky bylo naváženo 0,3 g připraveného modifikovaného Iontosorbu AV s imidazolem (MISAVI). Do zahřáté zkumavky bylo přidáno 5 ml horkého 4 % roztoku agarózy. Vzniklá směs byla napipetována mezi dvě připravená skla, která byla předem zahřátá. Skla byla oddělená distanční folií o tloušťce 0,5 mm a sepnuta svorkami. Takto připravená skla byla ponechána v horizontální poloze vychladnout při laboratorní teplotě asi 20 minut. Po vychladnutí a ztuhnutí byla skla rozebrána a ze vzniklého gelu byla vykrájena kolečka.

4.2. Kompletace DGT jednotek

Plastové DGT vzorkovací jednotky jsou komerčně dodávány firmou DGT Research Ltd. Jednotky DGT byly před aplikací čištěny 1 mol.l⁻¹ kyselinou dusičnou a pak byly ponechány minimálně 24 hodin v ultračisté vodě. Na tělo vyčištěného suchého pistonu bylo nejdříve pomocí pinzety aplikováno vykrojené kolečko sorpčního gelu a to tak, aby sedimentované částice sorbentu byly vždy orientovány směrem k difúznímu gelu. Sorpční gel byl překryt kolečkem difúzního agarózového gelu a ten pak polyethersulfonovým membránovým filtrem (Supor®-450, Pall Corporation USA, s póry velikosti 0,45 µm), který chránil vrstvu difúzního gelu proti mechanickému poškození. Všechny tyto vrstvy byly následně uzavřeny druhou částí DGT vzorkovací jednotky prstencového tvaru s expozičním okénkem o průměru 2 cm (obr.21).



Obr.21. *Plastová vzorkovací jednotka DGT.*

4.3. Modelový roztok rtuti

Ve všech experimentech byl použit modelový roztok rtuti o koncentraci $50 \mu\text{g.l}^{-1}$. Do plastové kádinky o objemu 5 l, byly nality 4 l ultračisté vody a kádinka s míchadlem byla umístěna na míchačku. Na analytických vahách byly naváženy 3,4 g dusičnanu sodného, který byl rozpuštěn a smíchán s modelovým roztokem, do kterého bylo napipetováno 200 μl standardního roztoku rtuti o koncentraci 1 g.l^{-1} . V roztoku bylo proměřeno pH, které bylo upraveno na hodnotu v rozmezí 5 až 6.

Roztok byl míchán po dobu 24 hodin. Po uplynutí této doby byla změřena přesná koncentrace rtuti v roztoku a poté byly do roztoku vloženy připravené zkompletované vzorkovací jednotky DGT.

4.4. Zpracování exponovaných gelů

Po expozici byly vzorkovací jednotky z roztoku vyndány, opláchnuty v destilované vodě a jednotlivé vrstvy gelů byly od sebe odděleny. Kolečka sorpčních gelů pro stanovení rtuti byly ihned po rozebrání vzorkovacích jednotek proměřeny na přístroji AMA 254.

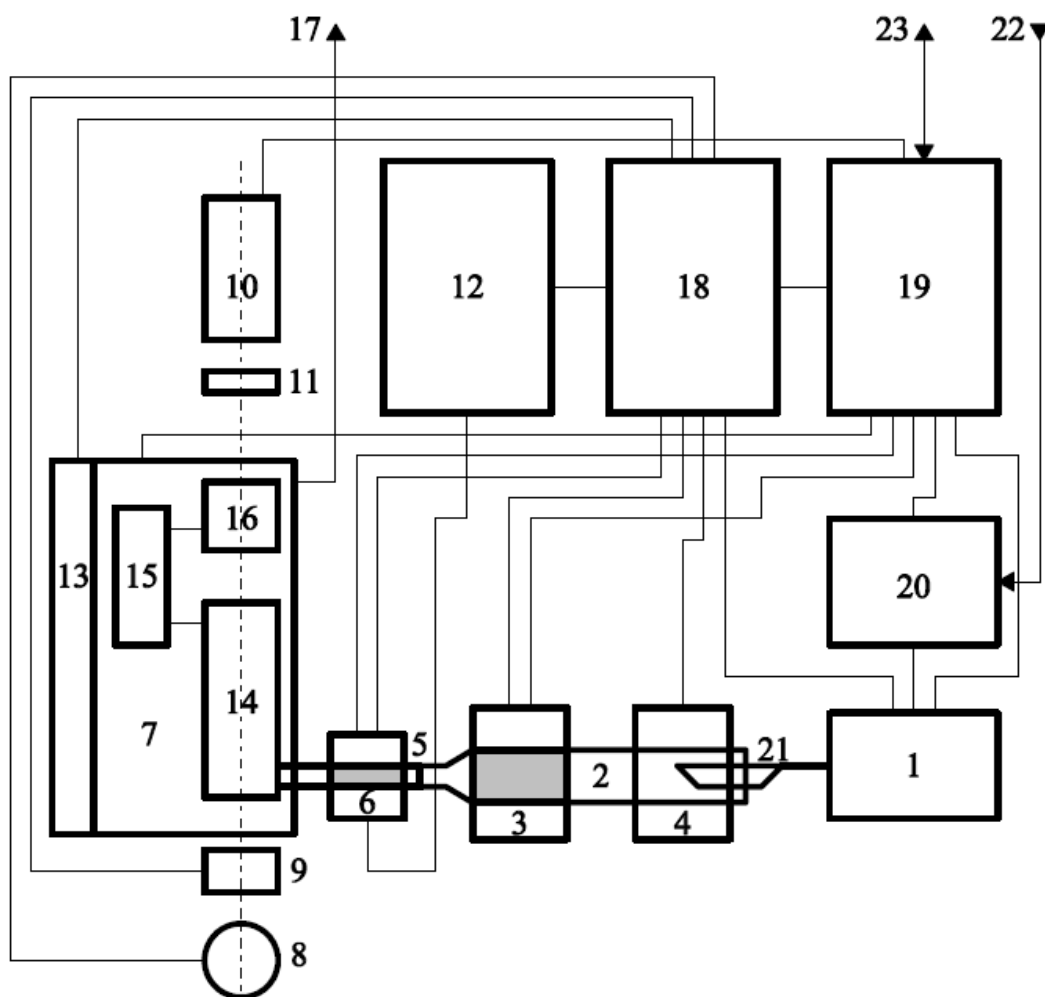
4.5. Stanovení rtuti pomocí přístroje AMA 254

Pro stanovení koncentrace rtuti v modelovém roztoku a v sorpčních gelech byl použit jednoúčelový atomový absorpční spektrometr pro stanovení rtuti AMA 254. Schéma celého přístroje je znázorněno včetně jeho popisu na obr.22.

4.5.1. Popis analyzátoru AMA 254

Dávkovací zařízení (1) a dávkovací lodička (21) slouží k zavádění vzorku do přístroje. Vstupní část spalovací trubice (2) slouží pro termický rozklad vzorku pomocí spalovací pece (4). Druhá část spalovací trubice je vyplněna katalyzátorem, který je vyhříván na konstantní teplotu cca 550°C , pomocí katalytické pece (3).

Amalgamátor (5) slouží pro zachycení rtuti z proudu plyných produktů rozkladu vzorku. Zachycená rtuť je uvolněna ohřevem pomocí vypuzovací pece (6). Blok měřících kyvet vyhříván pomocí topného elementu (13) na teplotu 120°C , obsahuje dvě sériově uspořádané kyvety. Délky první (14) a druhé kyvety (16) jsou v poměru 10:1. Mezi tyto kyvety je zapojena zpoždovací nádobka (15), která je umístěna mimo optickou osu přístroje. Objem zpoždovací nádoby je delší než měřící kyveta (14). Zdrojem záření je nízkotlaká rtuťová výbojka (8), která může být zastíněna clonou (9). Součástí detektoru (10) je interferenční filtr (11), který izoluje spektrální čaru rtuti $253,65 \text{ nm}$. Chladicí čerpadlo (12) slouží k urychlení chladnutí amalgamátoru po vypuzení rtuti. Analogová elektronika (18) obsahuje zdroj pro rtuťovou výbojku, napájecí zdroje pro digitální část a výkonové spínače pro pece a ostatní akční členy. Digitální část (19) obsahuje kromě číslicových obvodů A/D převodník také měřící zesilovače detektoru a čidel. Sériová komunikace (23) umožňuje komunikaci s PC. Celým přístrojem trvale protéká kyslík, od vstupu (22) až po výstup (17). Průtok kyslíku je udržován na konstantní hodnotě pomocí regulátoru průtoku (20).²⁰



Obr.22. *Blokové schéma přístroje AMA 254.*²⁰

1 dávkovací zařízení
2 spalovací trubice
3 katalytická pec
4 spalovací pec
5 amalgamátor
6 vypuzovací pec
7 blok měřících kyvet
8 rtuťová výbojka

9 clonka
10 detektor
11 interferenční filtr
12 chladicí čerpadlo
13 topení bloku měř. kyvet
14 delší měř. kyveta (2.rozsah)
15 zpožďovací nádobka
16 kratší měř. kyveta (1.rozsah)

17 vstupní kyslík
18 analogová elektronika
19 mikropočítač 8051
20 regulátor průtoku kyslíku
21 dávkovací lodička
22 vstup kyslíku
23 komunikace s PC

Tabulka 8. Technické parametry AMA 254.²⁰

Uspořádání	jednopaprskový přístroj, sériové uspořádání měřicích kyvet
Zdroj záření - vlnová délka	nízkotlaká Hg výbojka 253,65 nm
Detektor - mez detekce - přesnost měření	křemíková UV dioda 0,01 ng Hg <1,5 %
Nosný plyn - vstupní tlak - průtok	kyslík 200-250 kPa 200 ml.min ⁻¹
Napájecí napětí	230V, 50 Hz
Rozměry: š/v/d	723/227/460 mm

4.5.2. Popis analýzy vzorku přístrojem AMA 254

Vždy před analýzou vzorku bylo nutné přístroj AMA 254 vyčistit od zbytkové kontaminace. Programem AMA 254 byla spuštěna čistící analýza s parametry 60-150-45 sekund a na dávkovací lodičku bylo napipetováno 100 µl vodovodní vody. Čištění bylo opakováno, dokud naměřená absorbance nebyla nižší než 0,0030. Čištění bylo prováděno i mezi měřeními vzorků s vyšším rozdílem koncentrací.

Roztok rtuti o objemu 100 µl byl pomocí pipety umístěn na lodičku a pokynem z řídicího počítače vnesen do spalovací trubice. Vzorek byl řízeným ohřevem spalovací pece vysušen a v proudu kyslíku spálen při teplotě 850 – 900 °C. Rozkladné produkty procházely přes katalyzátor, kde byla dokončena jejich oxidace. Na katalyzátoru byly zachyceny látky kyselé povahy (např. oxidy síry, halogenidy, aj.)

Produkty spalování jsou vedeny proudem kyslíku přes amalgamátor, v němž je zachycena rtuť. Rozkladné produkty většinou obsahují vodní páru, proto je celá plynová cesta vyhřívána na teplotu 120 °C, aby došlo k zabránění kondenzace vody.

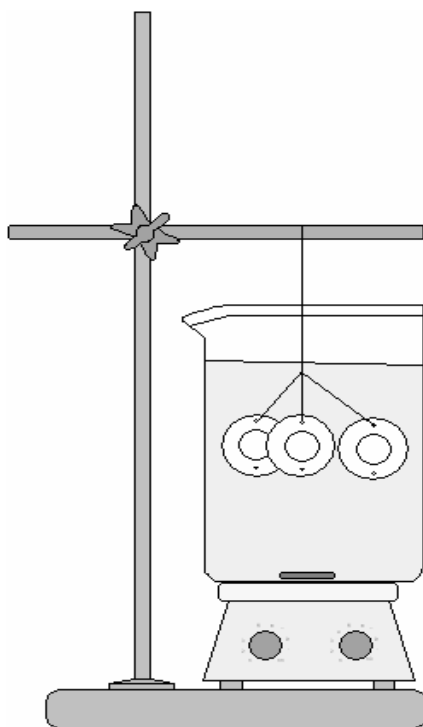
Po dokončení rozkladu vzorku a stabilizace teploty je změřeno množství rtuťových par, které jsou nosným plynem unášeny přes delší měřicí kyvetu. Poté se veškerá rtuť shromáždí ve zpoždovací nádobce a z ní vstupuje do kratší měřicí kyvety, kde je toto množství dvakrát měřeno s odlišnou citlivostí.

Veškerá data jsou vysílána do řídicího počítače a ovládacím programem jsou převedena do formy přístupné uživateli. Všechny naměřené údaje jsou ukládány v databázi MSDE (Microsoft Data Engine).

**Obr.23. Přístroj AMA 254.**

4.6. Testování sorpčních gelů v roztoku rtuti (základní test)

Po ustálení roztoku po 24 hodinách a proměření koncentrace rtuti v roztoku byly jednotky DGT přivázány silonem ke stojanu a ponořeny do roztoku. DGT jednotky byly ponechány 3 hodiny v roztoku a po uplynutí požadované doby byly z roztoku vyndány a opláchnuty destilovanou vodou. Na konci experimentu byla opět změřena koncentrace rtuti v roztoku. Vzorkovací jednotky DGT byly rozebrány a bylo proměřeno nasorbované množství rtuti v sorpčních gelech.



Obr.24. Schéma základního testu.

4.7. Test nasycení sorbentu v závislosti na čase

Pracovní postup byl podobný jako při provedení základního testu, při časovém testu však bylo použito 8 jednotek DGT. Každé 2 hodiny byly dvě jednotky vytaženy z roztoku rtuti, rozebrány a změřen obsah zachycené rtuti v sorpčních gelech pomocí přístroje AMA 254. Během testu byla kontrolována koncentrace rtuti v modelovém roztoku a jeho pH. Jinak se časový test od základního testu nelišil.

4.8. Vliv různých faktorů na měření rtuti technikou DGT

4.8.1. Vliv pH vnějšího roztoku

V plastové nádobě byl připraven roztok rtuti, jak je popsáno v kapitole 4.3. V roztoku bylo upraveno pH v rozsahu 2-10, a to pomocí 1 mol.l⁻¹ roztoku kyseliny dusičné a 1 mol.l⁻¹ roztoku hydroxidu sodného.

Před každou úpravou pH v roztoku, byl roztok míchán 24 hodin do ustavení rovnovážného stavu koncentrace rtuti v roztoku. Po 24 hodinách, kdy byl roztok ustálen, bylo změřeno pH roztoku a vloženy připravené vzorkovací jednotky DGT. Po třech hodinách byly jednotky DGT vyndány, rozebrány a v sorpčních gelech bylo proměřeno množství nasorbované rtuti v sorpčním gelu. Poté bylo pH roztoku postupně zvyšováno přidávkem hydroxidu sodného a celý proces byl opakován. Koncentrace roztoku byla opět proměřena.

4.8.2. Vliv huminových látek

Zásobní roztok huminových látek byl připraven rozpuštěním 100 mg huminových látek v ultračisté vodě za přidavku 2 % hydroxidu sodného. Doplnění objemu zásobního roztoku huminových látek na 100 ml předcházela úprava pH na přibližně neutrální hodnotu. K připravenému roztoku rtuti (viz. kapitola 1.3.), bylo přidáno požadované množství zásobního roztoku huminových látek. Koncentrace huminových látek v roztoku byla zvyšována z hodnoty 0,01 až na hodnotu 100 mg.l⁻¹.

Po 24 hodinovém ustálení roztoku bylo 24 vzorkovacích jednotek DGT, které byly přivázány vždy po dvou jednotkách k sobě, vloženo do roztoku rtuti. V časových intervalech po 4, 8 a 24-ti hodinách byly vždy z roztoku vytaženy dvě jednotky DGT jednotlivých sorpčních gelů. Vzorkovací jednotky byly rozebrány a byla proměřena nasorbovaná rtuť v sorpčním gelu.

Stejně tak jako u všech předcházejících testů byla vždy změřena koncentrace rtuti v roztoku při každém odstranění vzorkovacích jednotek DGT. Po celou dobu experimentu bylo pH roztoku bylo udržováno v rozmezí hodnot 6,5-7,0.

4.8.3. Vliv chloridů

Do modelového roztoku rtuti bylo přidáno takové množství chloridu sodného, aby koncentrace chloridů v roztoku odpovídala 0,01 až 0,5 mol.l⁻¹. Po 24 hodinách, kdy došlo k ustálení koncentrace rtuti v modelovém roztoku, byly 4 vzorkovací jednotky DGT vloženy do připraveného roztoku. Po tří hodinové expozici byly jednotky DGT z roztoku vytaženy, rozebrány a bylo proměřeno množství akumulované rtuti v testovaném sorpčním gelu.

4.8.4. Vliv iontové síly

V plastové kádince o objemu 5 l byl připraven roztok rtuti (viz. kapitola 4.3.) do kterého byl přidán dusičnan sodný v takovém množství, aby jeho koncentrace odpovídala 0,00005 až 0,5 mol.l⁻¹. Připravené vzorkovací jednotky DGT s testovanými sorpčními gely byly exponovány po dobu 3 hodin v připraveném roztoku. Po expoziční době byly jednotky DGT vytaženy a opět bylo stanoveno množství rtuti v testovaných sorpčních gelech.

4.8.5. Vliv konkurenčních kovů

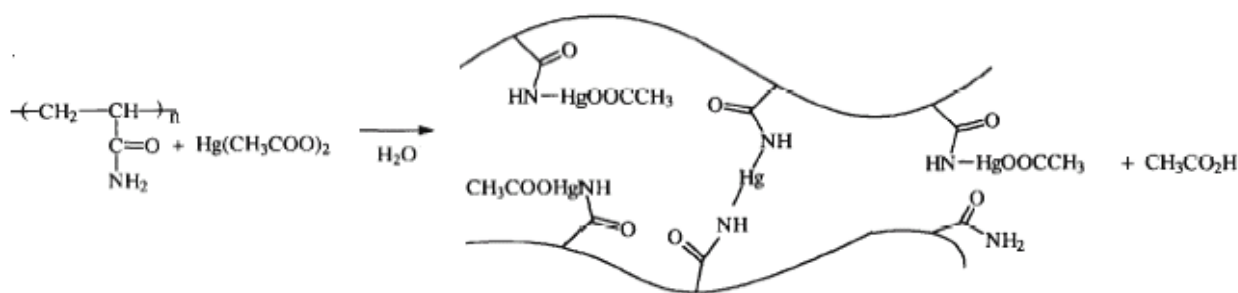
Při tomto testu byl sledován vliv kadmia a mědi na stanovení rtuti technikou DGT. Vzhledem k časové tísní byly provedeny jen dva pokusy, a to se sorpčními gely obsahující Chelex-100, Spheron-Thiol a Duolit GT-73. Během prvního testu byl připraven roztok obsahující 1 μmol rtuti a stejné množství kadmia a mědi. Druhý pokus byl proveden stejně, avšak množství kadmia a mědi bylo zvýšeno na 2 μmol. Jednotky DGT byly v roztoku ponechány za stálého míchání 3 hodiny, následně byly vyjmuty a v sorpčních gelech bylo analyzováno množství rtuti.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1. Příprava gelů

5.1.1. Příprava difúzního gelu

Technika DGT využívá obecně pro stanovení kovů difúzní polyakrylamidový gel. Tento gel však není vhodný pro stanovení rtuti. Polyakrylamidový gel má ve své struktuře obsaženy aminové skupiny, které způsobují sorpci rtuti již v tomto difúzním gelu a neumožňují tedy iontům rtuti volnou difúzi k sorpčnímu gelu (obr.25.). Tímto není splněn jeden z hlavních předpokladů pro využití I. Fickova zákona k výpočtu koncentrace rtuti v měřeném roztoku, kterým se tato technika řídí. Pro testování v roztoku rtuti byl tedy připraven agarózový gel, který umožňuje volnou difúzi chemických forem rtuti.³⁴



Obr.25. Sorpce rtuti v polyakrylamidovém gelu.²⁵

5.1.2. Příprava sorpčního gelu

Pro přípravu testovaných sorpčních gelů, kromě modifikovaného Iontosorbu AV, byl použit gelový roztok.

5.1.2.1. Příprava sorpčního gelu Chelex-100 a Spheron-Thiol

Pro přípravu těchto gelů byla optimalizována navážka sorbetů. Jako optimální se ukázaly být navážky 0,5 g Chelexu-100 a 0,25g Spheron-Thiolu. Základní postup přípravy gelů byl převzat z DGT Research Ltd.³¹

5.1.2.2. *Příprava sorpčního gelu Duolit GT-73*

Pro přípravu sorpčního gelu se sorbentem Duolit GT-73, bylo potřeba tento sorbent upravit.

Nejdříve byl sorbent loužen v 1 mol.l⁻¹ kyselině chlorovodíkové, za účelem přečištění sorbentu. Opakovanými analýzami se však potvrdilo, že loužení sorbentu nemá na celkový obsah rtuti v sorbentu žádný vliv. Proto se dále pracovalo s nelouženým sorbentem. Jelikož velikost částic sorbentu Duolit GT-73 je větší než distanční fólie používané k přípravě sorpčních gelů, bylo nutné sorbent rozdrtit v třecí misce. Rozdrcený sorbent byl pak sítován a ze sít byla odebrána frakce obsahující částice o velikosti 60-123 μm.

Podobně jako u Chelexu-100 a Spheron-Thiolu byla optimalizována navážka Duolitu GT-73 pro přípravu gelů. Optimální množství sorbentu bylo 0,25 g. Postup přípravy sorpčních gelů byl téměř shodný jako u Chelexu-100 a Spheron-Thiolu, až na dobu botnání Duolitu GT-73, která byla u této přípravy 40 minut. Sorbent, který botnal kratší dobu nebyl schopný tvořit kompaktní gel.

5.1.2.3. *Příprava sorpčního gelu z Iontosorbu AV*

Před samotnou přípravou sorpčního gelu, bylo nutné provést modifikaci komerčně dostupného Iontosorbu AV. Z Iontosorbu AV byl nejprve odstraněn azid sodný. Odstranění azidu sodného z Iontosorbu AV určeného k modifikaci bylo provedeno promýváním etanolem. Iontosorb AV byl rozmíchán a ponechán po dobu třech dnů ve 20 % roztoku ethanolu. Po třech dnech byl sorbent vyjmut, odfiltrován přes fritu o velikosti pórů 10-16 μm a promyt ultračistou vodou. Takto upravený sorbent byl pak rozprostřen na hodinovém sklíčku a ponechán v exsikátoru.

Modifikace Iontosorbu AV byla provedena diazotací a následnou kopulací (obr.16). V průběhu diazotace došlo ke vzniku diazoniové soli, která se projevila změnou barvy sorbentu. Sorbent, který byl původně bílý, se změnil na jasně žlutý produkt. Tento produkt bylo nutné rychle odstranit od reakční matrice a důkladně ho propláchnout ledovou ultračistou vodou.

Při kopulační reakci, která proběhla za přídavku roztoku imidazolu s uhličitánem sodným se žlutá diazoniová sůl začala měnit na tmavě červenou. Kopulační reakce probíhala 24 hodin za občasného míchání reakční směsi za teploty blízké 0 °C. Po proběhnutí kopulační reakce byl modifikovaný sorbent odfiltrován na fritě o velikosti pórů 10-16 μm, promyt kyselinou chlorovodíkovou, ultračistou vodou a následně sušen v exsikátoru.

Navážka modifikovaného Iontosorbu AV pro přípravu sorpčních gelů byla optimalizována na konečných 0,35g.

Tato navážka byla smíchána v jednorázové zkumavce s horkým 2 % roztokem agarózy. Vzniklá směs byla pipetována mezi dvě nahřátá skla a to tak, aby částice sorbentu byly rozprostřeny v celém vzniklém gelu. Po zchladnutí skel v horizontální poloze při teplotě cca 20 °C, byla z gelu vykrájena kolečka a ponechána v ultračisté vodě do doby jejich aplikace na jednotku DGT. Při přípravě sorpčního gelu s modifikovaným Iontosorbem AV byla použita stejná distanční fólie jako u přípravy difúzního gelu.

Agarózový sorpční gel byl připravován kvůli specifickým problémům při přípravě běžného polyakrylamidového gelu. Modifikovaný Iontosorb AV nebylo možné rovnoměrně rozprostřít

v polyakrylamidovém gelu a navíc tento sorbent tvořil v polyakrylamidovém gelu velké shluky, ztěžující přípravu gelu.

5.2. Testování sorpčních gelů v modelovém roztoku rtuti (základní test)

Firma DGT Research, která komerčně vyrábí sorpční gely s Chelexem-100 ve svých materiálech uvádí, že gely připravené vlastnoručně v laboratoři jsou plně funkční, pokud je odchylka od koncentrace v modelovém roztoku kovu stanovená technikou DGT a jinou nezávislou metodou menší než 10%.

Při tomto testu byly čtyři zkompleťované vzorkovací jednotky DGT vloženy do modelového roztoku rtuti po dobu 3 hodin. Při testu bylo nutné udržovat dostatečné míchání roztoku kolem 800 ot.min⁻¹ a pH v rozmezí 5 až 6, jak udává manuál DGT Research, Ltd.³¹ Po uplynutí požadované doby byly vzorkovací jednotky vytaženy z roztoku a rozebrány.

Koncentrace rtuti v připravených modelových roztocích rtuti se pohybovala v rozmezí od 17 do 26 ± 0,5 µg.l⁻¹. Přesné údaje o koncentracích rtuti v jednotlivých testech uvádí tabulka 10. V tabulce 9 jsou uvedeny hodnoty použité pro výpočet koncentrace rtuti C_{DGT} zjišťované metodou DGT. Pro výpočet této koncentrace byla použita rovnice (7).

Tabulka 9. Parametry použité pro výpočet C_{DGT} dle rovnice (7).

M [ng]	množství rtuti změřené přístrojem AMA 254
$\Delta g = 0,063$ cm	tloušťka difúzní vrstvy (membránový filtr a difúzní gel)
$D = 8,97 \cdot 10^{-6}$ cm².s⁻¹	difúzní koeficient
t = 10 800 s	3 hodinová expozice jednotek DGT
A = 3,14 cm²	plocha exponované části gelu

Z naměřených hodnot, které jsou uvedeny v tabulce 10, je vidět, že koncentrace rtuti v modelovém roztoku měřené přístrojem AMA 254 se příliš neodchylují od koncentrací měřených technikou difúzního gradientu v tenkém filmu. Nejvýše dosažený rozdíl koncentrace měřené pomocí AMA 254 a technikou DGT byl u modifikovaného Iontosorbu AV, který činil 1,6 % . Tyto výsledky jsou hluboko pod normou 10 % a ukazují na to, že testované gely byly připraveny správně a jsou plně funkční.³¹

Tabulka 10. Porovnání průměrné koncentrace nalezené technikou DGT a průměrné koncentrace rtuti v roztoku odebraného po expozici vzorkovacích jednotek DGT.

testovaný sorbent	C_{AMA} [µg.l ⁻¹]	C_{DGT} [µg.l ⁻¹]	rozdíl mezi stanovením AMA a DGT [%]
<i>Duolite GT-73</i>	23,1	23,3	0,9
<i>Spheron-Thiol</i>	19,1	19,2	0,5
<i>Chelex-100</i>	17,9	18,1	1,1
<i>MISAVI</i>	25,7	25,3	1,6

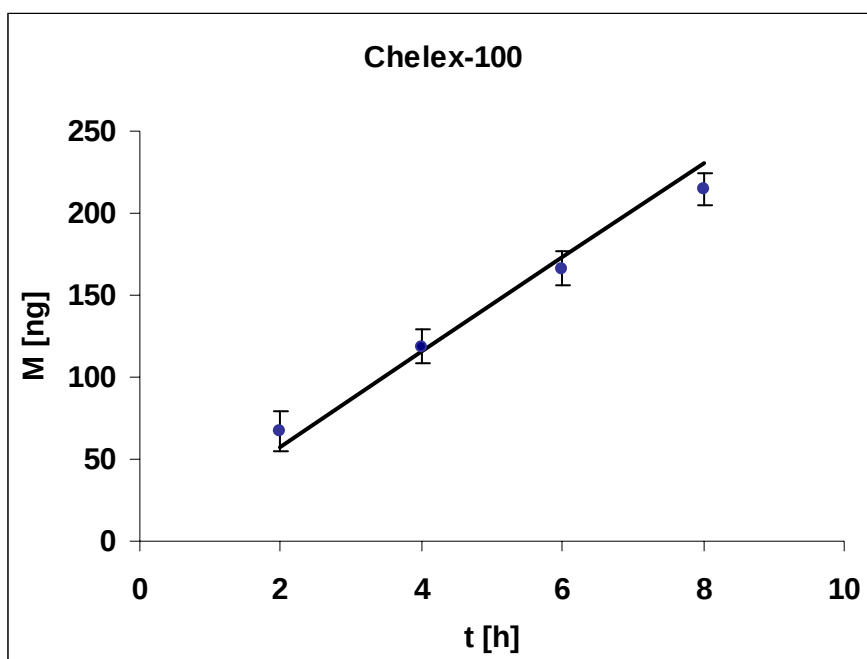
5.3. Test nasycení sorbentu v závislosti na čase

Firma DGT Research Ltd. doporučuje pro testování difúzního a sorpčního gelu další test, jedná se test nasycení sorbentu v závislosti na čase. U tohoto testu bylo použito 8 vzorkovacích jednotek DGT s testovaným sorpčním gelem, které byly ponořeny do modelového roztoku rtuti. Vždy dvě vzorkovací jednotky DGT byly odebrány z roztoku rtuti v dvouhodinových intervalech. Po vytažení byly jednotky DGT opláchnuty v destilované vodě, rozebrány a bylo proměřeno množství naakumulované rtuti v testovaném sorpčním gelu.

Výsledky testů jsou shrnuty v tabulkách 11 až 14 a graficky jsou znázorněny na grafech 1 až 4. Teoretické množství rtuti zachycené sorpčním gelem bylo vypočítáno ze známé koncentrace rtuti v roztoku pomocí rovnice (7), které znázorňuje černá tlustá čára v grafu.

Tabulka 11. Porovnání naměřeného a teoretického množství rtuti v sorbentu Chelex-100.

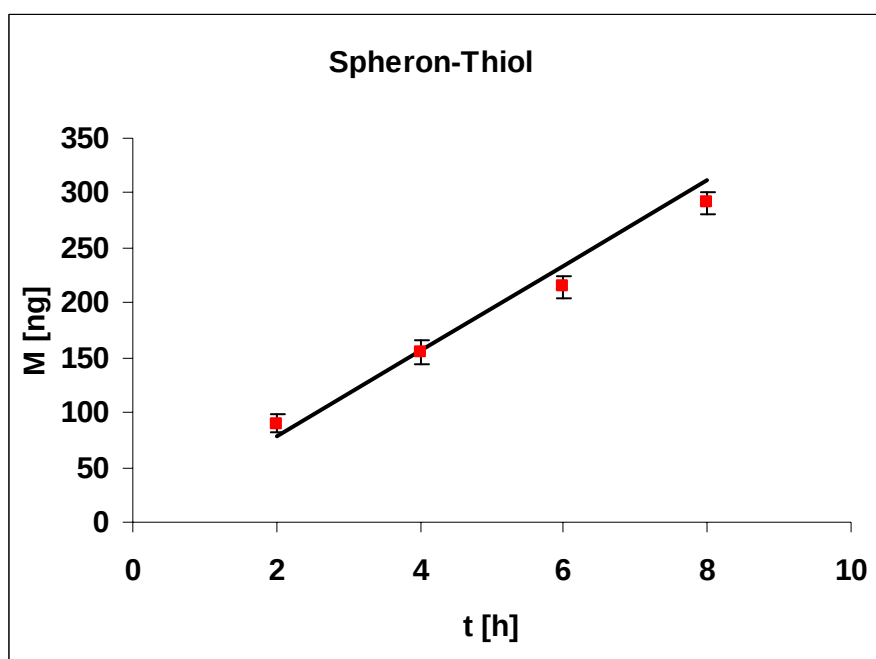
t [h]	M [ng]	M _{TEOR} [ng]
2	67,4	57,7
4	118,7	115,4
6	166,4	173,2
8	215,0	230,9



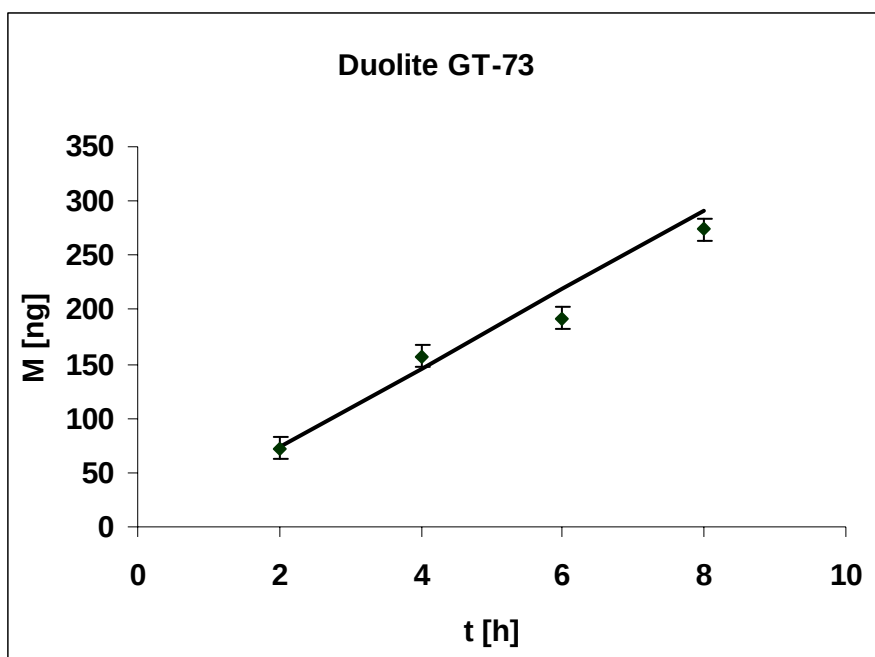
Graf 1. Časová závislost množství nasorbované rtuti v Chelexu-100.

Tabulka 12. Porovnání naměřeného a teoretického množství rtuti v sorbentu *Spheron-Thiolu*.

t [h]	M [ng]	M _{TEOR} [ng]
2	90,0	78,0
4	154,1	156,2
6	214,2	234,1
8	291,1	312,0

**Graf 2.** Časová závislost množství nasorbované rtuti ve *Spheron-Thiolu*..**Tabulka 13.** Porovnání naměřeného a teoretického množství rtuti v sorbentu *Duolit GT-73*.

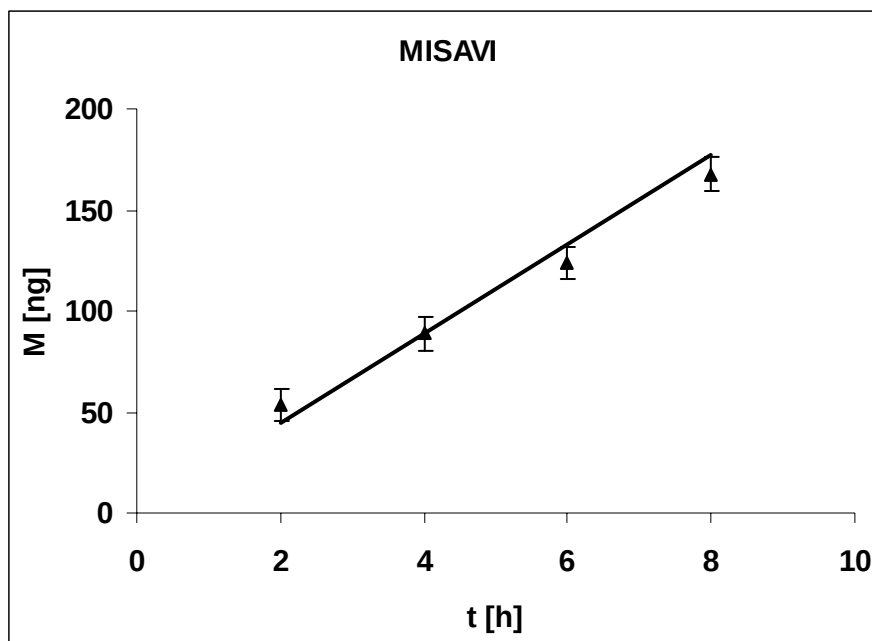
t [h]	M [ng]	M _{TEOR} [ng]
2	72,6	72,8
4	157,2	145,7
6	190,8	218,5
8	274,1	291,3



Graf 3. Časová závislost množství nasorbované rtuti v Dolitu GT-73.

Tabulka 14. Porovnání naměřeného a teoretického množství rtuti v sorbentu MISAVI.

t [h]	M [ng]	M _{TEOR} [ng]
2	53,8	44,3
4	88,6	88,6
6	123,3	132,9
8	145,1	177,1



Graf 4. Časová závislost množství nasorbované rtuti v MISAVI.

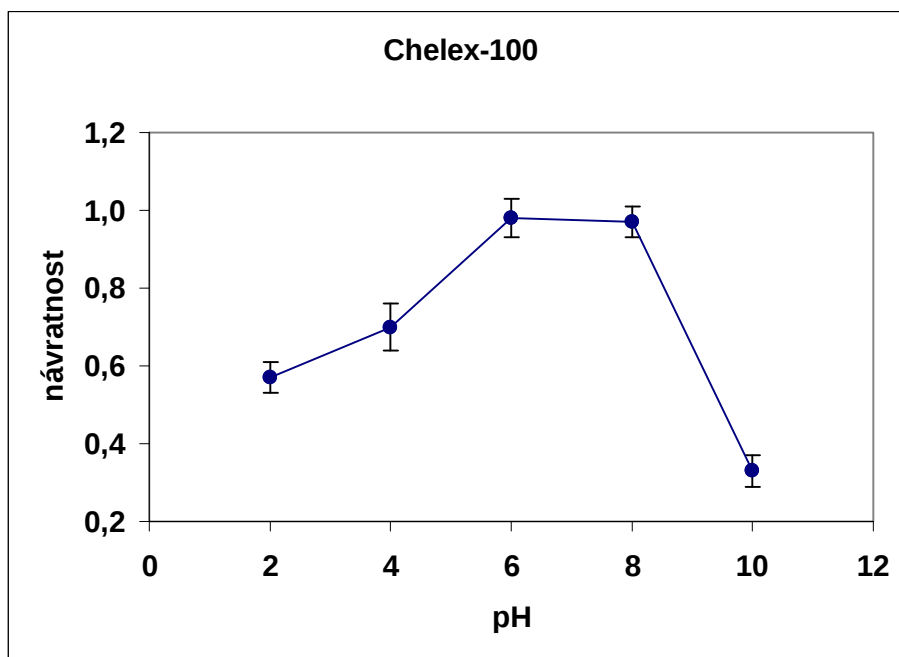
Akumulované množství rtuti ve všech sorpčních gelech lineárně roste s časem. Kromě toho, naměřené množství akumulované rtuti souhlasí s teoretickým množstvím rtuti v sorpčních gelech vypočteným ze základní rovnice DGT. Všechny provedené testy opět potvrdily, že sorpční i difúzní gely byly připraveny správně a jsou plně funkční.

5.4. Vliv různých faktorů na měření rtuti technikou DGT

5.4.1. Vliv pH vnějšího roztoku

Všechny připravené gely byly testovány v roztocích rtuti. Hodnota pH byla měněna od pH = 2 do pH = 10.

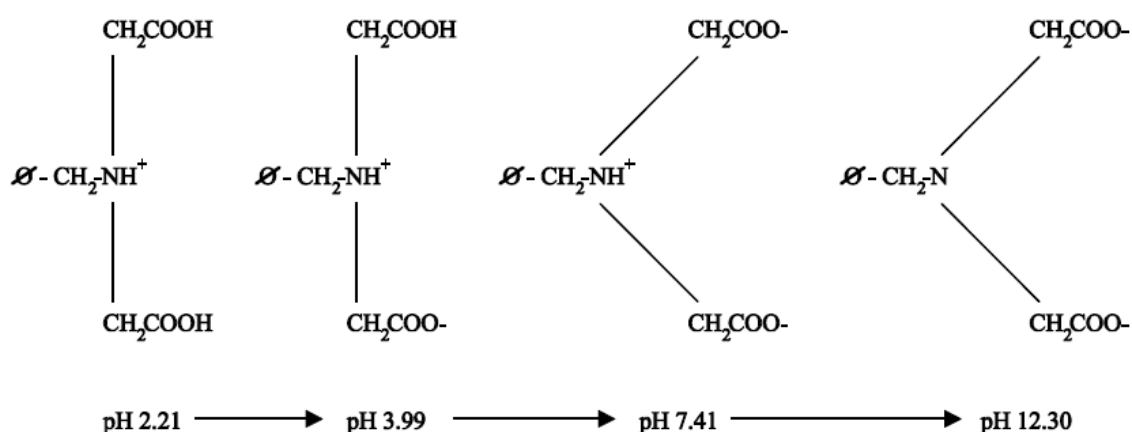
Vliv pH na stanovení rtuti technikou DGT shrnují grafy 5 až 8. Na osu y byla vždy vynášena výtěžnost, tedy poměr koncentrací měřených technikou DGT a přístrojem AMA 254.



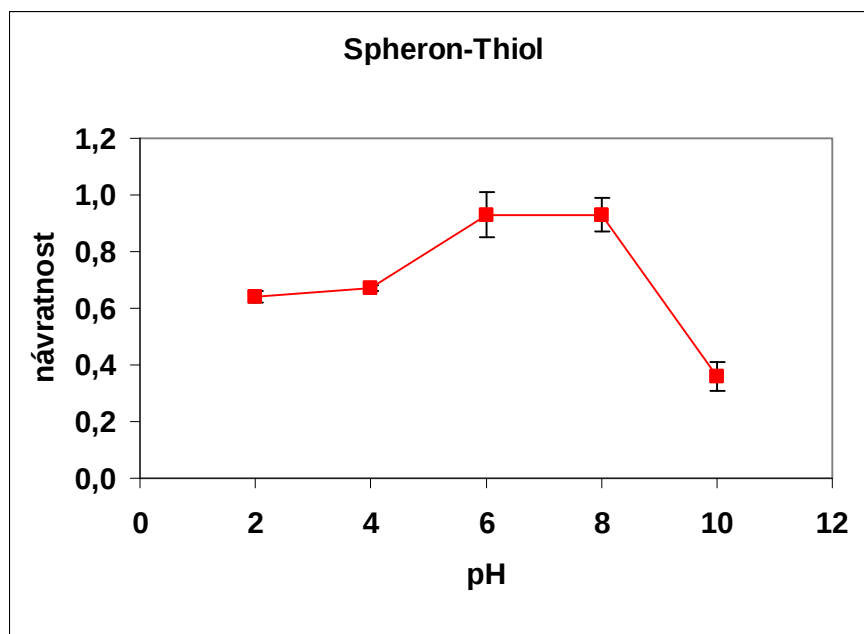
Graf 5. Závislost sorpce rtuti na pH vnějšího roztoku pro testovaný Chelex-100.

Sorpční gel s Chelexem-100 pracoval optimálně v rozsahu pH 5 až 8 (graf 5). Při pH = 2 byla výtěžnost rtuti z roztoku asi 60 %, při pH = 10 dokonce jen 30 %. Podobných výsledků dosáhli Davison a Zhang, kteří testovali vliv pH na měření kadmia technikou DGT.³²

Nízké výtěžnosti při pH < 4 a pH > 8 jsou způsobeny změnami funkčních karboxylových skupin Chelexu-100. Tyto změny jsou znázorněny na obr.14.³⁸

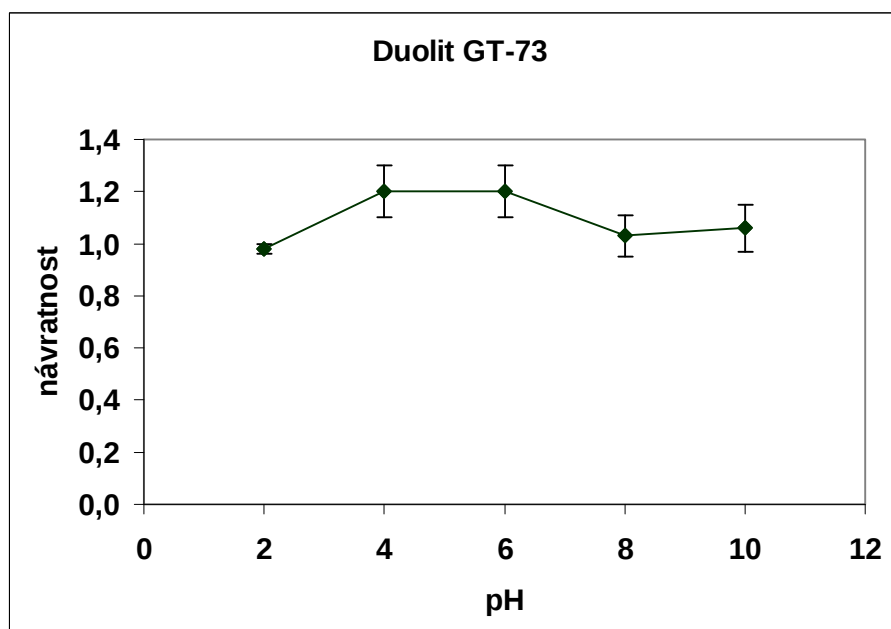


Obr.14. Změna struktury Chelexu-100 s růstem pH.³⁸



Graf 6. Závislost sorpce rtuti na pH vnějšího roztoku pro testovaný Spheron-Thiol.

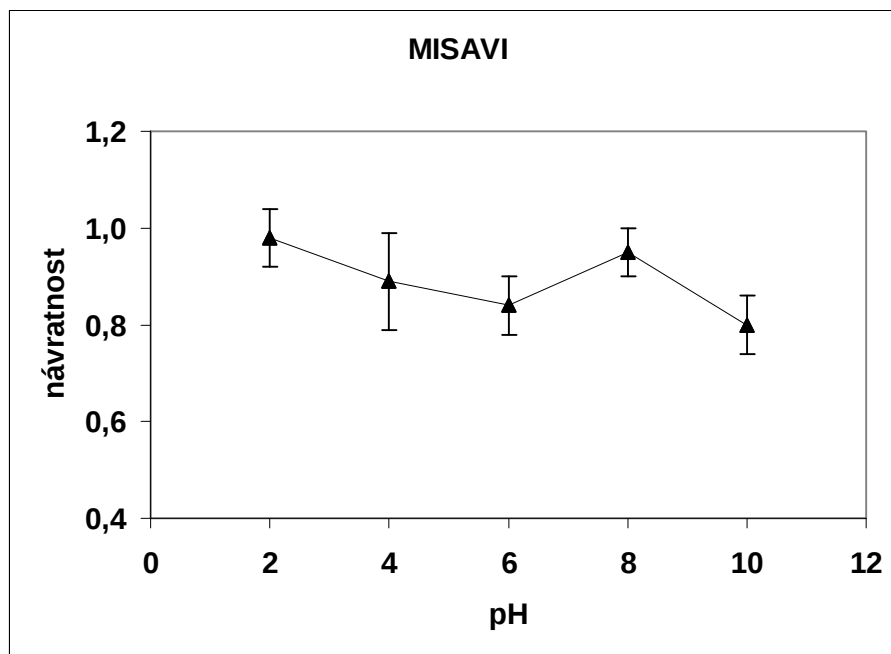
Sorpční gel se Spheron-Thiolem vykazoval při testech s různým pH roztoku podobné vlastnosti jako sorpční gel s Chelexem-100 (graf 6). Strukturní změny sorbentu Spheron-Thiolu ovlivněné různým pH nejsou přesně známy, z těchto důvodů je těžké naměřenou závislost podrobněji diskutovat.



Graf 7. Závislost sorpce rtuti na pH vnějšího roztoku pro testovaný Duolit GT-73.

Sorpční gel s Duolitem GT-73 pracoval optimálně v celém rozsahu testovaného pH (graf 7). Funkčnost sorbentu v rozsahu pH 1-14 rovněž udává samotný výrobce.

Podobně jako sorpční gel s Duolitem GT-73 se choval i sorpční gel s modifikovaným Iontosorbem AV (graf 8), i když výtěžnosti byly v tomto případě nepatrně menší (kolem 90 %). Na druhou stranu, stanovení byla v tomto případě zatížena větší směrodatnou odchylkou.



Graf 8. *Závislost sorpce rtuti na pH vnějšího roztoku pro testovaný MISAVI.*

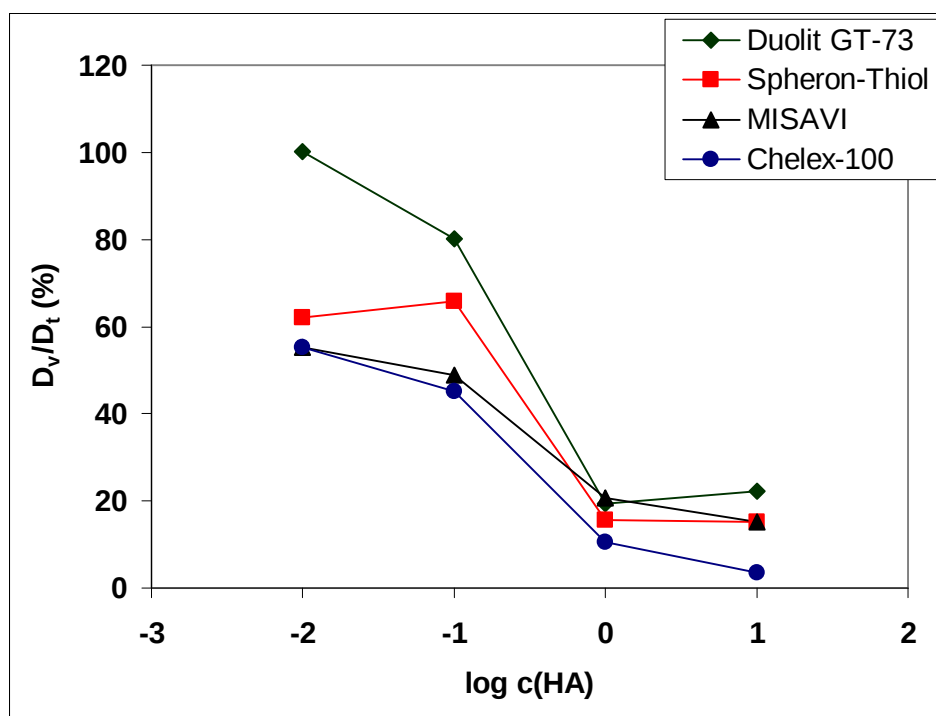
5.4.2. Vliv huminových látek

Huminové látky významně ovlivňují mobilitu a dostupnost kovů v životním prostředí,^{6,43,45} z tohoto důvodu byl testován vliv těchto látek na stanovení rtuti technikou DGT.

Struktura huminových látek je velmi rozmanitá a liší se podle původu, naleziště, ale i doby odběru vzorku. Za základní strukturní jednotku lze považovat cyklické sloučeniny, nejčastěji aromatické. Charakteristickým znakem těchto látek je přítomnost karboxylové a hydroxylové skupiny (alifatické i aromatické), které zodpovídají za sorpční a výměnnou kapacitu huminových látek. Huminové látky obvykle obsahují 3-4 skupiny karboxylové a 3-7 skupin hydroxylových.^{6,43}

Při testování vlivu huminových látek na měření rtuti technikou DGT byly vyhodnoceny časové závislosti sorpce rtuti v jednotlivých sorpčních gelech pro různé koncentrace huminových látek a ze směrnic těchto závislostí byly počítány tzv. zdánlivé difúzní koeficienty. Vliv huminových látek na stanovení rtuti technikou DGT je znázorněn v grafu 9 a vypočtená data jsou shrnuta v tabulce 15. Koncentrační rozpětí huminových látek v roztoku rtuti bylo od 0,01 do 10 mg.l⁻¹. Z grafu 9 je zřejmé, že hodnoty difúzních koeficientů rtuti klesají s rostoucí koncentrací huminových látek v roztoku, a to až do koncentrace huminových látek 1 mg.l⁻¹. Při této koncentraci je již veškerá rtuť vázána ve stabilních komplexech s huminovými látkami a k dalšímu poklesu již nedochází. Zároveň

lze z tabulky 15 vidět, že při všech pokusech byla rtuť lineárně akumulována s rostoucím časem ($R^2 = 0,8432$ až $0,9992$) což dokazuje, že koncentrační gradient a tím také tok kineticky labilních forem rtuti difúzním gelem jsou stálé. Vypočítané zdánlivé difúzní koeficienty se v případě stabilně vázané rtuti pohybovaly v rozmezí $0,32 - 4,91 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, což odpovídá difúzním koeficientům huminových látek publikovaných v literatuře.⁴⁴



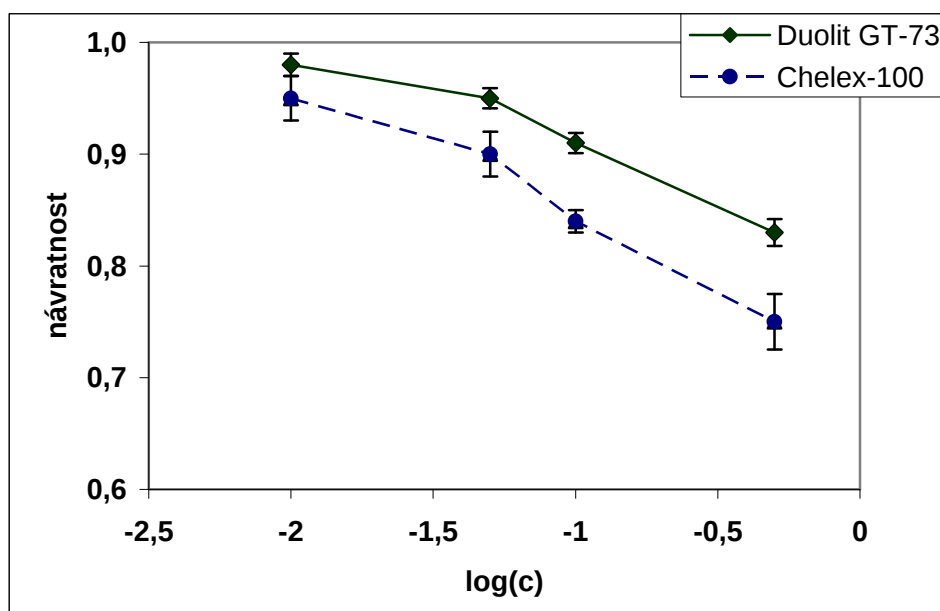
Graf 9. Pokles difúzních koeficientů v závislosti na logaritmu koncentrace huminových látek v roztoku rtuti pro jednotlivé iontoměniče.

Tabulka 15. Souhrn výpočtů difúzních koeficientů v roztocích rtuti s různou koncentrací huminových látek.

<i>Chelex-100</i> C_{HA} (mg.l ⁻¹)	k (cm³.s⁻¹)	R²	D_{zd.} (cm².s⁻¹)	D_{zd.}/D_{vyp.} (%)
0,01	0,7210	0,9976	4,01.10 ⁻⁶	45,1
0,1	0,8840	0,9486	4,93.10 ⁻⁶	55,4
1	0,1701	0,9610	1,07.10 ⁻⁶	10,6
10	0,0560	0,9802	0,32.10 ⁻⁶	3,5
<i>Spheron-Thiol</i> C_{HA} (mg.l ⁻¹)	k (cm³.s⁻¹)	R²	D_{zd.} (cm².s⁻¹)	D_{zd.}/D_{vyp.} (%)
0,01	1,0500	0,9880	5,85.10 ⁻⁶	65,8
0,1	0,9928	0,9699	5,63.10 ⁻⁶	62,2
1	0,2500	0,9986	1,39.10 ⁻⁶	15,7
10	0,3550	0,9979	1,35.10 ⁻⁶	15,2
<i>Duolite GT-73</i> C_{HA} (mg.l ⁻¹)	k (cm³.s⁻¹)	R²	D_{zd.} (cm².s⁻¹)	D_{zd.}/D_{vyp.} (%)
0,01	1,2800	0,9965	8,91.10 ⁻⁶	100,1
0,1	1,5986	0,9594	7,13.10 ⁻⁶	80,2
1	0,3100	0,9789	1,73.10 ⁻⁶	19,4
10	0,2450	0,9951	1,98.10 ⁻⁶	22,2
<i>MISAVI</i> C_{HA} (mg.l ⁻¹)	k (cm³.s⁻¹)	R²	D_{zd.} (cm².s⁻¹)	D_{zd.}/D_{vyp.} (%)
0,01	0,7800	0,9992	4,35.10 ⁻⁶	48,8
0,1	0,8830	0,9486	4,92.10 ⁻⁶	55,3
1	0,3330	0,8432	1,84.10 ⁻⁶	20,7
10	0,2430	0,9785	1,35.10 ⁻⁶	15,2

5.4.3. Vliv chloridů

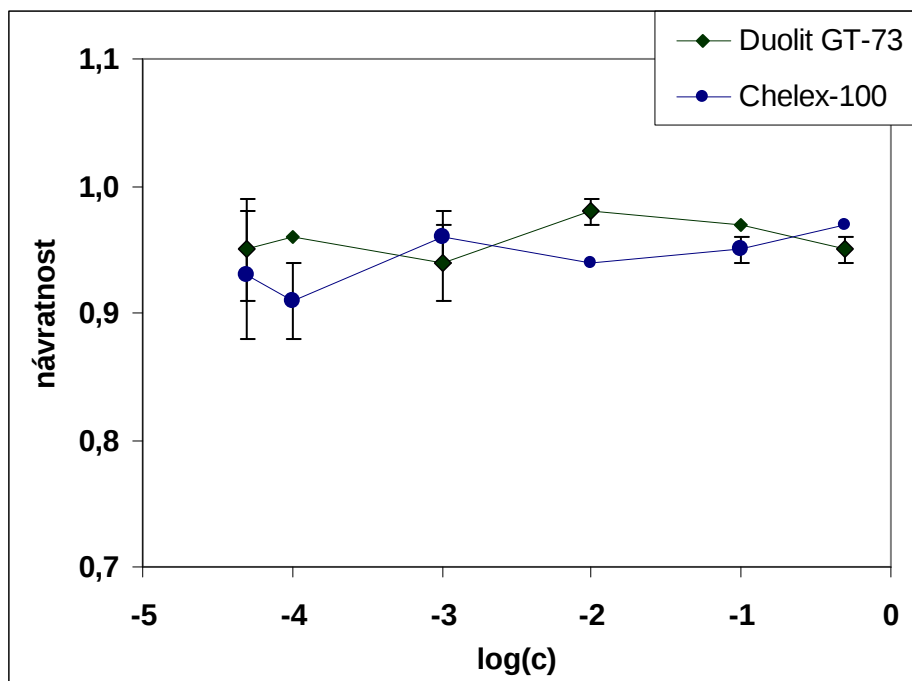
V tomto testu byl zkoumán vliv chloridů na sorpci rtuti v sorpčních gelech. Chloridy jsou běžným přírodním ligandem, který silně váže rtuť ve stabilní chlorokomplexy. Vazba rtuti chloridovými ionty je obzvláště významná v mořské vodě, která obsahuje vysoké koncentrace chloridů. Vliv chloridů na stanovení koncentrace rtuti technikou DGT znázorňuje graf 10. Plnou čarou je znázorněn vliv chloridů na měření rtuti se sorpčním gelem Spheron-Thiol. Podobné výsledky byly získány pro sorpční gel obsahující Duolít GT-73. Přerušovaná čára znázorňuje vliv chloridů na měření rtuti se sorpčním gelem obsahující Chelex-100. Zatímco při použití gelu se Spheron-Thiolem a Duolitem GT-73 bylo dosaženo návratnosti kolem 85 % i v roztocích s velmi vysokou koncentrací chloridů, u sorpčního gelu s Chelexem-100 se návratnost při vysokých koncentracích chloridů pohybovala jen kolem 65 %. Rozdílné vazebné síly sorpčních gelů se Spheron-Thiolem a s Chelexem-100 byly pozorovány již dříve.⁴⁵



Graf 10. Závislost sorpce rtuti na koncentraci chloridů v modelovém roztoku.

5.4.4. Vliv iontové síly

V literatuře zabývající se technikou DGT bylo popsáno, že v roztocích s nižší iontovou silou mohou být výsledky naměřené technikou DGT ovlivněny menšími chybami.⁴⁶ Abychom ověřili vliv iontové síly na měření rtuti technikou DGT, byly připravené sorpční gely testovány v roztoku rtuti obsahující dusičnan sodný v koncentraci pohybující se od 0,01 mol.l⁻¹ až 0,5 mol.l⁻¹. Naměřené výsledky jsou znázorněny v grafu 11. Iontová síla neměla na stanovení rtuti technikou DGT téměř žádný vliv. Nižší iontová síla roztoku jen zvyšovala směrodatnou odchylku stanovení, výtěžnost rtuti však byla větší než 90 %.



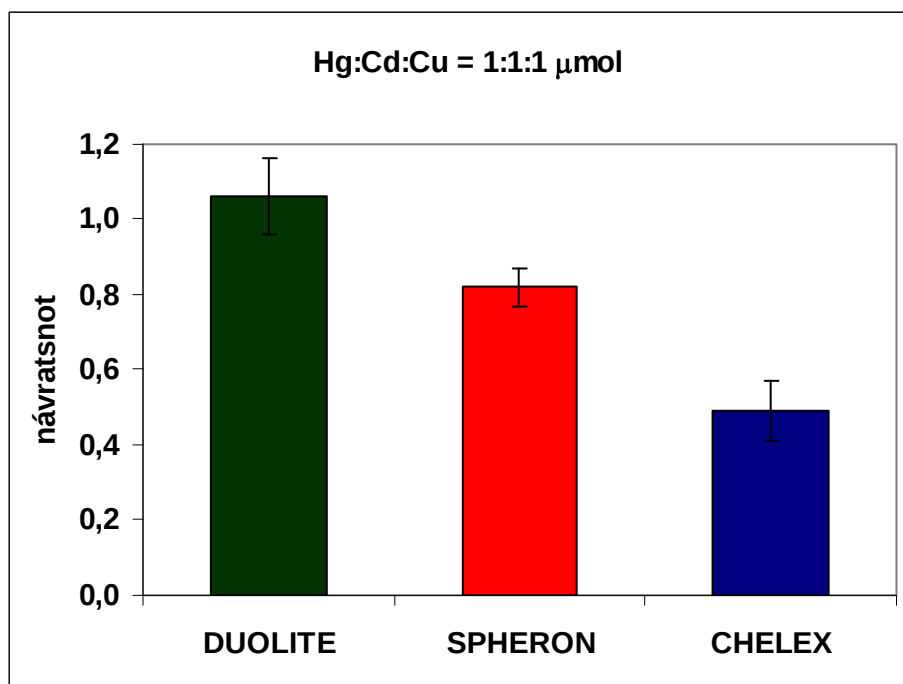
Graf 11. Vliv iontové síly na sorpci rtuti.

5.4.5. Vliv konkurenčních kovů

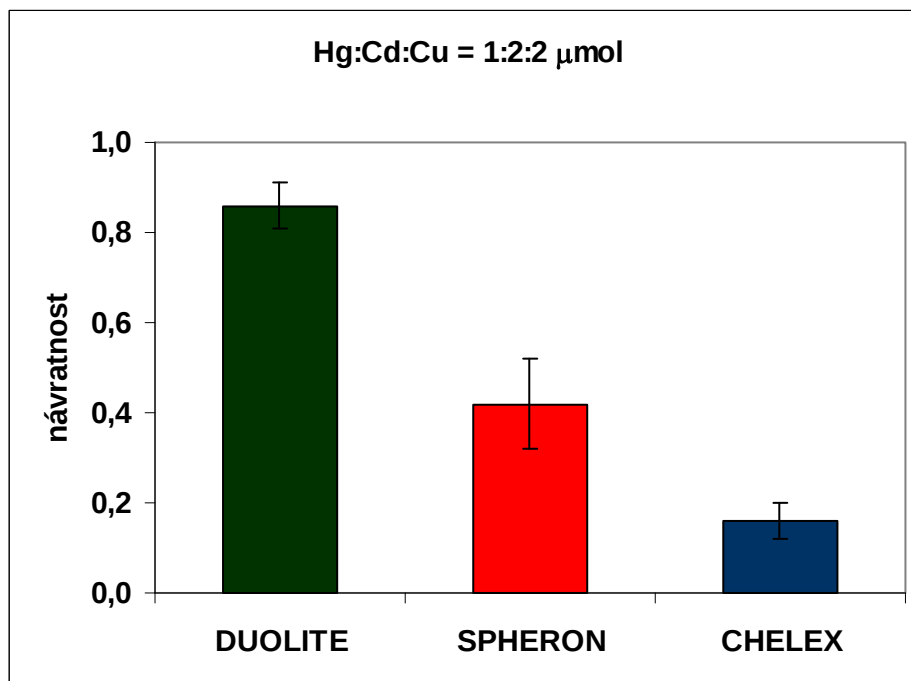
Vliv konkurenčních kovů na sorpci rtuti je dán jak jejich množstvím v roztoku, tak především použitým sorpčním gelem, který vykazuje různou selektivitu k jednotlivým kovům, což je dáno funkčními skupinami sorbentu. Z grafu 12 je zřejmé, že přítomnost stejného množství kadmia a mědi v roztoku nemělo téměř žádný vliv na výtěžnost rtuti u sorpčního gelu obsahující Duolite GT-73, která se tak pohybovala kolem 100 %. Naproti tomu, výtěžnost rtuti ze stejného roztoku při použití sorpčního gelu se Spheron-Thiolem byla přibližně 80 %. Tento výsledek naznačuje, že Spheron-Thiol nemusí přednostně z roztoku vázat rtuť, ale je schopný navázat i měď a kadmium, nicméně v menším množství než rtuť. Oba sorbenty, Duolite GT-73 i Spheron-Thiol obsahují thiolové funkční skupiny, dalo se tedy předpokládat, že se budou chovat podobně. Rozdílné chování může být způsobeno jinou strukturou obou použitých sorbentů. Zatímco funkční skupiny jsou u Duolitu GT-73 vázány na divinyl-styrenbenzenovém kopolymeru, tytéž skupiny jsou u Spheron-Thiolu vázány na hydroxyethylmethakrylát. Při přípravě sorpčních gelů tak mohou být funkční skupiny díky prostorovým efektům pro kovy různě dostupné. Při použití sorpčního gelu s Chelexem-100 se výtěžnost rtuti pohybovala kolem 50 %. Iminodiocetové funkční skupiny iontoměniče Chelex-100 jsou sice schopny vázat rtuť, ale ve stejném množství váží i kadmium a měď. Naměřená data poměrně přesně odpovídají vlastnostem sorbentů udávanými výrobcí. Pro Duolite GT-73 je popsána selektivita vůči kovům v řadě $\text{Hg} > \text{Ag} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Ni} > \text{Co}$,³⁹ pro Chelex-100 pak $\text{Cu} \gg \text{Pb} > \text{Ni} > (\text{Hg}) > \text{Zn} > \text{Ag} > \text{Co} > \text{Cd}$.³⁹

Rozdílné vlastnosti testovaných sorpčních gelů podtrhl test prováděný v roztoku rtuti, ve kterém byly v kadmium a v měď v nadbytku. Při tomto testu se výtěžnost rtuti z modelového roztoku pohybovala kolem 85%, zatímco u Spheron-Thiolu to bylo přibližně 50 % a u Chelexu-100 pouhých 20 %.

Sorpční gel s modifikovaným Iontosorbem AV nebyl bohužel testován, protože v době testování nebyl dostupný imidazol na přípravu nových sorpčních gelů, předpokládáme ale, že by svými vlastnostmi zaujal místo mezi Spheron-Thiolem a Chelexem-100.



Graf 12. Vliv kovů obsažených v roztoku s rtutí v poměru 1:1:1.



Graf 13. Vliv kovů obsažených v roztoku s rtutí v poměru 1:2:2.

6. ZÁVĚR

Technika difúzního gradientu v tenkém filmu (technika DGT) je gelová technika umožňující měření koncentrace kovů a dalších látek *in situ* ve vodách, v půdách a v sedimentech. Technika DGT pracuje na principech Fickových zákonů difúze. Základem této techniky je vzorkovací jednotka DGT, která je ponořena do sledovaného vodního systému, ze kterého ionty kovů difundují přes vrstvu hydrogelu k sorpčnímu gelu, na jehož specifické funkční skupiny se kov váže. Z množství kovu, které je za danou dobu vázáno v sorpčním gelu, je možné jednoduše vypočítat koncentraci labilních forem kovů v měřeném systému. Technika DGT je díky své jednoduchosti a prekoncentračním schopnostem vhodná pro stanovení rtuti, která se v přírodě vyskytuje v nízkých koncentracích, které i tak negativně ovlivňují životní prostředí. Cílem diplomové práce bylo stanovení vlastností nově připravených sorpčních gelů pro stanovení rtuti technikou DGT a porovnání těchto vlastností se sorpčním gelem obsahujícím Spheron-Thiol. Nově připravené sorpční gely byly gel s Duolitem GT-73 a s modifikovaným Iontosorbem AV. Kromě těchto dvou sorpčních gelů byly testovány i vlastnosti gelu s Chelexem-100, který se běžně používá pro stanovení koncentrace labilních forem kovů technikou DGT. Nejdříve byla optimalizována příprava sorpčních gelů. Po této optimalizaci byly připravené gely testovány v modelových roztocích rtuti. Byly provedeny základní testy doporučené firmou DGT Research Ltd., test návratnosti a test lineární akumulace rtuti v závislosti na čase. Koncentrace naměřené technikou DGT v modelových roztocích rtuti se lišily od koncentrací naměřených nezávislou technikou o méně než 2 %. Všechny připravené gely lineárně akumulovaly rtuť v závislosti na čase. Kromě toho, množství akumulované rtuti v sorpčních gelech odpovídalo teoreticky vypočítanému množství ze základní rovnice DGT. Z těchto výsledků je patrné, že proces přípravy gelů byl optimalizován správně a že připravené gely byly plně funkční.

V další části této práce byl studován vliv různých faktorů na měření rtuti technikou DGT. Těmito faktory byly pH, iontová síla a koncentrace chloridů a huminových látek v roztoku. Studován byl také vliv konkurenčních kovů na měření. Nejlepší výsledky ve všech testech vykazoval sorpční gel s Duolitem GT-73. Tento gel je možné využít v celé škále pH okolního prostředí a je schopen vázat rtuť i ve velmi stabilních komplexech. Kromě toho, disponuje největší specifitou pro rtuť. Podobné výsledky vykazoval také sorpční gel se Spheron-Thiolem, nicméně specifita tohoto sorbentu je patrně mírně oslabena prostorovými efekty v polymerizovaném gelu. Zároveň je tento sorpční gel možné použít pouze v omezeném rozsahu pH (4-8). Použití sorpčního gelu s Chelexem-100 je rovněž omezeno hodnotou pH vnějšího roztoku. Kromě toho, iminodioctové funkční skupiny Chelexu-100 jsou méně selektivní pro rtuť a mají příliš malou vazebnou sílu aby byly schopny vázat rtuť přítomnou i v silnějších (stabilnějších) komplexech. Testován byl také nový sorpční gel s Iontosorbem AV modifikovaným imidazolem. Tento sorpční gel byl podobně jako gel s Duolitem GT-73 použitelný v širokém rozsahu pH, svými ostatními vlastnostmi se pak řadil mezi za sorpční gel s Duolitem GT-73 a mezi sorpční gely se Spheron-Thiolem a Chelexem-100. Všechny testované sorpční gely fungovaly správně v širokém rozsahu hodnot iontové síly modelového roztoku rtuti, lze říci, že měření bylo ve všech případech nezávislé na iontové síle roztoku.

Cílem diplomové práce bylo rovněž stanovit sorpční kapacity připravených gelů, započaté testy bohužel nebyly z časových důvodů dokončeny. Tyto testy budou v nejbližší době dokončeny a spolu s výsledky prezentovanými v této diplomové práci přispějí k rozvoji techniky DGT.

7. LITERATURA

- ¹ Greenwood N.N., A. Earnshaw A.: *Chemie prvků II*. Praha : Informatorium, 1993. 1491-1497 s. ISBN 80-85427-38-9
- ² Remy H.: *Analytická chemie II*. 1962. vyd. Praha : SNTL, 1962. 459-480 s.
- ³ Housarová P., Janák K., Kubáň P., Pavlíčková J., Kubáň V.: *Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech*. Chemické listy 100, 2006. s. 862-876. ISSN 0009-2770.
- ⁴ *United States Environmental Protection Agency: Background Information on Mercury Sources and Regulations* [online]. 1994 , 5. května 2009 [cit. 2009-05-07]. Dostupný z WWW: <<http://www.epa.gov/grtlakes/bnsdocs/mercsrce/>>
- ⁵ Eisler R: *Mercury Hazards to living Organisms*. 2006 vyd. : Taylor & Francis Group, 2006. 333 s.
- ⁶ Pitter P.: *Hydrochemie*. 3. přeprac. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 1999. 568 s. ISBN 80-7080-340-1.
- ⁷ Cibulka J., et. al.: *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. 1990. vyd. Praha : Academia, 1990. 23,28,69-71 s. ISBN 80-200-0401-7.
- ⁸ Baeyens W., Ebinghaus R., Vasiliev W.: *Global and regional mercury cycles:sources, fluxes and mass balances*. 2. environment vol. 21, Kluwer academic publishers, 1996. 588 s. ISBN 978-0792343141.
- ⁹ Fara M.: *Specifika emisí rtuti ze zdrojů znečišťování ovzduší vzhledem k potřebám modelů rozptylu znečištění v ovzduší a posuzování potenciálních rizik v životním prostředí. Projekt zadáný pro EGÚ Praha Engineering, a.s. Českým hydrometeorologickým ústavem, pokračování studie započaté v r. 2003, Praha, 2004.*
- ¹⁰ Leermakers M., Baeyens W., Quevauviller P., Horvat M.: *Mercury in environmental samples: Speciation, artifacts and validation*. Trends in Analytical Chemistry 24, No.5, 2005. 383-392 s.
- ¹¹ Dubová Z.: *Izolace specií rtuti ze sedimentů*. 2006. 36 s. Masarykova univerzita. Vedoucí bakalářské práce Prof. RNDr. Josef Komárek, DrSc.
- ¹² Tichý M.: *Toxikologie pro chemiky. Toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa*. 2003 vyd. Praha : Karolinum, 2003. 119 s. ISBN 80-246-0566-X.
- ¹³ Bencko V., Linhart M., Lener J.: *Toxické kovy v pracovním a životním prostředí člověka*. 1984. vyd. Praha : Academia, 1984. 263 s.
- ¹⁴ Paleček J., Linhart I., Horák J.: *Toxikologie a bezpečnost práce v chemii*. vyd. Praha : VŠCHT, 1999. 66-67 s. ISBN 80-7080-266-9.
- ¹⁵ Závadská M., Žemberyová M.: *Stanovení a špeciace zlúčenin rtuti vo vzorkách životního prostředí technikami metody AAS*. Chemické listy 93, 1999. s. 91-98.
- ¹⁶ Popl M., Fahnrich J.: *Analytická chemie životního prostředí*. vyd. Praha : VŠCHT, 1995. 166,167,170-172 s. ISBN: 80-7080-238-3
- ¹⁷ Li-Ping Y., Xiu-Ping Y.: *Factors affecting the stability of inorganic and methylmercury during sample storage*. Trends in Analytical Chemistry, 2003. 22, 245-252 s.
- ¹⁸ Landaluze J.S., de Diego A., Rapovo J.C., Madariaga J.M.: *Methylmercury determination in sediments and fish tissues from the Nerbioi – Ibaizabal estuary (Basque Country, Spain)*. Analytica Chimica Acta 508, 2004. 107-117 s.

- ¹⁹ Krystek P., Ritsema R. : *Mercury speciation in thawed out and refrozen fish symplex by gass chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spektrometry and atomic fluorescence spectroscopy*. Anal. Bional. Chem., 2005. 381, 354-359 s.
- ²⁰ AMA 254, návod na obsluhu, Altec Ltd., Praha 2000.
- ²¹ Černohorský T., Jandera P.: *Atomová spektroskopie*. vyd. Pardubice : Univerzita Pardubice, 1997. 218 s. ISBN 80-7194-114-X.
- ²² Dočekal B., et al.: *Atomová absorpční spektrometrie : Sborník přednášek*. 2. upr. vyd. Český Těšín : Ing. Václav Helán, 2003. 164 s. ISBN 80-86380-16-5.
- ²³ Taylor L.,R., Papp R.,B., Pollard B.,D.: *Instrumental methods for determining elements*. USA: VCH Publishers, Inc., 1994. 322 p. ISBN 1-56081-038-6.
- ²⁴ Klouda, P.: *Moderní analytické metody*. Praha : Pavel Klouda, 2003. 10-25 s. ISBN 80-86369-07-2.
- ²⁵ Herníková V.: *Gelové techniky pro stanovení biodostupných forem rtuti ve vodných systémech*. 2004. 53 s. VUT FCH. Vedoucí diplomové práce RNDr. Hana Dočekalová, CSc.
- ²⁶ Wikipedia [online]. Poslední úprava 22.4.2009. [cit.1.5.2009]. Dostupné z: WWW <<http://cs.wikipedia.org/wiki/ICP-MS>>
- ²⁷ Davison W., Zhang H.: *Nature* 367, 546 (1994).
- ²⁸ Zhang H., Davison W., Gadi R., Kobayashi T., *Anal. Chim. Acta*, 370, 29-38 (1998)
- ²⁹ Řezáčová-Smetková V., Dočekal B., Dočekalová H.: *Použití techniky difúzního gradientu v tenkém filmu při charakteristice půd*. Chemické listy 99, 2005. s. 594-599.
- ³⁰ Diviš P., Dočekalová H., Řezáčová V.: *Gelové techniky pro měření in situ ve vodách, v půdách a v sedimentech*. Chemické listy 99, 2005. s. 640-646.
- ³¹ DGT Research Ltd., Lancaster, UK: *DGT for measurement in waters, soils and sediments*. [online]. Poslední změna [cit. 2008-3-3]. Dostupné z WWW:<<http://www.dgtresearch.com>> [Download Technical pdf document]
- ³² Zhang H., Davison W.: *Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution*. *Analytical Chemistry*. 1995, vol. 67, no. 19, p. 3391-3400.
- ³³ Davison W., Fones G., Harper M., Teasdale P.R., Zhang H.: *Dialysis, DET and DGT: in situ diffusional techniques for studying water, sediments and soils*. In *in situ monitoring of Aquatic Systems: Chemical Analysis and Speciation*. 6th edition. UPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems, 2000. Chapter 11. p. 495-569. ISBN 0-471-48979-4
- ³⁴ Dočekalová H., Diviš P.: *Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems*. *Talanta*. 2005, vol. 65, 1174-1178 s.
- ³⁵ LI W., Zhao H., Teasdale P.: *Metal speciation measurement by diffusive gradients in thin films technique with different binding phases*. *Anal. Chim. Acta*. 2005, vol. 533, 193-202 s.
- ³⁶ Lékařská fakulta, ústav biologie. [online] Poslední úprava 6.1.2009 [cit. 2009-3-2]. Dostupné z WWW: <<http://biologie.upol.cz/metody/Slovník/Agarozovy%20gel.htm>>
- ³⁷ Dočekal B.: *Studium vlastností selektivních sorbentů na bázi hydroxyethylmethakrylátového gelu Spheron a jejich použití ve stopové analýze kovů metodami atomové spektrometrie*. Brno, 1988. 103 s. Universita J.E. Purkyně Brno. Vedoucí disertační práce Doc. RNDr. Milan Vrchlabský, CSc.

- ³⁸ BIO-RAD LABORATORIES. *Chelex® 100 and Chelex 20 Chelating Ion Exchange Resin Instruction Manual* [online] Poslední úprava 8.12.2008 [cit. 2009-1-1]. Dostupné z WWW: <http://www.biorad.com/webmaster/pdfs/9184_Chelex.PDF>.
- ³⁹ Diviš P., Szkandera R., Brulík L., Dočekalová H., Matůš P., Bujdoš M.: *Application of new resin gels for determination of mercury by diffusive gradients in thin films technique*. ANAL SCI 25, 575-578 (2009).
- ⁴⁰ Iontosorb, Ústí nad Labem, ČR, [online]. Poslední úprava 18.4.2009 [cit. 2009-25-4]. Dostupné z WWW: <<http://www.iontosorb.cz>>
- ⁴¹ Szkandera R.: *Testování modifikovaných sorbentů Iontosorbu pro užití v technice difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT)*. 2008. 44 s. VUT FCH. Vedoucí diplomové práce Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
- ⁴² Štefanidesová V., Seidlerová J., Dvorká P.: *Stabilizace standardních roztoků pro stanovení rtuti Metodou AAS*. Chemické listy 96, 2002. s 117-119.
- ⁴³ Tölgyessy J., et al.: *Chémia, biológia a toxikológia vody a ovzduší*. vyd. Bratislava : VEDA, vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, 1989. 536 s. ISBN80-224-0034-303.
- ⁴⁴ Smetková V.: *Vývoj metoda pro stanovení forem ekotoxikologicky významných prvků v přírodních systémech*. 2004. 156 s. VUT FCH. Vedoucí disertační práce: prof. RNDr. Hana Dočekalová, CSc.
- ⁴⁵ Mantoura R.F.C., Dickson E., Riley J.P.: *The Complexation of metals with humic materials in natural water*. Estuarine and Coastal Marine Science. 1979. 387-408 s.
- ⁴⁶ Alfaro De-la Torre M. C., Beaulieu P. Y., Tessier A.: *In situ measurement of trace metals in lakewater using the dialysis and DGT techniques*. Anal. Chim. Acta. 2000, vol. 418, 53-68 s.

8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AMA 254	jednouúčelový atomový absorpční spektrometr pro stanovení rtuti (Advance Mercury Analyser)
Hg	rtuť
Hg⁰	elementární rtuť
Hg₂²⁺	rtuťný kation
Hg²⁺	rtuťnaté ionty – anorganická rtuť
-SH	thiolová skupina
DBL	difúzní hraniční vrstva (diffusive bundary layer)
DGT	technika difúzního gradinetu v tenkém filmu (Diffusive Gradient in Thin films technique)
DET	technika difúzní rovnováhy v tenkém filmu (diffusive equilibrium in thin films technique)
TEMED	N,N,N',N' – tetramethylethyldiamin
AAS	atomová absorpční spektrometrie (atomic absorption spectrometry)
AFS	atomová fluorescenční spektrometrie (atomic fluorescence spectrometry)
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (inductively coupled plasma-mass spectrometry)
MISAVI	modifikovaný Iontosorb AV s imidazolem
GC	plynová chromatografie
HPLC	vysoce účinná kapalinová chromatografie

9. SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ

A	expoziční plocha (cm ²)
C'	koncentrace iontů kovů na rozhraní sorpčního a difúzního gelu (mol.l ⁻¹)
C_{DGT}	koncentrace chemických forem kovů ve vnějším roztoku (mol.l ⁻¹)
C_e	koncentrace chemických forem kovů v eluátu (mol.l ⁻¹)
C_{AMA}	koncentrace rtuti v roztoku zjištěna přístrojem AMA 254
D	difúzní koeficient (cm ² .s ⁻¹)
δ	tloušťka difúzní hraniční vrstvy (cm)
Δg	tloušťka difúzní vrstvy (cm)
F	tok chemických forem kovů (mol.cm ⁻² .s ⁻¹)
f_e	faktor eluce kovů ze sorpčního gelu
M	množství chemických forem kovů vázané během expoziční doby v sorpčním gelu (ng v disku)
M_{TEOR}	teoretické množství chemických forem kovů vázané během expoziční doby v sorpčním gelu (ng v disku)
t	doba expozice DGT jednotky (s)
V_g	objem sorpčního gelu (cm ³)
V_e	objem roztoku 1 mol.l ⁻¹ kyseliny dusičné (cm ³)