

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

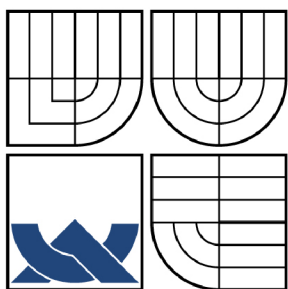
TESTOVÁNÍ MODIFIKOVANÝCH SORBETŮ IONTOSORB PRO UŽITÍ
V TECHNICE DIFÚZNÍHO GRADIENTU V TENKÉM FILMU (DGT)

DIPLOMOVÁ PRÁCE
DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

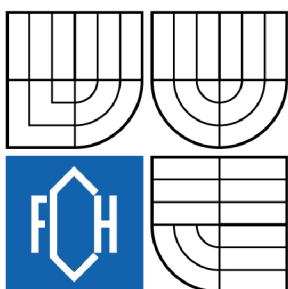
ROMAN SZKANDERA

BRNO 2008



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

TESTOVÁNÍ MODIFIKOVANÝCH SORBETŮ IONTOSORB PRO UŽITÍ V TECHNICE DIFÚZNÍHO GRADIENTU V TENKÉM FILMU (DGT)

TESTING OF MODIFIED IONTOSORB RESINS FOR ITS USE
IN DIFFUSIVE GRADIENT IN THIN FILMS TECHNIQUE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

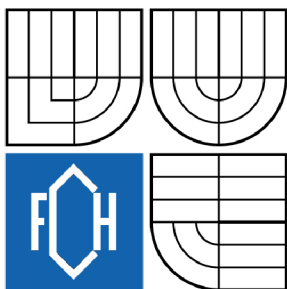
ROMAN SZKANDERA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. PAVEL DIVIŠ, Ph.D.

BRNO 2008



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

Zadání diplomové práce

| | | |
|-----------------------------|---|----------------------------------|
| Číslo diplomové práce | FCH-DIP0240/2007 | Akademický rok: 2007/2008 |
| Ústav | Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí | |
| Student(ka) | Szkandera Roman | |
| Studijní program | Chemie a technologie ochrany životního prostředí (M2805) | |
| Studijní obor | Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002) | |
| Vedoucí diplomové práce | Ing. Pavel Diviš, Ph.D. | |
| Konzultanti diplomové práce | | |

Název diplomové práce:

Testování modifikovaných sorbetů Iontosorb pro užití
v technice difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT)

Zadání diplomové práce:

Optimalizace přípravy nového typu sorpčních gelů, podmínky polymerizace, ověření stability, analytických vlastností, studium selektivity. Testování gelů pro použití v reálných přírodních systémech s možností komerčního využití.

Termín odevzdání diplomové práce: 16.5.2008

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

Roman Szkandera
student(ka)

Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Vedoucí práce

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2007

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá přípravou a testováním nového sorbentu pro techniku difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT) a její aplikaci pro měření rtuti v přírodních vodách. Jako výchozí sorbent byl použit produkt firmy Iontosorb, Iontosorb AV, na který byl pomocí diazotační a kopulační reakce nanesen 6-merkaptopurin. Připravený sorbent byl jednoduše popsán. Kvalitativní důkaz thiolových skupin byl proveden pomocí infračervené spektrofotometrie, kvantitativní pomocí jodometrické titrace. Obsah thiolových skupin v modifikovaném Iontosorbu AV byl stanoven na $0,5 \text{ mmol.g}^{-1}$. Místo běžně používaného polyakrylamidového gelu byl jako nosič pro sorbent použit 4% agarózový gel. Připravené sorpční i difúzní gely byly testovány v modelových roztocích rtuti a ve všech svých charakteristikách vyhovovaly předpisům firmy DGT Research Ltd. určující správnost techniky DGT. Detekční limit pro stanovení rtuti technikou DGT s modifikovaným sorbentem Iontosorb AV byl stanoven 25 ng.l^{-1} při 24hod expozici a tloušťce difúzního gelu 0,5 mm.

KLÍČOVÁ SLOVA

Sorbent, Iontosorb AV, rtuť, DGT, diazotace, kopulace, přírodní vody

ABSTRACT

This diploma thesis deals with preparation and testing of new sorbent for diffusive gradients in thin films technique and its application for mercury determination in natural waters. As starting sorbent, Iontosorb AV produced by Iontosorb company was used. This sorbent was modified using diazotation and copulation reactions with 6-mercaptopurine. The new sorbent was simply characterised. The presence of thiol groups in modified Iontosorb AV was proved by infrared spectroscopy. The amount of thiol groups was determined by iodometric titration as $0,5 \text{ mmol.g}^{-1}$. Instead of commonly used polyacrylamide gel, 4% agarose gel was used as carrier for sorbent. Prepared resin gels and diffusive gels were tested in model mercury solutions and they match all of requirements of DGT Research company determining correctness of DGT technique. The detection limit for mercury determination by DGT technique with modified Iontosorb AV was calculated to be 25 ng.l^{-1} using 24 hours as exposition time and diffusive gel with thickness of 0,5 mm.

KEYWORDS

Sorbent, Iontosorb AV, mercury, DGT, diazotation, copulation, natural waters

SZKANDERA, R. *Testování modifikovaných sorbetů Iontosorb pro užití v technice difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT)*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 44 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. 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:

Tímto děkuji všem, kteří mi pomohli s realizací mé diplomové práce. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. za vzorné vedení diplomové práce, prof. RNDr. Haně Dočekalové, CSc. a Ing. Lukáši Brulíkovi za poskytnutí cenných odborných rad. Firmě Iontosorb a jmenovitě ing. Tokarovi za bezplatné poskytnutí sorbentu k modifikaci. Prof. RNDr. Lumíru Sommerovi, Dr.Sc. za poskytnutí 3 g 6-merkaptopurinu a Doc. Ing. Martině Klučákové, Ph.D. za možnost použití infračerveného spektrofotometru.

p. Jitce Pochopové za zapůjčování laboratorních pomůcek. Radku a Vladislavovi Kantorovým z Ropice za pomoc a zapůjčení vybavení k technickému provedení modifikace sorbentu.

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| 1. ÚVOD | 7 |
| 2. TEORETICKÁ ČÁST | 8 |
| 2.1. Rtuť | 8 |
| 2.1.1. Původ rtuti v životním prostředí..... | 8 |
| 2.1.2. Koloběh rtuti v životním prostředí | 10 |
| 2.1.3. Toxicita rtuti | 10 |
| 2.1.4. Stanovení rtuti v životním prostředí | 11 |
| 2.2. Technika difúzního gradientu v tenkém filmu | 11 |
| 2.2.1. Princip DGT | 12 |
| 2.2.2. Výpočet koncentrace analytu v měřeném roztoku | 13 |
| 2.2.3. Difúzní gely v technice DGT | 15 |
| 2.2.3.1. Polyakrylamidový hydrogel | 15 |
| 2.2.3.2. Agarózový gel | 16 |
| 2.2.4. Sorpční gely..... | 16 |
| 2.2.5. Iontoměniče používané v technice DGT | 17 |
| 2.2.5.1. Chelex-100 | 17 |
| 2.2.5.2. Spheron-Thiol..... | 18 |
| 2.2.5.3. Duolit GT-73 | 19 |
| 2.2.5.4. Silikagel modifikovaný 3-merkaptopropylem | 20 |
| 2.2.5.5. Další sorbenty specifické pro rtuť | 20 |
| 2.3. Iontosorb AV..... | 21 |
| 2.4. Diazotace a kopulace..... | 22 |
| 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 23 |
| 3.1. Chemikálie | 23 |
| 3.2. Instrumentace | 23 |
| 3.3. Pracovní postupy | 24 |
| 3.3.1. Příprava sorbentu – modifikace Iontosorbu AV | 24 |
| 3.3.1.1. Diazotace..... | 24 |
| 3.3.1.2. Kopulace..... | 26 |
| 3.3.2. Stanovení obsahu thiolových skupin v nově připraveném sorbetu | 27 |
| 3.3.3. Příprava difúzního a sorpčního gelu..... | 28 |
| 3.3.4. Kompletace DGT jednotek pro měření | 28 |
| 3.3.5. Základní test DGT v připraveném roztoku rtuti..... | 28 |
| 3.3.6. Test nasycení sorbentu v závislosti na čase | 29 |
| 3.3.7. Měření rtuti v modelovém roztoku a sorpčních gelech..... | 30 |
| 3.3.8. Postup tabletace vzorků k měření IČ spektra | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 4. VÝSLEDKY A DISKUZE | 32 |
| 4.1. Modifikace Iontosorbu AV a její optimalizace | 32 |
| 4.1.1. Modifikace Iontosorbu AV pomocí diazotace a kopulace | 32 |
| 4.1.2. Optimalizace diazotace a kopulace | 32 |
| 4.2. Kvalitativní důkaz thiolových skupin | 33 |
| 4.3. Kvantitativní důkaz thiolových skupin | 33 |
| 4.4. Optimalizace přípravy sorpčního gelu | 34 |
| 4.5. Základní test DGT | 34 |
| 4.6. Test lineární akumulace v závislosti na čase | 35 |
| 4.7. Výpočet limitu detekce | 36 |
| 5. ZÁVĚR..... | 38 |
| 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ..... | 39 |
| 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ..... | 41 |
| 7.1. Seznam použitých zkratk | 41 |
| 7.2. Seznam použitých symbolů | 41 |
| 8. SEZNAM PŘÍLOH..... | 42 |
| 8.1. Vzorce dalších sorbentů specifických pro rtuť | 42 |
| 8.2. Schéma přístroje AMA 254 s popisem | 42 |
| 9. PŘÍLOHY | 43 |
| 9.1. Vzorce další sorbentů specifických pro rtuť | 43 |
| 9.1.1. R-S-N sorbent | 43 |
| 9.1.2. Modifikovaný Reillex 425 | 43 |
| 9.1.3. Chloromethylovaný sorbent Merrifield | 43 |
| 9.1.4. Modifikovaný GMA sorbent | 43 |
| 9.2. Schéma přístroje AMA 254 s popisem | 44 |

1. ÚVOD

Rtuť se během staletí stala vysoce sledovaným prvkem především díky svým vlastnostem, kterými se zcela odlišuje od většiny tzv. těžkých kovů. Zvýšený zájem o rtuť a její toxické vlastnosti, současně s rychlým rozvojem nových analytických metod vedly k vývoji nových analytických technik pro stanovení rtuti v životním prostředí, jež byly následně použity v mnoha environmentálních studiích a při studiu geochemického cyklu rtuti [1,2,3,4]. Rtuť v životním prostředí je však i přesto stále velmi těžké stanovit, neboť se zde vyskytuje ve velmi malých koncentracích pohybujících se v jednotkách $\mu\text{g.l}^{-1}$ až ng.l^{-1} . Stanovení tak nízkých koncentrací vyžaduje použití rychlých, přesných, selektivních a citlivých metod, speciálních zařízení [5,6] a bezkontaminačních postupů [7,8].

Stanovení rtuti v životním prostředí běžnými metodami přitom obsahuje hned několik kroků, při kterých může docházet ke kontaminaci vzorku nebo naopak ke ztrátám rtuti. Problém jak minimalizovat manipulaci se vzorkem po jeho odběru a vyhnout se tak následné kontaminaci, je možné vyřešit tzv. měřením *in situ*. Velmi zajímavou technikou v tomto směru je technika difúzního gradientu v tenkém filmu (Diffusive Gradients in Thin films technique, technika DGT) [9].

Technika DGT je dnes běžně používána pro *in situ* stanovení koncentrací stopových, ale i minoritních a majoritních kovů v jezerech, v řekách a v mořích. Technika DGT je použitelná pro měření více než 30-ti vybraných kovů v přírodních vodách, nicméně aplikace techniky DGT pro sledování koncentrací rtuti ve vodných systémech byla v odborné literatuře nedostatečně popsána. Stanovení rtuti technikou DGT provází řada specifických problémů. Jedním z nich je nedostatek komerčně dodávaných iontoměničů specifických pro rtuť a využitelných v technice DGT. Diplomová práce se tak zabývá přípravou optimálního iontoměniče pro techniku DGT v souvislosti se stanovením rtuti v přírodních vodách. Jako výchozí látka byl použit iontoměnič firmy Iontosorb, Iontosorb AV. Na tento sorbent byl následně pomocí diazotační a kopulační reakce nanesen 6-merkaptopurin. Příprava modifikovaného Iontosorbu AV byla v diplomové práci podrobně popsána. Z modifikovaného sorbetu byly připraveny sorpční gely pro techniku DGT a tyto byly podrobeny základním testům, předepsaným firmou DGT Research.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Rtuť

Rtuť se v životním prostředí vyskytuje obecně ve třech základních formách a ve třech oxidačních stavech. Elementární rtuť Hg^0 je za normální teploty kapalinou s vysokým bodem varu a nízkým tlakem par. Další formou rtuti jsou anorganické sloučeniny s oxidačním číslem I+, jako je například kalomel Hg_2Cl_2 , a oxidačním číslem II+, např. HgS nebo chlorokomplexy $[\text{Hg}(\text{Cl})]^+$, $[\text{Hg}(\text{Cl})_3]^-$ a $[\text{Hg}(\text{Cl})_4]^{2-}$. Významnou část rtuti v životním prostředí pak tvoří organicky vázaná rtuť, především komplexy s huminovými látkami a dále methylrtuť CH_3Hg , popř. dimethylrtuť $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ [10,11].

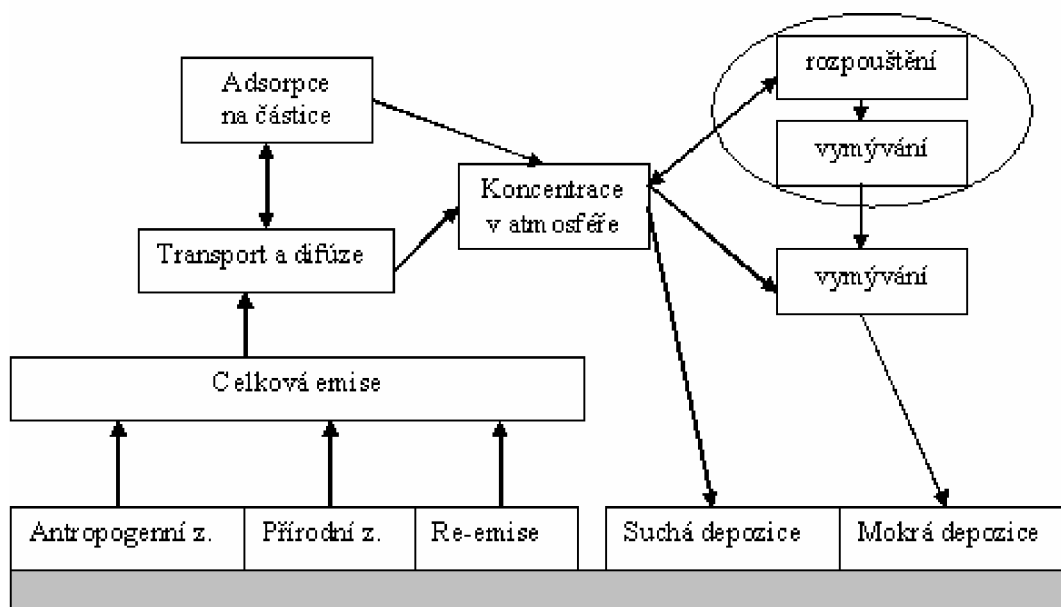
2.1.1. Původ rtuti v životním prostředí

Rtuť v nízkých koncentracích je možno najít v celé biosféře, ve vodách, v horninách, v sedimentech, v půdách i v atmosféře. Nejvýznamnějším přírodním zdrojem je ruda rumělka HgS . Přírodní rtuť je ve větších koncentracích přítomná i na některých lokálních minerálních nalezištích a termálních pramenech. Přírodní zdroje rtuti čítají pouze přibližně 30-40 % celkové rtuti v biosféře, zatímco převážná většina rtuti, tedy více než 60 %, je antropogenního původu.

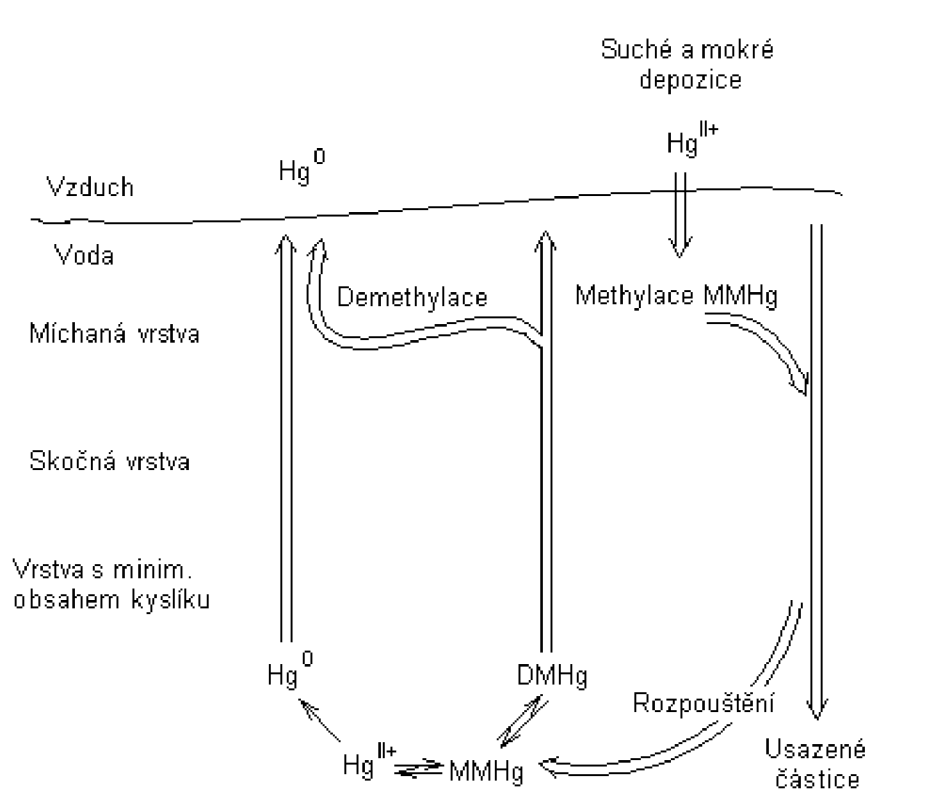
Kromě rumělky jsou dalšími přírodními zdroji rtuti lesní požáry a vulkanická činnost. Přírozenými vstupy rtuti do životního prostředí jsou např. odpar do atmosféry z povrchu oceánů a zvětrávání hornin. Nejvíce uvolňovanou formou rtuti do životního prostředí je elementární rtuť Hg^0 , následují oxidy, sulfidy, halogenidy a methylrtuť. Přírodní zdroje mají za následek roční emise rtuti do životního prostředí okolo 1600 tun.

Hlavními antropogenními zdroji rtuti v životním prostředí jsou průmyslové procesy (výroba látek a přístrojů obsahujících rtuť), těžba a zpracování kovů, spalování ropných produktů a fosilních paliv, chemický průmysl a rtuťnaté pesticidy, od kterých se kvůli toxicitě ustupuje. Výrobky obsahující rtuť, které mohou kontaminovat životní prostředí, jsou baterie, staré latexové a olejové barvy, rozpouštědla, barviva a pigmenty, teploměry a tlakoměry, farmaceutické výrobky a zářivky. Celková emise antropogenní rtuti je zhruba 5000 tun ročně.

Přírozené pozadí rtuti v přírodních vodách je řádově jen několik setin $\mu\text{g.l}^{-1}$. Poněkud vyšší koncentrace rtuti lze najít v podzemních vodách v důsledku geologického podloží obsahující minerál rumělku. Ve splaškových vodách velkých měst může koncentrace rtuti dosahovat až jednotky $\mu\text{g.l}^{-1}$, u průmyslových vod se obsah rtuti pohybuje v rozmezí jednotek až stovek mg.l^{-1} (chemický průmysl) [1,12,13].



Obr. 1. Mechanismus emise a depozice rtuti. Převzato a upraveno z [14].



Obr. 2. Koloběh rtuti ve vodě. Převzato a upraveno z [15].

2.1.2. Koloběh rtuti v životním prostředí

Do atmosféry se rtuť uvolňuje hlavně ve formě Hg^0 . Elementární rtuť je velmi málo reaktivní a téměř nerozpustná ve vodě, což má za následek její dlouhodobou přítomnost v atmosféře (zhruba 1 rok). Množství rtuti odstraněné z atmosféry je závislé hlavně na chemicko-fyzikálních procesech probíhajících v atmosféře (oxidačně redukční reakce) způsobujících její rozdělení mezi různé fyzikální stavy (plynný, kapalný, pevný – adsorpce na částice). Nejnebezpečnější v atmosférických depozicích je oxidovaná forma rtuti Hg^{2+} , která je velmi reaktivní a rozpustná ve vodě. Doba zdržení Hg^{2+} v atmosféře je kratší než 14 dní. Za hlavní oxidant rtuti v atmosféře je možno označit ozón. Původci redukce jsou pak především chloridy a siřičitany. Mechanismus emise a depozice rtuti znázorňuje (Obr. 1) [1,12,13].

Z atmosféry se rtuť do přírodních vod dostává pomocí suché a mokré depozice, které sebou přináší rtuť s oxidačním číslem $II+$ (Obr. 2). Dvojmocná rtuť se pomocí bakterií přítomných ve vodních organismech může methylovat na monomethylrtuť CH_3Hg^+ (MMHg), která se po vyloučení následně usazuje na dně adsorbovaná na povrch pevných částic. V anoxické zóně sedimentu se další část rtuti s oxidačním číslem $II+$ ukládá do sedimentů ve formě HgS . Určitá část vodních bakterií, přítomných v dnových sedimentech, může methylrtuť dále methylovat na dimethylrtuť $(CH_3)_2Hg$. Jelikož dimethylrtuť je těkavou látkou, uvolňuje se do vodního sloupce a následně do atmosféry. Během transportu vodním sloupcem může být dimethylrtuť také demethylována na elementární rtuť, která se rovněž uvolňuje do atmosféry [10,15].

2.1.3. Toxicita rtuti

Rtuť je ve všech svých formách toxická. Její nejedovatější formou v životním prostředí je organicky vázaná rtuť. Potvrzuje to případ z nedávné historie z japonské rybářské vesnice Minamata (1956), kdy se otrávil velké množství obyvatel rybím masem. Tyto ryby byly kontaminovány právě organickými sloučeninami rtuti, které se vytvořily chemickými a biochemickými pochody z odpadních vod továrny na zpracování a výrobu organických sloučenin [10]. Methylací vzniklé formy organické rtuti jsou silně bioakumulativní a mají neurotoxické a teratogenní účinky. V důsledku Minamatské tragédie část lidí na následky otravy zemřela a zbytek zůstal trvale postižen.

Zdravotní problémy způsobuje i rtuť v anorganických sloučeninách s oxidačním číslem $II+$. Váže se na aminokyseliny a thiolové skupiny bílkovin a působí jako enzymatický jed. Při dlouhodobé expozici se ukládá v největší míře v ledvinách, které pak bývají nejvíce poškozeny. Rtuť s oxidačním číslem $II+$ je sama o sobě nejen jedovatá, ale je i hlavním prekurzorem pro tvorbu velmi toxické methylrtuti, proto je nutné věnovat její koncentraci v životním prostředí zvýšenou pozornost [11].

2.1.4. Stanovení rtuti v životním prostředí

Současný stav životního prostředí z hlediska obsahu rtuti a jejich sloučenin, které jsou značně toxické, vede k rozvoji nových analytických metod pro stanovení rtuti v životním prostředí. Tyto metody jsou následně použity v environmentálních studiích a při studiu geochemického cyklu rtuti [1,2,3,4]. Stanovení rtuti v životním prostředí je velkým problémem neboť se vyskytuje ve velmi nízkých koncentracích pohybujících se v jednotkách $\mu\text{g.l}^{-1}$ až ng.l^{-1} . Ke zjišťování takto nízkých koncentrací je nutné použít rychlé, přesné, selektivní a citlivé metody, speciální zařízení [5,6] a bezkontaminační postupy [7,8].

Stanovení rtuti v životním prostředí obvyklými metodami provází hned několik vlivů, při kterých může dojít ke ztrátě obsahu rtuti nebo kontaminaci vzorku. Ztráty rtuti při odběru a uchovávání vzorku způsobuje hlavně adsorpce rtuti na stěny vzorkovacích nádob, čemuž se dá zabránit přidávkem konzervačních činidel. Nejčastěji je používána kyselina dusičná [16,17] a kyselina chlorovodíková v kombinaci s dichromanem draselným [18,19].

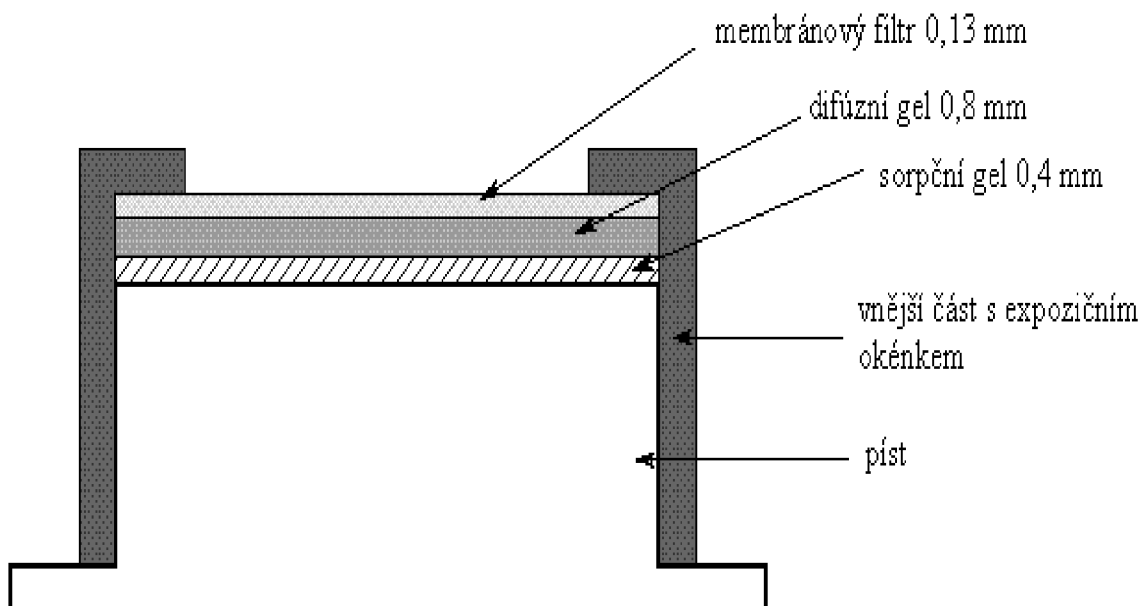
Problémům se ztrátami a kontaminací vzorku při manipulaci s ním a po jeho odběru, se lze vyhnout měřením *in situ*. V současnosti, i přes více než desetileté zkušenosti v oblasti *in situ* měření, je možno hovořit pouze o počátcích praktického používání tohoto způsobu měření. Vývoj *in situ* metod, optimalizace a jejich ověření je velmi problematické a časově náročné.

Průlomovým krokem v *in situ* měření jsou nově vyvinuté vzorkovací gelové techniky, technika difúzní rovnováhy v tenkém filmu (Diffusive Equilibrium in Thin films technique, technika DET) a technika difúzního gradientu v tenkém filmu (Diffusive Gradients in Thin films technique, technika DGT).

2.2. Technika difúzního gradientu v tenkém filmu

Technika difúzního gradientu v tenkém filmu (dále jen DGT) je *in situ* technika zaměřená na vzorkování kovů v přírodních vodních ekosystémech. Jejimi autory jsou vědci z univerzity v Lancastru (GB) [9]. Výhodou této metody je její finanční a technická nenáročnost. Dále pak výborné vlastnosti pro použití ve vodních ekosystémech, jako je nízké riziko kontaminace, vysoká citlivost a spolehlivost.

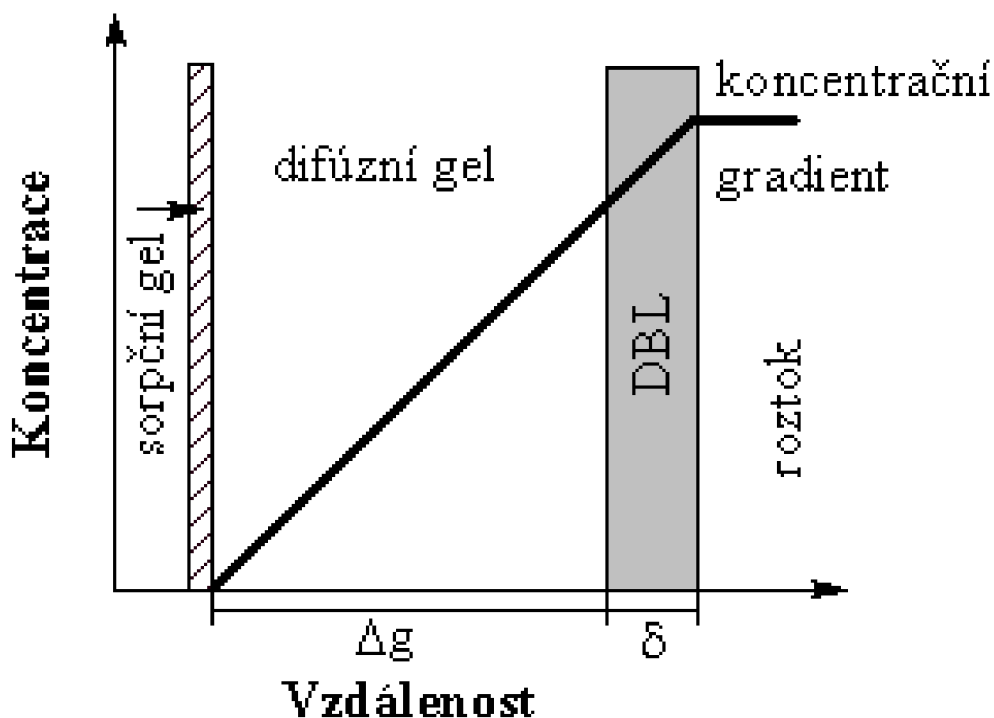
Vzorkovací jednotka pro DGT má tvar pístu (Obr. 3). Přímou na píst se pokládá první vrstva polyakrylamidového gelu se zakotveným iontoměničem, tzv. sorpční gel. Ten je překryt vrstvou difúzního gelu (v případě rtuti agarózovým gelem), jehož tloušťka je přesně známá. Horní vrstvu tvoří membránový filtr o velikosti póru $0,45 \mu\text{m}$, který zabraňuje mechanickému poškození vrstev gelu během expozice v reálném přírodním ekosystému.



Obr. 3. Řez vzorkovací jednotkou DGT, uložení vrstev gelů a jejich tloušťky. Převzato a doplněno z [20].

2.2.1. Princip DGT

Princip techniky DGT je založen na kinetické separaci kovů z roztoku a jejich navázání na specifické skupiny v sorpčním gelu. Difúzní vrstvou gelu (polyakrylamid, agaróza) uzavřeného ve vzorkovací jednotce (pistonu), po ponoření do měřeného roztoku, proudí chemické formy kovů k druhé vrstvě gelu, obsahujícího sorbent. Nejvíce užívaným sorbetem pro stanovení většiny kovů v této technice je Chelex-100, který obsahuje chelatační skupiny kyseliny iminodiacetové. Po průchodu kovů difúzní vrstvou, jsou tyto zachytávány na funkčních skupinách sorbetu do okamžiku nasycení jeho kapacity. Po expozici je sorpční gel eluován nejčastěji kyselinou dusičnou a množství chemických forem kovů je stanoveno metodou atomové absorpční či emisní spektrometrie. Stanovený obsah chemických forem kovů nemusí vždy přesně odpovídat jeho množství v měřeném roztoku. V sorpčním gelu se hromadí pouze ty chemické formy kovů, které projdou difúzní vrstvou a jsou schopny se na iontoměnič navázat, čehož je možno využít pro speciální analýzu [21].



Obr. 4. Průřez pistonu při expozici. Převzato a upraveno z [21].

2.2.2. Výpočet koncentrace analytu v měřeném roztoku

Po ponoření pistonu do roztoku se v difúzním gelu velmi rychle ustaví lineární koncentrační gradient (Obr. 4). Zůstává-li tento gradient během času konstantní, je možno použít k výpočtu toku chemických forem kovů z vnějšího prostředí do vzorkovací jednotky

I. Fickův zákon difúze:

$$F = D \frac{dC}{dx} \quad (1)$$

kde F je tok chemických forem kovů ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), D je difúzní koeficient ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) a dC/dx je koncentrační gradient ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-4}$).

Na rozhraní vnějšího roztoku a difúzního gelu se nachází difúzní hraniční vrstva (DBL) o tloušťce δ , která má význam u roztoků, které nejsou dostatečně míchány. Tok chemických forem kovů potom nabývá tvar :

$$F = D \frac{(C_{DGT} - C')}{(\Delta g + \delta)} \quad (2)$$

kde C_{DGT} je koncentrace chemických forem kovů ve vnějším roztoku ($\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$), C' je koncentrace chemických forem kovů na rozhraní sorpčního a difúzního gelu ($\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$), Δg je tloušťka difúzní vrstvy (cm) a δ je tloušťka difúzní hraniční vrstvy (cm).

Za podmínky rychlého navázání chemických forem kovů na sorbent je koncentrace C' rovna nule. Pokud je roztok dostatečně míchán, je tloušťka difúzní hraniční vrstvy δ velmi malá oproti tloušťce difúzní vrstvy, proto ji lze zanedbat a vztah (2) se zjednoduší:

$$F = \frac{DC_{DGT}}{\Delta g} \quad (3)$$

Hmotnostní tok chemických forem kovů se definuje jako množství M (g), které prošlo plochou exponované části gelu A (cm^2) za čas t (s):

$$F = \frac{M}{At} \quad (4)$$

Množství kineticky labilních forem kovů navázaných v sorpčním gelu popisuje vztah:

$$M = \frac{C_e(V_g + V_e)}{f_e} \quad (5)$$

kde C_e je koncentrace chemických forem kovů v eluátu ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$), V_g je objem sorpčního gelu (cm^3), V_e je objem roztoku $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny dusičné (cm^3), f_e je eluční faktor, udávající množství chemických forem kovů vyluhovaných v jednom elučním kroku z celkového sorbovaného množství.

Sloučení rovnic (3) a (4) nabízí vztah pro výpočet koncentrace ve vnějším (měřeném) roztoku:

$$C_{DGT} = \frac{M\Delta g}{DtA} \quad (6)$$

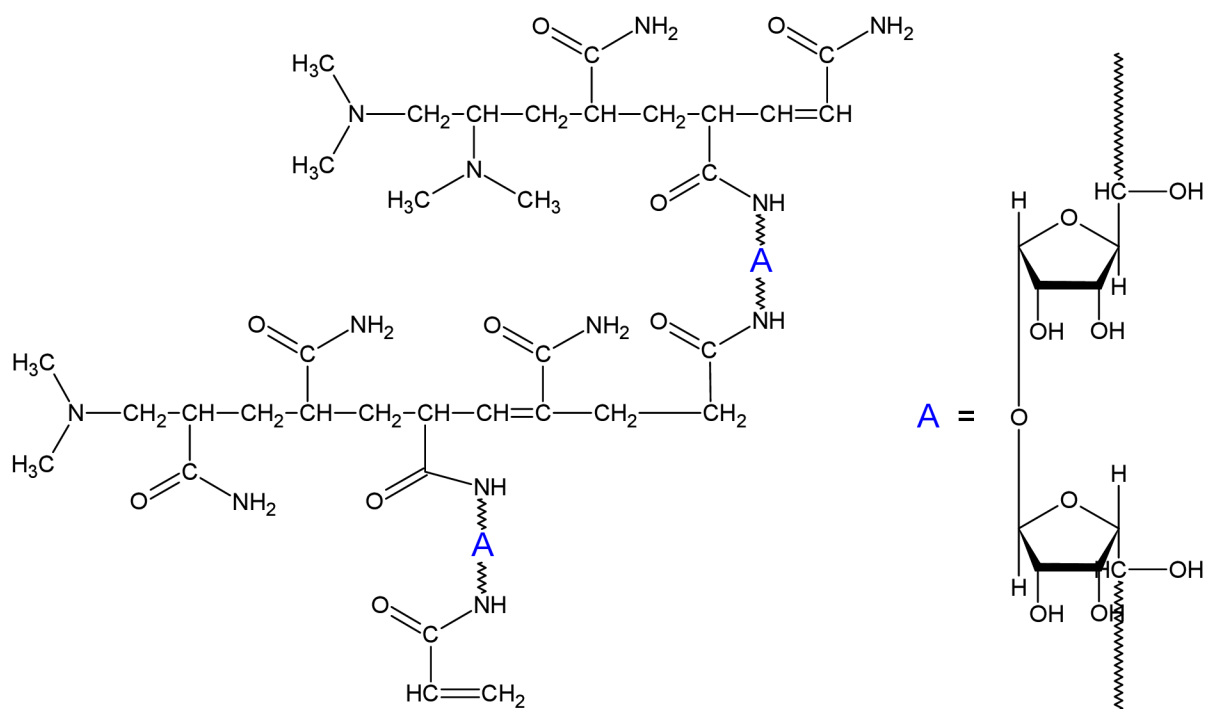
kde M je množství kineticky labilních forem kovů sorbovaných v sorpčním gelu (g), Δg je tloušťka difúzní vrstvy (cm), D je hodnota difúzního gradientu při teplotě měření ($\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$), t je čas expozice pístonu v měřeném roztoku (s) a konečně A je plocha exponované části gelu (cm^2) [21,22].

2.2.3. Difúzní gely v technice DGT

Difúzní gel v technice DGT tvoří prostřední vrstvu ve vzorkovací jednotce pro DGT mezi sorpčním gelem a membránovým filtrem. Slouží jako transportní médium pro chemické formy kovů směrem k sorpčnímu gelu [22]. Nejčastěji používaným difúzním gelem je polyakrylamidový hydrogel, ve specifických případech i difúzní gel z agarózy.

2.2.3.1. Polyakrylamidový hydrogel

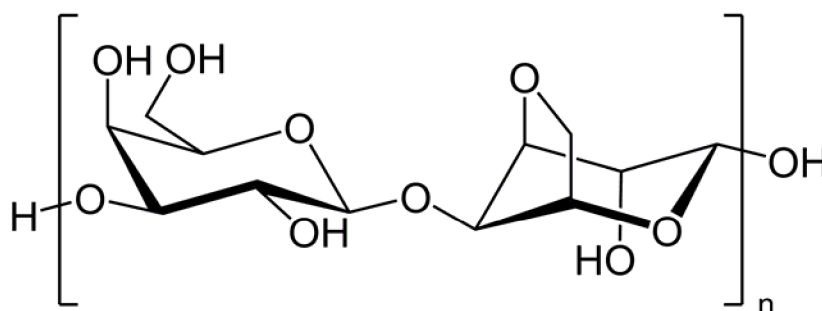
Tento hydrogel je běžně používán k elektroforetickému dělení bílkovin. Obsahuje 95 % vody, a tudíž hodnoty difúzních koeficientů měřených chemických forem kovů jsou velmi podobné hodnotám ve vodě. Připravuje se polymerizací monomerního akrylamidu a agarózového síťovadla, ke kterému se přidá katalyzátor reakce TEMED (N,N,N',N' – tetramethylethylendiamin) a iniciátor polymerizace peroxodisíran amonný $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ [21].



Obr. 5. Vzorec polyakrylamidu. Převzato z [20].

2.2.3.2. Agarózový gel

Agaróza je lineární polysacharid složený z opakujících se jednotek agarobiosy (propojená β -D-galaktopyranosa a 3,6-anhydro- α -L-galaktopyranosa). Její rozpouštění v horké vodě je provázeno tvorbou dvojšroubovic, které se po ochlazení asociují do trojrozměrné sítě, propojené vodíkovými vazbami a hydrofobními interakcemi [22]. Agarózový difúzní gel se s výhodou používá pro stanovení rtuti technikou DGT, jelikož neobsahuje volné aminové skupiny, které v běžně používaném PAA gelu kovalentně váží rtuť a zabraňují tak volné difúzi gelem [23].



Obr. 6. Vzorec agarózy. Převzato z [25].

2.2.4. Sorpční gely

Jako sorpční gel se běžně používá polyakrylamidový hydrogel, ve kterém je imobilizován sorbent, který váže daný analyt. Nejčastěji jsou jako sorbenty využívány různé druhy iontoměničů.

Iontoměniče jsou gelové disperzní systémy. Disperzním prostředím je vhodné nízkomolekulární rozpouštědlo (voda) a disperzní podíl tvoří polymerní skelet iontoměniče. Tento skelet může být jak povahy organické (měnič na bázi celulózy), tak anorganické (hlinitokřemičitan). Trojrozměrný skelet je tvořen polymerními řetězci a síťujícími vazbami, jako jsou například vodíkové můstky. Díky tomuto uspořádání jsou polymerní řetězce omezeny v pohybu a tvorbě roztoku při styku s rozpouštědlem.

Přítomnost funkčních skupin je hlavním znakem iontoměničů, který je odlišuje od ostatních typů gelů. 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. Funkční skupiny jsou hlavním dějištěm iontové výměny. Tento proces je nejtypičtější interakcí mezi ionty v roztoku a iontoměniči. Výměnné reakce, jak se tyto procesy označují, probíhají ekvivalentně v zájmu zachování elektroneutality iontoměniče. Množství přijatých iontů iontoměničem je rovno množství iontů předaných iontoměničem do roztoku [26].

2.2.5. Iontoměniče používané v technice DGT

2.2.5.1. Chelex-100

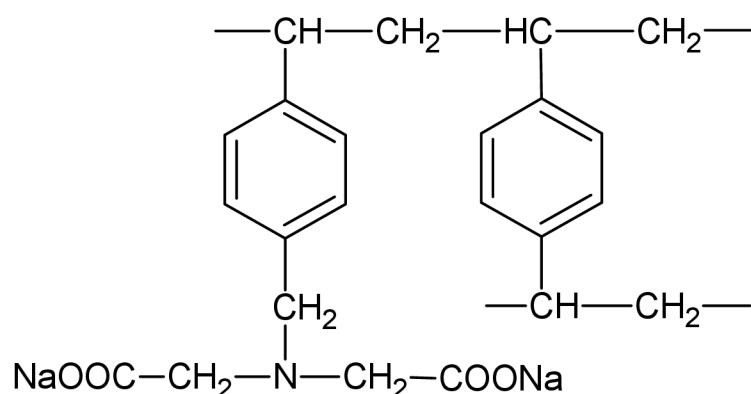
Chelex je chelatační iontoměnič, který je vysoce specifický pro zachytávání mědi, železa a dalších těžkých kovů. Kromě Chelexu-100, určeného pro analytické metody, existují další modifikace pro biotechnologii, či technický Chelex-20 pro odstraňování zátěže kovů z většího množství média, v němž jsou přítomny.

Strukturálně je Chelex-100 styren-divinylbenzenový kopolymer, obsahující iminodiacetátové skupiny (Obr. 7). Selektivita je závislá na pH, iontové síle a formě kovů, zda se jedná o komplex, sůl kyseliny nebo zásady. Je stabilní v oblasti pH 2-14. S různým pH a různou formou kovů a se mění jeho naakumulované množství Chelexem-100 a jeho preference, zda je při sorpci upřednostňován před jiným typem kovu. Například rtuť s oxidačním číslem II^+ , v přítomnosti dusičnanových iontů, vykazuje vysokou přilnavost k Chelexu-100, zatímco její chloridová forma, se kterou tvoří komplexy, má přilnavost velmi nízkou.

Množství kationtů přijatých iontoměničem je úměrné množství kationtů z iontoměniče uvolněných. To může mít za následek výkyvy pH v roztoku, v němž se formy kovů nachází. Nejčastěji používaná je jeho alkalická forma, kdy jsou vodíky na karboxylech iminodiacetátových skupin nahrazeny sodíkem (draslíkem, amonnými kationty).

Regenerace je dvoustupňovým krokem. Nejprve je pomocí kyseliny chlorovodíkové odstraněna navázaná forma kovu na karboxylu iminodiacetátové skupiny, která je nahrazena vodíkem kyseliny. Ten je ve druhém kroku regenerace vytěsněn alkalickým kovem, například sodíkem z použitého hydroxidu sodného [27].

Chelex-100 je v technice DGT nejčastěji užívaným sorbentem pro stanovení většiny forem kovů. Vazba rtuti na karboxylové skupiny iontoměniče Chelex-100 je však velmi slabá, což činí problémy při aplikaci v přírodních systémech, kde je většina rtuti pevně vázána rozpuštěnými organickými látkami [23].



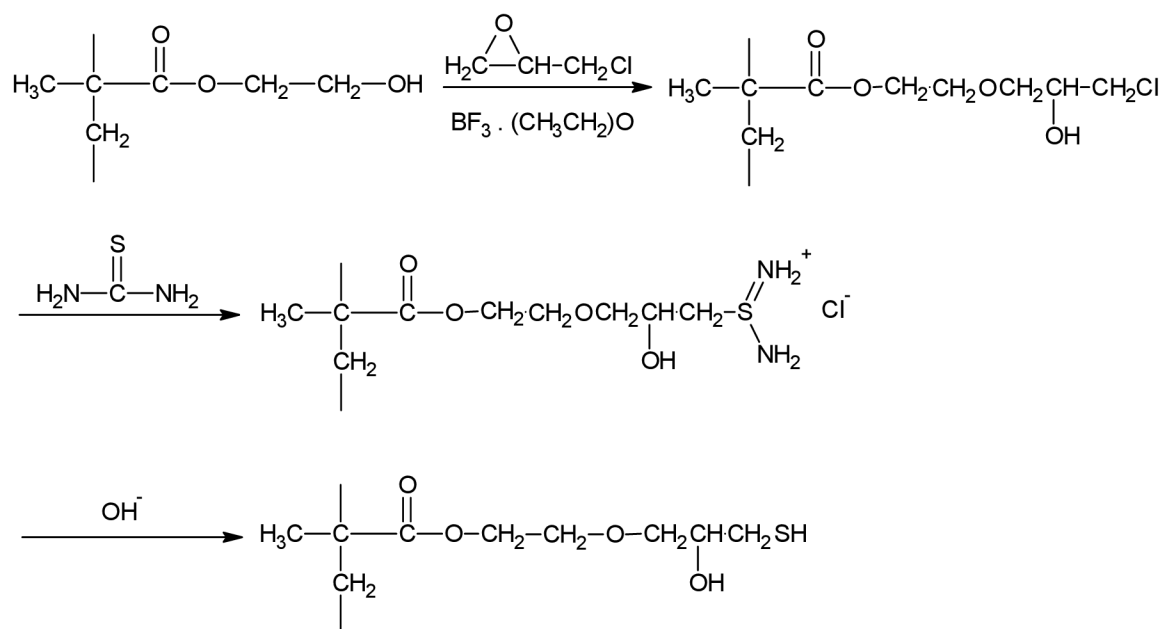
Obr. 7. Vzorec Chelexu-100. Převzato a upraveno z [26].

2.2.5.2. Spheron-Thiol

Spheron je glykolmethakrylátový gel vhodný jako nosič komplexotvorných skupin. Přípravou toho gelu se zabývala brněnská firma Lachema. Výhodou gelů na bázi Spheronu, jako nosičů komplexotvorných skupin, je jejich hydrofilita, definovaná vysoká porozita, dostatečně velká šířka pórů, malé botnací efekty a vysoká hydrolytická stálost. Navázání dalších postranních řetězců s libovolnými funkčními skupinami, umožňuje vysoký počet hydroxylových skupin ve struktuře Spheronu [28].

Samotný Spheron-Thiol je vyráběn reakcí uvedenou níže (Obr. 8). Obsah thiolové skupiny předurčuje Spheron-Thiol k selektivitě, zvláště ke kovům, jako jsou například Hg, Sb nebo Pd. Zásadní výhodou tohoto iontoměničce je výhradní vázání chemických forem kovů přes thiolové skupiny, díky tomu nedochází k neselektivní sorpci. Z toho vyplývá, že i nízké koncentrace sorbovatelných chemických forem kovů obsažených v látce s vysokou koncentrací, která s thiolovými skupinami nereaguje, nejsou při své sorpci nikterak touto látkou ani její koncentrací ovlivněny [29].

Využitím Spheron-Thiolu pro stanovení rtuti technikou DGT se zabývali P. Diviš a H. Dočekalová [23]. Porovnávali jej s dosud používaným Chelexem-100, kterým se stanovuje většina prvků technikou DGT. Spheron-Thiol na rozdíl od Chelexu-100 obsahuje ve své struktuře již zmiňované thiolové skupiny, které jsou velmi selektivní pro rtuť. Sorbované množství rtuti v Chelexu-100 oproti Spheron-Thiolu, využitím techniky DGT, bylo zhruba třikrát menší. Toto zjištění jednoznačně vyznívá pro Spheron-Thiol, jako selektivní sorbent pro chemické formy rtuti v technice DGT. Bohužel jeho výroba firmou Lachema a.s. byla zastavena a je tedy nutné hledat další sorbenty selektivní pro rtuť.



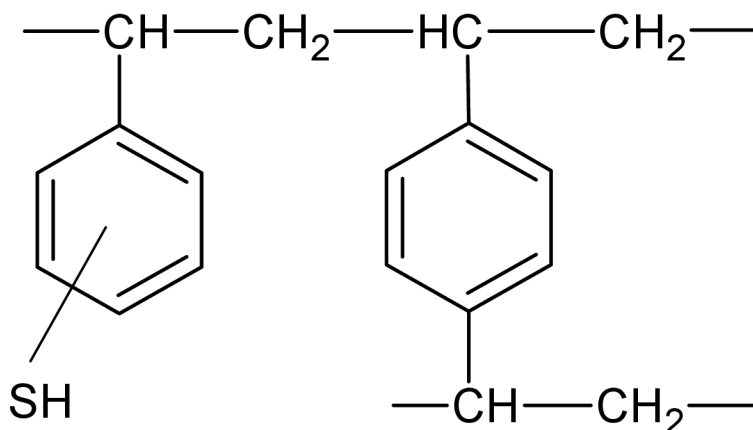
Obr. 8. Příprava Spheron-Thiolu. Přejato z [29].

2.2.5.3. Duolit GT-73

Duolit GT-73 je slabě kyselý iontoměnič, který se používá k odstraňování rtuti ze znečištěných vod. Dále může být použit při zakoncentrování a oddělení od jiných prvků ve vzorku vody, určeném k analýze. Jednoznačně nejvyšší selektivitu vykazuje ke rtuti. Klesající selektivita ostatních prvků odstranitelných Duolitem GT-73 klesá v následující řadě: Hg > Ag > Cu > Pb > Ni > Co > Fe > Ca > Na. Duolit je stabilní ve většině rozpouštědel a jeho použití je možné v široké škále pH.

Strukturně je velice podobný Chelexu-100, ale iminodiacetátová skupina na styren-divinylbenzenovém základu je nahrazena skupinou thiolovou, což předurčuje jeho selektivitu ke rtuti [30,31].

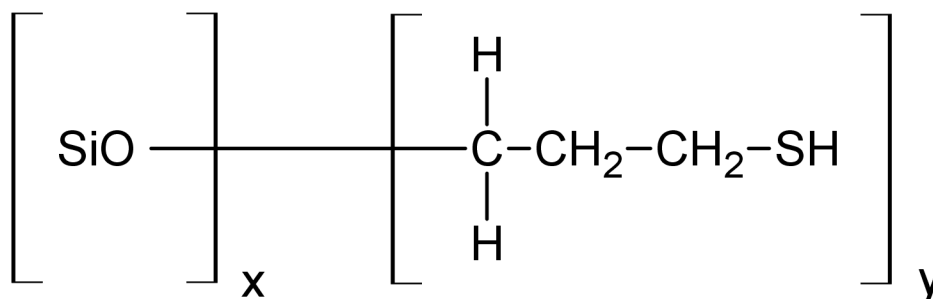
Aplikací Duolitu GT-73 v technice DGT se zabývali P. Diviš a L. Brulík [31]. Dospěli k závěru, že fyzikální a chemické vlastnosti iontoměničů Duolitu GT-73 a Spheron-Thiolu jsou srovnatelné. Jediným problémem při aplikaci Duolitu GT-73 v technice DGT je jeho velikost částic. Pro přípravu sorpčního gelu je nutné Duolit GT-73 nadrtit a síťováním oddělit použitelnou frakci iontoměniče, což sebou nese riziko kontaminace.



Obr. 9. Duolit GT-73. Převzato z [26].

2.2.5.4. Silikagel modifikovaný 3-merkaptopropylem

Stanovením organicky vázané rtuti se zabývali ve své práci O. Clarisse a H. Hintelmann [32]. Jako sorbent použili silikagel modifikovaný 3-merkaptopropylem (Obr. 10).



Obr. 10. Silikagel modifikovaný 3-merkaptopropylem. Převzato z [33].

2.2.5.5. Další sorbenty specifické pro rtuť

Ve světě jsou v současné době vyvíjeny nové sorbenty specifické pro rtuť. Jejich potřeba plyne z neustále vyšší kontaminace životního prostředí. Hlavním účelem těchto sorbentů je odstranění rtuti z vody. V technice DGT zatím tyto nové sorbenty nebyly vyzkoušeny a optimalizovány, ale skýtají pro ní určitý potenciál.

V tabulce 1 jsou uvedeny názvy některých z nich a jejich funkční skupina specifická pro rtuť. Vzorce sorbentů jsou uvedeny v příloze 9.1.

Tabulka 1. Přehled dalších sorbentů specifických pro rtuť

| Číslo | Popis (název) sorbentu | Funkční skupina | Zdroj |
|-------|--------------------------------------|------------------|-------|
| 1. | R-S-N sorbent | -SH | [34] |
| 2. | Modifikovaný Reillex 425 | -NH ₂ | [35] |
| 3. | Chloromethylovaný sorbent Merrifield | =S | [36] |
| 4. | Modifikovaný GMA sorbent | -NH ₂ | [37] |

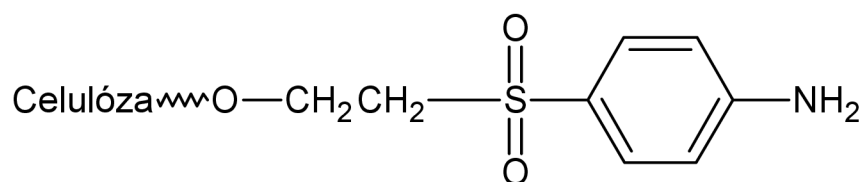
2.3. Iontosorb AV

Iontosorb AV je komerčně vyráběný sorbent pro náplň do kolon pro afinitní chromatografii. Vyrábí se v různých velikostech částic od 30 do 500 μm . Jeho výhodou je možnost modifikace, například pomocí diazotačních a kopulačních reakcí, a tedy přípravy nových sorbentů. Strukturně je Iontosorb AV aminoaryl – β - ethylsulfonová skupina na flexibilním řetězci (Obr. 11), který je označován jako makroporézní perlová celulóza (Perloza MT).

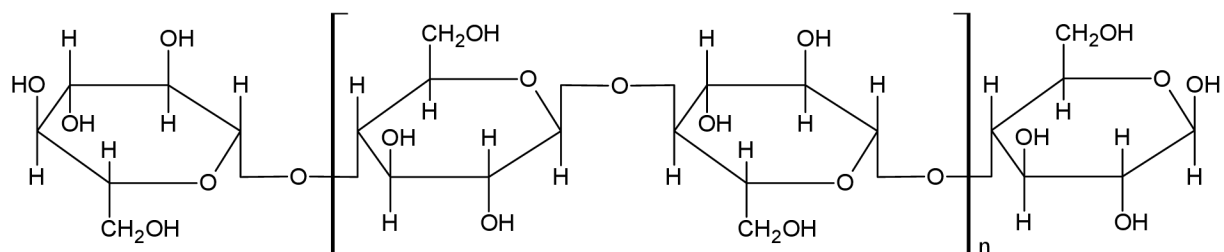
Makroporézní perlová celulóza (Obr. 12) byla připravena v Ústavu makromolekulární chemie Akademie věd v Praze v roce 1976, výroba začala o rok později. Poté co byly dokončeny testy jejích vlastností, odborníky v oblasti chromatografických a separačních technik, byla distribuována zákazníkům.

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 (-OH) na povrchu celulózových 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 zesílení [38].



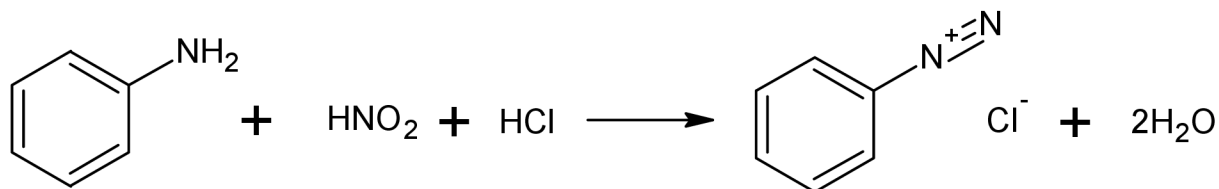
Obr. 11. *Iontosorb AV*. Převzato z [38].



Obr. 12. *Perlová celulóza*. Převzato z [39].

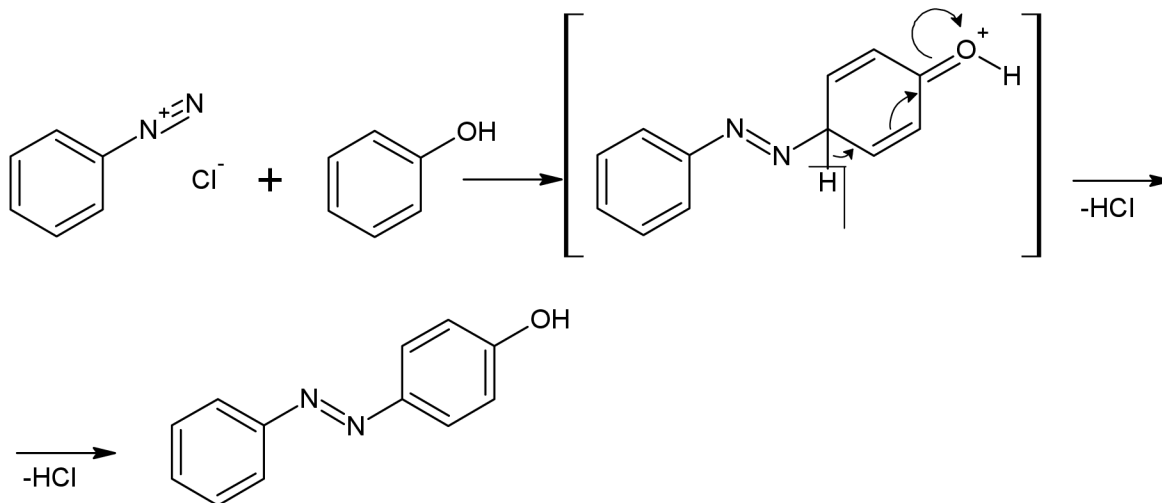
2.4. Diazotace a kopulace

Diazotace (Sandmeyerova reakce) je reakce aromatických aminů s kyselinou dusitou v kyselém prostředí. Vznikají relativně stabilní arendiazoniové soli (Obr. 13). Reakce probíhá selektivně i v přítomnosti řady substituentů na aromatickém jádře.



Obr. 13. *Diazotační reakce*. Převzato a upraveno z [40].

Arendiazoniové soli, vzniklé diazotační reakcí, reagují s aktivovanými aromatickými sloučeninami (fenoly, arylaminy) za vzniku barevných azosloučenin. Tato reakce se označuje jako kopulační. Je to v podstatě typická aromatická elektrofilní substituce, kdy kladně nabitý diazoniový iont reaguje jako elektrofil s aromátem, který je bohatý na elektrony (Obr. 14). Reakce probíhá do polohy *para*, pokud je však obsazená, tak do polohy *ortho*. Produkty azokopulací jsou široce využívány v barvářském průmyslu [40].



Obr. 14. *Kopulační reakce*. Převzato a upraveno z [40].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Chemikálie

Všechny použité chemikálie byly čistoty *p.a.* a vyšší.

K přípravě nového sorbentu byly použity tyto chemikálie:

- Iontosorb AV 50, IONTOSORB, Ústí nad Labem (průměr částic 50-80 μm), ČR
- 6 – merkaptopurin, Fluka, Buchs, Švýcarsko
- kyselina chlorovodíková 35%, ML Chemica, Troubsko, ČR
- dusitan sodný, Lachema a.s., Brno, ČR
- uhličitan sodný, Lachema a.s., odštěpený závod Neratovice, ČR
- chlorid sodný, Lachema a.s., Brno, ČR

Pro stanovení thiolových skupin byly použity:

- roztok jódu 0,1 mol.l^{-1} , rozpouštění I_2 v roztoku KI
- kyselina boritá, Lachema a.s., Brno, ČR
- pentahydrát thiosíranu disodného, Lach-Ner s.r.o., Neratovice, ČR
- škrobový maz 0,4%
- hydroxid sodný, Merci s.r.o., Brno, ČR

Dále byly použity tyto chemikálie:

- standardní roztok Hg 1 mg.ml^{-1} , Astasol®-Hg, Analytika Praha, ČR
- agaróza, Merck, Darmstadt, Německo
- kyselina dusičná 65%, Penta výrobní divize Chrudim, ČR
- dichroman draselný, Lachema a.s., Brno, ČR
- bromid draselný, Lachema a.s., Brno, ČR
- ethanol 96%, ML Chemica, Troubsko, ČR

Pro ředění a k přípravě roztoků byla použita ultračistá voda, připravena přístrojem Milli-Q Academic, vyrobeným firmou Millipore. Specifická vodivost této vody byla 0,055 $\mu\text{S.cm}^{-1}$.

3.2. Instrumentace

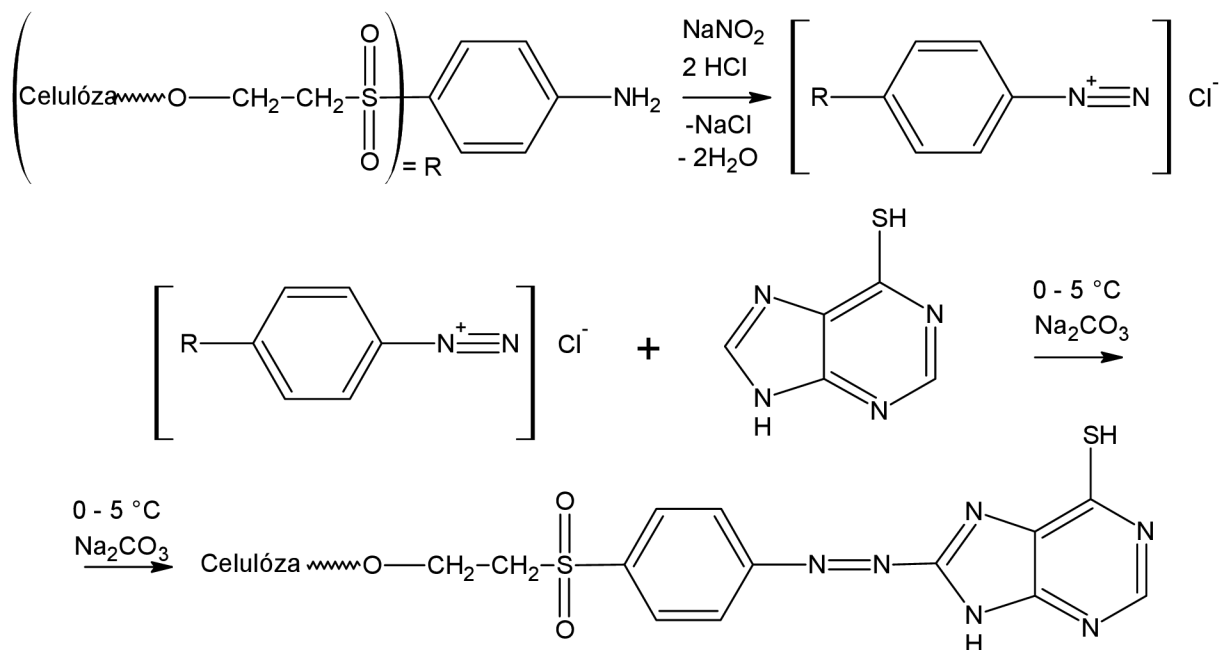
Při práci bylo použito toto přístrojové vybavení:

- jednoúčelový atomový absorpční spektrometr AMA 254, Altec, Česká republika
- IČ spektrofotometr Impact 400, Nicolet, USA
- pH metr WTW 320, Weilheim, Německo
- analytické váhy, Denver Instruments, Německo
- míchačka Lavat MM7, Chotutice, ČR
- orbitální třepačka, MS2 Minishaker, IKA, Staufen, Německo
- termostat s míchadlem, improvizované zařízení
- mikropipety Biohit, Helsinky, Finsko
- sušárna model 500, Memmert, Německo

3.3. Pracovní postupy

3.3.1. Příprava sorbentu – modifikace Iontosorb AV

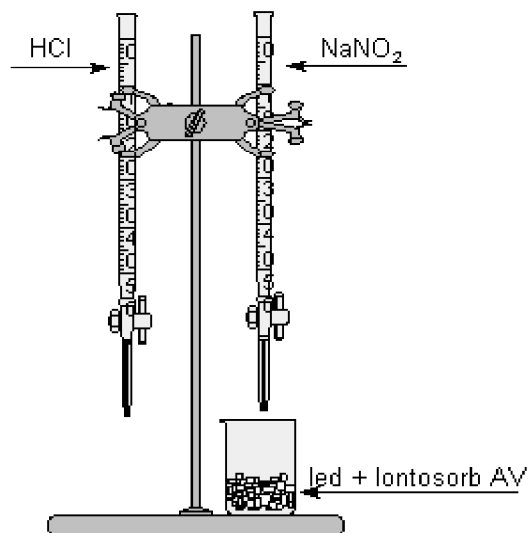
Modifikace komerčně dostupného sorbetu Iontosorb AV, který se využívá jako náplň kolon k afinitní chromatografii, byla uskutečněna pomocí reakcí diazotace a kopulace, jejichž schéma je níže popsáno (Obr. 15). Při přípravě se vycházelo z postupů popsaných v [41,42], kde byl využit jako nosič styren-divinylbenzenový polymer, upravený nitrací a redukcí nitrosloučeniny na amin.



Obr. 15. Rovnice diazotace a kopulace. Převzato a upraveno z [42].

3.3.1.1. Diazotace

Navážka Iontosorb AV (5 g na 3,5 g 6-merkaptopurinu) byla promyta 2 mol.l⁻¹ kyselinou chlorovodíkovou, a poté promývána a dekantována ultračistou vodou do neutrální reakce. Přečištěný Iontosorb AV byl přidán do kádinky s 350 g ledové tříště a byl k němu střídavě přidáván 1 ml HCl o koncentraci 1 mol.l⁻¹ a 1 ml NaNO₂ o koncentraci 1 mol.l⁻¹ za stálého míchání (Obr. 16). Po detekci jodido-škrobovým papírkem, bylo přidávání ukončeno. Množství přidaného NaNO₂ činilo 40 ml. Produkt, diazoniová sůl (Obr. 17), byl po rozpuštění ledu odfiltrován přes fritu (velikost pórů 10-16 μm) a promyt studenou ultračistou vodou do neutrální reakce [41].



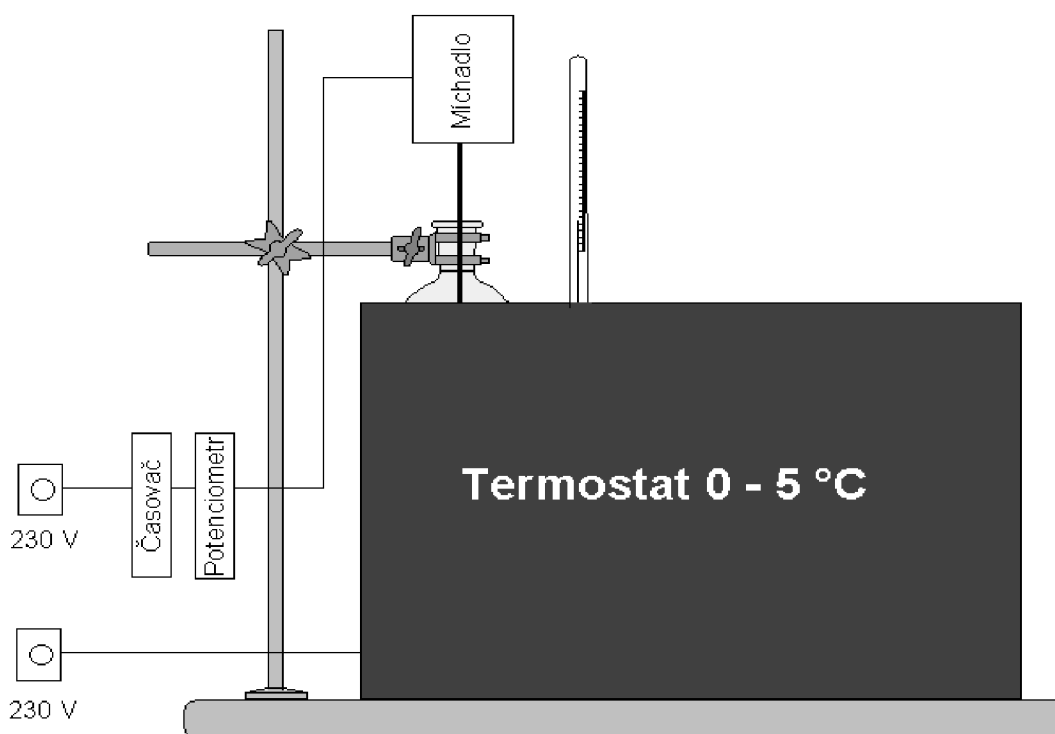
Obr. 16. *Diazotační aparatura*



Obr. 17. *Diazoniová sůl.*

3.3.1.2. Kopulace

Produkt diazotace byl přidán k roztoku, připraveném rozpuštěním 3,5 g 6-merkaptopurinu ve 100 ml 10% uhličitanu sodného. Směs byla vložena do termostatu nastaveného na teplotu 3 °C a ponechána 24 hodin za občasného míchání (Obr. 18). Výsledný produkt byl odfiltrován přes fritu (velikost pórů 10-16 μm) a promyt ultračistou vodou do neutrální reakce. Následovalo promytí 2 mol.l⁻¹ kyselinou chlorovodíkovou a promývání ultračistou vodou do neutrální reakce [42]. Nakonec byl oranžovo-hnědý produkt (Obr. 19) sušen přímo v exsikátoru po dobu 12 hodin.



Obr. 18. Schéma aparatury kopulace.



Obr. 19. *Modifikovaný Iontosorb AV.*

3.3.2. Stanovení obsahu thiolových skupin v nově připraveném sorbetu

Přesně navážené množství suchého sorbentu (zhruba 50 mg) bylo vloženo do 150 ml Erlenmayerovy baňky, bylo přidáno 5 ml borátového pufru (připravený rozpuštěním 1,236 g kyseliny borité ve 200 ml destilované vody a upraveným pomocí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ hydroxidu sodného na pH 9) a 25 ml roztoku jódu o koncentraci 1 mmol.l^{-1} (připravený ředěním z $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ roztoku jódu). Baňka byla obalena alobalem, aby nedocházelo k redukci uvolněného jódu světlem, zazátkována a ručně třepána 5 minut. Poté byla umístěna do temna a ponechána 30 minut. Po uvedené době byla směs v baňce okyselená 2 mol.l^{-1} kyselinou chlorovodíkovou a titrována thiosíranem disodným o koncentraci 1 mmol.l^{-1} . Těsně před koncem titrace, kdy roztok znatelně zežloutl přechodem ze žlutohnědé barvy, k němu bylo přidán 0,4% škrobový maz jako indikátor, který změnil barvu roztoku na tmavě modrou. Následně se roztok v baňce dotitroval do celkového odbarvení roztoku [43].

3.3.3. Příprava difúzního a sorpčního gelu

Difúzní gel byl připraven rozpuštěním agarózy v ultračisté vodě (3% roztok), jeho zahřátím a nadávkováním pipetou mezi dvě zahřátá skla oddělena distanční fólií o tloušťce 0,5 mm. Skleněná forma byla sepnuta svorkami, po nadávkování agarózy, se ochlazovala na vzduchu (ve vertikální poloze) zhruba 20 minut. Poté byla forma rozebrána a agarózový gel byl opatrně přenesen do nádoby s ultračistou vodou.

Sorpční gel byl připraven obdobně jako difúzní. Použit však byl 4% roztok agarózy, který byl nejprve pipetou nadávkován do zkumavky s naváženým sorbentem (zhruba 25 mg). Tato směs byla rychle rozmíchána skleněnou tyčinkou a orbitální třepačkou. Následně byla směs pipetou převedena do zahřáté skleněné formy, která byla poté v horizontální poloze chlazená v lednici. Po ochlazení byl sorpční gel z formy vyjmut a opatrně vložen do nádoby s ultračistou vodou.

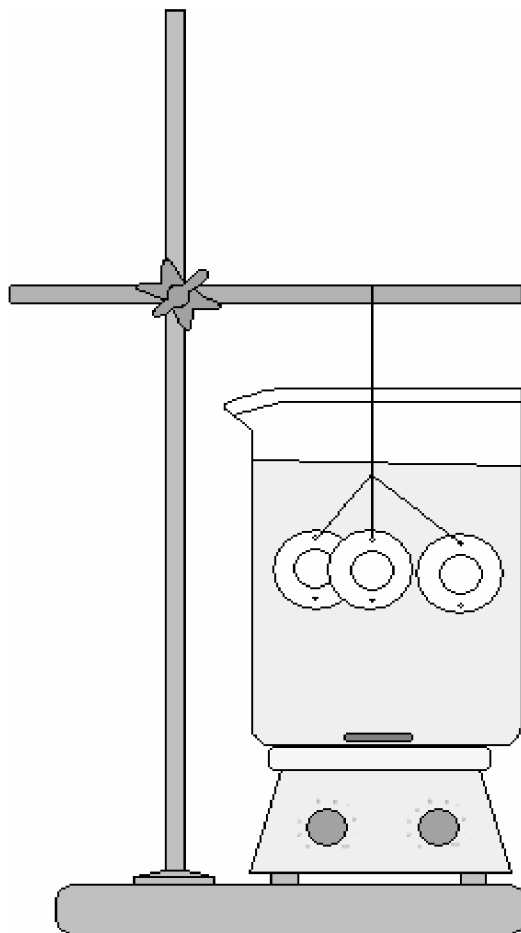
3.3.4. Kompletace DGT jednotek pro měření

Vzorkovací jednotky DGT (DGT Research Ltd.) byly před použitím čištěny 24 hodin v 1 mol.l⁻¹ kyselině dusičné. Po vyjmutí z kyseliny byly opláchnuty destilovanou vodou a na vrchní část pístu byla položena vrstva agarózového sorpčního gelu se zakotveným iontoměničem ve tvaru kruhu o průměru 2 cm. Sorpční gel byl překryt agarózovým difúzním gelem, taktéž vykrojeným do tvaru kruhu o stejném průměru, jako gel sorpční. Aby se zabránilo mechanickému poškození gelů, byly obě vrstvy překryty polyethersulfonovým membránovým filtrem (Supor[®]-450, Pall Corporation USA, s póry velikostí 0,45 μm). Po uložení gelů na vrchní část pístu byly jednotky DGT uzavřeny druhou částí jednotky ve tvaru prstenu s expozičním okénkem. Nakonec byla přivázána silonová vlákna přes vyvrtané otvory v dolních částech pístů jednotek DGT.

3.3.5. Základní test DGT v připraveném roztoku rtuti

Plastová kádinka o objemu 5 l byla naplněna 4 l destilované vody a umístěna na magnetickou míchačku. Do vody bylo přidáno takové množství standardu roztoku rtuti o koncentraci 1 mg.ml⁻¹, aby výsledná koncentrace rtuti činila zhruba 25 μg.l⁻¹. Kádinka s roztokem byla zakryta, obalena alobalem a ponechána do druhého dne. Roztok bylo nutno stále míchat, aby se v něm koncentrace rtuti ustálila. Druhý den byly připravené jednotky DGT přivázány silonem ke stojanu, ponořeny do roztoku a ponechány v něm 3 hodiny (Obr. 20).

Před ponořením, po ponoření a na konci při vytažení jednotek byla vždy proměřena koncentrace rtuti v roztoku odebráním 100 μl vzorku roztoku a přímým nadávkováním do přístroje AMA 254. Po uplynutí stanovené doby byly jednotky DGT vytaženy, rozebrány a koncentrace rtuti v sorpčních gelech byla proměřena přístrojem AMA 254 [21,23].



Obr. 20. *Schéma základního testu.*

3.3.6. Test nasycení sorbentu v závislosti na čase

Pracovní postup byl podobný jako při provedení základního testu, avšak při časovém testu 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. Jinak se časový test od základního testu nelišil [21,23].

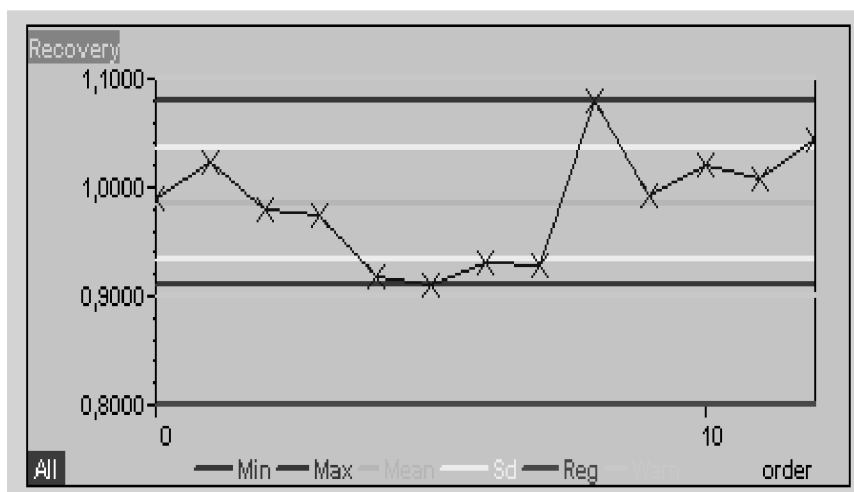
3.3.7. Měření rtuti v modelovém roztoku a sorpčních gelech

Pro měření byl s výhodou použit přístroj AMA 254. ADVANCED MERCURY ANALYSER AMA 254 je jednocelový atomový absorpční spektrometr pro stanovení rtuti. V něm je možno přímo stanovit obsah rtuti v pevných a kapalných vzorcích bez chemické předúpravy. Pracuje na principu techniky generování par kovové rtuti s následným zachycením a obohacením na zlatém amalgamátoru. Citlivost stanovení je mimořádně velká a nezávisí na matici vzorku.

Schéma přístroje a jeho popis je uveden v Příloze č.2. Oddělitelnou částí přístroje je dávkovací lodička, na kterou je tak možno přímo navažovat. Vstupní část skleněné trubice, do níž zajiždí lodička se vzorkem na dávkovacím zařízení, je určena k termickému rozkladu vzorku. Druhá část trubice je vyplněna katalyzátorem. Přes něj vstupují páry rtuti na amalgamátor, kde dochází k jejich zakoncentrování. Vypuzovací pec pomocí tepla vypudí zachycenou rtuť do měřících kyvet. Zdrojem záření je nízkotlaká rtuťová výbojka se spektrální čarou rtuti o vlnové délce 253,65 nm. Jedním z důležitých prvků je i chladičí čerpadlo, které ochlazuje amalgamátor po vypuzení rtuti. Nosným plynem v celém systému je kyslík [44]. Pro všechna měření byl použit následující časový program: 60 s sušení, 120 s rozklad a 45 s čekací doba.

Přístroj AMA 254 není nutné kalibrovat, neboť kalibrace je fixní a nastavená výrobcem. Kontrola správnosti měření se provádí buď analýzou CRM nebo kontrolním standardem.

Kontrolní standard se připravoval jako směs kyselin, dichromanu draselného a standardního roztoku rtuti, která se sorbovala na stěny nádoby a bylo nutné její koncentraci stabilizovat zmíněnými činidly. Do 100 ml odměrné baňky byl napipetován 1 ml koncentrované kyseliny dusičné, 1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové, 1 ml roztoku dichromanu draselného o koncentraci 1 % a 10 µl standardního roztoku rtuti o koncentraci 1 mg.ml⁻¹ a doplnila se ultračistou vodou po rysku. Do přístroje bylo nadávkováno množství 100 µl takto připraveného roztoku a změřené množství rtuti přibližně odpovídalo 10 ng [45].



Obr. 21. Výťažnosť rtuti ze standardního roztoku proměřeného přístrojem AMA 254.

3.3.8. Postup tabletace vzorků k měření IČ spektra

Vzorky pro měření v infračerveném spektrofotometru bylo nutno zatabletovat. Postupovalo se podle následujícího laboratorního návodu. 2 g KBr (s) bylo rozetřeno v achátové misce a sušeno v sušárně při teplotě 120 °C po dobu 20 minut. Zhruba 5 mg sypkého vzorku (modifikovaného Iontosorbu AV, respektive Iontosorbu AV) bylo odváženo a smícháno s 150 mg vysušeného KBr. Směs byla poté promíchána a rozetřena v achátové misce, aby byla co nejvíce homogenní.

Do ocelové raznice byl vložen ocelový kotouček, na nějž bylo rovnoměrně rozprostřeno 200 mg výše připravené směsi. Na tuto vrstvu byl umístěn druhý ocelový kotouček, raznice byla vložena do lisu a přitažena. Lis byl natlakován na 40 kN po dobu 20 sekund. Pak byl lis natlakován na 80 kN po dobu 30 sekund. Nakonec byl lis uvolněn, raznice vyjmuta a hotová tableta byla vložena do přístroje Impact 400 firmy Nicolet a změřena transmitance vzorku.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

Z důvodu finanční náročnosti bylo pro diplomovou práci získáno pouze 15 g 6-merkaptopurinu. Velký dík patří Ing. Tokarovi, který pro účely diplomové práce bezplatně poskytl zhruba 100 g Iontosorbu AV. Zmiňovaných 15 g 6-merkaptopurinu stačilo k provedení celkem pěti pokusů modifikace, během kterých byly připraveny modifikované sorbety šarže I až V.

Šarže I a II byly použity ke kvalitativnímu a kvantitativnímu stanovení thiolových skupin a optimalizace diazotace a kopulace. Při přípravě šarže III a IV se vyskytly specifické problémy a připravený sorbent nemohl být použit k základním testům DGT, nicméně dobře posloužil k optimalizaci přípravy polyakrylamidového a agarózového sorpčního gelu. Šarže V byla použita pro DGT testy.

4.1. Modifikace Iontosorbu AV a její optimalizace

4.1.1. Modifikace Iontosorbu AV pomocí diazotace a kopulace

Vznik diazoniové soli Iontosorbu AV se projevil změnou barvy sorbetu. Původně bílý sorbent se změnil na jasně žlutý produkt. Tento produkt bylo nutné rychle odstranit od reakční matrice a důkladně ho propláchnout. Téměř ihned po startu kopulační reakce ze žlutý produkt začal měnit na oranžově-hnědý. 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, promyt kyselinou chlorovodíkovou, vodou a následně sušen v exsikátoru.

Při přípravě sorbetu šarže II a III se vyskytl problém, který nebyl znám u přípravy první šarže. Při kopulaci se v roztoku diazoniové soli, vytvořené z Iontosorbu AV, a 6-merkaptopurinu utvořila směs červenohnědého produktu s bílým zákalem, jehož původ nebyl znám. Po promytí a usušení modifikovaného Iontosorbu AV, při jehož výrobě se zákal tvořil, vykazoval tento sorbent velmi malou sorpční kapacitu pro rtuť při základních DGT testech a rovněž nebylo možné jodometricky stanovit množství thiolových skupin. Příčinou bílého zákalu bylo zřejmě konzervační činidlo ve formě azidu, který mohl Iontosorb AV obsahovat. Při přípravě první šarže byl použit Iontosorb AV z vrchní části zásobní lahve. Je možné, že se konzervační činidlo odpařilo nebo vsáklo do hlubších vrstev sorbetu.

4.1.2. Optimalizace diazotace a kopulace

Vzhledem k výše popsaným problémům bylo nutné odstranit konzervační činidlo z Iontosorbu AV určeného k modifikaci. Nejprve byl sorbent vložen na 72 hodin, rozprostřený na hodinovém sklíčku, do exsikátoru. Pak byl použit 20% ethanol, v němž byl sorbent rozmíchán a ponechán 3 dny. Poté byl sorbent vyjmut, odfiltrován přes fritu a promyt destilovanou vodou. Takto upravený sorbent, rozprostřený na hodinovém sklíčku, byl ponechán v exsikátoru k přípravě modifikovaného Iontosorbu AV.

Další modifikací výchozích návodu [41,42] bylo použití ultračisté vody, vychlazené v ledové lázni s přídavkem NaCl, místo obvyklé ledové tříště. Z důvodů nestálosti diazoniové

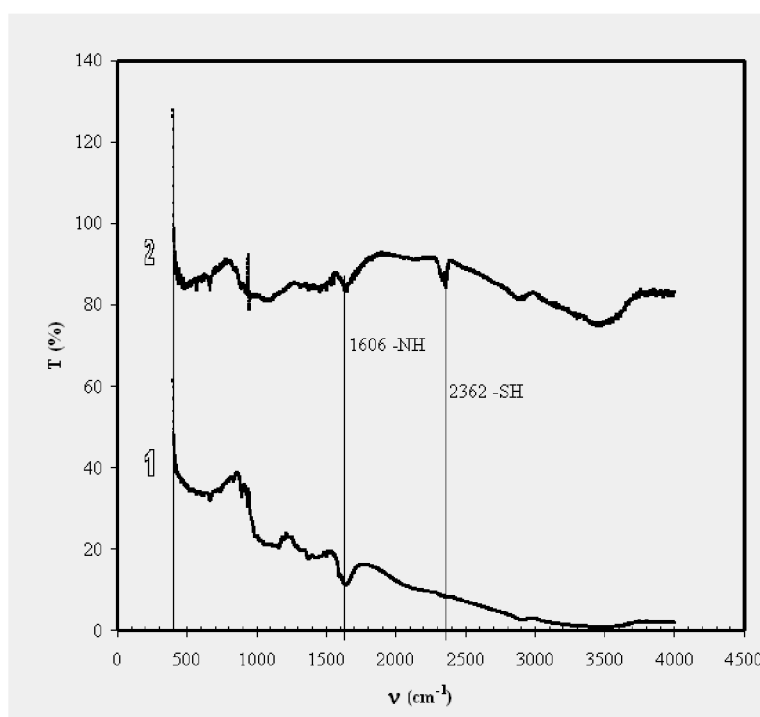
soli nastaly obavy, že během velmi dlouhé filtrace, během níž se rozpouštěl všechny led, by se diazoniová sůl mohla rozpadnout či transformovat na jinou sloučeninu.

Rovněž promíchávání při kopulační reakci po dobu 24 hodin bylo, vzhledem k použití improvizovaného míchadla, upraveno. Po přidání 6-merkaptopurinu k diazoniové soli byl roztok míchán po dobu 60 minut. Poté bylo míchadlo zapojeno přes časovač, který sepnutím zajišťoval 10 minutové míchání každou hodinu. Toto občasné promíchání reakční směsi se ukázalo jako vyhovující a nijak nezměnilo kvalitu připraveného sorbentu.

Sušení modifikovaného sorbentu bylo uskutečňováno v exsikátoru místo vakuové sušárny [41,42].

4.2. Kvalitativní důkaz thiolových skupin

Jako kvalitativní důkaz přítomnosti thiolových skupin byla použita infračervená spektrofotometrie. Na obrázku 22 je znázorněna závislost transmitance na vlnočtu u vzorků čistého Iontosorb AV (č. 1) a jeho modifikované formy (č. 2). Pík ve spektru na hodnotě 2362 cm^{-1} patřící thiolovým skupinám prokazuje úspěšné zanesení 6-merkaptopurinu na aminovou skupinu ve struktuře Iontosorb AV.



Obr. 22. Graf IČ Iontosorb AV a jeho modifikovaná forma.

4.3. Kvantitativní důkaz thiolových skupin

Zjišťování obsahu thiolových skupin bylo prováděno nepřímou jodometrickou titrací. K sorbentu bylo přidáno známé množství roztoku jodidu, který byl redukován na jód I_2 . Vzniklý jód byl poté titrován roztokem thiosíranu disodného (rovnice 7).



Průměrná spotřeba na vytitrování vzniklého jódu byla 12,6 ml thiosíranu disodného. Tato spotřeba je vztažena na průměrnou navážku 0,0509 gramů modifikovaného Iontosorb AV. Z provedeného experimentu byl vypočten obsah thiolových skupin v modifikovaném sorbetu $0,5 \text{ mmol.g}^{-1}$.

4.4. Optimalizace přípravy sorpčního gelu

K optimalizaci přípravy sorpčního gelu byl použit zbytek sorbetu šarže I a nepovedené sorbety šarže II a III. Příprava sorpčního gelu, prováděna podle návodu [21], zakomponováním sorbentu do polyakrylamidového gelu ztroskotala na nedokonalém rozmístění sorbentu po ploše gelu. Modifikovaný Iontosorb AV na rozdíl od jiných doposud vyzkoušených sorbentů tvořil shluky, a dávkování gelového roztoku se sorbetem mezi skleněné formy oddělené distanční fólií šířky 0,25 mm bylo velmi problematické.

Tyto problémy vedly k možnosti vyzkoušet zakomponovat sorbent do agarózového gelu. Po řadě pokusů s různě koncentrovanými roztoky agarózy, aby gel nebyl příliš křehký či naopak hustý a znemožňující rozmíchání sorbentu, byla koncentrace agarózového roztoku optimalizována na 4%. Dále bylo třeba lehce nahřát skleněnou formu, do té míry, aby v ní agaróza při nízké teplotě okamžitě netuhla, ale ani nevařila při nepřiměřeném zahřátí. Dávkování pomocí pipety do skleněné formy ztěžoval fakt, že agarózový gel je tekutý při teplotě okolo $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Vše bylo nutno provádět rychle, ale přitom opatrně.

Do zahřáté zkumavky s naváženým množstvím sorbentu byl nadávkován agarózový roztok, směs sorbetu a agarózového roztoku byla rychle promíchána skleněnou tyčinkou a poté krátce protřepána na orbitální třepačce. Následně byla směs pipetou nadávkována mezi předeřtá skla oddělená od sebe distanční fólií. Distanční folie ve skleněné formě měla tloušťku 0,5 mm. Zhruba stejnou tloušťku má sorpční gel připravený z polyakrylamidu po jeho nabotnutí.

4.5. Základní test DGT

Při základním testu byly na dobu 3 hodin do modelového roztoku rtuti, za stálého míchání, ponořeny jednotky DGT s vrstvami sorpčního a difúzního gelu, překrytými membránovým filtrem. Po skončení expoziční doby, byly jednotky vyjmuty, opláchnuty destilovanou vodou, rozebrány a sorpční vrstva gelu se zachycenou rtutí, byla analyzována přístrojem AMA 254.

Tento test provázal problém s udržení stálé koncentrace rtuti v roztoku jelikož rtuť se velmi často sorbuje na stěny nádoby či na případné částice v roztoku. Roztok byl vždy připraven 24 hodin před samotným měřením aby dospěl do rovnovážného stavu. Do 4 litrů destilované vody byl nadávkováno $100 \mu\text{l}$ standardního roztoku rtuti o koncentraci 1 mg.ml^{-1} . Roztok byl celou dobu míchán a překryt vrstvou folie nebo alobalu, aby se do něj nedostaly částice, na něž by se rtuť mohla vázat. Koncentrace rtuti v roztoku i přesto značně kolísala. Stabilní výsledky koncentrace rtuti přineslo až zavedení filtrace vzorku před samotným stanovením. Odebraný vzorek z modelového roztoku rtuti po ponoření DGT jednotek byl

nejprve přefiltrován pomocí jednoúčelových plastových filtračních držáků obsahujících membránový filtr Supor[®]-450, s póry velikosti 0,45 μm a teprve poté analyzován přístrojem AMA 254.

Průměrná koncentrace rtuti v modelovém roztoku byla $8,4 \pm 0,3 \mu\text{g.l}^{-1}$. Koncentrace rtuti C_{DGT} zjišťována metodou DGT, byla vypočtena pomocí rovnice (6). V této rovnici bylo za M dosazeno množství rtuti změřené přístrojem AMA 254 v ng. Tloušťka difúzní vrstvy (difúzní gel a membránový filtr) Δg byla 0,063 cm. Hodnota difúzního koeficientu rtuti v agarózovém gelu $8,97 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ byla převzata z práce [23]. Čas t byl roven hodnotě 10800 s, což odpovídá 3 hodinové expozici. Plocha exponované části gelu A byla daná velikostí expozičního okénka vzorkovací jednotky DGT, které má poloměr 1 cm. Expoziční plocha tak je $3,14 \text{ cm}^2$. Výsledky základního testu jsou prezentovány v tabulce 2.

Tabulka 2. Naměřená množství iontů rtuti v sorpčním gelu a jejich přepočet na koncentraci iontů rtuti v modelovém roztoku.

| č. | M [ng] | C_{DGT} [$\mu\text{g.l}^{-1}$] | C_{AMA} [$\mu\text{g.l}^{-1}$] | rozdíl [%] |
|----|-----------|--|--|-----------------|
| 1 | 37,4 | 7,5 | 8,0 | 6 |
| 2 | 40,6 | 8,2 | 7,4 | 10 |
| 3 | 43,3 | 8,7 | 8,4 | 4 |
| 4 | 40,9 | 8,2 | 8,0 | 3 |

Z naměřených výsledků lze konstatovat, že koncentrace rtuti v modelovém roztoku měřené technikou atomové absorpční spektrometrie se příliš nelišily od koncentrací měřených technikou DGT. Rozdíl obou koncentrací činil v průměru necelých 6 %. Podle DGT Research Ltd., firmy která komerčně vyrábí sorpční i difúzní gely, jsou gely správně připraveny a plně funkční nepřesahuje-li rozdíl koncentrací vybraných kovů v modelovém roztoku měřených technikou DGT a jinou porovnávací technikou 10 %.

4.6. Test lineární akumulace v závislosti na čase

Pro testování sorpčních a difúzních gelů firma DGT Research Ltd. doporučuje další test, test lineární akumulace kovů v závislosti na čase. Při tomto testu byly připravené jednotky DGT ponořeny do modelového roztoku rtuti, připraveného stejně jako v případě základního testu. Každé dvě hodiny byly z modelového roztoku vyjmuty 2 jednotky DGT, opláchnuty destilovanou vodou, rozebrány a množství rtuti v sorpčním gelu bylo analyzováno přístrojem AMA 254. Výsledky naměřených množství iontů rtuti M v ng, s příslušným časem vytažení jednotek DGT z modelového roztoku rtuti, jsou uvedeny v tabulce 3, kde je i srovnání s teoretickým množstvím rtuti M_{TEOR} vypočítaným z rovnice (6).

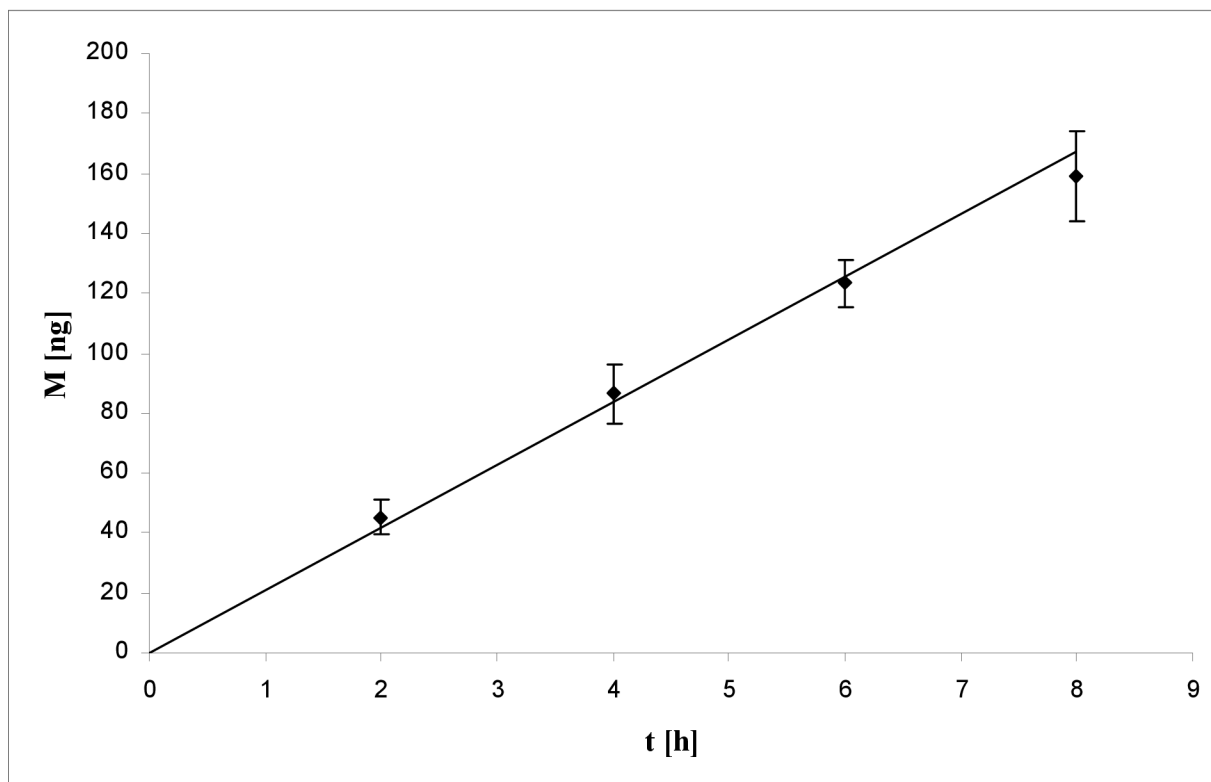
Tabulka 3. Naakumulované množství rtuti v sorpčním gelu v závislosti na čase.

| č. | Čas [h] | M [ng] | M _{TEOR} [ng] |
|----|------------|-----------|---------------------------|
| 1 | 2 | 45 ± 8 | 41,8 |
| 2 | 4 | 86 ± 10 | 83,7 |
| 3 | 6 | 123 ± 9 | 125,5 |
| 4 | 8 | 159 ± 15 | 167,4 |

Závislost akumulovaného množství rtuti v závislosti na čase (Obr.23) je lineární ($R^2 > 0,99$) a naměřená množství rtuti v jednotlivých časových intervalech korespondují s DGT teorií. Naměřené výsledky tak opět potvrdily správnost přípravy obou gelů (sorpčního i difúzního) a jejich plnou funkčnost.

4.7. Výpočet limitu detekce

V neexponovaných sorpčních gelech s modifikovaným Iontosorbem AV připravených dle postupu popsaném v kapitole 4.4. byl stanoven obsah rtuti. Celkem bylo analyzováno 8 disků sorpčního gelu. Naměřená koncentrace byla $1,2 \pm 0,3$ ng rtuti. Detekční limit spočítaný dle rovnice (6) tak byl stanoven na 25 ng.l^{-1} při jednodenní expozici vzorkovacích jednotek DGT a použití difúzního gelu o tloušťce 0,5 mm.



Obr. 23. *Závislost množství rtuti akumulované v modifikovaném sorbentu na čase.*

5. ZÁVĚR

Bylo připraveno celkem pět šarží modifikovaného sorbentu Iontosorb AV. Dvě z těchto šarží byly nevyhovující kvality, a proto byly použity k optimalizaci přípravy sorpčních gelů. Zbylé tři šarže byly využity k DGT testům a k charakterizaci nově připraveného sorbentu.

Problém při modifikaci Iontosorbu AV činilo konzervační činidlo, které narušovalo kopulační reakci. Tato látka, pravděpodobně azid sodný, byla z Iontosorbu AV odstraněna důkladným promýváním v roztoku ethanolu. Po promytí a usušení výchozího Iontosorbu AV byly problémy s modifikací sorbetu úspěšně odstraněny.

Úspěšnost modifikace Iontosorbu AV byla potvrzena nejen změnou barvy sorbetu z bílé na oranžovo-hnědou, ale také kvalitativním důkazem pomocí infračervené spektrofotometrie. Tato technika jasně prokázala přítomnost thiolových skupin v Iontosorbu AV, neboť v infračerveném spektru byl detekován nový pás při vlnočtu 2362 cm^{-1} , který je pro thiolové skupiny charakteristický.

Kvalitativní test thiolových skupin byl prováděn jednoduchou jodometrickou titrací. Pomocí tohoto testu byl stanoven obsah thiolových skupin v modifikovaném Iontosorbu AV na $0,5\text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$.

Po základní charakterizaci modifikovaného Iontosorbu AV byl tento sorbent testován pro použití v technice DGT. Polyakrylamidový gel se ukázal být jako nevhodný nosič sorbetu. Příprava polyakrylamidového gelu se zakotveným modifikovaným Iontosorbem AV byla komplikovaná. Sorbent v gelovém roztoku tvořil shluky a nebylo tak možné připravit homogenní gel. Jako nosné médium pro sorbent byl místo polyakrylamidového gelu zvolen agarózový gel. Neoptimálnější koncentrace agarózového roztoku byla vzhledem k další manipulaci s agarózovým gelem zvolena 4%.

Správnost přípravy sorpčního a difúzního gelu a jejich plná funkčnost byly ověřeny provedením základního testu DGT a testu lineární akumulace rtuti v závislosti na čase. Rozdíl v koncentraci modelového roztoku stanovené technikou atomové absorpční spektrometrie a technikou DGT byl menší než 10 %, což vyhovuje předpisům firmy DGT Research. Závislost akumulace rtuti ve vzorkovací jednotce DGT v závislosti na čase byla lineární a odpovídala modelu, který pracuje se základní rovnicí DGT (rovnice 6 v teoretické části).

Průměrné množství rtuti v neexponovaných sorpčních gelech bylo $1,2 \pm 0,3\text{ ng}$, z čehož byl vypočten detekční limit $25\text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ pro 24 hod. expozici a tloušťku difúzního gelu 0,5 mm.

Modifikovaný Iontosorb AV pomocí 6-merkaptopurinu se ukázal být vhodným sorbentem pro techniku DGT a pro stanovení rtuti v přírodních vodách technikou DGT. Modifikace sorbetu není příliš náročná, oproti dalším vyzkoušeným sorbetům však může být nevýhodou použití modifikovaného Iontosorbu AV jeho cena. Náklady na přípravu 1 gramu sorbetu byly odhadnuty na cca 500,- Kč. I přesto se však do budoucna počítá s jeho důkladnější charakterizací a porovnáním s dalšími sorbety doposud používanými pro stanovení rtuti technikou DGT. Paralelně se budou hledat další možnosti modifikace sorbentů firmy Iontosorb, tak aby náklady na přípravu byly co nejvíce sníženy.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Mason R. P., Fitzgerald T. W., Morel F. M.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 58, 3191 (1994).
- [2] Gavis J., Ferguson J. F.: *Water Res.* 6, 989 (1972).
- [3] Vandal G. M., Mason R. P., Fitzgerald W. F.: *Water Air Soil Pollut.* 80, 665 (1991).
- [4] Mason R. P., Fitzgerald J., Hurley J. K., Hanson A. K., Donaghay P. L., Sieburth J.: *Limnol. Oceanogr.* 38, 1227 (1993).
- [5] Reimann P., Schmidt D., Schomaker K.: *Mar. Chem.* 14, 43 (1983).
- [6] Brüggemann L., Geyer E., Kay R.: *Mar. Chem.* 21, 91 (1987).
- [7] Laxen D. P. H., Harrison R. M.: *Anal. Chem.* 53, 345 (1981).
- [8] Kinsella B., Willis R. L.: *Anal. Chem.* 54, 2614 (1982).
- [9] Zhang, H., Davison, W.: *Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution.* *Anal. Chem.*, 1995, vol. 67, no. 19 [cit. 2008-04-20], s. 3391-3400.
- [10] Pitter, P.: *Hydrochemie*. 3. přeprac. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 1999. 568 s. ISBN 80-7080-340-1.
- [11] Vopršalová, M.: *Základy toxikologie pro farmaceuty*. Praha: Univerzita Karlova, 2000. 231 s. ISBN 80-7184-282-6.
- [12] Nriagu J. O., Pacyna J. M.: *Nature* 333, 134 (1988).
- [13] Fitzgerald W. F., Clarkson T. W.: *Environ. Health Perspect.* 96, 159 (1991).
- [14] 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.
- [15] Tessier, A. *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. John Wiley. Chichester, 1995. 679 s. ISBN 0-471-95830-1.
- [16] Coyne R. V., Collins J. A.: *Anal. Chem.* 44, 1093 (1972).
- [17] Rosain R. M., Wai C. M.: *Anal. Chim. Acta* 65, 279 (1973).
- [18] Bothner M. H., Robertson D. E.: *Anal. Chem.* 47, 592 (1975).
- [19] Krivan V., Haas H. F.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 332, 1 (1988).
- [20] Zhang, H., Davison, W.: *In situ monitoring of aquatic systems*. Jacques Buffle. Hardcover, 2000. 642 s. ISBN 978-0-471-48979-5.
- [21] DGT Research Ltd., Lancaster, UK: *DGT for measurement in waters, soils and sediments*. [online] [cit. 2008-3-3]. Dostupné z: <<http://www.dgtresearch.com>> [Download Technical pdf document].
- [22] Diviš P., Dočekalová H., Smetková V.: *Chem. Listy* 99, s. 640-646 (2005).
- [23] Dočekalová H., Diviš P.: *Talanta* 65, s. 1174-1178 (2005).
- [24] *Vzorec agarózy*, [online] [cit. 2008-2-2]. Dostupné z: <<http://sweb.cz/biochemie/x/slovník.htm>>.
- [25] Marhol, M. *Měníče iontů v chemii a radiochemii*. Praha : Academia, 1976. 433 s.
- [26] Bio-Rad Laboratories, California, USA: *Instruction Manual, Chelex 100 and Chelex 20. Chelating Ion Exchange Resin, Rev B*. [online] [cit. 2008-3-15]. Dostupné z: <http://www.bio-rad.com/webmaster/pdfs/9184_Chelex.PDF>.
- [27] Slovák, Z.: *Nové chelatační ionexy na základě glykolmethakrylátových gelů Spheron*. *Bulletin n.p. Lachema Brno* (1979).

- [28] Slovák Z., Smrž M., Dočekal B., Slováková S.: *Anal. Chim. Acta* 11, s. 243-249 (1979).
- [29] Allergan Pharmaceuticals, Los Angeles, USA: *Mercury treatment system*. [online] [cit. 2008-4-3]. Dostupné z: <<http://homepage.eircom.net/~gerardboyle/Allergan.doc>>.
- [30] Pohl P., Prusisz B.: *Anal. Sciences* 20, s. 1367–1370 (2004).
- [31] Diviš P., Brulík L., Dočekalová H.: *Application of Duolite GT-73 resin gel as a binding layer for mercury measurement with diffusive gradients in thin films technique*. *Chemia Analyticzna*, v tisku.
- [32] Clarisse O., Hintelmann H.: *J. Environ. Monit.* 8, s. 1-6 (2006).
- [33] Formula of 3-mercaptopropyl-functio. silica gel, [online] [cit. 2008-2-2]. Dostupné z: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/ALDRICH/538086>>.
- [34] Atia A. A., Donia A. M., Khalid E. Z.: *Reactive & Functional Polymers* 65, s. 267-275 (2005).
- [35] Yavuz E., Senkal F. B., Bicak N.: *Reactive & Functional Polymers* 65, s. 121-125 (2005).
- [36] Mondal B. C., Das A. K.: *Anal. Chim. Acta* 477, s. 73-80 (2003).
- [37] Bicak N., Sherrington D. C., Sungur S., Tan N.: *Reactive & Functional Polymers* 54, s. 141-147 (2003).
- [38] Iontosorb, Česká Lípa, ČR, [online] [cit. 2008-2-2]. Dostupné z: <<http://www.iontosorb.cz>>
- [39] *Formula of bead cellulose*, [online] [cit. 2008-2-2]. Dostupné z: <<http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/mat/farma/vk/westermarck/ch2.html>>.
- [40] McMurry, J.: *Organická chemie*. První vydání. Brno : Vydavatelství Vutium, 2007. 1176 s. ISBN 978-80-214-3291-8.
- [41] Davies R. V., Kennedy J., Lane E. S., Willans J. L.: *J. appl. Chem.* 8, 68 (1958).
- [42] Mondal B. C., Das D., Das A. K.: *Anal. Chim. Acta* 450, s. 223 -230 (2001).
- [43] Howard A. G., Khdary N. H.: *Analyst* 129, s. 860-863 (2004).
- [44] *Návod na obsluhu přístroje AMA 254*. Altec s.r.o. Praha, 2000.
- [45] Štefanidesová V., Seidlerova J., Dvorská P.: *Chem. Listy* 96, s.117-119 (2002).

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

7.1. Seznam použitých zkratek

| | |
|---------|--|
| AMA 254 | jednouúčelový atomový absorpční spektrometr pro stanovení rtuti (Advance Mercury Analyser) |
| CRM | certifikovaný referenční materiál |
| DBL | difúzní hraniční vrstva (diffusive boundary layer) |
| DGT | technika difúzního gradientu v tenkém filmu (Diffusive Gradient in Thin films technique) |
| DMHg | dimethylrtuť ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$) |
| IČ | infračervená spektrofotometrie |
| MMHg | monomethylrtuť CH_3Hg^+ |
| PAA | polyakrylamid |
| TEMED | N,N,N',N' – tetramethylethylendiamin |
| x,y | počet jednotek sloučenin v polymérním řetězci |

7.2. 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 ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$) |
| δ | tloušťka difúzní hraniční vrstvy (cm) |
| Δg | tloušťka difúzní vrstvy (cm) |
| F | tok chemických forem kovů ($\text{mol.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$) |
| 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) |
| ν | vlnočet (cm^{-1}) |
| T | transmitance (%) |
| 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) |

8. SEZNAM PŘÍLOH

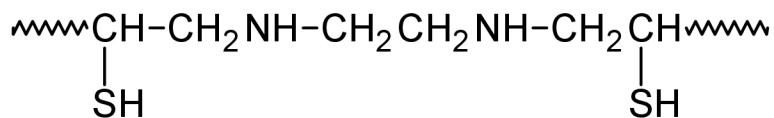
8.1. Vzorce dalších sorbentů specifických pro rtuť

8.2. Schéma přístroje AMA 254 s popisem

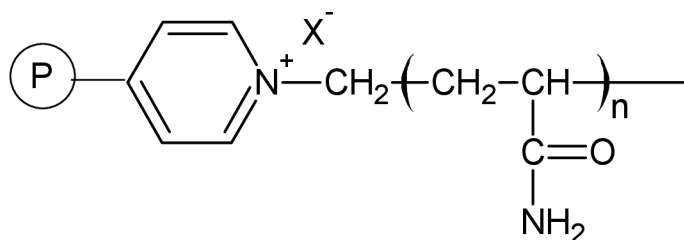
9. PŘÍLOHY

9.1. Vzorce další sorbentů specifických pro rtuť

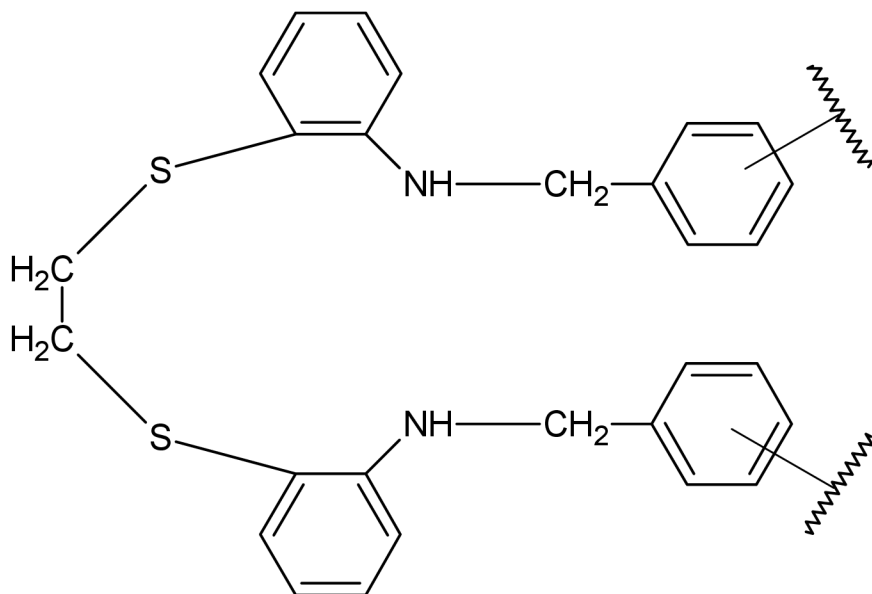
9.1.1. R-S-N sorbent



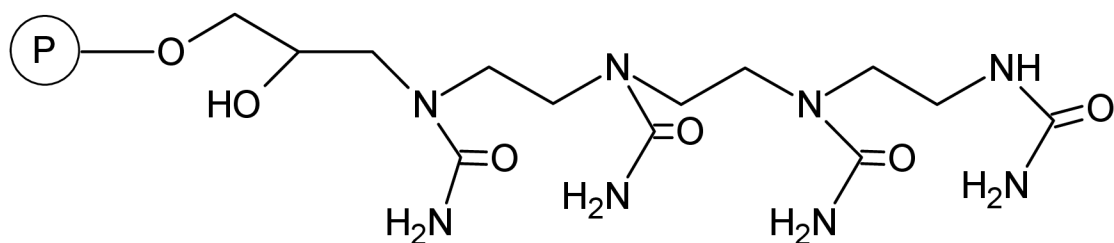
9.1.2. Modifikovaný Reillex 425



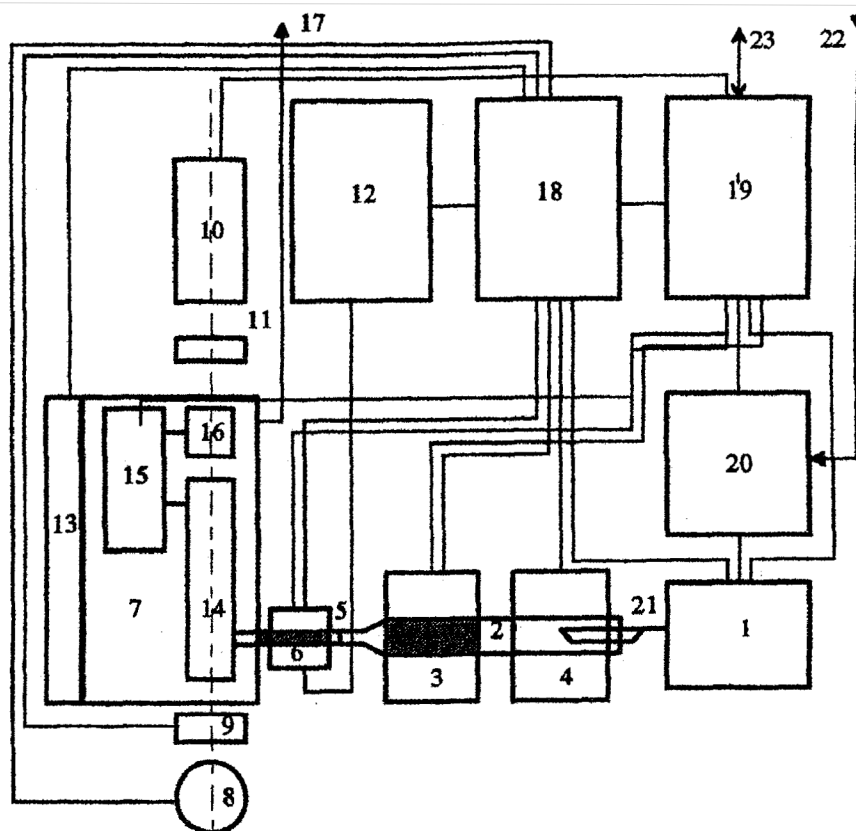
9.1.3. Chloromethylovaný sorbent Merrifield



9.1.4. Modifikovaný GMA sorbent



9.2. Schéma přístroje AMA 254 s popisem



| | | |
|-----------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| 1 dávkovací zařízení | 9 clonka | 17 vstupní kyslík |
| 2 spalovací trubice | 10 detektor | 18 analogová elektronika |
| 3 katalytická pec | 11 interferenční filtr | 19 mikropočítač 8051 |
| 4 spalovací pec | 12 chladicí čerpadlo | 20 regulátor průtoku kyslíku |
| 5 amalgamátor | 13 topení bloku měř. kyvet | 21 dávkovací lodička |
| 6 vypuzovací pec | 14 delší měř. kyveta (2. rozsah) | 22 vstup kyslíku |
| 7 blok měřících kyvet | 15 zpožďovací nádobka | 23 komunikace s PC |
| 8 rtuťová výbojka | 16 kratší měř. kyveta (1. rozsah) | |