

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

Ústav chemie potravin a biotechnologií

Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

**VÝVOJ A APLIKACE TECHNIKY DIFÚZNÍHO GRADIENTU
V TENKÉM FILMU PRO STANOVENÍ RTUTI
V PŘÍRODNÍCH VODÁCH**

**DEVELOPMENT AND APPLICATION OF DIFFUSIVE
GRADIENTS IN THIN FILMS TECHNIQUE FOR
DETERMINATION OF MERCURY IN NATURAL WATERS**

TEZE HABILITAČNÍ PŘEDNÁŠKY
V OBORU CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ



BRNO 2013

KLÍČOVÁ SLOVA

gelové techniky, rtuť, voda, sediment, vzorkování

KEY WORDS

gel techniques, mercury, water, sediment, sampling

Místo uložení:

Oddělení vědy a výzkumu, Fakulta chemická VUT v Brně, Purkyňova 118, Brno 612 00

© Pavel Diviš, 2013

ISBN 978-80-214-4781-3

ISSN 1213-418X

OBSAH

PŘEDSTAVENÍ AUTORA.....	4
1 ÚVOD	5
2 TECHNIKA DIFÚZNÍHO GRADIENTU V TENKÉM FILMU	6
3 VÝVOJ TECHNIKY DGT PRO STANOVENÍ RTUTI.....	8
4 APLIKACE TECHNIKY DGT PRO STANOVENÍ RTUTI.....	10
5 ZÁVĚR.....	13
6 OBRAZOVÁ ČÁST.....	14
7 POUŽITÁ LITERATURA.....	18
8 ABSTRACT	20

PŘEDSTAVENÍ AUTORA



Ing. Pavel Diviš, Ph.D. se narodil 19. 12. 1979. Svá vysokoškolská studia ukončil na Fakultě chemické VUT v Brně v roce 2003 na Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí. Na Fakultě chemické absolvoval v letech 2003–2006 rovněž doktorské studium, které ukončil obhajobou dizertační práce s názvem „Vývoj *in situ* gelových technik pro měření biodostupných forem kovů v přírodních vodách“. Po krátkém působení v podniku Labtech s.r.o. je od roku 2007 zaměstnán na Fakultě chemické ve funkci odborného asistenta. Jeho vědecko-výzkumná činnost je orientována na studium procesů probíhajících v životním prostředí se speciálním zaměřením na aplikaci analytických metod pro environmentální analýzu. Problematikou využití *in situ* gelových technik v environmentální analýze se zabývá více než 10 let a kromě Fakulty chemické VUT v Brně tuto problematiku také studuje v rámci pravidelných stáží na univerzitách Vrije Universiteit Brussel v Belgii a Université des Sciences et Technologies de Lille ve Francii. Pavel Diviš je autorem nebo spoluautorem 12ti prací publikovaných v odborných recenzovaných časopisech s impakt faktorem větším než 0.5, 3 prací publikovaných v recenzovaných časopisech bez IF a jedné monografie. Ohlas mezinárodní vědecké komunity na publikované práce vyjadřuje počet více než 80 citací.

1 ÚVOD

Dopady lidské činnosti na životní prostředí, a zejména otázka chemického znečištění, nabývají v posledních letech na významnosti. K pochopení problémů kontaminace životního prostředí a k předcházení těchto problémů je důležité porozumět procesům probíhajícím v životním prostředí a neustále vyvíjet různé monitorovací systémy. Přírodní ekosystémy jsou komplikovanými regulovanými systémy zahrnující v sobě řadu fyzikálních, chemických a biologických akcí a reakcí, které dohromady zajišťují správné fungování systému a jeho homeostázi. Aby bylo možné efektivně interpretovat fungování různých ekosystémů, např. oceánů, moří, jezer, řek apod. je třeba zaznamenávat velký objem dat neboť v celkovém rozhodnutí o fungování ekosystému je nutné zohlednit různé časové a prostorové změny sledovaného systému.

Pro analýzu a monitoring kvality přírodních vod lze v zásadě využít tři postupů. Nejčastěji používaným postupem je odběr vzorku na místě, jeho uskladnění a následný transport do laboratoře kde je se vzorkem dále nakládáno podle potřeby prováděné analýzy. Tento postup je ovšem poměrně nákladný a neposkytuje výše zmíněné velké objemy dat, ani nezohledňuje časové a prostorové změny systému. Kromě toho, stanovení řady analytů je ovlivněno různými nežádoucími procesy, které mohou ve vzorku probíhat, jako např. změna pH, změna redoxního potenciálu apod. Druhý postup je založen na přímé analýze odebraného vzorku na místě odběru. Tento postup minimalizuje vznik nežádoucích změn ve vzorku způsobených jeho skladováním a je ideální pro měření v reálném čase, nicméně má poměrně velké nároky na používaná analytická zařízení a na dostupnost terénu. Třetím postupem je tzv. měření *in situ*, které umožňuje např. pomocí různých pasivních vzorkovačů zaznamenávat velký objem dat, zohledňovat momentální změny systému a úplně se vyhnout problémům vznikajícím při odběru vzorku. Pasivní vzorkovače nebývají finančně náročné a je možné je aplikovat i na těžko přístupných místech. Umožňují např. měření v různých hloubkách nebo měření v systémech, které nemohou být jinak narušeny [1–3].

V rámci chemického znečištění životního prostředí hrají velkou roli také kovy. V kontaminovaných systémech se mohou kovy akumulovat v buňkách a v tkáních organismů, což může vést k škodlivým účinkům narušujícím základní buněčné funkce, k poškození metabolismu a následně až k smrti. K *in situ* měření kovů v přírodních vodách byla v posledních letech navržena řada různých pasivních vzorkovačů. Široké uplatnění našla zejména technika difúzního gradientu v tenkém filmu, tzv. DGT technika [4]. Ačkoliv byla tato technika postupně vyvíjena a v současné době je schopná *in situ* měřit více než 50 různých prvků periodické soustavy, stále se objevují požadavky na měření nových, toxikologicky či jinak významných prvků. Mezi tyto prvky patří také rtuť [5].

2 TECHNIKA DIFÚZNÍHO GRADIENTU V TENKÉM FILMU

Technika difúzního gradientu v tenkém filmu byla poprvé popsána v roce 1994. Základem techniky DGT jsou dvě vrstvy hydrogelu, difúzní gel a sorpční gel. Principem techniky DGT je kinetická separace rozpuštěných látek z roztoku a jejich akumulace v sorpčním médiu. Pro měření vodách využívá technika DGT jednoduchou vzorkovací jednotku tvaru pístu vyrobeného z plastu (obr. 1) ve které jsou uzavřeny dvě vrstvy polyakrylamidového hydrogelu, sorpční a difúzní. První vrstva hydrogelu, která obsahuje specifické sorpční médium, je překryta vrstvou difúzního permeabilního hydrogelu tak, že jen tento difúzní gel přichází do styku s vnějším roztokem. Difúzní gel je přikryt membránovým filtrem, který tento gel chrání proti poškození při expozici jednotky v reálném systému přírodních vod (obr. 2).

Po ponoření jednotky DGT do měřeného roztoku difundují rozpuštěné látky přes dobře definovanou difúzní vrstvu o známé tloušťce (Δg) k sorpčnímu médiu. Nejpoužívanějším sorpčním médiem pro sledování koncentrace kovů je sorbent Chelex 100 s vázanými skupinami kyseliny iminodietové. Rozpuštěné látky prošlé difúzním gelem jsou na povrchu sorpčního gelu imobilizovány sorpcí na funkčních skupinách iontoměniče, a to tak dlouho, dokud není jeho kapacita nasycena [4].

Vazba iontů na sorpční médium vede k vytvoření lineárního koncentračního gradientu, který se v difúzním gelu ustanoví ve velmi krátké době. Jestliže tento gradient zůstává během doby měření (t) konstantní, lze pomocí 1. Fickova zákona difúze vypočítat tok analytu (F) přes difúzní vrstvu tloušťky Δg podle rovnice 1,

$$F = D \cdot \frac{dc}{dx} = \frac{D \cdot (c - c_0)}{\Delta g} \quad (1)$$

kde D je difúzní koeficient analytu v gelu (shodný s difúzním koeficientem analytu v ochranném filtru), c je koncentrace analytu v měřeném systému a c_0 koncentrace analytu na povrchu sorpčního gelu. Tloušťka difúzní vrstvy je tvořena tloušťkou difúzního gelu, tloušťkou ochranného filtru a tloušťkou difúzního rozhraní. Za předpokladu, že sorpční gel není nasycen, je všechen analyt vázán v sorpčním gelu a koncentrace $c_0 = 0$. Tloušťka gelu a ochranného filtru je známou veličinou. Tloušťka difúzního rozhraní lze stanovit experimentálně a v dobře míchaných systémech (v tekoucích vodách) je zanedbatelná. Ve stojatých vodách nabývá tloušťka difúzního rozhraní hodnot od 0,1 do 1 mm. Tok analytu přes difúzní vrstvu tloušťky Δg lze také definovat rovnicí 2

$$F = \frac{M}{A \cdot t} \quad (2)$$

kde (M) je množství kovu v sorpčním gelu, (A) je plocha exponovaného difúzního gelu.

Spojením rovnic 1 a 2 lze získat rovnici pro výpočet koncentrace analytu v měřeném systému (c).

$$c = \frac{M \cdot \Delta g}{D \cdot t \cdot A} \quad (3)$$

Množství kovu (M) zachycené v sorpčním gelu může být po vysušení gelu stanoveno přímým měřením technikami XRF, PIXE nebo LA-ICP-MS. Alternativou tohoto postupu pak může být eluce kovu ze sorpčního gelu za použití známého objemu elučního činidla, v případě analýzy kovů zředěné kyseliny dusičné a analýza eluátu technikami atomové absorpční, atomové emisní, nebo hmotnostní spektrometrie [4].

Výpočet koncentrace podle rovnice 3 plně platí pouze v systému dobře míchaných přírodních vod. Vzorkování a analýza pórových vod sedimentů je svým způsobem poněkud složitější. Voda v pórech sedimentů představuje ve srovnání s přírodními vodami objemově omezený a nemíchaný systém. Při použití v sedimentu tak může jednotka DGT kvůli difúzi analytu difúzním gelem a následnému zachytu analytu v sorpčním gelu snižovat koncentraci analytu v pórové vodě sedimentu. Vypočtená koncentrace z rovnice 3 pak může být interpretována jako koncentrace analytu v pórové vodě sedimentu pouze tehdy, je-li proces uvolňování analytu z tuhé fáze sedimentu do pórové vody velmi rychlý, takže dokáže vyrovnávat deficit vzniklý odčerpáním analytu jednotkou DGT [4,6]. Jestliže sediment nedokáže rychle vyrovnávat koncentrační změny analytu v pórové vodě sedimentu, je aktuální koncentrace analytu na povrchu jednotky DGT v každém časovém okamžiku za předpokladu lineární difúze definována druhým Fickovým zákonem difúze.

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (4)$$

Do jaké míry je analyt doplňován z tuhé fáze sedimentu do pórové vody lze zjistit současnou aplikací dvou jednotek DGT s rozdílnou tloušťkou difúzní vrstvy nebo pomocí poměru R.

$$R = \frac{c_{DGT}}{c_{pv}} \quad (5)$$

Při výpočtu poměru R musí být koncentrace analytu v pórové vodě sedimentu stanovena jinou, srovnatelnou a dostupnou technikou. Vzhledem k potřebě stanovení hloubkových koncentračních profilů analytů v pórové vodě sedimentů využívá technika DGT modifikovanou vzorkovací jednotku o rozměrech 18×4 cm (obr. 3)

Technika DGT měří formy kovů které jsou schopny difúze přes difúzní gel a které jsou schopny vázat se v sorpčním gelu. V reálném systému přírodních vod se kovy mohou vyskytovat ve formě volného či hydratovaného iontu, nebo ve formě komplexu s přírodními ligandy. Zatímco volné kovové a hydratované ionty jsou přímo měřeny technikou DGT neboť jsou schopny volně

difundovat difúzním gelem a mohou být přímo vázány v sorpčním gelu, komplex ML bude zahrnut do měření technikou DGT pouze tehdy, je-li jeho velikost menší než velikost pórů v difúzním gelu, je-li schopný difundovat difúzním gelem a během difúze difúzním gelem disociovat podle rovnice $ML \leftrightarrow M + L$, je-li schopný difundovat difúzním gelem a konstanta stability komplexu ML je menší než konstanta stability komplexu s funkčními skupinami sorbentu v sorpčním gelu a nebo je-li schopný difundovat difúzním gelem a ve formě komplexu se vázat na sorpční gel (obr.4). Jaké formy kovů budou technikou DGT měřeny tedy závisí na výběru difúzního gelu a na výběru sorpčního média, neboť labilitu komplexů kovů s přírodními ligandy lze ovlivnit výběrem sorpčního média s větší sorpční afinitou [7].

3 VÝVOJ TECHNIKY DGT PRO STANOVENÍ RTUTI

Správná funkce techniky DGT je podmíněna volnou difúzí sledované formy kovu difúzním gelem. Během studií problematiky aplikace techniky DGT pro stanovení rtuti na fakultě chemické VUT v Brně však bylo zjištěno, že podmínka volné difúze rtuti difúzním gelem není při měření ve vodných roztocích splněna. Během pokusů v modelových roztocích rtuti bylo jasně prokázáno zachytávání a hromadění rtuti v difúzním gelu. Poměr koncentrace rtuti v roztoku a v gelu byl při použití polyakrylamidového difúzního gelu až 700 [8]. Z tohoto důvodu byl polyakrylamidový difúzní gel nahrazen agarosovým difúzním gelem. Při použití agarosového difúzního gelu pro měření koncentrace rtuti ve vodném prostředí byl nalezen poměr koncentrací v gelu a v roztoku $\cong 4$. Akumulace rtuti v agarosovém gelu však byla již po 4 hod zanedbatelná, což lze vysvětlit nasycením vazebných míst tvořených pyruvátovými a sulfonickými skupinami v agarosovém gelu.

Difúzní koeficient rtuti v agarosovém gelu byl stanoven experimentálně a byl vypočítán po vynesení množství akumulované rtuti v sorpčním gelu v závislosti na čase [8]. Difúzní koeficient rtuti v agarosovém gelu pro teplotu 20 °C byl vypočítán $(8,86 \pm 0,11) \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ což je ve shodě s difúzním koeficientem rtuti ve vodě $9,13 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, neboť agarosový difúzní gel je tvořen z 95 % vodou.

Správná funkce jednotky DGT s agarosovým difúzním gelem a se sorpčním gelem obsahující sorbent Chelex-100 byla ověřena testem lineární akumulace analytu v závislosti na čase a testem lineární akumulace analytu v závislosti na reciproké tloušťce difúzního gelu. Oba testy prokázaly lineární nárůst rtuti v sorpčním gelu s rostoucím časem a shodu naněřených dat s teoretickými výpočty pomocí rovnice 3, při dosazení tabelovaného difúzního koeficientu $9,13 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Dalšími experimenty bylo zjištěno, že technika DGT v tomto uspořádání je nezávislá na iontové síle roztoku a je vhodná pro měření ve vodách s pH v rozmezí od 6 do 8. Stanovená sorpční kapacita sorpčního gelu 4 μmol rtuti byla postačující pro několika denní expoziční dobu vzorkovacích jednotek ve zkoumaném systému přírodních vod. Při práci v běžné laboratoři byl pro expoziční čas 24 hod a tloušťku difúzní vrstvy 0,63 mm stanoven limit detekce 0,19 ng l^{-1} . Jako velice problematická se ukázala být sorpce rtuti z roztoků obsahující vybrané přírodní

ligandy. V prostředí chloridových iontů sorpce rtuti v sorpčním gelu klesala o 10% až 20%, v prostředí huminových látek dokonce o 50 až 80% v závislosti na jejich koncentraci v modelovém roztoku (obr.5). Zatímco logaritmus konstanty stability chloro-komplexů rtuti se pohybuje od 7,28 do 15,76, logaritmus konstanty stability komplexů rtuti s huminovými látkami se pohybuje v rozmezí od 18 do 32 [9,10]. Naproti tomu experimentálně stanovený logaritmus konstanty stability rtuti s funkčními skupinami iminodioctové kyseliny (funkční skupiny sorbentu Chelex-100) má hodnotu 14,6 [11]. Z těchto údajů a z předchozího vysvětlení základního principu techniky DGT je zřejmé, že formy rtuti vázané v stabilních komplexech s huminovými látkami není možné pomocí sorpčního gelu s Chelexem 100 měřit. Jednotka DGT se sorpčním gelem obsahující Chelex 100 je schopná měřit pouze rtuť vázanou v slabých anorganických komplexech např. s uhličitany, hydroxidy či chloridy. Z tohoto důvodu byly dále vyvíjeny nové sorpční gely s funkčními skupinami schopnými vázat rtuť v komplexu s větší konstantou stability než 1×10^{18} .

Protože rtuť má velmi vysokou afinitu k thiolovým skupinám, pro stanovení rtuti technikou DGT začaly být hledány vhodné sorbenty obsahující tuto skupinu ve své struktuře. V tomto směru bylo postupováno dvěma způsoby. Jako nejjednodušší se ukázala být příprava sorpčních gelů z komerčně dostupných sorbentů. Mezi tyto sorbenty byly zařazeny Spheron-Thiol, SH-KG, Sumichelate Q10 a Duolite GT73. Bohužel praktická dostupnost sorbentů Spheron Thiol a Sumichelate Q10 je v současnosti již velmi malá, neboť se již přestaly vyrábět. I přes počáteční dostupnost sorbentů nebyla příprava sorpčních gelů jednoduchá. Částice sorbentů Sumichelate Q10 a Duolite GT73 byly většího rozměru než 0,5 mm a jejich přímé zabudování do sorpčního gelu tak bylo vyloučeno. Tyto sorbenty musely být před zabudováním do sorpčního gelu podrceny a přesítovány na požadovanou velikost kolem 0,1 mm [12,13]. Druhou možností přípravy sorpčních gelů se ukázala být laboratorní syntéza nových sorbentů a jejich zabudování do gelové matrice. Tímto způsobem byly připraveny sorbenty Iontosorb AV-MP, SH-PMO a SH-SBA [13,14]. Jako výchozí látka pro přípravu sorbentu Iontosorb AV-MP byl použit sorbent Iontosorb AV, který byl pomocí diazotační a kopulační reakce přeměněn na Iontosorb-MP s vázaným mercaptopurinem.

Nově připravené sorpční gely Spheron-Thiol, Duolite GT73 a Iontosorb AV-MP byly testovány podobně jako sorpční gel se sorbentem Chelex-100. Všechny gely vykazovaly lineární akumulaci rtuti z modelových roztoků v závislosti na čase i na reciproké tloušťce difúzního gelu. Použití sorpčních gelů bylo nezávislé na iontové síle modelového roztoku a v případě sorbentů Duolite GT73 a Iontosorb AV-MP také na pH modelového roztoku. Sorpční gel se Spheron Thiolem bylo možné použít ve vodách s pH 6–8. Sorpční kapacity testovaných sorpčních gelů klesaly v pořadí Duolite GT73 > Spheron Thiol > Iontosorb AV-MP a byly srovnatelné s jinými sorpčními gely používanými pro stanovení rtuti a ostatních kovů technikou DGT. Ve všech případech praktická sorpční kapacita gelu postačovala pro několikadenní expozici vzorkovacích jednotek v reálném systému přírodních vod. Na rozdíl od sorpčního gelu s Chelexem 100 bylo i při koncentraci huminových látek v modelovém roztoku do $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ dosaženo poměrně dobrých hodnot faktoru výtěžnosti $>0,8$ pro všechny testované sorpční gely. S rostoucí koncentrací huminových látek v roztoku však faktor výtěžnosti klesal až na hodnotu $\cong 0,2$ [4] (obr.6).

Vzhledem k tomu, že se v poslední době často pro separaci a prekoncentraci kovů používají i různé nanočástice oxidů kovů [15,16], bylo testováno také použití sorpčního gelu obsahující nanočástice oxidu titaničitého pro stanovení rtuti technikou DGT [17]. V modelovém roztoku rtuti sorpční gel s TiO_2 vykazoval podobně jako další testované sorpční gely lineární akumulaci rtuti v závislosti na čase i na reciproké tloušťce difúzního gelu. Sorpční gel bylo možné použít v roztocích o pH 4–10, nezávisle na iontové síle roztoku. Kapacita sorpčního gelu 2,5 μmol rtuti byla dostatečná pro několikadenní aplikaci jednotek DGT v přírodních vodách. Velký vliv na akumulaci rtuti v sorpčním gelu měla koncentrace chloridů v modelovém roztoku rtuti. Již při koncentraci chloridů 50 $\mu\text{g l}^{-1}$ bylo dosaženo velmi nízkých hodnot faktoru výtěžnosti $\cong 0,4$, což např. vylučuje použití techniky DGT se sorpčním gelem obsahující TiO_2 pro stanovení rtuti v mořské vodě. Naproti tomu vliv huminových látek na stanovení rtuti technikou DGT se sorpčním gelem obsahující TiO_2 byl porovnatelný s ostatními testovanými sorpčními gely [17].

Rozšíření aplikačních možností techniky DGT o stanovení rtuti v přírodních vodách vedlo některé autory k testování techniky DGT pro stanovení methylrtuti. Pro tyto účely byl použit sorpční gel se silikagelem obsahující 3-merkaptopropylové funkční skupiny (SH–KG gel). Jako sorpční gel byl použit jak agarosový gel, tak polyakrylamidový gel, neboť podle Clarisse a kol. [18] k akumulaci methylrtuti v polyakrylamidovém gelu nedochází. Hodnota difúzního koeficientu methylrtuti byla experimentálně stanovena 5,1 $\times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ pro polyakrylamidový a 8,5 $\times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ pro agarosový difúzní gel [18,19]. Hong a kol. [20] však ve své práci uvádí difúzní koeficient methylrtuti v agarosovém difúzním gelu 5,3 $\times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. V případě stanovení methylrtuti technikou DGT není sorpční gel analyzován přímo pomocí jednoúčelového atomového absorpčního spektrometru, ale po uplynutí expoziční doby vzorkovacích jednotek DGT je loužen v kyselém roztoku thiomocoviny a eluát je analyzován pomocí GC–ICP–MS, HPLC–ICP–MS nebo IC–ICP–MS. Vliv huminových látek a chloridů na sorpci methylrtuti v sorpčním gelu není doposud dobře prozkoumán. Hong a kol. zjistili že v modelových roztocích methylrtuti a chloridů (resp. huminových látek) dochází k poklesu efektivního difúzního koeficientu methylrtuti v difúzním gelu.

4 APLIKACE TECHNIKY DGT PRO STANOVENÍ RTUTI

Technika DGT s různými sorpčními gely byla aplikována v různém prostředí přírodních vod, na řece Jihlavě nedaleko Nových Bránic, na řece Deule v severní Francii, v sedimentech řeky Deule a Leie a v sedimentech Severního moře v blízkosti přístavu Ostende v Belgii.

Při aplikaci jednotek DGT v řekách jižní Moravy byly zjištěny rozdíly v množství akumulované rtuti jednotlivými použitými sorpčními gely. Podle očekávání nejvíce rtuti akumulovaly sorpční gely obsahující ve své struktuře thiolové funkční skupiny. U některých vzorkovacích jednotek mohlo být množství rtuti akumulované jednotkou DGT ovlivněno drobným mikrobiálním nárůstem na filtru jednotky DGT, kterému se při dlouhých expozičních časech (v tomto případě 21 dnů) nelze účinně bránit. Množství akumulované rtuti klesalo v závislosti

na použitých sorpčních gelech v řadě Duolite GT73 > Spheron Thiol > IontosorbAV–MP > TiO₂ > Chelex 100, čímž byla potvrzena platnost experimentů prováděných v laboratorních podmínkách. Koncentrace rtuti naměřená pomocí jednotek DGT se sorpčními gely Duolite GT73 a Spheron Thiol odpovídala v rozsahu 85-95% celkové rozpuštěné koncentraci rtuti v říční vodě, zatímco koncentrace rtuti naměřená pomocí jednotek DGT se sorpčními gely TiO₂ a Chelex 100 odpovídala pouze 15-20% celkové rozpuštěné koncentraci rtuti v říční vodě.

Při aplikaci jednotek DGT v sedimentech odebraných tzv. trubkovým vzorkovačem bylo dosaženo podobných výsledků jako při aplikaci jednotek DGT v říční vodě. Do sedimentu byly vloženy dvě jednotky DGT, přičemž každá jednotka obsahovala jiný sorpční gel. Použity byly sorpční gely se Spheron-Thiolem a s Chelexem 100. Pro kontrolu byla také ze sedimentu v určitých hloubkových profilech extrahována pórová voda a v této vodě byla stanovena celková koncentrace rozpuštěné rtuti. Získané hloubkové profily rtuti v sedimentech vykazovaly stejný průběh, ale vypočítaná DGT koncentrace byla výrazně jiná. V případě sedimentu odebraného z řeky Leie byla koncentrace naměřená jednotkou DGT se sorpčním gelem Spheron Thiol 5x vyšší než koncentrace naměřená jednotkou DGT se sorpčním gelem Chelex 100 a v případě sedimentu odebraného z mořského dna nedaleko přístavu Oostende byla tato koncentrace dokonce 20x vyšší [21]. Rozdíl v naměřených koncentracích lze opět vysvětlit rozdílnými hodnotami konstant stability komplexů rtuti s funkčními skupinami imidoctové kyseliny a komplexů rtuti s thiolovými funkčními skupinami. Zatímco jednotka DGT se sorpčním gelem Spheron Thiol byla schopná zachytit i rtuť vázanou v komplexech s huminovými látkami a jinými silnými přírodními komplexy, jednotka DGT se sorpčním gelem Chelex 100 byla schopná akumulovat pouze rtuť vázanou v kineticky labilních anorganických či organických komplexech. Ve srovnání s celkovou rozpuštěnou koncentrací rtuti v odebraných sedimentech a porovnáním výsledků získaných aplikací jednotek DGT bylo zjištěno, že říční sediment obsahoval 20% tzv. labilní rtuti, zatímco mořský sediment pouze 7% labilní rtuti. Tato informace je velmi důležitá např. při odhadu biodostupnosti rtuti pro různé organismy.

Kromě potenciálního využití techniky DGT pro speciální/frakcionační analýzu rtuti v přírodních vodách má technika DGT veliký potenciál pro využití při studiích geochemického cyklu rtuti v přírodních vodách. Pro měření hloubkových profilů rtuti v sedimentech se do současné doby využívá převážně vzorkování pórové vody pomocí centrifugace nebo lisování určité frakce sedimentu odebraného pomocí trubkového vzorkovače. Tyto postupy nejen že neposkytují potřebné hloubkové rozlišení (poskytované rozlišení je většinou 1 až 2 cm), ale jsou také velmi náročné na provedení a náchylné na kontaminaci nebo náchylné ke ztrátám rtuti. Kontaminacím lze předcházet důkladným čištěním veškerého použitého zařízení a pomůcek, ztrátám rtuti však zcela zabránit nelze. I když se frakcionace sedimentu se provádí v rukavicových boxech pod inertní dusíkovou atmosférou aby se zabránilo oxidaci anorganických a organických látek v sedimentu a ztrátám rtuti rozpuštěné v pórové vodě (například sorpcí na vzniklé oxid-hydroxidy apod.), část rtuti může být zachycena na stěnách používaných injekčních stříkaček, mikrofiltrů či centrifugačních nádobek během přípravy vzorku. Hloubkové profily rtuti lze také měřit *in situ* pomocí dializačních jednotek. Ačkoliv lze použitím dializačních jednotek předejít problémům s kontaminací a minimalizovat ztráty rtuti sorpcí na použité laboratorní pomůcky, rozlišení

hloubkového profilu většinou není menší než 1cm. Změna koncentračního gradientu rtuti ve vrstvách sedimentu kde probíhají specifické mikrobiologické a chemické procesy může být velmi ostrá a může se nacházet ve velmi malém hloubkovém rozpětí sedimentu. Aplikací jednotek DGT v sedimentu odebraném pomocí trubkového vzorkovače byly získány hloubkové profily rtuti o rozlišení 0,5 cm. Tohoto rozlišení bylo dosaženo při expoziční době vzorkovacích jednotek DGT v rozsahu 48–72 hodin. Zvýšením expoziční doby vzorkovacích jednotek DGT by bylo dosaženo většího zakoncentrování rtuti v sorpčním gelu a bylo by tak možné analyzovat menší plochu sorpčního gelu pomocí jednoúčelového atomového absorpčního spektrometru AMA 254 při zachování dostatečného signálu (absorbance). Získané rozlišení hloubkového profilu by tak mohlo být až 0,25 cm. Na obrázku 7 jsou znázorněny hloubkové profily rtuti získané aplikací vzorkovacích jednotek s různými sorpčními gely v sedimentu odebraného trubkovým vzorkovačem z řeky Deule. Pro srovnání je na obrázku také vidět hloubkový profil rtuti získaný řezáním sedimentu odebraného trubkovým vzorkovačem v ochranné dusíkové atmosféře a následnou centrifugací získaných frakcí sedimentu. Ze získaných hloubkových profilů je jednoznačně vidět rozdíl v koncentracích rtuti měřený jednotkami DGT s různými sorpčními gely a také koncentrační maximum rtuti v pórové vodě sedimentu nacházející se v hloubce 4-5 cm. Toto maximum odpovídá hranici tzv. FeR zóny (zóny redukce železa) ve které dochází k rozkladu hydroxid-oxidů železa a sediment přechází z oxické zóny do anoxické. Hloubkový profil železa získaný aplikací jednotky DGT se sorpčním gelem Chelex 100 je také znázorněn na obr.7. Hloubkový profil rtuti získaný pomocí konvenčních metod (centrifugace) nebyl schopný díky velmi malému rozlišení takto detailní informace poskytnout.

Souhrný přehled aplikací techniky DGT pro stanovení rtuti v přírodních vodách (včetně methylrtuti) udává tabulka 1.

Tab. 1. Přehled aplikací techniky DGT pro stanovení rtuti v systému přírodních vod

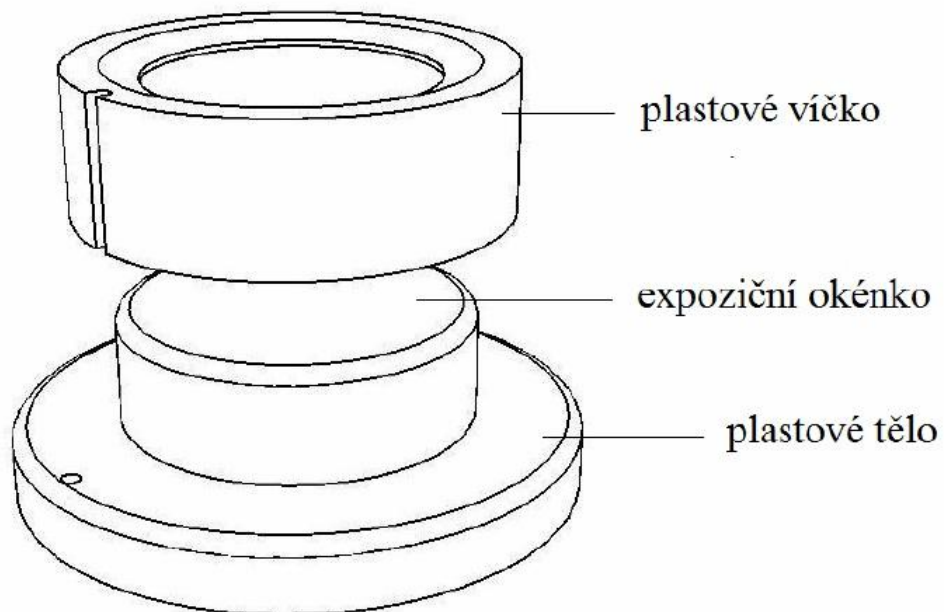
Matrice	Vzorkovací místo	Cit.
říční voda	Gállego River, Španělsko	22
říční voda	Ebro River, Španělsko	22
rybníční voda	Experimental lake, Brusel, Belgie	13
říční voda	South River, Waynesboro, Virginia, USA	20
mořská voda	Chesapeake Bay, Rocky point, Maryland, USA	20
mořská voda	Sarasota Bay, Sarasota, Florida, USA	20
mořský sediment	San Francisco Bay, California, USA	18,23
sladkovodní sediment	Hongjidau Reservoir, Čína	24
rybníční voda	Experimental lake, Ontario, Kanada	25
říční sediment	Leie River, Belgie	21
mořský sediment	North Sea, Oostende, Belgie	21
říční voda	řeka Svitava, ČR	8,12
říční voda	řeka Jihlava, ČR	26
říční voda	řeka Deule, Belgie	27
říční sediment	řeka Deule, Belgie	27

5 ZÁVĚR

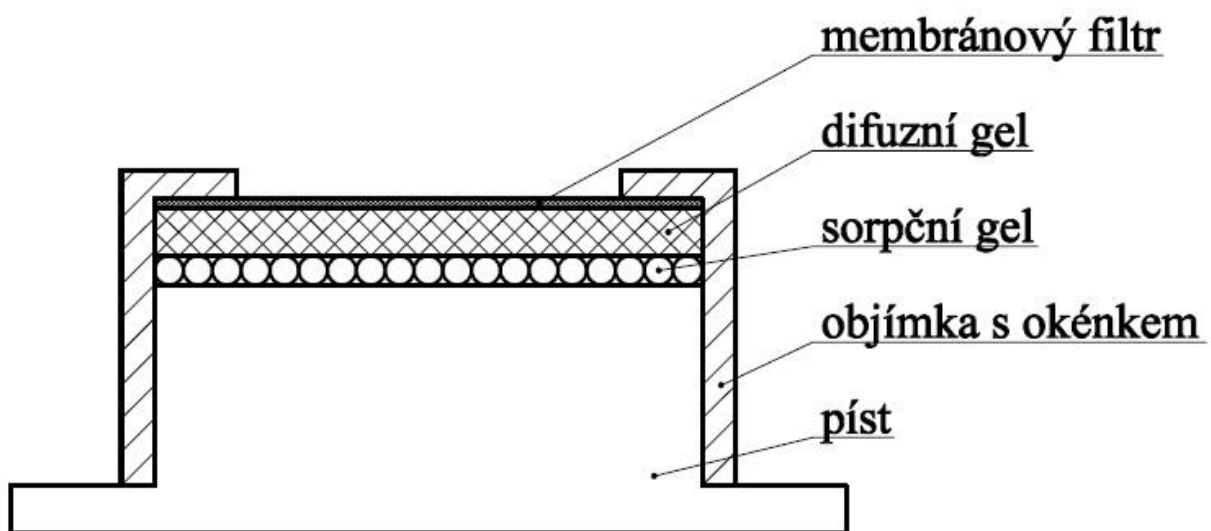
Technika DGT je jednoduchá prekoncentrační *in situ* technika umožňující díky sorpci rtuti v sorpčním gelu oddělit rtuť od mnohdy komplikované matrice, čímž značně zjednodušuje konečnou analýzu. Kombinováním více jednotek s různými typy sorpčních a difúzních gelů lze techniku DGT úspěšně použít ke speciální analýze. Technikou DGT lze získat hloubkové koncentrační profily rtuti v pórové vodě sedimentů s rozlišením 0,5 cm a menším, což umožňuje sledovat různé geochemické procesy v sedimentech.

Během několikaletého studia techniky difúzního gradientu v tenkém filmu se podařilo tuto techniku vyvinout pro měření rtuti v přírodních systémech a ověřit její využití v reálných systémech přírodních vod. Publikace které vznikly při řešení této problematiky využila společnost Exposmetr AB ve Švédsku ke komerční výrobě vzorkovacích jednotek DGT pro měření rtuti v přírodních vodách a v sedimentech. V současné době tyto vzorkovací jednotky prodává přímo firma DGT research Ltd, kterou vlastní zakladatelé techniky DGT Wiliam Davison a Hao Zhang. Výsledky práce na fakultě chemické VUT v Brně v oblasti stanovení rtuti technikou DGT vedly další vědce z celého světa k pokračování započatého výzkumu, např. k syntéze dalších nových sorpčních gelů, k upřesnění difúzních koeficientů různých forem rtuti v difúzním gelu nebo k dalším aplikacím techniky DGT pro *in situ* stanovení rtuti v životním prostředí.

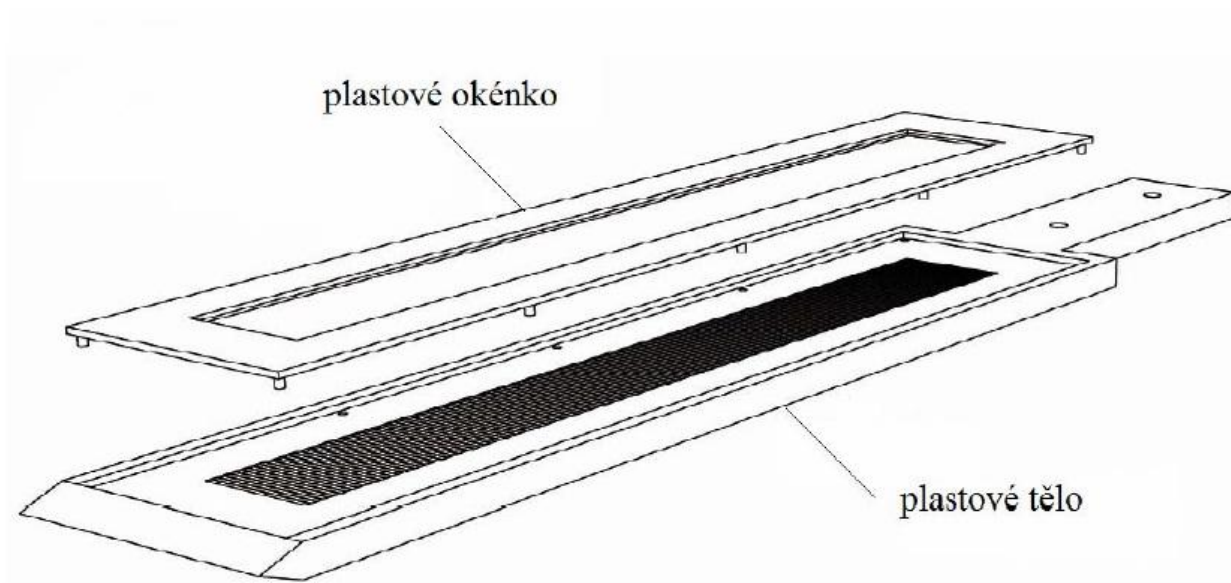
6 OBRAZOVÁ ČÁST



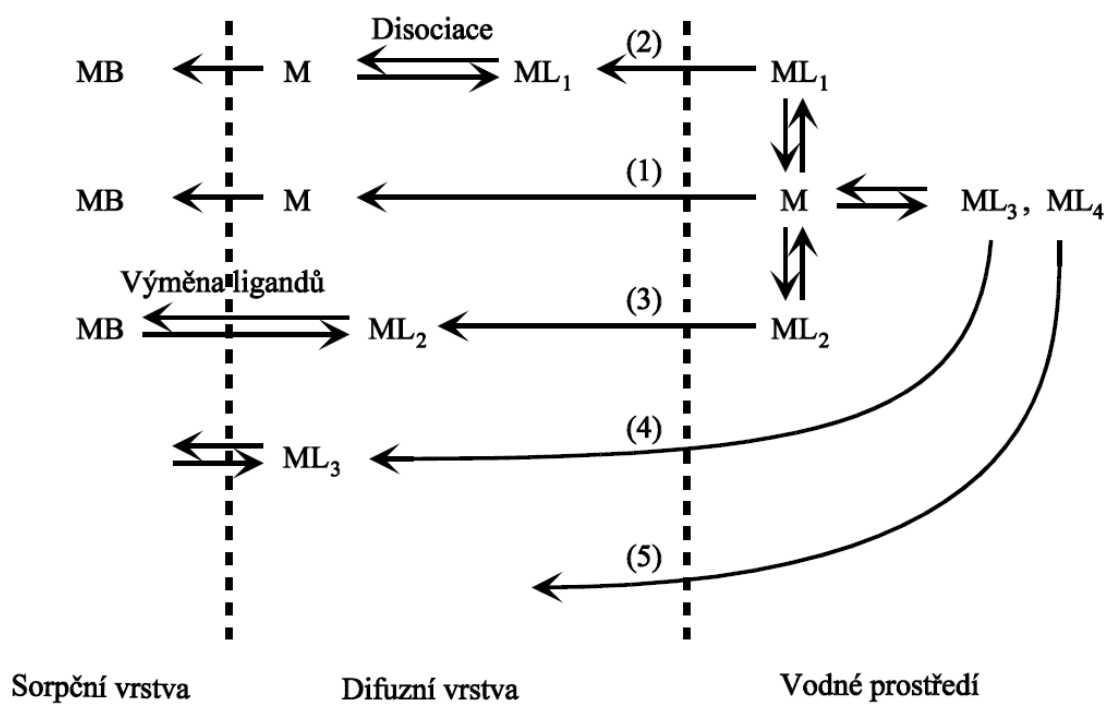
Obr. 1: Schematické znázornění vzorkovací jednotky DGT pro měření v přírodních vodách



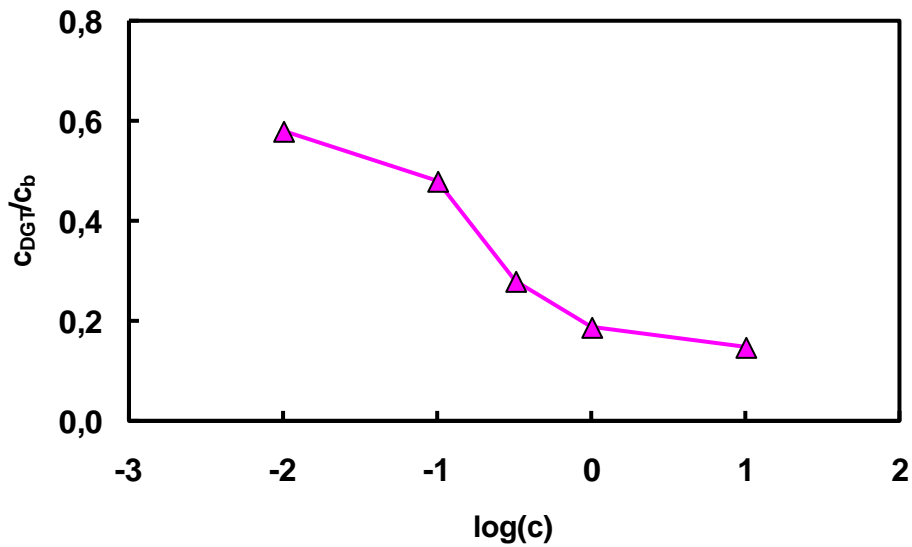
Obr. 2: Schematické znázornění uložení gelů ve vzorkovací jednotce DGT



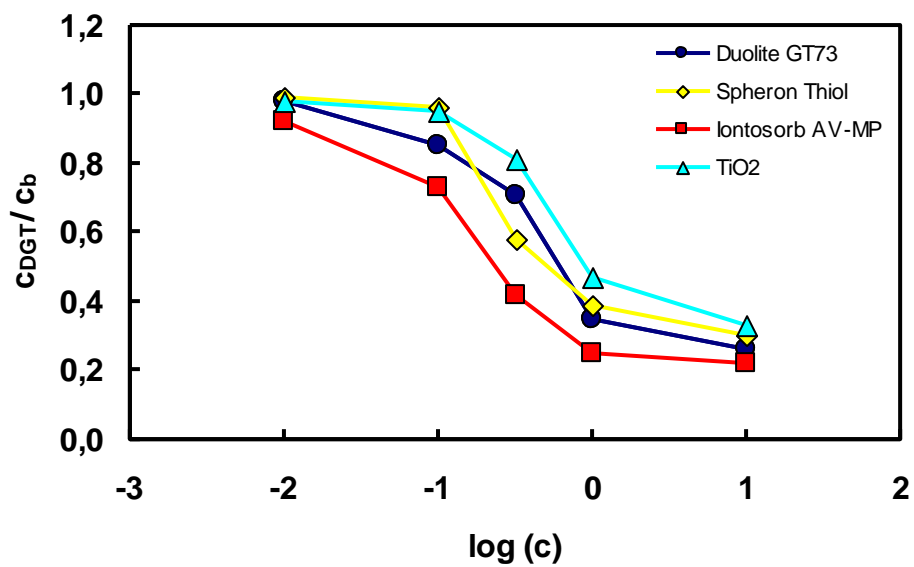
Obr. 3: Schematické znázornění vzorkovací jednotky DGT pro měření v sedimentech



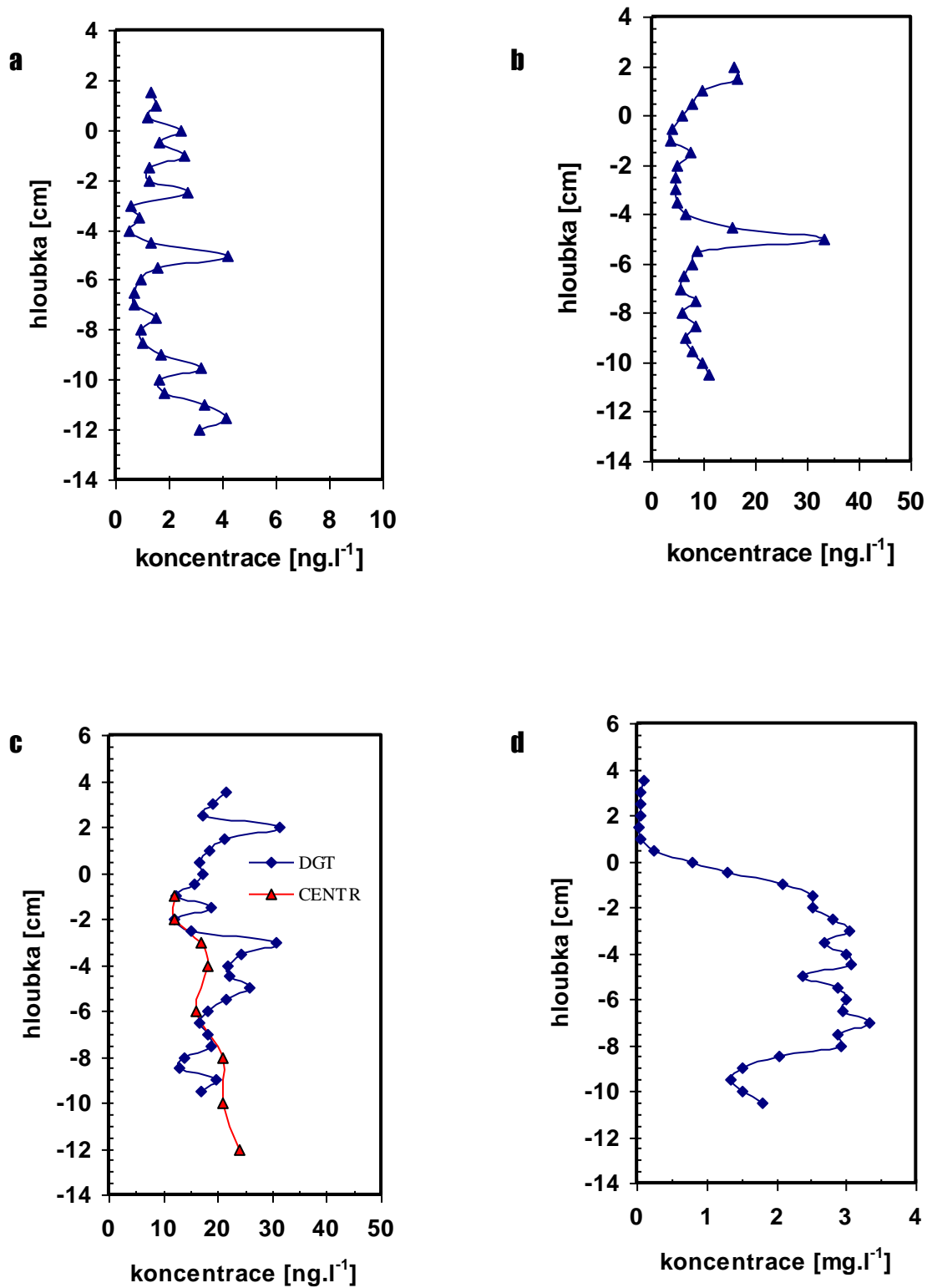
Obr. 4: Schematické znázornění chemických forem kovů které mohou být měřeny technikou DGT



Obr. 5: Závislost faktoru výtěžnosti na koncentraci huminových látek v modelovém roztoku rtuti pro sorpční gel Chelex 100



Obr.6: Závislost faktoru výtěžnosti na koncentraci huminových látek v modelovém roztoku rtuti pro testované sorpční gely



Obr.7: Hloubkové profily rtuti a železa v sedimentu z řeky Deule (Francie), a) sorpční gel Chelex 100 b) sorpční gel Spheron Thiol c) sorpční gel Duolite GT73 d) hloubkový profil železa (sorpční gel Chelex 100)

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] BUFFLE, J a George HORVAL. *In-situ monitoring of aquatic systems: chemical analysis and speciation*. New York: Wiley, 2000, 623 p. ISBN 04-714-8979-4.
- [2] MILLS, Graham A., Richard GREENWOOD, Branislav VRANA, Ian J. ALLAN a Tomas OCELKA. Measurement of environmental pollutants using passive sampling devices a commentary on the current state of the art. *Journal of Environmental Monitoring*. 2011, roč. 13, č. 11, s. 2979–2982
- [3] VRANA, Branislav, Ian J. ALLAN, Richard GREENWOOD, Graham A. MILLS, Ewa DOMINIÁK, Katarina SVENSSON, Jesper KNUTSSON a Gregory MORRISON. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2005, roč. 24, č. 10, s. 845–868.
- [4] DIVIŠ, Pavel, Hana DOČEKALOVÁ a Veronika ŘEZÁČOVÁ. Gelové techniky pro měření in situ ve vodách, půdách a vsedimentech. *Chemické Listy*. 2005, roč. 99, č. 9, s. 640–646.
- [5] Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport. Ženeva : United Nations Environment Programme, 2013.
- [6] HARPER, Michael, Wiliam DAVISON a Wlodek TYCH. Estimation of pore water concentrations from DGT profiles: A modeling approach. *Aquatic Geochemistry*. 1999, č. 5, s. 337–355.
- [7] LI, Weijia, Huijun ZHAO, Peter R. TEASDALE, Richard JOHN a Feiyue WANG. Metal speciation measurement by diffusive gradients in thin films technique with different binding phases. *Analytica Chimica Acta*. 2005, roč. 533, č. 2, s. 193–202.
- [8] DOCEKALOVA, Hana a Pavel DIVIS. Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems. *Talanta*. 2005, roč. 65, č. 5, s. 1174–1178.
- [9] MANTOURA, R.F.C., Andrew DICKSON a J.P. RILEY. The complexation of metals with humic materials in natural waters. *Estuarine and Coastal Marine Science*. 1978, roč. 6, č. 4, s. 387–408.
- [10] RAVICHANDRAN, Mahalingam. Interactions between mercury and dissolved organic matter a review. *Chemosphere*. 2004, roč. 55, č. 3, s. 319–331.
- [11] SAMCZYNSKI, Zbigniew. Ion Exchange Behavior of Selected Elements on Chelex 100 Resin. *Solvent Extraction and Ion Exchange*. 2006, roč. 24, č. 5, s. 781–794.
- [12] DIVIŠ, Pavel, Roman SZKANDERA, Lukáš BRULÍK, Hana DOČEKALOVÁ, Peter MATUŠ a Marek BUJDOŠ. Application of New Resin Gels for Measuring Mercury by Diffusive Gradients in a Thin-films Technique. *Analytical Sciences*. 2009. roč. 25, s. 575–578.
- [13] GAO, Yue, Els DE CANCK, Martine LEERMAKERS, Willy BAEYENS a Pascal VAN DER VOORT. Synthesized mercaptopropyl nanoporous resins in DGT probes for determining dissolved mercury concentrations. *Talanta*. 2011, roč. 87, s. 262–267.
- [14] DIVIŠ, Pavel, Roman SZKANDERA a Hana DOČEKALOVÁ. Characterization of sorption gels used for determination of mercury in aquatic environment by diffusive gradients in thin films technique. *Central European Journal of Chemistry*. 2010, roč. 8, č. 5, s. 1105–1109.

- [15] LIANG, Pei, Yongchao QIN, Bin HU, Chunxiang LI, Tianyou PENG a Zucheng JIANG. Study of the adsorption behavior of heavy metal ions on nanometer-size titanium dioxide with ICP-AES. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 2000, roč. 368, č. 6, s. 638–640.
- [16] MATUS, Peter, Ingrid HAGAROVA, Marek BUJDOS, Pavel DIVIS a Jana KUBOVA. Determination of trace amounts of total dissolved cationic aluminium species in environmental samples by solid phase extraction using nanometer-sized titanium dioxide and atomic spectrometry techniques. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2009, roč. 103, č. 11, s. 1473–1479.
- [17] SZKANDERA, Roman, Hana DOČEKALOVÁ, Milada KADLECOVÁ, Jana TRÁVNÍČKOVÁ a Pavel DIVIŠ. Sorpční gel s oxidem titaničitým pro stanovení rtuť technikou difúzního gradientu v tenkém filmu. *Chemické Listy*. 2013, roč. 107, č. 2, s. 160–164.
- [18] CLARISSE, Olivier a Holger HINTELMANN. Measurements of dissolved methylmercury in natural waters using diffusive gradients in thin film (DGT). *Journal of Environmental Monitoring*. 2006, roč. 8, č. 12, s. 1242–1247.
- [19] FERNANDEZ-GÓMEZ, C., B. DIMOCK, H. HINTELMANN a S. DÍEZ. Development of the DGT technique for Hg measurement in water: Comparison of three different types of samplers in laboratory assays. *Chemosphere*. 2011, roč. 85, č. 9, s. 1452–1457.
- [20] HONG, Yong Seok, Erik RIFKIN a Edward J BOUWER. Combination of Diffusive Gradient in a Thin Film Probe and IC-ICP-MS for the Simultaneous Determination of CH₃Hg and Hg₂₊ in Oxidic Water. *Environmental Science*. 2011, roč. 45, č. 15, s. 6429–6436.
- [21] DIVIS, P., M. LEERMAKERS, H. DOČEKALOVA a Y. GAO. Mercury depth profiles in river and marine sediments measured by the diffusive gradients in thin films technique with two different specific resins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005, roč. 382, č. 7, s. 1715–1719.
- [22] FERNANDEZ-GÓMEZ, Cristal, Josep M. BAYONA a Sergi DÍEZ. Laboratory and field evaluation of diffusive gradient in thin films (DGT) for monitoring levels of dissolved mercury in natural river water. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2012-12-20, roč. 92, č. 15, s. 1689–1698.
- [23] CLARISSE, Olivier, Brian DIMOCK, Holger HINTELMANN a Elly P. H. BEST. Predicting Net Mercury Methylation in Sediments Using Diffusive Gradient in Thin Films Measurements. *Environmental Science*. 2011, roč. 45, č. 4, s. 1506–1512.
- [24] LIU, Jinling, Xinbin FENG, Guangle QIU, Heng YAO, Lihai SHANG a Haiyu YAN. Intercomparison and applicability of some dynamic and equilibrium approaches to determine methylated mercury species in pore water. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2011, roč. 30, č. 8, s. 1739–1744.
- [25] CLARISSE, Olivier, Delphine FOUCHER a Holger HINTELMANN. Methylmercury speciation in the dissolved phase of a stratified lake using the diffusive gradient in thin film technique. *Environmental Pollution*. 2009, roč. 157, č. 3, s. 987–993.
- [26] SZKANDERA, Roman. Vývoj techniky difúzníhogradientu v tenkém filmu pro stanovení rtuť ve vodných systémech. Dizertační práce. 2011, Fakulta chemická VUT v Brně.
- [27] DIVIŠ, Pavel. In situ measurement of mercury depth profiles in sediments from Deule river by diffusive gradients in thin films technique (připraveno pro publikaci)

8 ABSTRACT

Natural ecosystems are complicated regulated systems including a large number of physical, chemical and biological actions and reactions. To enable efficient interpretation of the functioning of ecosystems such as lakes, rivers and oceans, *in situ* measurement is required because during the sample collection and storage the distribution of chemical species often changes and the sample is not representative. One of the often used *in situ* techniques in the last decade is diffusive gradient in thin films technique (DGT). The DGT technique represents a relatively new approach for *in situ* determinations of labile metal species in aquatic systems. The DGT device passively accumulates labile species from solution while deployed *in situ* and therefore contamination problems associated with conventional water collection and filtration procedures are eliminated. Labile metal ions in solution diffuse across the filter and gel layers and are pre-concentrated on the resin. Based on the laws of diffusion and the established characteristics of the diffusive path in the DGT sampler, the concentration of labile metals in solution may be calculated using the measured metal ion inventory on the resin, the sampler exposure time and the temperature-corrected molecular diffusion coefficient for the metal of interest.

This work presents the results from development of the DGT technique for measuring of mercury in natural waters. It was found that polyacrylamide diffusive gel typically used in DGT technique is inappropriate for measurement of mercury by DGT technique and it was replaced by agarose diffusive gel. The diffusive coefficient of mercury in agarose diffusive gel was calculated to be $(8,86 \pm 0,11) \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. It was also found that sorption gel with Chelex 100 sorbent can not effectively pre-concentrate mercury complexed with natural ligands such as humic acids and chlorides. To solve this problem, new sorption gels containing sorbents with thiol groups were prepared and tested in the laboratory. After validation of DGT technique with new diffusive and sorption gels the DGT technique was applied to real environment. Very low concentrations of mercury in river water were detected without need of special instruments and other techniques. In sediments the DGT technique was able to measure depth profiles of mercury with spatial resolution about 0,5 cm. No other technique does allow measuring of mercury depth profiles with such resolution. By simultaneous application of more DGT sampling units containing different sorption gels, measurement of labile only or total dissolved mercury concentrations was possible. Articles about the issue of mercury determination by DGT technique which were published in research journals were used by Exposmetr AB in Sweden for commercial production DGT units for measuring mercury in natural waters and sediments. Currently, these sampling units are sold directly by the DGT Research Ltd company.