

THE APPLICATION OF 2-MERCAPTOPHENOL FOR PRECONCENTRATION AND DETERMINATION OF MERCURY SPECIES IN SEDIMENTS AND WATERS

VYUŽITÍ 2-SULFANYLFENOLU PRO PREKONCENTRACI I STANOVENÍ CHEMICKÝCH FOREM (SPECIÍ) RTUTI V SEDIMENTECH A VE VODÁCH

Margetínová J., Houserová-Pelcová P., Kubáň V.

Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

E-mail: xmargeti@node.mendelu.cz, pavlusa@centrum.cz

ABSTRACT

The aim of this work was development of analytical method, which enables the determination of mercury species in sediment and water samples after their preconcentration. The high-performance liquid chromatography-cold vapour atomic fluorescence spectrometry (HPLC/CV-AFS) was optimised and used for separation and determination of mercury species – 2-mercaptophenol complexes. The separation of four mercury species was achieved by an isocratic elution profile of aqueous methanol (65/35 %) on a Zorbax SB-C18 column (4,6 x 150 mm, 5 µm). The limits of detection were 4,3 µg l⁻¹ for methylmercury (MeHg⁺), 1,4 µg l⁻¹ for ethylmercury (EtHg⁺), 0,8 µg l⁻¹ for inorganic mercury (Hg²⁺), 0,8 µg l⁻¹ for phenylmercury (PhHg⁺). A preconcentration method utilizing a "home-made" C18 solid phase extraction (SPE) microcolumns was developed to enhance sensitivity of the mercury species determination. The preconcentration method uses the same complexation reagent (2-mercaptophenol), which is used also as modifier at chromatographic separation. The preconcentration factor as much as 1000 was achieved by on-column complex formation of mercury-2-mercaptophenol. 100% methanol was chosen for elution of preconcentrated mercury species. The method was applied for the determination of mercury species in river water samples. High-pressure microwave digestion unit Ethos SEL was applied for microwave assisted extraction (MAE) of mercury species in sediment samples. A mixture containing 3M HCl and 0,2M citric acid and 50% methanol was selected as the most suitable extraction agent. Citric acid in extraction reagent masks co-extracted Fe³⁺. The efficiency of proposed extraction method was better than 95 % with RSD below 6 %.

Key words: mercury species, preconcentration, sediment, water, 2-mercaptophenol

ÚVOD

Rtuť jakožto globální polutant vyskytující se ve všech složkách životního prostředí je součástí celé řady komplexních bio-geochemických cyklů, např. vodně-biologických, atmosférických [1]. Stanovení chemických forem rtuti v některých ze složek bio-geochemických cyklů např. v sedimentech a vzorcích vod je z analytického hlediska velmi náročné. Stanovení je komplikováno nejenom velmi složitou maticí sedimentů a nebezpečím transformací jednotlivých specií rtuti [2-4], ale také velmi nízkými obsahy chemických forem rtuti v těchto materiálech. Pro stanovení specií rtuti ve vzorcích vod je využívána řada prekoncentračních metod nejčastěji založených na kapalina – kapalina extrakcích a extrakcích tuhou fází (SPE) [5-8]. Při izolaci specií rtuti ze sedimentů nesmí docházet k transformacím jednotlivých specií rtuti, ale zároveň výtěžky analytů musí být kvantitativní. Izolace specií rtuti se nejčastěji provádí kyselou a alkalickou hydrolyzou v mikrovlnném nebo ultrazvukovém extraktoru a destilací s vodní párou [9].

Cílem práce bylo vyvinout a optimalizovat citlivou a robustní analytickou metodu, která by umožňovala stanovení specií rtuti jak v sedimentech, tak i ve vodách po jejich prekoncentraci. Původní myšlenkou bylo spojení jednoduché, univerzální a velmi rychlé mikrovlnné extrakce sedimentů s chromatografickou separací specií rtuti a prekoncentrační metodou vzorků vod. Jako velmi výhodné se jeví použití jednotného komplexačního činidla (2-sulfanylfenolu) jako modifikátoru při chromatografické separaci i pro zachycení specií rtuti při prekoncentrační metodě.

MATERIÁL A METODIKA

Pro stanovení specií rtuti byl použit kapalinový chromatograf LC-200 (Perkin Elmer, Norwalk, USA) vybavený vysokotlakou pumpou Series 200 LC, autosamplerem Series 200 a atomovým fluorescenčním detektorem PSA Millenium Merlin (P S Analytical Ltd., Orpington, GB). Separace specií rtuti byla prováděna na koloně Zorbax SB-C18 (4,6 x 150 mm, 5 μ m, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Do toku mobilní fáze bylo dávkováno 100 μ l vzorku. Eluent z chromatografické kolony po smísení s okyseleným roztokem bromidu/bromičnanu přecházel přes UV reaktor, který zajišťoval převedení všech specií rtuti na Hg^{2+} . Rtuťnaté sloučeniny byly dále redukovány reakcí s SnCl_2 na elementární rtuť. Z roztoku byla pára rtuti uvolněna probubláním v g-l separátoru, vysušena v PermaPure[®] membránové jednotce a detekována AFS při 253,65 nm. Výsledná data byla zpracována chromatografickým softwarem Clarity (verze 2.1, Data Apex, Praha, ČR).

Pro stanovení celkové rtuti byl použit automatický atomový absorpční spektrometr AMA 254 (Altec, Praha, ČR).

Pro extrakce sedimentů byl používán vysokotlaký mikrovlnný extraktor Ethos SEL (Milestone, Itálie). pH extraktů bylo upravováno NaOH na hodnotu 3. K extraktům sedimentů (pH = 3) byl následně přidáván 2-sulfanylfenol, tak aby jeho koncentrace v extraktu sedimentu byla 30 mmol l⁻¹.

Pro přípravu prekoncentračních kolonek byl používán Spe-ed C18 sorbent (Applied Separations, Allentown, USA). Před prekoncentrací vzorku byly kolonky promyty v následujícím pořadí 5 ml methanolu, 5 ml deionizované vody, 20 ml 14mM 2-sulfanylfenolu a nakonec ještě 2 ml deionizované vody. Na takto předpřipravené kolonky byl nanášen vzorek pomocí peristaltické pumpy (Labeco PCR 01, Villa-Labeco, Slovakia) průtokovou rychlostí 5 ml min⁻¹.

Optimalizované parametry stanovení jsou zaznamenány v tabulce 1.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Navržená analytická metoda se skládala z vývoje a optimalizace extrakčního postupu, separační metody, detekčních podmínek a prekoncentrační metody.

Optimalizace extrakčního postupu

Nejvhodnější extrakční činidlo bylo vybíráno na základě extrakčních výtěžků, reprodukovatelnosti extrakce a stability extrahovaných specií rtuti. Extrakční výtěžky byly vypočítány jako procentuální rozdíl mezi celkovým obsahem rtuti v pevném vzorku sedimentu a v jeho extraktu. Extrakce byly prováděny v mikrovlnném extraktoru. Extrakční výtěžky vyšší než 90 % byly získány pouze při použití směsných extrakčních činidel na bázi 3M kyseliny chlorovodíkové a při použití 6M HCl a 6M HNO₃ jako extrakčního činidla. 3M kyselina chlorovodíková poskytovala nejvyšší extrakční účinnost (vyšší než 95 %) v kombinaci s 1M CuCl₂, 1M KBr, 0,1M NaCl a 0,2M kyselinou citronovou. S ohledem na následující zpracování extraktu sedimentu (úprava pH = 3 a přidavek 2-sulfanylfenolu) byla jako nejvhodnější extrakční činidlo zvolena směs obsahující 3M HCl + 0,2M kys. citronovou + 50%ní methanol. Kyselina citronová přítomná v extrakčním činidle maskuje vyextrahované Fe³⁺, které by se jinak z roztoku extraktu vylučovaly při úpravě pH jako sraženina Fe(OH)₃. Methanol zlepšuje extrakční účinnost o cca 5 % a také zvyšuje rozpustnost přidávaného 2-sulfanylfenolu. Vliv jednotlivých extrakčních činidel na extrakční výtěžky je znázorněn na obr. 1. Stabilita MeHg⁺ a Hg²⁺ v tomto extrakčním činidle byla ověřena analýzou referenčního materiálu sedimentu CRM 580. Během extrakčního kroku nedocházelo k žádným transformacím sledovaných specií rtuti.

Extrakční účinnost sedimentu je také výrazně ovlivněna dobou a teplotou při mikrovlnné extrakci. Na základě uvedených výsledků (obr. 2) byl stanoven optimální extrakční čas 7 min při teplotě 45 °C. Vzhledem k reálnému riziku transformací specií rtuti byla zvolena nejnižší možná teplota, při které byly získány výtěžky specií rtuti vyšší než 95 % a nebyly pozorovány transformační změny specií rtuti. Vzhledem ke konstrukci vysokotlakého mikrovlnného extraktoru Ethos SEL nebylo možné extrakci provádět s méně než 10 ml extrakčního činidla. Větší objem extrakčního činidla neovlivňoval extrakční výtěžky rtuti. Také velikost navážky sedimentu v rozmezí 1-3 g neměla vliv na výši extrakčních výtěžků. RSD mikrovlnné extrakce byla lepší než 6 %.

Separace chemických forem rtuti HPLC

Chromatografická separace specií rtuti (MeHg^+ , EtHg^+ , Hg^{2+} a PhHg^+) byla prováděna na chromatografické koloně Zorbax SB-C18 s reverzní fází. Specie rtuti byly separovány jako komplexy s 2-sulfanylfenolem, který slouží jako modifikátor separace. Modifikátor vytváří stabilní komplexy se speciemi rtuti a pomáhá tak překonat významné rozdíly v chemických a fyzikálních vlastnostech jednotlivých specií rtuti a tím umožňuje stanovit diametrálně odlišné sloučeniny v jednom separačním kroku. Stabilita komplexů specií rtuti s 2-sulfanylfenolem byla ovlivněna hodnotou pH. Komplexy byly stabilní více než 10 hodin, pokud bylo pH vzorku v rozmezí mezi 3-5. Nejlepší separace specií rtuti bylo dosaženo při izokratické eluci vodným roztokem methanolu (65/35 % methanol/ H_2O) při průtokové rychlosti $0,8 \text{ ml min}^{-1}$. Vzrůstající koncentrace 2-sulfanylfenolu ve vzorku způsobovala pokles rozlišení stanovovaných specií rtuti, avšak jeho koncentrace musela být dostatečná pro jejich úplnou komplexaci. Protože vzorky sedimentů obsahují vysokou koncentraci Fe^{3+} (jednotky g kg^{-1}), které také reagují s 2-sulfanylfenolem, bylo zapotřebí pro stanovení specií rtuti v sedimentech zvolit vyšší koncentraci 2-sulfanylfenolu. Pro stanovení MeHg^+ a Hg^{2+} v sedimentech byla zvolena 30mM koncentrace 2-sulfanylfenolu, pro stanovení specií rtuti v obohacených vodách byla dostatečná 5mM koncentrace 2-sulfanylfenolu.

Vzorový chromatogram standardů všech čtyř separovaných specií rtuti a reálného vzorku sedimentu Loučka je uveden na obr. 3. Pro stanovení MeHg^+ a Hg^{2+} v sedimentech byla použita kalibrace pomocí standardního přídatku. Správnost výsledků byla kontrolována analýzou certifikovaného referenčního materiálu CRM 580. Meze detekce a RSD uvedené v závorkách (při $20 \mu\text{g l}^{-1}$, $n = 5$) byly $4,3 \mu\text{g l}^{-1}$ (2,0 %) pro MeHg^+ , $1,4 \mu\text{g l}^{-1}$ (3,5 %) pro EtHg^+ , $0,8 \mu\text{g l}^{-1}$ (3,3 %) pro Hg^{2+} a $0,8 \mu\text{g l}^{-1}$ (4,5%) pro PhHg^+ . Navržená metoda byla porovnána s metodou popsanou v citaci [10]. Obě metody při stanovení MeHg^+ a Hg^{2+} v sedimentech poskytovaly shodné výsledky (odchylka do 7 %) (tabulka 2).

Prekoncentrace vzorků vod

Protože koncentrace specií rtuti ve vzorcích vod je velmi nízká a pohybuje se pod mezí detekce navržené metody, byla používána prekoncentrace specií rtuti na vyrobených C18 kolonkách. Prekoncentrační metoda využívá formování komplexů specií rtuti s 2-sulfanylfenolem přímo na C18 kolonce. Na kolonce (100 - 300 mg C18) bylo obvykle zakoncentrováváno 100 – 500 ml vzorku. Celková retenční kapacita kolonky (300 mg C18) byla 155 µg rtuti. Zadržené specie rtuti byly z kolonky uvolněny při protiproudé eluci 0,5 ml 100%ního methanolu. Optimalizované parametry prekoncentrace jsou uvedeny v tabulce 1. Navrženou prekoncentrační metodou bylo možné dosáhnout až 1000násobné prekoncentrace vzorku. Prekoncentrační metoda byla aplikována na stanovení specií rtuti v obohacených vzorcích říčních vod ($0,5 \mu\text{g l}^{-1}$) a v reálných (neobohacených) vzorcích říčních vod. V reálných (neobohacených) vzorcích říčních vod se obsahy specií rtuti i po prekoncentraci pohybovaly pod mezí detekce navržené metody. Analýzou obohacených vzorků říčních vod byly získány výsledky odpovídající přidanému množství specií rtuti (výtěžky 85 - 90 %). RSD prekoncentrační metody byla lepší než 10 %.

ZÁVĚR

Byla navržena vysoce citlivá metoda umožňující stanovení specií rtuti jak v sedimentech, tak i vzorcích vod po jejich prekoncentraci. Ve vzorcích vod bylo po prekoncentraci možné stanovit obsahy rtuti pohybující se ve stovkách ng l^{-1} . Navržená extrakční metoda je obecně použitelná pro extrakce sedimentů a lze ji následně kombinovat i s jinou než popsanou separační metodou. Kyselina citronová přítomná v extrakčním činidle maskuje vyextrahované Fe^{3+} , které by se jinak při úpravě pH z roztoku extraktu vylučovaly. Prekoncentrační metoda využívá pro zachycení specií rtuti stejné komplexační činidlo (2-sulfanylfenol), které je používáno i jako modifikátor při chromatografické separaci a zakoncentrovaný vzorek se tedy nemusí již následně upravovat.

PODĚKOVÁNÍ

Vznik této práce byl podpořen grantem GA ČR 525/06/P143

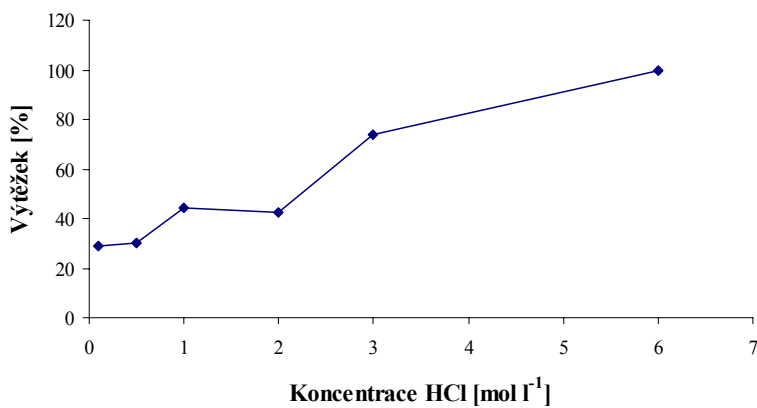
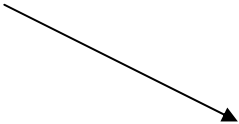
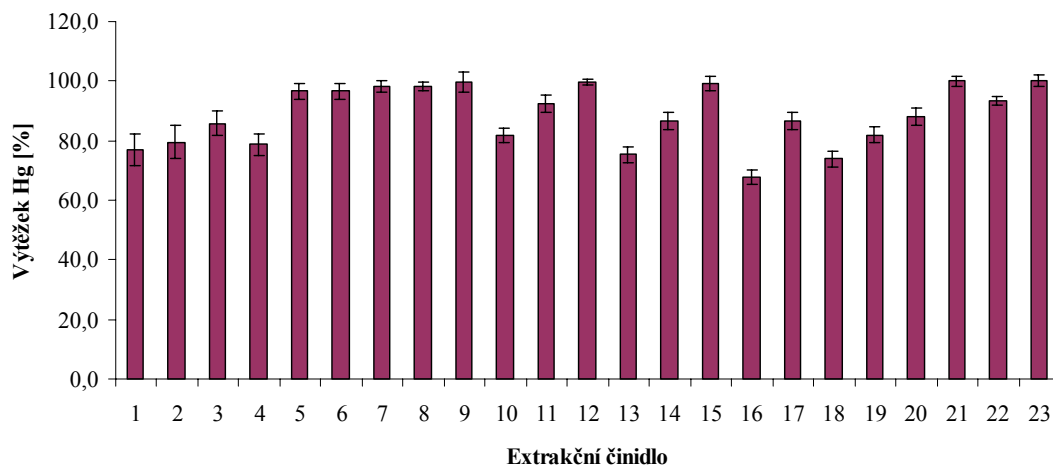
LITERATÚRA

1. Boening D.W.: *Chemosphere* 40, 1335-1351 (2000).
2. Yu L.-P., Yan X.-P.: *TrAC Tr. Anal. Chem.* 22(4), 245-253 (2003).
3. Falter R., Hintelmann H., Quevauviller D.: *Chemosphere* 39(7), 1039-1049 (1999).
4. Falter R.: *Chemosphere* 39(7), 1051-1073 (1999).
5. Falter R., Ilgen G.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 358, 401-406 (1997).
6. Falter R., Scholer H.F.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 353, 34-38 (1995).
7. Mena M.L., McLeod C.W., Jones P., Withers A., Minganti V., Capelli R., Quevauviller P., Fresenius J. *Anal. Chem.* 351, 456-460 (1995).
8. Shabani A.M.H., Dadfarnia S., Nasirizadeh N.: *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 1388-1391 (2004).
9. Houserová P., Janák K., Kubáň P., Pavlíčková J., Kubáň V.: *Chem. Listy* 100, 862-876 (2006).
10. Houserová P., Matějčík D., Kubáň V., Pavlíčková J., Komárek J.: *J. Sep. Sci.* 29, 248-255 (2006).

Tabulka 1: Experimentální podmínky

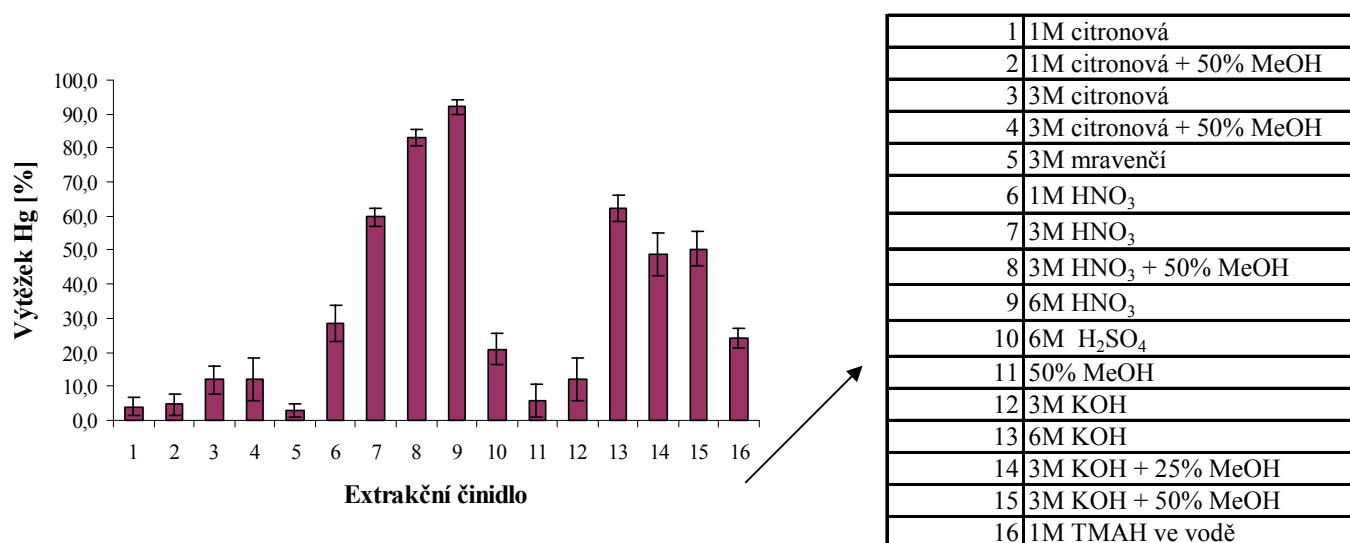
HPLC	
Kolona	Zorbax SB-C18 (4,6 x 150 mm, 5 µm, Agilent Technologies, USA)
Mobilní fáze	65/35 % methanol/H ₂ O
Průtoková rychlost	0,8 ml min ⁻¹
Injektovaný objem	100 µl
AFS	
Oxidační činidlo	0,2 mol l ⁻¹ KBr + 0,04 mol l ⁻¹ KBrO ₃ v 5% HCl + 0,004 % hydroxylamin hydrochlorid, průtoková rychlost 2,5 ml min ⁻¹
Redukční činidlo	2 % (m/v) SnCl ₂ v 10 % HCl, průtoková rychlost 2,5 ml min ⁻¹
MWE	
Doba extrakce	7 min
Teplota	45 °C
Výkon	400 W
Extrakční činidlo	3M HCl + 0,2M kyselina citronová + 50% methanol (10 ml)
Prekoncentrace	
Předpříprava kolonky	viz experimentální část
Objem a průtoková rychlost vzorku	100-500 ml, 5 ml min ⁻¹
Eluční činidlo a jeho průtok. rychlost	100 % methanol, 0,1 ml min ⁻¹
Eluční objem	0,5 ml

Obr. 1: Vliv extrakčních činidel na extrakční výtěžky

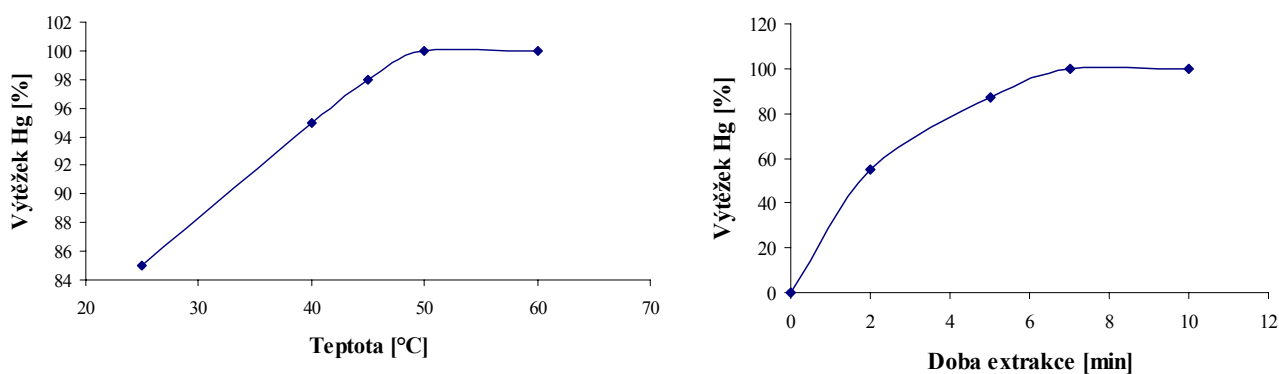


1	3M HCl + 10% MeOH
2	3M HCl + 25% MeOH
3	3M HCl + 50% MeOH
4	3M HCl + 0,05M NaCl
5	3M HCl + 0,1M NaCl
6	3M HCl + 0,5M NaCl
7	3M HCl + 0,1M NaCl + 10% MeOH
8	3M HCl + 0,1M NaCl + 25% MeOH
9	3M HCl + 0,1M NaCl + 50% MeOH
10	3M HCl + 0,1M KBr
11	3M HCl + 0,1M KBr + 50% MeOH
12	3M HCl + 1M KBr
13	3M HCl + 0,1M CuCl ₂
14	3M HCl + 0,1M CuCl ₂ + 50% MeOH
15	3M HCl + 1M CuCl ₂
16	3M HCl + 0,1M octová
17	3M HCl + 0,5M octová
18	3M HCl + 0,1M citronová
19	3M HCl + 0,1M citronová + 50% MeOH
20	3M HCl + 0,2M citronová
21	3M HCl + 0,2M citronová + 50% MeOH
22	3M HCl + 0,3M citronová
23	3M HCl + 0,3M citronová + 50% MeOH

Obr. 1a: Vliv extrakčních činidel na extrakční výtěžky



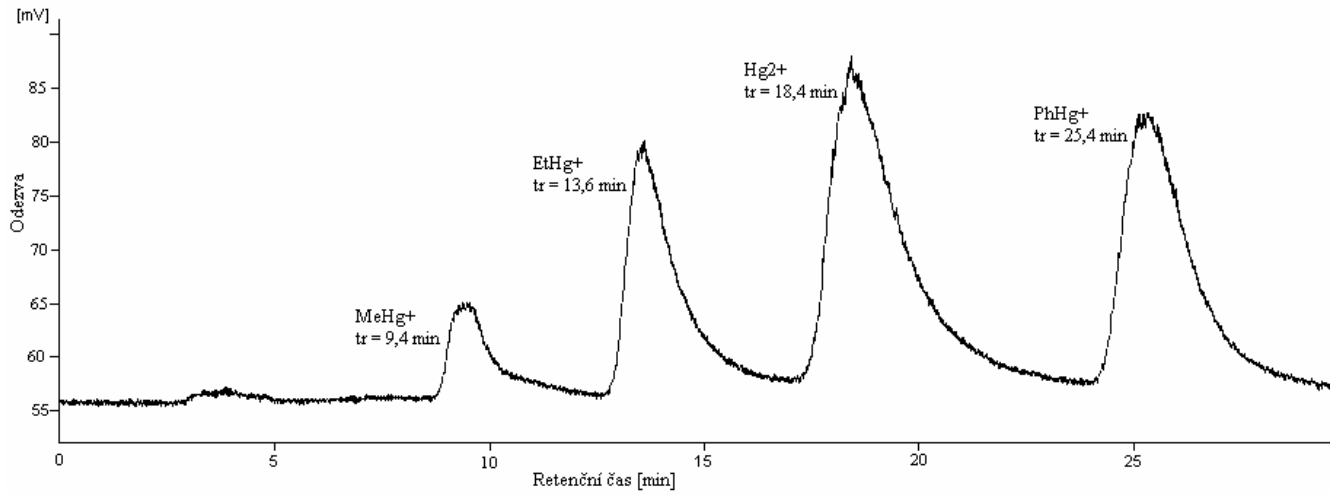
Obr. 2: Vliv doby extrakce a extrakční teploty na výtěžek rtuť (extr. činidlo 3M HCl + 0,2M kys. citronová + 50% MeOH, sediment Loučka)



Tabulka 2: Porovnání metod při stanovení MeHg⁺ a Hg²⁺ v sedimentech

Odběrové místo rok 2006	Komplexy s 2-sulfanylfenolem		Komplexy s 2-sulfanylethanolem	
	MeHg ⁺ [mg kg ⁻¹] v sušině	Hg ²⁺ [mg kg ⁻¹] v sušině	MeHg ⁺ [mg kg ⁻¹] v sušině	Hg ²⁺ [mg kg ⁻¹] v sušině
Jihlava-Hrubšice	0,046	0,098	0,044	0,092
Loučka-Strážek	0,022	0,097	0,021	0,091
Bečva-Choryně	0,031	0,110	0,029	0,104

Obr. 3: Chromatogram standardů všech čtyř separovaných specií rtuti ($100 \mu\text{g l}^{-1}$ každé)



Obr. 4: Chromatogram reálného vzorku sedimentu Loučka

