

**NGHIÊN CỨU SỰ CHUYỂN HÓA CÁC DẠNG ASEN VÀ SELEN TRONG
QUÁ TRÌNH BẢO QUẢN, XỬ LÝ MẪU PHÂN TÍCH DẠNG BẰNG PHƯƠNG
PHÁP HVG-AAS KẾT HỢP VỚI CHEMOMETRICS**

Đến tòa soạn 4 – 11 – 2014

Tạ Thị Thảo

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Hà Nội

Phạm Hồng Chuyên

Khoa Khoa học cơ bản- Trường Đại học Công nghệ Giao thông vận tải

SUMMARY

**STUDY THE CONCENTRATION CHANGE OF ARSENIC AND SELENIUM
SPECIES IN SAMPLE PRESEVATION, SAMPLE PREPARATION FOR
ELEMENT SPECIATION BY HVG – AAS METHOD COMBINES WITH
CHEMOMETRICS**

It is very essential for Chemical Speciation of elements to find out the suitable sampling, sample presevation and sample preparation methods so that there is no change in dominant forms and losing of analytes. This study concentrated on the effect of pH, container's materials, present of iron(III) and dissolved oxygen in samples. The absorption of total trace arsenic and selenium on the surface of glass containers had been recognised if sample pH was above 6, concentration of Fe(III) was excess 200 ppb or samples were kept for a long time. The oxidizing process of As(III) to As(V), Se(IV) and SeMt to Se(VI) occurred if oxygen was not removed. The determination of arsenic and selenium species will be carried out with satisfied results in synthesis samples if the water samples are kept at pH around 2 using nitrogen for removing oxygen in Teflon container at 4⁰C within 48h of analyzing. The effect of Fe(III) in water sample was eliminated by using 0,2 M EDTA.

1. MỞ ĐẦU

Các nghiên cứu về độc tính và tích lũy sinh học chỉ ra rằng tổng hàm lượng của

chất ô nhiễm không phản ánh chính xác thông tin về ảnh hưởng của nó với môi trường sống. Ví dụ asen tồn tại chủ yếu

ở môi trường nước tự nhiên dưới 4 dạng là As(III), As(V), dimethyl arsen (DMAs) và monomethyl asenat (MMAs) nhưng độc tính của các dạng arsen giảm dần theo thứ tự $\text{AsH}_3 > \text{As(III) vô cơ} > \text{As(III) hữu cơ} > \text{As(V) vô cơ} > \text{As(V) hữu cơ}$ [1] hoặc selen trong thực phẩm tồn tại chủ yếu dạng Se(IV), Se(VI) do cây hấp thụ từ đất, nước và chuyển hóa thành các dạng hữu cơ như dimethyl ditiiselenite (DMDSe), dạng liên kết protein như selen methionine (SeMt) [2].

Để phân tích các dạng arsen và selen ngoài kỹ thuật phân tích đòi hỏi có sự kết hợp giữa các kỹ thuật tách (chủ yếu sắc ký lỏng hiệu năng cao - HPLC hoặc sắc ký ion - IC) với bộ phận phát hiện HVG-AAS hoặc ICP- MS [3,4,5] hoặc tách tín hiệu nhờ sử dụng thuật toán hồi qui đa biến [6] thì khó khăn nhất và gây sai số đáng kể là việc lấy mẫu, bảo quản và chiết tách để không làm biến đổi giữa các dạng hoặc gây mất chất phân tích. Đối với phân tích lượng vết, sự có mặt của các ion cản trở hoặc hấp phụ vào thành bình thường là nguyên nhân chính làm giảm nồng độ các chất phân tích [7,8].

Trong nghiên cứu này, các yếu tố ảnh hưởng như pH của mẫu, vật liệu bình chứa, thời gian bảo quản, ảnh hưởng của oxi hòa tan, sự có mặt chất đi kèm Fe^{3+} và biện pháp loại trừ được nghiên cứu với sự có mặt đồng thời của 4 dạng arsen và 4 dạng selen trên cơ sở phân tích bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử kỹ thuật hidrua hóa kết hợp với thuật

toán thống kê đa biến từ đó có phương pháp bảo quản mẫu phù hợp.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất và thiết bị

Các loại hoá chất được sử dụng là loại tinh khiết phân tích (P.A.) và các dung dịch được pha chế bằng nước cất 2 lần.

Các dung dịch chuẩn gốc As(III) 1000ppm, As(V) 1000ppm, Se(IV) 1000ppm, Se(VI) 1000ppm, Sb(III) 1000ppm, Sb(V) 1000ppm đặt mua của hãng Sigma Aldrich.

- Dung dịch chuẩn gốc dimethyl arsen at (DMA) 1000ppm tính theo As được chuẩn bị bằng cách hòa tan lượng $(\text{CH}_3)_2\text{HAsO}_2$ 99,8 % tính trước bằng nước cất, lắc đều cho tan hoàn toàn, định mức tới vạch bằng nước loại ion.

- Dung dịch chuẩn gốc monomethyl asenat (MMA) 1000ppm tính theo As được chuẩn bị bằng cách hòa tan lượng $\text{CH}_3\text{AsO}_3\text{Na}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 99,98% tính trước bằng nước cất, lắc đều cho tan hoàn toàn, định mức tới vạch bằng nước loại ion.

- Dung dịch chuẩn gốc Selenomethionine 1000ppm: pha từ chất chuẩn Selenomethionine $(\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}(\text{COO}^-) - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{Se} - \text{Me})$ 99,8% của hãng Sigma Aldrich trong môi trường HCl pH=2.

- Dung dịch chuẩn gốc Dimethyl Diselenide 1000ppm: pha từ chất chuẩn Dimethyl Diselenide $(\text{CH}_3 - \text{Se} - \text{Se} - \text{CH}_3)$ 99,8% trong ancol etylic 10%. Các dung dịch này được đậy kín tránh oxi xâm nhập và để trong tủ lạnh ở 4°C .

Các dung dịch chuẩn As(III), As(V),

Se(IV), Se(VI), Sb(III), Sb(V) có nồng độ thấp hơn được pha chế hàng tuần từ các dung dịch chuẩn gốc bằng nước cất và được bảo quản trong bình nhựa ở 4°C, đây kín tránh cho oxi xâm nhập trong suốt quá trình làm thí nghiệm.

Dung dịch NaBH₄ 1% pha trong NaOH 0,5%: Cân 1,0g NaBH₄ hòa tan trong 10ml dung dịch NaOH 5%, chuyển vào bình định mức 100ml, định mức tới vạch và lắc đều.

Các dung dịch HCl 6M, HCl 1M: Pha từ HCl đặc 37% của hãng Merck – Đức.

Các dung dịch đệm tatrict – tatrictat 1M có pH = 2, 3, 4: pha chế từ axit tatrict và muối kali natri tatrictat và hiệu chỉnh bằng máy đo pH. Các dung dịch chuẩn các dạng arsen dùng để khảo sát khoảng tuyến tính được pha từ các dung dịch chuẩn gốc. Phổ hấp thụ nguyên tử của As được xác định trên thiết bị Shimadzu AAS 6800 của Nhật Bản cùng bộ Hidrua hóa HG-1.

2.2. Cách tiến hành

Mỗi dung dịch chứa đồng thời 4 dạng arsen và 4 dạng selen ở mức nồng độ 15-25 ppb được phân tích lại nồng độ của từng dạng khi thay đổi các yếu tố ảnh hưởng như pH của dung dịch mẫu, vật liệu bình chứa, thời gian lưu giữ mẫu, loại bỏ oxi bằng nito và có mặt các chất cản trở.

Nồng độ mỗi một trong 4 dạng chất phân tích của mỗi nguyên tố trong cùng hỗn hợp được xác định đồng thời bằng phương pháp HVG- AAS kết hợp với tách tín hiệu bằng thuật toán hồi qui cầu từ chính sử dụng phần mềm Matlab. Các

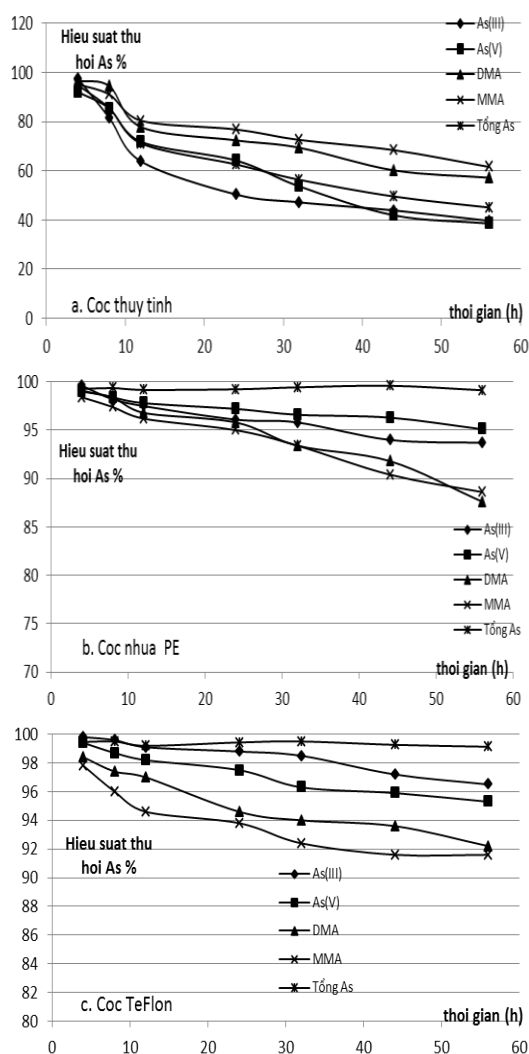
điều kiện đo và phương pháp xử lý số liệu như trong ba bài báo đã công bố [6,9,10].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của pH, vật liệu bình chứa và thời gian bảo quản mẫu đến sự chuyển dạng và mất chất phân tích

Các thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của vật liệu bình chứa ở các giá trị pH khác nhau với mẫu phân tích chứa 4 dạng riêng rẽ của As(III), As(V), MMA và MDA; 4 dạng của selen gồm Se (IV), Se (VI), MDSe và SeMt ở các mức nồng độ là 25, 25, 15 và 15 ppb với các loại bình chứa làm bằng thủy tinh, nhựa PE, nhựa Teflon đều do hãng Bomex (Đức) sản xuất. Ảnh hưởng của oxi được loại trừ bằng cách sục khí nitơ khoảng 20 phút.

Kết quả khảo sát tại pH = 2 với các dạng arsen khác nhau được giữ trong các loại cốc làm từ vật liệu khác nhau ở hình 1 cho thấy nếu là vật liệu thủy tinh thì sau 10h hàm lượng các dạng As và tổng As đều bị mất đến 60%. Trong khi mẫu đựng ở các cốc làm bằng nhựa PE và Teflon sau 40h lượng hao hụt dưới 10% trừ hai dạng arsen hữu cơ lên đến 13%, chứng tỏ các vật liệu này hầu như không hấp phụ các dạng As. Mặc dù khi thời gian lưu giữ mẫu tăng thì sự mất các dạng chất phân tích có xảy ra nhưng không đáng kể.



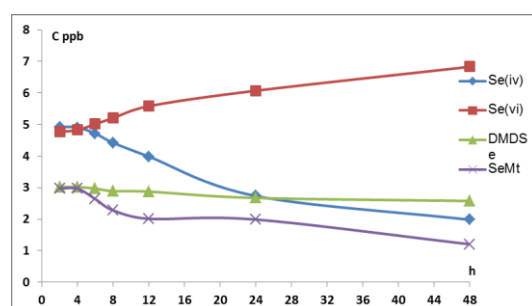
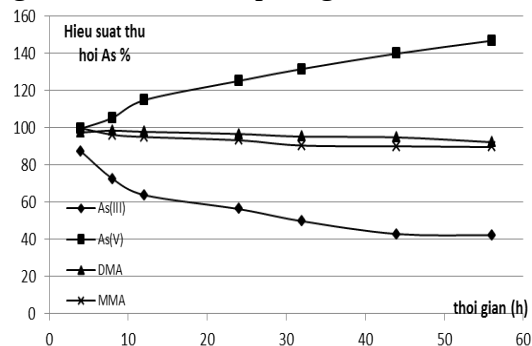
Hình 1. Ảnh hưởng vật liệu bình chứa đến sự chuyển dạng As trong dung dịch nước a. thủy tinh; b. Cốc nhựa PE; c. Cốc Teflon)

Đối với các dạng selen, tiến hành tương tự như trên cho thấy khi phân tích trong khoảng 8h, nếu pH của dung dịch mẫu dưới 2 thì hầu như không có sự thay đổi nồng độ các dạng. Ở các giá trị pH cao hơn 5, sự giảm nồng độ tất cả các dạng xảy ra, độ thu hồi tổng hàm lượng selen giảm đi khoảng 10% nếu vật liệu bình chứa là thủy tinh hoặc nhựa. Tuy nhiên nếu sử dụng bình Teflon thì hầu như không có sự thay đổi nồng độ các dạng se ngay cả khi pH cao.

3.2. Ảnh hưởng của oxi trong dung dịch đến sự chuyển dạng và mất chất phân tích

Đối với các thí nghiệm khi không sục oxi vào dung dịch để bảo quản thì dạng Se (IV) vô cơ và các dạng hữu cơ (DMDSe, SeMt) có xu hướng chuyển sang dạng Se (VI) vô cơ trong đó hàm lượng của dạng SeMt sau 8h giảm đi rõ rệt (hình 2).

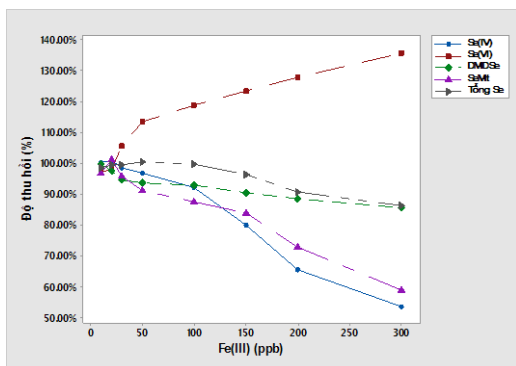
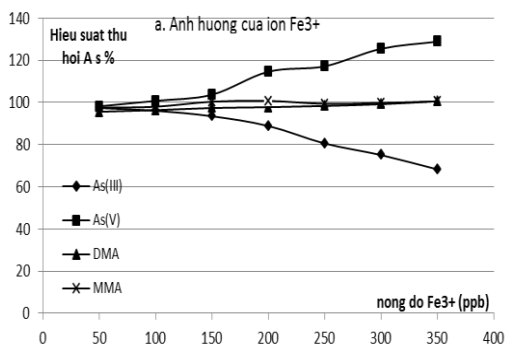
Như vậy đối với các dạng selen, sau 4h bắt đầu có sự giảm nhanh nồng độ Se(IV) và SeMt trong khi nồng độ dạng Se(VI) Điều này được lý giải do hai dạng này không bền nên dễ bị oxi hóa bởi oxi không khí thành Se(VI). Chúng tôi đã sử dụng nitơ để đuổi oxi thì nhận thấy sự thay đổi nồng độ dạng arsen và selen là không đáng kể ngay cả sau khi giữ 48h ở nhiệt độ phòng.



Hình 2: Sự chuyển hóa dạng Se và As khi có mặt của oxi không khí (tại pH=2, mẫu được giữ trong bình teflon)

3.3. Ảnh hưởng của Fe^{3+} đi kèm trong nền mẫu và cách loại trừ

Đối với các mẫu nước, ảnh hưởng của ion Fe^{3+} đã được chứng minh do nó có vai trò xúc tác cho phản ứng oxi hóa As(III) thành As(V) ở pH cao [7], trong khi với các mẫu thực phẩm sự mất của chất béo trong nền mẫu gây ảnh hưởng đáng kể đến phép xác định.

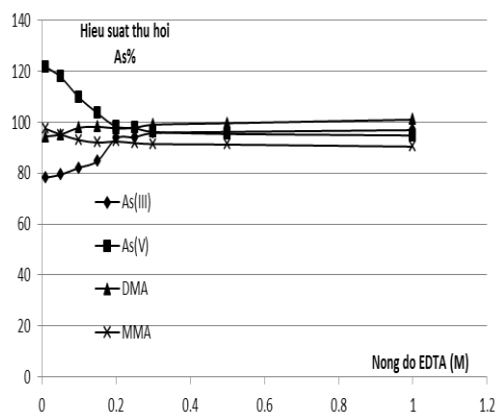


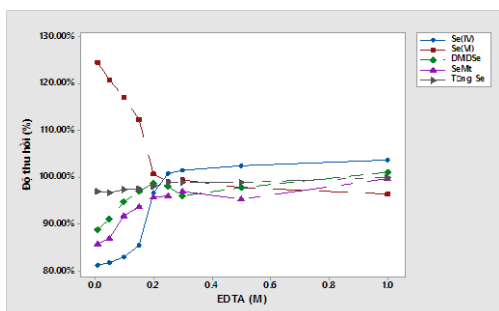
Hình 3. Ảnh hưởng của ion Fe^{3+} đến sự chuyển dạng As, Se trong dung dịch nước

Kết quả thực nghiệm ở hình 3 cho thấy, khi nồng độ Fe(III) trong mẫu dưới 5 ppb thì không gây ra ảnh hưởng đáng kể đến dạng tồn tại của selen. Trong khoảng nồng độ Fe(III) từ 50- 150 ppb, bắt đầu có sự chuyển Se(IV) thành Se(VI) trong khi các dạng selen hữu cơ

gần như không thay đổi, tổng dạng selen giảm không đáng kể chứng tỏ có sự chuyển các dạng selen về Se(VI) . Sự có mặt của ion Fe^{3+} ở mức lớn hơn 150ppb sẽ ảnh hưởng đến sự tồn tại của các dạng As(III) và As(V) vô cơ. Vì vậy cần giảm lượng Fe^{3+} trong mẫu hoặc loại trừ ảnh hưởng của nó bằng việc thêm một chất tạo phức bền với ion này.

Ảnh hưởng của ion Fe^{3+} đến sự chuyển dạng của Asen và selen tại pH = 2 có thể được loại trừ bằng EDTA nhờ chất này tạo phức bền với Fe^{3+} . Kết quả khảo sát cho thấy nồng độ EDTA khoảng 0,2M loại trừ được hầu hết ảnh hưởng của ion Fe^{3+} ngay cả khi hàm lượng Fe^{3+} có trong dung dịch lớn hơn các dạng As 100 lần, với hàm lượng Fe^{3+} lớn hơn thì hàm lượng EDTA cho vào cũng cần tăng thêm. Qua thực tế, chúng tôi thấy hàm lượng EDTA cho vào các dung dịch lên đến 1M thì tín hiệu đo thay đổi không đáng kể, độ sai lệch giữa các lần đo không nhiều (độ lệch chuẩn nhỏ).





Hình 5: Khả năng loại trừ ảnh hưởng của Fe^{3+} bằng EDTA 0,2 M khi phân tích các dạng As, Se

Tuy nhiên, theo kết quả tính hiệu suất thu hồi cho thấy các dạng Se(IV), DMDSe, SeMt đều tăng còn Se(VI) giảm xuống, trái ngược lại so với thí nghiệm chỉ thêm Fe^{3+} mà không thêm EDTA. Điều này có thể kết luận EDTA làm giảm khả năng chuyển hóa dạng Se khi có mặt của ion Fe^{3+} , như vậy trong quá trình bảo quản mẫu nên cho EDTA để giảm khả năng ảnh hưởng của Fe^{3+} . Theo kết quả biểu diễn trên hình, đường biểu diễn của Se(VI) đi xuống, đường biểu diễn Se(IV) đi lên và giao nhau ở điểm nồng độ EDTA là 0,2M, các đường biểu diễn DMDSe, SeMt cũng có xu hướng đi lên, các đường này thay đổi không đáng kể khi $EDTA \geq 0,2M$. Như vậy có thể khẳng định quá trình chuyển dạng chính khi có mặt của Fe^{3+} là từ Se(IV) thành Se(VI), khi thêm EDTA vào thì quá trình này hầu như không diễn ra nữa. Chúng tôi chọn lượng EDTA cho vào các dung dịch để bảo quản có nồng độ cuối cùng là 0,2M.

4. KẾT LUẬN

Bằng cách phân tích đồng thời bốn dạng asen và bốn dạng selen trong mẫu nước trong các điều kiện bảo quản mẫu khác nhau, chúng tôi nhận thấy có thể khắc phục sự chuyển dạng asen và selen hoặc giảm sự hấp phụ lượng vết vào thành bình nếu mẫu được bảo quản trong bình teflon hoặc bình nhựa, pH của mẫu nên được giữ dưới 6. Ảnh hưởng của oxi hòa tan trong mẫu được loại trừ bằng cách sục khí N_2 vào dung dịch ít nhất 1 phút. Ion Fe(III) có mặt trong mẫu ở hàm lượng lớn hơn 200 ppb sẽ làm tăng sự oxi hóa các dạng As(III) thành As(V), Se(IV) và SeMt thành Se(VI) do vậy cần loại trừ bằng cách chuyển mẫu về pH=2 và thêm EDTA 0,2M. Các mẫu được bảo quản ở 4°C và phân tích trong vòng 48h kể từ khi lấy mẫu.

Lời cảm ơn: Công trình này được hoàn thành nhờ hỗ trợ kinh phí của đề tài đặc biệt cấp Đại học Quốc Gia Hà Nội, mã số QG-12.06

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M. Morita, J. S. Edmonds (1992). Determination of Arsenic species in Environmental and Biological samples, *Pure and Applied Chemistry*, Vol. 64(4), 575 – 590.
2. Arthur, M.A., Rubin, G. and Woodbury, P.B. (1992) Uptake and accumulation of selenium by terrestrial plants growing on a coal fly ash landfill. 2. Forage and root caps. *Euvirion*.

Toxicol. Chenz. 1 1(9), 1289-1299.

3. R. Cornelis, H. Crews, J. Caruso and K. Heumann (2003). *Handbook of Elemental Speciation: Techniques and Methodology*. John Wiley & Sons Ltd. ISBN: 0-471-49214-0.

4. Kazi Farzana Akter, Gary Owens, David E. Davey, and Ravi Naidu. Arsenic Speciation and Toxicity in Biological Systems. *Rev Environ Contam Toxicol* 184:97–149

5. Jackson, B.P. and Miller, W.P (1998). Arsenic and selenium speciation in coal fly ash extracts by ion chromatography-inductive coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13(10), 1107-1112.

6. Nguyễn Thị Thu Hằng, Tạ Thị Thảo, Phạm Hồng Chuyên, Chu Xuân Anh (2010). Nghiên cứu xác định đồng thời các dạng asen vô cơ và hữu cơ bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng kỹ thuật hidrua hóa (HVG-AAS) kết hợp với thuật toán hồi qui đa biến. *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học*-Tập 15, số 4, trang 230-236,.

7. PMccleskey R. Blaine, Nordtrom D. Ki; Maest Ann S. (2004) reservation of water samples for arsenic(III/V) determinations: an evaluation of the

literature and new analytical results. *Applied geochemistry* . Vol. 19, No.7, pp 995-1009

8. Richard J.C. Brown, Martin J.T. Milton (2005). Analytical techniques for trace element analysis: an overview. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 24, No. 3.

9. Tạ Thị Thảo, Nguyễn Thị Thu Hằng, Phạm Hồng Chuyên (2014). Nghiên cứu xác định đồng thời các dạng asen vô cơ và hữu cơ bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng kỹ thuật hidrua hóa (HVG-AAS) kết hợp với thuật toán hồi qui đa biến. II. Khảo sát tính cộng tính và xây dựng mô hình hồi qui đa biến tuyến tính. *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học Việt Nam. Tập 19, Số 2. Trang 59-67.*

10. Phạm Hồng Chuyên, Tạ Thị Thảo, Nguyễn Thị Thu Hằng (2012). Nghiên cứu xác định đồng thời các dạng asen vô cơ và hữu cơ bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng kỹ thuật hidrua hóa (HVG-AAS) kết hợp với thuật toán hồi qui đa biến. III. Đánh giá phương pháp phân tích và ứng dụng phân tích mẫu thực tế. *Tạp chí khoa học Đại học Quốc Gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ. Vol. 28, Số 1A. Trang 7-13.*