

**XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI As (III), As(V), MONOMETHYLARSONIC (MMA)
VÀ DIMETHYLARSONIC (DMA) TRONG NƯỚC GIẾNG KHOAN BẰNG HPLC-ICP-MS
TẠI XÃ CHUYỀN NGOẠI VÀ CHÂU GIANG HUYỆN DUY TIỀN TỈNH HÀ NAM**

Đến toà soạn 16 - 6 - 2015

Phạm Hải Long, Trần Văn Cường

Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

SUMMARY

**SIMULTANEOUS DETERMINATION OF FOUR SPECIES (As(III), As(V),
MONOMETHYLARSONIC AND DIMETHYLARSONIC) IN TUBE WELL WATER
BY HPLC-ICP-MS IN CHUYEN NGOAI, CHAU GIANG COMMUNE,
DUYTIEN DISTRICT, HANAM PROVINCE**

Simultaneous determination of four arsenic species (arsenite, arsenate, monomethylarsonic acid and dimethylarsonic acid) was well developed and validated. The Anion exchange separation of As(III), As(V), DMA and MMA was accomplished on a Hamilton PRP - X100 column using 12.5 mM (NH₄)₂HPO₄ (pH= 8.5 adjusted by ammonium hydroxide) solution containing 3 % v/v of methanol as the mobile phase. The arsenic species were detected and determined by ICP-MS. The concentrations of arsenic in the two villages (Chuyen Ngoai, Chau Giang) in Ha Nam province in northern Vietnam significantly exceeded the Vietnamese drinking water standard for arsenic (10 µg/L) with average concentrations of 510 and 118 µg/L on the dry season, 359 and 90 µg/L on the rainy season, respectively. According to the results of the arsenic speciation testing, the predominant arsenic species in the groundwater existed as arsenite [As(III)]. This page was analyzed 200 samples ground water in Duy Tien District, Ha Nam Province.

Keywords: *As(III), As(V), MMA, DMA, HPLC, ICP-MS, Duy Tien District, Ha Nam Province.*

1. MỞ ĐẦU

Hàm lượng asen cao trong nước ngầm ở nhiều khu vực trên thế giới cũng như ở Việt Nam đang là mối quan tâm đặc biệt của Chính phủ và người dân. Đã có rất nhiều công trình nghiên cứu điều tra về nguồn

gốc asen có trong nước ngầm, mức độ ô nhiễm, chu trình vận chuyển, quy luật về mỗi hình thái động của nguyên tố rất độc hại này. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu tại Việt nam đã công bố đều chưa đưa ra được các dạng tồn tại của asen trong nước

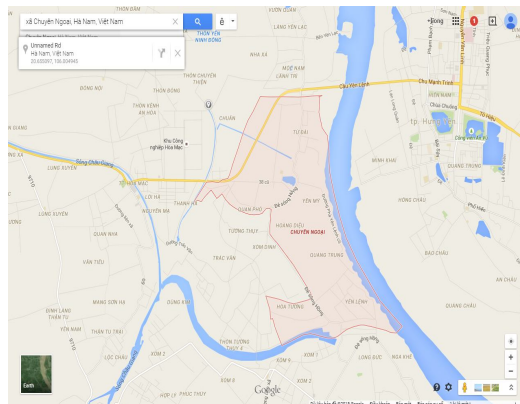
ngầm đối với các khu vực bị ô nhiễm asen ví dụ như As(III), As(V), monomethylarsonic (MMA) và dimethylarsonic (DMA). Do độc tính của nguyên tố asen đối với con người và động vật phụ thuộc vào dạng tồn tại, ở nhiều dạng khác nhau với các độc tính khác nhau. Nói chung, As vô cơ độc hơn As hữu cơ, As (III) độc hơn As (V), còn độc tính của DMAIII lại thấp hơn MMAV. As hữu cơ có độc tính thấp hơn As vô cơ là nhờ phản ứng metyl hóa từ từ hoặc quá trình biến đổi của nguyên tố trong các hợp chất hữu cơ. Độc tính của As cao gấp 4 lần thủy ngân, liều lượng gây chết người là 125 mg. Hầu hết As đã hấp thụ sẽ được bài tiết qua nước tiểu, phân, da, tóc, móng và hơi thở.

Hiện tại trên thế giới để xác định được đồng thời As(III), As(V), monomethylarsonic acid (MMA) và dimethylarsonic acid (DMA) đạt tiêu chuẩn nước uống, nước ngầm và mẫu sinh học các phòng thí nghiệm phải ghép nối thiết bị HPLC và CE [1] với các thiết bị UV-HG-AAS; HG-AFS [2,3] và ICP-MS để xác định [4,5].

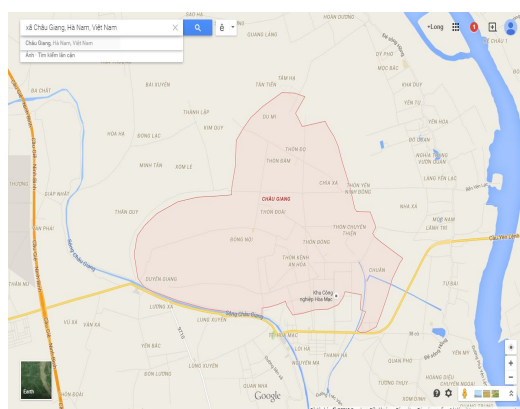
Do vậy nhóm tác giả “Xác định đồng thời As(III), As(V), monomethylarsonic acid (MMA) và dimethylarsonic acid (DMA) trong nước giếng khoan tại hai xã Chuyên Ngoại và Châu Giang huyện Duy Tiên tỉnh Hà nam bằng phương pháp ghép nối HPLC- ICP-MS”. Ưu điểm của phương pháp là độ chính xác cao, độ lặp lại tốt và độ nhạy của phương pháp là $0,5\mu\text{g/L}$ đối với As III.

Xã Chuyên ngoại Hình 1 và Châu giang Hình 2 nằm trong khu vực đồng bằng giữa sông Châu Giang và sông Hồng cách Hà

Nội khoảng 55 km. Theo nhiều nguyên cứu tại khu vực Hà Nam hàm lượng asen trong nước giếng khoan kiểu UNICEF cao hơn tiêu chuẩn cho phép 21 đến 35 lần [6] tiêu chuẩn $10\mu\text{g/L}$.



Hình 1: Bản đồ xã Chuyên Ngoại, Hà Nam



Hình 2: Bản đồ xã Châu giang, Hà Nam

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất và thuốc thử

Sodium cacodylate (dimethylarsonic acid) $\text{C}_2\text{H}_8\text{AsNaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Disodium methyl arsenate $\text{CH}_3\text{AsNa}_2\text{O}_3$ -Sigma Aldrich, Sodium arsenate 7-hydrate $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - Beijing Trung Quốc, Sodium arsenite NaAsO_2 -MP Biomedicals North America. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ Di-

ammonium hydrogen phosphate, NaOH, NH₄OH- Merck (Đức). Nước cất siêu sạch có điện trở 18,2 MΩ Millipore, Khí Ar >99.999% (>5.0) Messer- Singapor.

Dung dịch chuẩn As(III), As(V), monomethylarsonic (MMA) và dimethylarsonic (DMA) 1gram/L được chuẩn bị như sau:

Sodium cacodylate (dimethylarsonic acid) C₂H₈AsNaO₂.3H₂O cân 0.2855 gram, Disodium methyl arsenate CH₃AsNa₂O₃ cân 0.245 gram, Sodium arsenate 7- hydrate Na₂HAsO₄.7H₂O cân 0.416 gram và Sodium arsenite NaAsO₂ cân 0.173 gram định mức 100mL bằng nước cất siêu sạch có điện trở 18,2 MΩ Millipore cho vào bình tối để lạnh 4°C dung dịch ổn định trong 30 ngày.

Dung dịch làm việc (1) 10 mg/L được chuẩn bị: Từ dung dịch chuẩn 1 gram/L ở trên dùng Micro pipet 1mL hút chính xác 1mL và định mức vào bình định mức 100 mL bằng nước cất siêu sạch có điện trở 18,2 MΩ Millipore), dung dịch này để bảo quản lạnh 4°C có thể dùng được trong 15 ngày.

Từ dung dịch làm việc (1) 10 mg/L pha ra các nồng độ, 2μg/L, 5μg/L, 10μg/L, 25μg/L và

50μg/L để xây dựng đường chuẩn cho phương pháp phân tích. Dung dịch này pha hàng ngày trước khi phân tích.

Dung dịch nội chuẩn Germany 1gram/L (Merck) pha xuống dung dịch làm việc 1mg/L và thêm 25μL vào 1mL dung dịch chuẩn và mẫu trước khi bơm vào hệ thống HPLC-ICP-MS, dung dịch nội chuẩn có nồng độ 25μg/L.

Dung dịch chuẩn máy: Mg, Rh, Ce, Pb, U, In, Be, Co μg/L Perkin Elmer-Mỹ.

Axit HNO₃, H₃PO₄, NH₄OH, MeOH - Merck (Đức).

Axit HNO₃ 2% (v/v) được pha từ HNO₃ đặc. Cho vào bình định mức 1000 ml khoảng 500 ml nước siêu sạch, thêm 20 ml axit HNO₃ đặc (ultra - high - purity grade) vào và lắc đều. Dùng nước cất siêu sạch điền đến vạch định mức.

2.2. Thiết bị

Máy ICP - MS: ELAN 9000 Perkin Elmer, Máy HPLC Altech -Mỹ. Cột sắc ký: Hamilton PRP-X 100 250mm- 4,6mm, Vòng bơm mẫu (loop) 100 μL, Micro syringe 100 μL, Micropipet 10-100μL, 100-1000μL, 1000-5000μL, Eppendorf - Đức. Bộ lọc pha động và bơm chân không và màng lọc 0.45μm- φ 47mm. Bình định mức 10, 20, 50, 100, 1000 mL Duran, Đức. Hệ thống dây nối giữa HPLC và ICP-MS. Phần mềm tính toán Elan-9000 Perkin-Elmer mode intensity versus time. Phần mềm vẽ sắc đồ và tính toán diện tích và chiều cao của pic OriginPro 8.5.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thu mẫu và bảo quản mẫu

Tháng 3 năm 2013 và tháng 9 năm 2014 nhóm tác giả tiến hành khảo sát và thu gom mẫu tại hai xã Chuyên Ngoại và Châu Giang, huyện Duy Tiên, tỉnh Hà Nam. Xã Chuyên Ngoại có 7 thôn, xã Châu Giang có 10 thôn chúng tôi tiến hành lấy mẫu đều cho các thôn mỗi xã lấy 50 mẫu. Xã Chuyên ngoại lấy 36, (24) mẫu nước giếng thô và 14, (26) mẫu qua hệ thống lọc cát đơn giản, tương tự như vậy xã Châu Giang lấy 39, (27) mẫu nước giếng thô và 11, (23)

mẫu sau lọc. Mẫu được bơm lên sau 10 phút cho ổn định và thu vào chai PE thể tích 350mL và được cố định bằng axit H_3PO_4 1:1 cho pH <2 được bảo quản lạnh và chuyển về phòng thí nghiệm trong 48 giờ.

3.2. Kết quả ICP-MS

Nhóm tác giả tiến hành phân tích 200 mẫu nước giếng khoan bằng ICP-MS để thấy được hiện trạng các nguyên tố kim loại khác tồn tại trong mẫu. Các mẫu thô và sau lọc cát đơn giản của hai xã Chuyên ngoại và Châu Giang được thể hiện ở bảng 1 là kết quả trung bình của số mẫu trong hai lần thu mẫu vào tháng 3 năm 2013 và tháng 9 năm 2014.

Từ bảng 1 cho thấy hàm lượng trung bình của Asen tổng số trong mẫu nước giếng thô

của xã Chuyên Ngoại là 0,510 mg/L và Châu Giang là 0,118 mg/L cao hơn tiêu chuẩn nước ăn uống gấp

11,8 và 51 lần theo QCVN 01:2009/BYT. Trung bình các mẫu sau lọc cát đơn giản hàm lượng asen, mangan và sắt đều giảm từ 8 đến 12 lần với As; 2,3-2,8 lần với Mn và 9-29 lần với Fe. Các mẫu tại xã Châu giang có hàm lượng Na, Mg, K cao hơn các mẫu tại xã Chuyên Ngoại nhưng hàm lượng Asen trung bình nhỏ hơn gấp năm lần. Với các mẫu được thu vào mùa mưa tháng 9 năm 2014 hàm lượng asen thấp hơn trung bình của các mẫu lấy vào mùa khô tháng 3 năm 2013.

Bảng 1: Kết quả một số nguyên tố có trong nước giếng khoan

Nguyên tố	Kết quả trung bình (mg/l)							
	Xã Chuyên Ngoại, Duy Tiên, Hà Nam				Xã Châu Giang, Duy Tiên, Hà Nam			
	A1 n=36	A2 n=14	B1 n= 24	B2 n=26	C1 n=39	C2 n=11	D1 n= 27	D2 n= 23
Ba	0,579	0,450	0,606	0,393	0,469	0,386	0,495	0,214
As	0,510	0,072	0,359	0,035	0,118	0,010	0,090	0,009
Se	0,002	0,002	0,002	0,002	0,006	0,006	0,009	0,008
Mg	25,41	24,66	24,33	20,98	36,28	35,37	33,40	26,70
Na	20,66	20,53	24,87	21,24	66,59	65,80	120,60	95,56
B	0,046	0,041	0,046	0,032	0,128	0,066	0,106	0,073
Ca	71,04	69,61	64,73	53,87	61,33	60,89	63,30	47,81
Fe	10,27	0,35	9,97	0,90	8,84	0,98	15,68	0,93
K	4,82	4,71	5,61	5,56	15,24	14,39	21,20	16,48
Mn	0,236	0,082	0,290	0,101	0,729	0,315	1,255	0,655
Zn	0,032	0,031	0,102	0,051	0,028	0,028	0,162	0,147
Ni	0,029	0,028	0,009	0,008	0,033	0,026	0,010	0,008
Pb	0,001	<0,001	0,001	0,001	0,001	<0,001	0,002	0,001

A1; B1; C1; D1: mẫu chưa qua lọc, A2; B2; C2; D2: mẫu qua bể lọc cát đơn giản,

A1; A2; C1; C2: mẫu tháng 3 năm 2013, B1; B2; D1; D2: mẫu tháng 9 năm 2014,

3.3. Điều kiện HPLC- ICP/MS

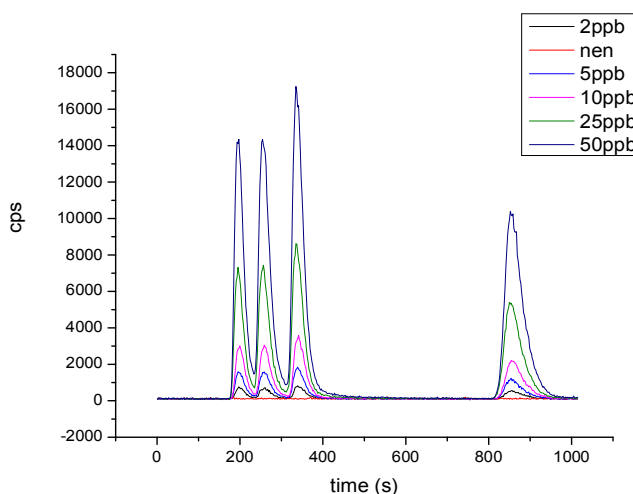
3.1.1. Điều kiện HPLC

Trong nghiên cứu này nhóm tác giả sử dụng cột tách Hamilton PRP-X100 kích thước 250mm- 4,6mm có khoảng pH từ 2-12, áp suất cột chịu được là 150kpa~2000 psi. Sử dụng pha động đệm Phosphate ((NH₄)₂HPO₄) có thêm 3% v/v Methanol theo tài liệu [4]. Các yếu tố khảo sát như nồng độ pha động, pH của pha động, tốc độ dòng của pha động, thể tích vòng bơm mẫu và các yếu tố ảnh hưởng, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, xây dựng đường chuẩn và độ thu hồi của phương pháp nhóm tác giả đã công bố trong bài báo [6]. Sắc đồ phân tích bốn dạng asen As(III), DMA, MMA và As (V) với các khoảng nồng độ 2, 5, 10, 25 và 50µg/L thể hiện ở Hình 3. Khoảng tuyến tính của đường chuẩn bốn dạng asen As(III), DMA, MMA và As(V) và đường nội chuẩn Ge được thể hiện ở Hình 4 và Hình 5 dưới đây, Thời gian lưu của As(III): 203,5 giây; DMA: 250,2 giây; MMA: 381,6 giây và As(V): 828,9 giây được xác định tại số khối 75 trên ICP-MS,

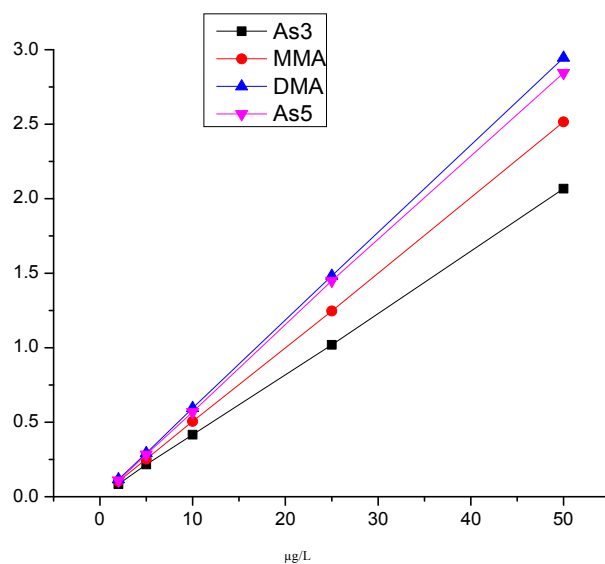
chất nội chuẩn Ge được tách trên cột Hamilton PRP-X 100 250mm-4,6mm thời gian lưu 226,84 giây và xác định trên ICP-MS với số khối 74.

3.1.2 Điều kiện ICP-MS và HPLC

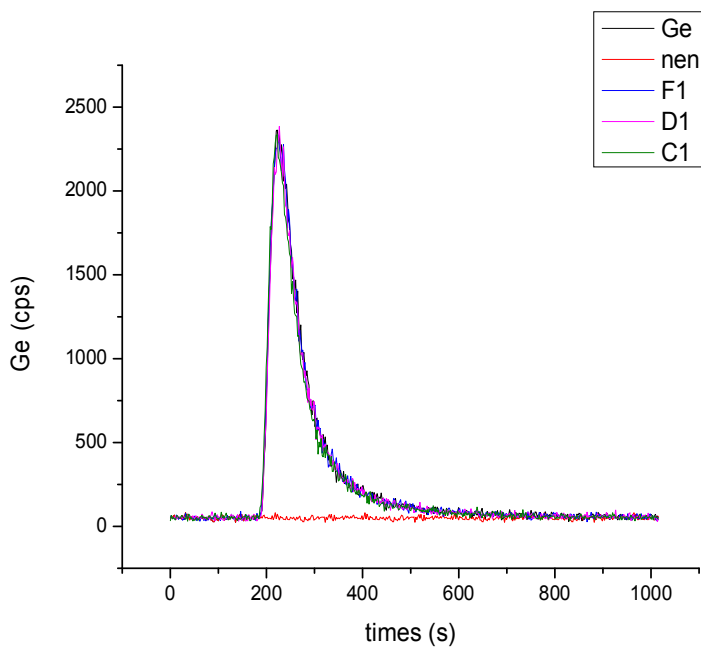
Khảo sát các điều kiện tối ưu của thiết bị ICP-MS và điều kiện tách trên HPLC nhóm tác giả đưa ra qui trình cài đặt các thông số tối ưu cho qui trình phân tích As(III), As(V), onomethylarsonic acid (MMA) và dimethylarsonic acid (DMA). Tín hiệu CPS (counts per second) được tính toán theo phần mềm Elan 9000 Perkin-Elmer theo kiểu (Signal intensity versus time), số liệu được tính theo tín hiệu cực đại của peak (chiều cao của peak) đã trừ đi tín hiệu đường nền. Sử dụng phần mềm OriginPro 8,5 vẽ sắc đồ, tính toán diện tích và chiều cao pic, đường chuẩn khoảng tuyến tính của bốn dạng As được tính theo tỷ số với chất nội chuẩn Ge 25 µg/L. Bảng 2 dưới đây là điều kiện cho ICP-MS và HPLC cho phương pháp phân tích bốn dạng của Asen trong mẫu nước giếng khoan.



Hình 3: Sắc đồ As(III), DMA, MMA và As (V), nồng độ 2, 5, 10, 25 và 50µg/L, Điều kiện: 12,5mM (NH₄)₂HPO₄; 3% v/v MeOH, pH: 8,5; Thể tích bơm mẫu:100µL; Tốc độ dòng: 1,5mL/phút.



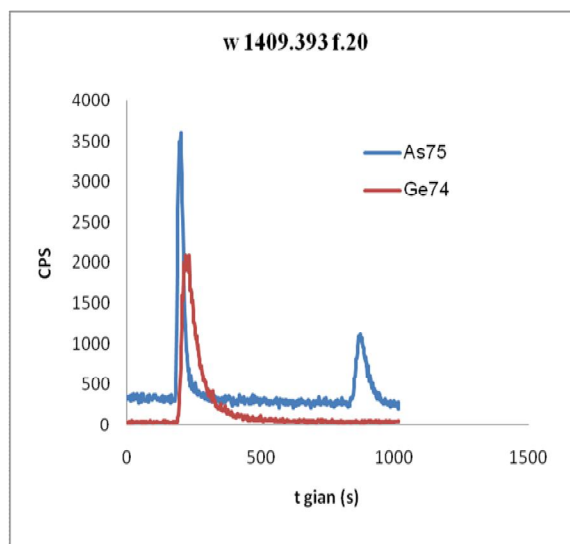
Hình 4: Đường chuẩn As(III), DMA, MMA và As (V) từ 2-50µg/L,
 As(III): $y = 0,0412x + 0,003$;
 DMA: $y = 0,0502x + 0,0004$;
 MMA: $y = 0,0590x + 0,0015$;
 As(V): $y = 0,0571x + 0,0014$



Hình 5: Sắc đồ Ge nồng độ 25µg/L $n=5$
 Điều kiện: 12,5mM $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; 3% v/v MeOH, pH: 8,5;
 Thể tích bơm mẫu: 100µL; Tốc độ dòng: 1,5mL/phút.

Bảng 2: Điều kiện cho ICP-MS và HPLC xác định bốn dạng As

ICP-MS		Elan 9000-perkin-elmer
Rf. Power		1050W
Nebulizer-Spray chamber	Ryton™ coross-flow nebulizer and Scott spray chamber	
Ion sampling		
Sampler cone		Platinum 1mm orifice
Skimmer cone		Platinum 0.75mm orifice
Argon flow rate		
Outlet		15 l/min
Aerosol carrier		0.49l/min
Pressures		
Expasion		1.45mbar
Quadrupole chamber		3.0*10 ⁻⁴ mbar
Detector voltage		(-2050V)
Time Resolved Acquisition parameters		
Dwell time per mass		50ms
Data acquisition mode		Signal intensity versus time
HPLC		
Anion- exchange column		Hamilton PRP-X 100 (250 x4.6mm I.D)
mobilephase		12.5mmol (NH ₄) ₂ HPO ₄ in water with 3 % v/v MeOH
pH		8.5 bằng NH ₄ OH
Flow rate		1.5mL min ⁻¹
Injection volume		100 µL



Hình 6: Sắc đồ phân tích mẫu w 1409.393 đã pha loãng 20 lần. Điều kiện: 12,5mM (NH₄)₂HPO₄: 3% v/v MeOH, pH: 8,5; Thể tích bơm mẫu: 100µL; Tốc độ dòng: 1,5mL/phút.

3.4. Phân tích mẫu bằng HPLC-ICP/MS

Phân tích hai đợt mẫu tháng 3 năm 2013 và tháng 9 năm 2014 mỗi đợt 100 mẫu nước giếng khoan của hai xã Chuyên Ngoại và Châu giang huyện Duy Tiên tỉnh Hà Nam kết quả được thể hiện tại bảng 3.

Mẫu nước được lọc qua màng lọc 0,45µm và được bơm vào hệ thống HPLC-ICP-MS với thể tích bơm mẫu 100 µL, mẫu có hàm lượng cao được pha loãng bằng chính pha động HPLC. Sắc đồ trong Hình 6 thể hiện mẫu nước giếng chưa qua lọc cát tại xã Châu Giang huyện Duy Tiên, tỉnh Hà nam có kí hiệu mã hóa của phòng thí nghiệm là W1409.393.f20 cho thấy hàm lượng AsIII trong mẫu là 315 µg/L gấp hơn ba mươi

lần, hàm lượng As V là 104 µg/L gấp 10 lần so với tiêu chuẩn.

Từ bảng 3 cho thấy hàm lượng As tổng số và hàm lượng As III trong tháng 3 vào mùa khô cao hơn tháng 9 mùa mưa ở cả hai xã Chuyên Ngoại và Châu Giang. Tại xã Chuyên Ngoại có vị trí địa lý cách sông Hồng hàm lượng As tổng số và As III cao hơn 3-5 lần so với xã Châu Giang có vị trí địa lý cách sông Châu Giang. Các mẫu nước giếng qua lọc cát hàm lượng As tổng số và As III đều giảm riêng mùa mưa As tổng số trong khoảng 9-35 µg/L Trong mẫu nước giếng khoan chỉ phát hiện được As III và As V không phát hiện được các dạng As hữu cơ như DMA và MMA.

Bảng 3: Kết quả As III và As tổng số tại hai xã Chuyên Ngoại và Châu Giang

	Nước giếng thô				Nước giếng qua lọc			
	As III µg/L		T, As µg/L		As III µg/L		T, As µg/L	
	tháng 3	tháng 9	tháng 3	tháng 9	tháng 3	tháng 9	tháng 3	tháng 9
Chuyên Ngoại								
Trung bình	425	332	510	359	39	9	72	35
Khoảng n,đ	32-670	2-589	38-855	12-682	<2-98	<2-34	18-182	4-83
n	36	24	36	24	14	26	14	26
Châu Giang								
Trung bình	79	67	118	90	5	5	10	9
Khoảng n,đ	2-420	2-284	2-510	5-409	<2-18	<2-6	2- 55	1-30
n	39	27	39	27	11	23	11	23

4. KẾT LUẬN

Trong bài báo này nhóm tác giả đã xác định được đồng thời bốn chất các dạng tồn tại của Asen là As(III), As(V), monomethylarsonic (MMA) và dimethylarsonic (DMA) trong mẫu nước giếng khoan tại hai xã Chuyên Ngoại và Châu Giang huyện Duy Tiên tỉnh Hà Nam.

Tiến hành phân tích 200 mẫu thực tế được lấy tại các giếng khoan tại hai xã vào hai mùa khô và mùa mưa đối với mẫu chưa qua lọc và mẫu qua lọc cát. Hàm lượng As tổng số 510 và 359 µg/L tại xã Chuyên Ngoại ; 118 và 90 µg/L với xã Châu Giang tương ứng với mẫu chưa qua lọc. Mẫu đã qua lọc cát là 72 và 35 µg/L với xã Chuyên Ngoại; 10 và 9 µg/L với xã Châu Giang, Hàm lượng AsIII trong mẫu từ 83-92% với xã Chuyên Ngoại và 69-74% với xã Châu Giang với mẫu chưa qua lọc, Khoảng tuyến tính của đường chuẩn từ 2-50 µg/L hệ số tuyến tính của đường chuẩn là 0,999x.

Đã kết nối thành công hai thiết bị phân tích hiện đại là HPLC và ICP-MS để mở ra một hướng phân tích dạng tồn tại các kim loại

(các hợp chất cơ kim) trong mẫu môi trường và sinh học.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã cấp kinh phí thực hiện đề tài mã số VAST 07.04/13-14.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1], *Methos of Anlysis by US geological Survey- National- water quality laboratory Arsenic Speciation in Natural- Water samples Using Laboratory and Field methods.*
- [2], J,A,caruso, M,Montes- Bayon, (2003) *Elemental speciation studies- new directions for trace metal analysis, Ecotoxicology and Environmental Safety* **56** 148-163.

(xem tiếp tr. 344)