

Nghiên cứu phương pháp xác định methyl thủy ngân trong bùn lắng bằng GC-AFS sử dụng tác chất alkyl hóa Grignard

- Trần Đức Lợi
- Nguyễn Văn Đông

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 07 tháng 01 năm 2016 , nhận đăng ngày 30 tháng 11 năm 2016)

TÓM TẮT

Phương pháp phân tích methyl thủy ngân (MeHg) được nghiên cứu trên hệ thống sắc ký khí ghép nối đầu dò huỳnh quang nguyên tử (GC-AFS). MeHg trong mẫu bùn lắng được ly trích vào pha dichloromethane (DCM) trong sự hiện diện của HNO_3 , KCl và CuSO_4 . Dung môi DCM được thổi khô và MeHg được chuyển sang pha nước trước khi được chiết qua pha hexane dưới dạng phức với diethyldithiocarbamate (DDTC). MeHg được alkyl hóa bằng hai loại tác chất Grignard, butyl magnesium chloride (BuMgCl) và ethyl magnesium chloride (EtMgCl). Các điều kiện phản ứng alkyl hóa như lượng tác chất, nhiệt độ và thời

gian phản ứng được nghiên cứu và tối ưu nhằm giảm thiểu sự trans-alkyl hóa và tối ưu hiệu suất phản ứng alkyl hóa. Sau khi tạo dẫn xuất MeHg được xác định trên hệ thống GC-AFS. Quy trình phân tích đã được thẩm định bằng chất chuẩn quốc tế có chứng nhận ERM-CC580. Giới hạn phát hiện của thiết bị GC-AFS và của phương pháp phân tích sử dụng hai tác chất alkyl hóa lần lượt là 1,4 pg; 0,18 ng/g MeHg đối với tác chất EtMgCl và 0,19 ng/g MeHg đối với tác chất BuMgCl. Phương pháp này có thể được ứng dụng để xác định methyl thủy ngân trong đất, bùn thải và bùn lắng.

Từ khóa: đầu dò huỳnh quang nguyên tử, methyl thủy ngân, sắc ký khí, bùn lắng, tác chất Grignard

MỞ ĐẦU

Trong vòng vài thế kỷ trở lại đây, sự bùng nổ khoa học kỹ thuật đã đem đến những thành tựu rất lớn phục vụ cho nhân sinh. Tuy nhiên sự phát triển này cũng đi kèm với những hệ lụy vô cùng to lớn: môi trường sống xung quanh ngày càng ô nhiễm nghiêm trọng, đe dọa đến sự phát triển của muôn loài. Thủy ngân có nhiều ứng dụng trong cuộc sống nhưng lại có độc tính rất cao. Trong quá trình phát triển, loài người đã đưa hàng trăm ngàn tấn thủy ngân vốn ngủ yên dưới dạng khoáng vật nằm chìm sâu trong các lớp địa quyển vào môi trường sống [1]. Thông qua các hoạt động tự nhiên và nhân sinh, ô nhiễm thủy ngân ngày nay đã lan tỏa trong phạm vi toàn cầu. Độc tính và nguy cơ gây hại cho sức khỏe của Hg nói chung và đặc biệt

MeHg nói riêng đã trở thành mối quan tâm lớn của các nhà khoa học trên thế giới. Nguy cơ nhiễm độc các hợp chất Hg càng lớn khi các hợp chất này có khả năng tích lũy rất mạnh trong chuỗi thức ăn. Các nghiên cứu càng về sau tập trung vào xác định Hg nguyên dạng đặc biệt là MeHg trong các đối tượng có hàm lượng Hg rất thấp, thí dụ các mẫu môi trường như nước và bùn lắng, vì thế yêu cầu về độ nhạy của phương pháp/thiết bị phân tích ngày càng cao. Các phương pháp phân tích nguyên dạng Hg nồng độ thấp phổ biến hiện nay là sắc ký lỏng [2] hoặc sắc ký khí ghép nối với các đầu dò có độ nhạy cao như bắt giữ điện tử (ECD) [3], phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) [4], phổ phát xạ nguyên tử (AES) [5], phổ huỳnh quang nguyên tử (AFS)

[2, 6], khối phổ (MS) [7], khối phổ ghép cặp cảm ứng cao tần (ICPMS) [8]. Mặc dù mỗi phương pháp đều có những ưu điểm nổi trội riêng, nhưng GC-AFS vẫn là kỹ thuật được sử dụng phổ biến trong việc phân tích MeHg, chủ yếu vì chi phí vận hành, giá thành thiết bị thấp và độ nhạy cao nên phù hợp với tình hình nghiên cứu tại Việt Nam.

Nhiều phương pháp trích ly MeHg khỏi nền mẫu cho phân tích nguyên dạng bao gồm trích ly bằng KOH trong methanol [2-4], bằng HNO₃ [9] hoặc hỗn hợp H₂SO₄/KBr/CuSO₄ [10, 11] hoặc HNO₃/KCl/CuSO₄ [6]. Sau khi ly trích, MeHg được tách khỏi các dạng Hg vô cơ bằng các kỹ thuật chiết lỏng lỏng hay chưng cất. Phương pháp chưng cất khá hiệu quả trong việc tách MeHg khỏi nền mẫu bùn nhưng có thể gây sai số dương rất lớn do MeHg sinh ra trong khi chưng cất [12]. Hỗn hợp HNO₃/KCl/CuSO₄ cho phép trích ly hiệu quả MeHg trong mẫu bùn lắng và thực tế loại trừ được sự sản sinh MeHg trong giai đoạn xử lý mẫu [6].

Các hợp chất monoalkyl-Hg có tính phân cực, nên tương tác mạnh với cột GC dẫn đến peak thường kéo đuôi và làm ảnh hưởng đến cột [3]. Để khắc phục nhược điểm trên, các hợp chất thủy ngân được tạo dẫn xuất thành các hợp chất dialkyl-Hg không phân cực và dễ bay hơi hơn. Phương pháp tạo dẫn xuất hydride ít được sử dụng vì dẫn xuất tạo thành (MeHgH) rất kém bền, khó kiểm soát [13]. Phương pháp tạo dẫn xuất sử dụng tác chất sodium tetraalkylborate NaBR₄ như NaB(C₂H₅)₄ và NaB(C₃H₇)₄, cho kết quả ổn định và quy trình xử lý mẫu đơn giản nên được sử dụng phổ biến nhất. Tuy nhiên việc tiếp cận các hợp chất NaBR₄ tại Việt nam hiện nay rất khó khăn và NaBR₄ khá đắt tiền nên việc nghiên cứu sử dụng chất tạo dẫn xuất thay thế là tác chất Grignard vốn phổ biến hơn và giá thấp hơn so với NaBR₄ là cần thiết.

Các hợp chất cơ kim bằng tác chất Grignard (RMgX, với R là methyl, ethyl, propyl, butyl, pentyl và hexyl) khá phổ biến khi phân tích các hợp chất butyl thiếc [14]. Đối với phân tích nguyên

dạng thủy ngân, R có thể dùng là methyl, ethyl, propyl và butyl trong đó butyl hóa là phổ biến nhất do các sản phẩm butyl hóa có nhiệt độ sôi đủ cao thuận tiện cho các thao tác mẫu và quá trình sắc ký. Các điều kiện phản ứng alkyl hóa với tác nhân Grignard phải được tiến hành trong các điều kiện được kiểm soát nghiêm ngặt như lượng tác chất sử dụng, mức độ pha loãng, thời gian phản ứng và nhiệt độ phản ứng nhằm giảm thiểu tối đa các sản phẩm phụ do quá trình *trans*-alkyl hóa [15]. Trong công bố này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu phương pháp xác định methyl thủy ngân trong mẫu bùn bằng hệ thống GC-AFS sử dụng tác chất Grignard để alkyl hóa methyl thủy ngân. Nội dung chính của nghiên cứu:

Nghiên cứu phản ứng tạo dẫn xuất MeHg bằng BuMgCl và EtMgCl

Nghiên cứu quy trình xử lý mẫu bùn lắng xác định MeHg phù hợp với tác chất Grignard

Áp dụng quy trình phân tích trên mẫu bùn lắng thực tế.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Hóa chất và thuốc thử

Tất cả dung dịch được chuẩn bị trong nước không ion (18 MΩ.cm). HNO₃ (65-67 %), *n*-hexane, methyl thủy ngân chloride (MeHgCl), Hg(NO₃)₂, dichloromethane (DCM), CuSO₄.5H₂O, KCl, tetrahydrofuran (THF), Na₂B₄O₇, H₃BO₃, HCl và H₂SO₄ đều là hạng tinh khiết phân tích được mua từ Merck. Butylmagnesium chloride (BuMgCl) 2 M trong THF và ethylmagnesium chloride (EtMgCl) 2 M trong THF được mua từ Sigma Aldrich. Sodium diethyldithiocarbamate (NaDDTC) được mua từ Fluka. Các dung dịch chuẩn CH₃HgC₂H₅ và (C₂H₅)₂Hg đã được điều chế từ NaB(C₂H₅)₄ trong nghiên cứu trước đây [6].

Thiết bị

Máy GC 5890 (Agilent); buồng tiêm on-column, nhiệt độ buồng tiêm 200 °C; cột DB-1 (30 m x 0,53 mm x 0,88 μm) (Supelco, USA), đầu dò

AFS (PS Analytical) với lưu lượng khí “make up” là 120 mL Ar/phút và khí bảo vệ là 180 mL Ar/phút; nhiệt độ lò nhiệt phân là 520 °C; máy Vortex (IKA vortex Genius 3); máy pH (Schott Lab-850); ống ly tâm PE 50 mL (Isolab); kim tiêm 5 µL (SGE-Australia); các dụng cụ thủy tinh như: vial 40 mL, vial 20 mL, vial 1,5 mL (septum lót Teflon), ống COD, pipet, beaker...

Chương trình nhiệt

Chương trình nhiệt:

$$(1 \text{ phút}) \xrightarrow{30^\circ\text{C/phút}} 120^\circ\text{C} (1 \text{ phút}) \xrightarrow{40^\circ\text{C/phút}} 200^\circ\text{C} (2\text{p})$$

(sử dụng tác chất BuMgCl)

$$\xrightarrow{20^\circ\text{C/phút}} 120^\circ\text{C} (1\text{phút}) \xrightarrow{30^\circ\text{C/phút}} 200^\circ\text{C} (2 \text{ phút})$$

(sử dụng tác chất EtMgCl)

Điều chế các chuẩn Bu₂Hg và MeBuHg

Cân các chuẩn Hg²⁺ hoặc MeHgCl vào ống COD 15 mL, thêm vào khoảng 1 mL hexane. Làm lạnh dung dịch trong nước đá, thêm 0,5 mL BuMgCl 0,5 M lắc nhẹ. Sau 5 phút, thêm 8 mL dung dịch H₂SO₄ 0,5 M và lắc đều để phân hủy tác chất Grignard dư. Ly tâm tách lấy pha hexane vào bình 40 mL có septum. Chiết lại pha nước 2 lần với hexane và gộp các dịch chiết, sau đó thêm hexane đến 40 mL, đậy nắp chặt. Các dung dịch chuẩn này chứa Bu₂Hg và MeBuHg. Độ tinh khiết của các dung dịch chuẩn này được kiểm tra bằng GC-AFS.

Xác định nồng độ các chuẩn Bu₂Hg và MeBuHg

Lấy chính xác khoảng 1 mL (qua cân) các chuẩn MeHgEt và Et₂Hg vào vial 40 mL. Thêm 3 mL HNO₃ và 1 mL HCl, lắc tròn trong 30 phút và tách lấy pha nước. Rửa pha hexane 3 lần, mỗi lần với 2 mL nước và gộp tất cả pha nước vào bình định mức 50 mL, định mức bằng nước cất. Dung dịch này dùng để xác định Hg bằng phương pháp CV-AAS dựa trên đường chuẩn Hg²⁺.

Xác định các hợp chất của thủy ngân bằng GC-AFS

Tiêm 5 µL mẫu chứa các dialkyl thủy ngân, mỗi mẫu tiêm lặp 3 lần. Tín hiệu hấp thụ của mỗi chất tính theo diện tích peak. Việc định lượng các hợp chất dựa trên đường chuẩn của từng chất.

Ly trích methyl thủy ngân

Cân chính xác khoảng 2 g mẫu vào ống ly tâm polypropylene 50 mL, thêm 10 mL dung dịch hỗn hợp HNO₃ 3M, KCl 0,01 M và CuSO₄ 0,1 M và đánh siêu âm 30 phút ở 55 °C. Ly tâm trong 5 phút tại 3000 vòng/phút, tách lấy pha nước. Lặp lại quá trình ly trích mẫu bằng 5 mL dung dịch hỗn hợp HNO₃/KCl/CuSO₄. Gộp toàn bộ pha nước trong 2 lần ly trích vào ống thủy tinh 40 mL, thêm 3 mL DCM, vortex trong 30 giây, và tách lấy pha hữu cơ. Lặp lại quá trình chiết lỏng-lỏng 2 lần và gộp tất cả pha hữu cơ (DCM) vào ống thủy tinh 15 mL. Làm khan bằng Na₂SO₄. Thêm 1 mL đệm pH 9 và thổi khô DCM, thêm 300 µL Na-DDTC 0,25 M, 0,5 mL hexane rồi đậy nắp vortex trong 2 phút, thu lấy pha hexane. Chiết thêm một lần nữa với 0,5 mL hexane.

Tạo dẫn xuất

Thêm 100 µL BuMgCl 0,5 M (hoặc 75 µL EtMgCl 0,5 M) vào dịch chiết hexane chứa MeHg-DDTC, đậy nắp và lắc nhẹ. Sau thời gian phản ứng, thêm 8 mL H₂SO₄ 1 M, lắc mạnh, ly tâm và thu lấy pha hexane vào vial 1,5 mL và bảo quản ở 10 °C đến khi phân tích bằng GC-AFS.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

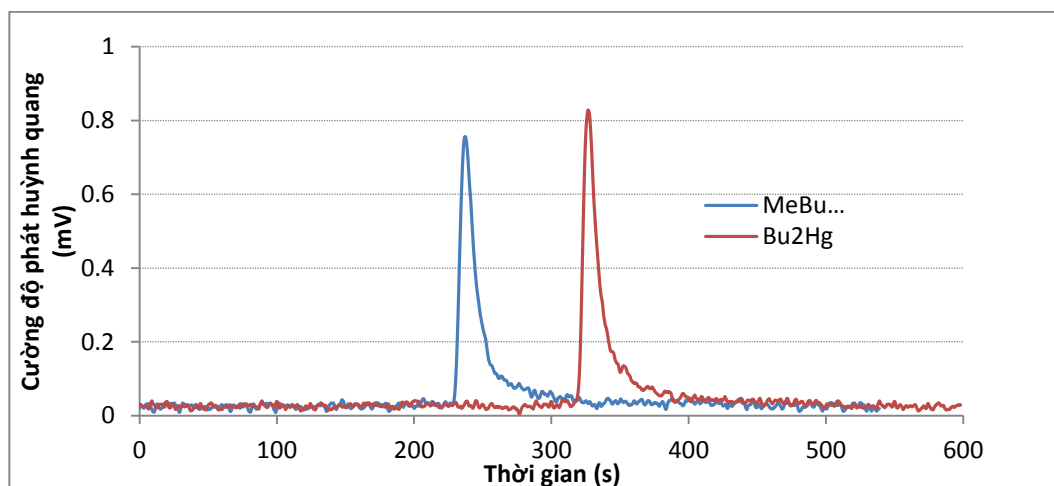
Đường chuẩn, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của thiết bị

Đường chuẩn có hệ số tương quan khá tốt với giá trị R² lần lượt là 0,9995 và 0,9998 đối với MeHgEt và MeHgBu. Khoảng tuyến tính của MeHgEt và MeHgBu đều là 1-20 pg. Độ nhạy của MeHgEt hay MeHgBu (tính theo Hg) là như nhau. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của thiết bị đối với MeHgEt và MeHgBu được đánh giá dựa trên tỉ lệ S/N (signal to noise) lần lượt là 1,33 và 4,44 pg đối với MeHgEt; 1,32 và 4,41 pg đối với MeHgBu

Độ tinh khiết và nồng độ của các chuẩn dialkyl thủy ngân tự điều chế.

Kết quả phân tích hai chuẩn MeBuHg và Bu₂Hg tự điều chế bằng GC-AFS (Hình 1) cho thấy không phát hiện các chất có chứa Hg trên sắc ký đồ ngoại trừ các sản phẩm chính là MeBuHg và Bu₂Hg. Như vậy, hàm lượng của MeBuHg và

Bu₂Hg có thể xác định gián tiếp thông qua phương pháp xác định Hg tổng số mà không cần công đoạn tách. So với GC-AFS, phương pháp CV-AAS cho phép xác định Hg ở nồng độ cao và chính xác hơn nên phù hợp tốt để định lượng các chuẩn MeBuHg và Bu₂H.



Hình 1. Sắc ký đồ 5 μ L chuẩn MeBuHg và Bu₂Hg ~ 15 ppb mỗi cấu tử (tính theo Hg)

Khảo sát quá trình alkyl hóa methyl thủy ngân

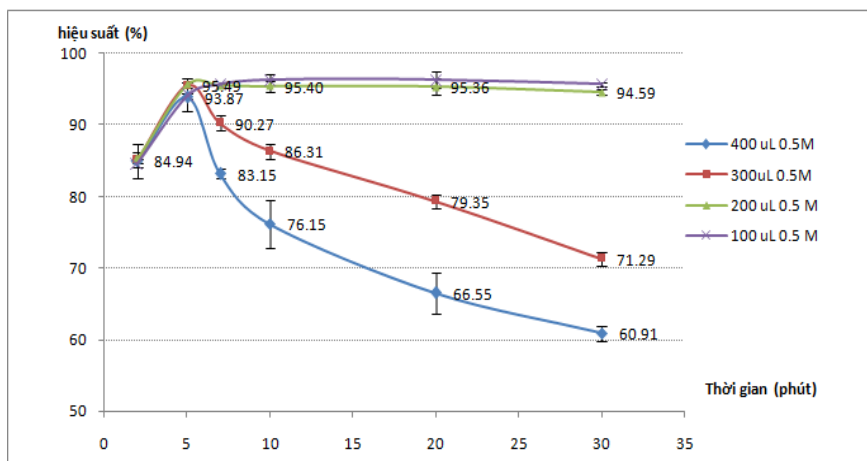
Các nghiên cứu trước đây cho thấy hiệu suất phản ứng alkyl hóa methyl thủy ngân bằng tác chất Grignard phụ thuộc rất nhiều vào thời gian, nhiệt độ và nồng độ tác nhân alkyl hóa. Hiệu suất phản ứng alkyl hóa tăng dần, đạt đỉnh sau 5 phút rồi giảm dần. Chúng tôi nhận thấy hiệu suất alkyl hóa giảm là do quá trình *trans*-alkyl hóa và sự khử sản phẩm (MeHgBu/MeHgEt) thành Hg⁰. Cũng chính vì điều này mà các nghiên cứu trên thế giới trước đây đều buộc phải dừng phản ứng ngay sau 5 phút [15, 16]. Về mặt thực nghiệm, việc khống chế thời gian và điều kiện alkyl hóa nghiêm ngặt gây rất nhiều khó khăn nhất là khi xử lý đồng loạt nhiều mẫu. Khắc phục nhược điểm này, chúng tôi nghiên

cứu và tối ưu hóa các điều kiện phản ứng nhằm tránh quá trình khử và *trans*-alkyl hóa. Do tác chất Grignard mua được từ Sigma Aldrich có nồng độ khá cao (2 M) và lượng cần dùng không nhiều, để tiện lấy lượng tác chất chính xác và tránh mất hoạt tính do hút ẩm trong thao tác; nồng độ tác chất Grignard dùng trong các thí nghiệm này là 0,5 M pha trong THF.

Tác chất BuMgCl

Tương quan giữa lượng BuMgCl - thời gian phản ứng với hiệu suất tạo dẫn xuất

Thực hiện thí nghiệm tạo butyl hóa chuẩn MeHgCl với các lượng 100, 200, 300 và 400 μ L BuMgCl 0,5 M tại 0 °C.

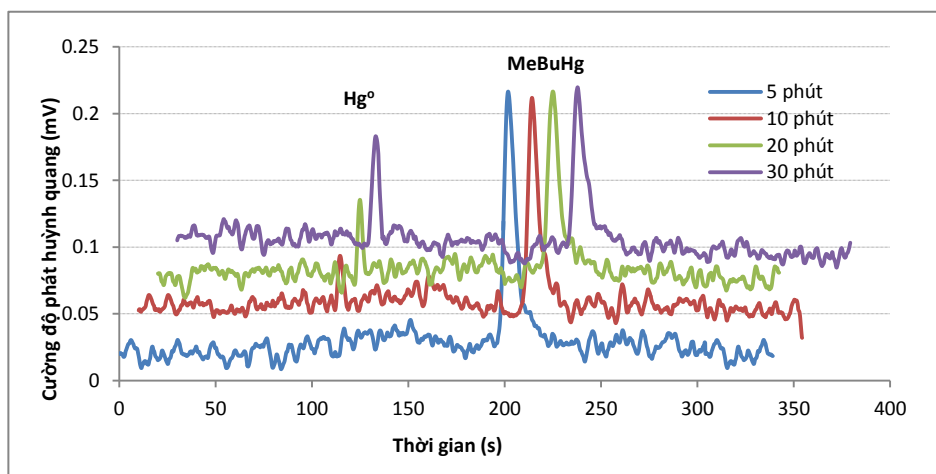


Hình 2. Hiệu suất butyl hóa MeHgCl bằng BuHgCl theo thời gian và lượng tác chất BuMgCl 0,5 M/THF khác nhau. Điều kiện thí nghiệm: 100 μL MeHgCl 20 pg/μL trong 1 mL hexane ở 0 °C

Kết quả cho thấy lượng quá dư tác chất BuMgCl chính là nguyên nhân gây ra sự khử và hiện tượng *trans*-alkyl hóa. Khi lượng tác chất sử dụng là 100-200 μL BuMgCl 0,5 M thì không xảy ra hiện tượng khử và *trans*-alkyl hóa. Hiệu suất phản ứng tăng dần và ổn định sau 5 phút. Tuy nhiên khi tăng lượng tác chất lên 300–400 μL BuMgCl 0,5 M thì xuất hiện “hiện tượng khử”, hiệu suất phản ứng tạo dẫn xuất giảm dần theo thời gian (Hình 2). Sắc ký đồ ngoài peak MeBuHg còn

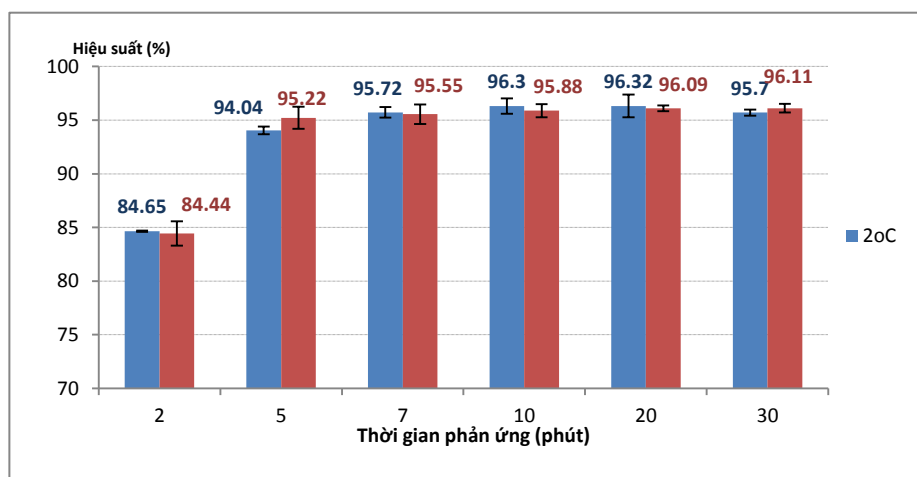
xuất hiện thêm peak Hg⁰, thời gian phản ứng càng dài thì peak Hg⁰ càng lớn và peak MeBuHg càng nhỏ (Hình 3).

Với lượng tác chất BuMgCl 0,5 M sử dụng trong thí nghiệm (<400 μL), kết quả cho thấy vẫn chưa xảy ra hiện tượng *trans*-butyl hóa. Tuy nhiên khi sử dụng lượng tác chất lên đến 0,5 mL BuMgCl 2 M thì hiện tượng *trans*-butyl hóa đã xảy ra và đã được công bố [15].



Hình 3. Sắc ký đồ sản phẩm phản ứng MeHgCl và BuMgCl ở các thời gian butyl hóa khác nhau. Điều kiện thí nghiệm: 100 μL MeHgCl 20 pg/μL trong 1 mL hexane 400 μL BuMgCl 0,5 M/THF ở 0 °C). Các sắc ký đồ được dời trục để dễ quan sát hơn

Ảnh hưởng của nhiệt độ tiến hành phản ứng



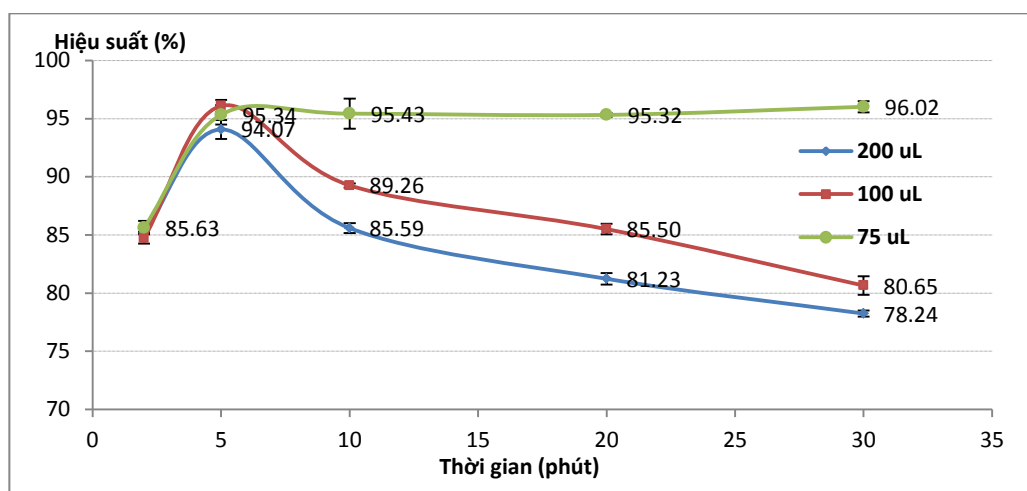
Hình 4. Hiệu suất butyl hóa MeHgCl bằng BuHgCl theo thời gian. Điều kiện thí nghiệm: 100 μ L MeHgCl 20 pg/ μ L trong 1 mL hexane, 100 μ L BuMgCl 0,5 M/THF, tại 2 và 32 $^{\circ}$ C.

Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự khác nhau khi tiến hành phản ứng alkyl hóa giữa 2 $^{\circ}$ C (nước đá) và 32 $^{\circ}$ C (nhiệt độ phòng), hiệu suất phản ứng đạt đỉnh rồi ổn định sau 5 phút (Hình 4). Mặc dù nhiệt độ và thời gian phản ứng butyl hóa từng được xem là các yếu tố rất quan trọng quyết định tới hiệu suất phản ứng butyl hóa và quá trình *trans*-butyl hóa và việc kiểm soát hai yếu tố này tương đối phức tạp trong thực nghiệm, tuy nhiên có thể thấy nếu sử dụng lượng tác chất không quá dư, yếu tố nhiệt độ và *trans*-butyl hóa có thể tối ưu được mà hiệu suất butyl hóa vẫn đảm bảo. Phản ứng tạo dẫn xuất có thể tiến hành thuận lợi ngay ở điều kiện nhiệt độ phòng.

Tác chất EtMgCl

Tương quan giữa lượng BuMgCl - thời gian phản ứng với hiệu suất tạo dẫn xuất

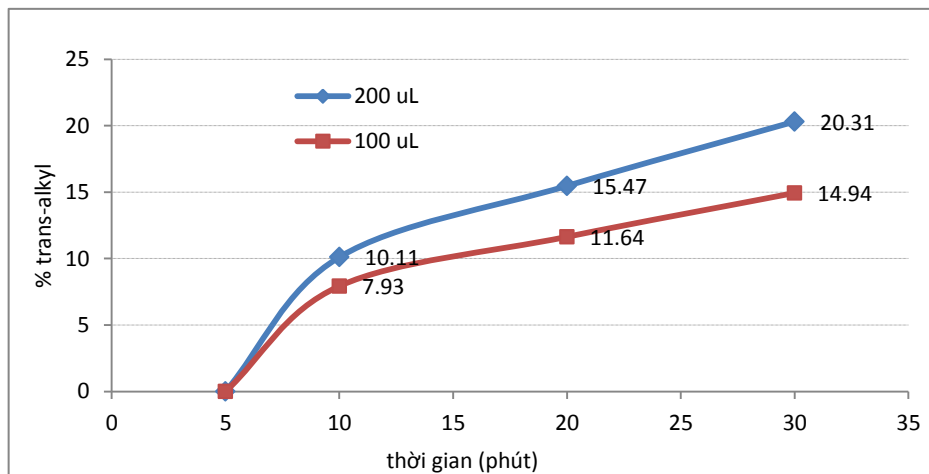
So với tác chất BuMgCl thì EtMgCl chỉ khác nhau về độ dài nhánh alkyl tức là khác nhau về yếu tố lập thể giữa hai nhóm alkyl, nên có thể dẫn đến sự khác nhau đôi chút về mức độ và khả năng phản ứng. Kết quả khảo sát cho thấy lượng EtMgCl và thời gian phản ứng ảnh hưởng lớn đến hiệu suất tạo dẫn xuất (Hình 5).



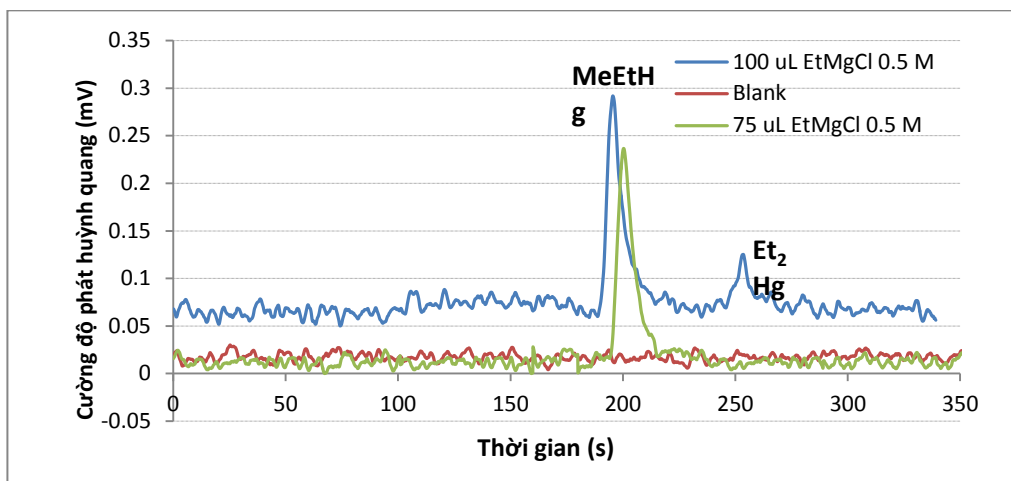
Hình 5. Phụ thuộc hiệu suất ethyl hóa MeHgCl theo thời gian phản ứng và lượng EtMgCl 0,5 M/THF. Điều kiện thí nghiệm: 0 °C, 100 µL MeHgCl 20 pg/µL trong 1 mL hexane.

Khi sử dụng 100 µL EtMgCl 0,5 M hiện tượng *trans*-ethyl hóa bắt đầu xảy ra. Hiệu suất ethyl hóa tối ưu ở khoảng 5 phút và bắt đầu giảm dần do sự *trans*-ethyl hóa xảy ra và có thể quan sát thấy peak diethyl thủy ngân (sản phẩm của phản ứng *trans*-ethyl hóa xuất hiện (Hình 6). Bất ổn của quá trình ethyl hóa nghiêm trọng hơn khi tăng lượng tác chất

vượt quá 100 µL EtMgCl 0,5 M. Theo chiều hướng ngược khi lượng tác chất nhỏ thì sự *trans*-ethyl diễn ra chậm hơn nhưng hiệu suất ethyl hóa cũng giảm. Thực tế cho thấy dưới 50 µL EtMgCl 0,5 M thì phản ứng ethyl hóa xảy ra kém ổn định có thể do lượng nhỏ tác chất này bị tiêu tốn do phản ứng với hơi ẩm của mẫu và môi trường.



Hình 6. % *trans*-ethyl hóa theo thời gian khi sử dụng 100 và 200 µL EtMgCl 0,5 M/THF ở 0 °C, 100 µL MeHgCl 20 pg/ µL trong 1 mL hexane.



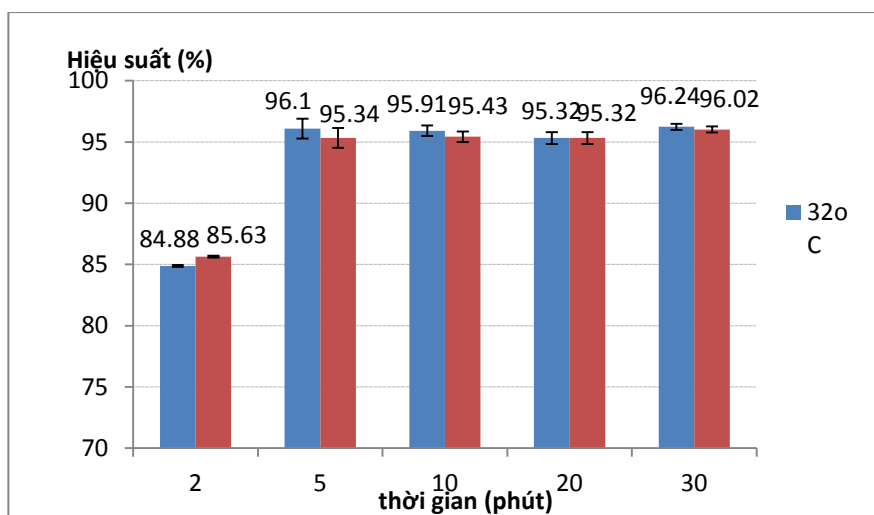
Hình 7. Sắc ký đồ minh họa hiện tượng *trans*-ethyl hóa do EtMgCl. Điều kiện thí nghiệm: 100 μ L MeHgCl 20 pg/ μ L trong 1 mL hexane, ethyl hóa ở 32 $^{\circ}$ C trong 10 phút.

Lượng tác chất 75 μ L EtMgCl 0,5M có lẽ là vừa phải vì cho phản ứng ethyl hóa rất ổn định ở 2 $^{\circ}$ C và cả ở nhiệt độ phòng. Hiệu suất phản ứng ổn định và không có hiện tượng *trans*-ethyl hóa diễn ra trong khoảng thời gian dài 5–30 phút (Hình 6).

Ảnh hưởng của nhiệt độ tiến hành phản ứng

So với BuMgCl, tác chất EtMgCl có hoạt tính mạnh hơn do nhóm butyl có kích thước to hơn so với nhóm ethyl tức mức độ cản trở do yếu tố lập

thể cao hơn nên hiện tượng *trans*-alkyl hóa đối với EtHgCl diễn ra dễ hơn và mạnh hơn, ngược lại quá trình khử MeHgCl thành Hg 0 xảy ra ở mức độ thấp hơn so với BuMgCl. Cả hai quá trình này đều có thể khắc phục được bằng cách sử dụng nồng độ tác chất Grignard phù hợp. Khi chọn lượng tác chất và nồng độ tác chất phù hợp, phản ứng ethyl hóa MeHg bằng EtMgCl có thể thực hiện được cả ở nhiệt độ thấp lẫn nhiệt độ thường (Hình 8).



Hình 8. Hiệu suất ethyl hóa MeHgCl theo thời gian và nhiệt độ sử dụng EtHgCl. Điều kiện thí nghiệm: 100 μ L MeHgCl 20 pg/ μ L trong 1 mL hexane, 75 μ L EtMgCl 0,5 M/THF; ở 2 và 32 $^{\circ}$ C.

Bảng 1. Hiệu suất thu hồi (%) MeHg phản ứng alkyl hóa MeHg trên 2 tác chất Grignard- EtMgCl và BuMgCl trên các nền mẫu. Điều kiện alkyl hóa: 75 μ L EtMgCl 0,5 M/THF; 100 μ L BuMgCl 0,5 M/THF; 32 °C.

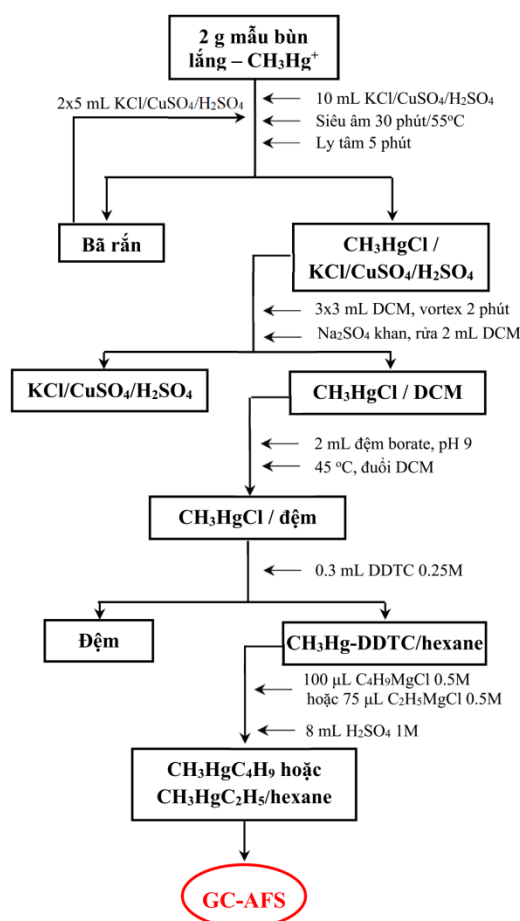
Hiệu suất thu hồi của toàn quy trình (%)				
Tác chất tạo dẫn xuất	Nồng độ	Mẫu chuẩn	Mẫu nền TOC thấp (4,11 mg/g)	Mẫu nền TOC cao (46,52 mg/g)
BuMgCl	0,5 ppb	91,51 \pm 0,86	84,8 \pm 2,8	85,0 \pm 1,9
	1 ppb	90,6 \pm 1,4	84,4 \pm 1,2	84,76 \pm 0,27
	2 ppb	90,2 \pm 1,6	83,8 \pm 2,2	84,72 \pm 1,3
	5 ppb	90,3 \pm 1,6	85,0 \pm 1,3	85,2 \pm 2,1
	Hiệu suất tạo dẫn xuất	95,55 \pm 0,57	95,69 \pm 0,68	95,54 \pm 0,10
EtMgCl	0,5 ppb	90,4 \pm 2,8	84,9 \pm 1,5	85,30 \pm 0,85
	1 ppb	90,3 \pm 1,6	85,8 \pm 1,3	84,94 \pm 0,56
	2 ppb	89,7 \pm 1,9	84,33 \pm 0,25	85,85 \pm 0,25
	5 ppb	90,4 \pm 1,8	85,14 \pm 0,88	85,11 \pm 0,90
	Hiệu suất tạo dẫn xuất	95,42 \pm 0,72	95,7 \pm 2,2	95,37 \pm 0,90

Khảo sát chiết MeHg từ pha nước vào hexane sử dụng Na-DDTC

Na-DDTC được sử dụng để tạo phức nhằm chiết MeHg từ pha nước vào pha hexane dưới dạng MeHg-DDTC. Hiệu suất quá trình chiết phụ thuộc vào pH và lượng Na-DDTC sử dụng. Kết quả nghiên cứu hiệu suất chiết MeHg-DDTC trong khoảng pH 8,0–10,0 cho thấy pH 9 và thể tích Na-DDTC 0,25 M trong khoảng 300–700 μ L là tối ưu cho quá trình chiết.

Phương pháp phân tích methyl thủy ngân trong mẫu bùn lắng

Sau khi tối ưu các điều kiện xử lý mẫu và phân tích MeHg trong mẫu bùn lắng dựa trên hai loại tác chất alkyl hóa EtMgCl và BuMgCl, quy trình phân tích MeHg áp dụng trong mẫu bùn lắng được đề nghị (Hình 9). Nhìn chung so với quy trình xử lý mẫu phân tích MeHg dùng NaBEt_4 [6], quy trình đề nghị chỉ thêm phần chiết MeHg ra khỏi dung môi nước và chuyển sang dung môi hexane (ky nước) thuận lợi cho tác nhân alkyl hóa Grignard.



Hình 9. Quy trình đề nghị xử lý mẫu bùn lắng xác định MeHg, alkyl hóa bằng tác chất Grignard

Giới hạn phát hiện và giới hạn xác định

Giới hạn phát hiện được ước lượng qua việc phân tích 11 mẫu bùn lắng có hàm lượng MeHg rất thấp. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp phân tích MeHg lần lượt là 0,18 và 0,24 ng/g đối với tác chất ethyl hóa EtMgCl và 0,19 và 0,26 ng/g đối với tác chất butyl hóa BuMgCl. Có thể thấy hai tác nhân alkyl hóa này là tương đương nhau.

Độ chụm

Độ chụm của phương pháp được ước lượng qua việc đánh giá các giá trị RSD% kết quả các mẫu bùn lắng chứa MeHg ở các nồng độ khác nhau. Kết quả ước lượng độ chụm của kết quả

phân tích - RSD% (Bảng 2) cho thấy độ chụm của phương pháp tốt hơn rất nhiều so với hướng dẫn của AOAC ở hàm lượng vi lượng 1–10 ng/g là 21–30 %.

Độ đúng

Độ đúng được đánh giá qua phân tích mẫu chuẩn bùn lắng quốc tế có chứng nhận. So sánh kết quả chứng nhận với kết quả phân tích MeHg bằng 2 tác nhân alkyl hóa EtMgCl và BuMgCl (Bảng 2) bằng chuẩn thống kê Student cho thấy phương pháp đề nghị dựa trên 2 tác nhân alkyl hóa cho kết quả phân tích phù hợp với kết quả chứng nhận.

Hiệu suất thu hồi

Khảo sát hiệu suất thu hồi được tiến hành trên ba đối tượng mẫu khác nhau: trên chuẩn MeHgCl pha trong nước, trên nền mẫu thật có TOC thấp và TOC cao. Kết quả hiệu suất thu hồi methyl thủy ngân đạt được trên các nền mẫu môi trường ở các nồng độ khác nhau trong khoảng 83,8–85,2% đối với BuMgCl và 84,3–85,3% đối với EtMgCl cho thấy phương pháp phân tích có độ tin cậy và độ nhạy cao, đồng thời thỏa mãn những yêu cầu trong phép phân tích vi lượng các tiêu chí đánh giá hiện

hành (60-115 % ở các nồng độ ppm-ppb)[17].

Áp dụng trên mẫu thật

Quy trình được áp dụng thử nghiệm trên 4 mẫu bùn lắng với nồng độ methyl thủy ngân khác nhau. Các mẫu này được lấy dọc theo lưu vực sông Mekong. Hàm lượng MeHg trong mẫu bùn thu thập dọc sông Mekong phù hợp với các công bố của Noh, S. và cộng sự (0,032–1,22 ng/g MeHg) [18].

Bảng 2. Hàm lượng MeHg (ng/g) trong các mẫu bùn lắng chuẩn và bùn lắng sông Mekong xác định trên 2 tác chất Grignard- EtMgCl và BuMgCl. Điều kiện alkyl hóa: 75 μ L EtMgCl 0,5 M/THF; 100 μ L BuMgCl 0,5 M/THF; 32 $^{\circ}$ C.

Tác chất		BuMgCl		EtMgCl	
Mẫu		[MeHg] (ng/g)	SD/RSD% (n=6)	[MeHg] (ng/g)	SD/RSD% (n=6)
1		0,550	0,017/3,1	0,560	0,020/3,6
2		0,582	0,019/3,3	0,568	0,021/3,8
3		0,872	0,018/2,1	0,888	0,023/2,7
4		0,525	0,016/3,1	0,502	0,023/4,7
5		0,568	0,037/6,4	0,547	0,026/4,8
ERM-CC580	Xác định	75,13	0,43/0,57	75,10	0,48/0,65
	Chứng nhận	75	1,8/2,4	75	1,8/2,4

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tìm ra các điều kiện alkyl hóa tối ưu hợp chất methyl thủy ngân sử dụng hai tác chất Grignard phổ biến là EtMgCl và BuMgCl trong điều kiện khí hậu nóng ẩm tại Việt Nam. Quy trình phân tích tổng thể dùng cho MeHg trong mẫu bùn lắng đã được khảo sát và tối ưu, thẩm định qua chất chuẩn chứng nhận quốc tế và đã được áp dụng thành công trên một số mẫu bùn lắng thu thập dọc sông Mekong. Nghiên cứu này giúp

cho việc phân tích MeHg trong mẫu bùn lắng trong tại Việt nam chủ động hơn do tác nhân alkyl hóa Grignard dễ mua/điều chế và rẻ tiền hơn so với sodium tetra alkyl borate.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại Học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ đề tài mã số C2013-18-09.

Study on analytical method for methylmercury in sediment by gas chromatography-atomic fluorescence spectrometry using Grignard reagents for alkylation

- Tran Duc Loi
- Nguyen Van Dong

University of Science, VNU-HCM

ABSTRACT

The analytical method for methylmercury in sediment samples was performed using an hyphenated system of gas chromatograph coupled atomic fluorescence detector (GC-AFS). Methylmercury in sediment samples was leached and extracted into dichloromethane with the assistance of HNO_3 , KCl and CuSO_4 . Dichloromethane was evaporated resulting in the relocation of MeHg to the aqueous phase. MeHg was then extracted in the form of diethyldithiocarmate complex into hexane followed by the alkylation processes with Grignard reagents, butyl magnesium chloride and ethyl magnesium chloride. The alkylation reactions were

optimized with respect to the amounts of Grignard reagents, the reaction temperature and time for the best alkylation yields and least extent of trans-alkylation and degradation of the alkylated products. The alkylated MeHg compounds were analyzed by GC-AFS. The analytical method for methylmercury was validated using certified reference material ERM-CC580. The instrumental limit of detection was 1.4 pg as Hg. The method limits of detection for EtMgCl and BuMgCl were 0.18 and 0.19 ng/g, respectively. This method can be used to analyze MeHg in sediment samples.

Keywords: atomic fluorescence detector, methylmercury, gas chromatography, sediment, Grignard reagent

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Methylmercury, C. o. t. T. E. o., Toxicological Effects of Methylmercury. In Council, B. o. E. S. a. T. C. o. L. S. N. R., Ed. National Academy Press: Washington, DC (2000).
- [2]. E. Ramalhosa, S.R. Segade, E. Pereira, C. Vale, A. Duarte, Microwave-assisted extraction for methylmercury determination in sediments by high performance liquid chromatography-cold vapour-atomic fluorescence spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 16, 6, 643-647 (2001).
- [3]. A.M. Caricchia, G. Minervini, P. Soldati, S. Chiavarini, C. Ubaldi, R. Morabito, GC-ECD determination of methylmercury in sediment samples using a SPB-608 capillary column after alkaline digestion. *Microchem J.*, 55, (1), 44-55 (1997).
- [4]. R.C. Campos, R.A. Goncalves, G.R. Brandao, M.S. Azevedo, F. Oliveira, J. Wasserman, Methylmercury determination using a hyphenated high performance liquid chromatography ultraviolet cold vapor multipath atomic absorption spectrometry system. *Spectroc. Acta Pt. B-Atom. Spectr.*, 64, 6, 506-512 (2009).
- [5]. J.P. Snell, W. Frech, Y. Thomassen, Performance improvements in the

- determination of mercury species in natural gas condensate using an on-line amalgamation trap or solid-phase micro-extraction with capillary gas chromatography?microwave-induced plasma atomic emission spectrometry. *The Analyst* 121, 8, 1055 (1996).
- [6]. T.Q. An, T.H. Phuong, N.V. Dong, In Methylmercury Analysis In Sediment Samples Using Home-coupled gas chromatograph – atomic fluorescence detector system, *analytica vietnam*, 4–10 (2013).
- [7]. A. Beichert, S. Padberg, B.W. Wenclawiak, Selective determination of alkylmercury compounds in solid matrices after subcritical water extraction, followed by solid-phase microextraction and GC-MS. *Appl. Organomet. Chem.* 14, 9, 493–498 (2000).
- [8]. J.S. dos Santos, M. de la Guardia, A. Pastor, M.L.P. dos Santos, Determination of organic and inorganic mercury species in water and sediment samples by HPLC on-line coupled with ICP-MS. *Talanta* 80, 1, 207–211 (2009).
- [9]. J.J. Berzas Nevado, R.C. Rodríguez Martín-Doimeadios, F.J. Guzmán Bernardo, M. Jiménez Moreno, Determination of monomethylmercury in low- and high-polluted sediments by microwave extraction and gas chromatography with atomic fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta*, 608, (1), 30-37 (2008).
- [10]. Y.X. Mao, Liu, G.L.; Meichel, G.; Cai, Y.; Jiang, G. B., Simultaneous speciation of monomethylmercury and monoethylmercury by aqueous phenylation and purge-and-trap preconcentration followed by atomic spectrometry detection. *Anal. Chem.*, 80, (18), 7163-7168 (2008).
- [11]. M. Kadlecova, M. Daye, B. Ouddane, Improvement in determination of methylmercury in sediments by headspace trap gas chromatography and atomic fluorescence spectrometry after organic extraction and aqueous phase ethylation. *Anal. Lett.*, 47, (4), 697-706 (2014).
- [12]. M. Horvat, N.S Bloom, L. Liang, Comparison of distillation with other current isolation methods for the determination of methyl mercury compounds in low level environmental samples: Part 1. Sediments. *Anal. Chim. Acta* 281, 1, 135–152 (1993).
- [13]. T. Stoichev, R.C.R. Martin-Doimeadios, D. Amouroux, N. Molenat, O.F.X. Donard, Application of cryofocusing hydride generation and atomic fluorescence detection for dissolved mercury species determination in natural water samples. *J. Environ. Monit.*, 4, 4, 517–521 (2002).
- [14]. R. Morabito, P. Massanisso, P. Quevauviller, Derivatization methods for the determination of organotin compounds in environmental samples. *Trac-Trends Anal. Chem.*, 19, 2-3, 113-119 (2000).
- [15]. H. Emteborg, J. Snell, J. Qian, W. Frech, Sources of systematic errors in mercury speciation using Grignard reagents and capillary gas chromatography coupled to atomic spectrometry. *Chemosphere*, 39, 7, 1137–1152 (1999).
- [16]. Fernandez, R. G.; Bayon, M. M.; Alonso, J. I. G.; Sanz-Medel, A., Comparison of different derivatization approaches for mercury speciation in biological tissues by gas chromatography/inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, 35, (5), 639–646 (2000).
- [17]. I. Taverniers, M. De Loose, E. Van Bockstaele, Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 23, 8, 535–552 (2004).
- [18]. S. Noh, M. Choi, E. Kim, N.P Dan, X.B. Thanh, N.T.V. Ha, S. Sthiannopkao, S. Han, Influence of salinity intrusion on the speciation and partitioning of mercury in the Mekong Delta rivers. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 106, 379–390 (2013).