

KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG ASEN TRONG NƯỚC SINH HOẠT TẠI KHU VỰC SƠN TÂY THEO KỸ THUẬT BIOSENSOR

Nguyễn Bằng Quyền, Trương Thị Thu Hiền,
Trần Văn Tùng, Nguyễn Văn Hưng

Trung tâm Phòng chống Nhiễm độc, Học Viện Quân Y

ABSTRACT:

Study on arsenic contamination in water use for domestic supply in Sontay using biosenser technique

In recent years, the biosensor technology development has supported analysis of toxic chemicals, particuly heavy metals to be more easy, low cost and carried out in the field conditions. This technique used equipments based on increase of luminescence bacteria under effect of enziyme Luciferase in a suitable media. One of them is Aboatox 1253 and test kits for heavy metals, containing E.coli MC1061 used for trace heavy metals assay kits that to analysis of traces of toxic metals.

In this study, the Aboatox 1253 and arsenic kits were applied to the analys water samples in Sontay area. The result of the study showed that: the water source in Sontay was not contaminated by arsenic. Most water samples has arsenic content lower than the permitted level.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, sự ô nhiễm asen trong các môi trường nước ngày càng gia tăng và trở thành một vấn đề toàn cầu. Nguồn nước bị nhiễm asen là một vấn đề gây lo ngại ở nhiều nước trên thế giới. Một số quốc gia phát triển như Mỹ, Austria... nước sinh hoạt cũng bị nhiễm asen với mức độ tương đương với các nước đang phát triển như: Bangladesh, Achentina, Brazin, Chilê, Hungari, Mêhicô, Đài loan, Thái lan, Việt Nam...Chính vì vậy, việc phân tích nhanh, chính xác hàm lượng asen trong môi trường, đặc biệt là trong môi trường nước là hết sức cần thiết. Trước đây, theo Tổ chức Y tế Thế giới, hàm lượng asen cho phép trong nước uống là 10 ppb, đến năm 1993, mức độ cho phép là 50ppb.

Trong những năm gần đây, công nghệ biosensor được quan tâm phát triển để phát hiện chất độc phục vụ phục vụ công tác bảo vệ môi trường và chẩn đoán nhiễm độc. Kỹ thuật biosensor dựa vào sự phát sáng của các vi khuẩn do tác dụng của enzym Luciferase trong môi trường thích hợp để định lượng kim loại nặng đã ứng dụng ở một số nước.

Cho đến nay, ở nước ta, chưa có công trình nghiên cứu phát hiện chất độc sử dụng công nghệ biosensor. Thiết bị đo cường độ ánh sáng Aboatox 1253 và các bộ kit phát hiện kim loại nặng biosensor dựa trên cơ sở phát sáng do Phần Lan sản xuất lần đầu tiên được đề tài KC10-13 nhập vào nước ta.

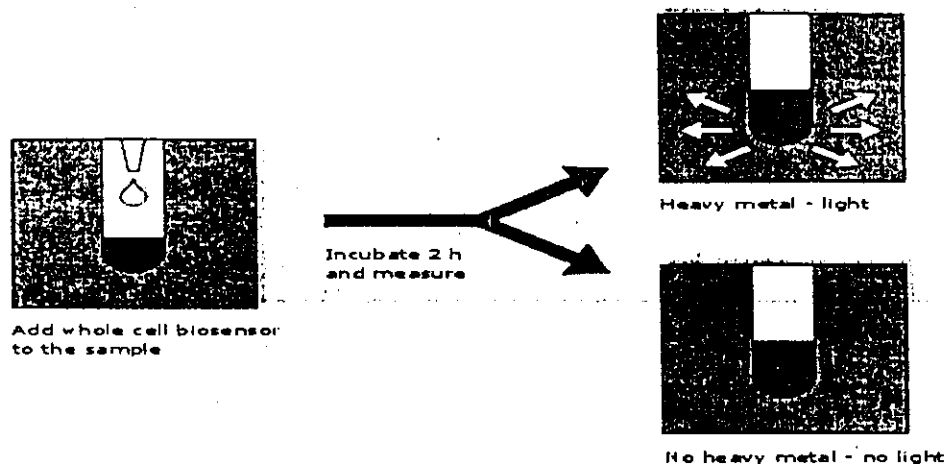
Kỹ thuật này có giới hạn phát hiện thấp (với asen là 2-4ppb; thủy ngân là 0,05-2ppb), độ chính xác và độ nhạy cao, tiến hành đơn giản hơn so với các xét nghiệm kim loại truyền thống như quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS), điện hoá, trắc quang... Thời

gian xét nghiệm nhanh, có thể tiến hành hàng trăm xét nghiệm trong ngày. Thiết bị nhỏ, gọn, có thể xét nghiệm ngay tại hiện trường, giá thành rẻ.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mô tả phương pháp biosensor

Nguyên lý: Khi không có mặt của kim loại nặng trong mẫu thử, enzym Luciferase bị ức chế, vi khuẩn *Escherichia coli* giảm cường độ phát sáng. Khi trong mẫu thử có kim loại nặng, enzym Luciferase được hoạt hoá làm cho vi khuẩn tăng cường độ phát sáng và sử dụng thiết bị đo cường độ ánh sáng để phát hiện (Hình 1)



Hình 1. Nguyên lý xác định kim loại nặng bằng kỹ thuật biosensor.

Trong nghiên cứu này sử dụng thiết bị đo cường độ ánh sáng Aboatox 1253 (hình 2) cùng với các bộ kit xét nghiệm kim loại nặng chứa *Escherichia coli* MC 1061 và Luciferase để định lượng asen trong các mẫu nước sinh hoạt.

2.2. Hoá chất, dụng cụ và thiết bị phân tích

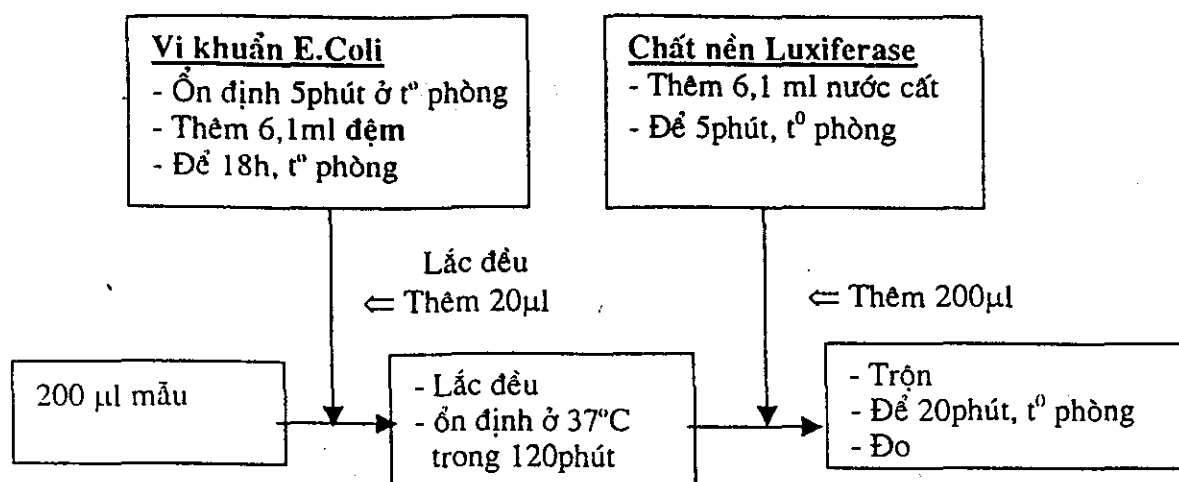
- Nước cất.
- Micropipet
- Thiết bị ổn nhiệt ở 37°C.
- Thiết bị cường độ ánh sáng Aboatox 1253 (version 1.0).
- Kit xác định asen do hãng Aboatox cung cấp gồm:
 - Vi khuẩn *Escherichia coli* MC 1061 đông khô.
 - Dung dịch đệm vô trùng.
 - Chất nền Luciferase đông khô.
- Mẫu chứng Na_2HAsO_4 (75ppm).



Hình 2. Thiết bị Aboatox 1253.

2.3. Cách tiến hành:

Các bước tiến hành xác định asen bằng kỹ thuật biosensor theo sơ đồ sau (hình 3):



Hình 3. Các bước tiến hành xác định asen trong mẫu nước bằng kỹ thuật biosensor.

2.4. Phân tích định lượng

Cơ sở phân tích định lượng của kỹ thuật biosensor là đo cường độ phát sáng (RLU) của vi khuẩn trong dung dịch chất chuẩn, và trong mẫu

Sau khi đo kết quả được tính toán theo đồ thị chuẩn.

2.5. Lấy mẫu

Các mẫu nước được lấy tại khu vực Sơn Tây. Tổng số 82 mẫu, gồm 14 mẫu nước giếng đào, 36 mẫu nước giếng khoan, và 32 mẫu nước máy. Mẫu được lấy vào tháng 11 năm 2003. Các mẫu nước được phân tích ngay trong ngày.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xây dựng đường chuẩn và phương trình tuyến tính

Đo cường độ phát sáng của 6 mẫu có nồng độ asen như ghi trong *Bảng 1*.

Bảng 1. Xây dựng đường chuẩn và phương trình tuyến tính.

Y (nồng độ-ppm)	0,005	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
X (cường độ phát sáng - RLU)	0,742	1,231	2,939	5,213	13,808	23,304

Phương trình tuyến tính $Y = 0,022X - 0,014$

Hệ số tương quan $R = 0,997$

Khoảng tuyến tính của kỹ thuật trong phạm vi từ 0,005 ÷ 7,5ppm.

3.2. Kiểm tra hiệu suất thu hồi

Mẫu thu hồi được tiến hành bằng cách thêm các lượng mẫu chuẩn xác định khác nhau vào nền mẫu thực, rồi tiến hành phân tích như quy trình. Hiệu suất thu hồi được chỉ ra trong bảng 2:

Bảng 2. Hiệu suất thu hồi của asen trong nền mẫu thực.

S T T	Nồng độ thêm vào mẫu (ppm)	Nồng độ xác định (ppm)	Hiệu suất thu hồi (%)
1	0,01	0,008	80,00
2	0,05	0,043	86,00
3	0,30	0,263	87,67
4	0,50	0,464	92,80

Từ kết quả khảo sát hiệu suất thu hồi của asen trong mẫu nước cho thấy hiệu suất thu hồi là khá tốt (đều >80%), như vậy có thể áp dụng để phân tích định lượng asen trong các mẫu nước.

3.3. Kết quả phân tích mẫu nước thực tế

Các mẫu nước sinh hoạt được lấy ở khu vực Sơn Tây-Hà Tây để bước đầu khảo sát hàm lượng asen tại khu vực này. Kết quả phân tích được chỉ ra trong các bảng 3, 4, 5:

*Bảng 3. Kết quả phân tích hàm lượng asen trong các mẫu nước máy
tại khu vực Sơn Tây.*

STT Mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)	STT mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)	STT mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)
1	0,214	-	12	0,240	-	23	0,118	-
2	0,321	-	13	0,321	-	24	0,375	-
3	0,234	-	14	0,333	-	25	0,649	-
4	0,457	-	15	0,123	-	26	0,131	-
5	0,043	-	16	0,314	-	27	0,058	-
6	0,134	-	17	0,214	-	28	0,462	-
7	0,576	-	18	0,456	-	29	0,246	-
8	0,446	-	19	0,246	-	30	0,113	-
9	0,222	-	20	0,223	-	31	0,245	-
10	0,135	-	21	0,335	-	32	0,224	-
11	0,245	-	22	0,235	-			

(-) : nhỏ hơn giới hạn phát hiện của phương pháp

Bảng 4. Kết quả phân tích hàm lượng arsen trong mẫu nước giếng khoan tại khu vực Sơn Tây.

STT Mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)	STT mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)	STT mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)
1	0,356	-	13	0,355	-	25	0,246	-
2	0,658	+	14	0,224	-	26	0,223	-
3	0,455	-	15	0,621	-	27	0,476	-
4	0,235	-	16	0,234	-	28	0,643	+
5	0,563	-	17	0,576	-	29	0,457	-
6	0,601	-	18	0,468	-	30	0,457	-
7	0,656	+	19	0,726	+	31	0,662	+
8	0,357	-	20	0,357	-	32	0,245	-
9	0,045	-	21	0,522	-	33	0,135	-
10	0,568	-	22	0,452	-	34	0,585	-
11	0,146	-	23	0,576	-	35	0,363	-
12	0,456	-	24	0,528	-	36	0,462	-

(-): nhỏ hơn giới hạn phát hiện của phương pháp; (+): lượng vết arsen

Bảng 5. Kết quả phân tích hàm lượng arsen trong các mẫu giếng đào tại khu vực Sơn Tây.

STT Mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)	STT mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)	STT mẫu	Cường độ a/s (RLU)	Nồng độ (ppm)
1	0,303	-	6	0,157	-	11	0,427	-
2	0,643	-	7	0,335	-	12	0,436	-
3	0,246	-	8	0,267	-	13	0,674	+
4	0,679	+	9	0,652	+	14	0,146	-
5	0,213	-	10	0,578	-			

(-): nhỏ hơn giới hạn phát hiện của phương pháp; (+): lượng vết arsen

Kết quả nghiên cứu cho thấy nguồn nước sinh hoạt tại khu vực nghiên cứu không nhiễm arsen. Hầu hết các mẫu nước xét nghiệm đều có kết quả âm tính. Một lượng nhỏ mẫu nước (7/82) ghi nhận được vết arsen.

Tuy nhiên có thể thấy rằng phạm vi ứng dụng của kỹ thuật này trong phân tích môi trường là rất rộng, có thể dùng để khảo sát sơ bộ tại vùng nghiên cứu với số lượng mẫu lớn, do đó đem lại hiệu quả kinh tế cao. Vì vậy để có những đánh giá tổng quan hơn thì cần được mở rộng nghiên cứu...

4. KẾT LUẬN

Đã áp dụng kỹ thuật biosensor để phân tích mẫu nước sinh hoạt tại khu vực Sơn Tây, từ kết quả nghiên cứu thấy rằng nguồn nước khu vực Sơn Tây không có arsen. Hầu hết các mẫu nước xét nghiệm đều có kết quả âm tính hoặc arsen xuất hiện ở dạng vết.

Biosensor là một phương pháp hiệu quả để phân tích các mẫu nước ngay tại hiện trường, tốn ít thời gian, đặc biệt là không đòi hỏi quá trình xử lý mẫu phức tạp. Đối với mẫu nước có thể đo ngay mà không cần qua bước xử lý nên rất có ý nghĩa về mặt môi trường, đồng thời tạo hiệu quả kinh tế cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Virta, M., Lampinen, J. and Karp, M. (1995). A Luminescence-Based Mercury Biosensor. *Anal Chem* 67, 665-669.
2. Tauriainen, S., Karp, M., Chang, W. and Virta, M. (1998). Luminescent bacterial sensor for cadmium and lead. *Biosensors & Bioelectronics* 13, 931-938.
3. Lappalainen, J., Karp, M. and Virta, M. (2000): Comparison of the total mercury content in sediment samples with a mercury sensor bacteria test and *Vibrio fischeri* toxicity test. Accepted for publication in *Environmental Toxicity* (Nov. 2000)
4. Tauriainen, S.M., Virta, M.P.J. and Karp, M.T. (2000). Detecting bioavailable toxic metals and metalloids from natural water samples using luminescent sensor bacteria. *Wat. Res.* 34, 2661-2666.