
Skypunktsekstraksjon for kvantitativ sporspesiering av arsen i vann

Håkon Espeland
April 30, 2020

Institute of Chemistry
Faculty of Science
Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Contents

1	Introduksjon	1
2	Teori	3
2.1	Arsen	3
2.2	skypunktsekstraksjon	3
2.2.1	Surfaktanter	3
2.2.2	Micellering	5
2.3	Chelatering/kompleksring	5
3	Diskusjon	5
3.1	Surfaktant	5
3.2	Surfaktantens seleksjon og chelatering	6
3.3	Kvantitativ spesiering As(III) og As(V)	7
3.4	Spesiering av uorganiske og organiske arsenspesier	9
3.5	Alternative ekstrahering og prekonsentreringsmetoder	9
3.5.1	LLE baserte metoder	10
3.5.2	SPE baserte metoder	10
3.5.3	Sammenlignet med CPE	11
4	konklusjon	12

Sammendrag

Giftige sporstoffer er en utfordring for verdens økosystemer og vårt samfunn. Ikke bare kan små endringer føre til store ekologiske ringvirkninger som følge av biomagnifisering og bioakkumulering, men visse sporstoffer kan også være direkte giftig for mennesker. Stoffet som bly, kvikksølv og arsen er svært giftige i veldig lave konsentrasjoner og kan være vanskelig å kvantitativt analysere.

Bruk av avanserte instrumenter kan gi gode resultater raskt og effektivt. HPLC-ICP-MS er en vanlig brukt metode for analyse av sporarsen, men instrumentene har høy innkjøpspris og brukspris. Alternative metoder som benytter seg av prekonsentrasjon og ekstrahering kan ofte senke pris, men en gjengående trend er at tidsbruk og bruk av miljøskadelige løsningsmiddel øker.

Skypunktsekstraksjon, heretter kalt CPE, har effektivt blitt benyttet som en ekstraksjon- og prekonsentrasjonsmetode i flere ulike matriser med bruk av instrumentelle spektroskopiske og kromatografiske metoder for analyse av sporstoffer. Så hvor nyttig er CPE som en billig og miljøvennlig ekstrahering og prekonsentrasjonsmetode og metodens effektivitet i forhold til andre nye metoder?

1 Introduksjon

Grunnstoffet arsen finnes naturlig i flere ulike oksidasjonstilstander, hvor giftigheten varierer mye. Gjennom antropogene og naturlige prosesser kan arsen ende opp i drikkevannskilder. Dette er et reelt og dagsaktuelt problem flere steder i verden, for eksempel i områdene i Bangladesh. Gitt giftigheten til arsen er det viktig å overvåke eventuelle endringer som kan oppstå, både fra antropogene og naturlige utslippskilder[1].

Arsen finnes i forskjellige specier, og deres giftigheten til arsen varierer med speciene. To hovedgrupper for arsens specier er uorganiske og organiske. Uorganisk arsenspecier regnes som mer biotilgjengelige enn organiske arsenspesier. Dette gjør uorganiske arsenspesier potensielt giftigere enn organiske arsenspesier. Det er bevist at uorganiske arsenspecier er giftige selv ved lave konsentrasjoner. World Health Organisation (WHO) har satt en anbefalt maks grense på $10 \mu\text{g L}^{-1}$ arsen i drikkevann[2].

Til tross for informasjonen tilgjengelig om problematikken rundt arsens rolle i drikkevann er det til dags dato ikke funnet en billig, universal metode som kan fjerne arsen fra drikkevannskilder. Gitt forskjellen i giftighet til de forskjellige speciene er det også nødvendig å utvikle en effektiv, billig identifiseringsmetode for de forskjellige arsenspeciene.

Fokuset på miljøet og folkehelsen øker stadig, og med det må billige og bærekraftige metoder for prøvetakning utvikles. Uorganiske arsenspesier er mye mer biotilgjengelige enn organiske specier, som øker faren ved konsum av uorganisk arsen mer enn organisk arsen. Uorganisk arsen er svært giftig selv i relativt lave konsentrasjoner. WHO har satt en anbefalt maks grense på $10 \mu\text{g L}^{-1}$ [2].

Gitt den forskjellige giftigheten til de forskjellige arsenspeciene er det viktig å kunne skille mellom specier ved analyse. Dette for å bedre fastslå faren tilknyttet forurensingene, samt

å eventuelt kunne identifisere nærliggende utslippskilder.

Det har lenge vært kjente metoder for kvantitativ spesiering av arsen, men de er ikke nødvendigvis billige eller miljøvennlige. Denne oppgaven skal ta for seg mulige metoder for å kvantifisere arsen i vann. Metodene oppgaven skal ta for seg er skypunktekstrasjon (CPE) som ofte har blitt ansett som et av de billigere alternativene til arsenbestemmelse i vann. I tillegg benytter CPE kommersielt tilgjengelige og miljøvennlige stoffer. Oppgaven vil videre sammenligne fordeler og ulemper med andre prekonsentrasjons og ekstraheringsmetoder som liquid-liquid ekstraksjon (LLE) og solid phase ekstraksjon (SPE) baserte metoder.

Faktorer som tas i betraktning er valg av chelateringsmidler, ikke - ioniske surfaktanter og detektorer som gir sensitive og selektive resultater. Faktorer som ikke blir tatt i betraktning er mer avanserte matriser, som for eksempel jordprøver eller matvarer, og ioniske surfaktanter vil heller ikke diskuteres, ettersom at disse ikke blir benyttet i relevant grad. Hovedfokuset på spesiering vil ligge på uorganisk As(III) og As(V) ettersom at disse er de mest utbredte og giftigste formene av arsen [3].

Forkortelse	Forklaring	Forkortelse	Molekylformel
CPE	Skypunktekstrasjon	Triton X-114	$(C_2H_4O)_n C_{14}H_{22}O$, n = 7 eller 8
(D)LL(M)E	(Dispersiv) væske-væske (mikro) ekstraksjon	Triton X-100	$(C_2H_4O)_n C_{14}H_{22}O$, n = 9 eller 10
SP(M)E	solidfase (mikro) ekstraksjon		
CMC	Kritisk micelle-konsentrasjon	PONPE-7	polyoxyethylene (7.5)* nonylphenylether
EF	Enrichment factor	APDC	Ammonium Pyrrolidinedithiocarbamate
(ET) eller (F) - AAS	Elektrotermisk eller Flamme atomabsorpsjonsspektrometri	CPC	cetyl pyridinium chloride
-	-	SDS	Sodium dodecyl sulphate
-	-	CTAB	cetyl trimethyl ammonium bromide

Table 1: Molekyler og forkortelser benyttet i oppgaven.

* Gjennomsnittlig mengde repeterende enheter

2 Teori

2.1 Arsen

Halvmetallet arsen er et grunnstoff som naturlig finnes i jordskorpen og vannkilder. Arsen finnes i over 20 forskjellige forbindelser, med varierende giftighet og egenskaper. De fleste organiske arsenforbindelsene er mindre giftigere enn uorganisk arsen grunnet lavere biotilgjengelighet. I vannkilder opptrer arsen som regel i form av arsenitt (As(III)), arsenat (As(V)), metylarsensyre (MMA) og dimetylarsensyre (DMA) som vist i figur 2.1. De uorganiske formene av arsen, arsenitt og arsenat, er farligere for dyr og mennesker enn de organiske formene [3].

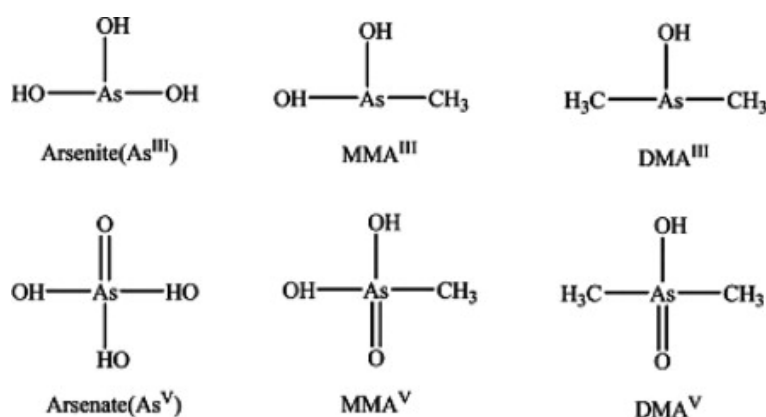


Figure 2.1: De vanligste spesier av arsen i vannkilder. Bildet er hentet fra [3]

Giftigheten til arsen er godt kjent og har vært det siden 1800-tallet, hvor arsenikk (As_4O_6) ble hyppig brukt som drapsgift. I Større doser kan arsen være direkte dødelig, men selv små doser kan gi langvarige skader. World Health Organization (WHO) har satt en anbefaling på øvre grense på $10 \mu\text{g L}^{-1}$ i drikkevann [2].

2.2 skypunktsekstraksjon

Skypunktsekstraksjon (CPE) er en ekstraksjonsmetode hvor analytten blir bundet i et micellært aggregat som ved en gitt temperatur vil få høynet turbiditet. Den forhøyne turbiditeten gjør at micelfasen kan separeres fra matrisen ved sentrifugering. For å bedre forstå hvordan skypunktsekstraksjon gjennomføres må surfaktantes egenskaper undersøkes nærmere.

2.2.1 Surfaktanter

Vi benytter oss av surfaktanter på en daglig basis. Egenskapene deres gjør at de er effektive i bruk som vaskemidler, såper og kosmetiske produkter. Dette har de blitt brukt til i flere årtusen. I nyere tid har surfaktantene også blitt tatt i bruk i legemiddelinndustri, genteknologi og mange andre felt[4]. Surfaktanter er amfile stoffer som ofte er

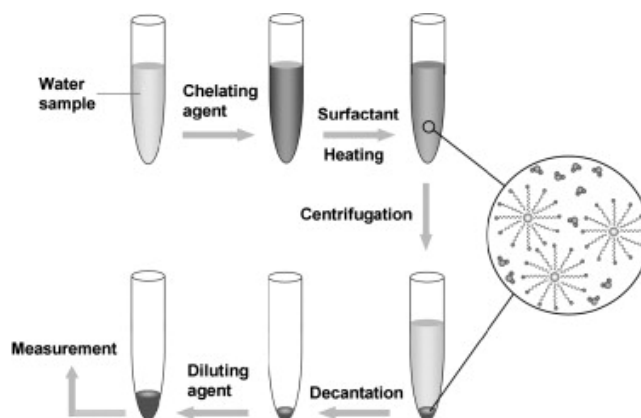


Figure 2.2: Grafisk fremgangsmetode for en tenkt skyppunktsekstraksjon

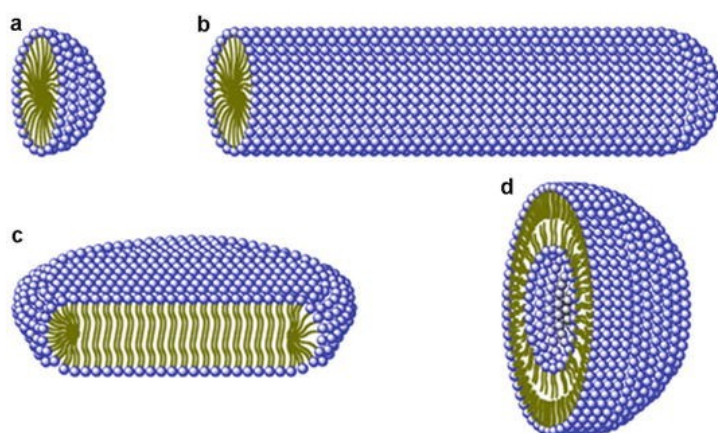


Figure 2.3: Noen eksempler på surfaktantaggregater. kuleformet micelle (a), sylindrisk micelle (b) og en kuleformet vesikkel (d) [7].

organiske stoffer bestående av et hydrofilt hode og en hydrofob karbonkjede. Den viktigste egenskapen til surfaktantene er nettopp amfilifiteten deres som gjør at de kan senke overflatespenningen mellom ulike faser. Dette kan være mellom ulike væskefaser eller på væskens overflate mot enten gass eller faste stoff. [5]

Det finnes surfaktanter med ioniske hoder, som vil endre deres oppførsel i noe grad, men i all hovedsak oppfører de seg likt. Ioniske surfaktanter benyttes ikke i like stor grad som ikke-ioniske surfaktanter for CPE og vil derfor heller ikke tas for mye hensyn til i denne oppgaven. [6]

Senkingen av overflatespenning oppstår ved at det hydrofile hodet og de hydrofile karbonhalene har ulik affinitet til ulike væskefaser. Dette gjør surfaktanter kan få løst stoff i faser hvor det ellers ikke ville vært løselig. En viktig egenskap ved surfaktantene som denne oppgaven skal ta en nærmere titt på er at de kan aggregere til ulike strukturer. Videre i oppgaven kommer kuleformede miceller til å være mest relevant, men avlange miceller og vesikler av ulike former oppstår også, som vist i figur 2.3.

2.2.2 Micellering

Det er et par kriterier som skal til for at en micelle skal dannes. Konsentrasjon av surfaktant er svært viktig for å oppnå effektiv micellering. Miceller dannes ved et kritisk konsentrasjonspunkt som kalles kritisk micellekonsentrasjon (CMC). Det kalles kritisk ettersom at det i praksis ikke dannes miceller i det hele tatt før denne konsentrasjonen nås. [8]

Tilsatte surfaktantmolekyler etter CMC vil så og si bare bidra til flere miceller. Strukturene til micellene vil derimot endre form ved høyere konsentrasjon av surfaktant. Micellene vil da bli mer avlange og danne tuber. Ved enda høyere konsentrasjon vil vesikler dannes [9].

Micelledannelse krever at det blir nådd en viss temperatur. Temperaturen ved CMC hvor miceller kan begynne å dannes kalles Krafft-punktet, som er kritisk for å gjennomføre effektiv tåkedannelse. Over krafft temperaturen vil ikke-ioniske surfaktanter være løst i polare løsninger. For polyetylen surfaktanter, hvor den hydrofile enden er en polyetylenkjede, vil hydrogenbindinger mellom oksygen i det hydrofile hode og det polare løsemiddelet dannes. Ved videre økning av temperatur blir hydrogenbindingene svekket og surfaktantene vil felle ut og danne en tåkete løsning. I praksis skjer denne utfellingen ved en bestemt temperatur [10].

2.3 Chelatering/kompleksering

De presenterte CPE-metodene i nyere litteratur benytter seg av kompleksdannelse ved hjelp av chelateringsmiddel, eller andre ligander som en metode til å endre en analyttens polaritet. En chelat er et stabilt kompleks hvor en polydentant ligand, altså en ligand med flere bindepunkter, bindes til et metallion og danner en kompleksforbindelse. [11] For spormetallanalyse ved CPE må ionene gjøres upolare for å kunne løses i surfaktantens hydrofobe hale som vanligvis gjennomføres med chelatering.

3 Diskusjon

Diskusjonen vil ta for seg ulike parametere som påvirker CPE av arsen. Forbindelser som benyttes i CPE vil først diskuteres, da med tanke på surfaktantvalg og chelateringsmidler. Deretter vil metodene som benyttes for å oppnå spesiering av arsens ulike oksidasjonstilstander samt hvordan uorganiske spesier kan skilles fra organiske spesier diskuteres. Til slutt skal CPE som metode sammenlignes med andre metoder brukt i nyere tid for spesiering av sporarsen.

3.1 Surfaktant

Valg av surfaktant har mye å si for effektiviteten av skypunktsekstraksjon. En god surfaktant må kunne bli tåkete ved en akseptabel temperatur, må tåle et stort spenn av pH og må ha mulighet til å innkapsle analytten med høy effektivitet. Den tåkete surfaktantrike fasen må kunne skilles enkelt fra løsemiddelet for å oppnå effektiv separasjon.

Skypunktet til surfaktanten må være innenfor et temperaturrekkevidde hvor en får utført sentrifugering og ekstrahering uten å bryte ned kompleksene som holder analytten i en upolar tilstand. Ugunstige skypunktstemperaturer kan også føre til at metoden blir praktisk vanskeligere å gjennomføre. Derfor er det vanlig at rapporterte metoder benytter surfaktanter som kan bli tåkete i et temperaturområde fra romtemperatur opp til ca 80 °C [6].

Surfaktantenes skypunkt kan ofte manipuleres ved endring av dens konsentrasjon. Vanligvis vil ikke surfaktantkonsentrasjoner høyere enn CMC påvirke ekstraksjonsfaktoren i noen betydelig grad, så lenge micellekonsentrasjonen er høy nok til å ekstrahere all analytt [12]. Det skal sies at det er ønskelig å minimere bruk av surfaktant, både for prisseffektiviteten til ekstraheringen og for å maksimere analyttens konsentrasjon i surfaktantrik fase for å øke EF.

Skypunktet kan også endres ved hjelp av tilsatte løsemidler og salter. Dette kan endre hvilke parametere som gir mest effektiv ekstraksjon, men det endrer i all hovedsak ikke nok til at CPE ikke kan gjennomføres effektivt. Surfaktanter med ulike skypunkt kan også benyttes til å endre skypunktet nokså fritt mellom surfaktantenes egne skypunkt. Dette kan i teorien benyttes til å skape et optimalt skypunkt, men ettersom at det likevel er varierende hvilke eksakte verdier som gir best ekstraksjon basert på prøvens matrise blir det oftere gjennomført med kun en type surfaktant. Siden det er mange faktorer som påvirker skypunktet er det ofte nødvendig å kjøre tester på ekstraksjonseffektiviteten i matrisen som skal analyseres. Manipulasjon av skypunktet ved hjelp av tilsatte stoffer benyttes heller ikke i stor grad, ettersom at det finnes surfaktanter som har akseptable skypunktverdier [6, 13].

En annen viktig egenskap til surfaktanten er dens tetthet over skypunktet. Skypunktsekstraksjon tar nytte av tetthetsforskjell i surfaktantrik fase og vandig fase for å kunne separere ved sentrifugering. Sentrifugering kunne også separert effektivt om den surfaktantrike fasen har lavere tetthet enn løsemiddelet, men det observeres ikke blant de vanligste brukte surfaktantene.

Med de fornevnte parameterene tatt i betraktning benyttes surfaktanter i Triton-serien betraktelig mye oftere enn andre surfaktanter i spormetallanalyser [13]. Triton X-114 er surfaktanten som benyttes oftest. Triton X-114 har en skypunktstemperatur på 30 °C som gjør at den er veldig enkel å arbeide med. Triton X-114 gir også en høy tetthet på surfaktantrik fase, samt at den er billig, lite giftig og kommersielt lett å anskaffe [14]. X-114 blir oftere benyttet enn X-100, ettersom at X-100 har et skypunkt på 65 °C. For å effektivt kunne ekstrahere må temperaturen holdes høyere enn dette under sentrifugering og fase separering. Dette er i praksis krevende å gjennomføre.

3.2 Surfaktantens seleksjon og chelatering

I en vandig løsning vil surfaktanter ha en generell selektivitet for upolare stoffer og ikke - ioniske stoffer. For flere organiske molekyler kan det ofte finnes surfaktanter med god selektivitet slik at skypunktsekstraksjonen kan kjøres direkte uten hjelpende ligander, men dette er ikke en vanlig praksis for spormetallanalyse [15]. For spormetallanalyse blir det vanligvis brukt et chelateringsmiddel for å kunne effektivt selektere spormetaller og

for å oppnå best mulig affinitet til surfaktantens hydrofobe ende.

Det finnes eksempler på skypunktsekstraksjon av spormetaller gjennomført uten bruk av selekterende chelater, men det er lite litteratur på temaet. Det er heller ikke noen tilstrekkelige dokumenterte metoder for skypunktsekstraksjon av arsen uten chelateringsmiddel [16, 17]. Chelateringsmidler vil senke metodens EF ettersom at prøven vil være tykkere og må tynnes mer ut før den er klar for analysering, men ofte er chelateringsmidler nødvendig for å kunne analysere prøven med adekvat seleksjon.

En rapport fra Bu-Ali Sina University klarte å utføre sporanalyse av kadmium med god sensitivitet og selektivitet på vannprøver ved skypunktsekstraksjon uten bruk av chelateringsmiddel. Istedenfor chelateringsmiddel ble jodid brukt, som danner komplekser med kadmium. Dette vil i praksis utføre samme funksjon som et chelateringsmiddel [18], men det har fordelen med at det ikke øker mengden stoff i surfaktantrik fase i like stor grad som konvensjonelle chelateringsmiddel.

En omfattende undersøkelse av sjeldne jordgrunnstoffer i biologiske prøver ble gjennomført av forskere ved Wuhan University i 2009 [15] for å sammenligne skypunktsekstraksjon med og uten chelateringsmiddel. Det ble observert en lavere deteksjonsgrense ved bruk av chelateringsmiddel, men forskjellen var ikke signifikant. Det skal også nevnes at ekstraksjonen uten chelateringsmiddel ikke fikk kvantitativt akseptable resultat under pH 9, som ble antatt å være grunnet enten kompleksdannelse med surfaktanten selv eller hydrolyse av metallene slik at de blir upolare [15].

Metodene som ble gjennomført i forsøkene til Samadi-Maybodi et al. og Luconi et al. [16, 17] viser at det er mulig å gjennomføre chelatløs skypunktsekstraksjon med høy sensitivitet, men det er metoder som så langt ikke er reproduserbare for andre metaller. Ligandløs ekstraksjon har også blitt observert for sølv og aluminium [19, 20], men i begge tilfeller er det antatt en kompleksdannelse mellom surfaktant og analytt.

Problemet med seleksjon av spormetaller kan løses ved å bruke metoder som kan gi presis og nøyaktig kvantitativ analyse av flere grunnstoff samtidig, som for eksempel ICP-MS. Undersøkelsen som ble gjort med og uten chelateringsmiddel brukte ICP-MS som i praksis fjerner behovet for seleksjon av spesifikke grunnstoff, ettersom at ICP-MS er overlegen innenfor selektivitet av multielementære prøver [21].

Selv om chelatløs skypunktsekstraksjon kan være lovende i grunnstoffanalyse for visse stoffer er det ikke nødvendigvis en veldig god metode med tanke på spesiering av arsen. Arsenspesiene som vanligvis opptrer har ladning når oppløst i vann, og en metode for å gjøre dem upolare må til for å kunne effektivt ekstrahere med skypunktsekstraksjon. Det kan hende at det er mulig å danne en surfaktant eller en metode som kan binde til arsen, men det er svært vanskelig å finne litteratur som støtter denne påstanden.

3.3 Kvantitativ spesiering As(III) og As(V)

En utfordring av å kvantitativt bestemme mengde arsen i vannprøver er at arsen opptrer i mange forskjellige forbindelser. Dette kan gjøre det vanskeligere å kvantitativt bestemme total mengde samt å skille mellom ulike spesier. Kombinasjon av HPLC med ICP-MS gir en god separasjon av ulike arsenspesier hvor total mengde fastsettes nøyaktig og presist av

ICP-MS, og spesiene kan identifiseres med å sammenligne retensjonstider under HPLC. ICP-MS kan ikke skille molekyler, så all informasjon om hvilke forbindelser som finnes må baseres på sammenligning av HPLC retensjonstider. Dette er en metode som har høy presisjon, lav deteksjonsgrense og relativt høy pris. Både ICP-MS og HPLC har relativt høye driftskostnader og ICP-MS er dyrt å anskaffe. Dette er faktorer som kan være en utfordring med tanke på finansiering for rutinekontroller [22].

HPLC-ICP-MS kombinert med en adekvat ekstrahering og prekonsentrering er en av metodene med lavest deteksjonsgrense. For kontroll av vannkilder er det ikke alltid nødvendig med en så lav deteksjonsgrense. Derfor kan det være nyttig å se på billigere og mer tilgjengelige detektorer for å senke terskelen[22].

Videre analyse etter skypunktsekstraksjon vil kreve noe forbereding av surfaktantrik fase. Den surfaktantrike fasen er svært tyktflytende som er problematisk for de fleste analysemetoder [21]. Vanligvis kan dette overkommes uten store problem ved uttynning av surfaktantfasen. Siden CPE kan kjøres i svært små volum kan uttynning gjennomføres med bare et par mL løsningsmiddel, slik at pris og miljøavtrykk kan holdes på et lavt og bærekraftig nivå[12, 23, 24]. Det vanligste løsningsmiddelet som benyttes for å preparere surfaktantfasen for analyse i nyere litteratur er HNO_3 løst i metanol [25], som begge er relativt billig og lite giftig.

En studie av Ulusoy et al. [23] benyttet atomisk absorpsjonsspektrometri (AAS) ble uorganiske arsenspesier analysert med en lineær rekkevidde fra $5 \mu\text{gL}^{-1}$, og en deteksjonsgrense på $1.67 \mu\text{gL}^{-1}$. Dette er ikke en veldig imponerende grense, men den er tilstrekkelig til å kunne bekrefte om konsentrasjonen går under WHO sin anbefalte grense. Forsøket benytter derimot flamme AAS (FAAS), som er et veldig vanlig instrument som finnes på de fleste laboratorier.

Atomabsorpsjon viser fortsatt lovende egenskaper for arsenspesiering. De er generelt sett raske og billige å ta i bruk og er ikke uvanlige å finne i laboratorier. Elektro termisk atom absorpsjons-spektrometri (ETAAS) kan benyttes istedetfor FAAS for å senke deteksjonsgrensen. ETAAS gir generelt sett bedre sensitivitet ettersom at ET - atomiserere bryter ned prøven mye raskere enn flamme-atomiserere [26]. ETAAS har også fordelen med at prøven forbrennes i en ovn med begrenset volum som øker konsentrasjonen av analytt under detektering, som øker det målbare signalet. En bieffekt av dette er at den øvre deteksjonsgrensen også senkes, så hvilken konsentrasjon som forventes å måles må tas i betrakning før en velger mellom detektorene [21].

En ultrasporanalyse av arsen utført av et team på University of Tehran [24] med CPE etterfulgt av ETAAS viste og at en større gruppe anion og kationer ikke ga interferens med As(V) ved en tilsatt konsentrasjon tilsvarende 1000 ganger arsenkonsentrasjonen. Dette utelukket interferens av vanlige ione i vann som et problem med CPE etterfulgt av ETAAS.

Et team fra University of Cumhuriyet i Tyrkia brukte CPE med Pyronine B og CPC som kompleksierende stoff med triton X-114 som surfaktant og FAAS[23], og fikk en nedre deteksjonsgrense på $1.67 \mu\text{gL}^{-1}$, med en linear range av 5 - $2200 \mu\text{g L}^{-1}$. Dette er en relativt høy nedre grense, men selv med veldig billig utstyr får en kjørt analyse som kan kvantitativt spesiere arsen i lav nok konsentrasjon, gitt WHO sine anbefalte verdier.

Denne metoden kunne ha benyttet en deteksjonsmetode med høyere sensitivitet dersom det skulle være nødvendig, men viser at pyronine B kan tas i bruk for effektiv spesiering med hjelpeligand. Forsøket undersøkte også bruken av andre hjelpeligander, som SDS og CTAB, men fant høyere ekstraksjon ved bruk av CPC [23].

Literatur på arsenspesiering ved CPE tar ofte i bruk Pyronine B som chelateringsmiddel, som effektivt kan danne komplekser med både As(V) og As(III). As(III) kompleksene dannes fortere ettersom at ladningen gjør at forholdet mellom metall og ligand holdes på 1:1, mens As(V) danner 1:2 forhold. Hjelpeligander som CPC og SDS har blitt benyttet for å gjøre kompleksdannelsen mer effektiv [27].

3.4 Spesiering av uorganiske og organiske arsenspesier

Som nevnt tidligere har ETAAS og FAAS blitt benyttet til effektiv spesiering med god seleksjon og sensitivitet. Metodene har derimot kun sett på konsentrasjon av As(III), As(V) og total arsen konsentrasjon. Måten som litteraturene presenterer spesieringen måler først total mengde arsen ved bruk av oksidasjonsmiddel for å oksidere As(III) til As(V). Deretter kjøres en tilsvarende prøve uten oksidasjonsmiddel for å finne mengde As(V) i prøven. As(III) kan deretter finnes ved å finne differansen i total arsen etter oksidering og mengde As(V) uten oksidering. Analysen kan også kjøres motsatt, ved reduksjon av As(V) til As(III) etterfulgt av analyse av As(III) [28]. Dette er ikke en metode som kan benyttes til å skille uorganisk arsenspesier fra organiske arsenspesier, ettersom at det ikke kan skilles på oksidasjonstilstand.

Metodene som er presentert i litteraturen gått igjennom til nå vil ikke kunne skille på organiske og uorganiske arsenspesier uten ekstra separering. En slik separering kan gjennomføres med kromatografiske metoder, men dette kan føre til komplikasjoner. Sensitiviteten til metoden må være høyere, ettersom at man deler opp den totale mengden arsen i enda mindre parter ved å skille på oksidasjonstilstand og molekylære grupper. Flere av metodene som benytter seg av FAAS vil da trenge en signifikant forbedring for å kunne kvantifisere spesiene i en adekvat grad.

Det finnes mange metoder som benytter kromatografi og som effektivt kan skille uorganisk As(III) og As(V), og MMA og DMA. Nyere litteratur presenterer metoder som benytter HPLC baserte metoder som kan kvantifisere de fire fornevnte spesiene under samme kjøring [29]. Med korrekt forinnstilling av HPLC-ICP-MS kan slike metoder også ta for seg multielementær analyse, som kan rettferdiggjøre bruken av et relativt dyrt instrument der det er tilgjengelig. HPLC-ICP-MS krever heller ikke mye forarbeid i form av prekonsentrering. Prøven må tynnes tilstrekkelig ut og filtreres til et nivå som kan kjøres gjennom HPLC, men ICP-MS er så sensitivt for spormetaller at gode resultater kan fortsatt oppnås.

3.5 Alternative ekstrahering og prekonsentreringsmetoder

Det finnes et brett spekter av analytiske metoder for spormetallanalyse. Vanligvis kreves det en form av prekonsentrering for å oppnå akseptable deteksjonsgrenser og signalstyrker som kvantitativt kan bestemmes, med unntak av ICP-MS baserte metoder som nevnt tidligere.

Videre skal noen Væske-væske (LLE) - og solidfase(SPE)-baserte metoder undersøkes. Kun hovedtrekkene for LLE og SPE baserte metoder vil undersøkes ettersom at det er alt for mange variasjoner av metodene til å kunne diskutere dem grundig i denne oppgaven. Disse hovedtrekkene skal sammenlignes med CPE med hensyn til pris, enkelhet, bærekraftighet og tidsbruk.

3.5.1 LLE baserte metoder

Tradisjonelt har væske-væske ekstraksjon (LLE) blitt mye brukt. LLE benytter seg av analytten har ulik affinitet til ulike væskefaser. En polar og en upolar væske blandes godt for å få overført all analytt til fasen der den har høyest affinitet. Metoden har vært i bruk over lengre tid og har vist adekvate resultater for spormetallanalyse [30].

Tradisjonell LLE har derimot ulempen at det krever relativt mye organisk løsemiddel og relativt mye tid. I nyere tid har flere mikroekstraksjonsmetoder blitt utviklet for å løse problemene med tradisjonell LLE. Metodene baseres på ulike prinsipper. væske-væske mikroekstraksjon (LLME) metodene som ble rapportert i en oversiktsartikkel fra Trends in Analytical Chemistry [31] og benyttet for spesiering av arsen inkluderer dispersiv LLME, single drop ME og membranmediert LPME. Metodene gir høye EF og lave deteksjonsgrenser med bruk av absorpsjonsspektrometri og massespektrometri. Flere av rapportene gjennomgått viser til EF for LLME som er mye høyere enn hva en kan forvente med CPE for arsen, men det blir også benyttet ekstraktanter med høyere toksisitet enn det som rapporteres innen CPE.

De tidligste benyttede dispersive væske-væske mikroekstraksjon (DLLME) metodene som ble gjennomført viste et problem med at halogenerte organiske forbindelser med høy toksisitet må benyttes for å hindre tap av ekstraktant under ekstraksjonen [32]. Det har blitt gjennomført metoder som bruker mindre skadelige forbindelser med å bruke ekstraktanter som kan fryses og enkelt ekstraheres som solid fase [33].

Single drop ME har også vist store potensialer for arsenanalyse, med EF rapportert opp til 1000 [31]. SDME ekstraherer analytt ved at en enkel dråpe organisk løsemiddel, frittflytende eller holdt i enden av en sprøytespiss, holdes i prøveløsningen mens løsningen røres. Dette kan fort føre til tap av ekstraktantløsning ved at dråpen løses i prøveløsningen [34, 35]. Metoden er også ugunstig for prøver med høy grad av urenheter ettersom at urenheterne kan føre til at dråpens stabilitet.

3.5.2 SPE baserte metoder

Tradisjonelle Solidfase ekstraksjonsmetoder baseres på en analytts affinitet til en solidfase, og gjennomføres ved at en kolonne som har blitt vasket med løsemiddel fylles med en prøve. Bunnen av kolonnen består av lag med solidfase, som prøven renner igjennom. Analytten adsorberes og samles opp i solidfasen, som videre kan bli vasket med et løsemiddel som analytten har høyere affinitet til enn solidfasen [21].

I likhet med tradisjonell LLE krever det en stor mengde løsemiddel for å effektivt gjennomføre, men er mindre tidkrevende enn LLE. SPE gjennomføres også i kassetter som har mulighet til å bli fraktet for rask og enkel ekstraksjon i felten [36].

Ekstraksjonsfaktoren i SPE påvirkes sterkt av løsemiddelets strømningsrate gjennom solidfasen, som kan gjøre reproduserbarhet litt mer utfordrende, men testing med en kjent standard kan eliminere problemet.

Tradisjonelle SPE metoder viser til gode resultater. En rapport fra International Journal of Environmental Analytical Chemistry [37] viser til en EF på 200, som er høyere enn hva som kan forventes innen CPE, og deteksjonsgrense. Metoden kan også skille mellom arsenspesier uten å benytte oksidasjons eller reduksjonsmiddel ved å utnytte hvordan egenskapene til uorganiske arsenspesier endrer seg ved pH. As(V) fikk nært 100% ekstraksjonseffektivitet, mens As(III) var nesten 0 ved denne pH verdien. Ved å først kjøre ekstraksjonen ved pH 4 også ved en høyere pH, hvor ekstraksjonseffektiviteten var høy for begge spesiene kan de skilles og effektivt spesieres.

Mikroekstraheringsmetoder har blitt utviklet opp igjennom årene, hvor Arthur og Pawliszyn først klarte å gjennomføre solidfase mikroekstraksjon med godt resultat i 1990 [38]. SPME benytter seg i praksis på samme prinsipp som tradisjonell SPME, men senker tidsbruk og fjerner i all hovedsak behovet for ekstra løsemiddel. I Arthur og Pawliszyn sin SPME legges en kjemisk modifisert silika fiber i en vandig prøveløsning, og analytten adsorberes inn i fiberen. Fiberen kan deretter injiseres direkte i GC, og blir termisk desorbert [38].

Visse fibre benyttet i SPME kan ved korrekt vasking og oppbevaring gjenbrukes. En studie gjennomført av forskere ved universitetet i Waterloo, Canada klarte å oppnå effektiv ekstrahering av insektgifter i soyamelk ved bruk av en matrisespesifikk fiber over 120 gjentatte ganger med en relativ standardavvik som steg fra 8.4% til 24.5% [39].

Metoden kan gjennomføres helt uten bruk av organiske løsemidler, med unntak av eventuelle reagenser for vasking eller uttynning av matriser. Under vasking er det vanlig å bruke reagenser som HCL eller HNO₃ som er relativt billig og lite giftig. Det er også godt etablerte SPME metoder som benytter seg av tynne filmer, tuber og i sprøytespisser. å gjennomføre ekstraksjonen i sprøytespiss har fordelen ved at det veldig enkelt kan injiseres direkte i gasskromatografi uten ekstra forarbeid.

3.5.3 Sammenlignet med CPE

Sammenlignet med andre moderne prekonsentreringsmetoder for arsenprøver har CPE manglende EF og resultatene som oppnås er da følgelig ikke like sensitive som hva de mest effektive ME metodene kan vise til. CPE kan likevel oppnå en sensitivitet som er høy nok til å analysere uorganiske arsenspesier i vannprøver, selv med relativt billige detektormetoder.

De presenterte mikroekstraksjonsmetodene har visse ulemper ovenfor CPE. Flere LLE baserte metoder krever bruk av små mengder organiske løsemidler med høy toksisitet. En annen fellesnevner for disse metodene er at de er krevende å gjennomføre. Flere av metodene benytter og hjelpestoffer som ikke er veldig kommersielt tilgjengelig.

SPE baserte metoder som har blitt benyttet har gitt gode EF uten bruk av organiske løsemidler. Metodene har høy variasjon i EF, men rapporterte analyser kan vise til EF fra så lite som 5 opp til 200 [31]. Ekstraksjonstid er i visse tilfeller også mye raskere enn CPE. Metodene anses som billig, miljøvennlige, og enkle å gjennomføre.

Ekstraktantene benyttet i LLE og SPE er ikke alltid like kommersielt tilgjengelig som hjelpestoffer benyttet i CPE, og flere artikler rapporterer egen syntese av fibre.

4 konklusjon

Ut av surfaktantene som blir benyttet til CPE viser Triton X-114 størst fleksibilitet og blir benyttet i de fleste studier. For visse spormetaller viser PONPE-7.5 til en mye høyere EF ved at den kan danne komplekser med metallene. Dette har blitt rapportert for sølv, kadmium og aluminium. Disse sporelementene ble ekstrahert med en mye høyere EF enn hva som kan forventes i andre metoder. Både PONPE-7.5 og Triton X-114 viser til høy tetthet i surfaktantrik fase og lavt skyppunkt som gjør at de kan anses som de mest effektive og enkleste surfaktante å jobbe med. Triton X-114 er kommersielt lett å anskaffe og har relativt lav pris. Triton X-100 har også blitt anvendt suksessfullt i mange studier, men dens høye skyppunkt gjør at den er vanskeligere å jobbe med.

Pyronine B er den mest anvendte chelateringsmiddelet til CPE av spormetaller. Det gir en selektivitet som er tilstrekkelig god, og chelatens stabilitet og ekstraksjonsevne kan forbedres ved bruk av hjelpeligander som for eksempel CPC.

Ut av detektormetodene som blir benyttet viser AAS metoder resultater med adekvate deteksjonsgrenser. Dyrere og mer avanserte metoder som ICP-MS og ICP-AES gir relativt lavere deteksjonsgrenser. HPLC-ICP-MS kan oppnå lignende resultater som CPE-AAS, om ikke bedre, uten å benytte prekonsentreringsmetoder, men ICP-MS er relativt dyrt, og ikke veldig lett tilgjengelig. De rapporterte verdiene viser til at spesieringsanalyser ved CPE kan gi resultater som er tilstrekkelig selektivitet og har høy nok sensitivitet til at en kvantitativt kan måle konsentrasjoner lavere enn WHO sin anbefalte maksimumsgrense.

LLE baserte metoder viser mye høyere EF enn hva som kan forventes av CPE, men metodene er ofte vanskelige å gjennomføre, lite miljøvennlige og tidkrevende i forhold. SPE baserte metoder er et godt alternativ til spesiering av arsen, og gir ofte høyere EF, raskere prekonsentreringstider og fjerner behovet for organiske løsemidler. Fibrene er dyrere enn surfaktantene som benyttes i CPE, men de kan i visse tilfeller gjenbrukes som senker pris per forsøk.

Selv om SPME har flere fordeler ovenfor CPE, så kan CPE anses som et billig, enkelt og miljøvennlig alternativ til spesieringsanalyser av arsen i vann.

References

- [1] M. Azizur Rahman, A. Rahman, M. Zaved Kaiser Khan, and Andre M.N. Renzaho. Human health risks and socio-economic perspectives of arsenic exposure in bangladesh: A scoping review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 150:335–343, April 2018.
- [2] World Health Organization. Arsenic. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>. (hentet 30.04.20).
- [3] A. Ramesh Kumar and P. Riyazuddin. Preservation of inorganic arsenic species in environmental water samples for reliable speciation analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(10):1212–1223, November 2010.
- [4] Sujit Kumar, Ajaya Bhattarai, and Sujeet Chatterjee. Applications of surfactants in modern science and technology. *Modern Trends in Science and Technology*, pages 147–158, 01 2013.
- [5] Ramsingh Kurrey, Mithlesh Mahilang, Manas Kanti Deb, and Kamlesh Shrivastava. Analytical approach on surface active agents in the environment and challenges. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 21:e00061, January 2019.
- [6] Pallabi Samaddar and Kamalika Sen. Cloud point extraction: A sustainable method of elemental preconcentration and speciation. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(4):1209–1219, July 2014.
- [7] Akihito Hashidzume and Akira Harada. *Micelles and Vesicles*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2015.
- [8] critical micelle concentration. In *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. IUPAC.
- [9] Jian GAO. Effect of concentration on surfactant micelle shapes—a molecular dynamics study. *Science in China Series B*, 48(5):470, 2005.
- [10] Md. Sayem Alam, V. Nareshkumar, N. Vijayakumar, K. Madhavan, and Asit Baran Mandal. Effect of additives on the cloud point of mixed surfactant (non-ionic triton x-114/cationic gemini 16-6-16) solutions. *Journal of Molecular Liquids*, 194:206–211, June 2014.
- [11] Miloslav Nič, Jiří Jirát, Bedřich Košata, Aubrey Jenkins, and Alan McNaught, editors. *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. IUPAC, June 2009.
- [12] Bruno Elias dos Santos Costa, Nívia Maria Melo Coelho, and Luciana Melo Coelho. Determination of arsenic species in rice samples using CPE and ETAAS. *Food Chemistry*, 178:89–95, July 2015.
- [13] K. Pytlakowska, V. Kozik, and M. Dabioch. Complex-forming organic ligands in cloud-point extraction of metal ions: A review. *Talanta*, 110:202–228, June 2013.
- [14] Sigma Aldrich. Triton x-114. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/x114?lang=en®ion=NO>. (Hentet 30.04.20).

- [15] Yingjie Li and Bin Hu. Cloud point extraction with/without chelating agent on-line coupled with inductively coupled plasma optical emission spectrometry for the determination of trace rare earth elements in biological samples. *Journal of Hazardous Materials*, 174(1-3):534–540, February 2010.
- [16] Abdolraouf Samadi-Maybodi and Vida Rezaei. A cloud point extraction for spectrophotometric determination of ultra- trace antimony without chelating agent in environmental and biological samples. *Microchimica Acta*, 178(3-4):399–404, June 2012.
- [17] M Luconi. Cloud point extraction of lead in saliva via use of nonionic PONPE 7.5 without added chelating agents. *Talanta*, 51(1):123–129, January 2000.
- [18] A AFKHAMI, T MADRAKIAN, and H SIAMPOUR. Flame atomic absorption spectrometric determination of trace quantities of cadmium in water samples after cloud point extraction in triton x-114 without added chelating agents. *Journal of Hazardous Materials*, 138(2):269–272, November 2006.
- [19] Jamshid L. Manzoori, Hossein Abdolmohammad-Zadeh, and Mohammad Amjadi. Ultra-trace determination of silver in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after preconcentration with a ligand-less cloud point extraction methodology. *Journal of Hazardous Materials*, 144(1-2):458–463, June 2007.
- [20] Lorena L Sombra, Marta O Luconi, Liliana P Fernández, Roberto A Olsina, Mari a F Silva, and Luis D Marti nez. Assessment of trace aluminium content in parenteral solutions by combined cloud point preconcentration—flow injection inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30(5):1451–1458, January 2003.
- [21] Douglas A. Skoog. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Cengage Learning, jan 2013.
- [22] Huimin Yu, Chenghui Li, Yunfei Tian, and Xiaoming Jiang. Recent developments in determination and speciation of arsenic in environmental and biological samples by atomic spectrometry. *Microchemical Journal*, 152:104312, January 2020.
- [23] Halil İbrahim Ulusoy, Mehmet Akçay, and Ramazan Gürkan. Development of an inexpensive and sensitive method for the determination of low quantity of arsenic species in water samples by CPE–FAAS. *Talanta*, 85(3):1585–1591, September 2011.
- [24] A TANG, G DING, and X YAN. Cloud point extraction for the determination of as(III) in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 67(5):942–946, October 2005.
- [25] Sadaf Sadia Arain, Tasneem Gul Kazi, Jamshed Bashir Arain, Hassan Imran Afridi, Kapil Dev Brahman, Faheem Shah, Naeemullah, Salma Arain, and Abdul Haleem Panhwar. Simultaneous preconcentration of toxic elements in artificial saliva extract of smokeless tobacco product, mainpuri by cloud point extraction method. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 92:289–296, June 2013.

- [26] F SHEMIRANI, M BAGHDADI, and M RAMEZANI. Preconcentration and determination of ultra trace amounts of arsenic(III) and arsenic(v) in tap water and total arsenic in biological samples by cloud point extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 65(4):882–887, February 2005.
- [27] Halil İbrahim Ulusoy, Mehmet Akçay, Songül Ulusoy, and Ramazan Gürkan. Determination of ultra trace arsenic species in water samples by hydride generation atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. *Analytica Chimica Acta*, 703(2):137–144, October 2011.
- [28] Queila O. dos Santos, Mario M. Silva Junior, Valfredo A. Lemos, Sergio L.C. Ferreira, and Jailson B. de Andrade. An online preconcentration system for speciation analysis of arsenic in seawater by hydride generation flame atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 143:175–180, December 2018.
- [29] Danyu Zhang, Shiwei Yang, Heyong Cheng, Yuanchao Wang, and Jinhua Liu. Speciation of inorganic and organic species of mercury and arsenic in lotus root using high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection in one run. *Talanta*, 199:620–627, July 2019.
- [30] Yuxi Lu, Xuelu Gao, and Chen-Tung Arthur Chen. Separation and determination of colloidal trace metals in seawater by cross-flow ultrafiltration, liquid-liquid extraction and ICP-MS. *Marine Chemistry*, 215:103685, September 2019.
- [31] Justyna Werner, Tomasz Grześkowiak, Agnieszka Zgoła-Grześkowiak, and Ewa Stanisiz. Recent trends in microextraction techniques used in determination of arsenic species. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105:121–136, August 2018.
- [32] Alexandra Sixto, Alicia Mollo, and Moisés Knochen. Fast and simple method using DLLME and FAAS for the determination of trace cadmium in honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82:103229, September 2019.
- [33] Mei-I. Leong and Shang-Da Huang. Dispersive liquid–liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop combined with gas chromatography with electron-capture or mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, 1211(1-2):8–12, November 2008.
- [34] Isaac Delove Tegladza, Tong Qi, Tianyu Chen, Kingdom Alorku, Sheng Tang, Wei Shen, Dezhao Kong, Aihua Yuan, Jianfeng Liu, and Hian Kee Lee. Direct immersion single-drop microextraction of semi-volatile organic compounds in environmental samples: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 393:122403, July 2020.
- [35] Khley Cheng, Kihwan Choi, Jihye Kim, In Hye Sung, and Doo Soo Chung. Sensitive arsenic analysis by carrier-mediated counter-transport single drop microextraction coupled with capillary electrophoresis. *Microchemical Journal*, 106:220–225, January 2013.
- [36] Victor G. Mihucz, László Bencs, Kornél Koncz, Enikő Tatár, Tamás Weiszbürg, and Gyula Zárny. Fast arsenic speciation in water by on-site solid phase extraction and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 128:30–35, February 2017.

- [37] Adalet Tunçeli, Gülay Ocak, Orhan Acar, and Ali Rehber Türker. Development of a method for speciation of inorganic arsenic in waters using solid phase extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 95(14):1395–1411, October 2015.
- [38] Catherine L. Arthur and Janusz Pawliszyn. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62(19):2145–2148, October 1990.
- [39] Emanuela Gionfriddo, Dominika Gruszecka, Xiujuan Li, and Janusz Pawliszyn. Direct-immersion SPME in soy milk for pesticide analysis at trace levels by means of a matrix-compatible coating. *Talanta*, 211:120746, May 2020.