

## ĐỊNH LƯỢNG MỘT SỐ DẠNG SELEN TRONG HẢI SẢN BẰNG PHƯƠNG PHÁP VON-AMPE HÒA TAN

Lê Thị Duyên<sup>2,\*</sup>, Lê Lan Anh<sup>1</sup>, Lê Đức Liêm<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Hóa học, Viện KHCNVN, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

<sup>2</sup>Trường Đại học Mở - Địa chất

\*Email: lethiduyenmdc@yahoo.com

Đến Toà soạn: 20/3/2012; Chấp nhận đăng: 17/11/2012

### TÓM TẮT

Bài báo trình bày những nghiên cứu thực nghiệm để xây dựng sơ đồ chiết tách, làm giàu và ghi đo một số dạng selen có hoạt tính điện hóa: selenit (Se(IV)), selencystin (Se-Cyst), dimetyl diselenua (DMDSe) trong hải sản bằng phương pháp Von-Ampe hòa tan và áp dụng vào phân tích mẫu thật. Kết quả thu được chỉ ra rằng, trong khi hàm lượng dạng Se-Cyst lớn nhất, tiếp đến là dạng Se(IV) và nhỏ nhất là dạng DMDSe trong các mẫu cá Khoai và tôm Sú, thì không tìm thấy dạng Se(IV) trong mẫu Mực. Hàm lượng dạng Se-Cyst và DMDSe trong mẫu mực lớn nhất, tiếp đến là cá Khoai và nhỏ nhất là trong tôm Sú.

*Từ khóa:* dạng selen, hải sản, phương pháp Von-Ampe hòa tan catot

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Selen là nguyên tố hai mặt trong cuộc sống, vừa có thể đóng vai trò vi lượng vừa có thể gây độc cho cơ thể sống. Khoảng nồng độ giữa hai tính chất vi lượng và độc tố là rất hẹp và phụ thuộc nhiều vào dạng tồn tại của selen [1]. Nhìn chung, selen vô cơ độc hơn selen hữu cơ và selenit ( $\text{SeO}_3^{2-}$  hay Se(IV)) được cho là độc nhất [1, 2]. Ngưỡng có lợi của selen trong khoảng 50 – 200  $\mu\text{g}/\text{ngày}$  cho mỗi người [3, 4]. Theo khuyến cáo, lượng selen nam giới nên dùng hằng ngày là 80 $\mu\text{g}$  và nữ giới là 55  $\mu\text{g}$  [4].

Hải sản là nguồn thực phẩm có chứa nhiều selen, tuy nhiên với tính chất hai mặt của selen thì việc phân tích tổng hàm lượng chưa đủ mà còn phải phân tích dạng tồn tại của nó trong hải sản.

Các phương pháp phân tích dạng selen thường được sử dụng như phương pháp sắc kí lỏng (LC) với các detecto ICP-MS [1, 2, 5], ICP-AES [2,6], HG-AAS [6], HG-AFS [7] và phương pháp Von-Ampe hòa tan [3, 6]. Tuy nhiên, các thiết bị như ICP-MS, ICP-AES, HG-AAS và HG-AFS đều là những thiết bị đắt tiền và phức tạp, trong khi đó phương pháp Von-Ampe hòa tan là một phương pháp có độ nhạy và chọn lọc cao, thiết bị lại đơn giản, rẻ tiền. Do đó, chúng tôi chọn phương pháp Von-Ampe hòa tan để nghiên cứu, phân tích một số dạng vô cơ và hữu cơ của selen có hoạt tính điện hóa trong hải sản.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Thiết bị và dụng cụ

- Máy phân tích cực phổ đa chức năng 797 VA computrace do hãng Metrohm (Thụy Sĩ) sản xuất với hệ điện cực gồm:

- + Điện cực làm việc (WE): điện cực giọt treo thủy ngân (HMDE);
- + Điện cực so sánh (RE): điện cực bạc clorua Ag | AgCl | Cl<sup>-</sup>, điện cực luôn được bảo quản trong dung dịch KCl 3 M;
- + Điện cực phụ trợ (AE): điện cực platin Pt.

- Máy cất nước siêu sạch UHQ - ELGA (Anh). Cân phân tích chính xác đến 0,01 mg.

- Bình định mức, cốc thủy tinh, pipet các loại, phễu chiết được làm bằng teflon hoặc thủy tinh thạch anh v.v..

### 2.2. Hoá chất

Dung dịch gốc Se(IV) 1000 mg / l được pha từ selenit loại PA của Sigma-Aldrich bằng nước cất siêu sạch. Dung dịch gốc Se-Cyst 1000 mg/l được pha từ Se-Cyst loại PA của Sigma bằng dung dịch HCl 0,1 M (Merck) và được bảo quản trong ngăn mát của tủ lạnh. Dung dịch gốc dimetyl diselenua 1000 mg/l được pha từ dimetyl diselenua 98 % của hãng Sigma bằng dung môi etanol (Merck) và được bảo quản trong ngăn mát của tủ lạnh. Dung dịch LiClO<sub>4</sub> đặc được pha từ LiClO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich) trong dung môi etanol (Merck) và sử dụng trong ngày.

Các dung dịch làm việc Se(IV), Se-Cyst được pha loãng từ dung dịch gốc bằng nước cất siêu sạch. Dung dịch dimetyl diselenua được pha loãng từ dung dịch gốc bằng dung môi etanol (Merck) và sử dụng trong ngày. Dung dịch axit HCl được pha từ HCl siêu tinh khiết của Merck bằng nước cất siêu sạch. Các dung môi chiết CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, n-hexan đều là hóa chất thuộc loại PA của Merck.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Trong công bố trước, chúng tôi đã nghiên cứu, khảo sát điều kiện tối ưu, tính toán giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng và xây dựng đường chuẩn xác định hai dạng có hoạt tính điện hóa của selen như selenit (Se(IV)), selenocystin (Se-Cyst) [8] và với dimetyl diselenua (DMDSe) chúng tôi cũng đã nghiên cứu khảo sát bằng phương pháp Von-Ampe hòa tan. Trong bài báo này, chúng tôi xây dựng sơ đồ chiết tách và định lượng một số dạng selen nói trên trong mẫu hải sản và áp dụng vào phân tích mẫu thật.

### 3.1. Nghiên cứu, xây dựng sơ đồ chiết tách và định lượng một số dạng selen trong hải sản

Để xây dựng sơ đồ chiết tách và xác định dạng selen trong hải sản, 50 ml dung dịch mẫu giả được chuẩn bị gồm: Se(IV) 1 ppb, Se-Cyst 20 ppb, DMDSe 2 ppb, axit béo 20000 ppb và HCl 0,5 M. Tiến hành khảo sát các điều kiện chiết tách tối ưu.

#### 3.1.1. Chiết tách và xác định dạng DMDSe trong pha hữu cơ

*Khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết và thể tích dung môi chiết diclometan*

Lấy những thể tích khác nhau của  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  để chiết tách dạng DMDSe trong mẫu và tiến hành chiết nhiều lần. Kết quả thu được trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết và thể tích dung môi chiết  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

Thể tích diclometan (ml)	% DMDSe tìm thấy (TB)	
	Chiết lần 1 (n = 3)	Chiết lần 2 (n = 3)
3,5	83,50	16,41
5,5	98,32	Không tìm thấy
10	99,14	Không tìm thấy

Từ kết quả khảo sát cho thấy, với 5,5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  thì hiệu suất chiết đã đạt được trên 98 % ngay ở lần chiết đầu tiên. Ở lần chiết thứ hai không tìm thấy DMDSe, do nồng độ DMDSe còn lại rất ít và nhỏ hơn giới hạn phát hiện. Do đó, chúng tôi chọn thể tích  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  để chiết lấy pha hữu cơ là 5,5 ml và tiến hành chiết 1 lần.

#### Khảo sát ảnh hưởng của thời gian lắc chiết

Sử dụng 5,5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  để chiết tách dạng DMDSe và thay đổi thời gian lắc chiết. Kết quả thu được ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát thời gian lắc chiết:

Thời gian lắc chiết	5 phút (n = 3)	10 phút (n = 3)	15 phút (n = 3)	20 phút (n = 3)
% DMDSe tìm thấy (TB)	36,89	64,13	98,45	99,22

Từ kết quả khảo sát cho thấy, từ 15 phút trở đi hiệu suất chiết đạt được trên 98 %. Tuy nhiên, khi phân tích mẫu cần rút ngắn thời gian phân tích, do đó chúng tôi chọn thời gian lắc chiết tối ưu là 15 phút.

#### 3.1.2. Chiết loại chất béo và protein để xác định dạng Se-Cyst và Se(IV) trong pha nước

Trong các mẫu sinh học nói chung và hải sản nói riêng đều có protein và chất béo. Khi ngâm chiết mẫu trong môi trường axit, một phần các chất này sẽ bị chiết ra. Các chất này gây khó khăn cho việc đo mẫu xác định các dạng selen trong pha nước (đã khảo sát). Qua tham khảo tài liệu chúng tôi đã nghiên cứu và áp dụng  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  để loại bỏ protein và n-hexan để loại bỏ chất béo.

##### Khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết và thể tích dung môi chiết n-hexan

Thay đổi thể tích n-hexan (5 ml và 10 ml) và tiến hành chiết nhiều lần (1 - 9 lần). Qua kết quả khảo sát cho thấy, nếu dùng 5 ml n-hexan thì phải chiết 7 lần (độ thu hồi của Se-Cyst là 104,00 % và Se(IV) là 90,10 %), còn nếu dùng 10 ml n-hexan thì phải chiết 3 - 4 lần (độ thu hồi của Se-Cyst là 104,71 % và 98,03 %; của Se(IV) là 115,50 và 110,30 %). Để rút ngắn số lần chiết, chúng tôi chọn thể tích n-hexan để chiết loại bỏ chất béo là 10 ml và số lần chiết là 3 lần.

##### Khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết và thể tích dung môi chiết $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

Trong mẫu giả không có protein nên chúng tôi tiến hành khảo sát điều kiện chiết loại protein tối ưu trên mẫu thực (chọn mẫu tôm Sú để nghiên cứu) sau khi đã chiết loại chất béo.

Chúng tôi đã khảo sát thực nghiệm đối với 50 ml dịch chiết mẫu và tìm thấy thể tích  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  là 5 ml/lần chiết và chỉ cần 2 lần, mỗi lần lắc 5 phút.

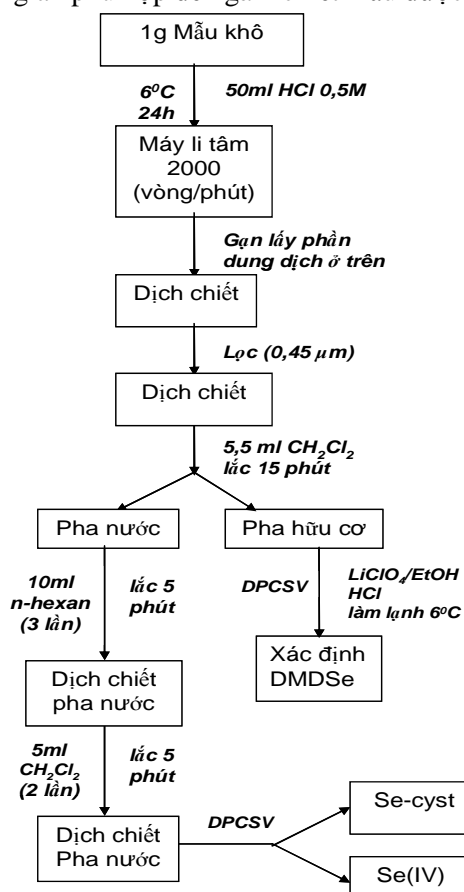
### 3.1.3. Khảo sát thời gian ngâm chiết mẫu

Chúng tôi chọn mẫu cá Khoai để khảo sát thời gian ngâm chiết mẫu. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích hàm lượng Se-Cyst với thời gian ngâm chiết mẫu khác nhau

Thời gian ngâm chiết mẫu	12 giờ	24 giờ	30 giờ
Hàm lượng Se-Cyst ( $\mu\text{g/l}$ )	16,144	21,045	21,465

Thời gian ngâm chiết mẫu 24 giờ đến 30 giờ cho thấy hàm lượng Se-Cyst thu được ổn định. Nếu ngâm chiết mẫu lâu hơn, lượng axit béo và protein sẽ bị chiết ra nhiều hơn và gây khó khăn cho việc đo mẫu. Do đó, thời gian phù hợp để ngâm chiết mẫu được chọn là 24 giờ.



Hình 1. Sơ đồ chiết tách và xác định một số dạng Se trong mẫu hải sản

Từ các kết quả nghiên cứu, khảo sát, chúng tôi đưa ra sơ đồ chiết tách và xác định một số dạng selen trong hải sản (hình 1).

### 3.2. Định lượng một số dạng selen trong mẫu hải sản

Áp dụng sơ đồ phân tích đã thiết lập vào phân tích một số mẫu hải sản: Cân chính xác 1 g mẫu khô đông, thêm vào 50 ml HCl 0,5 M và ngâm chiết ở nhiệt độ khoảng 6 °C. Sau 24 giờ lấy mẫu ra và đổ vào ống li tâm 50 ml, li tâm 20 phút với tốc độ 2000 vòng/phút. Gạn lấy phần dung dịch và lọc qua màng lọc cỡ 0,45 μm, thu được dịch chiết. Thêm vào dịch chiết 5,5 ml diclometan, lắc 15 phút rồi để yên chờ phân lớp. Tách riêng pha hữu cơ (pha CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) và pha nước. Tiếp tục xử lí các pha như sau:

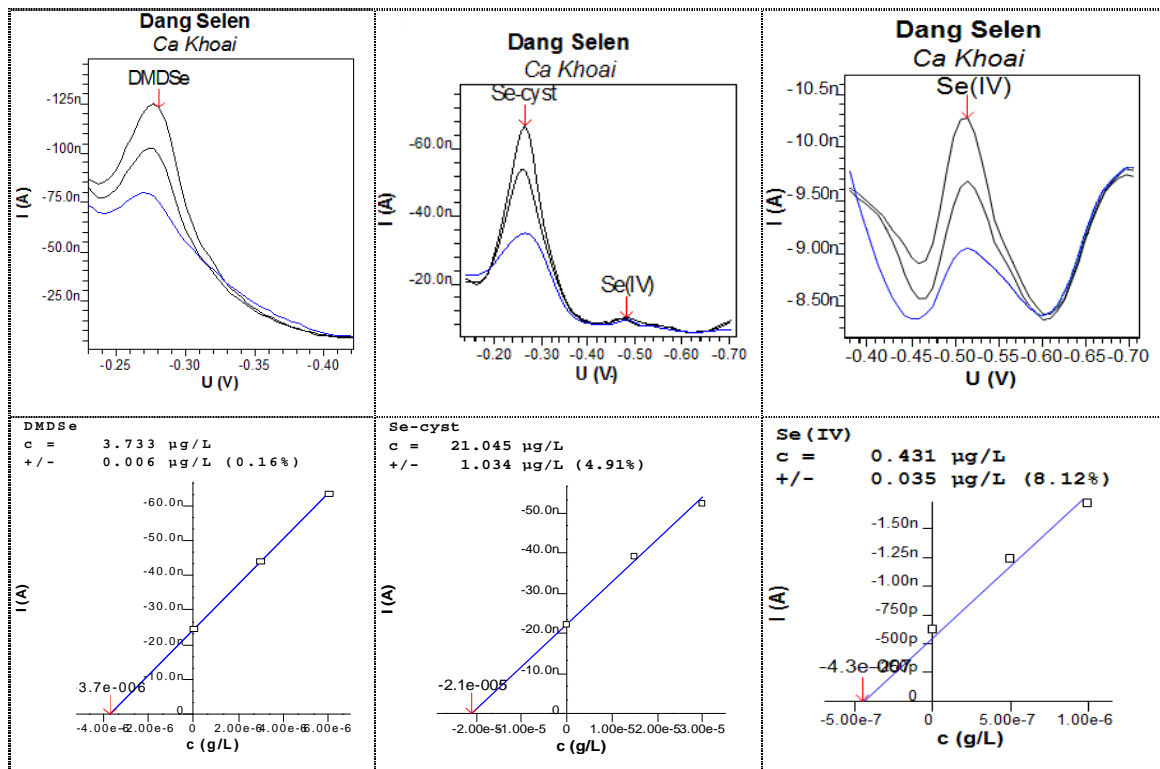
#### ***Pha hữu cơ***

Lấy 5 ml dịch chiết pha hữu cơ, thêm vào 0,3 ml HCl 2 M, 1 ml LiClO<sub>4</sub> 2M/EtOH và định mức bằng ethanol đến 10 ml. Làm lạnh hỗn hợp đến nhiệt độ khoảng 6 °C. Sử dụng các điều kiện ghi đo tối ưu, tiến hành định lượng bằng phương pháp thêm chuẩn.

#### ***Pha nước***

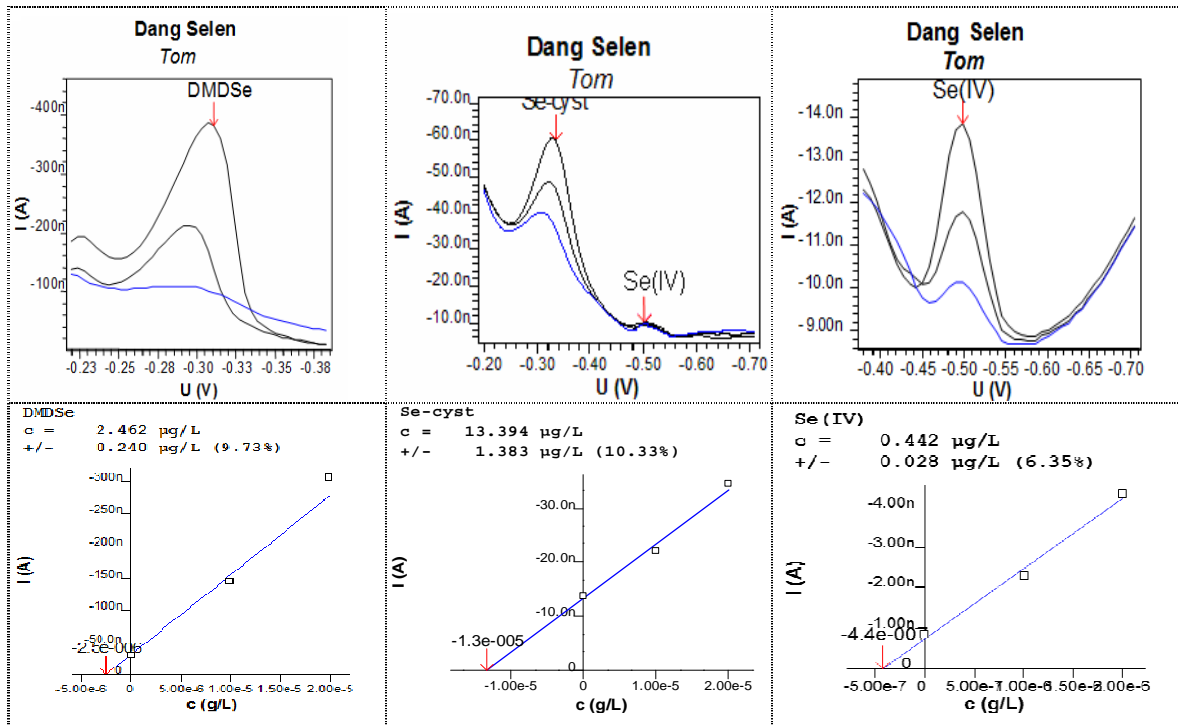
Lấy toàn bộ dịch chiết pha nước, thêm vào 10 ml n-hexan và lắc 5 phút (làm 3 lần) để loại bỏ chất béo. Tách bỏ pha n-hexan, thu lấy dịch chiết pha nước, tiếp tục thêm vào 5 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> và lắc 5 phút (2 lần) để loại bỏ protein. Tách bỏ pha CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, thu dịch chiết pha nước. Hút 1 ml dịch chiết pha nước cho vào bình định mức 10ml, thêm vào 1ml HCl 1 M và định mức bằng nước cất siêu sạch đến vạch. Sử dụng các điều kiện ghi đo tối ưu, tiến hành định lượng bằng phương pháp thêm chuẩn. Các kết quả nghiên cứu thu được thể hiện trên các hình 2, 3, 4 và bảng 4.

#### ***Mẫu cá Khoai***



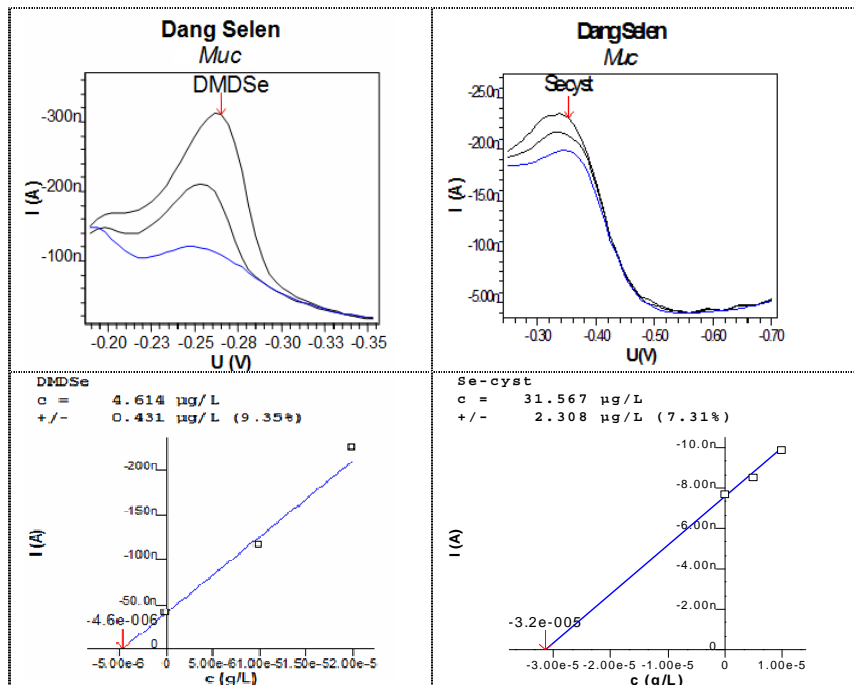
Hình 2. Phổ đồ DPCSV và đồ thị thêm chuẩn mẫu cá Khoai

Mẫu tôm Sú



Hình 3. Phổ đồ DPCSV và đồ thị thêm chuẩn mẫu tôm Sú

Mẫu Mực



Hình 4. Phổ đồ DPCSV và đồ thị thêm chuẩn mẫu Mực

Bảng 4. Kết quả xác định hàm lượng một số dạng selen trong mẫu hải sản

<i>Dạng selen</i> <i>Mẫu</i>	Se(IV)	Se-Cyst		DMDSe		Hàm lượng selen tổng (pp DPCSV) ( $\mu\text{g/g}$ )
	Hàm lượng TB ( $\mu\text{g/g}$ )	Hàm lượng TB ( $\mu\text{g/g}$ )	Rev (%)	Hàm lượng TB ( $\mu\text{g/g}$ )	Rev (%)	
<b>Cá Khoai</b>	0,143	10,596	92,33	0,042	88,26	51,81
<b>Tôm Sú</b>	0,166	6,269	85,44	0,028	82,79	15,16
<b>Mực</b>	0,000	15,494	91,37	0,051	81,42	42,37

Trong các mẫu đã phân tích cho thấy hàm lượng dạng Se-Cyst lớn nhất sau đó đến Se(IV) và dạng DMDSe ít nhất. Hàm lượng dạng Se-Cyst và DMDSe trong mẫu mực lớn nhất, tiếp đến là cá Khoai và nhỏ nhất là trong tôm Sú. Trong khi đó, hàm lượng selen tổng số của cá Khoai lại lớn nhất rồi đến Mực và nhỏ nhất là Tôm. Tuy nhiên, đối với mẫu Mực, mặc dù hàm lượng selen tổng số lớn nhưng lại không tìm thấy được dạng Se(IV) trong mẫu.

#### 4. KẾT LUẬN

Dựa trên tính chất điện hóa của một số dạng selen, có thể áp dụng phương pháp Von-Ampe hòa tan catốt xung vi phân với điện cực giọt treo thủy ngân-một phương pháp có độ nhạy cao, độ lặp lại tốt, thiết bị đơn giản, rẻ tiền để phân tích định lượng không chỉ hàm lượng tổng selen mà còn phân tích dạng selen. Để phân tích dạng selen trong hải sản cần phải qua giai đoạn tiền xử lí bằng kĩ thuật chiết lỏng-lỏng với mục đích làm giàu dạng DMDSe trong pha hữu cơ và loại bỏ protein cũng như chất béo trong pha nước trước khi xác định dạng Se-Cyst và Se(IV).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Laura Hinojosa Reyes, Jorge L. Guzmán Mar, G. M. Mizanur Rahman, Bryan Seybert, Timothy Fahrenholz, H. M. Skip Kingston - Simultaneous determination of arsenic and selenium species in fish tissues using microwave-assisted enzymatic extraction and ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta* **78** (3) (2009) 983-990.
2. Yasuyuki Shibata, Masatoshi Morita, Keiichiro Fuwa - Selenium and arsenic in biology: Their chemical forms and biological functions, *Advances in Biophysics* **28** (1992) 31-80.
3. Maria Ochsenkühn-Petropoulou, Fotis Tsopelas - Speciation Analysis of Selenium using Voltammetric Techniques, *Analytica Chimica Acta* **467** (2002) 167-178.
4. National Research Council - Recommended Dietary Allowance, National Academy Press, Washington, DC, 2000.
5. Ruoh-Yun Wang, Ying-Ling Hsu, Lan-Fang Chang, Shih-Jen Jiang - Speciation analysis of arsenic and selenium compounds in environmental and biological samples by ion

- chromatography-inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometer, *Analytica Chimica Acta* **590** (2) (2007) 239-244.
6. Riansares Muñoz Olivas, O. F. X. Donard, C. Cámara, P. Quevauviller - Analytical techniques applied to the speciation of selenium in environmental matrices, *Analytica Chimica Acta* **286** (3) (1994) 357-370.
  7. Ipolyi I., Stefánka Zs., Fodor P. - Speciation of Se(IV) and Selenoamino Acids by High Performance Liquid Chromatography-Direct Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry, *Analytica Chimica Acta* **435** (2001) 367-375.
  8. Lê Thị Duyên, Lê Lan Anh và Cs - Nghiên cứu xác định một số dạng selen:  $\text{Se}^{6+}$ ,  $\text{Se}^{4+}$  và selenocystine bằng phương pháp Von-Ampe hòa tan, Tạp chí Phân tích Hóa, Lí và Sinh học **16** (4) (2011) 13-17.

### ABSTRACT

#### QUANTITATIVE ANALYSIS OF SEVERAL SELEN SPECIES IN SEAFOOD BY STRIPPING VOLTAMMETRY

Le Thi Duyen<sup>2,\*</sup>, Le Lan Anh<sup>1</sup>, Le Duc Liem<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Chemistry, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi*

<sup>2</sup>*Hanoi University of Mining and Geology*

\*Email: *lethiduyenmdc@yahoo.com*

This paper presents practical experiments to construct an extraction – separation – enrichment scheme for analyzing several electrochemical active Selenium species: selenite (Se(IV)), selenocystine (Se-Cyst), and dimethyldiselenide (DMDS<sub>2</sub>) in seafood by using Stripping Voltammetry and its application to real samples. Results showed that in Bummalo fish and tiger prawn, Se-Cyst was the highest fraction, Se(IV) was the next, and DMDS<sub>2</sub> was the lowest fraction. In squid, Se(IV) was not found. Fractions of Se-Cyst and DMDS<sub>2</sub> were highest in squid, then in Bummalo fish, and lowest in tiger prawn.

*Keywords:* selenium species, seafood, cathodic stripping Voltammetry