

## Badania specjacji arsenu w łatwo wymywanych frakcjach osadów jeziornych

*Lidia Kozak, Armand Dostatni, Przemysław Niedzielski  
Uniwersytet im. Adma Mickiewicza, Poznań*

### 1. Wstęp

Arsen należy do pierwiastków śladowych występujących w środowisku. Zainteresowanie oznaczeniem tego pierwiastka wynika z wielu przyczyn. Pierwiastek ten bardzo rzadko przyjmuje stężenia toksyczne nawet w zanieczyszczonym środowisku, jednakże dawka przyjmowana przez organizmy (często wręcz konieczna dla prawidłowego ich funkcjonowania) wymaga kontroli. Badania takie rozszerzają wiedzę na temat środowiska i często stanowią punkt odniesienia dla określenia tendencji zachodzących w ekosystemach.

Ponieważ jony arsenianowe są bardzo mobilne, z łatwością następuje migracja z litosfery do hydrosfery, przez co arsen jest naturalnym składnikiem wód powierzchniowych i podziemnych. Jednakże jego zawartość w wodach jest bardzo zróżnicowana i zależy od wielu czynników, między innymi budowy geologicznej terenu, zanieczyszczenia oraz, co najważniejsze biologicznych procesów metylacji [10, 11]. Głównymi formami As występującymi w wodach są arseniany(III) i (V), które wzajemnie się w siebie przekształcają, oraz organiczne pochodne: kwas mono- i dimetyloarsenowy (MMAA, DMAA) [1, 5]. Za naturalne stężenie tego pierwiastka w wodach powierzchniowych przyjmuje się 1 ng/ml (według polskiego i unijnego prawa dopuszczalna zawartość w wodzie do picia wynosi 10 ng/ml [7]). W zależności od warunków środowiskowych (głównie oksydacyjno – redukcyjnych) formy arsenu ulegają wzajemnym przemianom. Bardzo łatwo również adsorbują się na powierzchni materii organicznej, wodorotlenków żelaza i glinu, które znajdujące się w osadach dennych. Równowaga pomiędzy osadem i tonią wodną jest dynamiczna, dlatego zawartość arsenu w osadach dennych jest zmienna i wynosi od kilku do kilkudziesięciu µg/g [1,4]. W jeziorze, w którym występuje stratyfikacja, następuje obieg arsenu między strefami termicznymi, a także między tonią a osadem dennym.

W warstwie wody dobrze natlenionej (epilimnion) następuje utlenianie arsenianów(III) do arsenianów(V) oraz hydroliza związków żelaza(II) i utlenianie powstałego wodorotlenku do wodorotlenku żelaza(III), który wytrąca się wraz ze związkami zaadsorbowanymi na jego powierzchni [8]. Stąd część związków arsenu przechodzi do hypolimnionu, gdzie w skutek redukcji arsenianów(V) powstają arseniany(III). Dalej arsen przechodząc do osadu dennego wskutek procesów krystalizacji, adsorpcji i współstrącenia, w zależności od warunków oksydacyjno – redukcyjnych może przekształcać się w rozpuszczalne arseniany, nierozpuszczalne siarczki oraz wolny arsen [2]. Natomiast w samym osadzie procesy mikrobiologiczne powodują jego metylację, co prowadzi do powstawania form labilnych, przechodzących do toni wodnej [9]. W zależności od warunków środowiskowych może następować uwalnianie tych związków, a co za tym idzie i wzrost ich stężenia w wodach, dlatego właśnie istotne jest wykonywanie badań monitoringowych osadów jeziornych.

Oznaczenie ogólnej (całkowite) zawartości arsenu w próbce środowiskowej nie wskazuje procesów w jakich uczestniczy on w środowisku, a w konsekwencji nie daje pełnej informacji na temat rzeczywistej jego toksyczności, biodostępności czy kumulacji. Wyodrębnienie poszczególnych form danego pierwiastka określane w toku analizy specjacyjnej pozwala nie tylko uchwycić istotne zależności pomiędzy nim a środowiskiem, ale również określić efekty jego oddziaływania.

Niniejsza praca przedstawia wyniki oznaczeń nieorganicznych form arsenu As(III) i As(V) we frakcji wymiennej osadów jeziornych oraz wodach nadosadowych i powierzchniowych. Jeziora, z których pobrano próbki znajdowały się w obrębie aglomeracji miejskiej, co sugeruje potencjalny wpływ antropresji na ich skład chemiczny.

## **2. Część eksperymentalna**

### **2.1. Aparatura i odczynniki**

Oznaczenia form arsenu prowadzone były z użyciem układu łączonego wysokosprawnej chromatografii cieczowej z użyciem detekcji absorpcyjnej spektrometrii atomowej z generowaniem wodoroków (HPLC-HG-AAS). Układ zbudowany został z chromatografu cieczowego LC-10A (Shimadzu) wyposażonego w pompę LC-10AT z urządzeniem odgazowującym GT-104 i kolumnę anionowymienną LC-SAX1 (Supelco, 250×4,6 mm, 5 μm). Jako fazę ruchomą zastosowano bufor fosforanowy. Przewody stykające się z próbką i eluentem były wykonane z tworzywa PEEK. Chromatograf połączony był poprzez układ generowania wodoroków VGA 77 (Varian) z elektrotermicznie ogrzewaną kweztą kwarcową ETC-60 jako atomizerem, ze spektrometrem SpectrAA 220FS

(Varian). Jako gaz nośny stosowano argon. Warunki pracy układu analitycznego zostały zestawione w tabeli 1 [6].

**Tabela 1.** Aparaturowe warunki oznaczeń arsenu z wykorzystaniem układu łączonego HPLC-HG-AAS

**Table 1.** Instrumental conditions of arsenic determinations using hyphenated techniques HPLC-HG-AAS

HPLC	
Kolumna	Supelco LC – SAX1
Faza ruchoma	2 mmol Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 20 mmol KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
pH	5,8÷6,0
Przepływ fazy ruchomej	3 ml / min
Objętość próbki	200 µl
HG	
HCl natężenie / przepływ	2 mol / l / 1 ml / min
NaBH <sub>4</sub> natężenie / przepływ	1% / 1 ml / min
AAS	
Temperatura atomizera	900°C
Długość fali / szczelina	193,7 nm / 0,5 nm

W niniejszej pracy wykorzystano wcześniejsze badania nad optymalizacją metody analitycznej i opracowaną charakterystykę metrologiczną [6] – tabela 2.

**Tabela 2.** Charakterystyka metody analitycznej

**Table 2.** Characteristics of analytical method

	Czas retencji	Zakres Liniowości ng/g	Nachylenie krzywej	Współczynnik korelacji	Granica oznaczalności ng/g (ng/ml)	RSD (przy 200 ng/g)
As(III)	127,2	do 2000	0,0562	0,9900	5 (0,5)	6,8
As(V)	224,9	do 2000	0,0338	0,0338	5 (0,5)	4,3

Wszystkie odczynniki i wzorce, które służyły do przygotowania próbek do analizy były odczynnikami o czystości analitycznej. W pracach stosowano wodę redestylowaną, oczyszczoną dodatkowo w urządzeniu Milli-Q (Millipore). Do przygotowania roztworów wzorcowych arsenu na różnym stopniu utlenienia As(III) i As(V) o stężeniach 1mg/ml użyto odpowiednio arsenianu(III) sodu  $\text{NaAsO}_2$  i arsenianu(V) sodu  $\text{Na}_2\text{AsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Sigma Aldrich). Roztwory wzorców o mniejszym stężeniu otrzymano poprzez rozcieńczenie roztworu wzorca o stężeniu 1 mg/ml. Naczynia użyte do przechowywania wzorców wykonane były z polietylenu.

Roztwór borowodoru sodu  $\text{NaBH}_4$  sporządzano każdorazowo w dniu oznaczenia poprzez rozpuszczenie odpowiedniej odważki w roztworze 1% wodorotlenku sodowego. Użyty do analizy roztwór 2M kwasu chlorowodorowego otrzymano poprzez rozcieńczenie wodą kwasu o gęstości  $\rho=1,19$  g/ml (Merck).

Fazę ruchomą użytą do rozdziału chromatograficznego stanowił bufor fosforanowy, który otrzymano poprzez rozpuszczenie w 1000 ml wody 2 milimoli wodorofosforanu sodu  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  oraz 20 milimoli diwodorofosforanu potasu  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck).

Do przeprowadzenia ekstrakcji użyto buforu fosforanowego o stężeniu odpowiednio 5 milimoli  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i 50 milimoli  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  w 1000 ml wody i  $\text{pH} = 6,0 \pm 0,2$ . Używano 10 ml buforu do ekstrakcji 1 g próbki osadu.

## 2.2. Pobieranie i przygotowanie próbek

Próbki osadów pobrane zostały z jezior położonych na terenie miasta Gniezna: Jezioro Jelonek (pow. 15,33 ha, głęb. 2,4 m; próbka A pobrana w pobliżu głęboczka, próbka A1 pobrana kilkanaście metrów od miejsca pobrania próbki A) i Winiary (pow. 19,37 ha, 4,2 m; próbki A, B, C pobrane wzdłuż osi jeziora od jego wschodniego krańca próbki A1 i B1 pobrane kilkanaście metrów od miejsca pobrania próbek A i B). Próbki osadów pobierane były z różnych punktów jezior z łodzi przy użyciu próbników Nurek i Czapla. Przy pobieraniu osadów pobierana była również woda pozostająca w kontakcie z osadem – woda nadosadowa. Pobrano również wodą z powierzchni badanych akwenów. Po pobraniu osady zostały umieszczone w polietylenowych woreczkach, a próbki wody w polietylenowych butelkach przetransportowane do laboratorium i przechowywane w temperaturze  $-30^\circ\text{C}$ . W pierwszym etapie przygotowania do analizy każda próbka osadu była liofilizowana, rozcierana i przesiewana przez sito o średnicy oczek 0,02 mm. Tak przygotowane próbki poddawane były następnie ekstrakcji, której celem było wymycie z próbki osadu poszczególnych frakcji arsenu. Proces ten polegał na zastosowaniu różnych metod:

- ekstrakcja buforem na łaźni wodnej w temperaturze  $80^\circ\text{C}$ ,
- ekstrakcja buforem na łaźni ultradźwiękowej,
- ekstrakcja wodą przy wytrząsaniu przez 72 godziny.

Otrzymane w ten sposób ekstrakty przesączono i uzyskany przesącz poddano analizie w układzie łączonym HPLC – HG – AAS. Natomiast próbki wody poddawane były analizie bezpośredniej.

### 3. Wyniki i dyskusja

We wstępnej fazie badań zastosowano jedynie ekstrakcję frakcji wymiennej: wymywanej buforem fosforanowym na łaźni wodnej w temperaturze 80°C. Ponieważ wyniki tych oznaczeń były na stosunkowo wysokim poziomie (do 4230 ng/g dla As(V) oraz do 2670 ng/g dla As(III)), przeprowadzono również ekstrakcję frakcji rozpuszczalnej (ekstrakcja wodą wspomagana poprzez wytrząsanie) i ekstrakcję frakcji wymiennej (ekstrakcja buforem wspomagana ultradźwiękami).

Ostatecznie w badaniach występowania arsenu w różnych frakcjach określono jego zawartość we frakcji wymywanej wodą, określanej jako „frakcja rozpuszczalna” oraz frakcji wymywanej buforem o  $\text{pH}=6,0\pm 0,2$  określanej jako „frakcja wymienna”. Ponadto ekstrakcję frakcji wymiennej prowadzono w odmiennych warunkach: w temperaturze 20°C przy wspomaganiu ultradźwiękami oraz w temperaturze 80°C. Wyniki oznaczeń zawartości całkowitej arsenu we frakcjach, oraz zawartości arsenu w wodzie nadosadowej i powierzchniowej jezior przedstawiono w tabeli 3.

W określonych różnymi procedurami ekstrakcyjnymi frakcjach osadów jeziornych oznaczono zawartości związków nieorganicznych arsenu zawierających ten pierwiastek w różnych formach: As(III) i As(V). Wyniki analizy specjacyjnej frakcji przedstawiono w postaci niemianowanych współczynników, będących wynikami ilorazu zawartości As(V) i As(III). Ten sposób prezentacji wyników pozwala na porównanie specjacji arsenu w różnych próbkach niezależnie od jego całkowitej zawartości. Wartość współczynnika równa 1 oznacza równą zawartość obu form, poniżej 1 przewagę zawartości As(III), powyżej 1 przewagę zawartości As(V). Wyniki analizy specjacyjnej frakcji osadów jeziornych i wody nadosadowej i powierzchniowej przedstawiono w tabeli 4.

W wodzie nadosadowej dla jeziora Winiary zdecydowanie przeważa forma As(III), w wodzi powierzchniowej tego jeziora przeważa ta nie jest już tak duża. W przypadku jeziora Jelonek w wodzie nadosadowej przeważa forma As(V), podobnie jak w wodzi powierzchniowej tego zbiornika. W obu akwenach zawartość As(III) w strefie przydennej jest większa niż w strefie powierzchniowej jezior, przy czym całkowita zawartość arsenu w wodzie nadosadowej jest znacząco wyższa niż w wodzie z powierzchni zbiorników.

**Tabela 3.** Zawartość całkowita arsenu w wodach i frakcjach osadów jeziornych (ng/g), niepewność złożona pomiarów dla wszystkich próbek poniżej 20%

**Table 3.** Content of arsenic in water and fractions of lake sediments, complex uncertainty for all samples below 20%

próbka	wody		ekstrakcja osadów		
	woda nadosadowa, ng/ml	woda powierzchniowa, ng/ml	woda, ng/g	bufor 20°C, ng/g	bufor 80°C, ng/g
Winiary A	2,5	0,70	152	2533	5290
Winiary A1	4,3		142	3250	6150
Winiary B	6,7		427	2033	4240
Winiary B1	4,8		516	1317	2884
Winiary C	2,1		307	2068	3819
Jelonek A	3,2	1,80	605	3542	5001
Jelonek A1	10,5		1110	2464	5010

Zawartość As(III) we frakcji rozpuszczalnej (ekstrakcja wodą) kształtowała się w przedziale od 101 ng/g dla próbki B1 z jeziora Winiary do 1020 ng/g dla próbki A1 z jeziora Jelonek, natomiast zawartości As(V) wahały się w granicach od poniżej 5 ng/g dla próbek B1 i C z jeziora Winiary do 103 ng/g dla próbki A z jeziora Jelonek. Z kolei dla frakcji wymiennej (ekstrakcja buforem wspomagana ultradźwiękami) stężenia As(III) kształtują się w przedziale od 1170 ng/g dla próbki B1 z jeziora Winiary do maksymalnej zawartości 2600 ng/g dla próbki A z jeziora Jelonek. Najniższą zawartość As(V) stwierdzono dla próbki B1 z jeziora Jelonek (147 ng/g) natomiast najwyższą zawartość As(V) oznaczono w próbce A1 z jeziora Winiary (1390 ng/g). Najwyższe zawartości arsenu stwierdzono we frakcji wymiennej ekstrahowanej za pomocą buforu fosforanowego na łaźni wodnej w temperaturze 80°C. Najniższa zawartość As(III) została zaobserwowana dla próbki B1 z jeziora Winiary (2180 ng/g) natomiast najwyższa dla próbki A z jeziora Jelonek (4230 ng/g). Z kolei dla As(V) najniższą zawartość stwierdzono dla próbki B1 z jeziora Winiary (704 ng/g) podczas gdy najwyższą zawartość została stwierdzona dla próbki A1 z jeziora Winiary (2670 ng/g).

**Tabela 4.** Specjacja arsenu w wodach i frakcjach osadów jeziornych jako iloraz zawartości As(V) do As(III)

**Table 4.** Speciation of arsenic in water and fractions of lake sediments as quotient of occurrence of As(V) and As(III)

próbka	wody		ekstrakcja osadów		
	woda nadosadowa	woda powierzchniowa	woda	bufor 20°C	bufor 80°C
Winiary A	0,32	0,80	0,03	0,64	0,82
Winiary A1	0,34		0,41	0,75	0,77
Winiary B	0,12		0,01	0,49	0,50
Winiary B1	0,45		0,09	0,13	0,32
Winiary C	0,50		0,02	0,25	0,31
Jelonek A	1,05	1,40	0,21	0,36	0,18
Jelonek A1	1,14		0,09	0,20	0,20

Można stwierdzić, że we wszystkich badanych osadach w łatwo wymywanych frakcjach przeważa zawartość formy As(III). Dla najłatwiej dostępnej dla migracji arsenu z osadów do toni wodnej frakcji rozpuszczalnej w wodzie przewaga zawartości formy As(III) jest najwyższa. Oznacza to, że najbardziej toksyczna forma arsenu najłatwiej może uwalniać się do środowiska wodnego, stanowiąc potencjalnie istotne zagrożenie. We frakcjach wymiennych ekstrahowanych buforem przewaga zawartości formy As(III) jest już mniejsza.

Zawartości arsenu spotkane w literaturze dla próbek osadów dennych z jezior zawierają od 30 ng/g do nawet 500 µg/g [14]. Zawartości takie oznaczone zostały w osadach z jeziora Moira przez zespół J. Zhenga. Jest to jednak jedynie informacja o ogólnej zawartości arsenu, brak bowiem danych dotyczących zawartościach zarówno formy trój- jak i pięciowartościowej. Z kolei J.A. Jay wraz z zespołem oznaczyli zawartości arsenu w osadach z jeziora Spy Pond na poziomie kilkukrotnie niższym (300 ng/g) [3]. Podobnie jak poprzednio są to jedynie informacje o całkowitej zawartości arsenu w próbkach. Próbuąc porównać wyniki literaturowe z otrzymanymi danymi łatwo można zaobserwować fakt, iż w zbadanych osadach jeziornych całkowita zawartość arsenu jest

kilkukrotnie wyższa (od 1717 ng/g do nawet 6150 ng/g dla ekstrakcji buforem w temperaturze 80°C). Różnica ta może być spowodowana faktem, iż polskie jeziora (zwłaszcza jezioro Jelonek i Winiary) znajdują się na terenie miejskim w związku z czym widoczny staje się wpływ antropopresji.

Mimo, że danych literaturowych na temat specjacji arsenu w osadach dennych jest stosunkowo niewiele istotne jest by badania takie były prowadzone. Powodem tego jest przede wszystkim odmienna toksyczność związków arsenu na poszczególnych stopniach utlenienia a także fakt, że to właśnie w osadach znajduje się potencjalna zdolność kumulacji jak i uwalniania tychże związków. Ponieważ osady dennie są w równowadze dynamicznej z wodą nadosadową w zależności od warunków środowiskowych może następować uwalnianie tych związków, a co za tym idzie i wzrost ich stężenia w wodach.

#### **4. Podsumowanie**

W niniejszej pracy wykonano oznaczenia ogólnej zawartości oraz oznaczenia nieorganicznych form specjacyjnych arsenu [As(III) oraz As(V)] w próbkach osadów dennych oraz wód nadosadowych i powierzchniowych jezior przy użyciu układu łączonego HPLC – HG – AAS. Porównując otrzymane dane z danymi literaturowymi obserwuje się duży wzrost stężenia Ekstrakcja buforem w temperaturze 80°C powoduje lepsze wymycie arsenu z próbki środowiskowej niż ekstrakcja na łaźni ultradźwiękowej przy użyciu buforu, czy ekstrakcja wodą. Wymywane są w ten sposób kolejno frakcje coraz łatwiej dostępne dla środowiska, z których może następować migracja arsenu. Generalnie we wszystkich frakcjach przeważa zawartość bardziej toksycznej dla środowiska formy As(III), przy czym im frakcja jest łatwiej uwalniana, tym zawartość As(III) w niej jest wyższa. Łatwiejsze uwalnianie formy As(III) potwierdza analiza wody jezior – w strefie przydennej zawartość As(III) jest większa niż w strefie powierzchniowej. Oznacza to, że toksyczna forma As(III) najłatwiej przedostaje się do środowiska, stanowiąc potencjalne zagrożenie dla ekosystemów wodnych i lądowych.

#### **Uwaga**

Badania finansowane były przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego 3T09D 010 29.



## Literatura

1. **Burguera M., Burguera J.L.:** *Analytical methodology for speciation of arsenic in environmental samples.* Talanta 44, 1581÷1604. 1997.
2. **Dojlido J.R.:** *Chemia wód powierzchniowych.* Wydawnictwo Ekonomia i Środowisko, 1995.
3. **Jay, J.A., Blute N.K., Lin K., Senn D., Hemond H.F., Durant J.L.:** *Controls on arsenic speciation and solid phase partitioning in the sediments of two – basins lake.* Environ. Science Tech.(2005),39,9174 – 9181 *Environ. Sci. Technol.*, 39, 23, 9174÷9181, 2005.
4. **Kabata–Pendias A., Pendias H.:** *Biogeochemia pierwiastków śladowych.* PWN, 1999.
5. **Merian E.:** *Metals and their compounds in the environment.* VCH, New York 1991.
6. **Niedzielski P.:** *The new concept of hyphenated analytical system: Simultaneous determination of inorganic arsenic(III), arsenic(V), selenium(IV) and selenium(VI) by high performance liquid chromatography–hydride generation–(fast sequential) atomic absorption spectrometry during single analysis,* Anal. Chim. Acta, 551, 199÷206. 2005.
7. „Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 4 września 2000 r. w sprawie warunków, jakim powinna podlegać woda do picia i na potrzeby gospodarcze, woda w kąpieliskach oraz zasad sprawowania kontroli jakości wody przez organy Inspekcji Sanitarnej”, Dz.U. Nr 82 poz. 937.
8. **Seńczuk W.:** *Toksykologia.* Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1999.
9. **Siepak J.:** red., *Fizyczno chemiczna analiza wód i gruntów,* Wyd. UAM, Poznań 1 9 9 2 .
10. **Stanger G., Troung T.V., Nygoc K. S. L.T. M., Luyen T.V., Thanh T. T.:** *Arsenic in groundwaters in Lower Mekong.* Environmental Geochemistry and Health 27, 341÷357. 2005.
11. **Stanger G.:** *A palaeo-hydrogeological model for arsenic contamination in southern and south-east Asia.* Environmental Geochemistry and Health 27: 359÷367 Springer 2005.
12. **Zheng J, Hintelmann H, Dimock B, Dzurko M.S.:** *Speciation of arsenic in water, sediments and plants in lake Moira, Canada, using HPLC – ICP – MS.* Anal. Bioanal. Chem. 377(1):14÷24. 2003.