

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO ỐNG VI CHIẾT PHA RẮN MAO QUẢN HỖ

Đặng Văn Đoàn¹, Đỗ Quang Huy², Nguyễn Đức Huệ², Trần Mạnh Trí²

¹Viện Khoa học hình sự, Bộ Công an

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN.

Đến Tòa soạn ngày: 7/4/2010

1. MỞ ĐẦU

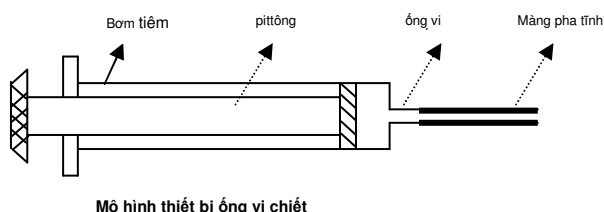
Trong những năm gần đây, kỹ thuật vi chiết pha rắn ống mao quản hờ với màng pha tĩnh phủ trong (WCOT-SPME) đang tiếp tục được nghiên cứu phát triển và ứng dụng. WCOT-SPME chính là kỹ thuật vi chiết pha rắn được cải tiến. WCOT-SPME được nghiên cứu phát triển do có thể khắc phục được những nhược điểm mà khi thực hiện kỹ thuật vi chiết SPME thường gặp phải (SPME thì lượng pha tĩnh tẩm lên sợi nhỏ và có giới hạn, khó khăn khi phân tích trực tiếp với mẫu khí và thiết bị hay hỏng do sợi nhỏ dễ gãy, màng pha tĩnh dễ bị rách) [5].

WCOT-SPME dựa trên cân bằng phân bố của các cấu tử phân tích từ môi trường mẫu lên một màng pha tĩnh mỏng được tẩm lên thành bên trong của một ống mao quản bằng hợp kim có đường kính nhỏ (cỡ 0,2 - 0,6 mm). Pha tĩnh là các hợp chất cao phân tử có tính chất hoá, lí ổn định, đặc biệt là có độ bền nhiệt đủ lớn. Có thể nói việc lựa chọn pha tĩnh cũng như cách tạo màng pha tĩnh chính là các yếu tố quyết định mang hiệu quả của kỹ thuật tách chất này.

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu tạo ống vi chiết pha rắn mao quản hờ với 5 loại pha tĩnh khác nhau. Độ dày màng pha tĩnh được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) [1, 2, 3].

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Lựa chọn thiết bị



Rửa sạch syranh thủy tinh (loại dùng trong ngành y tế) có thể tích 1 ml có gắn ống mao quản thép không gỉ có chiều dài 3 cm, đường kính ngoài 0,65 mm, đường kính trong 0,38 mm lần lượt bằng dung môi axeton, điclorometan và n-hexan. Sau đó sấy khô để chuẩn bị cho quá trình tẩm pha tĩnh lên thành phía trong của ống mao quản.

2.2. Pha tĩnh và dung dịch tẩm

Một số loại pha tĩnh lựa chọn nghiên cứu như trong bảng 1. Các pha tĩnh này được pha trong điclorometan với những nồng độ khác nhau để tiến hành tẩm màng pha tĩnh cũng như xác định chiều dày màng pha tĩnh bằng công thức bán thực nghiệm [2,3]. Kết quả thu được như ở bảng 3.

Bảng 1. Một số loại pha tĩnh lựa chọn để tiến hành tẩm màng

Stt	Loại pha tĩnh	Kí hiệu
1	Poli(metylacrylat)	PT1
2	Bis(2-ethylhexyl) sebasat	PT2
3	Polidimetylsiloxane	PT3
4	Polimetyl(65%)phenyl(35%)siloxan	PT4
5	Poli dietylen glycol succinat	PT5

2.3. Cách tẩm pha tĩnh

Nhúng 2 cm đầu ống mao quản vào dung dịch các loại pha tĩnh như bảng 1, hút đầy dung dịch các pha tĩnh vào trong ống mao quản. Đưa ống mao quản chứa đầy pha tĩnh ra khỏi dung dịch và làm sạch lớp pha tĩnh bám ở bên ngoài ống mao quản, giữ ống mao quản ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ để dung môi điclorometan bay hơi hết. Dùng dòng khí nitơ cho đi qua ống mao quản và sấy ống ở 200°C trong 1 giờ để làm sạch hoàn toàn dung môi. Như vậy ống mao quản vi chiết đã được tạo thành với lượng pha tĩnh được phủ bên trong thành ống để phục vụ cho các bước nghiên cứu tiếp sau.

2.4. Quan sát chiều dày màng pha tĩnh bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM)

Loại máy SEM Quanta 400 (Hà Lan) tại Viện Khoa học hình sự. Điều kiện: Detector LFD; chế độ chân không thấp; Chương trình phần mềm chuyên dụng Scandium để xác định chính xác chiều dày màng tẩm.

3. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

3.1. Pha tĩnh và dung dịch tẩm

Trong phương pháp SPME nói chung và phương pháp WCOT-SPME nói riêng, lựa chọn pha tĩnh là một trong những bước kỹ thuật quan trọng nhất, pha tĩnh phù hợp sẽ đem lại hiệu quả

chiết cao. Tùy thuộc vào bản chất của từng chất cần phân tích để có thể lựa chọn một hay hỗn hợp đồng thời các pha tĩnh thích hợp.

Ngoài một số yêu cầu đối với pha tĩnh dùng trong kỹ thuật vi chiết như: Khối lượng phân tử và nhiệt độ sôi đủ lớn; khả năng bám dính tốt trên vật liệu được tẩm; tan tốt trong một loại dung môi dễ bay hơi và không bị hoà tan trong môi trường chứa chất phân tích [3]. Tính chất quan trọng nhất của pha tĩnh là khả năng hấp thu chọn lọc đối với chất cần tách trên cơ sở độ phân cực và tính tương đồng về cấu tạo. Những chất phân cực mạnh thì hoà tan hay hấp thu tốt những chất phân cực mạnh và ngược lại. Tính chất của các loại pha tĩnh nghiên cứu được chỉ ra như ở bảng 2.

Bảng 2. Một số tính chất của các loại pha tĩnh nghiên cứu

Tính chất	PT1	PT2	PT3	PT4	PT5
Mz/Mw	5,566	8.943	9,144	2,139	3,163
Tỉ trọng (g/cm ³ , 25 ⁰ C)	1,22	0,914	1,27	0.965	0,982
Độ phân cực	Phân cực	Phân cực vừa	Phân cực	Không phân cực	Phân cực yếu

Trong đó: Mz/Mw là độ phân tán, được xác định trên thiết bị GPC 5.03 ở nhiệt độ 30⁰C, tốc độ dòng 1 ml/phút.

3.2. Xác định chiều dày màng pha tĩnh

Pha các dung dịch pha tĩnh lựa chọn trong diclometan với các nồng độ như sau: 0,025 g/mL, 0,050 g/mL, 0,075 g/mL, 0,100 g/mL, 0,150 g/mL và 0,200 g/mL, tẩm kim vi chiết với các nồng độ đã lựa chọn, với mỗi giá trị nồng độ trên tiến hành tẩm với 3 kim vi chiết khác nhau. Việc tính toán chiều dày màng pha tĩnh tẩm được theo lý thuyết bằng công thức bán thực nghiệm

$$\Delta = R - r = R - R(1-C/D)^{1/2} \quad (2.1)$$

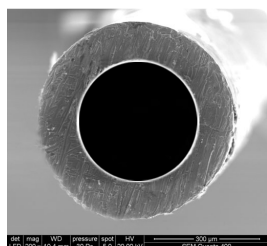
đã được nghiên cứu bởi tác giả [3] cho thấy chiều dày màng tẩm được phụ thuộc vào bán kính của ống mao quản hở R, nồng độ dung dịch tẩm C và tỉ trọng D của pha tĩnh. Với mỗi loại pha tĩnh được tẩm trên một ống mao quản hở nhất định, khi đó chiều dày màng pha tĩnh chỉ còn phụ thuộc vào dung dịch tẩm (khối lượng riêng của pha tĩnh). Kết quả nghiên cứu của tác giả [3] cũng cho thấy việc xác định chiều dày màng tẩm bằng công thức (2.1) với đo xác định trên SEM là gần tương tự nhau. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định độ dày màng phim pha tĩnh tẩm được trên SEM.

Kết quả xác định chiều dày màng pha tĩnh với những nồng độ khác nhau trên SEM như ở bảng 3 và các hình 1 và hình 2.

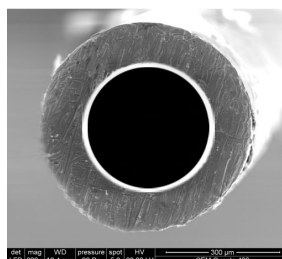
Bảng 3. Kết quả xác định độ dày màng pha tĩnh trên SEM

Nồng độ pha tĩnh trong diclometan	Độ dày màng pha tĩnh (μm)				
	PT1	PT2	PT3	PT4	PT5
0,025g/mL	1,6	2,0	1,8	1,9	1,5

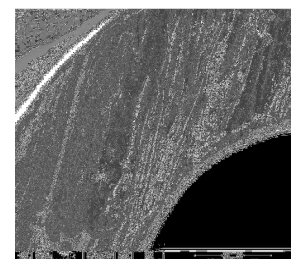
0,050g/mL	3,0	4,1	3,6	3,8	2,9
0,075g/mL	4,5	6,0	5,8	5,8	4,1
0,100g/mL	6,0	7,7	7,8	7,5	5,8
0,150g/mL	9,0	11,3	11,5	11,6	8,9
0,200g/mL	12,5	15,7	15,8	15,3	11,6



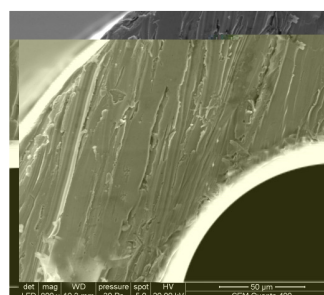
Hình 1a. poli(metylacrylat)
 $\Delta = 9 \mu\text{m}$



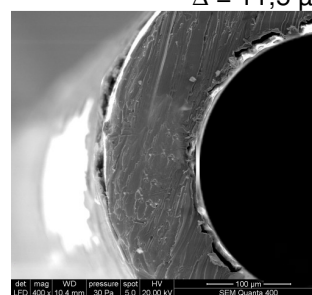
Hình 1b. Bis
(2-etylhexyl)sebasat
 $\Delta = 11,3 \mu\text{m}$



Hình 1c. Polimetyl
(65%)phenyl (35%) siloxan
 $\Delta = 11,5 \mu\text{m}$

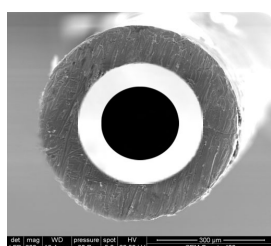


Hình 1d. Polidimetylsiloxan
 $\Delta = 12,6 \mu\text{m}$

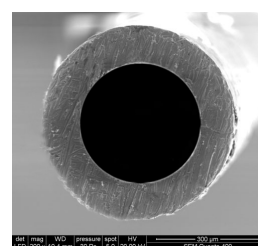


Hình 1e. Polidietyl glycol succinat
 $\Delta = 8,9 \mu\text{m}$

Hình 1. Ảnh SEM của các ống vi chiết chế tạo được ở nồng độ pha tĩnh 0,15 g/mL



Hình 2a. poli(metylacrylat) $\Delta = 17,8 \mu\text{m}$



Hình 2b. Bis (2-etylhexyl)sebasat $\Delta = 1,7 \mu\text{m}$

Hình 2. Ảnh SEM của các ống vi chiết chế tạo được ở các nồng độ pha tĩnh khác nhau

3.4. So sánh phương pháp WCOT-SPME với phương pháp SPME

Màng pha tĩnh là yếu tố quan trọng nhất trong vi chiết pha rắn nói chung và phương pháp WCOT-SPME nói riêng. Chiều dày màng pha tĩnh ảnh hưởng đến giới hạn phát hiện của phương pháp và thời gian chuẩn bị mẫu. Bước cải tiến của phương pháp WCOT-SPME so với phương pháp SPME chính là chiều dày màng tĩnh và bề mặt có khả năng tiếp xúc lớn của màng. Diện tích bề mặt trong của ống mao quản vi chiết chế tạo lớn hơn nhiều so với diện tích của sợi thủy tinh quang học được lồng vào trong kim trong phương pháp SPME. Hơn nữa, chiều dày màng pha tĩnh phủ trên sợi thủy tinh quang học bị giới hạn do phải lồng vào phía trong của kim, còn khi tẩm pha tĩnh lên thành trong của ống mao quản rỗng thì giá trị này có thể điều chỉnh được theo mong muốn. Đây chính là cơ sở để có thể làm tăng giới hạn phát hiện của phương pháp tách chất khi kết hợp với kỹ thuật phân tích sắc ký [3, 5, 6].

Đặc biệt hơn, phương pháp WCOT-SPME, sau khi phủ một lớp mỏng pha tĩnh lên thành bên trong của ống mao quản hở, phần ống mao quản còn lại vẫn là ống rỗng nên rất thuận lợi cho phân tích các loại mẫu khác nhau. Bằng việc kéo đẩy pittông lên xuống thì dòng mẫu được di chuyển liên tục qua ống rỗng làm cho cân bằng phân bố của các cấu tử cần chiết từ môi trường mẫu lên lớp pha tĩnh nhanh chóng được thiết lập (còn có thể gọi là kỹ thuật vi chiết pha rắn động, trong khi SPME thông thường không thực hiện được kỹ thuật vi chiết động).

Độ bền của thiết bị cũng là ưu điểm của phương pháp WCOT-SPME so với phương pháp SPME. Với WCOT-SPME, pha tĩnh được tẩm ngay lên thành bên trong của ống mao quản hở nên tránh cho màng pha tĩnh khỏi bị hỏng do va chạm trong quá trình vi chiết. Còn trong SPME, pha tĩnh được phủ lên sợi nhỏ và lồng qua ống nên trong quá trình thực hiện vi chiết, màng pha tĩnh dễ chạm lên thành kim và có thể bị ảnh hưởng tới quá trình vi chiết. Với phương pháp WCOT-SPME có thể tái sử dụng lại ống vi chiết nhiều lần và do vậy làm tăng hiệu quả kinh tế.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu hoàn thiện kỹ thuật chế tạo ống vi chiết pha rắn cột mao quản hở với pha tĩnh phủ trong trên cơ sở nghiên cứu 5 loại pha tĩnh khác nhau để tiến hành tẩm màng pha tĩnh, các loại pha tĩnh này có khả năng bám dính tốt trên ống mao quản hở.

Tiến hành xác định độ dày màng pha tĩnh tẩm được trên kính hiển vi điện tử quét (SEM). Kết quả cho thấy các pha tĩnh khi pha trong dung môi diclometan với nồng độ trên 0,15 g/mL các pha tĩnh sẽ tạo nên dung dịch tẩm đậm đặc, gây khó khăn trong việc tẩm màng.

Bước đầu nghiên cứu so sánh phương pháp WCOT-SPME với phương pháp SPME cho thấy phương pháp WCOT-SPME có ưu điểm nổi trội là làm tăng quá trình đạt trạng thái cân bằng hấp phụ, cho phép tiến hành vi chiết động, có thể tái sử dụng lại ống vi chiết nhiều lần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Mạnh Trí, Nguyễn Mai Dung, Nguyễn Đức Huệ, Trần Thị Như Mai, Đặng Văn Đoàn - Nghiên cứu xác định hợp chất clo bay hơi trong không khí bằng phương pháp vi chiết pha rắn kim rỗng kết hợp với sắc ký khí (GC/ECD), Tạp chí phân tích Hoá, Lý và Sinh học **15** (3) (2010) 99-107.
2. Đặng Văn Đoàn - Xác định hàm lượng các hợp chất cơ clo dễ bay hơi trong nước của hệ thống sông thuộc khu vực nội thành thành phố Hà Nội (khảo sát sông Sét, sông Lừ, sông

- Kim Nguu), Luận văn thạc sỹ khoa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội, 2009.
3. Trần Mạnh Trí - Nghiên cứu phát triển phương pháp vi chiết kết hợp với sắc ký khí phân tích hợp chất hữu cơ bay hơi, Luận án tiến sỹ hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội, 2011.
 4. Mark Ormsby - Analysis of laminated documents using solid-phase microextraction, *Journal of American Institute for Conservation* **44** (1) (2005) 13-26.
 5. Hiroyuki Kataoka - Recent Advances in Solid-Phase Microextraction and Related Techniques for Pharmaceutical and Biomedical Analysis, School of Pharmacy, Shujitsu University, Nishigawara, Okayama 703-8516, 2005, pp. 65-84.
 6. Huafeng Fu, Jiyu Guan, and James J. Bao - A Hollow Fiber Solvent Microextraction Approach to Measure Drug - Protein Binding, The Protein Binding, The Japan Society for Analytical Chemistry **22** (2006) 1565-1569.

SUMMARY

STUDY ON MAKING WALL COATED OPEN TUBULAR FOR- SOLID PHASE MICROEXTRACTION

Wall Coated Open Tubular - Solid Phase Microextraction (WCOT-SPME) is sample preparing method in chromatographic analysis which was improved on solid phase microextraction (SPME). This method is based on the sorption balance of compounds from sample onto a stationary phase thin film, which coated on inner surface of needle. In this subject, we studied to make the WCOT-SPME device on five stationary phases. After that, calculating the thickness of film coater and comparing with the observation results by Scanning Electron Microscope (SEM) method.