

# Tối ưu hóa quy trình phân tích đồng thời các anion vô cơ trong mẫu nước môi trường sử dụng hệ điện di mao quản vận hành bằng tay kết hợp với detector độ dẫn không tiếp xúc

Nguyễn Bích Ngọc<sup>1</sup>, Nguyễn Kim Diễm Mai<sup>1,2</sup>,  
Dương Hồng Anh<sup>1</sup>, Phạm Hùng Việt<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Nghiên cứu Công nghệ Môi trường và Phát triển Bền vững,  
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Sư Phạm Tp.Hồ Chí Minh

Nhận ngày 05 tháng 11 năm 2013

Chỉnh sửa ngày 19 tháng 11 năm 2013; chấp nhận đăng ngày 16 tháng 12 năm 2013

**Tóm tắt:** Quy trình phân tích đồng thời cả photphat và các anion cơ bản khác trong nước như clorua, nitrat, nitrit và sunphat trong nước sử dụng hệ điện di mao quản vận hành bằng tay kết hợp detector độ dẫn không tiếp xúc đã được tối ưu hóa. Các điều kiện tối ưu cho quá trình phân tích là: hệ đệm 50 mM Tris/50 mM MOPS ở pH 7,7, mao quản PEEK và áp thế -15kV. Giới hạn phát hiện của cả năm anion đều tương đối thấp từ 5 đến 15  $\mu\text{M}$  với độ lặp (5 -10%) và độ thu hồi (95- 112%) tốt. Kết quả phân tích một số mẫu thực cho thấy tương quan cao giữa phương pháp điện di mao quản đã phát triển và phương pháp đối chứng bằng sắc ký ion.

**Từ khóa:** Điện di mao quản, cảm biến độ dẫn không tiếp xúc, anion vô cơ.

## 1. Đặt vấn đề

Với đặc tính phân tách các chất tan dựa trên điện tích, ngay từ rất sớm, kỹ thuật điện di (Capillary electrophoresis - CE) đã được nghiên cứu để ứng dụng trong phân tích các ion vô cơ. Ban đầu, người ta chủ yếu sử dụng detector quang, đến cuối những năm 1990, detector đo độ dẫn không tiếp xúc ( $C^4D$ ) ra đời đã mở rộng khả năng áp dụng CE cho phân tích các anion và cation vô cơ trong môi trường nước [1]. Các

nghiên cứu của Kuban [2], Mai Thanh Duc [3] đã đưa ra quy trình phân tích đồng thời các anion cơ bản như  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , F. Tuy nhiên, các nghiên cứu này đều chưa đề cập tới việc định lượng photphat, một chỉ tiêu quan trọng trong các quy chuẩn kỹ thuật Việt Nam về chất lượng nước mặt (QCVN 08:2008/BTNMT) và nước thải (QCVN 14:2008/BTNMT, QCVN 24:2008/BTNMT, QCVN 28:2008/BTNMT).

Mục tiêu của nghiên cứu này là đưa ra được quy trình phân tích đồng thời các anion clorua, nitrit, nitrat, sunphat và photphat trên hệ thiết

\* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-913572589.  
E-mail: phamhungviet@hus.edu.vn

bị điện di mao quản tự chế tạo sử dụng detector đo độ dẫn không tiếp xúc, giúp đưa ra một giải pháp phân tích đơn giản, chi phí thấp và hiệu quả cao cho các trạm quan trắc chất lượng nước hiện nay.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Toàn bộ hóa chất được sử dụng đều thuộc loại tinh khiết phân tích mua từ Merck (Darmstadt, Germany) hoặc Fluka (Buchs, Switzerland). Dung dịch gốc 100 mmol/L của các anion vô cơ được pha từ muối natri rắn tương ứng, riêng  $\text{NO}_2^-$  được pha lại từ dung dịch gốc 1000 ppm (Merck). Các dung dịch gốc này sau được sử dụng để pha mẫu chuẩn. Dung dịch đệm được pha trong ngày, siêu âm loại bỏ bọt khí trước khi sử dụng. Tất cả đệm, mẫu chuẩn và mẫu giả đều được pha trong nước deion.

### 2.2. Kỹ thuật đo

Hệ thiết bị điện di mao quản được sử dụng trong nghiên cứu là hệ thiết bị tự lắp đặt với sử dụng bộ phát nguồn cao thế EMCO (tối đa  $\pm 15$  kV) và detector độ dẫn không tiếp xúc tự chế tạo nối với bộ ghi Pico ADC-16. Điện cực nối đất được đặt ở đầu bơm mẫu. Detector được đặt ở gần đầu điện cực cao thế. Điện thế tách sử dụng là -15 kV. Nghiên cứu được thực hiện trên hai loại mao quản là mao quản silica và mao quản PEEK (poly(etheretherketone)) đều có đường kính trong 50  $\mu\text{m}$  chiều dài 60 cm và chiều dài hiệu dụng là 53cm. Mao quản silica được xử lý với NaOH 1M trong 10 phút và nước deion 10 phút. Còn mao quản PEEK không phải xử lý. Mẫu được bơm theo nguyên tắc xiphông ở độ cao chênh lệch 16 cm trong 20 giây.

Quá trình tối ưu hóa được thực hiện theo phương pháp tối ưu lần lượt từng yếu tố: pH (thành phần đệm), nồng độ đệm và lựa chọn mao quản. Các thông số được sử dụng để so sánh kết quả của các điều kiện là diện tích pic, thời gian lưu và độ phân giải giữa các pic.

Sau khi tối ưu, phương pháp phân tích được đánh giá thông qua giới hạn phát hiện – LOD ( $S/N = 3$ ), hiệu suất thu hồi và độ lặp lại. Phương pháp cũng được áp dụng để phân tích các mẫu nước môi trường lấy từ các giếng nước ngầm tại xã Vạn Phúc, Hà Đông, Hà Nội và so sánh kết quả phân tích thu được bằng phương pháp sắc ký ion.

## 3. Kết quả thảo luận

### 3.1. Phát triển quy trình

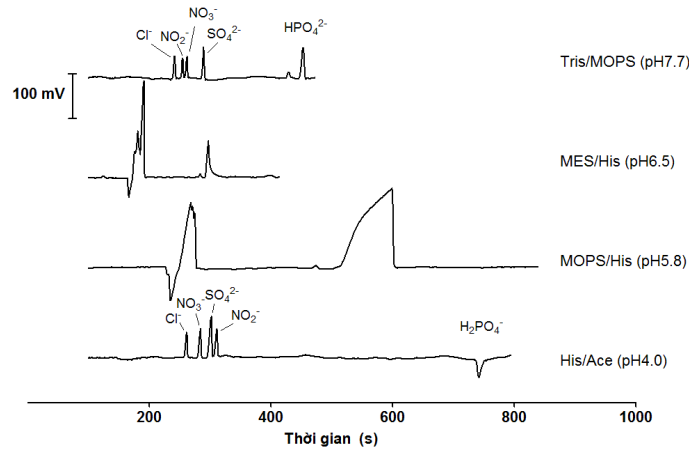
#### a) Lựa chọn đệm có pH phù hợp

Trong nghiên cứu này, bốn hệ đệm ở pH khác nhau được sử dụng để khảo sát ảnh hưởng lên sự phân tách của các anion là: hệ đệm histidine (12 mM) được điều chỉnh pH bằng axit axetic (His/Ace) đến pH 4,0; hệ đệm MOPS - axit 3-(*N*-morpholino)propanesulfonic và Histidine (MOPS/His) ở tỷ lệ 1/1 với pH 5,8; hệ đệm MES-axit 2-(*N*-morpholino) ethanesulfonic và Histidine (MES/His) được pha ở tỷ lệ 1/1 có pH 6,5; và hệ đệm Tris - Tris(hydroxymethyl) aminomethane và MOPS (Tris/MOPS) cũng ở tỷ lệ 1/1 với pH 7,7. Đối với các hệ đệm có pH > 4, CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide) được thêm vào để điều chỉnh dòng EOF. Các ion  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  được chuẩn bị ở nồng độ 100  $\mu\text{M}$  riêng ion  $\text{HPO}_4^{2-}$  được chuẩn bị ở nồng độ 250  $\mu\text{M}$ . Các điện di đồ được trình bày trong hình 1.

Trong điều kiện thí nghiệm, chỉ có hai hệ đệm His/Ace và Tris/MOPS cho phân tách tốt

giữa các pic. Tuy nhiên, đệm Tris/MOPS có phần ưu việt hơn do chiều cao pic của  $\text{HPO}_4^{2-}$  tốt hơn (65,78 mV) so với của đệm His/Ace là (-38,42 mV). Hơn thế nữa, độ phân giải của các pic khi sử dụng đệm His/Ace kém hơn khi sử

dụng đệm Tris/MOPS. Không chỉ vậy, đệm Tris/MOPS có khả năng được tiếp tục tối ưu do có thể điều chỉnh linh hoạt thời gian lưu và độ phân giải nhờ vào việc thay đổi vận tốc dòng EOF.

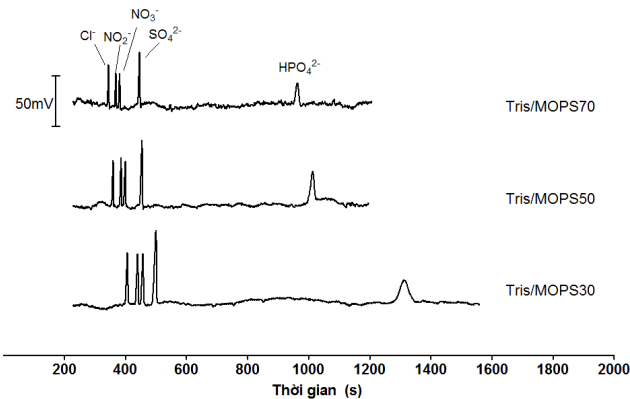


Hình 1. Điện di đồ khí phân tách các anion  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  sử dụng các hệ đệm có pH khác nhau.

*b) Ảnh hưởng của nồng độ đệm*

Yếu tố thứ hai được khảo sát là nồng độ các thành phần trong đệm. Hình 2. là điện di đồ của các anion khi thay đổi nồng độ Tris và MOPS trong đệm nhưng vẫn giữ tỉ lệ 1/1 để không làm

thay đổi pH. Có thể thấy, khi tăng nồng độ đệm, vận tốc của anion tăng hay thời gian lưu giảm. Không chỉ thế, khi tăng nồng độ đệm, chân pic thu hẹp lại giúp cho độ phân giải giữa các pic tốt hơn như ở Bảng 1



Hình 2. Điện di đồ phân tách đồng thời các anion cơ bản ở các nồng độ đệm khác nhau (Tris/MOPS70: 70 mM Tris, 70 mM MOPS, 3  $\mu\text{M}$  CTAB; Tris/MOPS50: 50 mM Tris, 50 mM MOPS, 3  $\mu\text{M}$  CTAB; Tris/MOPS30: 30 mM Tris, 30 mM MOPS, 3  $\mu\text{M}$  CTAB).

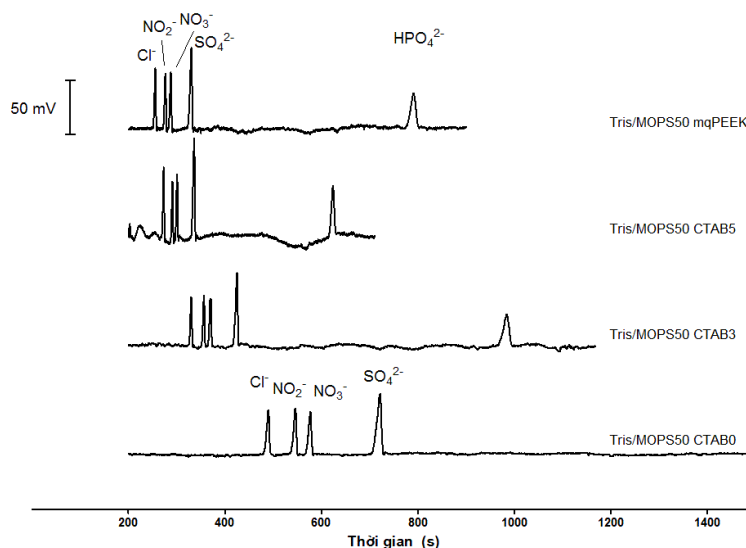
Bảng 1. Độ phân giải giữa các pic với các nồng độ đệm Tris/MOPS khác nhau

	$\text{Cl}^- - \text{NO}_2^-$	$\text{NO}_2^- - \text{NO}_3^-$	$\text{NO}_3^- - \text{SO}_4^{2-}$	$\text{SO}_4^{2-} - \text{HPO}_4^{2-}$
Tris/MOPS30 CTAB3	2,97	1,51	2,87	20,35
Tris/MOPS50 CTAB3	3,35	1,74	5,73	29,10
Tris/MOPS70 CTAB3	3,22	1,77	7,79	33,07

Tuy nhiên, nồng độ đệm càng cao độ dẫn của dung dịch càng lớn dẫn đến hạ chiều cao của pic và tăng chiều cao nền nên do hiệu ứng nhiệt Jun. Từ thực nghiệm cho thấy, nồng độ 50 mM Tris, 50 mM MOPS là nồng độ phù hợp cho việc phân tách đồng thời các anion, đảm bảo cả về độ phân giải giữa các pic và chiều cao pic so với chiều cao nền.

### c) Loại mao quản

Trong các nghiên cứu trên hệ CE-C<sup>4</sup>D với mao quản silica ở pH >4, CTAB – chất điều chỉnh dòng EOF – thường được thêm vào trong dung dịch đệm. Đệm Tris/MOPS50 được khảo sát ở các nồng độ CTAB khác nhau từ 0-5  $\mu\text{M}$  (Hình 3.).



Hình 3. Điện di đồ phân tách các anion khi thay đổi vận tốc dòng EOF (Tris/MOPS50 CTAB0: 50 mM Tris, 50 mM MOPS, 0 $\mu\text{M}$  CTAB; Tris/MOPS50 CTAB3: 50 mM Tris, 50 mM MOPS, 3  $\mu\text{M}$  CTAB; Tris/MOPS50 CTAB5: 50 mM Tris, 50 mM MOPS, 5 $\mu\text{M}$  CTAB; Tris/MOPS50 mqPEEK: 50 mM Tris, 50 mM MOPS sử dụng mao quản PEEK).

Khi không cho CTAB hay nồng độ CTAB quá nhỏ, vận tốc dòng EOF lớn đẩy ion  $\text{HPO}_4^{2-}$  về phía ngược lại, do đó pic của phot phát chỉ xuất hiện khi nồng độ EOF đủ lớn. Việc tăng nồng độ CTAB làm giảm vận tốc EOF cũng

dẫn đến chân pic hẹp lại, chiều cao pic tăng nhưng đồng thời cũng làm giảm độ phân giải giữa các pic. Kết quả thực nghiệm cho thấy khi tăng nồng độ CTAB độ phân giải giữa hai pic  $\text{NO}_2^- - \text{NO}_3^-$  giảm từ 2 (0  $\mu\text{M}$  CTAB) xuống

1,47 (5  $\mu\text{M}$  CTAB). Mặt khác, nhiều nền trở nên rõ rệt hơn khi giảm vận tốc EOF bằng việc tăng nồng độ CTAB. Như vậy, trong điều kiện của nghiên cứu này khi sử dụng mao quản silica, đệm Tris/MOPS 50 CTAB 3 cho kết quả tốt nhất trong việc phân tách đồng thời các anion.

Bên cạnh mao quản silica truyền thống, mao quản làm từ vật liệu polime như mao quản PEEK được coi là một lựa chọn mới trong CE. Do không có lớp silanol trên bề mặt, bên dòng điện thẩm không xuất hiện khi sử dụng mao quản PEEK. Kết quả so sánh việc sử dụng hai mao quản được thể hiện trong Hình 3. Việc sử dụng mao quản PEEK còn cho kết quả chiều cao pic tốt hơn, hình ảnh đường nền phẳng hơn so với việc sử dụng mao quản silica. Đồng thời, do không chịu tác động của EOF nên độ lặp lại của thời gian lưu khi đó cũng tốt hơn.

Với khả năng phân tách tốt, cho tín hiệu pic cao rõ ràng so với nhiều nền, thời gian phân

tích ổn định, đệm 50 mM Tris và 50 mM MOPS sử dụng mao quản PEEK được lựa chọn là điều kiện tối ưu cho quá trình phân tích đồng thời các anion trong mẫu nước môi trường.

### 3.2. Đánh giá quy trình phân tích

Độ đúng của phương pháp được kiểm chứng bằng việc tính toán hiệu suất thu hồi khi phân tích mẫu giả chứa năm ion ở nồng độ 100  $\mu\text{M}$ . Phương pháp cho kết quả thu hồi tương đối tốt với cả năm anion trong khoảng từ 95-112% (Bảng 2.). Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đối với mẫu chứa cả năm anion ở nồng độ 50  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$  và 200  $\mu\text{M}$  được sử dụng để đánh giá độ lặp lại của phép phân tích ( $n=7$ ) cho kết quả trong khoảng từ 4-10%. Kết quả giới hạn phát hiện cũng như khoảng đường chuẩn thu được từ nghiên cứu này đã chứng minh khả năng áp dụng của phương pháp trong đánh giá chất lượng nước theo các Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia.

Bảng 2. Khoảng đường chuẩn, giới hạn phân tích và độ lặp lại trong phân tích đồng thời các anion sử dụng hệ CE vận hành bằng tay và detector  $\text{C}^{14}\text{D}$

ion	LOD		Khoảng đường chuẩn ( $\mu\text{M}$ )	$R^2$ Đường chuẩn	Hiệu suất thu hồi (%)	RSD1 (%) ( $n=7$ , 50 $\mu\text{M}$ )	RSD2 (%) ( $n=7$ , 100 $\mu\text{M}$ )	RSD3 (%) ( $n=7$ , 200 $\mu\text{M}$ )
	( $\mu\text{M}$ )	(mg/L)						
$\text{Cl}^-$	5	0,18	20-600	0,9980	112 $\pm$ 6	4	5	6
$\text{NO}_2^-$	10	0,14*	25-200	0,9998	102 $\pm$ 4	3	4	4
$\text{NO}_3^-$	10	0,14*	25-200	0,9988	105 $\pm$ 9	9	8	5
$\text{SO}_4^{2-}$	5	0,48	15-600	0,9992	107 $\pm$ 5	5	4	5
$\text{PO}_4^{3-}$	15	0,46**	50-600	0,9991	95 $\pm$ 6	10	6	5

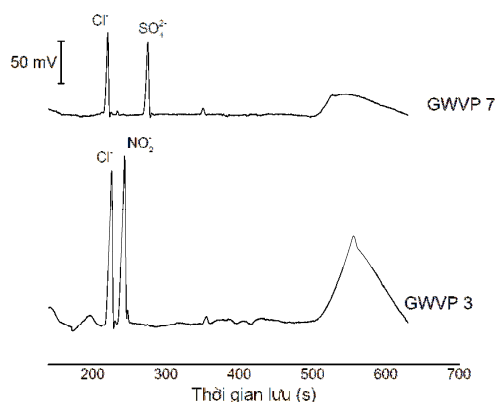
\*: Nồng độ tính theo N

\*\* : Nồng độ tính theo P

Đồng thời phương pháp này cũng đã thành công trong việc hạ giới hạn phát hiện của  $\text{PO}_4^{3-}$  15  $\mu\text{M}$  (465 ppb  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ) xuống thấp hơn các

nghiên cứu phân tích phốt phat trên hệ điện di mao quản trước đây [4].

### 3.3. Áp dụng phân tích mẫu thật



Hình 4. Giản đồ điện di phân tích mẫu thật trên hệ CE-C<sup>4</sup>D.

Quy trình phân tích sau khi hoàn thiện được sử dụng để phân tích mẫu nước môi trường. Mẫu nước ngầm được lấy ở các giếng khai thác nước ngầm trong khu vực làng Vạn Phúc, Hà Đông, Hà Nội và được đánh mã số từ GWVP1

đến GWVP10. Điện di đồ của mẫu GWP4 được thể hiện trong Hình 4. và kết quả đo được bằng CE và kết quả so sánh trên IC được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích mẫu nước môi trường trên hệ CE-C<sup>4</sup>D và kết quả so sánh của IC

	Cl <sup>-</sup>			NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>			SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		
	IC (μM)	CE (μM)	Độ lệch (%)	IC (μM)	CE (μM)	Độ lệch (%)	IC (μM)	CE (μM)	Độ lệch (%)	IC (μM)	CE (μM)	Độ lệch (%)
GWVP1	319	333	4,5	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	-	2,1	6,7*	-
GWVP2	165	156	5,5	n.d.	n.d.	-	2,0	n.d.	-	n.d.	4,8*	-
GWVP3	514	487	5,3	697	581	16,8	n.d.	10,1*	-	n.d.	n.d.	-
GWVP4	96,3	80	17,1	42,3	41,4	2,0	n.d.	n.d.	-	3,1	n.d.	-
GWVP5	234	245	4,8	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	-
GWVP6	195	173	11,1	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	-	32,4	32,0	1,3
GWVP7	182	171	6,0	9,1*	n.d.	-	n.d.	n.d.	-	104	95,9	8,0

n.d.: không phát hiện

\*: Nồng độ thấp hơn giới hạn định lượng của phương pháp

Kết quả thu được từ hai phương pháp có độ sai lệch trong khoảng từ 4,5-17% đối với ion Cl<sup>-</sup>. Có một số mẫu phát hiện thành phần SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Tuy nhiên, số mẫu nước môi trường có chứa ba ion này không cao, nên số lượng kết quả thu được chưa đủ để đánh giá hiệu quả của phương pháp. Kết quả phân tích

Cl<sup>-</sup> thu được từ điện di mao quản có tương quan cao với kết quả thu được từ phương pháp đối chứng sắc ký ion ( $r = 0,995$ ). Kết quả cho thấy quy trình với chi phí thấp được đưa ra trong nghiên cứu này có thể được sử dụng thay thế cho phương pháp IC trong phân tích đồng thời các anion trong mẫu nước môi trường. Tuy

nhiên các nghiên cứu cần được tiếp tục triển khai để có thể hạ được giới hạn phát hiện xuống và tăng độ lặp lại của phương pháp.

#### 4. Kết luận

Quy trình tối ưu để có thể phân tích đồng thời các chỉ tiêu anion vô cơ trong nước ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  và  $\text{PO}_4^{3-}$ ) sử dụng mao quản PEEK và hệ đệm ở pH 7,7 được đưa ra bởi nghiên cứu này cho độ tin cậy cao với quy trình phân tích đơn giản và chi phí thấp. Các điều kiện tách điện di này có thể được sử dụng làm cơ sở để phát triển quy trình phân tích cho các hệ điện di mao quản tự động giúp tăng độ chính xác cũng như khoảng nồng độ phân tích.

#### Lời cảm ơn

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính từ Bộ Công thương theo đề tài 03/HĐ-ĐT.03.12/CNMT thuộc Đề án “Phát triển

ngành công nghiệp môi trường Việt Nam đến năm 2015, tầm nhìn đến năm 2025”.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Kubáň, P. and P.C. Hauser, Ten years of axial capacitively coupled contactless conductivity detection for CZE—a review. *Electrophoresis*, 2009. **30**(1): p. 176-188.
- [2] Kubáň, P., et al., New fully portable instrument for the versatile determination of cations and anions by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *Electroanalysis*, 2007. **19**(19-20): p. 2059-2065.
- [3] Mai, T.D. and P.C. Hauser, Anion separations with pressure-assisted capillary electrophoresis using a sequential injection analysis manifold and contactless conductivity detection. *Electroanalysis*, 2011. **32**(21): p. 3000-3007.
- [4] Mai, T.D., et al., Portable Capillary Electrophoresis Instrument with Automated Injector and Contactless Conductivity Detection. *Analytical chemistry*, 2013. **85**(4): p. 2333-2339.

## Method Development for Simultaneous Analysis of Inorganic Anions in Environmental Aquatic Samples Based on a Manually Operated Capillary Electrophoresis System Using a Contactless Conductivity Detector

Nguyễn Bích Ngọc<sup>1</sup>, Nguyễn Kim Diễm Mai<sup>1,2</sup>  
Dương Hồng Anh<sup>1</sup>, Phạm Hùng Việt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Research Centre for Environmental Technology and Sustainable Development,*

*VNU University of Science, 334 Nguyễn Trãi, Hanoi, Vietnam*

<sup>2</sup>*Ho Chi Minh City University of Pedagogy*

**Abstract:** A method for simultaneous analysis of phosphate and other inorganic anions (chloride, nitrate, nitrite and sulfate) in environmental water samples using manual capillary electrophoresis system coupled contactless conductivity detector was optimized. The buffer of 50 mM Tris/50 mM MOPS at pH 7.7, -15kV and PEEK capillary using was chosen. Limits of detection of five anions were relatively low from 5 to 15  $\mu\text{M}$ , relative standard deviations were lower than 10% and recoveries were in range of 95 % to 112%. Good correlation had been shown between results obtained by developed CE method and those obtained by IC method.

**Keywords:** capillary electrophoresis, contactless conductivity detector, inorganic anions.

---