

KẾT HỢP SỰ PHÁT HUỖNH QUANG CỦA CALCEIN VÀ QUÁ TRÌNH KẾT NỐI SỢI QUANG HỌC VỚI MÀNG THẨM THẤU DUNG DỊCH ĐỂ XÁC ĐỊNH KIM LOẠI NẶNG

COUPLING FIBER OPTICS TO A PERMEATION LIQUID MEMBRANE FOR HEAVY METAL SENSOR DEVELOPMENT

Tác giả: Jorn Ueberfeld, Nalini Parthasarathy, Hugo Zbinden, Nicolas Gisin, and Jacques Buffle

Tạp chí: *Analytical Chemistry*.2002, Vol 74, 664-670

Người dịch: Nguyễn Thị Thanh Thúy,

Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học

Đại học Nông Lâm Tp. HCM, ĐT: 8988554

SUMMARY

We present the first sensing system for metal ions based on the combination of separation/preconcentration by a permeation liquid membrane (PLM) and fluorescence detection with an optical fiber. As a model, a system for the detection of Cu(II) ions was developed. The wall of a polypropylene hollow fiber serves as support for the permeable liquid membrane. The lumen of the fiber contains the strip solution in which Cu(II) is accumulated. Calcein, a fluorochromic dye, acts as stripping agent and at the same time as metal indicator. The quenching of the calcein fluorescence upon metal accumulation in the strip phase is detected with a multimode optical fiber, which is incorporated into the lumen. Fluorescence is excited with a blue LED and detected with a photon counter. Taking advantage of the high selectivity and sensitivity of PLM preconcentration, a detection limit for Cu(II) of ~ 50 nM was achieved. Among five tested heavy metal ions, Pb(II) was the only major interfering species. The incorporation of small silica optical fibers into the polypropylene capillary allows for real-time monitoring of the Cu(II) accumulation process.

MỞ ĐẦU

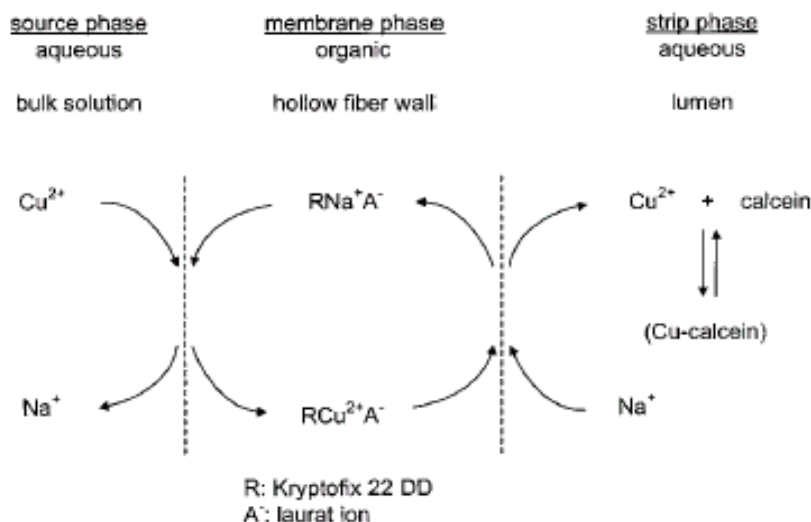
Quá trình hình thành hợp chất dưới dạng vết (chẳng hạn như kim loại nặng) trong môi trường rất là quan trọng cho việc giải thích những qui luật của chúng trong chu trình địa hóa học và sinh học. Một phương pháp rất hữu ích cho việc đánh giá môi trường là độ nhạy của sợi quang học trên nền tảng của sự phát huỳnh quang. Cho đến nay, có rất nhiều biểu đồ về kim loại nặng đã được nghiên cứu bằng cách sử dụng sự đo lường quá trình phát huỳnh quang. Một trong những nghiên cứu đó là: "Kết hợp sự phát huỳnh quang của Calcein và quá trình kết nối sợi quang học với màng thẩm thấu dung dịch để xác định kim loại nặng".

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Hai nhà khoa học Saari và Seitz đã tạo ra sợi quang học để xác định những ion kim loại nặng. Họ ghi nhận sự phát huỳnh quang của calcein trong cellulose và cố định nó ở phía trước điểm cuối nơi chia hai nhánh của sợi quang học. Tuy nhiên, do bởi hằng số của phức calcein và Cu²⁺ lớn, quá trình kết nối kim loại là không thuận nghịch. Hieftje và cộng sự của ông đã thực hiện việc trao đổi điện tích giữa rhodamine 6G và ion Nafion và sự sắp xếp của sợi quang học để đo tổng số hàm lượng kim loại nặng. Chẳng hạn như Cu²⁺, Co²⁺, Cr²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺ và Ni²⁺ được xác định với hàm lượng giới hạn là gần bằng 1 µM.

Một phương pháp chọn lọc tối ưu đã được Birch đưa ra. Phương pháp này dựa trên cơ sở luân chuyển năng lượng của sự cộng hưởng huỳnh quang (fluorescence resonance energy transfer – FRET) giữa rhodamine 800 và bước sóng hấp thụ của phức Cu(H₂O)₄²⁺ gần bước sóng của tia hồng ngoại ($\lambda_{\max} = 810\text{nm}$). Khi hệ số hấp thụ của phức là nhỏ, giới hạn phát hiện ở hàm lượng 5 mM.

Niessner và cộng sự của ông đã tìm ra sự tinh vi của sợi quang học để phát hiện những kim loại nặng. Đầu của bộ phận cảm biến bao gồm năm cái ngăn được làm đầy bằng thuốc nhuộm fluorogenic, mỗi ngăn dùng để phát hiện một ion kim loại. Dung dịch chỉ thị được cách ly với dung dịch mẫu bằng màng thẩm thấu ion. Kim loại khuếch tán xuyên qua màng thẩm thấu là nguyên nhân thay đổi sự phát huỳnh quang. Sự phát huỳnh quang được kích thích bởi tia laser nitrogen (337 nm) và được dò tìm bởi camera CCD với nhiều hình dạng của sợi quang học. Giới hạn với khả năng phát hiện ion Cu²⁺ là 4,7 µM. Theo một số nhà khoa học, mặt hạn chế của hệ thống là tỷ lệ khuếch tán chậm của những kim loại qua màng thẩm thấu. Tín hiệu đạt đến giá trị tương đương sau 20 phút. Tiến trình khuếch tán phụ thuộc vào gradient nồng độ giữa dung dịch mẫu và dung dịch nhuộm.



Hình 1. Nguyên lý của PLM trước khi xác định hàm lượng ion Cu^{2+} với Kryptofix 22DD như là chất mang hữu cơ. Nhân tố điều khiển là sử dụng gradient nồng độ của ion Cu^{2+} tự do giữa dung dịch mẫu và ngăn chứa dung dịch. Ion Cu^{2+} được trao đổi bằng Na^+ .

Sử dụng phụ gia cho màng thẩm thấu dung dịch (PLMs) để tăng độ phát hiện của ion Cu^{2+} . Dung dịch mẫu (the sample solution – source) dùng để phân tích được cô cạn trước khi thẩm thấu qua màng PLMs vào bên trong bể chứa dung dịch (receiver solution – strip). Hai pha lỏng này được phân chia bởi màng thẩm thấu dung dịch hydrophobic mà cái màng này chứa dung dịch phân tích chọn lọc (Hình 1).

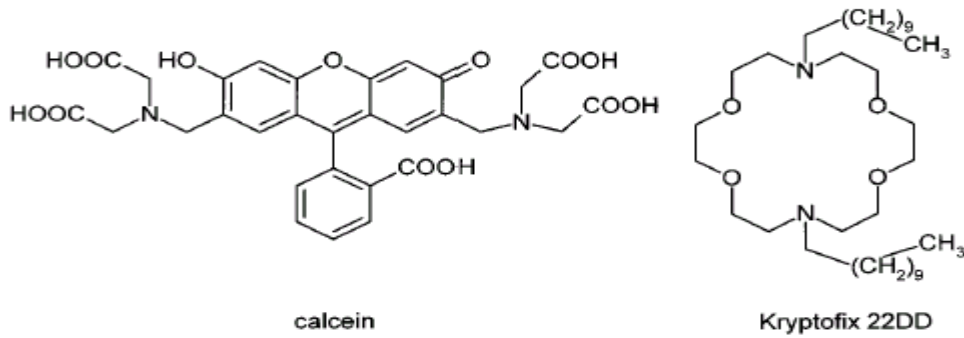
Quá trình tích lũy được điều khiển bằng gradient nồng độ phân tích tự do giữa dung dịch mẫu và dung dịch có trong bể chứa. Màng PLM có thể dùng để phân tích nhiều hợp chất dưới dạng vết với độ nhạy cao chẳng hạn như là những ion kim loại, acid carboxylic và rượu. Thuận lợi của PLM là độ chọn lọc cao, dễ tự động hóa, thời gian phân tích chính xác, sử dụng để phân tích được nhiều hợp chất và tránh được độc hại cho người phân tích.

Ống sợi được bao bọc bởi polypropylene được sử dụng để hỗ trợ cho màng PLM. Dung dịch mẫu được đặt ở bên ngoài ống sợi và được chiết vào bên trong lumen của ống sợi mà ống sợi này chứa đựng phase strip. Có thể đạt được hơn 1000 tác nhân làm giàu do bởi tỷ lệ giữa thể tích dung dịch mẫu và thể tích của bể chứa dung dịch. Tỷ lệ giữa diện tích bề mặt và thể tích của phase strip lớn cũng cho được thông lượng lớn và giảm thời gian vận chuyển. Cho đến nay, quá trình gia tăng hàm lượng trong bể chứa dung dịch chỉ có thể được phân tích một cách gián đoạn bằng phổ AAS hoặc phương pháp điện hóa nhưng tốn rất nhiều thời gian. Sau mỗi lần tiến hành đo quá trình trước khi cô cạn phải bắt đầu lại. Sự kết hợp sợi quang học vào trong lumen của ống sợi PLM đưa ra được hướng

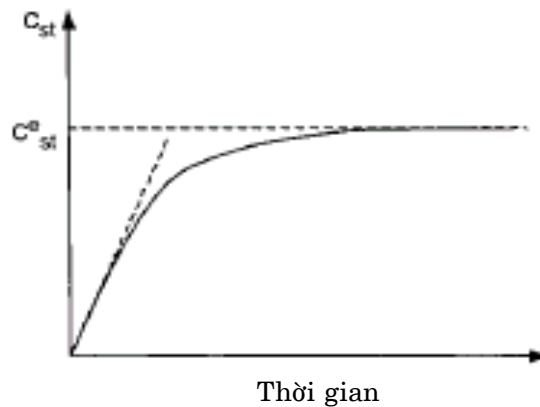
giải quyết của vấn đề này. Nếu bể chứa dung dịch chứa đựng một chất chỉ thị thì thời gian phân tích sẽ chính xác nhờ quá trình làm giàu chất phân tích.

Một phần của việc đo thời gian chính xác kết hợp với việc phát hiện của PLMs với sợi quang học sẽ đưa đến nhiều thuận lợi. Thể tích của ngăn strip được thu nhỏ hơn thì thừa số trước khi cô cạn sẽ cao hơn. Sợi quang học cũng thích hợp với độ nhạy cách biệt. Hệ thống cảm biến đầu tiên đặt cơ sở cho sự kết hợp của màng thẩm thấu dung dịch PLM với sợi quang học. Sự phát hiện ion Cu^{2+} bằng quang học được dùng để chứng minh tính khả thi của kỹ thuật này bởi vì hệ thống vận chuyển của nó đã phát triển tốt và nhiều kinh nghiệm thu lượm được thông qua quá trình hình thành của kim loại nặng với PLMs và thuốc thử calcein được dùng để tạo huỳnh quang với một số ion kim loại nặng (Hình 2)

Nồng độ $[\text{Cal}] \sim 30 \mu\text{M}$ và $\text{pH} = 6,5$ thì sẽ tạo được phức với ion Cu^{2+} có hằng số $K = 10^{12,3}$, α_{st} của Cu^{2+} trong dung dịch strip cao hơn trong màng thẩm thấu (α_{st} là tỷ lệ giữa hàm lượng tổng cộng và hàm lượng của Cu^{2+} tự do trong dung dịch strip). Do vậy calcein có thể hoạt động như tác nhân tẩy rửa và cũng như một chất chỉ thị trong cùng một thời điểm. Một lý do khác để sử dụng calcein là tính chất tạo phức của nó bổ sung vào màng thẩm thấu trong quá trình chọn lọc kim loại. Thật vậy, sự phát huỳnh quang của calcein hầu như không ảnh hưởng bởi những kim loại khác Cu(II) về thời gian thẩm thấu qua màng PLM như là Zn(II) và Cd(II) , trong khi đó màng PLM không có hấp thu những kim loại tạo huỳnh quang quá mạnh đối với calcein như là Co(II) và Ni(II) .



Hình 2. Công thức cấu tạo của calcein và Kryptofix 22DD



Hình 3. Mối quan hệ giữa C_{st} và thời gian

Calcein và phức Cu(II) của nó có thể hoà tan được trong nước mà không tan được trong dung môi hữu cơ (toluene + phenylhexane = 1:1). Phức của calcein với Cu(II) sẽ phát huỳnh quang ở $\lambda_{ex} = 495 \text{ nm}$ và $\lambda_{em} = 512 \text{ nm}$ rất thích hợp cho độ nhạy của sợi quang học.

CƠ SỞ LÝ THUYẾT

Có thể chỉ ra một giả định rằng tổng hàm lượng phân tích trong dung dịch strip là C_{st} (Hình 3).

Nếu sự thẩm thấu xuyên qua màng giới hạn bởi tỷ lệ thì độ dốc ban đầu của đường cong tỷ lệ với hàm lượng tự do ban đầu của chất phân tích trong dung dịch cần xác định. Khi chất phân tích chưa tạo phức thì độ dốc ban đầu tỷ lệ với tổng hàm lượng ban đầu của nó (C_s^0). Nếu bể chứa dung dịch chứa một tác nhân tạo phức với hàm lượng lớn thì tổng hàm lượng phân tích trong bể đó tại điểm cân bằng (C_{st}^e) cũng tỷ lệ với tổng hàm lượng ban đầu trong dung dịch mẫu. Do vậy độ dốc ban đầu của đường cong của C_{st} và thời gian hoặc giá trị C_{st}^e được sử dụng để xác định hàm lượng ban đầu cũng như xác định α_s của chất phân tích trong dung dịch mẫu.

Với những chất phân tích tạo phức không bền và khuếch tán trong dung dịch, biểu thức tổng quát để tính độ khuếch tán ban đầu (J) là:

$$J = \frac{V}{A} \cdot \frac{dC_{st}}{dt} = \frac{C_s}{\alpha_s} \left[\frac{\delta_s}{D_s} + \frac{l}{D_m K_p} + \frac{\delta_{st}}{D_{st} \alpha_{st}} \right]^{-1} \quad (1)$$

Trong đó:

- V là thể tích của bể chứa dung dịch (strip solution)
- A : diện tích bề mặt của màng thẩm thấu
- C_s : hàm lượng của chất phân tích trong dung dịch mẫu
- δ_s và δ_{st} : độ khuếch tán trong dung dịch mẫu và dung dịch strip
- l : độ dày của màng thẩm thấu
- K_p : hệ số phân bố của Cu(II) giữa dung dịch mẫu và màng thẩm thấu.
- D_s và D_m : hệ số khuếch tán trong lớp Nernst và trong màng thẩm thấu.
- α_s và α_{st} : tỷ lệ giữa hàm lượng tổng cộng và hàm lượng tự do của chất phân tích trong dung dịch mẫu và trong dung dịch strip.

Dưới điều kiện ligand có nhiều hơn trong dung dịch strip ($\alpha_{st} \gg 1$) và không có phức nào tạo thành trong dung dịch mẫu ($\alpha_s = 1$) thì phương trình (1) được viết lại là:

(2)

Thừa số F của PLM được mô tả như sau:

$$F = \frac{C_{st}^e}{C_s^0} = \frac{V_s \alpha_{st}}{V_{st} \alpha_{st} + V_s \alpha_s} \quad (3)$$

Hoặc

$$\frac{1}{F} = \frac{C_s^0}{C_{st}^e} = \frac{V_{st}}{V_s} + \frac{\alpha_s}{\alpha_{st}} \quad (4)$$

Trong đó:

- C_{st}^e : Tổng hàm lượng của chất phân tích trong dung dịch strip tại điểm cân bằng;
- C_s^0 : hàm lượng ban đầu của chất phân tích trong dung dịch mẫu;
- V_{st} : thể tích của dung dịch strip;
- V_s : thể tích của dung dịch ban đầu.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Các loại thuốc thử, nguyên liệu, dụng cụ được sử dụng trong thí nghiệm bao gồm:

Thuốc thử và nguyên liệu

- 1,10-Didecyl-1,10-diaza 18-crown-6 (Kryptofix 22DD)
- Calcein

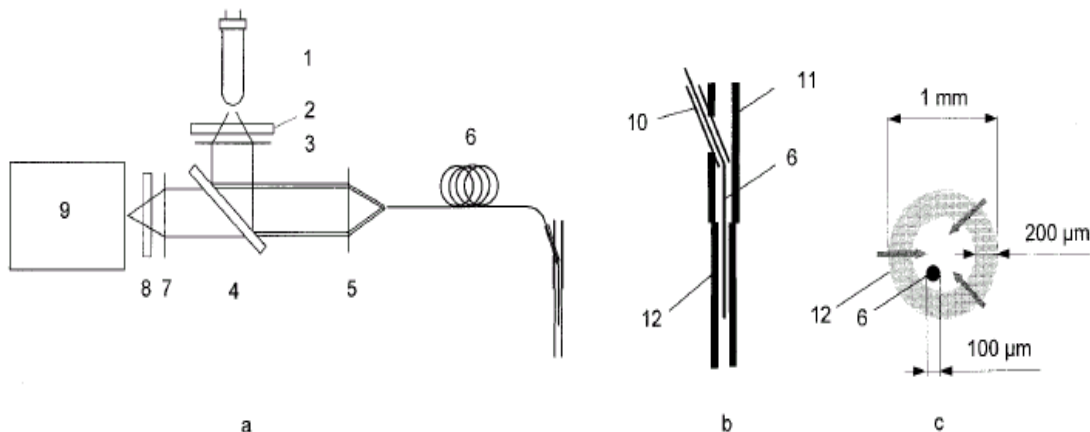
- *Trans*-1,2-Diaminocyclohexane-N,N,N,N-tetra-acetic acid (CDTA)

- Acid lauric
- Toluene
- Phenylhexane
- Acid 2-(N-Morpholino)ethanesulfonic (MES)
- Acid 3-(N-morpho-lino) propanesulfonic (MOPS)

Dụng cụ

- Đèn blue LED
- Kính lọc và kính lưỡng sắc (set XF 115)
- Sợi quang học (105/125 A)
- Bộ phận quang (photomultiplier H7421-50)
- Thiết bị bấm giờ và máy đếm CTM-05A
- Ống sợi polypropylene Accurel ppq 3/2

Sơ đồ của hệ thống quang học (Hình 4)



Hình 4. (a) Sơ đồ hệ thống quang học; 1: blue LED; 2, 8: kính lọc; 3, 5, 7: thấu kính; 4: Kính lưỡng hướng sắc; 6: Sợi cảm biến (đường kính: 105 μm); 9: Máy đếm photon. (b) Bộ phận cảm biến: 10: Ống INOX; 11: Ống PTFE; 12: Ống mao quản polypropylene. (c) Bộ phận ngang qua ống mao quản polypropylene với sợi quang học.

Qui trình hoạt động của Máy phát quang

Tất cả những nguyên tố phát quang được đặt trên đĩa nhôm (kích thước 42cmx 28cm x 1cm). Ánh sáng của đèn blue LED ($\lambda_{max} = 460 \text{ nm}$, fwhm= 70 nm, 3.1 V) xuyên qua kính lọc ($\lambda_{max} = 475 \text{ nm}$, fwhm = 40 nm) và được kết lại thành những sợi quang học (chiều dài 1 m, NA 0,22) qua một kính lưỡng hướng sắc. Năng lượng đầu ra tại điểm đối diện cuối cùng của kính lưỡng hướng sắc có bước sóng 475 nm là 15nW. Tại điểm cuối, sợi được đưa vào một cái ống INOX dài 5cm (đường kính bên trong là 250 μm tương ứng với đường kính bên ngoài của sợi quang học được bao bọc bởi acrylic). Huỳnh quang của Calcein được thu nhận bởi những sợi tương tự, được lọc bởi band-pass filter ($\lambda = 510 \text{ nm}$) và được dò tìm với bộ phận quang Peltier – cooled. Dữ liệu được lấy thông qua bộ phận đếm giờ và tiến trình này được kết nối với một máy tính.

Ống sợi làm bằng polypropylene (dài 61 mm, đường kính trong là 600 μm , đường kính ngoài là 1 μm) được cố định ở 2 điểm cuối đến ống làm bằng nhựa Teflon (dài 6 cm, đường kính bên trong là 1 mm) với 1 cm dài ống polypropylene có thể co lại bởi nhiệt. Một máy bơm nhu động được sử dụng để làm đầy và rửa ống sợi bằng những dung dịch thích hợp. Van four-port cho những dung dịch chảy qua ống sợi polypropylene hoặc đi vòng qua nó (Hình 5).

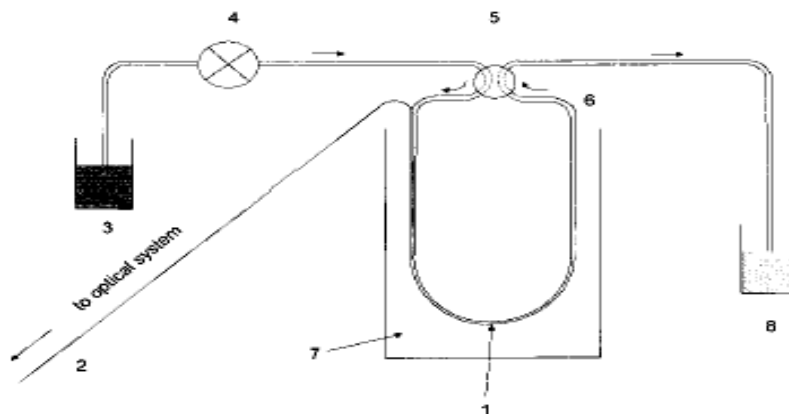
Màng phân tách và quá trình đo lường

Màng thấm thấu dung dịch được chuẩn bị theo một tiến trình chuẩn, 1ml của 200 ml dung dịch Kryptofix 22DD trong phenylhexane trộn lẫn với 1ml của 200 ml dung dịch acid lauric trong toluene. Sau đó ống sợi được bao bọc bởi polypropylene (nhựa dùng để bọc ở ngoài ống có độ dày 200 μm) được làm ướn bởi dung dịch mang này từ bên ngoài do dòng dung

dịch chảy chậm với một pipet Pasteur. Sau quá trình làm ướn, ống sợi được đặt trong nước Milli-Q và lumen được rửa bởi nước Milli-Q trong 10 phút để mà loại bỏ những dung dịch mang không cần thiết. Sau đó dòng dung dịch được xuyên qua lumen trong 10 phút. Điều chế dòng dung dịch này bằng cách hòa tan 0,5mg calcein trong 25ml của 10 mM dung dịch đệm (MES hoặc MOPS) và dùng HNO₃ hoặc NaOH tinh khiết để điều chỉnh pH thích hợp. Trước khi sử dụng dòng dung dịch được khử bằng khí nitro trong khoảng 10 phút để ngăn chặn quá trình oxy hóa. Sau quá trình làm ướn, ống sợi được rửa bởi dòng dung dịch ở trên. Cát quá trình bơm nhu động và khóa van lại. Sau đó ống sợi đã được làm đầy bởi dòng dung dịch (thể tích 17 μL) được đặt trong một dung dịch của 10 mM MES (pH = 6.0). Tiếp theo cho thêm dung dịch Cu(NO₃)₂ 1mM đã được cô cạn và huỳnh quang được ghi nhận như là thời gian hoạt động. Để kiểm tra độ chọn lọc, một phần của dung dịch mẫu của muối nitrat của Pd(II), Co(II),Ni(II), Cd(II) và Zn(II) tất cả đã được cô cạn 1mM được đưa thêm vào dung dịch ban đầu. Qua tất cả các thí nghiệm hàm lượng của kim loại được cô cạn trong dung dịch không đổi. Điều này được kiểm tra thông qua quá trình đo lường bằng quang phổ AAS. Sau quá trình đo, ống sợi được rửa bởi CDTA 1mM và nước Milli-Q mỗi lần rửa 10 phút.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Quá trình phát huỳnh quang của Calcein phụ thuộc vào pH của dòng dung dịch. Sợi quang học được ngâm trong 10 ml dung dịch Calcein không có dung dịch đệm (nồng độ 3 μM). pH nằm trong khoảng từ 2 – 13 được điều chỉnh bởi dung dịch HNO₃ hoặc NaOH và pH của toàn bộ dung dịch được đo bởi dụng cụ đo pH. Thể tích gia tăng cuối cùng khoảng 1%. Tín hiệu huỳnh quang tối đa ở pH = 8 tương ứng với 550.000 lần đếm/giây. Khi mà sợi quang học được ngâm trong nước Milli-Q thì tỉ lệ đếm là 3200/ giây.



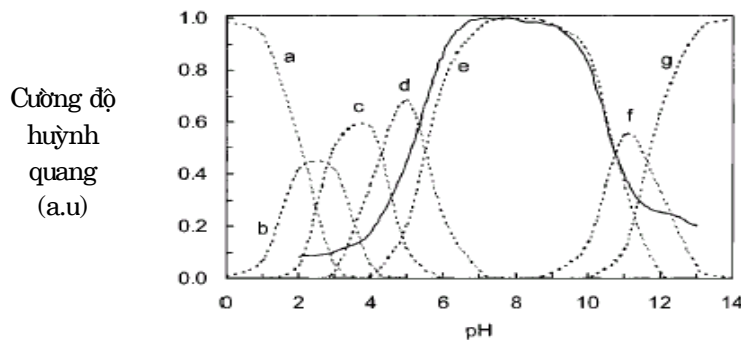
Hình 5. Hệ thống tiên cô cạn, 1: Ống sợi polypropylene; 2: Sợi cảm quang (05 μm); 3: Dung dịch calcein; 4: Máy bơm nhu động; 5: Van four-way; 6: Ống PTFE; 7: Dung dịch mẫu (source); 8: Bình chứa chất thải.

Huỳnh quang của calcein được tìm thấy không đổi trong khoảng pH = 6,5 – 9,5 (Hình 6). Giá trị pK_a của calcein được xác định bởi một vài nhóm nghiên cứu. Trong Hình 6 việc tính toán quá trình thêm vào một proton của calcein trên cơ sở giá trị pK_a được xuất bản bởi Iritani và Miyahara (được xác định qua quá trình chuẩn độ bằng dung dịch KOH 0,1N ở nhiệt độ phòng) được bàn bạc thêm đến việc đo huỳnh quang. So sánh đường cong thực nghiệm với đường cong tính toán chỉ ra rằng quá trình phát huỳnh quang do bởi chính sự mất 4 proton của calcein (H_2Cal^{4-}) tại điểm kích thích. Để đạt được độ nhạy tối đa thì pH của dung dịch strip từ 6,5 đến 9,5.

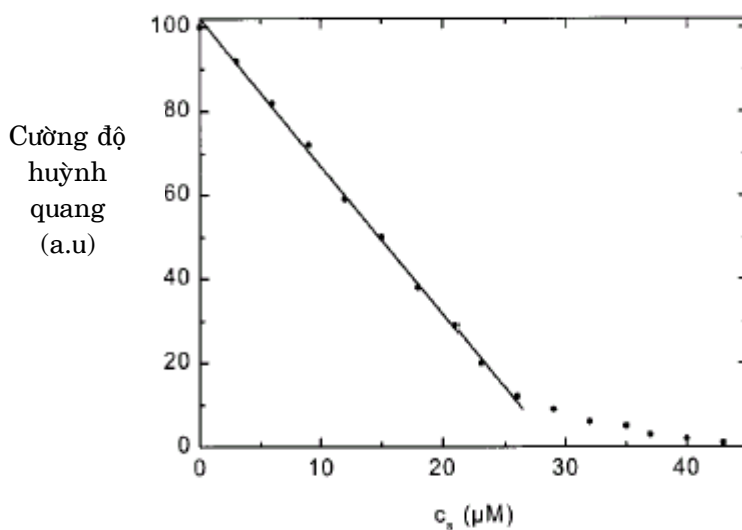
Trong nghiên cứu này, màng PLM được sử dụng để tách và tái cô cạn ion Cu^{2+} từ mẫu nước. Thừa số F của hệ thống PLM được xác định bằng độ phức tạp trong phase strip, trong nguồn α_{st} và α_s , và thể tích của hai ngăn. Nếu $\alpha_{st} \gg \alpha_s$ thì thừa số trước khi cô cạn tại điểm tương đương phụ thuộc vào tỷ lệ thể tích V_{st}/V_s . Khi bộ phận lumen của ống sợi đáp ứng như là bể chứa dung dịch, một tỷ lệ thể tích lớn giữa V_{st}/V_s có thể đạt được thừa số

trước khi cô cạn càng lớn. Để đạt được thuận lợi của hệ thống tiền cô cạn thì α_{st} lớn là cần thiết. Chẳng hạn như trong trường hợp này lượng calcein được cô cạn lớn. Tuy nhiên tại nồng độ calcein lớn hơn $30 \mu M$ thì sẽ tạo thành một chất kết tủa màu đỏ bên trong ống sợi polypropylene. Chất kết tủa có được do quá trình oxy hóa bởi oxy không khí. Trong trường hợp đặt biệt huỳnh quang được tạo thành và dẫn xuất của nó có thể bị sự quang tẩy rửa. Tuy nhiên, có nhiều sự giải thích giống nhau đối với sự tạo thành chất kết tủa này. Đó là quá trình hình thành kết tủa hydroxyt đồng hoặc phức calcein- hydroxide đồng. Thực ra, trong giả thuyết này với giá trị pH cao trong bể chứa dung dịch thì quá trình kết tủa là rõ ràng nhất. Trên cơ sở của thực nghiệm, nồng độ calcein $30 \mu M$ được chọn là nồng độ tối ưu cho thí nghiệm này.

Thêm vào một thể tích nhỏ ion Cu^{2+} trong 10 mL dung dịch calcein để xác định dung dịch calcein $30 \mu M$ và cường độ huỳnh quang được thu nhận bởi sợi quang học. Cường độ huỳnh quang là một đường thẳng giảm dần cho đến khi dung dịch Cu^{2+} có nồng độ là $23 \mu M$ (Hình 7).



Hình 6. Sự phụ thuộc giữa cường độ phát huỳnh quang vào pH trong dung dịch calcein $30 \mu M$ không có dung dịch đệm. a, H_6cal ; b, H_5cal ; c, H_4cal^{2-} ; d, H_3cal^{3-} ; e, H_2cal^{4-} ; f, $Hcal^{5-}$; g, cal^{6-} (pK_a : 2.1, 2.9, 4.1, 5.4, 10.1, 12.0).



Hình 7. Mối quan hệ giữa cường độ huỳnh quang và C_s (dung dịch Cu(II) trong $30 \mu M$ calcein và $10 mM$ MES (pH 6.5).

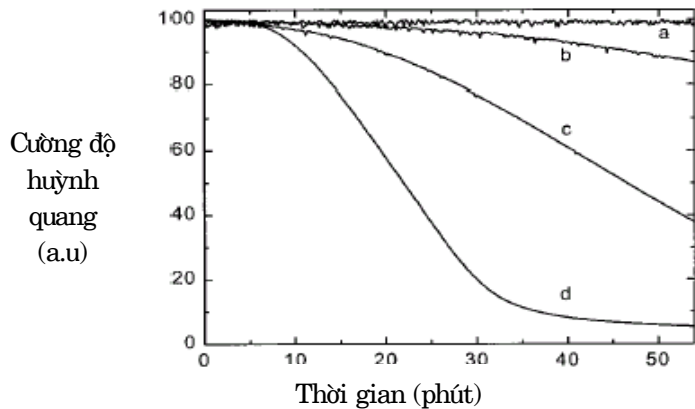
Ảnh hưởng pH của dung dịch strip đến thời gian phản ứng

Trong đoạn mô tả ở trên, bể chứa dung dịch đựng calcein 30 μM hòa tan trong dung dịch đệm MOPS 10 mM ở pH = 7,9. Vùng nhạy cảm gồm có một bộ phận làm thấm HFPLM có chiều dài 61mm được làm đầy bởi bể chứa dung dịch. Một sợi quang học có đường kính 105μm được kết hợp chặt chẽ bên trong ống sợi để quá trình phát huỳnh quang xảy ra đúng thời gian. Việc đo lường được tiến hành bởi quá trình nhúng vào trong vùng nhạy cảm trong dung dịch MES 10 mM có pH = 6. Sau đó một phần của ion Cu²⁺ trong dung dịch mẫu được thêm vào dung dịch chuẩn để đạt được nồng độ Cu²⁺ mong muốn.

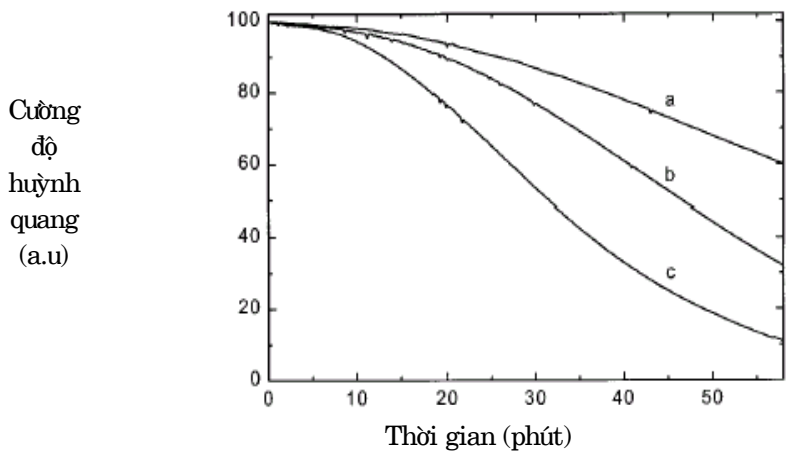
Nếu chu kỳ quan sát dài hơn thì cường độ phát huỳnh quang là không thay đổi (Hình 8). Cường độ phát huỳnh quang bắt đầu giảm sau 10 – 25 phút phụ thuộc vào hàm lượng ion Cu(II) trong dung dịch phân tích.

Tiến hành thí nghiệm với những giá trị pH khác nhau của dung dịch strip nhưng không thay đổi hàm lượng của Cu(II) trong dung dịch mẫu (C_s = 400 nM) kết quả đạt được sẽ nhanh hơn so với dung dịch strip có pH thấp (Hình 9).

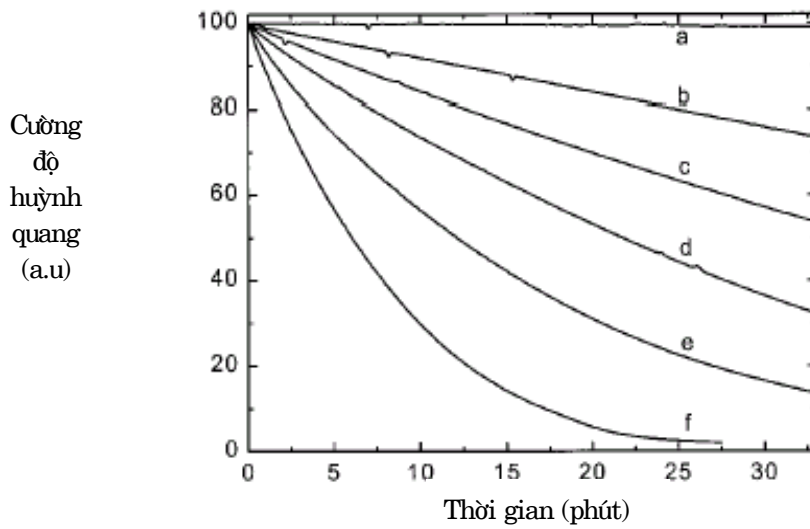
Cường độ huỳnh quang giảm nhanh tại những giá trị pH thấp trong dung dịch strip (Hình 9) và hàm lượng Cu(II) cao hơn trong dung dịch mẫu (Hình 8) do bởi quá trình tạo nhanh phức đồng hydroxyt hoặc là phức calcein – đồng hydroxyt tại bề mặt của màng PLM và dung dịch strip nên phức Cu (Cal) sẽ bị tắt huỳnh quang. Hering, Morel và Miyahara đã nghiên cứu quá trình hình thành phức Cu(Cal) và phức hydroxo – Cu(II) với giá trị pH >6,5 và hàm lượng Cu(II) > 10⁻⁶M. Kết quả thu được là với mỗi hàm lượng Cu(II) trong dung dịch mẫu, HFPLM được ngâm 25 phút trong dung dịch mẫu đã có chứa Cu(II), dung dịch strip có pH = 6,5 được bơm nhu động sau 25 phút để phục hồi. Sau đó ngừng bơm và đo cường độ huỳnh quang. Tiến trình này được mô tả ở Hình 10.



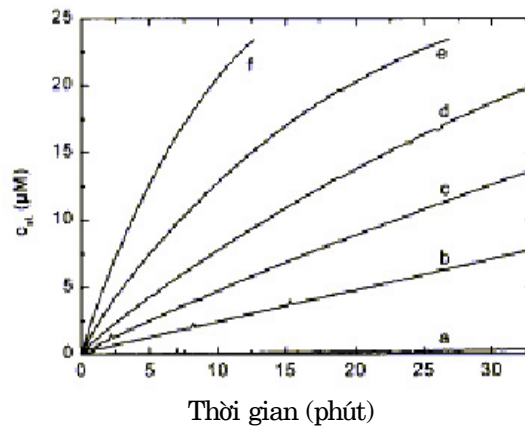
Hình 8. Mối quan hệ giữa cường độ phát huỳnh quang và thời gian đối với những hàm lượng Cu(II) khác nhau trong dung dịch phân tích. Dung dịch strip gồm có calcein 30 μM trong dung dịch đệm MES 10 mM, pH = 7,9. Dung dịch phân tích gồm 250 ml dung dịch đệm MES 10 mM, pH = 6,0 với sự thêm vào hàm lượng Cu(II) như sau: a) Không có Cu, b) 0,12 μM Cu, c) 0,40 Cu, d) 1,00μM Cu



Hình 9. Mối quan hệ giữa cường độ huỳnh quang và thời gian với từng giá trị pH khác nhau của dung dịch strip (a. pH = 8,5, b. pH = 7,9, c. pH = 6,5, hàm lượng Cu(II) trong dung dịch mẫu trong tất cả các trường hợp là Cu²⁺ 0,40 μM trong dung dịch đệm MES 10 mM)



Hình 10. *Mối quan hệ giữa cường độ phát huỳnh quang và thời gian với những hàm lượng Cu(II) khác nhau trong dung dịch mẫu (trong dung dịch mẫu gồm đệm MES 10mM, pH = 6,0 với a: không có Cu; b: 0,02 μ M Cu; c: 0,05 μ M Cu; d: 0,15 μ M Cu; e: 0,32 μ M Cu; f: 0,64 μ M Cu) Dung dịch strip: 30 μ M calcein trong đệm MES 10mM, pH = 6,5*



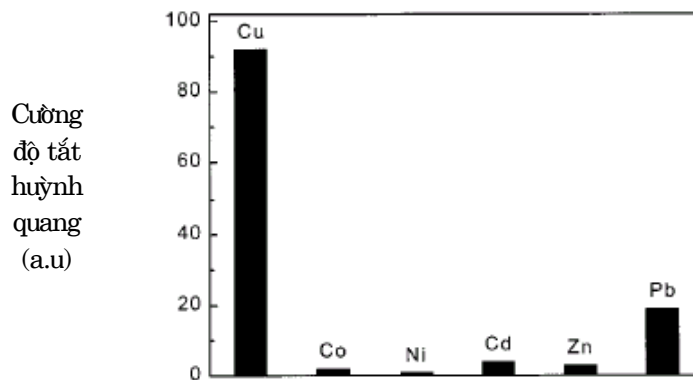
Hình 11. *Mối quan hệ giữa hàm lượng Cu(II) trong dung dịch strip và thời gian tương ứng với từng hàm lượng Cu(II) khác nhau trong dung dịch source*

Bảng 1. So sánh dòng chảy J quan sát và J tính toán tại thời điểm $t = 0$

C_s (nM)	$\Delta C_{st}/\Delta t$ ($10^{-11} \text{ mol.cm}^{-3}.\text{s}^{-1}$)	J ($10^{-12} \text{ mol.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	$J_{\text{tính toán}}$ ($10^{-12} \text{ mol.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
0	0.02	0.01 ± 0.01	0.00
20	0.29	0.11 ± 0.05	0.06 ± 0.01
50	0.60	0.22 ± 0.07	0.16 ± 0.01
150	1.30	0.48 ± 0.10	0.47 ± 0.01
320	2.83	1.03 ± 0.12	1.01 ± 0.02
640	5.58	2.03 ± 0.14	2.01 ± 0.04

Ghi chú: J được tính toán theo phương trình 2. $\Delta C_{st}/\Delta t$ được đo dựa vào bộ cảm biến của sợi quang học (Hình 11). Gồm có: $\delta_s = 15 \mu\text{m}$, $D_s = 7,8.10^6 \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$, $l = 200 \mu\text{m}$, $D_m = 2,55. 10^7 \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ và $K_p = 622$.

Sai số trong $J_{\text{tính toán}}$ được tính toán từ sai số của các tham số màng thẩm thấu.



Hình 13. Quá trình làm tắt huỳnh quang của ion Cu(II), Co(II), Ni(II), Zn(II), Pb(II), Cd(II) đối với calcein sau 60 phút.

Độ nhạy của hệ thống đã được nghiên cứu bởi quá trình đo sự thay đổi cường độ phát huỳnh quang ở những hàm lượng Cu(II) khác nhau trong dung dịch mẫu. Hàm lượng Cu(II) trong dung dịch mẫu lớn quá trình tắt huỳnh quang sẽ nhanh hơn với những dung dịch mẫu có hàm lượng Cu thấp (Hình 10). Điều này do bởi trạng thái bão hòa nhanh của calcein với ion Cu(II) trong dung dịch strip. Sau khi calcein đạt đến trạng thái bão hòa hàm lượng ion Cu(II) tự do trong dung dịch strip sẽ bằng với hàm lượng ion Cu(II) trong dung dịch mẫu và tiến trình kết thúc. Mối quan hệ giữa tổng hàm lượng Cu(II) trong dung dịch strip (C_{st}) và thời gian (Hình 11) được xác định từ đường cong phát huỳnh quang và thời gian được mô tả ở Hình 10 và Hình 7. Với hàm lượng calcein thấp ($30\mu\text{M}$) thì quá trình tạo phức nhanh. Trong những điều kiện này hàm lượng Cu(II) trong dung dịch strip tại điểm cân bằng phụ thuộc vào tổng hàm lượng calcein và pH của dung dịch strip nhưng không phụ thuộc vào hàm lượng Cu(II) trong dung dịch mẫu. Vì vậy, với thông lượng dòng chảy ban đầu của một phần đường thẳng trong đường cong giữa sự phát quang và thời gian có thể dùng để xác định hàm lượng Cu(II) tự do có trong dung dịch mẫu (Hình 2).

Độ dốc của đường thẳng ban đầu $\Delta C/\Delta t$ cho biết giá trị J qua màng thẩm thấu (vế trái của phương trình 2). Hình 12 chỉ ra rằng giá trị J tỷ lệ với hàm lượng Cu(II) trong dung dịch mẫu. Mối quan hệ này có thể được sử dụng để xác định độ nhạy của hệ thống.

Với thí nghiệm trên hàm lượng Cu(II) trong dung dịch mẫu giới hạn là 50nM. Giá trị J trong thí nghiệm này được xác định cũng tương ứng với giá trị $J_{\text{tính toán}}$ và cũng có thể tính bằng trung bình cộng các thông số của màng thẩm thấu theo phương trình 2 (Bảng 1).

Để nghiên cứu tính chọn lọc của hệ thống, đầu của bộ phận cảm biến được đặt vào 600 nM dung dịch của Cu(II), Co(II), Ni(II), Cd(II), Zn(II) và Pb(II) trong dung dịch đệm MES 10mM, pH = 6,0 kết quả là đường cong mô tả mối quan hệ giữa cường độ phát huỳnh quang và thời gian được ghi nhận. Ngoài Cu(II), chỉ có Pb(II) là nguyên nhân quan trọng làm giảm cường độ phát huỳnh quang sau 60 phút (Hình 13).

Kết quả tính chọn lọc cao của hệ thống từ sự kết hợp chọn lọc của calcein và sự khuếch tán

qua màng PLM thì Cu(II) sẽ làm tắt huỳnh quang của calcein trong dung dịch còn Ni(II), Co(II) hầu như không làm ảnh hưởng đến quá trình phát huỳnh quang của calcein. Trái lại, Cd(II) và Zn(II) chỉ làm giảm quá trình phát huỳnh quang của calcein. Chỉ có Pd(II) có thể thấm thấu qua màng PLM và tại cùng thời gian cường độ phát huỳnh quang của calcein sẽ giảm ở một chừng mực nào đó. Cần chú ý rằng hàm lượng Pb(II) có ở trong tự nhiên nhỏ hơn 1000 lần so với Cu(II), nên ảnh hưởng của Pb(II) xem như không đáng kể. Màng PLM rất nhạy đối với những ion tự do, α của Cu(II) và Pb(II) trong nước thử ảnh hưởng đến sự chọn lọc. Tuy nhiên, Cu(II) và Pb(II) thường tạo phức với cùng số ligand. Do đó có thể loại bỏ ảnh hưởng của Pb(II)

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, đã sử dụng một hệ cảm quang đầu tiên trên cơ sở kết hợp giữa màng thẩm thấu dung dịch với sợi quang học. Kết hợp với những thuận lợi của sợi quang học như là một bộ phận cảm biến thích hợp, trợ với bức xạ điện từ, sử dụng ống mao dẫn làm bằng polypropylene như một sự hỗ trợ cho màng thẩm thấu. Trong thí nghiệm này, khi có mặt của ion Cu(II) thì sẽ làm tắt huỳnh quang của calcein nên dùng metallofluorochromic calcein làm chất chỉ thị để phát hiện Cu(II). Hàm lượng Cu(II) được phát hiện là gần 50 nM.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- BUFFLE, J., 1998. *Complexation reactions in aquatic systems. An analytical approach*; Ellis Horwood: Chichester U.K.
- SAARI, L. A.; SEITZ, W. R. *ANAL. CHEM*, **1984**, *56*, 813.
- Bright, F. V.; Poirier, G. E.; Hieftje, G. M. *Talanta*, **1988**, *35*, 113.
- BIRCH, S. D. J.; ROLINSKI, O. J.; HATRICK, D. *REV. SCI. INSTRUM*, **1996**, *67*, 2732.
- PRESTEL, H.; GAHR, A.; NIESSNER, R. *FRESENIUS J. ANAL. CHEM*, **2000**, *368*, 182.
- BUFFLE, J.; PARTHASARATHY, N.; DJANE, N. K.; MATTHIASSEN, L., 2000. Permeation Liquid Membranes for Field Analysis and Speciation of Trace Compounds in Waters. In *In situ monitoring of aquatic systems*; Buffle, J., Horvai, G., Eds.; IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems 6; Wiley: Chichester, U.K.; Chapter 10.