

Phát triển phần mềm tính nồng độ trong hệ đệm hỗ trợ chuẩn bị dung dịch điện ly nền trong phân tích bằng phương pháp điện di mao quản

Nguyễn Thanh Đàm^{1*}, Nguyễn Thị Phúc², Vũ Minh Tuấn¹

¹Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ phân tích phục vụ kiểm định môi trường và an toàn thực phẩm (KLATEFOS),
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 7/9/2021; ngày chuyển phản biện 13/9/2021; ngày nhận phản biện 13/10/2021; ngày chấp nhận đăng 20/10/2021

Tóm tắt:

Các hệ đệm pH với hai hợp phần axit - bazơ hữu cơ yếu đóng vai trò quan trọng trong phân tích bằng phương pháp điện di mao quản (CE), đặc biệt khi sử dụng detector đo độ dẫn không tiếp xúc (C⁴D). Việc chuẩn bị các hệ đệm với một hợp phần đã biết nồng độ để sử dụng như những dung dịch điện ly nền (BGE) trong CE-C⁴D thường yêu cầu quá trình điều chỉnh pH tới giá trị mong muốn và thao tác này thường cần tính toán gần đúng để ước lượng nồng độ hợp phần thứ hai. Nghiên cứu này phát triển một phần mềm cho phép xác định nồng độ của một hợp phần khi biết nồng độ của một hợp phần còn lại và pH của dung dịch, trong đó có tính tới ảnh hưởng của lực ion. Phần mềm được xây dựng bằng ngôn ngữ C# với giao diện Windows Form trên công cụ Microsoft Visual Studio. Với nồng độ tính từ phần mềm đã phát triển, sự sai khác ($|\Delta pH|$) giữa giá trị pH của các BGE thu được trong thực tế so với giá trị pH mong muốn đều nhỏ hơn 0,07, tương ứng với sai số dưới 2%.

Từ khóa: dung dịch điện ly nền, đệm, nồng độ, pH, phần mềm.

Chỉ số phân loại: 2.4

Đặt vấn đề

Hệ đệm pH là một dung dịch có pH chỉ thay đổi rất ít khi pha loãng hoặc thêm vào dung dịch một lượng nhỏ axit hay bazơ khác [1]. Các hệ đệm thường được chuẩn bị từ hỗn hợp của một axit yếu (chất cho proton) và bazơ liên hợp của nó (chất nhận proton) hoặc ngược lại. Khi thêm một lượng nhỏ axit khác (mạnh hoặc yếu) vào một hệ đệm, axit này sẽ phản ứng với hợp phần bazơ trong dung dịch đệm. Tương tự, khi một bazơ khác được thêm vào, nó sẽ phản ứng với hợp phần axit của hệ đệm. Tại thời điểm ban đầu khi thêm axit hoặc bazơ, thành phần của hệ đệm có thể thay đổi, tuy nhiên, cân bằng hóa học sau đó sẽ bị dịch chuyển theo nguyên lý của Le Chatelier, do đó, không có sự thay đổi đáng kể nào về giá trị pH đo được của dung dịch [2].

Tầm quan trọng của các hệ đệm pH được nhấn mạnh trong phạm vi của hoá học phân tích nói chung và trong CE nói riêng khi hầu hết các BGE trong CE đều được chuẩn bị dưới dạng một dung dịch đệm hai hợp phần. Thành phần, nồng độ và pH của BGE có ảnh hưởng mạnh tới sự tách chất trong phương pháp CE, đặc biệt là khi sử dụng kết hợp với C⁴D. Thành phần và nồng độ của BGE ảnh hưởng tới tín hiệu phân tích về cả độ lớn và thời gian xuất hiện khi tín hiệu thu được từ C⁴D là sự chênh lệch giữa độ dẫn điện của nền và chất phân tích, còn thời gian di chuyển phụ thuộc vào độ nhớt của dung dịch [3]. Đối với các chất phân tích,

là những axit hay bazơ yếu, giá trị pH của BGE quyết định dạng tồn tại của chất phân tích trong dung dịch. Bên cạnh đó, điều kiện pH cũng là yếu tố tác động trực tiếp đến dòng điện di thẩm thấu (EOF) [4]. Do vậy, việc chọn lựa một BGE với nồng độ và pH thích hợp luôn là bước đầu tiên cần khảo sát khi phát triển một quy trình phân tích mới theo CE-C⁴D.

Quá trình chuẩn bị BGE trong phân tích bằng CE-C⁴D thường được bắt đầu với việc lựa chọn khoảng pH thích hợp cho các đối tượng phân tích, từ đó quyết định thành phần BGE phù hợp với khoảng pH này. Các axit - bazơ hữu cơ theo danh sách của Good (Good's buffer [5]) thường được sử dụng trong CE-C⁴D. Nồng độ của một hợp phần trong BGE thường được cố định, trong khi hợp phần thứ hai được thay đổi nồng độ bằng cách thêm từ từ từng lượng nhỏ của một dung dịch hợp phần thứ hai nồng độ cao cho đến khi đạt được pH mong muốn. Khi đó việc ước lượng nồng độ hợp phần thứ hai rất quan trọng, giúp tiết kiệm thời gian và hóa chất.

Việc tính toán nồng độ của hợp phần thứ hai trong BGE khi đã biết nồng độ của hợp phần thứ nhất và pH của dung dịch thường được thực hiện một cách thủ công bằng tay. Điều này có những hạn chế rõ ràng như tốn nhiều thời gian, dễ mắc sai số. Những nhược điểm này có thể khắc phục một phần bằng cách xây dựng và sử dụng các Excel sheet. Tuy

*Tác giả liên hệ: Email: damnt@vnu.edu.vn

Software development for calculating concentration in a buffer to the preparation of background electrolyte in the analytical method of capillary electrophoresis

Thanh Dam Nguyen^{1*}, Thi Phuc Nguyen²,
Minh Tuan Vu¹

¹Key Laboratory of Analytical Technology for Environmental Quality and Food Safety Control (KLATEFOS), University of Science, Vietnam National University, Hanoi

²Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University, Hanoi

Received 7 September 2021; accepted 20 October 2021

Abstract:

pH buffers of weak organic acids and bases are essential in capillary electrophoresis (CE) analyses, primarily when contactless conductivity detectors (C⁴D) are used. However, the preparation of a buffer with a known concentration of one component for use as a background electrolyte (BGE) in CE-C⁴D usually requires a pH adjustment to the desired value and an approximate calculation to estimate the concentration of the second component. This study developed software that allowed determining the concentration of one component when knowing the concentration of another component and the pH of the solution, taking into account the influence of ionic strength. The software was built in C# language with Windows Form interface on Microsoft Visual Studio. With the concentrations calculated from the developed software, the differences ($|\Delta pH|$) between pH values of the obtained BGEs in practice and the desired values were smaller than 0.07, corresponding to the errors of less than 2%.

Keywords: background electrolyte, buffer, concentration, pH, software.

Classification number: 2.4

nhiên, cách làm này cũng thiếu thuận tiện, đặc biệt là khi áp dụng với nhiều hệ BGE có thành phần khác nhau. Bên cạnh đó, mặc dù pH của các dung dịch đệm nói chung và của một BGE nói riêng thường phụ thuộc vào lực ion, ảnh hưởng của yếu tố này thường bị bỏ qua khi chuẩn bị các dung dịch đệm do sự phức tạp trong tính toán.

Để giải quyết những hạn chế nêu trên, việc sử dụng một phần mềm với chức năng tính toán nồng độ của một hợp phần trong BGE khi đã biết nồng độ hợp phần còn lại và pH của dung dịch (có kể đến ảnh hưởng của lực ion) là rất cần thiết. Một trong những phần mềm được sử dụng khá phổ biến trong CE là PeakMaster. Bên cạnh tính năng chính là dự đoán tín hiệu phân tích, phần mềm này cũng cho phép tính toán pH khi biết nồng độ các hợp phần trong BGE [6] và có thể sử dụng để hỗ trợ việc chuẩn bị BGE [7]. Tuy nhiên, để thực hiện việc này vẫn cần ước lượng (bằng tay hoặc Excel sheet) để có một nồng độ ban đầu hợp lý.

Nhu cầu tính toán nồng độ BGE trong khi chưa có một phần mềm đáp ứng được đã đặt ra yêu cầu xây dựng thuật toán và phát triển phần mềm hỗ trợ việc chuẩn bị BGE trong phân tích CE-C⁴D. Đây cũng là mục tiêu của nghiên cứu này.

Cơ sở lý thuyết và thực nghiệm

Cơ sở lý thuyết

Xét một hệ BGE gồm hai hợp phần A1 và A2 với dạng axit cao nhất là $H_{m_1}A1^{(q_1)}$ và $H_{m_2}A2^{(q_2)}$, với m_1, m_2 là số H axit tối đa và q_1, q_2 là điện tích (để đơn giản, không ghi dấu của các điện tích này). Dạng ban đầu (được sử dụng để chuẩn bị BGE) của hai hợp phần lần lượt là $H_{m_1-n_1}A1^{(q_1-n_1)}$ và $H_{m_2-n_2}A2^{(q_2-n_2)}$. Các giá trị hằng số phân ly axit của hai thành phần lần lượt là $K_{a1}^1, K_{a2}^1, K_{a3}^1, K_{a4}^1$ và $K_{a1}^2, K_{a2}^2, K_{a3}^2, K_{a4}^2$.

Phương trình cân bằng proton (điều kiện proton - ĐKP) với mức không gồm $H_{m_1-n_1}A1^{(q_1-n_1)}$, $H_{m_2-n_2}A2^{(q_2-n_2)}$ và H_2O :

$$[H^+] + \sum_{j=1}^{n_1} [H_{m_1-n_1+j}A1^{(q_1-n_1+j)}] + \sum_{j=1}^{n_2} [H_{m_2-n_2+j}A2^{(q_2-n_2+j)}] = [OH^-] + \sum_{k=1}^{m_1-n_1} [H_{m_1-n_1-k}A1^{(q_1-n_1-k)}] + \sum_{k=1}^{m_2-n_2} [H_{m_2-n_2-k}A2^{(q_2-n_2-k)}]$$

Biến đổi phương trình ĐKP và tính nồng độ của hợp phần thứ hai:

$$\begin{aligned} & \Leftrightarrow [H^+] - [OH^-] + \sum_{j=1}^{n_1} [H_{m_1-n_1+j}A1^{(q_1-n_1+j)}] - \sum_{k=1}^{m_1-n_1} [H_{m_1-n_1-k}A1^{(q_1-n_1-k)}] = \sum_{j=1}^{m_2-n_2} [H_{m_2-n_2-j}A2^{(q_2-n_2-j)}] - \sum_{j=1}^{n_2} [H_{m_2-n_2+j}A2^{(q_2-n_2+j)}] \\ & \Leftrightarrow [H^+] - \frac{K_w}{[H^+]} + C_{A1} \left(\sum_{i=1}^{n_1} \alpha_{H_{m_1-n_1-i}A1^{(q_1-n_1-i)}} - \sum_{k=1}^{m_1-n_1} k \alpha_{H_{m_1-n_1-k}A1^{(q_1-n_1-k)}} \right) = C_{A2} \left(\sum_{i=1}^{m_2-n_2} \alpha_{H_{m_2-n_2-i}A2^{(q_2-n_2-i)}} - \sum_{j=1}^{n_2} j \alpha_{H_{m_2-n_2+j}A2^{(q_2-n_2+j)}} \right) \\ & \Leftrightarrow C_{A2} = \frac{[H^+] - \frac{K_w}{[H^+]} + C_{A1} \left(\sum_{i=1}^{n_1} \alpha_{H_{m_1-n_1-i}A1^{(q_1-n_1-i)}} - \sum_{k=1}^{m_1-n_1} k \alpha_{H_{m_1-n_1-k}A1^{(q_1-n_1-k)}} \right)}{\left(\sum_{i=1}^{m_2-n_2} \alpha_{H_{m_2-n_2-i}A2^{(q_2-n_2-i)}} - \sum_{j=1}^{n_2} j \alpha_{H_{m_2-n_2+j}A2^{(q_2-n_2+j)}} \right)} \quad (1) \end{aligned}$$

Như vậy, khi đã biết pH và nồng độ của một hợp phần, nồng độ của hợp phần thứ hai có thể dễ dàng tính được, trong đó các hệ số phân số nồng độ (α) được xác định theo biểu thức:

$$C_{A1} = \sum_{i=0}^{m_1} [H_{m_1-i} A1^{(q_1-i)}] \Rightarrow \alpha_{H_{m_1-i} A1^{(q_1-i)}} = \frac{[H_{m_1-i} A1^{(q_1-i)}]}{\sum_{i=0}^{m_1} [H_{m_1-i} A1^{(q_1-i)}]} = \frac{[H^+]^{m_1-i} \times \prod_{k=0}^i K_{Ck}^1}{\sum_{i=0}^{m_1} \left([H^+]^{m_1-i} \times \prod_{k=0}^i K_{Ck}^1 \right)} \quad (2)$$

$$C_{A2} = \sum_{j=0}^{m_2} [H_{m_2-j} A2^{(q_2-j)}] \Rightarrow \alpha_{H_{m_2-j} A2^{(q_2-j)}} = \frac{[H_{m_2-j} A2^{(q_2-j)}]}{\sum_{j=0}^{m_2} [H_{m_2-j} A2^{(q_2-j)}]} = \frac{[H^+]^{m_2-j} \times \prod_{k=0}^j K_{Ck}^2}{\sum_{j=0}^{m_2} \left([H^+]^{m_2-j} \times \prod_{k=0}^j K_{Ck}^2 \right)} \quad (3)$$

với K_{Ck} là các hằng số phân ly nấc thứ k và $K_{C0}^1 = K_{C0}^2 = 1$.

Bởi vì các thông tin về giá trị hằng số phân ly của các chất được cho dưới dạng K_a , việc chuyển đổi giữa K_a và K_c là cần thiết và có thể thực hiện theo các phương trình:

$$K_{Ci}^1 = K_{ai}^1 \times \frac{f_{H_{m_1-i+1} A1^{(q_1-i+1)}}}{f_{H^+} f_{H_{m_1-i} A1^{(q_1-i)}}} \quad (4)$$

$$\text{và } K_{Cj}^2 = K_{aj}^2 \times \frac{f_{H_{m_2-j+1} A1^{(q_2-j+1)}}}{f_{H^+} f_{H_{m_2-j} A1^{(q_2-j)}}} \quad (5)$$

Giá trị của các hệ số hoạt độ phụ thuộc vào độ lớn của lực ion (I) và có thể được tính theo phương trình Debye-Huckel khi lực ion nhỏ hơn 0,01 hoặc tính theo phương trình Debye-Huckel mở rộng (phương trình David) khi hoạt độ lớn hơn 0,01:

$$\log f = -0,5z^2 \sqrt{I} \quad \text{với } I < 0,1 \quad (6)$$

$$\text{hoặc } \log f = -0,5z^2 \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} - 0,2I \right) \quad \text{với } I > 0,1 \quad (7)$$

Lực ion phụ thuộc vào nồng độ và điện tích của các dạng tồn tại trong dung dịch:

$$I = \frac{1}{2} \left(\sum_{i=0}^{m_1} (q_1 - i)^2 [H_{m_1-i} A1^{(q_1-i)}] + \sum_{j=0}^{m_2} (q_2 - j)^2 [H_{m_2-j} A2^{(q_2-j)}] \right) \quad (8)$$

Hoá chất, thiết bị

Các loại hóa chất được sử dụng để chuẩn bị các dung dịch BGE và đều thuộc loại hóa chất phân tích tinh khiết, bao gồm: histidin (His) >99,5%, axit 2-morpholinoethanesulfonic (MES) >99% (Sigma-Aldrich, Đức), axit axetic (Ace) 100% (Merk, Đức).

Thiết bị sử dụng bao gồm: máy đo pH (HACH, Mỹ), cân phân tích 4 số (Shimadzu, Nhật Bản) và máy tạo nước deion Simplicity UV (Milipore, Pháp).

Thiết kế phần mềm

Phần mềm được phát triển với giao diện Windows Form dựa trên ngôn ngữ C#, sử dụng công cụ Microsoft Visual Studio phiên bản Community 2019 (Microsoft, Mỹ). Bên cạnh chức năng tính nồng độ, phần mềm còn cần có chức năng hiển thị các thông tin về các chất thường được sử dụng để chuẩn bị BGE trong CE. Bảng thông tin và thiết kế giao diện dự kiến của phần mềm được thể hiện ở bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Các thông tin dự kiến do người dùng và phần mềm cung cấp.

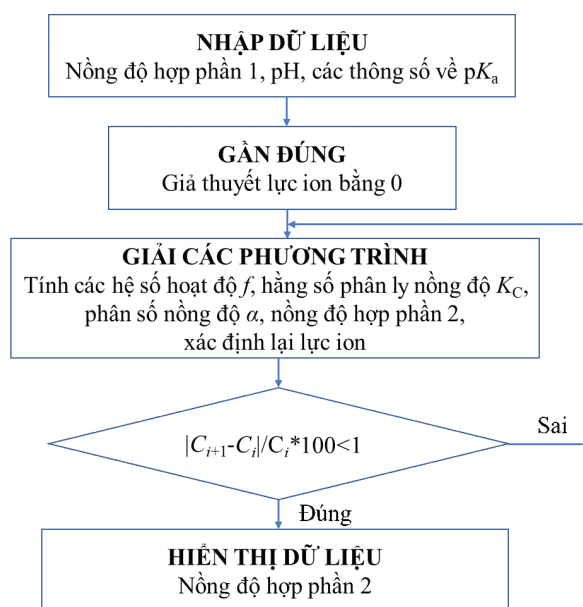
Phần mềm tính nồng độ BGE	
Người dùng cung cấp	
Cơ sở dữ liệu chứa thông tin của các chất	Sử dụng Textbox để truy xuất đường dẫn tới file .csv chứa các thông tin của các chất
Hai thành phần trong BGE	Sử dụng Textbox để nhập dữ liệu (ký hiệu viết tắt của hai chất như trong bảng thông tin DataGridView)
pH của dung dịch, nồng độ của hợp phần thứ hai, thể tích định mức	Sử dụng các Textbox để nhập dữ liệu
Phần mềm cung cấp	
Thông tin (pK_a , dạng tồn tại...) của các chất	Sử dụng DataGridView để lấy và hiển thị dữ liệu từ file .csv
Nồng độ của hợp phần thứ hai, khối lượng và thể tích của hai thành phần	Tính toán bằng bấm Button và sử dụng các Textbox để hiển thị

The screenshot shows the software's user interface. At the top, there's a 'Mở file' button and a text field for 'Đường dẫn tới file .csv'. Below this is a list box containing chemical information: 'Các thông số của các hợp chất hữu cơ thường được sử dụng để chuẩn bị BGE trong CE-C'D', 'Tên + ký hiệu', 'Khối lượng mol', 'Tỷ khối', and 'Các pKa'. The main area contains two columns of input fields. The left column has 'Thành phần 1', 'pH', and 'Thể tích BGE'. The right column has 'Thành phần 2', 'Nồng độ 2', 'Khối lượng 1', 'Thể tích 1', 'Khối lượng 2', and 'Thể tích 2'. A central 'TÍNH TOÁN' button is positioned between the two columns.

Hình 1. Thiết kế giao diện dự kiến của phần mềm tính nồng độ BGE.

Xây dựng thuật toán

Thuật toán được thể hiện ở hình 2 gồm các bước: i) Giả thuyết lực ion bằng 0; ii) Tính các hệ số hoạt độ f , hằng số phân ly nồng độ K_c , phân số nồng độ α theo các phương trình (2)-(7); iii) Tính nồng độ hợp phần 2 từ ĐKP theo phương trình (1); iv) Tính lại lực ion theo phương trình (8); v) So sánh 2 giá trị nồng độ hợp phần 2 liên tiếp, nếu sự sai khác nhỏ hơn 1% thì tới bước vi), nếu không, quay lại bước ii); vi) Hiển thị các kết quả tính toán.



Hình 2. Sơ đồ khối thuật toán của phần mềm tính nồng độ BGE.

Kết quả và thảo luận

Kết quả thiết kế phần mềm

Giao diện của phần mềm được thiết kế và minh họa ở hình 2, bao gồm 3 khu vực chính. Khu vực 1 (cơ sở dữ liệu) cung cấp các thông tin về các chất thường được sử dụng để chuẩn bị dung dịch BGE trong phân tích CE-C⁴D. Các thông tin này được lấy từ một file .csv mà người dùng đã khởi tạo trước và hiển thị dưới dạng một DataGridView. Phần mềm truy cập tới file .csv này khi người dùng click chuột vào button “Mở CSDL” và chỉ tới đường dẫn của file (ví dụ, C:\User\TOLUEN\Documents\Buffer Info.csv như trong hình 3). File này chứa các thông tin cần thiết cho việc tính toán nồng độ, gồm: tên (name) và ký hiệu (abb.) của chất, khối lượng mol (M, g/mol), khối lượng riêng (d, g/ml), số H axit tối đa (maxH), điện tích tối đa (maxCharge), số H trong dạng ban đầu (initialH), các giá trị pK_a. Các dữ liệu về khối lượng mol, khối lượng riêng và các giá trị pK_a được lấy theo [8, 9]. Việc bổ sung các chất mới, cập nhật, sửa đổi các thông số của các chất hoàn toàn có thể được thực hiện một cách dễ dàng bởi người dùng, tuy nhiên, thứ tự các thông số cần được giữ cố định theo trật tự như ở hình 3. Ngoài ra, vì các axit - bazơ thông thường được sử dụng làm BGE trong CE-C⁴D có không quá 4 nấc phân ly, các pK_a được cung cấp gồm pK_{a1}-pK_{a4}. Việc giả định các chất đều có 4 giá trị pK_a này cũng để đơn giản hơn trong việc tính toán phía sau.

Khu vực 2 trên phần mềm (thông tin về BGE) thể hiện các thông tin mà người dùng cung cấp, bao gồm hai chất được sử dụng trong BGE (nhập vào dưới dạng ký hiệu viết tắt như trong DataGridView), pH của dung dịch, thể tích của

dung dịch (ml) và nồng độ của hợp phần thứ nhất (C₁, mM). Một button “lưu” cũng được cung cấp để ghi nhớ các thông tin này, đồng thời đưa các thông tin này vào các biến để thực hiện việc tính toán phía sau.

Khu vực 3 trên phần mềm (kết quả tính toán) hiển thị các thông tin mà người dùng cần, bao gồm: nồng độ của hợp phần thứ hai (C₂, mM), khối lượng của hợp phần thứ nhất (m₁, g) và hợp phần thứ hai (m₂, g), thể tích của hợp phần thứ nhất (V₁, μl) và thứ hai (V₂, μl). Lưu ý rằng, đối với các chất được sử dụng dưới dạng rắn, việc tính toán thể tích là không cần thiết và khối lượng riêng của các chất rắn trong file cơ sở dữ liệu được quy ước bằng 0, khi đó, thể tích tính ra được hiển thị với biểu tượng ∞. Các kết quả trong khu vực 3 này sẽ được phần mềm cung cấp khi người dùng click chuột vào button “tính toán”.

ID	Name	Abb	M (g/mol)	d (g/ml)	maxH	maxCharge	initialH	pH
1	L-Histidine	His	155.15	0	3	2	1	1.5
2	Acetic acid	Ace	60.05	1.0446	1	0	1	4.7
3	N-cyclohexyl-3-aminopropanesulfonic acid	CAPS	221.32	0	1	0	1	10
4	2-cyclohexylaminoethanesulfonic acid	CHES	207.29	0	1	0	1	9.3
5	2-N-morpholinoethanesulfonic acid	MES	195.23	0	1	0	1	6.2
6	3-morpholinopropanesulfonic acid	MOPS	209.26	0	1	0	1	7.1
7	Tris(hydroxymethyl)aminomethane	Tris	121.14	0	1	1	0	8.0
8	Formic acid	For	46.03	1.22	1	0	1	3.7
9	Aspartic acid	Asp	133.07	1.74201	3	2	1	1.8
10	Lactic acid	Lac	90.08	1.206	1	0	1	3.8
11	Citric acid	Cit	192.12	1.665	3	0	3	3.1
12	Oxalic acid	Oxa	90.03	1.9	2	0	2	1.2
13	Succinic acid	Suc	118.09	1.572	2	0	2	4.2

Hình 3. Giao diện của phần mềm tính nồng độ BGE.

Kết quả xây dựng thuật toán

Các thông số về các chất được sử dụng (các hằng số) bao gồm: max H, maxCharge, initialH, các giá trị pK_a được lưu trong một file .csv và được phần mềm truy cập, hiển thị dưới dạng một DataGridView như ở hình 3.

Các thông tin về hai hợp phần trong BGE, nồng độ hợp phần thứ nhất, pH và thể tích định mức được người dùng cung cấp thông qua các Textbox trong phần “thông tin về BGE” trên phần mềm. Dựa vào ký hiệu viết tắt mà người dùng cung cấp, hai hợp phần trong BGE được phần mềm xác định và các thông số về hai hợp phần này được trích xuất từ DataGridView và sau đó lưu trữ bằng hai mảng:

i) Một mảng hai chiều kích thước [2, 5] chứa các thông tin về M, d, maxH, maxCharge, initialH (double[,] info = new double[2, 5]) với chiều thứ nhất của mảng là hai chất A1 và A2 (const int A1=0, A2=1), chiều thứ hai là các thông

số (const int M=0, d=1, maxH=2, maxCharge=3, initalH=4).

ii) Một mảng ba chiều kích thước [2, 2, 5] chứa các thông tin về các giá trị pK_a và K_a (double[, ,] pK_a=new double[2, 2, 5]) với chiều thứ nhất là hai chất, chiều thứ hai là các thông số (const int pK=0, K_a=1) và chiều thứ ba là các giá trị từ 0 tới 4, trong đó $K_a[0]$ và các giá trị vượt qua maxH được gán bằng 0.

Các thông số cần tính toán bao gồm: các giá trị hằng số phân ly nồng độ K_C , hệ số phân số nồng độ (α), logarit các hệ số hoạt độ (logf), các hệ số hoạt độ (f). Các thông số này được tính toán và lưu trong 1 mảng 3 chiều có kích thước [2, 4, 5] (double[, ,] calc=new double[2, 4, 5]) với chiều thứ nhất và ba tương tự như trên, chiều thứ hai là các thông số (const int K_C=0, alpha=1, logf=2, f=3).

Tuỳ thuộc vào độ lớn của lực ion, các giá trị logarit hệ số hoạt độ được xác định theo phương trình Debye-Huckel (6) hoặc David (7). Thuật toán cụ thể như sau:

```
if (Ion <= 0.01)
    eqI = Math.Sqrt(Ion);
else
    eqI = Math.Sqrt(Ion) / (1 + Math.Sqrt(Ion)) - 0.2 * Ion;
fh = Math.Pow(10, (-0.5 * eqI));
ch = h / fh;
for (i = 0; i < 2; i++) {
    for (j = 0; j < 5; j++) {
        calc[i, logf, j] = -0.5 * Math.Pow((info[i, maxCharge] - j), 2) * eqI;
        calc[i, f, j] = Math.Pow(10, calc[i, logf, j]); } }
```

Việc tính các hằng số K_C được thực hiện theo các phương trình (4) và (5):

```
calc[A1, KC, 0] = calc[A2, KC, 0] = 1; //các giá trị KC[0] được gán bằng 1
for (i = 0; i < 2; i++) {
    KK[i, 0] = 1;
    for (j = 1; j < 5; j++) {
        calc[i, KC, j] = pKa[i, Ka, j] * calc[i, f, j-1] / (fh * calc[i, f, j]);
        //tách các KC thành một mảng riêng để đưa vào method tính phân số nồng độ
        KK[i, j] = calc[i, KC, j]; } }
```

Các hệ số phân số nồng độ được tính theo phương trình (2) và (3):

```
double[, ,] alp = calc_alpha(ch, KK); //sử dụng method calc_alpha
for (i = 0; i < 2; i++) {
    for (j = 0; j < 5; j++) {
        calc[i, alpha, j] = alp[i, j]; } }
```

Method calc_alpha được xây dựng với 4 giá trị K_C , do các nấc phân ly ảo (tương ứng với số H>maxH được gán $K_a=0$ nên cũng đưa tới $K_C=0$ và do đó sẽ triệt tiêu trong biểu thức tính α).

```
//method sử dụng biến là nồng độ H+ và các giá trị KC
private static double[, ,] calc_alpha (double hplus, double[, ,] K_C) {
    double[, ,] cal_alpha = new double[2, 5]; //các giá trị alpha
    double[, ,] cal_Kh = new double[2, 5]; //các tử số trong biểu thức tính alpha
    double[, ,] D = new double[2]; //mẫu số trong biểu thức tính alpha
    for (int i = 0; i < 2; i++) {
        D[i] = 0;
        for (int j = 0; j < 5; j++) {
            double product = K_C[i, 0];
            for (int k = 0; k <= j; k++) {
                product *= K_C[i, k]; //tích các KC }
            cal_Kh[i, j] = Math.Pow(hplus, (4-j)) * product;
            D[i] += cal_Kh[i, j]; } }
    for (int i = 0; i < 2; i++) {
        for (int j = 0; j < 5; j++) {
            cal_alpha[i, j] = cal_Kh[i, j] / D[i]; //tính các hệ số alpha } }
    return cal_alpha; }
```

Tính nồng độ của hợp phần thứ hai từ ĐKP theo phương trình (1):

```
//tổng nồng độ các dạng của hai chất theo phương trình cân bằng proton
double[] Aeq = {0, 0};
for (i = 0; i < 2; i++) {
    for (j = 0; j < 5; j++) {
        Aeq[i] += (info[i, maxH] - info[i, initalH] - j) * calc[i, alpha, j]; } }
Conc[A2] = -1000 * (ch - Kw / ch + Conc[A1] * Aeq[A1] / 1000) / Aeq[A2];
```

Sau khi thu được nồng độ của hợp phần thứ hai, lực ion được xác định lại từ nồng độ của H^+ , OH^- và các dạng tồn tại trong dung dịch vừa tính theo phương trình (8).

```
double Iforce = 0;
for (i = 0; i < 2; i++) {
    for (j = 0; j < 5; j++) {
        Iforce += 0.5 * Math.Pow((info[i, maxCharge] - j), 2) * Conc[i] / 1000 *
            calc[i, alpha, j]; //tính với các dạng của A1 và A2 } }
Ion = Iforce + 0.5 * (ch + Kw / ch); //tính tới H+ và OH-
```

Toàn bộ các tính toán trên được đặt trong một vòng lặp do while () và việc tính này được thực hiện tới khi sự sai khác về nồng độ của hợp phần thứ hai giữa 2 lần tính nhỏ hơn hoặc bằng 1%.

```
double bef, ex;
Conc[A2] = 0;
Ion = 0;
do {
    bef = Conc[A2];
    //tính hoạt độ
    //tính KC
    //tính alpha
    //tính nồng độ
    //tính lực ion
    ex = Math.Abs(Conc[A2] - bef) / bef * 100; }
while (ex > 1);
```

Kết quả thử nghiệm phần mềm trong thực tế

Phần mềm sau khi được phát triển đã được thử nghiệm trong thực tế, các kết quả tính toán từ phần mềm được so sánh với kết quả đo bằng máy đo pH và phần mềm

PeakMaster. Các BGE được sử dụng trong thực nghiệm này là các hệ đệm với hợp phần thứ nhất là His và thứ hai là Ace hoặc MES. Đây là các hệ BGE thông dụng trong phân tích CE-C⁴D. BGE với thành phần 12 mM His/Ace pH=4,0 thường được sử dụng để phân tích đồng thời các cation và anion vô cơ cơ bản trong môi trường nước [10], trong khi các hệ BGE (12 mM His/MES pH=6,3 [11] và 1 mM His/Ace pH=2,5-3,5 [12]) còn lại có thể được dùng để phân tích glyphosate, một loại thuốc diệt cỏ đã từng được sử dụng phổ biến nhưng hiện bị cấm tại nhiều quốc gia, trong đó có Việt Nam. Các kết quả tính toán trong nghiên cứu này đã được sử dụng để chuẩn bị các BGE trong [12].

Bảng 2. Kết quả tính toán nồng độ từ phần mềm đã phát triển được so sánh với các giá trị pH thu được trong thực tế và phần mềm PeakMaster.

Điều kiện	Kết quả từ phần mềm trong nghiên cứu này (mM)	Kết quả đo pH trong thực tế	Kết quả pH đối chứng từ phần mềm PeakMaster
12,0 mM His/Ace, pH=4,0	$C_{Ace}=73,69$	pH=4,06	pH=4,005
12,0 mM His/MES, pH=6,3	$C_{MES}=8,68$	pH=6,23	pH=6,208
1,0 mM His/Ace, pH=2,50	$C_{Ace}=761,66$	pH=2,48	pH=2,509
1,0 mM His/Ace, pH=3,50	$C_{Ace}=24,49$	pH=3,52	pH=3,506

Kết quả bảng 2 cho thấy, khi chuẩn bị các BGE với nồng độ của hợp phần thứ hai (Ace hoặc MES) tính toán từ phần mềm, pH của dung dịch thu được trong thực tế rất gần với pH mong muốn ($|\Delta pH| \leq 0,07$, tương ứng với sai số nhỏ hơn 2%). Các kết quả đối chứng cũng cho thấy sự phù hợp giữa 2 phần mềm (sử dụng nồng độ tính được trong phần mềm tự phát triển để đưa vào tính pH trong phần mềm PeakMaster), sai lệch về pH quan sát được cũng tương tự với $|\Delta pH| < 0,06$ và sai số nhỏ hơn 2%. Ngoài sự khác biệt về thuật toán, sự sai khác giữa kết quả tính toán từ 2 phần mềm còn có thể do việc sử dụng các giá trị pK_a khác nhau (từ các tài liệu tham khảo khác nhau). Điều này cho thấy, việc tính toán nồng độ từ phần mềm đã phát triển là chính xác và có thể hỗ trợ tốt cho việc chuẩn bị BGE khi phân tích bằng CE-C⁴D.

Kết luận

Nghiên cứu thiết lập được thuật toán để xác định nồng độ của một hợp phần trong một BGE đã biết pH và nồng độ của hợp phần còn lại, trong đó có tính tới ảnh hưởng của lực ion. Dựa trên thuật toán này, một phần mềm tính toán nồng độ BGE có giao diện đơn giản, dễ sử dụng đã được

phát triển với ngôn ngữ C# trên công cụ Microsoft. Phần mềm cho phép nhập thông tin về các axit, bazơ thường dùng để chuẩn bị BGE trong phân tích CE-C⁴D, tính toán giá trị nồng độ cũng như khối lượng và thể tích của các hợp phần cần sử dụng. Hoạt động của phần mềm trong thực tế cũng đã được kiểm chứng thông qua việc so sánh với kết quả đo pH thực tế và tính toán bằng phần mềm PeakMaster.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Hulanicki, M. Maj-Zurawska, S. Głab (2013), *Buffer Solutions*, Encyclopedia of Analytical Science, pp.339-342.
- [2] D.C. Harris, C.A. Lucy (2020), *Chapter 9: Monoprotic Acid-Base Equilibria*, Quantitative Chemical Analysis.
- [3] E. Fuguet, C. Ràfols, E. Bosch, M. Rosés (2015), *Buffered Background Electrolytes for Capillary Electrophoresis*, Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering.
- [4] A. Shallan, R. Guijt, M. Breadmore (2013), *Capillary Electrophoresis: Basic Principles*, Elsevier.
- [5] N.E. Good, G.D. Winget, W. Winter, T.N. Connolly, S. Izawa, R.M. Singh (1966), "Hydrogen ion buffers for biological research", *Biochemistry*, **5**(2), pp.467-477.
- [6] P. Kubáň, F. Foret, G. Erny (2019), "Open source capillary electrophoresis", *Electrophoresis*, **40**(1), pp.65-78.
- [7] O.B.D.O. Moreira, L.D.A. Castro, M.A.L.D. Oliveira (2021), "Calculation and preparation of buffer solutions: complete guide using the software PeakMaster®", *Química Nova*, **44**, pp.783-791.
- [8] W.M. Haynes, D.R. Lide, T.J. Bruno (2017), *Physical Constants of Organic Compounds*, CRC Press.
- [9] R.N. Goldberg, N. Kishore, R.M. Lennen (2017), *Thermodynamic Quantities for the Ionization Reactions of Buffers in Water*, CRC Press.
- [10] Thi Thanh Thuy Pham, et al. (2014), "Automated dual capillary electrophoresis system with hydrodynamic injection for the concurrent determination of cations and anions", *Analytica Chimica Acta*, **841**, pp.77-83.
- [11] H.H. See, P.C. Hauser, W.A. Ibrahim, M.M. Sanagi (2010), "Rapid and direct determination of glyphosate, glufosinate, and aminophosphonic acid by online preconcentration CE with contactless conductivity detection", *Electrophoresis*, **31**(3), pp.575-582.
- [12] Nguyễn Mạnh Huy, Trần Thị Hà, Vũ Minh Tuấn, Nguyễn Thanh Đàm, Dương Hồng Anh, Phạm Hùng Việt (2021), "Nghiên cứu phát triển quy trình xác định dư lượng glyphosat bằng phương pháp điện di mao quản và ứng dụng trong phân tích một số loại đồ uống", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **63**(11), tr.58-64.