

Xác định gốc tự do hydroxyl radical trong nước khử ion được chiếu xạ plasma

Characterization of hydroxyl radicals in plasma-activated distilled water

Nguyễn Kiên Cường

Trường đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội

Abstract

Hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$) là một loại gốc tự do (reactive oxygen species, ROS) được tạo ra trong môi trường nước tinh khiết (distilled water) bằng chiếu xạ plasma với thời gian chiếu xạ thay đổi từ 0s đến 300s. Hydroxyl radical được xác định bằng chất chỉ thị terephthalic acid (TPA) do $\bullet\text{OH}$ radical tác dụng với chất TPA tạo nên chất 2-hydroxyl-terephthalate (HTPA) có khả năng phát huỳnh quang tại bước sóng 425nm có cường độ phụ thuộc thời gian chiếu xạ plasma. Kết quả phân tích phổ huỳnh quang của dung dịch HTPA cho thấy $\bullet\text{OH}$ radical đã được tạo ra trong dung dịch TPA khi bị chiếu xạ plasma; Thời gian chiếu xạ 120s cho cường độ huỳnh quang của HTPA là lớn nhất tương ứng với nồng độ $\bullet\text{OH}$ radical được tạo ra trong dung dịch TPA là cao nhất. Điều này cho phép tối ưu thông số chiếu xạ của thiết bị plasme sao cho nồng độ $\bullet\text{OH}$ radical được tạo ra lớn nhất.

Keywords: Gốc tự do (reactive oxygen, ROS), Hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$), Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ)

1. Đặt vấn đề

Gốc tự do (reactive oxygen, ROS) tồn tại một cách tự nhiên trong cơ thể con người, sinh vật và đóng nhiều vai trò rất quan trọng, đặc biệt đối với con người, trong đó có cả mặt tích cực và tiêu cực. Do có khả năng phản ứng cao, gây ức chế tế bào nên gốc tự do là nguyên nhân chính gây ra bệnh tật, già hóa đặc biệt là phá hủy cấu trúc tế bào gây bệnh ung thư cho con người [1-4]. Tuy nhiên cũng chính nhờ khả năng ức chế tế bào này mà gốc tự do đang được nghiên cứu để ứng dụng khả năng này trong điều trị bệnh bằng cách ức chế những tế bào, vi khuẩn gây bệnh

Gốc tự do chứa gốc oxy là hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$) và chất oxy hóa mạnh superoxide (H_2O_2), là một trong số các thành phần của gốc tự do ROS. Chúng được chuyển hóa từ phân

tử oxi dưới quá trình thêm electron vào một nguyên tử hoặc ion hóa (bằng cách loại bớt oxy hoặc thêm hidro), luôn xảy ra kèm theo sự oxy hóa của tác nhân gây ra. Tuy nhiên, vì phản ứng của chúng, các gốc tự do tương tự có thể tham gia vào các phản ứng phụ không mong muốn và gây tổn thương tế bào. Hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$) là một trong các thành phần của gốc tự do ROS được sử dụng để ức chế hoạt động của các tế bào, vi khuẩn bệnh. nên có ứng dụng hữu hiệu trong y học.

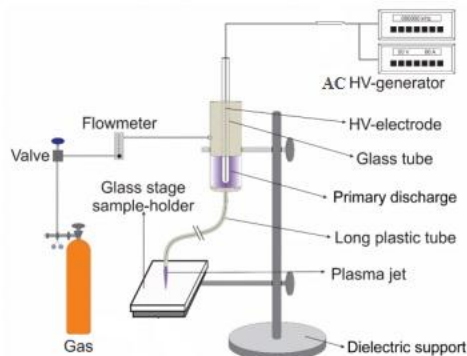
Hydroxyl radical được tạo ra bằng phương pháp sử dụng plasma jet ở áp suất & nhiệt độ môi trường [5-6]. Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) là phản ứng tạo thành plasma ở điều kiện nhiệt độ và áp suất môi trường bằng phương pháp phóng plasma gián

tiếp (indirect) [7-8]. Cấu tạo cơ bản một thiết bị tạo plasma bao gồm một nguồn điện cao thế (High Voltage, HV) đặt vào 2 điện cực, khí được bơm vào giữa 2 điện cực đó đóng vai trò khí mang. Ở dạng phóng plasma gián tiếp, plasma vẫn được tạo thành giữa 2 điện cực dạng hình khuyên đặt cách nhau và đồng tâm. Tuy nhiên khí trơ (argon Ar, ni tơ N_2) được sử dụng với lưu lượng lớn để mang plasma từ 2 điện cực ra bên ngoài tác dụng lên dung dịch mẫu tạo ra các phản ứng hóa học làm thay đổi

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên lý hình thành & phương pháp xác định radical $\bullet OH$

Hydroxyl radical $\bullet OH$ được tạo bởi thiết bị plasma APPJ có sơ đồ nguyên lý dưới đây:



Hơi nước khuếch tán vào chùm chiếu xạ APPJ plasma và qua quá trình kích thích tách rời và dính kèm để tạo ra gốc hydroxyl. Gốc hydroxyl ($\bullet OH$) được nhận biết bằng cách chiếu plasma vào một dung dịch hóa học phản ứng với gốc $-OH$ tạo phức. Phức này phát quang huỳnh quang khi kích thích bằng bước sóng thích hợp, trong khi chất ban đầu TPA thì không phát quang.

Hóa chất sử dụng để nhận biết gốc $\bullet OH$ là terephthalic acid (TPA), công thức hóa học $C_6H_4(COOH)_2$, ở điều kiện nhiệt độ phòng là

thành phần hóa học và tính chất hóa lý của dung dịch mẫu.

Trong báo cáo này, hydroxyl radical ($\bullet OH$) hình thành trong nước khử ion bằng phương pháp chiếu xạ plasma APPJ và nó được xác định bằng phương pháp đo phổ huỳnh quang với sự trợ giúp của chất hóa học chỉ thị terephthalic acid (TPA). Sự ảnh hưởng của thời gian chiếu plasma đến việc thay đổi nồng độ của gốc $\bullet OH$ sẽ được khảo sát. Trên cơ sở đó tối ưu thông số chiếu xạ plasma và nồng độ $\bullet OH$ trong nước khử ion.

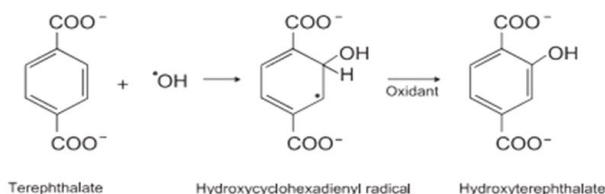
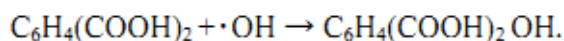
chất bột màu trắng, khó tan trong nước và TPA chỉ tan trong dung dịch kiềm NaOH. Dung dịch TPA được chiếu plasma trong khoảng thời gian từ 30 giây đến 5 phút. Gốc $-OH$ được hình thành sẽ phản ứng ngay với TPA tạo thành hợp chất mới 2-hydroxyl-terephthalate (HTPA) [9-10]. Phản ứng hóa học xảy ra như sau:

2. Xử lý plasma dung dịch TPA

Pha chế dung tích 5ml dung dịch TPA có nồng độ 0.5M bằng các pha 415 mg TPA với 250 mg NaOH trong 5 ml nước khử ion 2 lần. Sử dụng máy rung đa chiều rung dung dịch cho đến khi dung dịch tan hoàn toàn, có màu trong suốt và không còn chất lơ lửng. Dung dịch TPA phải được bọc giấy bạc để tránh sự phân hủy của ánh sáng. Thông số chiếu xạ plasma cho dung dịch TPA được thiết lập như sau:

- Hiệu điện thế áp vào 2 điện cực: $U = 5 \text{ kV}$
- Tần số dòng điện: $f = 50 \text{ kHz}$
- Công suất nguồn: $P = 25 \text{ W}$
- Khí được sử dụng là 100% Ar lưu lượng 5 lpm
- Nhiệt độ phòng; 25°C

- Khoảng cách từ điểm cuối đầu phun plasma đến bề mặt dung dịch là 7 mm



The scheme of terephthalate (TPA) oxidation. Hydroxyl radicals convert TPA into 2-hydroxyterephthalate (HTPA).

Hình 1. Phản ứng hóa học xảy ra giữa TPA và gốc $\bullet\text{OH}$ [11]

Thực hiện chiếu plasma lần lượt từng mẫu, thể tích mỗi lần xử lý là 0.5ml với thời gian tương ứng là 30s (mẫu 1), 60s (mẫu 2), 120s (mẫu 3), 300s (mẫu 4), lặp lại với mỗi mẫu 2 lần để thu được 1ml dung dịch đã xử lý. Sau đó hút vào từng lọ đựng mẫu đã được đánh số thứ tự từng mẫu, bọc giấy bạc. Trong quá trình chiếu xạ plasma các phân tử TPA của dung dịch TPA (không có khả năng phát quang) tác dụng với radicals $\bullet\text{OH}$ tạo thành các phân tử 2-hydroxyl-terephthalate (HTPA) trong dung dịch HTPA. Dung dịch này phát phổ huỳnh quang ở bước sóng 425 nm.

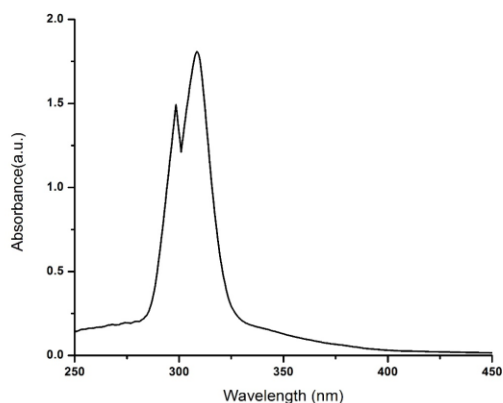
Ngay sau khi chiếu plasma, trong vòng 30 phút mẫu phải được đem đi đo quang phổ huỳnh quang ở bước sóng kích thích huỳnh quang là bước sóng hấp thụ cực đại của dung dịch TPA.

3. Kết quả & thảo luận

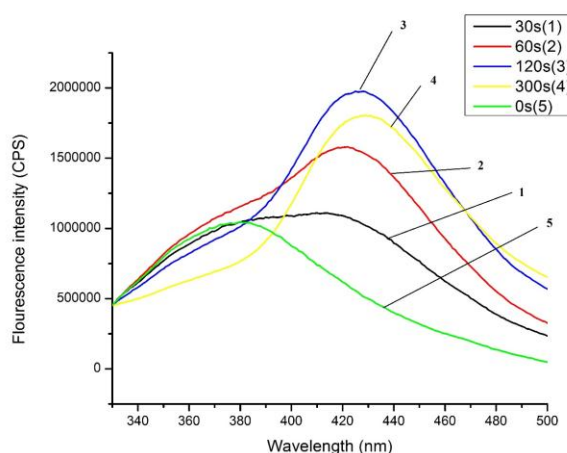
Quang phổ dung dịch TPA sau xử lý plasma HTPA được đo trên thiết bị đo phổ huỳnh quang của Viện Vật Lý, Viện Hàn lâm & Khoa học Việt Nam (VAST). Bước sóng kích thích cho dung dịch TPA trước khi và HTPA sau khi chiếu xạ APPJ plasma phát phổ huỳnh quang cần được xác định bằng phổ hấp thụ cực đại của dung dịch TPA. Hình 2 cho thấy đỉnh phổ hấp thụ cực đại tại bước sóng 315nm của dung dịch TPA khi được chiếu xạ APPJ plasma trong vòng 5min.khi được đo

trên máy Máy đo phổ hấp thụ UV-VIS Shimadzu UV-2600 240EN

Như vậy đỉnh phổ hấp thụ cực đại của dung dịch TPA là 315 nm, bước sóng này được chọn làm bước sóng kích thích phổ huỳnh quang của dung dịch TPA và HTPA. Phổ huỳnh quang của dung dịch trên các mẫu dung dịch trên với cùng thể tích 0.3 ml, thời gian chiếu plasma thay đổi từ 30s đến 300s, các thông số: bước sóng kích thích 315 nm, slit 5 nm, increment = 1 nm. 4 mẫu được đánh số thứ tự từ 1 đến 4 với thời gian chiếu plasma lần lượt là 30s, 100s, 120s, 300s.

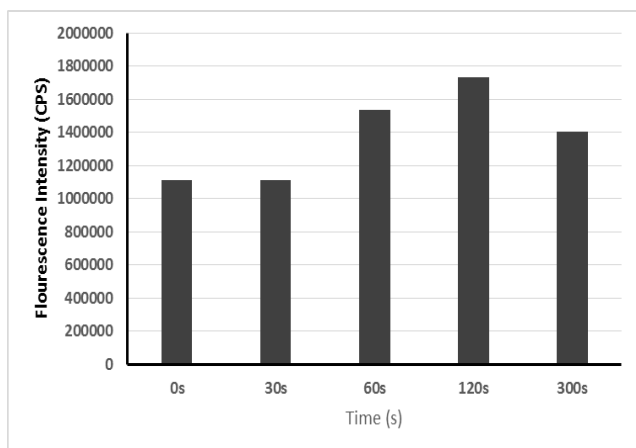


Hình 2. Phổ hấp thụ dung dịch TPA được chiếu xạ APPJ plasma trong 5 phút



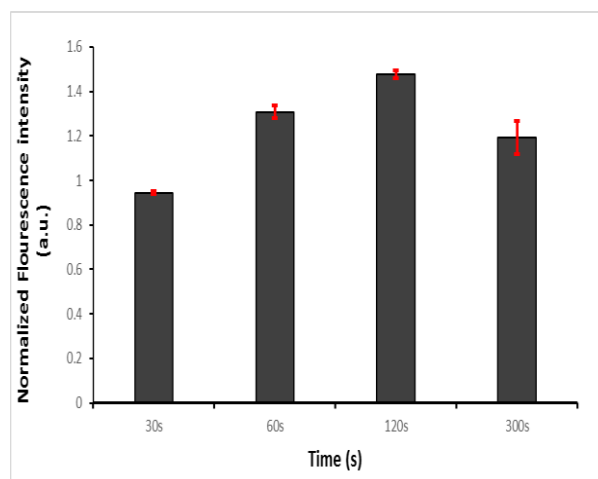
Hình 3. Phổ huỳnh quang của 4 mẫu TPA được chiếu xạ với thời gian: 30s, 60s, 120s, 300s và mẫu chuẩn so sánh 0s (không chiếu xạ plasma)

Nhìn vào đồ thị ta thấy rất rõ khi được kích thích bằng bước sóng 315nm, đỉnh phổ huỳnh quang của dung dịch TPA thay đổi theo thời gian chiếu plasma. Có thể thấy độ rộng phổ thu hẹp dần theo thời gian đồng thời đỉnh phổ dịch dần sang phải đến giá trị 425 nm. Mẫu dung dịch TPA không được chiếu xạ APPJ plasma sẽ cho huỳnh quang có đỉnh phổ ở 378 nm và có độ rộng bán phổ (FWHM) lớn nhất, trong khi đó HTPA có đỉnh phổ huỳnh quang ở 425nm. Điều đó cho thấy rằng khi có một radical $\bullet\text{OH}$ trong dung dịch TPA thì sẽ có một phân tử TPA kết hợp với một radical $\bullet\text{OH}$ để chuyển thành một phân HTPA theo tỉ lệ 1:1. Điều đó có nghĩa là cứ một gốc $\bullet\text{OH}$ sẽ biến một phân tử TPA thành 1 phân tử HTPA, do đó dung dịch TPA khi bị chiếu xạ bằng APPJ plasma sẽ có huỳnh quang với 2 đỉnh phổ 378nm của TPA và 425nm của HTPA. Một cách định tính, thời gian chiếu xạ plasma càng dài, đỉnh phổ tại bước sóng 378nm càng giảm do nồng độ phân tử TPA giảm, còn đỉnh phổ tại bước sóng 425nm sẽ có sự dịch đỉnh (425nm-429nm) do nồng độ phân tử HTPA được hình thành theo thời gian càng tăng. Điều này có thể khẳng định được rằng trong plasma đã có gốc OH được tạo ra, phản ứng với TPA trong dung dịch tạo thành hợp chất HTPA phát quang ở bước sóng khoảng 425 nm.



Hình 4. Cường độ phát huỳnh quang cực đại ứng với thời gian chiếu xạ APPJ plasma của dung dịch HTPA và TPA

Theo thời gian chiếu xạ plasma, lượng gốc $\bullet\text{OH}$ vào dung dịch tăng lên, phản ứng với TPA nhiều hơn, do đó phức tạo thành HTPA cũng vì thế tăng lên. Tuy nhiên thời gian chiếu xạ cho huỳnh quang mạnh nhất là 120s và cường độ huỳnh quang lại giảm dần theo thời gian chiếu plasma đến 300s. Do đó ta có thể thấy cường độ đỉnh phát huỳnh quang của mẫu số 3 tương ứng với thời gian chiếu xạ 120s là cao nhất và thấp nhất là mẫu số 1 với thời gian chiếu xạ là 30s. Khi đó đỉnh phổ huỳnh quang của 4 mẫu 1, 2, 3 và 4 lần lượt ứng với các bước sóng là 410nm, 422nm, 428nm và 429 nm.



Hình 5. Normalized cường độ huỳnh quang của 4 mẫu theo thời gian

Hình 5 cho ta thấy theo thời gian chiếu xạ APPJ plasma thì cường độ huỳnh quang của dung dịch HTPA thay đổi theo hướng tăng từ 30s đến 120s, và sau đó giảm từ 120s đến 300s. Điều đó cho thấy ở thời gian chiếu 120s cho nồng độ HTPA trong dung dịch cao nhất và chứng tỏ rằng gốc OH tạo ra nhiều nhất trong dung dịch chiếu xạ APPJ.

4. Kết luận

Hydroxyl radical được tạo ra trong nước ion bằng chiếu xạ APPJ plasma, nồng độ của $\bullet\text{OH}$ phụ thuộc vào thời gian chiếu xạ. Thời gian chiếu xạ plasma bằng 120s cho nồng độ

•OH lớn nhất tương ứng với cường độ huỳnh quang của dung dịch HTPA là lớn nhất. Dung dịch có chứa •OH được ứng dụng trong điều trị vết thương hở và kích thích hạt giống cây

trồng phát triển nên tính chất hóa lý của hydroxyl radical cần được nghiên cứu sâu hơn nữa trong các bước tiếp theo.

Tài liệu tham khảo

- [1]. V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, and N. Chandra, “Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health”, *Pharmacogn Rev.* 2010 Jul-Dec; page 4.
- [2]. Ferric C. Fang, “Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies”, *Nature Reviews Microbiology* 2, (Oct. 2004), page 3
- [3]. Von Sonntag, C. *Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair: A Chemical Perspective* 2010; Springer: New York, NY, USA, 2010.
- [4]. Sies, H.; Menck, C.F.M. Singlet oxygen induced DNA damage. *Mutat. Res. DNAging* 1992, 275, 367–375.
- [5]. Graves, D. B. The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 45,263001 (2012).
- [6]. Krishna Priya Arjunan, Virender K. Sharma and Sylwia Ptasinska, “Effects of Atmospheric Pressure Plasmas on Isolated and Cellular DNA—A Review”, University of Notre Dame, Notre Dame, IN 46556, USA, page 6.
- [7]. Seth A Norberg, Eric Johnsen and Mark J Kushne, “Formation of reactive oxygen and nitrogen species by repetitive negatively pulsed helium atmospheric pressure plasma jets propagating into humid air”,
- [8]. J. P. Boeuf, L. L. Yang, and L. C. Pitchford, “Dynamics of a guided streamer (‘plasma bullet’) in a helium jet in air at atmospheric pressure,” *Phys. D*, 46, 015201 (2013).
- [9]. The first application of terephthalate fluorescence for highly selective detection of hydroxyl radicals in thylakoid membranes, *Functional Plant Biology*,(2007), 34, 1105–1111.
- [10]. Y. Yang, Y.I. Cho, A. Fridman, *Plasma discharge in liquids-water treatment and applications*, CRC Press, Florida, 11, (2012)
- [11]. The first application of terephthalate fluorescence for highly selective detection of hydroxyl radicals in thylakoid membranes, *Functional Plant Biology*,(2007), 34, 1105–1111.