

NGHIÊN CỨU HẤP PHỤ VÀ LÀM GIÀU CHỌN LỌC MALACHITE GREEN TRÊN VẬT LIỆU POLIME IN DẤU PHÂN TỬ (MIP) ỨNG DỤNG TRONG PHÂN TÍCH THỦY SẢN

Đến tòa soạn: 19-03-2025

Nguyễn Tuấn Minh¹, Lưu Thị Huyền Trang^{1,2}, Chu Thị Huệ¹, Nguyễn Thị Minh Thư¹,
Nguyễn Thị Kim Thường¹, Vũ Thị Trang², Nguyễn Thị Ánh Hương^{1,*}, Phạm Thị Ngọc Mai¹

¹Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,
19 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia (NIFC), 65 Phạm Thận
Duật, Cầu Giấy, Hà Nội.

*E-mail: nguyenthianhhuong@hus.edu.vn

SUMMARY

STUDY ON SELECTIVE ADSORPTION AND ENRICHMENT OF MALACHITE GREEN ON MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER (MIP) MATERIALS FOR SEAFOOD ANALYSIS APPLICATION

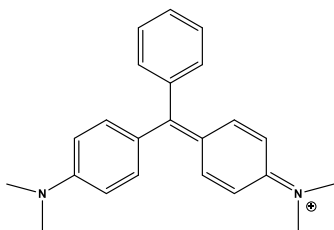
Malachite Green is a dye with the ability to treat diseases caused by parasites, fungi, and bacteria in aquatic animals. However, due to its toxicity to humans, it has been banned in most countries worldwide, especially in Vietnam. In this study, we synthesized molecularly imprinted polymer (MIP) materials selective for Malachite Green (MG) through a copolymerization reaction between the monomer methacrylic acid (MAA) and the cross-linking agent ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA), initiated by azobisisobutyronitrile (AIBN) in an acetonitrile:methanol mixture (3:1, v/v). The maximum adsorption capacity was 23.81 mg. g⁻¹ at optimum conditions, pH 5.0, m = 7mg, t=40 min and the imprinted factor max was 2.3. High adsorption selectivity of MG over other dyes having the same blue color such as Blue Brilliant, Fast Green was obtained. The synthesized MIP had enrichment factor of 50 times with high desorption efficiency of 95.31%; as well as good reusability of at least 5 times. The application of material to enrich MG in fish samples provided a recovery efficiency reaching 94.9% to 107.3%. The obtained results reflected the selective analytical capability and enrichment potential of MIP for MG.

Keywords: Malachite Green, Molecularly imprinted polymer (MIP), Selective Adsorption, Seafood Analysis, Residue Analysis

1. GIỚI THIỆU

Malachite Green (MG) (Hình 1) thuộc loại phẩm màu triarylamine, đã từng được sử dụng rộng rãi như một loại thuốc diệt nấm và ký sinh trùng trong ngành nuôi trồng thủy hải sản vì hiệu quả của nó đối với nấm và động vật nguyên sinh [1][2]. Mặc dù vậy, MG và chất chuyển hóa của nó là Leuco Malachite Green (LMG) có khả năng gây ung thư và gây đột biến ở người [3][4]. Vì vậy, MG đã được liệt kê vào danh sách bị cấm sử dụng trong

ngành nuôi trồng thủy sản ở hầu hết quốc gia trên thế giới bao gồm cả Việt Nam [5][6]. Tuy đã bị cấm nhưng MG vẫn được sử dụng bất hợp pháp do giá thành rẻ, hiệu quả trong chữa bệnh cho động vật thủy sản nên nó đe dọa nghiêm trọng đến sức khỏe và tính mạng con người. Do đó, việc phát triển phương pháp xác định MG là rất cần thiết nhằm bảo vệ sức khỏe con người và an toàn thực phẩm.



Hình 1: Công thức cấu tạo của Malachite Green

Hiện nay, MG và chất chuyển hóa của nó được xác định chủ yếu bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) [7], sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS) [8] và sắc ký khí khối phổ (GC-MS) [9], phương pháp điện hóa [10], phương pháp ELISA [11]... Nhìn chung, các phương pháp sắc ký và kit test ELISA có kết quả chính xác, đáng tin cậy, tuy nhiên thiết bị và kit test đắt tiền không phải phòng thí nghiệm nào cũng đáp ứng được. Phương pháp điện hóa sử dụng điện cực graphite khó phân tích với các mẫu có dạng vết. Ngoài ra, quy trình tiền xử lý mẫu truyền thống của các phương pháp trên cần nhiều thời gian và dễ dẫn đến sự xâm nhập của tạp chất, ảnh hưởng đến kết quả phân tích [12]. Không chỉ vậy, quy trình này thường đòi hỏi một lượng lớn dung môi hữu cơ độc hại, ảnh hưởng đến sức khỏe con người và môi trường. Do đó, việc xây dựng phương pháp xử lý mẫu để xác định MG trong mẫu thủy sản nhanh chóng, chính xác và đơn giản là rất cần thiết.

MIP được tổng hợp bằng phương pháp copolymer hóa từ monomer chức năng cùng với chất liên kết ngang dưới sự góp mặt của phân tử mẫu. Sau khi phân tử mẫu được loại bỏ, đã tạo ra vô số khoang ba chiều trên nền polymer có thể hấp phụ chọn lọc đặc hiệu với phân tử mẫu so với các phân tử có cấu trúc khác. Nhờ vào khả năng trên, MIP đã được ứng dụng trong quy trình tiền xử lý mẫu [13][14]. MIP sẽ là một chất đầy hứa hẹn trong lĩnh vực hấp phụ chọn lọc và làm giàu chất phân tích trong quá trình xử lý mẫu.

Trong nghiên cứu này, polymer in dấu phân tử Malachite Green được tổng hợp bằng phương pháp polymer hóa kết tủa sử dụng methacrylic acid (MAA) là monomer chức năng, ethylenglycol dimethacrylate (EGDMA) là chất liên kết ngang. Các điều kiện ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ và giải hấp làm giàu của MIP đối với MG sẽ được nghiên cứu tối ưu. Từ đó, ứng dụng MIP để làm giàu chọn lọc MG trong mẫu thủy sản trước khi phân tích bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis). Mặc dù UV-Vis là một phương pháp đơn giản, phổ biến nhưng có độ nhạy và độ chọn lọc thấp nên không phù hợp để xác định nồng độ nhỏ của MG trong nền mẫu phức tạp. Việc sử dụng MIP làm vật liệu chiết pha rắn để làm giàu chọn lọc MG trong mẫu có thể khắc phục được các nhược điểm này nhằm nâng cao độ nhạy của phương pháp UV-Vis.

2. THỰC NGHIỆM VÀ NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất

Các hóa chất sử dụng đều thuộc loại tinh khiết phân tích và được mua từ Sigma-Adrich (Mỹ) hoặc Merck (Đức), bao gồm: malachite green oxalate (99%), methacrylic acid (MAA, 99%), ethylenglycol dimethacrylate (EGDMA, 98%), azobisisobutyronitrile (AIBN, 98%), acetonitrile (ACN, 99,9%), methanol (MeOH, 99%), ethanol (EtOH, 99%), acid acetic băng (99,9%), Carrez I ($K_4[Fe(CN)_6]$, 95%, 0,085 M), Carrez II ($Zn(OAc)_2/HOAc$, 99%, 0,25 M). Nước sử dụng trong nghiên cứu này là nước deion.

2.2. Thiết bị

Thiết bị quang phổ UV-1601 (Shimadzu) được sử dụng để khảo sát khả năng hấp phụ, giải hấp của vật liệu và xác định MG trong nghiên cứu này.

2.3. Tổng hợp vật liệu

Polymer in dầu phân tử được tổng hợp bằng phản ứng giữa 0,5 mmol MG và 1 mmol MAA trong 40 mL ACN/MeOH (3:1, v/v), khuấy đều trong 5 phút, ở nhiệt độ phòng. Sau đó thêm 4 mmol EGDMA và 20 mg AIBN vào hỗn hợp phản ứng [15]. Quá trình polymer hóa được khơi mào ở 60 °C trong 24 giờ. Hạt polymer thu được sẽ được rửa nhiều lần bằng MeOH/HOAc (9:1, v/v) sau đó ly tâm trong 15 phút ở tốc độ 6000 rpm nhằm mục đích loại bỏ tạp chất không phản ứng và phân tử MG. Dung dịch sau khi rửa sẽ được kiểm tra bằng thiết bị UV-Vis cho đến khi không còn phát hiện MG. Cuối cùng, polymer in dầu phân tử MG được sấy ở nhiệt độ 110 °C trong 8 giờ (MIP). Polymer không in dầu MG được tổng hợp ở điều kiện tương tự MIP nhưng không có sự hiện diện của MG (NIP).

2.4. Khảo sát tính chất hấp phụ

Các đặc trưng hấp phụ của vật liệu tổng hợp MIP (và NIP) được khảo sát bằng phương pháp hấp phụ tĩnh. Trong đó một lượng nhỏ vật liệu ($m = 1 - 9$ mg) được lắc với dung dịch MG (nồng độ 10 đến 300 mg/L) trong khoảng thời gian (5 đến 120 phút). Dung dịch sau khi hấp phụ sẽ được đo bằng thiết bị UV-Vis ở bước sóng 617 nm để xác định nồng độ MG. Dung lượng hấp phụ Q_e (mg. g⁻¹), hiệu suất hấp phụ H (%) và hệ số in dầu phân tử (IF) được trình bày trong các công thức (1), (2), (3):

$$Q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} \cdot V \quad (1)$$

$$H(\%) = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

$$IF = \frac{Q_{MIP}}{Q_{NIP}} \quad (3)$$

Trong đó: C_0 và C_e (mg. L⁻¹) là nồng độ MG trước và sau hấp phụ, V (L) là thể tích dung dịch hấp phụ, m (g) là khối

lượng polymer. Q_{MIP} và Q_{NIP} (mg. g⁻¹) là dung lượng hấp phụ của MIP và NIP.

Để tính được giá trị dung lượng hấp phụ cực đại, đồ thị Scatchard đã được xây dựng theo mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir sử dụng công thức:

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{C_e}{Q_{max}} + \frac{1}{K_L \cdot Q_{max}} \quad (4)$$

Trong đó: K_L (g. mL⁻¹) là hằng số Langmuir (L.mg⁻¹); Q_{max} (mg.g⁻¹) là dung lượng hấp phụ cực đại.

2.5. Khảo sát khả năng giải hấp

Phương pháp giải hấp bằng dung môi được sử dụng để làm giàu và đánh giá khả năng tái sử dụng của MIP. Các thí nghiệm giải hấp và tái sử dụng được thực hiện theo dạng mẻ. Dung môi giải hấp được chọn để khảo sát lần lượt là MeOH:HOAc (9:1, v/v), ACN:EtOH (4:1, v/v), EtOH:HOAc (9:1, v/v). Sau khi hấp phụ, vật liệu MIP-MG đã được giải hấp với thể tích dung môi thay đổi từ 1 đến 25 mL với thời gian từ 5 đến 40 phút.

Khả năng tái sử dụng vật liệu MIP được thực hiện theo 5 chu kỳ liên tiếp hấp phụ - giải hấp. Hệ số làm giàu (EF) và phần trăm giải hấp MG (R%) được tính theo công thức (5), (6):

$$EF = \frac{V_d}{V_c} \quad (5)$$

$$R(\%) = \frac{C_{des}}{C_0 \times EF} \times 100\% \quad (6)$$

Trong đó V_c là thể tích cuối của dung dịch phân tích (mL), V_d là thể tích ban đầu của dung dịch (mL), C_{des} là nồng độ MG giải hấp được, C_0 là nồng độ MG ban đầu trước khi hấp phụ.

2.6. Quy trình xử lý mẫu

Mẫu được xử lý làm giàu bằng phương pháp chiết pha rắn phân tán theo qui trình như sau: Mẫu cá trắm và cá tầm được mua ở một chợ địa phương. Thêm 2 mL

nước cùng với lần lượt 50 μL Carrez 1 và Carrez 2 vào 2g phần thịt cá đã lọc da và xay nhuyễn, đồng nhất bằng máy rung siêu âm trong 5 phút. Phần dịch nổi thu được chuyển vào ống ly tâm 50 mL. Phần cặn rắn được thêm tiếp 2 mL dung dịch chiết như trên và rung siêu âm trong 10 phút, sau đó ly tâm (10 phút, 10000 rpm/phút ở 5 °C), thực hiện lặp lại 3 lần để thu được dịch nổi. Lọc phần dịch nổi để thu dung dịch trong, định mức đến 50 mL bằng nước deion. Thực hiện hấp phụ và giải hấp theo quy trình đã tối ưu. Mẫu thịt cá đã đồng nhất được thêm dung dịch chuẩn MG ở các mức nồng độ 3, 7 và 10 ppb trước khi chiết để đánh giá hiệu suất thu hồi. Dung dịch sau khi giải hấp được đo trên thiết bị UV-Vis ở bước sóng 617 nm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tính chất hấp phụ

3.1.1. Tối ưu hóa các điều kiện hấp phụ

Các điều kiện hấp phụ được khảo sát bao gồm pH, thời gian hấp phụ và lượng vật liệu hấp phụ. pH là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng hấp phụ do ảnh hưởng đến điện tích trong phân tử MG và liên kết đặc hiệu của MIP. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của pH được thực hiện trong khoảng pH từ 2,0 – 9,0 và nồng độ MG là 500 ng. L^{-1} . Kết quả cho thấy, hiệu suất tăng dần từ pH = 2,0 và đạt hiệu suất lớn nhất tại pH = 5,0 (đạt 90,2%), sau đó giảm dần từ pH = 5,0 đến pH = 9,0.

Khối lượng vật liệu là một yếu tố ảnh hưởng đến quá trình hấp phụ MG của MIP do lượng vật liệu quyết định số tâm hấp phụ trên bề mặt vật liệu. Khi tăng khối lượng vật liệu từ 1 mg đến 9 mg với nồng độ MG là 500 ng. L^{-1} , pH = 5,0 thì hiệu suất hấp phụ có xu hướng tăng dần do khi tăng lượng polymer thì số lượng tâm hấp phụ tăng. Khi khối lượng vật liệu

nhỏ hơn 7 mg, hiệu suất hấp phụ có hiện tượng bão hòa tương ứng với việc toàn bộ lượng MG đã hấp phụ hết hoàn toàn lỗ xốp của MIP. Vì vậy, lượng vật liệu hấp phụ tối ưu được lựa chọn là 7 mg.

Thời gian là một yếu tố quan trọng trong quá trình hấp phụ. Khoảng thời gian từ 5 phút đến 120 phút đã được khảo sát để đánh giá ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất hấp phụ. Kết quả cho thấy, khi tăng thời gian từ 5 phút đến 40 phút, hiệu suất tăng lên khá nhanh và sau đó có xu hướng đi ngang. Sau 40 phút hiệu suất hấp phụ hầu như không thay đổi và đạt đến trạng thái bão hòa. Do đó, thời gian hấp phụ 40 phút được lựa chọn trong nghiên cứu này.

3.1.2. Mô hình đường đẳng nhiệt hấp phụ

Đường cong đẳng nhiệt hấp phụ MG trên polymer MIP hình 2a biểu diễn sự phụ thuộc của dung lượng hấp phụ tại trạng thái cân bằng (Q_e) vào nồng độ cân bằng (C_e), phản ánh tổng thể quá trình hấp phụ theo nồng độ. Kết quả được khảo sát ở các điều kiện tối ưu, pH = 5,0, thời gian hấp phụ 40 phút, lượng vật liệu hấp phụ 7 mg. Kết quả cho thấy khi nồng độ ban đầu của MG tăng, nồng độ cân bằng (C_e) và Q_e cũng tăng theo. Trong khoảng nồng độ từ 1 đến 5 mg. L^{-1} (nồng độ C_e tăng dần từ 0,128 đến 0,452 mg. L^{-1}), dung lượng hấp phụ của MIP và NIP không có sự khác biệt đáng kể do MG hấp phụ ở các vị trí không chọn lọc trên vật liệu. Tuy nhiên khi tăng dần nồng độ C_0 từ 5 đến 30 mg. L^{-1} , nồng độ C_e có xu hướng tăng chậm dần và đạt đến trạng thái bão hòa (từ 0,718 đến 15 mg. L^{-1}) dẫn đến sự khác biệt về dung lượng hấp phụ của MIP và NIP với IF tăng dần từ 0,97 đến $IF_{\max} = 2,30$.

Hình 2b, biểu diễn tuyến tính theo mô hình Langmuir $\frac{C_e}{Q_e}$ theo C_e nhằm xác định

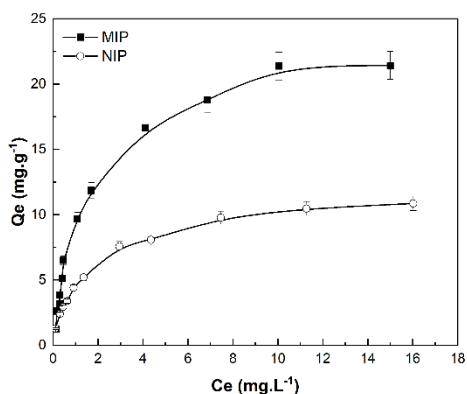
giá trị dung lượng hấp phụ cực đại (Q_{max}), cho thấy các đồ thị Scatchard là đường thẳng ($R^2 > 0,99$) đối với cả MIP và NIP, chứng tỏ rằng chỉ có một loại vị trí liên kết tồn tại trong các polymer và quá trình hấp phụ của các polymer tuân theo là mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir. Giá trị K_L và Q_{max} của MIP và NIP lần lượt tính được là $0,602 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ và $23,81 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; $0,339 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ và $11,74 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, minh chứng rằng MIP thể

hiện ái lực liên kết cao hơn đối với MG so với NIP [16].

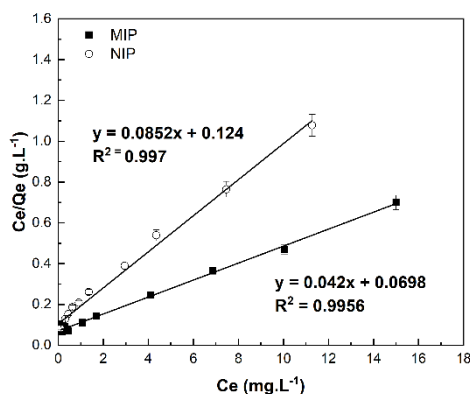
Giá trị Q_{max} của vật liệu tổng hợp cao hơn đáng kể so với các vật liệu khác đã được nghiên cứu trước đây như MMIP ($6,19 \text{ mg/g}$), đất sét Bentonite ($7,716 \text{ mg/g}$), vỏ trấu xử lý bằng axit nitric ($18,1 \text{ mg/g}$) (Bảng 1), cho thấy khả năng hấp phụ chất màu Malachite Green (MG) vượt trội của vật liệu.

Bảng 1 : So sánh dung lượng hấp phụ cực đại (Q_{max}) của MIP với một số vật liệu khác

| Vật liệu | Q_{max} | TLTK |
|--------------------------------|--------------------------------------|----------------|
| MMIP | $6,19 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | [20] |
| Đất sét Bentonite | $7,716 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | [21] |
| Vỏ trấu xử lý bằng axit nitric | $18,1 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | [22] |
| MIP | $23,81 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | Nghiên cứu này |



(a)



(b)

Hình 2: (a) Đường hấp phụ đẳng nhiệt của MIP và NIP, (b) Đồ thị Scatchard

3.1.3. Khảo sát độ chọn lọc của phương pháp

Độ chọn lọc của vật liệu MIP được đánh giá với các phẩm màu có công thức giống với MG như Leuco Malachite Green (LMG), Crystal Violet (CV), Leuco Crystal Violet (LCV) [17]; các phẩm màu có màu xanh tương tự MG như Brilliant Blue (BB), Fast Green (FCF); phẩm màu thuộc nhóm azo như Amaranth (Ama);

phẩm màu thuộc nhóm diarylamine: Auramine O (AO) và các ion Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} . Công thức của phẩm màu nhóm triarylamine, kết quả được trình bày ở Hình 3. Kết quả cho thấy các ion Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ và K^+ không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng hấp phụ của MG khi có mặt đồng thời trong dung dịch với MG. Đối với các phẩm màu khác với phẩm màu nhóm triarylamine cho hiệu suất hấp phụ

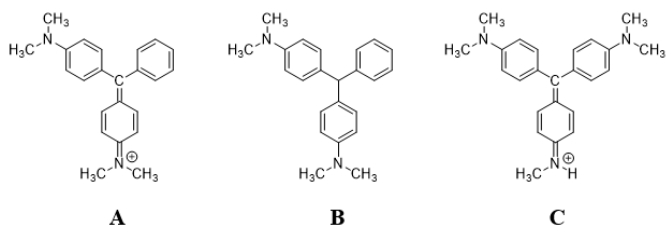
của MIP rất thấp dao động trong khoảng từ 11 – 24%. Nguyên nhân là do các phân tử Ama, BB, FG, AO là các phân tử lạ có cấu trúc phân tử khác hoàn toàn so với phẩm màu nhóm triarylamine, đặc biệt là MG (phân tử mẫu được lựa chọn tạo ra khuôn in) nên chỉ có một số ít liên kết ở trên bề mặt bắt giữ các phân tử này. Từ các kết quả thu được cho thấy, MIP có khả năng hấp phụ chọn lọc với phẩm màu thuộc nhóm triarylamine.

3.2. Khảo sát khả năng giải hấp và tái sử dụng vật liệu

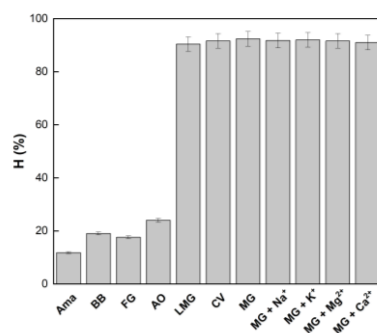
3.2.1. Khảo sát dung môi giải hấp

Trong quá trình giải hấp, dung môi đóng vai trò là chất phá vỡ liên kết hình thành

giữa chất hấp phụ và chất bị hấp phụ. Kết quả cho thấy, ACN: EtOH là hỗn hợp dung môi cho khả năng giải hấp ở mức độ trung bình. Tuy nhiên khi sử dụng các hỗn hợp dung môi MeOH: HOAc, EtOH: HOAc (9:1, v/v), khả năng giải hấp ở nhiệt độ thường của chúng tương đối cao. Điều này chứng tỏ rằng, các alcohol có khả năng cắt đứt liên kết giữa MIP và MG. Khả năng giải hấp này tỉ lệ thuận với chuỗi hydrocarbon, tức là chuỗi hydrocarbon càng dài thì khả năng giải hấp càng thấp [18]. Trong nghiên cứu này, nhằm hướng tới hóa học xanh thân thiện với môi trường và sức khỏe của con người, hỗn hợp dung môi giải hấp được lựa chọn là EtOH: HOAc (9:1, v/v).



(a)



(b)

Hình 3: (a) Phẩm màu nhóm triarylamie, (b) Độ chọn lọc của MIP với phẩm màu nhóm triarylamine

A. Malachite Green B. Leuco Malachite Green C. Crystal Violet

3.2.2. Khảo sát thời gian giải hấp

Thời gian là một yếu tố quan trọng trong quá trình giải hấp. Kết quả cho thấy, từ 5-15 phút thì hiệu suất có xu hướng tăng dần từ 88,6 đến 98,5% nhưng từ 15-40 phút tiếp theo thì có xu hướng đạt đến trạng thái bão hòa với hiệu suất đạt được là 98,8%. Vì vậy, thời gian giải hấp được lựa chọn trong nghiên cứu này là 15 phút.

3.2.3. Khảo sát hệ số làm giàu

Để đánh giá khả năng làm giàu chất phân tích của MIP, hệ số làm giàu tối đa của

MIP đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, MIP có khả năng làm giàu chất phân tích với hệ số làm giàu tối đa là 50 lần cho hiệu suất giải hấp vẫn đạt đến 95,31%.

3.2.4) Khả năng tái sử dụng vật liệu

Khả năng giải hấp và tái hấp phụ là một khía cạnh quan trọng đối với ứng dụng thực tiễn của bất kỳ vật liệu có tính chất hấp phụ nào. 5 chu trình hấp phụ - giải hấp đã được đánh giá với EtOH: HOAc (9:1) là dung môi rửa giải. Trong 3 chu trình đầu tiên, khả năng hấp phụ và giải hấp của MIP đạt trên 90%. Từ chu trình thứ 4, khả năng

hấp phụ và giải hấp giảm còn 88,4% và ở chu trình cuối cùng còn 86,6%. Khả năng hấp phụ và giải hấp giảm xuống từ chu trình thứ 4, nguyên nhân có thể do khi hấp phụ và giải hấp liên tiếp có thể làm giảm hiệu suất hoặc mất một phần vật liệu hấp phụ. Ngoài ra, có thể còn một nguyên nhân khác là do một số phân tử EtOH và HOAc đã chiếm giữ một vài vị trí hấp phụ và làm khả năng hấp phụ giảm dần sau mỗi chu trình nhất định.

3.3. Kết quả phân tích mẫu cá

MIP được sử dụng làm vật liệu hấp phụ có chọn lọc để làm giàu và xử lý hai mẫu cá nhằm phân tích MG, với mỗi mẫu được phân tích lặp lại ba lần. Kết quả phân tích cho thấy không phát hiện dư

lượng MG trong cả hai mẫu. Để đánh giá khả năng hấp phụ và hiệu suất thu hồi, các mẫu cá được bổ sung MG ở các mức nồng độ 3, 7 và 10 ppb. Kết quả trình bày trong Bảng 2 cho thấy, hiệu suất thu hồi của MG đạt từ 94,9% đến 107,3%, độ lệch chuẩn tương đối (%RSD) đạt từ 2,28% đến 4,47% khẳng định độ chính xác và tính hiệu quả của vật liệu MIP trong quá trình làm giàu và tách chiết MG. Kết quả khảo sát sơ bộ trên mẫu cá thêm chuẩn cho thấy kết hợp vật liệu MIP để làm giàu mẫu trước khi phân tích bằng phương pháp hấp thụ UV-Vis cho phép xác định được nồng độ thấp cỡ ppb, là khoảng nồng độ tương đương với phương pháp HPLC truyền thống.

Bảng 2: Kết quả phân tích Malachite Green trong một số mẫu cá trên thị trường

| Mẫu | Hàm lượng có trong mẫu (mg) | Nồng độ MG thêm vào (ppb) | | Hiệu suất thu hồi (%) | RSD (%) |
|---------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|-----------------------|---------|
| | | Hàm lượng thêm vào | Hàm lượng phát hiện ² | | |
| Cá tầm | ND ¹ | 3 | 16,1 ± 0,07 | 107,3 | 4,47 |
| | | 7 | 33,2 ± 0,05 | 94,9 | 2,79 |
| | | 10 | 49,0 ± 0,02 | 98,0 | 3,68 |
| Cá trắm | ND ¹ | 3 | 15,8 ± 0,05 | 105,3 | 4,36 |
| | | 7 | 34,2 ± 0,02 | 97,7 | 3,85 |
| | | 10 | 49,7 ± 0,02 | 99,4 | 2,28 |

ND¹: Không phát hiện, ²Hàm lượng phát hiện với hệ số EF là 50

Tuy nhiên, hiện nay hệ số làm giàu của phương pháp xử lý mẫu đang bị hạn chế ở 50 lần, cần tiếp tục nâng hệ số làm giàu bằng cách giảm V dung môi rửa giải mà vẫn đạt được hiệu suất chiết tối ưu. Ngoài ra, trong nghiên cứu này đang sử dụng qui trình chiết pha rắn phân tán làm giàu đòi hỏi các bước lọc, ly tâm để tách lấy dung dịch trong và thu hồi vật liệu. Hướng nghiên cứu tiếp theo của chúng tôi hướng đến nhồi vật liệu MIP vào cột chiết pha rắn (SPE) để đơn giản hóa quá trình thu dung dịch và tái sử dụng vật liệu.

4. KẾT LUẬN

Polymer in dấu phân tử MG đã được tổng hợp thành công bằng phương pháp polymer hóa kết tủa trong ACN: MeOH (3:1, v/v) có giá trị dung lượng hấp phụ tối đa đạt 23,81 mg.g⁻¹ với hệ số chọn lọc IF bằng 2,3. Nghiên cứu đã ứng dụng thành công vật liệu MIP cho quy trình xử lý mẫu cá với hiệu suất thu hồi đạt 94,9% đến 107,3% và %RSD < 5% cho thấy được khả năng hấp phụ chọn lọc MG và làm giàu mẫu lên 50 lần của MIP. Tiếp

theo nghiên cứu này, có thể phát triển vật liệu MIP thành cột chiết pha rắn, ứng dụng để xử lý mẫu thủy sản cho các phương pháp phân tích khác nhau như điện di, HPLC, điện hóa, v.v., cũng như cho các đối tượng mẫu khác trong phân tích thực phẩm và môi trường.

LỜI CẢM ƠN:

Nghiên cứu này được tiến hành trong khuôn khổ đề tài QG.24.71 của Đại học quốc gia Hà Nội.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. J. Srivastava, N. D. Singh, A. K. Srivastava, and R. Sinha, (1995). "Acute toxicity of malachite green and its effects on certain blood parameters of a catfish, *Heteropneustes fossilis*," *Aquat. Toxicol.*, **31(3)**, 241–247,
- [2] D. J. Alderman and R. S. Clifton-Hadley, (1993). "Malachite green: a pharmacokinetic study in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)," *J. Fish Dis.*, **16(4)**, 297–311.
- [3] K. V. K. Rao, (1995). "Inhibition of DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures by malachite green: a new liver tumor promoter," *Toxicol. Lett.*, **81(2)**, 107–113.
- [4] Sandra J. Culp, Frederick A. Beland, (1996). "Malachite Green: A Toxicological Review.
- [5] N. Bilandžić, I. Varenina, B. S. Kolanović, D. Oraić, and S. Zrnčić, (2012). "Malachite green residues in farmed fish in Croatia," *Food Control*, **26(2)**, 393–396.
- [6] A. Stamatii *et al.*, (2005). "Effects of malachite green (MG) and its major metabolite, leucomalachite green (LMG), in two human cell lines," *Toxicol. In Vitro*, **19(7)**, 853–858
- [7] K. Sagar, M. R. Smyth, J. G. Wilson, and K. McLaughlin, (1994). "High-performance liquid chromatographic determination of the triphenylmethane dye, malachite green, using amperometric detection at a carbon fibre microelectrode," *J. Chromatogr. A*, **659(2)**, 329–336.
- [8] G. Dowling, P. P. J. Mulder, C. Duffy, L. Regan, and M. R. Smyth, (2007). "Confirmatory analysis of malachite green, leucomalachite green, crystal violet and leucocrystal violet in salmon by liquid chromatography–tandem mass spectrometry," *Anal. Chim. Acta*, **586(1)**, 411–419.
- [9] C. Aprea, C. Colosio, T. Mammone, C. Minoia, and M. Maroni, (2002). "Biological monitoring of pesticide exposure: a review of analytical methods," *J. Chromatogr. B*, **769(2)**, 191–219.
- [10] D. Zhu, Q. Li, K. C. Honeychurch, M. Piano, and G. Chen, (2016). "Determination of Malachite Green in Aquaculture Water by Adsorptive Stripping Voltammetry," *Anal. Lett.*, **49(9)**, 1436–1451
- [11] Y. Jiang, L. Chen, K. Hu, W. Yu, X. Yang, and L. Lu, (2015). "Development of a fast ELISA for the specific detection of both leucomalachite green and malachite green," *J. Ocean Univ. China*, **14(2)**, 340–344.
- [12] Q. Zhang, X. Xiao, and G. Li, (2014). "Porous molecularly imprinted monolithic capillary column for on-line extraction coupled to high-performance liquid chromatography for trace analysis of antimicrobials in food samples," *Talanta*, **123**, 63–70.
- [13] L. Chen and B. Li, (2013). "Magnetic molecularly imprinted polymer extraction of chloramphenicol from honey," *Food Chem.*, **141(1)**, 23–28.
- [14] C. Schirmer and H. Meisel, (2016). "Synthesis of a molecularly imprinted polymer for the selective solid-phase extraction of chloramphenicol from

- honey,” *J. Chromatogr. A* **1132**(1), 325–328,
- [15] L. Li *et al.*, (2015). “Molecularly imprinted polymers for extraction of malachite green from fish samples prior to its determination by HPLC,” *Microchim. Acta*, **182**(9-10), 1791–1796.
- [16] Z. Lin, H. Zhang, A. Peng, Y. Lin, L. Li, and Z. Huang, (2016). “Determination of malachite green in aquatic products based on magnetic molecularly imprinted polymers,” *Food Chem.*, **200**(32-37).
- [17] J. Li, H. Zhai, Z. Chen, Q. Zhou, Z. Liu, and Z. Su, (2013). “Preparation and evaluation of a novel molecularly imprinted SPE monolithic capillary column for the determination of auramine O in shrimp: Sample Preparation,” *J. Sep. Sci.*, **36**(21-22), 3608–3614.
- [18] F. Bessaha, K. Marouf-Khelifa, I. Batonneau-Gener, and A. Khelifa, (2016). “Characterization and application of heat-treated and acid-leached halloysites in the removal of malachite green: adsorption, desorption, and regeneration studies,” *Desalination Water Treat.*, **57**(31), 14609–14621.
- [19] J.-M. Chern and C.-Y. Wu, (2001). “Desorption of dye from activated carbon beds: effects of temperature, pH, and alcohol,” *Water Res.*, **35**(17), 4159–4165.
- [20] Z. Lin, H. Zhang, A. Peng, Y. Lin, L. Li, and Z. Huang, “Determination of malachite green in aquatic products based on magnetic molecularly imprinted polymers,” *Food Chem.*, **200**, 32–37.
- [21] S. S. Tahir and N. Rauf, (2006) “Removal of a cationic dye from aqueous solutions by adsorption onto bentonite clay,” *Chemosphere*, **63**(11), 1842–1848.
- [22] B. Ramaraju, P. Manoj Kumar Reddy, and C. Subrahmanyam, (2014) “Low cost adsorbents from agricultural waste for removal of dyes,” *Environ. Prog. Sustain. Energy*, 33(1), 38–46.