

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÂN TÍCH PHENOXYETHANOL TRONG VACCINE BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN HOÁ

Đến tòa soạn: 21-05-2025

Phạm Quang Minh^{1,2,*}, Trần Vĩnh Hoàng¹, Vũ Anh Tuấn¹

¹ Trường Hoá và Khoa học Sự sống, Đại Học Bách Khoa Hà Nội

² Viện Kiểm định Quốc gia vắc xin và Sinh phẩm Y tế, Bộ Y Tế

*E-mail: minh.pq.189@gmail.com

SUMMARY

EVALUATION ON THE ANALYTICAL ABILITY OF PHENOXYETHANOL AS PRESERVATIVE IN VACCINE USING ELECTROCHEMICAL METHOD

Phenoxyethanol (2- Phenoxyethanol, 2-PE) is widely used as a preservative in the vaccines, cosmetics, and pharmaceuticals. Currently, the content of 2-PE in products was analyzed by HPLC based on the strong absorption of light at 270 nm wavelength of 2-PE, however, this analysis required highly skilled operators, was time-consuming, and the cost of purchasing equipment was also high. Therefore, in this work, we proposed an investigation of the electrochemical oxidation of phenoxyethanol (2-PE) on some types of electrodes, in some types of electrolyte solutions for electrochemical determination of 2-PE. In which, the selectivity, sensitivity, linearity detection range were considered. Finally, measurements were conducted on real samples to evaluate the ability to analyze 2-PE by electrochemical method. The successful study of the oxidation ability of 2-PE by electrochemical sensor could open a new solution for rapid analysis of 2-PE with many advantages: low cost, easy-to-operate process and more time-saving than traditional methods.

Keywords: phenoxyethanol (2-PE), platinum electrode, cyclic voltametry, electrochemistry.

1. MỞ ĐẦU

Phenoxyethanol (2-PE) (hay 2-Phenoxyethanol) tên IUPAC 2-Phenoxyethan-1-ol là một hợp chất hữu cơ có công thức phân tử $C_8H_{10}O_2$, công thức cấu tạo như **hình 1C**. Ở điều kiện thường 2-PE là chất lỏng nhớt không màu, nhiệt độ nóng chảy 11-13 °C, nhiệt độ sôi 244-246 °C[1]. 2-PE là một chất độc gây hại thần kinh [2], có khả năng diệt nấm và kháng khuẩn tốt [3]. Từ lâu nó được sử dụng làm chất bảo quản sử dụng phổ biến trong dược phẩm và mỹ phẩm vì nó được đánh giá là an toàn hơn thiomersal [4-7], 2-PE được thêm vào thành phần một số loại vaccine như vaccine phòng viêm gan A Avaxim của Sanofi Pasteur, vaccine bại liệt bất hoạt

imovax polio của Sanofi Pasteur, hay các sản phẩm mỹ phẩm, thậm chí là dược phẩm [8-11] với hàm lượng 2-PE cho phép trong mỹ phẩm và dược phẩm không được vượt quá 1% [5], và phải được kiểm soát chặt chẽ. Với mục đích này, các kỹ thuật sắc ký khác nhau được sử dụng: sắc ký lỏng pha đảo (RP-HPLC) đầu dò quang UV-Vis [6,7], sắc ký khí (GC) với phép đo phổ khối song song [8] và sắc ký mao mạch điện di động đầu dò UV-Vis (MECC) [9]. Những kỹ thuật này được đặc trưng bởi độ nhạy và độ chọn lọc cao, cũng như giới hạn phát hiện và định lượng thấp. Tuy nhiên, chúng cần những thiết bị đắt tiền và thường là quy trình chuẩn bị mẫu phức tạp, bao gồm cả quá trình chiết tách nên đòi hỏi tay nghề cao. Các nhà sản xuất vaccine đã sử dụng

phương pháp HPLC, cột C18, đầu dò quang UV-Vis hoặc tương đương để kiểm soát hàm lượng phenoxyethanol trong các sản phẩm xuất xưởng [10], tuy nhiên các phép phân tích này đòi hỏi người thực hiện có tay nghề cao, tốn thời gian và chi phí phân tích mẫu khá lớn. Do đó trong những năm gần đây đã có một số nghiên cứu thử nghiệm oxi hoá 2-PE trên các điện cực để tìm ra phương pháp phân tích mới để xác định hàm lượng 2-PE nhanh và dễ dàng hơn. Tuy nhiên do phân tử 2-PE rất bền nên quá trình oxi hoá điện hoá khá khó khăn và đến nay vẫn chưa có công bố nào xây dựng thành công phép phân tích điện hoá với 2-PE. Nhóm của Jakubczyk [4] đã nghiên cứu oxi hoá 2-PE trên các điện cực Pt bằng phương pháp quét tuyến tính (Linear sweep voltammetry, LSV) và quét thể tuần hoàn (Cyclic voltammetry -CV) và vôn kế xung vi phân (Differential pulse voltammetry, DPV) trong dung dịch chất điện ly là hỗn hợp acid acetic và acetonitril (20%, v/v) chứa NaClO_4 làm chất điện ly, kết quả thu được cho thấy có peak oxi hóa 2-PE rõ ràng và dòng oxi hóa tuyến tính với nồng độ 2-PE. Tuy nhiên thế peak oxi hóa ($E_p =$

1,8V) và và thế quét (từ 1V đến 2,4V so với điện cực Ag/AgCl) của nghiên cứu này quá cao dẫn đến độ chọn lọc thấp.

Để khắc phục các tồn tại khi phân tích 2-PE bằng phương pháp điện hóa, trong nghiên cứu này chúng tôi khảo sát quá trình oxi hóa 2-PE trên các loại điện cực khác nhau, cũng như tìm ra điều kiện phân tích (khoảng thế, dung dịch điện ly) và cuối cùng là tiến hành phép đo trên mẫu thực để đánh giá khả năng phân tích 2-PE bằng phương pháp điện hóa.

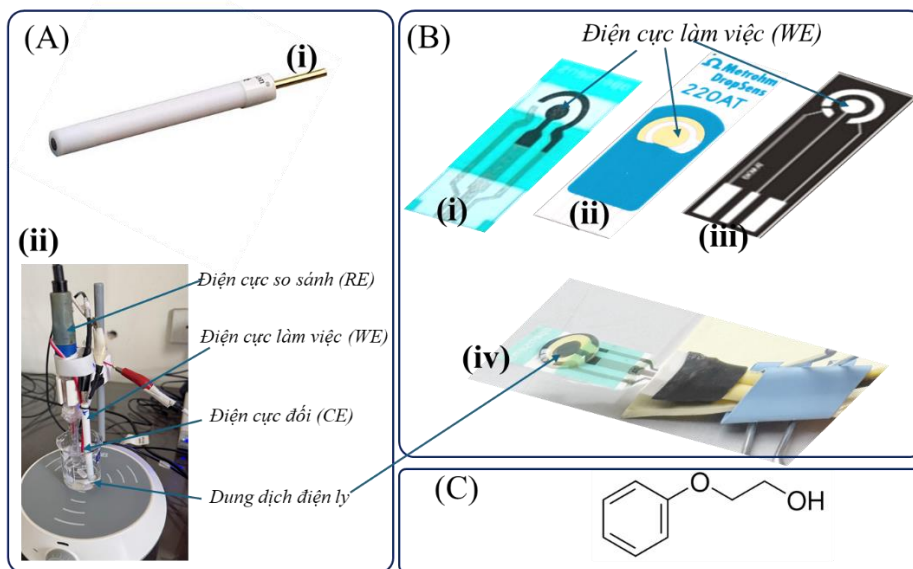
2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hoá chất, thuốc thử

Phenoxyethanol (2-PE, công thức cấu tạo trên hình 1C, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich), natri acetate trihydrate $> 99.0\%$, Merck), acid cetic (99,8%, Merck), phosphate buffer solution (PBS, pH7.4, Sigma Aldrich).

2.2. Thiết bị

Thiết bị điện hoá DY2200 Series Potentiostat (Digi-Ivy, Mỹ) kèm phần mềm đo đặc và xử lý DY2213. Hệ điện hoá để oxi hóa 2-PE gồm hai loại:



Hình 1. (A) Điện cực GCE(i) và hệ đo ba điện cực truyền thống (ii); (B) các điện cực tích hợp (i đến iii) và hệ đo với điện cực tích hợp (iv); (C) công thức cấu tạo của Phenoxyethanol (2-PE)

(1) Hệ điện hóa sử dụng điện cực than thủy tinh (GCE, **hình 1A**, i) hoặc điện cực vàng (AuE) làm điện cực làm việc (WE), điện cực đối (CE) là dây Pt và điện cực so sánh (RE) là điện cực Ag/AgCl trong dung dịch KCl (Metrohm, Netherland) được lắp như **hình 1A** (ii).

(2) Hệ điện cực tích hợp, trong đó cả ba điện cực tích hợp trên một tấm, trong đó điện cực làm việc là carbon (ký hiệu SPCE, **hình 1B**, i), vàng (ký hiệu Au-SPE, **hình 1B**, ii) hoặc Platin (ký hiệu Pt-SPE, **hình 1B**, iii). Với hệ điện cực này chỉ cần 0,5mL dung dịch điện ly cho một lần phân tích (**hình 1B**, iv)

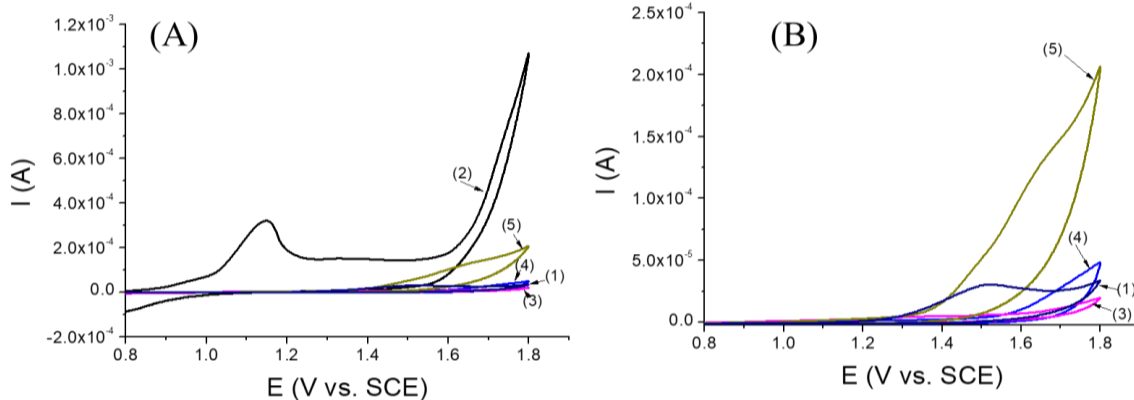
Quá trình oxi hóa 2-PE được khảo sát bằng phổ quét thế tuần hoàn (CV) với tốc độ quét 50 mVs^{-1} trong khoảng thế từ 0,8V đến 1,8V (so với điện cực Ag/AgCl). Để định lượng nồng độ 2-PE thì phổ xung sóng vuông (Square Wave Voltammetry-SWV) cũng được sử dụng để khảo sát.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát với các loại điện cực

Tiến hành phép đo CV với dung dịch mẫu là dung dịch đệm acetat pH = 7,0 được

cho thêm 2-PE vào đến nồng độ 5mM, tốc độ quét 50 mVs^{-1} , khoảng thế quét từ 0,8V đến 1,8 V. Lần lượt thay từng loại điện cực: điện cực GCE, điện cực vàng AuE, điện cực vàng mạch in Au-SPE, điện cực mạch in bạch kim Pt-SPE và điện cực mạch in cacbon (SPCE) cho kết quả như trên **hình 2**. Kết quả cho thấy không có sự oxi hoá của PE trên các loại điện cực GCE (đường 4), Au-SCPE, AuE (đường 3). Điện cực SPCE (đường 5) có hai peak oxi hóa lần lượt ở $E_p = 1,5\text{V}$ và $E_p=1,65\text{V}$ có thể do bề mặt không đồng nhất của SPCE nên có 02 thế oxi hóa, cũng có thể oxi hóa 02 nấc của 2-PE vì vậy trong trường hợp này SPCE cũng không là sự lựa chọn tốt. Điện cực Au-SPE (đường 2) có một peak oxi hóa ở $E_p = 1,1\text{V}$ tuy nhiên peak này không phải là oxi hóa 2-PE vì chỉ xuất hiện ở vòng quét đầu tiên nên điện cực Au-SPE cũng không sử dụng được để oxi hóa 2-PE. Chỉ còn điện cực Pt-SPE (đường 1) có peak oxi hoá quan sát được rõ ràng ở thế $E_p = 1,45\text{V}$, thấp hơn nhiều với điện cực Pt dạng tấm đã công bố[4]. Qua khảo sát này có thể thấy điện cực Pt-SPE là phù hợp nhất để phân tích 2-PE.



Hình 2. Phổ CV ghi trên các điện cực khác nhau: (1) Pt-SPE; (2) Au-SPE; (3) AuE; (4) GCE và (5) SPCE trong dung dịch có 5 mM 2-PE trong đệm acetat pH=7,0. Hình B là phóng to các đường 1,3,4,5 của hình A. Điều kiện đo tốc độ quét: 50 mVs^{-1} ; thế quét: 0,8V đến 1,8V.

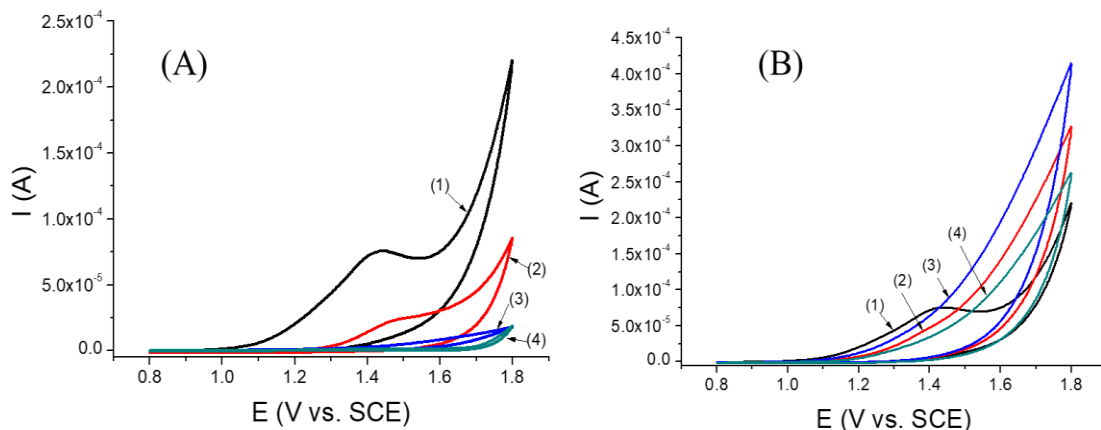
3.2. Khảo sát dung dịch điện ly

Hình 3A là phổ CV của điện cực Pt-SPE ghi trong các dung dịch đệm khác

nau: acetat pH = 7, dung dịch đệm PBS, dung môi 2-propanol bổ sung NaClO_4 hoặc dung môi acetone nitril bổ sung

NaClO_4 được cho thêm 2-PE vào đến nồng độ 5mM, tốc độ quét 50 mV/s, khoảng quét 0,8-1,8 V. Kết quả nghiên

cứu cho thấy peak oxi hoá của 2-PE trong dung dịch chất điện ly acetat pH = 7 là rõ ràng hơn cả.



Hình 3. (A) Phổ CV ghi trên điện cực Pt-SPE trong dung dịch 5 mM 2-PE với dung dịch chất điện ly là: (1) đệm acetat pH = 7; (2) dung dịch PBS; (3) dung môi 2-propanol bổ sung 0,1 mM NaClO_4 và (4) dung môi acetone nitril bổ sung 0,1 mM NaClO_4 ; (B) Phổ CV ghi trên điện cực Pt-SPE trong dung dịch đệm acetat pH = 7 với sự có mặt của: (1) 5mM 2-PE; (2) 5 mM acid ascorbic; (3) 5 mM glucose và (4) 5 mM saccharose. Điều kiện đo: tốc độ quét 50 mV/s; thế quét: 0,8V đến 1,8V

3.3 Độ chọn lọc và độ ổn định của cảm biến

Với điện cực Pt-SPE và dung dịch đệm acetat pH=7 chúng tôi khảo sát phổ CV với dung dịch mẫu lần lượt là dung dịch 2-PE, ascorbic, glucose, saccharose tất cả đều có mặt trong dung dịch với nồng độ 5 mM cho kết quả như trên **hình 3B**. Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ có dung dịch 2-PE là có peak oxi hoá ở khoảng điện thế 1,45 V. Các dung dịch chứa các chất khác đều không xuất hiện peak oxi hoá cho thấy điều kiện nghiên cứu có độ chọn lọc cao với 2-PE. Để kiểm tra độ ổn định của phép đo, chúng tôi ghi phổ CV của điện cực Pt-SPE trong với dung dịch đệm acetat pH = 7 không có 2-PE và có 2-PE với nồng độ 10 mM ở 6 ngày khác nhau. Kết quả đều cho thấy xuất hiện peak oxi hoá với dung dịch 2-PE 10 mM ở khoảng điện thế 1,45V và cường độ peak gần như trùng nhau; còn dung dịch không có 2-PE thì không xuất hiện peak. Kết quả này cho thấy sự ổn định của phép đo.

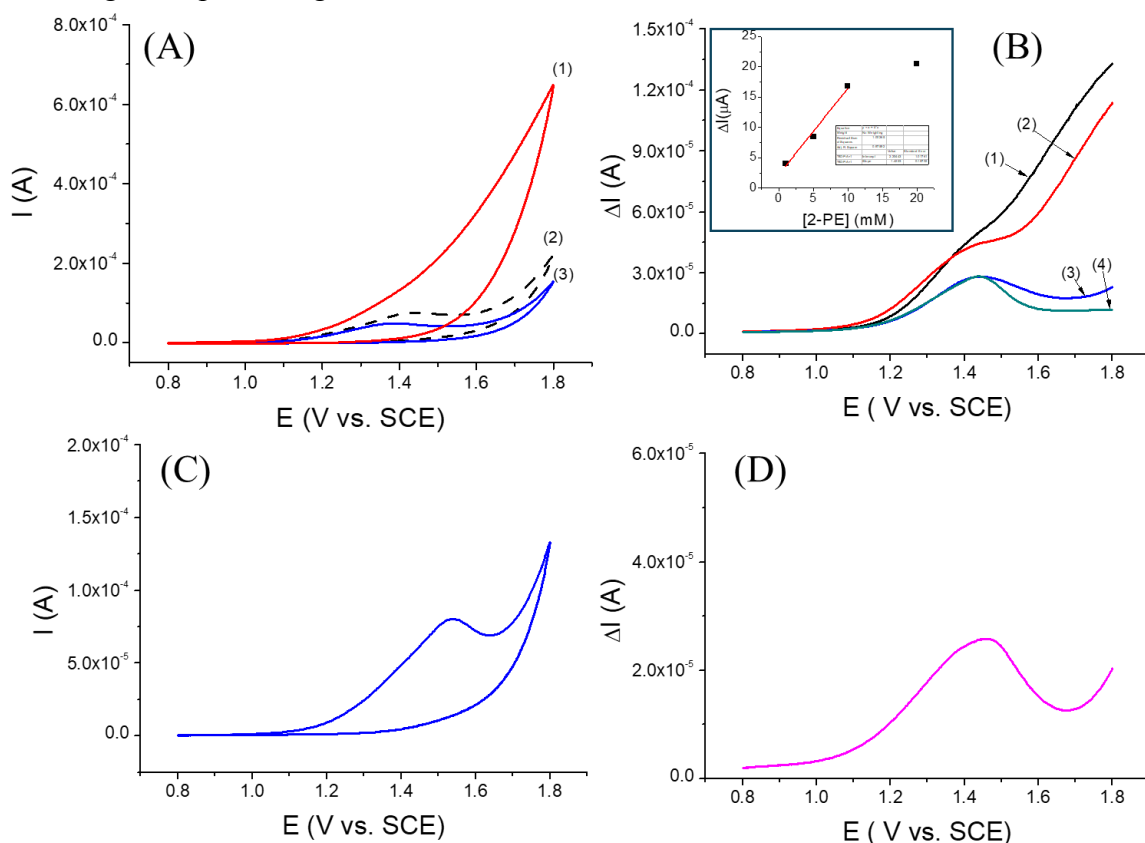
3.4 Khảo sát độ nhạy cảm biến và thử với mẫu thực

Phổ CV của điện cực Pt-SPE ghi trong đệm acetat pH=7 thể hiện trên **hình 4A** cho thấy khi không có 2-PE thì không có peak oxi hóa (đường 1), khi thêm 5 mM 2-PE (đường 2) thì có peak oxi hóa đặc trưng và cường độ peak sẽ giảm nếu tăng nồng độ 2-PE lên 10 mM (đường 3). Như vậy phổ CV phân biệt rõ các nồng độ của 2-PE. Tiến hành phép đo SWV với dung dịch mẫu là dung dịch 2-PE có nồng độ lần lượt là 0,5 mM; 1 mM; 5 mM; 10 mM cho kết quả như trên **hình 4B**.

Có thể thấy khi tăng nồng độ 2-PE thì peak oxi hóa tại điện thế $E_p = 1,45\text{V}$ trên phổ SWV xuất hiện rõ ràng và có thể tính được cường độ peak khi nồng độ trên 0,5mM. **Hình 4C** và **hình 4D** lần lượt là phổ CV và SWV của điện cực Pt-SPE ghi trong đệm acetat pH 7 và bổ sung dung dịch mẫu thực (là mẫu vaccine mô phỏng) được pha loãng 10 lần; cho thấy trên cả phổ CV và SWV đều có peak oxi hoá ở khoảng 1,35-1,55 V, không có píc gây

hiều chứng tỏ trong mẫu có 2-PE. Tín hiệu cường độ peak trên phổ SWV nội suy từ đường chuẩn cho thấy nồng độ 2-PE trong mẫu pha loãng là 9,94mM, tức

nồng độ 2-PE trong mẫu vaccine là 99,4 mM phù hợp với số liệu phân tích bằng phương pháp HPLC thường quy.



Hình 4. (A) Phổ CV của điện cực Pt-SPE ghi trong dung dịch đệm: (1) không có 2-PE; (2) có 5mM 2-PE và (3) 10 mM 2-PE; (B) Phổ SWV ghi trên điện cực Pt-SPE trong dung dịch có nồng độ 2-PE lần lượt là: 0,5 mM (1); 1 mM (2); 5 mM (3); 10 mM (4); (C) phổ CV và (D) phổ SWV của điện cực Pt-SPE khi đo với mẫu thực. Điều kiện đo: đệm acetat pH = 7, đo phổ CV trong khoảng thế 0,8V đến 1,8V (so với Ag/AgCl); tốc độ quét 50 mVs⁻¹.

4. Kết luận

Số liệu thực nghiệm cho thấy khả năng phát hiện phenoxyethanol của điện cực bạch kim là tốt hơn cả, dung dịch chất điện ly đệm acetat pH 7 cho tín hiệu tốt nhất, các phép đo cho thấy tính chọn lọc và độ nhạy tốt, có sự tuyến tính của các dung dịch kiểm tra nồng độ phenoxyethanol từ 0,5 mM đến 20 mM là cơ sở để xây dựng phương pháp định lượng. Khảo sát trên mẫu thực cũng cho ra peak tương tự với dung dịch mẫu 2-PE tinh khiết, không có các pic gây nhiễu và cho kết quả sát với

phương pháp HPLC cho thấy việc xây dựng một phương pháp điện hoá phát hiện nhanh phenoxyethanol là khả thi. Bước tiếp theo, chúng tôi sẽ tập trung khảo sát kỹ hơn về độ nhạy cũng như mở rộng khảo sát độ chọn lọc của của cảm biến để phát triển thành phương pháp phân tích hoàn chỉnh.

Lời cảm ơn: This research is funded by Vietnam National Foundation for Science and Technology Development (NAFOSTED) under grant number 104.03-2021.91.

Cam kết: Tôi xin cam đoan đây là công trình của nhóm nghiên cứu và chưa gửi đăng nội dung này ở bất kỳ tạp chí nào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Merck (2025), *Safety data sheet 2-Phenoxyethanol*. Available at: <https://www.sigmaaldrich.com/VN/en/sds/sial/77699>
2. The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (2025). *Phenoxyethanol*. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenoxyethanol>, Entered Date: 03/May/2025.
3. Morton W.E., (1990). Occupational Phenoxyethanol Neurotoxicity: A Report of Three Cases. *Journal of Occupational Medicine*, **32**(1), 42-45.
4. Jakubczyk M., Michalkiewicz S., (2019). Anodic Oxidation of Phenoxyethanol in Nonaqueous Media. *International Journal of Electrochemical Science*, **14**(7), 6179-6194
5. Geier D.A., Jordan S.K., Geier M.R., (2010). The relative toxicity of compounds used as preservatives in vaccines and biologics, *Medical Science Monitor*, **16**(5), 21-27.
6. Lilienblum W., (2016). Opinion of the Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) - Final version of the opinion on Phenoxyethanol in cosmetic products. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **82**, 156.
7. Borremans M., Loco J.V, Roos P., Goeyens L., (2004). Validation of HPLC Analysis of 2-Phenoxyethanol, 1-Phenoxypropan-2-ol, Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl and Benzyl 4-Hydroxybenzoate (Parabens) in Cosmetic Products, with Emphasis on Decision Limit and Detection Capability. *Chromatographia*, **59**, 47-53.
8. Shabir G.A., (2010). A new validated HPLC method for the simultaneous determination of 2-phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben and propylparaben in a pharmaceutical gel. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **72**(4), 421-425.
9. Alvarez-Rivera G., Vila, M. Lores M., Garcia-Jares C., Llompart M., (2014). Development of a multi-preservative method based on solid-phase microextraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry for cosmetic analysis. *Journal of Chromatography A*, **1339**, 13-25.
10. Huang J.Q., Hu C.C., Chiu T.C., (2013). Determination of seven preservatives in cosmetic products by micellar electrokinetic chromatography. *International Journal of Cosmetic Science*, **35**(4), 346-353.
11. Sharma B., Joseph A., Sood A., (2008). A simple and rapid method for quantifying 2-phenoxyethanol (2-PE) in Diphtheria, Tetanus and w-Pertussis (DTwP) vaccine. *Biologicals*, **36** (1) 61-63.