

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO ĐIỆN CỰC GLASSY CARBON BIẾN TÍNH BẰNG GRAPHENE OXIDE DẠNG KHỬ VÀ ỨNG DỤNG PHÂN TÍCH AMARANTH TRONG MẪU KẸO BẰNG PHƯƠNG PHÁP VON-AMPE

Đến tòa soạn 19-04-2023

Lê Thị Hương Giang, Phạm Thị Thanh Nhân, Nguyễn Mùa Xuân, Hoàng Thị Hoa, Nguyễn Thị Sơn, Đặng Minh Hương Giang, Bùi Xuân Thành, Tạ Thị Thảo, Nguyễn Thị Kim Thường*

Khoa Hóa học, Trường Đại Học Khoa học Tự Nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

* Email: kimthuongbibi@gmail.com

SUMMARY

FABRICATION OF REDUCED GRAPHENE OXIDE MODIFIED GLASSY CARBON ELECTRODE BY ELECTROCHEMICAL REDUCTION AND ITS DETERMINATION OF AMARANTH IN CANDY SAMPLES BY VOLTAMMETRY

The glassy carbon electrode modified with reduced graphene oxide (ErGO/GCE) was fabricated by electrochemical reduction using cyclic voltammetry with conditions: graphene oxide 1 mg/mL, pH = 7: potential range from -1.5 V to 0 V. The ErGO/GCE was applied to determine amaranth in food with optimal conditions such as Britton-Robinson buffer pH 3.0, adsorption potential 0 V, adsorption time 30 s, scan rate 20 mV/s, linearity range from 1×10^{-7} mol. L⁻¹ to 1×10^{-6} mol. L⁻¹, limit of detection 3×10^{-8} mol. L⁻¹ and limit of quantification 10×10^{-8} mol. L⁻¹. The proposed method was applied to determine amaranth in candy samples.

Keyword: Voltammetry, ErGO/GCE, reduced graphene oxide, amaranth.

1. MỞ ĐẦU

Graphene oxide (GO) và graphene oxide dạng khử (rGO) là vật liệu có nhiều hứa hẹn trong chế tạo sensor điện hóa nhằm ứng dụng trong phân tích. Graphene oxide được tổng hợp từ graphite bằng phương pháp oxi hóa nên cấu trúc GO có chứa nhóm chức hydroxyl (–OH), epoxy (C – O – C), cacboxyl (–COOH) và cacbonyl (C=O).

Đặc tính về cấu tạo và hình thái của GO phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện tổng hợp. Tuy nhiên, điểm hạn chế của GO khi áp dụng trong lĩnh vực chế tạo sensor điện hóa là độ dẫn điện rất thấp, tín hiệu đo cường độ dòng thấp do khả năng trao đổi điện tử của các chất phân tích trên bề mặt sensor điện hóa đó kém, không thể xác định được khi hàm lượng chất cần xác định nhỏ. Chính vì vậy, cần phải tiến hành loại bỏ một số nhóm chức chứa oxy

trên bề mặt của GO bằng phương pháp khử điện hóa. Graphene oxide được khử bằng phương pháp điện hóa khi áp thế và phân cực bằng phương pháp von-ampe vòng đã tiết kiệm thời gian, không sử dụng các hóa chất độc hại, nguy hiểm, thân thiện với môi trường. Hơn nữa, điểm đặc biệt của quá trình khử điện hóa trực tiếp trên bề mặt điện cực sẽ không bị nhiễm bẩn hóa chất do dư thừa và dễ làm sạch bằng cách phân cực ngược trở lại. Điện cực sau khi biến tính được sử dụng để phân tích amaranth trong mẫu thực phẩm.

Như chúng ta đã biết, amaranth (E123) là thuốc nhuộm azo màu đỏ rất đẹp, được sử dụng nhiều trong chế biến thực phẩm như làm bánh ngọt, thạch, kẹo, ngũ cốc, các sản phẩm từ sữa, xúc xích, nước giải khát.... Amaranth có thể gây viêm mũi, nổi mề đay, ảnh hưởng tiêu cực đến hoạt

động của gan và thận, có tác hại đến chức năng sinh sản của con người, nó đã được chứng minh là có thể gây ra bệnh hen suyễn, chàm và tăng động. Các nghiên cứu được công bố tại Hoa Kỳ năm 1976 cho thấy việc sử dụng thuốc nhuộm E123 dẫn đến tăng khả năng hình thành các khối u ung thư trong cơ thể chuột. Sau đó, phụ gia E123 bị cấm sử dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm của Mỹ. Cũng có thông tin cho rằng amaranth có thể gây quái thai (dị tật bẩm sinh) và dị tật tim ở thai nhi, thai chết lưu và vô sinh. Tại Việt Nam, theo thông tư số 24/2019/TT-BYT đã quy định mức sử dụng tối đa amaranth trong thực phẩm là 100 mg/kg [1]. Do vậy, việc nghiên cứu phát triển phương pháp phân tích amaranth trong thực phẩm có độ nhạy và độ chọn lọc cao rất cần thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

Trên thế giới, đã có nhiều công trình nghiên cứu xác định các phẩm màu nhóm azo. Một số phương pháp điển hình để xác định đó là phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử [2], phương pháp sắc kí lỏng [3-5] và phương pháp von-ampe [6-10]. Trong đó, phương pháp sắc kí lỏng có thể xác định được đồng thời các chất màu trong cùng một hỗn hợp nhưng chi phí phân tích cao, yêu cầu xử lý mẫu phức tạp, tốn dung môi. Phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử thì độ hấp thụ quang có tính chất cộng tính nên các chất có màu tương tự sẽ ảnh hưởng đến kết quả đo. Phương pháp von-ampe có thể xác định được riêng hoặc đồng thời một số chất màu trong mẫu mà không cần xử lý mẫu phức tạp, quy trình phân tích đơn giản, nhanh và chi phí thấp. Vì vậy, chúng tôi đã lựa chọn phương pháp von-ampe để xác định amaranth trong một số mẫu kẹo.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị

Các kết quả nghiên cứu được đo trên thiết bị phân tích điện hóa Metrohn 663 VA stand Autolab có ghép nối với máy tính và phần mềm điều khiển. Hệ đo gồm 3 điện cực: Điện cực so sánh là điện cực bạc clorua Ag/AgCl/KCl 3M; Điện cực phụ trợ là thanh cacbon; Điện cực làm việc là điện cực glassy carbon biến tính graphene oxide dạng khử (ErGO/GCE).

2.2. Hoá chất

Tất cả các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu là tinh khiết phân tích (p.A, Merck).

Dung dịch chuẩn amaranth 10^{-3} mol.L⁻¹ được bảo quản trong lọ màu nâu ở 5°C. Các dung dịch chuẩn có nồng độ nhỏ hơn được pha hàng ngày.

Dung dịch đệm Britton-Robinson được pha từ hỗn hợp axit H₃PO₄, H₃BO₃, CH₃COOH và NaOH.

2.3. Quy trình tổng hợp graphene oxide

Cho 0,500 g bột graphite vào 60 mL dung dịch H₂SO₄ 98% và H₃PO₄ 85% (9:1), khuấy đều hỗn hợp trong dung dịch nước đá muối ở nhiệt độ dưới 10°C. Thêm 0,010 g H₃BO₃ để ổn định môi trường để phản ứng xảy ra êm dịu.

Thêm từ từ 3,0 g KMnO₄ vào hỗn hợp phản ứng, sau đó gia nhiệt lên 35°C duy trì phản ứng trong 3 giờ. Sau đó thêm từ từ 30 mL H₂O, gia nhiệt lên 98°C trong 15 phút để phản ứng oxi hóa xảy ra hoàn toàn, rồi để nguội ở nhiệt độ phòng.

Thêm từ từ H₂O₂ để xử lý KMnO₄ dư. Sau đó li tâm và sấy ở nhiệt độ 60°C trong 6 giờ.

2.4. Quy trình biến tính điện cực

Graphite oxide (1 mg/1mL) được phân tán trong nước cất hai lần, rung siêu âm 60 phút được dung dịch graphene oxide.

Điện cực glassy carbon được biến tính bằng phương pháp khử điện hóa với các điều kiện dung dịch graphene oxide 1 mg/1mL, thế điện phân -1,5 V, thời gian điện phân 60 s, ghi đường von-ampe vòng từ -1,5 V đến 0 V với tốc độ quét 0,03 V/s. Sau đó, tráng cẩn thận hệ điện cực bằng nước cất, bề mặt điện cực glassy carbon được phủ một lớp graphene oxide dạng khử (ErGO/GCE).

2.5. Quy trình xác định amaranth trong mẫu kẹo

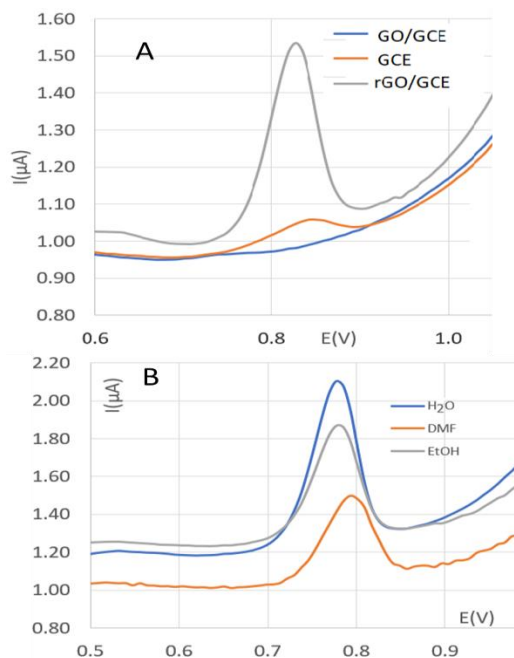
Mẫu kẹo được nghiền nhỏ, trộn đều. Sau đó, cân chính xác a (gam) bột kẹo, thêm 15,0 mL nước cất, rung siêu âm tới khi mẫu tan hết. Cho dung dịch vào bình định mức 25,0 mL và định mức bằng nước cất tới vạch, sau đó đem lọc qua giấy lọc thu được dung dịch A. Lấy V(mL) dung dịch A cho vào bình định mức 50,0 mL, thêm 10,0 mL dung dịch đệm pH = 3, định mức bằng nước cất tới vạch mức, lắc đều, cho vào bình điện hóa và tiến hành đo với các điều kiện đã được tối ưu.

Nồng độ amaranth trong mẫu được xác định bằng phương pháp thêm chuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu các điều kiện biến tính điện cực

Để lựa chọn được điện cực phù hợp xác định amaranth trong mẫu thực phẩm, nhóm nghiên cứu đã ghi đường von-ampe hòa tan với điện cực glassy carbon trần (GCE), điện cực glassy carbon phủ graphene oxide (GO/GCE) và điện cực glassy carbon biến tính graphene oxide dạng khử (rGO/GCE). Kết quả đo đường von-ampe biểu diễn trên hình 1.A.



Hình 1: A) Đường von-ampe hòa tan amaranth phụ thuộc vào điện cực làm việc.

B) Đường von-ampe hòa tan amaranth sử dụng điện cực biến tính với GO phân tán trong dung môi nước, etanol, DMF

Hình 1. A cho thấy, đường von-ampe hòa tan của amaranth khi sử dụng điện cực GO/GCE không xuất hiện tín hiệu trong khoảng thế đo, điện cực GCE cho tín hiệu cường độ dòng thấp, trong khi đó điện cực rGO/GCE cho tín hiệu cường độ dòng cao nhất, điều này chứng tỏ rằng graphene oxide dạng khử có ưu điểm vượt trội hơn graphene oxide, rất tiềm năng trong việc chế tạo sensor điện hóa. Kết quả thu được hình 1.A có thể giải thích, màng graphene oxide sau khi khử nhóm chức chứa oxi có độ dẫn điện cao, tăng khả năng trao

đổi electron trên bề mặt điện cực nên tín hiệu cường độ dòng tăng mạnh so với điện cực GCE và GO/GCE.

Khảo sát ảnh hưởng của dung môi:

Graphite oxide sau khi tổng hợp theo quy trình 2.3 được phân tán trong dung môi etanol (EtOH), nước (H₂O) và dimethylformamide (DMF). Dung dịch GO 1 mg/mL được rung siêu âm 60 phút được graphene oxide. Quan sát dung dịch cho thấy, graphene oxide phân tán tốt trong nước và DMF, đồng nhất sau một tuần. Trong khi đó, graphene oxide phân tán trong etanol bắt đầu lắng đọng sau 30 phút và sau một tuần lắng đọng hoàn toàn. Dung dịch graphene oxide 1 mg/mL được sử dụng để biến tính điện cực bằng phương pháp khử điện hóa. Đường von-ampe hòa tan hấp phụ amaranth sử dụng điện cực glassy carbon biến tính graphene oxide dạng khử trong dung môi nước, etanol và dimethylformade (hình 1.B).

Kết quả hình 1.B cho thấy, đường von-ampe hòa tan của điện cực biến tính trong dung môi nước cho tín hiệu cường độ dòng cao hơn trong dung môi etanol và dimethylformamide. Hơn nữa, graphene oxide phân tán trong nước tốt, không độc hại, tiết kiệm. Do vậy, dung môi nước được chọn để phân tán graphite oxide.

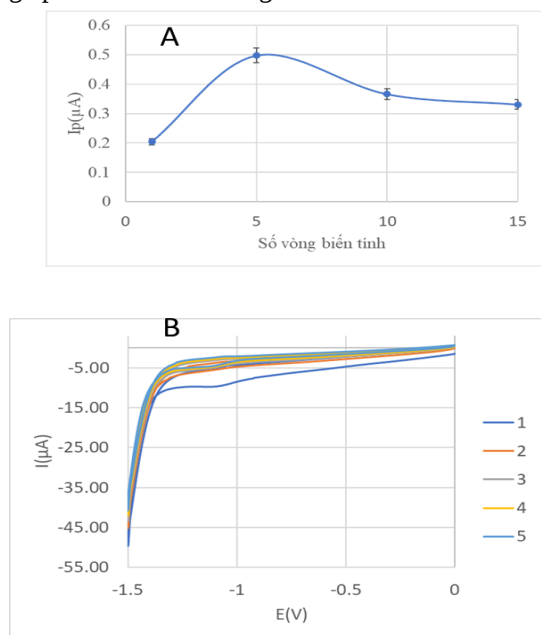
- *Khảo sát ảnh hưởng của số vòng khử graphene oxide bằng phương pháp von-ampe vòng.*

Điều kiện đo: Nồng độ Amaranth 10^{-6} M, khoảng quét thế từ -1,5 V đến 0 V, thế điện phân -1,5 V, thời gian điện phân 60 s, tốc độ quét 0,03 V/s, thay đổi số vòng quét phân cực điện cực. Kết quả đo cường độ dòng amaranth phụ thuộc vào số vòng đường CV biến tính điện cực (hình 2.A).

Qua kết quả khảo sát cho thấy, cường độ dòng peak cao nhất khi sử dụng điện cực glassy carbon biến tính graphene oxide dạng khử bằng phương pháp điện hóa kỹ thuật von-ampe phân cực 5 vòng.

Hình 2.B cho thấy, khi phân cực, đường von-ampe vòng đầu tiên (đường 1) có tín hiệu pic khử trên đường phân cực catot tại thế -1,09 V do xảy ra quá trình khử của các nhóm chức chứa oxi, dung dịch trong bình điện hóa sủi bọt khí, các vòng tiếp theo cường độ khử giảm dần và không xuất hiện nữa. Nếu điện cực biến tính với số vòng phân cực lớn hơn 5 vòng thì tín hiệu bắt đầu giảm, kết quả đo lặp

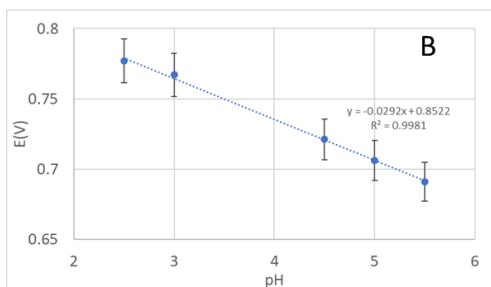
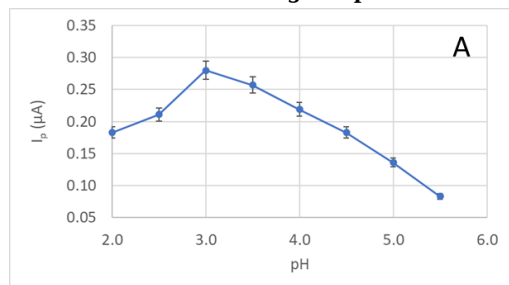
lại kém hơn nên chúng tôi chọn số vòng khử graphene oxide là 5 vòng.



Hình 2. A) Cường độ dòng phụ thuộc vào số vòng biến tính điện cực; B) Đường CV phân cực 5 vòng

3.2. Tối ưu hóa các điều kiện xác định amaranth sử dụng điện cực rGO/GCE

3.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của pH

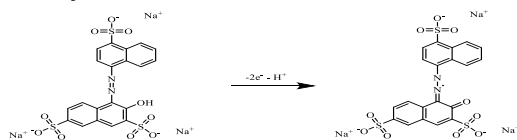


Hình 3: A) Cường độ dòng phụ thuộc vào pH B) Thế đỉnh peak khử phụ thuộc vào pH

Qua tham khảo tài liệu thấy rằng, nồng độ H^+ có tham gia vào phản ứng điện hóa nên sẽ ảnh hưởng

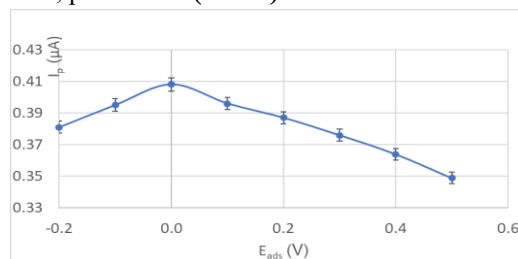
đến tín hiệu cường độ dòng và thế đỉnh pic. Với các điều kiện đo: Nồng độ amaranth 10^{-6} M, thế hấp phụ 0 V, thời gian hấp phụ 30 s, khoảng quét thế từ 0,5 V đến 1,0 V, thay đổi pH từ 2,0 đến 5,5. Kết quả đo được trình bày trên hình 3 A và hình 3 B.

Từ kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH cho thấy, cường độ dòng peak cao nhất tại pH = 3,0 và khi pH tăng thì thế đỉnh peak dịch chuyển tuyến tính về catot theo phương trình $E_p = 0,0292 \text{ pH} + 0,8522$. Với hệ số góc là 0,0292 thì số electron trao đổi trong phản ứng điện hóa là 2, số proton trao đổi là $1 H^+$ theo phương trình phản ứng điện hóa xảy ra trên bề mặt điện cực như sau:



3.2.2. Khảo sát ảnh hưởng thế hấp phụ và thời gian hấp phụ

Amaranth có hấp phụ lên bề mặt điện cực khi thay đổi thế hấp phụ từ -0,2 V đến 0,5 V với thời gian hấp phụ 30 s. Kết quả khảo sát cho thấy, tại thế hấp phụ 0 V thì cường độ dòng pic oxi hóa là cao nhất, pic cân đối (hình 4).



Hình 4: Sự phụ thuộc cường độ dòng vào thế hấp phụ

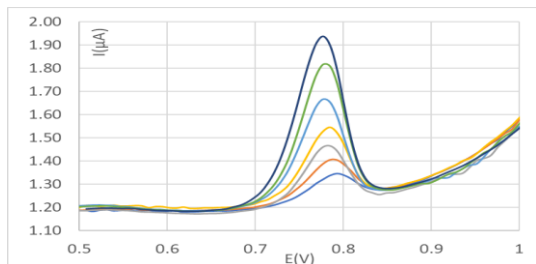
Khi thay đổi thời gian hấp phụ từ 0 s đến 90 s thấy rằng, tín hiệu cường độ dòng tăng đều từ 0 s đến 50 s, sau đó bắt đầu giảm dần khi thời gian hấp phụ lớn hơn 60 s. Do vậy, chúng tôi chọn thời gian hấp phụ 30 s để định lượng amaranth.

3.3. Đánh giá phương pháp phân tích

3.3.1. Khoảng tuyến tính

Đường chuẩn được xây dựng trong khoảng nồng độ từ $1,0 \times 10^{-7}$ M đến $1,0 \times 10^{-6}$ M với các điều kiện đo: pH = 3,0; thế hấp phụ 0 V; thời gian hấp phụ 30 s, tốc độ quét 25 mV/s, khoảng quét thế từ 0,3 V đến 1,0 V. Các đường von-ampe hòa tan phụ

thuộc tuyến tính vào nồng độ amaranth (hình 5). Sự phụ thuộc cường độ dòng peak vào nồng độ amaranth theo phương trình: $I (\mu A) = 0,0674 \times C_x \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1} + 0,0268$, hệ số tương quan $R^2 = 0,9992$.



Hình 5. Đường von-ampe hòa tan phụ thuộc vào nồng độ amaranth

Dựa vào đường chuẩn tính được giới hạn phát hiện (LOD) là $3 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ và giới hạn định lượng (LOQ) là $10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$.

Độ lệch chuẩn tương đối RSD khi đo lặp lại dung dịch amaranth $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ là 1,47 % ($n = 10$) cho thấy phương pháp có độ lặp lại tốt.

Độ chính xác của phương pháp được đánh giá thông qua độ thu hồi, nồng độ amaranth được thêm vào mẫu trắng (kẹo sữa trắng) là $3 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$, $5 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$, $7 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$, $10 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$, xử lý mẫu theo quy trình 2.5. Độ thu hồi cao, dao động trong khoảng từ 96 % đến 104%. Phương pháp có độ chính xác cao, có thể áp dụng để phân tích mẫu thực phẩm.

3.4. Áp dụng phân tích mẫu kẹo

Quy trình xử lý mẫu theo mục 2.5 đã được khảo sát. Hàm lượng amaranth trong mẫu kẹo được xác định bằng phương pháp thêm chuẩn và mẫu được đem đo đối chứng với phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC), kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1: Kết quả phân tích hàm lượng amaranth trong mẫu kẹo

TT	Mẫu	Hàm lượng amaranth trong mẫu (mg/kg)	
		AdSV	HPLC
1	Lotte 100	<0,01	<0,30
2	Play	<0,01	<0,30
3	Chip chip	<0,01	<0,30
4	Sugus	<0,01	<0,30

Như vậy, qua kết quả phân tích mẫu thực tế cho thấy, không phát hiện thấy amaranth trong một số mẫu kẹo được lấy mang đi phân tích. Kết quả được so sánh với phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC), kết quả phù hợp với phương pháp nghiên cứu, không khác nhau có ý nghĩa thống kê với phương pháp HPLC.

4. KẾT LUẬN

Amaranth có đặc tính oxi hóa bất thuận nghịch trên điện cực glassy carbon biến tính bằng graphene oxide dạng khử.

Đã tối ưu hóa được các điều kiện biến tính điện cực và quy trình xác định amaranth trong mẫu kẹo bằng phương pháp von-ampe hòa tan anot hấp phụ xung vi phân. Phương pháp được đánh giá có độ nhạy, độ chọn lọc và độ chính xác cao, có thể áp dụng để phân tích hàm lượng amaranth trong các mẫu thực phẩm.

Cảm ơn tài trợ:

“Nghiên cứu này được tiến hành trong khuôn khổ đề tài QG 22.16. của ĐHQGHN”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y tế, Thông tư số 24/2019/TT-BYT ngày 30 tháng 8 năm 2019 thông tư Quy định về quản lý và sử dụng phụ gia thực phẩm, Hà Nội, 2019.
- [2] Li, R., et al., (2011). Spectrophotometric Determination of Amaranth colorant concentration in foods after preconcentrating with β -Cyclodextrin polymer. *Analytical Chemistry Letters*, **1**(1), 8-15.
- [3] Miniotti, K.S., C.F. Sakellariou, and N.S. Thomaidis, (2007). Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytica Chimica Acta*, **583**(1), 103-110.
- [4] Yoshioka, N. and K. Ichihashi, (2008). Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. *Talanta*, **74**(5), 1408-13.
- [5] Qi, P., et al., (2015). Fast and simultaneous determination of eleven synthetic color additives in flour and meat products by liquid chromatography coupled with diode-array detector and tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, **181**, 101-110.

- [6] Perdomo, Y., et al., (2017). Adsorptive stripping voltammetric determination of amaranth and tartrazine in drinks and gelatins using a screen-printed carbon electrode. *Sensors*, **17**(11), 2665.
- [7] Zhang, Q., et al., (2022). An electrochemical method for determination of amaranth in drinks using functionalized graphene oxide/chitosan/ionic liquid nanocomposite supported nanoporous gold. *Food Chemistry*, **367**, 130727.
- [8] Pogacean, F., et al., (2018). Graphene/TiO₂ - Ag based composites used as sensitive electrode materials for amaranth electrochemical detection and degradation. *Journal of the electrochemical society*, **8**(165), B3054-B3059.
- [9] Beitollahi, H., et al., (2022). A novel voltammetric amaranth sensor based on screen printed electrode modified with polypyrrole nanotubes. *Environmental Research*, **214**, 113725.
- [10] Lipskikh, O.I., et al., (2018). Sensors for voltammetric determination of food azo dyes - A critical review. *Electrochimica Acta*, **260**, 974-985.