

CẢM BIẾN ĐIỆN HÓA PHÁT HIỆN CHLORAMPHENICOL TRONG MẪU THỊT LỢN SỬ DỤNG ĐIỆN CỰC IN CACBON TÍCH HỢP (SPE) BIẾN TÍNH VỚI TẤM NANO MoS_2

A ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR DETECTION OF CHLORAMPHENICOL IN PORK SAMPLE USING SCREEN PRINTED CARBON ELECTRODES (SPE) MODIFIED WITH MoS_2 NANOSHEET

Ngô Xuân Đình^{1*}, Hoàng Văn Tuấn¹, Nguyễn Văn Quý², Vũ Đình Lâm³, Lê Anh Tuấn^{1*}

¹*Viện Nghiên cứu nano, Trường Đại học Phenikaa*

²*Viện Đào tạo Quốc tế về Khoa học vật liệu, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội*

³*Học viện Khoa học và công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

Đến Tòa soạn ngày 09/08/2021, chấp nhận đăng ngày 28/08/2021

Tóm tắt: Việc lạm dụng, sử dụng bất hợp pháp thuốc kháng sinh trong chăn nuôi đã tạo ra lượng tồn dư kháng sinh trong các sản phẩm từ thịt, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phát triển thành công cảm biến điện hóa cầm tay trên cơ sở điện cực in cacbon tích hợp (SPE) biến tính với tấm nano MoS_2 (SPE- MoS_2) cho phát hiện nhanh dư lượng thuốc kháng sinh chloramphenicol (CAP) trong các mẫu thịt lợn. Đặc tính lý hóa của tấm nano MoS_2 và các điện cực biến tính được phân tích bằng phương pháp nhiễu xạ tia X, chụp ảnh hiển vi điện tử quét, phổ hồng ngoại biến đổi Fourier và phổ tán xạ Raman. Kết quả thử nghiệm cho thấy, cảm biến điện hóa sử dụng điện cực SPE- MoS_2 có thể phát hiện CAP trong khoảng 0,5-50 μM với độ nhạy điện hóa 2,79 $\mu\text{A} \cdot \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ và giới hạn phát hiện là 61 nM. Nghiên cứu của chúng tôi chứng tỏ rằng cảm biến điện hóa cầm tay dựa trên vật liệu tấm nano MoS_2 có tiềm năng ứng dụng trong việc phát hiện nhanh dư lượng các chất kháng sinh khác nhau trong các mẫu thực phẩm với độ nhạy và độ ổn định cao.

Từ khóa: Chloramphenicol, cảm biến điện hóa, tấm nano MoS_2 .

Abstract: The overuse and illegal use of antibiotics in livestock created the antibiotic residues in meat products, presents serious risks for human health. In this study, we developed the portable electrochemical sensor based on screen printed carbon electrodes (SPE) modified with MoS_2 nanosheet for rapid detection of antibiotic chloramphenicol residue in pork samples. The physicochemical properties of MoS_2 nanosheet and modified-electrodes were analyzed by X-ray diffractometer, scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy and Raman spectroscopy. The tested results showed that the SPE- MoS_2 based-portable electrochemical sensor responded linearly to CAP in the range from 0.5 to 50 μM with electrochemical sensitivity of 2.79 $\mu\text{A} \cdot \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ and a low detection limit of 61 nM. Our work demonstrates that the portable electrochemical sensor based on MoS_2 nanosheet has potential for application in the rapid detection of antibiotic residues in food with high sensitivity and stability.

Keywords: Chloramphenicol, electrochemical sensor, MoS_2 nanosheet.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thuốc kháng sinh được sử dụng rộng rãi trong chăn nuôi tại Việt Nam nhằm mục đích chữa trị một số loại bệnh cũng như kích thích tăng trưởng vật nuôi. Tuy nhiên, việc lạm dụng và sử dụng bất hợp pháp thuốc kháng sinh có thể gây ra những ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng do lượng tồn dư kháng sinh trong các sản phẩm từ thịt. Chloramphenicol (CAP) là một loại thuốc kháng sinh dòng phenol phổ rộng có thể điều trị nhiều loại bệnh trên vật nuôi. Dư lượng CAP trong thịt, sữa và trứng có thể tích tụ trong cơ thể người dùng gây ra bệnh thiếu máu bất sản, hội chứng xám trên trẻ sơ sinh và ức chế tủy xương... [1]. Do đó, CAP đã bị cấm sử dụng trong chăn nuôi ở nhiều quốc gia trên thế giới. Đặc biệt ở Việt Nam, theo thông tư số 10/2016/TT-BNNPTNT ngày 01/6/2016 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, CAP là một trong những thuốc kháng sinh bị cấm sử dụng và lưu hành ở Việt Nam. Nhìn chung, việc phát hiện và định lượng CAP trong các mẫu thịt thường dựa trên các phương pháp phân tích truyền thống như HPLC, LC-MS, hoặc xét nghiệm miễn dịch. Các phương pháp này có độ nhạy và ổn định cao nhưng thường yêu cầu trang bị các thiết bị đắt tiền, kỹ thuật viên chuyên nghiệp, tốn thời gian. Bởi vậy, nhu cầu về việc phát triển các phương pháp đơn giản có thể phát hiện nhanh CAP là cần thiết.

Cảm biến điện hóa là một kỹ thuật đơn giản và đáp ứng nhanh được sử dụng rộng rãi trong phân tích và định lượng các hợp chất hóa học. Bên cạnh đó, việc ứng dụng các vật liệu nano vào cảm biến điện hóa nhằm tăng cường tín hiệu phát hiện đã mở ra một bước phát triển mới trong lĩnh vực cảm biến điện hóa [2]. Trong đó, các vật liệu có cấu trúc 2D với diện tích bề mặt riêng lớn, khả năng xúc tác điện

hóa tốt là ứng cử viên sáng giá cho các ứng dụng trong cảm biến điện hóa tiên tiến.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phát triển một hệ thiết bị cảm biến điện hóa cầm tay dựa trên điện cực SPE biến tính với tấm nano MoS₂ nhằm phát hiện nhanh CAP sử dụng phương pháp von-ampe xung vi phân. Cảm biến đã được thử nghiệm phát hiện CAP trong các mẫu thịt lợn qua phương pháp thêm chuẩn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu và hóa chất

Bột MoS₂ (98%, < 2 μ m, Sigma-Aldrich), K₃[Fe(CN)₆], K₄[Fe(CN)₆], 98,5% KCl (Sigma-Aldrich). Dung dịch đệm PBS (0.1 M, pH 7.2) được pha từ các muối NaCl, KCl, Na₂HPO₄•12H₂O, và KH₂PO₄ (>99%, Merck). Độ pH của dung dịch đệm được điều chỉnh dùng dung dịch NaOH (2M) và dung dịch H₃PO₄ (0,1 M).

Điện cực cacbon in lưới (SPEs-DS110) với diện tích bề mặt của điện cực làm việc 4,0 mm², kích thước L33×W10×H0,5 mm mua của hãng DS Dropsens, Tây Ban Nha.

2.2. Bóc tách MoS₂ bằng phương pháp rung siêu âm

Tấm nano MoS₂ được bóc tách bằng phương pháp rung siêu âm. Đầu tiên, 0,5 g bột MoS₂ được phân tán vào 250 ml dung môi N,N-Dimethylformamide (DMF), sau đó hỗn hợp được rung siêu âm đầu dò trong 2 giờ với công suất 560 W.

2.3. Phương pháp và điều kiện đo điện hóa xác định chloramphenicol

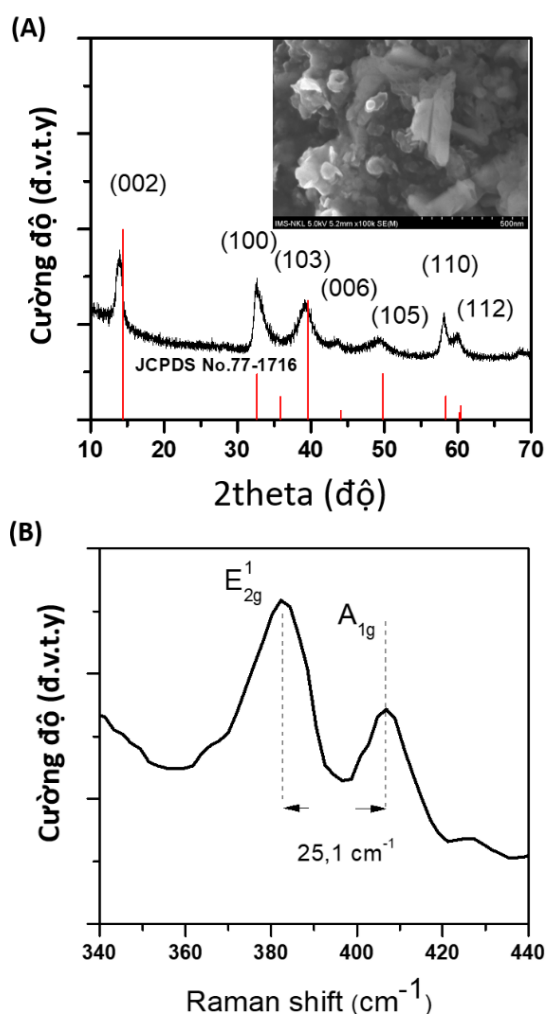
Các phép đo điện hóa được thực hiện trên hệ điện hóa Palmsens4, PS Trace, PalmSens, The Netherlands ở nhiệt độ phòng. Phương pháp quét thế vòng tuần hoàn (CV) và phương pháp

Von-ampe xung vi phân được sử dụng để đánh giá hiệu suất nhạy điện hóa của cảm biến. Phương pháp quét thế vòng tuần hoàn (CV) được thực hiện theo các thông số sau: thời gian tích lũy 120 s, lấy vòng đầu tiên, tốc độ quét 50 mV s^{-1} trong khoảng đo từ -1 V đến 0 V . Phương pháp Von-ampe xung vi phân được thực hiện theo các thông số: tốc độ quét 6 mV s^{-1} , thời gian tích lũy 120s, $E_{\text{pluse}} = 0.075 \text{ V}$, $T_{\text{pulse}} = 0.2 \text{ s}$ trong khoảng thế từ -0.3 đến -0.75 V .

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các tấm nano MoS_2 đã được bóc tách bằng phương pháp rung siêu âm trong dung môi N,N-Dimethylformamide. Cấu trúc tinh thể và khoảng cách giữa hai mặt phẳng mạng liên kề của MoS_2 được phân tích bằng giản đồ nhiễu xạ tia X. Từ hình 1A, ta thấy giản đồ XRD của MoS_2 xuất hiện các đỉnh đặc trưng tại $13,9^\circ$, $32,7^\circ$, $39,5^\circ$, $44,1^\circ$, $49,8^\circ$, $58,3^\circ$ và $60,4^\circ$ tương ứng với các mặt tinh thể (002), (100), (103), (006), (105), (110) và (112) của MoS_2 khối (JCPDS Card no. 77-1716). Tính toán từ đỉnh nhiễu xạ (002) theo định luật Bragg ($n\lambda = 2d \cdot \sin\theta$) ta được khoảng cách giữa hai mặt phẳng mạng liên kề của MoS_2 là 0.64 nm . Từ phương trình Debye-Scherrer, ta tính được kích thước tinh thể là $7,7 \text{ nm}$. Do đó, số lớp MoS_2 của mẫu được xác định vào khoảng 12 lớp. Kết quả cho thấy tấm nano MoS_2 đã được bóc tách thành công bằng phương pháp rung siêu âm. Kết quả phân tích Raman của mẫu MoS_2 sau khi rung siêu âm cũng xác nhận điều này. Hình 1(B) cho thấy phổ Raman của tấm nano MoS_2 với các dải tán xạ đặc trưng E_{2g}^1 và A_{1g} tại $382,1$ và $407,2 \text{ cm}^{-1}$. Sự khác biệt tần số của hai dải tán xạ vào khoảng $25,1 \text{ cm}^{-1}$ cho thấy số lớp của mẫu vào khoảng 12 lớp [3]. Hình thái bề mặt của cảm biến SPE biến tính với tấm nano MoS_2 được quan sát dưới kính hiển vi điện tử truyền qua.

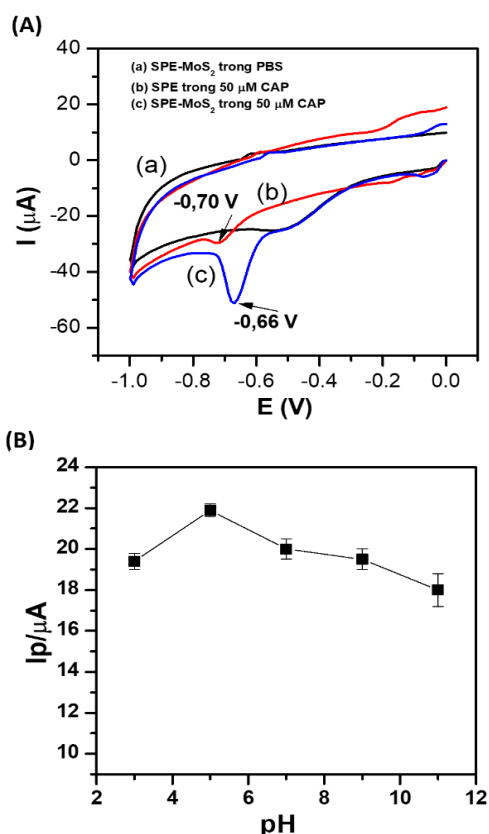
Ảnh SEM của điện cực SPE biến tính với MoS_2 cho thấy các tấm nano MoS_2 với kích thước vào khoảng $100\text{-}200 \text{ nm}$ đã được phủ lên trên bề mặt điện cực cacbon (hình chèn 1A). Việc biến tính điện cực SPE với tấm nano MoS_2 sẽ cải thiện khả năng chuyển dịch điện tích và tăng diện tích hoạt hóa bề mặt của điện cực SPE, qua đó tăng cường hiệu suất phát hiện của cảm biến [4].



Hình 1. (A) Giản đồ nhiễu xạ tia X; (B) phổ tán xạ Raman của tấm nano MoS_2 ; hình nhỏ (A) ảnh SEM của điện cực SPE biến tính với tấm nano MoS_2

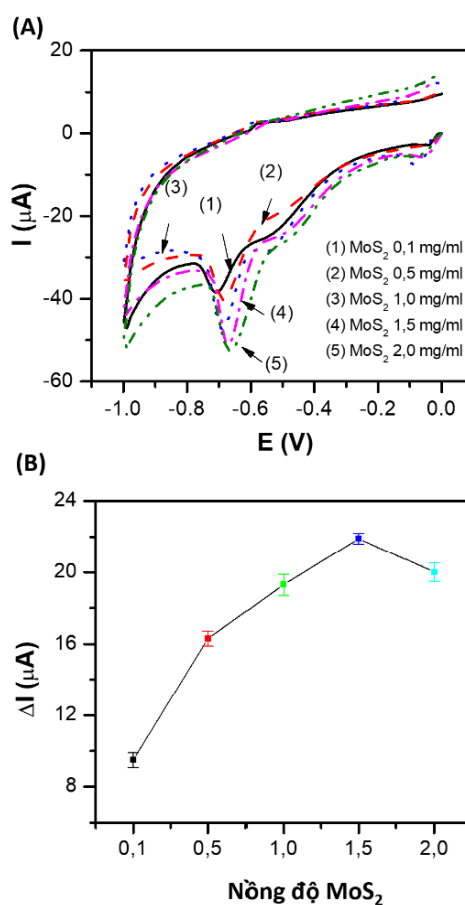
Điện cực SPE- MoS_2 sau khi biến tính được đánh giá khả năng đáp ứng điện hóa với CAP trong so sánh với điện cực SPE trần bằng phương pháp quét CV (như chỉ ra trên hình 2.A). Kết quả cho thấy đường cong CV của

điện cực SPE và SPE-MoS₂ đều xuất hiện các đỉnh oxi-hóa khử đặc trưng của CAP, đặc biệt là đỉnh khử có cường độ lớn ở khoảng -0.6 đến -0.7 V tương ứng với sự khử trực tiếp nhóm nitro thành phenylhydroxylamine với việc nhận thêm 4 điện tử [5]. Vị trí đỉnh khử đặc biệt này dịch về phía dương hơn đối với điện cực SPE-MoS₂ so với điện cực trần chỉ ra khả năng xúc tác điện hóa tốt đối với CAP của MoS₂ [6]. Tính toán cường độ dòng điện đỉnh (Ip) cho các điện cực SPE trần và SPE-MoS₂ cho thấy điện cực SPE-MoS₂ thể hiện khả năng đáp ứng điện hóa (Ip) cao hơn gấp 4,6 lần so với điện cực trần. Kết quả này tiết lộ rằng tấm nano MoS₂ đã tăng cường đáng kể diện tích bề mặt hoạt hóa và khả năng xúc tác điện hóa đối với quá trình khử điện hóa trực tiếp CAP của điện SPE.



Hình 2. (A) Đường cong CV của điện cực SPE, SPE-MoS₂ trong PBS và PBS chứa 50 μM CAP; (B) sự phụ thuộc của dòng điện đỉnh theo pH của dung dịch

Nhằm tối ưu các điều kiện thực nghiệm, chúng tôi khảo sát sự ảnh hưởng của pH đến đáp ứng điện hóa của điện cực SPE-MoS₂ (hình 2B) sử dụng phương pháp quét CV trong khoảng từ pH=3 đến pH=11. Kết quả tính toán Ip khử của CAP cho thấy pH dung dịch có ảnh hưởng đến đáp ứng dòng điện của điện cực đối với CAP và pH 5 được xác định điều kiện pH phù hợp cho các thử nghiệm tiếp theo.



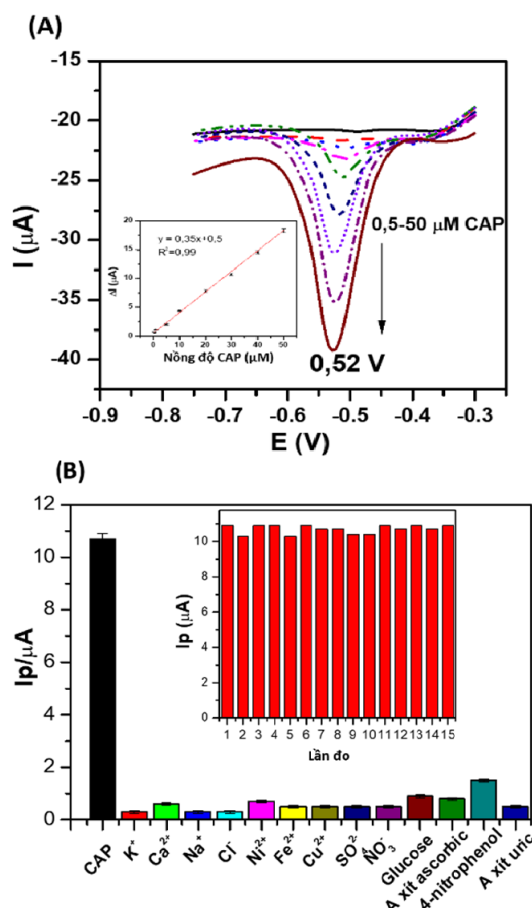
Hình 3. (A) Đường cong CV của điện cực SPE biến tính với các nồng độ MoS₂ khác nhau; (B) dòng điện đỉnh của các điện cực SPE biến tính với các nồng độ MoS₂ khác nhau

Để đánh giá ảnh hưởng của nồng độ MoS₂ đến khả năng đáp ứng điện hóa của cảm biến, chúng tôi sử dụng phương pháp quét CV nhằm đánh giá khả năng đáp ứng điện hóa đối với CAP của các điện cực SPE đã được biến tính với các nồng độ MoS₂ khác nhau trong

khoảng từ 0,1 đến 2 mg/ml. Kết quả được trình bày trên hình 3(A). Kết quả phân tích cho thấy khi nồng độ MoS_2 tăng từ 0,1-1,5 mg/ml thì đáp ứng dòng điện tăng dần và vị trí đỉnh khử dịch về phía dương hơn (xem hình 3(A)). Điều này có thể là do lượng tấm nano MoS_2 tăng khi nồng độ phủ trên bề mặt SPE tăng làm tăng diện tích bề mặt hoạt hóa và khả năng xúc tác điện hóa của điện cực. Tuy nhiên, khi nồng độ MoS_2 vượt qua 1,5 mg/ml thì đáp ứng dòng giảm xuống đáng kể. Điều này có thể là do sự kết tụ và xếp chồng của các tấm nano MoS_2 tại nồng độ cao dẫn đến giảm diện tích bề mặt riêng của điện cực biến tính. Thêm vào đó, việc tạo ra lớp vật liệu nano MoS_2 quá dày trên bề mặt điện cực SPE có thể làm giảm tốc độ chuyển dịch điện tử từ chất phân tích lên bề mặt điện cực [4]. Nồng độ 1,5 mg/ml MoS_2 được chọn làm điều kiện biến tính điện cực SPE cho cảm biến điện hóa. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ MoS_2 phủ trên bề mặt SPE có ảnh hưởng mạnh đến đáp ứng điện hóa của cảm biến đối với CAP.

DPV được biết đến là một kỹ thuật có độ nhạy và độ chính xác cao trong phân tích và định lượng các chất ô nhiễm thực phẩm. Ở đây, chúng tôi sử dụng kỹ thuật DPV để đánh giá hiệu suất nhạy CAP của cảm biến thông qua việc dựng đường chuẩn theo nồng độ CAP, như chỉ ra trên hình 4(A). Từ hình 4(A) ta thấy khi nồng độ CAP tăng từ 0,5 đến 50 μM thì cường độ dòng đỉnh khử CAP tại $-0,52\text{ V}$ tăng. Kết quả tính toán và dựng đường chuẩn của cường độ dòng điện đỉnh khử theo nồng độ CAP được biểu diễn trên hình chèn 4(A). Phương trình đường chuẩn giữa cường độ dòng I_p và nồng độ CAP thu được là $I_p (\mu\text{A}) = 0,35 C_{\text{CAP}} (\mu\text{M}) + 0,5$ với I_p là cường độ dòng điện đỉnh khử của CAP xác định từ đường cong DPV, C_{CAP} là nồng độ chất chuẩn CAP trong dung dịch đo. Kết quả phân tích

cho thấy cảm biến điện hóa có độ nhạy điện hóa đạt $2,79 \mu\text{A} \cdot \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ và giới hạn phát hiện xuống đến 61 nM trong khoảng tuyến tính 0,5-50 μM trong thời gian phân tích 2 phút.



Hình 4. (A) Đường DPV của CAP với các nồng độ từ 0,5 đến 50 μM sử dụng điện cực SPE- MoS_2 ; (B) Đồ thị hình cột biểu diễn so sánh cường độ dòng đỉnh của CAP (30 μM) và 100 μM các ion (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-}), chất hữu cơ khác (100 μM - glucose, axit ascorbic, 4-nitrophenol, axit uric); hình nhỏ (A): đường chuẩn sự phụ thuộc của dòng điện theo nồng độ CAP; hình nhỏ (B) cường độ dòng đỉnh của 15 lần đo 30 μM CAP sử dụng điện cực SPE- MoS_2

Để đánh giá khả năng phân tích của cảm biến trong các môi trường mẫu phức tạp, chúng tôi nghiên cứu ảnh hưởng của một số ion và chất hữu cơ lên khả năng đáp ứng với CAP của cảm biến. Cảm biến thể hiện khả năng chọn lọc tốt với CAP (30 μM) với cường độ tín

hiệu lớn hơn gấp 10 lần so với các ion (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-}) và các chất hữu cơ (glucose, axit ascorbic, 4-nitrophenol, axit uric) khác ở nồng độ cao gấp 3 lần ($100 \mu M$) như chỉ ra trên hình 4(B). Độ tái lặp của cảm biến vào khoảng 2,27% cho 15 phép đo lặp lại (hình nhỏ 4(B)).

Để đánh giá khả năng ứng dụng thực tế của cảm biến, chúng tôi thực hiện xác định nồng độ CAP trong mẫu thịt lợn bằng phương pháp thêm chuẩn. Mẫu thực được chuẩn bị theo quy trình chuẩn bị mẫu thực phân tích của tiêu chuẩn TCVN 8140-2009. Các nồng độ CAP được sử dụng trong phân tích là $5 \mu M$, $10 \mu M$, $20 \mu M$. Các kết quả thử nghiệm được trình bày trong bảng 1. Kết quả tính toán cho thấy cảm biến có độ chính xác và ổn định tốt với độ thu hồi trung bình đạt 94% và độ lệch chuẩn RSD dưới 2,2% (bảng 1). Các kết quả của chúng tôi đã chứng tỏ rằng cảm biến điện hóa dựa trên điện cực SPE-MoS₂ có khả năng áp dụng để xác định nồng độ CAP trong các mẫu thịt lợn thực tế.

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm cảm biến điện hóa SPE-MoS₂ trong phân tích các mẫu thịt lợn

Nồng độ CAP thêm vào (μM)	Nồng độ CAP tìm được (μM)	Độ thu hồi (%)	RSD (%) ⁿ (n=3)
5	4,7	94	2,2
10	9,1	91	1,6
20	18,6	93	1,4

4. KẾT LUẬN

Công trình nghiên cứu này đã phát triển cảm biến điện hóa cầm tay trên cơ sở điện cực in cacbon tích hợp (SPE) biến tính với tấm nano MoS₂ trong các ứng dụng phát hiện nhanh thuốc kháng sinh chloramphenicol.

Điện cực biến tính SPE-MoS₂ cho thấy khả năng tăng cường đáp ứng điện hóa với CAP cao hơn 4,6 lần so với điện cực SPE trần. Cảm biến điện hóa SPE-MoS₂ thể hiện khả năng phát hiện CAP với độ nhạy cao $2,79 \mu A \cdot \mu M^{-1} cm^{-2}$, thời gian đáp ứng dưới 2 phút và giới hạn phát hiện xuống đến 61 nM trong khoảng tuyến tính 0,5-50 μM . Kết quả thử nghiệm cảm biến trong mẫu thịt lợn cho thấy cảm biến có độ thu hồi đạt 94% với độ lệch chuẩn dưới 2,2%, chỉ ra khả năng ứng dụng của cảm biến trong phát hiện nhanh CAP trong các mẫu thực. Nghiên cứu cho thấy vật liệu nano MoS₂ là vật liệu tiềm năng cho các ứng dụng trong cảm biến điện hóa nhằm phát hiện nhanh các hóa chất tồn dư trong các mẫu thực phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Công trình được tài trợ bởi Bộ Khoa học và Công nghệ thông qua Đề tài độc lập cấp quốc gia thuộc Chương trình phát triển Vật lý Việt Nam giai đoạn 2015-2020 (mã số ĐTDLCN.17/19) và Đề tài NCCB tài trợ bởi Quỹ Nafosted (mã số 103.02-2019.01).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. Shukla, F. W. Bansode, and R. K. Singh, "Chloramphenicol Toxicity : A Review," *J. Med. Med. Sci.*, vol. 2, no. 13, pp. 1313–1316, 2011.
- [2] A. Joshi and K.-H. Kim, "Recent advances in nanomaterial-based electrochemical detection of antibiotics: Challenges and future perspectives," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 153, p. 112046, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.bios.2020.112046.

- [3] G.S. Papanai, I. Sharma, G. Kedawat, and B.K. Gupta, "Qualitative Analysis of Mechanically Exfoliated MoS₂ Nanosheets Using Spectroscopic Probes," *J. Phys. Chem. C*, vol. 123, no. 44, pp. 27264–27271, 2019, doi: 10.1021/acs.jpcc.9b09191.
- [4] A.M. Parra-Alfambra, E. Casero, L. Vázquez, C. Quintana, M. del Pozo, and M. D. Petit-Domínguez, "MoS₂ nanosheets for improving analytical performance of lactate biosensors," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 274, pp. 310–317, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.snb.2018.07.124.
- [5] F.Y. Kong, T.T. Chen, J.Y. Wang, H.L. Fang, D.H. Fan, and W. Wang, "UV-assisted synthesis of tetrapods-like titanium nitride-reduced graphene oxide nanohybrids for electrochemical determination of chloramphenicol," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 225, pp. 298–304, 2016, doi: 10.1016/j.snb.2015.11.041.
- [6] R. Zribi *et al.*, "Exfoliated 2D-MoS₂ nanosheets on carbon and gold screen printed electrodes for enzyme-free electrochemical sensing of tyrosine," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 303, p. 127229, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.snb.2019.127229.

Thông tin liên hệ: **Lê Anh Tuấn**

Điện thoại: 0916366088 - Email: tuan.leanh@phenikaa-uni.edu.vn

Viện Nghiên cứu nano, Trường Đại học Phenikaa

Ngô Xuân Đình

Điện thoại: 0989936619 - Email: dinh.ngoxuan@phenikaa-uni.edu.vn

Viện Nghiên cứu nano, Trường Đại học Phenikaa.

