

# TỔNG HỢP VẬT LIỆU POLYMER BẰNG KỸ THUẬT IN DẤU PHÂN TỬ ỨNG DỤNG XỬ LÝ MẪU XÁC ĐỊNH SUDAN II TRONG TƯƠNG ỚT VÀ NƯỚC NGỌT

VAN-TRONG NGUYEN

*Khoa Công nghệ Hóa học, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh  
nguyenvantrong@juh.edu.vn*

**Tóm tắt.** Vật liệu polymer in dấu phân tử (MIP) chọn lọc cho sudan II được tổng hợp bằng phản ứng đồng trùng hợp giữa methacrylic axit (MAA) và ethylenglycoldimethacrylate (EGDMA), với chất khơi mào azobisisobutyronitrile (AIBN). Vật liệu này rất chọn lọc đối với Sudan II hiệu suất thu hồi đạt 86,67 %, trong khi Sudan I, Rhodamine 6G và Rhodamine B (lần lượt là 45,14 %, 8,11 % và 6,71 %). Khả năng hấp thụ tối đa Sudan II đạt được là 8,905 mg/1g vật liệu MIP. Quy trình phân tích Sudan II bằng HPLC đã được hiệu lực hóa trên nền mẫu thực phẩm nước ngọt siro và tương ớt. Hiệu suất thu hồi của phương pháp đạt trên 91%, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) lần lượt là 10 µg/L và 33 µg/L. Sudan II trong nền mẫu nước ngọt siro và tương ớt được chiết tách bằng MIP và phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng (UPLC).

**Từ khóa:** Sudan II, MIP, UPLC.

## SYNTHESIS OF MOLECULAR IMPRINTING POLYMERS FOR EXTRACTION OF SUDAN II FROM CHILI SAUCE AND SIRO SAMPLES

**Abstract.** The selective molecular imprinting polymer (MIP) for Sudan II is synthesized by a copolymer reaction between methacrylic acid (MAA) and ethylenglycoldimethacrylate (EGDMA) with azobisisobutyronitrile initiator (AIBN). This material is very selective for Sudan II with a recovery of 86.67%, while Sudan I, Rhodamine 6G and Rhodamine B (45.14%, 8.11% and 6.71%, respectively). The maximum absorption capacity of Sudan II is 8,905 mg/1g of MIP. Analytical method of Sudan II by UPLC has been validated on the matrix of syrup and chili sauce. The recovery of method was above 91%, LOD 10 µg/L and LOQ 33 µg/L. Sudan II were extracted by MIP and analyzed by UPLC in the syrup and chili sauce samples

**Keyword.** Sudan II, MIP, UPLC.

### 1 GIỚI THIỆU

Sudan II được biết đến là một chất nhuộm màu tổng hợp có màu da cam, tuy nhiên sudan II được tổ chức quốc tế về nghiên cứu ung thư xếp vào loại độc nhóm 3 và đặc biệt không được phép sử dụng trong thực phẩm [1-2]. Trước thực trạng màu thực phẩm được sử dụng tràn lan khó kiểm soát, gần đây đã có nhiều vụ ngộ độc thực phẩm xảy ra tại Việt Nam có liên quan đến bột màu. Do thị hiếu người tiêu dùng ưa sử dụng thực phẩm có màu sắc bắt mắt nên một số cơ sở sản xuất thực phẩm đã sử dụng nhiều loại phẩm màu công nghiệp mà các phẩm màu này được mua dễ dàng, giá rẻ so với phẩm màu được phép sử dụng trong thực phẩm. Trong nhiều phẩm màu công nghiệp thì phẩm màu Sudan II thường được sử dụng do có màu sắc thỏa mãn các tiêu chí như màu bắt mắt, sặc sỡ cho các sản phẩm như hạt dưa, bột ớt, ruốc, tương ớt... Phẩm màu công nghiệp nói chung, Sudan II nói riêng gây độc hại đối với con người và không có tên trong danh mục phụ gia thực phẩm do Bộ y tế ban hành [3-4]. Gần đây, báo đài liên tục phát hiện các cơ sở sản xuất ở TPHCM sử dụng phẩm màu công nghiệp cho gia vị, thực phẩm và các loại thuốc đông y, thức ăn chăn nuôi, gồm sủ... [5-6].

Trước thực trạng đó thì yêu cầu về xử lý mẫu để xác định hàm lượng Sudan II trong mẫu thực phẩm đang được quan tâm. Hiện tại cách xử lý mẫu đang được sử dụng rộng rãi là chiết mẫu với dung môi MeOH sau đó lọc dịch chiết nhưng cách xử lý này không loại bỏ được nền mẫu phức tạp. Ngoài ra, những nghiên cứu gần đây sử dụng kỹ thuật chiết pha rắn SPE, QuEChERS, MSPE ... những kỹ thuật này có thể loại được một phần nền mẫu nhưng độ chọn lọc không cao [7-8]. Gần đây có nhiều nghiên cứu phát triển theo xu

hướng tạo ra một số vật liệu chọn lọc cho phân tử mục tiêu và đã đạt được nhiều thành tựu trong vấn đề xử lý mẫu đặc biệt là các mẫu có nền phức tạp [9-10], tuy nhiên kết quả của nghiên cứu có hiệu suất bắt phân tử mục tiêu không cao.

Gần đây một số phương pháp xác định Sudan II đã được phát triển như phương pháp HPLC-MS [11], sắc ký điện di [12] và phương pháp điện hóa [13]. Phương pháp HPLC-MS có kết quả chính xác và đáng tin cậy nhưng thực tế thiết bị rất đắt, chi phí cao. Đối với phương pháp điện hóa, người ta xác định Sudan II dựa trên điện cực giọt thủy ngân, đây là sự lựa chọn tốt vì chi phí rẻ tiền tuy nhiên thủy ngân lại rất độc đối với người sử dụng nên các phương pháp trên đều có mặt hạn chế.

Trong nghiên cứu này, vật liệu MIP chọn lọc cho Sudan II được tổng hợp và đánh giá các đặc tính như hình thái bề mặt, dung lượng hấp phụ... và áp dụng vật liệu để xử lý trên một số nền mẫu thực phẩm khác nhau với hy vọng có thể có được vật liệu hấp phụ có hiệu suất cao và đáp ứng được nhu cầu phân tích Sudan II trong nền mẫu thực phẩm.

## 2 THỰC NGHIỆM

### 2.1. Thiết bị và hóa chất

Hóa chất, Sudan I, Sudan II, Rhodamine B, Rhodamine 6G  $\geq 98.0\%$ , Methacrylic axit, Ethylene glycol dimethacrylate và 2,2'-Azobis(2-methylpropionitrile) được mua của Sigma-Aldrich. Dung môi Methanol (MeOH), Ethanol, n-hexane, chloroform, acetone và axit axetic băng, axit formic loại chuẩn sử dụng cho HPLC của hãng Merck. Các hóa chất khác được sử dụng đều đạt chuẩn phân tích, nước cất được sử dụng là loại không ion và có điện trở lớn hơn 18.5 M $\Omega$ . Thiết bị, UPLC của hãng Waters Acquity UPLC Plus với cột tách Acquity UPLC BEH C18 (1,7 $\mu$ m, 2,1 mm  $\times$  150 mm) và đầu dò DAD, máy đo quang Thermo Scientific Evolution 600 UV-VIS được sử dụng trong nghiên cứu này.

### 2.2. Tổng hợp vật liệu MIP và NIP

Vật liệu MIP được tổng hợp bằng phản ứng giữa phân tử mục tiêu Sudan II (0,1352 g) và monomer chức năng MAA (0,1721 g) trong 6,25 mL dung môi chloroform, đánh siêu âm trong 15 phút. Sau đó, thêm 2,4778 g EGDMA, 0,05 g AIBN thực hiện phản ứng polymer hóa ở 60 $^{\circ}$ C trong 24 giờ trong bếp cách thủy, suốt quá trình này khí N $_2$  được thổi liên tục. Sản phẩm được lọc, rửa qua với acetone, sấy khô ở 60 $^{\circ}$ C trong 4 giờ. Cuối cùng đem nghiền và rây với kích thước 100  $\mu$ m. Vật liệu không in dầu (NIP) được thực hiện theo quy trình tương tự nhưng không sử dụng phân tử mục tiêu Sudan II.

Sau khi tổng hợp MIP và NIP, các thành phần còn dư sau phản ứng và phân tử mục tiêu đã in được loại bỏ hoàn toàn bằng chiết Soxhlet với dung môi methanol và axit acetic tỉ lệ thể tích 9:1 liên tục trong 12 giờ, quá trình này được thực hiện đến khi chiết hết phân tử mục tiêu ra khỏi MIP, để kiểm soát được quá trình này chúng tôi sử dụng máy UV-VIS quét phổ hấp thụ từ 400 – 600 nm. Cuối cùng đem sấy khô ở nhiệt độ 60 $^{\circ}$ C trong tủ sấy.

### 2.3. Kiểm tra cấu trúc của vật liệu

Đo phổ hồng ngoại (FT-IR): Vật liệu MIP và NIP được sấy ở 60  $^{\circ}$ C trong 4 giờ, sau đó trộn với KBr rắn đã sấy khô ở 120  $^{\circ}$ C trong 4 giờ và ép thành viên có đường kính 10 mm, bề dày từ 1÷2 mm.

Đo kích thước hạt: Hình dạng và kích thước hạt của vật liệu MIP và NIP được đo bằng thiết bị kính hiển vi điện tử quét (SEM).

### 2.4. Xác định hiệu suất thu hồi quá trình tách chiết bằng MIP

Cân chính xác 0,3 g vật liệu MIP cho vào bình tam giác 250 mL, thêm 100 mL dung dịch chuẩn Sudan II có nồng độ 20 mg/L, tiến hành lắc trên máy lắc với tốc độ lắc 230 vòng/phút trong thời gian 1 giờ (thời gian lắc là thời gian hấp phụ), ở nhiệt độ phòng (24  $\pm$  1 $^{\circ}$ C). Sau khi kết thúc tiến hành lấy dung dịch còn lại trong bình tam giác xác định nồng độ Sudan II còn lại sau quá trình hấp phụ. Từ kết quả tính được dung lượng hấp phụ (mg/L) và hiệu suất hấp phụ (%) theo công thức sau.

$$q = \frac{(C - C_1) \times V}{m} \quad (1)$$

$$H = \frac{(C - C_1)}{C} \quad (2)$$

Trong đó:

- C, C $_1$  Nồng độ dung dịch của chất bị hấp phụ ban đầu và khi đạt cân bằng hấp phụ tương ứng (mg/L).
- V: Thể tích dung dịch chất bị hấp phụ (mL)
- m: Khối lượng của vật liệu MIP (g)

## 2.5. Khảo sát các điều kiện tối ưu đến quá trình tách Sudan II

Dung lượng hấp phụ của vật liệu được tiến hành như sau, chuẩn bị 4 bình tam giác 250 mL cân khối lượng vật liệu MIP\_Sudan II từ 0,2 – 0,5 g cho vào 4 bình riêng biệt. Thêm vào mỗi bình 100mL dung dịch Sudan II ở nồng độ 20 mg/L, tiến hành như bước 2.5. Thời gian khảo sát từ 1 giờ đến 5 giờ. Sau khi kết thúc tiến hành lấy dung dịch còn lại trong bình tam giác xác định nồng độ Sudan II còn lại sau quá trình hấp phụ. Từ kết quả tính được hiệu suất hấp phụ (%) từ đó chọn được lượng vật liệu MIP cần thiết cho quá trình khảo sát.

Thời gian hấp phụ được tiến hành khảo sát với lượng vật liệu là 0,4 g và 100 mL dung dịch Sudan II với nồng độ khác nhau từ 20 – 50 mg/L với khoảng thời gian hấp phụ khảo sát từ 1 giờ đến 5 giờ. Tiến hành lắc với tốc độ lắc 230 vòng/phút ở nhiệt độ phòng ( $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Sau mỗi giờ hút dung dịch tiến hành xác định nồng độ Sudan II còn lại sau hấp phụ. Tính hiệu suất theo công thức của vật liệu MIP đối với Sudan II.

Ảnh hưởng nồng độ của phân tử mục tiêu quá trình hấp phụ được tiến hành khảo sát tương tự như trên nhưng với thời gian hấp phụ là 5 giờ. Tính dung lượng hấp phụ (mg/L) và hiệu suất của vật liệu MIP đối với Sudan II.

## 2.6. Đánh giá khả năng chọn lọc của MIP đối với phân tử mục tiêu

Cân chính xác 0,1 g vật liệu MIP và NIP sau khi đã loại bỏ hoàn toàn phân tử mục tiêu vào 2 ống SPE loại dung tích 3 mL. Hoạt hóa cột bằng 3 mL chloroform sau đó là 5 mL MeOH, cho dung dịch chứa Sudan I; Rhodamine B và Rhodamine 6G với 3 nồng độ khác nhau. Đánh giá chọn lọc với Sudan I ở các nồng độ: 1,5; 2,5, 3,5 ppm. Rhodamine B ở các nồng độ: 0,6; 1,0; 1,4 ppm. Rhodamine 6G ở các nồng độ: 0,5; 1,0; 2,0 ppm. Rửa giải bằng hỗn hợp methanol và axit formic tỉ lệ thể tích 99,7:0,3; dung dịch thu được định mức 10 mL đo quang tại 494 nm. Chúng tôi tiến hành lập đường chuẩn của Rhodamine 6G với nồng độ 0,2 mg/L; 0,4 mg/L; 1,0 mg/L; 1,4 mg/L; và 2,0 mg/L đo ở 527 nm, của Sudan I với nồng độ 0,5 mg/L; 1,0 mg/L; 1,5 mg/L; 2,0 mg/L và 2,5 mg/L đo ở 494 nm, của Sudan II là 0,2 mg/L; 0,4 mg/L; 1,0 mg/L; 1,4 mg/L; và 2,0 mg/L đo ở 494 nm.

## 2.7. Ứng dụng vật liệu MIP xử lý mẫu, phân tích bằng UPLC

### 2.7.1. Điều kiện chạy sắc ký

Chuẩn và mẫu chứa Sudan II được chạy với điều kiện UPLC như sau: cột Acquity UPLC BEH C18 (1,7 $\mu\text{m}$ , 2,1 mm  $\times$  150 mm), nhiệt độ cột tách 40  $^{\circ}\text{C}$ , bước sóng hấp thụ 494 nm, thể tích mẫu 5  $\mu\text{L}$ , pha động gồm 85 % ACN; 15 % nước với axit formic 0,1 % và với tốc độ dòng 0,2 mL/phút.

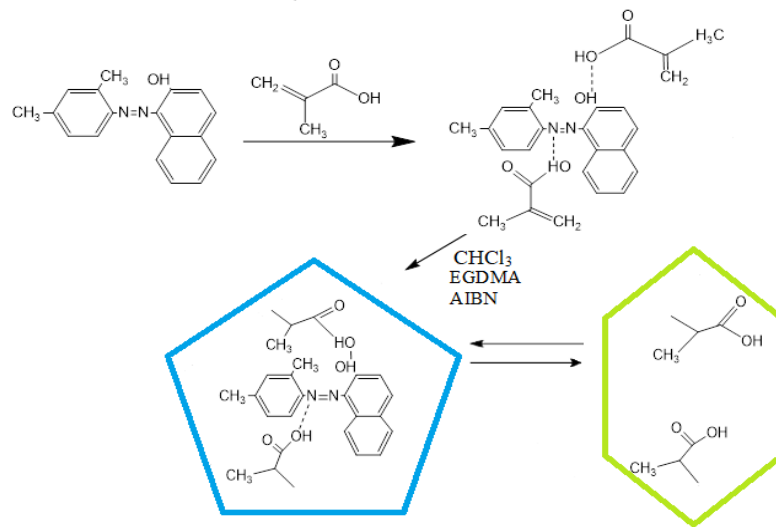
### 2.7.2. Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu nước ngọt siro và tương ớt được mua tại siêu thị, sau đó mẫu được đồng nhất và cân chính xác khoảng 2 gam đối với tương ớt và 5 mL đối với mẫu nước ngọt siro cho vào ống xử lý mẫu. Thêm 5 mL MeOH, tiến hành đánh vortex và đánh siêu âm 30 phút, sau đó đem ly tâm và lọc lấy dung dịch MeOH. Thực hiện quá trình trên 3 lần, dịch sau lọc thêm 50 mL nước cất rồi cho qua cột đã chuẩn bị sẵn với 0,4 gam MIP, sau khi qua cột xong rửa lại bằng 10 – 20 mL nước cất. Rửa giải Sudan II bị giữ lại trên vật liệu bằng 10-20 mL MeOH và acid formic theo tỷ lệ là 99,7:0,3. Thu dung dịch rửa giải vào cốc 50mL rồi đem đuổi khô hoàn toàn và hòa tan cạn bằng 2 mL MeOH và acid formic theo tỷ lệ là 99,7:0,3. Đánh vortex rồi đánh siêu âm 1 phút. Ly tâm, lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$  phân tích bằng hệ UPLC. Lọc qua màng lọc 0,45 $\mu\text{m}$ , sau đó dung dịch mẫu sẽ được chuyển vào bộ phận mẫu của UPLC để tiến hành quá trình sắc ký, đối với mẫu thêm chuẩn được thêm chuẩn Sudan II ở 2 nồng độ khác nhau 100  $\mu\text{g/L}$  và 200  $\mu\text{g/L}$ . Mỗi mẫu được lặp lại 3 lần lấy kết quả trung bình.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tổng hợp vật liệu MIP và NIP

Cơ chế tổng hợp MIP và NIP thông qua 3 giai đoạn, giai đoạn 1 xảy ra phản ứng liên kết hình thành phức giữa monomer chức năng MAA và phân tử Sudan II, đây là giai đoạn đánh dấu các vị trí liên kết cho việc bắt các phân tử mẫu.



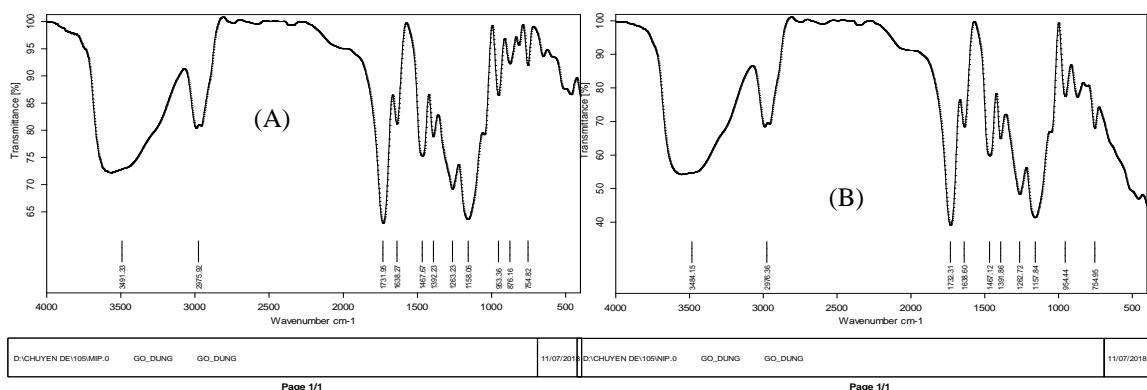
Hình 1: Sơ đồ minh họa quá trình in dấu phân tử Sudan II

Các liên kết hình thành chủ yếu là N:H – N, và H – O:H, đây là loại liên kết kém bền nên dễ dàng có thể rửa giải phân tử mục tiêu. Giai đoạn 2, khi chất khơi mào quá trình polymer hóa AIBN và chất tạo liên kết chéo EGDMA được thêm vào, dưới tác dụng của nhiệt độ thì AIBN phân hủy thành các gốc tự do chúng tấn công và các liên kết đôi C=C của MAA và EGDMA. Trong giai đoạn này chúng tôi đuổi oxy không khí bằng khí ni tơ vì oxy cũng có khả năng tạo gốc tự do. Giai đoạn 3, gốc tự do hình thành từ AIBN lan truyền trên mạch phản ứng và trở thành tâm phản ứng, chúng kích thích vào MAA và EGDMA phản ứng tiếp diễn trong 24h đến khi phản ứng kết thúc (không còn gốc tự do) sẽ tạo thành khối polymer. Đồng thời trong quá trình tổng hợp dung môi chloroform cũng bay hơi. Tất cả các giai đoạn này được thể hiện trong hình minh họa (hình 1).

### 3.2. Đánh giá tính chất của vật liệu

#### 3.2.1. Phân tích phổ FT-IR

Kết quả phân tích vật liệu được thể hiện trong hình 2, trong đó hình 2A là vật liệu không in dấu NIP, còn hình 2B là vật liệu đã được in dấu MIP ta quan sát thấy sự tương đồng của các peak đặc trưng của vật liệu. Peak ngay tại số sóng  $2976\text{ cm}^{-1}$  là liên kết C – H của gốc methyl trong phân tử EGDMA. Liên kết đôi C = C trong phân tử MAA chưa được rửa sạch nên vẫn còn xuất hiện trong phổ đồ tại số sóng khoảng  $1638\text{ cm}^{-1}$  và  $3484\text{ cm}^{-1}$ . Liên kết C=O trong công thức của MAA và EGDMA xuất hiện với peak nhọn tại số sóng  $1732\text{ cm}^{-1}$ .



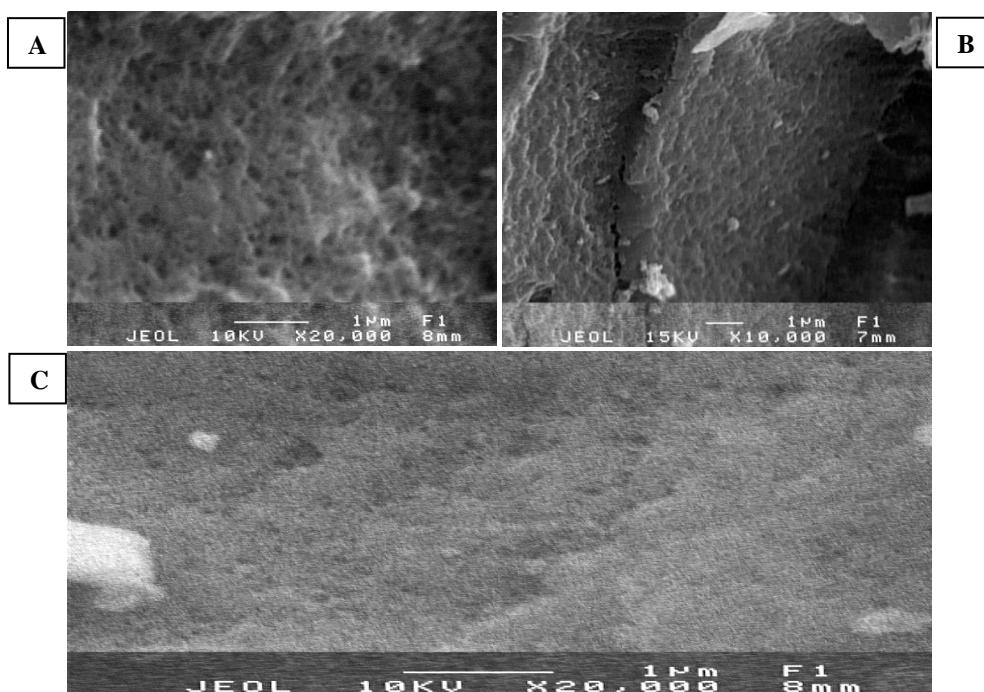
Hình 2. Phổ FT – IR của vật liệu tổng hợp NIP (2A) và MIP (2B)

Các peak tại  $1232\text{ cm}^{-1}$ ,  $1364\text{ cm}^{-1}$ ,  $1457\text{ cm}^{-1}$  và  $754\text{ cm}^{-1}$  trong mẫu NIP là các dao động đặc trưng của liên kết uốn bất đối xứng C – H trong nhóm methylene –CH<sub>2</sub>. Ở vùng bức xạ này có sự khác biệt về cường độ giữa MIP và NIP, nguyên do là mẫu MIP có in dấu các phân tử Sudan II, việc rửa các phân tử này ra là

không hoàn toàn, nên lượng Sudan II còn tồn tại và len lỏi trong cấu trúc vật liệu dẫn đến việc hấp thu lớn, dẫn đến việc chông lên và che mắt các mũi đặc trưng khác. Tại vùng sóng dưới  $1000\text{ cm}^{-1}$  này là dao động của liên kết C=C trong vòng benzen thuộc phân tử Sudan II [9, 15].

### 3.2.2. Phân tích vật liệu MIP bằng SEM

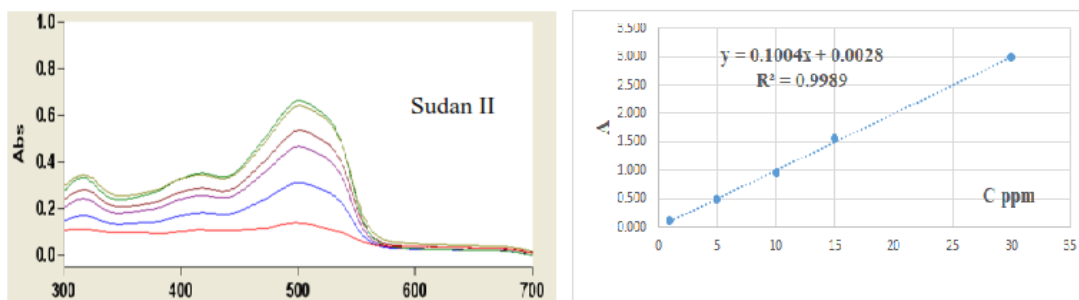
Từ ảnh chụp SEM của vật liệu có thể xác định được kích thước hạt của vật liệu khoảng  $0,2-0,3\mu\text{m}$ . Vật liệu tổng hợp có các lỗ xốp lớn (B) giúp gia tăng khả năng tải dung dịch mẫu qua cột, đặc biệt gia tăng diện tích bề mặt vật liệu, từ đó có khả năng hấp phụ tốt. Vật liệu MIP sau khi hấp phụ phân tử mục tiêu ta có thể thấy rằng hình dạng bề mặt và cấu trúc đã không còn nhiều lỗ trống chứng tỏ vật liệu giữ Sudan II tốt và các hạt cũng phân bố khá đồng đều (C). Đối với NIP, chúng ta cũng đã thấy vẫn có các lỗ trống nhưng ít hơn nhiều so với vật liệu MIP (A), hình ảnh của vật liệu được thể hiện trong hình 3.



Hình 3. Ảnh chụp SEM của vật liệu MIP

### 3.3. Đánh giá khả năng hấp phụ của vật liệu đối với Sudan II

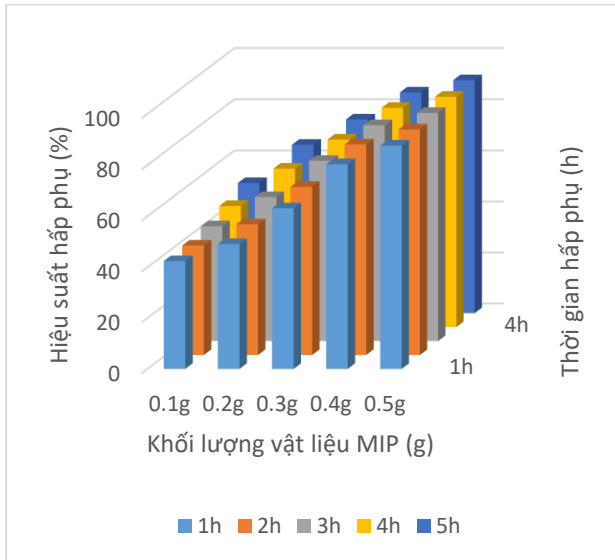
Để đánh giá khả năng hấp phụ của vật liệu, do nền mẫu khá đơn giản nên chúng tôi sử dụng phương pháp UV-VIS với ưu điểm nhanh và tiện lợi để định lượng, tiến hành quét phổ hấp thu UV-VIS của Sudan II từ 300 đến 700 nm, phổ đồ cho thấy  $\lambda_{\text{max}} = 494\text{ nm}$ , chúng tôi tiến hành lập đường chuẩn tại bước sóng này và có phương trình đường chuẩn với  $R^2 = 0.9989$  (hình 4). Đường chuẩn thu được  $y = 0,1004x + 0,0028$  (trong đó y là độ hấp thu quang, x là nồng độ sudan II) để định lượng Sudan II, mục đích xác định nhanh phục vụ cho việc đánh giá tính chất của vật liệu MIP.



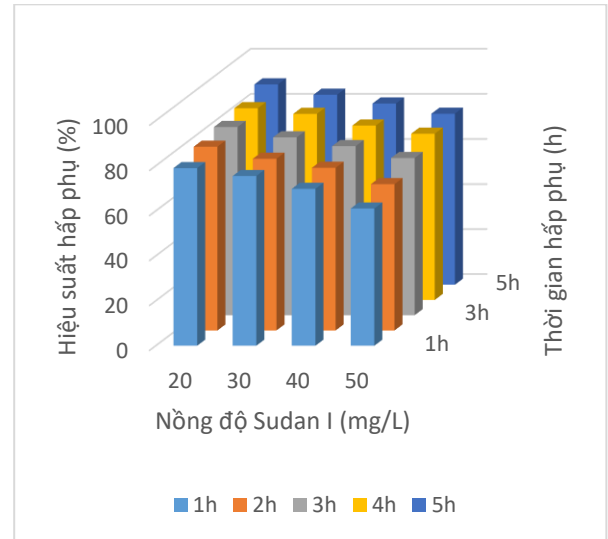
Hình 4: Phổ hấp thu và đường chuẩn của Sudan II

Trong hình 5, kết quả cho thấy khi khối lượng vật liệu tăng dần từ 0,1 – 0,5 g trong 100 mL dung dịch

Sudan II nồng độ 20 mg/L ở mỗi thời gian khác nhau tốc độ hấp phụ đều tăng tuy nhiên dễ dàng nhận ra rằng ở mỗi khối lượng vật liệu MIP từ 0,1 – 0,4 g tốc độ hấp phụ tăng nhanh hơn so với khoảng từ 0,4 – 0,5 g, tuy nhiên hiệu suất tăng dần khi khối lượng của MIP tăng lên, điều này phù hợp với quy luật hấp phụ.



Hình 5: Ảnh hưởng của khối lượng vật liệu MIP



Hình 6: Ảnh hưởng của thời gian hấp phụ

Trong hình 6, kết quả cho thấy trong khoảng thời gian hấp phụ từ 1 giờ đến 5 giờ với nồng độ Sudan I tăng dần từ 20 – 50 mg/L. Ở nồng độ 20 mg/L hiệu suất hấp phụ cao nhất, tuy nhiên khi tăng nồng độ của phân tử mục tiêu thì hiệu suất giảm, điều này có thể do vật liệu hấp phụ đạt trạng thái bão hòa.

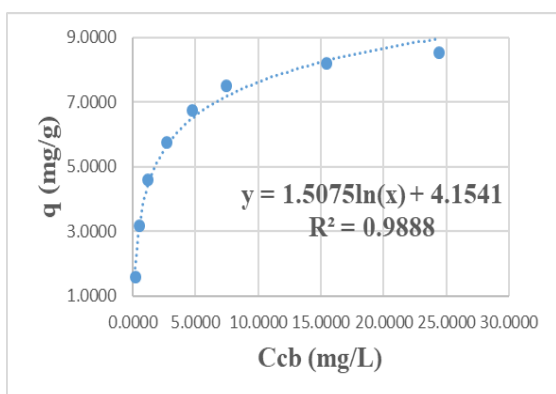
Trong hình 7, cho thấy khi tăng nồng độ của phân tử mục tiêu thì giá trị q tăng mạnh nhưng khi nồng độ cao giá trị q tăng rất chậm. Điều này minh chứng cho sự hấp phụ bão hòa của MIP. Trong nghiên cứu về hấp phụ, người ta thường đề cập tới phương trình hấp phụ của Langmuir (phương trình 3), kết quả được thể hiện trong hình 7 [16].

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{q_m} + \frac{1}{q_m K_L} \quad (3)$$

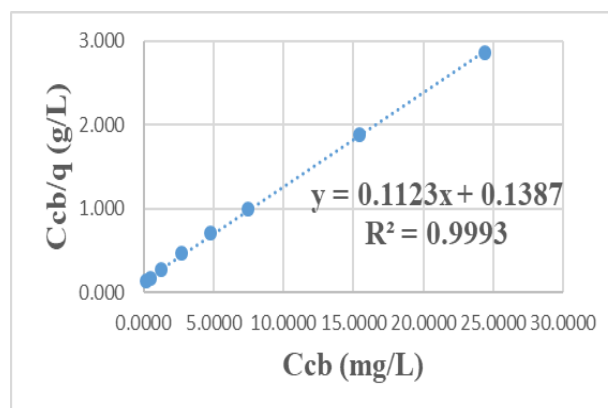
Trong đó:

- $q_m$  (mg/g) là dung lượng hấp phụ đơn lớp cực đại
- $K_L$  (L/mg) là hằng số Langmuir

Trong hình 7, ban đầu nồng độ phân tử mục tiêu thấp dung lượng hấp phụ cao tuy nhiên khi nồng độ phân tử mục tiêu tăng đến giá trị nào đó dung lượng hấp phụ bão hòa. Từ kết quả khảo sát cho thấy sự hấp phụ của vật liệu MIP đối với dung dịch Sudan II được mô tả tốt theo mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir. Dựa vào đồ thị biểu diễn phụ thuộc của  $C_{cb}/q$  vào  $C_{cb}$  đối với Sudan II tính được giá trị dung lượng hấp phụ cực đại  $q_{max}$  là 8,905 (mg/g) và hằng số Langmuir b là 0,8096 đối với MIP. Kết quả này cho thấy dung lượng hấp phụ của vật liệu rất tốt đặc biệt đối với vật liệu được in dầu, vấn đề này được giải thích là do kích thước hạt nhỏ, vật liệu xốp, nên hấp phụ cao, cấu trúc bền vững của khung do EGDMA tạo ra giúp bắt giữ tốt phân tử Sudan II. Các dữ liệu trên minh chứng cho vật liệu MIP có khả năng lưu giữ và chọn lọc được phân tử mục tiêu Sudan II.



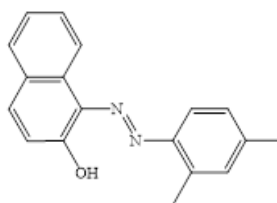
Hình 7a: Đường hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir của Sudan II



Hình 7b: Sự phụ thuộc của  $C_{cb}/q$  vào  $C_{cb}$  của Sudan II

### 3.4. Đánh giá khả năng chọn lọc của MIP đối với phân tử mục tiêu

Sudan I, rohdamine B và rohdamine 6G được lựa chọn để khảo sát vì sự tương đồng về mặt công thức cấu tạo với Sudan II và thường gặp trong nền mẫu khảo sát. Công thức cấu tạo Sudan II thể hiện trong hình 8 và kết quả thu được thể hiện trong hình 9.



Hình 8: Công thức cấu tạo của các hoạt chất khảo sát

Hiệu suất thu hồi của sudan I, rohdamine B và 6G sau khi qua vật liệu MIP và NIP được tính dựa vào công thức (4) và dữ liệu đường chuẩn được thể hiện trong bảng 1.

$$\text{Hiệu suất thu hồi} = \frac{C_{\text{sau khi qua cột}}}{C_{\text{trước khi qua cột}}} \times 100 \quad (4)$$

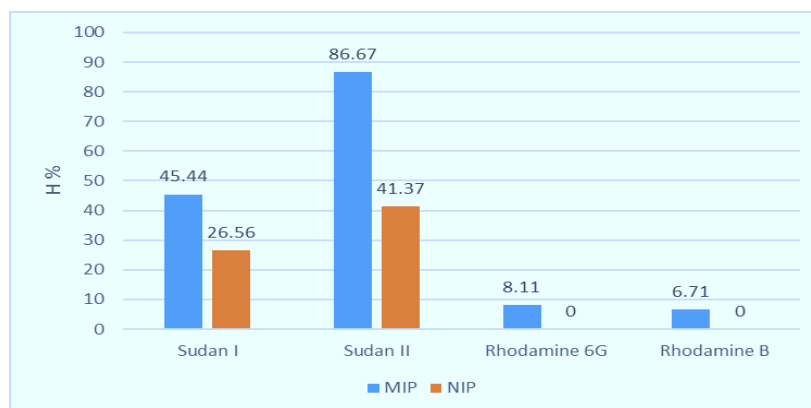
Bảng 1: Thông số phương trình đường chuẩn

Tên hoạt chất	Bước sóng (nm)	Phương trình đường chuẩn	Hệ số tương quan ( $R^2$ )
Sudan II	494	$y = 0,0472 - 0,0044$	0,9973
Sudan I	494	$y = 0,0077x + 0,0169$	0,9981
Rhodamine B	550	$y = 0,2079x + 0,0045$	0,9996
Rhodamine 6G	527	$y = 0,1906x - 0,0034$	0,9999

Hình 9, cho thấy rằng tính chọn lọc của MIP đối với sudan II cao hơn nhiều so với các hoạt chất còn lại, đặc biệt với MIP cho hiệu suất thu hồi 86,67 % trong khi đó ở cùng điều kiện NIP chỉ cho 41,37 %, các hoạt chất như rohdamine B, rohdamine 6G thì rất thấp lần lượt là 6,71 và 8,11 %. Tuy nhiên, đối với Sudan I vẫn có được mức chọn lọc trung bình 45,44 % đối với MIP và 26,56 % đối với NIP, nguyên nhân có thể lý giải là do Rhodamine B; Rhodamine 6G là các phân tử lạ, có cấu trúc phân tử khác biệt hoàn toàn với chất đã in dấu trong khuôn in là Sudan II. Ở 2 chất này thiếu đi các vị trí liên kết cần thiết để các tâm liên kết trên khuôn bắt giữ. Nhìn vào công thức cấu tạo thì vị trí cần để nhận dạng phân tử bắt giữ phải có gốc  $-COOH$  và các liên kết hydro  $N:H - N$  thì phân tử lạ này không đáp ứng được điều đó. Bên cạnh đó khi xét đến tính chọn lọc với đồng phân của nó là Sudan I. Vì vậy, tuy có cùng công thức phân tử nhưng công thức cấu tạo cũng như hình dạng không gian của phân tử không còn giữ được như phân tử mẫu đã in nên việc nhận dạng không trùng khớp hoàn toàn dẫn đến hiệu suất không cao. Kết quả khảo sát trên NIP luôn cho hiệu suất thấp, cũng có thể giải thích như phần trước đó, do các vị trí liên kết này chỉ có thể bắt giữ trên



bề mặt và bắt giữ một số ít liên kết trong phân tử khảo sát, cấu trúc lỗ trống tạo khuôn in cũng không được hình thành nên chúng không thể bắt giữ một cách mạnh mẽ được. Các liên kết dùng bắt giữ phân tử khảo sát chỉ là liên kết hydro yếu nên khi trong môi trường phân cực mạnh như H<sub>2</sub>O có thể bị phá vỡ. Đây cũng là lý do vì sao chọn hỗn hợp dung môi methanol và axit formic tỉ lệ thể tích 99,7:0,3 để phá vỡ các liên kết hydro rửa giải các phân tử mẫu ra khỏi khuôn đã in [9, 14].



Hình 9: Khả năng chọn lọc của vật liệu MIP

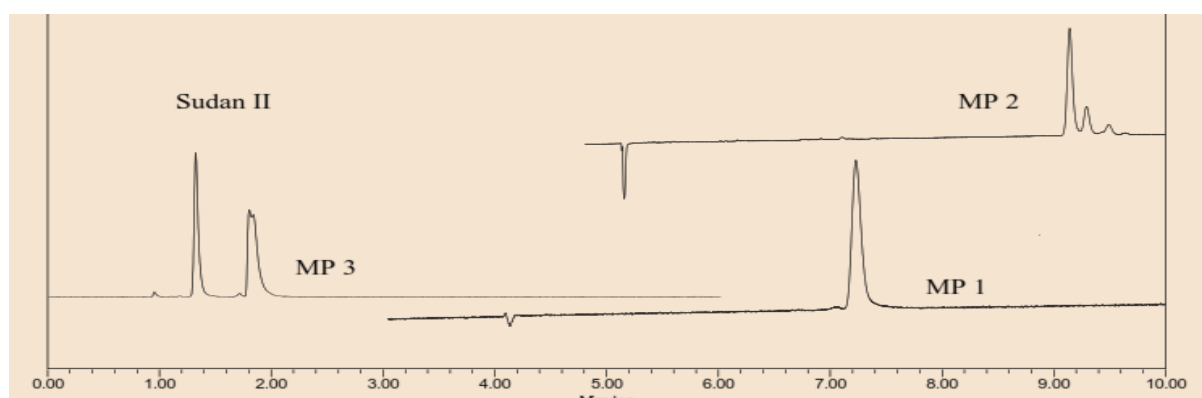
### 3.5. Ứng dụng phân tích mẫu

#### 3.5.1. Lập đường chuẩn xác định Sudan II bằng UPLC

Để xây dựng phương pháp xác định Sudan II trên thiết bị UPLC, các thông số của phương pháp như thành phần pha động, LOD, LOQ, RSD và khoảng tuyến tính được tiến hành khảo sát để tìm điều kiện tối ưu nhất. Đối với pha động, chúng tôi chọn pha động với thành phần gồm ACN, axit formic 0,1% với các tỉ lệ thể tích khác nhau [5] để khảo sát.

- Pha động thứ nhất (MP 1): 85% ACN - 15% axit formic 0,1%.
- Pha động thứ hai (MP 2): 50% ACN - 50% axit formic 0,1%.
- Pha động thứ ba (MP 3): 70% ACN - 30% axit formic 0,1%.

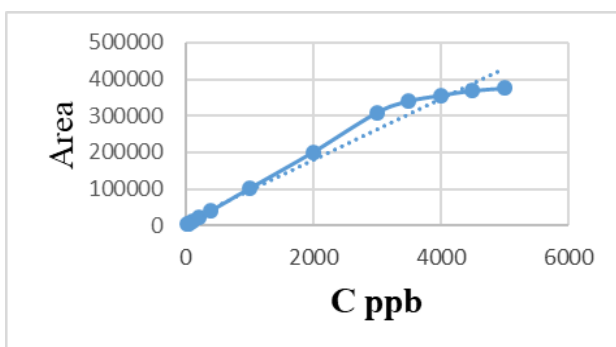
Hình 10, cho thấy MP 1 cho tín hiệu tốt nhất không bị chệch mũi, thon gọn tốt cho phân tích định lượng, trong khi đó MP 2 và 3 kết quả không tốt, điều này có thể lý giải là do Sudan II có khả năng hình thành cặp axit-bazo liên hợp, hay nói cách khác có thể trao đổi proton H<sup>+</sup> dẫn đến trong pha động thứ 2 và 3 Sudan II bị chệch thành nhiều mũi khác nhau.



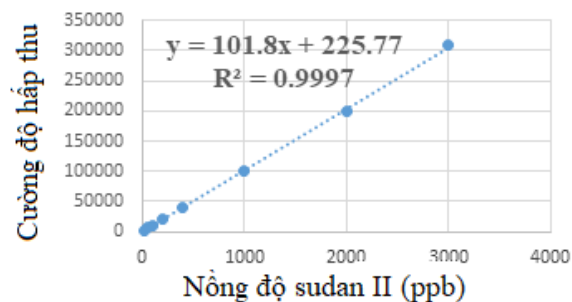
Hình 10: Sắc ký đồ của pha động khảo sát

Thông số LOD và LOQ của phương pháp được xác định thông qua việc chạy 12 lần đường nền và pha loãng chuẩn đến khi tín hiệu cao gấp 3 lần tín hiệu nền và kết quả giới hạn phát hiện là 0,01 mg/L và giới hạn định lượng là 0,033 mg/L. Khoảng tuyến tính cũng được khảo sát từ 0,03 mg/L đến 5,00 mg/L (hình 11), kết quả cho thấy rằng khoảng tuyến tính của Sudan II nằm trong khoảng 0,033 đến 3,00 mg/L, vì vậy đường chuẩn được thiết lập trong khoảng nồng độ trên, phương trình đường chuẩn có độ tuyến tính cao  $y = 437,37x + 7,7577$  ( $R^2 = 0,9995$ ) trong đó  $x$  là nồng độ Sudan II và  $y$  là diện tích của mũi sắc ký tương ứng (hình 12).





Hình 11: Khảo sát khoảng tuyến tính



Hình 12: Đồ thị đường chuẩn của Sudan II

### 3.5.2. Ứng dụng phân tích mẫu thực phẩm

Mẫu thực phẩm có màu được nghi là có sử dụng phẩm màu như mẫu tương ớt, nước ngọt được lựa chọn để phân tích. Mẫu được trích ly bằng dung môi MeOH với sự hỗ trợ đánh siêu âm, sau đó thêm nước cất đến 50 mL và tiến hành chiết với vật liệu MIP được tổng hợp ở trên. Rửa giải Sudan II trong cột chiết bằng hỗn hợp methanol và axit formic tỉ lệ thể tích 99,7:0,3. Sau đó chạy trên UPLC với điều kiện tối ưu đã khảo sát. Kết quả cho thấy cả 02 mẫu trên đều không phát hiện Sudan II (hình 13, 14), bên cạnh đó sắc ký đồ cũng chỉ ra rằng nền mẫu sau khi xử lý rất sạch không còn nhiều tạp. Sử dụng nền mẫu trên thực hiện thêm chuẩn, hiệu suất thu hồi được tìm thấy trong khoảng từ 91,14 % đến 95,27 % (xem trong bảng 1). Hiệu suất thu hồi của phương pháp được tính theo công thức:

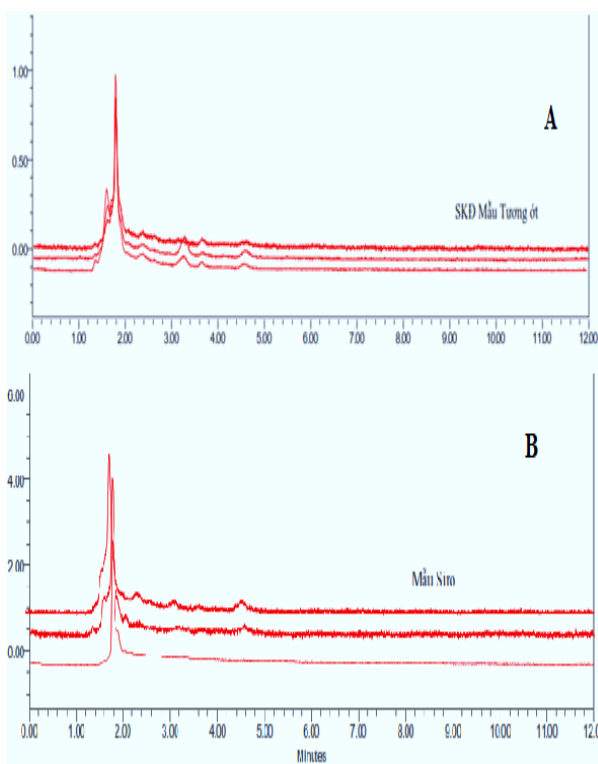
$$R\% = \frac{C_{m+c} - C_m}{C_c} \times 100$$

Trong đó: R%: Độ thu hồi, %  
 $C_{m+c}$ : Nồng độ chất phân tích trong mẫu thêm chuẩn  
 $C_m$ : Nồng độ chất phân tích trong mẫu thử  
 $C_c$ : Nồng độ chuẩn thêm (lý thuyết)

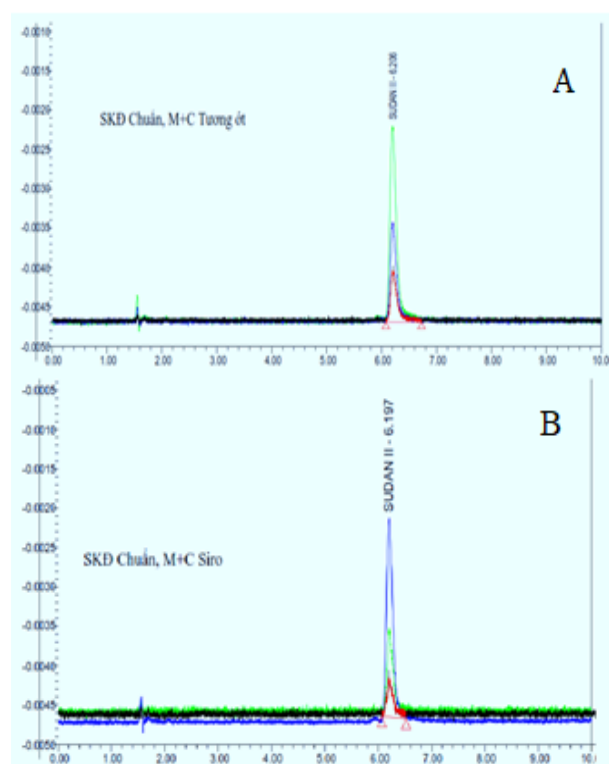
Kết quả này có hiệu suất cao hơn khi thực hiện trên chất chuẩn khi đánh giá khả năng chọn lọc của MIP (86,67%) được thể hiện trong hình 9, điều này có thể do trong nền mẫu có chứa một phần nhỏ mà phương pháp không phát hiện hoặc do ảnh hưởng của nền mẫu dẫn đến hiệu suất thu hồi tăng.

Bảng 2: Kết quả phân tích mẫu thực phẩm

Tên mẫu	Hàm lượng Sudan II có trong mẫu thử ( $\mu\text{g/L}$ )	Nồng độ của Sudan II ( $\mu\text{g/L}$ )		Hiệu suất thu hồi (%)	Độ lệch chuẩn tương đối RSD (%)
		Hàm lượng thêm vào	Hàm lượng tìm thấy		
Nước ngọt siro	Không phát hiện	100	91,14	91,14	0,90
		200	187,62	93,81	1,43
Tương ớt	Không phát hiện	100	91,26	91,26	0,31
		200	190,54	95,27	0,92



Hình 13: Sắc ký đồ phân tích mẫu tương ớt (A), siro (B)



Hình 14: Sắc ký đồ phân tích mẫu thêm chuẩn tương ớt (A), siro (B)

#### 4 KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, vật liệu MIP đã tổng hợp thành công các tính chất của vật liệu đã được minh chứng và kết quả cho thấy rất chọn lọc cho phân tử mục tiêu Sudan II. Nghiên cứu cũng đã ứng dụng vật liệu này để xử lý mẫu thực phẩm không những hiệu suất thu hồi cao (> 90%) mà còn có thể làm sạch và giàu mẫu lên nhiều lần, nhờ đó độ nhạy của phương pháp rất tốt (LOD và LOQ lần lượt là 0,010 ppm và 0,033 ppm). Có thể kết luận rằng phương pháp phân tích và vật liệu tổng hợp được phù hợp để phân tích Sudan II trong mẫu thực phẩm.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] K. Hunger, P. Mischke, W. Rieper, R. Raue, K., Kunde, A. Engel, *Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA (Chapter 5)*, 2000.
- [2] Z. Mo, Y. Zhang, F. Zhao, F. Xiao, G. Guo, B. Zeng, *Food Chem*, Vol. 121, pp 233–237, 2010.
- [3] M. Elyasi, M.A. Khalilzadeh, H. Karimi-Maleh, *Food Chem*. Vol. 141, pp 4311–4317, 2013.
- [4] Quyết định 3724/2001/QĐ-BYT. Về việc ban hành quy định danh mục các chất phụ gia được phép sử dụng trong thực phẩm.
- [5] A. Pochivalov, P. Davletbaeva, K. Cherkashina, A. Lezov, C. Vakh, A. Bulatov, *Journal of Molecular Liquids*, Vol. 271, pp. 807-814, 2018.
- [6] D. Moreno-González, P. Jáč, F. Švec, L. Nováková, *Food Chemistry*, Vol. 310, pp 125963, 2020.
- [7] F. Calbiani, M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, L. Pistarà, I. Zagnoni, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1042, pp. 123-130, 2004.
- [8] S. S. Ozak, Y. Yılmaz, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 236, pp 118353, 2020.

- [9] W. Ji, M. Zhang, T. Wang, X. Wang, Z. Zheng, J. Gong, *Talanta*, Vol. 165, pp. 18-26, 2017.
- [10] X. Xie, L. Chen, X. Pan, S. Wang, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1405, pp. 32-39, 2015.
- [11] M. R. V. S. Murty et al., *Food Chemistry*, Vol 115, pp. 1556-1562, 2009.
- [12] E. Mejia et al., *Food Chemistry*, Vol 102, pp.1027-1033, 2007.
- [13] A. A. Ensafi et al., *Talanta*, Vol 88, pp. 244-251, 2012.
- [14] L. H. Duy, *Luận văn cao học*, Đại học Phạm Văn Đồng, Quảng Ngãi, 2016.
- [15] H. Y. Wang et al., *Reactive & Functional Polymers*, Vol. 66, pp1081–1086, 2006 .
- [16] W. Yang et al., *Applied Surface Science*, Vol. 258, pp 6583–6589, 2012.

*Ngày nhận bài: 14/08/2020*

*Ngày chấp nhận đăng: 10/12/2020*