

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN**  
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

**VŨ KHÁNH TÙNG**

**NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CẢM BIẾN SINH HỌC**  
**ĐIỆN HÓA ĐỂ PHÂN TÍCH DƯ LƯỢNG**  
**THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT TỪ RAU QUẢ**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC**

**THÁI NGUYÊN - 2017**

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

VŨ KHÁNH TÙNG

**NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CẢM BIẾN SINH HỌC  
ĐIỆN HÓA ĐỂ PHÂN TÍCH DƯ LƯỢNG  
THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT TỪ RAU QUẢ**

*Chuyên ngành: Hóa phân tích*

*Mã số:60.44.01.18*

**LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC**

*Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Văn Anh*

**THÁI NGUYÊN - 2017**

## LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn sự hướng dẫn và chỉ bảo tận tình của TS. Nguyễn Vân Anh trong suốt thời gian học tập vừa qua cũng như trong thời gian thực hiện luận văn này.

Xin trân trọng ghi ơn các quý Thầy Cô, nhất là các Thầy Cô trong khoa Hóa Trường Đại Học Khoa Học Thái Nguyên đã nhiệt tình dạy những kiến thức, những phương pháp nghiên cứu căn bản và những công cụ hỗ trợ đắc lực cho quá trình làm luận văn và nghiên cứu hiện tại cũng như trong tương lai của những người đi sau chúng em.

Xin bày tỏ lòng biết ơn với gia đình, các anh chị em đồng nghiệp và thủ trưởng cơ quan đã luôn động viên giúp đỡ, làm chỗ dựa tinh thần cho tôi trong những ngày đi học và làm luận văn, cảm ơn các bạn. Cảm ơn các anh chị em trong lớp Cao học Hóa Phân tích K9B đã tương trợ cho tôi trọn quá trình học tập và nghiên cứu.

Luận văn được hỗ trợ kinh phí từ đề tài Bộ Giáo dục và Đào tạo mã số B2014-01-65

Trân trọng cảm ơn

Học viên

Vũ Khánh Tùng

## MỤC LỤC

Danh mục các ký hiệu viết tắt .....	a
Mục lục .....	b
Danh mục các bảng.....	d
Danh mục các hình .....	e
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	1
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN</b> .....	3
1.1. Vấn đề dư lượng thuốc BVTV trong nông sản .....	3
1.2. Nhóm chất BVTV họ lân hữu cơ.....	5
1.3. Cảm biến sinh học điện hóa.....	6
1.3.1. Cảm biến Enzyme.....	10
1.3.2. Cảm biến miễn dịch (immunosensors).....	14
1.4. Polyme dẫn điện .....	16
1.4.1. Giới thiệu tổng quát về polyme dẫn điện .....	16
1.4.2. Polyanilin (PANi).....	19
1.4.3. Polypyrrol (PPy) .....	21
1.4.4. Các phương pháp tổng hợp điện hóa polyme dẫn điện .....	23
1.5. Tình hình nghiên cứu trong nước về cảm biến điện hóa sinh học .....	26
<b>CHƯƠNG 2. CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM..</b>	<b>28</b>
2.1. Thực nghiệm.....	28
2.1.1. Thiết bị, dụng cụ.....	28
2.1.2. Hóa chất sử dụng .....	29
2.1.3. Lựa chọn hệ cảm biến và nghiên cứu các đặc trưng cơ bản.....	30
2.2. Các phương pháp nghiên cứu đặc trưng của cảm biến.....	31
2.2.1. Phương pháp phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) [61].....	31
2.2.2. Phương pháp kính hiển vi điện tử quét (SEM).....	32
2.2.3. Phương pháp điện hóa trong phân tích nồng độ chất .....	33
2.2.4. Các phương pháp phân tích .....	35

<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN</b> .....	39
3.1. Tổng hợp điện hóa màng PANi và đặc trưng tính chất.....	39
3.1.1. Biến tính bằng kỹ thuật von-apme vòng (CV) .....	39
3.1.2. Đặc trưng cấu trúc màng PANi bằng phổ FT-IR .....	40
3.1.3. Hành vi điện hóa của điện cực PANi/SPE .....	41
3.1.4. Phổ Raman của điện cực PANi-Gr/SPE.....	41
3.2. Cố định điện hóa Enzym AChE trên màng PANi - Gr .....	43
3.3. Các đặc trưng bề mặt của cảm biến điện hóa trước/sau biến tính.....	44
3.4. Ứng dụng cảm biến sinh học điện hóa tích hợp xác định dư lượng thuốc BVTV .....	46
3.4.1. Thử nghiệm hoạt tính của enzyme cố định trên điện cực .....	46
3.4.2. Xác định điểm hoạt động tối ưu của cảm biến .....	46
3.4.3. Thử nghiệm xác định thuốc BVTV .....	48
<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỊNH HƯỚNG</b> .....	52
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	53

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VIẾT TẮT

AChE	Acetylcholinesterase
ADC	Direct current
BChE	Butyrylcholinesterase
BuChE	Butyrylcholinesterase
BVTV	Bảo vệ thực vật
ChE	Cholinesterase
CV	Vôn - ampe vòng (Cyclic voltammetry)
EIS	Phổ tổng trở (Electrochemical Impedance Spectroscopy)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FE-SEM	Hiển vi điện tử quét trường phát xạ (Field Emission Scanning Electron Microscope)
FT-IR	Fourier transform infrared spectroscopy
GA	Glutaraldehyde
GC	Điện cực than thủy tinh (Glassy carbon)
GPRS	General Packet Radio Service
Gr	Graphen
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ISFET	Transito nhạy ion hiệu ứng trường (Ion Selective Field Effect Transistor)
LNT	Phòng thí nghiệm công nghệ nano (Laboratory of Nanotechnology)
MEMS	Hệ vi cơ điện tử (Micro ElectroMechanical System)
MOSFET	Transitor hiệu ứng trường kim loại-oxit (Metal-Oxide-Semiconductor Field Effect Transistor)
MRL	Mức giới hạn tối đa (Maximum Residue Limit)
MS	Khối phổ (Mass spectrometry)
MWCNTs	Ống nano các bon đa vách (Multi-walled carbon nanotubes)
OP	Lân hữu cơ (organophosphate)
P(1,5DAN)	Poly(1,5-Diaminonaphthalene)
PANi	Polyaniline
PBS	Phosphate Buffered Saline
Ppy	Polypyrrole
PS	Potential static
SEM	Scanning electron microscope
SWV	Square wave voltammetry
TCVN	Tiêu chuẩn Việt Nam

## DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1. Các điều kiện phân ly MS/MS: .....	37
Bảng 3.1. Kết quả phân tích trên nền nước. ....	50
Bảng 3.2. Kết quả phân tích trên nền rau. ....	51

## DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1.	Các phương pháp hiện được sử dụng để xác định thuốc bảo vệ thực vật (giai đoạn 2005 - 2011).....	6
Hình 1.2.	Sơ đồ nguyên lý cấu tạo một cảm biến sinh học.....	7
Hình 1.3.	Số các công bố khoa học liên quan đến chủ điểm cảm biến sinh học xác định thuốc BVTV từ 1989 tới 2011 (theo thống kê của Thomson Reuters Web of Science) .....	8
Hình 1.4.	Các mô hình cảm biến sinh học xác định chất BVTV đang được nghiên cứu .....	10
Hình 1.5.	Mô hình ức chế xúc tác enzyme của thuốc BVTV. Hình phía trên: khi không có chất BVTV; Hình phía dưới: khi có chất BVTV [13]	11
Hình 1.6.	Mô hình ức chế enzyme AChE trong xác định chất BVTV .....	11
Hình 1.7.	Mô hình chế tạo cảm biến enzym xác định chất BVTV .....	12
Hình 1.8.	Cảm biến sinh học phân tích thuốc bảo vệ thực vật (BVTV).....	14
Hình 1.9.	Mô hình cảm biến ATZ dựa trên sự thay đổi tín hiệu signal-off/signal- on của màng poly(JUG-HATZ) [32].....	16
Hình 1.10.	Một số polyme dẫn điện tử điển hình.....	17
Hình 1.11.	Polyme oxy hóa khử.....	17
Hình 1.12.	Polyme trao đổi ion poly(vinylpyridin).....	18
Hình 1.13.	Cơ chế hình thành PANi từ Ani bằng phương pháp điện hóa [38].	20
Hình 1.14.	Công thức tổng quát của PANi .....	21
Hình 1.15.	Cơ chế phản ứng trùng hợp PPy [38].....	22
Hình 1.16.	Mô tả quá trình trùng hợp điện hóa PPy trong hệ ba điện cực.....	23
Hình 2.1.	Hệ đo điện hóa Palmsen 3 và thiết bị tích hợp phần mềm đo điện hóa.....	28
Hình 2.2.	Hệ điện cực mạch in tích hợp thương mại của hãng Dropsens® ( <a href="http://www.dropsens.com">http://www.dropsens.com</a> ).....	28
Hình 2.3.	Đồ thị quét thế tuyến tính đa chu kỳ .....	33



Hình 2.4.	Quan hệ giữa điện thế và dòng điện trong phương pháp CV.....	34
Hình 2.5.	Sơ đồ quy trình chuẩn bị chất chuẩn trên nền nước.....	35
Hình 2.6.	Sơ đồ quy trình chuẩn bị chất chuẩn trên nền rau.....	35
Hình 2.7.	Khối phổ (MS) của mẫu Methamidophos.....	37
Hình 3.1.	Phổ trùng hợp điện hóa PANi theo phương pháp CV.....	39
Hình 3.2.	Phổ FT-IR của PANi tổng hợp theo phương pháp điện hóa.....	40
Hình 3.3.	Hành vi điện hóa của điện cực PANi/SPE tổng hợp theo kỹ thuật (a) trong dung dịch HCl 1M.....	41
Hình 3.4.	Phổ Raman của màng Graphene, PANi và PANi/Graphene .....	42
Hình 3.5.	Ảnh FE-SEM màng PANi/Graphene đã cố định AChE theo phương pháp liên kết đồng hóa trị sử dụng glutaraldehyde (a) phóng đại 10.000 lần và (b) phóng đại 50.000 lần.....	43
Hình 3.6.	Phổ CV của vi điện cực điện hóa trong dung dịch $K_3[Fe(CN)_6]$ ....	44
Hình 3.7.	Phổ SWV của vi điện cực trước và sau khi cố định.....	45
Hình 3.8.	Ghi nhận phản ứng enzyme-cơ chất trên bề mặt điện cực bằng phương pháp quét thế tại $V = + 300$ mV. ....	46
Hình 3.9.	Đường đáp ứng dòng của điện cực AChE/PANi-Gr/SPE trong dung dịch PBS khi thêm cơ chất ATCh.....	47
Hình 3.10.	Đường chuẩn biểu diễn sự phụ thuộc của tín hiệu.....	47
Hình 3.11.	Phát hiện thuốc trừ sâu họ lân hữu cơ sử dụng cảm biến điện hóa AChE bằng phương pháp áp thế. ....	48
Hình 3.12.	Đường chuẩn xác định dư lượng thuốc BVTV họ lân hữu cơ sử dụng cảm biến điện hóa AChE bằng phương pháp áp thế.....	49

## MỞ ĐẦU

Ngày nay, hoạt động sản xuất nông nghiệp đòi hỏi một lượng lớn hóa chất bảo vệ thực vật (BVTV) nhằm kiểm soát côn trùng, vi khuẩn, cỏ dại... bảo vệ mùa màng. Một điều rõ ràng rằng, cùng với phân bón hóa học, thuốc BVTV (bao gồm thuốc trừ cỏ, thuốc trừ bệnh, thuốc kích thích sinh trưởng và thuốc trừ sâu) góp phần đảm bảo an ninh lương thực và sự phát triển ổn định của kinh tế-xã hội. Tuy nhiên, tình trạng sử dụng thiếu kiểm soát và sai mục đích các chất BVTV gây ra những ảnh hưởng tiêu cực tới môi trường sinh thái và sức khỏe của con người. Hầu hết các loại thuốc BVTV đều là những hợp chất hữu cơ khó phân hủy, có khả năng tích lũy sinh học, tham gia vào chuỗi thức ăn. Do đó, vấn đề kiểm soát sử dụng thuốc BVTV đặc biệt trong các sản phẩm nông sản đã trở thành một vấn đề có tính toàn cầu không chỉ ở trong nước.

Việc kiểm soát dư lượng thuốc BVTV bằng các phương pháp và dụng cụ thích hợp không những góp phần đảm bảo an toàn cho sức khỏe con người mà cũng góp phần thúc đẩy việc sử dụng thuốc hợp lý hơn. Về cơ bản, phương pháp phân tích định lượng tiêu chuẩn được sử dụng hiện nay để xác định dư lượng chất BVTV trong các sản phẩm nông sản là phương pháp phân tích sắc ký khí hoặc sắc ký lỏng, sắc ký lỏng hiệu năng cao kết hợp khối phổ (GC/MS, LC/MS hoặc HPLC/MS-MS) sắc ký lỏng kết hợp UV-Vis. Tuy nhiên, các phương pháp này có đặc điểm là thời gian phân tích lâu, phức tạp, đòi hỏi nhiều kỹ năng khi phân tích, không thể thực hiện được ngoài hiện trường. Gần đây, xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme - ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) đã được ứng dụng để xác định dư lượng các chất BVTV dựa trên nguyên lý kháng nguyên - kháng thể. Kỹ thuật ELISA có độ nhạy cao, thao tác tương đối đơn giản, thời gian phân tích nhanh nhưng nhược điểm đó là kém chính xác trong các nền phức tạp, kém linh hoạt vì phải phụ thuộc vào hóa chất của nhà sản xuất. Do vậy, việc tìm ra các phương pháp phân tích mới thuận tiện hơn là mục tiêu của nhiều nghiên cứu trên thế giới. Các