

NGHIÊN CỨU PHÂN TÍCH MỘT SỐ HỢP CHẤT DOPING (ANBOLIC (AN), FUROSEMIDE (FU) VÀ METHANDIENONE (ME)) TRONG THỂ THAO BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN HÓA

TS. Nguyễn Nho Dũng, ThS. Lê Hoàng Dũng, ThS. Lê Chí Hùng

Trường Đại học TDTT Đà Nẵng

Tóm tắt: Phân tích các hợp chất doping là vấn đề đang được các nhà khoa học quan tâm. Graphen oxit (GO) được khử bằng điện hóa (ERGO/GCE) trên bề mặt điện cực glassy carbon (GCE). Với điều kiện đã tối ưu, phương pháp DP-ASV được sử dụng để phân tích đồng thời anabolic (AN), furosemide (FU) và Methandienone (ME). Kết quả đã thể hiện rằng điện cực biến tính cho tín hiệu hòa tan của cả ba chất phân tích với giá trị anabolic: $0,36\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $1,07$ đến $1,42\mu\text{M}$; furosemide: $0,25\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $0,75$ đến $1,00\mu\text{M}$; Methandienone: $0,23\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $0,70$ đến $0,93\mu\text{M}$.

Từ khóa: Doping, anabolic, furosemide, Methandienone, Graphen oxit dạng khử, điện hóa.

Abstract: Analysis of doping compounds is a matter of concern to scientists. Graphene oxide (GO) was electrochemically reduced on a glassy carbon electrode (GCE) surface (ERGO/GCE). Under the optimized conditions, the method allowed simultaneous determination of anabolic (AN), furosemide (FU) and Methandienone (ME). The results showed that the denatured electrode for the dissolved signal of all three analytes with anabolic value: $0.36\mu\text{M}$ and quantitative limit of 1.07 to $1.42\mu\text{M}$; furosemide: $0.25\mu\text{M}$ and quantitative limits from 0.75 to $1.00\mu\text{M}$; Methandienone: $0.23\mu\text{M}$ and quantitative limit from 0.70 to $0.93\mu\text{M}$.

Keywords: Doping, anabolic, furosemide, Methandienone, Reduced Graphene oxide, electrochemical.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Doping và chống doping là một trong những vấn đề có tính chất thời sự trong lĩnh vực thể thao nói chung và trong lĩnh vực y học thể thao nói riêng. Trên thế giới và có lẽ ngay cả trong nước ta, việc lạm dụng doping trong tập luyện và thi đấu thể thao ngày một nhiều và ngày càng tinh vi. Nghiên cứu về xã hội học các trường hợp sử dụng doping người ta thấy có bốn loại động cơ sau đây: Vì danh hiệu của địa phương, của quốc gia; Vì sự trông đợi của quần chúng hâm mộ thể thao; Với triết lý giành thắng

lợi bằng bất cứ giá nào; Vì những món tiền thưởng lớn. Hậu quả của việc sử dụng doping đã làm cho nhiều vận động viên bị mắc các chứng bệnh hiểm nghèo, sức khỏe thể chất và tinh thần đều sa sút, đã có những vận động viên chết vì sử dụng doping. Nhiều cuộc họp của lãnh đạo Ủy ban Olympic các quốc gia, của lãnh đạo các Liên đoàn Thể dục thể thao (TDTT) Quốc tế đã bàn và đề ra những biện pháp cấp bách, cụ thể để kiểm tra và có hình thức xử phạt nghiêm khắc đối với các vận động viên sử dụng chất kích thích, nhằm bảo vệ sự

trong sáng của Hiến chương Olympic, bảo vệ những mục đích cao cả của TĐTT. Hội đồng Y học Thể thao của Ủy ban Olympic Quốc tế đã nhiều lần cố gắng đưa ra một bản danh sách những chất kích thích cấm sử dụng. Việc phân tích kiểm tra doping là mất thời gian và tốn kém, đòi hỏi cần phải có thiết bị phân tích hiện đại và đa dạng các hợp chất doping. Chính vì vậy, đòi hỏi ngành hoá học phân tích phải phát triển và hoàn thiện các phương pháp phân tích có độ nhạy, độ chọn lọc cao và giới hạn phát hiện thấp để xác định các hợp chất hữu cơ nói chung và hợp chất doping nói riêng. Nhiều phương pháp phân tích đa tính năng đã ra đời và được ứng dụng rộng rãi như: phương pháp phân tích quang phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis), sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc kí khí ghép khối phổ (GC-MS) và phân tích điện hóa. Tuy nhiên, các phương pháp UV-Vis, HPLC và GC-MS lại bộc lộ nhiều hạn chế, đặc biệt là chi phí thiết bị và chi phí phân tích rất cao, trong khi đó phương pháp phân tích bằng điện hóa mà điển hình là các phương pháp von-ampe hoà tan (SV) mang lại nhiều ưu điểm như: độ nhạy, độ chính xác, tính chọn lọc cao và giới hạn phát hiện thấp, đặc biệt là chi phí thiết bị và chi phí phân tích rẻ và do đó, rất thích hợp cho việc phân tích trực tiếp một số hợp chất hữu cơ. Xuất phát từ các vấn đề nêu trên cho thấy rằng việc xác định các hợp chất hữu cơ bằng phương pháp SV sử dụng điện cực biến tính bằng ERGO là thân thiện với môi trường và là một hướng nghiên cứu mới trong lĩnh vực phân tích điện hóa trong nước cũng như trên thế giới. Đồng thời nó có tính khả thi cao trong các phòng thí nghiệm ở Việt Nam được trang bị thiết bị phân tích điện hóa đa chức năng. Vì vậy, việc tìm hiểu chủ đề: **“Nghiên cứu phân tích một số hợp chất Doping trong thể thao bằng phương pháp điện hóa”** thực sự mang tính cấp thiết trong giai đoạn hiện nay.

Trong quá trình nghiên cứu chúng tôi sử dụng các nhóm phương pháp nghiên cứu sau: Phương pháp phân tích và tổng hợp tài liệu;

Phương pháp phân tích hóa học; phương pháp toán học thống kê.

Sử dụng hóa chất và thiết bị trong quá trình nghiên cứu: Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu là các hóa chất tinh khiết (PA): graphit, axit boric, axitacetic, axit photphoric, dinatri hydrophosphate, mononatri orthophosphate, anabolic (AN), furosemide (FU) và Methandienone (ME).

Các thiết bị được sử dụng như sau: Máy phân tích điện hóa CPA - HH5; Điện cực glassy cacbon và bình điện phân; Cân phân tích Precisa XB 220A, Thụy Sĩ; Máy cất nước hai lần Aquatron (Bibby Sterilin, Anh); Micropipet Labpette các loại của hãng Labnet, Mỹ; Máy khuấy từ Velp Scientifica; Máy ly tâm Universal 320R; Máy siêu âm Cole - Parmer 8890.

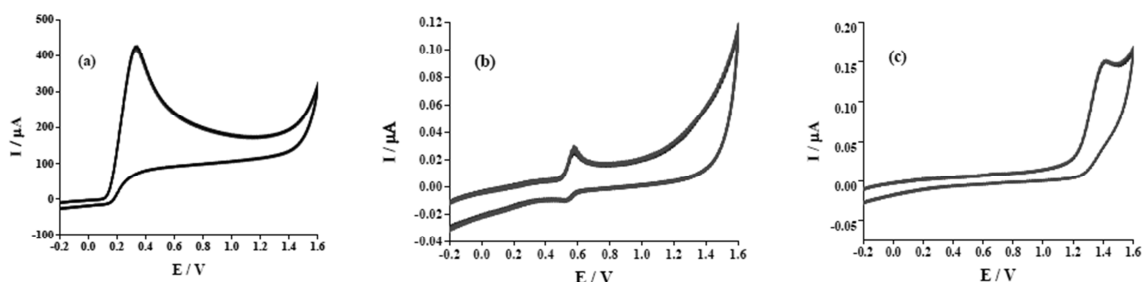
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Lựa chọn điện cực làm việc

Đặc tính điện hóa của anabolic (AN), furosemide (FU) và Methandienone (ME)

Phương pháp von-ampe vòng hòa tan (CV) được sử dụng để nghiên cứu đặc tính điện hóa của ba chất phân tích là anabolic (AN), furosemide (FU) và Methandienone (ME) trên điện cực ERGO/GCE. Kết quả đường hòa tan trình bày ở Hình 1 cho thấy anabolic (AN) và furosemide (FU) là chất bất thuận nghịch, methandienone (ME) là chất giả thuận nghịch.

Phương pháp CV, điện cực ERGO/GCE cho tín hiệu dòng đỉnh hòa tan của cả ba chất phân tích; tuy nhiên, ở điện cực GCE và GO/GCE chỉ xuất hiện hai peak của anabolic (AN) và furosemide (FU) điều này chứng tỏ rằng graphen oxide dạng khử có ưu điểm vượt trội hơn graphen oxide khi ứng dụng phân tích đồng thời anabolic (AN), furosemide (FU) và Methandienone (ME). Vì vậy, điện cực ERGO/GCE thể hiện ưu thế hơn so với điện cực GCE và GO/GCE nên được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Các đường CV của AN (a), FU (b) và ME (c) có nồng độ lần lượt là 10^{-2} , 10^{-4} và 10^{-3} M trong đệm B-RBS 0,2 M sử dụng điện cực ERGO/GCE (với lượng GO là $5\mu\text{g}$, số vòng khử là 5)

2. Tối ưu điều kiện thí nghiệm

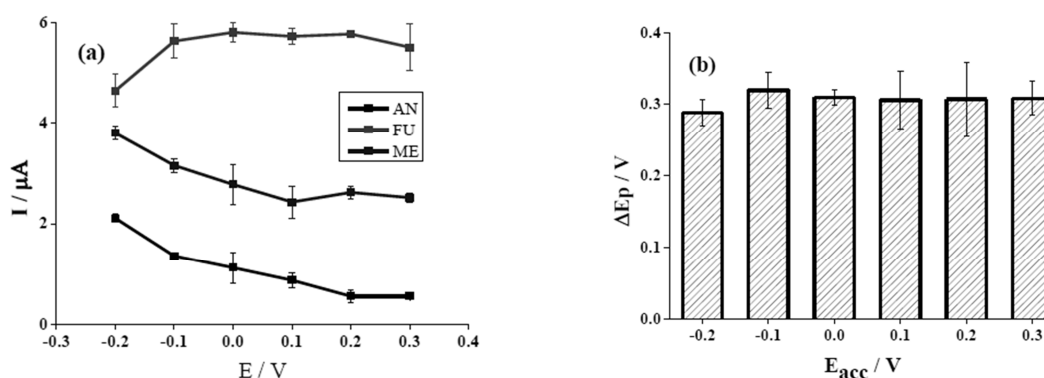
Trong phương pháp ASV, có thể sử dụng nhiều kỹ thuật ghi tín hiệu von-ampe hòa tan khác nhau như kỹ thuật von-ampe quét thế tuyến tính (LS), kỹ thuật von-ampe xung vi phân (DP), kỹ thuật von-ampe sóng vuông (SW),... Trong các kỹ thuật đó, hai kỹ thuật DP và SW được sử dụng phổ biến. Vì vậy, trong nghiên cứu này, kỹ thuật von-ampe sóng vuông hòa tan anot (DP-ASV) được chọn để tiến hành khảo sát hệ chất phân tích gồm AN (5×10^{-5} M), FU (5×10^{-6} M) và ME (5×10^{-5} M) trong đệm Britton-Robinson 0,1 M (pH = 3).

2.1. Khảo sát thế làm giàu

Khi chọn thế làm giàu (E_{acc}), ta cần chọn thế làm giàu thích hợp để đảm bảo chỉ làm giàu các chất cần phân tích lên bề mặt điện cực, hạn

chế tối đa sự làm giàu hoặc những phản ứng điện cực khác gây ảnh hưởng tới độ nhạy và độ chính xác của phép phân tích. Thế làm giàu cần phải âm hơn hoặc bằng thế khử cực của các chất cần xác định để khử được toàn bộ chúng trên bề mặt điện cực. Như vậy, để khảo sát ảnh hưởng của thế làm giàu đến quá trình phân tích thí nghiệm được tiến hành ở các thế làm giàu khác nhau (từ -0,2V đến 0,3V). Ghi dòng hòa tan bằng phương pháp DP-ASV, khoảng quét thế từ -0,2V đến +1,6V. Kết quả được thể hiện ở Hình 2.

Từ kết quả ở Hình 2, cho thấy: $E_{\text{acc}} = -0,1\text{V}$ thì khả năng tách đỉnh là tốt nhất, đồng thời sai số của tín hiệu I_p tương ứng với chất phân tích nhỏ. Do vậy, thế làm giàu là -0,1V được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 2. Sự biến động của I_p (a) và khoảng cách thế của đỉnh AN và FU (b) ở các thế làm giàu khác nhau

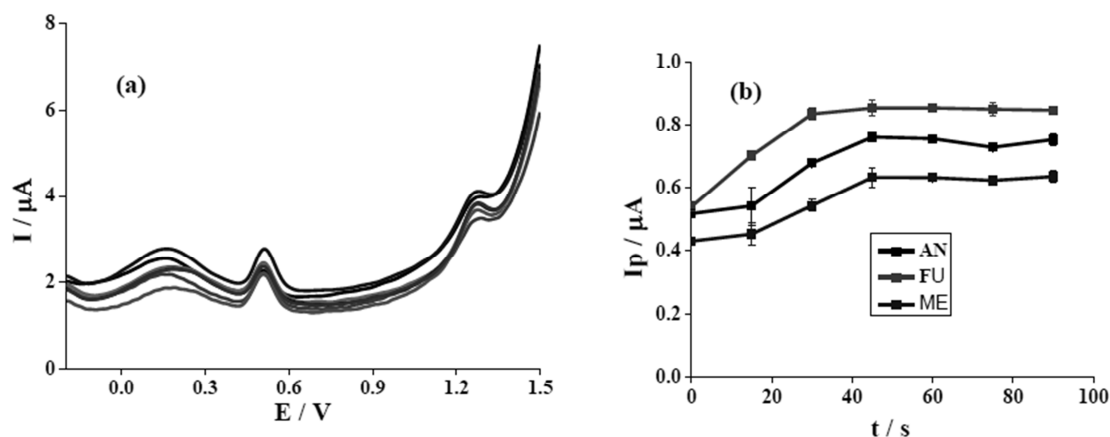
2.2. Khảo sát thời gian làm giàu

Thời gian làm giàu có ảnh hưởng rất lớn đến tín hiệu hòa tan của chất phân tích. Khi tăng thời gian làm giàu thì tín hiệu hòa tan tăng, ở thời gian làm giàu lớn, bề mặt điện cực bị bão

hòa chất phân tích thì tín hiệu hòa tan tăng không đáng kể. Chính vì thế, việc khảo sát thời gian làm giàu nhằm mục đích chọn ra thời gian thích hợp mà tại đó đáp ứng được yêu cầu là tín hiệu hòa tan cao nhưng thời gian phân tích

không tốn quá nhiều. Để tiến hành khảo sát thời gian làm giàu chúng tôi tiến hành như sau: ghi đường von-ampe hòa tan của các chất phân tích

tại các thời gian làm giàu khác nhau (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90s). Kết quả thu được ở Hình 3.



Hình 3. Các đường DP-ASV (a) và đường biểu diễn biến động của IP (b) với các thời gian làm giàu khác nhau. Các giá trị được đo lặp lại 4 lần, $C_{AN} = 5 \times 10^{-5} M$, $C_{FU} = 5 \times 10^{-6} M$, $C_{ME} = 5 \times 10^{-5} M$ trong đệm B-RBS 0,2 M (pH = 3)

Từ kết quả Hình 3 cho thấy: Khi tăng thời gian làm giàu từ 0s đến 45s, thì cường độ dòng đỉnh tăng. Tiếp tục tăng thời gian làm giàu thì dòng đỉnh hòa tan gần như không đổi. Do vậy để tiết kiệm thời gian phân tích 45s được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.3. Khảo sát ảnh hưởng của biên độ xung

Biên độ xung có ảnh hưởng rất lớn đến tín hiệu hòa tan của chất phân tích. Nếu biên độ xung nhỏ thì dòng đỉnh hòa tan sẽ thấp, biên độ

xung lớn thì dòng đỉnh hòa tan cao tuy nhiên khi biên độ xung lớn chân đỉnh dãn rộng làm tăng mức độ ảnh hưởng của các yếu tố khác đến chất phân tích. Do đó, việc chọn biên độ xung hợp lý sẽ quyết định đến khả năng phân tích của phương pháp. Chính vì điều này chúng tôi tiến hành khảo sát biên độ xung bằng cách ghi dòng đỉnh hòa tan của các chất phân tích ở các biên độ xung khác nhau. Kết quả thu được ở Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của biên độ xung đến tín hiệu dòng hòa tan theo phương pháp DP-ASV

Biên độ xung ΔE (V)	AN		FU		ME	
	$I_{p.TB}(\mu A)$	RSD(%)	$I_{p.TB}(\mu A)$	RSD(%)	$I_{p.TB}(\mu A)$	RSD(%)
0,04	0,598	2,49	1,247	3,47	1,202	2,90
0,05	0,726	1,94	1,349	0,80	1,140	1,45
0,06	0,887	0,61	1,613	0,40	1,356	0,37
0,07	1,002	0,93	1,821	1,44	1,602	0,41
0,08	1,119	0,98	1,962	1,15	1,838	0,27
0,09	1,231	0,65	2,058	1,56	2,061	1,32
0,10	1,326	1,18	2,069	1,06	2,115	1,30

Từ kết quả ở Bảng 1 cho thấy, khi biên độ xung bằng 0,05 và 0,06V thì khả năng tách peak tốt nhất, tuy nhiên, ở biên độ xung 0,06V

thì sai số nhỏ hơn. Vì vậy, biên độ xung bằng 0,06V (60mV) được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

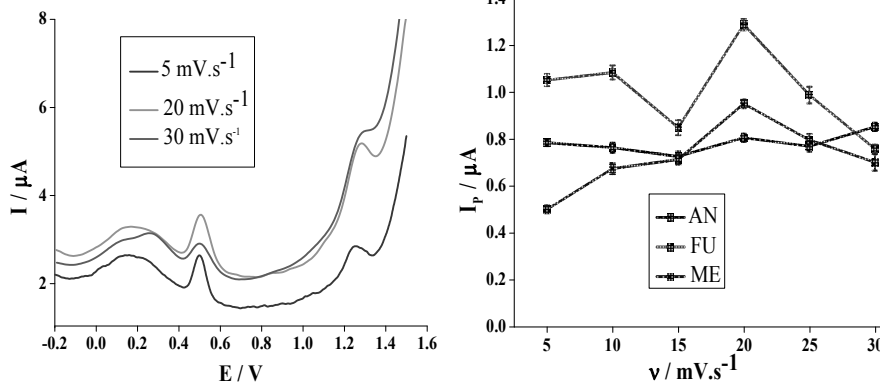
2.4. Ảnh hưởng tốc độ quét

Trong phương pháp von-ampe hòa tan, tốc độ quét thể có ảnh hưởng rất lớn đến tín hiệu hòa tan của chất phân tích. Nếu tốc độ quét thể nhanh thì rút ngắn thời gian phân tích, tín hiệu hòa tan cao, nhưng đồng thời độ cân đối của tín hiệu hòa tan cũng giảm đi hoặc có thể xảy ra hiện tượng mất tín hiệu hòa tan. Ngược lại, khi tốc độ quét thể chậm, độ lặp lại của phép ghi đo cao, tín hiệu hòa tan thu được có hình dạng cân đối, tuy nhiên tín hiệu hòa tan lại thấp. Do đó, phải chọn tốc độ quét thể thích hợp để giảm thời gian ghi đo đồng thời đảm bảo độ chính

xác của phép ghi đo và độ trơn, cân đối của đường cong von-ampe.

Để tiến hành khảo sát tốc độ quét chúng tôi tiến hành ghi đường von ampe hòa tan của đồng thời ba chất phân tích là AN, FU và ME ở các tốc độ quét khác nhau: 5, 10, 15, 20, 25, 30mVs⁻¹. Kết quả khảo sát tốc độ quét được trình bày trong Hình 4.

Từ kết quả Hình 4, cho thấy: Khi tốc độ quét bằng 20mV.s⁻¹, tín hiệu hòa tan của AN và FU cao nhất (so trong vùng khảo sát) và RSD ở các phép đo lặp lại của các chất phân tích nhỏ. Do đó tốc độ quét 20mV/s được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 4. Các đường DP-ASV (a) và đường biểu diễn biến động của I_p (b) ở các tốc độ quét khác nhau. Các giá trị được đo lặp lại 4 lần, $C_{AN} = 5 \times 10^{-5} M$, $C_{FU} = 5 \times 10^{-6} M$, $C_{ME} = 5 \times 10^{-5} M$ trong đệm B-RBS 0,2M (pH = 3)

3. Đánh giá độ tin cậy của phương pháp

Để có thể áp dụng điện cực biến tính ERGO/GCE vào phân tích các mẫu thực tế, trước tiên phải đánh giá độ tin cậy của phương pháp. Các đại lượng thống kê dùng để đánh giá bao gồm: độ lặp lại, khoảng tuyến tính, độ nhạy, LOD, LOQ.

3.1. Đánh giá độ lặp lại của tín hiệu

Độ lặp lại của I_p trên điện cực ERGO/GCE được xác định qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD). Để đánh giá độ lặp lại của I_p , tiến hành

ghi đo lặp lại 6 lần với 3 nồng độ khác nhau. Kết quả được trình bày trong Bảng 2 và Hình 5.

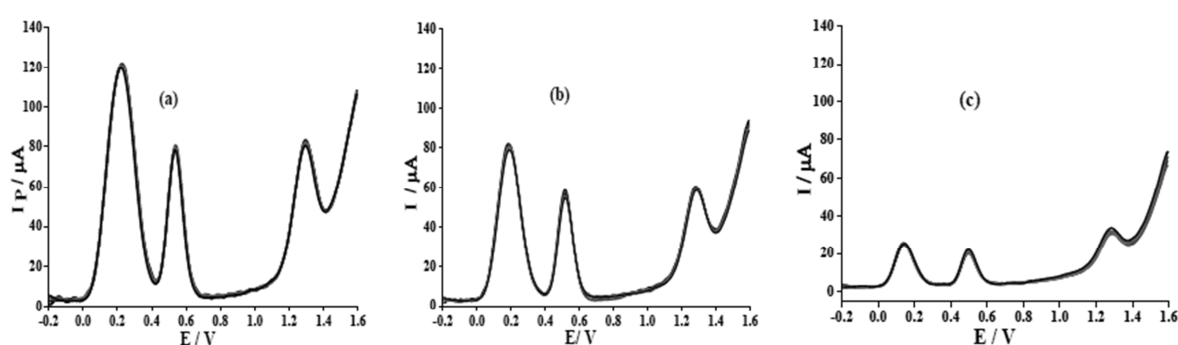
Dựa vào kết quả ở Bảng 2 và Hình 5 có thể cho rằng độ lặp lại của I_p đối với ba chất AN, FU và ME là rất tốt, dao động từ 0,76% đến 3,03%. Mặt khác, khi so sánh RSD ở các thí nghiệm với $\frac{1}{2} RSD_H$ ở các nồng độ tương ứng đều nhỏ hơn và như vậy, nhận thấy độ lặp lại của I_p trong phương pháp DP-ASV sử dụng điện cực biến tính ERGO/GCE là toàn toàn chấp nhận được.

Bảng 2. Các giá trị I_p , TB, SD, RSD khi đo lặp lại ở 3 nồng độ khác nhau theo phương pháp DP-ASV

	C (M)	$I_{p,TB}(\mu A)^{(b)}$	SD	RSD, (%)	$\frac{1}{2}.RSD_H$ (%)
TN 1 ^(a)	$C_{AN} = 10^{-2}$	117,2	0,89	0,76	2,00
	$C_{FU} = 10^{-4}$	74,48	0,75	1,00	4,00
	$C_{ME} = 10^{-3}$	48,32	0,88	1,83	2,83

TN 2	$C_{AN} = 5 \times 10^{-3}$	21,92	0,53	2,01	2,22
	$C_{FU} = 5 \times 10^{-5}$	17,03	0,87	2,14	4,44
	$C_{ME} = 5 \times 10^{-4}$	12,00	0,52	2,35	3,14
TN 3	$C_{AN} = 10^{-3}$	76,85	0,98	1,28	2,83
	$C_{FU} = 10^{-5}$	51,92	1,57	3,03	5,66
	$C_{ME} = 10^{-4}$	32,03	0,35	1,08	4,00

Giá trị I_P trung bình sau 6 lần đo lặp lại; đệm B-RBS 0,2 M ($pH = 3$).

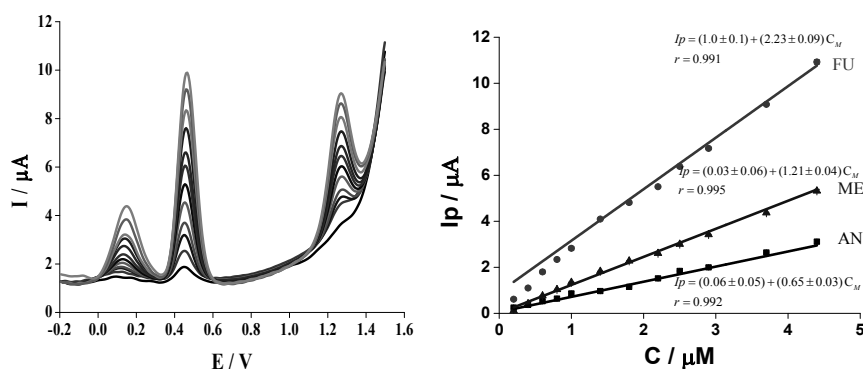


Hình 5. Các đường DP-ASV ở ba nồng độ AN, FU và ME với ba thí nghiệm khác nhau (TN1, TN2 và TN3)

Như vậy, nếu độ lặp lại của tín hiệu hòa tan $RSD(\%) < \frac{1}{2} RSD_H$, thì có thể cho rằng độ lặp lại của kết quả đo là tốt.

3.2. Khoảng tuyến tính

Kết quả xác định khoảng tuyến tính của phương pháp DP-ASV dùng điện cực biến tính ERGO/GCE đối với AN, FU và ME trình bày ở Hình 6.



Hình 6. Các đường DP-ASV của AN, FU và ME ở các nồng độ thêm chuẩn đồng thời khác nhau (A), Các đường hồi quy tuyến tính biểu diễn mối tương quan giữa I_P và nồng độ của AN, FU và ME (B)

Khi tiến hành khảo sát thêm chuẩn đồng thời AN, FU và ME lại nhận thấy đối với từng chất chỉ có một khoảng tuyến tính xác định (Hình 6) với các hệ số tương quan lớn. Các phương trình hồi quy tuyến tính được xác định như sau:

$$AN: I_P (\mu A) = (0,06 \pm 0,05) + (0,65 \pm 0,03)C_{AN}$$

$$r = 0,999$$

$$FU: I_P (\mu A) = (1,0 \pm 0,1) + (2,23 \pm 0,09)C_{FU}$$

$$r = 0,994$$

$$\text{ME: } I_p (\mu\text{A}) = (0,03 \pm 0,06) + (1,21 \pm 0,04)C_{\text{ME}}$$

$$r = 0,995$$

Từ các kết quả ở Hình 6, cho thấy có thể xác định đồng thời AN, FU và ME trong mẫu nghiên cứu.

3.3. Giới hạn phát hiện và độ nhạy

Xuất phát từ kết quả khảo sát khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện được tính toán thông qua công thức $3S_{y/x}/b$ với $S_{y/x}$ là độ lệch chuẩn của phép đo và b là độ dốc của phương trình hồi quy. AN: $0,36\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $1,07$ đến $1,42\mu\text{M}$; FU: $0,25\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $0,75$ đến $1,00\mu\text{M}$; ME: $0,23\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $0,70$ đến $0,93\mu\text{M}$.

KẾT LUẬN

Kỹ thuật von-ampe sóng vuông hòa tan anot (DP-ASV) được sử dụng để khảo sát các yếu tố ảnh hưởng (như thế làm giàu, thời gian làm giàu, biên độ xung và tốc độ quét thế) đến tín hiệu của anabolic (AN), furosemide (FU) và Methandienone (ME). Với điện cực biến tính GCE bằng graphen oxit dạng khử (khử bằng điện hóa). Kết quả đã thể hiện rằng điện cực biến tính cho tín hiệu hòa tan của cả ba chất phân tích với giá trị AN: $0,36\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $1,07$ đến $1,42\mu\text{M}$; FU: $0,25\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $0,75$ đến $1,00\mu\text{M}$; ME: $0,23\mu\text{M}$ và giới hạn định lượng từ $0,70$ đến $0,93\mu\text{M}$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Lê Đức Chương, Trần Duy Hòa, Nguyễn Nho Dũng (2019), *Giáo trình Dopng trong thể thao*, NXB Thông tin và Truyền thông, Hà Nội.
- [2]. Lê Tấn Đạt, Lê Văn Xanh, Tôn Nữ Huyền Thu (2014), *Giáo trình Sinh lý thể thao*, NXB TDTT, Hà Nội.
- [3]. Lê Tấn Đạt, Lê Văn Xanh, Tôn Nữ Huyền Thu (2014), *Giáo trình Y học thể thao*, NXB TDTT, Hà Nội.
- [4]. Phan Ngọc Minh (2014), *Vật liệu cacbon cấu trúc nano và các ứng dụng tiềm năng*, NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- [5]. Lê Thị Mùi (2008), *Giáo trình Phân tích điện hóa*, NXB Đà Nẵng.
- [6]. Amiri-Aref M., Raof J.B., Ojani R. (2014). *A highly sensitive electrochemical sensor for simultaneous voltammetric determination of noradrenaline, acetaminophen, xanthine and caffeine based on a flavonoid nanostructured modified glassy carbon electrode*. Sensors and Actuators, B: Chemical, Vol.192, pp.634-641.
- [7]. Arvand M., Gholizadeh T.M. (2013). *Simultaneous voltammetric determination of tyrosine and paracetamol using a carbon nanotube-graphene nanosheet nanocomposite modified electrode in human blood serum and pharmaceuticals*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, Vol.103, pp.84-93.
- [8]. Felix F.S., Ferreira L.M.C., Vieira F., et al. (2015). *Amperometric determination of promethazine in tablets using an electrochemically reduced graphene oxide modified electrode*. New J. Chem., Vol.39, Iss.1, pp. 696-702.