Chế tạo & khảo sát tăng cường phổ Raman của hạt nano vàng của SERS ứng dụng xác định dư lượng hóa chất

Fabrication & Characterization of Gold Nanoparticles on a Surface Enhancing Raman Spectra (SERS) to Dectect Chemical Residuals

Kien-Cuong NGUYEN

Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Vietnam

Tóm tắt

Tăng cường tín hiệu phổ tán xạ Raman (SERS) đang được nghiên cứu để xác định các dư lượng hóa chất có nồng độ rất nhỏ (< 10⁻⁹M) có trong thực phẩm và các sản phẩm y-dược. Màng SERS được chế tạo từ các hạt nano vàng (AuNPs), có kích thước 3-5 nm và xếp chồng trên bề mặt đế thủy tinh. Tín hiệu phổ tán xạ Raman được tăng lên gấp nhiều lần khi chiếu vào bề mặt SERS. Điều này được chứng minh bằng cách phủ bề mặt SERS bằng chất màu phát quang Rhodamine 6G (Rh6G) ở nồng độ rất nhỏ 10⁻⁹M. Kết quả đo phổ tán xạ Raman cho thấy Rh6G ở nồng độ 10⁻⁹ M vẫn xuất hiện các đỉnh đặc trưng của Rh6G. Điều đó cho phép dùng màng SERS để đo dư lượng các chất hóa học có nồng độ rất thấp, đủ để ứng trong thực phẩm và y-dược.

Keywords: Hạt nano vàng (AuNPs), tăng cường tín hiệu phổ tán xạ Raman trên cơ sở hiệu ứng bề mặt (SERS), Rhodamine 6G (Rh6G).

1. Đặt vấn đề

Những năm gần đây việc sử dụng các hóa chất kích thích sinh trưởng cho đông, thực vật, thuốc bảo vệ thực vật, hóa chất trừ sâu quá mức an toàn cho phép gây ảnh hưởng không nhỏ cho sức khỏe người tiêu dung. Một ví dụ có thể nhân thấy Salbutamol (C₁₃H₂₁O₃N) là một chất β2-adrenergic sử dụng để làm giảm co thắt phế quản ở người bệnh như hen suyễn và bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính. Ngoài ra Salbutamol cũng được chứng minh cải thiên trong lượng cơ bắp ở chuột và báo cáo giả thuyết rằng nó có thể thay thể cho clenbuterol cho mục đích đốt cháy mỡ và làm tăng cơ bắp. Việc thuốc có thể được xác nhận bằng cách phát hiện sự hiện diện của nó trong huyết tương hoặc nước tiểu, thường vượt quá 1000 µg/L. Tại Việt Nam việc lạm dụng Salbutamol ở nhiều cơ sở chăn nuôi gia súc bằng cách trộn thuốc này vào thức ăn gia

súc để làm tăng lượng nạc ở thịt. Khi trộn vào thức ăn gia súc, gia cầm, các chất này có tác dụng thúc cho lợn lớn nhanh hơn, mông, vai nở hơn, tỉ lệ nạc cao hơn, màu sắc thịt đỏ hơn. Do đó tăng được giá bán của sản phẩm.

Tuy nhiên tác dụng của Salbutamol lên động vật nuôi và người sử dụng Salbutamol tích lũy trong thực phẩm thịt sẽ làm ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng, gây ra các triệu chứng rối loạn nhịp tim, tim đập nhanh, tăng huyết áp, co thắt phế quản, phù nề, run cơ, liệt cơ, choáng váng...[1-2]. Vì vậy từ lâu Salbutamol đã là chất bị cấm sử dụng trong chăn nuôi theo quyết định của Tổ chức Y tế thế giới và Tổ chức Lương thực và nông nghiệp của Liên hợp quốc. Tuy nhiên vì lợi nhuận trước mắt, một số đơn vị chăn nuôi vẫn lén sử dụng Salbutamol trong thức ăn cho gia súc, gây nên những mối nguy hại khôn lường đối với sức khỏe cộng đồng và xã hội.

Cho đến nay, có nhiều phương pháp xác định dư lượng hóa chất có độ chính xác cho phép như sắc khí ghép khối phổ (GC-MS) [2]... Tuy

^{*} To whom correspondence should be addressed: <u>cuongnk@vnu.edu.vn</u>

nhiên đòi hỏi thiết bị chỉ có ở các trung tâm thí nghiêm lớn, tính cow đông trong đánh giá dư lượng hóa chất ở các địa điểm vùng nông thôn, biên giới... gặp khó khăn. Raman là thiết bị khối phổ cũng được dùng để xác định dư lượng hóa chất, có tính cơ động cao, thiết bị gọn nhẹ, nhưng độ chính xác của kết quả đo có phần hạn chế, nhất là dư lượng hóa chất có nồng đô quá nhỏ. Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) là môt trong các giải pháp tăng cường tín hiệu phổ Raman dựa trên hiệu ứng plasmonic bề mặt hạt kim loại nano như vàng (Au), Bạc (Ag)... [3-8], hoặc tăng cường tín hiệu phổ hồng ngoại (FTIR-ATR) trên bề mặt SERS [9]. Cá nghiên cứu trên đã chứng minh rằng SERS có thể tăng cường tín hiệu phố Raman lên nhiều lần và nồng độ dư lượng hóa chất càng nhỏ có thể đa tới 10^{-7} M - 10^{-8} M.

Xu hướng nghiên cứu SERS là tiếp tục đo được tín hiệu phổ Raman có nồng độ thấp hơn 10-9 M, độ ổn định của SERS đáp ứng yêu cầu ...Vì vậy trong bài báo này, nghiên cứu chế tạo hạt nano vàng có kích thước 3-5 nm, tạo màng SERS từ các hạt vàng tổng hợp được và khảo sát tinh tăng cường phổ Raman trên bề mặt AuNPs/SERS bằng chất chỉ thị màu phát quang Rohdamin Rh6G ở nồng độ thấp hơn hoặc bằng 10⁻⁹ M. Kết quả đạt được có thể ứng dụng các du lượng hóa chất trong thực phẩm, sản phẩm thuốc y dược...đạt yêu cầu qui chuẩn của Bộ Y tế Việt nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

Hóa chất và dung môi dung để tao hat nano vàng tao thành đế SERS mua từ hãng Merck và Sigma-Aldrich. Các hóa chất bao gồm: Aminopropyltriethoxysilane (APTES) (C₂H₅O)₃ -Si-C₃H₆-NH₂, độ tinh khiết >98%, Chloroauric acid (HauCl₄)độ tinh khiết 99% và Tetrakis(hydroxymethyl) phosphonium chloride [(CH₂OH)₄P]Cl. Ngoài ra, các loại dung môi hòa tan dùng cho phản ứng tổng hợp hat nano vàng như: Formaldehyde (HCHO) 37-38% của Merck, Trisodium citrate(citrate) : $Na_3C_6H_5O_7$, độ tinh khiết 99%, Ethanol C₂H₅OH, 99.9%, carbonate $(K_2CO_3),$ Potasium Sodium hydroxide (NaOH), Potasium hydroxide (KOH) & Nước cất 2 lần và nước khử ion.

2.1 Tổng hợp hạt nano vàng trong dung dịch

Hạt nano vàng được tổng hợp bằng phương pháp hóa học, theo phương trình phản ứng hóa học sau:

* Tạo dung dịch dung dịch vàng hydroxyde $K_2CO_3 + H_2O \rightarrow HCO_3^- + 2K^+ + OH^-$

 $HauCl_4 + (4-x)OH^- \rightarrow [AuCl_x(OH)_{4-x}]^-, x=0-4$

 $[P(CH_2OH)_4]Cl + NaOH \rightarrow P(CH_2OH)_3 + H_2O \\ + HCHO + NaCl$

* Tạo hạt Au kích thước nano: HauCl₄ + 2HCHO + $2H_2O \rightarrow Au^0$ + 2HCOOH + 4HCl + $\frac{1}{2}H_2$

2.2. Chức năng hóa bề mặt để thủy tinh với nhóm chức primary amine (-NH₂)

Cho các để thủy tinh đã được cắt nhỏ thành từng miếng dài 1cm ngâm trong 10ml dung dịch KOH 1M sau đó rung siêu âm 2 lần, ngâm đế khoảng 30 phút, sau đó ngâm lại bằng cồn để qua đêm để tao được lớp OH trên bề mặt đế thủy tinh. Do AuNPs có điện tích âm trên bề mặt, để chúng có thể bám hút trên bề mặt để thủy tinh để tạo ra màng vàng thì việc tạo nên trên bề mặt để thủy tinh một lớp điện tích dương được lựa chọn là các nhóm chức primary amin (-NH₂). Do đó để thủy tinh được tiếp tục chức năng hóa bề mặt bằng các nhóm chức primary amine; Đế thuy tinh được ngâm trong dung dịch APTES, khi đó sẽ xảy ra phản ứng thủy phân ngưng tụ với nhóm -OH, phản ứng sẽ hóa học tao được nhóm chức amine trên bề măt đế thủy tinh:

=Si -OH + (C₂H₅-O)-Si-(CH₂)₃-NH₂ \rightarrow =Si-O-Si-(CH₂)₃-NH₂

2.3 Gắn AuNPs lên bề mặt để thủy tinh

Các hạt nano vàng được tổng hợp trong dung dịch sẽ tạo liên kết với nhóm chức $-NH_2$ trên bề mặt đế thủy tinh; Do ái lực liên kết NH_2 -Au đủ mạnh để giữ cho hạt vàng không bị bóc tách trong quá trình chịu tác động cơ học. Quan sát mẫu thí nghiệm có diện tích 1 x 2.54cm² được phủ toàn bộ bề mặt một lớp vàng. Các hạt nano vàng đã liên kết với các nhóm $-NH_2$ trên bề mặt đế thủy tinh và bao phủ toàn bộ bề mặt mẫu thuy tinh sau 15min. AuNPs sẽ được trải đồng đều trên đế thủy tinh thông qua tương tác tĩnh điện với các nhóm chức $-NH_2$. Lớp nano Au sẽ

làm mầm tiếp tục tạo lớp màng vàng khác bằng phương pháp xếp chồng (stacking up). Độ gồ ghề của màng Au sẽ phụ thuộc vào kích thước hạt Au được sử dụng làm mầm. Chi tiết quá trình tổng hợp hạt nano vàng đã được trình bày trong [9-11].

Các đặc tính quang của AuNPs/SERS được xác định bằng các phương pháp đo như: đặc trưng hình thái học của màng AuNPs/ SERS được đánh giá bằng phương pháp scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM) and phố hấp thụ đặc trưng của AuNPs (UV-vis).

2.4. Khảo sát tăng cường tín hiệu Raman của AuNPs/SERS bằng chất thử Rhodamine 6G

Chất Rh6G (Rh6G) $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ có tính chất phát quang mạnh ở bước sóng trong vùng nhìn thấy nên được sử dụng làm chất thử (chemical indicator) để khảo sát khả năng tăng cường tín hiệu tán xạ Raman của SERS với bước song laze kích thích là 532nm. Dung dịch Rh6G được pha loãng ở các nồng độ khác nhau từ 10⁻⁴ đến 10⁻⁹ M.



Hình 2.1: Công thức phân tử của Rh6G

3. Kết quả và thảo luận

3.1 Đặc trưng hình thái học màng SERS

Hình ảnh SEM của AuNPs/SERS được phát triển từ mầm kích thước 5nm với các thang đo khác nhau từ 200nm đến 2µm được chỉ ra trong hình 2.1. Kết quả này cho thấy các màng vàng chế tạo được là tập hợp các hạt AuNPs xếp đều đặn trên mặt phẳng thủy tinh. Các hạt có kích thước cõ 20- 50nm. Kích thước trung bình của hạt tăng khi tăng độ dày màng. Khoảng cách giữa các hạt nằm trong khoảng 10-30nm. Với mẫu màng dày 25nm các hạt co lại thành từng đám, giữa các đám hình thành khoảng cách lớn hơn hay gọi là các vết nứt bề mặt. Các hạt có kích thước và độ phân tán khá đồng đều, các vết nứt trên bề mặt sẽ tạo ra các điểm nóng "hot spot" để có cộng hưởng plasmon giúp tăng cường tín hiệu tán xạ Raman (SERS).



Hình 3.1: Ảnh SEM của các màng vàng phát triển từ mầm kích thước 5nm với các thang đo 500nm.

Sự kết đám của AuNPs, trong giai đoạn đầu của quá trình tạo màng, do các nguyên tử được tạo ra trong phản ứng khử vàng bắt đầu bám dần dần vào các hạt mầm. Các hạt mầm tăng dần về kích thước. Do khoảng cách ban đầu giữa các hạt mầm là khác nhau nên các hạt mầm ở gần nhau dễ kết dính, tạo các đám. Các đám đảo này không phẳng và độ gồ ghề phụ thuộc vào đường kính của các hạt mầm kết dính.

Thêm vào đó là độ nhấp nhô bề mặt của màng Au vào khoảng từ 20 đến 60 nm được quan sát rõ qua hình ảnh AFM (Fig. 3.2.). Độ nhấp nhô này phụ thuộc vào sự xếp chồng của AuNPs, kết quả SEM cho thấy kích thước trung bình của AuNPs là 5nm. Với độ nhấp nhô trên có thể nhận thấy rằng có khoảng từ 4 đến 12 lớp do các AuNPs xếp chồng lên nhau. Hình ảnh AFM cũng cho thấy độ nhấp nhô của màng không đều, cao hơn ở phía ngoài rìa và thấp hơn ở giữa bề mặt đế.

Thực nghiệm cho thấy, có thể điều khiển kích thước kết đám và khoảng cách giữa chúng để tạo màng mỏng có độ gồ ghề như mong muốn. Màng vàng càng gồ ghề thì sẽ tạo ra nhiều các "hot spot" sẽ xảy ra hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt, làm cường độ trường plasmon bức xạ tăng lên rất mạnh, làm tăng cường độ tín hiệu tán xạ Raman.



Hình 3 2. Ảnh AFM của bề mặt màng vàng

Thực nghiệm cũng chỉ ra rằng cường độ tính hiệu tán xạ Raman phụ thuộc vào độ dày lớp AuNPs/SERS. Độ dày màng vàng được đo bằng SEM tại mặt cắt ngang của màng AuNPs/SERS. Độ dày khoảng 28 - 30nm tại các vị trí khác nhau (Fig. 3.3).

3.2. Tính chất quang của màng AuNPs/SERS Phổ hấp thụ của các màng AuNPs/SERS có chiều dày khác nhau thay đổi từ 15nm đến 35nm. Hai đỉnh hấp thụ tại khoảng 500 nm và 700nm đặc trưng cho đỉnh hấp thụ plasmon của hạt vàng (Fig. 3.4).

Khi độ dày của màng tăng lên đỉnh phố hấp thụ dịch có xu hướng dịch chuyển dần về bước sóng dài (red-shift) cho thấy sự tăng lên về kích thước hạt trong quá trình tạo màng.

Do tốc độ tăng trưởng về kích thước của AuNPs là khác nhau, phụ thuộc vào tương tác với các hạt lân cận, phổ hấp thụ cho thấy AuNPs tăng tỉ lệ với sự không đồng đều về mặt kích thước của các hạt trong giai đoạn này. Khi thể tích lượng dung dịch vàng hydroxide tăng dần, các hạt có xu hướng kết dính để hình thành các đám và tạo các vết nứt bề mặt. Khi tăng lượng muối vàng nhiều hơn, các tính chất hạt giảm dần, các rãnh và khe gồ ghề bị lấp đầy bởi các nguyên tử vàng.



Hình 3.3. Mặt cắt ngang của AuNPs/SERS thể hiện độ dày màng SERS trên đế thủy tinh đo được bằng ảnh SEM.

3.3. Tính chất tăng cường tín hiệu tán xạ Raman của màng AuNPs/SERS bằng Rh6G

Đo phổ tán xạ Raman màng AuNPs/SERS và Rh6G trên thiết bị Raman Labram HR Evolucion do hãng HORIBA chế tạo. Khi thực hiện khảo sát tín hiệu Raman của Rh6G trên đế thủy tinh ở dạng bột (Rh6G ở nồng độ nồng độ cao), ta đo được các đỉnh phổ đặc trưng của Rh6G (Fig 3.5), Tuy nhiên, khi pha loãng Rh6G ở nồng độ 10⁻³ M &10⁻⁴ M và nhỏ lên đế thủy tinh, thì ta lại không đo được do các đỉnh phổ Raman đặc trưng của Rh6G do hoàn toàn bị dập tắt. Điều đó có thể nói rằng không có khả năng tăng cường tín hiệu Raman với nồng độ thấp của Rh6G.



Hình 3.4. Phổ hấp thụ của màng vàng ở các độ dày màng khác nhau

Tuy không đo được phổ Raman của Rh6G ở nồng độ ở 10⁻⁴ M trên đế thủy tinh, nhưng ta lại đo được ở cùng nồng độ của Rh6G trên đế AuNPs/SERS. Hình 3.6 cho ta phổ của Rh6G với các đỉnh phổ đặc trưng (phù hợp với phổ tán xạ Raman của bột Rh6G trên đế thuy tinh, xem Fig. 3.5). Điều này chứng tỏ rằng đã có hiệu ứng tăng cường tín hiệu tán xạ Raman của Rh6G trên đế AuNPs/SERS (Fig. 3.6.).



Hình 3.5.

Phổ tán xạ Raman của Rh6G dạng bột trên đế thủy tinh sạch

Tăng cường tán xạ Raman trên đế AuNPs/ SERS lại được minh chứng rõ hơn khi nồng độ của Rh6G nhỏ đến giá trị 10⁻⁹M. Hình 3.7 cho ta phổ Raman tăng cường của Rh6G trên đế AuNPs/SERS. Có thể thấy được các đỉnh phổ đặc trưng của Rh6G, tuy cường độ tính hiệu giảm nhiều và nhiễu nền tăng lên cao hơn so với phổ Ramancủa Rh6G ở nồng độ thấp 10⁻⁴M. Kết quả cho thấy phổ SERS của Rh6G trên đế AuNPs/SERS xuất hiện đầy đủ các đỉnh phổ: 613 cm⁻¹, 774 cm⁻¹, 1189 cm⁻¹, 1308 cm⁻¹, 1360 cm⁻¹, 1509 cm⁻¹, 1572 cm⁻¹, 1647 cm⁻¹. Các đỉnh phổ này hoàn toàn phù hợp với các đỉnh dặc trưng của Rh6G bột đo trên đề thủy tinh không có hiệu ứng tăng cường phổ SERS Raman[12].



Hình 3.6 Phổ tán xạ Raman của Rh6G tại nồng độ 10⁻⁴ M trên màng AuNPs/SERS

Ngay cả khi nồng độ của Rh6G giảm đến nồng độ rất nhỏ 10⁻⁹ M; các đỉnh phổ tán xạ Raman đặc trưng của Rh6G ở nồng độ thấp vẫn hiện các đỉnh phổ đặc trưng chủ yếu. Tuy nhiên kết quả cho thấy cường độ các đỉnh tán xạ Raman giảm đi, một số đỉnh bị mất hoặc bị chồng chập với một số đỉnh khác nhưng các đỉnh đặc trưng chính của Rh6G vẫn khá rõ ràng.

4. Kết luận

Màng AuNPs/SERS được chế tạo từ các hạt nano vàng có kích thước khoảng 5 nm và xếp lớp trên đế thủy ting thông qua các liên kết tương tác Au-NH₂. Sự xếp chồng của các hạt AuNP tạo ra độ nhám bề mặt; điều đó tạo ra hiệu ứng tăng cường tín hiệu phổ tán xạ Raman. Hiệu ứng tăng cường tín hiệu phổ tán xạ Raman của Rh6G trên bề mặt AuNPs/SERS ở bước song laze kích thích 532nm cho cho phép đo được nồng độ rất thấp cỡ 10⁻⁹ M của Rh6G. Kết quả này cho phép ứng dụng AuNPs/SERS để định tính dư lượng hóa chất có nồng độ rất thấp trong thực phẩm và các sản phẩm y-dược trong tương lai với độ chính xác tin cậy cho phép.



Hình 3.7. Phổ tán xạ Raman của Rh6G tại nồng độ 10⁻⁹M trên màng AuNPs/SERS

Lời cám ơn

Tác giả xin cảm ơn sự hỗ trợ thí nghiệm tổng hợp hạt nano vàng (AuNPs) và màng SERS từ các AuNPs của Ts. Nghiêm Thị Hà Liên, Viện Vật lý, Viện Hàn Lâm Khoa học Việt Nam và sinh viên Nguyễn Thị Mơ, Khoa Vật lý Kỹ thuật & Công nghệ Nano, Trường ĐH Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Tài liệu tham khảo

[1]. Lê Thị Hồng Búp (2013), "Khảo sát dư lượng β -Agonist (Clebutamol và Salbutamol) trong thịt gà và thịt heo trên thị trường thành phố Cần Thơ", luận văn tốt nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

[2] Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Văn Lượng, Đỗ Khắc Hải, Lê Thị Quỳnh, Nguyễn Kiều Hưng(2016), "Nghiên cứu xây dựng phương pháp xác định đồng thời Salbutamol, Ractopamine và Clenbuterol trong thức ăn chăn nuôi bằng kỹ thuật sắc ký lỏng siêu hiệu năng hai lần khối phố", Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Các Khoa học Trái đất và Môi trường, Tập 32, Số 3 (2016) 1-6 [3]. CHEN, Li-Miao; LIU, You- Nian (2011), "Surface-enhanced Raman detection of melamine on silver-nanoparticle-decorated silver/carbon nanospheres: effect of metal ions". ACS applied materials & interfaces, 3.8: 3091-3096.

[4]. FAN, Meikun; ANDREDE, Gustavo FS; BROLO, Alexandre G (2011), "A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectrocopy and their application in analytical chesmistry", Analytica Chimica Acta, 693.1:7 7-25

[5]. MARGUERITAT, Jeremie, et al (2011), "Influence of the number of nanoparticles on the enhancement properties of surface-enhanced Raman scattering active area: sensitivity versus repeatability", ACS nano, 5.3: 1630-1638.

[6]. R. Gupta, W.A. Weimer (2006), "High enhancement factor gold films for surface enhanced Raman Spectroscopy", Chemical Physic Letters 374, 302-306.

[7]. ZHAO, Yanhua, et al (2013), "Silver deposited polystyrene (PS) microspheres for surface-enhanced Raman Spectroscopic-encoding and rapid label-free detection of melamine in milk powder", Talanta, 113:7-

[8]. Dominik Enders, Tadaaki Nagao, Annemarie Pucci, Tomonobu Nakayama and Masakazu Aono (2011), "Surface- enhanced ATR-IR spectroscopy with interface-grown plasmonic gold-island films near the percolation threshold", Phys. Chem. Chem. Phys, 13, 4935-4941

[9]. Nguyễn Văn Khá (2014), "Nghiên cứu chế tạo và các tính chất vật lý của màng mỏng kim loại vàng (Au) kích thước nanomet bằng phương pháp hóa học", luận văn thạc sĩ, Viện Vật lý- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

[10]. Đỗ Thị Huế (2011), "Nghiên cứu chế tạo hạt nano vàng kích thước nhỏ dùng cho chế tạo hạt nano đa lớp", luận văn thạc sĩ, Viện Vật lý- Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

[11]. Nguyễn Văn Tân (2011), "Nghiên cứu hiệu ứng SERS trên cấu trúc hạt nano bạc", khóa luận tốt nghiệp, Trường ĐH Khoa học tự nhiên- Đại học Quốc gia Hà Nội.

[12]. Yukhymchuk, S.A. Kostyukevych, V.M. Dzhagan, A.G. Milekhin, E.E. Rodyakina, I.B. Yanchuk, P.Ye. Shepeliavy, M.Ya. Valakh, K.V. Kostyukevych, V.O. Lysiuk, I.V. Tverdokhlib (2012), "*SERS of rhodamine 6G on substrates with laterally ordered and random gold nanoislands*", Semiconductor Physics, quantum Electronics & Optoelectronics, V. 15, N 3. P. 232-238.