

TỔNG HỢP VÀ KHẢO SÁT TÍNH CHẤT QUANG CỦA CÁC HẠT NANO VÀNG DẠNG CẦU ĐỊNH HƯỚNG ỨNG DỤNG TRONG Y SINH

Đến Tòa soạn 23-01-2010

NGHIÊM THỊ HÀ LIÊN, NGUYỄN THANH HẢI, VŨ XUÂN HÒA, ĐỖ QUANG HÒA,
TRẦN HỒNG NHUNG

Viện Vật lý, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

ABSTRACT

The colloidal nanosize golds were synthesized from metal precursor chloroauric acid (HAuCl_4) using trisodium citrate dehydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$) as reducing and stabilizing agents. The optical properties of colloidal gold solution have been investigated under the different synthetic conditions and aging time. The results show that the absorption and the stability of the colloidal gold nanoparticles depend robustly on the synthetic conditions and pH of media.

Keywords: Colloidal gold, Nanoparticles, Absorption, Surface Plasmon Resonance.

I - MỞ ĐẦU

Hạt nano vàng đã được biết đến từ thời cổ đại về tính chất màu lý thú sử dụng trang trí trong các đồ dùng thủy tinh và kính xây dựng. Gần đây, chúng được quan tâm nghiên cứu mạnh vì một số tính năng đặc biệt có tiềm năng lớn cho việc ứng dụng trong y sinh [1 - 7]. Đặc tính ưu việt của các hạt nano vàng là ổn định về cấu trúc, không độc, có khả năng tương hợp sinh học cao và nhất là chúng dễ dàng hoạt hoá để gắn kết với các phân tử sinh học như amino axit, protein, enzym, DNA [8, 9] và các phân tử thuốc thông qua các chất có chứa nhóm -SH. Về khía cạnh vật lý, nhờ vào hiệu ứng plasmon cộng hưởng nên các hạt nano vàng có thiết diện tắt lớn trong vùng nhìn thấy, phụ thuộc mạnh vào hình dạng và kích thước hạt cũng như tính chất của môi trường bao quanh. Sự biến đổi màu sắc của dung dịch keo nano vàng theo sự thay đổi của môi trường đã được sử dụng trong các cảm biến sinh hóa để chẩn đoán bệnh cũng như phát

hiện các độc tố [10].

Có nhiều cách để tạo ra hạt nano vàng như các phương pháp vật lý bao gồm phương pháp quang hóa, điện hóa siêu âm, chiếu xạ, nhiệt ..., hoặc bằng phương pháp hóa. Phổ biến nhất là phương pháp Turkevitch [11] tạo hạt nano vàng phân tán trong nước từ HAuCl_4 bằng phương pháp hóa khử có sử dụng xitrat làm tác nhân khử. Các hạt vàng chế tạo bằng phương pháp này có thể dễ dàng biến đổi bề mặt để gắn kết với các phân tử sinh học để sử dụng trong các ứng dụng y-sinh như cảm biến sinh học, đánh dấu sinh học

Trong bài này, chúng tôi trình bày các kết quả chế hạt keo vàng bằng phương pháp Turkevich. Nghiên cứu tính chất quang của dung dịch keo nano vàng trong các điều kiện chế tạo khác nhau như thời gian phản ứng, nồng độ tác nhân khử, nồng độ của muối vàng, ảnh hưởng của độ pH lên tính chất quang của các hạt nano vàng cũng như độ ổn định của dung

dịch keo vàng theo thời gian bảo quản cũng được khảo sát.

II - PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM

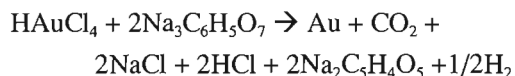
1. Hóa chất

Axit tetrachloro auric ngậm ba phân tử nước 99,5 % ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), trinitrat ngậm hai phân tử nước ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) được mua từ hãng Merck. Các thí nghiệm được sử dụng nước cất hai lần.

2. Tổng hợp dung dịch nano vàng

a) Chế tạo

90 ml dung dịch $2,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ axit chloroauric chứa trong bình cầu đáy bằng được khuấy từ và gia nhiệt cho tới sôi. Khi dung dịch bắt đầu sôi, nhỏ 3,6 ml dung dịch $6,8 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ natri xitrat vào bình phản ứng. Khi đó phản ứng bắt đầu xảy ra, phương trình phản ứng như sau:



Theo thời gian phản ứng, màu của dung dịch phản ứng chuyển từ màu vàng nhạt sang không màu, màu xám, tím và cuối cùng là màu vang đỏ. Sau khoảng hơn 10 phút phản ứng xảy ra hoàn toàn, dung dịch vàng có màu vang đỏ. Dung dịch này được chụp ảnh hiển vi điện tử quét phân giải cao HSEM và đo hấp thụ hồng ngoại và Raman sử dụng phổ kế hồng ngoại biến đổi Fourier FTIR Nicolette và thiết bị LAMBRAM

b) Thay đổi thời gian phản ứng

Sau khi nhỏ dung dịch xitrat được 1 phút thì quá trình lấy mẫu ra được bắt đầu thực hiện - thời điểm lấy mẫu ra được coi là thời gian kết thúc phản ứng của mẫu. Cứ sau 3 phút thì 5 ml mẫu trong bình phản ứng được rút ra và dừng lại hẳn sau 25 phút tính từ thời điểm phản ứng bắt đầu xảy ra. Các mẫu trên được đo phổ UV-VIS.

c) Thay đổi nồng độ xitrat

Nhằm nghiên cứu sự phụ thuộc của kích thước và hình dạng của các hạt nano vàng vào nồng độ xitrat, một dãy gồm 18 thí nghiệm được thực hiện với nồng độ của HAuCl_4 là $2,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

không đổi, tỷ lệ mol r của $r = [\text{citrate}]/[\text{HAuCl}_4]$ được thay đổi từ 0,5 cho tới 12 với bước thay đổi là 0,5. Thời gian cho tất cả các phản ứng được giữ cố định là 15 phút.

d) Thay đổi nồng độ axit chloroauric

Sự phụ thuộc của nồng độ hạt nano vàng vào nồng độ HAuCl_4 cũng được nghiên cứu qua việc khảo sát một dãy mẫu 12 dung dịch keo vàng được chế tạo với lượng HAuCl_4 thay đổi từ $0,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ tới $6,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, mỗi bước là $0,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. Tỷ lệ r giữ cố định cho cả dãy mẫu $r = 12$. Thời gian phản ứng được xác định cho từng mẫu với lượng HAuCl_4 cụ thể.

e) Khảo sát ảnh hưởng của độ pH

Ảnh hưởng của pH lên tính chất quang của dung dịch keo vàng được khảo sát qua phổ hấp thụ của các dung dịch keo vàng có pH khác nhau từ 1,9 cho tới 9,1.

f) Khảo sát độ ổn định của các dung dịch keo vàng

Tất cả các dung dịch keo vàng đều được bảo quản trong tối và ở nhiệt độ là 4°C . Đặc trưng quang của các dung dịch này được kiểm tra hàng tháng. Tất cả các dung dịch keo vàng chế tạo được đều được kiểm tra kích thước và hình dạng hạt bằng chụp ảnh hiển vi điện tử quét phân giải cao (HSEM) Hitachi-S480. Tính chất hấp thụ của các dung dịch keo vàng được khảo sát sử dụng máy quang phổ UV-VIS Varian Carry-5000 với độ phân giải 1 nm.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

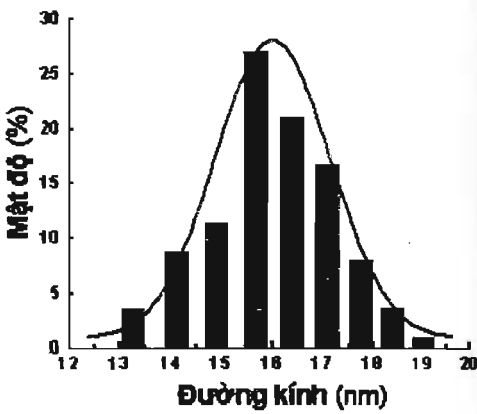
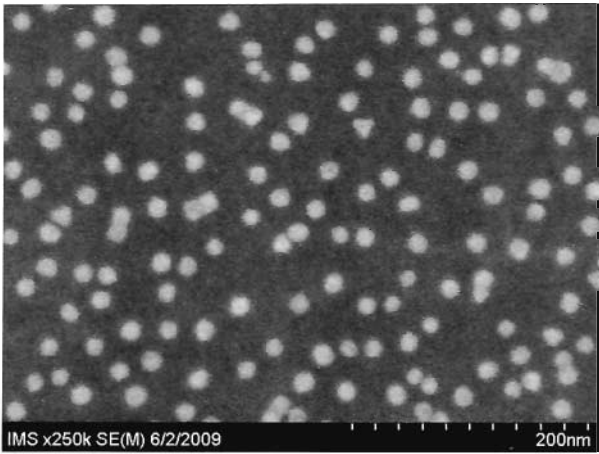
1. Cấu trúc hóa học, hình dạng và kích thước hạt keo vàng

Hình 1 biểu diễn ảnh HSEM của dung dịch keo vàng chế tạo được. Kết quả cho thấy hạt vàng có dạng tựa cầu với kích thước khá đồng đều khoảng 16 nm (các hạt có đường kính khoảng $16 \pm 2,4 \text{ nm}$ chiếm khoảng 95% tổng số hạt (hình 1 b)).

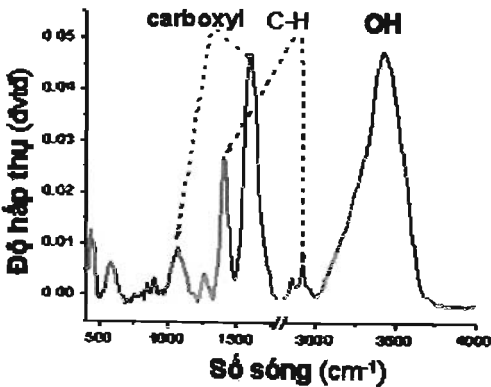
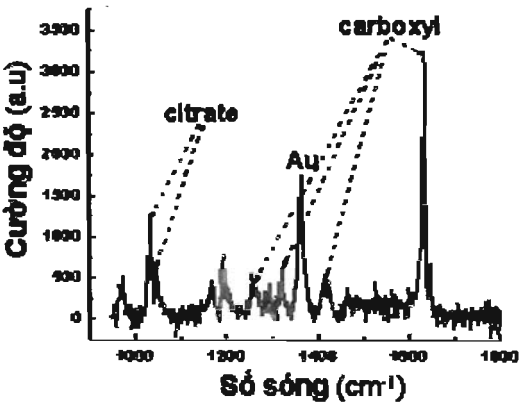
Hình 2 biểu diễn phổ microRaman và hấp thụ hồng ngoại biến đổi Fourier FTIR của các hạt vàng. Có thể nhóm các vạch phổ thành hai nhóm chính: nhóm vạch đặc trưng cho dao động

của vàng ở 1360 cm^{-1} (phổ Raman) và nhóm các vạch đặc trưng cho dao động của ion xitrat bao quanh hạt vàng gồm: các nhóm vạch $1415, 1319$ và 1256 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm CH_2 trong phân tử xitrat (phổ Raman) và 1403 và 2920 cm^{-1} ở phổ FTIR. Các nhóm vạch của nhóm OH

ở 3400 và 1085 cm^{-1} (phổ FTIR) và các nhóm vạch đặc trưng cho dao động của nhóm cacboxyl COO^- gồm: i) các dao động của liên kết C=O 1589 cm^{-1} ở phổ hồng ngoại và 1644 cm^{-1} ở phổ Raman. ii) Các dao động của liên kết C-O gồm 1045 và 1029 cm^{-1} ở phổ Raman.



Hình 1: (a) ảnh SEM của hạt vàng (kích thước ~ 16 nm), (b) Phổ phân bố kích thước hạt



Hình 2: (a) Phổ Raman của vàng xitrat; (b) Phổ hồng ngoại vàng xitrat

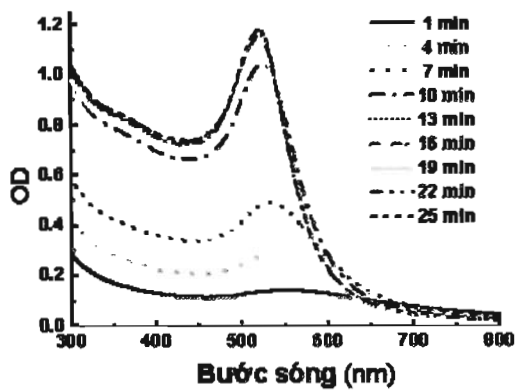
Qua khảo sát phổ dao động, có thể thấy rõ cấu trúc hóa học của các hạt vàng gồm nhân vàng có các nhóm xitrat xung quanh với các nhóm chức cacboxyl COO^- tích điện âm vừa tạo cân bằng điện tích cho các hạt vàng không bị kết tụ, vừa sẵn sàng cho các gắn kết sinh học.

2. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng

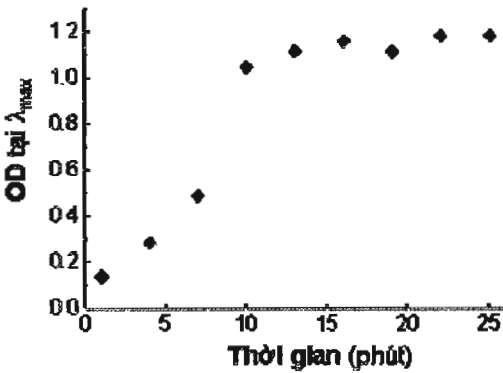
Hình 1 trình bày phổ UV-VIS của các dung dịch keo vàng theo thời gian phản ứng thu được từ thí nghiệm a). Nhìn chung, phổ hấp thụ thay đổi mạnh trong khoảng 10 phút đầu của phản

ứng: cường độ hấp thụ tăng gần tuyến tính (H1.b)), độ bán rộng hẹp lại và đỉnh phổ dịch về phía sóng ngắn. Sau 13 phút, phổ trở nên ổn định với cường độ ~ 1,2 và đỉnh tại 519 nm (H.1a). Có thể nói rằng phản ứng được tăng tốc trong khoảng thời gian từ 0 tới 10 và kết thúc

sau 13 phút. Như vậy, thời gian phản ứng của thí nghiệm a) là ~15 phút. Nhờ thực hiện quá trình theo dõi này, chúng ta có thể xác định thời gian phản ứng đối với mỗi nồng độ H₂SO₄.



(a)



(b)

Hình 3: (a) Phổ UV-VIS và b) cực đại hấp thụ của các dung dịch keo vàng theo thời gian phản ứng

3. Ảnh hưởng của tỷ lệ mol $r = [\text{xitrat}]/[\text{HAuCl}_4]$

Hình 4 biểu diễn ảnh HSEM của các dung dịch vàng thu được trong thí nghiệm b. Kết quả cho thấy khi $r < 2,5$, các hạt nano vàng không đồng dạng với các kích thước khác nhau và không đơn phân tán (hình 4a, 4b và 4c). Khi $r \leq 6$, các hạt nano vàng dần trở thành đơn phân tán và dạng cũng dần trở thành cầu. Khi $r \geq 6$, các hạt nano vàng ổn định với dạng cầu, đơn phân tán, đường kính phân bố trong khoảng 16 nm (hình 4e, 4f). Hình 5 biểu diễn các đặc trưng hấp thụ cộng hưởng phụ thuộc vào giá trị r của các dung dịch này.

Hình 5 cho thấy phổ hấp thụ của dung dịch nano vàng có những biến đổi mạnh trong khoảng $r \leq 6$; cường độ hấp thụ tăng tỉ lệ thuận với r (hình 5a), độ bán rộng phổ giảm monotonic từ 140 nm xuống 65 nm (hình 5b) và đỉnh phổ dịch về phía sóng ngắn từ 564 nm đến 519 nm (hình 5c)). Phổ hấp thụ ổn định khi $r \geq 6$ với cường độ hấp thụ ~ 1,3, $\Delta\lambda_{\text{Abs}} = 67$ nm và $\lambda_{\text{Abs}} =$

518 nm.

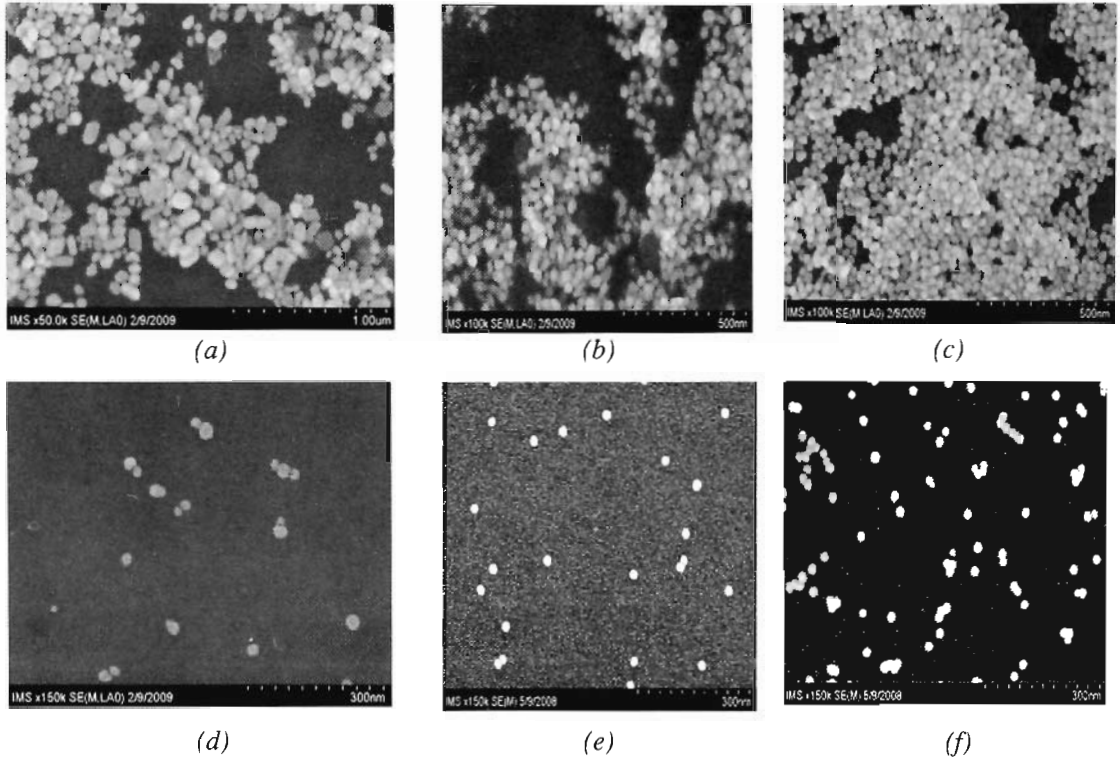
Có thể giải thích hiện tượng này như sau: khi $r \leq 6$, lượng xitrat không đủ để bao quanh hết các hạt nano vàng tạo được, vì vậy chỗ nào của hạt vàng không được bao thì sẽ tiếp tục phát triển và tụ thành đám, làm cho kích thước hạt lớn, nồng độ hạt trong dung dịch thấp. r tăng thì lượng xitrat để bọc xung quanh hạt sẽ tăng, do đó hạn chế kích thước hạt cũng như sự tụ đám của hạt, dẫn tới sự tăng nồng độ hạt; làm cho cường độ phổ hấp thụ tăng, độ bán rộng phổ hẹp lại và đỉnh phổ dịch về phía sóng ngắn. Khi $r \geq 6$, lượng xitrat đủ để bao kín các hạt vàng tạo thể ổn định, do đó phổ hấp thụ của dung dịch vàng cũng trở nên ổn định.

4. Ảnh hưởng của nồng độ muối vàng

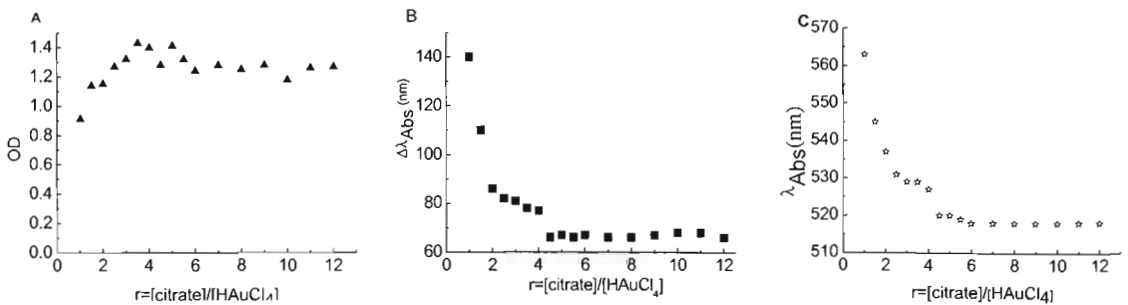
Hình 6a thể hiện phổ hấp thụ cộng hưởng của các dung dịch keo vàng theo hàm của lượng muối vàng được tạo từ thí nghiệm c. Có thể thấy là dạng phổ hấp thụ không thay đổi nhiều nhưng cường độ tăng khi lượng muối vàng tăng, chứng tỏ lượng muối vàng thay đổi trong dải quan sát

không làm ảnh hưởng nhiều tới kích thước của hạt nano vàng, nhưng ảnh hưởng mạnh tới nồng độ hạt. Đồ thị biểu diễn cường độ hấp thụ theo

lượng muối vàng (hình 6b) cho thấy sự tăng tuyến tính của nồng độ hạt vàng trong dung dịch theo lượng muối vàng sử dụng.



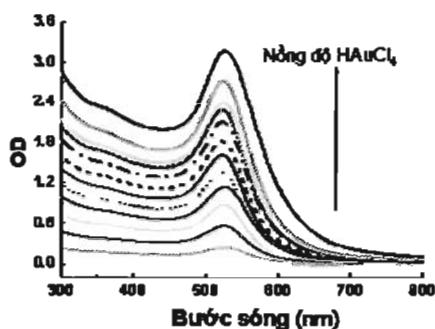
Hình 4: Ảnh HSEM của các hạt nano vàng được tạo ra với các tỷ lệ mol khác nhau :
r = 1,0; b) r = 2,5; c) r = 3,0; d) r = 4,0; e) r = 6,0; f) r = 12



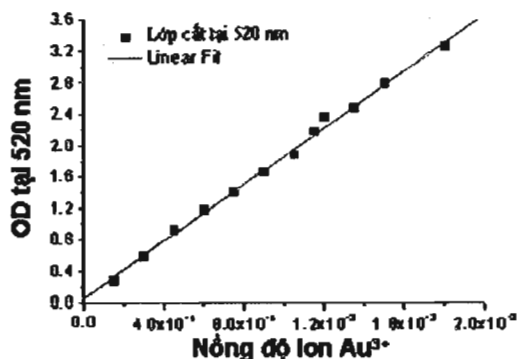
Hình 5: Các đặc trưng hấp thụ cộng hưởng của các dung dịch keo vàng phụ thuộc vào giá trị r:
(a) cường độ hấp thụ, (b) độ bán rộng phổ hấp thụ $\Delta\lambda_{Abs}$ và (c) cực đại hấp thụ λ_{Abs}

5. Ảnh hưởng của pH

Hình 7 biểu diễn phổ hấp thụ UV-VIS của các dung dịch keo vàng với các pH khác nhau. Từ hình 7, ta có thể thấy dung dịch keo vàng ổn định tại các pH ≥ 7 .

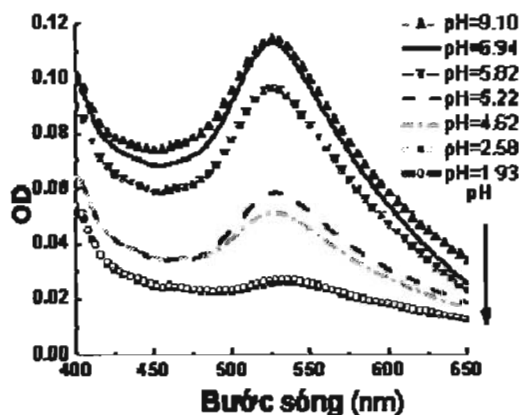


(a)



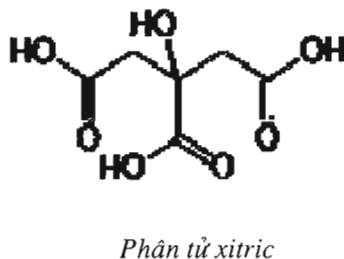
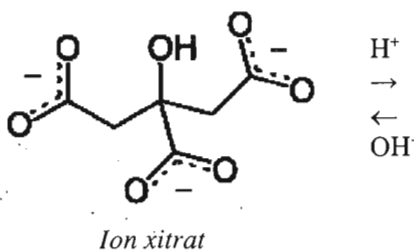
(b)

Hình 6: (a) Phổ hấp thụ UV-VIS theo hàm của nồng độ HAuCl_4 trong thực nghiệm c), (b) một lớp cắt của phổ tại cực đại hấp thụ λ_{Abs} theo nồng độ HAuCl_4



Hình 7: Phổ hấp thụ UV-VIS của các dung dịch keo vàng xitrat tại các pH khác nhau

Điều này có thể được giải thích như sau: phân tử axit citric có hằng số phân ly $\text{pKa}_1 = 3,15$, $\text{pKa}_2 = 4,77$ và $\text{pKa}_3 = 6,4$. Khi $\text{pH} \geq 7$, dung dịch chỉ bao gồm các ion xitrat với cả ba nhóm cacboxyl được phân ly hoàn toàn thành cacbonat, do đó các ion âm xitrat bị hút trên bề mặt các hạt vàng và bao quanh hạt vàng tạo ra các hạt keo vàng, giữa các hạt keo vàng tồn tại lực đẩy tĩnh điện, lực này giữ cho các hạt vàng không thể kết tụ với nhau. Khi $\text{pKa}_2 < \text{pH} < \text{pKa}_3$ thì một nhóm cacbonat trong ion xitrat sẽ kết hợp với ion H^+ và tạo thành một nhóm cacboxyl. Khi $\text{pKa}_1 < \text{pH} < \text{pKa}_2$ có hai nhóm cacbonat trong ion xitrat kết hợp với ion H^+ thành hai nhóm cacboxyl. Khi $\text{pH} < \text{pKa}_1$ cả ba nhóm cacbonat trong ion citrat kết hợp với các ion H^+ vì vậy trong dung dịch chỉ tồn tại các phân tử citric.

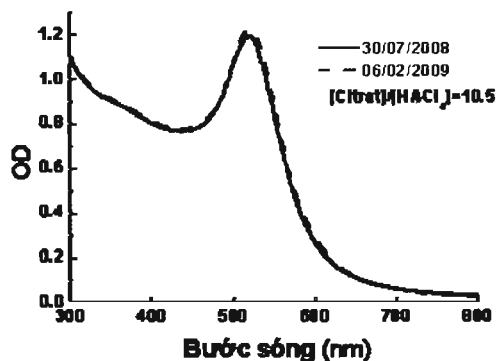


Có nghĩa là khi pH giảm dần thì các nhóm cacbonat trong ion xitrat sẽ kết hợp với các ion H^+ dẫn đến số lượng các nhóm cacboxyl trong

dung dịch tăng dần nên lực bám hút trên bề mặt hạt vàng giảm dần làm số ion xitrat xung quanh hạt vàng ít dần đi. Vì vậy, các hạt vàng có thể

tiến sát gần nhau và kết hợp với nhau tạo thành hạt to hơn và lắng xuống dẫn đến sự giảm mật độ quang của các dung dịch keo vàng khi pH giảm.

6. Độ ổn định của dung dịch keo vàng



Hình 8: phổ hấp thụ của dung dịch keo vàng theo thời gian bảo quản

Hình 8 trình bày phổ hấp thụ của một dung dịch keo vàng: vừa được chế tạo a) và sau 185 ngày bảo quản trong tối ở nhiệt độ 4°C b) ($r = 10,5$). Kết quả cho thấy hai đường hấp thụ a) và b) trùng khít với nhau, chứng tỏ sự ổn định của dung dịch vàng trong thời gian bảo quản.

IV - KẾT LUẬN

Đã chế tạo dung dịch keo vàng dạng cầu, đồng nhất về hình dạng và đơn phân tán với đường kính trung bình 16 nm đã được trình bày. Khảo sát sự phụ thuộc của nồng độ hạt vàng trong dung dịch vào lượng HAuCl_4 cho thấy sự phụ thuộc này là tuyến tính. Dung dịch keo vàng có $\text{pH} \geq 7$ ổn định trong thời khoảng 6 tháng trong tối ở 4°C. Những nghiên cứu tiếp theo chế tạo lớp hợp sinh để gắn kết hạt vàng nano với các phân tử sinh học nhằm sử dụng trong các ứng dụng Y - Sinh cần được thực hiện.

Liên hệ: **Nghiêm Thị Hà Liên**

Viện Vật lý, Viện KH&CNVN
10 Đào Tấn, Ba Đình, Hà Nội
E-mai : halien@iop.vast.ac.vn.

Lời cảm ơn. Công trình được hoàn hành với sự tài trợ kinh phí của Đề tài nghiên cứu cơ bản cấp nhà nước mã số 103.06.58.09, số 4.034.06 và Loreal Inc..

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. National Mining Association 101 Constitution Avenue, NW, Suite 500 East Washington, DC 20001.
2. Gregory J. Higby. Gold Bulletin, **15** (4), 130 (1982).
3. Young-Pil Kim, Young-Hee Oh, Hak-Sung Kim, Biosensors and Bioelectronics, **23**, 980 - 986 (2008).
4. Chang-Cheng You, Apiwat Chompoosor, Vincent M. Rotello, Nanotoday, **2** (3), 34 - 43 (2007).
5. Yong Taik Lim, Mi Young Cho, Jung Min Lee, Sang Jeon Chung, Bong Hyun Chung, Biomaterials, **30**, 1197 - 1204 (2009).
6. Natalia C. Tansil and Zhiqiang Gao. Nanotoday, **1**(1), 28 - 37 (2006).
7. Kewal K. Jain T, Clinica Chimica Acta, **358**, 37 - 54 (2005).
8. Partha Ghosh, Gang Han, Mrinmoy De, Chae Kyu Kim, Vincent M. Rotello. Advanced Drug Delivery Reviews, **60**, 1307 - 1315 (2008).
9. James D. Byrne, Tania Betancourt, Lisa Brannon-Peppas. Advanced Drug Delivery Reviews, **60**, 1615 - 1626 (2008).
10. Jhansi Rani Kallur et al, Angew. Chem. Int. Ed., **48**, 1 - 5 (2009).
11. J. Turkevitch, P. C. Stevenson and J. Hillier, Trans. Faraday Soc., **11**, 55 (1951).