

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CHẤM LƯỢNG TỬ CdS CHẾ TẠO SENSOR HUỖNH QUANG XÁC ĐỊNH CLENBUTEROL

Đào Văn Chương^{1*}, Trần Thị Thanh Hợp¹, Hoàng Mai Hà¹,
Nguyễn Đức Tuyên¹, Dương Nghĩa Bang², Ngô Trịnh Tùng¹

Tóm tắt: Chấm lượng tử (QDs) là các hạt nano huỳnh quang bán dẫn, có thể được sử dụng cho an toàn thực phẩm hoặc giám sát môi trường với độ nhạy cao. Bài báo này cho thấy tính khả thi của việc phát hiện dư lượng Clenbuterol bằng nanosensor huỳnh quang sử dụng chấm lượng tử CdS là chất cho, dựa trên hiệu ứng truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (FRET). Cảm biến này cho phép xác định clenbuterol trong phạm vi hoạt động tuyến tính là 1,0 pg/ml - 0,1 mg/ml. phương pháp này cho phép xác định clenbuterol một cách đơn giản, nhanh chóng với độ nhạy cao.

Từ khóa: Chấm lượng tử; Clenbuterol; Cảm biến; Huỳnh quang.

1. MỞ ĐẦU

Vật liệu tinh thể bán dẫn như chấm lượng tử (QDs) là những tinh thể nano bán dẫn keo với đường kính trong khoảng từ 1-10 nm [1], thu hút được nhiều sự quan tâm chú ý trong những năm gần đây do những tính chất điện tử và quang đặc biệt. Tính chất quang của chấm lượng tử phụ thuộc vào kích cỡ và thành phần lõi của chúng và có thể được điều chỉnh bằng sự thay đổi thời gian, nhiệt độ và các phân tử trên bề mặt trong suốt quá trình tổng hợp [1, 2]. So sánh với các phân tử huỳnh quang hữu cơ truyền thống thì chấm lượng tử có nhiều ưu điểm hơn như phổ phát xạ có thể thay đổi, độ rộng phổ hẹp, cường độ phát xạ mạnh và khả năng chống dập tắt huỳnh quang cao. Hơn nữa, chấm lượng tử có tỷ lệ diện tích bề mặt và thể tích cao nên rất phù hợp để tổng hợp các phân tử nano phức tạp [3]. Các nghiên cứu gần đây còn chỉ ra rằng các chấm lượng tử như CdS, CdSe, CdTe,... có thể liên kết với các phân tử sinh học như peptit, protein, kháng thể, axit nucleic và các phân tử nhỏ để sử dụng như một cảm biến huỳnh quang [5]. Các phân tử sinh học có thể được gắn huỳnh quang do liên kết với các chấm lượng tử bằng cách chức năng hóa với một nhóm chức hóa học trên bề mặt của QDs hoặc liên kết cộng hóa trị với các nhóm hoạt động như -COOH, -NH₂, hoặc -SH ở bên ngoài lớp vỏ của QDs. Cho đến nay, rất nhiều sự biến tính hóa học bề mặt QDs được nghiên cứu, bao gồm như bọc các lớp hữu cơ như polyethylene glycol (PEG) [7], axit mercaptoacetic [8, 9], axit mercaptopropionic [10], axit mercaptobenzoic [11], bọc lớp vỏ vô cơ như silica hoặc ZnS. Tất cả các phương pháp này chủ yếu đảm bảo khả năng tan trong nước và nâng cao tính cạnh tranh sinh học của QDs.

Clenbuterol (CLB) là một chất thuộc nhóm β -agonist được sử dụng làm thuốc tác dụng dẫn phế quản, giãn cơ trơn ở cuống phổi, điều khiển các chất dinh dưỡng hướng tới mô cơ. Từ những năm 1980, clenbuterol đã được bổ sung vào thức ăn chăn nuôi lợn, bò thịt, gà thịt,... nhằm kích thích sinh trưởng, tăng tỉ lệ thịt nạc, giảm chi phí thức ăn [11]. Tuy nhiên, lượng CLB tồn dư trong thực phẩm làm rối loạn nhịp tim, run cơ, co thắt phế quản, phù nề, liệt cơ, tăng huyết áp gây nguy hiểm đối với sức khỏe con người. Chính vì thế, việc sử dụng CLB đã bị cấm ở hầu hết các quốc gia [15]. Hiện nay, ở Việt Nam, vì hám lợi, người chăn nuôi và các gian thương vẫn dùng chất cấm này trong chăn nuôi để tăng trọng cho lợn gây hoang mang cho người tiêu dùng.

Bằng mắt thường khó nhận biết được các sản phẩm thịt có chứa chất tăng trọng clenbuterol. Các phương pháp phân tích như sắc ký lỏng HPLC, sắc ký khí khối phổ GC/MS, phương pháp hắt thụ miễn dịch ELISA [13, 14] có thể xác định CLB ở nồng độ ppb, ppt. Tuy nhiên, các phương pháp này đòi hỏi sự chuẩn bị mẫu công phu, tốn thời gian [12].

Trong nghiên cứu này, sensor huỳnh quang xác định clenbuterol trên cơ sở hiệu ứng truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (FRET) được nghiên cứu chế tạo và khảo sát. Trong cấu trúc của sensor, chấm lượng tử CdS có vai trò là chất cho huỳnh quang (donor) còn tổ hợp Naphthylethylene diamine-diazo clenbuterol là chất nhận hay là chất dập tắt huỳnh quang (acceptor). Cường độ phát huỳnh quang của sensor được sử dụng để xác định nồng độ clenbuterol trong dung dịch.

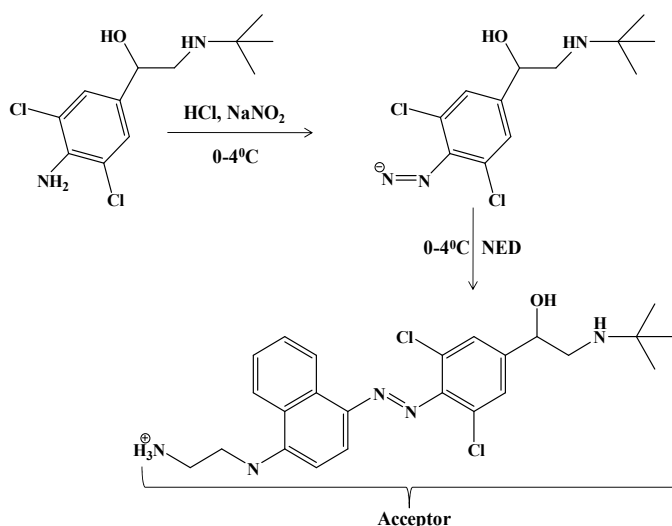
2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất

Clenbuterol ($C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$), N- (1-Naphthyl) etylenediamine dyhchloride được cung cấp bởi Sigma Aldrich ở cấp độ phân tích không cần phải tinh chế trước khi sử dụng. Chấm lượng tử CdS do viện Khoa học Vật liệu cung cấp. Các hóa chất và dung môi thông dụng khác: HCl, $NaNO_2$, axeton, nước cất.

2.2. Phản ứng diazo CLB và phản ứng cộng hợp diazo clenbuterol với NED

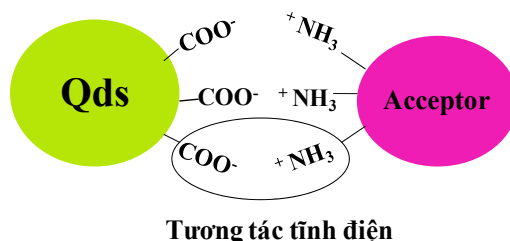
Phản ứng diazo CLB: Lấy 3 mg Clenbuterol cho vào bình cầu đựng trong bát đá. Hòa tan clenbuterol bằng dung dịch HCl 0.1M sao cho pH=1.5. Nhỏ từ từ 2 ml dung dịch $NaNO_2$ 0.1M vào bình cầu. Khuấy nhẹ hỗn hợp 30 phút trong bóng tối, nhiệt độ $0-4^{\circ}C$.



Hình 1. Sơ đồ phản ứng diazo và phản ứng cộng hợp.

Phản ứng cộng hợp: 7.4 mg NED hòa tan trong 3 ml H_2O thêm từ từ vào dung dịch diazo CLB ở trên, ngay lập tức dung dịch chuyển từ không màu sang màu đỏ. Tiếp tục khuấy nhẹ hỗn hợp 30 phút trong bóng tối, nhiệt độ $0-4^{\circ}C$ (hình 1).

2.3. Chế tạo nanosensor sử dụng chấm lượng tử



Hình 2. Sơ đồ hình thành liên kết giữa chất donor (QDs) và chất acceptor.

Dung dịch sensor được chế tạo như sau: CdS (10^{-7} M) được biến tính bởi dung dịch N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dychloride (NED) ở nồng độ 10^{-6} M. Khuấy nhẹ dung dịch ở 25°C trong 1h. Bảo quản ở nhiệt độ phòng tránh ánh sáng trực tiếp trước khi sử dụng. Nhóm COO^- của axit mercaptopropionic trên bề mặt chấm lượng tử sẽ liên kết với nhóm NH_3^+ của phân tử NED thông qua tương tác tĩnh điện (hình 2).

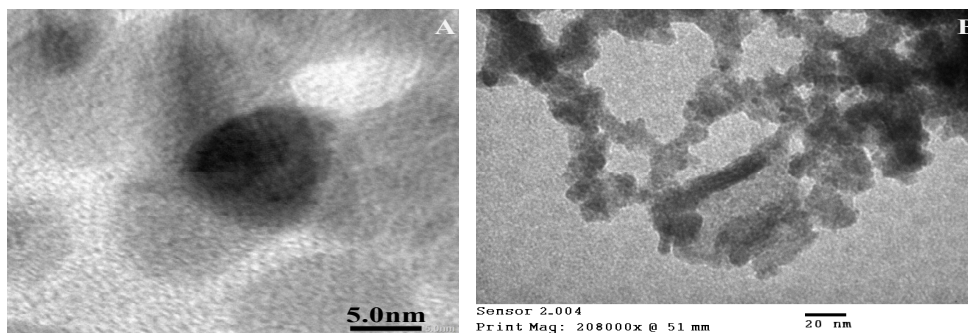
Mỗi lần đo mẫu lấy 3.6 ml dung dịch sensor hòa với 0.4 ml dung dịch diazo CLB ở các nồng độ khác nhau từ 10^{-4} g/ml đến 10^{-12} g/ml. Diazo CLB tạo phản ứng coupling với NED trong dung dịch sensor hình thành phân tử acceptor. Sau đó, tiến hành đo phổ huỳnh quang của 4 ml dung dịch mẫu này, QDs với vai trò là donor sẽ truyền huỳnh quang sang phân tử acceptor theo hiệu ứng truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang. Tín hiệu huỳnh quang thu được sẽ thay đổi phụ thuộc vào sự thay đổi nồng độ clenbuterol.

2.4. Các phương pháp nghiên cứu

Sử dụng máy SP 3000 nano để đo phổ hấp thụ UV-vis tại Viện hóa học. Phổ phát xạ huỳnh quang được đo trên máy HR550 instrument (HORIBA JOBIN YVON) của viện Khoa học Vật liệu. Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) được thực hiện trên thiết bị JEM 2100 (JEOL) tại viện Khoa học Vật liệu. Hệ đo thời gian sống huỳnh quang tại Viện Vật lý được sử dụng để đo thời gian sống huỳnh quang.

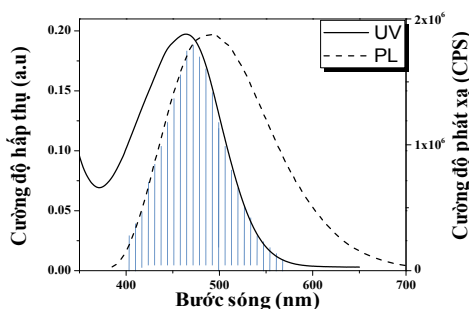
3. KẾT QUẢ

3.1. Nghiên cứu hiệu ứng FRET của sensor



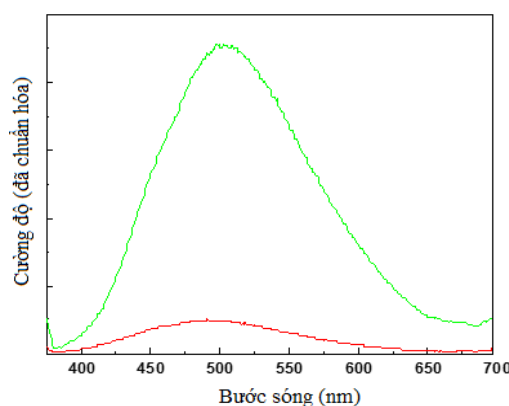
Hình 3. Ảnh TEM của chấm lượng tử CdS (A); Chấm lượng tử và chất nhận (B).

Ảnh TEM của mẫu CdS được thể hiện trong hình 3. Từ hình nhận thấy, chấm lượng tử có đường kính hạt khoảng 10 nm (hình 3A). Hình 3B là ảnh TEM của mẫu chấm lượng tử CdS sau khi được biến tính bởi phân tử NED. So sánh với hình A, có thể nhận thấy kích thước hạt của chấm lượng tử sau khi liên kết với chất nhận huỳnh quang lớn hơn 20nm (hình 3B). Chứng tỏ sự hình thành liên kết giữa phân tử NED và chấm lượng tử.



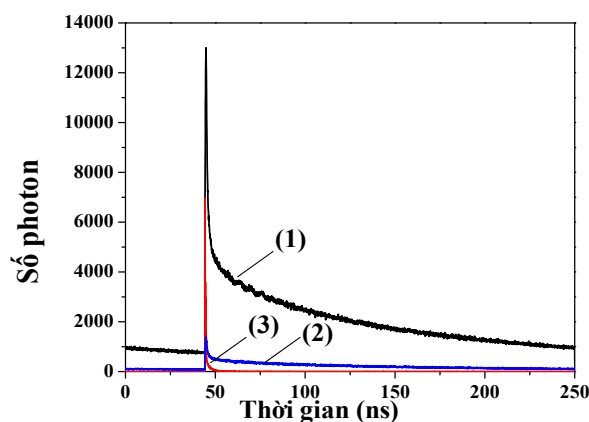
Hình 4. Sự trùng chập giữa phổ hấp thụ của chất acceptor và phổ phát xạ chất donor.

Hình 4 thể hiện sự trùng chập của phổ hấp thụ chất acceptor và phổ phát xạ chất donor. So với kết quả nghiên cứu trước đây sử dụng chấm lượng tử có bước sóng phát xạ 520 nm [12] thì khi sử dụng chấm lượng tử CdS có bước sóng phát xạ 490 nm tại bước sóng kích thích 380 nm, diện tích trùng chập tăng lên càng thỏa mãn điều kiện hiệu ứng FRET xảy ra. Điều này được thể hiện rõ qua sự giảm cường độ phát quang của chấm lượng tử CdS khi có mặt tổ hợp diazo CLB như hình 5.



Hình 5. Cường độ huỳnh quang của chấm lượng tử khi không có mặt diazo CLB (đường màu đỏ) và khi có mặt diazo CLB (đường màu xanh).

Nhận thấy có sự giảm cường độ huỳnh quang của chất cho (chấm lượng tử CdS) một cách rõ ràng khi xuất hiện chất nhận (diazo CLB).



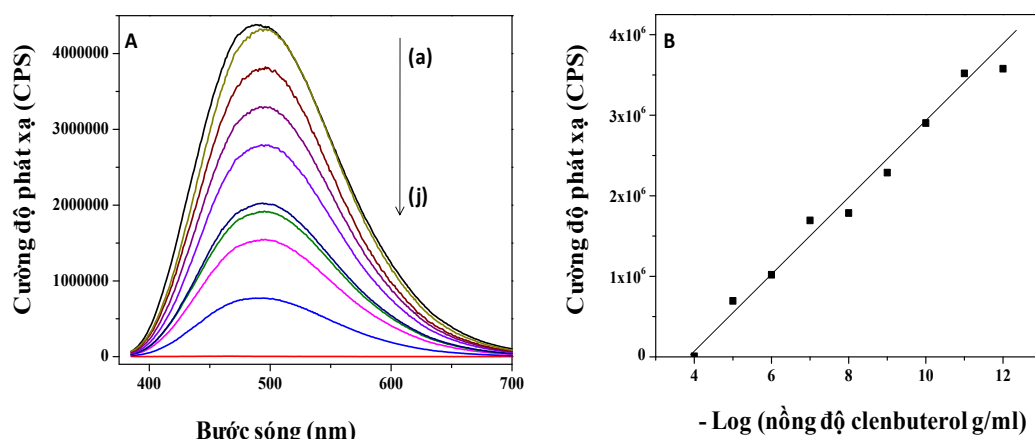
Hình 6. Phổ thời gian sống huỳnh quang của chấm lượng tử với CLB ở các nồng độ (1) 0 mg.mL^{-1} ; (2) $10^{-8} \text{ g.mL}^{-1}$; (3) $10^{-6} \text{ g.mL}^{-1}$.

Ngoài ra, chúng tôi còn nghiên cứu thời gian sống huỳnh quang của mẫu chấm lượng tử và chấm lượng tử khi có thêm chất dập tắt huỳnh quang với nồng độ CLB 10^{-6} và 10^{-8} g/mL . Kết quả thu được cho thấy chất dập tắt huỳnh quang làm giảm thời gian sống của chấm lượng tử, mẫu chấm lượng tử ban đầu có thời gian sống huỳnh quang là 118.0 ns giảm xuống còn 3.56 và 0.8 ns khi nồng độ CLB trong chất dập tắt huỳnh quang tương ứng lần lượt là 10^{-8} và 10^{-6} g/mL (hình 5). Chứng tỏ đã xảy ra hiệu ứng truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang và thời gian sống giảm tương ứng với sự tăng nồng độ của CLB.

3.2. Xác định nồng độ clenbuterol bằng phổ huỳnh quang của sensor

Mỗi mẫu đo huỳnh quang gồm có 3.6 ml dung dịch sensor và 0.4 ml dung dịch diazo clenbuterol. Hình 7A thể hiện phổ huỳnh quang của các mẫu đo. Cường độ phát xạ cực đại

giảm dần tương ứng với sự tăng dần nồng độ clenbuterol trong các mẫu từ (a) - (j), tín hiệu huỳnh quang bị dập tắt hoàn toàn tại mẫu có nồng độ clenbuterol là 0.1 mg/ml và gần như không thay đổi so với mẫu sensor không chứa clenbuterol tại mẫu có nồng độ clenbuterol là 1.0 pg/ml. Dựng đường chuẩn giữa cường độ phát xạ và $-\log$ (nồng độ clenbuterol) (hình 7B). Từ hình B nhận thấy sensor huỳnh quang có thể xác định clenbuterol trong khoảng rộng từ 10^{-4} - 10^{-12} g/ml. Kết quả này tốt hơn so với kết quả báo cáo trước có khoảng tuyến tính từ 10^{-7} - 10^{-12} g/ml [12].



Hình 7. Phổ phát xạ của mẫu sensor với clenbuterol ở các nồng độ khác nhau (A); Đường tuyến tính giữa cường độ phát xạ mẫu sensor và $-\log$ (nồng độ CLB) (B).

Trong đó, các mẫu (a)-(j) tương ứng với nồng độ CLB là 0, 10^{-12} ; 10^{-11} ; ... ; 10^{-4} g/ml.

4. KẾT LUẬN

Sử dụng chấm lượng tử CdS phát xạ mạnh ở bước sóng 490 nm đóng vai trò chất cho huỳnh quang, Naphthylethylene diamine là chất vừa liên kết với bề mặt của chấm lượng tử và vừa liên kết với diazo clenbuterol để tạo thành hợp chất có phổ hấp thụ trùng khớp với phổ phát xạ của chấm lượng tử để chế tạo nanosensor nhận biết clenbuterol dựa vào hiệu ứng truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang. Kết quả của nghiên cứu này chứng minh nanosensor chế tạo được có thể xác định clenbuterol ở nồng độ thấp đến 1,0 pg.mL⁻¹, các thao tác thực hiện đơn giản, nhanh gọn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. E. Petryayeva, W.R. Algar, Applied Spectroscopy., 67, 3(2013).
- [2]. L.Chen, J.Zhu, Q.Li, S.Chen, and Y.Wang, Eur.Polym.J,43, 4593 (2007).
- [3]. Z.Li, K.Wang, W.Tan, J.Li, Z.Fu, C.Ma, H.Li, X.He, and J.Liu, Anal.Biochem,354, 169 (2006).
- [4]. W.J.Parak, T.Pellegrino, and C.Plank, Nanotechnology, 16, 9 (2005).
- [5]. Pleskova, S., Mikheeva, E., & Gornostaeva, E. (2018). Cellular and Molecular Toxicology of Nanoparticles, pp 323–334 (2019).
- [6]. K.I.Hanaki, A.Momo, T.Oku, A.Komoto, S.Maenosono, Y.Yamaguchi, and K.Yamamoto, Biochem.Biophys.Res.Comm, 302, 496 (2003).
- [7]. N.Gomez, J.O.Winter, F.Shieh, A.E.Saunders, B.A.Korgel and C.E.Schmidt, Talanta, 67, 462 (2005).
- [8]. W.C.W.Chan and S.Nie, Science, 281, 2016 (1998).
- [9]. H.M.Chen, X.F.Huang, L.Xu, J.Xu, K.J.Chen, and D.Feng, Superlatt. Microstruc, 27, 1 (2000).
- [10]. G.P.Mitchell, C.A.Mirkin, and R.L.Letsinger, J.Am.Chem.Soc, 121, 8122 (1999).

- [11]. Q. Huang, T. Bu, W.Zhang, L.Yan, M.Zhang, Q.Yang, L.Huang, B.Yang, N.Hu, Y.Suo, J.Wang, D.Zhang, Food Chemistry, **262** (2018).
- [12]. T. T. H Tran, T. M. H. Do, M. H. Hoang, D. T. Nguyen, Q. T. Le, D. N. Nguyen, T. T. Ngo, Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol, 6, 025007 (2015).
- [13]. P.Wang, X.Wang, W.Zhang, X.Su, J. Chromatogr. B., **947** (2014).
- [14]. J. Pleadin, A.Vulic, N.Persi, N.Vahcic, Meat Science, 86 733 (2010).
- [15]. Z.Li, Y.Wang, W.Kong, Z.Wang, L.Wang, Z.Fu, Sens and Actuators B., 174 355 (2012).

ABSTRACT

RESEARCH USING CdS QUANTUM DOTS TO CREAT FLUORESCENT SENSOR TO IDENTIFY CLENBUTEROL

Quantum dots (QDs) are semiconductor fluorescent nanoparticles, which can be used for food safety or environmental monitoring with high sensitivity. This work demonstrates the feasibility of detecting clenbuterol residue by nanobiosensor using CdS quantum dots as donors based on the fluorescence resonance energy transfer (FRET) effect. This sensor allows for clenbuterol determination in a linear working range of 0.1 mg/ml -1.0 pg/ml. It would provide a simple, rapid and ultra-sensitive detection method for clenbuterol analysis.

Keywords: Quantum dots; Clenbuterol; Sensor; Fluorescence.

Nhận bài ngày 01 tháng 3 năm 2020

Hoàn thiện ngày 01 tháng 4 năm 2020

Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 4 năm 2020

Địa chỉ: ¹Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam;

²Viện Khoa học và Công nghệ – Đại học Thái Nguyên.

*Email: daovanchuong28071986@gmail.com.