

Tổng hợp lớp phủ nano bạc để tăng cường tán xạ Raman nhằm phát hiện hiệu quả xanh methylene

Đình Đức Anh, Nguyễn Trần Trúc Phương, Nguyễn Thế Duy

Viện Kỹ thuật Công nghệ cao, Đại học Nguyễn Tất Thành
ddanh@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Tán xạ Raman tăng cường bề mặt là một trong những phương pháp đang thu hút được rất nhiều sự quan tâm trong lĩnh vực cảm biến. Việc sử dụng có hiệu quả trường điện từ trên bề mặt của các hạt nano kim loại quý sinh ra từ hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ là một trong những giải pháp hàng đầu giúp cải thiện độ nhạy của phương pháp này. Các hạt nano bạc hình đa giác với hình dạng và kích thước được kiểm soát đạt độ đồng nhất tương đối tốt bằng phương pháp khử hóa học. Dựa trên khả năng liên kết tốt giữa bạc với các nhóm amin, phương pháp chế tạo lớp phủ đơn lớp tự sắp xếp trên bề mặt thủy tinh đã được sử dụng trong nghiên cứu này với mục đích ứng dụng trong tán xạ Raman tăng cường bề mặt và cải thiện độ ổn định của lớp phủ. Xanh methylene được sử dụng như một chất cần phân tích. Giới hạn phát hiện của lớp phủ Ag trên thủy tinh đối với xanh methylene đạt khoảng 10^{-8} M tương ứng với hệ số tăng cường là khoảng 10^8 lần; xác nhận tính khả thi của việc ứng dụng tán xạ Raman tăng cường bề mặt trong cảm biến để phát hiện nhanh và đơn giản các chất hữu cơ gây độc trong các lĩnh vực thực phẩm, môi trường.

Nhận 02/02/2023
Được duyệt 10/05/2023
Công bố 25/06/2023

Từ khóa

Tán xạ Raman tăng cường bề mặt, nano bạc, xanh methylene, cảm biến

© 2023 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Xanh methylene (methylene blue – MB) là thuốc nhuộm tổng hợp thường được ứng dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp nhuộm và điều trị một số bệnh [1]. Tuy nhiên, MB thường thải vào các thủy vực mà không qua xử lý nên gây ô nhiễm môi trường. MB gây ra các bệnh về mắt, da, đường tiêu hóa, hô hấp và có thể mắc ung thư nếu tiếp xúc lâu dài. Do đó, việc xác định MB trong nước thải là một nhu cầu cấp thiết, đòi hỏi kỹ thuật chính xác và đáng tin cậy, nhằm ngăn ngừa các mối nguy hại tiềm ẩn cho sức khỏe. Trong những năm gần đây, việc phát hiện MB bằng quang phổ Raman dựa trên kỹ thuật tán xạ Raman tăng cường bề mặt (SERS) đã được nghiên cứu trên nhiều loại vật liệu khác nhau. Preeti Garg và cộng sự (2020) đã nghiên cứu chế tạo bề mặt lớp phủ SERS dựa trên vật liệu bạc kết tủa nanodendrites (Ag-NDs) phân bố trên bề mặt

vật liệu graphene oxit (GO) và lớp phủ đồng (Cu) để phát hiện MB và đạt được giới hạn phát hiện (Limit of Detection – LOD) tại nồng độ MB khoảng 10^{-7} M [2]. Các cấu trúc vật liệu phức tạp hơn cũng được đề xuất như điều khiển các hạt nano vàng, bạc có các hình dạng đặc biệt như hình sao, hình hoa kết hợp với các loại vật liệu khác tạo nên các vật liệu lai hoặc các lớp phủ đa lớp [3,4]. Hầu hết các nghiên cứu cải thiện tính chất của SERS hiện nay đều tập trung vào việc cải tiến cấu trúc bề mặt lớp phủ. Điều này, mặc dù cho nhiều tín hiệu tích cực, nhưng dẫn đến việc làm cho các cấu trúc này ngày càng trở nên phức tạp hơn. Việc sử dụng những cấu trúc này cho mục đích thương mại là một thách thức lớn. Chính vì vậy, việc nghiên cứu tạo ra SERS với phương pháp tổng hợp nhanh chóng, có khả năng tăng cường tín hiệu SERS tốt mà vẫn giữ được độ ổn định cao cần được quan tâm hơn nữa để thúc đẩy việc ứng

dụng các kết quả nghiên cứu vào sử dụng thực tế. Nghiên cứu này nhằm cải thiện khả năng tăng cường tín hiệu SERS của các hạt nano bạc (silver nanoparticles, viết tắt là Ag-NPs) hình đa cạnh, dễ dàng tổng hợp thông qua các phương pháp khử hóa học, trong việc phát hiện MB bằng phổ Raman. Đây là phương pháp đơn giản, không cần thiết bị phòng thí nghiệm công kênh, tốn kém, nhưng cho hiệu quả tổng hợp nhanh với số mẫu lớn. Phương pháp chế tạo lớp phủ các hạt nano đơn lớp tự lắp ráp (SAM) đã được đề xuất trong nghiên cứu này. Bên cạnh đó, khả năng tăng cường tín hiệu SERS của các hạt Ag-NPs được ứng dụng trong việc phát hiện MB, và giá trị phát hiện MB được ghi nhận tại nồng độ MB tương đối thấp 10^{-8} M. Kết quả này mở ra xu hướng tổng hợp “xanh” các lớp phủ (hạt nano kim loại) với cấu trúc đơn giản nhằm hỗ trợ việc ứng dụng các thiết bị quang phổ Raman phát hiện nhanh các chất hữu cơ độc hại trong lĩnh vực thực phẩm, y sinh, môi trường, ...

2 Thực nghiệm

2.1 Hóa chất

Bạc nitrate (AgNO_3 , 99 %), polyvinylpyrrolidone (PVP, $M_w \sim 55.000$), mercaptosuccinic acid (MSA, $\text{HOOCCH}(\text{SH})\text{CH}_2\text{COOH}$, 97 %), (3-Aminopropyl) triethoxysilane (APTES, 99 %), MB ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$, > 95 %) được cung cấp bởi Sigma Aldrich. Ethylene glycol (EG, $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$), sodium sulfide nonahydrate natri sulfide ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, > 98 %), sodium hydroxide (NaOH , 96 %), ethanol (EtOH , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 99,8 %) được mua tại Guangdong Guanghua Sci-Tech Co., Ltd. (China).

Nước khử ion (DI) được khử bằng máy (Thermo Science Easypure II, Göteborg, Sweden) được sử dụng

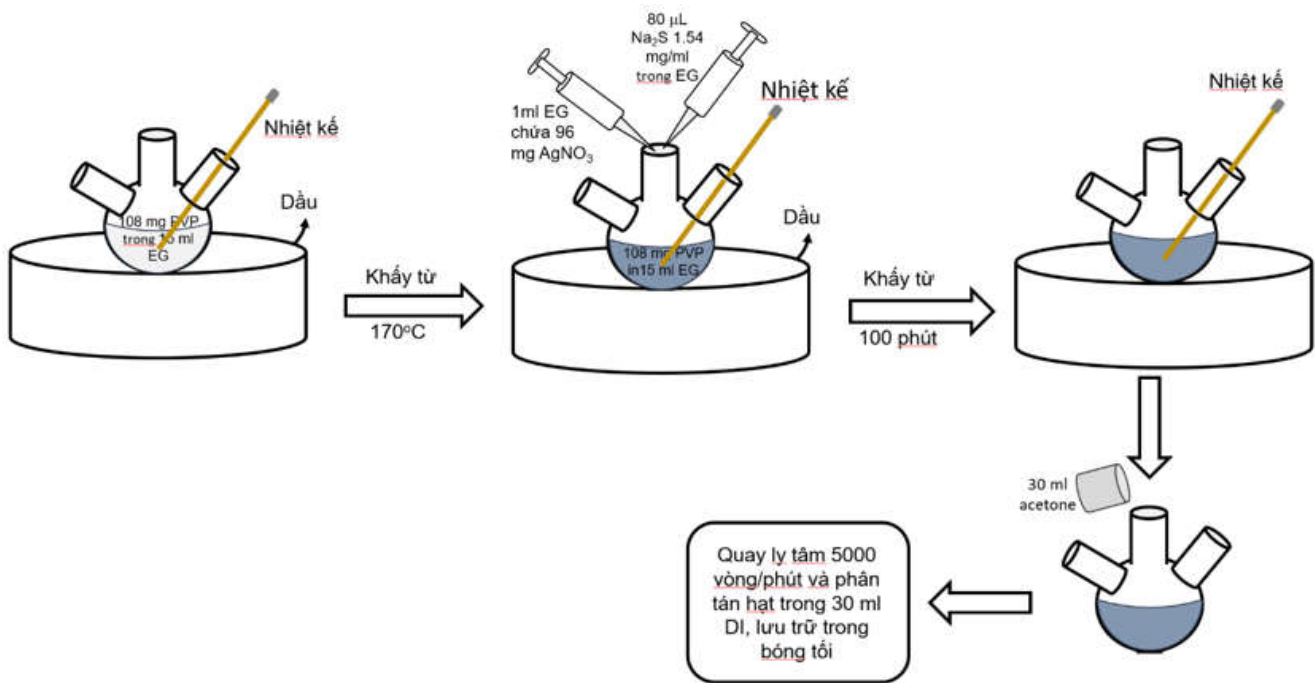
trong nghiên cứu này có điện trở suất lớn hơn $16 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$.

2.2 Các phương pháp phân tích

Phổ UV-Vis được đo bằng máy quang phổ UV-Vis/NIR V-730 (JASCO, Tokyo, Japan) để xác định bước sóng hấp thụ cực đại của các hạt nano bạc trong vùng bước sóng từ 300 nm đến 900 nm. Máy đo nhiễu xạ tia X Bruker D8 Advance với bức xạ $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$) được lọc Ni hoạt động ở 40 kV, 40 mA (1.600 W) trong phạm vi (30-80) độ được sử dụng để xác định cấu trúc tinh thể của vật liệu. Kính hiển vi điện tử quét phân giải cao (Hitachi S-4800, Japan) được sử dụng để quan sát hình dạng, kích thước và sự phân bố trên bề mặt lớp phủ của các hạt Ag-NPs. Máy quang phổ Raman HORIBA XploRA One (HORIBA Scientific, HORIBA Ltd., HORIBA Europe GmbH) được sử dụng để ghi lại tín hiệu Raman của MB được tăng cường trên lớp phủ Ag-NPs. Laser bước sóng 532 nm được sử dụng làm nguồn ánh sáng kích thích cho tất cả các mẫu.

2.3 Chế tạo dung dịch nano bạc

Dung dịch các Ag-NPs được chế tạo bằng phương pháp khử polyol theo qui trình được mô tả trong Hình 1: đầu tiên, hòa tan 90 mg PVP trong 15 mL EG và cho vào bình cầu ba cổ, đun nóng đến 170°C được khuấy từ trong 30 phút ở tốc độ 450 vòng/phút. Sau đó, cho thêm 1 mL EG và 96 mg AgNO_3 và $80 \mu\text{ Na}_2\text{S}$ 1,54 mg/mL vào bình cầu. Khi dung dịch trong bình chuyển dần từ màu cam sang xanh xám, tiếp tục khuấy từ ở nhiệt độ 170°C trong 100 phút. Sau đó, dung dịch được làm nguội không khuấy trong bể nước. Khi nhiệt độ dung dịch trong bình gần nhiệt độ phòng, thêm 30 mL acetone vào bình cầu và quay li tâm với tốc độ 5.000 vòng/phút để loại bỏ dung môi EG và PVP; phần chất rắn sau li tâm được hòa trong 30 mL nước khử ion và bảo quản trong buồng tối ở nhiệt độ 4°C .



Hình 1 Sơ đồ mô tả quy trình tổng hợp hạt nano bạc.

2.4 Chế tạo lớp phủ nano bạc bằng phương pháp đơn lớp tự sắp xếp (SAM)

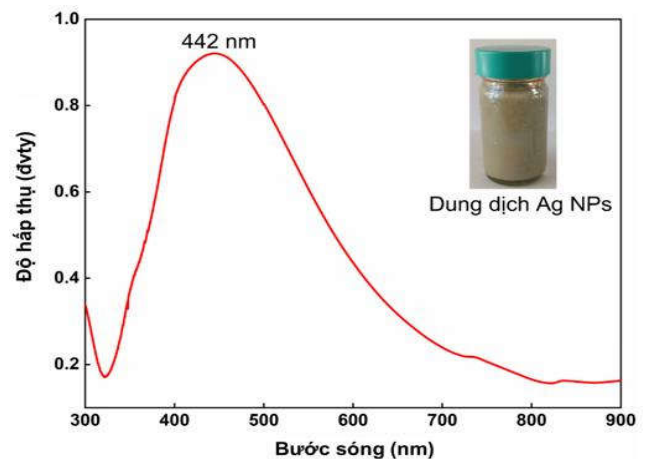
Các lam kính thủy tinh (để thủy tinh) với kích thước (1 × 1) cm được làm sạch bằng siêu âm, sau đó rửa lần lượt qua các dung dịch: NaOH 0,5 %, nước khử ion, acetone, ethanol và cuối cùng các lam kính được lau bằng khăn ướt tẩm dung dịch methanol. Quy trình làm sạch này đảm bảo loại bỏ các tạp chất hữu cơ, bụi và chất bẩn trên bề mặt để thủy tinh. Sau đó, các nhóm hydroxy được tạo ra trên bề mặt của đế thủy tinh bằng máy oxi plasma (CUTE-IMPR, Femto Science Inc.) trong 2 phút để tạo thành liên kết Si-OH. Sau khi hoàn thành quy trình oxi plasma, ngâm đế thủy tinh trong dung dịch chứa APTES 3 % trong 2 giờ rồi rửa nhiều lần bằng ethanol. Quá trình này giúp hình thành nhóm NH₂ trên bề mặt để thủy tinh. Sau biến tính amin, mẫu được làm khô tự nhiên và ngâm trong dung dịch Ag-NPs có thể tích cố định là 2 mL cho 1 mẫu (1 × 1) cm trong 2 giờ. Tất cả các nhóm liên kết hình thành trong quy trình đã được chứng minh trong nghiên cứu trước đó của tác giả [5].

2.5 Đánh giá khả năng tăng cường tín hiệu Raman và độ ổn định của lớp phủ Ag-NPs trên đế thủy tinh
 Dung dịch MB ban đầu với nồng độ 10⁻³ M được pha từ bột MB (độ tinh khiết > 95 % được cung cấp bởi Sigma Alrich) trong nước khử ion. Sau đó, nước khử ion tiếp tục được sử dụng để pha loãng các dung dịch

MB có nồng độ 10⁻³ M thành các dung dịch MB có nồng độ (10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷ và 10⁻⁸) M. Dùng micro pipet nhỏ 20 µL chất phân tích với các nồng độ khác nhau lên bề mặt lớp phủ Ag-NPs đã được chuẩn bị; thực hiện đo Raman sau khi dung dịch phân tích khô. Tín hiệu cũng được ghi nhận tại nhiều vị trí khác nhau trên toàn bề mặt phủ diện tích 1 cm² nhằm mục đích đánh giá độ ổn định tín hiệu của lớp phủ.

3 Kết quả và thảo luận

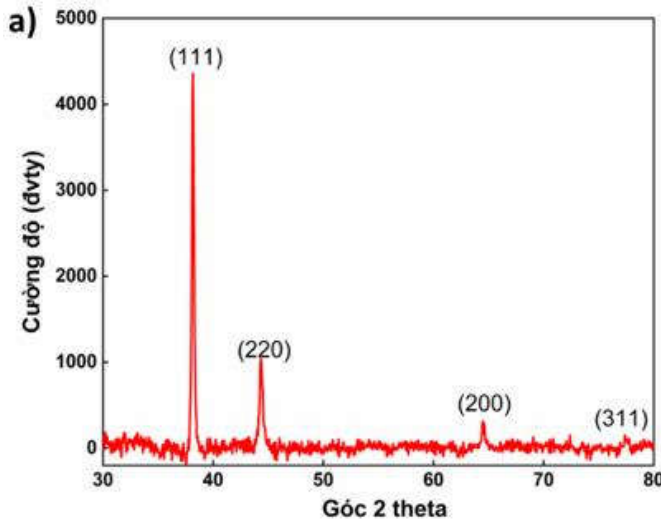
3.1 Tính chất của các hạt nano bạc



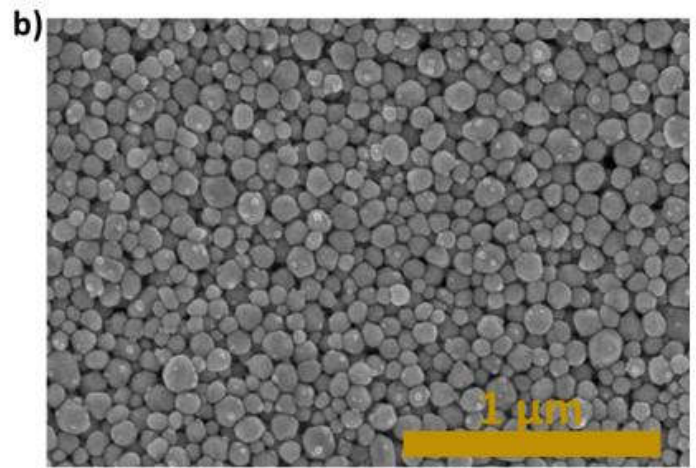
Hình 2 Phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (UV-Vis) của dung dịch Ag-NPs.

Từ phổ UV-Vis (Hình 2), có thể thấy phổ hấp thụ của dung dịch Ag-NPs bao phủ từ vùng có bước sóng (400-

600) nm và đỉnh hấp thụ cực đại của các Ag-NPs đặc trưng cho tính chất plasmon của các Ag-NPs tại bước sóng 442 nm.



3.2 Tính chất của lớp phủ Ag-NPs trên đế thủy tinh

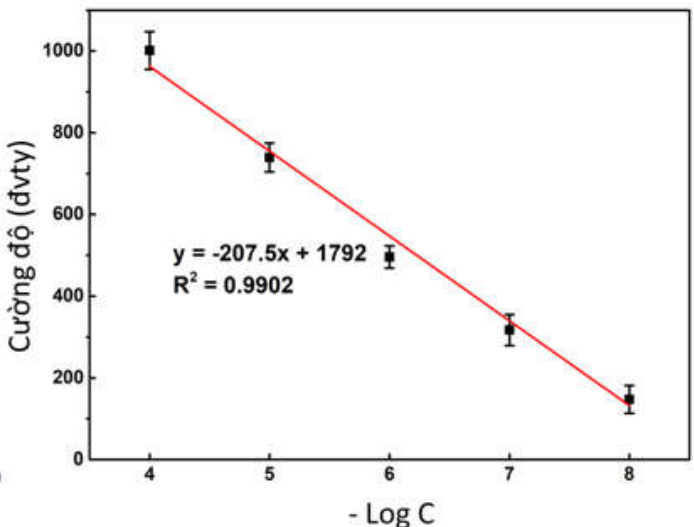
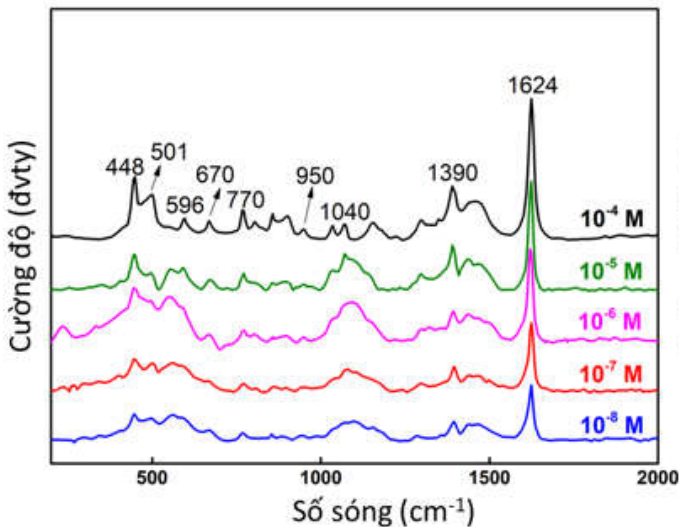


Hình 3 a) Giảm nhiễu xạ tia X (XRD) và b) Ảnh FESEM của lớp phủ Ag-NPs trong thời gian ngâm 2 giờ.

Quan sát từ giản đồ XRD (Hình 3a), có thể thấy các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của lớp phủ Ag-NPs tại các góc 2 theta lần lượt 38°, 44°, 65° và 79° tương ứng với các mặt tinh thể (111), (220), (200), (311) phù hợp với cấu trúc lập phương tâm mặt (FCC) của bạc [6]. Việc không quan sát thấy các đỉnh nhiễu xạ nào khác so với các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của bạc cho thấy lớp phủ các hạt Ag-NPs có độ tinh khiết trong LOD của XRD.

Các Ag-NPs có hình đa giác với kích thước hạt trung bình khoảng 90 nm được tính thông qua ảnh FESEM (Hình 3b). Ngoài ra, kết quả FESEM (Hình 3b) cũng cho thấy các Ag-NPs đã được phủ dày đặc trên bề mặt đế thủy tinh.

3.3 Đánh giá khả năng phát hiện tín hiệu MB của lớp phủ thủy tinh/Ag-NPs

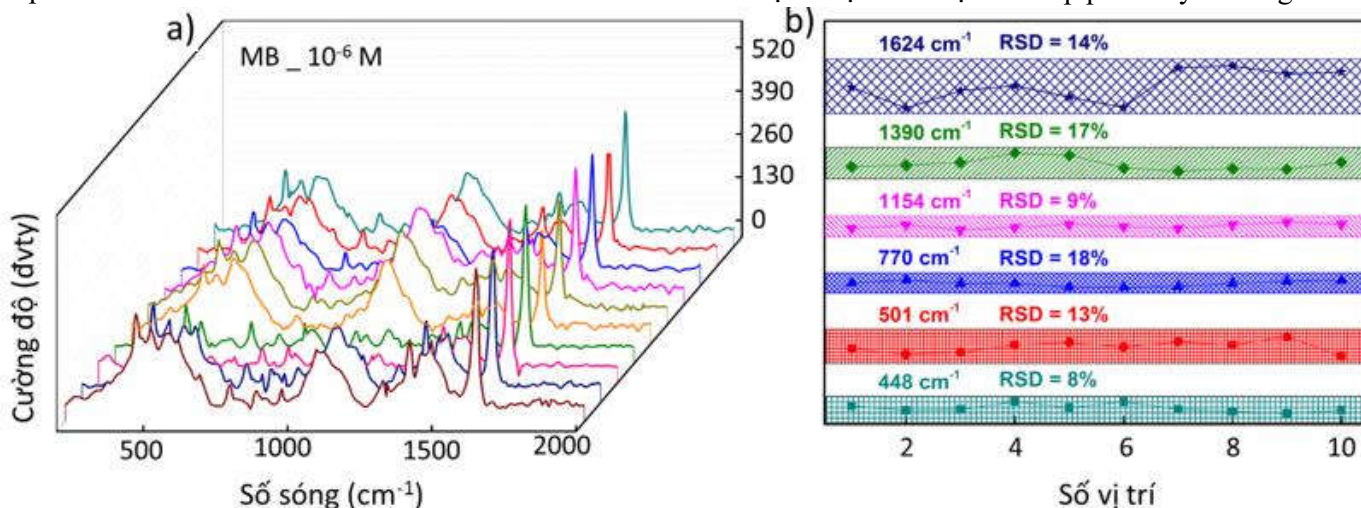


Hình 4 a) Phổ Raman của MB trên nền thủy tinh phủ Ag-NPs, b) Đường chuẩn tại cường độ đỉnh tại số sóng 1.624 cm^{-1} của MB từ nồng độ (10^{-4} - 10^{-8}) M.

MB đã được sử dụng làm chất thử nghiệm trong nghiên cứu này từ nồng độ (10^{-4} - 10^{-8}) M. Phương pháp phổ Raman được sử dụng để phát hiện các dao động đặc

trung của MB như là biến dạng của khung C-N-C, dao động uốn của nhóm C-H cùng mặt phẳng, biến dạng vòng cùng mặt phẳng của C-H, dao động đối xứng của

nhóm C–N, dao động của liên kết C–C trong vòng thơm 6C. Những dao động này lần lượt ứng với các số sóng (448, 501, 770, 1.154, 1.390 và 1.624) cm^{-1} [7] trong kết quả phân tích phổ Raman của MB ở các nồng độ khác nhau (Hình 4a). Trong đó, dao động kéo của C–C tương ứng với số sóng 1.624 cm^{-1} có cường độ mạnh nhất nên được chọn để vẽ đường chuẩn giữa logarit của nồng độ MB và cường độ Raman. Mức giảm cường độ của đỉnh dao động tại số sóng 1.624 cm^{-1} theo logarit nồng độ của MB được biểu thị bởi hàm tuyến tính là $y = -207,5x + 1.792$. Giá trị độ tin cậy (R^2) cao đạt mức 0,9902 cho thấy độ chính xác và độ tin cậy của phép đo.



Hình 5 a) Phổ Raman của MB tại nồng độ 10^{-6} M và b) Độ lệch chuẩn của cường độ đỉnh tại số sóng 1.624 cm^{-1} tại 10 vị trí khác nhau.

Ngoại trừ độ nhạy, tính đồng nhất của lớp phủ Ag-NPs cũng là những yếu tố quan trọng trong các ứng dụng thực tế. Hình 5a cho thấy, phổ SERS của MB (nồng độ là 10^{-6} M) chọn ngẫu nhiên 10 điểm trên đế thủy tinh/Ag-NPs có diện tích 1 cm^2 trong đó cường độ của các đỉnh dao động đặc trưng xấp xỉ nhau tại các vị trí khác nhau. Để so sánh trực tiếp sự dao động của các đỉnh, sự phân bố cường độ của các đỉnh (448, 501, 770, 1.154, 1.390 và 1.624) cm^{-1} của phân tử MB từ 10 phổ Raman này được thể hiện trên Hình 5b. Biểu đồ cho thấy rõ hơn cường độ của các đỉnh đặc trưng của MB tại số sóng (448, 501, 770, 1.154, 1.390 và 1.624) cm^{-1} tại 10 vị trí được chọn ngẫu nhiên trên đế SERS Ag-NPs. Kết quả này cho thấy cường độ của các cực đại gần như nằm trên cùng một đường nằm ngang. Các đỉnh Raman đặc trưng của MB tại các số sóng (448, 501, 770, 1.154, 1.390 và 1.624) cm^{-1} có độ lệch chuẩn tương đối (RSD) lần lượt là (8, 13, 18, 9, 17 và 14) %.

Nồng độ MB tại 10^{-8} M là nồng độ thấp nhất mà có thể ghi nhận được phổ Raman của MB trên nền thủy tinh phủ Ag-NPs tương ứng với hệ số tăng cường của các Ag-NPs đối với MB đạt giá trị $\sim 10^8$ lần được tính theo công thức

$$EF = \frac{I_{\text{SERS}}}{I_{\text{Raman}}} \times \frac{C_{\text{Raman}}}{C_{\text{SERS}}}$$

trong đó, I_{SERS} là cường độ đỉnh tại số sóng 1.624 cm^{-1} tại nồng độ 10^{-8} M đo trên lớp phủ thủy tinh/Ag-NPs và I_{Raman} cường độ của đỉnh Raman tại số sóng 1.624 cm^{-1} của bột MB được đo trên đế thủy tinh; C là nồng độ của MB tương ứng với I_{Raman} và I_{SERS} .

3.4 Độ ổn định tín hiệu của lớp phủ thủy tinh/Ag

Độ lệch chuẩn tính được từ nghiên cứu này thấp hơn nhiều so với báo cáo của tác giả Natan trên tiêu chuẩn khoa học (20 %) của cấu trúc nano liên kết [8]. Kết quả này chứng tỏ lớp phủ Ag-NPs có tính đồng nhất và khả năng tái lập với độ lệch chuẩn không vượt quá 17 %, từ đó làm tăng độ tin cậy của các thiết bị cảm biến.

4 Kết luận

Trong nghiên cứu này, các lớp phủ Ag-NPs đã được chế tạo trên đế thủy tinh giúp tăng cường tín hiệu Raman trong phát hiện MB. Các Ag-NPs với kích thước trung bình khoảng 90 nm, tính được từ ảnh FESEM, được phủ đều và dày đặc trên bề mặt đế thủy tinh. Các kết quả phổ Raman thử nghiệm với MB cho thấy khả năng tăng cường tín hiệu Raman cao của lớp phủ Ag-NPs được chế tạo. Trong nghiên cứu này, LOD MB được thực hiện tại các dung dịch MB có nồng độ khác nhau từ (10^{-4} - 10^{-8}) M và LOD MB đo được thấp

nhất đạt giá trị khoảng 10^{-8} M tương ứng hệ số tăng cường tính được là khoảng 10^8 lần. Đồng thời, độ tin cậy của cảm biến SERS cũng được chứng minh bằng độ tái lập đo tại 10 vị trí khác nhau trên lớp phủ khi mà tín hiệu Raman tương đối đồng nhất với độ lệch chuẩn tương đối (RSD) < 17 %. Kết quả nghiên cứu này góp phần phát triển cảm biến SERS nhằm phát hiện các chất

độc hữu cơ trong các lĩnh vực: môi trường, thực phẩm, chẩn đoán y sinh, ..., trong các nghiên cứu tiếp theo.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2022.01.126/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. He, X., Wu, X., Wang, K., Shi, B., & Hai, L. (2009). Methylene blue-encapsulated phosphonate terminated silica nanoparticles for simultaneous in vivo imaging and photodynamic therapy. *Biomaterials*, 30 (29), 5601-5609. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.06.030>.
2. Garg, P., Soni, R. K., & Raman, R. (2020). Fabrication of sensitive graphene oxide decorated silver nanodendrites as SERS substrate. *3rd International Conference on Condensed Matter and Applied Physics (Icc-2019)*, 2220(May), 020034. <https://doi.org/10.1063/5.0001682>.
3. Rodríguez-Torres, M. del P., Díaz-Torres, L. A., & Romero-Servin, S. (2014). Heparin assisted photochemical synthesis of gold nanoparticles and their performance as SERS substrates. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(10), 19239-19252. <https://doi.org/10.3390/IJMS15101923>.
4. Doan, M. Q., Anh, N. H., Quang, N. X., Dinh, N. X., Tri, D. Q., Huy, T. Q., & Le, A. T. (2022). Ultrasensitive Detection of Methylene Blue Using an Electrochemically Synthesized SERS Sensor Based on Gold and Silver Nanoparticles: Roles of Composition and Purity on Sensing Performance and Reliability. *Journal of Electronic Materials*, 51(1), 150-162. <https://doi.org/10.1007/S11664-021-09228-5>.
5. Huong, V.T., Phuong, N.T.T., Tai, N.T., An, N.T., Lam, V.D., Manh, D.H., Chi, T.T.K., Dat, M.N.X., Duc, P.V., and Hoa, T.T.N., (2021). Gold Nanoparticles Modified a Multimode Clad-Free Fiber for Ultrasensitive Detection of Bovine Serum Albumin. *J. Nanomater*, 2021. DOI: 10.1155/2021/5530709.
6. Cai, Y., Piao, X., Gao, W., Zhang Z., Nie, E., and Sun, Z. (2017). Large-scale and facile synthesis of silver nanoparticles: Via a microwave method for a conductive pen. *RSC Adv.*, 7, 34041–34048. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7RA05125E>.
7. Li, C., Huang, Y., Lai, K., Rasco, B. A., & Fan, Y. (2016). Analysis of trace methylene blue in fish muscles using ultra-sensitive surface-enhanced Raman spectroscopy. *Food Control*, 65, 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.017>.
8. Natan, M. J. (2006). Concluding remarks: Surface enhanced Raman scattering. *Faraday Discussions*, 132, 321-328. <https://doi.org/10.1039/b601494c>.

Synthesis of nano silver coating for surface-enhanced Raman scattering application for methylene blue detection

Dinh Duc Anh, Nguyen Tran Truc Phuong, Nguyen The Duy
Hitech Institute, Nguyen Tat Thanh University
ddanh@ntt.edu.vn

Abstract Surface-enhanced Raman scattering is one of the methods that is attracting a lot of interest in the field of sensing. The efficient use of the electromagnetic field on the surface of precious metal nanoparticles resulting from the LSPR effect is one of the leading solutions to improve the sensitivity of this method. Polygonal silver nanoparticles with controlled shape and size achieve high homogeneity by chemical reduction. Based on the good binding ability between silver and amine groups, the self-aligning monolayer coating method on glass substrate was used in this study with the aim of enhancing the SERS signal of the substrates and improving the stability of the SERS substrate. Methylene blue was used in this study as an analyte. The detection limit of glass/Ag substrate calculated for methylene blue was $\sim 10^{-8}$ M corresponding to the calculated enhancement factor of $\sim 10^8$ times. This is an affirmation of the feasibility of applying SERS in clinical sensors to quickly and simply detect toxic organic substances in the food and environmental fields.

Keywords Surface-enhanced Raman scattering, nano silver, SAM, methylene blue