

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

LUẬN VĂN THẠC SĨ QUANG HỌC

**ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ PHÂN GIẢI THEO THỜI
GIAN NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH TRUYỀN NĂNG LƯỢNG
CỘNG HƯỞNG**

**PHẠM THỊ HẰNG
LỚP CAO HỌC LÝ K10.B1**

THÁI NGUYÊN, 2018

LỜI CẢM ƠN

Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, em xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Thầy giáo hướng dẫn PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình. Thầy đã giao đề tài và tận tình hướng dẫn em trong suốt quá trình hoàn thành luận văn.

Em xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Vũ Thị Bích và Th.S Nguyễn Đình Công ở Viện Vật Lý Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, PGS. TS. Chu Việt Hà trường Đại học Sư Phạm – Đại học Thái Nguyên đã giúp đỡ và tạo điều kiện để em hoàn thành tốt luận văn.

Em xin gửi lời cảm ơn của mình tới toàn thể Thầy Cô giáo trong khoa Vật lý trường Đại Học Khoa Học - Đại học Thái Nguyên đã giảng dạy và giúp đỡ em trong suốt quá trình học tập tại khoa, và các anh chị, các bạn học viện lớp K10B1 – lớp Cao học Vật lý đã trao đổi và giúp đỡ em trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới gia đình tôi, bạn bè đồng nghiệp của tôi – những người đã luôn bên cạnh động viên và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian học tập và thực hiện luận văn này.

Luận văn được hoàn thành với sự hỗ trợ từ đề tài KHCN cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam thuộc Chương trình phát triển Vật lý tới 2020 cấp: ***“Ứng dụng phương pháp huỳnh quang phân giải thời gian và hiệu ứng truyền năng lượng cộng hưởng FRET thử nghiệm phát hiện độc tố kháng sinh trong thực phẩm”***

Tác giả luận văn

PHẠM THỊ HẰNG

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	i
MỤC LỤC	ii
MỤC LỤC DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT.....	iii
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	iv
DANH MỤC CÁC HÌNH	v
MỞ ĐẦU.....	1
Chương 1: Tổng quan	3
1.1. Vật liệu nano và ứng dụng.....	3
1.2. Hiện tượng truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (FRET).....	5
1.2.1. Khái niệm.	5
1.2.2. Lịch sử phát triển FRET ^[11]	7
1.2.3. Ứng dụng hiệu ứng FRET và chấm lượng tử làm nanosensor.....	14
Chương 2. Kỹ thuật thực nghiệm	17
2.1. Kỹ thuật đo hấp thụ	17
2.2. Kỹ thuật đo huỳnh quang	19
2.3. Kỹ thuật đo huỳnh quang phân giải thời gian	20
2.3.1. Quang phổ phân giải thời gian và thời gian sống phát quang	20
2.3.2. Hệ đo huỳnh quang phân giải thời gian - TCSPC	23
Chương 3: Kết quả và thảo luận.....	27
3.1. Quá trình truyền năng lượng giữa AuNPs với phân tử Rh6G.....	27
3.2. Quá trình truyền năng lượng giữa Rhodamin 6G và chấm lượng tử CdSe/ZnS	33
KẾT LUẬN	38
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	39

MỤC LỤC DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer
EM	Sóng điện từ
BRET	truyền năng lượng cộng hưởng phát quang sinh học
TCSPC	time-correlated single photon counting
SPR	Surface Plasmon Resonance
AuNPs	hạt nano vàng
A	Acceptor
D	Donor
QDs	Quantum dots
DNA	Deoxyribonucleic acid
PL	Phổ huỳnh quang
Rh6G-CdSe/ZnS	Chấm lượng tử CdSe/ZnS-Rhodamin 6G
AuNPs/Rh6G	hạt nano vàng-Rhodamin 6G

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1: Các mẫu nghiên cứu FRET giữa cặp Rh6G (Donor) và AuNPs (Acceptor)	29
Bảng 3.2. Kết quả tính thời gian sống từ fitting đường cong suy giảm huỳnh quang theo hàm stretch exponent.....	33
Bảng 3.3. Các mẫu nghiên cứu FRET giữa cặp Rhodamin 6G và chấm lượng tử CdSe/ZnS .	34
Bảng 3. 4. Giá trị của tích phân vùng phổ chồng chồng lên nhau, ($J(\lambda)$), hiệu suất truyền năng lượng Förster, (E%), và khoảng cách cặp donor-acceptor (r).....	36

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1: Mô hình hiệu ứng FRET.....	6
Hình 1.2: Giản đồ Jablonski mô tả hiệu ứng FRET	10
Hình 1.3: Phổ hấp thụ và phổ huỳnh quang của một cặp chất Donor và Acceptor.....	11
Hình 1.4: Hiệu suất truyền năng lượng FRET được vẽ như hàm khoảng cách cặp donor-acceptor, khoảng cách R_0 là khoảng cách mà hiệu suất truyền bằng 50%	12
Hình 1.5: Quang phổ huỳnh quang của donor và acceptor và dung dịch hỗn hợp của donor và acceptor.....	13
Hình 1.6: Mô hình cơ chế hoạt động của biosensor DNA nano QDs (a,b).....	15
Hình 1.7: Sơ đồ cảm biến FRET cơ bản để phát hiện các protease hoạt động.....	16
Hình 2.1: Máy đo phổ hấp thụ Shimadzu UV2600	18
Hình 2.2: Sơ đồ nguyên lý của hệ đo hấp thụ quang học UV-VIS-NIR	18
Hình 2.3: Sơ đồ nguyên lý của máy phổ kế huỳnh quang Cary Eclipse	20
Hình 2.4: (a) Phép đo thời gian sống theo phương pháp miền thời gian; (b) Phép đo thời gian sống theo phương pháp miền tần số	22
Hình 2.5: Nguyên lý tổng quát của kỹ thuật TCSPC: một photon tín hiệu được ghi nhận tại mỗi chu kỳ xung kích thích, nhớ vào các cột thời gian (bin time), dựng lại biểu đồ tín hiệu theo thời gian (histogram) sẽ cho profile cường độ ^[17]	24
Hình 2.6: Sơ đồ tổng quát của hệ TCSPC	25
Hình 3.1: Ảnh HRTEM của AuNPs	28
Hình 3.2: Phổ hấp thụ của hạt AuNPs trong	28
Hình 3.3: Phổ PL của các mẫu AuNPs/Rh6G, $\lambda_{kích\ thích} = 488\text{nm}$	30
Hình 3.4. Hiệu suất FRET phụ thuộc vào tỉ lệ N giữa Acceptor và Donor (tam giác đỏ), so sánh với lý thuyết Förster tại tỉ lệ $R/R_0 = 0.92$ (Đường màu xanh dương).....	30
Hình 3.5: Đường cong suy giảm huỳnh quang của Rh6G.....	32
Hình 3.6: Phổ hấp thụ và phổ huỳnh quang của các mẫu Rh6G:CdSe/ZnS với tỉ lệ khác nhau	34
Hình 3.7: Phổ huỳnh quang phân giải thời gian của các mẫu Rh6G:CdSe/ZnS với tỉ lệ thành phần khác nhau đo tại đỉnh phát xạ 563 nm với bước sóng kích thích 405 nm	35

MỞ ĐẦU

Truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang hay truyền năng lượng cộng hưởng Förster được đặt tên của nhà khoa học Theodor Förster - người đã tìm ra hiệu ứng truyền năng lượng giữa hai chất màu hữu cơ, chất huỳnh quang ^[1]. Trong một thời gian dài, mục tiêu chính của phương pháp dựa vào FRET là xác định khoảng cách giữa các phân tử tương tác bằng cách xác định sự thay đổi cường độ huỳnh quang của chất cho (donor) hoặc chất nhận (acceptor), từ đó xác định hàm lượng thành phần của donor-acceptor ^[2,5]. Sau này với sự phát triển của khoa học kỹ thuật đặc biệt là kỹ thuật đo thời gian sống huỳnh quang, ảnh thời gian sống huỳnh quang, FRET trở thành công cụ nghiên cứu cấu trúc, tương tác giữa các phân tử trong tế bào. FRET là nguyên nhân gây ra sự dập tắt huỳnh quang của donor nhưng phần lớn năng lượng phát xạ bởi acceptor. FRET có các thuộc tính của truyền năng lượng và dập tắt cơ học ^[4]. Khi hiệu ứng FRET xảy ra, acceptor với một tập hợp các mức năng lượng quỹ đạo gần hoặc thấp hơn mức kích thích của donor, có nghĩa là phổ phát xạ của donor phải chồng chập lên phổ hấp thụ của acceptor, quá trình truyền năng lượng có thể đo được thông qua thời gian sống huỳnh quang. Xác định FRET qua thời gian sống huỳnh quang có một số ưu điểm so với phương pháp xác định cường độ phổ đồng thời tránh được trường hợp không phải FRET (quá trình tái hấp thụ). Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang là cặp donor-acceptor là: chất màu Rhodamin 6G và hạt nano vàng; Rhodamin 6G và chấm lượng tử CdSe/ZnS trong môi trường dung môi nước.

Luận văn với tiêu đề: *“Ứng dụng phương pháp quang phổ phân giải thời gian nghiên cứu quá trình truyền năng lượng cộng hưởng”*. Ngoài phần mở đầu, kết luận được chia làm 3 chương:

- **Chương 1:** Tổng quan tìm hiểu tài liệu về FRET, ứng dụng FRET: trình bày lịch sử phát triển nghiên cứu FRET, lý thuyết FRET và một số ứng dụng của nó.

- **Chương 2:** Kỹ thuật thực nghiệm: Chuẩn bị mẫu đo, các phương pháp thực nghiệm được sử dụng trong luận văn như đo phổ hấp thụ, phổ huỳnh quang, thời gian sống huỳnh quang
- **Chương 3.** Trình bày các kết quả truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang của 2 cặp donor-acceptor là: chất màu Rhodamin 6G và hạt nano vàng; Rhodamin 6G và chấm lượng tử CdSe/ZnS trong môi trường dung môi nước.

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. Vật liệu nano và ứng dụng

Vật liệu nano là loại vật liệu được đặc biệt chú ý nghiên cứu trên thế giới và tại Việt Nam trong hơn mười năm trở lại đây. Hiện nay công nghệ nano đã và đang dần đi vào cuộc sống, nhiều ngành, nhiều lĩnh vực sử dụng công nghệ nano tạo ra ứng dụng có tính đột biến lớn. Công nghệ và Vật liệu nano cũng là hướng nghiên cứu ưu tiên trong định hướng phát triển khoa học công nghệ của Đảng và Nhà Nước ta trong thời gian tới. Về bản chất vật liệu nano là loại vật liệu làm việc ở cấp độ nguyên tử phân tử nên nó có nhiều tính chất khác biệt so với vật liệu ở dạng khối. Vật liệu nano cho thấy khả năng ứng dụng rất phong phú và đa dạng, vật liệu nano có thể thay thế các loại vật liệu truyền thống hoặc sử dụng tính chất mới của vật liệu nano để tạo ra ứng dụng mới.

Với ưu điểm là kích thước rất bé (1-100nm) vật liệu nano có thể dễ dàng xâm nhập vào các tế bào sống. Đây chính là chìa khoá để mở ra khả năng ứng dụng to lớn trong lĩnh vực y-sinh học. Vật liệu nano có thể kết hợp với các chất hợp sinh để đưa vào trong cơ thể, tế bào sống mà không bị đào thải và bám vào tế bào đích. Đây chính là nguyên lý ứng dụng hạt nano đánh dấu nhận biết các tế bào bị bệnh nhằm chẩn đoán và điều trị, nhằm giảm thiểu các hiệu ứng phụ so với những phương pháp truyền thống. Cũng với tính chất này, vật liệu nano còn được sử dụng để dẫn truyền thuốc tới tận các tế bào bệnh, ức chế hoặc tiêu diệt các tế bào. Nhiều phương pháp điều trị bệnh được xây dựng trên cơ sở sử dụng vật liệu nano như liệu pháp hoá trị (chemotherapy): chế tạo các hệ thống mang thuốc nano hướng đích làm tăng hiệu quả của thuốc và giảm các tác dụng phụ; liệu pháp nhiệt trị (thermal therapy): sử dụng nguyên tắc đốt nội với các nguồn nhiệt là các hạt từ, hạt kim loại kích thước bé hơn tế bào để bóc tách hoặc diệt tế bào ung thư; liệu pháp thực khuẩn thể (phage therapy) là phương pháp sử dụng các thực khuẩn thể đặc hiệu gắn với các hạt mang thuốc... Ngoài ra, tính chất quang của các hạt nano như chấm lượng tử, hạt nano vàng, các hạt nano silica chứa tâm màu hữu cơ và các hạt nano đất hiếm được sử dụng để đánh dấu, làm tăng độ tương phản ảnh, tăng độ nhạy cũng như độ chính xác của phép chuẩn đoán hình ảnh.

Tại Việt Nam nghiên cứu về vật liệu nano đã được thực hiện gần hai chục năm qua, hàng ngàn dự án, đề tài khoa học các cấp đã được thực hiện, chúng ta đã thu được nhiều kết quả khoa học đáng khích lệ, nhiều công trình khoa học đã được công bố, nhiều kết quả đã được đưa vào ứng dụng trong thực tế ...bên cạnh những tính chất, thông số, đặc trưng vật lý của đơn hạt nano ở trạng thái dừng (steady state) của vật liệu nano được tập trung nghiên cứu thời gian gần đây, một tính chất khác của vật liệu nano là tính chất động học – tính chất của vật liệu khi có tương tác với môi trường bên ngoài ít được chú ý vì ở Việt Nam chúng ta chưa có đầy đủ phương tiện, máy móc để thực hiện các nghiên cứu này. Gần đây tại viện Vật lý Viện Hàn lâm Khoa Học Công Nghệ Việt Nam đã phát triển được một số thiết bị cho phép xác định được một số đặc tính động học của vật liệu nano.

Vật liệu nano có triển vọng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực. Chẳng hạn, ống nano cacbon, dây nano silic đóng vai trò quan trọng trong việc chế tạo các linh kiện điện tử, cũng như các chuyển mạch quang... Các vật liệu gốm trên cơ sở tinh thể nano Si_3N_4 , SiC ... có độ cứng siêu cao, ít bị mài mòn, được dùng trong cơ khí để chế tạo mũi khoan, dao cắt gọt, các ổ bi.... Vật liệu TiO_2 anatase với kích thước cỡ nano mét cho thấy chúng là một chất xúc tác quang điện hóa mạnh, mở ra một khả năng ứng dụng làm vật liệu xúc tác, làm sạch môi trường: kính được phủ hạt tinh thể nano TiO_2 sẽ không dính ướt; các loại sơn có pha hạt nano TiO_2 sẽ có độ bám dính rất cao, làm cho lớp sơn bền lâu và không bám bụi... Các hạt nano từ: Fe_2O_3 , Fe_3O_4 ... được sử dụng để đốt các tế bào ung thư bằng từ trường ngoài mà không ảnh hưởng đến các tế bào bình thường.

Các hạt kim loại có cấu trúc nano cũng là một hướng tiếp cận trong các nghiên cứu khoa học–công nghệ nano. Ở đây, tính chất hấp thụ cộng hưởng plasmon bề mặt liên quan tới hệ điện tử tự do đặc biệt có ý nghĩa quan trọng. Gần đây, hai loại hạt nano kim loại được quan tâm nghiên cứu nhiều là vàng (Au) và bạc (Ag). Vàng kích thước nano (khoảng một vài chục nm) có plasmon bề mặt cộng hưởng ở khoảng 530 nm. Quá trình biến đổi photon–plasmon–photon (vùng phổ cộng hưởng ~530 nm) cho phép tiếp cận trực tiếp lĩnh vực nano–photonics, tận dụng được các ưu thế "nhanh" của quang tử (photonics) và "kích thước nano" của điện tử. Plasmon bề mặt trong các hạt vàng còn được sử dụng để truyền năng lượng ánh sáng cho các tế bào, protein được