



Ảnh hưởng của cấu trúc lõi, lõi-pha tạp và lõi-pha tạp/vỏ đến khả năng phát quang của các hạt nano phát quang ứng dụng phát hiện vi khuẩn *E. coli* O 157: H7 và *S. aureus* kháng methicillin (MRSA)

Investigation into the effect of the core structure, core-doped, core-doped/shell on the photoluminescence of nanoparticles applied to the detection of *E. coli* O 157:H7 and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)

Bùi Thị Diễm¹, Nguyễn Quang Liêm², Phạm Duy Khanh³, Nguyễn Văn Khiêm³, Nguyễn Trọng Tăng¹, Lương Thị Bích^{3*}

¹Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh, Số 12, Nguyễn Văn Bảo, Phường 4, Quận Gò Vấp, Thành Phố Hồ Chí Minh

²Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội 10000, Việt Nam

³Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 1A Thanh Lộc 29, Thanh Lộc, Quận 12, Thành phố Hồ Chí Minh 70000, Việt Nam

*Email: marialuongthibich@gmail.com

ARTICLE INFO

Received: 20/2/2021

Accepted: 25/5/2021

Published: 15/10/2021

Keywords:

MPA, core-doped /shell, ZnSe:Mn/ZnS, synthesis of quantum dots in aqueous phase, ZnSe:Mn-MPA.

ABSTRACT

In this study, Mn-doped ZnSe/ZnS core/shell quantum dots (CSQDs) were synthesized in aqueous solution using 3-Mercaptopropionic Acid as a surface stabilizer and successfully applied in the detection of *Escherichia coli* O157:H7 and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) for the first time. The CSQDs were conjugated with anti-*E. coli* antibody and anti-MRSA antibody via protein A supported by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride for fluorescent labeling of the intact bacterial cells. The detection was performed for the bacterial strains cultivated in Luria-Bertani liquid medium. The obtained results indicate that *E. coli* O157:H7 and MRSA can be detected within 30 min at a high sensitivity of 10^1 CFU/mL. This labeling method based on the highly fluorescent CSQDs may have great potential for use in the food industry to check and prevent outbreaks of foodborne illness.

Giới Thiệu chung

Từ Các chấm lượng tử phát quang (QDs) là các hạt có khả năng phát quang ở kích thước rất bé. Các hạt này đã và đang được ứng dụng một cách rộng rãi trên nhiều lĩnh vực.^[1] Các nghiên cứu trước đây thường

được thực hiện dựa trên nguyên tố cadimi và tổng hợp trong môi trường hữu cơ vì nó cho hiệu suất phát quang cao và sự phát huỳnh quang ổn định [2]. Tuy nhiên, phương pháp này còn nhiều hạn chế vì Cd là nguyên tố độc hại thuộc nhóm A (Cd, Hg, Pb) [3] và tổng hợp trong môi trường hữu cơ không thân thiện

với môi trường, quy trình phản ứng phức tạp, gặp một số hạn chế khi ứng dụng trong sinh học và đặc biệt là thải ra môi trường một lượng lớn chất độc.^[4-7]

Mặc dù đã đạt được những thành công đáng kể và được ứng dụng rộng rãi trong công nghệ, song với đó là các vấn đề gây hại về môi trường khi các hạt QDs được tổng hợp trong dung môi hữu cơ, đồng thời ảnh hưởng đến sức khỏe con người bởi các nguyên tố độc hại. Do đó, Những nghiên cứu gần đây đã hướng tới sự phát triển các QDs mà không có các nguyên tố độc hại nhóm A trên,^[8] Cd trong QDs có thể được thay thế bởi các kim loại chuyển tiếp^[9, 10] để ứng dụng cho nhiều lĩnh vực khác nhau.^[11-13] Trong các chất bán dẫn loại II-VI không chứa Cd được làm lõi, thì ZnSe có độ rộng vùng cấm ở nhiệt độ phòng là 2,71 eV (452 nm) là một vật liệu đặc biệt thú vị với nhiều ứng dụng rộng rãi trong các ứng dụng y sinh.^[14-17] Để tăng hiệu suất phát huỳnh quang người ta pha tạp một số kim loại vào hạt nano phát quang.^[18-21] Trong số đó Mn^{2+} là một chất pha tạp thường dùng của nhiều loại bán dẫn loại II-VI.^[22] Ngoài ra, Các liên kết treo trên bề mặt của nano tinh thể tạo thành các trạng thái bẫy, làm ảnh hưởng tới sự huỳnh quang và ảnh hưởng tới hiệu suất lượng tử của nó.^[23] Do đó, khi các trạng thái bề mặt được thụ động hóa trở nên ổn định thì khả năng phát xạ của QD cũng trở nên tốt hơn.^[24,25] Một phương pháp để ổn định bề mặt của QD là bọc thêm vào một hoặc hai lớp chất bán dẫn khác có độ rộng vùng cấm lớn hơn.^[25,26] Các chất bán dẫn được chọn để làm vỏ bọc phải có độ rộng vùng cấm lớn hơn độ rộng vùng cấm của lõi và hằng số mạng phải gần với hằng số mạng của lõi để cho lớp vỏ được nuôi trên lõi không bị quá thay đổi tại lớp tiếp giáp giữa hai chất.^[27]

Dựa theo công trình nghiên cứu.^[28] Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả ảnh hưởng của cấu trúc đến tính chất quang của hạt nano phát quang dựa trên nguyên tố Zn ít độc hại pha tạp mangan và được tổng hợp trong môi trường nước, đây là xu hướng tổng hợp thân thiện môi trường, điều kiện phản ứng đơn giản và tiết kiệm chi phí. Phương pháp tổng hợp này có sử dụng chất ổn định bề mặt là 3-Mercaptopropionic Acid (MPA) nhằm hỗ trợ quá trình phân tán, tăng cường độ phát quang và đặc biệt là tăng khả năng thích ứng sinh học cho quá trình ứng dụng để nghiên cứu phát hiện nhanh vi khuẩn, vi rút, nấm gây bệnh.

E. coli là một trong những loài vi khuẩn chính ký sinh trong đường ruột của người và động vật máu nóng. Chúng là các trực khuẩn Gram âm.^[29] Vi khuẩn *Staphylococcus* thuộc họ Staphylococcaceae^[30] là những vi khuẩn hình cầu, bắt màu Gram dương^[31]. Sự

cư trú trong cơ thể và môi trường bệnh viện giữa các loại tụ cầu khuẩn tiết niệu dẫn tới sự truyền cho nhau khả năng kháng thuốc, làm cho sự kháng kháng sinh tăng lên. Nhiều phương pháp sinh học phân tử đã được áp dụng để phát hiện nhanh vi khuẩn *S. aureus* MRSA và *E. coli* O 157: H7...^[32, 33]. Tuy nhiên, kết quả âm tính giả vẫn được ghi nhận trong nhiều trường hợp. Để giải quyết các vấn đề trên, hiện nay, ứng dụng công nghệ nano trong y sinh đang được đầu tư nghiên cứu, một trong những hướng ứng dụng là chẩn đoán nhanh tác nhân vi sinh gây bệnh bằng kỹ thuật nano.

Phát hiện nhanh và chính xác tác nhân gây bệnh là nhu cầu tất yếu trong bối cảnh hiện nay tại Việt Nam, khi mà số trường hợp nhiễm trùng bệnh viện và ngộ độc thực phẩm ngày một gia tăng. Việc chẩn đoán nhanh, đúng tác nhân sẽ góp phần hỗ trợ công tác điều trị cho bác sĩ lâm sàng, góp phần định hướng trong công tác phòng chống dịch bệnh cho khối y tế dự phòng và hơn hết bệnh nhân sẽ nhận được đúng phác đồ điều trị nhanh, góp phần cải thiện sức khỏe..

Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp chấm lượng tử phát quang

Quá trình tổng hợp được chia thành hai giai đoạn:

Giai đoạn 1: Quá trình tổng hợp lõi ZnSe (hoặc ZnSe:Mn): Chuẩn bị hệ phản ứng: bình cầu 3 cổ có chứa hỗn hợp dung dịch như sau: 10 ml kẽm acetate 0,1 M, 90 ml nước cất, và 40 ml dung dịch chất ổn định bề mặt (MPA) 0,1 M. Hệ phản ứng được khuấy trộn đều và đuổi không khí bằng khí N_2 trong 30 phút, pH của dung dịch là 7, gia nhiệt độ hệ phản ứng lên 90 °C.

Dung dịch NaHSe được điều chế từ bột Se, $NaBH_4$, và nước trong môi trường chân không. Cân 0,4 gam Se và 0,3 gam $NaBH_4$ cho vào bình phản ứng. Tiêm nhanh 1 ml nước cất vào bình phản ứng, phản ứng xảy ra tức thì tạo dung dịch trong suốt ta thu được dung dịch NaHSe.

Tiêm nhanh dung dịch NaHSe đã được điều chế vào hỗn hợp phản ứng trên, và tiếp tục khuấy trộn tại nhiệt độ 80 °C trong vòng 90 phút.

Giai đoạn 2: Quá trình bọc vỏ ZnS cho lõi: Chuẩn bị tiến hành bọc vỏ: Cân 0,05 gam $Zn(OAc)_2 \cdot 2H_2O$ pha trong 5mL H_2O , tiến hành cho vào bình phản ứng bằng cách nhỏ giọt từ từ cho đến khi hết. Tiến hành cân 0,03 gam $Na_2S \cdot 9H_2O$ pha trong 5mL H_2O , tiến hành cho vào bình phản ứng bằng cách nhỏ giọt từ từ cho đến khi hết. Sau đó tiếp tục khuấy để phản ứng

trong 90 phút ở nhiệt độ 80 °C. Sau phản ứng, hệ được đưa về nhiệt độ thường để kết thúc phản ứng. Sản phẩm được ủ trong 24 giờ và lưu sản phẩm.

Ứng dụng các hạt nano phát quang để phát hiện vi khuẩn

Dung dịch hạt chấm lượng tử phát quang được pha loãng bậc 10 trong nước cất vô trùng thành các nồng độ 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³. Các vi khuẩn thử nghiệm được pha loãng thành dung dịch có nồng độ McF 0,5 tương đương 10⁸ CFU/ml. Nghiên cứu và đánh giá điều kiện tối ưu cho quy trình gắn protein A lên hệ hạt nano phát quang (chấm lượng tử phát quang – protein A). Để ổn định cột, Cho 2 ml dung dịch hạt nano phát quang qua cột với lượng 1 ml/10 phút. Cho 25 µl kháng thể kháng *E. coli*, và *Staphylococcus* qua cột với lượng 1µl/1 phút (cho riêng biệt từng kháng thể qua từng cột khác nhau). Cho 2ml dung dịch đệm qua cột để ổn định cột và rửa những liên kết không bền vững ra khỏi cột. Cho 1ml dung dịch vi khuẩn ở nồng độ 10⁸ CFU/ml qua cột với lượng 1 ml/20 phút. Quan sát cột dưới đèn UV. Chuẩn bị kết quả để đối chứng đó là cho 25 µl kháng thể kháng *E. coli*, và *Staphylococcus* tương tác với 2ml dung dịch hạt nano phát quang trong 20 phút. Cho 1ml dung dịch vi khuẩn ở nồng độ 10⁸ CFU/ml qua cột với lượng 1 ml/20 phút. Quan sát dung dịch dưới đèn UV và ghi nhận kết quả.

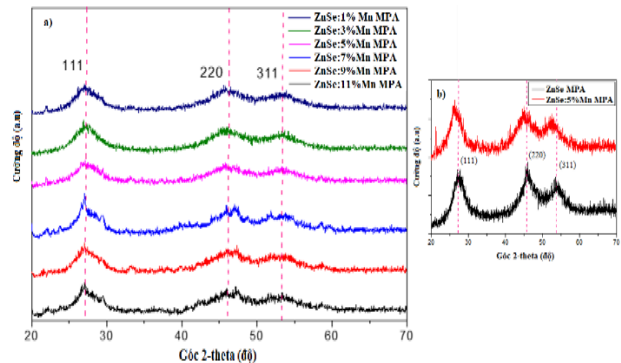
Kết quả và thảo luận

Khảo sát ảnh hưởng của Mn pha tạp đến cường độ phát quang của DQs ZnSe:Mn

Các phương pháp lý hóa hiện đại như phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD), phương pháp phổ hồng ngoại FT-IR, hiển vi điện tử truyền qua (TEM), phân tích định tính thành phần nguyên tố (EDS), phổ tử ngoại khả kiến và phổ quang điện tử tia X (XPS) được sử dụng để nghiên cứu các tính chất đặc trưng của ZnSe:Mn-MPA. Kết quả thể hiện ở hình 1.

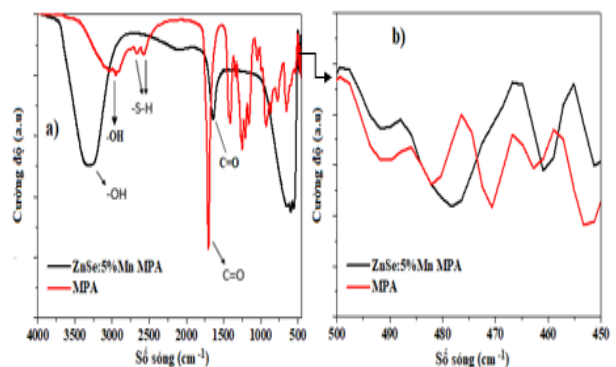
Giản đồ XRD của QDs ZnSe:Mn-MPA được tổng hợp ở các nồng độ Mn²⁺ pha tạp khác nhau (hình 1a) đều có cấu trúc lập phương tinh thể (cấu trúc giả kẽm -Zinc Blende) vì có các pic nhiễu xạ tại 27,37°, 45,47° và 54,17° tương ứng với các mặt phẳng (111), (220), (311) phù hợp với khi so với thẻ chuẩn JCPDS 012-6803. Sự pha tạp Mn²⁺ ở các nồng độ khác nhau trong điều kiện khảo sát không ảnh hưởng đến thành phần pha tinh thể. Kết quả này khá phù hợp với kết quả đã công bố của các nghiên cứu trước. Đáng chú ý là, khi pha

tạp Mn, các pic nhiễu xạ dịch chuyển nhẹ về phía góc 2 theta bé hơn so với các pic nhiễu xạ của ZnSe tổng hợp ở cùng điều kiện (hình 1b).



Hình 1: Nhiễu xạ tia X của ZnSe:Mn-MPA được tổng hợp ở nhiệt độ 90 °C, ở pH 7 và ở các nồng độ Mn²⁺ pha tạp khác nhau

Kết quả này phù hợp với một số kết quả đã công bố. Sự dịch chuyển nhẹ này cho rằng đã có sự thay thế ion Zn²⁺ bởi các ion Mn²⁺ trong quá trình tổng hợp mẫu do ion Zn²⁺ và ion Mn²⁺ có cùng điện tích và bán kính ion Zn²⁺ (0,74 Å) gần bằng bán kính ion Mn²⁺ (0,8 Å). Kết quả XRD không quan sát thấy có sự xuất hiện các pic nhiễu xạ của kim loại mangan cũng như hợp chất của mangan. Như vậy, có thể cho rằng mangan đã pha tạp thành công vào ZnSe mà không làm thay đổi cấu trúc của ZnSe. Trong đó, các ion mangan đã thay thế một phần vị trí các ion Zn²⁺ hoặc xâm nhập vào các lỗ hổng khuyết tật mạng.

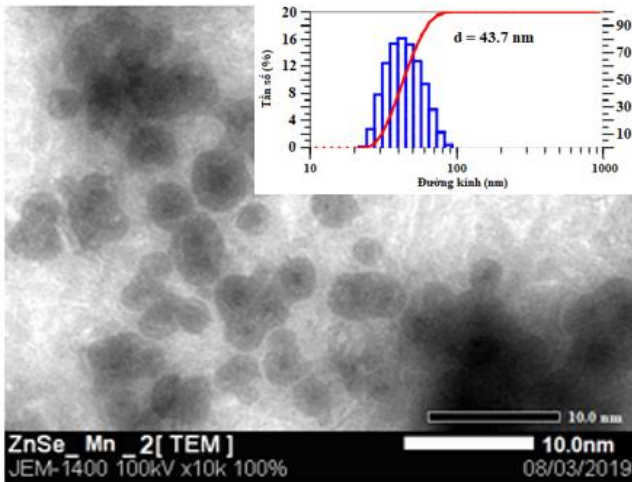


Hình 2: Phổ IR của mẫu ZnSe:Mn-MPA được tổng hợp ở pH 7, nhiệt độ 90 °C và ở tỉ lệ mol Mn²⁺/Zn²⁺ 5 %

Phổ FT-IR của MPA và mẫu ZnSe:Mn-MPA được tổng hợp ở các nồng độ Mn²⁺ pha tạp khác nhau (hình 2a) cho thấy đồng thời vẫn còn mũi -OH và -C=O của nhóm -COOH của MPA và nhóm chức -S-H của MPA không còn chứng tỏ -SH đã hình thành liên kết trên bề mặt của tinh thể ZnSe:Mn và MPA đã liên kết được với các hạt QDs. Nhờ đó giúp cho các hạt nano phân tán

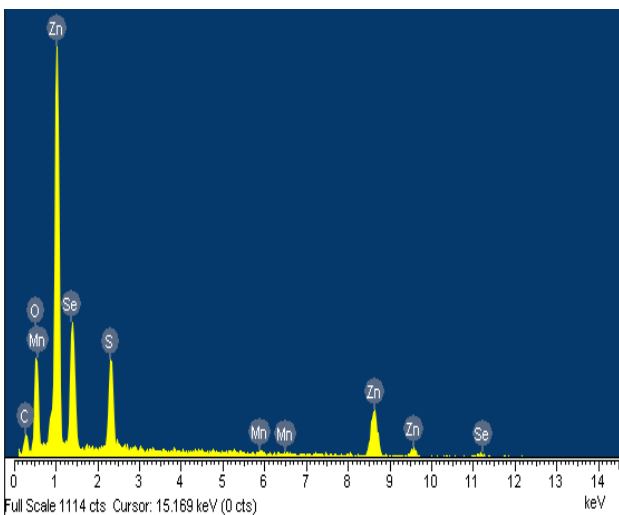
tốt trong nước và có những ứng dụng tốt trong sinh học.

Đáng chú ý có sự chuyển dịch số sóng hấp thu liên kết Zn-Se của mẫu ZnSe:Mn-MPA (482cm^{-1}) so với mẫu ZnSe-MPA ($478,5\text{ cm}^{-1}$) tổng hợp ở cùng điều kiện (hình 2b). Sự thay đổi vị trí pic liên kết Zn-Se của ZnSe:Mn-MPA, có thể do sự tạo thành liên kết Zn-S-Mn khi Mn pha tạp vào ZnSe.



Hình 3: Hình ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt của mẫu của mẫu ZnSe:Mn-MPA ở nồng độ mangan pha tạp 5 %, nhiệt độ 90 °C, ở pH 7

Hình thái học bề mặt và kích thước hạt của ZnSe:Mn-MPA (hình 3) cho thấy các hạt ZnSe:Mn được tổng hợp ở nhiệt độ 90 °C, ở pH 7, có tỉ lệ mol $\text{Mn}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ là 5 % tựa hình cầu. Các hạt phân bố khá đồng đều.

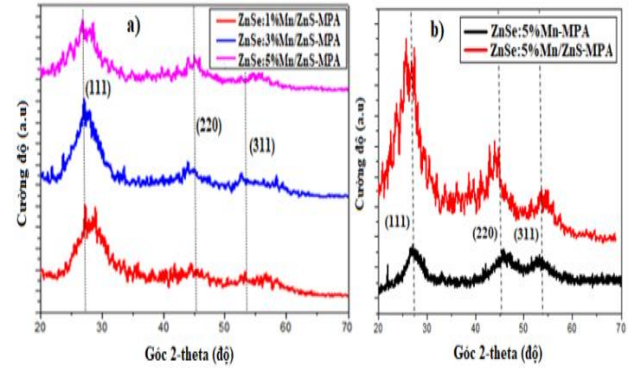


Hình 4: Phổ EDX của QD ZnSe:Mn được tổng hợp ở nhiệt độ 90 °C, ở pH 7, ở tỉ lệ mol $\text{Mn}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ là 5 %

Sự có mặt của các nguyên tố Zn, Se, Mn, O và C trong mẫu ZnSe:Mn-MPA được khẳng định trên phổ EDS (hình 4). Ngoài ra, trên hình ảnh phổ không có sự xuất

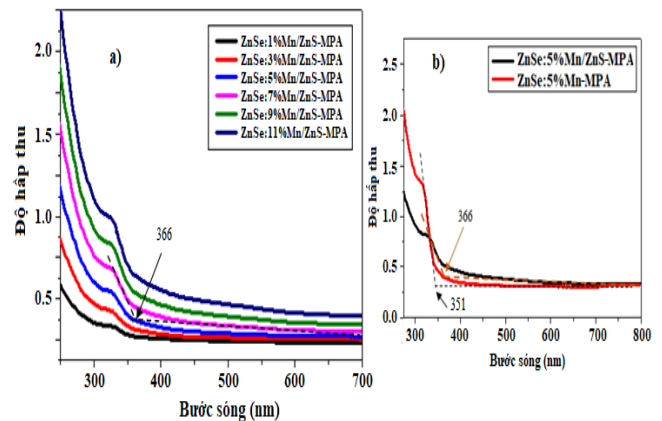
hiện của nguyên tố lạ. Chứng tỏ các hạt nano ZnSe:Mn-MPA tổng hợp được có độ tinh khiết cao.

Phân tích cấu trúc và tính chất quang của các hạt QD ZnSe:Mn/ZnS-MPA



Hình 5: Giản đồ XRD của các hạt nano ZnSe:Mn/ZnS ở các nồng độ Mn^{2+} pha tạp khác nhau a) và ZnSe:5 %Mn b)

Nhiều xạ XRD hình 5a cho thấy, hàm lượng Mn pha tạp không ảnh hưởng đến thành phần pha tinh thể. Các mẫu có tỉ lệ mol $\text{Mn}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ từ 1 % đến 11 % đều cho có cấu trúc lập phương tinh thể (cấu trúc giả kẽm-Zinc Blende) vì có các pic nhiễu xạ tại $27,37^\circ$, $45,4^\circ$ và $54,1^\circ$ tương ứng với các mặt phẳng (111), (220), (311) phù hợp với thẻ chuẩn JCPDS 012-6803. Như vậy, có thể cho rằng việc bọc thêm lớp vỏ ZnS vào ZnSe:Mn-MPA không làm thay đổi cấu trúc của ZnSe.

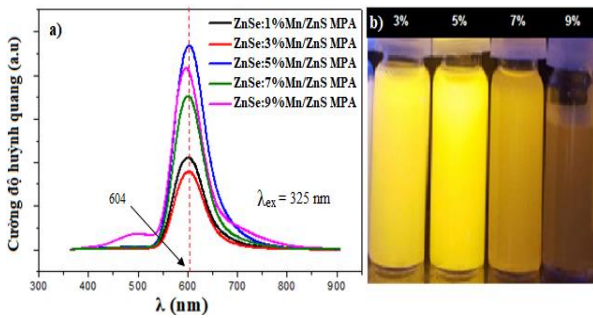


Hình 6: Phổ UV-Vis của ZnSe:Mn/ZnS ở các nồng độ Mn^{2+} khác nhau (a) và phổ UV-Vis của ZnSe:5%Mn-MPA, ZnSe:Mn/ZnS-MPA

Khác với ZnSe pha tạp mangan, ZnSe:Mn khi được bọc thêm lớp vỏ ZnS không có sự dịch chuyển các pic nhiễu xạ so với nhiễu xạ XRD của ZnSe:Mn-MPA tổng hợp ở cùng điều kiện (hình 5b). Lớp vỏ ZnS đã bao bọc xung quanh mạng tinh thể ZnSe:Mn mà không làm thay đổi cấu trúc của ZnSe ban đầu. Tuy nhiên,

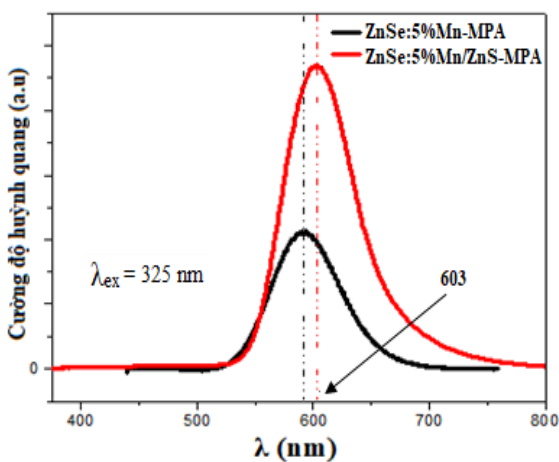
việc bọc thêm lớp vỏ có ảnh hưởng đến độ tinh thể hóa, độ tinh khiết và kích thước tinh thể. Khi bọc thêm lớp vỏ ZnS thì cường độ pic nhiễu xạ của QD tăng. Có nghĩa là, độ tinh khiết và độ tinh thể hóa của QD tăng.

Phổ UV-Vis hình 6a cho thấy sự hấp thụ của tinh thể ZnSe:Mn-MPA có bờ hấp thụ quang ở bước sóng < 366 nm. Kết quả phổ UV-Vis (hình 6b) cho thấy, bờ hấp thụ quang của ZnSe:Mn/ZnS-MPA chuyển dịch sang phía có bước sóng dài hơn so với ZnSe:Mn-MPA.



Hình 7: Phổ PL a) và hình ảnh khi chiếu đèn UV b) của QDs ZnSe:Mn/ZnS ở các nồng độ Mn^{2+} khác nhau

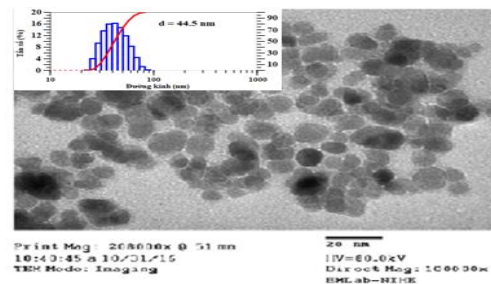
Sự phát quang của tinh thể nano ZnSe:Mn/ZnS sử dụng chất ổn định MPA được pha tạp Mn ở những nồng độ khác nhau và bọc thêm lớp vỏ được thể hiện bằng phổ huỳnh quang PL (hình 7a). Kết quả cho thấy cường độ phát quang tại tâm Mn^{2+} ở bước sóng 604 nm đạt cao nhất khi nồng độ pha tạp Mn là 5 %, tâm phát quang Mn^{2+} đóng vai trò chủ đạo trong tính chất phát quang của hạt. Kết quả này trùng với kết quả đã khảo sát đối với các hạt nano ZnSe:Mn ở những nồng độ khác nhau. Mẫu ZnSe:Mn/ZnS khi được chiếu bởi đèn UV với bước sóng 365 nm (hình 7b). Cường độ phát quang quan sát dưới đèn UV trùng khớp với kết quả đo PL là ở nồng độ Mn^{2+}/Zn^{2+} 5 % đạt được cường độ phát quang cao nhất.



Hình 8: Phổ huỳnh quang của ZnSe:Mn 5 % và ZnSe:5 %Mn/ZnS

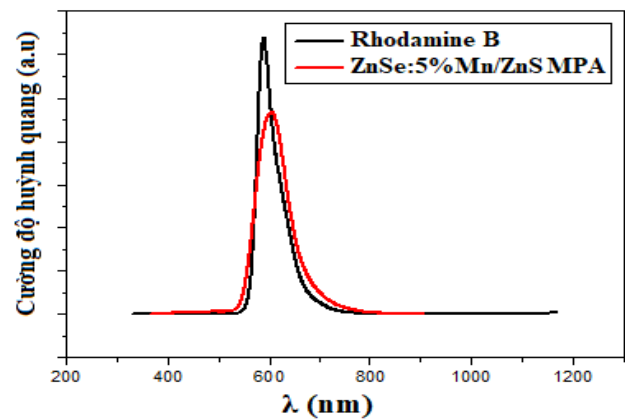
Phổ huỳnh quang trên hình 8 cho thấy, khi tạo thêm lớp vỏ ZnS bên ngoài so với ZnSe. Điều này được giải thích, khi bọc thêm lớp vỏ ZnS vào hạt ZnSe:Mn-MPA thì cường độ phát quang của QD tăng lên rất nhiều. Kết quả này khá phù hợp với các kết quả đã công bố của các nghiên cứu trước. Điều này có thể được giải thích, khi các hạt nano ZnSe:Mn được bọc thêm lớp vỏ ZnS có độ rộng vùng cấm lớn hơn và hằng số mạng của vỏ (ZnS) gần với hằng số mạng của lõi (ZnSe) để cho lớp vỏ được hình thành (phát triển) trên lõi không bị quá thay đổi tại lớp tiếp giáp giữa hai chất, khi đó các trạng thái bề mặt được thụ động hóa trở nên ổn định thì khả năng phát xạ của QD cũng trở nên tốt hơn. Hơn nữa, hàng rào lớp vỏ dày bao quanh lõi nano tinh thể sẽ giới hạn các hạt tải bị bẫy bắt trên bề mặt và việc thêm một lớp vỏ của chất bán dẫn có độ rộng vùng cấm lớn hơn có thể làm tăng hiệu suất lượng tử và cải thiện độ bền của chúng.

Hình thái học bề mặt và kích thước hạt của ZnSe:5%Mn/ZnS được thể hiện hình TEM (hình 9). Hình này cho thấy các hạt ZnSe:Mn/ZnS-MPA tựa hình cầu. Kích thước hạt trung bình của ZnSe:Mn/ZnS lớn hơn so với hạt ZnSe:Mn-MPA.



Hình 9: Hình ảnh TEM của mẫu ZnSe:5%Mn/ZnS-MPA

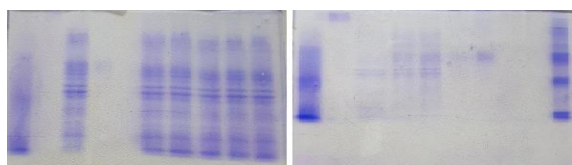
Sự phân bố kích thước hạt của các hạt nano ZnSe:5%Mn/ZnS tương đối đồng đều.



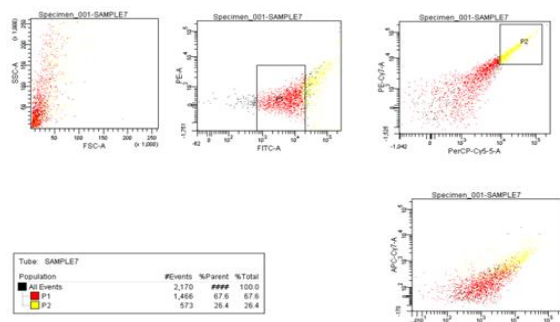
Hình 10: Phổ huỳnh quang của ZnSe:5%Mn/ZnS và Rhodamine B

Hiệu suất huỳnh quang của mẫu ZnSe:Mn5%/ZnS (có tỷ lệ mol Mn^{2+}/Zn^{2+} 5%) là 55,04 % lớn hơn so với mẫu ZnSe:5%Mn-MPA chưa được bọc lớp vỏ ZnS là 32,69%.

Ứng dụng



Hình 11: Kết quả SDS pages của các phức hợp MRSA và *E. coli* O 157:H7



Hình 12: Kết quả flowcytometry cho tín hiệu phát quang rõ

Theo kết quả cho thấy, độ phát quang của hạt có khác nhau có thể là do khi gắn với vi khuẩn sẽ ảnh hưởng đến độ phát quang của hạt. Tuy nhiên, điều này không ảnh hưởng đến việc phát hiện sự hiện diện của vi khuẩn. Ngoài ra, để khẳng định vi khuẩn có thể được phát hiện thông qua dung dịch hạt nano phát quang, kháng thể cần phải xác định tiếp các thông số tiếp theo như khác nhau giữa dung dịch có vi khuẩn, và không có vi khuẩn thông qua điện di.... Kết quả bước đầu cho thấy có thể gắn kháng thể lên chấm lượng tử thông qua cầu nối protein A. Phản ứng được ủ ở 4 °C trong vòng 5 giờ. Kháng thể *E. coli* O157: H7 [5,5 mg/ml] và kháng thể MRSA [1 mg/ml] được pha loãng trong phức hợp trên thành các nồng độ khác nhau từ 1 µg, 5 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg. Toàn bộ phức hợp hạt nano phát quang và kháng thể tiếp tục được ủ ở 4 °C qua đêm theo sơ đồ sau: Các phức hợp gắn với kháng thể, sẽ được tiến hành xác định sự khác biệt giữa hạt nano có gắn kháng thể và không gắn kháng thể. Các chấm lượng tử có kháng thể cho cường độ phát quang thấp hơn chấm lượng tử không gắn kháng thể. Các phức hợp được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo là những phức hợp cường độ phát quang rõ ràng và có gắn kháng thể. Những phức hợp cho tín hiệu không

rõ mặc dù, kháng thể có thể gắn được trên hạt vẫn không chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Kết luận

Với các chấm lượng tử phát quang ZnSe:5%Mn, ZnSe:5%Mn/ZnS với kích thước nhỏ hơn 20 nm, được tổng hợp thành công trong pha nước và cho kết quả rất tốt khi phát hiện vi khuẩn *E. coli* O 157:H7 và MRSA khá tốt. Thông qua cầu nối protein A và EDC theo tỉ lệ của phức hợp A1 và B2 cho kết quả rất tốt. Tỉ lệ phức hợp trên phản ứng tốt với kháng thể có nồng độ từ 5 µg đến 30 µg. Ở tỉ lệ 1 µg phản ứng cho tín hiệu không rõ. Thời gian để phát hiện vi khuẩn cần 30 phút, tuy nhiên, vi khuẩn vẫn có thể được phát hiện ở 15 phút, tín hiệu không tốt bằng 30 phút. Nếu phát hiện trực tiếp vi khuẩn, cho độ nhạy cao là 10^1 CFU/ml, còn sử dụng phát hiện vi khuẩn từ mẫu (giả mẫu) có độ nhạy là 10^2 CFU/ml.

Độ đặc hiệu của phản ứng là 100 %. Thời gian lưu giữ phức hợp trong 4 °C, cho hoạt tính ổn định và không bị ảnh hưởng đến chất lượng của phản ứng. Dựa trên cơ sở kết quả nghiên cứu đã dùng các hợp chất có 2 nhóm chức chứa thiol và carboxylic axit (HS-R-COOH), đặc biệt là dùng Polyethylene glycol (PEG) là cầu nối trực tiếp giữa màng mỏng vàng và kháng thể. PEG hoặc HS-R-COOH ít độc hơn EDC và với thiết kế này chi phí sẽ dễ chấp nhận hơn nhờ vào việc đơn giản hóa quá trình phát hiện và phân tích. Nhờ liên kết chặt chẽ giữa nhóm -COOH và amin của vi khuẩn, tín hiệu phát quang của chấm lượng tử sau khi gắn kết thay đổi, dựa trên sự khác biệt tính chất quang học (cường độ hay bước sóng) của các hệ chấm lượng tử-crosslinker-Ab-bacteria, vi khuẩn sẽ được phát hiện.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.01-2017.64. Nhóm nghiên cứu chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện cho chúng tôi hoàn thành nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo

- I. B. Bwatanglang, F. Mohammad, N. Azah Yusof, N. E. Mohammed, N. Abu, N. B. Alitheen, J. Abdullah, M. Z. Hussein, Y. Abba, N. Nordin, N. R. Zamberi. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 28 (2017) 138. <https://doi.org/10.1007/s10856-017-5949-9>

2. Dao Dinh Thuc. Some popular applications of methods in chemistry, National University Publishing House, Hanoi, 2007.
3. J. Ni, J. Liu, Y. Levi-Kalisman, A. I. Frenkel, U. Banin. *Journal of the American Chemical Society* (2018) 3-4. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b05941>
4. Z. Ahmada, M. A. Najeeba, R.A. Shakoora, Shaheen A. Al-Muhtasebb, Farid Touati, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 82 (2018) 1551-1564. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.07.001>
5. T. Hu, Z. Li, L. Lu, K. Dai, J. Zhang, R. Li, C. Liang. *Journal of Colloid and Interface Science* 555 (2019) 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.07.087>
6. R. K. Ratnesh, M. S. Mehata, *Optical Materials* (2017) 250-256. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2016.11.043>
7. A. K. Visheratina, F. Purcell-Milton, R. Serrano, V. A. Kuznetsova, A. O. Orlova, A.V. Fedorov, A.V. Baranova and Y.K. Gun'ko. *Journal of Materials Chemistry C* 5 (2017) 1692-1698. <https://doi.org/10.1039/C6TC04808K>
8. E. Soheyli, R. Sahraei, G. Nabiyouni, F. Nazari, R. Tabaraki, B. Ghaemi. *Nanotechnology* (2018) 2-3. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/aada29>
9. D. J. Norris, N. Yao, F. T. Charnock and T. A. Kennedy, *Nano Lett* 1 (2001) 3-7. <https://doi.org/10.1021/nl005503h>
10. N. Pradhan, D. Goorskey, J. Thessing and X. Peng, *J. Am. Chem. Soc* 127 (2005) 17586-17587. <https://doi.org/10.1021/ja055557z>
11. S. Coe, W. K. Woo, M. Bawendi & V. Bulović., *Nature*, 420 (2002) 800-803. <https://doi.org/10.1038/nature01217>
12. B. Dong, L. Cao, G. Suand, W. Liu., *Chemical Communications* 46 (2010) 7331-7333. <https://doi.org/10.1039/C0CC02042G>
13. X. Xu, S. Li, J. Chen, S. Cai, Z. Long, and X. Fang., *Advanced materials* (2018) 1-3. <https://doi.org/10.1002/adfm.201802029>
14. H. Calderón. *Taylor and Francis New York* 12 (2002) 113-170.
15. Application of some spectroscopic methods to study molecular structure -Education Publishing House, Hanoi, 1999.
16. D. J. Norris, N. Yao, F. T. Charnock and T. A. Kennedy. *Nano Letters* 1 (2001) 3-7. <https://doi.org/10.1021/nl005503h>
17. X. Xu, L. Hu, N. Gao, S. Liu, S. Wageh, A. A. Al-Ghamdi, A. Alshahrie, X. S. Fang, *Adv. Funct. Mater*, 25 (2015) 445.
18. E. Soheyli, R. Sahraei, G. Nabiyouni, A. A. Hatamnia, A. Rostamzad, S. Soheyli. *Journal of Colloid and Interface Science* 529 (2018) 520-530. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.06.024>
19. F. Qiao, R. Kang, Q. Liang, Y. Cai, J. Bian, and X. Hou. *ACS Omega* 4 (2019) 12271-12277. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b01539>
20. D. Sourii, M. Sarfehjou, A. R. Khezripour, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 29 (2018) 3411-3422. <https://doi.org/10.1007/s10854-017-8276-5>
21. T. R. Kumar, P. Prabukanthan, G. Harichandran, J. Theerthagiri, S. Chandrasekaran, J. Madhavan. 23 (2017) 2497-2507. <https://doi.org/10.1007/s11581-017-2090-1>
22. M. Geszke, M. Murias, L. Balan, G. Medjahdi, J. Korczynski, M. Moritz, J. Lulek, R. Schneider, *Acta Biomaterialia* 7 (2011) 1327-1338. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.10.012>
23. K. Pechstedt, T. Whittle, J. Baumberg, T. Melvin. *J. Phys. Chem* 114 (2011) 12069-12077. <https://doi.org/10.1021/jp100415k>
24. D. V. Talapin, I. Mekis, S. Gotzinger, A. Kornowski, O. Benson, H. Weller., *Phys. Chem.* 108 (2004) 18826-18831. <https://doi.org/10.1021/jp046481g>
25. Isnaeni, K. H. Kim, D. L. Nguyen, H. Lim, P. T. Nga, Y. H. Cho., *Appl. Phys. Lett.* 98 (2011) 012109 (012103). <https://doi.org/10.1063/1.3533401>
26. Y. S. Liu, Y. Sun, P. T. Vernier, C. H. Liang, S. Y. C. Chong, M. A. Gundersen., *J. Phys. Chem* 111 (2007) 2872-2878. <https://doi.org/10.1021/jp0654718>
27. D. V. Talapin, I. Mekis, S. Gotzinger, A. Kornowski, O. Benson, H. Weller., *Phys. Chem* 108 (2004) 18826-18831. <https://doi.org/10.1021/jp046481g>
28. Luong. B. T, Hyeong. E, Yoon. S, Choi. J, Kim. N, *RSC Advances* 3(45) (2013) 23395-23401. <https://doi.org/10.1039/C3RA44154G>
29. G. Murugadoss, *J. Lumin* 132 (2012) 2043-2048. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2012.02.011>
30. M. Guzman, J. Dille, S. Godet, *Nanotechnol. Biol. Med* 8 (2012) 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.05.007>
31. Y. Y. Bacherikov, S. E. Zelensky, A. G. Zhuk, N.A. Semenenko, O. S., *Semiconductor Phys., Quantum Electron. Optoelectron* 17 (2014) 374-379.
32. D. Jonas, M. Speck, F. D. Daschner and H. Grundmann. *Journal of Clinical Microbiology* 40, (2002) 1821-1823. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.5.1821-1823.2002>