



Tổng hợp điện hóa nanocomposite dây nano polyaniline/hạt nano bạc định hướng ứng dụng trong phát triển cảm biến DNA điện hóa

Electrosynthesis of polyaniline nanowires/silver nanoparticles nanocomposite applied in development of electrochemical DNA sensors

Trần Thị Luyến*, Lê Diệu Thư

School of Chemical Engineering, Hanoi University of Science and Technology, Hanoi, VIETNAM

**Email: luyen.tran@hust.edu.vn*

ARTICLE INFO

Received: 22/4/2021

Accepted: 25/7/2021

Published: 15/10/2021

Keywords:

electrosynthesis, polyaniline nanowires, silver nanoparticles, nanocomposite, electrochemical DNA sensors

ABSTRACT

New methods for synthesis of metal nanoparticles (MeNPs) embedded in polyaniline (PANi) structures will open interesting opportunities in advanced applications based on PANi/MeNPs nanocomposites like electrochemical DNA sensors. The synergy of PANi nanostructures and MeNPs offers special electrochemical properties that cannot be obtained by PANi and MeNPs individually. Based on these strategies, in this work, a two-step electrochemical procedure was used to synthesize directly a sandwich-structured polyaniline nanowires/silver nanoparticles (PANi NWs/AgNPs) nanocomposite onto a Pt working microelectrode (with only 0.785 mm² area). The combination between PANi NWs and AgNPs will be expected to simplify DNA probe immobilization and to enhance electrochemical signals of DNA sensors.

Giới thiệu chung

Cảm biến DNA điện hóa hoạt động dựa trên kết quả khảo sát những thay đổi về đặc tính điện hóa khi xuất hiện sự lai hóa đặc hiệu giữa các chuỗi DNA dò và DNA đích. Trong phát triển cảm biến DNA điện hóa, kỹ thuật cố định DNA dò lên trên bề mặt cảm biến đóng một vai trò quan trọng góp phần cải thiện tỷ lệ tín hiệu/nhiều.

Để nâng cao hiệu quả cố định DNA dò, bề mặt cảm biến cần được biến tính bằng cách sử dụng một lớp vật liệu trung gian nhằm tạo ra những nhóm chức có khả năng hình thành các liên kết cộng hóa trị, liên kết hydro, hoặc các liên kết yếu Van der Waals [1-2]. Lớp vật liệu trung gian này cần bám dính tốt với cả bề mặt bộ chuyển đổi và sợi DNA; không làm thay đổi cấu

trúc và biến tính sợi DNA; đồng thời, làm tăng hiệu quả quá trình truyền tải thông tin từ tương tác sinh học xuống bộ chuyển đổi [3].

Vật liệu polyme dẫn được lựa chọn trong chế tạo cảm biến DNA điện hóa với vai trò làm lớp vật liệu trung gian vì vật liệu này đáp ứng đủ các yêu cầu kể trên, do đó góp phần làm tăng độ nhạy, độ chọn lọc và độ ổn định của cảm biến [3]. Trong các vật liệu polyme dẫn, polyaniline (PANi) được nhận định là thích hợp ứng dụng trong cảm biến DNA điện hóa nhờ khả năng tạo ra cấu trúc nano với diện tích bề mặt lớn, khả năng tạo liên kết tốt với sợi DNA dò, và khả năng biến tính để điều khiển độ dẫn.

Đồng thời, PANi cũng thể hiện những đặc tính thú vị như độ bền cao, dễ tổng hợp và độ dẫn tốt [4].

Bên cạnh đó, các hạt nano kim loại (MeNPs) cũng đã được sử dụng trong phát triển cảm biến DNA điện hóa vì tính chất điện hóa đặc biệt và khả năng cố định các phần tử cảm nhận sinh học mà không ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của chúng. Trong số đó, hạt nano bạc (AgNPs) thu hút được sự quan tâm trong phân tích y sinh nhờ dễ tổng hợp và biến tính, khả năng tương thích sinh học cao. Do tính chất điện hóa của AgNPs, các hạt này phù hợp với vai trò khuếch đại tín hiệu và tăng cường độ nhạy trong phát triển cảm biến DNA điện hóa [5].

Những thành tựu trong nghiên cứu vật liệu tiên tiến, trong đó có vật liệu nanocomposite, là cơ sở cho ngành điện hóa phát triển ở một tầm cao mới [6]. Vật liệu nanocomposite dây nano polyaniline/hạt nano kim loại (PANi NWs/MeNPs) thể hiện nhiều đặc tính đặc biệt mà các vật liệu PANi và MeNPs nếu đứng riêng lẻ không thể có được [7]. Các phương pháp mới trong tổng hợp MeNPs gắn kết với cấu trúc nano PANi mở ra nhiều cơ hội thú vị cho các ứng dụng tiên tiến trên cơ sở vật liệu nanocomposite PANi/MeNPs, đặc biệt là trong phát triển cảm biến DNA điện hóa. Sự kết hợp giữa các vật liệu PANi NWs và MeNPs được cho là sẽ giúp đơn giản hóa quy trình cố định phần tử cảm nhận sinh học, tăng cường tín hiệu điện hóa, cải thiện độ nhạy, độ chọn lọc và độ ổn định của cảm biến DNA điện hóa. Trên cơ sở đó, trong nghiên cứu này, vật liệu nanocomposite PANi NWs/AgNPs sẽ được tổng hợp trực tiếp trên vi điện cực Pt sử dụng phương pháp điện hóa nhằm định hướng ứng dụng trong phát triển cảm biến DNA điện hóa.

Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

Hóa chất và thiết bị

Aniline ($C_6H_5NH_2$, 99,5%) và bạc nitrat ($AgNO_3$, 99%) được cung cấp bởi Sigma Aldrich. Các hóa chất $K_3Fe(CN)_6$, $K_4Fe(CN)_6$, KNO_3 , $K_2Cr_2O_7$ 99%, H_2SO_4 98% có xuất xứ Trung Quốc. Khí N_2 99,9% từ Air Liquide Việt Nam. Các hóa chất đều đạt chuẩn phân tích.

PANi NWs và AgNPs được tổng hợp điện hóa trên vi điện cực Pt sử dụng hệ điện hóa AutoLab PGSTAT302N (Hà Lan).

Ảnh SEM (scanning electron microscopy) và phổ EDX (energy dispersive X-ray spectroscopy) của vật liệu được khảo sát trên kính hiển vi điện tử quét Nova NanoSEM 450.

Vi điện cực Pt tích hợp

Hệ điện cực được thiết kế bao gồm ba điện cực: điện cực làm việc (WE-working electrode), điện cực đối (CE-counter electrode), và điện cực so sánh (RE-reference electrode). Điện cực Ag/AgCl trong dung dịch KCl 3 M (Metrohm) giữ vai trò RE. Hai điện cực Pt WE và CE được tích hợp lên trên cùng một chip. Đường kính của WE là 1 mm, diện tích của WE là: $\pi R^2 = \pi 0,5^2 = 0,785 \text{ mm}^2$. Diện tích của CE lớn hơn của WE khoảng 5 lần. Quy trình chế tạo rút gọn và hình dạng vi điện cực Pt tích hợp đã được mô tả trong nghiên cứu trước của chúng tôi [3].

Tổng hợp điện hóa PANi NWs trên vi điện cực Pt

Trước khi tổng hợp PANi NWs, bề mặt WE được xử lý hóa học trong dung dịch $K_2Cr_2O_7/H_2SO_4$ (bảo hòa), sau đó được hoạt hóa trong dung dịch H_2SO_4 0,5 M bằng việc quét thế tuần hoàn (Cyclic Voltammetry-CV) trong khoảng 0–1,5 V, tốc độ quét 100 mV s^{-1} cho đến khi đặc trưng CV ổn định. Dung dịch điện ly cho phản ứng polyme hóa gồm monome aniline 0,05 M và H_2SO_4 0,5 M, được sục khí N_2 trong 15 phút trước khi thực hiện phản ứng nhằm hạn chế các quá trình oxi hóa không mong muốn.

Quá trình tổng hợp điện hóa PANi NWs trên vi điện cực Pt (WE) được tiến hành ở nhiệt độ phòng bằng phương pháp phân cực thế tĩnh (chronoamperometry-CA) với giá trị điện áp đặt vào là 0,9 V so với Ag/AgCl RE trong thời gian 480 giây. Lớp vật liệu PANi NWs hình thành trên WE được rửa sạch bằng nước khử ion và được làm khô ở nhiệt độ phòng.

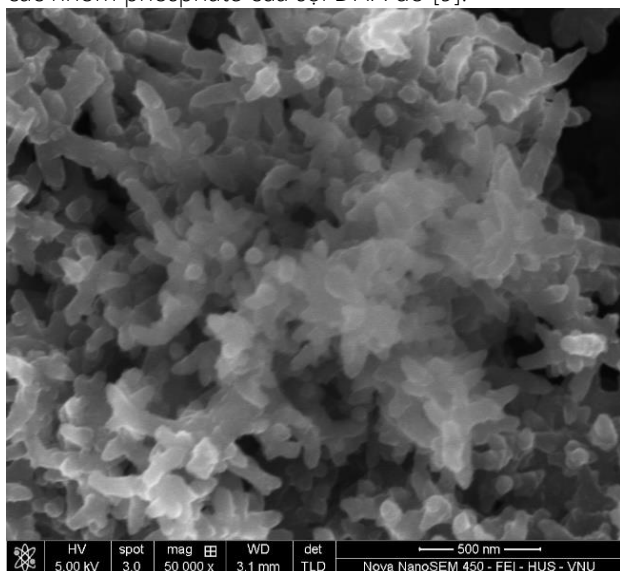
Tổng hợp điện hóa AgNPs trên vi điện cực Pt/PANi NWs

Điện cực Pt/PANi NWs (WE) được nhúng vào dung dịch điện ly chứa $AgNO_3$ 0,001 M và KNO_3 0,1 M. Quá trình tổng hợp điện hóa AgNPs trên vi điện cực Pt/PANi NWs được thực hiện sử dụng phương pháp CA với điện áp đặt vào là $-1,2 \text{ V}$ [8] so với Ag/AgCl RE trong các khoảng thời gian khác nhau tại nhiệt độ phòng. Sau đó, các điện cực Pt/PANi NWs/AgNPs được làm sạch bằng nước khử ion và được làm khô ở nhiệt độ phòng.

Kết quả và thảo luận

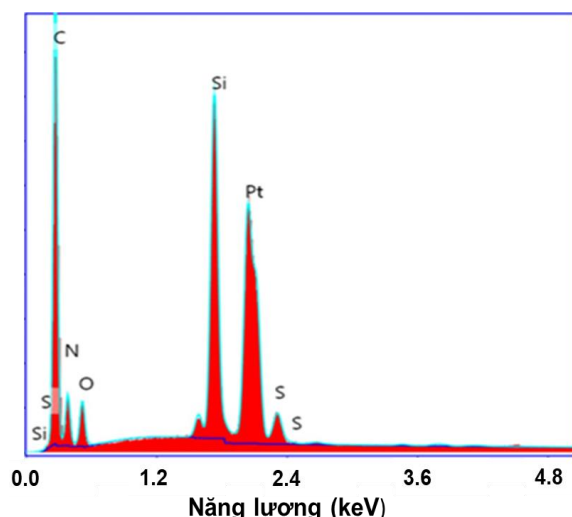
Hình 1 biểu diễn ảnh SEM của PANi NWs được tổng hợp trực tiếp trên vi điện cực Pt sử dụng phương pháp CA. Có thể thấy trong Hình 1, PANi NWs với đường kính 115–135 nm được hình thành trên bề mặt của WE. Kích thước của PANi NWs là đồng đều và các dây

nano được phân bố đều trên khắp bề mặt của WE. Các dây nano PANi được chế tạo ít kết tụ, mịn và đồng nhất. Sự phân bố đồng nhất của PANi NWs trên bề mặt điện cực đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường độ lặp lại và khả năng tái sử dụng của các cảm biến DNA điện hóa. Cấu trúc dây nano PANi với đặc điểm bề mặt xốp cũng thuận lợi cho quá trình cố định DNA dò trên các cảm biến nhờ khả năng hình thành liên kết giữa các nhóm amino của dây nano PANi và các nhóm phosphate của sợi DNA dò [9].



Hình 1: Ảnh SEM của PANi NWs được tổng hợp điện hóa trên vi điện cực Pt.

Phổ EDX được trình bày trong Hình 2 cho thấy thành phần tương đối của PANi NWs được tổng hợp điện hóa trên vi điện cực Pt.

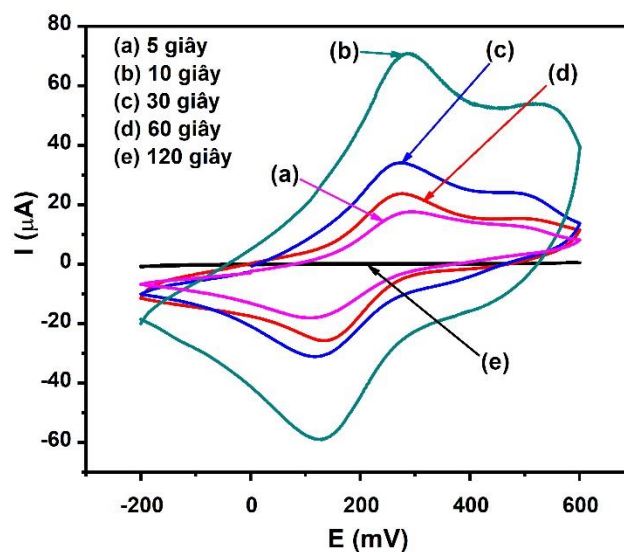


Hình 2: Phổ EDX của PANi NWs được tổng hợp điện hóa trên điện cực Pt.

Các nguyên tố carbon, nitơ, oxy và lưu huỳnh được quan sát lần lượt ở 0,27, 0,39, 0,54 và 2,31 keV. Các

nguyên tố carbon và nitơ là thành phần của vật liệu PANi. Bên cạnh đó, sự xuất hiện của các nguyên tố oxy và lưu huỳnh trên phổ EDX đã chỉ ra rằng H₂SO₄ đã được pha tạp vào PANi NWs. Khi PANi NWs được pha tạp H₂SO₄, các cation được hình thành tại các nguyên tử nitơ imine [10-11]. Do đó, pha tạp PANi với H₂SO₄ đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện độ dẫn điện của vật liệu PANi, nhờ vậy, có thể giúp tăng cường hiệu quả của quá trình truyền tải thông tin từ tương tác sinh học đến bộ chuyển đổi trong phát triển cảm biến DNA điện hóa.

AgNPs được tổng hợp trực tiếp trên điện cực Pt/PANi NWs (giữ vai trò WE) bằng phương pháp CA. Các quá trình tổng hợp điện hóa được tiến hành trong các khoảng thời gian khác nhau nhằm tìm ra điều kiện chế tạo tối ưu. Các kết quả quét thế vòng tuần hoàn trong dung dịch K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ (0,005 M) và KNO₃ 0,1 M của các điện cực Pt/PANi NWs/AgNPs trong đó AgNPs được chế tạo bằng phương pháp CA với các khoảng thời gian khác nhau: (a) 5, (b) 10, (c) 30, (d) 60, và (e) 120 giây, được hiển thị trong Hình 3.

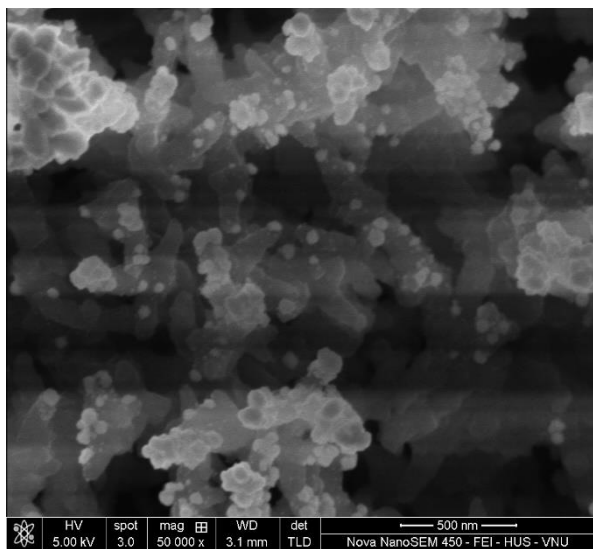


Hình 3: Kết quả đo CV trong dung dịch K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ (0,005 M) và KNO₃ 0,1 M với tốc độ quét thế 25 mV s⁻¹ của các điện cực Pt/PANi NWs/AgNPs trong đó AgNPs được chế tạo sử dụng phương pháp CA với các khoảng thời gian khác nhau: (a) 5, (b) 10, (c) 30, (d) 60, và (e) 120 giây.

Như có thể thấy trong Hình 3, khi thời gian phản ứng tăng từ 5 (Hình 3a) đến 10 giây (Hình 3b), đáp ứng dòng của điện cực Pt/PANi NWs/AgNPs tăng lên và đạt giá trị tối đa ở 10 giây. Kết quả này liên quan đến tốc độ hình thành AgNPs ở các thời điểm khác nhau. Khi thời gian phản ứng nhỏ hơn 10 giây, số lượng lớn các ion Ag⁺ vẫn tồn tại trong dung dịch điện ly và số lượng AgNPs hình thành trên điện cực Pt/PANi NWs

vẫn còn hạn chế. Số lượng AgNPs tăng nhanh khi thời gian phản ứng tăng từ 2 đến 10 giây, dẫn đến sự gia tăng đáp ứng dòng của điện cực Pt/PANI NWs/AgNPs, do độ dẫn cao của cấu trúc sandwich [12] AgNPs trên PANi NWs. Tuy nhiên, việc tiếp tục tăng thêm thời gian tổng hợp điện hóa AgNPs từ 10 đến 120 giây đã làm giảm đáng kể đáp ứng dòng của điện cực Pt/PANI NWs/AgNPs (Hình 3c, d, và e, tương ứng). Khi thời gian phản ứng tăng từ 10 đến 120 giây, đáp ứng dòng giảm và đạt giá trị tối thiểu ở mức 120 giây. Kết quả này được giải thích là do sự gia tăng hơn nữa về thời gian tổng hợp điện hóa AgNPs đã gây ra sự kết tụ của AgNPs (mất đặc tính nano và hình thành màng bạc), dẫn đến sự gia tăng điện trở chuyển điện tích của cặp oxi hóa khử $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ vào điện cực Pt, vì vậy làm giảm đáp ứng dòng của điện cực Pt/PANI NWs/AgNPs. Do đó, đối với các quá trình tổng hợp điện hóa AgNPs sử dụng phương pháp CA tiếp theo, thời gian được lựa chọn là 10 giây để chế tạo AgNPs trên điện cực Pt/PANI NWs.

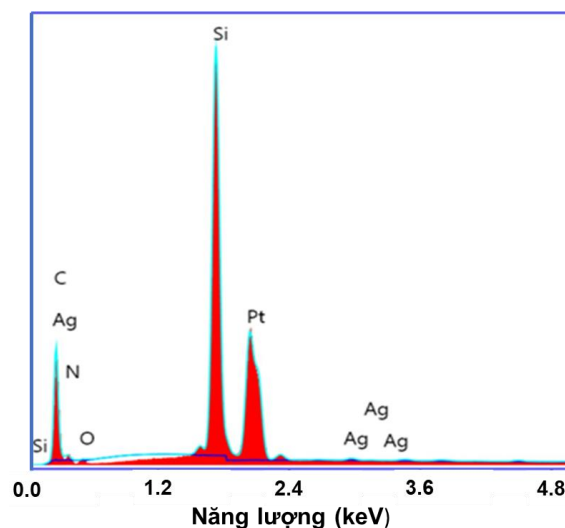
Hình 4 biểu diễn ảnh SEM của dây nano PANi phủ hạt nano bạc hình thành trên bề mặt vi điện cực Pt trong đó AgNPs được chế tạo bằng phương pháp CA với thời gian tổng hợp điện hóa là 10 giây. Như có thể thấy trong Hình 4, AgNPs có đường kính 25–50 nm được hình thành trên bề mặt của PANi NWs. Phương pháp tổng hợp điện hóa cho phép tổng hợp AgNPs trực tiếp lên nền PANi NWs và đảm bảo độ bám dính tốt giữa các hạt nano kim loại và dây nano PANi.



Hình 4: Ảnh SEM của AgNPs được tổng hợp điện hóa trên điện cực Pt/PANI NWs.

Phổ EDX được biểu diễn trong Hình 5 cho thấy thành phần tương đối của PANi NWs/AgNPs được chế tạo trên vi điện cực Pt. Các nguyên tố carbon, nitơ, oxy và lưu huỳnh được quan sát lần lượt ở 0,27, 0,39, 0,54 và

2,31 keV, tương ứng với vật liệu PANi pha tạp H_2SO_4 . Kết quả này tương tự với kết quả được biểu diễn trên Hình 2. Tuy nhiên, trong Hình 5, xuất hiện các đỉnh ở 0,26, 2,93 và 3,42 keV đặc trưng cho nguyên tố bạc. Như vậy, kết quả EDX đã khẳng định thêm rằng AgNPs đã được tổng hợp thành công trên các vi điện cực Pt/PANI NWs.



Hình 5: Phổ EDX của AgNPs được tổng hợp điện hóa trên điện cực Pt/PANI NWs

Kết luận

Lớp vật liệu PANi NWs/AgNPs có cấu trúc sandwich đã được tổng hợp thành công trên các vi điện cực Pt sử dụng quy trình tổng hợp điện hóa hai bước: tổng hợp dây nano PANi sử dụng phương pháp CA và sau đó tiếp tục tổng hợp AgNPs sử dụng phương pháp CA. Cấu trúc dây nano PANi với đặc tính bề mặt xốp sẽ thuận lợi cho quá trình cố định DNA dò lên trên bề mặt cảm biến. Pha tạp PANi với H_2SO_4 sẽ giúp cải thiện độ dẫn điện của vật liệu PANi. Lớp PANi NWs trên vi điện cực Pt đóng vai trò quan trọng như một bộ khung hỗ trợ cho sự hình thành các hạt nano bạc có kích thước hạt nhỏ và khả năng phân tán tốt với kỳ vọng giúp tăng cường hiệu quả của quá trình truyền tải thông tin từ tương tác sinh học đến bộ chuyển đổi trong quy trình chế tạo cảm biến DNA điện hóa. Độ bám dính tốt giữa PANi NWs và AgNPs được hình thành trên WE khi phương pháp tổng hợp điện hóa được lựa chọn cũng sẽ là yếu tố đảm bảo sự tiếp xúc tốt giữa các lớp vật liệu và tăng cường mật độ dòng của điện cực Pt/PANI NWs/AgNPs. Bên cạnh đó, việc hình thành trực tiếp lớp vật liệu PANi NWs/AgNPs cấu trúc sandwich trên các vi điện cực Pt sử dụng quy trình tổng hợp điện hóa hai bước sẽ cho phép chế tạo hàng loạt và đồng đều các cảm biến DNA điện hóa với độ

ổn định và độ lặp lại cao. Trên các cơ sở trên, trong các nghiên cứu tiếp theo của chúng tôi, hệ vật liệu PANi NWs/AgNPs hình thành trên các vi điện cực Pt sẽ được ứng dụng trong phát triển các cảm biến DNA điện hóa nhằm phát hiện virus gây bệnh.

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 104.03-2019.19.

Tài liệu tham khảo

1. H. V. Tran, N. D. Nguyen, B. Piro, L. T. Tran, *Analytical Methods* 9(18) (2017) 2696-2702. <https://doi.org/10.1039/C7AY00665A>
2. Q. Zheng, H. Wu, Z. Shen, W. Gao, Y. Yu, Y. Ma, W. Guang, Q. Guo, R. Yan, J. Wang, K. Ding, *Analyst* 140(19) (2015) 6660-6670. <https://doi.org/10.1039/C5AN01088H>
3. T. L. Tran, T. X. Chu, D. C. Huynh, D. T. Pham, T. H. T. Luu, A. T. Mai, *Applied Surface Science* 314 (2014) 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.06.068>
4. L. Wang, E. Hua, M. Liang, C. Ma, Z. Liu, S. Sheng, M. Liu, G. Xie, W. Feng, *Biosensors and Bioelectronics* 51 (2014) 201-207. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.07.049>
5. K. Saeedfar, L. Y. Heng, C. P. Chiang, *Bioelectrochemistry* 118 (2017) 106-113. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2017.07.012>
6. S. Barthwal, N. B. Singh, *Materials Today: Proceedings*, 4(4) (2017) 5552-5560. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.06.012>
7. F. Y. Kong, S. X. Gu, W. W. Li, T. T. Chen, Q. Xu, W. Wang, *Biosensors and Bioelectronics* 56 (2014) 77-82. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.12.067>
8. M. Nycz, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, *Nanomaterials*, 9 (8) (2019) 1072. <https://doi.org/10.3390/nano9081072>
9. N. Zhu, Z. Chang, P. He, Y. Fang, *Electrochimica Acta*, 51(18) (2006) 3758-3762. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.10.038>
10. E. Song, J. W. Choi, *Nanomaterials (Basel)* 3(3) (2013) 498-523. <https://doi.org/10.3390/nano3030498>
11. S. Wang, S. Lu, X. Li, X. Zhang, S. He, T. He, *Journal of Power Sources* 242 (2013) 438-446. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2013.05.060>
12. R. Salahandish, A. Ghaffarinejad, S. M. Naghib, A. Niyazi, K. Majidzadeh-A, M. Janmaleki, A. Sanati-Nezhad, *Scientific Reports* 9 (1) (2019) 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37573-9>