

QUANG PHỔ PHÁT XẠ CỦA CHẤT MÀU CYANINE ẢNH HƯỞNG BỞI TÍNH CHẤT PLASMONIC CỦA CÁC HẠT KEO NANO VÀNG

Phạm Mai An¹, Lục Thị Tuyền^{1,5}, Lê Tiến Hà², Phạm Minh Tân⁴,
Meephonevanh Vaxayneng^{1,3}, Nguyễn Thị Hương^{2,6}, Chu Việt Hà^{1*}

¹Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên, ²Trường Đại học Khoa học - ĐH Thái Nguyên,

³Viện Công nghệ Tính toán và Điện tử - Bộ Khoa học và Công nghệ - CHDCND Lào

⁴Trường Đại học Kỹ thuật Công nghiệp - ĐH Thái Nguyên,

⁵Trường THPT Hiệp Hoà 2 - Bắc Giang, ⁶Trường THPT Lương Thế Vinh - Cẩm Phả - Quảng Ninh

TÓM TẮT

Các đặc trưng của phổ huỳnh quang của chất màu Cy3 thuộc họ Cyanine được khảo sát dựa trên sự xuất hiện của các hạt keo nano vàng trong dung dịch chất màu. Do hiệu ứng plasmon bề mặt từ các hạt nano vàng, huỳnh quang của Cy3 có thể được tăng cường hoặc dập tắt tùy thuộc vào cấu hình quang học. Trong công trình này, chúng tôi đã nghiên cứu quang phổ huỳnh quang của chất màu Cy3 theo sự có mặt của các hạt nano vàng trong dung dịch chất màu. Do hiệu ứng plasmon bề mặt từ các hạt nano vàng, huỳnh quang của Cy3 có thể được tăng cường hoặc dập tắt phụ thuộc vào nồng độ hạt vàng trong dung dịch hay khoảng cách giữa các phân tử Cy3 và hạt nano vàng. Các tốc độ hợp bức xạ và không bức xạ tương ứng với quá trình tăng cường và dập tắt huỳnh quang cũng được tính toán thông qua hiệu suất lượng tử và thời gian sống phát quang. Điều kiện để có tăng cường huỳnh quang tốt nhất của chất màu Cy3 khi có mặt các hạt nano vàng kích thước khác nhau cũng được chỉ ra. Sự tăng cường hay dập tắt huỳnh quang ảnh hưởng bởi hiệu ứng plasmon bề mặt phụ thuộc vào các tốc độ truyền năng lượng khác nhau hay cấu hình quang học giữa phân tử chất màu và hạt nano vàng.

Từ khóa: Hiệu ứng plasmon bề mặt; tính chất plasmonic; Cy3; tăng cường và dập tắt huỳnh quang; các hạt keo nano vàng

Ngày nhận bài: 05/10/2020; Ngày hoàn thiện: 14/11/2020; Ngày đăng: 27/11/2020

EMISSION SPECTROSCOPY OF CYANINE DYE AFFECTED BY PLASMONICS OF COLLOIDAL GOLD NANOPARTICLES

Phạm Mai An¹, Lục Thị Tuyền^{1,5}, Lê Tiến Hà², Phạm Minh Tân⁴,
Meephonevanh Vaxayneng^{1,3}, Nguyễn Thị Hương^{2,6}, Chu Việt Hà^{1*}

¹TNU - University of Education, ²TNU - University of Sciences,

³Technology Computer and Electronics Institute - Ministry of Science and Technology - Vientiane – Laos,

⁴TNU - University of Technology, ⁵Hiep Hoa 2 High School - Bac Giang,

⁶Luong The Vinh High School - Quang Ninh

ABSTRACT

The characterizations of fluorescence spectra of Cy3 dye belonging to the Cyanine family were investigated according to gold nanoparticles' presence in the dye solution. Due to the surface plasmon effect from gold nanoparticles, the fluorescence of Cy3 can be enhanced or quenched depending on the optical configuration. In this work, the emission spectroscopy of Cy3 dye was measured by changing the concentration of gold nanoparticles in the dye solution. The radiation and non-radiant recombination corresponding to the fluorescence enhancement and quenching processes were also calculated via quantum yield and lifetime fluorescence. The best fluorescence enhancement conditions have shown depending on the distance between the gold nanoparticles and Cy3 dye molecules.

Keyword: Surface plasmon; plasmonic; Cy3 dye; fluorescence enhancement and quenching; colloidal gold nanoparticles

Received: 05/10/2020; Revised: 14/11/2020; Published: 27/11/2020

* Corresponding author. Email: chuvietha@tnue.edu.vn

1. Giới thiệu

Trong những năm gần đây, vật liệu nano được quan tâm, nghiên cứu nhiều vì những tính chất cơ bản thú vị của vật liệu, mà nổi bật là tính chất quang học phụ thuộc vào hình dạng và kích thước của chúng. Đối với các cấu trúc nano kim loại, một hiệu ứng đáng chú ý gây ra tính chất quang khác với vật liệu khối là hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt làm cho cấu trúc nano kim loại có các màu sắc tán xạ khác với vật liệu khối. Hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt là hiện tượng khi ánh sáng kích thích các plasmon bề mặt – là dao động tập thể của điện tử tại biên phân cách giữa hai vật liệu (kim loại - điện môi) – trong trường hợp tần số của ánh sáng tới trùng với tần số dao động riêng của các plasmon thì hiện tượng cộng hưởng xảy ra. Hiện tượng này ảnh hưởng mạnh mẽ đến các tính chất quang học của cấu trúc nano kim loại và là mối quan tâm lớn cho các ứng dụng trong thiết bị quang tử. Hiệu ứng plasmon trong các cấu trúc nano kim loại cho thấy những triển vọng thú vị cho sự hiểu biết và khai thác các hiện tượng liên quan đến sự giam giữ ánh sáng ở thang nano [1]-[4].

Sự truyền năng lượng bề mặt của hạt nano kim loại được sử dụng rộng rãi trong công nghệ sinh học hiện đại và ứng dụng y tế, đặc biệt là điều trị ung thư. Sự truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang Förster (FRET) giữa hai phân tử chất phát huỳnh quang donor và acceptor – hoặc giữa phân tử chất màu, hoặc giữa phân tử hữu cơ và kim loại – là công cụ quan trọng trong nghiên cứu các hệ thống sinh học, và tiềm năng ứng dụng trong quang điện tử, phát triển thiết bị màng mỏng và điều trị y tế. Kỹ thuật FRET đã được mô tả lần đầu tiên hơn 60 năm trước. Hiệu suất truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang phụ thuộc vào khoảng cách giữa donor và acceptor, điều này được áp dụng cho kính hiển vi quang học, nghiên cứu phát hiện tương tác phân tử trong cấp độ khoảng cách nanomet và ngày càng được sử dụng nhiều hơn trong nghiên cứu sinh học.

Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại (ví dụ các hạt nano vàng) lên quá trình phát quang của phân tử chất màu trước tiên được nghiên cứu với vai trò làm acceptor (chất nhận) trong các thí nghiệm truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (FRET) để ứng dụng làm cảm biến sinh học. Các hạt nano vàng có hiệu ứng

cộng hưởng plasmon trong vùng ánh sáng nhìn thấy với hệ số dập tắt lớn, cường độ tán xạ mạnh cùng với cường độ tín hiệu ổn định nên chúng là các nhân tố dập tắt hiệu quả cho các thí nghiệm FRET [5]-[7]. Ngoài sự dập tắt huỳnh quang, tương tác giữa các hạt nano vàng và chất phát quang còn dẫn đến sự tăng cường huỳnh quang của chất phát quang khi có mặt một cấu trúc nano kim loại. Việc nghiên cứu sử dụng các cấu trúc nano kim loại để thực hiện sự tăng cường huỳnh quang (metal-enhanced fluorescence - MEF) đang thu hút được rất nhiều sự chú ý. Do cộng hưởng plasmon định xứ (localized surface plasmon resonance – SPR), vùng điện trường trong vùng lân cận của các cấu trúc nano kim loại có thể được tăng cường đáng kể để nâng cao tốc độ kích thích một phân tử phát quang lân cận [3], [6]. Ngoài ra, truyền năng lượng cộng hưởng plasmon Förster (FRET) giữa các phân tử chất phát quang bị kích thích và các cấu trúc nano kim loại tạo điều kiện cho tăng cường huỳnh quang và nâng cao hiệu suất lượng tử. Những lợi thế của MEF làm tăng khả năng dò tìm và sự ổn định quang của chất phát huỳnh quang. Sự tương tác giữa các chất đánh dấu huỳnh quang và cấu trúc nano kim loại (đặc biệt là các hạt nano vàng) vẫn được tiếp tục nghiên cứu trong các ứng dụng trong y - sinh học như dò tìm khả năng ung thư trong thực phẩm.

Nhìn chung, sự tăng cường hay dập tắt huỳnh quang của chất phát quang bởi các cấu trúc nano kim loại thông thường được điều khiển bằng khoảng cách giữa chúng; nghĩa là kết quả tăng cường hay dập tắt huỳnh quang phụ thuộc nhiều vào cấu hình quang học [3], [5], [6]. Do đó, việc nghiên cứu ảnh hưởng của các cấu trúc nano kim loại đối với một chất phát quang đặt gần nó là rất cần thiết nhằm tìm ra các điều kiện và cơ chế tăng cường và dập tắt huỳnh quang đối với một chất phát quang với sự có mặt của một cấu trúc nano kim loại; từ đó, có thể điều khiển được huỳnh quang của chất phát quang như mong muốn.

Trong bài báo này, chúng tôi nghiên cứu quang phổ phát xạ của chất màu Cy3 dưới ảnh hưởng của tính chất plasmonic của các hạt keo nano vàng. Chất màu Cy3 thuộc họ chất màu Cyanine, là một trong những chất màu phổ biến sử dụng trong đánh dấu sinh học và các thí nghiệm sinh hóa, với phát xạ

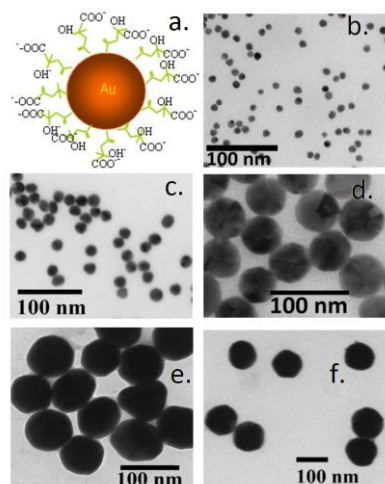
huỳnh quang màu vàng. Cy3 được hoà tan trong nước theo một nồng độ cho trước. Dung dịch Cy3 được khảo sát tính chất phát xạ huỳnh quang khi có mặt các hạt nano vàng. Các tốc độ tái hợp bức xạ và không bức xạ của Cy3 khi có mặt hạt vàng cũng được khảo sát.

2. Thực nghiệm

2.1. Vật liệu và các thông số đặc trưng

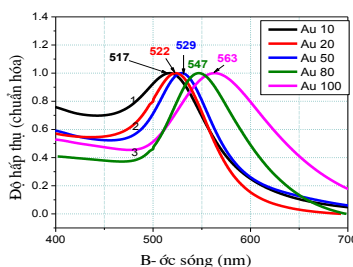
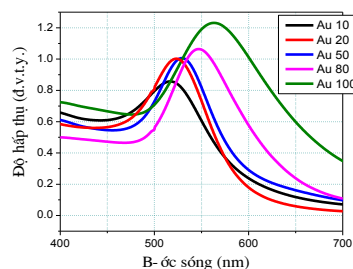
2.1.1. Các hạt keo nano vàng

Chúng tôi sử dụng các hạt nano vàng dạng keo của hãng BBInternational (UK) và các hạt nano vàng được chế tạo tại phòng thí nghiệm Nanobiophotonic thuộc Trung tâm Điện tử lượng tử, Viện Vật lý với các kích thước là 10, 20, 50, 80 và 100 nm. Các hạt nano vàng này được chế tạo có các phân tử citrate trên bề mặt giúp chúng phân tán tốt trong nước.



Hình 1. Minh họa hạt nano vàng – citrate (a.) và ảnh TEM các hạt keo vàng kích thước khác nhau: b. 10 nm; c. 20 nm; d. 50 nm; e. 80 nm và f. 100 nm

Hình 1 minh họa hạt nano keo vàng có các phân tử citrate trên bề mặt (a) và ảnh hiển vi điện tử truyền qua (TEM) của các hạt vàng kích thước khác nhau (b, c, d, e, f). Hình 2 trình bày phổ hấp thụ cộng hưởng plasmon của các hạt nano vàng. Hạt có kích thước càng lớn, đỉnh hấp thụ plasmon càng dịch về phía sóng dài. Phép đo phổ hấp thụ được tiến hành trên hệ máy quang phổ UV-VIS-NIR Absorption Spectrophotometer (hiệu Cary 5000, Varian) ở Viện Vật lý, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Từ độ hấp thụ của dung dịch các hạt keo vàng, chúng ta có thể tính được hệ số dập tắt ϵ và nồng độ hạt vàng trong dung dịch.



Hình 2. Phổ hấp thụ cộng hưởng plasmon của các hạt keo nano vàng kích thước khác nhau: a. Phổ hấp thụ, b. Phổ hấp thụ chuẩn hóa

Nồng độ mol (mol/L) được tính từ độ hấp thụ A từ đỉnh hấp thụ plasmon của hạt vàng như sau [8]:

$$C = A / (\epsilon \cdot l) \quad (1)$$

Với l là độ dài mẫu mà ánh sáng đi qua, ϵ là tiết diện dập tắt hay hệ số dập tắt. Nếu lấy $l = 1$ đơn vị, ta sẽ có nồng độ mol là $C = A / \epsilon$. Hệ số dập tắt được tính theo công thức Mie [9]:

$$\epsilon = 9 \frac{\omega}{c} \epsilon_2^{3/2} V \frac{\epsilon_1(\omega)}{[\epsilon_r(\omega) + 2\epsilon_2]^2 + [\epsilon_1(\omega)]^2} \quad (2)$$

trong đó $V = (4\pi/3)R^3$ là thể tích hạt cầu, ω là tần số góc của ánh sáng kích thích, c là vận tốc ánh sáng, ϵ_2 và $\epsilon_1(\omega) = \epsilon_r(\omega) + i\epsilon_i(\omega)$ tương ứng là các hàm điện môi của môi trường xung quanh hạt kim loại và của chính hạt. Tham số ϵ_2 được giả thiết là không phụ thuộc tần số, còn $\epsilon_1(\omega)$ là phức và là hàm của năng lượng. Khi tiết diện dập tắt lớn nhất, ánh sáng truyền toàn bộ năng lượng của mình để kích thích sóng plasmon trong hạt kim loại. Hàm điện môi của vàng (hay hệ số khúc xạ) ϵ_1 được lấy dữ liệu từ tài liệu [10] và sử dụng phần mềm tính [11] sử dụng lý thuyết Mie, hệ số dập tắt của các hạt nano vàng kích thước khác nhau được tính toán với kết quả trình bày trong bảng 1. Bảng này cho thấy, hạt nano vàng có kích thước càng lớn, tiết diện

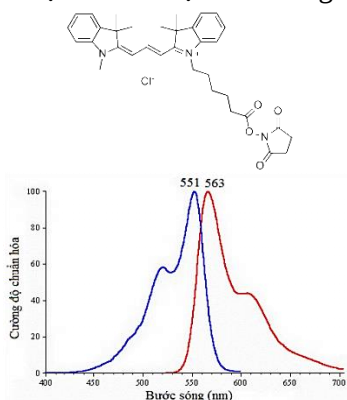
dập tắt càng lớn. Như vậy có thể hy vọng tầm ảnh hưởng của các hạt nano vàng có kích thước lớn hơn là xa hơn đối với các phân tử chất phát quang.

Bảng 1. Các thông số của dung dịch các hạt keo nano vàng

Đường kính (kích thước) hạt (nm)	Đỉnh hấp thụ (nm)	Nồng độ hạt (số hạt/mL)	Hệ số dập tắt ϵ ($M^{-1} cm^{-1}$)
10	517	9×10^{11}	$3,01 \times 10^8$
20	527	7×10^{11}	$9,4 \times 10^8$
50	532	$3,4 \times 10^{10}$	$3,5 \times 10^{10}$
80	547	$1,1 \times 10^{10}$	$9,124 \times 10^{10}$
100	563	$5,6 \times 10^9$	$1,905 \times 10^{11}$

2.1.2. Chất màu Cyanine 3 (Cy3)

Chất màu Cy3 được mua từ hãng Thermofisher, Hoa Kỳ. Khối lượng phân tử của Cy3 là 1250 Da, hiệu suất lượng tử 0,1, đỉnh hấp thụ 551 nm và đỉnh phát xạ huỳnh quang ở 563 nm, hệ số dập tắt của Cy3 là $150000 M^{-1}cm^{-1}$. Hình 3 là cấu trúc phân tử của chất màu Cy3 và đặc trưng phổ của nó. Chất màu Cy3 được pha trong nước với nồng độ $2,7 \times 10^{-3} mol/mL$ tương đương với $16,3 \times 10^{17}$ phân tử màu/mL. Đặc trưng quang của dung dịch chất màu này sẽ được khảo sát với sự có mặt của các hạt nano vàng.

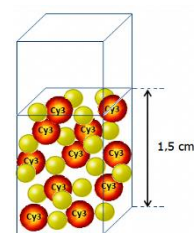


Hình 3. Cấu trúc hóa học và đặc trưng phổ của chất màu Cy3

2.2. Mô hình thí nghiệm

Ảnh hưởng của hiệu ứng plasmon bề mặt lên tính chất quang của chất màu Cy3 được nghiên cứu bằng việc khảo sát đặc trưng quang học của dung dịch Cy3 khi có mặt hạt nano vàng. Thí nghiệm được thiết kế như sau: Chất màu Cy3 được pha trong nước với nồng

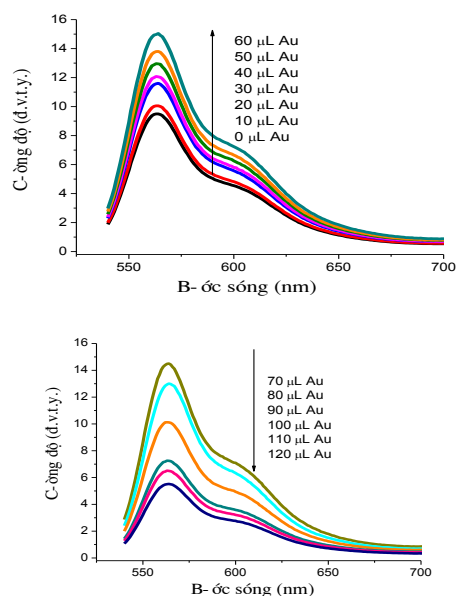
độ $2,7 \times 10^{-3} mol/mL$, tương đương với $16,3 \times 10^{17}$ phân tử màu/mL, thể tích dung dịch là 1,5 mL. Khảo sát tính chất quang của dung dịch hỗn hợp chất màu Cy3 với lượng hạt nano vàng thay đổi từng 10 μL , so sánh với tính chất quang của dung dịch Cy3 khi chưa có hạt vàng. Các dung dịch hạt nano vàng được khảo sát với kích thước 10, 20, 50 và 80 nm như được trình bày ở trên. Hình 4 minh họa dung dịch chất màu Cy3 với sự có mặt của các hạt nano vàng.



Hình 4. Mô hình thí nghiệm khảo sát tính chất quang của dung dịch chất màu Cy3 với sự có mặt của các hạt nano vàng:

- : minh họa hạt nano vàng
- : minh họa phân tử Cy3

Các nghiên cứu đặc trưng quang của Cy3 khi có mặt hạt nano vàng được khảo sát dưới bước sóng kích thích 532 nm của đèn Xenon, phổ kế huỳnh quang Carry Eclipse.



Hình 5. Phổ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 có và không có hạt vàng kích thước 10 nm: Hình trên: cường độ huỳnh quang tăng cùng với nồng độ hạt vàng; Hình dưới: huỳnh quang giảm theo nồng độ hạt vàng

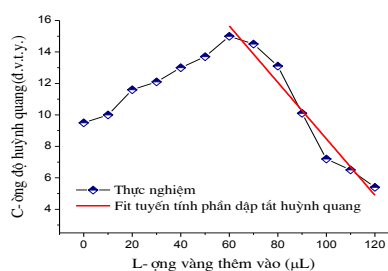
3. Kết quả và thảo luận

Sự thay đổi trong phổ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 được quan sát thấy khi có mặt hạt vàng. Hình 5 trình bày phổ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 có và không có mặt hạt vàng kích thước 10 nm dưới bước sóng kích thích 532 nm. Cực đại phát xạ của các phổ huỳnh quang này được quan sát thấy tại bước sóng $\sim 563\text{nm}$ – là cực đại phát xạ của chất màu Cy3. Dạng phổ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 hầu như không đổi khi có mặt các hạt nano vàng chứng tỏ sự xuất hiện của các hạt vàng không làm ảnh hưởng đến tính chất phát xạ nội tại của các phân tử chất màu Cy3.

Các phổ huỳnh quang cho thấy cường độ huỳnh quang của dung dịch Cy3 tăng cùng với lượng vàng thêm vào khi lượng vàng thay đổi từ 0 đến 60 μL . Sự tăng cường của huỳnh quang được giải thích như sau: huỳnh quang của dung dịch chất màu do hai nguyên nhân: nguồn kích thích ngoài 532 nm và do plasmon bức xạ từ hạt vàng khi hấp thụ huỳnh quang của chất màu Cy3. Ở khoảng nồng độ vàng này, cường độ huỳnh quang tăng tỉ lệ thuận với nồng độ vàng, như vậy phần tăng cường huỳnh quang là do bức xạ plasmon kết hợp của hạt vàng với huỳnh quang của Cy3. Nói cách khác là tương tác hạt nano vàng với huỳnh quang của Cy3 kích thích trường tán xạ của hạt vàng dẫn tới tăng cường huỳnh quang tổng của dung dịch vàng – Cy3. Các hạt nano vàng hấp thụ năng lượng kích thích từ Cy3 và dao động plasmon được tạo ra trên bề mặt của hạt vàng. Dao động plasmon này được bức xạ ra trường xa dẫn tới nâng cao trường điện định xứ của các phân tử chất màu làm huỳnh quang được tăng cường. Cường độ huỳnh quang tăng mạnh nhất hơn 1,5 lần tương ứng với lượng vàng cho là 60 μL . Khi lượng vàng tăng nhiều lên bắt đầu có sự giảm tỉ lệ tăng cường huỳnh quang. Điều này được lí giải là do khi lượng vàng tăng, khoảng cách giữa các hạt vàng và phân tử chất màu Cy3 trong dung dịch ngắn lại tạo ưu thế cho sự truyền năng lượng Förster từ Cy3 đến hạt vàng, làm cho xác suất quá trình truyền năng lượng Förster lớn dần cạnh tranh với quá trình bức xạ plasmon kết hợp làm cho huỳnh quang giảm.

Sự phụ thuộc của cường độ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 vào lượng vàng thêm vào được trình bày trên hình 6. Phần huỳnh

quang giảm theo lượng vàng được fit tuyến tính để tính nồng độ hạt vàng thêm vào làm cho cường độ huỳnh quang ban đầu của dung dịch chất màu Cy3 giảm đi một nửa – gọi là nồng độ tới hạn theo lý thuyết truyền năng lượng. Nếu coi các phân tử chất màu Cy3 là chất cho (donor) và các hạt nano vàng là chất nhận (acceptor) từ tương tác giữa cặp donor – acceptor này tương tự như tương tác truyền năng lượng giữa hai chất màu hữu cơ. Từ sự phụ thuộc này, nồng độ hạt vàng có mặt trong dung dịch để cường độ huỳnh quang giảm đi một nửa được tính là $C_0 = 8,9 \times 10^{10}$ hạt/mL. Từ đây, khoảng cách tương tác tới hạn của cặp hạt vàng – chất màu Cy3 được tính $\sim 8,5$ nm. Đây là khoảng cách mà tại đó một nửa số phân tử donor được kích thích hồi phục bằng cách truyền năng lượng cho phân tử acceptor, còn một nửa kia hồi phục theo các cơ chế hồi phục khác. Nồng độ dập tắt một nửa C_0 là nồng độ acceptor mà khi đưa nó vào hỗn hợp chất màu làm cho cường độ huỳnh quang của phân tử donor sẽ giảm đi hai lần so với khi không có acceptor. Nồng độ này tương ứng với nồng độ trung bình của acceptor trong một quả cầu có bán kính R_0 với phân tử donor được kích thích đặt ở tâm. Nói cách khác, sự truyền năng lượng sẽ hiệu quả hơn nếu khoảng cách R giữa phân tử donor và acceptor là nhỏ hơn R_0 đối với nồng độ acceptor bằng C_0 . Khoảng cách tới hạn giữa cặp donor – acceptor ở đây là cặp phân tử Cy3 – hạt nano vàng là khá lớn trong thang truyền năng lượng FRET giữa hai cặp chất màu (từ 1 – 10 nm theo lý thuyết Förster [12]).

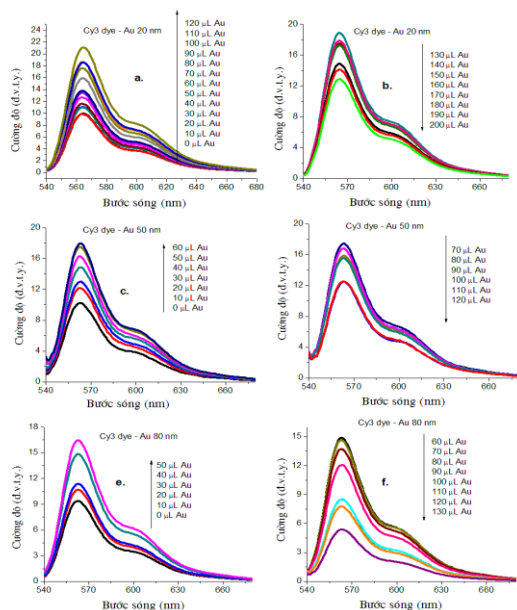


Hình 6. Sự phụ thuộc của cường độ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 – hạt nano vàng kích thước 10 nm vào lượng vàng thêm vào trong dung dịch

Như vậy có thể thấy, sự có mặt của các hạt nano vàng làm thay đổi cường độ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3. Đối với một cặp donor (chất phát quang) và acceptor (hạt nano kim loại), các hạt nano kim loại có

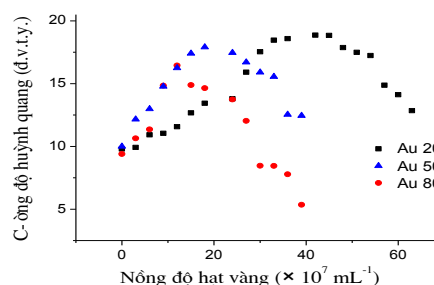
thể làm tăng cường hoặc dập tắt huỳnh quang của chất phát quang tùy thuộc vào độ lớn tương đối của hai cơ chế truyền năng lượng: việc tăng cường trường plasmon ở tần số phát xạ huỳnh quang (plasmon liên kết tăng cường huỳnh quang); và plasmon định xứ liên kết truyền năng lượng Förster từ phần tử chất phát quang tới các hạt nano kim loại làm dập tắt huỳnh quang. Hiện tượng này được giải thích bởi mô hình plasmon bức xạ như trong [13].

Nghiên cứu ảnh hưởng của hiệu ứng plasmon của các hạt nano vàng lên tính chất phát xạ của dung dịch chất màu Cy3 cũng được khảo sát với các hạt vàng kích thước khác nhau. Chúng tôi khảo sát lần lượt tính chất quang của chất màu Cy3 với sự có mặt của các hạt nano vàng kích thước 20, 50 và 80 nm. Kết quả thu được cũng tương tự như đối với hạt vàng 10 nm ở trên: Huỳnh quang của chất màu Cy3 tăng theo lượng vàng thêm vào và sau đó giảm; sự xuất hiện của các hạt vàng không làm thay đổi phát xạ nội tại của các phân tử màu Cy3. Hình 7 trình bày các phổ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 với sự có mặt của các hạt vàng kích thước 20, 50 và 80 nm trong các trường hợp có tăng huỳnh quang (các hình bên trái) và giảm huỳnh quang (các hình bên phải).



Hình 7. Phổ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 có và không có hạt vàng kích thước 20 nm (a, b), 50 nm (c, d), và 80 nm (e, f)

Sự tăng cường và dập tắt huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 với sự xuất hiện của các hạt vàng kích thước 20, 50 và 80 nm cũng được giải thích tương tự như sự xuất hiện của các hạt vàng kích thước 10 nm. Tuy nhiên sự tăng cường và dập tắt huỳnh quang của chất màu Cy3 khi có mặt các hạt nano vàng kích thước khác nhau là khác nhau, chứng tỏ sự cạnh tranh giữa hai quá trình tăng cường trường plasmon ở tần số phát xạ huỳnh quang (plasmon liên kết tăng cường huỳnh quang) và plasmon định xứ liên kết truyền năng lượng Förster từ phần tử chất phát quang tới các hạt nano kim loại làm dập tắt huỳnh quang là khác nhau. Hình 8 trình bày sự phụ thuộc của cường độ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 vào nồng độ hạt vàng có mặt trong dung dịch với các kích thước hạt vàng lần lượt là 20, 50 và 80 nm. Từ sự phụ thuộc này, fit tuyến tính phần dập tắt huỳnh quang, chúng ta sẽ ước tính được nồng độ hạt vàng có mặt trong dung dịch làm cho huỳnh quang của chất màu Cy3 giảm đi một nửa hay nồng độ tới hạn C_0 , từ đó sẽ tính được khoảng cách tương tác tới hạn (trung bình) giữa các phân tử màu Cy3 và các hạt nano vàng.



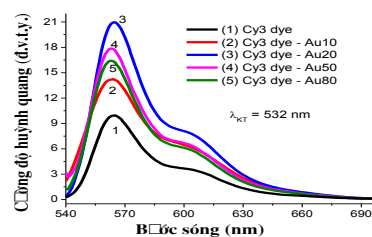
Hình 8. Cường độ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 phụ thuộc vào nồng độ hạt vàng với kích thước hạt vàng khác nhau dưới bước sóng kích thích 532 nm ở nhiệt độ phòng

Bảng 2 trình bày sự phụ thuộc của hệ số tăng cường huỳnh quang cực đại của chất màu Cy3 vào kích thước hạt vàng có mặt trong dung dịch cùng với nồng độ hạt vàng tới hạn tương ứng. Có thể thấy đối với hạt vàng kích thước càng lớn thì hệ số tăng cường huỳnh quang của các hạt nano Cy3 càng giảm mặc dù tiết diện tán xạ tỷ lệ mũ 6 với kích thích hạt [9], tuy nhiên hệ số tăng cường huỳnh quang đổi với sự có mặt của hạt vàng kích thước 10 nm lại nhỏ hơn so với sự có mặt của hạt vàng kích thước lớn (20, 50 và 80 nm).

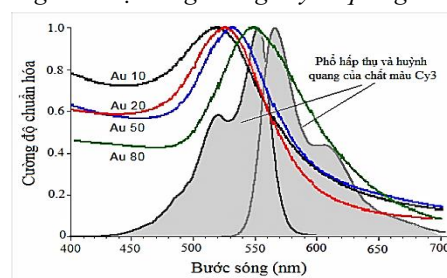
Bảng 2. Hệ số tăng cường huỳnh quang cực đại và nồng độ hạt vàng tới hạn phụ thuộc vào kích thước hạt vàng của dung dịch chất màu Cy3 – các hạt nano vàng

Kích thước hạt vàng (nm)	Hệ số tăng cường huỳnh quang mạnh nhất	Nồng độ hạt vàng tới hạn C_0 (mL ⁻¹)
10	1,6	$8,9 \times 10^{10}$
20	2,1	$9,5 \times 10^8$
50	1,8	$8,9 \times 10^8$
80	1,5	4×10^8

Hình 9 trình bày phổ huỳnh quang dưới bước sóng kích thích 532 nm của 1,5 mL dung dịch chất màu Cy3 trong đó có sự xuất hiện của các hạt nano vàng trong điều kiện có tăng cường huỳnh quang lớn nhất. Phổ huỳnh quang cho thấy cường độ huỳnh quang của dung dịch chất màu Cy3 – hạt vàng kích thước 10 nm có hệ số tăng cường nhỏ nhất trong tập hợp các hạt nano vàng được khảo sát. Điều này có thể giải thích theo lý thuyết Mie, đối với hạt vàng càng nhỏ, thành phần hấp thụ càng lớn dẫn tới khả năng hấp thụ năng lượng kích thích các plasmon định xứ được tăng lên làm huỳnh quang không được tăng nhiều. Đối với các hạt vàng kích thước lớn hơn, thành phần tán xạ lớn hơn, do đó khả năng tạo thành các plasmon kết hợp huỳnh quang của chất phát quang được tăng cường dẫn đến hệ số tăng cường huỳnh quang cao hơn. Tuy nhiên ở đây, hệ số tăng cường đối với sự xuất hiện hạt vàng kích thước 20 nm là lớn nhất. Sau đó, kích thước hạt vàng càng tăng, hệ số tăng cường huỳnh quang càng giảm. Điều này có thể giải thích thông qua độ che phủ của phổ hấp thụ cộng hưởng plasmon của các hạt nano vàng với phổ phát xạ của chất màu Cy3. Sự che phủ của phổ hấp thụ cộng hưởng plasmon của các hạt nano vàng lên phổ của chất màu Cy3 được trình bày trên hình 10. Từ hình này cho thấy, kích thước hạt vàng tăng thì đỉnh hấp thụ cộng hưởng plasmon của hạt vàng càng dịch về phía sóng dài và tiến gần hơn với đỉnh phát xạ của chất màu Cy3, nghĩa là độ che phủ của phổ hấp thụ của các hạt vàng với phổ phát xạ của chất màu Cy3 càng tăng, dẫn đến xác suất truyền năng lượng Förster từ các phân tử Cy3 sang các hạt vàng tăng lên, gây ra sự dập tắt huỳnh quang, làm giảm hiệu suất tăng cường huỳnh quang. Như vậy có thể điều khiển được sự tăng cường huỳnh quang theo kích thước của các hạt vàng thêm vào.



Hình 9. Phổ huỳnh quang của chất màu Cy3 với sự xuất hiện của các hạt vàng kích thước khác nhau trong điều kiện tăng cường huỳnh quang lớn nhất



Hình 10. Minh họa độ che phủ của phổ hấp thụ cộng hưởng plasmon của các hạt nano vàng với phổ của chất màu Cy3

Để khảo sát tốc độ tái hợp bức xạ và không bức xạ của chất màu Cy3 trong trường hợp có tăng cường huỳnh quang và dập tắt huỳnh quang, các mẫu dung dịch chất màu Cy3 – hạt nano vàng kích thước 20 nm được thực hiện phép đo thời gian sống. Như chúng ta đã biết, thời gian sống phát quang dùng để chỉ thời gian trung bình mà phân tử vẫn tồn tại trong trạng thái kích thích của nó trước khi phát ra một photon. Thời gian sống phát quang τ liên hệ với hiệu suất lượng tử và các tốc độ hồi phục được trình bày theo công thức [12]:

$$Q = \frac{\Gamma_r}{\Gamma_r + \Gamma_{nr}} = \frac{\Gamma_r}{\Gamma_{tot}} = \Gamma_r \cdot \tau \quad (3)$$

trong đó Γ_r và Γ_{nr} lần lượt là các tốc độ hồi phục bức xạ và không bức xạ của chất phát quang, τ là thời gian sống phát quang, Γ_{tot} là tốc độ hồi phục tổng cộng. Như vậy nếu đo được thời gian sống và hiệu suất lượng tử, các tốc độ hồi phục của chất phát quang sẽ được khảo sát. Thời gian sống của các mẫu dung dịch Cy3 – vàng được gửi đo ở Hệ đo Spectra – Physics MaiTai (ENS Cachan, Cộng hoà Pháp) với nguồn kích là laser Ti: Sapphire xung 80 fs, tần số lặp lại 8 Mhz, có thể phát các bước sóng liên tục từ 700 đến 1020 nm. Việc nhân tần được thực hiện để có các kích thích ở bước sóng trong vùng UV – vis; bức

xạ huỳnh quang được thu bằng ống nhân quang điện vi kênh (microchannel plate photomultiplier) Hamamatsu R1564U-06, xử lý bằng SPC-430 card (Becker-Hickl GmbH). Kết quả về thời gian sống phát quang của dung dịch chất màu Cy3 – vàng với lượng vàng được khảo sát là 20, 50, 120 μL (trong trường hợp có tăng cường huỳnh quang) và 150, 200 μL (trường hợp có dập tắt huỳnh quang); đồng thời so sánh với thời gian sống của chất màu Cy3 khi chưa có sự xuất hiện của hạt vàng. Kết quả cho thấy, khi có mặt hạt nano vàng trong dung dịch, thời gian sống của chất màu Cy3 giảm do tương tác giữa các phân tử màu Cy3 và các hạt nano vàng. Kết quả thời gian sống của chất phát quang giảm khi có mặt một cấu trúc nano kim loại cũng được nhiều nhóm nghiên cứu khác thu được khi khảo sát tương tác giữa một chất phát quang và các cấu trúc nano kim loại như trong [2], [13].

Hiệu suất lượng tử của dung dịch chất màu Cy3 – vàng được đánh giá thông qua chất màu Rhodamine 6G (R6G). Hiệu suất phát xạ huỳnh quang lượng tử của R6G dưới bước sóng kích thích 480 nm là 0,95 [14]. Dung dịch chất màu R6G được chuẩn bị có cùng độ hấp thụ ở 480 nm với dung dịch chất màu Cy3 – vàng để so sánh cường độ huỳnh quang dưới bước sóng kích thích 480 nm, từ đó đánh giá được hiệu suất lượng tử của dung dịch Cy3 – vàng.

Từ kết quả thời gian sống và hiệu suất lượng tử, kết quả tính tốc độ hồi phục bức xạ và không bức xạ của chất màu Cy3 phụ thuộc vào lượng hạt nano vàng được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Thời gian sống phát quang và các tốc độ hồi phục bức xạ và không bức xạ của dung dịch chất màu Cy3 – vàng theo lượng hạt vàng có mặt trong dung dịch

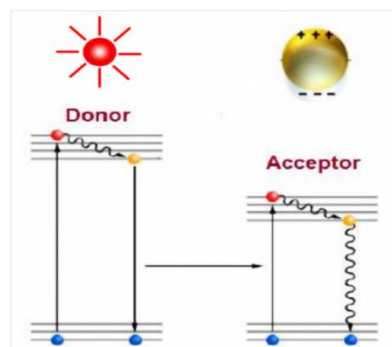
Lượng vàng có mặt trong dung dịch (μL)	Thời gian sống (ns)	Hiệu suất lượng tử	Tốc độ hồi phục bức xạ (s^{-1})	Tốc độ hồi phục không bức xạ (s^{-1})	Tốc độ hồi phục tổng cộng (s^{-1})
0	0,183	0,1	$0,55 \times 10^9$	$5,0 \times 10^9$	$5,6 \times 10^9$
50	0,091	0,15	$1,6 \times 10^9$	$9,3 \times 10^9$	$10,9 \times 10^9$
120	0,156	0,27	$1,7 \times 10^9$	$4,6 \times 10^9$	$6,3 \times 10^9$
150	0,16	0,19	$1,2 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$	$6,3 \times 10^9$
200	0,07	0,12	$1,8 \times 10^9$	$13,2 \times 10^9$	$15,04 \times 10^9$

Như vậy, trong thí nghiệm truyền năng lượng giữa chất màu Cy3 và hạt nano vàng kích

thước 20 nm, khi lượng vàng tăng từ 10 đến 120 μL có sự tăng cường huỳnh quang do tốc độ hồi phục bức xạ tăng, bên cạnh đó tốc độ hồi phục không bức xạ giảm làm cho hiệu suất lượng tử tăng. Khi lượng vàng thêm vào trên 120 μL , cường độ huỳnh quang của dung dịch bắt đầu giảm do quá trình truyền năng lượng Förster từ phân tử chất màu Cy3 sang các hạt vàng dần chiếm ưu thế. Sự truyền năng lượng Förster làm giảm tốc độ hồi phục bức xạ và tăng tốc độ hồi phục không bức xạ, vì thế hiệu suất lượng tử giảm.

4. Đánh giá sự phù hợp các kết quả thực nghiệm với lý thuyết truyền năng lượng

Các kết quả thực nghiệm cho thấy, các hạt nano vàng hay các hạt nano kim loại nói chung sẽ có tương tác với một chất phát huỳnh quang đặt gần nó. Sự truyền năng lượng xảy ra giữa các chất phát quang và các hạt nano kim loại làm cho huỳnh quang của chất phát quang có thể được tăng cường hoặc bị dập tắt. Sự truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang giữa một phân tử chất phát quang và một hạt nano kim loại có thể được minh họa như trên hình 11. Sự tăng cường hay dập tắt huỳnh quang phụ thuộc vào độ lớn tương đối giữa hai cơ chế truyền năng lượng: việc tăng cường trường plasmon ở tần số phát xạ huỳnh quang (plasmon liên kết tăng cường huỳnh quang); và plasmon định xứ liên kết truyền năng lượng Förster từ hạt phát huỳnh quang tới các hạt vàng làm dập tắt huỳnh quang [1]-[6], [13].



Hình 11. Minh họa sự truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang giữa phát chất huỳnh quang và hạt nano vàng [6]

Theo lý thuyết truyền năng lượng, sự truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang hay truyền năng lượng Förster (FRET) là sự truyền năng lượng không bức xạ phụ thuộc

vào khoảng cách từ một chất phát huỳnh quang bị kích thích (donor) lên một chất nhận (acceptor) phù hợp thông qua tương tác lưỡng cực Coulomb [17], [19]. Điều kiện để có FRET xảy ra là phải có sự chồng chập giữa phổ phát xạ của donor D và phổ hấp thụ của acceptor A; donor và acceptor coi như 2 lưỡng cực dao động định hướng song song; và sự truyền năng lượng xảy ra trong một khoảng cách phù hợp nhất định (thông thường từ 1 đến 10 nm đối với 2 phân tử chất màu hữu cơ). Hiệu suất truyền năng lượng được cho bởi biểu thức [12]:

$$E_{FRET} = \frac{1}{1 + (R / R_{FRET})^6} \quad (4)$$

trong đó R là khoảng cách giữa D và A, R_{FRET} là bán kính Förster (bán kính mà tại đó cường độ huỳnh quang của donor giảm đi một nửa).

Các kết quả thực nghiệm gần đây cho thấy rằng sự truyền năng lượng giữa chất phát huỳnh quang (donor D) và hạt nano kim loại (acceptor A) giống như sự truyền năng lượng từ một lưỡng cực dao động cho một bề mặt kim loại (truyền năng lượng bề mặt – SET) với hiệu suất truyền năng lượng tỷ lệ với bậc 4 của khoảng cách và được cho bởi biểu thức [6], [16]:

$$E_{SET} = \frac{1}{1 + (R / R_{SET})^4} \quad (5)$$

trong đó R_{SET} là bán kính truyền năng lượng bề mặt SET tương tự như bán kính Förster. Thêm vào đó, đối với bài toán hiệu ứng plasmon bề mặt, trong các tài liệu nghiên cứu có liên quan cho thấy còn có tồn tại một cơ chế truyền năng lượng nữa là cơ chế truyền năng lượng Coulomb (CET) bằng cách phát xạ plasmon – cơ chế này làm tăng cường huỳnh quang. Tương tự như các trường hợp FRET và SET, hiệu suất truyền năng lượng trong CET được cho bởi:

$$E_{CET} = \frac{1}{1 + (R / R_{CET})^2} \quad (5)$$

ở đây R_{CET} là bán kính tương tác CET, tương tự như bán kính Förster.

Tại $R = R_{FRET}$, R_{SET} và R_{CET} , một nửa năng lượng kích thích của D được truyền tới hạt nano kim loại A. Tốc độ truyền năng lượng k_E được xác định:

$$k_E \approx G_D G_A \quad (6)$$

trong đó, G_A và G_D là các hệ số tương tác của donor và acceptor [18]. Những hệ số này có thể được đơn giản hóa theo nghịch đảo khoảng cách phụ thuộc vào sự sắp xếp hình học của các lưỡng cực: lưỡng cực đơn: $G \approx 1/R^3$, lưỡng cực 2 chiều: $G \approx 1/R$ và lưỡng cực 3 chiều: $G \approx \text{const}$.

Trong trường hợp của FRET, D và A là hai lưỡng cực đơn, do đó tốc độ truyền sẽ tỷ lệ với:

$$k_{FRET} \approx G_D G_A \approx G_{Diople} G_{Diople} \approx (1/R^3)(1/R^3) = 1/R^6 \quad (7)$$

Tương tự, tốc độ truyền năng lượng từ một lưỡng cực đến một bề mặt kim loại được mô tả sự chuyển đổi liên vùng (interband), được tiếp tục mở rộng đến các electron dẫn trong các kim loại, với tốc độ truyền năng lượng bề mặt SET là:

$$k_{SET} \approx G_D G_A \approx G_{Diople} G_{Surf} \approx (1/R^3)(1/R) = 1/R^4 \quad (8)$$

Tương tự, tốc độ truyền CET là:

$$k_{CET} \approx G_D G_A \approx G_{Surf} G_{Surf} \approx (1/R)(1/R) = 1/R^2 \quad (9)$$

Như vậy, năng lượng truyền đến một bề mặt theo các khoảng cách rất khác nhau và độ lớn tương tác là khác nhau. Do đó, sự tăng cường hay dập tắt huỳnh quang phụ thuộc vào các tốc độ truyền năng lượng khác nhau hay cấu hình quang học giữa donor và acceptor.

5. Kết luận

Trong bài báo này, chúng tôi đã nghiên cứu quang phổ huỳnh quang của chất màu Cy3 theo sự có mặt của các hạt keo nano vàng trong dung dịch chất màu. Do hiệu ứng plasmon bề mặt từ các hạt nano vàng, huỳnh quang của Cy3 có thể được tăng cường hoặc dập tắt phụ thuộc vào nồng độ hạt vàng trong dung dịch hay khoảng cách giữa các phân tử Cy3 và hạt nano vàng. Các tốc độ tái hợp bức xạ và không bức xạ tương ứng với các quá trình tăng cường và dập tắt huỳnh quang cũng đã được tính toán dựa vào thời gian sống phát quang và hiệu suất lượng tử của chất màu Cy3 khi không có và có mặt các hạt nano vàng. Quá trình tăng cường huỳnh quang tương ứng với hiệu suất lượng tử tăng do tốc độ hồi phục bức xạ tăng, và quá trình dập tắt huỳnh quang tương ứng với sự giảm tốc độ hồi phục bức xạ - hiệu suất lượng tử giảm. Sự

tăng cường hay dập tắt huỳnh quang hoàn toàn có thể giải thích dựa trên các lý thuyết truyền năng lượng đã biết (truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang FRET, truyền năng lượng cộng hưởng bề mặt SET, hay truyền năng lượng Coulomb). Như vậy sự tăng cường hay dập tắt huỳnh quang của các chất phát quang có thể được điều khiển bằng các hạt nano kim loại.

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 103.02-2016.39 và đề tài Khoa học Công nghệ cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo mã số B2019-TnA-07.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. D. Ghosh, "Nitin Chattopadhyay, Gold and silver nanoparticles based superquenching of fluorescence: A review," *Journal of Luminescence*, vol. 160, pp. 223-232, 2015.
- [2]. J.-W. Liaw, H.-Y. Wu, C.-C. Huang, and M.-K. Kuo, "Metal-Enhanced Fluorescence of Silver Island Associated with Silver Nanoparticle," *Nanoscale Research Letters*, vol. 11, p. 26, 2016.
- [3]. E. Tóth, D. Ungor, T. Novák, G. Ferenc, B. Bánhelyi, E. Csapó, M. Erdélyi, and M. Csete, "Mapping Fluorescence Enhancement of Plasmonic Nanorod Coupled Dye Molecules," *Nanomaterials*, vol. 10, p. 1048, 2020.
- [4]. M. Bauch, K. Toma, and M. Toma, "Plasmon-Enhanced Fluorescence Biosensors: a Review," *Plasmonics*, vol. 9, pp. 781-799, 2014, doi: <https://doi.org/10.1007/s11468-013-9660-5>.
- [5]. V. H. Chu, T. N. Do, A. V. Nguyen, and H. N. Tran, "The local field dependent effect of the critical distance of energy transfer between nanoparticles," *Optics Communications*, vol. 353, pp. 49-55, 2015.
- [6]. N. M. Hoa, C. V. Ha, D. T. Nga, N. T. Lan, T. H. Nhung, and N. A. Viet, "Simple Model for Gold Nano Particles Concentration Dependence of Resonance Energy Transfer Intensity," *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 726, p. 012009, IOP Publishing, 2016.
- [7]. W. Zhu, R. Esteban, A.G. Borisov, J. J. Baumberg, P. Nordlander, H. J. Lezec, J. Aizpurua, and K. B. Crozie, "Quantum mechanical effects in plasmonic structures with subnanometre gaps, Review 2016," *Nature Communications*, vol. 7, p. 11495, 2016, doi: <https://doi.org/10.1038>.
- [8]. D. F. Swinehart, "Beer-Lambert law," *Journal of Chemical Education*, vol. 39, no. 7, p. 333, 1962.
- [9]. G. Mie, "Contributions to the optics of turbid media especially colloidal metal solutions," *Annals of Physics*, vol. 25, p. 377, 1908.
- [10]. M. Polyanskiy, "RefractiveIndex INFO Database", copyright 2008-2020. [Online]. Available: <http://refractiveindex.info>. [Accessed Sept. 12, 2020].
- [11]. S. Prahl, "Mie Scattering Calculator", copyright 2018. [Online]. Available: https://omlc.org/calc/mie_calc.html. [Accessed Sept. 12, 2020].
- [12]. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer, 1999.
- [13]. J. R. Lakowicz, "Radiative decay engineering 5: metal-enhanced fluorescence and plasmon emission," *Analytical Biochemistry*, vol. 337, pp. 171-194, 2005.
- [14]. ISS, Fluorescence Quantum Yield Standards, copyright 2020. [Online]. Available: <http://www.iss.com/>. [Accessed Sept. 12, 2020].
- [15]. T. Gulín-Sarfraz, J. Sarfraz, D. S. Karaman, J. Zhang, C. Oetken-Lindholm, and A. Duchanoy, "FRET-reporter nanoparticles to monitor redox-induced intracellular delivery of active compounds," *RSC Advances*, vol. 4, p. 16429, 2014.