

TẠO CẢM BIẾN TỪ NANO VÀNG VÀ ADN CHỨC NĂNG ĐỂ PHÁT HIỆN NHANH ION THỦY NGÂN TRONG NƯỚC

Đồng Huy Giới^{1*}, Bùi Thị Thu Hương¹, Phí Thị Cẩm Miên¹
Nguyễn Thị Thúy Hạnh¹, Đỗ Đức Nam²

¹Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam,

²Trung tâm Phân tích và Chứng nhận Chất lượng Sản phẩm Nông nghiệp Hà Nội

Email*: dhgioi@vnua.edu.vn

Ngày gửi bài: 21.12.2015

Ngày chấp nhận: 11.03.2016

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phát triển một cảm biến so màu để phát hiện nhanh, đặc hiệu ion thủy ngân (Hg^{2+}) trong nước từ dung dịch nano vàng (AuNPs) và ADN sợi đơn giàu timine (T-ssDNA). Dung dịch nano vàng được sử dụng như là một nhân tố cảm biến dựa trên tính chất cộng hưởng plasmon bề mặt độc đáo của nó, các T-ssDNA được gắn lên bề mặt các hạt nano vàng để tạo phức AuNPs-T-ssDNA. Các ADN sợi đơn (T-ssDNA) giúp AuNPs chống lại sự kết tụ do $NaNO_3$ gây ra. Tuy nhiên, sự hiện diện của ion thủy ngân trong phức AuNPs-T-ssDNA sẽ làm giảm sự ổn định của AuNPs do sự hình thành cầu nối $T-Hg^{2+}$ -T, dẫn đến sự thay đổi màu sắc của dung dịch AuNPs-T-ssDNA từ đỏ sang tím hoặc thậm chí là màu xanh đậm. Kết quả là Hg^{2+} có thể được phát hiện bằng mắt thường hoặc định lượng bằng đo quang phổ UV-vis. Nồng độ phát hiện thấp nhất của Hg^{2+} là 0,06 μM khi quan sát bằng mắt thường và 1 nM khi sử dụng máy đo quang phổ UV-vis.

Từ khóa: Nano vàng, T-ssDNA, phức AuNPs-T-ssDNA, ion thủy ngân.

Development of Colorimetric Sensor Using Gold Nanoparticle and Thymine-Single Stranded DNA for Rapid and Selective Detection of Mercury Ions in Water

ABSTRACT

In this study, we have developed a colorimetric sensor for rapid and selective detection of mercury ions (Hg^{2+}) in water by using the gold nanoparticle solution (AuNPs) and thymine-single stranded DNA (T-ssDNA). AuNPs is used as a sensing element based on their unique surface plasmon resonance properties and the T-ssDNA is self-assembled on gold nanoparticles to produce the AuNPs-T-ssDNA complex. Single-stranded DNA (T-ssDNA) could enhance the AuNPs against $NaNO_3$ -induced aggregation. However, the presence of mercury ions in the complex of AuNPs-T-ssDNA will reduce the stability of AuNPs due to the formation of Hg^{2+} mediated $T-Hg^{2+}$ -T base pairs accompanied with the AuNPs color change from red to purple or even to dark blue. As a result, Hg^{2+} can be detected qualitatively or quantitatively by the naked eye or by UV-vis spectral measurement. The lowest detectable concentration of mercury ions by naked eye and by the UV-vis spectral measurement was 0.06 μM and 1 nM, respectively.

Keywords: AuNPs-T-ssDNA complex, gold nanoparticle, mercury ions, T-ssDNA.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cảm biến so màu dựa trên sự kết hợp của các hạt nano kim loại đã nhận được sự quan tâm đáng kể của các nhà khoa học trong phân tích hoá sinh, nó mang lại một giải pháp đơn

giản, có độ nhạy cao và chi phí thấp. Một trong những ứng dụng phổ biến nhất là sử dụng các hạt nano vàng (AuNPs) như là một nhân tố cảm biến dựa trên tính chất cộng hưởng plasmon bề mặt độc đáo của nó (Li *et al.*, 2009; Thaxton *et al.*, 2006). Khi các hạt AuNPs phân tán đồng

đều trong dung dịch, dung dịch AuNPs hiển thị màu đỏ và có đỉnh hấp thụ ở bước sóng 520 nm. Tuy nhiên, khi các hạt AuNPs bị kết tụ, đỉnh hấp thụ tại bước sóng 520 nm sẽ bị giảm xuống, khả năng hấp thụ tại bước sóng 650 nm sẽ tăng lên, đồng thời màu của dung dịch AuNPs sẽ chuyển từ đỏ sang tím hoặc thậm chí là màu xanh đậm (Tolaymat *et al.*, 2010).

Ô nhiễm thủy ngân hiện nay là một vấn đề toàn cầu do chúng được phân bố rộng rãi trong môi trường không khí, nước, đất và thậm chí cả thực phẩm (Boening, 2000; Wood *et al.*, 2004). Các ion thủy ngân có ái lực mạnh mẽ đối với các phối tử có chứa các nguyên tử lưu huỳnh và do đó gây ra việc ngăn chặn các nhóm sulfhydryl (-SH) của các protein và enzyme. Tiếp xúc lâu dài với nồng độ thủy ngân cao có thể dẫn đến một loạt các hiệu ứng xấu về sức khỏe như tổn thương não, hệ thần kinh, hệ miễn dịch và nhiều cơ quan khác (Mutter *et al.*, 2005; Zheng *et al.*, 2003).

Hiện nay, trên thế giới và ở Việt Nam có nhiều phương pháp xác định thủy ngân đã được công bố, chủ yếu là dựa vào sự kết hợp kỹ thuật tách và các phương pháp phổ chọn lọc (phổ hấp thụ nguyên tử, phổ phát xạ nguyên tử, phổ khối lượng, phổ plasma cặp ion) hoặc bằng kỹ thuật điện hóa (Mùi, 2010). Các phương pháp này được thực hiện tại các phòng thí nghiệm có đầy đủ trang thiết bị máy móc hiện đại, mất nhiều thời gian và chi phí cao.

Theo nghiên cứu của Tanaka *et al.* (2007), Hg^{2+} có ái lực cao trong vai trò làm cầu nối để hình thành liên kết giữa các bazơ nitơ loại T, do đó các T-ssDNA đã được sử dụng để tạo cảm biến phát hiện đặc hiệu Hg^{2+} . Khi có sự hiện diện của Hg^{2+} , các T-ssDNA sẽ liên kết với nhau thông qua cầu nối T- Hg^{2+} -T để tạo thành các ADN sợi kép. Do vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi phát triển một phương pháp đơn giản để xác định nhanh, nhạy và đặc hiệu ion thủy ngân trong nước bằng cảm biến so màu AuNPs-T-ssDNA. Sự thay đổi màu sắc có thể quan sát được bằng mắt thường hoặc đo quang phổ UV-vis.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu và thiết bị

2.1.1. Vật liệu

- ssDNA chức năng được cung cấp bởi công ty Sangon Biotech Co. Ltd có trình tự nucleotide là 5'-SH-(CH₂)₆-TTTGCTTTTCGTTTGGCTTT-3'.

- Hydrogen tetrachloroaurate (HAuCl₄·4H₂O) (hàm lượng Au > 47,8%), sodium citrate dùng để điều chế AuNPs; các hóa chất sử dụng để phân tích mẫu trên máy AAS (HNO₃ đặc, H₂O₂ 30%, SnCl₂, H₂SO₄ 98%, K₂Cr₂O₇); các muối kim loại (Mg(NO₃)₂, Cu(NO₃)₂, Mn(Ac)₂, Zn(Ac)₂, Al(NO₃)₃, Pb(NO₃)₂, Ni(NO₃)₂, Co(Ac)₂, Cd(NO₃)₂, Fe(NO₃)₃, Ca(Ac)₂ và AgNO₃) và một số loại hóa chất khác. Các hóa chất dùng trong thí nghiệm được cung cấp bởi hãng Merck.

2.1.2. Thiết bị

Kính hiển vi điện tử truyền qua (TECNAI G2-20), máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (AGILENT AA280 FS), máy đo quang phổ UV-vis (Orion™ AquaMate 8000 UV), máy khuấy từ gia nhiệt và một số loại dụng cụ cần thiết khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tạo cảm biến so màu AuNPs-T-ssDNA

Tạo cảm biến AuNPs-ssDNA được tiến hành theo phương pháp của Li *et al.* (2005) có cải tiến với các bước cụ thể như sau:

(1) Trộn dung dịch AuNPs với các nồng độ khác nhau của ssDNA chức năng, sau đó cho lên máy lắc nhẹ ở nhiệt độ phòng trong thời gian 18h, 20h, 22h, 24h để các DNA bám lên bề mặt của các hạt nano vàng.

(2) Ly tâm ở điều kiện 12.000 vòng/phút, trong 20 phút ở 4°C để các hạt nano lắng xuống, đo nồng độ DNA trong dung dịch phía trên bằng máy đo OD để tìm ra nồng độ ssDNA và thời gian ủ thích hợp.

(3) Rửa lại 3 lần bằng nước cất (ly tâm ở điều kiện 12.000 vòng/phút, trong 20 phút ở 4°C) để loại bỏ các sợi DNA không bám hoặc bám không chặt trên bề mặt của các hạt nano.

(4) Bảo quản trong tủ lạnh 4°C.

2.2.2. Xác định khả năng phát hiện Hg^{2+} trong nước của cảm biến AuNPs-T-ssDNA

(1) Chuẩn bị các dung dịch chuẩn với các nồng độ Hg^{2+} khác nhau (1nM - 20 μ M).

(2) Cho vào mỗi ống Eppendorf (loại 1,5ml) 0,5ml hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA.

(3) Bổ sung Hg^{2+} với các nồng độ khác nhau vào các ống Eppendorf và ủ trong thời gian 3-5 phút, quan sát sự đổi màu của hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA bằng mắt thường và đo trên máy quang phổ hấp thụ UV-vis.

2.2.3. Xác định tính đặc hiệu của cảm biến AuNPs-T-ssDNA đối với Hg^{2+}

(1) Cho vào mỗi ống Eppendorf (loại 1,5ml) 0,5ml hỗn hợp dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA.

(2) Cho thêm vào mỗi ống một loại ion kim loại khác nhau (Hg^{2+} , Ag^{+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Al^{3+}) sao cho nồng độ của các ion kim loại trong mỗi ống đều là 20 μ M, ủ trong thời gian 3-5 phút.

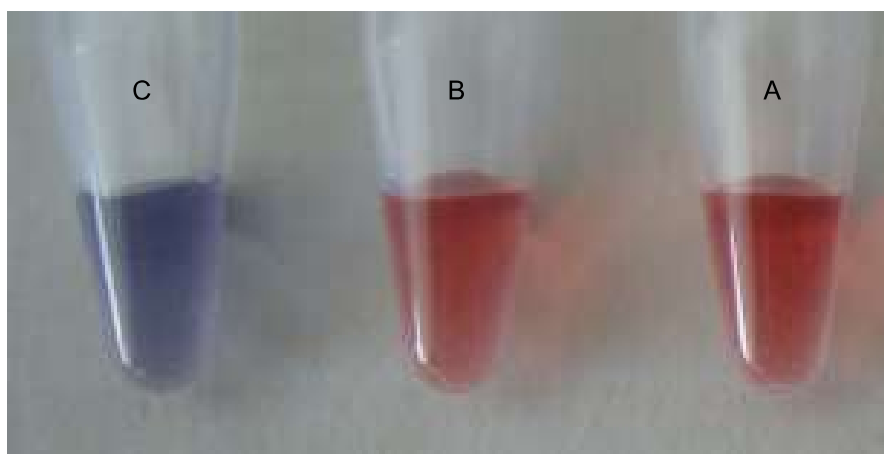
(3) Quan sát sự đổi màu của hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA bằng mắt thường và đo trên máy quang phổ hấp thụ UV-vis để xác định độ đặc hiệu.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

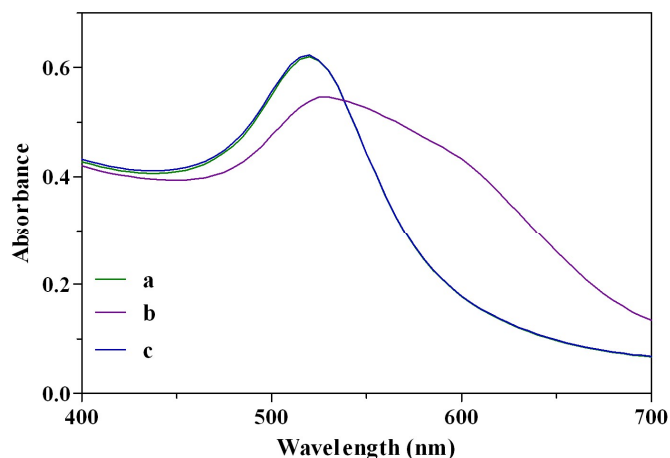
3.1. Kết quả tạo cảm biến nano vàng và ADN chức năng (AuNPs-T-ssDNA)

Trong thí nghiệm này, T-ssDNA sẽ được gắn lên các hạt nano vàng với một tỷ lệ thích hợp theo qui trình đã mô tả trong phần phương pháp (2.2.1), sau đó xử lý bằng dung dịch $NaNO_3$ -MOPS (500 mM $NaNO_3$, 200 mM axit 3 morpholinopropane-1-sulfonic, pH = 7,0) (0,1 M $NaNO_3$ nồng độ cuối cùng) và quan sát sự thay đổi màu sắc của hỗn hợp dung dịch bằng mắt thường và đo quang phổ UV-vis.

Kết quả thu được ở hình 1 cho thấy, sau khi được xử lý bằng 0,1M $NaNO_3$ -MOPS, hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA (Hình 1B) vẫn giữ nguyên màu sắc ban đầu (tương tự với màu của dung dịch AuNPs). Trong khi đó dung dịch AuNPs không được gắn với T-ssDNA nhanh chóng thay đổi màu sắc từ màu đỏ sang màu xanh tím (Hình 1C). Sự thay đổi màu sắc này là kết quả của việc các hạt nano đã không còn phân tán đồng đều trong dung dịch, chúng đã bị kết dính lại với nhau tạo thành các cấu trúc có kích thước lớn làm mất đi hiệu ứng bề mặt của các hạt nano. Kết quả này cho thấy các ssDNA đã được gắn lên bề mặt của các hạt nano vàng và hỗn hợp dung dịch AuNPs-ssDNA có khả năng ổn định cao trong môi trường có $NaNO_3$ -MOPS, kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Zhao *et al.* (2008).



Hình 1. Dung dịch nano vàng (A), hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA sau xử lý 0,1M $NaNO_3$ -MOPS (B) và dung dịch AuNPs sau xử lý 0,1M $NaNO_3$ -MOPS (C)

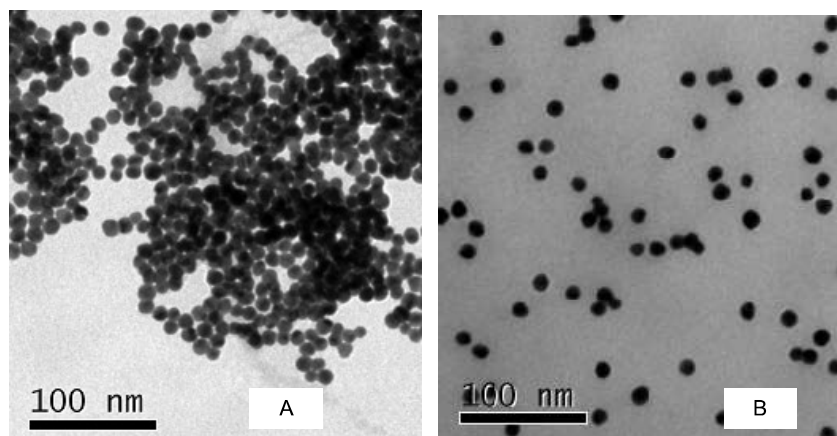


Hình 2. Đồ thị hấp thụ quang phổ UV-vis

Ghi chú: (a) dung dịch AuNPs (đối chứng); (b) dung dịch AuNPs sau xử lý 0,1M NaNO₃-MOPS; (c) hỗn hợp dung dịch AuNPs-ssDNA sau xử lý 0,1M NaNO₃-MOPS.

Tiếp tục đánh giá sự ổn định của hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA bằng đo quang phổ hấp thụ UV-vis và quan sát qua kính hiển vi điện tử truyền qua, kết quả được thể hiện ở hình 2 và 3. Kết quả thu được ở hình 2 cho thấy, đồ thị quang phổ UV-vis của hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA sau khi xử lý bằng 0,1M NaNO₃-MOPS không có sự sai khác đáng kể so với đồ thị quang phổ UV-vis của dung dịch AuNPs không xử lý NaNO₃-MOPS. Ngược lại, đồ thị quang phổ UV-vis của dung dịch AuNPs không được gắn thêm các sợi T-ssADN sau khi xử lý bằng 0,1M NaNO₃-MOPS có sự sai khác đáng kể so với đồ thị quang phổ UV-vis của

dung dịch AuNPs không xử lý NaNO₃-MOPS. Cụ thể, đỉnh hấp thụ ở bước sóng 520nm giảm xuống đáng kể, trong khi đó dải hấp thụ quang phổ ở bước sóng 650nm lại tăng lên. Bên cạnh đó, hình ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử truyền qua (Hình 3) cũng cho thấy, các hạt nano vàng được gắn thêm T-ssADN có sự ổn định cao trong dung dịch có chứa 0,1M NaNO₃-MOPS (thể hiện ở sự phân tán khá đồng đều của các hạt nano trong dung dịch). Ngược lại, các hạt nano vàng không được gắn thêm T-ssADN thì dễ dàng bị kết tụ trong dung dịch có chứa 0,1M NaNO₃-MOPS, đây là một tiền đề quan trọng cho việc tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.



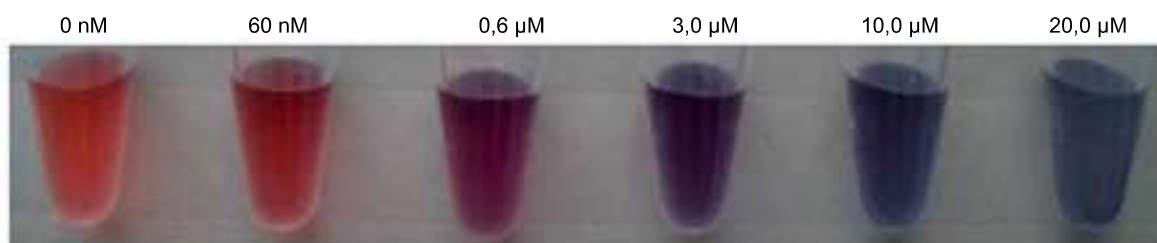
Hình 3. Ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử truyền qua của hỗn hợp dung dịch AuNPs-ssDNA sau xử lý 0,1M NaNO₃-MOPS (A) và dung dịch AuNPs sau xử lý 0,1M NaNO₃-MOPS (B)

3.2. Kết quả phát hiện Hg^{2+} của cảm biến AuNPs-ssDNA trong điều kiện phòng thí nghiệm

Việc sử dụng các cảm biến so màu có thể cho phép chúng ta phát hiện ra sự hiện diện của Hg^{2+} bằng mắt thường mà không cần phải sử dụng thêm bất kỳ thiết bị nào khác. Có hai phương pháp khác nhau để thiết kế cảm biến so màu từ AuNPs và T-ssDNA đó là phương pháp sử dụng hỗn hợp phức hệ AuNPs-T-ssDNA (T-ssDNA được gắn cố định lên các hạt nano) và phương pháp sử dụng dung dịch AuNPs và các sợi đơn T-ssADN tự do. Tuy nhiên, phương pháp sử dụng cảm biến là hỗn hợp phức hệ AuNPs-T-ssDNA có tính ổn định, độ nhạy, độ chính xác cao hơn so với phương pháp sử dụng dung dịch AuNPs có bổ sung các T-ssDNA tự do (Mirkin *et al.*, 1996).

Trong nghiên cứu này, hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA có chứa 0,1M $NaNO_3$ -MOPS được bổ sung thêm Hg^{2+} với các nồng độ khác nhau (0-20 μM), trộn đều và ủ trong thời gian 5 phút, sau đó quan sát sự thay đổi màu sắc bằng mắt thường và đo quang phổ hấp thụ

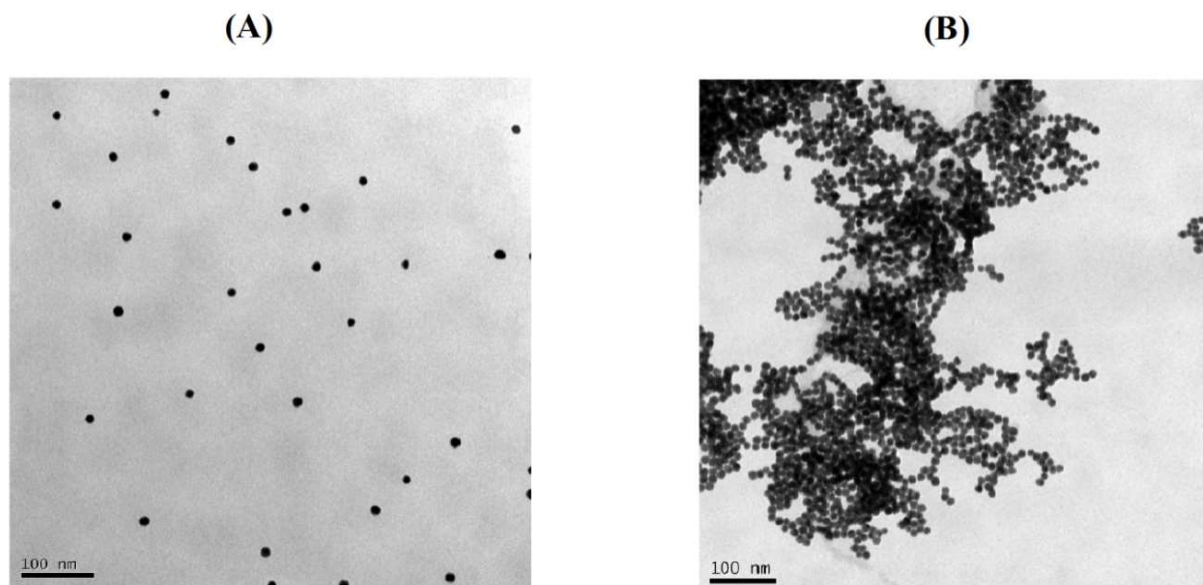
UV-vis. Kết quả hình 4 cho thấy, sau khi bổ sung Hg^{2+} với các nồng độ khác nhau vào hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA, màu sắc của hỗn hợp dung dịch thay đổi từ màu đỏ đặc trưng sang các màu sắc khác (từ màu đỏ đậm đến màu xanh tím) tùy thuộc vào nồng độ của Hg^{2+} . Bên cạnh đó, kết quả đo quang phổ UV-vis (lặp lại 10 lần) cho thấy, đỉnh hấp thụ bước sóng ở 520 nm giảm dần theo sự tăng nồng độ của Hg^{2+} , đồng thời dải hấp thụ quang phổ ở bước sóng 650nm lại tăng lên (hình 5). Kết quả trên có thể được giải thích là do, khi có sự hiện diện của Hg^{2+} trong hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA, các sợi đơn ADN cạnh nhau trên cùng một hạt nano hoặc trên hai hạt nano cạnh nhau sẽ kết hợp với nhau thông qua cầu nối T- Hg^{2+} -T để tạo thành ADN sợi kép, vì vậy làm mất sự ổn định của AuNPs trong $NaNO_3$ -MOPS như đã nêu ở trên. Trong một giới hạn nhất định, nồng độ Hg^{2+} càng cao thì sự kết hợp giữa các ADN sợi đơn trên AuNPs để tạo nên cấu trúc sợi đôi diễn ra càng dễ dàng hơn, dẫn đến AuNPs cũng đã dễ dàng bị phá hủy bởi $NaNO_3$ -MOPS.



Hình 4. Sự thay đổi màu sắc của hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA khi bổ sung Hg^{2+} với các nồng độ khác nhau

Bảng 1. Quang phổ hấp thụ ở bước sóng 520 nm và 650 nm của hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA khi xử lý Hg^{2+} ở các nồng độ khác nhau

Nồng độ Hg^{2+} (μM)	A_{520}	A_{650}	A_{650}/A_{520}
0,00	0,621	0,092	$0,148148 \pm 0,000232$
0,001	0,610	0,102	$0,167213 \pm 0,000348$
0,06	0,583	0,118	$0,202401 \pm 0,000456$
0,20	0,561	0,168	$0,299465 \pm 0,000568$
0,60	0,551	0,202	$0,366606 \pm 0,000672$
3,00	0,536	0,258	$0,481343 \pm 0,000676$
10,00	0,522	0,316	$0,605363 \pm 0,000780$
20,00	0,513	0,368	$0,717348 \pm 0,000782$



Hình 5. Ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử của AuNPs-T-ssDNA trước khi xử lý Hg^{2+} (A) và sau khi xử lý Hg^{2+} với nồng độ $10\mu M$ (B)

Kết quả thu được ở hình 4 và bảng 1 còn cho thấy, giới hạn phát hiện Hg^{2+} trong nước của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA là $60nM$ (tương đương với $0,012\text{ mg/l}$) khi quan sát bằng mắt thường và $1nM$ (tương đương với $0,0002\text{ mg/l}$) khi sử dụng máy đo quang phổ UV-vis.

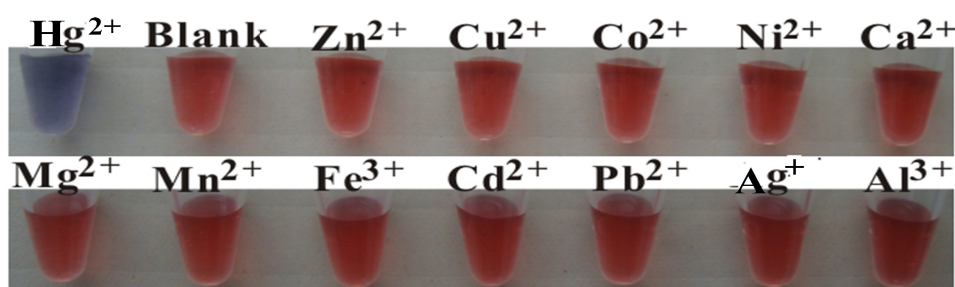
Để khẳng định lại kết quả một lần nữa, chúng tôi tiến hành chụp ảnh hiển vi điện tử truyền qua của hỗn hợp dung dịch AuNPs-T-ssDNA trước và sau khi xử lý Hg^{2+} . Kết quả thu được ở hình 5 cho thấy trước khi xử lý Hg^{2+} các hạt AuNPs phân tán đều trong dung dịch (Hình 5A), ngược lại sau khi thêm vào $10\mu M\ Hg^{2+}$ các hạt AuNPs tập hợp lại thành từng đám trong dung dịch (Hình 5B).

3.3. Kết quả kiểm tra tính đặc hiệu của cảm biến AuNPs-T-ssDNA

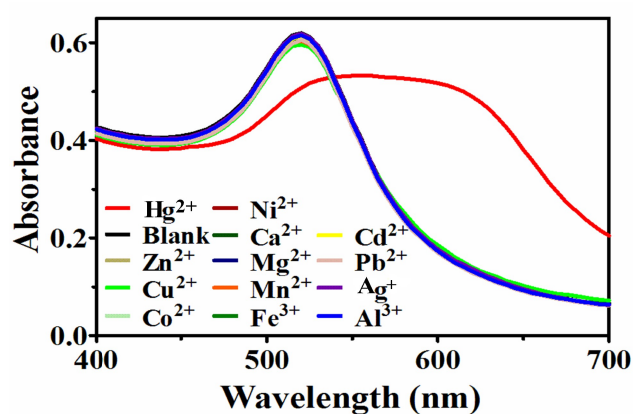
Như chúng ta đã biết, đối với việc sử dụng các cảm biến so màu để phát hiện các chất mục tiêu thì tính đặc hiệu là một trong những yếu tố vô cùng quan trọng. Trong thí nghiệm này, chúng tôi đã sử dụng 12 loại ion kim loại khác bao gồm Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Al^{3+} và Ag^{+} cùng với nồng độ là

$20\mu M$ để xác định tính đặc hiệu của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA đối với Hg^{2+} . Từ kết quả thu được ở hình 6 cho thấy, khi xử lý bằng $20\mu M\ Hg^{2+}$, hỗn hợp dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA chuyển từ màu đỏ đặc trưng sang màu xanh tím. Ngược lại, khi xử lý bằng $20\mu M$ các ion kim loại khác, màu của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA hầu như không thay đổi, vẫn giữ nguyên như màu của dung dịch ban đầu. Điều này chứng tỏ các ion kim loại tham gia thí nghiệm đã không làm ảnh hưởng đến tính đặc hiệu của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA đối với Hg^{2+} .

Bên cạnh đó, kết quả đo quang phổ UV-vis (Hình 7 và Bảng 2) cho thấy, khi xử lý bằng $20\mu M\ Hg^{2+}$, đỉnh hấp thụ bước sóng ở 520 nm của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA giảm xuống đáng kể so với đối chứng, đồng thời dải hấp thụ quang phổ hấp thụ ở bước sóng 650 nm lại tăng lên. Ngược lại, khi xử lý bằng $20\mu M$ các ion kim loại khác, quang phổ hấp thụ UV-vis của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA hầu như không thay đổi so với đối chứng. Kết quả này một lần nữa khẳng định tính đặc hiệu của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA đối với Hg^{2+} .



Hình 6. Màu sắc của cảm biến AuNPs-T-ssDNA khi xử lý bằng 20 μM các ion kim loại khác nhau



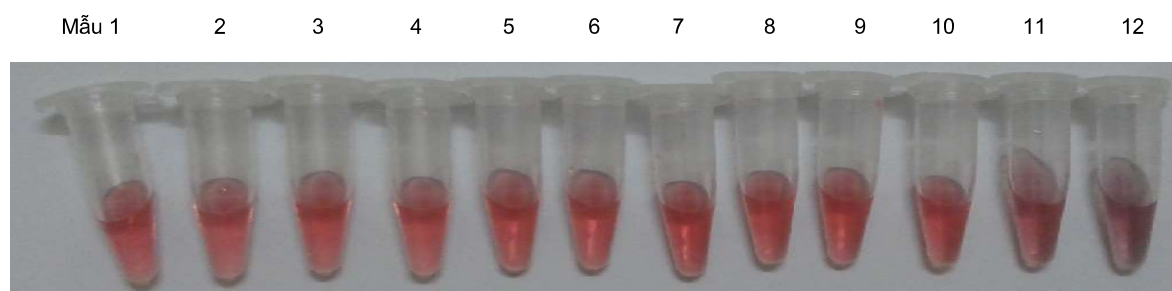
Hình 7. Đồ thị quang phổ UV-vis của cảm biến AuNPs-T-ssDNA khi xử lý bằng 20 μM các ion kim loại khác nhau

Bảng 2. Quang phổ hấp thụ UV-vis ở bước sóng 520 nm và 650 nm của cảm biến AuNPs-T-ssDNA khi xử lý bằng 20 μM các ion kim loại khác nhau

Ion kim loại	A_{520}	A_{650}	A_{650}/A_{520}
Đối chứng	0,622	0,096	0,154341
Hg^{2+}	0,508	0,382	0,751969
Zn^{2+}	0,609	0,092	0,151067
Cu^{2+}	0,599	0,101	0,168614
Co^{2+}	0,613	0,092	0,150082
Ni^{2+}	0,606	0,091	0,150165
Ca^{2+}	0,613	0,094	0,153344
Mg^{2+}	0,616	0,093	0,150974
Mn^{2+}	0,605	0,092	0,152866
Fe^{3+}	0,618	0,094	0,152597
Cd^{2+}	0,613	0,092	0,152104
Pb^{2+}	0,606	0,092	0,151815
Ag^+	0,619	0,095	0,153473
Al^{3+}	0,616	0,094	0,152597

Bảng 3. Kết quả kiểm tra hàm lượng Hg^{2+} trong các mẫu nước thu thập bằng máy AAS

Tên mẫu/ký hiệu mẫu	Kết quả phân tích (mg/l)			Nồng độ Hg^{2+} (nM)
	Lần 1	Lần 2	TB	
Mẫu nước ĐT-01	0,00080	0,00068	0,00074	3,70
Mẫu nước ĐT-02	0,00128	0,00104	0,00116	5,80
Mẫu nước ĐT-03	0,00124	0,00146	0,00135	6,75
Mẫu nước ĐT-04	0,00148	0,00110	0,00129	6,45
Mẫu nước ĐT-05	0,00104	0,00139	0,00122	6,10
Mẫu nước ĐT-06	0,00147	0,00128	0,00138	6,90
Mẫu nước ĐT-07	0,00094	0,00092	0,00093	4,65
Mẫu nước ĐT-08	0,00094	0,00104	0,00099	4,95
Mẫu nước ĐT-09	0,00101	0,00137	0,00119	5,95
Mẫu nước ĐT-10	0,00002	0,00002	0,00002	0,10
Mẫu nước ĐT-11	0,05980	0,04660	0,05320	266,00
Mẫu nước ĐT-12	0,12184	0,09826	0,11005	550,00



Hình 8. Kết quả kiểm tra các mẫu nước thu thập bằng dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA

3.4. Kết quả phát hiện Hg^{2+} bằng cảm biến AuNPs-T-ssDNA đối với các mẫu nước lấy ngoài thực địa

Để đánh giá khả năng phát hiện Hg^{2+} của cảm biến AuNPs-T-ssDNA đối với các mẫu nước thực địa, chúng tôi đã tiến hành thu thập và chuẩn bị 12 mẫu nước từ nhiều nguồn khác nhau (Phụ lục 1), lọc qua màng lọc 0,2 μm , sau đó lấy ở mỗi mẫu nước 50 μl cho vào từng ống nghiệm có chứa 450 μl dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA đã được chuẩn bị sẵn, trộn đều và để trong thời gian từ 3-5 phút. Tiến hành quan sát và so sánh màu sắc của dung dịch trong các ống nghiệm với màu sắc của dung dịch trong ống đối chứng (50 μl nước cất + 450 μl

dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA). Kết quả được thể hiện ở hình 8.

Kết quả hình 8 cho thấy không có sự thay đổi màu sắc của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA đối với các mẫu nước 1-10 là các mẫu nước lấy tại các sông, hồ trên địa bàn thành phố Hà Nội. Điều này cho thấy các mẫu nước này không chứa Hg^{2+} hoặc hàm lượng Hg^{2+} dưới mức giới hạn phát hiện (0,012 mg/l) của dung dịch cảm biến khi quan sát bằng mắt thường. Tuy nhiên, đối với hai mẫu nước số 11 và 12 (lấy tại tỉnh Hòa Bình và Thái Nguyên), màu sắc của dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA đã có sự thay đổi, với sự thay đổi này có thể xác định hàm lượng Hg^{2+} trong 2 mẫu nước số 11 và số 12

nằm trong khoảng từ 60 nM đến 0,6 μ M (tương đương 0,012 mg/l đến 0,2 mg/l).

3.5. Kết quả kiểm tra hàm lượng Hg^{2+} trong các mẫu nước lấy ngoài thực địa bằng hệ thống máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS)

Để kiểm chứng lại kết quả phát hiện Hg^{2+} trong các mẫu nước thu thập ngoài thực địa của cảm biến AuNPs-T-ssDNA, chúng tôi tiến hành phân tích 12 mẫu nước trên bằng hệ thống thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS - atomic absorption spectroscopy), một trong những công cụ phổ biến nhất để phân tích các kim loại nặng và một số á kim. Kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 3.

Từ kết quả bảng 3 cho thấy, có sự tương đồng về kết quả khi sử dụng cảm biến AuNPs-T-ssDNA và sử dụng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS). Kết quả này một lần nữa cho thấy, dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA có khả năng phát hiện chính xác sự hiện diện của Hg^{2+} trong môi trường nước.

4. KẾT LUẬN

- Đã điều chế thành công dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA có thể phát hiện Hg^{2+} trong nước với giới hạn phát hiện là 1 nM (tương đương với 0,0002 mg/l) khi sử dụng máy đo quang phổ UV-vis và 60 nM (tương đương với 0,012 mg/l) khi quan sát bằng mắt thường, thời gian phát hiện là 3-5 phút.

- Dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA có độ đặc hiệu cao đối với Hg^{2+} , không bị nhiễu bởi các ion kim loại khác (bao gồm Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Al^{3+} , và Ag^{+}).

- Có sự tương đồng về kết quả phân tích hàm lượng Hg^{2+} trong các mẫu nước thu thập ngoài thực địa giữa phương pháp dung dịch cảm biến AuNPs-T-ssDNA và phương pháp phân tích định lượng bằng hệ thống quang phổ hấp thụ nguyên tử AAS.

Kinh phí để thực hiện nghiên cứu này được lấy từ nguồn của đề tài “Nghiên cứu phát hiện nhanh, nhạy ion thủy ngân (Hg^{2+}) trong nước bằng cảm biến nano vàng-ADN chức năng (AuNPs-ssDNA), mã số T2013-12-05TĐ. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã phê duyệt và cung cấp kinh phí để chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Boening D. W. (2000). Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40: 1335-1351.
- Lê Thị Mùi (2010). Xây dựng phương pháp xác định tổng Hg trong một số nguồn nước bề mặt và nước ngầm ở thành phố Đà Nẵng bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử UV-VIS. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Đà Nẵng*, 4(39): 50-56.
- Li C., M. Numata, M. Takeuchi and S. Shinkai (2005). A sensitive colorimetric and fluorescent probe based on a polythiophene derivative for the detection of ATP. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 44(39): 6371-6374.
- Li F., J. Zhang, X. Cao, L.Wang, D. Li, S. Song, B. C. Ye and C. Fan (2009). Adenosine detection by using gold nanoparticles and designed aptamer sequences. *Analyst.*, 134(7): 1355-1360.
- Mutter J., J. Naumann, R. Schneider, H. Walach and B. Haley (2005). Mercury and autism: accelerating evidence. *Neuroendocrinol. Lett.*, 26(5): 439-446.
- Mirkin C. A., R. L. Letsinger, R. C. Mucic and J. J. Storhoff. (1996). A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials, *Nature*, 382: 607-609.
- Thaxton C. S., D. G. Georganopoulou and C. A. Mirkin (2006). Gold nanoparticle probes for the detection of nucleic acid targets. *Clin. Chim. Acta.*, 363: 120-126.
- Tolaymat T. M., A. M. El Badawy, G. Ash, K. G. Scheckel, T. P. Luxton and S. Makram (2010). An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticles in syntheses and application: a systematic review and critical appraisal. *Sci. Total Environ.*, 408: 999-1006.
- Wood C.M., M. D. McDonald, P. Walker, M. Grosell, J. F. Barimo, R. C. Playle and P. J. Walsh (2004). Bioavailability of silver and its relationship to ionoregulation and silver speciation across a range of salinities in the euryhaline gulf toadfish (*Opsanus beta*). *Aquat. Toxicol.*, 70: 137-157.
- Zheng W., M. Aschner and J. F. Ghersi-Egea (2003). Brain barrier systems: a new frontier in metal

LỜI CẢM ƠN

- neurotoxicological research. Toxicology and Applied Pharmacology, 192(1): 1-11.
- Tanaka Y., S. Oda, H. Yamaguchi, Y. Kondo, C. Kojima and A. Ono (2007). ^{15}N - ^{15}N J-coupling across Hg(II): direct observation of Hg(II)-mediated T-T Base pairs in a DNA duplex. J Am Chem Soc., 129(2): 244-245.
- Zhao W., Brook M. A., Li Y. (2008). Design of gold nanoparticle-based colorimetric biosensing assays. ChemBiochem., 9(15): 2363-2371.

Phụ lục. Thông tin về các mẫu nước thu thập ngoài thực địa

TT	Địa điểm lấy mẫu	Tọa độ lấy mẫu	Ký hiệu mẫu
1	Sông Hồng: đoạn qua bến phà Trần Phú, phường Lĩnh Nam, quận Hoàng Mai, Hà Nội	20°57'30" B - 105°53'36" Đ	Mẫu nước ĐT-01
2	Sông Kim Ngưu: đoạn qua nhà máy xử lý nước Yên Sở, phường Mai Động, quận Hoàng Mai, Hà Nội.	20°58'37" B - 105°51'53" Đ	Mẫu nước ĐT-02
3	Sông Đáy: đoạn qua cầu Mai Lĩnh, phường Đồng Mai, quận Hà Đông, Hà Nội.	20°56'12" B - 105°43'37" Đ	Mẫu nước ĐT-03
4	Sông Nhuệ: đoạn qua Cầu Đôi, phường Mễ Trì, quận Nam Từ Liêm, Hà Nội	20°59'48" B - 105°45'46" Đ	Mẫu nước ĐT-04
5	Sông Tô Lịch: đoạn qua phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội.	21°02'35" B - 105°48'13" Đ	Mẫu nước ĐT-05
6	Hồ nước: Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội	21°00'46" B - 105°49'40" Đ	Mẫu nước ĐT-06
7	Hồ Gươm: phường Hàng Đào, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội	21°01'40" B - 105°51'05" Đ	Mẫu nước ĐT-07
8	Hồ Tây: đoạn qua phường Thụy Khuê, quận Tây Hồ, Hà Nội	21°02'32" B - 105°49'41" Đ	Mẫu nước ĐT-08
9	Hồ Linh Đàm: đoạn qua Đường Nguyễn Hữu Thọ, quận Hoàng Mai, Hà Nội.	20°58'14" B - 105°50'17" Đ	Mẫu nước ĐT-09
10	Nước giếng khoan khu vực Trâu Quỳ		Mẫu nước ĐT-10
11	Suối Vai tảo, xã Liên Sơn, huyện Lương Sơn, tỉnh Hòa Bình	20°50'25" B - 105°36'02" Đ	Mẫu nước ĐT-11
12	Suối Đá Bạc: xã Thần Sa, huyện Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên	21°48'38" B - 105°58'54" Đ	Mẫu nước ĐT-12