

NGUYỄN LÊ KIM THÚY

HÓA HỮU CƠ

NĂM 2024

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN LÊ KIM THÚY

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO CẢM BIẾN NANO VÀNG -
APTAMER VÀ ỨNG DỤNG TRONG XÁC ĐỊNH HÀM
LƯỢNG KHÁNG SINH

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ

Tp. Hồ Chí Minh - Năm 2024

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN LÊ KIM THÚY

**NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO CẢM BIẾN NANO VÀNG - APTAMER
VÀ ỨNG DỤNG TRONG XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG KHÁNG SINH**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỮU CƠ

Mã số: 8440114

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:
TS. NGUYỄN THÀNH DANH**

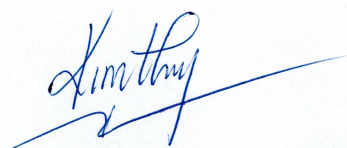
A handwritten signature in blue ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke at the end.

TP. Hồ Chí Minh – Năm 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn ký và ghi rõ họ tên



NGUYỄN LÊ KIM THÚY

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin chân thành cảm ơn TS. Nguyễn Thành Danh – Viện Công nghệ Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đã tận tình hướng dẫn, định hướng và truyền đạt nhiều kiến thức chuyên môn, kinh nghiệm quý báu, cũng như sự đồng hành của Thầy đã giúp tôi nâng cao những kỹ năng và kiến thức, từ đó có thể hoàn thành luận văn thạc sĩ một cách thuận lợi nhất.

Tôi xin trân trọng cảm ơn ban Lãnh đạo Viện Công nghệ Hóa học và phòng Công nghệ Hóa dược đã đồng hành và cung cấp cơ sở vật chất, giúp tôi hoàn thành đề tài luận văn thạc sĩ hoàn thiện nhất.

Tôi xin trân trọng cảm ơn ban Lãnh đạo và phòng Đào tạo của Học viện Khoa học và Công nghệ, đã tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi có thể hoàn thành luận văn.

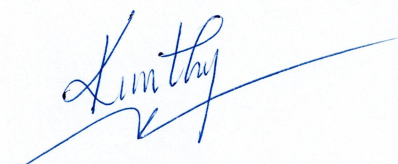
Tôi xin chân thành cảm ơn toàn thể quý Thầy, Cô khoa Hóa học – Học viện Khoa học và Công nghệ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã luôn nhiệt tình, ân cần giảng dạy giúp tôi tiếp thu nhiều kiến thức mới, những kỹ năng hữu ích và kinh nghiệm sống quý báu.

Tôi xin chân thành cảm ơn hai bạn sinh viên Nguyễn Thị Quế Trân và Lê Thị Thanh Quyên sinh viên trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Thành phố Hồ Chí Minh khóa 08 – ĐH – QLTN đã nhiệt tình hỗ trợ tôi hoàn thành đề tài này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình, các anh, chị và đồng nghiệp đã luôn hỗ trợ, giúp đỡ, động viên tinh thần, ủng hộ và cho tôi động lực để hoàn thành tốt chương trình học tập và quá trình nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

Tác giả luận văn



Nguyễn Lê Kim Thúy

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ CÁI VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC BẢNG.....	viii
DANH MỤC HÌNH ẢNH.....	x
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	4
1.1. TÌNH TRẠNG DƯ LƯỢNG KHÁNG SINH HIỆN NAY	4
1.1.1. Khái niệm kháng sinh	4
1.1.2. Phân loại kháng sinh	4
1.1.3. Các nguồn phát thải.....	5
1.2. KHÁNG SINH AMPICILLIN	7
1.3. GIỚI THIỆU VỀ NANO.....	8
1.3.1. Công nghệ nano	8
1.3.2. Vật liệu nano	9
1.3.3. Các phương pháp tổng hợp vật liệu nano	10
1.4. NANO VÀNG	14
1.5. APTAMER.....	18
1.6. CẢM BIẾN APTAMER	19
1.7. CẢM BIẾN NANO VÀNG – APTAMER.....	21
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	26
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	26
2.2. DỤNG CỤ, HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ.....	26
2.2.1. Dụng cụ	26
2.2.2. Hóa chất	27
2.2.3. Thiết bị	27
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	28
2.3.1. Phương pháp quang phổ UV – Vis	28
2.3.2. Phương pháp so màu di động.....	28
2.4. PHƯƠNG PHÁP TỔNG HỢP NANO VÀNG HÌNH CẦU.....	30
2.5. QUY TRÌNH NGHIÊN CỨU HỆ CẢM BIẾN AuNPs – APTAMER.....	31
2.5.1. Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate.....	32
2.5.2. Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate	34
2.5.3. Khảo sát nồng độ NaCl	36
2.5.4. Khảo sát nồng độ aptamer.....	38
2.5.5. Thời gian ủ aptamer	40
2.5.6. Thời gian ủ ampicillin.....	43
2.5.7. Thời gian ủ NaCl.....	44
2.5.8. Xây dựng đường chuẩn ampicillin.....	46
2.6. THÂM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP.....	48

2.6.1. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng	48
2.6.2. Độ đúng	49
2.6.3. Độ lặp và tái lặp	51
2.6.4. Độ chọn lọc	53
2.7. PHÂN TÍCH MẪU THỰC	55
2.7.1. Chuẩn bị mẫu	55
2.7.2. Phân tích mẫu	55
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN.....	57
3.1. TỔNG HỢP AuNPs HÌNH CẦU	57
3.1.1. Quang phổ UV - Vis	57
3.1.2. TEM và sự phân bố kích thước hạt.....	58
3.1.3. Nhiễu xạ electron vùng chọn lọc (SEAD)	58
3.1.4. Kết quả DLS – Zeta.....	59
3.1.5. STEM – Mapping.....	59
3.2. KHẢO SÁT NGHIÊN CỨU HỆ CẢM BIẾN AuNPs – APTAMER. 60	
3.2.1. Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate.....	61
3.2.2. Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate	64
3.2.3. Khảo sát nồng độ NaCl	67
3.2.4. Khảo sát nồng độ aptamer.....	70
3.2.5. Khảo sát thời gian ủ aptamer	73
3.2.6. Khảo sát thời gian ủ ampicillin	76
3.2.7. Khảo sát thời gian ủ NaCl.....	78
3.3. ĐẶC TÍNH LÝ HÓA CỦA HỆ CẢM BIẾN NANO VÀNG – APTAMER.....	80
3.3.1. DLS – Zeta	80
3.3.2. STEM – Mapping.....	81
3.3.3. FT – IR	82
3.3.4. SAED, TEM và HR - TEM.....	83
3.4. XÂY DỰNG ĐƯỜNG CHUẨN AMPICILLIN	84
3.4.1. Phương pháp quang phổ UV – Vis	85
3.4.2. Phương pháp so màu di động.....	86
3.5. THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH	91
3.5.1. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng	91
3.5.2. Độ đúng	93
3.5.3. Độ lặp và tái lặp	94
3.5.4. Độ chọn lọc	96
3.6. PHÂN TÍCH MẪU THỰC	97
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	100
Kết luận	100
Kiến nghị	101
TÀI LIỆU THAM KHẢO	102
PHỤ LỤC	109

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ CÁI VIẾT TẮT

μL	Microliter
μm	Micrometer
AgNPs	Nano bạc (Silver nanoparticles)
Apt	Aptamer
Asb	Độ hấp thụ (Absorbance)
AuNPs	Nano vàng (Gold nanoparticles)
AuNPs/Apt	Hệ cảm biến nano vàng - aptamer
B	Màu xanh lam (Blue)
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
BSA	Bovine Serum Albumin
DLS	Phổ tán xạ ánh sáng (Dynamic light scattering)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	Kỹ thuật Elisa (Enzyme – linked immunosorbent assay)
FTIR	Quang phổ hồng ngoại Fourier (Fourier – transform infrared spectroscopy)
G	Màu xanh lục (Green)
HorRat	Hệ số giữa độ lệch chuẩn tương đối và độ lệch chuẩn tương đối dự đoán

HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao (High-performance liquid chromatography)
HR – TEM	Hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (High-resolution Transmission Electron Microscopy)
LOD	Giới hạn phát hiện (Limit of Detection)
LOQ	Giới hạn định lượng (Limit of Quantitation)
mm	Millimeter
mM	Millimolar
NaCl	Sodium chlorua (Natri chlorua)
nm	Nanometer
OAOC	Hiệp hội các nhà hoá phân tích chính thống (Association of Official Analytical Chemists)
PRSD	Độ lệch chuẩn tương đối dự đoán
R	Màu đỏ (Red)
RSD	Độ lệch chuẩn tương đối
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SAED	Nhiễu xạ electron vùng lựa chọn (Selected area electron diffraction)
SD	Độ lệch chuẩn
SEM	Kính hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscope)

TEM

Kính hiển vi điện tử truyền qua
(Transmission electron microscopy)

UV - Vis

Phổ hấp thụ phân tử
(Ultraviolet – visible spectroscopy)

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Phân loại kháng sinh theo cấu trúc hóa học	4
Bảng 2.1. Dụng cụ.....	26
Bảng 2.2. Hóa chất.....	27
Bảng 2.3. Thiết bị.....	27
Bảng 2.4. Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate không có ampicillin.....	33
Bảng 2.5. Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate có ampicillin.....	34
Bảng 2.6. Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate khi hệ cảm biến không có ampicillin.....	35
Bảng 2.7. Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate khi hệ cảm biến có ampicillin.....	36
Bảng 2.8. Khảo sát nồng độ NaCl khi hệ cảm biến không có ampicillin.....	37
Bảng 2.9. Khảo sát nồng độ NaCl khi hệ cảm biến có ampicillin.....	37
Bảng 2.10. Khảo sát nồng độ aptamer khi hệ cảm biến không có ampicillin	39
Bảng 2.11. Khảo sát nồng độ aptamer khi hệ cảm biến có ampicillin	40
Bảng 2.12. Khảo sát thời gian ủ aptamer khi hệ cảm biến không có ampicillin	41
Bảng 2.13. Khảo sát thời gian ủ aptamer khi hệ cảm biến có ampicillin	42
Bảng 2.14. Khảo sát thời gian ủ ampicillin.....	43
Bảng 2.15. Khảo sát thời gian ủ NaCl	45
Bảng 2.16. Xác định khoảng tuyến tính và xây dựng đường chuẩn ampicillin	47
Bảng 2.17. Thí nghiệm đánh giá độ đúng của phương pháp phân tích	50
Bảng 2.18. Thí nghiệm độ lặp của phương pháp trong cùng 1 ngày	52
Bảng 2.19. Thí nghiệm độ tái lặp trong 3 ngày khác nhau	52
Bảng 2.20. Danh sách kháng sinh, protein, ion kim loại	53
Bảng 2.21. Khảo sát độ chọn lọc hệ cảm biến nano vàng – aptamer	54
Bảng 2.22. Phân tích mẫu thực	56
Bảng 3.1. Độ lệch nồng độ của đường chuẩn sử dụng phương pháp UV – Vis	86
Bảng 3.2. Độ lệch nồng độ đường chuẩn sử dụng phương pháp so màu di động	89
Bảng 3.3. Kết quả khảo sát độ đúng bằng phương pháp UV - Vis.....	93
Bảng 3.4. Kết quả khảo sát độ đúng ở tỷ lệ G/R.....	93

Bảng 3.5. Kết quả khảo sát độ đúng ở tỷ lệ B/R.....	93
Bảng 3.6. Kết quả độ lặp bằng phương pháp UV – Vis	94
Bảng 3.7. Kết quả đánh giá độ lặp ở tỷ lệ màu G/R	94
Bảng 3.8. Kết quả đánh giá độ lặp ở tỷ lệ màu B/R.....	95
Bảng 3.9. Kết quả độ tái lặp bằng phương pháp UV – Vis	95
Bảng 3.10. Kết quả độ tái lặp ở tỷ lệ G/R.....	96
Bảng 3.11. Kết quả độ tái lặp ở tỷ lệ B/R.....	96
Bảng 3.12. Kết quả phân tích mẫu thực.....	98

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Con đường gây ô nhiễm của các hợp chất kháng sinh.....	5
Hình 1.2. Số ca tử vong trên toàn cầu liên quan đến tình trạng kháng kháng sinh do vi khuẩn gây bệnh năm 2019 [8].....	6
Hình 1.3. Cấu trúc hóa học ampicillin	7
Hình 1.4. Kích thước các vật [12].....	8
Hình 1.5. Hình dạng các vật liệu nano [17]	9
Hình 1.6. Phương pháp tổng hợp vật liệu nano	10
Hình 1.7. Sơ đồ mô tả phương pháp bottom – up.....	11
Hình 1.8. Quá trình phát triển vật liệu hai chiều bằng phương pháp CVD [19]	11
Hình 1.9. Sản phẩm của từng quy trình được thực hiện bằng phương pháp sol – gel [20]	12
Hình 1.10. Tổng hợp nano vàng bằng phương pháp khử	13
Hình 1.11. Tổng hợp vật liệu nano bằng phương pháp nghiền cơ học [22] ...	14
Hình 1.12. Quy trình tổng hợp nano bằng phương pháp bào mòn laser trong dung dịch [23]	14
Hình 1.13. Màu sắc và phổ UV – Vis của các hạt nano vàng ở các kích thước khác nhau [25].....	15
Hình 1.14. Tổng hợp nano vàng từ lá Trinh nữ hoàng cung [29].....	16
Hình 1.15. Cảm biến aptamer huỳnh quang dựa trên vật liệu PAA@Arg@ATT-AuNCs NPs [40].....	19
Hình 1.16. Cảm biến AuNPs – aptamer nhận biết vi khuẩn Escherichia coli [41]	21
Hình 1.17. Cảm biến ampicillin bằng AuNPs và aptamer phát quang [47] ...	23
Hình 1.18. Các loại aptamer liên kết đặc hiệu với các thụ thể bệnh đa tủy [50]	24
Hình 2.1. Nguyên lý hoạt động thiết bị so màu di động	29
Hình 2.2. Giá trị RGB được hiển thị trên thiết bị OLED.....	29
Hình 2.3. Các giá trị RGB hiển thị trên Microsoft Excel	29
Hình 2.4. Quy trình chuẩn bị dung dịch trisodium citrate 1%.....	30
Hình 2.5. Quy trình tổng hợp nano vàng hình cầu.....	31
Hình 2.6. Quy trình chế tạo hệ cảm biến AuNPs/Apt.....	32
Hình 3.1: Quang phổ UV – Vis dung dịch nano vàng hình cầu	57

Hình 3.2. Ảnh TEM (A) và sự phân bố kích thước (B) của AuNPs.....	58
Hình 3.3. Ảnh nhiễu xạ electron vùng chọn lọc (SEAD) nano vàng.....	58
Hình 3.4. Kết quả DLS (A) và Zeta (B) của AuNPs.....	59
Hình 3.5. Ảnh STEM – Mapping hệ nano AuNPs	60
Hình 3.6. Cơ chế xác định kháng sinh của hệ cảm biến AuNPs – aptamer....	60
Hình 3.7. Ảnh hưởng nồng độ hệ đệm acetate khi không có (A), có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thu của peak $Asb_{\lambda 650}/Asb_{\lambda 520}$ khi không có và có ampicillin (C)	62
Hình 3.8. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng nồng độ dung dịch đệm đến hệ cảm biến.....	63
Hình 3.9. Mẫu khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate	64
Hình 3.10. Ảnh hưởng giá trị pH khi không có (A) và có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thu của peak $Asb_{\lambda 650}/Asb_{\lambda 520}$ khi không có và có ampicillin (C)	65
Hình 3.11. Mẫu khảo sát giá trị pH.....	66
Hình 3.12. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng giá trị pH đến hệ cảm biến.....	67
Hình 3.13. Ảnh hưởng nồng độ NaCl khi không có (A) và có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thu của peak $Asb_{\lambda 650}/Asb_{\lambda 520}$ khi không có và có ampicillin (C)	68
Hình 3.14. Mẫu khảo sát nồng độ NaCl.....	69
Hình 3.15. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng nồng độ NaCl đến hệ cảm biến....	70
Hình 3.16. Ảnh hưởng nồng độ aptamer khi không có (A), có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thu của peak $Asb_{\lambda 650}/Asb_{\lambda 520}$ khi không có và có ampicillin (C)	71
Hình 3.17. Mẫu khảo sát nồng độ aptamer	72
Hình 3.18. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng nồng độ aptamer đến hệ cảm biến.....	73
Hình 3.19. Ảnh hưởng thời gian ủ aptamer khi không có (A) và có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thụ của peak $Asb_{\lambda 650}/Asb_{\lambda 520}$ khi không có và có ampicillin (C).....	74
Hình 3.20. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng thời gian ủ aptamer	75
Hình 3.21. Mẫu khảo sát thời gian ủ aptamer.....	76
Hình 3.22. Ảnh hưởng thời gian ủ ampicillin (A), tỉ lệ độ hấp thụ của peak $Asb_{\lambda 650}/Asb_{\lambda 520}$ khi có ampicillin (B)	77
Hình 3.23. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng thời gian ủ ampicillin	77
Hình 3.24. Mẫu khảo sát thời gian ủ ampicillin.....	78
Hình 2.25. Ảnh hưởng thời gian ủ NaCl (A), tỉ lệ độ hấp thụ $Asb_{\lambda 650}/Asb_{\lambda 520}$ (B) khi có ampicillin.....	79

Hình 3.26. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng thời gian ủ NaCl.....	80
Hình 3.27. Kết quả DLS hệ AuNPs/Apt (A) và AuNPs/Apt + NaCl (B), thế Zeta (C)	81
Hình 3.28. STEM – Mapping hệ AuNPs/Apt.....	82
Hình 3.29. Phổ FT – IR của AuNPs (A) và AuNPs/Apt (B)	82
Hình 3.30. Ảnh SAED (A), TEM (B) và HR – TEM (C) của hệ cảm biến AuNPs/Apt, TEM (D) của hệ AuNPs/Apt@ampicillin + NaCl.....	84
Hình 3.31. Khoảng tuyến tính (A) và đường chuẩn ampicillin từ 0.02 – 0.07 mg/mL (B) của hệ cảm biến nano vàng – aptamer	85
Hình 3.32. Khoảng tuyến tính (A) và đường chuẩn ở các tỷ lệ màu G/B (B), G/R (C) (D) và B/R (E)(F) ở các khoảng tuyến tính khác nhau của hệ cảm biến nano vàng – aptamer	87
Hình 3.33. Ảnh hưởng của các tác nhân khác đến hệ cảm biến	97

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Trong xu thế công nghiệp hóa, hiện đại hóa nền kinh tế, cùng với sự phát triển nhanh dân số đã ảnh hưởng tiêu cực đến môi trường sống cũng như sức khỏe con người. Hiện nay, vệ sinh thực phẩm đang là vấn đề đặc biệt quan trọng trên thế giới cũng như nước ta. Theo thống kê của tổ chức y tế thế giới (WHO) ước tính có khoảng 600 triệu (10% dân số thế giới) bị mắc bệnh sau khi sử dụng thực phẩm ô nhiễm. Ở Việt Nam số vụ ngộ độc thực phẩm ngày càng tăng cao chủ yếu do thực phẩm nhiễm hóa chất như: thuốc bảo vệ thực vật và kháng sinh [1]. Dư lượng hóa chất không những gây ra các bệnh cấp tính mà còn là nguyên nhân của nhiều bệnh mạn tính và nan y như ung thư, tiểu đường, v.v... Vì thế, dư lượng hóa chất, đặc biệt là kháng sinh trong thực phẩm đang là vấn đề hết sức nghiêm trọng gây ra ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng đến sức khỏe con người [2].

Kiểm soát hàm lượng kháng sinh là nhu cầu cấp bách để giải quyết tình trạng thực phẩm bẩn và ô nhiễm nguồn nước hiện nay. Trên thị trường hiện nay, một số bộ test nhanh kháng sinh sử dụng sắc ký miễn dịch cạnh tranh đã được phát triển, tuy nhiên nhược điểm của phương pháp này là giá thành cao và chỉ sử dụng để định tính, không có chức năng định lượng [3]. Để định lượng được kháng sinh, quá trình phân tích thường cần có phòng thí nghiệm với các trang thiết bị hiện đại, đắt tiền như thiết bị sắc ký lỏng cao áp, kỹ thuật enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA). Các phương pháp thay thế có thể làm giảm chi phí phân tích như sử dụng phương pháp quang học (UV – Vis và huỳnh quang) dựa trên vật liệu nano kim loại plasmonic kết hợp với aptamer để định lượng kháng sinh. Tuy nhiên, gần đây các thiết bị so màu di động có thể đánh giá hàm lượng kháng sinh một cách nhanh chóng và chính xác, tương đương với các thiết bị trong phòng thí nghiệm.

Dựa trên những cơ sở khoa học và lý do đã nêu trên, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài “*Nghiên cứu chế tạo cảm biến nano vàng – aptamer và ứng dụng trong xác định hàm lượng kháng sinh*”. Vật liệu nano kim loại vàng – aptamer được ứng dụng vào việc phát hiện hàm lượng kháng sinh được nghiên cứu nhằm mục đích định lượng được hàm lượng kháng sinh trong thực phẩm, không những giảm nguy cơ bệnh tật cho người tiêu dùng mà còn đảm bảo được

giá trị hàng hóa, nâng cao uy tín sản phẩm. Thêm nữa, các thiết bị di động có thể giúp đánh giá nhanh chóng hàm lượng kháng sinh tại hiện trường mà không cần các chuyên gia có trình độ chuyên môn cao.

2. Mục đích nghiên cứu

❖ *Mục đích tổng quát*

- Chế tạo thành công hệ cảm biến nano vàng – aptamer
- Định lượng được hàm lượng kháng sinh có trong thực phẩm với độ chọn lọc và độ chính xác thích hợp.

❖ *Mục đích cụ thể*

- Tổng hợp thành công nano vàng với kích thước 10 – 20 nm.
- Chế tạo và phát triển thành công hệ cảm biến nano vàng – aptamer ổn định, tối ưu và có khả năng tương tác với kháng sinh tốt nhất.
- Hệ cảm biến có khả năng phân tích chọn lọc kháng sinh và xác định được hàm lượng kháng sinh trong mẫu thật.
- Nghiên cứu so sánh cảm biến kháng sinh sử dụng thiết bị so màu di động và cảm biến so màu sử dụng thiết bị đo UV – Vis.

3. Nội dung nghiên cứu

Đề tài nghiên cứu gồm 4 nội dung chính:

- Tổng hợp và đánh giá cấu trúc vật liệu nano vàng (AuNPs).
- Khảo sát các điều kiện tổng hợp hệ cảm biến nano vàng – aptamer (AuNPs/Apt) và đánh giá cấu trúc vật liệu.
- Xây dựng đường chuẩn định lượng kháng sinh và xác định giá trị giới hạn phân tích trên thiết bị so màu di động và thiết bị UV – Vis.
- Nghiên cứu định lượng kháng sinh trên mẫu thật trên thiết bị so màu di động và thiết bị UV – Vis.

4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài

Tình trạng dư lượng kháng sinh trong sản phẩm như sữa, thịt, hải sản trong nước và xuất khẩu của nước ta đang trong tình trạng báo động. Dư lượng kháng sinh ảnh hưởng nghiêm trọng đến cuộc sống, đến sức khỏe con người. Là nguồn

cội của căn bệnh kháng kháng sinh, là một trong những vấn đề cấp thiết của thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng. Dư lượng kháng sinh trong thực phẩm không chỉ gây ảnh hưởng đến sức khỏe còn gây thiệt hại về kinh tế, nhiều lò hàng thủy hải sản xuất khẩu của nước ta bị trả về do phát hiện dư lượng kháng sinh vượt quá mức tiêu chuẩn cho phép, gây thiệt hại lớn về mặt kinh tế.

Trong những thập kỷ qua, rất nhiều phương pháp phát hiện dư lượng kháng sinh đã phát triển: sắc ký lỏng hiệu năng cao, sắc ký khí và xét nghiệm miễn dịch,... Tuy nhiên, những phương pháp trên đòi hỏi phải có chuyên viên kỹ thuật, sử dụng các thiết bị phức tạp, chi phí cao và mất nhiều thời gian. Do đó, việc phát triển phương pháp phát hiện dư lượng kháng sinh trong thực phẩm và môi trường hiệu quả, đơn giản và nhanh chóng là một điều cần thiết.

Sự kết hợp giữa các hạt nano vàng và aptamer tạo ra một hệ cảm biến so màu nhận dạng kháng sinh bằng quang học đã được phát triển rộng rãi. Sự thay đổi màu sắc của hệ cảm biến được xác định bằng cách thu thập các tín hiệu phát xạ và định lượng bằng phương pháp sử dụng máy đo quang phổ UV – Vis. Bên cạnh đó phương pháp phân tích màu có thể sử dụng các thiết bị so màu di động được phát triển để phân tích các chỉ số màu red, green, blue. Vì thế mà loại aptasensor này phù hợp hơn cho các thí nghiệm có tính ứng dụng tại chỗ, cũng như hỗ trợ cho việc kiểm tra định kỳ đơn giản và nhanh chóng.

5. Những đóng góp của luận văn

Kết quả của luận văn đã đóng góp vào các công trình nghiên cứu phát hiện hàm lượng kháng sinh. Hệ cảm biến so màu dựa trên vật liệu nano vàng – aptamer có khả năng tương tác tốt với kháng sinh ampicillin.

Hệ cảm biến nano vàng – aptamer được phân tích đầy đủ các tính chất hóa lý, độ bền của hệ. Kết quả cho thấy nghiên cứu có độ tin cậy cao.

Kết quả của nghiên cứu cho thấy khả năng định lượng kháng sinh ampicillin trong thực phẩm.

Đồng thời, phương pháp so màu được thiết kế trên thiết bị so màu di động được ứng dụng và mang lại tiềm năng phát triển cảm biến di động, thuận tiện cho việc phát hiện kháng sinh nhanh chóng.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. TÌNH TRẠNG DƯ LƯỢNG KHÁNG SINH HIỆN NAY

1.1.1. Khái niệm kháng sinh

Kháng sinh (antibiotics) còn được gọi là trụ sinh, là những chất kháng vi sinh vật như vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm, có khả năng ức chế sự phát triển và sinh trưởng của các vi sinh vật khác [4]. Ngày nay, kháng sinh không chỉ có thể chiết xuất từ các vi sinh vật và nấm mà còn có thể tổng hợp hoặc sản xuất bằng phương pháp hóa học.

Sự xuất hiện của kháng sinh đã mở ra một thời kỳ mới trong lĩnh vực y học đối với việc điều trị các bệnh nhiễm khuẩn. Kháng sinh không chỉ được áp dụng trong y học để chữa trị bệnh cho con người mà còn được sử dụng rộng rãi trong nông nghiệp, chăn nuôi gia súc, gia cầm và thủy sản,...[4]

1.1.2. Phân loại kháng sinh

Vào năm 1928, Alexander Fleming đã phát hiện kháng sinh penicilline và đến nay có rất nhiều loại khác sinh, thuốc tương tự được phát minh và đưa vào sử dụng [5].

Các nhóm kháng sinh được sắp xếp theo cấu trúc hóa học và được chia thành các nhóm như (Bảng 1.1).

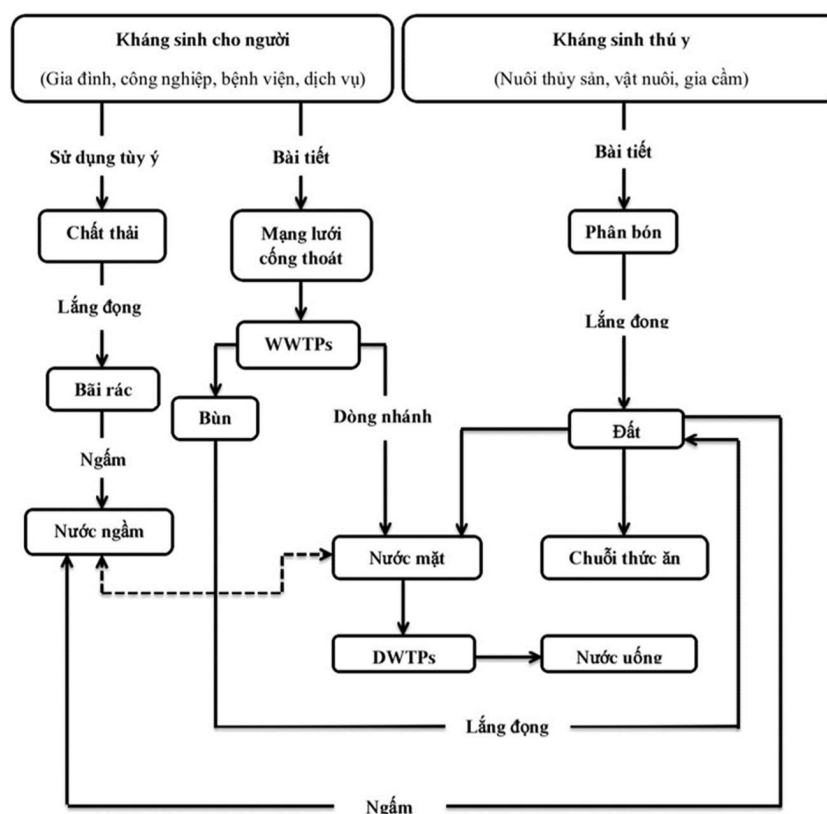
Bảng 1.1. Phân loại kháng sinh theo cấu trúc hóa học

STT	Tên nhóm	Phân nhóm
1	Beta – lactam	Các penicilin
		Các cephalosporin
		Các beta – lactam khác
		Carbapenem
		Monobactam
		Các chất ức chế beta – lactamase
2	Aminoglycosid	
3	Macrolid	
4	Lincosamid	
5	Phenicol	
6	Tetracyclin	Thế hệ 1

		Thế hệ 2
7	Peptid	Glycopeptid
		Polypeptid
		Lipopeptid
8	Quinolon	Thế hệ 1
		Các fluoroquinolon: thế hệ 2, 3, 4
9	Các nhóm kháng sinh khác	
	Sulfonamid	
	Oxazolidinon	
	5 – nitroimidazol	

1.1.3. Các nguồn phát thải

Trong những năm qua, việc sử dụng kháng sinh trong thú y và y học của con người rất phổ biến, do đó khả năng gây ô nhiễm kháng sinh ngày càng tăng lên. Một trong những nguyên nhân là do sự ô nhiễm các chất có hoạt tính kháng khuẩn bắt nguồn từ: sinh hoạt, bệnh viện, chăn nuôi gia súc, nuôi trồng thủy sản và trồng trọt [6].

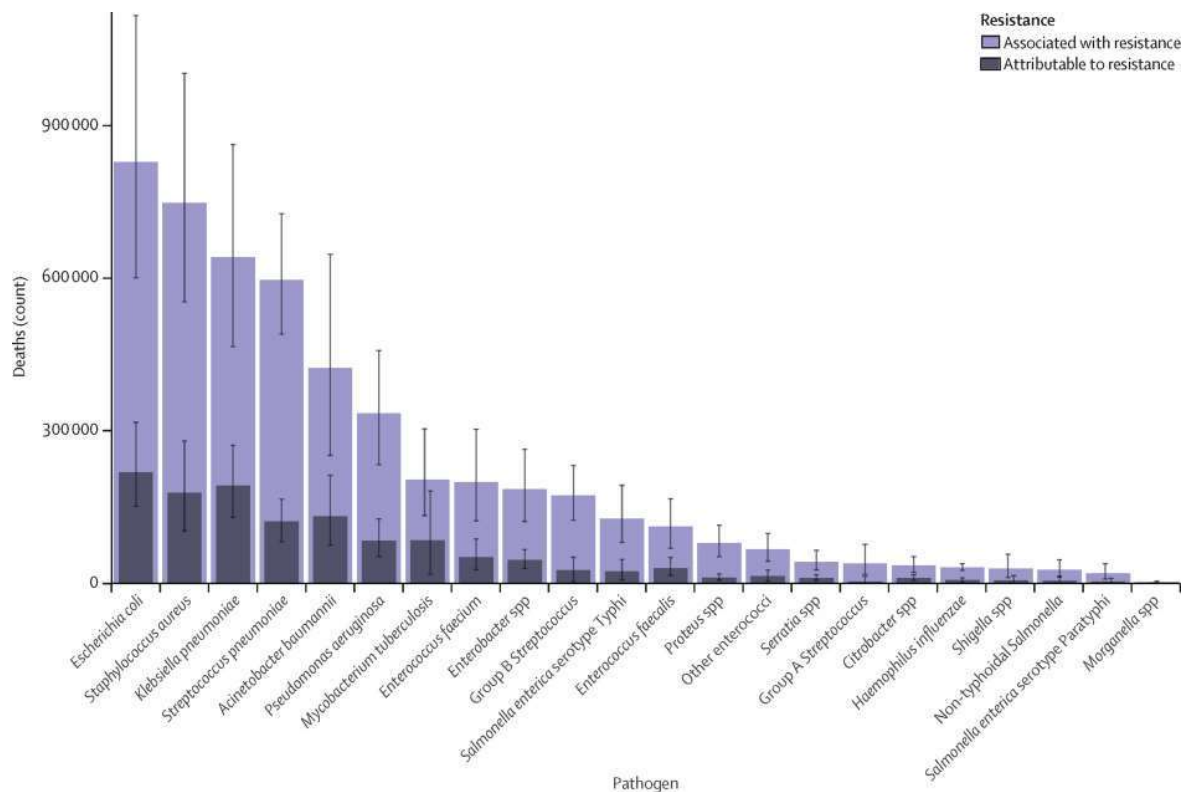


Hình 1.1. Con đường gây ô nhiễm của các hợp chất kháng sinh

❖ Tình trạng dư lượng kháng sinh và tác hại

Theo tổ chức WHO, tình trạng kháng kháng sinh vẫn là một trong những mối đe dọa sức khỏe cộng đồng toàn cầu mà nhân loại đang phải đối mặt. Việt Nam đang nằm trong các nước có tỷ lệ kháng thuốc cao do việc sử dụng không hợp lý, lạm dụng thuốc kháng sinh trong điều trị, ngăn ngừa hoặc kiểm soát nhiễm trùng ở người, động vật và cả thực vật [7].

Theo báo cáo của hệ thống giám sát sử dụng và kháng kháng sinh toàn cầu (GLASS) năm 2022 đã thống kê tỷ lệ kháng thuốc đáng báo động: 42 % vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) kháng cephalosporin thế hệ thứ ba và 35 % đối với vi khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng methicillin. Đối với nhiễm trùng đường tiết niệu do vi khuẩn *E. coli* gây ra, cứ 5 trường hợp thì có một trường hợp cho thấy giảm tính nhạy cảm với các loại kháng sinh tiêu chuẩn như ampicillin, co – trimoxazole và fluoroquinolones vào năm 2020. Điều này đang làm cho việc điều trị hiệu quả các bệnh nhiễm trùng thông thường trở nên khó khăn hơn [7]. Năm 2019, có khoảng 4.95 triệu ca tử vong liên quan đến kháng kháng sinh (Hình 1.2) [8].

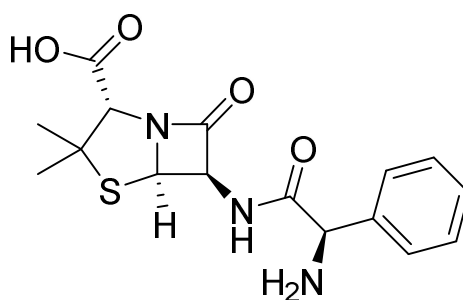


Hình 1.2. Số ca tử vong trên toàn cầu liên quan đến tình trạng kháng kháng sinh do vi khuẩn gây bệnh năm 2019 [8]

1.2. KHÁNG SINH AMPICILLIN

Ampicillin là một trong những loại kháng sinh thuộc nhóm aminopenicillins, họ penicillin, là một kháng sinh beta – lactam. Kháng sinh ampicillin được sử dụng trong điều trị một số bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn nhạy cảm như: nhiễm khuẩn hô hấp, viêm họng, cảm cúm, cảm lạnh,... dùng để ngăn ngừa các loại bệnh nhiễm trùng, được phát triển để khắc phục vấn đề kháng thuốc và mở rộng phạm vi kháng sinh của penicillin. Là một hoạt chất có hoạt tính chống lại một số bệnh nhiễm trùng gây ra bởi vi khuẩn gram dương (+), gram âm (-) cũng như một số vi khuẩn kỵ khí.

Ví dụ: vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), ... [9].



Hình 1.3. Cấu trúc hóa học ampicillin

❖ Tính chất lý hóa

Ampicillin là hợp chất màu trắng hoặc không màu, ở dạng rắn.

Là một hợp chất ít tan trong nước, tan trong acid hoặc bazơ loãng, không tan trong rượu, ether.

Ampicillin có công thức phân tử là $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ với khối lượng phân tử 349.40. Tan chảy và phân hủy tại $202\text{ }^{\circ}\text{C} - 215\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Kháng sinh ampicillin có hoạt phổ rộng với nhiều chủng vi khuẩn gram âm (-) và vi khuẩn gram dương (+).

Kháng sinh ampicillin có thể được tìm thấy trong thực phẩm, do được sử dụng để phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh do vi khuẩn gây ra trong quá trình chăn nuôi. Tuy nhiên, việc sử dụng không hợp lý và lạm dụng kháng sinh trong

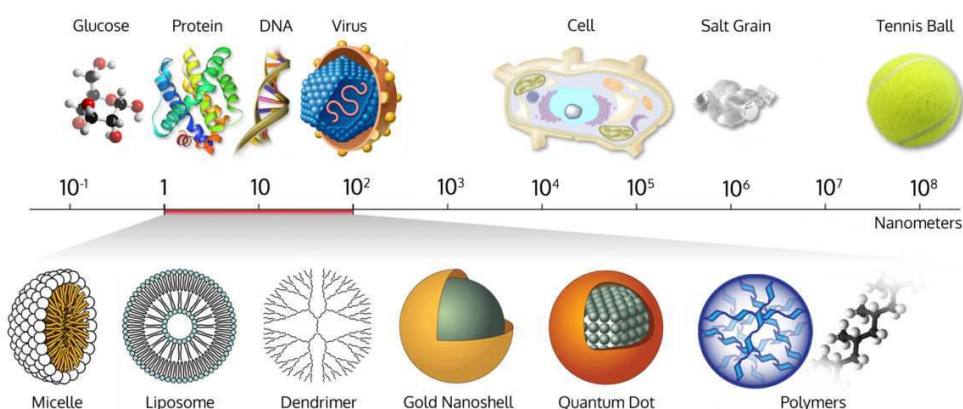
quá trình chăn nuôi, có thể có một lượng nhỏ kháng sinh tồn đọng lại trong thức ăn, đặc biệt là thịt, trứng và sữa.

1.3. GIỚI THIỆU VỀ NANO

1.3.1. Công nghệ nano

Công nghệ nano (nanotechnology) được định nghĩa là một phân nhánh của khoa học vật liệu nghiên cứu về các hiện tượng và các phương pháp tương tác với vật liệu ở kích thước phân tử và nguyên tử, tại đó các tính chất như: cơ học, nhiệt động lực học có sự khác biệt hoàn toàn với các vật liệu ở kích thước lớn hơn [10]. Sau đó, một khái niệm khác được thiết lập bởi thế giới dựa trên các ứng dụng thực tiễn của công nghệ nano. Trong đó, công nghệ nano được định nghĩa là ngành khoa học nghiên cứu về hiện tượng, tính chất và các phương pháp tương tác với các vật liệu có kích thước từ 1 đến 100 nanometer [11]. Với định nghĩa này, việc hoạch định ra một giới hạn về kích thước giúp khoa học vật liệu định hướng nghiên cứu về tính chất và phương pháp tổng hợp tạo ra các vật liệu nano hữu ích có ứng dụng tiềm năng trong thực phẩm, dược phẩm, điện – điện tử, y học và cả môi trường.

Hạt nano là những vật liệu có kích thước nhỏ dưới 100 nm, cần đến 80.000 hạt để bằng chiều rộng của một sợi tóc con người. Kích thước của các vật được thể hiện như (Hình 1.4) [12].



Hình 1.4. Kích thước các vật [12]

Ngày nay, công nghệ nano ngày càng đóng góp nhiều hơn vào các hoạt động của đời sống, thông qua các sản phẩm ứng dụng trong thực tiễn công nghiệp. Ví dụ, công nghệ nano được ứng dụng vào ngành xây dựng như: sơn nano giúp bảo vệ các kết cấu thép xây dựng khỏi sự ăn mòn, hoặc các hạt nano

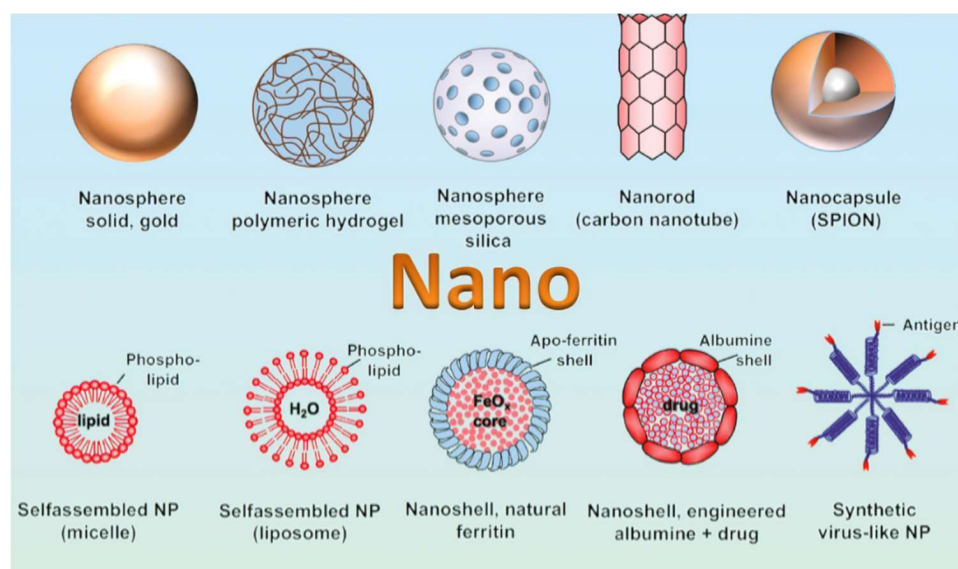
kim loại được bổ sung vào thành phần của thép giúp tăng cường độ cứng và mở rộng giới hạn biến dạng cơ học [13]. Trong các ứng dụng về xử lý môi trường, vì có kích thước nanometer, diện tích bề mặt lớn, các hợp chất hữu cơ, kim loại nặng và vi sinh vật trong nước thải được loại bỏ dễ dàng, giúp xử lý nước hiệu quả mà không cần đầu tư các công trình xử lý phức tạp như trong các phương pháp truyền thống [14].

1.3.2. Vật liệu nano

Vật liệu nano (nano materials) là vật liệu trong đó có ít nhất một chiều có kích thước nanometer và được Liên minh Châu Âu xác định là hạt nano trong vật liệu có một hay nhiều chiều có kích thước nhỏ hơn 100 nm [15].

Vật liệu kim loại nano đã nhận được nhiều sự quan tâm đặc biệt từ các nhà khoa học trong và ngoài nước do có những tính chất ưu việt như: quang, điện, từ, đến các tính chất cơ, xúc tác, ... Các tính chất độc đáo và nổi trội mà vật liệu nano có được do sự thu nhỏ kích thước và tăng diện tích bề mặt tiếp xúc [16].

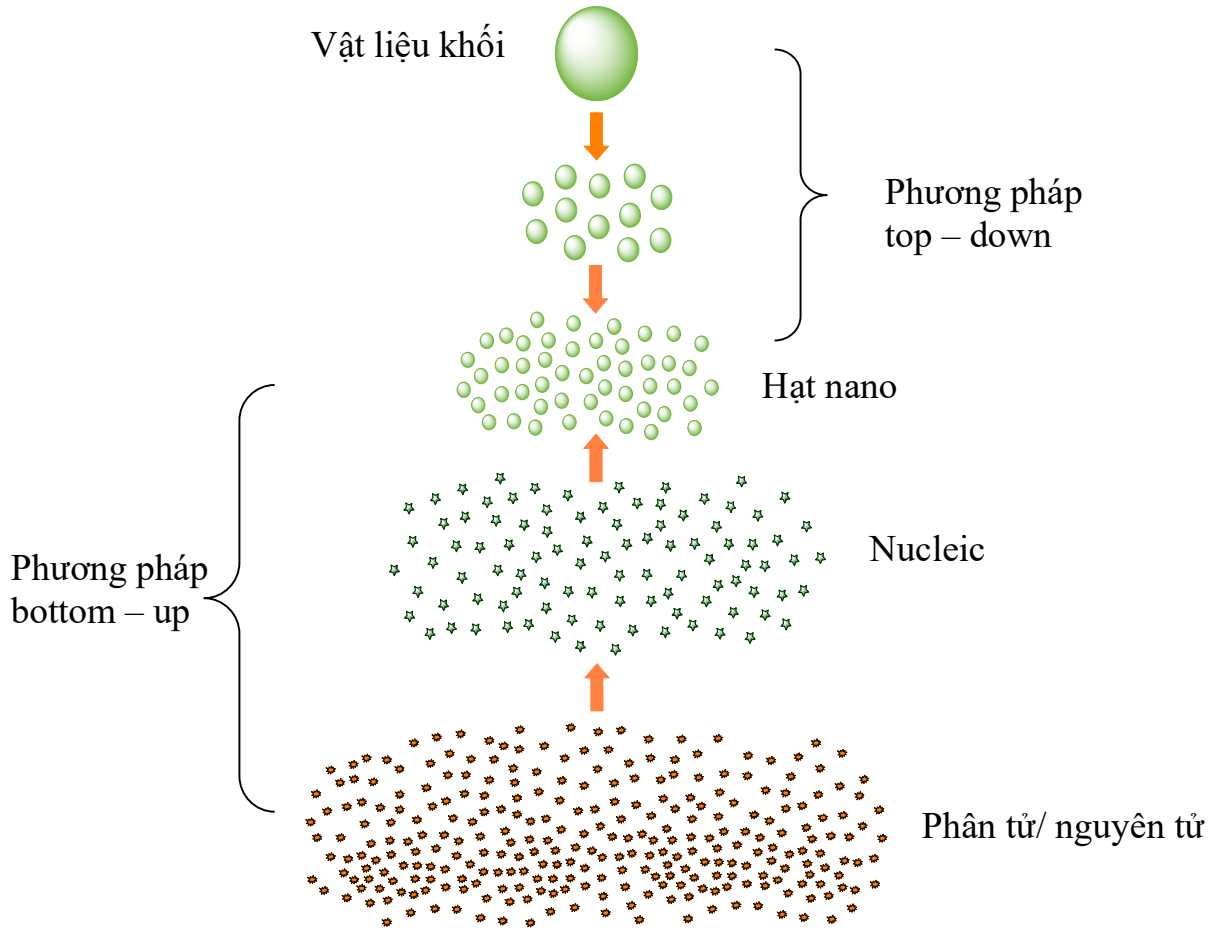
Các vật liệu nano được thiết kế với các thành phần, kích thước và hình dạng khác nhau (*Hình 1.5*).



Hình 1.5. Hình dạng các vật liệu nano [17]

1.3.3. Các phương pháp tổng hợp vật liệu nano

Trải qua những thập kỷ nghiên cứu về vật liệu nano, nhiều báo cáo về các phương pháp tổng hợp với kích thước đồng nhất và phân tán tốt được công bố. Nhưng nhìn chung, tổng hợp vật liệu nano có thể được chia thành hai phương pháp: bottom – up (từ dưới lên) với tiền chất là các phân tử hoặc nguyên tử [18] và phương pháp top – down (từ trên xuống) trong đó tiền chất là vật liệu khối (Hình 1.6).

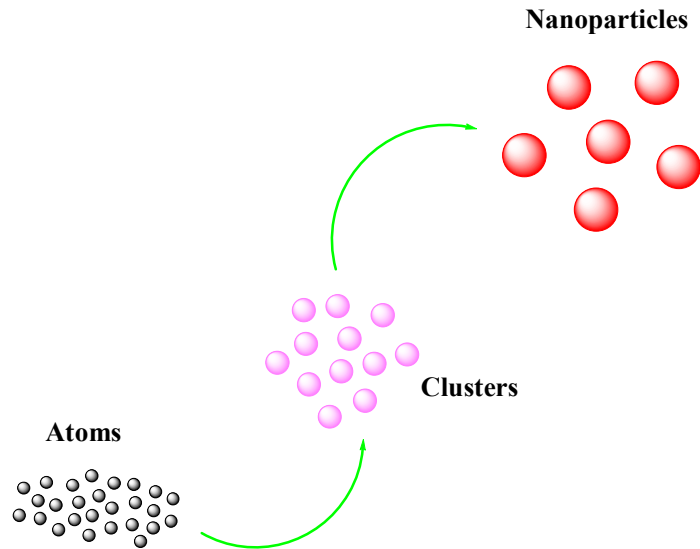


Hình 1.6. Phương pháp tổng hợp vật liệu nano

1.3.3.1. Phương pháp bottom – up

Phương pháp bottom – up là phương pháp bao hàm sự hình thành vật liệu nano từ các nguyên tử hoặc ion, được phát triển mạnh mẽ vì tính linh động và chất lượng của sản phẩm cuối (Hình 1.7). Phần lớn các vật liệu nano ứng dụng trong nông nghiệp được chế tạo từ phương pháp này.

Phương pháp tổng hợp phổ biến được phân loại vào bottom – up ví dụ như: phương pháp lắng đọng hơi hóa học (CVD), sol – gel, phương pháp khử tổng hợp nano kim loại, ngưng tụ plasma hóa học

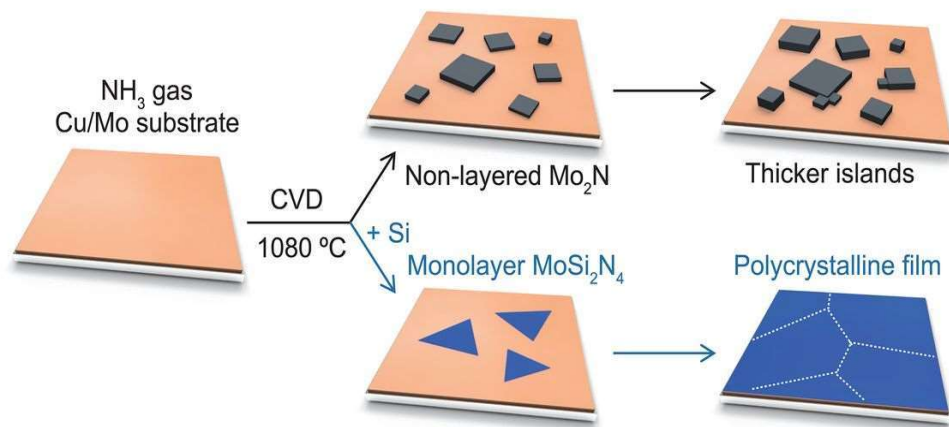


Hình 1.7. Sơ đồ mô tả phương pháp bottom – up

❖ **Phương pháp CVD**

Phương pháp lắng đọng hơi hóa học (CVD – Chemical Vapor Deposition) là một phương pháp hiện đại giúp tổng hợp nano kim loại dựa trên sự hình thành các nguyên tử kim loại từ tiền chất ở dạng hơi thông qua việc cung cấp electron cho các phân tử khí trong luồng hơi tiền chất đó (thông thường được thực hiện bằng plasma hoặc nhiệt độ cao) [18]. Trong phương pháp CVD, nano kim loại tổng hợp được chủ yếu ở dạng màng mỏng được phủ lên một đế nền hóa học.

Ví dụ, phương pháp CVD được áp dụng trong quá trình phát triển vật liệu hai chiều molybdenum nitride và MoSi_2N_4 với lớp kép Cu/Mo làm chất nền và khí NH_3 làm nguồn nitơ (Hình 1.8) [19].



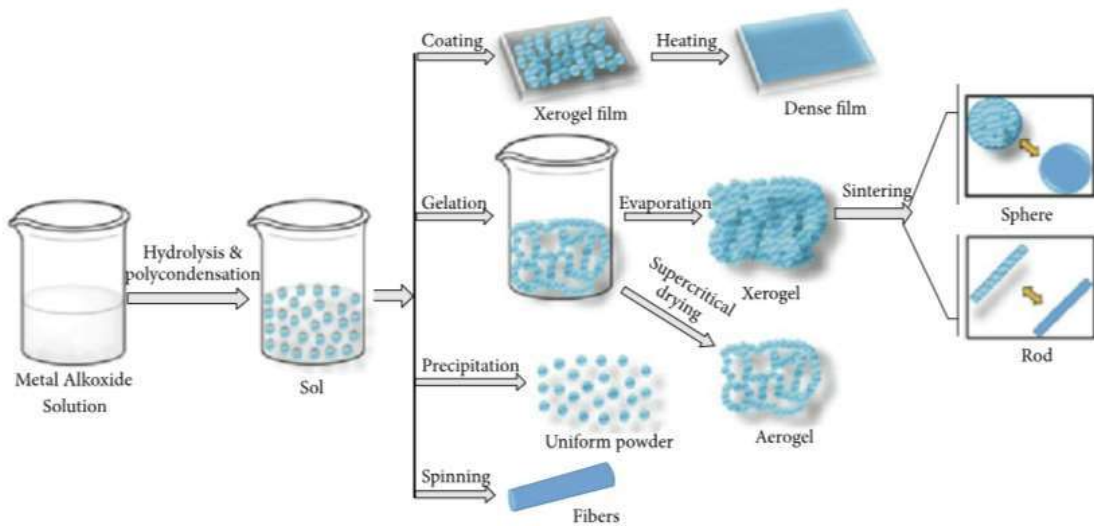
Hình 1.8. Quá trình phát triển vật liệu hai chiều bằng phương pháp CVD

[19]

❖ *Phương pháp sol – gel*

Phương pháp sol – gel là một quy trình ướt được sử dụng rộng rãi cho sự phát triển của nhiều vật liệu nano, thường sử dụng trong tổng hợp các hạt nano oxide kim loại. Tiền chất thường sử dụng là các kim loại gốc hữu cơ hay còn gọi là alkoxide kim loại.

Phương pháp được gọi là sol – gel vì trong suốt quá trình hình thành hạt nano, tiền chất ở dạng lỏng sẽ được chuyển hóa thành sol (trạng thái các giọt lỏng phân tán trong môi trường lỏng) và sau đó sol này sẽ liên kết thành cấu trúc mạng lưới gọi là gel (*Hình 1.9*) [18].

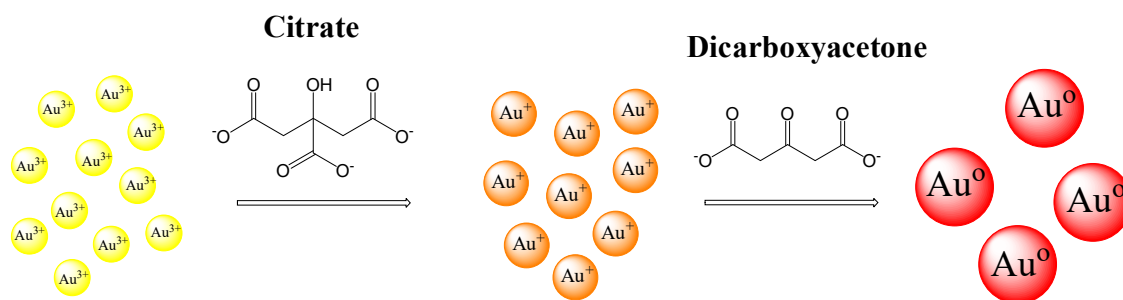


Hình 1.9. Sản phẩm của từng quy trình được thực hiện bằng phương pháp sol – gel [20]

❖ *Phương pháp khử tổng hợp nano kim loại*

Tổng hợp nano kim loại dựa trên phản ứng khử là phản ứng dùng chất khử mạnh, khử ion kim loại từ muối của chúng tạo thành nguyên tử kim loại, các nguyên tử này kết hợp lại với nhau tạo thành hạt nano kim loại.

Khi các hạt nano được tạo thành từ phương pháp này, chúng có khả năng kết tụ khi chất khử không có khả năng bảo vệ. Để ngăn quá trình này xảy ra, cần bổ sung thêm chất làm bền giúp các hạt phân tán đều trong dung dịch và tránh kết tụ, hoặc chất khử sử dụng phải là những chất hữu cơ vừa có tính khử vừa có tính làm bền.



Hình 1.10. Tổng hợp nano vàng bằng phương pháp khử

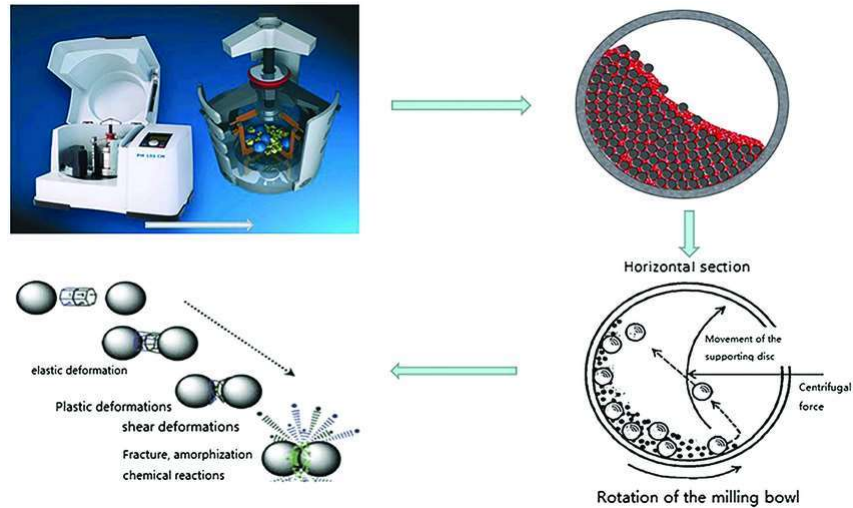
Điển hình, nano vàng được tổng hợp bằng phương pháp khử với trisodium citrate ở nhiệt độ cao, đã được ứng dụng nhiều trong các nghiên cứu với phương pháp tổng hợp đơn giản, đồng đều kích thước hạt và phân tán tốt trong dung dịch. Trong phương pháp này, các ion Au^{3+} trong phân tử $HAuCl_4$ sẽ được khử bởi các gốc acid ($-COOH$) có trong phân tử của trisodium citrate. Theo xu hướng tự nhiên, khi Au^0 hình thành chúng sẽ tụ hợp lại hạt nano vàng. Sau phản ứng khử, gốc acid $-COOH$ của trisodium citrate chuyển thành gốc ketone ($-C=O$), có khả năng hấp phụ lên bề mặt của kim loại, nhờ ái lực mạnh của nguyên tố oxi (O) với kim loại, tạo thành một lớp điện tích trên bề mặt AuNPs giúp các hạt nano vàng đẩy nhau trong dung dịch, phân tán tốt, không bị kết tụ (Hình 1.10) [21].

1.3.3.2. Phương pháp top – down

Phương pháp top – down là phương pháp sử dụng các nguyên liệu kích thước lớn, được phá vỡ cấu trúc để tạo thành vật liệu có kích thước nano. Nhìn chung, các phương pháp top – down sử dụng trong tổng hợp nano thường là các phương pháp vật lý.

❖ Phương pháp nghiền cơ học

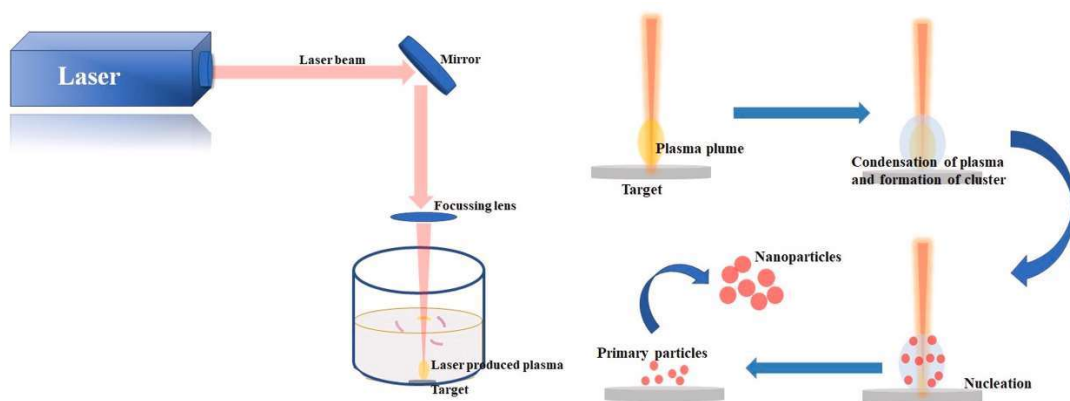
Nghiền cơ học là một phương pháp cổ điển để tạo ra vật liệu kích thước nhỏ hơn từ vật liệu có kích thước lớn. Là một phương pháp hiệu quả để tổng hợp vật liệu nanocomposite. Phương pháp chủ yếu trong nghiền cơ học là phương pháp nghiền bi, vật liệu khối được trộn với bi nghiền trong máy nghiền (Hình 1.10). Nhờ lực va đập mà vật liệu khối sẽ bị đập vỡ thành các hạt có kích thước nano.



Hình 1.11. Tổng hợp vật liệu nano bằng phương pháp nghiền cơ học [22]

❖ **Phương pháp bào mòn laser**

Bào mòn laser là một phương pháp hiện đại để tổng hợp vật liệu nano. Trong phương pháp này, một nguồn laser năng lượng cao sẽ va chạm với vật liệu khối [18]. Trong quá trình bào mòn laser, vật liệu là tiền chất sẽ bốc hơi trong chân không, kết quả là hình thành hạt nano (Hình 1.12). Nhờ khả năng bào mòn của tia laser, các hạt nano kim loại quý được hình thành mà không cần phải sử dụng đến các loại hóa chất hoặc chất làm bền, có thể xem đây là một phương pháp xanh cho tổng hợp nano kim loại.



Hình 1.12. Quy trình tổng hợp nano bằng phương pháp bào mòn laser trong dung dịch [23]

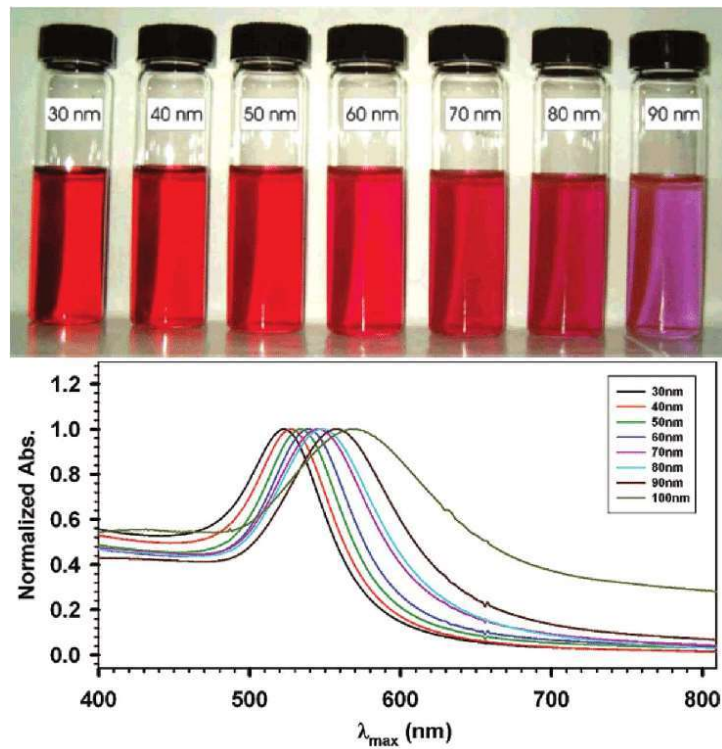
1.4. NANO VÀNG

Dựa trên các tạp chí khoa học và sử dụng database pubmed ([gold nanoparticles - Search Results - PubMed \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/)) – một trong những hệ thống

index công bố khoa học uy tín, vật liệu nano vàng đã và đang nhận được rất nhiều sự quan tâm nghiên cứu trong ngành khoa học vật liệu, số lượng các công bố khoa học liên quan đến nano vàng tăng đáng kể ở các năm trở lại đây.

Nano vàng mang hầu hết các tính chất của vật liệu vàng, nhưng khi ở kích thước nanometer, các tính chất này được khuếch đại và vượt trội hơn. Thế nên, các hạt AuNPs được phát hiện có những ứng dụng đột phá trong các lĩnh vực dược phẩm, điện tử, môi trường và nhiều lĩnh vực khác.

Năm 1857, Michael Faraday đã tạo ra các hạt nano vàng và nhận thấy vàng có cấu trúc nano phát ra màu đỏ. Faraday đã chứng minh các hạt nano vàng có kích thước khác nhau tạo ra dung dịch có màu sắc khác nhau (Hình 1.14) [24].



Hình 1.13. Màu sắc và phổ UV – Vis của các hạt nano vàng ở các kích thước khác nhau [25]

Màu sắc của dung dịch nano vàng có sự thay đổi theo hình dạng, kích thước và cả sự phân tán các hạt nano trong dung dịch tạo ra một đặc tính quang học đặc biệt được gọi là cộng hưởng plasmon bề mặt (surface plasmon resonance – SPR).

Với các hạt nano vàng nhỏ, hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt gây ra sự hấp thụ ánh sáng xanh (blue – green) trong dãy quang phổ (450 nm) trong

khi ánh sáng đỏ (700 nm) sẽ bị phản chiếu, tạo ra màu đỏ cho dung dịch nano vàng. Với kích thước nano vàng lớn hơn, bước sóng hấp thu sẽ dịch chuyển về vùng dài hơn, đỏ hơn, vì vậy kích nano vàng lớn hơn gây ra màu tím khi quan sát bằng mắt thường [25].

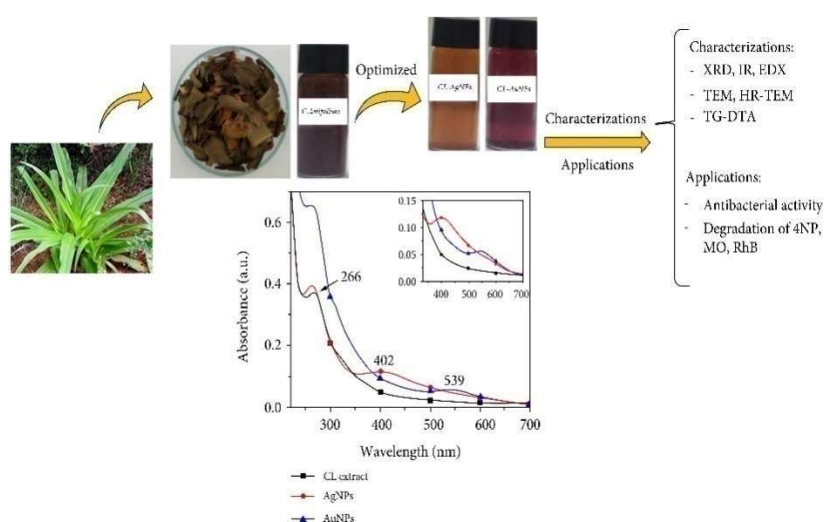
❖ *Một số nghiên cứu trong và ngoài nước*

Trong nước:

- Năm 2018, tác giả Nguyễn Thị Thanh Ngân cùng các cộng sự đã tổng hợp thành công nano vàng, bạc từ chiết xuất rễ cây Ngưu bàng (*Arctium Lappa*). Các hạt nano vàng, bạc tạo ra có dạng hình cầu với kích thước chưa đồng đều, có kích thước trung bình lần lượt là 24.7 nm và 21.3 nm [26].

- Năm 2018, tác giả Nguyễn Ngọc Khánh Anh cùng cộng sự đã nghiên cứu tổng hợp nano vàng từ dịch chiết của lá trà ứng dụng trong mỹ phẩm. Nano vàng tạo ra có dạng hình cầu kích thước trung bình 13.78 nm. Kết quả nghiên cứu cho thấy khi cho nano vàng vào kem nền không gây kích ứng da với hàm lượng nano vàng 7.55 ppm [27].

- Vào năm 2019, tác giả Nguyễn Thành Danh cùng cộng sự đã tổng hợp nano vàng với chiết xuất của lá Trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium*). Các hạt nano thu được có dạng hình cầu, tam giác, bát giác có đường kính trung bình là 17.6 nm. Khảo sát khả năng kháng khuẩn và xúc tác trong các phản ứng phân hủy các chất ô nhiễm cho kết quả khả quan (*Hình 1.15*) [29].



Hình 1.14. Tổng hợp nano vàng từ lá Trinh nữ hoàng cung [29]

Tác giả Vũ Đức Chinh và nhóm nghiên cứu đã tổng hợp thành công các hạt nano vàng liên kết với các ống nano cacbon nhiều lớp (Au – MWCNTs)

bằng cách sử dụng cysteaminium chloride thông qua sự hình thành liên kết Zwitterionic acide-base [28].

Năm 2023, Nguyễn Anh Thư và cộng sự đã thành công tổng hợp có kiểm soát các hạt nano vàng và tích hợp với titanium dioxide (AuNPs/TiO₂) để tăng cường hoạt động chống oxi hóa, bằng cách giảm các gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ở các nồng độ khác nhau. Kết quả mới lạ này của AuNPs/TiO₂ có thể tạo điều kiện cho các hạt nano đa chức trong các ứng dụng mỹ phẩm. [30]

Thế giới:

Nhóm nghiên cứu Polte, J. et al đã tổng hợp nano vàng bằng phương pháp khử với trisodium citrate ở nhiệt độ 75 °C. Và sử dụng SAXS (small-angle X-ray scattering) và XANES (X-ray absorption nearedge spectroscopy) để quan sát quá trình khử và sự hình thành hạt nano vàng, qua đó đề xuất cơ chế cho phản ứng [31].

Năm 2019, tác giả Thangamani và Bhuvaneshwari đã tổng hợp nano vàng từ dịch chiết lá Simarouba glauca, ứng dụng kháng khuẩn. Kết quả khảo sát cho thấy, khả năng kháng khuẩn đối với một số loại vi khuẩn như: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Proteus Vulgaris* [32].

Năm 2023, nhóm nghiên cứu của Perouza Parsamian đã tổng hợp và kiểm soát, cố định kích thước các hạt nano vàng dưới 10 nm trên bề mặt thiol biến đổi hóa học trên hạt giống virus Qβ [33].

❖ *Nano vàng ứng dụng trong cảm biến*

Nano vàng là vật liệu được nghiên cứu và ứng dụng từ rất lâu bởi các tính chất đặc biệt, được tạo ra bởi lớp plasmon bề mặt kim loại.

Hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) là sự dao động của điện tích tồn tại giữa hai môi trường có hằng số điện môi trái dấu dưới tác dụng của trường điện từ (ánh sáng) gây ra sự kích thích. Điển hình, khi ánh sáng chiếu vào các hạt nano vàng, các electron trên bề mặt nano vàng dao động, tạo ra điện từ trường dao động cùng tần số với ánh sáng. Những dao động này tạo ra một hiệu ứng màu sắc đặc biệt, vì cường độ và bước sóng của SPR phụ thuộc vào các yếu tố ảnh hưởng đến mật độ điện tích electron trên bề mặt hạt như loại

kim loại, kích cỡ hạt, hình dạng, cấu trúc,...[34]. Chính là lý do tại sao các hạt nano vàng có sự thay đổi màu sắc từ đỏ đến xanh lam.

Hiện tượng plasmon bề mặt được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như: cảm biến quang học, xúc tác phản ứng hóa học, ứng dụng của các hạt nano vàng vào dẫn thuốc, chụp chiếu sinh học hay chẩn đoán,...

Cảm biến quang học sử dụng hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt của các hạt AuNPs để định lượng các phân tử sinh hóa học, có thể đáp ứng khả năng cảm biến tại chỗ với độ nhạy và độ chính xác cao. Tính chất quang học của các hạt AuNPs có thể được ứng dụng cho cảm biến so màu để so sánh sự thay đổi màu của dung dịch khi có sự tương tác với các chất mục tiêu thông qua quá trình ngưng tụ hoặc liên kết với các chất trên bề mặt vật liệu. Quá trình này thường được ghi nhận bằng phương pháp đo quang phổ UV – Vis. Những cảm biến quang học dựa trên vật liệu AuNPs có thể được sử dụng để xác định nhiều chất hóa học khác nhau như: kim loại nặng, kháng sinh trong thực phẩm hoặc nước, ...

1.5. APTAMER

Aptamer (Apt) là các đoạn deoxyribonucleic acid (DNA) hoặc ribonucleic acid (RNA) chuỗi đơn, ngắn có chiều dài khoảng từ 10 – 100 nucleotide, được phát triển trong ống nghiệm bằng một quy trình lặp đi lặp lại rất rõ ràng, thông qua một quá trình tổng hợp tương tự như quá trình chọn lọc tự nhiên trong tiến hóa (systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX)) [35].

Aptamer được phát hiện từ khi phát minh ra quy trình SELEX năm 1990 bởi hai phòng thí nghiệm độc lập Ellington & Szostak và Tuerk & Gold [36, 37]. Aptamer có thể liên kết với các mục tiêu khác nhau như: kháng sinh, kim loại, hợp chất hóa học, protein, tế bào và vi sinh vật, ...

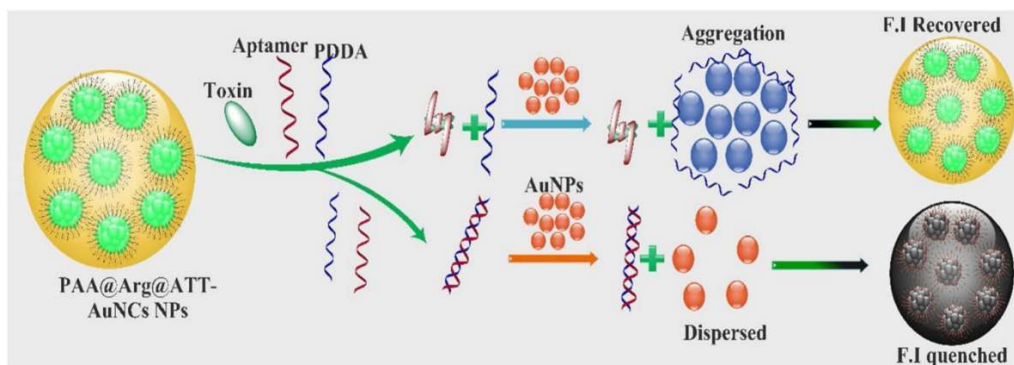
Khác với kháng thể (antibody), các aptamer có một số lợi thế hơn như: thời gian sử dụng dài, dễ dàng tổng hợp trong phòng thí nghiệm, quá trình tổng hợp cho phép tạo ra các aptamer với thời gian ngắn, chi phí sản xuất thấp, không bị biến đổi theo lô, khả năng sửa đổi cao hơn, ổn định nhiệt tốt hơn và tiềm năng mục tiêu cao hơn [38].

1.6. CẢM BIẾN APTAMER

Gần đây, aptamer đã thu hút sự chú ý trong lĩnh vực cảm biến sinh học như các yếu tố nhận dạng tín hiệu, vì ái lực liên kết cao của chúng đối với các mục tiêu cụ thể như protein, tế bào, phân tử nhỏ và thậm chí cả ion kim loại, kháng thể khó thu được. Ngoài ái lực liên kết cao, aptamer có thể dễ dàng chức năng hóa và thiết kế, cung cấp một số chế độ tín hiệu như đo màu, huỳnh quang và điện hóa, được gọi chung là aptasensor [39].

❖ *Cảm biến aptamer huỳnh quang*

Cảm biến aptasensor dựa trên huỳnh quang được đặc trưng bởi độ nhạy cao, phạm vi phát hiện lớn, khả năng ghép kênh, xét nghiệm nhanh và khả năng chọn lọc cao của aptamer cho một số mục tiêu, dựa trên sự tích hợp của cả vật liệu huỳnh quang (thuốc nhuộm fluorophore và các hạt nano huỳnh quang như hạt nano chuyển đổi). Aptamer huỳnh quang được thực hiện thông qua các giao thức thử nghiệm "tín hiệu bật" hoặc "tắt tín hiệu". Các hoạt động này dựa trên sự chênh lệch trong phản ứng huỳnh quang [39].



Hình 1.15. Cảm biến aptamer huỳnh quang dựa trên vật liệu $PAA@Arg@ATT-AuNCs$ NPs [40]

Năm 2020, Byunghwa Kang và cộng sự đã nghiên cứu cảm biến sinh học phát hiện trichothecene mycotoxin (trichothecenes A, T – 2) bằng cách sử dụng $PAA@Arg@ATT-AuNCs$ NPs làm đầu dò tín hiệu, aptamer T – 2 làm yếu tố nhận dạng. Trong trường hợp không có mục tiêu, tương tác tĩnh điện của phức hợp aptamer – poly (diallyldimethylammonium chloride) (PDDA) ngăn chặn sự kết hợp của AuNPs. Các AuNPs tán xạ (độ hấp thụ ở 520 nm) làm giảm cường độ huỳnh quang (fluorescence intensity, F.I) của NP $PAA@Arg@ATT-AuNCs$ (phát xạ ở 530 nm). Việc bổ sung mục tiêu dẫn đến các tổ hợp độc tố –

aptamer và PDDA làm các hạt nano AuNPs bị kết tụ (độ hấp thụ ở 665 nm), từ đó F.I của hệ PAA@Arg@ATT-AuNCs NPs được thu hồi. [40].

❖ *Cảm biến aptamer điện hóa*

Aptasensor điện hóa được chế tạo bằng cách sử dụng aptamer làm thụ thể sinh học và đầu dò điện hóa, ái lực mục tiêu – aptamer được biến đổi thành tín hiệu điện hóa, có thể đo được thông qua biến trở chia áp (chiết áp), vôn kế, ampe kế, trở kháng hoặc điện hóa phát quang.

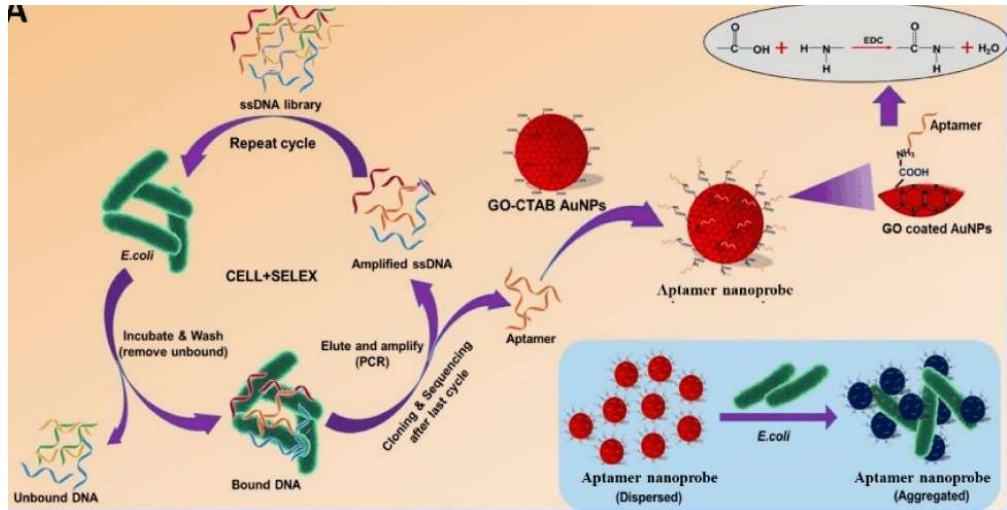
Các cảm biến aptasensor điện hóa được sửa đổi với các vật liệu nano khác nhau như: vật liệu nano dựa trên carbon, khung hữu cơ kim loại (MOFs), ... Aptamer được cố định trên bề mặt điện cực thông qua tương tác $\pi - \pi$, tương tác biotin – avidin, tự lắp ráp thiol – vàng và phản ứng cộng hóa trị carboxyl – amin, ... [39].

Aptasensor điện hóa chủ yếu phụ thuộc vào các tương tác xảy ra trên bề mặt đầu dò, do phản ứng cảm ứng giữa mục tiêu và aptamer cụ thể của nó cung cấp tín hiệu điện hóa. Một số aptasensor điện hóa đã được cung cấp để phát hiện một số mục tiêu chẳng hạn như: ampicillin, virus cúm gia cầm (H5N1), Pb^{2+} , Hg^{2+} , insulin, ... [39].

❖ *Cảm biến aptamer đo màu*

Trong số các tín hiệu nhận dạng xét nghiệm có sẵn, các phương pháp đo màu được coi là đơn giản và hiệu quả với tiềm năng lớn trong chẩn đoán tại chỗ, vì các phản ứng phát hiện có thể phân biệt đơn giản bằng mắt thường qua các kỹ thuật dụng cụ đơn giản, chi phí thấp và hiệu quả. Cảm biến sinh học đo màu dựa trên aptamer đã chứng minh độ nhạy và tính chọn lọc của chúng, ngoài tiềm năng hiệu quả để chẩn đoán nhanh tại chỗ mà không cần thiết bị phức tạp.

Vật liệu nano kim loại, đặc biệt là AuNPs và nano bạc (AgNPs) là những đầu dò tín hiệu tuyệt vời để phân tích màu do tính chất quang học quan trọng của chúng liên quan đến kích thước hạt, phân bố kích thước và hình dạng. Các đặc tính cộng hưởng plasmon bề mặt của AuNPs và AgNPs góp phần đáng kể vào việc tạo tín hiệu đo màu [39].



Hình 1.16. Cảm biến AuNPs – aptamer nhận biết vi khuẩn *Escherichia coli* [41]

Ritika Gupta và cộng sự, vào năm 2021 đã đề xuất phát hiện nhanh chóng, dễ dàng và hiệu quả về chi phí bằng mắt thường đối với xét nghiệm vi khuẩn *E. coli* dựa trên tổng hợp của AuNPs. Trong thử nghiệm này, các AuNPs được bao phủ bởi graphene oxide (GO) và liên kết với một aptamer cụ thể cho vi khuẩn *E. coli*, thiết lập một bề mặt ổn định xung quanh AuNPs. Với sự hiện diện của mục tiêu *E. coli*, sự tương tác cạnh tranh aptamer – *E. coli* với AuNPs xảy ra, gây ra sự kết tụ của AuNPs, dẫn đến thay đổi màu sắc rõ rệt từ đỏ sang xanh lam (Hình 1.16) [41].

1.7. CẢM BIẾN NANO VÀNG – APTAMER

Trong những năm qua, việc tích hợp các aptamer chức năng vào vật liệu nano đã trở thành một lĩnh vực liên ngành mới, nhằm mục đích cung cấp các hệ thống cảm biến lai (cảm biến) mới để nhận dạng phân tử cụ thể. Sự tích hợp mới lạ này đã mang lại nhiều loại cảm biến khác nhau, để phát hiện nhanh chóng và có chọn lọc với nhiều loại chất phân tích như: adenosine, cocaine, ion thủy ngân và trombin. Trong số các cảm biến nano dựa trên aptamer đã phát triển, các nano kim loại như nano vàng và nano bạc được sử dụng phổ biến nhất.

Các hạt nano vàng thường được sử dụng để phát hiện các mục tiêu cụ thể, dựa trên sự thay đổi màu sắc. Trong đó, AuNPs được sử dụng để cố định với aptamer, xây dựng aptasensor đo màu vì các tính năng độc đáo bao gồm: tổng hợp đơn giản, tính chất quang học, hiệu ứng plasmon bề mặt, dẫn nhiệt và điện

tử độc đáo. Cùng với đó, diện tích bề mặt riêng lớn tạo điều kiện cho nhiều sự hấp phụ của các đại phân tử sinh học lên bề mặt AuNPs thông qua tương tác tĩnh điện, bảo vệ chúng chống lại sự kết tụ và trở thành một đầu dò tín hiệu tốt để xây dựng aptasensor.

Dựa trên khả năng đo màu độc đáo của cộng hưởng plasmon bề mặt phụ thuộc khoảng cách của các hạt AuNPs, rất nhiều chiến lược xét nghiệm sinh học đo màu không nhãn đã được phát triển. Sự thay đổi màu sắc của AuNPs cực kỳ nhạy với sự phân tán và kết tụ của chúng trong dung dịch, bao gồm sự thay đổi hiệu ứng plasmon giữa các hạt [42].

Trong hệ cảm biến nano vàng – aptamer (AuNPs/Apt), AuNPs được sử dụng như một chất đánh dấu dựa trên độ nhạy của lớp điện tử plasmon và Apt như một chất làm bền. AuNPs/Apt hoạt động dựa trên sự kết tụ trong dung dịch của các hạt nano vàng. Khi không có chất mục tiêu, AuNPs /Apt phân tán trong dung dịch và có màu đỏ (màu của nano vàng hình cầu), khi có chất mục tiêu, các aptamer cùng với AuNPs liên kết, trải qua một sự thay đổi cấu trúc. Aptamer liên kết với chất mục tiêu, AuNPs được giải hấp ra các chuỗi Apt và tiếp xúc trực tiếp với tác nhân làm ngưng tụ, từ đó thay đổi màu dung dịch từ đỏ sang xanh lam/tím. Sự thay đổi cường độ màu có thể được quan sát thông qua phổ UV – Vis _ một thiết bị phổ biến trong phòng thí nghiệm.

Trong nhiều năm trở lại đây, hệ cảm biến này được sử dụng rộng rãi trên thế giới cũng như ở Việt Nam để định lượng nhiều chất hóa học khác nhau như kim loại nặng, thuốc bảo vệ thực vật, kháng sinh, ...

❖ *Một số nghiên cứu trong và ngoài nước*

Trong nước:

Năm 2016, nhóm nghiên cứu của Đồng Huy Giới và cộng sự đã nghiên cứu thành công cảm biến từ nano vàng và aptamer chức năng để phát hiện nhanh ion thủy ngân trong nước [43].

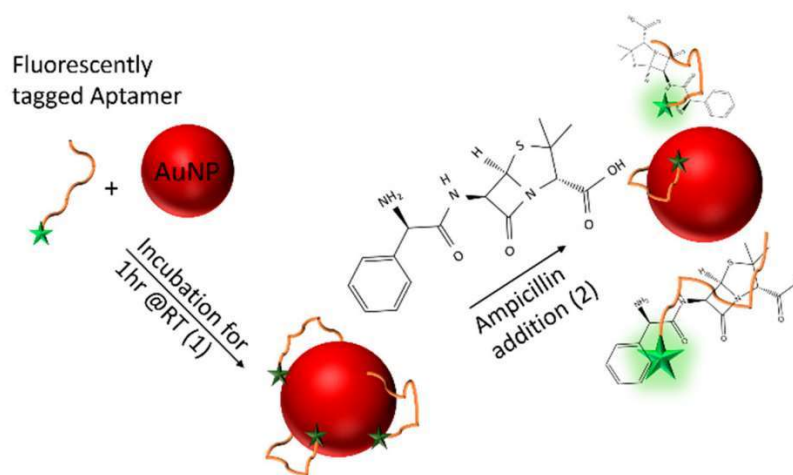
Tác giả Nguyễn Hoàng Dũng cùng các cộng sự của mình vào năm 2018, ở Viện Kỹ thuật Công nghệ cao Nguyễn Tất Thành, Đại học Nguyễn Tất Thành đã nghiên cứu thành công phương pháp phát hiện nhanh streptomycin bằng aptamer và hạt nano vàng. Giới hạn phát hiện nồng độ kháng sinh là 0.25 μM [44].

Năm 2023, với sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Thành Danh, học viên cao học Huỳnh Phạm Quốc Duy Trường Đại học Tôn Đức Thắng và nhóm nghiên cứu đã thành công trong việc phát triển cảm biến quang học với đề tài thạc sĩ: “Tổng hợp điều khiển kích thước nano vàng hình sao và nghiên cứu phát triển cảm biến quang học đối với iodobenzene”. Bài luận văn đã nghiên cứu một phương pháp tổng hợp AuNS mới trong nước với sự hỗ trợ của chất hoạt động bề mặt tween 80 được phát triển dựa trên quy trình nuôi mầm. Cuối cùng, thí nghiệm cho thấy rằng AuNS tổng hợp có khả năng phản ứng thay đổi hình dạng với iodobenzene từ dạng sao sang dạng cầu giúp phát triển một cảm biến quang học định lượng iodobenzene bằng phương pháp UV-Vis, giới hạn phát hiện LOD = 21 μM [45].

Thế giới:

Năm 2011, nhóm nghiên cứu của Kyung – Mi Song đã thành công trong việc sử dụng nano vàng ứng dụng vào phát triển cảm biến so màu phát hiện kanamycin dưới 25 nM sử dụng aptamer [46].

Năm 2020, Matthew D. Simmons và cộng sự đã nghiên cứu thành công hệ cảm biến aptamer phát hiện ampicillin trong nước tiểu. Nhóm nghiên cứu đã sử dụng chuỗi aptamer có nhóm phát quang. Với kết quả phát hiện kháng sinh thấp nhất là 20.6 nM (*Hình 1.17*) [47].



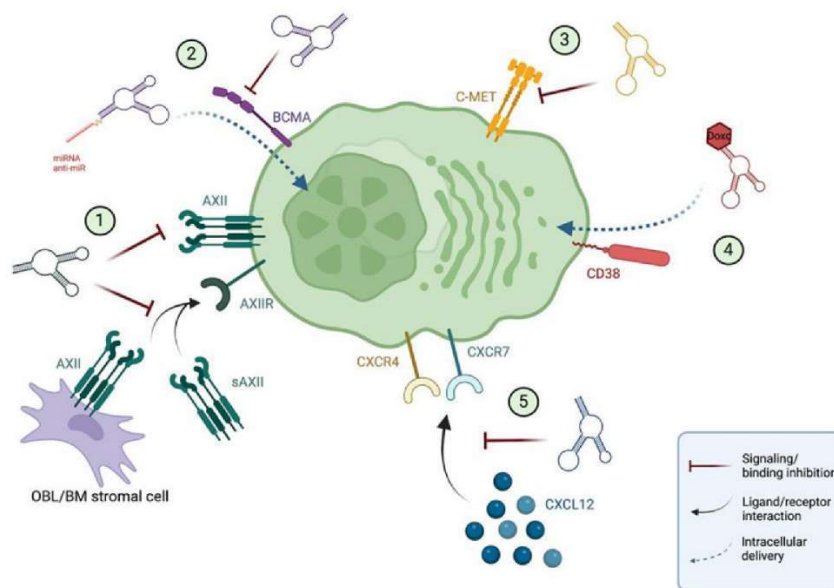
Hình 1.17. Cảm biến ampicillin bằng AuNPs và aptamer phát quang [47]

Một nghiên cứu của Tarun Kumar Sharma và cộng sự cũng đã phát triển cảm biến trên các hạt nano vàng và aptamer phát hiện kanamycin. Nghiên cứu dựa trên quá trình oxi hóa hợp chất không màu 3,3',5,5' – tetramethylbenzidine

(TMB) bằng các hạt nano vàng thành hợp chất có màu (ox – TMB). Khi không có sự hiện diện của kanamycin trong hệ cảm biến, việc ngăn chặn bề mặt nano vàng thông qua aptamer dẫn đến việc ức chế quá trình oxi hóa TMB, do đó không gây ra sự thay đổi màu sắc. Ngược lại khi có sự hiện diện kanamycin, các chuỗi aptamer tách ra khỏi bề mặt các hạt nano vàng và gắn kết với kanamycin. Sau đó, bật lại hoạt động xúc tác của nano vàng cho quá trình oxi hóa TMB thành sản phẩm màu [48].

Ying Gana và các cộng sự đã thiết lập thành công hệ thống định lượng nhanh nồng độ cadmium bằng smartphone (một ion kim loại độc tính cao trong nước) dựa trên nền tảng nano vàng biến tính bề mặt với aptamer (aptamer – AuNPs) [49].

Năm 2022, tác giả Ane Amundarain cùng các cộng sự của mình ở Trung tâm Nghiên cứu Y học Ứng dụng (CIMA), IDISNA, Đại học Navarra, Tây Ban Nha đã nghiên cứu thành công một cơ hội trị liệu mới trong điều trị đa tủy từ aptamer (*Hình 1.18*) [50].



Hình 1.18. Các loại aptamer liên kết đặc hiệu với các thụ thể bệnh đa tủy [50]

Cũng vào năm 2022, nhóm nghiên cứu Weidao Yu đã đề xuất hệ cảm biến aptasensor huỳnh quang để phát hiện ampicillin dựa trên các chấm lượng tử CdTe và các hạt nano vàng. Phạm vi xác định nồng độ kháng sinh từ 0.04 – 20 μM , giới hạn phát hiện là 18 nM [51].

Mohammed Alhindawi và các cộng sự, năm 2024, đã nghiên cứu và xây dựng cảm biến sinh học điện hóa để phát hiện *Giardia intestinalis* trophozoite protein với giới hạn phát hiện 0.35 pg/mL. Khoảng nồng độ được xác định từ 0.1 pg/mL đến 100 ng/mL [52].

Nhóm nghiên cứu của tác giả Mingwei Qin vào năm 2024 đã nghiên cứu hệ cảm biến với aptamer sửa đổi, sử dụng phương pháp phân tích trên giấy để phát hiện các chất độc có trong thực phẩm [53].

Năm 2024, Masoomah Esmaelpourfarkhani cùng cộng sự đã nghiên cứu và tổng hợp thành công hệ cảm biến phát hiện kháng sinh ampicillin trên nền vật liệu nano MnO₂ hình hoa, AuNPs, aptamer và hợp chất không màu 3,3',5,5' – tetramethylbenzidine (TMB). Kết quả cho thấy hệ cảm biến phát hiện được nồng độ ampicillin từ 70 pM đến 10 nM. Nồng độ thấp nhất hệ có thể phát hiện được kháng sinh ampicillin là 21.7 pM [54].

Qua các nghiên cứu cho thấy, cảm biến nano vàng và aptamer đang là một giải pháp hiệu quả cho các công cụ chuẩn đoán và cảm biến đo màu. Đặc biệt, việc ứng dụng hệ cảm biến AuNPs/Apt để định lượng nhiều chất hóa học khác nhau bao gồm kim loại nặng, thuốc bảo vệ thực vật, kháng sinh, ... Cùng với đó là tình trạng kháng kháng sinh đang ở mức báo động, ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng cuộc sống. Nguyên nhân chủ yếu đến từ hàm lượng dư lượng kháng sinh trong thực phẩm nông nghiệp và chăn nuôi. Vì vậy, việc phát hiện và kiểm soát hàm lượng kháng sinh trong thực phẩm là nhu cầu cấp bách để giải quyết tình trạng kháng kháng sinh ở con người và động vật. Các phương pháp phát hiện hàm lượng kháng sinh hiện nay có giá thành cao, cần chuyên viên kỹ thuật, hoặc các bộ test chỉ có khả năng định tính. Với tất cả các nguyên nhân, yếu tố trên, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: “*Nghiên cứu chế tạo cảm biến nano vàng – aptamer và ứng dụng trong xác định hàm lượng kháng sinh*”, nhằm đóng góp vào các công trình nghiên cứu phát hiện kháng sinh.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

❖ *Đối tượng nghiên cứu*

Dung dịch tetrachloroauric (III) acid được sử dụng làm tiền chất tổng hợp nano vàng. Aptamer và kháng sinh ampicillin.

❖ *Phạm vi nghiên cứu*

- Tổng hợp nano vàng.
- Chế tạo hệ cảm biến nano vàng – aptamer.
- Khảo sát các điều kiện tổng hợp hệ cảm biến nano vàng – aptamer (AuNPs/Apt).
- Nghiên cứu tính chất lý hóa của hệ nano vàng – aptamer.
- Xây dựng đường chuẩn định lượng hàm lượng kháng sinh và xác định giá trị giới hạn phân tích sử dụng thiết bị cảm biến UV – Vis trong phòng thí nghiệm và thiết bị so màu di động.
- Nghiên cứu định lượng kháng sinh trên mẫu thật.

2.2. DỤNG CỤ, HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ

2.2.1. Dụng cụ

Bảng 2.1. Dụng cụ

Tên	Quy cách
Chai thủy tinh chứa mẫu	3 mL, 10 mL, 20 mL
Bình định mức	5 mL, 100 mL
Pipet vạch	5 mL, 10 mL
Micropipette	2 – 20 μ L, 10 – 100 μ L, 20 – 200 μ L, 100 – 1000 μ L
Cá từ	1 – 1.5 cm

2.2.2. Hóa chất

Bảng 2.2. Hóa chất

STT	Hóa chất	Công thức phân tử	Xuất xứ
1	Tetrachloroauric (III) acid trihydrate	$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Acros
2	Trisodium citrate dihydrate	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Acros
3	Aptamer	5'GCGGGCGGTTGTATAGCGC'3	Việt Nam
4	Ampicillin	$\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$	Acros
5	Sodium chloride	NaCl	Việt Nam
6	Nước cất 2 lần	H_2O	Việt Nam

2.2.3. Thiết bị

Các thiết bị được sử dụng trong quá trình nghiên cứu có sẵn ở phòng thí nghiệm Công nghệ Hoá dược – Môi trường – Viện Công nghệ Hoá học.

Bảng 2.3. Thiết bị

STT	Thiết bị	Model	Xuất xứ
1	Cân phân tích kỹ thuật	Practum224-1S, Sartorius	Đức
2	Máy khuấy từ gia nhiệt	Heating Magnetic Stirrer – VELP Scientifica	Italy
3	Tủ sấy	UNB 160, Memmert	Đức
4	Tủ lạnh	MDF – U33V, PHC – Corporation	Nhật Bản
5	Quang phổ hấp thụ hồng ngoại (UV – Vis/NIR)	UV – Vis/NIR, V-770, JASCO	Nhật Bản

6	Máy ly tâm lạnh tốc độ cao	Z32 HK, Hermle	Đức
---	----------------------------	----------------	-----

Máy so màu di động được nghiên cứu và chế tạo tại khoa Trí tuệ nhân tạo và Khoa học dữ liệu, Phân hiệu Trường Đại học Thủy Lợi, Việt Nam.

Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM), HRTEM – SAED, STEM – Mapping được đo trên thiết bị JEOL JEM1400 (Nhật Bản), Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.

Phổ hồng ngoại biến đổi fourier (FT – IR) được đo trên máy Bruker Tensor 27 (Đức), Viện Công nghệ Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Kích thước hạt DLS và thế zeta được đo trên thiết bị SZ – 100 HORIBA, Viện Công nghệ Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

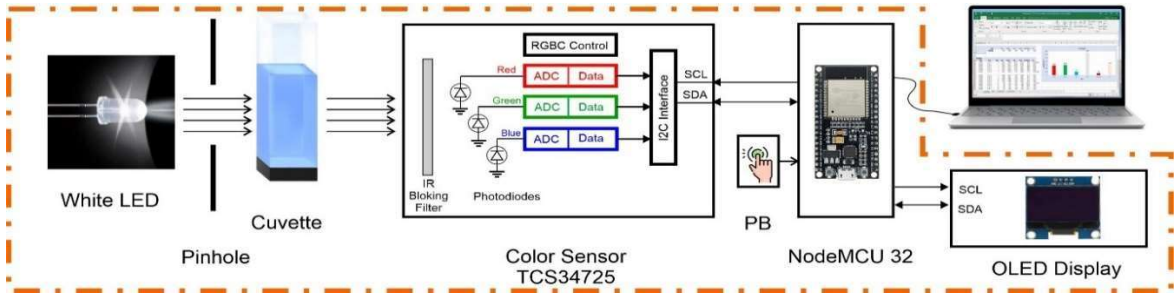
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phương pháp quang phổ UV – Vis

Quang phổ UV – Vis (ultraviolet – visible spectroscopy) là phương pháp phân tích quang học sử dụng để đo độ hấp thụ ánh sáng trong vùng tia tử ngoại và ánh sáng nhìn thấy ở dạng dung dịch, rắn hoặc màng. Mức độ hấp thụ ánh sáng của mẫu phụ thuộc vào thuộc tính cấu trúc hóa học và nồng độ của nó. Quang phổ UV – Vis thường được sử dụng trong các phân tích thuộc lĩnh vực dược phẩm, môi trường, nước thải, thức ăn, dầu mỡ và hoá chất, ...[55].

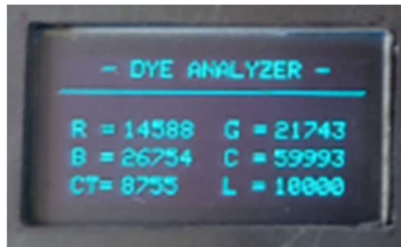
2.3.2. Phương pháp so màu di động

Máy so màu (colorimeter) di động là một loại thiết bị so cường độ màu sắc, sử dụng lý thuyết tam sắc để đánh giá một cách khách quan về đặc điểm màu sắc khi ánh sáng trắng đi qua, bộ lọc của 3 màu: đỏ (red – R), lục (green – G) và lam (blue – B).

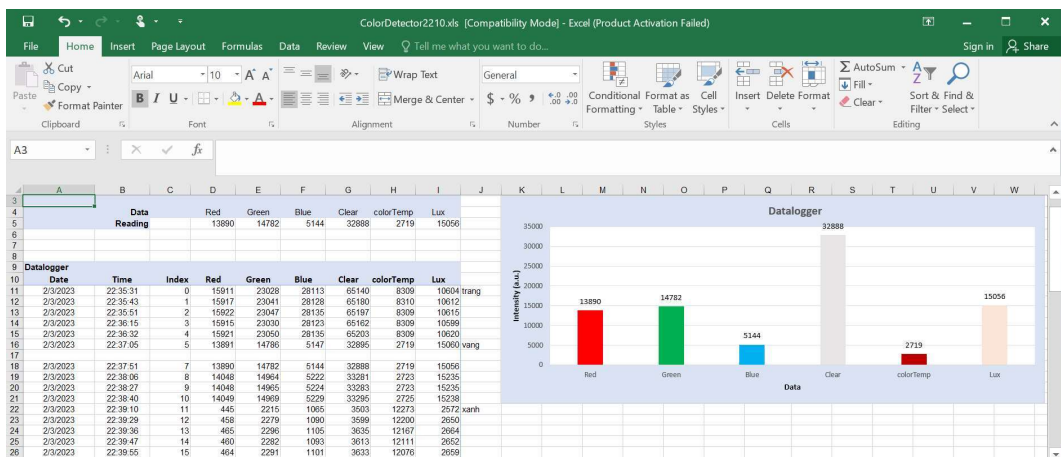


Hình 2.1. Nguyên lý hoạt động thiết bị so màu di động

Nguyên lý hoạt động của thiết bị so màu (Hình 2.1) được đề xuất. Dung dịch trong cuvet được chiếu sáng bằng đèn LED (ánh sáng trắng). Sử dụng bộ chuyển đổi kỹ thuật số Light – To – Digital (TCS34725) với bộ lọc hồng ngoại cho phép cảm biến ánh sáng và màu sắc chính xác của dung dịch mẫu, cung cấp kết quả kỹ thuật số của các giá trị cảm biến ánh sáng đỏ, lục, lam (red – R, green – G, blue – B). Bộ chuyển đổi TCS3472 kết nối trực tiếp với điều khiển NodeMCU32 và giao tiếp qua giao thức I2C. Điều khiển NodeMCU32 là mô-đun trung tâm điều khiển, nhận đầu vào từ cảm biến màu và cung cấp đầu ra hiện thị giá trị RGB trên thiết bị OLED (Hình 2.2) hoặc thể hiện trên phần mềm tương ứng (Microsoft Excel cải tiến) (Hình 2.3) [56].



Hình 2.2. Giá trị RGB được hiển thị trên thiết bị OLED.

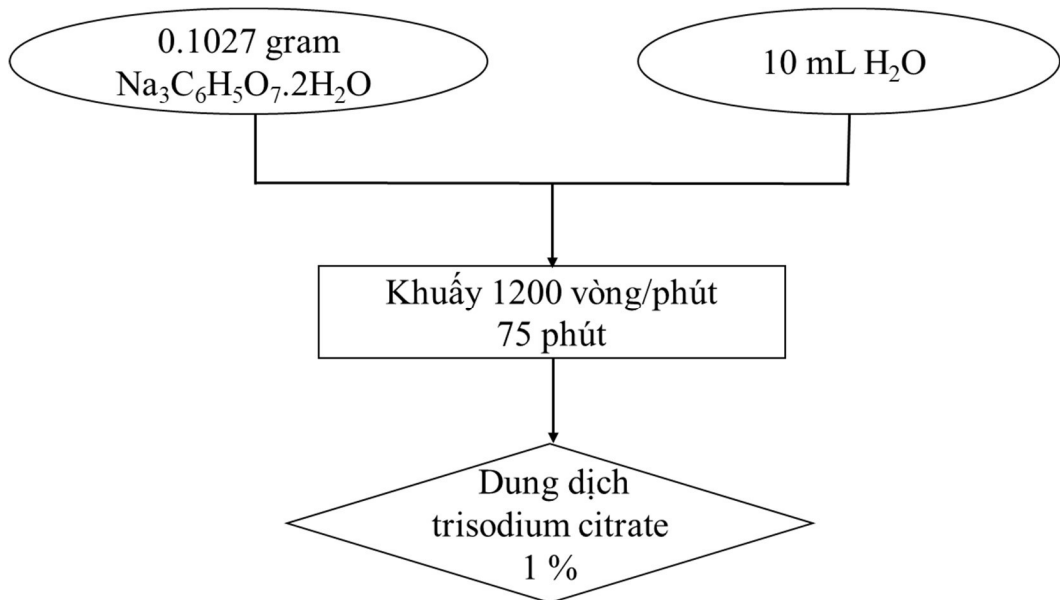


Hình 2.3. Các giá trị RGB hiển thị trên Microsoft Excel

Máy so màu di động được thiết kế nhỏ gọn, giá thành hợp lý, tiêu thụ năng lượng thấp, ... Thao tác sử dụng máy đơn giản, tiết kiệm thời gian hướng dẫn và thực hiện.

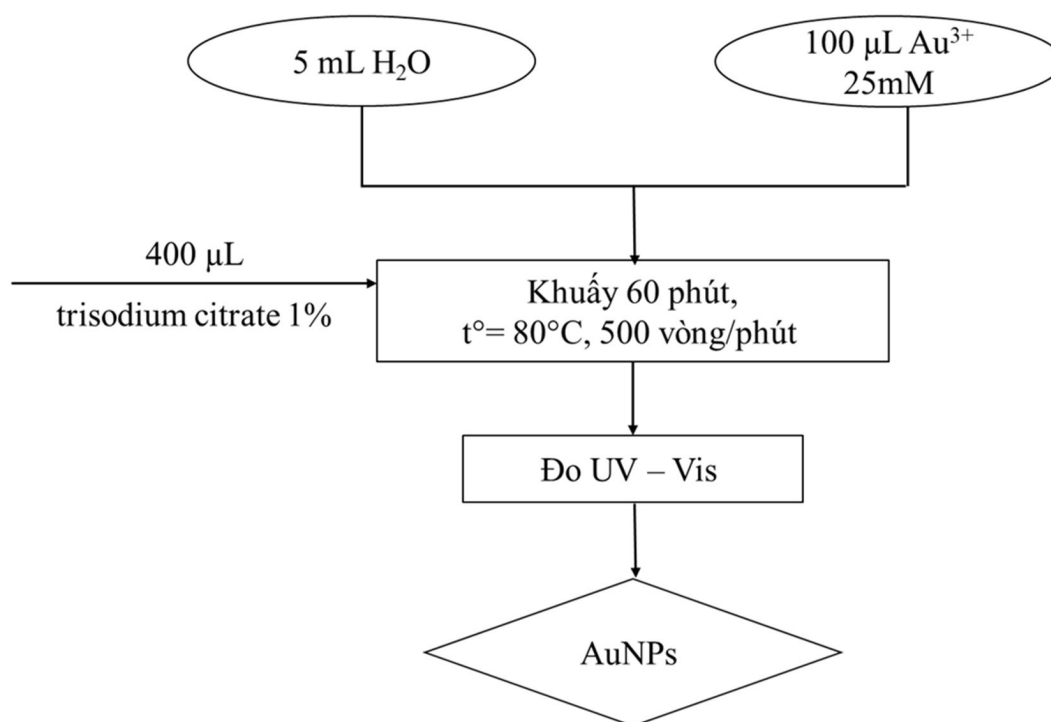
2.4. PHƯƠNG PHÁP TỔNG HỢP NANO VÀNG HÌNH CẦU

Nano vàng hình cầu là hình dạng cơ bản của nano vàng, được tổng hợp bằng phương pháp khử Au^{3+} thành Au^0 . Qua các nghiên cứu, phương pháp khử Au^{3+} từ dung dịch trisodium citrate 1 % mang đến hiệu suất cao, kích thước hạt đồng đều và ổn định với độ lặp lại cao [21]. Vì vậy, phương pháp này được lựa chọn trong tổng hợp hạt nano vàng hình cầu.



Hình 2.4. Quy trình chuẩn bị dung dịch trisodium citrate 1%

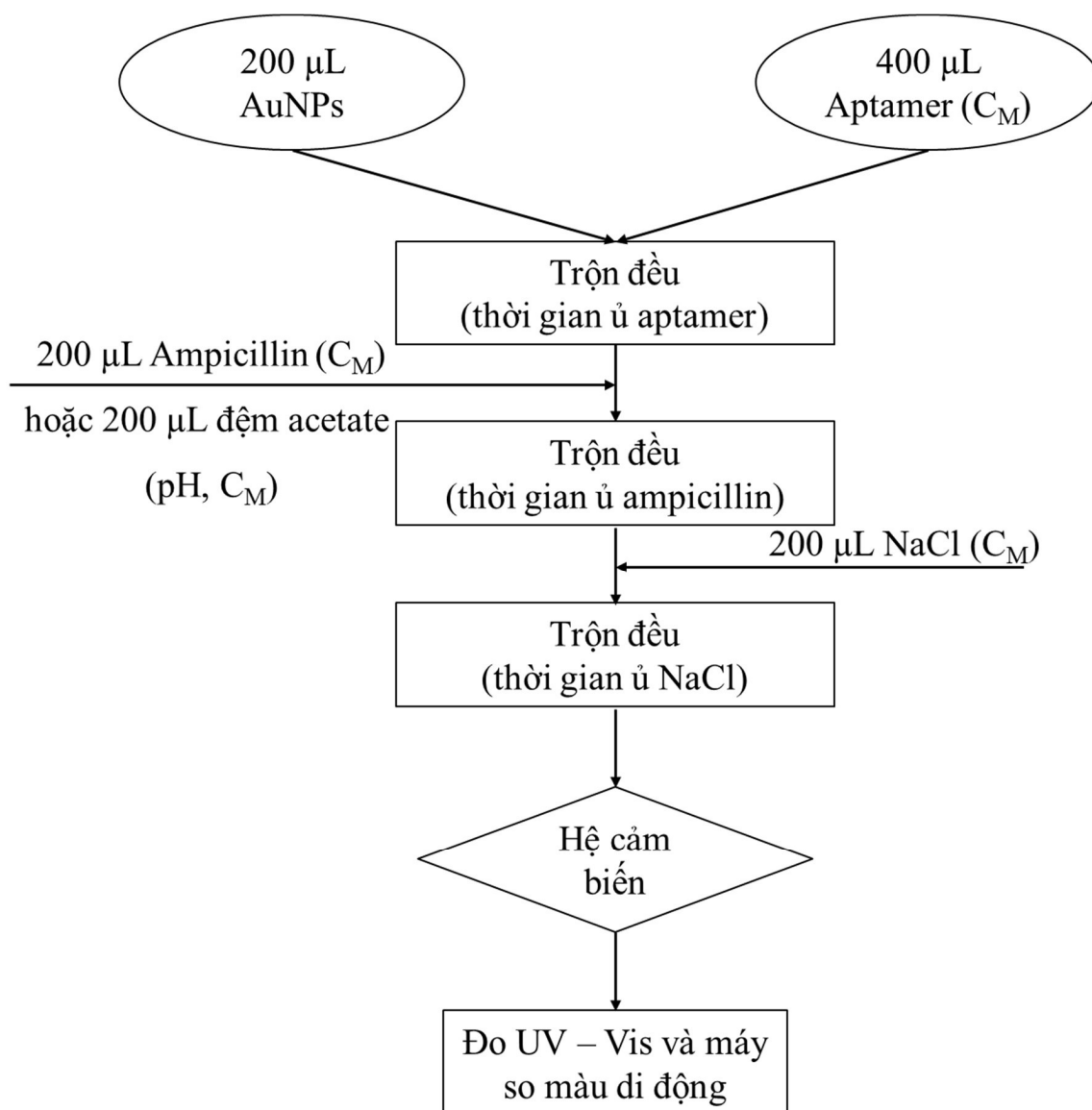
Dung dịch trisodium citrate 1% được chuẩn bị như sau: cân chính xác 0.1027 gram trisodium citrate dihydrate dạng rắn và 10 mL nước cất khuấy với tốc độ 1200 rpm trong 1 giờ 15 phút (Hình 2.4).



Hình 2.5. Quy trình tổng hợp nano vàng hình cầu

Dung dịch tetrachloroauric (III) acid trihydrate (HAuCl₄.3H₂O) 25 mM được sử dụng trong tổng hợp nano vàng hình cầu. 100 μL dung dịch HAuCl₄.3H₂O 25 mM và 5 mL nước cất được khuấy tại 80 °C. Sau đó, thêm 400 μL dung dịch trisodium citrate 1 %, khuấy 500 vòng/phút trong 60 phút và phản ứng được thực hiện tránh ánh sáng [21]. Kết quả thu được dung dịch AuNPs có màu đỏ rơm và được kiểm tra bằng phương pháp quang phổ UV – Vis (Hình 2.5).

2.5. QUY TRÌNH NGHIÊN CỨU HỆ CẢM BIẾN AuNPs – APTAMER



Hình 2.6. Quy trình chế tạo hệ cảm biến AuNPs/Apt

Hệ cảm biến nano vàng – aptamer phát hiện kháng sinh chế tạo theo quy trình được nghiên cứu như (Hình 2.6)

2.5.1. Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate

Việc kiểm soát nồng độ dung dịch đệm acetate giúp ổn định cấu trúc aptamer và bảo vệ kháng sinh ampicillin hiện diện trong hệ cảm biến.

Dung dịch đệm acetate sử dụng trong thí nghiệm khảo sát được chuẩn bị ở các nồng độ khác nhau, lần lượt là: 0.02 M, 0.025 M, 0.033 M, 0.05 M, 0.1 M và 0.2 M với giá trị pH là 5.

Aptamer 2 μM, kháng sinh ampicillin 0.5 mg/mL và dung dịch sodium chloride (NaCl) 0.35 M được sử dụng trong quá trình khảo sát nồng độ.

Ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong các dung dịch đệm acetate có nồng độ khác nhau.

Thí nghiệm 1: Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate không ampicillin

Quy trình thực hiện: 200 μ L dung dịch AuNPs và 400 μ L aptamer 2 μ M được thêm vào chai thủy tinh 3 mL, dung dịch được trộn lẫn trong 15 phút. Tiếp tục, 200 μ L dung dịch đệm acetate với các nồng độ khác nhau được thêm vào hỗn hợp trên và hòa trộn 15 phút. Sau đó, 200 μ L dung dịch NaCl 0.35 M được thêm vào (Bảng 2.4). Sau 15 phút các mẫu khảo sát được đo bằng phương pháp quang phổ UV – Vis và máy so màu di động.

Bảng 2.4. Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate không có ampicillin

Dung dịch đệm acetate pH = 5		Thể tích AuNPs (μ L)	Thể tích aptamer 2 μ M (μ L)	Thể tích NaCl 0.35 M (μ L)
Nồng độ (M)	Thể tích (μ L)			
0.020	200	200	400	200
0.025				
0.033				
0.050				
0.100				
0.200				

Thí nghiệm 2: Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate có ampicillin

Quy trình thực hiện như sau: Đầu tiên, 200 μ L dung dịch AuNPs và 400 μ L aptamer 2 μ M được kết hợp trong chai thủy tinh chứa mẫu 3 mL trong 15 phút. Tiếp theo, 200 μ L dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL đã được chuẩn bị trong các hệ đệm acetate có nồng độ khác nhau được thêm vào hỗn hợp và hòa trộn trong 15 phút. Sau đó, 200 μ L dung dịch NaCl 0.35 M tiếp tục được bổ sung và tương tác với hệ cảm biến 15 phút (Bảng 2.5). Cuối cùng, các mẫu khảo sát được kiểm tra bằng phương pháp quang phổ UV – Vis và máy so màu di động.

Bảng 2.5. Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate có ampicillin

Ampicillin 0.5 mg/mL		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer 2 μM (μL)	Thể tích NaCl 0.35 M (μL)
Nồng độ (M)	Thể tích (μL)			
0.020	200	200	400	200
0.025				
0.033				
0.050				
0.100				
0.200				

2.5.2. Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate

Giá trị pH là thang đo giúp xác định độ acid hoặc bazơ của một dung dịch. Giá trị pH của dung dịch đệm acetate có trong hệ cảm biến tác động đáng kể đến hoạt động của ampicillin và aptamer. Vì vậy, việc duy trì một giá trị pH ổn định là quan trọng khi tiến hành các thí nghiệm liên quan hệ cảm biến aptamer.

Dung dịch đệm acetate được chuẩn bị ở các giá trị pH khác nhau, lần lượt là: 2, 3, 4, 5, 6, và 7 với nồng độ thích hợp đã được khảo sát ở (2.4.1)

Kháng sinh ampicillin 0.5 mg/mL, aptamer 2 μM và dung dịch natri chloride 0.35 M được sử dụng trong quá trình khảo sát, tìm kiếm giá trị pH thích hợp cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer. Chuẩn bị dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL trong các hệ đệm acetate với nồng độ thích hợp và các giá trị pH khác nhau.

Thí nghiệm 3: Khảo sát giá trị pH của dung dịch đệm acetate khi hệ cảm biến không có ampicillin

Quy trình thực hiện: 200μL AuNPs và 400 μL aptamer 2 μM lần lượt được thêm vào chai thủy tinh dung tích 3 mL, trộn đều trong 15 phút. Tiếp theo, 200 μL dung dịch đệm acetate với các giá trị pH khác nhau có nồng độ thích hợp được phối vào. Sau khi trộn đều hỗn hợp AuNPs/Apt và dung dịch đệm acetate trong 15 phút, 200 μL dung dịch NaCl 0.35 M được bổ sung và tương tác 15 phút với hỗn hợp trên (Bảng 2.6). Cuối cùng, tiến hành đo quang phổ UV – Vis

và máy so màu di động của các mẫu khảo sát, so sánh sự ảnh hưởng giá trị pH của dung dịch đệm acetate đến hệ cảm biến và xác định giá trị pH thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 2.6. Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate khi hệ cảm biến không có ampicillin

Dung dịch đệm acetate với nồng độ thích hợp		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer 2 μM (μL)	Thể tích NaCl 0.35 M (μL)
Giá trị pH	Thể tích (μL)			
2.0	200	200	400	200
3.0				
4.0				
5.0				
6.0				
7.0				

Thí nghiệm 4: Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate khi hệ cảm biến có ampicillin

Quy trình thực hiện: Đầu tiên, 200 μL AuNPs và 400 μL aptamer 2 μM tuần tự được đưa vào chai thủy tinh 3 mL, hỗn hợp được trộn lẫn trong 15 phút. Sau đó, 200 μL dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL đã được chuẩn bị trong các hệ đệm acetate với các giá trị pH: 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 và 7.0 được kết hợp và hòa trộn trong 15 phút. Tiếp tục, 200 μL dung dịch NaCl 0.35 M được thêm vào và tương tác 15 phút với hỗn hợp trên (Bảng 2.7). Cuối cùng, sử dụng máy đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động cho lần lượt các mẫu để tiến hành so sánh và xác định giá trị pH thích hợp.

Bảng 2.7. Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate khi hệ cảm biến có ampicillin

Ampicillin 0.5 mg/mL		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer 2 μM (μL)	Thể tích NaCl 0.35 M (μL)
Giá trị pH	Thể tích (μL)			
2.0	200	200	400	200
3.0				
4.0				
5.0				
6.0				
7.0				

2.5.3. Khảo sát nồng độ NaCl

Dung dịch natri chloride có thể ảnh hưởng đến dung dịch nano vàng. Việc tăng, giảm nồng độ NaCl có thể thay đổi màu sắc của dung dịch nano vàng từ đỏ sang xanh lam hoặc tím do có sự tác động đến quá trình hợp tụ của các hạt nano vàng.

Dung dịch sodium chloride được chuẩn bị ở các nồng độ khác nhau từ thấp đến cao, lần lượt là: 0.1 M, 0.2 M, 0.3 M, 0.35 M, 0.45 M, 0.6 M và 1 M.

Kháng sinh ampicillin 0.5 mg/mL, aptamer 2 μM được sử dụng trong quá trình khảo sát nồng độ NaCl thích hợp cho hệ cảm biến. Dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong hệ đệm acetate với nồng độ và giá trị pH thích hợp đã được khảo sát ở (2.4.1) và (2.4.2).

Thí nghiệm 5: Khảo sát nồng độ NaCl khi hệ cảm biến không có ampicillin

Quy trình thực hiện: 200μL AuNPs và 400 μL aptamer 2 μM lần lượt được thêm vào chai thủy tinh chứa mẫu 3 mL, hỗn hợp được hòa trộn trong 15 phút. Sau đó, 200 μL dung dịch đệm acetate với giá trị pH và nồng độ thích hợp được thêm vào. Hỗn hợp được trộn lẫn trong 15 phút. Tiếp tục, 200 μL dung dịch NaCl với các nồng độ khác nhau từ: 0.1 M đến 1 M đã chuẩn bị được thêm vào hệ cảm biến. Quá trình tương tác giữa các thành phần trong hệ được quan sát trong 15 phút (Bảng 2.8). Sau đó, thực hiện phép đo quang phổ UV – Vis và

máy so màu di động cho lần lượt các mẫu, tiến hành so sánh kết quả và xác định nồng độ NaCl thích hợp cho hệ cảm biến.

Bảng 2.8. Khảo sát nồng độ NaCl khi hệ cảm biến không có ampicillin

Dung dịch NaCl		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer 2 μM (μL)	Thể tích dung dịch đệm (μL)
Nồng độ (M)	Thể tích (μL)			
0.10	200	200	400	200
0.20				
0.30				
0.35				
0.45				
0.60				
1.00				

Thí nghiệm 6: Khảo sát nồng độ NaCl khi hệ cảm biến có ampicillin

Quy trình thực hiện như sau: Thêm lần lượt 200μL AuNPs và 400 μL aptamer 2 μM vào chai thủy tinh chứa mẫu 3 mL, hỗn hợp được hòa trộn trong 15 phút. Sau đó, 200 μL dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong hệ đệm acetate với giá trị pH và nồng độ thích hợp được thêm vào. Hỗn hợp được trộn lẫn trong 15 phút. Tiếp tục, 200 μL dung dịch NaCl với các nồng độ khác nhau từ: 0.1 M đến 1 M được bổ sung, trộn lẫn trong 15 phút (Bảng 2.9). Sau đó, thực hiện phép đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động cho lần lượt các mẫu khảo sát, so sánh kết quả thu được và xác định nồng độ NaCl thích hợp cho hệ cảm biến.

Bảng 2.9. Khảo sát nồng độ NaCl khi hệ cảm biến có ampicillin

Dung dịch NaCl		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer 2 μM (μL)	Thể tích ampicillin 0.5 mg/mL (μL)
Nồng độ (M)	Thể tích (μL)			
0.10	200	200	400	200

0.20				
0.30				
0.35				
0.45				
0.60				
1.00				

2.5.4. Khảo sát nồng độ aptamer

Nồng độ aptamer có thể ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả phát hiện chất mục tiêu của hệ cảm biến nano vàng – aptamer. Nồng độ aptamer liên quan mật thiết đến độ nhạy, khả năng bảo vệ các hạt nano vàng, chi phí và hiệu quả của một hệ cảm biến.

Dung dịch aptamer được chuẩn bị và bảo quản ở nhiệt độ 4 °C – 10 °C với các nồng độ khác nhau lần lượt là: 0.05 μ M, 0.1 μ M, 0.2 μ M, 0.3 μ M, 0.4 μ M, 0.5 μ M, 1 μ M, 1.5 μ M, 2 μ M và 3 μ M.

Kháng sinh ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong hệ đệm acetate với nồng độ và giá trị pH thích hợp đã được khảo sát ở (2.4.1) và (2.4.2). Dung dịch muối natri chloride được chuẩn bị với nồng độ thích hợp được lựa chọn qua thí nghiệm khảo sát ở (2.4.3).

Thí nghiệm 7: Khảo sát nồng độ aptamer khi hệ cảm biến không có ampicillin

Quy trình thực hiện: 200 μ L AuNPs và 400 μ L aptamer với các nồng độ khác nhau như: 0.05 μ M, 0.1 μ M, 0.2 μ M, 0.3 μ M, 0.4 μ M, 0.5 μ M, 1 μ M, 1.5 μ M, 2 μ M và 3 μ M được thêm vào chai thủy tinh 3 mL, hỗn hợp được trộn lẫn trong 15 phút. Sau đó, 200 μ L dung dịch đệm acetate với giá trị pH và nồng độ thích hợp được thêm vào và hòa trộn trong 15 phút. Tiếp tục, thêm 200 μ L dung dịch NaCl với nồng độ thích hợp đã được chuẩn bị vào hỗn hợp và trộn đều trong 15 phút (Bảng 2.10). Cuối cùng, thực hiện phép đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động cho lần lượt các mẫu khảo sát, so sánh kết quả và xác định nồng độ aptamer thích hợp cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer.

Bảng 2.10. Khảo sát nồng độ aptamer khi hệ cảm biến không có ampicillin

Aptamer		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích dung dịch đệm acetate (μL)	Thể tích NaCl (μL)
Nồng độ (μM)	Thể tích (μL)			
0.05	400	200	200	200
0.10				
0.20				
0.30				
0.40				
0.50				
1.00				
1.50				
2.00				
3.00				

Thí nghiệm 8: Khảo sát nồng độ aptamer khi hệ cảm biến có ampicillin

Quy trình thực hiện: Đầu tiên, 200 μL AuNPs và 400 μL aptamer với các nồng độ khác nhau như: 0.05 μM , 0.1 μM , 0.2 μM , 0.3 μM , 0.4 μM , 0.5 μM , 1 μM , 1.5 μM , 2 μM và 3 μM được thêm vào chai thủy tinh chưa mẫu 3 mL, hỗn hợp được hòa trộn trong 15 phút. Tiếp tục, hỗn hợp được thêm 200 μL dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong hệ đệm acetate với giá trị pH và nồng độ thích hợp và trộn lẫn trong 15 phút. Sau đó, 200 μL dung dịch NaCl với nồng độ thích hợp được chuẩn bị thêm vào hỗn hợp trên và ủ trong 15 phút (Bảng 2.11). Cuối cùng, thực hiện phép đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động cho lần lượt các mẫu, so sánh và xác định nồng độ aptamer thích hợp cho hệ cảm biến.

Bảng 2.11. Khảo sát nồng độ aptamer khi hệ cảm biến có ampicillin

Aptamer		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích ampicillin 0.5 mg/mL (μL)	Thể tích NaCl (μL)
Nồng độ (μM)	Thể tích (μL)			
0.05	400	200	200	200
0.10				
0.20				
0.30				
0.40				
0.50				
1.00				
1.50				
2.00				
3.00				

2.5.5. Thời gian ủ aptamer

Thời gian ủ (thời gian tương tác) của aptamer trong một hệ cảm biến có vai trò quan trọng trong quá trình liên kết với bề mặt nano vàng hình thành lớp phủ, giúp tăng độ ổn định trên bề mặt nano vàng, không dễ bị đứt, gãy liên kết hoặc bị loại bỏ trong quá trình sử dụng.

Aptamer với nồng độ thích hợp được xác định ở (2.4.4). Kháng sinh ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong dung dịch đệm acetate với nồng độ và giá trị pH thích hợp đã được khảo sát ở (2.4.1) và (2.4.2). Dung dịch NaCl được chuẩn bị với nồng độ thích hợp được lựa chọn thông qua khảo sát (2.4.3).

Thí nghiệm 9: Khảo sát thời gian ủ aptamer khi hệ cảm biến không có ampicillin

Quy trình thực hiện: 200 μL AuNPs và 400 μL aptamer với nồng độ thích hợp được thêm vào chai thủy tinh dung tích 3 mL, hỗn hợp được trộn lẫn trong các khoảng thời gian khác nhau từ 1 – 15 phút. Sau đó, 200 μL dung dịch đệm acetate với giá trị pH, nồng độ thích hợp được thêm vào và hòa trộn 15 phút.

Tiếp theo, thêm 200 μL dung dịch NaCl với nồng độ thích hợp đã được chuẩn bị vào hỗn hợp trên và ủ 15 phút (*Bảng 2.12*). Cuối cùng, thực hiện phép đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động cho lần lượt các mẫu khảo sát, so sánh và xác định thời gian ủ aptamer thích hợp cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer.

Bảng 2.12. Khảo sát thời gian ủ aptamer khi hệ cảm biến không có ampicillin

Thời gian ủ aptamer (phút)	Thể tích aptamer (μL)	Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích dung dịch đệm acetate (μL)	Thể tích NaCl (μL)
1	400	200	200	200
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				

Thí nghiệm 10: Khảo sát thời gian ủ aptamer khi hệ cảm biến có ampicillin

Quy trình thực hiện: 200 μL AuNPs và 400 μL aptamer với nồng độ thích hợp được thêm vào chai thủy tinh 3 mL, hỗn hợp được trộn lẫn trong các

khoảng thời gian khác nhau từ 1 – 15 phút. Sau đó, 200 μL dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong hệ đệm acetate với giá trị pH, nồng độ thích hợp được thêm vào và hòa trộn trong 15 phút. Tiếp theo, 200 μL dung dịch NaCl với nồng độ đã xác định được thêm vào hỗn hợp trên và ủ trong 15 phút (Bảng 2.13). Cuối cùng, sử dụng máy quang phổ UV – Vis và máy so màu di động cho lần lượt các mẫu khảo sát, từ các kết quả thu được xác định thời gian ủ aptamer thích hợp cho hệ cảm biến.

Bảng 2.13. Khảo sát thời gian ủ aptamer khi hệ cảm biến có ampicillin

Thời gian ủ aptamer (phút)	Thể tích aptamer (μL)	Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích ampicillin 0.5 mg/mL (μL)	Thể tích NaCl (μL)
1	400	200	200	200
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				

2.5.6. Thời gian ủ ampicillin

Thời gian ủ kháng sinh ampicillin trong hỗn hợp AuNPs và aptamer có ảnh hưởng lớn đến hiệu quả cảm biến.

Aptamer với nồng độ thích hợp được xác định ở (2.4.4). Kháng sinh ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong dung dịch đệm acetate với nồng độ và giá trị pH thích hợp đã được khảo sát ở (2.4.1) và (2.4.2). Dung dịch NaCl được chuẩn bị với nồng độ thích hợp được lựa chọn thông qua khảo sát (2.4.3). Thời gian ủ aptamer thích hợp áp dụng cho khảo sát được lựa chọn qua các thí nghiệm ở mục (2.4.5).

Thí nghiệm 11: Khảo sát thời gian ủ ampicillin

Quy trình thực hiện: Lần lượt thêm 200 μ L AuNPs và 400 μ L aptamer với nồng độ thích hợp vào chai thủy tinh 3 mL, hỗn hợp được trộn lẫn với thời gian thích hợp được xác định ở mục (2.4.5). Sau đó, 200 μ L dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong hệ đệm acetate với giá trị pH, nồng độ thích hợp được thêm vào và hòa trộn ở các khoảng thời gian khác nhau từ 1 – 25 phút. Tiếp theo, 200 μ L dung dịch NaCl với nồng độ đã xác định được thêm vào hỗn hợp trên và ủ trong 15 phút (*Bảng 2.14*). Cuối cùng, máy quang phổ UV – Vis và máy so màu di động được sử dụng lần lượt các mẫu khảo sát, từ kết quả thu được xác định thời gian ủ aptamer thích hợp cho hệ cảm biến.

Bảng 2.14. Khảo sát thời gian ủ ampicillin

Thời gian ủ ampicillin (phút)	Thể tích aptamer (μ L)	Thể tích AuNPs (μ L)	Thể tích ampicillin 0.5 mg/mL (μ L)	Thể tích NaCl (μ L)
1	400	200	200	200
2				
3				
4				
5				
6				

7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
29				
20				
21				
22				
23				
24				
25				

2.5.7. Thời gian ủ NaCl

Thời gian ủ dung dịch NaCl có ảnh hưởng quan trọng đến quá trình phát hiện chất mục tiêu của hệ cảm biến nano vàng – aptamer. Ảnh hưởng đến sự tương tác giữa NaCl và dung dịch nano vàng trong hệ cảm biến AuNPs/Apt khi có sự hiện diện của chất mục tiêu (kháng sinh).

Kháng sinh ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong dung dịch đệm acetate với nồng độ và giá trị pH thích hợp đã được khảo sát ở (2.4.1) và (2.4.2). Dung dịch NaCl được chuẩn bị với nồng độ thích hợp được lựa chọn thông qua

khảo sát (2.4.3). Dung dịch aptamer với nồng độ thích hợp được xác định ở mục (2.4.4). Thời gian ủ aptamer và ampicillin thích hợp áp dụng cho khảo sát được lựa chọn qua các thí nghiệm ở mục (2.4.5) và (2.4.6).

Thí nghiệm 13: Khảo sát thời gian ủ NaCl

Quy trình thực hiện: Đầu tiên, 200 μ L AuNPs và 400 μ L aptamer với nồng độ thích hợp được trộn lẫn với thời gian thích hợp được xác định ở mục (2.4.5) trong chai thủy tinh chứa mẫu 3 mL. Sau đó, 200 μ L dung dịch ampicillin 0.5 mg/mL được chuẩn bị trong hệ đệm acetate với giá trị pH, nồng độ thích hợp được thêm vào và hòa trộn ở khoảng thời gian thích hợp được xác định ở mục (2.4.6). Tiếp theo, 200 μ L dung dịch NaCl với nồng độ đã xác định được thêm vào hỗn hợp trên và ủ trong các khoảng thời gian khác nhau từ 1 – 20 phút (Bảng 2.15). Thực hiện khảo sát từ 1 – 20 phút, tiến hành đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động. Kết quả thu được, xác định thời gian ủ NaCl thích hợp cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer.

Bảng 2.15. Khảo sát thời gian ủ NaCl

Thời gian ủ NaCl (phút)	Thể tích aptamer (μ L)	Thể tích AuNPs (μ L)	Thể tích ampicillin 0.5 mg/mL (μ L)	Thể tích NaCl (μ L)
1	400	200	200	200
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
29				
20				

2.5.8. Xây dựng đường chuẩn ampicillin

Đường chuẩn là một công cụ không thể thiếu khi đánh giá độ nhạy của một hệ cảm biến, bao gồm cả cảm biến aptamer. Cùng với đó, xây dựng đường chuẩn kháng sinh cho một hệ cảm biến aptamer sẽ giúp xác định nồng độ của kháng sinh trong mẫu chưa xác định. Đồng thời, xác định ngưỡng phát hiện tối thiểu – nồng độ thấp nhất mà hệ cảm biến vẫn có thể phát hiện được chất mục tiêu.

Nồng độ ampicillin sử dụng xác định khoảng tuyến tính và xây dựng đường chuẩn, được chuẩn bị từ dung dịch gốc (ban đầu) pha loãng thành các dung dịch có nồng độ chính xác khác nhau lần lượt là: 0 mg/mL, 0.005 mg/mL, 0.01 mg/mL, 0.02 mg/mL, 0.03 mg/mL, 0.04 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.06 mg/mL, 0.07 mg/mL, 0.08 mg/mL, 0.09 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.2 mg/mL và 0.5 mg/mL. Các dung dịch kháng sinh ampicillin được chuẩn bị trong hệ đệm acetate với nồng độ và giá trị pH thích hợp đã được khảo sát ở (2.4.1) và (2.4.2).

Dung dịch NaCl được chuẩn bị với nồng độ thích hợp được lựa chọn thông qua khảo sát (2.4.3). Aptamer với nồng độ thích hợp được xác định ở mục (2.4.4). Thời gian ủ aptamer, ampicillin và sodium chloride thích hợp áp dụng cho khảo sát được lựa chọn qua các thí nghiệm ở mục (2.4.5), (2.4.6) và (2.4.7)

Thí nghiệm 14: Xác định khoảng tuyến tính và xây dựng đường chuẩn ampicillin

Quy trình thực hiện: Đầu tiên, 200 μ L AuNPs và 400 μ L aptamer với nồng độ thích hợp được trộn lẫn với thời gian được xác định ở mục (2.4.5) trong chai thủy tinh 3 mL. Sau đó, thêm 200 μ L dung dịch ampicillin ở các nồng độ khác nhau đã được chuẩn bị vào hỗn hợp trên và hòa trộn trong khoảng thời gian thời gian thích hợp được xác định ở mục (2.4.6). Tiếp theo, 200 μ L dung dịch NaCl với nồng độ đã xác định được ở mục (2.4.3) thêm vào hỗn hợp trên và ủ trong thời gian được lựa chọn ở mục (2.4.7) (Bảng 2.16). Kết thúc phản ứng, tiến hành đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động, sau đó xác định khoảng tuyến tính và đường chuẩn ampicillin cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer.

Bảng 2.16. Xác định khoảng tuyến tính và xây dựng đường chuẩn ampicillin

Ampicillin		Thể tích AuNPs (μ L)	Thể tích aptamer (μ L)	Thể tích NaCl (μ L)
Nồng độ (mg/mL)	Thể tích (μ L)			
0.000	200	200	400	200
0.005				
0.010				
0.020				
0.030				
0.040				
0.050				
0.060				
0.070				
0.080				
0.090				
0.100				

0.200				
0.500				

❖ *Xác định đường chuẩn kháng sinh ampicillin*

Phương pháp xây dựng đường chuẩn kháng sinh được xác định qua các giá trị đo của y theo nồng độ x (lặp lại 3 lần lấy giá trị trung bình). Khi x và y có sự tuyến tính và phương trình ở dạng:

$$y = ax + b \quad (2 - 1)$$

Trong đó:

y: Tỷ lệ độ hấp thụ giữa 2 bước sóng 650 nm và 520 nm ($Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$) hoặc các tỷ lệ màu được tạo thành từ ba màu đỏ, lục, lam

x: Nồng độ ampicillin

a: Giá trị độ dốc slope (hệ số góc)

b: Giá trị hệ số chặn intercept

Điều kiện đầu tiên để đánh giá một đường chuẩn đạt, khi hệ số tương quan hồi quy tuyến tính (R) giữa x và y có hệ số $R \approx \pm 1$. Và độ lệch nồng độ của các điểm chuẩn cũng được xem là giá trị đánh giá độ chính xác và tin cậy của một đường chuẩn.

2.6. THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP

Thẩm định phương pháp phân tích trong hóa học là quá trình đánh giá và xác minh phương pháp, kết quả của một phép phân tích, để đảm bảo rằng kết quả phân tích là đáng tin và chính xác.

Các thông số quan trọng cần được đánh giá trong quá trình thẩm định phương pháp phân tích bao gồm: giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ chính xác, độ lặp và tái lặp của phương pháp, độ chọn lọc,...

2.6.1. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

2.6.1.1. Giới hạn phát hiện

Giới hạn phát hiện (limit of detection – LOD) là lượng hoặc nồng độ nhỏ nhất của chất phân tích có thể phát hiện được, nhưng không nhất thiết phải đo lường, định lượng một cách chính xác.

Phương pháp xác định giá trị giới hạn phát hiện được tính toán dựa trên đường chuẩn kháng sinh có công thức (2 – 2):

$$LOD = 3.3 \times \frac{SD}{a} \quad (2 - 2)$$

Trong đó:

SD: độ lệch chuẩn của đường thẳng tuyến tính

a: hệ số góc (slope)

2.6.1.2. Giới hạn định lượng

Giới hạn định lượng (limit of quantitation – LOQ) là lượng hoặc nồng độ thấp nhất của một chất cần phân tích mà ở đó không chỉ có thể phát hiện mà còn có thể định lượng, đo lường một cách chính xác, mức độ tin cậy cao với sai số có thể chấp nhận được.

Phương pháp xác định giới hạn định lượng được thực hiện tương tự như xác định giới hạn phát hiện. Giới hạn định lượng được tính toán với công thức (2 – 3):

$$LOQ = 10 \times \frac{SD}{a} \quad (2 - 3)$$

Với:

SD: độ lệch chuẩn của đường thẳng tuyến tính

a: hệ số góc (slope)

2.6.2. Độ đúng

Độ đúng là khái niệm biểu diễn khoảng cách gần nhau giữa các giá trị trung bình của kết quả thử nghiệm và giá trị thực hoặc giá trị được xem là đúng (μ).

Để xác định độ đúng phải có giá trị đúng, có nhiều phương pháp khác nhau để xác định độ đúng của phương pháp. Hai cách phổ biến thường được sử dụng bao gồm so sánh kết quả thu được từ thử nghiệm với kết quả từ một phương pháp đối chiếu hay sử dụng mẫu chuẩn (mẫu kiểm tra) đã biết trước lượng, nồng độ. Phương pháp xác định độ đúng được đánh giá thông qua độ thu hồi (độ tìm lại) [57].

Độ đúng của phương pháp xác định và định lượng kháng sinh ampicillin được tính thông qua độ thu hồi. Độ thu hồi thực hiện bằng cách thêm chuẩn ampicillin ở ba nồng độ khác nhau là 0.02 mg/mL, 0.035 mg/mL, 0.07 mg/mL và được thực hiện lặp lại bốn lần ở mỗi nồng độ (Bảng 2.17).

Bảng 2.17. Thí nghiệm đánh giá độ đúng của phương pháp phân tích

Ampicillin		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer (μL)	Thể tích NaCl (μL)	Số thí nghiệm
Nồng độ (mg/mL)	Thể tích (μL)				
0.02	200	200	400	200	4
0.035					
0.070					

Từ đó, đánh giá lại độ đúng theo độ lệch (bias).

$$\Delta = \frac{X_{tb} - \mu}{\mu} \times 100 \quad (2 - 4)$$

Trong đó:

Δ : Độ lệch (bias), %

X_{tb} : Giá trị trung bình của kết quả thử nghiệm

μ : Giá trị thực hoặc giá trị được chấp nhận là đúng

Đối với mẫu thử:

$$R\% = \frac{C_{m+c} - C_m}{C_c} \times 100 \quad (2 - 5)$$

Đối với mẫu trắng:

$$R\% = \frac{C_{tt}}{C_c} \times 100 \quad (2 - 6)$$

Trong đó:

R%: Độ thu hồi, %

C_{m+c} : Nồng độ chất phân tích trong mẫu thêm chuẩn

C_m : Nồng độ chất phân tích trong mẫu thử

C_c : Nồng độ chuẩn thêm (lý thuyết)

C_{tt} : Nồng độ chất phân tích trong mẫu trắng thêm chuẩn

2.6.3. Độ lặp và tái lặp

Độ lặp và tái lặp trong thẩm định phương pháp phân tích hóa học liên quan đến việc lặp lại các thử nghiệm nhiều lần để đảm bảo tính nhất quán và độ tin cậy của kết quả. Độ lặp và tái lặp, cả hai đều là đại lượng đánh giá tính lặp lại của một phương pháp nhưng chúng lại có sự khác biệt rõ ràng.

Độ lặp liên quan đến việc thử nghiệm trên cùng một mẫu, trong cùng một phòng thí nghiệm, cùng một điều kiện và trong một ngày được lặp lại nhiều lần. Để đánh giá tính đồng nhất của kết quả, mức độ tin cậy và ổn định của phương pháp.

Tái lặp liên quan đến việc lặp lại thí nghiệm nhiều lần trên cùng một mẫu, nhưng trong các điều kiện khác nhau. Độ tái lặp mô tả mức độ mà phương pháp phân tích có thể thực hiện và ổn định ở các điều kiện khác nhau.

Độ lặp và tái lặp được đánh giá thông qua hai thông số độ lặp lại (RSD_r) và được so sánh với giá trị HorRat ($PRSD(R)$). Được tính toán theo các công thức sau:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (2 - 7)$$

$$RSD \% = CV \% = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad (2 - 8)$$

$$PRSD (R) = 2 C^{-0.15} \quad (2 - 9)$$

Trong đó:

SD: Độ lệch chuẩn

PRSD (R): Độ lệch chuẩn tương đối dự đoán

RSD: Độ lệch chuẩn tương đối

C: Phần trăm khối lượng.

\bar{x} : Giá trị trung bình các lần thí nghiệm

2.5.3.1. Độ lặp

Đánh giá độ lặp của phương pháp ($\text{HorRat}(r) - \text{RSD}_r$), các mẫu được tiến hành thêm chuẩn ở ba mức nồng độ 0.03, 0.045 và 0.06 mg/mL, lặp lại sáu lần trong cùng một ngày (*Bảng 2.18*).

Bảng 2.18. Thí nghiệm độ lặp của phương pháp trong cùng 1 ngày

Ampicillin		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer (μL)	Thể tích NaCl (μL)	Số thí nghiệm
Nồng độ (mg/mL)	Thể tích (μL)				
0.030	200	200	400	200	6
0.045					
0.060					

Độ lặp của phương pháp được chấp nhận khi $0.3 \leq \text{HorRat}(r) \leq 1.3$ [58]. Và được tính toán theo các công thức sau:

$$\text{HorRat}(r) = \frac{\text{RSD}_r}{\text{PRSD}(R)} \quad (2 - 10)$$

Trong đó:

PRSD (R): Độ lệch chuẩn tương đối dự đoán

RSD: Độ lệch chuẩn tương đối

2.6.3.2. Độ tái lặp

Xác định độ tái lặp RSD_R , các mẫu được tiến hành thêm chuẩn ở ba mức nồng độ 0.03, 0.045 và 0.06 mg/mL. Thử nghiệm được lặp lại ba lần trong cùng một ngày và thực hiện trong ba ngày khác nhau (*Bảng 2.19*).

Bảng 2.19. Thí nghiệm độ tái lặp trong 3 ngày khác nhau

Ampicillin		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer (μL)	Thể tích NaCl (μL)	Số thí nghiệm
Nồng độ (mg/mL)	Thể tích (μL)				
0.03	200	200	400	200	9
0.045					
0.06					

Độ tái lập của phương pháp được chấp nhận khi $0.5 \leq \text{HorRat (R)} \leq 2$ [57].
Và được tính toán theo các công thức sau:

$$\text{HorRat (R)} = \frac{\text{RSD}_R}{\text{PRSD (R)}} \quad (2 - 11)$$

Trong đó:

PRSD (R): Độ lệch chuẩn tương đối dự đoán

RSD: Độ lệch chuẩn tương đối

2.6.4. Độ chọn lọc

Độ chọn lọc (đặc hiệu) là một yếu tố quan trọng cần được xem xét, kiểm tra khi nghiên cứu chế tạo một hệ cảm biến. Độ chọn lọc càng cao, hệ cảm biến càng có khả năng phát hiện chính xác phân tử hoặc hợp chất mục tiêu, loại bỏ khả năng nhầm lẫn giữa các phân tử đích và những chất khác. Một hệ cảm biến có độ chọn lọc cao có thể làm cho kết quả nghiên cứu đáng tin cậy hơn.

Độ chọn lọc của hệ cảm biến nano vàng – aptamer phát hiện kháng sinh ampicillin được đánh giá thông qua việc sử dụng hệ cảm biến này phát hiện lần lượt với các loại kháng sinh, protein, các ion kim loại,... khác.

Các loại kháng sinh, protein, các ion kim loại (*Bảng 2.20*) được chuẩn bị với nồng độ 0.05 mg/mL trong dung dịch đệm acetate với nồng độ và giá trị pH thích hợp đã được khảo sát ở (2.4.1) và (2.4.2). Dung dịch NaCl được chuẩn bị với nồng độ thích hợp được lựa chọn thông qua khảo sát (2.4.3). Dung dịch aptamer với nồng độ thích hợp được xác định ở mục (2.4.4). Thời gian ủ aptamer, ampicillin và NaCl thích hợp áp dụng đánh giá tính đặc hiệu của hệ cảm biến được lựa chọn qua các thí nghiệm ở (2.4.5) và (2.4.6).

Bảng 2.20. Danh sách kháng sinh, protein, ion kim loại

STT	Tên	Hàm lượng/ Nồng độ (mg/mL)	
1	Ampicillin	0.05	
2	Chloramphenicol		
3	Enrofloxacin		
4	Quinolone 18 chất		Ciprofloxacin
			Danofloxacin
			Difloxacin
			Enoxacine

		Enrofloxacin	
		Flumequin	
		Norfloxacin,	
		Nalidixic acid	
		Marbofloxacin	
		Moxifloxacin	
		Lomefloxacin	
		Levofloxacin	
		Gatifloxacin	
		Sparfloxacin	
		Sarafloxacin	
		Perfloxacin	
		Oxolinic acid	
		Ofloxacin	
5	Bovine Serum Albumin (BSA)		
6	Ion Ca^{2+}		
7	Ion Mg^{2+}		
8	Glucoso		
9	Fructoso		
10	Lactose		

Quy trình thực hiện: Đầu tiên, 200 μL AuNPs và 400 μL aptamer với nồng độ thích hợp được trộn lẫn với thời gian được xác định ở mục (2.4.5) trong chai thủy tinh 3 mL. Sau đó, thêm 200 μL dung dịch kháng sinh, protein, các ion kim loại 0.05 mg/mL vào hỗn hợp trên và hòa trộn trong khoảng thời gian thích hợp được xác định ở mục (2.4.6). Tiếp theo, 200 μL dung dịch NaCl với nồng độ đã xác định được ở mục (2.4.3) thêm vào hỗn hợp trên và ủ trong thời gian được lựa chọn ở mục (2.4.7) (Bảng 2.21). Kết thúc phản ứng, tiến hành đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động, đánh giá và kết luận độ chọn lọc cho hệ cảm biến.

Bảng 2.21. Khảo sát độ chọn lọc hệ cảm biến nano vàng – aptamer

Kháng sinh, protein, ion kim loại 0.05 mg/mL		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer (μL)	Thể tích NaCl (μL)
Tên	Thể tích (μL)			
Mẫu đối chứng	200	200	400	200
Ampicillin				

Chloramphenicol				
Enrofloxacin				
Quinolone 18 chất				
Bovine Serum Albumin (BSA)				
Ion Ca^{2+}				
Ion Mg^{2+}				
Glucoso				
Fructoso				
Lactose				

2.7. PHÂN TÍCH MẪU THỰC

Việc phân tích mẫu thực có ý nghĩa quan trọng trong các nghiên cứu ứng dụng, cung cấp các thông tin có ích cho kết quả nghiên cứu ở điều kiện thực tế, đánh giá, kiểm tra hiệu suất và tính khả thi khi áp dụng vào thế giới thực. Qua đó, cũng có thể thấy được các ưu nhược điểm của nghiên cứu.

Áp dụng nghiên cứu trên mẫu thực, hệ cảm biến nano vàng – aptamer được ứng dụng trong việc phát hiện kháng sinh ampicillin có trong sữa.

2.7.1. Chuẩn bị mẫu

Các mẫu phân tích (sữa) được thu thập trong siêu thị (sữa tươi vinamilk tiệt trùng ít đường) và xử lý để loại bỏ các thành phần không cần thiết theo quy trình như sau: Mẫu sau khi thu thập, được thêm một lượng kháng sinh ampicillin, tạo các mẫu thêm vào với các nồng độ 0.02, 0.035 và 0.05 mg/mL. Sau đó, 4 mL mẫu thêm vào ở các nồng độ khác nhau được hòa tan cùng 20 mL acetonitrile 75 % và khuấy 5 phút, tiếp tục ly tâm 10 phút giúp loại bỏ protein. Mẫu sau khi ly tâm được lọc bằng đầu lọc 0.22 μm và được sử dụng để phân tích.

2.7.2. Phân tích mẫu

Quy trình thực hiện phân tích mẫu thêm vào được thực hiện như sau: Đầu tiên, 200 μL AuNPs và 400 μL aptamer với nồng độ thích hợp được trộn lẫn với

thời gian được xác định ở mục (2.4.5) trong chai thủy tinh 3 mL. Sau đó, thêm 200 μL mẫu thêm vào ở các nồng độ khác nhau đã được xử lý vào hỗn hợp trên và hòa trộn trong khoảng thời gian thích hợp được xác định ở mục (2.4.6). Tiếp theo, 200 μL dung dịch NaCl với nồng độ đã xác định được ở mục (2.4.3) thêm vào hỗn hợp trên và ủ trong thời gian được lựa chọn ở mục (2.4.7) (Bảng 2.22). Kết thúc phản ứng, tiến hành đo quang phổ UV – Vis và máy so màu di động.

Để đánh giá độ đúng của phương pháp, kết quả mẫu được đối chiếu với kết quả phân tích HPLC.

Bảng 2.22. Phân tích mẫu thực

Mẫu thực		Thể tích AuNPs (μL)	Thể tích aptamer (μL)	Thể tích NaCl (μL)
Nồng độ thêm vào (mg/mL)	Thể tích (μL)			
0.020	200	200	400	200
0.035				
0.050				

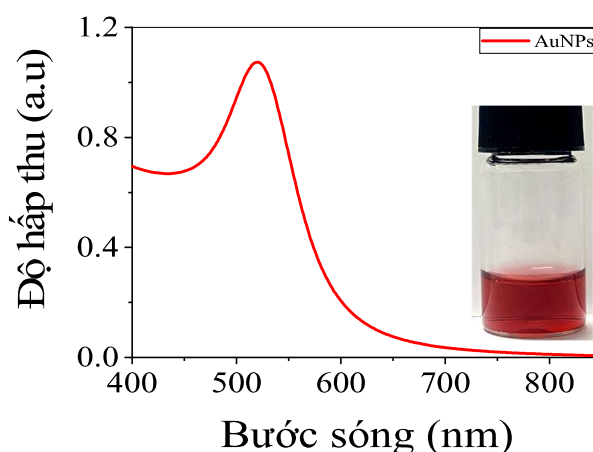
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. TỔNG HỢP AuNPs HÌNH CẦU

Phương pháp khử Au^{3+} sử dụng dung dịch trisodium citrate ở nhiệt độ cao (phương pháp Turkevich) đã thể hiện một quy trình tổng hợp hiệu quả nano vàng hình cầu với kích thước hạt đồng nhất. Trisodium citrate không chỉ là chất khử hiệu quả mà còn đóng vai trò bảo vệ và làm ổn định hạt nano vàng trong dung dịch. Các phân tử citrate hấp thụ lên bề mặt vàng thông qua các nhóm chức chứa oxi trái dấu, tạo ra một lớp điện tích bề mặt trên hạt nano vàng giúp chúng không bị kết tụ.

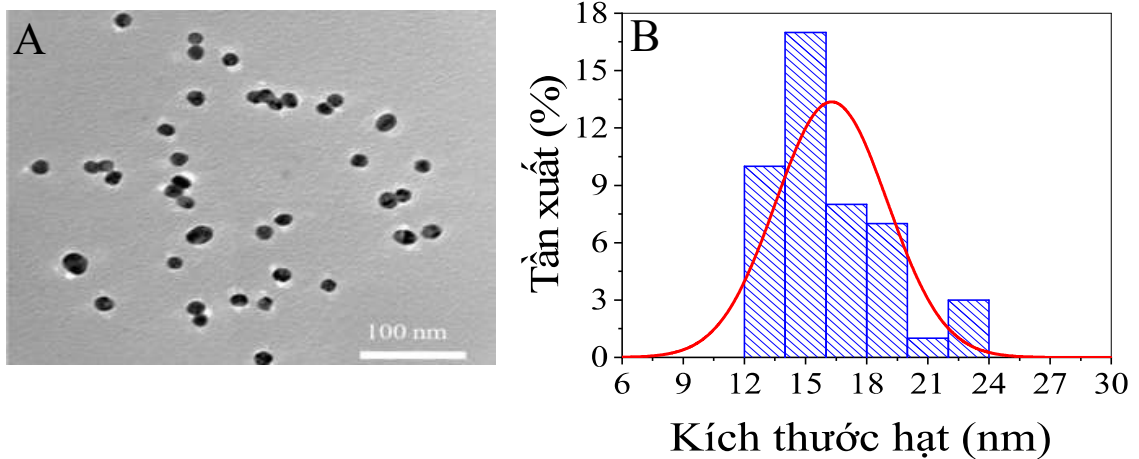
3.1.1. Quang phổ UV - Vis

AuNPs sau khi được tổng hợp có màu đỏ rượu, đây là màu sắc đặc trưng của hạt nano vàng. Dung dịch AuNPs hấp thụ trên quang phổ UV – Vis ở bước sóng 520 nm, với độ rộng peak hẹp (Hình 3.1).



Hình 3.1: Quang phổ UV – Vis dung dịch nano vàng hình cầu

3.1.2. TEM và sự phân bố kích thước hạt

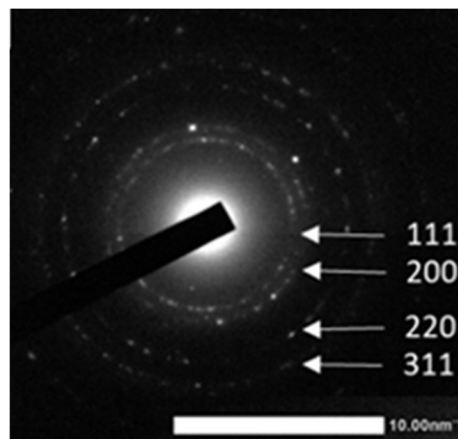


Hình 3.2. Ảnh TEM (A) và sự phân bố kích thước (B) của AuNPs

Hình thái học của các hạt nano vàng được xác định thông qua kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Quan sát bằng ảnh TEM, nano vàng tồn tại ở dạng hình cầu (Hình 3.2 A). Kích thước hạt nano vàng phân bố từ 12 – 24 nm, với kích thước trung bình là 15 nm (Hình 3.2 B). Hệ nano vàng đồng nhất về kích thước, phân tán tốt trong dung dịch và không bị kết tụ.

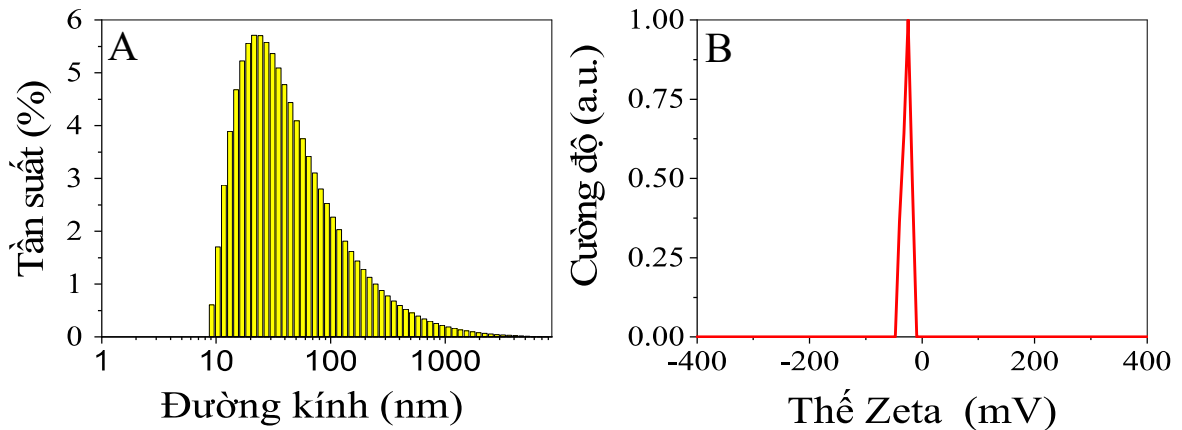
3.1.3. Nhiễu xạ electron vùng chọn lọc (SEAD)

Cấu trúc tinh thể của vật liệu AuNPs được đánh giá thông qua phương pháp nhiễu xạ electron vùng chọn lọc (SAED). Kết quả SAED cho thấy sự hình thành các hướng tinh thể đặc trưng cho cấu trúc hạt nano vàng với mặt phẳng liên quan đến hướng tinh thể (111), (200), (220) và (311) (Hình 3.3).



Hình 3.3. Ảnh nhiễu xạ electron vùng chọn lọc (SEAD) nano vàng

3.1.4. Kết quả DLS – Zeta



Hình 3.4. Kết quả DLS (A) và Zeta (B) của AuNPs

Phương pháp phổ tán xạ ánh sáng (DLS – dynamic light scattering) là một công cụ dùng để đo kích thước và phân bố kích thước của các hạt nano. Thế zeta là một thông số quan trọng liên quan đến sự ổn định của các hệ nano, đo mức độ tương tác giữa các hạt nano và môi trường xung quanh dựa vào lượng điện tích trên bề mặt nano. Cả hai phương pháp này thường được sử dụng để đánh giá sự ổn định của các hệ nano. Trong một hệ nano ổn định, kích thước hạt nên duy trì ổn định qua thời gian và thế zeta duy trì ở một mức độ cao cho thấy lực đẩy giữa các hạt nano mạnh, giúp chống lại sự tụ hợp hoặc kết tủa của hạt nano.

Kích thước hạt trong dung dịch hệ nano vàng hình cầu được xác định bằng phương pháp phổ tán xạ ánh sáng (DLS). Dữ liệu kích thước hạt chỉ ra mẫu nano vàng với kích thước trung bình là 10 – 100 nm, kích thước thu được nhiều nhất là 20.3 nm (Hình 3.4 A).

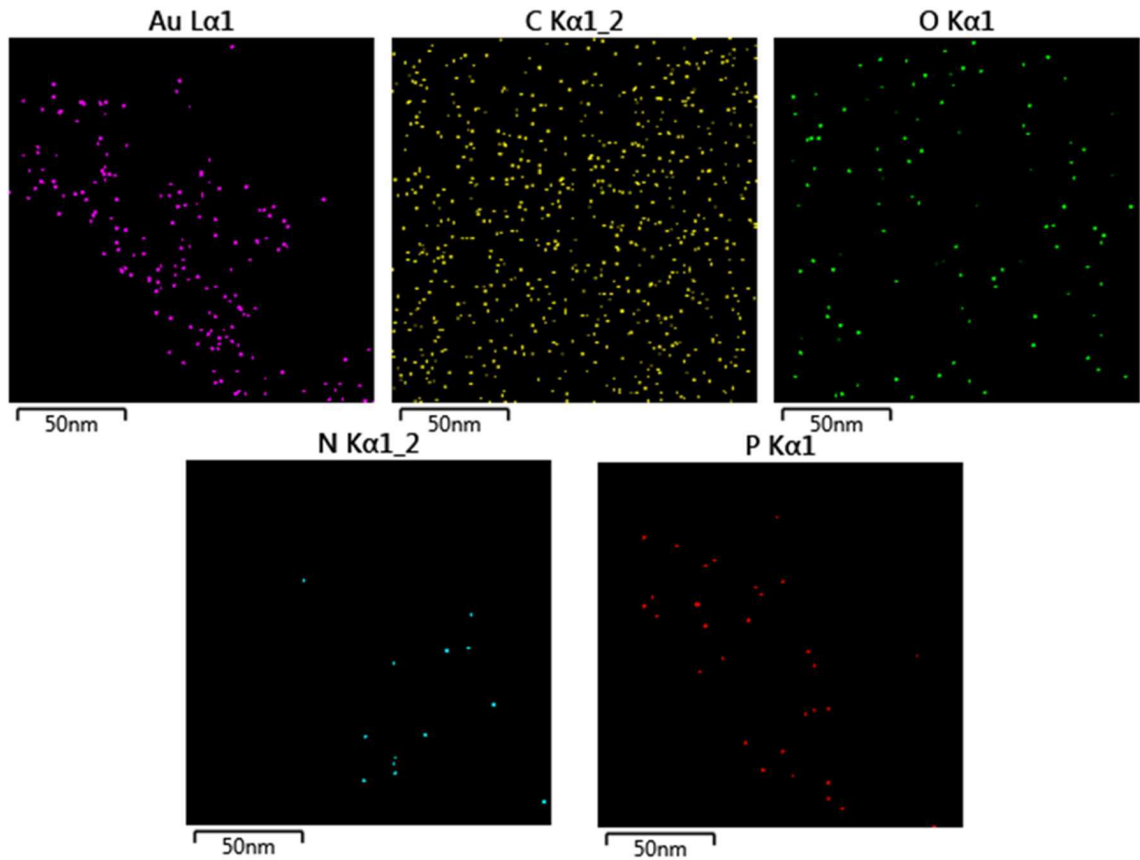
Độ bền của hệ nano được xác định dựa trên thế zeta. Kết quả phân tích chỉ ra giá trị thế zeta là -26.5 mV (Hình 3.4 B), cho thấy sự ổn định tương đối của hệ nano.

Từ đó, chứng minh rằng dung dịch nano vàng hình cầu tổng hợp bằng phương pháp và quy trình được áp dụng có độ bền tốt với lực đẩy mạnh giữa các hạt, ngăn chặn các hạt nano kết tụ với nhau.

3.1.5. STEM – Mapping

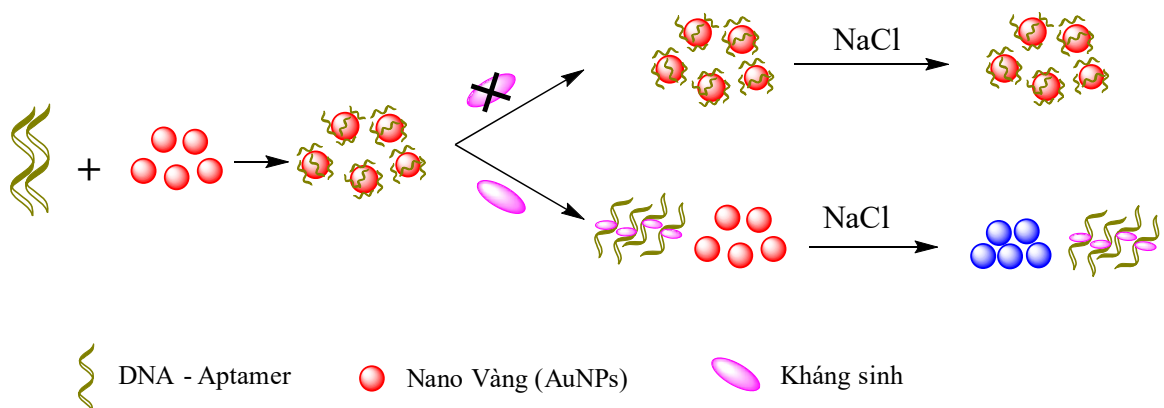
STEM – mapping được sử dụng để đánh giá sự phân bố các nguyên tố cacbon, oxi, nitơ và cả photpho trên bề mặt nano vàng (Hình 3.5). Kết quả cho

thấy rằng, các nguyên tố cacbon (C), oxi (O) có sự phân bố đồng đều trên toàn hệ nano. Còn đối với nguyên tố photpho (P) và nito (N) xuất hiện rất ít trong hệ, sự phân bố không rõ ràng.



Hình 3.5. Ảnh STEM – Mapping hệ nano AuNPs

3.2. KHẢO SÁT NGHIÊN CỨU HỆ CẢM BIẾN AuNPs – APTAMER



Hình 3.6. Cơ chế xác định kháng sinh của hệ cảm biến AuNPs – aptamer

Trong những năm gần đây, hệ cảm biến nano vàng – aptamer (AuNPs/Apt) được sử dụng rộng rãi trên thế giới cũng như Việt Nam, được sử dụng

trong định lượng nhiều chất hóa học khác nhau trong đó có cả kháng sinh. Với nhiều phương pháp chế tạo cảm biến AuNPs/Apt khác nhau đã được phát triển và cải tiến. Trong bài nghiên cứu này, phương pháp được sử dụng là quá trình hấp phụ aptamer lên AuNPs bằng cách trộn lẫn các hạt nano vàng với aptamer. Từ đó, AuNPs được sử dụng như một chất đánh dấu dựa trên độ nhạy của lớp điện tử plasmon và aptamer như một chất làm bền. Khi không có sự hiện diện của chất mục tiêu, aptamer có nhiệm vụ bảo vệ các hạt nano vàng, ngăn chặn sự kết tụ do muối gây ra. Khi có sự hiện diện của chất mục tiêu (kháng sinh) trong hệ cảm biến, các liên kết của AuNPs và aptamer trải qua quá trình giải hấp. Sau đó, muối được thêm vào, tạo ra sự ngưng tụ của AuNPs, hệ cảm biến thay đổi từ màu đỏ sang xanh lam hoặc tím (*Hình 3.6*). Những dịch chuyển cực đại độ hấp thụ này được xác định bằng cách thu thập các tín hiệu phản xạ và sau đó định lượng bằng cách sử dụng máy quang phổ UV – Vis và máy so màu di động. Sự thay đổi màu sắc của hệ cảm biến rất rõ ràng nên có thể dễ dàng quan sát bằng mắt thường. Vì thế, aptasensor này phù hợp cho các ứng dụng tại chỗ, có thể hỗ trợ nhiều trong việc kiểm tra định kỳ với thao tác đơn giản và nhanh chóng.

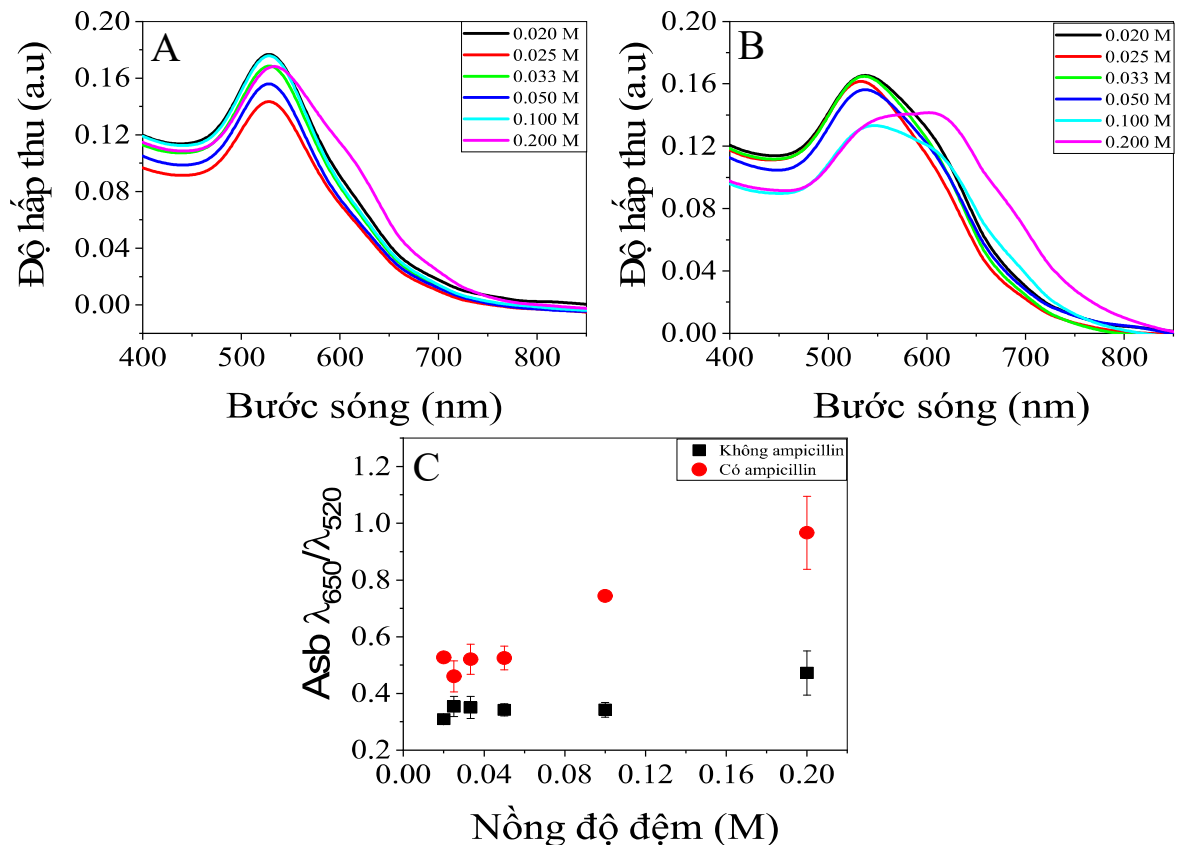
3.2.1. Khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate

Nồng độ dung dịch đệm có thể ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của cả aptamer và ampicillin. Đối với aptamer, nồng độ dung dịch đệm ảnh hưởng đến nồng độ proton trong dung dịch aptamer, do đó có thể thay đổi cấu trúc của chúng. Điều này ảnh hưởng đến khả năng aptamer nhận dạng và liên kết với các hợp chất mục tiêu cụ thể. Với ampicillin, nồng độ dung dịch đệm tăng có thể gây ra sự phân hủy và giảm hiệu quả kháng khuẩn.

Kết quả nghiên cứu sự ảnh hưởng của nồng độ dung dịch đệm acetate sử dụng phương pháp UV – Vis được thể hiện trong (*Hình 3.7*).

Qua kết quả từ phép đo quang phổ UV – Vis (*Hình 3.7*) ở các nồng độ pH khác nhau tại vùng bước sóng 450 nm – 800 nm cho thấy: hệ cảm biến khi không có sự hiện diện của ampicillin (*Hình 3.7 A*) peak hấp thụ của hệ hầu như không có sự thay đổi khi nồng độ dung dịch đệm acetate thay đổi từ 0.02 M – 0.1 M. Tuy nhiên, ở nồng độ 0.2 M, peak hấp thụ của hệ có sự dịch chuyển peak từ bước sóng 520 nm đến vùng bước sóng 630 nm – 650 nm. Cho thấy có sự kết tụ của các hạt nano vàng khi sử dụng dung dịch đệm acetate có nồng độ

0.2 M. Do nồng độ dung dịch đệm acetate có ảnh hưởng đến cấu trúc, hình dạng và chức năng của aptamer thông qua những ảnh hưởng lên các liên kết hydro và liên kết ion giữa các cặp cơ sở nucleotide, dẫn đến quá trình hấp phụ, bao bọc các hạt nano vàng của aptamer giảm, khi đó dung dịch NaCl được thêm vào tác động đến AuNPs, tạo ra sự ngưng tụ và thay đổi màu sắc dung dịch hệ cảm biến.

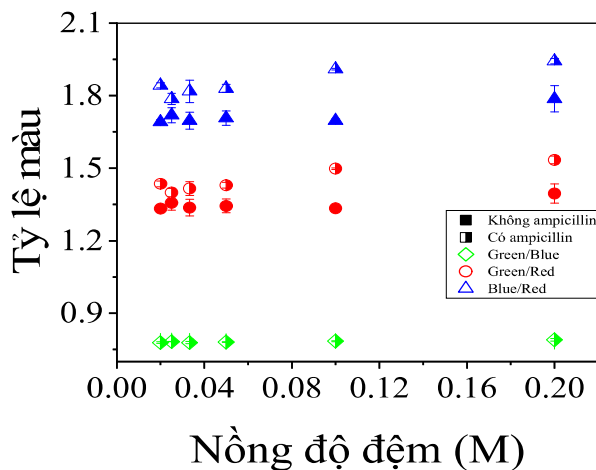


Hình 3.7. Ảnh hưởng nồng độ hệ đệm acetate khi không có (A), có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thụ của peak $Asb_{\lambda 650}/Asb_{\lambda 520}$ khi không có và có ampicillin (C)

Đồng thời, khi chất mục tiêu (ampicillin) xuất hiện trong hệ cảm biến AuNPs/Apt (Hình 3.7 B), ở các nồng độ dung dịch đệm acetate đều có sự xuất hiện peak hấp thụ ở vùng 650 nm. Tuy nhiên, peak hấp thụ này không có sự thay đổi rõ ràng ở các nồng độ dung dịch đệm acetate từ 0.02 M – 0.05 M. Cùng với đó, khi sử dụng dung dịch đệm acetate có nồng độ 0.1 M và 0.2 M, cho thấy được sự thay đổi và dịch chuyển peak hấp thụ rõ hơn so với các nồng độ dung dịch đệm thấp, chứng tỏ các chuỗi aptamer bắt đầu liên kết với các phân tử kháng sinh ampicillin.

Tỷ lệ độ hấp thụ giữa hai peak hấp thụ ở bước sóng 650 nm và 520 nm ($Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$) được sử dụng làm thông số tính toán so sánh các kết quả khảo sát và lập đường chuẩn kháng sinh cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer [59, 60, 61].

Theo kết quả thu được (Hình 3.7 C), nồng độ dung dịch đệm acetate từ 0.02 M – 0.05 M, trong hai trường hợp không có và có ampicillin trong hệ cảm biến, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ thay đổi không đáng kể, cho thấy ở các nồng độ đệm acetate này hệ cảm biến hoạt động không hiệu quả. Nhưng khi nồng độ dung dịch đệm acetate được tăng lên 0.1 M và 0.2 M, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ khi chất mục tiêu tham gia vào hệ cảm biến có sự chênh lệch rõ so với khi vắng mặt chất mục tiêu. Tuy nhiên, ở nồng độ 0.2 M, ampicillin không xuất hiện trong hệ cảm biến, aptamer chưa làm tốt và ổn định vai trò bảo vệ các hạt nano vàng khỏi sự tấn công của dung dịch NaCl. Và khả năng nhận biết ampicillin của hệ cảm biến ở nồng độ dung dịch đệm acetate này cũng không ổn định. Ngược lại, kết quả ở nồng độ dung dịch đệm acetate là 0.1 M, aptamer bảo vệ tốt AuNPs, đồng thời có tương tác tốt với ampicillin một cách ổn định, hiệu quả cảm biến ít bị thay đổi.



Hình 3.8. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng nồng độ dung dịch đệm đến hệ cảm biến

Dựa vào kết quả của phương pháp so màu di động (Hình 3.8), cho thấy tỷ lệ màu lục và lam (green/blue – G/B) hầu như không thay đổi ở tất cả các nồng độ dung dịch đệm acetate và cả khi không có hay có ampicillin. Hai hệ cảm biến (không có và có ampicillin) có sự chênh lệch ở các tỷ lệ màu: lục/đỏ (green/red – G/R) và lam/đỏ (blue/red – B/R). Tỷ lệ màu G/R và B/R ở các

nồng độ dung dịch đệm acetate từ 0.02 M – 0.1 M hầu như không thay đổi, nhưng tăng lên ở nồng độ 0.2 M khi cảm biến không hiện diện ampicillin. Sự có mặt của ampicillin trong hệ cảm biến gần như không thay đổi hai tỷ lệ màu sắc này khi tăng nồng độ dung dịch đệm từ 0.02 M – 0.05 M. Tỷ lệ màu có sự thay đổi rõ và chênh lệch cao so với mẫu không ampicillin ở nồng độ đệm acetate là 0.1 M và 0.2 M. Quan sát màu sắc của các mẫu khi không có và có sự hiện diện của ampicillin (*Hình 3.9*) cho thấy hệ cảm biến phát hiện kháng sinh có thể quan sát bằng mắt thường.



Hình 3.9. Mẫu khảo sát nồng độ dung dịch đệm acetate

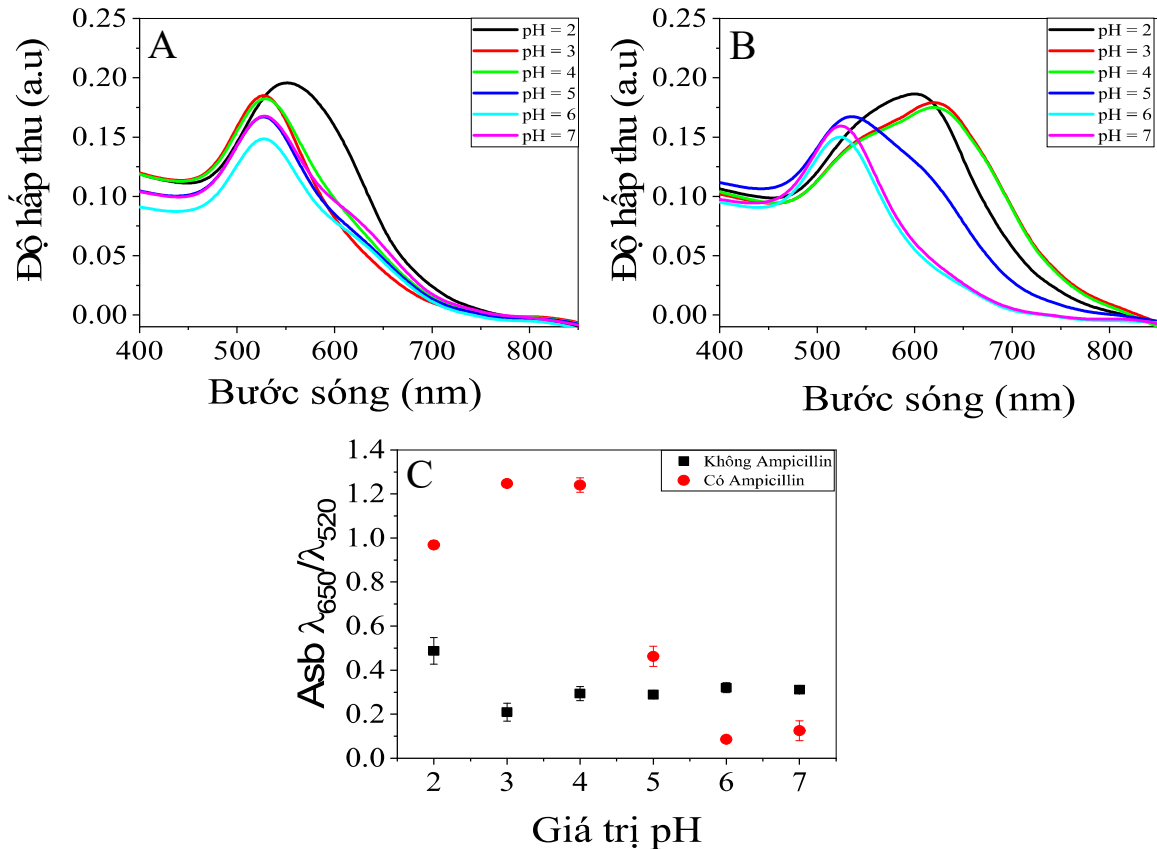
So sánh hai kết quả giữa phương pháp đo quang phổ UV – Vis và so màu di động, cho thấy cả hai phương pháp được sử dụng có sự tương đồng. Qua đó, nồng độ hệ đệm acetate thích hợp được lựa chọn, sử dụng trong hệ cảm biến AuNPs/Apt để tiến hành các khảo sát kế tiếp, đem lại hiệu quả và ổn định cho cảm biến là 0.1 M.

3.2.2. Khảo sát giá trị pH dung dịch đệm acetate

Giá trị pH có thể tác động đáng kể đến hoạt động của hệ cảm biến nano vàng – aptamer. Ngoài tác động của nồng độ, giá trị pH của dung dịch đệm cũng có thể thay đổi cấu trúc, khả năng nhận diện phân tử mục tiêu của aptamer. Đối với các hạt nano vàng, môi trường acid hay bazơ quá mạnh có thể thay đổi kích thước, sự phân tán và kết tụ làm thay đổi màu sắc ảnh hưởng đến khả năng ứng dụng cảm biến. Ngoài ra, ampicillin có thể phân hủy trong môi trường có pH cao, do gia tăng tốc độ hydrolysis (quá trình ampicillin bị phân hủy) [62].

Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng giá trị pH đến hệ cảm biến được thể hiện trong (*Hình 3.10*).

Dựa vào quang phổ UV – Vis (*Hình 3.10*) trong vùng bước sóng 450 nm – 800 nm, kết quả khảo sát giá trị pH khi hệ cảm biến không có sự tham gia của ampicillin (*Hình 3.10 A*) cho thấy: sự dịch chuyển peak hấp thụ từ bước sóng 520 nm sang 550 nm khi giá trị pH = 2, peak hấp thụ gần như không có dịch chuyển và thay đổi nhiều khi giá trị pH tăng từ 3 – 7.

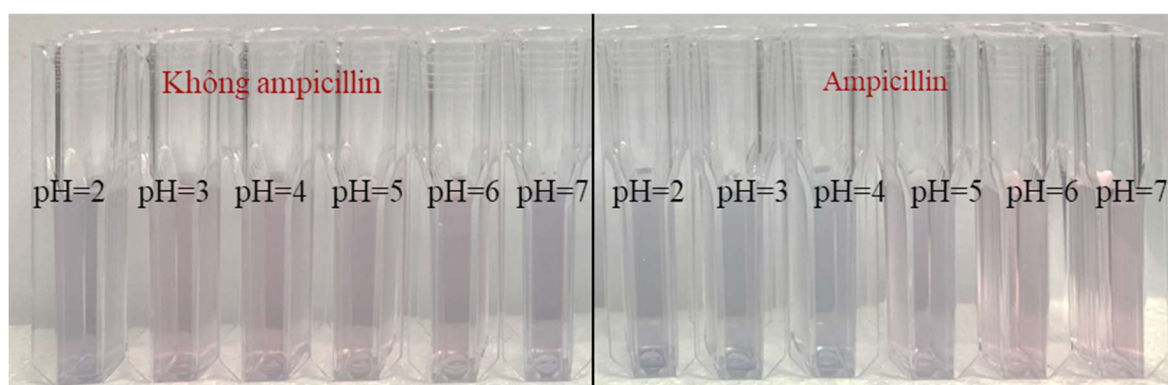


Hình 3.10. Ảnh hưởng giá trị pH khi không có (A) và có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thụ của peak $Asb_{\lambda_{650}/\lambda_{520}}$ khi không có và có ampicillin (C)

Đồng thời, khi xuất hiện chất mục tiêu trong hệ cảm biến AuNPs/Apt (*Hình 3.10 B*), ở mẫu khảo sát giá trị pH = 2 có sự dịch chuyển peak sang vùng 600 nm, thể hiện sự kết tụ các hạt nano vàng. Phổ hấp thụ của mẫu pH = 3 và 4 cho thấy peak hấp thụ dịch chuyển từ bước sóng 520 nm sang 650 nm, điều này chứng tỏ, ở hai giá trị pH này hệ cảm biến hoạt động có hiệu quả cao, aptamer liên kết tốt với kháng sinh, các hạt nano vàng được giải hấp ra khỏi các chuỗi aptamer nhiều nhất, tiếp xúc với dung dịch NaCl gây tụ hạt, thay đổi bước sóng hấp thụ và màu sắc hệ cảm biến. Nhưng khi tăng lên pH = 5 peak hấp thụ xuất hiện hai vị trí lần lượt tại: bước sóng 530 nm với cường độ cao và vùng 630 nm với cường độ thấp, chứng tỏ aptamer chỉ liên kết với một số ít

kháng sinh có mặt trong hệ. Và sự dịch chuyển peak hấp thụ không xảy ra khi dung dịch đệm acetate sử dụng trong hệ cảm biến có giá trị pH = 6 và 7.

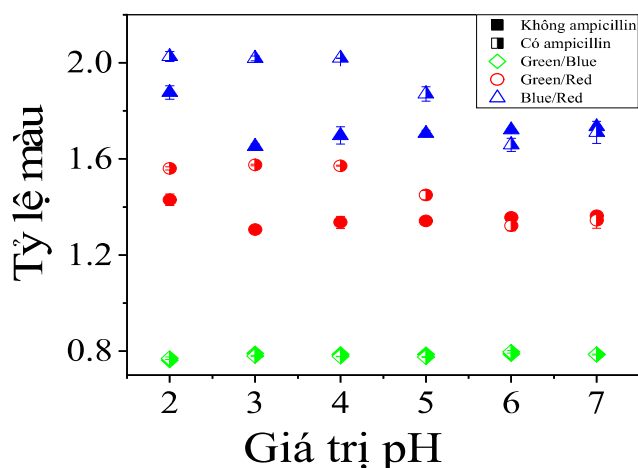
Tỷ lệ độ hấp thụ giữa hai peak hấp thụ ở bước sóng 650 nm và 520 nm ($Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$) (Hình 3.10 C) cho thấy: hệ cảm biến sử dụng dung dịch đệm acetate pH = 2 khi không có ampicillin, aptamer không bảo vệ các hạt nano vàng tốt so với các giá trị pH lớn, có thể thấy được aptamer không hoạt động hiệu quả ở pH này. Quan sát kết quả cho thấy, khi tăng dần giá trị pH từ 3 đến 7, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ thấp và hầu như không thay đổi, chứng tỏ aptamer đã thực hiện tốt khả năng bao phủ và bảo vệ các hạt nano vàng khỏi tác nhân gây tụ hạt. Đặc biệt, ở giá trị pH = 3 sự bao phủ các hạt AuNPs của aptamer được thể hiện hiệu quả nhất. Khi có ampicillin, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ thay đổi đáng kể, sự chênh lệch khoảng cách giữa tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ khi có và không có ampicillin cao nhất ở hai giá trị pH = 3 và 4. Khoảng cách chênh lệch giữa hai hệ cảm biến (không có và có ampicillin) giảm khi pH = 5. Khi hệ cảm biến sử dụng dung dịch đệm acetate pH = 6, 7 và chất mục tiêu tham gia, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ giảm thấp hơn tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ khi không có chất mục tiêu. Do aptamer không liên kết với ampicillin trong hệ cảm biến, không trải qua quá trình giải hấp các hạt AuNPs. Lượng ampicillin có trong hệ tiếp tục đóng vai trò bảo vệ các hạt nano vàng. Vì vậy, AuNPs càng khó tiếp xúc với tác nhân gây ngưng tụ hạt (NaCl).



Hình 3.11. Mẫu khảo sát giá trị pH

Quan sát màu sắc của các mẫu khảo sát giá trị pH ảnh hưởng đến hệ cảm biến (Hình 3.11) và kết quả từ phương pháp so màu di động (Hình 3.12), cho thấy tỷ lệ màu green/blue hầu như không thay đổi ở tất cả các giá trị pH ở cả hai hệ cảm biến (không có và có ampicillin). Hai hệ cảm biến này có sự chênh lệch rõ ở các tỷ lệ màu: green/red và blue/red và gần giống nhau. Tỷ lệ màu G/R và B/R ở pH = 2 có khoảng cách chênh lệch giữa hai hệ cảm biến thấy rõ,

nhưng sự chênh lệch này vẫn thấp hơn khi sử dụng pH = 3 và 4. Kết quả hai tỷ lệ màu G/R và B/R ở pH = 5 thể hiện sự chênh lệch khoảng cách giữ hai hệ cảm biến khi không có và có sự hiện diện của ampicillin có sự giảm mạnh và tiếp tục giảm ở các pH = 6 và 7.



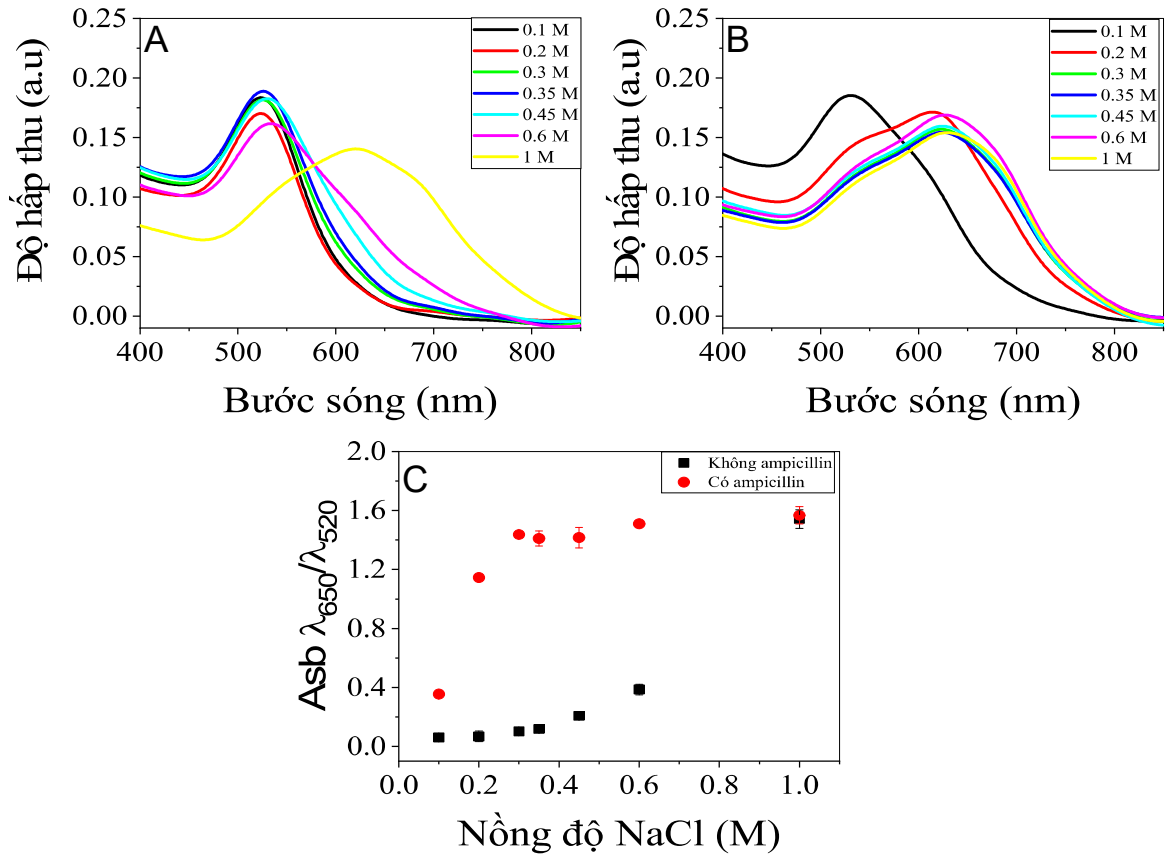
Hình 3.12. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng giá trị pH đến hệ cảm biến

Từ hai kết quả phân tích: phương pháp quang phổ UV – Vis và so màu di động, nhận thấy có sự tương đồng về hiệu quả cảm biến ở các mẫu khảo sát giá trị pH. Cả hai phương pháp đều thể hiện khi sử dụng dung dịch đệm acetate có nồng độ đệm là 0.1 M, giá trị pH = 3 và 4 hiệu quả cảm biến được cải tiến. Tuy nhiên, khi hệ cảm biến sử dụng dung dịch đệm acetate có pH = 3 và không xuất hiện chất mục tiêu, các chuỗi aptamer thực hiện nhiệm vụ làm bền và bảo vệ các hạt AuNPs tốt hơn so với khi sử dụng hệ đệm acetate pH = 4. Do đó, dung dịch đệm acetate thích hợp cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer có giá trị pH = 3 và nồng độ là 0.1 M.

3.2.3. Khảo sát nồng độ NaCl

Dung dịch sodium chloride là chất điện ly mạnh có khả năng làm giảm lớp vỏ điện tích bên ngoài, ảnh hưởng đến khả năng kết tụ của các hạt nano vàng.

Kết quả nghiên cứu cho thấy sự ảnh hưởng của nồng độ dung dịch muối đến hệ cảm biến sử dụng phương pháp đo quang phổ UV – Vis được thể hiện trong (Hình 3.13).



Hình 3.13. Ảnh hưởng nồng độ NaCl khi không có (A) và có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thụ của peak $Asb_{\lambda_{650}}/Asb_{\lambda_{520}}$ khi không có và có ampicillin (C)

Dựa vào kết quả quang phổ UV – Vis (Hình 3.13) trong vùng bước sóng 450 nm – 800 nm, cho thấy nồng độ NaCl có ảnh hưởng khi hệ cảm biến không có sự tham gia của ampicillin (Hình 3.13 A), peak hấp thụ gần như không dịch chuyển khi nồng độ NaCl tăng từ 0.1 M – 0.35 M. Nhưng khi nồng độ NaCl được tăng lên 0.45 M sự dịch chuyển peak hấp thụ bắt đầu xảy ra và có thể thấy rõ ở nồng độ là 1 M. Chứng tỏ rằng, nồng độ NaCl 1 M có tác động mạnh mẽ đến hệ cảm biến, gây ra hiện tượng ngưng tụ hoàn toàn các hạt nano vàng, dịch chuyển peak hấp thụ sang vùng bước sóng 650 nm.

Khi chất mục tiêu được thêm vào hệ cảm biến AuNPs/Apt (Hình 3.13 B), sự dịch chuyển dần peak hấp thụ sang vùng 650 nm bắt đầu diễn ra khi tăng nồng độ muối NaCl từ 0.1 M – 0.3 M và gần như không thay đổi khi tăng dần nồng độ lên 1 M. Cho thấy, ở nồng độ NaCl 0.3 M, hệ cảm biến đã thực hiện hiệu quả chức năng phát hiện kháng sinh.

Tỷ lệ độ hấp thụ giữa hai peak hấp thụ ở bước sóng 650 nm và 520 nm ($Asb_{\lambda_{650}}/Asb_{\lambda_{520}}$) (Hình 3.13 C), cho thấy khả năng kết tụ của các hạt nano vàng

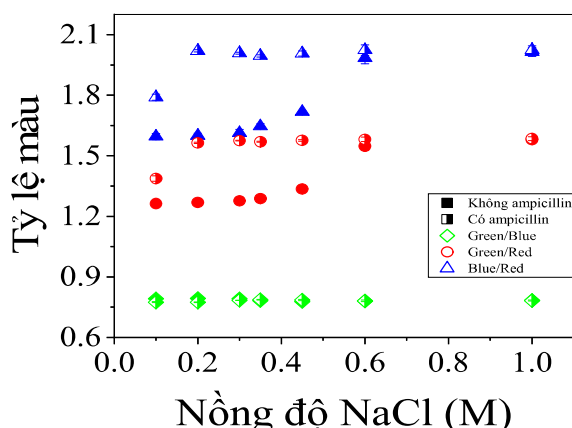
trong hệ cảm biến không có sự tham gia của ampicillin, nồng độ dung dịch muối NaCl tăng từ 0.1 M – 0.35 M không ảnh hưởng đáng kể, với sự thay đổi rất ít trên tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$. Kết quả này chứng minh rằng, aptamer bảo vệ các hạt nano vàng tốt và ổn định ở các nồng độ NaCl này. Trong khi đó, khi tăng dần nồng độ NaCl, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ tăng lên. Đặc biệt, ở nồng độ NaCl = 1 M peak hấp thụ chuyển hóa hoàn toàn, cho thấy aptamer không thể bảo vệ các hạt AuNPs trước sự tấn công của tác nhân NaCl.

Khi có ampicillin, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ thay đổi đáng kể, sự chênh lệch khoảng cách giữa tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ khi có và không có ampicillin bắt đầu ở nồng độ NaCl = 0.1 M, tăng dần ở 0.2 M và đạt cực đại ở 0.3 M. Khoảng cách này gần như không thay đổi khi nồng độ dung dịch muối là 0.35 M. Sự chênh lệch khoảng cách hai tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ của hai hệ nano khi không có và có ampicillin bắt đầu giảm dần ở các nồng độ 0.45 M và 0.6 M. Khi hệ cảm biến sử dụng nồng độ NaCl = 1M, hai tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ khi không có và có sự hiện diện chất mục tiêu là bằng nhau.

Quan sát màu sắc của các mẫu khảo sát nồng độ NaCl (Hình 3.14) và kết quả phân tích thực hiện bằng phương pháp so màu di động (Hình 3.15) cho thấy: ở cả hai hệ cảm biến (không có và có ampicillin) tỷ lệ màu G/B hầu như không có sự thay đổi ở các giá trị nồng độ NaCl. Sự chênh lệch có thể thấy trên hai hệ cảm biến này xảy ra ở các tỷ lệ màu: G/R và B/R. Hai tỷ lệ màu G/R và B/R ở các nồng độ NaCl khác nhau có khoảng cách chênh lệch giữa hai hệ gần như giống nhau. Sự chênh lệch khoảng cách tỷ lệ màu sắc giữa hệ cảm biến có ampicillin và không có ampicillin cao nhất ở nồng độ NaCl = 0.2 M – 0.3 M và giảm dần ở các nồng độ 0.35 M và 0.45 M. Khoảng cách sự chênh lệch tỷ lệ màu sắc của cả hai hệ cảm biến này gần như bằng không ở nồng độ muối NaCl là 0.6 M và 1 M.



Hình 3.14. Mẫu khảo sát nồng độ NaCl



Hình 3.15. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng nồng độ NaCl đến hệ cảm biến

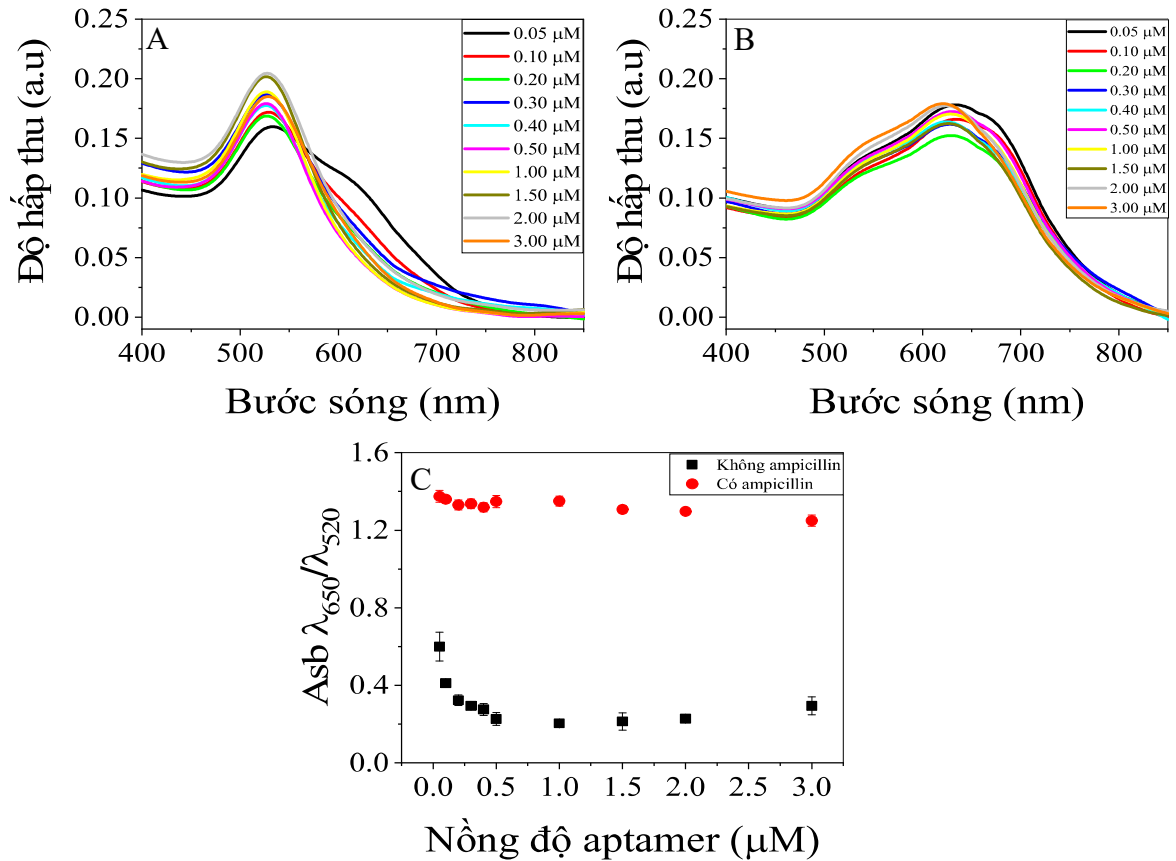
So sánh kết quả giữa hai phương pháp quang phổ UV – Vis và so màu di động, cho thấy cả hai phương pháp phân tích có sự tương đồng. Qua kết quả quang phổ UV – Vis có thể thấy ở nồng độ NaCl = 0.3 M hệ cảm biến đã thực hiện đúng trách nhiệm phát hiện kháng sinh, sự ổn định của chuỗi aptamer, các liên kết chặt chẽ của aptamer và ampicillin được thể hiện qua tác động của NaCl lên các hạt AuNPs. Ở phương pháp so màu di động, với sự thay đổi tỷ lệ màu sắc, ta có thể thấy ở nồng độ NaCl = 0.2 M và 0.3 M hệ cảm biến cũng đã thực hiện hiệu quả khả năng của nó. Kết hợp các nhận định trên cho thấy, nồng độ dung dịch NaCl thích hợp được lựa chọn sử dụng nhằm nâng cao hiệu quả, giảm thiểu chi phí cho hệ cảm biến AuNPs/Apt được lựa chọn là 0.3 M và áp dụng cho cả hai phương pháp phân tích.

3.2.4. Khảo sát nồng độ aptamer

Nồng độ aptamer cũng đóng vai trò quan trọng đối với kết quả độ nhạy, chi phí và hiệu suất cảm biến. Việc sử dụng nồng độ aptamer quá thấp hay quá cao đều có tác động mạnh đến hệ cảm biến.

Vì vậy, để đảm bảo rằng hệ cảm biến có thể đạt hiệu quả cảm biến tối đa, cần có một nồng độ aptamer thích hợp cho hệ. Cho nên, việc khảo sát nồng độ aptamer là điều cần thiết và quan trọng.

Kết quả phổ hấp thụ UV – Vis và thiết bị so màu di động đánh giá ảnh hưởng của nồng độ aptamer đến hệ cảm biến được thể hiện trong (Hình 3.16) và (Hình 3.18).



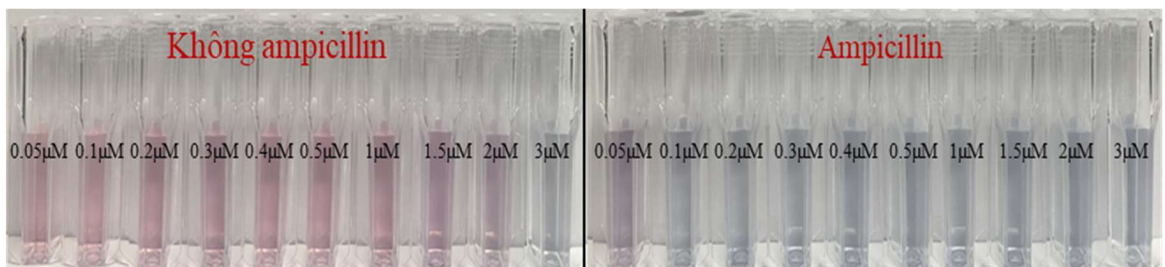
Hình 3.16. Ảnh hưởng nồng độ aptamer khi không có (A), có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thụ của peak $Asb_{\lambda_{650}/\lambda_{520}}$ khi không có và có ampicillin (C)

Quan sát kết quả quang phổ UV – Vis (Hình 3.16) ở vùng bước sóng 450 nm – 800 nm cho thấy rằng: nồng độ aptamer ảnh hưởng không đáng kể khi hệ cảm biến không có sự tham gia của ampicillin (Hình 3.16 A). Cụ thể, ở nồng độ 0.05 μM , aptamer xuất hiện hai peak hấp thụ ở vùng bước sóng 530 nm và 630 nm, cho thấy một số lượng nhỏ các hạt nano vàng trong hệ cảm biến kết tụ. Và sự xuất hiện peak hấp thụ ở vùng bước sóng 630 nm mất dần khi nồng độ aptamer được tăng dần từ 0.1 – 0.2 μM . Chúng tỏ rằng, nồng độ aptamer thấp không đủ bao phủ và bảo vệ các hạt nano vàng dưới tác nhân NaCl. Khi nồng độ aptamer tăng lên 0.3 – 3 μM peak hấp thụ 630 nm gần như không xuất hiện, đỉnh hấp thụ cực đại ở vùng bước sóng 520 nm, điều đó đã khẳng định lại, khi nồng độ aptamer tăng, khả năng bảo vệ các hạt nano bởi các chuỗi aptamer cũng tăng lên, ngăn cản sự tiếp xúc giữa các hạt nano vàng với dung dịch NaCl.

Tuy nhiên, khi chất mục tiêu được thêm vào hệ cảm biến AuNPs/Apt (Hình 3.16 B), sự dịch chuyển dần peak hấp thụ sang vùng bước sóng 650 nm ở tất cả các nồng độ aptamer khác nhau từ 0.05 – 3 μM đều xảy ra.

Tỷ lệ độ hấp thụ giữa hai peak hấp thụ ở bước sóng 650 nm và 520 nm ($\text{Asb}_{\lambda 650/\lambda 520}$) (Hình 3.16 C), cho thấy nồng độ aptamer có ảnh hưởng quan trọng đến hiệu quả hệ cảm biến. Khi không có sự tham gia của ampicillin, nồng độ aptamer tăng dần từ 0.05 – 0.04 μM , tỷ lệ $\text{Asb}_{\lambda 650/\lambda 520}$ giảm dần, thể hiện trạng thái các hạt nano vàng trong hệ cảm biến ở nồng độ aptamer 0.05 μM có sự thay đổi nhiều nhất so với ban đầu và sự thay đổi giữa hai trạng thái trước và sau phản ứng của các hạt AuNPs giảm dần khi tăng nồng độ aptamer. Sau khi nồng độ aptamer tăng lên 0.5 – 3 μM , tỷ lệ $\text{Asb}_{\lambda 650/\lambda 520}$ hầu như không thay đổi, khả năng bao phủ, bảo vệ AuNPs của aptamer tốt và ổn định.

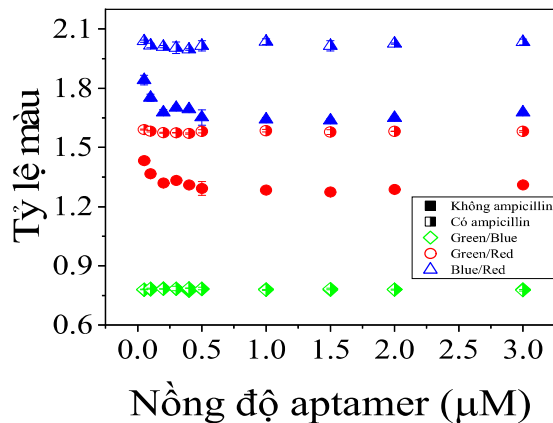
Khi có ampicillin, tỷ lệ $\text{Asb}_{\lambda 650/\lambda 520}$ thay đổi không đáng kể giữa các mẫu aptamer có nồng độ khác nhau. Nhưng khi xét về sự chênh lệch khoảng cách giữa tỷ lệ $\text{Asb}_{\lambda 650/\lambda 520}$ khi có và không có ampicillin ở nồng độ aptamer là 0.05 μM và tăng dần lên 0.4 μM , có thể thấy sự chênh lệch về khoảng cách giữa các mẫu khảo sát cũng tăng dần và cao nhất ở nồng độ aptamer 0.5 – 1 μM . Sau đó, sự chênh lệch khoảng cách giữa hai tỉ lệ $\text{Asb}_{\lambda 650/\lambda 520}$ của hai hệ cảm biến không có và có ampicillin giảm dần ở các nồng độ 1.5 μM đến 3 μM . Chứng minh rằng, khi sử dụng nồng độ aptamer quá cao, dư lượng aptamer không hấp phụ lên bề mặt nano vàng vẫn tồn tại trong hệ cảm biến, nên khi ampicillin được thêm vào sẽ liên kết trước với các chuỗi aptamer dư lượng, sau đó mới liên kết với các aptamer trên nano vàng. Vì vậy, một lượng các hạt nano vàng vẫn được bảo vệ bởi aptamer chưa liên kết với phân tử ampicillin.



Hình 3.17. Mẫu khảo sát nồng độ aptamer

Qua màu sắc của các mẫu khảo sát nồng độ aptamer ảnh hưởng đến hệ cảm biến (Hình 3.17) và kết quả khảo sát bằng phương pháp so màu di động

(Hình 3.18), cho thấy khoảng cách của tỷ lệ màu G/B ở cả hai hệ cảm biến (không có và có ampicillin) gần bằng nhau và hầu như không có sự thay đổi ở các giá trị nồng độ aptamer. Sự chênh lệch có thể thấy rõ trên hai hệ cảm biến này xảy ra ở các tỷ lệ màu: G/R và B/R. Tỷ lệ G/R và B/R ở các nồng độ aptamer khác nhau có sự chênh lệch giữa hai hệ gần như giống nhau về chiều hướng tăng giảm khoảng cách. Sự chênh lệch khoảng cách tỷ lệ màu giữa hệ cảm biến có ampicillin và không có ampicillin nhỏ nhất ở nồng độ aptamer là $0.05 \mu\text{M}$ và tăng dần khi nồng độ aptamer tăng. Khoảng cách chênh lệch này đạt giá trị cao nhất khi nồng độ aptamer $0.5 \mu\text{M}$ và hầu như không thay đổi khi tăng dần nồng độ aptamer lên $3 \mu\text{M}$.



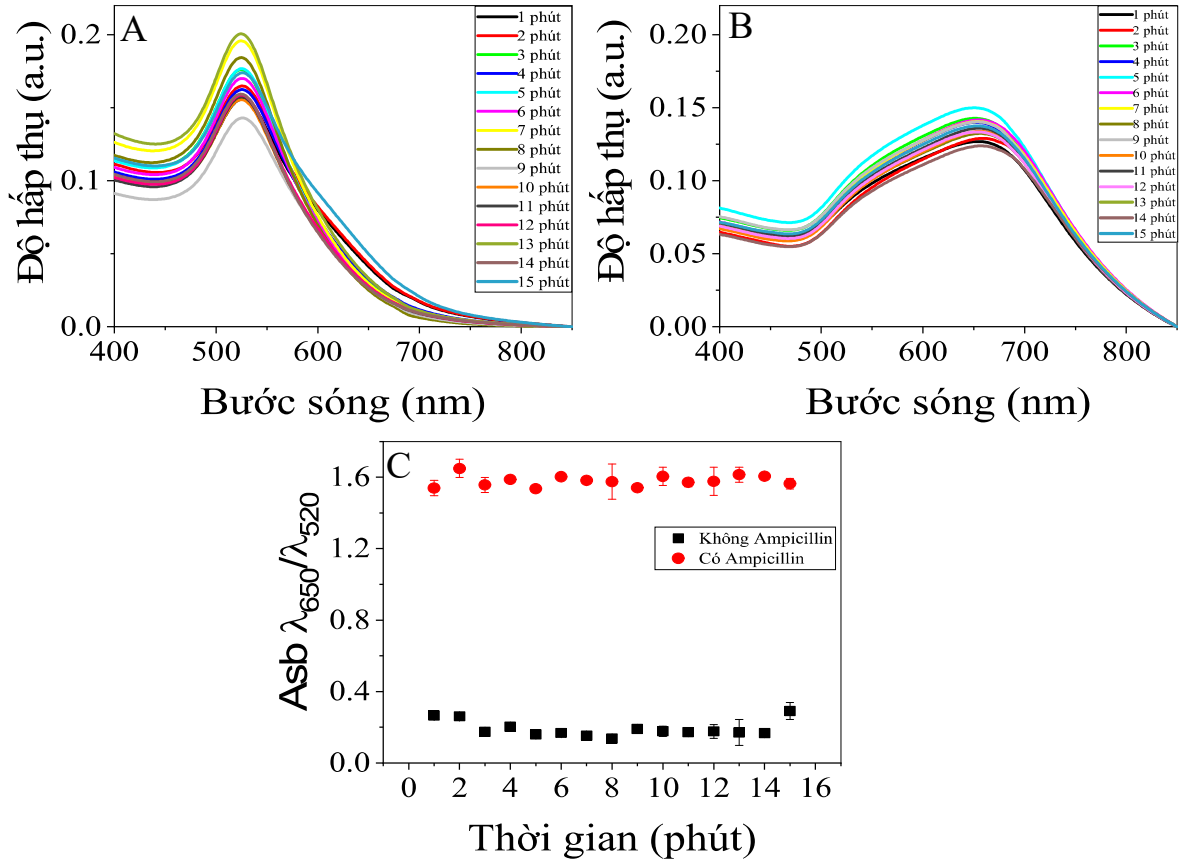
Hình 3.18. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng nồng độ aptamer đến hệ cảm biến

So sánh kết quả hai phương pháp được áp dụng là: quang phổ UV – Vis và so màu di động, cho thấy sự tương đồng về kết quả của nồng độ aptamer ảnh hưởng đến hệ cảm biến. Ở cả hai phương pháp phân tích cho thấy, nồng độ aptamer $0.5 \mu\text{M}$ thích hợp được lựa chọn sử dụng cho hệ cảm biến AuNPs/Apt nhằm đem lại hiệu quả và sự ổn định.

3.2.5. Khảo sát thời gian ủ aptamer

Thời gian ủ aptamer với các hạt nano vàng đóng vai trò quan trọng trong hệ cảm biến. Aptamer cần thời gian để có thể bao phủ và liên kết với các hạt nano vàng. Sự liên kết này đóng vai trò quan trọng trong việc tạo tín hiệu cảm biến. Thông thường, thời gian ủ aptamer liên kết với các hạt nano vàng trong khoảng từ vài phút đến vài giờ tùy thuộc vào nồng độ aptamer, kích thước hạt nano vàng, điều kiện và môi trường thực hiện.

Vì vậy, khảo sát thời gian cho quá trình liên kết giúp các chuỗi aptamer bao phủ, bảo vệ tốt AuNPs được thực hiện và kết quả sử dụng phương pháp UV – Vis được thể hiện ở (Hình 3.19).



Hình 3.19. Ảnh hưởng thời gian ủ aptamer khi không có (A) và có (B) ampicillin, tỉ lệ độ hấp thụ của peak $Asb_{\lambda_{650}/\lambda_{520}}$ khi không có và có ampicillin (C)

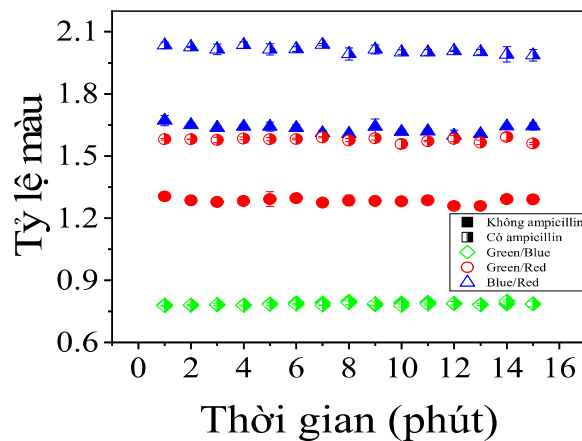
Kết quả phép đo quang phổ UV – Vis (Hình 3.19) đánh giá ảnh hưởng thời gian ủ aptamer được thể hiện vùng bước sóng 450 nm – 800 nm cho thấy: hệ cảm biến không có ampicillin (Hình 3.19 A) peak hấp thụ của hệ hầu như không thay đổi khi thời gian ủ aptamer tăng dần từ 1 – 15 phút và đỉnh hấp thụ ở khoảng bước sóng 520 nm.

Đồng thời, thời gian ủ aptamer còn được đánh giá đối với hệ cảm biến có ampicillin (Hình 3.19 B). Kết quả cho thấy, khi tăng thời gian ủ aptamer peak hấp thụ ở thời gian ủ 1 phút và 15 phút không thay đổi nhiều. Peak hấp thụ ở vùng bước sóng 650 nm, do hệ cảm biến có ampicillin, aptamer liên kết với các phân tử ampicillin gây ra hiện tượng giải hấp các hạt nano vàng. Khi đó, AuNPs

gặp tác nhân gây NaCl gây tụ hạt, dung dịch hệ cảm biến chuyển từ màu đỏ sang màu xanh/tím.

Kết quả tỷ lệ độ hấp thụ giữa hai peak hấp thụ ở bước sóng 650 nm và 520 nm ($Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$) (Hình 3.19 C) cho thấy: thời gian ủ aptamer trong hai trường hợp hệ cảm biến có và không có ampicillin tăng từ 1 phút đến 15 phút, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ thay đổi không đáng kể. Khoảng cách chênh lệch $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ giữa hai hệ cảm biến có và không có kháng sinh đồng đều nhau ở các thời gian khảo sát. Qua đó có thể thấy rằng, thời gian ủ aptamer không ảnh hưởng đến khả năng phát hiện kháng sinh của hệ cảm biến AuNPs/Apt và khả năng bao phủ bảo vệ các hạt nano vàng tránh khỏi tác nhân gây tụ hạt của aptamer. Chứng tỏ rằng, chuỗi aptamer sử dụng đang được thực hiện trong điều kiện và môi trường hoàn toàn thích hợp, giúp chúng tối ưu khả năng, thực hiện tốt nhiệm vụ trong hệ cảm biến.

Phương pháp so màu di động được sử dụng và kết quả phân tích màu sắc dựa trên tỷ lệ màu của ba màu đỏ, lục, lam khảo sát ảnh hưởng thời gian ủ aptamer đến hệ cảm biến được thể hiện trong (Hình 3.20).

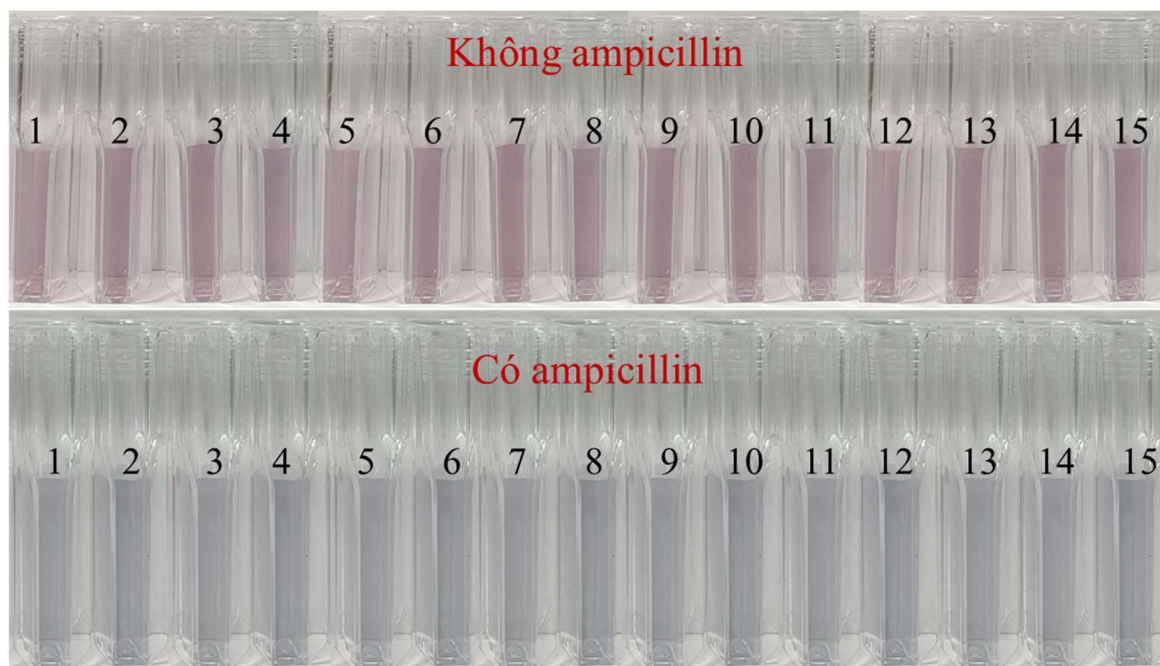


Hình 3.20. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng thời gian ủ aptamer

Dựa vào kết quả của phương pháp so màu di động (Hình 3.20), cho thấy tỷ lệ màu G/B hầu như không thay đổi ở tất cả các thời gian ủ aptamer được khảo sát cả khi không có hay có ampicillin. Hai hệ cảm biến (không có và có ampicillin) có sự chênh lệch ở các tỷ lệ màu: G/R và B/R. Sự chênh lệch khoảng cách giữa tỷ lệ màu của hai hệ đánh giá hiệu quả hệ cảm biến. Tuy nhiên, kết quả khảo sát bằng phương pháp so màu di động cho thấy, tỷ lệ màu G/R, B/R và ampicillin có hay không có trong hệ cảm biến gần như không thay đổi khi

thời gian ủ aptamer tăng từ 1 phút đến 15 phút. Chứng tỏ rằng, thời gian ủ aptamer không ảnh hưởng đến hiệu quả hệ cảm biến.

Màu sắc mẫu khảo sát thời gian ủ aptamer có và không có ampicillin trong hệ cảm biến (Hình 3.21) cho thấy: hệ cảm biến không bị ảnh hưởng bởi thời gian ủ aptamer. Khi không có ampicillin, hệ cảm biến có màu hồng (màu sắc của dung dịch nano vàng) ở các thời gian khảo sát. Ngược lại, dung dịch chuyển sang màu xanh khi hệ cảm biến có ampicillin.



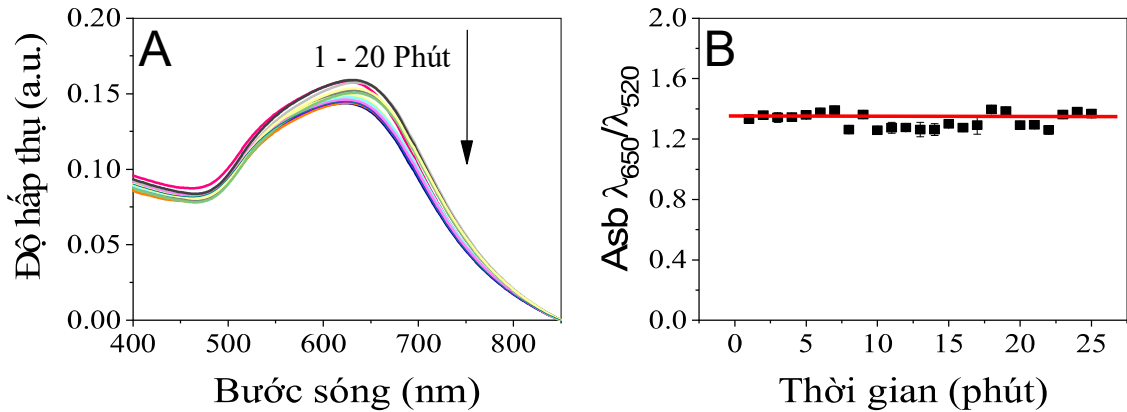
Hình 3.21. Mẫu khảo sát thời gian ủ aptamer

Từ các kết quả trên, có thể kết luận rằng thời gian ủ aptamer không ảnh hưởng đến khả năng cảm biến. Tuy nhiên, việc duy trì, tối ưu hiệu quả gắn kết lên các hạt nano vàng và hoạt động ổn định của hệ cảm biến, thời gian ủ aptamer thích hợp được lựa chọn là 10 phút.

3.2.6. Khảo sát thời gian ủ ampicillin

Thời gian ủ ampicillin trong hệ cảm biến đóng một vai trò quan trọng, vì nó kiểm soát quá trình liên kết giữa ampicillin và aptamer. Thời gian quá ngắn hoặc quá dài có thể ảnh hưởng đến hiệu năng phát hiện của hệ cảm biến. Thời gian ủ quá ngắn, ampicillin có thể sẽ không đủ thời gian để tạo ra một liên kết chắc chắn. Ngược lại, khi thời gian ủ này quá dài có thể dẫn đến sự phân giải của ampicillin, làm ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Vì vậy, thời gian ủ cần được cân nhắc để đảm bảo hệ cảm biến hoạt động hiệu quả nhất.

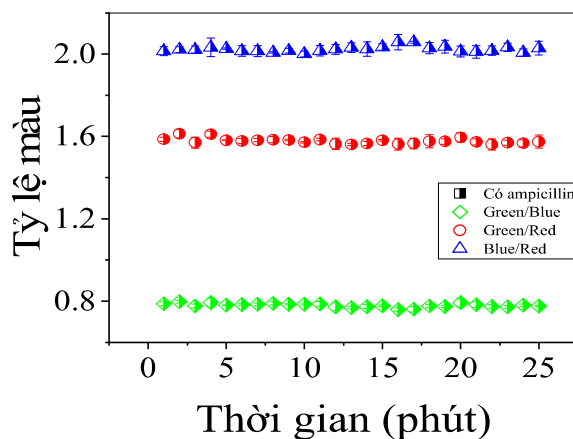
Kết quả phổ hấp thụ UV – Vis khảo sát thời gian ủ ampicillin được thể hiện trong (Hình 3.22).



Hình 3.22. Ảnh hưởng thời gian ủ ampicillin (A), tỉ lệ độ hấp thụ của peak $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ khi có ampicillin (B)

Kết quả phép đo quang phổ UV – Vis (Hình 3.22) đánh giá ảnh hưởng thời gian ủ ampicillin được thể hiện vùng bước sóng 450 – 800 nm cho thấy: hệ cảm biến có ampicillin (Hình 3.22 A) peak hấp thụ của hệ hầu như không thay đổi khi thời gian ủ aptamer tăng dần từ 1 – 25 phút và đỉnh hấp thụ ở khoảng bước sóng 650 nm, do aptamer liên kết với các phân tử ampicillin gây ra hiện tượng giải hấp các hạt nano vàng. Khi đó, AuNPs gặp tác nhân gây NaCl gây tụ hạt, dung dịch hệ cảm biến chuyển từ màu đỏ sang màu xanh/tím.

Kết quả tỉ lệ độ hấp thụ giữa hai peak hấp thụ ở bước sóng 650 nm và 520 nm ($Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$) (Hình 3.22 B) cho thấy: thời gian ủ ampicillin khi tăng từ 1 phút đến 25 phút, tỉ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ thay đổi không đáng kể. Qua đó có thể thấy rằng, thời gian ủ ampicillin không ảnh hưởng đến khả năng phát hiện kháng sinh của hệ cảm biến AuNPs/Apt.



Hình 3.23. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng thời gian ủ ampicillin

Từ kết quả của phương pháp so màu di động (*Hình 3.23*) và màu sắc hệ cảm biến (*Hình 3.24*), cho thấy cả ba tỷ lệ màu G/B, G/R, B/R và màu sắc của hệ cảm biến sau phản ứng hầu như không thay đổi khi tăng thời gian ủ ampicillin. Chứng tỏ rằng, thời gian ủ ampicillin không ảnh hưởng đến khả năng liên kết giữa aptamer và kháng sinh.



Hình 3.24. Mẫu khảo sát thời gian ủ ampicillin

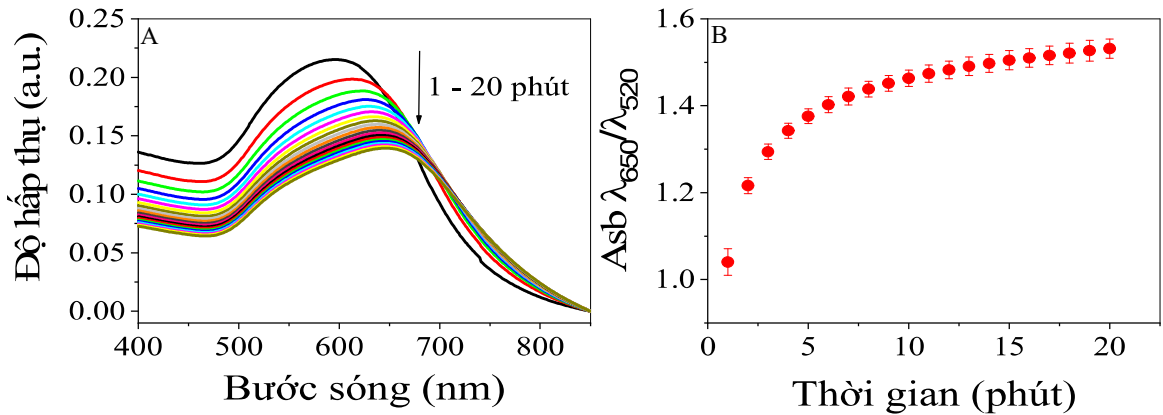
So sánh kết quả hai phương pháp được áp dụng là đo quang phổ UV – Vis và so màu di động, cho thấy sự tương đồng về kết quả của sự ảnh hưởng thời gian ủ ampicillin đến cảm biến là không đáng kể. Nhưng để đảm bảo có một hệ cảm biến ổn định về kết quả, hiệu quả, thì phải đảm bảo các liên kết được tạo ra phải mạnh, chặt chẽ và bền. Vì vậy, khoảng thời gian thích hợp để các phân tử ampicillin liên kết bền chặt với aptamer nên được lựa chọn là 15 phút.

3.2.7. Khảo sát thời gian ủ NaCl

Thời gian ủ NaCl là khoảng thời gian cuối cùng kể từ khi dung dịch NaCl được thêm vào hệ cảm biến đến khi thực hiện phép đo quang phổ UV – Vis và so màu di động.

Thời gian ủ NaCl có thể ảnh hưởng đến hiệu quả phát hiện kháng sinh của hệ. Nếu thời gian ủ quá ngắn, dung dịch NaCl chưa thể tiếp xúc hoàn toàn với các hạt nano vàng được giải hấp ra khỏi các chuỗi aptamer, nên quá trình ngưng tụ các hạt nano chưa xảy ra hoàn toàn, dẫn đến hệ cảm biến không hoạt động ổn định và hiệu quả giữa các lần thử nghiệm.

Kết quả phân tích UV – Vis thời gian ủ NaCl trong hệ cảm biến nano vàng – aptamer được thể hiện như (*Hình 3.25*).



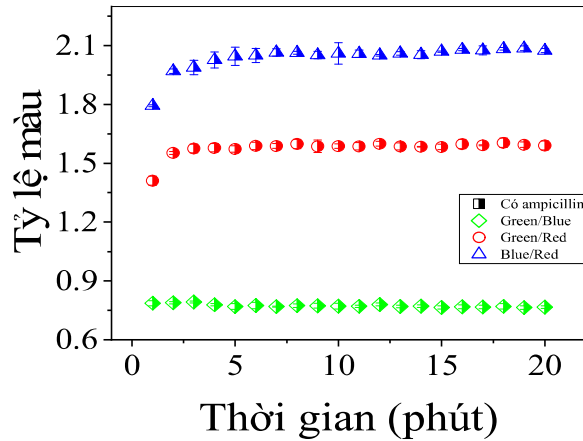
Hình 2.25. Ảnh hưởng thời gian ủ NaCl (A), tỉ lệ độ hấp thụ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ (B) khi có ampicillin

Kết quả phép đo quang phổ UV – Vis (Hình 3.25) đánh giá ảnh hưởng thời gian ủ NaCl được thể hiện vùng bước sóng 450 nm – 800 nm cho thấy: hệ cảm biến có ampicillin (Hình 3.25 A) ở thời gian 1 phút ủ dung dịch NaCl trong hệ cảm biến có đỉnh hấp thụ ở vùng 580 nm – 600 nm. Khi thời gian ủ NaCl tăng lên 2 – 10 phút, peak hấp thụ có xu hướng dịch chuyển dần sang vùng 650 nm. Chứng tỏ rằng, khi thời gian ủ NaCl tăng dần các hạt nano vàng bị kết tụ nhiều hơn, hệ cảm biến hoạt động tốt hơn. Nhưng khi tiếp tục tăng thời gian ủ NaCl, sự dịch chuyển peak vẫn còn xảy ra nhưng rất ít.

Kết quả tỷ lệ độ hấp thụ giữa hai peak hấp thụ ở 650 nm và 520 nm ($Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$) (Hình 3.25 B) cho thấy: thời gian ủ NaCl ở phút thứ nhất và phút thứ hai, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ có sự chênh lệch cao nhất. Khi tăng dần thời gian ủ từ 3 – 15 phút, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ tiếp tục tăng và vẫn có thể thấy rõ. Nhưng khi khoảng thời gian này tiếp tục tăng lên đến 20 phút, tỷ lệ $Asb_{\lambda 650/\lambda 520}$ có thay đổi nhưng không đáng kể. Chứng tỏ rằng, hệ cảm biến có sự thay đổi màu sắc, peak hấp thụ dịch chuyển diễn ra nhanh nhất trong 2 phút đầu tiên kể từ khi thêm dung dịch NaCl, rất nhiều các hạt nano vàng bị kết tụ ở giai đoạn này. Từ 3 đến 15 phút, quá trình kết tụ các hạt nano vàng diễn ra chậm hơn. Sau khoảng thời gian 15 – 20 phút ủ NaCl trong hệ, quá trình ngưng tụ AuNPs và phát hiện kháng sinh ampicillin xảy ra rất ít.

Dựa vào kết quả thu được từ phương pháp so màu di động (Hình 3.26), cho thấy tỷ lệ màu G/B hầu như không thay đổi ở tất cả các thời gian ủ NaCl. Sự chênh lệch ở các tỷ lệ màu: G/R và B/R được thấy rõ ở khảo sát này. Cụ thể, ở phút đầu tiên, tỷ lệ G/R và B/R thấp hơn rất nhiều so với phút thứ hai. Từ

phút thứ 3 đến phút thứ 5 tỷ lệ G/R và B/R thay đổi không đáng kể theo thời gian. Sau đó, các tỷ lệ màu này gần như không thay đổi khi thời gian ủ kéo dài đến 20 phút. Chứng tỏ rằng, thời gian ủ NaCl có ảnh hưởng đến hệ cảm biến, và thấy rõ nhất ở các khoảng thời gian đầu tiên.



Hình 3.26. Tỷ lệ màu thể hiện ảnh hưởng thời gian ủ NaCl

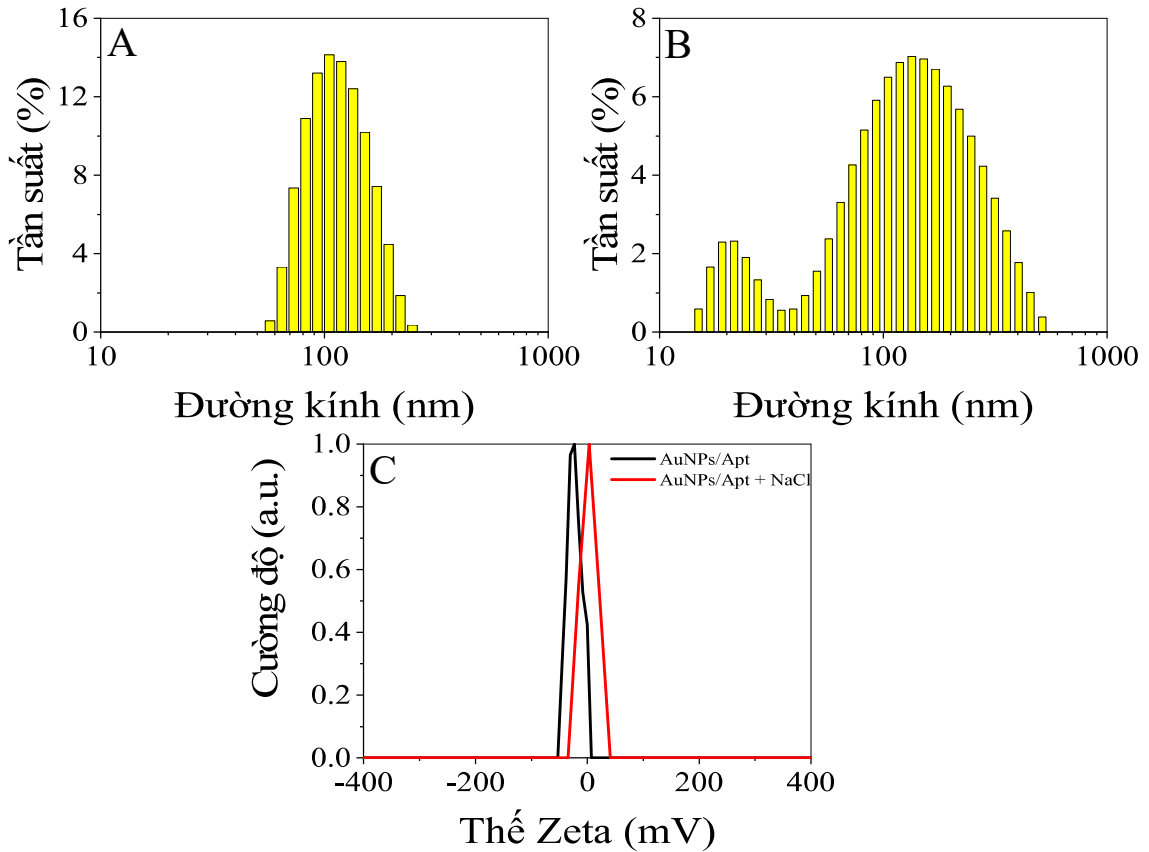
Từ kết quả của các phương pháp phân tích UV – Vis và so màu di động, cho thấy sự tương đồng của cả hai kết quả. Thời gian ủ NaCl có ảnh hưởng đến hiệu quả của hệ cảm biến ở 5 – 10 phút đầu. Tuy nhiên, để có thể tạo hệ cảm biến có hiệu quả, độ ổn định cao và có thể ứng dụng cả hai phương pháp phân tích, thời gian ủ NaCl thích hợp được lựa chọn là 15 phút.

3.3. ĐẶC TÍNH LÝ HÓA CỦA HỆ CẢM BIẾN NANO VÀNG – APTAMER

3.3.1. DLS – Zeta

Kích thước hạt trong dung dịch của hệ AuNPs/Apt và AuNPs/Apt + NaCl được xác định bởi phổ tán xạ ánh sáng (DLS). Dữ liệu DLS có thể xác định kích thước trung bình của hạt cũng như sự phân bố kích thước trong dung dịch. Kết quả DLS cho thấy rằng, hệ cảm biến AuNPs/Apt với kích thước trung bình từ 70 – 120 nm, kích thước thu được nhiều nhất ở khoảng 100 nm (Hình 3.27 A).

Kết quả DLS của hệ AuNPs/Apt + NaCl (Hình 3.27 B) cung cấp kích thước của hệ phân bố từ 10 – 140 nm, kích thước tập trung ở 120 nm. Chứng tỏ rằng, các chuỗi aptamer có liên kết với các hạt nano vàng, nên kích thước của hệ cảm biến tăng.

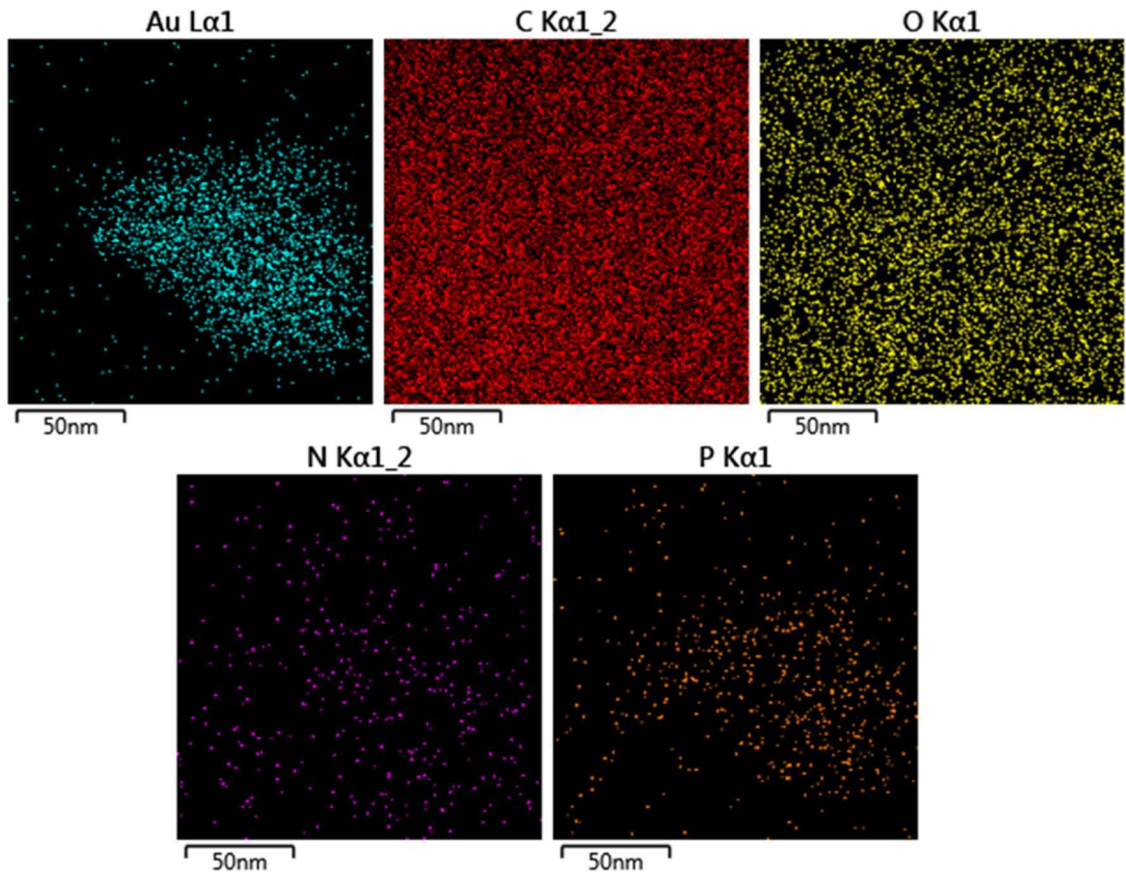


Hình 3.27. Kết quả DLS hệ AuNPs/Apt (A) và AuNPs/Apt + NaCl (B), thế Zeta (C)

Kết quả phân tích giá trị thế zeta của hệ AuNPs/Apt là -21.7 mV (Hình 3.27 C), cho thấy sự ổn định tương đối của hệ nano. Từ đó, chứng minh rằng hệ nano vàng – aptamer có độ bền khá tốt. Theo đó, hệ cảm biến AuNPs/Apt khi có tác nhân NaCl (AuNPs/Apt + NaCl) tham gia cho kết quả thế zeta ở 1.9 mV. Chứng tỏ rằng, khi có sự tham gia của tác nhân NaCl, lực đẩy tĩnh điện của các hạt nano vàng giảm, dễ bị kết tụ khi các chuỗi aptamer tương tác với chất mục tiêu và có thêm tác nhân NaCl.

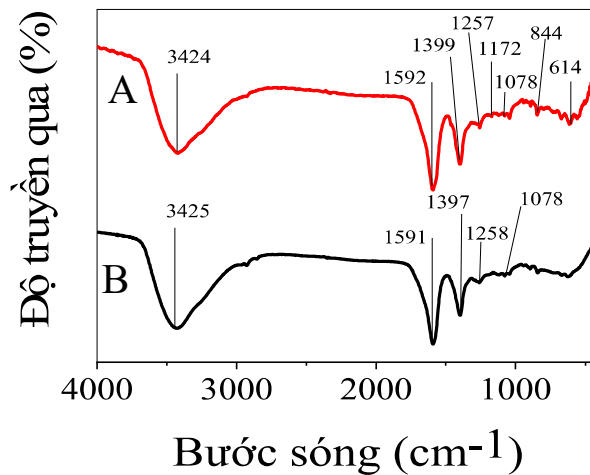
3.3.2. STEM – Mapping

Để quan sát được sự liên kết giữa các hạt nano và aptamer, công nghệ STEM – Mapping được sử dụng (Hình 3.28). Kết quả cho thấy rằng, các nguyên tố cacbon (C), oxi (O) được phân bố đồng đều trên toàn hệ. Nguyên tố photpho (P) và nito (N) có sự phân bố rõ ràng trên bề mặt nano vàng, Kết hợp với sự phân bố các nguyên tố trên bề mặt hệ AuNPs (Hình 3.5), càng chứng minh được sự hiện diện của các chuỗi aptamer liên kết xung quanh các hạt nano vàng của hệ cảm biến AuNPs/Apt.



Hình 3.28. STEM – Mapping hệ AuNPs/Apt

3.3.3. FT – IR



Hình 3.29. Phổ FT – IR của AuNPs (A) và AuNPs/Apt (B)

Phổ hồng ngoại (FT – IR) được ứng dụng trong xác định các nhóm chức trong thành phần hữu cơ của hệ nano vàng – aptamer, sự hiện diện của các liên kết hóa học khi aptamer liên kết với các hạt nano vàng (*Phụ lục 1, 2*). Kết quả phân tích cho thấy, ở cả hai mẫu có các dãy hấp thụ là tương tự nhau, điều này

chỉ ra rằng hệ cảm biến có sự hiện diện của AuNPs và aptamer liên kết với nhau (*Hình 3.29*).

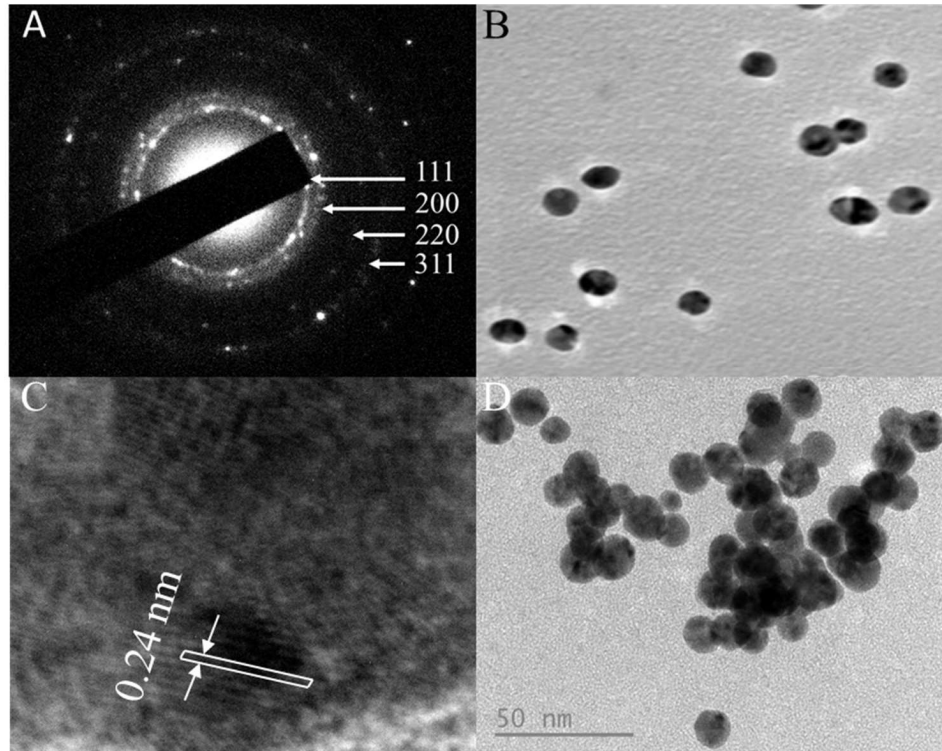
Kết quả phổ FT – IR của nano vàng (*Hình 3.29 A*) xuất hiện tín hiệu tại vùng 3425 cm^{-1} đặc trưng dao động giãn của nhóm O – H của nhóm OH của trisodium citrate và H_2O . Tín hiệu tại 1591 cm^{-1} chỉ ra dao động của nhóm C = O. Sự hiện diện của nhóm carboxylate ($-\text{COO}-$) có trong hợp chất trisodium citrate được thể hiện ở các tín hiệu 1397 cm^{-1} và 1258 cm^{-1} . Tín hiệu ở vị trí 1078 cm^{-1} thể hiện cho sự dao động của nhóm C – O, đặc trưng cho cấu trúc hợp chất trisodium citrate, cho thấy trisodium citrate đóng vai trò như chất làm bền cho mẫu AuNPs sau tổng hợp.

Hệ cảm biến nano vàng – aptamer (AuNPs/Apt) qua kết quả phổ hồng ngoại (*Hình 3.29 B*) cho thấy các tín hiệu ở vị trí 3424 cm^{-1} , 1592 cm^{-1} , 1399 cm^{-1} , 1258 cm^{-1} , 1078 cm^{-1} xuất hiện tương tự như ở mẫu nano vàng. Đặc biệt, tín hiệu xuất hiện ở vùng 1172 cm^{-1} là tín hiệu dao động liên quan của liên kết phosphodiester (PO^{2-}) có trong cấu trúc aptamer. Ở các vị trí 614 cm^{-1} và 844 cm^{-1} cho thấy sự xuất hiện của đường deoxyribose _ hợp chất quan trọng trong cấu trúc aptamer (DNA).

3.3.4. SAED, TEM và HR - TEM

Cấu trúc tinh thể của vật liệu AuNPs/Apt được đánh giá thông qua phương pháp nhiễu xạ electron vùng chọn lọc (SAED). Kết quả SAED cho thấy sự hình thành các hướng tinh thể đặc trưng cho cấu trúc hạt nano vàng với mặt phẳng liên quan đến hướng tinh thể (111), (200), (220) và (311) (*Hình 3.30 A*).

Quan sát từ ảnh TEM (*Hình 3.30 B*) của hệ cảm biến AuNPs/Apt cho thấy các hạt nano vàng không có sự thay đổi về kích thước hạt. Sự hiện diện của các chuỗi aptamer không ảnh hưởng đến sự phân bố, khả năng phân tán của các hạt nano vàng. Chứng minh rằng, khi chưa có sự hiện diện của ampicillin và tác nhân NaCl, các hạt nano vàng không có sự kết tụ và có màu đỏ.



Hình 3.30. Ảnh SAED (A), TEM (B) và HR – TEM (C) của hệ cảm biến AuNPs/Apt, TEM (D) của hệ AuNPs/Apt@ampicillin + NaCl

Kết quả quan sát được từ phương pháp hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR – TEM) của hệ cảm biến AuNPs/Apt (Hình 3.30 C), cho thấy khoảng cách giữa các vân (mặt phẳng tinh thể của nano) là 0.24 nm \approx 2.4 Å. Giá trị khoảng cách này phù hợp với khoảng cách giữa các mặt phẳng (111) trong hạt nano vàng FCC tinh khiết (2.35 Å). Từ đó, có thể thấy các hạt nano trong hệ AuNPs/Apt là các hạt nano vàng có cấu trúc tinh thể FCC và tập trung chủ yếu ở các mặt phẳng (111).

Tính chất bề mặt của hệ AuNPs/Apt@ampicillin + NaCl được quan sát qua ảnh TEM của hệ (Hình 3.30 D) cho thấy: các hạt nano vàng vẫn tồn tại ở dạng hình cầu, nhưng bị kết tụ, tập hợp lại khi sự tương tác, liên kết của Apt và kháng sinh xảy ra. Do đó, hệ cảm biến đã có sự thay đổi từ màu đỏ sang màu xanh/tím do sự thay đổi tính chất bề mặt của vật liệu AuNPs.

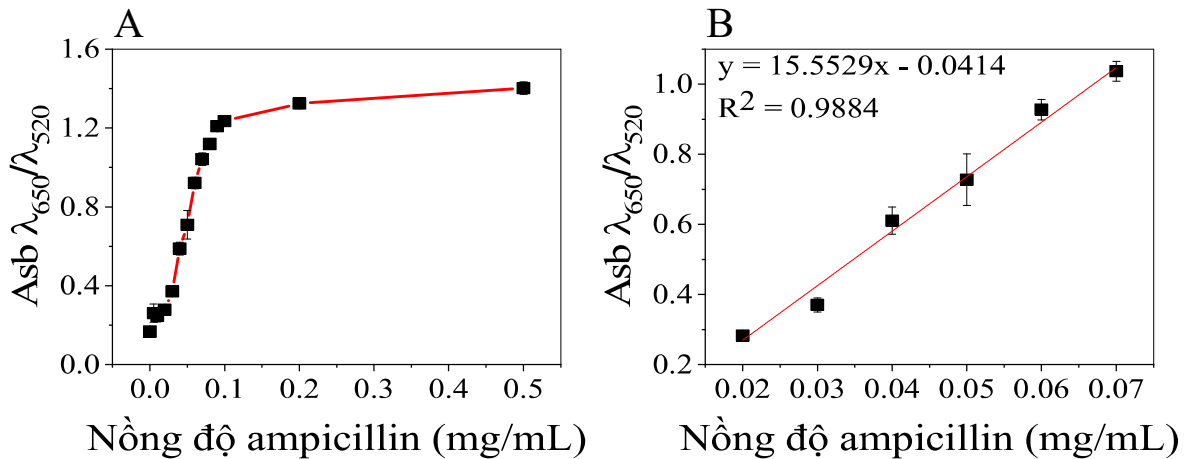
3.4. XÂY DỰNG ĐƯỜNG CHUẨN AMPICILLIN

Từ các kết quả khảo sát điều kiện thích hợp và các tính chất hóa lý của hệ cảm biến nano vàng – aptamer. Việc xác định khoảng tuyến tính nồng độ và xây dựng đường chuẩn ampicillin có ý nghĩa quan trọng trong việc phát triển

và sử dụng hệ cảm biến. Xây dựng đường chuẩn cho phép định lượng nhanh chóng và chính xác nồng độ kháng sinh có trong mẫu.

3.4.1. Phương pháp quang phổ UV – Vis

Kết quả phân tích và xây dựng đường chuẩn ampicillin cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer sử dụng phương pháp đo quang phổ UV – Vis được thể hiện trong (Hình 3.31).



Hình 3.31. Khoảng tuyến tính (A) và đường chuẩn ampicillin từ 0.02 – 0.07 mg/mL (B) của hệ cảm biến nano vàng – aptamer

Đồ thị biểu diễn khoảng tuyến tính của ampicillin từ 0 đến 0.5 mg/mL (Hình 3.31 A), cho thấy sự gia tăng của giá trị tỷ lệ độ hấp thụ giữa hai bước sóng 650 nm và 520 nm từ 0 đến 0.1 mg/mL. Nhưng ở nồng độ ampicillin là 0.2 mg/mL và 0.5 mg/mL, tỷ lệ $Asb_{\lambda_{650}/\lambda_{520}}$ thay đổi rất ít, chứng tỏ rằng hệ cảm biến đã đạt đến giới hạn phát hiện.

Kết quả xây dựng đường chuẩn kháng sinh cho hệ cảm biến (Hình 3.31 B), cho thấy khi tăng nồng độ ampicillin từ 0.02 mg/mL đến 0.07 mg/mL, hệ cảm biến có sự tuyến tính với hệ số tương quan $R^2 = 0.9884$ và phương trình của đường thẳng tuyến tính là:

$$y = 15.5529 x - 0.0414 \quad (3 - 1)$$

Độ lệch của các điểm nồng độ kháng sinh trong đường chuẩn là một phần quan trọng để đánh giá độ tin cậy và chất lượng của đường tuyến tính đã xây dựng. Và được kiểm tra bằng cách tính lại nồng độ của các điểm chuẩn thực tế so với nồng độ lý thuyết, từ đó tính ra giá trị độ lệch.

$$\Delta_i = \frac{C_T - C_C}{C_C} \times 100 \quad (3 - 2)$$

Trong đó:

Δ_i : Độ lệch của các điểm chuẩn (%)

C_C : Nồng độ lý thuyết

C_T : Nồng độ tính từ đường chuẩn

Kết quả tính toán độ lệch của các nồng độ được thể hiện qua bảng 3.1.

Bảng 3.1. Độ lệch nồng độ của đường chuẩn sử dụng phương pháp UV – Vis

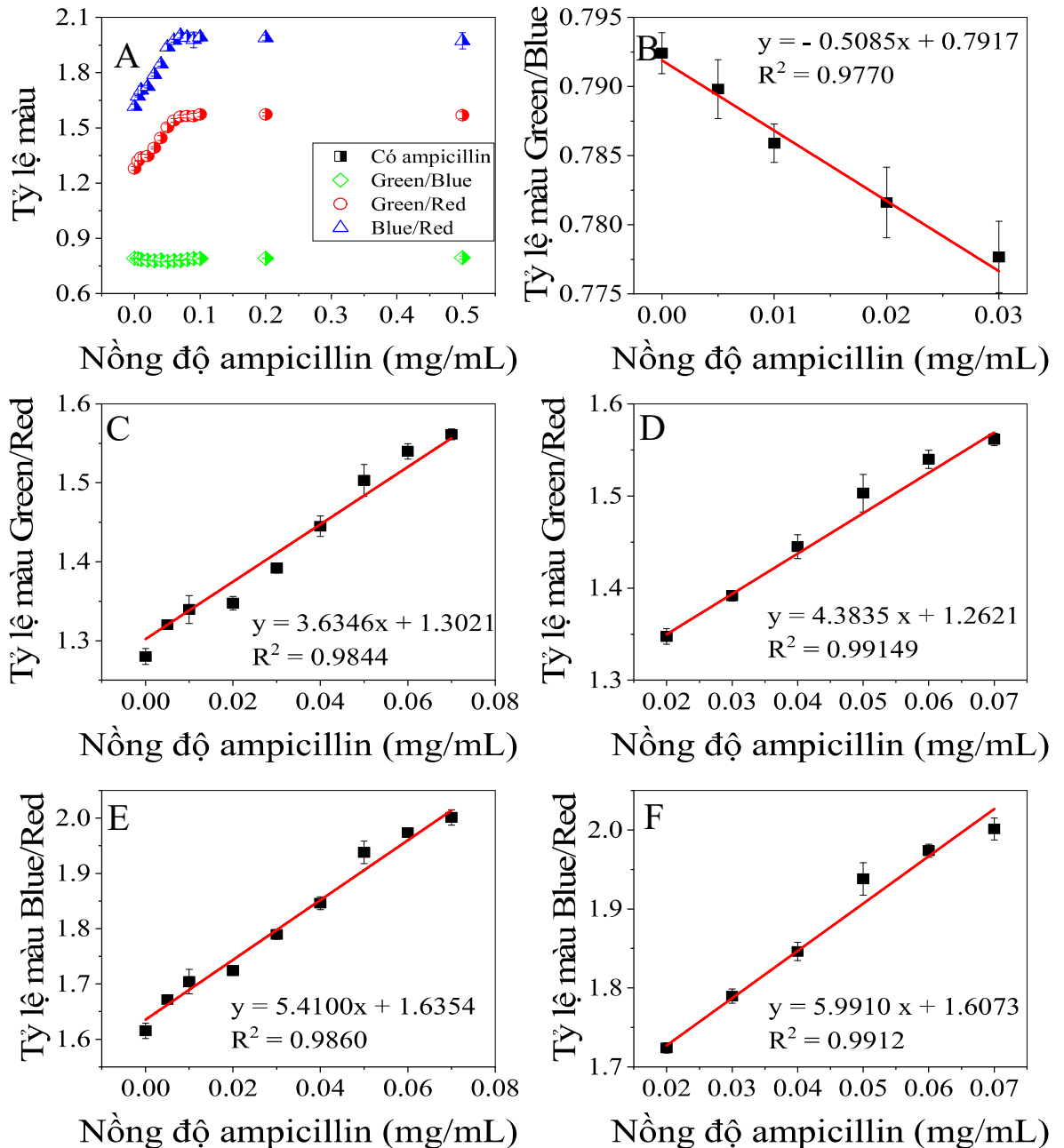
Nồng độ lý thuyết (mg/mL) (C_C)	Nồng độ tính từ đường chuẩn (mg/mL) (C_T)	Độ lệch (%) (Δ_i)
0.02	0.0209	4.13
0.03	0.0265	-13.25
0.04	0.0419	4.64
0.05	0.0495	-1.06
0.06	0.0623	3.66
0.07	0.0693	-0.98

Dựa trên tiêu chuẩn của các tổ chức của Mỹ và Châu Âu giá trị Δ_i nằm trong khoảng $-15 \% \leq \Delta_i \leq 15 \%$ [57].

Qua bảng kết quả tính toán độ lệch các nồng độ của đường chuẩn (Bảng 3.1), cho thấy các giá trị Δ_i đều nằm trong khoảng giá trị cho phép. Chứng tỏ rằng, đường chuẩn ampicillin áp dụng cho hệ cảm biến nano vàng - aptamer bằng phương pháp quang phổ UV – Vis đạt yêu cầu.

3.4.2. Phương pháp so màu di động

Ngoài phương pháp quang phổ UV – Vis, phương pháp so màu di động được ứng dụng trong xác định khoảng tuyến tính và xây dựng đường chuẩn ampicillin cho hệ cảm biến nano vàng – aptamer. Kết quả phân tích và xây dựng đường chuẩn được thể hiện trong (Hình 3.32).



Hình 3.32. Khoảng tuyến tính (A) và đường chuẩn ở các tỷ lệ màu G/B (B), G/R (C) (D) và B/R (E)(F) ở các khoảng tuyến tính khác nhau của hệ cảm biến nano vàng – aptamer

Đồ thị thể hiện kết quả khoảng tuyến tính của ampicillin từ 0 đến 0.5 mg/mL bằng phương pháp so màu di động (Hình 3.32 A), cho thấy ở các tỷ lệ màu G/R và B/R có giá trị tăng dần khi nồng độ ampicillin tăng từ 0 – 0.07 mg/mL. Giá trị của hai tỷ lệ màu G/R và B/R hầu như không thay đổi so với nồng độ ampicillin 0.07 mg/mL khi tăng nồng độ từ 0.08 mg/mL – 0.5 mg/mL. Đồng thời, các nồng độ ampicillin từ 0 – 0.5 mg/mL, tỷ lệ màu G/B thay đổi rất ít.

Kết quả đường chuẩn kháng sinh cho hệ cảm biến sử dụng phương pháp so màu di động được xây dựng bởi ba tỷ lệ màu G/B, G/R và B/R (*Hình 3.32 B, C, D, E và F*). Tỷ lệ màu G/B có ở các nồng độ ampicillin có sự thay đổi rất nhỏ (*Hình 3.32 B*), nhưng có thể thấy rằng khi nồng độ ampicillin tăng từ 0 mg/mL đến 0.03 mg/mL, tỷ lệ màu G/B giảm dần và ghi nhận được sự tuyến tính với hệ số tương quang $R^2 = 0.9770$ và phương trình đường chuẩn nhận được là:

$$y = -0.5015x + 0.7917 \quad (3 - 3)$$

Cùng với đó, tỷ lệ màu G/R áp dụng cho kết quả khả quan, sự thay đổi giá trị tỷ lệ màu ở các nồng độ ampicillin từ 0 mg/mL đến 0.07 mg/mL có thể thấy rõ (*Hình 3.32 C*). Kết quả cho biết hệ số tương quan ở khoảng nồng độ 0 – 0.07 mg/mL là $R^2 = 0.9844$ và phương trình đường chuẩn nhận được là:

$$y = 3.6346x + 1.3021 \quad (3 - 4)$$

Ngoài ra, khoảng nồng độ ampicillin khác cũng được áp dụng trong đánh giá khả năng tuyến tính, xây dựng đường chuẩn cho tỷ lệ màu G/R là 0.02 mg/mL đến 0.07 mg/mL (*Hình 3.32 D*). Kết quả nhận được với hệ số tương quan $R^2 = 0.9915$ và phương trình tuyến tính là:

$$y = 4.3835x + 1.2621 \quad (3 - 5)$$

Tương tự tỷ lệ màu G/R, ở tỷ lệ B/R sự thay đổi giá trị này cũng tăng dần khi tăng các nồng độ ampicillin trong khoảng 0 – 0.07 mg/mL, thể hiện sự tuyến tính giữa nồng độ kháng sinh và tỷ lệ màu B/R (*Hình 3.32 E*). Ở khoảng tuyến tính này cho kết quả với hệ số $R^2 = 0.9860$ với phương trình đường chuẩn là:

$$y = 5.4100x + 1.6354 \quad (3 - 6)$$

Đồng thời, tỷ lệ B/R còn được sử dụng xây dựng đường chuẩn trong khoảng nồng độ ampicillin từ 0.02 mg/ml – 0.07 mg/ml (*Hình 3.32 F*) với hệ số tương quan $R^2 = 0.9912$ và phương trình đường chuẩn:

$$y = 5.9910x + 1.6073 \quad (3 - 7)$$

Kết quả phân tích và tính toán độ lệch nồng độ của các đường chuẩn sử dụng phương pháp so màu được trình bày ở bảng 3.2.

Bảng 3.2. Độ lệch nồng độ đường chuẩn sử dụng phương pháp so màu di động

Tên phương trình đường chuẩn theo tỷ lệ màu	Nồng độ lý thuyết (mg/mL) (C_c)	Nồng độ tính từ đường chuẩn (mg/mL) (C_T)	Độ chệch (%) (Δ_i)
Green/Blue	0.000	-0.0014	0.00
	0.005	0.0037	-25.66
	0.010	0.0114	14.26
	0.020	0.0198	-0.69
	0.030	0.0276	-7.96
Green/Red	0.000	-0.0061	0.00
	0.005	0.0050	0.37
	0.010	0.0103	2.82
	0.020	0.0125	-37.56
	0.030	0.0246	-17.85
	0.040	0.0393	-1.75
	0.050	0.0553	10.59
	0.060	0.0654	9.01
	0.070	0.0713	1.91
	0.020	0.0195	-2.60
	0.030	0.0296	-1.46
	0.040	0.0417	4.28
	0.050	0.0550	9.95
	0.060	0.0634	5.59
	0.070	0.0683	-2.47
Blue/Red	0.000	-0.0037	0.00

	0.005	0.0067	34.31
	0.010	0.0128	27.54
	0.020	0.0164	-18.11
	0.030	0.0285	-5.00
	0.040	0.0389	-2.67
	0.050	0.0560	11.93
	0.060	0.0626	4.27
	0.070	0.0676	-3.38
	0.020	0.0195	-2.60
	0.030	0.0304	1.42
	0.040	0.0398	-0.38
	0.050	0.0552	10.46
	0.060	0.0612	1.97
	0.070	0.0658	-6.05

Từ các kết quả tính toán độ lệch của các nồng độ chuẩn từ đường chuẩn thu được ở các tỉ lệ màu và khoảng nồng độ ampicillin tuyến tính. Và căn cứ trên tiêu chuẩn của các tổ chức của Mỹ và Châu Âu giá trị Δ_i nằm trong khoảng $-15 \% \leq \Delta_i \leq 15 \%$ [57].

Hai tỉ lệ màu G/R và B/R trong khoảng nồng độ tuyến tính là 0.02 – 0.07 mg/mL, cho thấy độ lệch nồng độ chuẩn đều đạt yêu cầu của một đường chuẩn được đánh giá là đáng tin cậy và chính xác.

Chúng tỏ rằng, hai đường chuẩn có khoảng nồng độ tuyến tính từ 0.02 – 0.07 mg/ml với tỉ lệ màu G/R và B/R ((3 – 5), (3 – 7)) được sử dụng trong xác định và định lượng kháng sinh sử dụng phương pháp so màu di động trên nền vật liệu nano vàng – aptamer.

3.5. THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH

3.5.1. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Phương pháp xác định giá trị giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) được tính toán dựa trên đường chuẩn kháng sinh đã được xây dựng với hai thiết bị phân tích: UV – Vis và máy so màu di động. Giá trị LOD, LOQ được tính theo công thức (2 – 2) và (2 – 3), kết quả như sau:

❖ *Phương pháp quang phổ UV – Vis*

Từ phương trình đường chuẩn (3 – 1) được xây dựng bằng phương pháp quang phổ UV – Vis, ta có:

Hệ số góc $a = 15.5529$

Hệ số chặn intercept $b = - 0.0414$

Độ lệch chuẩn $SD = 0.03$

Sử dụng công thức tính giá trị LOD (2 – 2) và LOQ (2 – 3) dựa trên phương trình đường chuẩn:

$$LOD = 3.3 \times \frac{SD}{a} = 3.3 \times \frac{0.03}{15.5529} = 0.0064 \frac{mg}{mL}$$

$$LOQ = 10 \times \frac{SD}{a} = 10 \times \frac{0.03}{15.5529} = 0.0193 \frac{mg}{mL}$$

❖ *Phương pháp máy so màu di động*

Tỷ lệ Green/Red

Từ phương trình đường chuẩn (3 – 5) được xây dựng bằng phương pháp máy so màu di động với tỷ lệ Green/Red và khoảng nồng độ tuyến tính từ 0.02 – 0.07 mg/mL, ta có các hệ số sau:

Hệ số góc $a = 4.3835$

Hệ số chặn intercept $b = 1.2621$

Độ lệch chuẩn $SD = 0.009$

Sử dụng công thức tính giá trị LOD (2 – 2) và LOQ (2 – 3) dựa trên phương trình hồi quy tuyến tính:

$$LOD = 3.3 \times \frac{SD}{a} = 3.3 \times \frac{0.009}{4.3835} = 0.0068 \frac{mg}{mL}$$

$$LOQ = 10 \times \frac{SD}{a} = 10 \times \frac{0.009}{4.3835} = 0.0205 \frac{mg}{mL}$$

Tỷ lệ Blue/Red

Tương tự với công thức tính toán giá trị LOD và LOQ của đường chuẩn thể hiện mối quan hệ giữa nồng độ ampicillin và tỷ lệ màu G/R, giá trị LOD và LOQ của phương trình đường chuẩn được xây dựng giữa tỷ lệ B/R và nồng độ kháng sinh với các hệ số lần lượt là:

$$a = 5.9910$$

$$b = 1.6073$$

$$SD = 0.011$$

Được xác định như sau:

$$LOD = 3.3 \times \frac{SD}{a} = 3.3 \times \frac{0.011}{5.9910} = 0.0061 \frac{mg}{mL}$$

$$LOQ = 10 \times \frac{SD}{a} = 10 \times \frac{0.011}{5.9910} = 0.0184 \frac{mg}{mL}$$

Kết luận: Từ các kết quả giá trị LOD và LOQ tính toán được qua các phương trình đường chuẩn của hai phương pháp phân tích cho thấy, giới hạn phát hiện của cả hai phương pháp gần bằng nhau. Ở phương pháp quang phổ UV – Vis, giá trị LOD = 0.0064 mg/mL, LOQ = 0.0193 mg/mL. Đồng thời, phương pháp sử dụng máy so màu di động, phương trình đường tiếp tuyến của hai tỷ lệ màu G/R, B/R có giới hạn phát hiện LOD = 0.0068 mg/mL và 0.0061 mg/mL, giới hạn định lượng LOQ = 0.0205 mg/mL và 0.0184 mg/mL.

Từ đó có thể kết luận rằng, ở phương pháp so màu khi sử dụng tỷ lệ màu B/R có thể phát hiện và định lượng được nồng độ kháng sinh thấp hơn khi sử dụng quang phổ UV – Vis. Đặc biệt, với sự tiện lợi, nhỏ gọn, giá thành thấp, phát hiện nhanh, không cần thu thập mẫu về phòng thí nghiệm, cùng với giới hạn phát hiện và định lượng kháng sinh thấp hơn phương pháp UV – Vis, cho thấy phương pháp sử dụng máy so màu di động có lợi thế hơn.

3.5.2. Độ đúng

Thẩm định phương pháp phân tích trong hóa học qua việc đánh giá độ đúng và được tính thông qua độ thu hồi. Độ thu hồi được thực hiện bằng việc lặp lại các mẫu thử nghiệm bằng kháng sinh chuẩn.

Và kết quả thẩm định phương pháp qua độ đúng thực hiện bằng phương pháp UV – Vis (*Phụ lục 3*) được thể hiện ở (*Bảng 3.3*).

Bảng 3.3. Kết quả khảo sát độ đúng bằng phương pháp UV - Vis

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	Độ thu hồi (%)	HorRat (r)
0.02	0.0209	104.58	0.5
0.035	0.0344	98.14	1.1
0.07	0.0693	98.94	0.3

Kết quả thẩm định phương pháp qua độ đúng thực hiện bằng phương pháp so màu (*Phụ lục 4, 5*) được thể hiện ở bảng 3.4 và 3.5.

Bảng 3.4. Kết quả khảo sát độ đúng ở tỷ lệ G/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	Độ thu hồi (%)	HorRat (r)
0.020	0.0202	101.24	1.12
0.035	0.0354	101.17	1.01
0.070	0.0702	100.22	0.40

Bảng 3.5. Kết quả khảo sát độ đúng ở tỷ lệ B/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	Độ thu hồi (%)	HorRat (r)
0.020	0.0204	102.13	1.21
0.035	0.0356	101.68	0.53
0.070	0.0698	99.75	0.40

Độ lệch chuẩn tương đối ở cả ba hàm lượng được đánh giá theo giá trị HorRat(r). Độ đúng của phương pháp đáng tin cậy khi $0.3 \leq \text{HorRat}(r) \leq 1.3$. Kết quả cho thấy cả ba giá trị đều có độ lệch chuẩn tương đối ở trong khoảng cho phép (1.21, 0.53 và 0.4).

Hiệu suất thu hồi trung bình cả hai phương pháp sử dụng có giá trị trong khoảng 99.75 % đến 102.13 %. Chứng tỏ rằng, độ thu hồi cao, và đạt trong yêu cầu cho phép từ 95 % đến 105 %.

3.5.3. Độ lặp và tái lặp

❖ Độ lặp

Độ lặp của phương pháp được thực hiện tại ba nồng độ khác nhau: 0.03, 0.045 và 0.06 mg/mL, lặp lại 6 lần trong cùng một ngày, ở cùng một điều kiện. Kết quả thu được bằng phương pháp quang phổ UV – Vis (*Phụ lục 6*) được thể hiện ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kết quả độ lặp bằng phương pháp UV – Vis

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	RSD _r %	HorRat (r)
0.030	0.0298	1.5566	0.98
0.045	0.0454	0.9063	0.82
0.060	0.0608	1.0767	1.07

Kết quả thẩm định phương pháp qua yếu tố độ lặp, sử dụng máy so màu di động (*Phụ lục 7, 8*) được thể hiện ở (*Bảng 3.7 và 3.8*).

Bảng 3.7. Kết quả đánh giá độ lặp ở tỷ lệ màu G/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	RSD _r %	HorRat (r)
0.030	0.0300	2.8672	1.158
0.045	0.0451	0.8644	0.70
0.060	0.0601	0.8609	0.78

Bảng 3.8. Kết quả đánh giá độ lặp ở tỷ lệ màu B/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	RSD _r %	HorRat (r)
0.030	0.0302	1.8315	0.98
0.045	0.0451	1.0986	0.77
0.060	0.0604	0.8138	0.67

Để đánh giá độ lặp của phương pháp ở cả ba hàm lượng đạt yêu cầu và đáng tin cậy, giá trị HorRat(r) được sử dụng để so sánh. Độ lặp của phương pháp đáng tin cậy khi $0.3 \leq \text{HorRat}(r) \leq 1.3$. Kết quả cho thấy cả ba giá trị đều có độ lệch chuẩn tương đối của độ lặp trong khoảng cho phép (1.21, 0.53 và 0.4).

❖ *Độ tái lặp*

Tương tự độ lặp, độ tái lặp được thực hiện để đánh giá, thẩm định phương pháp. Độ tái lặp của phương pháp được thực hiện tại ba nồng độ khác nhau: 0.03, 0.045 và 0.06 mg/mL, lặp lại 3 lần cho mỗi nồng độ và thực hiện trong ba ngày. Kết quả thu được bằng phương pháp quang phổ UV – Vis (*Phụ lục 9*) được thể hiện ở (*Bảng 3.9*).

Bảng 3.9. Kết quả độ tái lặp bằng phương pháp UV – Vis

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	RSD _r %	HorRat (r)
0.030	0.0299	0.6911	0.53
0.045	0.0452	0.8098	0.46
0.060	0.0604	0.8635	0.42

Kết quả thẩm định phương pháp qua yếu tố độ tái lặp, sử dụng máy so màu di động (*Phụ lục 10, 11*) kết quả được thể hiện ở (*Bảng 3.10 và 3.11*) như sau:

Bảng 3.10. Kết quả độ tái lập ở tỷ lệ G/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	RSD _r %	HorRat (r)
0.030	0.0301	2.8621	1.1
0.045	0.0452	1.4042	0.96
0.060	0.0603	1.1369	0.82

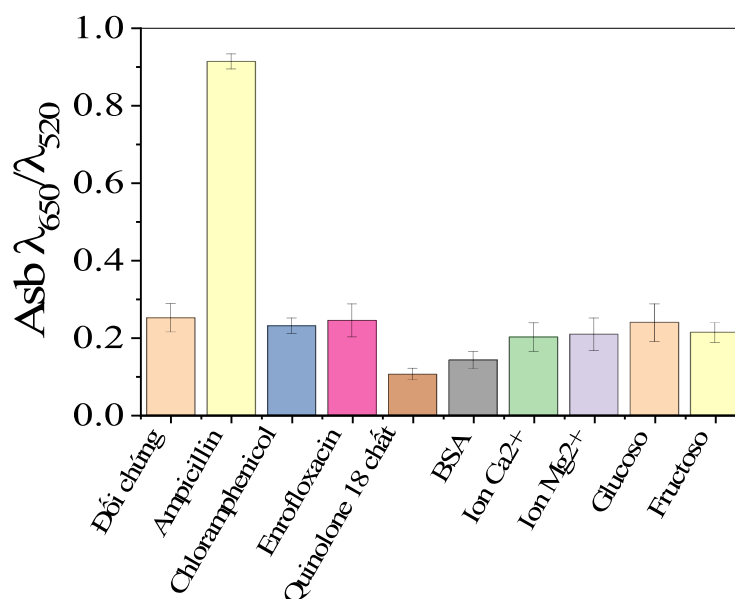
Bảng 3.11. Kết quả độ tái lập ở tỷ lệ B/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	RSD _r %	HorRat (r)
0.030	0.0301	2.8621	1.07
0.045	0.0452	1.4042	0.96
0.060	0.0603	1.1369	0.71

Độ tái lập của phương pháp ở cả ba hàm lượng được đánh giá đạt yêu cầu và đáng tin cậy thông qua giá trị HorRat(r). Độ tái lập của phương pháp đáng tin cậy khi $0.5 \leq \text{HorRat}(r) \leq 2$. Kết quả cho thấy cả ba giá trị đều có độ lệch chuẩn tương đối của độ tái lập trong khoảng cho phép (1.21, 0.53 và 0.4).

3.5.4. Độ chọn lọc

Độ chọn lọc của hệ cảm biến kháng sinh được đánh giá bằng cách sử dụng hệ cảm biến để phát hiện một số tác nhân khác. Kết quả độ đặc hiệu được thể hiện qua (Hình 3.33).



Hình 3.33. Ảnh hưởng của các tác nhân khác đến hệ cảm biến

Quan sát kết quả khảo sát độ chọn lọc của hệ cảm biến nano vàng – aptamer (Hình 3.33) có thể thấy rằng, với các tác nhân như: chloramphenicol, enrofloxacin, hợp chất quinolone 18 chất, bovine serum albumin (BSA), ion Ca²⁺, Mg²⁺, glucose, fructose và lactose đều có ảnh hưởng đến hệ cảm biến, các tỷ lệ $Asb_{\lambda_{650}/\lambda_{520}}$ ở giá trị gần hoặc thấp hơn 0.2. Tuy nhiên, so với mẫu đối chứng (không có ampicillin) thì các tác nhân này hầu như không làm ảnh hưởng đến hệ. Sự có mặt kháng sinh ampicillin, hệ cảm biến có tỷ lệ $Asb_{\lambda_{650}/\lambda_{520}}$ tăng cao. Chứng tỏ rằng, hệ cảm biến nano vàng – aptamer phát hiện kháng sinh ampicillin có độ chọn lọc tốt với các tác nhân khảo sát.

3.6. PHÂN TÍCH MẪU THỰC

Các mẫu thêm vào được xử lý và phân tích bằng các phương pháp khác nhau: UV – Vis, so màu di động và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Kết quả được thể hiện ở (Bảng 3.12).

Kết quả được thực hiện khi cho nồng độ (thêm vào) ampicillin vào trong sữa với 3 nồng độ khác nhau. Sau quá trình xử lý mẫu bằng phương pháp ly tâm loại béo, các mẫu được đánh giá nồng độ ampicillin bằng vật liệu AuNPs/Apt qua hai phương pháp phân tích UV – Vis và so màu di động (Phụ lục 12), đồng thời các mẫu cũng được gửi xác định hàm lượng của ampicillin trong sữa, thông qua phương pháp HPLC tại Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh – CASE.

Kết quả phân tích sử dụng vật liệu nano vàng – aptamer với phương pháp đo quang phổ UV – Vis, với hàm lượng kháng sinh trung bình của ba mẫu phát hiện được so với các nồng độ thêm vào 0.02, 0.035, 0.05 mg/mL lần lượt là 0.0151, 0.0245, 0.0403 mg/mL. Khi sử dụng phương pháp so màu di động ở tỷ lệ màu G/R, hàm lượng ampicillin trung bình có thể định lượng được lần lượt là: 0.0165, 0.0250 và 0.0413 mg/mL. Tương tự, với tỷ lệ màu B/R các hàm lượng kháng sinh trung bình định lượng trong mẫu là 0.0163, 0.0245 và 0.0417 mg/mL. Với phương pháp HPLC, hàm lượng kháng sinh định lượng được trong các mẫu thêm vào 0.02, 0.035 và 0.05 mg/mL lần lượt là 0.0138 mg/mL (*Phụ lục 15*), 0.0227 mg/mL (*Phụ lục 14*) và 0.0290 mg/mL (*Phụ lục 13*) (*Bảng 3.12*).

Bảng 3.12. Kết quả phân tích mẫu thực

Tên phương pháp phân tích		Nồng độ phát hiện trung bình (mg/mL)	Nồng độ mẫu thêm vào (mg/mL)	Độ lệch (%)
HPLC		0.0138	0.020	69.00
		0.0227	0.035	64.86
		0.0290	0.050	58.00
UV - Vis		0.0151	0.020	75.50
		0.0245	0.035	70.00
		0.0403	0.050	80.06
So màu	G/R	0.0165	0.020	82.50
		0.0250	0.035	71.43
		0.0413	0.050	82.60
	B/R	0.0163	0.020	81.50
		0.0245	0.035	70.00
		0.0417	0.050	83.40

So sánh các kết quả định lượng hàm lượng kháng sinh phát hiện được với hàm lượng kháng sinh có trong mẫu thêm vào bằng các phương pháp phân tích khác nhau (*Bảng 3.12*) đã chỉ ra rằng, phương pháp phân tích HPLC đối với các mẫu sữa, đã chỉ ra hàm lượng ampicillin phát hiện được có độ sai lệch với nồng độ các mẫu thêm vào với tỷ lệ từ 58 – 69%.

Với phương pháp tương tự, chúng tôi đã xác định hàm lượng ampicillin sử dụng phương pháp UV – Vis cho thấy hàm lượng kháng sinh định lượng được với các mẫu thêm vào có độ lệch trong khoảng 70 – 80%.

Trong khi đó, phương pháp so màu di động được xác định, cho thấy tỷ lệ ampicillin có độ sai lệch với mẫu thêm vào trong vùng 71 – 82%.

Kết quả đã chỉ ra rằng, phương pháp so màu di động có thể được thay thế cho các phương pháp trong phòng thí nghiệm trong xác định hàm lượng kháng sinh ampicilin sử dụng hệ cảm biến được chế tạo, tổng hợp trên vật liệu nano vàng – aptamer.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Từ các kết quả nghiên cứu trên hệ AuNPs/Apt ứng dụng trong phân tích kháng sinh ampicillin dựa trên thiết bị so màu UV – Vis và thiết bị so màu di động, chúng tôi rút ra:

Nano vàng được tổng hợp với quy trình ổn định, có kích thước 15 nm.

Hệ cảm biến nano vàng – aptamer đã xác định được các điều kiện thích hợp để nâng cao hiệu quả cảm biến kháng sinh ampicillin.

Vật liệu cảm biến AuNPs/Apt có độ chọn lọc tốt ở một số tác nhân khác.

Xây dựng được đường chuẩn định lượng kháng sinh bằng hai phương pháp: quang phổ UV – Vis và so màu với khoảng tuyến tính từ 0.02 mg/mL đến 0.07 mg/mL.

Giới hạn phát hiện, định lượng của hai phương pháp lần lượt là:

- UV – Vis

LOD = 0.0064 mg/mL

LOQ = 0.0193 mg/mL

- So màu di động

G/R

LOD = 0.0068 mg/mL

LOQ = 0.0205 mg/mL

B/R

LOD = 0.0061 mg/mL

LOQ = 0.0184 mg/mL

Phân tích hàm lượng kháng sinh ampicillin trên mẫu sữa đã được thực hiện cho thấy phương pháp phân tích sử dụng máy so màu di động kết hợp với kit test AuNPs /Apt, có thể áp dụng để thay thế các thiết bị phân tích trong phòng thí nghiệm.

Kiến nghị

Áp dụng hệ cảm biến AuNPs- Apt để đánh giá hàm lượng kháng sinh trên các mẫu thực khác như thịt, cá,...

Áp dụng phương pháp so màu di động để đánh giá hàm lượng kháng sinh tại hiện trường.

Xây dựng và kiểm tra phương pháp phân tích mẫu thực. Thống nhất cách xử lý mẫu trước khi gửi mẫu đi kiểm tra, phân tích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. WHO. An toàn Thực phẩm (who.int) (20/03/2024).
- [2]. Kanwal Rehman, Saira Hafeez Kamran, Muhammad Sajid Hamid Akash, 2020, Toxicity of antibiotics: Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment, *In Advances in Environmental Pollution Research series, Elsevier*, Vol 1, pages 234-252.
- [3]. Ahmed, Saeed, Jianan Ning, Dapeng Peng, Ting Chen, Ijaz Ahmad, Aashaq Ali, Zhixin Lei, Muhammad Abu bakr Shabbir, Guyue Cheng, and Zonghui Yuan, 2020, Current Advances in Immunoassays for the Detection of Antibiotics Residues: A Review, *Food and Agricultural Immunology*, vol 31, no.1, pages 268–29031.
- [4]. Bộ Y tế, 2015, *Hướng dẫn Sử dụng Kháng sinh*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, Bộ Y tế (kcb.vn)
- [5]. History.com Editors, 2020, *Penicillin discovered by Sir Alexander Fleming*, A&E Television Networks, Penicillin discovered (history.com)
- [6]. Erik Gullberg, Lisa M Albrecht, Christoffer Karlsson, Linus Sandegren, Dan I Andersson, 2014, Selection of a Multidrug Resistance Plasmid by Sublethal Levels of Antibiotics and Heavy Metals, *American Society for Microbiology*, vol 5, issue 5
- [7]. WHO, 2023, Antimicrobial resistance. (who.int) (20/03/2024).
- [8]. Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022, Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis, *The Lancet*, vol 399, issue 10325, 629-655.
- [9]. Basil V.Peechakara, Hajira Basit, Mohit Gupta, 2023, *Ampicillin*, StatPearls [Internet].
- [10]. Ann P. Dowling, 2004, Development of nanotechnologies, *Materials Today*, vol 7, issue 12, pages 30-35.
- [11]. M.Cushen, J.Kerry, M.Morris, M.Cruz-Romero, E.Cummins, 2012, Nanotechnologies in the food industry–Recent developments, risks and regulation, *Trends in Food Science & Technology*, vol 24, pages 30-46.

[12]. What are nanoparticles and what are they used for? AAT Bioquest (20/03/2024)

[13]. K. Gajanan, S.N. Tijare, 2018, Applications of nanomaterials, *Materials Today: Proceedings*, vol 5, issue 1, pages 1093-1096.

[14]. G. Ghasemzadeh, M. Momenpour, Fakhriyeh Omid, M. Hosseini, M. Ahani, A. Barzegari, 2014, Applications of nanomaterials in water treatment and environmental remediation, *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, vol 8, pages 471 – 482.

[15]. European C, 2006, The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies, *European Commission*, 002, 05.

[16]. K. Eric. Drexler, Anchor Books, Doubleday, 1986, Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology, *Materials Science, Engineering, Physics*.

[17]. ASCHEM, 2024, *Nanocarriers, Nanotechnology, Encapsulation, (Inorganic, organic, hybrid) nanoparticle, Targeted, Surface modification, Ligand installation*, Nanomaterials – ASCHEM.

[18]. Nadeem Baig, Irshad Kammakakam, Wail Falath, 2021, Nanomaterials: a review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges, *Materials Advances*, 2, 1821-1871.

[19]. Yi-Lun Hong, Zhibo, Lei Wang, Tianya Zhou, Wei Ma, Chuan Xu, Shun Feng, Long Chen, Mao-Lin Chen, Dong-Ming Sun, Xing-Qiu Chen, Hui-Ming Cheng, Wencai Ren, 2020, Chemical vapor deposition of layered two-dimensional MoSi₂N₄ materials, *Science*, vol 369, issue 6504, 670 – 674.

[20]. Dmitry Bokov, Abduladheem Turki Jalil, Supat Chupradit, Wanich Suksatan, Mohammad Javed Ansari, Iman H. Shewael, Gabdrakhman H. Valiev, Ehsan Kianfar, 2021, Nanomaterial by Sol-Gel Method: Synthesis and Application, *Advances in Materials Science and Engineering*, vol 2021.

[21]. Yunhu Gao, Laura Torrente-Murciano, 2020, Mechanistic insights of the reduction of gold salts in the Turkevich protocol, *Nanoscale*, issue 4.

[22]. Shiqiang Zhuang, Eon Soo Lee, Lin Lei, Bharath Babu Nunna, Liyuan Kuang, Wen Zhang, 2016, Synthesis of nitrogen-doped graphene catalyst by high – energy wet ball milling for electrochemical systems, *International Journal of Energy Research*, 40 (15), p.2136-2149.

[23]. Anugop Balachandran, Sithara P. Sreenilayam, Kailasnath Madanan, Sabu Thomas, Dermot Brabazon, 2022, Nanoparticle production via laser ablation synthesis in solution method and printed electronic application - A brief review, *Results in Engineering*, 16.

[24]. Tanya Stuchinskaya, Miguel Moreno, Michael J Cook, Dylan R Edwards, David A Russell, 2011, Targeted photodynamic therapy of breast cancer cells using antibody–phthalocyanine–gold nanoparticle conjugates, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 10 (5), p. 822-831.

[25]. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F, 2020, The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine, *Molecules*, 25(1),112.

[26]. Deni Subara, Irwandi Jaswir, 2018, Gold Nanoparticles: Synthesis and application for Halal Authentication in Meat and Meat Products, *International Journal on Advanced Science Engineering and Information Technology*, 8 (4-2).

[27]. Thi Thanh-Ngan Nguyen, Thanh-Truc Vo, Bich Ngoc-Huong Nguyen, Dinh-Truong Nguyen, Van-Su Dang, Chi-Hien Dang and Thanh-Danh Nguyen, 2018, Silver and gold nanoparticles biosynthesized by aqueous extract of burdock root, *Arctium Lappa* as antimicrobial agent and catalyst for degradation of pollutants, *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 34247–34261.

[28]. Nguyễn Ngọc Khánh Anh, Nguyễn Thị Diễm Hương, Nguyễn Thị Tuyết Nhung, 2018, Điều chế hạt nano vàng sử dụng chất khử trong lá trà định hương ứng dụng trong mỹ phẩm, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Phần A: Khoa học tự nhiên, công nghệ và môi trường*, Tập 54, số 7A, trang 77-84.

[29]. Thanh-Truc Vo, Thi Thanh-Ngan Nguyen, Thi Thanh-Tam Huynh, Thi Thuy-Trang Vo, Thi Thuy-Nhung Nguyen, Dinh-Truong Nguyen, Van-Su

Dang, Chi-Hien Dang, and Thanh-Danh Nguyen, 2019, Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using aqueous extract of *Crinum latifolium* leaf and their applications towards antibacterial effect and wastewater treatment, *Journal of Nanomaterials*, vol 2019.

[30] Vu Duc Chinh, Giorgio Speranza, Claudio Migliaresi, Nguyen Van Chuc, Vu Minh Tan, Nguyen-Tri Phuong, 2019, Synthesis of Gold Nanoparticles Decorated with Multiwalled Carbon Nanotubes (Au-MWCNTs) via Cysteaminium Chloride Functionalization, *Scientific Reports*, vol 9.

[31] Thu Anh Nguyen, Ngan Thi Kim Nguyen, Sy Van Vu, Linh Ngoc To, Vinh Hoang Lam, Tien Nu Hoang Lo, In Park, Tien Huu Ho, Khuong Quoc Vo, 2023, Controlled synthesis of gold nanorods and integrated with titanium dioxide for enhancing visible light-driven antioxidant activity, *Vietnam Journal of Chemistry*, vol 61, issue S2 p. 7-13.

[32]. Jörg Polte, T Torsten Ahner, Friedmar Delissen, Sergey Sokolov, Franziska Emmerling, Andreas F Thünemann, Ralph Kraehnert, 2010, Mechanism of gold nanoparticle formation in the classical citrate synthesis method derived from coupled in situ XANES and SAXS evaluation, *Journal of the American Chemical Society*, 132(4), p.1296-1301.

[33]. N. Thangamani and N. Bhuvaneshwari (2019), Green synthesis of gold nanoparticles using *Simarouba glauca* leaf extract and their biological activity of micro-organism, *Chemical Physics Letters*, 732, pp. 136587.

[34]. Perouza Parsamian, Yaning Liu, Chen Xie, Zhuo Chen, Peiyuan Kang, Yalini H Wijesundara, Noora M Al-Kharji, Ryanne Nicole Ehrman, Oriyeda Trashi, Jaona Randrianalisoa, Xiangyu Zhu, Matthew D'Souza, Lucas Anderson Wilson, Moon J Kim, Zhenpeng Qin, Jeremiah J Gassensmith, 2023, Enhanced Nanobubble Formation: Gold Nanoparticle Conjugation to Q β Virus-like Particles, *ACS Nano*, 17(8), p.7797-7805.

[35]. Keefe, A., Pai, S. & Ellington, 2010, Aptamers as therapeutics, *Nature Reviews Drug Discovery*, 9, 537–550.

[36]. Xiaohua Huang, Mostafa A. El-Sayed, 2010, Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy, *Journal of Advanced Research*, vol 1, issue 1.

[37]. A D Ellington, J W Szostak, 1990, In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands, *Nature*, 346, 818–822.

[38]. Tuerk C, Gold L, 1990, Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase, *Science*, 249, 505–510.

[39]. Zhang Y, Lai BS, Juhas M, 2019, Recent Advances in Aptamer Discovery and Applications, *Molecules*, 7, 24(5).

[40]. Samy M. Shaban, Dong-Hwan Kim, 2021, Recent Advances in Aptamer Sensors, *Sensors*, 21(3), 979.

[41]. Imran Mahmood Khan, Sobia Niazi, Ye Yu, Imran Pasha, Lin Yue, Ali Mohsin, Muhammad Shoaib, Muhammad Waheed Iqbal, Adnan Khaliq, Zhouping Wang, 2020, Fabrication of PAA coated green-emitting AuNCs for construction of label-free FRET assembly for specific recognition of T-2 toxin, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 321, 128470.

[42]. Ritika Gupta, Amit Kumar, Sandeep Kumar, Anil Kumar Pinnaka, Nitin Kumar Singhal, 2021, Naked eye colorimetric detection of Escherichia coli using aptamer conjugated graphene oxide enclosed Gold nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical*, Volume 329, 129100.

[43]. Đồng Huy Giới, Bùi Thị Thu Hương, Phí Thị Cẩm Miện, Nguyễn Thị Thúy Hạnh, Đỗ Đức Nam, 2016, Tạo cảm biến nano vàng và AND chức năng để phát hiện nhanh ion thủy ngân trong nước, *Tạp chí KH Nông nghiệp Việt Nam*.

[44]. Nguyễn Lương Hiếu Hòa, Ông Bình Nguyên, Trần Lê Phương Duy, Hồ Tá Giáp, Lê Phương Uyên, Nguyễn Hoàng Dũng, 2018, Phát hiện nhanh streptomycin bằng DNA aptamer và hạt nano vàng, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Trường ĐH Nguyễn Tất Thành*, vol 1, no 4.

[45]. Huỳnh Phạm Quốc Duy, 2023, *Tổng hợp điều khiển kích thước nano vàng hình sao và nghiên cứu phát triển cảm biến quang học đối với iodobenzene*, Luận văn Thạc sĩ, Đại học Tôn Đức Thắng, Hồ Chí Minh

[46]. Kyung-Mi Song, Minseon Cho, Hunho Jo, Kyoungin Min, Sung Ho Jeon, Taisun Kim, Min Su Han, Ja Kang Ku, Changill Ban, 2011, Gold

nanoparticle-based colorimetric detection of kanamycin using a DNA aptamer, *Analytical Biochemistry*, 175–181.

[47]. Matthew D Simmons, Lisa M Miller, Malin O Sundström, Steven Johnson, 2020, Aptamer-Based Detection of Ampicillin in Urine Samples, *Antibiotics*, 9(10), 655.

[48]. Tarun Kumar Sharma, Rajesh Ramanathan, Pabudi Weerathunge, Mahsa Mohammadtaheri, Hemant Kumar Daima, Ravi Shukla, Vipul Bansal, 2014, Aptamer-mediated ‘turn-off/turn-on’ nanozyme activity of gold nanoparticles for kanamycin detection, *Chemical Communications*, 50, 15856.

[49]. Ying Gan, Tao Liang, Qiongwen Hu, Longjie Zhong, Xinyi Wang, Hao Wan, Ping Wang, 2020, In-situ detection of cadmium with aptamer functionalized gold nanoparticles based on smartphone-based colorimetric system, *ScienceDirect: Talanta*, vol 208.

[50]. Ane Amundarain, Fernando Pastor, Felipe Prosper, Xabier Agirre, 2022, Aptamers, a New Therapeutic Opportunity for the Treatment of Multiple Myeloma, *Cancers*, 14(21), 5471.

[51]. Weidao Yu, Aiyue Hao, Yanzhen Mei, Yaqiong Yang, Chuanchao Dai, 2022, A turn-on fluorescent aptasensor for ampicillin detection based on gold nanoparticles and CdTe QDs, *Microchemical Journal*, vol 179, 107454.

[52]. Mohammed Alhindawi, Amina Rhouati, Rahmah Noordin, Dana Cialla-May, Jürgen Popp, Mohammed Zourob, 2024, Selection of ssDNA aptamers and construction of aptameric electrochemical biosensor for the detection of *Giardia intestinalis* trophozoite protein, *International Journal of Biological Macromolecules*, vol 267, part 2, 131509.

[53]. Mingwei Qin, Imran Mahmood Khan, Ning Ding, Shuo Qi, Xiaoze Dong, Yin Zhang, Zhouping Wang, 2024, Aptamer-modified paper-based analytical devices for the detection of food hazards: Emerging applications and future perspective, *Biotechnology Advances*, vol 73, page 108368.

[54]. Masoomah Esmelpourfarkhani, Mohammad Ramezani, Mona Alibolandi, Khalil Abnous, Seyed Mohammad Taghdisi, 2024, Signal-off nanozyme-based colorimetric aptasensor for sensitive detection of ampicillin

using MnO₂ nanoflowers and gold nanoparticles, *Analytical Biochemistry*, vol 687, 115459.

[55]. Nguyễn Cửu Khoa, 2013, *Giáo trình phân tích hóa học*.

[56]. Ams OSRAM Group, TCS3472 Color Light-to-Digital Convertor with IR Filter. TCS34725 Color Sensor – Color Light-To-Digital Converter, ams. (25/03/4024)

[57]. Trần Cao Sơn, 2010, Thẩm định phương pháp trong phân tích hóa học và vi sinh vật, *Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật*, trang 15 – 30.

[58]. AOAC Official method of Analysis, 2016, *Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirement*.

[59]. Lin Sun, Zhilong Yu, Mengshi Lin, 2019, Synthesis of polyhedral gold nanostars as surface-enhanced Raman spectroscopy substrates for measurement of thiram in peach juice, *Analyst*, issue 16.

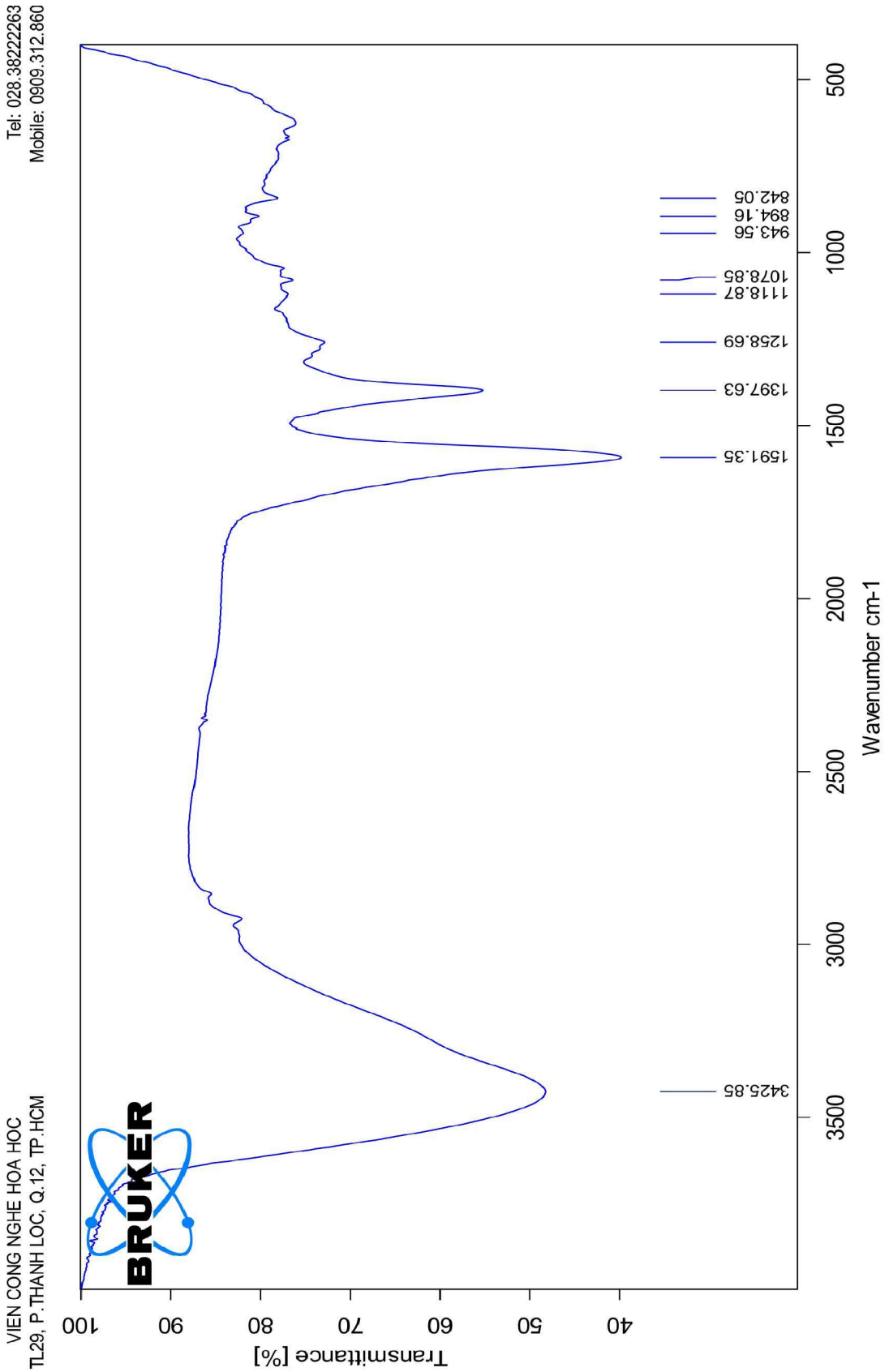
[60]. Ioannis G Theodorou, Pakatip Ruenraroengsak, Daniel A Gonzalez-Carter, Qianfan Jiang, Ernesto Yagüe, Eric O Aboagye, R Charles Coombes, Alexandra E Porter, Mary P Ryan, Fang Xie, 2019, Towards multiplexed near-infrared cellular imaging using gold nanostar arrays with tunable fluorescence enhancement, *Nanoscale*, 11(4), 2079-2088.

[61]. Mohit S. Verma, Paul Z. Chena, Lyndon Jonesa, Frank X Gu , 2014, Branching and size of CTAB-coated gold nanostars control the colorimetric detection of bacteria, *RSC Advances*, vol 4, pages 10660 – 10668.

[62]. Shannon M. Mitchell, Jeffrey L. Ullman, Amy L. Teel, Richard J. Watts, 2014, pH and temperature effects on the hydrolysis of three β -lactam antibiotics: Ampicillin, cefalotin and cefoxitin, *Science of the Total Environment*, 466–467, p547–555.

PHỤ LỤC

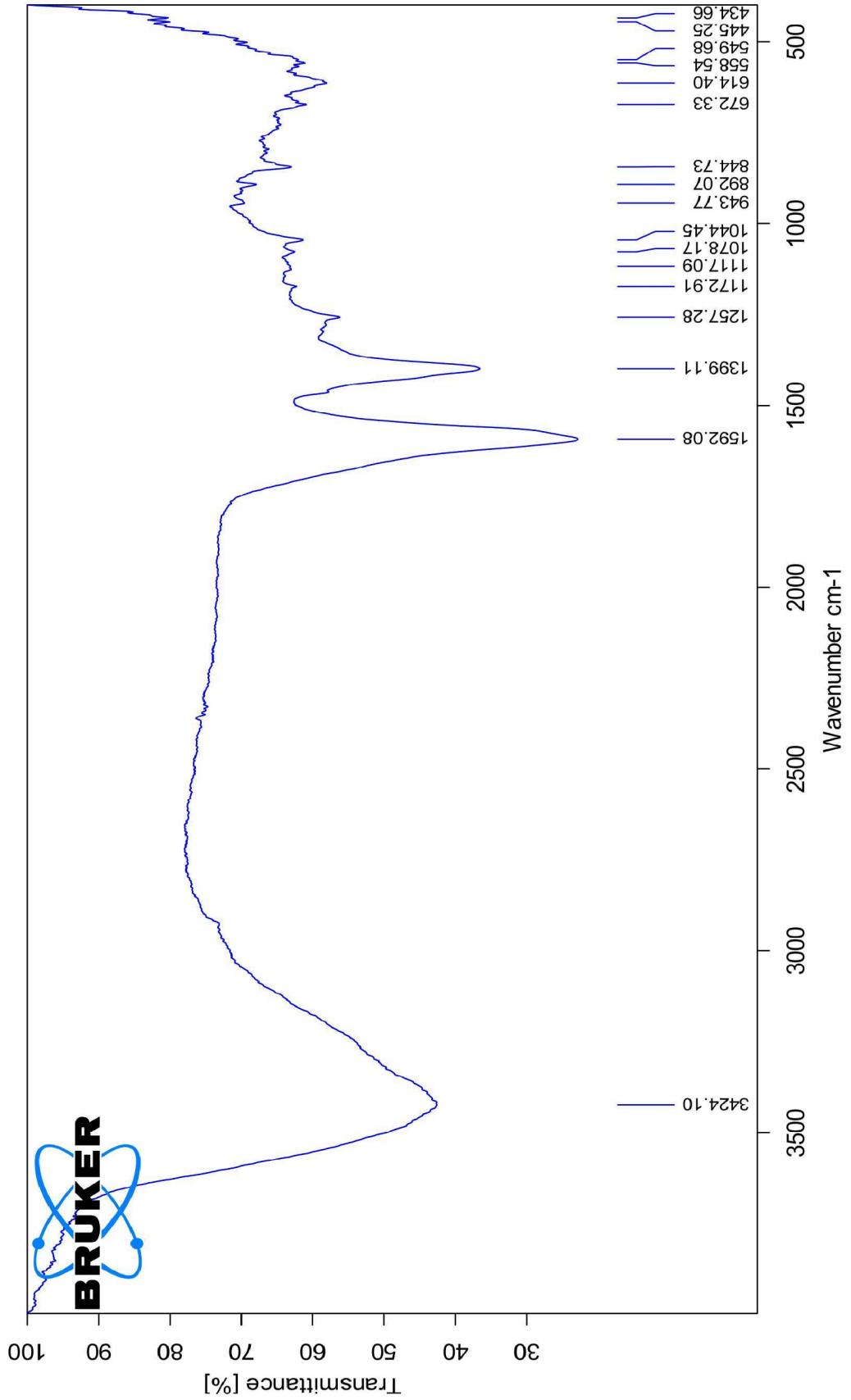
Phụ lục 1. Kết quả phân tích FT – IR cho hệ nano AuNPs



Phụ lục 2. Kết quả phân tích FT – IR cho hệ cảm biến nano AuNPs/Apt

Tel: 028.38222263
 Mobile: 0909.312.860

VIỆN CÔNG NGHỆ HOA HOC
 TL29, P. THANH LOC, Q. 12, TP. HCM



Phụ lục 3. Bảng kết quả khảo sát độ đúng bằng phương pháp UV – Vis

Hàm lượng spike (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được	Trung bình (mg/mL)	Độ thu hồi (%)	SD	RSD_r %	HorRat (r)
0.02	1	0.0210	0.0209	104.58	0.0001	0.2983	0.5
	2	0.0209					
	3	0.0209					
	4	0.0208					
0.035	1	0.0342	0.0344	98.14	0.0003	1.0637	1.1
	2	0.0341					
	3	0.0349					
	4	0.0342					
0.07	1	0.0694	0.0693	98.94	0.0001	0.1379	0.3
	2	0.0693					
	3	0.0691					
	4	0.0692					

Phụ lục 4. Kết quả khảo sát độ đúng bằng phương pháp so màu di động sử dụng tỷ lệ G/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được	Trung bình (mg/mL)	Độ thu hồi (%)	SD	RSD _r %	HorRat (r)
0.02	1	0.0206	0.0202	101.24	0.0004	2.1539	1.12
	2	0.0198					
	3	0.0207					
	4	0.0200					
0.035	1	0.0353	0.0354	101.17	0.0007	2.2184	1.01
	2	0.0363					
	3	0.0357					
	4	0.0344					
0.07	1	0.0703	0.0702	100.22	0.0002	0.3450	0.4
	2	0.0699					
	3	0.0704					
	4	0.0701					

Phụ lục 5. Kết quả khảo sát độ đúng bằng phương pháp so màu di động sử dụng tỷ lệ B/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được	Trung bình (mg/mL)	Độ thu hồi (%)	SD	RSD _r %	HorRat (r)
0.02	1	0.0214	0.0204	102.13	0.0006	3.2021	1.21
	2	0.0198					
	3	0.0203					
	4	0.0203					
0.035	1	0.0355	0.0356	101.68	0.0002	0.6990	0.53
	2	0.0359					
	3	0.0357					
	4	0.0353					
0.07	1	0.0703	0.0698	99.75	0.0002	0.3969	0.4
	2	0.0699					
	3	0.0704					
	4	0.0701					

Phụ lục 6. Kết quả độ lặp bằng phương pháp UV – Vis

Hàm lượng spike (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được	Trung bình (mg/mL)	SD	RSD_r %	HorRat (r)
0.03	1	0.0296	0.0298	0.0004	1.5566	0.98
	2	0.0296				
	3	0.0295				
	4	0.0302				
	5	0.0306				
	6	0.0295				
0.045	1	0.0453	0.0454	0.0004	0.9063	0.82
	2	0.0455				
	3	0.0447				
	4	0.0460				
	5	0.0454				
	6	0.0456				
0.06	1	0.060966	0.0608	0.0006	1.0767	1.07
	2	0.061526				
	3	0.061146				
	4	0.061324				
	5	0.059817				
	6	0.060305				

Phụ lục 7. Kết quả đánh giá độ lặp đúng bằng phương pháp so màu di động sử dụng tỷ lệ màu G/R

Hàm lượng mẫu thêm vào (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được	Trung bình (mg/mL)	SD	RSD_r %	HorRat (r)
0.03	1	0.0295	0.0300	0.0008	2.8672	1.158
	2	0.0309				
	3	0.0309				
	4	0.0292				
	5	0.0306				
	6	0.02915				
0.045	1	0.0458	0.0451	0.0004	0.8644	0.70
	2	0.0450				
	3	0.0451				
	4	0.0450				
	5	0.0449				
	6	0.0446				
0.06	1	0.0598	0.0601	0.0005	0.8609	0.78
	2	0.0603				
	3	0.0604				
	4	0.0597				
	5	0.0596				
	6	0.0609				

Phụ lục 8. Kết quả đánh giá độ lặp đúng bằng phương pháp so màu di động sử dụng tỷ lệ màu B/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được (mg/mL)	Trung bình (mg/mL)	SD	RSD _r %	HorRat (r)
0.03	1	0.0304	0.0302	0.0005	1.8315	0.98
	2	0.0297				
	3	0.0303				
	4	0.0310				
	5	0.0294				
	6	0.0301				
0.045	1	0.0446	0.0451	0.0005	1.0986	0.77
	2	0.0456				
	3	0.0456				
	4	0.0449				
	5	0.0445				
	6	0.0454				
0.06	1	0.0608	0.0604	0.0004	0.8138	0.67
	2	0.0604				
	3	0.0595				
	4	0.0609				
	5	0.0606				
	6	0.0603				

Phụ lục 9. Kết quả độ tái lập bằng phương pháp UV – Vis

Hàm lượng spike (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được (mg/mL)			Trung bình (mg/mL)	SD	RSD _r %	HorRat (r)
		Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3				
0.03	1	0.0301	0.0297	0.0298	0.0299	0.0002	0.6911	0.53
	2	0.0296	0.0300	0.0297				
	3	0.0298	0.0298	0.0302				
0.045	1	0.0458	0.0450	0.0451	0.0452	0.0003	0.8098	0.46
	2	0.0451	0.0454	0.0457				
	3	0.0449	0.0448	0.0449				
0.06	1	0.0609	0.0607	0.0607	0.0604	0.0005	0.8635	0.42
	2	0.0604	0.0609	0.0599				
	3	0.0606	0.0593	0.0602				

Phụ lục 10. Kết quả độ tái lập đúng bằng phương pháp so màu di động sử dụng tỷ lệ G/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được (mg/mL)			Trung bình (mg/mL)	SD	RSD _r %	HorRat (r)
		Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3				
0.03	1	0.0292	0.0299	0.0292	0.0301	0.0008	2.8621	1.1
	2	0.0311	0.0293	0.0309				
	3	0.0310	0.0311	0.0296				
0.045	1	0.0458	0.0445	0.0457	0.0452	0.0006	1.4042	0.96
	2	0.0464	0.0453	0.0449				
	3	0.0444	0.0450	0.0451				
0.06	1	0.0602	0.0608	0.0592	0.0603	0.0006	1.1369	0.82
	2	0.0592	0.0607	0.0601				
	3	0.0609	0.0610	0.0606				

Phụ lục 11. Kết quả độ tái lập đúng bằng phương pháp so màu di động sử dụng tỷ lệ B/R

Hàm lượng spike (mg/mL)	Số lần lặp lại	Hàm lượng thu được (mg/mL)			Trung bình (mg/mL)	SD	RSD _r %	HorRat (r)
		Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3				
0.03	1	0.0296	0.0303	0.0294	0.0301	0.0008	2.8621	1.07
	2	0.0308	0.0301	0.0308				
	3	0.0306	0.0292	0.0315				
0.045	1	0.0450	0.0445	0.0454	0.0452	0.0006	1.4042	0.83
	2	0.0448	0.0449	0.0443				
	3	0.0454	0.0458	0.0452				
0.06	1	0.0609	0.0606	0.0592	0.0603	0.0006	1.1369	0.71
	2	0.0598	0.0604	0.0606				
	3	0.0605	0.0610	0.0610				

Phụ lục 12. Kết quả phân tích mẫu qua các phương pháp

Nồng độ mẫu spike (mg/mL)	UV – Vis (mg/mL)	So màu (mg/mL)		HPLC (mg/mL)
		G/R	B/R	
0.020	0.0152	0.0165	0.0164	0.0138
0.035	0.0149	0.0164	0.0162	
0.050	0.0151	0.0167	0.0164	
0.020	0.0245	0.0249	0.0247	0.0227
0.035	0.0244	0.0252	0.0243	
0.050	0.0247	0.0248	0.0245	
0.020	0.0405	0.0412	0.0417	0.0290
0.035	0.0402	0.0415	0.0418	
0.050	0.0402	0.0413	0.0415	

Phụ lục 13. Kết quả phân tích HPLC mẫu spike nồng độ 0.05 mg/mL



SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP. HỒ CHÍ MINH
DEPARTMENT OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP. HỒ CHÍ MINH
CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC

P 1/1 - MM12405.031114461






Mã số mẫu/ Sample code BN12405.03111446 MM12405.031114461	KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM TEST REPORT	BMKD 03/1 - LBH 01 Ngày/ Date: 13/05/2024
-----------------------------------------------------------------	------------------------------------------	----------------------------------------------

Tên khách hàng/ Customer : **INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY**

Địa chỉ/ Address : 01A, THANH LOC 29 STREET, THANH LOC WARD, DISTRICT 12, HO CHI MINH CITY, VIET NAM

Tên mẫu/ Name of sample : **MILK - M1**

Số lượng/ Quantity : 1

Mô tả mẫu/ Sample description : Liquid.

Ngày nhận mẫu/ Date of receiving : May 03, 2024

Ngày hẹn trả KH/ Date of issue : May 10, 2024

STT/ No	Chỉ tiêu kiểm nghiệm/ Parameters	Đơn vị tính/ Unit	Kết quả/ Result	Phương pháp/ Test method
1	Ampicillin	mg/L	29.0	CASE.SK.0010 (2023)

(*) Phương pháp được VILAS công nhận/ Method is accredited by VILAS.

Phụ trách phòng thử nghiệm/
Officer in charge of laboratory



Nguyễn Huy Dũng

TUQ. GIÁM ĐỐC / PER PRO. DIRECTOR
TRƯỞNG PHÒNG/ HEAD OF DIVISION



Nguyễn Quốc Hùng

1/ KẾT QUẢ NÀY CHỈ CÓ GIÁ TRỊ TRÊN MẪU THỬ/ THIS RESULT IS ONLY VALID ON TESTED SAMPLE.

2/ Thông tin về mẫu được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ The sample information is written as customer's request.

3/ Không được sao chép toàn bộ hoặc một phần kết quả này dưới bất kỳ hình thức nào nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của CASE/ No fully or partial of this result may be reproduced in any form without prior permission in writing from CASE.

TRỤ SỞ CHÍNH
☎ 02 Nguyễn Văn Thủ, P. Đa Kao, Q.1, TP.HCM
☎ 18001105
☎ (84.28) 3911 7216
✉ casehcm@case.vn

CN CẦN THƠ
☎ F2-67, F2-68, Đường số 6, P. Phú Thứ, Q. Cái Răng, TP. Cần Thơ
☎ (84.292) 3918217 - 3918 218
✉ kinhdoanhcantho@case.vn ; nhanmaucancho@case.vn ; ketoancho@case.vn
☎ case.com.vn

VP ĐẠI DIỆN MIỀN TRUNG
☎ STH2718, Đường 8E, KĐT Lê Hồng Phong II, P. Phước Hải, Nha Trang, Khánh Hòa
☎ (84.258) 246 5255
☎ (84.258) 246 5355
✉ vanphongmienTrung@case.vn

www.case.vn

Phụ lục 14. Kết quả phân tích HPLC mẫu spike nồng độ 0.035 mg/mL



SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP. HỒ CHÍ MINH
DEPARTMENT OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP. HỒ CHÍ MINH
CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC

P 1/1 - MM12405.031114462






Mã số mẫu/ Sample code BN12405.03111446 MM12405.031114462	<h3 style="margin: 0;">KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM</h3> <p style="margin: 0;">TEST REPORT</p>	BMKD 03/1 - LBH 01 Ngày/ Date: 13/05/2024
-----------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------

Tên khách hàng/ Customer : **INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY**

Địa chỉ/ Address : 01A, THANH LOC 29 STREET, THANH LOC WARD, DISTRICT 12, HO CHI MINH CITY, VIET NAM

Tên mẫu/ Name of sample : **MILK - M2**

Số lượng/ Quantity : 1

Mô tả mẫu/ Sample description : Liquid.

Ngày nhận mẫu/ Date of receiving : May 03, 2024

Ngày hẹn trả KH/ Date of issue : May 10, 2024

STT/ No	Chỉ tiêu kiểm nghiệm/ Parameters	Đơn vị tính/ Unit	Kết quả/ Result	Phương pháp/ Test method
1	Ampicillin	mg/L	22.7	CASE.SK.0010 (2023)

(*) Phương pháp được VILAS công nhận/ Method is accredited by VILAS.

**Phụ trách phòng thử nghiệm/
Officer in charge of laboratory**



Nguyễn Huy Dũng

**TUQ. GIÁM ĐỐC / PER PRO. DIRECTOR
TRƯỞNG PHÒNG/ HEAD OF DIVISION**



Nguyễn Quốc Hùng

1/ KẾT QUẢ NÀY CHỈ CÓ GIÁ TRỊ TRÊN MẪU THỬ/ THIS RESULT IS ONLY VALID ON TESTED SAMPLE.

2/ Thông tin về mẫu được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ The sample information is written as customer's request.






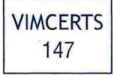



3/ Không được sao chép toàn bộ hoặc một phần kết quả này dưới bất kỳ hình thức nào nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của CASE/ No fully or partial of this result may be reproduced in any form without prior permission in writing from CASE.

TRỤ SỞ CHÍNH 02 Nguyễn Văn Thủ, P. Đa Kao, Q.1, TP.HCM ☎ 18001105 ☎ (84.28) 3911 7216 ✉ casehcm@case.vn	CN CẦN THƠ F2-67, F2-68, Đường số 6, P. Phú Thứ, Q. Cái Răng, TP. Cần Thơ ☎ (84.292) 3918217 - 3918 218 ✉ kinhdoanhcantho@case.vn ; nhanmaucanthon@case.vn ; ketoancantho@case.vn ☎ case.com.vn	VP ĐẠI DIỆN MIỀN TRUNG STH27/18, Đường 8E, KĐT Lê Hồng Phong II, P.Phước Hải, Nha Trang, Khánh Hòa ☎ (84.258) 246 5255 ☎ (84.258) 246 5355 ✉ vanphongmien trung@case.vn
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



www.case.vn

Phụ lục 15. Kết quả phân tích HPLC mẫu spike nồng độ 0.02 mg/mL

		SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP. HỒ CHÍ MINH DEPARTMENT OF SCIENCE AND TECHNOLOGY TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP. HỒ CHÍ MINH CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC		P 1/1 - MM12405.031114463	
		   			
Mã số mẫu/ Sample code BN12405.03111446 MM12405.031114463		KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM TEST REPORT		BMKD 03/1 - LBH 01 Ngày/ Date: 13/05/2024	
Tên khách hàng/ Customer Địa chỉ/ Address Tên mẫu/ Name of sample Số lượng/ Quantity Mô tả mẫu/ Sample description Ngày nhận mẫu/ Date of receiving Ngày hẹn trả KH/ Date of issue		: INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY : 01A, THANH LOC 29 STREET, THANH LOC WARD, DISTRICT 12, HO CHI MINH CITY, VIET NAM : MILK - M3 : 1 : Liquid. : May 03, 2024 : May 10, 2024			
STT/ No	Chỉ tiêu kiểm nghiệm/ Parameters	Đơn vị tính/ Unit	Kết quả/ Result	Phương pháp/ Test method	
1	Ampicillin	mg/L	13.8	CASE.SK.0010 (2023)	
(*) Phương pháp được VILAS công nhận/ Method is accredited by VILAS.					
Phụ trách phòng thử nghiệm/ Officer in charge of laboratory		TU. GIÁM ĐỐC / PER PRO. DIRECTOR TRƯỞNG PHÒNG/ HEAD OF DIVISION			
 Nguyễn Huy Dũng		 Nguyễn Quốc Hùng			
1/ KẾT QUẢ NÀY CHỈ CÓ GIÁ TRỊ TRÊN MẪU THỬ/ THIS RESULT IS ONLY VALID ON TESTED SAMPLE. 2/ Thông tin về mẫu được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ The sample information is written as customer's request. 3/ Không được sao chép toàn bộ hoặc một phần kết quả này dưới bất kỳ hình thức nào nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của CASE/ No fully or partial of this result may be reproduced in any form without prior permission in writing from CASE.					
TRỤ SỞ CHÍNH 02 Nguyễn Văn Thủ, P. Đa Kao, Q.1, TP.HCM 18001105 (84.28) 3911 7216 casehcm@case.vn		CN CẦN THƠ F2-67, F2-68, Đường số 6, P. Phú Thứ, Q. Cái Răng, TP. Cần Thơ (84.292) 3918217 - 3918 218 kinhdoanhcantho@case.vn; nhanmaucancho@case.vn; ketoancancho@case.vn case.com.vn		VP ĐẠI DIỆN MIỀN TRUNG STH2718, Đường 8E, KĐT Lê Hồng Phong II, P. Phước Hải, Nha Trang, Khánh Hòa (84.258) 246 5255 (84.258) 246 5355 vanphongmien trung@case.vn	
					

Hà Nội, ngày 10 tháng 5 năm 2024

Số: 439/QĐ-HVKHCN

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ
GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 303/QĐ-VHL ngày 01/3/2023 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 23/2021/TT-BGDĐT ngày 30/8/2021 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1966/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 896/QĐ-HVKHCN ngày 25/5/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 1 năm 2022;

Căn cứ Quyết định số 1100/QĐ-HVKHCN ngày 02/10/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và cử người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Khoa Hóa học, Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Nguyễn Lê Kim Thúy với đề tài: “Nghiên cứu chế tạo cảm biến nano vàng – aptamer và ứng dụng trong xác định hàm lượng kháng sinh”

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 8 44 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ. Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện.

Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức – Hành chính và Truyền thông, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng khoa Khoa Hóa học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. / *je*

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, TN.14.

GIÁM ĐỐC



CS.TS. Vũ Đình Lâm



DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 439 /QĐ-HVKHCN ngày 10/5/2024
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận văn của học viên: Nguyễn Lê Kim Thúy

Tên đề tài: “Nghiên cứu chế tạo cảm biến nano vàng – aptamer và ứng dụng trong xác định hàm lượng kháng sinh”.

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Người hướng dẫn: TS. Nguyễn Thành Danh - Viện Công nghệ hóa học
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Trần Quang Hiếu	Hóa phân tích	Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Trần Nguyễn Minh Ân	Hóa hữu cơ	Trường Đại học Công nghiệp TP. HCM, Bộ Công thương	Phản biện 2
4.	PGS.TS. Đặng Chí Hiên	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
5.	TS. Phan Nhật Minh	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên- Thư ký

Hội đồng gồm 05 thành viên. / *he*

TP. HCM, ngày 20 tháng 5 năm 2024

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 439/QĐ-HVKHCN ngày 10/5/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Nguyễn Lê Kim Thúy

Tên đề tài: **Nghiên cứu chế tạo cảm biến nano vàng – aptamer và ứng dụng trong xác định hàm lượng kháng sinh**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Hôm nay, ngày 20/5/2024 Hội đồng đã họp tại phòng tầng 4 Viện Công nghệ Hóa học vào lúc 9h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Trần Quang Hiếu	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Trần Nguyễn Minh Ân	Phản biện 2
4.	PGS.TS. Đặng Chí Hiền	Ủy viên
5.	TS. Phan Nhật Minh	Ủy viên- Thư ký

Thành viên vắng mặt: 0

NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- PGS.TS. Trần Quang Hiếu**, phản biện 1, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi.

Câu hỏi:

Các hình ảnh khá mờ, đề nghị tăng độ phân giải.

Các hình ảnh về dụng cụ nên loại bỏ, chỉ nêu tên, xuất xứ.

Các bảng đánh giá độ lặp lại, độ tái lập, LOD, LOQ nên chọn lọc các bản chính, còn lại nên đưa vào phụ lục.



Phần kết luận tập trung vào ba ý chính: đặc tính vật liệu, phát triển phương pháp phân tích định tính và định lượng.

Học viên trả lời:

Học viên chỉnh sửa và bổ sung luận văn theo nhận xét của thầy phản biện.

6. PGS.TS. Trần Nguyễn Minh Ân, phản biện 2, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi

Câu hỏi:

Giải thích về kết quả nano vàng vùng dao động COO^- không có thấy mũi hấp thụ hồng ngoại.

Bổ sung tài liệu tham khảo điều chế nano vàng, cập nhật thêm tài liệu tham khảo trong lĩnh vực, tài liệu tham khảo dạng web phải có ngày tham chiếu. Điều chỉnh kích thước các hình ảnh.

Học viên trả lời

Có nhóm CO vùng 1600 cm^{-1} đặc trưng của nhóm carbonyl. Đồng thời lượng citrate thấp, vì thế cường độ peak COO^- ở vùng 1700 thấp.

Học viên chỉnh sửa và bổ sung luận văn theo nhận xét của thầy phản biện.

7. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

• Ý kiến của PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung:

Một số câu văn chưa hoàn chỉnh, còn lỗi chính tả, trình bày quy trình. Bổ sung các nghiên cứu trước đây của nhóm về hướng nghiên cứu này đã công bố qua các bài báo, luận văn. Các phương pháp sử dụng cần nêu tài liệu tham khảo.

• Ý kiến của PGS.TS. Đặng Chí Hiền:

Luận văn còn lỗi chính tả, một số điểm về nội dung cần trình bày rõ ràng hơn.

• Ý kiến của TS. Phan Nhật Minh:

Thống nhất cách viết tài liệu tham khảo. Rà soát, chỉnh sửa các lỗi chính tả có trong luận văn.

Học viên trả lời

Học viên chỉnh sửa và bổ sung luận văn theo nhận xét của Hội đồng.

8. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: TS. Phan Nhật Minh

Ủy viên: PGS.TS. Trần Nguyễn Minh Ân

Ủy viên: PGS.TS. Trần Quang Hiếu

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05 phiếu

Số phiếu thu về: 05 phiếu

Tổng số điểm: 43

CO
EN
CV
NGH
W

Điểm trung bình: 8,6

Điểm thưởng công trình công bố: 0

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: 8,6

- Kết luận của Hội đồng: Luận văn đạt yêu cầu.
- Tính không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công bố: Nội dung và tên đề tài không trùng lặp các công bố

8. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

Luận văn đạt yêu cầu luận văn thạc sĩ Hóa học chuyên ngành Hóa Hữu cơ.

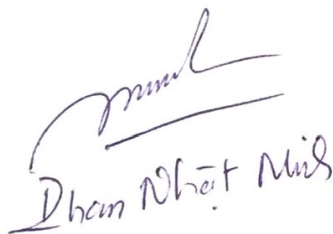
Yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

- Điều chỉnh các bảng, hình ảnh; chỉnh sửa các lỗi chính tả.
- Chọn lọc bảng đánh giá độ lặp lại, độ tái lập, LOD, LOQ.
- Tài liệu tham khảo: Cập nhật, bổ sung và thống nhất cách viết tài liệu tham khảo
- Nội dung cần trình bày rõ ràng hơn, phần kết luận tập trung vào ba ý chính: đặc tính vật liệu, phát triển phương pháp phân tích định tính và định lượng.

Buổi họp đã kết thúc vào 11 giờ 00 phút ngày 20/5/2024

TP. HCM, ngày 20 tháng 5 năm 2024

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG


Phạm Nhật Minh

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG


Hoàng Thị Kim Dung

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC

PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: TRẦN QUANG HIẾU
Chức danh: PGS.TS
Chuyên ngành: HÓA HỌC
Cơ quan công tác: TRƯỜNG ĐẠI HỌC CÔNG NGHỆ SÀI GÒN
Họ và tên học viên: Nguyễn Lê Kim Thúy
Tên đề tài: **NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO CẢM BIẾN NANO VÀNG -APTAMER VÀ ỨNG DỤNG TRONG XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG KHÁNG SINH**
Chuyên ngành: Hóa hữu cơ
Mã số: **8440114**

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:
Trong xu thế công nghiệp hóa, hiện đại hóa nền kinh tế, cùng với sự phát triển nhanh dân số đã ảnh hưởng tiêu cực đến môi trường sống cũng như sức khỏe con người. Hiện nay, vệ sinh thực phẩm đang là vấn đề đặc biệt quan trọng trên thế giới cũng như nước ta. Theo thống kê của tổ chức y tế thế giới (WHO) ước tính có khoảng 600 triệu (10% dân số thế giới) bị mắc bệnh sau khi sử dụng thực phẩm ô nhiễm. Ở Việt Nam số vụ ngộ độc thực phẩm ngày càng tăng cao chủ yếu do thực phẩm nhiễm hóa chất như: thuốc bảo vệ thực vật và kháng sinh. Dư lượng hóa chất không những gây ra các bệnh cấp tính mà còn là nguyên nhân của nhiều bệnh mạn tính và nan y như ung thư, tiểu đường, v.v...
Vì thế, dư lượng hóa chất, đặc biệt là kháng sinh trong thực phẩm đang là vấn đề hết sức nghiêm trọng gây ra ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Kiểm soát hàm lượng kháng sinh là nhu cầu cấp bách để giải quyết tình trạng thực phẩm bẩn và ô nhiễm nguồn nước hiện nay. Trên thị trường hiện nay, một số bộ test nhanh kháng sinh sử dụng sắc ký miễn dịch cạnh tranh đã được phát triển, tuy nhiên nhược điểm của phương pháp này là giá thành cao và chỉ sử dụng để định tính, không có chức năng định



lượng [3]. Để định lượng được kháng sinh, quá trình phân tích thường cần có phòng thí nghiệm với các trang thiết bị hiện đại, đắt tiền như thiết bị sắc ký lỏng cao áp, kỹ thuật enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA). Các phương pháp thay thế có thể làm giảm chi phí phân tích như sử dụng phương pháp quang học (UV – Vis và huỳnh quang) dựa trên vật liệu nano kim loại plasmonic kết hợp với aptamer để định lượng kháng sinh. Tuy nhiên, gần đây các thiết bị so màu di động có thể đánh giá hàm lượng kháng sinh một cách nhanh chóng và chính xác, tương đương với các thiết bị trong phòng thí nghiệm.

Vì thế đề tài “Nghiên cứu chế tạo cảm biến nano vàng – aptamer và ứng dụng trong xác định hàm lượng kháng sinh” có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đề tài "Nghiên cứu chế tạo cảm biến nano vàng – aptamer và ứng dụng trong xác định hàm lượng kháng sinh" có tính tính độc đáo và không trùng lặp so với các công trình nghiên cứu, luận văn đã công bố trong và ngoài nước. Trong quá trình thực hiện, tác giả đã thực hiện tốt việc trích dẫn các tài liệu tham khảo, đảm bảo nguồn gốc và xác thực của thông tin được sử dụng. Điều này không chỉ góp phần vào sự phát triển của lĩnh vực nghiên cứu mà còn đảm bảo tính minh bạch và chính xác của dữ liệu khoa học, qua đó hỗ trợ hiệu quả cho việc đưa ra các phát hiện và kết luận có giá trị trong đề tài.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Tên đề tài, nội dung đề tài và chuyên ngành cũng như mã số chuyên ngành phù hợp với quy định chung.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Phương pháp nghiên cứu được xây dựng hợp lý, logic có sự tham khảo từ các công bố quốc tế uy tín. Do đó, số liệu thu được có độ tin cậy và chính xác cao.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Luận văn đã có những kết quả đáng chú ý như sau:

- Nano vàng được tổng hợp với quy trình ổn định, có kích thước 15 nm.

Hệ cảm biến nano vàng – aptamer đã xác định được các điều kiện thích hợp để nâng cao hiệu quả cảm biến kháng sinh ampicillin.

Vật liệu cảm biến AuNPs/Apt có độ chọn lọc tốt ở một số tác nhân khác.



-Đã xây dựng được phương pháp phân tích định lượng xác định kháng sinh bằng hai phương pháp: quang phổ UV – Vis và so màu với khoảng tuyến tính từ 0.02 mg/mL đến 0.07 mg/mL, giới hạn phát hiện của phương pháp so màu ở hai tỷ lệ G/R và B/R lần lượt là 0.0068 mg/mL và 0.0061 mg/mL. Tương tự, giới hạn phát hiện sử dụng phương pháp quang phổ UV – Vis là 0.0064 mg/mL. Giới hạn định lượng sử dụng phương pháp so màu di động ở hai tỷ lệ G/R và B/R lần lượt là 0.0205 mg/mL và 0.0184 mg/mL. Và giá trị giới hạn định lượng của phương pháp UV – Vis là 0.0193 mg/mL.

Phân tích hàm lượng kháng sinh ampicillin trên mẫu sữa đã được thực hiện cho thấy phương pháp phân tích sử dụng máy so màu di động kết hợp với kit test AuNPs /Apt có thể áp dụng để thay thế các thiết bị phân tích trong phòng thí nghiệm.

6. Đóng góp mới của luận văn:

Kết quả của luận văn đã đóng góp vào các công trình nghiên cứu phát hiện hàm lượng kháng sinh. Hệ cảm biến so màu dựa trên vật liệu nano vàng – aptamer có khả năng tương tác tốt với kháng sinh ampicillin.

Hệ cảm biến nano vàng – aptamer được phân tích đầy đủ các tính chất hóa lý, độ bền của hệ. Kết quả cho thấy hệ nghiên cứu có độ tin cậy cao. Kết quả của nghiên cứu cho thấy khả năng định lượng kháng sinh ampicillin trong thực phẩm. Đồng thời, phương pháp so màu được thiết kế trên thiết bị so màu di động được ứng dụng và mang lại tiềm năng phát triển cảm biến di động, thuận tiện cho việc phát hiện kháng sinh nhanh chóng.

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

- Chương tổng quan: các hình ảnh lấy từ các bài báo khá mờ, đề nghị tăng độ phân giải hình ảnh.
- Chương 2. Các hình ảnh về dụng cụ như cân phân tích...nên loại bỏ, chỉ nêu tên, xuất xứ.
- Chương 3. Các bảng đánh giá độ lặp lại, độ tái lặp, LOD, LOQ nên chọn lọc các bảng chính, còn lại tác giả nên đưa vào phần phụ lục.
- Hình 3.11 khá mờ, đề nghị tăng độ phân giải.
- Phần kết luận nên được viết lại, tập trung vào 3 ý chính: đặc tính vật liệu, phát triển phương pháp phân tích định tính và định lượng.

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?



Các số liệu trong luận văn hoàn toàn có thể viết được bài báo khoa học đăng trên các tạp chí khoa học uy tín.

9 . Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Bản thảo luận văn đã đáp ứng đầy đủ các tiêu chuẩn và yêu cầu cần thiết cho một luận văn Thạc sĩ và đồng ý cho học viên được bảo vệ trước hội đồng và nhận học vị Thạc sĩ

Tp.HCM, ngày 18 tháng 05 năm 2024

Người phản biện

(Ký, ghi rõ họ tên)



PGS.TS. Trần Quang Hiếu

Lưu ý:

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Ngân phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT: 0989322368

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Trần Nguyễn Minh Ân

Học hàm, học vị: PGS.TS.

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Cơ quan công tác: Trường Đại học Công nghiệp TP. HCM

Họ và tên học viên: Nguyễn Lê Kim Thúy

Tên đề tài: **NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO CẢM BIẾN NANO VÀNG - APTAMER VÀ ỨNG DỤNG TRONG XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG KHÁNG SINH**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: **8440114**

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Kiểm soát hàm lượng kháng sinh là nhu cầu cấp bách để giải quyết tình trạng thực phẩm bẩn và ô nhiễm nguồn nước hiện nay. Trên thị trường hiện nay, một số bộ test nhanh kháng sinh sử dụng sắc ký miễn dịch cạnh tranh đã được phát triển, tuy nhiên nhược điểm của phương pháp này là giá thành cao và chỉ sử dụng để định tính, không có chức năng định lượng [3]. Để định lượng được kháng sinh, quá trình phân tích thường cần có phòng thí nghiệm với các trang thiết bị hiện đại, đắt tiền như thiết bị sắc ký lỏng cao áp, kỹ thuật enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA). Các phương pháp thay thế có thể làm giảm chi phí phân tích như sử dụng phương pháp quang học (UV – Vis và huỳnh quang) dựa trên vật liệu nano kim loại plasmonic kết hợp với aptamer để định lượng kháng sinh. Tuy nhiên, gần đây các thiết bị so màu di động có thể đánh giá hàm lượng kháng sinh một cách nhanh chóng và chính xác, tương đương với các thiết bị trong phòng thí nghiệm.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đề tài hoàn toàn không trùng lặp với các NC trước đây, trung thực rõ ràng trong trích dẫn

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Nội dung NC của đề tài hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành mã chuyên ngành và mã số đào tạo

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Tác giả sử dụng các phương pháp phân tích vật lý và hóa lý: UV-vis, SEM, TEM, EDX, thế điện động học zeta và các phép phân tích có đánh giá độ đúng, độ chính xác, độ tin cậy của mô hình phân tích.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

- Hệ AuNPs/Apt ứng dụng trong phân tích kháng sinh ampicillin dựa trên thiết bị so màu UV – Vis và thiết bị so màu di động đánh giá sự hình thành nano dựa trên các phép phân tích hình ảnh và hóa học;

- Nano vàng được tổng hợp với quy trình ổn định, có kích thước 15 nm.
- Hệ cảm biến nano vàng – aptamer đã xác định được các điều kiện thích hợp để nâng cao hiệu quả cảm biến kháng sinh ampicillin.
- Vật liệu cảm biến AuNPs/Apt có độ chọn lọc tốt ở một số tác nhân khác.
- Xây dựng được đường chuẩn định lượng kháng sinh bằng hai phương pháp: quang phổ UV – Vis và so màu với khoảng tuyến tính từ 0.02 mg/mL đến 0.07 mg/mL.
- Giới hạn phát hiện của phương pháp so màu ở hai tỷ lệ G/R và B/R lần lượt là 0.0068 mg/mL và 0.0061 mg/mL. Tương tự, giới hạn phát hiện sử dụng phương pháp quang phổ UV – Vis là 0.0064 mg/mL.
- Giới hạn định lượng sử dụng phương pháp so màu di động ở hai tỷ lệ G/R và B/R lần lượt là 0.0205 mg/mL và 0.0184 mg/mL. Và giá trị giới hạn định lượng của phương pháp UV – Vis là 0.0193 mg/mL.
- Phân tích hàm lượng kháng sinh ampicillin trên mẫu sữa đã được thực hiện cho thấy phương pháp phân tích sử dụng máy so màu di động kết hợp với kit test AuNPs /Apt có thể áp dụng để thay thế các thiết bị phân tích trong phòng thí nghiệm.

Kiến nghị

- Giải thích về kết quả nano vàng vùng dao động của nhóm COO⁻ không có thấy mũi hấp thu hồng ngoại; Không thấy tài liệu tham khảo ở mục 2.3.1. điều chế nano vàng; Tài liệu tham khảo dạng web phải có ngày tham chiếu;
- Hình ảnh kích thước quá to nên điều chỉnh; Bổ sung thêm tài liệu tham khảo cập nhật trong lĩnh vực;

6. Đóng góp mới của luận văn:

- Hệ cảm biến có khả năng phân tích chọn lọc kháng sinh và xác định được hàm lượng kháng sinh trong mẫu thật.
- Nghiên cứu so sánh cảm biến kháng sinh sử dụng thiết bị so màu di động và cảm biến so màu sử dụng thiết bị đo UV – Vis.

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

- Giải thích về kết quả nano vàng vùng dao động của nhóm COO⁻ không có thấy mũi hấp thu hồng ngoại; Không thấy tài liệu tham khảo ở mục 2.3.1. điều chế nano vàng; Tài liệu tham khảo dạng web phải có ngày tham chiếu; Hình ảnh kích thước quá to nên điều chỉnh; Bổ sung thêm tài liệu tham khảo cập nhật trong lĩnh vực.

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Nội dung của luận văn có thể biên tập và đăng trên tạp chí khoa học quốc tế được.

9. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Bản luận văn đáp ứng tốt với một luận văn thạc sĩ và có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị thạc sĩ.

TP.HCM, ngày 16 tháng 05 năm 2024

Người phản biện

(Ký, ghi rõ họ tên)



PGS.TS. Trần Nguyễn Minh Ân

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: Nguyễn Lê Kim Thúy

Lớp: Hóa Hữu cơ – 2022A

Tên đề tài luận văn: *Nghiên cứu chế tạo cảm biến nano vàng – aptamer và ứng dụng trong xác định hàm lượng kháng sinh*

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Thành Danh

Ngày bảo vệ luận văn: 20/05/2024

Căn cứ biên bản họp hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:


STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Lỗi chính tả (Trang 16, 72, 74, 76, 84)	Đã chỉnh sửa lỗi chính tả (Trang 16, 72, 74, 76, 84)
2	Tăng độ phân giải, điều chỉnh kích thước cho các hình ảnh	Đã tăng độ phân giải, điều chỉnh kích thước cho các hình ảnh
3	Thêm nghiên cứu của nhóm chung hướng của đề tài	Đã thêm nghiên cứu của nhóm chung hướng với đề tài (Trang 23)
4	Thêm một số nghiên cứu gần đây chung hướng với đề tài	Đã thêm một số nghiên cứu gần đây chung hướng với đề tài (Trang 24, 25)
5	Thêm thiết bị sử dụng (máy ly tâm, máy so màu di động) (Trang 27, 28)	Đã thêm thiết bị sử dụng (máy ly tâm, máy so màu di động) (Trang 27, 28)
6	Loại bỏ hình ảnh của các thiết bị sử dụng (Trang 27)	Đã loại bỏ hình ảnh của các thiết bị sử dụng (Trang 27)
7	Thêm tài liệu tham khảo cho quy trình tổng hợp nano vàng (Trang 30, 31)	Đã thêm tài liệu tham khảo cho quy trình tổng hợp nano vàng (Trang 30, 31)
8	Thêm quy trình chế tạo hệ cảm biến AuNPs/Apt	Đã thêm quy trình chế tạo hệ cảm biến AuNPs/Apt (Trang 32)
9	Chọn lọc bảng đánh giá độ lặp lại, tái lặp, LOD, LOQ (Trang 93,94,95,96)	Đã chọn lọc bảng đánh giá độ lặp, tái lặp, LOD, LOQ (Trang 93,94,95,96)




10	Trình bày lại phần kết luận (Trang 100)	Đã trình bày lại phần kết luận (Trang 100)
11	Thống nhất cách viết tài liệu tham khảo, thêm ngày tham chiếu cho các tài liệu tham khảo dạng trang web (Trang 102 – 108)	Đã chỉnh sửa, thống nhất cách viết tài liệu tham khảo, thêm ngày tham chiếu cho các tài liệu tham khảo dạng trang web (Trang 102 – 108)

Hà Nội, ngày 31 tháng 5 năm 2024

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG


Hoàng Thị Kim Dung


TẬP THỂ HƯỚNG DẪN


Nguyễn Thanh Đan
XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO
KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung

HỌC VIÊN


Nguyễn Lê Kim Thủy

