

TỔNG HỢP NANO BẠC TỪ DUNG DỊCH AgNO_3 VÀ DỊCH CHIẾT CÂY CỎ BÙ XÍT

VŨ THỊ DUYÊN - Trường Đại học Sư Phạm - Đại học Đà Nẵng;
ĐẶNG THỊ BÍCH THẢO - Trường Cao đẳng Phương Đông Đà Nẵng

SUMMARY:

SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES FROM AGERATUM CONYZOIDES EXTRACT AND AgNO_3 SOLUTION

This paper presents a study on synthesis of silver nanoparticles from AgNO_3 solution and ageratum conyzoides extract and antibacterial activity of the material. The results show that silver nano has been successfully synthesized from AgNO_3 solution and ageratum conyzoides extract. Silver nanoparticles were characterized using UV-Vis spectroscopy, XRD, TEM. Optimal conditions for biosynthesis of silver nanoparticles were found. Colloidal nanosilver solution exposed high antibacterial activity against Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria.

Key Words: Mgreen synthesis; silver nanoparticles; AgNO_3 ; ageratum conyzoides extract; antibacterial activity.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nhiều thập kỷ qua, nano bạc đang được khai thác và phát triển rộng rãi trong rất nhiều lĩnh vực bởi những tính chất độc đáo cũng như phạm vi ứng dụng rộng lớn của vật liệu này.

Có nhiều phương pháp khác nhau để tổng hợp bạc nano, gần đây giới khoa học đã bắt đầu áp dụng định hướng của hóa học xanh trong việc điều chế nano bạc, với hai tiêu chí luôn phải đảm bảo: vừa kinh tế, vừa thân thiện với môi trường. Trong số các phương pháp hóa học xanh, phương pháp điều chế nano bạc từ phản ứng giữa tiền chất bạc với các vi chất hữu cơ hoặc chiết xuất từ thực vật đang ngày càng cho thấy nhiều tiềm năng và ưu thế do đây là những chất có giá thành thấp, hoạt tính hóa học cao, quy trình sử dụng đơn giản và thân thiện với môi trường[1-4].

Cây cỏ hôi thường được gọi là cây bù xít (*Ageratum conyzoides*) được mệnh danh là kháng sinh thảo được

trị bách bệnh. Thành phần chính của cây cỏ bù xít gồm: Ancaloid (Echinatin và Lycopsamine) với công dụng chống viêm, kháng khuẩn, chống phù nề, dị ứng...Flavanoid (Sinensetin, quercetin...) có công dụng chống viêm, ức chế thoái hóa sụn, chống khối u... Ở Việt Nam, cây cỏ bù xít đã được sử dụng để sản xuất thuốc xịt mũi Agerhinin, đã được thử nghiệm lâm sàng tại Bệnh viện Tai Mũi Họng Trung ương cho kết quả rất tốt đối với những người bị viêm mũi, viêm xoang[5]. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu chứng minh khả năng chống oxy hóa, chống ung thư, khả năng kháng viêm, tính kháng khuẩn của cây cỏ bù xít[6].

Bài báo này trình bày kết quả tổng hợp nano bạc từ dung dịch AgNO_3 và dịch chiết cây cỏ bù xít và thử khả năng kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc tạo thành.

II. GIẢI QUYẾT VẤN ĐỀ

1. Nguyên liệu và hóa chất

Cây cỏ bù xít sau khi thu hái tại Xã Hòa Nhơn, thành phố Đà Nẵng, được rửa sạch, loại bỏ phần sâu, bỏ rễ, để ráo nước.

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu gồm AgNO_3 (AR, 99,7%, Trung Quốc), NaOH (AR, 99%, Trung Quốc), HNO_3 (AR, 70%, Trung Quốc).

2. Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm

2.1. Tổng hợp nano bạc

Dịch chiết cây cỏ bù xít được thu hồi bằng phương pháp chưng cất. Cân 15g nguyên liệu cây cỏ bù xít cho vào

binh cầu 1.000ml được nối với hệ thống ống sinh hàn, tiếp tục thêm vào 200ml nước cất và chưng cất trong 20 phút ở nhiệt độ 100°C . Lọc bỏ phần bã, thu dịch chiết nước cây cỏ bù xít.

Nhỏ từ từ Vml dịch chiết nước cây cỏ bù xít được điều chỉnh pH tới một giá trị xác định vào 20ml dung dịch AgNO_3 1mM, nhiệt độ phản ứng được giữ cố định $^\circ\text{C}$, tốc độ khuấy 400 vòng / phút, thời gian tạo nano là t phút.

Dung dịch nano bạc sau khi tổng hợp được pha loãng 5 lần bằng nước cất và đem đi đo UV-Vis trên máy quang

phổ UV - Vis Jasco tại Khoa Hóa Trường Đại học Sư Phạm Đà Nẵng.

Hạt nano bạc tạo thành được xác định các đặc trưng lý hóa bằng phương pháp đo phổ nhiễu xạ tia X (XRD), đo EDX và chụp ảnh TEM.

2.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình tạo thành nano bạc

Các yếu tố khảo sát bao gồm: pH môi trường; tỉ lệ thể tích dịch chiết; nhiệt độ tạo nano và thời gian tạo nano. Ảnh hưởng của các yếu tố được đánh giá dựa trên kết quả so sánh giá trị cực đại mật độ quang của dung dịch tạo thành.

2.3. Thử khả năng kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc

Dung dịch keo nano bạc tổng hợp ở điều kiện tốt nhất, xác định sau khi đã khảo sát các yếu tố ảnh hưởng, được

gửi đi thử khả năng kháng khuẩn tại Phòng vi sinh - Trung tâm kỹ thuật Tiêu chuẩn đo lường chất lượng 2- QUATEST 2, số 02 Ngô Quyền - Thành phố Đà Nẵng.

Khả năng kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch. Trong bài báo này thử hoạt tính kháng khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli* với mật độ chủng *Staphylococcus aureus* $3,9.10^7$ CFU/ml trên môi trường nuôi cấy Tryptic Soy Agar, với mật độ chủng *Escherichia coli* 7.10^7 CFU/mL trên môi trường nuôi cấy Mueller - Hinton Agar. Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá thông qua vùng ức chế:

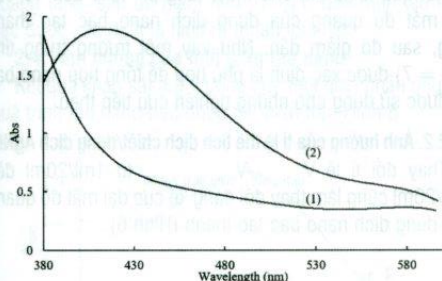
$$ZOI (mm) = D-d$$

Trong đó, D: Đường kính vòng vô khuẩn (mm); d: đường kính giếng thạch (mm).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc trưng lý hóa của vật liệu

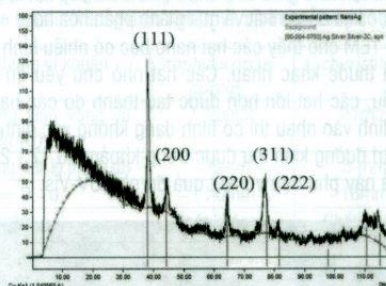
Kết quả đo UV-Vis của dung dịch được tạo thành từ dung dịch $AgNO_3$ và dịch chiết nước cây cỏ bù xít được thể hiện trên Hình 1.



Hình 1. Phổ UV-Vis của dịch chiết cây bù xít (1); dung dịch tạo thành từ dung dịch $AgNO_3$ và dịch chiết cây bù xít (2)

Thực nghiệm cho thấy, phổ UV - Vis của mẫu dung dịch $AgNO_3$ -dịch chiết cây bù xít xuất hiện đỉnh hấp thụ cực đại nằm trong khoảng 410 - 425nm. Đây là các đỉnh ứng với plasmon cộng hưởng bề mặt của nano bạc, chứng tỏ đã thu được dung dịch nano bạc từ dung dịch $AgNO_3$ và dịch chiết nước cây bù xít. Dựa vào vị trí cực đại mật độ quang trong phổ UV-Vis của các mẫu dung dịch cũng có thể dự đoán kích thước hạt nano nằm trong khoảng 15 - 30nm[7].

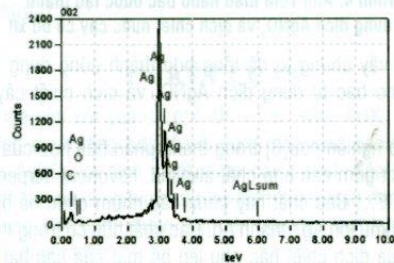
Phổ nhiễu xạ tia X của mẫu vật liệu tạo thành từ dung dịch $AgNO_3$ và dịch chiết nước cây cỏ bù xít được thể hiện trên Hình 2.



Hình 2. Phổ nhiễu xạ tia X (XRD) của hạt nano bạc tổng hợp từ dung dịch $AgNO_3$ và dịch chiết nước cây cỏ bù xít

Kết quả đo XRD cho thấy sự hiện diện của các hạt tinh thể nano bạc hình cầu, có các pic đặc trưng với góc 2θ là $38,1^\circ$; $44,3^\circ$; $64,5^\circ$; $77,5^\circ$; $81,33^\circ$ tương ứng với mạng (111), (200), (220), (311), (222) của tinh thể bạc (theo ngân hàng phổ JCDs card No 04-0783).

Để xác định thành phần của mẫu vật liệu tạo thành, tiến hành chụp phổ EDX, kết quả thể hiện trên Hình 3.



Hình 3. Phổ EDX của hạt nano bạc được tạo thành từ dung dịch $AgNO_3$ và dịch chiết nước cây cỏ bù xít

Trên phổ EDX của mẫu nghiên cứu ngoài các pic đặc trưng của nguyên tố Ag còn xuất hiện các pic tín hiệu yếu của C và O. Điều này chứng tỏ bên ngoài nano bạc còn có các hợp chất hữu cơ bao bọc với vai trò chất làm bền cho hạt nano.

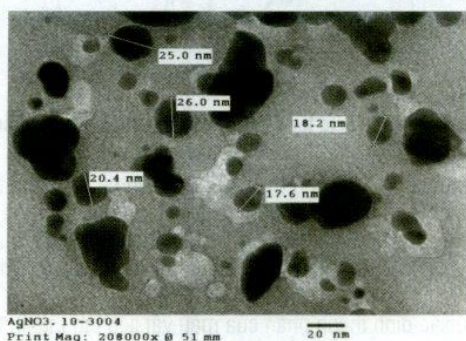
Kết quả xác định thành phần nguyên tố của mẫu nano bạc được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1: Thành phần nguyên tố trong hạt nano bạc

Nguyên tố	Khối lượng (%)			
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 4
Ag	88,40	83,55	84,91	83,47
C	6,37	7,65	7,87	8,90
O	5,23	8,80	7,22	7,63
Tổng	100	100	100	100

Bảng 1 cho thấy, thành phần nguyên tố của 4 mẫu vật liệu được lấy ngẫu nhiên từ mẫu trộn của các mẫu được tổng hợp ở cùng điều kiện khá giống nhau, chứng tỏ vật liệu tổng hợp được khá đồng nhất về mặt thành phần hóa học.

Ảnh TEM cho thấy các hạt nano bạc có nhiều hình dạng và kích thước khác nhau. Các hạt nhỏ chủ yếu có dạng hình cầu, các hạt lớn hơn được tạo thành do các hạt nhỏ bị kết dính vào nhau thì có hình dạng không xác định. Một số giá trị đường kính thu được trong khoảng từ 17 - 26nm. Kết quả này phù hợp với kết quả đo phổ UV-Vis.



Hình 4. Ảnh TEM mẫu nano bạc được tạo thành từ dung dịch AgNO_3 và dịch chiết nước cây cỏ bùi xít

Như vậy chứng tỏ đã tổng hợp thành công dung dịch keo nano bạc từ dung dịch AgNO_3 và dịch chiết cây cỏ bùi xít.

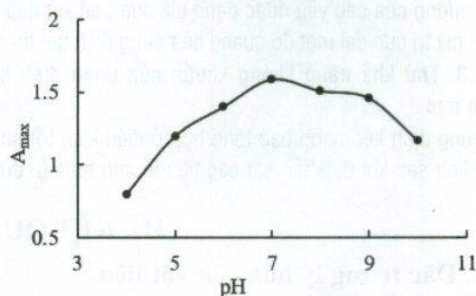
Theo nghiên cứu[8] trong thành phần hóa học của cây cỏ bùi xít gồm các hợp chất alkaloid, flavonoid, terpenoid, vitamin E... Các chất này chứa các nhóm chức dễ bị oxy hóa, sẽ khử ion Ag^+ thành Ag. Các chất hữu cơ trong thành phần của dịch chiết hấp phụ lên bề mặt của các hạt keo nano bạc đóng vai trò là các chất làm bền tự nhiên giúp cho các hạt bạc không bị keo tụ[9].

2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình tạo nano bạc

2.1. Ảnh hưởng của pH

Quá trình tổng hợp nano bạc được tiến hành ở điều kiện tỉ lệ $V_{\text{dịch chiết}}/V_{\text{AgNO}_3} = 2\text{ml}/20\text{ml}$; nhiệt độ phản ứng: 30°C , thời gian tạo nano là 40 phút.

Cực đại mật độ quang trên phổ UV-Vis của dung dịch nano bạc tạo thành từ dịch chiết cây cỏ bùi xít với pH thay đổi từ 4 ÷ 10 được thể hiện trên Hình 5.

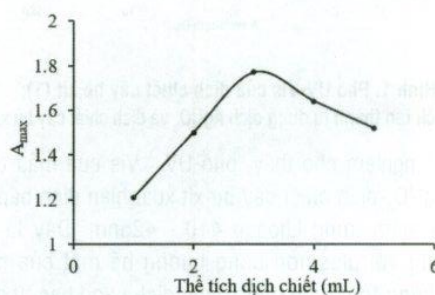


Hình 5. Ảnh hưởng của pH đến cực đại mật độ quang trên phổ UV-Vis của dung dịch nano bạc tạo thành

Kết quả khảo sát cho thấy, tăng pH từ 4 đến 10 cực đại mật độ quang của dung dịch nano bạc tạo thành tăng, sau đó giảm dần. Như vậy môi trường trung tính (pH = 7) được xác định là phù hợp để tổng hợp nano bạc và được sử dụng cho những nghiên cứu tiếp theo.

2.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ thể tích dịch chiết/dung dịch AgNO_3

Thay đổi tỉ lệ $V_{\text{dịch chiết}}/V_{\text{dung dịch AgNO}_3}$ từ 1ml/20ml đến 5ml/20ml cũng làm thay đổi đáng kể cực đại mật độ quang của dung dịch nano bạc tạo thành (Hình 6).



Hình 6. Ảnh hưởng của tỉ lệ thể tích dịch chiết/thể tích dung dịch AgNO_3 đến cực đại mật độ quang trên phổ UV-Vis của dung dịch nano bạc tạo thành

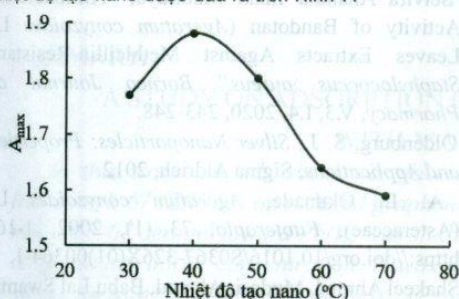
Hình 6 cho thấy, tăng thể tích dịch chiết từ 1ml đến 5ml cực đại mật độ quang của dung dịch nano bạc tạo thành tăng mạnh, đạt giá trị cực đại tại $V = 3\text{ml}$, sau đó giảm dần.

Như vậy, tỉ lệ $V_{\text{dịch chiết}}/V_{\text{dung dịch AgNO}_3}$ phù hợp để tổng hợp nano bạc là 3ml/20ml.

2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tạo nano

Để khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình tạo nano, thay đổi nhiệt độ dung dịch phản ứng trong khoảng từ 30°C đến 70°C.

Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của cực đại mật độ quang trên phổ UV-Vis của dung dịch nano bạc tạo thành vào nhiệt độ tạo nano được đưa ra trên Hình 7.

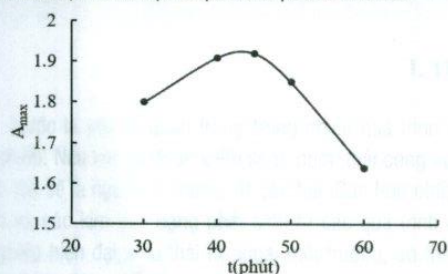


Hình 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ tạo nano đến cực đại mật độ quang của dung dịch nano bạc tạo thành

Tăng nhiệt độ tạo nano từ 30°C-70°C cực đại mật độ quang tăng, sau đó giảm dần. Ở 40°C quá trình tạo nano bạc được xác định là diễn ra thuận lợi nhất.

2.4. Ảnh hưởng của thời gian tạo nano

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến quá trình tạo nano bạc được thể hiện trên Hình 8.



Hình 8. Ảnh hưởng của thời gian tạo nano đến cực đại mật độ quang của dung dịch nano bạc tạo thành

Hình 8 cho thấy, thời gian phản ứng để tạo nano bạc từ dung dịch AgNO₃ và dịch chiết cây cỏ bù xít phù hợp là 45 phút.

Từ kết quả khảo sát rút ra kết luận về điều kiện phù hợp để tạo nano bạc là:

- + pH môi trường tạo nano bạc: 7
- + Tỉ lệ $V_{\text{dịch chiết}} : V_{\text{AgNO}_3}$ là 3 mL : 20ml
- + Nồng độ dung dịch nano bạc: 1mM
- + Nhiệt độ tạo nano bạc: 40°C
- + Thời gian tạo nano bạc: 45 phút

3. Thử khả năng kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc

Kết quả xác định đường kính vô khuẩn của dung dịch keo nano bạc được thể hiện trên Hình 9 và Bảng 2.



Hình 9. Đường kính vô khuẩn của dung dịch keo nano bạc với vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (a) và vi khuẩn *Escherichia coli* (b)

Bảng 2: Kết quả thử kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc tạo thành từ dung dịch AgNO₃ và dịch chiết cây cỏ bù xít

Chủng vi khuẩn	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Đường kính vòng vô khuẩn (D)	25mm	21mm
Đường kính lỗ thạch (d)	5mm	5 mm
ZOI = D - d	20mm	16mm
Kết luận	Chất kháng khuẩn mạnh	Chất kháng khuẩn trung bình

Thực nghiệm cho thấy, dung dịch keo nano bạc tổng hợp từ dung dịch AgNO₃ và dịch chiết nước cây cỏ bù xít có khả năng kháng được cả vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và vi khuẩn *Escherichia coli* nhưng khả năng kháng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* mạnh hơn.

Kết quả thử kháng khuẩn của dung dịch keo nano từ dung dịch AgNO₃ 1mM và dịch chiết cây cỏ bù xít trên vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và vi khuẩn *Escherichia coli* tốt hơn khả năng kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc tổng hợp từ dung dịch AgNO₃ 1mM và dịch chiết một số loại thực vật khác, ví dụ lá diếp cá[2], lá sim[3], lá đào, vỏ đào[4].

IV. KẾT LUẬN

Dựa vào kết quả đo phổ UV - Vis, XRD, EDX, TEM đã chứng minh tổng hợp thành công hạt nano bạc từ dung dịch AgNO₃ và dịch chiết nước cây cỏ bù xít. Các hạt bạc tạo thành có dạng hình cầu với kích thước dao động trong khoảng 17-26nm, được làm bền bởi các chất hữu cơ có trong dịch chiết.

Tìm được điều kiện phù hợp để tổng hợp nano bạc từ dung dịch AgNO₃ và dịch chiết cây cỏ bù xít là: pH môi

trường bằng 7; tỉ lệ $V_{\text{dịch chiết}} : V_{\text{AgNO}_3} = 3\text{ml} : 20\text{ml}$; Nồng độ dung dịch nano bạc: 1mM; Nhiệt độ tạo nano bạc: 40°C; Thời gian tạo nano bạc: 45 phút.

Đã thử khả năng kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc và chỉ ra vật liệu tổng hợp có hoạt tính kháng khuẩn tốt với vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và vi khuẩn *Escherichia coli*. Khả năng kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc tạo thành từ dung dịch AgNO_3 của dịch chiết cây cỏ bùi tốt hơn so với dung dịch keo nano bạc tạo thành từ dung dịch AgNO_3 và dịch chiết của một số loại thực vật khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lương Thị Tú Uyên, “Hiệu quả kháng vi sinh vật trên bề mặt sàn các bệnh viện tỉnh Quảng Nam của dung dịch bạc nano tinh dầu sả”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 19 (2), 2019, 50-57.
- [2] Trần Nguyễn Minh Ân, “Tổng hợp xanh Nano bạc từ AgNO_3 và dịch chiết lá diếp cá», *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 32(3), 2016, 188-192.
- [3] Nguyễn Thị Nga, “Tổng hợp xanh nano bạc từ dịch chiết dược liệu lá sim và thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn”, *Tạp chí khoa học Lạc Hồng*, 7, 2019, 68-71.
- [4] Trịnh Đình Khá, “Tổng hợp nano bạc bằng dịch chiết lá đào *Prunus persica* và hoạt tính kháng khuẩn của nó”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 164(04), 2017, 153-156.
- [5] Nguyễn Thượng Dong, “Hoàn thiện qui trình sản xuất thuốc nhỏ mũi từ cây ngũ sắc”, Báo cáo tổng kết dự án sản xuất thử nghiệm cấp nhà nước, Bộ khoa học và công nghệ viện dược liệu, Hà Nội, 2006.
- [6] Selvira Anandia Intan Maulidya, “Antibacterial Activity of Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Leaves Extracts Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*” *Borneo Journal of Pharmacy*, V.3, I.4, 2020, 243-248.
- [7] Oldenburg, S. J., *Silver Nanoparticles: Properties and Applications*, Sigma Aldrich, 2012.
- [8] A. L. Okunade, *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae), *Fitoterapia*, 73 (1), 2002, 1-16, [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(01\)00364-1](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(01)00364-1).
- [9] Shakeel Ahmed, Mudasir Ahmad, Babu Lal Swami, Saiqa Ikram, A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise, *Journal of Advanced Research*, Volume 7, Issue 1, 2016, 17-28. ❖

Phản biện: ĐÀO NGUYỆT SƯƠNG HUYỀN

HOAN NGHÊNH BẠN ĐỌC PHÊ BÌNH BÁO!