

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH TỔNG HỢP HẠT LẠI NANO Ag/TiO₂ VÀ THỬ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CHÚNG

STUDY ON SOME FACTORS AFFECTING THE SYNTHESIS OF Ag/TiO₂ HYBRID NANOPATICALS
AND INVESTIGATE THEIR ANTIBACTERIAL ACTIVITY

Nguyễn Ngọc Thanh¹, Nguyễn Văn Thắng²,
Vũ Tiến Việt³, Nguyễn Văn Mạnh¹, Nguyễn Thế Hữu^{1*}

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tổng hợp thành công các hạt lai nano Ag trên TiO₂ bằng phương pháp sử dụng tác nhân khử là đường glucose và NaBH₄. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp hạt lai nano Ag/TiO₂ như: nồng độ AgNO₃, nồng độ và lượng tác nhân khử. Kết quả là đã chế tạo được nano bạc với kích thước hạt dao động từ 7 - 15 nanomet phân tán tương đối đồng đều trên bề mặt TiO₂. Khả năng kháng khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* của hạt lai nano Ag/TiO₂ cũng được điều tra nghiên cứu.

Từ khóa: Hạt lai nano Ag/TiO₂, Glucose, NaBH₄.

ABSTRACT

In this study, we have successfully synthesized silver nanoparticles on TiO₂ using reducing agents such as glucose and NaBH₄. The effects of AgNO₃ concentration, concentration and amount of reducing agent were investigated to Ag/TiO₂ hybrid nanoparticles synthesis. As a result, silver nanoparticles with particle sizes ranging from 7 to 15 nanometers were uniformly dispersed on TiO₂ nanoparticles surface. Antibacterial ability of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* of Ag/TiO₂ nanoparticles was also investigated.

Key words: Ag/TiO₂ hybrid nanoparticles, glucose, NaBH₄.

¹Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

²Viện Kiểm nghiệm chất lượng sản phẩm hàng hoá

³Công ty Cổ phần Địa chất Mỏ - TKV

*Email: nguyenthehuu@hau.edu.vn; huudhcnh@gmail.com

Ngày nhận bài: 10/01/2019

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 07/5/2019

Ngày chấp nhận đăng: 20/02/2020

1. MỞ ĐẦU

Từ lâu, người ta đã biết đến tác dụng kháng khuẩn mạnh của bạc. Hầu như tất cả các đồ dùng sinh hoạt hàng ngày như thìa, đũa, chén, bát, nồi... đều được làm từ bạc hoặc tráng bạc. Điều này cho thấy khả năng sát khuẩn của bạc rất tốt. Với tác dụng tuyệt vời trên nhưng nó không được sử dụng rộng rãi vì các đồ dùng sinh hoạt này đều được làm bằng bạc nguyên khối rất tốn kém. Ngày nay với sự ra đời và

phát triển của công nghệ nano, con người đã chế tạo ra bạc ở kích thước nano. Điều này đã làm tăng khả năng ứng dụng của bạc trong đời sống. Ở kích thước nano nhưng bạc vẫn thể hiện tốt tính kháng khuẩn vốn có của nó mà không gây ảnh hưởng tới con người và môi trường [1,2].

Có hai dạng "chứa" các hạt nano bạc là dung dịch chứa nano bạc và vật liệu mang nano bạc. Ở dạng dung dịch nano bạc, các hạt nano bạc được phân tán đều trong dung dịch. Với vai trò là tác nhân khử khuẩn, trong môi trường chứa vi khuẩn, các hạt nano bạc có thể tiếp xúc dễ dàng với vi khuẩn, vì vậy các dung dịch chứa nano bạc thường có khả năng khử khuẩn cao. Tuy nhiên, dung dịch chứa nano bạc có nhược điểm các hạt nano bạc có thể bị "dính" vào nhau do lực Van der Waals hoặc do các lực tương tác khác dẫn đến làm giảm khả năng khử khuẩn.

Để nâng cao khả năng diệt khuẩn cũng như khả năng thu hồi tái sử dụng và cả để ngăn cản sự kết tụ, thì nano bạc được đưa lên các vật liệu mang. Yêu cầu chung đối với các vật liệu mang nano bạc là phải có diện tích bề mặt lớn, có khả năng tạo liên kết đối với các hạt nano bạc, giúp cho các hạt nano bạc được phân tán đều và bám chắc trên vật liệu mang [3, 4].

Một số loại vật liệu mang nano bạc hiện đang được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực xử lý nước có thể kể đến như than hoạt tính, SiO₂ xốp, Fe₃O₄-Ag... Các hạt nano bạc được mang trên các vật liệu mang kể trên có kích thước rất nhỏ và được gắn chặt trên bề mặt và thậm chí trong hệ mao quản, tạo ra vật liệu chứa nano bạc có hoạt tính cao. Đối với các hạt lai Fe₃O₄-Ag nano ở dạng lõi - vỏ, người ta thấy rằng hoạt tính kháng khuẩn của chúng là chống lại các vi khuẩn Gram (-) (kể cả *E-coli*) là tốt hơn so với các hạt nano bạc [6]. Tương tự như vậy, đối với nanocomposite ferrite bạc [5], các tác giả đã chỉ ra rằng hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với các hạt nano Ag riêng.

Việc sử dụng hai loại chất khử glucose và NaBH₄ để tổng hợp hạt lai nano bạc/nano-TiO₂ sẽ tạo ra hệ vật liệu nano, có khả năng kháng khuẩn đồng thời giảm hàm lượng bạc tiêu tốn.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

- Các hóa chất có nguồn gốc Trung Quốc gồm: AgNO₃, 99%, C₆H₁₂O₆ (đường glucose); NaBH₄, hãng Sigma-Aldrich; nano TiO₂ anatase dạng bột < 100nm, hãng Sigma-Aldrich.

- Kích thước hạt được chụp trên máy kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM1010-JEOL) tích hợp CCD camera tại viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

2.2. Phương pháp chế tạo hạt lai nano bạc với nano TiO₂

Hạt lai nano bạc được chế tạo bằng kỹ thuật khử hóa học với chất khử glucose và NaBH₄. Cân 2g nano TiO₂ (kích thước <100nm) cho vào cốc 1 lít chứa 100ml nước, khuấy đều trong vòng 1 giờ. Cân 0,02g AgNO₃ cho vào cốc 250ml chứa 100ml nước, khuấy đều trên máy khuấy từ 1 giờ. Tiến hành cho dung dịch AgNO₃ vào cốc 1 lít có chứa nano TiO₂. Dung dịch được đưa vào máy rung siêu âm trong vòng 2 giờ (dung dịch A).

Phương pháp khử bằng glucose: Lấy 0,5g đường glucose hòa tan hoàn toàn vào 10ml nước cất sau đó cho từ từ vào dung dịch A để thực hiện phản ứng khử (vừa cho vừa khuấy đều trên máy khuấy từ). Sau khi cho xong khuấy tiếp trong 6 giờ. Kết thúc, sản phẩm được đưa vào máy ly tâm, sau đó đưa vào tủ sấy ở 100°C đến khối lượng không đổi.

Phương pháp khử bằng NaBH₄: Lấy 0,02g NaBH₄ hòa tan hoàn toàn vào 100ml nước cất sau đó cho từ từ vào dung dịch A để thực hiện phản ứng khử (vừa cho vừa khuấy đều trên máy khuấy từ). Sau khi cho xong khuấy tiếp trong 4 giờ. Kết thúc, sản phẩm được đưa vào máy ly tâm, sau đó đưa vào tủ sấy ở 100°C đến khối lượng không đổi.

Phương pháp khử kết hợp glucose và NaBH₄: lấy 0,25g đường glucose hòa tan hoàn toàn vào 10ml nước cất sau đó cho từ từ vào dung dịch A (vừa cho vừa khuấy đều trên máy khuấy từ). Cân 0,01g NaBH₄ hòa tan hoàn toàn vào 50ml nước cất sau đó cho từ từ vào dung dịch để thực hiện phản ứng khử. Sau khi cho xong khuấy tiếp trong 5 giờ. Kết thúc, sản phẩm được đưa vào máy ly tâm, sau đó đưa vào tủ sấy ở 100°C đến khối lượng không đổi.

2.3. Phương pháp xác định bề mặt riêng của hạt lai nano Ag/TiO₂

Bề mặt riêng của hạt lai được xác định theo phương pháp BET (Brunauer - Emmett - Teller) trên thiết bị TriStar 3000 V6.07 A tại trường Đại học Sư phạm Hà Nội.

2.4. Phương pháp thử hoạt tính sinh học của hạt lai nano Ag/TiO₂

Thử hoạt tính sinh học theo phương pháp đục lỗ thạch để đánh giá ảnh hưởng của hạt lai lên sự phát triển của các chủng vi sinh vật nuôi cấy *in vitro*. Nguyên tắc của phương pháp này là xác định khả năng khuếch tán của thuốc vào lớp thạch, gây ức chế sự phát triển của vi khuẩn ở xung quanh khoan lỗ thạch. Vùng ức chế càng lớn thì tác dụng của thuốc càng mạnh.

Các chủng vi sinh vật kiểm định bao gồm: vi khuẩn Gr(+): *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), vi khuẩn Gr(-): *Escherichia coli* (ATCC 25922), vi khuẩn Gr(-): *Salmonella*

typhimurium (ATCC 14028). Quá trình được tiến hành tại Viện Kiểm nghiệm chất lượng sản phẩm hàng hoá.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp hạt lai nano bạc

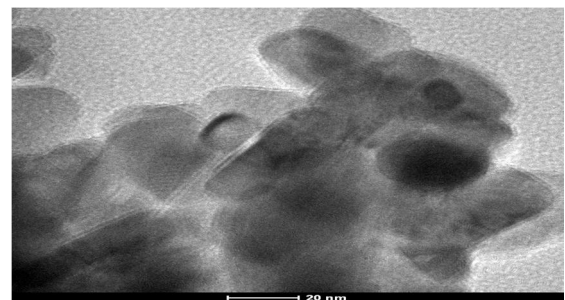
3.1.1. Ảnh hưởng của tác nhân khử đến quá trình tổng hợp hạt lai nano bạc

Khảo sát tác nhân khử lần lượt là đường glucose, NaBH₄ và kết hợp giữa đường glucose với NaBH₄ như trong mục 2.2 kết quả thu được ở bảng 1 phản ánh sự ảnh hưởng của tác nhân khử tới việc tạo thành hạt lai nano bạc.

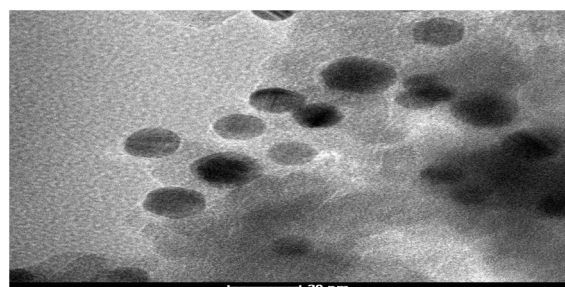
Bảng 1. Ảnh hưởng của tác nhân khử đến sự phân bố Ag trên TiO₂

Chất / Tính chất	Glucose	NaBH ₄	Glucose kết hợp NaBH ₄
Màu sắc	Vàng sáng	Nâu	Nâu vàng
Sự phân bố hạt Ag trên TiO ₂	Nhỏ, tạo thành các hạt riêng	Khá to, co cụm	Nhỏ, phân bố đồng đều

Sử dụng chất khử là đường glucose tạo ra các hạt nano bạc rời, không bám trên bề mặt TiO₂. Trong quá trình tiến hành thấy rằng thời gian khuấy trộn dài khoảng 4 giờ thì màu dung dịch mới thay đổi sang vàng sáng. Khi sử dụng duy nhất một chất khử NaBH₄ có thời gian chuyển sang màu nâu tương đối nhanh (sau khoảng 0,5 giờ), kích thước hạt bám trên bề mặt lớn, co cụm. Do quá trình khử diễn ra rất nhanh nên hạt nano được sinh ra có kích thước không đồng đều và lớn hơn so với sản phẩm dùng chất khử glucose. Khi kết hợp tạo được hiệu quả tốt hơn, thời gian dung dịch chuyển sang màu nâu vàng khoảng 1,5 giờ. Kết quả hạt nano bạc trên bề mặt hạt TiO₂ nhỏ, phân bố đồng đều. Hình ảnh của hạt lai được thể hiện ở hình 1. Từ kết quả khảo sát lựa chọn tác nhân phù hợp: kết hợp đường glucose và NaBH₄ để tạo ra hạt lai nano bạc có kích thước phù hợp trên nano TiO₂.



a)

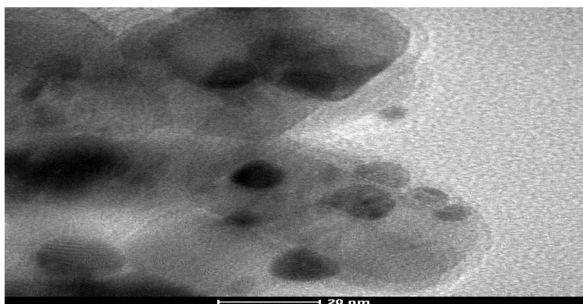


b)



Ag-R-TiO2-008
Print Mag: 208000x @ 51 mm
5:00:59 p 12/19/18
TEM Mode: Imaging
20 nm
HV=80.0kV
Direct Mag: 100000x
EMLab-NIHE

c)



d)

Hình 1. Ảnh TEM cấu trúc hạt lai

a. Ảnh TEM hạt nano TiO₂ ban đầu; b. Ảnh TEM sử dụng tác nhân khử glucose; c. Ảnh TEM sử dụng tác nhân khử NaBH₄; d. Ảnh TEM sử dụng tác nhân khử hỗn hợp

3.1.2. Ảnh hưởng của nồng độ bạc nitrat đến quá trình tổng hợp hạt lai nano bạc

Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ bạc nitrat theo phương pháp dùng tác nhân khử hỗn hợp. Chúng tôi tiến hành thay đổi lượng nước để hòa tan 0,02g AgNO₃; kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ bạc nitrat đến sự phân bố Ag trên TiO₂

Lượng nước hòa tan (ml)	75	100	125	150
Tính chất				
Màu sắc dung dịch tổng hợp	Nâu	Nâu vàng	Nâu vàng	Vàng sáng
Sự phân bố hạt Ag trên TiO ₂	Hạt tạo ra rất ít, các hạt to bám trên bề mặt	Phân tán đồng đều kích thước khoảng 7-15nm	Phân tán đồng đều kích thước khoảng 7-15nm	Hạt tạo ra ít, co cụm, kích thước khoảng 30-40nm

Từ kết quả bảng 2 cho thấy: khi lượng nước pha ít, dẫn tới nồng độ bạc nitrat cao, hạt tạo ra co cụm, các hạt có kích thước lớn, phân bố không đồng đều trên bề mặt TiO₂. Khi lượng nước lớn, nồng độ bạc nitrat thấp dẫn tới các hạt nano bạc tạo thành riêng, ít bám trên bề mặt hạt lai. Nên thực tế lựa chọn lượng nước để pha bạc nitrat là 100ml.

3.1.3. Ảnh hưởng của nồng độ và lượng tác nhân khử đến quá trình tổng hợp hạt lai nano bạc

Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ tác nhân khử theo phương pháp dùng tác nhân khử hỗn hợp. Chúng tôi tiến

hành thay đổi lượng nước để hòa tan 0,01g NaBH₄; kết quả được trình bày bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ tác nhân khử đến sự phân bố Ag trên TiO₂

Lượng nước hòa tan (ml)	40	50	60	70
Tính chất				
Màu sắc dung dịch tổng hợp	Nâu	Nâu vàng	Nâu vàng	Vàng sáng
Sự phân bố hạt Ag trên TiO ₂	Hạt tạo ra ít, các hạt to bám trên bề mặt	Phân tán đồng đều	Phân tán đồng đều	Co cụm, tạo hạt riêng

Từ kết quả bảng 3 cho thấy: khi lượng nước pha ít, dẫn tới nồng độ tác nhân khử NaBH₄ cao, hạt tạo ra co cụm, các hạt có kích thước lớn, phân bố không đồng đều trên bề mặt TiO₂. Khi lượng nước lớn, nồng độ tác nhân khử NaBH₄ thấp dẫn tới các hạt nano bạc tạo thành riêng, ít bám trên bề mặt hạt lai. Nên thực tế lựa chọn lượng nước để tác nhân khử NaBH₄ là 100ml.

Để khảo sát lượng tác nhân khử NaBH₄ chúng tôi tiến hành tăng lượng tác nhân khử. Kết quả được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của lượng tác nhân khử đến sự phân bố Ag trên TiO₂

Lượng tác nhân khử (g)	0,005	0,010	0,015
Tính chất			
Màu sắc dung dịch tổng hợp	Vàng sáng	Nâu vàng	Nâu
Sự phân bố hạt Ag trên TiO ₂	Hạt không phân tán trên hạt lai	Phân tán đồng đều	Hạt co cụm trên bề mặt

Từ kết quả bảng 4 cho thấy: khi lượng tác nhân khử ít, quá trình khử diễn ra chậm dẫn tới nano bạc hình thành không bám trên bề mặt hạt lai. Khi lượng tác nhân khử lớn, hạt tạo ra co cụm, các hạt có kích thước lớn, phân bố không đồng đều trên bề mặt TiO₂. Nên thực tế lựa chọn lượng tác nhân khử NaBH₄ là 0,010g.

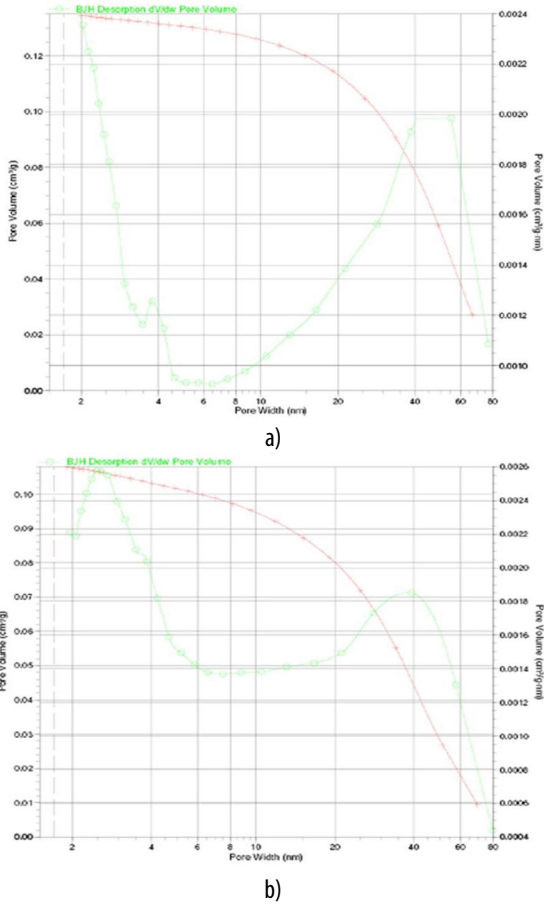
3.2. Kết quả BET hạt lai nano bạc

Mẫu TiO₂ ban đầu và sau khi lai hóa theo phương pháp sử dụng tác nhân khử hỗn hợp được mang đi chụp BET với kết quả diện tích bề mặt riêng ở bảng 5 và sự phân bố mao quản ở hình 2.

Bảng 5. Diện tích bề mặt riêng theo phương pháp BET

TT	Tên mẫu	Diện tích bề mặt riêng (m ² /g)
1	TiO ₂ ban đầu	24,9
2	TiO ₂ sau khi lai hóa	26,4

Từ kết quả bảng 5 cho thấy: sau lai hóa diện tích bề mặt riêng có tăng lên, nhưng mức độ tăng không nhiều. Nguyên nhân tăng do tạo thành các hạt bạc nhỏ bám trên bề mặt hạt TiO₂ nên làm tăng diện tích bề mặt riêng, nhưng do hạt nhỏ, bám trên bề mặt nên diện tích không tăng nhiều.



Hình 2. Sự phân bố mao quản của các mẫu TiO₂

a. Hạt nano TiO₂ ban đầu; b. Hạt nano TiO₂ lai hóa với bạc

Từ kết quả của hình 2 cho thấy: sau khi lai hóa với bạc mẫu TiO₂ xuất hiện nhiều hơn các pic mao quản nhỏ ở vùng từ 2 đến 4nm. Đây là các mao quản ngoài, bản thân các hạt TiO₂ cũng tạo ra mao quản này, nhưng do hạt lớn, các hạt có kích thước nhỏ ít nên lượng mao quản này không nhiều. Sau khi lai hóa, các hạt nano bạc bám trên bề mặt hạt TiO₂ với kích thước nhỏ nên lượng mao quản ngoài này tăng lên.

3.3. Khảo sát khả năng diệt khuẩn

Từ hạt lai nano bạc với TiO₂ tổng hợp được, chúng tôi đã tiến hành thử hoạt tính sinh học của các hợp chất này trên các chủng khuẩn vi sinh vật kiểm định bao gồm: vi khuẩn Gr(+): *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), vi khuẩn Gr(-): *Escherichia coli* (ATCC 25922), vi khuẩn Gr(-): *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028).

Tiến hành như sau: dùng pipet, hút 100µl dung dịch vi sinh vật đã được hoạt hóa và tráng đều trên bề mặt thạch. Đục lỗ trên bề mặt thạch, đường kính lỗ thạch d₁ = 8mm. Hút lần lượt 50µl dịch mẫu ở nồng độ 0mg/mL, 8mg/mL, 16mg/mL, 40mg/mL nhỏ vào giếng thạch. Đặt nắp đĩa petri lại, cho vào tủ ấm 37°C để vi khuẩn phát triển trong 18 - 24h. Lấy các đĩa thạch ra khỏi tủ ấm. Đo và ghi lại D₁: đường kính vòng vô khuẩn

Kết quả thu được thể hiện trên bảng 6 và hình 3.

Bảng 6. Hoạt tính sinh học của mẫu hạt lai nano Ag/TiO₂

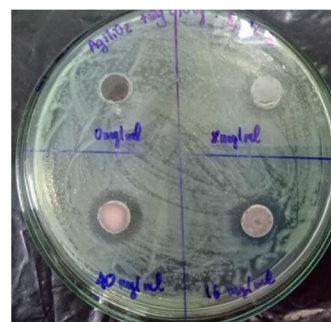
Nồng độ hạt lai nano bạc (mg/mL)	Hiệu số D ₁ - d ₁ , (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
0	0	0	0
8	2	6	6
16	4	8	8
40	7	8	8



a)



b)



c)

Hình 3. Ảnh thử hoạt tính của hạt lai nano Ag/TiO₂ trên đĩa thạch

a. *Staphylococcus aureus*; b. *Escherichia coli*; c. *Salmonella typhimurium*

Từ bảng 6 và hình 3 cho thấy, mẫu hạt lai có khả năng kháng khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*.

4. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu tổng hợp nano bạc trên TiO₂ sử dụng tác nhân khử là đường glucose và NaBH₄. Quá trình khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp nano bạc cho thấy ở nồng độ 0,02g AgNO₃/100ml

H₂O, nồng độ và lượng tác nhân khử là 0,01g NaBH₄/100ml H₂O là phù hợp. Kết quả thu được kích thước hạt nano bạc khoảng 7 - 15nm phân bố đồng đều trên bề mặt hạt nano TiO₂. Kết quả nghiên cứu đo diện tích bề mặt riêng của hạt lai cho thấy diện tích bề mặt riêng của hạt tăng lên so với TiO₂ ban đầu. Kết quả thử khả năng kháng khuẩn của hạt lai nano Ag/TiO₂ cho thấy hạt lai có khả năng kháng khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Y. Badr and M. A., 2006. *Mahmoud, Enhancement of the optical properties of poly vinyl alcohol by doping with silver nanopartic.* J. Appl. Polym. Sci., 99, 3608-3614.
- [2]. K. A. Bogle, S. D. Dhole, and V. N. Bhoraskar, 2006. *Silver nanoparticles: synthesis and size control by electron irradiation.* Nanotechnology, 17, 3204-3208.
- [3]. Lê Thị Hoài Nam, Phạm Minh Đức, Nguyễn Thị Bích Hồng, Nguyễn Văn Quyển, Bùi Quang Hiếu, Nguyễn Thị Nhiệm, Trần Quang Vinh, 2015. *Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá hoạt tính của vật liệu Ag-ZSM-5/SBA-15. Phần II: Đánh giá hoạt tính.* Tạp chí Xúc tác hấp phụ, tập 4, số 4B-2015, trang 59-65.
- [4]. Trần Quang Vinh, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Thị Thanh Loan, Lê Thị Hoài Nam, 2012. *Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng khử khuẩn của vật liệu đa mao quản chứa nano bạc Ag/MC-Z5,* Tạp chí Hóa học, T.50 (5B)-2012, p.171-175.
- [5]. Kondala T. R., Jagadeeswara Rao Ch., Kasi Viswanath I.V., Murthy Y. L. N., 2015. *Anti Microbial Activity of Nanosilverferrite Composite,* International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 4 (9), 8590-8595
- [6]. Bhupendra C., Anjana K. V., Nidhi A., Upadhyay R. V., Mehta R. V., 2009. *Enhanced Antibacterial Activity of Bifunctional Fe₃O₄-Ag Core-Shell Nanostructures.* Nano Research 2, 955-965.

AUTHORS INFORMATION

**Nguyen Ngoc Thanh¹, Nguyen Van Thang², Vu Tien Viet³,
Nguyen Van Manh¹, Nguyen The Huu¹**

¹Khoa Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry

²Institute for Product Quality Inspection

³Vinacomin-Mining Geology Joint Stock Company (VMG)