

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Ngô Quang Trọng

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH
KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG**

**NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG
DIỆT KHUẨN CỦA CHẾ PHẨM NANO BẠC ỔN ĐỊNH BẰNG
BENZALKONIUM CHLORIDE**

Hà Nội 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ
CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Ngô Quang Trọng

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH
KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG**

**NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG
DIỆT KHUẨN CỦA CHẾ PHẨM NANO BẠC ỔN ĐỊNH BẰNG
BENZALKONIUM CHLORIDE**

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8520320

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Nguyễn Đình Chiến *Chuẩn*

2. GS.TS. Nguyễn Hoài Châu *Ukhav*

Hà Nội 2023

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 với sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Đình Chiến và GS.TS. Nguyễn Hoài Châu. 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.

Hà Nội, ngày 07 tháng 12 năm 2023

Tác giả



Ngô Quang Trọng

LỜI CẢM ƠN

Trước tiên tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Lãnh đạo và bộ phận Đào tạo, các thầy giáo, cô giáo trong Khoa Công nghệ Môi trường, Học Viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo mọi điều kiện thuận lợi, truyền đạt kiến thức, giúp tôi hoàn thành chương trình học tập cũng như thực hiện luận văn này.

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc đến **TS. Nguyễn Đình Chiến** và **GS.TS. Nguyễn Hoài Châu** đã giao đề tài, trực tiếp hướng dẫn, đóng góp ý kiến và tạo mọi điều kiện tốt nhất về cơ sở vật chất trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Xin chân thành cảm ơn Lãnh đạo Viện Công nghệ môi trường và Phòng Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ thân môi trường (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) đã tạo điều kiện giúp tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành tới gia đình, bạn bè và những người luôn động viên, khích lệ tôi trong quá trình hoàn thiện luận văn.

Hà Nội, ngày 07 tháng 12 năm 2023

Học viên



Ngô Quang Trọng

MỤC LỤC

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT	i
DANH MỤC HÌNH	ii
DANH MỤC BẢNG	iv
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	4
1.1. Tổng quan về nano bạc	4
1.1.1. Giới thiệu chung	4
1.1.2. Các phương pháp tổng hợp nano bạc	5
1.1.3. Cơ chế diệt khuẩn của nano bạc	8
1.1.4. Tác dụng của nano bạc lên cơ thể động vật bậc cao	11
1.1.5. Các ứng dụng của nano bạc	12
1.1.6. Các phương pháp khảo sát các tính chất đặc trưng của nano bạc	14
1.1.7. Tình hình nghiên cứu về nano bạc trên thế giới và ở Việt Nam	15
1.2. Tổng quan về benzalkonium chloride (BKC).....	20
1.2.1. Giới thiệu chung	20
1.2.2. Các ứng dụng BKC.....	21
1.2.3. Vấn đề độc tính của BKC.....	24
1.3. Tổng quan về hai loại vi khuẩn gây bệnh: <i>E.coli</i> và <i>Staphylococcus aureus</i>	26
1.3.1. Khuẩn <i>E.coli</i>	26
1.3.2. Khuẩn <i>Staphylococcus aureus</i>	27
CHƯƠNG 2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	30
2.1. Nguyên vật liệu	30
2.1.1. Hóa chất.....	30
2.1.2. Dụng cụ, thiết bị:.....	30
2.2. Phương pháp nghiên cứu	31
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride (BKC)	31

2.2.1.1. Tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC	31
2.2.1.2. Phương pháp đánh giá một số đặc trưng hóa lý của chế phẩm nano bạc tổng hợp được.....	32
2.2.2. Phương pháp đánh giá khả năng diệt vi khuẩn của dung dịch chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride (BKC)	36
2.2.3. Phương pháp phân tích, xử lý số liệu.....	40
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	41
3.1. Kết quả nghiên cứu tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride	41
3.1.1. Kết quả tổng hợp nano bạc	41
3.1.2. Kết quả đánh giá một số đặc trưng hóa lý của chế phẩm nano bạc đã tổng hợp được	44
3.1.2.1. Phổ plasmon của các mẫu thu được	44
3.1.2.2. Kích thước hạt trung bình của các mẫu tổng hợp được.....	45
3.1.2.3. Thế zeta của các mẫu tổng hợp được	48
3.1.2.4. Kết quả đặc trưng bằng phương pháp TEM.....	50
3.1.3. Nghiên cứu đánh giá độ ổn định của chế phẩm nano bạc tổng hợp được	52
3.1.3.1. Độ ổn định của phổ plasmon	53
3.1.3.2. Độ ổn định của kích thước hạt trung bình.....	54
3.1.3.3. Độ ổn định của thế zeta	59
3.2. Kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng diệt vi khuẩn <i>E.coli</i> của dung dịch chế phẩm.....	60
3.3. Kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng diệt vi khuẩn <i>S.aureus</i> của dung dịch chế phẩm	62
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	66
TÀI LIỆU THAM KHẢO	67

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AFM	Atomic Force Microscope	Kính hiển vi lực nguyên tử
ASFV	African swine fever virus	Virus dịch tả lợn châu Phi
BKC	Benzalkonium chloride	
DLS	Dynamic light scattering	Phương pháp tán xạ Laser động
EDS	Energy Dispersive X-ray spectroscopy	Phổ tán sắc năng lượng tia X
PCA	Plate Count Agar	Môi trường đếm vi khuẩn
SEM	Scanning Electron Microscope	Phương pháp hiển vi điện tử quét
TEM	Transmission Electron Microscope	Phương pháp hiển vi điện tử truyền qua
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy	Phổ quang điện tử tia X
XRD	X-ray diffractometry	Phổ nhiễu xạ tia X
UV-VIS	Ultra Violet-Visible Spectroscopy	Quang phổ cực tím - khả kiến

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. Quá trình hình thành các hạt nano bạc [4].....	5
Hình 2. Quá trình tổng hợp nano bạc bằng phương pháp ăn mòn laser [5].....	7
Hình 3. Mô phỏng cơ chế tác động lên tế bào vi khuẩn của nano bạc (AgNP) [14]	10
Hình 4. Công thức cấu tạo của Benzalkonium chloride	21
Hình 5. Chế phẩm BKC 80 xử lý nước ao hồ nuôi tôm	23
Hình 6. Một loại thuốc nhỏ mắt chứa thành phần BKC	23
Hình 7. Mô phỏng chủng vi khuẩn <i>E.coli</i>	27
Hình 8. Mô phỏng vi khuẩn <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Hình 9. Sơ đồ quy trình tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride	32
Hình 10. Sơ đồ mặt cắt kính hiển vi điện tử truyền qua [64].....	36
Hình 11. Vi khuẩn được lưu và tăng sinh trong phòng thí nghiệm.....	38
Hình 12. Quy trình thí nghiệm đánh giá khả năng kháng khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride	39
Hình 13. Phương pháp pha loãng mẫu.....	39
Hình 14. Các ion BH_4^- được hấp phụ trên bề mặt các hạt nano bạc [61]	43
Hình 15. Một mẫu dung dịch chứa nano bạc tổng hợp được.....	43
Hình 16. Phổ plasmon của mẫu M19 và các dung dịch pha loãng từ nó	45
Hình 17. Cuvet nhựa để đo DLS.....	45
Hình 18. Kết quả đo kích thước hạt và phân bố kích thước hạt của mẫu M19	47
Hình 19. Cuvet nhựa có điện cực than chì để đo thế zeta.....	48
Hình 20. Kết quả đo thế zeta của mẫu M19	50
Hình 21. Ảnh TEM mẫu nano bạc tổng hợp bằng phương pháp hóa học ổn định bằng BKC. Độ phóng đại 50.000 lần.....	51
Hình 22. Ảnh TEM mẫu nano bạc tổng hợp bằng phương pháp hóa học ổn định bằng BKC. Độ phóng đại 100.000 lần	51
Hình 23. Ảnh TEM mẫu nano bạc tổng hợp bằng phương pháp hóa học ổn định bằng BKC. Độ phóng đại 200.000 lần	52

Hình 24. Biến thiên kích thước hạt trung bình tại các thời điểm sau tổng hợp	56
Hình 25. Đồ thị biến thiên thế zeta của các mẫu theo dõi	60
Hình 26. Kết quả diệt khuẩn <i>E.coli</i> trực quan của các mẫu chế phẩm với hàm lượng bạc khác nhau sau 10 phút tiếp xúc	61
Hình 27. Kết quả diệt khuẩn <i>S.aureus</i> trực quan của các mẫu chế phẩm với hàm lượng bạc khác nhau sau 10 phút tiếp xúc	63

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1. Một số phương pháp dùng cho khảo sát tính chất của nano bạc.....	14
Bảng 2. Một số lĩnh vực ứng dụng nano bạc với vai trò một chất diệt khuẩn	15
Bảng 3. Nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn (MIC) và nồng độ tối thiểu diệt khuẩn (MBC) của BKC đối với một số chủng vi khuẩn [47]	22
Bảng 4. Liều lượng gây độc (LD50) của BKC với chuột thí nghiệm qua các đường tiếp xúc khác nhau [57]	25
Bảng 5. Quy định về nồng độ Benzalkonium chloride (BKC) cho phép trong sản phẩm thương mại ở một số quốc gia/khu vực [47]	26
Bảng 6. Các mẫu dung dịch nano bạc được tổng hợp	41
Bảng 7. Phổ hấp phụ plasmon của các dung dịch nano bạc điều chế được (WL = Wave Length = bước sóng)	44
Bảng 8. Kích thước hạt trung bình của các mẫu nano bạc tổng hợp được	46
Bảng 9. Giá trị thế zeta và độ bền của hệ phân tán [64]	48
Bảng 10. Thế zeta của các mẫu tổng hợp được	49
Bảng 11. Các mẫu được theo dõi độ ổn định	53
Bảng 12. Độ biến thiên của cực đại hấp phụ trên phổ UV-VIS của các mẫu nghiên cứu.....	53
Bảng 13. Biến thiên kích thước hạt trung bình của các mẫu theo dõi.....	54
Bảng 14. Tốc độ sa lắng của các hạt nano bạc trong môi trường mới tổng hợp	57
Bảng 15. Tốc độ sa lắng của các hạt nano trong môi trường đã thêm BKC tới 60g/L.....	58
Bảng 16. Thế zeta của các mẫu theo dõi.....	59
Bảng 17. Kết quả diệt khuẩn <i>E.coli</i> của chế phẩm nano bạc tổng hợp được với các nồng độ bạc khác nhau	61
Bảng 18. Kết quả so sánh hiệu quả khử trùng của chế phẩm với các thành phần riêng rẽ đối với vi khuẩn <i>E.coli</i>	62
Bảng 19. Kết quả diệt khuẩn <i>S.aureus</i> của chế phẩm nano bạc tổng hợp được với các nồng độ bạc khác nhau	63
Bảng 20. Kết quả so sánh hiệu quả khử trùng của chế phẩm với các thành phần riêng rẽ đối với vi khuẩn <i>S.aureus</i>	64

MỞ ĐẦU

Ngành chăn nuôi ở Việt Nam là một bộ phận quan trọng cấu thành của nông nghiệp Việt Nam, đồng thời cũng là một nhân tố quan trọng trong nền kinh tế Việt Nam. Chăn nuôi ở nước ta có lịch sử từ lâu đời, đóng góp lớn vào cơ cấu kinh tế, xóa đói giảm nghèo... Tuy nhiên, ngành chăn nuôi ở nước ta nói chung và chăn nuôi lợn nói riêng nằm ở trình độ phát triển chưa cao, quy mô còn nhỏ lẻ. Các hộ chăn nuôi nhỏ lẻ thường là mắt xích yếu nhất, dễ bị tổn thương nhất trước những mối đe dọa về dịch bệnh. Nguyên nhân chính của vấn đề này, đó là người chăn nuôi nhỏ lẻ không sở hữu những công cụ phòng bệnh hiệu quả. Những hóa chất có khả năng sát trùng, khử khuẩn mạnh thường rất độc đối với vật nuôi, không được phép sử dụng khi có mặt vật nuôi trong chuồng, khiến cho việc khử trùng thường quy chuồng trại rất khó thực hiện. Những chất sát trùng được phép sử dụng trực tiếp khi có mặt gia súc trong chuồng trại lại không có khả năng diệt trừ hoàn toàn vi khuẩn, virus gây bệnh.

Sự phát triển của công nghệ nano và sự ra đời của các vật liệu nano cho phép chúng ta có hy vọng tạo ra được những chất diệt khuẩn tối ưu. Khi nói về các vật liệu nano có tính khử trùng, người ta nghĩ ngay tới nano bạc. Bạc là nguyên tố có hoạt tính kháng khuẩn tự nhiên mạnh nhất được tìm thấy trên trái đất, các ion bạc và các hợp chất gốc bạc đã được sử dụng hiệu quả trong y học Trung Quốc và Ấn Độ cổ đại [1]. Ngày nay khi sử dụng bạc cho mục đích diệt khuẩn người ta thường sử dụng dưới dạng các hạt nano do hiệu quả cao hơn gấp nhiều lần. Tất nhiên cần chú ý tới các thuộc tính đặc biệt như kích thước, hình dạng... của các hạt nano, các thông số này đóng vai trò quan trọng trong việc bất hoạt hoặc tiêu diệt vi khuẩn.

Khả năng diệt nhiều loại vi khuẩn, trong đó có cả những vi khuẩn đa kháng thuốc khiến nano bạc có thể được ứng dụng trong thú y và trong chăn nuôi. Các nhà nghiên cứu tại Đại học Tổng hợp Lomonosov của Nga đã phát triển chế phẩm Argumistin trên cơ sở nano bạc và benzyl-dimethyl-[3-miristoilamino)-propyl]-ammonium chloride (tên thương mại là Miramistin) [2]. Chế phẩm Argumistin đã được cấp phép sử dụng trong chăn nuôi gia súc, gia cầm với vai trò là một thuốc kháng sinh phổ rộng, thường được sử dụng để chữa các bệnh về đường ruột, đường hô hấp, sát trùng vết thương... cho vật nuôi mà không có bất kỳ tác dụng phụ nào. Các thí nghiệm trên tụ cầu vàng cho thấy, việc sử dụng kết hợp nano bạc với Miramistin cho hiệu quả tác dụng từ 10-20 lần tốt hơn so với các thành phần riêng lẻ. Hiệu ứng cộng năng của Miramistin và nano bạc được giải thích như sau: do Miramistin là một hợp

chất ammoni bậc 4, vốn là một chất hoạt động bề mặt cation, khi tương tác với bề mặt vi khuẩn sẽ làm giảm tính bền vững của lớp vỏ, từ đó giúp phần tử nano bạc xâm nhập dễ dàng hơn vào nội bào vi khuẩn. Một trở ngại khiến cho Miramistin chưa được sử dụng phổ biến đó là giá thành của nó còn quá đắt đỏ, chỉ phù hợp khi sử dụng làm thuốc cho người và động vật cảnh. Chưa phù hợp để sử dụng cho sát trùng chuồng trại chăn nuôi ở số lượng lớn. Hơn nữa Miramistin và các chế phẩm chứa chất này chưa được cấp phép sử dụng trong chăn nuôi ở Việt Nam.

Trong số những chất diệt khuẩn được cấp phép sử dụng ở Việt Nam (trong sinh hoạt, trong thú y và thủy sản) cũng có những hợp chất ammoni bậc 4 như: benzalkonium chloride (BKC), didecyldimethylammonium chloride (DDAC), dimethylcocobenzyl amonium chloride... (ví dụ như các chế phẩm Sagluxide, Belucid, VT-BKC 80, Gludekol, BTV Glutar, Rebencid, Nova-MC.A30, EMI protect, G-Omnicide, Amonicid, Anicide, ...) [3]. Những hợp chất này hoàn toàn có thể đóng vai trò tương tự như Miramistin, có tác dụng bảo vệ, ổn định và tăng cường hoạt tính của các hạt nano bạc trong hỗn hợp với chúng. Hai ưu thế tuyệt đối của các hợp chất này khi so sánh với Miramistin: 1 – giá thành rẻ; 2 – đã được cấp phép sử dụng tại Việt Nam để khử trùng bề mặt và sử dụng trong thú y. Việc chế tạo những chất khử trùng phổ rộng, giá thành rẻ để có thể sử dụng ở quy mô lớn trong chăn nuôi là rất triển vọng.

Đặc tính kháng khuẩn của nano bạc đã được khẳng định trong nhiều công trình khoa học. Tuy nhiên ứng dụng của sản phẩm này trong thực tế có nhiều hạn chế do giá thành còn cao. Benzalkonium chloride (BKC) là một hợp chất amoni bậc bốn đã được ứng dụng rộng rãi trong xử lý vải sợi, giấy, xử lý nước, khử trùng vệ sinh dụng cụ y tế, khử trùng chuồng trại chăn nuôi, ao nuôi trồng thủy sản... được đánh giá là hiệu quả và an toàn. Việc sử dụng benzalkonium chloride – một chất hoạt động bề mặt cation có hoạt tính diệt khuẩn – làm chất ổn định cho nano bạc hứa hẹn giúp giảm nồng độ nano bạc cần thiết để đạt hiệu quả diệt khuẩn, từ đó đem lại triển vọng ứng dụng trong thực tế. Do đó, đề tài: **“Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá khả năng diệt khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride”** được tiến hành nghiên cứu. Mục đích của đề tài là tổng hợp chế phẩm nano bạc bằng phương pháp hóa học, sử dụng benzalkonium chloride (BKC) làm chất ổn định và đánh giá khả năng diệt một số loại vi khuẩn của chế phẩm thu được, định hướng ứng dụng chế phẩm để khử trùng chuồng trại trong chăn nuôi và nhiều lĩnh vực khác phục vụ cho đời sống.

Mục tiêu nghiên cứu

- Tổng hợp chế phẩm nano bạc bằng phương pháp hóa học, sử dụng benzalkonium chloride (BKC) làm chất ổn định.
- Đánh giá khả năng diệt một số loại vi khuẩn gây bệnh (*E.coli* và *Staphylococcus aureus*) trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Đối tượng nghiên cứu

- Chế phẩm nano bạc tổng hợp bằng phương pháp hóa học, sử dụng benzalkonium chloride làm chất ổn định;
- Hai loại vi khuẩn gây bệnh: *E.coli* và *Staphylococcus aureus*

Phạm vi nghiên cứu

- Nghiên cứu tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride (BKC), đánh giá một số đặc trưng hóa lý của chế phẩm tổng hợp được (thế zeta, kích thước hạt, phân bố kích thước hạt), đánh giá độ ổn định của chế phẩm;
- Nghiên cứu đánh giá khả năng diệt vi khuẩn gây bệnh: *E.coli* và *S.aureus* của chế phẩm trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của đề tài

Các kết quả đạt được của nghiên cứu này sẽ góp phần hoàn thiện công nghệ tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC để ứng dụng trong ngành chăn nuôi và công nghệ môi trường với vai trò là các tác nhân kháng khuẩn hiệu quả.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về nano bạc

1.1.1. Giới thiệu chung

Theo định nghĩa của Tổ chức quốc tế về Tiêu chuẩn thì vật liệu nano là vật liệu có bất kỳ kích thước bên ngoài nào nằm trong khoảng từ 1 đến 100 nm; hiệu ứng của kích thước cỡ nanomet lên các tính chất của vật liệu là rất đáng kể. Vật liệu nano có diện tích bề mặt cực lớn so với tỷ lệ thể tích, vì vậy, một số chúng có phản ứng hoặc hoạt tính xúc tác mạnh. Một điều quan trọng nữa đó là các thông số của vật liệu nano có thể điều khiển được trong quá trình tổng hợp, vì vậy các vật liệu nano có thể được sử dụng trong rất nhiều lĩnh vực khác nhau, trong đó có lĩnh vực khử trùng. Một số vật liệu nano đã được ứng dụng như chất khử trùng nước, chất khử trùng trong bệnh viện, chất bảo quản thực phẩm và thiết bị y tế...

Bạc là một nguyên tố hóa học có số hiệu nguyên tử bằng 47 trong bảng tuần hoàn nguyên tố, ký hiệu Ag (từ tiếng Latin: Argentum). Là một kim loại chuyển tiếp màu trắng, mềm, có độ dẫn nhiệt cao nhất trong tất cả kim loại. Kim loại bạc xuất hiện trong tự nhiên có thể ở dạng nguyên chất, như bạc tự sinh, và ở dạng hợp kim với vàng và các kim loại khác, và ở trong các khoáng vật như argentit và chlorargyrit.

Hạt nano bạc là những hạt bạc có kích thước cỡ nano khoảng từ 1-100 nm. Các hạt nano bạc có hiệu ứng bề mặt vô cùng lớn giúp gia tăng tiếp xúc của chúng với vi khuẩn hoặc nấm vì thế cho hiệu quả diệt khuẩn ngay khi tiếp xúc. Các hạt nano bạc có hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt. Hiện tượng này tạo nên màu sắc từ vàng nhạt đến đen cho các dung dịch có chứa nano bạc, với các màu sắc phụ thuộc vào nồng độ và kích thước hạt nano.

Nano bạc có nhiều ưu điểm vượt trội như diện tích bề mặt riêng lớn, tính dẫn điện, dẫn nhiệt, khử trùng, chống nấm mốc, khử mùi, phát xạ tia hồng ngoại xa, có khả năng phân tán ổn định trong nhiều loại dung môi, có tính ổn định hóa học cao và không bị biến đổi dưới tác dụng của ánh sáng và các tác nhân oxy hóa khử thông thường.

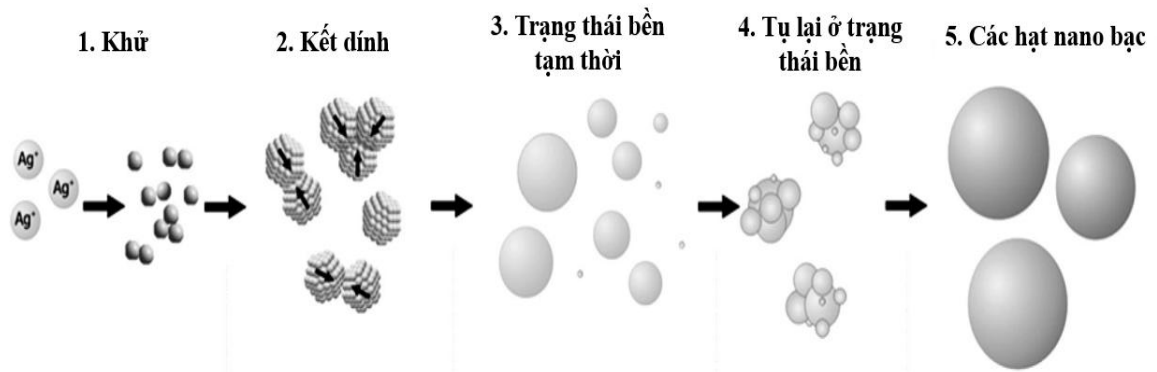
Nhờ những thành tựu to lớn của công nghệ nano, ngày nay nguyên tố bạc ở dạng hạt nano đã trở thành vật liệu được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực của đời sống như y học, nông nghiệp, công nghiệp, môi trường...

1.1.2. Các phương pháp tổng hợp nano bạc

Có nhiều phương pháp khác nhau đã được nghiên cứu và phát triển để tổng hợp nano bạc, gồm hai hướng chính: (1) từ các nguyên tử kết hợp lại thành hạt nhỏ, rồi từ hạt nhỏ kết dính lại với nhau tạo ra hạt lớn hơn (gọi là bottom-up) và (2) đi từ vật liệu khối lớn, phân chia nhỏ ra thành các hạt có kích thước nano (gọi là top-down). Tùy theo nguyên lý của phương pháp có thể chia ra thành phương pháp hóa học, phương pháp vật lý và phương pháp sinh học. Với mỗi phương pháp chế tạo hạt nano bạc, vấn đề chính là cần phải kiểm soát được các thông số phân bố kích thước hạt đồng đều, hình thái học, độ ổn định của hạt nano cũng như cấu trúc tinh thể.

* Phương pháp hóa học

Nguyên lý của phương pháp này là sử dụng tác nhân hóa học để khử ion Ag^+ thành nguyên tử Ag^0 . Sau đó, các nguyên tử Ag^0 này kết dính lại với nhau tạo thành các hạt Ag có kích thước lớn hơn. Trong phương pháp này, các hóa chất thường được sử dụng bao gồm nguyên liệu đầu vào chứa ion Ag^+ như các muối Ag_2SO_4 , AgNO_3 , AgClO_4 ... và các chất khử như citrate, borohydride, axit ascorbic, glucose, formaldehyde, ethylene glycol hay dịch chiết từ thực vật [4].

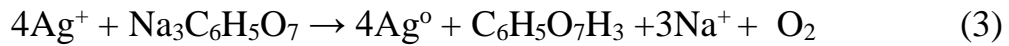
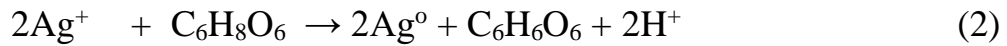
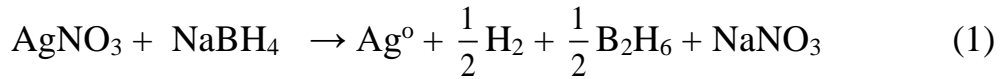


Hình 1. Quá trình hình thành các hạt nano bạc [4]

Quá trình các hạt nano bạc được hình thành khi tổng hợp bằng phương pháp khử hóa học diễn ra theo trình tự sau: các ion Ag^+ nhận electron tạo thành nguyên tử Ag^0 , sau đó các nguyên tử này lại kết dính lại với nhau tạo thành các hạt bạc có kích thước vài nm. Nếu trong dung dịch không có chất ổn định thì các hạt nhỏ này sẽ tiếp tục liên kết với nhau thành các hạt lớn hơn và có thể tạo thành kết tủa tách ra khỏi dung dịch. Để duy trì dung dịch nano bạc, trong quá trình tổng hợp ta phải bổ sung chất ổn định, thường là chất hoạt động bề mặt. Các nhóm chất này có tác dụng ngăn chặn sự liên kết của các hạt bạc với nhau, duy trì kích thước nhỏ của các hạt bạc và nhờ đó giúp dung

dịch nano bạc ổn định lâu hơn [5].

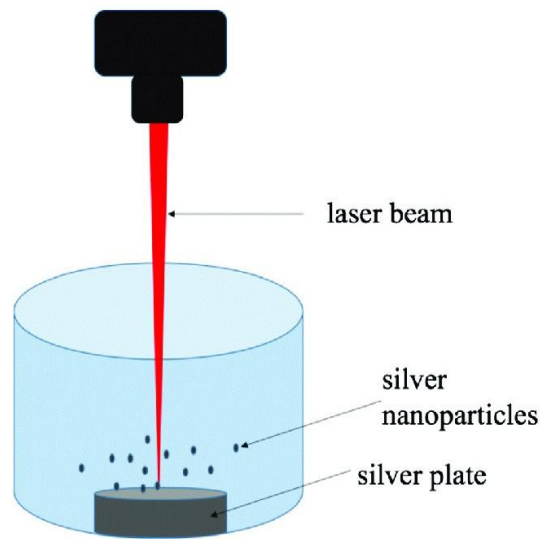
Quá trình khử ion Ag^+ bằng các chất khử NaBH_4 , ascorbic acid và citrate được có thể biểu diễn bằng các phương trình hóa học sau:



Tổng hợp nano bạc bằng phương pháp khử hóa học có nhiều ưu điểm như dễ dàng thực hiện với chi phí thấp và cho hiệu quả tổng hợp cao. Tuy nhiên, các hóa chất thường được sử dụng trong phương pháp này có thể gây ô nhiễm môi trường và độc hại như NaBH_4 , hydrazine,... Những năm gần đây, các nghiên cứu hướng tới thay thế những chất khử này bằng các hóa chất thân thiện với môi trường và ít độc hại hơn như axit ascorbic, glucose, axit amin, chiết xuất thực vật, tinh bột, enzyme, tảo hoặc dung dịch chiết xuất từ côn trùng. Tuy nhiên, khả năng áp dụng các phương pháp này ở quy mô công nghiệp còn gặp nhiều khó khăn do các chất này có tính khử yếu hơn và do đó cho hiệu quả tổng hợp kém hơn, hơn nữa việc còn chứa nhiều tạp chất không có tính khử làm dung dịch hạt nano bạc thu được có độ tinh khiết không cao.

* Phương pháp vật lý

Các hạt nano bạc cũng có thể được tổng hợp bằng các phương pháp vật lý cho thành phẩm có độ tinh khiết cao. Một số phương pháp vật lý đã được nghiên cứu ứng dụng như: phương pháp bay hơi - ngưng tụ (evaporation - condensation), phương pháp ăn mòn laser (laser ablation), phương pháp dùng siêu âm (sono-decomposition), nhiệt phân, in thạch bản (lithography), khử quang hóa (photochemical reduction), hay chiếu xạ tia gamma. Với phương pháp bay hơi - ngưng tụ, kim loại bạc được nung nóng ở nhiệt độ cao đến hơn 2000°C và bị bay hơi. Hơi này sẽ ngưng tụ tạo thành hạt nano bạc khi tiếp xúc với môi trường lạnh (dòng khí lạnh trơ hoặc dung môi). Các hạt nano bạc thu được bằng phương pháp này có kích thước khoảng 10 - 20 nm. Phương pháp ăn mòn laser có thể tạo ra các hạt bạc có kích thước rất nhỏ, cỡ 2 - 5 nm. Điều đặc biệt là dung dịch nano bạc tạo ra bằng phương pháp này có độ bền cao trong nhiều tháng mà không cần sử dụng chất ổn định. Để đạt được kết quả như vậy, Pyatenko và cộng sự đã sử dụng tia laser có năng lượng cao (340 mJ/pulse) và kích thước chùm tia nhỏ 0,5 mm [4].



Hình 2. Quá trình tổng hợp nano bạc bằng phương pháp ăn mòn laser [5]

Ưu điểm của các phương pháp vật lý là có thể tạo ra hạt nano có kích thước nhỏ, phân bố kích thước hẹp, và có độ tinh khiết cao. Đồng thời, đây là phương pháp rất thân thiện với môi trường vì không sử dụng hóa chất trong quá trình chế tạo nên đảm bảo an toàn về dư lượng hóa chất độc hại trong thành phẩm. Tuy nhiên, do chỉ sử dụng các tác nhân vật lý như sóng điện từ năng lượng cao, tia gamma, tia cực tím, tia laser... để tách nguyên tử bạc mà không sử dụng hóa chất ổn định nên phương pháp sản xuất nano bạc này cho ra thành phẩm có độ ổn định thấp. Ngoài ra, chi phí sản xuất khá cao do cần đầu tư nhiều vào thiết bị, quy trình sản xuất phức tạp, tiêu tốn nhiều năng lượng cũng hạn chế phạm vi ứng dụng rộng rãi của phương pháp sản xuất nano bạc bằng tác nhân vật lý.

** Phương pháp sinh học*

Phương pháp này sử dụng các vi khuẩn, nấm, tảo hay peptide để tổng hợp tạo hạt nano bạc. Một số loài vi khuẩn có thể tổng hợp được hạt nano bạc cả bên trong và bên ngoài màng tế bào vi khuẩn do protein của các loài vi khuẩn này có khả năng khử ion Ag^+ thành dạng nguyên tử để tạo ra các trung tâm kết tinh, phát triển và liên kết tạo thành các hạt nano bạc. Để tiến hành phương pháp này, vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường chứa nhiều ion Ag^+ . Đối với nấm, cơ chế tổng hợp bạc nano dựa trên khả năng khử của các enzyme do nấm tạo ra. Khi nấm được nuôi cấy ở trong môi trường chứa nhiều ion Ag^+ , các ion này sẽ bám vào tế bào nấm nhờ lực hút tĩnh điện giữa màng tế bào tích điện âm và ion Ag^+ tích điện dương. Enzyme trên màng tế bào nấm sẽ khử ion Ag^+ để tạo thành nguyên tử Ag^0 , rồi sau đó các nguyên tử liên kết tạo ra nano bạc. Các nghiên cứu cho thấy nấm có khả năng tạo ra các hạt

nano bạc có dạng hình cầu và kích thước khá đồng đều, trong khi vi khuẩn lại có thể tạo ra nano bạc với nhiều kích cỡ và hình dạng khác nhau. Tảo biển cũng được dùng để tổng hợp nano bạc, điển hình là *Sargassum wightii* [4].

Ưu điểm nổi bật của phương pháp chế tạo nano bạc sinh học là thân thiện với môi trường do không sử dụng hóa chất tổng hợp. Tuy nhiên, hiệu suất quá trình tổng hợp phụ thuộc nhiều vào yếu tố tự nhiên như chủng vi sinh vật, môi trường tổng hợp, ... dẫn đến khó kiểm soát được biến đổi có thể xảy ra. Vì vậy, sử dụng phương pháp sinh học khó có thể tổng hợp được khối lượng lớn nano bạc nên khả năng nâng cấp để sản xuất ở quy mô công nghiệp là khó khả thi hơn so với phương pháp vật lý và hóa học.

1.1.3. Cơ chế diệt khuẩn của nano bạc

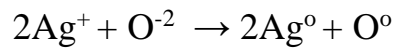
Nguyên tố bạc có khả năng kháng khuẩn tự nhiên với phổ rộng tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh và thân thiện với môi trường. Nếu được sử dụng với liều lượng hợp lý, vừa đủ để khử trùng sẽ không gây tác dụng độc hại với con người và động vật khi tiếp xúc. Có nhiều quan điểm giải thích cơ chế diệt khuẩn của bạc, nhưng quan điểm được nhiều nhà khoa học ủng hộ là dựa trên sự tương tác tĩnh điện giữa ion bạc mang điện tích dương và bề mặt tế bào vi khuẩn mang điện tích âm và sự bất hoạt các nhóm thiol trong các enzyme vận chuyển oxy, hoặc dựa trên sự tương tác của ion bạc với DNA dẫn đến sự dime hóa pyridin và cản trở quá trình sao chép DNA của tế bào vi khuẩn [6-9]. Một số nghiên cứu [10] cho rằng bạc tác động lên màng bảo vệ tế bào vi khuẩn. Màng này có cấu trúc bao gồm các glycoprotein liên kết với nhau bằng cầu nối axit amin để tạo độ cứng cho màng. Các ion bạc tương tác với các nhóm peptidoglycan và ức chế khả năng vận chuyển oxy vào bên trong tế bào của chúng, dẫn đến làm tê liệt vi khuẩn. Nếu các ion bạc được loại bỏ khỏi tế bào ngay lập tức, khả năng hoạt động của vi khuẩn có thể được phục hồi.

Tế bào của động vật bậc cao có cấu trúc khác tế bào vi sinh vật, lớp màng bảo vệ của tế bào không cho phép ion bạc xâm nhập nên không bị tổn thương khi tiếp xúc với các ion này. Khả năng diệt khuẩn của các chất kháng sinh dựa vào đặc tính lây nhiễm của vi khuẩn, trong khi đó khả năng diệt khuẩn của bạc dựa vào cơ chế tác động lên cấu trúc tế bào. Bất kỳ tế bào nào không có màng bảo vệ bền hóa học (tế bào vi khuẩn, vi rút) đều bị tác động bởi bạc. Tế bào động vật máu nóng không chứa các lớp peptidoglycan nên bạc không thể tác động lên chúng. Nhờ sự khác biệt đó mà nano bạc có thể tác động lên 650 loài vi khuẩn, trong khi phổ tác dụng của bất kỳ loại kháng sinh nào cũng chỉ từ 5 đến 10 loài. Mặt khác, bạc đóng vai trò là chất xúc tác nên ít bị tiêu hao trong quá trình sử dụng.

Các nhà khoa học Trung Quốc [11] làm việc trong hãng ANSON đã nghiên cứu và mô tả cơ chế tác động của các ion bạc lên vi khuẩn như sau: khi ion Ag^+ tác dụng với lớp màng của tế bào vi khuẩn gây bệnh nó sẽ phản ứng với nhóm sunphohydril ($-\text{SH}$) của phân tử men chuyển hóa oxy và vô hiệu hóa men này dẫn đến ức chế quá trình hô hấp của tế bào vi khuẩn:



Ngoài ra, các ion bạc còn có khả năng ức chế quá trình phát triển của vi khuẩn bằng cách sản sinh ra oxy nguyên tử siêu hoạt tính trên bề mặt của hạt bạc:



Theo kết quả tổng hợp từ nhiều nghiên cứu của nhóm tác giả người Nga [12,13], đã có nhiều giả thuyết được đưa ra liên quan đến cơ chế tác dụng kháng khuẩn của ion bạc, trong đó lý thuyết hấp phụ được chấp nhận nhiều nhất. Theo thuyết này, vi khuẩn bị vô hiệu hóa do tương tác tĩnh điện giữa bề mặt tế bào vi khuẩn tích điện âm và các ion Ag^+ tích điện dương hấp phụ trên đó, các ion xâm nhập vào bên trong tế bào vi khuẩn và vô hiệu hóa chúng. Khả năng kháng khuẩn của hạt nano bạc là kết quả của quá trình chuyển đổi các nguyên tử bạc kim loại thành các ion Ag^+ tự do, sau đó các ion tự do này tác động lên các vị trí tích điện âm trên màng tế bào vi sinh vật.

Tóm lại, đa số các nhà khoa học công nhận khả năng diệt khuẩn của hạt nano bạc là kết quả của quá trình biến đổi (giải phóng liên tục) các nguyên tử bạc kim loại trên bề mặt hạt nano bạc thành các ion Ag^+ tự do và các ion tự do này sau đó tác dụng lên vi khuẩn và diệt khuẩn theo các cơ chế sau [7-9]:

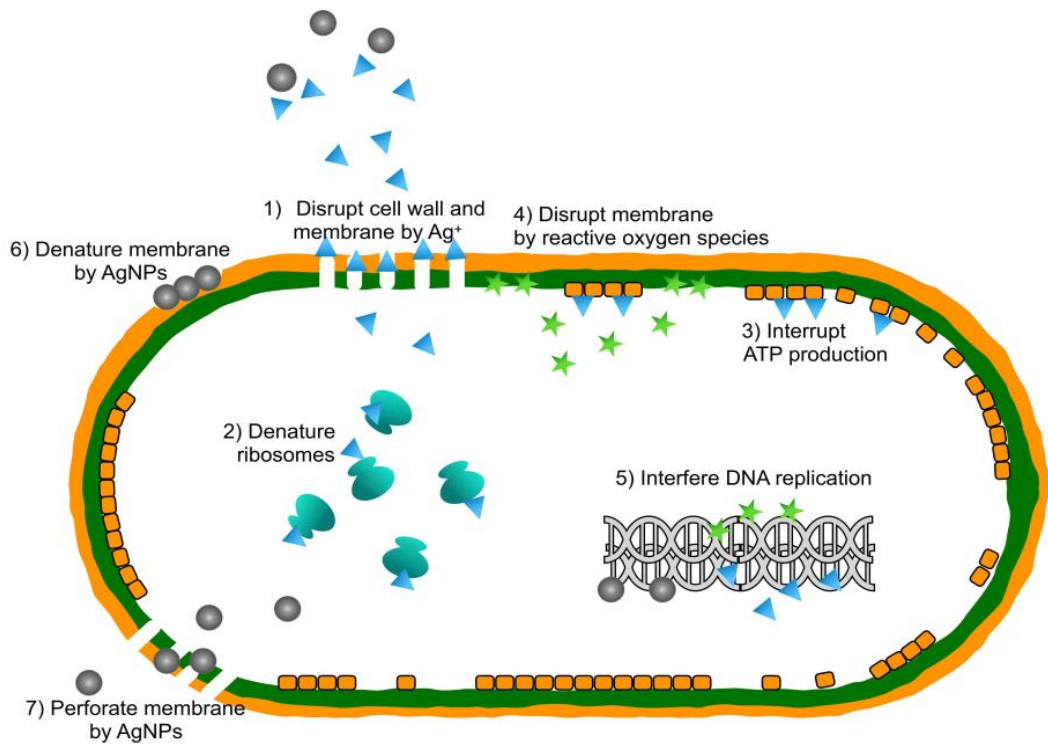
- Cơ chế thứ nhất: Ức chế quá trình vận chuyển các ion Na^+ và Ca^{2+} qua màng tế bào, ngăn cản quá trình trao đổi chất.

- Cơ chế thứ hai: Phá vỡ màng tế bào, oxy hóa nguyên sinh chất của tế bào vi khuẩn, phá hủy nguyên sinh chất bởi oxi hòa tan trong nước với vai trò xúc tác của bạc.

- Cơ chế thứ ba: Tác động gián tiếp lên phân tử DNA bằng cách tăng số lượng các gốc tự do làm giảm hoạt tính của các hợp chất chứa oxy hoạt

động, làm rối loạn các quá trình oxy hóa cũng như phosphoryl hóa trong tế bào vi khuẩn.

- Cơ chế thứ tư: Vô hiệu hóa enzym có chứa các nhóm $-SH$ và $-COOH$, phá vỡ cân bằng áp suất thẩm thấu, hoặc tạo phức với acid nucleic dẫn đến làm thay đổi cấu trúc DNA của tế bào vi sinh vật (tác động trực tiếp đến cấu trúc DNA).



Hình 3. Mô phỏng cơ chế tác động lên tế bào vi khuẩn của nano bạc (AgNP) [14]

* Chú thích: 1) Phá vỡ thành tế bào và màng tế bào chất: các ion bạc (Ag^+) do hạt nano bạc giải phóng bám vào hoặc xuyên qua thành tế bào và màng tế bào chất. 2) Biến tính ribosome: ion bạc làm biến tính ribosome và ức chế tổng hợp protein. 3) Gián đoạn sản xuất adenosine triphosphate (ATP): Việc sản xuất ATP bị chậm dứt do các ion bạc vô hiệu hóa enzyme hô hấp trên màng tế bào chất. 4) Sự phá vỡ màng do oxy phản ứng: các loại oxy phản ứng được tạo ra bởi chuỗi vận chuyển điện tử bị đứt gãy có thể gây ra sự phá vỡ màng. 5) Sự can thiệp vào quá trình sao chép axit deoxyribonucleic (DNA): các ion bạc và oxy phản ứng liên kết với axit deoxyribonucleic, ngăn chặn sự sao chép và nhân lên của tế bào. 6) Biến tính màng: các hạt nano bạc tích tụ trong các lỗ của thành tế bào và gây biến tính màng. 7) Thủng màng: các hạt nano bạc di chuyển trực tiếp qua màng tế bào chất, giải phóng các bào quan ra khỏi tế bào.

Ngoài ra, cũng có ý kiến cho rằng bạc không ảnh hưởng trực tiếp đến DNA của tế bào mà gián tiếp làm tăng số lượng gốc tự do, dẫn đến giảm nồng độ các hợp chất oxy hoạt tính trong tế bào, gây rối loạn quá trình oxy hóa và phosphoryl hóa trong tế bào vi khuẩn. Người ta cũng tin rằng một trong

những nguyên nhân gây ra tác dụng kháng khuẩn phổ rộng là sự ức chế vận chuyển qua màng của các ion Na^+ và Ca^{2+} bởi các ion bạc [15].

Một số nhà nghiên cứu nhận định rằng ion bạc có khả năng bất hoạt các loài virus gây bệnh đậu mùa, bệnh cúm A-1, B, adenovirus và HIV, cho hiệu quả điều trị tốt đối với các bệnh virus Marburg, virus bệnh đường ruột (enterit) và virus bệnh chó dại. Để có thể vô hiệu hóa hoàn toàn virus *bacteriophage* đường ruột N163, virus *Koksaki serotyp* A-5, A-7, A-14 cần đến nồng độ bạc cao hơn (0,5 - 5,0 mg/lít) so với các chủng vi khuẩn *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigellia* và các loài virus đường ruột khác (0,1 - 0,2 mg/lít) [16].

1.1.4. Tác dụng của nano bạc lên cơ thể động vật bậc cao

Các tác động của nano bạc lên tế bào động vật bậc cao là vấn đề luôn được các nhà khoa học quan tâm đặc biệt. Khi tiến hành thí nghiệm ủ các tế bào não của chuột và của vi sinh vật vào dung dịch có ion bạc người ta đã nhận thấy rằng hình thái của hồng cầu và bạch cầu hoàn toàn không thay đổi, trong khi các tế bào vi sinh vật bị tiêu diệt hoàn toàn. Các tế bào chuột dưới tác động của ion bạc chuyển thành dạng hình cầu nhưng không bị phá hủy và thành tế bào giữ nguyên dạng. Các tế bào não chuột này sau đó sinh sản bình thường và cấu trúc tế bào cũng như khả năng sinh sản vẫn được giữ nguyên [17].

Để đánh giá độc tính của bạc, Cơ quan Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ (EPA) đã đưa ra khái niệm về liều RFD tiêu chuẩn của bạc vào năm 1991, là lượng bạc được phép hấp thụ mỗi ngày trong suốt cuộc đời mà không gây ảnh hưởng xấu đến sức khỏe. Liều tiêu chuẩn được EPA chấp nhận là 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{ngày}$. Do đó, một người nặng 70 kg có thể tiêu thụ 350 μg bạc mỗi ngày. Nồng độ bạc tối đa cho phép trong nước uống ở Hoa Kỳ là 100 $\mu\text{g}/\text{L}$. Nếu một người uống 2 lít nước mỗi ngày sẽ hấp thụ 200 μg bạc, thực phẩm họ ăn hàng ngày chiếm trung bình 90 μg , phần còn lại hấp thụ qua các con đường khác không quá 60 μg . Ngày nay, nhiều phương pháp điều trị từng sử dụng bạc đã bị loại bỏ như: bệnh động kinh - cho uống dung dịch bạc nitrat; bệnh giang mai - tiêm tĩnh mạch dung dịch aphenamine bạc; nhiều bệnh nhiễm trùng - cho uống dung dịch keo bạc. Gần đây, Hoa Kỳ đã cấm bán tất cả các loại thuốc có chứa bạc không cần kê đơn [17].

Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) [10] đã xác định liều lượng bạc tối đa không gây ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe con người là 10g (nếu hấp thụ từ từ). Nghĩa là, nếu một người trong suốt cuộc đời (70 tuổi) ăn hoặc uống 10g bạc thì đảm bảo sẽ không gặp vấn đề gì về sức khỏe. Trên cơ sở đó, Cục Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ (EPA) đã thiết lập tiêu chuẩn tối đa cho phép của hàm

lượng bạc trong nước uống là 0,1mg/L, trong khi Liên minh Châu Âu áp dụng tiêu chuẩn tối đa cho phép là 0,01mg/L và ở Nga là 0,05mg/L.

Theo nghiên cứu của Vainar và các cộng sự, bạc là nguyên tố vi lượng cần thiết cho hoạt động của các tuyến nội tiết, não và gan nhưng hàm lượng cho phép không vượt quá 0,05 mg/L dịch cơ thể. Theo các tác giả, chế độ ăn trung bình hàng ngày của con người chứa 80 μg ion bạc. Tổng hàm lượng bạc trong người và động vật đo được ở mức 0,2 mg/kg trọng lượng khô, có hàm lượng cao nhất ở não, các tuyến nội tiết, gan, thận và xương. Khi có mặt ion bạc, cường độ phosphoryl hóa, oxy hóa của ty thể não và hàm lượng axit nucleic tăng lên đáng kể, giúp cải thiện chức năng não. Khi nghiên cứu các mô khác nhau được ngâm trong dung dịch sinh lý có nồng độ ion bạc 0,001 mg/L, các tác giả nhận thấy mức độ hấp thụ oxy của mô não tăng 24%, cơ tim tăng 20%, gan tăng 36% và thận tăng 25%. Nhưng nếu nồng độ Ag^+ tăng lên 0,01 mg/L thì mức độ hấp thụ oxy của các mô này giảm đáng kể. Điều này chứng tỏ ion bạc tham gia điều hòa quá trình trao đổi năng lượng [18-20].

Brugdunov và các cộng sự [19] đã tiến hành nghiên cứu tác động của nano bạc với cơ thể con người bằng cách cho bệnh nhân uống nước ion bạc thay nước uống với nồng độ 30 - 50 mg/L trong thời gian 7 - 8 năm. Kết quả cho thấy xảy ra hiện tượng tích tụ bạc dưới da làm cho da bệnh nhân có màu xám (bệnh argiria) nhưng lại không phát hiện được ở các bệnh nhân này bất kỳ thay đổi nào về chức năng của các cơ quan nội tạng, không những thế các bệnh nhân còn thể hiện đề kháng tốt đối với nhiều loại vi khuẩn và virus.

Vai trò sinh lý của bạc trong cơ thể con người hiện chưa được làm rõ. Nhiều quan điểm cho rằng bạc đóng vai trò là chất ức chế enzyme [19-21]. Kết quả thí nghiệm cho thấy ion bạc có thể tương tác với bazơ nitơ timine và guanine của phân tử DNA làm phá vỡ chức năng của DNA, dẫn đến ức chế sự phát triển và sinh sản của vi sinh vật. Người ta cũng xác định được ion bạc có khả năng bao quanh nhóm $-\text{SH}$ có mặt ở trung tâm hoạt động của nhiều loại enzyme và ức chế hoạt động của chúng. Ví dụ, bạc ức chế hoạt động ATP của enzyme miozin (protein cơ bản của mô cơ người), enzyme này có khả năng phân giải ATP để giải phóng năng lượng. Quá trình diệt khuẩn của ion bạc cũng diễn ra theo cơ chế này.

1.1.5. Các ứng dụng của nano bạc

Ứng dụng của nano bạc chủ yếu đến từ đặc tính kháng khuẩn, tiếp theo là tính chất quang học cho cảm biến và một số ứng dụng làm xúc tác cho các phản ứng hóa học.

** Ứng dụng kháng khuẩn*

Bạc đã được sử dụng từ nhiều thế kỷ như một chất kháng khuẩn vô cơ an toàn với con người. Các ion bạc và các hợp chất tạo ra từ nó có tác dụng phá hủy rất mạnh đối với nhiều loài vi khuẩn và cũng có độc tính thấp đối với tế bào động vật bậc cao. Có nhiều báo cáo cho rằng bạc ở dạng nano ít độc hơn so với ion Ag^+ . Do có đặc tính kháng khuẩn, nano bạc được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như y học, nhiều ngành công nghiệp, nông nghiệp, đóng gói, phụ kiện, mỹ phẩm, và quân sự.

Để ứng dụng khả năng kháng khuẩn của nano bạc, hạt nano bạc được trộn vào trong vật liệu polymer, gồm để lọc nước, hay tráng lên bề mặt thiết bị y tế, giấy, dụng cụ gia dụng như máy giặt, thiết bị điều ẩm, lọc không khí, máy điều hòa, quần áo sử dụng trong môi trường y tế, bút tất, miếng lót giày chống mùi hôi hay sơn kháng khuẩn. Nano bạc cũng được ứng dụng trong bảo quản thực phẩm, dệt may. Bạc dạng ion (Ag^+) có thể được sử dụng để tẩm thiết bị lọc nước trên nền đất sét để kháng khuẩn [22].

Không khí chứa nhiều vi sinh vật rất có hại cho chúng ta. Bioaerosol là các hạt trong không khí có nguồn gốc sinh học. Chúng bao gồm virus, vi khuẩn, nấm, có khả năng gây ra các bệnh truyền nhiễm và dị ứng. Theo báo cáo của WHO, 50% ô nhiễm sinh học có trong không khí trong nhà đến từ hệ thống xử lý không khí và sự hình thành các vi sinh vật có hại như mầm bệnh vi khuẩn và nấm đã được tìm thấy trong các bộ lọc không khí. Độc tố nấm mốc do các mầm bệnh này tạo ra rất nguy hiểm cho sức khỏe con người. Tuy nhiên, sự phát triển của bộ lọc không khí dựa trên hạt nano bạc đã góp phần làm giảm vấn đề ô nhiễm sinh học ở một mức độ nào đó.

Đặc tính kháng khuẩn của bạc cũng đóng một vai trò quan trọng trong y học do vi khuẩn ngày càng trở nên kháng thuốc kháng sinh. Hiện nay, nhiều tổ chức quốc tế đang kêu gọi các nhà khoa học nghiên cứu tìm giải pháp hạn chế và thay thế một số loại kháng sinh hiện có. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng khi nano bạc kết hợp với các kháng sinh như gentamicin, ofloxacin và ampicillin thì khả năng diệt khuẩn của nó có thể tăng gấp đôi so với dùng kháng sinh đơn thuần. Điều này cho thấy nano bạc có vai trò tích cực trong các ứng dụng kháng khuẩn. Ngoài ra, các hạt nano bạc đang được nghiên cứu về các ứng dụng chống nấm, kháng virus, chống viêm, chống ung thư và hạn chế sự phát triển mất cân bằng của mô (anti-angiogenic).

Nano bạc rất thích hợp để diệt khuẩn và phòng bệnh cho vật nuôi mà không ảnh hưởng đến chúng. Một số bệnh điển hình ở vật nuôi là bệnh tai

xanh ở lợn, dịch tả lợn châu Phi, cúm gia cầm và một số bệnh khác ảnh hưởng tới sức khỏe gia cầm. Ngoài ra, nano bạc còn giúp ngăn ngừa bệnh tiêu chảy do virus, dịch tả, sán dây, nấm...

** Ứng dụng làm xúc tác và vật liệu dẫn điện*

Ngoài những ứng dụng phổ biến để kháng khuẩn, bạc còn được sử dụng làm chất xúc tác cho các phản ứng hóa học, tổng hợp các hóa chất hữu cơ phân tử nhỏ có giá trị cao hoặc xử lý các chất ô nhiễm môi trường. Trong bộ chuyển đổi xúc tác ô tô và thiết bị phát điện, vật liệu nano có thể được sử dụng làm chất xúc tác để phản ứng với một số loại khí độc hại như carbon monoxide và nitơ oxit để ngăn ngừa ô nhiễm môi trường do đốt xăng và than. Nano bạc còn được sử dụng kết hợp với titan oxit (TiO_2) để tăng cường hoạt tính xúc tác quang của TiO_2 . Trong hệ này, bạc đóng vai trò hạn chế hiện tượng kết tụ phá hủy các electron tự do và nâng cao hiệu quả xúc tác quang [4].

Bạc dạng micro thường được sử dụng làm keo dẫn điện dùng trong công nghiệp sản xuất hàng điện tử hoặc các bảng mạch điện tử có khả năng co giãn. Hiện nay, các dạng bạc khác như sợi mỏng và aerogel được sử dụng cho các ứng dụng không chỉ trong điện tử mà còn trong vật liệu lưu trữ năng lượng do cấu trúc lỗ xốp tốt hơn và trọng lượng nhẹ hơn [23].

1.1.6. Các phương pháp khảo sát các tính chất đặc trưng của nano bạc

Khả năng ứng dụng của nano bạc phụ thuộc nhiều vào tính chất của nó. Vì vậy, việc nghiên cứu, khảo sát, đánh giá các đặc tính của nano bạc sau quá trình tổng hợp là rất quan trọng. Một số phương pháp thường được sử dụng để nghiên cứu tính chất của nano bạc được liệt kê trong bảng sau:

Bảng 1. Một số phương pháp dùng cho khảo sát tính chất của nano bạc

STT	Phương pháp	Ký hiệu	Mục đích khảo sát
1	Atomic Force Microscope	AFM	Đo hình dáng và kích thước, thể tích hạt 3D
2	Dynamic light scattering	DLS	Sự phân bố kích thước, có thể đo trong dung dịch
3	Energy Dispersive X-ray spectroscopy	EDS	Thành phần hóa học, sự phân bố thành phần trên đơn vị diện tích

4	Scanning Electron Microscope	SEM	Hình dáng, kích thước (giới hạn tầm 100 - 200 nm)
5	Transmission Electron Microscope	TEM	Hình dáng, kích thước, tinh thể (giới hạn đến vài nm)
6	Ultra Violet-Visible Spectroscopy	UV-Vis	Đo hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt của hạt nano bạc
7	X-ray photoelectron spectroscopy	XPS	Thành phần hóa học, môi trường hóa học bề mặt
8	X-ray diffractometry	XRD	Cấu trúc tinh thể, loại tinh thể

1.1.7. Tình hình nghiên cứu về nano bạc trên thế giới và ở Việt Nam

Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Do có hiệu quả diệt khuẩn cao nhưng lại an toàn với người và động vật bậc cao, trên thế giới nano bạc được nghiên cứu ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực môi trường, y sinh, công nghiệp và nông nghiệp. Trong bảng 2 tổng hợp một số lĩnh vực mà nano bạc đang được nghiên cứu, khai thác dưới vai trò một chất diệt khuẩn (xử lý không khí/nước, ứng dụng trong y tế, các sản phẩm tiêu dùng dệt may...).

Bảng 2. Một số lĩnh vực ứng dụng nano bạc với vai trò một chất diệt khuẩn

STT	Vật liệu	Mô tả ngắn gọn	Ứng dụng	Nguồn
1	nAg/TiO ₂	Vật liệu xúc tác quang chức năng hóa	Công nghệ thực phẩm	[24,25]
2	nAg@ZnO	Vật liệu xúc tác quang diệt khuẩn tự làm sạch	Màng bọc thực phẩm	[26,27]
3	nAg	Vật liệu nano được chức năng hóa bề mặt	Ứng dụng trong điều trị vết bỏng	[28,29]
4	nAg/polyamide	Nhựa polyamide được bổ sung nano bạc	Bao bì cho dụng cụ y tế	[30]
5	nAg	Màng lọc chống virus chứa nano bạc	Diệt virus	[31]

6	nAg@Co	Vật liệu siêu thuận từ	Khử trùng nước	[32]
7	nAg@SiO ₂	Vật liệu hybrid	Khử trùng không khí	[33]
8	nAg/Chitosan	Vật tư y tế	Làm lành vết thương	[34]
9	nAg/cellulose	Vật tư y tế	Băng gạc y tế	[35]

Các nghiên cứu ứng dụng nano bạc trong công nghiệp thực phẩm có thể kể đến như nghiên cứu của Cozmata và các cộng sự (2015) [24]. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá thời hạn sử dụng và độ an toàn vi sinh của bánh mì trong quá trình bảo quản đóng gói bằng vật liệu tổng hợp chứa nano Ag/TiO₂ (nAg/TiO₂) so với bánh mì được đóng gói bằng polyetylen mật độ cao (HDP-P) và bánh mì không đóng gói. Nanocompozit nAg/TiO₂ được điều chế bằng quy trình sol-gel. nAg/TiO₂ được đưa vào giữa các lớp polyetylen để tránh tiếp xúc giữa bánh mì và nanocompozit nAg/TiO₂. Độ ổn định hóa học và vi sinh vật của bánh mì thể hiện dưới dạng tổng chất béo, protein, đường, lipid hydroperoxide và nấm men, nấm mốc cũng như số lượng *Bacillus subtilis* và *Bacillus cereus* tương ứng, được theo dõi trong 6 ngày. Dữ liệu thực nghiệm chỉ ra rằng nAg/TiO₂ kéo dài đáng kể thời hạn sử dụng và độ an toàn vi sinh của bánh mì so với HDP-P. Nghiên cứu của nhóm tác giả người Ấn độ Deshmukh và các cộng sự (2018) cho thấy khả năng khử hoạt tính quang xúc tác của nano Ag/TiO₂ chống lại vi khuẩn khi có ánh sáng UVA là tốt hơn so với việc chỉ sử dụng UVA hoặc chất xúc tác đơn thuần [25].

Vasile và cộng sự (2017) đã tiến hành nghiên cứu nhằm ứng dụng nano bạc trong màng bọc thực phẩm. Trong nghiên cứu này, các mẫu Polylactic axit (PLA) dẻo hóa có gắn bột ZnO pha tạp Cu được chức năng hóa bằng nano bạc. Kết quả cho thấy rằng sự gia tăng hàm lượng hạt nano bạc (từ 0,5 đến 1,5% trọng lượng) trong công thức PLA dẫn đến sự gia tăng mức độ kết tinh của PLA. Loại vật liệu nanocomposite sinh học này có các đặc tính cơ và nhiệt phù hợp làm màng bọc thực phẩm, rào cản tốt với tia cực tím, hơi nước, oxy và carbon dioxide, có hoạt tính kháng khuẩn cao và lượng di chuyển của hạt nano Ag vào thực phẩm thấp [26].

Nhiều nghiên cứu ứng dụng nano bạc trong khử trùng nước hay khử trùng không khí cũng đã được tiến hành. Vật liệu polyme trao đổi ion đã được sử dụng rộng rãi trong các quy trình xử lý nước nhằm xử lý hàm lượng ion độc

hại trong nước. Tuy nhiên, chúng không có tính kháng khuẩn và vi khuẩn có thể bị mắc kẹt trong cấu trúc của cột trao đổi ion và sinh sôi nảy nở trở thành nguồn ô nhiễm vi khuẩn. Alonso (2013) đã nghiên cứu các hạt nano Ag@Co (nAg@Co) với lõi Co^0 siêu thuận từ chi phí thấp và vỏ Ag kháng khuẩn được tổng hợp trên polyme trao đổi cation dạng hạt. Nghiên cứu cho thấy sự hiện diện của nAg@Co cung cấp cho vật liệu nanocompozit (NC) tổng hợp được cuối cùng các chức năng bổ sung (siêu thuận từ và hoạt tính kháng khuẩn), khiến nó trở nên lý tưởng cho ứng dụng lọc nước [32].

Một nghiên cứu khác của Ko Y (2014) đã chứng minh hoạt tính kháng khuẩn nhanh chóng của hạt lai silica phủ nano bạc (nAg@SiO₂) chống lại cả vi khuẩn gram âm *Escherichia coli* và vi khuẩn gram dương *Staphylococcus cholermidis* trong quá trình lọc không khí. Trong nghiên cứu này, các mẫu vật liệu lọc (vật liệu sợi thủy tinh) được phủ các hạt nAg@SiO₂ và kiểm tra hiệu quả kháng khuẩn. Hiệu quả kháng khuẩn > 99,99% đối với cả hai loại vi khuẩn đều thu được bằng cách sử dụng mẫu lọc có mật độ diện tích lớp phủ là 1×10^8 hạt/cm². Hạt lai nAg@SiO₂ và hệ thống lọc không khí được phủ các hạt này được kỳ vọng sẽ hữu ích cho các ứng dụng môi trường xanh trong tương lai [33].

Trong lĩnh vực y tế, một số hợp chất của bạc đã được sử dụng để làm thuốc trong nhiều thế kỷ. Hiện nay, nano bạc đang nổi lên như một lựa chọn điều trị khả thi cho các bệnh nhiễm trùng gặp phải ở vết bỏng, vết thương hở và vết loét mãn tính được chứng minh bởi nhiều nghiên cứu. Andrea Zille và cộng sự (2015) đã nghiên cứu đặc điểm bề mặt, hoạt tính kháng khuẩn của vải polyamide 6,6 (PA66) tiền xử lý bằng plasma được phủ hạt nano bạc ứng dụng làm bao bì dụng cụ y tế. Sau 30 ngày, tất cả các mẫu vải được xử lý bằng nano bạc có kích thước <100 nm đều đạt được mức ức chế tăng trưởng vi khuẩn tương đương nhau. Kết quả cho thấy rằng thay vì giảm kích thước của nano Ag, điều này có thể gây độc tính cao hơn, các hoạt tính kháng khuẩn dài hạn tương tự có thể đạt được với các hạt nano Ag kích thước lớn hơn (40-60 nm), ngay cả ở nồng độ thấp hơn [30].

Liang D và cộng sự (2016) đã nghiên cứu chế tạo ra một loại băng chứa hạt nano bạc/chitosan (nAg/Chitosan) có bề mặt thấm ướt không đối xứng ứng dụng y sinh làm vật liệu chữa lành vết thương. Việc kết hợp nano bạc và chitosan vào băng có thể tăng cường hoạt động kháng khuẩn chống lại vi khuẩn gây bệnh nhạy cảm với thuốc và kháng thuốc. Bề mặt kỵ nước của băng có khả năng chống thấm nước và chống bám dính đối với các chất gây ô nhiễm, trong khi bề mặt ưa nước duy trì khả năng hấp thụ nước và ức chế hiệu

quả sự phát triển của vi khuẩn. Hơn nữa, băng tổng hợp nAg/chitosan cho thấy khả năng giữ ẩm và đông máu được cải thiện so với băng thông thường [34]. Một nghiên cứu khác của Pal và cộng sự (2017) với băng gạc y tế vải sợi Cellulose được chức năng hóa bằng các hạt nano bạc cũng cho hiệu quả cao trong việc kháng khuẩn để điều trị chữa lành vết thương [29].

Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam

Tại Việt Nam cũng có nhiều công trình nghiên cứu về nano bạc với định hướng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Các nghiên cứu về chế tạo nano bạc đã được tiến hành tập trung chủ yếu ở một số viện nghiên cứu thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, cụ thể là tại Viện Hóa học, Viện Công nghệ môi trường và Viện Khoa học Vật liệu.

Tác giả Nguyễn Đức Nghĩa và cộng sự (2009) [36] đã tổng hợp thành công nano bạc với kích thước hạt trung bình 4-7 nm bằng phương pháp mixen đảo, từ đó chế tạo thành công vật liệu bạc nano composit trên cơ sở polyme (epoxy, polyvinylalcol, polyacrylic axit) phục vụ mục đích khử trùng.

Huỳnh Thị Hà và cộng sự (2006) [37] đã chế tạo nano bạc bằng phương pháp dung dịch nước ở nhiệt độ sôi sử dụng natri citrat hoặc NaBH_4 làm chất khử và chất ổn định keo bạc, đồng thời chế tạo vật liệu phủ từ composit nano bạc/polime trên cơ sở polymethylmetacrylat, polyuretan và nano bạc. Vật liệu nano composit thu được đó được thí nghiệm khử trùng trên một số vi khuẩn có sức đề kháng cao như *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonase aeruginosa* ATCC 27853, *Streptococcus* và nấm *Candida albican* với kết quả rất khả quan.

Nhóm tác giả Hoàng Anh Sơn, Võ Thành Phong, Trần Anh Tuấn của Viện Khoa học vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam [38] đã nghiên cứu chế tạo màng lọc có tính sát khuẩn cao sử dụng trong xử lý nước sinh hoạt hộ gia đình từ composit polyuretan/nano bạc. Phòng công nghệ nano, trường Đại học Khoa học Tự nhiên thành phố Hồ Chí Minh cũng đã nghiên cứu tạo và ghép nano bạc lên chất mang polyuretan làm vật liệu lọc nước kháng khuẩn.

Phòng Triển khai khoa học kỹ thuật – Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng, đứng đầu là TS Bùi Duy Du [39] đã thành công trong việc chế tạo keo bạc nano bằng bức xạ Gamma Co-60 dùng PVA, PVP và chitosan làm chất ổn định, ứng dụng trong ức chế vi khuẩn *E. Coli*, *S.aureus* và kháng nấm *Corticium salmonicolor*, *Piricularia ozyaza*, *Pseudonomas glumae*. *Kuria et. Tabei* trên lúa.

Viện Bổng Quốc gia Lê Hữu Trác đã có đề tài nghiên cứu ứng dụng băng dính có chứa nano bạc (do GS. Lê Thế Trung làm chủ nhiệm) cho kết quả là băng dính có chứa nano bạc cho liền vết mổ nhanh, có ưu điểm giảm đau, thấm dịch tiết, quá trình biểu mô hóa và tân tạo vi mạch diễn biến tốt, có tác dụng ức chế vi khuẩn và không thấy tác dụng phụ. Nghiên cứu tương tự của nhóm tác giả Trần Thị Ngọc Dung, Nguyễn Hoài Châu và các cộng sự thuộc Viện Công nghệ Môi trường cũng cho thấy sử dụng nano bạc cho hiệu quả cao trong điều trị bỏng [40].

Nghiên cứu của nhóm tác giả Trần Thị Ngọc Dung và các cộng sự (2019) thuộc Viện Công nghệ Môi trường [41] đã chứng minh rằng nano bạc là một chất khử trùng hiệu quả chống lại cả *Salmonella* và virus gây bệnh dịch tả lợn châu Phi (ASFV). Sự ức chế hoàn toàn vi khuẩn *Salmonella* được quan sát thấy ở nồng độ nano bạc là 25 ppm và ở nồng độ vi khuẩn là 108 CFU/mL. Dung dịch nano bạc với nồng độ 0,78 ppm không có bất kỳ độc tính nào đối với tế bào đại thực bào phế nang của lợn; trong khi hoàn toàn ức chế ASFV ở mức 10³ HAD₅₀ (Liều hấp phụ hồng cầu). Nghiên cứu này xác nhận rằng nano bạc có khả năng kháng virus cao đối với ASFV và là một chất khử trùng đầy hứa hẹn có thể được sử dụng để ngăn ngừa sự lây truyền ASFV.

Khả năng kháng khuẩn của nano bạc trong sơn nước nội thất cũng được nghiên cứu bởi Lê Thị Ngọc Hoa và các cộng sự. Kết quả cho thấy sơn nhũ tương có khả năng diệt khuẩn khi hàm lượng nano bạc trong sơn là 0,1- 0,5 ppm. Hiệu quả kháng khuẩn của nano bạc trong sơn nhũ tương được duy trì trong khoảng thời gian tối thiểu là 30 ngày [42].

Ở nước ta, những sản phẩm chứa nano bạc với tính chất kháng khuẩn phần lớn chỉ nằm trong phạm vi nghiên cứu, chưa được đưa ra ứng dụng rộng rãi. Ngoại trừ sản phẩm khẩu trang nano bạc do Phòng Công nghệ thân môi trường thuộc Viện Công nghệ môi trường – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam sản xuất. Khẩu trang nano bạc có tác dụng ngăn bụi, vi khuẩn, virus từ bên ngoài vào cơ thể qua đường hô hấp cũng như từ bên trong cơ thể ra môi trường. Lốp vải tẩm nano bạc có chức năng diệt khuẩn, virus, nấm bị giữ lại trên khẩu trang đồng thời có tác dụng khử mùi. Hiện nay trên thị trường Việt Nam cũng đã đưa ra mặt hàng là bộ lọc vi sinh Watts Microbiological Purifier. Ngoài chức năng khử mùi, khử clo, các loại hóa chất hòa tan còn có khả năng loại bỏ virus, vi khuẩn. Tuy nhiên do giá thành của bộ lọc còn cao nên đối tượng có thể sử dụng hạn chế đặc biệt là người dân ở vùng nông thôn.

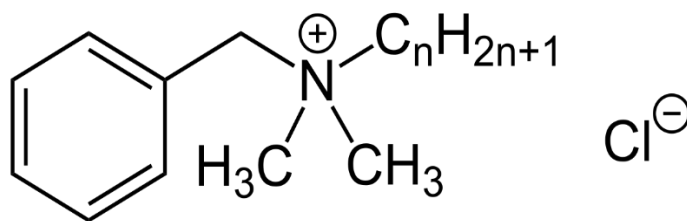
1.2. Tổng quan về benzalkonium chloride (BKC)

1.2.1. Giới thiệu chung

Benzalkonium chloride (BKC), hay còn được gọi là alkyldimethylbenzylammonium chloride (ADBAC), là một loại chất hoạt động bề mặt cation. Nó là một loại muối hữu cơ được phân loại là hợp chất amoni bậc bốn [43].

Ammoni bậc 4 là một trong số những hoạt chất phổ biến nhất được phép sử dụng làm chất diệt khuẩn trong y tế, trong gia dụng và trong thú y. Trên tổng số gần 1700 chế phẩm diệt khuẩn được phép lưu hành tại Việt Nam do Cục Quản lý môi trường – Bộ Y tế cho phép có khoảng gần 50 chế phẩm chứa hoạt chất khử trùng chính là các ammoni bậc 4. Ngoài ra, trong danh sách các thuốc thú y được phép lưu hành tại Việt Nam (hơn 4000 sản phẩm, do Cục Thú y khảo nghiệm và cấp phép, bao gồm các sản phẩm sản xuất trong nước và nhập khẩu) – có khoảng 200 chế phẩm sử dụng cho mục đích khử trùng, tiêu độc chuồng trại. Trong số 200 chế phẩm này cũng có khoảng trên dưới 140 chất chứa thành phần chính là các ammoni bậc 4. Những con số thống kê trên đã cho thấy vai trò quan trọng và tính hiệu quả cao của các hợp chất này trong bảo đảm an toàn vệ sinh môi trường chăn nuôi. Một số hợp chất ammoni bậc 4 được cấp phép sử dụng ở Việt Nam (trong sinh hoạt, trong thú y và thủy sản) như: Benzalkonium chloride (BKC), Didecyldimethylammonium chloride (DDAC), Dimethylcocobenzyl amonium chloride... (ví dụ như các chế phẩm Sagluxide, Belucid, VT-BKC 80, Gludekol, BTV Glutar, Rebencid, Nova-MC.A30, EMI protect, G-Omnicide, Amonicid, Anicide, ...) [3].

Benzalkonium chloride (BKC) được nghiên cứu và sử dụng như một chất khử trùng bắt đầu từ năm 1935 bởi Gerhard Domagk, được đưa ra thị trường với tên gọi clorua zephiran. Năm 1947, sản phẩm đầu tiên có chứa BKC đã được đăng ký với Cơ quan Bảo vệ Môi trường (EPA) tại Hoa Kỳ. Hiện nay, BKC là chất khử trùng được sử dụng rộng rãi nhất trong nhóm các hợp chất amoni bậc 4 [44].



$$n = 8, 10, 12, 14, 16, 18$$

Hình 4. Công thức cấu tạo của Benzalkonium chloride

Theo Dược điển Mỹ USP32-NF 27 đã mô tả BKC là một hỗn hợp của alkylbenzyldimethylammonium chlorides với với công thức chung $[C_6H_5CH_2N(CH_3)_2R]Cl$, với R gồm hỗn hợp alkyl bao gồm các nhóm $n-C_8H_{17}$ và các mạch cao hơn như $n-C_{12}H_{25}$ (dodecyl), $n-C_{14}H_{29}$ (dodecyl), và $n-C_{16}H_{33}$ (hexadecyl). Chúng thường được thương mại hóa dưới dạng hỗn hợp các hợp chất có độ dài khác nhau đối với chuỗi alkyl, từ C8 đến C18, với hoạt tính diệt khuẩn cao hơn đối với các dẫn xuất C12 và C14 [45].

1.2.2. Các ứng dụng BKC

BKC thường được ứng dụng với ba vai trò chính là làm chất hoạt động bề mặt cation, làm chất chuyển pha hoặc làm chất diệt khuẩn.

Vai trò làm chất hoạt động bề mặt

BKC là một chất hoạt động bề mặt cation điển hình. Chất hoạt động bề mặt cation có nhóm phân cực bị phân ly thành ion dương trong dung dịch, chúng thường là các dẫn xuất của muối amoni bậc 4, có khả năng làm bền bọt, tạo nhũ tốt, lấy dầu ít nên êm dịu với da, chủ yếu dùng làm mềm, xốp xơ sợi và triệt tiêu tĩnh điện. Điều đặc biệt chúng hấp thụ rất tốt trên tóc, làm mượt tóc nên thường chúng được sử dụng phổ biến hơn trong các sản phẩm chăm sóc tóc. BKC là một trong những chất ứng dụng phổ biến nhất trong công nghiệp mỹ phẩm. Chúng được sử dụng trong chất khử mùi dạng xịt, lotion dùng sau cạo râu, dầu gội trị gàu, chất chống tiết mồ hôi, chất làm mềm lớp biểu bì, thuốc nhuộm tóc, kem dưỡng, thuốc uốn tóc, nước súc miệng. BKC có thể hòa tan pha lipid của màng nước mắt và tăng khả năng thẩm thấu thuốc, khiến nó trở thành tá dược hữu ích, nhưng có nguy cơ gây tổn thương bề mặt của mắt nếu sử dụng quá liều lượng.

Vai trò làm chất chuyển pha

BKC có thể được sử dụng làm thành phần chính của xúc tác chuyển pha, tổng hợp các hợp chất hữu cơ, bao gồm cả thuốc [46].

Vai trò làm chất diệt khuẩn

BKC là chất diệt khuẩn và kháng khuẩn hiệu quả, thân thiện với môi trường và con người. Tác dụng chính của hoạt động kháng khuẩn của BKC là phá hủy màng tế bào, có hiệu quả nhất đối với một số vi khuẩn Gram dương, một số vi khuẩn Gram âm, một số virus bao phủ, nấm men. Trong đó, hoạt động kháng khuẩn phụ thuộc vào độ dài thay đổi của chuỗi n-alkyl. Được biết dodexylbenzyl dimethyl ammoni chloride (C12) có hiệu quả nhất đối với nấm men và nấm, tetradexylbenzyl dimethyl ammoni chloride (C14) chống lại vi khuẩn Gram dương và hexadexylbenzyl dimethyl ammoni chloride (C16) chống lại vi khuẩn Gram âm. Các hợp chất này thường không được sử dụng như các thành phần đơn lẻ, mà là các hỗn hợp bao gồm hai hoặc ba thành viên benzalkonium chloride khác nhau về chiều dài của các chuỗi alkyl [46].

Bảng 3. Nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn (MIC) và nồng độ tối thiểu diệt khuẩn (MBC) của BKC đối với một số chủng vi khuẩn [47]

Chủng vi khuẩn		MIC (mg/l)	MBC (mg/l)
Vi khuẩn Gram dương	<i>S. aureus</i>	40	45
	<i>L. monocytogenes</i>	30	35
	<i>B. cereus</i>	140	160
Vi khuẩn Gram âm	<i>S. typhimurium</i>	80	100
	<i>E. coli</i>	40	45
	<i>P. aeruginosa</i>	60	80

Vào tháng 11 năm 2020, Tạp chí Journal of Hospital Infection đã công bố một nghiên cứu về BKC, người ta phát hiện ra rằng các chất khử trùng trong phòng thí nghiệm và thương mại với nồng độ 0,13% BKC đã làm bất hoạt virus SARS-CoV-2 trong vòng 15 giây sau khi tiếp xúc, ngay cả trong đất hoặc nước cứng. Sử dụng BKC làm chất khử trùng tay có lợi hơn so với ethanol trong một số trường hợp vì nó có tác dụng kháng khuẩn lưu lại trên da nhiều lâu hơn đáng kể sau lần sử dụng đầu tiên [48].

Do có hoạt tính kháng khuẩn, BKC được ứng dụng rộng rãi trong các hoạt động sinh hoạt, y tế, nông nghiệp...

Ứng dụng trong hoạt động sinh hoạt

- Trong hoạt động sinh hoạt, BKC là thành phần tích cực trong các sản phẩm chăm sóc cá nhân như nước rửa tay, khăn ướt, dầu gội đầu, xà phòng, chất khử mùi và mỹ phẩm. BKC cũng được sử dụng trong chất tẩy rửa sàn

nhà và các bề mặt cứng với vai trò chất khử trùng, chẳng hạn như bình xịt và khăn lau kháng khuẩn Lysol và Dettol.

Ứng dụng trong nông nghiệp

- Trong chăn nuôi, BKC đã được đưa vào sử dụng trong nghề nuôi ong, do thành phần này có công dụng điều trị bệnh thối nhũn của đàn ong. BKC có khả năng tiêu diệt nấm, vi khuẩn protozoa và một số loại virus nên được sử dụng rộng rãi trong ngành chăn nuôi thủy sản. Người ta dùng BKC để khử ấu trùng trong bể ao trong sản xuất giống và nuôi thương phẩm. Trong nuôi tôm, BKC có tác dụng khống chế sự phát triển của tảo vì vậy được dùng trong hồ nuôi tôm. Ở liều thấp cũng có thể giúp tôm lột xác.



Hình 5. Chế phẩm BKC 80 xử lý nước ao hồ nuôi tôm

Ứng dụng trong y tế

Trong y tế BKC được dùng làm thành phần của các sản phẩm dược phẩm như thuốc xịt, nhỏ tai mũi và mắt; thuốc sát trùng ngoài da và thuốc xịt rửa vết thương, chẳng hạn như Bactine. Trong nước súc miệng, viên ngậm họng thì BKC cũng đóng vai trò như một chất diệt khuẩn.



Hình 6. Một loại thuốc nhỏ mắt chứa thành phần BKC

BKC được sử dụng trong thành phần của thuốc nhỏ mắt do vừa có tác dụng sát khuẩn vừa có tính hoạt động bề mặt có tác động làm tăng tính thấm của giác mạc đối với dược chất trong thuốc nhỏ mắt, tăng khả năng hấp thu dược chất qua giác mạc. Thành phần BKC trong thuốc nhỏ mắt thường có nồng độ 0,01 - 0,02% (có khoảng 60% các thuốc nhỏ mắt lưu hành trên thị trường có chất sát khuẩn này). Thông thường, nó được sử dụng phối hợp với các tá dược bảo quản hoặc các chất hiệp đồng như dinatri edetate với nồng độ 0,1% (khối lượng/ thể tích) để tăng cường khả năng ức chế sự phát triển của các chủng vi khuẩn.

BKC cũng được sử dụng làm thành phần trong một sản phẩm viên ngậm trị đau họng với liều lượng 0,5 - 1 mg/viên và bổ sung một số tá dược phù hợp. Thuốc được sử dụng cho cả trẻ em và người lớn, được dùng trong các trường hợp điều trị nhiễm khuẩn đường miệng, họng. Nhóm tác giả J. Palm và các cộng sự (2018) đã nghiên cứu so sánh hiệu quả và độ an toàn của sự kết hợp 0,5mg tyrothricin, 1,0mg BKC và 1,5 mg benzocaine trong viên ngậm (thuốc nghiên cứu được bán trên thị trường dưới tên Dorithricin®) với liều lặp lại trong 3 ngày để phù hợp với viên ngậm giả dược trong điều trị viêm họng cấp ở người lớn. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy lợi ích đáng kể của thuốc nghiên cứu so với giả dược trong điều trị viêm họng cấp tính. Viên ngậm (0,5 mg tyrothricin, 1,0 mg BKC và 1,5 mg benzocain) mang lại hiệu quả cao trong việc giảm đau họng dữ dội cũng như khó nuốt liên quan đến viêm họng cấp tính và thuyên giảm hoàn toàn trong vòng 72 giờ. Phối hợp ba hoạt chất là một lựa chọn phù hợp cho bệnh nhân trong việc tự điều trị viêm họng cấp và viêm họng hạt [49].

1.2.3. Vấn đề độc tính của BKC

Độc tính của BKC đối với con người và các động vật khác đã được mô tả trong nhiều tài liệu, tuy nhiên các kết luận trái ngược nhau nảy sinh từ sự khác biệt về điều kiện thí nghiệm. Trong một số nghiên cứu, BKC được biết đến là chất gây kích ứng da, cũng có những báo cáo (hiếm hơn) BKC là chất gây dị ứng (chất gây mẫn cảm da). Về dữ liệu độc tính cấp tính, BKC được EPA phân loại là độc tính loại II theo đường uống và đường hô hấp và độc tính loại III qua đường da. Tác dụng gây độc gen nhỏ nhưng đáng kể ở cả tế bào thực vật và động vật đã được quan sát thấy trong ống nghiệm đối với nồng độ BKC 1 mg/lít [50-52].

Ngược lại, một số báo cáo cho thấy BKC được coi là an toàn. Một báo cáo của EPA (2006) đã không công nhận BKC là chất gây ung thư, gây đột biến hoặc gây độc gen [53]. Về việc bổ sung chúng vào các sản phẩm xịt mũi,

Marple và các cộng sự đã xem xét các nghiên cứu từ 18 tài liệu cho thấy không có mối lo ngại lớn nào về an toàn khi BKC được sử dụng ở nồng độ từ 0,00045% đến 0,1% [54]. Một đánh giá gần đây về độ an toàn của BKC trong các sản phẩm mỹ phẩm [55] coi việc sử dụng chúng là an toàn, dựa trên tính toán biên độ an toàn (MOS), xem xét nồng độ BKC trong sản phẩm, tần suất sử dụng, số lượng và ước tính các thông số như mức độ tác dụng phụ không quan sát được và tỷ lệ hấp thụ qua da. Đối với ứng dụng cụ thể của BKC trong dung dịch nhãn khoa, một nghiên cứu do Phòng thí nghiệm Alcon tài trợ đã kết luận rằng không có sự khác biệt về mặt an toàn giữa những dung dịch có hoặc không có bổ sung BKC [56].

Bảng 4. Liều lượng gây độc (LD50) của BKC với chuột thí nghiệm qua các đường tiếp xúc khác nhau [57]

Sinh vật	Lộ trình tiếp xúc	Liều lượng (LD50) (*)
Chuột	Tiêm tĩnh mạch	13,9 mg/kg
Chuột	Miệng	240 mg/kg
Chuột	Trong phúc mạc	14,5 mg/kg
Chuột	Dưới da	400 mg/kg

(*) LD50: liều lượng của hoá chất phơi nhiễm trong cùng một thời điểm, gây ra cái chết cho 50% (một nửa) của một nhóm động vật dùng thử nghiệm.

Về khía cạnh độc tính ở người, liều lượng được cho là gây tử vong là 100 - 400 mg/kg BKC dùng qua đường uống hoặc 5 - 15 mg/kg BKC dùng qua đường tiêm. Các nghiên cứu cũng chứng minh rằng nồng độ BKC lên tới 0,1% là an toàn để sử dụng làm chất chống vi trùng. BKC thường được sử dụng kết hợp với các hợp chất amoni bậc bốn khác và ở nồng độ làm việc nhỏ [58]. Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã xếp BKC vào loại hoạt chất khử trùng loại III (các thành phần được phân loại là loại III khi dữ liệu hiện có không đủ để phân loại là an toàn và hiệu quả và cần phải thử nghiệm thêm). Nồng độ tối đa sử dụng chúng là 0,1%, tại nồng độ thấp hơn sẽ an toàn và không gây kích ứng ban đầu trên da [59].

Bảng 5. Quy định về nồng độ Benzalkonium chloride (BKC) cho phép trong sản phẩm thương mại ở một số quốc gia/khu vực [47]

Sản phẩm	Quốc gia/Khu vực	Nồng độ BKC tối đa cho phép
Thuốc nhãn khoa	Hoa Kỳ	0,003 - 0,02%
Dầu xả	Hoa Kỳ	0,5 - 2%
Nồng độ BKC được khuyến nghị dùng sau khi pha loãng từ sản phẩm đặc 17%	Hoa Kỳ	0,03 - 0,2%
Mosquitocide	Hoa Kỳ	200 ppm
Các giới hạn của pháp luật đối với các nhà máy, thiết bị và dụng cụ chế biến thực phẩm	Hoa Kỳ	200 - 400 ppm
Chất khử trùng (Lysol)	Hoa Kỳ	0,1% (wt/vol)
Chất khử trùng trong các khu vực chế biến thực phẩm	Đan Mạch (trước năm 2016)	3%
Chất bảo quản	Đan Mạch (trước năm 2016)	0,10%
Chất bảo quản diệt khuẩn sinh học	Pháp/Anh (trước năm 2016)	< 2,5%
BKC tối đa được phép trong các sản phẩm thực phẩm theo quy định 1119/2014/ EU	Châu Âu	0,1 mg/kg

1.3. Tổng quan về hai loại vi khuẩn gây bệnh: *E.coli* và *Staphylococcus aureus*

1.3.1. Khuẩn *E.coli*

Escherichia coli (*E.coli*) được phát hiện lần đầu tiên bởi Theodore Escherich (1857-1911), một nhà vi khuẩn học người Áo, vào năm 1885. Chi *Escherichia* thuộc họ vi khuẩn đường ruột. Trong số các loài thuộc chi này, *E. coli* là vi khuẩn điển hình và đóng vai trò quan trọng nhất trong y học. *E. coli* đã được sử dụng trong các mô hình nghiên cứu sinh học phân tử trong lĩnh vực vi sinh học nói riêng và sinh học nói chung từ rất lâu. *E. coli* K19 là vi

khuẩn được sử dụng nhiều nhất trong các mô hình nghiên cứu. Nhiều thành tựu về di truyền và hóa sinh đã đạt được dựa trên nghiên cứu về vi khuẩn này.



Hình 7. Mô phỏng chủng vi khuẩn *E.coli*

E. coli là trực khuẩn Gram âm có kích thước trung bình từ 2 đến 3 micromet x 0,5 micromet; trong những điều kiện không thích hợp (ví dụ trong môi trường có kháng sinh) vi khuẩn có thể rất dài như sợi chỉ. Rất ít chủng *E. coli* có vỏ, nhưng hầu hết có lông và có khả năng di động.

E. coli là thành viên của hệ vi sinh bình thường của đường tiêu hóa và chiếm tỷ lệ cao nhất (khoảng 80%) trong số vi khuẩn hiếu khí. Tuy nhiên, *E. coli* cũng là vi khuẩn gây bệnh quan trọng, đứng đầu trong số các vi khuẩn gây tiêu chảy, nhiễm trùng đường tiết niệu, viêm đường mật và đứng đầu trong số các nguyên nhân gây nhiễm trùng huyết. *E. coli* là nguyên nhân phổ biến gây viêm màng não và viêm phổi ở trẻ sơ sinh. *E. coli* còn gặp trong nhiễm trùng phẫu thuật và nhiễm trùng bỏng. Theo báo cáo của Chương trình giám sát kháng thuốc quốc gia đối với các vi khuẩn gây bệnh thường gặp (1988-1994) thì ở nước ta, tỷ lệ phân lập được của vi khuẩn *E. coli* (tính chung tất cả các loại bệnh phẩm) đứng thứ hai sau *Staphylococcus Aureus* [60].

1.3.2. Khuẩn *Staphylococcus aureus*

Năm 1871, Recklinghausen đã thu được cầu khuẩn trong thận của những bệnh nhân chết vì nhiễm trùng máu. Năm 1880, Alexander Ogston chứng minh áp xe sinh mủ là do tụ cầu khuẩn, và Ogston được công nhận là người phát hiện và đặt tên cho tụ cầu khuẩn là *Staphylococcus* vào năm 1882. Năm 1884, Rosenbach đã nghiên cứu và đặt tên cho cầu khuẩn tạo khuẩn lạc màu vàng là *Staphylococcus pyrogen aureus*.



Hình 8. Mô phỏng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) là vi khuẩn gram dương, hình cầu, có đường kính khoảng 0,5 - 1,5 micromet. Nó có thể đứng một mình, theo cặp, thành chuỗi ngắn hoặc thành từng chùm không đều như chùm nho. Đây là loại vi khuẩn không di động, không hình thành bào tử, thường cư trú trên da và màng nhầy của người và động vật máu nóng. Khoảng 20 loài khác nhau thuộc chi *Staphylococcus* đã được ghi nhận [60].

S.aureus có khả năng tồn tại trên cơ thể động vật. Khi sức đề kháng yếu hoặc do da bị nhiễm vi khuẩn có độc lực cao sẽ gây ra mụn, sưng tấy trên da hoặc niêm mạc, gây loét, áp xe. Vi khuẩn gây bệnh bằng cách gây tổn thương trực tiếp đến các cơ quan của cơ thể, chẳng hạn như:

- Da: gây mụn nhọt, áp xe, viêm mô tế bào;
- Hệ hô hấp: viêm khí quản, viêm phổi hoại tử, áp xe phổi có thể dẫn tới biến chứng tràn khí màng phổi, tràn khí trung thất, tràn khí dưới da, viêm mũ màng phổi;
- Tim: viêm nội tâm mạc, tràn dịch màng ngoài tim;
- Não: viêm màng não mủ;
- Xương: viêm tuỷ xương, viêm khớp;
- Máu: gây các bệnh do nhiễm trùng máu hoặc do tiết độc tố gián tiếp, gây viêm da tróc vảy hoặc hội chứng sốc nhiễm độc, đặc biệt là *S.aureus* còn tiết ra 6 loại enterotoxin khác nhau (enterotoxin A, B, C, D, E, F). Những chất độc này ổn định nhiệt (có thể chịu được nhiệt độ sôi trong hơn 30 phút) và không bị ảnh hưởng bởi enzyme đường ruột nên một khi thực phẩm bị nhiễm các chất độc này, việc nấu nướng hoặc hâm nóng đều trở nên vô ích. Khi vi

khuẩn phát triển trên thực phẩm chứa nhiều đường và protein (thịt, sữa, bánh ngọt) chúng sẽ tiết ra nhiều độc tố ruột hơn. Tác dụng gây nôn là kết quả sự kích thích trung tâm ói mửa của hệ thần kinh trung ương sau khi độc tố tác động trên thụ thể thần kinh trong ruột.

CHƯƠNG 2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

2.1.1. Hóa chất

- Muối bạc nitrat (AgNO_3), độ tinh khiết $\geq 99,99\%$, Trung Quốc;
- Benzalkonium chloride dạng lỏng, độ tinh khiết $\geq 95,0\%$, Trung Quốc;
- Chất khử Sodium borohydride NaBH_4 , độ tinh khiết $\geq 99,99\%$, Trung Quốc;
- Chủng vi khuẩn: *Escherichia coli* (*E.coli*, ATCC 25922); *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*, ATCC 25923) được cung cấp bởi Viện Công nghệ sinh học;
- Môi trường PCA, Sigma;
- Glycerol, Sigma;
- Muối NaCl , Merck;
- Nước cất 2 lần;
- Dung dịch BKC thương mại
- Dung dịch nano bạc thương mại

2.1.2. Dụng cụ, thiết bị:

- Cốc thủy tinh các dung tích khác nhau;
- Bóp cao su;
- Cân phân tích có độ chính xác $\pm 0,001$;
- Máy khuấy đĩa;
- Tủ ủ ẩm duy trì ở 37 ± 2 °C (99 ± 4 °F);
- Đèn cồn;
- Bể ổn nhiệt duy trì ở $45-50$ °C ($113-122$ °F);
- Pipet: 10-1000 μL ;
- Ống nuôi cấy có nắp dung tích tối thiểu 10 mL;
- Đĩa Petri, kích cỡ 90 mm x 15 mm, vô trùng;
- Kẹp, que cấy vô trùng;
- Kính hiển vi, độ phóng đại tối thiểu 40X;
- Thước;
- Găng tay vô trùng;
- Máy Vortex mixer;

- Máy quang phổ UV-VIS hai chùm tia Hitachi UH-5300 tại Viện Công nghệ môi trường (Viện CNMT) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;
- Máy phân tích cỡ hạt nano và thế zeta HORIBA SZ-100 tại Viện Công nghệ môi trường (Viện CNMT) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;
- Kính hiển vi điện tử truyền qua phân giải cao (HR-TEM): JEM2100 (Jeol, Nhật Bản) tại Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;
- Máy tiệt trùng, nồi hấp khử trùng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride (BKC)

2.2.1.1. Tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC

Các hạt nano bạc được tổng hợp bằng phương pháp hóa học. Nguyên tắc của phương pháp này là khử ion Ag^+ để đưa các ion này về nguyên tử không mang điện Ag^0 . Theo phương pháp này, các chất sử dụng gồm nguyên liệu đầu vào chứa ion Ag^+ như Ag_2SO_4 , $AgNO_3$ hay $AgClO_4$, và chất khử như muối citrate, borohydride, ascorbic acid, glucose, ethylene glycol hay dung dịch chiết từ thực vật [61]. Trong luận văn này nano bạc được tổng hợp theo quy trình hóa học được sử dụng phổ biến tại Viện Công nghệ môi trường, cụ thể nguồn ion bạc sẽ là muối nitrate bạc ($AgNO_3$), chất khử được sử dụng là natri borohydride ($NaBH_4$). Để lựa chọn hàm lượng chất ổn định (BKC) tối ưu đưa vào hệ phản ứng, tiến hành thí nghiệm với các tỷ lệ giữa khối lượng chất ổn định và ion bạc khác nhau.

Cách tiến hành:

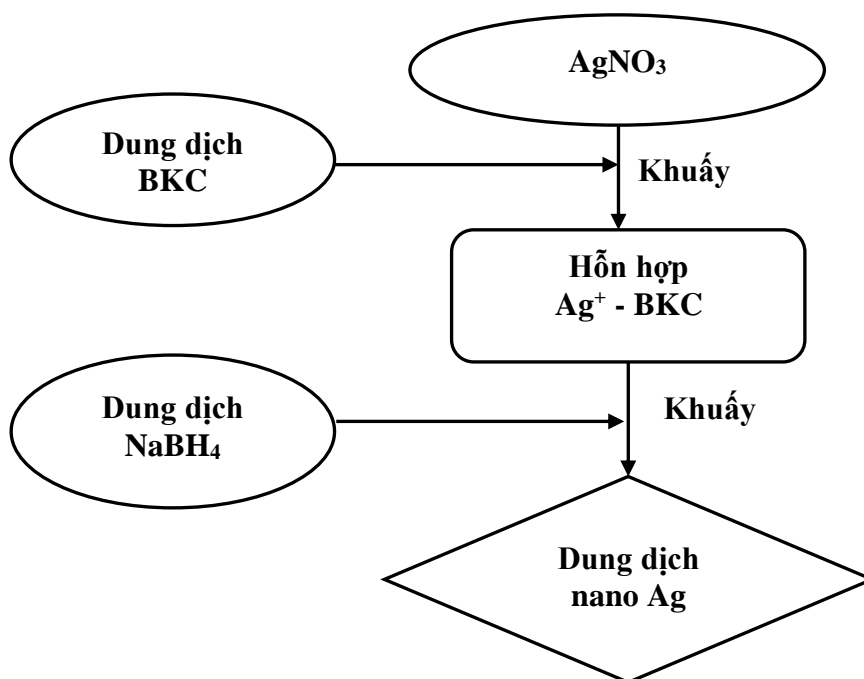
Chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride (BKC) được tổng hợp bằng phương pháp khử hóa học như được mô tả ở trên hình 9 gồm các bước chính sau:

Bước 1: Hòa tan muối bạc nitrat vào nước cất. Tùy từng mẫu thí nghiệm, pha muối bạc để được dung dịch có nồng độ 100-1000 ppm tính theo Ag^+ (1000 ppm tương đương 1,575g $AgNO_3$ /L dung dịch).

Bước 2: Bổ sung benzalkonium chloride (BKC) vào dung dịch đã chuẩn bị ở bước 1. Nồng độ BKC đưa vào dao động trong khoảng 100-5000 ppm tùy từng mẫu thí nghiệm. Khuấy trộn đều trong thời gian 30 phút.

Bước 3: Nhỏ từ từ dung dịch NaBH_4 vào dung dịch hỗn hợp $[\text{Ag}^+ - \text{BKC}]$ đã chuẩn bị. Số mol NaBH_4 thêm vào gấp 1-4 lần so với số mol AgNO_3 , tương đương với 0,035-1,4 g/L. Ngay sau khi nhỏ dung dịch NaBH_4 , dung dịch trong cốc chuyển sang màu vàng và trở nên sẫm màu. Tốc độ khuấy trong quá trình tổng hợp của tất cả các mẫu ~ 1200-1500 rpm.

Dung dịch nano bạc thu được được chuyển vào chai mẫu màu nâu và được giữ ở điều kiện phòng để phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 9. Sơ đồ quy trình tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride

2.2.1.2. Phương pháp đánh giá một số đặc trưng hóa lý của chế phẩm nano bạc tổng hợp được

* Phương pháp UV-VIS

Phổ tử ngoại-khả kiến UV-Vis (Ultraviolet-Visible) là phương pháp phân tích sử dụng phổ hấp thụ hoặc phản xạ trong phạm vi vùng cực tím cho tới vùng ánh sáng nhìn thấy được. Vùng tử ngoại có bước sóng từ 200 - 400 (nm), vùng khả kiến có bước sóng từ 400 – 800 (nm). Nguyên tắc của phương pháp là cho chùm ánh sáng có độ dài bước sóng xác định trong vùng khả kiến (Vis) hay trong vùng tử ngoại gần (UV) đi qua vật thể hấp thụ (thường dạng dung dịch). Dựa vào lượng ánh sáng đã bị hấp thụ bởi dung dịch mà suy ra nồng độ (hàm lượng) của dung dịch đó.

Cộng hưởng plasmon là dao động cộng hưởng của các electron khi một plasmon bề mặt bị kích thích ở tần số cộng hưởng của nó bởi sóng điện từ bên

ngoài (trong trường hợp cấu trúc kim loại kích thước nano, nó được gọi là cộng hưởng plasmon cục bộ). Hiệu ứng này làm cơ sở cho nhiều công cụ để đo sự hấp phụ của một vật liệu trên bề mặt kim loại, được đặc trưng bởi hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt (Surface plasmon cộng hưởng – SPR). Các hạt nano kim loại đều thể hiện hiệu ứng cộng hưởng plasmon. Tuy nhiên, nano bạc là loại vật liệu có tương tác với ánh sáng mạnh nhất. Cực đại hấp thụ của dung dịch nano bạc thường nằm trong khoảng 400-420 nm [62].

Phổ UV-Vis cho phép xác định đỉnh hấp thụ cực đại. Từ đỉnh hấp thụ đặc trưng có thể khẳng định dung dịch điều chế được là dung dịch nano bạc. Từ độ dịch chuyển của các đỉnh hấp thụ cực đại, có thể dự đoán được sự tăng hoặc giảm kích thước hạt nano bạc trong dung dịch sau quá trình tổng hợp.

Trong luận văn này, hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt của hạt nano bạc được xác định bằng phương pháp phổ UV-Vis. Các phép đo được thực hiện trên máy quang phổ UV-VIS hai chùm tia Hitachi UH-5300 tại phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ môi trường (Viện CNMT) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

** Phương pháp đo kích thước hạt trung bình*

Một trong những kỹ thuật được sử dụng phổ biến trong việc xác định kích thước hạt có kích thước nano là tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering-DLS) vì phương pháp này dễ tiến hành, không cần công đoạn xử lý mẫu phức tạp như các phương pháp hiển vi điện tử, thời gian cần thiết để đo mẫu không dài và độ lặp lại kết quả tương đối tốt.

Phương pháp tán xạ ánh sáng động xác định kích thước tiểu phân dựa trên sự tán xạ ánh sáng laze khi các tiểu phân chuyển động Brown trong môi trường phân tán. Các tiểu phân có kích thước nhỏ chuyển động nhanh hơn so với những tiểu phân có kích thước lớn. Do đó, kích thước tiểu phân trực tiếp ảnh hưởng đến tốc độ chuyển động của chúng. Trong phương pháp tán xạ ánh sáng động, khi chiếu một chùm ánh sáng laze đi qua mẫu cần đo, các tiểu phân trong mẫu chuyển động Brown và gây ra hiện tượng tán xạ ánh sáng theo các hướng khác nhau. Ánh sáng tán xạ được phát hiện và ghi nhận bởi detector ở một góc nhất định (các thiết bị thường thu nhận ánh sáng tán xạ ở góc 90° và 173°). Cường độ ánh sáng khuếch tán được dùng để tính kích thước trung bình theo cường độ (Z-avergae) thông qua hệ thức Stokes – Einstein.

$$D = \frac{KT}{6\eta\pi r}$$

Trong đó D: tốc độ khuếch tán

K: hằng số Boltzman

T: Nhiệt độ

η : độ nhớt của môi trường

r: bán kính tiểu phân

Phương trình Stoke-Einstein được phát triển dựa trên giả thuyết các tiểu phân có thể chất rắn và hình cầu. Độ chính xác và độ lặp lại kết quả đo bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như: khoảng phân bố kích thước tiểu phân của hệ, count rate, độ nhớt... Trong đó, count rate là đại lượng chỉ số lượng photon đến detector trong một đơn vị thời gian bằng một giây, theo quy định của thiết bị đo sử dụng trong nghiên cứu, count rate yêu cầu nằm trong khoảng 100-500 keps. Count rate của mẫu đo phụ thuộc vào tỉ lệ pha loãng mẫu [63].

Trong luận văn này kích thước hạt trung bình được đo trên máy phân tích cỡ hạt nano và thế zeta HORIBA SZ-100 tại phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ môi trường (Viện CNMT) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

* Phương pháp đo thế zeta

Thế zeta là sự chênh lệch thế giữa bề mặt trượt (shear surface, hoặc lớp tích điện liên kết chặt với bề mặt) và vùng trung tính của dung dịch bên ngoài.

Nguyên tắc cơ bản của việc đo thế zeta dựa trên tần số chuyển động của hạt nano trong vùng điện trường quan sát được nhờ nhiễu xạ tia laser. Khi đặt một điện trường lên hệ, tiểu phân sẽ di chuyển về phía điện cực trái dấu với vận tốc tỷ lệ với thế zeta. Thế zeta được xác định dựa vào độ nhớt môi trường và định luật Smoluchowski – Huckel. Trong thực nghiệm, hệ phân tán nano có giá trị tuyệt đối của thế zeta giữa 30 và 60 mV sẽ tạo sự ổn định tĩnh điện học nhờ lực đẩy giữa các tiểu phân nano tích điện cùng dấu, nếu giá trị này từ 5 đến 15 mV sẽ giới hạn độ bền vững của hệ phân tán, thế zeta từ 3 đến 5 mV thường xuất hiện các hiện tượng không bền. Do đó, thế zeta là một công cụ quan trọng để tìm hiểu trạng thái bề mặt của các tiểu phân nano, giúp dự đoán độ ổn định dài hạn của các tiểu phân nano [64].

Thế zeta có liên quan với khả năng di động điện tích (electrophoretic mobility) thông qua phương trình Henry:

$$U_E = 2\varepsilon Zf(Ka)/3\eta$$

Trong đó: U_E là khả năng di động điện tích;

Z : thế zeta;

ϵ : hằng số điện môi;

η : độ nhớt;

$f(Ka)$ là hàm số Henry.

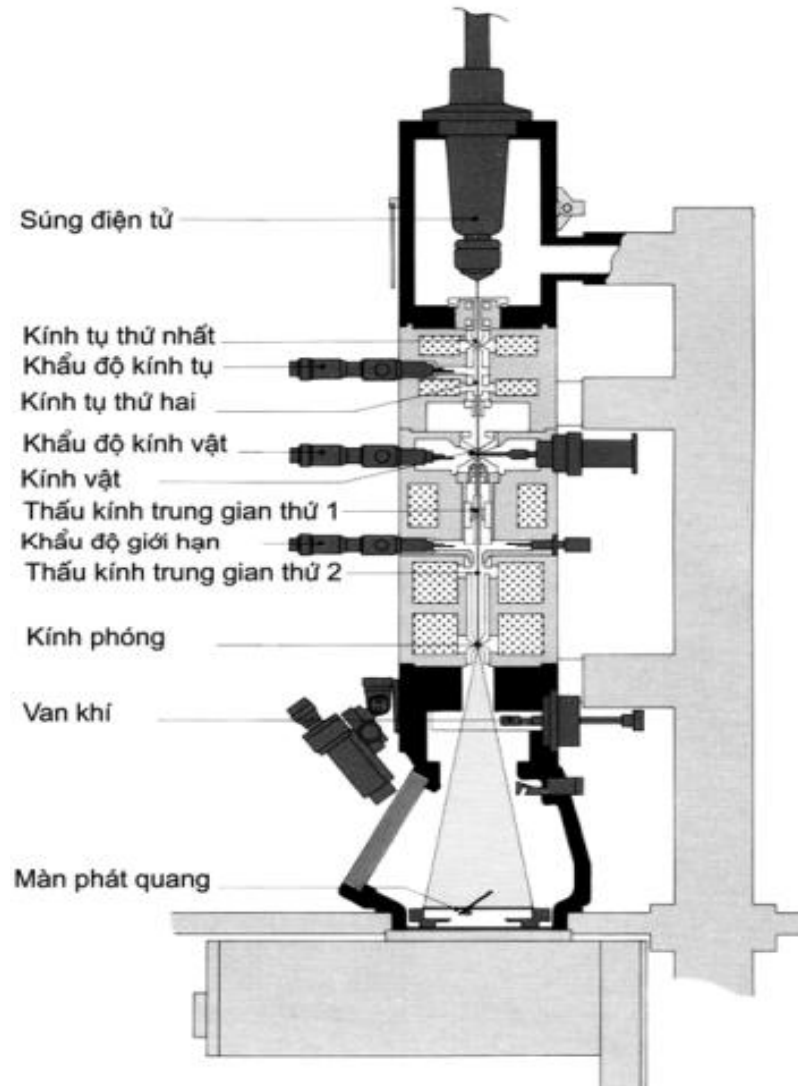
Thế zeta được đo trên máy phân tích cỡ hạt nano và thế zeta HORIBA SZ-100 tại phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ môi trường (Viện CNMT) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

* *Hiển vi điện tử truyền qua (TEM)*

Kính hiển vi điện tử truyền qua (tiếng Anh: transmission electron microscopy, viết tắt: TEM) là một thiết bị nghiên cứu vi cấu trúc vật rắn, sử dụng chùm điện tử có năng lượng cao chiếu xuyên qua mẫu vật rắn mỏng và sử dụng các thấu kính từ để tạo ảnh với độ phóng đại lớn (có thể tới hàng triệu lần), ảnh có thể tạo ra trên màn huỳnh quang, hay trên film quang học, hay ghi nhận bằng các máy chụp kỹ thuật số.

Nguyên lý: Nguồn phát xạ trên đỉnh phát ra chùm điện tử, chùm này được tăng tốc trong môi trường chân không cao, sau khi đi qua tụ kính, chùm điện tử tác động lên mẫu mỏng. Tùy thuộc vào từng vị trí và loại mẫu mà chùm điện tử bị tán xạ ít hoặc nhiều. Mật độ điện tử truyền qua ngay dưới mặt mẫu phản ánh tình trạng của mẫu, hình ảnh được phóng đại qua một loạt các thấu kính trung gian và cuối cùng thu được trên màn huỳnh quang. Với độ phân giải cao cỡ 1 \AA , độ phóng đại từ 50x tới 1.500.000x, TEM đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu mẫu có kích thước nhỏ [64].

Cấu tạo chính của TEM là cột kính bao gồm các bộ phận: Súng điện tử, tụ kính, buồng đặt mẫu, hệ thống thấu kính tạo ảnh (kính vật, kính trung gian, kính phóng), buồng quan sát và bộ phận ghi ảnh. Cột kính có chân không cao, áp suất từ 10^{-5} - 10^{-6} torr. Hệ thống bơm chân không, hệ thống điện, điện tử, hệ thống điều khiển bằng máy tính là những bộ phận kèm theo để đảm bảo cho quá trình làm việc liên tục của phương pháp này. Đặc trưng cho phương pháp này là các thông số: Hệ số phóng đại M , độ phân giải δ và điện áp gia tốc U .



Hình 10. Sơ đồ mặt cắt kính hiển vi điện tử truyền qua [64]

Trong luận văn này, ảnh hiển vi điện tử truyền qua được chụp trên máy chụp ảnh hiển vi điện tử truyền qua phân giải cao (HR-TEM): JEM2100 (Jeol, Nhật Bản) tại Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.2. Phương pháp đánh giá khả năng diệt vi khuẩn của dung dịch chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride (BKC)

Nghiên cứu hiệu quả diệt vi khuẩn của dung dịch chế phẩm chứa nano bạc tổng hợp được trên các đối tượng là các chủng vi khuẩn gây bệnh để xác định được nồng độ nano bạc tối ưu của chế phẩm có tác dụng diệt trên 99,99% đối tượng vi khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Chủng vi khuẩn sử dụng để nghiên cứu là hai chủng gây bệnh điển hình ở người và động vật gồm chủng vi khuẩn Gram âm (-): *Escherichia coli* (*E.coli*, ATCC 25922) và chủng vi khuẩn Gram dương (+): *Staphylococcus*

aureus (*S.aureus*, ATCC 25923) được cung cấp bởi Viện Công nghệ Sinh học.

Các chủng vi khuẩn thí nghiệm được nuôi cấy tăng sinh trong phòng thí nghiệm, làm giàu đến mật độ $> 10^6$ cfu/ml. Phương pháp đánh giá khả năng diệt khuẩn của vật liệu được áp dụng theo AOAC 961 02 -2013.

Thí nghiệm được tiến hành với dải nồng độ nano bạc và các mức thời gian tiếp xúc khác nhau. Bên cạnh đó sử dụng đối chứng chứa nano bạc và BKC riêng lẻ ở cùng nồng độ.

Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu xác định nồng độ tối ưu của chế phẩm để diệt trên 99,99% các chủng vi khuẩn (*Escherichia coli*; *Staphylococcus*) gây bệnh điển hình trong điều kiện phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn hiện hành. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với các công thức sử dụng chế phẩm nano bạc ở các nồng độ (tính theo bạc) khác nhau. Nồng độ chế phẩm nano bạc thử nghiệm đánh giá khả năng kháng khuẩn được lựa chọn trên cơ sở nghiên cứu trước đó của Ansari và các cộng sự (2021) [65] như sau:

- CT1: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 0,5ppm (tính theo bạc)
- CT2: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 0,75ppm (tính theo bạc)
- CT3: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 1ppm (tính theo bạc)

Thí nghiệm 2: So sánh hiệu quả khử trùng của chế phẩm tổng hợp được với các thành phần riêng lẻ ở cùng nồng độ

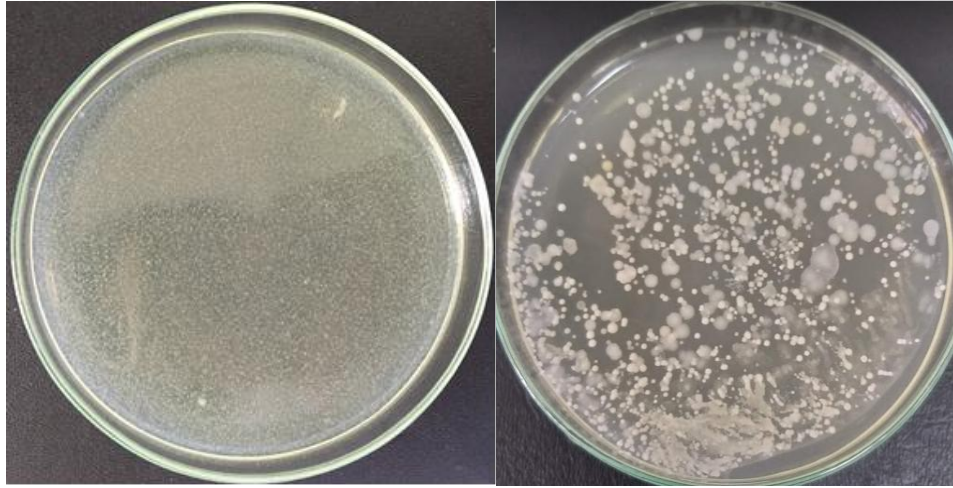
CT4: Dung dịch nano Bạc (cung cấp bởi viện Công nghệ môi trường nồng độ gốc 500ppm)

CT5: Dung dịch BKC

CT6: Chế phẩm Ag/BKC

Phương pháp thí nghiệm đánh giá khả năng diệt khuẩn của chế phẩm

- Chuẩn bị vi khuẩn: Các chủng vi khuẩn thí nghiệm được nuôi cấy tăng sinh trong phòng thí nghiệm, làm giàu đến mật độ $> 10^6$ CFU/ml



Hình 11. Vi khuẩn được lưu và tăng sinh trong phòng thí nghiệm

- Phương pháp đánh giá khả năng diệt khuẩn của vật liệu: Áp dụng theo AOAC 961 02 -2013
 - Pha loãng chế phẩm nano bạc đến nồng độ thử. Hút 9 ml chế phẩm vào ống nghiệm.
 - Thêm 1ml dịch vi khuẩn đã làm giàu vào ống nghiệm đựng 9ml chế phẩm.
 - Tính thời gian và vortex đều mẫu
 - Hút 1 ml mẫu vào đĩa petri. Đổ 10 – 15 ml môi trường, lắc đều và để nguội
 - Nuôi ủ các đĩa ở nhiệt độ 37°C
 - Sau 24 giờ nuôi cấy, đọc kết quả và so sánh
- Công thức tính hiệu lực:

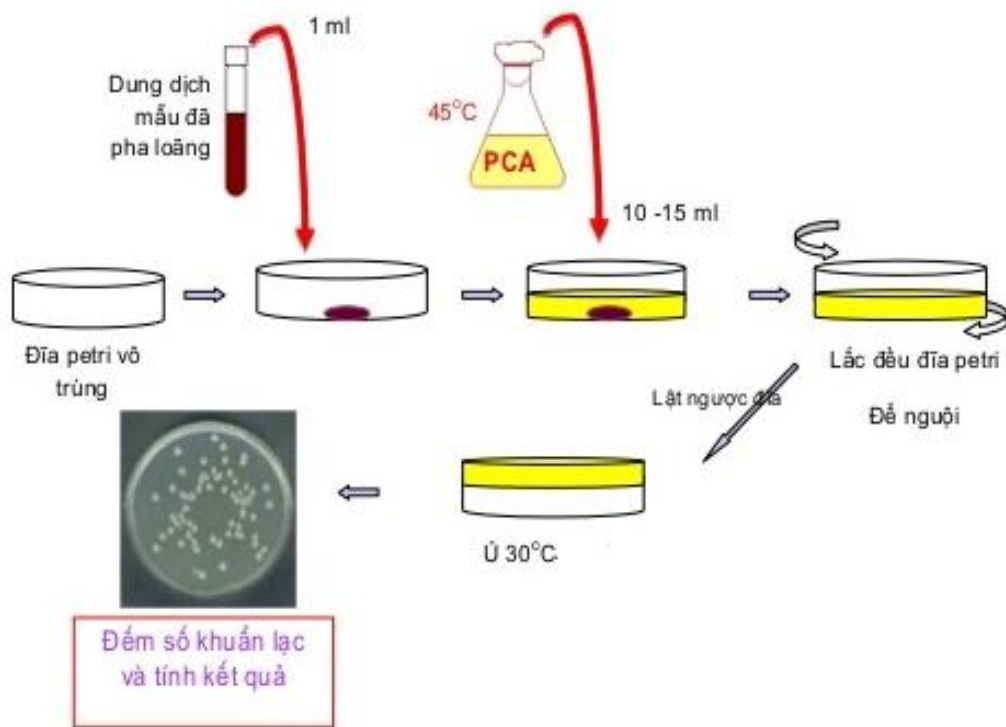
$$\%H = (1 - Dn/D) \cdot 100$$

Trong đó:

%H: hiệu suất diệt vi khuẩn (%)

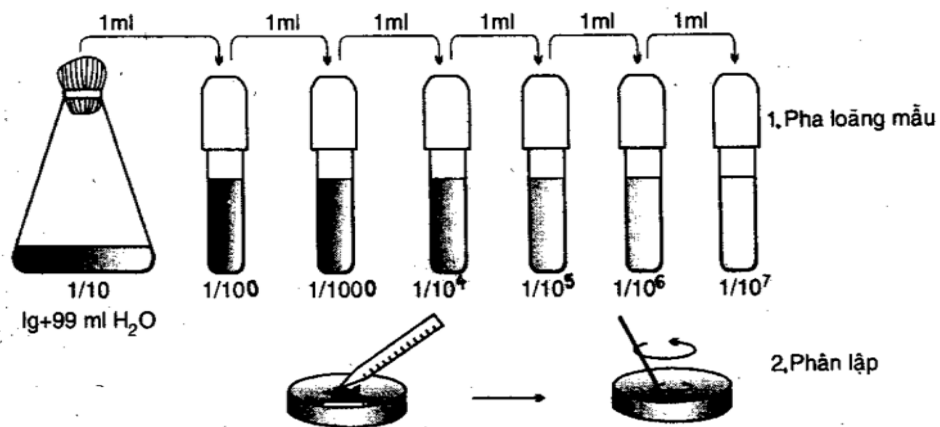
Dn: số khuẩn lạc trên đĩa thí nghiệm (CFU)

D: số khuẩn lạc ở đĩa đối chứng (CFU)



Hình 12. Quy trình thí nghiệm đánh giá khả năng kháng khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride

Lưu ý nếu vượt quá giới hạn đếm thì mẫu cần pha loãng và tiến hành các bước nuôi đếm như trên



Hình 13. Phương pháp pha loãng mẫu

Dùng pipet hút 1ml dịch trong ống nghiệm cho vào ống nghiệm thứ 2 có chứa 9ml nước cất vô trùng, lắc đều ta được dung dịch pha loãng 10^{-1} . Tiếp theo dùng pipet hút 1ml từ dung dịch 10^{-1} cho vào ống nghiệm có chứa sẵn 9 ml nước cất vô trùng lắc đều thu được dung dịch pha loãng 10^{-2} . Cứ tiếp tục như vậy cho đến khi thu được dung dịch pha loãng thích hợp thì dừng lại.

Mật độ tế bào vi sinh vật trong mẫu ban đầu tính từ số liệu của độ pha loãng Di được tính theo công thức sau:

$$M_i (\text{CFU/ml}) = \frac{A_i \times D_i}{V}$$

Trong đó: A_i là số khuẩn lạc trung bình/đĩa;

D_i là độ pha loãng;

V là dung tích huyền phù tế bào cho vào mỗi đĩa (ml).

2.2.3. Phương pháp phân tích, xử lý số liệu

- Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng Excel.
- Phương pháp phân tích số liệu: Sử dụng phương pháp thống kê mô tả, thống kê so sánh.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride

3.1.1. Kết quả tổng hợp nano bạc

Có nhiều phương pháp khác nhau để điều chế nano bạc nhằm tạo ra các chế phẩm hay vật liệu chứa nano bạc có tính kháng khuẩn như phương pháp phun phủ vật lý (bốc hơi chân không, phủ plasma hồ quang, plasma ion (ion plasma deposition), phún xạ...), phương pháp hóa học dung dịch nước, phương pháp mixen đảo trong dung môi hữu cơ, phương pháp điện phân... Tuy nhiên, phương pháp dung dịch nước được sử dụng rộng rãi do tính đơn giản của nó, trong đó phản ứng hình thành nano bạc được diễn ra trong một dung dịch đồng nhất chứa các thành phần tham gia ban đầu là các ion Ag^+ hòa tan cùng với chất chống tập hợp và tác nhân khử được thêm vào sau bằng cách nhỏ giọt. Để kiểm soát tốt quá trình tổng hợp, cần phải sử dụng dung môi là nước mới chưng cất, hoặc nước RO đã được đun nóng tới $80^{\circ}C$ để loại bỏ khí oxy.

Các mẫu dung dịch nano bạc được điều chế liệt kê trong bảng 6 (thể tích dung dịch là 1000mL):

Bảng 6. Các mẫu dung dịch nano bạc được tổng hợp

STT	Nồng độ bạc ban đầu (ppm)	Nồng độ chất ổn định BKC (ppm)	Khối lượng $NaBH_4$ (g)	Nhiệt độ ($^{\circ}C$)
M01	100	100	0,035	Nhiệt độ phòng
M02	100	200	0,035	Nhiệt độ phòng
M03	100	500	0,035	Nhiệt độ phòng
M04	100	1000	0,035	Nhiệt độ phòng
M05	100	5000	0,035	Nhiệt độ phòng
M06	200	100	0,07	Nhiệt độ phòng
M07	200	200	0,07	Nhiệt độ phòng
M08	200	500	0,07	Nhiệt độ phòng
M09	200	1000	0,07	Nhiệt độ phòng
M10	200	5000	0,07	Nhiệt độ phòng
M11	500	100	0,175	Nhiệt độ phòng
M12	500	200	0,175	Nhiệt độ phòng
M13	500	500	0,175	Nhiệt độ phòng
M14	500	1000	0,175	Nhiệt độ phòng
M15	500	5000	0,175	Nhiệt độ phòng
M16	1000	100	0,35	Nhiệt độ phòng
M17	1000	200	0,35	Nhiệt độ phòng
M18	1000	500	0,35	Nhiệt độ phòng

M19	1000	1000	0,35	Nhiệt độ phòng
M20	1000	5000	0,35	Nhiệt độ phòng
M21	100	100	0,07	Nhiệt độ phòng
M22	100	200	0,07	Nhiệt độ phòng
M23	100	500	0,07	Nhiệt độ phòng
M24	100	1000	0,07	Nhiệt độ phòng
M25	100	5000	0,07	Nhiệt độ phòng
M26	200	100	0,14	Nhiệt độ phòng
M27	200	200	0,14	Nhiệt độ phòng
M28	200	500	0,14	Nhiệt độ phòng
M29	200	1000	0,14	Nhiệt độ phòng
M30	200	5000	0,14	Nhiệt độ phòng
M31	500	100	0,35	Nhiệt độ phòng
M32	500	200	0,35	Nhiệt độ phòng
M33	500	500	0,35	Nhiệt độ phòng
M34	500	1000	0,35	Nhiệt độ phòng
M35	500	5000	0,35	Nhiệt độ phòng
M36	1000	100	0,70	Nhiệt độ phòng
M37	1000	200	0,70	Nhiệt độ phòng
M38	1000	500	0,70	Nhiệt độ phòng
M39	1000	1000	0,70	Nhiệt độ phòng
M40	1000	5000	0,70	Nhiệt độ phòng
M41	1000	100	1,4	Nhiệt độ phòng
M42	1000	200	1,4	Nhiệt độ phòng
M43	1000	500	1,4	Nhiệt độ phòng
M44	1000	1000	1,4	Nhiệt độ phòng
M45	1000	5000	1,4	Nhiệt độ phòng

Trong đó:

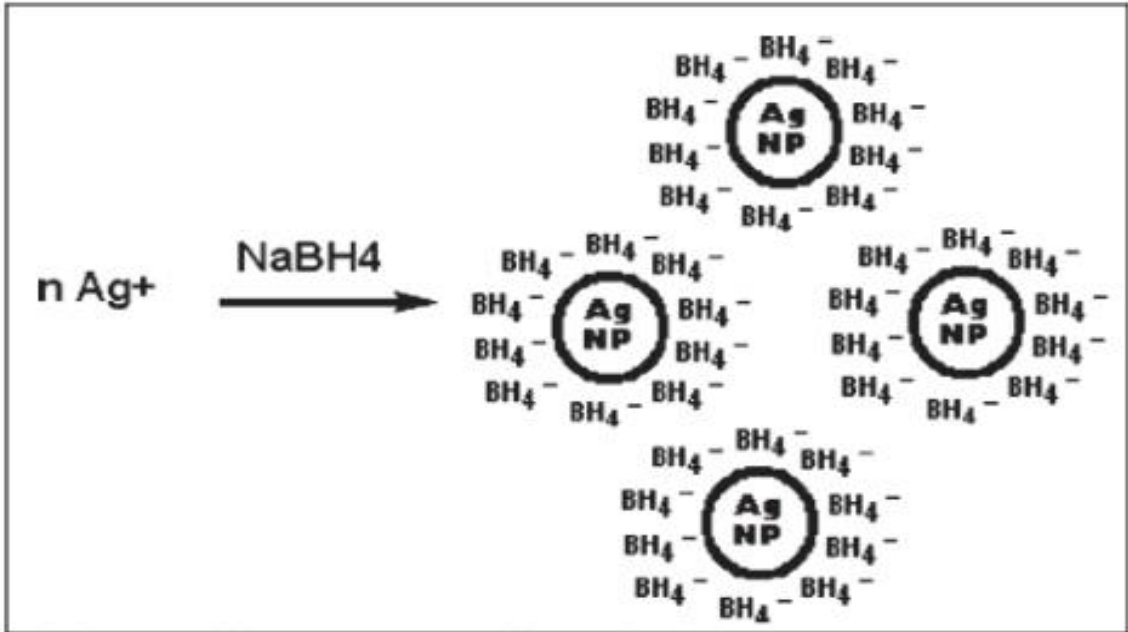
Các mẫu từ M01 – M20 tổng hợp với tỷ lệ $n_{\text{Ag}} : n_{\text{NaBH}_4} = 1:1$;

Các mẫu từ M21 – M40 tổng hợp với tỷ lệ $n_{\text{Ag}} : n_{\text{NaBH}_4} = 1:2$;

Các mẫu từ M41 – M45 tổng hợp với tỷ lệ $n_{\text{Ag}} : n_{\text{NaBH}_4} = 1:4$;

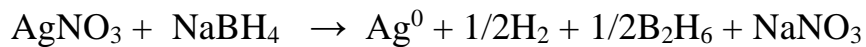
Tốc độ khuấy trong quá trình tổng hợp của tất cả các mẫu ~ 1200-1500 rpm.

Việc tổng hợp thử nghiệm theo tỷ lệ này dựa trên quan điểm sau: các ion BH_4^- được hấp phụ trên bề mặt các hạt nano bạc mới tạo thành, ngăn cản sự tập hợp của các hạt nano [61].



Hình 14. Các ion BH_4^- được hấp phụ trên bề mặt các hạt nano bạc [61]

Dung dịch muối AgNO_3 chuyển sang màu vàng ngay sau khi thêm dung dịch NaBH_4 chứng tỏ có khả năng hình thành các hạt nano bạc. Sự tạo thành các hạt nano bạc được giải thích bằng phản ứng khử ion Ag^+ với tác nhân khử là NaBH_4 như sau [61]:



Hình 15. Một mẫu dung dịch chứa nano bạc tổng hợp được

Dung dịch nano bạc thu được hoàn toàn đồng nhất và không có kết tủa. Màu của dung dịch nano bạc phụ thuộc vào nồng độ của muối bạc, nồng độ NaBH_4 và nồng độ BKC, màu sắc dung dịch nano bạc tổng hợp được thay đổi từ vàng nhạt đến nâu đậm. Sự thay đổi màu sắc của dung dịch nano bạc là do

phổ hấp thụ electron của các hạt nano bạc nằm trong khoảng từ 400 đến 490 nm. Dung dịch tối màu hơn quan sát được khi dung dịch NaBH_4 được thêm vào với nồng độ cao hơn là do nồng độ nano bạc tăng, tỷ lệ với cường độ hấp thụ, điều này đã được chứng minh trong các nghiên cứu trước đây [61,66].

3.1.2. Kết quả đánh giá một số đặc trưng hóa lý của chế phẩm nano bạc đã tổng hợp được

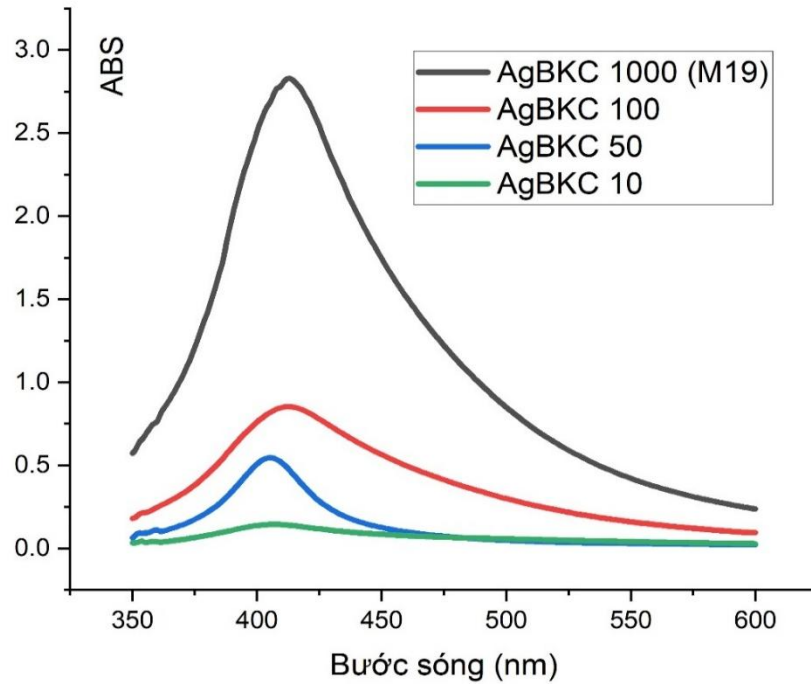
3.1.2.1. Phổ plasmon của các mẫu thu được

Trong bảng dưới đây (Bảng 7) liệt kê các giá trị các bước sóng tương ứng với cực đại hấp phụ của các mẫu tổng hợp được. Phép đo thực hiện trên máy Hitachi UV VIS 5300 tại phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ môi trường.

Bảng 7. Phổ hấp phụ plasmon của các dung dịch nano bạc điều chế được (WL = Wave Length = bước sóng)

STT	WL(nm)	STT	WL(nm)	STT	WL(nm)	STT	WL(nm)	STT	WL(nm)
M01	405	M11	412	M21	411	M31	414	M41	416
M02	405	M12	413	M22	411	M32	412	M42	417
M03	408	M13	412	M23	411	M33	412	M43	416
M04	410	M14	413	M24	412	M34	412	M44	416
M05	410	M15	410	M25	412	M35	412	M45	417
M06	412	M16	410	M26	410	M36	412		
M07	412	M17	414	M27	413	M37	412		
M08	413	M18	410	M28	414	M38	413		
M09	413	M19	414	M29	415	M39	413		
M10	409	M20	418	M30	417	M40	413		

Kết quả phân tích phổ UV-Vis (Bảng 7) của các mẫu dung dịch nano bạc tổng hợp được đều xuất hiện đỉnh cực đại hấp phụ (cực đại dao động plasmon) ở bước sóng 405 - 418 nm. Theo kết quả của các công trình nghiên cứu đã được công bố trước đó, cực đại hấp phụ của dung dịch nano bạc thường nằm trong khoảng 400-420 nm [66-68]. Kết quả này cho thấy trong tất cả các mẫu tổng hợp được đều có sự hình thành các hạt nano bạc. Điều này cũng thể hiện rằng, phương pháp tổng hợp chế phẩm nano bạc bằng khử hóa học trong dung dịch nước với chất khử NaBH_4 có thể ứng dụng được trong một khoảng biến thiên rộng của các thông số, bao gồm nồng độ muối bạc ban đầu, nồng độ chất ổn định, tỷ lệ chất oxy hóa và chất khử.

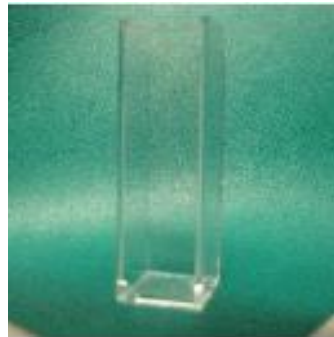


Hình 16. Phổ plasmon của mẫu M19 và các dung dịch pha loãng từ nó

Các đặc tính quang học của các hạt nano bạc phụ thuộc nhiều vào kích thước của hạt nano, khi kích thước hạt nano càng lớn thì bước sóng hấp thụ sẽ càng dài, nên làm giảm mật độ quang của dung dịch. Từ bước sóng hấp thụ cực đại của các mẫu nano bạc tổng hợp được và dựa theo nghiên cứu của Salem và các cộng sự (2012) [69] có thể dự đoán các hạt nano bạc tổng hợp được có dạng hình cầu kích thước khoảng 20-50 nm.

3.1.2.2. Kích thước hạt trung bình của các mẫu tổng hợp được

Kích thước hạt trung bình được đo trên máy HORIBA SZ100 theo phương pháp tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering – DLS), sử dụng cuvet nhựa trong suốt 4 mặt.



Hình 17. Cuvet nhựa để đo DLS

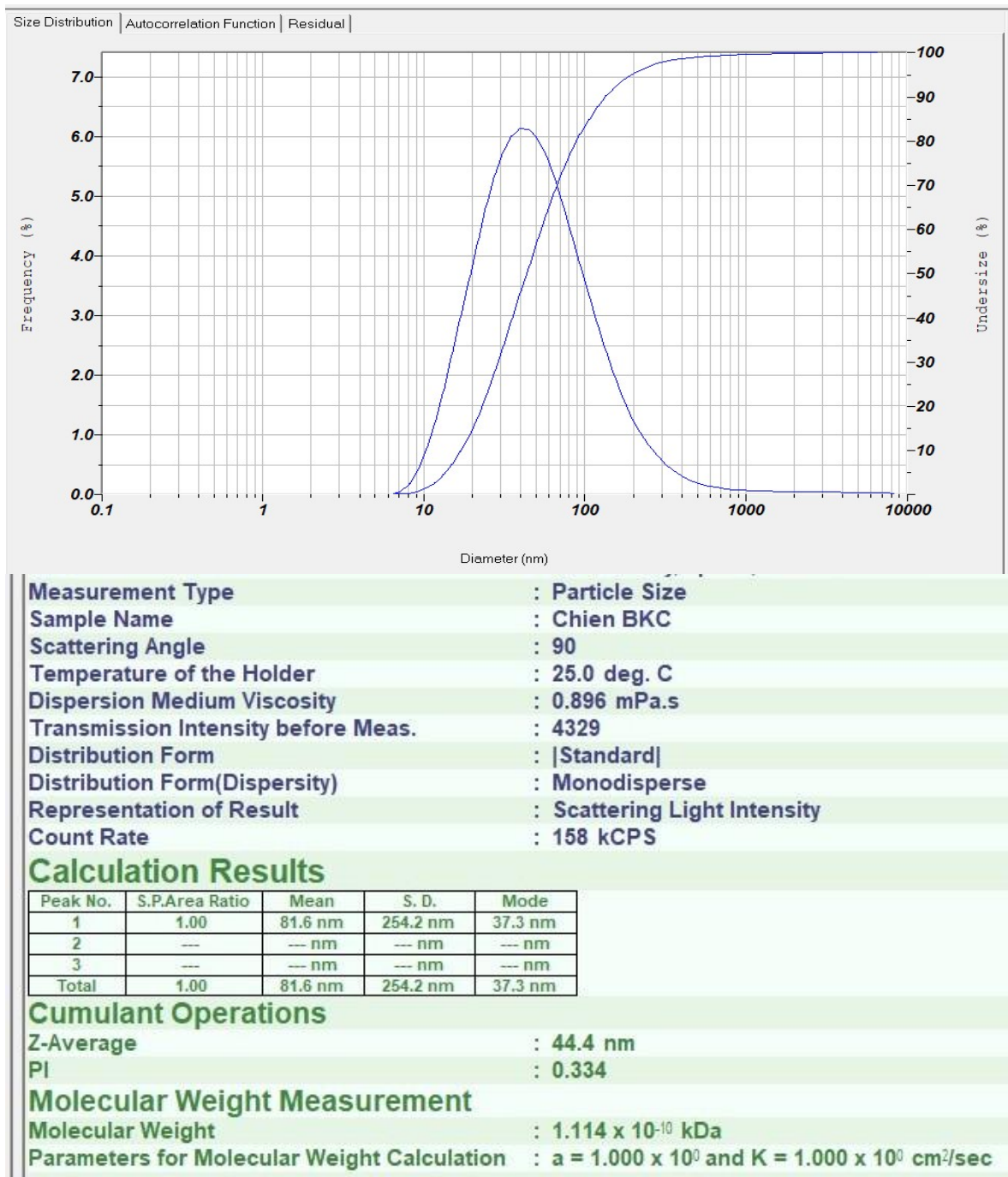
Trong bảng dưới đây (Bảng 8) liệt kê các giá trị kích thước hạt trung bình của các mẫu tổng hợp được. Phép đo thực hiện trên máy HORIBA SZ100 tại phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ môi trường.

Bảng 8. Kích thước hạt trung bình của các mẫu nano bạc tổng hợp được

STT	Kích thước trung bình (nm)	STT	Kích thước trung bình (nm)	STT	Kích thước trung bình (nm)
M01	38,7	M16	28,1	M31	41,4
M02	24,4	M17	44,1	M32	43,5
M03	33,3	M18	39,6	M33	41,2
M04	24,5	M19	44,4	M34	46,2
M05	27,2	M20	42,2	M35	40,2
M06	21,1	M21	42,3	M36	39,8
M07	27,3	M22	49,9	M37	47,2
M08	35,2	M23	29,2	M38	48,3
M09	34,3	M24	41,2	M39	41,3
M10	37,1	M25	40,7	M40	40,4
M11	38,5	M26	36,4	M41	57,2
M12	36,6	M27	33,1	M42	66,7
M13	29,7	M28	41,4	M43	70,1
M14	28,6	M29	39,5	M44	78,3
M15	33,3	M30	36,7	M45	65,2

Các kết quả trong bảng 8 thu được bằng phép đo tán xạ ánh sáng động với các mẫu nano bạc ngay sau thời điểm tổng hợp (**trong ngày**).

Các mẫu nano bạc tổng hợp được tại tỷ lệ số mol $\text{AgNO}_3 : \text{NaBH}_4$ là 1:1 và 1:2 đều cho kích thước hạt dưới 50 nm. Các mẫu tỉ lệ 1:4 có vẻ cho hạt có kích thước lớn hơn, kết quả thu được trùng với giải thích của các nhà khoa học tại công trình nghiên cứu [61] khi cho rằng: “Lượng sodium borohydride phải đủ để ổn định các hạt nano. Tuy nhiên, nếu quá nhiều chất này tham gia vào hệ sẽ làm tăng lực ion tổng thể của dung dịch, từ đó gây ra xu hướng tập hợp lại của các hạt nano”.



Hình 18. Kết quả đo kích thước hạt và phân bố kích thước hạt của mẫu M19

Sự khác biệt giữa kích thước các hạt nano bạc ở các nồng độ BKC khác nhau đã cho thấy tác dụng ổn định dung dịch nano bạc của BKC. Mẫu có nồng độ BKC thấp, điện tích dương của các hạt nano bạc cũng thấp, tạo điều kiện cho các hạt nano bạc kết tụ để tạo ra những hạt lớn hơn. Khi tăng nồng độ BKC, phân tử BKC tạo thành một lớp tăng cường ổn định các hạt nano bạc. Đối với nồng độ BKC quá cao, lớp BKC xung quanh các hạt nano bạc không thể hình thành một cách hiệu quả. Vì vậy, các hạt nano bạc không được bảo vệ cũng dẫn tới sự kết tụ [70].

3.1.2.3. Thế zeta của các mẫu tổng hợp được

Thế zeta – hay còn được gọi là “thế điện động” là sự chênh lệch điện thế trên “mặt phẳng trượt”; “mặt phẳng trượt” là bề mặt phân cách giữa môi trường phân tán và các phân tử bám dính trên bề mặt của vật rắn (ở đây là bề mặt hạt nano bạc).

Bảng 9. Giá trị thế zeta và độ bền của hệ phân tán [64]

Biên độ thế zeta (mV)	Hành vi của hệ phân tán
-5 ↔ +5	Nhanh chóng kết tụ, tạo bông
(-30 ↔ -10) và (+10 ↔ +30)	Hệ không ổn định
(-40 ↔ -30) và (+30 ↔ +40)	Hệ khá ổn định
(-60 ↔ -40) và (+40 ↔ +60)	Hệ ổn định tốt
< -61 và > +61	Độ ổn định rất cao

Thế zeta là đại lượng vật lý quan trọng bậc nhất thể hiện mức độ và đặc trưng tương tác giữa các hạt trong hệ keo. Đối với các hệ keo mà trong đó hạt hoặc các phân tử phân tán có kích thước đủ nhỏ, thì thế zeta sẽ là thước đo độ bền của hệ. Khi giá trị của thế zeta nhỏ, các lực hút chiếm ưu thế so với lực đẩy, các hạt có xu hướng kết tụ lại và độ bền của hệ bị phá vỡ. Khi thế zeta có trị số cao, các hạt có xu hướng đẩy nhau và duy trì độ bền của hệ. Nói một cách khác, các hệ keo có giá trị thế zeta lớn được gọi là “hệ bền điện”; còn các hệ keo có giá trị thế zeta nhỏ thường có xu hướng kết tụ lại với nhau.

Thế zeta của các mẫu tổng hợp được đo trên máy HORIBA SZ100 bằng phương pháp điện di, sử dụng cuvet nhựa chuyên dụng có điện cực than chì.



Hình 19. Cuvet nhựa có điện cực than chì để đo thế zeta

Trong bảng dưới đây liệt kê giá trị thế zeta của các mẫu tổng hợp được. Phép đo thực hiện trên máy HORIBA SZ100 tại phòng thí nghiệm của Viện Công nghệ môi trường.

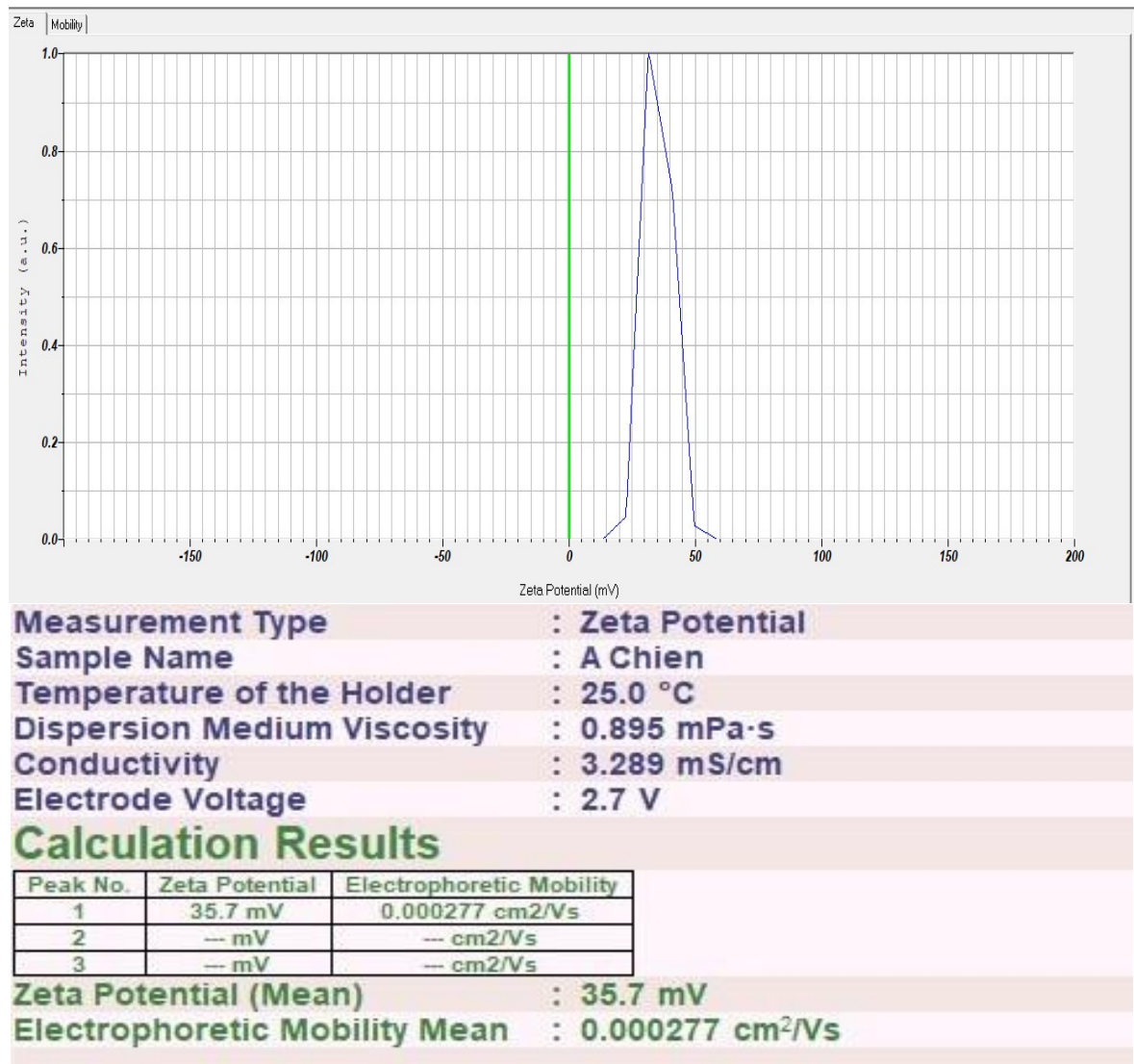
Bảng 10. Thế zeta của các mẫu tổng hợp được

STT	Thế ζ (mV)	STT	Thế ζ (mV)	STT	Thế ζ (mV)
M01	+18,7	M16	+29,1	M31	+31,4
M02	+20,4	M17	+21,1	M32	+28,5
M03	+24,3	M18	+31,6	M33	+25,2
M04	+28,5	M19	+35,7	M34	+26,2
M05	+39,2	M20	+46,2	M35	+40,2
M06	+17,1	M21	+32,3	M36	+29,8
M07	+26,3	M22	+38,9	M37	+27,2
M08	+26,2	M23	+27,2	M38	+28,3
M09	+27,3	M24	+37,2	M39	+31,3
M10	+39,1	M25	+39,7	M40	+39,4
M11	+33,5	M26	+36,4	M41	+27,2
M12	+31,6	M27	+36,1	M42	+26,7
M13	+29,7	M28	+31,4	M43	+30,1
M14	+28,6	M29	+29,5	M44	+28,3
M15	+42,3	M30	+41,7	M45	+35,2

Nhận xét:

- 1/ Tất cả các mẫu nano bạc tổng hợp được đều có thế zeta dương.
- 2/ Trị số thế zeta của các mẫu tổng hợp được đều khá cao, mẫu thấp nhất là mẫu M06 cũng đạt +17,1mV. Như vậy, với kết quả đo được thì thế zeta đạt được là khá tối ưu, khẳng định tính bền vững và ổn định của hệ dung dịch nano.
- 3/ Các mẫu M05; M10; M15; M20; M25; M30; M35; M40 và M45 có giá trị thế zeta rất cao. Đây là các mẫu sử dụng BKC ở nồng độ cao để bảo vệ hạt nano bạc được tạo thành (nồng độ BKC ~5000ppm). Tuy nhiên nhiều mẫu còn lại cũng vẫn có giá trị thế zeta nằm trong điều kiện ở bảng 9 (>30mV) mặc dù sử dụng ít BKC hơn. Trong thực tế sản xuất các chất khử trùng, sát

khuẩn sẽ đạt hiệu quả cao hơn khi các chất thành phần có nồng độ cao. Vì vậy, ưu tiên tiếp tục nghiên cứu các mẫu sử dụng nhiều BKC.



Hình 20. Kết quả đo thế zeta của mẫu M19

3.1.2.4. Kết quả đặc trưng bằng phương pháp TEM

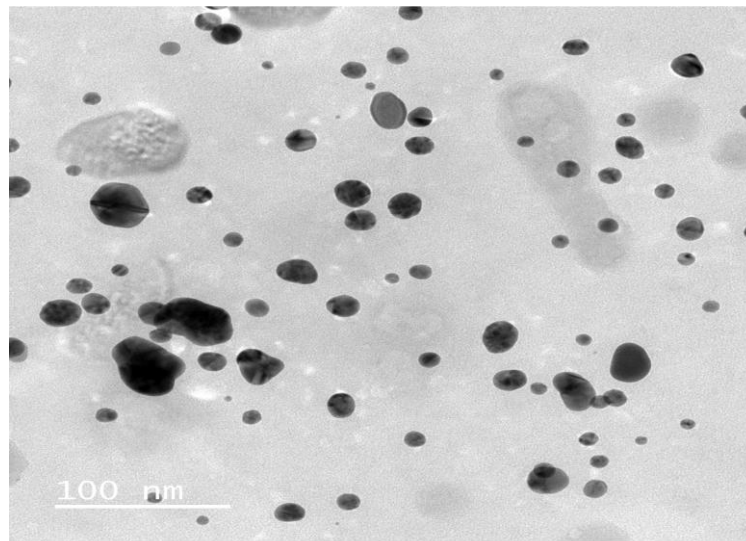
Để phân tích rõ hơn về hình thái cấu trúc các hạt nano bạc trong dung dịch thu được, mẫu dung dịch chứa nano bạc tiếp tục được phân tích bằng phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM).

Hình 21-23 là kết quả chụp TEM của mẫu tối ưu được lựa chọn từ quá trình khảo sát (Mẫu 15). Qua ảnh TEM cho thấy hạt nano bạc tổng hợp được có dạng hình cầu, kích thước khoảng từ 10-50 nm, kích thước này hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích DLS trước đó. Có thể nhận thấy các hạt nano phân bố đồng đều trong dung dịch và kích thước hạt cũng tương đối đồng đều, không bị co cụm. Kết quả này tương tự với kết quả đã được công bố

trong nghiên cứu Ansari và cộng sự khi tổng hợp nano bạc sử dụng BKC làm chất ổn định cũng thu được hạt nano bạc kích thước khoảng 30 nm [65].

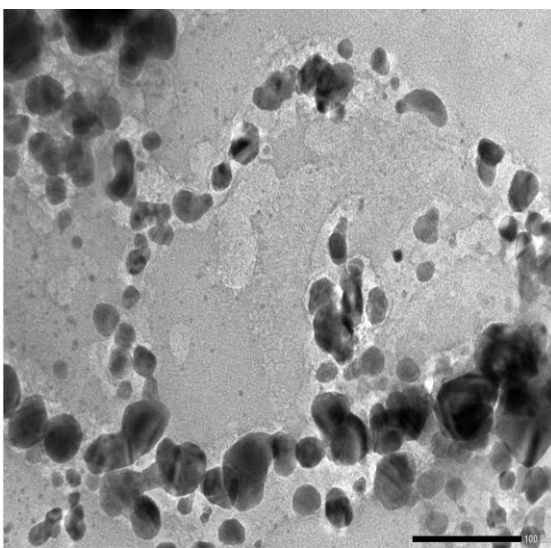
Kết quả ảnh TEM cũng cho thấy các hạt nano bạc được phân tán trong dung dịch một cách riêng biệt và không bị biến đổi hình dạng, chứng tỏ BKC đã bảo vệ có hiệu quả các hạt nano bạc và giữ ổn định cho dung dịch nano bạc.

Một số hình ảnh chụp nano bạc bằng phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM):

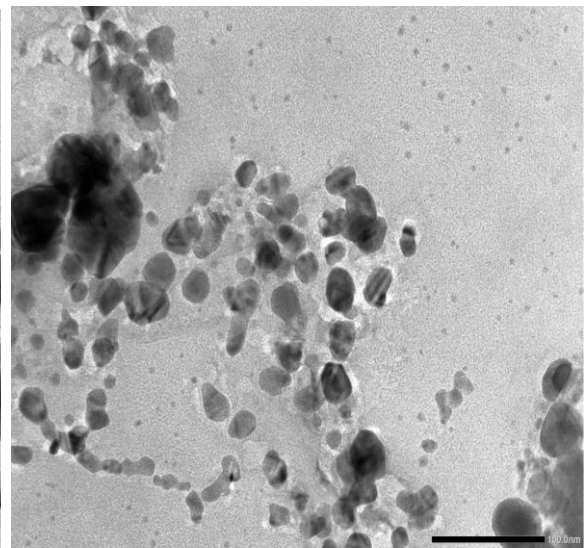


JEM-2100_MAG_X50k_Ag_Chien_003
Date: 15/5/23
Time: 10:15:10

Hình 21. Ảnh TEM mẫu nano bạc tổng hợp bằng phương pháp hóa học ổn định bằng BKC. Độ phóng đại 50.000 lần

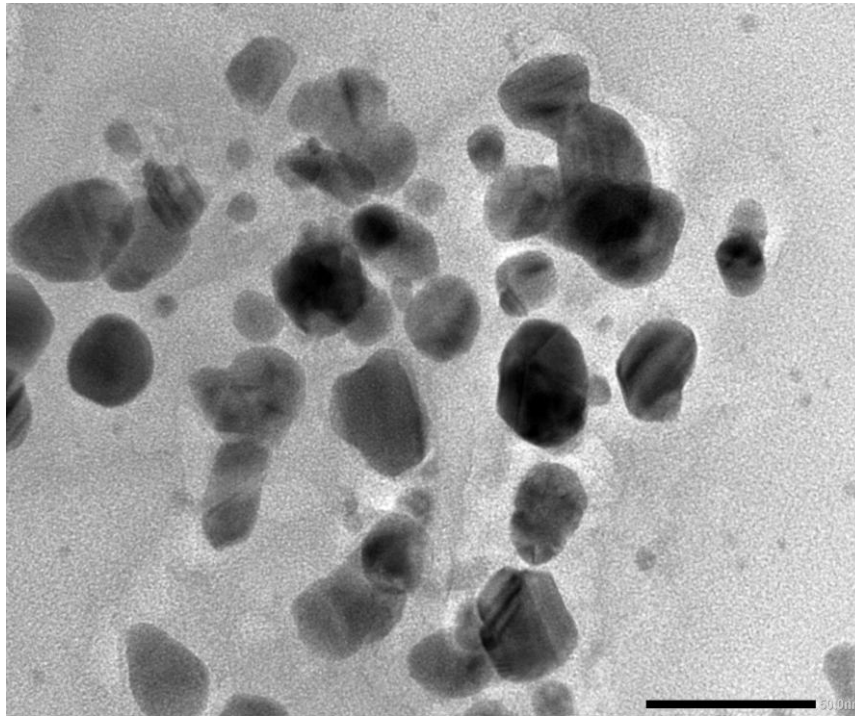


JEM-2100_MAG_X100k_Ag_Chien_001
Date: 15/5/23
Time: 10:05:23



JEM-2100_MAG_X100k_Ag_Chien_002
Date: 15/5/23
Time: 10:08:25

Hình 22. Ảnh TEM mẫu nano bạc tổng hợp bằng phương pháp hóa học ổn định bằng BKC. Độ phóng đại 100.000 lần



JEM-2100_MAG_X200k_Ag_Chien_004
Date: 15/5/23
Time: 10:25:21

Hình 23. Ảnh TEM mẫu nano bạc tổng hợp bằng phương pháp hóa học ổn định bằng BKC. Độ phóng đại 200.000 lần

3.1.3. Nghiên cứu đánh giá độ ổn định của chế phẩm nano bạc tổng hợp được

Chế phẩm chứa nano bạc đã được tổng hợp thành công bằng phương pháp hóa học sử dụng BKC làm chất ổn định với kích thước hạt nhỏ nằm trong khoảng 20-50 nm. Tuy nhiên, để chế phẩm nano bạc được ứng dụng rộng rãi trong thực tiễn thì khả năng ổn định về kích thước và sự phân bố là đặc tính vô cùng quan trọng giúp cho chế phẩm nano bạc duy trì được các hoạt tính sinh học quý của chúng như khả năng kháng khuẩn. Do đó, cần nghiên cứu, đánh giá độ ổn định của chế phẩm nano bạc tổng hợp được.

Các mẫu chế phẩm nano bạc được nghiên cứu đánh giá độ ổn định liệt kê trong bảng 11. Độ ổn định của chế phẩm nano bạc được đánh giá trong khoảng thời gian 6 tháng bằng cách theo dõi các chỉ tiêu sau:

- 1/ Phổ plasmon – Thực hiện trên máy UV-VIS Hitachi 5300
- 2/ Kích thước hạt và phân bố kích thước hạt – Thực hiện trên máy Horiba SZ100
- 3/ Thế zeta – Thực hiện trên máy Horiba SZ100

Bảng 11. Các mẫu được theo dõi độ ổn định

STT	Nồng độ bạc ban đầu (ppm)	Nồng độ BKC (ppm)	Khối lượng NaBH ₄ (g)	Nhiệt độ (°C)
M16	1000	100	0,35	Nhiệt độ phòng
M17	1000	200	0,35	Nhiệt độ phòng
M18	1000	500	0,35	Nhiệt độ phòng
M19	1000	1000	0,35	Nhiệt độ phòng
M20	1000	5000	0,35	Nhiệt độ phòng
M36	1000	100	0,70	Nhiệt độ phòng
M37	1000	200	0,70	Nhiệt độ phòng
M38	1000	500	0,70	Nhiệt độ phòng
M39	1000	1000	0,70	Nhiệt độ phòng
M40	1000	5000	0,70	Nhiệt độ phòng
M41	1000	100	1,4	Nhiệt độ phòng
M42	1000	200	1,4	Nhiệt độ phòng
M43	1000	500	1,4	Nhiệt độ phòng
M44	1000	1000	1,4	Nhiệt độ phòng
M45	1000	5000	1,4	Nhiệt độ phòng

3.1.3.1. Độ ổn định của phổ plasmon

Phổ cộng hưởng plasmon của các mẫu được đo tại các thời điểm: Sau tổng hợp (trong ngày); 1-4-7-14-21-28 ngày; ~3 và ~ 6 tháng.

Bảng 12. Độ biến thiên của cực đại hấp phụ trên phổ UV-VIS của các mẫu nghiên cứu

Δ WL (biến thiên bước sóng tại cực đại hấp phụ – nm)									
Mẫu	WL (nm)	1 ngày	4 ngày	7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày	3 tháng	6 tháng
M16	410	0	-1	0	+1	+2	+2	+4	+8
M17	414	0	0	0	+1	+1	+2	+5	+8
M18	410	0	0	+1	0	+1	+2	+6	+10

M19	414	0	+1	+1	0	+1	+2	+8	+10
M20	418	0	+1	+1	0	+1	+2	+3	+10
M36	412	0	-1	0	0	+1	+2	+2	+8
M37	412	0	0	+1	0	0	+2	+6	+9
M38	413	0	0	-1	0	+1	+1	+10	+13
M39	413	0	0	-1	0	+1	+1	+15	+16
M40	413	0	0	-1	-1	-2	0	+12	+15
M41	416	0	-1	-1	-2	-2	0	+9	+10
M42	417	0	0	+1	+2	+2	+1	+6	+10
M43	416	0	+1	+1	+2	+2	+2	+8	+12
M44	416	0	-1	+1	+2	+2	+2	+10	+12
M45	417	0	-1	+1	+2	+2	+2	+9	+12

Tới thời điểm ~ **6 tháng** sau tổng hợp, các mẫu nano bạc điều chế được đều có vị trí đỉnh peak cực đại hấp phụ trong phổ UV-Vis **bị dịch chuyển về phía bước sóng cao**. Điều này có thể do các hạt nano đã phân nào bị kết tụ lại với nhau tạo thành các hạt có kích thước lớn hơn ban đầu. Hướng nghiên cứu đánh giá độ ổn định của chế phẩm nano bạc tổng hợp được cũng được Mahammadinejad và các cộng sự công bố khi sử dụng chiết xuất từ hạt S.Marianum làm tác nhân khử và ổn định. Tác giả đã tổng hợp được hạt nano với kích thước nhỏ trong khoảng 1-25 nm và giữ được đặc tính ổn định về kích thước trong khoảng thời gian 6 tháng [71].

3.1.3.2. Độ ổn định của kích thước hạt trung bình

Kích thước hạt trung bình được đo trên máy Horiba SZ100 tại các thời điểm sau: Sau tổng hợp (trong ngày); 1-4-7-14-21-28 ngày; ~3 và ~ 6 tháng. Kết quả thể hiện trong bảng 13.

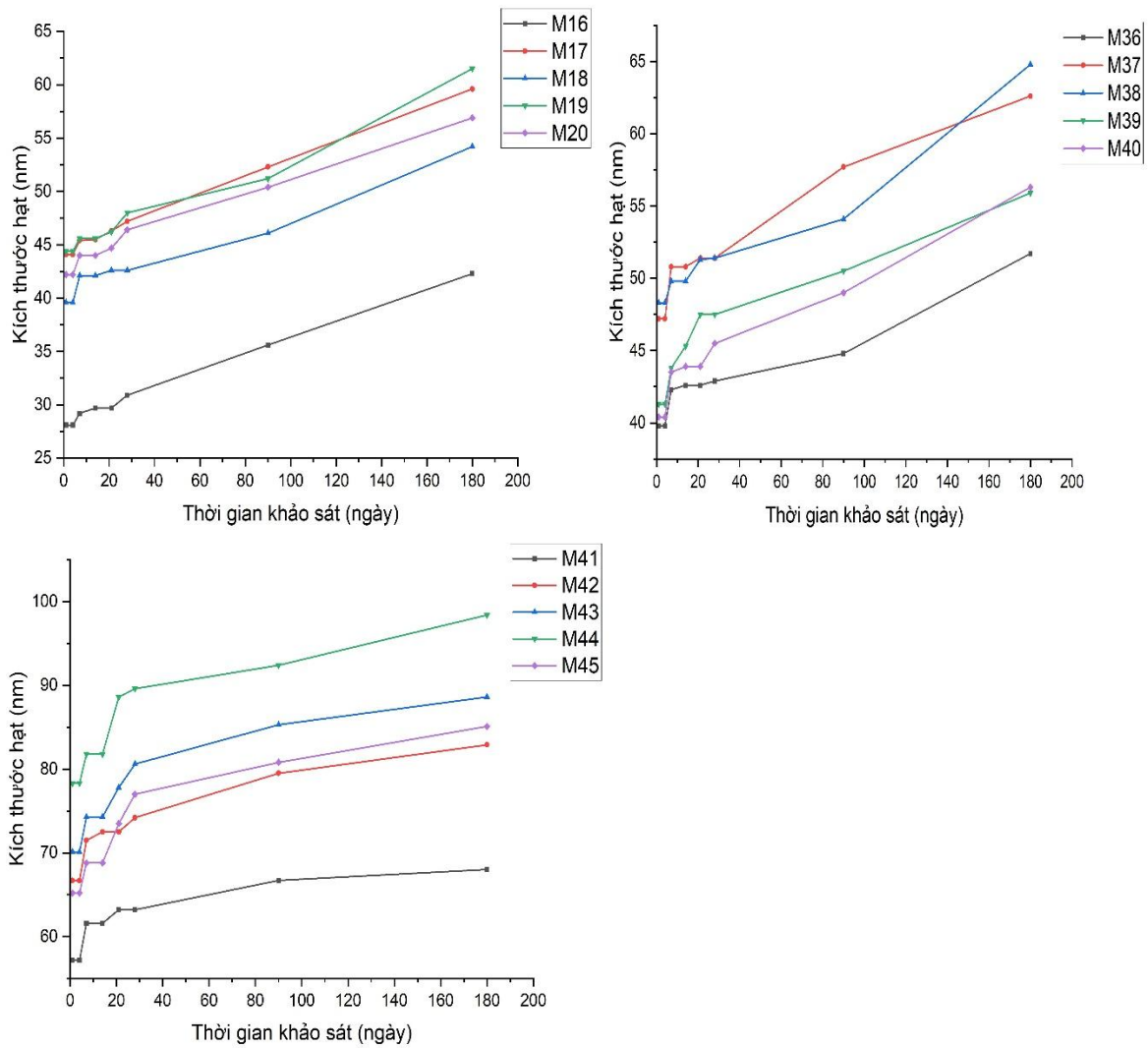
Bảng 13. Biến thiên kích thước hạt trung bình của các mẫu theo dõi

Δd (nm) – biến thiên kích thước trung bình so với thời điểm sau tổng hợp									
Mẫu	d (nm)	1 ngày	4 ngày	7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày	3 tháng	6 tháng
M16	28,1	0	0*	+1,1	+1,6	+1,6*	+2,8	+7,5	+14,2
M17	44,1	0	0*	+1,3	+1,4	+2,2	+3,1	+8,2	+15,5
M18	39,6	0	0*	+2,5	+2,5*	+3,0	+3,0*	+6,5	+14,6
M19	44,4	0	0*	+1,2	+1,2*	+1,8	+3,6	+6,8	+17,1

M20	42,2	0	0	+1,8	+1,8*	+2,5	+4,2	+8,2	+14,7
M36	39,8	0	0	+2,5	+2,8	+2,8*	+3,1	+5,0	+11,9
M37	47,2	0	0	+3,6	+3,6*	+4,2	+4,2*	+10,5	+15,4
M38	48,3	0	0	+1,5	+1,5*	+3,0	+3,1	+5,8	+16,5
M39	41,3	0	0*	+2,5	+4,0	+6,2	+6,2	+9,2	+14,6
M40	40,4	0	0*	+3,1	+3,5	+3,5*	+5,1	+8,6	+15,9
M41	57,2	0	0*	+4,4	+4,4*	+6,0	+6,0*	+9,5	+10,8
M42	66,7	0	0	+4,8	+5,8	+5,8*	+7,5	+12,8	+16,2
M43	70,1	0	0*	+4,2	+4,2*	+7,7	+10,5	+15,2	+18,5
M44	78,3	0	0*	+3,5	+3,5*	+10,3	+11,3	+14,1	+20,1
M45	65,2	0	0*	+3,6	+3,6*	+8,3	+11,8	+15,6	+19,9

Chú thích: Các giá trị đi kèm dấu * là những mẫu mà phép đo trên máy SZ100 cho kết quả nhỏ hơn so với thời điểm đo trước đó. Về thực tế đây có thể là sai số của phép đo, chứ trong quá trình lưu trữ và bảo quản các chế phẩm nano bạc không thể có sự giảm kích thước của các hạt nano được (do quá trình nano hóa thường tiêu tốn năng lượng). Vì vậy, quy đổi kích thước hạt ở các mẫu này (các giá trị đánh dấu *) về giá trị kích thước hạt được đo tại thời điểm trước.

Trong quá trình lưu trữ, bảo quản các mẫu chế phẩm, quan sát thấy có sự kết tụ của các hạt nano, thể hiện qua sự tăng kích thước trung bình của các mẫu. Các mẫu có kích thước hạt trung bình lớn (mẫu M41 tới M45) có tốc độ tăng kích thước nhanh hơn so với các mẫu còn lại. Có thể lượng dư NaBH_4 quá cao đã dẫn tới kết quả này. Sau 6 tháng lưu trữ kể từ ngày tổng hợp kích thước các hạt tăng lên khá nhiều. Các hạt càng lớn thì tốc độ tăng lại càng nhanh hơn so với các hạt nhỏ.



Hình 24. Biến thiên kích thước hạt trung bình tại các thời điểm sau tổng hợp

Sử dụng phương trình Stoke để tính tốc độ sa lắng của các hạt nano bạc trong các dung dịch đã tổng hợp được. Thật vậy, theo phương trình Stoke tốc độ sa lắng (v) của hạt keo tỷ lệ nghịch với độ nhớt của dung dịch (μ):

$$V_s = \frac{2}{9} \frac{r^2 g (\rho_p - \rho_f)}{\mu}$$

r – bán kính hạt nano, sử dụng kết quả đo DLS

g – gia tốc trọng trường (chấp nhận là $9,8 \text{ m/s}^2$)

ρ_p – tỷ khối của hạt, sử dụng tỷ khối của kim loại bạc là $10,9.103 \text{ kg/m}^3$

ρ_f – tỷ khối của môi trường, sử dụng giá trị gần đúng là tỷ khối của nước ($\sim 1000 \text{ kg/m}^3$)

μ - độ nhớt của dung dịch. Đối với các dung dịch nano bạc tổng hợp sử dụng ít chất ổn định BKC, lấy giá trị là độ nhớt của nước ở 25°C ($0,89.10^{-3}$)

Pa.s). Đối với các dung dịch nano sau khi tổng hợp đã bổ sung BKC tới nồng độ 60 g/L, tạm sử dụng độ nhớt của BKC nguyên chất là 0,13 Pa.s.

Chúng ta tính được tốc độ sa lắng của các hạt nano bạc trong các mẫu trên như sau (khi để tất cả các đại lượng trong phương trình Stoke ở hệ SI thì các đơn vị triệt tiêu nhau, đơn vị của vận tốc còn lại là m/s), lấy ví dụ mẫu M16 ở ngày đầu tiên với bán kính hạt là ~14nm ($14 \cdot 10^{-9}$ m) trong môi trường nước là:

$$V = \frac{2}{9} * \{(14^{-9}m)^2 * 9,8 [m/s^2] * (10900-1000) [kg/m^3]\} / \{0,89 \cdot 10^{-3} Pa.s\}$$

$$= 4,6 \cdot 10^{-9} m/s = \mathbf{4,7 nm/s.}$$

Mẫu này trong môi trường BKC 60g/L sẽ có tốc độ sa lắng các hạt là:

$$V = \frac{2}{9} * \{(14^{-9}m)^2 * 9,8 [m/s^2] * (10900-1000) [kg/m^3]\} / \{0,13 Pa.s\}$$

$$= 0,032 \cdot 10^{-9} m/s = \mathbf{0,032 nm/s}$$

Như vậy trong môi trường BKC 60 g/L tốc độ sa lắng của các hạt nano thấp hơn hẳn so với trong môi trường ít BKC ban đầu (mới tổng hợp, chỉ sử dụng BKC dưới vai trò chất ổn định ở mức nồng độ rất thấp cho các hạt nano). Vì vậy, ta có thể khẳng định việc bổ sung BKC vào tới nồng độ 60 g/L giúp giảm hẳn tốc độ sa lắng, tăng độ ổn định của các hạt nano.

Chúng ta tính được tốc độ sa lắng của các hạt nano trong môi trường mới tổng hợp như sau (đơn vị tính là nm/s)

Bảng 14. Tốc độ sa lắng của các hạt nano bạc trong môi trường mới tổng hợp

Tốc độ sa lắng trong dung dịch ít BKC (nm/s)							
Mẫu	1 ngày	7 ngày	14 ngày	21 ngày	1 tháng	3 tháng	6 tháng
M16	4,7	5,0	5,4	5,4	6,1	7,8	10,6
M17	11,6	12,2	12,2	12,7	13,3	16,2	21,6
M18	9,1	10,6	10,6	11,1	11,1	13,3	18,2
M19	11,6	12,2	12,7	12,7	13,8	16,2	22,3
M20	10,6	11,6	11,6	12,2	12,7	15,6	19,5
M36	9,6	11,1	11,1	11,1	11,1	12,2	16,2
M37	13,3	15,6	15,6	16,2	16,2	20,2	23,1
M38	13,8	15,0	15,0	15,6	15,6	18,2	19,5

M39	10,1	11,6	12,2	13,8	13,8	15,6	18,8
M40	9,6	12,2	12,7	12,7	12,7	14,4	18,8
M41	19,5	23,1	23,1	24,6	24,6	26,9	28,6
M42	26,1	31,1	32,0	32,0	32,9	37,4	41,3
M43	29,4	32,9	32,9	35,6	39,4	39,4	47,5
M44	36,5	40,3	40,3	47,5	48,6	50,8	58,8
M45	25,4	28,6	28,6	32,9	35,6	38,4	44,4

Tương tự, ta tính được tốc độ sa lắng của các hạt nano trong môi trường đã thêm BKC tới 60g/L như sau:

Bảng 15. Tốc độ sa lắng của các hạt nano trong môi trường đã thêm BKC tới 60g/L

Tốc độ sa lắng trong dung dịch nồng độ BKC 60 g/L (nm/s)							
Mẫu	1 ngày	7 ngày	14 ngày	21 ngày	1 tháng	3 tháng	6 tháng
M16	0,032	0,035	0,037	0,037	0,042	0,053	0,073
M17	0,080	0,084	0,084	0,087	0,091	0,112	0,149
M18	0,063	0,073	0,073	0,076	0,076	0,091	0,125
M19	0,080	0,084	0,087	0,087	0,095	0,112	0,153
M20	0,073	0,080	0,080	0,084	0,087	0,107	0,134
M36	0,066	0,076	0,076	0,076	0,076	0,084	0,112
M37	0,091	0,107	0,107	0,112	0,112	0,139	0,159
M38	0,095	0,103	0,103	0,107	0,107	0,125	0,134
M39	0,069	0,080	0,084	0,095	0,095	0,107	0,129
M40	0,066	0,084	0,087	0,087	0,087	0,099	0,129
M41	0,134	0,159	0,159	0,169	0,169	0,185	0,196
M42	0,180	0,214	0,220	0,220	0,226	0,257	0,284
M43	0,202	0,226	0,226	0,245	0,271	0,271	0,327
M44	0,251	0,277	0,277	0,327	0,334	0,349	0,404
M45	0,174	0,196	0,196	0,226	0,245	0,264	0,305

Căn cứ vào dữ liệu của hai bảng trên (Bảng 14 và Bảng 15), có thể thấy trong môi trường chứa BKC nồng độ cao (60 g/L), các hạt nano bạc có tốc độ sa lắng thấp hơn hẳn so với trong môi trường chỉ chứa BKC nồng độ thấp (tức là các dung dịch sau tổng hợp chỉ sử dụng BKC dưới dạng chất ổn

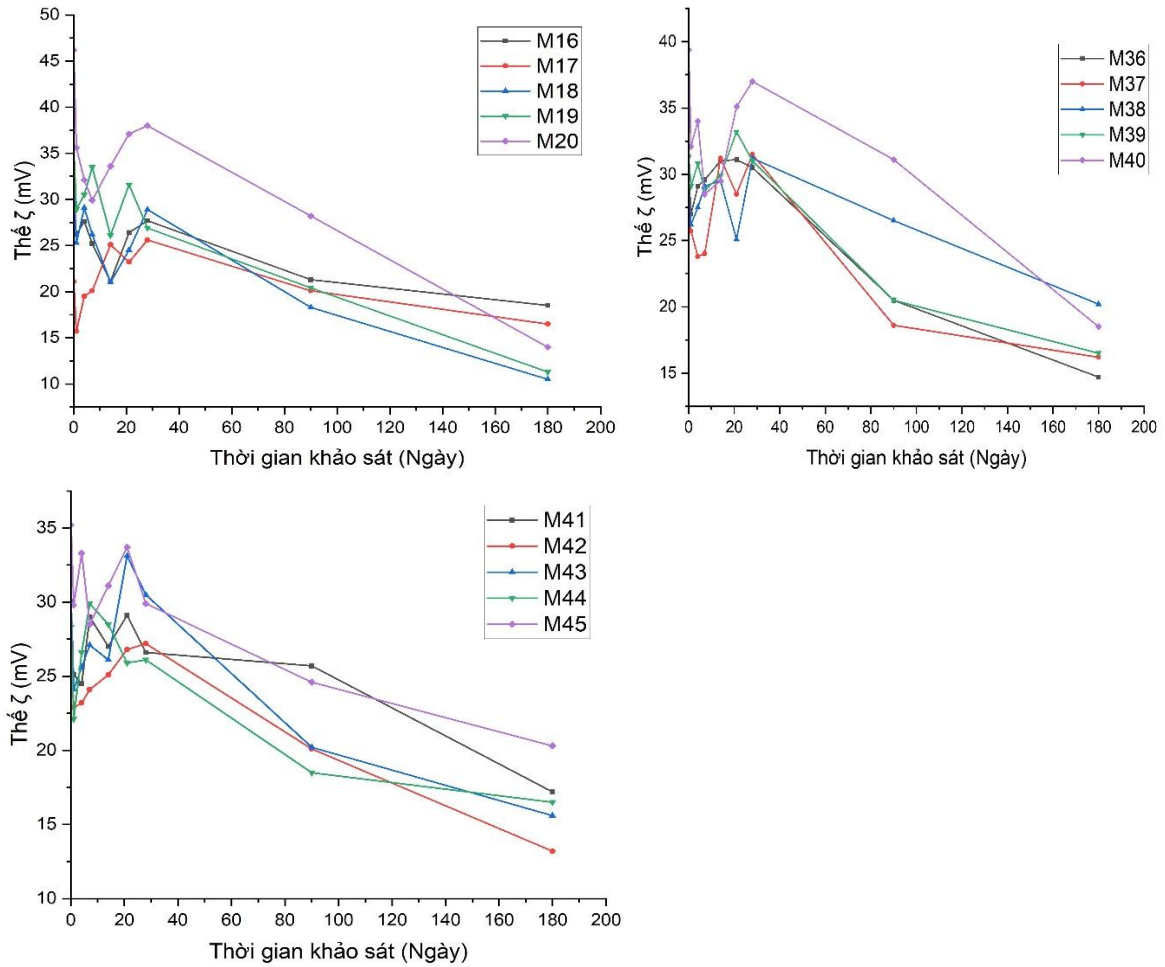
định thuần túy). Điều này khẳng định rằng khi đưa thêm BKC vào dung dịch sau tổng hợp, hệ keo nano bạc sẽ ổn định hơn về mặt thời gian so với dung dịch ban đầu.

3.1.3.3. Độ ổn định của thế zeta

Thế zeta của các mẫu được đo trên máy Horiba SZ100 tại các thời điểm sau: Sau tổng hợp (trong ngày); 1-4-7-14-21-28 ngày; ~3 tháng và ~ 6 tháng. Kết quả thể hiện trong bảng 16.

Bảng 16. Thế zeta của các mẫu theo dõi

Mẫu	Thế ζ (mV)								
	0 ngày	1 ngày	4 ngày	7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày	3 tháng	6 tháng
M16	+29,1	+26,2	+27,6	+25,2	+21,1	+26,4	+27,7	+21,3	+18,5
M17	+21,1	+15,7	+19,5	+20,1	+25,1	+23,2	+25,6	+20,1	+16,5
M18	+31,6	+25,3	+29,1	+26,2	+21,0	+24,5	+28,9	+18,3	+10,5
M19	+35,7	+28,9	+30,5	+33,5	+26,1	+31,6	+26,9	+20,4	+11,3
M20	+46,2	+35,6	+32,1	+29,9	+33,6	+37,1	+38,0	+28,2	+14,0
M36	+29,8	+27,0	+29,1	+29,6	+31,0	+31,1	+30,5	+20,5	+14,7
M37	+27,2	+25,7	+23,8	+24,0	+31,2	+28,5	+31,5	+18,6	+16,2
M38	+28,3	+26,2	+27,5	+29,1	+29,5	+25,1	+31,2	+26,5	+20,2
M39	+31,3	+29,1	+30,8	+28,8	+29,9	+33,2	+31,0	+20,5	+16,5
M40	+39,4	+32,1	+34,0	+28,5	+29,5	+35,1	+37,0	+31,1	+18,5
M41	+27,2	+25,1	+24,5	+29,0	+27,0	+29,1	+26,6	+25,7	+17,2
M42	+26,7	+22,9	+23,2	+24,1	+25,1	+26,8	+27,2	+20,1	+13,2
M43	+30,1	+24,1	+25,6	+27,1	+26,1	+33,1	+30,5	+20,2	+15,6
M44	+28,3	+22,1	+26,6	+29,9	+28,5	+25,9	+26,1	+18,5	+16,5
M45	+35,2	+29,8	+33,3	+28,5	+31,1	+33,7	+29,9	+24,6	+20,3



Hình 25. Đồ thị biến thiên thế zeta của các mẫu theo dõi

Kết quả thực nghiệm đã cho thấy sản phẩm thu được tạm ổn định sau 1 tháng, nhưng từ thời điểm 3 tháng trở đi một số tính chất hóa lý của các hạt đã thay đổi, và cho thấy xu hướng tập hợp lại tạo thành các kết cấu lớn (aggregation) so với các hạt ban đầu. Kết quả này tương tự với kết quả thu được khi tổng hợp nano bạc bằng chitosan/gelatin đã được báo cáo trong nghiên cứu trước đó [72].

3.2. Kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *E.coli* của dung dịch chế phẩm

Để khảo sát và đánh giá khả năng diệt khuẩn của chế phẩm nano bạc, sử dụng phương pháp đếm khuẩn lạc trên hai loại vi khuẩn *E.coli* và *S.aureus* với các mẫu vật chế phẩm có các hàm lượng bạc khác nhau.

Kết quả đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *E.coli* của chế phẩm nano bạc thu được bằng phương pháp khử hóa học ổn định bằng BKC với các nồng độ bạc khác nhau trên vi khuẩn *E.coli* được đưa ra trong bảng 17. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình.

Bảng 17. Kết quả diệt khuẩn *E.coli* của chế phẩm nano bạc tổng hợp được với các nồng độ bạc khác nhau

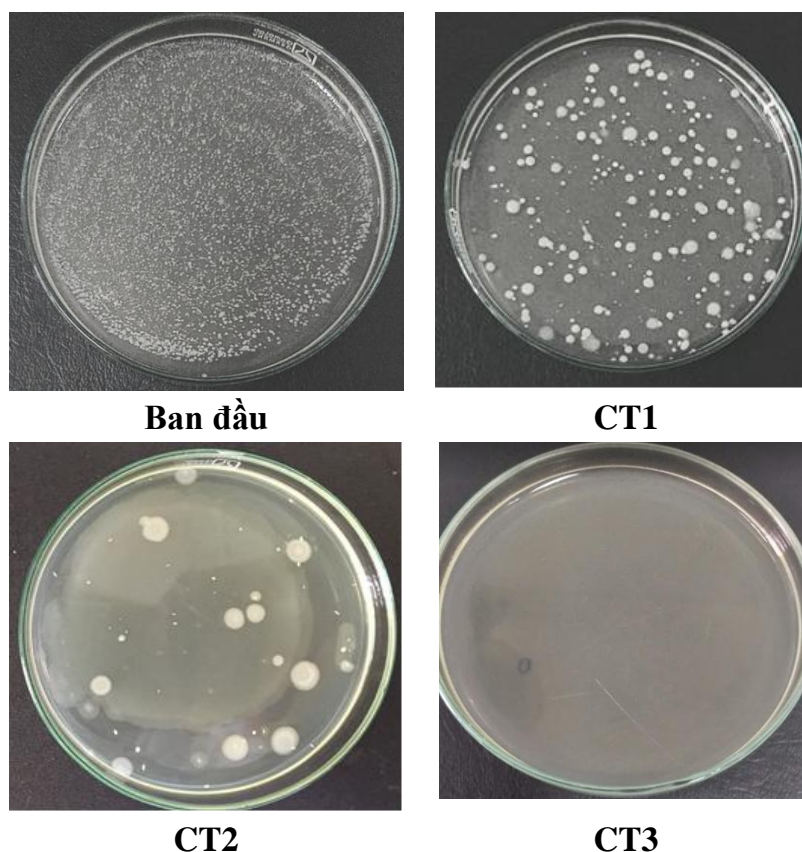
Công thức thử	Mật độ vi khuẩn ban đầu cfu/ml	Mật độ vi khuẩn còn lại sau 10 phút tiếp xúc trực tiếp Cfu/ml	Hiệu quả %
CT1	1,03. 10 ⁶	1,45.10 ²	99,9
CT2		<10	99,999
CT3		<10	99,999

Trong đó:

CT1: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 0,5 ppm (tính theo bạc)

CT2: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 0,75 ppm (tính theo bạc)

CT3: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 1 ppm (tính theo bạc)



Hình 26. Kết quả diệt khuẩn *E.coli* trực quan của các mẫu chế phẩm với hàm lượng bạc khác nhau sau 10 phút tiếp xúc

Từ kết quả trên ta thấy các mẫu chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC đều có khả năng diệt khuẩn rất tốt. Khả năng diệt vi khuẩn *E.coli* trong điều

kiệm thí nghiệm tùy theo hàm lượng nano bạc trong mẫu chế phẩm, khi hàm lượng nano bạc càng lớn thì khả năng diệt khuẩn càng tốt. Kết quả cho thấy sau 10 phút tiếp xúc với mẫu chế phẩm nano bạc (hàm lượng bạc 0,5ppm) mật độ vi khuẩn *E.coli* đã giảm đến 99,9%, với mẫu chế phẩm có hàm lượng bạc cao hơn (0,75ppm và 1 ppm) gần như toàn bộ vi khuẩn *E.coli* đã bị tiêu diệt.

Để so sánh hiệu quả diệt khuẩn *E.coli* của chế phẩm nano bạc tổng hợp được với các thành phần riêng lẻ ở cùng nồng độ, thí nghiệm được tiến hành với các mẫu có công thức liều lượng như sau:

CT4: nano bạc 1 ppm

CT5: BKC 10 ppm

CT6: Ag-1/BKC-10ppm

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong các bảng dưới đây.

Bảng 18. Kết quả so sánh hiệu quả khử trùng của chế phẩm với các thành phần riêng rẽ đối với vi khuẩn *E.coli*

Công thức thử	Mật độ vi khuẩn ban đầu cfu/ml	Mật độ vi khuẩn còn lại sau 5 phút tiếp xúc trực tiếp Cfu/ml
CT4	1,04.10 ⁶	201
CT5		195
CT6		<10

Kết quả trong bảng cho thấy các mẫu chế phẩm chứa thành phần nano bạc (1 ppm) và BKC (10 ppm) riêng lẻ đều có khả năng diệt khuẩn *E. Coli* tương đối tốt trong điều kiện phòng thí nghiệm. Khi kết hợp hai thành phần này trong một chế phẩm hiệu quả tiêu diệt vi khuẩn tăng lên nhiều lần, gần như toàn bộ khuẩn *E. Coli* bị diệt sau 5 phút tiếp xúc với mẫu chế phẩm Ag-1/BKC-10ppm.

3.3. Kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *S.aureus* của dung dịch chế phẩm

Kết quả đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *S.aureus* của chế phẩm nano bạc thu được bằng phương pháp khử hóa học ổn định bằng BKC với các nồng độ bạc khác nhau được đưa ra trong bảng 19. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình.

Bảng 19. Kết quả diệt khuẩn *S.aureus* của chế phẩm nano bạc tổng hợp được với các nồng độ bạc khác nhau

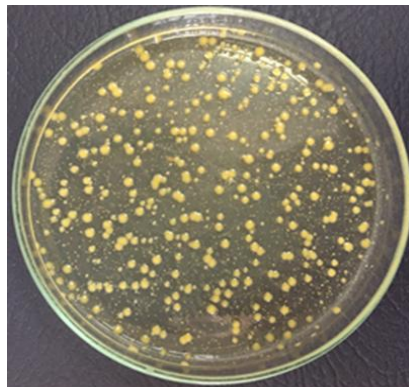
Công thức thử	Mật độ vi khuẩn ban đầu cfu/ml	Mật độ vi khuẩn còn lại sau 10 phút tiếp xúc trực tiếp Cfu/ml	Hiệu quả %
CT1	1,05. 10 ⁶	1,35.10 ²	99,9
CT2		<10	99,99
CT3		<10	99,999

Trong đó:

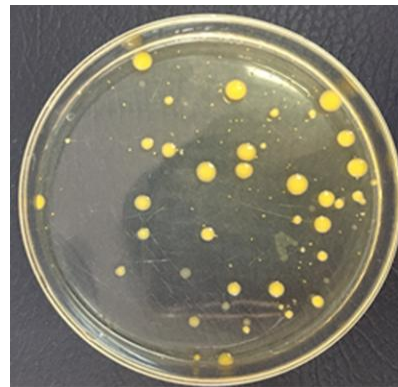
CT1: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 0,5ppm (tính theo bạc)

CT2: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 0,75ppm (tính theo bạc)

CT3: Sử dụng chế phẩm nano bạc nồng độ thử nghiệm 1ppm (tính theo bạc)



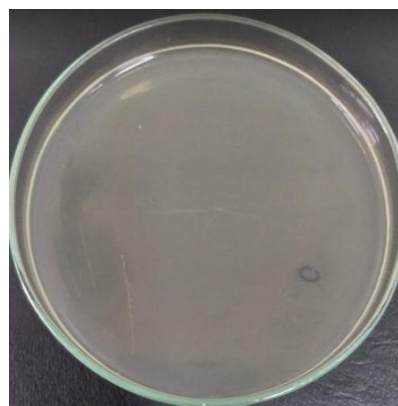
Ban đầu



CT1



CT2



CT3

Hình 27. Kết quả diệt khuẩn *S.aureus* trực quan của các mẫu chế phẩm với hàm lượng bạc khác nhau sau 10 phút tiếp xúc

Kết quả trên cho thấy các mẫu chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC đều có khả năng diệt khuẩn *S.aureus* rất tốt, tương tự như với khuẩn *E.Coli*. Sau 10 phút tiếp xúc với mẫu chế phẩm nano bạc (hàm lượng bạc 0,5ppm) mật độ vi khuẩn *S.aureus* đã giảm đến 99,9%, với mẫu chế phẩm có hàm lượng bạc cao hơn (0,75ppm và 1 ppm) gần như toàn bộ vi khuẩn *S.aureus* đã bị tiêu diệt (tiêu diệt đến 99,999% vi khuẩn). Từ các kết quả trong bảng 19 lựa chọn được liều lượng nano bạc 1ppm cho hiệu quả diệt khuẩn trên 99,99%.

So sánh hiệu quả khử khuẩn *S.aureus* của chế phẩm tổng hợp được với các thành phần riêng lẻ ở cùng nồng độ, các thí nghiệm được tiến hành với liều lượng như sau:

CT4: nano bạc 1 ppm

CT5: BKC 10 ppm

CT6: Ag-1/BKC-10ppm

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong bảng 20.

Bảng 20. Kết quả so sánh hiệu quả khử trùng của chế phẩm với các thành phần riêng rẽ đối với vi khuẩn *S.aureus*

Công thức thử	Mật độ vi khuẩn ban đầu cfu/ml	Mật độ vi khuẩn còn lại sau 5 phút tiếp xúc trực tiếp CfU/ml
CT4	1,08.10 ⁶	182
CT5		218
CT6		<10

Kết quả trong bảng 20 cho thấy khi sử dụng chế phẩm tổng hợp có hàm lượng nano bạc 1ppm, BKC 10ppm cho tác dụng diệt gần như 100 % vi khuẩn *S.aureus* sau 5 phút tiếp xúc tốt hơn so với các mẫu thành phần riêng lẻ (CT1 chỉ có nano bạc hàm lượng 1 ppm và CT2 hàm lượng BKC 10 ppm). Điều này chứng tỏ việc tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC đem lại hiệu quả tốt nhất có khả năng ứng dụng khử trùng trong điều kiện thực tế.

Hoạt tính kháng khuẩn hiệu quả của chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC có thể là do BKC phản ứng với màng tế bào vi khuẩn và làm suy yếu nó trước tiên, do đó các hạt nano bạc có thể dễ dàng xâm nhập vào tế bào vi

khuẩn và nhanh chóng khiến vi khuẩn chết. Do tác dụng kháng khuẩn cộng gộp của BKC và hạt nano bạc nên khả năng kháng khuẩn của chế phẩm được tăng cường rất nhiều so với chỉ sử dụng BKC và nano bạc riêng lẻ. Chế phẩm chỉ cần sử dụng nồng độ BKC 10ppm thấp hơn rất nhiều so với giới hạn cho phép mà một số nước trên thế giới quy định nồng độ BKC trong sản phẩm thương mại [65].

Qua việc nghiên cứu đánh giá khả năng kháng khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC, lựa chọn được nồng độ chế phẩm tối ưu để sử dụng là 1ppm tính theo bạc và 10ppm tính theo BKC.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Nghiên cứu này được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Phòng nghiên cứu và phát triển công nghệ thân môi trường, Viện Công nghệ môi trường. Sau quá trình nghiên cứu một số kết luận chính thu được như sau:

- 1) Đã tổng hợp thành công chế phẩm nano bạc bằng phương pháp hóa học ổn định bằng BKC. Sử dụng các phương pháp đặc trưng hiện đại như TEM, phổ hấp phụ plasmon, DLS đã xác định được kích thước các hạt nano bạc trong chế phẩm tổng hợp được chủ yếu trong khoảng từ 10-50 nm.
- 2) Hàm lượng BKC thêm vào phù hợp làm chất ổn định cho quá trình tổng hợp chế phẩm là tỷ lệ 10:1 so với hàm lượng bạc ($[BKC]:[Ag]= 10:1$). Lượng sodium borohydride phù hợp cho quá trình tổng hợp là 1:1 tính theo tỉ lệ số mol với bạc nitrat.
- 3) BKC sau khi được thêm vào tới nồng độ 60 g/L đã giúp làm tăng độ nhớt của dung dịch, giảm đáng kể tốc độ sa lắng của các hạt nano, từ đó làm tăng độ ổn định của hệ đã tổng hợp. Bản chất BKC là một chất có tác dụng diệt khuẩn, cho nên việc đưa chất này vào chế phẩm cũng sẽ làm tăng khả năng diệt khuẩn của chế phẩm, giảm nồng độ cần thiết của nano bạc, giúp giảm giá thành.
- 4) Nghiên cứu đánh giá thành công khả năng kháng khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng BKC, lựa chọn được nồng độ chế phẩm tối ưu để sử dụng là 1ppm tính theo bạc và 10 ppm tính theo BKC

KIẾN NGHỊ

Do điều kiện thời gian và phạm vi nghiên cứu còn hạn hẹp nên luận văn mới chỉ kiểm tra được độ ổn định của chế phẩm nano bạc trong khoảng thời gian ngắn (6 tháng) và đánh giá được khả năng kháng khuẩn của chế phẩm trong điều kiện phòng thí nghiệm với hai chủng vi khuẩn *E.coli* và *S.aureus*.

Để hướng tới ứng dụng sản phẩm trong thực tế và sản xuất thương mại cần có những nghiên cứu kỹ lưỡng. Cần theo dõi và đánh giá độ ổn định của chế phẩm trong khoảng thời gian dài hơn (>1 năm), đánh giá khả năng kháng khuẩn với nhiều đối tượng chủng loại vi khuẩn, virus gây bệnh khác nhau trong cả điều kiện phòng thí nghiệm và điều kiện môi trường thực tế. Đồng thời, cũng cần phải có những nghiên cứu sâu hơn về mức độ an toàn của chế phẩm với con người, động vật và các tác động tới môi trường để đưa ra các khuyến cáo cho người sử dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gupta A (1998), “Silver as a biocide: will resistance become a problem”, *Nat. Biotechnol.* 1998. Vol. 16, No 10. P. 888.
2. Yurii Krutyakov (2016), “Benzyldimethyl[3-(miristoylamino)-propyl]ammonium chloride stabilized silver nanoparticles (Argumistin™) in medicine: results of clinical trials for treatment of infectious diseases of dogs and perspectives for humans”, *European Journal of Nanomedicine*.
3. Bộ Y Tế (2011), “Thông tư ban hành danh mục hoá chất, chế phẩm diệt côn trùng, diệt khuẩn dùng trong lĩnh vực gia dụng và y tế được phép đăng ký để sử dụng, được phép đăng ký nhưng hạn chế sử dụng và cấm sử dụng tại Việt Nam”, Số: 25/2011/TT-BYT.
4. Võ Thị Quý Vĩnh, Lê Quốc Chơn (2019), “Nghiên cứu tổng quan về nano bạc: Từ tổng hợp đến ứng dụng”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Duy Tân*.
5. Shu Zhang, Yongan Tang, Vlahovic (2016), “A Review on Preparation and Applications of Silver-Containing Nanofibers”, *Nanoscale Research Letters*, DOI:10.1186/s11671-016-1286-z.
6. Kulskii L. A (1981), “Serebrianaya voda, ie svoistva i primenhenie”, *Kiev Naukova Dumka*, 1981.
7. Golubovich V. N (1975), “Inhibitory effect of silver on *Candida utilis*”, *Abstract of Ph.D. dissertation M.* 1975.
8. Feng Q. L., Wu G. Q., Chen F. Z. (2000), “A mechanistic study of the antibacterial activity of *E.coli* and *St. aureus*”, *J. Biomed. Mater. Res.* 52: 662-670.
9. Liao S. Y., D.C. Read W. J., Pugh J. R. (1997), “The antibacterial action of silver ions”, *Lett. Appl. Microbiol.* 25: 279-283.
10. Silver safety data. <http://eng.nano composite.net zboard/> June 2006.
11. Antibiotic effect and features of Anson nano silver. <http://www.anson.com/ english/ Products/gel/>, June 16, 2006.
12. Kulskii L. A. ., Savluk O. S. (1968), “Problemy ispolzovania antimicrobnykh svoistv serebra v praktike obezorazhivania vody”, *Ukr NIINTI*, 1968.
13. Baranov E. K., Revina A. A., Voino L. I. (2003), “Impact of silver nano particles on yeast cells and *E. coli*. *Proc. 1st Russian scientific and*

methodological seminar on nano - technologies for production applied to biological systems”, Jun 4, 2003, M., p. 53 – 60.

14. Håvard J Haugen (2022), “The Antibacterial and Cytotoxic Effects of Silver Nanoparticles Coated Titanium Implants: A Narrative Review”, *Materials in Implant Applications and Regenerative Medicine*.

15. Savadyan E. Sh., Melnikova V. M., Belikova G. P (1989), “Current trends in the use of silver-containing antiseptics”, *Antibiotics and chemotherapy*. N11, 874-878, 1989.

16. Grigorieva L. V (1973), “Water treatment and purification of industrial wastewater”, Kiev - 1973, Issue. 10, 9-13.

17. Lansdown A.B.G (2006), “Silver in Health Care: Antimicrobial Effects and Safety in Use Biofunctional Textiles and the Skin”, Karger Publishers, 2006. Vol. 33. P. 17–34.

18. Vainar A.I (1960), “Biological role of microelements in the body of animals and humans”, M. Medizdat., 1960.

19. Bryzgunov V.S., Lipin V.N., Matrosova V.R (1964), “Comparative assessment of the bactericidal properties of silver water and antibiotics on pure cultures of microbes and their associations”, *Scientific tr. Kazan Medical Institute*, T.14, 121-122, 1964.

20. Chappel J. B., Greville G. D (1968), “Effect of silver ions on mitochondrial adenosine triphosphates”, *Nature (London)*, vol. 174, 930-931, 1968.

21. “Vai trò sinh lý của bạc trong cơ thể con người”. Đại bách khoa toàn thư y học Liên Xô, XB lần III, T.23, 297-299.

22. Gottesman R, Shukla S, Perkas N, Solovyov LA, Nitzan Y, Gedanken A (2011) “Sonochemical coating of paper by microbiocidal silver nanoparticles”, *Langmuir*2011;27:720–6.doi:10.1021/la103401z

23. Yim MJ, Li Y, Moon KS, Paik KW, Wong CP (2008), “Review of recent advances in electrically conductive adhesive materials and technologies in electronic packaging”, *J Adhes Sci Technol* 2008;22:1593-630.

24. Cozmuta A.M. (2015), “Active Packaging System Based on Ag/TiO₂ Nanocomposite Used for Extending the Shelf Life of Bread. Chemical and Microbiological Investigations”, *Packag. Technol. Sci.* 2015. Vol. 28, № 4. P. 271–284.

25. Deshmukh S.P. (2018), "Ag Nanoparticles Connected to the Surface of TiO₂ Electrostatically for Antibacterial Photoinactivation Studies", *Photochem*", *Photobiol.* 2018. Vol. 94, № 6. P. 1249–1262.
26. Vasile C. (2017), "New PLA/ZnO:Cu/Ag bionanocomposites for food packaging" *Express Polym. Lett.* 2017. Vol. 11. P. 531–544.
27. Biomimetic Method To Assemble Nanostructured Ag@ZnO on Cotton Fabrics: Application as Self-Cleaning Flexible Materials with Visible-Light Photocatalysis and Antibacterial Activities | *ACS Applied Materials & Interfaces* [Electronic resource]. URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.5b00633> (accessed: 13.01.2021).
28. Atiyeh B.S. (2007), "Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature", *Burns.* 2007. Vol. 33, No 2. P. 139–148.
29. Pal S. (2017), "Silver-Functionalized Bacterial Cellulose as Antibacterial Membrane for Wound-Healing Applications", *ACS Omega.* American Chemical Society, 2017. Vol. 2, № 7. P. 3632–3639.
30. Andrea Zille (2015), "Size and Aging Effects on Antimicrobial Efficiency of Silver Nanoparticles Coated on Polyamide Fabrics Activated by Atmospheric DBD Plasma", *ACS Applied Materials & Interfaces.*
31. Joe Y.H., Park D.H., Hwang J (2016), "Evaluation of Ag nanoparticle coated air filter against aerosolized virus: Anti-viral efficiency with dust loading", *J. Hazard. Mater.* 2016. Vol. 301. P. 547–553.
32. Alonso A. (2013), "Superparamagnetic Ag@Co-Nanocomposites on Granulated Cation Exchange Polymeric Matrices with Enhanced Antibacterial Activity for the Environmentally Safe Purification of Water", *Adv. Funct. Mater.* 2013. Vol. 23, No 19. P. 2450–2458.
33. Ko Y.-S. (2014), "Prompt and synergistic antibacterial activity of silver nanoparticle-decorated silica hybrid particles on air filtration", *J. Mater. Chem. B.* The Royal Society of Chemistry, 2014. Vol. 2, № 39. P. 6714–6722.
34. Liang D. (2016), "Novel Asymmetric Wettable AgNPs/Chitosan Wound Dressing: In Vitro and In Vivo Evaluation", *ACS Appl. Mater. Interfaces.* American Chemical Society, 2016. Vol. 8, № 6. P. 3958–3968.
35. Silver-Functionalized Bacterial Cellulose as Antibacterial Membrane for Wound-Healing Applications | *ACS Omega* [Electronic resource]. URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.7b00442> (accessed: 13.01.2021).

36. Nguyễn Đức Nghĩa (2009), “Polyme chức năng và vật liệu lai cấu trúc nano”, Nhà xuất bản khoa học tự nhiên và công nghệ.
37. Hoang Thi Ha (2006), “Study on preparation and antibacterial properties of nano silver coating composites”. Proc. of Intern. 1st WOFMs and 3rd WONPNT, Dec. 6-9, 2006, 462-466. Halong City, Vietnam.
38. Hoàng Anh Sơn, Võ Thành Phong, Trần Anh Tuấn (2007), “Nghiên cứu và chế tạo thử nghiệm màng lọc có tính sát khuẩn cao sử dụng trong xử lý nước sinh hoạt hộ gia đình từ composit polyuretan/nano bạc”, Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh.
39. Bùi Duy Du (2009), “Nghiên cứu chế tạo keo bạc nano bằng bức xạ gamma Co - 60 và một số ứng dụng của chúng trong y học và nông nghiệp”, Luận án Tiến sĩ, Đại học Quốc Gia, Trường Đại học Khoa học tự nhiên.
40. Trần Thị Ngọc Dung (2011), “Nghiên cứu tác dụng của băng nano bạc lên quá trình điều trị vết thương bỏng”, Tạp chí Khoa học và Công nghệ 49 (3) (2011) 87-92.
41. Tran Thi Ngoc Dung (2019), “Silver nanoparticles as potential antiviral agents against African swine fever virus”, Materials Research Express.
42. Lê Thị Ngọc Hoa (2021), “Tổng hợp và khảo sát khả năng kháng khuẩn của nano bạc trong sơn nước nội thất”, Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ.
43. P. B. PRICE, “Benzalkonium Chloride (Zephiran Chloride®) as a Skin Disinfectant,” Arch. Surg., vol. 61, no. 1, pp. 23–33, 1950.
44. F. T. Sanders, “Reregistration Eligibility Decision for Alkyl Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride (ADBAC)” US Environ. Prot. Agency Off. Prev. Pestic. Toxic Subst., 2006.
45. Kolberg and E. Scherbaum (2014), “Determination of quaternary ammonium compound residues in fruits and vegetables by QuEChERS following LC-MS/MS analysis”.
46. Bùi Thùy Trang, Bùi Anh Thúc (2018), “Nghiên cứu tổng hợp alkyl benzyl dimethyl ammoni halide làm chất tiêu tủy”, Tạp chí Khoa học và Kỹ thuật – ISSN 1859-0209.
47. Merchel Piovesan Pereira, I. Tagkopoulos (2019), “Benzalkonium chlorides: uses, regulatory status, and microbial resistance”, Appl. Environ. Microbiol., vol. 85, no. 13, pp. e00377-19, 2019.

48. Ogilvie, Benjamin, Solis-Leal, Antonio (2020). “Alcohol-free hand sanitizer and other quaternary ammonium disinfectants quickly and effectively inactivate SARS-CoV-2”. *Journal of Hospital Infection*.
49. J. Palm, K. Fuchs (2018), “Efficacy and safety of a triple active sore throat lozenge in the treatment of patients with acute pharyngitis: Results of a multi-centre, randomised, placebo-controlled, double-blind, parallel-group trial (DoriPha)”, *Int. J. Clin. Pract.*, vol. 72, no. 12, p. e13272, 2018
50. Basketter DA, Marriott M, Gilmour NJ, White IR. (2004), “Strong irritants masquerading as skin allergens: the case of benzalkonium chloride”, *Contact Dermatitis* 50:213–217. <https://doi.org/10.1111/j.0105-1873.2004.00331.x>.
51. Ferk F, Misik M, Hoelzl C, Uhl M, Fuerhacker M, Grillitsch B, Parzefall W, Nersesyanyan A, Micieta K, Grummt T, Ehrlich V, Knasmüller S. (2007), “Benzalkonium chloride (BAC) and dimethyldioctadecyl-ammonium bromide (DDAB), two common quaternary ammonium compounds, cause genotoxic effects in mammalian and plant cells at environmentally relevant concentrations”, *Mutagenesis* 22:363–370.
52. De Saint Jean M, Brignole F, Bringuier AF, Bauchet A, Feldmann G, Baudouin C. (1999), “Effects of benzalkonium chloride on growth and survival of Chang conjunctival cells”, *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40: 619–630
53. U.S. Environmental Protection Agency (EPA) (2006), “Reregistration eligibility decision for alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride (ADBAC)”, EPA739-R-06-009. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC
54. Marple B, Roland P, Benninger M. (2004), “Safety review of benzalkonium chloride used as a preservative in intranasal solutions: an overview of conflicting data and opinions”, *Otolaryngol Head Neck Surg* 130: 131–141.
55. Choi SM, Roh TH, Lim DS, Kacew S, Kim HS, Lee B-M. (2018), “Risk assessment of benzalkonium chloride in cosmetic products”, *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 21:8–23. <https://doi.org/10.1080/10937404.2017.1408552>.
56. Kitazawa Y, Smith P, Sasaki N, Kotake S, Bae K, Iwamoto Y. (2011), “Travoprost 0.004%/timolol 0.5%-fixed combination with and without benzalkonium chloride: a prospective, randomized, double-masked comparison of safety and efficacy”.

57. “RTECS BO3150000 Ammonium, alkyldimethylbenzyl - chloride”. 28 March 2018.
58. Bruno Kovač (2022), “The Effectiveness of Benzalkonium Chloride as an Active Compound on Selected Foodborne Pathogens Biofilm, Hygiene”.
59. S. S. Block (2001), “Disinfection, sterilization, and preservation”. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
60. GS. TS. Lê Huy Chính (2007), “Vi Sinh Vật Y Học”, Sách đào tạo BSDK – Bộ Y Tế, Nhà xuất bản Y học.
61. Krutyakov Y.A. (2008), “Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects”, Russ. Chem. Rev. 2008. Vol. 77, № 3. P. 233–257.
62. Thirumurugan G., Dhanaraju M. (2017), “Silver Nanoparticles : Real Antibacterial Bullets [Electronic resource]”.
63. Trần Thị Hải Yên*, Lê Thị Huyền (2019), “Đánh giá ảnh hưởng mức độ pha loãng đến kết quả xác định kích thước hệ tiêu phân nano polyme và nano liposome bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động”, VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences, Vol. 35, No. 2(2019) 19-26
64. Phạm Ngọc Nguyên, (2004), Giáo trình kỹ thuật phân tích vật lý, NXB Khoa Học Kỹ Thuật Hà Nội.
65. Ansari S.A , Alshanberi A.M (2021), “Clinical Application of Silver Nanoparticles Coated by Benzalkonium Chloride”, coatings 2021
66. Dong, C., Zhang, X., & Cai, H. (2014). Green synthesis of monodisperse silver nanoparticles using hydroxy propyl methyl cellulose. *Journal of Alloys and Compounds*, 583(1), 267-271. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2013.08.207>
67. A. Amirjani, N. N. Koochak and D. F. Haghshenas (2019), “Investigating the Shape and Size-Dependent Optical Properties of Silver Nanostructures Using UV-vis Spectroscopy,” *J. Chem. Educ.*, Vol. 96, No. 11, pp. 2584-2589, 2019.
68. D. Paramelle, A. Sadovoy, S. Gorelik, P. Free, J. Hobley and D. G. Fernig (2014), “A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra,” *The Analyst*, Vol. 139, No. 19, pp. 4855-4861, 2014.
69. Salem NM Awaad AM (2012), “Green synthesis of silver nanoparticles by Mulberry leaves extract”, *Nanosci Nanotechnol* 2(4):125-128, (2012).

70. Henglein, M. Giersig, J (1999), “Physic and Chemistry B”,103, 9533.
71. Mohammadinejad R, Pourseyedi S, Baghizadeh A, Ranjbar S, Mansori GA (2013) “Synthesis of silver nanoparticles using silybum marianum seed extract”, Int J Nanosci Nanotechnol 9: 221-226.
72. Nguyễn Thị Trang, Đỗ Thị Thảo (2021), “Đánh giá tính ổn định của dung dịch nano bạc bằng phương pháp phân tích phổ hấp phụ UV-VIS và khả năng kháng khuẩn trên *escherichia coli* và *staphylococcus aureus*”, Tạp chí Công nghệ Sinh học 19(4): 749-754, 2021.

PHỤ LỤC

Bài báo cáo hội thảo



INNOVATIONS IN LIFE SCIENCES

Сборник материалов
V Международного симпозиума

г. Белгород, 24-26 мая 2023 г.

2023

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный
исследовательский университет»

INNOVATIONS IN LIFE SCIENCES

Сборник материалов
V Международного симпозиума
г. Белгород, 24-26 мая 2023 г.



Белгород 2023

УДК 54.06:574:579:615.1:631
ББК 24+28+48.6+52.8
I 64

Рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом института фармации, химии и биологии НИУ «БелГУ» (протокол № 16 от 29.05.2023)

Рецензенты:

В.Н. Скворцов, доктор ветеринарных наук,
руководитель Белгородского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН;

С.Д. Чернявских, кандидат биологических наук, доцент,
декан факультета математики и естественно-научного образования
педагогического института НИУ «БелГУ»

I 64 **Innovations in life sciences**: сборник материалов V Международного симпозиума, г. Белгород, 24-26 мая 2023 г. / отв. ред. А.А. Присный. – Белгород: ИД «БелГУ» НИУ «БелГУ», 2023. – 434 с.

ISBN 978-5-9571-3441-1

В сборнике научных трудов представлены результаты исследований и практический опыт в области фармацевтической технологии, управления и экономики фармации, фармацевтической химии, фармакологии, фармакогнозии. Материалы сборника представляют интерес для руководителей фармацевтических предприятий, преподавателей, аспирантов и студентов высших учебных заведений фармацевтического и медицинского профиля.

УДК 54.06:574:579:615.1:631
ББК 24+28+48.6+52.8

ISBN 978-5-9571-3441-1

© НИУ «БелГУ», 2023

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Приветственное слово и.о. ректора НИУ «БелГУ»</i>	19
1. Фундаментальные и прикладные аспекты биотехнологии и микробиологии	21
<i>Altukhova D.A., Maryasova E.A.</i>	
TSL IN ESCHERICHIAI COLI.....	21
<i>Asfha Z.A., Solyanikova I.P.</i>	
ANTIMICROBIAL EFFECT OF BACTERIA ISOLATED FROM THE RHIZOSPHERE OF <i>SHAMAECYTISUS RUTHENICUS</i> GROWING IN CHALKY SOIL	22
<i>Belozerskikh M.S., Goltseva E.R., Maryasova E.A.</i>	
ANTAGONISTIC ACTIVITY OF THE BACTERIUM <i>PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS</i> VKM BS-1393 AGAINST PHYTOPATHOGENIC BACTERIA <i>RALSTONIA SP</i> AND <i>CLAVIBACTER MICHIGANENSIS</i> VKM AC 1403	24
<i>Бочаров В.В., Раевская М.В.</i>	
О ТРАНСФОРМАЦИИ ТРУДНОРАЗЛАГАЕМЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПАВ В «БЫСТРО РАЗЛАГАЕМЫЕ» («ЗЕЛЕНЬЕ»).....	26
<i>Бочкарева Е.В., Дегтярёва К.А., Волощенко О.С.</i>	
ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ОЧИСТКИ ВОДЫ ОТ ТОКСИКАНТОВ	28
<i>Бояришин К.С., Адамова В.В., Обухова О.Ю., Колкова М.В., Чжен Веньтао, Батлуцкая И.В.</i>	
ДОМИНИРУЮЩИЕ ТАКСОНЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ ЧЕРНОЗЁМОВ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ	30
<i>Брусенцева К.В., Нестерук Л.В.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО И ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТОВ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ МЕТОДОМ ALLIUM TEST.....	32
<i>Бухарина И.Л.</i>	
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОНСОРЦИУМОВ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ВОССТАНОВЛЕНИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ.....	33
<i>Vikhlyantseva S.G., Maryasova E.A.</i>	
BASIC INFORMATION ABOUT USEFUL MICROSCOPIC FUNGI.....	35
<i>Волощенко О.С., Дегтярёва К.А., Бочкарева Е.В.</i>	
ФИТОРЕМЕДИАЦИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ... 36	
<i>Зеленков В.Н., Латушкин В.В., Карпачев В.В.</i>	
ВЛИЯНИЕ НЕПРЕРЫВНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СВЕТОДИОДНОЙ ГЕНЕРАЦИИ В РЕЖИМАХ НИЗКОИНТЕНСИВНЫХ ПОТОКОВ ФОТОНОВ МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО СПЕКТРА НА ПРОРАЩИВАНИЕ СЕМЯН НУГА АБИССИНСКОГО	38
<i>Зеленков В.Н., Латушкин В.В., Косолапов В.М.</i>	
ВЛИЯНИЕ НЕПРЕРЫВНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СВЕТОДИОДНОЙ ГЕНЕРАЦИИ В РЕЖИМАХ НИЗКОИНТЕНСИВНЫХ ПОТОКОВ ФОТОНОВ МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО СПЕКТРА НА ПРОРАЩИВАНИЕ СЕМЯН ФЕСТУЛЛОЛИУМА	40
<i>Зуева Н.В., Веретенников С.А., Агафонов Г.В.</i>	
ИЗОБУТАНОЛ, КАК АЛЬТЕРНАТИВА ТОПЛИВА ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ ЗЕРНОВОГО СЫРЬЯ	42
<i>Иванова С.М., Потапова М.С., Потапова Т.В.</i>	
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ - ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ СИМБИОТОВ МОХООБРАЗНЫХ	44

<i>Клысбаева Л.И., Бурнышева Т.О., Кунцова М.Н.</i> ФЕРМЕНТОЛИЗ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ PLEUROTUS OSTREATUS С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА ПОЛНОГО ФАКТОРНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА	45
<i>Князева Н.В., Маслова Е.В.</i> РАСТИТЕЛЬНЫЕ ОБЪЕКТЫ И ИХ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА СРЕДЫ	47
<i>Kolkova M.V., Boyarshin K.S., Obukhova O.U., Batlutskaya I.V.</i> GROUPS OF BACTERIA DOMINATING IN THE MICROBIOTA OF CHERNOZEMS	48
<i>Konstantinov D.S., Gerashchenko O.S., Maryasova E.A.</i> INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL COMPONENTS CONCENTRATION AND AERATION CONDITIONS ON GROWTH AND FORMATION OF DORMANT FORMS IN GORDONIA POLYISIPRENIVORANS 135	50
<i>Корешкова А.Е., Моркель А.Р., Ляховченко Н.С.</i> ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ К ОБЕСЦВЕЧИВАНИЮ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ КРАСИТЕЛЕЙ	51
<i>Кузнецова А.В., Клюева В.В.</i> ОСОБЕННОСТИ РИЗОСФЕРНОЙ МИКРОФЛОРЫ РАЗЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В УСЛОВИЯХ ЗАКРЫТОГО ГРУНТА	52
<i>Kurenkov A.A., Zalizskaya A.A., Maryasova E. A.</i> REVIEW OF STARTERS FOR THE PRODUCTION OF VARIOUS DAIRY PRODUCTS ...	54
<i>Кутузова В.В., Пименова Е.А., Мотина Е.А.</i> РАЗРАБОТКА АНТИБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НИСТАТИНА НА ОСНОВЕ ВЫСОКОАКТИВНОГО ШТАММА STREPTOMYCES NOURSEI	56
<i>Lopin R.S., Maryasova E.A.</i> OVERVIEW OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS FOR PRODUCING AMYLOLYTIC ENZYMES	58
<i>Ляховченко Н.С., Ефимова В.А., Соляникова И.П.</i> ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ <i>CLAVIDACTER MICHIGANENSIS</i> К <i>JANTHINOBACTERIUM</i> <i>LIVIDUM</i> ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ	60
<i>Monakova V.M., Miagkov D.A., Solyanikova I.P., Senchenkov V.Y., Maryasova E.A.</i> STUDY OF THE PRIMARY MORPHOLOGICAL AND CYTOCHEMICAL CHARACTERS OF AUTOTROPHIC MICROORGANISMS ISOLATED FROM GYPSIFEROUS WASTE	61
<i>Мохова Е.К., Гордиенко М.Г.</i> РАЗРАБОТКА БИОПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ БИОТЕХНОЛОГИИ И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ	63
<i>Насыров Н.А., Батаева Д.С., Грудистова М.А.</i> УСТОЙЧИВОСТЬ БИОПЛЕНОК РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ PSEUDOMONAS К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПРОМЫШЛЕННОГО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА	65
<i>Ngo Quang Trong, Nguyen Dinh Chien, Nguyen Hoai Chau, Nguyen Tan Thanh</i> SILVER NANOPARTICLES, STABILIZED BY BENZALKONIUM CHLORIDE. PART 1: PHYSYCO-CHEMICAL CHARATERISTICS	67
<i>Ngo Quang Trong, Nguyen Dinh Chien, Nguyen Hoai Chau, Nguyen Tan Thanh</i> SILVER NANOPARTICLES, STABILIZED BY BENZALKONIUM CHLORIDE. PART 2: ANTIBACTERIAL ACTIVITY	68
<i>Неволина Е.Д., Журина М.В., Машенцева Н.Г.</i> ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ КОМБИНИРОВАННЫХ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК В СОСТАВЕ МУЛЬТИВИДОВЫХ БИОПЛЕНОК	70

SILVER NANOPARTICLES, STABILIZED BY BENZALKONIUM CHLORIDE. PART 1: PHYSYCO-CHEMICAL CHARATERISTICS

*Ngo Quang Trong¹, Nguyen Dinh Chien², Nguyen Hoai Chau²,
Nguyen Tan Thanh²*

1 - Faculty of Environmental Technology, Graduate University of Sciences and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology. E.mail: quangtrong96nd@gmail.com

2 – Institute of Environmental Technology, Vietnam Academy of Science and Technology. E.mail: ngudichi@yandex.ru; nhchau.iet@gmail.ru

Silver and its alloys inhibit a wide range of bacteria, fungi and viruses [1]. Compared to many other chemical elements, silver has a relatively low toxicity to mammalian cells [2]. Therefore, silver and its forms, in particular, zerovalent metal in the form of nanoparticles, can be used as a safe antibacterial agent.

The growing resistance to antibiotic drugs in pathogens is a serious problem in medicine, which requires the development of new types of antibacterial agent. Silver nanoparticles are a promising alternative to antibiotics. The uniqueness of silver nanoparticles lies in the fact that they are effective agents against even polyantibiotic resistant strains of bacteria; this has been confirmed in a number of scientific publications [3,4].

The purpose of this work is studying physicochemical silver nanoparticles obtained by chemical reduction by sodium borohydride (NaBH_4), and alkylbenzyltrimethylammonium chloride was used as a stabilizing agent. Precursor of silver nanoparticles – nitrate salt of this metal (AgNO_3). All of chemical reagents were purchased from Sigma Aldrich. Silver nanoparticles were obtained by a procedure similar to that described in [5] with the replacement of chitosan with alkylbenzyltrimethylammonium chloride as a stabilizer. The mass concentration of silver nanoparticles in the resulting solution is 500 mg/l; the mass ratio of silver : stabilizer is 1:10.

The optical absorption spectrum of the obtained solutions of silver nanoparticles (figure 1) was recorded on a UH-5300 spectrophotometer (Hitachi). The zeta potential of nanoparticles (Table 1) was determined on a Nano particle analyzer SZ-100 (Horiba).

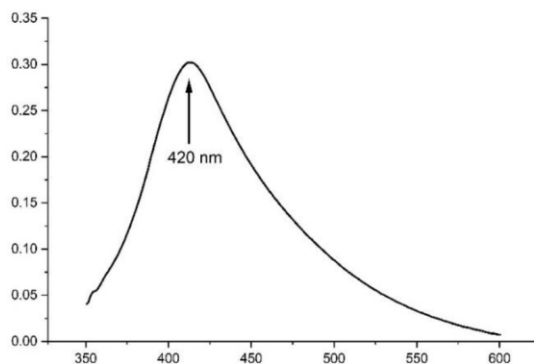


Fig. 1. Optical absorption spectrum of the obtained silver nanoparticles.

Table 1

Changes in physicochemical parameters over time of sample storage

Parameter	Zeta potential (mV)			Peak of UV-VIS spectrum (nm)		
	30	180	360	30	180	360
Storage time (days)	30	180	360	30	180	360
Value	+35,4	+30,3	+28,6	420	427	433

According to UV-VIS spectrophotometry data, the presence of peaks in the region of about 420 nm indicates the existence of nanoparticles formed as a result of the chemical reduction of silver ions with borohydride. A rather high value of the zeta potential (~ 28-35 mV) characterizes the stability of a colloidal system - a solution of silver nanoparticles. For long periods of storage (up to 360 days), an insignificant enlargement of nanoparticles was observed, which is confirmed by the shift of the spectrum peaks towards longer wavelengths.

Acknowledgement: This research was supported by Department of Science and Technology of Hanoi city (Project number 01C-09/01-2021-3).

Conferences

1. Krutyakov Y.A. et al. Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects // Russ. Chem. Rev. 2008. Vol. 77, № 3. P. 233–257.
2. Zhao G., Stevens S.E. Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of Escherichia coli to the silver ion // Biometals. 1998. Vol. 11, № 1. P. 27–32.
3. Das B. et al. Green synthesized silver nanoparticles destroy multidrug resistant bacteria via reactive oxygen species mediated membrane damage: 6 // Arabian Journal of Chemistry. 2017. Vol. 10, № 6. P. 862–876.
4. de Lacerda Coriolano D. et al. Antibacterial and antibiofilm potential of silver nanoparticles against antibiotic-sensitive and multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa strains // Braz J Microbiol. 2021. Vol. 52, № 1. P. 267–278.
5. Dung T.T.N. et al. Silver nanoparticles as potential antiviral agents against African swine fever virus // Mater. Res. Express. IOP Publishing, 2020. Vol. 6, № 12. P. 1250g9.

SILVER NANOPARTICLES, STABILIZED BY BENZALKONIUM CHLORIDE. PART 2: ANTIBACTERIAL ACTIVITY

*Ngô Quang Trọng¹, Nguyễn Đình Chiến², Nguyễn Hoài Châu²,
Nguyễn Tân Thanh²*

1 - Faculty of Environmental Technology, Graduate University of Sciences and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology. E.mail: quangtrong96nd@gmail.com

2 – Institute of Environmental Technology, Vietnam Academy of Science and Technology. E.mail: ngudichi@yandex.ru; nhchau.iet@gmail.ru

Silver nanoparticles are promising biocidal agents and can be used in medicine, household, agricultural and industrial sectors. There have been many scientific works demonstrating the ability of nano silver to kill many microorganisms,

including *Escherichia coli* [1], *Staphylococcus aureus* [2], *Klebsiella mobilis*, *Mycobacterium tuberculosis* [3], *hepatitis B virus* [4], *African swine fever virus* [5].

In the research, production and application of nanomaterials, the stabilizer plays a significant role in the properties of the obtained products [6]. Many compounds have been successfully used as a stabilizer for nanosilver solutions, such as starch, polyvinyl pyrrolidone (PVP), polyethylene glycol (PEG), polyvinyl alcohol (PVA), etc. However, from our point of view, these stabilizing agents are inappropriate choices for creating colloidal systems of silver nanoparticles, that are used as biocidal agents. The reason is that these stabilizers do not have an inhibitory effect on pathogenic bacteria, which means that silver nanoparticles are the only active substances in the sterilization process. This leads to low economic efficiency of the process due to the high cost of silver metal.

The use of alkylbenzyltrimethylammonium chloride (BKC) as a stabilizer for the silver nanoparticle solution can solve the above problem. Firstly, BKC is essentially a surfactant with a molecular size large enough to stabilize nanoparticles. Secondly, BKC has good bactericidal ability, so when combined with silver nanoparticles can bring good economic effect because it can reduce the concentration of silver nano and still achieve bactericidal effect.

The purpose of this work is studying antibacterial activity of silver nanoparticles obtained by chemical reduction by sodium borohydride (NaBH_4), and stabilized with BKC (AgNPs-BKC). The antibacterial activity of the studied samples was determined on *Escherichia coli* according to the method, described in the work [1]. Growth rates and bacterial concentrations were determined by measuring optical density (OD) at 600 nm through time series. To identify the role of stabilizers, samples of silver nanoparticles synthesized by an analogous method, but stabilized by other chemical reagents, were taken as standards.

The results of evaluation the antibacterial activity of the samples are shown in Figures 1-3.

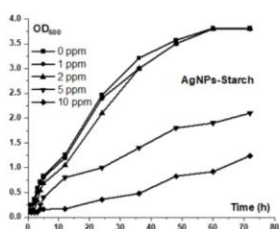


Fig. 1. Antibacterial activity of Silver nanoparticles, stabilized by starch

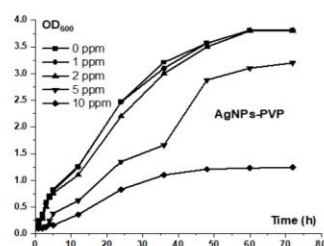


Fig. 2. Antibacterial activity of Silver nanoparticles, stabilized by polyvinyl pyrrolidone

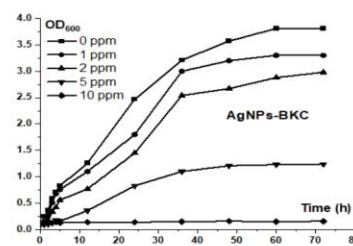


Fig. 3. Antibacterial activity of Silver nanoparticles, stabilized by alkylbenzyltrimethylammonium chloride

Analysis of the growth curves of *E.coli* under the influence of nano silver samples can realize the important role of stabilizers in inhibiting bacterial growth. The starch and PVP-stabilized silver nanoparticles samples, concentrations of 1 and 2 ppm had almost no effect on the growth of *E.coli*, these curves almost coincided with the control curve (0 ppm). At concentrations of 5 and 10 ppm, the ability to

inhibit bacteria of these two samples was better, but still not reached the minimum inhibitory concentration for *E.coli* under the experiment condition.

AgNPs-BKC sample showed a significant advantage over the two control. Even at concentrations of 1 and 2 ppm this sample had certain effects in inhibiting *E.coli* growth. The 5 ppm concentration level of AgNPs-BKC also outperformed controls samples at the same concentration level. Especially at the concentration of 10 ppm, no bacterial growth was observed at all after 72 hours of the experiment, which proves that the concentration level of 10 ppm of AgNPs-BKC sample can be considered as the minimum inhibitory concentration against *E. coli*.

Acknowledgement: This research was supported by Department of Science and Technology of Hanoi city (Project number 01C-09/01-2021-3).

References

1. Li W.-R. et al. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli // Appl Microbiol Biotechnol. 2010. Vol. 85, № 4. P. 1115–1122.
2. Li W.-R. et al. Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus // Biometals. 2011. Vol. 24, № 1. P. 135–141.
3. Verkhovskii R. et al. Physical properties and cytotoxicity of silver nanoparticles under different polymeric stabilizers // Heliyon. 2019. Vol. 5, № 3. P. e01305.
4. Lu L. et al. Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication: 2 // Antivir Ther. 2008. Vol. 13, № 2. P. 253–262.
5. Dung T.T.N. et al. Silver nanoparticles as potential antiviral agents against African swine fever virus: 12 // Mater. Res. Express. IOP Publishing, 2020. Vol. 6, № 12. P. 1250g9.
6. Javed R. et al. Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: recent trends and future prospects // Journal of Nanobiotechnology. 2020. Vol. 18, № 1. P. 172.

Hà Nội, ngày 10 tháng 10 năm 2023

Số: 1167/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 15/2014/TT-BGDĐT ngày 15/5/2014 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 775/QĐ-HVKHCN ngày 21/11/2016 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1488/QĐ-HVKHCN ngày 01/11/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 2 năm 2021;

Căn cứ Quyết định số 128/QĐ-HVKHCN ngày 03/3/2023 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 Công nghệ môi trường, Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Ngô Quang Trọng với đề tài: **“Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá khả năng diệt khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride”**.

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường, Mã số: 8 52 03 20

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.

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 Công nghệ môi trường, 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. *TS*

Nơi nhận:

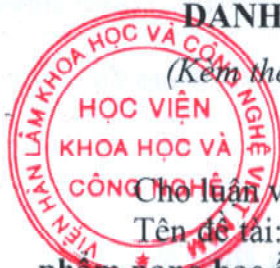
- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, HK.12.

GIÁM ĐỐC

GS.TS. Vũ Đình Lâm

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 1167/QĐ-HVKHCN ngày 10/10/2023
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Cho luận văn của học viên: Ngô Quang Trọng

Tên đề tài: “Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá khả năng diệt khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride”.

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8 52 03 20

Người hướng dẫn 1: TS. Nguyễn Đình Chiến, Viện Công nghệ môi trường,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn 2: GS.TS. Nguyễn Hoài Châu, Viện Công nghệ môi trường,
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.	GS.TS. Trịnh Văn Tuyên	Công nghệ hóa học và môi trường	Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	TS. Nguyễn Thanh Hào	Công nghệ sinh học	Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Bộ NN Phát triển nông thôn	Phản biện 1
3.	TS. Lê Tuấn	Công nghệ Enzyme và vi sinh vật	Trường Hóa và Khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội	Phản biện 2
4.	TS. Dương Thị Hạnh	Hóa phân tích	Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên- Thư ký
5.	TS. Trần Quang Vinh	Hóa lý	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên

Hội đồng gồm 05 thành viên./ *Ju*

Hà Nội, ngày 27 tháng 10 năm 2023

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 1167 /QĐ-HVKHCN ngày 10/ 10 /2023 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 Ngô Quang Trọng

Tên đề tài: **“Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá khả năng diệt khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride”.**

Ngành/Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8 52 03 20

Hôm nay, ngày 27/10 /2023 Hội đồng đã họp tại P.1705 - Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN vào lúc 14h, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	GS.TS. Trịnh Văn Tuyên	Chủ tịch Hội đồng
2.	TS. Dương Thị Hạnh	Thư ký Hội đồng
3.	TS. Nguyễn Thanh Hảo	Phản biện 1
4.	TS. Lê Tuấn	Phản biện 2
5.	TS. Trần Quang Vinh	Ủy viên Hội đồng

Thành viên vắng mặt: 0 (Phản biện hoặc ủy viên, đã có bản nhận xét đồng ý cho phép học viên được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ)

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
- Phản biện 1, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi
 - Nguyên nhân tại sao cần đánh giá tính ổn định của chế phẩm nano bạc?
 - Giải thích việc tính CFU sau xử lý nano bạc?
- Phản biện 2, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi
 - Kết quả Bảng 6 Luận văn không làm mẫu lặp do đó cơ sở nào để đánh giá độ tin cậy của kết quả nghiên cứu?



✓

- 4) Đánh giá độ ổn định của phương pháp nghiên cứu không được nêu lên trong mục chương II. Phương pháp này cần được nêu trong phương pháp nghiên cứu, điều kiện thí nghiệm...
 - 5) Bảo quản chế phẩm trong thời gian dài, kích thước hạt thay đổi. Cơ chế nào ảnh hưởng đến sự thay đổi này?
 - 6) Hiệu quả diệt khuẩn do BKC hay nano bạc?.
7. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi
- 7) Tại sao không ứng dụng dung dịch chế phẩm để diệt 2 chủng vi khuẩn trong nước thải thực tế như nước thải bệnh viện, công nghiệp, sinh hoạt...?
 - 8) BKC ổn định bạc bằng cách nào?
 - 9) Tại sao phải dùng RO đun nóng để loại bỏ oxi? Oxi ảnh hưởng như thế nào mà cần phải loại bỏ?
 - 10) Tại sao chọn mẫu M19 không tối ưu, có kích thước nano bạc lớn để đặc trưng?
 - 11) Mẫu M07 có nồng độ nano bạc tăng gấp đôi so với M01 nhưng kích thước hạt nano Ag nhỏ hơn?
 - 12) Đếm khuẩn mất bao nhiêu thời gian, đếm bằng gì?
8. Học viên trả lời
- 1) Đánh giá tính ổn định với mục đích sau này thương mại hóa sản phẩm.
 - 2) Tính CFU dựa trên phương pháp pha loãng (với nồng độ > 300).
 - 9) Cần loại bỏ oxi trong nước do oxi có tính oxi hóa nên ảnh hưởng đến tổng hợp.
 - 12) Học viên đếm vi khuẩn bằng máy.
- Các câu hỏi còn lại học viên xin phép nghiên cứu trả lời sau và bổ sung vào luận văn cho hoàn thiện.
9. Hội đồng họp kín và cho điểm
- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:
 - Trưởng ban: TS. Trần Quang Vinh
 - Ủy viên: TS. Dương Thị Hạnh
 - Ủy viên: TS. Lê Tuấn
 - Kết quả kiểm phiếu như sau:
 - Số phiếu phát ra: 05
 - Số phiếu thu về: 05
 - Tổng số điểm: 39,3
 - Điểm trung bình: 7,86
 - Điểm thưởng công trình công bố: 0,82
 - Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố:

- Kết luận của Hội đồng:

- + Luận văn Đạt (đạt/không đạt yêu cầu)
- + Luận văn không trùng lặp về nội dung và tên đề tài với các công bố trước đó

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


- Bổ cục lại luận văn theo mẫu.
 - Chương I, II, bổ sung trích dẫn TLTK, làm rõ hóa chất vật tư tiêu hao, cơ sở đưa các thông số vào thực nghiệm.
 - Chương III, tăng bình luận so sánh kết quả, làm gọn lại kết luận.
- Đề nghị hoàn thiện và chỉnh sửa luận văn theo ý kiến của thành viên hội đồng.


Buổi họp đã kết thúc vào 17 giờ 00 phút ngày 27/ 10 /2023

Hà Nội, ngày 27 tháng 10 năm 2023

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG


Dương Thị Hằng


Trịnh Văn Tuyên

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO
KI. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC




Nguyễn Thị Trung



BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Lê Tuấn

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Chuyên ngành: Công nghệ Enzyme và Vi sinh vật

Cơ quan công tác: Trường Hóa và Khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội

Họ và tên học viên: Ngô Quang Trọng

Tên đề tài: NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG DIỆT KHUẨN CỦA CHẾ PHẨM NANO BẠC ỔN ĐỊNH BẰNG BENZALKONIUM CHLORIDE

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8520320

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Mục tiêu của đề tài luận văn nhằm nghiên cứu tổng hợp chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride để ứng dụng trong khử trùng chuồng trại chăn nuôi và một số lĩnh vực khác. Nội dung của đề tài có tính thực tiễn cao, có tiềm năng ứng dụng ở thị trường chăn nuôi tại Việt Nam

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:

*Nội dung nghiên cứu không có sự trùng lặp với các công trình khoa học đã công bố ở trong và ngoài nước. Về tổng quan tài liệu tham khảo, luận văn đã trích dẫn 51 tài liệu trong và ngoài nước; nhìn chung các tài liệu được trích dẫn hợp lý. Tuy nhiên học viên còn chưa trích dẫn một số nghiên cứu có nội dung gần với đề tài, ví dụ: *Clinical Application of Silver Nanoparticles Coated by Benzalkonium Chloride*, DOI 10.3390/coatings1111138 hoặc công bố của nhóm tác giả Việt Nam *Ag-decorated novel h'-WO3 nanostructures for sustainable applications*, DOI 10.1016/j.ceramint.2022.03.142*

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 nghiên cứu hoàn toàn phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành đào tạo

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



Nghiên cứu này sử dụng các phương pháp phân tích thường quy và đã được sử dụng bởi nhiều tác giả trong và ngoài nước khi nghiên cứu về vật liệu nano. Các phân tích có độ tin cậy và cập nhật.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Tác giả đã tổng hợp thành công chế phẩm nano bạc, ổn định bằng BKC theo phương pháp hóa học và phân tích kích thước chế phẩm bằng TEM, DLS

Tác giả đã khảo sát được sự thay đổi về tính chất của nano bạc theo thời gian bảo quản

Tác giả đã đánh giá được khả năng kháng khuẩn trên đối tượng *E. coli* ATCC 25922 và *S. aureus* ATCC 25923

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

Nhìn chung khía cạnh xử lý số liệu chưa được chú trọng, tác giả chưa khai thác hết tiềm năng và ý nghĩa khoa học của các số liệu thu được. Luận văn còn một số điểm cần được chỉnh sửa về khía cạnh trình bày như sau.

- Hình 3 tác giả xem xét bỏ sung nguồn trích dẫn
- Chương 2, mục Đối tượng nghiên cứu cần trình bày ngắn gọn thông tin về các chủng *E. coli* và *Staphylococcus aureus* đã được sử dụng trong nghiên cứu này, các thông tin mang tính lý thuyết vi sinh về loài nên được trình bày ở chương 1 nếu thực sự quan trọng. Hình 8 và Hình 9 nên xem xét loại bỏ khỏi quyển luận văn vì nội dung không thực sự thiết yếu.
- Hình 11 cần có chú thích nội dung của từng ảnh chụp đĩa petri.
- Hình 13 có thể cân nhắc loại bỏ vì phương pháp pha loãng mẫu là cơ bản trong ngành vi sinh vật
- Mục 3.1.2.2 Chỉ xem xét trên chỉ số Z-average là chưa đủ, các thông số Mean, Median, Mode, Span, PI cũng cần được xét đến và thảo luận.
- Bảng 9 cần có trích dẫn nguồn tài liệu tham khảo
- Mục 3.1.2.4 từ hình ảnh phân tích TEM và thang kích thước, tác giả hoàn toàn có thể dựa vào phương pháp phân tích hình ảnh (image analysis) để đo đặc thông số kích thước của các hạt (chu vi, diện tích) từ đó tính toán được thông số đặc trưng là D_{CE} (diameter of circle equivalent).
- Mục 3.1.3.2 phần tính toán tốc độ lắng của các hạt trong dung dịch nano bạc cần xem xét kỹ hơn các giả thuyết. Khi so sánh hạt nano bạc thu được từ quá trình có và không bổ sung BKC, việc ước tính độ nhớt dung dịch sẽ dẫn đến sai số lớn, bởi các lý do: i) BKC đưa vào dung dịch có thể tồn tại ở dạng chất phân tán hoặc nằm trong cấu trúc của các hạt nano bạc, ii) tương tác giữa các hạt nano trong dung dịch cũng sẽ làm tăng độ nhớt, iii) với mỗi dung dịch huyền phù nano bạc, các phần tử có kích thước dao động trong một dải lớn, như vậy tính toán tốc độ lắng dựa trên giá trị đường kính hạt trung bình từ phép đo DLS có thể chưa mang tính đặc trưng.
- Mục 3.2 khái niệm thời gian tiếp xúc trực tiếp 5 phút, 10 phút nên được cân nhắc, bởi sau thời gian đó, hỗn hợp được trải lên đĩa petri có môi trường thạch, nano bạc và tế bào vi khuẩn vẫn có thể tiếp tục "tiếp xúc" và tương tác.

7. 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?

Tác giả đã có công trình khoa học có nội dung phù hợp với kết quả thu được từ đề tài thạc sĩ

8. 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?):

Luận văn của học viên Ngô Quang Trọng đáp ứng được các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ và có thể được đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ.

Hà Nội, ngày 24. tháng 10 năm 2023

Xác nhận của cơ quan công tác

Người phản biện
(Ký, ghi rõ họ tên)



PGS. TS. Chu Kỳ Sơn

Lê Tuấn

Lưu ý:

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và xác nhận của cơ quan công tác (nếu đang công tác) và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: 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: 024.33899977

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: Nguyễn Thanh Hào

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Cơ quan công tác: Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Họ và tên học viên: Ngô Quang Trọng

Tên đề tài: “Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá khả năng diệt khuẩn của chế phẩm Nano bạc ổn định bằng Bezalkonium chloride”

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8520320

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Đề tài có tính mới, bằng việc tổng hợp Nano bạc theo hướng thân thiện với môi trường, sử dụng benzalkonium chloride là một chất hoạt động bề mặt cation có hoạt tính diệt khuẩn làm chất ổn định sẽ giúp tăng cường tính kháng khuẩn của Nano bạc, giảm liều lượng cần thiết, bảo vệ môi trường, đáp ứng được việc diệt trừ virus, vi khuẩn, hướng tới việc phát triển chế phẩm khử trùng chuồng trại trong chăn nuôi.

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 không trùng lặp với các công trình công bố trước đây. Tài liệu tham khảo được trích dẫn rõ ràng, tuy nhiên một số nội dung cần bổ sung thêm trích dẫn để tăng tính thuyết phục của thông tin đã đề cập.

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

Hoàn toàn phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với 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:

Luận văn sử dụng các phương pháp thường quy trong nghiên cứu vi sinh vật, kết hợp với các phương pháp điều chế Nano bạc truyền thống.

Các phương pháp để phân tích đặc tính lý hóa, độ bền của chế phẩm Nano sử dụng khá nhiều phương pháp hiện đại như: DLS, TEM, Plasmon...

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Luận văn bao gồm hai nhóm kết quả chính:

- Đầu tiên, là việc tối ưu các thông số kỹ thuật để tổng hợp chế phẩm Nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride, sau đó tập trung phân tích kích thước hạt, điện tích bề mặt (thế Zeta), đánh giá độ ổn định của chế phẩm sau thời gian bảo quản, phân tích cấu trúc hạt Nano sử dụng ảnh TEM.

- Thứ hai, là việc đánh giá hoạt tính của chế phẩm Nano trong việc ức chế hai vi sinh vật gây bệnh là vi khuẩn E. coli và vi khuẩn S. aureus

Nhìn chung, các kết quả thu được là đáng tin cậy, dung lượng phù hợp với một luận văn thạc sỹ.

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

- Lỗi điển đạt: cần chuẩn mực theo văn phong khoa học, không sử dụng đại từ ta, tôi

- Cần thống nhất cách trích dẫn tài liệu tham khảo, cách trình bày tài liệu tham khảo tại danh mục tài liệu tham khảo cho đúng quy chuẩn.

- Cần bổ sung phương pháp xử lý thống kê sử dụng trong luận văn.

- Phần phương pháp nghiên cứu cần được viết lại, tách biệt phương pháp và vật liệu cũng như thiết bị sử dụng cho nghiên cứu.

- Cần mô tả chi tiết các phương pháp sử dụng trong đánh giá đặc tính lý hóa của chế phẩm nano như: phương pháp DLS, phương pháp Plasmon, phương pháp chụp ảnh TEM.

- Cần bổ sung thêm trích dẫn cho các hình ảnh sử dụng trong luận văn.

- Cần viết lại kết luận cho ngắn gọn hơn.

7. 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?

- Tác giả đã trình bày kết quả tại một báo cáo khoa học tại Moscow, Russia tháng 03/2023

- Tác giả đã viết hai bản thảo để công bố kết quả trên tạp chí quốc tế.

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

- Đạt yêu cầu, cần chỉnh sửa nghiêm túc theo góp ý.

- Đồng ý cho học viên bảo vệ luận văn trước hội đồng.

Hà Nội, ngày 24 tháng 10 năm 2023

Xác nhận của cơ quan công tác



Người phản biện
(Ký, ghi rõ họ tên)

Nguyễn Thanh Hào

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

Học viện Khoa học và Công nghệ đã có Quyết định số 1167/QĐ-HVKHCN ngày 10 tháng 10 năm 2023 về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Ngô Quang Trọng, sinh ngày 15/03/1996, tại xã Liên Minh, huyện Vụ Bản, tỉnh Nam Định

Đề tài: Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá khả năng diệt khuẩn của chế phẩm nano bạc ổn định bằng benzalkonium chloride

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường,

Mã số: 8520320

Ngày 27 tháng 10 năm 2023, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức cho học viên bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ. Theo Biên bản của Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên phải bổ sung và sửa chữa các điểm sau đây:

Số TT	Nội dung cũ	Nội dung đã chỉnh sửa
1.	Phần mở đầu thiếu dẫn chứng về việc BKC được cấp phép sử dụng ở Việt Nam	Bổ sung tài liệu tham khảo [3] tại dòng 6, đoạn 2 trang 2
2.	Mục đích, đối tượng nghiên cứu ở chương 2	Bổ cục lại luận văn, đưa mục đích, đối tượng nghiên cứu về phần “Mở đầu” tại trang 3
3.	Chương 1. Tổng quan, Mục 1.1.2. Các phương pháp tổng hợp nano bạc	Bổ sung tài liệu tham khảo [4] cho hình 1 tại trang 5 Bổ sung tài liệu tham khảo [5] cho hình 2 tại trang 7
4.	Chương 1. Tổng quan, Mục 1.1.3. Cơ chế diệt khuẩn của nano bạc	Bổ sung tài liệu tham khảo [14] cho hình 3 tại trang 10
5.	Chương 1. Tổng quan, Mục 1.1.7. Tình hình nghiên cứu về nano bạc trên thế giới và ở Việt Nam	Bổ sung thuyết minh tình hình nghiên cứu về nano bạc trên thế giới: “Các nghiên cứu ứng dụng nano bạc... để điều trị chữa lành vết thương” tại trang 16-18
6.	Chương 1. Tổng quan, Mục 1.2.1.	Bổ sung tài liệu tham khảo [43] đoạn 1 và [44] đoạn 3 trang 20
7.	Chương 1. Tổng quan, Mục 1.2.2. Các ứng dụng BKC	Bổ sung tài liệu tham khảo [47] cho Bảng 3 tại trang 22



8.	Chương 1. Tổng quan, Mục 1.2.3. Vấn đề độc tính của BKC	Bổ sung tài liệu tham khảo [57] cho Bảng 4 tại trang 25
9.	Tổng quan về hai loại vi khuẩn <i>E.coli</i> và <i>Staphylococcus aureus</i> ở chương 2	Bổ cục lại thành Mục “1.3. Tổng quan về hai loại vi khuẩn gây bệnh: <i>E.coli</i> và <i>Staphylococcus aureus</i> ”, tại “Chương 1. Tổng quan”, trang 26-29
10.	Chương 2. Phương pháp nghiên cứu	<p>Đổi thành “Chương 2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu”.</p> <p>Bổ cục, chỉnh sửa lại nội dung chương 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Toàn bộ các hóa chất, dụng cụ, thiết bị sử dụng trong quá trình thực hiện luận văn được liệt kê trong mục “2.1. Nguyên vật liệu” tại trang 30 - Bổ sung mô tả nguyên lý một số phương pháp đánh giá đặc trưng hóa lý của chế phẩm nano bạc tại mục “2.2.1.2. Phương pháp đánh giá một số đặc trưng hóa lý của chế phẩm nano bạc tổng hợp được” trang 32-36 - Bổ sung cơ sở lựa chọn nồng độ chế phẩm nano bạc khảo sát khả năng kháng khuẩn từ 0,5-1 ppm (tài liệu tham khảo [65]) tại đoạn 3 trang 37
11.	Chương 3. Kết quả và thảo luận	<p>Chỉnh sửa, bổ sung biện luận, so sánh kết quả với các nghiên cứu khác tại các đoạn:</p> <ul style="list-style-type: none"> - “Dung dịch muối AgNO₃ chuyển sang màu vàng... được chứng minh trong các nghiên cứu trước đây [61,66].”, trang 43, 44 - “Kết quả phân tích phổ UV-Vis (Bảng 7)... dạng hình cầu kích thước khoảng 20-50 nm.”, trang 44, 45 - “Sự khác biệt giữa kích thước các

		<p>hạt nano bạc... không được bảo vệ cũng dẫn tới sự kết tụ [70].”, trang 47</p> <p>- “Hình 21-23 là kết quả chụp TEM ... giữ ổn định cho dung dịch nano bạc.” trang 50, 51</p> <p>- “Chế phẩm chứa nano bạc... đánh giá độ ổn định của chế phẩm nano bạc tổng hợp được.”, trang 52</p> <p>- “Hoạt tính kháng khuẩn hiệu quả... nồng độ BKC trong sản phẩm thương mại [65].”, trang 64, 65</p>
12.	Chương 4. Kết luận và kiến nghị gồm 2 trang	Rút gọn phần kết luận còn 1 trang tại trang 66

Học viên chân thành cảm ơn quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ đã góp ý và tạo cơ hội cho học viên hoàn thiện luận văn của mình.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 07 tháng 12 năm 2023

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

HỌC VIÊN

GS. TS. Trịnh Văn Tuyên

TS. Nguyễn Đình Chiến

GS. TS. Nguyễn Hoài Châu

Ngô Quang Trọng

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung