

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Trần Minh Trọng

TRẦN MINH TRỌNG

HÓA HỮU CƠ

**NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP NANO BẠC TỪ DUNG DỊCH
BẠC NITRATE SỬ DỤNG DỊCH CHIẾT TỪ PHÔI SÂM
NGỌC LINH**

LUẬN VĂN THẠC SĨ
Ngành: Hóa Hữu Cơ

2024

Thành phố Hồ Chí Minh - Năm 2024

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Trần Minh Trọng

**NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP NANO BẠC TỪ DUNG DỊCH BẠC
NITRATE SỬ DỤNG DỊCH CHIẾT TỪ PHÔI SÂM NGỌC LINH**

Chuyên ngành : HÓA HỮU CƠ
Mã số: 8440114

**LUẬN VĂN THẠC SĨ
NGÀNH HÓA HỮU CƠ**

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:
TS. NGUYỄN THÀNH DANH

Thành phố Hồ Chí Minh - Năm 2024

LỜI CAM ĐOAN

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

Tác giả luận văn ký và ghi rõ họ tên

Trần Minh Trọng

LỜI CẢM ƠN

Em xin gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc nhất đến TS. Nguyễn Thành Danh. Người đã tận tâm hướng dẫn, giúp đỡ, hỗ trợ, truyền đạt nhiều kiến thức quý giá, đưa ra những lời khuyên và luôn động viên em để có em thể vượt qua những khó khăn gặp phải trong thời gian làm nghiên cứu.

Đồng thời em cũng trân trọng gửi lời cảm ơn đến PGS. TS. Đặng Chí Hiền – Trưởng phòng Công nghệ Hóa Dược, TS. Lê Văn Dũng – phòng Công nghệ Hóa Dược, Viện Công nghệ Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo mọi điều kiện cùng với sự giúp đỡ miệt mài, không ngừng nghỉ của các thầy để tận tình chỉ dạy nhiều kinh nghiệm, kiến thức quý giá về lý thuyết cũng như kỹ thuật thực nghiệm.

Em xin cảm ơn các thầy cô Học viện Khoa học và Công nghệ – Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giảng dạy và truyền đạt nhiều kiến thức bổ ích trong suốt quãng thời gian học tập cao học.

Cảm ơn mọi người tại phòng Công nghệ Hóa Dược, Viện Công nghệ Hóa học đã hỗ trợ, động viên, chỉ bảo thêm những kỹ năng chuyên môn cho em.

Cuối cùng, em xin gửi lời cảm ơn đến cha mẹ và gia đình. Những người đã nuôi dạy và chăm lo cho em, đã ủng hộ, động viên khích lệ và là chỗ dựa tinh thần vững chắc cho em trong suốt khoảng thời gian vừa qua.

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT	vi
DANH MỤC BẢNG.....	viii
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ.....	ix
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	3
1.1 TỔNG QUAN VỀ SÂM NGỌC LINH:.....	3
1.1.1 Đặc điểm:	3
1.1.2 Một số hợp chất được tìm thấy trong sâm Ngọc Linh:.....	4
1.2 GIỚI THIỆU VỀ CÔNG NGHỆ NANO:.....	6
1.2.1 Khái niệm về công nghệ nano:.....	6
1.2.2 Vật liệu nano:	6
1.2.3 Phương pháp tổng hợp nano kim loại:.....	7
1.3 Vật liệu nano bạc:.....	8
1.3.1 Giới thiệu về kim loại bạc:.....	8
1.3.2 Giới thiệu về nano bạc:	8
1.3.3 Phương pháp tổng hợp nano bạc:.....	8
1.3.4 Đặc tính kháng khuẩn:	10
1.4 Tổng quan về các chủng vi khuẩn:.....	11
1.4.1 <i>Bacillus subtilis</i> :.....	11
1.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i> :.....	12
1.4.3 <i>Escherichia coli</i> :	13
1.5 Thử nghiệm kháng khuẩn theo phương pháp đĩa giấy khuếch tán trên môi trường thạch:	14
1.6 Tổng quan nitrophenol và một số chất màu:.....	15
1.6.1 Nitrophenol:	15
1.6.2 Các chất màu:.....	16
1.6.3 Phản ứng phân hủy khử các hợp chất màu hữu cơ sử dụng NaBH_4 trong xúc tác nano kim loại:.....	18
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	19
2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU:	19

2.1.1 Đối tượng nghiên cứu:	19
2.1.2 Phạm vi nghiên cứu:.....	19
2.2 DỤNG CỤ, HÓA CHẤT, THIẾT BỊ VÀ NGUYÊN VẬT LIỆU:	19
2.2.1 Dụng cụ:	19
2.2.2 Hóa chất:	20
2.2.3 Thiết bị:	20
2.2.4 Nguyên vật liệu:	21
2.3 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU:	22
2.3.1 Chuẩn bị dịch chiết sâm Ngọc Linh:.....	22
2.3.2 Tổng hợp nano bạc từ dịch chiết sâm Ngọc Linh:	23
2.3.3 Hoạt tính xúc tác:	26
2.3.4 Khảo sát khả năng kháng khuẩn:	28
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN.....	29
3.1 Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ, nhiệt độ và thời gian đến sự hình thành nano bạc:.....	29
3.1.1 Ảnh hưởng của nồng độ đến sự hình thành nano bạc:.....	29
3.1.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành nano bạc:.....	30
3.1.3 Ảnh hưởng của thời gian đến sự hình thành nano bạc:.....	31
3.2 Giảm đồ XRD:	32
3.3 Kết quả hình thái học và phân bố của vật liệu:	33
3.4 Kết quả EDX:.....	35
3.5 Phổ FTIR:.....	36
3.6 Giảm đồ TGA-DSC:.....	37
3.7 Ứng dụng xúc tác của nano bạc trong các phản ứng khử các hợp chất gây ô nhiễm:	38
3.7.1 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử <i>o</i> -nitrophenol (<i>o</i> -NP):	38
3.7.2 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử <i>m</i> -nitrophenol (<i>m</i> -NP):	40
3.7.3 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử <i>p</i> -nitrophenol (<i>p</i> -NP):	42
3.7.4 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử Rhodamine B (RhB):	44
3.7.5 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử Rhodamine 6G (Rh6G):.....	46

3.7.6 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử Methyl da cam (MO):.....	48
3.8 Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của nano bạc:.....	51
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	54
Kết luận:	54
Kiến nghị:.....	54
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ.....	55
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	56
PHỤ LỤC	64

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Bạc Nitrate	AgNO ₃
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i>
Kính hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscope)	SEM
Kính hiển vi điện tử truyền qua (Transmission electron microscopy)	TEM
Methyl Orange (Methyl da cam)	MO
Microliter	μL
Micrometer	μm
Millimeter	mm
Millimolar	mM
<i>m</i> -nitrophenol	<i>m</i> -NP
Nanometer	nm
Nhiễu xạ electron vùng lựa chọn (Selected area electron diffraction)	SAED
Nhiễu xạ tia X (X-ray Powder Diffraction)	XRD
<i>o</i> -nitrophenol	<i>o</i> -NP
<i>p</i> -nitrophenol	<i>p</i> -NP
Phân tích nhiệt khối lượng (Thermogravimetric Analysis)	TGA
Phân tích nhiệt quét vi sai (Differential scanning calorimetry)	DSC
Phổ hấp thụ phân tử (Ultraviolet – visible spectroscopy)	UV-Vis
Phổ tán sắc năng lượng tia (X Energy Dispersive X-Ray)	EDX
Quang phổ hồng ngoại Fourier (Fourier – transform infrared spectroscopy)	FTIR
Rhodamine 6G	Rh6G
Rhodamine B	RhB

Silver nanoparticles (nano bạc)	AgNPs
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i>

DANH MỤC BẢNG

<i>Bảng 2.1. Bảng danh mục dụng cụ</i>	<i>19</i>
<i>Bảng 2.2. Bảng danh mục hóa chất</i>	<i>20</i>
<i>Bảng 2.3. Lượng hóa chất dùng trong khảo sát nồng độ ion bạc.....</i>	<i>24</i>
<i>Bảng 2.4. Lượng hóa chất dùng trong khảo sát nhiệt độ.....</i>	<i>25</i>
<i>Bảng 2.5. Lượng hóa chất dùng trong khảo sát thời gian.....</i>	<i>26</i>
<i>Bảng 2.6. Khảo sát hoạt tính xúc tác của AgNPs với o-, m-, p-nitrophenol ..</i>	<i>27</i>
<i>Bảng 2.7. Khảo sát hoạt tính xúc tác của AgNPs với RhB, Rh6G và MO.....</i>	<i>27</i>
<i>Bảng 3.1. Điều kiện tổng hợp thích hợp của nano bạc.....</i>	<i>32</i>
<i>Bảng 3.2. So sánh hằng số tốc độ của các chất xúc tác hạt nano bạc được sinh tổng hợp đối với quá trình phân hủy 4-NP.....</i>	<i>50</i>

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

<i>Hình 1.1. Cây sâm Ngọc Linh [7]</i>	3
<i>Hình 1.2. Một số hợp chất saponin [11].</i>	5
<i>Hình 1.3. Kích thước của các vật [20].</i>	6
<i>Hình 1.4. Phương pháp tổng hợp nano kim loại [24].</i>	8
<i>Hình 1.5. Kỹ thuật plasma điện hóa [31].</i>	9
<i>Hình 1.6. Tổng hợp nano bạc bằng phương pháp hóa học [29].</i>	10
<i>Hình 1.7. Cơ chế kháng khuẩn của nano bạc [29].</i>	11
<i>Hình 1.8. Vi khuẩn Bacillus subtilis [37].</i>	12
<i>Hình 1.9. Vi khuẩn Staphylococcus aureus [43].</i>	13
<i>Hình 1.10. Vi khuẩn Escherichia coli</i>	14
<i>Hình 1.11. Khuếch tán trên môi trường thạch bằng phương pháp đĩa giấy [50].</i>	15
<i>Hình 1.12. Công thức cấu tạo của o-nitrophenol, m-nitrophenol, p-nitrophenol [54].</i>	16
<i>Hình 1.13. Công thức cấu tạo của Rhodamine B [55].</i>	17
<i>Hình 1.14. Công thức cấu tạo của Rhodamine 6G [57].</i>	17
<i>Hình 1.15. Công thức cấu tạo của Methyl Orange [59].</i>	17
<i>Hình 1.16. Cơ chế phản ứng khử các hợp chất màu hữu cơ bằng NaBH₄ sử dụng các nano kim loại.</i>	18
<i>Hình 2.1. Phôi sâm Ngọc Linh.</i>	21
<i>Hình 2.2. Quy trình tổng hợp nano bạc.</i>	22
<i>Hình 2.3. Hệ thống đun hồi lưu và dịch chiết sâm Ngọc Linh.</i>	23
<i>Hình 2.4. Tổng hợp nano bạc.</i>	23
<i>Hình 3.1. Phổ UV-Vis sự ảnh hưởng của nồng độ đến sự hình thành nano bạc.</i>	29
<i>Hình 3.2. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ đến sự hình thành nano bạc.</i>	29
<i>Hình 3.3. Phổ UV-Vis sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành nano bạc.</i>	30
<i>Hình 3.4. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành nano bạc.</i>	30
<i>Hình 3.5. Phổ UV-Vis sự ảnh hưởng của thời gian đến sự hình thành nano bạc.</i>	31
<i>Hình 3.6. Tổng hợp nano bạc từ dịch chiết sâm Ngọc Linh trước (trái) và sau (phải) khi tổng hợp tại điều kiện thích hợp phản ứng: nồng độ 20 mM, nhiệt độ 90°C và thời gian 120 phút.</i>	31
<i>Hình 3.7. Giảm đồ XRD của nano bạc.</i>	32
<i>Hình 3.8. Ảnh chụp SEM của nano bạc.</i>	33
<i>Hình 3.9. Ảnh TEM của nano bạc ở kích thước 50 nm và 20 nm.</i>	33
<i>Hình 3.10. Phân bố kích thước hạt nano (trái) và ảnh nhiễu xạ vùng lựa chọn của nano bạc (phải).</i>	34
<i>Hình 3.11. Ảnh STEM (A) và EDX mapping (B – F).</i>	34

Hình 3.12. EDX của mẫu nano bạc.	35
Hình 3.13. Phổ FTIR của dịch chiết phôi sâm Ngọc Linh (a) và nano bạc (b).	36
Hình 3.14. Kết quả giản đồ TGA-DSC.....	37
Hình 3.15. Phổ UV-Vis quá trình khử o-NP ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μ L).....	38
Hình 3.16. Phản ứng khử của o-NP lúc bắt đầu và kết thúc.	39
Hình 3.17. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.	39
Hình 3.18. Phổ UV-Vis quá trình khử m-NP ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μ L).....	40
Hình 3.19. Phản ứng khử của m-NP lúc bắt đầu và kết thúc.	41
Hình 3.20. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.	41
Hình 3.21. Phổ UV-Vis quá trình khử p-NP ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μ L).....	42
Hình 3.22. Phản ứng khử của p-NP lúc bắt đầu và kết thúc.	43
Hình 3.23. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.	43
Hình 3.24. Phổ UV-Vis quá trình khử RhB ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μ L).....	44
Hình 3.25. Phản ứng khử của RhB lúc bắt đầu và kết thúc.	45
Hình 3.26. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.	45
Hình 3.27. Phổ UV-Vis quá trình khử Rh6G ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μ L).....	46
Hình 3.28. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.	47
Hình 3.29. Phổ UV-Vis quá trình khử MO ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μ L).....	48
Hình 3.30. Phản ứng phân hủy của MO lúc bắt đầu và kết thúc.	49
Hình 3.31. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.	49
Hình 3.32. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn đối với <i>Escherichia coli</i> tại nồng độ tăng dần của nano bạc từ 2,5 – 20 mM (tương ứng ký hiệu mẫu từ 1 – 5).	51
Hình 3.33. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn đối với <i>Bacillus subtilis</i> tại nồng độ tăng dần của nano bạc từ 2,5 – 20 mM (tương ứng ký hiệu mẫu từ 1 – 5).	51
Hình 3.34. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn đối với <i>Staphylococcus aureus</i> tại nồng độ tăng dần của nano bạc từ 2,5 – 20 mM (tương ứng ký hiệu mẫu từ 1 – 5).....	52
Hình 3.35. Biểu đồ cột vùng ức chế của các vi khuẩn khác nhau so với các nồng độ khác nhau của dung dịch AgNPs.	52

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài:

Trong vài năm gần đây, công nghệ nano đã phát triển vượt bậc và được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau như: công nghệ xúc tác, y học, dệt may, sinh học, mỹ phẩm, quang học, v.v... Trong đó nano bạc đã và đang được các nhà nghiên cứu đặc biệt quan tâm.

Nano bạc khác với bạc khối ở nhiều tính chất, được nghiên cứu và ứng dụng trong công nghệ cảm biến quang học [1], sinh học [2], xúc tác [3],... Gần đây, nano bạc thường được sử dụng làm thuốc kháng khuẩn và kháng nấm nhằm chống lại một số chủng vi sinh vật [4]. Các nghiên cứu cho thấy hoạt tính sát khuẩn của bạc ở kích thước nano (1 – 100 nm) lớn hơn khoảng 50,000 lần so với bạc khối. Điều này làm giảm đáng kể khối lượng bạc được sử dụng trong sản phẩm giúp làm giảm giá thành sản phẩm. Ngoài các ứng dụng cho kháng khuẩn, nano bạc còn được sử dụng làm chất xúc tác cho các phản ứng hóa học để điều chế các hóa chất hữu cơ phân tử nhỏ có giá trị cao hoặc làm một chất xúc tác dùng để phân hủy các chất ô nhiễm độc hại.

Có nhiều phương pháp để tổng hợp nano bạc nhưng phương pháp khử hóa học là một trong những phương pháp hữu hiệu và tiết kiệm được chi phí. Trong số đó, các chất khử hóa học như hydrazine, natri borohydride được sử dụng phổ biến để tổng hợp nano bạc. Tuy nhiên các chất khử này gây ô nhiễm môi trường và độc hại không thích hợp để ứng dụng trong lĩnh vực môi trường và dược phẩm. Vì vậy, trong đề tài nghiên cứu này chúng tôi hướng đến tổng hợp hạt nano bạc bằng cách thay thế các chất khử hóa học bằng các dịch chiết từ thực vật. Dịch chiết thực vật có chứa chất khử và chất làm bền tự nhiên với ưu điểm thân thiện an toàn cho môi trường và chi phí thấp. Tuy nhiên, thành phần và hàm lượng của các hợp chất hoạt tính sinh học có trong dịch chiết thực vật phụ thuộc nhiều vào nhiều yếu tố bên ngoài như địa lý, điều kiện đất đai, thời tiết,... có thể dẫn đến hiệu năng sản xuất của các hạt nano kim loại thấp. Vì thế, những cây trồng trong điều kiện môi trường phòng thí nghiệm có thể là giải pháp hữu ích để giải quyết những nhược điểm này.

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*) là một loài *Panax* chỉ được phát hiện ở Việt Nam. Theo kết quả nghiên cứu từ năm 1978, sâm Ngọc Linh là một cây thuốc có nhiều công dụng: chống stress vật lý, chống stress tâm lý và trầm cảm, chống oxy hóa não hóa, phòng chống ung thư, bảo vệ tế bào gan. Vì thế, trong thời gian gần đây quá trình nuôi cấy sâm ngọc linh đã phát triển mạnh mẽ tại các trung tâm nuôi trồng thực vật ở Việt Nam. Tuy nhiên những cây sinh trưởng không tốt được loại bỏ từ phòng thí nghiệm nuôi cấy mô gây ô nhiễm và trở thành nguồn phế thải sinh học. Vì

thể, nghiên cứu ứng dụng sản phẩm này sẽ mang lại lợi thế lớn để giải quyết quá trình tổng hợp ổn định nano kim loại và làm giảm phế thải sinh học ra môi trường.

Vì những lý do trên, tôi chọn đề tài nghiên cứu với nội dung “**Nghiên cứu tổng hợp nano bạc từ dung dịch bạc nitrate sử dụng dịch chiết từ phiêu sâm Ngọc Linh.**”

2. Mục đích nghiên cứu:

Tổng hợp hạt nano bạc từ phiêu sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*) có khả năng kháng khuẩn, xúc tác phản ứng khử nitrophenol và phân hủy các chất màu hữu cơ.

3. Nội dung nghiên cứu:

- Chiết xuất dịch chiết nước từ phiêu sâm Ngọc Linh.
- Khảo sát nhiều điều kiện tổng hợp nano bạc từ dịch chiết phiêu sâm Ngọc Linh
- Khảo sát tính chất lý hóa của vật liệu nano
- Nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của hệ nano bạc trên các chủng vi khuẩn.
- Nghiên cứu động học xúc tác cho phản ứng khử các nitrophenol và các chất màu hữu cơ.

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

Qua nghiên cứu này cho thấy dịch chiết phiêu sâm Ngọc Linh có chứa chất khử và chất làm bền là cơ sở để tổng hợp nano bạc theo hướng thân thiện với môi trường và an toàn. Từ đó có thể chế tạo các loại xúc tác mới, thuốc kháng vi sinh vật mới...

Đặc tính kháng khuẩn ở nano bạc đang nhận được nhiều sự quan tâm và nghiên cứu trong nhiều năm gần đây. Ngoài ra, khả năng làm xúc tác phản ứng khử các chất làm ô nhiễm môi trường và thuốc nhuộm hữu cơ độc hại cũng cho thấy nano bạc có nhiều ưu điểm trong lĩnh vực xử lý ô nhiễm môi trường.

5. Những đóng góp mới của luận văn:

- Lần đầu tiên dịch chiết phiêu sâm Ngọc Linh được sử dụng để đánh giá khả năng khử và làm bền của hệ nano bạc từ ion Ag^+ .
- Hệ nano bạc trên dịch chiết phiêu sâm Ngọc Linh được chỉ ra đầy đủ các tính chất lý hóa.
- Hệ nano bạc trên dịch chiết phiêu sâm Ngọc Linh được khảo sát khả năng kháng khuẩn trên các dòng vi khuẩn gây hại trên người và động vật.
- Hệ nano bạc trên dịch chiết phiêu sâm Ngọc Linh được đánh giá động học xúc tác cho phản ứng khử.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1 TỔNG QUAN VỀ SÂM NGỌC LINH:

1.1.1 Đặc điểm:

Sâm Ngọc Linh (danh pháp khoa học: *Panax vietnamensis*) là một trong ba loài sâm phát triển tự nhiên ở Việt Nam, thuộc họ Cam tùng (*Araliaceae*), còn được gọi là sâm Việt Nam, sâm trúc (*sâm đốt trúc*), sâm Khu Năm (*sâm K5*), phân bố ở miền Trung, tập trung chủ yếu tại khu vực vùng núi Ngọc Linh (Đăk Tô), Tu Mơ Rông (Kon Tum) và Nam Trà My (Quảng Nam). Ngoài ra, còn phân bố ở núi Ngọc Lum Heo (Phước Lộc), huyện Phước Sơn và đỉnh Ngọc Am (Quảng Nam). [5] [6]

Sâm Ngọc Linh là giống cây thảo đặc biệt thích ẩm, ưa bóng mát, với nhiệt độ không khí trung bình từ 15 – 18°C. Thường mọc thành từng đám nhỏ dưới tán rừng kín của cây lá rộng hay lá kim... Cây sinh trưởng mạnh trong mùa xuân và mùa hè, ra hoa quả hàng năm thường vào tháng 5 đến tháng 10. Loài thực vật này có thể từ hạt để tái sinh tốt và thường trồng từ 4 đến 7 năm mới thu hoạch được liệu. Mùa đông cũng là thời điểm tốt nhất để thu hoạch thân rễ của sâm. [7]



Hình 1.1. Cây sâm Ngọc Linh [7]

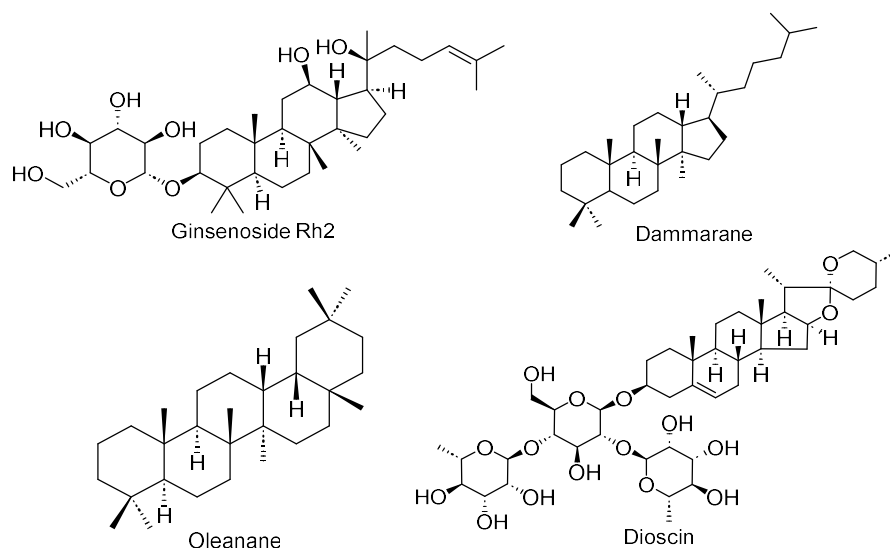
Thân rễ (củ) có đường kính từ 2 đến 3 cm trở lên, nằm ngang, phân nhánh và thường trồi lên trên mặt đất (Hình 1.1). Ở phần cuối thân rễ có một phần rễ củ to hình con quay hoặc dạng hình cầu đường kính 5 – 7 cm. Thân có đường kính từ 0,3 đến 0,6 cm, trơn nhẵn. Các lá kép có hình chân vịt, mọc thành vòng có từ 3 đến 6 lá kép; mỗi lá kép dài 10 – 14 cm, rộng 3 – 5 cm, có hai đầu nhọn, có lông cứng ở cả 2 mặt và mép lá có răng cưa. Cụm hoa mọc ở ngọn, có cuống dài 15 – 29 cm, cao vượt qua khỏi tán lá (dài gấp 1,5 – 2 lần chiều dài cuống lá kép). Tán của hoa có đường kính 3 – 5 cm, có thể mang từ 50 đến 150 hoa. Hoa nhỏ có màu trắng xanh hay trắng

ngà, có cuống dài 1 – 2,5 cm, 5 cánh hoa hình tam giác rộng. Phần nhị mọc ở giữa các cánh hoa, đầu nhụy chẻ đôi, bao lấy phần xoan. Quả có dạng hình cầu hơi dẹt, đường kính 0,5 – 1,0 cm, ở trong có vòi nhụy, khi chín sẽ có màu đỏ tươi, có một vài chấm đen không đều ở phần đỉnh quả. Quả sẽ có 1 hoặc 2 hạt, có màu trắng hoặc trắng ngà, có nhiều chỗ lồi lõm trên bề mặt quả. Hiện nay có 2 loại sâm Ngọc Linh là: sâm Ngọc Linh nuôi trồng thường to khỏe, mập mạp và sâm Ngọc Linh rừng phần củ sẽ thường ốm yếu hơn sâm nuôi trồng. Mặt khác cũng có sự phân loại giữa các giống sâm Ngọc Linh mọc ở trên môi trường đất tốt và các giống sâm mọc ở vùng đất cằn cỗi... Về cơ bản, giá của sâm Ngọc Linh được trồng sẽ thấp hơn sâm tự nhiên rất nhiều do sâm tự nhiên có hàm lượng dược tính cao. Rất quý hiếm và luôn được tìm kiếm. [8]

Sâm Ngọc Linh có dược tính mạnh nhờ chứa nhiều thành phần hóa học, thường được sử dụng để điều trị điều hòa hoạt động hệ tim mạch [9], tăng cường chức năng sinh lý [7], nâng cao thể trạng tăng cường sức đề kháng cho cơ thể [7], tác dụng chống trầm cảm giảm âu lo [9], tác dụng kháng khuẩn kháng viêm [9], ...

1.1.2 Một số hợp chất được tìm thấy trong sâm Ngọc Linh:

Thành phần sâm Ngọc Linh đã phân lập được 50 saponin trong đó 26 saponin thường thấy ở sâm Triều Tiên, sâm Mỹ, sâm Nhật phần còn lại là 24 saponin dammarane có cấu trúc hóa học chưa được tìm thấy ở loại sâm nào khác (*Hình 1.2*). Trong sâm Ngọc Linh thành phần hàm lượng saponin khung dammarane có hàm lượng cao nhất (chiếm 7,58%), nhóm diol và triol có hàm lượng saponin chiếm khoảng 3,3% và còn có thêm một lượng nhỏ saponin có trong acid oleanolic. Ngoài ra, sâm Ngọc Linh còn chứa hàm lượng lớn Majonoside R2 và Ocotillo Saponin (các chất này chiếm khoảng 4,3%) cao gấp khoảng 40 lần hàm lượng Majonoside và Ocotillo Saponin có trong các cây sâm khác. Điều đó giúp sâm Ngọc Linh tạo ra nhiều công dụng mang tính đặc thù. Bên cạnh đó, trong thành phần sâm Ngọc Linh còn có 16 acid amine với 8 acid amine thiết yếu (phenylalanine, lysine, leucine, ...), 14 acid béo, cùng 20 nguyên tố vi lượng, các vitamin, glucid, lipid và hàm lượng tinh dầu là 0,1% [5] [10] [11].



Hình 1.2. Một số hợp chất saponin [11].

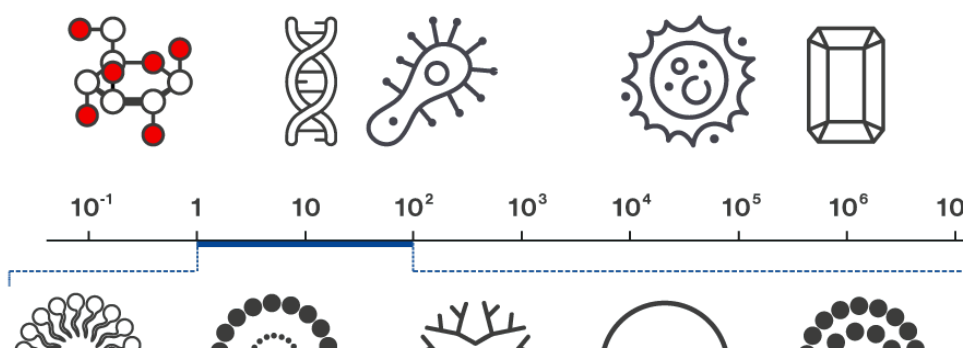
Hiện nay, nhà nước đã có chủ trương bảo vệ nguồn cây thuốc quý này nhưng nguồn sâm trong tự nhiên vẫn đang bị khai thác trái phép và lén lút khiến nguồn sâm trong tự nhiên bị cạn kiệt một cách nghiêm trọng. Vì vậy, cần có nhiều nghiên cứu nhằm giúp ngành y học có thể đánh giá chuẩn xác cũng như biết được giá trị kinh tế to lớn của sâm Ngọc Linh. Trong các hướng nghiên cứu, hướng nuôi cấy mô hứa hẹn sẽ giúp cây sâm Ngọc Linh phát triển cả về chất và số lượng, cung ứng đủ nhu cầu của thị trường và đem lại hiệu quả kinh tế cao. Với sự phát triển của công nghệ sinh học hiện đại, đã có một số tác giả nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* sâm Ngọc Linh như nghiên cứu sự hình thành và phát triển của phôi soma, sản xuất sinh khối tế bào trong nuôi cấy *in vitro*, ảnh hưởng của spermidine, proline và nguồn carbon lên phát sinh phôi soma,... Từ đó việc nhân giống *in vitro* được áp dụng thành công trên sâm Ngọc Linh, các mẫu thí nghiệm nuôi cấy hình thành mô sẹo nhanh, tạo ra nhiều protocorm (cụm chồi), từ một mẫu có thể nhân ra được rất nhiều mẫu, có nhiều ưu điểm vượt trội hơn. Hệ số nhân giống nhanh, chủ động về mùa vụ và thời gian nhân giống nhằm tạo nguồn cây giống chất lượng cao cho việc duy trì và phát triển loài cây này. Cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy mô được mong đợi sẽ mở ra hướng nghiên cứu giàu tính khoa học và thực tiễn, giảm chi phí đầu tư so với nhân giống theo kiểu truyền thống bằng đầu mầm và hạt [12] [13]. Tuy nhiên, kỹ thuật nuôi cấy này có một nhược điểm là tỷ lệ cây đưa ra trồng ngoài tự nhiên có tỉ lệ sống rất thấp chỉ khoảng từ 3 – 10% do cây thường bị sốc bởi điều kiện ngoại cảnh khác với điều kiện phòng thí nghiệm. Từ đó dẫn đến số lượng sản phẩm phôi phế thải bị bỏ đi là rất nhiều gây nguy hại cho môi trường. Mặc dù là phôi phế phẩm tuy nhiên trong đó vẫn còn rất nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học. Vì vậy, có thể dùng sản phẩm phôi phế phẩm đó để tổng hợp các hạt nano.

1.2 GIỚI THIỆU VỀ CÔNG NGHỆ NANO:

1.2.1 Khái niệm về công nghệ nano:

Công nghệ nano (tiếng Anh: *nanotechnology*) là ngành hay lĩnh vực công nghệ trong đó sẽ bao gồm đến việc chế tạo, phân tích, thiết kế và ứng dụng các cấu trúc, bằng việc kiểm soát kích thước, hình dáng trên quy mô nanomet (nm, $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) trong các thiết bị và hệ thống (Hình 1.3). Ở kích thước nano, vật liệu sẽ có những đặc tính đặc biệt ở vật liệu truyền thống sẽ không có được như có sự thu nhỏ về mặt kích thước và diện tích của các bề mặt tiếp xúc được tăng lên [14].

Công nghệ nano có nhiều lĩnh vực khoa học đa dạng như hóa học hữu cơ, khoa học bề mặt, sinh học phân tử [15], vật lý bán dẫn [16], lưu trữ năng lượng [17], chế tạo vi mô [18], kỹ thuật phân tử [19]...



Hình 1.3. Kích thước của các vật [20].

1.2.2 Vật liệu nano:

Vật liệu nano: Là những vật liệu có kích thước từ khoảng 1 nm đến 100 nm, có cấu trúc là sợi, hạt hoặc tấm mỏng... Có các tính chất hóa học và vật lý mới, độc đáo và vượt trội hơn so với cấu trúc khối của nó, ngoài ra còn có nhiều đặc tính nổi trội như: Tỷ lệ bề mặt/thể tích lớn, tạo ra hiệu ứng cộng hưởng bề mặt Plasmon, có tiềm năng phản ứng cao... Kích thước vật liệu nano phụ thuộc vào tính chất và bản chất vật liệu cần nghiên cứu [21].

Phân loại vật liệu nano: Vật liệu nano là vật liệu trong đó ít nhất một chiều có kích thước nanomet. Về trạng thái của vật liệu, người ta phân chia thành ba trạng thái, rắn, lỏng và khí. Vật liệu nano được tập trung nghiên cứu hiện nay chủ yếu là vật liệu rắn, sau đó mới đến chất lỏng và khí. Về hình dáng vật liệu, người ta phân ra thành các loại sau [22]:

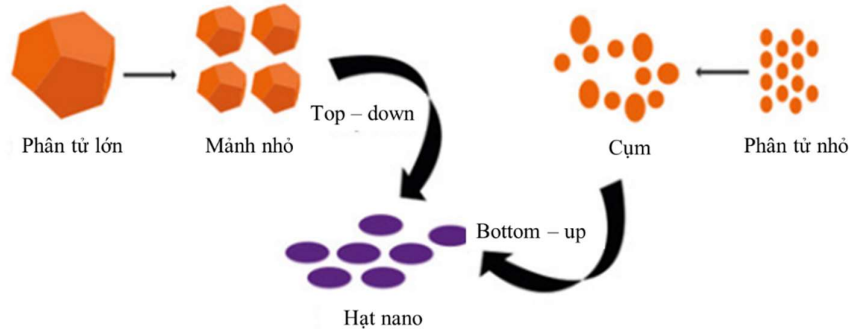
- Vật liệu nano không chiều (cả ba chiều đều có kích thước nano, không còn chiều tự do nào cho điện tử), ví dụ: đám nano, hạt nano.
- Vật liệu nano một chiều là vật liệu trong đó hai chiều có kích thước nano, điện tử được tự do trên một chiều (hai chiều cầm tù), ví dụ: dây nano, ống nano.

- Vật liệu nano hai chiều là vật liệu trong đó một chiều có kích thước nano, hai chiều tự do, ví dụ: màng mỏng.
- Ngoài ra còn có vật liệu có cấu trúc nano hay nanocomposite trong đó chỉ có một phần của vật liệu có kích thước nm, hoặc cấu trúc của nó có nano không chiều, một chiều, hai chiều đan xen lẫn nhau.

1.2.3 Phương pháp tổng hợp nano kim loại:

Tổng hợp nano kim loại bao gồm có hai phương pháp: phương pháp có tên tiếng Anh là Top-down hay còn được gọi là từ trên xuống: Các hạt có kích thước nano sẽ được tạo ra từ các hạt có kích thước lớn hơn. Phương pháp từ dưới lên (Bottom-up): Sự hình thành của các hạt nano từ các nguyên tử.

- Phương pháp từ trên xuống (Top-down) (*Hình 1.4*): Nguyên lý của phương pháp này là dùng kỹ thuật nghiền và biến dạng để biến vật liệu thể khối với tổ chức hạt thô thành cỡ hạt kích thước nano. Đây là phương pháp đơn giản, rẻ tiền nhưng rất hiệu quả, có thể tiến hành cho nhiều loại vật liệu với kích thước khá lớn (ứng dụng làm vật liệu kết cấu). Trong phương pháp nghiền, vật liệu ở dạng bột được trộn lẫn với những viên bi được làm từ các vật liệu rất cứng và đặt trong một cái cối. Máy nghiền có thể là nghiền lắc, nghiền rung hoặc nghiền quay (còn gọi là nghiền kiểu hành tinh). Các viên bi cứng va chạm vào nhau và phát vỡ bột đến kích thước nano. Kết quả thu được là vật liệu nano không chiều (các hạt nano). Phương pháp biến dạng được sử dụng với các kỹ thuật đặc biệt nhằm tạo ra sự biến dạng cỡ lớn mà không làm phá hủy vật liệu. Nhiệt độ có thể được điều chỉnh tùy thuộc vào từng trường hợp cụ thể. Nếu nhiệt độ gia công lớn hơn nhiệt độ kết tinh lại thì được gọi là biến dạng nóng, còn ngược lại thì được gọi là biến dạng nguội. Kết quả thu được là các vật liệu nano một chiều (dây nano) hoặc hai chiều (lớp có chiều dày nm). Ngoài ra, ngày nay các cấu trúc nano ở dạng phức tạp sẽ được tổng hợp từ phương pháp quang khắc [23].
- Phương pháp từ dưới lên (Bottom-up) (*Hình 1.4*): Nguyên lý của phương pháp này là hình thành vật liệu nano từ các nguyên tử hoặc ion. Phương pháp từ dưới lên được phát triển rất mạnh mẽ vì tính linh động và chất lượng của sản phẩm cuối cùng. Phần lớn các vật liệu nano mà chúng ta dùng hiện nay được chế tạo từ phương pháp này. Phương pháp từ dưới lên có thể là phương pháp vật lý, hóa học hoặc kết hợp cả hai phương pháp hóa – lý [23].



Hình 1.4. Phương pháp tổng hợp nano kim loại [24].

1.3 Vật liệu nano bạc:

1.3.1 Giới thiệu về kim loại bạc:

Bạc (silver) là một nguyên tố hóa học trong bảng tuần hoàn nguyên tố có ký hiệu Ag (từ tiếng Latin: *Argentum*) và số hiệu nguyên tử bằng 47. Là một kim loại chuyển tiếp màu trắng, mềm, nó có tính dẫn điện cao nhất trong bất kỳ nguyên tố nào và có độ dẫn nhiệt cao nhất trong tất cả kim loại. Kim loại bạc xuất hiện trong tự nhiên ở dạng nguyên chất, như bạc tự sinh ở dạng hợp kim với vàng và các kim loại khác, và ở trong các khoáng vật như argentite và chlorargyrite. Hầu hết bạc được sản xuất là một sản phẩm phụ của điều chế đồng(Copper), vàng(Gold), chì(Lead) và kẽm(Zinc) [25] [26].

Phân loại	Kim loại chuyển tiếp
Nhóm, phân lớp	11, d
Chu kỳ	Chu kỳ 5
Cấu hình electron	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ¹

1.3.2 Giới thiệu về nano bạc:

Nano bạc tồn tại ở dạng hạt với kích thước nano của kim loại bạc có kích thước nằm trong khoảng từ 1 – 100 nm. Hạt nano bạc có tỉ lệ diện tích bề mặt lớn hơn hàng triệu lần so với kim loại bạc. Vì vậy, tính chất đặc hiệu của bạc được cải thiện lên đáng kể. Nano bạc tồn tại chủ yếu dưới dạng dung dịch. Các sản phẩm nano bạc thường được gọi là keo bạc. Màu sắc của dung dịch nano bạc thay đổi từ vàng tới đỏ sẫm. Thậm chí nếu nồng độ lên tới 5,000 ppm có thể thấy màu gần như đen.

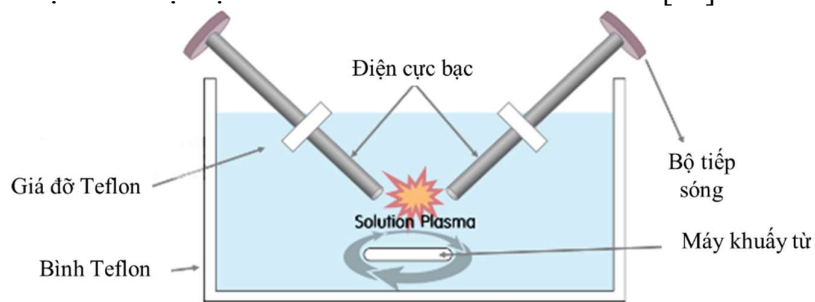
1.3.3 Phương pháp tổng hợp nano bạc:

Nano bạc được tổng hợp bằng nhiều phương pháp bao gồm phương pháp bào mòn laser, phương pháp điện phân – siêu âm, phương pháp plasma, phương pháp hóa học và phương pháp sinh học. Mỗi phương pháp có ưu nhược điểm khác nhau và tùy thuộc mục đích sử dụng của chúng:

- Phương pháp bào mòn bằng tia laser: Kỹ thuật này sử dụng tia laser với bước sóng ngắn để cắt bỏ kim loại trong dung dịch mà không có thuốc thử hóa

học. Phương pháp này cho phép thu được hạt nano bạc tinh khiết. Nồng độ và hình thái của các hạt nano bị ảnh hưởng bởi tần số laser. Hạt nano thường sẽ có kích thước khoảng 10 nm khi được tạo ra. Mặt khác, sóng điện từ năng lượng cao như tia tử ngoại, tia gamma có thể được sử dụng để khử ion kim loại. Dưới tác dụng của các tác nhân này, các chất phụ gia trong dung môi được biến đổi để sinh ra các gốc hóa học có tác dụng khử ion thành kim loại [27] [28].

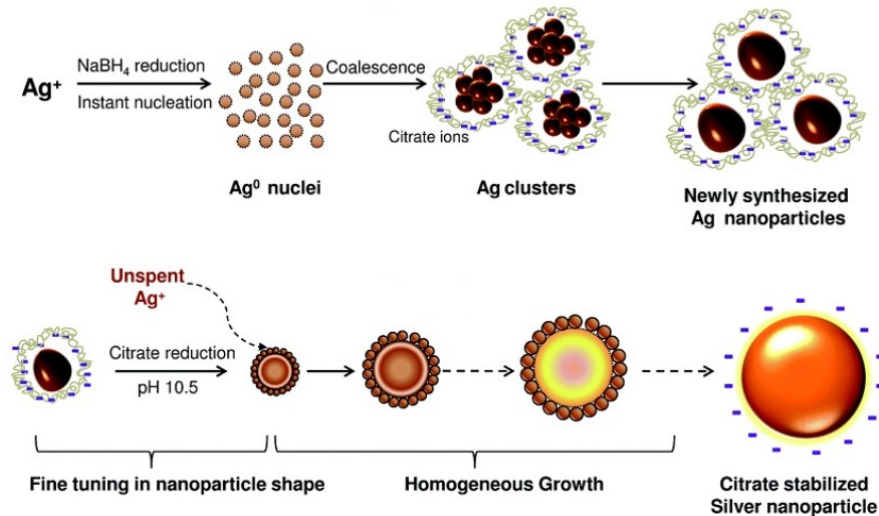
- Kỹ thuật điện phân – siêu âm: Theo các nghiên cứu gần đây, phương pháp điện phân kết hợp siêu âm có thể dùng để sản xuất ra hạt nano bạc tinh khiết mà không cần sử dụng chất hoạt động bề mặt hoặc chất ổn định nào. Bình thường phương pháp điện phân chỉ tạo ra lớp màng kim loại trên bề mặt điện cực. Nhờ có siêu âm, các hạt sẽ rời điện cực và đi vào trong dung môi nước [29] [30].
- Kỹ thuật Plasma điện hóa (*Hình 1.5*): Nguyên lý của phương pháp là sử dụng một dây bạc làm điện cực, nhúng trong dung môi nước. Trong quá trình phóng điện, lớp bề mặt của dây bạc bị ăn mòn và được khử ngay bởi plasma tạo ra các hạt nano bạc. Ngoài ra, plasma còn giải phóng các electron tích điện âm khiến các hạt nano bạc đẩy nhau, tránh kết tụ. Phương pháp này có thể khử triệt để các ion bạc nên dung dịch nano bạc ổn định lâu dài và an toàn. Các hạt nano bạc tạo ra có kích thước từ 20 – 30 nm [31].



Hình 1.5. Kỹ thuật plasma điện hóa [31].

- Phương pháp hóa học (*Hình 1.6*): Để tổng hợp nano bạc bằng phương pháp hóa học cần sử dụng muối bạc, chất khử và chất ổn định để kiểm soát sự hình thành các hạt nano. Muối bạc nitrate thường được sử dụng để tạo ra hạt nano do chi phí thấp và ổn định hóa học hơn các muối khác. Các chất khử được sử dụng là borohydride, citrate, ascorbate và khí hydro. Trong đó borohydride là một chất khử mạnh có thể tạo ra hạt có kích thước nhỏ với tốc độ khử nhanh. Đồng thời nó có vai trò như chất ổn định để tránh kết tụ trong quá trình phân hủy. Ngoài ra để các hạt nano phân tán tốt trong môi trường, người ta có thể sử dụng phương pháp tĩnh điện để làm cho bề mặt

các hạt tích điện trái dấu sẽ đẩy nhau, tránh kết tụ. Mặt khác có thể sử dụng các chất hoạt động bề mặt để bọc các hạt nano. Kích thước hạt nano bạc tạo ra nhờ phương pháp này nằm trong khoảng từ 10 nm – 100 nm [31] [32].



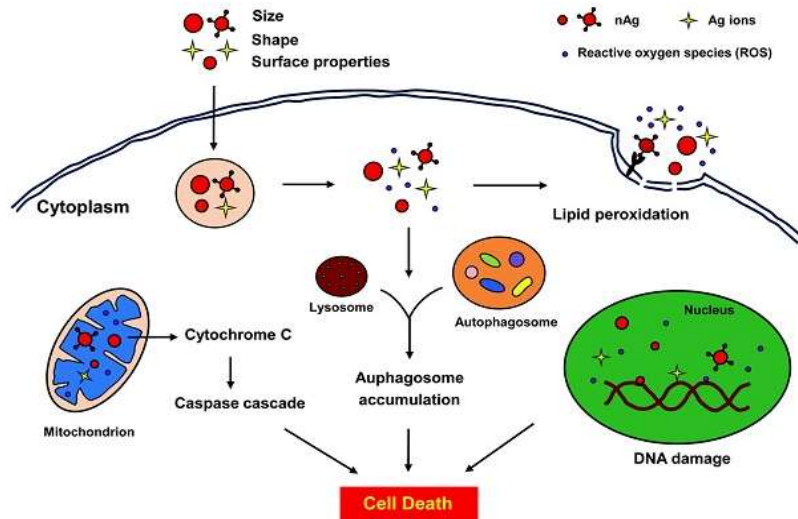
Hình 1.6. Tổng hợp nano bạc bằng phương pháp hóa học [29].

- Phương pháp sinh học: Quá trình tổng hợp hạt nano bằng phương pháp sinh học gồm quá trình khử enzyme hoặc không có enzyme. Quá trình khử không sử dụng enzyme tương tự như tổng hợp hóa học nhưng tác nhân khử là vi sinh vật hoặc dịch chiết thực vật. Quá trình này diễn ra nhanh và tránh được dung môi hữu cơ và thuốc thử độc hại. Vì vậy, đây được gọi là quá trình xanh và thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, nhược điểm của phương pháp là có thể làm lây nhiễm vi khuẩn nên cần thận trọng khi ứng dụng trong y tế [31].

1.3.4 Đặc tính kháng khuẩn:

Nano bạc có tác dụng kháng khuẩn trên cả vi khuẩn Gram âm, Gram dương và các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh. Một số loài phổ biến như: *Staphylococcus aureus* (tụ cầu vàng), *Streptococcus*, *E. Coli*, *Coliform*, *P. aeruginosa*, *Ac. baumannii*, *Vibrio cholerae* (phẩy khuẩn tả), *Enterococcus faecalis* (khuẩn liên cầu), *N. gonorrhoeae* (lậu cầu),... Khả năng kháng khuẩn mạnh của nano bạc có được nhờ đặc tính kháng khuẩn của ion bạc và diện tích bề mặt lớn của các hạt nano. Hiệu quả của các hạt nano bạc phụ thuộc vào nồng độ và kích thước của chúng. Nồng độ cao có hiệu quả tốt hơn. Hạt có kích thước càng nhỏ có thể diệt khuẩn ở nồng độ thấp [33].

Mặc dù công dụng kháng khuẩn được nghiên cứu rộng rãi nhưng cơ chế tác dụng của nano bạc vẫn chưa được làm sáng tỏ. Các hạt nano bạc bám và thâm nhập vào thành tế bào vi khuẩn, làm thay đổi cấu trúc màng của chúng (Hình 1.7). Một số nghiên cứu cho rằng do các hạt nano bạc có diện tích bề mặt lớn trở thành kho chứa để giải phóng ra các ion bạc tự do. Các ion bạc giải phóng ra có thể tương tác với nhóm thiol của nhiều enzym tổng hợp tế bào vi khuẩn. Do đó nó ức chế một số chức năng của tế bào vi khuẩn như ngăn cản sự phân chia tế bào và sao chép ADN [34].

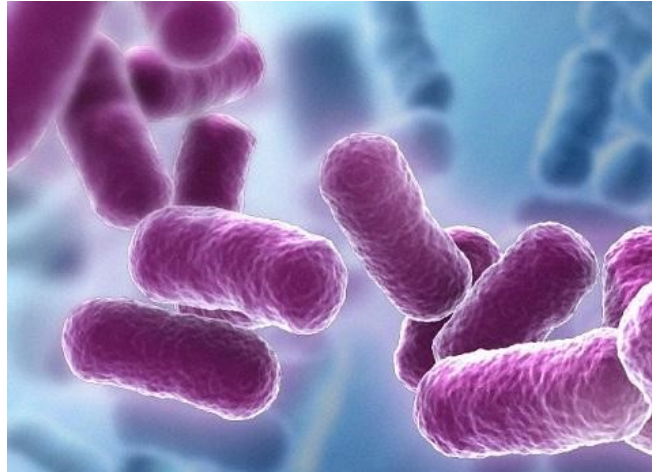


Hình 1.7. Cơ chế kháng khuẩn của nano bạc [29].

1.4 Tổng quan về các chủng vi khuẩn:

1.4.1 *Bacillus subtilis*:

Bacillus subtilis là một loài vi khuẩn có hình que (trực khuẩn), gram dương (Hình 1.8). Thuộc chi *Bacillus*, họ *Bacillaceae*, vì thường được tìm thấy trong cỏ, rơm nên còn có tên gọi khác là trực khuẩn cỏ hoặc trực khuẩn cỏ khô. Tuy nhiên chúng thường sinh trưởng nhiều trong ống tiêu hóa của người và nhiều loài gia súc (động vật nhai lại). Vi khuẩn sinh nha bào, có lông và di động bằng lông của chúng. Nha bào hình elip và thường ở giữa thân vi khuẩn, không làm biến dạng thân vi khuẩn. Sự hình thành nha bào tùy thuộc vào điều kiện môi trường. Trong điều kiện môi trường không tốt, *B. subtilis* thường tồn tại ở trạng thái bào tử, nhằm chịu được môi trường khắc nghiệt cho nên bào tử của chúng có lớp vỏ khá dày và cứng. Hiện tượng này đã được ứng dụng để tạo nên các chủng *B. subtilis* có lợi nhằm bảo quản lâu dài và chế tạo thành sản phẩm như một loại thuốc điều trị bệnh cho con người. Tuy nhiên, *B. subtilis* có thể gây bệnh nhiễm trùng như nhiễm trùng huyết, viêm phổi,...Ngộ độc thức ăn cũng có thể gặp phải khi trong đó có trực khuẩn *B. subtilis* như đồ hộp [35] [36].



Hình 1.8. Vi khuẩn *Bacillus subtilis* [37]

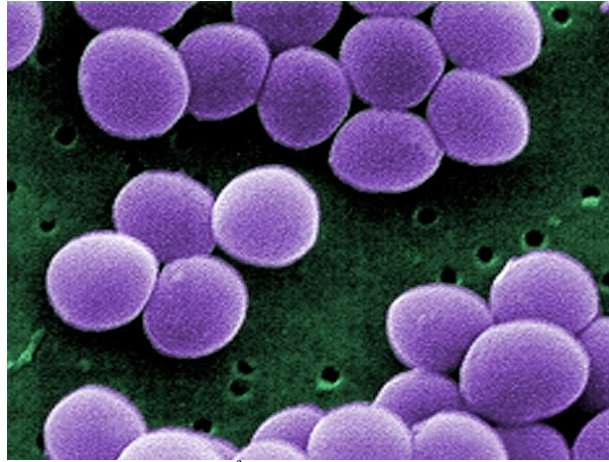
Mô tả: *B. subtilis* có chiều dài khoảng từ 1 đến 10 μm , chiều ngang 0,2 – 1 μm , hai đầu tròn có 8 – 12 lông nhỏ. Thường tồn tại đơn lẻ, nhưng cũng tạo thành "quần thể" hình chuỗi ngắn, có khả năng di chuyển trong môi trường nước nhờ hoạt động của các lông giống như tròng roi. Bào tử hình bầu dục nhỏ, kích thước từ 0,8 đến 1,8 μm , được bao bọc bởi lớp vỏ gồm nhiều lớp màng có các thành phần như lipoprotein, peptidoglycan... có khả năng chịu được pH thấp, chịu nhiệt (ở 100°C trong 180 phút), chịu ẩm, tia tử ngoại, tia phóng xạ, áp suất, chất sát trùng, có thể sống vài năm đến vài chục năm [38].

Sinh sản: *B. subtilis* sinh sản theo cơ chế phân bào để tạo ra hai tế bào con hoặc tạo ra một nội bào tử (endospore) duy nhất có thể tồn tại tới hàng chục năm và chịu được các điều kiện bất lợi. Khi nơi ở thuận lợi, nó phân bào theo kiểu nguyên phân, trong đó nhiễm sắc thể của nó nhân đôi theo cơ chế nhân đôi của nhiễm sắc thể nhân sơ. Khi nơi ở có nhiều bất thuận làm nó không thể phân bào, thì nó sinh sản theo cơ chế bào tử hoá (sporulation) và hoá thành bào tử [39].

1.4.2 *Staphylococcus aureus*:

Staphylococcus aureus (còn gọi là Tụ cầu vàng). Thuộc họ *Staphylococcaceae*, chi *Staphylococcus* là một loài tụ cầu khuẩn Gram dương hiếu khí tùy nghi, có đường kính khoảng 1 μm hình cầu, chúng tạo thành từng cụm bằng cách nằm tụ lại với nhau, có hình thái giống như chùm nho. Không sinh nha bào, không lông và thường không có vỏ (Hình 1.9) [40] [35].

Chúng thường cư trú chủ yếu ở vùng da và niêm mạc của người. Thông thường, các tụ cầu này thường hiện diện chủ yếu trên da hoặc số ít trong cơ thể con người nhưng chỉ gây nhiễm trùng da nhẹ hoặc không gây bệnh. Tuy nhiên, các vi khuẩn tụ cầu khuẩn có thể dẫn đến tình trạng nhiễm trùng nghiêm trọng khi chúng xâm nhập sâu hơn vào khớp, trong máu, phổi hoặc tim. Chúng sẽ gây những nguy hại như làm loét, phỏng da, nhiễm trùng da hoặc gây nhiễm trùng nặng trong phổi, máu và ở các mô khác làm cho tính mạng người bệnh gặp nguy hiểm [41] [42].

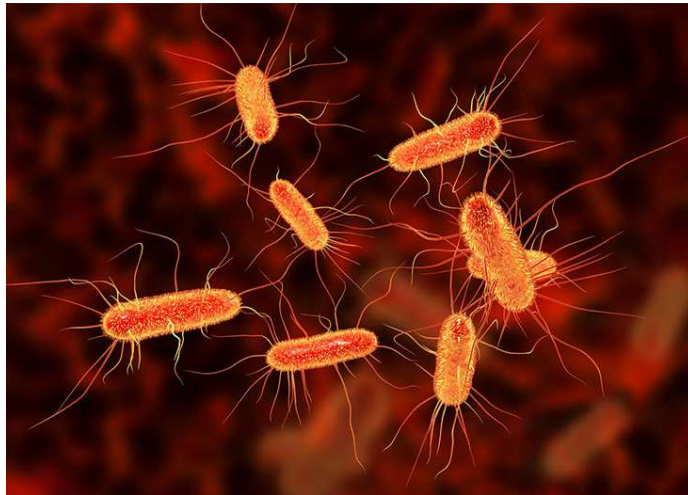


Hình 1.9. Vi khuẩn *Staphylococcus aureus* [43]

Sinh sản: *Staphylococcus aureus* ở môi trường thông thường có thể dễ dàng phát triển tốt. Tuy có khoảng nhiệt độ rất rộng nhưng chúng lại không thể sinh trưởng ở nhiệt độ thấp, nhiệt độ sinh trưởng từ 7 – 48°C, khoảng pH 4,2 – 9,3, nhiệt độ sinh trưởng tối ưu là 30 – 45°C với độ pH là 7 – 7,5 và trong môi trường chứa trên 15% muối natri clorua. Ở canh thang, sau vài giờ (5 – 6 giờ) làm cho môi trường bị đục, sau 24 giờ sẽ làm cho môi trường bị đục rõ hơn. Vi khuẩn lác có hình dạng tròn lồi, bóng láng, óng ánh có thể có màu vàng đậm, màu vàng cam hoặc màu trắng khi ở môi trường đặc và sau 24 giờ chúng sẽ phát triển khá lớn [35] [44].

1.4.3 *Escherichia coli*:

Escherichia coli thuộc chi *Escherichia*, họ *Enterobacteriaceae* là vi khuẩn Gram âm, hình que, kỵ khí tùy nghi, có dạng hình que, dài khoảng 2,0 µm và đường kính 0,25 – 1,0 µm, thể tích tế bào là 0,6 – 0,7 µm³ (Hình 1.10). Trong những điều kiện môi trường không phù hợp (chẳng hạn như có kháng sinh trong môi trường) vi khuẩn có thể dài như sợi chỉ. Một số chủng *E. coli* có vỏ, hầu hết có lông và di chuyển nhờ tiên mao. Vi khuẩn sống trong đường tiêu hóa của người và động vật. *E. coli* và các vi khuẩn kỵ khí tùy nghi khác chiếm khoảng 0,1% hệ vi sinh vật đường ruột. Tuy nhiên, *E. coli* cũng là nguyên nhân gây một số bệnh đường ruột như tiêu chảy, viêm đường tiết niệu, viêm đường mật và các bệnh khác như viêm phổi, viêm màng não, nhiễm khuẩn vết thương [41] [38] [45] [46].



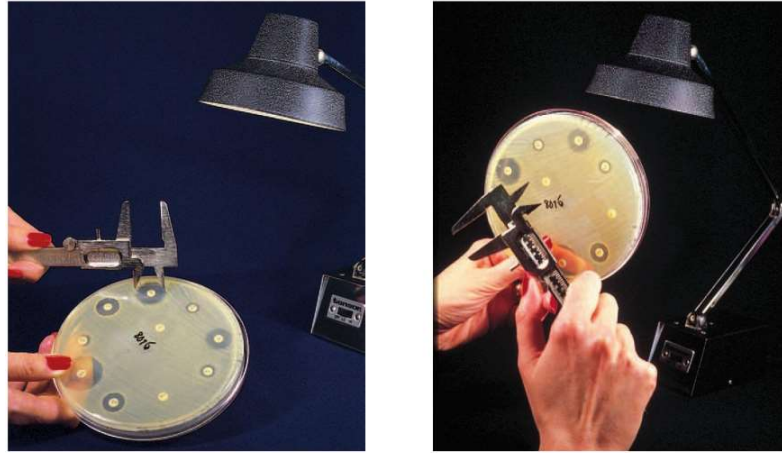
Hình 1.10. Vi khuẩn *Escherichia coli*

Sinh sản: *E. coli* tăng trưởng dễ dàng ở các môi trường nuôi cấy thông thường hoặc có thể tăng trưởng trên các môi trường tổng hợp nghèo chất dinh dưỡng. Phát triển ở nhiệt độ từ 5 – 40°C. Nhiệt độ thích hợp ở 37°C. Tuy nhiên, một số chủng trong phòng thí nghiệm có thể phân đôi ở nhiệt độ lên tới 49°C [47] [35]

E. coli phát triển rất nhanh trong nhiều loại môi trường phòng thí nghiệm (ví dụ môi trường LB Broth), hoặc bất kỳ môi trường nào có chứa glucose, amoni phosphat, natri chloride, magnesi sulfat, dikali phosphat và nước. *E. coli* được phân loại là vi khuẩn kỵ khí tùy nghi, sử dụng oxy khi có tiếp xúc oxy. Tuy nhiên, *E. coli* có thể tiếp tục phát triển trong điều kiện không có oxy bằng quá trình lên men hoặc hô hấp kỵ khí. Khả năng tiếp tục phát triển trong điều kiện thiếu oxy là một lợi thế đối với vi khuẩn vì khả năng sống sót của loài tăng lên trong môi trường xung quanh là nước [48].

1.5 Thử nghiệm kháng khuẩn theo phương pháp đĩa giấy khuếch tán trên môi trường thạch:

Định nghĩa: Phương pháp đĩa giấy khuếch tán trên môi trường thạch (phương pháp Kirby – Bauer) là một phương pháp đơn giản, phổ biến nhất vì dễ thực hiện hàng ngày ở phòng xét nghiệm với nhiều quy mô khác nhau. Phương pháp này được đưa ra lần đầu tiên năm 1950 bởi nhà khoa học B. A. Thompson. Cho đến nay phương pháp này đã khẳng định được vai trò hữu hiệu của nó và được sử dụng rộng rãi trong nhiều nghiên cứu về công nghệ sinh học và y dược học [49] [50]



Hình 1.11. Khuếch tán trên môi trường thạch bằng phương pháp đĩa giấy [50].

Các bước tiến hành của kỹ thuật:

- ❖ Tiến hành lấy mẫu rồi nuôi cấy trên đĩa thạch có chứa môi trường dinh dưỡng đặc biệt để nuôi cấy vi khuẩn gây bệnh.
- ❖ Lựa chọn dòng thuần vi khuẩn gây bệnh bằng cách phân lập và định danh.
- ❖ Một lượng vi khuẩn thích hợp được lấy và trải trên đĩa thạch, đặt các đĩa kháng sinh vào đĩa thạch (đĩa kháng sinh là những mảnh giấy tròn có tâm kháng sinh với hàm lượng nhất định).
- ❖ Các đĩa thạch được ủ ấm ở nhiệt độ 35 - 37 °C.
- ❖ Sau 24 - 48 giờ tiến hành đọc kết quả: kháng sinh từ khoanh giấy khuếch tán ra môi trường thạch ức chế sự phát triển của vi khuẩn, vì thế tạo vòng tròn không có vi khuẩn hay còn gọi là vùng ức chế xuất hiện trên bề mặt đĩa thạch (Hình 1.11). Dựa vào đường kính của vùng ức chế chúng ta sẽ xác định được độ nhạy của kháng sinh cũng như độ kháng kháng thuốc của vi khuẩn. Đường kính vùng ức chế tỷ lệ thuận với mức độ nhạy cảm [51].

1.6 Tổng quan nitrophenol và một số chất màu:

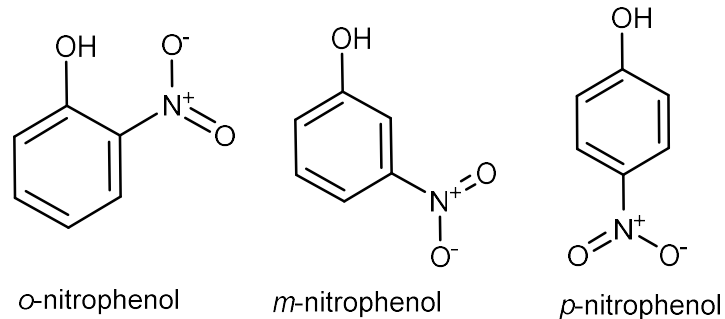
1.6.1 Nitrophenol:

Nitrophenol tồn tại ở ba dạng đồng phân:

- 2-nitrophenol (còn được gọi là *ortho-* hoặc *o-*) (Hình 1.12)
- 3-nitrophenol (còn được gọi là *meta-* hoặc *m-*) (Hình 1.12)
- 4-nitrophenol (còn được gọi là *para-* hoặc *p-*) (Hình 1.12)

O-nitrophenol là chất rắn có mùi thơm, màu vàng nhạt. *M*-nitrophenol và *P*-nitrophenol là chất rắn không màu đến vàng nhạt. Các chất đồng phân của nitrophenol chủ yếu được sử dụng làm chất trung gian để sản xuất thuốc nhuộm, bột màu, dược phẩm, hóa chất cao su, hóa chất chụp ảnh, thuốc trừ sâu, thuốc diệt nấm và chất bảo quản gỗ. *O*-nitrophenol được sử dụng để sản xuất thuốc trừ sâu, thuốc diệt nấm và

các hóa chất nông nghiệp khác. *M*-nitrophenol được sử dụng làm chất chỉ thị và tổng hợp một số thuốc nhuộm và thuốc. *P*-nitrophenol được sử dụng để nhuộm đen thuộc da và sản xuất thuốc, thuốc diệt nấm, thuốc nhuộm methyl và ethyl parathion [52] [53].



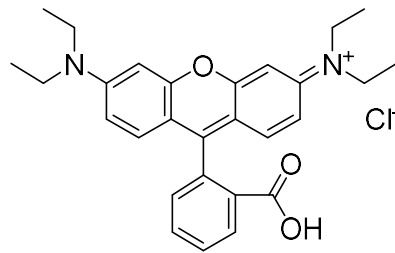
Hình 1.12. Công thức cấu tạo của *o*-nitrophenol, *m*-nitrophenol, *p*-nitrophenol [54].

Trong các ngành công nghiệp các đồng phân của nitrophenol được sử dụng nhiều. Tuy nhiên, những hợp chất này rất nguy hại cho môi trường lúc thải ra khi chưa được xử lý hoàn toàn triệt để. Các nitrophenol là các hợp chất có tính độc hại có thể làm tổn thương hệ thần kinh trung ương, thận, gan, máu của động vật và con người [52]. Do có tính hòa tan tốt trong nước và thời gian tồn tại lâu nên rất khó để phân hủy sinh học trong môi trường nước thông thường. Vì thế việc xử lý các hợp chất độc hại này có thể được thực hiện bằng nhiều phương pháp khác nhau. Trong số đó, quá trình khử xúc tác sử dụng các tác nhân oxy hóa và khử như H_2O_2 và NaBH_4 . Thêm nữa, quá trình khử nhóm NO_2 của các dẫn xuất này sinh ra các amine không độc hại và là tiền chất để sản xuất các thuốc (VD. *p*-aminophenol là tiền chất để sản xuất thuốc paracetamol (N-acetyl-*p*-aminophenol)). Trong cơ chế xúc tác của quá trình phân hủy bằng NaBH_4 , bề mặt của AgNPs đóng vai trò quan trọng là chất hấp thụ chất ô nhiễm và ion BH_4^- nơi xảy ra quá trình chuyển điện tử từ BH_4^- (chất cho điện tử) sang chất gây ô nhiễm (chất nhận điện tử).

1.6.2 Các chất màu:

➤ Rhodamine B (Hình 1.13):

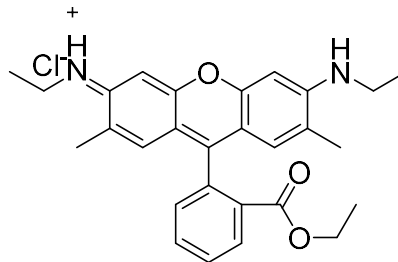
Là những tinh thể màu tối, có ánh sáng xanh, ở dạng bột có màu tím đỏ. Được sử dụng phổ biến làm thuốc nhuộm trong ngành công nghiệp dệt may. Rhodamine B gây độc cấp và mãn tính. Việc tiếp xúc với nó sẽ làm cho người tiếp xúc bị dị ứng hoặc gây mẩn ngứa ở mắt, da,... Qua đường hô hấp, nó gây ho, ngứa cổ, khó thở, đau ngực. Qua đường tiêu hóa, nó gây nôn mửa, có hại cho gan và thận. Nếu tích tụ dần trong cơ thể nó gây nhiều tác hại đối với gan, thận, hệ sinh sản, hệ thần kinh cũng như có thể gây ung thư [55] [56].



Hình 1.13. Công thức cấu tạo của Rhodamine B [55].

➤ Rhodamine 6G (Hình 1.14):

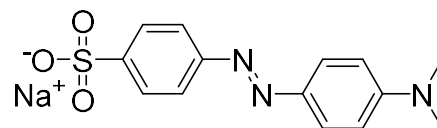
Là một dẫn xuất của thuốc nhuộm xanthene, có khả năng hòa tan cao trong nước. Đây là một trong những loại thuốc nhuộm tổng hợp lâu đời nhất và được sử dụng phổ biến nhất được sử dụng làm chất tạo màu trong dệt may và thực phẩm. Thuốc nhuộm rhodamine 6G độc hại có thể gây ung thư, gây hại nếu con người và động vật nuốt phải, đồng thời gây kích ứng da, mắt và đường hô hấp [57].



Hình 1.14. Công thức cấu tạo của Rhodamine 6G [57].

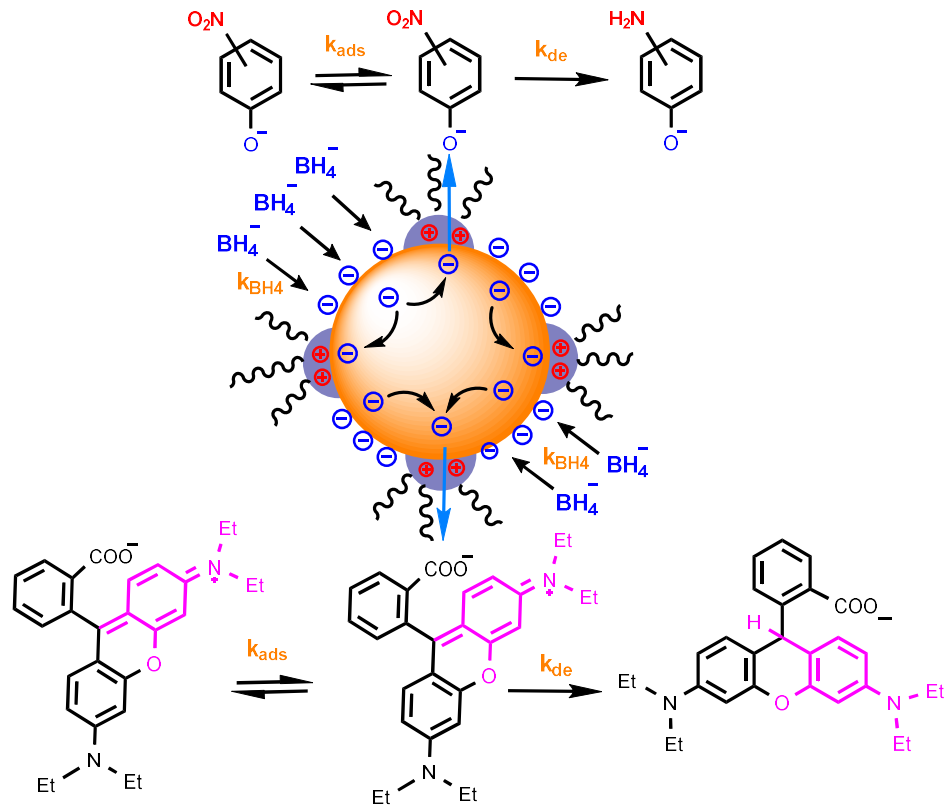
➤ Methyl Orange (Hình 1.15):

Là chất chỉ thị pH thường được sử dụng trong chuẩn độ và được sử dụng rộng rãi trong một số ngành công nghiệp bao gồm ngành dệt, giấy, in ấn và thực phẩm. MO có tính độc tính cao và nguy hiểm đối với con người và môi trường [58] [59].



Hình 1.15. Công thức cấu tạo của Methyl Orange [59].

1.6.3 Phản ứng phân hủy khử các hợp chất màu hữu cơ sử dụng NaBH_4 trong xúc tác nano kim loại:



Hình 1.16. Cơ chế phản ứng khử các hợp chất màu hữu cơ bằng NaBH_4 sử dụng các nano kim loại.

Phản ứng phân hủy sử dụng NaBH_4 trong xúc tác nano kim loại có dư NaBH_4 được mô hình hóa dựa theo cơ chế Langmuir-Hinshelwood. Trên bề mặt của chất xúc tác nano kim loại trước khi phản ứng cả hai chất phản ứng đều sẽ được hấp phụ. Cơ chế phản ứng có thể được giả định qua hai giai đoạn chính:

Ở giai đoạn đầu, ion BH_4^- được hấp phụ và chuyển điện tử vào bề mặt chất xúc tác. Trong thực nghiệm thông thường, sử dụng nồng độ của BH_4^- nhiều hơn rất nhiều so với chất phân hủy (khoảng 100 lần), cho nên về cơ bản nồng độ của ion BH_4^- không thay đổi trong suốt quá trình phản ứng cùng lúc đó sẽ ngăn chặn được quá trình oxy hóa trong không khí của chất phân hủy. Ngoài ra, sự tạo thành của bọt khí hydro nhỏ cũng có vai trò giúp khuấy trộn dung dịch, đảm bảo rằng các hạt xúc tác được phân phối đồng đều.

Ở giai đoạn hai, bao gồm sự hấp phụ cân bằng của nitrophenolate, chuyển điện tử từ bề mặt của các hạt nano thành nitrophenolate và hình thành sản phẩm thông qua việc tách aminophenolate.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU:

2.1.1 Đối tượng nghiên cứu:

Phôi Sâm Ngọc Linh, Bạc nitrat, vi khuẩn *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*, các chất màu nitrophenol, ...

2.1.2 Phạm vi nghiên cứu:

- Điều chế dịch chiết phôi Sâm Ngọc Linh.
- Tổng hợp nano bạc từ dịch chiết Sâm Ngọc Linh và khảo sát các điều kiện phản ứng
- Nghiên cứu tính chất lý hóa của hệ nano: kích thước hạt, hình thái học, độ bền, v.v...
- Nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của hệ nano bạc trên vi khuẩn Gram dương và Gram âm.
- Nghiên cứu động học xúc tác cho phản ứng khử các nitrophenol và các hợp chất màu hữu cơ.

2.2 DỤNG CỤ, HÓA CHẤT, THIẾT BỊ VÀ NGUYÊN VẬT LIỆU:

2.2.1 Dụng cụ:

Bảng 2.1. Bảng danh mục dụng cụ

STT	Tên dụng cụ
1	Pipet 1, 2, 5, 10 mL
2	Micropipet 100-1000 μ L, 2-20 μ L
3	Erlen 50, 100, 250 mL
4	Becher 10, 20, 50 mL
5	Cá từ
6	Giá đỡ
7	Ống sinh hàn
8	Nút cao su
9	Phễu thủy tinh
10	Giấy lọc
11	Bóp cao su
12	Bình cầu 250 mL
13	Bình định mức 5, 10, 20, 100 mL
14	Chai bi 20, 40 mL
15	Ống đong 100 mL

2.2.2 Hóa chất:

Bảng 2.2. Bảng danh mục hóa chất

STT	Tên hóa chất	Công thức hóa học	Nguồn gốc
1	Bạc nitrate	AgNO ₃	Acros Co.
2	<i>o</i> -nitrophenol	C ₆ H ₅ NO ₃	
3	<i>m</i> -nitrophenol	C ₆ H ₅ NO ₃	
4	<i>p</i> -nitrophenol	C ₆ H ₅ NO ₃	
5	Natri borohydride	NaBH ₄	
6	Methyl da cam	C ₁₄ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S	
7	Rhodamine 6G	C ₂₈ H ₃₁ N ₂ O ₃ Cl	
8	Rhodamine B	C ₂₈ H ₃₁ ClN ₂ O ₃	
9	Nước cất 2 lần	H ₂ O	Việt Nam
10	Acetone	CH ₃ COCH ₃	Việt Nam

2.2.3 Thiết bị:

- Cân phân tích điện tử Sartorius
- Tủ sấy UNB 400
- Máy khuấy từ gia nhiệt MR Hei-tec
- Bể siêu âm
- Máy ly tâm Biobase L400Bp
- Máy lắc Vortex
- Tủ hút
- Kính hiển vi điện tử truyền qua – TEM, HRTEM-SAED, STEM-mapping được đo trên thiết bị JEOL JEM1400 (Nhật Bản), Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.
- Phương pháp phân tích XRD được thực hiện trên máy đo khúc xạ tia X Shimadzu 6100 (Nhật Bản) nơi thực hiện Khoa Công nghệ Hóa học – Trường ĐH Công nghệ TP.HCM.
- Phổ hồng ngoại (IR) được đo trên máy Bruker Tensor 27 (Đức), máy được đặt tại Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Kính hiển vi điện tử quét SEM được đo trên thiết bị S-4800 HI-9057–0006 (Nhật Bản). Được đo tại Nanotechnology Lab, SHTP Labs, Lô 13, đường N2, Khu công nghệ cao, Quận 9, TP. HCM.
- Phương pháp phân tích nhiệt TGA-DSC được đo bằng máy phân tích nhiệt LabSys Evo 1600 (SETARAM, Pháp) tại Trường Đại học Sư Phạm TPHCM – Khoa Hóa.
- Kích thước hạt và thế zeta được đo trên thiết bị SZ – 100 HORIBA. Nơi thực hiện phép đo tại Trung tâm Thiết bị khoa học & Phân tích hóa lý – Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng.
- Phổ tán xạ năng lượng tia X EDX được phân tích bằng máy phân tích Horiba EMAX ENERGY EX-400. Phổ được đo tại Nanotechnology Lab, SHTP Labs, Lô 13, đường N2, Khu công nghệ cao, Quận 9, TP. HCM.
- Phổ hấp thụ phân tử UV – VIS được đo trên UV-5100, Shanghai Metash Instruments Co.,Ltd. Nơi thực hiện Viện Công nghệ Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam.

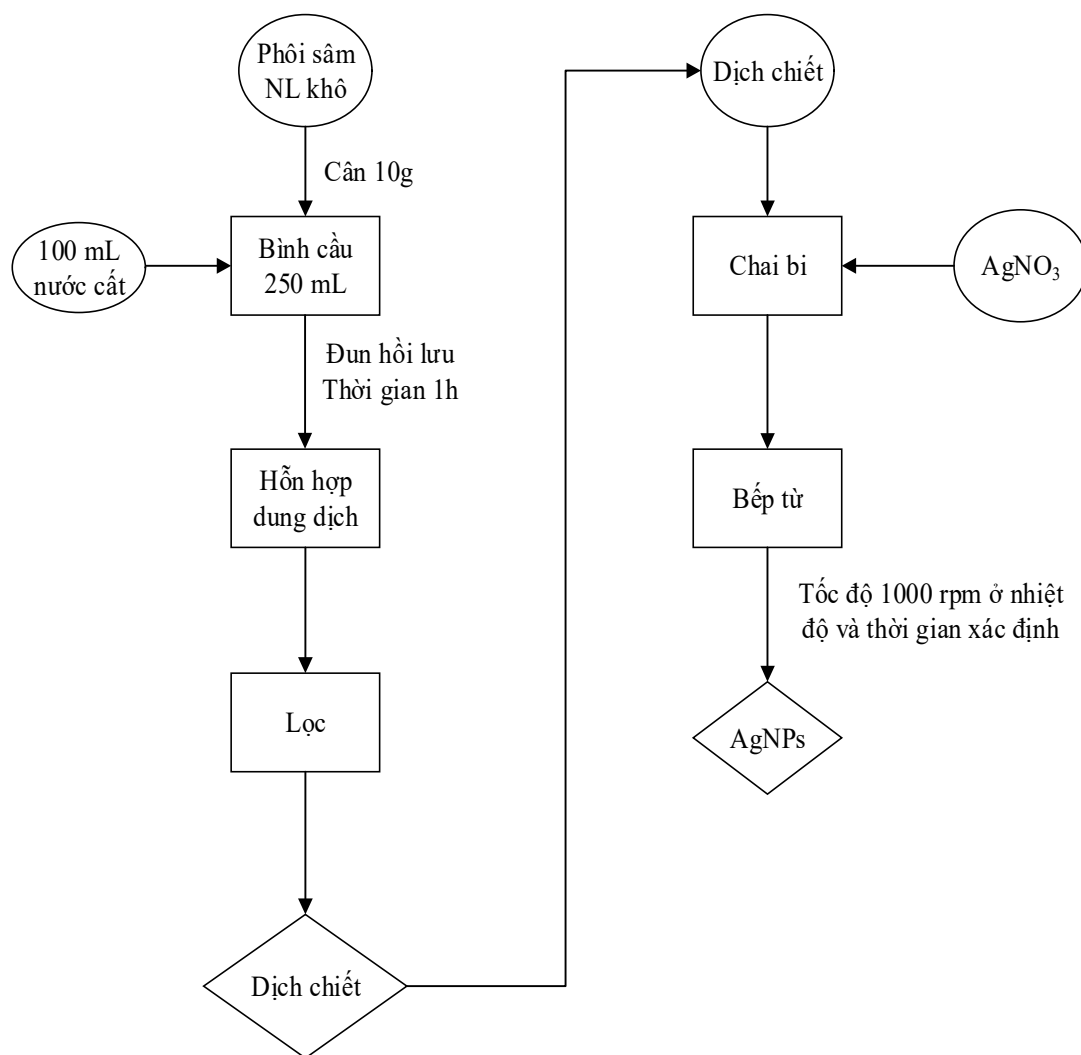
2.2.4 Nguyên vật liệu:

Phôi sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*) được cung cấp bởi Khoa Công nghệ Sinh học – Trường Đại học Tân Tạo, Tỉnh Long An (Hình 2.1).



Hình 2.1. Phôi sâm Ngọc Linh.

2.3 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU:



Hình 2.2. Quy trình tổng hợp nano bạc.

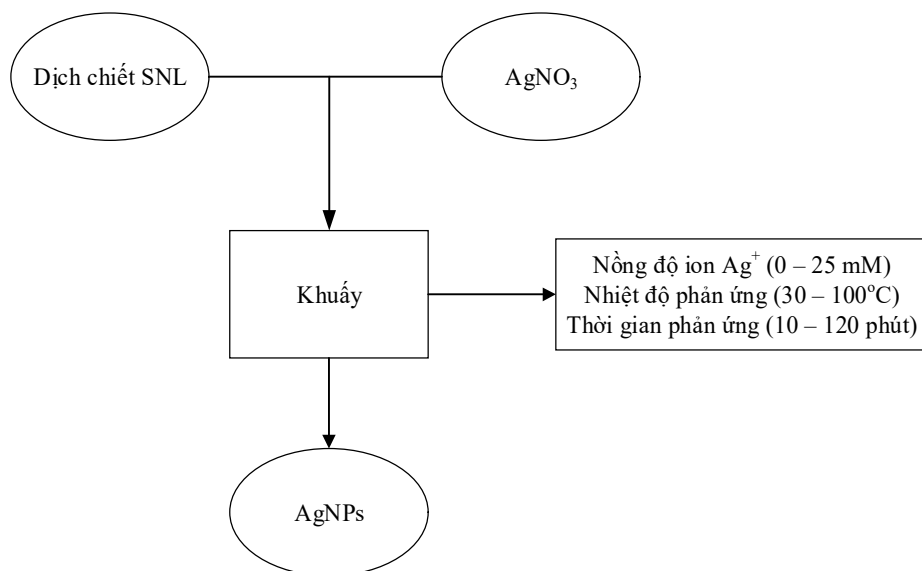
2.3.1 Chuẩn bị dịch chiết sâm Ngọc Linh:

- Phôi sâm Ngọc Linh được làm khô ở 60°C trong 24 giờ.
- Cho 10 g bột khô vào bình cầu thủy tinh 250mL, thêm 100 mL nước tinh khiết (nước cất) và tiến hành đun hồi lưu trong 1 giờ ở nhiệt độ 100°C (Hình 2.3).
- Hỗn hợp sau khi đun hồi lưu được lọc. Dịch lọc được bảo quản tại 4°C.



Hình 2.3. Hệ thống đun hồi lưu và dịch chiết sâm Ngọc Linh.

2.3.2 Tổng hợp nano bạc từ dịch chiết sâm Ngọc Linh:



Hình 2.4. Tổng hợp nano bạc.

Pha dung dịch muối bạc nitrate 25mM: Cân chính xác 0,4293 g AgNO_3 cho vào becher 50mL, sau đó cho 20mL nước cất vào becher và khuấy đều cho toàn bộ bạc nitrate tan hết. Đổ hỗn hợp trong becher vào bình định mức 100mL và định mức bằng nước cất.

Hạt nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết sâm và dung dịch bạc nitrate theo tỉ lệ 1:10 trong chai bi 20mL được bọc kín bằng giấy nhôm. Dung dịch được khuấy và gia nhiệt trên bếp từ với tốc độ 1000 rpm, ở nhiệt độ và thời gian thích hợp từ quá trình khảo sát. Sau đó, cho dung dịch vào ly tâm ở tốc độ 3000 rpm và rửa với nước cất để loại bỏ các thành phần hóa học không được hấp thụ trên bề mặt hạt nano.

Các thông số khảo sát của phản ứng bao gồm nồng độ của ion bạc (0 – 25 mM), nhiệt độ phản ứng (30 – 100°C) và thời gian phản ứng (10 – 120 phút) sẽ được khảo sát thông qua phổ UV – VIS.

- Khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ ion bạc đến quá trình hình thành nano bạc:

Dịch chiết sâm Ngọc Linh và dung dịch bạc nitrate được sử dụng theo tỉ lệ 1:10 (v/v) tuân tự ở những nồng độ 0, 5, 8, 10, 15, 20, 25 mM của Ag^+ . Sau đó, dung dịch được bọc kín bằng giấy nhôm và tiến hành phản ứng bằng bếp từ ở nhiệt độ 90°C, tốc độ khuấy 1000 rpm trong 120 phút. Đo UV-Vis của những dung dịch thu được để khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ đến quá trình tạo thành nano bạc và tìm được nồng độ thích hợp và sử dụng cho khảo sát tiếp theo.

Bảng 2.3. Lượng hóa chất dùng trong khảo sát nồng độ ion bạc

STT	Tỉ lệ dịch chiết : $AgNO_3$	Nồng độ ion bạc (mM)	Nhiệt độ phản ứng (°C)	Thời gian (Phút)
1	1 : 10	0	90	120
2		5		
3		8		
4		10		
5		15		
6		20		
7		25		

- Khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến quá trình hình thành nano bạc:

Dịch chiết sâm Ngọc Linh và dung dịch bạc nitrate theo tỉ lệ 1:10 (v/v) ở nồng độ thích hợp đã được thực hiện ở phần khảo sát trên cho vào các chai bi 10 mL. Dung dịch được bọc kín bằng giấy nhôm và tiến hành phản ứng trên bếp từ lần lượt ở các nhiệt độ 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 80°C, 90°C, 100°C với tốc độ khuấy 1000 rpm trong 120 phút. Đo UV-Vis các dung dịch thu được để khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ

phản ứng đến quá trình hình thành nano bạc và xác định được nhiệt độ thích hợp và được sử dụng cho bước khảo sát tiếp theo.

Bảng 2.4. Lượng hóa chất dùng trong khảo sát nhiệt độ.

STT	Tỉ lệ dịch chiết : AgNO ₃	Nồng độ ion bạc (mM)	Nhiệt độ phản ứng (°C)	Thời gian (Phút)
1	1 : 10	25	30	120
2			40	
3			60	
4			80	
5			90	
6			100	

➤ Khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian đến quá trình hình thành nano bạc:

Dịch chiết sâm Ngọc Linh và dung dịch AgNO₃ theo tỉ lệ 1:10 (v/v) ở nồng độ thích hợp đã được thực hiện ở phần khảo sát trên cho vào chai bi 10 mL. Dung dịch được bọc kín bằng giấy nhôm và tiến hành phản ứng trên bếp từ ở nhiệt độ thích hợp đã được xác định ở khảo sát trước với tốc độ khuấy 1000 rpm theo thời gian. Cứ mỗi 10 phút mẫu 1 lần từ chai bi để đo UV-Vis nhằm khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến sự hình thành nano bạc và xác định được thời gian phản ứng thích hợp.

Bảng 2.5. Lượng hóa chất dùng trong khảo sát thời gian.

STT	Tỉ lệ dịch chiết : AgNO ₃	Nồng độ ion bạc (mM)	Nhiệt độ phản ứng (°C)	Thời gian (Phút)
1	1 : 10	25	90	10
2				20
3				30
4				40
5				50
6				60
7				70
8				80
9				90
10				100
11				110
12				120

2.3.3 Hoạt tính xúc tác:

Chuẩn bị dung dịch NaBH₄ 0,5 M: Cân chính xác 0,0955 g NaBH₄ dạng rắn cho vào bình định mức 5 mL. Hòa tan NaBH₄ trong 3 mL nước cất, sau đó tiếp tục định mức bằng nước cất. Thu được dung dịch NaBH₄ 0,5 M.

Chuẩn bị dung dịch *o*-nitrophenol, *m*-nitrophenol, *p*-nitrophenol 0,1 M: Cân 0,0028 g *o*-nitrophenol, *m*-nitrophenol và *p*-nitrophenol rắn cho vào 3 becher 20 mL. Sử dụng pipet hút chính xác 10 mL nước cất cho vào từng becher và khuấy đều để hòa tan rắn, đổ dung dịch trong becher vào bình định mức 20 mL và định mức bằng nước cất, thu được dung dịch chuẩn của *o*-NP, *m*-NP, *p*-NP có nồng độ 1 mM. Sau đó hút 2 mL dung dịch chuẩn (dung dịch mẹ) cho vào 3 bình định mức 20 mL khác và định mức bằng nước cất. Ta được dung dịch *o*-NP, *m*-NP, *p*-NP có nồng độ 0,1 mM.

Chuẩn bị dung dịch Rhodamine B và Rhodamine 6G 0,05 mM: Cân 0,0048 g Rhodamine B và Rhodamine 6G cho vào 2 becher 10 mL. Sử dụng pipet hút chính xác 5 mL nước cất cho vào từng becher để hòa tan dung dịch Rhodamine B và Rhodamine 6G. Sau đó đổ dung dịch trong becher vào bình định mức 10mL và định mức bằng nước cất. Thu được dung dịch chuẩn của Rhodamine B và Rhodamine 6G có nồng độ 1 mM. Hút 1 mL dung dịch chuẩn cho vào 2 bình định mức 20mL và tiếp

tục định mức bằng nước cất thu được dung dịch Rhodamine B và Rhodamine 6G 0,05 mM.

Chuẩn bị dung dịch Methyl da cam 0,05 M: Cân 0,0033 g MO cho vào becher 10 mL. Dùng pipet hút chính xác 5 mL nước cất cho vào becher để hòa tan được dung dịch MO. Sau đó đổ dung dịch trong becher vào bình định mức 10mL và định mức bằng nước cất. Thu được dung dịch chuẩn của MO có nồng độ 1 mM. Hút 1 mL dung dịch chuẩn cho vào bình định mức 20 mL và tiếp tục định mức bằng nước cất. Thu được dung dịch MO 0,05 mM.

- Khảo sát hoạt tính xúc tác của AgNPs cho các phản ứng phân hủy đối với *o*-nitrophenol, *m*-nitrophenol, *p*-nitrophenol:

*Bảng 2.6. Khảo sát hoạt tính xúc tác của AgNPs với *o*-, *m*-, *p*-nitrophenol*

AgNPs (μL)	NaBH ₄ 0,05 M (mL)	<i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> -nitrophenol 0,1 mM (mL)
1	0,5	2,5
2		
3		
4		
5		

Sử dụng micropipet hút 2,5 mL dung dịch *o*-NP/*m*-NP/*p*-NP 0,1 mM cho vào cuvette thạch anh. Tiếp đó, cho 1/2/3/4/5 μL dung dịch nano bạc vào cuvette. Sau cùng, cho từ từ 0,5 mL dung dịch NaBH₄ 0,05 M vào cuvette và tiến hành đo phổ UV-Vis ở bước sóng 300-800 nm theo thời gian để khảo sát khả năng xúc tác khử màu của phản ứng.

- Khảo sát hoạt tính xúc tác của AgNPs cho phản ứng phân hủy đối với Rhodamine B, Rhodamine 6G và Methyl da cam:

Bảng 2.7. Khảo sát hoạt tính xúc tác của AgNPs với RhB, Rh6G và MO.

AgNPs (μL)	NaBH ₄ 0,025 M (mL)	Rhodamine B, Rhodamine 6G, Methyl da cam 0,05 mM (mL)
1	0,5	2,5
2		
3		
4		
5		

Sử dụng micropipet hút 2,5 mL dung dịch RhB/Rh6G/MO 0,05 mM cho vào cuvette thạch anh. Tiếp đó, cho 1/2/3/4/5 μL dung dịch AgNPs vào cuvette. Sau cùng, cho từ từ 0,5 mL dung dịch NaBH_4 0,025 M vào cuvette và tiến hành đo phổ UV-Vis ở bước sóng 300-800 nm theo thời gian để khảo sát khả năng xúc tác khử màu của phản ứng.

2.3.4 Khảo sát khả năng kháng khuẩn:

Thử nghiệm kháng khuẩn của các hạt nano bạc được thực hiện bằng phương pháp đĩa giấy khuếch tán trên môi trường thạch. Hai loại vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Staphylococcus aureus* là vi khuẩn Gram dương và *Escherichia coli* là vi khuẩn Gram âm được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn.

Đầu tiên vi khuẩn được lấy ra khỏi nơi lưu trữ và được nuôi cấy trong môi trường LB ở 37°C trong 6 giờ. Sau đó, dùng que cấy vô trùng để cấy ria vi khuẩn trên đĩa thạch. Các đĩa sẽ được ủ ấm ở 37°C trong 1 ngày (24 giờ). Các khuẩn lạc trên đĩa được nhặt chuyển sang môi trường lỏng và nuôi cấy ở 37°C trong 6 giờ. Hỗn hợp nuôi cấy được trộn nhẹ nhàng để tạo huyền phù đồng nhất.

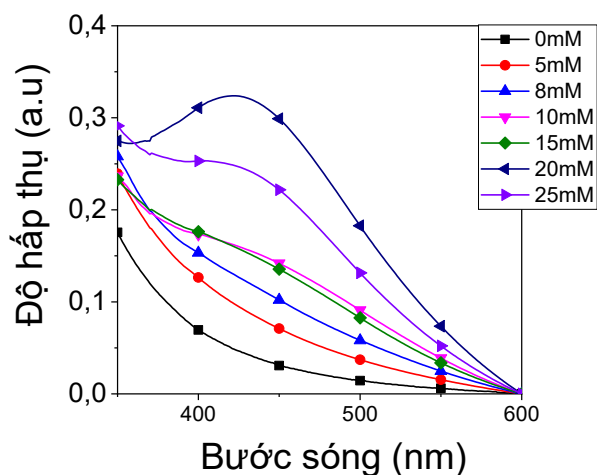
Hút vài trăm μL dung dịch huyền phù trộn với 100 μL trypan blue (0,4%). Sau đó, cho vào các buồng của máy huyết cầu kế bằng micropipette. Vi khuẩn được đếm dưới kính hiển vi. Số lượng vi khuẩn sống phải từ 100 đến 200 trong buồng (vi khuẩn sống không màu và vi khuẩn chết có màu xanh lam). Tổng số vi khuẩn sống trong hỗn hợp nuôi cấy được tính toán dựa trên số lượng vi khuẩn đếm được. Sau khi đã tính toán nồng độ thích hợp dựa trên số lượng vi khuẩn đếm được, hỗn hợp nuôi cấy sẽ được trải trên các đĩa thạch để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của các hạt nano bạc.

Mẫu dịch chiết ở nồng độ đậm đặc được sử dụng để kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn. Kết quả cho thấy dịch chiết không gây ra hoạt tính kháng bất kỳ vi khuẩn test nào. Từ đó, chúng tôi tiến hành khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng nano bạc đối với khả năng kháng khuẩn. Phương pháp được thực hiện như sau: nano bạc (1 μL) ở các nồng độ 2,5, 5, 10, 15, 20 mM được thấm vào từng đĩa giấy. Chúng được đặt trong tủ cấy vô trùng trong khoảng 15 phút mục đích giúp cho dung dịch nano bạc được phân tán đều trên đĩa giấy. Đĩa giấy đối chứng dương có chứa kháng sinh ampicillin (0,01 mg/mL) và môi trường Luria-Bertani broth (LB) được sử dụng làm đĩa giấy đối chứng âm. Tiếp đó, đặt từng đĩa giấy thử nghiệm trên môi trường thạch đã được chuẩn bị ở trên. Các đĩa được ủ trong 24 giờ ở 37°C . Hoạt tính kháng khuẩn được ghi lại thông qua đường kính của vùng ức chế xung quanh đĩa giấy tính bằng mm. Tiến hành quan sát và ghi nhận kết quả.

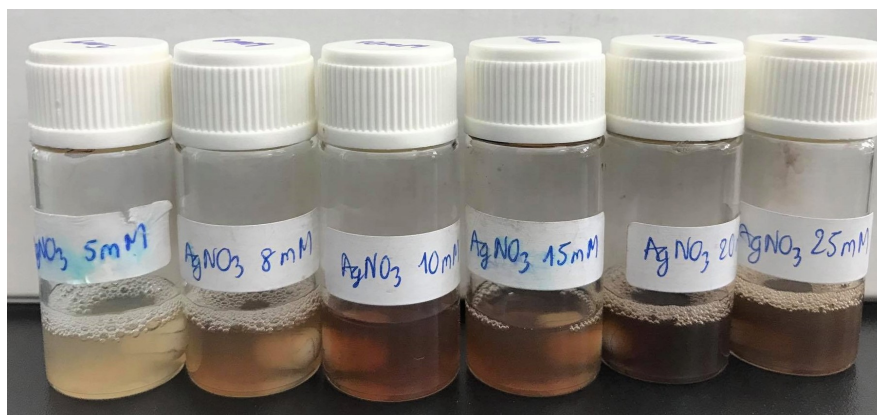
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ, nhiệt độ và thời gian đến sự hình thành nano bạc:

3.1.1 Ảnh hưởng của nồng độ đến sự hình thành nano bạc:



Hình 3.1. Phổ UV-Vis sự ảnh hưởng của nồng độ đến sự hình thành nano bạc.

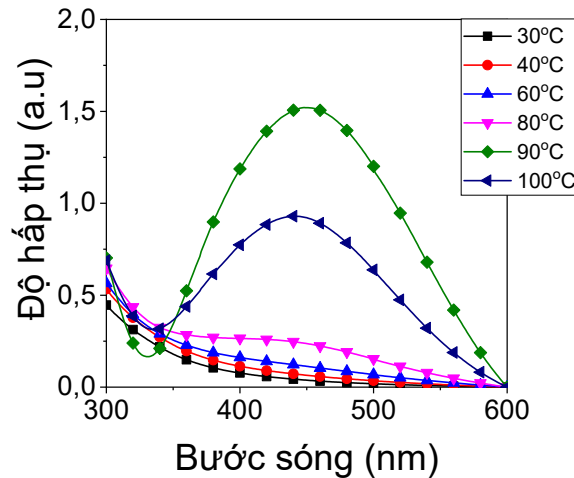


Hình 3.2. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ đến sự hình thành nano bạc.

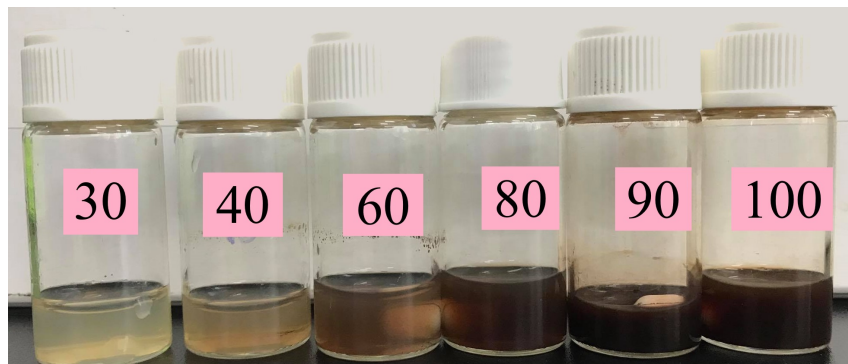
Dựa vào phổ UV-Vis (Hình 3.1) tại vùng bước sóng 350 – 500 nm ta sẽ thấy peak hấp thụ của dung dịch AgNPs, đạt cực đại ở khoảng 435 nm. Có thể quan sát thấy ảnh hưởng của nồng độ ion Ag^+ đến sự hình thành nano bạc khi càng tăng nồng độ ion Ag^+ thì peak hấp thụ càng tăng cho thấy nồng độ nano bạc trong dung dịch tăng lên, cùng với đó màu của dung dịch cũng sẽ đậm dần. Kết quả chỉ ra rằng khi tăng nồng độ ion Ag^+ đến 20 mM thì peak hấp thụ vẫn còn tăng nhưng đến nồng độ ion Ag^+ 25 mM thì peak hấp thụ giảm. Do khi tăng nồng độ Ag^+ cao hơn lượng nano bạc hình thành lớn hơn tuy nhiên hoạt chất làm bền từ dịch chiết không đủ để làm

bền hạt nano bạc được sinh ra, từ đó các hạt nano bạc bị tách ra khỏi dung dịch do bị kết tụ dẫn đến cường độ phổ hấp thụ của dung dịch giảm. Chính vì thế, nồng độ ion Ag^+ thích hợp được chọn để tiến hành khảo sát ở các điều kiện kế tiếp là 20 mM.

3.1.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành nano bạc:



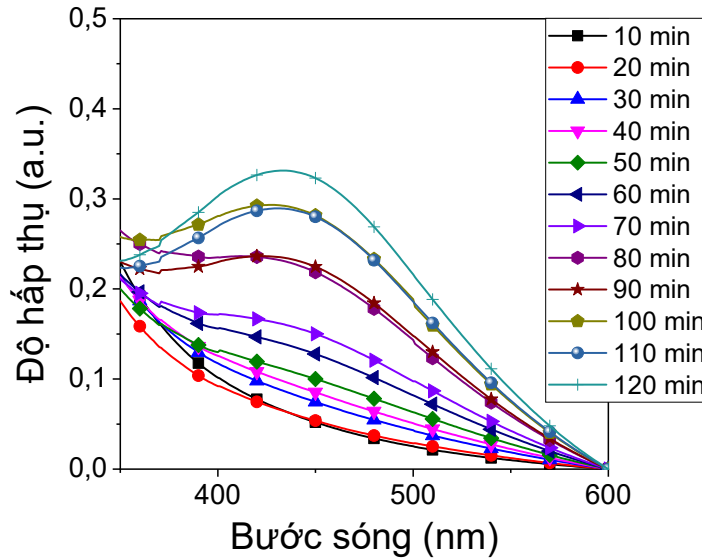
Hình 3.3. Phổ UV-Vis sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành nano bạc.



Hình 3.4. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành nano bạc.

Đối với ảnh hưởng của nhiệt độ, theo kết quả UV-Vis (Hình 3.3) sẽ thấy lượng nano bạc được tạo ra càng nhiều khi tăng nhiệt độ của phản ứng lên, màu của dung dịch sẽ đậm dần, từ đó các peak sẽ có cường độ hấp thụ tăng ở khoảng 440 – 450 nm. Điều này chứng tỏ sự gia tăng độ hấp thụ khi tăng nhiệt độ phản ứng và giá trị đạt cực đại ở 90°C cho thấy sự phụ thuộc mạnh mẽ trong việc tạo ra nano bạc với nhiệt độ. Khi tăng nhiệt độ dung dịch lớn hơn 90°C, các hạt nano bạc cũng bị ngưng tụ, có thể do nhiệt độ cao sự tương tác của các phân tử lớn gây ảnh hưởng đến bề mặt hạt và gây ra sự kết tụ hạt. Do đó, 90°C sẽ được chọn làm nhiệt độ của phản ứng để tiến hành khảo sát ở những điều kiện tiếp theo.

3.1.3 Ảnh hưởng của thời gian đến sự hình thành nano bạc:



Hình 3.5. Phổ UV-Vis sự ảnh hưởng của thời gian đến sự hình thành nano bạc.

Dựa vào phổ UV-Vis thu được cho thấy sự hình thành nano bạc trong dung dịch bị ảnh hưởng bởi thời gian phản ứng. Cường độ của peak hấp thụ càng cao khi thời gian phản ứng càng tăng, nồng độ nano bạc tạo ra trong dung dịch càng nhiều. Trong khoảng thời gian 10 đến 60 phút cường độ của các đỉnh hấp thụ thấp, chưa thể xác định được peak hấp thụ. Đỉnh hấp thụ chỉ xuất hiện rõ ràng ở phút 80. Sau các khoảng thời gian 80, 90, 100, 110 và 120 phút, cường độ đỉnh hấp thụ tăng không đáng kể. Vì vậy, từ kết quả trên 120 phút sẽ được chọn làm thời gian thích hợp để tổng hợp.

Để nghiên cứu đặc tính lý hóa của vật liệu và khảo sát ứng dụng hệ nano bạc được tổng hợp tại điều kiện thích hợp sau quá trình được khảo sát (Bảng 3.1) và mẫu nano được mô tả trong (Hình 3.6).

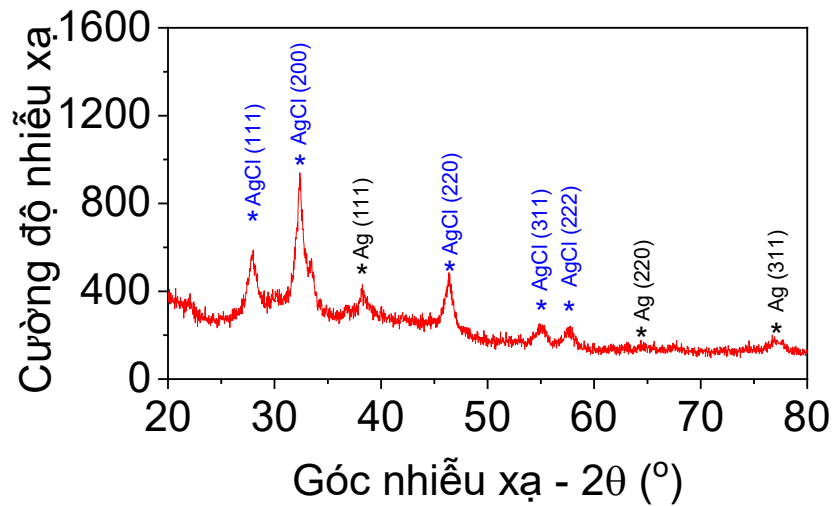


Hình 3.6. Tổng hợp nano bạc từ dịch chiết sâm Ngọc Linh trước (trái) và sau (phải) khi tổng hợp tại điều kiện thích hợp phản ứng: nồng độ 20 mM, nhiệt độ 90°C và thời gian 120 phút.

Bảng 3.1. Điều kiện tổng hợp thích hợp của nano bạc

Thông số và điều kiện	Giá trị
Tỉ lệ dịch chiết : Ag ⁺	1:10
Nồng độ Ag ⁺	20 mM
Nhiệt độ phản ứng	90°C
Thời gian phản ứng	120 phút

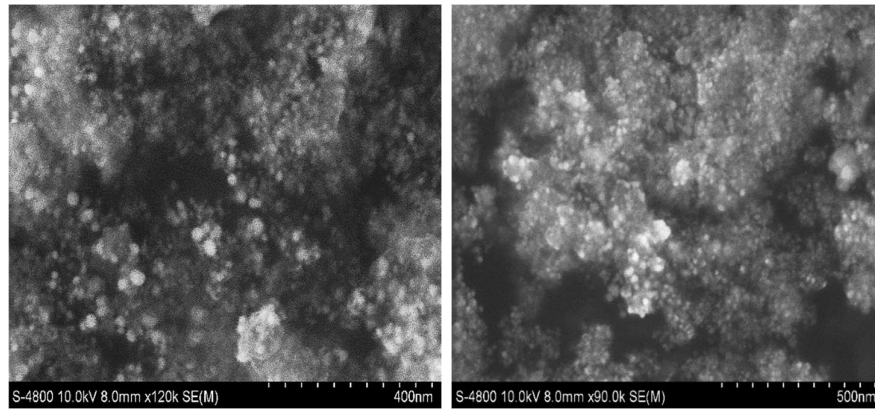
3.2 Giải đồ XRD:



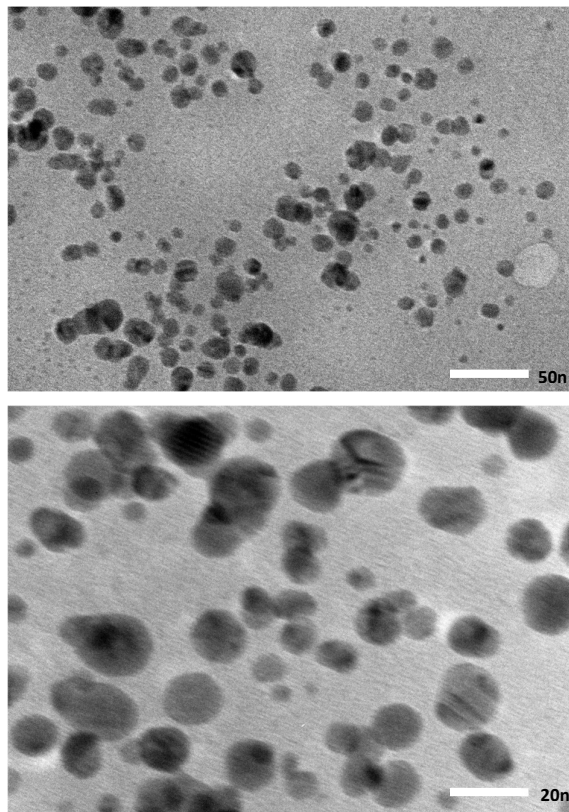
Hình 3.7. Giải đồ XRD của nano bạc.

Cấu trúc tinh thể của nano bạc được xác định bằng cách sử dụng phân tích XRD trong (Hình 3.7. Giải đồ XRD của nano bạc). Sự có mặt của những đỉnh nhiễu xạ ở các vị trí 2θ là $38,24^\circ$, $64,80^\circ$ và $77,78^\circ$ tương ứng với các mặt phẳng (111), (220) và (311) lần lượt là các mặt phẳng lập phương tâm mặt (FCC) của tinh thể nano bạc. Mặt khác, sự xuất hiện của các đỉnh nhiễu xạ ở $27,62^\circ$, $32,32^\circ$, $46,10^\circ$, $54,91^\circ$ và $57,30^\circ$ phù hợp với các mặt phẳng (111), (200), (220), (311) và (222) của tinh thể AgCl [60]. AgCl được sinh ra từ thành phần ion âm Cl⁻ có trong dịch chiết phơi sâm từ môi trường nuôi cấy. Hiện tượng này cũng được quan sát trong các nghiên khác [61].

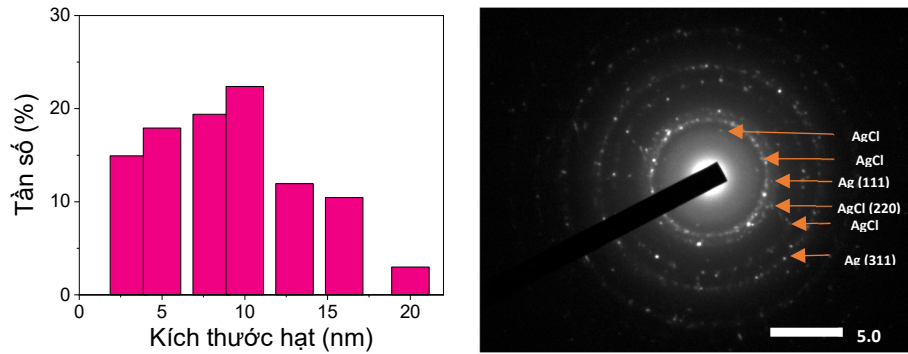
3.3 Kết quả hình thái học và phân bố của vật liệu:



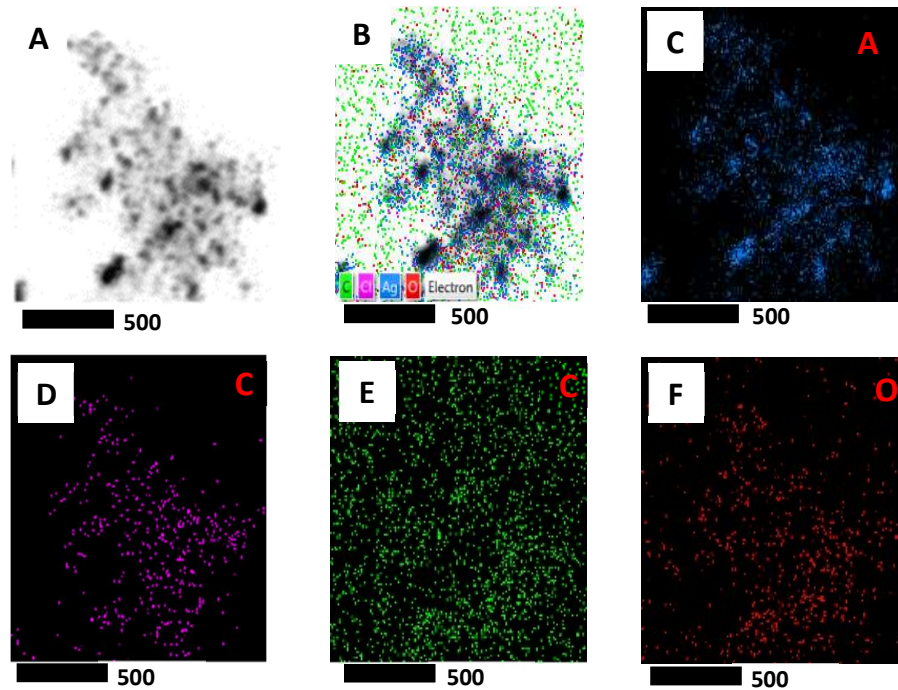
Hình 3.8. Ảnh chụp SEM của nano bạc.



Hình 3.9. Ảnh TEM của nano bạc ở kích thước 50 nm và 20 nm.



Hình 3.10. Phân bố kích thước hạt nano (trái) và ảnh nhiễu xạ vùng lựa chọn của nano bạc (phải).



Hình 3.11. Ảnh STEM (A) và EDX mapping (B – F).

Dựa vào ảnh chụp SEM (Hình 3.8) cho thấy tổng quan bề mặt vật liệu nano bạc. Các hạt nano bạc ở dạng chùm được hình thành từ các hạt dạng hình cầu có đường kính dưới 25 nm và kích thước không đồng đều.

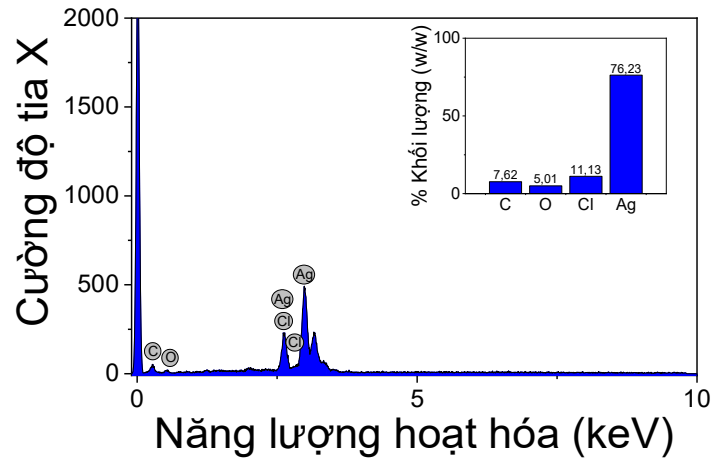
Kết quả ảnh TEM (Hình 3.9) của nano bạc có thể thấy các hạt nano có dạng hình cầu, phân bố với kích thước không đều được quan sát thấy trong khoảng 3 – 20 nm, với kích thước trung bình là 10 nm (Hình 3.10). Điều này chỉ ra rằng các hợp chất hoạt động trong dịch chiết có thể làm ổn định để tạo thành các hạt nano có kích thước nhỏ giúp tăng cường hoạt tính của nano bạc.

Ảnh nhiễu xạ vùng lựa chọn của nano bạc (Hình 3.10) có thể thấy các đường tròn đồng tâm xuất hiện liên tục. Điều này chứng minh được mẫu nano bạc tồn tại ở trạng thái tinh thể. Các vòng sáng trong mẫu SAED ứng với phản xạ đặc trưng cho

các mạng (111), (200), (220) và (311) trong cấu trúc lập phương tâm mặt (FCC), phù hợp với dữ liệu của XRD [62] [63].

Kết quả phân tích ánh xạ STEM và EDX Mapping (*Hình 3.11*) cho thấy sự hiện diện của các nguyên tố bao gồm bạc, clorua, carbon và oxy cùng với đó cho thấy sự hiện diện của tinh thể nano bạc, AgCl và các thành phần hữu cơ trong các hạt nano.

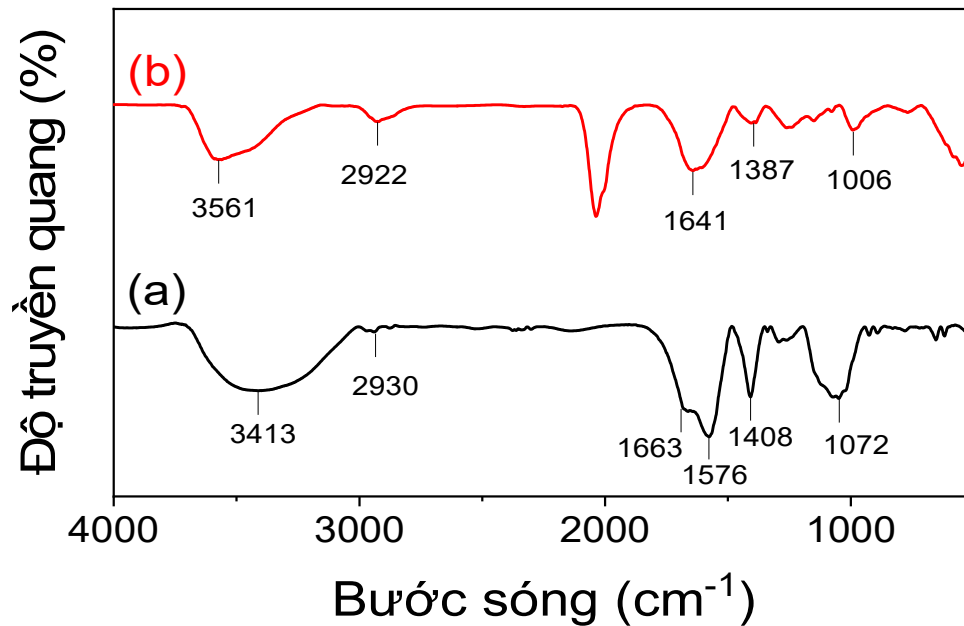
3.4 Kết quả EDX:



Hình 3.12. EDX của mẫu nano bạc.

Biểu đồ của năng lượng ion hóa (keV) so với cường độ tia X (*Hình 3.12*) cho thấy bạc có trong mẫu nano được xác định bởi các tín hiệu ở vị trí 2,6 và 3,0 keV. Bên cạnh đó phổ cũng xuất hiện tín hiệu của chloride ở vị trí 2,7 keV điều này cho thấy AgCl đã được hình thành trong mẫu nano bạc. Thành phần hữu cơ trong mẫu được đại diện bởi các nguyên tố carbon và oxy. Hơn nữa, phân tích EDX cho thấy thành phần của bạc trong mẫu được tổng hợp chiếm khá cao (76,23%, w/w). Đây là cơ sở để ứng dụng hệ nano trong khảo sát hoạt tính xúc tác và hoạt tính sinh học của hạt nano bạc.

3.5 Phổ FTIR:

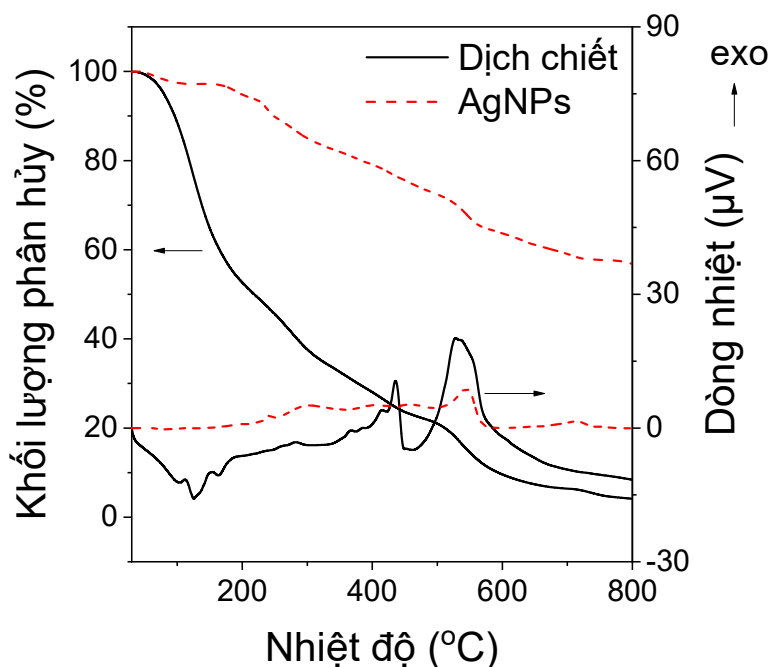


Hình 3.13. Phổ FTIR của dịch chiết phôi sâm Ngọc Linh (a) và nano bạc (b).

Phổ FTIR được dùng để xác định các nhóm chức có thể có trong thành phần của dịch chiết phôi sâm Ngọc Linh. Phổ FTIR của dịch chiết và nano bạc được thể hiện trên (Hình 3.13. Phổ FTIR của dịch chiết phôi sâm Ngọc Linh (a) và nano bạc (b)). Phổ của hai mẫu cho thấy các dải hấp thụ là tương tự nhau, điều này chỉ ra rằng thành phần của dịch chiết đóng vai trò quan trọng trong việc làm ổn định các hạt nano bạc.

- Kết quả phổ FTIR của dịch chiết cho thấy tín hiệu tại 3413 cm^{-1} là sự dao động của nhóm O-H và N-H đặc trưng của các hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol, flavonoid, polysaccharide, protein và alkaloid. Tín hiệu tại 2930 cm^{-1} là sự dao động của nhóm C-H đặc trưng của polysaccharide và saponin. Tín hiệu tại vùng 1630 cm^{-1} là tín hiệu dao động của nhóm C=O đặc trưng cho các nhóm amide và axit carboxylic. Các tín hiệu tại 1408 cm^{-1} và 1072 cm^{-1} tương ứng với các dao động của nhóm C=C và C-O
- Kết quả phổ của nano bạc cho thấy các tín hiệu ở $3561, 2922, 1641, 1387$ và 1006 cm^{-1} cũng tương tự như phổ FTIR của dịch chiết. Điều này cho thấy rằng các phân tử sinh học đóng vai trò là tác nhân ổn định trong quá trình sinh tổng hợp các hạt nano.

3.6 Giải đồ TGA-DSC:



Hình 3.14. Kết quả giải đồ TGA-DSC.

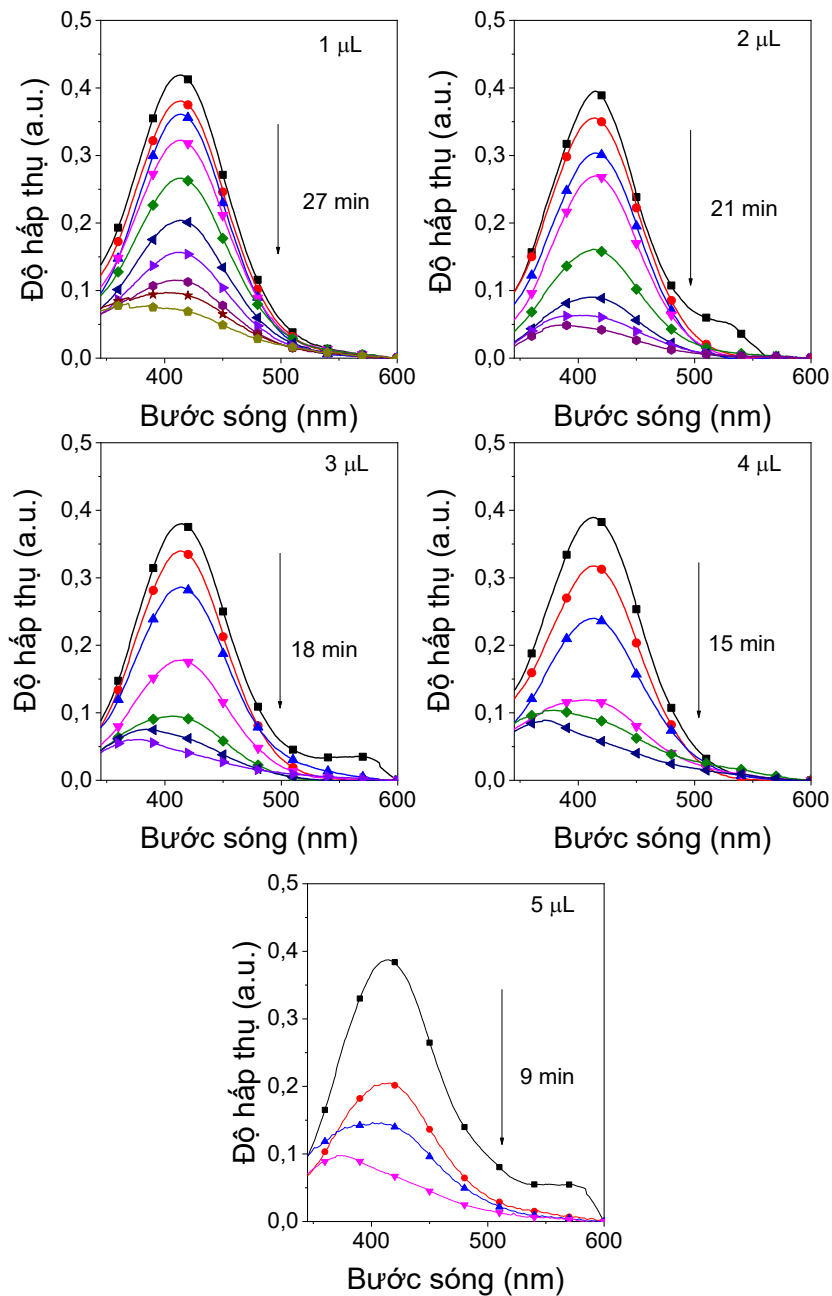
Tính chất nhiệt của dịch chiết và nano bạc (AgNPs) đã được nghiên cứu bằng cách sử dụng phân tích TGA – DSC đo từ nhiệt độ phòng đến 800°C, áp suất khí quyển, tốc độ gia nhiệt 10°C/phút trong không khí.

Kết quả TGA (Hình 3.14) cho thấy mẫu dịch chiết bị phân hủy khối lượng 10% ở vùng nhiệt độ dưới 100°C do sự bay hơi của nước và các hợp chất dễ bay hơi, khoảng 50% khối lượng trong vùng nhiệt độ 200°C. Trong đó ở mẫu nano bạc gần như ổn định ở vùng nhiệt độ này. Điều này cho thấy các hạt nano được sinh tổng hợp không có các thành phần dễ bay hơi. Mẫu dịch chiết bị mất khoảng 96% khối lượng ở 800°C, trong khi nano bạc giảm khoảng 40% khối lượng ở vùng nhiệt độ này.

Kết quả DSC (Hình 3.14) của mẫu dịch chiết cho thấy các đỉnh thu nhiệt ở vùng nhiệt độ thấp là do quá trình bay hơi của các chế phẩm dễ bay hơi. Cả hai đường cong DSC của dịch chiết và nano bạc cho thấy các đỉnh tỏa nhiệt tương tự nhau ở 280°C đến 300°C, 445°C và 540°C đến 550°C, điều này liên quan đến quá trình oxy hóa các hợp chất hữu cơ. Đồng thời cũng chứng minh trong dịch chiết sâm có những phân tử hữu cơ là tác nhân ổn định các nano bạc được tổng hợp.

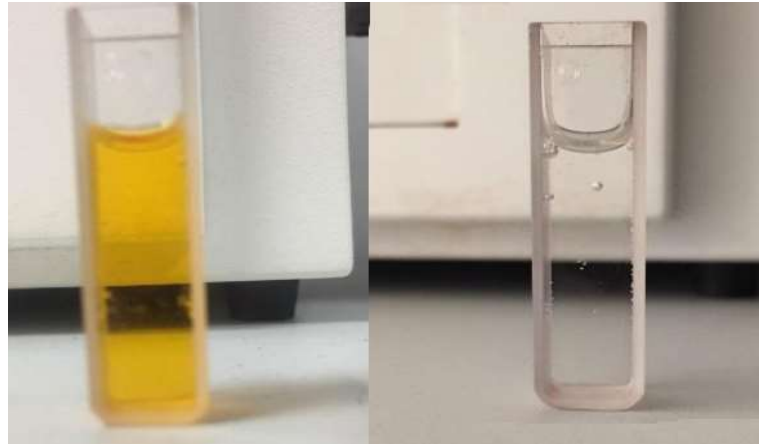
3.7 Ứng dụng xúc tác của nano bạc trong các phản ứng khử các hợp chất gây ô nhiễm:

3.7.1 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử *o*-nitrophenol (*o*-NP):

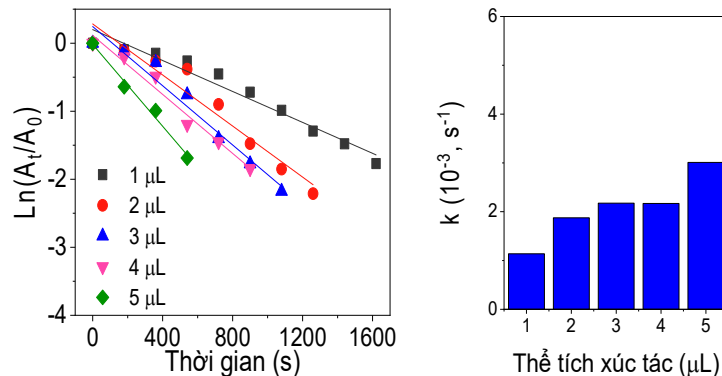


Hình 3.15. Phổ UV-Vis quá trình khử *o*-NP ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μ L).

Dựa vào kết quả phổ đo UV-Vis (Hình 3.15) cho thấy, nồng độ hấp thụ của *o*-NP được đo ở bước sóng trong khoảng 350 – 500 nm, peak hấp thụ cực đại ở bước sóng 414 nm. Khi vừa thêm NaBH₄, màu của dung dịch sẽ chuyển từ màu vàng nhạt sang màu vàng đậm do sự hình thành của ion *o*-nitrophenolate trong kiềm trung tính. Sau đó, màu sẽ nhạt dần và cuối cùng là trong suốt khi quá trình khử *o*-NP xảy ra để tạo thành *o*-aminophenol (Hình 3.16). Lượng xúc tác khi cho vào phản ứng sẽ tỉ lệ thuận với tốc độ phản ứng và tỉ lệ nghịch với thời gian phản ứng. Điều này chứng minh rằng nano bạc có hoạt tính xúc tác đối với phản ứng phân hủy *o*-NP.



Hình 3.16. Phản ứng khử của *o*-NP lúc bắt đầu và kết thúc.



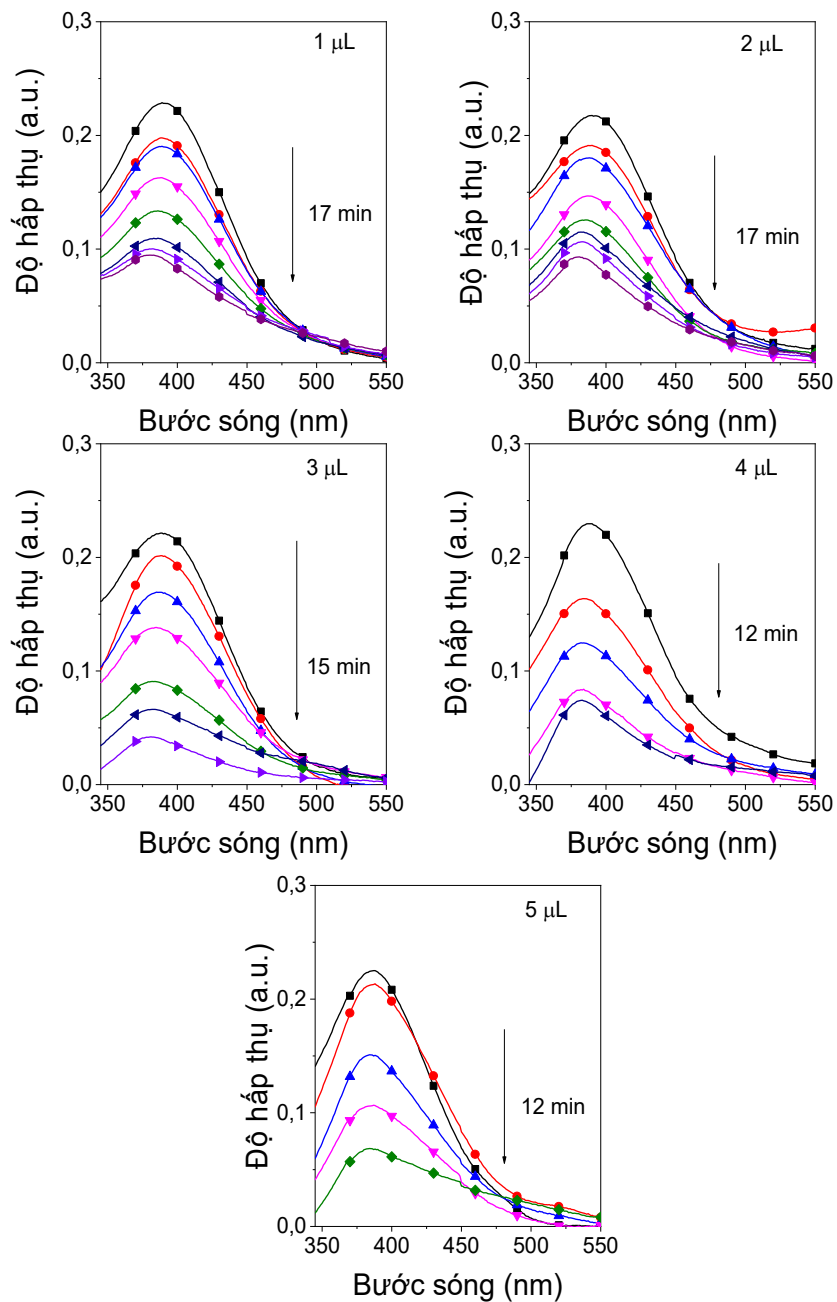
Hình 3.17. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.

Động học bậc 1 của phản ứng có thể được biểu diễn bằng phương trình $\ln(A_t/A_0) = -kt$, trong đó k là hằng số tốc độ giả bậc nhất, t là thời gian phản ứng, $[A_0]$ là nồng độ *o*-NP tại thời điểm $t = 0$ và $[A_t]$ là nồng độ *o*-NP tại thời điểm t thu được từ độ hấp thụ của peak cực đại ở 414 nm. Hằng số k có thể xác định trực tiếp từ hệ số góc của phương trình đường thẳng giữa $\ln(A_t/A_0)$ so với thời gian phản ứng.

Quá trình khử *o*-NP khi có mặt xúc tác của nano bạc từ 1 – 5 μL hoàn thành trong thời gian lần lượt là 27, 21, 18, 15 và 9 phút (Hình 3.17). Dựa vào kết quả phổ UV-Vis của nano bạc hằng số tốc độ giả bậc nhất k của phản ứng được xác định khi thêm lượng xúc tác từ 1 – 5 μL lần lượt là 0,00114, 0,00188, 0,00218, 0,00217,

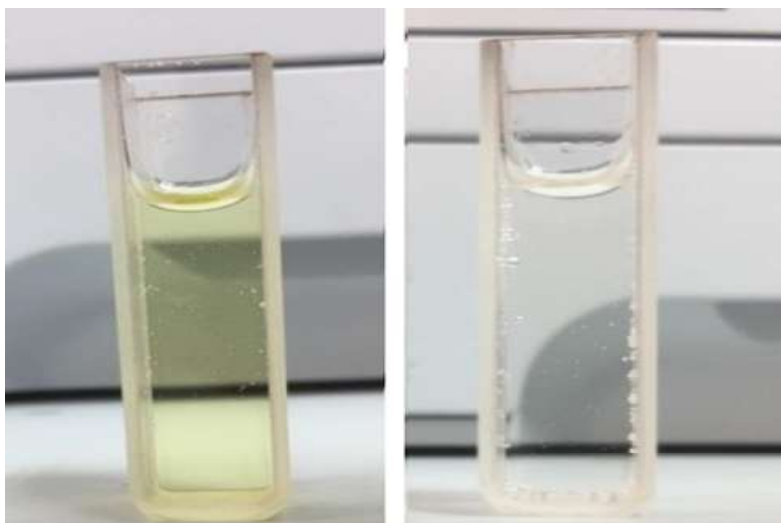
$0,00301 \text{ s}^{-1}$. Hằng số tốc độ tăng dần cho thấy hàm lượng xúc tác làm giảm đáng kể năng lượng hoạt hóa của phản ứng.

3.7.2 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử *m*-nitrophenol (*m*-NP):

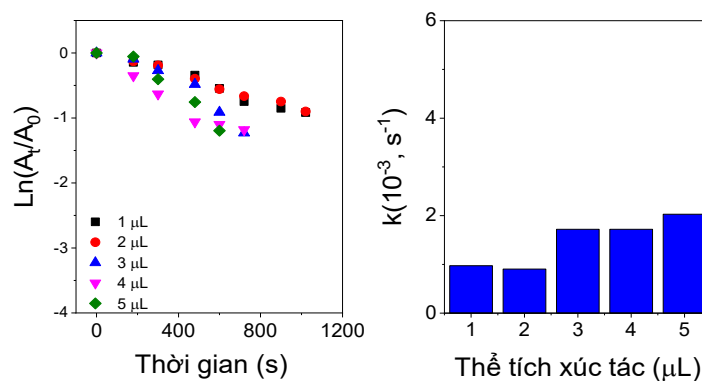


Hình 3.18. Phổ UV-Vis quá trình khử *m*-NP ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μL).

Dựa vào kết quả phổ đo UV-Vis (*Hình 3.18*) cho thấy, nồng độ hấp thụ của *m*-NP được đo ở bước sóng trong khoảng 350 – 450 nm, peak hấp thụ cực đại ở bước sóng 398 nm. Khi vừa thêm NaBH_4 , màu của dung dịch sẽ chuyển từ màu vàng nhạt sang màu vàng đậm do sự hình thành của ion *m* - nitrophenolate trong kiềm trung tính. Sau đó, màu sẽ nhạt dần và cuối cùng là trong suốt khi quá trình khử *m*-NP xảy ra để tạo thành *m* - aminophenol (*Hình 3.19*). Lượng xúc tác khi cho vào phản ứng sẽ tỉ lệ thuận với tốc độ phản ứng và tỉ lệ nghịch với thời gian phản ứng. Điều này chứng minh rằng nano bạc có hoạt tính xúc tác đối với phản ứng phân hủy *m*-NP.



Hình 3.19. Phản ứng khử của m-NP lúc bắt đầu và kết thúc.

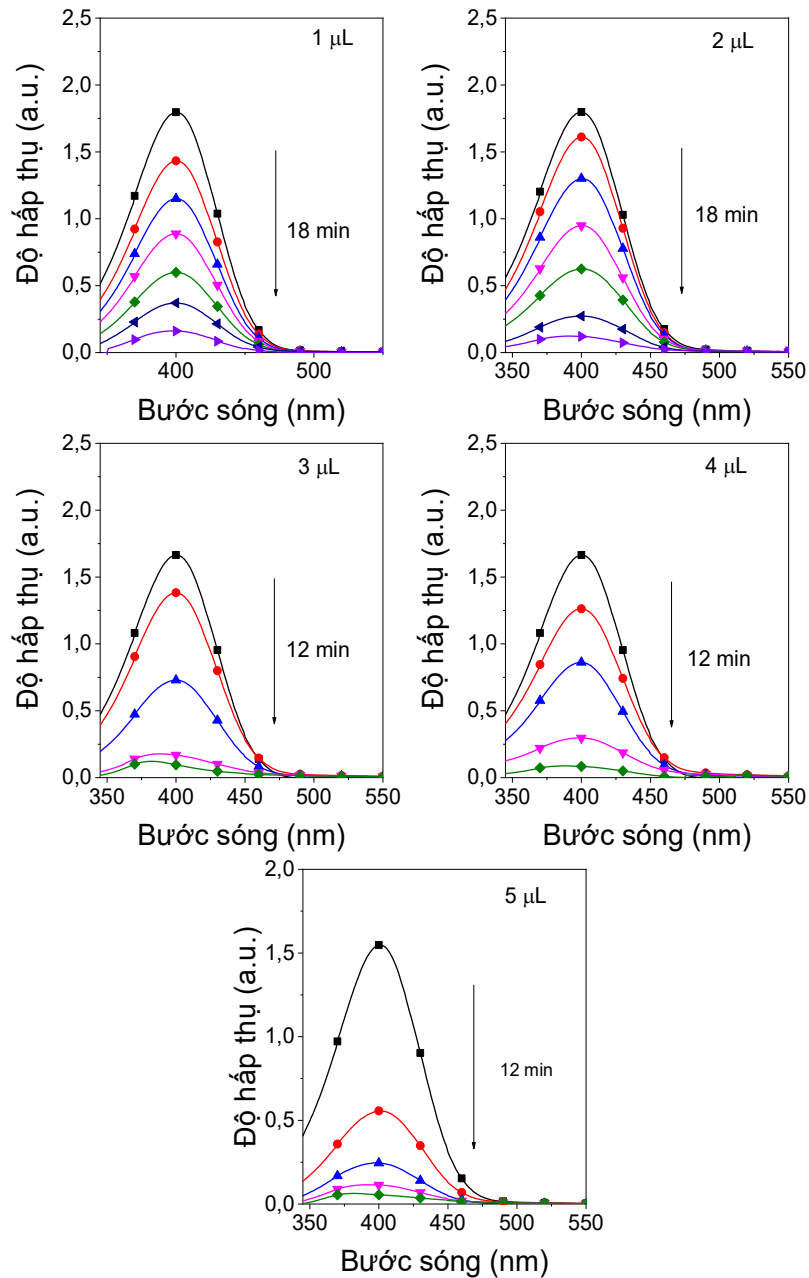


Hình 3.20. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.

Động học bậc 1 của phản ứng có thể được biểu diễn bằng phương trình $\ln(A_t/A_0) = -kt$, trong đó k là hằng số tốc độ giả bậc nhất, t là thời gian phản ứng, $[A_0]$ là nồng độ *o*-NP tại thời điểm $t = 0$ và $[A_t]$ là nồng độ *m*-NP tại thời điểm t thu được từ độ hấp thụ của peak cực đại ở 398 nm. Hằng số k có thể xác định trực tiếp từ hệ số góc của phương trình đường thẳng giữa $\ln(A_t/A_0)$ so với thời gian phản ứng (*Hình 3.20*).

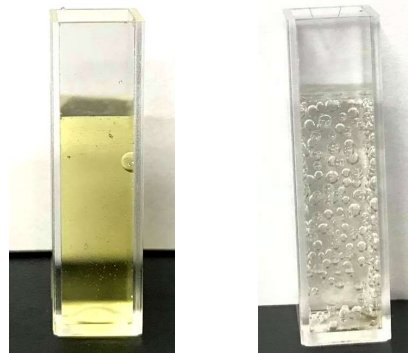
Quá trình khử *m*-NP khi có mặt xúc tác của nano bạc từ 1 – 5 μL hoàn thành trong thời gian lần lượt là 17, 17, 15, 12 và 12 phút. Từ kết quả phổ UV-Vis của nano bạc hằng số tốc độ giả bậc nhất k của phản ứng được xác định khi thêm lượng xúc tác từ 1 – 5 μL lần lượt là 0,00097, 0,0009, 0,00172, 0,00172, 0,00203 s^{-1} . Hằng số tốc độ tăng dần cho thấy hàm lượng xúc tác làm giảm đáng kể năng lượng hoạt hóa của phản ứng.

3.7.3 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử *p*-nitrophenol (*p*-NP):

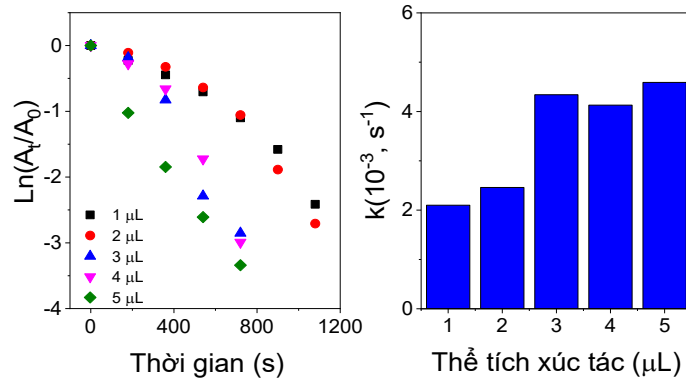


Hình 3.21. Phổ UV-Vis quá trình khử *p*-NP ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μL).

Dựa vào kết quả phổ đo UV-Vis (Hình 3.21) cho thấy, nồng độ hấp thụ của *p*-NP được đo ở bước sóng trong khoảng 350 – 500 nm, peak hấp thụ cực đại ở bước sóng 400 nm. Khi vừa thêm NaBH₄, màu của dung dịch sẽ chuyển từ màu vàng nhạt sang màu vàng đậm do sự hình thành của ion *p*-nitrophenolate trong kiềm trung tính. Sau đó, màu sẽ nhạt dần và cuối cùng là trong suốt khi quá trình khử *p*-NP xảy ra để tạo thành *p*-aminophenol (Hình 3.22). Lượng xúc tác khi cho vào phản ứng sẽ tỉ lệ thuận với tốc độ phản ứng và tỉ lệ nghịch với thời gian phản ứng. Điều này chứng minh rằng nano bạc có hoạt tính xúc tác đối với phản ứng khử *p*-NP.



Hình 3.22. Phản ứng khử của *p*-NP lúc bắt đầu và kết thúc.



Hình 3.23. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.

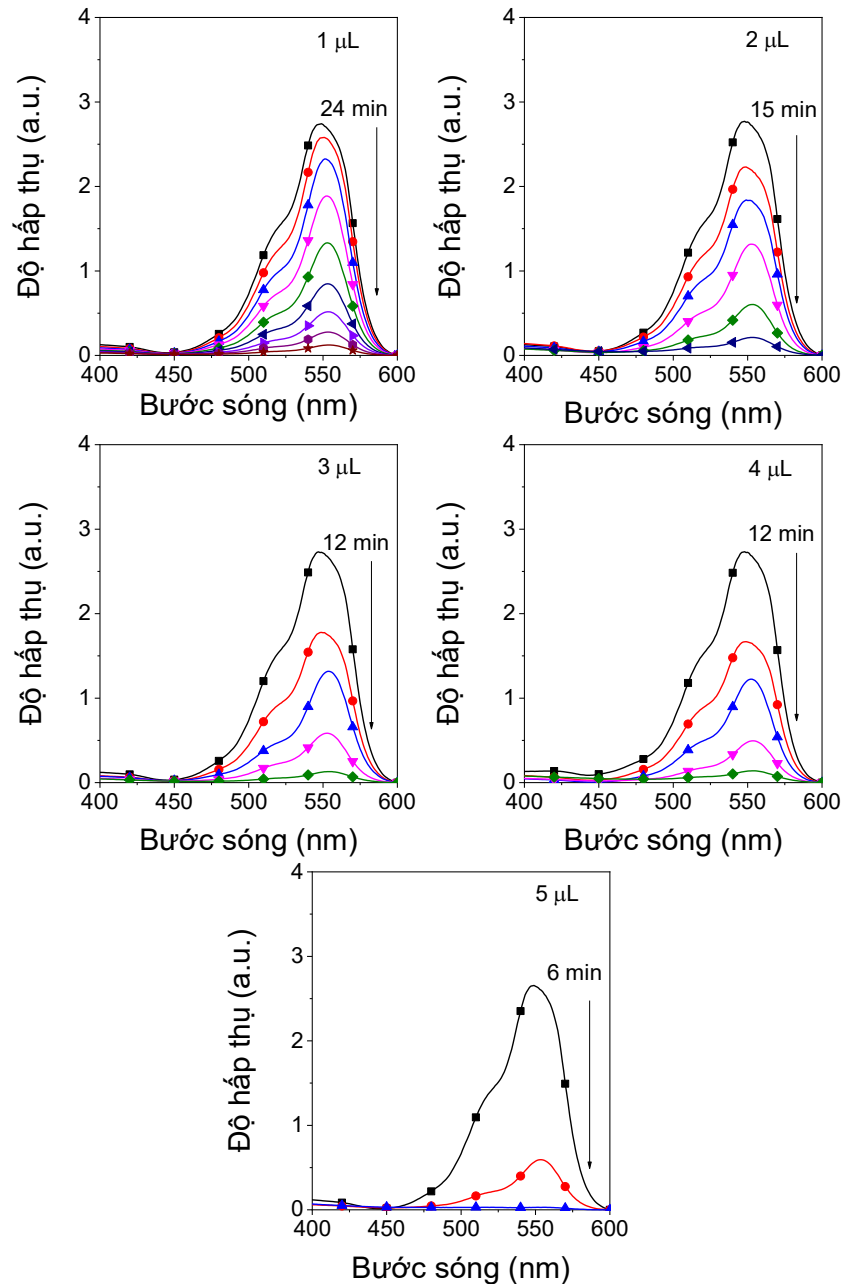
Động học bậc 1 của phản ứng có thể được biểu diễn bằng phương trình $\ln(A_t/A_0) = -kt$, trong đó k là hằng số tốc độ giả bậc nhất, t là thời gian phản ứng, $[A_0]$ là nồng độ *p*-NP tại thời điểm $t = 0$ và $[A_t]$ là nồng độ *p*-NP tại thời điểm t thu được từ độ hấp thụ của peak cực đại ở 400 nm. Hằng số k có thể xác định trực tiếp từ hệ số góc của phương trình đường thẳng giữa $\ln(A_t/A_0)$ so với thời gian phản ứng (Hình 3.23).

Quá trình khử *p*-NP khi có mặt xúc tác của nano bạc từ 1 – 5 μL hoàn thành trong thời gian lần lượt là 18, 18, 12, 12 và 12 phút. Từ kết quả phổ UV-Vis của nano bạc hằng số tốc độ giả bậc nhất k của phản ứng được xác định khi thêm lượng xúc tác từ 1 – 5 μL lần lượt là 0,00210, 0,00246, 0,00434, 0,00413, 0,00459 s⁻¹. Hằng số

tốc độ tăng dần cho thấy hàm lượng xúc tác làm giảm đáng kể năng lượng hoạt hóa của phản ứng.

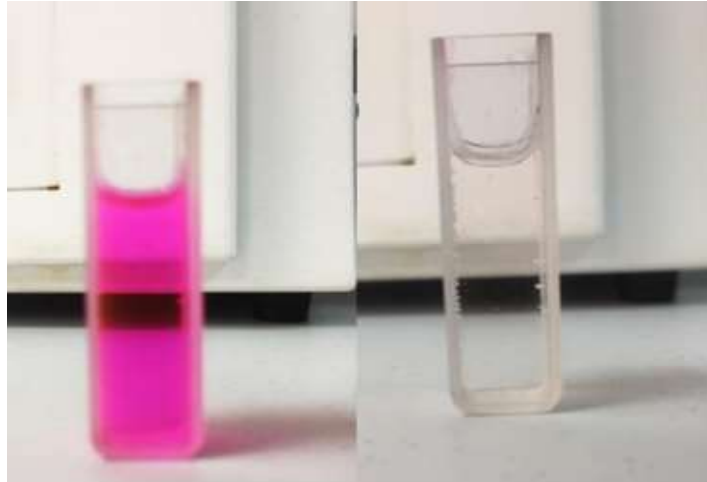
Kết quả cho thấy rằng phản ứng khử trên xúc tác AgNPs phụ thuộc đáng kể đến vị trí của nhóm nitro trong phân tử của chúng. Hiện tượng này có thể giải thích do ảnh hưởng phân cực của nhóm OH đến sự tấn công của nano bạc đối với các hợp chất nitrophenol tăng theo thứ tự $m\text{-NP} < o\text{-NP} < p\text{-NP}$.

3.7.4 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử Rhodamine B (RhB):

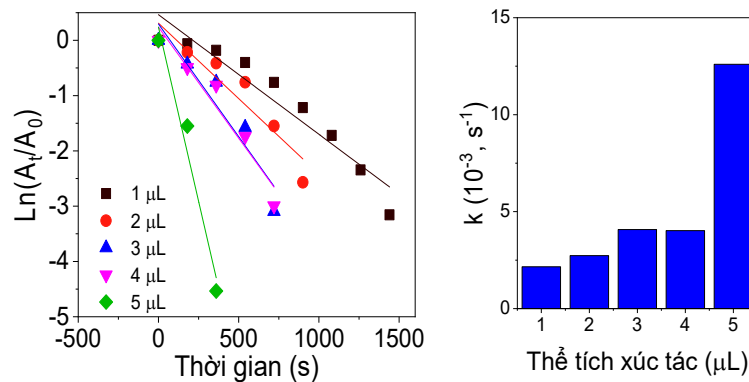


Hình 3.24. Phổ UV-Vis quá trình khử RhB ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μL).

Dựa vào kết quả phổ đo UV-Vis (Hình 3.24) cho thấy, nồng độ hấp thụ của RhB được đo ở bước sóng trong khoảng 450 – 600 nm, peak hấp thụ cực đại ở bước sóng 549 nm. Màu của dung dịch sẽ chuyển từ màu hồng sang trong suốt khi quá trình khử RhB diễn ra (Hình 3.25). Lượng xúc tác khi cho vào phản ứng sẽ tỉ lệ thuận với tốc độ phản ứng và tỉ lệ nghịch với thời gian phản ứng. Điều này chứng minh rằng nano bạc có hoạt tính xúc tác đối với phản ứng phân hủy Rhodamine B.



Hình 3.25. Phản ứng khử của RhB lúc bắt đầu và kết thúc.



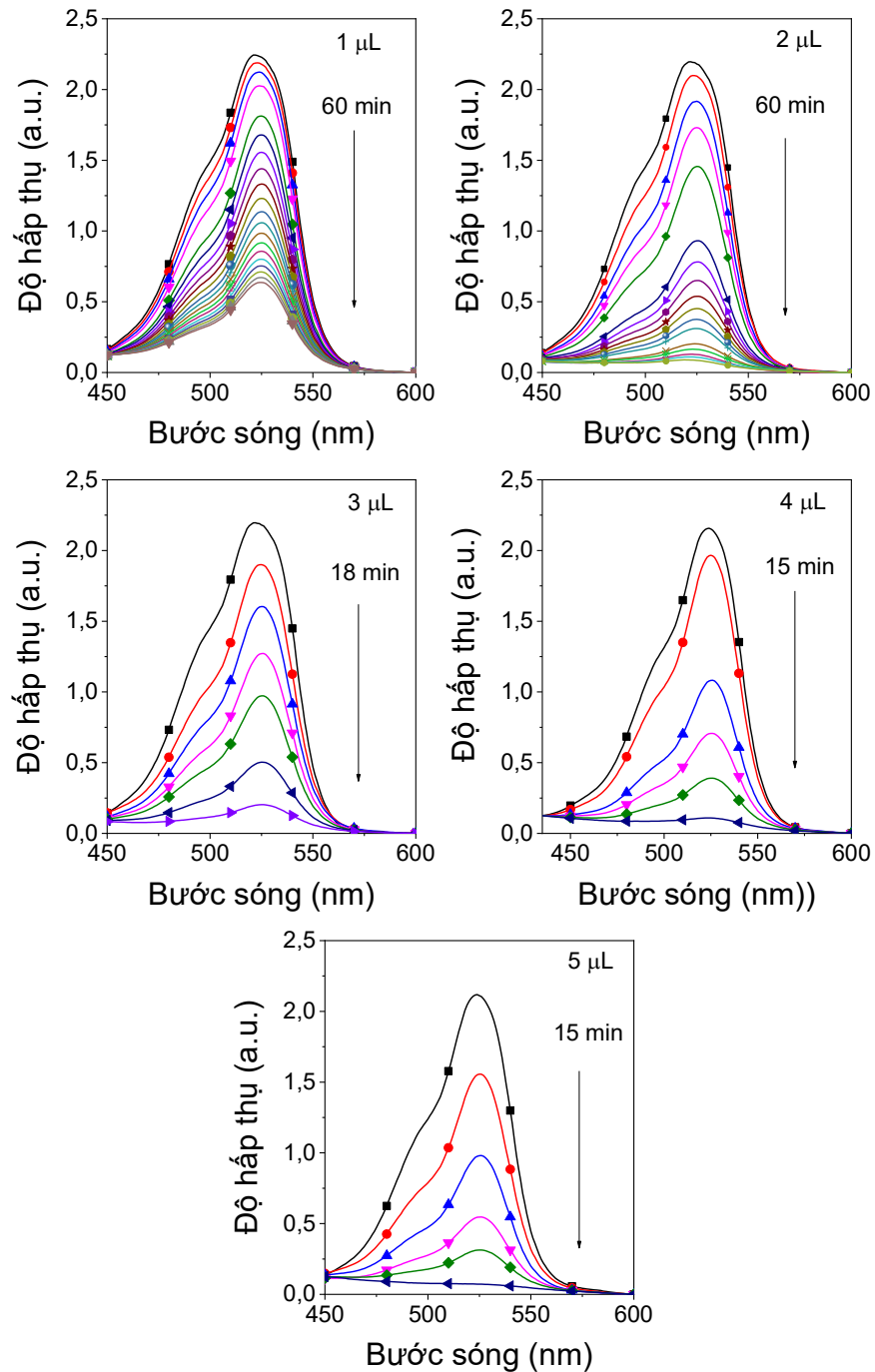
Hình 3.26. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.

Động học bậc 1 phản ứng có thể được biểu diễn bằng phương trình $\ln(A_t/A_0) = -kt$, trong đó k là hằng số tốc độ giả bậc nhất, t là thời gian phản ứng, $[A_0]$ là nồng độ RhB tại thời điểm $t = 0$ và $[A_t]$ là nồng độ RhB tại thời điểm t thu được từ độ hấp thụ của peak cực đại ở 549 nm. Hằng số k có thể xác định trực tiếp từ hệ số góc của phương trình đường thẳng giữa $\ln(A_t/A_0)$ so với thời gian phản ứng (Hình 3.26).

Quá trình khử RhB khi có mặt xúc tác của nano bạc từ 1 – 5 μL hoàn thành trong thời gian lần lượt là 24, 15, 12, 12 và 6 phút. Từ kết quả phổ UV-Vis của nano bạc hằng số tốc độ giả bậc nhất k của phản ứng được xác định khi thêm lượng xúc tác từ 1 – 5 μL lần lượt là 0,00216, 0,00273, 0,00408, 0,00402, 0,01206 s⁻¹. Hằng số

tốc độ tăng dần cho thấy hàm lượng xúc tác làm giảm đáng kể năng lượng hoạt hóa của phản ứng.

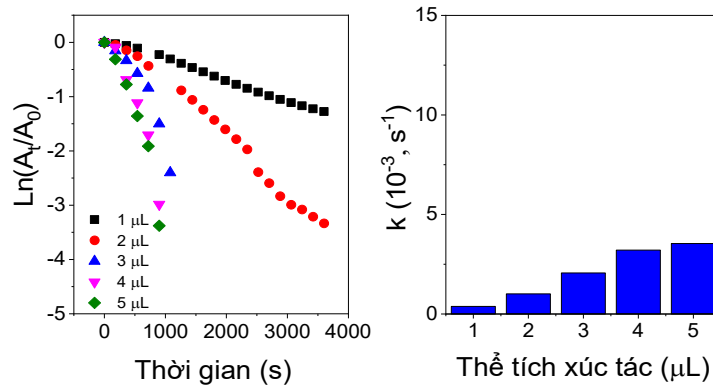
3.7.5 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử Rhodamine 6G (Rh6G):



Hình 3.27. Phổ UV-Vis quá trình khử Rh6G ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μL).

Dựa vào kết quả phổ đo UV-Vis (Hình 3.27) cho thấy, nồng độ hấp thụ của Rh6G được đo ở bước sóng trong khoảng 450 – 600 nm, peak hấp thụ cực đại ở bước

sóng 524 nm. Màu của dung dịch sẽ chuyển từ màu hồng sang không màu khi quá trình khử Rh6G diễn ra. Lượng xúc tác khi cho vào phản ứng sẽ tỉ lệ thuận với tốc độ phản ứng và tỉ lệ nghịch với thời gian phản ứng. Điều này chứng minh rằng nano bạc có hoạt tính xúc tác đối với phản ứng phân hủy Rhodamine 6G.

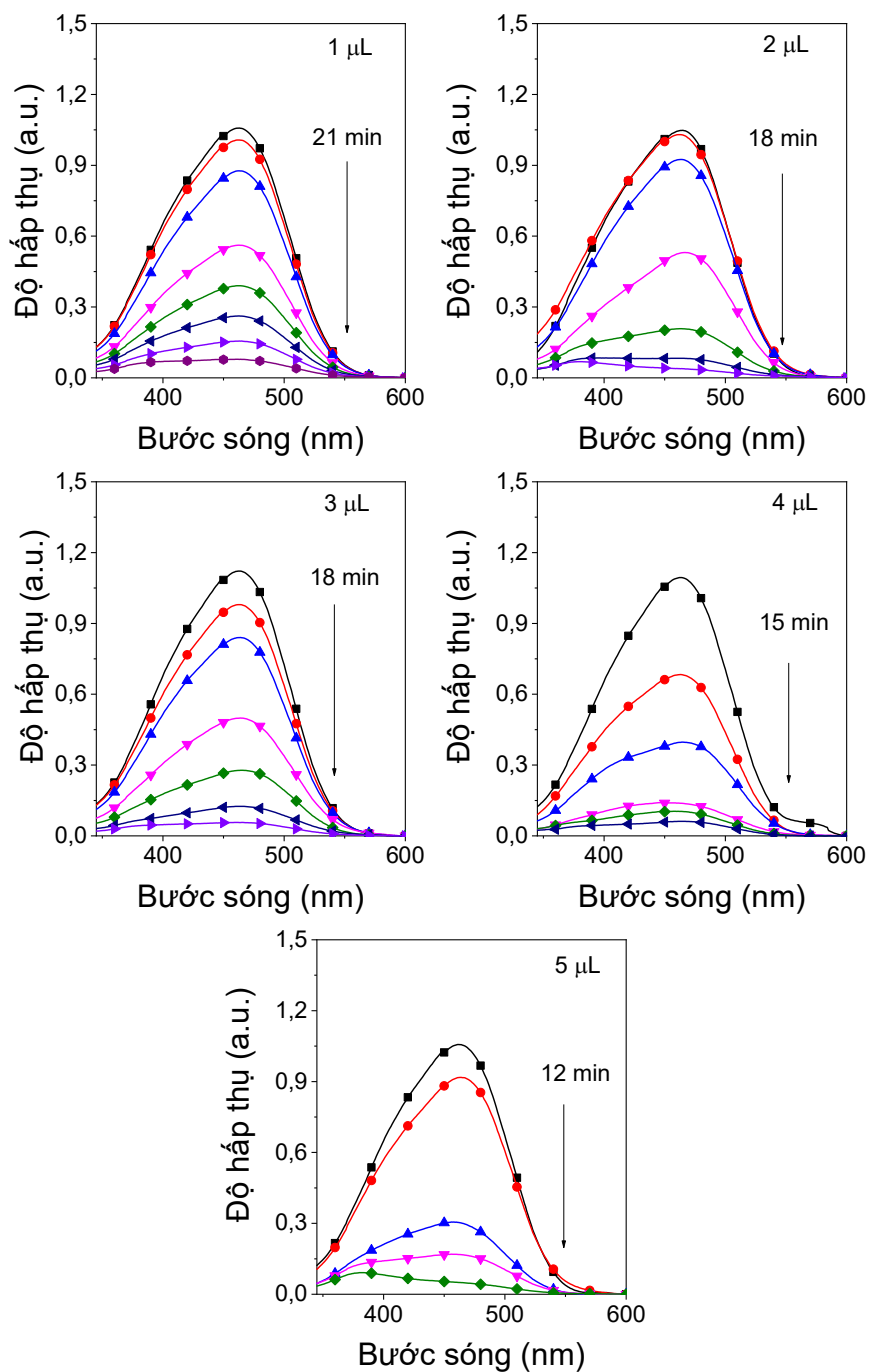


Hình 3.28. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.

Động học bậc 1 phản ứng có thể được biểu diễn bằng phương trình $\ln(A_t/A_0) = -kt$, trong đó k là hằng số tốc độ giả bậc nhất, t là thời gian phản ứng, $[A_0]$ là nồng độ Rh6G tại thời điểm $t = 0$ và $[A_t]$ là nồng độ Rh6G tại thời điểm t thu được từ độ hấp thụ của peak cực đại ở 524 nm. Hằng số k có thể xác định trực tiếp từ hệ số góc của phương trình đường thẳng giữa $\ln(A_t/A_0)$ so với thời gian phản ứng (Hình 3.28).

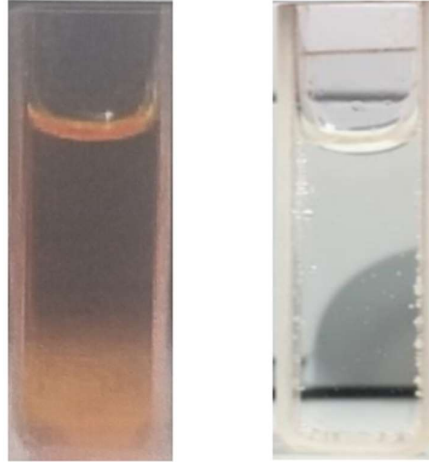
Quá trình khử Rh6G khi có mặt xúc tác của nano bạc từ 1 – 5 μL hoàn thành trong thời gian lần lượt là 60, 60, 18, 15 và 15 phút. Từ kết quả phổ UV-Vis của nano bạc hằng số tốc độ giả bậc nhất k của phản ứng được xác định khi thêm lượng xúc tác từ 1 – 5 μL lần lượt là 0,00038, 0,00101, 0,00206, 0,00321, 0,00354 s^{-1} . Hằng số tốc độ tăng dần cho thấy hàm lượng xúc tác làm giảm đáng kể năng lượng hoạt hóa của phản ứng.

3.7.6 Ứng dụng xúc tác của nano bạc đối với phản ứng khử Methyl da cam (MO):

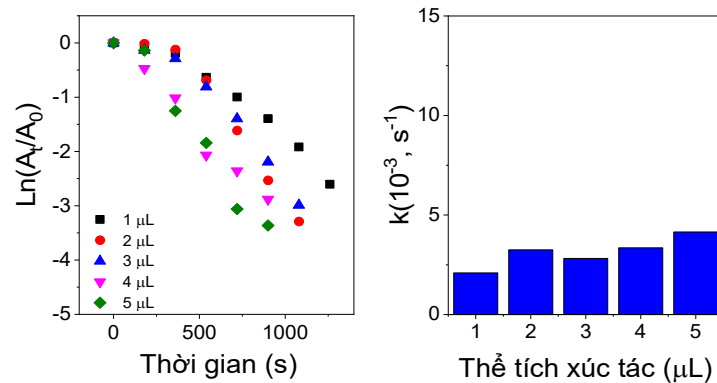


Hình 3.29. Phổ UV-Vis quá trình khử MO ở các thể tích nano bạc khác nhau (1 – 5 μL).

Dựa vào kết quả phổ đo UV-Vis cho thấy, nồng độ hấp thụ của MO được đo ở bước sóng trong khoảng 350 – 550 nm, peak hấp thụ cực đại ở bước sóng 464 nm. Màu của dung dịch sẽ chuyển từ màu cam sang không màu khi quá trình khử MO diễn ra (Hình 3.30). Lượng xúc tác khi cho vào phản ứng sẽ tỉ lệ thuận với tốc độ phản ứng và tỉ lệ nghịch với thời gian phản ứng. Điều này chứng minh rằng nano bạc có hoạt tính xúc tác đối với phản ứng phân hủy Methyl da cam.



Hình 3.30. Phản ứng phân hủy của MO lúc bắt đầu và kết thúc.



Hình 3.31. Đồ thị động học bậc nhất và các giá trị hằng số tốc độ.

Động học bậc 1 phản ứng có thể được biểu diễn bằng phương trình $\ln(A_t/A_0) = -kt$, trong đó k là hằng số tốc độ giả bậc nhất, t là thời gian phản ứng, $[A_0]$ là nồng độ MO tại thời điểm $t = 0$ và $[A_t]$ là nồng độ MO tại thời điểm t thu được từ độ hấp thụ của peak cực đại ở 464 nm. Hằng số k có thể xác định trực tiếp từ hệ số góc của phương trình đường thẳng giữa $\ln(A_t/A_0)$ so với thời gian phản ứng (Hình 3.31).

Quá trình khử MO khi có mặt xúc tác của nano bạc từ 1 – 5 μL hoàn thành trong thời gian lần lượt là 21, 18, 18, 15 và 12 phút. Từ kết quả phổ UV-Vis của nano bạc hằng số tốc độ giả bậc nhất k của phản ứng được xác định khi thêm lượng xúc tác từ 1 – 5 μL lần lượt là 0,00209, 0,00325, 0,00282, 0,00335, 0,00415 s⁻¹. Hằng số tốc độ tăng dần cho thấy hàm lượng xúc tác làm giảm đáng kể năng lượng hoạt hóa của phản ứng.

Dựa vào kết quả hằng số tốc độ đã tính được cho thấy khả năng khử của nano bạc đối với các chất màu tăng theo thứ tự Rhodamine 6G < Methyl da cam < Rhodamine B. Phản ứng khử phụ thuộc cấu trúc phân tử của các hợp chất hữu cơ.

Bảng 3.2. So sánh hằng số tốc độ của các chất xúc tác hạt nano bạc được sinh tổng hợp đối với quá trình phân hủy 4-NP.

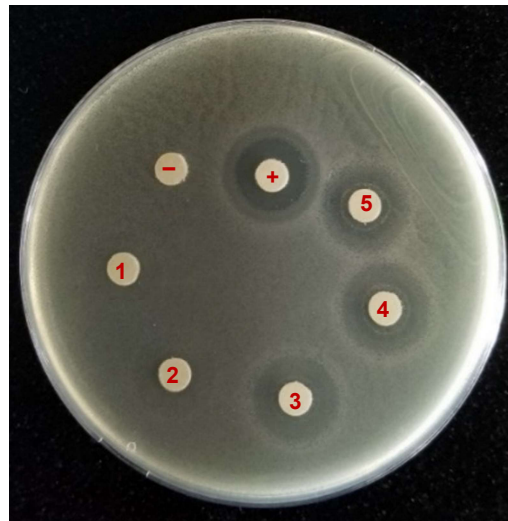
	Loài thực vật	Kích thước (nm)	Hằng số tốc độ trên 1mg chất xúc tác	Tài liệu tham khảo
AgNPs	Dịch chiết phôi sâm Ngọc Linh	10	$2,1 \times 10^{-3}$	
	Dịch chiết rễ cây <i>Codonopsis Pilosula</i>	10	$(3,84 \pm 0.32) \times 10^{-3}$	[64]
	Dịch chiết lá cây <i>Crinum Latifolium</i>	20,5	$3,34 \times 10^{-3}$	[65]
	Dịch chiết từ thân chuối phế thải.	5 – 6	$1,72 \times 10^{-3}$	[66]
	Dịch chiết lá <i>Lactuca Indica</i>	13,5	$2,1 \times 10^{-3}$	[67]

Dựa vào số liệu ở *Bảng 3.2*, các hạt nano bạc trong các công trình nghiên cứu trước đây cho thấy khả năng xúc tác phân hủy 4-NP là hiệu quả. Từ đó cho thấy việc sử dụng các nguyên liệu có xuất xứ từ thực vật sẽ là một hướng đi hiệu quả trong lĩnh vực phân hủy các chất gây ô nhiễm.

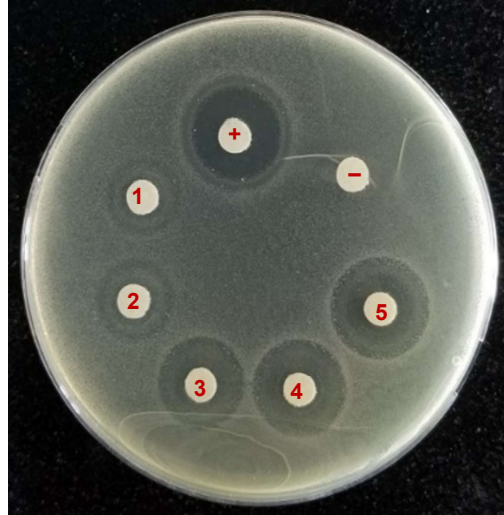
3.8 Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của nano bạc:



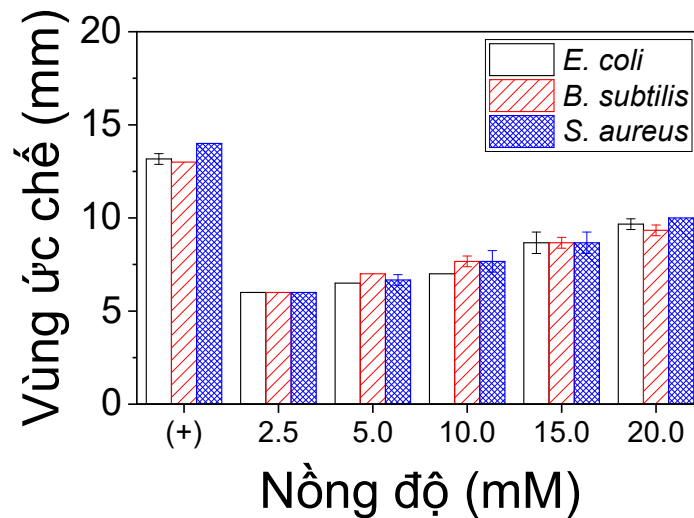
Hình 3.32. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn đối với *Escherichia coli* tại nồng độ tăng dần của nano bạc từ 2,5 – 20 mM (tương ứng ký hiệu mẫu từ 1 – 5).



Hình 3.33. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn đối với *Bacillus subtilis* tại nồng độ tăng dần của nano bạc từ 2,5 – 20 mM (tương ứng ký hiệu mẫu từ 1 – 5).



Hình 3.34. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn đối với *Staphylococcus aureus* tại nồng độ tăng dần của nano bạc từ 2,5 – 20 mM (tương ứng ký hiệu mẫu từ 1 – 5).



Hình 3.35. Biểu đồ cột vùng ức chế của các vi khuẩn khác nhau so với các nồng độ khác nhau của dung dịch AgNPs.

Hoạt tính kháng khuẩn của nano bạc được thử nghiệm trên ba chủng vi khuẩn bao gồm: *B. subtilis*, *S. aureus* (vi khuẩn Gram dương) và *E. coli* (vi khuẩn Gram âm) ở các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết sâm Ngọc Linh thể hiện được hoạt tính kháng khuẩn tốt đối với tất cả các chủng vi khuẩn thử nghiệm.

Các mẫu cho thấy không có khả năng kháng khuẩn ở nồng độ 2,5 mM nhưng tại 5,0 mM đều có tác dụng kháng khuẩn và tăng dần theo nồng độ. Kết quả (Hình 3.35) chỉ ra như sau:

- Đối với khuẩn *E. coli* vòng kháng khuẩn đạt 0,5 mm tương ứng với nồng độ 5,0 mM, ở nồng độ 10 mM thì vòng kháng khuẩn đạt 1 mm, ở nồng độ 15 mM đạt 2,67 mm và nồng độ 20 mM vòng kháng khuẩn đạt 3,67 mm.

- Đối với khuẩn *B. subtilis* vòng kháng khuẩn đạt 1 mm tương ứng với nồng độ 5,0 mM, ở nồng độ 10 mM thì vòng kháng khuẩn đạt 1,67 mm, ở nồng độ 15 mM đạt 2,67 mm và nồng độ 20 mM vòng kháng khuẩn đạt 3,3 mm.
- Đối với khuẩn *S. aureus* vòng kháng khuẩn đạt 0,67 mm tương ứng với nồng độ 5,0 mM, ở nồng độ 10 mM thì vòng kháng khuẩn đạt 1,67 mm, ở nồng độ 15 mM đạt 2,67 mm và nồng độ 20 mM vòng kháng khuẩn đạt 4 mm.

Dựa vào kết quả trên cho thấy sự gia tăng nồng độ nano bạc làm tăng kích thước của vùng ức chế. Điều này cho thấy ở nồng độ nano bạc càng cao thì khả năng kháng khuẩn càng đạt hiệu quả. Nano bạc có khả năng kháng khuẩn tốt với cả ba chủng vi khuẩn khảo sát. Tuy nhiên, khả năng kháng khuẩn của nano bạc đối với vi khuẩn *S. aureus* thể hiện được nhiều hơn so với 2 chủng còn lại. Vì vậy, ta có thể mở rộng khả năng kháng khuẩn *in vivo* trên động vật đối với chủng vi khuẩn *S. aureus*.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận:

Đề tài nghiên cứu đã tổng hợp thành công nano bạc từ dịch chiết phơi sâm Ngọc Linh với các điều kiện thích hợp với nồng độ ion Ag^+ là 20 mM, nhiệt độ phản ứng 90°C và thời gian phản ứng là 120 phút.

Các đặc tính hóa lý như SEM, TEM, EDX, FTIR, XRD, TGA-DSC đã chứng minh được nano bạc tổng hợp được bằng tác nhân khử có trong thành phần dịch chiết sâm Ngọc Linh. Các hạt nano bạc có dạng hình cầu và có kích thước trung bình ở khoảng 10 nm. Hạt nano bạc được hình thành từ dịch chiết sâm Ngọc Linh chứa các tinh thể AgCl trong thành phần của chúng.

Các hạt nano cho thấy được hoạt tính kháng khuẩn cao đối với ba chủng vi khuẩn được thử nghiệm. Giá trị MIC được tìm thấy là 5,0 mM. Ngoài ra, các hạt nano còn cho thấy khả năng ứng dụng làm xúc tác phân hủy đối với các chất gây ô nhiễm và các thuốc nhuộm hữu cơ. Dựa vào kết quả hằng số tốc độ đã tính được cho thấy khả năng khử của nano bạc đối với các hợp chất nitrophenol tăng theo thứ tự $m\text{-NP} < o\text{-NP} < p\text{-NP}$ và đối với các chất màu tăng theo thứ tự Rhodamine 6G < Methyl da cam < Rhodamine B. Hiệu suất của quá trình phân hủy được tăng lên khi tăng liều lượng xúc tác cho vào.

Tóm lại, nghiên cứu đã chứng minh phơi thực vật phế thải là một nguồn sinh học có thể được tận dụng để tổng hợp các hạt nano kim loại thân thiện với môi trường ứng dụng trong xúc tác và công nghệ sinh học.

Kiến nghị:

Từ kết quả nghiên cứu của đề tài, chúng tôi có một số kiến nghị cho các nghiên cứu tiếp theo như sau:

- Ứng dụng nano bạc vào trong thực tế quá trình xử lý nước.
- Khảo sát khả năng kháng khuẩn *in vivo* của hạt nano trên động vật.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

1. Minh-Trong Tran, Linh-Phuong Nguyen, Dinh-Truong Nguyen, T. Cam-Huong Le, Chi-Hien Dang, Tran Thi Kim Chi and Thanh-Danh Nguyen (2021) - A novel approach using plant embryos for green synthesis of silver nanoparticles as antibacterial and catalytic agent, *Research on Chemical Intermediates*, 47, 4613 – 4633.
2. Van-Su Dang, Hoang-Huy Tran, Phan Thi Thanh Dieu, Minh-Trong Tran, Chi-Hien Dang, Dinh-Tri Mai, Van-Dat Doan, Thi-Lan-Huong Nguyen, Tran Thi Kim Chi and Thanh-Danh Nguyen (2022) - Effective catalysis and antibacterial activity of silver and gold nanoparticles biosynthesized by *Phlogacanthus turgidus* leaves, *Research on Chemical Intermediates*, 48, 2047 – 2067.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Abolghasem Jouyban, Elaheh Rahimpour, "Optical sensors based on silver nanoparticles for determination of pharmaceuticals: An overview of advances in the last decade," *Talanta*, vol. 217, 2020.
- [2] Abdelmageed M. Othman, Maysa A. Elsayed, Naser G. Al-Balakocy, Mohamed M. Hassan, Ali M. Elshafei, "Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles induced by fungal proteins and its application in different biological activities.," *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, vol. 17, no. 8, pp. 1-13, 2019.
- [3] Kelly de O. Santos, Welman C. Elias, Aline M. Signori, Fernando C. Giacomelli, Hong Yang, Josiel B. Domingos, "Synthesis and Catalytic Properties of Silver Nanoparticle–Linear Polyethylene Imine Colloidal Systems," *The Journal of Physical Chemistry C.*, vol. 116, no. 7, pp. 4594-4604, 2012.
- [4] Jasminka Talapko, Tatjana Matijevic, Martina Juzbasic, Arlen Antolovic-Pozgain, Ivana Skrlec, "Antibacterial Activity of Silver and Its Application in Dentistry, Cardiology and Dermatology.," *Microorganisms*, vol. 8, no. 9, pp. 1-13, 2020.
- [5] Nguyễn Đình Bình, "Giới thiệu về Sâm Ngọc Linh," 04 01 2021. [Online]. Available: https://quangnam.gov.vn/webcenter/portal/namtrammy/pages_tin-tuc/chi-tiet-tin?dDocName=PORTAL019814.
- [6] Nguyễn Thượng Dong, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương, *Sâm Việt Nam và một số cây thuốc họ nhân sâm*, Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2007.
- [7] Phạm Lê Phương Mai, "Sâm Ngọc Linh: “Nhân sâm” quý báu của Việt Nam," 19 08 2022. [Online]. Available: <https://youmed.vn/tin-tuc/sam-ngoc-linh/#cite-1>.
- [8] Trương Thị Hồng Hải, Trần Việt Thắng, Nguyễn Đức Phước, Võ Văn Tư, "Nghiên cứu xây dựng bảng mô tả tình trạng của cây sâm Ngọc Linh tại Huyện Nam Trà My Tỉnh Quảng Nam," *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, vol. 127, no. 3A, pp. 19-36, 2018.
- [9] Phùng Tuấn Giang., "Tự hào sâm Ngọc Linh Việt Nam," 23 12 2017. [Trực tuyến]. Available: <https://suckhoedoisong.vn/tu-hao-sam-ngoc-linh-viet-nam-169126477.htm>.
- [10] Kazuo Yamasaki, "Bioactive Saponins In Vietnamese Ginseng, *Panax Vietnamensis*," *Pharmaceutical Biology*, vol. 38, pp. 16-24, 2000.
- [11] Nguyễn Tiến Dũng, "Sâm Ngọc Linh - "Dược liệu Quốc Bảo" của Việt Nam: Thành phần hoạt chất, Công dụng, Đối tượng sử dụng," 15 12 2022.

- [Online]. Available: <https://nhathuocviet.vn/tin-tuc/sam-ngoc-linh-quoc-bao-cua-viet-nam.html>.
- [12] Nguyễn Bảo Triệu, Nguyễn Thanh Tùng, Trương Thị Bích Phượng, "Nuôi cấy *in vitro* sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* ha et grushv)," Tạp chí Khoa học, Đại học Huế, vol. 79, no. 1, pp. 161-173, 2013.
- [13] Hải Đăng, "Nhân giống sâm Ngọc Linh bằng phương pháp nuôi cấy mô," 07 10 2021. [Online]. Available: <https://nongthonmoihatinh.vn/Khoa-hoc-cong-nghe/nhan-giong-sam-ngoc-linh-bang-phuong-phap-nuoi-cay-mo-120732.html>.
- [14] K. Eric. Drexler, *Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology*, Massachusetts: Doubleday, 1986.
- [15] Katarzyna Bogunia-Kubik, Masanori Sugisaka, "From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine," *BioSystems*, vol. 65, no. 2, pp. 123-138, 2002.
- [16] Tamirat Y, "The Role of Nanotechnology in Semiconductor Industry: Review Article," *Journal of Materials Science & Nanotechnology*, vol. 5, no. 2, 2017.
- [17] Eric Shinn, Alfred Hubler, Dave Lyon, Matthias Grosse Perdekamp, Alexey Bezryadin, Andrey Belkin, "Nuclear Energy Conversion with Stacks of Graphene Nanocapacitors," *Complexity*, vol. 18, no. 3, pp. 24-27, 2012.
- [18] O.M. Ikumapayi, E.T. Akinlabi, A.O.M. Adeoye, S.O. Fatoba, "Microfabrication and nanotechnology in manufacturing system – An overview," *Materials Today: Proceedings*, vol. 44, pp. 1154-1162, 2021.
- [19] Gregory M. Fahy, "Molecular nanotechnology," *Clinical Chemistry*, vol. 39, no. 9, pp. 2011-2016, 1993.
- [20] Smart nanotechnologies, "What is nanotechnology?," [Online]. Available: <https://smarnanotechnologies.com.pl/nanotechnologia/?lang=en>.
- [21] Henry F. Aritonang, Harry Koleangan, Audy D. Wuntu., "Synthesis of Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract of Medicinal Plants (*Impatiens balsamina* and *Lantana camara*) Fresh Leaves and Analysis of Antimicrobial Activity," *International Journal of Microbiology*, vol. 2019, pp. 1-8, 2019.
- [22] The Royal Society, *Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties*, London: The Royal Society & The Royal Academy of Engineering, 2004.
- [23] Nguyễn Đại Hải, *Giáo trình vật liệu nano điều chế, tính chất và một số ứng dụng*, TPHCM: NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- [24] Emilia Coldwell, "Metallic Nanoparticles: Top-Down and Bottom-up Approaches," 10 10 2019. [Online]. Available:

<https://nanografi.com/blog/metallic-nanoparticles-topdown-and-bottomup-approaches/>.

- [25] Nguyễn Đức Vận, *Hóa học vô cơ - Phần kim loại*, Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa Học Kỹ Thuật, 2006.
- [26] Cao Cự Giác, *Thiết kế bài giảng Hóa học 12 - nâng cao*, Hà Nội: Nhà xuất bản Hà Nội, 2010.
- [27] Antonio M. Brito-Silva, Luiz A. Gomez, Cid B. de Araujo, Andre Galembeck, "Laser Ablated Silver Nanoparticles with Nearly the Same Size in Different Carrier Media," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2010, pp. 1-7, 2010.
- [28] Li He, Ludovic F. Dumez, Dan Liu, Leonora Velleman, Fenghua She, Connie Banos, Justin B. Davies, Lingxue Kong, "Silver nanoparticles prepared by gamma irradiation across metal-organic framework templates.," *RSC Advances*, vol. 5, no. 14, pp. 10707-10715, 2015.
- [29] Ngọc Minh, "Nano bạc và những ứng dụng quan trọng trong y tế," [Online]. Available: <https://hetec.vn/khoa-hoc--cong-nghe/nano-bac-va-nhung-ung-dung-quan-trong-trong-y-te-23423.html>.
- [30] Jafar Talebi, Rouein Halladj, Sima Askari, "Sonochemical synthesis of silver nanoparticles in Y-zeolite substrate," *Journal of Materials Science*, vol. 45, no. 12, pp. 3318-3324, 2010.
- [31] Nguyễn Bá Nghĩa, "Nano bạc, tác dụng nổi bật và những lưu ý khi sử dụng," 05 12 2021. [Online]. Available: <https://benh.vn/tac-dung-nano-bac-luu-y-khi-su-dung-va-phan-biet-nano-bac-that-gia-75632/>.
- [32] Jolanta Pulit, Marcin Banach, Zygmunt Kowalski, "Chemical Reduction as the Main Method for Obtaining Nanosilver," *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, vol. 10, no. 2, pp. 276-284, 2013.
- [33] Tamara Bruna, Francisca Maldonado-Bravo, Paul Jara, Nelson Caro, "Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 13, p. 7202, 2021.
- [34] Liangpeng Ge, Qingtao Li, Meng Wang, Jun Ouyang, Xiaojian Li, Malcolm MQ Xing, "Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity," *10.2147/IJN.S55015*, vol. 9, pp. 2399-2407, 2014.
- [35] Lê Văn Phụng, *Vi Khuẩn Y Học*, Hà Nội: Vụ Khoa học và đào tạo - Bộ Y Tế, 2009.
- [36] Nguyễn Lân Dũng, *Vi Sinh Vật Học*, Hà Nội: Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, 2010.
- [37] Trần Tuấn Linh, "Lợi ích của bào tử lợi khuẩn *Bacillus* với người viêm đại tràng," 30 10 2019. [Online]. Available:

- <https://suckhoedoisong.vn/loi-ich-cua-bao-tu-loi-khuan-bacillus-voi-nguoi-viem-dai-trang-169165132.htm>.
- [38] Allen C. S. Yu, Jacky F. C. Loo, Samuel Yu, S. K. Kong, Ting-Fung Chan, "Monitoring bacterial growth using tunable resistive pulse sensing with a pore-based technique," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 98, no. 2, pp. 855-862, 2013.
- [39] Peter T. McKenney, Adam Driks, Patrick Eichenberger, "The *Bacillus subtilis* endospore: assembly and functions of the multilayered coat.," *Nature Reviews Microbiology*, vol. 11, no. 1, pp. 33-44, 2012.
- [40] "Vi khuẩn tụ cầu (*Staphylococcus*) gây bệnh gì?," 2019. [Online]. Available: <https://www.vinmec.com/vi/tin-tuc/thong-tin-suc-khoe/suc-khoe-tong-quat/vi-khuan-tu-cau-staphylococcus-gay-benh-gi/>.
- [41] Lê Huy Chính, *Vi sinh vật y học*, Hà Nội: Nhà xuất bản Y học, 2007.
- [42] Lê Thị Thu Hương, "Tổng quan tụ cầu kháng methicillin," 27 02 2017. [Online]. Available: <http://www.hoihothaptphcm.org/index.php/chuyende/benh-phoi/341-tong-quan-tu-cau-khang-methicillin>.
- [43] "Staphylococcus aureus in Healthcare Settings," 17 01 2011. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/hai/organisms/staph.html>.
- [44] Nguyễn Đỗ Phúc, "Staphylococcus aureus," 26 04 2013. [Online]. Available: <http://www.iph.org.vn/index.php/k-thut-xet-nghim/475-staphylococcus>.
- [45] Olivier Tenaillon, David Skurnik, Bertrand Picard, Erick Denamur, "The population genetics of commensal *Escherichia coli*," *Nature Reviews Microbiology*, vol. 8, no. 3, pp. 207-217, 2010.
- [46] Nicholas C. Darnton, Linda Turner, Svetlana Rojevsky, Howard C. Berg, "On Torque and Tumbling in Swimming *Escherichia coli*," *Journal of Bacteriology*, vol. 189, no. 5, pp. 1756-1764, 2006.
- [47] Upinder Fotadar, Philip Zaveloff, Louis Terracio, "Growth of *Escherichia coli* at elevated temperatures," *Journal of Basic Microbiology*, vol. 45, no. 5, pp. 403-404, 2005.
- [48] Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case, *Microbiologia*, San Francisco: Artmed, 2012.
- [49] Phạm Thị Lương Hằng, Đoàn Thị Duyên, Nguyễn Thị Yến, Ngô Thị Trang, "Phát triển phương pháp khuếch tán - so màu trên đĩa thạch trong sàng lọc và phát hiện các chất có hoạt tính kháng khuẩn từ các dịch chiết thực vật," *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, vol. 29, no. 2, pp. 10-17, 2013.
- [50] Nguyễn Việt Tiến, *Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm.*, Hà Nội: Nhà xuất bản Y học, 2017.

- [51] "Kháng sinh đồ - giải pháp giảm thiểu đề kháng kháng sinh," 2019. [Online]. Available: <https://www.vinmec.com/vi/tin-tuc/thong-tin-suc-khoe/khang-sinh-do-giai-phap-giam-thieu-de-khang-khang-sinh/>.
- [52] Melanie Buser, *Toxicological profile for Nitrophenols*, Atlanta: Draft for public comment, 2022.
- [53] Zhaokun Xiong, Heng Zhang, Wenchao Zhang, Bo Lai, Gang Yao, "Removal of nitrophenols and their derivatives by chemical redox: A review," *Chemical Engineering Journal*, vol. 359, pp. 13-31, 2018.
- [54] Sikandar I. Mulla, Ram Naresh Bharagava, Dalel Belhaj, Ganesh Dattatraya Saratale, Zabin K. Bagewadi, Gaurav Saxena, Ashok Kumar, Harshavardhan Mohan, Chang-Ping Yu, Harichandra Z. Ninnekar, "An Overview of Nitro Group-Containing Compounds and Herbicides Degradation in Microorganisms," *Microbial Metabolism of Xenobiotic Compounds*, vol. 16, pp. 319-335, 2019.
- [55] Ashok Babu Kurukutla, Panneer Selvam Sathish Kumar, Sambandam Anandan, Thirugnanasambandam Sivasankar, "Sonochemical Degradation of Rhodamine B Using Oxidants, Hydrogen Peroxide/Peroxydisulfate/Peroxymonosulfate, with Fe²⁺ + Ion: Proposed Pathway and Kinetics," *Environmental Engineering Science*, vol. 32, no. 2, pp. 129-140, 2014.
- [56] R.W. Mason, I.R. Edwards, "High-performance liquid chromatographic determination of rhodamine B in rabbit and human plasma," *Journal of Chromatography*, vol. 491, pp. 468-472, 1989.
- [57] Pourya Biparva, Elias Ranjbari, Mohammad Reza Hadjmohammadi, "Application of dispersive liquid-liquid microextraction and spectrophotometric detection to the rapid determination of rhodamine 6G in industrial effluents," *Analytica Chimica Acta*, vol. 674, no. 2, pp. 206-210, 2010.
- [58] Ashraf F. Ali, Sahar M. Atwa, Emad M. El-Giar, *Development of magnetic nanoparticles for fluoride and organic matter removal from drinking water*, Cairo: Water Purification, 2017, p. 209–262.
- [59] Lijuan Wu, Xuewen Liu, Guocheng Lv, Runliang Zhu, Lintao Tian, Meng Liu, Yuxin Li, Wenxiu Rao, Tianming Liu, Libing Liao, "Study on the adsorption properties of methyl orange by natural one-dimensional nano-mineral materials with different structures," *Scientific Reports*, vol. 11, no. 1, 2021.
- [60] Mohammed Saleh Al Aboody, "Silver/silver chloride (Ag/AgCl) nanoparticles synthesized from *Azadirachta indica* latex and its antibiofilm activity against fluconazole resistant *Candida tropicalis*," *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, vol. 47, no. 1, pp. 2107-2113, 2019.

- [61] Van-Dat Doan, Minh-Tan Phung, Thi Lan-Huong Nguyen, Thanh-Chi Mai, Thanh-Danh Nguyen, "*Noble metallic nanoparticles from waste Nypa fruticans fruit husk: Biosynthesis, characterization, antibacterial activity and recyclable catalysis,*" Arabian Journal of Chemistry, no. 13, pp. 7490-7503, 2020.
- [62] Hossein Alishah, Shahram Pourseyedi, Saeed Esmaili Mahani, S. Yousef Ebrahimipour, "*Extract-mediated synthesis of Ag@AgCl nanoparticles using Conium maculatum seeds: characterization, antibacterial activity and cytotoxicity effect against MCF-7 cell line,*" RSC Advances, vol. 6, pp. 73197-73202, 2016.
- [63] Sobha Kota, Pradeep Dumpala, Ratna Kumari Anantha, Mahendra Kumar Verma, Surendranath Kandepu, "*Evaluation of therapeutic potential of the silver/silver chloride nanoparticles synthesized with the aqueous leaf extract of Rumex acetosa,*" Scientific Reports, vol. 11566, no. 7, 2017.
- [64] Van-Dat Doan, Bao-An Huynh, Thanh-Danh Nguyen, Xuan-Thang Cao, Van-Cuong Nguyen, Thi Lan-Huong Nguyen, Hoai Thuong Nguyen, Van Thuan Le, "*Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles Using Aqueous Extract of Codonopsis pilosula Roots for Antibacterial and Catalytic Applications,*" Journal of Nanomaterials, pp. 1-18, 2020.
- [65] Thanh-Truc Vo, Thi Thanh-Ngan Nguyen, Thi Thanh-Tam Huynh, Thi Thuy-Trang Vo, Thi Thuy-Nhung Nguyen, Dinh-Truong Nguyen, Van-Su Dang, Chi-Hien Dang, Thanh-Danh Nguyen, "*Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles Using Aqueous Extract from Crinum latifolium Leaf and Their Applications Forward Antibacterial Effect and Wastewater Treatment,*" Journal of Nanomaterials, pp. 1-14, 2019.
- [66] Van-Dat Doan, Van-Tan Le, Thanh-Long Phan, Thi Lan-Huong Nguyen, Thanh-Danh Nguyen, "*Waste Banana Stem Utilized for Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles and Their Antibacterial and Catalytic Properties,*" Journal of Cluster Science, no. 32, pp. 1673-1682, 2020.
- [67] Thanh-Truc Vo, Chi-Hien Dang, Van-Dat Doan, Van-Su Dang, Thanh-Danh Nguyen, "*Biogenic Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles from Lactuca indica Leaf Extract and Their Application in Catalytic Degradation of Toxic Compounds,*" Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, no. 30, pp. 388-399, 2019.
- [68] "*Sâm Ngọc Linh Là Gì? Thành Phần Dưỡng Chất Và Những Tác Dụng Đặc Biệt,*" 31 10 2022. [Online].
- [69] "*Sâm Ngọc Linh,*" 13 10 2018. [Online]. Available: <https://vinit.com.vn/sam-ngoc-linh/>.
- [70] Ales Panacek, , Milan Kolar, Renata Vecerova, Robert Pucek, Jana Soukupova, Vladimir Krystof, Petr Hamal, Radek Zboril, Libor Kvitck.,

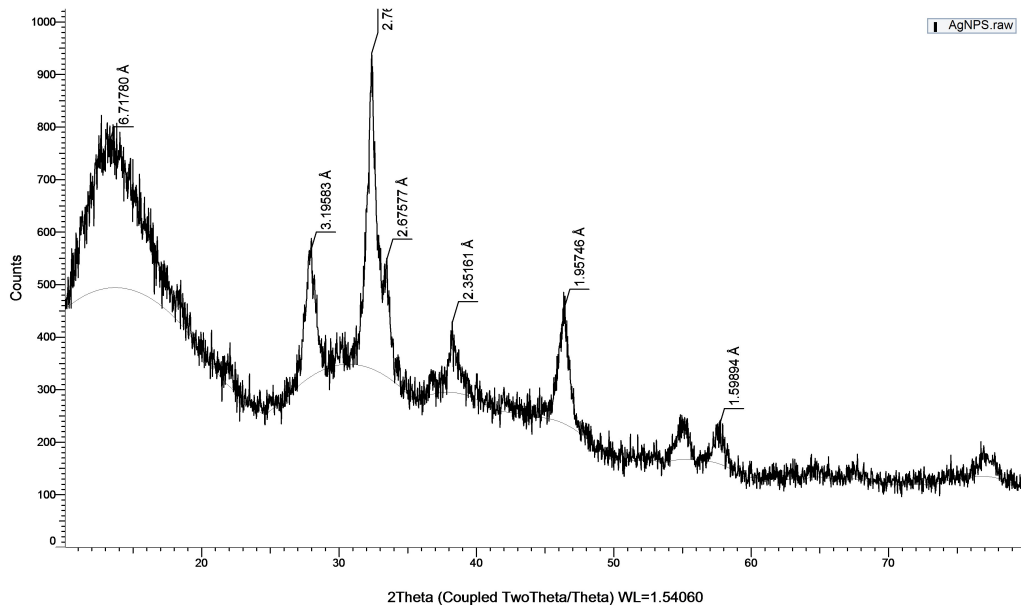
- "*Antifungal activity of silver nanoparticles against Candida spp.*," *Biomaterials*, vol. 30, no. 31, pp. 6333-6340, 2009.
- [71] Iris Xiaoxue Yin, Jing Zhang, Irene Shuping Zhao, May Lei Mei, Quanli Li, Chun Hung Chu, "*The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry*," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 15, pp. 2555-2562, 2020.
- [72] Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H, "*Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks*," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 10, no. 3, pp. 505-520, 1997.
- [73] Jose Luis Elechiguerra, Justin L Burt, Jose R Morones, Alejandra Camacho Bragado, Xiaoxia Gao, Humberto H Lara, Miguel Jose Yacaman, "*Interaction of silver nanoparticles with HIV-1*," *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 3, no. 1, pp. 3-6, 2005.
- [74] Lei Lu, Raymond Wai-Yin Sun, Rong Chen, Chee-Kin Hui, Chi-Ming Ho, John M Luk, George KK Lau, Chi-Ming Che, "*Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication*," *Antiviral Therapy*, vol. 13, no. 2, pp. 253-262, 2008.
- [75] Lova Sun, Ankur K Singh, Komal Vig, Shreekumar R. Pillai, Shree R. Singh, "*Silver Nanoparticles Inhibit Replication of Respiratory Syncytial Virus*," *Journal of Biomedical Nanotechnology*, vol. 4, no. 2, pp. 149-158, 2008.
- [76] Dana Baram-Pinto, Sourabh Shukla, Nina Perkas, Aharon Gedanken, Ronit Sarid, "*Inhibition of Herpes Simplex Virus Type 1 Infection by Silver Nanoparticles Capped with Mercaptoethane Sulfonate*," *Bioconjugate Chemistry*, vol. 20, no. 8, pp. 1497-1502, 2009.
- [77] Stefania Galdiero, Annarita Falanga, Mariateresa Vitiello, Marco Cantisani, Veronica Marra, Massimiliano Galdiero, "*Silver Nanoparticles as Potential Antiviral Agents*," *Molecules*, vol. 16, no. 10, pp. 8894-8918, 2011.
- [78] James V. Rogers, Christopher V. Parkinson, Young W. Choi, Janice L. Speshock, Saber M. Hussain, "*A Preliminary Assessment of Silver Nanoparticle Inhibition of Monkeypox Virus Plaque Formation*," *Nanoscale Research Letters*, vol. 3, no. 4, pp. 129-133, 2008.
- [79] Ph.D. David R Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, Florida: Boca Raton, 2004.
- [80] BullionVault, "*A Big Source of Silver Bullion Demand Has Disappeared*," 21 06 2013. [Online]. Available: <https://www.bullionvault.com/gold-news/silver-bullion-photographic-demand-062120133>.
- [81] Emily Claire Ferré, "*The Many Uses of Silver*," [Online]. Available: <https://geology.com/articles/uses-of-silver/>.

- [82] Sunil T. Galatage, Aditya S. Hebalkar, Shradhey V. Dhobale, Omkar R. Mali, Pranav S. Kumbhar, Supriya V. Nikade, Suresh G. Killedar, "*Silver Nanoparticles: Properties, Synthesis, Characterization, Applications and Future Trends*," Silver Micro-Nanoparticles, p. 266, 2021.
- [83] "*Methyl Orange*," Scientific laboratory supplies, [Online]. Available: <https://www.scientificlabs.co.uk/product/114510-25G>.
- [84] "*Ứng dụng của nano bạc trong cuộc sống và khoa học*," 02 03 2020. [Online]. Available: <https://taoxanhvietnam.vn/ung-dung-cua-nano-bac-trong-cuoc-song-va-khoa-hoc/>.

PHỤ LỤC

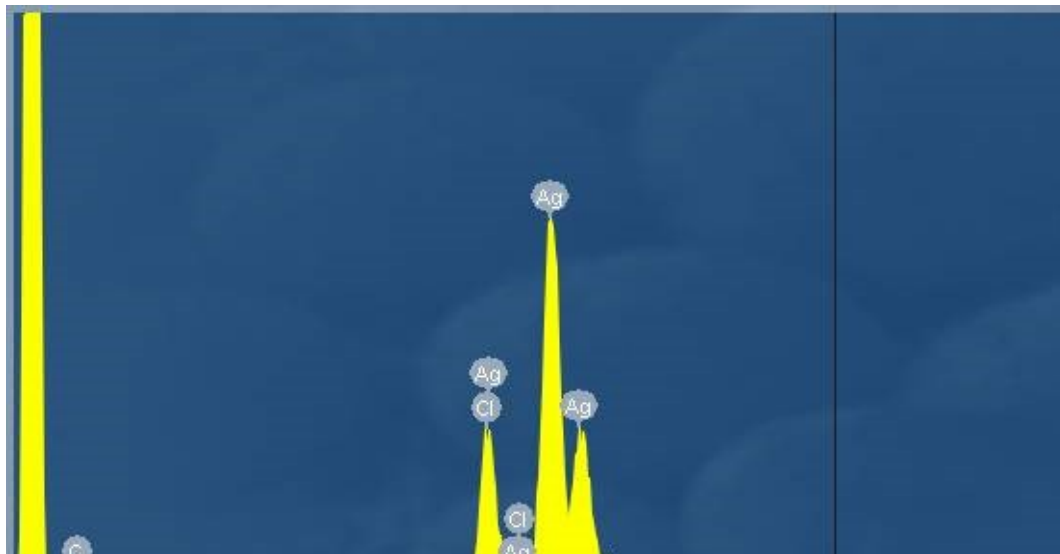
1. Phổ XRD:

(Coupled TwoTheta/Theta)



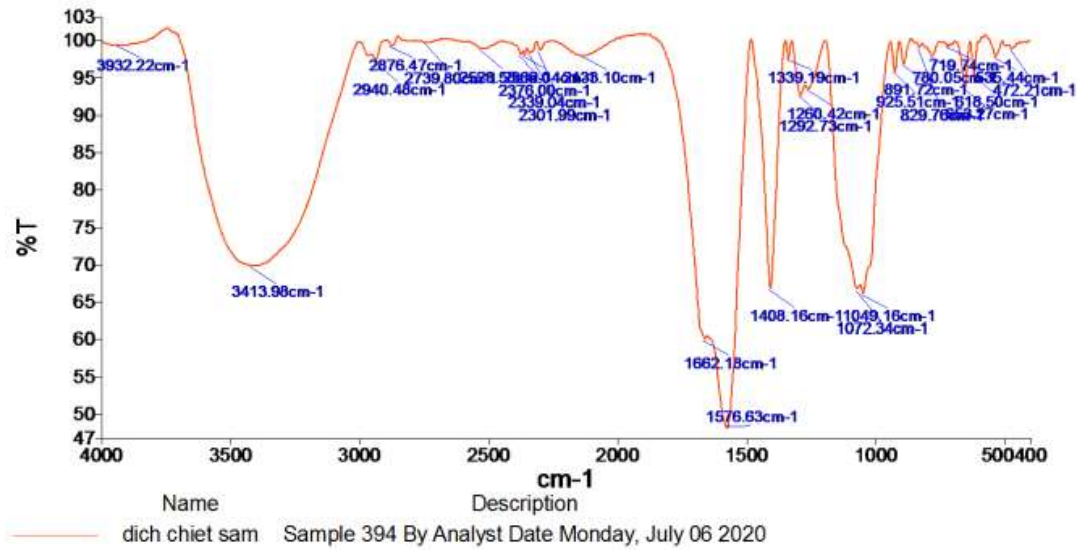
Phụ lục 1. Phổ XRD của nano bạc.

2. Phổ EDX:

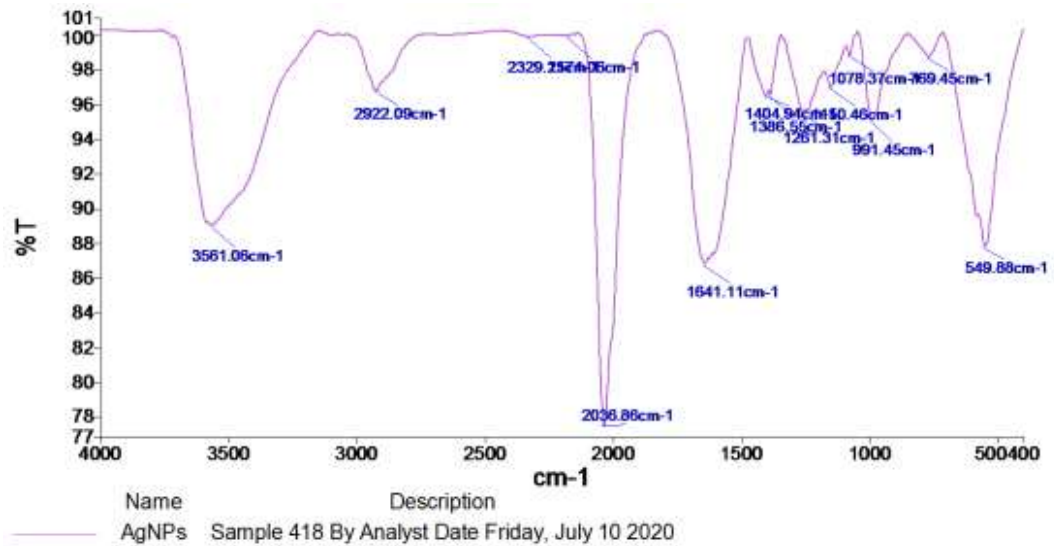


Phụ lục 2. Phổ EDX của mẫu nano bạc.

3. Phổ FTIR:

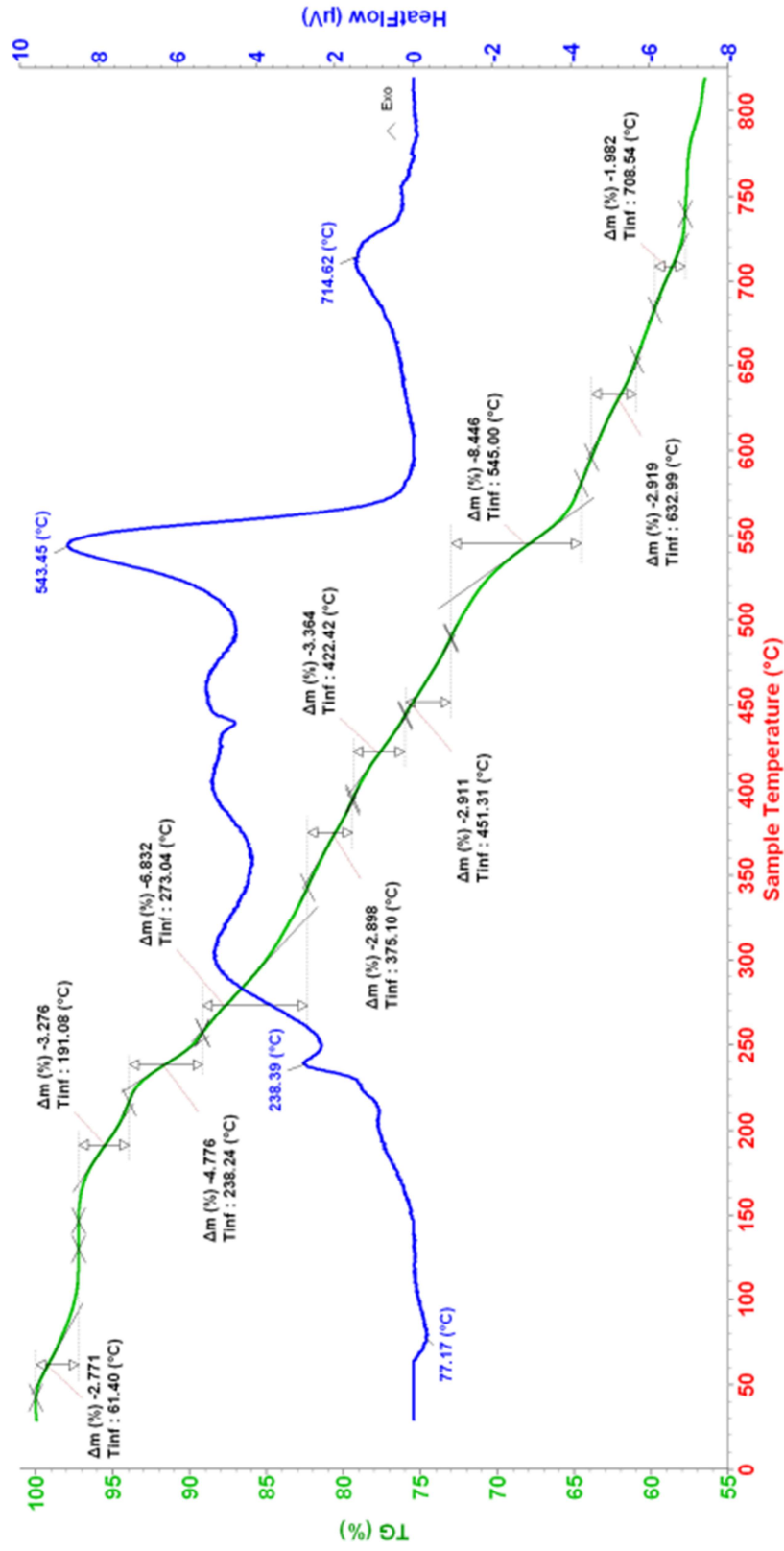


Phụ lục 3. Phổ FTIR của dich chiết sâm.

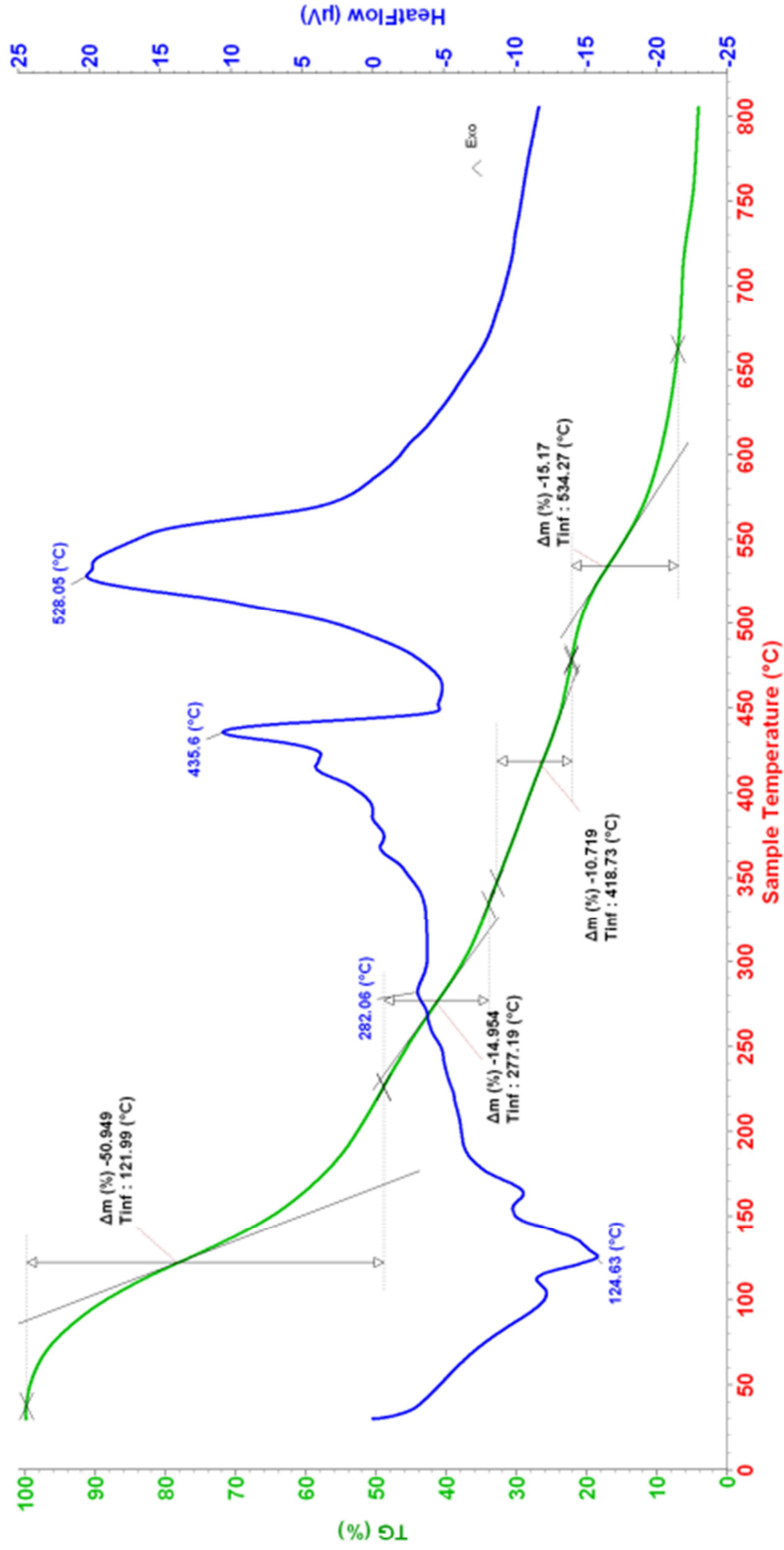


Phụ lục 4. Phổ FTIR của nano bạc.

4. Phổ TGA-DSC:



Phụ lục 5. Phổ TGA-DSC của nano bạc.



Phụ lục 6. Phổ TGA-DSC của dịch chiết sâm.



A novel approach using plant embryos for green synthesis of silver nanoparticles as antibacterial and catalytic agent

Minh-Trong Tran^{1,2} · Linh-Phuong Nguyen³ · Dinh-Truong Nguyen³ ·
T. Le Cam-Huong² · Chi-Hien Dang^{1,2} · Tran Thi Kim Chi⁴ ·
Thanh-Danh Nguyen^{1,2}

Received: 16 April 2021 / Accepted: 15 July 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

Abstract

The plant extract has been used extensively for biosynthesis of noble metallic nanoparticles due to cost efficiency and simple technology. However, influence of plant growth condition can induce changes in composition and content of bioactive compounds, leading to difficulty in reproducing the metallic nanoparticles. In this work, we first utilized the plant embryos (*Panax vietnamensis* embryos—PVE) cultured under laboratory condition as a biosource for the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs). This method can reduce unwanted changes of bioactive composition in the plant. The formation of AgNPs was optimized to afford the best colloidal solution. The physicochemical properties were characterized using analysis techniques including X-ray diffraction (XRD), transmission electron microscopy (TEM), selected area electron diffraction (SAED), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermal properties. Size of crystalline AgNPs was determined in the range of 3–20 nm with a mean size of 10 nm. The applications were investigated for antibacterial and catalytic effect. The biosynthesized AgNPs exhibited high antibacterial

Minh-Trong Tran and Linh-Phuong Nguyen authors contributed equally to this study.

✉ Dinh-Truong Nguyen
truong.nguyen@ttu.edu.vn

✉ Chi-Hien Dang
dangchihien@gmail.com

✉ Thanh-Danh Nguyen
ntdanh@ict.vast.vn

¹ Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

² Institute of Chemical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 1A, TL29, Thanh Loc Ward, District 12, 70000 Ho Chi Minh City, Vietnam

³ School of Biotechnology, Tan Tao University, Long An Province, Vietnam

⁴ Institute of Materials Science, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam