

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Xuân Quang

**CHẾ TẠO VÀ NGHIÊN CỨU TÍNH CHẤT VẬT LIỆU
NANO TỔ HỢP Au VỚI CURCUMIN, ZnO, Ag NHẪM
TĂNG CƯỜNG KHẢ NĂNG TIÊU DIỆT MÀM BỆNH**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ VẬT LIỆU ĐIỆN TỬ

Mã số: 9 44 0123

Hà Nội – Năm 2024

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn: PGS. TS. Trần Quang Huy
2. Người hướng dẫn: GS. TS. Vũ Đình Lãm

Phản biện 1: PGS. TS. Lê Tuấn Tú

Phản biện 2: PGS. TS. Nguyễn Xuân Ca

Phản biện 3: PGS. TS. Vũ Đức Chính

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

Trong những thập niên gần đây, sản xuất công - nông nghiệp trên thế giới đã có sự phát triển vượt bậc. Cùng với sự phát triển đó, tình trạng ô nhiễm môi trường ngày càng gia tăng đặc biệt là các nước đang phát triển như Việt Nam. Ô nhiễm môi trường làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng cuộc sống và là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây ra các bệnh truyền nhiễm cũng như bệnh không truyền nhiễm trên toàn cầu. Việt Nam nằm trong khu vực Châu Á Thái Bình Dương, một trong những khu vực chịu ảnh hưởng nặng nề của các bệnh truyền nhiễm. Bên cạnh đó, các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh hoặc kháng đa thuốc, do sử dụng thiếu kiểm soát các chất kháng sinh trong y tế cũng như nông nghiệp. Hiện nay, trong hầu hết các bệnh viện đã ghi nhận sự xuất hiện của những chủng vi khuẩn kháng kháng sinh hay kháng đa thuốc (MDR) như: vi khuẩn gây bệnh đường ruột *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7), tụ cầu vàng kháng methicillin (*MRSA*), *Enterococcus* kháng vancomycin (VRE), lao kháng đa thuốc (multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* - MDRTB), *Enterobacteriaceae* kháng carbapenem (carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* - CRE)... Trong số đó, nhiều chủng vi khuẩn kháng cả với những thuốc kháng sinh thế hệ mới nhất. Việc điều trị những bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh thường phức tạp và tốn kém. Thêm vào đó, việc điều trị càng trở lên khó khăn hơn nếu kèm theo mắc các bệnh truyền nhiễm hoặc có bệnh lý nền (ví dụ: những bệnh nhân covid-19, bệnh nhân AIDS...). Rất nhiều giải pháp thay thế đã được đề xuất, nhưng hiệu quả của chúng phụ thuộc nhiều vào tình trạng bệnh, một số giải pháp tiềm ẩn tác dụng phụ, nguy cơ ảnh hưởng lâu dài tới sức khỏe, gây nguy hiểm tới tính mạng người bệnh, có thể dẫn tới tử vong. Tổ chức y tế thế giới (WHO) tuyên bố các bệnh truyền nhiễm gây bởi những chủng vi khuẩn kháng kháng sinh là một trong mười vấn đề nghiêm trọng ảnh hưởng đến sức khỏe toàn cầu.

Chính vì vậy, việc tìm ra giải pháp thay thế phù hợp cho những loại thuốc kháng sinh hiện nay luôn là yêu cầu cấp thiết đối với các nhà khoa học trong cuộc chiến chống lại những chủng vi khuẩn kháng kháng sinh. Trong hai thập kỷ trở lại đây, công nghệ nano đã cho thấy tiềm năng trong giải quyết vấn đề này. Ở kích thước nano, vật liệu bộc lộ những tính chất đặc biệt mà ở kích thước khối chúng không có được. Hơn nữa, khi ở kích thước nano, vật liệu có thể dễ dàng di chuyển khắp cơ thể để tiếp cận với vị trí mô đích hoặc ổ vi khuẩn gây bệnh nằm sâu bên trong cơ thể. Một số loại vật liệu nano vô cơ đã được nghiên cứu ứng dụng trong y sinh học do những tính chất đặc biệt của chúng như nano từ (điều khiển bằng từ trường ngoài, dẫn thuốc, hiệu ứng từ nhiệt...), nano bạc (hoạt tính kháng khuẩn, hiệu ứng quang nhiệt...), kẽm oxit (hoạt tính kháng khuẩn, chống tia cực tím...), titan oxit (hoạt tính kháng khuẩn, chống tia cực tím...), nano vàng (dẫn thuốc, tương thích sinh học, hiệu ứng quang nhiệt...), titan (vật liệu cấy ghép, tương thích sinh học...). Gần đây, nhiều nghiên cứu về các hệ vật liệu nano tổ hợp giữa hai kim loại, kim loại-oxit kim loại, kim loại/oxit kim loại – phân tử thuốc/hoạt chất từ thiên nhiên cũng được quan tâm nghiên cứu để phát huy được những ưu điểm của từng vật liệu thành phần. Một trong những loại vật liệu nano được ưa chuộng nhất trong ứng dụng y sinh học là nano vàng và nano tổ hợp vàng. Nano vàng sở hữu những đặc tính ưu việt như hiệu ứng plasmon bề mặt, khả năng tương thích sinh học cao, có cấu trúc ổn định và dễ dàng chức năng hóa bề mặt để gắn kết với các thành phần khác như phân tử sinh học cũng như các phân tử thuốc/hoạt chất. Vì vậy, nghiên cứu về hạt nano vàng, cấu trúc tổ hợp của nano vàng với các hoạt chất vô cơ hay hữu cơ có hoạt tính sinh học ngày càng được quan tâm phát triển trong những dụng y sinh học. Trên thực tế, nano vàng đã được ghi nhận có thể tiêu diệt tế bào ung thư, dẫn thuốc trong điều trị hướng đích, chụp ảnh sinh học và trong chẩn đoán tác nhân gây bệnh và các ứng dụng y sinh học khác. Những nghiên cứu gần đây cũng cho thấy việc kết

hợp giữa nano vàng với các chất khác như: phân tử thuốc hay hoạt chất từ thiên nhiên (*ví dụ*: curcumin, berberin...); kim loại có hoạt tính sinh học (*ví dụ*: Ag, Cu...) hay oxit kim loại có hoạt tính sinh học (*ví dụ*: ZnO, TiO₂...) [1] không những phát huy tối đa tính chất của nano vàng mà còn góp phần làm tăng cường hiệu quả cũng như hoạt tính sinh học của phần tử kết hợp. Khi chiếu chùm laze có bước sóng thích hợp vào các hạt nano vàng sẽ làm tăng nhiệt cục bộ xung quanh chúng nhờ hiệu ứng quang nhiệt. Sự tăng nhiệt cục bộ của nano vàng giúp tiêu diệt trực tiếp mầm bệnh hoặc cung cấp nhiệt năng để kích thích quá trình giải phóng các phân tử kết hợp (phân tử thuốc, hoạt chất, ion...), góp phần gián tiếp ức chế hay tiêu diệt mầm bệnh mà không ảnh hưởng đến các tế bào lành xung quanh.

Vì vậy, nghiên cứu tính chất của tổ hợp của nano vàng với các phân tử hữu cơ như thuốc/hoạt chất từ thiên nhiên (*ví dụ*: curcumin) hoặc với vật liệu vô cơ có khả năng kháng khuẩn (*ví dụ*: nano oxit kẽm hay nano bạc) là chủ đề hấp dẫn. Để có thể ứng dụng trong y sinh, các nano tổ hợp chế tạo được phải có độ sạch cao, không chứa các chất tồn dư có hại gây độc cho cơ thể sống. Ngoài những yếu tố nêu trên, tính sẵn có của nguồn nguyên liệu và hoạt chất ban đầu cũng là vấn đề cần quan tâm. Tuy nhiên, trước tiên là thách thức tìm ra được một phương pháp chế tạo phù hợp với điều kiện thí nghiệm của Việt Nam, sản phẩm nano tổ hợp tạo thành có độ sạch cao và có thể chủ động được nguồn nguyên liệu. Thứ hai, là phân tích được những tính chất đặc trưng của tổ hợp này để hướng tới những ứng dụng y sinh học. Đề tài luận án được xây dựng trên cơ sở tham khảo từ các tài liệu liên quan đã công bố trong và ngoài nước trong những năm gần đây, những thành tựu của nhóm nghiên cứu nBIORD. Các công trình được phát triển bởi PGS.TS. Trần Quang Huy về việc ứng dụng công nghệ điện hóa trong việc chế tạo vật liệu nano kim loại từ vật liệu khối. Nghiên cứu được đề xuất nhằm chế tạo ra nano tổ hợp vàng với một trong những tác nhân kháng khuẩn đã biết (trong

luan án này hướng tới loại vật liệu đại diện hoạt chất có nguồn gốc thiên nhiên (curcumin) và hệ hoạt chất nano vô cơ (ZnO, Ag). Các hệ nano tổ hợp đồng thời được khảo sát sự ảnh hưởng của nano vàng lên các đặc tính cũng như hoạt tính sinh học tác nhân trên đối với khả năng kháng vi khuẩn có khả năng gây bệnh gây nhiễm trùng bệnh viện (gồm: *E.coli* O157:H7 và *MRSA*) khi chiếu ánh sáng và không chiếu ánh sáng. Trong nghiên cứu này, ánh sáng laze xanh ở vùng bước sóng an toàn (532 nm) được sử dụng để khảo sát hiệu ứng quang nhiệt của hệ hướng tới xử lý những mầm bệnh nhiễm trùng ngoài da như bỏng hoặc vết thương hở, không gây ảnh hưởng đến mô lành cũng như vùng vết thương đang hình thành da non. Với những lý do nêu trên, cùng với điều kiện trang thiết bị hiện có của phòng thí nghiệm và sự định hướng của các Thầy hướng dẫn, tôi đã lựa chọn hướng nghiên cứu ***“Chế tạo và nghiên cứu tính chất vật liệu nano tổ hợp Au với curcumin, ZnO, Ag nhằm tăng cường khả năng tiêu diệt mầm bệnh”*** làm đề tài của luận án.

CHƯƠNG I: TỔNG QUAN

- 1.1. Đặc tính của nano vàng
- 1.2. Nano tổ hợp vàng - hoạt chất từ thiên nhiên
- 1.3. Nano tổ hợp vàng với oxit kim loại và ứng dụng
- 1.4. Nano tổ hợp vàng - bạc (Au/Ag - CNPs) và ứng dụng
- 1.5. Một số phương pháp phân tích sử dụng trong đề tài

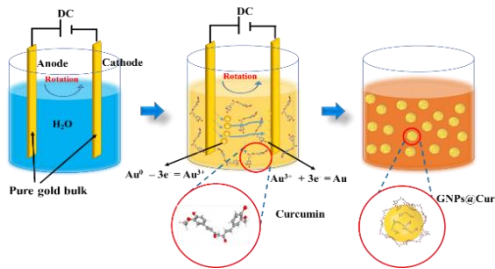
CHƯƠNG 2. CHẾ TẠO VÀ ĐẶC TÍNH CỦA TỔ HỢP NANO VÀNG - CURCUMIN

- 2.1. Vật liệu và phương pháp
 - 2.1.1. Hóa chất thiết bị

Hai thanh vàng (99,99%) có kích thước 150 mm x 5 mm x 0,1 mm (dài x rộng x dày) được gia công tại một cửa hàng vàng bạc đá quý tại Hà Nội, Việt Nam. Trisodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), curcumin được mua từ Sigma – Aldrich. Tất cả các hóa chất khác đều thuộc loại phân tích. Phương pháp thực nghiệm.

2.1.2. Phương pháp thực nghiệm

a. Quy trình chế tạo nano tổ hợp vàng – curcumin bằng phương pháp điện hóa được mô tả trên hình 2.2.



Hình 2.1. Quy trình chế tạo nano vàng chức năng hóa Curcumin bằng phương pháp điện hóa.

b. Phân tích các đặc tính, khả năng kháng khuẩn và độc tính tế bào của hệ vật liệu

Au/Cur - CNPs

Sự hình thành hạt và các đặc tính lí hóa của nano Au và hạt

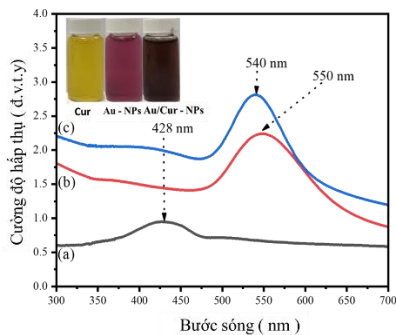
Au/Cur – CNPs được khảo sát bằng phổ hấp thụ UV-vis (SP – 3000 nano, Optima); kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM1010, JEOL); nhiễu xạ tia X (XRD, EQUINOX 5000, Thermo Scientific). Kích thước động học và sự ổn định hạt trong dung dịch Đo tán xạ động học DLS và thế Zeta trên máy (Zetasizer Nano ZS) và phổ hấp thụ hồng ngoại gần IR (FT-IR

4600). Hệ đo quang nhiệt được thiết kế với đầu chiếu laze xanh có bước sóng 532 nm và cảm biến nhiệt ghi lại nhiệt độ theo thời gian. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn dựa trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt và độc tính tế bào của hệ vật liệu Au - NPs và Au/Cur - CNPs trên mô hình 2 chủng vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện (gồm: *E.coli* O157:H7 và *MRSA*) và dòng tế bào MA – 104.

2.2. Kết quả và thảo luận

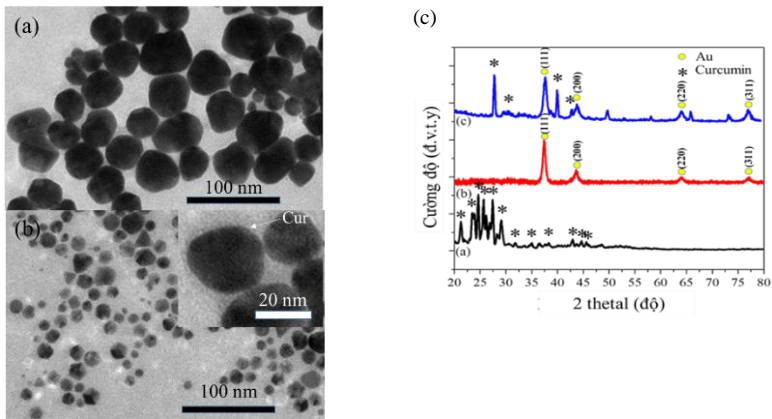
2.2.1. Tính chất quang của vật liệu Au – NPs và Au/Cur CNPs.

Quá trình tổng hợp nano vàng Au – NPs và Au/Cur - CNPs bằng phương pháp điện hóa cho thấy dung dịch không có mặt curcumin có màu hồng đến đỏ tươi khi quan sát bằng mắt thường. Dung dịch có mặt curcumin trong quá trình điện hóa có màu đỏ đậm. Hình 2.2c là phổ hấp thụ UV - Vis của dung dịch chứa Au/Cur - CNPs với hai đỉnh hấp thụ đặc trưng ở bước sóng tương ứng 428 nm và 540 nm đặc trưng của nano curcumin và nano vàng. Các đỉnh này tương ứng gần với đỉnh của curcumin (Hình 2.2a) và Au-NPs ((Hình 2.2b). Như vậy có thể nói các hạt Au/Cur – CNPs đã được hình thành trong quá trình điện hóa.



Hình 2.2. Phổ hấp thụ UV-Vis của curcumin (a); Au - NPs (b); và Au/Cur - CNPs (c).

2.2.2. Hình thái và cấu trúc của Au - NPs với Au/Cur – CNPs



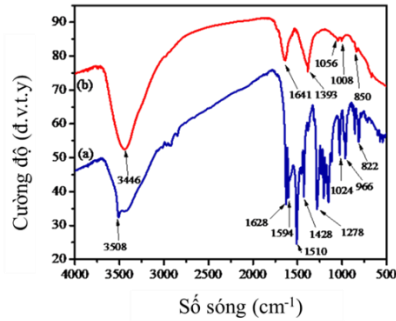
Hình 2.3. Ảnh TEM của các mẫu (a) nano vàng; (b) tổ hợp nano vàng – curcumin; (c) Giản đồ nhiễu xạ tia X của Curcumin; Au - NPs; tổ hợp Au/Cur – CNPs

Hình 2.3 cho thấy hình ảnh các hạt nano vàng được tạo thành trong dung dịch điện điện hóa khi không có curcumin với dạng hình cầu và kích thước hạt trung bình 19,5 nm. Đối với mẫu thêm curcumin, đa số các hạt Au/Cur - CNPs cũng được hình thành dưới dạng hình cầu, nhưng kích thước nhỏ hơn, kích thước hạt trung bình 13,6 nm được phân tử curcumin bao bọc. Cấu trúc và pha tinh thể của Au/Cur - CNPs sau điện hóa được khảo sát bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD). Giản đồ XRD của Au/Cur - CNPs cũng xuất hiện các đỉnh đặc trưng cho cấu trúc lập phương tâm mặt của vàng, có chỉ số Miller (hkl) lần lượt là (111); (200); (220) và (311), tương ứng với các vị trí góc nhiễu xạ 2θ là $37,38^\circ$; $43,52^\circ$; $63,94^\circ$ và $77,22^\circ$. Ngoài các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của Au - NPs còn có sự xuất hiện đỉnh tại các góc 2θ lần lượt là $27,75^\circ$; $39,93^\circ$ và $49,72^\circ$ được cho là các đỉnh nhiễu xạ của curcumin. Kết quả này cho thấy, bằng phương pháp điện hóa đơn giản đã có thể chế tạo

các hạt AuNPs/Cur chỉ gồm hai thành phần Au và Cur có độ kết tinh tốt và có độ sạch cao.

2.2.3. Đặc tính của Au - NPs và tổ hợp Au/Cur - CNPs

a) Phổ hấp thụ FTIR

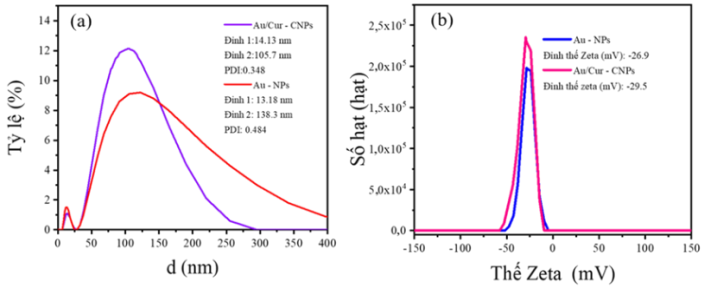


Hình 2.4. Phổ FTIR của curcumin (a) và tổ hợp Au/Cur - CNPs (b).

Phân tích phổ FTIR có thể làm sáng tỏ mối liên kết giữa nano vàng và các phân tử curcumin thông qua sự thay đổi mode dao động của các liên kết tồn tại trên bề mặt Au - NPs. Kết quả thu được một lần nữa khẳng định Au/Cur – CNPs đã được chế tạo thành công bằng phương pháp

b) Kích thước động học và thế Zeta của Au/Cur – CNPs

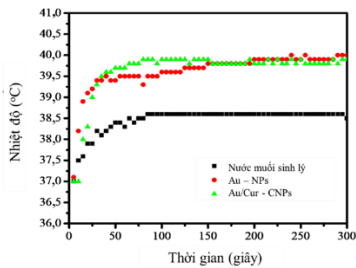
Khả năng phân tán và độ ổn định của Au/Cur - CNPs được đánh giá qua phân tích tán xạ động học (DLS) và đo thế Zeta. Kết quả thu được đã khẳng định vai trò của curcumin trong việc hình thành và làm tăng tính ổn định bề mặt của Au - NPs.



Hình 2.5. DLS(a) và thế Zeta của mẫu nano Au - NPs và Au/Cur - CNPs (b)

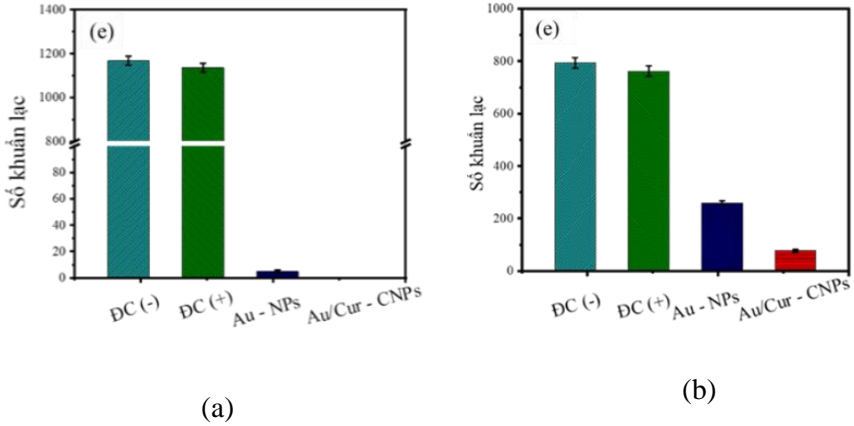
2.2.4. Hiệu ứng quang nhiệt của hệ vật liệu Au/Cur – CNPs

Nhiệt độ trong các ống chứa Au - NPs và Au/Cur - CNPs đều tăng trung bình 3 °C, so với nước muối sinh lí nhiệt độ bão hòa của các dung dịch này đã tăng thêm 1,5 °C. Kết quả cho thấy hiệu ứng quang nhiệt của Au/Cur – CNPs đã làm tăng nhiệt độ môi trường và curcumin không gây ra ảnh hưởng tới hiệu ứng quang nhiệt của lõi nano vàng.



Hình 2.6. Sự tăng của nhiệt độ dung dịch vào thời gian chiếu laser có bước sóng 532 nm đối với dung dịch nước muối sinh lí 0,9%; nano Au - NPs và Au/Cur – CNPs

2.2.5. Hoạt tính kháng khuẩn của hệ vật liệu Au/Cur – CNPs



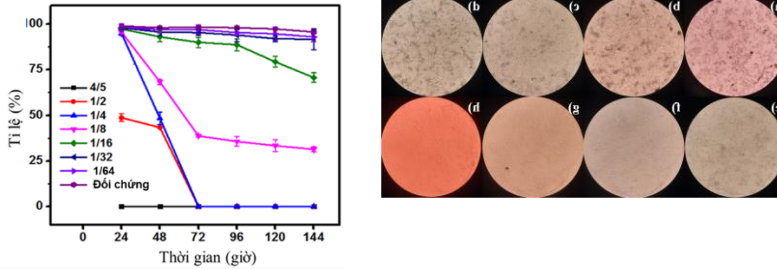
Hình 2.7. (a) Biểu đồ của MRSA; (b) Biểu đồ của *E. coli* O157:H7

So sánh giữa việc sử dụng Au - NPs trần và Au/Cur - CNPs cũng cho thấy Au/Cur - CNPs tăng cường đáng kể khả năng diệt và ức chế đối với cả hai chủng vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Kết quả này cho thấy với việc sử dụng Au/Cur - CNPs và hiệu ứng quang nhiệt có thể tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn MRSA và ức chế khả năng mọc khuẩn lạc của *E. coli* O157:H7 tới 90% trong 20 phút chiếu laser 532 nm.

2.2.6. Đánh giá độc tính tế bào của hệ vật liệu Au/Cur - CNPs

Độc tính đối với tế bào MA - 104 được quan sát theo thời gian khi ủ tế bào với Au/Cur - CNPs ở các nồng độ khác nhau. Kết quả theo dõi được thống kê trong biểu đồ Hình 2.8. Khảo sát nồng độ giảm dần, tế bào đã giảm lượng tế bào bị độc tính, trong khoảng dài thời gian cuối thử nghiệm từ 72h - 144h lượng tế bào sống duy trì ở 40 - 30%. Lượng tế bào sống ở nồng độ 1/16 là trên 60%, nồng độ 1/32 và 1/64 tế bào bị độc là không đáng kể. Như vậy độc tính tế bào của

Au/Cur - CNPs thấp ở nồng độ gốc và an toàn khi nồng độ giảm dưới 1/16 (< 9,4 ppm)



Hình 2.8. Độc tính của Au/Cur - CNPs với tế bào MA – 104 theo nồng độ và thời gian. Hình ảnh tế bào MA104 với Au/Cur - CNPs ở các nồng độ a) 4/5, b) 1/2, c) 1/4, d) 1/8, e) 1/16, f) 1/32, g) 1/64 và kiểm chứng tế bào ở 96 giờ (phóng đại 200 lần)

CHƯƠNG 3. CHẾ TẠO VÀ ĐẶC TÍNH CỦA NANO VÀNG TỔ HỢP OXÍT KẼM

3.1. Vật liệu và phương pháp

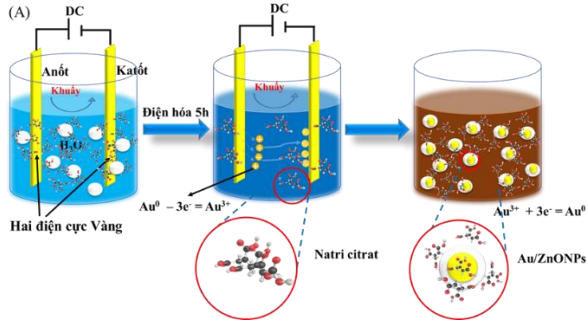
3.1.1. Hóa chất và thiết bị

Hóa chất: Thanh kẽm (99,99%) kích thước 250 mm x 10 mm x 5 mm và vàng (99,99%) kích thước 60 mm x 5 mm x 0,1 mm (dài x rộng x cao) được mua tại một cửa hàng hóa chất tại Hà Nội – Việt Nam. Natri citrat ($\text{Na}_3\text{H}_5\text{O}_7$) mua từ Sigma – Aldrich. Các hóa chất khác đủ tiêu chuẩn phân tích.

Thiết bị: Sự hình thành hạt và các đặc tính lí hóa của nano ZnO - NPs và hạt Au/ZnO - CNPs được khảo sát bằng phổ hấp thụ UV-vis (SP – 3000 nano, Optima); kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM1010, JEOL); nhiễu xạ tia X (XRD, EQUINOX 5000, Thermo Scientific).

3.1.2. Phương pháp thực nghiệm

a. Quy trình chế tạo nano tổ hợp vàng – oxit kẽm (Au/ZnO - CNPs)



Hình 3.1. Chế tạo tổ hợp nano Au/ZnO - CNPs bằng phương pháp điện hóa từ hai thanh vàng dạng khối.

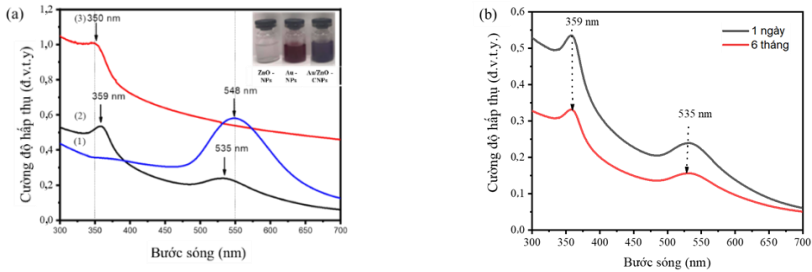
b. Phân tích các đặc tính của hệ vật liệu ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs

Sự hình thành hạt và các đặc tính lí hóa của nano ZnO và hạt Au/ZnO được khảo sát bằng phổ hấp thụ UV-vis (SP – 3000 nano, Optima); kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM1010, JEOL); nhiễu xạ tia X (XRD, EQUINOX 5000, Thermo Scientific). Kích thước động học và sự ổn định hạt trong dung dịch Đo tán xạ động học DLS và thế Zeta trên máy (Zetasizer Nano ZS) và phổ hấp thụ hồng ngoại gần IR (FT-IR 4600). Hệ đo quang nhiệt được thiết kế với đầu chiếu laze xanh có bước sóng 532 nm và cảm biến nhiệt ghi lại nhiệt độ theo thời gian. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn dựa trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt, quang xúc tác của Au/ZnO – CNPs trên mô hình 2 chủng vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện (gồm: *E.coli* O157:H7 và *MRSA*), khả năng phân hủy MB trong vùng khả kiến của hệ vật liệu ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs

3.2. Kết quả và thảo luận

3.2.1 Tính chất quang của nano ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs

Từ phổ UV-Vis Hình 3.2 (a) thấy rằng Au/ZnO – CNP có đỉnh hấp thụ lần lượt tại các bước sóng 359 nm đỉnh hấp thụ đặc trưng của ZnO và 535 nm là các đỉnh hấp thụ tương ứng với tần số cộng hưởng plasmon của Au. Như vậy sự xuất hiện hai đỉnh hấp thụ của ZnO và Au của dung dịch sau điện hóa vàng và chúng đều dịch chuyển bước sóng có thể nói hạt Au-ZnO đã hình thành trong dung dịch sau điện hóa. Dung dịch sau 6 tháng vị trí đỉnh hấp thụ vẫn không đổi chứng tỏ phân bố kích thước chung của vật liệu không thay đổi nhiều như vậy mẫu ổn định trong thời gian dài tới 6 tháng.

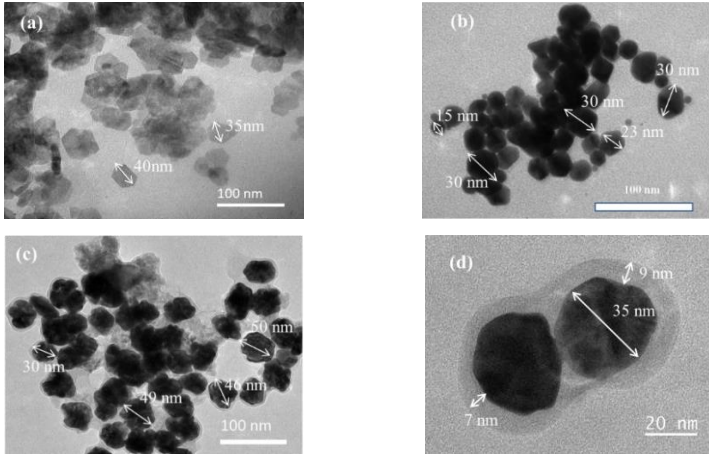


Hình 3.2. Phổ hấp thụ UV - Vis (a) Au – NPs (1), Au/ZnO - CNPs (2) và ZnO - NPs (3) chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điện áp 9V và 5h; (b) Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điện áp 9V và 5 h sau thời gian bảo quản 1 ngày và 6 tháng.

3.2.2 Hình thái và cấu trúc của ZnO - NPs và Au/ZnO – CNPs

Từ hình 3.3 (a) thấy rằng các hạt nano ZnO - NPs có dạng lục giác, kích thước hạt trung bình 36.6 nm hình 3.3 (a). Hình 3.3 (b) cho thấy trong quá trình điện hóa không thêm dung dịch chứa nano ZnO thu được các hạt vàng dạng hình cầu có kích thước đồng đều nằm trong giải từ 15 đến 30 nm. Hình 3.3 (c) sản phẩm điện hóa vàng có thêm dung dịch chứa ZnO - NPs các hạt

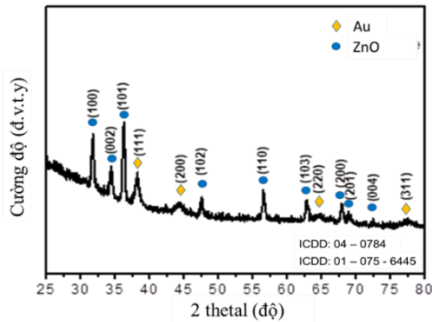
vàng không còn là dạng hình cầu mà thay vào đó là các hạt vàng dị thể có kích thước hạt trung bình 28,4 nm hình 3.3.



Hình 3.3. Ảnh TEM (a) ZnO - NPs; (b) Au - NPs; (c), (d) tổ hợp nano Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở 9V thời gian điện hóa 5h.

Khi quan sát với độ phóng đại lớn hơn ở Hình 3.3(d) cho thấy vùng biên của các hạt nano vàng xuất hiện một lớp bao bên ngoài có độ dày từ 7 nm đến 9 nm. Hạt Au/ZnO - CNPs đã được chế tạo thành công với lõi là Au - NPs còn lớp vỏ bên ngoài là ZnO - NPs. Phương pháp đo nhiễu xạ tia X đã được thực hiện để củng cố thêm luận cứ khẳng định các hạt Au/ZnO - CNPs đã được chế tạo thành công bằng phương pháp điện hóa. Giảm độ nhiễu xạ tia X cho thấy xuất hiện các đỉnh với chỉ số Miller (hkl) tương ứng (100) tại góc $2\theta = 31,77^\circ$; (002) tại góc $2\theta = 34,44^\circ$; (101) với góc $2\theta = 36,26^\circ \dots$ là các đỉnh đặc trưng của nano ZnO - NPs có cấu trúc Hexagonal Wurzite theo thẻ chuẩn ICDD no 01-075-6445. Ngoài ra còn xuất hiện bốn đỉnh đặc trưng của các mặt tinh thể tương ứng nano vàng có cấu trúc tinh thể dạng lập phương theo thẻ chuẩn ICDD no 04 - 0784 với các chỉ số hkl: (111) tại góc $2\theta = 38,27^\circ$; (200) tại góc $2\theta = 44,41^\circ$; (220) tại góc $2\theta = 64,89^\circ$ và (311) tại góc

$2\theta = 77,54^\circ$. Các đỉnh nhiễu xạ của cả hai pha tinh thể đều khá sắc nét chứng tỏ vật liệu thu được sau điện hóa kết tinh tốt. Các đỉnh nhiễu xạ của cả hai pha tinh thể đều khá sắc nét chứng tỏ vật liệu thu được sau điện hóa kết tinh tốt không tồn tại dạng vô định hình. Giảm đồ nhiễu xạ cho thấy ngoài các đỉnh đặc trưng của ZnO - NPs và Au - NPs không thấy xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ của các pha khác như vậy dung dịch chỉ có các hạt Au/ZnO - CNPs không có thành phần nào khác hoàn toàn phù hợp với kết quả đo UV-Vis và quan sát được từ ảnh TEM.



Hình 3.4. XRD của Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điện áp 9V thời gian 5 giờ.

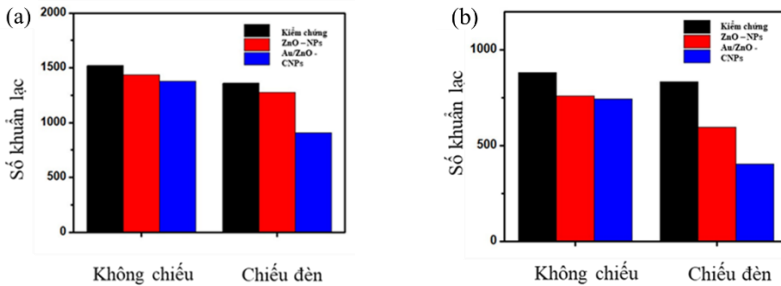
3.2.3 Hoạt tính kháng khuẩn của nano ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs

Khả năng kháng khuẩn của ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs được khảo sát trên chủng vi khuẩn Gram âm MRSA. Thành phần vàng trong Au/ZnO - CNPs không những không có khả năng tăng cường khả năng kháng khuẩn khi chiếu ánh sáng có bước sóng 532 nm mà còn ảnh hưởng tiêu cực tới khả năng kháng khuẩn của ZnO - NPs. Điều này phần nào có thể giải thích là do nhiệt độ tăng thêm do hiệu ứng quang nhiệt của Au/ZnO - CNPs là thấp hơn so với Au- NPs trần



Hình 3.5. Hình ảnh đĩa petri: A - nano ZnO - NPs và B- Au/ZnO - CNPs.

3.2.4. Khả năng kháng khuẩn của Au/ZnO - CNPs khi chiếu ánh sáng khả kiến

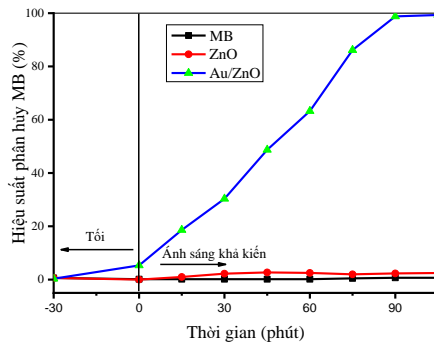


Hình 3.6. Hiệu suất kháng khuẩn của Au/ZnO – CNPs khi chiếu và không chiếu ánh sáng khả kiến (a)-Biểu đồ của *E.coli* MRSA, (b)-Biểu đồ của *E.coli* O157:H7

Rõ ràng hiệu ứng kháng khuẩn của Au/ZnO – CNPs so với hạt nano ZnO – NPs trên hai chủng vi khuẩn Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7) được tăng cường khi chiếu ánh sáng khả kiến. Với chủng *MRSA* mẫu Au/ZnO – CNPs khả năng kháng khuẩn khi không chiếu sáng yếu 9,4 % và được tăng lên 45,5 % chiếu ánh sáng từ đèn sợi đốt. Với chủng *E.coli* O157:H7, Au/ZnO – CNPs có khả năng kháng khuẩn yếu khi không chiếu sáng và được tăng cường 59,5 % khi chiếu ánh sáng khả kiến. Các gốc oxy hóa khử ROS được hình thành khi chiếu sáng bằng đèn sợi đốt là tác nhân chính tiêu diệt các tế bào mầm bệnh. Các gốc oxy hóa khử

(ROS) có thể phá hủy màng tế bào khuẩn Gram âm dễ dàng hơn so với chủng Gram dương. Để chứng minh có sự xuất hiện của các gốc oxy hóa khử (ROS) luận án khảo sát hiệu ứng quang xúc tác khi chiếu ánh sáng khả kiến thông qua sự phân hủy MB.

3.2.5. Đặc tính của hệ vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs thông qua khảo sát hiệu ứng quang xúc tác



Hình 3.6. Hiệu quả quang xúc tác phân hủy MB của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs đánh giá thông qua độ phân hủy (%): hiệu quả phân hủy MB dưới chiếu xạ ánh sáng khả kiến (đường màu đen); hiệu quả phân hủy MB dưới sự có mặt của nano ZnO - NPs (đường màu đỏ); hiệu quả phân hủy MB dưới sự có mặt của Au/ZnO - CNPs (đường màu xanh)

Hiệu quả phân hủy MB tăng vượt trội dưới sự có mặt của nano Au trong vật liệu Au/ZnO - CNPs. Có thể thấy, sau 30 phút hấp phụ trong bóng tối, chỉ một lượng nhỏ MB (khoảng 7%) bị hấp phụ lên bề mặt Au/ZnO - CNPs. Ngay sau đó là quá trình chiếu xạ ánh sáng khả kiến. Nồng độ MB bị giảm nhanh chóng thể hiện qua độ phân hủy đạt tới hơn 30% sau 30 phút chiếu xạ. Sau 60 phút chiếu xạ, hiệu quả phân hủy MB đạt tới 65% và đạt 100% chỉ sau 90 phút chiếu xạ. Hiệu quả phân hủy MB tăng đột ngột này của vật liệu tổ hợp Au/ZnO

- CNPs được giải thích bởi hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt của Au - NPs dưới tác động chiếu xạ ánh sáng khả kiến.

CHƯƠNG 4: CHẾ TẠO VÀ ĐẶC TÍNH CỦA TỔ HỢP NANO VÀNG – BẠC (Au/Ag – CNPs)

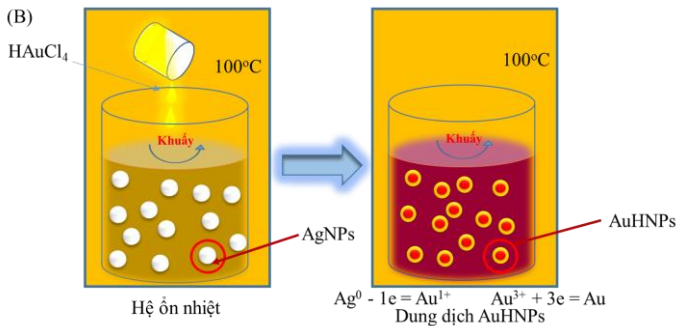
4.1. Vật liệu và phương pháp

4.1.1. Hóa chất và thiết bị

Hai thanh bạc (độ tinh khiết 99,99%) có kích thước 150 mm x 10 mm x 0,5 mm (dài x rộng x dày), được mua từ một công ty trang sức ở thành phố Hà Nội, Việt Nam và được sử dụng làm hai điện cực. Axit chloroauric 99,99% ($\text{HAuCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) và Trisodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) được mua từ Sigma–Aldrich. Tất cả các hóa chất khác sử dụng trong đề tài là loại đủ điều kiện phân tích.

4.1.2 Phương pháp thực nghiệm

a. Quy trình chế tạo Au/Ag - CNPs



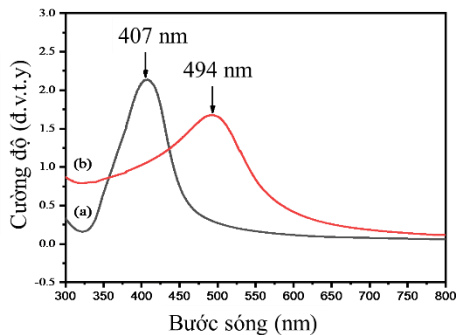
Hình 4.1. Quy trình chế tạo Au/Ag - CNPs bằng phương pháp phản ứng trao đổi galvanic từ khuôn bạc sạch chế tạo bằng phương pháp điện hóa.

b. Phân tích các đặc tính của hệ vật liệu tổ hợp Au/Ag – CNPs

Sự hình thành và đặc tính hóa lý của Au/Ag - CNPs được nghiên cứu bằng phương pháp quang phổ hấp thụ UV-vis (SP - 3000 nano, Optima), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM1010, JEOL) và nhiễu xạ tia X (XRD, EQUINOX 5000, Thermo). Hoạt tính kháng khuẩn của Au/Ag - CNPs đã được thử nghiệm trên hai chủng vi khuẩn Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7) trong điều kiện không chiếu sáng.

4.2. Kết quả và thảo luận

4.2.1. Tính chất quang của Au/Ag - CNPs

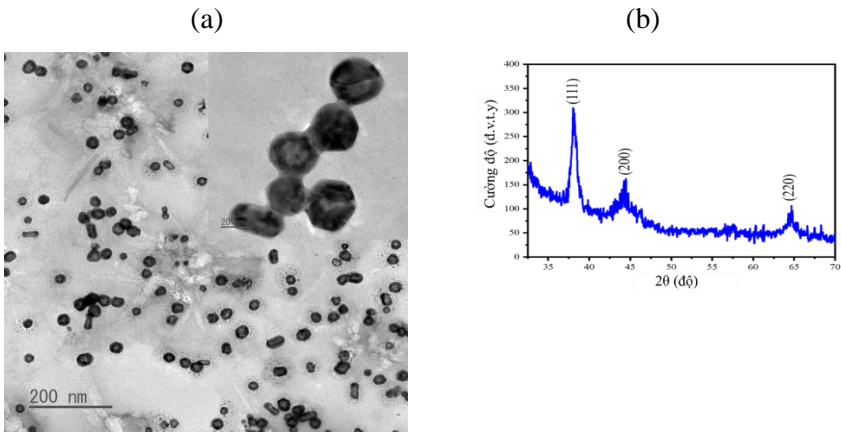


Hình 4.2. Phổ hấp thụ UV – Vis của Au/Ag -CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl₄ là 1:1 và khuôn nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa.

Hình là phổ hấp thụ UV-vis của Ag - NPs với các cực đại đặc trưng ở bước sóng tương ứng là 407 nm. Hình 4.2 là phổ hấp thụ phức hợp Ag/Au - CNPs được điều chế bằng phương pháp điện hóa. Có thể thấy rằng có đỉnh hấp thụ ở bước sóng 490 nm, đặc trưng cho Au - NPs. Rõ ràng là sự xuất hiện đỉnh hấp thụ plasmon tương ứng với hạt nano vàng và sự mất đi đỉnh hấp thụ của bạc. Như vậy, các hạt nano bạc bị mất đi thay vào đó là sự xuất hiện của các hạt nano vàng.

4.2.2. Hình thái và cấu trúc của Au/Ag – CNPs

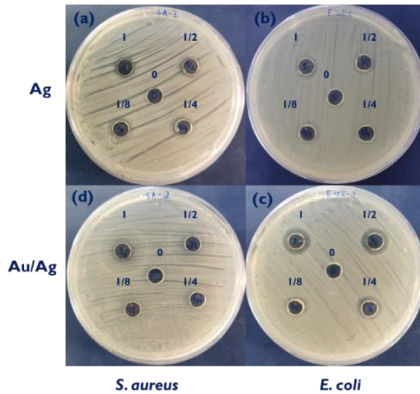
Ảnh TEM cho thấy hầu hết các hạt nano vàng có dạng hình cầu. Ngoài ra còn có một số hạt nano vàng hình que. Cụ thể, quan sát từng hạt, màu tối và sáng trên các hạt nano vàng không đồng nhất, điều này chứng tỏ các hạt nano vàng có cấu trúc rỗng. Kích thước hạt nằm trong khoảng từ 15 đến 30 nm, kích thước hạt trung bình là 23,34 nm.



Hình 4.3. Ảnh TEM và giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu Au/Ag - CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl₄ là 1:1 ở nhiệt độ 100°C (A) ảnh TEM; (B) Giản đồ nhiễu xạ tia X .

Giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của mẫu chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl₄ là 1:1 ở nhiệt độ 100°C (Hình 4.3). Kết quả cho thấy ba đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của thanh nano vàng được quan sát thấy ở $2\theta = 37,38^\circ$, $43,52^\circ$ và $63,94^\circ$ tương ứng với các họ mặt tinh thể (200); (220) và (311) tương ứng (JCPDS số 00-004-0784). Ngoài ra, giản đồ XRD không thấy xuất hiện đỉnh nhiễu xạ nào khác. Có thể nói sản phẩm không có đặc tính đỉnh nhiễu xạ của tạp chất. Như vậy, có thể nói nguyên tử bạc đã bị thay thế về mặt điện hóa bằng nguyên tử vàng và trở thành trạng thái ion hòa tan vào dung dịch.

4.2.3. Khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp vàng-bạc



Hình 4.4. Hoạt tính kháng khuẩn của các Ag - NPs và Ag/Au CNPs được xác định bằng kỹ thuật khuếch tán đĩa. Hai chủng vi khuẩn được thử nghiệm với AgNP bao gồm *S.aureus* (a), *E. coli* (b) và Ag/Au - CNPs bao gồm *E. coli* (c), *S.aureus* (d)

Hoạt tính kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/Ag đã được thử nghiệm trên hai chủng vi khuẩn Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7). Thiết kế thí nghiệm và các thông số thí nghiệm được trình bày trong phần thực nghiệm ở trên. Ở nồng độ cao, khả năng ức chế Au/Ag - CNPs của chủng *MRSA* có hiệu quả cao hơn so với *E.coli* O157:H7. Đã đánh giá được khả năng kháng khuẩn của Au/Ag - CNPs so với nano bạc nguyên chất. Au/Ag - CNPs được tăng cường so với Ag - NPs ở cả hai chủng vi khuẩn. Ngoài ra, khả năng ức chế Au/Ag - CNPs của chủng *MRSA* (MIC > 0,83 M) có hiệu quả cao hơn so với *E.coli* O157:H7 (MIC > 1,63 M). Tuy nhiên khả năng ức chế với *E. coli* O157:H7 vẫn còn ngay cả ở nồng độ thấp.

KẾT LUẬN - KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Đề tài luận án đã được thực hiện thành công so với mục tiêu đề ra, thể hiện qua một số kết quả chính như sau:

1- Chế tạo thành công nano tổ hợp vàng với hoạt chất từ thiên nhiên (vàng-curcumin: Au/Cur – CNPs) và nano tổ hợp vàng với hệ nano vô cơ (vàng - kẽm oxit: Au/ZnO – CNPs và vàng – bạc: Au/Ag – CNPs). Trong đó, Au/Cur – CNPs và Au/ZnO – CNPs được chế tạo bằng phương pháp điện hóa đơn giản, thân thiện với môi trường và không chứa chất tồn dư sau phản ứng. Au/Cur – CNPs có hai đỉnh hấp thụ UV – Vis tương ứng tại bước sóng 350 nm và 325 nm, dạng gần cầu, kích thước trung bình 13,6 nm, ổn định và phân tán tốt trong nước. Au/ZnO – CNPs có 2 đỉnh hấp thụ UV- Vis tại bước sóng 359 nm và 535 nm, cấu trúc dị thể với lớp lõi vàng kích thước trung bình 28,4 nm và lớp vỏ ZnO dày từ 7 - 9 nm. Au/Ag - CNPs được chế tạo bằng phương pháp phản ứng trao đổi galvanic sử dụng khuôn nano bạc sạch. Au/Ag – CNPs có đỉnh hấp thụ UV – Vis tại bước sóng 494 nm, dạng gần cầu với đường kính trung bình 23,3 nm.

2- Khảo sát và đánh giá được khả năng tăng cường ức chế/tiêu diệt vi khuẩn đại diện Gram âm và Gram dương gây nhiễm trùng bệnh viện đối với Au/Cur – CNPs so với curcumin nguyên chất trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt. Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính kháng khuẩn đối với chủng *MRSA* của Au/Cur – CNPs tăng cường 20% so với curcumin ở cùng nồng độ. Khi được chiếu laser ở bước sóng 532 nm trong 20 phút, hiệu ứng quang nhiệt của nano vàng đã hỗ trợ curcumin tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn *MRSA* và ức chế sự phát triển của *E.coli* O157:H7 lên tới 90%. Ngoài ra, đã đánh giá được độ

tính tế bào của Au/Cur – CNPs, kết quả cho thấy tổ hợp này không có độc tính ở nồng độ dưới 9,4 ppm.

3 – Khảo sát được khả năng ức chế/tiêu diệt vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện đối với Au/ZnO – CNPs trên cơ sở hiệu ứng quang xúc tác khi chiếu ánh sáng vùng khả kiến được tăng cường so với ZnO - NPs. Kết quả đánh giá cũng đã cho thấy khả năng kháng khuẩn của Au/ZnO – CNPs dựa trên hiệu ứng quang nhiệt yếu khi chiếu bức xạ 532 nm. Nguyên nhân có thể từ sự hình thành lớp vỏ ZnO làm giảm hiệu ứng quang nhiệt dẫn đến giảm khả năng hỗ trợ diệt khuẩn của Au/ZnO - CNPs. Tuy nhiên khả năng quang diệt khuẩn của Au/ZnO – CNPs trong vùng khả kiến tăng cường so với ZnO nguyên chất khi thử nghiệm trên cả hai chủng đại diện Gram âm và Gram dương *MRSA* và *E.coli* O157:H7 tương ứng là 59,5 % và 45,6 %. Bước đầu, cơ chế kháng khuẩn đã được giải thích thông qua thử nghiệm hiệu ứng quang xúc tác phân hủy methylen blue trong vùng ánh sáng khả kiến.

4- Khảo sát được khả năng tăng cường ức chế/tiêu diệt vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện của Ag/Au – CNPs so với Ag – NPs ngay cả khi không chiếu sáng. Dung dịch chứa Au/Ag – CNPs. Kết quả cho thấy Ag/Au – CNPs có tác dụng kháng khuẩn cao hơn hạt nano bạc ở cùng nồng độ đối với vi khuẩn Gram dương *MRSA* tăng 114,3% và vi khuẩn Gram âm *E.coli* O157:H7 40% ngay cả khi không chiếu sáng. Cụ thể, khả năng ức chế tối thiểu của Au/Ag – CNPs đối với chủng *MRSA* (MIC > 0,83 M) có hiệu quả cao hơn so với *E.coli* O157:H7 (MIC > 1,63 M).

KIẾN NGHỊ

Trong thời gian thực hiện luận án do đại dịch covid-19 và điều kiện phòng thí nghiệm còn hạn chế ảnh hưởng đến một số mục tiêu ban đầu của

đề tài. Với các kết quả đạt được, chúng tôi đề xuất những hướng tiếp theo để kết quả nghiên cứu được phát triển mức độ cao hơn:

- Khảo sát khả năng tiêu diệt mầm bệnh của các Au/Cur – CNPs; Au/ZnO – CNPs; Au/Ag - CNPs trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt dưới tác dụng của bức xạ hồng ngoại gần;
- Khảo sát độc tính tế bào/khả năng ức chế sự phát triển tế bào ung thư của các Au/ZnO – CNPs và Au/Ag – CNPs;
- Thử nghiệm khả năng mang – nhả thuốc của nano vàng chế tạo bằng phương pháp phản ứng trao đổi galvanic.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

Bài trong danh mục ISI

1. **Nguyen Xuan Quang**, Nguyen Thi Luyen, Nguyen Thi Hue, Pham Tuyet Nhung, Nguyen Tien Khi, Nguyen Thanh Thuy, Vu Dinh Lam, Anh – Tuan Le, Nguyen Thi Thu Thuy, Tran Quang Huy, “Formation and antibacterial activity of heterogeneous zinc oxide nanoparticle greenly synthesized by the electrochemical method under microwave treatment” Colloids and Surfaces A: Physicochemical and engineering Aspects, 2023. Volume 674, 5 October 2023, 131906.
2. **Nguyen Xuan Quang**, Nguyen Thi Hue, Duong Ngoc Tu, Nguyen Thi Thu Thuy, Vu Dinh Lam, Tran Quang Huy. The role of curcumin molecules electrochemically functionalized to gold nanoparticles in enhancing the antibacterial activity under green laser light irradiation and reducing the cytotoxicity, 2024 (submitted).
3. **Nguyen Xuan Quang**, Nguyen Thi Hue, Nguyen Thi Thu Thuy, Vu Dinh Lam, Tran Quang Huy . Enhanced antibacterial activity of the nano bi-metallic Au-Ag complex synthesized via the galvanic replacement, 2024 (submitted).

Bài báo tạp chí/hội nghị trong nước

1. **Xuan-Quang Nguyen**, Van-Quang Nguyen, Thu-Thuy Nguyen Thi, Dinh-Lam Vu, Quang-Huy Tran, “The photothermal effect of gold nanoparticles prepared by electrochemical method at different voltages”, HPU2.Nat.Sci.Tech, Vol. 2 No. 2, 2023.

2. **Nguyễn Xuân Quang**, Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Tiến Khí, Trần Quang Huy, “Đặc tính của nano ZnO chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở nhiệt độ phòng”, Hội nghị Vật lý Chất rắn và Khoa học Vật liệu Toàn quốc – SPMS 2021, trang 850 - 854, năm 2022.

3. **Nguyễn Xuân Quang**, Vũ Đình Lãm, Trần Quang Huy, “Đặc tính lí hóa của hạt nano vàng lai Au/ZnO chế tạo bằng phương pháp điện hóa” Hội nghị Vật lý Chất rắn và Khoa học Vật liệu Toàn quốc – SPMS 2021, trang 845 – 849, năm 2022.

Sáng chế/Giải pháp hữu ích

1. Bằng sáng chế “Phương pháp sản xuất nano vàng sạch có cấu trúc rỗng để mang thuốc”, Quyết định chấp nhận đơn 111023/QĐ – SHTT ngày 30 tháng 11 năm 2023 do Cục sở hữu trí tuệ Việt Nam cấp.

2. Giải pháp hữu ích “ Quy trình sản xuất vật liệu nano kẽm oxit dị thể có hoạt tính kháng khuẩn”, Quyết định chấp nhận đơn 111000/QĐ – SHTT ngày 30 tháng 11 năm 2023 do Cục sở hữu trí tuệ Việt Nam cấp.

3. Bằng sáng chế “ Quy trình chế tạo vật liệu nano AuNPs/Cur bằng phương pháp điện hóa”, Quyết định chấp nhận đơn 333564/QĐ – SHTT ngày 24 tháng 05 năm 2023 do Cục sở hữu trí tuệ Việt Nam cấp.

4. Bằng sáng chế “ Mô đun điện hóa ổn nhiệt và quy trình sản xuất vật liệu nano vàng từ thanh vàng khối ”, Quyết định chấp nhận đơn 128065/QĐ – SHTT ngày 29 tháng 12 năm 2023 do Cục sở hữu trí tuệ Việt Nam cấp.