

**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**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ VẬT LIỆU ĐIỆN TỬ**

**Hà Nội – Năm 2024**

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

LUẬN ÁN TIẾN SĨ VẬT LIỆU ĐIỆN TỬ

Mã số: 9 44 0123

Xác nhận của Học Viện  
Khoa học và Công nghệ

Người hướng dẫn 1  
(Ký ghi rõ họ và tên)

Người hướng dẫn 2  
(Ký ghi rõ họ và tên)

Hà Nội – Năm 2024

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài “ **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**” là công trình nghiên cứu do tôi thực hiện dưới sự giúp đỡ về mặt chuyên môn và hướng dẫn khoa học của thầy PGS. TS. Trần Quang Huy và thầy GS. TS. Vũ Đình Lãm. Các số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được tác giả khác công bố trước đây trong bất kỳ công trình nào khác. Tài liệu tham khảo được lấy nguồn từ các tạp chí khoa học, kỷ yếu, trang thông tin và sách chuyên khảo uy tín. Các trích dẫn đều được liệt kê đầy đủ trong danh mục tài liệu tham khảo của luận án.

*Hà Nội, ngày 23 tháng 7 năm 2024*

**Tác giả luận án**

**Nguyễn Xuân Quang**

## LỜI CẢM ƠN

Để có thể hoàn thành được luận án này, trước tiên tôi xin chân thành cảm ơn các thầy, cô công tác tại Học viện Khoa học Công nghệ (GUST) - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) đã tin tưởng, tạo mọi điều kiện thuận lợi và tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu tại đây.

Đặc biệt, tôi xin được tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến PGS. TS. Trần Quang Huy và GS. TS. Vũ Đình Lãm, những người thầy đã trực tiếp hướng dẫn và chỉ bảo tận tình cho tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài luận án.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành tới GS. TS. Lê Anh Tuấn - Viện trưởng, TS. Nguyễn Thị Thu Thủy, các thầy cô và anh chị em công tác tại Viện Nghiên cứu Nano- Trường Đại học Phenikaa cũng như Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương đã tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi trong quá trình làm thực nghiệm tại đây. Đặc biệt cảm ơn tới các thành viên nhóm Nghiên cứu và phát triển chế phẩm nano y sinh (nBIORD Lab.), ThS. Nguyễn Thị Huế - Giảng viên Khoa Khoa học y sinh - Trường Đại học Phenikaa, ThS. Mai Vi Cảnh, ThS. Nguyễn Thị Duyên đã nhiệt tình hỗ trợ tôi trong quá trình thực nghiệm và đo mẫu trong suốt quá trình nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn gia đình, bạn bè và các đồng nghiệp ở Trường Cao đẳng Kinh tế - Kỹ thuật Vĩnh Phúc đã luôn ủng hộ và cổ vũ để tôi hoàn thành tốt luận án của mình.

Luận án được sự hỗ trợ kinh phí từ Đề tài đề tài nghiên cứu cơ bản được Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED), mã số: 108.99-2020.08.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

*Hà Nội, ngày 23 tháng 07 năm 2024*

**Tác giả luận án**

**Nguyễn Xuân Quang**



## MỤC LỤC

|   |      |
|---|------|
| LỜI CAM ĐOAN.....   | i    |
| LỜI CẢM ƠN.....   | ii   |
| MỤC LỤC.....  | iii  |
| DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT.....   | vi   |
| DANH MỤC BẢNG BIỂU.....   | viii |
| DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ ĐỒ THỊ.....  | ix   |
| MỞ ĐẦU .....  | 1    |
| CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....  | 6    |
| 1.1. Đặc tính của nano vàng .....   | 6    |
| 1.1.1. Nano vàng: tính chất và phương pháp chế tạo.....                         | 6    |
| 1.1.2. Ứng dụng của hạt nano vàng trong y sinh. ....                            | 11   |
| 1.2. Nano tổ hợp vàng - hoạt chất từ thiên nhiên curcumin.....                  | 12   |
| 1.2.1. Hoạt chất từ thiên nhiên curcumin.....                                   | 12   |
| 1.2.2. Tình hình nghiên cứu về nano tổ hợp vàng – hoạt chất từ thiên nhiên..... | 14   |
| 1.2.3. Nano tổ hợp vàng – curcumin trong tiêu diệt mầm bệnh.....                | 15   |
| 1.3. Nano tổ hợp vàng với oxit kim loại và ứng dụng.....                        | 16   |
| 1.3.1. Nano tổ hợp vàng và oxit kẽm (Au/ZnO - CNPs).....                        | 16   |
| 1.3.2. Giới thiệu nano tổ hợp vàng – oxit kẽm (Au/ZnO - CNPs).....              | 22   |
| 1.4. Nano tổ hợp vàng - bạc (Au/Ag - CNPs) và ứng dụng .....                    | 24   |
| 1.4.1. Giới thiệu về nano bạc (Ag - NPs).....                                   | 24   |
| 1.4.2. Các phương pháp chế tạo Ag - NPs .....                                   | 27   |
| 1.4.3. Ứng dụng của nano bạc trong y sinh.....                                  | 28   |
| 1.4.4. Nano tổ hợp vàng – bạc ( Au/Ag– CNPs).....                               | 28   |
| 1.5. Một số phương pháp phân tích sử dụng trong đề tài.....                     | 31   |
| 1.5.1. Quang phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (UV- Vis) .....                      | 31   |
| 1.5.2. Nhiễu xạ tia X (XRD).....  | 32   |
| 1.5.3. Phân tích hiển vi điện tử truyền qua (TEM).....                          | 34   |
| 1.5.4. Phổ tác sắc năng lượng tia X (EDX).....                                  | 35   |
| 1.5.5. Phổ hồng ngoại biến đổi chuỗi Fourier (FTIR).....                        | 35   |
| 1.5.6. Tán xạ Raman.....  | 36   |
| 1.5.7. Đo thế bề mặt Zeta và tán xạ ánh sáng động học (DLS).....                | 37   |
| 1.5.8. Khảo sát hiệu ứng quang nhiệt.....                                       | 39   |

|   |           |
|---|-----------|
| 1.6. Kết luận Chương 1 .....  | 40        |
| <b>CHƯƠNG 2. CHẾ TẠO VÀ ĐẶC TÍNH CỦA NANO TỔ HỢP VÀNG - CURCUMIN .....</b>                            | <b>41</b> |
| 2.1. Đặt vấn đề .....   | 41        |
| 2.2. Vật liệu và phương pháp.....   | 43        |
| 2.2.1. Hóa chất thiết bị.....   | 43        |
| 2.2.2. Phương pháp thực nghiệm .....  | 43        |
| 2.3. Kết quả và thảo luận.....  | 47        |
| 2.3.1. Sự hình thành hạt và tính chất quang của vật liệu Au – NPs và Au/Cur CNPs.....                 | 47        |
| 2.3.2. Hình thái và cấu trúc của Au- NPs với Au/Cur - CNPs.....                                       | 49        |
| 2.3.3. Đặc tính của Au - NPs và tổ hợp Au/Cur – CNPs .....  | 51        |
| 2.3.4. Hiệu ứng quang nhiệt của hệ vật liệu nano tổ hợp Au/Cur – CNPs .....                           | 54        |
| 2.3.5. Hoạt tính kháng khuẩn của hệ vật liệu Au/Cur – CNPs.....                                       | 55        |
| 2.3.6. Đánh giá độc tính tế bào của hệ vật liệu Au/Cur - CNPs.....                                    | 58        |
| 2.4. Kết luận chương 2 .....  | 60        |
| <b>CHƯƠNG 3. CHẾ TẠO VÀ NGHIÊN CỨU ĐẶC TÍNH CỦA NANO TỔ HỢP VÀNG - ZnO (Au/ZnO - CNPs).....</b>       | <b>61</b> |
| 3.1. Đặt vấn đề .....   | 61        |
| 3.2. Vật liệu và phương pháp .....  | 64        |
| 3.1.1. Hóa chất và thiết bị.....  | 64        |
| 3.1.2. Phương pháp thực nghiệm .....  | 64        |
| 3.2. Kết quả và thảo luận.....  | 68        |
| 3.2.1. Chế tạo nano ZnO – NPs bằng phương pháp điện hóa có hỗ trợ vi sóng.....                        | 68        |
| 3.2.2. Khảo sát sự hình thành nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs .....   | 76        |
| 3.2.3. Hình thái và cấu trúc của Au/ZnO – CNPs .....  | 78        |
| 3.2.2. Đặc tính của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs .....   | 83        |
| 3.2.3. Hoạt tính kháng khuẩn của nano ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs .....                                | 85        |
| 3.2.4. Khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs khi chiếu ánh sáng khả kiến.....            | 87        |
| 3.2.5. Giải thích khả năng kháng khuẩn của tổ hợp Au/ZnO– CNPs thông qua hiệu ứng quang xúc tác ..... | 89        |
| 3.3. Kết luận Chương 3 .....  | 93        |
| <b>CHƯƠNG 4: CHẾ TẠO VÀ ĐẶC TÍNH CỦA NANO TỔ HỢP VÀNG – BẠC (Au/Ag - CNPs).....</b>                   | <b>94</b> |
| 4.1. Đặt vấn đề .....   | 94        |

|   |            |
|---|------------|
| <b>4.2. Vật liệu và phương pháp .....</b>   | <b>97</b>  |
| <b>4.2.1. Hóa chất và thiết bị.....</b>   | <b>97</b>  |
| <b>4.2.2 Phương pháp thực nghiệm .....</b>  | <b>97</b>  |
| <b>4.3. Kết quả và thảo luận.....</b>   | <b>100</b> |
| <b>4.3.1. Khảo sát đặc tính của vật liệu nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa.....</b> | <b>100</b> |
| <b>4.3.2. Khảo sát sự hình thành nano tổ hợp vàng – bạc (Au/Ag - CNPs).....</b>                   | <b>103</b> |
| <b>4.3.3. Hình thái và cấu trúc của nano tổ hợp Au/Ag – CNPs .....</b>                            | <b>104</b> |
| <b>4.3.4. Đặc tính của nano tổ hợp Au/Ag - CNPs .....</b>   | <b>105</b> |
| <b>4.3.5. Khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp vàng-bạc .....</b>                                 | <b>107</b> |
| <b>4.4. Kết luận Chương 4.....</b>  | <b>111</b> |
| <b>KẾT LUẬN - KIẾN NGHỊ.....</b>  | <b>112</b> |
| <b>DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ.....</b>   | <b>114</b> |
| <b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>   | <b>115</b> |

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

| TT | Kí hiệu               | Giải nghĩa  |
|----|-----------------------|---|
| 1  | Au                    | Vàng  |
| 2  | Ag                    | Bạc   |
| 3  | Ag – NPs              | Hạt nano bạc  |
| 4  | Au – NPs              | Hạt nano vàng   |
| 5  | Au/Ag – CNPs          | Nano tổ hợp vàng/bạc  |
| 6  | Au/Cur – CNPs         | Nano tổ hợp vàng/curcumin                                     |
| 7  | Au/ZnO – CNPs         | Nano tổ hợp vàng/oxít kẽm                                     |
| 8  | Cur                   | Curcumin  |
| 9  | DC                    | Nguồn điện một chiều  |
| 10 | DLS                   | Tán xạ ánh sáng động học                                      |
| 11 | DMEM                  | Môi trường nuôi cấy tế bào (Dullecco's Modified Eagle Medium) |
| 12 | DNA                   | deoxyribonucleic axít   |
| 13 | <i>E.coli</i> O157:H7 | Vi khuẩn <i>E.coli</i> O157:H7 gây viêm đường ruột            |
| 14 | EDX                   | Tán xạ năng lượng tia X                                       |
| 15 | FBS                   | Huyết thanh bào thai bò                                       |
| 16 | FTIR                  | Phổ hấp thụ hồng ngoại biến đổi chuỗi Fourier                 |
| 17 | HCT – 116             | Tế bào ung thư ruột kết ở người                               |
| 18 | MA – 104              | Tế bào biểu mô thận khỉ xanh châu Phi                         |
| 19 | MB                    | Methylene blue  |
| 20 | MBC                   | Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu                                  |
| 21 | MCF – 7               | Tế bào ung thư vú ở người                                     |
| 22 | MDR                   | Kháng đa thuốc  |
| 23 | MDR-TB                | Vi khuẩn lao đa kháng thuốc                                   |
| 24 | MIC                   | Nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu                             |
| 25 | MRSA                  | Vi khuẩn tụ cầu vàng kháng methicilline                       |
| 26 | NIR                   | Bức xạ hồng ngoại gần   |
| 27 | PC3                   | Tế bào ung thư tuyến tiền liệt ở người                        |
| 28 | PDI                   | Chỉ số đơn phân tán   |

|    |           |   |
|----|-----------|---|
| 29 | PL        | Quang phổ huỳnh quang                         |
| 30 | ROS       | Gốc oxy hóa tự do                             |
| 31 | SEM       | Hiển vi điện tử quét                          |
| 32 | TEM       | Hiển vi điện tử truyền qua                    |
| 33 | UV        | Bức xạ tử ngoại                               |
| 34 | UV-Vis    | Tử ngoại khả kiến                             |
| 35 | VRE       | Vi khuẩn <i>Enterococcus</i> kháng vancomycin |
| 36 | XRD       | Nhiều xạ tia X                                |
| 37 | ZnO       | Oxít kẽm                                      |
| 38 | ZnO – NPs | Hạt nano oxít kẽm                             |

## DANH MỤC BẢNG BIỂU

|   |     |
|---|-----|
| <i>Bảng 1.1.</i> Độ ổn định của dung dịch chứa hạt nano phụ thuộc vào thể bề mặt .....  | 38  |
| <i>Bảng 2.1.</i> Các thông số thí nghiệm kháng khuẩn của các nano tổ hợp Au – NPs và Au/Cur – CNPs.....   | 46  |
| <i>Bảng 3.1.</i> Một số nghiên cứu về nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs trong các năm gần đây .....   | 62  |
| <i>Bảng 3.2.</i> Các thông số thí nghiệm kháng khuẩn của dung dịch chứa Au – NPs, ZnO - NPs và Au/ZnO – CNPs.....                                       | 66  |
| <i>Bảng 3.3.</i> Các thông số thí nghiệm quang kháng khuẩn của Au – NPs, ZnO - NPs và Au/ZnO– CNPs trong vùng khả kiến.....                             | 67  |
| <i>Bảng 3.4.</i> Định hấp thụ UV-Vis của các mẫu xử lý vi sóng theo thời gian.....  | 70  |
| <i>Bảng 3.5.</i> Độ bán rộng và kích thước tinh thể trung bình của nano ZnO - NPs trong các điều kiện vi sóng khác nhau.....                            | 73  |
| <i>Bảng 3.6.</i> Thế Zeta của dung dịch chứa ZnO - NPs trước và sau vi sóng ở thời gian khác nhau.....  | 76  |
| <i>Bảng 4.1.</i> Một số nghiên cứu mới về nano tổ hợp Au/Ag – CNPs trong những năm gần đây.....   | 95  |
| <i>Bảng 4.2.</i> Các thông số chế tạo mẫu nano tổ hợp Au/Ag – CNPs bằng phương pháp phản ứng trao đổi Galvanic và thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn..... | 100 |
| <i>Bảng 4.3.</i> Đường kính ức chế vi khuẩn với nồng độ Ag - NPs và nano tổ hợp Ag/Au - CNPs khác nhau.....   | 108 |

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ ĐỒ THỊ

|  |    |
|--|----|
| <i>Hình 1.1.</i> Cấu trúc lập phương tâm mặt tinh thể Au.....  | 6  |
| <i>Hình 1.2.</i> Màu sắc của dung dịch chứa nano vàng phụ thuộc vào kích thước.....  | 7  |
| <i>Hình 1.3.</i> Dao động plasmon xảy ra với các hạt nano kim loại hình cầu.....   | 8  |
| <i>Hình 1.4.</i> Sơ đồ các phương pháp chế tạo nano vàng (Au- NPs).....  | 11 |
| <i>Hình 1.5.</i> Một số ứng dụng hiệu ứng quang nhiệt của nano Au - NPs trong y sinh..   | 12 |
| <i>Hình 1.6.</i> Hình ảnh các bộ phận của cây nghệ; phân tử Curcumin.....  | 13 |
| <i>Hình 1.7.</i> Nano tổ hợp vàng và các ứng dụng y sinh tiềm năng.....  | 14 |
| <i>Hình 1.8.</i> Bột oxit kẽm.....   | 17 |
| <i>Hình 1.9.</i> Các cấu trúc tinh thể ZnO: (a) Rocksalt; (b) Zins Blende; (c) Wurtzite.....                                     | 17 |
| <i>Hình 1.10.</i> Phổ huỳnh quang của nano ZnO – NPs.....  | 18 |
| <i>Hình 1.11.</i> Cơ chế quang xúc tác của ZnO – NPs.....  | 19 |
| <i>Hình 1.12.</i> Cơ chế kháng khuẩn của nano ZnO - NPs trong nước.....  | 20 |
| <i>Hình 1.13.</i> Sơ đồ chế tạo ZnO – NPs bằng phương pháp điện hóa trong các dung môi khác nhau.....                            | 21 |
| <i>Hình 1.14.</i> Phổ hấp thụ và dung dịch chứa nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở nồng độ citrate khác nhau..... | 25 |
| <i>Hình 1.15.</i> Các cơ chế tiêu diệt tế bào mầm bệnh của AgNPs.....  | 26 |
| <i>Hình 1.16.</i> Phổ hấp thụ UV – Vis của (a) Ag - NPs ; (b) Ag/Au - CNPs 1:3 ; (c) Au ; (d) Ag/Au – CNPs.....                  | 29 |
| <i>Hình 1.17.</i> Cơ chế hình thành hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs bằng phương pháp phản ứng trao đổi Galvanic.....                | 30 |
| <i>Hình 1.18.</i> Sơ đồ nguyên lý đo UV – Vis hai chùm tia.....  | 32 |
| <i>Hình 1.19.</i> Hiện tượng nhiễu xạ trên các mặt tinh thể chất rắn.....  | 33 |
| <i>Hình 1.20.</i> Sơ đồ khối của kính hiển vi điện tử truyền qua.....  | 34 |
| <i>Hình 1.21.</i> Sơ đồ phát xạ huỳnh quang tia X (EDX).....   | 35 |
| <i>Hình 1.22.</i> Tán xạ Raman thu được khi kích thích phân tử bằng laser.....   | 37 |

|  |    |
|--|----|
| <i>Hình 1.23.</i> Cơ chế hình thành thể Zeta của hạt nano trong dung dịch.....   | 38 |
| <i>Hình 1.24.</i> Hiệu ứng quang nhiệt của hạt nano Au – NPs.....  | 39 |
| <i>Hình 1.25.</i> Sơ đồ thí nghiệm khảo sát hiệu ứng quang nhiệt của dung dịch chứa hạt nano Au – NPs.....   | 40 |
| <i>Hình 2.1.</i> Quy trình chế tạo nano vàng từ hai thanh vàng dạng khối bằng phương pháp điện hóa.....  | 43 |
| <i>Hình 2.2.</i> Quy trình chế tạo nano tổ hợp vàng - curcumin bằng phương pháp điện hóa .....   | 44 |
| <i>Hình 2.3.</i> Phổ hấp thụ UV-Vis: curcumin (a); Au - NPs (b); và Au/Cur - CNPs (c)..  | 48 |
| <i>Hình 2.4.</i> Ảnh TEM của các mẫu (a) Au - NPs; (b) nano tổ hợp Au/Cur – CNPs; Phân bố kích thước hạt (c) Au – NPs; (d) Au/Cur – CNPs.....  | 50 |
| <i>Hình 2.5.</i> Giảm đồ nhiễu xạ tia X của (a) Curcumin (b) Au - NPs; (c) nano tổ hợp Au/Cur – CNPs.....  | 51 |
| <i>Hình 2.6.</i> Phổ FTIR của curcumin (a) và nano tổ hợp Au/Cur - CNPs (b).....   | 52 |
| <i>Hình 2.7.</i> DLS (a); thể Zeta của nano Au – NPs và nano tổ hợp Au/Cur – CNPs (b) .....  | 53 |
| <i>Hình 2.8.</i> Sự tăng của nhiệt độ dung dịch theo thời gian chiếu laze có bước sóng 532 nm đối với dung dịch nước muối sinh lí 0,9%; nano Au - NPs và dung dịch chứa nano tổ hợp Au/Cur – CNPs..... | 54 |
| <i>Hình 2.9.</i> Đĩa petri: (a) -Đối chứng (-), (b) - Đối chứng (+), (c) - AuNPs, (d) - Au/Cur - CNPs và (e) - <i>Biểu đồ của MRSA</i> .....   | 56 |
| <i>Hình 2.10.</i> Đĩa petri: (a) - Đối chứng (-), (b) - Đối chứng (+), (c) - Au - NPs, (d) - nano tổ hợp Au/Cur - CNPs và (e) - <i>Biểu đồ của E. coli O157:H7</i> .....                               | 56 |
| <i>Hình 2.11.</i> Cơ chế đề xuất kháng khuẩn của Au/Cur – CNPs khi chiếu ánh sáng bước sóng 532 nm.....  | 57 |
| <i>Hình 2.12.</i> Độc tính của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs với tế bào MA – 104 theo nồng độ và thời gian.....  | 59 |



- Hình 2.13.* Hình ảnh tế bào MA104 với nano tổ hợp 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).....59
- Hình 3.1.* Quy trình chế tạo hạt nano ZnO - NPs bằng phương pháp điện hóa có hỗ trợ vi sóng.....65
- Hình 3.2.* Chế tạo nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs bằng phương pháp điện hóa từ hai thanh vàng dạng khối.....65
- Hình 3.3.* Mẫu ZnO - NPs thời gian vi sóng khác nhau.....68
- Hình 3.4.* Phổ hấp thụ UV - Vis của dung dịch chứa ZnO – NPs không vi sóng và xử lý vi sóng theo thời gian khác nhau 1, 5, 10 phút.....69
- Hình 3.5.* Ảnh TEM của mẫu nano ZnO - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa hỗ trợ xử lý vi sóng theo thời gian khác nhau:(a) 0 phút; (b) 1 phút; (c) 5 phút; (d) 10 phút; phân bố kích thước hạt :(e) 0 vi sóng; (f) 1 phút; (g) 5 phút; (h) 10 phút.....71
- Hình 3.6.* Giảm nhiễu xạ tia X (XRD) của mẫu nano ZnO xử lý vi sóng theo thời gian khác nhau:(a) không vi sóng; (b) 1 phút; (c) 5 phút; (d) 10 phút.....73
- Hình 3.7.* Cơ chế hình thành nano ZnO - NPs bằng phương pháp điện hóa có sự hỗ trợ vi sóng theo thời gian vi sóng.....74
- Hình 3.8.* Thế bề mặt Zeta của các dung dịch chứa ZnO - NPs không vi sóng và vi sóng thời gian khác nhau 1 phút, 5 phút, 10 phút.....75
- Hình 3.9.* Phổ hấp thụ UV - Vis (a) Au - NPs, ZnO - NPs và nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điện áp 9 V và 5h; (b) nano tổ hợp 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.....78
- Hình 3.10.* Ảnh TEM (a) ZnO - NPs; (b) Au - NPs; (c), (d) nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở 9V thời gian điện hóa 5h.....79
- Hình 3.11.* Phân bố kích thước hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng.....79
- Hình 3.12.* Giảm nhiễu xạ tia X (XRD) của nano tổ hợp Au/Zn – CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa.....81
- Hình 3.13.* Cơ chế đề xuất sự hình thành hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs bằng phương pháp điện hóa.....82

- Hình 3.14.* Phổ phát xạ huỳnh quang PL của ZnO - NPs và Au/ZnO – CNPs.....83
- Hình 3.15.* Xác định năng lượng vùng cấm của các mẫu (a) ZnO - NPs ; (b) Au/ZnO - CNPs .....84
- Hình 3.16.* Sự phụ thuộc nhiệt độ dung dịch nước muối sinh lí, Au - NPs, nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs vào thời gian chiếu ánh sáng 532 nm.....85
- Hình 3.17.* Hình ảnh đĩa petri của các mẫu: (a) - nano ZnO - NPs và (b)- nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs.....86
- Hình 3.18.* Đĩa petri: (a) - kiểm chứng (-); (b) - kiểm chứng (+); (c) - ZnO– NPs không chiếu sáng; (d) - nano ZnO – NPs có chiếu sáng; (e) tổ hợp Au/ZnO – CNPs không chiếu sáng; (f) tổ hợp Au/ZnO – CNPs có chiếu sáng và (g)- Biểu đồ biểu diễn số khuẩn lạc MRSA theo từng vật liệu.....87
- Hình 3.19.* Đĩa petri: (a) - kiểm chứng (-); (b) - kiểm chứng (+); (c) – ZnO – NPs không chiếu sáng; (d) - nano ZnO – NPs có chiếu sáng; (e) tổ hợp Au/ZnO – CNPs không chiếu sáng; (f) tổ hợp Au/ZnO – CNPs có chiếu sáng và (g) - Biểu đồ của E.coli O157:H7.....88
- Hình 3.20.* Hiệu quả quang xúc tác phân hủy MB của vật liệu nano 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 vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs (đường màu xanh).....90
- Hình 3.21.* Cơ chế đề xuất hoạt tính quang diệt khuẩn và phân hủy MB của vật liệu nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs.....91
- Hình 3.22.* Phổ UV-Vis theo dõi quá trình phân hủy MB của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs thông qua sự suy giảm đỉnh hấp phụ tại vị trí 664 nm tại nồng độ 10 ppm (a), 15 ppm (b), 20 ppm (c) và hiệu quả phân hủy MB tại các nồng độ 10, 15 và 20 ppm của vật liệu tổ hợp Au/ZnO – CNPs (d).....92
- Hình 4.1.* Quy trình chế tạo Ag - NPs bằng phương pháp điện hóa từ hai thanh bạc dạng khối ở điều kiện nhiệt độ phòng.....97
- Hình 4.2.* Quy trình chế tạo nano tổ hợp Au/Ag - CNPs bằng phương pháp phản ứng trao đổi galvanic từ khuôn bạc sạch chế tạo bằng phương pháp điện hóa.....98

- Hình 4.3.* Phổ hấp thụ UV – Vis của dung dịch chứa nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điện áp 9V.....101
- Hình 4.4.* (a) ảnh TEM của nano Ag - NPs; (b) Biểu đồ phân bố kích thước hạt của nano Ag – NPs.....101
- Hình 4.5.* Phổ EDX của mẫu nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa..102
- Hình 4.6.* Phổ hấp thụ UV – Vis của dung dịch chứa Au/Ag - CNPs (a) Theo tỷ lệ mol Ag:H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> khác nhau từ 1:1 đến 1:3; (b) Theo nhiệt độ trong quá trình phản ứng từ 50°C đến 100°C.....103
- Hình 4.7.* Ảnh TEM của nano tổ hợp Au/Ag - CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> với tỷ lệ khác nhau (a) 1:1; (b) 1:2; (c) 1:3.....104
- Hình 4.8.* Phổ hấp thụ UV – Vis của nano tổ hợp Au/Ag chế tạo với tỷ lệ Ag:H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> là 1:1 và khuôn nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa.....105
- Hình 4.9.* Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của mẫu nano tổ hợp Au/Ag - CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> là 1:1 ở nhiệt độ 100°C (a) ảnh TEM; (b) phân bố kích thước hạt.....106
- Hình 4.10.* Biểu đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của nano tổ hợp Au/Ag – CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> là 1:1 ở nhiệt độ 100°C.....107
- Hình 4.11.* 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 Ag - NPs bao gồm MRSA (a), *E.coli* O157:H7 (b) và Ag/Au - CNPs bao gồm *E.coli* O157:H7 (c), MRSA (d).....108
- Hình 4.12.* Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của Ag - NPs và Au/Ag - CNPs với hai chủng vi khuẩn khác nhau là MRSA (Hình 4.12a), *E.coli* O157:H7 (Hình 4.12b)..110

## 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 [1]. Thông thường, khi người bệnh mắc các bệnh truyền nhiễm sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho những vi khuẩn cơ hội gây bệnh, từ đó gây ra hiện tượng bội nhiễm. Bên cạnh đó, các chất kháng sinh sử dụng thiếu kiểm soát trong y tế cũng như nông nghiệp, làm xuất hiện các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh hoặc kháng đa thuốc. Vì vậy, người bệnh nhiễm phải các chủng vi khuẩn này gặp nhiều khó khăn trong điều trị. Hiện nay, trong hầu hết các bệnh viện sự xuất hiện của những chủng vi khuẩn kháng kháng sinh hay kháng đa thuốc (MDR) đã được ghi nhận 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) [2]... Trong số đó, nhiều chủng vi khuẩn kháng cả với những thuốc kháng sinh thế hệ mới nhất [3]. 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 [4]. 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, vật liệu khi ở kích thước nano 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...) [5], nano kẽm oxit (hoạt tính kháng khuẩn, chống tia cực tím...) [6], nano kim titan oxit (hoạt tính kháng khuẩn, chống tia cực tím...), nano vàng (dẫn thuốc, tương thích sinh học, hiệu ứng quang nhiệt...) [7], nano titan (vật liệu cấy ghép, tương thích sinh học...) [8]. Gần đây, nhiều nghiên cứu về các hệ vật liệu nano tổ hợp giữa hai kim loại [9], kim loại-oxit kim loại [10], kim loại/oxit kim loại – phân tử thuốc/hoạt chất từ thiên nhiên [11] 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 [12]. 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 [13][14]. 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 [15]. 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 [16]. Gần đây, một số nhóm nghiên cứu cũng đã quan tâm nghiên cứu sự kết hợp giữa nano vàng với các hoạt chất khác như: phân tử thuốc hay hoạt chất từ thiên nhiên (ví dụ: curcumin, berberin...) [17][18]; kim loại có hoạt tính sinh học (ví dụ: Ag, Cu...) [19] hay oxit kim loại có hoạt tính sinh học (ví dụ: ZnO, TiO<sub>2</sub>...) [6] 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. Các hạt nano vàng khi được chiếu chùm laser có bước sóng thích hợp vào 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, việc 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, thách thức trước tiên là 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, các nghiên cứu cần 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 được các nhóm nghiên cứu công bố trong và ngoài nước trong những năm gần đây, kế thừa 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 [19][20][21]. Nghiên cứu được đề xuất nhằm chế tạo ra nano tổ hợp vàng với một trong những tác nhân kháng khuẩn đã biết (trong luận 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, nguồn 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.

### **Mục tiêu của đề tài:**

- Chế tạo thành công các hệ vật liệu tổ hợp giữa nano vàng với chiết xuất từ thiên nhiên (curcumin) và với nano vô cơ (oxit kẽm, bạc) có độ sạch cao để ứng dụng trong y sinh học.

- Khảo sát và đánh giá được một số tính chất lý hóa đặc trưng và hoạt tính sinh học của các nano tổ hợp vàng chế tạo được trong việc ức chế/tiêu diệt chủng vi khuẩn đại diện Gram âm và Gram dương gây nhiễm trùng bệnh viện (*E.coli* O157:H7 và *MRSA*).

### **Phương pháp nghiên cứu:**

Luận án được thực hiện bằng phương pháp thực nghiệm tại Viện Nghiên cứu Nano của Trường Đại học Phenikaa và Viện Khoa học vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Việc chế tạo các nano tổ hợp vàng – curcumin, vàng – oxit kẽm, vàng – bạc và khảo sát các đặc tính quang, hoạt tính kháng khuẩn được thực hiện trên các thiết bị phân tích hiện đại tại phòng thí nghiệm của các cơ sở nghiên cứu uy tín trong nước.

### **Cấu trúc luận án:**

#### **Mở đầu**

#### **Chương 1: Tổng quan**

Giới thiệu chung về vật liệu nano vàng, các hệ vật liệu nano tổ hợp vàng – curcumin (Au/Cur - CNPs); vàng – oxit kẽm (Au/ZnO - CNPs); vàng – bạc (Au/Ag - CNPs) và đặc điểm nổi bật của các hệ nano tổ hợp này. Trình bày các phương pháp chế tạo các tổ hợp, đồng thời nêu nên những ứng dụng của chúng trong y sinh học; các phương pháp khảo sát đặc trưng của các vật liệu nano tổ hợp của vàng.

#### **Chương 2: Chế tạo và đặc tính của nano tổ hợp vàng – curcumin.**

Trình bày quy trình chế tạo vật liệu nano tổ hợp vàng – curcumin bằng phương pháp điện hóa và khảo sát đặc tính quang và hình thái cấu trúc của nano tổ hợp vàng – curcumin.

Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn trên mô hình chủng vi khuẩn nhiễm trùng bệnh viện *E.coli* O157:H7 và *MRSA* của nano tổ hợp vàng – curcumin trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt.

Đánh giá độc tính tế bào của nano tổ hợp vàng – curcumin trên tế bào MA 104.

### **Chương 3: Chế tạo và đặc tính nano tổ hợp vàng – oxít kẽm.**

Trình bày quy trình chế tạo nano tổ hợp vàng – oxít kẽm (Au/ZnO– CNPs) và khảo sát các đặc tính và hiệu ứng quang nhiệt của Au/ZnO– CNPs.

Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO– CNPs trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt khi chiếu ánh sáng bước sóng xanh (532 nm) và hiệu ứng quang xúc tác (trong vùng khả kiến) trên hai chủng vi khuẩn *E.coli* O157:H7 và *MRSA*. Giải thích cơ chế kháng khuẩn của tổ hợp Au/ZnO–CNPs thông qua kiểm tra khả năng quang xúc tác của nano tổ hợp này để phân hủy methylene blue (MB) trong vùng khả kiến.

### **Chương 4: Chế tạo và đặc tính nano tổ hợp vàng - bạc.**

Trình bày quy trình chế tạo nano tổ hợp vàng – bạc (Au/Ag - CNPs) và khảo sát tính đặc tính của vật liệu nano tổ hợp Au/Ag - CNPs.

Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn của vật liệu nano tổ hợp Au/Ag – CNPs với hai chủng vi khuẩn *E.coli* O157:H7 và *MRSA*.

### **Kết luận chung và kiến nghị.**

Tóm tắt những kết quả nổi bật mà luận án đã đạt được. Những kiến nghị của luận án.



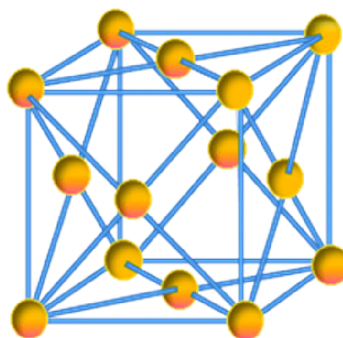
## CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

### 1.1. Đặc tính của nano vàng

#### 1.1.1. Nano vàng: tính chất và phương pháp chế tạo

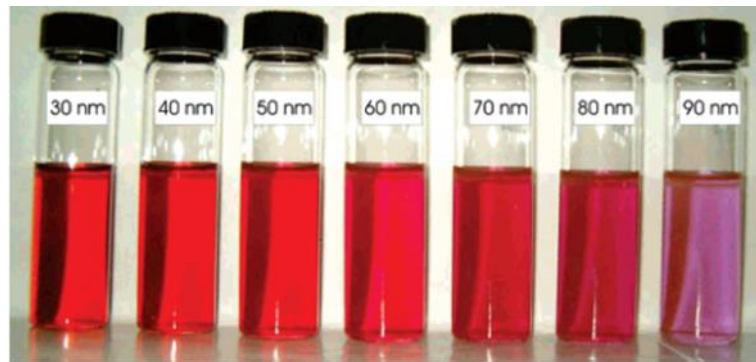
##### a. Giới thiệu về nano vàng

Trong đề tài luận án này, nano vàng là đối tượng chính, đóng vai trò làm chất mang trong các cấu trúc tổ hợp. Trên thực tế, cấu trúc nano kim loại quý như bạc (Ag) hay vàng (Au)... đã thu hút sự chú ý rất lớn từ các nhà khoa học do những đặc tính độc đáo của chúng như sự linh động, hiệu ứng giam giữ lượng tử, tỷ lệ diện tích bề mặt/thể tích lớn và có khả năng dẫn thuốc hay ức chế tác nhân gây bệnh [22][23]. Vật liệu nano kim loại quý là chìa khóa mở ra nhiều hướng nghiên cứu mới trong ứng dụng vật liệu nano y sinh. Trong số đó, nano vàng là chủ đề nghiên cứu hấp dẫn với nhiều nhóm nghiên cứu trong nước cũng như trên thế giới [16][24][25][26]. Vàng (Au) là nguyên tố kim loại quý đứng vị trí thứ 79 trong bảng tuần hoàn các nguyên tố hóa học. Nguyên tử vàng có các cấu hình điện tử như sau: Xe  $5d^{10}6s$  và Xe  $5d^96s^1$ . Nguyên tử vàng có 2 mức năng lượng 5d và 6s xấp xỉ nhau, vì vậy các điện tử có thể dịch chuyển được trong cả hai mức năng lượng này. Do đó các điện tử của vàng rất linh động, dẫn đến vàng có tính dẻo dai và đặc biệt khả năng dẫn điện, dẫn nhiệt tốt. Ở dạng khối, vàng có màu vàng ánh kim, độ dẫn nhiệt (350 W/m.K), điện trở suất ( $2,2 \cdot 10^{-8} \Omega \cdot m$ ), nhiệt độ nóng chảy  $1.063,4^\circ C$  và nhiệt độ sôi là  $2.880,0^\circ C$ . Vàng trơ trong không khí khô và ẩm, vàng cũng như nano vàng rất ổn định ở nhiệt độ thường. Vàng có cấu trúc tinh thể dạng lập phương tâm mặt (hằng số mạng là  $a = 4,0786 \text{ \AA}$ ) (Hình 1.1), mỗi nguyên tử Au liên kết với 12 nguyên tử Au xung quanh [27].



Hình 1.1. Cấu trúc lập phương tâm mặt tinh thể Au [27].

Hạt vàng ở kích thước nano, bộc lộ những đặc tính khác biệt so với vàng ở dạng khối về độ dẫn điện, dẫn nhiệt, độ phản quang và tương thích với các phân tử sinh học [12]. Trong đó, sự khác nhau đáng kể có thể quan sát bằng mắt thường giữa nano vàng và kim loại vàng dạng khối là sự thay đổi màu sắc của chúng, cụ thể là sẽ chuyển từ màu vàng của vật liệu dạng khối sang màu đỏ đến tím của nano vàng. Màu sắc thay đổi như vậy là do hiệu ứng plasmon bề mặt của hạt nano vàng tạo ra [28]. Hơn nữa, hạt nano vàng khi được chiếu ánh sáng thích hợp sẽ sinh nhiệt cục bộ (hay còn gọi là hiệu ứng quang nhiệt) [29]. Nhờ những đặc tính này, nano vàng đã được nghiên cứu ứng dụng rộng rãi trong y sinh như cảm biến sinh học [12], tạo ảnh sinh học [30], liệu pháp điều trị và dẫn thuốc [31][32][33].



Hình 1.2. Màu sắc của dung dịch chứa nano vàng phụ thuộc vào kích thước [28].

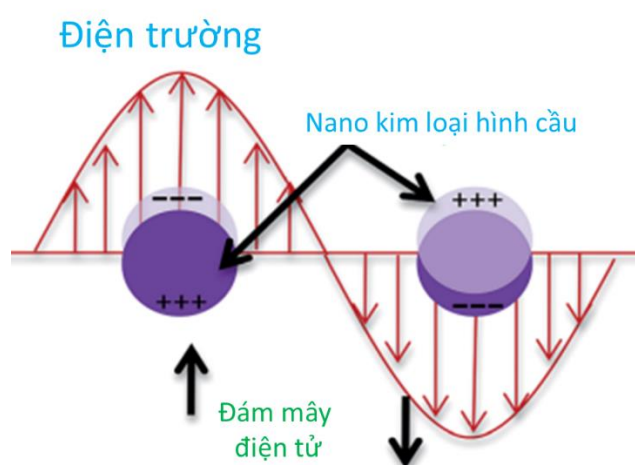
*b. Tính chất của vật liệu nano vàng.*

- *Hiệu ứng plasmon bề mặt.*

Giống như các hạt nano kim loại khác, tính chất quang đặc trưng của nano vàng là hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt (surface plasmon resonance: SPR) [34].

Hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt được giải thích là do điện trường dao động vuông góc với phương truyền của sóng điện từ chiếu tới tác động lên các electron tự do trên bề mặt các hạt nano kim loại, làm electron tự do tập trung về một phía của hạt nano kim loại hình thành sự phân cực (Hình 1.3) [34]. Dưới tác dụng của lực tĩnh điện Coulomb giữa hạt nhân và đám mây điện tử (vai trò lực hồi phục) làm cho các electron có xu hướng trở lại vị trí ban đầu. Do ánh sáng có bản chất sóng điện từ, nên khi ánh sáng chiếu vào hạt nano, điện trường dao động làm cho sự phân cực này dao động cưỡng bức theo. Dao động

cường bức này được gọi là plasmon. Khi tần số dao động của đám mây electron trùng với tần số của một bức xạ điện từ nào đó, sẽ gây ra sự dao động hàng loạt của các electron tự do theo điện từ trường ngoài, hiện tượng này gọi là cộng hưởng plasmon bề mặt. Với kim loại dạng khối dao động này tắt dần do va chạm với các nút mạng trong tinh thể khiến các electron tự do mất dần năng lượng. Tuy nhiên, khi kích thước của mỗi vật liệu nano kim loại nào đó nhỏ hơn bước sóng của bức xạ tới, hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt sẽ xuất hiện, tần số ánh sáng chiếu tới cộng hưởng với tần số dao động của các điện tử tự do ở bề mặt. Đối với hạt nano vàng, dao động cộng hưởng plasmon dẫn tới sự hấp thụ mạnh của ánh sáng vùng khả kiến với bước sóng nằm trong khoảng 520 nm đến 550. Hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt này phụ thuộc mạnh vào kích thước, hình dạng và môi trường bao quanh chúng. Sự hấp thụ và tán xạ ánh sáng của hạt nano vàng dẫn tới sự thay đổi màu sắc từ màu vàng của vàng dạng khối sang màu đỏ của dung dịch kích thước nano. Bước sóng ánh sáng tương ứng đỉnh hấp thụ plasmon của nano vàng phụ thuộc vào kích thước dẫn đến sự thay đổi màu sắc dung dịch chứa nano vàng ở kích thước khác nhau [28] (Hình 1.2).



Hình 1.3. Dao động plasmon xảy ra với các hạt nano kim loại hình cầu [34].

- *Hiệu ứng quang nhiệt.*

Một trong các tính chất quan trọng của hạt nano vàng dựa trên hiệu ứng plasmon bề mặt là hiệu ứng quang nhiệt. Hiệu ứng quang nhiệt của nano vàng là quá trình hấp thụ ánh sáng trong vùng khả kiến hoặc vùng hồng ngoại gần (NIR) chuyển hóa thành nhiệt năng tỏa ra môi trường xung quanh. Đây là một trong những đặc tính quý báu của các hạt nano vàng dựa trên hiệu ứng plasmon

bề mặt cục bộ của chúng. Cộng hưởng plasmon bề mặt cục bộ (LSPR) xuất hiện khi có kích thích quang hoặc điện tử ở tần số sóng điện từ chiếu tới phù hợp, bằng với tần số dao động riêng của các điện tử bề mặt các hạt nano vàng. Kích thích này gây ra sự không đồng nhất trong mật độ điện tử của mỗi vật dẫn hình thành điện trường cục bộ và có xu hướng tạo ra sự cân bằng điện tích. Các điện tử tăng tốc qua trường này có thể nhận đủ năng lượng để gây ra dao động của các điện tử bên trong các hạt nano kim loại dẫn đến nhiệt độ tăng. Đối với các hạt nano có các đặc tính quang nhiệt, hiệu suất gia nhiệt quang nhiệt ( $\eta$ ) trong dung dịch có thể tính toán từ khảo sát thực nghiệm bằng công thức sau:

$$\eta = \frac{hS(T_{\max} - T_{\text{surr}}) - Q_{\text{Dis}}}{I(1 - 10^{-A_\lambda})} \quad (1.1)$$

trong đó: ( $hS$ ) là hệ số truyền nhiệt từ dung dịch ra môi trường, ( $S$ ) là diện tích bề mặt của dung dịch, ( $T_{\max}$ ) là nhiệt độ ổn định, ( $T_{\text{surr}}$ ) là nhiệt độ môi trường xung quanh, ( $Q_{\text{Dis}}$ ) là nhiệt tỏa ra từ sự hấp thụ bởi dung môi khi bị chiếu sáng có thể được xác định bằng cách thực hiện phép đo trong trường hợp không có vật liệu nano, ( $I$ ) là cường độ của ánh sáng tới ( $\text{W}/\text{cm}^2$ ), và ( $A_\lambda$ ) là độ hấp thụ tại một số bước sóng của ánh sáng tới. Giá trị của ( $hS$ ) có thể được tính toán từ công thức sau:

$$hS = \frac{m_D C_D}{\tau_s} \quad (1.2)$$

Trong đó ( $m_D$ ) là tổng khối lượng của các hạt nano và dung môi; ( $C_D$ ) là nhiệt dung của hệ; và ( $\tau_s$ ) là hằng số thời gian có thể tính từ công thức:

$$\tau_s = -\frac{1}{\ln(\theta)} \quad (1.3)$$

$$\theta = \frac{T - T_{\text{surr}}}{T_{\max} - T_{\text{surr}}} \quad (1.4)$$

Trong đó ( $\theta$ ) là một tham số không thứ nguyên được tính toán từ đồ thị phụ thuộc nhiệt độ ( $T$ ) theo thời gian ( $t$ ) làm lạnh của hệ (sau khi chiếu xạ), tại đó  $t = 0$  khi bắt đầu làm lạnh.

- *Hoạt tính sinh học.*

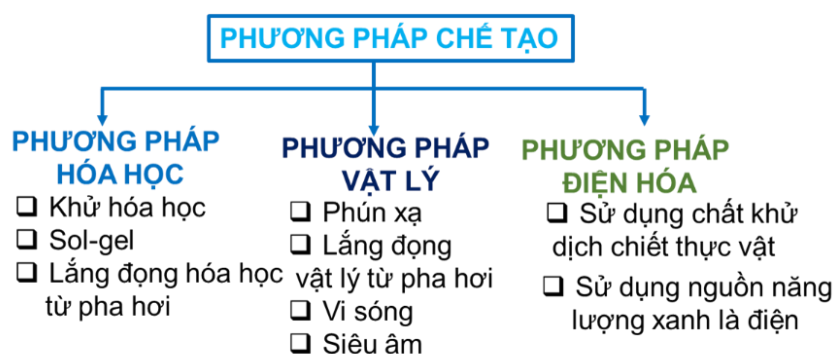
Một số nghiên cứu đã chỉ ra hạt nano vàng nguyên chất hầu như không có hoạt tính kháng khuẩn, chỉ có tác dụng yếu khi thử nghiệm ở nồng độ cao [35]. Tuy nhiên, các nghiên cứu khác lại cho rằng hoạt tính kháng khuẩn của nano vàng là do tạp chất hoặc các ion chất phản ứng còn tồn dư trong dung dịch sau khi chế tạo [35][36]. Mặc dù vậy, các hạt nano vàng khi được chiếu ánh sáng thích hợp (bước sóng 808 nm) vẫn có khả năng kháng một số loại vi khuẩn đường ruột. Thử nghiệm hiệu ứng quang nhiệt khi chiếu ánh sáng vùng hồng ngoại gần (NIR) cho thấy nhiệt độ hạt nano vàng có thể lên 70 -80°C [37]. Ở nhiệt độ này hầu hết các loại vi khuẩn gây bệnh đều bị tiêu diệt. Tuy nhiên nhiệt độ này cũng có thể ảnh hưởng hoặc tiêu diệt các tế bào khác trong cơ thể sống. Do vậy, các nghiên cứu đã tập trung vào việc phát triển những phương pháp và kỹ thuật phù hợp để tạo ra nhiệt cục bộ nhằm tiêu diệt những tế bào mang bệnh mà giảm thiểu sự ảnh hưởng đến tế bào lành xung quanh.

*c. Phương pháp chế tạo nano vàng.*

*- Phương pháp khử hóa học.*

Một trong những phương pháp chế tạo hạt nano vàng trong phòng thí nghiệm được sử dụng phổ biến hiện nay là phương pháp khử hóa học. Phương pháp khử hóa học là phương pháp tổng hợp từ dưới lên (bottom - up). Nguyên lý của phương pháp này là dùng các tác nhân khử để khử ion  $\text{Au}^{3+}$  thành nguyên tử vàng. Các nguyên tử vàng kết hợp với nhau thành các tinh thể vàng và sau đó là hạt nano vàng có kích thước hình dạng khác nhau tùy thuộc điều kiện chế tạo. Trong nhóm phương pháp khử hóa học, phổ biến nhất là phương pháp Turkevich, được phát minh bởi Turkevich và các cộng sự [33][38] vào năm 1951, sau đó được cải tiến bởi Frens [33] vào năm 1970. Khử hóa học là phương pháp tổng hợp nano vàng đơn giản nhất cho đến thời điểm hiện tại. Nguyên tắc chung của phương pháp khử hóa học là sử dụng chất khử hóa học như  $\text{NH}_4\text{Br}$ , natri citrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ )... để khử  $\text{Au}^{3+}$  trong muối vàng thành nguyên tử  $\text{Au}^0$ . Phương pháp này tạo ra các hạt nano vàng dạng cầu phân tán tốt trong nước với kích thước từ 10 - 20 nm và độ ổn định cao. Phương pháp khử hóa học đơn giản, dễ tiến hành tuy nhiên sản phẩm tạo thành có thể chứa chất tồn dư không mong muốn. Gần đây, nhiều phương pháp khử xanh đã được phát triển để khắc phục các nhược điểm trên [39]. Chất khử có nguồn gốc động vật và thực vật đã

được dùng trong phản ứng khử muối vàng. Điển hình một số nhóm nghiên cứu đã sử dụng các chiết xuất thực vật hay các loài vi sinh vật để khử muối vàng  $\text{HAuCl}_4$  hoặc  $\text{KAuCl}_4$  tạo thành hạt nano vàng [40]. Tuy nhiên, các phương pháp này cũng khó loại bỏ hoàn toàn chất tồn dư, khó kiểm soát kích thước, chi phí cao và khó chủ động được nguồn nguyên liệu.



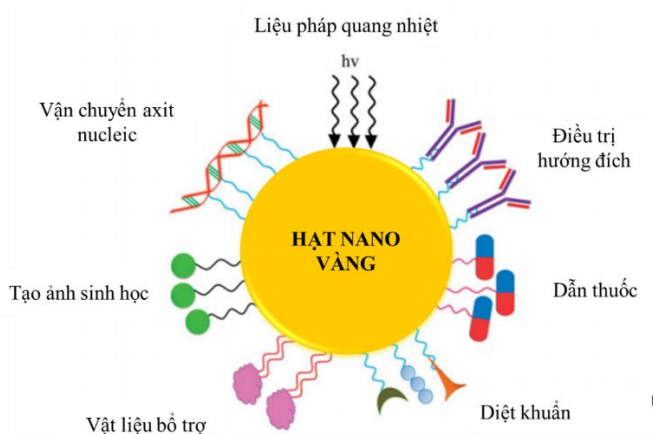
Hình 1.4. Sơ đồ các phương pháp chế tạo nano vàng (Au- NPs).

Để khắc phục các tồn tại của phương pháp khử hóa học, các phương pháp chế tạo nano vàng sạch khác cũng được phát triển. Các phương pháp thay thế đó là các phương pháp vật lý như: phún xạ, bốc bay và điện hóa (Hình 1.4). Nhìn chung các phương pháp phún xạ và bốc bay chế tạo hạt nano vàng có độ tinh khiết cao nhưng thường yêu cầu máy móc hiện đại đắt tiền, khó điều khiển được kích thước hạt. Vì vậy, phát triển một phương pháp vật lý chi phí thấp mà vẫn thu được các hạt nano vàng sạch và có khả năng điều khiển được kích thước là cần thiết. Phương pháp điện hóa để chế tạo nano vàng được đề xuất năm 2006 bởi Wang và cộng sự [41]. Họ đã điều chế thành công nano vàng với kích thước  $\sim 40$  nm. Trong quá trình điện hóa, vàng ở cực dương (anot)  $\text{Au}^0$  tan vào dung dịch tạo thành ion  $\text{Au}^{3+}$  và tan vào dung dịch. Dưới tác dụng của điện trường ion  $\text{Au}^{3+}$  dịch chuyển về catot và bị khử tạo thành các nguyên tử vàng, các nguyên tử vàng kết hợp với nhau tạo thành các hạt nano vàng. Phương pháp điện hóa có ưu điểm là chế tạo được hạt nano vàng sạch dùng nguồn vật liệu vàng khối sẵn có trên thị trường, chủ động được nguồn nguyên liệu, dễ thực hiện, chế tạo với số lượng lớn.

### 1.1.2. Ứng dụng của hạt nano vàng trong y sinh.

Trong lịch sử, các ứng dụng của vàng trong lĩnh vực y sinh đã xuất hiện từ rất sớm. Đầu thế kỷ XVII, Francisco Antonii và các cộng sự đã xuất bản một trong những cuốn sách sớm nhất mô tả các đặc tính chữa bệnh của dung dịch

keo vàng [42]. Tuy nhiên, lần đầu hạt nano Au – NPs được nghiên cứu trong y học hiện đại được thực hiện vào năm 1971 bởi Faulk và Taylor và các cộng sự [43]. Ngày nay, các nghiên cứu và ứng dụng Au - NPs rất phổ biến trong các lĩnh vực công nghệ sinh học và y sinh (Hình 1.5). Trong đó, có nhiều nghiên cứu ứng dụng hiện tượng quang nhiệt của nano vàng trong lĩnh vực y sinh như: ứng dụng trong điều trị hướng đích [44], dẫn thuốc [16][31], tạo ảnh sinh học [16][30], chuyển gen [45]...(Hình 1.5).



Hình 1.5. Một số ứng dụng hiệu ứng quang nhiệt của nano Au - NPs trong y sinh [32].

## 1.2. Nano tổ hợp vàng - hoạt chất từ thiên nhiên curcumin

Đề tài này được thực hiện nhằm chế tạo và khảo sát các đặc tính của các hệ nano tổ hợp trên cơ sở hạt nano vàng với các hoạt chất nguồn gốc thiên nhiên, nano vô cơ oxít kim loại, kim loại. Trong đó, hệ nano tổ hợp giữa vàng và hoạt chất từ thiên nhiên là tổ hợp đầu tiên luận án nghiên cứu. Trong hệ này, nano vàng đóng vai trò là chất mang hoạt chất thiên nhiên, cụ thể là curcumin. Hiệu ứng quang nhiệt của nano vàng được kỳ vọng sẽ làm tăng nhiệt cục bộ để làm yếu màng sinh chất của tác nhân gây bệnh đồng thời thúc đẩy quá trình nhả hoạt chất (curcumin) để tiêu diệt mầm bệnh.

### 1.2.1. Hoạt chất từ thiên nhiên curcumin

Trong lịch sử loài người, việc sử dụng các dược liệu thiên nhiên có nguồn gốc thực vật rất phổ biến. Trong đó, các liệu pháp điều trị bệnh bằng các dược liệu thiên nhiên đã được phát triển. Hoạt chất thiên nhiên có ưu điểm là nguồn cung lớn, phương pháp chế tạo đơn giản, sạch do không phải qua các giai đoạn

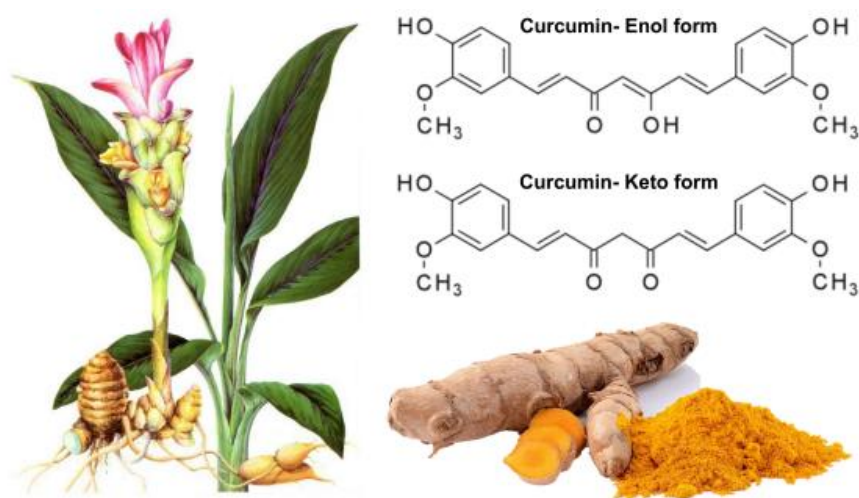


xử lý hóa học. Loại hoạt chất thiên nhiên dùng phổ biến tại Việt Nam đó là curcumin chiết xuất từ củ nghệ.

#### a) Giới thiệu về curcumin

Hoạt chất curcumin là dược liệu thông dụng trong tự nhiên, là thành phần chứa nhiều trong thân và củ của cây nghệ vàng tên khoa học *Curcuma longa L. Curcumin*. Ngày nay, curcumin trở nên phổ biến do có nhiều tác dụng đối với sức khỏe con người [1].

Curcumin có màu vàng cam, không mùi, bền với nhiệt độ, không bền dưới tác động ánh sáng. Curcumin có nhiệt độ nóng chảy trong khoảng  $180 \div 185^\circ\text{C}$ . Khi ở dạng dung dịch, curcumin dễ bị phân hủy bởi ánh sáng và nhiệt độ, tan trong chất béo, etanol, metanol, diclometan, aceton, acid acetic và ít tan trong nước ở môi trường axit hay trung tính (độ tan  $<10 \text{ mg ở } 25^\circ\text{C}$ ). Curcumin tan trong môi trường kiềm tạo dung dịch màu đỏ rồi ngả màu tím, tan trong môi trường axit tạo dung dịch có màu đỏ tươi.



Hình 1.6. Hình ảnh các bộ phận của cây nghệ; phân tử Curcumin [46].

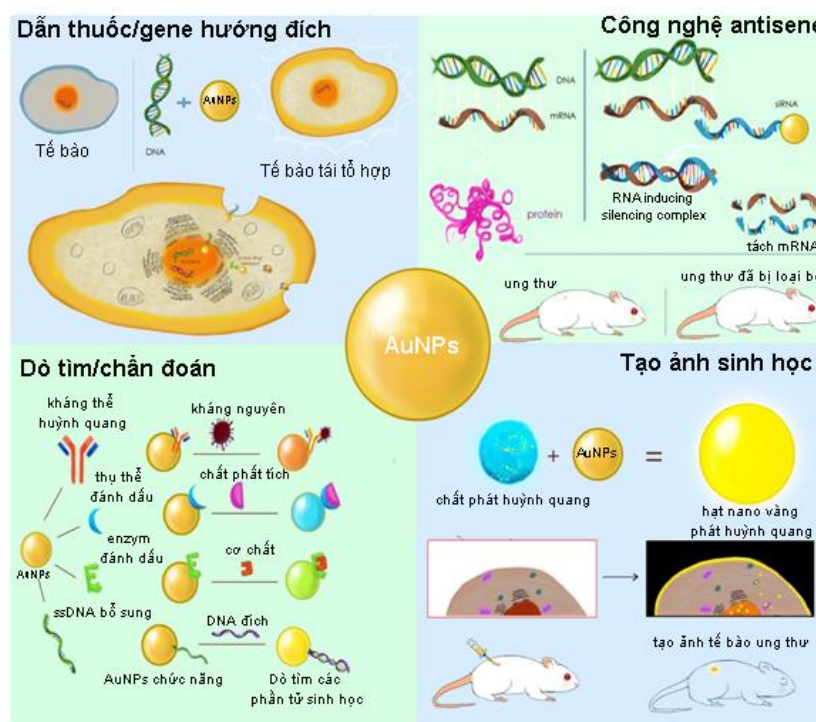
#### b) Hoạt tính sinh học và ứng dụng của curcumin

Hoạt tính sinh học chủ yếu của curcumin là chống lại các gốc oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus và kháng một số loại ung thư [47][48]. Nhiều công trình nghiên cứu thử nghiệm của các nhà khoa học trên thế giới đã khẳng định rằng hoạt chất curcumin có tác dụng kháng tế bào ung thư [49][50]. Tại Mỹ, Đài Loan các nhóm nghiên cứu đã tiến hành thử nghiệm lâm sàng dùng curcumin điều trị ung thư và kết luận rằng curcumin có thể kìm hãm sự phát



tác của các tế bào ung thư da, dạ dày, ruột, vòm họng, dạ con, bàng quang [51][52]. Từ năm 1993, các nhà khoa học thuộc Đại học Harvard (Mỹ) đã công bố curcumin là 1 trong 3 hoạt chất có tác dụng ức chế virus HIV-1, HIV-1-RT [53]. Năm 2022, nhóm nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Hà và các cộng sự [54] đã thử nghiệm khả năng kháng ung thư trên 4 loại tế bào ung thư da, ung thư gan, ung thư phổi, ung thư vú. Curcumin có hoạt tính sinh học cao do cấu trúc hóa học chứa các nhóm sau: nhóm parahydroxyl - chống oxy hóa; nhóm ketone - kháng viêm, kháng ung thư, chống đột biến tế bào; nhóm liên kết đôi - kháng viêm, kháng ung thư, chống đột biến tế bào. Nghiên cứu đầu tiên về tính kháng khuẩn của curcumin được công bố năm 1949 [55]. Từ cuối những năm 1990s đến nay các nghiên cứu về khả năng tiêu diệt vi khuẩn gây bệnh được nghiên cứu rộng rãi. Trong đó, curcumin đã được nhiều nhóm nghiên cứu thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn trên các chủng vi khuẩn đường ruột như *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* [56][57]... Tuy nhiên, hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất curcumin yếu và chỉ tăng cường ở dải nồng độ cao [58].

### 1.2.2. Tình hình nghiên cứu về nano tổ hợp vàng – hoạt chất từ thiên nhiên



Hình 1.7. Nano tổ hợp vàng và các ứng dụng y sinh tiềm năng [8].

Các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên có những ưu điểm độc đáo như độc tính thấp, ít tác dụng phụ, chi phí thấp và hiệu quả trong điều trị, nên chúng

được nghiên cứu và chiết xuất để điều trị các bệnh như ung thư, tiểu đường, tim mạch, kháng viêm và các bệnh do vi sinh vật gây ra.

Tuy nhiên, việc sử dụng hiệu quả các hoạt chất từ thiên nhiên trong điều trị gặp nhiều thách thức. Các hoạt chất từ thiên nhiên là các chất hữu cơ thường có phân tử dạng mạch (H-C) dài có độ tan kém, không ổn định ở môi trường PH trong ruột, chuyển hóa thải trừ nhanh. Do đó việc đưa các hoạt chất này vào cơ thể với liều lượng thích hợp gặp khó khăn, công dụng của các hoạt chất cũng bị hạn chế. Thách thức đặt ra là cần phải có một chất mang để vừa đưa một liều lượng thuốc/hoạt chất thích hợp tới vị trí đích, giúp tăng khả năng giải phóng thuốc/hoạt chất và vừa hỗ trợ tiêu diệt tác nhân gây bệnh. Một số nghiên cứu đã cho thấy nano vàng với các đặc tính độc đáo được kỳ vọng có thể mang thuốc/hoạt chất tới đích để tiêu diệt tác nhân gây bệnh [8]. Hình 1.7 là sơ đồ thể hiện một số ứng dụng của hạt nano tổ hợp vàng và một số hoạt chất trong y sinh học.

### ***1.2.3. Nano tổ hợp vàng – curcumin trong tiêu diệt mầm bệnh***

Sự kết hợp của curcumin với các vật liệu nano đã được chứng minh là tăng cường tác dụng của curcumin. Các vật liệu như polyme, liposome và các cấu trúc nano khác nhau được sử dụng như chất dẫn thuốc. Kể từ năm 2011, hầu hết các dạng cấu trúc nano tổ hợp của curcumin đã được nghiên cứu trong các thử nghiệm lâm sàng [20]. Ban đầu, các nhóm nghiên cứu tập trung vào việc cải thiện tốc độ, liều lượng curcumin hấp thụ vào cơ thể, nhưng sau đó sự chú ý được chuyển sang việc điều trị hướng đích đưa curcumin vào các mô bị bệnh bằng cách sử dụng hỗ trợ trung gian kháng thể, aptamer hoặc peptide. Năm 2015, Zhang và cộng sự [21] đã nghiên cứu tính khả dụng của curcumin bao bọc trong nano poly (axit lactic-co-glycolic) thông qua đường uống, cho thấy hiệu quả điều trị của tổ hợp vật liệu nano với curcumin mạnh hơn 9 lần so với curcumin tự do. Các thí nghiệm sau đó cũng cho thấy các tổ hợp nano và curcumin khác có hiệu quả đối với các bệnh về gan [22], khối u não [23], bệnh tim [24] và ung thư [25]. Ngoài tổ hợp curcumin và các vật liệu hữu cơ thì nano tổ hợp vàng - curcumin hướng đến ứng dụng trong y sinh cũng được nhiều nhóm nghiên cứu tiến hành [59][17][60][61]. Au - NPs vừa hỗ trợ mang curcumin vừa tăng cường khả năng kháng khuẩn cũng như hỗ trợ giải phóng thuốc dưới tác dụng của ánh sáng laze ở bước sóng thích hợp.

### 1.3. Nano tổ hợp vàng với oxit kim loại và ứng dụng

Vật liệu nano tổ hợp giữa kim loại với kim loại, oxit kim loại với kim loại là đề tài nghiên cứu hấp dẫn với nhiều nhóm nghiên cứu. Năm 2023, nhóm của Nguyễn Hà Anh và các cộng sự [62] đã chế tạo nano tổ hợp vàng - oxit sắt bằng phương pháp sinh học trên cơ sở vi rút gây bệnh vàng lá trên cây rau cải (TYMV) và khảo sát hiệu ứng quang nhiệt khi chiếu ánh sáng có bước sóng 808 nm. Ngoài ra, nano tổ hợp vàng và oxit kim loại hướng tới các ứng dụng y sinh như cảm biến DNA, cảm biến protein, tạo ảnh sinh học... cũng được nhiều nhóm nghiên cứu quan tâm [63]. Như vậy tổ hợp giữa vật liệu nano vàng và oxit kim loại có tính chất khác nhau có thể có được những đặc tính của các thành phần riêng lẻ của một trong hai thành phần mà còn có khả năng kết hợp để tạo ra những tính chất tốt hơn. Phạm vi nghiên cứu của đề tài chỉ tập trung chế tạo nano tổ hợp của vàng và hạt nano oxit kẽm (tác nhân có khả năng diệt khuẩn).

#### 1.3.1. Nano tổ hợp vàng và oxit kẽm (Au/ZnO - CNPs)

Việc nghiên cứu chế tạo hệ vật liệu nano tổ hợp giữa vàng và oxit kẽm nhằm tìm hiểu tác động của nano vàng vào khả năng kháng/diệt khuẩn của nano kẽm oxit. Trong đó, Nghiên cứu sự tác động các đặc tính của nano vàng như cộng hưởng plasmon bề mặt, hiệu ứng quang nhiệt và tương thích sinh học cao, tới các đặc tính như khả năng phát quang, quang xúc tác hay hoạt tính kháng khuẩn... của nano ZnO [64]. Phần tổng quan này được thực hiện để củng cố những căn cứ vững chắc cho quá trình thực nghiệm để tạo ra nano tổ hợp vàng -oxit kẽm (Au/ZnO- CNPs), khảo sát các đặc tính hóa lí và đánh giá khả năng kháng các chủng vi khuẩn nhiễm trùng bệnh viện kháng kháng sinh.

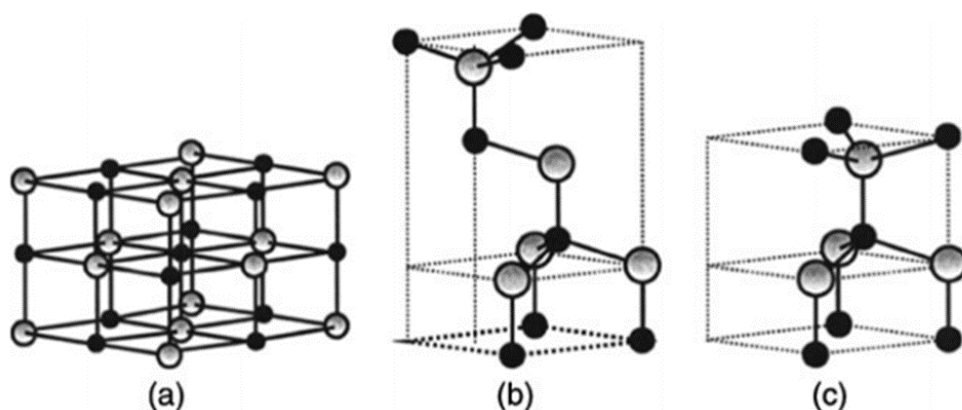
##### a) Giới thiệu về nano oxit kẽm

Kẽm ôxít (ZnO) là vật liệu dạng rắn màu trắng không mùi, có phân tử khối 81,408 g/mol; khối lượng riêng  $5,606 \times 10^{-3} \text{ kg/m}^3$ ; nhiệt độ nóng chảy 2.360 °C. Tinh thể ZnO bao gồm nguyên tố kẽm thuộc nhóm IIB (Zn) và nguyên tố oxy thuộc nhóm VIA (O). Thông thường, ZnO tồn tại ở ba dạng cấu trúc tinh thể: hexagonal wurtzite, zinblend, rocksalt. Cấu trúc hexagonal wurtzite ổn định nhất ở điều kiện nhiệt độ, áp suất thông thường và là cấu trúc tinh thể thông dụng của ZnO. Hai cấu trúc còn lại, zinc blende chỉ có thể kết

tinh được trên đế có cấu trúc tinh thể dạng lập phương và cấu trúc rocksalt chỉ được hình thành ở điều kiện áp suất cao.



Hình 1.8. Bột oxit kẽm.



Hình 1.9. Các cấu trúc tinh thể của ZnO: (a) Rocksalt; (b) Zins Blende; (c) Wurtzite [65].

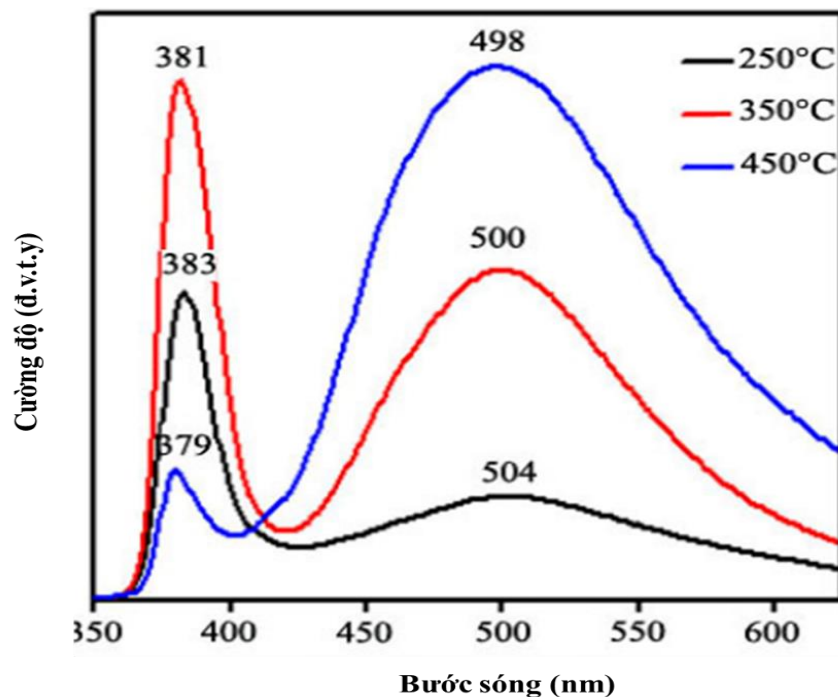
Ở điều kiện thường, ZnO - NPs có cấu trúc tinh thể dạng Wurtzite. Cấu trúc này gồm hai mạng lục giác xếp chặt, một mạng của cation  $Zn^{2+}$  và một mạng của anion  $O^{2-}$  lồng vào nhau với khoảng cách  $\frac{3}{8}$  chiều cao (Hình 1.9). Cấu trúc này có hằng số mạng nằm trong khoảng  $a = 0,32495$  nm đến  $0,32860$  nm và  $c = 0,52069$  đến  $0,5214$  nm. ZnO là bán dẫn thuộc nhóm II – VI, có độ rộng vùng cấm 3,37 eV [66][67], năng lượng liên kết exciton lớn (60 meV) [68], ổn định nhiệt và cơ học cao, có khả năng phân tán tốt trong nước [69] và hấp thụ mạnh ánh sáng trong vùng tử ngoại (UV) [70].

#### *b) Tính chất và phương pháp chế tạo nano oxit kẽm (ZnO - NPs)*

Nano ZnO – NPs có độ rộng vùng cấm cỡ 3,37 eV, với độ rộng vùng cấm lớn như vậy nên chúng chủ yếu hấp thụ ánh sáng vùng tử ngoại tương ứng

các đỉnh hấp thụ nằm trong khoảng từ 350 - 370 nm [71][72]. Vì lí do đó anô ZnO thường được ứng dụng làm vật liệu hấp thụ tia tử ngoại trong công nghiệp, dược phẩm cũng như mỹ phẩm (thành phần quan trọng trong các loại kem chống nắng). Phổ phát xạ huỳnh quang đo ở nhiệt độ phòng của vật liệu ZnO - NPs bao gồm hai vùng phát xạ chính, thứ nhất là phát xạ trong vùng gần vùng tử ngoại tương ứng với đỉnh phát xạ xung quanh bước sóng 380 nm liên quan đến sự chuyển mức vùng - vùng (ZnO - NPs là bán dẫn vùng cấm thẳng), thứ hai là dải phát xạ trong vùng khả kiến có đỉnh phát xạ nằm trong dải từ 498 đến 504 nm [73], đỉnh phát xạ huỳnh quang này liên quan đến các sai hỏng trong tinh thể ZnO - NPs.

Một trong các tính chất hóa học quan trọng của nano oxít kẽm là khả năng quang xúc tác. Quang xúc tác của vật liệu là những phản ứng xảy ra khi chúng được chiếu ánh sáng có bước sóng thích hợp đồng thời có mặt của chất xúc tác. Hay nói cách khác, ánh sáng tác dụng vào vật liệu gây ra các nhân tố có tác dụng kích hoạt chất xúc tác, giúp cho phản ứng xảy ra. Quá trình quang xúc tác của ZnO - NPs được mô tả bởi Hình 1.11.



Hình 1.10. Phổ huỳnh quang của nano ZnO – NPs [73].

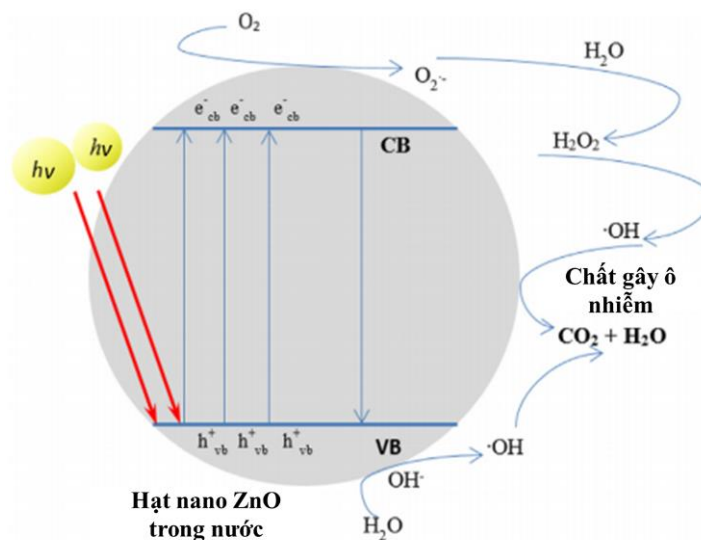
Quá trình xúc tác quang hóa trong nano ZnO - NPs xảy ra với sự hấp thụ bức xạ ánh sáng với lượng tử năng lượng ( $h\nu$ ) bằng hoặc lớn hơn năng lượng

vùng cấm của ZnO - NPs ( $h\nu \geq E_g$ ). Kết quả tạo ra các gốc oxy hóa tự do (ROS) có thể phân hủy các tạp chất độc hại. Vì vậy nano oxit kẽm đã được ứng dụng rộng rãi trong xử lý môi trường nhờ khả năng phân hủy các chất hữu cơ gây ô nhiễm dưới tác dụng của ánh sáng thích hợp [74].

Ngoài khả năng quang xúc tác, nano ZnO– NPs còn được chứng minh có khả năng kháng khuẩn. Trong môi trường nước, khả năng kháng khuẩn của nano ZnO đã được khảo sát ở nhiều nghiên cứu khác nhau, trên cơ sở các nghiên cứu đó cơ chế kháng khuẩn cơ bản của ZnO - NPs đã được mô tả như trên Hình 1.12. [75].

Thứ nhất, quá trình giải phóng tác nhân oxy hóa: cơ chế kháng khuẩn của ZnO - NPs liên quan đến sự tạo thành các tác nhân oxy hóa ở bề mặt (Hình 1.12) tham gia vào quá trình diệt vi khuẩn. Tác nhân oxy hóa được biết là gây ra quá trình oxy hóa có khả năng phá hủy DNA, màng tế bào và protein tế bào. Hoạt tính bề mặt của ZnO - NPs gây ra sự phân hủy của thành tế bào và sau đó là màng tế bào, gây ra sự rò rỉ của dịch nội bào và cuối cùng là tế bào bị tiêu diệt.

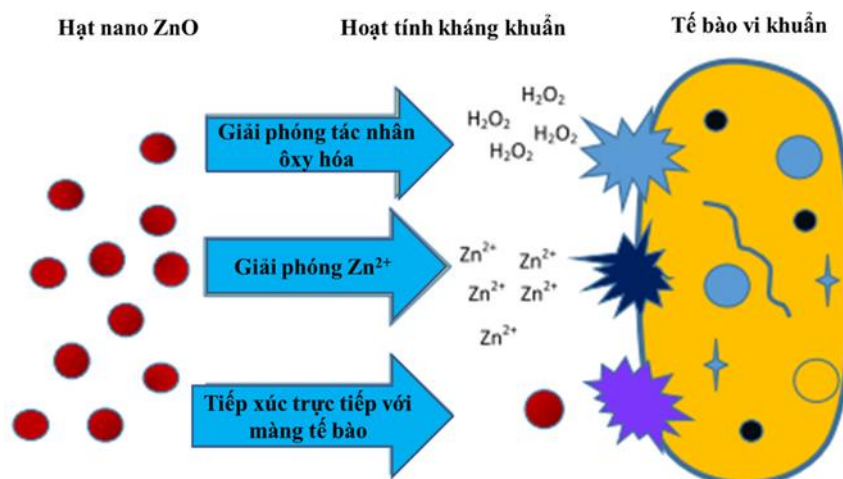
Thứ hai, một cơ chế khác của hoạt tính kháng khuẩn của ZnO – NPs là sự giải phóng các ion  $Zn^{2+}$  trong dung dịch, các ion này có thể làm tổn thương màng tế bào và xâm nhập vào nội bào gây chết ở tế bào vi sinh vật.



Hình 1.11. Cơ chế quang xúc tác của ZnO – NPs [76].

Cuối cùng, cơ chế kháng khuẩn do tiếp xúc của ZnO - NPs ở kích thước nanomet với màng tế bào. Sự tổn thương tế bào không nhất thiết là do sự xâm

nhập của các hạt oxit kim loại vào tế bào. Sự tiếp xúc giữa tế bào vi khuẩn và hạt nano ZnO - NPs gây ra những thay đổi trong phạm vi môi trường tiếp xúc bề mặt của vi khuẩn và hạt. Brayner và cộng sự [77] đã chỉ ra rằng sau khi tiếp xúc với các hạt nano ZnO - NPs, màng tế bào vi khuẩn bị phá vỡ và tế bào vi khuẩn bị tiêu diệt.



Hình 1.12. Cơ chế kháng khuẩn của nano ZnO - NPs trong nước [75].

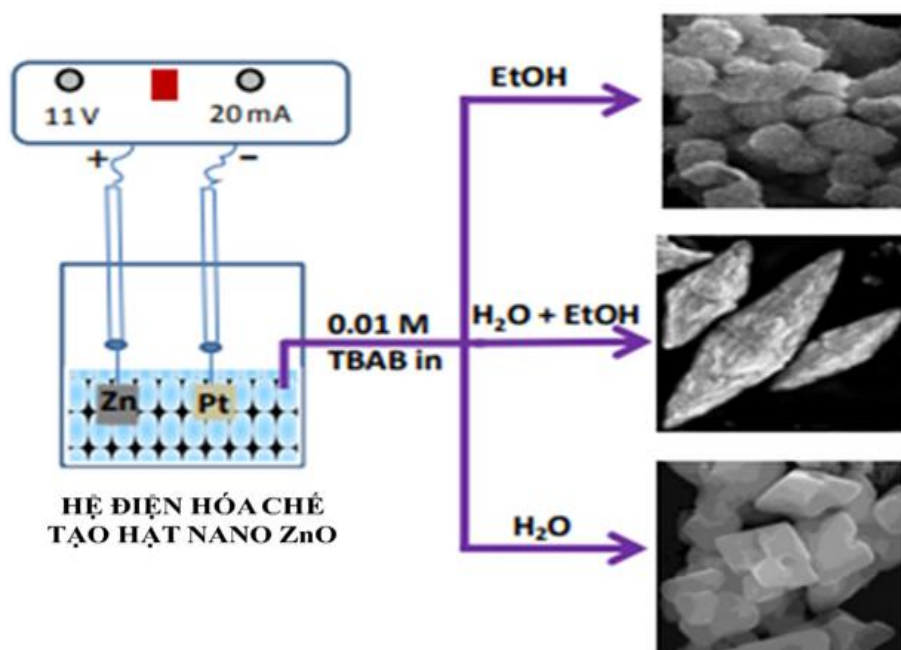
Để chế tạo hạt nano oxit kẽm có nhiều phương pháp khác nhau. Việc phân loại các phương pháp chế tạo cũng rất khác nhau. Tương tự như các phương pháp chế tạo vàng, luận án đề xuất phân loại theo bản chất xảy ra khi chế tạo vật liệu và được chia như sau: phương pháp hóa học và phương pháp vật lí.

Phương pháp hóa học (khử hóa học, sol gel, thủy nhiệt..): nguyên lí chung của phương pháp này là sử dụng các muối có chứa ion  $Zn^{2+}$  sau đó sử dụng các tác nhân khử (nhiệt độ, chất khử, áp suất) để khử  $Zn^{2+}$  tạo thành  $Zn^0$ . Cuối cùng Zn sẽ bị oxi hóa tạo thành ZnO - NPs. Một trong các phương pháp hóa học phổ biến là thủy nhiệt và phương pháp sol – gel. Các phương pháp hóa học nhìn chung có ưu điểm chế tạo đơn giản, chi phí thấp. Tuy nhiên sản phẩm tạo ra từ phương pháp này có nguy cơ vẫn chứa chất tồn dư không mong muốn. Ngoài ra vật liệu nguồn thường là các muối kẽm nên khó chủ động hơn.

Các phương pháp vật lí phổ biến để chế tạo các hạt nano nói chung và hạt nano oxit kẽm nói riêng là phương pháp phun xạ và phương pháp bốc bay nhiệt... Các phương pháp này có ưu điểm là thời gian chế tạo mẫu nhanh, có độ tinh khiết cao và khả năng kết tinh tốt. Tuy nhiên, hầu hết các phương pháp trên



đều đòi hỏi các điều kiện ngặt nghèo và thiết bị hiện đại. Do đó các phương pháp này thường có chi phí sản xuất cao, khó chế tạo với khối lượng lớn. Với điều kiện phòng thí nghiệm thực tế của Việt Nam, căn cứ những công trình nghiên cứu của nhóm trước đây, phương pháp điện hóa được kỳ vọng là một trong các phương pháp vật lý đơn giản, tận dụng được nguồn nguyên vật liệu sẵn có và giảm thiểu được chi phí chế tạo. Phương pháp điện hóa là phương pháp ứng dụng hiện tượng dương cực tan khi điện phân kim loại trong dung dịch axit hoặc muối nhằm tạo ra các hạt nano kim loại hay nano oxit kim loại. Tuy nhiên, trong mô hình thực nghiệm của chúng tôi sử dụng dung dịch chất điện ly yếu để phân tách các ion kim loại từ từ trong điều kiện có dòng năng lượng quay liên tục. Vật liệu nguồn có thể điều chế trực tiếp từ kim loại dạng khối đóng vai trò là điện cực dương, điện cực còn lại là điện cực trơ. Khi cấp nguồn một chiều cho hai điện cực quá trình điện phân diễn ra, dung dịch chứa nano kim loại hoặc nano oxit kim loại thu được sau quá trình điện hóa.



Hình 1.13. Sơ đồ chế tạo ZnO – NPs bằng phương pháp điện hóa trong các dung môi khác nhau [78].

Những năm gần đây, phương pháp này đã được các nhóm nghiên cứu quan tâm và phát triển. Năm 2017, Dhayagude và các cộng sự [78] đã chế tạo dung dịch chứa nano ZnO - NPs bằng phương pháp điện hóa với điện cực dương là kẽm, cực âm là Platin (Hình 1.13). Nghiên cứu đã chế tạo thành công



nano oxít kẽm bằng phương pháp điện hóa từ kẽm dạng khối trong dung dịch có chứa TBAB. Phương pháp này có thể điều khiển hình dạng và kích thước hạt khác nhau bằng cách thay đổi dung môi khác nhau. Kết quả cho thấy, hạt có dạng hình cầu tương ứng với dung môi H<sub>2</sub>O, dạng hình thoi với dung môi hỗn hợp H<sub>2</sub>O + EtOH và dạng nanorod với dung môi EtOH.

*c) Ứng dụng của nano oxít kẽm trong y sinh.*

Kẽm thường được biết đến là một nguyên tố vi lượng thiết yếu tồn tại rộng rãi trong tất cả các mô của cơ thể, bao gồm cả tế bào não, cơ, xương, da... Thêm vào đó, kẽm còn là thành phần chính của nhiều hệ enzyme khác nhau. Kẽm tham gia vào quá trình trao đổi chất của cơ thể và đóng vai trò quan trọng trong protein và axit nucleic, tạo máu và tạo thần kinh [79]. Tuy nhiên, để đưa kẽm vào được cơ thể một cách hiệu quả là một vấn đề quan trọng. Vật liệu nano ZnO - NPs có kích thước nhỏ giúp cơ thể sinh vật dễ dàng hấp thụ. ZnO - NPs thường được sử dụng làm phụ gia trong dược phẩm và thực phẩm. Với những đặc tính độc đáo, ZnO – NPs có tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực y sinh như: vật liệu kháng khuẩn [80][81]; vật liệu dẫn thuốc [82]; chất kháng tế bào ung thư [83]; quang xúc tác xử lý môi trường [74]; cảm biến sinh học [84]; lớp vật liệu bảo vệ cơ thể con người chống tia UV [70] và tạo ảnh sinh học [82].

***1.3.2. Giới thiệu nano tổ hợp vàng – oxít kẽm (Au/ZnO - CNPs)***

Vật liệu nano oxít kẽm (ZnO - NPs) sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực y tế, trong đó khả năng kháng khuẩn của nano oxít kẽm cũng được quan tâm [81][85]. Như đã trình bày ở mục 1.3.1. (b) cơ chế kháng khuẩn mạnh nhất của ZnO – NPs là do phản ứng quang xúc tác. Tuy nhiên, khả năng quang xúc tác của nano ZnO - NPs còn hạn chế và thu hẹp trong vùng UV. Điều đó dẫn đến các ứng dụng kháng khuẩn của ZnO – CNPs trong điều kiện ánh sáng tự nhiên an toàn khó có thể thực hiện. Do đó, sự kết hợp với một nano kim loại để thay đổi được hoạt tính kháng khuẩn của nano oxít kẽm khi chiếu sáng là cần thiết. Hạt nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs có thể kết hợp được tính chất của hai vật liệu kể trên đã được nhiều nhóm nghiên cứu đề cập đến [64][86][87]. Hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs mang đầy đủ các tính chất của hạt nano kim loại quý và tính chất của nano oxít bán dẫn như có hoạt tính kháng khuẩn, khả năng quang

xúc tác và hiệu ứng quang nhiệt. Thêm vào đó, sự kết hợp giữa nano vàng và nano oxít ZnO - NPs làm cho hạt nano tổ hợp bền vững hơn so với hạt nano chỉ có oxít kim loại. Nano oxít kim loại bán dẫn thường có độ rộng vùng cấm lớn. Dẫn đến bước sóng ánh sáng mà nano ZnO – NPs hấp thụ nằm trong vùng tử ngoại. Điều đó dẫn đến các ứng dụng của nano ZnO bị giới hạn trong vùng tử ngoại gây ra khó khăn trong việc sử dụng trong diện rộng và giá thành thiết bị cao. Để có thể khắc phục được các nhược điểm đó thì việc nano tổ hợp kẽm và một vật liệu nano khác được nghiên cứu. Việc tổ hợp chúng với một kim loại quý còn giúp thu hẹp độ rộng vùng cấm của nano oxít kim loại [86][87]. Việc thu hẹp độ rộng vùng cấm mở rộng các ứng dụng liên quan đến tính chất quang của các hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs về vùng khả kiến.

#### *a) Tính chất hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs*

Tính chất quang là một trong các đặc tính quan trọng của nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs. Khi các hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs bị chiếu sáng có hai đỉnh hấp thụ tương ứng. Đỉnh hấp thụ thứ nhất nằm trong vùng tử ngoại có bước sóng từ 355 nm đến 370 nm. Dải hấp thụ này ứng với chuyển mức vùng vùng của thành phần oxít bán dẫn ZnO - NPs. Đỉnh hấp thụ thứ hai của hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs nằm trong vùng khả kiến. Hấp thụ này tương ứng với đỉnh hấp thụ plasmon của thành phần vàng trong hạt nano tổ hợp. Một số nghiên cứu cho thấy ảnh hưởng của thành phần Au lên ZnO làm độ rộng vùng cấm của hạt nano tổ hợp thu hẹp hơn so với nano ZnO - NPs. Hạt nano vàng có mật độ electron tự do cao và hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt làm cho các electron trong thành phần Au – NPs có thể tạo ra electron hoạt hóa ngay ở vùng khả kiến, cụ thể là dải bước sóng từ 525 nm đến 570 nm [28] [88]. Nano vàng có mật độ điện tử linh động cao được kỳ vọng có khả năng làm tăng tiếp xúc và truyền dẫn electron kích thích ra ngoài và tăng thời gian tồn tại ở trạng thái kích thích của các electron dẫn đến tăng hiệu suất quang xúc tác cũng như kháng khuẩn của thành phần nano ZnO - NPs.

#### *b) Phương pháp chế tạo nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs*

Thông thường, các hạt nano vàng cũng như nano tổ hợp vàng được chế tạo bằng phương pháp khử muối vàng HAuCl<sub>4</sub> sử dụng các tác nhân khử [87]. Như đã trình bày ở trên, phương pháp khử hóa học cho sản phẩm cuối cùng

luôn đi kèm chất tồn dư, khó chủ động được nguồn nguyên liệu cũng như chi phí cao và khó triển khai sản xuất với khối lượng lớn. Luận án hướng tới ứng dụng trong y sinh nên vật liệu tạo ra cần phải có độ sạch cao, chi phí chế tạo thấp, chủ động được nguồn nguyên vật liệu sẵn có trong nước. Phương pháp điện hóa sử dụng các thanh kim loại dạng khối để tạo thành các hạt nano hoàn toàn có thể đáp ứng được các yêu cầu nêu trên. Trong đó, hạt nano oxit kẽm là nano oxit sạch chế tạo bằng phương pháp điện hóa hỗ trợ vi sóng nêu trên, được sử dụng như một nguồn cung các phân tử ZnO. Trong mô hình thí nghiệm này, hai điện cực vàng được sử dụng vừa là hai điện cực vừa là vật liệu nguồn. Tại cực dương  $\text{Au}^0$  nhường ba điện tử để tạo thành ion  $\text{Au}^{3+}$  tan vào trong dung dịch, ở cực âm xảy ra phản ứng khử ion  $\text{Au}^{3+}$  nhận ba điện tử để tạo thành các phân tử vàng. Các phân tử vàng sau khi hình thành trong dung dịch sẽ kết hợp với các hạt nano ZnO để tạo thành hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs.

### *c) Ứng dụng của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs*

Hạt nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs có những đặc tính được đóng góp bởi cả hai thành phần nano bán dẫn oxit kim loại và nano kim loại quý. Nano tổ hợp giữa các vật liệu có tính chất khác nhau chúng có thể có được những đặc tính của các thành phần riêng lẻ. Những thành phần đó còn có khả năng kết hợp để tạo ra những tính chất tốt hơn. Vật liệu nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs có thể sở hữu đồng thời đặc tính của hạt nano kim loại Au như cộng hưởng plasmon bề mặt và các tính chất của một bán dẫn oxit kim loại như phát quang, quang xúc tác hay hoạt tính kháng khuẩn... [64]. Do vậy, vật liệu lai này có tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như: quang xúc tác [86][87], cảm biến khí [89] hay dẫn thuốc [23].

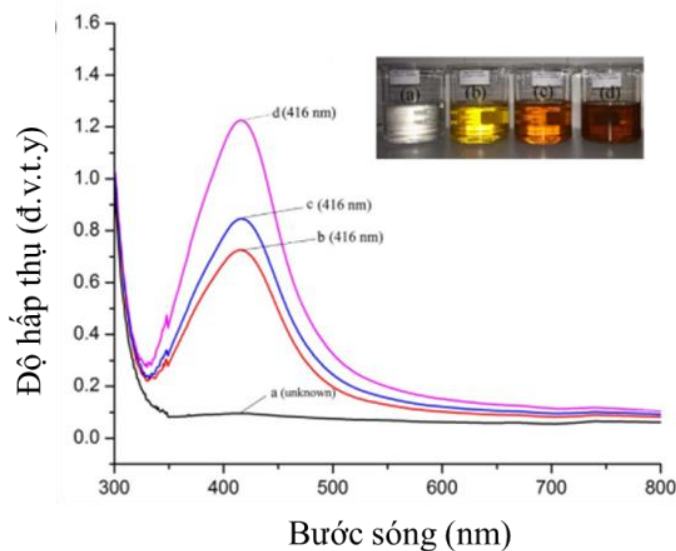
## **1.4. Nano tổ hợp vàng - bạc (Au/Ag - CNPs) và ứng dụng**

### ***1.4.1. Giới thiệu về nano bạc (Ag - NPs)***

Bạc (Ag) là nguyên tố kim loại quý đứng vị trí thứ 47 trong bảng tuần hoàn các nguyên tố hóa học, có cấu hình điện tử  $\text{Kr } 4d^{10} 5s^1$ . Bạc là nguyên tố chuyển tiếp nên các điện tử trong bạc rất linh động dẫn đến bạc mềm dẻo, đặc biệt và khả năng dẫn điện dẫn nhiệt tốt nhất trong các kim loại. Ở dạng khối, bạc có ánh kim, màu trắng, nhiệt độ nóng chảy  $961,78^\circ\text{C}$ , nhiệt độ sôi là  $2,162^\circ\text{C}$ , độ dẫn nhiệt ( $429 \text{ W/m.K}$ ) và điện trở suất ( $1,63 \cdot 10^{-8} \Omega/\text{m}$ ). So với

vàng thì bạc dẫn nhiệt dẫn điện tốt hơn. Tuy nhiên, vàng trơ trong không khí khô và ẩm nên vàng rất bền ở điều kiện thường. Ngược lại bạc dễ bị ion hóa trong dung môi nước nên kém bền ở điều kiện thường. Tương tự với vàng cấu trúc tinh thể của Ag có dạng lập phương tâm mặt, trong đó, mỗi nguyên tử Ag liên kết với 12 nguyên tử Ag xung quanh và hằng số mạng của bạc là  $a = 4,0853\text{Å}$  [90] xấp xỉ với hằng số mạng của vàng.

Ở dạng khối, bạc có màu trắng ánh kim nhưng ở kích thước nano mét (nhỏ hơn 100 nm) thì có sự thay đổi về màu sắc. Dung dịch chứa bạc ở kích thước nano thay vì màu ánh kim là màu vàng cánh gián. Sự thay đổi màu sắc của nano bạc so với bạc dạng khối là do bạc ở kích thước nano có hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt. Hạt nano bạc ở kích thước này hấp thụ ánh sáng có bước sóng trong dải 400 - 600 nm dẫn đến màu sắc dung dịch chứa nano bạc thay đổi từ trắng của bạc dạng khối sang màu vàng cánh gián [91][20].

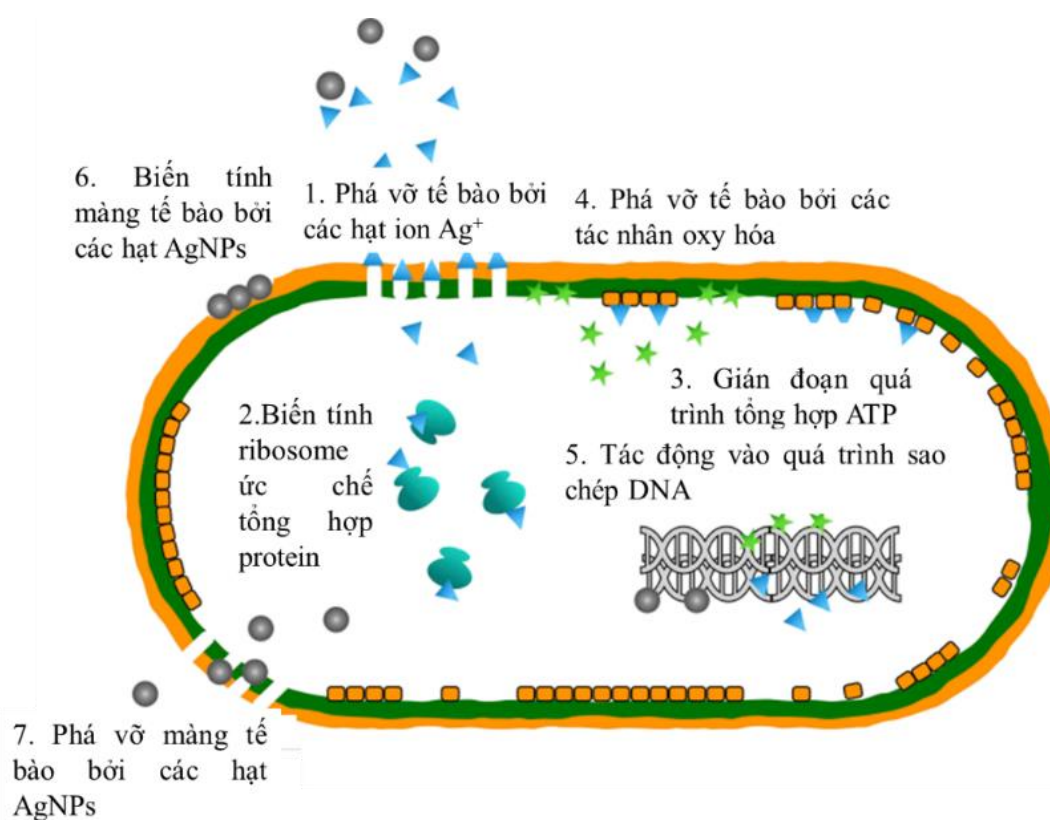


*Hình 1.14.* Phổ hấp thụ và dung dịch chứa nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở nồng độ citrate khác nhau [20].

Ngoài các đặc tính quang học, một tính chất nổi bật khác của nano bạc là khả năng kháng khuẩn. Cơ chế khả năng kháng khuẩn của nano bạc chưa được khẳng định hoàn toàn. Tuy nhiên, cơ chế kháng khuẩn của Ag đã được nhiều nghiên cứu đề xuất. Các cơ chế kháng khuẩn của Ag khác nhau được mô tả trên Hình 1.15 [92].

Một trong các nguyên nhân cơ bản dẫn đến khả năng kháng khuẩn là các hạt nano bạc có khả năng giải phóng liên tục các ion bạc. Ion  $\text{Ag}^+$  mang điện

tích dương nên xuất hiện lực hút tĩnh điện và ái lực với các loại protein có chứa nguyên tố lưu huỳnh, dẫn đến các ion bạc có thể bám vào thành tế bào và màng tế bào chất. Các ion  $Ag^+$  bám dính làm gia tăng khả năng thẩm thấu của màng tế bào chất và dẫn đến sự phá vỡ lớp màng tế bào bảo vệ vi khuẩn [93][94]. Sau khi hấp thu các ion bạc tự do vào tế bào, các enzyme hô hấp có thể bị vô hiệu hóa, tạo ra các gốc oxy hóa làm gián đoạn quá trình sản xuất adenosine triphosphate. Các loại gốc oxy hóa có thể là một tác nhân chính gây ra sự phá vỡ màng tế bào và biến đổi DNA. Lưu huỳnh và photpho là thành phần quan trọng của DNA. Sự tương tác của các ion bạc với lưu huỳnh và photpho của DNA có thể gây ra các vấn đề trong quá trình sao chép DNA, tái tạo tế bào hoặc thậm chí dẫn đến sự tiêu diệt các vi sinh vật. Hơn nữa, các ion bạc có thể ức chế sự tổng hợp protein bằng cách biến tính ribosome trong tế bào chất [95]. Ngoài tác nhân gây ra bởi khả năng giải phóng ion bạc, các hạt nano bạc có thể tự tiêu diệt vi khuẩn. Các hạt nano bạc có thể bám dính trong các hốc trên màng tế bào, phá vỡ màng tế bào làm mất cân bằng nội môi dẫn đến các tế bào của mầm bệnh bị tiêu diệt. Như vậy các hạt nano bạc có thể gây biến tính màng tế bào.



Hình 1.15. Các cơ chế tiêu diệt tế bào mầm bệnh của AgNPs [92].

Khi đó, các hạt bạc ở kích thước nano còn có khả năng xuyên qua thành tế bào vi khuẩn và sau đó làm thay đổi cấu trúc của màng tế bào. Sự biến tính

của màng tế bào chất có thể làm vỡ các bào quan và thậm chí dẫn đến chết tế bào. Ngoài ra, các hạt nano bạc có thể tham gia vào quá trình truyền tín hiệu của vi khuẩn. Sự truyền tín hiệu của vi khuẩn bị ảnh hưởng bởi quá trình phosphoryl hóa cơ chất protein. Các hạt nano bạc có thể tạo ra dư lượng tyrosine dephosphorylate trên cơ chất peptide làm gián đoạn truyền tín hiệu. Sự gián đoạn truyền tín hiệu có thể dẫn đến chết tế bào và ức chế sự nhân lên của các tế bào. Một số nghiên cứu cho thấy vi khuẩn Gram âm tính nhạy cảm hơn với bạc hạt nano, do thành tế bào của vi khuẩn chủng Gram âm mỏng hơn so với chủng Gram dương [96]. Dẫn đến khả năng hấp thụ của hạt nano bạc của chủng Gram dương kém hơn chủng Gram âm. Tác dụng kháng khuẩn khác nhau của bạc hạt nano trên vi khuẩn Gram âm và Gram dương cho thấy rằng sự hấp thụ của các hạt nano bạc cũng đóng vai trò quan trọng đối với tác dụng kháng khuẩn. Thêm vào đó, hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt và khả năng kháng khuẩn của Ag – NPs đã mở ra rất nhiều ứng dụng trong đời sống con người.

#### ***1.4.2. Các phương pháp chế tạo Ag - NPs***

Hạt nano bạc có thể được chế tạo bằng nhiều phương pháp khác nhau [5]. Nói chung, phương pháp tổng hợp các hạt nano chủ yếu được thực hiện bằng hai phương pháp chính là các phương pháp vật lý và hóa học. Phương pháp hóa học sử dụng nước hoặc dung dịch hợp chất hữu cơ để làm dung môi điều chế hạt nano bạc. Thông thường, quá trình tổng hợp các hạt nano bạc bằng phương pháp hóa học sử dụng ba thành phần chính là tiền chất kim loại, chất khử và chất ổn định bề mặt. Về cơ bản, quá trình khử muối bạc bao gồm hai giai đoạn tạo mầm và giai đoạn hình thành hạt. Ưu điểm của phương pháp hóa học là thiết bị chế tạo đơn giản, có thể triển khai chế tạo với khối lượng lớn. Tuy nhiên, phương pháp này có các nhược điểm là vật liệu cho quá trình khử chủ yếu là loại muối bạc  $\text{AgNO}_3$  hoặc  $\text{AgCl}$  và các chất khử như borohydride, thio-glycerol và 2-mercaptoetanol đều là các chất độc hại và nguy hiểm cho con người và môi trường. Thêm vào đó, chế tạo nano bạc bằng phương pháp khử hóa học thường đi kèm chất tồn dư không mong muốn. Phương pháp vật lý có thể khắc phục được phần nào những nhược điểm nêu trên. Một số nghiên cứu đã chế tạo các hạt nano được điều chế bằng phương pháp bốc bay nhiệt sử dụng lò nung ống ở áp suất khí quyển. Một số nghiên cứu khác dùng chùm electron và nhiệt phân để tổng hợp Ag - NPs. Ưu điểm của các phương pháp

vật lý nêu trên là thời gian làm mẫu ngắn, các bức xạ khác nhau được sử dụng thay cho chất khử và không có hóa chất độc hại liên quan. Tuy nhiên các phương pháp vật lý nói trên đòi hỏi trang thiết bị hiện đại, chi phí sản xuất cao, năng suất thấp và tiêu thụ năng lượng cao, độ đồng đều của mẫu không cao. Phương pháp điện hóa nano bạc từ vật liệu bạc dạng khối ra đời đã được chứng minh không những khắc phục được các nhược điểm của phương pháp hóa học và các phương pháp vật lý nêu trên mà còn giảm chi phí chế tạo được nano bạc sạch mà còn chủ động nguồn nguyên vật liệu sẵn có từ bạc dạng khối có sẵn trên thị trường. Phương pháp điện hóa vẫn thu được dung dịch chứa nano bạc có đầy đủ các tính chất như chế tạo bằng các phương pháp nêu trên [20].

### ***1.4.3. Ứng dụng của nano bạc trong y sinh***

Hạt nano bạc Ag - NPs sở hữu các đặc tính quý báu của một nano kim loại quý như hoạt tính kháng khuẩn, hiệu ứng plasmon,... Nano bạc ngày nay được sử dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau, bao gồm y sinh, công nghệ bảo quản thực phẩm, các liệu pháp chăm sóc sức khỏe và trong công nghiệp. Do tính chất đặc biệt của chúng, Ag - NPs đã được dùng trong một số ứng dụng, bao gồm chất kháng khuẩn, các sản phẩm công nghiệp, gia dụng và sản phẩm chăm sóc sức khỏe, sản phẩm tiêu dùng, lớp phủ thiết bị y tế, cảm biến quang học và mỹ phẩm trong ngành dược phẩm công nghiệp và công nghiệp thực phẩm [97]. Ngoài ra, Ag – NPs còn được ứng dụng trong lĩnh vực y sinh như chẩn đoán, chỉnh hình, vật liệu mang thuốc và làm vật liệu trong các liệu pháp chống ung thư [5][98]. Gần đây, Ag – NPs đã được ứng dụng làm vật liệu kháng khuẩn trong nhiều loại vải dệt, băng vết thương và thiết bị y sinh [98].

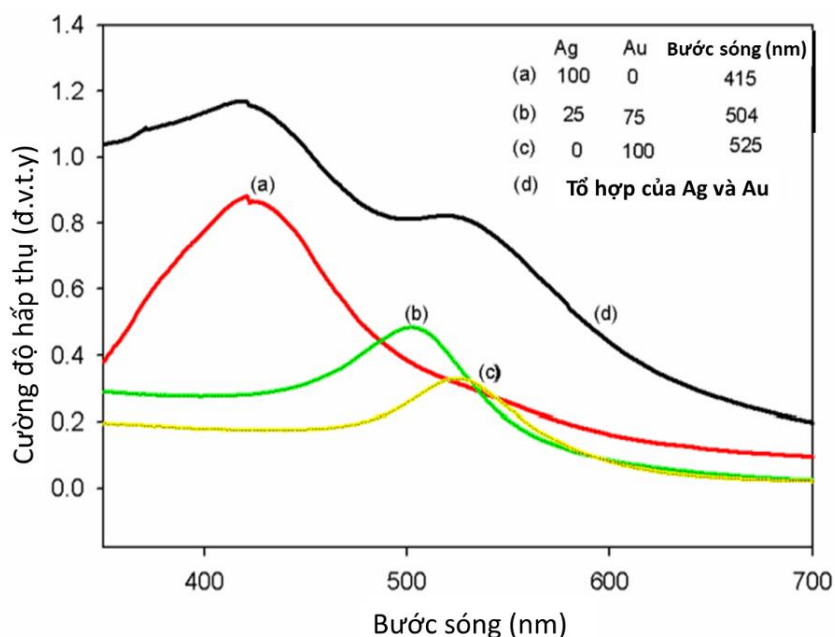
### ***1.4.4. Nano tổ hợp vàng – bạc (Au/Ag– CNPs)***

Một trong những tính chất đặc biệt của nano bạc là khả năng kháng khuẩn. Như trình bày ở trên, khả năng kháng khuẩn của nano bạc chủ yếu là do khả năng ion hóa trong dung môi nước. Chính vì lý do đó nano bạc kém bền trong dung môi nước và khả năng kháng khuẩn giảm dần theo thời gian. Như vậy, chúng ta cần một giải pháp duy trì, cải thiện khả năng kháng khuẩn của nano bạc. Hạt nano tổ hợp giữa vàng và bạc được kỳ vọng là một trong những giải pháp giúp giải quyết vấn đề đó. Giả thuyết rằng, hạt nano tổ hợp giữa vàng

và bạc vừa giúp hệ độ ổn định và tăng cường được hoạt tính kháng khuẩn của nano bạc.

*a) Tính chất hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs*

Hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs gần như có tất cả các tính chất của hạt nano vàng và nano bạc. Một trong các tính chất điển hình của hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs được thể hiện của hạt nano kim loại là hiệu ứng Plasmon bề mặt. Phổ hấp thụ của hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs xuất hiện hai đỉnh hấp thụ nằm trong vùng ánh sáng khả kiến [99]. Đỉnh thứ nhất có bước sóng 415 nm tương ứng với đỉnh hấp thụ plasmon của nano bạc. Đỉnh thứ hai có bước sóng 525 nm tương ứng với đỉnh hấp thụ plasmon của vàng. Đỉnh hấp thụ này dịch về bước sóng dài so với hạt nano vàng nguyên chất. Điều đó chứng tỏ các hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs hoặc là có kích thước lớn hơn so với các hạt nano vàng nguyên chất hình cầu hoặc là do thành phần nano bạc đã có tác động làm thay đổi đỉnh hấp thụ plasmon của thành phần nano vàng trong tổ hợp.



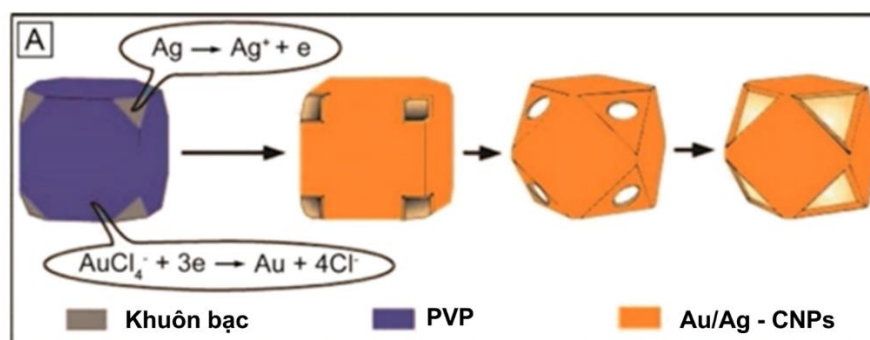
Hình 1.16. Phổ hấp thụ UV – Vis của (a) Ag - NPs ; (b) Ag/Au - CNPs 1:3 ; (c) Au ; (d) Ag/Au – CNPs [99].

*b) Phương pháp chế tạo nano tổ hợp Au/Ag - CNPs*

Thông thường, hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs được chế tạo bằng phương pháp khử sử dụng các muối vàng như  $\text{HAuCl}_4$  hoặc  $\text{KAuCl}_4$  khử cùng với muối bạc  $\text{AgNO}_3$  [100]. Phương pháp này có ưu điểm là đơn giản không phải qua



bước tạo khuôn nano bạc. Tuy nhiên phương pháp khử hóa học thông thường khó điều khiển hình dạng kích thước của các hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs. Việc phát triển một phương pháp chế tạo các hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs có thể chủ động điều khiển được hình dạng kích thước cần phát triển dựa trên hình dạng và kích thước khuôn bạc có trước là cần thiết. Những năm gần đây, phương pháp phản ứng trao đổi Galvanic được sử dụng để chế tạo hạt nano tổ hợp lưỡng kim hay hạt nano kim loại quý rỗng đã được nhiều nhóm nghiên cứu quan tâm.



Hình 1.17. Cơ chế hình thành hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs bằng phương pháp phản ứng trao đổi Galvanic [101].

Bản chất của công nghệ sản xuất vật liệu nano Au bằng phương pháp thay thế Galvanic sử dụng khuôn nano bạc sạch từ thanh bạc khối là phương pháp đơn giản, có thể kiểm soát được độ sạch của sản phẩm đầu ra thông qua việc kiểm soát chất lượng vật liệu đầu vào của quá trình sản xuất. Trong phương pháp này, khuôn nano Ag sạch được ăn mòn (vật liệu hy sinh) và nhường điện tử cho các ion vàng ( $Au^{3+}$ ) khi chúng tiếp xúc với nhau trong pha dung dịch. Quá trình này cho phép các tinh thể nano Au được hình thành có kích thước lỗ rỗng tương ứng khuôn nano bạc, trong khi đó hạt nano bạc bị mất điện tử nên tan ra và tồn tại ở trạng thái ion ( $Ag^+$ ) trong dung dịch [101]. Bằng cách điều khiển về nồng độ và thời gian tương ứng có thể hình thành được tổ hợp lưỡng kim giữa vàng và bạc trong cấu trúc nano tạo thành. Do bản chất của Ag - NPs dùng làm khuôn được chế tạo bởi kỹ thuật điện hóa từ thanh bạc khối nên khi tan ra cũng không giải phóng những chất tồn dư có thể ảnh hưởng tới chất lượng của nano Au - NPs. Trong sản phẩm cuối cùng, vật liệu tổ hợp Au/Ag - CNPs có thể thu được trong dung dịch có thể được sử dụng để tải các phân tử thuốc hoặc sử dụng trực tiếp tiêu diệt các tế bào gây bệnh. Phương pháp trên cho phép linh hoạt trong quy mô thực hiện.

### c) Ứng dụng của nano tổ hợp Au/Ag - CNPs

Như đã trình bày ở trên hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs mang đầy đủ các tính chất của cả hai nano kim loại quý là vàng và bạc. Nhìn chung vật liệu nano tổ hợp Au/Ag - CNPs được ứng dụng chủ yếu dựa trên hai đặc tính: thứ nhất là khả năng kháng khuẩn của thành phần nano bạc; thứ hai là hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt xảy ra đối với cả nano vàng và nano bạc. Năm 2023 nhóm Nguyễn Trần Trúc Phương và các cộng sự đã ứng dụng nano tổ hợp Au/Ag - CNPs vào cảm biến sinh học sợi quang để phát hiện nhanh protein CRP [102]. Năm 2018 nhóm Zhen Yin và các cộng sự đã nghiên cứu ứng dụng cấu trúc nano tổ hợp Au/Ag - CNPs để tăng cường quá trình hydro hóa chọn lọc xúc tác dựa trên plasmon thông qua chiếu xạ ánh sáng khả kiến và tán xạ Raman tăng cường bề mặt [103]. Cùng năm đó, nhóm Taeho Kim và cộng sự đã nghiên cứu sử dụng liệu pháp quang âm để chụp ảnh sinh học và kháng khuẩn [9]. Tuy nhiên đánh giá khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/Ag – CNPs chế tạo bằng phương pháp phản ứng trao đổi Galvanic trên mô hình hai chủng vi khuẩn nhiễm trùng bệnh viện kháng kháng sinh *MRSA* và *E.coli* O150.H7 chưa được thực hiện.

## 1.5. Một số phương pháp phân tích sử dụng trong đề tài

### 1.5.1. Quang phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (UV- Vis)

*Mục đích:* xác định đỉnh hấp thụ của các hệ vật liệu nano, từ đó đánh giá được sự hình thành các nano tổ hợp trong dung dịch sau chế tạo; xác định được độ rộng vùng cấm của dung dịch chứa nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs; xác định nồng độ MB theo thời gian chiếu sáng.

*Nguyên lý đo:* Phổ hấp thụ UV – Vis là phương pháp phân tích dựa trên khả năng hấp thụ các bức xạ điện từ của phân tử vật chất. Đo phổ hấp thụ là một trong các phương pháp định lượng xác định hàm lượng của các chất thông qua cường độ hấp thụ của dung dịch. Đo phổ hấp thụ của vật liệu thường sử dụng thiết bị phổ kế UV - Vis. Thiết bị quang phổ hấp thụ thường được phân làm hai loại chính: thiết bị quang phổ hấp thụ một chùm tia và thiết bị quang phổ hấp thụ hai chùm tia. Trong luận án, chúng tôi sử dụng thiết bị UV – Vis OPTIMA Model SP 3000 nano hai chùm tia có dải đo từ 300 nm đến 800nm. Sơ đồ nguyên lý hoạt động của máy như Hình 1.18. Ngoài ra, để chứng minh

sự thay đổi độ rộng vùng cấm giữa vật liệu ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs, thông qua phép đo phổ hấp thụ phân tử UV-Vis đã được thực hiện. Dựa trên kết quả đo UV-Vis, phương pháp phổ Tauc được sử dụng để tính toán độ rộng vùng cấm quang (optical band-gap) của vật liệu ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs. Phương pháp Tauc dựa trên giả thuyết hệ số hấp thụ phụ thuộc vào năng lượng  $\alpha$  theo biểu thức [104]:

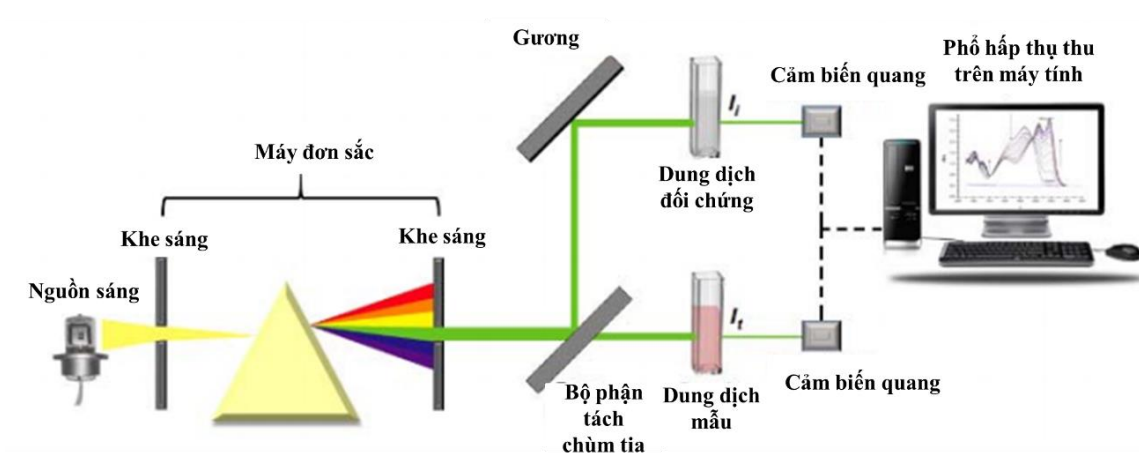
$$(\alpha \cdot h\nu)^{1/\gamma} = B (h\nu - E_g) \quad (1.5)$$

Trong đó:  $h$  là hằng số Planck,  $\nu$  là tần số của photon,

$E_g$  là năng lượng vùng cấm,  $B$  là hằng số.

$\gamma$  phụ thuộc vào bản chất của sự chuyển electron và bằng  $1/2$  hoặc  $2$  đối với bán dẫn vùng cấm thẳng hoặc xiên

Vật liệu ZnO - NPs có dạng bề rộng vùng cấm thẳng, do đó sử dụng  $\gamma = 1/2$  cho tính toán độ rộng vùng cấm của ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs.



Hình 1.18. Sơ đồ nguyên lý đo UV – Vis hai chùm tia [105].

Phép đo phổ hấp thụ UV - Vis này được thực trên máy SP – 3000 nano, Optima tại Viện Nghiên cứu Nano – Trường Đại học Phenikaa.

### 1.5.2. Nhiễu xạ tia X (XRD)

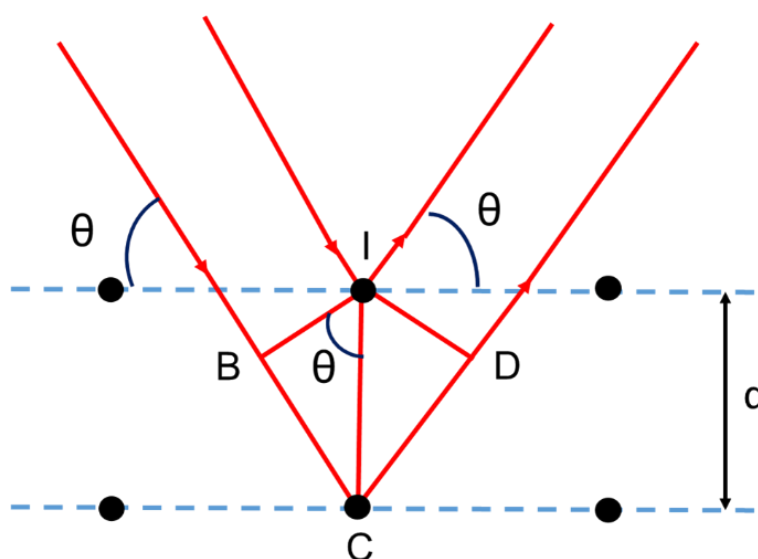
**Mục đích:** Phép phân tích nhiễu xạ tia X nhằm kiểm tra thành phần pha, độ kết tinh từ đó suy ra độ tinh khiết của các mẫu nano tổ hợp Au/Cur – CNPs; Au/ZnO – CNPs; Au/Ag - CNPs.

**Nguyên lý đo:** Nhiễu xạ tia X là hiện tượng các chùm tia X khi được chiếu vào vật liệu sẽ tương tác với các mặt tinh thể của chất rắn. Để xảy ra hiện tượng

nhiều xạ thì tia X chiếu tới phải thỏa mãn định luật phản xạ Bragg cho biết mối quan hệ giữa khoảng cách của hai mặt phẳng tinh thể song song ( $d$ ), góc giữa phương tia X tới và mặt phẳng tinh thể ( $\theta$ ) và bước sóng tia X ( $\lambda$ ) Khi tia X đi xuyên vào trong chất rắn nó sẽ tương tác với các ion và bị nhiễu xạ.

$$2d \sin \theta = n\lambda \quad (1.6)$$

Trong đó  $\theta$  là góc nhiễu phản xạ,  $\lambda$  là bước sóng tia X,  $n=0,1,2\dots$  là bậc nhiễu xạ,  $d$  là khoảng cách giữa các mặt tinh thể Hình 1.19.



Hình 1.19. Hiện tượng nhiễu xạ trên các mặt tinh thể chất rắn.

Do cấu trúc tinh các nút mạng được sắp xếp trật tự và tuần hoàn nên sau tương tác có thể tạo nên các cực đại và cực tiểu nhiễu xạ. Tín hiệu nhiễu xạ cho giản đồ nhiễu xạ với các đỉnh nhiễu xạ. Trên giản đồ nhiễu xạ mỗi đỉnh nhiễu xạ tương ứng với một họ các mặt phẳng mạng tinh thể [106]. Mỗi vật liệu có cấu trúc mạng tinh thể riêng biệt tương ứng với một giản đồ nhiễu xạ đặc trưng ở số đỉnh, vị trí đỉnh và cường độ tương ứng. Như vậy từ kết quả đo nhiễu xạ ta có thể xác định được cấu trúc tinh thể. Trên cơ sở lý thuyết đối xứng của cấu trúc tinh thể người ta đã tìm ra các biểu thức liên hệ giữa các hằng số mạng và chỉ số Miller. Đối với ô cơ sở tinh thể thuộc hệ lục giác (hexagonal) mối quan hệ này được trình bày ở phương trình:

$$\frac{1}{d^2} = \frac{4(h^2 + hk + k^2)}{3a^2} + \frac{l^2}{c^2} \quad (1.7)$$

Ngoài ra, thông qua giản đồ nhiễu xạ tia X kích thước tinh thể trung bình có thể được tính theo phương trình Scherrer:

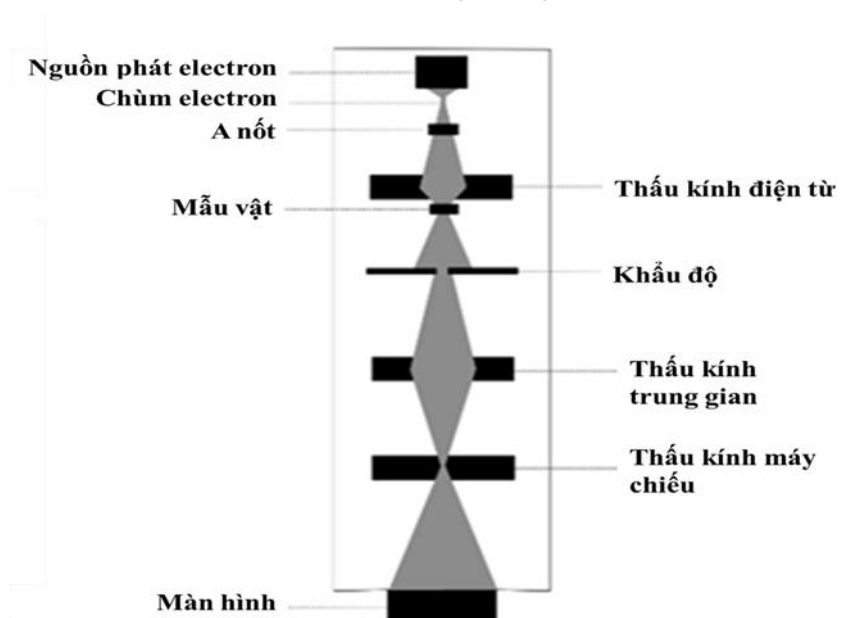
$$D = \frac{0,9\lambda}{\beta(2\theta)\cos\theta} \quad (1.8)$$

$D$  kích thước tinh thể trung bình;  $\lambda$  bước sóng tia X;  $\beta$  bán độ rộng; góc nhiễu xạ [107].

Nghiên cứu này sử dụng hệ nhiễu xạ tia X (XRD, EQUINOX 5000, Thermo Scientific) tại Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

### 1.5.3. Phân tích hiển vi điện tử truyền qua (TEM)

*Mục đích:* Phương pháp phân tích ảnh hiển vi điện tử truyền qua xác định hình dạng kích thước và cấu trúc của hạt nano. Ngoài ra còn giúp thống kê phân bố kích thước hạt của các hạt nano trong dung dịch sau chế tạo.



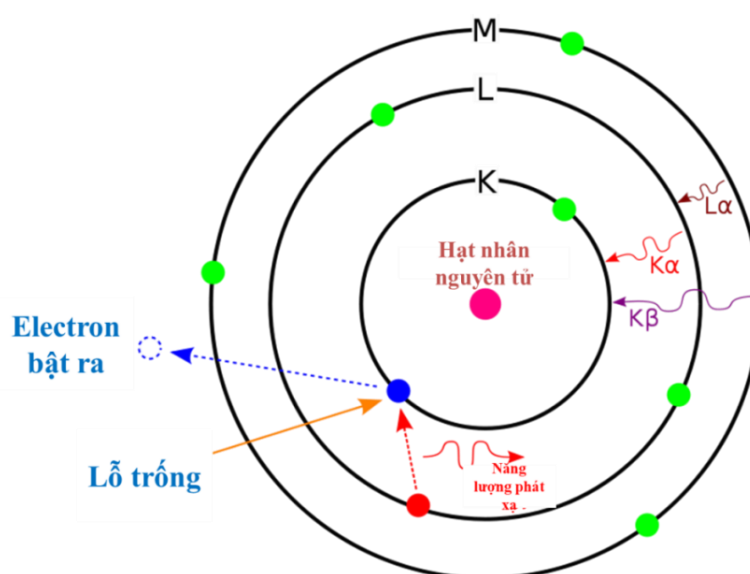
Hình 1.20. Sơ đồ khối của kính hiển vi điện tử truyền qua [108].

*Nguyên lý đo:* hoạt động của kính hiển vi điện tử truyền qua là sử dụng một nguồn phát (súng điện tử) chùm tia electron năng lượng lớn chiếu từ trên xuống, chùm tia này đi qua các thấu kính điện từ, được điều chỉnh đi xuyên qua mẫu đo. Sau đó đi tiếp qua các thấu kính điện từ, tạo ảnh trên màn huỳnh quang, hoặc camera đưa đến. Hình ảnh trên màn hình máy tính là ảnh đen trắng có độ phóng đại tùy và kích thước của vật cần quan sát, có khả năng đáp ứng độ phóng đại lên tới 1,5 triệu lần. Sơ đồ cấu tạo, nguyên lý hoạt động của kính hiển vi điện tử truyền qua được mô tả trên Hình 1.20.

Phép đo ảnh hiển vi điện tử truyền qua TEM thực hiện phép đo trên kính JEM 1010 (JEOL) tại Phòng thí nghiệm Siêu cấu trúc - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

#### 1.5.4. Phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX)

*Mục đích:* Phổ tán sắc năng lượng tia X cho biết thành phần các nguyên tố thực tế tồn tại trong các màng mỏng dựa vào việc ghi lại phổ tia X phát ra từ vật rắn do tương tác với các chùm điện tử có năng lượng cao với bề mặt mẫu trong các kính hiển vi điện tử.



Hình 1.21. Sơ đồ phát xạ huỳnh quang tia X (EDX) [109].

*Nguyên lý đo:* Chùm electron chuyển động với vận tốc lớn, năng lượng cao đập vào chất rắn nó sẽ đi xuyên vào các bên trong và tương tác với các lớp điện tử bên trong là bật ra một điện tử, ngay lập tức một điện tử khác từ lớp ngoài sẽ nhảy vào thay thế và phát ra tia X. Sơ đồ nguyên lý phát xạ huỳnh quang tia X được biểu diễn trên Hình 1.21. Bước sóng của tia X phát ra là đặc trưng của nguyên tử của mỗi chất có mặt trong mẫu đồng thời cho biết tỉ lệ thành phần các nguyên tử. Các detector thu tín hiệu tia X và chuyển đến máy tính phân tích ghi lại phổ. Thiết bị đo EDX được gắn trên kính hiển vi điện tử quét SEM nhờ có chùm electron năng lượng cao và được điều khiển bởi các thấu kính điện từ.

Phép đo phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) của mẫu nano Ag - NPs và Au/Ag - CNPs được phân tích trên kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường

S4800 - Hitachi, tại phòng thí nghiệm Siêu cấu trúc - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

### **1.5.5. Phổ hồng ngoại biến đổi chuỗi Fourier (FTIR).**

*Mục đích:* Phương pháp phổ hồng ngoại (IR) có thể dựa vào các tần số đặc trưng này để dự đoán sự có mặt của các liên kết hoặc nhóm chức trong các nano tổ hợp được nghiên cứu trong luận án.

*Nguyên lý đo:* Khi vật liệu cần đo hấp thụ ánh sáng trong vùng hồng ngoại thì các nguyên tử trong phân tử sẽ dao động. Các nguyên tử trong phân tử dao động theo ba chiều trong không gian gọi là các dao động riêng của phân tử. Ví dụ: phân tử có số nguyên tử là  $N$  số dao động riêng tối đa bằng  $(3N - 5)$  đối với phân tử thẳng như  $\text{CO}_2$  và bằng  $(3N - 6)$  đối với phân tử không thẳng như  $\text{H}_2\text{O}$ . Mỗi dao động riêng ứng với một mức năng lượng nhất định (khá nhỏ) tương đương với năng lượng bức xạ hồng ngoại. Tuy nhiên, không phải mọi phân tử khi hấp thụ bức xạ hồng ngoại đều có hiệu ứng phổ dao động mà chỉ có những phân tử khi dao động gây ra sự thay đổi momen lưỡng cực điện mới có khả năng hấp thụ bức xạ hồng ngoại. Những dao động này làm thay đổi momen lưỡng cực điện của liên kết xuất hiện tín hiệu hồng ngoại. Mỗi cực đại trong phổ IR đặc trưng cho sự có mặt của một nhóm chức hoặc dao động của một liên kết xác định.

Phép đo phổ hồng ngoại biến đổi chuỗi Fourier (FTIR) thực hiện trên thiết bị FT-IR 4600 Tại Phòng thí nghiệm thực hành - Trường ĐH Khoa học Thái Nguyên – ĐH Thái Nguyên.

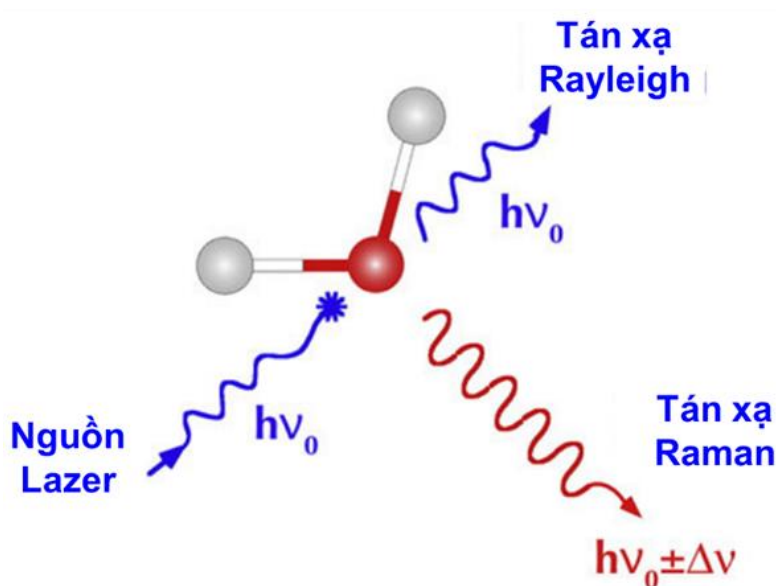
### **1.5.6. Tán xạ Raman**

*Mục đích:* Xác định các liên kết giữa nano vàng và hoạt chất có nguồn gốc từ thiên nhiên curcumin.

*Nguyên lý đo:* Khi chiếu một chùm sáng đơn sắc vào một phân tử vật chất sẽ xảy ra hiện tượng tán xạ gồm: Tán xạ đàn hồi (Reyleigh) và tán xạ không đàn hồi (Raman). Tán xạ Rayleigh (hoặc tán xạ đàn hồi) là hiệu ứng tán xạ ánh sáng chiếm ưu thế và kết quả khi ánh sáng tán xạ ra khỏi các phân tử không có sự thay đổi năng lượng. Tán xạ Raman (tán xạ không đàn hồi) là hiện tượng tán xạ tương đối yếu xảy ra vì dao động của liên kết. Tán xạ Raman là một loại bức



xạ thứ cấp, không đàn hồi xảy ra khi ánh sáng tương tác với các phân tử. Trong đó, photon tán xạ có thể có năng lượng lớn hơn hoặc nhỏ hơn so với năng lượng của photon tới, năng lượng đó tương ứng với năng lượng dao động trong mạng tinh thể hoặc dao động của phân tử. Trong tán xạ Raman, năng lượng photon được truyền đi khi nó tương tác với các phân tử gây ra sự dịch chuyển bước sóng của ánh sáng tán xạ. Cả hai lý thuyết tán xạ Rayleigh và Raman hiện nay được sử dụng rộng rãi để mô tả cách ánh sáng tương tác với dao động và tán xạ của các phân tử.



Hình 1.22. Tán xạ Raman thu được khi kích thích phân tử bằng laser.

Phép đo tán xạ Raman thực hiện trên thiết bị đo Macro Raman – Horiba Tại Viện Nghiên cứu nano - Trường Đại học Phenikaa.

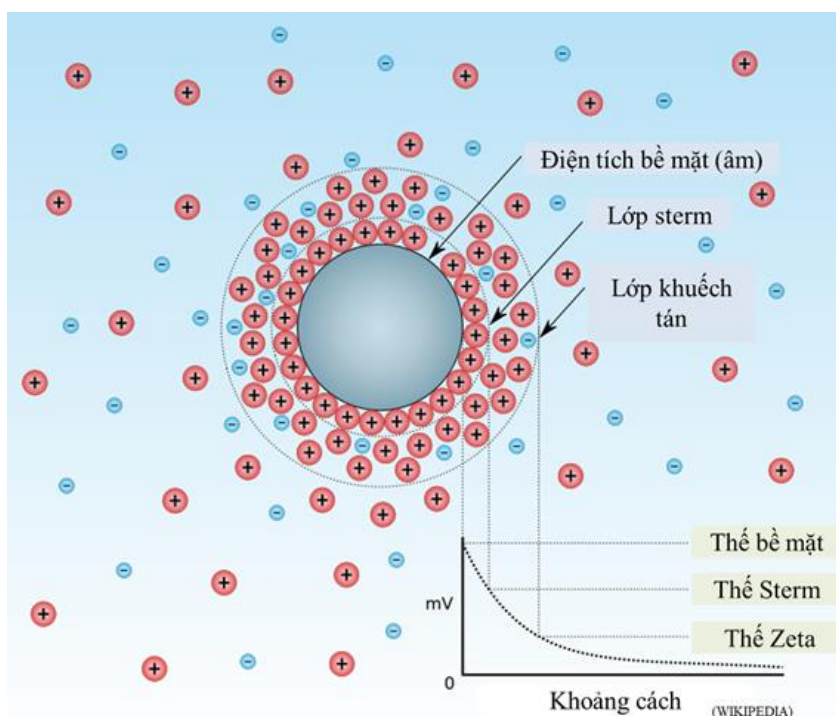
### 1.5.7. Đo thế bề mặt Zeta và tán xạ ánh sáng động học (DLS)

*Mục đích:* Phương pháp đo thế bề mặt zeta và DLS giúp kiểm tra độ ổn định, kích thước hạt và khả năng phân tán của hạt nano trong dung dịch.

*Nguyên lý đo:* Phương pháp đo thế zeta dựa trên hiện tượng tán xạ ánh sáng động học. Các hạt vật liệu nano trong dung dịch có điện tích có dấu nhất định hút những ion có điện tích trái dấu để tạo thành một lớp điện tích bao quanh hạt. Những ion trên lớp điện tích này lại hút các ion trái dấu với chúng trong dung dịch hình thành nên một lớp điện tích kép: lớp trong (lớp Stern) gồm các ion liên kết mạnh với bề mặt hạt và lớp ngoài (lớp khuếch tán) liên kết yếu hơn với bề mặt hạt. Do đó, lớp điện tích kép trên bề mặt các hạt vật liệu



nano trong dung dịch là nguyên nhân hình thành thế bề mặt (Zeta) của các hạt có kích thước nano.



Hình 1.23. Cơ chế hình thành thế Zeta của hạt nano trong dung dịch.

Thế bề mặt Zeta được khảo sát bằng cách áp đặt một điện trường qua hệ phân tán. Các hạt trong dung dịch dưới tác dụng của điện trường ngoài sẽ di chuyển theo một chiều nhất định với vận tốc tỷ lệ thuận với độ lớn của thế bề mặt zeta (Hình 1.23).

Bảng 1.1. Độ ổn định của dung dịch chứa hạt nano phụ thuộc vào thế bề mặt.

| Thế Zeta (mV)         | Độ ổn định                      |
|-----------------------|---------------------------------|
| 0 đến $\pm 5$         | Đông tụ hoặc kết tụ nhanh chóng |
| $\pm 10$ đến $\pm 30$ | Ổn định yếu                     |
| $\pm 30$ đến $\pm 40$ | Ổn định trung bình              |
| $\pm 40$ đến $\pm 60$ | Ổn định tốt                     |
| $> 61$                | Rất ổn định                     |

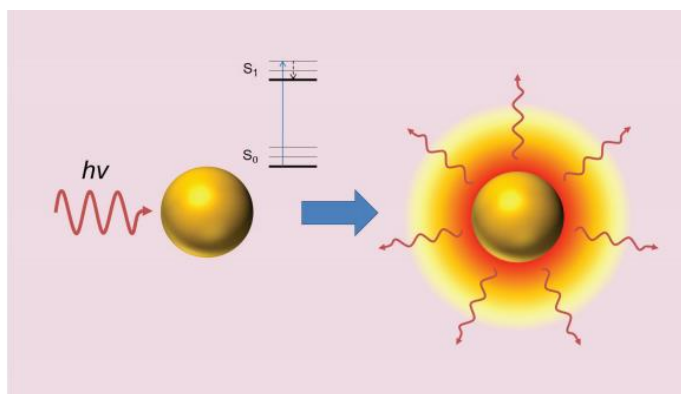
Điện thế zeta là một chỉ số quan trọng đánh giá sự ổn định của vật liệu khi phân tán trong dung dịch. Độ lớn lực đẩy tĩnh điện giữa các hạt mang cùng điện tích gần nhau trong dung dịch tỷ lệ với độ lớn của thế zeta. Đối với các phân tử và hạt đủ nhỏ, thế zeta cao sẽ mang lại sự ổn định, tức là dung dịch hoặc sự phân tán sẽ chống lại sự kết tụ. Khi thế zeta nhỏ, lực hấp dẫn có thể lớn hơn lực đẩy này sự phân tán có thể bị phá vỡ và xảy ra hiện tượng kết tụ. Vì vậy, các dung dịch có thế zeta cao (âm hoặc dương) có độ ổn định cao trong khi các chất keo có thế zeta thấp có xu hướng đông tụ hoặc kết bông. Các mức thế tương ứng độ ổn định được nêu trong Bảng 1.1.

Phép đo thế zeta và DLS thực hiện trên thiết bị đo Zetasize Nano ZS Tại Viện Khoa học Vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

#### 1.5.8. Khảo sát hiệu ứng quang nhiệt

*Mục đích:* Khảo sát hiệu ứng quang nhiệt của dung dịch chứa vật liệu Au - NPs, Au/ZnO -CNPs, Au/Cur -CNPs.

*Nguyên lý đo:* Các hạt nano kim loại quý như vàng hay bạc khi chiếu ánh sáng có bước sóng thích hợp sẽ xảy ra hiệu ứng plasmon bề mặt đồng thời với nó là quá trình chuyển hóa quang năng thành nhiệt.

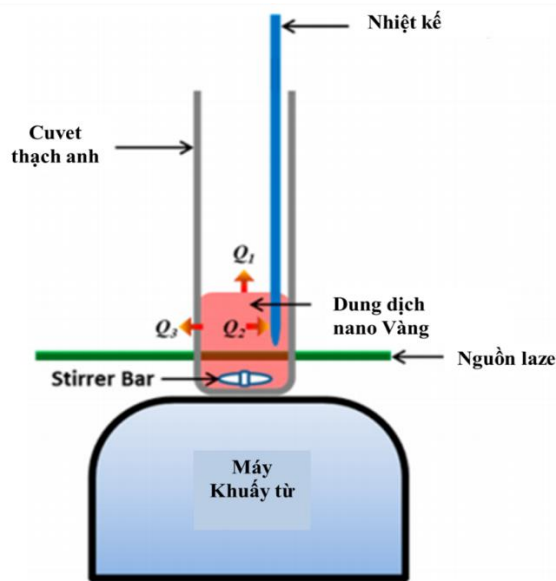


Hình 1.24. Hiệu ứng quang nhiệt của hạt nano Au – NPs [110].

Hình 1.24 mô tả hiệu ứng quang nhiệt trong các hạt nano vàng. Khi chiếu xạ (bức xạ nhìn thấy hoặc hồng ngoại gần theo dải plasmonic của hạt nano vàng), hạt nano vàng hấp thụ ánh sáng ( $h\nu$ , trái). Các sự hấp thụ năng lượng dẫn đến sự chuyển đổi điện tử của các điện tử bề mặt từ trạng thái cơ bản ( $S_0$ ) sang trạng thái trạng thái kích thích ( $S_1$ ). Năng lượng bức xạ ra môi trường dưới dạng nhiệt năng phát ra xung quanh các hạt nano vàng theo mọi hướng. Kết quả là nhiệt độ môi trường xung quanh các hạt nano vàng sẽ tăng lên.

Năm 2013 nhóm Ke Jiang [29] và cộng sự đã đánh giá sự phụ thuộc của hiệu ứng quang nhiệt vào kích thước hạt nano vàng. Hệ thí nghiệm được bố trí như sơ đồ ở Hình 1.25. sử dụng laze có bước sóng tương ứng với bước sóng hấp thụ plasmon của các hạt nano vàng (532 nm).

Phép đo hiệu ứng quang nhiệt của các dung dịch chứa Au – NPs, Au/Cur – CNPs, Au/ZnO – CNPs được thực hiện tại phòng thí nghiệm - Viện Nghiên cứu nano - Trường Đại học Phenikaa.



Hình 1.25. Sơ đồ thí nghiệm khảo sát hiệu ứng quang nhiệt của dung dịch chứa Au – NPs [29].

## 1.6. Kết luận Chương 1

Chương 1 đã trình bày tổng quan các vấn đề liên quan đến luận án, trình bày các căn cứ lí thuyết, các phương pháp chế tạo, phương pháp phân tích trong quá trình thực hiện nội dung của luận án. Cụ thể là tổng quan về vật liệu nano vàng và các đặc tính vật lí, hóa học cũng như khả năng kháng khuẩn, các phương pháp chế tạo hạt nano vàng, ưu nhược điểm của từng phương pháp. Giới thiệu sơ lược về tính chất cũng như hoạt tính sinh học của curcumin, ZnO – NPs và Ag – NPs. Trình bày tổng quan về các nano tổ hợp Au/Cur – CNPs, Au/ZnO – CNPs và Au/Ag – CNPs, và ứng dụng trong y sinh của chúng đã được công bố gần đây. Ngoài ra, chương này còn trình bày những phương pháp và kỹ thuật phân tích những đặc trưng của các hệ vật liệu nano tổ hợp đã tổng quan cũng như được sử dụng trong nghiên cứu của luận án.

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

### 2.1. Đặt vấn đề

Công nghệ vật liệu nano được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực đời sống con người. Trong đó vật liệu nano trong các ứng dụng y sinh được quan tâm nghiên cứu. Sự kết hợp của một chất kháng sinh và các hạt nano kim loại nhằm tăng cường khả năng tiêu diệt các tế bào gây bệnh đã được nghiên cứu [2][3]. Kết hợp giữa nano kim loại quý với một loại hoạt chất có nguồn gốc tự nhiên (xanh, an toàn) đã được nhiều nhóm nghiên cứu quan tâm. Trong đó kết hợp nano vàng và nano curcumin là một hướng nghiên cứu thú vị. Hạt nano vàng với các đặc tính như tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích lớn và ít độc tính với tế bào. Đặc biệt hiệu ứng quang nhiệt trên cơ sở hiệu ứng plasmon bề mặt có nhiều tiềm năng ứng dụng trong y học [4][5][6]. Curcumin hay diferuloylmethane là thành phần chính trong củ nghệ, một loại thực vật phổ biến của vùng khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới [7]. Ngoài công dụng trong chế biến thức ăn, curcumin còn được xem như là một loại thuốc kháng sinh có nguồn gốc tự nhiên và được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực y tế [8]. Curcumin được thử nghiệm diệt các loại vi khuẩn gây bệnh như *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* [8][9]. Tuy nhiên hoạt tính kháng khuẩn của curcumin không cao ở nồng độ thấp và chỉ được tăng cường ở dải nồng độ cao. Điều đó dẫn đến việc ứng dụng curcumin để tiêu diệt các tế bào gây bệnh khó khăn. Hơn nữa, tình hình nhiễm trùng bệnh viện ngày càng phổ biến, trong khi chưa có các biện pháp thích hợp để ngăn chặn. Đặc biệt, sự xuất hiện nhiều chủng vi khuẩn nhiễm trùng bệnh viện kháng thuốc, thậm chí đa hoặc siêu kháng thuốc. Dẫn đến công nghệ sản xuất thuốc kháng sinh hiện nay không theo kịp tình trạng kháng thuốc của các chủng vi khuẩn [1]. Đây cũng chính là vấn đề đặt ra đối với các nhà khoa học trên toàn thế giới, nhằm tìm ra những thuốc mới hay phương thức tiếp cận mới để thay thế những loại thuốc kháng sinh hiện hành. Rất nhiều nhà khoa học đã chú ý tới những phương thức cổ truyền, dựa trên các loại thảo dược kết hợp với các công nghệ hiện đại như công nghệ nano nhằm phát triển các loại thuốc mới. Một trong những giải pháp được đưa ra là phát triển hệ mang thuốc vô cơ có khả năng tương thích sinh học và phát huy cộng hợp các tính năng của cả hệ mang và các phần tử thuốc. Nano vàng là một

trong những loại vật liệu nano đã được lựa chọn hàng đầu làm hệ vật liệu mang thuốc, do chúng có những tính chất đặc biệt mà các vật liệu nano khác không có được, đó là tính tương thích sinh học và hiệu ứng plasmon bề mặt. Trong đó, nano tổ hợp vàng – curcumin cũng đã được chú ý và được một số nhóm nghiên cứu phát triển [61][111]. Tổ hợp Au/Cur – CNPs thường được tổng hợp bằng phương pháp khử muối vàng  $\text{HAuCl}_4$  với tác nhân khử xanh là curcumin. Năm 2018, Shruti Nambiar và cộng sự [112] đã chế tạo thành công nano tổ hợp Au/Cur – CNPs bằng phương pháp khử muối vàng với curcumin. Ở đây, curcumin vừa đóng vai trò chất khử vừa là thuốc cần mang. Kết quả thử nghiệm trong môi trường chứa huyết thanh thấy rằng sự hấp thụ các phân tử tích điện trái dấu trong huyết thanh đã làm giảm độ tính tế bào của Au/Cur – CNPs. Khi cho thêm huyết thanh bào thai bò (FBS) vào làm tăng cường khả năng hấp thụ Au/Cur – CNPs gây ra khả năng tiêu diệt và ức chế tế bào PC3 (tế bào ung thư tuyến tiền liệt ở người). Năm 2019, Nihal Saad Elbialy và cộng sự [17] đã chế tạo nano tổ hợp Au/Cur – CNPs bằng phương pháp khử với tác nhân khử là curcumin. Vật liệu thu được đã được thử nghiệm trên hai dòng tế bào ung thư HCT 116 (tế bào ung thư ruột kết ở người) và MCF – 7 (tế bào ung thư vú ở người). Kết quả thu được Au/Cur - CNPs (0,7 – 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) có khả năng ức chế và tiêu diệt tế bào ung thư mạnh hơn các phân tử curcumin tự do. Tuy nhiên hoạt tính sinh học của hạt nano tổ hợp vàng – curcumin (Au/Cur - CNPs) đều được thử nghiệm ở nồng độ cao. Trong hầu hết các nghiên cứu, Au/Cur – CNPs đều được chế tạo bằng phương pháp khử đơn do thời gian chế tạo nhanh [45]. Tuy nhiên, ở một khía cạnh nào đó khử hóa học cũng thường để lại những chất tồn dư không mong muốn. Thêm vào đó vật liệu nguồn là muối vàng giá thành cao và khó phát triển sản xuất với khối lượng lớn. Trong nội dung nghiên cứu của đề tài luận án, chúng tôi cũng thử nghiệm chế tạo nano tổ hợp vàng - curcumin bằng nguồn nguyên vật liệu sạch sẵn có và sử dụng phương pháp đơn giản, sản phẩm tạo thành sạch hoàn toàn. Ngoài ra, sản phẩm khi thử nghiệm được giả thuyết sẽ phát huy tối đa công dụng của hai thành phần gồm nano vàng và phân tử curcumin. Tổ hợp sau khi chế tạo cũng được thử nghiệm khả năng tăng cường hoạt tính diệt một số loại vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện, trong đó sử dụng hai chủng vi khuẩn đại diện Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7) dựa trên hiệu ứng quang nhiệt. Nghiên cứu này đề xuất phương pháp chế tạo nano tổ hợp vàng – curcumin (Au/Cur - CNPs) bằng

phương pháp điện hóa đơn giản từ hai thanh vàng dạng khối. Đây là phương pháp thân thiện môi trường, nguyên vật liệu sẵn có chi phí sản xuất thấp và có thể phát triển sản xuất với số lượng lớn. Sản phẩm tạo thành có độ sạch cao phù hợp với các ứng dụng dẫn thuốc, các liệu pháp điều trị ung thư và diệt các chủng vi khuẩn kháng thuốc.

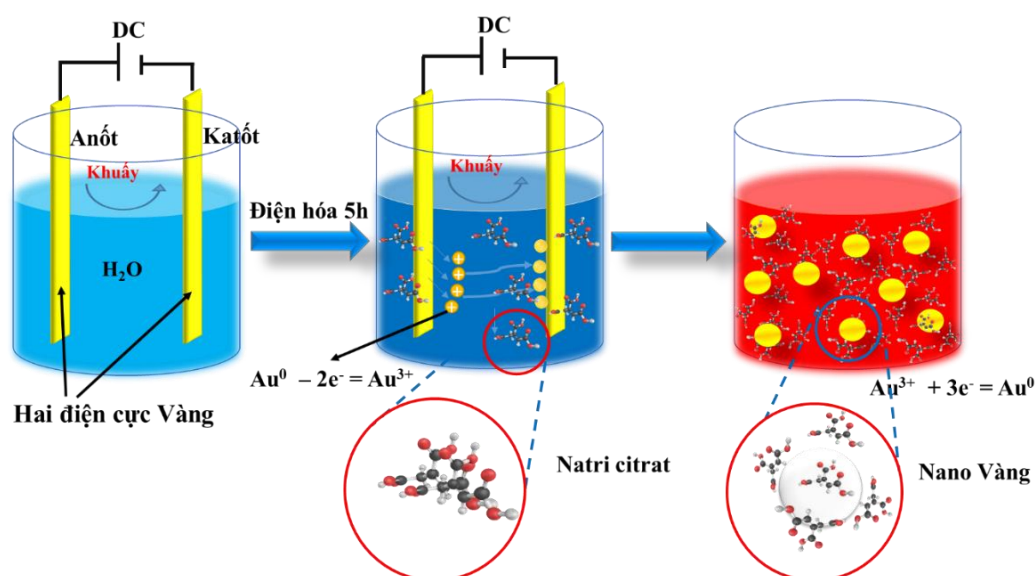
## 2.2. Vật liệu và phương pháp

### 2.2.1. Hóa chất thiết bị

Hai thanh vàng dạng khối (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. Natri citrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ), curcumin (99,99 %) được mua từ Sigma – Aldrich. Tất cả các hóa chất khác đều đủ tiêu chuẩn phân tích. Hai chủng vi khuẩn Gram dương (tụ cầu vàng kháng methicillin - *MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7) và tế bào MA – 104 được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương – Việt Nam.

### 2.2.2. Phương pháp thực nghiệm

#### a) Quy trình tạo nano vàng bằng phương pháp điện hóa



Hình 2.1. Quy trình chế tạo nano vàng từ hai thanh vàng dạng khối bằng phương pháp điện hóa.

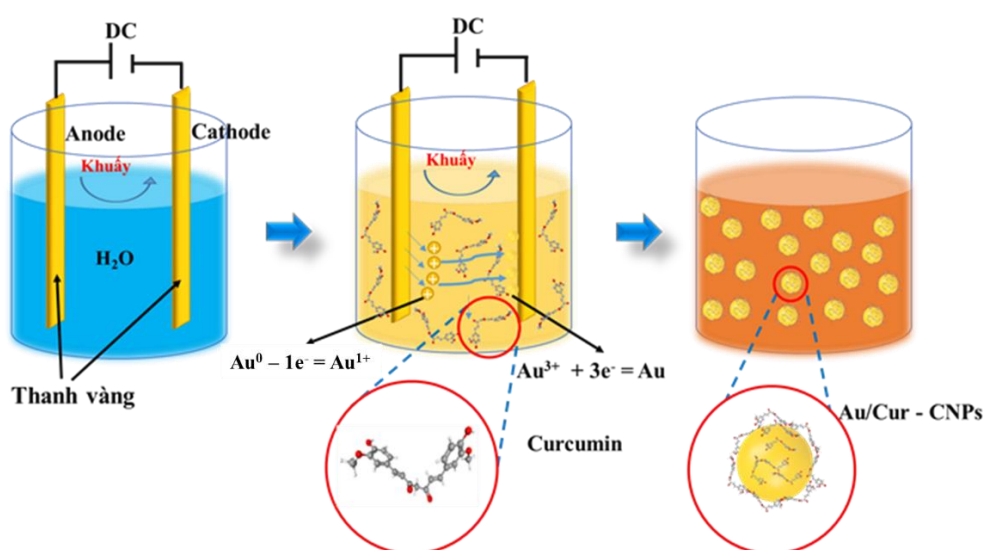
Quy trình chế tạo nano vàng bằng phương pháp điện hóa được mô tả trên Hình 2.1. Trước tiên, hai thanh vàng (độ sạch 99,99%) được làm sạch bề mặt

bằng dung dịch oxy già ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 3% để loại bỏ bụi bẩn bám trên bề mặt. Tiếp theo chúng được rung siêu âm trong nước cất ở nhiệt độ phòng trong 10 phút để loại bỏ hoàn toàn cặn bẩn trên bề mặt và rửa lại bằng nước cất hai lần trước khi sử dụng. Natricitrat (độ sạch 99%) được chuẩn bị sẵn tương ứng với nồng độ 0,1% (khối lượng/thể tích).

Sau đó, cố định hai thanh vàng làm hai điện cực và gắn vào bình điện hóa, rót nước cất 2 lần vào bình sao cho điện cực ngập sâu 10 cm trong nước cất, hai đầu thanh vàng được nối với nguồn điện có điện áp 9 V. Tiếp theo, nhỏ giọt natri citrate theo tỉ lệ đã chuẩn bị vào bình điện hóa chứa nước cất bằng phương pháp nhỏ giọt, đặt hệ điện hóa ổn nhiệt lên máy khuấy từ gia nhiệt và nâng nhiệt độ sao cho dung dịch trong bình điện hóa đạt tới nhiệt độ sôi (100 °C), bật công tắc nguồn điện để cấp dòng điện cho bình điện hóa. Lượng nước bốc hơi do nhiệt độ sôi được bổ sung bằng nước cất 2 lần sau mỗi 10 phút. Quá trình điện hóa được thực hiện trong 5 giờ và duy trì nhiệt độ sôi của dung dịch trong điều kiện khuấy từ. Sau quá trình điện hóa, nguồn điện được ngắt, dung dịch thành phẩm được để nguội tới nhiệt độ phòng và ly tâm 1500 vòng/phút trong 5 phút để lấy phần nước nổi và loại bỏ phần lắng đọng.

### b) Quy trình chế tạo tổ hợp vàng - curcumin

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



Hình 2.2. Quy trình chế tạo nano tổ hợp vàng - curcumin bằng phương pháp điện hóa.



Bề mặt của các thanh vàng dạng khối được làm sạch tương tự quy trình điện hóa chế tạo nano vàng nêu trên. Hai thanh vàng có kích thước (150 mm X 5 mm X 0,1 mm) được cố định (ngập sâu 10 cm) vào một bình điện hóa kín chứa 500 ml nước cất hai lần, hai đầu thanh được nối với nguồn điện một chiều 9 V. Sau đó, 0,1% natri citrat được thêm vào bình điện hóa và thời gian tổng hợp các hạt nano vàng (Ag - NPs) kéo dài trong 5 giờ trong điều kiện sôi nhẹ. Để hình thành các hạt nano tổ hợp vàng - curcumin (Au/Cur - CNPs), dung dịch chứa curcumin 0,015% được thêm từng giọt vào bình trong suốt quá trình điện hóa. Sau khi làm nguội, dung dịch điện hóa được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút lấy phần lắng để loại bỏ phần curcumin dư. Sản phẩm này sau đó được lọc rửa ba lần trong nước cất hai lần để loại bỏ hoàn toàn các phân tử curcumin tự do không bám dính vào hạt nano vàng và các phân tử muối natri citrat dư thừa. Cuối cùng, sản phẩm nano tổ hợp vàng – curcumin thu được bằng cách phân tán lại trong nước cất hai lần để sẵn sàng cho các khảo sát.

#### *b) Phân tích các đặc tính của hệ vật liệu*

Sự hình thành hạt và cấu trúc, đặc tính lí hóa của Au/Cur - CNPs được khảo sát bằng phổ hấp thụ UV-Vis (SP – 3000 nano, Optima); ảnh 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 được khảo sát bằng phổ tán xạ động học DLS, thế Zeta trên máy (Zetasizer Nano ZS) và phổ hấp thụ hồng ngoại gần IR (FT-IR 4600).

#### *c) Khảo sát hiệu ứng quang nhiệt của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs*

Đưa lần lượt 1 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,9%, Au - NPs và nano tổ hợp Au/Cur - CNPs tương ứng vào 3 ống thủy tinh. Sau đó các ống này được đưa vào bể ổn nhiệt được giữ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 15 phút để đảm bảo nhiệt độ dung dịch bên trong ống cân bằng với nhiệt độ thiết lập của bể. Chiếu liên tục nguồn laze xanh công suất 100 mW, bước sóng 532 nm vào các ống chứa mẫu, thời gian 300 giây, nhiệt độ của dung dịch trong ống được đo liên tục trong suốt quá trình chiếu sáng bằng đầu cảm biến và số liệu được ghi lại bằng máy tính trên phần mềm SE309.



d) *Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của hệ vật liệu nano tổ hợp Au/Cur – CNPs*

*Bảng 2.1. Các thông số thí nghiệm kháng khuẩn của Au – NPs và Au/Cur – CNPs.*

| <b>Tên mẫu</b>             | <b>Điều kiện chiếu sáng</b> | <b>Thể tích mẫu</b> | <b>Thể tích huyền dịch</b> | <b>Chủng vi khuẩn</b>                                      |
|----------------------------|-----------------------------|---------------------|----------------------------|--|
| Đối chứng (-)              | Không chiếu                 | 90 µl               | 10 µl                      | <i>E. coli</i> và <i>MRSA</i><br>10 <sup>6</sup><br>CFU/ml |
| Đối chứng (+)              | Có chiếu<br>(532 nm)        | 90 µl               | 10 µl                      |  |
| Au – NPs<br>(150 ppm)      |                             | 90 µl               | 10 µl                      |  |
| Au/Cur – CNPs<br>(150 ppm) |                             | 90µl                | 10 µl                      |  |

Hoạt tính kháng khuẩn của nano tổ hợp vàng curcumin đã được thử nghiệm trên mô hình vi khuẩn Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7). Các ống thủy tinh đã tiệt trùng được sử dụng cho thí nghiệm, 900 µL các dung dịch khác nhau đã được chuẩn bị bao gồm (1) nước muối sinh lý (0,9%) trong ống thứ nhất và thứ hai; (2) Au - NPs ở ống thứ ba; và (3) nano tổ hợp vàng - curcumin ở ống thứ tư. Tiếp theo, 100 µL dung dịch chứa vi khuẩn ở nồng độ 10<sup>6</sup> CFU/ml được thêm vào tất cả các ống và trộn đều bằng thiết bị vortex. Các ống này được đặt trong bể ổn nhiệt ở 37°C, sau đó được chiếu xạ bằng nguồn laze màu xanh lá cây có bước sóng 532 nm từ ống thứ hai đến ống thứ tư, mỗi ống 20 phút, ngoại trừ ống thứ nhất. Chi tiết về thí nghiệm được mô tả trong Bảng 2.1. Cuối cùng, 100 µL dung dịch được lấy từ mỗi ống và trải đều trên bề mặt các đĩa petri chứa 20 ml thạch dinh dưỡng. Sau khi trải đều dung dịch, các đĩa được ủ trong 24 giờ ở 37°C và sau đó đếm số lượng khuẩn lạc phát triển trên môi trường thạch bằng kính hiển vi soi nổi. Thí nghiệm được lặp lại ba lần đối với từng chủng vi khuẩn được thử nghiệm.

e) *Đánh giá độc tính tế bào của hệ vật liệu nano tổ hợp Au/Cur - CNPs*

Chuẩn bị môi trường DMEM 2  $\mu\text{g}$  trypsin/mL, đầu tiên rót 150 mL DMEM vào bình Schott, sau đó nhỏ từ từ 600  $\mu\text{L}$  trypsin 0,5 mg/mL rồi khuấy trên máy khuấy từ 10 phút. Chia ra các chai bảo quản (ở nhiệt độ  $< 0^\circ\text{C}$ ) trong nước đá cho các bước tiếp theo (giữ tế bào, pha loãng hóa chất).

Tế bào MA – 104 được cấy vào các giếng của phiên 96 giếng trong môi trường DMEM có 10% FBS và nuôi trong 48 – 72 giờ ( $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ) để thu được tế bào dạng đơn lớp.

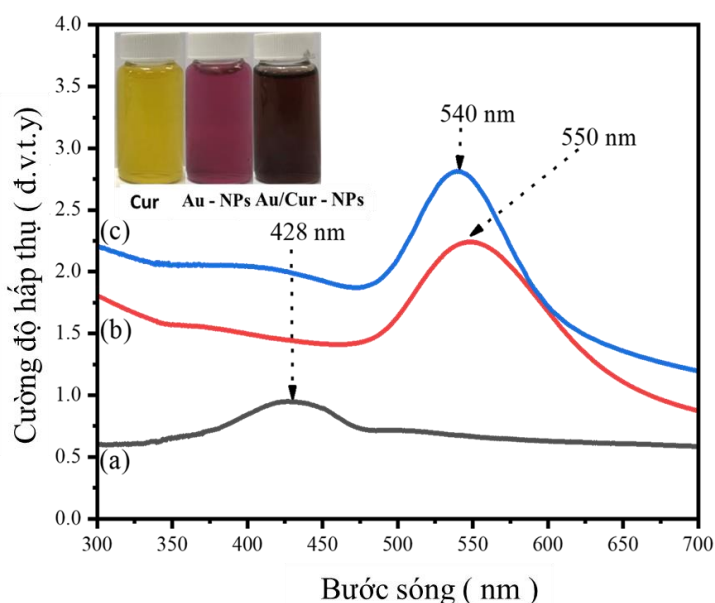
Thử nghiệm độc tính tế bào tiến hành lặp lại 3 lần tương ứng với 3 cột của phiên 96 giếng. Để chuẩn bị các giếng tế bào cho thử nghiệm độc tính tế bào của nano tổ hợp Au/Cur – CNPs (nồng độ gốc 150 ppm) cần loại bỏ FBS khỏi môi trường nuôi cấy, đầu tiên loại bỏ môi trường trong tất cả các giếng (môi trường DMEM có chứa FBS), sau đó sử dụng pipette đa kênh thêm 200  $\mu\text{L}$  môi trường DMEM (không chứa FBS) vào mỗi giếng. Lặp lại bước rửa một lần nữa, tiếp đến hút bỏ môi trường có trong các giếng. Tiếp theo, thêm 40  $\mu\text{L}$  DMEM (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  trypsin) vào mỗi giếng của hàng A, 100  $\mu\text{L}$  DMEM (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  trypsin) vào mỗi giếng của hàng B – G và 200  $\mu\text{L}$  DMEM (2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  trypsin) vào mỗi giếng hàng H cho kiểm chứng tế bào. Cuối cùng, quan sát qua kính hiển vi để kiểm tra tác động của quá trình hút rửa đến lớp tế bào. Độc tính tế bào của Au/Cur – CNPs được thử nghiệm với dải nồng độ pha loãng liên tiếp của mẫu. Mỗi giếng ở hàng A của phiên 96 giếng được thêm 160  $\mu\text{L}$  dung dịch chứa nano tổ hợp Au/Cur - CNPs. Chuẩn bị 6 ống nghiệm có nắp đậy làm ống pha loãng, thêm 1 mL môi trường DMEM vào mỗi ống. Hút 1 mL nano tổ hợp Au/Cur - CNPs vào ống đầu tiên, rồi đảo trộn và chuyển 1 mL hỗn hợp sang ống thứ hai. Tiếp đến, pha loãng tương tự cho đến ống thứ 6 để được dãy pha loãng bậc hai của mẫu thử nghiệm trong môi trường DMEM. Các dung dịch pha loãng lần lượt được phân chia vào các giếng của 6 hàng B – G (200  $\mu\text{L}/\text{giếng}$ ). Đặt nuôi tế bào ở  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  trong 5 – 7 ngày, theo dõi bằng kính hiển vi đảo ngược sau mỗi 24 giờ.

## 2.3. Kết quả và thảo luận

### 2.3.1. Sự hình thành hạt và tính chất quang của vật liệu Au – NPs và Au/Cur CNPs.

Trong quá trình tổng hợp nano vàng Au - NPs bằng phương pháp điện hóa, sự thay đổi màu sắc dung dịch có thể quan sát được bằng mắt thường.

Dung dịch điện hóa chuyển từ trong suốt sang màu hồng đến màu đỏ tươi trong quá trình điện hóa, đây là màu đặc trưng của dung dịch chứa các hạt nano vàng [28]. Với mẫu khi nhỏ thêm dung dịch có pha curcumin, sau 5 giờ điện hóa, sản phẩm có màu đỏ đậm, trong khi đó curcumin có màu vàng (Hình 2.3). Sự thay đổi màu sắc của dung dịch trong quá trình điện hóa từ nước cất hai lần (không màu) sang màu đỏ đã chứng tỏ có sự hình thành của các hạt nano vàng. Khi thêm curcumin, màu sắc của dung dịch cũng trở nên đậm hơn. Do vậy, chúng tôi giả định rằng sự thay đổi màu sắc tương ứng với sự tương tác của curcumin lên bề mặt các hạt nano vàng trong quá trình hình thành hạt. Trong luận án, phương pháp đo phổ hấp thụ UV-Vis đã được sử dụng để phân tích và làm sáng tỏ nhận định trên. Hình 2.3(a) là phổ hấp thụ của dung dịch chứa curcumin với đỉnh hấp thụ đặc trưng ở bước sóng tương ứng là 428 nm [113]. Hình 2.3(b) là phổ hấp thụ của dung dịch chứa Au - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa. Có thể thấy rằng, trong hình này có đỉnh hấp thụ tại bước sóng 550 nm, là đỉnh hấp thụ plasmon đặc trưng của Au - NPs [28][88].



Hình 2.3. Phổ hấp thụ UV-Vis của các dung dịch chứa: curcumin (a); Au - NPs (b); và Au/Cur - CNPs (c).

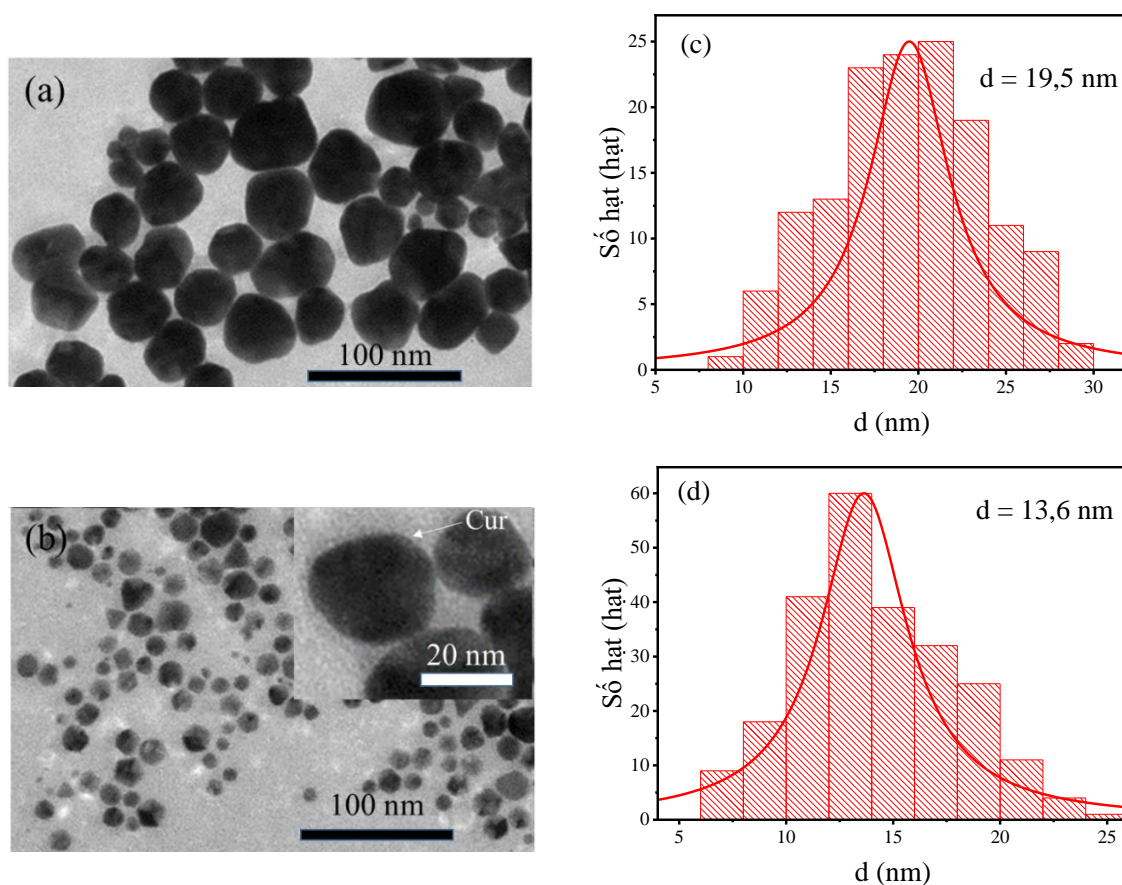
Từ đỉnh hấp thụ và màu sắc quan sát được bằng mắt thường có thể khẳng định các hạt nano vàng đã được hình thành trong dung dịch sau điện hóa. Hình 2.3(c) là phổ hấp thụ của dung dịch chứa nano vàng khi thêm curcumin trong quá trình điện hóa. Phổ này cho thấy có hai đỉnh hấp thụ, đỉnh thứ nhất gần vùng tử ngoại có bước sóng 428 nm, đỉnh này được cho là đỉnh hấp thụ của các

phân tử curcumin [113], đỉnh thứ hai nằm trong vùng khả kiến ở bước sóng 540 nm, tương ứng với tần số cộng hưởng plasmon của vàng [28][88]. Tuy nhiên, đỉnh thứ nhất đã có sự dịch chuyển về phía bước sóng ngắn từ 428 - 425 nm, tương ứng với curcumin, trong khi đỉnh thứ hai cũng dịch chuyển về phía bước sóng ngắn từ 550 nm về 540 nm, tương ứng với Au - NPs. Sản phẩm Au/Cur - CNPs khi đo phổ hấp thụ UV-Vis đã được rửa 3 lần với nước cất hai lần và li tâm để loại bỏ những phân tử không gắn kết đặc hiệu với nano vàng. Hơn nữa đỉnh hấp thụ của nano vàng dịch chuyển về phía bước sóng ngắn nên có thể giả định rằng đã có sự tương tác giữa curcumin với vàng trong quá trình hình thành hạt. Điều này cũng có nghĩa là hạt nano vàng hình thành có kích thước nhỏ hơn khi có mặt của curcumin trong suốt quá trình điện hóa. Trong phản ứng này, curcumin có thể tham gia với vai trò vừa là chất khử sinh học và vừa là chất ổn định của Au - NPs trong dung dịch. Các phân tử curcumin bao bọc hạt nano vàng, giúp ổn định bề mặt khi hạt đạt đến kích thước nào đó, hạn chế cơ hội tiếp tục phát triển của hạt. Để làm sáng tỏ điều này, mẫu đã được xử lý và quan sát kích thước, hình dạng thực tế dưới kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM).

### ***2.3.2. Hình thái và cấu trúc của Au- NPs với Au/Cur - CNPs***

Hình 2.4(a) là ảnh TEM các hạt nano vàng được tạo thành trong dung dịch điện hóa khi không có curcumin. Quan sát ảnh TEM thấy rằng các hạt vàng thu được sau điện hóa có dạng gần với hình cầu và kích thước nằm trong khoảng từ 10 - 30 nm (Hình 2.4(a)), kích thước hạt trung bình 19,5 nm. Đối với mẫu thêm curcumin, đa số các hạt nano tổ hợp Au/Cur - CNPs cũng được hình thành dưới dạng hình cầu, nhưng kích thước nhỏ hơn nhiều, nằm trong khoảng 5 – 25 nm (Hình 2.4(b)), kích thước hạt trung bình 13,6 nm. So sánh thực tế, kích thước của Au/Cur - CNPs nhỏ hơn rất nhiều so với nano Au thuần túy. Thêm vào đó vùng biên hạt Au/Cur - CNPs phân tách rõ ràng điều này chứng tỏ khi có mặt curcumin khả năng phân tán của các hạt nano vàng tốt hơn. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với phân tích UV-Vis ở trên. Như vậy sự có mặt của các phân tử curcumin trong suốt quá trình điện hóa đã góp phần làm giảm kích thước và tăng khả năng phân tán của nano Au- NPs. Hình nhỏ trong Hình 2.4(b) là ảnh TEM của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs quan sát ở độ phóng đại lớn hơn. Có thể nhận thấy rằng, tại vùng biên của các hạt nano vàng xuất hiện một lớp sáng màu hơn bao quanh, được cho là của các phân tử curcumin bao bọc.

Như vậy từ ảnh TEM cho thấy nano tổ hợp Au/Cur – CNPs được chế tạo thành công bằng phương pháp điện hóa.

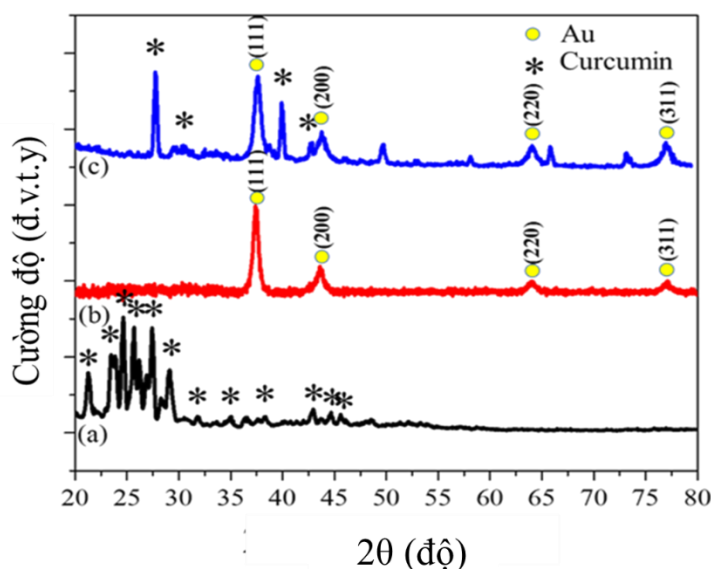


Hình 2.4. Ảnh TEM của các mẫu (a) Au - NPs; (b) nano tổ hợp Au/Cur – CNPs; Phân bố kích thước hạt (c) Au – NPs; (d) Au/Cur – CNPs.

Tuy nhiên để đánh giá được thành phần pha cũng như cấu trúc tinh thể nano vàng cần phép đo tác động sâu hơn vào vật liệu. Phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) có thể giúp giải quyết được vấn đề trên.

Cấu trúc và pha tinh thể của Au/Cur - CNPs sau điện hóa được khảo sát bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) trong sự so sánh với các mẫu curcumin và Au - NPs. Hình 2.5(a) là giản đồ nhiễu xạ XRD của curcumin, cho biết các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của hoạt chất này [114]. Hình 2.5(b) là giản đồ XRD của Au - NPs cấu trúc lập phương tâm mặt với các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của bốn họ mặt tinh thể (111); (200); (220) và (311), tương ứng với các vị trí góc nhiễu xạ  $2\theta$  là  $37,38^\circ$ ;  $43,52^\circ$ ;  $63,94^\circ$  và  $77,22^\circ$  (JCPDS no. 00-004-0784). Các đỉnh đều có cường độ lớn, sắc nét và không xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ của tạp

chất. Au - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa kết tinh tốt và đơn pha tinh thể. Hình 2.5(c) là giản đồ XRD của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs cũng xuất hiện các đỉnh đặc trưng cho cấu trúc lập phương tâm mặt của vàng như phân tích ở trên. Ngoài các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của Au - NPs còn có sự xuất hiện đỉnh tại các góc  $2\theta$  lần lượt là  $27,75^\circ$ ;  $39,93^\circ$  và  $49,72^\circ$  được cho là các đỉnh nhiễu xạ của curcumin [115].



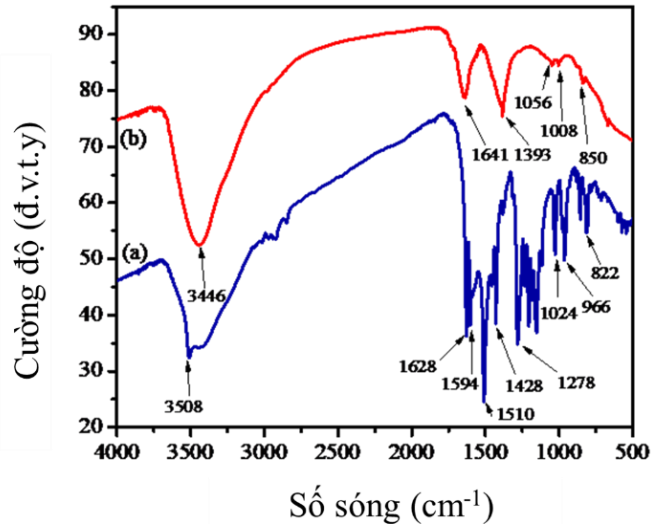
Hình 2.5. Giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của (a) curcumin (b) Au - NPs; (c) Au/Cur - CNPs.

Hơn nữa, mẫu thu được sau quá trình điện hóa đã được lọc rửa 3 lần bằng nước cất để loại bỏ những phần tử curcumin dư không gắn kết với các hạt nano vàng nên ít các đỉnh đặc trưng hơn so với giản đồ Hình 2.5(a). Ngoài ra không xuất hiện pha tạp chất nào khác. Kết quả cho thấy, bằng phương pháp điện hóa đơn giản đã có thể chế tạo các hạt nano tổ hợp Au/Cur – CNPs kết tinh tốt và có độ sạch cao.

### 2.3.3. Đặc tính của Au - NPs và tổ hợp Au/Cur – CNPs

#### a) Phổ hấp thụ FTIR

Để thêm các luận cứ củng cố cho nhận định nano tổ hợp vàng – curcumin chế tạo thành công. Cụ thể curcumin bao bọc bề mặt các hạt Au - NPs, chúng tôi đã sử dụng phép đo phổ hấp thụ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) để khảo sát. Phân tích phổ FTIR có thể làm sáng tỏ mối liên kết hình thành 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 [17][116].



Hình 2.6. Phổ FTIR của các dung dịch chứa (a) curcumin và (b) nano tổ hợp Au/Cur - CNPs.

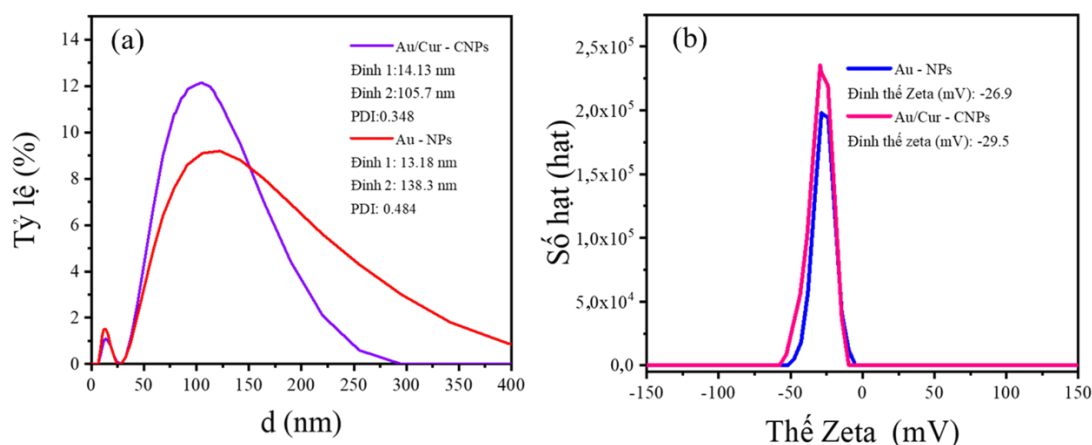
Hình 2.6(a) và Hình 2.6(b) tương ứng là phổ FTIR của curcumin và nano tổ hợp Au/Cur – CNPs trong dải số sóng từ 500 - 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Từ phổ hấp thụ FTIR thể nhận thấy các đỉnh đặc trưng cho các liên kết của curcumin không thay đổi nhiều, không xuất hiện đỉnh hấp thụ mới, tuy nhiên có sự chuyển dịch đỉnh nhất định. Với mẫu chỉ có curcumin, xuất hiện đỉnh tại số sóng 3508  $\text{cm}^{-1}$  do dao động kéo giãn của nhóm –OH phenolic, tại 1628  $\text{cm}^{-1}$  là do liên kết kéo giãn C = C của nhóm thơm, 1594  $\text{cm}^{-1}$  là dao động giãn của vòng benzene, tại 1510  $\text{cm}^{-1}$  là dao động của nhóm C = O và C = C, 1428  $\text{cm}^{-1}$  là dao động uốn của nhóm C-H olefinic, 1278  $\text{cm}^{-1}$  là dao động giãn C–O thơm và tại 1024  $\text{cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động giãn C–O–C là các liên kết đặc trưng cho cấu tạo phân tử curcumin. Trong khi đó, đối với phổ FTIR của Au/Cur - CNPs, có sự dịch đỉnh đặc trưng cho dao động của nhóm –OH phenolic về số sóng 3446  $\text{cm}^{-1}$ , một số đỉnh trong dải số sóng 1650 - 500  $\text{cm}^{-1}$  biến mất và chỉ còn lại một số đỉnh chính tại số sóng 1641, 1393, 1056, 1008 và 810  $\text{cm}^{-1}$  [117]. Sự thay đổi này có thể liên quan đến quá trình tương tác và phản ứng giữa curcumin và sự hình thành Au - NPs trong quá trình điện hóa. Hơn nữa, sau quá trình rửa và li tâm sản phẩm cuối cùng, các phân tử curcumin không gắn kết chặt chẽ với nano vàng đều bị loại bỏ và chỉ còn lượng rất nhỏ bám dính xung quanh Au - NPs. Kết quả trên hoàn toàn phù hợp với kết quả ảnh TEM ở trên. Chính nhờ sự bao bọc và bảo vệ của curcumin đã làm tăng sự ổn định, giảm kích thước Au - NPs



và phân tán tốt trong dung dịch. Như vậy rõ ràng nano tổ hợp curcumin đã được chế tạo thành công với lớp lõi là Au – NPs lớp vỏ bao bên ngoài là curcumin.

*b. Kích thước động học và thế Zeta của Au/Cur - CNPs*

Để có thể ứng dụng được trong y sinh thì độ ổn định và khả năng phân tán của dung dịch chứa nano tổ hợp Au/Cur – CNPs cần được đánh giá. 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 bề mặt Zeta. Hình 2.7(a) là phổ tán xạ động học của Au - NPs và Au/Cur - CNPs. Từ phổ DLS thấy rằng Au - NPs xuất hiện hai đỉnh tại 13,18 nm và 138,3 nm, chân đỉnh phân bố kích thước thứ 2 mở rộng về phía kích thước lớn. Với mẫu Au/Cur - CNPs cũng xuất hiện hai giải kích thước tại các đỉnh 14,13 nm và 105,7 nm. Kết quả cho thấy dải phân bố kích thước động học của Au - NPs rộng hơn so với Au/Cur - CNPs. Điều này chứng tỏ kích thước hạt Au/Cur - CNPs đồng đều hơn. Thêm vào đó chỉ số đơn phân tán (PDI) của Au - NPs là 0,484 của Au/Cur - CNPs là 0,348 đều lớn hơn 0,2. Khả năng phân tán của các dung dịch sau điện hóa ở mức trung bình.



Hình 2.7. (a) DLS; (b) thế Zeta của mẫu nano Au - NPs và nano tổ hợp Au/Cur– CNPs

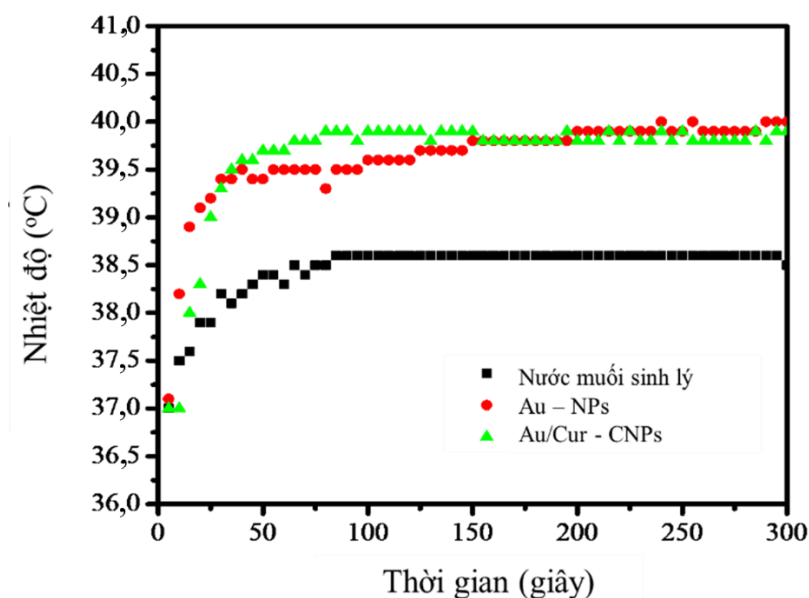
Độ ổn định bề mặt và khả năng phân tán của Au/Cur - CNPs bằng phép đo thế bề mặt Zeta. Hình 2.7(b) là thế Zeta của dung dịch chứa Au - NPs và Au/Cur - CNPs. Có thể thấy rằng dung dịch chứa Au - NPs và Au/Cur - CNPs có đỉnh thế lần lượt là -26,9 mV và -29,3 mV. Hai đỉnh hấp thụ đều nằm ở nhánh thế âm nên điện tích bề mặt của Au - NPs và Au/Cur - CNPs đều mang điện tích âm. Dung dịch chứa Au/Cur - CNPs có đỉnh thế gần ngưỡng -30 mV



hơn so với dung dịch chứa Au - NPs. Điều đó thể hiện dung dịch chứa Au/Cur - CNPs có độ ổn định hơn so với dung dịch chứa Au - NPs, phù hợp với kết quả đo DLS. Kết quả này đã khẳng định vai trò của lớp vỏ curcumin trong việc hình thành và làm tăng tính ổn định bề mặt của Au - NPs [17][60][113].

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

Hiệu ứng quang nhiệt đã được khảo sát dựa trên sự thay đổi nhiệt độ của dung dịch nước muối sinh lý 0,9%, Au - NPs, Au/Cur – CNPs theo thời gian chiếu nguồn laser xanh lá có bước sóng 532 nm. Các dung dịch được giữ ổn định nhiệt độ 37°C trước khi chiếu bức xạ laser xanh. Dưới tác động của laser xanh cả ba dung dịch đều tăng nhiệt độ và đạt trạng thái bão hòa sau 90 giây. Cụ thể, đối với nước muối sinh lý, nhiệt độ tăng lên 38,5 °C. So với không chiếu sáng nhiệt độ nước muối sinh lý tăng 1,5°C. Trong khi đó, nhiệt độ trong các ống chứa Au - NPs và Au/Cur - CNPs đều tăng trung bình 3°C so với không chiếu sáng, so với nước muối sinh lý nhiệt độ bão hòa của các dung dịch này đã tăng thêm 1,5 °C. Điều này có thể giải thích do laser bước sóng 532 nm nằm trong vùng ánh sáng mà Au - NPs và Au/Cur - CNPs hấp thụ, do đó xảy ra hiện tượng quang nhiệt [29].



Hình 2.8. Sự tăng của nhiệt độ dung dịch vào thời gian chiếu laser có bước sóng 532 nm đối với dung dịch nước muối sinh lý 0,9%; dung dịch chứa nano Au - NPs và nano tổ hợp Au/Cur– CNPs

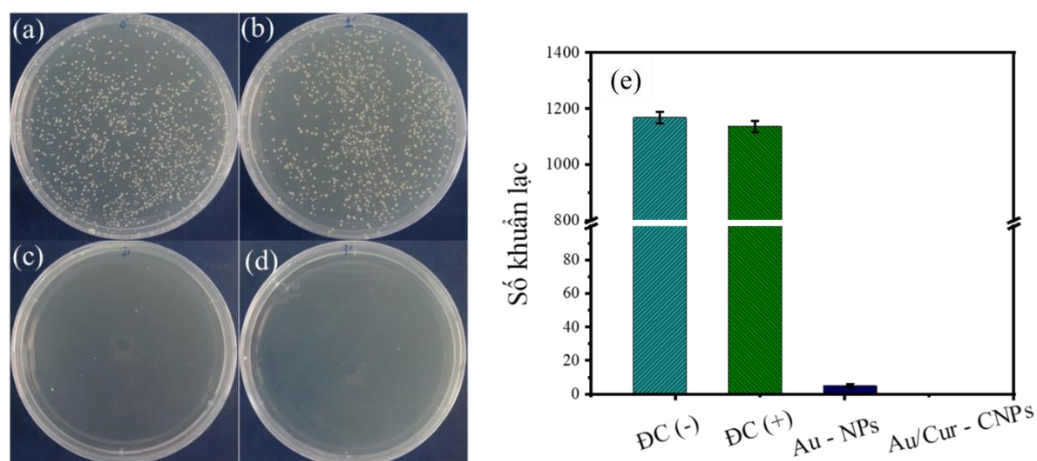
Quá trình chuyển đổi năng lượng từ quang năng thành nhiệt năng đã diễn ra làm tăng nhiệt cục bộ trên các hạt nano vàng. Các hạt nano vàng “nóng” khi đó truyền nhiệt ra môi trường xung quanh dẫn đến nhiệt độ trong dung dịch tăng. Nhiệt độ tăng thêm của dung dịch chứa Au – NPs và Au/Cur – CNPs khi chiếu sáng không chênh nhau nhiều chứng tỏ lớp curcumin bao bọc hầu như không ảnh hưởng tới hiệu ứng quang nhiệt của nano vàng. So với một số công bố nhiệt độ của dung dịch chứa Au - NPs và Au/Cur - CNPs không tăng cao như chiếu bức xạ 808 nm [118]. Tuy nhiên sự tăng nhiệt độ nội tại và cục bộ này được kỳ vọng sẽ kích thích và hỗ trợ tăng cường các hoạt tính sinh học như là curcumin [119].

### **2.3.5. Hoạt tính kháng khuẩn của hệ vật liệu Au/Cur – CNPs**

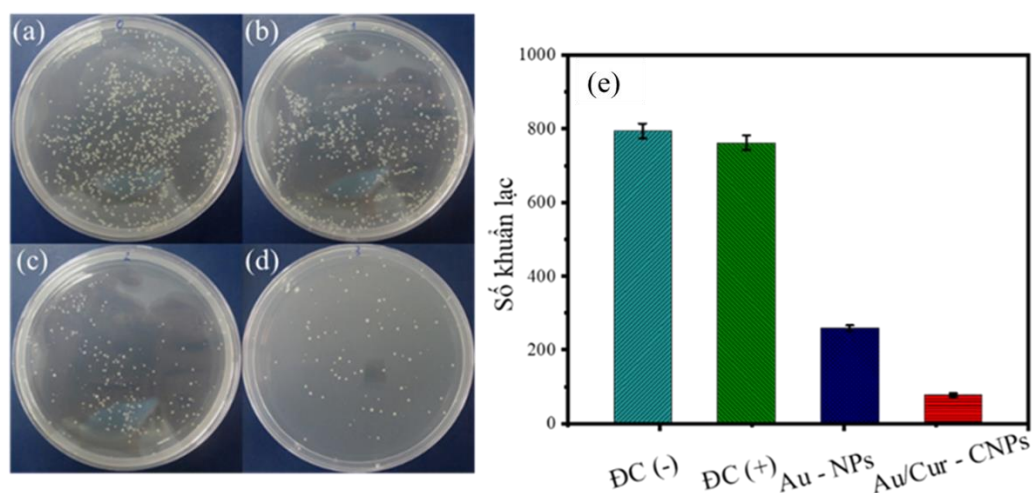
#### **a) Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của hệ vật liệu Au/Cur – CNPs**

Hoạt tính kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt được đánh giá trên hai chủng vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện đại diện cho Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7). Các bước thí nghiệm và phương pháp phân tích được mô tả cụ thể trên mục phương pháp thực nghiệm.

Thí nghiệm này được thực hiện nhằm so sánh với khả năng kháng khuẩn của Au - NPs trên được chế tạo ở cùng điều kiện, cũng như tác động của laze 532 nm với quá trình phát triển của các chủng vi khuẩn. Sau khi chiếu laze trong 20 phút ở điều kiện ổn nhiệt 37°C, các dung dịch được phủ đều trên bề mặt của các đĩa thạch và ủ 24 giờ ở 37°C. Hình 2.9 cho thấy hình ảnh các khuẩn lạc *MRSA* vẫn mọc ở các lô đối chứng (Hình 2.9(a) và 2.9(b)). Tuy nhiên, tại các đĩa có sử dụng Au - NPs và Au/Cur - CNPs vi khuẩn Gram dương *MRSA* gần như bị ức chế hoàn toàn. Đếm dưới kính hiển vi soi nổi và lấy số lượng khuẩn lạc ở đĩa đối chứng âm làm chuẩn, có thể thấy rằng lượng khuẩn lạc *MRSA* mọc trên các đĩa petri đối chứng âm và đối chứng dương không có sự khác biệt nhiều (3%). Trong khi đó, với mẫu Au - NPs vẫn xuất hiện một số khuẩn lạc (giảm 99,6%) (Hình 2.9(c)). Đặc biệt là đối với mẫu Au/Cur - CNPs, *MRSA* bị ức chế hoàn toàn, trên bề mặt thạch dinh dưỡng của đĩa petri không xuất hiện khuẩn lạc nào (Hình 2.9(d)).



Hình 2.9. Đĩa petri: (a) Đối chứng (-), (b) Đối chứng (+), (c) Au - NPs, (d) Au/Cur - CNPs và (e) Biểu đồ của MRSA



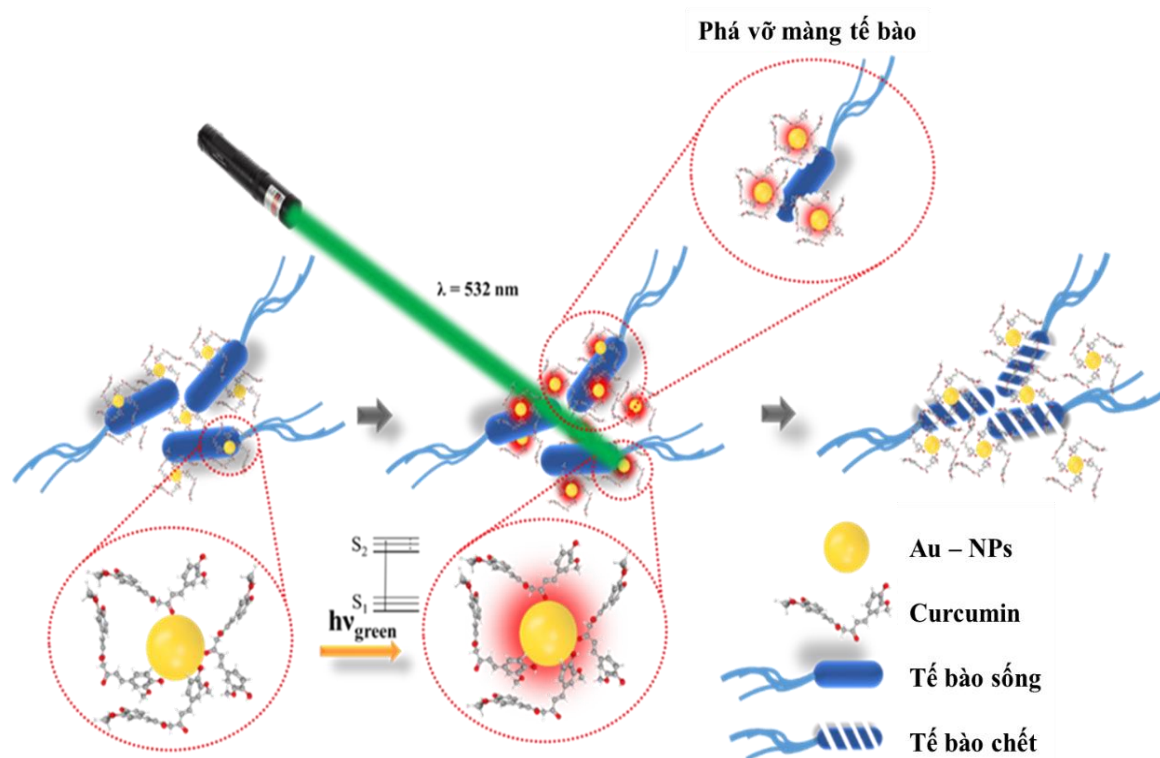
Hình 2.10. Đĩa petri: (a) Đối chứng (-), (b) Đối chứng (+), (c) Au - NPs, (d) nano tổ hợp Au/Cur - CNPs và (e) - Biểu đồ của *E. coli* O157:H7.

Hình 2.10 cho thấy hình ảnh vi khuẩn *E.coli* O157:H7 mọc trên bề mặt thạch của các đĩa petri đối chứng âm và đối chứng dương. Tương tự như MRSA, các đĩa đối chứng với chủng vi khuẩn Gram âm *E.coli* O157:H7 không có sự khác biệt nhiều (4%) (Hình 2.10(a) và 2.10(b)). Đối với mẫu Au - NPs (Hình 2.10(c)) lượng khuẩn lạc giảm 70%, nghĩa là dưới tác dụng quang nhiệt khi sử dụng Au - NPs đã ức chế đáng kể khả năng mọc của vi khuẩn Gram âm. Đối với mẫu Au/Cur - CNPs, lượng khuẩn lạc giảm tới 90%. 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. 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

năng diệt và ức chế đối với cả hai chủng vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Tuy nhiên cơ chế tăng cường diệt khuẩn của Au/Cur - CNPs dựa trên hiệu ứng quang nhiệt cần được làm rõ.

*b) Cơ chế kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs*

Nano vàng Au - NPs nguyên chất không có hoạt tính kháng khuẩn khi không chiếu sáng [35]. Curcumin ở nồng độ thấp hoạt tính kháng khuẩn yếu [120]. Một số nghiên cứu chứng minh Au - NPs có khả năng kháng khuẩn khi chiếu ánh sáng bước sóng 808 nm [121]. Như đã trình bày ở trên việc chiếu ánh sáng vùng hồng ngoại (IR) hiệu ứng quang nhiệt có thể khiến nhiệt độ dung dịch tăng lên đến 70°C. Ở nhiệt độ này thì hầu hết các tế bào sinh vật đều bị tiêu diệt. Như vậy ngoài diệt các tế bào gây bệnh thì các tế bào lành cũng bị tổn thương, đặc biệt là những tế bào đang hình thành da non từ những vết thương hở. Vì vậy cần có liệu pháp quang nhiệt an toàn hơn, luận án đã lựa chọn chiếu ánh sáng trong vùng khả kiến để kích thích hiệu ứng quang nhiệt.



*Hình 2.11. Cơ chế đề xuất kháng khuẩn của Au/Cur – CNPs khi chiếu ánh sáng bước sóng 532 nm.*

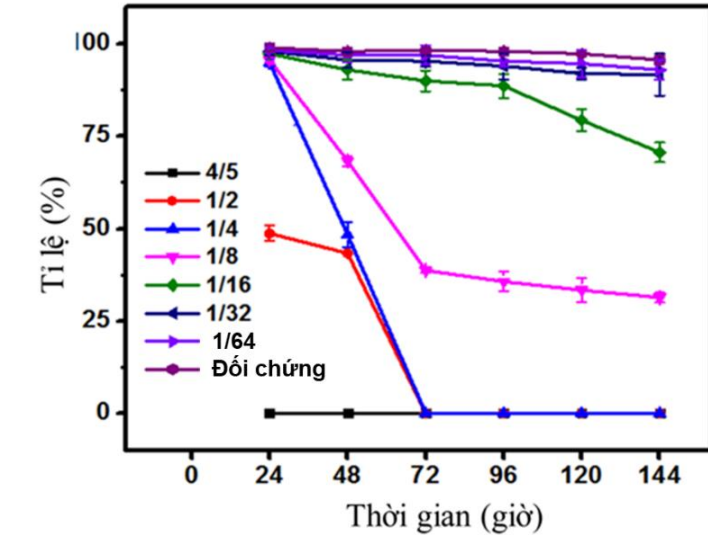
Ánh sáng có bước sóng 532 nm tương ứng với đỉnh hấp thụ plasmon của hạt nano vàng dạng cầu. Các hạt nano vàng hấp thụ ánh sáng có bước sóng này.

Khi đó hiệu ứng quang nhiệt của các hạt nano vàng diễn ra. Nhiệt độ cục bộ xung quanh các hạt Au - NPs tăng cao (Hình 2.11). Dưới tác dụng của nhiệt độ bức xạ từ các hạt vàng màng tế bào vi khuẩn bị phá hủy vì nhiệt [15]. Ngoài ra curcumin cũng có tác dụng phá vỡ màng tế bào. Thêm vào đó nhiệt độ cục bộ các hạt Au - NPs tăng kích thích một số phân tử curcumin giải phóng khỏi bề mặt các hạt nano vàng. Các phân tử curcumin tự do xâm nhập tấn công vào DNA của tế bào vi khuẩn. Như vậy vi khuẩn bị tiêu diệt hoặc ức chế vì hai nguyên nhân. Thứ nhất do màng tế bào bị tấn công vì nhiệt gây phá hủy hoặc tổn thương. Nguyên nhân thứ hai do các phân tử curcumin được giải phóng tấn công vào vật chất di truyền bên trong nhân bào.

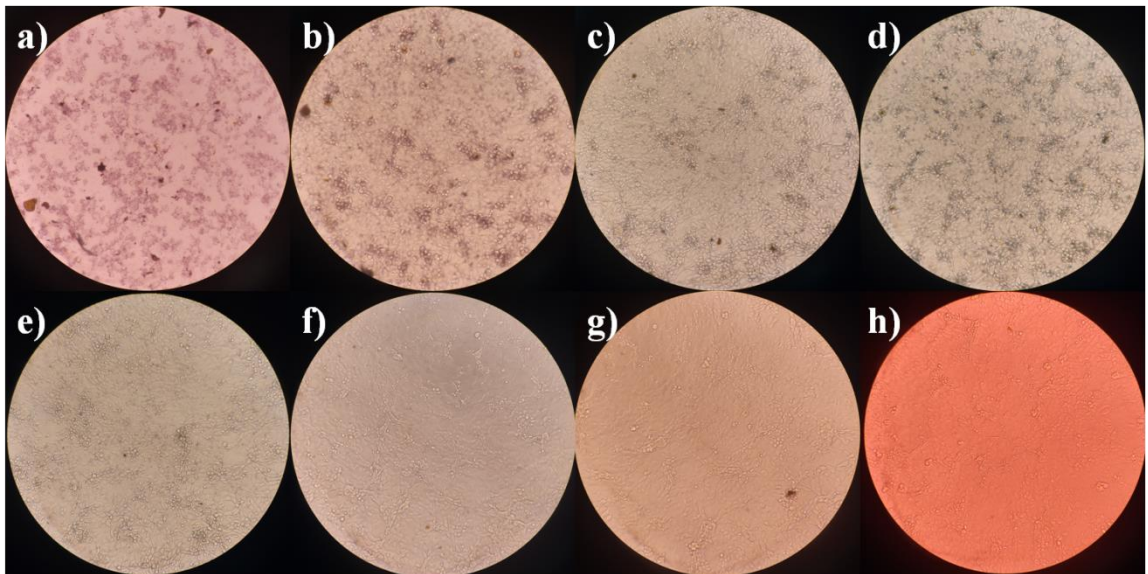
### 2.3.6. Đánh giá độc tính tế bào của hệ vật liệu Au/Cur - CNPs

Để nano tổ hợp Au/Cur - CNPs là một giải pháp an toàn trong quá trình tiêu diệt các tế bào gây bệnh thì độc tính của chúng với các tế bào lành phải thấp. Vì vậy độc tính tế bào của nano tổ hợp Au/Cur – CNPs (nồng độ gốc 150 ppm) cần được khảo sát. Thử nghiệm độc tính của nano tổ hợp Au/Cur được thực hiện trên dòng tế bào MA - 104. Quá trình thử nghiệm được thực hiện theo dãy pha loãng bậc 2 của hoạt chất. Độc tính đối với tế bào MA – 104 được khảo sát theo thời gian khi ủ tế bào với nano tổ hợp Au/Cur - CNPs ở các nồng độ khác nhau. Mẫu đối chứng được dùng là tế bào được nuôi cấy trong môi trường thông thường. Dãy thử nghiệm bắt đầu từ nồng độ  $\frac{4}{5}$  của mẫu chế tạo và dãy pha loãng bậc 2 ( $\frac{1}{2} - \frac{1}{64}$ ) của hoạt chất. Kết quả theo dõi được thống kê trong biểu đồ Hình 2.12. Đối với nồng độ cao nhất của thử nghiệm, tế bào bị độc hoàn toàn ngay ở thời điểm đầu quan sát, tuy nhiên khi giảm nồng độ xuống  $\frac{1}{2}$  độc tính gây ra trên khoảng một nửa số tế bào. Khi giảm xuống nồng độ  $\frac{1}{2}$ , tế bào sống giảm không đáng kể sau 24 giờ đầu tiếp xúc hoạt chất, tuy nhiên sau đó giảm mạnh và không còn tế bào nào sống sau 72 giờ. Tiếp tục giảm nồng độ, lượng tế bào bị độc tính đã giảm, trong khoảng dài thời gian cuối thử nghiệm từ 72 – 144 giờ lượng tế bào sống duy trì ở 40 – 30%.





Hình 2.12. Độc tính của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs với tế bào MA – 104 theo nồng độ và thời gian.



Hình 2.13. Hình ảnh tế bào MA104 với nano tổ hợp Au/Cur – CNPs ở các nồng độ a)  $\frac{4}{5}$ , b)  $\frac{1}{2}$ , c)  $\frac{1}{4}$ , d)  $\frac{1}{8}$ , e)  $\frac{1}{16}$ , f)  $\frac{1}{32}$ , g)  $\frac{1}{64}$  và kiểm chứng tế bào ở 96 giờ (phóng đại 200 lần).

Sau 4 ngày nuôi cấy, tế bào chết hoàn toàn ở 3 nồng độ đầu ( $\frac{4}{5}$ ;  $\frac{1}{2}$ ;  $\frac{1}{4}$ ) của dải thử nghiệm (Hình 2.13a, 2.13b, 2.13c). Trong khi đó, với các nồng độ thấp hơn của dải thí nghiệm  $\frac{1}{16}$  –  $\frac{1}{64}$ , trong 96 giờ tiếp xúc liên tục với Au/Cur -CNPs tế bào duy trì tỉ lệ sống trên 90% (Hình 2.13e, 2.13g). Kéo dài thời gian

thử nghiệm đến 144 giờ, lượng tế bào sống ở nồng độ  $\frac{1}{16}$  là trên 60%, nồng độ  $\frac{1}{32}$  và  $\frac{1}{64}$  tế bào bị độc là không đáng kể. Như vậy độc tính tế bào của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs thấp ở nồng độ gốc và an toàn khi nồng độ giảm dưới  $\frac{1}{16}$  (9,4 ppm).

#### 2.4. Kết luận chương 2

Chương 2 trình bày các kết quả nghiên cứu về nano tổ hợp Au/Cur-CNPs. Kết quả cho thấy đã chế tạo thành công tổ hợp này bằng phương pháp điện hóa đơn giản với các hạt nano vàng hình cầu được bao bọc các phân tử curcumin, kích thước trung bình 13,6 nm. Ngoài ra, hoạt tính kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs được tăng cường so với curcumin ở cùng nồng độ. Nano tổ hợp Au/Cur – CNPs có khả năng chống lại các bệnh nhiễm trùng mắc phải tại bệnh viện nhờ sự kết hợp các đặc tính độc đáo từ hai thành phần chính bao gồm chất curcumin và nano vàng. Dưới sự chiếu xạ laze ở bước sóng 532 nm trong 20 phút, có thể tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn *MRSA* và ức chế sự phát triển của *E.coli* O157:H7 lên tới 90%. Kết quả độc tính tế bào cho thấy nano tổ hợp Au/Cur - CNPs không có độc tính với nồng độ curcumin thấp hơn 9,4 ppm

Như vậy, các kết quả thu được cho thấy tiềm năng của nano tổ hợp Au/Cur - CNPs đối với các ứng dụng an toàn y tế trong việc tiêu diệt các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh gây nhiễm trùng bệnh viện trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt khi chiếu ánh sáng vùng khả kiến có bước sóng 532 nm. Một phần kết quả của chương này đã được công bố trên Tạp chí HPU2.Nat.Sci.Tech, Vol. 2 No. 2, 2023 và đăng ký sáng chế số 1-2023-0182 và số 1-2023-06241 tại Cục sở hữu trí tuệ Việt Nam (đã chấp nhận đơn).

## CHƯƠNG 3. CHẾ TẠO VÀ NGHIÊN CỨU ĐẶC TÍNH CỦA NANO TỔ HỢP VÀNG - ZnO (Au/ZnO - CNPs)

### 3.1. Đặt vấn đề

Trong thiết kế nghiên cứu, nano vàng được kết hợp với ba loại hoạt chất có bản chất khác nhau. Chương 2 đã trình bày kết quả nghiên cứu một dạng tổ hợp dựa trên nano vàng và hoạt chất từ thiên nhiên nhằm diệt tế bào gây bệnh *MRSA* và *E.coli* O157:H7 dựa trên hiệu ứng quang nhiệt, cụ thể là nano vàng - curcumin. Trong chương này, luận án trình bày những kết quả nghiên cứu về nano tổ hợp vàng và kẽm oxit được chế tạo bởi công nghệ đơn giản thân thiện với môi trường. Ngày nay việc phát triển các nano oxit kim loại như là một vật liệu kháng khuẩn ngày càng phổ biến. Trong số các vật liệu nano oxit kim kháng khuẩn, ZnO đã được báo cáo là có hoạt tính sinh học đa dạng như kháng khuẩn [63], kháng vi rút [122] và kháng nấm [123] và thường được cho là an toàn với con người. Như đã nêu ở trên, trong ba cơ chế diệt khuẩn của nano ZnO tác động chống lại vi khuẩn chủ yếu thông qua việc tạo ra các gốc oxy hóa khử tự do ROS [75]. Quá trình đó các cặp electron - lỗ trống được tạo ra khi được chiếu xạ ánh sáng thích hợp, tạo ra các gốc tự do. Các gốc tự do được sinh ra phá hủy các thành phần của tế bào gây ra chết tế bào. Do ZnO - NPs có độ rộng vùng cấm rộng nên sự hình thành các ROS khi chiếu ánh sáng khả kiến là tương đối thấp, khả năng hoạt động mạnh hơn trong phạm vi vùng UV. Một cách tiếp cận nhằm mở rộng ánh sáng sự hấp thụ vào vùng khả kiến là sự kết hợp với các nano kim loại quý [18]. Sự hình thành vùng tiếp xúc bán dẫn kim loại dẫn đến khả năng hấp thụ ánh sáng trong dải nhìn thấy của chất bán dẫn được cải thiện và sự tái hợp của các hạt mang điện được tạo ra bị cản trở, dẫn đến sự gia tăng các ROS. Các vật liệu tổ hợp ZnO/kim loại quý khác nhau ngày càng được phát triển, tuy nhiên những nghiên cứu chủ yếu hướng tới những ứng dụng xúc tác quang [124][125]. Mặc dù vậy, việc sử dụng các vật liệu nano plasmon này trong thử nghiệm kháng khuẩn cũng vẫn là một chủ đề nghiên cứu được quan tâm để đưa vào ứng dụng thực tế [10]. Nano vàng được giả thuyết có thể giúp tăng cường hoạt động kháng khuẩn của ZnO và được kỳ vọng có thể nâng cao hiệu quả diệt các tế bào gây bệnh nhờ hoạt tính kháng khuẩn nội tại của chúng. Hơn nữa, kẽm oxit cũng được nghiên cứu sử dụng trong nhiều loại thực phẩm hay dược mỹ phẩm [125]. Do các lí do đó nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs ngày càng được nhiều nhóm nghiên cứu quan tâm. Năm 2022, nhóm



của Violeta Dediu [63] và các cộng sự đã chế tạo nano tổ hợp Au – ZnO bằng phương pháp thủy nhiệt từ  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  và muối vàng  $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ . Kết quả nghiên cứu cho thấy các thanh nano ZnO có kích thước nhỏ thì hoạt tính kháng khuẩn cao hơn. Sự kết hợp của thành phần ZnO với Au được phủ lysine làm tăng hoạt tính kháng khuẩn chống lại vi khuẩn Gram dương (70%) và Gram âm (65%). Cũng vào năm 2022, Saleh A. Ahmed [126] và cộng sự đã chế tạo điều chế nano tổ hợp bằng phương pháp khử muối  $HAuCl_4$  trong dung dịch chứa ZnO – tetracylin (TC). Kết quả cho thấy tổ hợp Au\_ZnO-TC có hoạt tính kháng khuẩn. Nguyên nhân được tăng cường gốc oxy hóa khử ROS, thêm vào đó cấu trúc lai kim loại – oxít kim loại (Au\_ZnO) còn có khả năng phân hủy lượng kháng sinh dư thừa, làm giảm tác dụng phụ kháng sinh. Ngoài ra còn một số nghiên cứu gần đây trên các hệ vật liệu nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs được thống kê tại Bảng 3.1.

*Bảng 3.1.* Một số nghiên cứu về nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs trong một số năm gần đây

| <b>Phương pháp chế tạo ZnO</b> | <b>Phương pháp chế tạo Au/ZnO CNPs</b>         | <b>Hình dạng và Kích thước hạt</b> | <b>Phạm vi ứng dụng</b>  | <b>Tài liệu tham khảo</b> |
|--------------------------------|--|------------------------------------|--|---------------------------|
| Tổng hợp nhiệt từ kim loại kẽm | Khử muối $HAuCl_4$ trong dung dịch phối tử ZnO | Hình cầu<br>Đường kính 39 -54 nm   | Đánh giá khả năng quang xúc tác phân hủy RB4 dưới tác dụng ánh sáng khả kiến | [124]                     |
| Dùng xung laze, kẽm dạng khối  | Khử muối $HAuCl_4$ trong dung dịch chứa ZnO    | Hình cầu<br>Đường kính 20 nm       | Đánh giá khả năng quang xúc tác phân hủy RHB dưới tác dụng tia UV            | [125]                     |

|   |   |  |   |       |
|---|---|--|---|-------|
| Khử từ<br>Zn(NO <sub>3</sub> )                                  | Khử muối<br>HAuCl <sub>4</sub><br>trong dung<br>dịch chứa<br>ZnO      | Hình cầu;<br>bán kính nhỏ<br>hơn 50 nm                       | Thử nghiệm khả<br>năng kháng<br>khuẩn trên<br><i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i><br>( <i>P.aeruginosa</i> )<br>và<br><i>Staphylococcus<br/>aureus</i> ( <i>S.<br/>aureus</i> )<br>Quang xúc tác<br>phân hủy MB | [10]  |
| Hạt nano lai<br>ZnO – TC<br>(tetracilin)<br>thương mại          | Khử muối<br>HAuCl <sub>4</sub><br>trong dung<br>dịch chứa<br>ZnO – TC | Hình cầu;<br>kích thước<br>50 nm                             | Thử nghiệm khả<br>năng kháng<br>khuẩn trên<br><i>Staphylococcus<br/>hominis</i> dưới tác<br>dụng của ánh<br>sáng trắng  | [126] |
| Thủy nhiệt từ<br>muối<br>Zn(NO <sub>3</sub> ).6H <sub>2</sub> O | Khử muối<br>HAuCl <sub>4</sub><br>trong dung<br>dịch chứa<br>ZnO      | Nanorod; Độ<br>dài 20 – 78<br>nm; Đường<br>kính 6 – 20<br>nm | Thử nghiệm khả<br>năng kháng<br>khuẩn trên <i>E.<br/>Coli</i> và <i>S.aureus</i>  | [63]  |

Ta thấy rằng các công trình trên đều chế Au/ZnO – CNPs theo hai bước. Thứ nhất, chế tạo thành phần ZnO, tiếp đến dùng ZnO – NPs để chế tạo Au/ZnO – CNPs. Thêm vào đó cả hai bước đều sử dụng phương pháp khử, ZnO – NPs chế tạo bằng khử muối kẽm, Au/ZnO – CNPs được chế tạo bằng phương pháp khử muối vàng trong dung dịch chứa ZnO – NPs. Phương pháp này đơn giản tuy nhiên sản phẩm cuối cùng có thể kèm theo chất tồn dư, khó áp dụng trong các sản phẩm y sinh. Ngoài ra, phương pháp khử khó chủ động được nguồn nguyên liệu cũng như sản xuất với khối lượng lớn và chi phí cao. Thêm vào đó, hầu hết các công trình đều nghiên cứu khả năng kháng khuẩn khi không chiếu

sáng. Khả năng kháng khuẩn dựa trên hiệu ứng quang nhiệt và kháng khuẩn khi chiếu ánh sáng trong vùng khả kiến chưa được đề cập nhiều hoặc có đề cập nhưng đi kèm với nó là một kháng sinh mạnh [126]. Vì vậy Chương 3 của luận án trình bày kết quả chế tạo Au/ZnO - CNPs từ hai bước bằng phương pháp điện hóa từ kẽm dạng khối (ZnO - NPs) và vàng dạng khối (Au/ZnO - CNPs). Đây là phương pháp tổng hợp xanh nhằm giảm thiểu chất tồn dư không mong muốn và giảm chi phí sản xuất. Thêm vào đó, nội dung chương 3 bước đầu chỉ ra các thử nghiệm khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs trên mô hình hai chủng vi khuẩn *MRSA* và *E.coli* O157:H7 dựa trên hiệu ứng quang nhiệt (chiếu laze bước sóng 532 nm) và hiệu ứng quang xúc tác (khi chiếu ánh sáng khả kiến). Từ các kết quả đó, luận án đề xuất cơ chế giải thích khả năng kháng khuẩn của Au/ZnO – CNPs.

## **3.2. Vật liệu và phương pháp**

### ***3.1.1. Hóa chất và thiết bị***

Hóa chất: Hai thanh kẽm (99,99%) kích thước 250 mm X 10 mm X 5 mm và hai thanh 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. Natri citrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) mua từ Sigma – Aldrich. Hai chủng vi khuẩn Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7) được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Các hóa chất khác đủ tiêu chuẩn hóa chất phân tích.

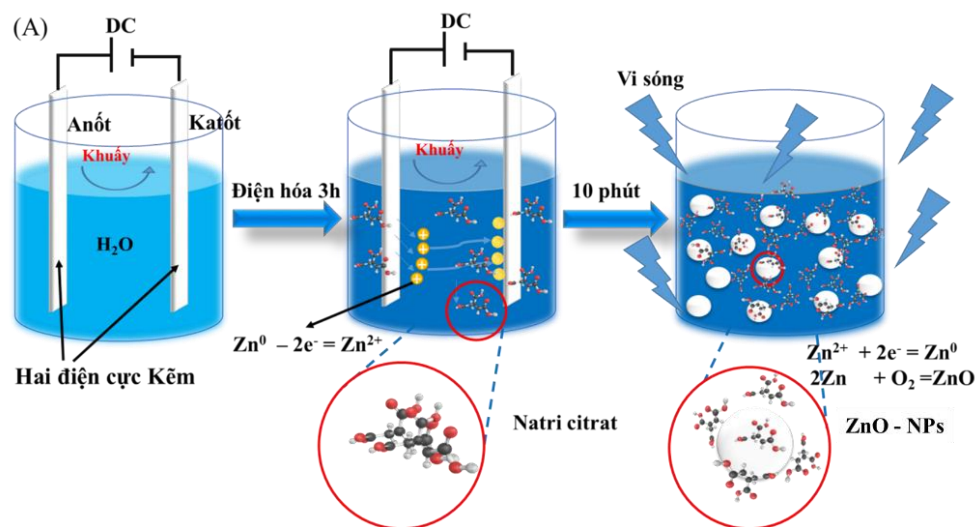
Thiết bị: Sự hình thành hạt và các đặc tính lí hóa của nano ZnO - NPs và hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs được khảo sát bằng phổ hấp thụ UV-Vis (SP – 3000 nano, Optima); kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM1010, JEOL); nhiễu xạ tia X (XRD, EQUINOX 5000, Thermo Scientific). Hệ đo quang nhiệt được thiết kế với đầu chiếu laze xanh có bước sóng 532 nm và cảm biến nhiệt ghi lại sự thay đổi nhiệt độ theo thời gian.

### ***3.1.2. Phương pháp thực nghiệm***

#### ***a) Quy trình chế tạo nano ZnO - NPs bằng phương pháp điện hóa***

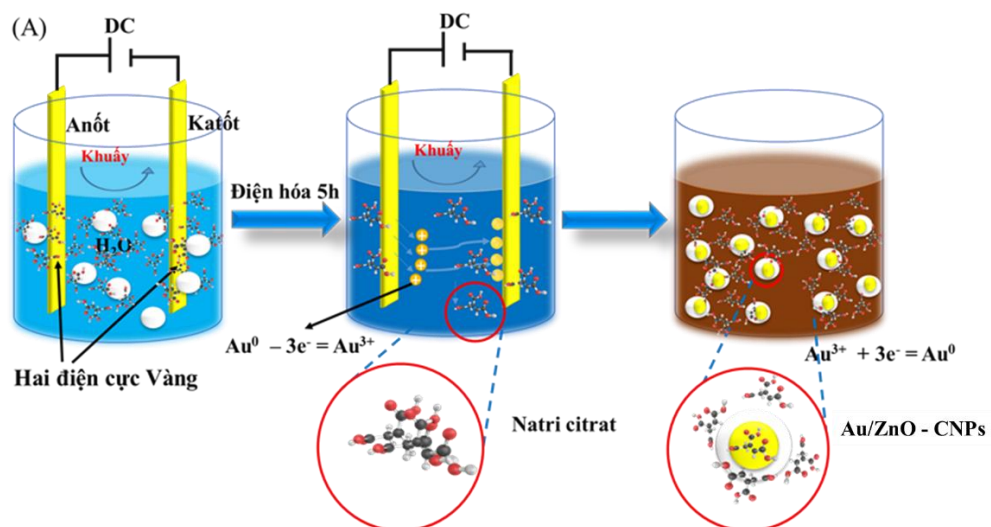
Đầu tiên, hai thanh kẽm được làm sạch cẩn thận bằng oxy già 3% và nước cất hai lần trước khi sử dụng. Sau đó, chúng được nhúng (sâu 15 cm) vào cốc thủy tinh chứa 500 ml nước cất hai lần, thêm 0,1 g natri citrat và khuấy

bằng máy khuấy từ ở nhiệt độ phòng. Hai đầu còn lại của thanh kẽm được nối với nguồn điện một chiều (DC) (LN - ST8008-6K, Lucas - Nulle) làm điện cực cathode và anode. Quá trình tổng hợp điện hóa của ZnO - NPs được thực hiện trong 3 giờ ở nguồn DC 9 V dưới sự khuấy từ ở nhiệt độ phòng. Sau quá trình này, dung dịch được tăng nhiệt trong 1 đến 10 phút bằng lò vi sóng (Uwave-2000, Shanghai Sineo) ở 90°C (công suất 500 W), tiếp theo dung dịch được để nguội từ từ trong không khí thu được vật liệu ZnO - NPs sử dụng để chế tạo nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs.



Hình 3.1. Quy trình chế tạo nano ZnO - NPs bằng phương pháp điện hóa có hỗ trợ vi sóng

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



Hình 3.2. Quy trình chế tạo nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs bằng phương pháp điện hóa từ hai thanh vàng dạng khối.

Điện cực vàng được làm sạch bề mặt, loại bỏ bụi bẩn bằng dung dịch oxy già 3% và rửa lại bằng nước cất hai lần trước khi sử dụng. Điện cực được gắn cố định (ngập sâu 5 cm) vào bình chứa 60 ml nước cất 2 lần. Sau đó 0,06 g natri citrate được thêm vào trong quá trình điện hóa tại điện áp 12V. Dung dịch chứa nano ZnO được thêm từ từ trong quá trình này. Thời gian điện hóa kéo dài trong 5 giờ trong điều kiện khuấy từ và gia nhiệt ở 100°C trong bộ ổn nhiệt.

*c) 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 nano tổ hợp 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 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 trên mô hình hai chủng vi khuẩn Gram dương *MRSA* và Gram âm *E.coli* O157:H7 của hệ vật liệu ZnO - NPs và Au/ZnO– CNPs

*d) Đánh giá khả năng kháng khuẩn của vật liệu Au/ZnO - CNPs*

Hoạt tính kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs đã được thử nghiệm trên hai chủng vi khuẩn Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7). Các đĩa petri bằng nhựa (đường kính 90 mm) được đổ thạch Luria–Bertani và sau đó được cấy riêng hai chủng vi khuẩn *MRSA* và *E.coli* O15:H7 với nồng độ vi khuẩn là  $10^6$  CFU/ml. Giấy lọc vô trùng (Whatman No. 1) có đường kính 8 mm đã được chuẩn bị. Những tờ giấy này sau đó được thấm dung dịch chứa nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs ở bốn nồng độ chiếu bức xạ có bước sóng 532 nm và bức xạ ánh sáng khả kiến và đặt ngay lên bề mặt thạch. Một trong số chúng được ngâm trong nước cất hai lần và sau đó đặt vào giữa bề mặt thạch để đối chứng. Vùng ức chế được xác định sau 24 giờ ủ ở 37°C.

*Bảng 3.2. Các thông số thí nghiệm kháng khuẩn của Au – NPs, ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs*

| Tên mẫu       | Điều kiện chiếu sáng | Thể tích mẫu | Thể tích huyền dịch | Chủng vi khuẩn  |
|---------------|----------------------|--------------|---------------------|---|
| Đối chứng (-) | Không chiếu          | 90 $\mu$ l   | 10 $\mu$ l          | <i>E. coli</i><br>O157 : H7<br>và <i>MRSA</i><br>$10^6$<br>CFU/ml |
| Đối chứng (+) | Có chiếu<br>(532 nm) | 90 $\mu$ l   | 10 $\mu$ l          |   |
| Au - NPs      |                      | 90 $\mu$ l   | 10 $\mu$ l          |   |
| ZnO - NPs     |                      | 90 $\mu$ l   | 10 $\mu$ l          |   |
| Au/ZnO - CNPs |                      | 90 $\mu$ l   | 10 $\mu$ l          |   |

*Bảng 3.3.* Các thông số thí nghiệm quang kháng khuẩn của Au – NPs, ZnO - NPs và Au/ZnO– CNPs trong vùng khả kiến.

| Tên mẫu       | Điều kiện chiếu sáng | Nồng độ | Chủng vi khuẩn   |
|---------------|----------------------|---------|--|
| Đối chứng (-) | Không chiếu          | 12 ppm  | <i>E. coli</i><br>O157 –<br>H7 và<br><i>MRSA</i><br>$10^6$<br>CFU/ml |
| Đối chứng (+) | Đèn sợi đốt          | 12 ppm  |  |
| ZnO – NPs     |                      | 12 ppm  |  |
| Au/ZnO - CNPs |                      | 12 ppm  |  |

*e) Đánh giá khả năng quang xúc tác của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs*

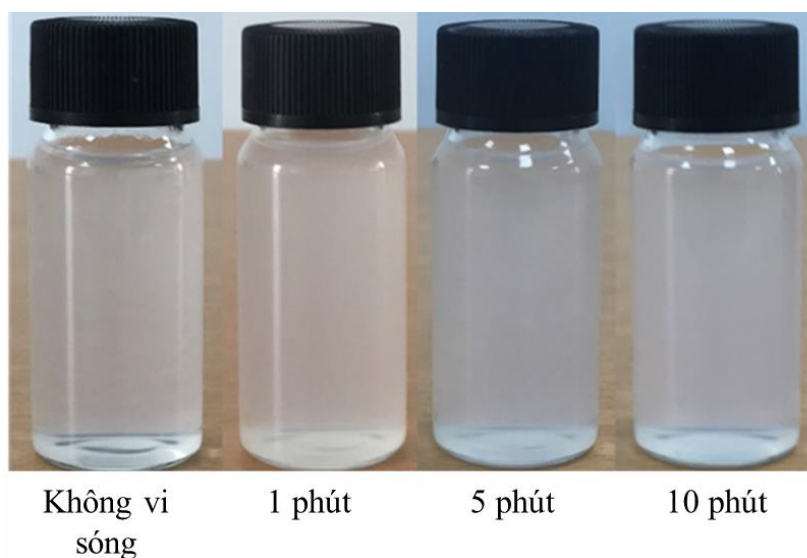
30 ml dung dịch MB ở các nồng độ khác nhau 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm được đổ vào cốc 250 ml. Thêm 5 ml dung dịch chứa ZnO - NPs hoặc Au/ZnO - CNPs vào cốc đựng dung dịch MB. Sự hấp phụ bề mặt của vật liệu đối với MB được khảo sát trong điều kiện không chiếu sáng trong 30 phút. Sau 30 phút hấp phụ tối dung dịch được chiếu sáng bởi đèn sợi đốt có công suất 200 W. Quá trình quang xúc tác phân hủy MB được khảo sát trong 120 phút. Sau mỗi khoảng thời gian 15 phút dung dịch được lấy ra ly tâm ở 5000 rpm thu hồi các hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs và đo phổ hấp thụ UV – Vis để kiểm tra nồng độ MB còn lại trong dung dịch.

## 3.2. Kết quả và thảo luận

### 3.2.1. Chế tạo nano ZnO – NPs bằng phương pháp điện hóa có hỗ trợ vi sóng

#### a) Sự hình thành ZnO - NPs

Mục tiêu thứ hai của luận án là chế tạo nano tổ hợp vàng - oxit kẽm (Au/ZnO - CNPs) bằng phương pháp điện hóa đơn giản từ thanh vàng dạng khối ứng dụng tiêu diệt tế bào gây bệnh trên cơ sở hiệu ứng quang nhiệt và hiệu ứng quang xúc tác trong vùng khả kiến. Phương pháp này như mô tả phần thực nghiệm cần hai nguồn vật liệu là vàng khối và dung dịch chứa ZnO – NPs. Để thực hiện được mục tiêu đó vật liệu nguồn phải sạch và chủ động được nguồn nguyên liệu. Để đáp ứng được các yêu cầu đó luận án chọn chế tạo ZnO – NPs bằng phương pháp điện hóa có hỗ trợ vi sóng. Vật liệu nguồn ZnO – NPs được kiểm tra các tính chất, cấu trúc các hạt ZnO – NPs trước khi sử dụng.

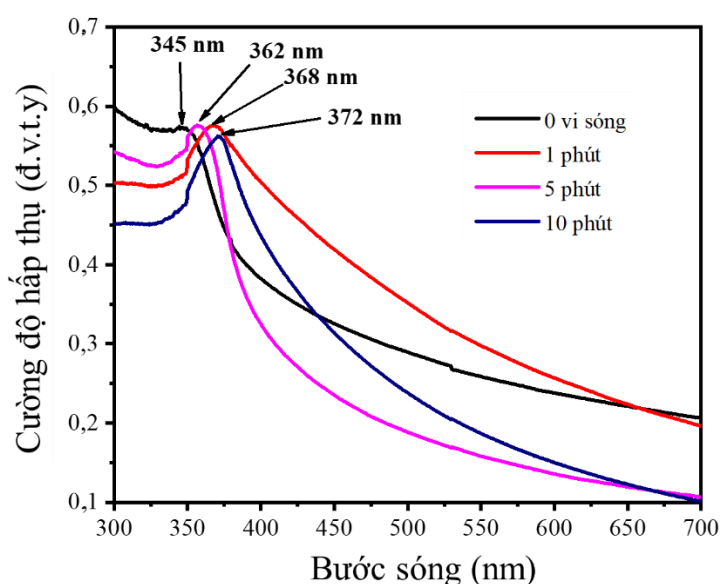


Hình 3.3. Mẫu ZnO - NPs thời gian vi sóng khác nhau

Kết quả khảo sát cho thấy dung dịch chứa ZnO – NPs đã được chế tạo thành công bằng phương pháp điện hóa từ hai thanh kim loại kẽm có sự hỗ trợ của vi sóng. Phương pháp này có ưu điểm là nhanh kích thước hạt đồng đều. Hình 3.3 là ảnh mẫu dung dịch sau điện hóa và sau khi được xử lý bằng vi sóng theo thời gian khác nhau tương ứng với 1 phút, 3 phút, 5 phút và 10 phút. Quan sát bằng mắt thường ta thấy tất cả các mẫu dung dịch đều có màu trắng đục, tuy nhiên mức độ đục khác nhau và giảm dần theo thời gian vi sóng. Điều này chứng tỏ ZnO – NPs có khả năng đã hình thành ngay sau khi điện hóa, nhưng

dưới sự hỗ trợ của vi sóng chúng có những đặc tính khác biệt và cần sử dụng các kỹ thuật hiện đại hơn để phân tích.

Để khảo sát sự hình thành hạt ZnO - NPs trong dung dịch, mẫu trước và sau mỗi khoảng thời gian vi sóng đã được tiến hành phân tích phổ hấp thụ UV - Vis Hình 3.4. Để có thể hình dung chi tiết hơn, vị trí đỉnh hấp thụ với bước sóng tương ứng được liệt kê ở Bảng 3.4. Dung dịch ngay sau điện hóa (không xử lý vi sóng) đỉnh hấp thụ tại bước sóng 345 nm, điều này đã khẳng định một phần hạt nano ZnO - NPs đã được hình thành, tuy nhiên, trong dung dịch còn chứa ion  $Zn^{2+}$  [127]. Chúng tỏ quá trình điện hóa đã xảy ra và sự xuất hiện nhiều ion  $Zn^{2+}$  trong dung dịch. Các mẫu sau điện hóa có xử lý vi sóng trong thời gian 1 phút có đỉnh hấp thụ tại 368 nm. Đỉnh hấp thụ tại bước sóng 368 nm được cho là của nano ZnO - NPs dạng cầu và kích thước lớn hơn thời điểm ban đầu [128].



Hình 3.4. Phổ hấp thụ UV - Vis của dung dịch chứa ZnO – NPs không vi sóng và xử lý vi sóng theo thời gian khác nhau 1, 5, 10 phút.

Sau khi chiếu vi sóng trong 5 phút, mẫu có đỉnh hấp thụ 362 nm, đó là sự dịch chuyển đỉnh hấp thụ về bước sóng ngắn so với mẫu vi sóng 1 phút. Như vậy đã có sự tác động của vi sóng vào quá trình hình thành và phát triển của hạt. Tuy nhiên, mẫu tiếp tục được xử lý vi sóng tới 10 phút, đỉnh hấp thụ lại dịch về bước sóng dài, vị trí đỉnh hấp thụ có bước sóng 372 nm. Sự dịch chuyển



về bước sóng dài của đỉnh hấp thụ UV- Vis mẫu vi sóng 10 phút so với mẫu vi sóng 5 phút chứng tỏ đã có sự tăng kích thước hạt khi thời gian vi sóng tăng. Các kết quả trên cho thấy ZnO - NPs đã được hình thành trong dung dịch khi chế tạo bằng phương pháp điện hóa, và quá trình xử lý vi sóng dưới 10 phút có ảnh hưởng nhất định tới quá trình hình thành, phát triển và ổn định của hạt. Để lựa chọn được mẫu làm khuôn ZnO – NPs cần phải có các phép phân tích giúp quan sát được hình dạng cấu trúc và thành phần của hạt nano ZnO – NPs sau chế tạo.

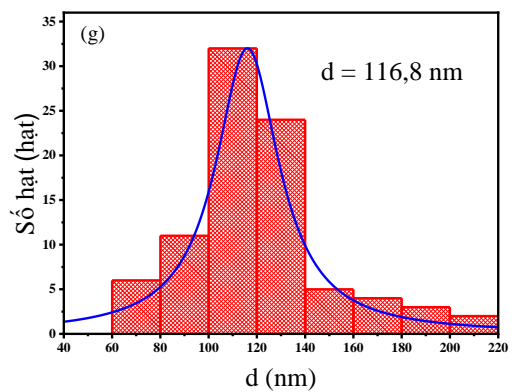
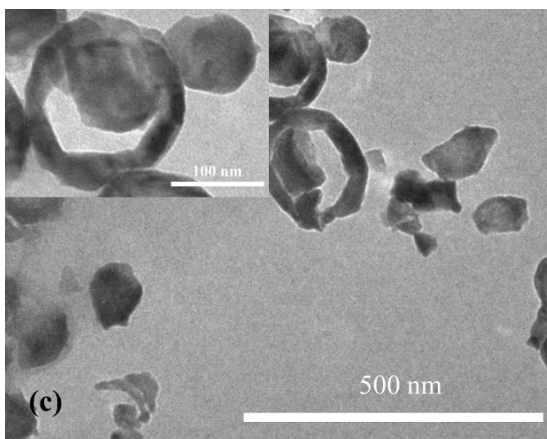
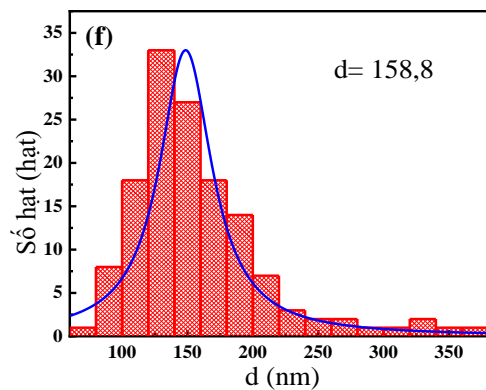
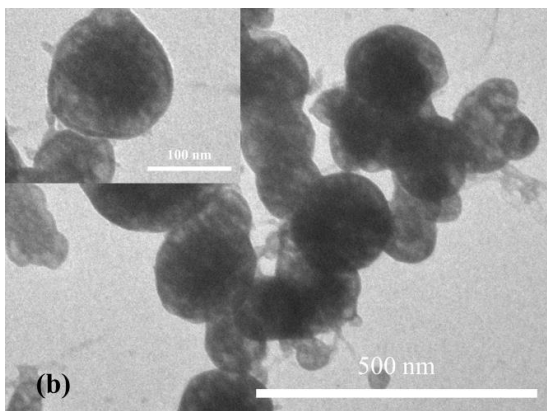
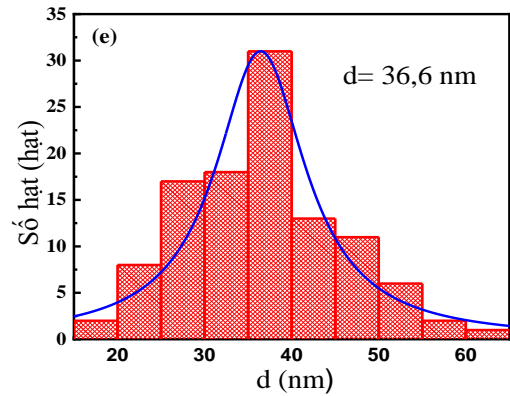
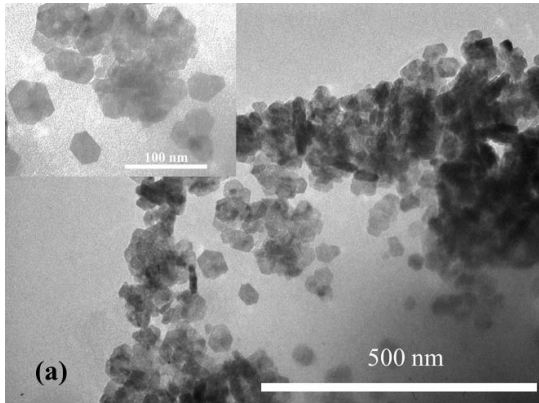
*Bảng 3.4. Đỉnh hấp thụ UV-Vis của các mẫu xử lý vi sóng theo thời gian*

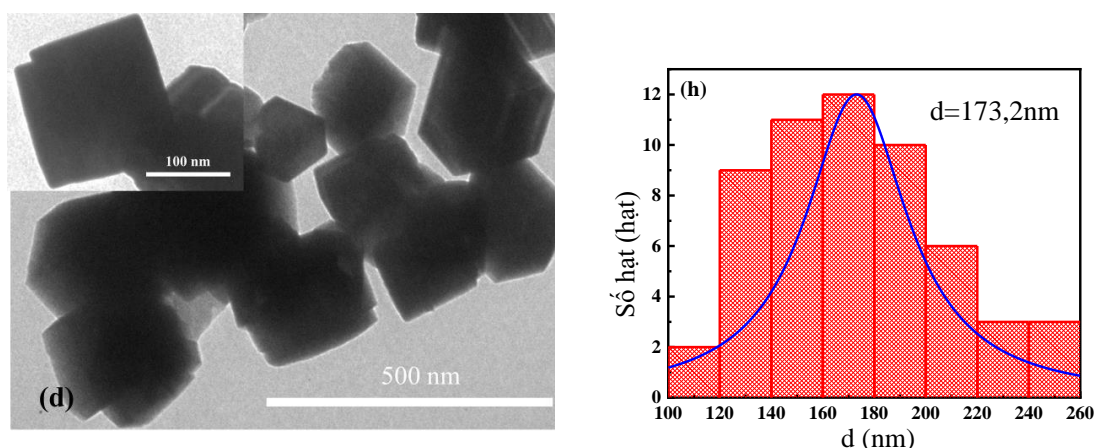
| <b>Tên mẫu</b>      | <b>Đỉnh hấp thụ tại bước sóng (nm)</b> |
|---------------------|--|
| Không xử lý vi sóng | 345                                    |
| Vi sóng 1 phút      | 368                                    |
| Vi sóng 5 phút      | 365                                    |
| Vi sóng 10 phút     | 372                                    |

*b) Khảo sát hình thái cấu trúc và thành phần pha ZnO – NPs*

Kết quả phân tích bằng phổ hấp thụ UV-Vis chứng minh sự hình thành hạt. Các mẫu sau chế tạo bằng phương pháp điện hóa không qua xử lý vi sóng và xử lý vi sóng ở thời gian 1, 5 và 10 phút được kiểm tra dưới kính hiển vi điện tử truyền qua (Hình 3.5). Sau khi chế tạo bằng phương pháp điện hóa và trước khi xử lý vi sóng, hình ảnh TEM cho thấy đã có sự hình thành hạt nano ZnO - NPs dạng lục lăng với hình ảnh 6 cạnh rõ ràng, kích thước hạt trung bình 36,6 nm (Hình 3.5(a)). Sau xử lý vi sóng 1 phút, cấu trúc lục lăng bị biến mất và xuất hiện những hạt hình cầu rỗng có kích thước hạt trung bình 158,8 nm. Điều này có thể giải thích rằng, trước khi xử lý vi sóng đã có sự hình thành hạt nano ZnO– NPs. Tuy nhiên, các hạt này có cấu trúc chưa xếp chặt nên không ổn định, chúng vẫn có thể tiếp tục phát triển theo thời gian. Khi bắt đầu xử lý vi sóng, các phân tử nước bên trong cấu trúc ZnO - NPs dao động và nóng lên, cung cấp cho hạt ZnO - NPs một năng lượng khiến các hạt này bị phồng lên tạo thành các hạt có cấu trúc cầu xốp. Các hạt xung quanh cũng có thể dễ dàng bị kết tụ thành hạt lớn hơn (Hình 3.5(b)). Tiếp tục xử lý vi sóng trong 5 phút, dưới

kính hiển vi điện tử truyền qua, hình ảnh các quả cầu rỗng không còn nữa mà chúng đã bị vỡ thành các mảnh hình khuyết, vòng nhẫn hoặc các mảnh đa hình thù có kích thước hạt trung bình 116,8 nm (Hình 3.5(c)). Điều này có thể là do khi hạt bị nóng nên, vật chất có xu hướng xếp chặt xung quanh các hạt cầu rỗng và bị vỡ ra.





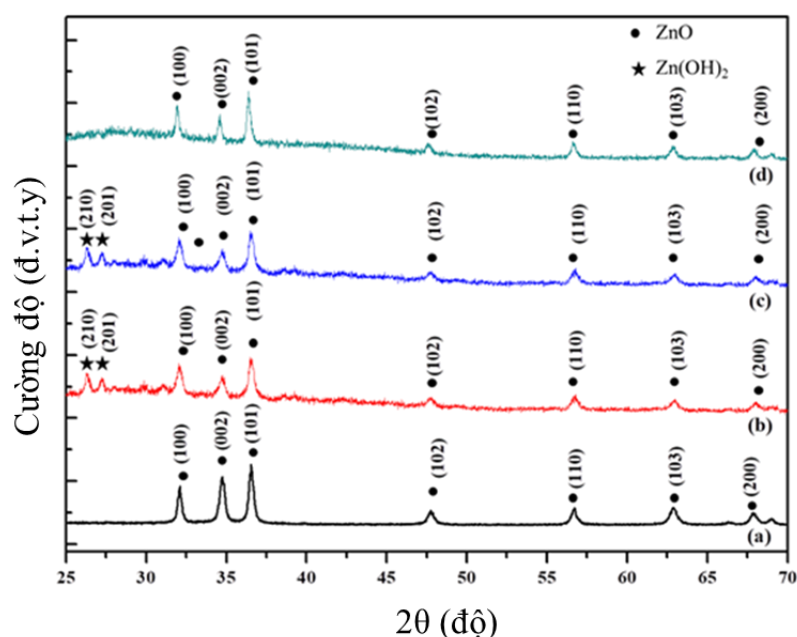
Hình 3.5. Ảnh TEM của mẫu nano ZnO - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa hỗ trợ xử lý vi sóng theo thời gian khác nhau: (a) 0 phút; (b) 1 phút; (c) 5 phút; (d) 10 phút; phân bố kích thước hạt : (e) 0 vi sóng; (f) 1 phút; (g) 5 phút; (h) 10 phút.

Tiếp tục xử lý vi sóng tới 10 phút, các mảnh vỡ không tồn tại nữa mà xuất hiện các hạt hình lục lăng và hình tứ giác với kích thước hạt trung bình 173,2 nm. Các cấu trúc này có trạng thái xếp chặt và ổn định sau khi tiếp tục xử lý nhiệt. Các kết quả quan sát được dưới kính hiển vi điện tử truyền qua phù hợp với những kết quả thu được trên phổ hấp thụ UV-Vis.

Các mẫu trước và sau khi xử lý vi sóng cũng được lựa chọn để kiểm tra thành phần pha và khảo sát cấu trúc tinh thể của dung dịch sau điện hóa thông qua phép đo nhiễu xạ tia X (XRD). Hình 3.6 là giản đồ nhiễu xạ tia X của các hạt nano ZnO - NPs sau điện hóa và các mẫu vi sóng theo thời gian khác nhau từ 1 đến 10 phút.

Hình 3.6(a) là giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu ngay sau khi tổng hợp bằng phương pháp điện hóa chưa xử lý vi sóng. Từ giản đồ này cho thấy đỉnh nhiễu xạ tại các góc  $2\theta$ :  $32,17^\circ$  tương ứng với mặt (100);  $34,67^\circ$  tương ứng với mặt (002);  $36,58^\circ$  ứng với mặt (101) (01-075-6445) đặc trưng của ZnO - NPs hexagonal Wurzite. Các đỉnh nhiễu xạ sắc nét, không thấy xuất hiện đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của các pha khác, điều này chứng tỏ mẫu là đơn pha ZnO hexagonal Wurzite và kết tinh tốt. Tuy nhiên, Hình 3.6(b) và Hình 3.6(c) là giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu xử lý vi sóng tương ứng với thời gian 1 và 5 phút, có thể dễ nhận ra rằng, ngoài các đỉnh đặc trưng của pha tinh thể hexagonal Wurzite còn xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ của pha tinh thể  $Zn(OH)_2$

orthorhombic với các đỉnh đặc trưng (210) và (201) tại các góc  $2\theta$  tương ứng  $27,187^\circ$ ,  $27,774^\circ$  (38-0385). Hơn nữa, khi xử lý vi sóng trong 10 phút thì giảm độ nhiễu xạ lại chỉ xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ của pha ZnO hexagonal Wuzite (Hình 3.6(d)). Như vậy, với mẫu nano ZnO - NPs chế tạo không có sự tác động của vi sóng chỉ xuất hiện pha ZnO hexagonal Wuzite, các mẫu tác động vi sóng trong 1 và 5 phút ngoài pha ZnO hexagonal Wuzite còn xuất hiện thêm pha  $\text{Zn(OH)}_2$  orthorhombic và khi thời gian tác động vi sóng đủ lớn ( $\geq 10$  phút) thì lại trở lại đơn pha ZnO hexagonal Wuzite.



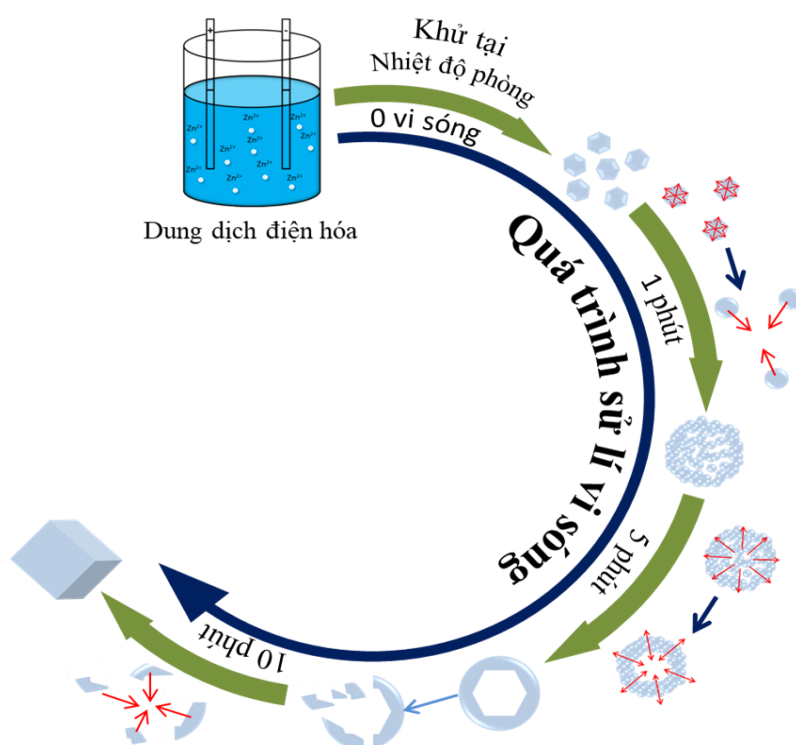
Hình 3.6. Giảm độ nhiễu xạ tia X (XRD) của mẫu nano ZnO xử lý vi sóng theo thời gian khác nhau: (a) không vi sóng; (b) 1 phút; (c) 5 phút; (d) 10 phút;

Kích thước tinh thể trung bình được tính theo phương trình Scherrer và được thống kê trên Bảng 3.5. Từ kết quả tính toán được thấy rằng ở mẫu trước khi xử lý vi sóng, kích thước tinh thể trung bình là 24,9 nm và ở mẫu được xử lý vi sóng 1 và 5 phút kích thước giảm xuống tương ứng còn 22,1 nm và 22,8 nm. Tuy nhiên ở mẫu được xử lý vi sóng 10 phút kích thước tinh thể trung bình là lớn nhất 31,1 nm.

Bảng 3.5. Độ bán rộng và kích thước tinh thể trung bình của nano ZnO - NPs trong các điều kiện vi sóng khác nhau

| Tên mẫu               | Góc 2 $\theta$ (độ) | Bán độ rộng $\omega$ (độ) | Kích thước tinh thể trung bình (nm) |
|-----------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| Không xử lý vi sóng   | 36,38               | 0,33                      | 24,9                                |
| Xử lý vi sóng 1 phút  | 36,54               | 0,37                      | 22,0                                |
| Xử lý vi sóng 5 phút  | 36,51               | 0,36                      | 22,8                                |
| Xử lý vi sóng 10 phút | 36,37               | 0,26                      | 31,1                                |

c) Cơ chế hình thành hạt nano ZnO - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa có hỗ trợ vi sóng

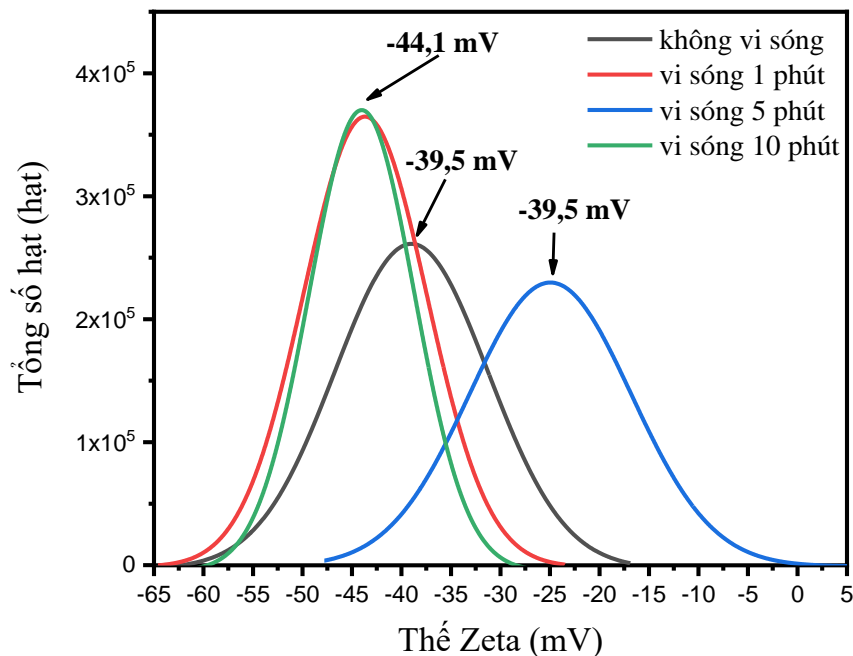


Hình 3.7. Cơ chế đề xuất sự hình thành nano ZnO - NPs bằng phương pháp điện hóa có sự hỗ trợ vi sóng theo thời gian vi sóng

Sự hình thành các nano ZnO - NPs được tổng hợp bằng phương pháp điện hóa dưới sự hỗ trợ của vi sóng có thể được giải thích bằng cơ chế khả thi

được đề xuất trong Hình 3.7. Bằng cách sử dụng phương pháp điện hóa ở nhiệt độ phòng, các hạt nano ZnO - NPs lục giác có thể được tổng hợp dễ dàng từ các thanh kẽm khối. Những hạt này có cấu trúc không ổn định. Hơn nữa, có rất nhiều ion  $Zn^{2+}$  và nguyên tử Zn có thể tồn tại trong dung dịch điện hóa. Những hạt này có thể được kết tụ và phát triển thành những hạt lớn hơn theo thời gian. Khi quá trình xử lý vi sóng bắt đầu khoảng 1 phút, các phân tử nước bên trong cấu trúc của nano ZnO - NPs rung động và nóng lên, cung cấp năng lượng cho chúng, dẫn đến trương nở và hình thành các cấu trúc xốp. Với thời gian xử lý vi sóng 5 phút, các hạt nano ZnO - NPs được làm nóng nhanh, toàn bộ vật chất ở giữa hạt nano di chuyển về phía ngoại vi và bị nén thành các hạt rỗng hình khuyên. Khi bị nén quá chặt, chúng vỡ ra thành các hạt hình khuyên và đa giác nhỏ hơn. Xử lý vi sóng tiếp tục trong 10 phút, tất cả các hạt này kết tụ lại và hình thành các hạt nano ZnO - NPs có hình dạng lập phương và kích thước lớn hơn nhưng cấu trúc bền vững hơn [80].

d) Độ ổn định và khả năng phân tán của ZnO - NPs



Hình 3.8. Thế bề mặt Zeta của các dung dịch chứa ZnO - NPs không xử lý vi sóng và xử lý vi sóng thời gian khác nhau 1 phút, 5 phút, 10 phút.

Để có thể chế tạo nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs với khối lượng lớn, có chất lượng thì độ đồng đều và độ ổn định nguồn nguyên liệu nano ZnO – NPs



là yếu tố quyết định. Độ ổn định của dung dịch chứa nano ZnO – NPs cần được khảo sát bằng phương pháp đo điện thế bề mặt Zeta. Kết quả đo thế bề mặt của các mẫu có thời gian xử lý vi sóng khác nhau được thống kê trên Bảng 3.6. Kết quả cho thấy, mẫu trước khi xử lý bằng vi sóng có đỉnh -39,5 mV có độ ổn định ở mức trung bình. Trong khi đó, mẫu xử lý bằng vi sóng sau 1 phút và 10 phút có độ ổn định tốt hơn với các đỉnh ở -44,1 mV. Tuy nhiên, mẫu được xử lý bằng vi sóng trong 5 phút có độ ổn định kém nhất, với đỉnh được tìm thấy ở -24,6 mV [129].

Điều này cũng phù hợp với kết quả được phân tích bằng UV-Vis và TEM đối với các mẫu vi sóng trong 5 phút với đường bờ hấp thụ rộng về phía bước sóng dài và các ZnO - NPs bị vỡ thành các hạt đa hình. Như vậy có thể nói hạt ZnO - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa có hỗ trợ vi sóng 1 phút là phù hợp để làm vật liệu chế tạo nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs. Như vậy việc chọn dung dịch chứa ZnO - NPs có hỗ trợ vi sóng làm vật liệu nguồn cung cấp thành phần ZnO - NPs là hoàn toàn phù hợp.

Từ các kết quả khảo sát ở trên mẫu ZnO – NPs được chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điều kiện điện áp đầu vào 9 V trong thời gian 3 giờ, kết hợp điện hóa 1 phút hoàn toàn phù hợp làm vật liệu nguồn chế tạo nano phức hợp Au/ZnO – CNPs.

Bảng 3.6. Thế Zeta của dung dịch chứa ZnO - NPs trước và sau vi sóng ở thời gian khác nhau

| Tên mẫu ZnO- NPs | Thế bề mặt Zeta (mV) |
|------------------|----------------------|
| Không vi sóng    | -39,5                |
| Vi sóng 1 phút   | -44,1                |
| Vi sóng 5 phút   | -24,6                |
| Vi sóng 10 phút  | -44,1                |

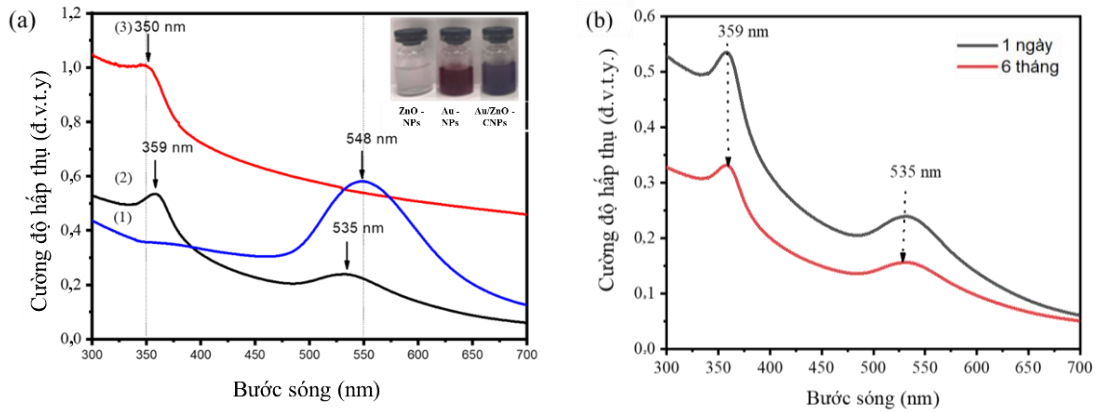
### 3.2.2. Khảo sát sự hình thành nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs

Các hạt nano tổ hợp Au/ZnO – NPs được chế tạo bằng phương pháp điện hóa sử dụng khuôn nano ZnO – NPs (chế tạo ở điều kiện đã nêu ở phần trên) và thanh vàng dạng khối, quy trình và các điều kiện chế tạo đã mô tả cụ thể ở

phần thực nghiệm. Trước tiên cần đánh giá sơ bộ sự hình thành hạt sau quá trình điện hóa. Quan sát bằng mắt thường thấy rằng sau điện hóa dung dịch chứa nano ZnO - NPs có màu trắng. Dung dịch điện hóa vàng trong nước cất 2 lần có màu đỏ đặc trưng của nano vàng [6]. Mẫu điện hóa vàng có thêm ZnO - NPs ta thấy dung dịch sau điện hóa chuyển sang màu tím. Như vậy qua quan sát bằng mắt thường sơ bộ cũng có thể thấy rằng đã có sự thay đổi màu sắc giữa mẫu điện hóa vàng và mẫu điện hóa vàng có thêm ZnO - NPs. Sự thay đổi về màu sắc của dung dịch có thể giải thích dung dịch chứa nano vàng hấp thụ ánh sáng bước sóng tương ứng với tần số cộng hưởng plasmon của nó từ đó tạo ra màu đỏ. Mẫu Au/ZnO - CNPs ngoài hấp thụ tại bước sóng ứng với cộng hưởng plasmon thì có thể trong vật liệu còn hấp thụ do đóng góp của ZnO - NPs nên làm thay đổi màu sắc của dung dịch. Để có những căn cứ khoa học chính xác hơn để khẳng định sự hình thành hạt nano trong dung dịch cần thực hiện các phép đo chính xác và hiện đại như đo hấp thụ UV-Vis, ảnh hiển vi truyền qua TEM và nhiễu xạ tia X (XRD). Hình 3.9 (a) biểu diễn phổ hấp thụ UV -Vis của (1) dung dịch chứa nano Au điện hóa không thêm ZnO - NPs và (2) dung dịch chứa nano vàng điện hóa có thêm nano ZnO - NPs, (3) dung dịch chứa nano ZnO - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa. Cả ba mẫu trên đều được chế tạo ở điều kiện cấp nguồn 1 chiều 9 Vôn trong suốt 5 giờ điện hóa.

Từ phổ UV-Vis Hình 3.9(a): hình (1) và (3) thấy rằng các mẫu ZnO và Au có đỉnh hấp thụ lần lượt tại các bước sóng 350 nm [127][130] đỉnh hấp thụ đặc trưng của ZnO và 548 nm [88][28] là các đỉnh hấp thụ tương ứng với tần số cộng hưởng plasmon của Au. Hình (2) là phổ hấp thụ của dung dịch điện hóa vàng có thêm ZnO trong quá trình điện hóa do thấy có sự xuất hiện hai đỉnh hấp thụ. Đỉnh hấp thụ thứ nhất thuộc vùng tử ngoại có bước sóng 359 nm, đỉnh này tương ứng với đỉnh hấp thụ của thành phần ZnO trong dung dịch. So với mẫu chỉ có ZnO đỉnh này dịch về phía bước sóng dài chứng tỏ đã có sự thay đổi về cấu trúc hoặc kích thước cũng như hình dạng của vật liệu. Đỉnh thứ hai nằm trong vùng khả kiến tại bước sóng 535 nm đỉnh này tương ứng với đỉnh hấp thụ plasmon của nano vàng. Đỉnh hấp thụ vùng khả kiến của dung dịch chứa Au/ZnO - CNPs cũng dịch về phía bước sóng ngắn so với dung dịch chứa Au - NPs nguyên chất. Điều đó chứng tỏ đã có sự thay đổi về hình dạng, kích thước cũng như cấu trúc của vàng [28].





**Hình 3.9.** Phổ hấp thụ UV - Vis (a) Au - NPs, ZnO - NPs và tổ hợp Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điện áp 9 V và 5h; (b) nano tổ hợp 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.

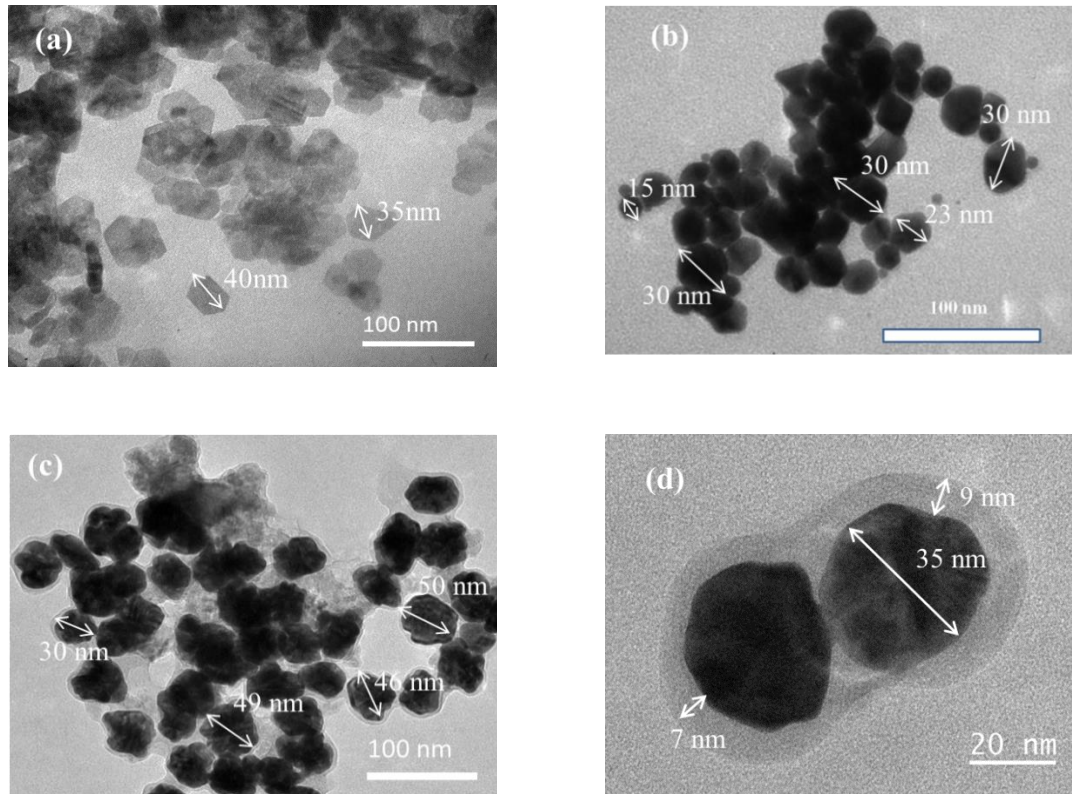
Như vậy, từ sự xuất hiện hai đỉnh hấp thụ trong vùng tử ngoại và vùng khả kiến có thể cho rằng nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs đã hình thành trong dung dịch sau điện hóa. Đỉnh hấp thụ đặc trưng của cả ZnO và Au đều có sự dịch chuyển bước sóng hấp thụ chứng tỏ thành phần ZnO ảnh hưởng quá trình điện hóa Au - NPs. Ngoài ra các mẫu bảo quản ở nhiệt độ 2°C trong 1 ngày và 6 tháng được đo phổ hấp thụ UV- Vis để kiểm tra độ ổn định của mẫu. Hình 3.9(b) là phổ hấp thụ UV-Vis của dung dịch chứa nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs bảo quản trong 1 ngày và sau 6 tháng ở 2°C thấy rằng cả hai mẫu đều cho hai đỉnh hấp thụ ở 359 nm và 535 nm tuy nhiên với mẫu sau 6 tháng thấy rằng đỉnh hấp thụ mở rộng về phía bước sóng dài. Điều đó chứng tỏ dải phân bố kích thước hạt mở rộng hơn và quá trình phát triển hạt vẫn tiếp tục diễn ra. Tuy nhiên, 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 Au/ZnO - CNPs ổn định trong thời gian dài tới 6 tháng ở 2°C. Để chứng minh các hạt nano vàng đã hình thành trong dung dịch cần phải có phương pháp trực quan hơn chỉ ra hình dạng, kích thước, cấu trúc tinh thể và pha của vật liệu. Phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM) và nhiễu xạ tia X (XRD) giúp giải quyết các vấn đề đó.

### 3.2.3. Hình thái và cấu trúc của Au/ZnO – CNPs

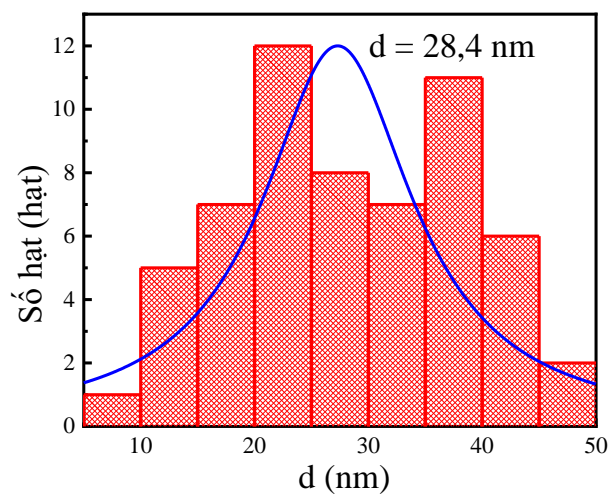
#### a) Hình thái và cấu trúc của nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs

Các dung dịch sau điện hóa được chụp ảnh hiển vi truyền qua TEM nhằm khảo sát hình thái cấu trúc hạt trong dung dịch. Hình 3.10 là ảnh TEM của các

mẫu (a) dung dịch chứa nano ZnO - NPs thêm vào trong quá trình điện hóa vàng, (b) nano Au - NPs và (c),(d) hạt nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs.



Hình 3.10. Ảnh TEM (a) ZnO - NPs; (b) Au - NPs; (c), (d) nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở 9 V thời gian điện hóa 5 h.



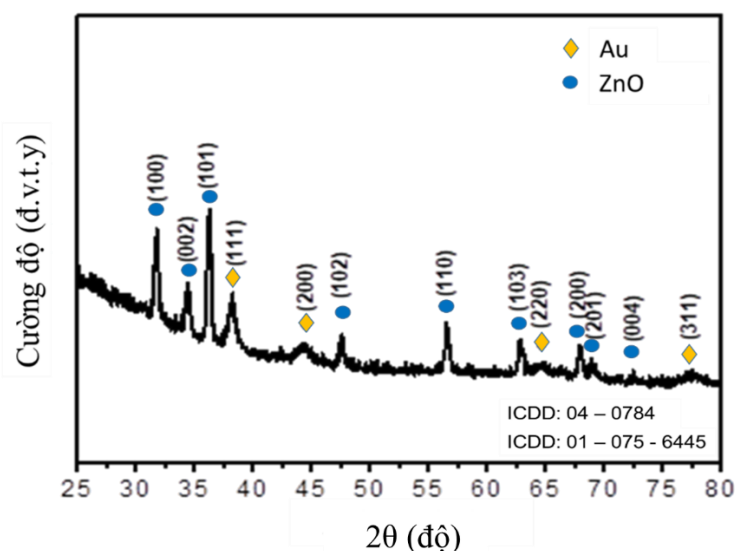
Hình 3.11. Phân bố kích thước hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điều kiện điện áp 9 V thời gian điện hóa 5 h.

Từ Hình 3.10(a) thấy rằng các hạt nano ZnO - NPs có dạng lục giác, kích thước hạt trung bình 36,6 nm. Hình 3.10(b) cho thấy trong quá trình điện hóa không thêm dung dịch chứa ZnO thu được các hạt vàng dạng hình cầu có kích thước đồng đều nằm trong giải từ 15 đến 30 nm. Hình 3.10(c) sản phẩm điện hóa vàng có thêm dung dịch chứa ZnO – NPs, trong trường hợp này các hạt vàng không còn dạng hình cầu thay vào đó là các hạt vàng dị thể. Kích thước hạt trung bình được xác định trên ảnh TEM bằng phương pháp thống kê. Phổ phân bố kích thước hạt của nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs được biểu diễn trên Hình 3.11.

Kết quả cho thấy các hạt nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs có kích thước trung bình 28,4 nm. Quan sát ảnh TEM ở độ phóng đại lớn hơn Hình 3.10(d) thấy rằng vùng biên của các hạt nano vàng xuất hiện một lớp bao bên ngoài có độ dày trong khoảng 7 nm đến 9 nm. Với hóa chất đầu vào chỉ có vàng và ZnO - NPs đều là các hóa chất có độ sạch cao. Có thể khẳng định lớp bao bên ngoài các hạt nano vàng dị thể chỉ có thể là ZnO - NPs. Như vậy hình ảnh TEM thu được hoàn toàn phù hợp với các kết quả đo phổ hấp thụ UV-Vis. Hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs đã được chế tạo thành công với lõi là Au - NPs còn lớp vỏ bên ngoài là ZnO - NPs. Ngoài ra, thay vì các hạt nano vàng hình cầu thì lõi vàng bên trong có dạng dị thể. Ở đây, các tinh thể vàng đã phát triển bất đẳng hướng và kích thước cũng lớn hơn do ảnh hưởng bởi lớp vỏ ZnO - NPs bên ngoài. Như vậy lớp vỏ bên ngoài đóng vai trò như một khuôn giới hạn kích thước và hình dạng lõi vàng bên trong. Để khẳng định một cách chặt chẽ hơn về sự hình thành hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs trong dung dịch ta cần đi sâu vào nghiên cứu cấu trúc cũng như thành phần pha tinh thể.

Phương pháp đo nhiễu xạ tia X đã được thực hiện để củng cố thêm luận cứ khẳng định các hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs đã được chế tạo thành công bằng phương pháp điện hóa. Hình 3.12 là giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa trong 5 h với điện áp nguồn là 9 V. Giản đồ 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  $2\theta = 77,54^\circ$ .

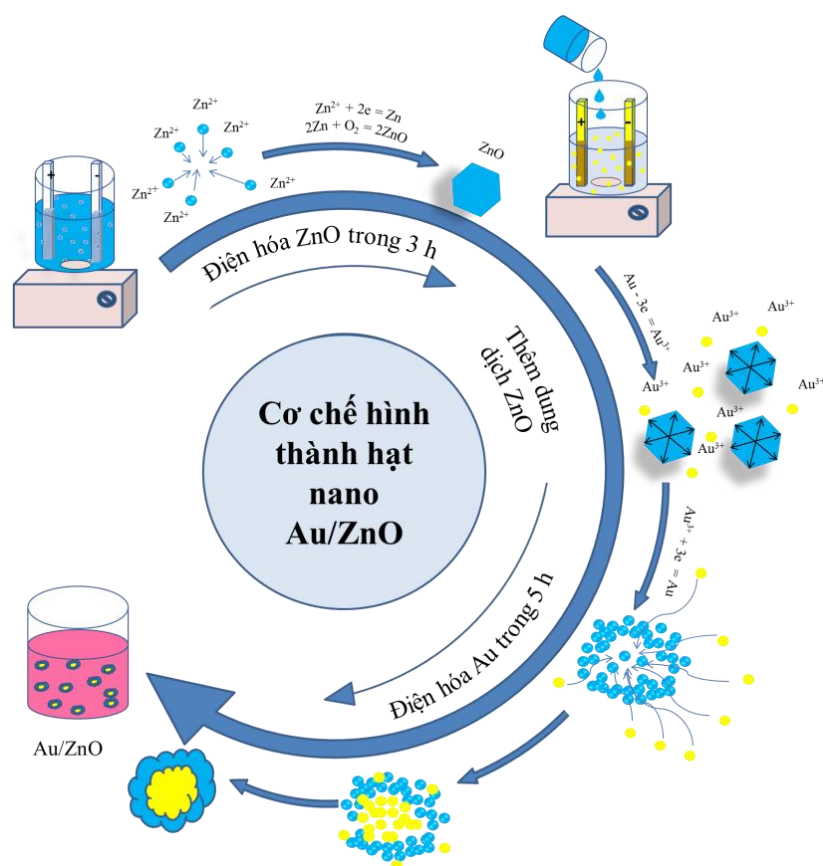


Hình 3.12. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa.

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. 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 nano tổ hợp 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. Như vậy có thể khẳng định trong dung dịch thu được sau điện hóa là hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs có cấu trúc dị thể có độ sạch cao. Tuy nhiên cơ chế hình thành hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs cũng cần được làm sáng tỏ.

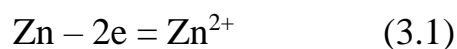
#### *b) Cơ chế hình thành nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs*

Từ các chứng cứ khoa học được đo đạc bằng các thiết bị hiện đại có độ chính xác cao có thể khẳng định hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs có cấu trúc dị thể đã được chế tạo thành công bằng phương pháp điện hóa. Tuy nhiên cơ chế hình thành hạt như thế nào trong quá trình điện hóa cần được làm rõ. Dựa trên các tính chất vật liệu và quy trình đã được chuẩn hóa có thể sơ bộ đề xuất cơ chế hình thành hạt được biểu diễn trên sơ đồ Hình 3.13. Quá trình tổng hợp nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs được chia làm 2 bước.



Hình 3.13. Cơ chế đề xuất sự hình thành hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs bằng phương pháp điện hóa

**Bước 1:** Tổng hợp nano ZnO - NPs. Quá trình điện hóa với điện cực là kẽm dạng khối ion  $Zn^{2+}$  được tạo ra ở cực dương tan vào dung dịch. Ion  $Zn^{2+}$  được khử ngay trong dung dịch tạo thành Zn kim loại. Do Zn là kim loại hoạt động mạnh nên dễ dàng bị ô xi hóa kết tinh trong dung dịch tạo thành ZnO - NPs dạng lục giác. Phương trình phản ứng hóa học (3.1); (3.2); (3.3):



**Bước 2:** Tổng hợp hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs bằng phương pháp điện hóa từ điện cực vàng dạng khối. Bước này được chia làm hai quá trình nhỏ. Quá trình thứ nhất diễn ra quá trình điện hóa ở điện cực vàng tạo ra ion vàng  $Au^{3+}$  tan vào dung dịch theo phương trình (3.4):



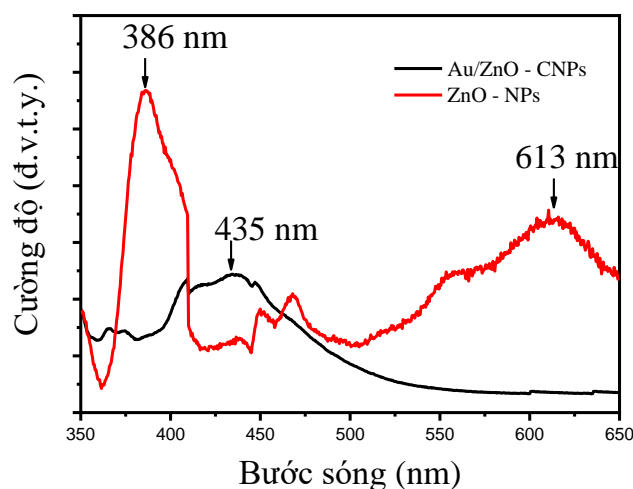
Quá trình thứ hai khi đưa dung dịch chứa nano ZnO - NPs vào trong dung dịch điện hóa vàng để tạo thành dung dịch chứa tổ hợp của Au - NPs và ZnO - NPs. Khi đưa hạt nano ZnO - NPs vào dung dịch điện hóa được gia nhiệt, các hạt nano ZnO - NPs bị tác động bởi nhiệt độ và tương tác với các phân tử nước sẽ giãn nở tạo thành các hạt ZnO - NPs xốp với nhiều lỗ rỗng. Do có các lỗ rỗng trên ZnO - NPs nên các ion  $\text{Au}^{2+}$  sẽ đi vào các hạt ZnO - NPs qua các lỗ xốp. Sau đó quá trình khử ion  $\text{Au}^{3+}$  thành Au diễn ra trong lõi ZnO để tạo thành lõi vàng bên trong lớp ZnO. Quá trình khử diễn ra theo phương trình (3.5):



Khi đó lớp vỏ ZnO hạn chế sự phát triển kích thước của lõi vàng đồng thời đóng vai trò là khuôn bên ngoài tạo ra cấu trúc dị thể lõi vỏ Au/ZnO - CNPs.

### 3.2.2. Đặc tính của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs

#### a) Đặc tính quang học của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs



Hình 3.14. Phổ phát xạ huỳnh quang PL của ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs

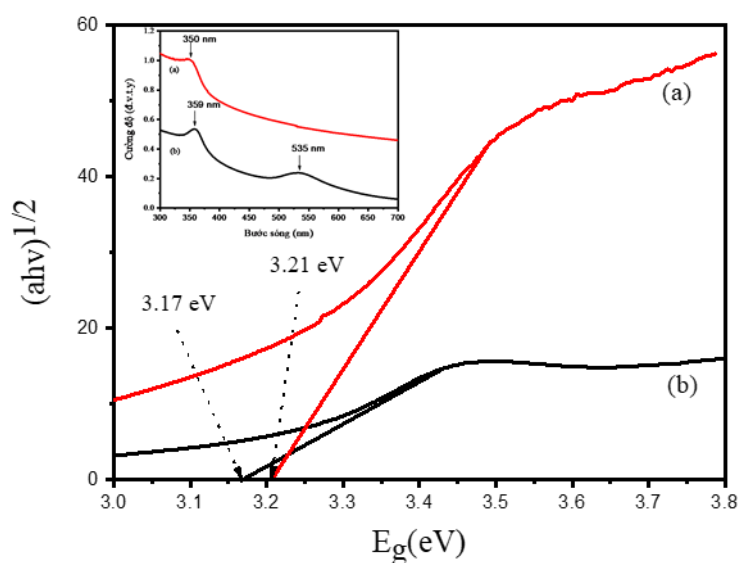
Hình 3.14 là phổ huỳnh quang của mẫu ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs với mẫu ZnO - NPs ta thấy hai đỉnh phát quang ở vùng tử ngoại có bước sóng 386 nm ứng với phát xạ do tái hợp vùng vùng của ZnO - NPs và đỉnh trong vùng khả kiến 613 nm có thể do các sai hỏng. Với mẫu Au/ZnO - CNPs xuất hiện duy nhất 1 đỉnh trong vùng khả kiến có bước sóng 435 nm. Như vậy rõ ràng đỉnh phát xạ PL có sự dịch từ đỉnh 386 nm về bước sóng dài 435 nm, tương ứng của ZnO - NPs so với Au/ZnO - CNPs. Và cường độ đỉnh giảm mạnh, độ rộng đỉnh tăng như vậy rõ ràng có sự tác động của lõi vàng đối với



sự phát quang của lớp vỏ ZnO làm giảm xác suất tái hợp vùng – vùng. Cụ thể ảnh hưởng như thế nào ta cần tính toán độ rộng vùng cấm của nano ZnO - NPs trong nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs so với nano ZnO – NPs.

Phương pháp Tauc dựa trên giả thuyết hệ số hấp thụ phụ thuộc vào năng lượng  $\alpha$  theo biểu thức [104]:  $(\alpha \cdot hv)^{1/\gamma} = B (hv - E_g)$ . (3.6)

Từ phổ hấp thụ UV – Vis áp dụng phương pháp Tauc có thể xác định độ rộng vùng cấm của ZnO – NPs và Au/ZnO – CNPs. Hình 3.15(a) là phổ biểu diễn độ rộng vùng cấm quang của ZnO - NPs có độ rộng vùng cấm là 3,21 eV. Hình 3.15(b) là đồ thị biểu diễn độ rộng vùng cấm quang của Au/ZnO - CNPs. Từ đồ thị thấy rằng độ rộng vùng cấm của Au/ZnO - CNPs là 3,17 eV. Kết quả cho thấy độ rộng vùng cấm đã thu hẹp khi có mặt của lõi vàng. Từ đó có thể thấy rằng có sự ảnh hưởng của lõi vàng tới tính chất quang của ZnO. Từ đó mở rộng các ứng dụng của nano ZnO – NPs về vùng khả kiến.

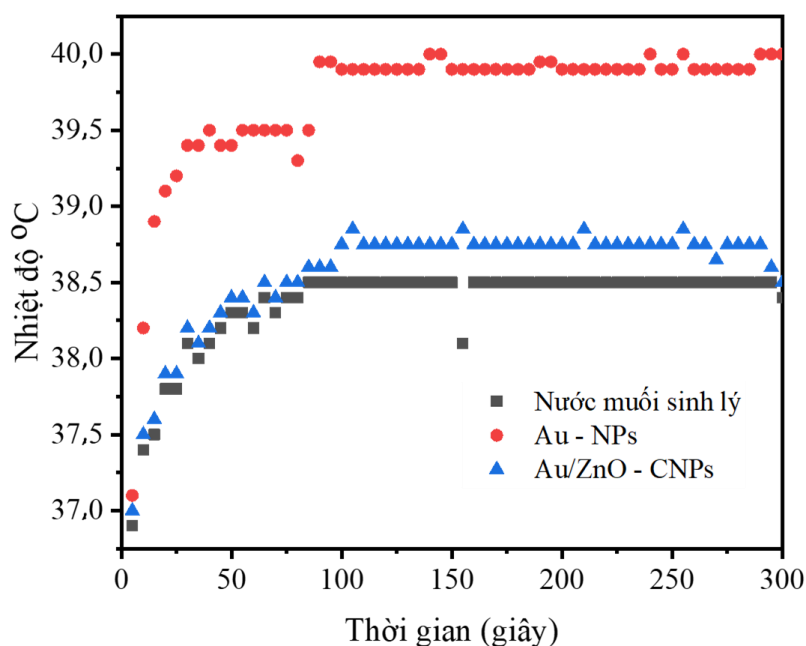


Hình 3.15. Xác định năng lượng vùng cấm của các mẫu (a) ZnO - NPs ; (b) Au/ZnO – CNPs

*b) Hiệu ứng quang nhiệt của hệ nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs*

Hiệu ứng quang nhiệt của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs được đánh giá thông qua thí nghiệm khảo sát sự phụ thuộc của nhiệt độ dung dịch chứa nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs vào thời gian chiếu ánh sáng có bước sóng 532 nm ở nhiệt độ 37,0°C. Chi tiết thiết kế thí nghiệm và xử lý số liệu được trình bày ở phần thực nghiệm. Hình 3.17 là đồ thị nhiệt độ dung dịch nước muối sinh lí

đường màu đen; nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs đường màu xanh; Au - NPs đường màu đỏ. Kết quả cho thấy rằng mẫu nano vàng và nước muối sinh lí đạt nhiệt độ bão hòa sau 90 giây. Nhiệt độ bão hòa của nano vàng 40,0°C nhiệt độ bão hòa của nước muối sinh lí 38,5°C. Như vậy dung dịch chứa nano vàng tăng hơn nước muối sinh lí 1,5°C. Tuy nhiên với dung dịch chứa nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs cũng đạt nhiệt độ bão hòa sau 90 giây và nhiệt độ bão hòa 38,75°C và tăng so với nước muối sinh lí 0,25°C. Nhiệt độ của dung dịch chứa Au/ZnO - CNPs tăng không nhiều so với nước muối sinh lí ở cùng điều kiện chiếu sáng. Như vậy rõ ràng có sự ảnh hưởng của lớp vỏ ZnO tới hiệu ứng quang nhiệt của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs. Lí do có thể do lớp ZnO bên ngoài bao bọc hạt nano vàng dẫn đến nano vàng không thể tiếp xúc trực tiếp và truyền nhiệt với môi trường xung quanh, dẫn đến hiệu ứng quang nhiệt của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs thấp hơn so với hạt nano vàng trần. Như vậy khác với chiết xuất thiên nhiên curcumin lớp vỏ nano ZnO có tác dụng tiêu cực làm giảm hiệu ứng quang nhiệt của lõi nano vàng.



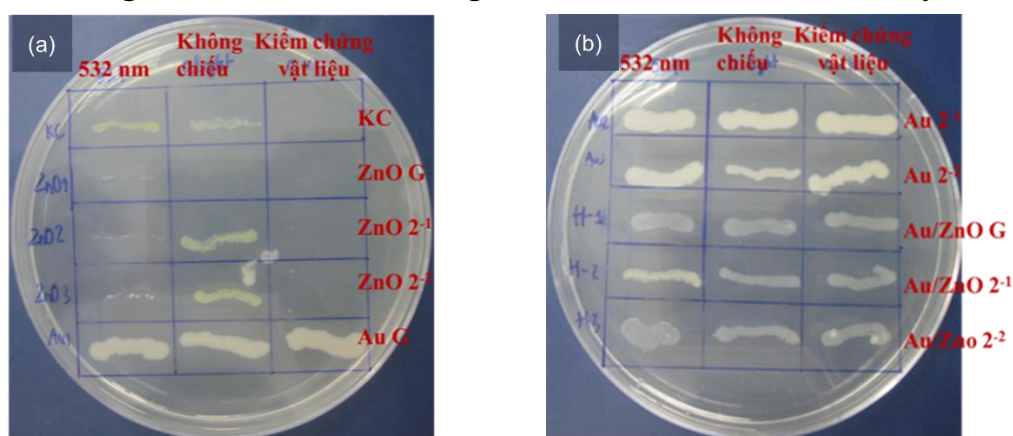
Hình 3.16. Sự phụ thuộc nhiệt độ dung dịch nước muối sinh lí, Au - NPs, nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs vào thời gian chiếu ánh sáng 532 nm.

### 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*. Chi tiết thí nghiệm và các thông số thí



nghiệm được mô tả như trên phần thực nghiệm. Kết quả cho thấy rằng với mẫu kiểm chứng, vi khuẩn đều phát triển cả khi chiếu sáng và không chiếu sáng. Kết quả cho thấy chiếu ánh sáng bước sóng 532 nm không gây diệt vi khuẩn *MRSA*. Đối với tất cả các mẫu ZnO – NPs ở nồng độ gốc (46 ppm) khuẩn lạc không xuất hiện. Khi pha loãng nồng độ giảm 2 lần, trên mẫu có chiếu sáng không có sự phát triển của vi khuẩn, trên mẫu không chiếu sáng xuất hiện khuẩn lạc sinh trưởng trên vệt cấy. Khi pha loãng 4 lần cả 2 mẫu có chiếu sáng và không chiếu đều xuất hiện khuẩn lạc, tuy nhiên mẫu có chiếu 532 nm khuẩn lạc thưa hơn nhiều. Cả 3 mẫu kiểm chứng trên đĩa petri đều không xuất hiện khuẩn lạc nào. Như vậy ZnO - NPs có khả năng kháng khuẩn ở nồng độ cao nhất. Việc chiếu tia laze 534 nm có khả năng tăng cường kháng khuẩn. Đối với tất cả các mẫu Au - NPs và Au/ZnO - CNPs có chiếu sáng, không chiếu sáng và mẫu kiểm chứng vật liệu đều có sự tăng sinh của vi khuẩn trên vệt cấy.

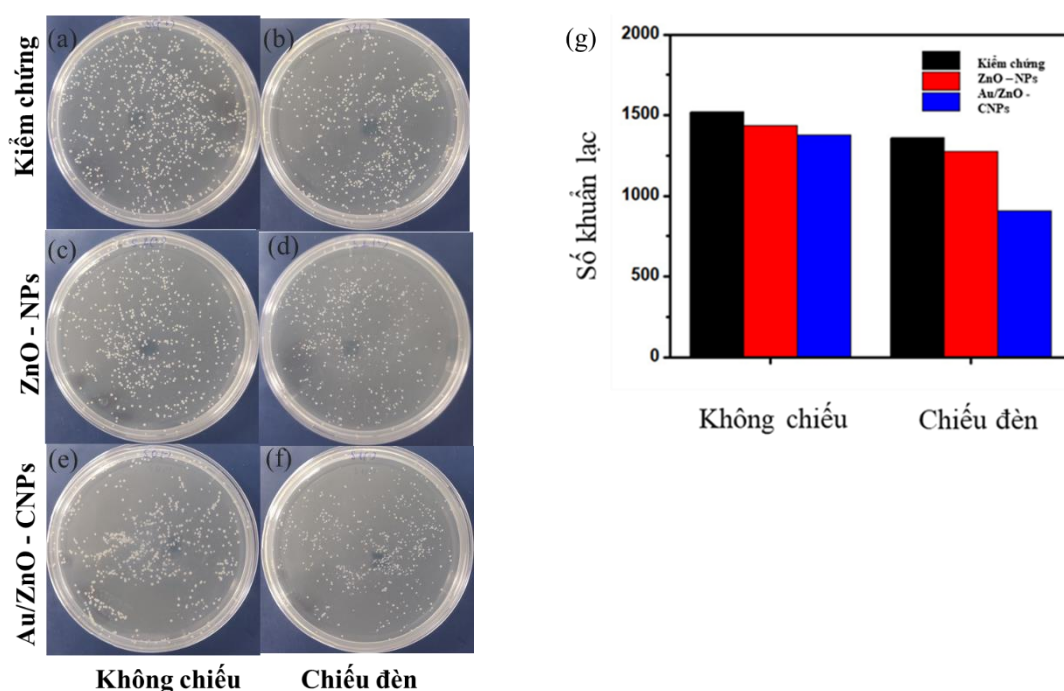


Hình 3.17. Hình ảnh đĩa petri của các mẫu: (a) - nano ZnO - NPs và (b)- nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs.

Như vậy với mẫu Au/ZnO - CNPs khả năng kháng và ức chế vi khuẩn *MRSA* yếu. Trong khi đó, dưới sự chiếu xạ laze ở bước sóng 532 nm trong cùng thời gian chiếu sáng 20 phút, có thể tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn *MRSA* và ức chế sự phát triển của *E.coli* O157:H7 lên tới 90%. Như vậy rõ ràng thành phần vàng trong nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs không những không có khả năng tăng cường khả năng kháng khuẩn khi chiếu ánh sáng có bước sóng 532 nm giống như trong nano tổ hợp Au/Cu - CNPs mà còn ảnh hưởng tiêu cực tới khả năng kháng khuẩn của nano ZnO - NPs. Điều này phần nào có thể giải thích là do nhiệt độ tăng thêm do hiệu ứng quang nhiệt của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs là thấp hơn nhiều so với Au- NPs trần. Kết quả đo hiệu ứng quang nhiệt thấy rằng nhiệt độ sau bão hòa của dung dịch chứa Au/ZnO – CNPs tăng không đáng

kê so với nước muối sinh lí (0,5°C) so với tăng 3,5° của Au - NPs trần. Như ta biết rõ ràng kết quả đo phổ hấp thụ UV – Vis của dung dịch chứa Au/ZnO – CNPs có đỉnh hấp thụ 532 nm tuy nhiên nhiệt độ không tăng như kỳ vọng. Vậy cơ chế chuyển hóa năng lượng trong trường hợp này xảy ra như thế nào cần được làm rõ. Để kiểm tra vấn đề đó, hoạt tính quang kháng khuẩn và quang xúc tác khi chiếu ánh sáng trong vùng khả kiến cần được khảo sát.

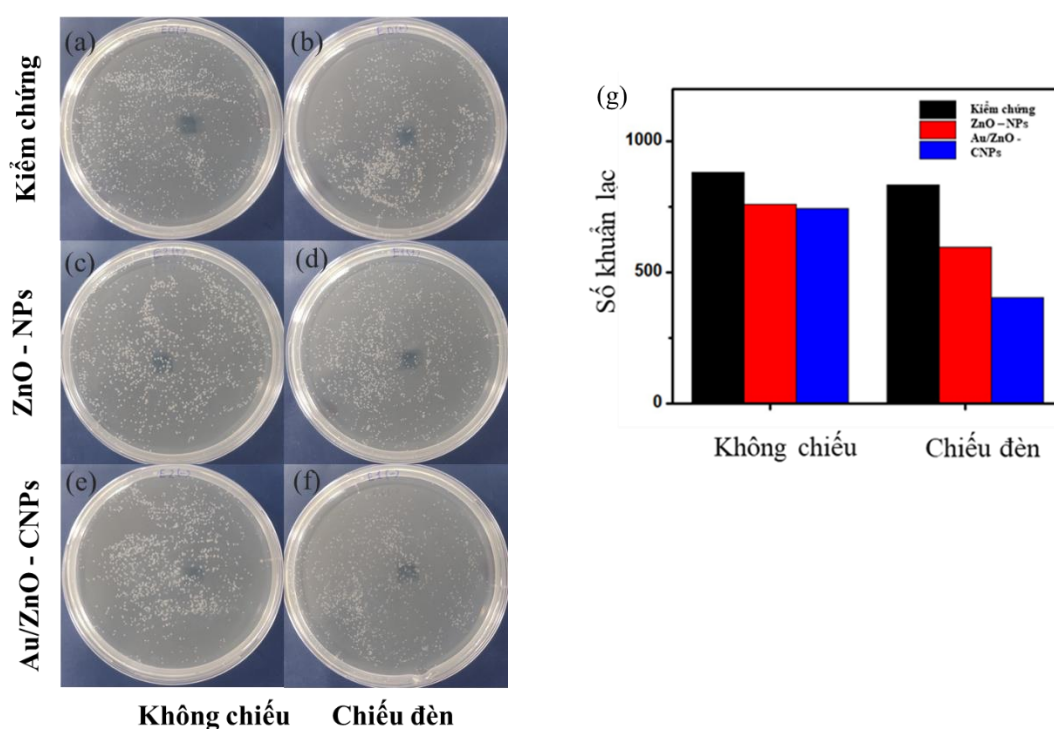
### 3.2.4. Khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs khi chiếu ánh sáng khả kiến



Hình 3.18. Đĩa petri: (a) - kiểm chứng (-); (b) - kiểm chứng (+); (c) - ZnO–NPs không chiếu sáng; (d) - nano ZnO – NPs có chiếu sáng; (e) tổ hợp Au/ZnO– CNPs không chiếu sáng; (f) tổ hợp Au/ZnO – CNPs có chiếu sáng và (g)-Biểu đồ biểu diễn số khuẩn lạc MRSA theo từng vật liệu.

Khả năng quang kháng khuẩn của Au/ZnO - CNPs được khảo sát thông qua thử nghiệm diệt khuẩn trên hai chủng vi khuẩn Gram dương (MRSA) và Gram âm (*E.coli* O157:H7). Để khảo sát chính xác hơn phương pháp cấy đếm được thực hiện thay thế phương pháp ria cấy. Chi tiết thiết bị thí nghiệm và xử lí số liệu được trình bày cụ thể ở phần thực nghiệm. Để làm rõ được ảnh hưởng của nano vàng lên khả năng kháng khuẩn của nano ZnO khi chiếu ánh sáng khả kiến. Thông số chi tiết của nguồn sáng và bố trí thí nghiệm được trình bày ở phần thực nghiệm. Kết quả thử nghiệm kháng khuẩn Gram dương (MRSA) cho thấy với mẫu kiểm chứng mẫu có chiếu sáng số khuẩn lạc giảm 3,5 % là không

đáng kể so với trường hợp không chiếu sáng. Kết quả chỉ ra rằng mẫu ZnO – NPs có chiếu sáng và không chiếu sáng số khuẩn lạc cũng chênh lệch 10 %. Tuy nhiên so với mẫu kiểm chứng thì số khuẩn lạc đã giảm 9,5%. Điều này chứng tỏ ZnO – NPs có khả năng ức chế chủng vi khuẩn *MRSA* ở nồng độ 12 ppm khi chiếu sáng và không chiếu sáng hoàn toàn phù hợp với kết quả thử nghiệm ở trên. ZnO – NPs có khả năng ức chế vi khuẩn khi chiếu sáng và khả năng ức chế vi khuẩn tăng khi chiếu sáng. Với mẫu nano tổ hợp 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.



Hình 3.19. Đĩa petri: (a) - kiểm chứng (-); (b) - kiểm chứng (+); (c) - ZnO – NPs không chiếu sáng; (d) - nano ZnO – NPs có chiếu sáng; (e) tổ hợp Au/ZnO – CNPs không chiếu sáng; (f) tổ hợp Au/ZnO – CNPs có chiếu sáng và (g)-Biểu đồ của *E.coli* O157:H7

Tương tự kết quả thử nghiệm kháng khuẩn Gram âm (*E.coli* O157:H7) cho kết quả tương đương với mẫu kiểm chứng mẫu có chiếu sáng số khuẩn lạc giảm 5,4 % không đáng kể so với không chiếu sáng. Như vậy rõ ràng ánh sáng của đèn sợi đốt không ảnh hưởng nhiều tới vi khuẩn *E.coli* O157:H7. Kết quả chỉ ra rằng mẫu ZnO – NPs có chiếu sáng và không chiếu sáng số khuẩn lạc cũng chênh lệch không nhiều. Tuy nhiên so với mẫu kiểm chứng thì số khuẩn lạc đã giảm 21,5 %. Điều này chứng tỏ ZnO – NPs có khả năng ức chế vi khuẩn

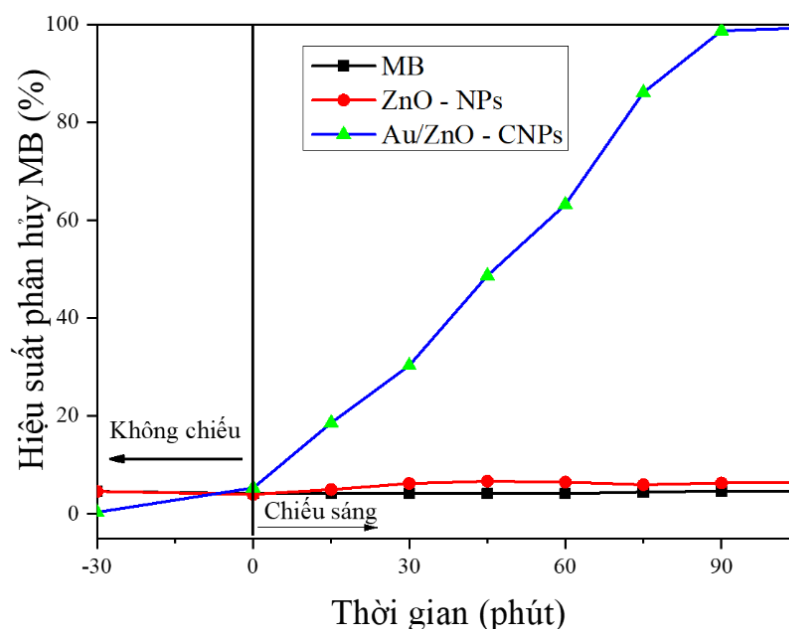
ở nồng độ 12 ppm, hoàn toàn phù hợp với kết quả thử nghiệm ở trên. ZnO – NPs có khả năng ức chế vi khuẩn và khả năng ức chế vi khuẩn tăng khi chiếu sáng. Với mẫu nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs có khả năng kháng khuẩn yếu khi không chiếu sáng và được tăng cường 59,5 % khi chiếu ánh sáng từ đèn sợi đốt Hình 3.19. Hơn nữa khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs đối với chủng vi khuẩn *E.coli* O157:H7 là tốt hơn *MRSA* 14 % đối với ở cùng điều kiện chiếu sáng.

Rõ ràng hiệu ứng kháng khuẩn của nano tổ hợp 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. Như trình bày ở Chương 1, một trong các cơ chế kháng khuẩn mạnh nhất của ZnO – NPs là do hiện tượng quang xúc tác. Các gốc oxy hóa khử sinh ra đóng góp lớn vào hoạt tính kháng khuẩn của ZnO – NPs [131][132]. 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. Khả năng kháng khuẩn Gram âm mạnh hơn Gram dương có thể giải thích do thành tế bào của vi khuẩn Gram dương là dày hơn vi khuẩn Gram âm [96]. 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. Giải thích khả năng kháng khuẩn của tổ hợp Au/ZnO– CNPs thông qua hiệu ứng quang xúc tác***

Thí nghiệm quang xúc tác tiến hành nhằm sáng tỏ nhận định nguyên nhân tăng cường khả năng ức chế/tiêu diệt vi khuẩn kháng kháng sinh của nano tổ hợp Au/ZnO – CNPs là do quang xúc tác của thành phần vỏ ZnO. Hoạt tính quang xúc tác của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs được đánh giá thông qua thí nghiệm phân hủy chất màu hữu cơ methylene blue (MB). Chi tiết thiết kế thí nghiệm và xử lý số liệu được trình bày ở phần thực nghiệm. Để làm rõ và nổi bật hơn vai trò của Au trong cấu trúc Au/ZnO - CNPs, nguồn sáng được sử dụng trong thí nghiệm là nguồn sáng khả kiến (xem thông số chi tiết ở phần thực nghiệm) nhằm tận dụng đặc tính cộng hưởng plasmon bề mặt của nano Au - NPs. Bên cạnh đó, các thí nghiệm đánh giá sự phân hủy MB dưới chiếu xạ

ánh sáng khả kiến và dưới sự có mặt của nano ZnO - NPs cũng đã được hiện để so sánh. Thí nghiệm hấp phụ MB của ZnO - NPs và Au/ZnO - CNPs cũng đã được thực hiện trong 30 phút (thực hiện trong bóng tối) nhằm loại bỏ sai số của việc đánh giá hiệu quả quang xúc tác.



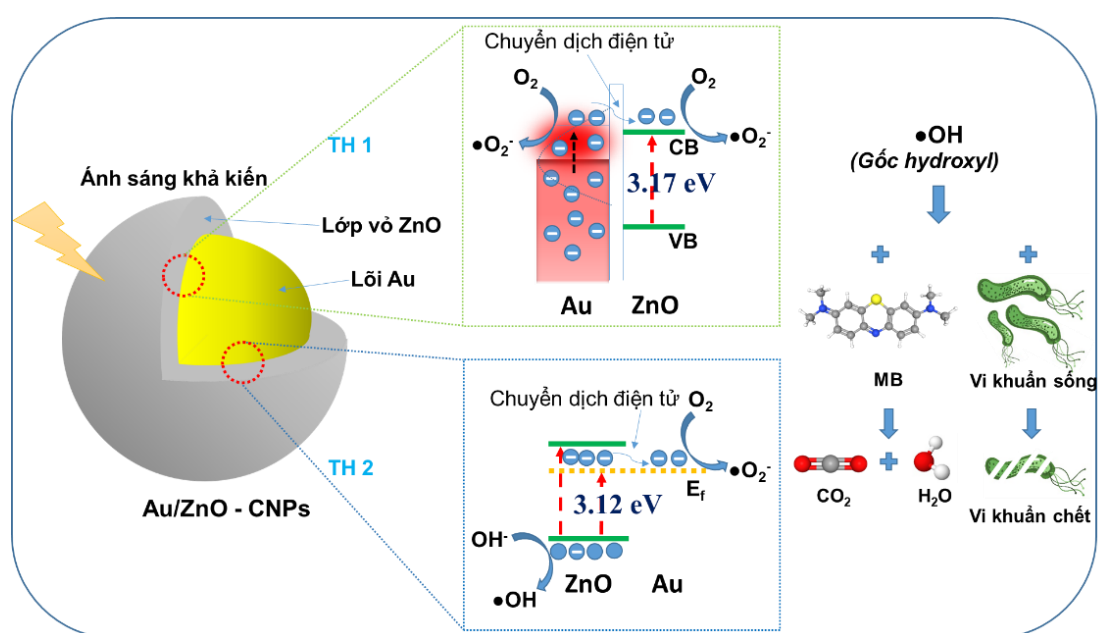
*Hình 3.20.* Hiệu quả quang xúc tác phân hủy MB của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs đánh giá thông qua độ phân hủy (%): hiệu quả phân hủy MB dưới chiếu xạ ánh sáng khả kiến (đường màu đen); hiệu quả phân hủy MB dưới sự có mặt của nano ZnO - NPs (đường màu đỏ); hiệu quả phân hủy MB dưới sự có mặt của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs (đường màu xanh)

Hình 3.20 thể hiện các kết quả phân hủy MB ở nồng độ 15 ppm dưới các điều kiện khác nhau gồm: ánh sáng khả kiến (đường màu đen); ánh sáng khả kiến và nano ZnO - NPs (đường màu đỏ); và ánh sáng khả kiến và vật liệu nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs. Độ phân hủy MB được đánh giá thông qua sự suy giảm cường độ đỉnh hấp thụ tại vị trí 664 nm trong phổ UV-Vis của MB theo thời gian chiếu xạ. Có thể thấy, dưới tác động của ánh sáng khả kiến, MB gần như không thể bị phân hủy ngay cả sau 120 phút chiếu xạ biểu hiện qua hiệu suất phân hủy gần như là 0 %. Hiện tượng tương tự được quan sát dưới sự có mặt của nano ZnO - NPs khi hiệu suất phân hủy MB của vật liệu này dưới điều kiện chiếu xạ ánh sáng khả kiến là rất hấp. ZnO - NPs được biết đến rộng rãi là vật liệu bán dẫn với độ rộng vùng cấm 3,10 – 3,40 eV và khả năng quang xúc tác dưới sự chiếu xạ ánh sáng vùng UV (100 – 350 nm) [1]. Năng lượng của ánh sáng vùng khả kiến không đủ để kích thích các điện tử vùng hóa trị nhảy lên



vùng dẫn của ZnO - NPs, do đó, hiệu quả quang xúc tác của vật liệu này ở vùng ánh sáng khả kiến rất yếu là điều dễ hiểu.

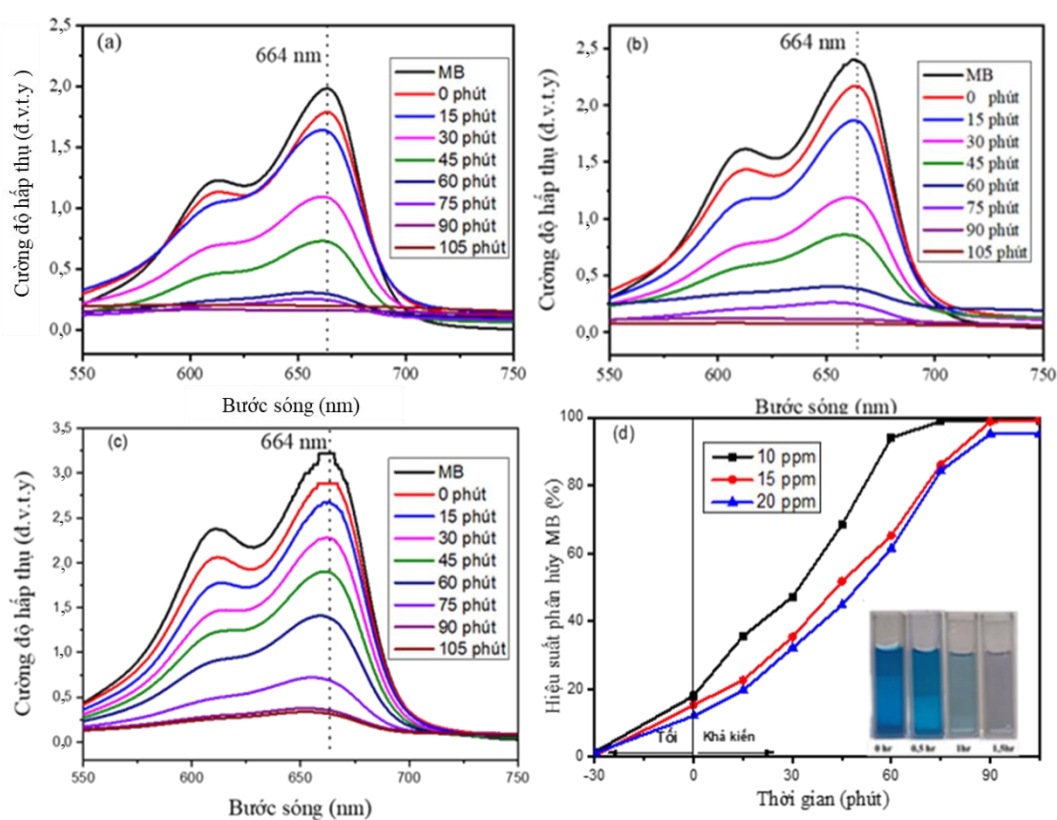
Đáng chú ý, hiệu quả phân hủy MB tăng vượt trội dưới sự có mặt của nano Au trong vật liệu Au/ZnO - CNPs. Có thể thấy, sau 30 phút hấp phụ trong bóng tối, chỉ một lượng nhỏ MB (khoảng 7 %) bị hấp phụ lên bề mặt Au/ZnO - CNPs. Ngay sau đó là quá trình chiếu xạ ánh sáng khả kiến được tiến hành. Nồng độ 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 thành phần Au - NPs dưới tác động chiếu xạ ánh sáng khả kiến [10].



Hình 3.21. Cơ chế đề xuất hoạt tính quang diệt khuẩn và phân hủy MB của vật liệu nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs.

Hình 3.21. mô tả cơ chế quang diệt khuẩn và phân hủy MB của cấu trúc tổ hợp Au/ZnO - CNPs. Dưới điều kiện chiếu xạ ánh sáng khả kiến, hiện tượng cộng hưởng plasmon bề mặt nơi các điện tử tự do của Au - NPs được kích thích và dao động với cùng một tần số được kích hoạt [4]. Cấu trúc lõi-vỏ của Au/ZnO - CNPs với ZnO - NPs là lớp vỏ, các điện tử được kích thích này có thể di chuyển sang lớp ZnO - NPs bên ngoài và có thể kích hoạt hiệu ứng quang xúc tác của cấu trúc này thông qua phản ứng với oxy trong môi trường nước để hình thành các gốc có độ hoạt hóa cao như gốc tự do hydroxyl (Hình 3.21,

trường hợp 1) [5]. Bên cạnh đó, cấu trúc lõi-vỏ thể hiện sự tiếp xúc gần giữa ZnO - NPs và Au - NPs. Do đó, mức năng lượng của ZnO - NPs có thể bị điều chỉnh dưới sự có mặt của Au - NPs (Hình 3.21, trường hợp 2). Sự có mặt của mức năng lượng trung gian ở giữa vùng cấm của ZnO - NPs tạo điều kiện để vật liệu này có thể hấp thụ ánh sáng vùng khả kiến để tạo các cặp điện tử - lỗ trống. Các điện tử được kích hoạt và các lỗ trống này có thể tham gia các phản ứng với nước và oxy để tạo các gốc tự do, từ đó có thể diệt vi khuẩn và phân hủy MB.



Hình 3.22. Phổ UV-Vis theo dõi quá trình phân hủy MB của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs thông qua sự suy giảm đỉnh hấp phụ tại vị trí 664 nm tại nồng độ 10 ppm (a), 15 ppm (b), 20 ppm (c) và Hiệu suất phân hủy MB tại các nồng độ 10, 15 và 20 ppm của vật liệu tổ hợp Au/ZnO – CNPs (d).

Hình 3.22(a), 3.22(b) và 3.22(c) thể hiện phổ UV-Vis của MB trong quá trình quang xúc tác theo thời gian của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs ở các nồng độ lần lượt là 10, 15 và 20 ppm. Có thể thấy, đỉnh hấp phụ đặc trưng của MB tại vị trí 664 nm giảm dần theo thời gian chiếu xạ ánh sáng khả kiến dưới sự có mặt của Au/ZnO - CNPs. Điều này thể hiện sự suy giảm về nồng độ của MB theo thời gian.

Hình 3.22(d) mô tả chi tiết hơn hiệu quả phân hủy MB ở các nồng độ khác nhau của Au/ZnO - CNPs. Ở nồng độ 10 ppm, quá trình quang xúc tác diễn ra nhanh hơn và thời điểm hiệu quả quang xúc tác đạt 100 % nhanh hơn so với các nồng độ 15 và 20 ppm. Mặc dù nồng độ cao hơn ở 15 và 20 ppm, tuy nhiên hiệu quả quang xúc tác của Au-ZnO - CNPs vẫn đạt 100 % chỉ sau 90 phút chiếu xạ. Điều này thể hiện hoạt tính quang xúc tác cao của vật liệu tổ hợp Au/ZnO - CNPs.

### 3.3. Kết luận Chương 3

Nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs đã được điều chế thành công bằng phương pháp điện hóa từ các thanh kim loại dạng khối (Zn và Au). Dung dịch chứa nano tổ hợp có 2 đỉnh hấp thụ UV-Vis tại các bước sóng 364 nm và 548 nm. Hạt nano thu được có cấu trúc dị thể tổ hợp giữa Au và ZnO, dải phân bố kích thước hạt từ 18 - 30 nm. Kích thước hạt trung bình 28,4 nm. Hạt nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs có độ sạch cao và ổn định tốt. Khả năng quang kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs đã được khảo sát trên cả hai hiệu ứng quang nhiệt và quang xúc tác ở vùng khả kiến. Kết quả cho thấy lớp vỏ ZnO đã làm giảm khả năng diệt khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs dựa trên hiệu ứng quang nhiệt khi chiếu bức xạ 532 nm. Tuy nhiên khả năng quang diệt khuẩn trong vùng khả kiến của Au/ZnO - CNPs tăng cường so với ZnO nguyên chất hiệu suất trên hai chủng *E.coli* O157:H7 và *MRSA* lần lượt là 59,5 % và 45,6 %. Tuy nhiên, khả năng diệt khuẩn của chúng vẫn thấp hơn so với nano tổ hợp Au/Cur - CNPs có hỗ trợ quang nhiệt (trên 90%). Cơ chế kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/ZnO - CNPs có thể giả thuyết do các gốc oxy hóa khử tự do ROS sinh ra do hiệu ứng quang xúc tác. Sự xuất hiện của các ROS đã được kiểm chứng thông qua hiệu ứng quang xúc tác phân hủy hoàn toàn MB khi chiếu ánh sáng vùng khả kiến.

Vật liệu tạo thành có nhiều đặc tính phù hợp với các định hướng ứng dụng làm vật liệu y sinh, vật liệu dẫn thuốc, vật liệu dẫn thuốc hướng đích nhằm tiêu diệt các tế bào gây bệnh và các liệu pháp điều trị ung thư. Một phần kết quả của chương này đã được công bố trên 01 bài báo tạp chí *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and engineering Aspects*, 2023; 02 bài báo tại Hội nghị Vật lý Chất rắn và Khoa học Vật liệu Toàn quốc - SPMS 2021 và 01 đăng ký sáng chế số 2-2023-00491 tại Cục sở hữu trí tuệ Việt Nam (đã chấp nhận đơn).



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

### 4.1. Đặt vấn đề

Như đã trình bày trong Chương 2 và 3 về các kết quả nghiên cứu về nano tổ hợp vàng với hoạt chất từ thiên nhiên (curcumin) và vật liệu nano vô cơ có hoạt tính kháng khuẩn (kẽm oxit). Kết quả đã cho thấy rằng hoạt tính kháng khuẩn của Au/ZnO – CNPs và Au/Cur – CNPs đều tăng cường so với ZnO và curcumin nguyên chất. Tuy nhiên, khả năng diệt khuẩn của Au/ZnO – CNPs khi chiếu ánh sáng khả kiến trên hai chủng *MRSA* và *E.coli* O157:H7 lần lượt là 59,5 % và 45,6 vẫn thấp hơn so với nano tổ hợp Au/Cur – CNPs có hỗ trợ quang nhiệt (đều trên 90%). Chương 4 trình bày những kết quả nghiên cứu về nano tổ hợp vàng với một loại vật liệu vô cơ có hoạt tính kháng khuẩn mạnh khác đó là nano bạc. Ngoài hoạt tính kháng khuẩn, nano bạc cũng là vật liệu có hiệu ứng plasmon bề mặt và bền vững trong nhiều môi trường. Một trong những đặc tính độc đáo của hạt nano bạc là khả năng kháng khuẩn. Khả năng kháng khuẩn của hạt nano bạc đã được nhiều nhóm nghiên cứu công bố [12][13]. Hoạt tính kháng khuẩn của hạt nano bạc phụ thuộc vào hình dạng và kích thước đã được báo cáo ở nhiều công trình nghiên cứu [14]. Kết quả cho thấy các hạt nano hình cầu và có kích thước hạt càng nhỏ thì khả năng ức chế vi khuẩn càng tốt. Thông thường, hoạt tính kháng khuẩn của hạt nano bạc sạch giảm dần theo thời gian bảo quản. Do thời gian bảo quản lâu nên hình thái, cấu trúc của hạt nano bạc bị thay đổi dẫn đến khả năng kháng khuẩn bị thay đổi. Vì vậy việc duy trì khả năng kháng khuẩn của hạt nano bạc đòi hỏi phải có giải pháp an toàn và hiệu quả. Việc tạo ra tổ hợp giữa hai kim loại quý vàng và bạc được giả thuyết sẽ góp phần tăng cường khả năng kháng khuẩn ngay ở điều kiện thường cũng như khi chiếu ánh sáng kích thích. Sự kết hợp giữa nano bạc và vàng không những có thể làm giảm nồng độ bạc cần sử dụng, dẫn đến giảm thiểu độc tính mà còn góp phần phát huy được đặc tính tốt của cả hai hệ nano kim loại thành phần [9]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp thay thế điện hóa (trao đổi galvanic) để tạo ra nano tổ hợp vô cơ vàng – bạc. Sự thay thế điện hóa là một quá trình oxi hóa khử trong đó một kim loại được sử dụng làm khuôn bị ăn mòn (vật liệu hy sinh) bởi các ion của kim loại thứ hai khi chúng tiếp xúc với nhau trong pha dung dịch [15]. Phương pháp phản ứng trao đổi galvanic thường được sử dụng để chế tạo các hạt nano phức kim loại [133]. Sản phẩm

sau phản ứng thu được dung dịch chứa nano tổ hợp Au-Ag (Au/Ag - CNPs). Một số nghiên cứu gần đây về nano tổ hợp Au/Ag – CNPs được thống kê ở Bảng 4.1.

*Bảng 4.1.* Một số nghiên cứu về nano tổ hợp Au/Ag – CNPs trong những năm gần đây

| <b>Phương pháp chế tạo Ag – NPs</b> | <b>Phương pháp chế tạo Au/Ag CNPs</b>                                   | <b>Hình dạng và kích thước hạt</b>             | <b>Phạm vi ứng dụng</b>  | <b>Tài liệu tham khảo</b> |
|-------------------------------------|---|--|--|---------------------------|
| Khử hóa học                         | Khử hóa học   | Nanorod; độ dài 50 -55 nm; bán kính 12 – 14 nm | Chụp ảnh sinh học; Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn trên hai chủng <i>MRSA</i> và <i>E.coli</i> đều diệt trên 99%   | [9]                       |
| Khử hóa học                         | Khử $\text{HAuCl}_4$ bằng <i>Escherichia coli</i> thêm dung dịch NaOH   | Hình cầu; đường kính trung bình 23,1 nm        | Phát hiện $\text{H}_2\text{O}_2$ bằng phương pháp đo màu; Tăng cường khả năng kháng khuẩn nhưng độc tính tế bào không tăng; Liệu pháp quang nhiệt diệt tế bào ung thư ở bước sóng (700 – 900 nm) | [134]                     |
|                                     | Khử $\text{HAuCl}_4$ bằng chất khử nguồn gốc thực vật có hỗ trợ vi sóng |  | Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn trên hai chủng <i>P.</i>   | [135]                     |

|   |  |   |   |       |
|---|--|---|---|-------|
|   |  |   | <i>eurgnosia</i> và <i>S. aureus</i>  |       |
|   | Khử sinh học tác nhân khử từ chiết xuất thực vật |   | Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn <i>M. tuberculosis</i> và <i>M. Bovis</i> : MIC < 0,26 µg/l | [136] |
| Khử hóa học từ AgNO <sub>3</sub>                      | Phương pháp thay thế điện galvanic               | Nanorod; chiều dài 30 – 50 nm; bán kính 20 nm | Tăng cường hiệu ứng tán xạ bề mặt Raman (SERS)  | [137] |
| Khử hóa học từ AgNO <sub>3</sub> bằng ethylene glycol | Phương pháp thay thế điện galvanic               | Nanocube; 45,9 nm                             | Xét nghiệm miễn dịch đa điểm, độ nhạy của xét nghiệm là khoảng 20 fmol                      | [138] |

Các công trình kể trên Au/Ag - CNPs hầu hết sử dụng phương pháp khử trực tiếp từ hỗn hợp muối vàng và muối bạc. Phương pháp trên đơn giản tuy nhiên khó điều khiển hình dạng kích thước sản phẩm tạo thành. Thay vào đó sử dụng nano bạc làm nguyên liệu trong phương pháp phản ứng trao đổi galvanic sẽ giúp giải quyết các thách thức đó. Tuy nhiên các công trình gần đây chế tạo Au/Ag – CNPs đều sử dụng khuôn bạc chế tạo bằng khử hóa học, tồn tại các chất tồn dư không mong muốn. Hơn nữa khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp vàng – bạc (Au/Ag - CNPs) chế tạo bằng phương pháp galvanic hầu như chưa được nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện chế tạo Au/Ag – CNPs bằng phương pháp phản ứng trao đổi sử dụng khuôn bạc sạch tổng hợp bằng phương pháp điện hóa, bước đầu đánh giá khả năng ảnh hưởng của khả năng kháng khuẩn của nano bạc khi có mặt Au so với khả năng kháng khuẩn của dung dịch chứa hạt nano bạc nguyên chất đối với chủng vi khuẩn Gram dương *MRSA* và Gram âm *E.coli* O157:H7. Từ đó tìm ra phương pháp tăng cường và duy trì khả năng kháng khuẩn của dung dịch chứa nano bạc sau thời gian bảo quản lâu dài mà không gây bất kỳ tác động nào khác như thay

đổi độ pH, nồng độ. Qua đó hướng đến ứng dụng các vật liệu chế tạo được trong lĩnh vực vật liệu y sinh.

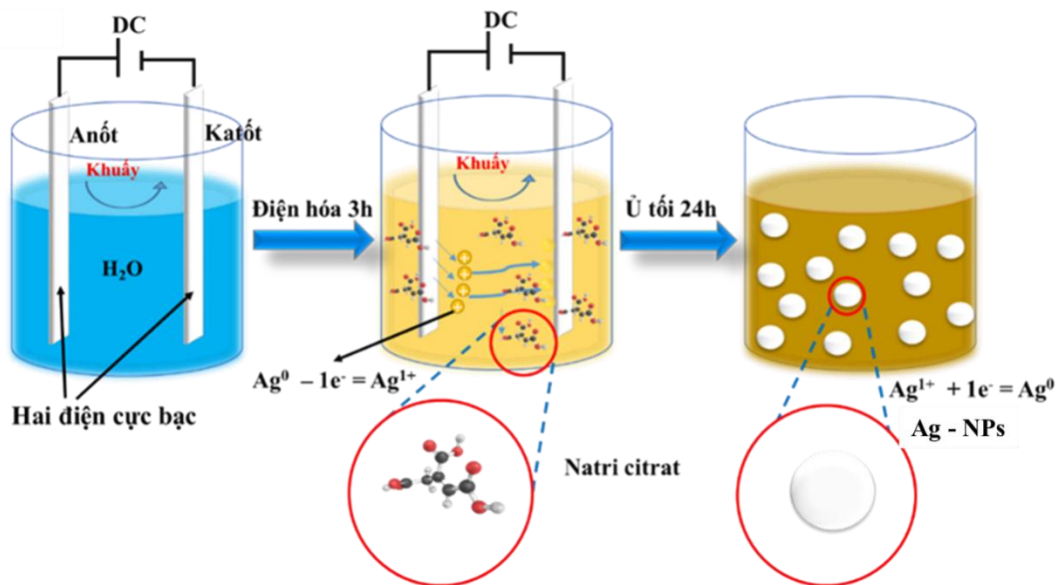
## 4.2. Vật liệu và phương pháp

### 4.2.1. 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 kinh doanh kim loại quý 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 natri citrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) được mua từ Sigma–Aldrich. Tất cả các hóa chất khác sử dụng trong đề tài đều đủ điều kiện phân tích. Một nguồn điện áp DC 9 V được cấp trong suốt quá trình chế tạo nano bạc. Hai chủng vi khuẩn Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7) được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương Việt Nam.

### 4.2.2 Phương pháp thực nghiệm

#### a) Quy trình chế tạo khuôn nano bạc



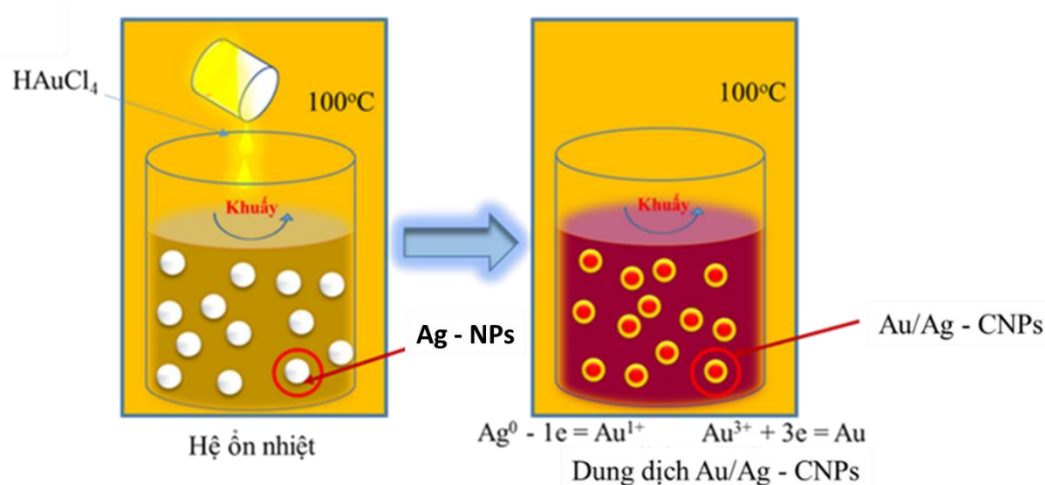
Hình 4.1. Quy trình chế tạo Ag - NPs bằng phương pháp điện hóa từ hai thanh bạc dạng khối ở điều kiện nhiệt độ phòng.

Bề mặt của các thanh bạc (0,6 cm X 20 cm X 1 cm) được làm sạch bằng dung dịch hydro peroxid 3% và rửa sạch bằng nước cất trước khi sử dụng. Hai thanh bạc được cố định (ngập sâu 15 cm) vào một bình điện hóa kín chứa 1000 mL nước cất hai lần, các đầu của thanh được nối với nguồn một chiều ở 9 V. Sau đó, 0,08% natri citrat được thêm vào bình điện hóa và tổng hợp các hạt nano Ag - NPs trong 3 giờ dưới sự khuấy từ ở nhiệt độ phòng. Dung dịch sau

điện hóa ly tâm nhẹ ở tốc độ từ 1000 - 4000 vòng/phút ở nhiệt độ từ 15°C đến 25°C, loại bỏ phần lắng đọng, dung dịch thu được ủ tối ở nhiệt độ 15°C đến 25°C trong 24 giờ. Dung dịch chứa Ag - NPs được gạn và ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ cặn trước khi sử dụng làm vật liệu chế tạo nano tổ hợp Au/Ag - CNPs

*b) Quy trình chế tạo nano tổ hợp Au/Ag - CNPs*

Bình Schott (50 mL) và con khuấy từ đầu tiên được rửa bằng nước cất, sau đó siêu âm trong 10 phút. Đổ 20 mL dung dịch chứa nano bạc  $6,5 \times 10^{-5}$  M ( $0,13 \times 10^{-5}$  mol) được điều chế bằng phương pháp điện hóa và 20 mL nước cất vào bình schott. Thêm từ từ 100  $\mu$ L dung dịch H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> 0,1M ( $0,1 \times 10^{-5}$  mol) vào dung dịch chứa nano bạc. Tỷ lệ mol Ag:H<sub>AuCl<sub>4</sub></sub> được khảo sát theo các thông số trên Bảng 4.2. Dụng cụ phản ứng khử đặt trong buồng ổn nhiệt ở 100°C trong 5 phút. Dung dịch sau khi khử được để nguội đến nhiệt độ phòng thu được dung dịch chứa Au/Ag - CNPs sạch.



*Hình 4.2.* Quy trình chế tạo nano tổ hợp Au/Ag - CNPs bằng phương pháp phản ứng trao đổi galvanic từ khuôn bạc sạch chế tạo bằng phương pháp điện hóa.

*c) Phân tích các đặc tính của hệ vật liệu tổ hợp Au/Ag - CNPs*

Sự hình thành và đặc tính hóa lý của nano tổ hợp 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)

*d) Đánh giá khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/Ag – CNPs*

Hoạt tính kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/Ag - CNPs đã được thử nghiệm bằng phương pháp khoan giấy, vòng tròn ức chế trên hai chủng vi khuẩn Gram dương (*MRSA*) và Gram âm (*E.coli* O157:H7). Các đĩa petri bằng nhựa (đường kính 90 mm) được đổ thạch, sau đó được cấy riêng hai chủng vi khuẩn *MRSA* và *E.coli* O157:H7 với nồng độ vi khuẩn là  $10^6$  CFU/mL. Giấy lọc vô trùng (Whatman No. 1) có đường kính 8 mm đã được chuẩn bị. Những tờ giấy này sau đó được thấm dung dịch chứa tổ hợp Au/Ag ở bốn nồng độ và đặt ngay lên bề mặt thạch. Một trong số chúng được ngâm trong nước cất hai lần và sau đó đặt vào giữa bề mặt thạch để đối chứng. Vùng ức chế được xác định sau 24 h ủ ở  $37^\circ\text{C}$ .

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của tổ hợp Au/Ag - CNPs được tổng hợp được xác định trong các tấm vi mạch 96 giếng. Chuẩn bị một loạt các dung dịch pha loãng thứ cấp của Ag - NPs và Au/Ag - CNPs trong môi trường NB từ nồng độ gốc đến độ pha loãng 256 lần. Chuẩn bị dung dịch chứa  $10^6$  CFU/mL vi khuẩn trong môi trường NB. Cột 1, thêm 100  $\mu\text{L}$  môi trường NB và 100  $\mu\text{L}$  vi khuẩn đã chuẩn bị làm mẫu kiểm soát tăng trưởng. Cột 2  $\rightarrow$ 10, thêm 100  $\mu\text{L}$  dung dịch chứa mẫu theo dãy pha loãng 1 $\rightarrow$ 2-8 và 100  $\mu\text{L}$  vi khuẩn đã chuẩn bị tương ứng. Cột 11 thêm 100  $\mu\text{L}$  dung dịch mẫu gốc và 100  $\mu\text{L}$  môi trường làm đối chứng âm tính của mẫu. Cột 12 được bổ sung 200  $\mu\text{L}$  môi trường NB làm đối chứng âm

Như vậy, chúng ta có dãy test pha loãng từ 2 đến 512 lần mẫu thử, mỗi mẫu được lặp lại 4 lần (Ag: A – D, Au/Ag: E – H), ở nồng độ vi khuẩn  $5 \times 10^5$  (Ag - NPs: A – D, Au/Ag - CNPs: E – H) CFU/mL) và mẫu đối chứng. Sau đó ủ đĩa ở  $37^\circ\text{C}$  và quan sát kết quả theo độ đục của giếng để xác định MIC sau 24 h. MIC có thể dễ dàng được quan sát qua độ đục của giếng và được định nghĩa là nồng độ thấp nhất của nano tổ hợp Ag/Au - CNPs được tổng hợp có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn sau 24 h ở  $37^\circ\text{C}$ .

Xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC). Tại 3 giếng bên trái giếng xác định giá trị MIC (bao gồm cả giếng xác định MIC). Lấy 5  $\mu\text{L}$  dung dịch/giếng sau đó nhỏ giọt cấy lên bề mặt thạch đã chuẩn bị trong đĩa petri

(thạch 20 mL/đĩa). Ủ đĩa ở 37°C và quan sát sự phát triển của khuẩn lạc sau 24 h để xác định giá trị MBC.

*Bảng 4.2.* Các thông số chế tạo mẫu nano tổ hợp Au/Ag – CNPs bằng phương pháp phản ứng trao đổi Galvanic và thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn.

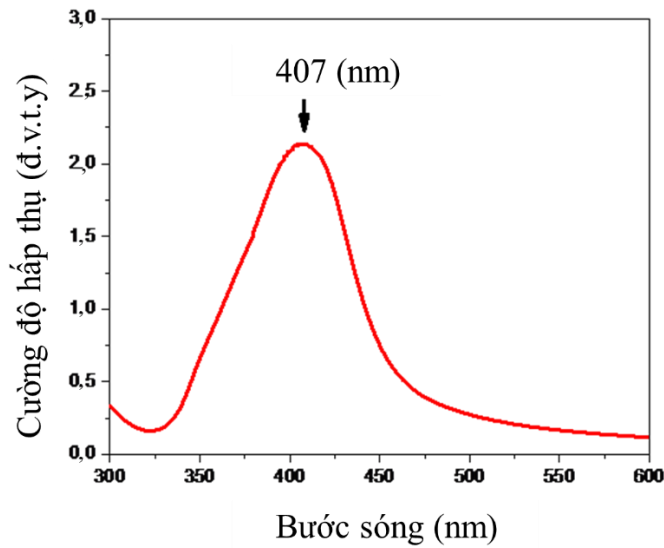
| TT | Tỷ lệ mol<br>Ag:HAuCl <sub>4</sub> | Nhiệt độ<br>chế tạo | Thử nghiệm<br>kháng khuẩn               | Xác định MIC<br>và MBC                  |
|----|------------------------------------|---------------------|---|---|
| 1  | 2:1                                | 100°C               | không                                   | không                                   |
| 2  | 1:1                                | 40°C                | <i>E.coli</i> O157:H7<br>và <i>MRSA</i> | <i>E.coli</i> O157:H7<br>và <i>MRSA</i> |
|    |                                    | 70°C                |   |   |
|    |                                    | 100°C               |   |   |
| 3  | 1:2                                | 100°C               | không                                   | không                                   |
| 4  | 1:3                                | 100°C               | không                                   | không                                   |

### 4.3. Kết quả và thảo luận

#### 4.3.1. Khảo sát đặc tính của vật liệu nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa

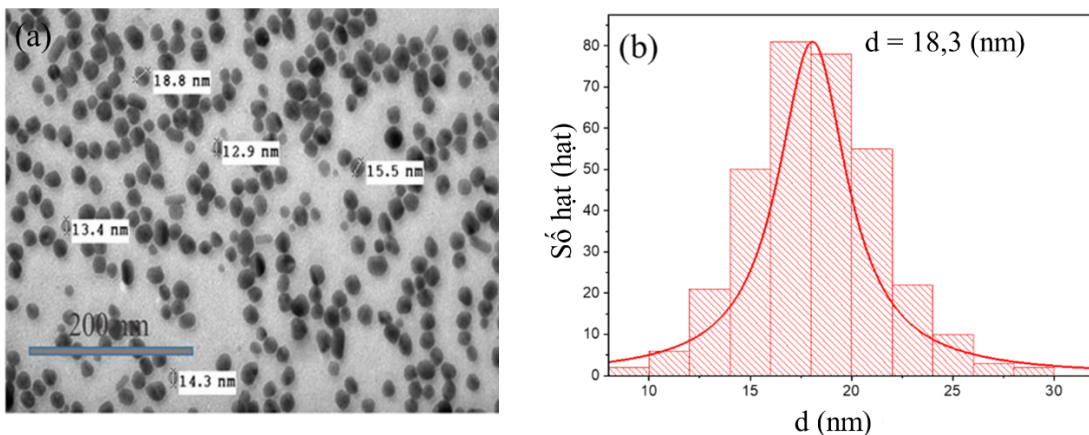
Hạt nano bạc sử dụng như là khuôn các nguyên tử bạc bị thay thế một phần bởi các ion Au<sup>3+</sup> để tạo nano tổ hợp Au/Ag - CNPs. Vì vậy việc đánh giá các đặc tính, hình dạng kích thước và các tính chất vật lý hóa học của nano bạc trước khi sử dụng trong phản ứng trao đổi galvanic là việc cần thiết. Nano bạc được chế tạo bằng phương pháp điện hóa theo quy trình đã được nhóm nghiên cứu, xây dựng và hoàn thiện. Quy trình chế tạo nano bạc bằng phương pháp điện hóa này đã được nhóm nghiên cứu của thầy hướng dẫn khảo sát, tối ưu các thông số và đã được công bố trên một số tạp chí uy tín [20][19]. Các thông số chế tạo và các phương pháp khảo sát hình dạng, cấu trúc, đặc tính của nano bạc được mô tả ở phần thực nghiệm. Quan sát bằng mắt thường thấy rằng dung dịch sau điện hóa đã có sự thay đổi màu sắc từ trong suốt của dung dịch natri citrate sang màu vàng nâu mà đặc trưng của dung dịch chứa nano bạc. Sơ bộ có thể cho rằng có sự hình thành hạt nano bạc sau điện hóa. Kiểm tra sự hình thành hạt của dung dịch sau điện hóa một cách chính xác hơn thông qua thí nghiệm đo phổ hấp thụ UV – Vis. Hình 4.3 là phổ UV – Vis của dung dịch chứa nano bạc sau điện hóa ở điều kiện điện áp 9 V. Từ phổ hấp thụ UV – Vis cho thấy có duy nhất một đỉnh nằm trong vùng khả

kiến tương ứng với đỉnh hấp thụ plasmon của nano Ag - NPs tại bước sóng 407 nm [20].



Hình 4.3. Phổ hấp thụ UV – Vis của dung dịch chứa nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa ở điện áp 9V.

Như vậy qua phép đo hấp thụ UV – Vis có thể nói hạt nano bạc đã hình thành trong dung dịch sau quá trình điện hóa. Tuy nhiên, hạt nano bạc có phù hợp để làm khuôn chế tạo nano tổ hợp vàng bạc hay không cần phải khảo sát hình dạng, kích thước cũng như độ sạch. Các thông số đó có thể kiểm chứng bằng phép đo kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) và tán sắc năng lượng tia X (EDX).



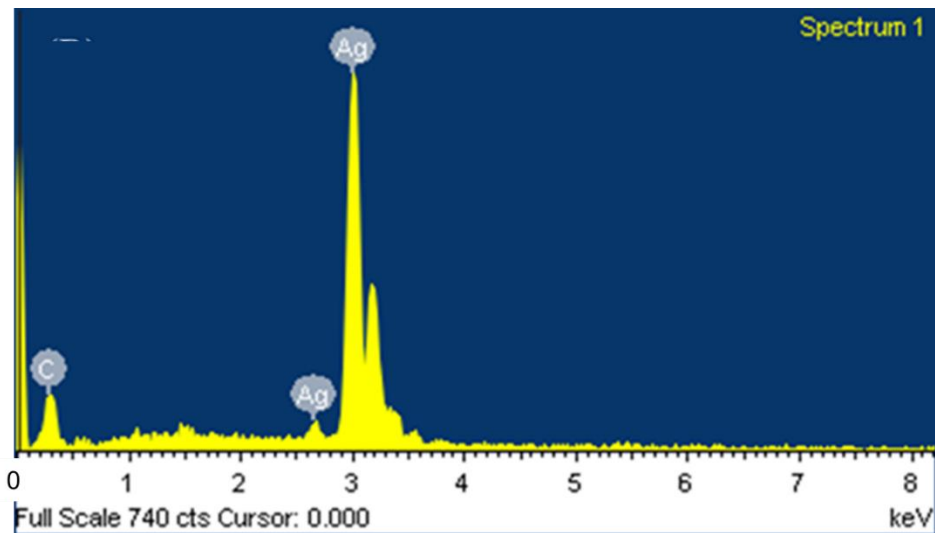
Hình 4.4. (a) ảnh TEM của nano Ag – NPs; (b) Biểu đồ phân bố kích thước hạt của nano Ag – NPs.

Hình dạng và kích thước của nano bạc được khảo sát bằng phương pháp hiển vi điện tử truyền qua. Hình 4.4a là ảnh TEM của nano bạc chế tạo bằng



phương pháp điện hóa ở hiệu điện thế 9 V tại nhiệt độ phòng. Ảnh TEM cho thấy các hạt nano bạc có dạng gần cầu. Có thể thấy rằng vùng biên hạt rõ nét, như vậy các hạt nano bạc phân tán tốt trong nước. Thống kê phân bố kích thước hạt từ ảnh TEM thấy rằng kích thước hạt trung bình 18,3 nm ứng với đỉnh phân bố. Phổ phân bố kích thước hẹp, tập chung ở dải kích thước từ 15 - 20 nm.

Như vậy là dung dịch chứa nano bạc có hình cầu kích thước khá đồng đều và phân tán tốt trong nước cất 2 lần. Để có thể dùng làm khuôn bạc chế tạo nano tổ hợp Au/Ag - CNPs cần có các hạt nano bạc sạch. Như vậy thành phần của dung dịch chứa nano bạc cần được đánh giá thông qua phép tác động sâu vào bên trong các hạt Ag - NPs.

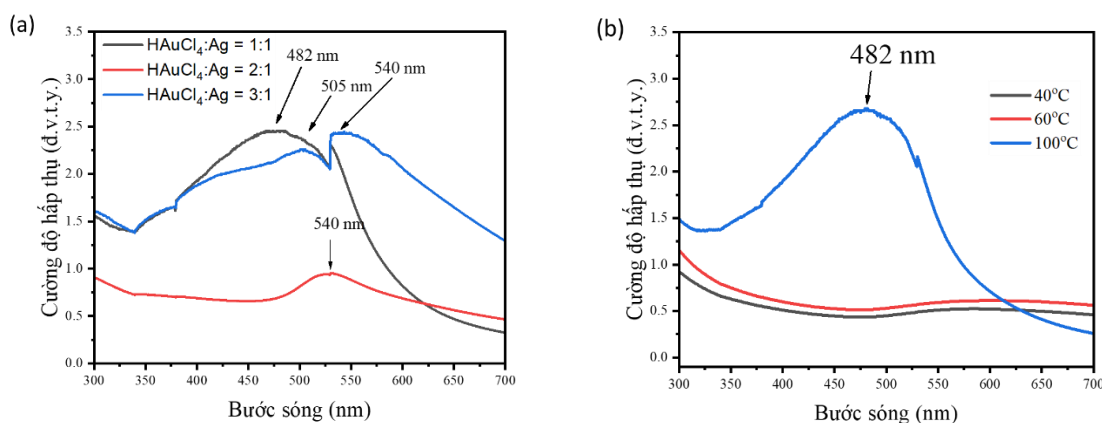


Hình 4.5. Phổ tán sắc năng lượng tia X EDX của mẫu nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa.

Thành phần của dung dịch chứa nano bạc sau điện hóa được đánh giá bằng phương pháp tán sắc năng lượng tia X (EDX). Hình 4.5 là phổ tán sắc năng lượng của mẫu nano bạc sau điện hóa. Kết quả cho thấy xuất hiện ba đỉnh đặc trưng của bạc, ngoài ra xuất hiện thêm đỉnh các bon. Đỉnh này tương ứng với thành phần các bon trong muối natri citrat và băng dính cacbon (dùng trong kỹ thuật chuẩn bị mẫu đo SEM). Tuy nhiên đỉnh này có cường độ thấp hơn nhiều so với các đỉnh đặc trưng của bạc. Như vậy dung dịch sau điện hóa có thành phần chủ yếu là bạc.

### 4.3.2. Khảo sát sự hình thành nano tổ hợp vàng – bạc (Au/Ag - CNPs)

Nano tổ hợp Au/Ag – CNPs được chế tạo bằng phản ứng thay thế galvanic. Quy trình và các thông số chế tạo đã được mô tả ở phần thực nghiệm. Phép đo phổ hấp thụ UV – Vis được sử dụng để bước đầu đánh giá sự hình thành hạt của sản phẩm cuối cùng thu được.

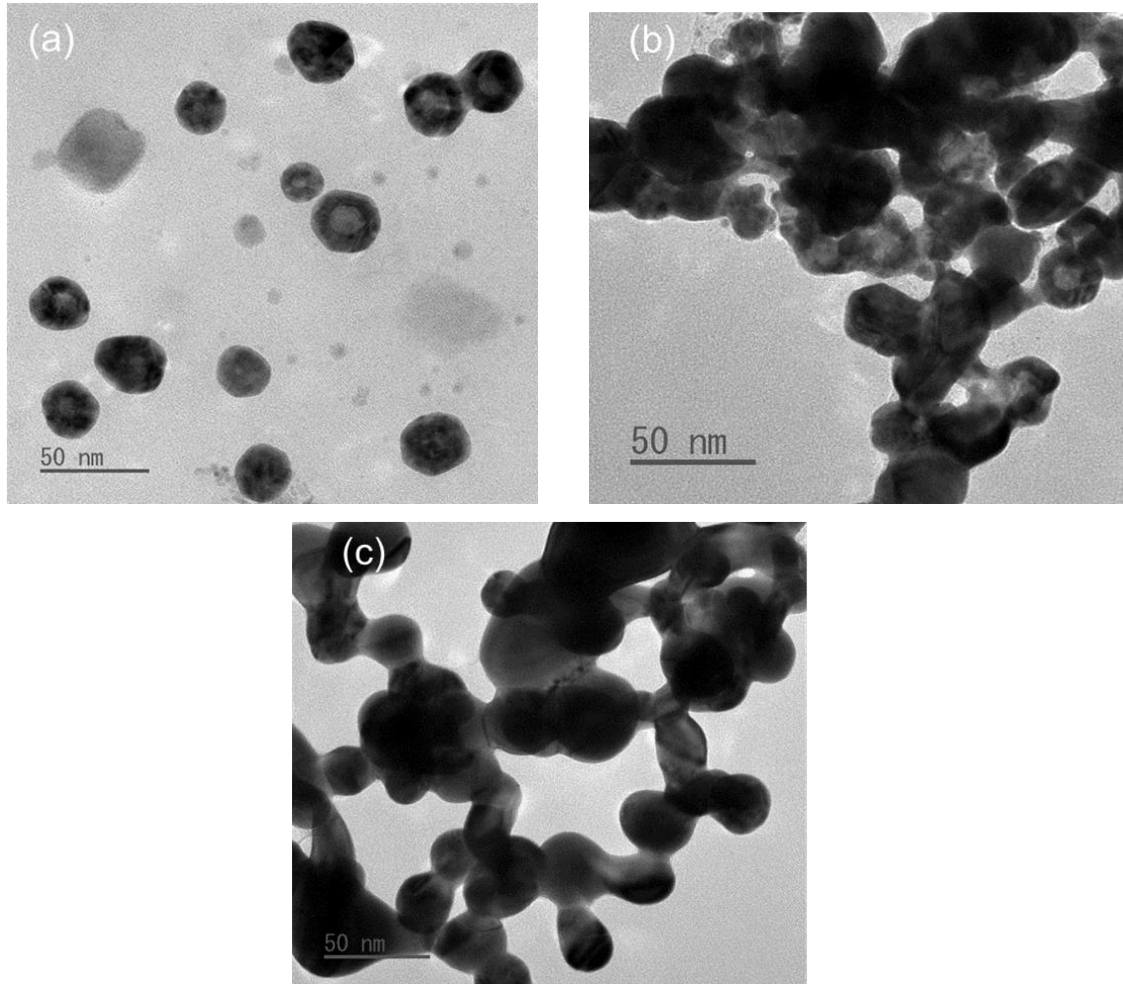


Hình 4.6. Phổ hấp thụ UV – Vis của dung dịch chứa Au/Ag - CNPs (a) Theo tỷ lệ mol Ag:HAuCl<sub>4</sub> khác nhau từ 1:1 đến 1:3; (b) Theo nhiệt độ trong quá trình phản ứng từ 50°C đến 100°C.

Hình 4.6 (a) là phổ hấp thụ UV – Vis của dung dịch chứa nano tổ hợp Au/Ag - CNPs chế tạo bằng phương pháp phản ứng trao đổi theo tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> khác nhau 1:2; 1:1; 2:1. Kết quả trên các phổ hấp thụ cho thấy rằng với mẫu chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> bằng 1:1 thì xuất hiện đỉnh hấp thụ tại bước sóng 482 nm tương ứng của nano vàng. Tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> bằng 1:2 đỉnh hấp thụ dịch chuyển về bước sóng dài chứng tỏ đã có sự thay đổi về kích thước hạt nano tổ hợp vàng - bạc. Với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> bằng 1:3 ngoài đỉnh hấp thụ tại bước sóng 540 nm còn xuất hiện thêm đỉnh hấp thụ tại bước sóng 505 nm. Chứng tỏ ở tỷ lệ này cấu trúc các hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs đã thay đổi. Hình 4.6 (b) là phổ hấp thụ UV – Vis của mẫu nano tổ hợp chế tạo ở điều kiện Ag:HAuCl<sub>4</sub> tỷ lệ 1:2 phụ thuộc vào nhiệt độ. Kết quả chỉ ra rằng với mẫu chế tạo ở nhiệt độ 50°C và 70°C không thấy xuất hiện đỉnh đặc trưng của vàng. Duy nhất với mẫu chế tạo ở nhiệt độ 100°C xuất hiện đỉnh hấp thụ tại 482 nm. Như vậy nhiệt độ phù hợp để chế tạo nano tổ hợp Au/Ag - CNPs là 100°C. Tuy nhiên để có thể khẳng định nano tổ hợp Au/Ag - CNPs chế tạo thành công hay không. Hình dạng và cấu trúc cũng như thành phần cần được khảo sát bằng dụng

phương pháp hiển vi điện tử truyền qua TEM và nhiễu xạ tia X (XRD) và phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX).

#### 4.3.3. Hình thái và cấu trúc của nano tổ hợp Au/Ag – CNPs

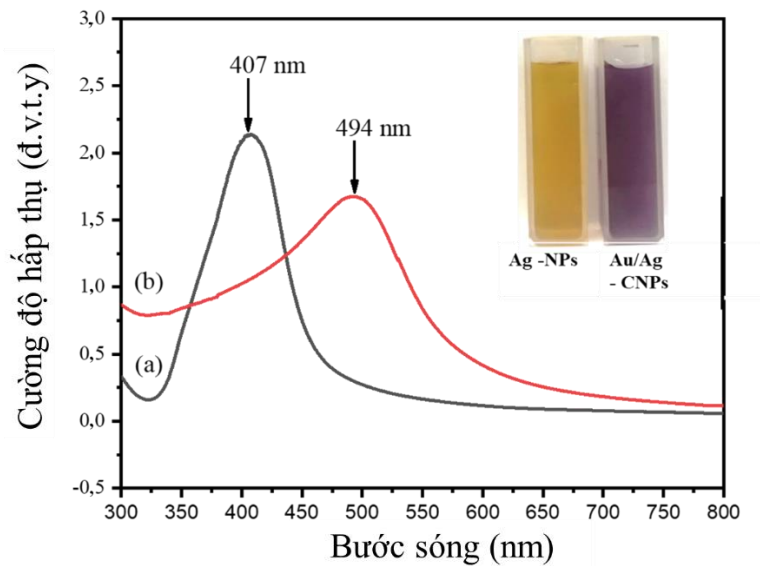


Hình 4.7. Ảnh TEM của nano tổ hợp Au/Ag - CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> với tỷ lệ khác nhau (a) 1:1; (b) 1:2; (c) 1:3

Hình dạng và cấu trúc nano tổ hợp Au/Ag - CNPs với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> khác nhau được khảo sát bằng phương pháp hiển vi điện tử truyền qua TEM. Hình 4.7(a) là ảnh TEM của mẫu chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> bằng 1:1 thấy rằng xuất hiện các hạt hình cầu rời rạc có kích thước nằm trong dải từ 15 nm đến 35 nm. Quan sát trên ảnh TEM thấy phần biên các hạt tách rời nhau chứng tỏ dung dịch sau chế tạo phân tán tốt. Khi tăng tỷ lệ muối vàng lên, với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> bằng 1:2 và 1:3, trên ảnh TEM tương ứng hình 4.7(b) và 4.7 (c), quan sát phần nhạt màu giữa các hạt nano tổ hợp Au/Ag - CNPs giảm dần và đến tỷ lệ cao nhất 1:3 thì phần nhạt màu biến mất. Như vậy ở tỷ lệ này sản phẩm thu được là các hạt nano Au - NPs đặc. Ngoài ra phần biên các hạt chồng lấn

lên nhau chứng tỏ ở các tỷ lệ này các hạt nano sau chế tạo có dấu hiệu kết tụ. Như vậy rõ ràng để chế tạo được nano tổ hợp Au/Ag - CNPs kích thước đồng đều và phân tán tốt trong nước cất hai lần. Dung dịch với tỷ lệ mol Ag:HAuCl<sub>4</sub> là 1:1. Các mẫu thu được ở điều kiện chế tạo này phù hợp với các ứng dụng luận án hướng tới. Các đặc trưng tính chất và thành phần pha của nano tổ hợp chế tạo với tỷ lệ mol Ag:HAuCl<sub>4</sub> là 1:1 cần được khảo sát.

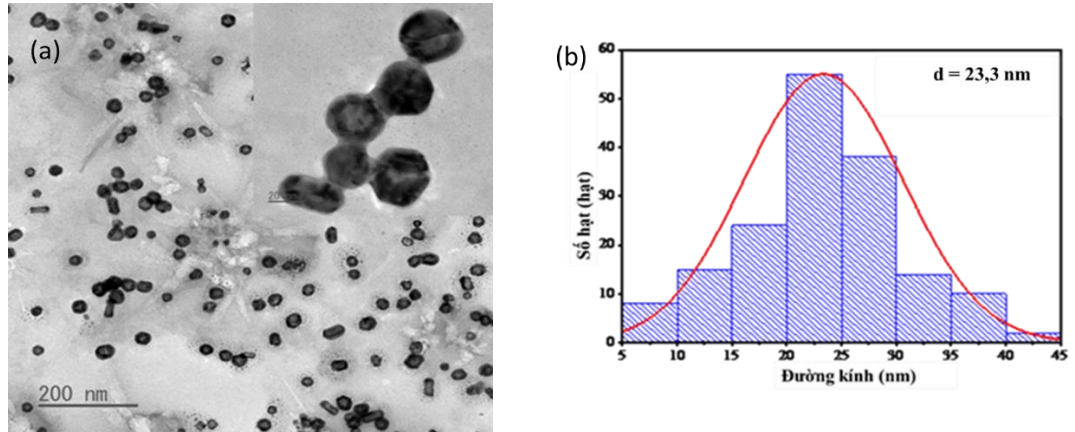
#### 4.3.4. Đặc tính của nano tổ hợp Au/Ag - CNPs



Hình 4.8. Phổ hấp thụ UV – Vis của nano tổ hợp Au/Ag - CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> là 1:1 và khuôn nano Ag - NPs chế tạo bằng phương pháp điện hóa.

Quan sát bằng mắt thường, dung dịch keo của các hạt nano bạc có màu vàng do dải hấp thụ SPR của nó kéo dài từ 400 đến 600 nm [91]. Dung dịch chứa Ag - NPs sau khi thêm HAuCl<sub>4</sub> chuyển từ màu vàng sang màu đỏ sẫm, đây là màu đặc trưng của vàng nano, khẳng định sự hình thành của Au - NPs[28]. Như vậy, có thể nói muối vàng đã bị khử và các hạt nano vàng đã hình thành trong dung dịch. Trong nghiên cứu này, phương pháp quang phổ hấp thụ UV-Vis được sử dụng để phân tích và làm rõ giả định trên. Hình 4.8 (a) là phổ hấp thụ UV-Vis của Ag - NPs với các cực đại đặc trưng ở bước sóng tương ứng là 407 nm [28][88]. Hình 4.8 (b) là phổ hấp của nano tổ hợp Ag/Au - CNPs được điều chế bằng phương pháp phản ứng trao đổi galvanic. Thấy rằng trên phổ hấp thụ UV - Vis có đỉnh hấp thụ ở bước sóng 490 nm, đặc trưng cho Au - NPs[28][88]. Có thể nói phản ứng trao đổi điện đã diễn ra bằng chứng là màu sắc quan sát được và đỉnh hấp thụ UV-Vis. Bằng chứng rõ ràng là sự xuất

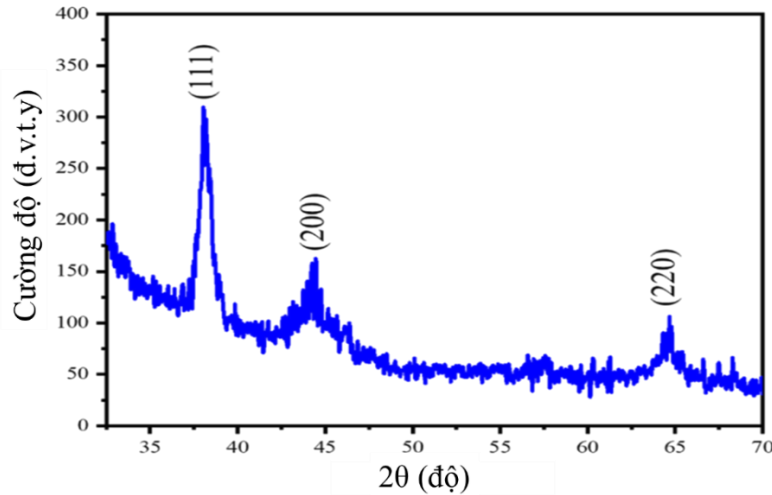
hiện đỉnh hấp thụ plasmon tương ứng với hạt nano vàng và sự mất đi đỉnh hấp thụ của bạc. Như vậy, rõ ràng các hạt nano bạc bị mất đi thay vào đó là sự xuất hiện của các hạt nano vàng. Thành phần pha và cấu trúc của Au/Ag - CNPs được nghiên cứu bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) và đo giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD).



*Hình 4.9.* Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của mẫu nano tổ hợp Au/Ag - CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> là 1:1 ở nhiệt độ 100°C (a) ảnh TEM; (b) phân bố kích thước hạt.

Hình 4.9(a) là ảnh kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) của hạt nano tổ hợp Ag /Au - 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 - 30 nm, kích thước hạt trung bình là 23,3 nm Hình 4.9(b).

Thành phần pha và cấu trúc của Au/Ag - CNPs được nghiên cứu bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) và nhiễu xạ tia X (XRD). Giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của mẫu chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> là 1:1 ở nhiệt độ 100°C (Hình 4.10). 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). Không có đặc tính đỉnh nhiễu xạ của tạp chất. Cả phổ UV-Vis và mẫu nhiễu xạ tia X (XRD) đều không cho thấy sự hiện diện của Ag - NPs trong dung dịch. Mặc dù thành phần hóa học đầu vào bao gồm Ag - NPs và HAuCl<sub>4</sub>. 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 [133][100][24].



*Hình 4.10.* Giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của nano tổ hợp Au/Ag – CNPs chế tạo với tỷ lệ Ag:HAuCl<sub>4</sub> là 1:1 ở nhiệt độ 100°C

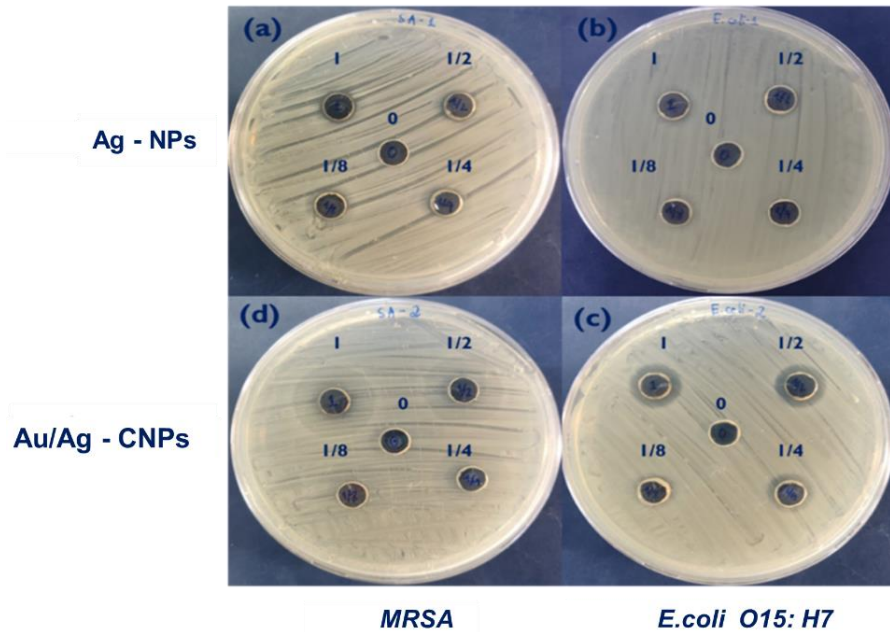
Các hạt nano vàng được hình thành thông qua phản ứng ăn mòn điện hóa. Ag<sup>+</sup> tan một phần trong dung dịch, một phần kết hợp với ion Cl<sup>-</sup> tạo thành AgCl [100][24] kết tủa, lắng xuống đáy, một phần ở trạng thái ion trong dung dịch. Đồng thời, sản phẩm phản ứng tạo ra axit clohydric, axit này bay hơi do nhiệt độ dung dịch ở 100°C. Dung dịch sau phản ứng được lọc bỏ kết tủa có pH trung tính nằm trong khoảng từ 6,5 đến 7. Như vậy nano tổ hợp Au/Ag – CNPs sạch không có các tạp chất gây hại đã được chế tạo thành công. Sự tác động của nano vàng vào khả năng tiêu diệt các chủng vi khuẩn nhiễm trùng bệnh viện của nano bạc cần được khảo sát.

#### **4.3.5. Khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp vàng-bạc**

Hoạt tính kháng khuẩn của nano tổ hợp Au/Ag - CNPs 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. Kết quả khảo sát vùng ức chế vi khuẩn (đường kính vùng ức chế) của nano Ag - NPs tổng hợp bằng phương pháp điện hóa. Thử nghiệm được tiến hành với dung dịch chứa nano Ag - NPs ở các nồng độ khác nhau từ 0,41 M đến 3,25 M (Hình 4.11). Các kết quả đường kính vùng ức chế với từng chủng vi khuẩn được thống kê trên Bảng 4.3. Kết quả thử nghiệm trên chủng *MRSA* cho thấy các nồng độ Ag - NPs 1,63 M và 3,25 M đường kính vùng ức chế lần lượt là 9,5 đến 10,5 mm (Hình 4.11a). Tương tự thử nghiệm với *E.coli* O157:H7 với Ag - NPs ở nồng 3,25 M và 1,63 M thì đường kính vùng ức chế



đều là 10 mm. Khi giảm nồng độ Ag – NPs xuống 4 lần đến 8 lần thì khả năng ức chế không còn (Hình 4.11b).



Hình 4.11. Hoạt tính kháng khuẩn của các Ag - NPs và nano tổ hợp Ag/Au CNPs được xác định bằng kỹ thuật khuếch tán đĩa. Hai chủng vi khuẩn được thử nghiệm với Ag - NP bao gồm *MRSA* (a), *E.coli* O157:H7 (b) và Ag/Au - CNPs bao gồm *E.coli* O157:H7 (c), *MRSA* (d).

Bảng 4.3. Đường kính ức chế vi khuẩn với nồng độ Ag - NPs và Ag/Au - CNPs khác nhau

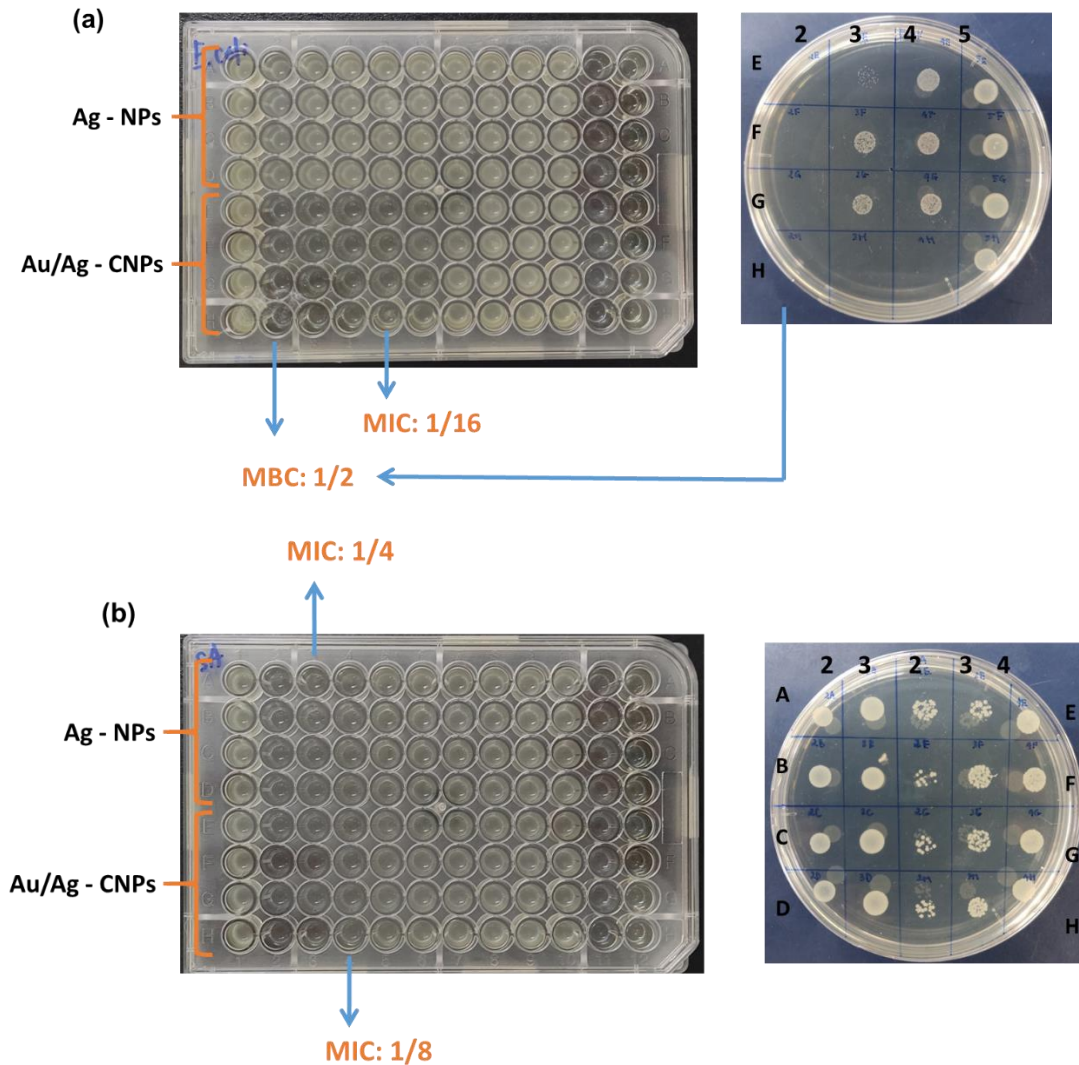
| Đường kính (mm)                       | 3,25 |       |       |       |
|---------------------------------------|------|-------|-------|-------|
|                                       | M    | 1,63M | 0,83M | 0,41M |
| Ag – NPs<br><i>MRSA</i>               | 10,5 | 10    | 9,5   | 9,5   |
| Au/Ag – CNPs<br><i>MRSA</i>           | 22,5 | 21    | 0     | 0     |
| Ag – NPs<br><i>E.coli</i> O157:H7     | 10   | 10    | 0     | 0     |
| Au/Ag - CNPs<br><i>E.coli</i> O157:H7 | 14   | 13,5  | 12    | 10    |

Kết quả kháng khuẩn của Ag – NPs với hai chủng vi khuẩn nêu trên hoàn toàn phù hợp với các công bố của nhóm nghiên cứu [20][19]. Tương tự, khả năng kháng khuẩn của Au/Ag – CNPs cũng được thử nghiệm với các nồng độ như Ag – NPs trên hai chủng vi khuẩn *MRSA* và *E.coli* O157:H7 (Hình 4.11d và Hình 4.11e). Kết quả thử nghiệm khả năng kháng khuẩn của Au/Ag – CNPs với các nồng độ khác nhau được thống kê trên Bảng 4.3. Kết quả thử nghiệm cho thấy dung dịch chứa Ag - NPs ở nồng độ 1,63 M và 3,25 M có đường kính vùng ức chế lần lượt là 21 mm và 22,5 mm (Hình 4.11d). So sánh khả năng ức chế của Au/Ag – CNPs so tăng so với Ag - NPs trần ở cùng nồng độ tăng lần lượt 73,3% và 114,3 % . Khi giảm nồng độ Au/Ag – CNPs xuống 4 lần và 8 lần thì khả năng ức chế không còn. Kết quả khảo sát khả năng ức chế vi khuẩn của Au/Ag – CNPs với *E.coli* O157:H7 với các nồng độ 3,25 M và 1,63 M có đường kính vùng ức chế lần lượt là 13,5 mm và 14 mm. So sánh với khả năng ức chế của nano bạc trần thấy rằng đường kính vùng ức chế của Au/Ag – CNPs tăng lần lượt 35% và 40 % (Hình 4.11e) và giảm khả năng ức chế ở nồng độ thấp. Đường kính vùng ức chế tương ứng với các nồng độ 0,83 và 0,41 M lần lượt là 10 và 14 mm (Hình 4.11c).

Như vậy, rõ ràng khả năng ức chế của Au/Ag - CNPs được tăng cường so với Ag - NPs ở cả hai chủng vi khuẩn. Ngoài ra, 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. Tuy nhiên khả năng ức chế với *E.coli* O157:H7 vẫn thể hiện ngay cả ở nồng độ thấp. Một số nghiên cứu đã chỉ ra các hạt nano vàng có khả năng tương thích tế bào cao, độc tính tế bào thấp [8]. Khả năng kháng khuẩn của vàng nguyên chất ở nhiệt độ phòng thấp. Như vậy, có thể nói khả năng kháng khuẩn của Au/Ag - CNPs là do thành phần Ag có trong dung dịch, khả năng này của Au/Ag - CNPs được nâng cao hơn so với Ag – NPs trần. Điều này có thể giải thích là do ion  $Ag^+$  dư hòa tan vào dung dịch sau phản ứng trao đổi điện hóa. Để có thêm bằng chứng khoa học về hoạt tính kháng khuẩn của dung dịch chứa Au/Ag - CNPs, chúng ta cần xác định thêm nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC). Nồng độ ức chế tối thiểu MIC của Au/Ag - CNPs được thử nghiệm trên hai chủng vi khuẩn *E.coli* O157:H7 và *MRSA*. Thiết kế thí nghiệm và các thông số khảo sát được trình bày chi tiết ở



phần thực nghiệm. Đối với mẫu chủng *E.coli* O157:H7, giá trị MIC được xác định ở mức  $\frac{1}{2}$  nồng độ Ag pha loãng tương ứng nồng độ 1,63 M và  $\frac{1}{16}$  nồng độ Au/Ag – CNPs pha loãng tương ứng nồng độ 0,2M. Các giá trị này tương tự nhau ở cả bốn giếng lặp lại.



Hình 4.12. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của Ag - NPs và nano tổ hợp Au/Ag - CNPs với hai chủng vi khuẩn khác nhau là *MRSA* (Hình 4.12(a)), *E.coli* O157:H7 (Hình 4.12(b))

Từ giá trị MIC xác định được trên đĩa vi thể, sau khi cấy lên đĩa thạch, giá trị MBC của Au/Ag – CNPs được xác định là  $\frac{1}{2}$ . Đối với mẫu chủng *MRSA*, giá trị MIC được xác định ở nồng độ  $\frac{1}{4}$  Ag pha loãng tương ứng nồng độ 0,83 M và  $\frac{1}{8}$  nồng độ Au/Ag – CNPs pha loãng nồng độ tương ứng 0,41 M. Các giá trị này tương tự nhau ở cả bốn giếng lặp lại. Từ giá trị MIC xác định trên vi đĩa,

sau khi cấy lên đĩa thạch, tuy không xác định được MBC nhưng cũng cho thấy Au/Ag - CNPs ở độ pha loãng  $\frac{1}{2}$  và  $\frac{1}{4}$  có khả năng tiêu diệt số lượng lớn vi khuẩn ban đầu. Ag có tác dụng kháng khuẩn đối với chủng *MRSA* mạnh hơn so với chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7, trong khi đó Au/Ag -CNPs có tác dụng kháng khuẩn đối với chủng *E.coli* O157:H7 mạnh hơn so với *MRSA*. Au/Ag - CNPs cho thấy hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn Ag - NPs đối với cả hai chủng được thử nghiệm.

#### 4.4. Kết luận Chương 4

Nghiên cứu cho thấy nano tổ hợp Ag/Au - CNPs đã được chế tạo thành công bằng phương pháp thay thế Galvanic. Khả năng kháng khuẩn của hệ vật liệu nano tổ hợp Au/Ag - CNPs được tăng cường so với Ag - NPs nguyên chất. Kết quả cho thấy kích thước trung bình của nano tổ hợp Au/Ag -CNPs tạo thành khoảng 23,34 nm, hình dạng gần như hình cầu và phân tán tốt trong nước. Phương pháp tổng hợp đơn giản, hiệu suất cao, có tính đồng nhất và độ sạch của Au/Ag - CNPs cao.

Đã đánh giá được khả năng kháng khuẩn của nano tổ hợp 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.

Một phần kết quả đã được đăng ký sở hữu trí tuệ với Quyết định chấp nhận đơn 111023/QĐ – SHTT ngày 30 tháng 11 năm 2023 do Cục sở hữu trí tuệ cấp.

## KẾT LUẬN CHUNG - KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN CHUNG

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. Tổ hợp 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. Tổ hợp 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. Tổ hợp 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 nano tổ hợp 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 nano tổ hợp 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 độc tính tế bào của nano tổ hợp 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 nano tổ hợp 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 nano tổ hợp 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 nano tổ hợp 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 nano tổ hợp Ag/Au – CNPs so với Ag – NPs ngay cả khi không chiếu sáng. Dung dịch chứa nano tổ hợp Au/Ag – CNPs. Kết quả cho thấy tổ hợp 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 nano tổ hợp Au/Cu – 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 nano tổ hợp 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.

### *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 oxit 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.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E. Y. Klein *et al.*, 2018, Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 115, (no. 15), pp. E3463–E3470.
- [2] E. L. Y. Yam *et al.*, 2019, Antimicrobial Resistance in the Asia Pacific region: A meeting report, *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, vol. 8, (no. 1), pp. 1–12, 2.
- [3] S. D. Shafran, 1990, The basis of antibiotic resistance in bacteria, *J. Otolaryngol.*, vol. 19, (no. 3), pp. 158–168.
- [4] T. R. Walsh, A. C. Gales, R. Laxminarayan, and P. C. Dodd, “Antimicrobial Resistance: Addressing a Global Threat to Humanity,” *PLoS Med.*, 2023, vol. 20, (no. 7), pp. 12–15.
- [5] A. Nicolae-Maranciuc, D. Chicea, and L. M. Chicea, 2022, Ag Nanoparticles for Biomedical Applications—Synthesis and Characterization—A Review, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, (no. 10), pp. 5778.
- [6] V. Tiwari, N. Mishra, K. Gadani, P. S. Solanki, N. A. Shah, and M. Tiwari, 2018, Mechanism of anti-bacterial activity of zinc oxide nanoparticle against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*, *Front. Microbiol.*, vol. 9, (no. JUN), pp. 1–10.
- [7] J. J. Giner-Casares, M. Henriksen-Lacey, M. Coronado-Puchau, and L. M. Liz-Marzán, 2016, “Inorganic nanoparticles for biomedicine: Where materials scientists meet medical research,” *Mater. Today*, vol. 19, (no. 1), pp. 19–28.
- [8] E. Marin and A. Lanzutti, 2024, “Biomedical Applications of Titanium Alloys: A Comprehensive Review,” *Materials (Basel)*, vol. 17, (no. 1), pp. 114.
- [9] T. Kim, Q. Zhang, J. Li, L. Zhang, and J. V. Jokerst, 2018, A Gold/Silver Hybrid Nanoparticle for Treatment and Photoacoustic Imaging of Bacterial Infection, *ACS Nano*, vol. 12, (no. 6), pp. 5615–5625.

- [10] Mariana Busila 1 , Viorica Musat , Petrică Alexandru , 2023, Antibacterial and Photocatalytic Activity of ZnO / Au and ZnO / Ag Nanocomposites, *Preprints*, vol. 1, (no 23), pp. 16939.
- [11] M. Jabir, T. M. Rashid, U. M. Nayef, and D. A. Kadhim, 2021, Nano-curcumin Capped Au / ZnO Nanocomposite : A Promising Approach to Protect from Staphylococcus Aureus Infection through Inhibits Production of  $\alpha$  -Hemolysin, *Researchsquare*, pp. 1–26.
- [12] P. Tiwari, K. Vig, V. Dennis, and S. Singh, 2011, Functionalized Gold Nanoparticles and Their Biomedical Applications, *Nanomaterials*, vol. 1, no. 1, pp. 31–63.
- [13] A. D. Permatasari, Y. Syukri, and S. Werdyani, 2023, Gold Nanoparticles with Natural Ingredients as Anti-Aging: A Systematic Review, *J. Pharm. Sci. Community*, vol. 20, no. 1, pp. 90–113.
- [14] M. I. Anik, N. Mahmud, A. Al Masud, and M. Hasan, 2022, Gold nanoparticles (GNPs) in biomedical and clinical applications: A review, *Nano Sel.*, vol. 3, (no. 4), pp. 792–828.
- [15] R. Zhang, J. Yu, K. Ma, Y. Ma, and Z. Wang, 2020, Synergistic Chemo-Photothermal Antibacterial Effects of Polyelectrolyte-Functionalized Gold Nanomaterials, *ACS Appl. Bio Mater.*, vol. 3, (no. 10), pp. 7168–7177.
- [16] X. Chen, Q. W. Li, and X. M. Wang, 2014, Gold nanostructures for bioimaging, drug delivery and therapeutics, *Precious metal for biomedical applications*, pp. 163–176.
- [17] N. S. Elbially, E. A. Abdelfatah, and W. A. Khalil, 2019 Antitumor Activity of Curcumin-Green Synthesized Gold Nanoparticles: In Vitro Study, *Bionanoscience*, vol. 9, (no. 4), pp. 813–820.
- [18] C. R. Souza *et al.*, 2015, Gold Nanoparticle and Berberine Entrapped into Hydrogel Matrix as Drug Delivery System, *J. Biomater. Nanobiotechnol.*, vol. 06, (no. 01), pp. 53–63.
- [19] D. T. Thuc, T. Q. Huy, L. H. Hoang, T. H. Hoang, A.-T. Le, and D. D. Anh, 2017, Antibacterial Activity of Electrochemically Synthesized Colloidal Silver Nanoparticles Against Hospital-Acquired Infections, *J. Electron. Mater.*, vol.

- 46, (no. 6), pp. 3433 - 3439.
- [20] A. Owen *et al.*, 2014, The application of nanotechnology in medicine: Treatment and diagnostics, *Nanomedicine*, vol. 9, (no. 9), pp. 1291–1294.
- [21] Vũ Quang Khuê và cộng sự, 2018 , Ảnh hưởng của điện áp đến sự hình thành hạt và đặc tính quang của nano vàng điều chế bằng phương pháp điện hóa, *Tạp chí khoa học và công nghệ - ĐH Thái Nguyên*, vol.190 (no. 14), pp 25 - 30.
- [22] P. Nasimi and M. Haidari, 2015, Medical use of nanoparticles: Drug delivery and diagnosis diseases, *Int. J. Green Nanotechnol.*, vol. 5, (no. 1), pp. 1–5.
- [23] L. Au *et al.*, 2008, Synthesis and optical properties of cubic gold nanoframes, *Nano Res.*, vol. 1, (no. 6), pp. 441–449.
- [24] M. Das, K. H. Shim, S. S. A. An, and D. K. Yi, 2011, Review on gold nanoparticles and their applications, *Toxicol. Environ. Health Sci.*, vol. 3, no. 4, pp. 193–205.
- [25] N. R. Panyala, E. M. Peña-Méndez, and J. Havel, 2009, Gold and nano-gold in medicine: Overview, toxicology and perspectives, *J. Appl. Biomed.*, vol. 7, (no. 2), pp. 75–91.
- [26] J. Uddin, 2018, Terahertz multispectral imaging for the analysis of gold nanoparticles' size and the number of unit cells in comparison with other techniques, *Int. J. Biosens. Bioelectron.*, vol. 4, (no. 3), pp. 159 - 164.
- [27] P. N. Njoki *et al.*, 2007, Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles, *J. Phys. Chem. C*, vol. 111, (no. 40), pp. 14664–14669.
- [28] K. Jiang, D. A. Smith, and A. Pinchuk, 2013, Size-dependent photothermal conversion efficiencies of plasmonically heated gold nanoparticles, *J. Phys. Chem. C*, vol. 117, (no. 51), pp. 27073–27080.
- [29] R. G. Rayavarapu, W. Petersen, C. Ungureanu, J. N. Post, T. G. Van Leeuwen, and S. Manohar, 2007, Synthesis and bioconjugation of gold nanoparticles as potential molecular probes for light-based imaging techniques, *Int. J. Biomed. Imaging*, vol. 2007.
- [30] P. Singh, S. Pandit, V. R. S. S. Mokkalapati, A. Garg, V. Ravikumar, and I. Mijakovic, 2018 “Gold nanoparticles in diagnostics and therapeutics for human



- cancer,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, (no. 7).
- [31] S. Bagheri *et al.*, 2018, Using gold nanoparticles in diagnosis and treatment of melanoma cancer, *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.*, vol. 46, (no. sup1), pp. 462–471.
- [32] C. Daruich De Souza, B. Ribeiro Nogueira, and M. E. C. M. Rostelato, 2019, Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction, *J. Alloys Compd.*, vol. 798, pp. 714–740.
- [33] J. Jana, M. Ganguly, and T. Pal, 2016, Enlightening surface plasmon resonance effect of metal nanoparticles for practical spectroscopic application,” *RSC Adv.*, vol. 6, (no. 89), pp. 86174–86211.
- [34] Y. Zhang, T. P. Shareena Dasari, H. Deng, and H. Yu, 2015, Antimicrobial Activity of Gold Nanoparticles and Ionic Gold, *J. Environ. Sci. Heal. - Part C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.*, vol. 33, no. 3, pp. 286–327.
- [35] J. N. Payne *et al.*, 2016, Novel synthesis of kanamycin conjugated gold nanoparticles with potent antibacterial activity, *Front. Microbiol.*, vol. 7, (no. MAY), pp. 1–10.
- [36] S. G. Wang, Y. C. Chen, and Y. C. Chen, 2018, Antibacterial gold nanoparticle-based photothermal killing of vancomycin-resistant bacteria, *Nanomedicine*, vol. 13, (no. 12), pp. 1405–1416.
- [37] J. Turkevich, P. C. Stevenson, and J. Hillier, 1951, A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, *Discuss. Faraday Soc.*, vol. 11, (no. c), pp. 55–75.
- [38] N. Tepale *et al.*, 2019, Nanoengineering of gold nanoparticles: Green synthesis, characterization, and applications, *Crystals*, vol. 9, (no. 12).
- [39] G. Canizal, J. A. Ascencio, J. Gardea-Torresday, and M. José-Yacamán, 2001, Multiple twinned gold nanorods grown by bio-reduction techniques, *J. Nanoparticle Res.*, vol. 3, (no. 5–6), pp. 475–481.
- [40] C.-J. Huang, P.-H. Chiu, Y.-H. Wang, K.-L. Chen, J.-J. Linn, and C.-F. Yang, 2006, Electrochemically Controlling the Size of Gold Nanoparticles, *J. Electrochem. Soc.*, vol. 153, (no. 12), p. D193.

- [41] L. A. Dykman, S. A. Staroverov, V. A. Bogatyrev, and S. Y. Shchyogolev, 2010, Adjuvant properties of gold nanoparticles, *Nanotechnologies Russ.*, vol. 5, (no. 11), pp. 748–761.
- [42] W. Page Faulk and G. Malcolm Taylor, 1971, Communication to the editors. An immunocolloid method for the electron microscope, *Immunochemistry*, vol. 8, (no. 11), pp. 1081–1083.
- [43] E. J. Hong, Y. S. Kim, D. G. Choi, and M. S. Shim, 2018, Cancer-targeted photothermal therapy using aptamer-conjugated gold nanoparticles, *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 67, pp. 429–436.
- [44] P. S. Ghosh, C. K. Kim, G. Han, N. S. Forbes, and V. M. Rotello, 2008, Efficient gene delivery vectors by tuning the surface charge density of amino acid-functionalized gold nanoparticles, *ACS Nano*, vol. 2, (no. 11), pp. 2213–2218.
- [45] J. Zheng, J. Cheng, S. Zheng, Q. Feng, and X. Xiao, 2018, Curcumin, a polyphenolic curcuminoid with its protective effects and molecular mechanisms in diabetes and diabetic cardiomyopathy, *Front. Pharmacol.*, vol. 9, (no. MAY), pp. 1–10.
- [46] S. K. Borra, J. Mahendra, P. Gurumurthy, Jayamathi, S. S. Iqbal, and L. Mahendra, 2014, “Effect of curcumin against oxidation of biomolecules by hydroxyl radicals,” *J. Clin. Diagnostic Res.*, vol. 8, (no. 10), pp. CC01–CC05.
- [47] K. I. P. Indira, 1997, Free radical reactions of curcumin in membrane models, *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 23, (no. 6), pp. 838–843.
- [48] K. Mansouri *et al.*, 2020, Clinical effects of curcumin in enhancing cancer therapy: A systematic review, *BMC Cancer*, vol. 20, (no. 1), pp. 1–11.
- [49] J. Ravindran, S. Prasad, and B. B. Aggarwal, 2009, Curcumin and cancer cells: How many ways can curry kill tumor cells selectively?, *AAPS J.*, vol. 11, (no. 3), pp. 495–510.
- [50] M. K. Shanmugam *et al.*, 2015, The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment, *Molecules*, vol. 20, (no. 2).
- [51] R. Wilken, M. S. Veena, M. B. Wang, and E. S. Srivatsan, 2011, Curcumin: A

review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma, *Mol. Cancer*, vol. 10, pp. 1–19.

- [52] C. J. Li, L. J. Zhang, B. J. Dezube, C. S. Crumpacker, and A. B. Pardee, 1993 Three inhibitors of type 1 human immunodeficiency virus long terminal repeat-directed gene expression and virus replication, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 90, (no. 5), pp. 1839–1842.
- [53] T. T. H. Nguyen, T. T. A. Le, T. T. Nguyen, and T. S. Ninh, 2022 Curcuminoids from the Vietnamese *Curcuma longa*: Phytochemical analysis and biological activities, *Minist. Sci. Technol. Vietnam*, vol. 64, (no. 3), pp. 19–23.
- [54] E. Schraufstätter and H. Bernt, 1949, Antibacterial action of curcumin and related compounds, *Nature*, vol. 164, no. 4167, pp. 456–457.
- [55] S. Y. Teow, K. Liew, S. A. Ali, A. S. B. Khoo, and S. C. Peh, 2016, Antibacterial Action of Curcumin against *Staphylococcus aureus*: A Brief Review, *J. Trop. Med.*, vol. 2016.
- [56] Z. M. S., A. K. H., H. P., T. H., A. S., and Z. K., 2014, “A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2014.
- [57] A. Adamczak, M. Ożarowski, and T. M. Karpiński, 2020 Curcumin, a natural antimicrobial agent with strain-specific activity, *Pharmaceuticals*, vol. 13, no. 7, pp. 1–12.
- [58] S. Manju and K. Sreenivasan, 2012, Gold nanoparticles generated and stabilized by water soluble curcumin-polymer conjugate: Blood compatibility evaluation and targeted drug delivery onto cancer cells, *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 368, (no. 1), pp. 144–151.
- [59] D. Patra and R. El Kurdi, 2021, Curcumin as a novel reducing and stabilizing agent for the green synthesis of metallic nanoparticles, *Green Chem. Lett. Rev.*, vol. 14, (no. 3), pp. 474–487.
- [60] S. M. Amini, T. Emami, M. Rashidi, and H. Zrrinnahad, 2024, “Curcumin-gold nanoformulation: Synthesis, characterizations and biomedical application,” *Food Biosci.*, vol. 57, (no. December 2023), p. 103446.

- [61] Ha Anh Nguyen, Sendos Darwish , Hong Nam Pham, 2023, Gold and Iron Oxide Nanoparticle Assemblies on Turnip Yellow Mosaic Virus for In-Solution Photothermal Experiments , *Nanomaterials*, vol. 13, 2509.
- [62] V. Dediu *et al.*, 2022, Synthesis of ZnO/Au Nanocomposite for Antibacterial Applications, *Nanomaterials*, vol. 12, (no. 21).
- [63] R. Jiang, B. Li, C. Fang, and J. Wang, 2014, Metal/semiconductor hybrid nanostructures for plasmon-enhanced applications, *Adv. Mater.*, vol. 26, (no. 31), pp. 5274–5309.
- [64] P. J. P. Espitia, N. de F. F. Soares, J. S. dos R. Coimbra, N. J. de Andrade, R. S. Cruz, and E. A. A. Medeiros, 2012, Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications, *Food Bioprocess Technol.*, vol. 5, (no. 5), pp. 1447–1464.
- [65] K. Davis, R. Yarbrough, M. Froeschle, J. White, and H. Rathnayake, 2019, Band gap engineered zinc oxide nanostructures: Via a sol-gel synthesis of solvent driven shape-controlled crystal growth, *RSC Adv.*, vol. 9, (no. 26), pp. 14638–14648.
- [66] M. R. Parra and F. Z. Haque, 2014, Aqueous chemical route synthesis and the effect of calcination temperature on the structural and optical properties of ZnO nanoparticles, *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 3, (no. 4), pp. 363–369.
- [67] A. Kolodziejczak-Radzimska and T. Jesionowski, 2014, Zinc oxide-from synthesis to application: A review, *Materials (Basel)*, vol. 7, (no. 4), pp. 2833–2881.
- [68] H. Agarwal, S. Venkat Kumar, and S. Rajeshkumar, 2017, A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach, *Resour. Technol.*, vol. 3, (no. 4), pp. 406–413.
- [69] M. S. Ghamsari, S. Alamdari, W. Han, and H. H. Park, 2017, Impact of nanostructured thin ZnO film in ultraviolet protection, *Int. J. Nanomedicine*, vol. 12, pp. 207–216.
- [70] M. M. Chikkanna, S. E. Neelagund, and K. K. Rajashekarappa, 2019, Green synthesis of Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) and their biological activity, *SN Appl. Sci.*, vol. 1, (no. 1), pp. 1–10.

- [71] A. Khorsand Zak, R. Razali, W. H. Abd Majid, and M. Darroudi, 2011, Synthesis and characterization of a narrow size distribution of zinc oxide nanoparticles, *Int. J. Nanomedicine*, vol. 6, (no. 1), pp. 1399–1403.
- [72] R. Sakthivel, A. Shankar Ganesh, A. Geetha, B. A. Anandh, R. Kannusamy, and K. Tamilselvan, 2017, Effect of post annealing on antibacterial activity of ZnO thin films prepared by modified silar technique,” *Orient. J. Chem.*, vol. 33, (no. 1), pp. 355–362.
- [73] K. M. Lee, C. W. Lai, K. S. Ngai, and J. C. Juan, 2016, Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review, *Water Res.*, vol. 88, pp. 428–448.
- [74] M. J. Haque, M. M. Bellah, M. R. Hassan, and S. Rahman, 2020, Synthesis of ZnO nanoparticles by two different methods & comparison of their structural, antibacterial, photocatalytic and optical properties, *Nano Express*, 2020, vol. 1, (no. 1), p. 010007.
- [75] E. A. S. Dimapilis, C. S. Hsu, R. M. O. Mendoza, and M. C. Lu, 2018, Zinc oxide nanoparticles for water disinfection, *Sustain. Environ. Res.*, 2018, vol. 28, (no. 2), pp. 47–56.
- [76] R. Brayner, R. Ferrari-Iliou, N. Brivois, S. Djediat, M. F. Benedetti, and F. Fiévet, 2006, Toxicological impact studies based on Escherichia coli bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium, *Nano Lett.*, vol. 6, (no. 4), pp. 866–870.
- [77] A. C. Dhayagude, S. V. Nikam, S. Kapoor, and S. S. Joshi, 2017, *Effect of electrolytic media on the photophysical properties and photocatalytic activity of zinc oxide nanoparticles synthesized by simple electrochemical method*, Elsevier B.V, vol. 232.
- [78] J. Jiang, J. Pi, and J. Cai, 2018, The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications, *Bioinorg. Chem. Appl.*, vol. 2018.
- [79] N. X. Quang *et al.*, 2023, Formation and antibacterial activity of heterogeneous zinc oxide nanoparticles greenly synthesized by the electrochemical method under microwave treatment, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 674, no. June, p. 131906.

- [80] A. Sirelkhatim, S. Mahmud, and A. Seeni, 2015, Review on Zinc Oxide Nanoparticles : Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism, *Nano-Micro Lett.*, vol. 7, pp. 219–242.
- [81] H. M. Xiong, 2013, ZnO nanoparticles applied to bioimaging and drug delivery, *Adv. Mater.*, 2013, vol. 25, (no. 37), pp. 5329–5335.
- [82] G. Bisht and S. Rayamajhi, 2016, ZnO Nanoparticles: A Promising Anticancer Agent, *Nanobiomedicine*, 2016, vol. 3.
- [83] H. A. Wahab, A. A. Salama, A. A. El Saeid, M. Willander, O. Nur, and I. K. Battisha, 2018, Zinc oxide nano-rods based glucose biosensor devices fabrication, *Results Phys.*, vol. 9, pp. 809–814.
- [84] B. Lallo, B. Leonardo, B. G. Chiari-andréo, R. Cristina, L. Rodrigues, and L. Aparecida, 2019, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Increased antibacterial activity of ZnO nanoparticles : Influence of size and surface modification, *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 177, (no. February), pp. 440–447.
- [85] P. Li, Z. Wei, T. Wu, Q. Peng, and Y. Li, 2011, Au–ZnO Supporting nanopyramids and their photocatalytic properties, *Jam chem soc*, pp. 3–6.
- [86] J. F. S. Fernando *et al.*, 2018, Photocatalysis with Pt-Au-ZnO and Au-ZnO Hybrids: Effect of Charge Accumulation and Discharge Properties of Metal Nanoparticles, *Langmuir*, vol. 34, (no. 25), pp. 7334–7345.
- [87] F. J. Flórez Barajas, Z. C. Sánchez Acevedo, and H. Peña Pedraza, 2019, Synthesis and characterization of gold nanoparticles in solution using chitosan as reducing agent, *Respuestas*, vol. 24, (no. 2), pp. 49–55.
- [88] Z. Q. Zheng, B. Wang, J. D. Yao, and G. W. Yang, 2015, Light-controlled C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> gas sensing based on Au-ZnO nanowires with plasmon-enhanced sensitivity at room temperature, *J. Mater. Chem. C*, vol. 3, (no. 27), pp. 7067–7074.
- [89] L. Liu, W. A. Bassett, L. Liu, and W. A. Bassett, 1973, Compression of Ag and phase transformation of NaCl Compression of Ag and phase transformation of NaCl , *J. Appl. Phys*, vol. 44, pp 1475–1479.

- [90] M. Gao *et al.*, 2014, Label-free silver nanoparticles for the naked eye detection of entecavir, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 126, pp. 178–183.
- [91] D. T. Thuc *et al.*, 2016, Green synthesis of colloidal silver nanoparticles through electrochemical method and their antibacterial activity, *Mater. Lett.*, vol. 181, pp. 173–177.
- [92] I. S. Zhao and M. L. Mei, 2020, The Antibacterial mechanism of silver nanoparticle and application in dentistry, *Nanomedicine*, pp.2555-2562.
- [93] R. A. Bapat *et al.*, 2018, An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 91, (no. 2017), pp. 881–898.
- [94] S. Khorrami, A. Zarrabi, M. Khaleghi, M. Danaei, and M. R. Mozafari, 2018, Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties, *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, pp. 8013–8024.
- [95] V. S. Ramkumar *et al.*, 2017, Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties, *Biotechnol. Reports*, vol. 14, pp. 1–7.
- [96] T. G. Meikle, B. P. Dyett, J. B. Strachan, J. White, C. J. Drummond, and C. E. Conn, 2020, Preparation, Characterization, and Antimicrobial Activity of Cubosome Encapsulated Metal Nanocrystals, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 12, (no. 6), pp. 6944–6954.
- [97] M. Zahoor *et al.*, 2021, A review on silver nanoparticles: Classification, various methods of synthesis, and their potential roles in biomedical applications and water treatment, *Water (Switzerland)*, vol. 13, (no. 16), pp. 01–28.
- [98] X. F. Zhang, Z. G. Liu, W. Shen, and S. Gurunathan, 2016, Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 17, (no. 9).
- [99] S. N. Mailu *et al.*, 2010, Determination of anthracene on Ag-Au alloy nanoparticles/overoxidized-polypyrrole composite modified glassy carbon electrodes, *Sensors (Switzerland)*, vol. 10, (no. 10), pp. 9449–9465.

- [100] S. O. Au *et al.*, 2012, Single crystalline octahedral Au - Ag nanoframe, *J. Am. Chem. Soc.*, pp. 2–5.
- [101] H. Cheng, C. Wang, D. Qin, and Y. Xia, 2023, Galvanic Replacement Synthesis of Metal Nanostructures: Bridging the Gap between Chemical and Electrochemical Approaches, *Acc. Chem. Res.*, vol. 56, (no. 7), pp. 900–909.
- [102] N. Tran, T. Phuong, D. Thao, N. Hoang, and N. Thao, 2023, “Application of hybrid Au @ Ag nanostructures in fiber optic biosensor for rapid detection of C-reactive protein,” *Opt. Mater. (Amst.)*, vol. 143, no. August, pp. 114184.
- [103] Zhen Yin, Ye Wang, Chuqiao Song, 2018, Hybrid Au-Ag Nanostructures for Enhanced Plasmon-Driven Selective Hydrogenation through Visible Light Irradiation and Surface-Enhanced Raman Scattering, *Journal of the American Chemical Society*, 140, pp. 864 - 867.
- [104] P. Makuła, M. Pacia, and W. Macyk, 2018, How To Correctly Determine the Band Gap Energy of Modified Semiconductor Photocatalysts Based on UV-Vis Spectra, *J. Phys. Chem. Lett.*, vol. 9, (no. 23), pp. 6814–6817.
- [105] M. S. Braga, O. F. Gomes, R. F. V. V. Jaimes, E. R. Braga, W. Borysow, and W. J. Salcedo, 2019, Multispectral colorimetric portable system for detecting metal ions in liquid media, *INSCIT 2019 - 4th Int. Symp. Instrum. Syst. Circuits Transducers*, (no. October), pp. 1–6.
- [106] Lưu Thị Việt Hà, 2018, Nghiên cứu tổng hợp vật liệu nano ZnO pha tạp Mn, Ce, C và đánh giá khả năng quang oxi hóa, *Luận văn thạc sĩ Vật lý kỹ thuật, Đại học Bách khoa Hà Nội.*, vol. 15, (no. 6), pp. 5–12.
- [107] P. Scherrer, 1912, Bestimmung der inneren Struktur und der Größe von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen, *Kolloidchem. Ein Lehrb.*, vol. 277, (no. 1916), pp. 387–409.
- [108] P. E. Champness, 2002, Applications of transmission electron microscopy in mineralogy, *Adv. Imaging Electron Phys.*, vol. 121, (no. C), pp. 53–90.
- [109] M. Belloeil, 2017, Molecular beam epitaxy growth and optical characterization of GaN / AlGaIn nanowire heterostructures emitting in the ultraviolet, *HAL*, 2020, (no. May 2017).



- [110] A. R. Guerrero, N. Hassan, C. A. Escobar, F. Albericio, M. J. Kogan, and E. Araya, 2014, Gold nanoparticles for photothermally controlled drug release, *Nanomedicine*, vol. 9, (no. 13), pp. 2023–2039.
- [111] K. Gayathri, M. Bhaskaran, C. Selvam, and R. Thilagavathi, 2023, Nano formulation approaches for curcumin delivery- a review, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 82, (no. October 2022), p. 104326.
- [112] Shruti Nambiar, Ernest Osei, Andre Fleck, 2018, Synthesis of curcumin-functionalized gold nanoparticles and cytotoxicity studies in human prostate cancer cell line, *Applied Nanoscience*, volume 8, pages 347 - 357.
- [113] N. Muniyappan, M. Pandeewaran, and A. Amalraj, 2021, Green synthesis of gold nanoparticles using *Curcuma pseudomontana* isolated curcumin: Its characterization, antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities, *Environ. Chem. Ecotoxicol.*, vol. 3, pp. 117–124.
- [114] K. Varaprasad *et al.*, 2019, Generation of engineered core-shell antibiotic nanoparticles, *RSC Adv.*, vol. 9, (no. 15), pp. 8326–8332.
- [115] F. Paquin, J. Rivnay, A. Salleo, N. Stingelin, and C. Silva, 2015, Multi-phase semicrystalline microstructures drive exciton dissociation in neat plastic semiconductors, *J. Mater. Chem. C*, vol. 3, pp. 10715–10722.
- [116] M. Noruzi, 2015, Biosynthesis of gold nanoparticles using plant extracts, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 38, (no. 1), pp. 1–14.
- [117] V. D. Doan, V. S. Luc, T. L. H. Nguyen, T. D. Nguyen, and T. D. Nguyen, 2020, Utilizing waste corn-cob in biosynthesis of noble metallic nanoparticles for antibacterial effect and catalytic degradation of contaminants, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 27, (no. 6), pp. 6148–6162.
- [118] P. P. P. Kumar and D. K. Lim, 2023, Photothermal Effect of Gold Nanoparticles as a Nanomedicine for Diagnosis and Therapeutics, *Pharmaceutics*, vol. 15, (no. 9).
- [119] Ying Zang *et al.*, 2022, Corrigendum to Dual-mode antibacterial core-shell gold nanorod @ mesoporous - silica/curcumin nanocomplexes for efficient photothermal and photodynamic therapy., *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, volume 433, 114203.

- [120] R. Sankhwar, S. Yadav, A. Kumar, and R. K. Gupta, 2021, Application of nano-curcumin as a natural antimicrobial agent against gram-positive pathogens, *J. Appl. Nat. Sci.*, vol. 13, (no. 1), pp. 110–126.
- [121] J. W. Xu, K. Yao, and Z. K. Xu, 2019, Nanomaterials with a photothermal effect for antibacterial activities: An overview, *Nanoscale*, vol. 11, (no. 18), pp. 8680–8691.
- [122] J. Gupta *et al.*, 2022, Antiviral Activity of Zinc Oxide Nanoparticles and Tetrapods Against the Hepatitis E and Hepatitis C Viruses, *Front. Microbiol.*, vol. 13, (no. June), pp. 1–14.
- [123] R. S. Kumar, S. H. S. Dananjaya, M. De Zoysa, and M. Yang, 2016, Enhanced antifungal activity of Ni-doped ZnO nanostructures under dark conditions, *RSC Adv.*, vol. 6, (no. 110), pp. 108468–108476.
- [124] H. A. Alshamsi and Q. A. Nema, 2022, Thermal Synthesis of Au-ZnO Nanoparticles for Application in Photocatalytic Degradation of Reactive blue 4 Dye in Aqueous Solution, *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 1029, (no. 1).
- [125] C. Yao *et al.*, 2021, ZnO: Au nanocomposites with high photocatalytic activity prepared by liquid-phase pulsed laser ablation, *Opt. Laser Technol.*, vol. 133, (no. August 2020), p. 106533.
- [126] S. A. Ahmed *et al.*, 2022, Tetracycline Encapsulated in Au Nanoparticle-Decorated ZnO Nanohybrids for Enhanced Antibacterial Activity, *ACS Appl. Nano Mater.*, vol 5, (no. 3), 4484–4492.
- [127] C. R. Li, S. L. Li, and Z. Y. Yang, 2017, Development of a coumarin-furan conjugate as Zn<sup>2+</sup> + ratiometric fluorescent probe in ethanol-water system, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 174, pp. 214–222.
- [128] M. Farhadi-Khouzani, Z. Fereshteh, M. R. Loghman-Estarki, and R. S. Razavi, 2012, Different morphologies of ZnO nanostructures via polymeric complex sol-gel method: Synthesis and characterization, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, vol. 64, (no. 1), pp. 193–199.
- [129] R. Marsalek, 2014, Particle Size and Zeta Potential of ZnO, *APCBEE Procedia*, vol. 9, pp. 13–17.

- [130] H. Zhang, P. Liu, Z. Chi, and X. Chen, 2019, Metallo-supramolecular hydrogels from the copolymers of acrylic acid and 4-(2,2':6',2''-terpyridin-4'-yl)styrene, *Polymers (Basel)*, vol. 11, (no. 7).
- [131] C. R. Mendes *et al.*, 2022, Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens, *Sci. Rep.*, vol. 12, (no. 1), pp. 1–11.
- [132] A. Sirelkhatim *et al.*, 2015, “Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism,” *Nano-Micro Lett.*, vol. 7, no. 3, pp. 219–242.
- [133] X. Xia, Y. Wang, A. Ruditskiy, and Y. Xia, 2013 25th anniversary article: Galvanic replacement: A simple and versatile route to hollow nanostructures with tunable and well-controlled properties, *Adv. Mater.*, vol. 25, (no. 44), pp. 6313–6333.
- [134] Dorcheh, S.K., & Vahabi, K., 2016, Biosynthesis of nanoparticles using fungi, *Fungl Metabolites*, pp. 1 - 20.
- [135] B. H. Abbasi, M. Zaka, S. S. Hashmi, and Z. Khan, 2018, Biogenic synthesis of Au, Ag and Au–Ag alloy nanoparticles using Cannabis sativa leaf extract, *IET Nanobiotechnology*, vol. 12, (no. 3), pp. 277–284.
- [136] D. Press, 2016, As Novel Antitubercular Agents, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, pp. 1889–1897.
- [137] D. Ding, Q. Fan, K. Liu, and S. Ding, 2019, Au/Ag alloy nanostructure with built-in hotspots fabricated by galvanic-replacement-assisted growth on AgI for surface-enhanced Raman spectroscopy, *J. Alloys Compd.*, vol. 809, p. 151677.
- [138] E. Panfilova, A. Shirokov, B. Khlebtsov, L. Matora, and N. Khlebtsov, 2012, Multiplexed dot immunoassay using Ag nanocubes, Au/Ag alloy nanoparticles, and Au/Ag nanocages, *Nano Res.*, vol. 5, (no. 2), pp. 124–134.