

DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.107

CHẾ TẠO VÀ KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA VẬT LIỆU NANO BẠC VỚI HÌNH DẠNG VÀ KÍCH THƯỚC KHÁC NHAU

Mai Ngọc Tuấn Anh^{1,2*}, Nguyễn Hữu Tuyên¹, Nguyễn Thị Phương Phong², Đỗ Thanh Sinh¹, Võ Nhi Kiều¹ và Ngô Võ Kế Thành¹

¹Trung tâm Nghiên cứu triển khai Khu Công nghệ cao, Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Mai Ngọc Tuấn Anh (email: anh.maingoctuan@shtplabs.org)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 04/03/2020

Ngày nhận bài sửa: 05/05/2020

Ngày duyệt đăng: 29/06/2020

Title:

Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes and shapes

Từ khóa:

Hạt nano bạc, kháng khuẩn, MIC, phương pháp polyol, thanh nano bạc

Keywords:

Antibacterial, MIC, polyol method, silver nanoparticles, silver nanorods

ABSTRACT

In this study, silver nanoparticles with different sizes and shapes were synthesized by a polyol method. The formation of silver nanoparticles was determined by employing different characterization methods such as ultraviolet–visible spectroscopy (UV-Vis), field emission scanning electron microscopy (FE-SEM) and X-ray diffraction (XRD). It was found that in the ethylene glycol/PVP media, silver nanoparticles were spherical and their average particles sizes (21 nm, 85 nm) depended on the amount of silver nitrate while most silver nanoparticles were rod – shapes with the present of anions Cl⁻. The antibacterial activities of 21-nm, 85-nm silver nanoparticles and silver nanorods were processed by counting colonies on agar petri disks method, determining minimum inhibitory concentration (MIC). It was found that 21-nm, 85-nm silver nanoparticles and silver nanorods were good antibacterial effects on *Escherichia coli*. 21-nm silver nanoparticles were the best antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* (MIC = 7,5 µg/mL) while silver nanorods did not show antibacterial activity on *Staphylococcus aureus*.

TÓM TẮT

Trong bài báo này, vật liệu nano bạc có hình dạng và kích thước khác nhau được tổng hợp bằng phương pháp polyol. Tính chất quang và cấu trúc vật liệu nano bạc tạo thành được phân tích bằng các phương pháp UV-Vis, FE-SEM và XRD. Kết quả cho thấy trong môi trường ethylene glycol (EG)/ poly vinylpyrrolidone (PVP), vật liệu nano bạc tạo thành có hình dạng hạt cầu với kích thước trung bình 21 nm và 85 nm tùy thuộc vào lượng bạc nitrat, tuy nhiên khi có sự hiện diện của ion Cl⁻, vật liệu nano bạc tạo thành hầu hết có dạng thanh nano. Tính chất kháng khuẩn của hạt nano bạc với kích thước 21 nm, 85 nm và thanh nano được thực hiện bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC). Kết quả cho thấy hạt nano bạc 21 nm, 85 nm và thanh nano đều cho khả năng diệt khuẩn *Escherichia coli* tốt. Đối với *Staphylococcus aureus*, hạt nano bạc với kích thước 21 nm cho thấy kết quả diệt khuẩn tốt nhất với MIC = 7,5 µg/mL trong khi thanh nano bạc hầu như không cho thấy hiệu quả diệt loại khuẩn này.

Trích dẫn: Mai Ngọc Tuấn Anh, Nguyễn Hữu Tuyên, Nguyễn Thị Phương Phong, Đỗ Thanh Sinh, Võ Nhi Kiều và Ngô Võ Kế Thành, 2020. Chế tạo và khảo sát khả năng kháng khuẩn của vật liệu nano bạc với hình dạng và kích thước khác nhau. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên)(2): 18-25.

1 TỔNG QUAN

Vật liệu nano bạc là đối tượng nghiên cứu hấp dẫn cho nhiều nhà khoa học trên khắp thế giới bởi những tính năng khác biệt so với vật liệu bạc dạng khối. Hai tính chất của vật liệu nano bạc được quan tâm nhiều nhất là tính chất quang với hiện tượng plasmon bề mặt và tính diệt khuẩn (Zhao *et al.*, 2010; Helmlinger *et al.*, 2016; Khodashenas *et al.*, 2019). Vật liệu nano bạc có thể ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực như cảm biến, điện tử, xúc tác, y học, làm các đế tăng cường tán xạ Raman bề mặt (Zhao *et al.*, 2010; Fievet *et al.*, 2018) hay vật liệu diệt khuẩn dùng trong mỹ phẩm (Agnihotri *et al.*, 2014). Trong một thập kỷ gần đây, nhiều nhóm nghiên cứu đã thực hiện chế tạo có kiểm soát hình dạng và kích thước để có những ứng dụng hiệu quả nhất (Khodashenas *et al.*, 2019). Pal *et al.* (2007) đã nghiên cứu khả năng diệt khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) của nano bạc hạt cầu và dạng thanh, kết quả cho thấy nano bạc dạng hạt cầu có thể diệt hoàn toàn loại vi khuẩn này ở nồng độ 50 µg/mL trong khi dạng thanh hầu như không có tác dụng. Một nhóm nghiên cứu đã khảo sát tính diệt khuẩn của nano bạc hình cầu với kích thước khác nhau và báo cáo rằng nano bạc với kích thước 15 – 50 nm cho hiệu quả diệt *E. coli* và *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) tốt nhất. Tuy nhiên nghiên cứu này chỉ thực hiện phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch đo vòng kháng khuẩn, chưa nghiên cứu về nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) để có ứng dụng hiệu quả nhất (Raza *et al.*, 2015). Hơn nữa trong nghiên cứu này các hạt nano bạc hình cầu được chế tạo với kích thước không đồng đều.

Một trong những phương pháp phổ biến nhất để chế tạo vật liệu nano bạc là khử hóa học với chất khử mạnh NaBH₄ và chất bảo vệ Trisodium citrate (TSC), tuy nhiên phương pháp này có nhược điểm là không thể chế tạo nano bạc ở nồng độ cao, thường dưới 100 µg/mL và vật liệu nano bạc có độ bền kém. Agnihotri *et al.* (2014) đã kiểm soát kích thước vật liệu nano bạc bằng phương pháp này, kết quả cho thấy nano bạc hình cầu có kích thước dưới 10 nm cho hiệu quả diệt *E. coli* và *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) tốt nhất với MIC lần lượt là 30 µg/mL và 80 µg/mL. Gần đây, nano bạc còn được tổng hợp trong các dịch chiết thực vật, tuy nhiên độ chuyển

hóa Ag⁺ thành Ag⁰ để tạo nano bạc trong phương pháp này thường không cao, dẫn đến dễ bị oxy hóa; bên cạnh đó loại nano bạc tạo thành từ phương pháp này khó đồng đều về kích thước (Ameen *et al.*, 2019; Behravan *et al.*, 2019). Phương pháp polyol với ethylene glycol (EG) hay propylene glycol (PG) và chất bảo vệ poly vinylpyrrolidone (PVP) được sử dụng để kiểm soát kích thước và hình dạng vật liệu nano bạc bởi đây được xem là phương pháp tổng hợp xanh và không sử dụng chất khử mạnh như NaBH₄, vật liệu nano bạc tạo thành có độ bền cao (Fievet *et al.*, 2018). Để kiểm soát hình dạng như thanh, khối vuông... cần bổ sung thêm các muối halogen như Cl⁻, Br⁻, I⁻ để tác động lên quá trình phát triển tinh thể của vật liệu nano bạc (Chen *et al.*, 2011).

Trong báo cáo này, vật liệu nano bạc được chế tạo bao gồm hình cầu với kích thước trung bình 21 nm và 85 nm, nano bạc dạng thanh bằng phương pháp polyol và tiến hành thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn trên *E. coli* và *S. aureus*. Kết quả cho thấy MIC của các loại vật liệu nhỏ hơn các nghiên cứu đã tham khảo, nano bạc với kích thước 21 nm cho hiệu quả tốt nhất. Mặt khác nano bạc dạng thanh cũng có tác dụng diệt *E. coli* với MIC = 40 µg/mL trong khi kém hiệu quả khi thử nghiệm với *S. aureus*.

2 THỰC NGHIỆM

2.1 Hóa chất

Hóa chất dùng để chế tạo vật liệu nano bạc bao gồm: silver nitrate (AgNO₃, Sigma-Aldrich, >99%), Poly vinylpyrrolidone (PVP K30, Mn=40.000 đvc, Merck), sodium chloride (NaCl, Sigma-Aldrich, >99%) và ethylene glycol (EG, AR – Trung Quốc, 96%).

Môi trường Baird-Paker Agar (BPA), Eosin Methylene Blue (EMB) và Muller Hinton Agar (MHA) (Merck); chủng vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) và *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) được cung cấp bởi Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh.

2.2 Chế tạo vật liệu nano bạc

Vật liệu nano bạc được chế tạo bằng phương pháp polyol dựa theo qui trình của Chen *et al* (2011) và có cải tiến. Công thức chế tạo mẫu được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1: Công thức chế tạo vật liệu nano bạc

Mẫu	AgNO ₃ (g)	PVP (g)	DD NaCl 1,2 µg/mL (mL)	EG (mL)
S1	0,17	1,70	-	100
S2	0,017	0,17	-	100
S3	0,085	0,85	1,00	99

– **Mẫu S1:** Cho 1,7 g PVP vào cốc đang có sẵn 100 mL EG và khuấy từ ở tốc độ 500 vòng/phút trong 10 phút để PVP tan hoàn toàn. Cho 0,17 g AgNO₃ vào hệ đang khuấy và tiếp tục để trong 10 phút để tạo hệ đồng nhất. Bọc miệng cốc bằng màng Poly etylen (PE) để tránh sự bay hơi dung môi. Nâng nhiệt độ của hệ đang khuấy lên 160°C và giữ trong 2 giờ, dung dịch sẽ chuyển từ trong suốt sang màu vàng đặc trưng của vật liệu nano bạc dạng hạt cầu. Sau thời gian 2 giờ phản ứng, làm nguội nhanh mẫu bằng cách cho cốc vào thau nước đá lạnh. Bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng và tránh ánh sáng.

– **Mẫu S2:** thực hiện tương tự mẫu S1 tuy nhiên nồng độ AgNO₃ và PVP giảm 10 lần.

– **Mẫu S3:** Cho 0,85 g PVP vào cốc đang có sẵn 100 mL EG và khuấy từ ở tốc độ 500 vòng/phút trong 10 phút để PVP tan hoàn toàn. Cho 0,085 g AgNO₃ vào hệ đang khuấy và tiếp tục để trong 10 phút để tạo hệ đồng nhất. Nhỏ giọt 1 mL dung dịch NaCl (1,2 µg/mL) đã pha sẵn trong EG vào hệ đang khuấy. Bọc cốc bằng màng PE để tránh sự bay hơi dung môi. Nâng nhiệt độ lên 160°C và để trong 2 giờ, dung dịch sẽ chuyển từ trong suốt sang màu xám bạc chứng tỏ sự hình thành của các thanh nano bạc.

2.3 Các phương pháp phân tích

Các mẫu thí nghiệm được phân tích bằng phương pháp UV-Vis (Jacco V-670, Nhật) ở bước sóng từ 600 – 300 nm, pha loãng trong EG với tỷ lệ khác nhau và tốc độ quét 100 nm/phút.

Đối với phân tích FE-SEM (Hitachi – S4800, Nhật), các mẫu được nhỏ giọt trên lưới đồng đường kính 3 mm, sấy chân không ở nhiệt độ phòng và tiến hành phân tích ở điện thế 100kV.

Mẫu S3 được rửa 2 lần với cồn bằng cách ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 10 phút, thu phần cặn, sấy chân không ở nhiệt độ phòng và phân tích nhiễu xạ tia X (XRD, Bruker D8 Advance, Đức) với nguồn phát xạ Cu-K, tốc độ quét 4°/phút ở góc 2θ từ 20° – 80° (40 kV, 40 mA).

2.4 Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của nano bạc bằng phương pháp khuếch tán qua thạch.

Dịch vi khuẩn thử nghiệm (nồng độ 10⁶ cfu/mL) được trải trên môi trường MHA. Hút 100 µL các mẫu dung dịch nano bạc cho vào các giếng và 1 giếng đối chứng với 100 µL nước cất vô trùng (4

giếng/đĩa). Ủ các đĩa ở 37°C, sau 24 giờ (đối với vi khuẩn *E. coli*) và 48 giờ (đối với vi khuẩn *S. aureus*) ghi nhận kết quả vòng kháng khuẩn trên các đĩa.

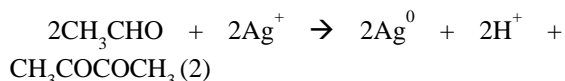
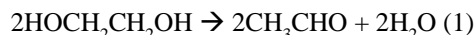
2.5 Xác định nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu (MIC) của nano bạc

Bổ sung mẫu nano bạc khảo sát vào dịch khuẩn đã được chuẩn bị theo tỷ lệ 9:1 (v/v) thành các nồng độ khảo sát tương ứng với nồng độ vi khuẩn đạt 10⁴ cfu/mL. Lắc đều hỗn hợp và để yên trong 1 phút. Tiến hành hút 100 µL dịch ở các nghiệm thức trải đều trên đĩa môi EMB (đối với *E. coli*) và BPA (đối với *S.aureus*), đối chứng âm với 100 µL dịch khuẩn ở nồng độ 10⁴ cfu/mL. Ủ các đĩa ở 37°C, sau 24 giờ (đối với vi khuẩn *E. coli*) và 48 giờ (đối với vi khuẩn *S. aureus*) đếm khuẩn lạc trên các đĩa nghiệm thức và ghi nhận kết quả.

3 KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

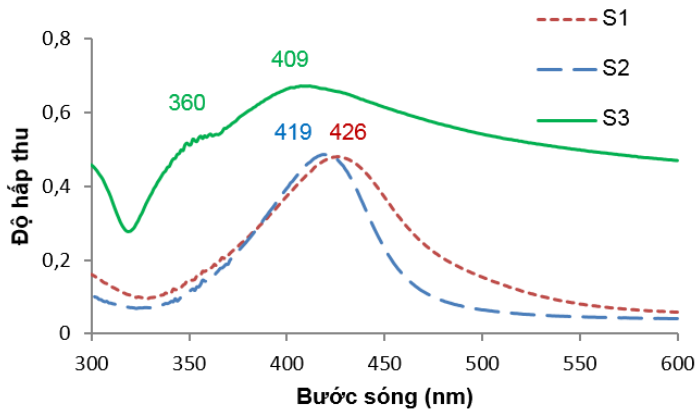
3.1 Khảo sát tính chất quang và cấu trúc vật liệu nano bạc

Trong nội dung nghiên cứu này, vật liệu nano bạc được chế tạo bằng phương pháp polyol với tiền chất AgNO₃, PVP K30 đóng vai trò là chất bảo vệ và EG vừa là môi trường vừa là chất khử dưới tác dụng của nhiệt độ. Phản ứng xảy ra như sau (Meléndrez *et al.*, 2015):



Khi ở 160°C, phân tử EG sẽ tách nước tạo CH₃CHO theo như phản ứng (1), sau đó CH₃CHO sẽ khử Ag⁺ tạo thành mầm Ag⁰, các mầm này tiếp tục phát triển với sự bảo vệ của phân tử PVP, phát triển mầm tạo vật liệu nano bạc. Bằng cách thay đổi tỷ lệ PVP:AgNO₃, nồng độ tác chất (Helmlinger *et al.*, 2016), nhiệt độ phản ứng và thứ tự nạp chất (Kim *et al.*, 2006) sẽ tạo thành vật liệu nano bạc với hình dạng và kích thước khác nhau.

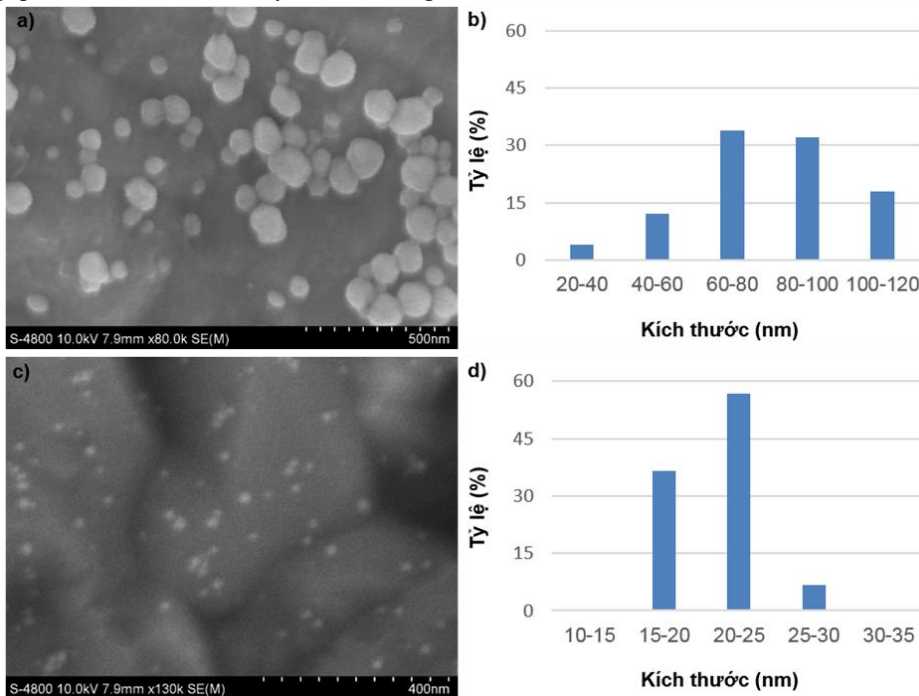
Chúng tôi cho tỷ lệ PVP:AgNO₃ =10:1 không thay đổi vì đây là tỷ lệ thích hợp để bảo vệ hạt nano bạc đã được chúng tôi báo cáo trước đó (Mai Ngọc Tuấn Anh và *ctv.*, 2016), bằng cách thay đổi nồng độ tác chất và thêm vào Cl⁻ chúng tôi sẽ kiểm soát được kích thước và hình dạng vật liệu nano bạc. Kết quả chế tạo vật liệu nano bạc như sau:



Hình 1: Phổ UV-Vis của các mẫu S1, S2 và S3

Kết quả UV-Vis các các mẫu nano bạc được chế tạo bằng phương pháp polyol được trình bày ở hình 1. Phổ UV-Vis của mẫu S1 và S2 cho thấy 1 đỉnh hấp thụ cực đại tại vị trí bước sóng lần lượt là 426 nm và 419 nm, chứng tỏ sự tồn tại của các hạt nano bạc hình cầu (Zhao *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011; Agnihotri *et al.*, 2014). Mặt khác, khi kích thước hạt nano bạc càng lớn thì vị trí hấp thụ cực đại sẽ dịch chuyển về phía có bước sóng lớn hơn (Agnihotri *et al.*, 2014), do đó chúng tôi cho rằng kích thước trung bình của hạt nano bạc trong mẫu S1 lớn hơn so với S2. Phổ UV-Vis của mẫu S3 khi có sự hiện diện của NaCl trong quá trình chế tạo cho thấy có 2 đỉnh hấp

thụ cực đại không rõ nét lần lượt ở bước sóng 409 nm và 360 nm. Vật liệu nano bạc có hình dạng không đối xứng như thanh nano sẽ có nhiều hơn 1 đỉnh hấp thụ cực đại (Chen *et al.*, 2011; Khodashenas *et al.*, 2019), chúng tôi cho rằng đỉnh ở bước sóng 409 nm đặc trưng cho dao động plasmon lưỡng cực theo phương ngang của vật liệu nano dạng thanh và đỉnh còn lại ở 360 nm với cường độ yếu hơn đặc trưng cho dao động tứ cực. Do đó chúng tôi cho rằng trong mẫu S3 có tồn tại vật liệu nano bạc dạng thanh nano, phù hợp với nghiên cứu của Dapeng Chen đã báo cáo trước đó (Chen *et al.*, 2011).

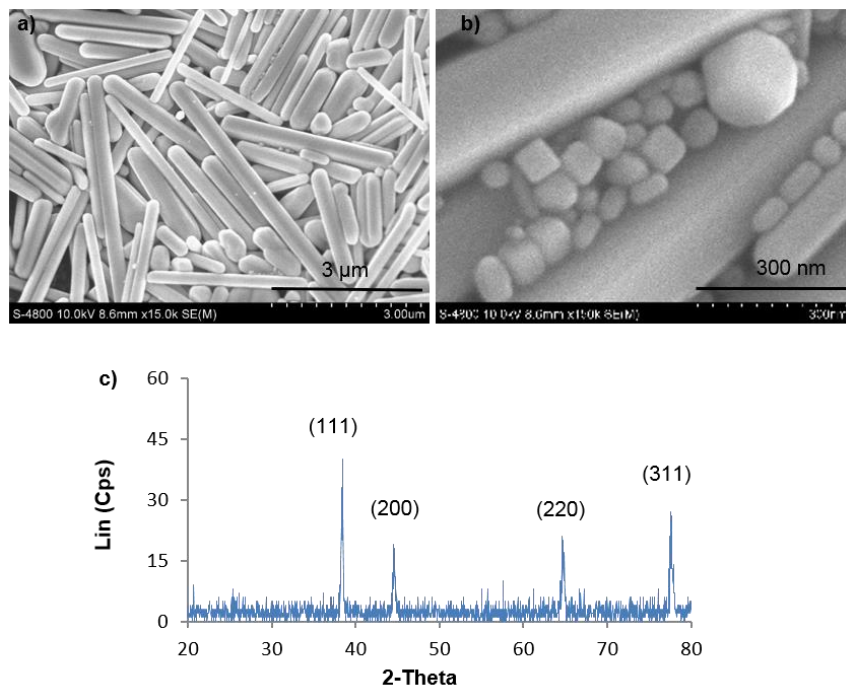


Hình 2: Ảnh FE-SEM và Giản đồ phân bố kích thước hạt của mẫu S1(a,b) và S2 (c,d)

Ảnh FE-SEM và giản đồ phân bố kích thước của mẫu S1 ở hình 2a và 2b cho thấy tồn tại hạt nano bạc có hình dạng gần như cầu, độ phân bố kích thước lớn từ 20 nm đến 120 nm trong đó tập trung nhiều ở kích thước 60 – 100 nm. Đường kính trung bình của hạt nano bạc là 85 nm. Trong khi đó, ảnh FE-SEM và giản đồ phân bố kích thước của mẫu S2 ở hình 2c và 2d cho thấy tồn tại các hạt nano bạc có hình dạng cầu với độ đồng đều cao, đường kính trung bình của hạt nano bạc là 21 nm. Đường kính trung bình của hạt nano bạc trong mẫu S1 lớn hơn 4 lần so với mẫu S2, nguyên nhân là do ảnh hưởng của nồng độ AgNO_3 , mẫu S1 được chế tạo ở nồng độ cao hơn gần 10 lần ($1080 \mu\text{g/mL}$ so với $108 \mu\text{g/mL}$) trong khi tỷ lệ PVP: AgNO_3 là như nhau, do đó các hạt mầm nano bạc mới thành với số lượng nhiều hơn, tiếp xúc và phát triển thành hạt nano bạc có kích thước lớn hơn nhưng với độ phân bố kích thước rộng hơn. Điều này phù hợp với các nghiên cứu đã

được báo cáo trước đó (Alagumuthu *et al.*, 2012; Agnihotri *et al.*, 2014; Raza *et al.*, 2015).

Ảnh FE-SEM của mẫu S3 ở hình 3a cho thấy trong mẫu tồn tại vật liệu nano bạc hầu hết có dạng hình thanh, phù hợp với kết quả UV-Vis đã trình bày ở trên. Các thanh nano bạc có chiều dài dao động từ 500 nm đến 3 μm , đường kính từ 100 – 300 nm. Ảnh FE-SEM của mẫu S3 ở hình 3b với độ phóng đại 150.000 lần cho thấy trong mẫu vẫn tồn tại vật liệu nano bạc dạng khối vuông và gần cầu với kích thước từ 30 – 50 nm nằm xem kẽ các thanh nano bạc nhưng số lượng không đáng kể so với dạng thanh. Sự hình thành vật liệu nano bạc dạng thanh là do ảnh hưởng của ion Cl^- , kết hợp với ion Ag^+ tạo thành hạt keo AgCl tham gia vào quá trình phát triển tinh thể vật liệu nano bạc để tạo thành các hình dạng như thanh, khối vuông hay sợi... (Chen *et al.*, 2011). Hàm lượng ion Cl^- sử dụng trong mẫu S3 là phù hợp để tạo thành vật liệu nano bạc dạng thanh.



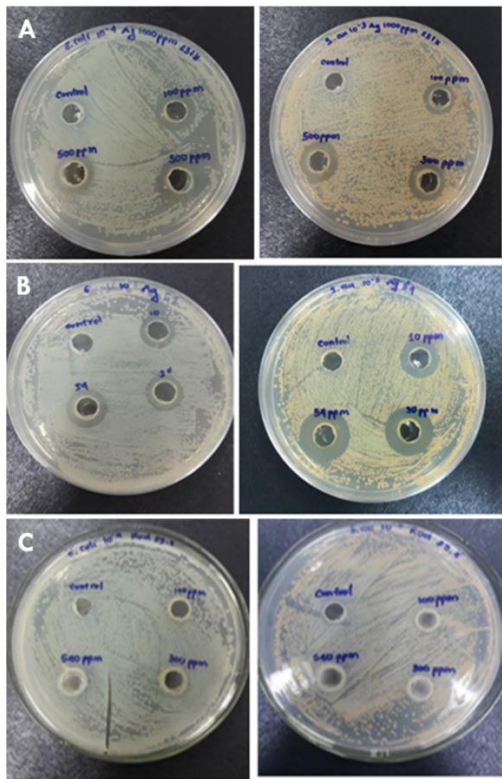
Hình 3: Ảnh FE-SEM (a,b) và Giản đồ XRD (c) của mẫu S3

Giản đồ XRD của mẫu S3 được thể hiện ở hình 3c cho thấy có 4 đỉnh nhiễu xạ lần lượt tại góc 2θ là $38,20^\circ$ tương ứng với mặt (111); $44,30^\circ$ tương ứng với mặt (200); $64,70^\circ$ tương ứng với mặt (220) và $77,40^\circ$ tương ứng với mặt (311), đặc trưng vật liệu nano bạc có cấu trúc lập phương tâm mặt. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu các tác giả đã báo cáo (Chen *et al.*, 2011; Behravan *et al.*, 2019).

3.2 Kết quả kháng khuẩn của nano bạc bằng phương pháp khuếch tán qua đĩa thạch

Kết quả hình 4 cho thấy mẫu S1 và S2 có hoạt tính kháng lại *E. coli* và *S. aureus* (thể hiện qua vòng vô khuẩn xung quanh giếng) và nồng độ càng cao hiệu quả kháng khuẩn càng mạnh. Mẫu S3 không cho thấy hoạt tính kháng khuẩn (không tạo vòng vô khuẩn) ở nồng độ khảo sát. Mẫu S2 cho thấy khả

năng kháng khuẩn cao hơn mẫu S1. Điều đó được thể hiện qua bán kính vòng vô khuẩn lớn (2,5 – 6,5 mm so với 2 – 5 mm) và nồng độ khảo sát thấp (10 – 54 µg/mL so với 100 – 500 µg/mL).

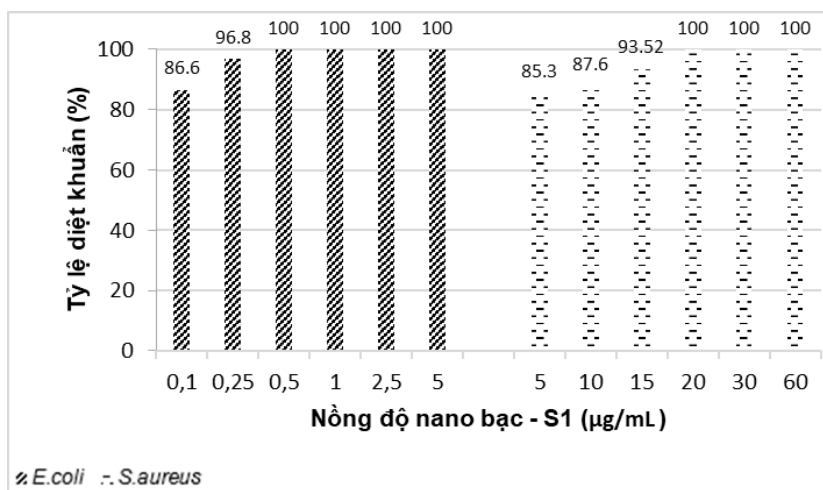


Hình 4: Kết quả hoạt tính kháng E. coli (trái) và S. aureus (phải) của nano bạc: A-mẫu S1, B-mẫu S2, C-mẫu S3

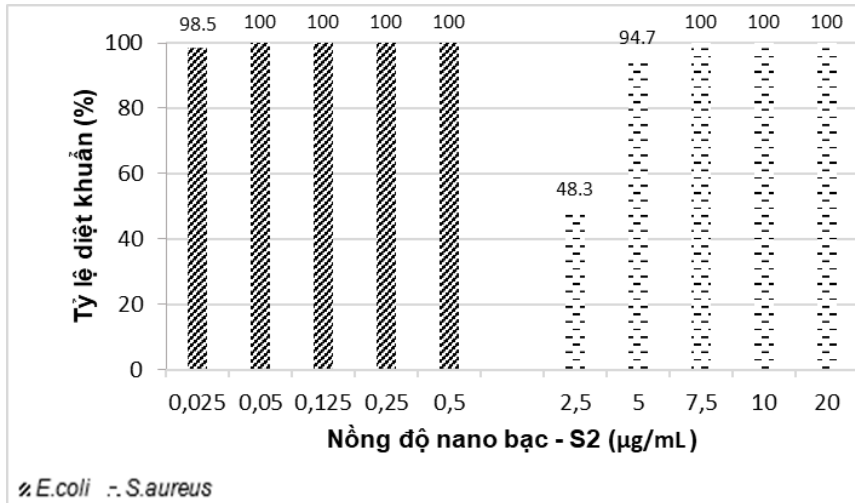
Cơ chế kháng khuẩn của nano bạc dựa vào khả năng liên kết và bám dính, xâm nhập, phá vỡ cấu trúc màng tế bào, liên kết và gây tổn thương DNA. Đặc tính này phụ thuộc vào hình dạng, kích thước và cách thức tổng hợp ra nano bạc (Pal *et al.*, 2007; Agnihotri *et al.*, 2014). Một số nghiên cứu chỉ ra rằng khả năng tương tác với tế bào của vi khuẩn có mối liên hệ với hình dạng của nano bạc, nano bạc có kích thước nhỏ hơn sẽ cho hoạt tính kháng khuẩn cao hơn các hạt có kích thước lớn vì hạt có kích thước nhỏ hơn với tổng diện tích bề mặt riêng lớn sẽ diệt khuẩn hiệu quả hơn (Choi *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2009; Agnihotri *et al.*, 2016). Trong nghiên cứu này, mẫu S2 với các đặc tính như dạng hình cầu, kích thước đồng đều, trung bình khoảng 21 nm cũng đã cho thấy hiệu quả kháng khuẩn cao hơn mẫu S2 (dạng gần hình cầu, kích thước trung bình 85 nm, phân bố kích thước không đều). Mẫu S3 ở dạng hình thanh lẫn khối lập phương cầu với kích thước 100 – 300 nm, dài đến 3 µm, với đặc điểm hình học như vậy nano bạc có thể khó bám dính và xâm nhập được vào màng tế bào vi khuẩn khi sử dụng phương pháp khuếch tán qua thạch nên không ghi nhận được vòng vô khuẩn.

3.3 Kết quả nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu (MIC)

Kết quả khảo sát MIC trên 2 chủng vi khuẩn *E. coli* và *S. aureus* của 3 mẫu nano bạc S1, S2 và S3 được thể hiện lần lượt ở hình 5, hình 6 và hình 7. Kết quả này cho thấy mẫu S2 cho hiệu quả cao hơn so với mẫu S1 và S3. Nồng độ MIC mẫu S2 là 0,025 µg/mL và 7,5 µg/mL lần lượt với vi khuẩn *E. coli* và *S. aureus* so với 0,5 µg/mL và 20 µg/mL ở mẫu S1.



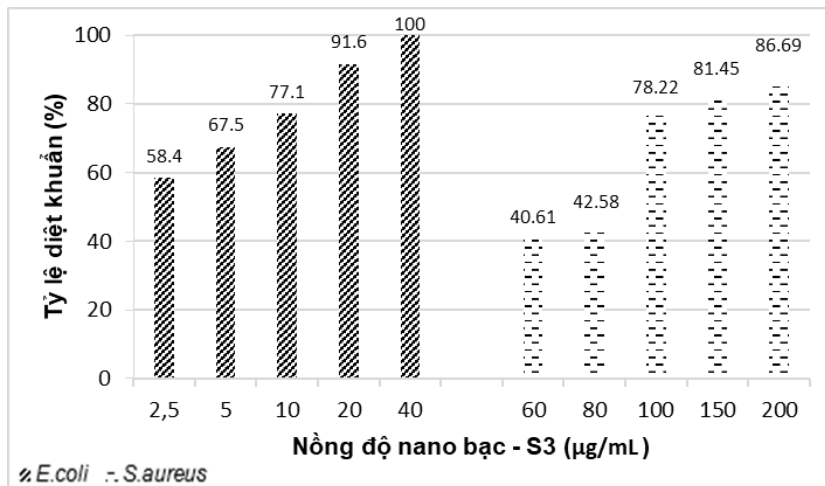
Hình 5: Tỷ lệ diệt khuẩn theo nồng độ của mẫu S1



Hình 6: Tỷ lệ diệt khuẩn theo nồng độ của mẫu S2

Với giá trị MIC như trên cho thấy các mẫu nano bạc hình cầu được chế tạo bằng phương pháp polyol có hiệu quả diệt khuẩn tốt hơn so với phương pháp

khử hóa học trong các nghiên cứu đã tham khảo (Pal *et al.*, 2007; Agnihotri *et al.*, 2014; Mai Ngọc Tuấn Anh và *ctv.*, 2017).



Hình 7: Tỷ lệ diệt khuẩn theo nồng độ của mẫu S3

Đối với mẫu S3, nồng độ MIC được xác định với vi khuẩn *E. coli* là 40 µg/mL. Với vi khuẩn *S. aureus* ở nồng độ 200 µg/mL tỷ lệ diệt khuẩn cũng chỉ đạt 86,69%. Từ những kết quả trên một lần nữa khẳng định nano bạc hình cầu, kích thước càng nhỏ thì hiệu quả diệt khuẩn càng cao do diện tích bề mặt lớn hơn. Như vậy, nano bạc dạng thanh vẫn có khả năng diệt khuẩn nhưng hiệu quả kém hơn so với dạng cầu.

Trong nghiên cứu này, hiệu quả diệt khuẩn Gram âm (*E. coli*) tốt hơn vi khuẩn Gram dương (*S. aureus*) trong tất cả các mẫu nano bạc. Điều này được lí giải do sự khác biệt trong cấu tạo thành tế bào vi khuẩn. Thành tế bào vi khuẩn Gram dương dày với cấu trúc nhiều lớp peptidoglycan (so với đơn

lớp ở vi khuẩn Gram âm), vì vậy quá trình xâm nhập của các ion Ag^+ do các nano bạc phóng thích vào tế bào vi khuẩn Gram dương sẽ khó khăn hơn (Qing *et al.*, 2018). Mặt khác, một trong những cơ chế diệt khuẩn của nano bạc đối với *E. coli* được nhiều nhà khoa học chấp nhận là nano bạc tiếp xúc và gây hại trực tiếp màng vi khuẩn, tạo thành lỗ thủng và diệt chúng (Mai Ngọc Tuấn Anh và *ctv.*, 2017), chính vì vậy nano bạc có kích thước càng nhỏ sẽ có diện tích bề mặt lớn hơn, bám vào thành vi khuẩn nhiều hơn.

4 KẾT LUẬN

Vật liệu nano bạc hình cầu với kích thước trung bình 21 nm, 85 nm và dạng thanh đã được chế tạo

bằng phương pháp polyol. Kích thước của hạt nano bạc hình cầu có thể kiểm soát bằng cách thay đổi nồng độ tác chất, theo xu hướng nồng độ càng cao kích thước hạt nano bạc càng lớn nhưng ít đồng đều hơn. Để chế tạo nano bạc dạng thanh cần có tác nhân Cl^- , tạo thành $AgCl$ tham gia vào quá trình phát triển tinh thể. Vật liệu nano bạc cho thấy diệt *E. coli* tốt hơn *S. aureus*. Kích thước và hình dạng vật liệu nano bạc ảnh hưởng đến khả năng diệt khuẩn của chúng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Ủy ban nhân dân Thành phố Hồ Chí Minh, thực hiện với sự ủng hộ của Ban Quản lý Khu Công nghệ cao (SHTP) và Trung tâm Nghiên cứu triển khai Khu Công nghệ cao (SHTPLABs).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Alagumuthu, G. and Kirubha, R., 2012. Synthesis and Characterisation of Silver Nanoparticles in Different Medium, Open Journal of Synthesis Theory and Applications. 1(2): 13-17.

Agnihotri, S., Mukherji, S. and Mukherji, S., 2014. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy, *Advances*. 4(8): 3974-3983.

Ameen, F., Srinivasan, P., Selvankumar T. *et al.*, 2019. Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Mangifera indica* flower extract as bioreductant and its broad-spectrum antibacterial activity. *Bioorganic Chemistry*. 88: 102970-102971.

Behravan, M., Panahi, A. H., Naghizadeh, A., Ziaee, M., Mahdavi R. and Mirzapour, A., 2019. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 124:148-154.

Chen, D., Qiao, X. and Chen, J., 2011. Morphology-controlled synthesis of silver nanostructures via a solvothermal method. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*. 22: 1335-1339.

Choi, O. and Hu, Z., 2008. Size Dependent and Reactive Oxygen Species Related Nanosilver Toxicity to Nitrifying Bacteria. *Environmental Science & Technology*. 42(12): 4583-4588.

Fievet, F., Ammar-Merah, S., Brayner, R. *et al.*, 2018. The polyol process: a unique method for easy access to metal nanoparticles with tailored sizes, shapes and compositions. *Chemical Society Reviews*. 47: 5187-5233.

Khodashenas, B. and Ghorbani, H. R., 2019. Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*. 12(8): 1823-1838.

Kim, D., Jeong, S. and Moon, J., 2006. Synthesis of silver nanoparticles using the polyol process and the influence of precursor injection. *Nanotechnology*. 17: 4019-4024.

Helmlinger, J., Sengstock, C., Groß-Heitfeld C. *et al.*, 2016. Silver nanoparticles with different size and shape: equal cytotoxicity, but different antibacterial effects. *Advances*. 6: 18490-18501.

Li, W.R., Xie, X. B., Shi, Q. S., Zeng H. Y., Ouyang Y. S. and Chen, Y. B., 2009. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*, *Appl Microbiol Biotechnol*. 85: 1115-1122.

Mai Ngọc Tuấn Anh, Nguyễn Thị Kim Anh, Trần Thị Lệ Khanh, Hoàng Thùy Dương và Nguyễn Thị Phương Phong, 2016. Tổng hợp và khảo sát tính chất của hạt nano hợp kim vàng–bạc. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*. 19: 144-152.

Mai Ngọc Tuấn Anh, Trần Thị Lệ Khanh và Nguyễn Thị Phương Phong, 2017. Tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu nano bạc dạng phiến được chế tạo bằng phương pháp khử trực tiếp. *Tạp chí Hóa học*. 55(3e12): 70 -74.

Meléndrez, M.F., Medina, C., Solis-Pomar, F., Flores, P., Paulraj, M. and Pérez-Tijerina, E., 2015. Quality and high yield synthesis of Ag nanowires by microwave-assisted hydrothermal method. *Nanoscale Research Letters*. 10: 48-57.

Pal, S., Tak, Y. K. and Song, J. M., 2007. Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology*. 73(6): 1712-1720.

Qing, Y., Cheng, L., Li R. *et al.*, 2018, Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies, *International journal of nanomedicine*. 13: 3311-3327.

Raza, M.A., Kanwal, Z., Rauf, A., Sabri, A.N., Riaz, S. and Naseem, S., 2016. Size- and Shape-Dependent Antibacterial Studies of Silver Nanoparticles Synthesized by Wet Chemical Routes, *Nanomaterials*. 6(4): 74-89.

Zhao, T., Sun, R., Yua, S. *et al.*, 2010. Size-controlled preparation of silver nanoparticles by a modified polyol method, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 366: 197– 202.