



TỔNG HỢP DUNG DỊCH KEO NANO BẠC THỬ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN VÀ KÍCH ỨNG DA TRÊN THỎ

SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES BIOLOGICAL ACTIVITY SURVEY AND IRRITATION ON RABBIT SKIN

Nguyễn Xuân Chương^{1*}, Dương Thị Ngọc Dung*, Thái Minh Tiến*, Cao Văn Dư*

¹Khoa Dược, Đại học Lạc Hồng

*nguyensexuanchuong1010@gmail.com

TÓM TẮT: Trong bài báo này, chúng tôi nghiên cứu tổng hợp dung dịch keo nano bạc bằng phương pháp khử hóa học với chất khử và trợ phân bố trisodium citrate (TSC) trong dung môi glycerine có sự hỗ trợ của gia nhiệt, bạc nitrat (AgNO_3), chất bảo vệ polyvinylpyrrolidone (PVP, M_w : 40.000 g/mol). Các thông số ảnh hưởng tới kích thước của các hạt nano bạc đã được nghiên cứu. Hình dạng, cấu trúc và sự phân bố các hạt nano bạc trong dung dịch sau khi tổng hợp được phân tích bởi phổ UV-Vis, kính hiển vi điện tử truyền qua TEM và nhiễu xạ XRD. Phổ UV-Vis cho thấy các hạt nano bạc tổng hợp được có đỉnh hấp thụ cực đại từ 400 ÷ 450 nm. Hạt nano bạc được tổng hợp và điều khiển với các thông số tốt nhất cho kích thước trên ảnh TEM là 8 ± 5 nm. Khảo sát hoạt tính sinh học, dung dịch keo nano Ag có hoạt tính kháng 6 loại vi khuẩn *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumonia* kết quả (>99%) và không bị kích ứng trên da.

ABSTRACT: In this paper, we research to synthesize silver nanoparticles by chemical reduction method with reducing agent and dispersant agent trisodium citrate (TSC) in glycerine solvent by heating, silver nitrate (AgNO_3) the protective agent polyvinylpyrrolidone (PVP, MW: 40,000 g / mol). The parameters affecting the size of silver nanoparticles were studied. The shape, structure, distribution of copper nanoparticles in solution after synthesis were analyzed by UV-Vis spectroscopy, TEM transmission electron microscopy, XRD diffraction. UV-Vis spectrum showed that the silver nanoparticles synthesized had the maximum absorption peak from 400 ÷ 450 nm. Silver nanoparticles were synthesized and controlled with the best parameters for the TEM image size of 8 ± 5 nm. Biological activity survey, silver nanoparticles have activity against 6 type of bacteria *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumonia* result (>99%) and test irritation on rabbit skin.

TỪ KHÓA: hạt nano bạc, phương pháp khử hóa học, trisodium pyrrolidone citrate, polyvinyl

KEYWORDS: Silver nanoparticle, chemical reduction method, trisodium pyrrolidone citrate, polyvinyl

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, vật liệu nano kim loại đã phát triển mạnh mẽ bởi những tính chất ưu việt hơn hẳn so với vật liệu khối như: tính chất quang học, tính chất điện, tính chất từ, hoạt tính xúc tác hay khả năng kháng nấm, kháng khuẩn [1]. Hiện nay, nhiều hạt nano đã được tổng hợp từ các kim loại quý như vàng, bạc và platin được nghiên cứu và ứng dụng nhiều trong các lĩnh vực khác nhau tuy nhiên giá thành của chúng cao. Vì thế nano bạc là một lựa chọn hàng đầu cho các nhà nghiên cứu. Nano bạc có rất nhiều tính chất khác hẳn với bạc khối như tính chất quang, từ, điện... nhưng đặc trưng nhất của nano bạc là tính kháng khuẩn. Nano bạc có khả năng giết chết hơn 650 loại vi khuẩn khác nhau chỉ trong vòng một phút. Tất cả các vi khuẩn không bị lờn với kháng sinh bạc và vì thế, các hạt nano bạc không bị mất tác dụng. Ngoài ra, các hạt nano bạc cũng sẽ giúp tạo ra các oxygen hoạt tính từ trong không khí hoặc từ trong nước và từ đó phá hủy các màng tế bào của vi khuẩn. Các hạt nano bạc đã được đưa vào mọi chất dẻo và ứng dụng khá rộng rãi trong đời sống. Nano bạc được đưa vào các polymer như polyetylen (PE), polypropylen (PP), các loại giấy, vải, nhựa... có khả năng giết chết các loại vi khuẩn: tụ cầu khuẩn vàng, *Bacillus pneumoniae*, *E. Coli*.

Hạt nano Ag có thể được tổng hợp bằng nhiều phương pháp khác nhau như: phân hủy nhiệt [6], phương pháp polyol [2], khử hóa học [1], phương pháp bức xạ [2], dịch

chiết từ dược liệu [9], [10], trong đó phương pháp khử hóa học bằng các chất khử xanh thân thiện không độc hại đang được quan tâm nhiều hơn do đơn giản, dễ thực hiện, không độc hại đặc biệt là các hạt nano bạc có kích thước nhỏ và độ ổn định cao. Vì thế đề tài “Nghiên cứu tổng hợp dung dịch keo nano bạc thử hoạt tính kháng khuẩn và kích ứng da trên thỏ” được chọn và nghiên cứu. Nhóm chúng tôi tiến hành nghiên cứu tổng hợp dung dịch keo nano bạc bằng phương pháp khử hóa học với chất khử và trợ phân bố trisodium citrate (TSC) trong dung môi glycerine có sự hỗ trợ của gia nhiệt, bạc nitrat (AgNO_3), chất bảo vệ polyvinylpyrrolidone (PVP, M_w : 40.000 g/mol). Các thông số ảnh hưởng tới kích thước của các hạt nano bạc đã được nghiên cứu. Hình dạng, cấu trúc và sự phân bố các hạt nano bạc trong dung dịch sau khi tổng hợp được phân tích bởi phổ UV-Vis, kính hiển vi điện tử truyền qua TEM và nhiễu xạ XRD. Khảo sát hoạt tính sinh học và tính kích ứng trên da thỏ.

Received: December 30th, 2020

Accepted: May 4th, 2021

*Corresponding Author

Email: nguyensexuanchuong1010@gmail.com

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Hóa chất được dùng trong quá trình tổng hợp dung dịch keo nano bạc: trisodium citrate (TSC)-Ấn, bạc nitrat (AgNO_3)- Đức, nước cất, chất bảo vệ polyvinylpyrrolidone (PVP, M_w : 40.000 g/mol)- Ấn.

2.2 Chế tạo dung dịch keo nano đồng

Cho 0,2 g PVP và 20 mL glycerine vào becher 100ml sau khuấy trên máy khuấy từ đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất. Sau đó cho thêm 1 lượng TSC đã định trước và khuấy đều trong 1 phút để tạo hỗn hợp phản ứng với dung dịch PVP, gia nhiệt đến nhiệt độ khảo sát nhỏ từ từ dung dịch AgNO_3 0,2 M vào hỗn hợp theo lượng xác định. Tiếp tục khuấy đều khoảng 5 phút. Nhận biết kết thúc phản ứng bằng màu vàng đặc trưng của dung dịch.

2.3 Phương pháp phân tích

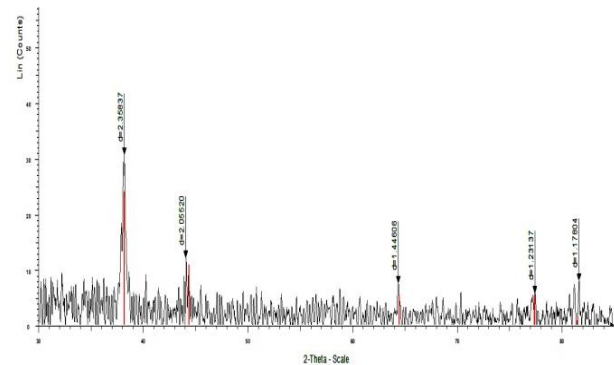
Tính chất quang học của nano bạc được xác định bằng Phổ UV-Vis trên máy UV Thermo EVO300 PC tại bộ môn Hóa phân tích-Kiểm nghiệm, Khoa Dược, Đại học Lạc Hồng.

Hình thái kích thước các hạt nano bạc được xác định từ ảnh TEM đo trên máy JEM-1400, Nhật Bản tại Trường Đại học Bách Khoa-TP. Hồ Chí Minh.

Cấu trúc của nano đồng được xác định bằng giản đồ nhiễu xạ XRD đo trên máy D8 Advance-Bruker, Đức tại Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng - TP. Hồ Chí Minh

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 Kết quả chế tạo hạt nano bạc



Hình 1. Giản đồ nhiễu xạ XRD của nano bạc

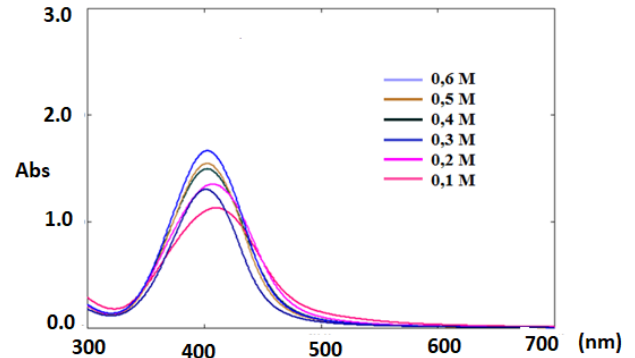
Mẫu nano bạc tổng hợp với thông số: nồng độ TSC 0,3 M, nhiệt độ 60°C , thời gian phản ứng 3 phút, tỷ lệ Ag^+/PVP là 3% được sử dụng để xác định giản đồ nhiễu xạ của hạt nano bạc. Từ kết quả XRD trên hình 1 cho thấy 5 đỉnh có cường độ cao nhất hoàn toàn trùng hợp với phổ chuẩn của kim loại Ag tại vị trí giá trị các góc $2\theta = 38^\circ$ ($d = 2.35837\text{\AA}$); $44,2^\circ$ ($d = 2.05520\text{\AA}$); $64,4^\circ$ ($d = 1.44606\text{\AA}$); $77,6^\circ$ ($d = 1.23137\text{\AA}$) và $81,6^\circ$ ($d = 1.17804\text{\AA}$) tương ứng với các mặt $\{111\}$, $\{200\}$, $\{220\}$, $\{311\}$ và $\{222\}$ thuộc ô mạng Bravais trong cấu trúc FCC của kim loại Ag.

3.2 Kết quả khảo sát dung dịch keo nano bạc

Tiến hành khảo sát theo 4 thông số: Nồng độ chất khử, nhiệt độ, thời gian phản ứng, tỷ lệ Ag^+/PVP đến quá trình tổng hợp dung dịch keo nano bạc.

Ảnh hưởng của nồng độ chất khử

Quá trình khảo sát nồng độ TSC được thực hiện với các thông số cụ thể như sau: 0,2 g PVP định lượng từ dung dịch PVP (2 g/200mL glycerine), nhiệt độ cố định 50°C , lượng AgNO_3 được xác định từ dung dịch AgNO_3 0,2 M đảm bảo đủ tỷ lệ Ag^+/PVP là 3%. Nồng độ chất khử TSC thay đổi từ 0,1 M - 0,6 M.

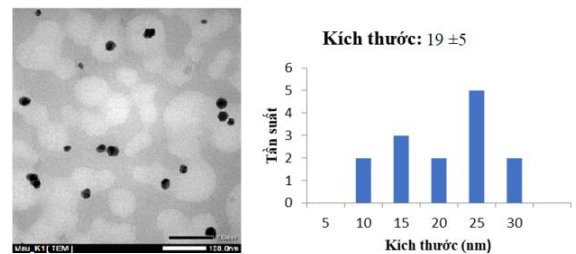


Hình 2. Phổ UV-Vis của hạt nano bạc được tổng hợp theo sự thay đổi của nồng độ chất khử TSC 0,1 M; 0,2 M; 0,3 M; 0,4 M; 0,5 M; 0,6 M

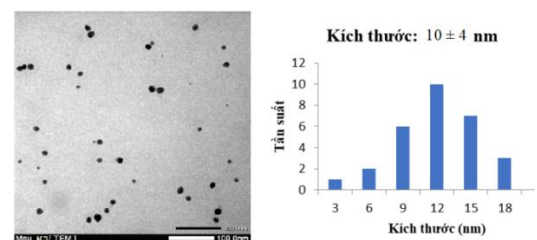
Kết quả phân tích UV-Vis cho thấy, khi nồng độ của chất khử TSC thấp, phản ứng diễn ra chậm, lượng hạt nhân sinh ra ít dần đến giai đoạn phát triển hạt kéo dài nên các hạt nano bạc dễ kết tụ lại với nhau và tạo hạt lớn. Cụ thể ở các nồng độ TSC 0,1 M và 0,2 M đỉnh hấp thụ cực đại lần lượt là 412 nm và 410 nm.

Khi tăng nồng độ chất khử, thì vị trí các đỉnh hấp thụ dịch chuyển về phía bước sóng nhỏ hơn với giá trị ổn định trong khoảng 400 nm đến 401 nm, giá trị tương ứng lần lượt là: 400 nm (0,3 M) 401 nm (0,4M), 401 nm (0,4 M), 400 nm (0,5 M), 401 nm (0,5 M). Giá trị bước sóng này, cho phép dự đoán các hạt nano bạc tạo ra có kích thước nhỏ ổn định và ít thay đổi khi nồng độ chất khử tăng cao. Điều này có thể giải thích bởi ngoài vai trò chất khử thì TSC khi dùng dư còn đóng vai trò làm chất bảo vệ điện tích giúp ổn định các hạt nano tạo ra. Do vậy, kích thước hạt nano tạo ra sẽ không thay đổi khi nồng độ chất khử TSC tăng cao đến 0,6 M.

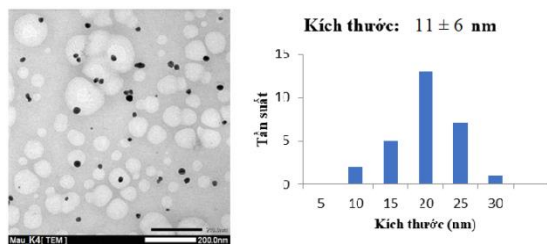
Kết quả dự đoán sự thay đổi kích thước hạt nano bạc từ UV-Vis được kiểm chứng bằng ảnh TEM cho kết quả như trên hình 3, hình 4 và hình 5.



Hình 3. Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt nano bạc sử dụng chất khử TSC có nồng độ 0,1 M



Hình 4. Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt nano bạc sử dụng chất khử TSC có nồng độ 0,3 M

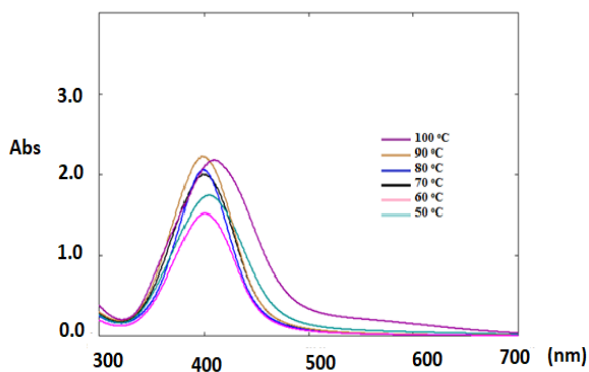


Hình 5. Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt nano bạc sử dụng chất khử TSC có nồng độ 0,4 M

Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt cho thấy, các hạt nano bạc tạo ra chủ yếu ở dạng cầu, phân bố đều trong phạm vi kích thước 19 ± 5 nm (hình 3), 10 ± 4 nm (hình 4), 11 ± 6 nm (hình 5) lần lượt tương ứng với nồng độ chất khử 0,1 M, 0,3 M và 0,4 M. Sự thay đổi kích thước trên ảnh TEM hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích UV-Vis trên hình 2.

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Quá trình thực hiện khảo sát nhiệt độ với các thông số cụ thể như sau: 0,2 g PVP định lượng từ dung dịch PVP (2 g/200 mL glycerine), chất khử TSC cố định ở 0,3 M, lượng AgNO_3 được xác định từ dung dịch AgNO_3 0,2 M đảm bảo đủ tỷ lệ Ag^+/PVP là 3%. Nhiệt độ của quá trình khảo sát thay đổi từ 50°C - 100°C .



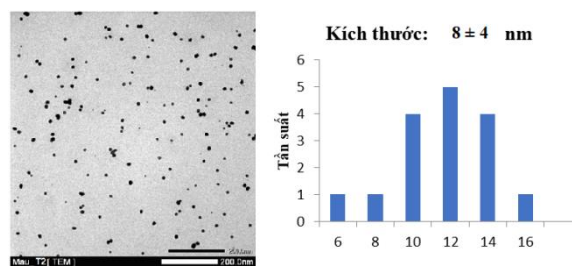
Hình 6. Phổ UV-Vis của dung dịch keo nano bạc tổng hợp theo nhiệt độ.

Kết quả phân tích UV-Vis hình 6 cho thấy rằng, khi thay đổi nhiệt độ thì vị trí các đỉnh hấp thụ cực đại có sự dịch chuyển với giá trị bước sóng theo quy luật từ lớn sau đó nhỏ dần và rồi lại tăng lớn với giá trị bước sóng lần lượt 50°C (409 nm), 60°C (401 nm), 70°C (399 nm), 80°C (400 nm), 90°C (401 nm) và 100°C (413 nm). Kết quả này cho phép dự đoán các hạt nano bạc tạo thành có sự thay đổi kích thước theo giá trị nhiệt độ khác nhau. Cụ thể, khi quá trình tổng hợp nano bạc diễn ra ở nhiệt độ thấp (50°C) phản ứng diễn ra chậm, lượng hạt nhân sinh ra ít dẫn đến giai đoạn phát triển hạt kéo dài nên các hạt nano bạc dễ kết tụ lại với nhau và tạo hạt lớn.

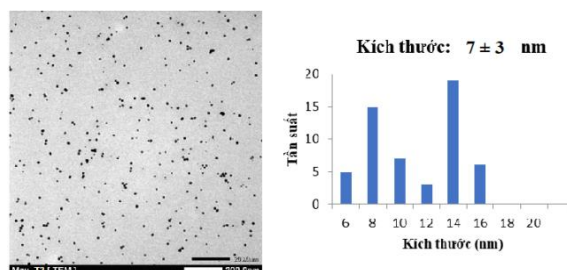
Khi tăng tiếp nhiệt độ từ $60 - 90^\circ\text{C}$ vị trí các đỉnh hấp thụ dịch chuyển về phía bước sóng nhỏ hơn với giá trị ổn định trong khoảng 399 nm đến 401 nm. Giá trị bước sóng này cho phép dự đoán các hạt nano bạc tạo ra có kích thước nhỏ ổn định và ít thay đổi vì lúc này tốc độ phản ứng phù hợp.

Khi nhiệt độ phản ứng quá cao (100°C), tốc độ phản ứng diễn ra nhanh, lượng hạt nhân sinh ra nhiều và dẫn đến có sự linh động lớn của bề mặt hạt nhân và mầm tinh thể và các hạt nano tạo thành cũng có sự linh động. Do đó, chúng dễ dàng va chạm và kết tụ để hình thành các hạt lớn hơn.

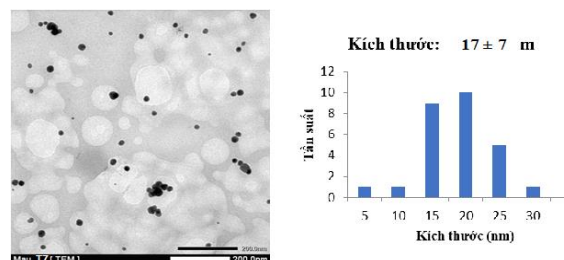
Kết quả dự đoán sự thay đổi kích thước hạt nano bạc từ UV-Vis được kiểm chứng bằng ảnh TEM cho kết quả như trên hình 7, hình 8 và hình 9.



Hình 7. Ảnh TEM và giản đồ sự phân bố kích thước của hạt nano bạc tổng hợp ở nhiệt độ 60°C



Hình 8. Ảnh TEM và giản đồ sự phân bố kích thước của hạt nano bạc tổng hợp ở nhiệt độ 70°C

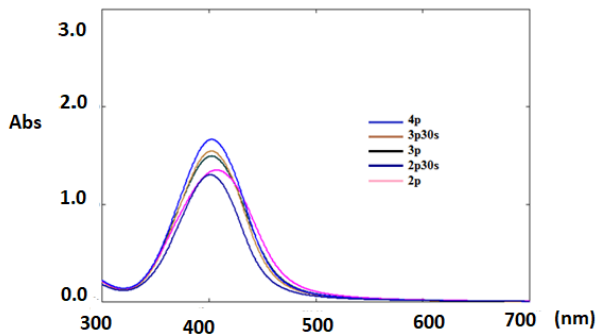


Hình 9. Ảnh TEM và giản đồ sự phân bố kích thước của hạt nano bạc tổng hợp ở nhiệt độ 100°C

Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt cho thấy, các hạt nano bạc tạo ra chủ yếu ở dạng cầu, phân bố đều trong phạm vi kích thước 8 ± 4 nm (hình 7), 7 ± 3 nm (hình 8), 17 ± 7 nm (hình 9) lần lượt tương ứng với nhiệt độ phản ứng 60°C , 70°C , 100°C . Sự thay đổi kích thước trên ảnh TEM hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích UV-Vis trên hình 6.

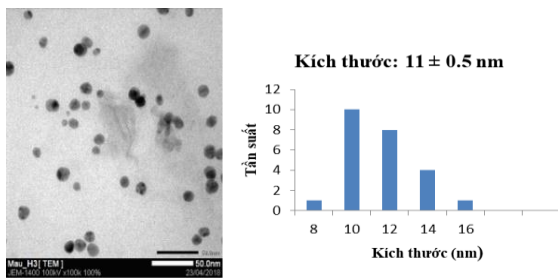
Ảnh hưởng thời gian phản ứng

Quá trình thực hiện khảo sát thời gian phản ứng với các thông số cụ thể như sau: 0,2 g PVP định lượng từ dung dịch PVP (2 g/200 mL glycerine), chất khử TSC cố định ở 0,3 M, lượng AgNO_3 được xác định từ dung dịch AgNO_3 0,2 M đảm bảo đủ tỷ lệ Ag^+/PVP là 3%, nhiệt độ phản ứng cố định 60°C , thời gian phản ứng thay đổi theo các số liệu cụ thể.

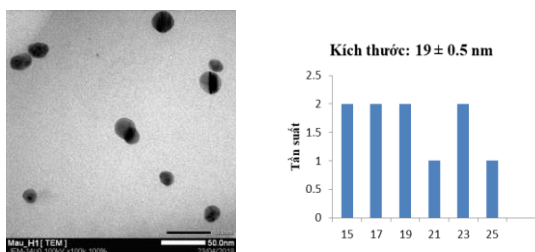


Hình 10. Phổ UV-Vis của dung dịch keo nano bạc được tổng hợp theo các khoảng thời gian 2p, 2p30s, 3p, 3p30s, 4p

Phân tích UV-Vis cho kết quả như trên hình 10. Kết quả cho thấy, khi thời gian phản ứng ngắn (2 phút) tương đương với đỉnh hấp thụ cực đại là 408 nm. Khi đạt thời gian từ 3 phút trở lên thì các đỉnh hấp thụ dịch chuyển về phía có bước sóng nhỏ giao động ổn định trong khoảng 400 - 402 nm, cụ thể ở 2 phút 30 giây (402 nm), 3 phút (401 nm), 3 phút 30 giây (401 nm) và 4 phút (400 nm). Từ kết quả trên, cho phép dự đoán rằng, khi đạt được thời gian phản ứng thích hợp thì các hạt nano tạo ra được ổn định về mặt không gian và điện tích do quá trình các hạt nano liên kết với chất bảo vệ là PVP và chất khử vừa nắm vai trò là chất trợ bảo vệ TSC có đủ thời gian giúp ổn định hạt nano hoặc khi chất bảo vệ TSC dư thì sẽ quay lại làm chất bảo vệ. Ngược lại, ở thời gian phản ứng ngắn thì các hạt nano tạo ra chưa được ổn định nên dẫn đến sự va chạm và kết tụ tạo các hạt lớn.



Hình 11. Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt nano bạc với thời gian 3 phút.



Hình 12. Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt nano bạc với thời gian 2 phút

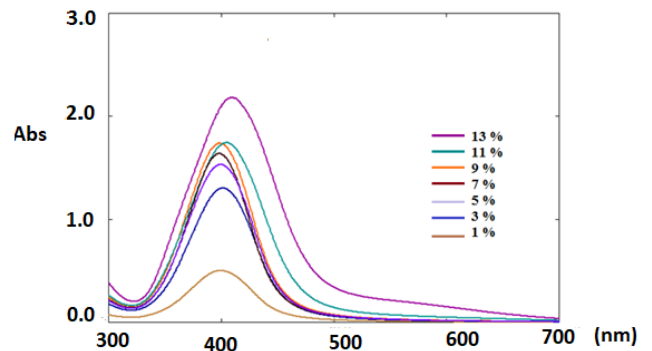
Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt cho thấy, các hạt nano bạc tạo ra chủ yếu ở dạng tựa cầu, phân bố đều trong phạm vi kích thước $11 \pm 0,5$ nm (hình 11), $19 \pm 0,5$ nm (hình 12), lần lượt tương ứng với thời gian phản ứng 2 phút và 3 phút. Sự thay đổi kích thước trên ảnh TEM hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích UV-Vis trên hình 8. Điều đó chứng tỏ rằng thời gian tổng hợp cũng là yếu

tố quan trọng ảnh hưởng đến kích thước hạt. Từ khảo sát trên giúp ta chọn được thời gian tổng hợp thích hợp.

Ảnh hưởng của tỷ lệ Ag^+/PVP

Quá trình thực hiện khảo sát tỷ lệ Ag^+/PVP với các thông số cụ thể như sau:

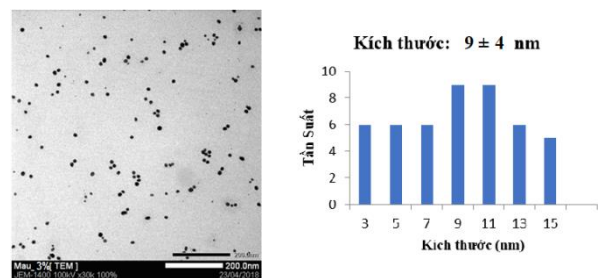
0,2 g PVP định lượng từ dung dịch PVP (2 g/200 mL glycerine), chất khử TSC cố định ở 0,3 M, nhiệt độ phản ứng cố định $60^\circ C$, thời gian thực hiện các phản ứng là 3 phút. Lượng $AgNO_3$ được xác định từ dung dịch $AgNO_3$ 0,2 M đảm bảo đủ các tỷ lệ Ag^+/PVP : 1%, 3%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13%.



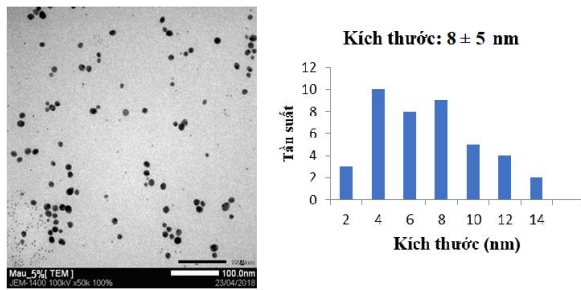
Hình 13. Phổ UV-Vis của dung dịch keo nano bạc tổng hợp theo tỷ lệ Ag^+/PVP 1 %, 3%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13%

Kết quả phân tích UV-Vis trên hình 13 cho thấy rằng, khi tăng tỷ lệ Ag^+/PVP thì cường độ các đỉnh hấp thụ cực đại cũng tăng dần, và vị trí các đỉnh hấp thụ có sự thay đổi với giá trị cụ thể như sau: 1% (400 nm), 3% (402 nm), 5% (401 nm), 7% (400 nm), 9% (400 nm), 11% (407 nm), 13% (412 nm). Từ kết quả trên, cho phép dự đoán rằng, khi tỷ lệ giữa Ag^+/PVP từ 11% đến 13% ghi nhận được các đỉnh hấp thụ lần lượt 400nm đến 402 nm, thì các hạt nano tổng hợp được có kích lớn. Điều này có thể giải thích khi hàm lượng Ag^+ tăng cao, các hạt nano tạo ra với số lượng nhiều vượt lên so với hàm lượng của chất bảo vệ và các hạt càng nhiều thì tỷ lệ va chạm giữa các hạt cao do đó dẫn đến hiện tượng kết tụ và tạo hạt to.

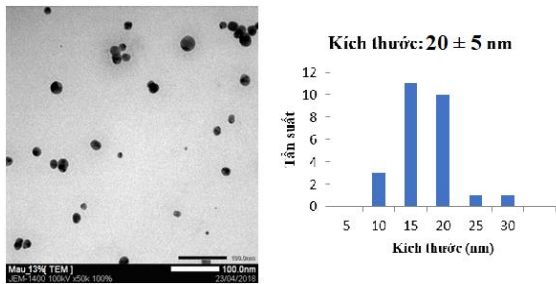
Kết quả dự đoán sự thay đổi kích thước hạt nano bạc từ UV-Vis được kiểm chứng bằng ảnh TEM cho kết quả như trên hình 14, hình 15 và hình 16.



Hình 14. Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt nano bạc tổng hợp ở tỷ lệ 3 % Ag^+/PVP



Hình 15. Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt nano bạc tổng hợp ở tỷ lệ 5 % Ag+/PVP



Hình 16. Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt nano bạc tổng hợp ở tỷ lệ 13 % Ag+/PVP

Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt cho thấy, các hạt nano bạc tạo ra chủ yếu ở dạng cầu, phân bố đều trong phạm vi kích thước 9 ± 04 nm (hình 14), 8 ± 5 nm (hình 15), 20 ± 5 nm (hình 16), lần lượt tương ứng với tỷ lệ Ag⁺/PVP lần lượt là 3 %, 5 %, và 13 %. Sự thay đổi kích thước trên ảnh TEM hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích UV-Vis trên hình 13. Điều đó chứng tỏ rằng tỷ lệ Ag⁺/PVP là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hình dạng và kích thước hạt nano bạc.

3.3. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn

Nhóm tác giả gửi mẫu nano bạc đã tổng hợp thử hoạt tính kháng khuẩn tại viện Pasteur TP.HCM, dung dịch keo nano Ag có hoạt tính kháng 6 loại vi khuẩn *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumonia* kết quả như sau:

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc tại Viện Pasteur TP.HCM

Vi sinh vật thử nghiệm	Nồng độ vi sinh vật thử nghiệm (CFU/ml)	Sau khi tiếp xúc 1 giờ	
		VSV còn sống (CFU/ml)	Tỉ lệ diệt khuẩn (%)
Salmonella typhi	$1,2 \cdot 10^6$	360	99,97
Staphylococcus aureus	$1,5 \cdot 10^6$	12.000	99,20
Escherichia coli	$1,9 \cdot 10^6$	800	99,96
Pseudomonas aeruginosa	$1,9 \cdot 10^6$	1.900	99,90
Shigella flexneri	$1,5 \cdot 10^6$	640	99,96
Klebsiella pneumonia	$5,2 \cdot 10^6$	2.200	99,96

Kết quả thử hoạt tính sinh học trên bảng 1 cho thấy dung dịch keo nano bạc có tính kháng khuẩn cao (>99%), vì thế dung dịch nano bạc có thể được nghiên cứu để chế tạo ra các dòng sản phẩm kháng khuẩn.

3.4. Kết quả thử hoạt tính kích ứng da của dung dịch nano bạc

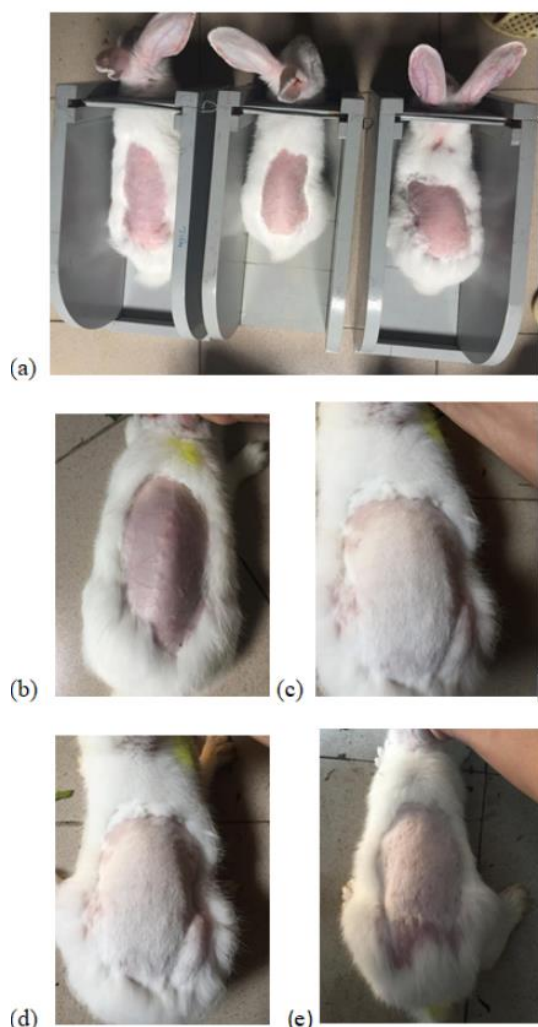
Mẫu nano bạc tổng hợp với thông số: nồng độ TSC 0,3 M, nhiệt độ 60°C, thời gian phản ứng 3 phút, tỷ lệ Ag⁺/PVP là 5 % với kích thước hạt trung bình 8 ± 5 nm sử dụng để thử kích ứng da thu được kết quả như sau:

Quan sát và ghi điểm

Bảng 2. Mức độ kích ứng trên da thỏ

Thỏ	Mẫu	24h	48h	72h
1	Thử	0	0	0
	Chứng	0	0	0
2	Thử	0	0	0
	Chứng	0	0	0
3	Thử	0	0	0
	Chứng	0	0	0

Sau các khoảng thời gian quan sát kích ứng trên da thỏ ở các thời điểm ta nhận thấy được sản phẩm dung dịch nano bạc tổng hợp được hoàn toàn không gây bất kỳ kích ứng nào trên da. Điều đó giúp chúng tôi có thể định hướng và phát triển sản phẩm sử dụng tiếp xúc trực tiếp trên da một cách an toàn như: gel diệt khuẩn, các loại thuốc kem sát khuẩn.



Hình 17. Hình (a) ảnh thỏ sau khi gỡ băng gạc và rửa sạch bằng nước muối sinh lý, Hình ảnh thỏ sau 1 giờ (b), 24 giờ (c), 48 giờ (d), 72 giờ (e)

4. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp thành công dung dịch keo nano bạc có kích thước 8 ± 5 nm bằng phương pháp hóa học với chất khử và trợ phân bố trisodium citrate (TSC) trong dung môi glycerine có sự hỗ trợ của gia nhiệt, bạc nitrat (AgNO_3), chất bảo vệ polyvinylpyrrolidone (PVP, M_w : 40.000 g/mol).

Hạt nano bạc tổng hợp được có thể diệt 6 loại vi khuẩn *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumonia* kết quả đạt (>99%) và không gây kích ứng da.

Kết quả nghiên cứu sẽ được tiếp tục triển khai ứng dụng cho các sản phẩm dược phẩm như: Gel khô kháng khuẩn, nước súc miệng kháng khuẩn,...

5. LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin trân thành cảm ơn Trường Đại học Lạc Hồng đã tạo điều kiện để chúng tôi đề tài nghiên cứu, kết quả đề tài là một phần của đề tài cơ sở với mã số LHU-RF-MP-18-02-2013.

6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Van Du Cao, Xuan Chuong Nguyen, Phong Nguyen Thi Phuong, *Synthesis and characterization of colloidal copper nanoparticles in water solvent*, Journal of Science and Technology, **2014**, 52(4D), 195 -204.
- [2] Bui Duy Du, Dang Van Phu, Nguyen Ngoc Duy, Nguyen Thi Kim Lan, Nguyen Võ Kim Lang, Ngo Võ Ke Thanh, Nguyen Thi Phuong Phong and Nguyen Quoc Hien, *Preparation of colloidal silver nanoparticles in poly(N-vinylpyrrolidone) by γ -irradiation*, Journal of Experimental Nanoscience, **2008**, Vol. 3, No. 3, pp. 207-213.
- [3] Nguyen Thi Phuong Phong, Vo Ke Thanh, Phan Hue Phuong, *Fabrication of antibacterial water filter by coating silver nanoparticles on flexible polyurethane foams*, Journal of Physics, **2009**, pp. 315-322.
- [4] Nguyen Thi Phuong Phong, Ngo Hoang Minh, Ngo Vo Ke Thanh and Dang Mau Chien, *Green synthesis of silver nanoparticles and silver colloidal solutions*, advances in Natural Sciences, **2008**, vol. 9, No. 3, pp. 858-865.
- [5] N. H. H. Abu Bakar, J. Ismail, M. Abu Bakar, *Synthesis and characterization of silver nanoparticles in natural rubber*, Materials Chemistry and Physics, **2007**, pp. 276-283.
- [6] S. Navaladian, B. Viswanathan, R. P. Viswanath, T. K. Varadarajan *Thermal decomposition as route for silver nanoparticles*, Nanoscale Res Lett, **2007**, pp. 44-48.
- [7] Sougata Sarkar, Atish Dipankar Jana, Samir Kumar Samanta, Golam Mostafa, *Facile synthesis of silver nanoparticles with highly efficient anti-microbial property*, Polyhedron, **2007**, pp. 4419-4426.
- [8] X. Chen, H. J. Schluesener, *Nanosilver: A nanoparticle in medical application*, Toxicology Letters, **2008**, pp. 1-12.
- [9] Mahmoodreza Behravan, et al, *Facile green synthesis of silver nanoparticles using Berberis vulgaris leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity"*, **2018**.
- [10] Ahluwalia, et al, *silver particle synthesis using Swertia paniculata herbal extract and its antimicrobial activity*, Microbial Pathogenesis, **2018**, 114: p. 402-408.