

# Nghiên cứu tổng hợp xanh hóa nano bạc từ cao chiết cây Cúc leo (*Mikania micrantha* Kunth)

Nguyễn Quốc Trung<sup>1,2</sup>, Nguyễn Anh Thu<sup>1,2</sup>, Trịnh Thiên<sup>1,2</sup>, Phạm Ngọc Thạch<sup>1,2,3</sup>, Lê Hữu Thọ<sup>1,2,3\*</sup>, Võ Quốc Khương<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 227 Nguyễn Văn Cừ, phường 4, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Phòng Thí nghiệm Phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 12/5/2023; ngày chuyển phản biện 16/5/2023; ngày nhận phản biện 26/5/2023; ngày chấp nhận đăng 11/6/2023

## **Tóm tắt:**

Trong nghiên cứu này, hạt nano bạc được tổng hợp xanh hóa với cao chiết cây Cúc leo (*Mikania micrantha* Kunth) có vai trò là tác nhân khử tiền chất bạc nitrate và polyvinyl pyrrolidone (PVP) là chất ổn định. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành và phát triển của hạt nano bao gồm nồng độ bạc nitrate, nồng độ cao chiết và thời gian phản ứng được khảo sát với mục tiêu tạo ra hạt nano bạc có hình dạng và kích thước mong muốn. Điều kiện thích hợp để tổng hợp nano bạc từ cao chiết cây Cúc leo bao gồm: nồng độ  $\text{AgNO}_3$  0,030 M, nồng độ cao chiết là 2,50 mg/ml, thời gian phản ứng là 90 phút tại nhiệt độ phòng. Thông qua kết quả quang phổ - tử ngoại khả kiến (UV-Vis), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM), kính hiển vi điện tử truyền qua phân giải cao (HR-TEM), kính hiển vi điện tử quét (SEM), phổ phân tán năng lượng tia X (EDS), tán xạ ánh sáng động (DLS) và thế zeta cho thấy đã tổng hợp thành công hạt nano bạc có dạng cầu, kích thước trung bình khoảng 47,1 nm. Nano bạc được tổng hợp từ cao chiết cây Cúc leo thân thiện với môi trường hứa hẹn sẽ mang lại nhiều tiềm năng ứng dụng trong tương lai.

**Từ khóa:** *Mikania micrantha* Kunth, nano bạc, polyvinylpyrrolidone.

**Chỉ số phân loại:** 2.4, 2.9

## Environmentally friendly synthesis of silver nanoparticles using *Mikania micrantha* Kunth extract

Quoc Trung Nguyen<sup>1,2</sup>, Anh Thu Nguyen<sup>1,2</sup>, Thien Trinh<sup>1,2</sup>, Ngoc Thach Pham<sup>1,2,3</sup>, Huu Tho Le<sup>1,2,3\*</sup>, Quoc Khuong Vo<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu Street, Ward 4, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Vietnam National University - Ho Chi Minh City, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>Research Lab for Drug Discovery and Development, University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 12 May 2023; revised 26 May 2023; accepted 11 June 2023

## **Abstract:**

In this study, the synthesis of silver nanoparticles using a reduction method that incorporated *Mikania micrantha* Kunth extract as a natural reducing agent, alongside polyvinylpyrrolidone (PVP) for stabilisation purposes. Key factors that influence the size and morphology of the nanoparticles, including the concentrations of silver nitrate, extract concentration, and reaction time, were investigated with the goal of producing Ag nanoparticles with the desired shape and size. Optimal conditions for synthesising the silver nanoparticles from *Mikania micrantha* Kunth extract include using an  $\text{AgNO}_3$  concentration of 0.030 M, an extract concentration of 2.50 mg/ml, and a reaction time of 90 minutes at room temperature. The results obtained from ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), transmission electron microscopy (TEM), high-resolution transmission electron microscopy (HR-TEM), scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), dynamic light scattering (DLS), and zeta potential analysis, silver nanoparticles were successfully produced with an average size of about 47.1 nm. The silver nanoparticles synthesised from *Mikania micrantha* Kunth are environmentally friendly and have promising applications for future developments in nanotechnology.

**Keywords:** *Mikania micrantha* Kunth, polyvinylpyrrolidone, silver nanoparticles.

**Classification numbers:** 2.4, 2.9

\*Tác giả liên hệ: Email: lhtho@hcmus.edu.vn, vqkhuong@hcmus.edu.vn

## 1. Đặt vấn đề

Công nghệ nano đã thu hút được nhiều sự quan tâm trong các lĩnh vực khoa học và công nghệ nhằm phát triển những vật liệu tiên tiến với đặc tính độc đáo [1]. Trong đó, nano bạc (AgNPs) được đặc biệt quan tâm nhờ sở hữu một số đặc tính vượt trội và ứng dụng đa dạng trong các lĩnh vực như điện tử, y học, xúc tác, sản xuất vải, lọc nước và kháng khuẩn [2-5]. Các phương pháp tổng hợp AgNPs bao gồm phương pháp vật lý và phương pháp hóa học. Các phương pháp vật lý đòi hỏi thiết bị phức tạp, chi phí vận hành cao và khó điều chỉnh kích thước hạt đồng đều. Các phương pháp khử hóa học thường được sử dụng phổ biến, tuy nhiên quy trình sử dụng các chất khử hóa học như sodium borohydride, hydrazine, hydroquinone trong dung môi hữu cơ độc hại làm hạn chế các ứng dụng của AgNPs trong lĩnh vực y sinh, gây tác động xấu đến môi trường và sức khỏe con người [6-8]. Do đó, việc tổng hợp xanh hóa nano bạc đang được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu.

Trong những năm gần đây, việc sử dụng các nguồn tài nguyên thiên nhiên, đặc biệt là cao chiết từ thực vật, tế bào vi sinh vật và các polyme sinh học đã phát triển như một giải pháp thay thế đầy hứa hẹn cho quá trình tổng hợp nano bạc [5]. Trong thực vật có một lượng lớn các hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol và flavonoid, có đặc tính khử và khả năng ổn định tốt hạt nano tạo thành. Đồng thời, thực vật và chiết xuất của chúng an toàn để xử lý, ít độc hại và thân thiện với môi trường. Các hợp chất này có thể khử hiệu quả ion kim loại, kiểm soát sự phát triển cũng như độ ổn định của các hạt nano. Từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tổng hợp AgNPs với kích thước, hình dạng và độ ổn định như mong muốn [9].

Cúc leo (*Mikania micrantha* Kunth) thuộc họ Cúc (Asteraceae), phân bố chủ yếu ở châu Âu, Ấn Độ, Đông Nam Á và các đảo thuộc khu vực châu Á - Thái Bình Dương [10]. Ở Việt Nam, cây Cúc leo được tìm thấy một số nơi như Tây Ninh, TP Hồ Chí Minh, Bình Dương và Kiên Giang [11]. Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo về thành phần hóa học đa dạng gồm các hợp chất như polyphenol, flavonoid và terpenoid [12-14]. Thêm vào đó, cao chiết cây Cúc leo đã được báo cáo khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn và điều trị ung thư [15]. Cúc leo hiện đang lan rộng và gây hại cho các loài sinh vật bản địa, gây mất cân bằng sinh thái trong vùng chúng xâm chiếm [16]. Do đó, nghiên cứu chiết tách các hợp chất và đánh giá khả năng tổng hợp nano bạc từ loài cây này là một hướng nghiên cứu tiềm năng, giúp tiết kiệm chi phí và nhằm khai thác một loài thực vật gây hại cho môi trường sinh thái. Nhóm nghiên cứu của A. Biswas và cs (2019) [16] đã thực hiện tổng hợp nano bạc thông qua cao

chiết nước cây Cúc leo ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ, không sử dụng chất hoạt động bề mặt, hạt nano thu được có độ đa phân tán rộng.

Nghiên cứu này khảo sát quá trình tổng hợp nano bạc từ cao chiết cây Cúc leo, với mục tiêu cải thiện quy trình tổng hợp, tạo hạt nano bạc dạng cầu có kích thước nhỏ và độ ổn định cao. Cao chiết methanol cây Cúc leo được sử dụng là chất khử bạc nitrate và polyvinylpyrrolidone được sử dụng với vai trò là chất hoạt động bề mặt. Nồng độ bạc nitrate, nồng độ cao chiết và thời gian phản ứng được khảo sát để tối ưu hóa quá trình tổng hợp. Các phương pháp như UV-Vis, TEM, HR-TEM, SEM, EDS, DLS và thế zeta đã được sử dụng để phân tích AgNPs. Hạt nano tạo thành trong phương pháp tổng hợp này có kích thước hạt tương đối nhỏ, cải thiện thời gian phản ứng và độ phân tán của hệ dung dịch keo.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

Phần trên mặt đất cây Cúc leo được thu hái tại Dĩ An, Bình Dương vào tháng 6/2022. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Bộ môn Hóa dược, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh (MDC9100). Bạc nitrate ( $\text{AgNO}_3$ , 99,9%) được mua từ Merck (Đức). Polyvinylpyrrolidone (PVP,  $M=30.000$  g/mol) có xuất xứ từ Sigma-Aldrich (Mỹ). Methanol (>99%) từ Scharlau (Thái Lan) và các hóa chất cần thiết khác với độ tinh khiết >99%.

### 2.2. Điều chế cao chiết cây Cúc leo

Phần trên mặt đất cây Cúc leo sau khi thu hái, được sấy khô ở  $50^\circ\text{C}$  cho đến khi khối lượng không đổi (độ ẩm <10%) và cắt nhỏ. Sau đó, 250 g Cúc leo được tiến hành chiết Soxhlet với dung môi methanol. Cao chiết thu được được cô quay chân không thu hồi dung môi và thu được cao chiết Cúc leo với độ ẩm 12,1%.

### 2.3. Định tính thành phần hóa học có trong cao chiết cây Cúc leo

Các thí nghiệm định tính các thành phần polyphenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, terpenoid và saponin được tiến hành theo “Kiểm nghiệm dược liệu” của N.T.T. Mai (2020) [17].

### 2.4. Tổng hợp nano bạc (AgNPs) từ cao chiết cây Cúc leo

Trong một quy trình điển hình, 14,0 ml dung dịch polyvinylpyrrolidone (PVP) (1,0% w/v) được trộn với 2,0 ml dung dịch bạc nitrate  $\text{AgNO}_3$  0,030 M. Đồng thời, cao

chiết cây Cúc leo được hòa tan trong nước khử ion ở nồng độ 2,00 mg/ml và điều chỉnh pH 9 bằng dung dịch NaOH 0,1 M. Sau đó, 8,0 ml dung dịch cao chiết trên được cho vào hỗn hợp trong khi khuấy từ với tốc độ 300 vòng/phút, tiếp tục khuấy thêm 30 phút để phản ứng xảy ra. Dung dịch chuyển dần từ vàng nhạt, đậm dần và sang vàng nâu. Nồng độ AgNO<sub>3</sub>, nồng độ cao chiết và thời gian phản ứng được khảo sát với các điều kiện trong bảng 1.

**Bảng 1. Yếu tố khảo sát quá trình tổng hợp AgNPs.**

Yếu tố khảo sát	Nồng độ AgNO <sub>3</sub> (M)	Nồng độ cao chiết (mg/ml)	Thời gian phản ứng (phút)
Nồng độ AgNO <sub>3</sub>	0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,030; 0,035	2,00	30
Nồng độ cao chiết	0,030	1,50; 1,75; 2,00; 2,25; 2,50; 2,75	30
Thời gian phản ứng	0,030	2,50	30, 60, 90, 120, 150

### 2.5. Phân tích đặc tính của AgNPs

**Tính chất quang của dung dịch keo AgNPs:** Quang phổ UV-Vis của dung dịch keo AgNPs được phân tích trên thiết bị UV-Vis NIR-V60 (Jasco, Nhật Bản). Phổ được quét trong khoảng bước sóng từ 350 đến 800 nm với tốc độ quét 200 nm/phút sử dụng cuvette thạch anh (độ rộng 1 cm).

**Hình thái và kích thước hạt:** Hình thái bề mặt hạt nano được quan sát bằng ảnh FE-SEM trên máy JEOL JSM-7600F (Mỹ) có tích hợp phổ tán sắc năng lượng EDS. Kích thước hạt được xác định bằng phần mềm ImageJ thông qua ảnh SEM. Phổ EDS được tiến hành để phân tích độ tinh khiết của sản phẩm AgNPs, mẫu được phân tích trên thiết bị JEOL JSM 7600F (Mỹ) tại thế hoạt động 30 kV.

Bên cạnh đó, kích thước của các hạt AgNPs được xác định bằng kỹ thuật tán xạ ánh sáng động (DLS), quá trình phân tích được thực hiện trên thiết bị Zetasizer SZ-100 (Horiba, Nhật Bản). Mẫu dung dịch keo AgNPs vừa tổng hợp được cho vào cuvette, tiến hành đo ở nhiệt độ 25°C, chế độ đo đa phân tán.

Phương pháp phân tích TEM được sử dụng để đánh giá hình thái hạt AgNPs, sử dụng thiết bị JEM-2100 (JEOL Ltd, Nhật Bản). Đầu tiên, dung dịch keo được phân tán trong ethanol được cho một lượng rất nhỏ lên trên lưới đồng phủ carbon (300 mắt lưới, Ted Pella, Inc., Redding, CA, Mỹ). Dung dịch được để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích với kỹ thuật hiển vi điện tử. Phương pháp phân tích kính hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) được tiến hành trên JEOL ARM 200F (JEOL Ltd, Nhật Bản).

**Thế zeta của dung dịch keo AgNPs:** Thế zeta của dung dịch keo AgNPs được xác định ở khoảng nhiệt độ 25°C sử dụng thiết bị Zetasizer SZ-100 (Horiba, Nhật Bản). Cuvette 3 ml được sử dụng trong quá trình phân tích mẫu và quét ở thế điện cực 3,3 V.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Định tính thành phần hóa học có trong cao chiết cây Cúc leo

Phân tích định tính cao chiết cây Cúc leo được thực hiện nhằm nhận biết sự hiện diện của các nhóm chất polyphenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, terpenoid và saponin có trong cây Cúc leo. Như trong bảng 2, polyphenol, flavonoid, tanin, steroid và terpenoid là các nhóm chất có trong cao chiết cây Cúc leo, trong khi alkaloid và saponin không có.

**Bảng 2. Kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên có trong cao chiết cây Cúc leo.**

Nhóm chất	Phương pháp	Hiện tượng	Kết quả
Polyphenol	Folin-Ciocalteu	Dung dịch màu xanh dương	+++
Flavonoid	Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	Kết tủa màu vàng	+++
Alkaloid	Dragendorff	Không hiện tượng	-
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Kết tủa xanh dương	++
Steroid	Liebermann-Burchard	Dung dịch màu xanh dương	+++
Terpenoid	Salkowski	Vệt nâu đỏ giữa 2 lớp dung dịch	+
Saponin	Tạo bọt	Không hiện tượng	-

Ghi chú: (-): Phản ứng âm tính; (+): Phản ứng dương tính; (++) : Phản ứng dương tính rõ; (+++): Phản ứng dương tính rất rõ.

Công bố trước đây cho thấy, nhóm hợp chất polyphenol và flavonoid có các hoạt tính sinh học độc đáo như kháng khuẩn, kháng virus, kháng oxy hóa và kháng viêm. Đặc biệt, polyphenol có thể ức chế virus SARS-CoV-2 nhờ khả năng liên kết với các thụ thể trên bề mặt của virus [18, 19]. Tanin đã được chứng minh là có khả năng làm giảm tổn thương mô do thiếu máu cục bộ, ngăn ngừa cục máu đông, giảm cholesterol LDL (low-density lipoprotein) và tăng cholesterol HDL (high-density lipoprotein) [20]. Terpenoid có khả năng loại bỏ các gốc tự do và bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do stress oxy hóa. Quá trình này mang lại nhiều lợi ích khác nhau, bao gồm giảm nguy cơ mắc các bệnh mạn tính, chống ung thư, bảo vệ thần kinh và tim mạch [21]. Kết quả định tính cho thấy cây Cúc leo thu hái tại Việt Nam cũng có các nhóm chất tương tự với công bố trước đây [22]. Ngoài ra, các thành phần có trong cây Cúc leo như flavonoid, terpenoid và polyphenol có khả năng khử ion Ag<sup>+</sup> thành Ag<sup>0</sup>, do đó có thể được sử dụng để tổng hợp các hạt nano bạc (AgNPs) [23].

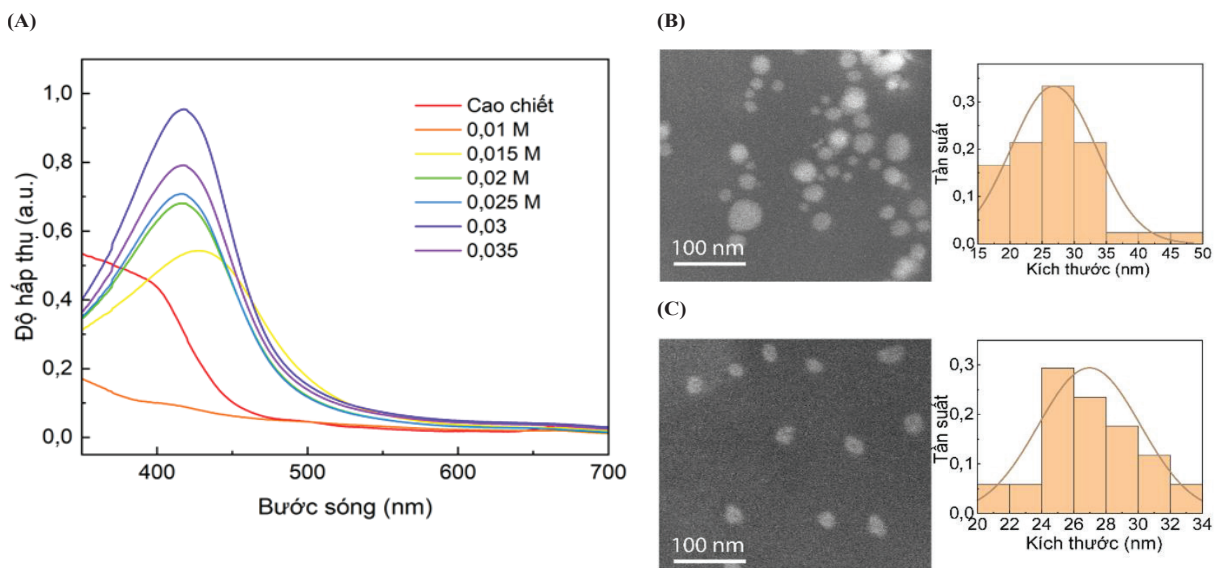
### 3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp AgNPs

*Khảo sát ảnh hưởng nồng độ tiền chất  $AgNO_3$  đến sự hình thành AgNPs:* Nồng độ bạc nitrate đóng vai trò quan trọng trong sự hình thành hạt nano, do tiền chất đóng vai trò là nguồn cung cấp ion  $Ag^+$  cho quá trình khử tạo hạt nano bạc, ảnh hưởng trực tiếp đến số lượng, kích thước, độ phân bố kích thước, và độ ổn định của hệ dung dịch keo. Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch  $AgNO_3$  đến sự hình thành của các hạt AgNPs, các mẫu khác nhau được tổng hợp với nồng độ dung dịch  $AgNO_3$  trong khoảng 0,010-0,035 M, thời gian phản ứng được giữ cố định trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, và nồng độ cao chiết cây Cúc leo trong nước là 2,00 mg/ml. Sự hình thành của dung dịch keo nano bạc được xác nhận thông qua quang phổ UV-Vis (hình 1A). Kết quả cho thấy, các mẫu dung dịch keo AgNPs được tổng hợp với nồng độ dung dịch  $AgNO_3$  từ 0,015 đến 0,030 M xuất hiện đỉnh cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) tại 417 nm với cường độ hấp thụ tăng dần từ 0,68 đến 0,95 a.u.. Điều này dự đoán sự hình thành của các hạt nano bạc dạng cầu [24, 25] và độ hấp thụ tăng cho thấy lượng nano bạc tạo thành với hiệu suất cao nhất khi nồng độ  $Ag^+$  sử dụng là 0,030 M. Khi nồng độ  $Ag^+$  lên 0,035 M, cường độ đỉnh SPR tại 417 nm có sự giảm đáng kể còn 0,79 a.u., có thể giải thích là do ở nồng độ  $Ag^+$  quá cao, không đủ lượng chất khử trong dung dịch để khử  $Ag^+$  tạo thành các hạt nano bạc, từ

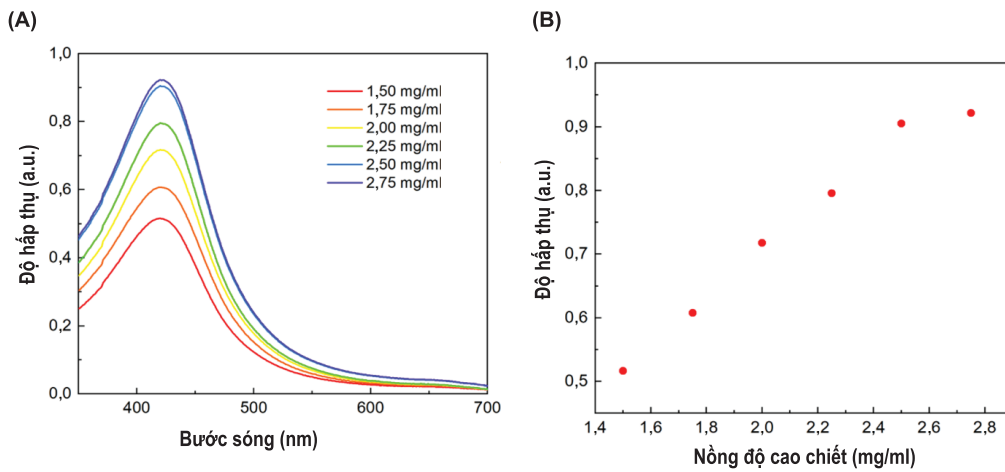
đó làm giảm sự hình thành của các hạt nano bạc. Ảnh SEM (hình 1B) của mẫu được tổng hợp với nồng độ  $Ag^+$  0,030 M xác nhận sự hình thành của dung dịch keo nano Ag dạng cầu với kích thước trung bình  $26 \pm 3$  nm.

Mặt khác, tại nồng độ 0,015 M đỉnh SPR dịch chuyển đỏ sang vùng 427 nm, đỉnh hấp thụ không đối xứng và có cường độ tương đối thấp, điều này dự đoán rằng các hạt nano bạc hình thành với kích thước lớn hơn [26]. Kết quả SEM (hình 1C) tương ứng với nồng độ  $Ag^+$  cho thấy, các hạt nano bạc hình thành với độ đa phân tán cao, kích thước trung bình khoảng  $28 \pm 7$  nm. Khi nồng độ giảm xuống còn 0,01 M, hầu như không quan sát thấy đỉnh SPR trong vùng từ 300 đến 800 nm, cho thấy ở nồng độ ion  $Ag^+$  thấp có thể dẫn đến số lượng nguyên tử Ag hình thành không đáng kể. Dựa vào kết quả quang phổ UV-Vis và ảnh SEM tương ứng có thể lựa chọn nồng độ  $AgNO_3$  thích hợp là 0,03 M để thực hiện nghiên cứu khảo sát tiếp theo.

*Ảnh hưởng nồng độ cao chiết đến sự hình thành của các hạt AgNPs:* Trong quy trình tổng hợp, các thành phần trong cao chiết đóng vai trò chất khử giúp khử ion  $Ag^+$  thành  $Ag^0$  để hình thành các hạt nano bạc, đồng thời đóng vai trò chất bảo vệ giúp các hạt nano bạc ổn định trong dung dịch keo [23]. Chính vì vậy, để xác định nồng độ cao chiết thích hợp, các mẫu với nồng độ cao chiết thay đổi từ 1,50; 1,75; đến 2,75 mg/ml với điều kiện phản ứng như được mô tả trên bảng 1.



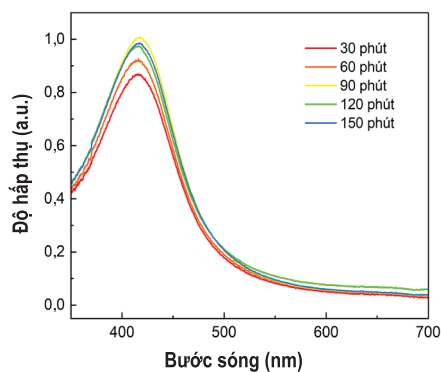
Hình 1. (A) Phổ tử ngoại khả kiến của các dung dịch keo AgNPs với nồng độ  $AgNO_3$  thay đổi từ 0,010; 0,015 đến 0,035 M; ảnh kính hiển vi điện từ quét của AgNPs được tổng hợp ở nồng độ  $AgNO_3$  0,015 M (B), nồng độ  $AgNO_3$  0,030 M (C).



Hình 2. (A) Quang phổ hấp thụ từ ngoại khả kiến của các mẫu được tổng hợp với nồng độ cao chiết từ 1,50; 1,75; đến 2,50 mg/ml, nồng độ  $\text{AgNO}_3$  0,030 M thời gian tổng hợp 30 phút, (B) Biểu đồ thể hiện độ hấp thụ cực đại theo nồng độ cao chiết.

Từ quang phổ UV-Vis (hình 2A), các mẫu cho thấy xuất hiện đỉnh SPR tại 419 nm và không có sự dịch chuyển khi tăng nồng độ cao chiết. Khi nồng độ cao chiết tăng dần từ 1,50 đến 2,50 mg/ml, cường độ hấp thụ tăng đáng kể. Có thể quan sát thấy, độ hấp thụ tăng tuyến tính với sự tăng nồng độ cao chiết (hình 2B). Điều này có thể giải thích do nồng độ cao chiết tăng cung cấp nồng độ chất khử lớn hơn để tạo ra nhiều hạt nano Ag hơn. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ cao chiết lên đến 2,75 mg/ml, cường độ hấp thụ không có sự thay đổi đáng kể, có thể do nồng độ cao chiết quá lớn trong khi lượng tiền chất  $\text{AgNO}_3$  không đổi, quá trình khử tạo nano Ag đã chuyển toàn bộ lượng ion  $\text{Ag}^+$ . Khi đó, không làm thay đổi đáng kể cường độ hấp thụ tại bước sóng tương ứng với plasmon bề mặt của hạt nano Ag. Do đó, nồng độ 2,50 mg/ml là nồng độ thích hợp cho quá trình tổng hợp AgNPs.

*Ảnh hưởng thời gian phản ứng đến sự hình thành của các hạt AgNPs:* Trong nghiên cứu tổng hợp hạt nano Ag



Hình 3. Quang phổ hấp thụ từ ngoại khả kiến của các mẫu tổng hợp với thời gian phản ứng từ 30 phút đến 150 phút, nồng độ cao chiết 2,50 mg/ml, nồng độ  $\text{AgNO}_3$  0,030 M.

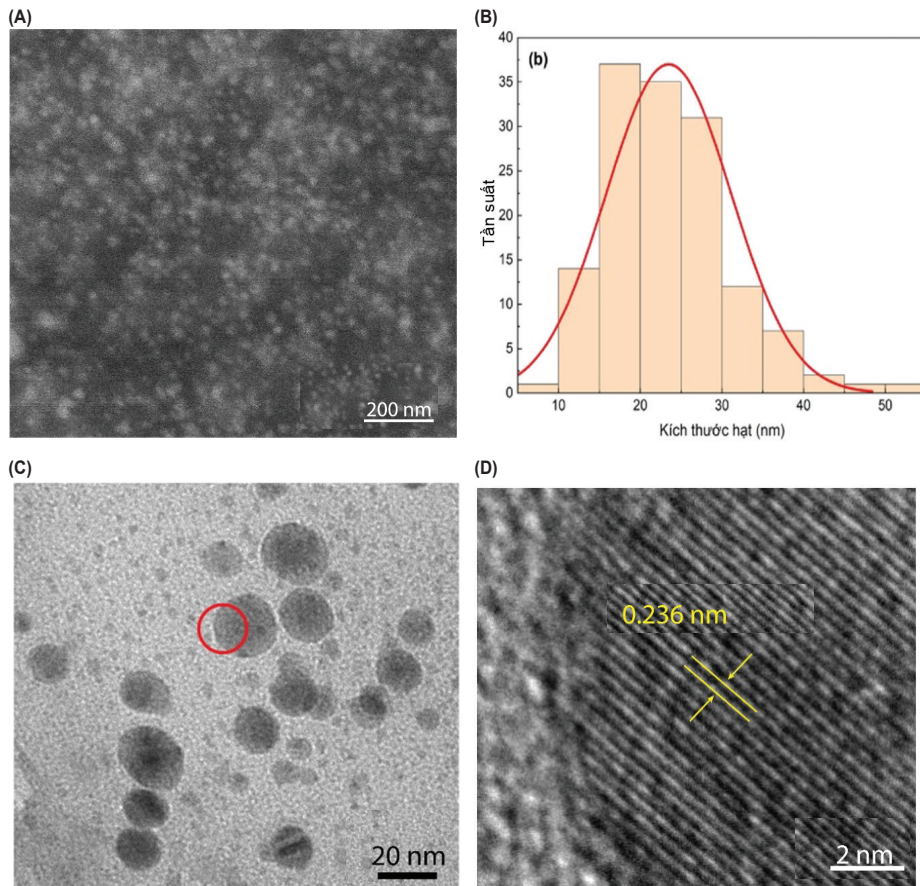
với cao chiết Cúc leo, nghiên cứu hướng đến cải thiện quy trình tổng hợp, giảm thời gian phản ứng và tăng hiệu quả tổng hợp hạt nano. Để khảo sát thời gian phản ứng thích hợp cho sự hình thành của dung dịch keo AgNPs, các mẫu với thời gian phản ứng khác nhau từ 30, 60, 90, 120 và 150 phút được tổng hợp. Trong đó, các điều kiện khác được giữ cố định với nồng độ dung dịch  $\text{AgNO}_3$  0,030 M, nồng độ cao chiết cây Cúc leo là 2,50 mg/ml.

Kết quả được thể hiện thông qua quang phổ UV-Vis được trình bày ở hình 3 cho thấy các mẫu dung dịch keo nano bạc có đỉnh SPR nằm trong khoảng 416–418 nm và có độ hấp thụ cực đại tăng dần theo thời gian phản ứng từ 30 phút đến 90 phút ứng với nồng độ nano bạc tăng dần (hình 3). Tuy nhiên, sự thay đổi độ hấp thụ và dịch chuyển đỉnh từ 90 đến 150 phút là không đáng kể. Từ đó cho thấy thời gian tối ưu cho quá trình tổng hợp AgNPs với dịch chiết Cúc leo là 90 phút, sau thời gian này, phản ứng chuyển  $\text{Ag}^+$  thành  $\text{Ag}^0$  diễn ra không đáng kể.

Từ kết quả thu được trong quá trình khảo sát các yếu tố ảnh hưởng, mẫu nano bạc được tổng hợp với điều kiện thích hợp bao gồm 2,0 ml  $\text{AgNO}_3$  0,030 M, 14,0 ml dung dịch polyvinylpyrrolidone (1,0 % w/v), 8,0 ml dịch chiết cây Cúc leo 2,50 mg/ml, phản ứng trong 90 phút ở nhiệt độ phòng. Hạt nano Ag được tổng hợp với điều kiện nêu trên được sử dụng cho các phương pháp phân tích hóa lý tiếp theo.

Hình dạng và kích thước nano bạc được quan sát thông qua ảnh SEM (hình 4A). Các hạt nano có dạng hình cầu, kích thước hạt trong khoảng với kích thước hạt trung bình là  $24 \pm 5$  nm (hình 4B). Ngoài ra, hình thái của AgNPs còn được xác nhận thông qua ảnh TEM (hình 4C). Ảnh TEM độ phân giải cao (HR-TEM) được thể hiện trên hình 4D cho thấy khoảng cách giữa hai vân tinh thể là 0,236 nm tương ứng với mặt (111) của tinh thể nano bạc lập phương tâm diện [27]. Có thể thấy các hạt nano bạc hình thành có cấu trúc tinh thể cao.

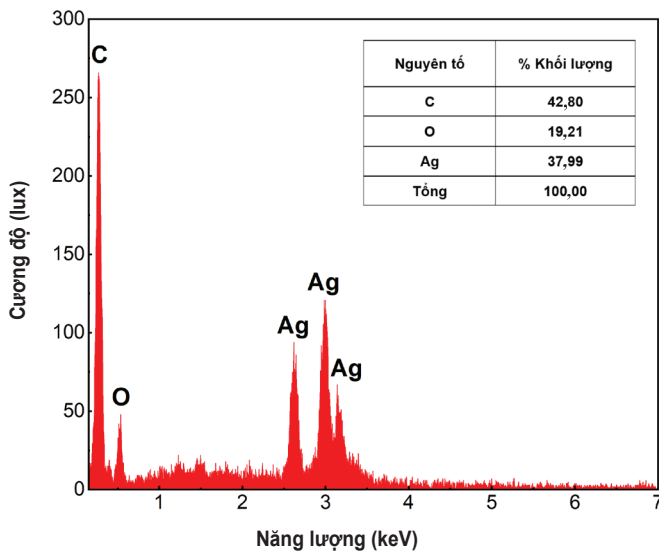
Thành phần các nguyên tố có mặt trong mẫu nano bạc được đánh giá thông qua gián đồ EDS, được mô tả ở hình 5, cho thấy có sự xuất hiện của các đỉnh có giá trị từ 2,6 đến 3,2 keV, tương ứng với kim loại bạc. Hàm lượng nguyên tố Ag có trong mẫu chiếm tỷ lệ 37,99% về khối lượng. Ngoài



Hình 4. (A) Ảnh hiển vi điện tử quét (thang đo 200 nm), (B) Biểu đồ phân bố kích thước hạt, (C) Ảnh hiển vi điện tử truyền qua, (D) Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao của mẫu AgNPs được tổng hợp ở điều kiện tối ưu.

ra, còn có sự xuất hiện đỉnh hấp thụ đặc trưng của các nguyên tố carbon và oxygen trong khoảng 0-0,5 keV. Điều này có thể dự đoán sự hiện diện của các hợp chất hữu cơ trong dịch chiết cúc leo và PVP trên bề mặt hạt nano bạc [28, 29].

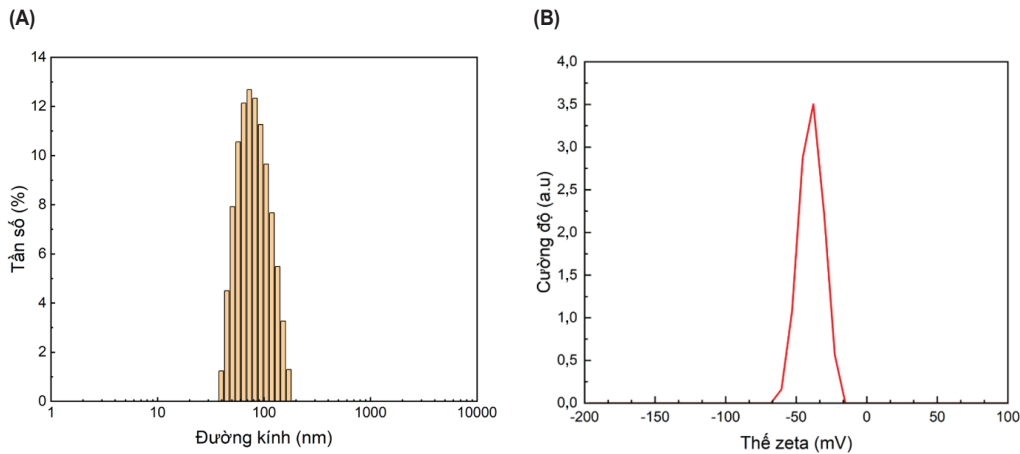
Phương pháp phân tích tán xạ ánh sáng động (DLS) được dùng để đo kích thước thủy động lực học của các hạt bằng cách phân tích sự biến đổi của cường độ ánh sáng tán xạ dưới dạng một hàm của thời gian [30]. Đường kính hạt (nm) và chỉ số đa phân tán (PDI) là những tham số quan trọng trong việc đánh giá đặc tính của hạt nano [31, 32] đã được xác định thông qua phương pháp DLS. Giản đồ phân bố kích thước hạt của AgNPs được thể hiện trong hình 6A. Có thể thấy rằng, sự phân bố kích thước của AgNPs nằm trong khoảng từ 40 đến 190 nm. Kích thước hạt trung bình tính được là 47 nm với chỉ số PDI là 0,665, chứng tỏ kích thước hạt nano bạc tạo thành không đồng đều, phù hợp với kết quả ảnh SEM. Sự khác biệt về kích thước được phân tích từ ảnh SEM và kích thước thủy động lực học là do các lớp PVP và các hợp chất trong thành



Hình 5. Giản đồ phân tán năng lượng tia X của mẫu AgNPs được tổng hợp với điều kiện 2,0 ml AgNO<sub>3</sub> 0,030 M, 14,0 ml dung dịch polyvinylpyrrolidone (1,0% w/v), 8,0 ml dịch chiết cây Cúc leo 2,50 mg/ml, phản ứng trong 90 phút ở nhiệt độ phòng.

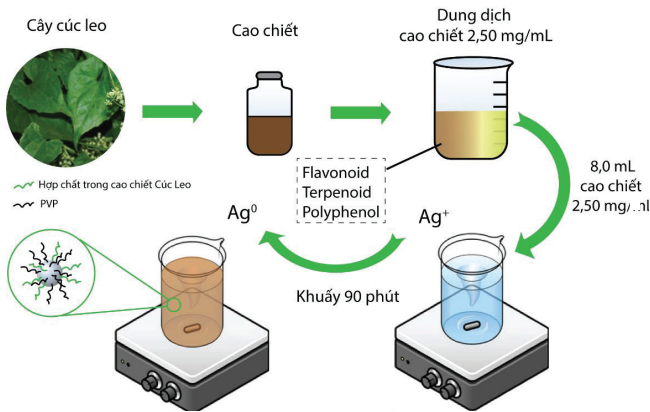
phần cao chiết hấp phụ trên bề mặt của hạt AgNPs, làm tăng đáng kể kích thước hạt khi xác định bằng DLS [30]. Ngoài ra, thế zeta của dung dịch keo AgNPs là -39,5 mV (hình 6B) cho thấy, sự tích điện âm của lớp phủ PVP trên bề mặt Ag [33]. Kết quả cho thấy, bề mặt của các hạt nano được tích điện âm nên dễ phân tán trong môi trường do lực đẩy tĩnh điện giữa các hạt [34, 35].

Nghiên cứu có nhiều cải tiến so với nghiên cứu của A. Biswas và cs (2019) [16] như sử dụng cao chiết methanol cây Cúc leo, chất bảo vệ là PVP giúp kiểm soát tốt hơn kích thước hạt nano tạo thành, phản ứng trong môi trường pH 9 giúp tăng khả năng khử của các hợp chất hữu cơ trong cao chiết, rút ngắn thời gian phản ứng trong 90 phút so với nghiên cứu trước đây (6 giờ). Một số công bố trước đây về thành phần hóa học của cao chiết cây Cúc leo cho thấy sự hiện diện của các hợp chất polyphenol [12], sesquiterpene lactone [36]. Polyphenol là chất khử mạnh với các nhóm hydroxyl có vai trò khử ion Ag<sup>+</sup> tạo thành nguyên tử Ag<sup>0</sup>,



Hình 6. (A) Phân bố kích thước hạt và (B) thế zeta của AgNPs với điều kiện 2,0 ml  $\text{AgNO}_3$  0,030 M, 14,0 ml dung dịch polyvinylpyrrolidone (1,0 % w/v), 8,0 ml dịch chiết cây Cúc leo 2,50 mg/ml, phản ứng trong 90 phút ở nhiệt độ phòng.

sau đó hình thành hạt nano bạc [32]. Bên cạnh đó, quá trình oxy hóa nhóm hydroxyl của polyphenol hay nhóm carbonyl có trong các hợp chất sesquiterpene lactone được tìm thấy trong cao chiết cây Cúc leo [13, 36] cũng có thể hoạt động với vai trò vừa là chất khử vừa là chất hoạt động bề mặt giúp cho các hạt nano ổn định trong dung dịch [31]. Nghiên cứu này thực hiện tổng hợp AgNPs tại pH 9, sự có mặt của các ion hydroxide ( $\text{OH}^-$ ) có thể tăng cường khả năng khử của cao chiết, tạo điều kiện khử các ion  $\text{Ag}^+$  thành AgNPs. Môi trường base đã được chứng minh là có lợi cho sự hình thành các hạt nano bạc đồng nhất và ổn định [30]. Sự hình thành của các hạt nano bạc có thể được mô tả trong hình 7.



Hình 7. Sơ đồ mô phỏng quy trình tổng hợp của dung dịch keo AgNPs từ cao chiết Cúc leo.

#### 4. Kết luận

Các hạt nano bạc (AgNPs) được tổng hợp thành công từ cao chiết cây Cúc leo có dạng hình cầu, kích thước hạt trung bình khoảng 47,1 nm được đo bằng phương pháp DLS. Qua các thí nghiệm định tính, cao chiết cây Cúc leo thu hái tại Việt Nam có thành phần hóa học gồm nhóm polyphenol,

flavonoid, tanin, steroid và terpenoid. Đồng thời, sự ảnh hưởng của các yếu tố nồng độ  $\text{AgNO}_3$ , nồng độ cao chiết và thời gian phản ứng đến sự hình thành của hạt nano bạc cũng được chứng minh. Các kết quả chỉ ra rằng, điều kiện thích hợp để tổng hợp AgNPs là  $\text{AgNO}_3$  0,03 M, nồng độ cao chiết Cúc leo là 2,5 mg/ml, phản ứng trong 90 phút ở nhiệt độ phòng. Phương pháp tổng hợp AgNPs sử dụng cao chiết cây Cúc leo cho thấy khả năng

tổng hợp xanh hóa có thể thay thế cho các phương pháp tổng hợp khử hóa học truyền thống với nhiều loại hóa chất ảnh hưởng đến sức khỏe và môi trường, đem lại tiềm năng ứng dụng trong tương lai.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số U2022-13 và sự hỗ trợ về trang thiết bị, hóa chất của Phòng Thí nghiệm Hóa nano và Phòng Thí nghiệm Nghiên cứu phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R.I. Barbhuiya, P. Singha, N. Asaithambi, et al. (2022), "Ultrasound-assisted rapid biological synthesis and characterization of silver nanoparticles using pomelo peel waste", *Food Chemistry*, **385**, DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132602.
- [2] M. Saravanan, A. Nanda (2010), "Extracellular synthesis of silver nanoparticles from *Aspergillus clavatus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **77(2)**, pp.214-218, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.01.026.
- [3] M. Saravanan, A.K. Vemu, S.K. Barik (2011), "Rapid biosynthesis of silver nanoparticles from *Bacillus megaterium* (NCIM 2326) and their antibacterial activity on multi drug resistant clinical pathogens", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **88(1)**, pp.325-331, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2011.07.009.
- [4] V. Kumar, S.C. Yadav, S.K. Yadav (2010), "*Syzygium cumini* leaf and seed extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their characterization", *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **85(10)**, pp.1301-1309, DOI: 10.1002/jctb.2427.
- [5] L.P. Silva, I.G. Reis, C.C. Bonatto (2015), "Green synthesis of metal nanoparticles by plants: Current trends and challenges", *Green Processes for Nanotechnology: From Inorganic to Bioinspired Nanomaterials*, pp.259-275, DOI: 10.1007/978-3-319-15461-9\_9.

- [6] K.C. Song, S.M. Lee, T.S. Park, et al. (2009), "Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method", *Korean Journal of Chemical Engineering*, **26**, pp.153-155, DOI: 10.1007/s11814-009-0024-y.
- [7] M.G. Guzmán, J. Dille, S. Godet (2009), "Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity", *International Journal of Chemical and Molecular Engineering*, **2(3)**, pp.104-111.
- [8] J. He, T. Kunitake, A. Nakao (2003), "Facile in situ synthesis of noble metal nanoparticles in porous cellulose fibres", *Chemistry of Materials*, **15(23)**, pp.4401-4406, DOI: 10.1021/cm034720r.
- [9] D. Bhattacharya, R.K. Gupta (2005), "Nanotechnology and potential of microorganisms" *Critical Reviews in Biotechnology*, **25(4)**, pp.199-204, DOI: 10.1080/07388550500361994.
- [10] B.O. Liu, J. Yan, W. Li, et al. (2020), "Mikania micrantha genome provides insights into the molecular mechanism of rapid growth", *Nature Communications*, **11(2020)**, DOI: 10.1038/s41467-019-13926-4.
- [11] T. Triet, N.P. Nga, N.T.L. Thi, et al. (2018), *Weed Species Common in Vietnam's Environment*, Vietnam National University - Ho Chi Minh City Publishing House, 81pp (in Vietnamese).
- [12] X. Wei, H. Huang, P. Wu, et al. (2004), "Phenolic constituents from *Mikania micrantha*", *Biochemical Systematics and Ecology*, **11(32)**, pp.1091-1096, DOI: 10.1016/j.bse.2004.04.013.
- [13] H. Huang, W. Ye, X. Wei, et al. (2008), "Allelopathic potential of sesquiterpene lactones and phenolic constituents from *Mikania micrantha* HBK", *Biochemical Systematics and Ecology*, **36(11)**, pp.867-871, DOI: 10.1016/j.bse.2008.09.004.
- [14] A. Li, X. Hou, Y. Wei (2018), "Fast screening of flavonoids from switchgrass and *Mikania micrantha* by liquid chromatography hybrid-ion trap time-of-flight mass spectrometry", *Analytical Methods*, **10(1)**, pp.109-122, DOI: 10.1039/C7AY02103H.
- [15] M.D. Day, D.R. Clements, C. Gile, et al. (2016), "Biology and impacts of Pacific Islands invasive species. 13. *Mikania micrantha* Kunth (Asteraceae)", *Pacific Science*, **70(3)**, pp.257-285, DOI: 10.2984/70.3.1.
- [16] A. Biswas, C. Vanlalveni, P.P. Adhikari, et al. (2019), "Biosynthesis, characterisation and antibacterial activity of *Mikania micrantha* leaf extract-mediated AgNPs", *Micro & Nano Letters*, **14(7)**, pp.799-803, DOI: 10.1049/mnl.2018.5661.
- [17] N.T.T. Mai (2020), *Testing Medicinal Herbs*, Vietnam National University - Ho Chi Minh City Publishing House, 175pp (in Vietnamese).
- [18] T. Mehany, I. Khalifa, H. Barakat, et al. (2021), "Polyphenols as promising biologically active substances for preventing SARS-CoV-2: A review with research evidence and underlying mechanisms", *Food Bioscience*, **40**, DOI: 10.1016/j.fbio.2021.100891.
- [19] W. Ngwa, R. Kumar, D. Thompson, et al. (2020), "Potential of flavonoid-inspired phytomedicines against COVID-19", *Molecules*, **25(11)**, DOI: 10.3390/molecules25112707.
- [20] V. Koleckar, K. Kubikova, Z. Rehakova, et al. (2008), "Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health", *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **8(5)**, pp.436-447, DOI: 10.2174/138955708784223486.
- [21] A. Masyita, R.M. Sari, A.D. Astuti, et al. (2022), "Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives", *Food Chemistry: X*, DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100217.
- [22] A. Zohmachhuana, M. Tlaisun, V. Mathipi, et al. (2022), "Suppression of the RAGE gene expression in RAW 264.7 murine leukemia cell line by ethyl acetate extract of *Mikania micrantha* (L.) Kunth", *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, **10(5)**, pp.107-114, DOI: 10.7324/JABB.2022.100513.
- [23] A. Rautela, J. Rani (2019), "Green synthesis of silver nanoparticles from *Tectona grandis* seeds extract: Characterization and mechanism of antimicrobial action on different microorganisms", *Journal of Analytical Science and Technology*, **10(1)**, pp.1-10, DOI: 10.1186/s40543-018-0163-z.
- [24] J.M. Ashraf, M.A. Ansari, H.M. Khan, et al. (2016), "Green synthesis of silver nanoparticles and characterization of their inhibitory effects on AGEs formation using biophysical techniques", *Scientific Reports*, **6(1)**, DOI: 10.1038/srep20414.
- [25] J. Venkatesan, S.K. Singh, S. Anil, et al. (2018), "Preparation, characterization and biological applications of biosynthesized silver nanoparticles with chitosan-fucoidan coating", *Molecules*, **23(6)**, DOI: 10.3390/molecules23061429.
- [26] S. Khorrami, A. Zarrabi, M. Khaleghi, et al. (2018), "Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties", *International Journal of Nanomedicine*, pp.8013-8024, DOI: 10.2147/IJN.S189295.
- [27] E.R. León, R.I. Palomares, R.E. Navarro, et al. (2013), "Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts)", *Nanoscale Research Letters*, **8**, pp.1-9, DOI: 10.1186/1556-276X-8-318.
- [28] R. Zein, I. Alghoraibi, C. Soukkarieh, et al. (2020), "In-vitro anticancer activity against Caco-2 cell line of colloidal nano silver synthesized using aqueous extract of *Eucalyptus Camaldulensis* leaves", *Heliyon*, **6(8)**, DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04594.
- [29] Y.S. Rao, V.S. Kotakadi, T.N.V.K.V. Prasad, et al. (2013), "Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (*Ocimum sanctum*) leaf extract", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **103**, pp.156-159, DOI: 10.1016/j.saa.2012.11.028.
- [30] D.A. Selvan, D. Mahendiran, R.S. Kumar, et al. (2018), "Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **180**, pp.243-252, DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2018.02.014.
- [31] J. Stetefeld, S.A. McKenna, T.R. Patel, et al. (2016), "Dynamic light scattering: A practical guide and applications in biomedical sciences", *Biophysical Reviews*, **8**, pp.409-427, DOI: 10.1007/s12551-016-0218-6.
- [32] E.Y. Ahn, H. Jin, Y. Park, et al. (2019), "Assessing the antioxidant, cytotoxic, apoptotic and wound healing properties of silver nanoparticles green-synthesized by plant extracts", *Materials Science and Engineering: C*, **101**, pp.204-216, DOI: 10.1016/j.msec.2019.03.095.
- [33] C.S. Lopes, V.M. Lenart, R.F. Turchiello, et al. (2018), "Determination of the thermal diffusivity of plasmonic nanofluids containing PVP-coated Ag nanoparticles using mode-mismatched dual-beam thermal lens technique", *Advances in Condensed Matter Physics*, **2018**, pp.1-6, DOI: 10.1155/2018/3052793.
- [34] M. Danaei, M. Dehghankhold, S. Ataei, et al. (2018), "Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems", *Pharmaceutics*, **10(2)**, DOI: 10.3390/pharmaceutics10020057.
- [35] K. Anandalakshmi, J. Venugobal, V.J.A.N. Ramasamy, et al. (2016), "Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Pedalius murex* leaf extract and their antibacterial activity", *Applied Nanoscience*, **6**, pp.399-408, DOI: 10.1007/s13204-015-0449-z.
- [36] P.P.H. But, Z.D. He, S.C. Ma, et al. (2009), "Antiviral constituents against respiratory viruses from *Mikania micrantha*", *Journal of Natural Products*, **72(5)**, pp.925-928, DOI: 10.1021/np800542t.