

GREEN SYNTHESIS AND SPECTROSCOPY PROPERTIES OF SILVER NANOPARTICLES USING *ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS* SHOOTS EXTRACT AND THEIR ANTIBACTERIAL ACTIVITY

Mone Phommaaxay, Nguyen Van Hao*

TNU - University of Sciences

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 26/01/2024 Revised: 29/02/2024 Published: 29/02/2024	Green synthesis of metal nanoparticles has received great attention in nanotechnology due to their antibacterial and biomedical applications. Among metal nanoparticles, silver nanoparticles (AgNPs) have received special attention because of their unique properties, such as low toxicity, high yield, low cost, environmental friendliness, and availability. In this study, we present a simple and environmentally friendly method for synthesizing AgNPs through the reduction of Ag^+ ions using <i>Artocarpus heterophyllus</i> shoots extract. The synthesized AgNPs were characterized using UV-Vis spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction, and transmission electron microscopy. The effects of pH, temperature, reaction time, plant extract, as well as silver nitrate (AgNO_3) concentration on the spectral properties during the green synthesis of AgNPs will also be presented. The prepared AgNPs exhibited high antibacterial ability against <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Bacillus cereus</i> bacteria.
KEYWORDS Green synthesis Silver nanoparticles <i>Artocarpus heterophyllus</i> shoots Plant extract Antibacterial activity	

TỔNG HỢP XANH VÀ TÍNH CHẤT QUANG PHỔ CỦA NANO BẠC SỬ DỤNG CHIẾT XUẤT BÚP MÍT VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CHÚNG

Mone Phommaaxay, Nguyễn Văn Hảo*

Trường Đại học Khoa học - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 26/01/2024 Ngày hoàn thiện: 29/02/2024 Ngày đăng: 29/02/2024	Tổng hợp xanh các hạt nano kim loại đã nhận được sự quan tâm lớn trong công nghệ nano vì những ứng dụng kháng khuẩn và y sinh của chúng. Trong các hạt nano kim loại, nano bạc (AgNPs) đã nhận được sự chú ý đáng kể do những đặc tính độc đáo của chúng như độc tính thấp, năng suất cao, chi phí thấp, thân thiện với môi trường và sẵn có. Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày một phương pháp đơn giản và thân thiện môi trường trong việc tổng hợp các hạt nano bạc thông qua sự khử ion Ag^+ bởi dịch chiết búp cây mít. Các hạt nano bạc tổng hợp được đặc trưng bằng phương pháp quang phổ UV-Vis, quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier, nhiễu xạ tia X và kính hiển vi điện tử truyền qua. Ảnh hưởng của độ pH, nhiệt độ, thời gian phản ứng và chiết xuất thực vật cũng như nồng độ bạc nitrat (AgNO_3) đến tính chất quang phổ trong quá trình tổng hợp xanh của AgNPs cũng sẽ được trình bày. Các hạt AgNPs chế tạo được thể hiện khả năng kháng khuẩn cao đối với vi khuẩn <i>Staphylococcus aureus</i> và <i>Bacillus cereus</i>.
TỪ KHÓA Tổng hợp xanh Hạt nano bạc Búp mít Chiết xuất thực vật Hoạt tính kháng khuẩn	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9641>

* Corresponding author. Email: haonv@tnus.edu.vn

1. Giới thiệu

Công nghệ nano là lĩnh vực nghiên cứu được quan tâm rất lớn trong những năm gần đây bởi nó có thể tạo ra nhiều ứng dụng cho tất cả các ngành công nghiệp vật liệu như điện tử, y tế, công nghệ thực phẩm, công nghệ sinh học, nông nghiệp và hàng tiêu dùng [1] – [4]. Trong nghiên cứu vật liệu nano, các hạt nano kim loại đã thu hút được sự chú ý trong các ứng dụng y sinh do tính chất đa chức năng của chúng. Trong các hạt nano kim loại, hạt nano bạc (AgNPs) được quan tâm nghiên cứu hơn cả vì nó có ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp như cảm biến, điện tử, thiết bị lọc nước, thiết bị y tế, kháng khuẩn và công nghệ thực phẩm [5] – [7]. Có nhiều phương pháp để tổng hợp AgNPs gồm phương pháp hoá học, vật lý và sinh học. Các phương pháp hoá học và vật lý thường được bọc hoặc ổn định bằng hoá chất độc hại khi tổng hợp [8], trong khi phương pháp sinh học sử dụng dịch chiết thực vật tỏ ra là một phương pháp thân thiện môi trường với chi phí thấp và dễ thực hiện [9] – [11]. Ngoài ra, thực vật gồm lá, thân, quả, rễ cây là nguồn cung cấp dễ dàng các hợp chất hoá học thực vật có hoạt tính sinh học như protein, amin, flavonoid, alkaloid, phenol... đóng vai trò vừa là chất khử, ổn định và định vị trong quá trình tổng hợp hạt nano bạc. Hầu hết các loài thực vật đều có tác dụng chữa các bệnh ở các mức độ khác nhau trong y học như viêm họng, hen suyễn, ợ chua, tiêu chảy, loét dạ dày...

Trong phương pháp sinh tổng hợp hạt nano kim loại, việc sử dụng chiết xuất lá/ rễ/ quả/ vỏ cây có lợi hơn so với sử dụng các vi sinh vật vì nó không yêu cầu các quá trình phân lập, nuôi cấy và sử dụng nhiều bước tinh chế như phương pháp sử dụng vi sinh vật. Các hợp chất hoá học thực vật có trong dịch chiết thực vật đóng một vai trò quan trọng trong quá trình khử các ion kim loại thành các hạt nano kim loại ổn định với nhiều ứng dụng tiềm năng [12] – [14]. Cây mít có tên khoa học là *Artocarpus heterophyllus*, một loại cây cung cấp trái cây nổi tiếng ở Việt Nam và một số quốc gia ở Châu Á, là một loại thực vật hạt kín, thuộc họ Moraceae được trồng rộng rãi và phát triển ở vùng nhiệt đới trên thế giới. Theo y học cổ truyền, loại cây này đã được sử dụng rộng rãi như một loại thuốc dân gian để chữa bệnh mụn nhọt, trị vết thương, chống viêm, kháng nấm, trị đái tháo đường, kháng khuẩn [15] - [19]... Đã có một số nghiên cứu tổng hợp các hạt nano bạc, vàng bằng các bộ phận khác nhau của cây mít như lá mít, hạt mít, quả mít [20] - [23]. Tuy nhiên, theo hiểu biết tốt nhất của chúng tôi, chưa có báo cáo nào về việc tổng hợp AgNPs bằng cách sử dụng chiết xuất búp mít. Chiết xuất từ lá và búp mít này chứa một số phân tử sinh học, chẳng hạn như sapogenin, cycloartenone, cycloartenol, bsitosterol và tannin [23], [24].

Trong nghiên cứu này, các hạt nano bạc được tổng hợp bằng phương pháp xanh nhờ sử dụng dịch chiết búp mít (AHE) như một chất khử sinh học. Các hạt AgNPs tổng hợp được (AH-AgNPs) được đặc trưng bởi sử dụng các phép đo quang phổ hấp thụ (UV-Vis), phổ hấp thụ hồng ngoại (FTIR), nhiễu xạ tia X (XRD), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Hoạt tính kháng khuẩn của AH-AgNPs được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch chống lại vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus*.

2. Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và hoá chất

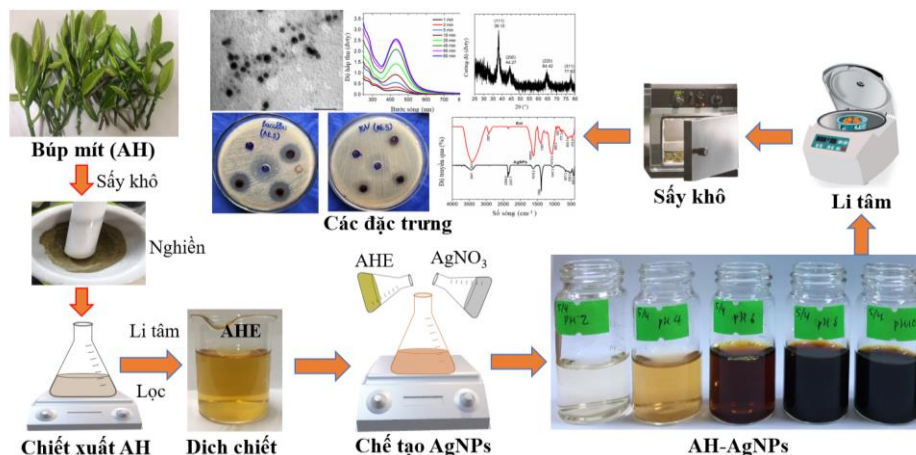
Búp mít (*Artocarpus heterophyllus* shoots) được thu lượm ở khuôn viên Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên. Chọn các búp mít tươi, nhỏ của cành mít. Búp mít sau thu lượm được làm sạch, sấy khô ở 60°C trong 24h, sau đó cắt nhỏ và xay thành bột để sử dụng dần trong các thí nghiệm. Các hoá chất sử dụng trong chế tạo nano bạc trong nghiên cứu này bao gồm: NaOH, HCl, H₂SO₄, nước cất 2 lần, thạch agar, cao nấm men, NaCl và C₂H₅OH đều có xuất xứ từ Trung Quốc. Amoxicillin (Oxoid, Anh Quốc) và AgNO₃ của hãng Merck, Đức.

2.2. Phương pháp

Búp mít sau thu lượm ở trong vườn của trường, được làm sạch, sấy khô, nghiền nhỏ thành bột. Cân 10 g bột búp mít cho vào 200 ml nước cất trong một cốc thủy tinh 250 ml, đun ở 90°C trong

thời gian 60 phút. Sau đó để nguội, ly tâm ở tốc độ 6000 vòng/phút trong 20 phút và được lọc 2 lần để loại bỏ cặn bã (Hình 1). Dịch chiết búp mít được bảo quản ở 4°C trong tủ lạnh để dùng dần.

Cân chính xác 0,85 g muối AgNO_3 pha với 100 ml nước cất 2 lần thu được 100 ml dung dịch AgNO_3 0,05 M. Các nồng độ thấp hơn được pha loãng từ dung dịch gốc này. Các dung dịch AgNO_3 ở các nồng độ 1 mM, 2 mM, 3 mM, 5 mM và 10 mM được trộn với dịch chiết búp mít AHE theo tỷ lệ khác nhau trong một bình chứa. Bình được bọc bằng giấy bạc và sau đó được đun nóng trên máy khuấy từ gia nhiệt trong thời gian 20 phút. Sau đó, dung dịch được ly tâm và sấy khô để thu được AH-AgNPs và để kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn cũng như phân tích các đặc tính tiếp theo. Quá trình tổng hợp AH-AgNPs được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Quá trình tổng hợp AH-AgNPs

2.3. Các đặc trưng

Các phép đo độ hấp thụ UV-Visible (UV-Vis) được thực hiện bằng máy quang phổ UV-Vis (Jasco- V770, Nhật Bản). Dữ liệu hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) được thu thập bằng máy quang phổ FTIR (PerkinElmer, Spectrum Two, Hoa Kỳ) trong dải phổ 450 – 4000 cm^{-1} . Máy đo nhiễu xạ tia X (D2 Rigaku) sử dụng bức xạ tia X Cu $\text{K}\alpha$ đã được sử dụng để thu được các mẫu nhiễu xạ của AH-AgNPs trên phim kính. Một kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM 1010-JEOL) đã được sử dụng để nghiên cứu kích thước và hình thái của hạt AH-AgNPs.

2.4. Khảo sát tính kháng khuẩn

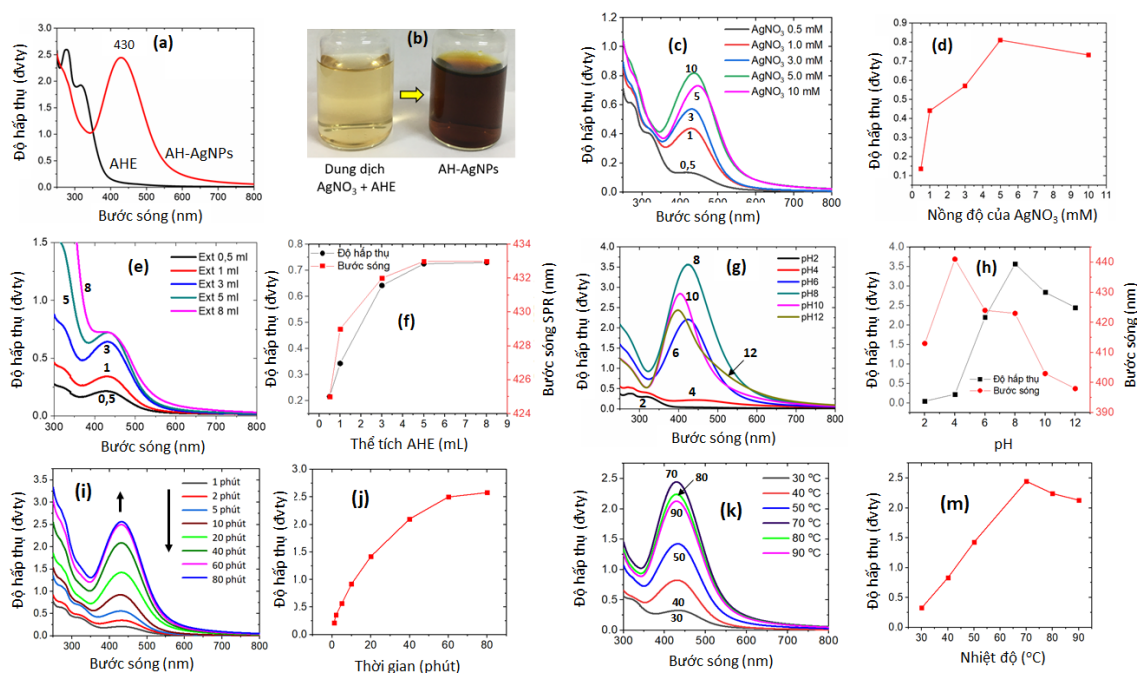
Các nồng độ khác nhau của AH-AgNPs sinh tổng hợp đã được thử nghiệm về hoạt tính sinh học chống lại các vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus* bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch tiêu chuẩn. Vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy tươi thuần khiết trên môi trường thạch dinh dưỡng và ủ ở 37°C trong 24 giờ. Môi trường thạch dinh dưỡng và môi trường nuôi cấy dinh dưỡng được hấp khử trùng trong 20 phút ở 121°C. Chủng vi khuẩn thuần chủng được pha loãng với nồng độ 10^6 vi khuẩn/ml NaCl 0,9%. Thêm dịch chiết hoặc AH-AgNPs vào các giếng có đường kính D = 6 mm, mỗi đĩa giếng có thể tích từ 20 - 80 μl . Các đĩa Petri được ủ ở 37°C trong 24 giờ và sau đó kiểm tra sự xuất hiện của vùng trong xung quanh giếng bằng cách đo đường kính của vùng ức chế bằng thước đo theo đơn vị milimét.

3. Kết quả và bàn luận

Các hạt AH-AgNPs được tổng hợp một cách hiệu quả bằng cách sử dụng AgNO_3 làm tiền chất và chiết xuất búp mít (AHE) làm chất khử và chất ổn định. Sự chuyển đổi sinh học của ion Ag^+ thành AgNPs được quan sát dựa vào sự thay đổi màu sắc của hỗn hợp phản ứng. Động học phản ứng để khử hiệu quả được tối ưu hóa bằng cách thay đổi các thông số phản ứng bao gồm nồng độ AgNO_3 , lượng dịch chiết, độ pH, nhiệt độ và thời gian phản ứng.

3.1. Tối ưu tham số tổng hợp

Quang phổ UV-Vis được sử dụng để nghiên cứu sự hình thành và ổn định của hạt nano bạc trong dung dịch. AH-AgNPs được tổng hợp xanh bằng cách sử dụng một lượng dịch chiết búp mít (AHE) và muối bạc (AgNO_3) trong 25 ml thể tích dung dịch. Hình 2a chỉ ra, phổ hấp thụ UV-Vis của dịch chiết AHE và dung dịch AH-AgNPs. Sau thời gian phản ứng, dung dịch thu được có màu nâu sẫm (Hình 2b), đây là màu đặc trưng của nano bạc. Sự thay đổi màu sắc này có thể là do sự kích thích của hiệu ứng cộng hưởng plasma bề mặt (SPR) và sự khử AgNO_3 [25]. Tương tự, từ phổ hấp thụ UV-Vis, có thể thấy đỉnh hấp thụ cực đại xuất hiện ở bước sóng 430 nm (Hình 2a) phản ánh sự cộng hưởng plasmon bề mặt của AH-AgNPs, trong khi phổ hấp thụ của AHE không có đỉnh hấp thụ ở vùng bước sóng từ 350 - 500 nm.



Hình 2. Phổ hấp thụ UV-Vis của dịch chiết AHE và dung dịch AH-AgNPs (a), của AH-AgNPs ở các nồng độ khác nhau của dung dịch tiền chất AgNO_3 (c), ở các nồng độ khác nhau của AHE (e), ở độ pH khác nhau (g), ở các khoảng thời gian phản ứng khác nhau (i) và ở các nhiệt độ phản ứng khác nhau (k). Độ hấp thụ phụ thuộc vào nồng độ của AgNO_3 (d), thể tích của AHE (f), độ pH (h), thời gian phản ứng (j) và nhiệt độ (m).

Khi nồng độ dung dịch AgNO_3 tăng từ 0,5 mM đến 5 mM thì độ hấp thụ tăng dần (Hình 2b), nghĩa là lượng nano bạc tạo thành cũng tăng lên [26], [27]. Đồng thời khi nồng độ dung dịch AgNO_3 tăng dần thì đỉnh cực đại hấp thụ dịch từ 420 nm đến 438 nm. Đây là các đỉnh ứng với cộng hưởng plasma bề mặt của hạt nano bạc. Nhìn chung, khi nồng độ tiền chất AgNO_3 tăng lên thì độ hấp thụ cực đại cũng tăng theo, tuy nhiên, khi nồng độ AgNO_3 tăng tới 10 mM thì độ hấp thụ lại giảm xuống (Hình 2d). Hiện tượng này có thể do khi nồng độ AgNO_3 tăng quá cao sẽ tạo ra một lượng lớn nano bạc, phân bố dày đặc trong dung dịch, làm tăng xác suất các hạt tương tác nhau và kết dính với nhau làm giảm năng lượng tự do bề mặt. Do đó, dung dịch AgNO_3 ở nồng độ 5 mM được lựa chọn và tối ưu hoá cho các thí nghiệm tiếp theo.

Hình 2e trình bày phổ hấp thụ UV-Vis của AH-AgNPs chế tạo được ở các nồng độ AHE từ 0,5 ml đến 8 ml. Kết quả cho thấy, khi lượng dịch chiết AHE tăng dần từ 0,5 ml đến 8 ml thì độ hấp thụ cũng tăng theo, nghĩa là lượng nano bạc được tạo thành cũng tăng lên và đạt giá trị ổn định ở 5 ml của AHE. Đỉnh hấp thụ cực đại nằm trong khoảng từ 425 – 433 nm, đây là các đỉnh ứng cộng hưởng plasma bề mặt SPR của các hạt nano bạc (Hình 2f). Đối với lượng dịch chiết

tăng lớn hơn 5 ml mà độ hấp thụ không tăng có thể do ở các hạt nano hỗ trợ sự phát triển hơn là tạo mầm tiếp theo [28]. Mẫu chiết xuất AHE ở 3 ml đã được lựa chọn và tối ưu hoá để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo theo độ pH và thời gian phản ứng.

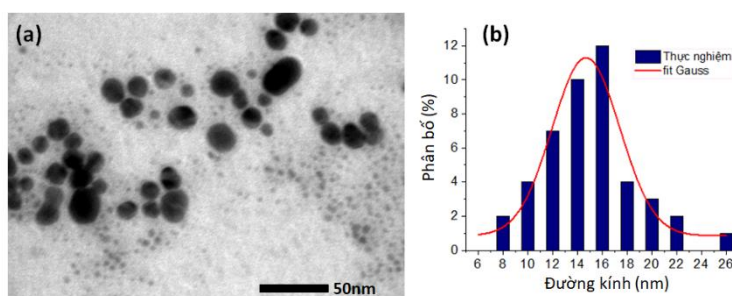
Hình 2g chỉ ra phổ hấp thụ UV-Vis của AH-AgNPs khi thay đổi độ pH dung dịch từ 2 – 12. Kết quả cho thấy, sự hình thành AH-AgNPs phụ thuộc mạnh vào độ pH của môi trường phản ứng [29], [30]. Khi độ pH của dung dịch tăng dần từ 2 - 8 thì độ hấp thụ của dung dịch nano bạc tăng dần và đạt giá trị cực đại khi ở pH 8, nghĩa là lượng nano bạc tạo thành nhiều nhất. Khi tiếp tục tăng giá trị pH của dung dịch lên thì độ hấp thụ lại có xu hướng giảm dần. Đỉnh hấp thụ cực đại nằm trong khoảng từ 398 – 441 nm, đây là các đỉnh ứng cộng hưởng plasma bề mặt SPR của các hạt nano bạc. Khi độ pH của dung dịch tăng từ 2 tới 4 thì bước sóng cộng hưởng SPR tăng dần và đạt giá trị lớn nhất ở pH 4, tiếp tục tăng độ pH của dung dịch lên tới 12 thì bước sóng cộng hưởng SPR lại có xu hướng giảm dần và đạt giá trị nhỏ nhất ở pH 12 ứng với bước sóng SPR là 398 nm (Hình 2h). Sự hình thành các AgNPs xảy ra nhanh chóng ở pH trung tính, và ở pH cơ bản, có thể là do sự ion hóa của nhóm phenolic có trong dịch chiết [31], [32]. Tốc độ hình thành và kết tụ chậm của AgNPs ở pH axit có thể liên quan đến lực đẩy tĩnh điện của các anion có trong dung dịch. Qua đó, độ pH 8 được lựa chọn để thiết kế cho các thí nghiệm tiếp theo.

Ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến phổ hấp thụ UV-Vis của AH-AgNPs được mô tả như trong Hình 2i, trong đó nhiệt độ chế tạo 50°C, nồng độ AgNO_3 là 5 mM, thể tích dung dịch là 25 ml, lượng AHE là 5 ml, độ pH 8 trong khi thay đổi thời gian phản ứng từ 1 – 80 phút. Kết quả cho thấy, đỉnh hấp thụ cực đại cỡ 432 nm, đây là đỉnh ứng với cộng hưởng SPR của các hạt nano bạc. Độ hấp thụ tăng lên khi thời gian phản ứng tăng lên (Hình 2j). Hình 2i cho thấy phần lớn các ion Ag^+ đã bị khử thành AgNPs sau 80 phút. Do đó, việc tăng thêm thời gian phản ứng sẽ ít ảnh hưởng đến dải hấp thụ. Khi tối ưu hóa các thông số tổng hợp như sử dụng 5 mM AgNO_3 , 5 ml dịch chiết AHE, độ pH 8 và thời gian phản ứng 80 phút, mẫu tổng hợp có SPR hẹp và cường độ cao nhất. Vì vậy, mẫu ở 80 phút được coi là mẫu tối ưu và được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Hình 2k chỉ ra phổ hấp thụ UV-Vis của AH-AgNPs dưới ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng ở 30, 40, 50, 70, 80 và 90 °C khi cố định các thông số khác như: nồng độ AgNO_3 là 5 mM, thể tích dung dịch 25 ml, lượng dịch chiết AHE 5 ml, độ pH 8. Kết quả cho thấy, khi nhiệt độ dung dịch tăng lên thì độ hấp thụ cũng tăng theo (Hình 2m), nghĩa là ở nhiệt độ cao hơn thì sự khử ion Ag^+ diễn ra nhanh hơn [33]. Độ hấp thụ tăng mạnh ứng với nhiệt độ dung dịch tăng từ 30 đến 70 °C, trong khi nó giảm từ 80 đến 90 °C. Kết quả cho thấy rằng nhiệt độ tăng vừa phải đã đẩy nhanh quá trình khử. Hơn nữa, nhiệt độ từ 80 đến 90 °C không gây ra bất kỳ sự gia tăng nào về cường độ đỉnh hấp thụ để cho thấy sự gia tăng số lượng các hạt nano được tổng hợp [34]. Như vậy, mẫu tối ưu được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo như phân tích hình thái bề mặt và kích thước hạt, cấu trúc pha tinh thể, thành phần hoá học, khảo sát tính kháng khuẩn sau đây ở nồng độ 5 mM của AgNO_3 , thể tích AHE 5 ml, thời gian phản ứng 80 phút, độ pH 8 và nhiệt độ 70°C.

3.2. Phân tích hình thái bề mặt và kích thước hạt

Các hạt nano bạc sau chế tạo được đem đi chụp ảnh TEM bằng kính hiển vi điện tử truyền qua nhằm để xác định chính xác kích thước, hình thái và sự phân bố hạt.

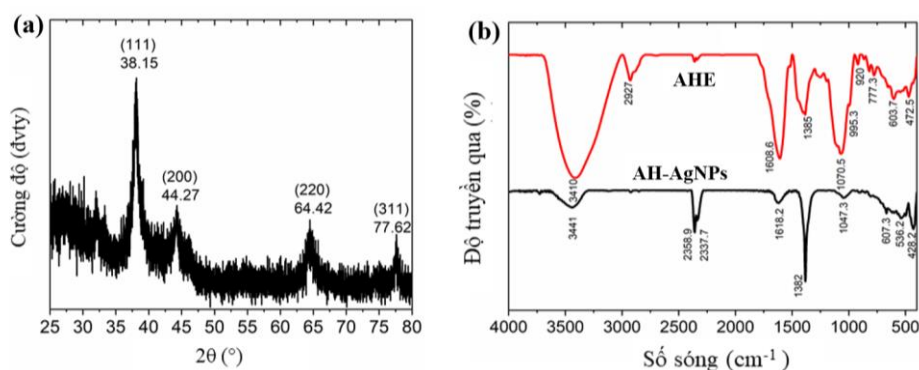


Hình 3. Ảnh TEM (a) và phân bố kích thước hạt (b) của AH-AgNPs được chế tạo bằng AHE

Kết quả ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của AH-AgNPs được trình bày trên Hình 3. Quan sát trên Hình 3 cho thấy, hình ảnh hạt nano bạc thu được có kích thước hạt trong khoảng 8 – 26 nm và có hình thái dạng gần hình cầu, phân tán tương đối đồng đều và ít kết tụ hoặc biến đổi hình thái (Hình 3a). Kích thước hạt trung bình được tính là khoảng 15 nm (Hình 3b), phù hợp với bước sóng cộng hưởng plasmon bề mặt trong phổ hấp thụ ở trên.

3.3. Phân tích cấu trúc pha tinh thể

Bột AH-AgNPs thu được từ dung dịch nano bạc chế tạo được bằng phương pháp tổng hợp xanh nhờ chất khử AHE được sử dụng để phân tích thành phần cấu trúc tinh thể qua phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD). Hình 4a chỉ ra mẫu nhiễu xạ tia X của bột AH-AgNPs. Kết quả cho thấy, phổ gồm bốn đỉnh nhiễu xạ ở các giá trị góc 2θ là $38,15^\circ$, $44,27^\circ$, $64,42^\circ$ và $77,62^\circ$, tương ứng với các giá trị khoảng cách $d = 2,359$, $2,044$, $1,445$, $1,231$ và $1,180$ Å của AgNPs. Chúng được gán cho các mặt phẳng tinh thể (111), (200), (220) và (311) của cấu trúc tinh thể lập phương tâm mặt (fcc) của bạc kim loại tương ứng (phù hợp với phổ chuẩn JCPDS số 00-004-0783) [34]. Các đỉnh cho thấy thành phần chính của các hạt nano là bạc và không có các đỉnh rõ ràng nào khác do tạp chất được tìm thấy trong các mẫu XRD.



Hình 4. Phổ nhiễu xạ tia X của AH-AgNPs (a) và Phổ FTIR của AH-AgNPs và dịch chiết AHE (b)

3.4. Phân tích thành phần hoá học

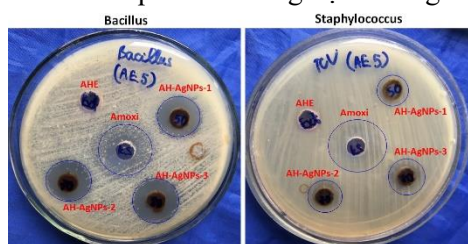
Các liên kết hóa học bề mặt của các AgNPs tổng hợp bằng phương pháp xanh nhờ dịch chiết AHE được nghiên cứu bằng phương pháp quang phổ FTIR (Hình 4b). Kết quả cho thấy, đỉnh hấp thụ rộng ở gần 3441 cm^{-1} , được cho là do dao động kéo dài OH của nhóm hydroxyl cho thấy sự hiện diện của các hợp chất phenolic và rượu trong dịch chiết. Đỉnh hấp thụ ở 2927 cm^{-1} có liên quan đến dao động kéo dài NH của các nhóm amin trong dịch chiết [35]. Đỉnh hấp thụ đặc trưng được quan sát ở gần 1608 cm^{-1} có thể do nhóm dao động kéo dài của $\text{C}=\text{C}$. Vì nhóm CO trong các axit amin có xu hướng gắn vào các hạt nano, nên đỉnh này chỉ ra rằng các hạt nano bạc được liên kết với các protein có trong dịch chiết. Ngoài ra, dải hấp thụ ở $1047,3\text{ cm}^{-1}$ có liên quan đến sự kéo dài dao động của nhóm $\text{C}-\text{C}$ và $-\text{O}-$ trong amin thơm và chất béo [34]...

Cơ chế hình thành các hạt AH-AgNPs trong dung dịch chứa AHE có thể thông qua ba giai đoạn: (i) phản ứng khử ion dẫn tới sự hình thành cụm nguyên tử và (ii) sau đó là sự phát triển của các hạt nano bạc. Mỗi giai đoạn có những đặc tính riêng tùy thuộc vào chất khử, nồng độ của chất khử, AgNO_3 , nhiệt độ môi trường và độ pH. (iii) Sự hiện diện của các nhóm hydroxyl (OH) trong các phân tử sinh học trong AHE như axit amin, *protein*, *sapogenin*, *cycloartenone*, *cycloartenol*, *bsitosterol* và *tannin*... [23], [24] có liên quan tới sự ổn định và sự khử của các ion Ag^+ thành Ag^0 . Chính sự hiện diện của các nhóm chức năng ở trên chỉ ra rằng chiết xuất AHE thể hiện cả đặc tính tái sinh và ổn định cụ thể, do đó ngăn chặn các hạt kết dính và kết tụ [36], [37].

3.5. Đánh giá khả năng kháng khuẩn của nano bạc

Hoạt tính kháng khuẩn của các hạt nano bạc tổng hợp bằng phương pháp xanh sử dụng dịch chiết AHE được đánh giá bằng phương pháp đục giếng thạch với 2 chủng vi khuẩn gây bệnh được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm vi sinh lâm sàng gồm *Bacillus cereus* và *Staphylococcus aureus* (TCV). Mẫu nano bạc AH-AgNPs sau tổng hợp được nhỏ vào các giếng với một lượng 50, 70, và 80 μl AH-AgNPs, làm khô lạnh. Dịch mỗi loại vi khuẩn được trang đều trên đĩa thạch với thể tích 100 μl / 1 đĩa. Giếng kháng sinh đối chứng được sử dụng là Amoxicillin (Amoxi) với hàm lượng 1 mg/ mL. Mỗi giếng nhỏ 20 μl Amoxi.

Các đĩa thạch khảo sát tính kháng khuẩn của dịch chiết AHE và AH-AgNPs được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Đường kính của các vùng ức chế xung quanh mỗi giếng (mm) được đo để xác định khả năng kháng khuẩn của mẫu thử nghiệm. Hoạt tính kháng khuẩn của các dung dịch khác nhau có chứa AH-AgNPs đã chứng minh rằng cả hai vi khuẩn đều bị ức chế với các mức độ khác nhau. Kết quả của thử nghiệm kháng khuẩn được mô tả trong Hình 5 và Bảng 1.



Bảng 1. Hoạt tính kháng khuẩn của AH-AgNPs và AHE chống lại các vi khuẩn gây bệnh

Vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)				
	AH-AgNPs			AHE	Amoxi
	50 μl	70 μl	80 μl	50 μl	20 μl
Bacillus	17	18	19	0	21
TCV	12	13	14	0	22

Hình 5. Vùng ức chế của các hạt nano bạc chống lại các vi khuẩn gây bệnh *Bacillus cereus* và *Staphylococcus aureus* (TCV)

Như được trình bày trong Hình 5, các hạt nano bạc thể hiện hoạt tính kháng khuẩn chống lại các vi sinh vật gây bệnh *Bacillus cereus* và *Staphylococcus aureus* (TCV), với các mức độ khác nhau của đường kính vùng ức chế, trong khi AHE không cho thấy bất kỳ hoạt tính kháng khuẩn nào (Bảng 1). Vi khuẩn *Bacillus cereus* cho thấy vùng ức chế lớn hơn so với vi khuẩn TCV (Hình 5), có thể do sự thay đổi thành phần thành tế bào. Thành tế bào của vi khuẩn TCV bao gồm một lớp peptidoglycan dày, bao gồm các chuỗi polysaccharide tuyến tính liên kết chéo với nhau bằng các peptit ngắn, do đó hình thành cấu trúc cứng hơn dẫn đến khó xâm nhập của các hạt nano bạc. Những kết quả này phù hợp với công bố trước đây [38]-[40].

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, một phương pháp tổng hợp xanh đơn giản, chi phí thấp, nhanh chóng và thân thiện với môi trường đã được sử dụng để điều chế AH-AgNP nhờ chiết xuất búp mít AHE. Các hạt nano AH-AgNPs được đặc trưng bằng cách sử dụng kết hợp nhiều kỹ thuật khác nhau như quang phổ UV-Vis, FTIR, XRD và TEM. Sự hình thành các hạt AH-AgNPs đã được xác minh bằng phương pháp quang phổ UV-Vis (ở bước sóng cỡ 430 nm) với kích thước hạt nằm trong khoảng từ 8 đến 26 nm. Hơn nữa, các hạt AH-AgNPs cho thấy khả năng kháng khuẩn cao chống lại vi khuẩn *Bacillus cereus* và *Staphylococcus aureus* ở liều lượng khác nhau. Qua đó đã chứng minh việc sử dụng chiết xuất thực vật này như một chất khử, định vị và ổn định hiệu quả trong AgNPs cũng như giá trị tiềm năng của chúng trong các ứng dụng y sinh và điều trị.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ đề tài KH&CN cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo, mã số B2024-TNA-26.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] J. E. Hulla, S. C. Sahu, and A. W. Hayes, "Nanotechnology: History and future," *Human & experimental toxicology*, vol. 34, no. 12, pp. 1318-1321, 2015.
- [2] K. N. Thakkar, S. S. Mhatre, and R. Y. Parikh, "Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles," *Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine*, vol. 6, pp. 257-262, 2010.
- [3] V. H. Nguyen, H. T. Do, P. H. Nguyen, X. H. Vu, T. H. Ngo, T. K. V. Nguyen, T. T. Pham, and V. T. Pham, "Green, facile and fast synthesis of silver nanoparticles by using solution plasma techniques and their antibacterial and anticancer activities," *RSC Advances*, vol. 13, 2023, Art. no. 21838.
- [4] V. H. Nguyen, H. T. Do, T. T. Truong, X. H. Vu, H. T. Nguyen, T. T. Pham, N. M. Phan, J. F. G. Zyla, and V. T. Pham, "High Thermal Conductivity of Green Nanofluid Containing Ag Nanoparticles Prepared by using Solution Plasma Process with Paramignya trimera Extract," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 148, pp. 7579-7590, 2023.
- [5] T. T. H. Le, T. H. Ngo, T. H. Nguyen, V. H. Hoang, V. H. Nguyen, and P. H. Nguyen, "Anti-cancer activity of green synthesized silver nanoparticles using Ardisia gigantifolia leaf extract against gastric cancer cells," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 661, pp. 99-107, 2023.
- [6] P. Nie, Y. Zhao, and H. Xu, "Synthesis, applications, toxicity and toxicity mechanisms of silver nanoparticles: A review," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 253, 2023, Art. no. 114636.
- [7] S. H. Lee and B. H. Jun, "Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 4, 2019, Art. no. 865.
- [8] S. Iravani, H. Korbekandi, S. V. Mirmohammadi, and B. Zolfaghari, "Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods," *Research in Pharmaceutical Sciences*, vol. 9, no. 6, pp. 385-406, 2014.
- [9] D. Wakuda, K. S. Kim, and K. Suganuma, "Room temperature sintering of Ag nanoparticles by drying solvent," *Scripta Materialia*, vol. 59, pp. 649-652, 2008.
- [10] Z. Anna, S. Eva, Z. Adriana, G. Maria, and H. Jan, "Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size," *Procedia Chemistry*, vol. 1, pp. 1560-1566, 2009.
- [11] M. M. Kholoud, E. Abou, A. Ala, and R. A. A. A. Abdulrhman, "Synthesis and applications of silver nanoparticles," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 3, pp. 135-140, 2010.
- [12] Annu, S. Ahmed, G. Kaur, P. Sharma, S. Singh, and S. Ikram, "Fruit waste (peel) as bio-reductant to synthesize silver nanoparticles with antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities," *Journal of Applied Biomedicine*, vol. 16, pp. 221-231, 2018.
- [13] B. Laban, U. Ralević, S. Petrović, A. Leskovic, D. Vasić-Anićijević, M. Marković, and V. Vasić, "Green synthesis and characterization of nontoxic L-methionine capped silver and gold nanoparticles," *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 204, 2020, Art. no. 110958.
- [14] C. Mony, P. Kaur, J. E. Rookes, D. L. Callahan, S. V. Eswaran, W. Yang, and P. K. Manna, "Nanomaterials for enhancing photosynthesis: interaction with plant photosystems and scope of nanobionics in agriculture," *Environmental Science: Nano*, vol. 9, pp. 3659-3683, 2022.
- [15] M. B. Trindade, J. L. S. Lopes, A. Soares-Costa, A. C. Moreira, R. A. Moreira, M. L. V. Oliva, and L. M. Beltramini, "Structural characterization of novel chitin-binding lectins from the genus Artocarpus and their antifungal activity," *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, vol. 1764, no. 1, pp. 146-152, 2006.
- [16] A. Eve, A. A. Aliero, D. Nalubiri, D. Nalubiri, R. O. Adeyemo, S. A. Akinola, T. Pius, S. Nabaasa, S. Nabukeera, B. Alkali, and I. Ntulumbe, "In vitro antibacterial activity of crude extracts of artocarpus heterophyllus seeds against selected diarrhoea-causing superbug bacteria," *The Scientific World Journal*, vol. 2020, 2020, Art. no. 9813970.
- [17] M. R. Fernando, N. Wickramasinghe, M. I. Thabrew, P. L. Ariyananda, and E.H. Karunanayake, "Effect of Artocarpus heterophyllus and Asteracanthus longifolia on glucose tolerance in normal human subjects and in maturity-onset diabetic patients," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 31, no. 3, pp. 277-282, 1991.
- [18] S. C. Fang, C. L. Hsu, and G. C. Yen, "Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the fruits of Artocarpus heterophyllus," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, no. 12, pp. 4463-4468, 2008.
- [19] A. Agarwal, A. Kumar, B. K. Singh, B. Singh, and N. Trivedi, "A review on extraction and phytochemical screening methods," *Research in Pharmacy and Health Sciences*, vol. 2, no. 2, pp. 130-137, 2016.
- [20] B. Jagtap and V. A. Bapat, "Green synthesis of silver nanoparticles using Artocarpus heterophyllus Lam. seed extract and its antibacterial activity," *Industrial Crops and Products*, vol. 46, pp. 132-137, 2013.

- [21] N. Basavegowda, K. G. Dhanya, B. Tyliczszak, Z. Wzorek, and K. A. Sobczak, "One-step synthesis of highly-biocompatible spherical gold nanoparticles using Artocarpus heterophyllus Lam. (jackfruit) fruit extract and its effect on pathogens," *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 22, no. 1, pp. 84-89, 2015.
- [22] R. R. Chavan, M. A. Bhutkar, and S. D. Bhinge, "Design, Synthesis, and Optimization of Silver Nanoparticles Using an Artocarpus heterophyllus Lam. Leaf Extract and Its Antibacterial Application," *Nano Biomedicine and Engineering*, vol. 15, no. 3, pp. 239-252, 2023.
- [23] A. K. M. A. Ullah, M. F. Kabir, M. Akter, A. N. Tamanna, A. Hossain, A. R. M. Tareq, M. N. I. Khan, A. K. M. F. Kibria, M. Kurasakid, and M. M. Rahman, "Green synthesis of bio-molecule encapsulated magnetic silver nanoparticles and their antibacterial activity," *RSC Advances*, vol. 8, pp. 37176-37183, 2018.
- [24] O. Prakash, R. Kumar, A. Mishra, and R. Gupta, "Artocarpus heterophyllus (Jackfruit): An Overview," *Pharmacognosy Reviews*, vol. 3, pp. 353-358, 2009.
- [25] M. Pramanik and A. Bhaumik, "Self-assembled hybrid tinphosphonate nanoparticles with bimodal porosity: an insight towards the efficient and selective catalytic process for the synthesis of bioactive 1,4-dihydropyridines under solvent-free conditions," *Journal of Materials Chemistry A*, vol. 1, pp. 11210-11220, 2013.
- [26] M. Skiba, A. Pivovarov, V. Vorobyova, T. Derkach, and I. Kurmakova, "Plasma-chemical formation of silver nanoparticles: the silver ions concentration effect on the particle size and their antimicrobial properties," *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, vol. 54, no. 2, pp. 311-318, 2019.
- [27] M. Skiba, A. Pivovarov, A. Makarova, and V. Vorobyova, "Plasmochemical preparation of silver nanoparticles: thermodynamics and kinetics analysis of the process," *Eastern European Journal of Enterprise Technologies*, vol. 2, no. 6, pp. 4-9, 2018.
- [28] R. Kumar, P. Sharma, A. Bamal, S. Negi, and S. Chaudhary, "A safe, efficient and environment friendly biosynthesis of silver nanoparticles using Leucaena leucocephala seed extract and its antioxidant, antimicrobial, antifungal activities and potential in sensing," *Green Processing and Synthesis*, vol. 6, pp. 449-459, 2017.
- [29] T. Yin, H. W. Walker, D. Chen, and Q. Yang, "Influence of pH and ionic strength on the deposition of silver nanoparticles on microfiltration membranes," *Journal of Membrane Science*, vol. 449, pp. 9-15, 2014.
- [30] A. M. E. Badawy, T. P. Luxton, R. G. Silva, K. G. Scheckel, M. T. Suidan, and T. M. Tolaymat, "Impact of environmental conditions (pH, ionic strength, and electrolyte type) on the surface charge and aggregation of silver nanoparticles suspensions," *Environmental Science & Technology*, vol. 44, pp. 1260-1266, 2010.
- [31] M. Skiba and V. Vorobyova, "Green synthesis of silver nanoparticles using grape pomace extract prepared by plasma-chemical assisted extraction method," *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, vol. 671, no. 1, pp. 142-151, 2018.
- [32] I. Fernando and Y. Zhou, "Impact of pH on the stability, dissolution and aggregation kinetics of silver nanoparticles," *Chemosphere*, vol. 216, pp. 297-305, 2019.
- [33] A. Verma and M. S. Mehata, "Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity," *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, vol. 9, pp. 109-114, 2016.
- [34] Y. Gou, R. Zhou, X. Ye, S. Gao, and X. Li, "Highly efficient in vitro biosynthesis of silver nanoparticles using Lysinibacillus sphaericus MR-1 and their characterization," *Science and Technology of Advanced Materials*, vol. 16, 2015, Art. no. 015004.
- [35] R. Seifipour, M. Nozari, and L. Pishkar, "Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Tragopogon Collinus Leaf Extract and Study of Their Antibacterial Effects," *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, vol. 30, pp. 2926-2936, 2020.
- [36] D. Nayak, S. Ashe, P. R. Rauta, M. Kumari, and B. Nayak, "Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: Evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 58, pp. 44-52, 2016.
- [37] S. Raja, V. Ramesh, and V. Thivaharan, "Green biosynthesis of silver nanoparticles using Calliandra haematocephala leaf extract, their antibacterial activity and hydrogen peroxide sensing capability," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 10, pp. 253-261, 2017.
- [38] J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu, J.-H. Kim, S. J. Park, H. J. Lee, S. H. Kim, Y. K. Park, Y. H. Park, C.-Y. Hwang, Y.-K. Kim, Y.-S. Lee, D.H. Jeong, and M.-H. Cho, "Antimicrobial effects of silver nanoparticles," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 3, pp. 95-101, 2007.
- [39] W. R. Li, X. B. Xie, Q. S. Shi, H. Y. Zeng, Y. S. Ou-Yang, and Y. B. Chen, "Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 85, pp. 1115-1122, 2010.
- [40] M. R. Bindhu and M. Umadevi, "Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using Hibiscus cannabinus leaf extract and its antimicrobial activity," *Spectrochimica Acta Part A*, vol. 101, pp. 184-190, 2013.