

Tổng hợp xanh Nano bạc từ AgNO₃ và dịch chiết lá diếp cá

Trần Nguyễn Minh Ân*

Khoa Công Nghệ Hóa học, Đại học Công Nghiệp Thành Phố Hồ Chí Minh

Nhận ngày 22 tháng 7 năm 2016

Chỉnh sửa ngày 18 tháng 8 năm 2016; Chấp nhận đăng ngày 01 tháng 9 năm 2016

Tóm tắt: Nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết lá diếp cá và AgNO₃ (AgNPs). Sử dụng phổ UV-vis, FT-IR, SEM, TEM, XRD để xác định tính chất hóa lý của AgNPs. AgNPs có khả năng kháng khuẩn *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* và *Bacillus pumilus*. AgNPs nồng độ 1mM cho thấy có khả năng kháng khuẩn *Staphylococcus epidermidis* cao

Từ khóa: Diếp cá, AgNPs, kháng khuẩn.

1. Mở đầu

Bạc có kích thước nano có khả năng kháng vi khuẩn rất tốt, nên được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực đặc biệt là trong y học [1, 2]. Có nhiều phương pháp để tổng hợp nano bạc như phương pháp dùng các tác chất khử khử hóa học như, kali bohđrua hay natri bohđrua [3-4], anilin, ethanol, natri citrat, hydrazin, ethylen glycol, glucosơ [4], khử có hỗ trợ của vi sóng [5]. Tiếp cận hóa học xanh hướng tới tổng hợp các hạt nano bạc với chất khử là dịch chiết thực vật đang được nhiều người quan tâm. Đây là phương pháp đơn giản, không sử dụng nhiệt độ cao, áp suất, năng lượng và hóa chất độc hại. Các hợp chất hữu cơ có trong dịch chiết từ thực vật sẽ là chất khử để khử ion Ag⁺ thành nano Ag đồng thời là chất ổn định tạo môi trường phân tán để các AgNPs không bị keo tụ [6-7]. Dịch chiết từ những loại thực vật khác nhau sẽ tổng hợp các AgNPs có kích thước, hoạt tính sinh học rất khác nhau như AgNPs được tổng hợp từ chất khử là dịch chiết từ quả ớt chuông

(*Capsicum annum*) có kích thước 15 nm, kháng vi khuẩn *E.coli* [8]; tổng hợp AgNPs từ chất khử là dịch chiết của trái chanh [9] có kích thước 2-10 nm, kháng ba chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*; tổng hợp AgNPs từ chất khử dịch chiết hoa dừa (*Cocos nucifera*) có kích thước 22 nm kháng *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Salmonella paratyphi*. [10]. Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng dịch chiết lá diếp cá kết hợp với muối bạc nitrat để tổng hợp các hạt AgNPs và đồng thời khảo sát khả năng kháng vi sinh vật của nó. Diếp cá có tên khoa học là *Houttuynia cordata*, sống những nơi ẩm ướt, là một loại thực vật có nguồn gốc từ Đông Nam Á, được trồng rất nhiều ở Việt Nam [11-12].

2. Thực nghiệm

2.1. Tổng hợp nano bạc từ dịch chiết lá diếp cá

Chọn lá diếp cá tươi, rửa thật sạch nhiều lần bằng nước cất và để khô ở nhiệt độ phòng, sau đó xay nhuyễn. Cân 5 gam lá diếp cá xay

* ĐT.: 84-939866186

Email: trannguyenminhan73@gmail.com

nhuẩn cho vào 50 mL nước cất, đun nhẹ khuấy đều trong 20 phút để ly trích các hợp chất trong lá diếp cá [7]. Lọc hỗn hợp trên, thu được 30 mL dịch chiết nước lá diếp cá có màu vàng. Dịch chiết được bảo quản ở nhiệt độ phòng. Cho 2.5 mL dịch chiết lá diếp cá và 47.5 mL dung dịch AgNO_3 1mM vào một cốc 250 mL, dung dịch có màu vàng nhạt. Cốc chứa hỗn hợp trên được để ngoài ánh sáng mặt trời khoảng 60 phút, quan sát sự thay đổi màu sắc của hỗn hợp [7, 13]. Sử dụng các phương pháp phân tích phổ FT-IR (Bruker Germany), XRD (AXS D8 Advance), SEM (JSM 7401F (JEOL) và TEM (JEM-1400, JEOL) để xác định tính chất hóa lý của AgNPs vừa tổng hợp.

2.2. Nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của AgNPs

Sử dụng AgNPs 1 mM đã tổng hợp để pha các dung dịch có nồng độ 0.5 mM và 0.25 mM như sau: lấy 50 mL dung dịch AgNPs 1 mM pha với 50 mL nước cất thu được dung dịch AgNPs 0.5 mM. Lấy 50 mL dung dịch AgNPs 0.5 mM pha với 50 mL nước cất thu được dung dịch AgNPs 0.25 mM. Các dung dịch AgNPs có nồng độ tương ứng trên thực hiện khả năng kháng vi khuẩn bằng phương pháp phân tán giếng (Well diffusion method) trên 9 loại vi khuẩn là *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Proteus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus epidermidis* và *Salmonella typhimurium*. Sử dụng 40 μL AgNPs có nồng độ lần lượt là 1, 0.5 và 0.25

mM và mẫu đối chứng là thuốc Penicillin nồng độ 1 mM. Thời gian ủ mẫu trong 24 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau đó xác định đường kính vòng vô khuẩn. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 2 lần và lấy giá trị trung bình của đường kính ức chế (vòng vô khuẩn).

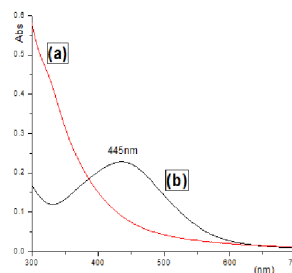
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tính chất hóa lý của AgNPs

Quan sát màu sắc (hình 1a) và phổ UV-vis (hình 2a) của dịch chiết lá diếp cá cho thấy dịch chiết có màu vàng nhạt và không có peak cực đại trong vùng 300-700 nm. Màu sắc (hình 1b) và phổ UV- vis (hình 2b) dịch chiết lá diếp cá và AgNO_3 sau khi phơi nắng khoảng 60 phút cho thấy hỗn hợp có sự thay đổi màu sắc rõ rệt từ màu vàng nhạt chuyển sang màu nâu đen, đồng thời phổ UV-vis xuất hiện peak có bước sóng cực đại là 445nm đặc trưng của Ag. Vì vậy có thể kết luận chúng tôi đã tổng hợp được AgNPs, kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây [6-8]. Các hạt AgNPs tạo thành sẽ gây cộng hưởng với tần số trong vùng UV-vis (cộng hưởng plasmon bề mặt) dẫn đến sự thay đổi màu sắc của dung dịch, đồng thời hấp thụ bước sóng cực đại trong vùng đó. Số lượng và vị trí của dãy plasmon phụ thuộc chủ yếu vào kích thước và hình thái của hạt AgNPs. Trong đó, đỉnh hấp thụ tại vị trí khoảng 445 nm ứng với đỉnh cộng hưởng plasmon của hạt nano Ag dạng hình cầu.

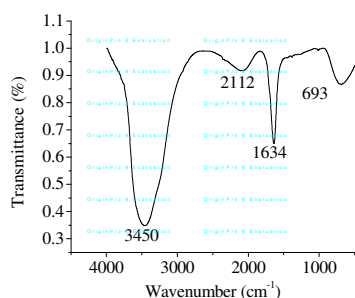


Hình 1. Màu sắc của dịch chiết lá diếp cá (a), dịch chiết lá diếp cá và AgNO_3 sau khi phơi nắng (b).



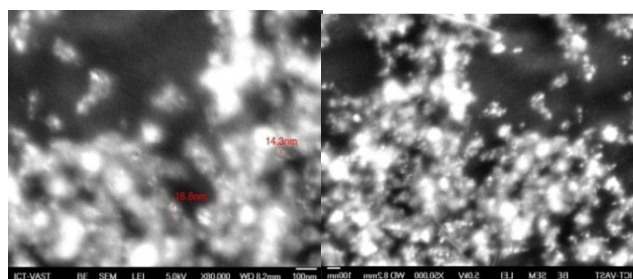
Hình 2. Phổ UV-vis của dịch chiết lá diếp cá (a), hỗn hợp dịch chiết lá diếp cá và AgNO_3 sau khi phơi nắng (b).

Phổ FT-IR (hình 3), xác định sự có mặt của các nhóm chức trong dịch chiết sau khi tương tác với các ion Ag, gồm các peak (λ_{max} , cm^{-1}): 3450 (-O-H), 2112 ($-C\equiv C-$), 1634 (-C=O, amid). Từ đây, có thể kết luận rằng trong dịch chiết lá diếp cá có một số nhóm chức đặc trưng như rượu, amid, các hydrocarbon béo không no có nối 3 anky. Theo nghiên cứu [12] các nhóm chức đặc trưng trong thành phần hóa học của diếp cá bao gồm của các hợp chất



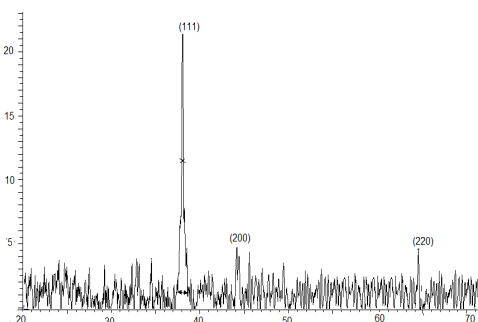
Hình 3. Phổ FT-IR của AgNPs.

Nhiều xạ tia X xác định cấu trúc tinh thể của mẫu AgNPs có 3 peak với các giá trị 2θ lần lượt là 38° , 44° và 64° , tương ứng với các hằng số mạng lần lượt là (110) (200) và (220) là hằng số mạng của tinh thể Ag. Điều đó chứng tỏ trong mẫu tổng hợp từ dung dịch $AgNO_3$ và dịch chiết lá diếp cá đã hình thành tinh thể Ag với mạng tinh thể FCC [4,10]. Từ kết quả nhiễu xạ tia X, sử dụng công thức Scherrer có thể tính được kích thước tinh thể AgNPs tương ứng



Hình 5. Kết quả ảnh SEM của AgNPs.

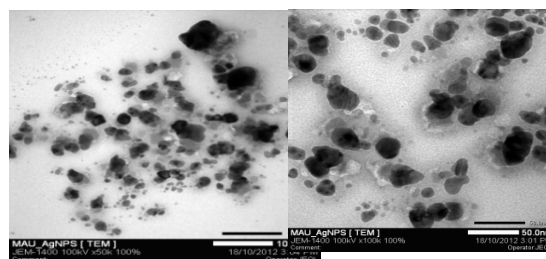
flavonoid, tinh dầu gồm các dẫn xuất của andehy, ceton và một số các axit amin, axit caprinic. Các nhóm chức này dễ bị oxi hóa, đóng vai trò là chất khử phản ứng với chất oxi hóa Ag^+ tạo thành Ag, ánh sáng mặt trời (phơi nắng) làm chất xúc tác để phản ứng xảy ra nhanh hơn. Đồng thời những hợp chất hữu cơ (flavonoid, tinh dầu,..) có trong dịch chiết cũng là chất ổn định làm giảm quá trình keo tụ của các AgNPs [5, 6, 12].



Hình 4. Nhiễu xạ tia X của AgNPs.

khoảng 29 nm, ($\lambda = 1,54\text{\AA}$ bước sóng chùm tia XRD, $\beta = 0.00492$ rad, độ bán chiều cao vạch nhiễu xạ (FWHM), $\theta = 29^\circ$ góc nhiễu xạ có cường độ lớn nhất)

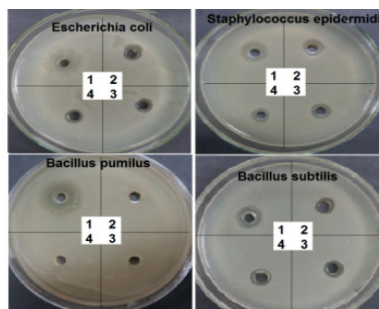
Kết quả phân tích SEM và TEM của AgNPs cho thấy các hạt có dạng hình cầu, phân bố đều, độ đồng nhất cao, kích thước trung bình từ 10-40 nm.



Hình 6. Kết quả ảnh TEM của AgNPs.

3.2. Nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của AgNPs

Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn cho thấy (bảng 1) AgNPs 1mM có khả năng kháng khuẩn tốt, kháng vi khuẩn gram (+) như *Staphylococcus epidermidis*, trung bình với *Escherichia coli* gram (-) hoặc không đáng kể với *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*.



Hình 7. Kết quả kháng khuẩn của AgNPs.

- (1) Penicillin nồng độ 1mM
- (2) AgNPs nồng độ 1 mM
- (3) AgNPs nồng độ 0.5 mM
- (4) AgNPs nồng độ 0.25 mM

Bảng 1. Kết quả khả năng kháng khuẩn của AgNPs

Tên khuẩn	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)			
	Penicillin 1mM (1)	1 mM (2)	0.5 mM (3)	0.25 mM (4)
<i>Bacillus subtilis</i>	18	10	10	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18	15	13	12
<i>Escherichia coli</i>	24	12	10	10
<i>Bacillus pumilus</i>	24	10	10	10

4. Kết luận

Tổng hợp AgNPs từ dịch chiết lá diếp cá với AgNO₃ và phơi nắng 60 phút. Các tinh thể AgNPs có dạng hình cầu, kích thước từ 10 - 40 nm. AgNPs có khả năng kháng khuẩn tốt vi khuẩn gram (-) và vi khuẩn gram (+) như *Staphylococcus epidermidis*, trung bình với *Escherichia coli* gram (-) hoặc không đáng kể với *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*.

Tài liệu tham khảo

[1] Shakeel Ahmed, Mudasir Ahmad, Babu Lal Swami, Saiqa Ikram (2016)., "A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise, Journal of Advanced Research, Vol.7(1), pp. 17-28.
 [2] Kannan Badri Narayanan, Natarajan Sakthivel (2011), "Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and

aquaticphototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents", Advances in Colloid and Interface Science, Vol 169, pp. 59-79.

[3] Jolanta Pulit, Marcin Banach, Zygmunt Kowalski, (2014), "Chemical reduction as the main method for obtaining nanosilver", Journal of Computational and Theoretical Nanoscience, Vol.10, pp.1-9.
 [4] Landage S.M., Wasif A. I., Dhuppe P., (2014), "Synthesis of nanosilver using chemical reduction methods", International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences, Vol. 3(5), pp.14-22.
 [5] Mallikarjuna N., Nadagouda, Thomas F. S., Rajender S. V., (2011), "Microwave-assisted green synthesis of silver nanostructures", Acc. Chem. Res., 2011, Vol 44 (7), pp 469-478.
 [6] Amit Kumar Mittal, Yusuf Chisti (2013), "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts", Biotechnology Advances JBA-06641, pp.1-11.
 [7] P. C. Nagajyothi, S.O. Lee, T. N. M. An, Kap Duk Lee (2012), "Green synthesis of silver and gold

- nanoparticles using *Lonicera Japonica* flower extract”, *Nanoparticles*, J. Bull. Korean Chem. Soc., Vol. 33(8), pp. 2609-2612.
- [8] Priti Agarwal, Vinod Kumar Bairwa, Sumita Kachhwaha & S.L. Kothari, (2014), “Green synthesis of silver nanoparticles using callus extract of *capsicum annuum* and their activity against microorganisms”, *International journal of nanotechnology and application* Vol. 4(5), pp 1-8.
- [9] P. Mosae Selvakumar, Churchil Angel Antonyraj, (2016), “Green synthesis and antimicrobial activity of monodispersed silver nanoparticles synthesized using Lemon extract”, *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, Vol 46, pp 291-294.
- [10] Mariselvam R., Ranjitsingh A.J.A., Usha Raja Nanthini A., Kalirajan K., Padmalatha C., Selvakumar Mosae P., (2014). “Green synthesis of silver nanoparticles from the extract of the inflorescence of *Cocos nucifera* (Family: *Arecaceae*) for enhanced antibacterial activity”. *Spectrochim Part A: Mol Biomol Spectrosc*, Vol 129, pp 537-541.
- [11] Đỗ Tất Lợi, (2006) “Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam”, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
- [12] Trần Thị Việt Hoa, Lê Thị Kim Oanh (2008), “Phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ cây Diếp cá (*Houttuynia cordata* Thunb) của Việt Nam”, *Tạp chí Phát triển KH&CN*, tập 11, số 07.
- [13] A. M. Awwad, N. M. Salem (2012), “Green synthesis of silver nanoparticles by Mulberry leaves extract” *Nanoscience and Nanotechnology*, pp. 125-128.

Green Synthesis of Silver Nanoparticles from *Houttuynia cordata* Leaves Extract and AgNO_3

Tran Nguyen Minh An

Department of Chemical Engineering, Industrial University of Ho Chi Minh

Abstract: Silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized by using *Houttuynia cordata* leaves extract and AgNO_3 . AgNPs were characterized using UV-visible absorption spectroscopy, FT-IR spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD) and transmission electron microscopy (TEM). The antibacterial activity of biologically synthesized AgNPs was evaluated against as *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* and *Bacillus pumilus*. The AgNPs 1mM exposed high activity against *Staphylococcus epidermidis*.

Keywords: *Houttuynia cordata*, AgNPs, antibacterial activity.