

TỔNG HỢP NANO SILVER TRONG NỀN CHITOSAN BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ VÀ ỨNG DỤNG TRONG KHÁNG KHUẨN

Phan Hà Nữ Diễm

Trường Đại học Đồng Nai

Email: phannudiem@gmail.com

(Ngày nhận bài: 1/1/2025, ngày nhận bài chỉnh sửa: 17/1/2025, ngày duyệt đăng: 23/1/2025)

TÓM TẮT

Hạt nano Ag (AgNP) có nồng độ 2 mM/L và kích thước hạt từ 7 – 9 nm được tổng hợp bằng phương pháp chiếu xạ tia γ vào dung dịch Ag^+ /chitosan có chitosan là chất ổn định và được khảo sát ở các nồng độ phần trăm khác nhau 0,5; 1,0 và 2,0 %. Quá trình kết hợp AgNP/Chitosan lên vải được thực hiện bằng cách ngâm vải trong AgNP/chitosan. Hàm lượng Ag trên vải bị rửa trôi một phần sau khi giặt, được xác định bằng quang phổ phát xạ plasma nguyên tử ghép cảm ứng (ICP-AES). Kết quả cho thấy AgNP/chitosan/vải được xử lý bằng cách ngâm vải trong dung dịch AgNP/chitosan, nồng độ tối ưu của chitosan về khả năng gắn kết AgNP trên vải là 0,5% - 1,0%. Hoạt tính kháng khuẩn của các AgNP đối với khuẩn *S. aureus* cho thấy AgNP/chitosan/vải có hàm lượng Ag lớn hơn 100 mg/kg có hoạt tính kháng khuẩn cao ($\eta > 98\%$), có thể được sử dụng làm ga giường hoặc đồng phục bệnh nhân trong bệnh viện, v.v...

Từ khóa: Chiếu xạ tia γ , hạt nano Ag, kháng khuẩn

1. Giới thiệu

AgNPs có hoạt tính kháng khuẩn cao, đồng thời thể hiện độc tính thấp đối với tế bào động vật có vú nếu dùng ở liều lượng đủ để diệt khuẩn [1], các hạt nano có hoạt tính kháng khuẩn trên các chất mang khác nhau. Công nghệ nano đã tạo điều kiện thuận lợi cho việc tổng hợp các AgNP có kích thước nhỏ hơn nhằm tăng tỷ lệ diện tích bề mặt trong cùng một đơn vị thể tích. Kích thước các AgNP càng nhỏ thì hoạt tính kháng khuẩn càng mạnh [2].

Trong các phương pháp tổng hợp AgNP, phương pháp chiếu xạ gamma Co-60 có nhiều ưu điểm, như: chất khử xuất hiện đồng đều trong dung dịch chiếu xạ; có thể kiểm soát được tốc độ phản ứng bằng cách thay đổi thời gian chiếu xạ; dễ dàng kiểm soát kích thước các AgNP bằng cách thay đổi nồng độ ion Ag^+ ; sản xuất được lượng lớn các AgNP không bị nhiễm bẩn bởi dư lượng

chất khử và ion Ag^+ , chi phí tương đối hợp lý [3].

Chitosan được sử dụng làm chất ổn định trong quá trình tổng hợp AgNP bằng phương pháp chiếu xạ tia γ [3]. AgNPs được ổn định bởi chitosan vì sự tương tác đồng thời của hiệu ứng không gian và tính điện của các nhóm -OH và - NH_2 trên bề mặt của AgNP. Hơn nữa, chitosan và AgNP hoạt động liên hợp chống lại vi khuẩn và kết quả là AgNP/chitosan thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với trường hợp các nhóm này hoạt động riêng lẻ [4]. Có tương tác hóa học giữa chitosan và cellulose trong công bố [5]. Do đó, chitosan được coi là chất kết dính thích hợp để tăng cường độ kết dính của AgNP với vải.

Ảnh hưởng của chất kết dính chitosan đến độ bám dính của AgNP trên vải sau khi giặt nhiều lần, hoạt tính chống vi khuẩn đối với *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) và tính chất cơ

học của vải cotton được gắn kết AgNP cũng được khảo sát.

2. Thử nghiệm

2.1. Hóa chất

AgNO₃ phân tích và acid lactic (Công ty Thuốc thử Hóa học Thượng Hải, Trung Quốc). Chitosan làm từ vỏ tôm có độ deacetyl hóa khoảng 90% và có khối lượng mol M_w là $9,2 \times 10^4 \text{ g/mol}$ (Công ty Chitosan, Vũng Tàu, Việt Nam); Chủng vi khuẩn *S. aureus* ATCC 6538 được cung cấp bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh; Môi trường thạch Mueller Hinton để ủ vi khuẩn (Himedia, Mumbai, Ấn Độ); Nước cất được sử dụng trong tất cả các thí nghiệm, Vải cotton (Công ty VICOTEX, Việt Nam).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Tổng hợp AgNP/Chitosan bằng phương pháp chiếu xạ

- Chuẩn bị dung dịch chitosan gốc 2,5%: hòa tan 2,5 g chitosan trong 100 mL dung dịch acid lactic 1,0% và khuấy qua đêm bằng khuấy từ. Dung dịch chitosan được lọc qua lưới thép không gỉ (200 mesh) để tách phần chất rắn không hòa tan.

- Từ dung dịch chitosan 2,5%, lấy các thể tích: 5, 10 và 20 mL cho vào ba bình định mức 25 mL khác nhau; cho từ từ 5 mL dung dịch Ag⁺ 10 mM vào các bình định mức và định mức bằng nước cất đến thể tích 25 mL, khuấy đều trong 10 phút bằng máy khuấy từ, thu được các dung dịch tương ứng với nồng độ dextran là 0,5; 1,0 và 2,0%, nồng độ Ag⁺ là 2 mM. cho dung dịch Ag⁺/chitosan vào lọ thủy tinh loại 25 mL của hãng Schott, Đức có nút vặn kín khí bằng nhựa. Quá trình chiếu xạ dung dịch Ag⁺/chitosan được thực hiện trên máy chiếu xạ gamma Co-60 STSVC0-60/B (Hungary) tại Trung tâm

VINAGAMMA, Thành phố Hồ Chí Minh với liều hấp thụ khoảng 7 kGy [6].

2.2.2. Quá trình gắn kết Ag nano lên nền vải

Vải được giặt sạch để loại bỏ keo, sấy khô và cắt nhỏ với kích thước 0,2×0,2 m². Ngâm các mẫu vải trong dung dịch Ag/chitosan khoảng 5 phút và trộn đều. Sau đó, làm khô vải bằng nhiệt độ phòng thí nghiệm. Hàm lượng bạc trong các mẫu vải được xác định bằng phổ phát xạ nguyên tử plasma kết hợp cảm ứng (ICP-AES) trên máy Perkin-Elmer, Optima 5300 DV.

2.2.3. Giặt và rửa trôi AgNP trên vải

Quy trình giặt AgNP/vải được thực hiện theo quy trình El-Rafie [7] với 5, 10 và 20 lần giặt. Hàm lượng Ag/vải sau khi giặt cũng được xác định bằng phương pháp ICP-AES.

2.2.4. Hoạt tính kháng khuẩn của AgNP/Chitosan trên vải

Hoạt tính kháng khuẩn của vải đã được gắn kết AgNP được thử nghiệm chống lại *S.aureus* bằng cách sử dụng một bình lắc: 1,0 g vải đã được gắn bạc ở trên, được nhúng vào một bình có chứa 100 mL huyền phù *S. aureus* với nồng độ tế bào khoảng 10⁶ CFU/mL. Sau đó lắc bình với tốc độ 150 vòng/phút trên máy lắc, ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Sau đó, số lượng đơn vị hình thành vi khuẩn (CFU) trong mỗi mẫu hỗn hợp được định lượng bằng đĩa trải trên đĩa thạch Mueller Hinton và hiệu quả kháng khuẩn, η (%) được tính như sau [6]:

$$\eta (\%) = 100 \times (N_0 - N_i) / N_0$$

Trong đó, N₀, N_i lần lượt là CFU/mL từ vải bông ban đầu và AgNP/vải.

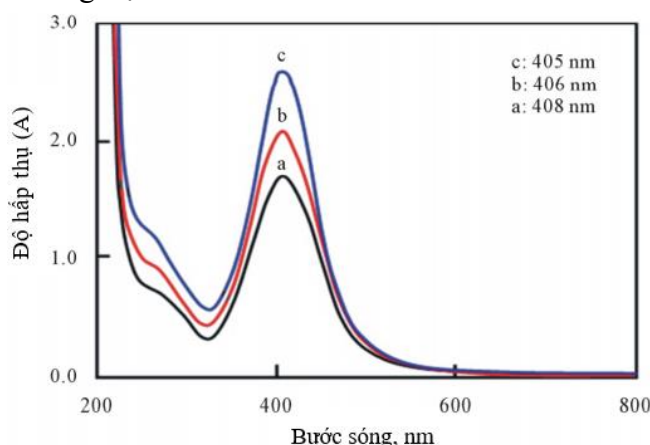
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Các đặc trưng của AgNP/Chitosan

Trong quá trình chiếu xạ, ion Ag⁺ bị khử thành Ag⁰ bởi e_{aq}⁻ và H⁺, Ag⁰ sẽ kết

lại thành những AgNP được ổn định bởi chitosan. Phổ UV-Vis của AgNP 2 mM được ổn định bởi các nồng độ chitosan

khác nhau: 0,5%; 1,0% và 2,0% (Hình 1) và ảnh TEM được trình bày ở Hình 2.

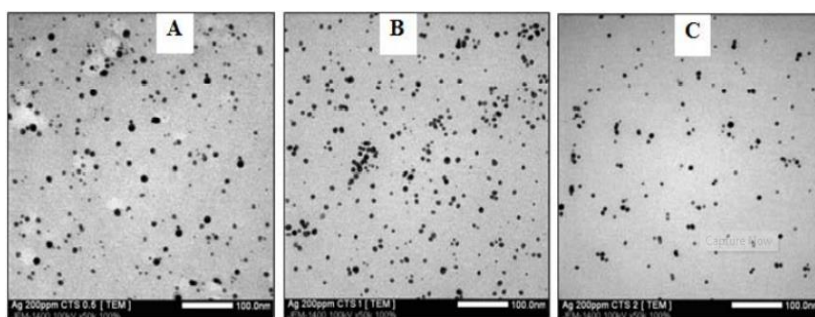


Hình 1: Phổ UV-Vis của dung dịch AgNP

được ổn định bởi nồng độ chitosan khác nhau: (a) 0,5; (b) 1,0 và (c) 2,0%

Phổ UV-Vis cho thấy, độ hấp thụ quang của các mẫu (a), (b) và (c) ở bước sóng cực đại ($\lambda_{\max}$, nm) lần lượt là 408, 406 và 405 nm là không khác nhau trong khi nồng độ của tiền chất tăng gấp đôi. Điều này được giải thích là: quá trình tổng hợp AgNP đã sử dụng tác nhân khử mạnh, có thời gian phản ứng rất ngắn nên kích thước của các AgNP được ổn định bởi chitosan có sự chênh lệch không đáng kể. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Du và các cộng sự khi tổng hợp AgNP bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma, sử dụng polyvinyl ancol làm chất ổn định [8].

Thật vậy, ảnh TEM (hình 2), cho thấy đường kính các AgNP đối với ba nồng độ khác nhau của chitosan: 0,5; 1,0 và 2,0% là không khác nhau nhiều. Khoảng ~ 7 - 9 nm. Nguyên nhân có thể là nồng độ chitosan được sử dụng làm ổn định tương đối cao và đã đạt đến nồng độ tối ưu nên các AgNP tạo thành có kích thước nhỏ. Du & nnk. công bố, nồng độ tối hạn của alcohol polyvinyl để điều chế AgNP 20 mM, kích thước nhỏ nhất (~ 10 nm) bằng chiếu xạ gamma Co-60 là 2% - 4% [8].

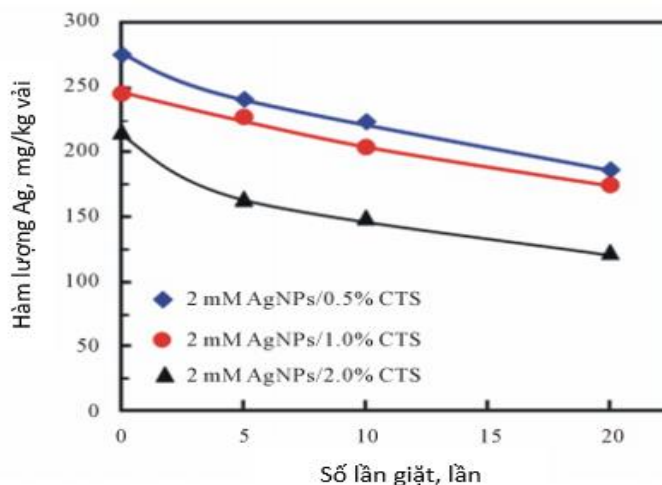


Hình 2: Ảnh TEM của các AgNP trong các nồng độ chitosan khác nhau: 0,5 (A), 1,0 (B) và 2,0 % (C)

3.2. Giặt và rửa trôi AgNP từ AgNP/vải

Hình 3 biểu diễn sự rửa trôi AgNP từ AgNP/vải bằng cách giặt. Kết quả thu được cho thấy rằng nồng độ chitosan thích hợp để AgNP bám dính trên vải tốt nhất là 0,5 - 1,0 %. Hàm lượng Ag bị rửa trôi khoảng 30% sau 20 lần giặt đối với mẫu có nồng độ chitosan 0,5% và 1,0 %

so với các mẫu vải có nồng độ chitosan 2,0 % thì hàm lượng Ag bị rửa trôi khoảng 44%. Nguyên nhân có thể là nồng độ chất kết dính tăng, hàm lượng chitosan thừa không làm cho AgNP bám dính trên vải tốt hơn, vì trong quá trình giặt, phần chitosan thừa sẽ dễ dàng bị rửa trôi, cuốn theo AgNP.



Hình 3: Hàm lượng AgNP trong AgNP/vải sau khi giặt

3.3. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của AgNP trên bề mặt vải

Hoạt tính kháng khuẩn của AgNP/vải đối với khuẩn *S.aureus* được trình bày trong bảng 1 và hình 4. Có thể

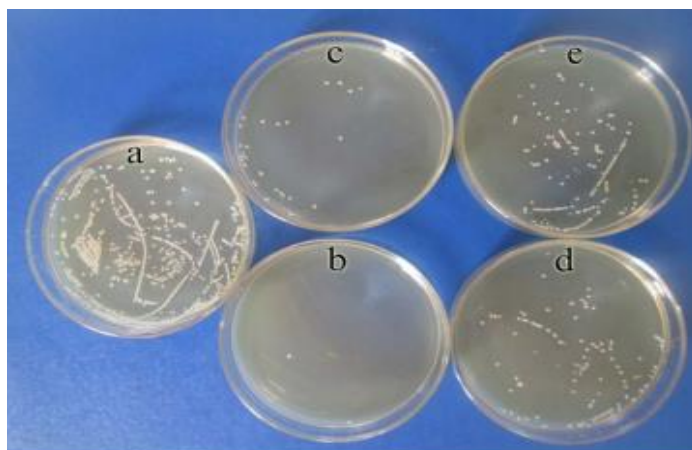
nhận thấy rằng tất cả các loại vải được phủ các AgNP, tỉ lệ: 124 – 245 mg/kg đều cho hiệu quả kháng khuẩn cao (> 98% so với vải chưa qua xử lí).

Bảng 1: *Hàm lượng Ag và khả năng kháng khuẩn S.aureus của AgNP/vải*

Mẫu vải	Hàm lượng Ag (mg/kg vải)	Tế bào sống (CFU/ml)	Hiệu suất (η, %)
Chưa xử lí	0(*)	$1,13 \times 10^7$	-
1	245	$2,70 \times 10^3$	99,98
2	204	$1,25 \times 10^4$	99,89
3	177	$1,35 \times 10^5$	98,81
4	124	$2,21 \times 10^5$	98,04

Khi hàm lượng bạc AgNP/vải tăng lên, hiệu quả kháng khuẩn tăng dần từ 98,04% lên 99,98%. Kết quả chỉ ra rằng

sau 20 lần giặt, AgNP/vải vẫn duy trì hoạt tính kháng khuẩn cao.



Hình 4: Nhóm khuẩn *S.aureus* được cấy trên đĩa agar (a) mẫu trắng; các đĩa agar (b), (c), (d) and (e) là AgNP/vải với tỉ lệ khối lượng giữa AgNP và vải tương ứng là 245, 204, 177 và 124 mg/kg

Vấn đề liên quan đến tác động môi trường: trong nước thải, AgNP gần như chuyển hóa hoàn toàn thành Ag_2S có độ hòa tan cực thấp và có độc tính thấp hơn nhiều so với các dạng khác của Ag theo công bố của Kaegi và cộng sự [9]. Do đó, AgNP bị rửa trôi từ AgNP/vải, đi vào nước thải khi giặt sẽ chuyển hóa thành Ag_2S được coi là không có tác động đáng kể đến môi trường. AgNP/vải có hoạt tính kháng khuẩn cao, có thể được sử dụng hiệu quả làm khăn trải giường hoặc đồ đồng phục bệnh nhân trong bệnh viện, đặc biệt là cho bệnh nhân mắc bệnh truyền nhiễm, v.v...

4. Kết luận

Dung dịch AgNP có đường kính 7 – 9 nm được tổng hợp bằng phương pháp chiếu xạ γ Co-60 sử dụng chitosan 0,5% - 2,0% làm chất ổn định. AgNP được ổn định bởi chitosan 0,5% và 1,0% có khả năng bám dính trên vải tốt hơn so với nồng độ chitosan 2%. Chế tạo AgNP/vải có hoạt tính kháng khuẩn cao, hàm lượng Ag ít bị rửa trôi khi giặt và an toàn cho người sử dụng nên có thể được sử dụng làm màn trải giường hoặc đồ đồng phục của bệnh nhân trong bệnh viện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Moritz, M. and Geszke-Moritz, M., “The Newest Achievements in Synthesis, Immobilization and Practical Applications of Antibacterial Nanoparticles”, *Chemical Engineering Journal*, 228, 596-613, 2013.
- [2] Lu, Z., Rong, K., Li, J., Yang, H. and Chen, R., “Size-Dependent and Antibacterial Activities of Silver Nanoparticles against Oral Anaerobic Pathogenic Bacteria”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24, 1465-1471, 2013.
- [3] Phu, D.V., Lang, V.T.K., Lan, N.T.K., Duy, N.N., Chau, D.N., Du, B.D., Cam, B.D. and Hien, N.Q., “Synthesis and Antimicrobial Effects of Colloidal Silver Nanoparticles”, in *Chitosan by γ -Irradiation. Journal of Experimental Nanoscience*, 5, 169-179, 2010.

- [4] Potara, M., Jakab, E., Damert, A., Popescu, O., Canpean, V. and Astilean, S., “Synergistic Antimicrobial Activity of Chitosan-Silver Nanoparticles on *Staphylococcus aureus*”, *Nanotechnology*, 22, Article ID: 135101, 2011.
- [5] Urreaga, J.M. and de la Orden, M.U., “Chemical Interactions and Yellowing in Chitosan-Treated Cellulose”, *European Polymer Journal*, 42, 2606-2616, 2006.
- [6] Zhang, F., Wu, X., Chen, Y. and Lin, H., “Application of Silver Nanoparticles to Cotton Fabric as an Antibacterial Textile Finish”, *Fibers and Polymers*, 10, 496-501, 2009.
- [7] El-Rafie, M.H., Ahmed, H.B. and Zahran, M.K., “Characterization of Nanosilver Coated Cotton Fabric and Evaluation of Its Antibacterial Efficacy”, *Carbohydrate Polymers*, 107, 174-181, 2014.
- [8] Du, B.D., Phu, D.V., Cam, B.D. and Hien, N.Q., “Synthesis of Silver Nanoparticles by γ -Ray Irradiation Using PVA as Stabilizer”, *Vietnam Journal of Chemistry*, 45, 136-140, 2007.
- [9] Kaegi, R., Voegelin, A., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Burkhardt, M. and Siegrist, H., “Behavior of Metallic Silver Nanoparticles in a Pilot Wastewater Treatment Plants”, *Environmental Science and Technology*, 45, 3902-3908, 2011.

SYNTHESIS SILVER NANOPARTICLES IN CHITOSAN BY γ -IRRADIATION FOR ANTIMICROBIAL APPLICATIONS

Phan Ha Nu Diem

Dong Nai University

Email: phannudiem@gmail.com

(Received: 1/1/2025, Revised: 17/1/2025, Accepted for publication: 23/1/2025)

ABSTRACT

Silver nanoparticles (AgNP) with concentration of 2 mM/L and particle size from 7–9 nm were synthesized by γ -irradiating Ag^+ in aqueous solution in the presence of chitosan as stabilising agent, with different chitosan concentration of 0.5 %, 1.0 % and 2.0 %. Incorporation of AgNP/chitosan onto cotton fabric was carried out by padding method. The content of AgNP on cotton fabric released from cotton fabric after washing was determined by inductively couple plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES). The results showed that cotton/AgNP fabric with 0.5 % - 1.0 % chitosan was the best one of AgNP adhesion ability on cotton fabric. Antibacterial activity against *Saureus* indicated that cotton/AgNP fabric with AgNP content more than 100 mg/kg exhibited highly antibacterial activity ($\eta > 98\%$). Thus, the resultant cotton/AgNPs fabric with highly antibacterial activity can be potentially used as bed drapes and/or patient uniforms in hospitals, etc.

Keywords: γ –irradiation, silver nanoparticles, antibacterial