

TỔNG HỢP NANO BẠC BẰNG DỊCH CHIẾT LÁ ĐÀO *Prunus persica* VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA NÓ

Trịnh Đình Khả^{1*}, Lý A Hù², Đặng Duy Phong²,
Nguyễn Hữu Quyền², Hoàng Thị Thiên Hương²

¹ Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên

² Trường phổ thông Vĩnh cao Việt Bắc

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi công bố kết quả tổng hợp hạt nano bạc bằng cách sử dụng dịch chiết từ lá cây đào *Prunus persica*. Sau khi ion bạc tiếp xúc với dịch chiết lá, các ion bạc bị khử nhanh chóng bởi dịch chiết lá cây đào *Prunus persica* dẫn đến hình thành nano bạc bền và ổn định trong dung dịch. Nghiên cứu ảnh TEM cho thấy các hạt có kích thước khác nhau từ 9,09-27,4 nm và chủ yếu là hình cầu. Hoạt tính kháng khuẩn của nano bạc tổng hợp đã được khảo sát chống lại *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch. Đây là phương pháp mới thân thiện môi trường và có thể thay thế tốt hơn cho các phương pháp vật lý và hóa học hiện đại tổng hợp nano bạc

Từ khóa: Hoạt tính kháng khuẩn, Nano bạc (AgNPs), tổng hợp sinh học, dịch chiết lá, *Prunus persica*

MỞ ĐẦU

Hiện nay, các chất diệt khuẩn đang được sử dụng chủ yếu là các aldehyde hoặc amine vòng kết hợp với chất hoạt động cation, rất độc hại đối với con người và môi trường. Khi sử dụng các chất diệt khuẩn này trong thời gian dài sẽ xảy ra hiện tượng “nhờn”, vì vậy cần thay thế bằng chất diệt khuẩn mới ưu việt và thân thiện với môi trường hơn.

Khoa học và công nghệ nano (nanoscience & nanotechnology) là một lĩnh vực mới phát triển rất nhanh chóng và được ứng dụng trong nhiều ngành như: Điện tử, vật lý, hóa học, sinh – y học, môi trường, ... Khoa học về vật liệu đã tạo ra nhiều loại vật liệu có chức năng mới có kích thước trong khoảng 0,1 đến 100 nm [2]. Hạt nano bạc là một trong những điển hình quan trọng nhất của hạt nano kim loại. Nano bạc là vật liệu mới được biết đến với tính năng diệt khuẩn vượt trội có rất nhiều ứng dụng trong đời sống. Nano bạc có kích thước rất nhỏ, diện tích bề mặt rất lớn nên có thể xâm nhập dễ dàng vào tế bào vi sinh vật, làm thay đổi cơ chế hóa sinh, bất hoạt các quá trình trao đổi chất của vi sinh dẫn đến việc tiêu diệt chúng [6].

Để tổng hợp nano bạc người ta có thể sử dụng phương pháp vật lý, hóa học, ... nhưng các phương pháp này đòi hỏi thiết bị đắt tiền hoặc dễ gây ô nhiễm môi trường. Phương pháp sinh học đã được chứng minh hiệu quả tạo hạt nano bạc, không gây ô nhiễm môi trường. Nhiều loại dịch chiết thực vật (lá chè, lá lô hội, lá húng chanh, ...) đã được các nhà khoa học trên thế giới sử dụng để làm tác nhân khử sinh học ion Ag^+ thành hạt nano bạc [3], [5]. Trong nghiên cứu này chúng tôi trình bày kết quả tổng hợp nano bạc bằng dịch chiết nước lá đào và xác định khả năng kháng khuẩn đối với *E. coli* và *S. aureus*.

VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Lá đào được thu thập tại thành phố Thái Nguyên vào tháng 11 năm 2016. $AgNO_3$ tinh khiết được cung cấp bởi hãng Merck – Đức. Chúng *Escherichia coli* VTCC-B-482 (*E. coli*) và *Staphylococcus aureus* VTCC-B-658 (*S. aureus*) được cung cấp bởi Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật Việt Nam.

Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp chiết dịch lá đào:

Lá đào được thu hái ngoài tự nhiên mang về phòng thí nghiệm rửa sạch, để ráo nước và cắt

* Tel 0983 034 876; Email: khatd@tms.edu.vn

nhỏ. Cân 10g lá cho vào 100 ml nước cất, đun sôi cách thủy trong 30 phút sau đó lọc qua giấy lọc Whatman thu dịch trong được dịch chiết lá đào.

- *Phương pháp xác định thành phần hóa sinh theo phương pháp mô tả của Harborne [4]*

- *Phương pháp tổng hợp hạt nano bạc*

Cho từ từ 1 ml dịch chiết lá đào vào 10 ml dung dịch $AgNO_3$ 1mM. Hỗn hợp được khuấy 420 vòng/phút ở điều kiện nhiệt độ phòng trên máy khuấy từ của hãng Vlept - Italia trong thời gian 10 phút. Hỗn hợp sau khi khử được bảo quản trong lọ tối màu ở điều kiện thường.

- *Phương pháp phân tích hạt nano bạc*

Mẫu hạt nano bạc được chụp ảnh TEM tại Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương trên hệ thống kính hiển vi điện tử truyền qua JEM 1010 của hãng JEOL - Nhật Bản và phân tích quang phổ UV-VIS trên máy quang phổ U-2900 Spectrometer của hãng HITACHI - Nhật Bản trong dải bước sóng 350-650 nm.

- *Phương pháp xác định khả năng kháng khuẩn*

Cấy vi khuẩn vào các đĩa môi trường LB, sau đó ta đục 3 giếng thạch đường kính 1 mm, nhỏ 100 μ l dung dịch nano bạc vừa tổng hợp vào 2 giếng và dịch chiết vào giếng còn lại làm đối chứng. Các đĩa được ủ ở 37°C sau 24h tiến hành quan sát khả năng kháng khuẩn và đo kích thước vòng ức chế (D-d). Trong đó D là đường kính vòng vô khuẩn, d là đường kính giếng thạch [1].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thành phần hóa học của dịch chiết lá đào

Dịch chiết lá đào sau khi chiết bằng nước được phân tích thành phần hóa học theo phương pháp của Harborne. Kết quả bảng 1 cho thấy trong dịch chiết lá đào có nhiều thành phần có tính khử cao như: glycoside, terpenoid, tannin,... Những thành phần này

có vai trò khử Ag^+ thành Ag^0 ở dạng kích thước nano.

Tổng hợp nano bạc

Dịch chiết lá đào được dùng để khử ion bạc tạo thành chế phẩm nano bạc theo phương pháp đã mô tả. Kết quả hình 1 cho thấy ion bạc đã bị khử tạo thành nano bạc nên dung dịch keo nano bạc có màu đậm so với dung dịch $AgNO_3$ 1mM và dịch chiết lá đào. Qua các tài liệu đã công bố thì bước sóng hấp thụ cực đại của nano bạc khoảng hơn 400 nm [3]. Phân tích phổ UV-VIS của mẫu nano bạc sau tổng hợp cho thấy sự xuất hiện đỉnh hấp thụ cực đại tại bước sóng 440 nm. Kết quả này đã chỉ ra sự có mặt của các hạt nano bạc trong dung dịch. Đồng thời chỉ có một đỉnh hấp thụ chứng tỏ dung dịch nano bạc tổng hợp bằng dịch chiết lá đào đồng nhất không lẫn các tạp chất. Nghiên cứu của Patraa năm 2016 chỉ ra rằng dịch chiết vỏ quả đào có khả năng khử ion Ag^+ trong $AgNO_3$ thành hạt nano bạc có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 440 nm [7].

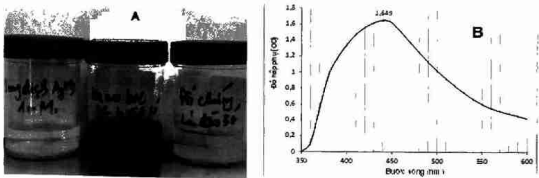
Phân tích ảnh TEM của hạt nano bạc

Các đặc điểm hình thái và kích thước của hạt nano bạc đã được quan sát, phân tích bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (hình 2). Kết quả phân tích từ ảnh TEM cho thấy các hạt nano trong dung dịch đa phần có hình cầu phân tán đều, không bị kết đám (hình 2A). Kích thước hạt nano bạc dao động trong khoảng 9,09-27,4 nm (hình 2B).

Nghiên cứu của Patraa cho thấy hạt nano bạc tổng hợp bởi dịch chiết vỏ quả đào có kích thước dao động từ 10-50 nm, trung bình 28,27 nm [7]. Như vậy, hạt nano bạc được tổng hợp bằng dịch chiết lá đào có kích thước nhỏ hơn so với tổng hợp bằng dịch chiết vỏ quả đào đã công bố. Kích thước hạt càng nhỏ thì diện tích bề mặt càng tăng, khả năng kháng khuẩn càng lớn. Do đó, hạt nano bạc tổng hợp từ dịch chiết lá đào có thể có khả năng kháng khuẩn mạnh.

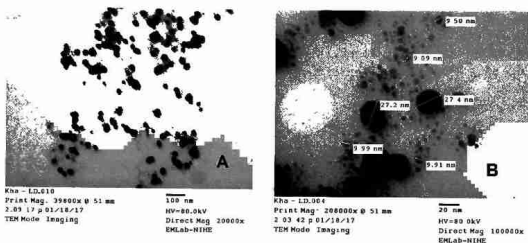
Bảng 1. Kết quả phân tích thành phần hóa sinh dịch chiết lá đào

Thành phần hóa học	Alkanoid	Flavonoid	glycosid	terpenoid	tannin
Đánh giá	++	+	+++	++	++



Hình 1. Chế phẩm nano bạc được tổng hợp bằng dịch chiết lá đào

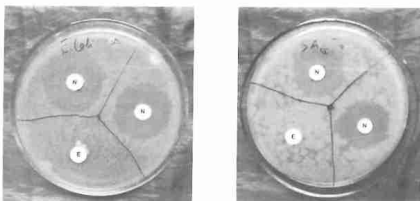
A: Dung dịch keo nano bạc sau tổng hợp; B: Phổ UV-Vis của các hạt nano bạc



Hình 2. Ảnh TEM của mẫu dung dịch nano bạc

A: Ảnh TEM ở độ phóng đại 20000 lần; B: Ảnh TEM ở độ phóng đại 100000 lần

Khả năng kháng khuẩn của nano bạc tổng hợp từ dịch chiết lá đào



Hình 3. Hoạt tính kháng khuẩn của dung dịch keo nano bạc tổng hợp bằng dịch chiết lá đào

A: Hoạt tính ức chế *E. coli*; B: Hoạt tính ức chế *S. aureus*;

N: Mẫu thử nano bạc; E: dịch chiết lá đào (Đối chứng)

Dung dịch nano bạc sau khi tổng hợp được đánh giá khả năng kháng khuẩn đối với *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*. Kết quả cho thấy dung dịch keo nano bạc tổng hợp bởi dịch chiết lá đào có phổ kháng khuẩn rộng, ức chế được cả vi khuẩn Gram âm (*Escherichia coli*) và Gram dương (*Staphylococcus aureus*). Trong đó, kích thước vòng kháng khuẩn đạt $25 \pm 0,6$ mm đối với *E. coli* và $2,2 \pm 0,9$ mm đối với *S. aureus* (hình 3).

Nghiên cứu của Patraa cho thấy hạt nano bạc tổng hợp từ dịch chiết vỏ quả đào có khả năng ức chế *E. coli* và *S. aureus* lần lượt là 10,83 và 9,01 mm [7]. hạt nano bạc tổng hợp từ dịch chiết lá cây tiêu có khả năng ức chế *E. coli* và *S. aureus* lần lượt là 15 và 16 mm [8]. Như vậy, khả năng kháng khuẩn đối với *E. coli* và *S. aureus* của hạt nano bạc tổng hợp từ dịch chiết lá đào cao hơn so với hạt nano tổng hợp từ dịch chiết vỏ quả đào và một số loại lá cây khác.

KẾT LUẬN

Chúng tôi đã tổng hợp được hạt nano bạc từ dịch chiết nước của lá đào có hình cầu kích thước từ 9,09 đến 27,4 nm. Hạt nano có khả năng ức chế mạnh *E. coli* và *S. aureus*. Chế phẩm nano bạc từ dịch chiết nước của lá đào có thể được dùng là tác nhân chống lại *E. coli* và *S. aureus*.

SUMMARY

BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES BY USING EXTRACT OF *PRUNUS PERSICA* LEAVES AND ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITY

Trình Đình Khả¹, Ly A Hu², Dang Duy Phong²,
 Nguyen Huu Quyen², Hoang Thi Thien Huong²
¹University of Sciences - TNU, ²Viet Bac High School

In this study, we report the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) by using extract of *Prunus persica* leaves. After exposing the silver ions to the leaf extract, the rapid reduction of silver ions led to the formation of stable AgNPs in solution due to the reducing and stabilizing properties of *Prunus persica* leaf extract. TEM studies revealed the particles of various sizes from 9-27 nm and mainly spherical in shape. The antimicrobial activity of the synthesized AgNPs was investigated against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by agar well diffusion method. This newly developed method is eco-friendly and could prove a better substitute for the current physical and chemical methods for the synthesis of AgNPs.

Keywords: Antibacterial activity, Biosynthesis, Leaf extract, *Prunus persica*, silver nanoparticles (AgNPs)

Ngày nhận bài: 01/3/2017; Ngày phản biện: 03/3/2017; Ngày duyệt đăng: 27/4/2017

* Tel: 0983 034 876, Email: khatd@tnu.edu.vn

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Thị Minh Đức (2001), *Thực tập vi sinh vật học*, Nxb Đại học Quốc gia Hà nội, tr. 83.
2. Chemielewski A. G. (2006), "Worldwide developments in the field of radiation processing of materials in the dawn of 21st century", *Nukleotika*, 51, pp. S3-S9.
3. Geoprincy G., Vidhya sri B. N., Poonguzhali U., Nagendra Gandhi N., Renganathan S. (2013), "A review on green synthesis of silver nanoparticles", *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, Vol 6, Suppl. 1, pp. 8-12.
4. Harborne J. B. (1978), *Phytochemical methods* (3rd edn), Chapman and Hall, London.
5. Loo Y. Y., Chieng B. W., Nishibuchi M., Radu S. (2012), "Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*", *International Journal of Nanomedicine*, 7, pp. 4263 - 4267.
6. Marambio-Jones C., Hoek E. M. V. (2010), "A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment", *Journal of Nanoparticle Research*, 12(5), pp.1531 - 1551.
7. Patraa J. K., Baek K. H. (2016), "Green synthesis of silver chloride nanoparticles using *Prunus persica* L. outer peel extract and investigation of antibacterial, anticandidal, antioxidant potential", *Green chemistry letters and Reviews*, 9(2), pp. 132-142.
8. Shanmuga Praba P., Jayasundari J., Brightson Arul Jacob Y. (2014), "Synthesis of silver nanoparticles using Piper betle and its antibacterial activity", *Eur. Chem. Bull.*, 3(10), pp. 1014-1016.