

TỔNG HỢP XANH BẠC NANO HÌNH CẦU SỬ DỤNG CHITOSAN LÀM CHẤT KHỬ VÀ CHẤT ỔN ĐỊNH

Phan Hà Nữ Diễm^{1,2}
Phạm Long Quang²
Trần Thái Hòa²

TÓM TẮT

Hạt bạc nano hình cầu (AgNP) được tổng hợp bằng cách khử muối bạc nitrat bởi chitosan (CTS) - có khả năng tương thích sinh học và không độc hại. Sản phẩm được đặc trưng bởi kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM), phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis), nhiễu xạ tia X (XRD) và phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR). Kết quả cho thấy nhiệt độ phản ứng, nồng độ bạc nitrat và nồng độ STS là những yếu tố quyết định sự hình thành AgNP, kích thước và hình thái của AgNP có thể được kiểm soát bằng cách khảo sát các thông số này. Ở điều kiện tối ưu (nhiệt độ khử là 105°C, nồng độ bạc nitrat là 0,5% và nồng độ chitosan là 0,1%, sản phẩm thu được là bạc nano có độ phân tán cao, hình cầu và kích thước trung bình khoảng 6 nm.

Từ khóa: Bạc nano hình cầu, chitosan, phương pháp xanh

1. Giới thiệu

Cấu trúc bạc nano đã thu hút được nhiều sự chú ý do các ứng dụng tiềm năng của chúng trong nhiều lĩnh vực như kháng khuẩn, xúc tác, cảm biến sinh học, hóa học và tăng cường bề mặt phổ Raman [1-4]. Sự cộng hưởng plasmon phụ thuộc nhiều vào kích thước, hình dạng và thành phần của hạt nano. Đặc biệt, kiểm soát hình thái là rất quan trọng để cải thiện ứng dụng của các cấu trúc nano ở sản phẩm.

AgNP có thể được tổng hợp bằng nhiều phương pháp khác nhau như: phương pháp hóa học [5], bức xạ tia γ [1], quang hóa [6], v.v... Trong đó, phương pháp phổ biến nhất để tổng hợp AgNP là phương pháp hóa học, sử dụng các tác nhân khử hóa học như NaBH_4 hay natri citrate để khử muối bạc [7]. Tuy nhiên, nhược điểm của phương pháp này là sử dụng các tác nhân độc hại gây ảnh hưởng đối với

môi trường. Gần đây, các nhà khoa học đã sử dụng “phương pháp xanh” để tổng hợp nano AgNP nhằm khắc phục hạn chế nói trên [8].

Trong quá trình tổng hợp AgNP, chất ổn định đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát sự hình thành của hạt nano cũng như sự ổn định độ phân tán của chúng [5]. Polyme thường được sử dụng làm chất ổn định hạt nano vì chúng có hiệu quả trong việc ngăn ngừa sự kết tụ và kết tủa của các hạt nano. Chitosan là polysaccharit, một dẫn xuất của chitin tự nhiên, là một polymer được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau bởi những ưu điểm như kháng khuẩn, tương thích sinh học, phân hủy sinh học, hấp thụ kim loại nặng trong nước, làm lành vết thương và là một vật liệu sinh học [9]. Vì những lý do này, chitosan được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau như y học, thực phẩm và kỹ thuật hóa

¹Trường Đại học Đồng Nai,

²Trường Đại học Khoa học - Đại học Huế

Email: phannudiem@gmail.com

học, dược phẩm, dinh dưỡng và nông nghiệp [10]. Trong bài báo này, chúng tôi tổng hợp AgNP bằng phương pháp xanh, dùng chitosan làm chất khử và làm chất ổn định. Kết quả thu được là AgNP có kích thước nhỏ, sản phẩm thu được chịu ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng cũng như nồng độ của bạc nitrat và của chitosan.

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất và thiết bị

AgNO₃ được mua từ Sigma Aldrich. CTS và axit axetic được lấy từ Quangzi, Trung Quốc, nước cất 2 lần được dùng trong suốt quá trình thí nghiệm. Tất cả các dụng cụ thủy tinh được làm sạch bằng nước cường toan (HCl:HNO₃, tỷ lệ 3:1 theo thể tích) và rửa lại bằng nước cất.

Cấu trúc tinh thể của các AgNP được đặc trưng bằng máy đo nhiễu xạ tia X (XRD, Rikaku- Denki, CuK α , 40 mV, 20 mA, Đức). Định tính AgNP theo bước sóng hấp thụ cực đại của sản phẩm được ghi lại bởi máy quang phổ UV (Jasco V-630 UV-Vis), hình thái của vật liệu được xác định bởi kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, Model JEOL-3432, Nhật Bản). Phổ hồng ngoại (IR) được ghi lại bằng Máy quang phổ Nicolet 6700 FTIR.

2.2. Chuẩn bị hạt nano Ag- chitosan

Quy trình tổng hợp nano bạc dựa trên tài liệu khoa học [10] của Dong Wei và cộng sự. Tuy nhiên, chúng tôi có thay đổi một số yếu tố và điều kiện thí nghiệm.

2.2.1. Điều chế dung dịch chitosan 0,4%

Hòa tan 0,4 g CTS trong 100 mL dung dịch axit axetic 2%. Vì khả năng hòa tan của CTS kém nên hỗn hợp được

khuấy qua đêm. Lọc bỏ phần không tan thu được dung dịch CTS với nồng độ khoảng 0,4%. Sau đó, pha loãng ra ở các nồng độ khảo sát.

2.2.2. Tổng hợp hạt nano bạc hình cầu (AgNP)

Cho 2 mL dung dịch AgNO₃ 0,1% vào 5 mL dung dịch CTS 0,1%, định mức thành 10 mL bằng nước cất. Sau đó, hỗn hợp trên được chuyển sang ống COD 10 mL và giữ trong 12 giờ ở 105°C. Màu của dung dịch chuyển từ không màu sang màu vàng nhạt.

3. Kết quả và thảo luận

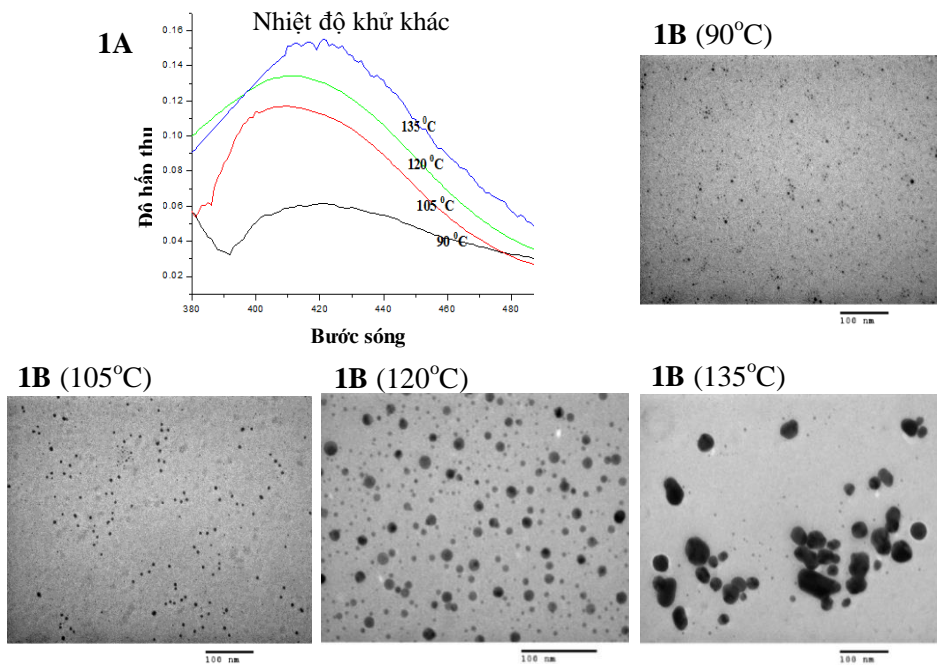
3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Phổ UV-Vis của dung dịch AgNP thu được tại các nhiệt độ khác nhau (hình 1A), bước sóng của các pic cực đại nằm trong khoảng 410 - 430 nm, thể hiện dải hấp thụ cộng hưởng plasmon bề mặt đặc trưng của các AgNP [8].

Khi phản ứng thực hiện ở 105°C, cường độ của pic này hầu như tăng gấp đôi và trở nên hẹp hơn so với ở 90°C. Cho thấy có sự tăng về số lượng AgNP trong dung dịch phản ứng và độ đồng nhất cao của AgNP khi tăng nhiệt độ phản ứng. Chúng tôi tiếp tục tăng nhiệt độ phản ứng lên 120°C và 135°C, thu được hai pic tù hơn, cực đại hấp thụ hầu như không đổi (so sánh từ chân đến pic cực đại). Các ảnh TEM tương ứng của các AgNP (hình 1B) cho thấy, khi nhiệt độ khử tăng, kích thước hạt tăng. AgNP được tổng hợp ở 90°C có kích thước trung bình $4,56 \pm 1,33$ nm trong khi các AgNP ở 105°C cho kích thước trung bình $5,92 \pm 0,98$ nm, và mẫu ở nhiệt độ cao hơn 120 và 135°C, hạt nano cho kích thước trung bình lần lượt là $12,08 \pm 2,13$ nm và $32,60 \pm 6,10$ nm.

Điều này có thể được giải thích là do ở nhiệt độ cao, tốc độ phản ứng tăng nên tạo ra hàng loạt mầm cùng một lúc làm cho kích thước hạt nhỏ, đơn phân tán. Tuy nhiên, khi nhiệt độ càng cao, kích thước hạt càng tăng, điều này có thể là do ở nhiệt độ cao hơn, CTS bị cắt mạch

thành hợp chất có phân tử khối nhỏ hơn và do đó khả năng bảo vệ AgNP kém hơn. Trong khi lượng AgNP tạo ra nhiều, dung dịch trở nên quá bão hòa AgNP nên dễ dàng kết hợp nhau tạo ra các AgNP có kích thước lớn hơn, theo cơ chế chín muối Ostwald.



Hình 1: Phổ UV-Vis (A) và ảnh TEM của AgNP thu được ở các nhiệt độ phản ứng khác nhau 90°C, 105°C, 120°C và 135°C (B)

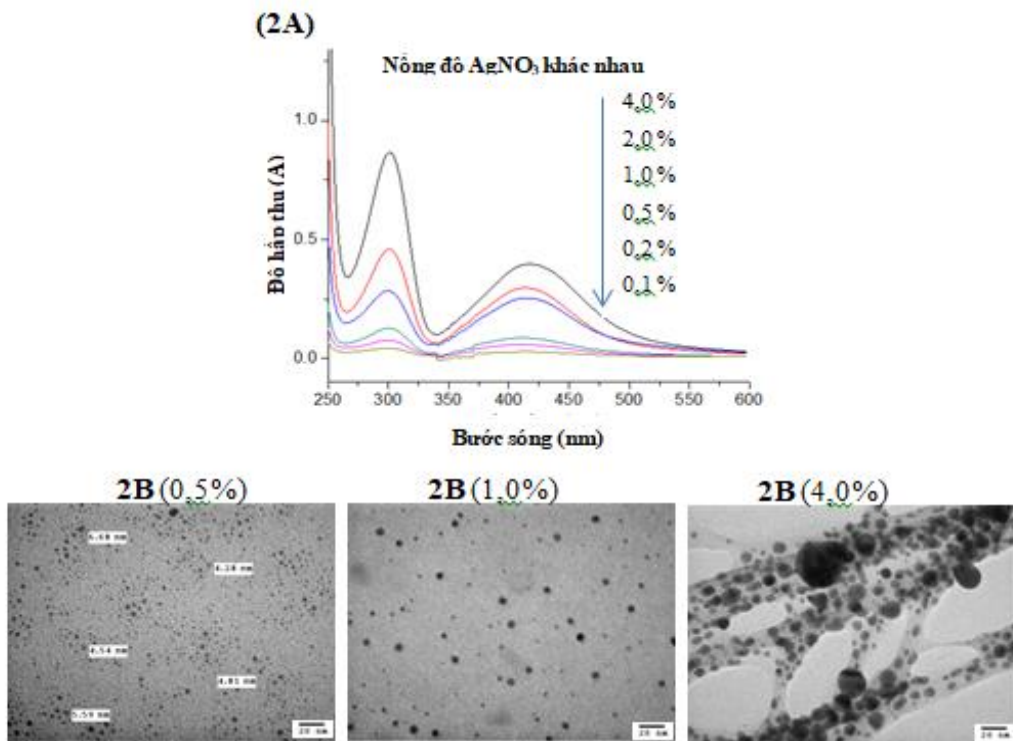
3.2. Ảnh hưởng của nồng độ bạc nitrat

Trong phần này, AgNP được tổng hợp từ những nồng độ bạc nitrat khác nhau: 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 và 4,0% trong khi đó, cố định nồng độ CTS là 0,2%, nhiệt độ khử là 105°C trong 12 giờ. Phổ UV-Vis (hình 2A) thể hiện, khi nồng độ bạc nhỏ (0,1 và 0,2%), pic của dung dịch rất thấp và tù. Vì cường độ hấp thụ không đáng kể nên suy ra, lượng AgNP được tạo thành trong dung dịch rất ít. Khi nồng độ AgNO_3 tăng, cường độ hấp thụ của AgNP trong dung dịch tăng mạnh, tại bước sóng 420 nm. Tuy

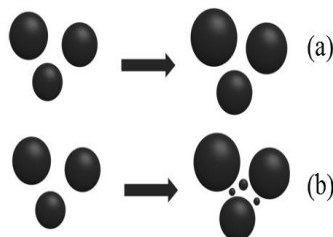
nhiên, ở bước sóng 300 nm là pic hấp thụ của ion Ag^+ trong tiền chất AgNO_3 , tại nồng độ 4,0% pic ở bước sóng 300nm hầu như tăng gấp đôi so với pic ở bước sóng 420 nm nghĩa là lượng Ag^+ dư đáng kể. Chúng tôi chụp TEM ba mẫu đặc trưng (hình 2), nồng độ AgNO_3 lần lượt là 0,5; 1,0 và 4,0%. Hình 2B cho thấy, mẫu cho phân bố kích thước nhỏ và hẹp nhất thu được ở nồng độ tiền chất bạc 0,5%. Mẫu có nồng độ Ag^+ càng lớn thì kích thước hạt càng lớn và có xu hướng kết dính lại với nhau. Điều này có thể được giải thích dựa vào cơ chế chín

muối Ostwald [6]. Theo đó, quá trình nhiệt động học xuất hiện, các hạt có kích thước lớn sẽ có năng lượng lớn hơn các hạt có kích thước nhỏ, và các phân tử trên bề mặt của hạt kém bền hơn so với các phân tử bên trong lòng của hạt. Do đó, các hạt trên bề mặt có xu hướng vỡ ra thành những hạt nhỏ tan vào dung dịch, khi đạt đến độ quá bão hòa thì các hạt này có xu hướng kết tinh

trên bề mặt của các hạt lớn, tạo thành hạt có kích thước lớn hơn. Tuy nhiên, bề mặt của hạt sẽ phát triển đến một mức độ nhất định và sau đó sẽ không tiếp tục phát triển thêm nữa. Mặt khác, các hạt AgNP hấp phụ bão hòa Ag^+ nên trong dung dịch có một lượng dư Ag^+ , do vậy sẽ tạo ra các cụm mới có kích thước nhỏ hơn (hình 3).



Hình 2: (A) Phổ hấp thụ UV-Vis và (B) ảnh TEM của AgNP với nồng độ $AgNO_3$ khác nhau: 0,5%, 1,0% và 4,0%

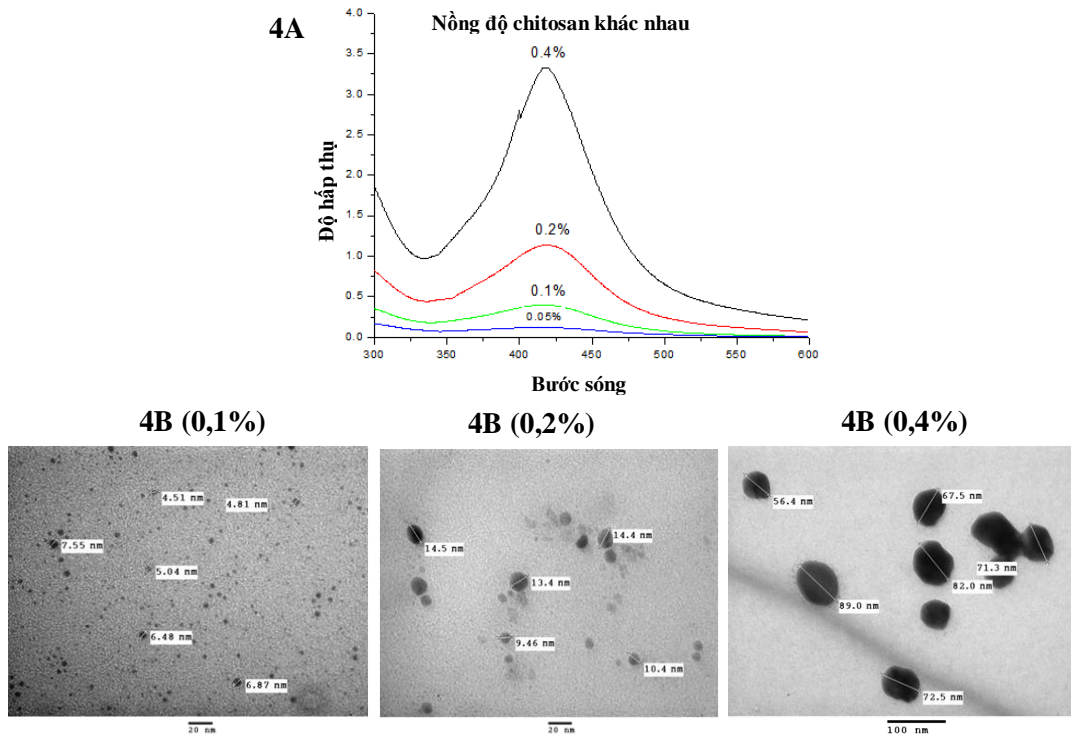


Hình 3: Mô hình minh họa sự phát triển hạt mầm trong trường hợp: không có dư Ag^+ trong dung dịch (a) và có dư Ag^+ trong dung dịch (b)

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ chitosan (CTS)

Để xác định nồng độ CTS tối ưu, chúng tôi đã khảo sát CTS ở các nồng

độ khác nhau: 0,05; 0,1; 0,2, 0,4% trong hỗn hợp phản ứng và cố định nồng độ ion Ag^+ là 0,5% ở nhiệt độ $105^{\circ}C$ trong 12 giờ (hình 4).



Hình 4: Phổ hấp thụ UV-Vis (A) và ảnh TEM của các AgNP ứng với những nồng độ CTS khác nhau: 0,1% (B); 0,2% (C) và 0,4% (D)

Phổ UV-Vis của các AgNP được tạo ra ở các nồng độ CTS khác nhau (hình 4A) cho thấy, khi nồng độ CTS thấp (0,05%), hầu như không thấy sự thay đổi tính quang học của phổ UV-Vis, nghĩa là lượng AgNP tạo ra không đáng kể. Khi nồng độ CTS tăng lên 0,1%, sự xuất hiện dải cộng hưởng plasmon bề mặt với pic tại bước sóng 420 nm. Tiếp tục tăng nồng độ CTS lên 0,4%, cường độ của pic hấp thụ tại $\lambda_{max} = 420$ nm tăng đáng kể. Ảnh TEM (hình 4B) cho thấy, nồng độ CTS 0,4%, AgNP có kích thước lớn và không đồng đều. Khi nồng độ giảm dần thì độ đồng đều của kích thước hạt và số lượng hạt

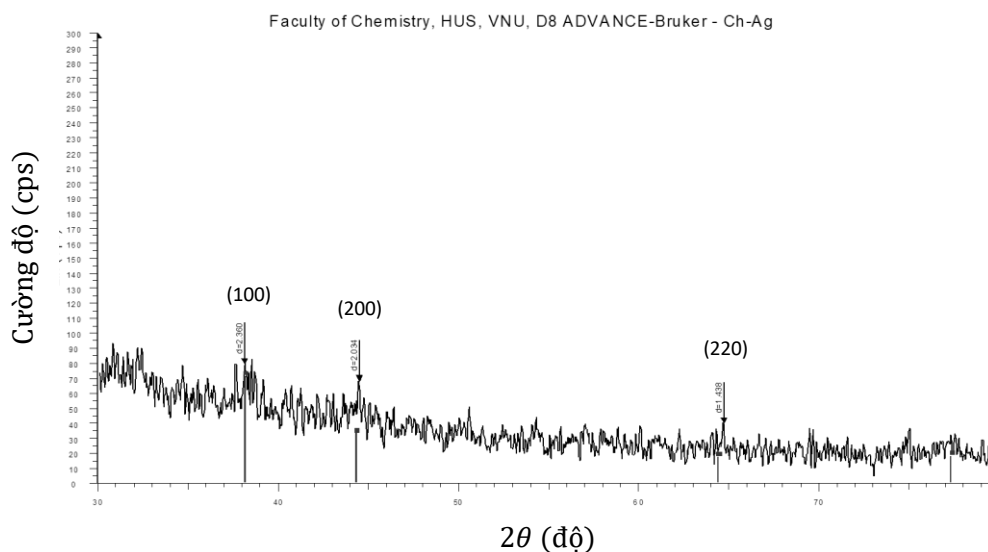
nhỏ cũng tăng lên. Điều này có thể được giải thích là do trong dung dịch phản ứng nồng độ chất khử càng lớn thì phản ứng xảy ra càng nhanh. Tuy nhiên, do CTS là một polymer tự nhiên có độ nhớt cao nên khả năng phân tán các hạt nano sẽ kém hơn so với khi ở nồng độ thấp, vì vậy các hạt sẽ có xu hướng kết dính lại với nhau. Điều này cũng dễ dàng nhận thấy khi ảnh TEM mẫu nồng độ CTS 0,4% cho hình ảnh mờ hơn so với các mẫu nồng độ thấp.

3.4. Phân tích nhiễu xạ tia X (XRD)

Chúng tôi chọn mẫu có nồng độ Ag^+ là 0,5%, nồng độ CTS là 0,1%,

nung ở 105°C trong 12 giờ để đo XRD. Trên giản đồ nhiễu xạ XRD (hình 5) có 3 pic nhiễu xạ tại các giá trị $2\theta = 38,21^\circ; 44,2^\circ; 64,4^\circ$ ứng với các mặt (111), (200), (220) với những cường độ rất yếu. Điều này có thể giải thích là do hạt nano có kích thước rất nhỏ, nghĩa là

CTS bao bọc hạt nano rất tốt. Không tìm thấy bất kỳ phản xạ nào là tạp nhiễu để chỉ ra rằng trong mẫu có lẫn tạp chất. Theo JCPDS No. 03 - 065 - 2871, sản phẩm bạc nano có cấu trúc lập phương tâm diện.

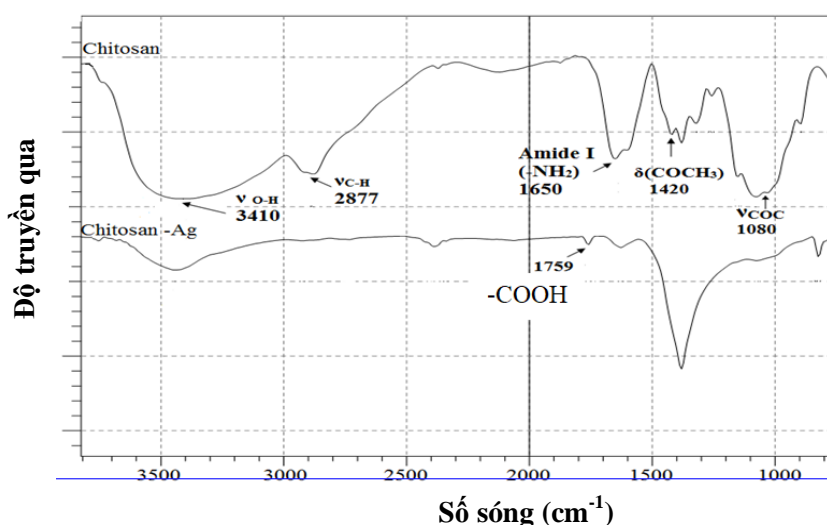


Hình 5: Giản đồ XRD của AgNP

3.5. Phân tích phổ hồng ngoại (FTIR)

Phổ hồng ngoại của CTS trước và sau khi phản ứng với Ag^+ được trình bày trên hình 6. Kết quả cho thấy, trên giản đồ phổ hồng ngoại của CTS xuất hiện các pic đặc trưng của CTS, đó là pic xuất hiện ở số sóng 3410 cm^{-1} ứng với dao động hóa trị của nhóm hydroxyl ($\nu_{\text{O-H}}$); pic ở số sóng 2877 cm^{-1} đặc trưng cho liên kết $\nu_{\text{C-H}}$, số sóng 1650 cm^{-1} là dao động hóa trị của nhóm amide I ($-\text{NH}_2$), số sóng 1420 cm^{-1} là dao động biến dạng (δ) của nhóm $-\text{COCH}_3$ và tại số sóng 1080 cm^{-1} tương

ứng với liên kết C-O-C. Phổ hồng ngoại của CTS sau khi bị oxy hóa bởi Ag^+ cũng có một vài đỉnh đặc trưng của CTS, tuy nhiên cường độ hấp thụ giảm mạnh. Điều này được giải thích như sau: Các nhóm $-\text{OH}$ và $-\text{NH}_2$ còn các cặp điện tử tự do linh động chưa tham gia liên kết bị hút mạnh bởi các ion Ag^+ làm cho liên kết ban đầu bị biến dạng (hình 6), ngoài ra sự xuất hiện đỉnh mới ở số sóng 1759 cm^{-1} (dao động của nhóm $-\text{C}=\text{O}$) được cho là có sự tạo thành nhóm cacboxyl ($-\text{COOH}$) trong phân tử CTS [12].



Hình 6: Phổ FT-IR của CTS và nano bạc trong CTS

4. Kết luận

AgNP được bảo vệ bởi CTS, với đường kính khoảng 6 nm khi tiến hành bằng phương pháp khử hóa học, với CTS vừa là chất khử, vừa là chất bảo vệ. Kích thước của AgNP có thể được kiểm soát bằng cách thay đổi nhiệt độ phản ứng, nồng độ Ag^+ và nồng độ CTS.

Điều kiện tối ưu để điều chế keo AgNP: nồng độ Ag^+ là 0,5%, nồng độ CTS là 0,1%, nhiệt độ khử ở 105 °C và thời gian khử là 12 giờ. Vì CTS có khả năng tương thích sinh học, cùng với độ tinh khiết và đặc tính khác biệt của dung dịch keo AgNP – CTS được ứng dụng nhiều trong y sinh học và dược phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hien, N.Q., Phu, D.V., Duy, N.N., Quoc, L.A., Lan, N.T.K., Quy, H.T.D., Van, H.T.H., Diem, P.H.N. and Hoa, T.T. (2015), "Influence of Chitosan Binder on the Adhesion of Silver Nanoparticles on Cotton Fabric and Evaluation of Antibacterial Activity", *Advances in Nanoparticles*, **4**, 98-106
2. Bhakat C. et al (2012), "Effects of Silver Nanoparticles Synthesize From Ficus Benjamina on Normal Cells and Cancer Cells", *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, Volume 1, Issue **4**, 33-36
3. Yi-Kang Cai, Kang-Li Gao, Guo-Cheng Li, Zhao-Jing Deng, Guo-Zhi Han (2015), "Facile controlled synthesis of silver particles with high catalytic activity", *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **481**, 407-412
4. Wang Y., Wang Y., Wang H., Cong M., Xu W., Xu S. (2015), "Surface-enhanced Raman scattering on a hierarchical structural Ag nano-crown array in different detection ways", *Chem. Phys.* **17**, 1173-1179
5. Ahmad M. B., Lim J. J., Shameli K., Ibrahim N. A., Tay M. Y. (2011), "Synthesis of silver nanoparticles in chitosan, gelatin and chitosan/gelatin bionanocomposites by a chemical reducing agent and their characterization", *Molecules* **16**, 7237-7248

6. Li Z., Li Y., Qian X. F., Yin J., Zhu Z. K. (2005), "A Simple Method for Selective Immobilization of Silver Nanoparticles", *Applied Surface Science* **250**, 109-116
7. Wan Y., Guo Z., Jiang X., Fang K., Lu X., Zhang Y., Gu N. (2013), Quasi-spherical silver nanoparticles: Aqueous synthesis and size control by the seed-mediated Lee–Meisel method, *Journal of Colloid and Interface Science* **394**, 263-268
8. Venkatesham M., Ayodhya D., Madhusudhan A., Babu N. V., Veerabhadram G. (2014), A novel green one-step synthesis of silver nanoparticles using chitosan: catalytic activity and antimicrobial studies, *Appl Nanosci* **4**, 113-119
9. Wang B., Chen K., Jiang S., Reincke F., Tong W., Wang D., Gao C. (2006), "Chitosan-mediated synthesis of gold nanoparticles on patterned poly(dimethylsiloxane) surfaces", *Biomacromolecules* **7**, 1203-1209
10. Wei D., Sun W., Qian W., Ye Y., Ma X. (2009), The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity, *Carbohydrate Research* **344**, 2375-2382
11. Ching W. L., An P. C., Ting T. L., Jia H. L. (2014), "Antimicrobial activity of UV-induced chitosan capped silver nanoparticles", *Materials Letters* **128**, 248-252
12. Chen W., Deng H. H., Hong L., Wu Z. Q., Wang S., Liu A. L., Lin X. H., Xia X. H. (2012), "Bare gold nanoparticles as facile and sensitive colorimetric probe for melamine detection", *Analyst: The Royal Society of Chemistry*, **137**, 5382-5386

GREEN SYNTHESIS OF HOMOGENEOUS SILVER NANOPARTICLES USING CHITOSAN SUSPENSIONS

ABSTRACT

Silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized by reducing silver nitrate salts with nontoxic, biocompatible chitosan. The obtained products were characterized by transmission electron microscopy (TEM), UV–Visible absorption spectra (UV-vis), X-ray diffraction (XRD), and Fourier transform infrared spectra (FTIR). It is found that the reaction temperature, silver nitrate and chitosan concentration were crucial factors determining the formation of AgNPs, the size and shape of the AgNPs can be controlled by investigating these parameters. At optimum conditions (reaction temperature = 105°C, silver nitrate concentration = 0.5%, and chitosan concentration = 0.1%, the obtained products were single-crystal Ag with highly dispersion, spherical shape and an average size of 6 nm.

Keywords: Ag nanoparticles, chitosan, green method

(Received: 18/11/2019, Revised: 23/3/2020, Accepted for publication: 6/8/2020)