

BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
VIỆN NĂNG LƯỢNG NGUYÊN TỬ VIỆT NAM

BÁO CÁO TÓM TẮT KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI
KHOA HỌC CÔNG NGHỆ CẤP CƠ SỞ
NĂM 2018

**NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO VẬT LIỆU NANOCOMPOSITE – BẠC
NANO/DIATOMITE BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ CHÙM
TIA ĐIỆN TỬ ĐỂ XỬ LÝ VI SINH VẬT GÂY BỆNH NHIỄM
TRONG NƯỚC NUÔI CÁ TRA**

Mã số: CS/18/07-01

Cơ quan chủ trì: Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ
Chủ nhiệm đề tài: TS., NCVC Trương Thị Hạnh

TP. HỒ CHÍ MINH, THÁNG 04/2019

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO VẬT LIỆU NANOCOMPOSITE – BẠC NANO/DIATOMITE BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ CHÙM TIA ĐIỆN TỬ ĐỂ XỬ LÝ VI SINH VẬT GÂY BỆNH NHIỄM TRONG NƯỚC NUÔI CÁ TRA

TÓM TẮT

Chiếu xạ chùm tia điện tử hỗn hợp AgNO_3 /chitosan/diatomite để tổng nanocomposite bạc nano (AgNPs)/diatomite (DA) đã được khảo sát. Ion Ag^+ từ dung dịch AgNO_3 có nồng độ ban đầu từ 1-10 mM được khử thành Ag^0 và keo tụ trên DA tạo nanocomposite AgNPs/DA. Ảnh TEM đã chứng minh AgNPs hình cầu với đường kính 5-10 nm đạt được ứng với liều hấp thụ từ 5 đến 25 kGy. AgNPs được tách từ huyền phù AgNO_3 /DA đã chiếu xạ có đỉnh đặc trưng ở vùng bước sóng 417- 422 nm. Ảnh TEM, SEM và phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) của DA so với nanocomposite AgNPs/DA xác nhận sự có mặt của nguyên tử Ag^0 trong DA. Hoạt tính kháng khuẩn của AgNPs/DA đối với *E coli* và vi khuẩn gây bệnh cho cá Tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) như *Aeromonas hydrophila* và *Edwardsiella ictaluri* đã được thử nghiệm.

I. KẾT QUẢ CHÍNH

1. Chế tạo nanocomposite AgNPs/DA bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử (EB)

Theo cơ chế khử và tạo hạt keo AgNPs trên DA, trước tiên những ion Ag^+ được hấp phụ bởi nhóm nucleophilin SiO^- trên bề mặt và trong vùng vô định hình của SiO_2 , thành phần chính của DA, trong khi khuấy tạo huyền phù [1]. Electron solvate hóa (e^-_{aq}) và gốc $\cdot\text{H}$ được phát sinh bởi sự xạ ly nước có thể khử ion Ag^+ đến Ag^0 rồi keo tụ tạo AgNPs trên DA, theo phương pháp khử *in situ* bằng bức xạ EB. Vì vậy, hàm lượng của bạc nano trên DA phụ thuộc vào nồng độ AgNO_3 ban đầu. Kết quả trong bảng 1 cho thấy hàm lượng AgNPs trong nanocomposite đã tăng từ 350-1300 mg/kg tương ứng theo chiều tăng của AgNO_3 từ 1-10 mM.

Kích thước hạt cũng tăng theo nồng độ từ 6-9 nm khi nồng độ AgNO_3 ban đầu tăng tương ứng từ 3 đến 10 mM như trong bảng 1. Số lượng ion Ag^+ tăng, khả năng kết hợp tạo hạt lớn trên bề mặt silica (SiO^-) của DA thuận lợi. Sự va chạm tăng khi độ nhớt tăng theo nồng độ dung dịch vì vậy khả năng keo tụ giữa các hạt nhỏ dễ dàng hơn. Ngoài ra, sự tích tụ càng nhiều nguyên tử Ag^0 trên bề mặt hạt nano khi nồng độ Ag^+ tăng làm giảm năng lượng bề mặt, vì vậy giảm khả năng liên kết với phân tử polyme ổn định kích thước hạt, vì vậy hạt lớn khi nồng độ ion ban đầu tăng [2].

Đối với phương pháp chế tạo kim loại nano bằng bức xạ, liều hấp thụ đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành và phát triển hạt keo. Nếu liều xạ quá thấp hạt nano chưa được hình thành, với liều xạ quá cao sẽ tạo hạt keo quá lớn thậm chí tạo kết tủa. Theo D. Long hạt bạc nano chưa được tạo thành tại liều EB <5 kGy, tuy nhiên với liều hấp thụ >25 kGy có hiện tượng kết tủa, khi chiếu xạ dung dịch AgNO_3 cùng nồng độ $1,2 \cdot 10^{-4}$ M trong 0,04% chitosan [3].

Khi chiếu xạ dung dịch huyền phù $\text{AgNO}_3/\text{chitosan}/\text{DA}$, nanocomposite AgNPs/DA được tạo thành bởi sự tổng hợp *in situ*, trong đó Ag^+ của AgNO_3 bị khử và đồng thời tạo AgNPs dạng hình cầu, không keo tụ trên bề mặt silica. Đường kính trung bình của hạt nano được xác định dựa vào ảnh TEM là $5,5 \pm 1,0$ nm; $6,9 \pm 1,2$ nm; $9,2 \pm 1,3$ nm và $8,9 \pm 1,0$ nm tương ứng với các liều xạ: 6,5; 13,4; 20,2 và 25,9 kGy có cùng suất liều 5 kGy/s. Các hạt bạc nano tăng kích thước với sự gia tăng liều hấp thụ, khi các thông số như năng lượng chùm tia, cường độ dòng và nồng độ ban đầu của dung dịch chiếu xạ là tương tự. Số lượng e^-_{aq} và $\cdot\text{H}$ tăng theo liều xạ do đó phản ứng khử Ag^+ và keo tụ tạo AgNPs ở liều cao có ưu thế hơn so với liều thấp. Trong nghiên cứu này, kích thước hạt có thay đổi tăng từ $5,5 \pm 1$ nm đến $9,2 \pm 1,3$ nm ứng với liều hấp thụ từ 6,5 kGy đến 20,2 kGy, nhưng có suy giảm ở liều cao hơn ($8,9 \pm 0,1$ nm) tại 25,9 kGy, khi hầu hết các ion Ag^+ đã được chuyển hóa tạo Ag^0 nano.

Bảng 1: Hàm lượng và kích thước hạt AgNPs trong nanocomposite theo nồng độ AgNO_3

STT	Mẫu	Chỉ tiêu kiểm nghiệm	Đơn vị	Kết quả	Kích thước hạt AgNPs (nm)
1	$\text{Ag}^0\text{-DA1}$	Ag	mg/kg	353 ± 7	
2	$\text{Ag}^0\text{-DA3}$	Ag	mg/kg	579 ± 13	$6,0 \pm 1,0$
3	$\text{Ag}^0\text{-DA5}$	Ag	mg/kg	792 ± 20	$6,5 \pm 1,1$
4	$\text{Ag}^0\text{-DA7}$	Ag	mg/kg	1276 ± 36	$7,1 \pm 0,9$
5	$\text{Ag}^0\text{-DA9}$	Ag	mg/kg	1298 ± 40	$9,0 \pm 1,2$
6	$\text{Ag}^0\text{-DA10}$	Ag	mg/kg	1307 ± 42	$9,2 \pm 1,3$

Ký hiệu $\text{Ag}^0\text{-DA1}$, 3, 5, 7, 9, 10 ứng với nồng độ dung dịch AgNO_3 ban đầu 1, 3, 5, 7, 9, 10 mM

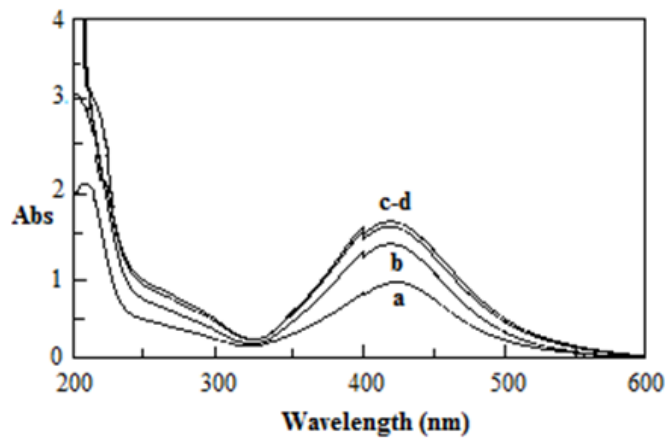
Bảng 2: Môi liên quan giữa liều xạ và kích thước hạt từ huyền phù 10mM AgNO_3/DA chiếu xạ

STT	Liều xạ hấp thụ (kGy)	Kích thước hạt AgNPs (nm)
1	6,5	$5,5 \pm 1,0$
2	13,4	$6,9 \pm 1,2$
3	20,2	$9,2 \pm 1,3$
4	25,9	$8,9 \pm 1,0$

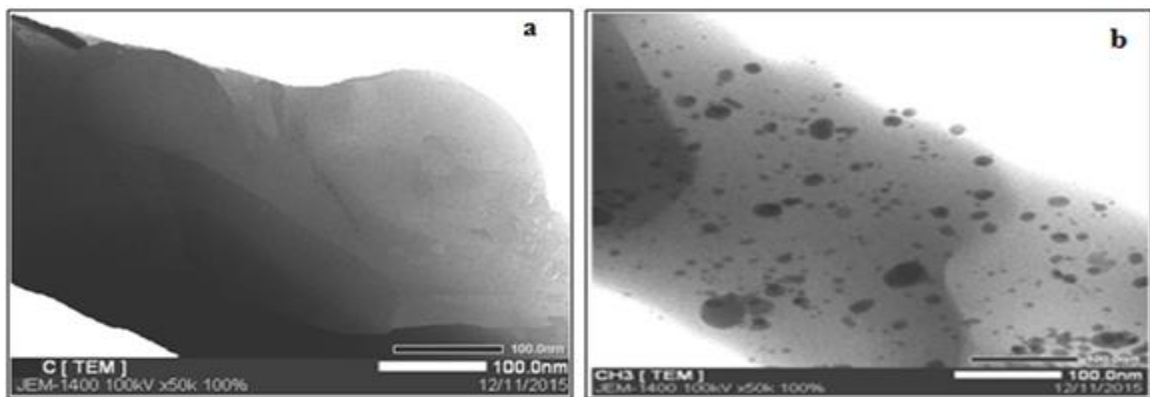
- ✓ Nồng độ Ag^+ (1-10 mM) kích thước hạt trung bình 5 – 10 nm, hàm lượng AgNPs trong DA 353-1300 mg/kg tổng hợp *in-situ*
- ✓ Liều hấp thụ: 6,5; 13,4; 20,2 và 15,9 kGy của mẫu 10 mM AgNO_3/DA , kích thước hạt tương ứng: 5,5; 6,9; 9,3 và 8,9 nm

2. Đặc trưng của vật liệu nanocomposite:

Hình 1 hiển thị phổ UV-Vis của dung dịch keo bạc nano được tách ra từ huyền phù AgNPs/DA . Phổ có đỉnh hấp thụ cực đại (λ_{max}) từ 417 - 422 nm tăng tương ứng theo liều xạ từ 6,5 đến 20,2 kGy. Tại liều xạ cao hơn (25,9 kGy) cường độ hấp thụ thay đổi không đáng kể. Như vậy, liều xạ 20,2 kGy là tối ưu để chuyển hóa hoàn toàn 10 mM AgNO_3 thành AgNPs trong huyền phù DA chứa 1% dung dịch chitosan. Vai trò chitosan không chỉ là chất ổn định (stabilizer) kích thước hạt mà còn là chất gắn kết (binder) Ag^0 với DA thông qua liên kết hydro giữa các phân tử, tạo cầu nối trung gian giữa Ag^0 và DA.



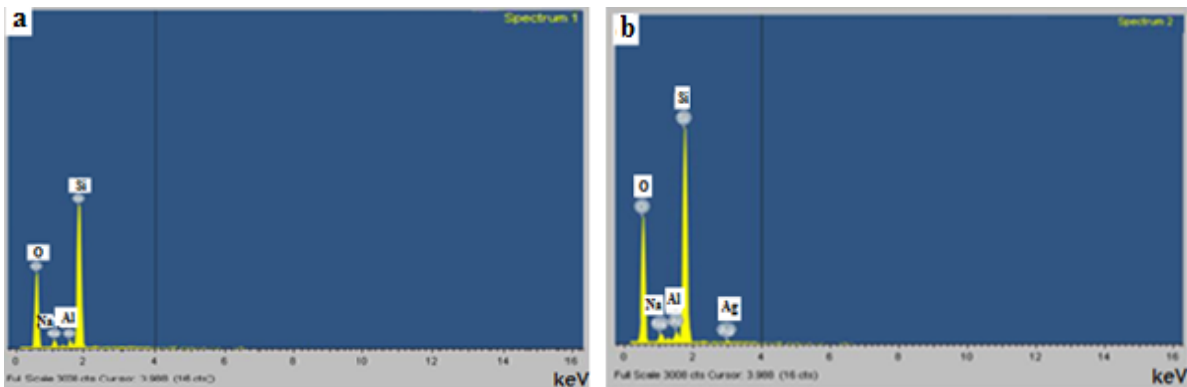
Hình 1: Phổ UV-Vis của AgNPs: a) 6,5 kGy, b) 13,4 kGy, c) 20,2 kGy và d) 25,9 kGy



Hình 2: Ảnh TEM của a) DA và b) Nanocomposite AgNPs/DA

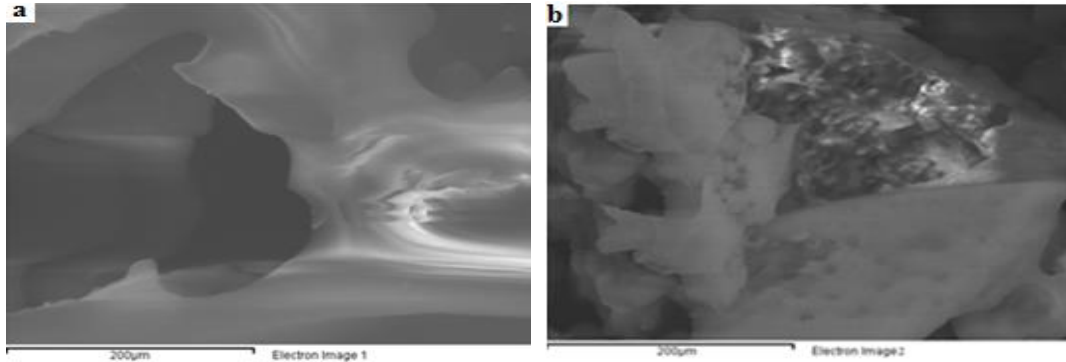
Ảnh TEM ở hình 2b của nanocomposite AgNPs/DA hiển thị rõ các hạt bạc nano hình cầu phân bố đều trên DA, ứng với nồng độ Ag^+ ban đầu 10 mM. Trong khi DA ở hình 2a có hình thái bề mặt trơn phẳng.

Phổ EDX của DA có những đỉnh của các nguyên tố O, Na, Al và Si tại 0,5; 1,1; 1,5 và 1,8 keV, tương ứng (Hình 3a). Ngoài ra, phổ EDX của nanocomposite AgNPs/DA có thêm đỉnh mới tại 3 keV, đặc trưng cho Ag ngoài hợp phần nguyên tố như DA (Hình 3b).



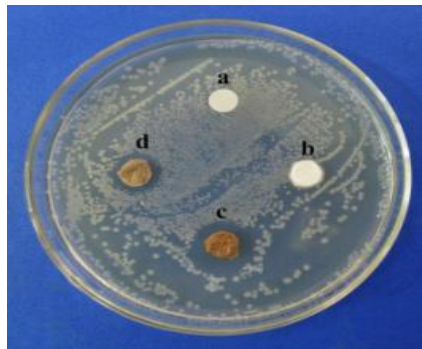
Hình 3: Phổ EDX: a) DA; b) AgNPs/DA tại liều xạ 20,2 kGy

Ảnh SEM của các mẫu DA trong hình 4a biểu hiện hình thái cấu trúc xốp rỗng của DA, trong khi mẫu AgNPs/DA các hốc rỗng được “nạp” đầy có thể là AgNPs (hình 4b). Kết quả này phù hợp với ảnh chụp TEM về sự hiện diện của Ag nano trên DA cũng như phổ EDX về thành phần nguyên tố của Ag trong mẫu AgNPs/DA.



Hình 4: Ảnh SEM: a) DA; b) AgNPs/DA

3. Hoạt tính kháng khuẩn của nanocomposite AgNPs/DA

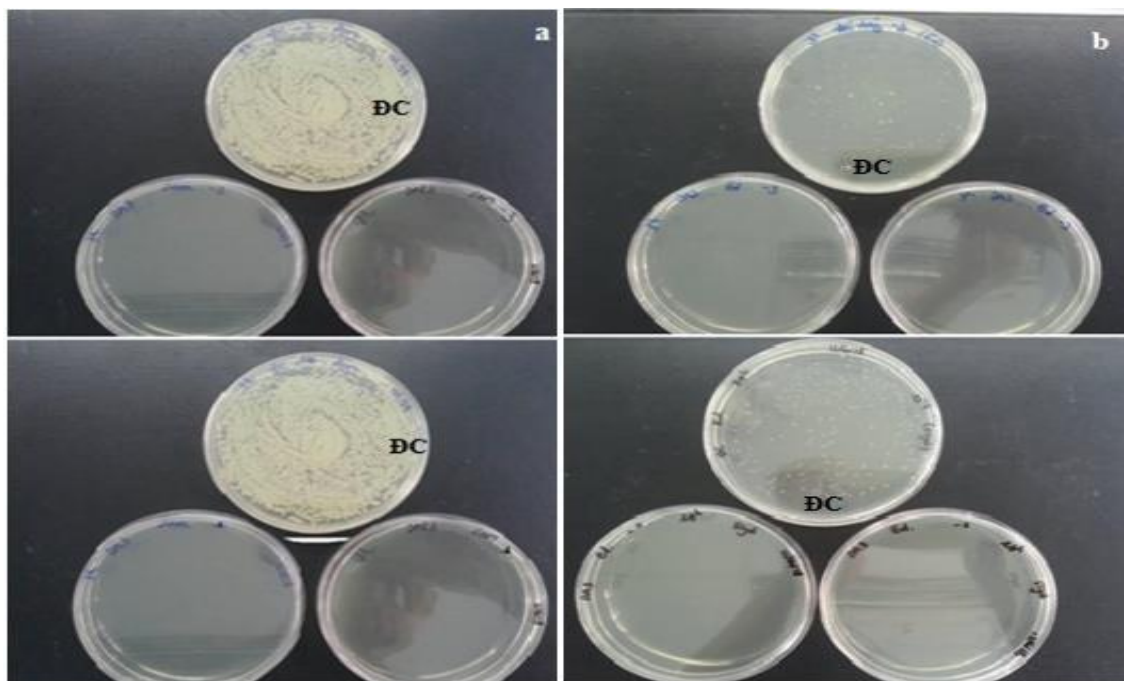


Hình 5: Hoạt tính kháng khuẩn của AgNPs/DA với *E. coli*

Hình 5 biểu thị kết quả thí nghiệm định tính về hiệu ứng kháng *E. coli* của nanocomposite AgNPs/DA. Mẫu đối chứng (5a và 5b) không có khả năng ức chế chủng *E. coli*. Trong khi các mẫu trong hình 5c và 5d có tẩm nanocomposite thành phần AgNPs lần lượt là 0,13% và 0,079% trong nanocomposite có hiệu ứng kháng *E. coli*, đường kính vùng ức chế lớn hơn và lan rộng hơn trên đĩa petri ứng với mẫu có nồng độ AgNPs cao hơn (5c).

Trong nghiên cứu này, DA chứa ~ 63% silica cố định 0,13% AgNPs được sử dụng cho thử nghiệm đối với các chủng *Aeromonas hydrophila* và *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh trên cá Tra từ môi trường nước. Hình 6 biểu thị sự phát triển vi khuẩn với nồng độ 10^3 và 10^4 trên các đĩa môi trường BHIA. Số khuẩn lạc tăng trưởng nhanh (overgrowth) trên các đĩa mẫu đối chứng (ĐC) không chất kháng khuẩn. Ngược lại, các đĩa có nanocomposite AgNPs/DA hầu như không có sự sống sót của vi khuẩn, hiệu ứng kháng khuẩn là 100%. Nanocomposite AgNPs/DA đã ức chế hiệu quả sự phát triển của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila*. Kết quả này cho thấy sử dụng AgNO₃ nồng độ 10 mM, chiếu xạ 20 kGy là phù hợp cho sử dụng vật liệu ức chế vi khuẩn nhiễm bệnh cho cá. Xử lý kháng khuẩn bằng AgNPs được công nhận bởi nhiều chuyên gia trên thế giới, Swain và cộng sự cũng đã chế tạo AgNPs 10 mM bền hóa trong axit chanh kháng khuẩn cao và đặc biệt với A.

hydrophila gây bệnh cho cá [4]. Vật liệu nanocomposite AgNPs/DA trong công trình này phù hợp cho hướng ứng dụng mới để xử lý môi trường thủy sản bị nhiễm khuẩn như cá Tra.



Hình 6: Thử nghiệm kháng khuẩn với a) *Aeromonas hydrophila* và b) *Edwardsiella ictaluri* trên môi trường BHIA của mẫu đối chứng - ĐC (có khuẩn lạc) và AgNPs/DAP (không khuẩn lạc).

II. KẾT LUẬN

Đã chế tạo được vật liệu nanocomposite - AgNPs/DA bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử. AgNPs trong nanocomposite được xác nhận bởi phổ UV-Vis, ảnh chụp TEM, SEM và phổ EDX. Đặc tính kháng khuẩn của AgNPs/DA được minh chứng bởi sự ức chế quá trình phát triển các vi khuẩn *E. coli* cũng như *Aeromonas hydrophila* và *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh trên cá Tra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Caliskan N., Kul A.R., Alkan S., Sogut E.G., Alacabey I., Adsorption of zinc (II) on diatomite and manganese-oxide-modified diatomite: A kinetic and equilibrium study, *Journal of Hazardous Materials* 193, pp. 27-36, 2011.
2. Lawless D., Kapoor S., Kennepohl P., Meisel D., Serpone N., Reduction and aggregation of silver ions at the surface of colloidal silica, *Journal Physics and Chemistry* 98(38), pp. 9619-9625, 1994.
3. Long D., Wu G., Chen S., Preparation of oligochitosan stabilized silver nano particles by gamma irradiation, *Radiation Physics and Chemistry* 76, pp. 1126-1131, 2007.
4. Swain P., Nayak S. K., Sasmal A., Behera T., Barik S. K., Swain S. K., Mishra S. S, Sen A. K., Das J. K., Jayasankar P., Antimicrobial activity of metal based nanoparticles against microbes associated with diseases in aquaculture, *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 30, pp. 2491–2502, 2014.