

CHẾ TẠO ĐỒNG NANO SỬ DỤNG CHITOSAN LÀM CHẤT ỔN ĐỊNH VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM

• ĐẶNG XUÂN DỰ - NGUYỄN VĂN LỢI

TÓM TẮT:

Trong nghiên cứu, đồng nano đã được tổng hợp bằng phương pháp sử dụng chitosan như là một chất ổn định và NaBH_4 làm chất khử. Sự hình thành đồng nano được xác định bằng màu sắc đặc trưng, phổ UV-vis và giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD). Hình thái và kích thước hạt được đặc trưng bằng phương pháp kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Kết quả cho thấy nồng độ của chitosan có ảnh hưởng đến kích thước hạt của vật liệu. Các hạt đồng nano chế tạo trong dung dịch chitosan 2% có kích thước khoảng 3,5 nm. Vật liệu thu được thể hiện hoạt tính kháng nấm tốt - hiệu suất kháng nấm đạt được gần như 100% ở nồng độ khoảng 50 ppm.

Từ khóa: Đồng nano, chitosan, hạt nano kim loại, chất ổn định.

1. Mở đầu

Công nghệ nano là một trong những lĩnh vực khoa học giành được sự quan tâm nghiên cứu trong những năm gần đây. Các hạt kim loại nano sở hữu những tính chất đặc biệt so với vật liệu khối do hiệu ứng bề mặt gây ra bởi kích thước nhỏ của chúng [1]. Nghiên cứu tổng hợp các hạt nano kim loại với kích thước và hình dạng khác nhau, nhằm khám phá các tính chất cũng như khả năng ứng dụng của chúng trong nhiều lĩnh vực như: điện tử, quang học [2], xúc tác [3, 4] và y sinh [2, 5] là rất cần thiết. Vật liệu nano của các kim loại quý như bạch kim, vàng và bạc thường được ứng dụng khá hiệu quả trong các lĩnh vực nêu trên. Tuy nhiên, do giá thành cao nên việc sản xuất chúng với số lượng lớn, để ứng dụng rộng rãi là kém khả thi. Nhằm giải quyết vấn đề đó, đồng nano được xem là lựa chọn tối ưu do giá thành rẻ, khả năng dẫn điện, nhiệt, quang học, hoạt tính xúc tác và kháng nấm tương đối tốt,... So với các vật liệu nano kim loại khác, việc tổng hợp đồng nano thường khó thu được hiệu suất cũng như độ tinh khiết cao vì bề mặt dễ bị oxy hóa, sản phẩm dễ lẫn CuO và Cu_2O [5]. Vì vậy, chế tạo đồng nano với độ tinh khiết cao sẽ làm tiền đề cho việc ứng dụng trong điện tử, quang học, xúc tác, y sinh... như đã nêu trên.

Đến nay, đồng nano đã được chế tạo bằng nhiều phương pháp khác nhau, như: chiếu xạ chùm điện tử [6], khử hóa học [3, 7, 8], khử điện hóa, khử bằng sóng siêu âm,... Trong đó, phương pháp khử hóa học thường được sử dụng khá phổ biến do hiệu suất cao và dễ thực hiện. Tuy vậy, trở ngại của phương pháp này là lượng chất khử còn dư có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường. Để khắc phục hạn chế đó, nhiều công trình nghiên cứu chế tạo đồng nano sử dụng chất khử thân thiện với môi trường đã được thực hiện [5]. Những nghiên cứu này đều hướng đến mục tiêu chung là tạo ra các hạt đồng nano có kích thước nhỏ với độ ổn định cao để khai thác tối đa các ứng dụng của chúng.

Chitosan là một polymer sinh học, được chế tạo từ quá trình deacetyl hóa chitin bằng kiềm đặc. Chitosan có ưu điểm nổi bật là phân hủy sinh học, không gây độc môi trường, có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa... [3]. Những nghiên cứu gần đây cho thấy, chitosan có khả năng ổn định kích thước hạt và hạn chế quá trình oxy hóa [5]. Tuy vậy, nghiên cứu sử dụng chitosan làm chất ổn định trong chế tạo đồng nano vẫn còn ít được quan tâm.

Trong nghiên cứu này, đồng nano được chế tạo bằng phương pháp khá đơn giản, sử dụng NaBH_4

làm chất khử và chitosan như là một chất ổn định. Ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến kích thước hạt và hoạt tính kháng nấm của đồng nano cũng đã được khảo sát.

2. Thục nghiệm

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Các hóa chất $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ascorbic acid, được sử dụng ở dạng tinh khiết phân tích. NaBH_4 là sản phẩm tinh khiết của Merck, Đức. Chitosan nguyên liệu được cung cấp bởi Công ty Cổ phần Đầu tư và Công nghệ Hương Nam, Vũng Tàu. Nước cất 2 lần được sử dụng cho toàn bộ thí nghiệm.

2.2. Phương pháp

Hòa tan 0,25 gam $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ bằng nước cất thu được 40 mL dung dịch CuSO_4 , thêm 100 mL acid acetic 0,1M chứa 1% chitosan theo khối lượng, khuấy hỗn hợp trên trong vòng 20 phút trên máy khuấy từ gia nhiệt. Cho 0,5 mL acid ascorbic 0,5M vào hỗn hợp phản ứng, tiếp tục khuấy từ trong 20 phút. Nhỏ 0,5 mL NaBH_4 0,4M vào hỗn hợp, tiếp tục khuấy từ 5 phút, dung dịch chuyển sang màu đỏ nâu. Sau đó, khuấy từ 30 phút tiếp theo để phản ứng xảy ra hoàn toàn, thu được dung dịch đồng nano [3]. Dung dịch đồng nano được kiểm chứng bằng các phương pháp phân tích như UV - Vis, XRD, TEM. Trong quá trình thí nghiệm, chitosan được thay đổi nồng độ, từ 0,5% đến 5%, để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đến hình thái và kích thước hạt. Mẫu đồng nano sau đó được pha loãng với nồng độ khác nhau, từ 20 đến 100 ppm, để kiểm tra khả năng kháng nấm *Aspergillus niger*.

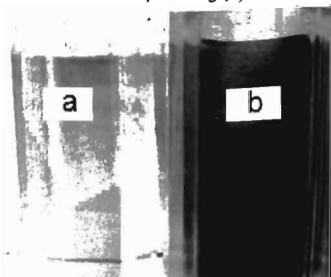
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Sự hình thành dung dịch keo đồng nano

Hình 1 thể hiện sự thay đổi màu sắc của dung dịch phản ứng. Trước phản ứng, dung dịch có màu xanh dương, màu đặc trưng của ion Cu^{2+} (Hình 1a). Sau phản ứng, dung dịch chuyển sang màu nâu đen, là màu đặc trưng của dung dịch đồng nano (Hình 1b) [5]. Màu của dung dịch đồng nano trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với màu của Lisman và cộng sự thu được khi chế tạo đồng nano sử dụng chitosan làm chất ổn định [7].

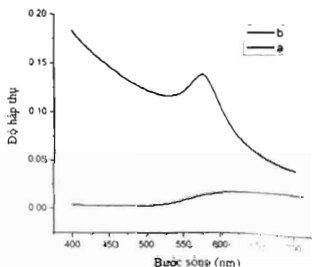
Sự hình thành đồng nano còn được thể hiện bằng sự xuất hiện đỉnh hấp thụ trên phổ UV-vis, trong khoảng bước sóng từ 500 - 600 nm [1, 8]. Hình 2 cho thấy, trước phản ứng chưa quan sát được đỉnh hấp thụ ở khoảng bước sóng trên. Sau phản ứng, xuất hiện hấp thụ cực đại tại 576 nm - là bước sóng hấp thụ đặc trưng của đồng nano [3].

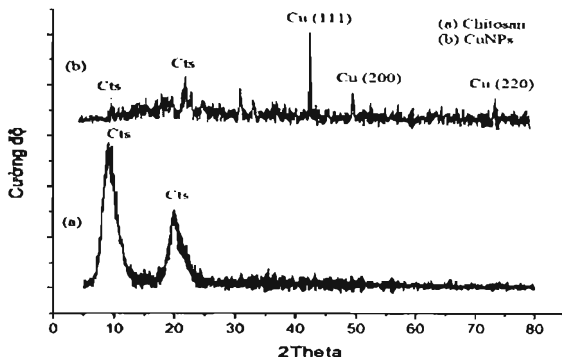
Hình 1: Mẫu dung dịch trước phản ứng (a) và sau phản ứng (b)



Giản đồ nhiễu xạ XRD của chitosan và vật liệu đồng nano được thể hiện lần lượt ở Hình 3a và Hình 3b. Hình 3a cho thấy 2 đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta = 9,26^\circ$ và $2\theta = 19,82^\circ$, đây là đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của chitosan [3, 5]. Đối với giản đồ nhiễu xạ của vật liệu đồng nano, ngoài 2 đỉnh nhiễu xạ của chitosan còn quan sát được 3 đỉnh có cường độ nhiễu xạ tương đối cao, hoàn toàn trùng hợp với peak nhiễu xạ chuẩn của kim loại đồng tại vị trí $2\theta = 43,35^\circ$; $2\theta = 50,60^\circ$ và $2\theta = 74,17^\circ$ tương ứng với các mặt (111); (200) và (220) thuộc ô mạng Bravais trong cấu trúc lập phương tâm diện của kim loại đồng [3, 8]. Như vậy, các bằng chứng về màu sắc, phổ UV-Vis và giản đồ nhiễu xạ XRD ở trên cho thấy đã có sự hình thành các hạt đồng nano trong hệ phản ứng.

Hình 2: Phổ UV-vis của dung dịch trước phản ứng (a) và dung dịch sau phản ứng (b)

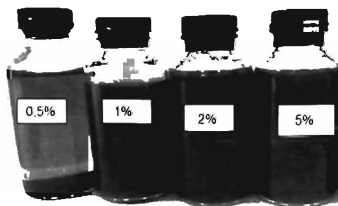
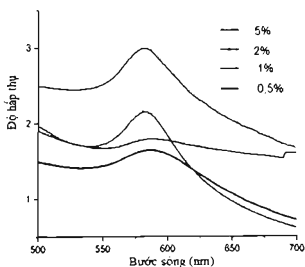


Hình 3: Giảm độ nhiễu xạ XRD của chitosan (a) và vật liệu Cu nano (b)

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ chitosan

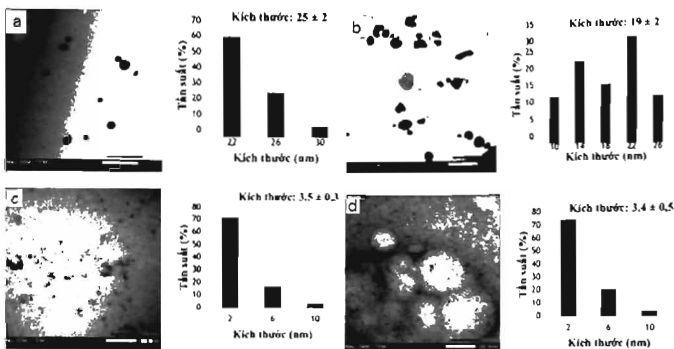
Hình 4 cho thấy sự thay đổi màu sắc của dung dịch đồng nano khi tăng nồng độ chitosan từ 0,5% lên 5%. Kết quả cho thấy, mẫu có nồng độ 0,5% chitosan có màu vàng nâu, một phần đã bị keo tụ cho lớp cặn ở phần đáy. Điều này chứng tỏ nồng độ 0,5% chitosan là chưa đủ để ổn định hệ keo đồng nano. Các mẫu còn lại có nồng độ chitosan cao hơn tương đối bền nhiệt độ.

Phổ UV-vis của các mẫu đồng nano trong dung dịch khi thay đổi nồng độ chitosan được thể hiện trên Hình 5. Có thể nhận thấy, khi tăng nồng độ chitosan,

Hình 4: Ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến màu sắc của dung dịch đồng nano**Hình 5: Phổ UV - Vis của dung dịch đồng nano khi thay đổi nồng độ chitosan**

độ hấp thụ của dung dịch keo đồng nano tăng, đồng thời có sự chuyển dịch cực đại hấp thụ về phía bước sóng ngắn. Điều này có thể là do ở nồng độ cao của chitosan, quá trình ổn định hạt mầm diễn ra nhanh hơn đã hạn chế tốc độ của quá trình phát triển mầm. Vì vậy, hạt thu được có kích thước tương đối nhỏ hơn, dẫn đến cực đại hấp thụ lớn hơn, đồng thời có sự chuyển dịch cực đại hấp thụ về phía bước sóng ngắn hơn, gây ra do hiệu ứng plasmon khi giam kích thước hạt [9]. Cơ chế ổn định hạt nano, hạn chế khả

Hình 6: Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt đồng nano trong dung dịch chitosan 0,5% (a); 1% (b); 2% (c) và 5% (d)



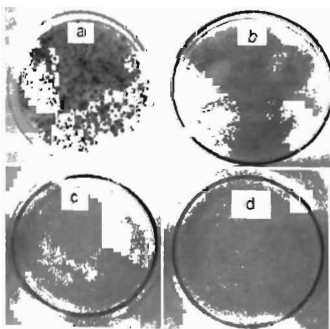
năng keo tụ đã được một số tác giả đề cập. Theo đó, giả thiết về khả năng tạo liên kết phối trí của đồng với nhóm amin của chitosan được nhiều tác giả thừa nhận [5]. Nhờ vào khả năng này, các hạt đồng nano sau khi hình thành được ổn định bởi các chuỗi phân tử chitosan có khối lượng phân tử lớn. Tương tác giữa các phân tử chitosan với nước giúp phân tán các hạt đồng nano [5], hạn chế được khả năng phát triển hạt, vì vậy ngăn chặn được sự keo tụ của chúng.

Ảnh TEM và giản đồ phân bố kích thước hạt của các mẫu đồng nano trong dung dịch chitosan có nồng độ khác nhau được thể hiện ở Hình 6. Hình ảnh cho thấy, ở nồng độ chitosan thấp, các hạt thu được không đồng đều, kích thước hạt tương đối lớn. Kích thước hạt của các mẫu đồng nano trong dung dịch chitosan 0,5% và 1% tương ứng lần lượt là 25nm và 18nm. Khi gia tăng nồng độ chitosan lên 2% và 5%, kích thước hạt thu được không khác biệt có ý nghĩa, các hạt thu được khá đồng đều, có phân bố lệch, hạt có kích thước khoảng 2nm chiếm ưu thế, kích thước hạt trung bình thu được là 3,5nm. Kết quả này cho thấy, chitosan 2% có thể là nồng độ phù hợp để ổn định tốt dung dịch keo đồng nano.

3.3. Khả năng kháng nấm

Dung dịch đồng nano kích thước hạt 3,5 nm có nồng độ khác nhau từ 20 đến 100ppm đã được sử

Hình 7: Sự phát triển của nấm sau 3 ngày cấy trên đĩa petri đối với mẫu đối chứng (a); mẫu có chứa đồng nano nồng độ 20 ppm (b); 50 ppm (c) và 100 ppm (d)



dụng để khảo sát khả năng kháng nấm *Aspergillus niger*. Hình 7 là kết quả thử nghiệm hoạt tính diệt nấm mốc *Aspergillus niger* với các nồng độ khác nhau của đồng nano. Sau 3 ngày nuôi cấy mẫu, kết

qua cho thấy, đối với mẫu đối chứng - không có đồng nano, nấm phát triển mạnh (Hình 7a). Đối với mẫu chứa đồng nano ở nồng độ 20ppm, sự phát triển của nấm mốc *Aspergillus niger* đã bị ức chế đáng kể, chỉ xuất hiện những mảng xám rất nhỏ (Hình 7b). Đối với hai mẫu có nồng độ cao hơn của đồng nano không ghi nhận thấy sự phát triển của nấm mốc. Như vậy, khả năng kháng nấm của đồng nano trong dung dịch chitosan 2% là khá hiệu quả, nồng độ đồng nano càng cao thì hiệu quả kháng nấm càng

tốt. Đồng nano ở nồng độ 50ppm cho hiệu quả kháng nấm mốc gần như 100%.

4. Kết luận

Đồng nano kích thước hạt trung bình 3,5nm đã được chế tạo bằng phương pháp khử hóa học, sử dụng chitosan làm chất ổn định. Nồng độ chitosan 2% là phù hợp để ổn định và ngăn chặn sự keo tụ của hệ keo đồng nano. Dung dịch keo đồng nano với nồng độ khoảng 50ppm có hoạt tính kháng nấm rất hiệu quả, hiệu suất kháng nấm đạt được gần như 100%■

Lời cảm ơn: Bài báo được hoàn thành nhờ sự hỗ trợ của đề tài cấp cơ sở, Trường Đại học Sài Gòn, mã số CS2018-06. Tập thể tác giả cũng xin tỏ lòng biết ơn PGS TS. Nguyễn Quốc Hiên, Trung tâm VINAGAMMA đã góp ý cho bài thảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. K. Tokarek, J. L. Hueso, P. Kustrowski, G. Stochel, A. Kyzioł. "Green Synthesis of Chitosan-Stabilized Copper Nanoparticles", Eur. J. Inorg. Chem., vol.2013, pp. 4940-4947, 2013.
2. A. A. Ponce, K. J. Klabunde. "Chemical and catalytic activity of copper nanoparticles prepared via metal vapor synthesis", J. Mol. Catal. A Chem., vol. 225, no.1, pp. 1-6, 2005.
3. M. S. Usman, M. E. E. Zowlaty, K. Shameli, N. Zainuddin, M. Salama, N. A. Ibrahim. "Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles", Int. J. Nanomed., vol.8, no.1, pp. 4467-4479, 2013.
4. M. Raffi, S. Mehrwan, T. M. Bhatti, J. I. Akhter, A. Hameed, W. Yawar, M. M. Hasan. "Investigations into the antibacterial behavior of copper nanoparticles against *Escherichia coli*", Ann. Microbiol., vol.60, no.1, pp. 75-80, 2010.
5. A. Manikandan, M. Sathiyabama. "Green Synthesis of Copper-Chitosan Nanoparticles and Study of its Antibacterial Activity", J. Nanomed. Nanotechnol., vol.6, no.1, 1000251, 2015.
6. F. Zhou, R. Zhou, X. Hao, X. Wu, W. Rao, Y. Chen, D. Gao. "Influences of surfactant (PVA) concentration and pH on the preparation of copper nanoparticles by electron beam irradiation", Rad. Phys. Chem., vol.77, no.2, pp. 169-173, 2008.
7. M. S. Usman, N. A. Ibrahim, K. Shameli, N. Zainuddin, W. M. Z. W. Yunus. "Copper nanoparticles mediated by chitosan: Synthesis and Characterization via chemical methods", Molecules, vol.17, no.12, pp. 14928-14936, 2012.
8. D. T. M. Dung, L. T. T. Tuyet, F. B. E. Fribourg-Blanc, D. M. Chien. "The influence of solvents and surfactants on the preparation of copper nanoparticles by a chemical reduction method", Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol., vol.2, no.2, 025004, 2011.
9. H. Huang, Q. Yuan, X. Yang. "Preparation and characterization of metal - chitosan nanocomposites", Colloids Surf. B Biointerfaces, vol.39, no.1-2, pp. 31-37, 2004.

Ngày nhận bài: 12/3/2020

Ngày phân biện đánh giá và sửa chữa: 22/3/2020

Ngày chấp nhận đăng bài: 1/4/2020

Thông tin tác giả:

1. TS. **ĐẶNG XUÂN DUY**

Khoa Sư phạm Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Sài Gòn

2. **NGUYỄN VĂN LỢI**

Trường Đại học Sài Gòn

PREPARATION OF COPPER NANOPARTICLES USING CHITOSAN AS A STABILIZER AND STUDY OF ITS ANTIFUNGAL ACTIVITY

● Ph.D **DANG XUAN DU**

Faculty of Pedagogy in Natural Sciences, Sai Gon University

● **NGUYEN VAN LOI**

Sai Gon University

ABSTRACT:

In this study, copper nanoparticles were successfully fabricated from copper sulfate using chitosan as a stabilizer and NaBH_4 as a reducing agent. The formation of copper nanoparticles was confirmed by characteristics of color, UV-vis and XRD methods. The morphology and particle size of the material were characterized by transmission electron microscopy (TEM). This study's results showed that the concentration of chitosan affected the morphology and particle size of the material. The copper nanoparticles prepared with 2% chitosan solution had an average size of 3.5 nm. The obtained material exhibited a good antifungal activity. The antifungal efficiency achieved almost 100% at a concentration of about 50 ppm.

Keywords: Copper nanoparticles, chitosan, metallic nanoparticles, stabilizer.