

TỔNG HỢP XANH NANO BẠC SỬ DỤNG DỊCH CHIẾT LÁ CHÈ VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN

Đến tòa soạn 20-07-2022

Phạm Ngọc Thuật

Viện Công nghệ, Tổng cục Công nghiệp Quốc phòng

Email: thuatpn@gmail.com

SUMMARY

GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING TEA LEAF EXTRACT AND EVALUATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY

*In this study, the silver nanoparticles (AgNPs) were successfully synthesized via a simple, nontoxic and ecofriendly method by using tea leaf extract. The formation of AgNPs was identified by changing the color of the reaction medium from light yellow to dark brown and the surface plasma resonance band. The optimal conditions for the synthesis of silver nanoparticles were determined by changing various parameters including pH, amount of extract, concentration of AgNO₃ solution and time. Furthermore, the biosynthesized AgNPs were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). The AgNPs were nearly spherical in shape with the crystalline size of about 10 nm. The active compounds in the extract containing functional groups such as hydroxyl, amine, ether acted as a reducing agent to convert silver ions into AgNPs and capping agent on the surface of AgNPs. Silver nanoparticles exhibited significant antibacterial activity against *P. aeruginosa* and *S. aureus* with the inhibition zones ranging between 19-26 mm and 22-29 mm, respectively.*

Keywords: Silver nanoparticles, green synthesis, tea leaves, antibacterial activity

1. MỞ ĐẦU

Công nghệ nano là ngành khoa học đang phát triển nhanh chóng và đóng một vai trò quan trọng trong nhiều lĩnh vực như y học, nông nghiệp, thực phẩm, mỹ phẩm. Đặc biệt, các hạt nano kim loại được sử dụng trong y học để chẩn đoán và điều trị bệnh [1, 9]. Trong đó, hạt nano bạc thu hút sự quan tâm của các nhà nghiên cứu do chúng có tính chất độc đáo như tính dẫn điện, dẫn nhiệt tốt và hoạt tính sinh học phong phú gồm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm và gây độc tế bào [15, 18]. Trong những năm gần đây, phương pháp tổng hợp xanh AgNPs từ dịch chiết thực vật phát triển rất mạnh mẽ do có ưu điểm là thân thiện môi trường, chi phí thấp và nguồn thực

vật phong phú [18]. Kết quả nghiên cứu cho thấy các hoạt chất có trong dịch chiết thực vật như polyphenol, flavonoid, terpenoid, steroid đóng vai trò là tác nhân khử và chất ổn định, làm bền, ngăn sự kết tụ của các hạt nano bạc tạo thành [4, 18].

Cây chè (*Camellia sinensis*) được trồng phổ biến ở nhiều nơi trên thế giới, trong các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới. Ở Việt Nam, cây chè được trồng khắp cả nước, nhiều nhất là ở các tỉnh Thái nguyên, Phú Thọ, Hà Giang, Yên Bái, Quảng Nam, Lâm Đồng [6]. Chè là một dược liệu quý dùng để chữa trị nhiều căn bệnh như chống viêm, chống xơ vữa động mạch, phòng chống ung thư, chống lão hoá, diệt khuẩn với hơn 4000 hợp chất có hoạt tính

trong đó phần lớn là các hợp chất catechin, một polyphenol [12]. Epicatechin gallate, epicatechin, epigallocatechin và epigallocatechin gallate (EGCG) là các catechin chính trong cây chè trong đó EGCG là thành phần phổ biến và thể hiện nhiều hoạt tính nhất [12, 19]. Trong quá trình chế biến, sản xuất chè thành phẩm, một lượng lớn các sản phẩm phụ như chè vụn, lá chè đem lại hiệu quả kinh tế chưa cao và chưa được khai thác một cách triệt để. Nhiều nghiên cứu đã sử dụng dịch chiết lá chè để tổng hợp AgNPs [3, 11, 17, 18, 20], tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào ở Việt Nam sử dụng dịch chiết lá chè để tổng hợp AgNPs

Kháng thuốc là một trong những vấn đề đặc biệt nghiêm trọng hiện nay trong lĩnh vực y tế. Sự đề kháng của vi khuẩn với các thuốc kháng kháng sinh đang là thách thức rất lớn, đe dọa đến sinh mạng của hàng triệu bệnh nhân [2]. Phát triển các liệu pháp mới trong điều trị vi khuẩn kháng thuốc đang trở thành một yêu cầu cấp bách. Khả năng kháng khuẩn của các hạt nano phụ thuộc nhiều vào các đặc tính hóa lý của chúng như độ ổn định, kích thước, hình dạng và điện tích bề mặt cũng như các chất làm bền [8, 14]. Trong nghiên cứu này, AgNPs được tổng hợp từ dịch chiết của lá chè và đánh giá khả năng kháng khuẩn của chúng. Bên cạnh đó, tối ưu hóa điều kiện tổng hợp AgNPs, cấu trúc và hình thái của AgNPs cũng đã được nghiên cứu.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Vật liệu

Các hoá chất được sử dụng gồm AgNO₃, NaOH và HCl của hãng Merck với độ tinh khiết phân tích cao trên 99%. Lá chè được hái từ cây chè 5 năm tuổi tại Thái Nguyên vào tháng 10 năm 2021.

2.2. Điều chế dịch chiết lá chè

Lá chè được rửa sạch bằng nước cất, sấy khô ở nhiệt độ 50 °C, sau đó đem nghiền nhỏ. 15 g bột lá chè và 100 mL nước cất 2 lần được chiết siêu âm ở nhiệt độ 50 °C trong thời gian 2 giờ. Dịch chiết được lọc bằng giấy lọc Whatman số 1 và được bảo quản ở 4 °C được dùng để tổng hợp AgNPs.

2.3. Tổng hợp nano bạc (AgNPs)

Dịch chiết lá chè được nhỏ từ từ vào dung dịch AgNO₃ và được khuấy với tốc độ 800 vòng/phút ở nhiệt độ 50 °C trong thời gian xác định. pH của dung dịch phản ứng được điều chỉnh bằng NaOH 0,1 M. AgNPs hình thành được xác định bằng sự thay đổi màu của dung dịch phản ứng và đo phổ hấp thụ quang (UV-Vis). Hỗn hợp sau phản ứng được ly tâm với tốc độ 13 000 vòng/phút trong thời gian 15 phút thu được AgNPs. AgNPs được sấy ở nhiệt độ 60 °C, sau đó nghiền mịn để đánh giá tính chất của vật liệu và hoạt tính kháng khuẩn.

Tối ưu hoá quá trình tổng hợp AgNPs thông qua các thông số gồm pH, thể tích dịch chiết, nồng độ AgNO₃ và thời gian phản ứng. Ảnh hưởng của pH được theo dõi bằng cách thay đổi các pH khác nhau (7-12) với 0,75 mL thể tích dịch chiết trong 10 mL AgNO₃ 1,5 mM trong thời gian 30 phút. Ảnh hưởng của thể tích dịch chiết được xác định bằng cách thêm các thể tích khác nhau dịch chiết lá chè (0,25; 0,5; 0,75; 1,0 và 1,25 mL) vào 10 mL AgNO₃ 1,5 mM, ở pH bằng 11 trong thời gian 30 phút. Tương tự, ảnh hưởng của nồng độ AgNO₃ được quan sát bằng cách thêm 0,75 mL dịch chiết vào 10 mL AgNO₃ với các nồng độ khác nhau (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mM) ở pH bằng 11 trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng gồm 0,75 mL dịch chiết và 10 mL AgNO₃ 1,5 mM có pH bằng 11 được theo dõi bằng cách ghi lại phổ UV-Vis sau thời gian 1, 10, 20 và 30 phút để xác định thời gian hoàn thành quá trình tổng hợp AgNPs.

2.4. Phương pháp đánh giá tính chất của vật liệu

Tính chất của AgNPs được đánh giá bằng phổ FT-IR (Perkin Elmer Spectrum Two), nhiễu xạ tia X (D2-Phaser, Bruker, Japan) và kính hiển vi điện tử quét (SEM) (Hitachi S-4800).

2.5. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

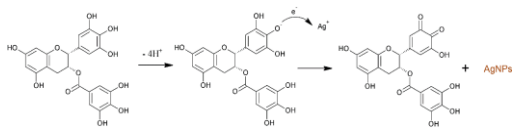
Hoạt tính kháng khuẩn của AgNPs và cao nước lá chè được thử nghiệm trên vi khuẩn Gram âm (*P. aeruginosa*) và vi khuẩn Gram dương (*S. aureus*) bằng phương pháp khuếch tán thạch [7]. Khả năng kháng khuẩn của AgNPs và cao nước được xác định dựa vào đường kính vòng

kháng khuẩn xung quanh giếng thạch chứa AgNPs và cao chiết. AgNPs và cao nước được pha trong dung dịch DMSO 2% thành các nồng độ tương ứng là 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ và 100 $\mu\text{g/mL}$. 100 μL dịch vi khuẩn với mật độ 10^6 được trải đều trên đĩa thạch Luria Bertani. Tiến hành đục lỗ tạo giếng thạch có đường kính 6 mm và nhỏ 50 μL cao chiết và AgNPs với các nồng độ khác nhau. Các đĩa thử nghiệm được ủ ở $37 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 24 giờ và sau đó đo đường kính vùng ức chế.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tổng hợp nano bạc (AgNPs)

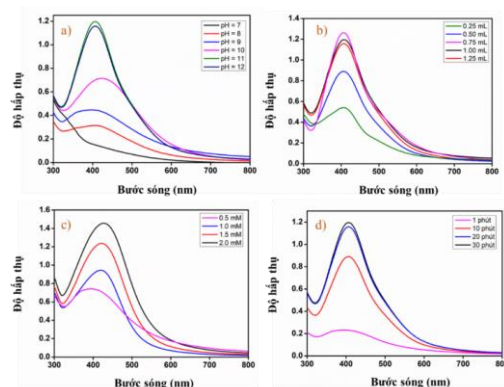
AgNPs hình thành từ dịch chiết lá chè được xác định bằng sự thay đổi màu của hỗn hợp phản ứng từ màu vàng nhạt thành màu nâu đậm. AgNPs phân tán thể hiện cực đại hấp thụ mạnh ở (400 - 450) nm đặc trưng cho dải cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) của hạt nano bạc [10]. Kết quả đo phổ UV-Vis cho thấy chỉ có một vị trí SPR duy nhất trong quang phổ hấp thụ, chứng tỏ hạt nano bạc thu được có dạng hình cầu [13]. Cơ chế hình thành AgNPs sử dụng dịch chiết lá chè (hình 1) với hợp chất EGCG là thành phần chính chịu trách nhiệm khử Ag^+ thành Ag^0 được đề nghị như sau: Đầu tiên EGCG chuyển từ dạng enol thành dạng keto đồng thời giải phóng hydrogen nguyên tử, sau đó hydrogen nguyên tử khử Ag^+ thành Ag^0 . Đồng thời, các hợp chất catechin cùng với các thành phần hoá học khác có trong dịch chiết lá chè có tác dụng làm bền các hạt nano bạc và ngăn chúng kết tụ lại.



Hình 1. Cơ chế đề nghị tổng hợp AgNPs từ dịch chiết lá chè

Phương pháp UV-Vis được sử dụng để tối ưu hoá các điều kiện phản ứng gồm pH, hàm lượng dịch chiết, nồng độ AgNO_3 và thời gian phản ứng. Kích thước, hình dạng và trạng thái của hạt gây ra sự chuyển dịch đỏ hay làm tăng λ_{max} hoặc chuyển dịch xanh làm giảm λ_{max} . Do đó, chuyển dịch đỏ được quan sát thấy trong quá trình tổng hợp AgNPs được cho là do kích

thước của hạt nano tăng đồng thời các hạt nano keo tụ tạo thành đám hạt lớn hơn. Kết quả khảo sát tối ưu hoá pH cho quá trình tổng hợp AgNPs (hình 2a) cho thấy khi pH tăng từ 7 đến 10 thì hàm lượng AgNPs tăng từ từ, AgNPs tạo thành tăng mạnh khi pH bằng 11 và giảm nhẹ khi pH bằng 12. Điều này có thể giải thích do khi pH tăng thì quá trình khử hoá diễn ra nhanh, thuận lợi và các hạt nano bạc tạo ra nhiều tuy nhiên ở pH bằng 12 các hạt nano bạc bắt đầu bị keo tụ tạo thành các hạt lớn hơn nên độ hấp thụ giảm. Vì thế, pH bằng 11 được lựa chọn cho các phản ứng tổng hợp AgNPs tiếp theo. Kết quả khảo sát tối ưu hóa thể tích dịch chiết cho quá trình tổng hợp AgNPs được chỉ ra ở hình 2b.

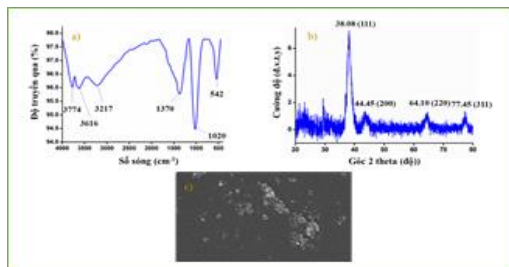


Hình 2. Phổ UV-Vis của AgNPs: a) ở pH khác nhau; b) ở thể tích dịch chiết khác nhau; c) ở nồng độ AgNO_3 khác nhau; d) ở thời gian khác nhau. Kết quả cho thấy hàm lượng của dịch chiết tăng từ 0,25 đến 0,75 mL không những làm tăng mạnh cường độ tín hiệu SPR mà bước sóng có sự chuyển dịch từ 422 đến 410 nm đồng nghĩa kích thước của hạt sẽ giảm, khi hàm lượng dịch chiết tăng từ 1,0 đến 1,25 mL, cường độ tín hiệu giảm do dịch chiết dư thừa gây ra. Do đó, 0,75 mL là thể tích dịch chiết tối ưu được lựa chọn cho các phản ứng tiếp theo. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ AgNO_3 đến quá trình tổng hợp AgNPs (hình 2c) thể hiện rằng khi nồng độ AgNO_3 tăng thì hiệu suất hình thành và độ rộng peak tăng lên chứng tỏ khi tăng nồng độ AgNO_3 thì AgNPs hình thành tăng nhưng kích thước của hạt bạc cũng tăng do đó nồng độ AgNO_3 được lựa chọn cho các tổng hợp tiếp theo là 1,5 mM.

Cuối cùng, kết quả khảo sát thời gian tối ưu hoá (hình 2d) cho thấy 1 phút sau khi nhỏ dịch chiết vào dung dịch AgNO_3 , AgNPs đã hình thành nghĩa là phản ứng xảy ra gần như lập tức, sau 10 phút phản ứng, lượng AgNPs tạo ra nhanh và nhiều và sau 30 phút việc hình thành AgNPs gần như hoàn thành. Do đó, điều kiện tối ưu cho tổng hợp AgNPs từ dịch chiết lá chè là pH bằng 11, thể tích dịch chiết là 0,75 mL, dung dịch AgNO_3 1,5 mM trong thời gian 30 phút ở 50 °C. AgNPs tổng hợp từ dịch chiết lá chè ở điều kiện tối ưu này được sử dụng để đánh giá tính chất đặc trưng và hoạt tính kháng khuẩn của chúng.

3.2. Tính chất đặc trưng của AgNPs

Phổ FT-IR là công cụ quan trọng được sử dụng để đánh giá sự tham gia của thành phần hoá học trong dịch chiết lá chè vào quá trình khử hoá Ag^+ thành Ag^0 . Phổ FT-IR của AgNPs (hình 3a) cho thấy có một đỉnh hấp thụ rộng ở bước sóng 3217 cm^{-1} đặc trưng cho dao động hóa trị của liên kết O-H, các đỉnh hấp thụ ở 3774 cm^{-1} và 3616 cm^{-1} đặc trưng cho các dao động hóa trị của liên kết N-H của amine bậc 1, chứng tỏ sự có mặt của các hợp chất amine, phenol và carboxylic acid trong dịch chiết thực vật cũng như sự liên kết của các hợp chất này với các hạt nano bạc hình thành. Ngoài ra, các đỉnh hấp thụ ở 1370 cm^{-1} và 1020 cm^{-1} đặc trưng tương ứng cho các dao động hóa trị của liên kết C-N và C-O. Đỉnh hấp thụ ở 575 cm^{-1} đặc trưng cho dao động hóa trị của liên kết Ag-O. Kết quả này phù hợp với công bố trước đây về thành phần hoá học của lá chè và các liên kết đặc trưng của nano bạc hình thành từ dịch chiết lá chè xanh [5, 20].



Hình 3. a) Phổ FT-IR của AgNPs; b) XRD của AgNPs; c) Hình ảnh SEM của AgNPs

Phân tích giản đồ nhiễu xạ tia X của hạt nano bạc tổng hợp được (hình 3b) để đánh giá mức độ tinh thể hóa cũng như cấu trúc pha của các hạt AgNPs cho thấy mẫu vật liệu tổng hợp đặc trưng cho tinh thể bạc với cấu trúc lập phương tâm mặt (FCC) gồm các pic điển hình tại các vị trí 2θ là $38,08^\circ$; $44,45^\circ$; $64,10^\circ$ và $77,45^\circ$ tương ứng với mặt phẳng tinh thể (111), (200), (220) và (311). Kích thước tinh thể của AgNPs được tính toán bằng công thức Debye-Scherrer:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta}$$

Trong đó, D là kích thước tinh thể (nm), k là hằng số Scherrer ($k=0,9$), λ là bước sóng của nguồn tia X ($\lambda = 0,15406$), β là độ bán rộng, θ là góc nhiễu xạ tương ứng.

Kích thước trung bình của hạt nano bạc được tính theo công thức Debye-Scherrer khoảng 10 nm.

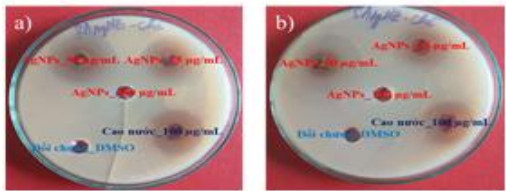
Để quan sát được hình thái học của vật liệu, AgNPs được khảo sát qua ảnh hiển vi điện tử quét SEM. Phân tích ảnh SEM của AgNPs tổng hợp được (hình 3c) cho thấy các hạt nano bạc có dạng hình cầu và chủ yếu phân tán ở dạng kết đám.

Như vậy, phân tích dữ liệu của phổ FT-IR, XRD, SEM và quan sát sự thay đổi màu sắc của dung dịch trước và sau phản ứng có thể kết luận AgNPs được hình thành, tinh thể bạc có dạng hình cầu với cấu trúc lập phương tâm mặt, phân tán ở dạng kết đám, kích thước tinh thể trung bình khoảng 10 nm. Kết quả này giống với các kết quả công bố trước đây [5, 16, 17, 20]. Chandra và các cộng sự đã tổng hợp thành công nano bạc từ dịch chiết lá chè thu được các hạt nano hình cầu có kích thước khoảng 10-20 nm [5]. Nhóm nghiên cứu của Sökmen sử dụng 0.5 mL dịch chiết lá chè như tác nhân khử hoá dung dịch AgNO_3 với nồng độ 6 mM trong thời gian 30 phút thu được các hạt nano bạc có dạng hình cầu với cấu trúc lập phương tâm mặt và kích thước tinh thể khoảng 15 nm [16].

3.3. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn của AgNPs ở các nồng độ khác nhau (100, 50 và 25

µg/mL) trên hai chủng vi khuẩn gây bệnh gồm *P. aeruginosa* và *S. aureus* thể hiện trên hình 4 và bảng 1.



Hình 4. Hình ảnh kháng khuẩn của AgNPs và cao nước với chủng vi khuẩn: a) *P. aeruginosa*; b) *S. aureus*

Bảng 1. Khả năng kháng khuẩn của AgNPs và cao nước lá chè đối với các chủng vi khuẩn

Mẫu	Nồng độ (µg/mL)	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Cao nước lá chè	100	12	14
AgNPs	25	19	22
	50	24	24
	100	26	29

Kết quả chỉ ra rằng AgNPs có khả năng ức chế sự phát triển của 2 chủng vi khuẩn thử nghiệm. Mức độ kháng khuẩn phụ thuộc vào nồng độ của AgNPs trong đó ở nồng độ 100 µg/mL, AgNPs có khả năng kháng khuẩn tốt nhất với đường kính vòng kháng khuẩn ức chế sự phát triển của 2 chủng vi khuẩn *P. aeruginosa* và *S. aureus* lần lượt là 26 mm và 29 mm. Như vậy, AgNPs được tổng hợp từ dịch chiết lá chè có khả năng kháng khuẩn hiệu quả hơn đối với 2 chủng vi khuẩn thử nghiệm so với các kết quả công bố trước đây [11, 20]. Kết quả này có thể giải thích do các yếu tố sau: thứ nhất, các hạt nano bạc tổng hợp từ dịch chiết lá chè có kích thước nhỏ nên khả năng kháng khuẩn mạnh hơn; thứ hai các chất làm bền có trong dịch chiết lá chè có khả năng kháng khuẩn với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 12 mm và 14 nm, các hợp chất này liên kết trên bề mặt của các hạt nano bạc góp phần làm tăng khả năng kháng khuẩn của AgNPs; thứ 3 là do thành phần hóa học cũng như hàm lượng của các hoạt chất có trong lá chè phụ thuộc vào địa lý cũng như loại lá chè. Các kết quả này vô cùng lý thú, mở ra khả năng tận dụng dịch chiết lá chè để tổng hợp AgNPs định hướng ứng dụng trong y học.

4. KẾT LUẬN

Các hạt nano bạc được tổng hợp thành công từ dịch chiết lá chè một cách đơn giản, chi phí thấp. Điều kiện tối ưu cho tổng hợp nano bạc từ dịch chiết lá chè là 0,75 mL dịch chiết trong 10 mL AgNO₃ 1,5 mM ở pH bằng 11 trong thời gian 20 phút và ở 50 °C. Tính chất đặc trưng của hạt nano bạc được tổng hợp ở điều kiện tối ưu được đánh giá bằng phổ FT-IR, XRD và SEM. Đa số các hạt nano bạc có dạng hình cầu và ở dạng kết tụ. Kích thước tinh thể của hạt nano khoảng 10 nm. Các hạt nano bạc thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh với 2 chủng vi khuẩn thử nghiệm *P. aeruginosa* và *S. aureus* với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 26 và 29 mm ở nồng độ AgNPs là 100 µg/mL. Kết quả này cho thấy có thể sử dụng lá chè để tổng hợp AgNPs và ứng dụng trong y học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmad, M.Z., et al., *Metallic nanoparticles: technology overview & drug delivery applications in oncology*. Expert opinion on drug delivery, 2010. **7**(8): p. 927-942.

2. Ahmad, S.A., et al., *Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review*. Materials Science for Energy Technologies, 2020. **3**: p. 756-769.

3. Bergal, A., G.H. Matar, and M. Andaç, *Olive and green tea leaf extracts mediated green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs): comparison investigation on characterizations and antibacterial activity*. BioNanoScience, 2022. **12**(2): p. 307-321.

4. Castillo-Henríquez, L., et al., *Green synthesis of gold and silver nanoparticles from plant extracts and their possible applications as antimicrobial agents in the agricultural area*. Nanomaterials, 2020. **10**(9): p. 1763.

5. Chandra, A., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaves from three different elevations*. ChemistrySelect, 2020. **5**(14): p. 4239-4246.

6. Cong Bien, N., N. Thi Minh Phuong, and N. Thi Thu Cuc, *Developing tea market through analyzing the value chain of vietnam*

tea industry. PSAKU International Journal of Interdisciplinary Research, 2018. 7(2).

7. Damian, L. and S. Patlachia, *Method for testing the antimicrobial character of the materials and their fitting to the scope*. Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Engineering Sciences. Series I, 2014. 7(2): p. 37.

8. Huq, M.A., et al., *Green synthesis and potential antibacterial applications of bioactive silver nanoparticles: A review*. Polymers, 2022. 14(4): p. 742.

9. Jamkhane, P.G., et al., *Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications*. Journal of drug delivery science and technology, 2019. 53: p. 101174.

10. Mulvaney, P., *Surface plasmon spectroscopy of nanosized metal particles*. Langmuir, 1996. 12(3): p. 788-800.

11. Nakhjavani, M., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using green tea leaves: Experimental study on the morphological, rheological and antibacterial behaviour*. Heat and Mass Transfer, 2017. 53(10): p. 3201-3209.

12. Namita, P., R. Mukesh, and K.J. Vijay, *Camellia sinensis (green tea): a review*. Global journal of pharmacology, 2012. 6(2): p. 52-59.

13. Novak, J.P. and D.L. Feldheim, *Assembly of phenylacetylene-bridged silver and gold nanoparticle arrays*. Journal of the American Chemical Society, 2000. 122(16): p. 3979-3980.

14. Raffi, M., et al., *Antibacterial characterization of silver nanoparticles against E. coli ATCC-15224*. Journal of materials science and technology, 2008. 24(2): p. 192-196.

15. Rafique, M., et al., *A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications*. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 2017. 45(7): p. 1272-1291.

16. Sökmen, M., et al., *Microwave assisted production of silver nanoparticles using green tea extracts*. Journal of Alloys and Compounds, 2017. 725: p. 190-198.

17. Sun, Q., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity*. Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering aspects, 2014. 444: p. 226-231.

18. Vanlalveni, C., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: A review of recent literature*. RSC Advances, 2021. 11(5): p. 2804-2837.

19. Vu, D.C. and S. Alvarez, *Phenolic, Carotenoid and Saccharide Compositions of Vietnamese Camellia sinensis Teas and Herbal Teas*. Molecules, 2021. 26(21): p. 6496.

20. Widatalla, H.A., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using green tea leaf extract, characterization and evaluation of antimicrobial activity*. Nanoscale Advances, 2022. 4(3): p. 911-915.