

Chương 1. TỔNG QUAN VỀ NGHIÊN CỨU

1.1. GIỚI THIỆU VỀ NGUYÊN LIỆU VỎ CAM

1.1.1. Tổng quan về một số giống cam thường gặp

Phát triển mạnh ở tỉnh Miền Tây. Cây này ra quả sớm, sau 2 năm trồng. Có thể thu hoạch khoảng 8 đến 9 tháng, năng suất trung bình từ 30kg trở lên /cây/năm lớp 5). Quả có hình cầu, khi chín có vỏ màu xanh đến vàng lục. Trọng lượng trung bình 235-245g, vỏ dày 3-5 mm, vùng màu cam có màu cam đậm, mọng nước, rất thơm, thường có hạt.



Hình 1.1. Vỏ và quả cam sành

1.1.2. Đặc điểm và công dụng của vỏ Cam Sành

Đặc điểm: Có hơn 55 loại flavonoid, 170 phytonutrients, hesperidin.. các loại trong vỏ cam gồm vitamin A, vitamin C, vitamin B5, pectin và chất xơ

Công dụng: Tăng cường sức khỏe tim mạch, hỗ trợ giảm viêm và dị ứng, hỗ trợ giảm cân, tốt cho sức khỏe răng miệng, cải thiện sức khỏe tiêu hóa.

1.2. TỔNG QUAN VỀ CÔNG NGHỆ, VẬT LIỆU NANO

1.2.1. Tổng quan về công nghệ nano

Công nghệ nano là lĩnh vực kỹ thuật chế tạo và sử dụng vào các hệ thống thông qua kiểm soát hình dạng và kích của chúng ở cấp độ nanomet (nm, $1\text{nm} = 10^{-19}\text{m}$). Nano công nghệ cũng có thể được hiểu là một lĩnh vực kỹ thuật dựa trên kiến thức về các quy luật cấu trúc, hiện tượng và tính chất của cấu trúc vật liệu có kích thước cụ thể ở cấp độ nano (Lê Thị Thu Hiền, Nông Văn Hải, 2004).

1.2.2. Vật liệu nano

Vật liệu nano có kích thước theo nhiều chiều là nanomet. Có thể gọi là chủ đề nano nghiên cứu khoa học. Đặc thù của nano phụ thuộc vào kích thước, hình dạng của chúng.

Chúng có kích thước từ vài nanomet đến hàng trăm nanomet, tùy thuộc vào phương pháp sản xuất và ứng dụng của chúng (Nguyễn Hoàng Hải, 2007).

1.3. TỔNG QUAN VỀ HẠT NANO KIM LOẠI VÀ HẠT AgNPs

1.3.1. Hạt nano kim loại

❖ *Tính chất quang*: Nó xảy ra do sự di chuyển của các electron với bức sóng điện từ. Các electron chuyển động trong hạt nano được phân phối lại, phân cực điện cho hạt nano và tạo thành các lưỡng cực điện. Hơn nữa, tính chất quang cũng bị tác động bởi mật độ hạt nano. Ví dụ, ánh sáng phản chiếu từ một khối vàng có màu vàng, nhưng ánh sáng truyền qua có màu xanh lam hoặc màu cam khi các hạt thay đổi kích thước. Chỉ những hạt kim loại có electron tự do bị hấp thụ trong vùng ánh sáng khả kiến mới gây ra hiện tượng quang học trên (Nguyễn Hoàng Hải, 2007).

❖ *Tính chất điện*: Khi kích thước của vật liệu hạ xuống, các hiệu ứng lượng tử sẽ làm rời rạc cấu trúc dải năng lượng, dẫn đến hiệu ứng chắn Coulomb (Nguyễn Hoàng Hải, 2007).

❖ *Tính chất từ*: Khi vật liệu được làm nhỏ hơn, nó thể hiện từ tính tương đối mạnh. Kim loại có tính chất từ sắc nét chuyển sang trạng thái siêu thuận từ ở cấp độ nano. Khi có từ trường thì có từ trường mạnh nhưng khi lấy đi từ trường thì từ trường sẽ biến mất. từ dư và lực cưỡng chế hoàn toàn bằng không (Nguyễn Hoàng Hải, 2007).

❖ *Tính chất nhiệt*: nhiệt độ nóng chảy T_m của vật liệu phụ thuộc vào mức độ liên kết giữa các nguyên tử trong mạng tinh thể. Nhiệt độ nóng chảy giảm khi kích thước của hạt nano giảm (Nguyễn Hoàng Hải, 2007).

1.3.2. Hạt nano bạc

1.3.2.1. Sơ lược về bạc kim loại

Bạc có màu trắng, dễ uốn, dẫn điện và nhiệt cao và điện trở suất nhỏ nhất. Bạc có độ bóng kim loại, khối lượng lớn, dễ kéo dài và tạo hình. Bạc bán trên thị trường có độ tinh khiết ít nhất là 99,9% và trong một số trường hợp vượt quá 99,999%.

1.3.2.2. Tổng quan về tính chất và đặc tính của nano bạc.

Kích thước AgNPs từ 0,1 đến 100 nm, chỉ ra các tính chất đặc trưng khác nhau đáng kể so với bạc thông thường.

Bạc có thể kháng sinh và có hiệu quả cao. Bạc có độc tính cao đối với vi sinh vật, trong đó có 16 loại vi khuẩn chính (Slawson, Trevors and Lee, 1992) (Zhao and Stevens, 1998). Với khả năng này bạc được dùng trong y tế. Bạc thường được sử dụng dưới dạng

nitrat để tạo ra tác dụng kháng khuẩn nhưng khi sử dụng ở dạng hạt làm tăng hiệu ứng diệt khuẩn

Sự phân tán trong phạm vi nanomet làm tăng diện tích bề mặt cụ thể, do đó tăng gấp đôi hiệu quả chống khuẩn của bạc. Những thí nghiệm đã thành công cho rằng hoạt tính diệt khuẩn của AgNPs (1-100 nm) tốt hơn so với bạc số lượng lớn và 1g.

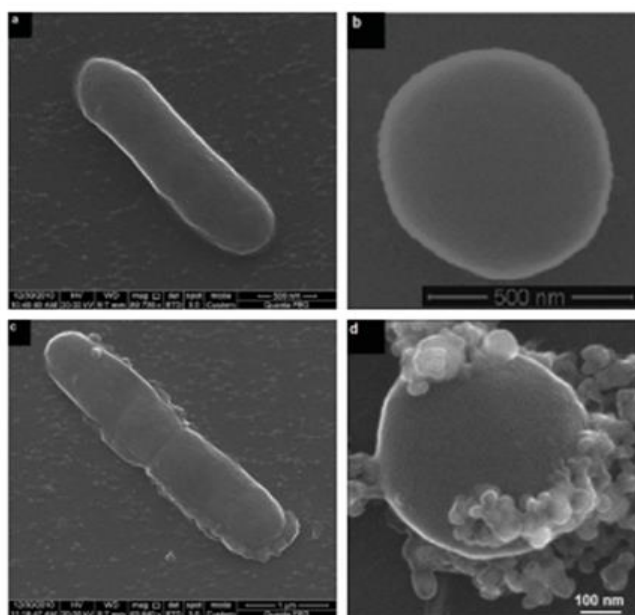
Tính kháng khuẩn của nano bạc được giải thích theo một số cơ chế

- Các hạt nano bạc có thể được neo và ức chế tế bào diệt khuẩn và làm biến đổi về cấu tạo bên trong mô bào, chẳng hạn như tính thâm nhập của màng và phá hủy tế bào (Drake and Hazelwood, 2005).

- Để tạo thành gốc tự do bởi hạt AgNPs có thể là một cơ chế gây chết tế bào vi khuẩn. Với quang phổ cộng hưởng điện tử đã chỉ ra rằng các hạt nano bạc làm hỏng màng tế bào, khiến chúng trở nên xốp gây ức chế tiêu hủy màng tế bào (Danilczuk *et al.*, 2006) (Kim *et al.*, 2007).

- Bạc nano tạo ra các AgNPs. Các ion này có thể kết hợp với các enzym, protein gây vô hiệu hóa chức năng của chúng. Đối với các loại vi khuẩn hô hấp bằng oxy, các ion bạc sẽ gây ức chế enzym hô hấp và tấn công các tế bào của chính nó (Matsumura *et al.*, 2003)(Morones *et al.*, 2005) (Hatchett and White, 1996).

- Các hạt bạc nhỏ thâm nhập vào màng tế bào chúng gặp và kết hợp với DNA có chứa nhóm sunfua hoặc photphat, làm bất hoạt các enzyme hoặc DNA, quá trình sao chép DNA bị cản trở và tiêu diệt vi khuẩn (Shrivastava *et al.*, 2007) (Singh *et al.*, 2008).



Hình 1.2. Phương thức hoạt động của các hạt nano bạc trên vi khuẩn

1.3.3. Ứng dụng của nano bạc

Hạt nano làm chất xúc tác, chất cảm biến quang học trong kỹ thuật dệt may, thiết bị điện tử, trong quang học và quan trọng nhất trong y dược vì là chất diệt khuẩn và chất điều trị. AgNPs được xây dựng trong các vật liệu tổng hợp nhựa nha khoa, trong lớp phủ của các thiết bị y tế hay như là một lớp phủ diệt khuẩn trong các bộ lọc nước. Ngoài ra nó còn là tác nhân kháng khuẩn trong thuốc xịt không khí khử trùng, gói, mặt nạ phòng độc, vớ, khăn lau ướt, chất tẩy rửa, xà phòng, dầu gội...và nhiều sản phẩm tiêu dùng khác như xi măng xương và trong nhiều các loại băng vết thương...

Trong y học

AgNPs có tính kháng khuẩn là bản chất của nhiều thành phần trong ngành y dược giúp nhanh chóng chữa lành vết thương là do sự giảm hoạt động của matrix metalloproteinase (MMP) và sự gia tăng quá trình apoptosis bạch cầu trung tính trong vết thương (Shin *et al.*, 2007).

Các hạt nano bạc được phủ lưới polypropylen có tác dụng kháng khuẩn tuyệt vời và ứng biến trong lưới phẫu thuật để chống khuẩn(Cohen *et al.*, 2007). Ngoài ra, nano bạc dùng để chống tái nhiễm khuẩn do vi khuẩn gây ra trong các dụng cụ y tế và băng vết thương.

Nano bạc đã và đang phát triển trong ngành vi sinh. Các thuộc tính plasmon của nano bạc được quyết định bởi hình dạng, kích thước và các phương tiện điện môi bao quanh nó. Tính chất của nó làm chất điện môi trong cảm ứng sinh học. AgNPs tác động lên nhiều loại protein khác nhau mà các cảm biến không biến dị khó nhận ra. Ưu điểm này của AgNPs được phát minh để phát hiện nhiều loại không ổn định, bao gồm cả ung thư.

Đặc tính plasmonic của nano bạc dùng để loại bỏ tế bào không tốt. Năng lượng nhiệt này có thể gây ra sự cắt bỏ nhiệt của hạt tiêu ở các tế bào đích. (Loo *et al.*, 2005).



Hình 1.3. Băng vết thương có hạt AgNPs



Hình 1.4. Lưới thoát vị chứa AgNPs

✚ Trong các lĩnh vực khác

Hàng tiêu dùng: Hiện nay, nano bạc được cho vào các polyme với khả năng khử mùi hiệu quả bằng cách tiêu diệt nhiều loại vi khuẩn. AgNPs hiện được sử dụng trong nhiều sản phẩm mọi nhà, hộp đựng thức ăn, chất tẩy rửa thực vật, sơn và mỹ phẩm...



Hình 1.5. AgNPs được sử dụng trong mọi sản phẩm hàng tiêu dùng

Kỹ thuật dệt may: Nano bạc còn được đưa vào vải giúp quần áo giảm mùi hôi, giảm thiểu nguy cơ nấm mốc, có mùi, có đặc tính chống tĩnh điện, cải thiện đặc tính sinh học của da, giúp giữ cân bằng. Nó được sử dụng trong quần áo thể thao, quần áo y tế và khăn tắm trẻ em.



Hình 1.6. Mặc hàng vải được phủ AgNPs

Chất tiếp xúc: Sử dụng làm chất xúc tác, hạt AgNPs thường được tráng một lớp silica phẳng, alumina, v.v.. Nó có tác dụng bám dính các hạt nano bạc vào giá đỡ và có thể cải thiện tuổi thọ. Nó bảo vệ chất xúc tác khỏi sự kết tụ cục bộ, v.v. (ILibor Kvitek, 2005).

Xử lý chất lỏng nước: diện tích bề mặt tương đối lớn của các hạt AgNPs có thể lọc nước ô nhiễm và lọc nước uống theo tiêu chuẩn.



Hình 1.7. Thiết bị lọc nước có hạt AgNPs

1.4. SƠ LƯỢC TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU NGOÀI NƯỚC VÀ TRONG NƯỚC

1.4.1. Tình hình nghiên cứu nước ngoài

Nano ứng dụng trong nhiều lĩnh vực cụ thể các tác giả nước ngoài đã có một số nghiên cứu như sau:

Năm 2010, tác giả Prathna đã tổng hợp AgNPs bằng dịch chiết nước Citrus limon (chanh) và dự đoán lý thuyết về kích thước hạt. Quy trình tổng hợp trong 4 giờ với nước chanh (nồng độ axit citric 2% và nồng độ axit ascorbic 0,5%) theo tỷ lệ 1:4. Sự hình thành AgNPs được xác định bằng phổ UV-Vis trong khoảng 400 – 500 nm. Các nghiên cứu phổ FTIR đã chứng minh axit citric có thể là chất ổn định. Các hạt AgNPs có kích

thước 50 nm có dạng hình cầu được quan sát qua TEM. Đây là phương pháp khả thi, thân thiện với môi trường(Prathna *et al.*, 2011).

Tổng hợp các hạt nano bạc sử dụng chiết xuất lá của *Hibiscus cannabinus* đã được nghiên cứu năm 2013. Các hạt nano tổng hợp được đặc trưng bằng phương pháp quang phổ UV-vis, quang phổ hồng ngoại (FTIR), nhiễu xạ tia X (XRD) và Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Các hạt nano bạc đã chế tạo được đơn phân tán, có dạng hình cầu với kích thước hạt trung bình là 9 nm và cho thấy đỉnh plasmon bề mặt ở 446 nm. Nghiên cứu cũng tiết lộ rằng axit ascorbic có trong chiết xuất lá *H. cannabinus* đã được sử dụng làm chất khử. Hạt nano bạc bào chế được cho thấy hoạt tính kháng khuẩn tốt đối với *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* và *Shigella flexneri*(Bindhu and Umadevi, 2013)

Năm 2015, tác giả Haytham M.M. Ibrahim đã nghiên cứu tổng hợp AgNPs từ vỏ chuối Các điều kiện tối ưu là bạc nitrat (1,75 mM), BPE (khối lượng khô 20,4 mg), pH (4,5) và thời gian ủ (72 giờ). BPE có thể khử các ion bạc thành các hạt nano bạc trong vòng 5 phút được biểu thị bằng màu nâu. Phổ UV - Vis của hạt nano bạc ở bước sóng 433 nm. Kính hiển vi điện tử truyền qua đã xác nhận tính chất hình cầu và độ kết tinh của hạt nano. Kích thước trung bình của hạt nano là 23,7 nm. Các hạt nano bạc cho thấy hoạt động kháng khuẩn hiệu quả chống lại mầm bệnh đại diện của vi khuẩn và nấm men(Ibrahim, 2015)

Năm 2019, tác giả Margarita I. Skiba nghiên cứu để điều chế các hạt nano bạc “xanh” (AgNP). Các AgNP tổng hợp được đặc trưng bởi quang phổ UV-Vis, tán xạ ánh sáng động và kính hiển vi điện tử quét, kết quả khẳng định hạt nano bạc được hình thành ở nồng độ khảo sát của Ag^+ (0,25–6,0 mmol/L) trong 5–10 phút, với tỷ lệ AgNO_3 : chiết xuất (ml) 1:1, và ở mức 75°C. Kết quả XRD dạng bột cho thấy hạt nano Ag có cấu trúc tinh thể lập phương tâm mặt Ảnh hưởng của pH đến quá trình tổng hợp hạt nano đã được xác định bằng cách điều chỉnh độ pH của hỗn hợp phản ứng. AgNPs cũng đã được nghiên cứu trong quá trình phân hủy xúc tác của thuốc nhuộm xanh methylene (MB)...Phản ứng phân hủy xúc tác dưới bức xạ mặt trời đã hoàn thành (99%) trong vòng 35 phút, biểu thị đặc tính xúc tác tuyệt vời của hạt nano bạc trong việc khử MB (Skiba and Vorobyova, 2019).

1.4.2. Tình hình nghiên cứu trong nước

Nước ta đang tập trung phát triển lĩnh vực AgNPs do được chú ý nhiều. Những phát minh về kim loại nano được quan tâm rộng rãi trên các báo đài cho đến nay còn thu hẹp.

Năm 2019, tác giả Trần Nguyễn An Sa tổng hợp AgNPs bằng chiết xuất vỏ chanh dây. Sự hình thành các hạt AgNPs được kiểm tra giám sát bằng phân tích quang phổ UV-Vis ở bước sóng 445 nm. Đường kính hạt nano (61,7 nm) được đo bằng kỹ thuật tán xạ ánh sáng với máy phân tích kích thước hạt nano. Hơn nữa, các hạt nano bạc được tạo ra có thể ứng dụng để phát hiện các ion Zn^{2+} và Pb^{2+} trong môi trường nước với giới hạn phát hiện (MDL), giới hạn định lượng (LOQ) lần cuối là: MDLS = 0,035 mM, LOQ = 0,1 mM đối với Zn^{2+} and MDLS = 0,043 mM, LOQ = 0,137 mM đối với Pb^{2+} (Sa *et al.*, 2021).

Năm 2020, tác giả Vĩnh Tiến Nguyễn đã tổng hợp các hạt AgNPs từ dịch chiết vỏ bưởi và thử nghiệm kháng khuẩn. Quy trình tổng hợp bao gồm sử dụng chiết xuất vỏ bưởi và ánh sáng mặt trời trực tiếp, đã được sử dụng để tổng hợp các hạt nano bạc (AgNP). Điều chế bằng cách xử lý vỏ bưởi bằng dung dịch axit xitric ở 85°C trong 2 giờ. PPE sau đó được trộn với $AgNO_3$ và tiếp xúc với ánh sáng mặt trời để tạo ra sự hình thành AgNPs. Phổ UV-Vis phụ thuộc vào thời gian của hỗn hợp phản ứng đã chứng minh rằng AgNPs được hình thành dưới sự chiếu xạ của ánh sáng mặt trời nhanh hơn so với quá nhiệt ở 90°C. Các kỹ thuật mô tả đặc điểm, bao gồm nhiễu xạ tia X, kính hiển vi điện tử truyền qua và kính hiển vi điện tử quét, đã xác nhận sự hình thành của AgNPs với kích thước 20–30 nm (Nguyen, 2020).

Năm 2023, tác giả Triệu Quốc An đã nghiên cứu tổng hợp nano bạc từ dịch chiết lá trà xanh khô và bước đầu đánh giá khả năng kháng khuẩn của vật liệu. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của những thông số quan trọng như điều kiện pH, thời gian phản ứng, nồng độ $AgNO_3$, và tỉ lệ thể tích dịch chiết trà và dung dịch $AgNO_3$ đến quá trình tổng hợp AgNPs sử dụng dịch chiết trà xanh đã được chứng minh. Một số phương pháp phân tích đặc trưng cấu trúc AgNPs được sử dụng như quang phổ hấp thụ UV-Vis, DLS, XRD và TEM nhằm hỗ trợ xác nhận sự thành công của con đường tổng hợp AgNPs sử dụng dịch chiết trà. Dải hấp thụ SPR xuất hiện trong vùng bước sóng 420 – 430 nm, trong phổ UV-Vis của AgNPs được tổng hợp từ dịch chiết trà sử dụng những điều kiện tối ưu như pH 8.5 - 9, thời gian phản ứng trong 30 phút, và tỉ lệ thể tích dịch chiết/ $AgNO_3$

1:1. Kích thước trung bình của AgNPs xác định bằng DLS trong khoảng 28 - 34 nm. Phổ XRD của AgNPs được tổng hợp chứng minh rõ ràng sự tồn tại của Ag và độ tinh khiết tinh thể của nó. Hoạt tính kháng khuẩn đáng kể của AgNPs tổng hợp từ dịch chiết trà trên các chủng khuẩn gram dương *S. aureus*, và gram âm *E. coli* có thể được ứng dụng trong các lĩnh vực dược, thực phẩm và nông nghiệp... (Trieu *et al.*, 2023).

🌱 Ý nghĩa khoa học về việc sử dụng vỏ cam sành để chiết nano:

Tổng hợp AgNPs đang tiến bộ vượt bậc so với một số phương pháp vi sinh vì nó thể dễ dàng cải thiện. Toàn bộ thành phần trên cây thực vật đều chứa các phân tử sinh học (enzim, alkaloid, tannin, vitamin...) có giá trị chữa bệnh cao. Chiết xuất AgNPs từ vỏ cây cam là phương pháp hóa học xanh, tận dụng nguyên nguồn nguyên liệu thiên nhiên. Vỏ cam chứa flavonoid có tác dụng ức chế các protein liên quan đến ung thư và vỏ cam chứa hợp chất limonene hạn chế nguy cơ gây bệnh nặng. Nhờ vitamin C trong vỏ cam, giúp kháng viêm tránh làm nặng vết thương hở. Chất xơ trong vỏ cam làm tăng tính ổn định và hỗ trợ tiêu hóa. Flavonoid trong vỏ cam được biết là có tính thẩm của màng và tác dụng chữa lành vết thương. Hạn chế gây ô nhiễm.

Chương 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. HÓA CHẤT, DỤNG CỤ VÀ THIẾT BỊ

2.1.1. Hóa chất

✚ **Bạc nitrat (AgNO_3):** dạng tinh thể được sản xuất bởi Merck Peruana, Polyvinylpyrrolidone (PVP) được mua từ Sigma – Aldrich.

✚ **Cam Sành:** là giống cây đặc trưng của vùng Đông Nam Bộ

✚ **NaOH:** Natri hydroxit là một chất hóa học kết tinh trắng, mảnh. Nó hút ẩm cao, hòa tan trong nước và tạo ra một lượng nhiệt lớn. Hydroxit có nhiệt độ nóng chảy không gây mùi dù nhiệt độ cao ở 318°C (591 K), nhiệt độ sôi 1.390°C (1.663 K), độ hòa tan 111 g/100 ml (20°C) và tính bazơ là - 2,43 pK_b. Gây ăn mòn vải, giấy và da.

2.1.2. Thiết bị

a)



b)



Hình 2.1. a) Cân phân tích 3 số Mỹ, PX223/E 001 và b) Bút đo pH Hanna HI 981036

c)



d)

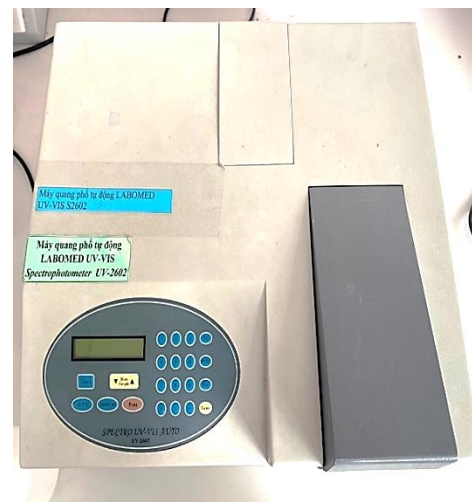


Hình 2.2. c) Máy ly tâm 4000 vòng/phút, 12x15ml và d) Bể rửa siêu âm PS-40A Trung Quốc Gemmy PLC-05

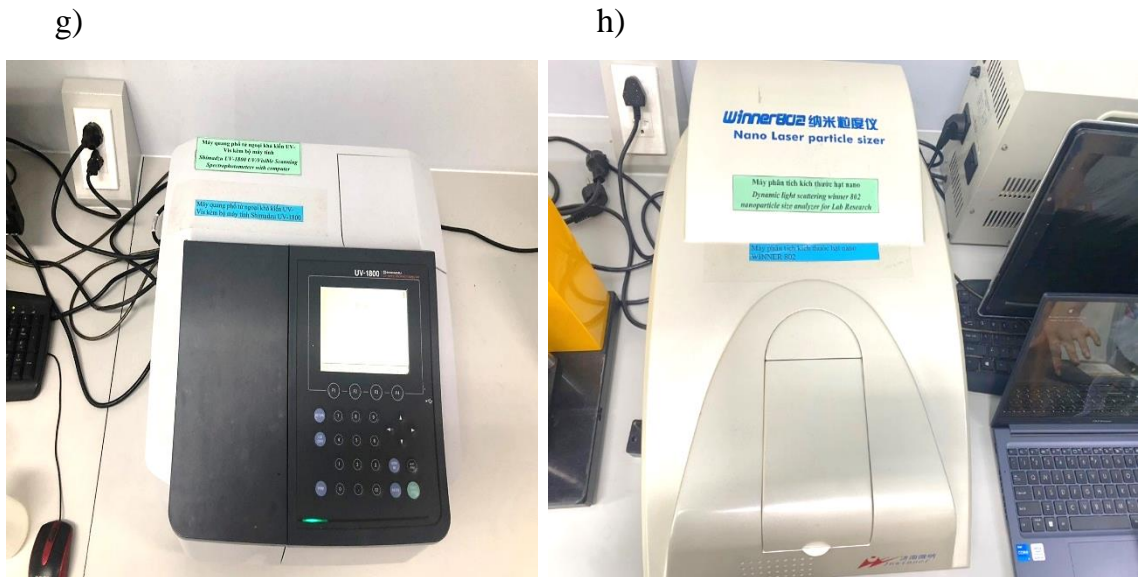
e)



f)



Hình 2.3. e) Máy khuấy từ gia nhiệt 85-2A và f) Máy quang phổ hấp thụ UV – Vis LABOMED



Hình 2.4. g) Máy quang phổ tử ngoại khả kiến UV-Vis kèm máy tính và h) Máy phân tích kích thước hạt WINNER 802

2.2. LỰA CHỌN PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nhìn chung, các thao tác này có xu hướng tốt và thời gian tổng hợp ngắn nhưng rất tốn kém do sử dụng thiết bị đắt tiền và sự độc hại có trong hóa chất sẽ gây độc. Nên việc tổng hợp theo hướng hóa học xanh đã và đang tiếp tục là trọng tâm (Hùng, 2011).

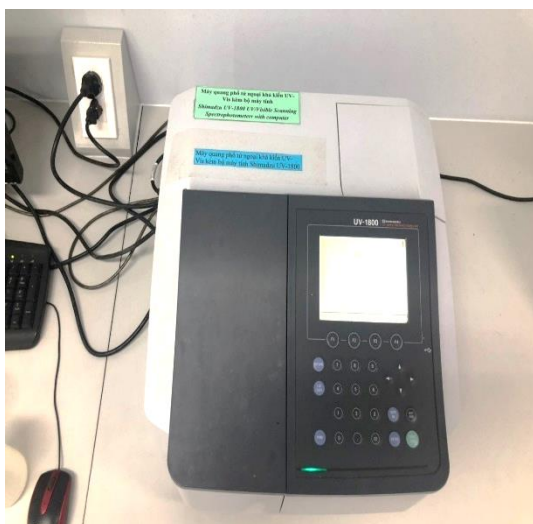
Một số nghiên cứu chế tạo nano theo hướng tổng hợp xanh dựa trên các loại dịch chiết như: dịch chiết lá diếp cá (Trần, 2016), dịch chiết lá trà đen (Lan *et al.*, 2018), dịch chiết của lá hoa hồng (Nhật *et al.*, 2015). Ngoài thực vật một số nghiên cứu còn tận dụng trên các loại vi sinh vật, nấm (Hai *et al.*, 2019).

Trong dự án này, nghiên cứu tập trung vào quá trình tạo ra AgNPs từ chiết xuất vỏ cam. Là nguồn nguyên liệu cho quá trình tổng hợp AgNPs tận dụng nguyên liệu từ thiên nhiên có ở các tỉnh miền Tây.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phương pháp xác định đặc tính hạt nano bạc

2.3.1.1. Phương pháp phổ tử ngoại khả kiến (UV – Vis)



Hình 2.5. Máy quang phổ tử ngoại khả kiến UV-Vis

Phương pháp đo này được sử dụng để theo dõi thuộc tính của AgNPs, đo chiều cao cực đại và bề rộng phổ, mức độ phân tán hạt. Qua đó xác định xem liệu có thể tạo ra dung dịch chứa nano bạc hay không.

2.3.1.2. Kính hiển vi điện tử truyền qua

Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) là phương pháp để kích thước và hình dạng của các hạt nano được hình thành. Nếu nguyên liệu tạo ra không phù hợp với tiêu chí khảo sát thì cần xem lại quy trình sản xuất hạt nano để điều chỉnh.



Hình 2.6. Kính hiển vi điện tử truyền qua TEM

2.3.1.3. Phương pháp phổ hồng ngoại FTIR

Là một phương pháp phân tích phát triển giúp nhận diện các liên kết của chất phân tích và các nhóm chức.

Dựa trên tần số riêng và cường độ cực đại của phổ hồng ngoại, sự hiện diện của các nhóm chức và các liên kết được xác định trong phân tử đang nghiên cứu có thể được đánh giá trực tiếp, từ đó xác định cấu trúc phân tử của vật liệu nghiên cứu.



Hình 2.7. Kính hiển vi quang phổ hồng ngoại FTIR

2.3.1.4. Phương pháp đo nhiễu xạ tia X (XRD)

Thu được ảnh phổ nhiễu xạ, cung cấp thông tin về cấu trúc tinh thể, số liệu cấu trúc khác như kích thước hạt trung bình và khuyết tật tinh thể.

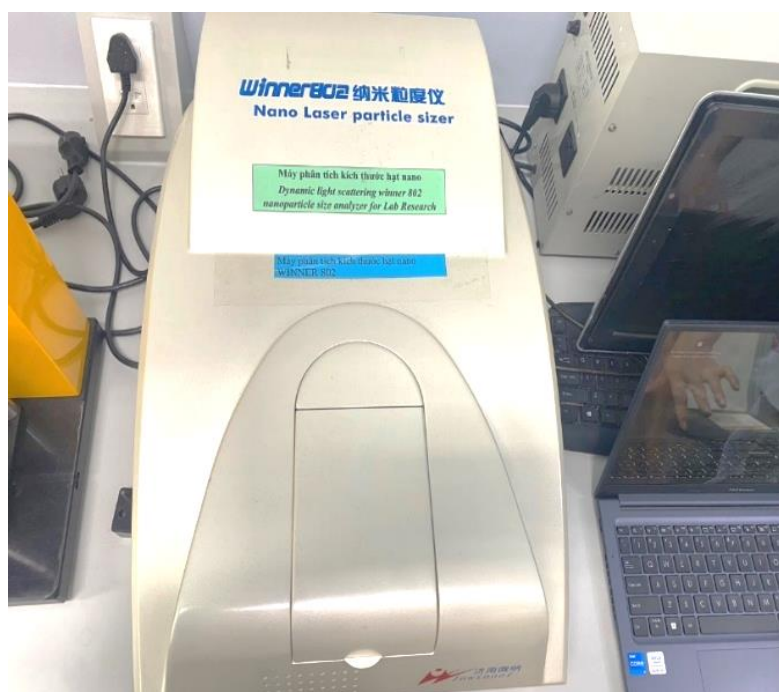
Các mũi nhiễu xạ tia X được gây ra bởi sự giao thoa của các tia X bị nhiễu xạ ở các góc cụ thể bởi các mặt phẳng mạng của mẫu. Các mũi nhiễu xạ được đặc trưng bởi sự phân bố của các nguyên tử trong mạng tinh thể.



Hình 2.8. Máy đo nhiễu xạ tia X (XRD)

2.3.1.5. Phương pháp đo kích thước hạt DLS

Trong định cỡ hạt DLS được đo bằng cách sử dụng máy phân tích tán xạ ánh sáng qua đó biết được kích thước trung bình, biểu đồ phân bố kích thước và chỉ số phân tán.

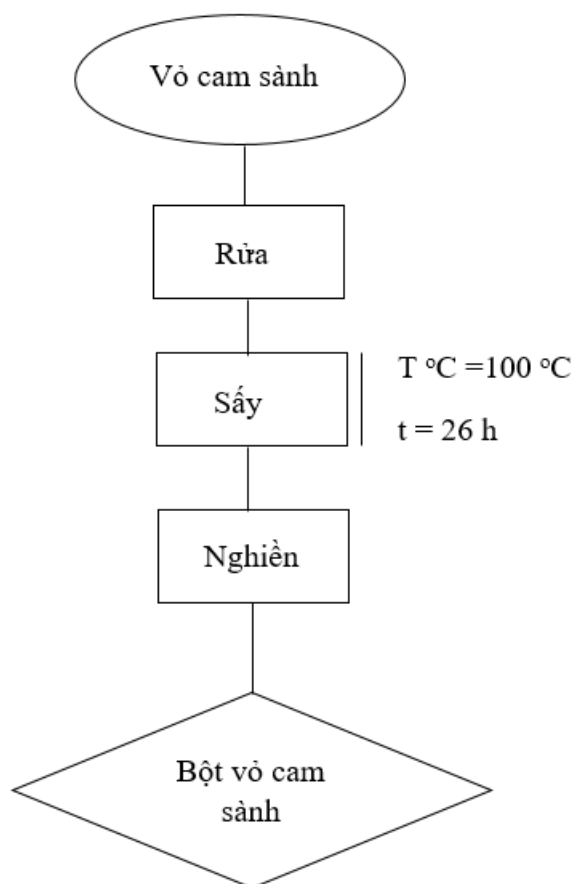


Hình 2.9. Máy phân tích kích thước hạt WINNER 802

2.3.2. Thực nghiệm

2.3.2.1. Chuẩn bị nguyên liệu

Chuẩn bị bột vỏ Cam sành



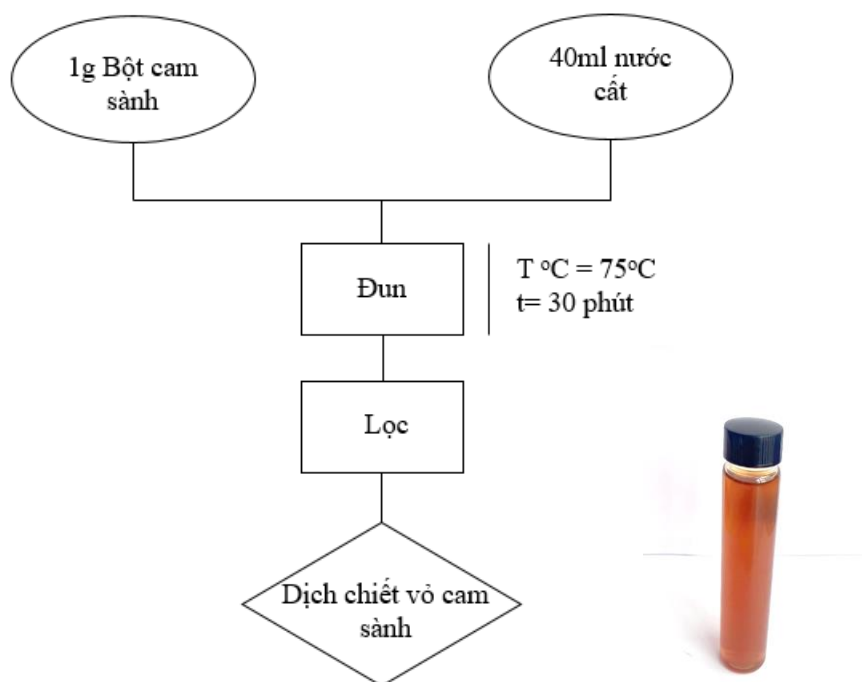
Hình 2.10. Sơ đồ chuẩn bị bột vỏ Cam Sành

Quy trình chuẩn bị bột vỏ cam sành: Trái cam sành sau khi được rửa sạch và gọt vỏ thì vỏ cam sẽ được đem đi sấy ở 100 °C trong 26 tiếng, đến khi vỏ cam giòn sẽ đem đi say mịn thành bột và thu được bột vỏ cam sành.



Hình 2.11. Bột vỏ Cam sành

Chuẩn bị dịch chiết vỏ Cam Sành



Hình 2.12. Sơ đồ chuẩn bị dịch chiết quả Cam Sành

Quy trình chuẩn bị dịch chiết vỏ cam sành: Cân 1g bột vỏ cam sành và cho 40ml nước cất vào, tiến hành nấu trên bếp gia nhiệt ở 75 °C trong 30 phút. Sau khi hết thời gian hỗn hợp sẽ được đem đi lọc và thu được dịch chiết vỏ cam sành.

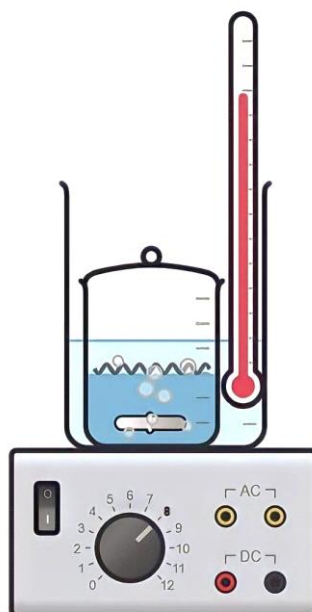
Chuẩn bị dung dịch bạc nitrat

Bạc nitrat ở dạng muối tinh thể được pha ở nồng độ 1000 mM . Dung dịch ban đầu có nồng độ 1000mM hạ dần xuống 50ml với các nồng độ sau: 1mM, 1.5mM, 2 mM, 2.5 mM, 3 mM, 3.5 mM, 4 mM, 4.5 mM, 5 mM.

2.3.2.2. Tổng hợp nano bạc

Cách bố trí thí nghiệm

Cho dịch chiết vỏ cam và AgNO_3 với tỷ lệ 1:1 vào cốc. Dùng máy đo pH đo nồng độ pH ban đầu. Sau đó cho chậm chậm dung dịch NaOH 0.1M vào cốc chứa dung dịch đã hỗn hợp trên đồng thời đảo liên tục. Thêm NaOH cho đến khi đạt pH mong muốn. Hỗn hợp này sau đó được đảo trên máy khuấy bằng cá từ đã được gia nhiệt ở 75°C trong 30 phút. Sau thời gian phản ứng sẽ tắt máy khuấy từ, thu được hỗn hợp, để nguội và đem đi đo với máy UV – Vis.



Hình 2.13. Cách bố trí mẫu đang được khuấy trên bếp gia nhiệt

a) *Khảo sát ảnh hưởng của pH lên quá trình hình thành nano bạc*

✚ **Mục đích:** Chọn độ pH tối ưu bằng cách kiểm tra màu sắc, hấp thụ ở bước sóng tối đa.

✚ **Điều kiện khảo sát**

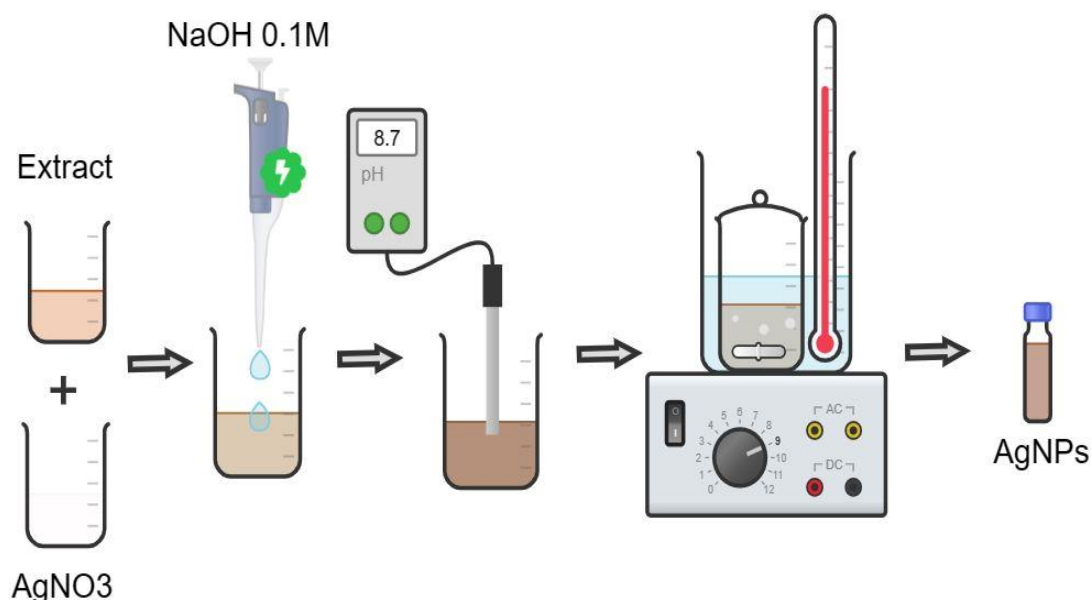
Bảng 2.1. Điều kiện khảo sát ảnh hưởng pH lên sự tạo thành AgNPs

STT	pH	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Nồng độ AgNO ₃ (mM)	Tỉ lệ V dịch chiết : V bạc nitrat
1	7	30 phút	75 °C	2.5 mM	1:1
2	7.5				
3	8				
4	8.5				
5	8.7				
6	8.8				
7	9				
8	9.2				
9	9.3				
10	9.5				

11	10				
12	10.5				
13	11				

Thuyết minh:

Cho dịch chiết vỏ cam và bạc nitrat với tỷ lệ 1:1 vào cốc. Kiểm tra pH ban đầu. Sau đó cho chậm chậm dung dịch NaOH 0.1M vào cốc chứa dung dịch đã hỗn hợp trên đồng thời khuấy liên tục. Thêm NaOH vào tới khi đạt được tới nồng độ pH cần khảo sát. Hỗn hợp này sau đó được đảo trộn trên máy khuấy từ đã được gia nhiệt ở 75 °C trong 30 phút. Sau 30 phút sẽ tắt máy khuấy từ, thu được hỗn hợp, để nguội và đem đi đo với máy UV – Vis.



Hình 2.14. Sơ đồ mô phỏng quá trình thực nghiệm

b) *Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ thể tích lên quá trình hình thành nano bạc*

✚ **Mục đích:** Xem xét màu sắc, hấp thụ ở bước sóng tối đa và chọn tỷ lệ tốt nhất.

✚ **Điều kiện khảo sát**

Bảng 2.2. Điều kiện khảo sát sự ảnh hưởng tỉ lệ tác chất phản ứng lên sự tạo thành AgNPs

STT	Tỷ lệ V dịch chiết : V bạc nitrat	Thời gian (phút)	Nồng độ AgNO ₃ (mM)	Nhiệt độ (°C)	pH
-----	--------------------------------------	---------------------	--------------------------------------	------------------	----

1	1:1	30 phút	2.5 mM	75 °C	8.7
2	1:5				
3	1:10				
4	5:1				
5	10:1				

Thuyết minh: thực hiện tương tự như khảo sát pH. Giữ cố định pH đã khảo sát tối ưu (ở phần 2.3.2.2.1), thay đổi tỷ lệ cần khảo sát, $t = 30$ phút, $C_M = 2.5$ mM, $T = 75$ °C

c) *Khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng lên quá trình hình thành nano bạc*

✚ **Mục đích:** Kiểm tra màu sắc, hấp thu cực đại ở bước sóng tối ưu và chọn thời gian tối ưu.

✚ **Điều kiện khảo sát**

Bảng 2.3. Điều kiện khảo sát ảnh hưởng thời gian phản ứng lên quá trình hình thành AgNPs

STT	Thời gian (phút)	Tỷ lệ $V_{\text{dịch chiết}} : V_{\text{bạc nitrat}}$	Nồng độ AgNO_3 (mM)	Nhiệt độ (°C)	pH
1	15 phút	1:1	2.5 mM	75 °C	8.7
2	30 phút				
3	45 phút				
4	60 phút				
5	90 phút				
6	120 phút				

Thuyết minh: thực hiện tương tự như ở các phần trên. Giữ nguyên pH đã khảo sát tối ưu, tỷ lệ đã khảo sát tối ưu. Thay đổi thời gian để khảo sát, nhiệt độ chọn cố định là 75 °C, nồng độ là 2.5mM.

d) *Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ bạc nitrat trong quá trình tổng hợp nano bạc*

✚ **Mục đích:** Kiểm tra màu sắc, hấp thu cực đại ở bước sóng tối ưu để chọn nồng độ bạc tối ưu.

✚ Điều kiện khảo sát

Bảng 2.4. Điều kiện khảo sát ảnh hưởng của nồng độ AgNO₃ lên sự tạo thành AgNPs

STT	Nồng độ AgNO ₃ (mM)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Tỉ lệ V _{dịch chiết} : bạc nitrat	pH
1	1 mM	80 °C	45 phút	1:1	8.7
2	2.5 mM				
3	4 mM				
4	5.5 mM				

Thuyết minh: thực hiện tương tự các khảo sát trên cần thay đổi nồng độ khảo sát phù hợp.

e) *Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình hình thành nano bạc*

✚ **Mục đích:** khảo sát màu sắc, hấp thụ cực đại ở bước sóng tối ưu để chọn ra nhiệt độ tối ưu.

✚ Điều kiện phản ứng

Bảng 2.5. Điều kiện khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng lên quá trình hình thành AgNPs

STT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Tỉ lệ V _{dịch chiết} : V _{Bạc nitrat}	pH	Nồng độ AgNO ₃ (mM)
1	30 °C	45 phút	1:1	8.7	2.5 mM
2	40 °C				
3	50 °C				
4	60 °C				
5	70 °C				
6	75 °C				
7	80 °C				

Thuyết minh: làm tương tự các thí nghiệm trên lưu ý thay đổi nhiệt độ khảo sát.

f) *Khảo sát đặc tính của hạt nano bạc tổng hợp từ dịch chiết cam*

✚ Phân tích UV-Vis được thực hiện tìm độ hấp thụ cực đại trong khoảng bước sóng 400 – 450 nm. Xác định sự tạo thành nano bạc.

✚ Phổ hồng ngoại FTIR: thực hiện đo phổ hồng ngoại cho mẫu dung dịch AgNPs được tổng hợp ở điều kiện tối ưu.

✚ Ảnh TEM: mẫu ở điều kiện tối ưu được chụp ở hiệu điện thế 80KV trên thiết bị Joel 1010.

✚ Phương pháp đo XRD: Cung cấp thông tin về cấu trúc tinh thể của AgNPs.

✚ Phương pháp đo DLS: Đo kích thước thủy động lực học của AgNP và chỉ số polydispersity.

2.3.3. Tiến độ thực hiện

Tháng 3 + 4	Tìm ra yếu tố ảnh hưởng lên quá trình tạo AgNPs từ dịch chiết vỏ cam
Tháng 5 + 6	Tìm ra yếu tố khảo sát AgNPs từ dịch chiết có khả năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn
Tháng 7	Các phương pháp như UV-Vis, DLS, XRD, FTIR và TEM được sử dụng để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ liên quan đến các phản ứng nhằm mô tả đặc tính cấu trúc của AgNPs.
Tháng 8	Tổng hợp số liệu, kết quả, viết bài, soạn Powerpoint

Chương 3. KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM VÀ BÀN LUẬN

3.1. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH TỔNG HỢP

3.1.1. Khảo sát sự ảnh hưởng pH đến quá trình hình thành AgNPs

Dịch chiết trước phản ứng có màu vàng nhạt, nhưng sau khi thêm dung dịch AgNO_3 vào thì hỗn hợp chuyển màu (Hình 3.1). Ảnh hưởng của pH có tầm quan trọng quyết định trong quá trình tổng hợp và điều này được chứng minh trong các nghiên cứu có liên quan (Prathna *et al.*, 2011). Sau khi cho NaOH vào để tăng pH của hỗn hợp thì màu của hỗn hợp chuyển sang nâu đỏ cho đến nâu đen (Hình 3.2 – 3.4), pH càng cao thì dung dịch sẽ có màu càng đậm qua đây có thể thấy rằng phù hợp với nghiên cứu trước đó (Pryshchepa, Pomastowski and Buszewski, 2020). Do sự chuyển đổi của các nhóm hydroxyl từ chất chuyển hóa thứ cấp như flavonoids có trong dịch chiết vỏ cam tạo ra các đương lượng khử và được sử dụng để chuyển đổi các ion Ag^+ thành nano nguyên tố Ag^0 (Chandra *et al.*, 2020) điều này thường tạo ra sự thay đổi màu sắc trong quá trình tổng hợp AgNPs. Sự xuất hiện mũi cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) trong khoảng 400 - 450 nm mới là dấu hiệu cho biết sự hình thành AgNPs trong dung dịch.



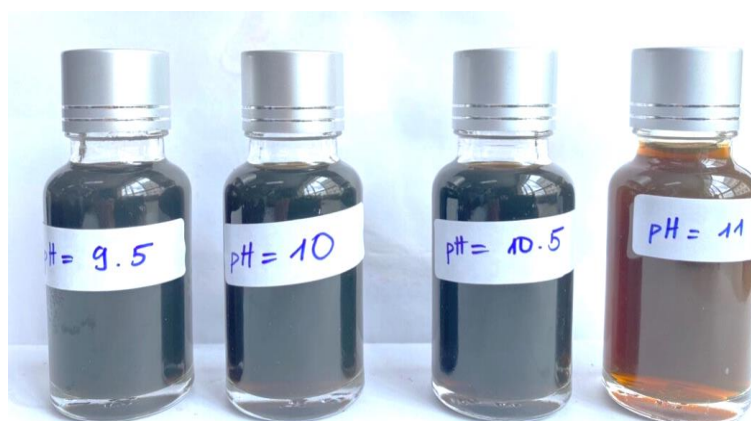
Hình 3.1. AgNPs trước và sau khi cho NaOH 0.1M vào



Hình 3.2. Màu sắc của các dung dịch ở các pH từ khoảng 6 đến 8.5

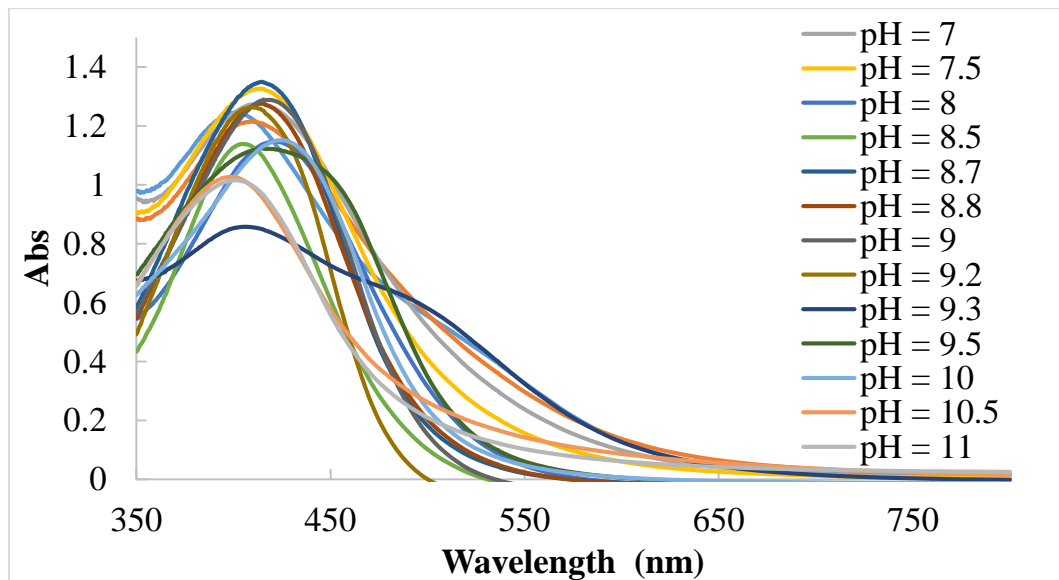


Hình 3.3. Màu sắc của các dung dịch ở các pH từ khoảng 8.7 đến 9.3



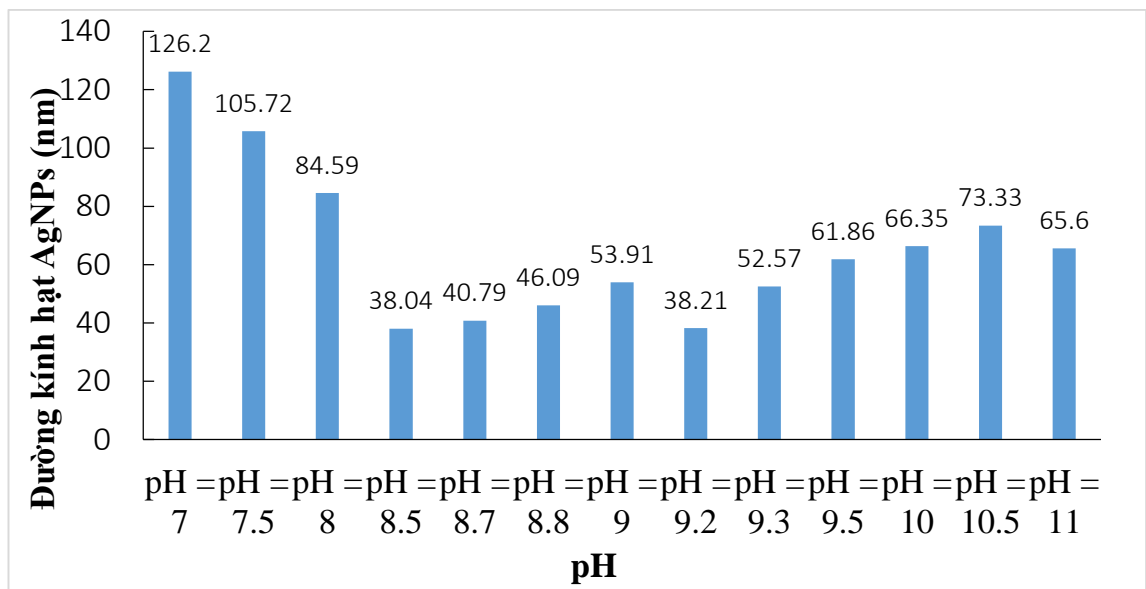
Hình 3.4. Màu sắc của các dung dịch ở các pH từ khoảng 9.5 đến 11

Phổ UV-Vis của các dung dịch AgNPs có độ hấp thụ trong khoảng bước sóng 400 - 450nm và có xu hướng có thể nhận thấy độ hấp thụ cực đại tăng dần từ pH = 7 đến pH = 10 và sau đó giảm dần từ pH = 10.5 đến pH = 11 (Hình 3.5). Trong khoảng pH từ 8.7 đến 9.2 cực đại hấp thụ đạt giá trị ổn định nhất. Khi tăng pH từ thấp đến cao các hợp chất trong dịch chiết vỏ cam như hợp chất flavonoids, phenolic bị ion hóa làm tăng khả năng khử của chúng (Martínez-Castañón *et al.*, 2008). Ngoài ra sự thay đổi pH còn ảnh hưởng khá nhiều đến dạng tồn tại của Ag^+ từ đó làm cho phổ UV – Vis có sự biến động và thay đổi theo xu hướng tăng dần cực đại hấp thụ (Rolim *et al.*, 2019).



Hình 3.5. Phổ đo độ hấp thụ của dung dịch AgNPs tổng hợp từ pH 7-12

Kết quả kích thước hạt từ phương pháp DLS tối thiểu trong khoảng 40 - 55 nm (pH 8.7 - 9.2) và có giá trị (\pm SD) là 45 ± 6.88 %, pH tăng thì kích thước hạt càng lớn. Ở điều kiện pH lớn hơn 9.2 và nhỏ hơn 8 kích thước AgNPs tăng lên quá đáng kể (Hình 3.6). Kết quả này phù hợp với phổ UV-Vis của dung dịch AgNPs tại pH khác nhau và cho thấy rằng quá trình khử diễn ra thuận lợi khi tăng độ pH để tạo thành các AgNPs nhỏ. Nhưng nếu khoảng pH lớn sẽ có hiện tượng kết tụ, làm cho AgNPs trong dung dịch không ổn định và tăng kích thước.



Hình 3.6. Kích thước hạt của AgNPs phản ứng với pH khác nhau

Sau khi tiến hành thí nghiệm trong các khoảng pH của dung dịch AgNPs, kết quả đo cho thấy kích thước hạt nhỏ nhất và độ hấp thụ ít thay đổi ở pH khoảng 8.7 đến 9.2. Vì vậy, pH từ 8.7 đến 9.2 là khoảng pH tối ưu cho các thí nghiệm tiếp theo.

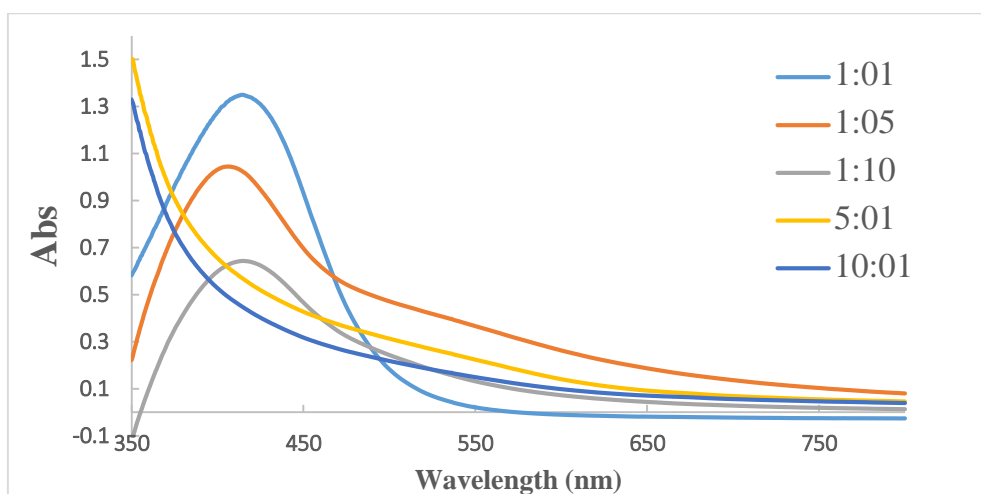
3.1.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ tác chất lên quá trình hình thành AgNPs

Dung dịch AgNPs trở nên nhạt hơn khi thể tích chiết tăng lên. Màu hỗn hợp AgNPs chuyển đổi từ nâu sẫm xuống dần màu nâu cam sáng khi lượng chiết tăng dần. Quan sát bằng mắt thường nhận thấy các mẫu AgNPs trong không bị lắng cặn. Màu sắc của dung dịch tăng dần khi tăng thể tích AgNO_3 ở tỉ lệ 1:1 đến 1:10 và giảm dần ở tỉ lệ 5:1 đến 10:1 (Hình 3.7).



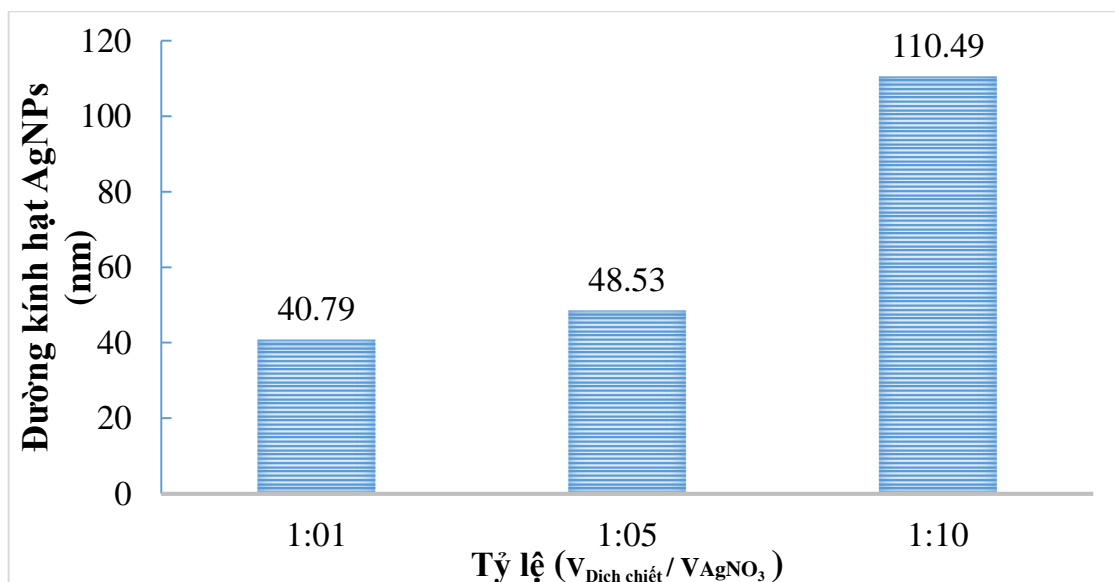
Hình 3.7. Màu sắc của các dung dịch ở các khoảng tỷ lệ tương ứng

Các đỉnh hấp thụ trên phổ UV-Vis có xu hướng giảm dần và chuyển sang bước sóng dài hơn khi thể tích dịch chiết nhiều so với lượng dung dịch AgNO_3 . Còn khi tăng dần thể tích AgNO_3 so với dịch chiết vô cam sành thì cực đại hấp thụ trong phổ giảm dần có thể thấy rằng nếu khảo sát thể tích dịch chiết lớn hơn thì cực đại hấp thụ sẽ giảm. Nếu thể tích của dịch chiết nhiều hơn áp đảo thể tích AgNO_3 (tỉ lệ 5:1 và 10:1) thì các hạt AgNPs sẽ không hình thành trong dung dịch (Hình 3.8).



Hình 3.8. Biểu đồ thể hiện sự liên quan giữa tỷ lệ tác chất tham gia phản ứng với bước sóng hấp thụ cực đại

Kết quả đo kích thước hạt bằng phương pháp DLS cho thấy nếu thể tích của dung dịch chiết vỏ cam quá cao thì các hạt AgNPs sẽ không hình thành trong dung dịch điều đó thể hiện qua việc không thể đo được kích thước hạt (Hình 3.9). Khi tăng dần thể tích của AgNO₃ thì các hạt AgNPs có xu hướng hình thành nhiều hơn nhưng vẫn không ổn định. Ở tỷ lệ có thể tích dịch chiết bằng với thể tích AgNO₃ thì kích thước hạt đã ổn định. Giá trị (\pm SD) là 40.68 ± 1.812 %



Hình 3.9. Kết quả đo DLS của mẫu AgNPs ở khảo sát tỷ lệ

Kết quả thực nghiệm khảo sát với từng mức tỉ lệ tác chất khác nhau thì với tỉ lệ 1:1 cho độ hấp thụ cao nhất ($A_{\text{max}} = 1,2167$) tại bước sóng 415 nm chứng tỏ tỉ lệ 1:1 là tối ưu để tổng hợp AgNPs. Chính vì thế sẽ sử dụng tỉ lệ 1:1 cho những khảo sát tiếp theo.

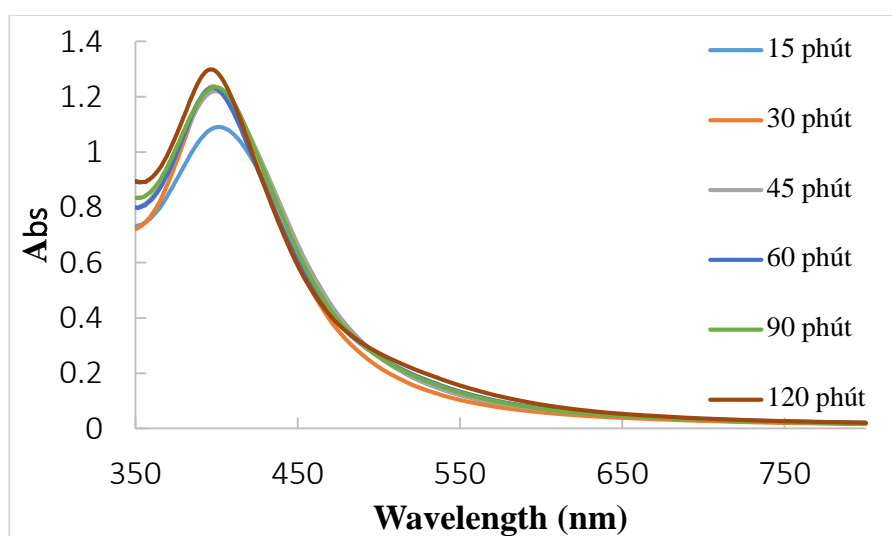
3.1.3. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng lên quá trình hình thành AgNPs

Dung dịch AgNPs có màu chuyển sang đậm dần khi thời gian khuấy tăng lên (Hình 3.10). Dung dịch ban đầu khuấy sẽ chuyển từ màu vàng cam nhạt sau đó đậm dần đến màu nâu. Sau 120 phút khuấy, màu sắc của dung dịch AgNPs không thay đổi nhiều. Khi thời gian khuấy càng tăng quá trình khử để tạo thành các AgNPs trong dung dịch sẽ càng cao, nhưng khi thời gian khuấy quá lâu thì quá trình tạo thành AgNPs sẽ không còn nữa nên làm cho màu sắc của dung dịch sẽ không thay đổi (Ibrahim, 2015).



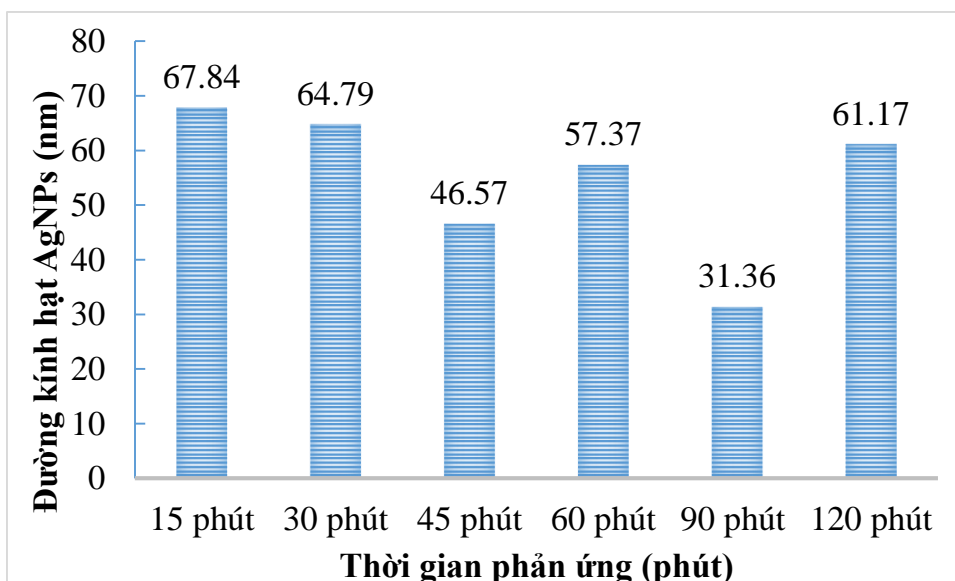
Hình 3.10. Mẫu AgNPs với khảo sát thời gian phản ứng khác nhau

Phổ đo độ hấp thụ của các hỗn hợp (Hình 3.11) có cực đại hấp thụ từ 400 – 450 nm và độ hấp thụ cực đại có xu hướng tăng dần và đến khi 120 phút thì đạt ổn định. Hiện tượng này có thể được giải thích là do với thời gian phản ứng dài hơn, các hợp chất trong dịch chiết càng làm cạn kiệt các ion Ag^+ , dẫn đến mức tối đa mà vẫn không lo làm tăng kích thước hạt của AgNPs. Tuy nhiên nếu kéo dài thời gian khuấy thì sự kết tụ sẽ xảy ra và mũi hấp thụ sẽ chuyển sang bước sóng dài hơn (Chandra *et al.*, 2020). Nếu thời gian phản ứng thay đổi thì cường độ hấp thụ cực đại thay đổi. Tuy nhiên, độ hấp thụ cực đại của dung dịch không thay đổi đáng kể sau 45 phút phản ứng ($A_{max} = 1,2176$). Do đó, chọn thời gian phản ứng là 45 phút là tối ưu, vì đây là thời gian vừa đủ để phản ứng hoàn thành.



Hình 3.11. Đồ thị biểu thị liên quan giữa thời gian phản ứng với bước sóng hấp thụ cực đại

Kết quả đo DLS cho thấy khi thời gian khuấy quá ngắn hay quá dài (Hình 3.12), AgNPs hình thành có kích thước lớn hoặc không ổn định. Với giá trị (\pm SD) là $54.85 \pm 13.7 \%$



Hình 3.12. Kết quả đo DLS của khảo sát thời gian của mẫu AgNPs

3.1.4. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình hình thành AgNPs

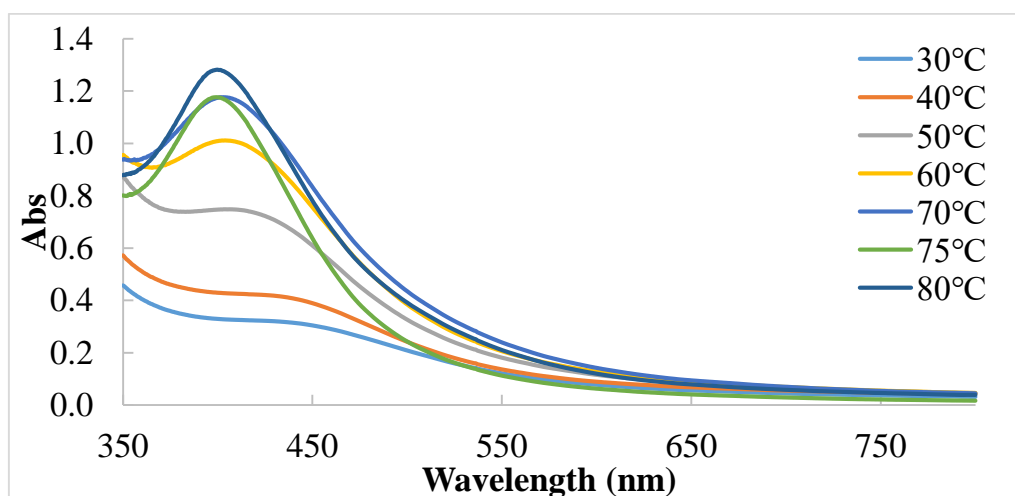
Khi khảo sát nồng độ AgNO_3 , tốc độ, thời gian phản ứng và pH trong cùng điều kiện ở các nhiệt độ phản ứng khác nhau. Nhìn bề ngoài, dung dịch AgNPs có màu trong và không có kết tủa. Nói chung, màu của dung dịch đậm hơn khi nhiệt độ cao hơn. Mặc dù vậy, khi quan sát từ nhiệt độ phòng đến 50°C , màu sắc không thay đổi đáng kể (Hình 3.13).



Hình 3.13. Các mẫu dung dịch AgNPs với nhiệt độ phản ứng khác nhau

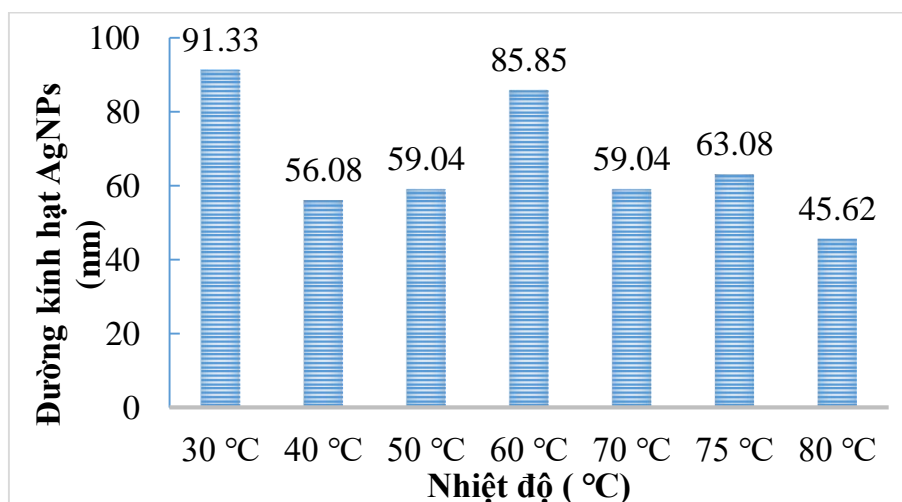
Kết quả đo độ hấp thụ cho thấy hầu hết các mũi hấp thụ đều nằm trong khoảng 400 đến 450 nm, chứng tỏ đây là dung dịch AgNPs. Từ các phổ UV-Vis, có thể nhận thấy cường độ hấp thụ của mẫu thu được tăng dần khi tăng nhiệt độ phản ứng, tương ứng với

với nồng độ hạt nano Ag tăng lên trong dung dịch. Tuy nhiên ở nhiệt độ từ 30 đến 50 °C không thấy xuất hiện mũi SPR của AgNPs (Hình 3.14).



Hình 3.14. Đồ thị biểu thị sự liên quan giữa nhiệt độ phản ứng với bước sóng hấp thụ cực đại

Kết quả đo kích thước hạt sử dụng phương pháp DLS biến động nhiều hơn khi thay đổi nhiệt độ khuấy. Nếu nhiệt độ khuấy càng cao thì các hạt AgNPs sẽ có kích thước giảm. Khi giảm dần nhiệt độ khuấy thì các hạt AgNPs có kích thước to hơn (Hình 3.15).



Hình 3.15. Kết quả đo DLS của khảo sát nhiệt độ của mẫu AgNPs

Nhiệt độ trong khoảng 75- 80 °C cho tín hiệu SPR cao nhất và ổn định, bề rộng mũi SPR hẹp nên là độ phân tán kích thước hạn hẹp. Vì vậy, nhiệt độ 80 °C được chọn là điều kiện khảo sát ở điều kiện tiếp theo.

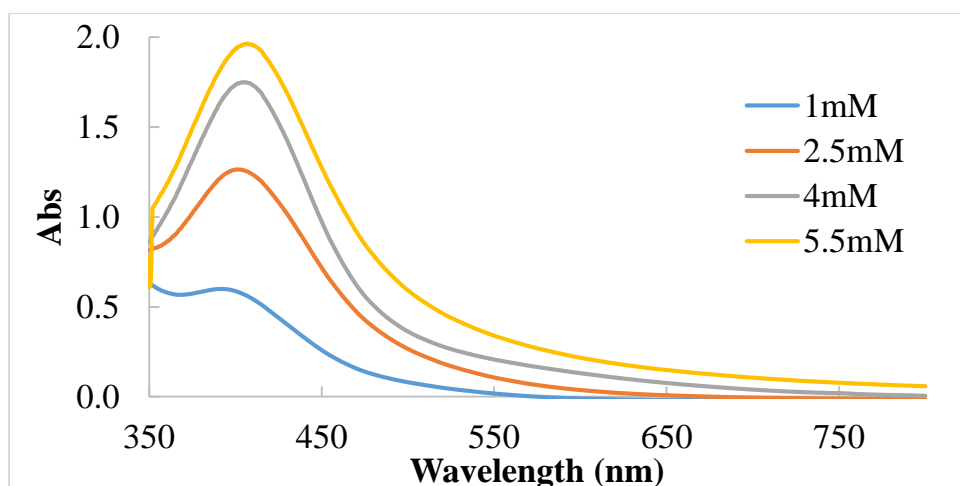
3.1.5. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ AgNO_3 trong quá trình tổng hợp AgNPs.

Dung dịch AgNPs có màu chuyển sang nâu đậm dần đối với nồng độ AgNO_3 càng cao (Hình 3.16). Màu sắc của dung dịch AgNPs với nồng độ AgNO_3 1mM có màu cam ánh nâu trong suốt vẫn nhìn xuyên qua được dung dịch. Khi nồng độ của AgNO_3 càng cao thì màu của dung dịch càng đậm hơn màu chuyển dần sang nâu đen không còn nhìn xuyên qua được dung dịch.



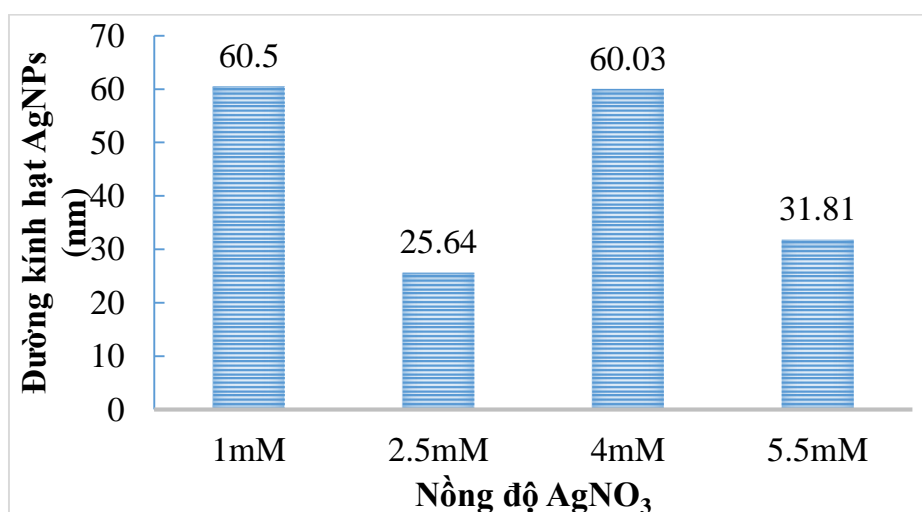
Hình 3.16. Các mẫu dung dịch AgNPs với nồng độ phản ứng khác nhau

Khi tăng dần nồng độ AgNO_3 lên thì cực đại hấp thụ của các dung dịch AgNPs trong phổ UV – Vis có xu hướng dịch chuyển bước sóng dài, không có hiện tượng giảm dần cực đại hấp thụ. Bước sóng cực đại của đồ thị dung dịch AgNPs trong khoảng 350 - 410 nm (Hình 3.17). Nồng độ AgNO_3 càng cao tạo điều kiện thuận lợi hơn cho quá trình tổng hợp AgNPs. Điểm đáng chú ý là bề rộng của các dải hấp thụ có xu hướng tăng dần theo nồng độ AgNO_3 có thể là do sự phân bố kích thước càng lớn khi nồng độ AgNO_3 tăng dần trong quá trình tổng hợp. Điều này là do tốc độ khử của AgNO_3 khi tăng nồng độ lên tuy nhiên sự kết tụ của AgNPs có thể xảy ra và được thể hiện qua các báo nghiên cứu trước đó (Bindhu and Umadevi, 2013; Rajkumar *et al.*, 2019).



Hình 3.17. Đồ thị biểu thị liên quan giữa nồng độ bạc nitrat với bước sóng hấp thụ cực đại

Ở nồng độ khác nhau cho thấy kết quả đo DLS cho thấy kích thước hạt AgNPs trong các dung dịch huyền phù AgNPs có kích thước trong khoảng 25 – 65 nm (Hình 3.18) và điều này cho thấy nồng độ AgNO₃ ban đầu không ảnh hưởng đến kích thước hạt. Vì nồng độ của Ag⁺ không làm ảnh hưởng đến quá trình khử Ag⁺ thành Ag⁰ nên kích thước hạt sẽ không bị biến đổi quá nhiều.



Hình 3.18. Kết quả đo DLS của khảo sát nồng độ AgNO₃ của mẫu AgNPs

3.2. ĐÁNH GIÁ ĐẶC TÍNH CẤU TRÚC CỦA AgNPs

3.2.1. Điều kiện phản ứng

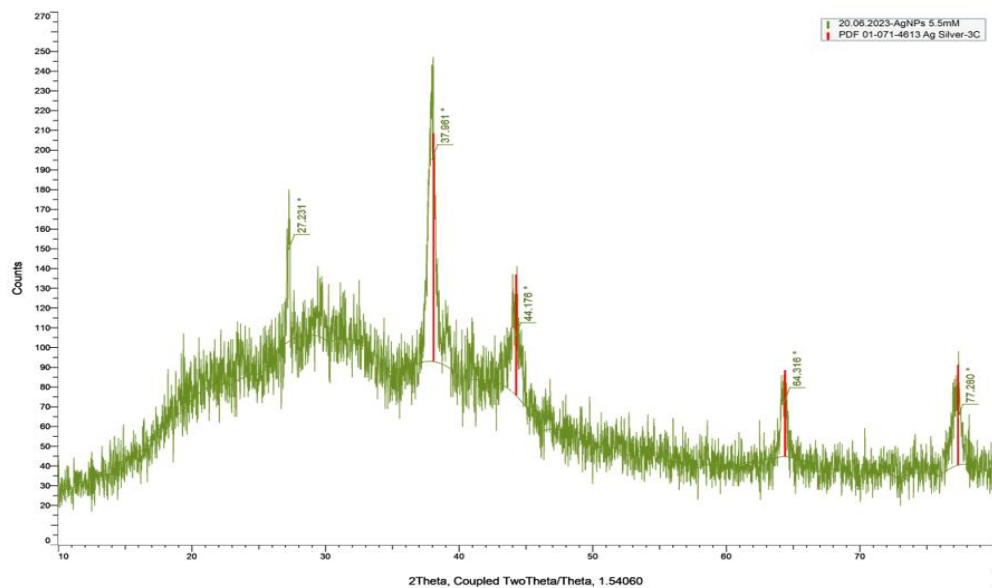
Các điều kiện như tỷ lệ dịch chiết so với AgNO₃, thời gian phản ứng, nhiệt độ phản ứng và pH tối ưu được chọn được trình bày ở Bảng 3.1. Từ đó tìm ra được các yếu tố tối ưu AgNPs và tìm ra tính chất AgNPs được tạo thành.

Bảng 3.1. Tổng kết các yếu tố khảo sát tối ưu

STT	pH	Tỷ lệ V dịch chiết:V bạc nitrat	Thời gian	Nhiệt độ
1	8.7 – 9.2	1:1	45 phút	80°C

3.2.2. Đánh giá một số đặc tính cấu trúc của AgNPs như: XRD, FTIR, TEM

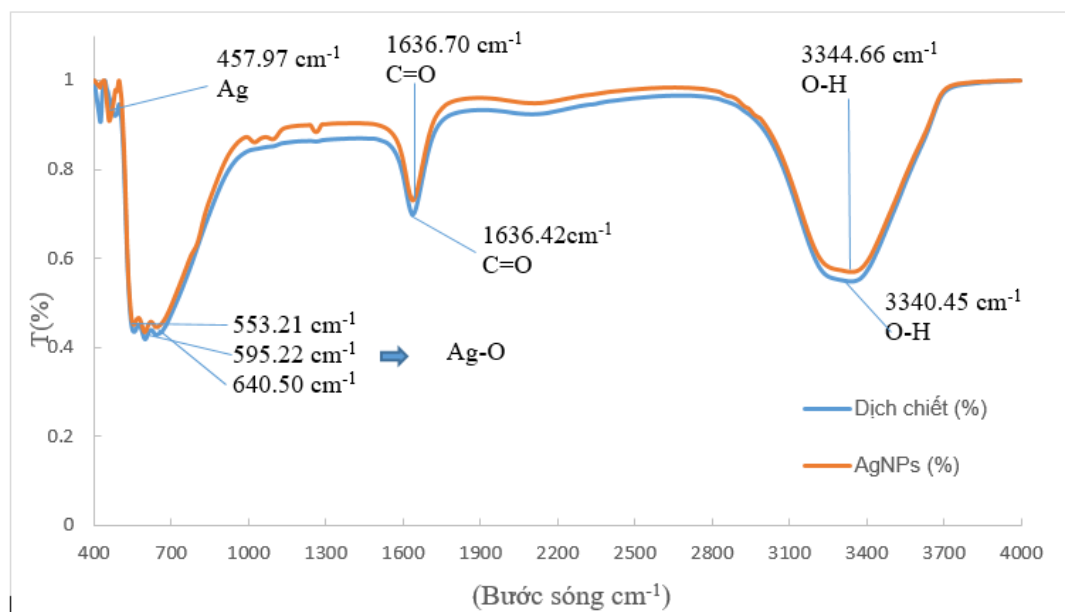
3.2.2.1. Kết quả XRD



Hình 3.19. Phổ XRD của AgNPs được tổng hợp từ dịch chiết vỏ cam

Phổ XRD đại diện cho các hạt AgNPs hình thành sau quá trình tổng hợp từ dịch chiết vỏ cam sành và AgNO_3 hiển thị 4 mũi nhiễu xạ (Hình 3.19) đặc trưng cho kim loại Ag trong khoảng giá trị góc nhiễu xạ từ $35 - 80^\circ$ tương ứng tại các vị trí góc nhiễu xạ 2θ là: 37.961° , 44.176° , 64.381° , 77.280° tương ứng với các mặt phẳng có chỉ số Miller (111), (200), (220), (311). Những mặt phẳng này có cấu trúc lập phương tâm diện (FCC) của AgNPs (JDPDS no. 00 – 004 - 0783) cho thấy xuất hiện các mũi tương ứng với các hạt AgNPs. Các mũi nhiễu xạ của AgNPs phù hợp với đường chuẩn ở hình 3.19. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đây (Sougandhi and Ramanaiah, 2020). Bên cạnh đó vì hàm lượng AgNPs không nhiều nên cường độ tín hiệu XRD không cao dẫn đến nhiễu nền. Theo các tài liệu nghiên cứu đã khám phá thì phổ XRD nhiễu nền cũng khá cao (Trieu *et al.*, 2023).

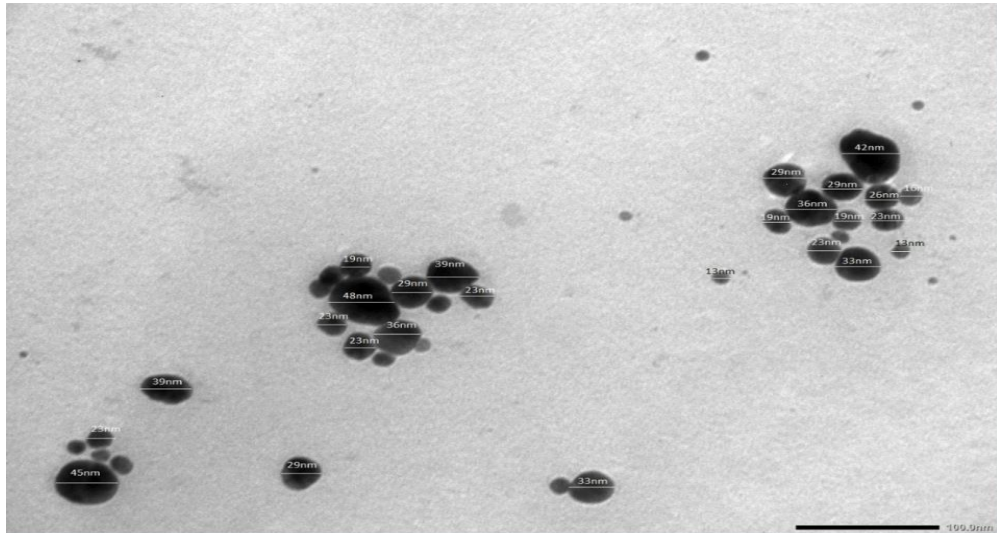
3.2.2.2. Kết quả FTIR



Hình 3.20. Phổ FTIR của AgNPs được tổng hợp từ dịch chiết vỏ cam

Quang phổ hồng ngoại (FTIR) được sử dụng để xác định cấu trúc của các nhóm chức của một số hợp chất liên quan đến sự hình thành hạt AgNPs. Các đỉnh hấp thụ của dịch chiết và AgNPs được quan sát thấy ở 3344.66 cm^{-1} , 1636.7 cm^{-1} , 640.5 cm^{-1} , 595.2 cm^{-1} , 553.21 cm^{-1} , 547.97 cm^{-1} (Hình 3.20) chỉ ra sự hiện diện của các nhóm chức O – H, C = O, Ag - O có chức năng khử các ion Ag^+ thành Ag^0 . Phổ FTIR của AgNPs cho thấy có đỉnh hấp thụ ở 3344.66 cm^{-1} đặc trưng cho dao động kéo dẫn của nhóm O – H qua đó chứng tỏ sự có mặt của các nhóm chức phenol và carboxylic acid trong dịch chiết thực vật cũng như sự liên kết của các hợp chất này với các AgNPs hình thành. Ngoài ra các đỉnh hấp thụ 1636.7 cm^{-1} đặc trưng cho dao động hóa trị của C = O. Đỉnh hấp thụ ở 640.5 cm^{-1} , 595.22 cm^{-1} , 553.21 cm^{-1} , 547.97 cm^{-1} tương ứng với dao động của liên kết Ag – O. Mặt khác các đỉnh hấp thụ nhỏ hơn 480 cm^{-1} tương ứng đặc trưng cho kim loại Ag. AgNPs được bao phủ bởi các thành phần hữu cơ có trong dịch chiết (Pawar et al., 2016)

3.2.2.3. Kết quả TEM



Hình 3. 21. Hình chụp TEM các hạt AgNPs tổng hợp từ dịch chiết vỏ cam sành (100nm)

Ảnh TEM cho thấy hầu hết AgNPs hình thành có dạng hình cầu (Hình 3.21). Dữ liệu cũng cho thấy sự khác biệt về kích thước hạt và phân bố kích thước. Kích thước trung bình ước tính là 28 ± 9.59 nm và kích thước hạt được tìm thấy là từ 10 đến 50 nm. Kết quả chụp TEM tương đồng với kết quả đo DLS (DLS = 26 nm) (González-Pedroza *et al.*, 2023).

3.3. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN

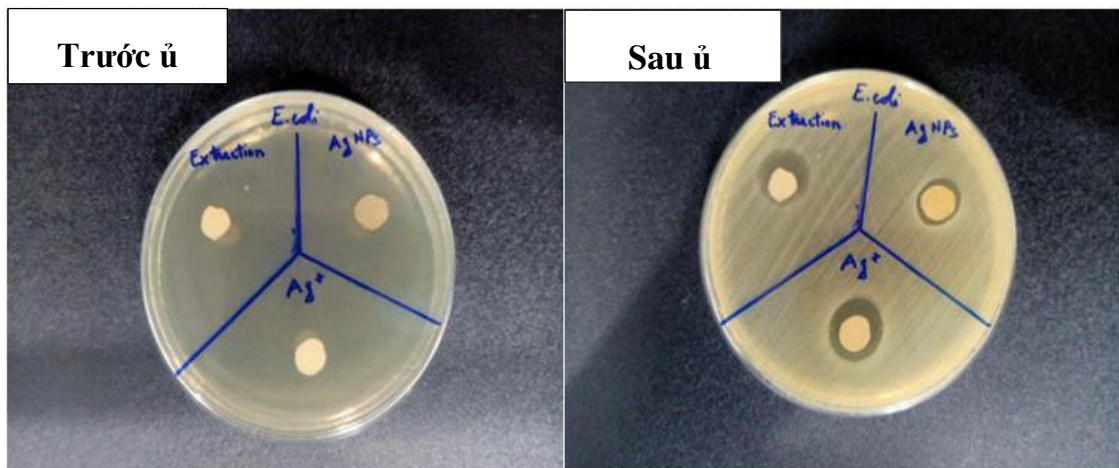
Người ta phát hiện rằng các chất hóa học có trong cam có hoạt chất kháng khuẩn do khả năng của chất hesperidin có trong cam (Rolim *et al.*, 2019).

Dung dịch AgNPs được tổng hợp từ nồng độ 5.5mM, mẫu dịch chiết vỏ cam sành và mẫu Ag^+ 5.5 mM. Đây là ba nền mẫu test kháng khuẩn khác nhau thì khả năng kháng khuẩn cũng sẽ khác nhau.

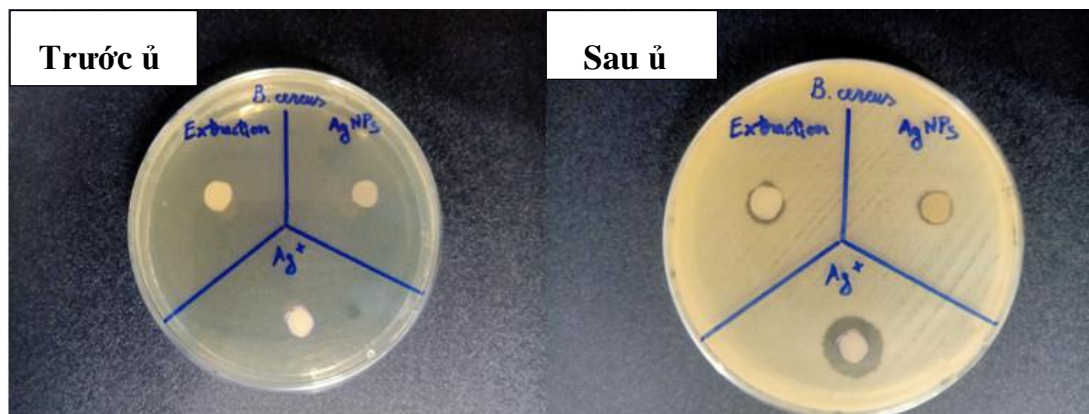
Đối với mẫu dịch chiết vỏ cam sành thì khả năng kháng vi khuẩn đều tốt của cả ba mẫu.

Mẫu AgNPs được tổng hợp từ dịch chiết vỏ cam vẫn có khả năng kháng khuẩn nhưng ít không rõ tín hiệu bằng mẫu dịch chiết vỏ cam sành và Ag^+ .

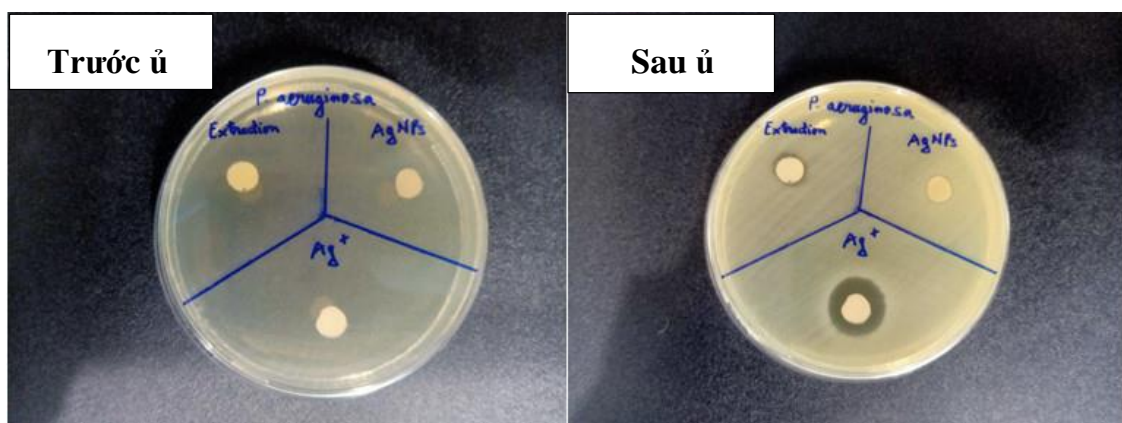
Đối với mẫu dịch chiết vỏ cam sành khả năng kháng vi khuẩn *E.Coli* là tốt nhất có vòng tròn kháng khuẩn rõ ràng và to hơn. Mẫu Ag^+ 5.5mM khả năng kháng khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* tốt vì đường kính tổng của vòng tròn kháng khuẩn to hơn, tín hiệu rõ hơn so với hai vi khuẩn còn lại. Còn mẫu test kháng khuẩn AgNPs không kháng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginos* (Kaviya *et al.*, 2011).



Hình 3.22. Đánh giá khả năng kháng khuẩn trên đĩa petri với vi khuẩn *E. Coli* (*Escherichia coli*) tại các mẫu test kháng khuẩn gồm: Extraction vỏ cam sành, AgNPs và Ag^+ 5.5mM



Hình 3.23. Đánh giá khả năng kháng khuẩn trên đĩa petri với vi khuẩn *Bacillus cereus* tại các mẫu test kháng khuẩn gồm: Extraction vỏ cam sành, AgNPs và Ag^+ 5.5mM



Hình 3.24. Đánh giá khả năng kháng khuẩn trên đĩa petri với vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* tại các mẫu test kháng khuẩn gồm: Extraction vỏ cam sành, AgNPs và Ag^+ 5.5mM

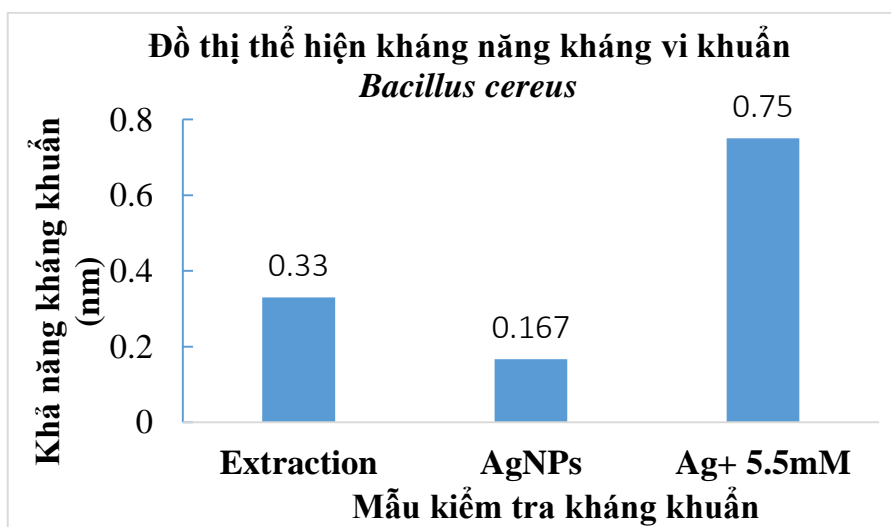
Sử dụng công thức để tính kháng khuẩn:

$$nw_{halo} = \frac{\frac{d_{iz} - d}{2}}{d}$$

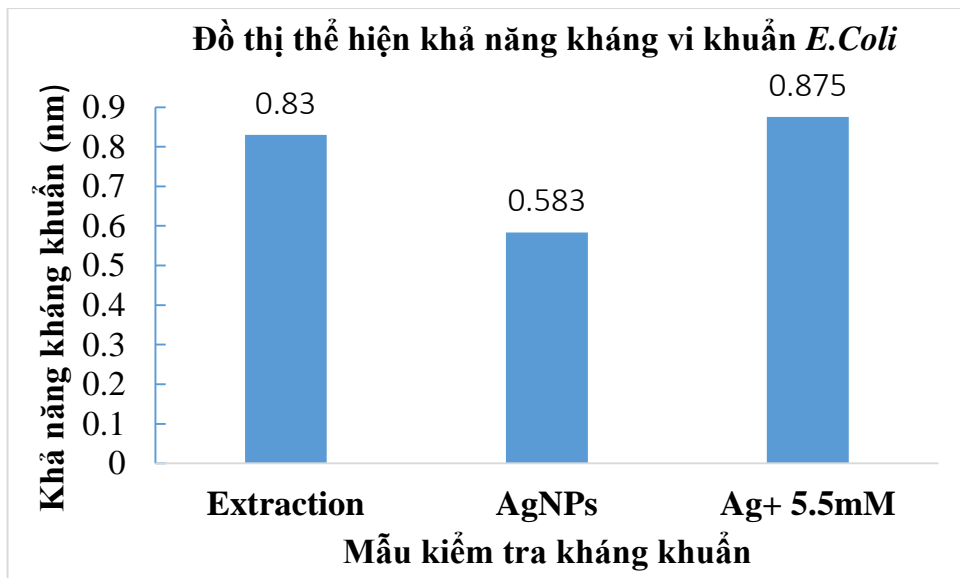
- d_{iz} là: đường kính tổng của vòng tròn kháng khuẩn(mm)
- d : đường kính giấy lọc (mm)

Bảng 3.2. Khả năng kháng khuẩn của các mẫu Exxtraction vỏ cam sành, AgNPs, Ag⁺ 5.5mM trên 3 loại vi khuẩn

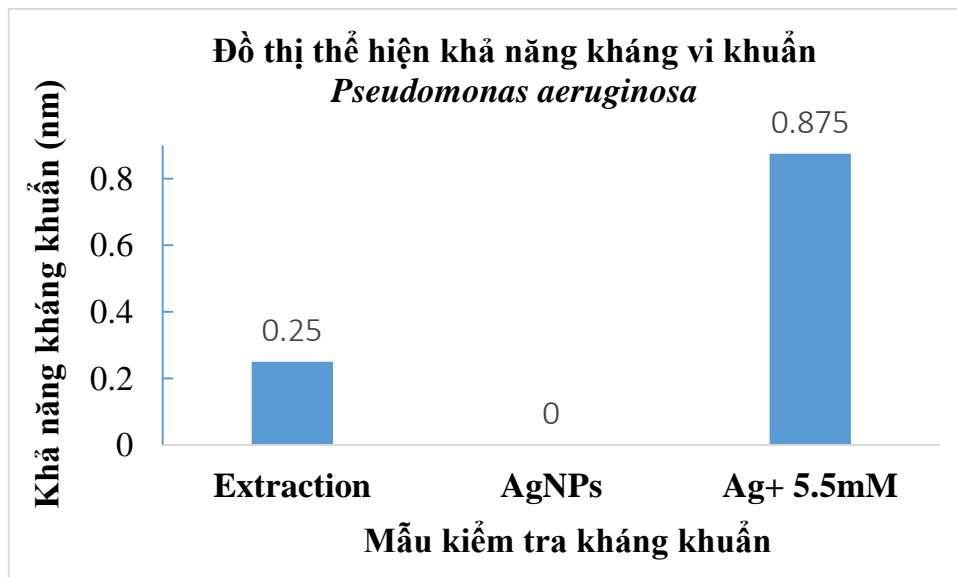
Vi khuẩn	Mẫu test kháng khuẩn	Khả năng kháng khuẩn
<i>Bacillus cereus</i> (Gram +)	Extraction vỏ cam sành	0,33
	AgNPs	0,167
	Ag ⁺ 5.5mM	0,75
<i>E.Coli</i> (kháng khuẩn) (Gram -)	Extraction vỏ cam sành	0,83
	AgNPs	0,583
	Ag ⁺ 5.5 mM	0,75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram -)	Extraction vỏ cam sành	0,25
	AgNPs	0
	Ag ⁺ 5.5mM	0,875



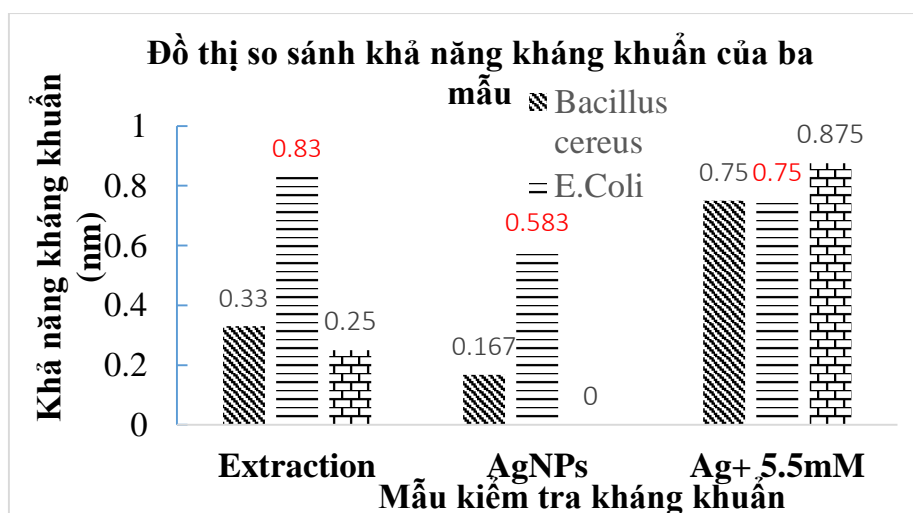
Hình 3.25. Đồ thị hiển thị khả năng kháng khuẩn của Extraction vỏ cam sành, AgNPs, Ag⁺ 5.5.mM trên vi khuẩn *Bacillus cereus*



Hình 3.26. Đồ thị hiển thị khả năng kháng khuẩn của Extraction vỏ cam sành, AgNPs, Ag⁺ 5.5 mM trên vi khuẩn *E.Coli*



Hình 3.27. Đồ thị hiển thị khả năng kháng khuẩn của Extraction, AgNPs, Ag⁺ 5.5 mM trên vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*

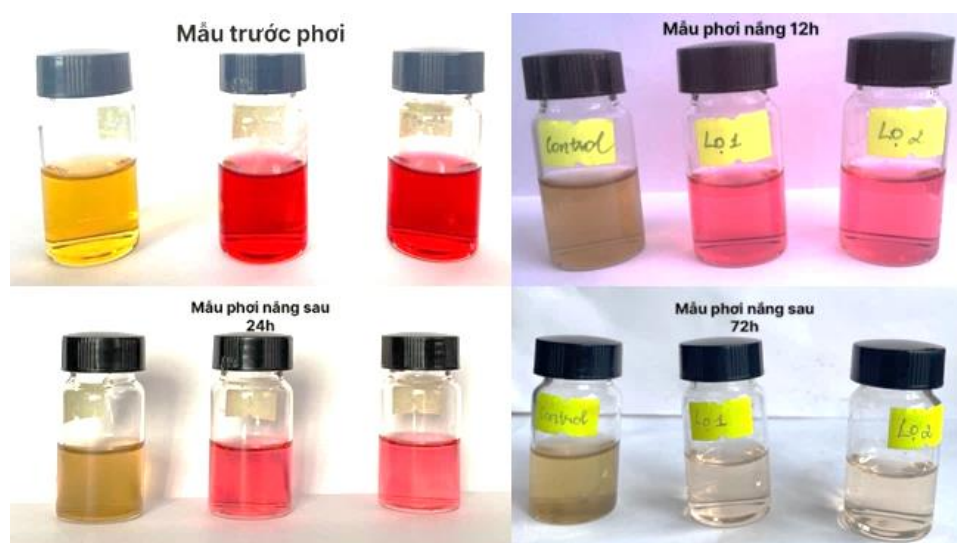


Hình 3.28. Đồ thị so sánh khả năng kháng khuẩn của các mẫu test trên 3 loại vi khuẩn.

3.4. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG XÚC TÁC QUANG HÓA

3.4.1. Quan sát trực quan

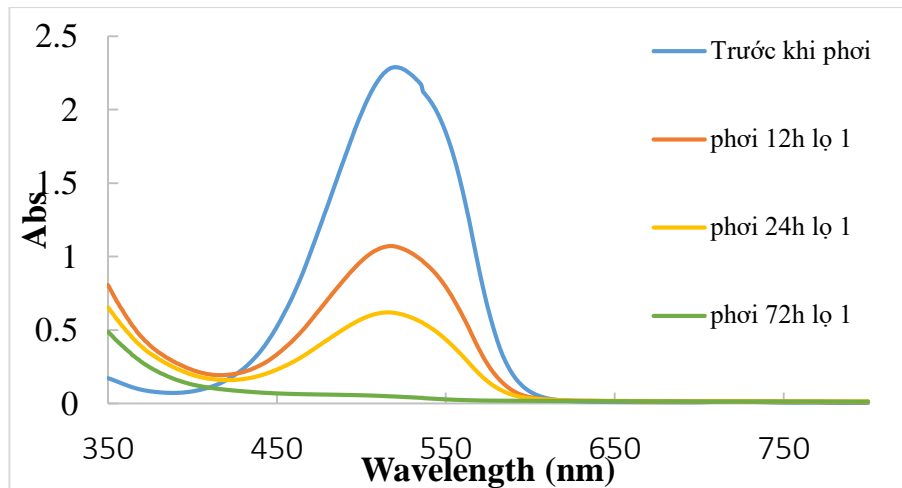
Phương pháp phân huỷ xúc tác quang hoá methyl đỏ được tiến hành bằng cách phơi nắng dung dịch AgNPs vô cam với methyl đỏ dưới ánh sáng mặt trời trong 12h, 24h, 72h. Sự giảm màu của thuốc nhuộm ban đầu được xác định bằng sự thay đổi màu sắc. Màu ban đầu của thuốc nhuộm là màu đỏ, nhưng nó chuyển sang màu hồng khi ủ với hạt nano bạc và dưới ánh sáng mặt trời trong vài giờ. Sau đó, màu hồng chuyển sang màu hồng nhạt. Cuối cùng, quá trình phân huỷ hoàn tất sau 72 giờ (Hình 3.29), được đánh giá bằng sự thay đổi màu của hỗn hợp phản ứng thành không màu..(Panyala, Peña-Méndez and Havel, 2008)



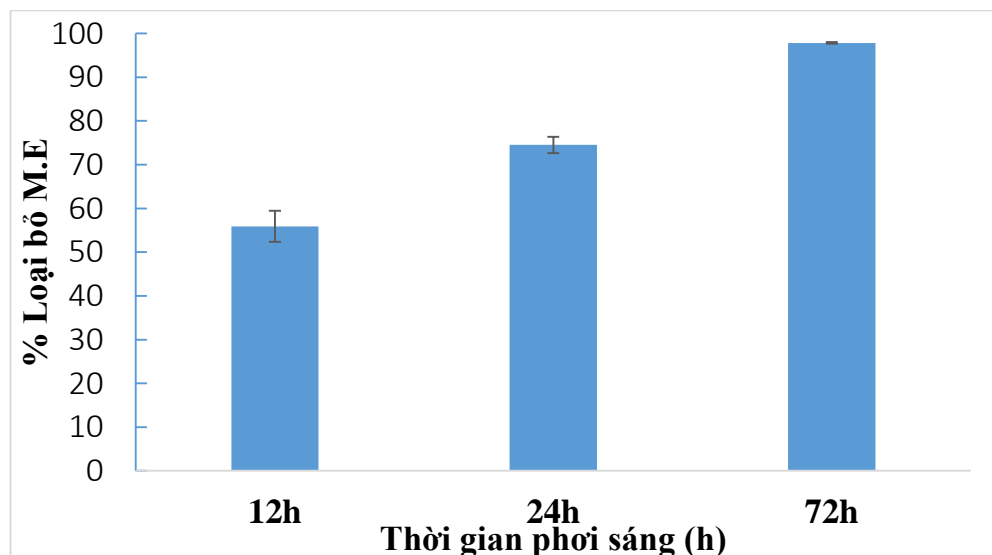
Hình 3.29. Dung dịch MR (nồng độ 10 mg/L) khi tác dụng với AgNPs qua từng thời gian phơi nắng khác nhau

Dung dịch MR (nồng độ 10mg/L) dưới sự có mặt của AgNPs và phơi sáng ở từng thời gian khác nhau trên hình 3.30. Cảm quan có thể nhận thấy màu dung dịch nhạt dần từ màu hồng đậm đến hồng nhạt và trong suốt theo thời gian rõ nhất là từ 24h đến 72h chứng tỏ thời gian phơi sáng ảnh hưởng đến khả năng loại bỏ MR. Do tiếp xúc với ánh sáng mặt trời nên các photon tương tác với AgNPs và các electron bị kích thích từ dải hóa trị lên dải dẫn, tạo ra các cặp electron lỗ trống. Các electron quang điện bị oxy trong khí quyển bắt giữ để tạo thành các gốc anion oxy, trong khi các cặp electron lỗ trống đó tạo ra các gốc hydroxyl. Các gốc tự do có thể phân hủy MR thành CO₂, H₂O, các phân tử hoặc ion khác (Jose *et al.*, 2018).

3.4.2. Kết quả đo phổ hấp thu UV – Vis và %PD của MR khi tác dụng với AgNPs ở từng thời gian khác nhau



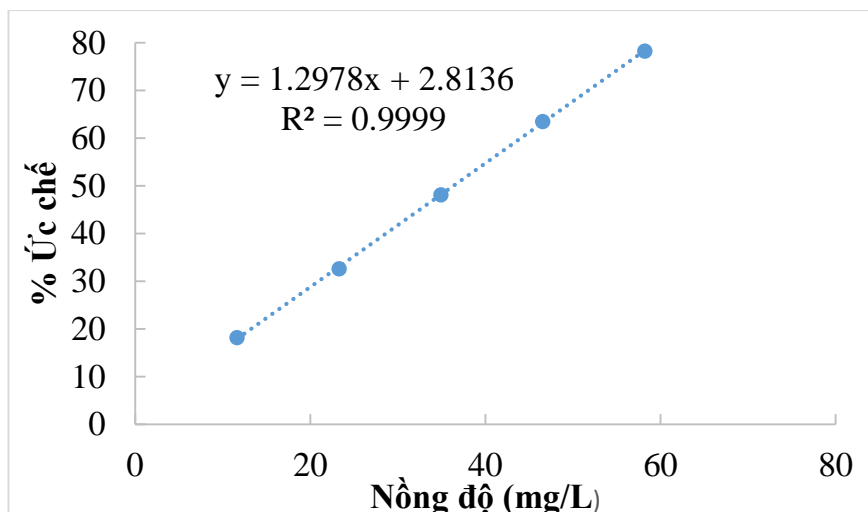
Hình 3.30. Phổ UV – Vis của MR khi tác dụng với AgNPs qua từng thời gian khác nhau



Hình 3.31. Đồ thị %PD và SD của khảo sát thời gian phơi sáng

Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng đến hiệu suất phân hủy quang của MR được nghiên cứu bằng sử dụng 1 mL AgNPs và 10 ml MR nồng độ 10mg/L và đo hấp thụ ở các khoảng thời gian khác nhau ở pH = 2 dưới bức xạ ánh sáng. Kết quả đo độ hấp thụ cho thấy độ hấp thụ ở bước sóng 512 nm (Hình 3.30) nhỏ dần khi tăng thời gian phơi sáng. %PD được tính toán cao nhất được tính trong bảng là 97.83 ± 0.17 (\pm SD) (Hình 3.31) sau 72 giờ (Vanaja *et al.*, 2014).

3.5. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA VỚI THUỐC THỬ DPPH



Hình 3.32. Đường chuẩn của DPPH dựa trên chất chuẩn là Vitamin C

Đường chuẩn có $R^2 = 0.9999$ (Hình 3.32) và độ hấp thụ của mẫu trắng theo lý thuyết là 1.1807.

Khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH được biểu diễn bằng: mgVCE/L

Các mẫu tiến hành đánh giá kháng oxy hóa như sau:

- Dịch chiết vỏ cam sành
- AgNPs không ly tâm
- AgNPs ly tâm
- AgNO_3 5.5mM

Sau khi tiến hành thực nghiệm kháng oxy hóa của các mẫu cần kiểm tra thì dịch chiết vỏ cam sành có khả năng kháng oxy hóa tốt nhất cụ thể là mgVCE/L là 435 ± 93.54 (\pm SD) sau đó là AgNPs không ly tâm có mgVCE/L là 170 ± 3.24 và AgNPs có ly tâm có khả năng kháng oxy hóa kém hơn mẫu AgNPs không ly tâm cụ thể chỉ số mgVCE/L là 137 ± 20.65 . Cuối cùng mẫu AgNO_3 5.5 mM không có khả năng kháng oxy hóa. Tìm hiểu về đặc tính chống oxy hóa của chiết xuất vỏ cam, vì vỏ cam có chứa flavonoid là chất giúp ngăn ngừa ung thư. Vỏ cam chứa nhiều vitamin C và hesperidin. Hesperidin

có khả năng kháng oxy hóa và kháng sưng viêm và chủ yếu có trong các loại trái có múi (Phuong Uyên/HELLO BACSI, 2022).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

Thực nghiệm này tập trung tổng hợp các dung dịch huyền phù AgNPs từ dịch chiết vỏ cam sành ổn định về mặt thời gian, trong đó kích thước hạt không thay đổi nhiều theo thời gian và hiện tượng keo tụ được giảm thiểu. Sự hình thành của AgNPs, được quan sát bằng sự thay đổi màu từ vàng nhạt sang nâu, được ghi lại bằng quang phổ đo độ hấp thụ với cực đại hấp thụ trong khoảng 400 – 450nm, cho thấy AgNPs tạo ra các hạt nano trong dung dịch.. Kích thước hạt của AgNPs được đo và kiểm định bằng máy đo DLS, phổ FTIR, phổ XRD. Kết quả chụp TEM của mẫu AgNPs thu được có dạng hình cầu với kích thước hạt trung bình là 28 ± 9.59 nm các hạt AgNPs được phân bố đều trong dung dịch và có màu trong suốt. Sự kháng vi khuẩn của AgNPs được thể hiện bằng việc chống lại vi khuẩn Gram âm (*E.Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) và Gram dương (*Bacillus cereus*). Khả năng xúc tác quang hóa AgNPs chiết xuất vỏ cam có khả năng loại bỏ thuốc nhuộm hiệu quả với khả năng loại bỏ methyl đỏ lên đến 97.83 %. Bên cạnh đó, AgNPs cũng có khả năng kháng oxy hóa rõ rệt so với $AgNO_3$.

Các yếu tố tối ưu để tổng hợp AgNPs từ dịch chiết vỏ cam là:

- pH môi trường phản ứng: 8.7 – 9.2
- Thời gian tạo thành AgNPs: 30 – 45 phút
- Tỷ lệ thể tích tác chất: $V_{\text{dịch chiết}} : V_{\text{bạc nitrat}}$ là 1:1
- Nhiệt độ: 80°C

2. KIẾN NGHỊ

Hiện nay, AgNPs rất phổ biến trong cuộc sống và phát triển trong tất cả các ngành công, nông nghiệp và thậm chí cả y tế, mỹ phẩm và các lĩnh vực khác. Do đặc tính kháng khuẩn của AgNPs, các nhà nghiên cứu hiện đang dần chuyển sang tổng hợp xanh từ chiết xuất thực vật để bảo vệ môi trường đồng thời tận dụng các nguồn tài nguyên thiên nhiên hiện có và thân thiện với môi trường. Ngoài ra, nước ta là nước nhiều cây cam rất, cây cam phân bố khắp ở các tỉnh Miền Tây nên có thể biến đổi từ quy mô phòng thí nghiệm sang quy mô công nghiệp. Mọi người nên phát triển và ứng dụng mạnh mẽ hơn vào các lĩnh vực trong đời sống.

Nếu có thể chúng ta nên đưa hệ dung dịch huyền phù nano bạc sang hệ hydro – gel nano bạc mà từ đó ứng dụng vào việc chữa các vết thương hở vì AgNPs có khả năng kháng khuẩn và kháng oxy hoá sẽ làm cho vi khuẩn bị ức chế để không gây hại lên bề

mặt vết thương làm cho tốc độ chữa lành vết thương nhanh hơn. Đây là một trong những xu hướng của việc tạo AgNPs bằng phương pháp hóa học xanh từ dịch chiết vỏ cam sành. Bên cạnh đó AgNPs còn có khả năng loại bỏ thuốc nhuộm trong nước nhờ vào cơ chế quang xúc tác hiệu quả cụ thể là trong nghiên cứu này tôi sẽ sử dụng AgNPs tổng hợp từ dịch chiết vỏ cam ứng dụng vào quá trình quang xúc tác loại bỏ thuốc nhuộm methyl đỏ và có tiềm năng ứng dụng vào phương pháp lọc nước.