

NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VÀ BẢO VỆ NANO BẠC BẰNG DẪN XUẤT CHITOSAN

Nguyễn Thị Kim Cúc¹, Cao Văn Dư¹, Nguyễn Cửu Khoa², Trần Ngọc Quyên^{2*}

¹Đại học Lạc Hồng

²Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đến Tòa soạn 4-12-2012

Abstract

In this paper, nano silver solution is prepared and stabilized by chitosan dihydroxyphenyl acetamide (CDHPA). Chitosan is a natural carbohydrate polymer deriving from chitin that has biodegradable, biocompatible, antibacterial and antifungal properties, so when conjugation of the polymer and silver nanoparticles could be expected to increase bactericidal features of the obtained product. The chemical and physical methods were used to characterize the chitosan derivative such as transmission spectrum (UV-Vis), IR spectrum, nuclear magnetic resonance (¹H-NMR). Morphology of the obtained nano silver particles were observed by transmission electron microscopy (TEM).

Keywords: Nano silver, dihydroxyphenyl acetic, chitosan.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành công nghệ nano, đặc biệt là vật liệu nano hiện nay đang trở thành nguồn động lực thúc đẩy mạnh mẽ cho sự phát triển của khoa học kỹ thuật. Nhiều loại nano kim loại như nano bạc, nano đồng, nano vàng được nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như y học, sinh học, môi trường, công nghệ hóa học, ... [1]. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi giới thiệu phương pháp mới trong tổng hợp và làm bền hệ keo nano bạc thông qua việc sử dụng duy nhất dẫn xuất chitosan có mang các nhóm catechin. Chitosan, một polyme sinh học, có nhiều ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực nhờ đặc tính không độc, kháng nấm kháng khuẩn, phân hủy sinh học và tương thích sinh học. Các phương pháp phân tích hiện đại như phổ truyền qua (UV-Vis), phổ hồng ngoại IR, phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR), ảnh chụp kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) đã được sử dụng để xác định tính chất, cấu trúc, kích

thước và sự phân bố hạt của hạt nano bạc được tạo thành [1].

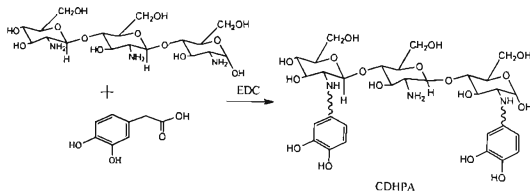
2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Các hóa chất sử dụng: Chitosan 99%; 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride 98% (EDC); 3,4-axit dihydroxyphenylaxetic 98% (DHPA); natri hydroxit 96%; axit clohydric; nước cất 99,9%; bạc nitrat 98%.

2.2. Tổng hợp polyme chitosan-dihydroxyphenyl axetamid (CDHPA)

Phản ứng điều chế CDHPA, với có mặt của EDC phản ứng xảy ra giữa nhóm amin trên phân tử chitosan và nhóm cacboxylic của axit 3,4-dihydroxyphenylaxetic ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ [5].



Hòa tan 0,5 g Chitosan vào 25ml nước cất, sau đó thêm 1,0ml dung dịch HCl 10% cho lên máy khuấy từ ở nhiệt độ phòng. Sau khi chitosan tan hoàn toàn, nhỏ từ từ 2,0ml dung dịch NaOH 1M để trung hòa độ pH, thu được dung dịch chitosan có pH = 4. Tiếp tục cho nhanh 96mg DHPA và 144 mg EDC vào hỗn hợp trên phản ứng trong 24 giờ. Kết thúc phản ứng, thực hiện quá trình thẩm tách, sử dụng màng thẩm tách có MW = 12000-14000 Dalton. Sau đó tiến hành đông khô mẫu trong 8 giờ. Quá trình thực hiện tương tự thí nghiệm 2 với lượng DHPA 961 mg và EDC 1,15 g.

Bảng 1: Số liệu tính toán các chất dùng để tổng hợp CDHPA

Thành phần	Thí nghiệm 1 (DS-20)	Thí nghiệm 2 (DS-80)
Chitosan	0,50 g	0,50 g
HCl 10%	1,0 ml	1,0 ml
NaOH 1M	2,0 ml	2,0 ml
DHPA	96 mg	961 mg
EDC	144 mg	1,15 g

Độ thế của DHPA vào phân tử chitosan được tính toán dựa trên cơ sở đường chuẩn và phổ UV. Vis xác định mối tương quan của nồng độ dung dịch DHPA và độ hấp thụ ở bước sóng 280 nm.

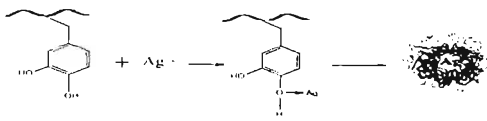
2.3. Tổng hợp nano bạc - polyme

Nano bạc được tổng hợp theo nhiều phương pháp: như tổng hợp nano bạc bằng dẫn xuất catechin, tổng hợp nano bạc bằng phương pháp vi sóng chiếu xạ những sóng cực ngắn, tổng hợp nano bạc bằng phương pháp polyol,....

Trong nghiên cứu này chúng tôi tổng hợp nano bạc bằng dẫn xuất của chitosan (chitosan-dihydroxyphenylacetamit) được thực hiện qua 2 thí nghiệm:

Thí nghiệm 1: Điều chế dung dịch nano bạc ứng với hàm lượng bạc nitrat ở 100 ppm, sử dụng CDHPA với độ thế DHPA thấp.

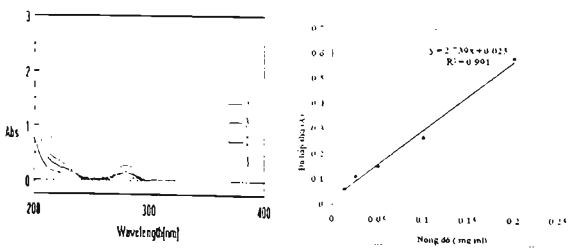
Thí nghiệm 2: Điều chế dung dịch nano bạc ứng với hàm lượng bạc nitrat ở 300 ppm và sử dụng CDHPA (thu được từ thí nghiệm 2) với độ thế DHPA cao.



Hình 1: Sơ đồ phản ứng điều chế nano bạc – polyme

3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

3.1. Kết quả phân tích phổ UV-Vis mẫu DHPA và CDHPA



Hình 2: Đường chuẩn mẫu thể hiện tương quan giữa nồng độ và độ hấp thụ của dung dịch DHPA

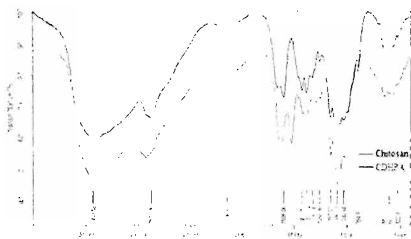
Bảng 2: Độ thể của DHPA vào phân tử chitosan

Mẫu	Lý thuyết	DHPA/100unit GSA	Nồng độ, mg/ml	Độ hấp thu, A	Bước sóng, nm
M1	20	13	0,11	0,31	280
M2	80	53	0,44	1,24	280

Dựa trên đường chuẩn về mối tương quan của nồng độ dung dịch DHPA và độ hấp thu ở bước sóng 280 nm, đã xác định được độ thể của DHPA vào phân tử chitosan (bảng 2).

3.2. Kết quả phân tích phổ IR mẫu CDIIPA

Từ kết quả phân tích phổ hồng ngoại cho thấy trên phân tử chitosan: Pic hấp thu của nhóm $-OH$ ở 3432 cm^{-1} ; $-CH_2$ ở 2877 cm^{-1} ; nhóm $C=O$ amit ở 1599 cm^{-1} ; $(C-O-C)$ ở $1030,24\text{ cm}^{-1}$ [6]. Trên phân tử CDIIPA: Pic hấp thu của nhóm $-OH$ ở 3418 cm^{-1} ; CH_2 ở 2924 cm^{-1} ; nhóm $C=O$ amit ở 1624 cm^{-1} [6].

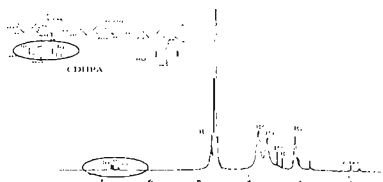


Hình 3: Phổ IR của mẫu Chitosan và CDIIPA

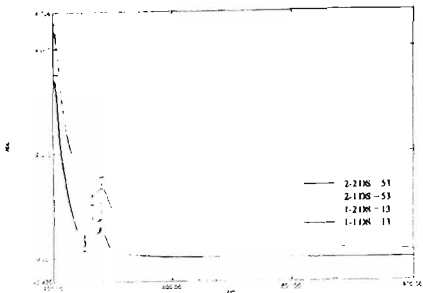
3.3. Kết quả phân tích 1H -NMR mẫu CDIIPA

Phổ 1H -NMR (500 MHz, D_2O) cho thấy các tín hiệu của các proton DHPA ở δ_H 6,78 ; 6,34 và 6,73 ppm; các tín hiệu proton nhóm metylen của phân tử DHPA chồng lên các tín hiệu của phân tử chitosan tại δ_H 2ppm. Các tín hiệu cộng hưởng của các proton phân tử chitosan ở khoảng δ_H 2–4 ppm; tín hiệu proton H1 của chitosan ở δ_H 4,71 ppm. Ngoài ra, trên phổ cũng hiện rõ proton thuộc nhóm metyl trên

sườn chitosan ở độ dịch chuyển 1,98 ppm [6]. Các kết quả trên cho thấy dihydroxyphenyl acetic đã được gắn vào mạch chitosan. Việc sử dụng tác chất ghép cặp EDC đưa ra 1 phương pháp linh hoạt trong các phản ứng biến tính polyme sinh học, kháng thể, protein, ... [5, 7]. Đối với chitosan, 1 polysaccharit không hòa tan trong nước, thì phương pháp biến tính trên có thể tạo nhiều dẫn xuất của chitosan có thể hòa tan dễ dàng trong nước để mở rộng khả năng ứng dụng của chitosan trong lĩnh vực nông nghiệp hoặc vật liệu sinh y.

Hình 4: Phổ 1H -NMR của mẫu CDIIPA

3.4. Kết quả phân tích UV-Vis mẫu dung dịch nano bạc



Hình 5: Phổ UV-Vis mẫu dung dịch nano bạc polyme ở các nồng độ khác nhau

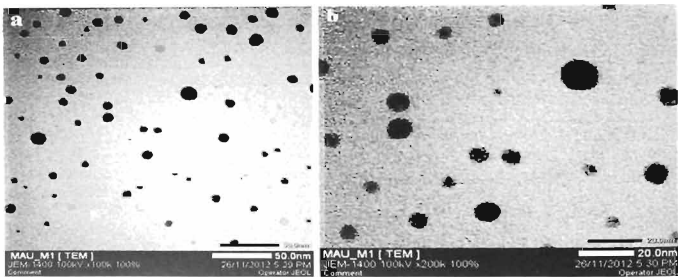
Dựa vào kết quả phân tích phổ cho thấy, xuất hiện bước sóng đặc trưng của DHPA ở ≈ 280 nm. Lượng CDHPA trong dung dịch góp phần tăng độ hấp thụ ở bước sóng 280 nm. Sau khi khử nitrát thành bạc nano, trong mẫu dung dịch tạo thành có dạng gel đục, lớp gel CDHPA bao phủ bên ngoài hạt nano làm che phủ bề mặt hạt nano bạc nên khi đo phổ UV-Vis sẽ không có sự xuất hiện đỉnh tín hiệu

đặc trưng của nano bạc.

3.4. Kết quả phân tích TEM

Kết quả nghiên cứu cho thấy nano bạc có thể được tổng hợp bằng dẫn xuất của chitosan (chitosan-dihydroxyphenylacetamid).

Thí nghiệm 1:

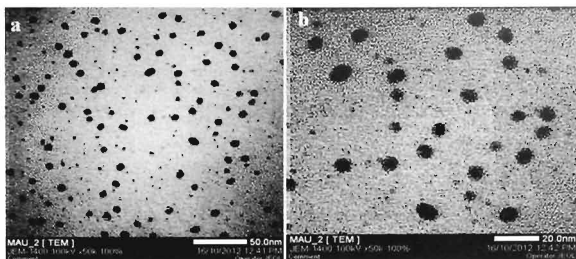


Hình 6: Ảnh TEM mẫu nano bạc DS = 13
(a) Mẫu nano bạc ở thang đo 50 nm; (b) mẫu nano bạc thang đo 20 nm

Ảnh TEM của mẫu nano bạc chế tạo được có kích thước các hạt đa số gần tương đương nhau, tập trung chủ yếu vào khoảng < 12 nm. Các hạt nano có một lớp chitosan bảo vệ vì thế các hạt nano tạo thành không kết tụ lại với nhau. Do vậy ta có thể khẳng định được khả năng khử bạc của DHPA cũng như khả năng bảo vệ hạt nano của chitosan.

Thí nghiệm 2: Ảnh TEM của mẫu nano bạc chế tạo được có kích thước đồng đều, kích thước hạt nằm trong khoảng < 10 nm, các hạt phân bố đều nhau và đa số có dạng hình cầu. Xung quanh các hạt có lớp chitosan bao quanh vì thế các hạt nano khi tạo thành sẽ không kết tụ lại với nhau. So sánh giữa hai trường hợp: ở nồng độ 300 ppm và sử dụng CDHPA có độ thể DHPA cao (DS = 53), hạt nano tạo thành

có kích thước nhỏ, tương đương nhau, phân bố đều hơn so với mẫu nano ở 100 ppm.

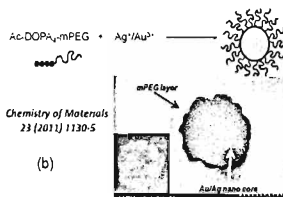
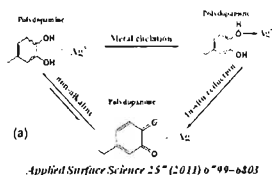


Hình 7: TEM mẫu nano bạc DS = 53

(a) Mẫu nano bạc ở thang đo 50 nm, (b) mẫu nano bạc ở thang đo 20 nm

Dựa trên nhiều nghiên cứu, các dẫn xuất của catechol có thể khử các ion kim loại như vàng, bạc,... sau khi khử nhóm hydroxi của catechin chuyển thành nhóm ceton và nhóm chức này có thể chuyển thành hydroxi ở pH thích hợp (hình 8a). Quá

trình trên rất có lợi khi sử dụng các dẫn xuất polyme của catechin để tổng hợp các loại nano kim loại vì dẫn xuất polymer-catechol có thể sử dụng thay thế các chất bảo vệ như polyvinylpyrrolidon, PVA,... (hình 8b).



Hình 8: Tổng hợp nano bạc bằng dẫn xuất catechin [2, 3]

Trong nghiên cứu này, các hạt nano bạc được tổng hợp từ dẫn xuất chitosan-dihydroxyphenyl axetamid có thể hình thành dạng vật liệu lai ghép nano bạc-chitosan mà có thể tăng cường khả năng diệt nấm/khuẩn của hạt nano bạc do quá trình hấp thụ chủ động hạt nano vào vi sinh vật (thông qua tương tác tĩnh điện giữa mạch chitosan dương điện có đỉnh các hạt nano bạc và lớp màng ngoại bào photopolipid âm điện của vi sinh vật). Hướng nghiên cứu làm sáng tỏ dạng lai ghép giữa nano bạc-CDHPA và khả năng bảo vệ hệ keo nano của CDHPA cũng như đặc tính diệt nấm, khuẩn của dung dịch chứa dạng lai ghép giữa nano bạc-CDHPA đang được nghiên cứu tiếp theo.

4. KẾT LUẬN

Tổng hợp thành công dẫn xuất hòa tan của chitosan có mang các nhóm catechin (chitosan-dihydroxyphenyl axetamid, CDHPA) theo hai mức độ thể khác nhau. Cấu trúc sản phẩm được xác định bằng các phương pháp phân tích như UV-Vis, IR, ¹H-NMR.

Kết quả cho thấy các nhóm catechin trong CDHPA có thể khử ion bạc thành bạc nano. Polyme CDHPA có thể bảo vệ hiệu quả hệ keo nano bạc hình thành mà không cần sử dụng các chất bảo vệ hệ keo nano đắt tiền đang được sử dụng hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Phương Phong, *Giáo trình Hóa Học Nano*, ĐH Khoa học Tự nhiên TP Hồ Chí Minh (2010).
2. H. Xu, X. Shi, H. Ma, Y. Lv, L. Zhang, Z. Mao, *The preparation and antibacterial effects of dopacotton/AgNPs* Applied Surface Science, **257**, 6799-6803 (2011).
3. K. C. L. Black, Z. Liu, P. B. Messersmith, *Catechol Redox Induced Formation of Metal Core-Polymer Shell*, Chem. Mater., **23**, 1130-1135 (2011).
4. L. P. Zheng, Z. Zhang, B. Zhang, J. W. Wang, *Antifungal properties of Ag-SiO₂ core-shell nanoparticles against phytopathogenic fungi*, Advanced Materials Research, **476-478**, 814-818 (2012).
5. J. H. Ryu, Y. Lee, W. H. Kong, T. G. Kim, T. G. Park, H. Lee, *Catechol-Functionalized Chitosan/Pluronic Hydrogels for Tissue Adhesives and Hemostatic Material*, Biomacromolecules, **12**, 2653-2659 (2011).
6. F. Titan, Y. Liu, K. Hu, B. Zhao, *The depolymerization mechanism of chitosan by hydrogen peroxide*, Journal of Materials Science, **38**, 4709-4712 (2003).
7. Tran Ngoc Quyen, Yoon Ki Joung, Eugene Lih, Ki Dong Park, *In situ forming and rutin-releasing chitosan hydrogels as an injectable dressing for dermal wound healing*, Biomacromolecule, **12**, 2872-2880 (2011).

Liên hệ: **Trần Ngọc Quyên**

Viện Công nghệ Hóa học

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Số 1 Mạc Đĩnh Chi, quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh

Email: tranngocquyen979@yahoo.com.