



DOI:10.22144/ctujos.2024.358

KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN TỔNG HỢP HỆ VI HẠT ZnO CÓ BỔ SUNG CAO CHIẾT LÁ BÀN CHUA (*Sonneratia caseolaris* L.) SỬ DỤNG MÔ HÌNH BỀ MẶT ĐÁP ỨNG VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG OXI HÓA CỦA SẢN PHẨM

Phạm Khánh Nguyên Huân, Võ Thái Kiều Mỹ và Hà Thị Kim Quy*

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): htkquy@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 05/05/2024

Sửa bài (Revised): 03/07/2024

Duyệt đăng (Accepted): 22/07/2024

Title: Investigating synthesis conditions of ZnO microparticles with the supplement of *Sonneratia caseolaris* L. extract using response surface methodology and evaluating the antioxidant activity of the products

Author(s): Pham Khanh Nguyen Huan, Vo Thai Kieu My and Ha Thi Kim Quy*

Affiliation(s): Can Tho University

TÓM TẮT

Nghiên cứu này tập trung vào phương pháp tổng hợp xanh hệ vi hạt ZnO kết hợp với cao chiết lá Bàn chua nhằm tìm ra các nguồn vật liệu mới có hoạt tính sinh học. Các thí nghiệm khảo sát điều kiện thích hợp tổng hợp hệ vi hạt được bố trí thực nghiệm kết hợp với mô hình bề mặt đáp ứng (RSM) và sự hỗ trợ của phần mềm Design Expert. Kết quả cho thấy điều kiện phù hợp để tổng hợp xanh hệ vi hạt ZnO có bổ sung cao chiết là nồng độ cao chiết 0,1%, nhiệt độ phản ứng 50 °C và thời gian phản ứng khoảng 1 giờ. Sản phẩm được khảo sát các đặc điểm hóa lý và hoạt tính kháng oxy hóa cho thấy khi có bổ sung cao chiết thì hoạt tính kháng oxy hóa của hệ vi hạt tốt hơn và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả này tạo tiền đề quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo về khảo sát hoạt tính sinh học và tiềm năng ứng dụng hệ vi hạt ZnO kết hợp cao chiết lá Bàn chua.

Từ khóa: Kháng oxy hóa, RSM, *Sonneratia caseolaris*, vi hạt ZnO

ABSTRACT

This study focuses on the green synthesis method of ZnO microparticles combined with *Sonneratia caseolaris* L. leaf extract to find new sources of biologically active materials. Wet-lab experiments were conducted to investigate suitable conditions for green synthesis of these microparticles by adding *S. caseolaris* leaf extract with the support of Design Expert software using response surface methodology (RSM). The results show suitable conditions for green synthesis of ZnO microparticles: extract concentration of 0.1%, reaction temperature of 50 °C, and 1-hour reaction time. The product was investigated for its physicochemical characteristics and antioxidant activity, showing that when the leaf extract was added, the activity of the microparticle system was significantly enhanced, and the difference was statistically significant. This result proposed an essential premise for further research investigating the biological activity and application potential of the green synthesis of ZnO microparticles combined with *S. caseolaris* leaf extract.

Keywords: Antioxidants, RSM, *Sonneratia caseolaris*, ZnO microparticles

1. GIỚI THIỆU

Các chất kháng oxy hóa đóng vai trò quan trọng trong mọi hoạt động của cơ thể sống thông qua việc loại bỏ các gốc tự do gây hại (Martemucci et al., 2022). Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của các vật liệu vi hạt đã và đang trở thành một trong những hướng nghiên cứu được quan tâm hiện nay trong lĩnh vực khoa học được phẩm cũng như trong lĩnh vực công nghệ vật liệu. Hiện nay, nhiều nhóm hoạt chất kháng oxy hóa tự nhiên và tổng hợp đã được nghiên cứu để ức chế sự gia tăng quá mức của các phản ứng stress oxy hóa. Cụ thể, một số nghiên cứu trong lĩnh vực công nghệ vật liệu mới cho thấy các siêu vi hạt/vi hạt Ag, NiO và ZnO có hoạt tính chống oxy hóa khá tốt (Shah et al., 2021; Zhang et al., 2021; Velsankar et al., 2022). Trong số các loại vi hạt, ZnO được nhiều nhà khoa học lựa chọn sử dụng trong các nghiên cứu tổng hợp xanh vì thân thiện với môi trường và mang lại hiệu quả kinh tế cao (Bandeira et al., 2020).

Các siêu vi hạt và vi hạt ZnO hiện nay được tập trung nghiên cứu hoạt tính sinh học như khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm (Das et al., 2013; Lallo da Silva et al., 2019). Các đặc tính hóa lý khác nhau của các hệ vi hạt ZnO (hình thái, kích thước hạt, độ xốp và diện tích bề mặt) cung cấp thông tin hữu ích về khả năng phản ứng sinh học hoặc sinh hóa đối với các vi sinh vật gây bệnh do đó cho phép dự đoán tác dụng sinh học của các vi hạt ZnO (Sirelkhatim et al., 2015; Yu et al., 2020). Các phương pháp tổng hợp vi hạt ZnO thường có bước nung nóng ở nhiệt độ cao dẫn đến gia tăng chi phí năng lượng để thực hiện phản ứng.

Bần chua (*Sonneratia caseolaris* L.) là loại thực vật phổ biến ở các khu vực rừng ngập mặn ở vùng Đồng bằng Sông Cửu Long và được sử dụng theo y học cổ truyền để điều trị chảy máu, trĩ và bong gân (Dev et al., 2021). Một số nghiên cứu về hoạt tính dược lý cho thấy bần chua có tiềm năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn (Yompakdee et al., 2012). Các nghiên cứu về các nhóm hợp chất chuyển hoá thứ cấp cho thấy rằng thành phần hoá học của cao chiết EtOH từ lá Bần chua chứa nhiều phenolic, flavonoid, tannin, alkaloid và saponin (Nguyen et al., 2024). Do giàu hàm lượng các hợp chất thứ cấp mang nhiều nhóm chức hoá học đặc trưng như hydroxy, carbonyl và aldehyde nên lá Bần chua thực sự hữu ích cho việc khử và ổn định các vật liệu vi hạt/siêu vi hạt theo phương pháp tổng hợp xanh.

Hiện nay có một số công bố chỉ ra rằng, các hệ vi hạt ZnO được tạo thành từ phương pháp tổng hợp xanh sử dụng các cao chiết thực vật thể hiện hoạt

tính sinh học khá tốt (Agarwal et al., 2017). Tuy nhiên, hiện nay chưa có công trình nào công bố cấu trúc của sản phẩm hệ vi hạt ZnO kết hợp với cao chiết lá Bần chua (*S. caseolaris*). Điều này cho thấy, tổng hợp hệ vi hạt ZnO sử dụng cao chiết lá Bần chua là hướng nghiên cứu phù hợp và có tính mới.

Trong nghiên cứu hiện tại, hệ vi hạt ZnO được khảo sát tổng hợp xanh trong điều kiện có bổ sung cao chiết lá Bần chua với sự hỗ trợ của mô hình bề mặt đáp ứng (RSM). Vật liệu ZnO tổng hợp được khảo sát các đặc điểm hoá lý và đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Lá Bần chua già được thu hái vào tháng 10 năm 2023 tại xã Long Khánh, huyện Duyên Hải, tỉnh Trà Vinh. Mẫu lá được định danh bởi TS. Phạm Hà Thanh Tùng, Trường Đại học Phenikaa.

Các hoá chất dùng trong nghiên cứu như: dung môi EtOH, muối diammonium 2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Na₂SO₄, NaOH, K₂S₂O₈, KMnO₄, tannic acid và Zn(CH₃COO)₂ (Xilong, Trung Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều chế cao chiết lá Bần chua

Lá Bần chua tươi được rửa sạch, để ráo, phơi khô, xay nhuyễn thu được bột nguyên liệu. 1 kg mẫu bột lá khô được ngâm dầm, chiết xuất với dung môi EtOH trong thời gian 3 ngày. Mẫu dịch chiết được tiến hành làm khan bằng Na₂SO₄ và lọc qua giấy lọc. Dịch chiết được cô quay để loại bỏ dung môi và thu được 39,69 g cao chiết EtOH tổng. Hiệu suất chiết cao đạt được là 4% và tính theo công thức $H = \frac{m_{\text{cao chiết}}}{m_{\text{bột được liệu}}} \times 100$.

2.2.2. Khảo sát điều kiện tổng hợp hệ vi hạt ZnO

Kẽm acetate 0,5% và cao chiết EtOH từ lá Bần chua được hoà tan trong hệ dung môi nước : EtOH (tỉ lệ 3:1, v/v) để đạt được 100 mL dung dịch có nồng độ theo khối lượng như trong Bảng 1. Hỗn hợp được tiến hành khuấy từ trong các khoảng thời gian 1 đến 4 giờ ở nhiệt độ khoảng 40 đến 70°C. Sau đó, dung dịch NaOH 0,1 M được cho vào hỗn hợp đến khi đạt được môi trường kiềm có pH = 8 và tiếp tục khuấy trong thời gian 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được tiến hành ly tâm và rửa ba lần với nước cất. Sản phẩm được sấy qua đêm ở điều kiện nhiệt độ 50-60°C. Cuối cùng, sản phẩm được đánh giá cảm quan và tiến hành ghi nhận khối lượng sản phẩm tạo thành.

Bảng 1. Kết quả khảo sát các điều kiện tổng hợp vi hạt ZnO

Thí nghiệm thứ	Cao chiết (%)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	Khối lượng sản phẩm (g)		Residual	Giá trị DFFITS
				Thực nghiệm	Dự đoán theo (1)		
1	0	40	2,5	0,352	0,369	-0,006	-0,218
2	0	55	1	0,367	0,392	-0,0064	-0,28
3	0	55	4	0,335	0,346	-0,0081	-0,248
4	0	70	2,5	0,281	0,254	0,0089	0,326
5	0,1	40	4	0,379	0,369	0,0088	0,341
6	0,1	40	1	0,39	0,392	0,0014	0,055
7	0,1	55	2,5	0,382	0,369	0,0032	0,056
8	0,1	70	1	0,389	0,277	0,0468	2,187(*)
9	0,1	70	2,5	0,23	0,277	-0,0167	-0,45
10	0,2	40	2,5	0,369	0,369	-0,0042	-0,154
11	0,2	55	1	0,387	0,392	-0,0034	-0,151
12	0,2	55	4	0,453	0,369	0,0363	1,915(*)
13	0,2	70	2,5	0,187	0,277	-0,039	-1,897(*)
14	0,1	55	2,5	0,321	0,369	-0,023	-0,416
15	0	55	4	0,357	0,346	0,0014	-0,041

(*) nằm ngoài khoảng giới hạn.

2.2.3. Thiết lập mô hình phân tích Bề mặt đáp ứng

Tác động của các biến độc lập (nhiệt độ, thời gian và cao chiết EtOH của lá Bần chua ở các nồng độ khác nhau) được nghiên cứu bằng cách sử dụng phần mềm thông kê Design Expert v13 (USA) với phương pháp Bề mặt Đáp ứng (Response Surface Methods, RSM). Nghiên cứu dựa trên các công bố trước đó sử dụng phương pháp thiết kế Optimal Custom (Subramani et al., 2020; Salahi et al., 2023) và phạm vi biến độc lập đã được chọn dựa trên kết quả thực tế đạt được khi thực hiện các thí nghiệm thực nghiệm.

2.2.4. Phân tích cấu trúc của hệ vi hạt ZnO

Đặc tính của vật liệu tổng hợp được tiến hành phân tích bằng một số phương pháp hoá lý hiện đại như: Sự hiện diện của nhóm chức bằng quang phổ hồng ngoại biến đổi (Fourier transform infrared, FT-IR, Jasco FT/IR-4600), phân bố kích thước hạt bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (Dynamic light scattering, DLS, Horiba SZ-100), hình thái bề mặt với kính hiển vi điện tử quét (Scanning electron microscopy, SEM, FESEM S4800), sự hiện diện của các nguyên tố có trong mẫu bằng tán xạ năng lượng tia X (Energy Dispersive X-ray Spectrometry, EDX, HORIBA-7593) và thành phần pha của vật liệu tổng hợp bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (X-ray diffraction, XRD, Empyrean).

2.2.5. Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS^{•+}

Hoạt tính kháng oxy hóa của mẫu thử được xác định bởi khả năng loại bỏ gốc tự do ABTS^{•+} được

thực hiện theo các công bố trước đây (Kasote et al., 2019) với một số điều chỉnh như sau: dung dịch chứa hỗn hợp ABTS 7,0 mM và K₂S₂O₈ 2,45 mM được tiến hành ủ từ 12 giờ trong điều kiện thiếu ánh sáng. Sau đó, dung dịch thu được pha loãng bằng EtOH nhằm điều chỉnh độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm là 0,7±0,05. 20 µL mẫu dung dịch chứa vi hạt ZnO hoặc tannic acid (đối chứng dương) ở các điều kiện nồng độ khác nhau được trộn lẫn với 1980 µL dung dịch chứa ABTS đã chuẩn bị và ủ tiến hành ủ tối trong thời gian 6 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 734 nm bằng đầu dò UV-Vis (UV Vis Jasco V730). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và lấy giá trị trung bình. Phần trăm hoạt tính kháng oxy hóa của mẫu thử được đánh giá bằng cách so sánh độ hấp thụ của mẫu với đối chứng âm.

2.2.6. Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH

Khả năng kháng oxy hóa của mẫu thử được thực hiện theo phương pháp DPPH (Sharma et al., 2009) được mô tả ngắn gọn như sau: hỗn hợp phản ứng gồm 40 µL DPPH 1 mg/mL và 960 µL mẫu dung dịch chứa vi hạt ZnO hoặc tannic acid đã pha loãng với dãy nồng độ khảo sát. Hỗn hợp được ủ trong tối ở 30°C trong thời gian 30 phút và được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm bằng đầu dò UV-Vis (UV Vis Jasco V730). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và lấy giá trị trung bình.

2.2.7. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp khử KMnO₄

Hoạt tính kháng oxy hóa của mẫu thử được đánh giá qua sự giảm độ hấp thụ quang phổ của dung dịch KMnO₄ sau khi phản ứng với dung dịch mẫu thử ở bước sóng 525 nm theo báo cáo của Kasote et al. (2019) với một số sửa đổi như sau: dung dịch KMnO₄ 80 mg/mL được điều chế bằng dung dịch đệm phosphate pH 9,0. Hỗn hợp gồm 3,0 mL dung dịch KMnO₄ 80 mg/mL được trộn với 1,0 mL mẫu dung dịch chứa vi hạt ZnO hoặc tannic acid ở các điều kiện nồng độ khác nhau. Hỗn hợp được ủ trong bóng tối ở điều kiện nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 525 nm bằng đầu dò UV-Vis (UV Vis Jasco V730). Phần trăm hoạt tính được tính bằng cách so sánh độ hấp thụ của mẫu với đối chứng âm.

2.2.8. Phương pháp thống kê

Kết quả của nghiên cứu này được tiến hành phân tích thống kê ANOVA sử dụng thuật toán theo phương pháp Turkey dựa trên nền tảng của phần mềm thống kê Minitab.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát điều kiện tổng hợp vi hạt ZnO

15 tổ hợp điều kiện tổng hợp hệ vi hạt ZnO được đề xuất dựa vào mô hình D-optimal với phần mềm Design-Expert v13, gồm 3 biến khảo sát lần lượt là Cao chiết (A), Nhiệt độ (B) và Thời gian phản ứng (C). Các nghiệm thức được trình bày trong Bảng 1 cho thấy khối lượng sản phẩm ZnO thực tế tạo thành dao động trong khoảng từ 0,187 đến 0,453 g. Dựa vào số liệu này cho thấy, ở nghiệm thức số 9 và 13 với điều kiện nhiệt độ 70°C và thời gian phản ứng kéo dài từ 2,5 đến 4 giờ thì hiệu suất tạo thành sản phẩm hệ vi hạt ZnO thấp hơn so với các điều kiện

khác. Điều này chứng tỏ rằng, nhiệt độ thực hiện phản ứng được đề xuất không cao hơn 70°C vì nhiệt độ càng cao kết hợp với thời gian phản ứng kéo dài dẫn đến hiện tượng dung môi nước bị bay hơi làm giảm hiệu suất tổng hợp hệ vi hạt ZnO.

Tiến hành phân tích kết quả khảo sát điều kiện tổng hợp vi hạt ZnO bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM), ta thấy phương trình (1) được đề xuất là mô hình dự đoán đề ước tính khối lượng sản phẩm hệ vi hạt ZnO dưới tác động của các biến độc lập Cao chiết (A), Nhiệt độ (B) và Thời gian phản ứng (C).

$$\text{Khối lượng sản phẩm (g)} = (0,0276A + 0,0643B - 0,0040C - 0,0011B^2 + 6,1349 \times e^{-6}B^3)^2 - 1 \quad (1)$$

Như được thể hiện trong Bảng 1, khối lượng sản phẩm hệ vi hạt ZnO thực nghiệm và dự đoán dựa vào phương trình (1) của các nghiệm thức 1-7, 9-11, 14 và 15 có các giá trị DFFITS (thước đo tỷ lệ về sự thay đổi trong giá trị dự đoán cho quan sát) nằm trong giới hạn cho phép. Điều này cho thấy rằng thời gian phản ứng càng dài và nhiệt độ phản ứng cao không thích hợp cho tổng hợp hệ vi hạt ZnO có bề sung cao chiết lá Bần chua.

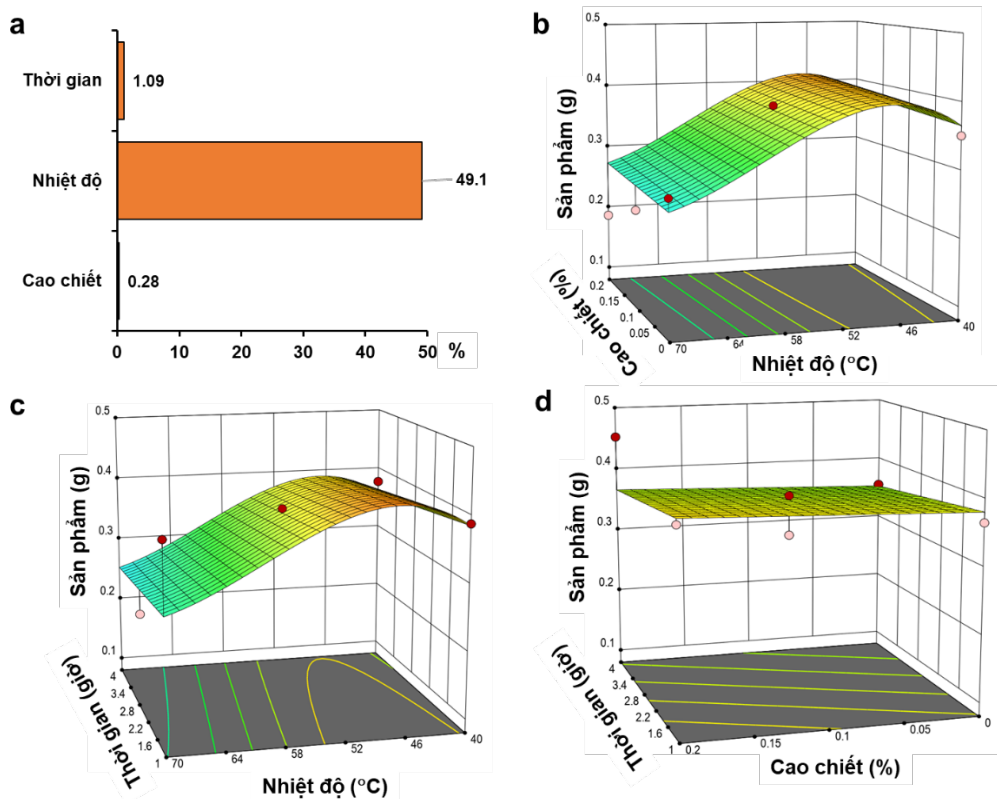
Bên cạnh đó, kết quả ANOVA cũng cho thấy giá trị p của mô hình < 0,0001 và biến Nhiệt độ (B) được đánh giá cao hơn mức tin cậy 95% (Bảng 2). Để đảm bảo độ tin cậy của mô hình, giá trị p của “Lack of Fit” được đề xuất là phù hợp (0,2290, không có sự khác biệt), R² = 0,9997 và R² hiệu chỉnh = 0,9995 đã cung cấp mức độ phù hợp giữa kết quả dự đoán với dữ liệu thử nghiệm. Để phân biệt giữa tín hiệu và nhiễu, giá trị chính xác phù hợp thu được là khoảng 4,0528, cao hơn giá trị thấp tối thiểu được đề xuất là 4,0. Các kết quả phân tích trên cho thấy mô hình RSM có độ tin cậy đã được thiết lập nhằm tổng hợp xanh hệ vi hạt ZnO (Bezerra et al., 2008; Mäkelä, 2017).

Bảng 2. Kết quả phân tích ANOVA cho các giá trị thực nghiệm và dự đoán sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM)

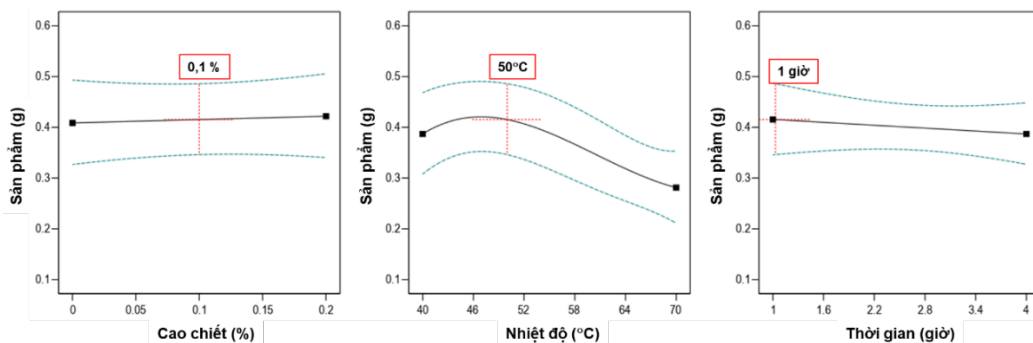
Nguồn biến động	Tổng bình phương	Độ tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị p	Ý nghĩa
Mô hình	20,17	5	4,03	6527,35	< 0,0001	Có ý nghĩa
A-Cao chiết	0,0001	1	0,0001	0,1083	0,7489	
B-Nhiệt độ	0,1947	1	0,1947	314,96	< 0,0001	
C-Thời gian	0,0003	1	0,0003	0,4428	0,5208	
B ²	0,0476	1	0,0476	77,03	< 0,0001	
B ³	0,0188	1	0,0188	30,45	0,0003	
Số dư	0,0062	10	0,0006			
Sự không phù hợp	0,0058	8	0,0007	3,72	0,2290	Không ý nghĩa
R ²	0,9997			R ² hiệu chỉnh	0,9995	
CV (%)	2,14			Giá trị chính xác phù hợp	4,0528	

Ảnh hưởng của 03 biến *Cao chiết (A)*, *Nhiệt độ (B)* và *Thời gian phản ứng (C)* cũng được biểu diễn bằng cách sử dụng biểu đồ một yếu tố RSM và biểu đồ ba chiều (3D). Hình 1 cho thấy ảnh hưởng của *Nhiệt độ (B)* có tác động đáng kể nhất đến khối lượng sản phẩm hệ vi hạt ZnO tạo thành (chiếm 49,1%), trong khi *Cao chiết (A)* và *Thời gian phản ứng (C)* cho thấy ít tác động hơn trong giới hạn của mô hình khảo sát (*Cao chiết (A)* là 0-0,2% và *Thời gian phản ứng (C)* là 1-4 giờ). Điều thú vị là kết quả từ Hình 2 gợi ý rằng điều kiện phù hợp tạo thành sản phẩm hệ vi hạt ZnO phù hợp theo mô hình của phương trình (1) là nồng độ cao chiết 0,1%, nhiệt độ phản ứng 50°C và thời gian phản ứng đề xuất trong khoảng 1 giờ. Giá trị trung bình dự đoán của khối lượng sản phẩm tạo thành có thể đạt được ở khoảng 0,41 g (khoảng dự đoán 95% ở mức 0,35-0,48 g). So

với khối lượng sản phẩm dự đoán (0,41 g), khối lượng sản phẩm thực nghiệm (0,465 g) nằm trong giới hạn của khoảng dự đoán (Hình 2). Những kết quả này chứng tỏ mô hình RSM được phát triển đã đáp ứng được các yêu cầu về tính toán và thiết kế thực nghiệm. Do đó, điều kiện thích hợp mà mỗi biến số cho quá trình tổng hợp sản phẩm hệ vi hạt ZnO được đề xuất như sau: nồng độ cao chiết 0,1%, nhiệt độ phản ứng 50°C, và thời gian phản ứng đề xuất trong khoảng 1 giờ, dẫn đến thu được khối lượng sản phẩm từ 0,35-0,48 g. Tuy nhiên, khi sử dụng biểu đồ RSM trên quy mô lớn, cần xem xét sai số có thể xảy ra ảnh hưởng đến kết quả giá trị sản phẩm tạo thành.



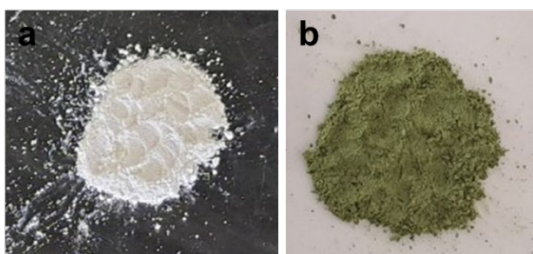
Hình 1. (a) Phân tích Pareto của 03 biến chính (*Cao chiết (A)*, *Nhiệt độ (B)* và *Thời gian phản ứng (C)*) đóng góp vào mô hình; (b-d) Biểu đồ 3D trong quan giữa 03 biến (*Cao chiết (A)*, *Nhiệt độ (B)* và *Thời gian phản ứng (C)*) trong việc tạo thành sản phẩm hệ vi hạt ZnO



Hình 2. Tác động của từng biến (Cao chiết (A), Nhiệt độ (B) và Thời gian phản ứng (C)) trong việc tạo thành sản phẩm hệ vi hạt ZnO

3.2. Kết quả phân tích cấu trúc của hệ vi hạt ZnO

Các báo cáo trước đây cho rằng hệ vi hạt ZnO thu được từ phương pháp tổng hợp xanh có nhiều màu sắc khác nhau (bao gồm trắng, xanh lá, nâu và đen) tùy thuộc vào thành phần của dịch chiết thực vật và phương pháp tổng hợp. Trong các nghiên cứu có sử dụng bước sấy nung dẫn đến các vi hạt ZnO thu được màu trắng vì nhiệt độ nung khá cao (400-500°C) của bước này có thể loại bỏ tất cả các thành phần hữu cơ liên kết trên bề mặt sản phẩm (Abdelbaky et al., 2022; Karam et al., 2022). Tuy nhiên, điểm khác biệt nổi bật của phương pháp tổng hợp xanh ở nghiên cứu này là không sử dụng phương pháp sấy nung ở nhiệt độ cao nhằm mục đích duy trì các hợp chất hữu cơ bám trên bề mặt của các vi hạt ZnO, đồng thời vẫn giữ được lợi ích của dịch chiết lá khi áp dụng vào các mô hình thử nghiệm hoạt tính sinh học. Vì vậy, ở điều kiện sấy nhiệt độ 50-60°C, sản phẩm hệ vi hạt ZnO thu được có màu xanh và khác biệt hoàn toàn so với sản phẩm vi hạt ZnO không bổ sung cao chiết (Hình 3).



Hình 3. Sản phẩm vi hạt ZnO không bổ sung cao chiết (a) và có bổ sung cao chiết (b)

Hình thái bề mặt của sản phẩm hệ vi hạt ZnO được thể hiện thông qua ảnh SEM (Hình 4a và 4b). Hình thái của vi hạt ZnO không bổ sung cao chiết được ghi nhận có dạng hình khối đa diện khá đồng đều (Hình 4a). Trong khi đó, kết quả phân tích hình thái của hệ vi hạt ZnO có bổ sung cao chiết cho thấy

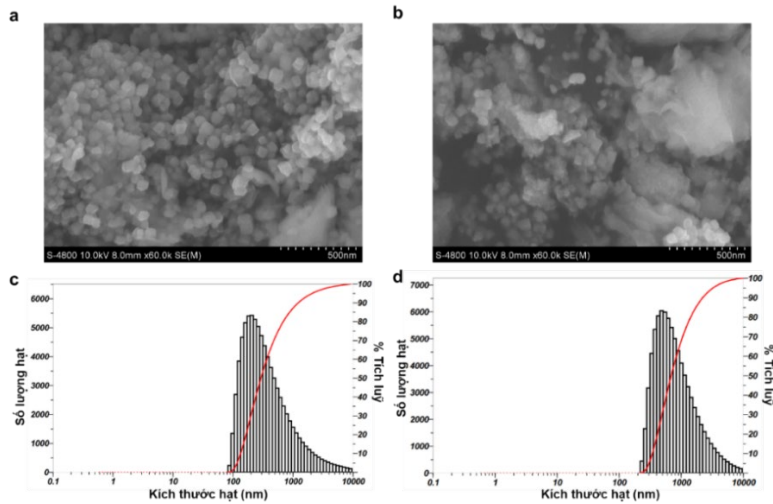
sản phẩm đa dạng từ các hạt nhỏ không hình cầu đến các hạt đa diện lớn với một số kết tụ ở dạng cụm (Hình 4b). Ngoài ra, phân tích DLS đã được áp dụng để làm rõ kích thước hạt của các sản phẩm ZnO. Dữ liệu minh họa trong Hình 4c và 4d chỉ ra rằng sự phân bố kích thước hạt trung bình của vi hạt ZnO không có và có bổ sung cao chiết lần lượt là 593,9 nm và 1078,4 nm. Những kết quả này cho thấy các sản phẩm vi hạt ZnO được tổng hợp ở kích thước vi hạt theo quy trình đơn giản nhưng vẫn đảm bảo sự tồn tại của các hợp chất thứ cấp từ cao chiết lá Bần chua bám trên bề mặt của vi hạt ZnO.

Phân tích FT-IR của các sản phẩm vi hạt ZnO được đo trong vùng số sóng 400-4000 cm⁻¹. Như được hiển thị trong Hình 5, ngoài các tín hiệu đặc trưng của vi hạt ZnO ở các đỉnh 3375, 1505, 1392 và 835 cm⁻¹, sản phẩm hệ vi hạt ZnO có bổ sung cao chiết còn ghi nhận có sự xuất hiện của đỉnh tín hiệu mạnh ở 2930, 1421 và 1048 cm⁻¹, cho thấy cao chiết lá Bần chua đã được gắn kết vào bề mặt của vi hạt ZnO thông qua sự hấp thụ đặc trưng của các nhóm -OH, C=O và liên kết C-O có trong các hợp chất hữu cơ của dịch chiết. Theo kết quả này, quá trình tổng hợp đã tạo thành công sản phẩm hệ vi hạt ZnO có cao chiết lá Bần chua bằng cách liên kết các hợp chất thứ cấp từ thực vật vào bề mặt hệ vi hạt.

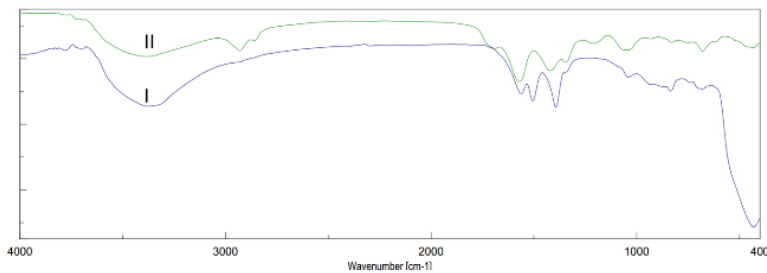
Để xác định chính xác cấu trúc của sản phẩm tạo thành, phương pháp phân tích XRD đã được áp dụng. Như được trình bày ở Hình 6a và 6b, khi so sánh với sản phẩm vi hạt ZnO không bổ sung cao chiết thì hàm lượng vi hạt ZnO có độ tinh khiết cao, và khi so sánh với các giá trị 2 theta (degree) của vi hạt ZnO với thư viện phổ có sẵn thì tất cả các giá trị 2 theta phù hợp để kết luận cấu trúc đúng của sản phẩm là vi hạt ZnO. Song song đó, sản phẩm vi hạt ZnO bổ sung cao chiết cho thấy có sự phối trộn với các hợp chất hữu cơ có nguồn gốc từ cao chiết, dẫn đến các giá trị 2 theta của ZnO bị ảnh hưởng bởi các giá trị 2 theta từ các hợp chất hữu cơ.

Dựa trên các kết quả phân tích cấu trúc nêu trên, sự cần thiết để phân tích EDX nhằm biết được tỉ lệ thành phần nguyên tố có trong các mẫu sản phẩm hệ vi hạt ZnO đã được thực hiện. Đối với sản phẩm vi hạt ZnO không bổ sung cao chiết có kết quả phân tích EDX cho thấy phần trăm khối lượng các nguyên tố Zn và O lần lượt là 69,72% và 30,28% (Hình 6c và 6d). Ngược lại, kết quả phân tích cấu trúc của hệ

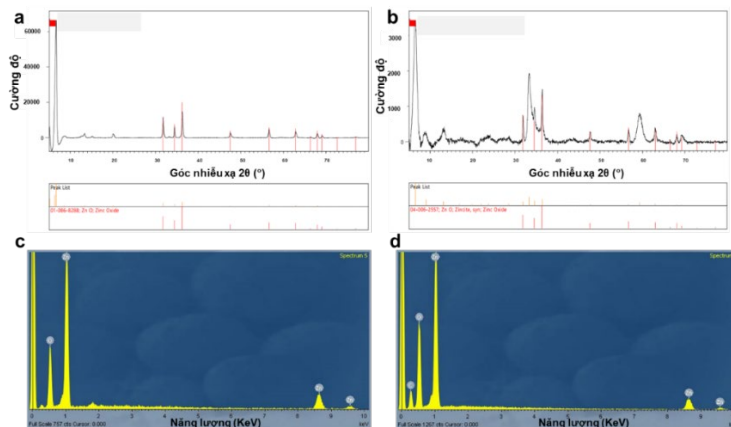
vi hạt ZnO bổ sung cao chiết cho thấy sự xuất hiện của phần trăm khối lượng nguyên tố C là 16,27%, trong khi tỉ lệ này của các nguyên tố Zn và O thay đổi lần lượt là 49,96% và 33,77%. Những kết quả thu được cho thấy rõ ràng rằng hệ vi hạt ZnO có bổ sung cao chiết chứa các hợp chất hữu cơ của dịch chiết EtOH từ lá Bần chua.



Hình 4. Hình thái bề mặt (a và b) và kích thước hạt (c và d) của hệ vi hạt ZnO không bổ sung (a và c) và có bổ sung cao chiết lá Bần chua (b và d)



Hình 5. Phổ FT-IR của của hệ vi hạt ZnO không có (I) và có bổ sung cao chiết lá Bần chua (II)



Hình 6. Phổ XRD và EDX của hệ vi hạt ZnO không có (a và c) và có bổ sung cao chiết lá Bần chua (b và d)

3.3. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxi hóa của hệ vi hạt ZnO

Hoạt tính kháng oxi hóa của vật liệu vi hạt ZnO đã và đang trở thành một trong những hướng nghiên cứu quan tâm trong lĩnh vực khoa học được phẩm cũng như trong lĩnh vực công nghệ vật liệu. Chính vì vậy, các sản phẩm ZnO tổng hợp được từ nghiên cứu này được tiến hành khảo sát hoạt tính kháng oxi hóa bằng 3 phương pháp phổ biến, bao gồm ABTS, DPPH và KMnO₄. Từ kết quả Bảng 3, ta thấy cả 3 phương pháp đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa đều cho thấy tiềm năng kháng oxi hóa của hệ vi hạt ZnO có bổ sung cao chiết khá tốt hơn so với vi hạt ZnO không có bổ sung cao chiết ở mức có ý nghĩa thống kê. Điều này chứng tỏ tiềm năng ứng dụng của hệ vi hạt mới này.

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng oxi hóa của hệ vi hạt

Tên mẫu	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)		
	ABTS ⁺	DPPH	KMnO ₄
Vi hạt ZnO chứa cao chiết	65,01 ^b	242,99 ^a	11,82 ^c
Vi hạt ZnO	103,65 ^a	256,15 ^a	44,767 ^b
Tannic acid	1,87 ^c	2,97 ^b	65,26 ^a

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã khảo sát và đề xuất điều kiện tổng hợp xanh hệ vi hạt ZnO có bổ sung cao chiết lá Bần

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdelbaky, A. S., Abd El-Mageed, T. A., Babalghith, A. O., Selim, S., & Mohamed, A. M. H. A. (2022). Green synthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Pelargonium odoratissimum* (L.) aqueous leaf extract and their antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities. *Antioxidants*, 11(8), 1444. <https://doi.org/10.3390/antiox11081444>

Agarwal, H., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 406–413. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.03.002>

Bandeira, M., Giovanela, M., Roesch-Ely, M., Devine, D. M., & da Silva Crespo, J. (2020). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 15, 100223. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100223>

Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escalera, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for

chua với sự hỗ trợ của mô hình RSM. Kết quả chỉ ra rằng yếu tố nhiệt độ phản ứng góp phần quan trọng nâng cao hiệu quả tạo thành sản phẩm hệ vi hạt ZnO. Song song đó, phương pháp RSM cũng đề xuất được điều kiện phù hợp để tổng hợp hệ vi hạt ZnO có bổ sung cao chiết như sau: nồng độ cao chiết 0,1%, nhiệt độ phản ứng 50°C, và thời gian phản ứng đề xuất trong khoảng 1 giờ, dẫn đến thu được khối lượng sản phẩm từ 0,35-0,48 g. Các kết quả phân tích đặc điểm lý hóa của hệ vi hạt cho thấy các vi hạt ZnO đã được kết hợp với cao chiết EtOH lá Bần chua. Từ đó cho thấy phương pháp tổng hợp xanh vừa giúp tiết kiệm chi phí cho các quy trình, thiết bị nung, tiết kiệm năng lượng, đồng thời giúp kết hợp được các thành phần hữu cơ của cao chiết vào hệ vi hạt. Bên cạnh đó, nghiên cứu này cũng chỉ ra được việc bổ sung cao chiết lá Bần chua góp phần gia tăng hoạt tính kháng oxi hóa của hệ vi hạt ZnO. Các kết quả này sẽ là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm đánh giá các hoạt tính sinh học khác và tiềm năng ứng dụng của các sản phẩm tổng hợp xanh hệ vi hạt ZnO bổ sung cao chiết lá Bần chua.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Trường Đại học Cần Thơ, Mã số: TSV2024-36.

optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>

Das, D., Nath, B. C., Phukon, P., & Dolui, S. K. (2013). Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111, 556–560. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.06.041>

Dev, S., Acharyya, R. N., Akter, S., Al Bari, M. A., Asma, K., Hossain, H., Sarkar, K. K., Biswas, N. N., & Das, A. K. (2021). Toxicological screening and evaluation of anti-allergic and anti-hyperglycemic potential of *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. fruits. *Clinical Phytoscience*, 7, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40816-021-00301-4>

Karam, S. T., & Abdulrahman, A. F. (2022). Green synthesis and characterization of ZnO nanoparticles by using thyme plant leaf extract. *Photonics*, 9(8), 594. <https://doi.org/10.3390/photonics9080594>

Kasote, D. M., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2019). Leaf disc assays for rapid measurement of

- antioxidant activity. *Scientific Reports*, 9(1), 1884. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38036-x>
- Lallo da Silva, B., Abuçafy, M. P., Berbel Manaia, E., Oshiro Junior, J. A., Chiari-Andréo, B. G., Pietro, R. C. L. R., & Chiavacci, L. A. (2019). Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview. *International Journal of Nanomedicine*, 9395–9410. <https://doi.org/10.2147/IJN.S216204>
- Mäkelä, M. (2017). Experimental design and response surface methodology in energy applications: A tutorial review. *Energy Conversion and Management*, 151, 630–640. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.09.021>
- Martemucci, G., Portincasa, P., Di Ciaula, A., Mariano, M., Centonze, V., & D'Alessandro, A. G. (2022). Oxidative stress, aging, antioxidant supplementation and their impact on human health: An overview. *Mechanisms of Ageing and Development*, 206, 111707. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2022.111707>
- Nguyen, L. T. T., Nguyen, T. T., Nguyen, H. N., & Bui, Q. T. P. (2024). Analysis of active compounds and bioactivity of leaves extracts of *Sonneratia* species. *Engineering Reports*, e12870. <https://doi.org/10.1002/eng2.12870>
- Salahi, F., Zarei-Jelyani, F., Farsi, M., & Rahimpour, M. R. (2023). Optimization of hydrogen production by steam methane reforming over Y-promoted Ni/Al₂O₃ catalyst using response surface methodology. *Journal of the Energy Institute*, 108, 101208. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2023.101208>
- Shah, M. Z., Guan, Z.-H., Din, A. U., Ali, A., Rehman, A. U., Jan, K., Faisal, S., Saud, S., Adnan, M., & Wahid, F. (2021). Synthesis of silver nanoparticles using *Plantago lanceolata* extract and assessing their antibacterial and antioxidant activities. *Scientific Reports*, 11(1), 20754. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00296-5>
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan, H., & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7, 219–242. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
- Subramani, S., Govindasamy, R., & Rao, G. L. N. (2020). Predictive correlations for NO_x and smoke emission of DI CI engine fuelled with diesel-biodiesel-higher alcohol blends-response surface methodology approach. *Fuel*, 269, 117304. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117304>
- Velsankar, K., Venkatesan, A., Muthumari, P., Suganya, S., Mohandoss, S., & Sudhahar, S. (2022). Green inspired synthesis of ZnO nanoparticles and its characterizations with biofilm, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-diabetic activities. *Journal of Molecular Structure*, 1255, 132420. <https://doi.org/10.1016/j.jmolstruc.2022.132420>
- Yompakdee, C., Thunyaharn, S., & Phaechamud, T. (2012). Bactericidal activity of methanol extracts of crabapple mangrove tree (*Sonneratia caseolaris* Linn.) against multi-drug resistant pathogens. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74(3), 230. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.106065>
- Yu, Z., Li, Q., Wang, J., Yu, Y., Wang, Y., Zhou, Q., & Li, P. (2020). Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field. *Nanoscale Research Letters*, 15(1), 115. <https://doi.org/10.1186/s11671-020-03344-7>
- Zhang, Y., Mahdavi, B., Mohammadhosseini, M., Rezaei-Seresht, E., Paydarfard, S., Qorbani, M., Karimian, M., Abbasi, N., Ghaneialvar, H., & Karimi, E. (2021). Green synthesis of NiO nanoparticles using *Calendula officinalis* extract: Chemical characterization, antioxidant, cytotoxicity, and anti-esophageal carcinoma properties. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(5), 103105. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103105>