



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0038539

(51)^{2020.01} A61K 9/51

(13) B

(21) 1-2021-06288

(22) 08/10/2021

(45) 25/01/2024 430

(43) 25/02/2022 407

(73) VIỆN KHOA HỌC VẬT LIỆU - VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM (VN)

Nhà A2, 18 Hoàng Quốc Việt, Hà Nội, Việt Nam

(72) PHAN KẾ SƠN (VN); TRẦN THỊ LAN ANH (VN); HÀ PHƯƠNG THƯ (VN); LÊ THỊ THU HƯƠNG (VN); ĐỒNG THỊ NHÂM (VN).

(54) PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ HỆ NANO KHÁNG SINH THỰC VẬT TỪ TỎI KẾT HỢP VỚI NANO BẠC VÀ HỆ NANO KHÁNG SINH THỰC VẬT TỪ TỎI KẾT HỢP VỚI NANO BẠC THU ĐƯỢC THEO PHƯƠNG PHÁP NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp bảo chế hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc. Trong đó, các hạt nano bạc được điều chế bằng phương pháp xanh từ chính dịch chiết của tỏi; các thành phần kháng sinh thực vật của dịch chiết tỏi được nano hóa bằng cách sử dụng polyme thiên nhiên có trong dịch chiết tỏi và nhũ hóa bằng chất nhũ hóa poloxamer 407. Điều này giúp làm giảm kích thước tiểu phân, và đặc biệt khi nhũ hóa các tiểu phân này sẽ vừa tan trong nước, vừa tan trong lipid, từ đó tăng khả năng khuếch tán qua và hấp thu của các hoạt chất qua màng sinh học, từ đó tăng hiệu quả điều trị. Đồng thời, hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc được bọc bởi hệ chất mang alginat/ cacboxy metyl xenluloza giúp bảo vệ các hạt nano bạc và các hoạt chất trong dịch chiết tỏi không bị oxy hóa bởi môi trường, từ đó duy trì được hoạt tính kháng khuẩn của các hoạt chất như allicin, phenolic, ... nên có thể bảo quản được chế phẩm lâu hơn và vẫn giữ được hoạt tính sinh học. Hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc thu được theo phương pháp đề cập trong sáng chế chứa allicin từ tỏi với hàm lượng 101,4 ppm, nồng độ nano bạc 105,33 ppm, kích thước hạt từ 60-80 nm, trong đó hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc có dạng dung dịch màu vàng nâu, trong suốt, thế zeta có giá trị tuyệt đối trên 30 mV, và có khả năng tiêu diệt vi khuẩn có hại trong chăn nuôi gia cầm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực công nghệ dược phẩm. Cụ thể, sáng chế đề cập đến phương pháp xanh bào chế hệ nano kháng sinh thực vật từ tảo kết hợp với nano bạc và hệ nano kháng sinh thực vật từ tảo kết hợp với nano bạc thu được theo phương pháp này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Từ xa xưa, con người đã sử dụng bạc làm các dụng cụ chứa đồ ăn, nước uống hàng ngày và để trị bệnh. Bạc được biết đến như một nguyên tố có khả năng khử trùng mạnh nhất tồn tại trong tự nhiên. Các đặc tính kháng khuẩn của nano bạc bắt nguồn từ tính chất hoá học của các ion Ag^+ tiêu diệt vi khuẩn bằng nhiều cơ chế như ức chế quá trình hô hấp tế bào vi khuẩn, ngăn cản quá trình tái bản ADN của vi khuẩn. Hạt nano bạc là các hạt bạc có kích thước từ 1 nm đến 100 nm. Do có diện tích bề mặt lớn nên hạt nano bạc có khả năng kháng khuẩn tốt hơn so với các vật liệu khối do khả năng giải phóng nhiều ion Ag^+ hơn. Các hạt nano bạc có hiện tượng cộng hưởng Plasmon bề mặt tạo nên màu sắc từ vàng nhạt đến đen cho các dung dịch có chứa hạt nano bạc với các màu sắc phụ thuộc vào nồng độ và kích thước hạt nano. Ngoài ra, nano bạc là vật liệu có diện tích bề mặt riêng rất lớn, có những đặc tính độc đáo sau: (1) tính khử khuẩn, chống nấm, khử mùi, có khả năng phát xạ tia hồng ngoại đi xa, chống tĩnh; (2) không có hại cho sức khoẻ con người với liều lượng tương đối cao, không có phụ gia hoá chất; (3) có khả năng phân tán ổn định trong các loại dung môi khác nhau (trong các dung môi phân cực như nước và trong các dung môi không phân cực như benzen, toluen); (4) độ ổn định cao, không bị biến đổi dưới tác dụng của ánh sáng và các tác nhân oxy hoá khử thông thường; (5) ổn định ở nhiệt độ cao; (6) chi phí cho quá trình sản xuất thấp. Theo tài liệu “Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*” (*International journal of nanomedicine*, 2019), các tác giả Liao.S và cộng sự đã thực hiện các thử nghiệm cho thấy các hạt nano bạc có tác dụng

diệt khuẩn cao đối với *Pseudomonas aeruginosa* kháng thuốc hoặc đa kháng thuốc với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của nano bạc trong khoảng 1,406 – 5,625 µg/ml.

Việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi nhằm mục đích phòng trị bệnh (đặc biệt là các bệnh về đường hô hấp và đường tiêu hóa) từ đó kích thích sự tăng trưởng của vật nuôi. Tuy nhiên, sử dụng kháng sinh hóa dược đang đứng trước vấn đề dư lượng và kháng thuốc. Dùng kháng sinh với liều cao hoặc không đảm bảo thời lượng ngưng thuốc trước khi giết thịt sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe người sử dụng. Nhưng dùng với liều thấp và kéo dài sẽ dẫn đến tình trạng vi khuẩn kháng kháng sinh. Biện pháp sử dụng kháng sinh thảo dược thay thế kháng sinh hóa dược sẽ hiệu quả và ít tốn kém, đồng thời đáp ứng nhu cầu sử dụng chế phẩm sinh học trong chăn nuôi hướng tới sản phẩm sạch, an toàn hiện nay, hướng tới mục tiêu lâu dài là thay thế kháng sinh hóa dược bằng kháng sinh thực vật.

So với các loại kháng sinh hóa dược, kháng sinh thảo dược có nhiều ưu điểm như không có hiện tượng kháng thuốc, không tồn dư trong thực phẩm, rất ít độc. Nhiều nghiên cứu ở trong và ngoài nước khẳng định tỏi (*Allium sativum* L.) có tính kháng sinh, có khả năng phòng chống nhiều loại vi khuẩn, nấm, vi rút,... phòng trị các bệnh cúm, đường ruột, điều trị vết thương,... tăng tính ngon miệng, giải độc, ức chế nấm mốc, côn trùng, tẩy uế môi trường, nâng cao chất lượng thịt. Trong tỏi tươi có chứa nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học bao gồm các hợp chất sulfua hữu cơ, saponin, polysaccarit, các phenolic trong đó có allicin – hợp chất của sulfua hữu cơ được hình thành khi tép tỏi được nghiền nát, có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, chống vi rút, chống kí sinh trùng.

Trong tài liệu “Garlic clove extract assisted silver nanoparticle-antibacterial, antibiofilm, antihelminthic, anti-inflammatory, anticancer and ecotoxicity assessment (*Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2019), nhóm tác giả Vijayakumar S. và cộng sự đã nghiên cứu tổng hợp các hạt nano bạc từ sử dụng chiết xuất tỏi là chất khử cho thấy cho thấy hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn đối với MRSA (tụ cầu vàng kháng methicillin) và *P. aeruginosa*; tác dụng kháng viêm và chống tế bào ung thư MCF-7 mà không gây độc tính và hệ này thân thiện với môi trường. Việc phối hợp dịch chiết tỏi và

nano bạc giúp tăng vai trò kháng lại các vi khuẩn gây bệnh, kháng viêm và đang được ứng dụng trong y sinh.

Trong sáng chế EP1871395 B1, chiết xuất tỏi nhạy cảm với các yếu tố môi trường và ô nhiễm bởi vi sinh vật; dịch chiết tỏi bị đổi màu nhanh chóng ở nhiệt độ phòng và thậm chí ở 4°C và -20°C, sự đổi màu này là vấn đề chính làm giảm hoạt tính sinh học của các thành phần trong tỏi. Hiện tượng này do quá trình oxy hóa các hợp chất phenolic. Trong sáng chế này, tác giả đã sử dụng chitosan hoặc muối của chitosan để khắc phục tình trạng oxy hóa này.

Thành phần của dịch chiết tỏi tươi có chứa các thành phần như saponin, phenolic dễ tan trong nước nhưng khả năng hấp thu thấp vì chúng không thể vượt qua màng lipid của cơ thể, các thành phần không tan trong nước như các sulfua hữu cơ có kích thước phân tử cao nên thời gian qua màng tế bào khó và chậm từ đó sinh khả dụng thấp và làm giảm hiệu quả sinh học của tỏi.

Trong khi đó, nano bạc khi được sử dụng đơn lẻ, để đạt được hiệu quả diệt khuẩn cần dùng với nồng độ cao. Điều này không những có thể gây các tác dụng phụ ảnh hưởng đến sức khỏe và gây ô nhiễm môi trường, mà còn dẫn đến sự kháng thuốc của các vi sinh vật và lượng nano bạc thải ra môi trường có thể lắng đọng thành trầm tích và đất, một số có thể tồn tại ở trong nước và bị các sinh vật dưới nước hấp thụ/ ăn vào, có thể thông qua các động vật dưới nước để tiếp xúc với con người từ đó làm tăng khả năng kháng thuốc của các loại vi khuẩn. Đồng thời, các hạt nano bạc này tồn tại trong nước thải làm tiêu diệt một số vi sinh vật cần thiết cho việc xử lý nước thải, nước thải không được xử lý dẫn đến ô nhiễm môi trường. Các hạt nano bạc thường được nano hóa bằng các chất hóa học có thể gây ô nhiễm môi trường và nếu còn dư lại chất khử hóa học sau khi nano có thể gây nguy hiểm cho động vật.

Ngoài ra, thành phần phenolic của dịch chiết tỏi và nano bạc là những chất dễ bị oxy hóa bởi môi trường làm giảm đi tác dụng sinh học và hạn sử dụng của nó. Những nhược điểm này làm giảm tác dụng của chế phẩm khi sử dụng. Câu hỏi đặt ra là cần tìm kiếm dạng bào chế thích hợp để khắc phục các nhược điểm trên giúp cho các thành phần của dịch chiết tỏi và bạc có thể dễ dàng hấp thu được ở đường tiêu hóa của động vật, sử dụng với liều thấp, có thể bảo quản trong thời gian dài và thuận tiện sử dụng, thân thiện với môi trường, an toàn khi sử dụng đồng thời giá thành không quá cao. Do vậy, khi nano hóa dịch chiết tỏi

phối hợp nano bạc bằng phương pháp xanh và nhũ hóa các hoạt chất trong dạng bào chế của sản phẩm này sẽ khắc phục được các nhược điểm hiện tại, làm giảm kích thước tiểu phân, làm tăng độ hòa tan vào lipid của dược chất, làm giảm nồng độ của nano bạc, tăng sinh khả dụng, tăng độ bền của các chất với sự ảnh hưởng của môi trường.

Sáng chế này tập trung bào chế hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc. Trong đó: (1) các hạt nano bạc được điều chế bằng phương pháp xanh từ dịch chiết của tỏi; (2) các thành phần sulfua hữu cơ không tan trong nước và các thành phần saponin, phenolic tan trong nước của dịch chiết tỏi được nano hóa và nhũ hóa bằng cách sử dụng chất nhũ hóa poloxamer 407; (3) các hoạt chất này và nano bạc sau đó được bọc bởi hệ chất mang alginat/ cacboxy methyl xenluloza tạo thành hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc, nhằm phòng ngừa và điều trị các bệnh cúm, đường ruột, điều trị vết thương,... ở gia cầm với thời gian sử dụng lâu dài.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế nhằm khắc phục được nhược điểm không qua được màng lipid của các hoạt chất tan trong nước và độ tan kém của các hoạt chất không tan trong nước có trong dịch chiết tỏi; đồng thời kết hợp với nano bạc được khử xanh bằng chính dịch chiết tỏi nhằm làm tiến tới thay thế kháng sinh thông thường bằng kháng sinh thực vật từ tỏi và giảm nồng độ nano bạc cần sử dụng, giảm ô nhiễm môi trường.

Cụ thể, sáng chế đề xuất phương pháp nano hóa các hoạt chất trong tỏi bằng chính các polysaccarit tự nhiên được tách chiết từ tỏi, sau đó nhũ hóa các thành phần hoạt chất này bằng chất nhũ hóa poloxamer 407. Đây chính là một điểm sáng tạo của sáng chế, bởi quá trình nano hóa làm giảm kích thước tiểu phân của các hoạt chất và tăng diện tích tiếp xúc với màng sinh học. Đồng thời khi được nhũ hóa bằng poloxamer 407 sẽ làm tăng sức căng bề mặt của các hoạt chất, làm chúng vừa có thể tan được trong nước và vừa tan trong môi trường lipid, từ đó tạo điều kiện thuận lợi để các phân tử hoạt chất được hấp thu màng sinh học hiệu quả hơn. Do vậy, chế phẩm này sẽ dễ dàng hấp thu qua niêm mạc đường tiêu hóa, làm tăng sinh khả dụng, tăng hiệu quả điều trị của sản phẩm và liều sử dụng thấp hơn so với liều thông thường.

Trong hệ nano kháng sinh thực vật này, chúng tôi kết hợp với nano bạc được khử xanh bởi chính các thành phần của dịch chiết tỏi. Các hạt nano bạc được hình thành từ phương pháp xanh có khả năng tương thích tốt trong ứng dụng y sinh vì không có các hóa chất độc hại trong quá trình sản xuất như sản phẩm phụ và lượng chất khử hóa học dư của phản ứng. Hệ nano kháng sinh từ tỏi kết hợp với nano bạc sau đó được bọc bằng hệ chất mang alginat/ cacboxy methyl xenluloza nhằm ngăn cản sự oxy hóa của các thành phần trong hệ khi tiếp xúc với môi trường, từ đó tăng độ bền và thời hạn sử dụng của chế phẩm. Đây là điểm sáng tạo tiếp theo của phương pháp bào chế hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc đề cập trong sáng chế này. Khi kết hợp nano bạc trong hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi sẽ làm tăng hoạt tính kháng khuẩn so với khi sử dụng đơn lẻ, đồng thời giảm lượng nano bạc cần sử dụng mà vẫn đem lại hiệu quả, giảm được sự đề kháng kháng sinh và thân thiện với môi trường.

Phương pháp sản xuất hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc theo sáng chế gồm các bước:

- i) tỏi được bóc sạch vỏ ngoài, giã nát và ép lấy nước, sau đó thêm etanol 96% với tỉ lệ tỏi tươi: etanol 96% là 1:2 (khối lượng: thể tích), chiết xuất trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C, chiết 3 lần, thu dịch chiết;
- ii) dịch chiết được lọc qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc 0,22 μm), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết cồn, bảo quản ở nhiệt độ phòng;
- iii) phần bã chiết tiếp tục được chiết với nước tỉ lệ tỏi tươi: nước là 1:2 (khối lượng: thể tích) trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C, lặp lại 3 lần, thu dịch chiết;
- iv) lọc vô trùng qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc 0,22 μm), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết nước, bảo quản ở nhiệt độ phòng;
- v) gộp dịch chiết cồn và dịch chiết nước của tỏi với tỉ lệ 5:1 đến 5:5 (thể tích: thể tích), thu được dịch chiết A;
- vi) thêm từ từ AgNO_3 0,1M vào dung dịch chiết A với tỉ lệ AgNO_3 : dịch chiết A là 1:7 đến 1:20 (thể tích: thể tích), khuấy liên tục trong 24 giờ, tốc độ khuấy 350 vòng/phút, thu được dung dịch B có chứa dịch chiết tỏi và nano bạc bằng phương pháp khử xanh;
- vii) phân tán poloxamer 407 ở nhiệt độ 0-4°C sao cho nồng độ poloxamer từ 1-7%, ngâm qua đêm thu được dung dịch đồng nhất C;
- viii) thêm từ từ dung dịch B vào dung dịch C đang khuấy với tốc độ 2000 vòng/phút, khuấy tới khi đồng nhất, thu được dung dịch D;

- ix) hòa tan alginat mạch dài với nồng độ 1 mg/ml, thêm dung dịch N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC) trong nước, khuấy 20 phút;
- x) nhỏ từ từ dung dịch N-hydroxysuccinimide (NHS) trong nước vào hỗn hợp ở bước (ix), khuấy 1 giờ, thu được dung dịch alginat đã hoạt hóa;
- xi) ngâm trương nở cacboxy methyl xenluloza (CMC) trong nước sao cho nồng độ CMC là 0,3 - 0,5mg/ml;
- xii) thêm từ từ dung dịch CMC 0,3 - 0,5mg/ml vào dung dịch alginat đã hoạt hóa ở bước (x), thu được hệ chất mang alginat/CMC;
- xiii) nhỏ từ từ dung dịch D vào hệ chất mang alginat/ CMC, khuấy với tốc độ 250 vòng/phút trong 4 giờ, thu được hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ quy trình sản xuất sản phẩm hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.

Hình 2 là phổ FTIR của (1) poloxamer 407, (2) alginat, (3) CMC, (4) dịch chiết tỏi và (5) hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi với nano bạc.

Hình 3 là giản đồ nhiễu xạ tia X của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.

Hình 4 là hình vẽ minh họa hình thái học của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc được khảo sát bằng phương pháp FESEM.

Hình 5 là hình vẽ minh họa sự phân bố kích thước của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.

Hình 6 là hình vẽ minh họa thế zeta của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.

Hình 7 là hình ảnh đường chuẩn allicin bằng phương pháp HPLC-MS.

Hình 8 là hình đánh giá khả năng giải phóng của allicin từ hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc tại các môi trường pH 7,4, pH 6,8, pH 5,0, pH 1,2.

Hình 9 là hình ảnh đường chuẩn của nano bạc bằng phương pháp UV – VIS.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết dựa vào các hình vẽ kèm theo. Sáng chế đề cập đến phương pháp bào chế hệ kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc bằng phương pháp xanh để khử bạc và nano hóa các hoạt chất thiên nhiên từ tỏi. Như thể hiện trên hình 1, phương pháp bào chế hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc theo sáng chế được tiến hành như sau:

Trước hết, tỏi tươi được bóc sạch vỏ ngoài, giã nát và ép lấy nước, sau đó thêm etanol 96% với tỉ lệ tỏi tươi: etanol 96% là 1:2 (khối lượng: thể tích), chiết xuất trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C, chiết 3 lần, thu dịch chiết. Dịch chiết được lọc qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc 0,22 μm), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết còn, bảo quản ở nhiệt độ phòng. Phần bã chiết tiếp tục được chiết với nước tỉ lệ tỏi tươi: nước là 1:2 (khối lượng: thể tích) trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C, lặp lại 3 lần, thu dịch chiết. Lọc vô trùng qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc 0,22 μm), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết nước, bảo quản ở nhiệt độ phòng. Sau đó, gộp dịch chiết còn và dịch chiết nước của tỏi với tỉ lệ 5:1 đến 5:5 (thể tích: thể tích), thu được dịch chiết **A**. Tiếp theo, thêm từ từ AgNO_3 0,1M vào dung dịch chiết **A** với tỉ lệ AgNO_3 : dịch chiết **A** là 1:7 đến 1:20 (thể tích: thể tích), khuấy liên tục trong 24 giờ, tốc độ khuấy 350 vòng/phút, thu được dung dịch **B** có chứa dịch chiết tỏi và nano bạc bằng phương pháp khử xanh. Sau đó, phân tán poloxamer 407 ở nhiệt độ 0-4°C sao cho nồng độ poloxamer từ 1-7% (khối lượng: thể tích), ngâm qua đêm thu được dung dịch đồng nhất **C**; thêm từ từ dung dịch **B** vào dung dịch **C** đang khuấy với tốc độ 2000 vòng/phút, khuấy tới khi đồng nhất, thu được dung dịch **D**. Tiếp đó chuẩn bị dung dịch hoạt hóa alginat bằng hòa tan alginat mạch dài với nồng độ 1 mg/ml, thêm dung dịch EDC trong nước, khuấy 20 phút; thêm từ từ dung dịch NHS trong nước vào hỗn hợp, khuấy 1 giờ, thu được dung dịch alginat đã hoạt hóa. Sau đó ngâm trương nở cacboxy methyl xenluloza (CMC) trong nước sao cho nồng độ CMC là 0,3 - 0,5 mg/ml. Chuẩn bị hệ chất mang alginat /CMC bằng cách thêm từ từ dung dịch CMC 0,3 - 0,5 mg/ml vào dung dịch alginat đã hoạt hóa. Cuối cùng, nhỏ từ từ dung dịch **D** vào hệ chất mang alginat/ CMC, khuấy với tốc độ 250 vòng/phút trong 4 giờ, thu được hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.

Các tác giả sáng chế đã tiến hành đo phổ hấp thụ hồng ngoại (FTIR) của hệ nano kháng sinh từ thực vật tỏi kết hợp với nano bạc. Hình 2 là phổ hồng

ngoại FTIR của dịch chiết tỏi, nano bạc, alginat, CMC, poloxamer 407 và hệ kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc. Cụ thể, hình 2 – (1) là phổ hồng ngoại của poloxamer 407 được đặc trưng bởi các cực đại hấp thụ chính ở 2888 cm^{-1} (C - H sp^3), 1344 cm^{-1} (trong mặt phẳng uốn cong O - H) và 1111 cm^{-1} (C - O). Trên phổ FTIR của Alginat xuất hiện các dao động đặc trưng của các liên kết -OH (3450 cm^{-1}), CH sp^3 (2900 cm^{-1}), C-O-C (1042 cm^{-1}), C=O (1630 cm^{-1}). Từ phổ FTIR của CMC, có sự xuất hiện của dải hấp thụ mạnh ở 1623 cm^{-1} cho thấy sự hiện diện của nhóm cacboxyl -COO-; băng sóng hấp thụ rộng ở 3448 cm^{-1} cho thấy tần số kéo dài của nhóm -OH; dao động kéo dài của nhóm C-H thể hiện ở số sóng 2921 cm^{-1} ; băng sóng ở 1430 cm^{-1} và 1059 cm^{-1} tương ứng với dao động biến dạng của nhóm -CH₂ và CH-O-CH₂ kéo dài. Trong phổ hồng ngoại của nguyên liệu dịch chiết tỏi, cũng xuất hiện các đỉnh đặc trưng cho các nhóm chức tại các số sóng tương ứng 3403 cm^{-1} (-OH), 2931 cm^{-1} (-CH sp^3), 1635 cm^{-1} (C=O), 1062 cm^{-1} (C-O-C). Những đỉnh đặc trưng của các nguyên liệu ban đầu đều xuất hiện trong phổ FTIR của hệ kháng sinh từ thực vật tỏi kết hợp với nano bạc với sự dịch chuyển số sóng tương ứng: 3428 cm^{-1} (-OH), 2920 cm^{-1} (-CH sp^3), 1628 cm^{-1} (C=O), 1419 cm^{-1} (-CH₂), 1064 cm^{-1} (C-O-C). Như vậy, có thể nhận thấy các đỉnh hấp thụ đặc trưng của các nguyên liệu (poloxamer 407, alginat, CMC, dịch chiết tỏi) đã bị dịch chuyển số sóng khi được nano hóa trong hệ kháng sinh từ thực vật tỏi kết hợp với nano bạc, chứng tỏ quá trình nano hoá các hoạt chất trong hệ chất mang alginat/CMC đã xảy ra.

Hình 3 là giản đồ nhiễu xạ tia X của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc (hệ nano tỏi-bạc), từ giản đồ cho thấy bạc đã được tổng hợp thành công trên hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc, nhưng vẫn còn có lẫn tinh thể muối bạc. Sử dụng công thức Debye Scherrer tính kích thước hạt: $d = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta}$ (Trong đó: $K = 0.9$, $\lambda = 0.5406\text{ nm}$, β = độ bán rộng (radian), θ góc Bragg (độ)). Thu được kích thước tinh thể Ag trong hệ nano tỏi-bạc điều chế được là 34 nm. Tại peak có các vị trí góc $2\theta = 38^\circ, 44^\circ, 64^\circ$ tương ứng với các mặt tinh thể (111), (200), (220) là các peak đặc trưng cho tinh thể nano bạc.

Hình 4 là ảnh chụp FESEM cho hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc, các tiểu phân hệ nano tỏi-bạc có dạng hình cầu, với kích thước nhỏ trong khoảng từ 60 - 80 nm. Kết quả phân bố kích thước theo phương

pháp tán xạ ánh sáng động (hình 5) cho thấy độ phân bố kích thước vẫn còn tương đối rộng. Kích thước trung bình của các hạt thu được bằng phương pháp DLS cao hơn kích thước quan sát được trên ảnh hiển vi điện tử quét (60-80nm), do tương tác của lớp vỏ CMC và alginat. Đồng thời qua hình 6 cho thấy hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc có độ ổn định và bền trong môi trường nước với thế zeta là -30,2 mV.

Các tác giả tiến hành định lượng hàm lượng allicin (thuộc nhóm sulfua hữu cơ) có trong hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc bằng phương pháp HPLC-MS. Kết quả cho thấy đường chuẩn độ phụ thuộc của nồng độ allicin và % diện tích pic là $y = 4,3125x - 373,48$ ($r^2 = 0,987$) (hình 7). Từ đó, tính được hàm lượng allicin trong mẫu thử có nồng độ là 101,4 ppm.

Các tác giả cũng tiến hành đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất Allicin của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc tại các điều kiện pH khác nhau (pH 7,4, pH 6,8, pH 5,0, và pH 1,2), đặc trưng cho các điều kiện khác nhau của môi trường sinh học của cơ thể (hình 8).

Trong điều kiện pH 1,2 (đặc trưng cho môi trường axit của dạ dày), lượng allicin được giải phóng gần như rất thấp, sau 8 giờ đạt 12,2 % và chỉ đạt 26,67 % sau 60 giờ. Điều này chứng tỏ, hệ kháng sinh này bền trong môi trường axit và hạn chế giải phóng thuốc ở dạ dày. Điều này, giúp hoạt chất allicin không bị phân huỷ trong môi trường dạ dày.

Ở pH 5,0 là giá trị pH đặc trưng cho môi trường bệnh lý của dịch tiết viêm, cũng như môi trường nội bào của các đại thực bào bị nhiễm bệnh. Ở môi trường này, sau 24 giờ, có 58,5 % allicin được giải phóng từ hệ kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc, và sau 60 giờ, lượng allicin được giải phóng đạt 71,45 %. Do đó, hệ kháng sinh có khả năng giải phóng các loại thuốc tốt tại vị trí viêm, có khả năng điều trị bệnh lý truyền nhiễm.

Ở điều kiện pH 6,8 (đặc trưng cho môi trường đại tràng, đoạn đầu ruột non của hệ thống tiêu hoá, nơi xảy ra phần lớn quá trình hấp thu thuốc vào máu), lượng allicin được giải phóng chủ yếu trong 8 giờ đầu đạt 44,5 % và đạt 81,35 % sau 60 giờ. Do vậy, hệ kháng sinh này có thể giải phóng hoạt chất allicin ở ruột non (pH 6,8 - 7,4), là môi trường lý tưởng cho sự hấp thu thuốc vào máu, làm tăng sinh khả dụng của thuốc.

Trong điều kiện pH sinh lý 7,4, sau thời gian 4 giờ, allicin được giải phóng từ hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc nhanh và khá hoàn toàn, khoảng 31,5 % allicin đã được giải phóng trong vòng 4 giờ đầu tiên, và sau đó nhanh chóng tăng lên 64,67 % sau 8 giờ. Sau 60 giờ, lượng allicin được giải phóng từ hệ nano tỏi đạt 96,8 %.

Các tác giả cũng đã tiến hành định lượng hàm lượng nano bạc có trong hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc bằng phương pháp quang phổ UV-VIS. Hình 9 biểu thị mối liên quan tuyến tính giữa nồng độ và độ hấp thụ quang của nano bạc được thể hiện bằng phương trình $y = 0.0132x + 0.1072$ ($R^2 = 0.9978$; x là nồng độ nano bạc, y là độ hấp thụ của nano bạc). Từ đó xác định được nồng độ của bạc có trong hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc là 105,33 ppm.

Các tác giả tiến hành đánh giá giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ ức chế tối đa 50% (IC_{50}) khi sử dụng hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc so với khi sử dụng đơn độc nano tỏi hoặc dịch chiết tỏi trên các chủng vi khuẩn Gram (+) và Gram (-). Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Giá trị IC_{50} và MIC của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc (hệ nano tỏi-bạc) so với nano tỏi và dịch chiết tỏi

Tên mẫu	Giá trị ($\mu\text{g/ml}$)	Gram (+)			Gram (-)		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Hệ nano tỏi-bạc	IC_{50}	$0,52 \pm 0,07$	$3,53 \pm 0,42$	$4,15 \pm 0,5$	$2,02 \pm 0,21$	$1,40 \pm 0,16$	$0,61 \pm 0,03$
	MIC	5,0	>5	>5	5,0	5,0	1,0
Nano tỏi	IC_{50}	$4,67 \pm 0,28$	>5	>5	$4,32 \pm 0,21$	>5	$3,88 \pm 0,15$
	MIC	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Dịch chiết tỏi	IC_{50}	$25,35 \pm 1,82$	$38,47 \pm 2,25$	$29,41 \pm 0,91$	$55,79 \pm 2,67$	$61,29 \pm 1,55$	$46,25 \pm 3,28$
	MIC	150	>150	>150	>150	>150	150

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là nồng độ thấp nhất của hệ nano tỏi-bạc hoặc hệ nano tỏi hoặc dịch chiết tỏi mà tại đó xuất hiện vòng vô khuẩn, nên nồng độ ức chế tối thiểu càng thấp thì khả năng kháng khuẩn càng cao. Nồng độ ức chế tối đa 50% cho biết lượng chất ức chế cụ thể cần thiết để ức chế. Kết quả trình bày ở bảng 1 cho thấy, trên các chủng *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus fermentum*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, nồng độ MIC khi sử dụng hệ kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc xấp xỉ bằng nồng độ MIC khi dùng hệ nano tỏi ($\sim 5,0 \mu\text{g/ml}$) nhưng IC_{50} của hệ nano tỏi-bạc cần sử dụng để ức chế thấp hơn so với khi sử dụng nano tỏi và MIC khi sử dụng hệ nano tỏi-bạc thấp hơn gấp 30 lần khi dùng dịch chiết tỏi. Trên chủng *Pseudomonas aeruginosa*, MIC khi dùng hệ kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc thấp hơn 5 lần khi dùng hệ nano tỏi và thấp hơn gấp 150 lần so với khi dùng dịch chiết tỏi; IC_{50} của hệ nano tỏi-bạc ($0,61 \mu\text{g/ml}$) cần sử dụng để ức chế thấp hơn so với khi sử dụng nano tỏi ($3,88 \mu\text{g/ml}$) và dịch chiết tỏi ($46,25 \mu\text{g/ml}$). Từ các kết quả được trình bày trong bảng 1, khẳng định được hoạt tính kháng khuẩn của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc tốt hơn hệ nano tỏi và dịch chiết tỏi.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế trở nên rõ ràng hơn qua những ví dụ dưới đây. Tuy nhiên, đây không phải giới hạn thực hiện sáng chế.

Ví dụ 1. 0,5 kg tỏi tươi được bóc sạch vỏ ngoài, giã nát và ép lấy nước, sau đó thêm 1 lít etanol 96%, chiết xuất trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C , chiết 3 lần, thu dịch chiết. Dịch chiết được lọc qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc $0,22 \mu\text{m}$), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết còn, bảo quản ở nhiệt độ phòng. Phần bã chiết tiếp tục được chiết với 1 lít nước trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C , lặp lại 3 lần, thu dịch chiết. Lọc vô trùng qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc $0,22 \mu\text{m}$), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết nước, bảo quản ở nhiệt độ phòng. Sau đó, gộp dịch chiết còn và dịch chiết nước của tỏi với tỉ lệ 5:1 (thể tích: thể tích), thu được dịch chiết A. Tiếp theo, thêm từ từ AgNO_3 0,1M vào dung dịch chiết A với tỉ lệ AgNO_3 : dịch chiết A là 1:7 (thể tích: thể tích), khuấy liên tục trong 24 giờ, tốc độ khuấy 350 vòng/phút, thu được dung dịch B có chứa dịch chiết tỏi và nano bạc bằng phương pháp khử xanh. Sau đó, phân tán poloxamer 407 ở nhiệt độ $0-4^{\circ}\text{C}$ sao cho nồng độ poloxamer từ 4% (khối lượng/ thể tích) ngâm qua

đem thu được dung dịch đồng nhất **C**; thêm từ từ dung dịch **B** vào dung dịch **C** đang khuấy với tốc độ 2000 vòng/phút, khuấy tới khi đồng nhất, thu được dung dịch **D**. Tiếp đó chuẩn bị dung dịch hoạt hóa alginat bằng hòa tan alginat mạch dài với nồng độ 1 mg/ml, thêm dung dịch EDC trong nước, khuấy 20 phút; nhỏ từ từ dung dịch NHS trong nước vào hỗn hợp, khuấy 1 giờ, thu được dung dịch alginat đã hoạt hóa. Sau đó ngâm trương nở CMC trong nước sao cho nồng độ CMC là 0,4 mg/ml. Chuẩn bị hệ chất mang alginat /CMC bằng cách thêm từ từ dung dịch CMC 0,4 mg/ml vào dung dịch alginat đã hoạt hóa. Cuối cùng, nhỏ từ từ dung dịch **D** vào hệ chất mang alginat/ CMC, khuấy với tốc độ 250 vòng/phút trong 4 giờ, thu được hệ nano kháng sinh thực vật từ tảo kết hợp với nano bạc.

Ví dụ 2. 0,5 kg tỏi tươi được bóc sạch vỏ ngoài, giã nát và ép lấy nước, sau đó thêm 1 lít etanol 96%, chiết xuất trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C, chiết 3 lần, thu dịch chiết. Dịch chiết được lọc qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc 0,22 μm), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết còn, bảo quản ở nhiệt độ phòng. Phần bã chiết tiếp tục được chiết với 1 lít nước trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C, lặp lại 3 lần, thu dịch chiết. Lọc vô trùng qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc 0,22 μm), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết nước, bảo quản ở nhiệt độ phòng. Sau đó, gộp dịch chiết còn và dịch chiết nước của tỏi với tỉ lệ 5:2 (thể tích: thể tích), thu được dịch chiết **A**. Tiếp theo, thêm từ từ AgNO_3 0,1M vào dung dịch chiết **A** với tỉ lệ AgNO_3 : dịch chiết **A** là 1:10 (thể tích: thể tích), khuấy liên tục trong 24 giờ, tốc độ khuấy 350 vòng/phút, thu được dung dịch **B** có chứa dịch chiết tỏi và nano bạc bằng phương pháp khử xanh. Sau đó, phân tán poloxamer 407 ở nhiệt độ 0 – 4°C sao cho nồng độ poloxamer từ 5% (khối lượng/ thể tích) ngâm qua đêm thu được dung dịch đồng nhất **C**; thêm từ từ dung dịch **B** vào dung dịch **C** đang khuấy với tốc độ 2000 vòng/phút, khuấy tới khi đồng nhất, thu được dung dịch **D**. Tiếp đó chuẩn bị dung dịch hoạt hóa alginat bằng hòa tan alginat mạch dài với nồng độ 1 mg/ml, thêm dung dịch EDC trong nước, khuấy 20 phút; nhỏ từ từ dung dịch NHS trong nước vào hỗn hợp, khuấy 1 giờ, thu được dung dịch alginat đã hoạt hóa. Sau đó ngâm trương nở CMC trong nước sao cho nồng độ CMC là 0,4 mg/ml. Chuẩn bị hệ chất mang alginat /CMC bằng cách thêm từ từ dung dịch CMC 0,4 mg/ml vào dung dịch alginat đã hoạt hóa. Cuối cùng, nhỏ từ từ dung dịch **D** vào hệ chất mang alginat/ CMC, khuấy với tốc độ 250 vòng/phút trong 4 giờ, thu được hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.

Những lợi ích (hiệu quả) có thể đạt được

Sáng chế này đề xuất phương pháp bào chế hệ nano kháng sinh thực vật từ tảo kết hợp với nano bạc nhằm khắc phục được nhược điểm kém tan, khó hấp thu qua màng sinh học do kích thước phân tử lớn và khó tan trong lipid của các hoạt chất của dịch chiết tảo, bào chế nano bạc bằng phương pháp xanh giúp giảm ô nhiễm, thân thiện với môi trường, đồng thời giải quyết được những hạn chế trong bảo quản của dịch chiết tảo và nano bạc. Hiệu quả kỹ thuật của sáng chế được thể hiện ở bốn yếu tố chính:

Thứ nhất, trong dịch chiết tảo có chứa các thành phần có hoạt tính sinh học như sulfua hữu cơ, saponin, phenolic nhưng khó tan trong lipid và có kích thước tiểu phân lớn nên khó hấp thu được qua màng sinh học trong đường tiêu hóa. Việc nano hóa và bọc chúng trong các polysaccarit tự nhiên từ chính dịch chiết của tảo sau đó nhũ hóa các thành phần trong dịch chiết tảo bằng poloxamer 407 ở dạng bào chế này làm giảm kích thước tiểu phân của hoạt chất và tăng được độ hòa tan trong lipid, phát huy được tác dụng dược lý của dịch chiết tảo, từ đó làm tăng khả năng hấp thu qua niêm mạc đường tiêu hóa.

Thứ hai, việc bọc các hạt nano bạc và dịch chiết tảo bằng hệ chất mang alginat/CMC giúp phân tán đồng đều các tiểu phân trong môi trường, bảo vệ nano bạc và các thành phần phenolic trong dịch chiết tảo không bị oxy hóa giúp cho hệ có thể bảo quản được trong thời gian dài mà không bị giảm hoạt tính sinh học.

Thứ ba, việc sử dụng dịch chiết tảo phối hợp nano bạc – được khử bằng phương pháp xanh làm tăng tác dụng sinh học của chúng so với khi sử dụng đơn lẻ, đồng thời góp phần làm giảm sự kháng kháng sinh và sự ô nhiễm môi trường do các nhóm kháng sinh và các chất hóa học trong quá trình khử bạc, an toàn với đối tượng sử dụng, khai thác có hiệu quả tiềm năng về thiên nhiên. Đồng thời việc nano hóa các hoạt chất trong dịch chiết giúp giảm được liều sử dụng mang lại hiệu quả kinh tế lớn.

Thứ tư, về mặt xã hội, tình trạng kháng kháng sinh và ô nhiễm môi trường đang là vấn đề phổ biến không chỉ tại Việt Nam mà còn khắp nơi trên thế giới. Sự kháng kháng sinh làm cho nguồn tài nguyên về kháng sinh cạn kiệt trong điều trị đặc hiệu các loại vi khuẩn, ảnh hưởng đến tình trạng sức khỏe của toàn cầu. Ô nhiễm môi trường gây sự biến đổi khí hậu làm tăng thiên tai, thảm họa nó tác động gián tiếp đến sức khỏe con người, gây bệnh, tăng khả năng bùng phát dịch bệnh; con người đang phải đối mặt với những ảnh hưởng mà nó mang lại.

Vì thế, việc tận dụng các nguồn dược liệu có sẵn bào chế kháng sinh từ thực vật kết hợp với các phương pháp nano hóa mang lại hiệu quả cao, chi phí thấp và thân thiện với môi trường.

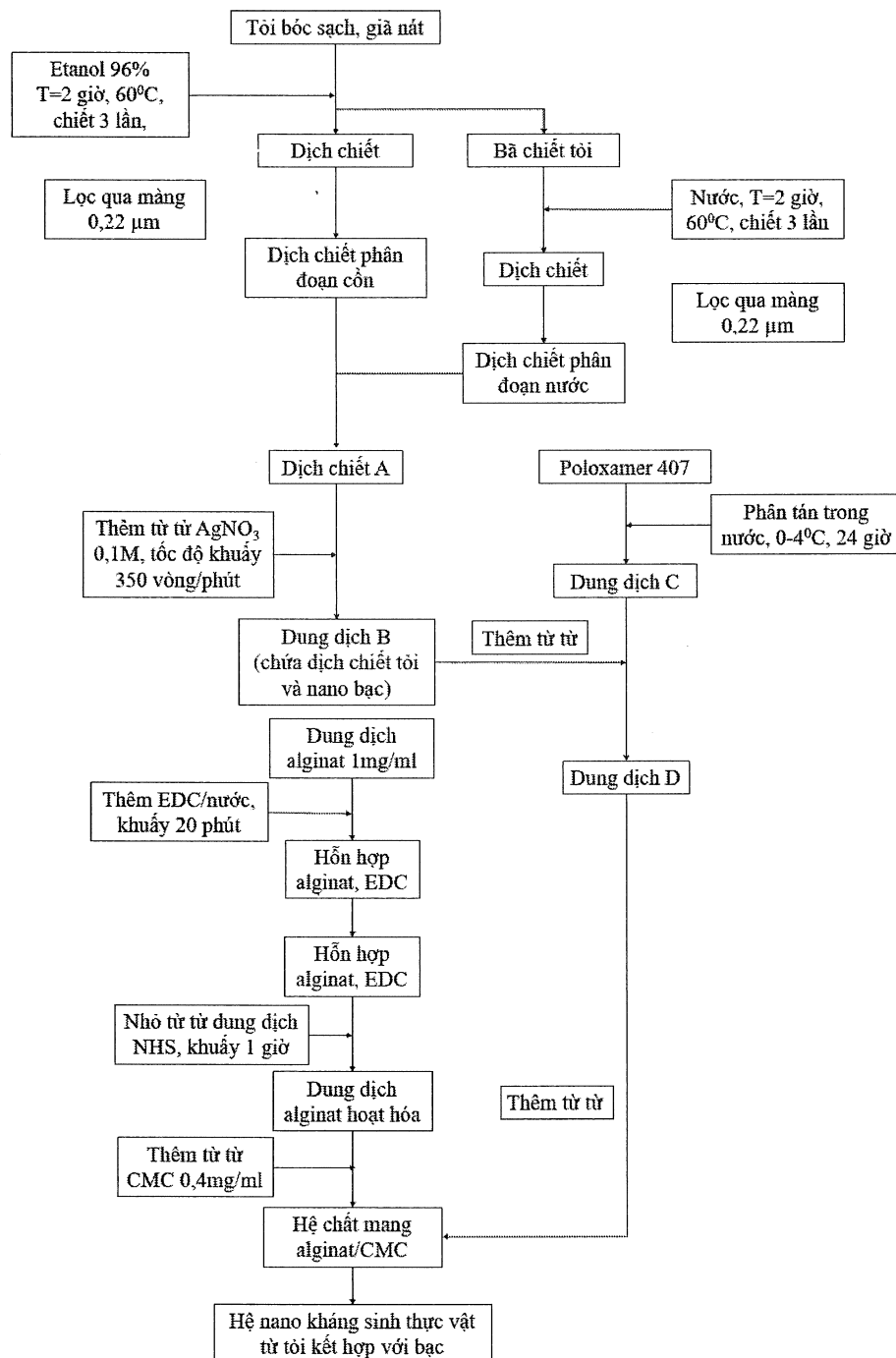
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp bào chế hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc bao gồm các bước:

- i) tỏi được bóc sạch vỏ ngoài, giã nát và ép lấy nước, sau đó thêm etanol 96% với tỉ lệ tỏi tươi: etanol 96% là 1:2 (khối lượng: thể tích), chiết xuất trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C, chiết 3 lần, thu dịch chiết;
- ii) dịch chiết được lọc qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc 0,22 μm), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết cồn, bảo quản ở nhiệt độ phòng;
- iii) phần bã chiết tiếp tục được chiết với nước tỉ lệ tỏi tươi: nước là 1:2 (khối lượng: thể tích) trong 2 giờ, nhiệt độ 60°C, lặp lại 3 lần, thu dịch chiết;
- iv) lọc vô trùng qua màng xenluloza (đường kính lỗ lọc 0,22 μm), thu được dịch chiết ở phân đoạn chiết nước, bảo quản ở nhiệt độ phòng;
- v) gộp dịch chiết cồn và dịch chiết nước của tỏi với tỉ lệ 5:1 đến 5:5 (thể tích: thể tích), thu được dịch chiết A;
- vi) thêm từ từ AgNO_3 0,1M vào dung dịch chiết A với tỉ lệ AgNO_3 : dịch chiết A là 1:7 đến 1:20 (thể tích: thể tích), khuấy liên tục trong 24 giờ, tốc độ khuấy 350 vòng/phút, thu được dung dịch B có chứa dịch chiết tỏi và nano bạc bằng phương pháp khử xanh;
- vii) phân tán poloxamer 407 ở nhiệt độ 0 – 4°C sao cho nồng độ poloxamer từ 1-7%, ngâm qua đêm thu được dung dịch đồng nhất C;
- viii) thêm từ từ dung dịch B vào dung dịch C đang khuấy với tốc độ 2000 vòng/phút, khuấy tới khi đồng nhất, thu được dung dịch D;
- ix) hòa tan alginat mạch dài với nồng độ 1 mg/ml, thêm dung dịch N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydroclorua trong nước, khuấy 20 phút;
- x) nhỏ từ từ dung dịch N-hydroxysuccinimide trong nước vào hỗn hợp ở bước (ix), khuấy 1 giờ, thu được dung dịch alginat đã hoạt hóa;
- xi) ngâm trương nở cacboxy methyl xenluloza trong nước sao cho nồng độ CMC là 0,3 – 0,5 mg/ml;
- xii) thêm từ từ dung dịch cacboxy methyl xenluloza 0,3 - 0,5 mg/ml vào dung dịch alginat đã hoạt hóa ở bước (x), thu được hệ chất mang alginat/cacboxy methyl xenluloza;
- xiii) nhỏ từ từ dung dịch D vào hệ chất mang alginat/ cacboxy methyl xenluloza, khuấy với tốc độ 250 vòng/phút trong 4 giờ, thu được hệ kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.

2. Hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc thu được theo phương pháp nêu trong điểm 1, trong đó allicin từ tỏi với hàm lượng 101,4 ppm, nồng độ nano bạc 105,33 ppm, kích thước hạt từ 60-80 nm, và hệ nano kháng sinh này có dạng dung dịch màu vàng nâu, trong suốt, thế zeta có giá trị tuyệt đối trên 30 mV, và có khả năng tiêu diệt vi khuẩn có hại trong chăn nuôi gia cầm.

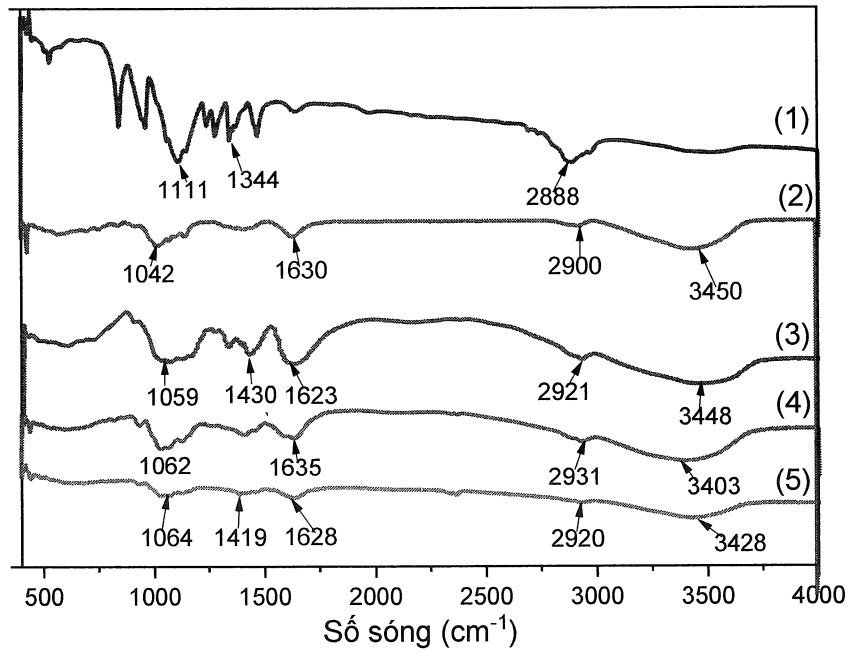
Hình 1. Sơ đồ quy trình sản xuất sản phẩm hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.



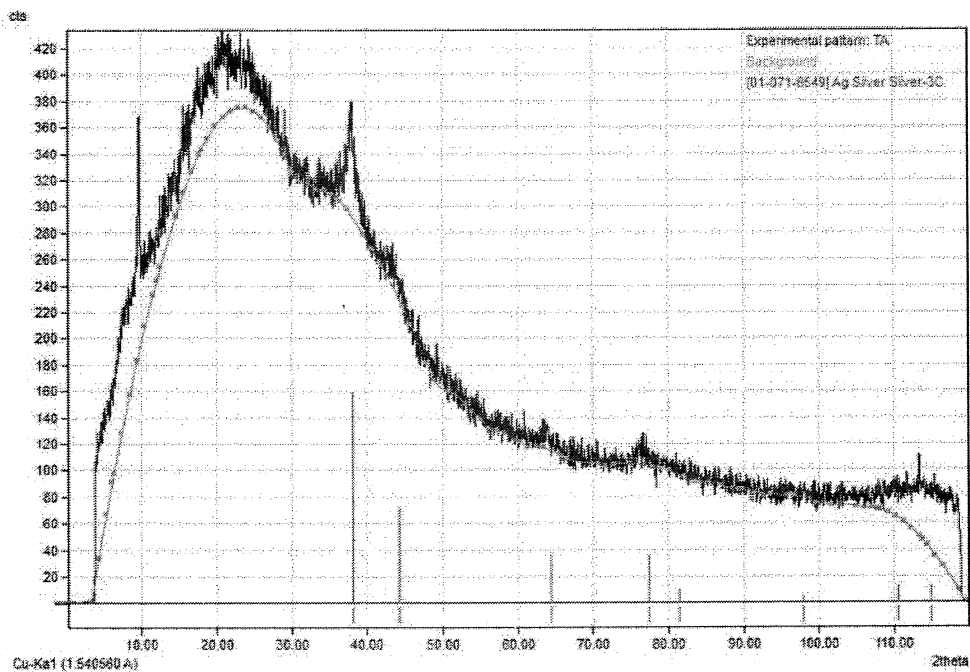
Chú thích: EDC: N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid hydrocloric;

NHS : N-Hydroxysuccinimid; CMC : cacboxyl methyl xenlulozơ

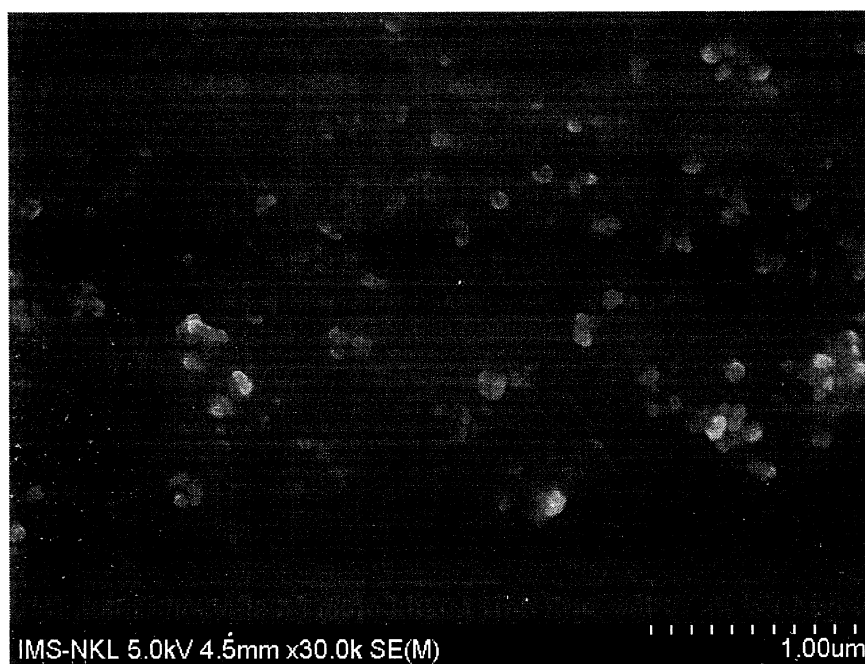
Hình 2. Phổ FT-IR của (1) poloxamer 407, (2) alginat, (3) CMC, (4) dịch chiết tỏi và (5) hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.



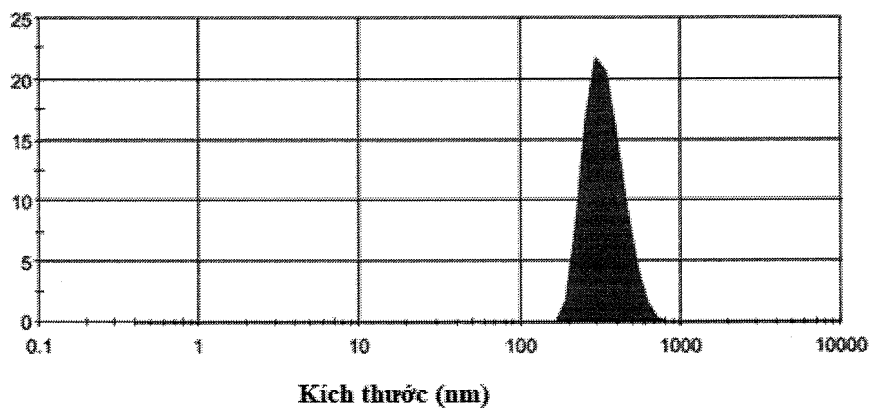
Hình 3. Giảm độ nhiễu xạ tia X của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc



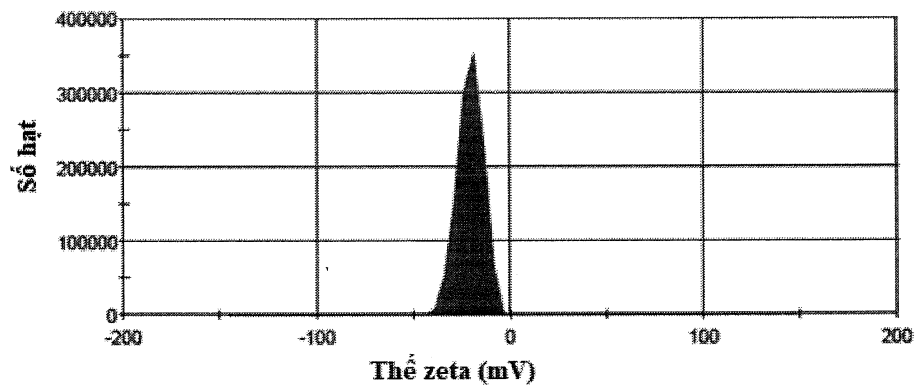
Hình 4. Hình thái học của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc được khảo sát bằng phương pháp FESEM.



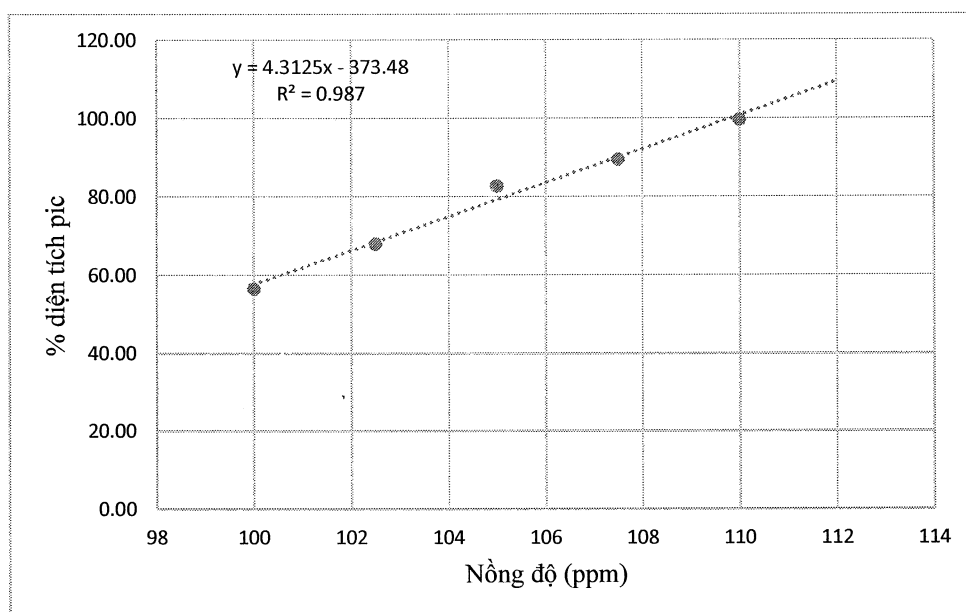
Hình 5. Sự phân bố kích thước của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.



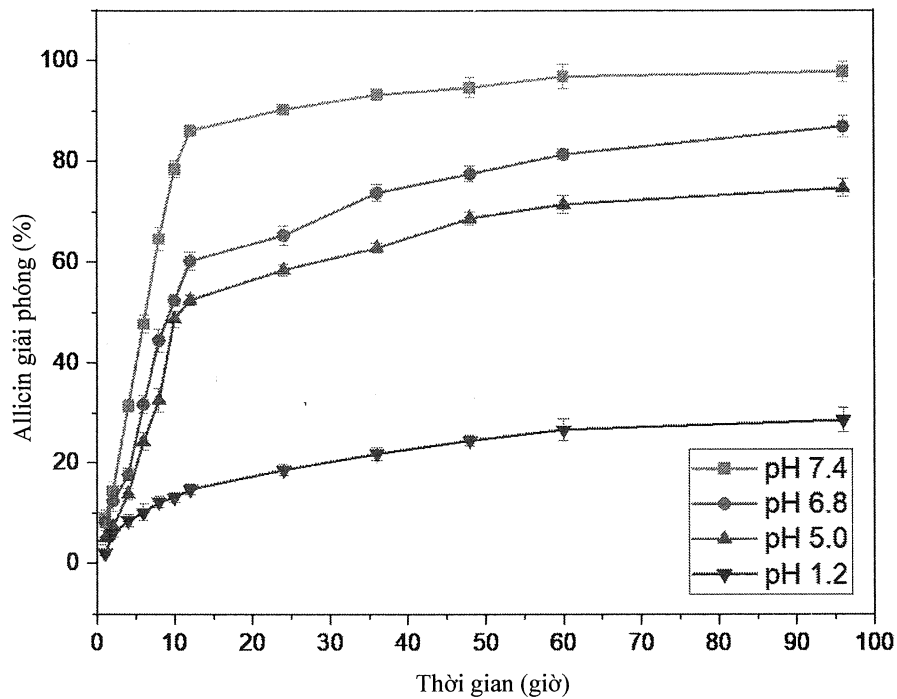
Hình 6. Thế zeta của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc.



Hình 7. Đường chuẩn độ phụ thuộc của nồng độ allicin và % diện tích pic



Hình 8. Khả năng giải phóng hoạt chất Allicin của hệ nano kháng sinh thực vật từ tỏi kết hợp với nano bạc tại các điều kiện pH môi trường khác nhau (pH 7.4, pH 6.8, pH 5.0, và pH 1.2)



Hình 9. Đường chuẩn độ phụ thuộc của nồng độ và độ hấp thụ của bạc

