

NGHIÊN CỨU QUANG XÚC TÁC DIỆT KHUẨN SỬ DỤNG VẬT LIỆU MÀNG TiO_2 DẠNG ỐNG CHẾ TẠO BẰNG PHƯƠNG PHÁP LẮNG ĐỘNG ĐIỆN DI

Nguyễn Thị Khánh Vân^{1,4}, Nguyễn Thị Hà²,
Vũ Hồng Hạnh³, Nguyễn Thị Hiền⁵, Hà Xuân Linh^{6,*},

¹Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên,

²Trường Trung học phổ thông chuyên Trần Phú, Hải Phòng,

³Trường Trung học phổ thông Phạm Ngũ Lão, Hải Phòng,

⁴Trường Đại học Công nghệ - Đại học Quốc gia Hà Nội,

⁵Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên, ⁶Khoa Quốc tế - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Nghiên cứu này báo cáo về khả năng diệt khuẩn *Escherichia coli* bằng phương pháp quang xúc tác sử dụng vật liệu ống nano TiO_2 (TNT) dạng màng mỏng chế tạo bằng phương pháp điện di. Kết quả cho thấy sau khi chế tạo các ống nano TiO_2 có đường kính khoảng 8 nm, chiều dài ống khoảng 200 đến 450 nm và kích thước các ống tăng khi ủ nhiệt ở 500°C với thành phần pha anatase. Màng TNT có khả năng tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn E.coli nồng độ 10^6 CFU/ml trong thời gian 30 phút chiếu xạ đèn UVA do sự phân hủy của màng tế bào.

Từ khóa: TiO_2 dạng ống; lắng động điện di; quang xúc tác; diệt khuẩn; vi khuẩn *Escherichia coli*.

Ngày nhận bài: 25/3/2020; Ngày hoàn thiện: 15/5/2020; Ngày đăng: 21/5/2020

RESEARCH OF OPTICAL EXPLOITATION ON THE USE OF TiO_2 FILTER MATERIALS MANUFACTURED BY ELECTROPHORESIS METHOD

Nguyen Thi Khanh Van^{1,4}, Nguyen Thi Ha²,
Vu Hong Hanh³, Nguyen Thi Hien⁵, Ha Xuan Linh^{6,*}

¹TNU - University of Science,

²Tran Phu High School, Hai Phong, ³Pham Ngu Lao High School, Hai Phong,

⁴VNU - University of Engineering and Technology

⁵TNU - University of Medicine Pharmacy, ⁶TNU - International School

ABSTRACT

This study reports the ability of photocatalytic disinfection of *Escherichia Coli* using thin film TiO_2 (TNT) nanotube material made by electrophoresis method. The results showed that the average diameter of TNT was 8 nm with 200–450 nm in length. The average crystalline size increased with the increase of the calcination temperature. TNT membrane was able to completely destroy bacteria with concentration 10^6 CFU/ml during 30 minutes of UVA lamp irradiation due to the breakdown of the cell membrane.

Keywords: TiO_2 nanotubes; electrodeposition; photocatalysis; antibacterial; *Escherichia coli*.

Received: 25/3/2020; Revised: 15/5/2020; Published: 21/5/2020

* Corresponding author. Email: haxuanlinh@tnu.edu.vn

1. Giới thiệu

Việt Nam là nước khí hậu nhiệt đới nên thuận lợi cho hầu hết các vi sinh vật gây hại như *Vibrio cholera*, *Salmonella*, *Shigella*, *Coliform*, *Escherichia coli* phát triển gây ra các bệnh như viêm dạ dày, tiêu chảy, thương hàn,... Trong đó *Escherichia coli* (*E.coli*) một loài vi khuẩn có khả năng gây bệnh về đường ruột thường được dùng làm vi sinh vật chỉ thị cho mức độ ô nhiễm nguồn nước. Do đó, loại bỏ các thành phần vi sinh vật gây bệnh, đặc biệt khuẩn *E.coli* là một vấn đề cần thiết. Thực tế, quang xúc tác bằng tia cực tím (UV) sử dụng vật liệu thương mại TiO_2 thường hay được lựa chọn do không độc, chi phí hợp lý và có khả năng diệt khuẩn cao [1]. Năm 2003 tác giả Sunada và cộng sự đã công bố chế tạo màng nano TiO_2 trên thủy tinh bằng phương pháp nhúng phủ có khả năng tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn *E.coli* sau 90 phút chiếu xạ ở nồng độ 2×10^5 CFU/ml [2]. Cơ chế tiêu diệt vi khuẩn đã được Foster và cộng sự [3] nghiên cứu và cho thấy gốc $\text{O}_2^\cdot$, $\text{OH}^\cdot$ sinh ra trong quá trình oxi hóa quang xúc tác đã phá hủy màng tế bào của vi khuẩn dẫn đến cái chết của tế bào vi khuẩn. Nói chung, sử dụng TiO_2 kết hợp ánh sáng mặt trời để diệt khuẩn chủ yếu sử dụng vật liệu TiO_2 ở dạng huyền phù do khả năng phân tán cao trong nước làm tăng khả năng tiếp xúc giữa vật liệu và vi khuẩn để quá trình khử trùng diễn ra nhanh chóng và đạt hiệu quả cao. Tuy nhiên, nhược điểm chính khi sử dụng xúc tác ở dạng huyền phù là cần phải tách chất xúc tác sau phản ứng ra khỏi nước để tái sử dụng lại [1]. Vì vật liệu xúc tác quang có cấu trúc nano nên ở trạng thái lơ lửng, việc tách vật liệu bằng cách lắng và lọc khi thực hiện trong điều kiện lượng nước xử lý lớn sẽ trở nên tốn kém và phức tạp nhiều, ngoài ra hàm lượng chất xúc tác sử dụng cao và hiệu quả diệt khuẩn dưới ánh sáng mặt trời còn thấp. Do đó tạo vật liệu dạng màng mỏng gắn cố định trên giá dạng hạt hay dạng tấm phẳng sẽ tránh được việc tách các chất xúc tác [4], [5]. Ngoài ra, TiO_2

với độ rộng vùng cấm khoảng 3.0-3.3eV, chỉ tham gia xúc tác trong vùng ánh sáng tử ngoại nên chỉ có 3-5% năng lượng ánh sáng mặt trời có thể được sử dụng. Do đó, để tăng hiệu suất xúc tác quang của vật liệu TiO_2 có hai hướng được sử dụng: biến tính vật liệu để thu hẹp khe năng lượng bằng cách thay thế một phần ion Ti^{4+} , O^{2-} bằng các ion kim loại, phi kim để làm dịch bờ hấp thụ về phía bước sóng dài và làm tăng hiệu ứng quang xúc tác trong vùng ánh sáng nhìn thấy hoặc tăng cường diện tích bề mặt bằng cách chế tạo vật liệu TiO_2 cấu trúc ống, sợi nano nhằm tăng hiệu suất quang xúc tác [6]. Dưới dạng ống nano, không những diện tích bề mặt của vật liệu nano TiO_2 tăng lên mà các tính chất quang, điện của nó cũng được thay đổi nhiều [6].

Trong bài báo này, nhóm tác giả tiếp cận theo con đường tăng diện tích tiếp xúc giữa vật liệu và vi khuẩn bằng cách chế tạo ống nano TiO_2 sử dụng phương pháp thủy nhiệt sau đó tạo thành màng trên đế dẫn điện trong suốt truyền qua (ITO) bằng phương pháp lắng đọng điện di (EPD) ứng dụng quang xúc tác diệt khuẩn *E.coli*.

2. Thực nghiệm

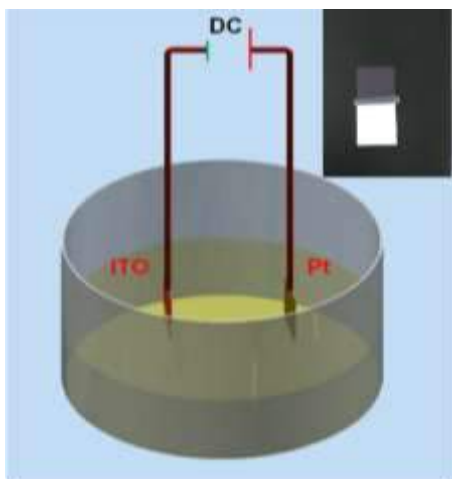
2.1. Chế tạo vật liệu

Vật liệu TiO_2 được tổng hợp từ nguyên liệu ban đầu là dung dịch NaOH (Showa, Japan) ở nồng độ 10 M với dung môi nước cất hai lần sau đó cho 3 g TiO_2 thương mại P25 (Germany) vào tiến hành trộn đều sử dụng máy rung siêu âm trong 60 phút. Hỗn hợp thu được cho vào bình thủy nhiệt và được giữ ở nhiệt độ 130°C trong 13 h. Mẫu lấy ra hòa vào nước cất hai lần, rung siêu âm, xử lý axit HCl loãng, sau đó tiến hành rửa với nước cất hai lần bằng bộ lọc chân không nhiều lần. Tiếp đó hỗn hợp được sấy khô ở nhiệt độ 100°C trong 24 h. Cuối cùng vật liệu được nghiền nhỏ bằng cối mã não và được nung 500°C trong 2 giờ. Để thuận tiện, các mẫu lần lượt được kí hiệu TNT (vật liệu ống TiO_2 chưa ủ) và TNT-500 (vật liệu ống TiO_2 ủ 500°C).

2.2. Chế tạo màng dạng ống TiO_2 trên đế ITO

Màng dạng ống TiO_2 được hình thành trên đế ITO bằng phương pháp lắng đọng EPD. Trước đó, các tấm ITO được cắt thành những kích thước $1,5 \times 3$ cm sau đó rung siêu âm lần lượt trong các dung môi nước cất hai lần, ethanol và acetone để loại bỏ hết các chất bẩn bám trên bề mặt đế. Tiếp theo, tiến hành sấy khô đế ITO bằng khí Ar và bảo quản trong tủ hút ẩm.

Quá trình tạo màng sử dụng nguồn điện một chiều giá thành thấp với điện áp thay đổi được. Đầu ra của nguồn được kết nối với hai điện cực, điện cực dương là đế ITO, điện cực âm là tấm Pt.



Hình 1. Sơ đồ minh họa quá trình lắng đọng điện di tạo màng TNT, ảnh nhỏ là màng sau khi chế tạo

Để tiến hành thí nghiệm, vật liệu TNT-500 được phân tán tạo thành dung dịch keo sử dụng dung môi isopropylalkohol (IPA) làm môi trường phân tán. Để tạo điện tích trên bề mặt hạt TNT-500, 10^{-1} mol của $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ đã được thêm vào trong dung dịch keo. Màng được chế tạo ở điện áp 75 V với thời gian 3 phút, khoảng cách giữa hai điện cực là 1 cm, diện tích lắng đọng là 1cm^2 . Sau khi chế tạo màng được để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong 1 ngày, sau đó sấy màng ở 50°C trong 12 giờ, để nguội tự nhiên và cất trong hộp bảo quản. Hình 1 là sơ đồ minh họa hệ lắng đọng điện di và ảnh chụp kỹ thuật số của màng mỏng chế tạo được.

2.3. Các đặc trưng hình thái, cấu trúc vật liệu

Hình thái học của vật liệu được xác định sử dụng phương pháp hiển vi điện tử quét (Hitachi FESEM S4800) và kính hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (JEOL JEM-2100F TEM). Cấu trúc của vật liệu được phân tích sử dụng thiết bị quang phổ Raman LabRam HR Evolution Jobin-Yvon. Diện tích bề mặt riêng (BET) của mẫu được xác định tính từ đường đẳng nhiệt hấp phụ nitrogen ở 77 K sử dụng máy Miromeritics, TriStar 3000V6.07A. Quá trình nuôi và xác định khuẩn được tiến hành tại Bộ môn Vi sinh, Trường Đại học Y Dược - Đại học Thái Nguyên.

2.4. Đánh giá khả năng diệt khuẩn của vật liệu ống nano TiO_2

Chuẩn bị dung dịch chứa vi khuẩn *E.coli* với nồng độ 10^6 CFU/ml. Các mẫu và thiết bị được khử trùng bằng tia tử ngoại trong thời gian 20 phút để loại bỏ hết vi sinh vật có sẵn trên bề mặt. Tiếp theo nhỏ 30 μl dịch chứa vi khuẩn nồng độ 10^6 CFU/ml lên bề mặt mỗi mẫu, dàn đều khắp bề mặt. Quá trình diệt khuẩn được thực hiện trong 30 phút với đèn UVA công suất 8 W, khoảng cách từ đèn tới mẫu là 30 cm. Các mẫu sử dụng trong thí nghiệm như trong bảng 1.

Bảng 1. Các mẫu sử dụng trong thí nghiệm

Tên mẫu	Màng ống TiO_2	Đèn UVA
M_1	có	có
M_2	không	có
M_3	không	không

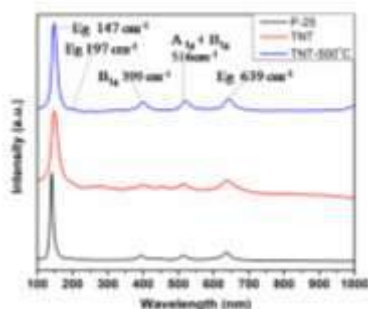
Sau đó tiến hành lấy mẫu, mỗi mẫu cấy đều trên bề mặt thạch với ba nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , đặt đĩa thạch trong tủ ẩm với nhiệt độ 37°C . Sau 24 giờ xác định số lượng vi sinh vật sống sót trên bề mặt mẫu bằng phương pháp đếm khuẩn lạc.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc trưng vật liệu

Hình 2 là phổ Raman của các mẫu TiO_2 (P25 thương mại), TNT chế tạo bằng phương pháp thủy nhiệt khi không ủ và ủ ở 500°C . Kết quả cho thấy, các mẫu tồn tại ở pha anatase thể

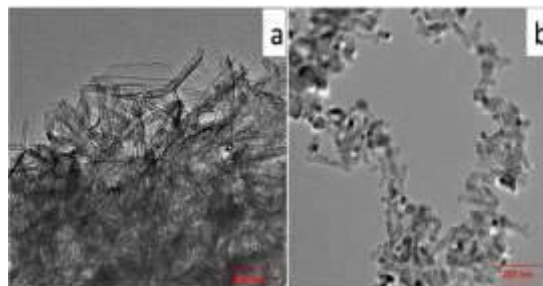
hiện qua các đỉnh đặc trưng tại các vị trí có số sóng là E_g (147 cm^{-1}), E_g (197 cm^{-1}), B_{1g} (399 cm^{-1}), $A_{1g} + B_{1g}$ (516 cm^{-1}), E_g (639 cm^{-1}). Khi mẫu được nung ở nhiệt độ cao mức độ kết tinh của vật liệu tốt hơn thể hiện ở cường độ các đỉnh tăng rõ rệt.



Hình 2. Phổ Raman của vật liệu TiO_2 P25 và TNT khi không ủ và ủ ở 500°C

3.2. Hình thái học của vật liệu của ống TiO_2

Kết quả ảnh TEM cho thấy sau khi phản ứng thủy nhiệt tại nhiệt độ 130°C sản phẩm thu được có dạng ống nano đường kính cỡ 8 nm, chiều dài ống khoảng 200 đến 450 nm. Khi được ủ nhiệt tại nhiệt độ 500°C kích thước các ống thay đổi lớn dần có cấu trúc dạng ống rõ rệt đi kèm xuất hiện các hạt nano TiO_2 có kích thước từ 20 nm đến 40 nm xen kẽ với các ống nano.

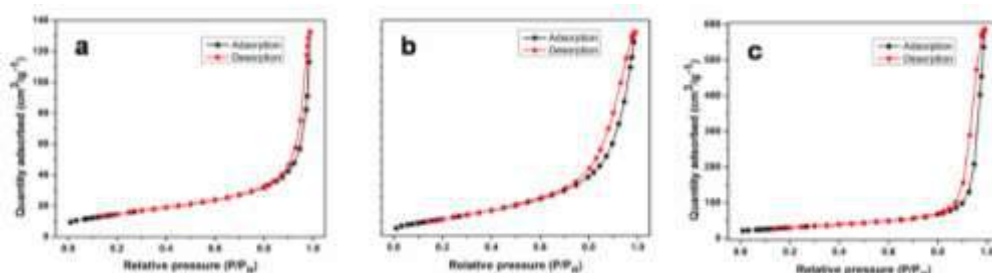


Hình 3. Ảnh TEM của vật liệu TNT không ủ và ủ ở 500°C

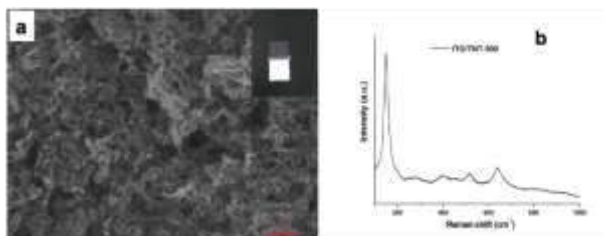
3.3. Diện tích bề mặt của mẫu chế tạo

Tính chất và cấu trúc mao quản của các vật liệu được nghiên cứu bằng phép đo đường đẳng nhiệt hấp phụ và khử hấp phụ N_2 ở 77K . Kết quả được trình bày ở hình 4a,b,c. Diện tích bề mặt riêng BET của phép đo cho các mẫu lần lượt là $52,76\text{ m}^2/\text{g}$ (P25), $390,01\text{ m}^2/\text{g}$ (TNT) và $106,30\text{ m}^2/\text{g}$ (TNT-500). Từ kết quả đo BET cho thấy diện tích bề mặt của ống nano TiO_2 lớn hơn nhiều so với TiO_2 P25 và mẫu (TNT-500) chế tạo được có diện tích bề mặt lớn hơn 2 lần với vật liệu gốc P25.

Kết hợp với kết quả Raman, TEM và các nghiên cứu trước, nhóm tác giả lựa chọn vật liệu ủ tại 500°C (TNT-500) để chế tạo màng trên đế ITO sử dụng kỹ thuật EPD.



Hình 4. Đường đẳng nhiệt hấp phụ và khử hấp phụ N_2 của mẫu (a) TiO_2 P25, (b) TNT và (c) TNT -500



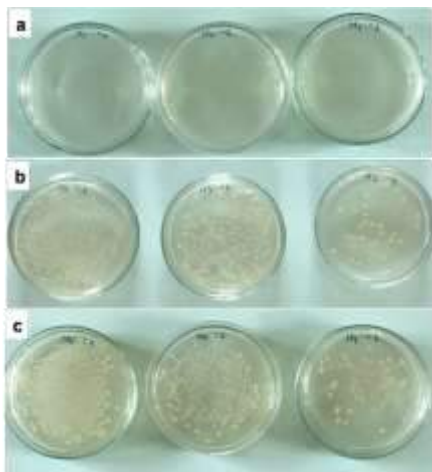
Hình 5. Ảnh SEM (a) và phổ Raman (b) của màng mỏng TNT-500 trên đế ITO

3.4. Màng TiO_2 trên đế ITO

Kết quả chụp SEM (hình 5a) cho thấy bề mặt lớp màng sau khi phủ vẫn giữ được cấu trúc dạng ống của TNT mặc dù bề mặt màng không bằng phẳng, độ gồ ghề khá cao.

Để kiểm tra thêm, phép đo Raman (hình 5b) của mẫu màng sau khi chế tạo được thực hiện. Kết quả cho thấy phổ Raman của mẫu màng TNT-500 tương tự như phổ Raman của mẫu bột và không có các đỉnh phổ khác.

3.5. Kết quả nghiên cứu khả năng diệt khuẩn của vật liệu TNT-500

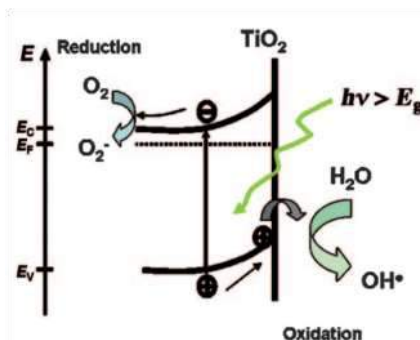


Hình 6. (a) Mẫu có màng TNT-500, có chiếu đèn UVA; (b) mẫu không có màng, chiếu đèn UVA; (c) mẫu không có màng, không chiếu đèn

Khả năng diệt khuẩn của mẫu TNT-500 được đánh giá bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên vi khuẩn đại diện là *E.coli*. Kết quả cho thấy các màng TNT-500 có khả năng diệt khuẩn hoàn toàn các khuẩn *E.coli* với nồng độ 10^6 CFU/ml trong thời gian 30 phút chiếu đèn UVA (Hình 6a). Lượng vi khuẩn ở mẫu không có màng TNT-500, có chiếu đèn UVA (Hình 6b) bị tiêu diệt lớn hơn so với mẫu không chiếu đèn và không có lớp màng TNT-500 (Hình 6c). Nguyên nhân là do khi được chiếu đèn đã có một lượng vi khuẩn bị tiêu diệt bởi tia UVA. Còn ở mẫu không có màng TNT-500 và không chiếu đèn thì lượng vi khuẩn giảm không đáng kể do quá trình chết tự nhiên.

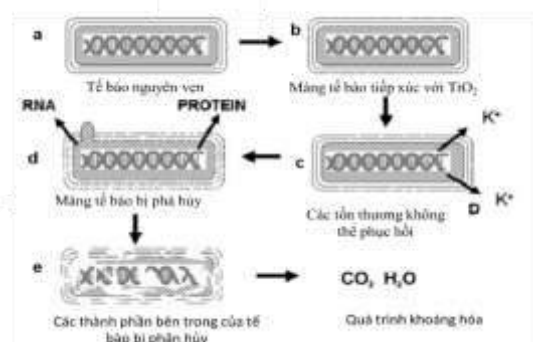
Cơ chế diệt khuẩn của màng TNT-500 được giải thích như sau: Trong điều kiện bình thường, vi khuẩn là một nhóm sinh vật đơn bào, có kích thước nhỏ và có cấu trúc tế bào đơn giản. Nó được bảo vệ khỏi các tác động bên ngoài nhờ màng tế bào, thành tế bào,

màng tế bào chất. Thành tế bào có tác dụng làm tế bào trở nên rắn chắc để tế bào không bị áp suất thẩm thấu phá vỡ, đồng thời hình thành nên dạng đặc trưng của vi khuẩn và nấm. Khi được kích thích bởi nguồn sáng UVA, bề mặt TiO_2 sẽ xuất hiện các cặp $e^- - h^+$ là các cặp oxi hóa – khử, tham gia phản ứng với các phân tử O_2 , H_2O , H_2O_2 tạo ra các gốc hoạt động như $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\text{OH}^{\cdot}$ [6] (hình 7).



Hình 7. Sơ đồ minh họa cơ chế tạo gốc hoạt động của TiO_2 khi được kích thích bởi ánh sáng [6]

Các gốc tạo ra này tấn công màng tế bào chất dẫn đến sự phá hủy màng tế bào gây ra các rối loạn về cấu trúc và chức năng của màng tế bào chất do quá áp suất thẩm thấu giữa trong và ngoài thành tế bào thay đổi, sự vận chuyển vật chất qua màng tăng lên một cách không thuận nghịch và tế bào mất khả năng vận chuyển chọn lọc dẫn đến khả năng phát triển của tế bào không còn và tế bào chết đi. Quá trình phá hủy này diễn ra một cách liên tục bắt đầu từ phần tế bào tiếp xúc với xúc tác. Hình 8 là sơ đồ minh họa cơ chế hình thành các gốc hoạt động và phá hủy màng tế bào dưới tác dụng của TiO_2 và đèn UVA [3].



Hình 8. Sơ đồ minh họa cơ chế tạo gốc hoạt động của TiO_2 khi được kích thích bởi ánh sáng [3]

4. Kết luận

Đã chế tạo được vật liệu TNT bằng phương pháp thủy nhiệt với thành phần pha anatase với diện tích bề mặt riêng 106.30 m²/g và tạo thành màng TNT trên đế ITO bằng phương pháp EPD. Khảo sát khả năng quang xúc tác diệt vi khuẩn E.coli cho thấy màng TNT có khả năng tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn trong thời gian 30 phút chiếu xạ đèn UVA do sự phân hủy của màng tế bào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. R. Angela-Guiovana, and C. Pulgarin, "Bactericidal action of illuminated TiO₂ on pure *Escherichia coli* and natural bacterial consortia: post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time," *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 49, pp. 99-112, 2004.
- [2]. K. Sunada, T. Watanabe, and K. Hashimoto, "Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film," *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 156, pp. 227-233, 2003.
- [3]. H. A. Foster, S. Varghese, and I. B. Ditta, "Steele A. Photocatalytic disinfection using titanium dioxide:spectrum and. mechanism of antimicrobial activity," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 90, pp. 1847-1868, 2011.
- [4]. T. H. P. Nguyen, *Study on TiO₂ manufacturing technology and application to the coating for ceramic material*, Ha Noi University of Science and Technology, 2014.
- [5]. K. Sunada, Y. Kikuchi, K. Hashimoto, and A. Fujishima, "Bactericidal and Detoxification Effects of TiO₂ Thin Film Photocatalysts," *Environmental Science and Technology*, vol. 32, no. 5, pp. 726-728, 1998.
- [6]. P. Roy, "Steffen Berger, and Patrik Schmuki, TiO₂ Nanotubes: Synthesis and Applications," *Angew. Chem. Int. Ed*, vol. 50, pp. 2904-2939, 2011.