

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

VIỆN NĂNG LƯỢNG NGUYÊN TỬ VIỆT NAM



VŨ LÊ VÂN KHÁNH

**NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ CHẾ TẠO SELEN NANO BẰNG
PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ CHÙM TIA ĐIỆN TỬ VÀ KHẢO SÁT
KHẢ NĂNG KHÁNG UNG THƯ TRÊN TẾ BÀO**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Hà Nội - 2026

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

VIỆN NĂNG LƯỢNG NGUYÊN TỬ VIỆT NAM

VŨ LÊ VÂN KHÁNH

**NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ CHẾ TẠO SELEN NANO BẰNG
PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ CHÙM TIA ĐIỆN TỬ VÀ KHẢO SÁT
KHẢ NĂNG KHÁNG UNG THƯ TRÊN TẾ BÀO**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Chuyên ngành: Hóa Vô Cơ

Mã số: 9.44.01.13

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS. Phan Đình Tuấn
2. GS.TS. Nguyễn Quốc Hiến

Hà Nội - 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tác giả xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của bản thân tác giả. Các kết quả nghiên cứu và các kết luận trong luận án này là trung thực, và không sao chép từ bất kỳ một nguồn nào và dưới bất kỳ hình thức nào. Việc tham khảo các nguồn tài liệu (nếu có) đã được thực hiện trích dẫn và ghi nguồn tài liệu tham khảo đúng quy định.

Tác giả luận án

(ký và ghi rõ họ tên)

Vũ Lê Vân Khánh

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành nhờ sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu khoa học thuộc Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh thông qua Quyết định 1048/QĐ-SKHHCN và Hợp đồng 43/2021/HĐ-QKHHCN ngày 29/12/2021.

Trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu tại Trung tâm Đào tạo Hạt nhân thuộc Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam, tôi đã nhận được sự quan tâm và giúp đỡ của Ban Đào tạo Sau đại học, Bộ môn Hóa vô cơ cùng quý Thầy Cô và các anh chị đồng nghiệp. Tôi xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ đó.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến GS.TS. Phan Đình Tuấn và GS.TS. Nguyễn Quốc Hiến đã tận tình hướng dẫn, định hướng khoa học và tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành chương trình đào tạo và luận án này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn GS.TS. Đặng Thị Phương Thảo cùng Phòng Thí nghiệm Công nghệ Sinh học Phân tử và Môi trường đã hỗ trợ thực hiện các thí nghiệm sinh học; đồng thời cảm ơn Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ (VINAGAMMA) đã hỗ trợ các thí nghiệm chiếu xạ, góp phần quan trọng vào kết quả nghiên cứu.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường TP.HCM đã tạo điều kiện thuận lợi về thời gian và công tác trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn đến gia đình, bạn bè và đồng nghiệp đã luôn động viên và hỗ trợ tôi trong suốt chặng đường thực hiện luận án.

Xin chân thành cảm ơn.

Tác giả luận án

Vũ Lê Vân Khánh

TÓM TẮT LUẬN ÁN

Selen và các hợp chất của nó có nhiều hoạt tính sinh học quan trọng nhưng ứng dụng bị hạn chế bởi độc tính tương đối cao do ranh giới hẹp giữa liều có lợi và liều gây hại. Khi chuyển sang kích thước nano, selen nano (SeNPs) có thể khắc phục những hạn chế này đồng thời thể hiện mạnh các hoạt tính như chống oxy hóa, ức chế tăng sinh tế bào ung thư, mở ra nhiều triển vọng trong lĩnh vực y sinh. Phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử là hướng tiếp cận tiên tiến và thân thiện với môi trường để tổng hợp SeNPs, cho phép tạo ra vật liệu có độ tinh khiết cao mà không sử dụng tác nhân khử độc hại, đồng thời dễ kiểm soát kích thước hạt thông qua điều chỉnh liều chiếu xạ. Ngoài ra, công nghệ này còn có ưu điểm về khả năng mở rộng quy mô và tiềm năng ứng dụng trong sản xuất công nghiệp.

Luận án đã nghiên cứu chế tạo thành công selen nano từ dung dịch H_2SeO_3 bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử đồng thời thiết lập và tối ưu hóa các thông số công nghệ quan trọng chi phối quá trình hình thành hạt nano. Kết quả cho thấy SeNPs hình cầu, kích thước 26–35 nm, phân bố kích thước hẹp và độ bền keo cao. Hệ SeNPs được tổng hợp tại nồng độ Se^{4+} 1,25 mM, gum arabic (GA) 1% (w/v), liều xạ 10 kGy và bề dày lớp dung dịch 2,5 cm. Kết quả so sánh các chất ổn định cho thấy hệ SeNPs/GA thể hiện độ ổn định vượt trội khi bảo quản ở 5°C và 27°C. Sau quá trình sấy, hạt nano vẫn duy trì cấu trúc đặc trưng và kích thước dưới 100 nm. Đáng chú ý, SeNPs/GA dạng dung dịch thể hiện hoạt tính sinh học nổi bật với hiệu lực ức chế cao và tính chọn lọc rõ rệt trên tế bào HeLa ($\text{IC}_{50} = 2,95 \mu\text{g/mL}$; $\text{SI} = 17$), đồng thời xuất hiện các đặc trưng điển hình của quá trình tế bào chết theo chương trình (apoptosis). Những kết quả này khẳng định hiệu quả và ưu thế của công nghệ chiếu xạ chùm tia điện tử trong quá trình chế tạo SeNPs sạch, có khả năng kiểm soát tốt kích thước và độ ổn định của hạt, qua đó mở ra tiềm năng ứng dụng trong phát triển các vật liệu nano phục vụ điều trị ung thư.

ABSTRACT

Selenium and its compounds exhibit a wide range of important biological activities; however, their practical applications are limited by relatively high toxicity due to the narrow margin between beneficial and harmful doses. When converted into the nanoscale form, selenium nanoparticles (SeNPs) can overcome these limitations while exhibiting enhanced biological activities such as antioxidant effects and inhibition of cancer cell proliferation, thereby offering significant potential for biomedical applications. Electron beam irradiation represents an advanced and environmentally friendly approach for the synthesis of SeNPs, enabling the production of high-purity materials without the use of toxic chemical reducing agents. In addition, this method allows effective control of nanoparticle size through adjustment of the irradiation dose. Furthermore, irradiation technology offers advantages in scalability and potential for industrial-scale production.

In this study, selenium nanoparticles were successfully synthesized from an H_2SeO_3 precursor solution using electron beam irradiation, and key technological parameters governing nanoparticle formation were systematically established and optimized. The obtained SeNPs exhibited a spherical morphology with an average size of 26–35 nm, narrow size distribution, and high colloidal stability. The optimal synthesis conditions were determined as a Se^{4+} concentration of 1,25 mM, gum arabic (GA) 1% (w/v), an irradiation dose of 10 kGy, and a solution layer thickness of 2,5 cm. Comparative evaluation of stabilizing agents demonstrated that the SeNPs/GA system showed superior stability during storage at 5°C and 27°C. After drying, the nanoparticles retained their characteristic structure with particle sizes remaining below 100 nm. Notably, the SeNPs/GA solution exhibited remarkable biological activity, with strong inhibitory effects and high selectivity toward HeLa cancer cells ($\text{IC}_{50} = 2,95 \mu\text{g/mL}$; $\text{SI} = 17$), along with typical features of apoptosis. These findings confirm the effectiveness and advantages of electron beam irradiation technology for the synthesis of clean SeNPs with well-controlled particle size and stability, highlighting their potential for the development of nanomaterials for cancer therapy.

MỤC LỤC

TÓM TẮT LUẬN ÁN	iii
ABSTRACT	iv
MỤC LỤC	v
DANH MỤC HÌNH ẢNH	x
DANH MỤC BẢNG	xiv
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT	xvi
MỞ ĐẦU	1
1. Tính cấp thiết của luận án	1
2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án	3
3. Tính mới, tính sáng tạo, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án	3
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	5
1.1. Tầm quan trọng của Se và SeNPs	5
1.1.1. Tính chất của Se	5
1.1.2. Vai trò của Se đối với cơ thể	6
1.1.3. Giới thiệu chung về SeNPs	9
1.1.3.1 Đặc điểm hóa lý của vật liệu SeNPs	10
1.1.3.2. Độ bền của hệ keo nano	11
1.1.3.3. Ưu điểm của SeNPs so với các dạng Se vô cơ và hữu cơ	14
1.2. Các phương pháp tổng hợp SeNPs	15
1.2.1. Phương pháp hóa học	16
1.2.2. Phương pháp sinh học	20
1.2.2.1. Tổng hợp dựa trên vi sinh vật	21
1.2.2.2. Phương pháp chiết xuất từ thực vật	22
1.2.3. Phương pháp vật lý	24
1.2.3.1. Phương pháp vi sóng	24
1.2.3.2. Phương pháp laser	26
1.3. Phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử	28

1.3.1. Khái niệm chiếu xạ và bức xạ ion hóa	28
1.3.2. Cấu tạo và nguyên lý hoạt động của máy gia tốc chùm tia điện tử	29
1.3.3. Quá trình phát sinh gốc tự do và electron hydrat hóa trong dung dịch	31
1.3.4. Ưu điểm vượt trội của phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử	35
1.3.5. Ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến đặc tính của vật liệu SeNPs tổng hợp bằng chiếu xạ	35
1.3.5.1. Ảnh hưởng của liều xạ	35
1.3.5.2. Ảnh hưởng của nồng độ tiền chất	37
1.3.5.3. Ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch	37
1.3.5.4. Ảnh hưởng của chất ổn định	39
1.3.6. Tổng quan tình hình nghiên cứu về phương pháp chiếu xạ	43
1.4. Ứng dụng SeNPs trong điều trị ung thư	46
1.4.1. Hoạt tính kháng ung thư của SeNPs	46
1.4.2. Mối liên hệ giữa đặc tính vật lý – hóa học của SeNPs và hoạt tính kháng ung thư	48
1.4.2.1. Ảnh hưởng của kích thước và hình thái hạt đến khả năng xâm nhập và ức chế tế bào ung thư	48
1.4.2.2. Vai trò của chất ổn định và bề mặt hạt trong hiệu quả hấp thu và chọn lọc tế bào ung thư	50
1.4.3. Giới thiệu tế bào ung thư vú (MCF-7) và ung thư cổ tử cung (Hela)	52
1.4.3.1. Dòng tế bào ung thư vú MCF-7	52
1.4.3.2. Dòng ung thư cổ tử cung Hela	52
1.4.4. Các chỉ tiêu kỹ thuật đánh giá hoạt tính kháng ung thư	54
CHƯƠNG 2. ĐIỀU KIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM	56
2.1. Hóa chất và thiết bị	56
2.1.1. Hóa chất	56
2.1.2. Thiết bị	57
2.2. Phương pháp thực nghiệm	57
2.2.1. Chế tạo SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử	57

2.2.2. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chế tạo dung dịch SeNPs/OCS bằng phương pháp chiếu xạ	59
2.2.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của liều xạ đến đặc trưng của SeNPs	59
2.2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ muối Se^{4+} đến đặc trưng của dung dịch đông khô	60
2.2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến đặc trưng của dung dịch đông khô	61
2.2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại tiền chất tạo Se^{4+} đến đặc trưng của SeNPs	61
2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ổn định đến đặc trưng của SeNPs tổng hợp bằng phương pháp chiếu xạ EB.	62
2.2.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ chất ổn định OCS đến đặc trưng của SeNPs	62
2.2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định GA đến đặc trưng của đông khô	62
2.2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định CTS đến đặc trưng của đông khô	62
2.2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến độ ổn định của hạt và phân bố kích thước hạt tạo thành	63
2.2.4. Các phương pháp phân tích đặc trưng tính chất của SeNPs	63
2.2.4.1. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier	63
2.2.4.2. Phổ nhiễu xạ tia X	63
2.2.4.3. Quang phổ tia X phân tán năng lượng	63
2.2.4.4. Phân tích cấu trúc hình thái bằng kính hiển vi điện tử truyền qua ...	63
2.2.4.5. Tính toán kích thước hạt nano trung bình	64
2.2.4.6. Phương pháp so sánh sự khác biệt giữa hai giá trị trung bình bằng kiểm định Student (t-test)	64
2.2.4.7. Quang phổ tử ngoại khả kiến	65
2.2.5. Khảo sát quá trình chế tạo SeNPs dạng bột	66
2.2.5.1. Chế tạo SeNPs dạng bột bằng phương pháp sấy phun	66

2.2.5.2. Chế tạo SeNPs dạng bột bằng phương pháp sấy đông khô	66
2.2.6. Đánh giá hoạt tính chống oxi hóa của SeNPs dạng dung dịch và dạng bột.....	67
2.2.7. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư của SeNPs dạng dung dịch và dạng bột đối với 2 loại tế bào ung thư MCF-7 và HELA	70
2.2.7.1. Nuôi cấy tế bào	71
2.2.7.2. Thử nghiệm hoạt tính kháng ung thư	72
2.2.7.3. Đánh giá hình thái học tế bào	74
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	75
3.1. Đặc trưng của dung dịch SeNPs được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử dùng OCS làm chất ổn định	75
3.1.1. Phổ UV-Vis của dung dịch OCS, Se^{4+} /OCS và dung dịch SeNPs sử dụng OCS làm chất ổn định	75
3.1.2. Ảnh TEM và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS	77
3.1.3. Cấu trúc tinh thể của SeNPs/OCS	78
3.1.4. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier của SeNPs/OCS	79
3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của liều xạ đến hiệu suất khử và kích thước hạt tạo thành	82
3.2.1. Ảnh hưởng của liều xạ đến hiệu suất khử Se^{4+} thành SeNPs	82
3.2.2. Ảnh hưởng của liều xạ đến kích thước SeNPs	83
3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ muối Se^{4+} đến đặc trưng của SeNPs	85
3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ muối Se^{4+} đến hiệu suất khử thành SeNPs	85
3.3.2. Ảnh hưởng của nồng độ Se^{4+} đến kích thước và phân bố hạt SeNPs	86
3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến hiệu suất khử và kích thước hạt tạo thành	88
3.4.1. Ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến hiệu suất khử Se^{4+}	89
3.4.2. Ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến kích thước hạt tạo thành	90
3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại tiền chất Se đến đặc trưng của SeNPs	92
3.5.1. Ảnh hưởng của loại tiền chất Se đến hiệu suất khử	92
3.5.2. Ảnh hưởng của loại tiền chất Se đến kích thước hạt tạo thành	93

3.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ổn định đến đặc trưng của SeNPs.....	95
3.6.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định OCS đến kích thước SeNPs	95
3.6.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định GA đến đặc trưng của SeNPs	99
3.6.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định CTS đến kích thước hạt và độ ổn định kích thước hạt của SeNPs.	103
3.7. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến kích thước và độ ổn định của SeNPs/GA	107
3.8. Quy trình công nghệ chế tạo SeNPs dạng dung dịch bằng chiếu xạ EB ở điều kiện lựa chọn	110
3.9. Khảo sát chế tạo SeNPs dạng bột	113
3.9.1. Chế tạo SeNPs dạng bột bằng phương pháp sấy phun	113
3.9.2. Chế tạo SeNPs dạng bột bằng phương pháp sấy đông khô	115
3.10. Đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa của vật liệu SeNPs	117
3.11. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào MCF-7 của SeNPs dạng dung dịch bằng thí nghiệm <i>in vitro</i>	120
3.12. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào MCF-7 của SeNPs dạng bột bằng thí nghiệm <i>in vitro</i>	123
3.13. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào HELA của SeNPs dạng dung dịch bằng thí nghiệm <i>in vitro</i>	128
3.14. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào Hela của SeNPs dạng bột bằng thí nghiệm <i>in vitro</i>	132
KẾT LUẬN CHUNG	137
Kết luận	137
Kiến nghị	138
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	139
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ	140
TÀI LIỆU THAM KHẢO	141
PHỤ LỤC KẾT QUẢ	152

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1 . Cấu trúc tinh thể lục phương của Se và các chuỗi xoắn ốc	5
Hình 1.2 . Hai acid amin chứa Se chính trong cơ thể.....	6
Hình 1.3 . Phương pháp tổng hợp SeNPs	15
Hình 1.4 . Ảnh SEM của các sản phẩm SeNPs thu được từ quá trình thủy nhiệt tại các thời điểm khác nhau: (A) 2 giờ, (B) 4 giờ, (C) 8 giờ, (D) 25 giờ	18
Hình 1.5 . Hình thái FE-SEM của vật liệu composite Se-Silica theo phương pháp Sol-Gel sử dụng ba chất khử khác nhau A) Hơi axeton B) Hydrazine và C) Natri Borohydride	19
Hình 1.6 . Sự hình thành chậm của các hạt SeNPs bởi <i>Bacillus mycoides</i> SeITE01 là hệ quả của quá trình khử selenit trong điều kiện hiếu khí	21
Hình 1.7 . Sơ đồ bố trí máy gia tốc chùm tia điện tử UELR-10-15S2 tại Trung tâm VINAGAMMA	30
Hình 1.8 Mô tả quá trình hình thành nano kim loại bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử	34
Hình 1.9 . Độ xuyên sâu của bức xạ chùm tia điện tử và tia gamma Co-60	38
Hình 1.10 . Mô tả cơ chế kháng ung thư của SeNPs	47
Hình 2.1 . Sơ đồ qui trình chế tạo SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ EB.....	57
Hình 2.2 . Sự chuyển hóa giữa dạng màu (Azure B) và dạng leuco không màu trong môi trường khử (I_2/H^+).	59
Hình 2.3 . Máy sấy phun ADL311, Yamato, Nhật Bản.....	66
Hình 2.4 . Máy sấy đông khô TOPTPV-50F, China.....	67
Hình 2.5 . Mô tả nguyên tắc của phương pháp đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa bằng DPPH.....	67
Hình 3.1 . (A) Dung dịch OCS 1%; (B) dung dịch Se^{4+} 2,5 mM/OCS 1%; (C) dung dịch SeNPs 2,5 mM/OCS 1%.....	75

Hình 3.2 . Phổ UV-Vis của OCS 1%; dung dịch Se^{4+} 2,5 mM/OCS 1% và dung dịch SeNPs 2,5 mM/OCS 1%.....	75
Hình 3.3 . Ảnh TEM (A) và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS (B).....	77
Hình 3.4 . Giải đồ nhiễu xạ tia X của OCS và SeNPs/OCS	78
Hình 3.5 . Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier của mẫu OCS và của SeNPs/OCS	79
Hình 3.6 . Mô tả cơ chế ổn định SeNPs khi sử dụng OCS	81
Hình 3.7 . Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử với liều xạ khác nhau: 5 (A1, A2), 10 (B1, B2) và 15 kGy (C1,C2).....	84
Hình 3.8 . Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử với nồng độ Se^{4+} khác nhau: 0,625 (A1,A2); 1,25 (B1,B2) và 2,5 mM (C1,C2).....	87
Hình 3.9 . Các đường cong Percentage depth dose (PPD) trục trung tâm điển hình trong nước cho diện tích kích thước trường $10 \times 10 \text{ cm}^2$ và SSD (source to surface distance) là 100 cm đối với chùm electron có năng lượng 6, 9, 12 và 18 MeV	89
Hình 3.10 . Ảnh TEM và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử với chiều dày lớp dung dịch khác nhau: 2,5 (A1,A2) và 3,5 cm (B1,B2)......	91
Hình 3.11 . Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch 1,25 mM/OCS 1% khi sử dụng các tiền chất Se khác nhau: SeO_2 (A1, A2) và Na_2SeO_3 (B1, B2).....	94
Hình 3.12 . Phổ UV-Vis của SeNPs/OCS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử ở các nồng độ OCS khác nhau: 0,5; 1,0 và 2%.....	96
Hình 3.13 . Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs 1,25 mM /OCS chế tạo bằng phương pháp chùm tia điện tử theo nồng độ OCS 0,5 (A1,A2); 1,0 (B1,B2) và 2% (C1,C2).....	98

Hình 3.14 . Phổ UV-Vis của dung dịch SeNPs/GA chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử ở các nồng độ GA khác nhau: 0,5; 1,0 và 2%.	100
Hình 3.15 . Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs 1,25 mM /GA chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử theo nồng độ GA 0,5 (A1,A2); 1,0 (B1,B2) và 2% (C1,C2)	101
Hình 3.16 . Giảm độ nhiễu xạ tia X của SeNPs/GA	102
Hình 3.17 . Phổ FTIR của mẫu GA và của SeNPs/GA	103
Hình 3.18 . Phổ UV-Vis của dung dịch SeNPs/CTS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử ở các nồng độ CTS khác nhau: 0,5; 1,0 và 2%	104
Hình 3.19 . Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs 1,25 mM /CTS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử theo nồng độ CTS 0,5 (A1,A2); 1,0 (B1,B2) và 2% (C1,C2)	106
Hình 3.20 . Sự thay đổi màu sắc của dung dịch SeNPs/GA bảo quản ở nhiệt độ thường 27°C (A) và 5°C (B) trong thời gian từ 0 đến 180 ngày.	108
Hình 3.21 . Kết quả DLS của SeNPs/GA theo thời gian khi được bảo quản ở nhiệt độ thường và nhiệt độ 5°C.	108
Hình 3.22 . Kích thước SeNPs/GA theo thời gian khi bảo quản ở nhiệt độ phòng và 5°C.	109
Hình 3.23 . Sơ đồ quy trình công nghệ chế tạo SeNPs dạng dung dịch	112
Hình 3.24 . (A) Dung dịch SeNPs/GA, (B) SeNPs/GA dạng bột	114
Hình 3.25 . Phổ EDX của bột SeNPs/GA bằng phương pháp sấy phun.	115
Hình 3.26 . Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của bột SeNPs/GA sấy phun	115
Hình 3.27 . (A) Dung dịch SeNPs/GA sau chiếu xạ và (B) Bột SeNPs/GA sau khi sấy đông khô.	116
Hình 3.28 . Phổ EDX của bột SeNPs/GA sấy đông khô	116
Hình 3.29 . Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của bột SeNPs/GA sấy đông khô	117

Hình 3.30 . Hoạt tính kháng gốc tự do DPPH của các mẫu thử SeNPs theo nồng độ.....	118
Hình 3.31 . Tương quan giữa sự ức chế tăng trưởng theo nồng độ của mẫu SeNPs dạng dung dịch trên dòng tế ung thư vú MCF7 ở thời điểm khảo sát 48 giờ (A) và 72 giờ (B).....	120
Hình 3.32 . Tác động theo nồng độ của mẫu thử SeNPs dạng dung dịch đến hình thái tế bào ung thư vú MCF-7	121
Hình 3.33 . Tương quan giữa sự ức chế tăng trưởng và nồng độ của các mẫu SeNPs trên MCF7 ở thời điểm khảo sát 48 giờ (A,B) và 72 giờ (C, D).....	123
Hình 3.34 . Tác động theo nồng độ của các mẫu thử SeNPs dạng bột đến hình thái tế bào MCF7	124
Hình 3.35 . Tác động theo nồng độ của SeNPs dạng dung dịch đến dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela	128
Hình 3.36 . Tác động của SeNPs dạng dung dịch theo nồng độ đến hình thái tế bào ung thư cổ tử cung Hela.	130
Hình 3.37 . Tác động ức chế tăng sinh tế bào Hela theo nồng độ của các SeNPs dạng bột FDEB và SDEB.	132
Hình 3.38 . Tác động của các mẫu SeNPs theo nồng độ đến hình thái tế bào ung thư cổ tử cung Hela. Độ phóng đại x400.....	134

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1 . Các đặc trưng chủ yếu của 3 loại máy gia tốc điện tử	30
Bảng 1.2 . So sánh đặc trưng của nguồn gamma Co-60 với máy gia tốc điện tử	31
Bảng 2.1 . Nguồn gốc hóa chất sử dụng trong nghiên cứu	56
Bảng 2.2. Nồng độ khảo sát ($\mu\text{g/mL}$) của các mẫu thử	69
Bảng 2.3 . Nồng độ các thành phần trong các mẫu	69
Bảng 2.4 . Đặc tính các mẫu SeNPs	70
Bảng 2.5 . Các dòng tế bào và môi trường nuôi cấy	71
Bảng 2.6 . Nồng độ các mẫu SeNPs cần khảo sát	73
Bảng 3.1 . Ảnh hưởng của liều xạ đến hiệu suất khử	82
Bảng 3.2 . Ảnh hưởng của nồng độ Se^{4+} ban đầu đến hiệu suất khử Se	85
Bảng 3.3 . Liều bão hòa (D_{bh}) và kích thước hạt trung bình (d_{tb}) của SeNPs ổn định trong OCS 1% ($M_w \sim 5.000 \text{ g/mol}$) với nồng độ Se^{4+} khác nhau ở pH 7,5-8; chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử	86
Bảng 3.4 . Ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến hiệu suất khử Se^{4+}	90
Bảng 3.5 . Ảnh hưởng của loại tiền chất đến hiệu suất khử	93
Bảng 3.6 . λ_{max} , OD và d_{tb} của dung dịch SeNPs 1,25 mM với nồng độ khác nhau của OCS có KLPT 5.000 g/mol, ở pH 7,5-8; chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử	96
Bảng 3.7 . λ_{max} , OD và d_{tb} của dung dịch SeNPs 1,25 mM với nồng độ khác nhau của GA có KLPT 250.000 g/mol, ở pH 7; chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử	99
Bảng 3.8 . λ_{max} , OD và d_{tb} của dung dịch SeNPs 1,25 mM với nồng độ khác nhau của CTS có KLPT 92.000 g/mol, ở pH 6,5; chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử	104
Bảng 3.9 . Giá trị IC_{50} của các mẫu thử SeNPs và axit ascorbic	118
Bảng 3.10 . Giá trị IC_{50} của các mẫu SeNPs dạng dung dịch trên dòng tế bào MCF7 và dòng tế bào BJ-5ta ở hai thời điểm khảo sát 48 giờ và 72 giờ	121

Bảng 3.11 . Tác động ức chế tăng sinh tế bào của hạt SeNPs theo các phương pháp điều chế khác nhau đến dòng tế bào MCF7	122
Bảng 3.12 . Giá trị IC_{50} của các mẫu thử SeNPs dạng bột trên dòng tế bào MCF7 ở hai thời điểm khảo sát 48 và 72 giờ	125
Bảng 3.13 . Giá trị IC_{50} của các mẫu thử SeNPs dạng bột trên dòng tế bào BJ-5ta ở hai thời điểm khảo sát 48 và 72 giờ	126
Bảng 3.14 . Hệ số chọn lọc của các mẫu thử SeNPs dạng bột	126
Bảng 3.15 . Tác động của các loại hạt nano đến dòng tế bào MCF7	127
Bảng 3.16 . Hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của SeNPs dạng dung dịch trên dòng tế bào ung thư Hela và tính chọn lọc trên dòng tế bào thường BJ-5ta	130
Bảng 3.17 . Các nghiên cứu in vitro đánh giá tác động của SeNPs trên dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela	131
Bảng 3.18 . Hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của các SeNPs dạng bột trên dòng tế bào ung thư Hela và tính chọn lọc trên dòng tế bào thường BJ-5ta ..	134
Bảng 3.19 . Các nghiên cứu in vitro đánh giá tác động của SeNPs trên dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela	135

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Viết tắt	Giải thích tiếng Anh	Giải thích tiếng Việt
CTS	Chitosan	Chitosan, polymer tự nhiên
D _{bh}	Saturated metabolic dose	Liều xạ chuyển hóa bão hòa
DLVO	Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek theory	Thuyết ổn định keo DLVO
EB	Electron beam	Chùm tia điện tử
GA	Gum arabic	Polysaccharide, nhựa cây keo
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	Nồng độ ức chế 50%
LD ₅₀	Median lethal dose	Liều gây chết 50%
OCS	Oligochitosan	Oligochitosan, polymer tự nhiên
ROS	Reactive oxygen species	Các gốc oxy mạnh
Se	Selenium	Selen
SeNPs	Selenium nanoparticles	Selen nano
SeNPs/GA	Gum arabic-stabilized SeNPs	Selen nano ổn định bằng gum arabic
SeNPs/OCS	Oligochitosan-stabilized SeNPs	Selen nano ổn định bằng oligochitosan
SI	Selectivity Index	Hệ số chọn lọc

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Selen (Se) là một nguyên tố vi lượng thiết yếu đối với cơ thể người và động vật, tham gia vào nhiều quá trình sinh học quan trọng thông qua các selenoprotein. Trước đây, Se từng được xem là nguyên tố có độc tính; tuy nhiên, cùng với sự phát triển của các nghiên cứu trong lĩnh vực sinh – y học, nhận thức về nguyên tố này đã có sự thay đổi đáng kể. Nhiều công trình gần đây cho thấy Se không chỉ đóng vai trò trong hệ thống chống oxy hóa mà còn tham gia điều hòa miễn dịch và có liên quan đến khả năng phòng ngừa một số bệnh lý, trong đó có ung thư [1]. Ngày nay, Se được xác định là thành phần cấu trúc của các selenoprotein quan trọng như glutathione peroxidase (GPx), thioredoxin reductase (TRx) và deiodinase [2, 3], giữ vai trò trung tâm trong duy trì cân bằng oxy hóa – khử và bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa – cơ chế bệnh sinh của nhiều bệnh lý mạn tính, đặc biệt là ung thư và tim mạch [4]. Thiếu hụt Se có thể gây suy giảm miễn dịch, tổn thương gan, tim mạch và gia tăng nguy cơ ung thư, trong khi bổ sung hợp lý giúp tăng cường miễn dịch, ức chế tăng sinh tế bào khối u và điều hòa quá trình tân sinh mạch [5, 6].

Tuy nhiên, thách thức lớn trong ứng dụng Se là khoảng an toàn sinh học hẹp; liều vượt quá 400 $\mu\text{g}/\text{ngày}$ có thể gây ngộ độc với các biểu hiện tổn thương thần kinh và gan [7]. Các hợp chất Se vô cơ như sodium selenite có độc tính đáng kể ($\text{LD}_{50} \sim 3,4 \text{ mg/kg}$) [8], làm hạn chế khả năng sử dụng lâu dài. Trong bối cảnh đó, selen nano (SeNPs) nổi lên như một dạng tồn tại ưu việt hơn. Nhiều nghiên cứu cho thấy SeNPs duy trì khả năng tăng hoạt tính GPx tương đương các hợp chất Se truyền thống nhưng độc tính thấp hơn rõ rệt ($\text{LD}_{50} \sim 60,3 \text{ mg/kg}$) [8]. SeNPs thể hiện hoạt tính bắt gốc tự do cao hơn SeO_2 , độc tính tế bào thấp hơn trên dòng MCF-7 [9], đồng thời có khả năng phục hồi bạch cầu ở động vật chiếu xạ [10], tăng cường miễn dịch [11] và hỗ trợ điều trị ung thư [12]. Những đặc tính này cho thấy SeNPs có tiềm năng lớn trong y sinh học, đặc biệt trong hỗ trợ xạ trị và hóa trị.

Mặc dù vậy, đặc tính và hoạt tính sinh học của SeNPs phụ thuộc mạnh vào phương pháp tổng hợp và điều kiện công nghệ [13-16]. Các phương pháp hóa học thường sử dụng chất khử độc hại; phương pháp sinh học khó kiểm soát kích thước và độ đồng đều; các phương pháp vật lý đòi hỏi thiết bị phức tạp và chi phí cao. Do đó, phát triển một quy trình chế tạo SeNPs sạch, có khả năng kiểm soát kích thước, độ tinh khiết cao và phù hợp mở rộng quy mô là yêu cầu cấp thiết.

Công nghệ chiếu xạ chùm tia điện tử là hướng tiếp cận có nhiều ưu điểm nổi bật. Dưới tác dụng bức xạ, nước bị xạ ly tạo các gốc khử mạnh (e^-_{aq} , $H^\bullet$) có khả năng khử Se^{4+} thành Se^0 mà không cần bổ sung tác nhân khử hóa học [17]. So với nguồn gamma Co-60, máy gia tốc chùm tia điện tử có suất liều cao, cường độ ổn định, vận hành chế độ mở–tắt linh hoạt và thuận lợi cho tự động hóa, đáp ứng yêu cầu sản xuất sạch và phát triển quy mô công nghiệp. Tuy nhiên, nghiên cứu chế tạo SeNPs bằng chùm tia điện tử ở Việt Nam còn rất hạn chế; các công trình trong nước chủ yếu sử dụng nguồn gamma Co-60 [18-20].

Trong những thập kỷ gần đây, gánh nặng ung thư trên toàn cầu cũng như tại Việt Nam đang gia tăng nhanh chóng. Theo báo cáo GLOBOCAN 2022 của Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC), Việt Nam ghi nhận khoảng 180.480 ca ung thư mắc mới và hơn 120.000 ca tử vong mỗi năm. Đáng chú ý, ung thư vú hiện là loại ung thư có tỷ lệ mắc cao nhất, với khoảng 24.563 ca mắc mới mỗi năm, chiếm gần 29% tổng số ca ung thư ở nữ giới [21]— cho thấy việc phát triển các vật liệu nano có hoạt tính kháng ung thư, an toàn và có khả năng sản xuất trong nước mang ý nghĩa khoa học và kinh tế – xã hội sâu sắc. SeNPs, đặc biệt khi kết hợp với polymer sinh học như oligochitosan có tác dụng tăng cường miễn dịch [22, 23], hứa hẹn tạo ra hệ vật liệu chức năng đa tác dụng, góp phần nâng cao hiệu quả hỗ trợ điều trị và giảm chi phí nhập khẩu chế phẩm.

Từ những cơ sở khoa học và thực tiễn trên, việc thực hiện luận án “Nghiên cứu công nghệ chế tạo selen nano bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử và khảo sát khả năng kháng ung thư trên tế bào” là cần thiết. Đề tài không chỉ góp phần hoàn thiện cơ sở khoa học cho công nghệ chế tạo SeNPs bằng chiếu xạ chùm tia điện tử mà

còn định hướng ứng dụng trong y sinh học, đáp ứng nhu cầu chăm sóc sức khỏe và phát triển công nghệ vật liệu nano trong nước.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Nghiên cứu công nghệ chế tạo dung dịch SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử.
- Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến đặc tính của vật liệu SeNPs tổng hợp bằng chiếu xạ
- Đánh giá hoạt tính kháng ung thư của vật liệu SeNPs chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử trên một số dòng tế bào ung thư.

3. Tính mới, tính sáng tạo, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án

3.1. Tính mới, tính sáng tạo

Đề tài có tính tiên phong khi áp dụng công nghệ chiếu xạ chùm tia điện tử từ máy gia tốc để tổng hợp SeNPs định hướng kháng ung thư, không sử dụng tác nhân khử hóa học, đảm bảo độ tinh khiết cao và an toàn sinh học. Phương pháp cho phép kiểm soát chính xác kích thước và hình thái hạt thông qua điều chỉnh thông số chiếu xạ.

Nghiên cứu đồng thời làm rõ các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình hình thành SeNPs trong môi trường bức xạ và mối liên hệ giữa đặc trưng cấu trúc hạt với khả năng tác động lên tế bào ung thư (điều hòa ROS, ức chế tăng sinh tế bào). Sự kết hợp giữa công nghệ bức xạ và y học nano mở ra hướng tiếp cận mới trong thiết kế vật liệu nano y sinh có hiệu quả điều trị cao.

3.2. Ý nghĩa khoa học

Luận án góp phần làm rõ cơ chế hình thành SeNPs trong môi trường chiếu xạ chùm tia điện tử thông qua vai trò của electron hydrat hóa và các gốc tự do sinh ra trong quá trình phân ly bức xạ. Việc xác định ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ như liều xạ, nồng độ tiền chất, chiều dày lớp dung dịch và chất ổn định đến kích thước và hình thái hạt đã cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho việc kiểm soát quá trình tổng hợp vật liệu nano bằng phương pháp chiếu xạ.

Bên cạnh đó, luận án còn làm rõ mối liên hệ giữa đặc trưng vật lý- hóa học của SeNPs với hoạt tính sinh học, đặc biệt là khả năng kháng ung thư trên các dòng tế bào. Kết quả nghiên cứu góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho việc thiết kế và phát triển các hệ vật liệu nano sinh học có tính chọn lọc cao, phục vụ cho lĩnh vực y sinh học và công nghệ nano y sinh.

Ngoài ra, nghiên cứu còn góp phần mở rộng hướng ứng dụng công nghệ bức xạ trong tổng hợp vật liệu nano, đóng góp vào phát triển lĩnh vực hóa học vô cơ ứng dụng và công nghệ vật liệu nano tại Việt Nam.

3.3. Ý nghĩa thực tiễn

Kết quả nghiên cứu của luận án có ý nghĩa thực tiễn quan trọng trong việc phát triển công nghệ chế tạo vật liệu nano theo hướng sạch và thân thiện môi trường. Phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử không sử dụng tác nhân khử hóa học, giúp tạo ra vật liệu có độ tinh khiết cao, an toàn sinh học và phù hợp cho các ứng dụng y sinh

Quy trình công nghệ được xây dựng trong luận án có khả năng mở rộng quy mô sản xuất, phù hợp với điều kiện trang thiết bị hiện tại của Việt Nam, góp phần giảm chi phí nhập khẩu vật liệu nano y sinh và thúc đẩy thương mại hóa sản phẩm

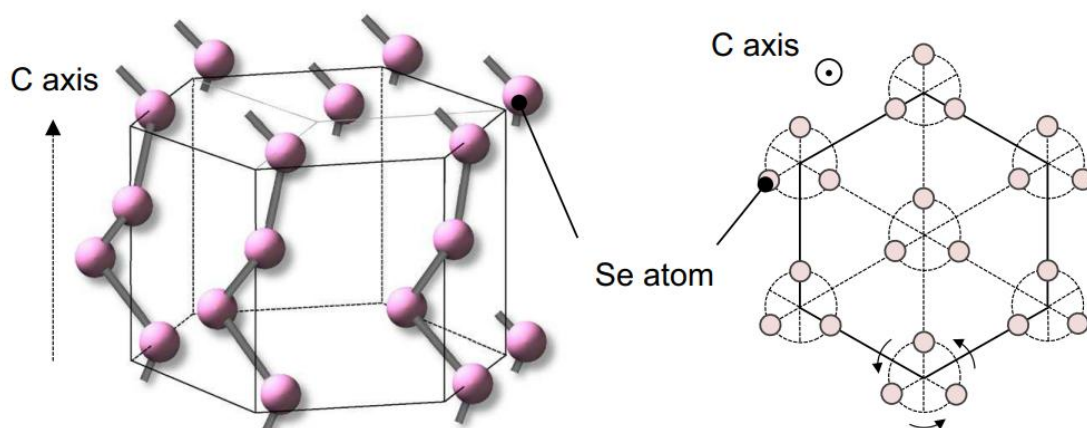
Ngoài ra, vật liệu SeNPS chế tạo được có tiềm năng ứng dụng trong hỗ trợ điều trị ung thư, chống oxy hóa và tăng cường miễn dịch. Việc phát triển thành công vật liệu này có thể góp phần nâng cao hiệu quả điều trị, giảm tác dụng phụ của các phương pháp hóa trị và xạ trị truyền thống, đồng thời mở ra hướng nghiên cứu mới trong lĩnh vực vật liệu nano y sinh.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tầm quan trọng của Se và SeNPs

1.1.1. Tính chất của Se

Selen là nguyên tố phi kim, có tính chất hóa học tương tự lưu huỳnh và telur, và hiếm gặp ở dạng đơn chất trong tự nhiên. Se có nguyên tử lượng 78,96 g/mol, thuộc nhóm VIA ($Z = 34$), cấu hình electron ngoài cùng $4s^2 4p^4$. Do lớp 4p chưa bão hòa, Se có thể tồn tại ở các mức oxi hóa -2 , $+4$ và $+6$, tạo nên nhiều hợp chất vô cơ và hữu cơ. Se có xu hướng tạo liên kết cộng hóa trị mạnh; độ âm điện 2,55 và năng lượng ion hóa thứ nhất 9,75 eV phản ánh tính phi kim rõ rệt.



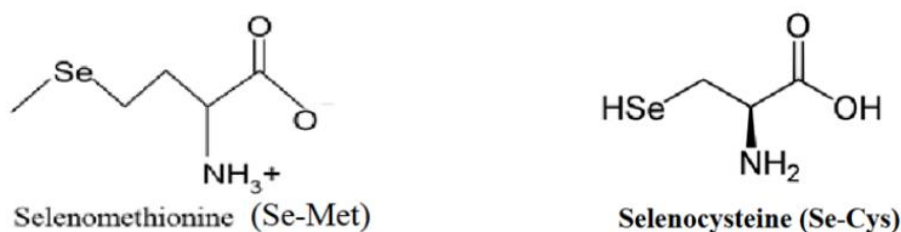
Hình 1.1. Cấu trúc tinh thể lục phương của Se và các chuỗi xoắn ốc [24]

Selen có nhiều dạng thù hình, Se đỏ và Se đen đều thuộc nhóm vô định hình, trong đó Se đỏ có màu đỏ đặc trưng, còn Se đen có cấu trúc giống thủy tinh và màu sắc thay đổi tùy điều kiện. Ngoài ra, ở dạng tinh thể thì Se xám là bền nhất. Dạng này kết tinh theo hệ tinh thể lục phương với hằng số mạng $a \approx 4,366 \text{ \AA}$ và $c \approx 4,954 \text{ \AA}$. Cấu trúc tinh thể của Se xám được hình thành từ các chuỗi xoắn ốc một chiều kéo dài theo trục c , trong đó mỗi nguyên tử Se liên kết cộng hóa trị với hai nguyên tử lân cận trong cùng chuỗi (hình 1.1). Các chuỗi này liên kết với nhau thông qua tương tác Van der Waals yếu, tạo nên cấu trúc tổng thể ổn định. Khoảng cách liên kết Se–Se trong chuỗi là khoảng $2,37 \text{ \AA}$ [25]. Nhờ cấu trúc này, Se có tính bán dẫn dị hướng với khe năng lượng $1,8\text{--}2,2 \text{ eV}$ và thể hiện tính quang dẫn, được ứng dụng trong cảm biến ánh sáng và tế bào quang điện.

Khi được chia nhỏ đến kích thước nanomet, Se thể hiện nhiều tính chất khác biệt so với dạng khối, bao gồm hiệu ứng lượng tử kích thước, sự thay đổi màu sắc quang học, khả năng tương tác sinh học và hoạt tính xúc tác, mở ra các ứng dụng tiềm năng trong y sinh, đặc biệt là trong lĩnh vực kháng ung thư [26].

1.1.2. Vai trò của Se đối với cơ thể

Ban đầu, Se được coi là độc tố, nhưng từ giữa thế kỷ 20, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng Se là nguyên tố vi lượng thiết yếu, giúp ngăn ngừa ung thư, bảo vệ gan và duy trì sức khỏe tổng thể. Ngày nay, Se được công nhận quan trọng trong hệ thống chống gốc tự do và phòng ngừa các bệnh như tim mạch, viêm khớp, loạn dưỡng cơ và xơ nang [27, 28]



Hình 1.2. Hai acid amin chứa Se chính trong cơ thể

Selen là thành phần cấu trúc chính của nhiều enzym như glutathione peroxidase (GPx), thioredoxin reductase (TRx) và deiodinases. Các enzyme này đóng vai trò quan trọng trong quá trình chống oxy hóa, chức năng cơ và phòng chống khối u trong cơ thể [2, 3]. Nó tham gia vào trung tâm hoạt động của enzyme glutathione peroxidase ở trong tế bào và tham gia vào thành phần của nhiều chất hoạt động sinh học chứa nhóm –SH, -SeH như: GSH, Selenomethionin (Se-Met), Selenocysteine (Se-Cys) ,... Tính chất chống oxy hóa của Se không chỉ do bản thân các hợp chất có sẵn của Se, mà phần quan trọng hơn là do Se xúc tác cho sự tổng hợp Co-enzyme Q một chất chống oxy hóa chủ yếu của cơ thể [29]. Các chất chống oxy hóa này đóng vai trò quan trọng trong việc loại bỏ các peroxyd nói chung và các gốc tự do nói riêng. Các gốc tự do luôn tồn tại trong cơ thể, hình thành do chính hoạt động sống của mỗi tế bào và do tác động của môi trường sống. Gốc tự do có khả năng phản ứng rất mạnh và có thể tấn công vào nhiều cấu trúc sinh học khác nhau trong cơ thể, từ đó gây ra nhiều rối loạn sinh lý và bệnh lý nghiêm trọng [30, 31]. Trước hết, các gốc tự do có thể oxy hóa

lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL), dẫn đến sự tích lũy cholesterol ester trong tế bào và hình thành các tế bào bọt. Quá trình này góp phần hình thành các mảng xơ vữa động mạch, làm tăng nguy cơ mắc các bệnh tim mạch. Bên cạnh đó, gốc tự do còn tấn công vào cấu trúc màng tế bào, thúc đẩy quá trình peroxy hóa lipid, gây tổn thương màng sinh học và được xem là một trong những bước khởi đầu quan trọng của phản ứng viêm. Ngoài ra, sự tấn công của gốc tự do lên DNA có thể gây tổn thương vật chất di truyền và làm phát sinh các đột biến gen, từ đó làm tăng nguy cơ hình thành và phát triển ung thư. Sự tác động kéo dài của các gốc tự do lên các phân tử sinh học quan trọng như protein, lipid, acid nucleic và các tế bào miễn dịch sẽ dẫn đến sự tích tụ tổn thương theo thời gian, góp phần thúc đẩy quá trình lão hóa của cơ thể. Đồng thời, stress oxy hóa do gốc tự do còn làm suy giảm chức năng của hệ thống miễn dịch và liên quan đến nhiều bệnh lý thoái hóa khác như thoái hóa võng mạc và đục thủy tinh thể.

Như vậy, các gốc tự do, các chất chống oxy hóa nói chung hay Se nói riêng liên quan chặt chẽ tới nhiều quá trình bệnh lý. Sự thiếu hụt Se trong cơ thể có thể dẫn đến một trong các hội chứng: giảm khả năng sinh trưởng, giảm trương cơ lực, tổn thương thần kinh, suy giảm miễn dịch, bệnh tim mạch, hoại tử gan, xơ hóa tụy, giảm sắc tố mô, các dạng ung thư và có thể dẫn đến tử vong [32, 33].

Trong lĩnh vực tim mạch, Se được ghi nhận có vai trò quan trọng trong việc bảo vệ hệ thống mạch máu thông qua khả năng chống oxy hóa. Selen có thể góp phần hạn chế quá trình oxy hóa lipoprotein tỷ trọng thấp, từ đó làm giảm sự hình thành lipoprotein tỷ trọng thấp oxy hóa (oxLDL) – một yếu tố quan trọng trong quá trình phát triển xơ vữa động mạch. Nhờ vậy, Se có thể góp phần ngăn chặn sự hình thành các mảng xơ vữa trên thành mạch, vốn là nguyên nhân dẫn đến nhiều bệnh lý tim mạch như tăng huyết áp, thiếu máu cục bộ ở các cơ quan và thiếu năng tuần hoàn não. Một số nghiên cứu cũng cho thấy Co-enzyme Q có tác dụng hỗ trợ hạ huyết áp, và do có mối liên hệ sinh học với hệ thống chống oxy hóa này nên Se cũng được cho là có khả năng hỗ trợ điều hòa huyết áp [34].

Đối với bệnh ung thư, nhiều nghiên cứu cho thấy hàm lượng Se trong khẩu phần ăn có mối tương quan với nồng độ Se trong máu và nguy cơ phát sinh ung thư. Khi

khẩu phần ăn giàu Se, nồng độ Se trong cơ thể tăng lên có thể góp phần ức chế quá trình hình thành và phát triển của tế bào ung thư. Tác dụng này chủ yếu liên quan đến khả năng chống oxy hóa của Se, giúp trung hòa các gốc tự do và giảm stress oxy hóa trong tế bào. Đồng thời, Se còn góp phần tăng cường hoạt động của hệ miễn dịch, hỗ trợ quá trình giải độc các chất gây ung thư, hạn chế sự tăng sinh của tế bào ung thư, ức chế khả năng xâm lấn của khối u cũng như quá trình hình thành mạch máu mới nuôi khối u [5, 6].

Selen cũng có vai trò trong việc điều hòa các phản ứng viêm của cơ thể. Một trong những cơ chế quan trọng được ghi nhận là khả năng ổn định màng lysosome của Se, trong khi sự mất ổn định của màng lysosome có thể dẫn đến sự giải phóng các enzyme thủy phân và thúc đẩy quá trình viêm. Ngoài ra, hiệu quả chống viêm của Se có thể được tăng cường khi phối hợp với vitamin E, do sự kết hợp giữa hai chất chống oxy hóa này trong việc bảo vệ cấu trúc màng tế bào khỏi tổn thương oxy hóa [35].

Bên cạnh đó, Se còn đóng vai trò quan trọng đối với hệ thống miễn dịch của cơ thể. Nhiều nghiên cứu cho thấy Se là yếu tố cần thiết giúp tăng cường khả năng đề kháng đối với các tác nhân gây bệnh như vi khuẩn và virus, bao gồm cả ở những người bị suy giảm miễn dịch như bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS. Việc bổ sung Se với liều lượng thích hợp có thể giúp tăng cường hoặc phục hồi chức năng của hệ miễn dịch, từ đó nâng cao khả năng bảo vệ của cơ thể trước các tác nhân gây bệnh [34].

Trong lĩnh vực nhãn khoa, Se được ghi nhận tham gia vào các phản ứng quang hóa xảy ra ở võng mạc và có vai trò trong việc điều hòa quá trình hình thành các gốc tự do tại mô mắt. Nhờ đó, Se góp phần bảo vệ các tế bào võng mạc khỏi tổn thương do stress oxy hóa. Đồng thời, Se còn giúp duy trì sự toàn vẹn cấu trúc của thủy tinh thể, qua đó góp phần hạn chế các rối loạn thị giác liên quan đến tổn thương oxy hóa [36].

Selen cũng được xem là một yếu tố có liên quan đến quá trình lão hóa. Các hợp chất của Se, cùng với Co-enzyme Q, có khả năng chống oxy hóa lipid ở màng tế bào và tham gia vào quá trình phân hủy các peroxide được hình thành trong tế bào. Nhờ đó, Se góp phần bảo vệ cấu trúc và chức năng của tế bào, làm giảm tổn thương tích

lũy theo thời gian, từ đó góp phần làm chậm quá trình lão hóa và hỗ trợ kéo dài tuổi thọ của cơ thể [30, 31].

Ngoài những vai trò trên, Se còn có khả năng tham gia vào quá trình khử độc trong cơ thể. Se có thể tạo phức với một số kim loại nặng như thủy ngân, từ đó thúc đẩy quá trình đào thải các kim loại này ra khỏi cơ thể thông qua nước tiểu. Bên cạnh đó, Se còn được ghi nhận có khả năng bảo vệ cơ thể khỏi tác hại của một số kim loại nặng và nguyên tố độc khác như bạc, đồng, chì, arsen và platin [37].

1.1.3. Giới thiệu chung về SeNPs

Các hợp chất Se hữu cơ và vô cơ được sử dụng rộng rãi làm phụ gia thực phẩm. Tuy nhiên, với độ an toàn tương đối hẹp ở liều lượng điều trị, việc hấp thụ quá nhiều Se có thể dẫn đến các tác dụng độc hại không mong muốn [38].

Trong thập kỷ qua, được thúc đẩy bởi sự phát triển nhanh chóng của công nghệ nano, các hạt SeNPs đã thu hút sự chú ý rộng rãi của các nhà nghiên cứu trong lĩnh vực y sinh do các đặc tính vật lý, hóa học và sinh học nổi trội của chúng. So với các hợp chất Se hữu cơ và vô cơ, SeNPs cho thấy nhiều ưu điểm bao gồm độc tính thấp, khả năng phân hủy cao, hoạt động chống ung thư, kháng khuẩn và kháng vi-rút tuyệt vời [39, 40]. Hơn nữa, để tiêu diệt tế bào ung thư hiệu quả hơn, SeNPs có thể được trang bị làm chất mang vận chuyển để đóng gói thuốc hoặc phân tử sinh học cho hóa trị liệu [41]. Một nghiên cứu đã xem xét những tiến bộ gần đây và lợi ích điều trị tiềm năng của SeNPs trong các rối loạn qua trung gian viêm và stress oxy hóa khác nhau như viêm khớp, ung thư, tiểu đường và bệnh thận, cũng như bàn luận về tầm quan trọng đối với hoạt tính dược lý của SeNPs [42].

Ngoài ra, SeNPs cũng có khả năng nhắm mục tiêu vào các đại thực bào và điều chỉnh sự phân cực của đại thực bào để khởi tạo khả năng miễn dịch bẩm sinh đối với sự ức chế kháng vi sinh vật bằng cách điều chỉnh việc sản xuất các cytokin [43]. Se NP cũng có thể hoạt động như một tác nhân điều hòa miễn dịch để ức chế sự phát triển của khối u bằng cách tăng cường phản ứng miễn dịch chống khối u, chẳng hạn như điều chỉnh các đại thực bào liên quan đến khối u và kích hoạt các tế bào T cụ thể [44]. Các chức năng miễn dịch này tiếp tục cho thấy khả năng sử dụng SeNPs làm tác

nhân điều hòa miễn dịch để bảo vệ mầm bệnh, do đó góp phần vào liệu pháp miễn dịch đối với các bệnh truyền nhiễm cũng như các bệnh cần tăng cường miễn dịch trong quá trình điều trị.

1.1.3.1 Đặc điểm hóa lý của vật liệu SeNPs

SeNPs là các hạt Se có kích thước trong thang nanomet, thường dao động từ 1 đến 1000 nm, với kích thước điển hình trong khoảng 5–350 nm [45]. Ở kích thước này, vật liệu thể hiện các tính chất vật lý, hóa học, quang học và điện tử độc đáo, khác biệt đáng kể so với vật liệu Se dạng khối [46].

SeNPs sở hữu nhiều đặc điểm hóa lý đặc trưng của vật liệu nano, góp phần quyết định đến khả năng ứng dụng của chúng trong các lĩnh vực sinh học và y sinh. Một trong những đặc điểm nổi bật của SeNPs là tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích cao, đặc trưng cho các vật liệu có kích thước nanomet. Nhờ đặc điểm này, SeNPs có khả năng gia tăng đáng kể hoạt tính bề mặt, từ đó làm tăng khả năng phản ứng hóa học, khả năng hấp phụ cũng như mức độ tương tác với các hệ sinh học [46].

Bên cạnh đó, SeNPs còn thể hiện các tính chất bán dẫn và quang điện đặc trưng của Se, vốn đã được ghi nhận ở dạng khối. Khi chuyển sang kích thước nano, các tính chất này không những được duy trì mà trong một số trường hợp còn có thể được tăng cường do hiệu ứng kích thước và hiệu ứng lượng tử. Điều này mở ra nhiều tiềm năng ứng dụng của SeNPs trong các lĩnh vực như điện tử nano, cảm biến sinh học và vật liệu quang điện [47].

Ngoài ra, kích thước nhỏ của SeNPs cũng góp phần làm tăng tính di động và sinh khả dụng của vật liệu trong môi trường sinh học. Các hạt nano có khả năng khuếch tán và di chuyển dễ dàng hơn trong hệ thống sinh học, đồng thời có thể tương tác hiệu quả với màng tế bào hoặc vượt qua một số hàng rào sinh học, từ đó cải thiện khả năng hấp thu và phân bố của Se trong cơ thể [46].

Một đặc điểm quan trọng khác của SeNPs là khả năng tạo vật liệu lai hoặc vật liệu phức hợp với các hợp chất khác. Thông qua việc kết hợp với các polymer sinh học, protein hoặc các phân tử hoạt tính sinh học, SeNPs có thể hình thành các hệ vật

liệu có độ ổn định cao hơn và thể hiện hiệu quả sinh học vượt trội, chẳng hạn như tăng cường hoạt tính kháng khuẩn hoặc kháng ung thư [47].

Bên cạnh đó, tính chất của SeNPs có thể được điều chỉnh linh hoạt thông qua việc kiểm soát các điều kiện tổng hợp. Các yếu tố như kích thước hạt, hình dạng, cấu trúc bề mặt hoặc lớp phủ ổn định có thể được điều chỉnh bằng cách thay đổi các thông số công nghệ trong quá trình tổng hợp. Nhờ đó, SeNPs có thể được thiết kế và tối ưu hóa để phù hợp với các mục đích ứng dụng cụ thể trong lĩnh vực vật liệu nano và y sinh học [45].

1.1.3.2. Độ bền của hệ keo nano

Tính ổn định của hệ phân tán nano thường được đánh giá thông qua sự duy trì theo thời gian của các thông số đặc trưng như: độ nhớt, kích thước và phân bố hạt, cấu trúc pha cũng như trạng thái cân bằng giữa pha phân tán và môi trường [48, 49]

Trong hệ keo kỵ lỏng, năng lượng liên kết nội tại của pha phân tán cao hơn nhiều so với năng lượng tương tác giữa các pha. Do sự chênh lệch này không được bù trừ bởi yếu tố entropy, ta có $\Delta F = \Delta U - T\Delta S > 0$. Điều này cho thấy quá trình phân tán không thể diễn ra tự phát mà phải nhờ đến tác động từ bên ngoài (như khuấy trộn cơ học) hoặc thông qua các phản ứng hóa học. Về mặt nhiệt động học, hệ keo vốn không bền và có xu hướng kết tập để giảm năng lượng bề mặt. Vì vậy, độ bền của chúng chỉ mang tính chất tương đối.

Độ bền của hệ phân tán dưới tác động của trọng lực, còn gọi là độ bền sa lắng, được hình thành do sự cân bằng động giữa chuyển động Brown của các hạt và lực trọng trường tác dụng lên chúng. Chuyển động Brown giúp các hạt phân tán liên tục trong môi trường, hạn chế quá trình lắng xuống do trọng lực, nhờ đó duy trì trạng thái phân tán tương đối ổn định của hệ keo. Tuy nhiên, cấu trúc của hệ phân tán có thể bị phá vỡ bởi một số quá trình vật lý – hóa học xảy ra trong hệ, trong đó phổ biến nhất là hiện tượng tái kết tinh và keo tụ.

Tái kết tinh là quá trình trong đó các hạt có kích thước nhỏ, do có áp suất hơi và độ hòa tan cao hơn, dễ bị hòa tan vào môi trường phân tán. Vật chất hòa tan từ các hạt nhỏ sau đó sẽ kết tinh hoặc lắng đọng trở lại trên bề mặt các hạt có kích thước lớn hơn, làm cho các hạt lớn tiếp tục phát triển trong khi số lượng hạt nhỏ giảm dần. Kết

quả của quá trình này là kích thước hạt trung bình của hệ tăng lên, số lượng hạt giảm và cuối cùng có thể dẫn đến hiện tượng sa lắng, làm mất ổn định hệ keo. Tuy nhiên, đối với các hệ keo nano kim loại, hiện tượng tái kết tinh thường ít xảy ra do độ hòa tan của các hạt nano kim loại trong môi trường phân tán rất nhỏ.

Một quá trình khác có thể làm mất ổn định hệ keo là keo tụ, tức là sự kết dính của nhiều hạt phân tán để tạo thành các tập hợp có kích thước lớn hơn. Khi các hạt kết tụ lại với nhau, kích thước hiệu dụng của các tập hợp tăng lên, làm giảm chuyển động Brown và dẫn đến hiện tượng sa lắng. Trong các hệ keo kỵ lỏng, sự keo tụ chủ yếu xuất phát từ sự cạnh tranh giữa lực hút Van der Waals và lực đẩy tĩnh điện phát sinh từ lớp điện kép bao quanh bề mặt hạt, được đặc trưng bởi thế điện động zeta (ζ). Mức độ ổn định của hệ keo vì vậy phụ thuộc đáng kể vào hai yếu tố quan trọng, bao gồm lớp solvat hóa bao quanh bề mặt hạt giúp ngăn cản sự tiếp xúc trực tiếp giữa các hạt, và sự hấp phụ của các chất hoạt động bề mặt hoặc polymer lên bề mặt hạt. Quá trình hấp phụ này có thể làm thay đổi tính chất bề mặt của hạt từ kỵ lỏng sang ưa lỏng, qua đó tăng cường lực đẩy hoặc tạo hiệu ứng cản trở không gian, góp phần nâng cao độ bền và ổn định của hệ phân tán.

Cả hai cơ chế này làm tăng thế năng tương tác và điện tích bề mặt, hỗ trợ hình thành lớp solvat hóa cũng như lớp ổn định hấp phụ [50]

➤ **Ảnh hưởng của chất điện ly đến độ bền:**

Khi bổ sung chất điện ly, hệ keo kỵ nước dễ dàng bị keo tụ do điện thế bề mặt và pH đẳng điện bị phá vỡ, dẫn đến sự suy giảm giá trị ζ . Khả năng gây keo tụ của điện ly được đặc trưng bởi nồng độ keo tụ tới hạn (C_k) – là nồng độ nhỏ nhất có thể gây ra hiện tượng keo tụ với tốc độ xác định. Giá trị C_k phụ thuộc mạnh vào điện tích ion, tuân theo quy tắc Schulze–Hardy, theo đó ion ngược dấu với hạt càng có hóa trị cao thì khả năng gây keo tụ càng mạnh.

Khi điện ly có ion ngược dấu và hóa trị lớn được thêm vào, thế điện động $\psi(u_1)$ của lớp điện kép có thể thay đổi dấu. Khi $|\psi| < |\psi_k|$ (với ψ_k là thế tới hạn), hiện tượng keo tụ sẽ xảy ra. Cùng với đó, khi nồng độ điện ly tăng, chiều dày lớp khuếch tán (δ) giảm; đến khi $\psi=0$, các hạt có thể tiến gần nhau tự do, lực hút Van der Waals sẽ chiếm ưu thế và dẫn tới keo tụ [51]

➤ **Lý thuyết bền của hệ keo kỵ nước DLVO [52]**

Thuyết này được xây dựng ban đầu bởi Derjaguin và Landau, sau đó được Verwey và Overbeek tiếp tục phát triển và hoàn thiện. Khi hai hạt keo tiến lại gần nhau và bị ngăn cách bởi một lớp màng mỏng, sự tương tác giữa chúng được quyết định bởi sự cân bằng của hai loại lực chính: lực hút Van der Waals và lực đẩy tĩnh điện. Sự keo tụ xảy ra là kết quả tổng hợp của hai yếu tố này. Tùy theo trạng thái lực trong lớp mỏng ngăn cách, có thể hình thành áp suất tách dương (ngăn cản sự tiếp xúc giữa hạt) hoặc áp suất tách âm (tạo điều kiện cho các hạt tiến sát và kết dính).

Khi màng chất lỏng đủ mỏng, xuất hiện áp suất tách đặc trưng. Trong trường hợp chất lỏng chảy dưới tác dụng của áp suất P , ta có:

$$P = P_0 - \pi_0 \quad (1.1)$$

Trong đó P_0 là áp suất ngoài, còn π_0 là áp suất tách. Nếu P nhỏ, cản trở sự tiến lại gần của các hạt; ngược lại, khi P tăng lên, thúc đẩy sự chảy của lớp mỏng và tạo điều kiện cho hai hạt kết hợp.

Sự solvat hóa trong hệ keo:

Một cơ chế quan trọng góp phần quyết định đến độ bền của hệ keo là hiện tượng solvat hóa bề mặt hạt. Khi các phân tử dung môi, chất hoạt động bề mặt hoặc đại phân tử hấp phụ tạo thành một lớp áo quanh hạt, chúng làm thay đổi đặc tính bề mặt và cản trở sự tiếp xúc trực tiếp giữa các hạt. Lớp solvat này hoạt động như một hàng rào bảo vệ, gây ra lực cản đối với sự tiến gần của các hạt và đòi hỏi năng lượng để vượt qua quá trình giải hấp hay biến dạng lớp phủ. Do đó, thế năng tương tác U tăng dần khi hạt đến gần nhau, dẫn đến sự hình thành một dạng áp suất tách, có tác dụng duy trì sự phân tán của hệ keo.

Các chất hoạt động bề mặt và polymer hấp phụ có thể sắp xếp định hướng trên bề mặt hạt, làm tăng cường khả năng ổn định ngay cả ở nồng độ phân tán cao. Ngoài ra, độ bền hệ keo còn chịu ảnh hưởng bởi thế điện động zeta (ζ) và điểm đẳng điện. Khi pH của môi trường lệch xa điểm đẳng điện, điện tích bề mặt không bị trung hòa, do đó hệ keo thường ổn định hơn [49, 52]

1.1.3.3. Ưu điểm của SeNPs so với các dạng Se vô cơ và hữu cơ

SeNPs được xem là một dạng vật liệu Se có nhiều ưu điểm nổi bật so với Se dạng khối cũng như các hợp chất Se vô cơ và hữu cơ. Những đặc tính ưu việt này làm cho SeNPs trở thành đối tượng nghiên cứu tiềm năng trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt là trong y sinh học và công nghệ dược phẩm. Nhờ kích thước nanomet và các đặc tính bề mặt đặc trưng, SeNPs có thể cải thiện đáng kể các đặc tính sinh học của Se, đồng thời giảm thiểu các hạn chế về độc tính vốn tồn tại ở các dạng Se thông thường.

Một trong những ưu điểm quan trọng nhất của SeNPs là độc tính thấp hơn đáng kể so với các dạng Se vô cơ. Các hợp chất Se vô cơ, đặc biệt là selenite (Se^{4+}), được biết đến với độc tính tương đối cao ngay cả ở nồng độ thấp [53]. Mặc dù Se là một nguyên tố vi lượng thiết yếu đối với cơ thể, nhưng khoảng cách giữa liều lượng có lợi và liều lượng gây độc khá hẹp, do đó việc sử dụng Se ở dạng khối hoặc dạng ion thường bị hạn chế bởi nguy cơ gây ngộ độc. Khi Se được chuyển đổi sang dạng hạt nano, các SeNPs thu được thường có cấu trúc ổn định hơn, đồng thời thể hiện độc tính thấp hơn đáng kể nhưng vẫn duy trì được khả dụng sinh học cao [46].

Bên cạnh đó, SeNPs còn thể hiện khả dụng sinh học và hoạt tính sinh học cao hơn so với các dạng Se vô cơ và hữu cơ. Nhờ kích thước nanomet và diện tích bề mặt riêng lớn, các hạt SeNPs có thể dễ dàng tương tác với các hệ thống sinh học, từ đó cải thiện khả năng hấp thu và phân bố của Se trong cơ thể. Những đặc điểm này góp phần làm tăng hiệu quả sinh học của SeNPs trong nhiều ứng dụng, đặc biệt là trong lĩnh vực y sinh học và dược học [46].

Một ưu điểm quan trọng khác của SeNPs là khả năng thể hiện tính chọn lọc sinh học cao hơn so với các dạng Se khác. Nhiều nghiên cứu cho thấy SeNPs có thể tác động chọn lọc mạnh hơn lên các tế bào ung thư trong khi gây ảnh hưởng thấp hơn đối với các tế bào bình thường. Nhờ đặc tính này, việc sử dụng SeNPs có thể giúp giảm thiểu các tác dụng phụ không mong muốn lên các mô khỏe mạnh, qua đó nâng cao hiệu quả và độ an toàn trong các ứng dụng điều trị [46].

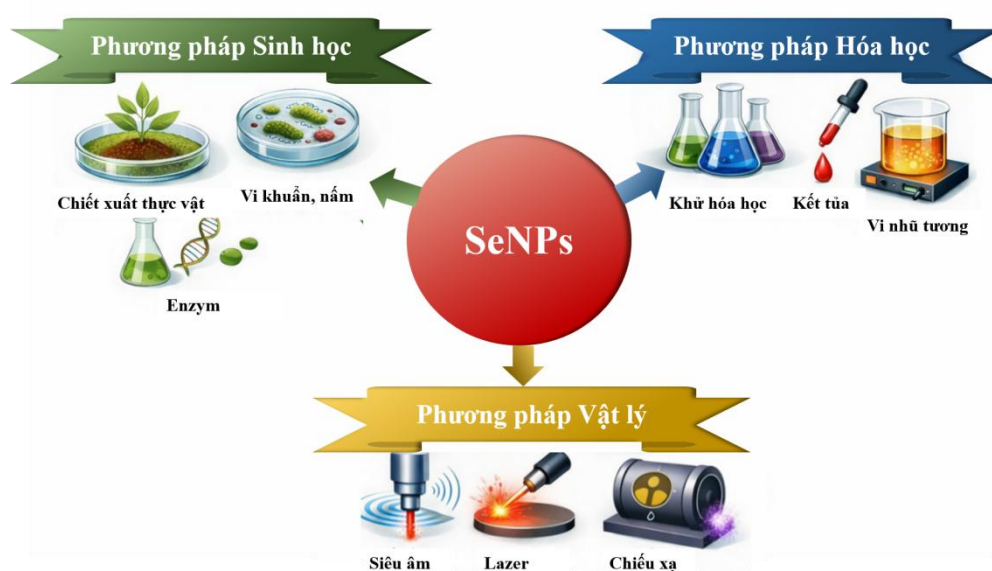
Ngoài ra, các đặc tính vật lý và hóa học của SeNPs có thể được điều chỉnh linh hoạt thông qua việc kiểm soát các điều kiện tổng hợp. Các yếu tố như kích thước hạt, hình dạng và tính chất bề mặt có thể được điều chỉnh bằng cách thay đổi các thông số

công nghệ trong quá trình tổng hợp hoặc bằng cách sử dụng các chất ổn định và chất bao phủ bề mặt thích hợp. Khả năng điều chỉnh này cho phép tối ưu hóa các đặc tính của SeNPs nhằm đáp ứng các yêu cầu cụ thể trong từng ứng dụng khác nhau [45].

Nhờ sự kết hợp giữa độ an toàn sinh học cao và hoạt tính sinh học mạnh, SeNPs còn giúp mở rộng biên độ an toàn trong điều trị so với các dạng Se thông thường. Điều này cho phép sử dụng SeNPs trong phạm vi liều lượng rộng hơn mà vẫn đảm bảo hiệu quả sinh học đồng thời hạn chế nguy cơ gây độc cho cơ thể. Chính đặc điểm này đã góp phần làm tăng tiềm năng ứng dụng của SeNPs trong các lĩnh vực như dược học, công nghệ sinh học và y học hiện đại [54].

1.2. Các phương pháp tổng hợp SeNPs

Các phương pháp tổng hợp hạt SeNPs đòi hỏi sự kiểm soát chặt chẽ các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến tính chất của chúng, bao gồm kích thước, hình dạng và hoạt tính sinh học. Các đặc tính này không chỉ quyết định hiệu quả ứng dụng mà còn ảnh hưởng đến tính an toàn và khả năng tương thích sinh học của vật liệu. Do đó, việc lựa chọn phương pháp tổng hợp phù hợp là bước khởi đầu quan trọng trong nghiên cứu và phát triển SeNPs. Hiện nay, có ba cách tiếp cận chính để tổng hợp SeNPs (hình 1.3): phương pháp hóa học, vật lý và sinh học. Mỗi phương pháp đều có những nguyên lý, ưu điểm và nhược điểm riêng, phù hợp với các mục tiêu nghiên cứu và ứng dụng khác nhau.



Hình 1.3. Phương pháp tổng hợp SeNPs

1.2.1. Phương pháp hóa học

Phương pháp tổng hợp hóa học là một trong những kỹ thuật được sử dụng rộng rãi nhất để tổng hợp SeNPs [55]. Nguyên lý cốt lõi của phương pháp này là phản ứng khử các tiền chất Se có trạng thái oxy hóa cao, điển hình là selenit (Se^{4+}) hoặc selenat (Se^{6+}), thành Se đơn chất (Se^0) ở dạng keo. Quá trình này thường diễn ra trong dung dịch, sử dụng một tác nhân khử phù hợp để chuyển đổi ion Se thành dạng đơn chất. Trong một số nghiên cứu, các chất khử như glutathione dạng khử (GSH) và natri borohydride (NaBH_4) cũng đã được sử dụng; tuy nhiên, axit ascorbic (AA) [56] được xem là tác nhân khử thân thiện với môi trường nhất và được ứng dụng rộng rãi. Một số axit hữu cơ khác như axit acetic, axit ascorbic, axit folic (FA), axit oxalic [57], axit sialic [58], axit benzoic và axit gallic [59] cũng có thể tham gia vào quá trình tổng hợp SeNPs cảm ứng bởi axit. Gần đây, phycocyanin – một chất chống oxy hóa chiết xuất từ tảo *Spirulina* – cũng đã được sử dụng để khử Na_2SeO_3 và tạo thành SeNPs.

Trong thí nghiệm, Na_2SeO_3 được phối hợp với GSH chứa BSA. Hỗn hợp sau đó được điều chỉnh đến pH 7,2, tạo dung dịch có màu đỏ đặc trưng. Để loại bỏ Na_2SeO_3 tự do và các phân tử nhỏ dư thừa, huyền phù được xử lý bằng phương pháp khuếch tán qua màng bán thấm trong 96 giờ. Sau đó, huyền phù chứa SeNPs được ly tâm ở tốc độ 14.000 vòng/phút trong 10 phút; dịch nổi được loại bỏ, phần cặn được rửa hai lần bằng nước cất và vortex trong 1 phút. Quá trình ly tâm được lặp lại 3–4 lần nhằm loại bỏ hoàn toàn Na_2SeO_3 hoặc các tác nhân phản ứng còn sót lại, thu được huyền phù SeNPs tinh sạch [60]. Kết quả đặc trưng cho thấy hạt có kích thước trung bình khoảng $110,73 \pm 7,24$ nm, phân bố tương đối hẹp (PDI thấp), hình thái dạng cầu quan sát qua TEM và mang điện tích bề mặt âm ($-18,5$ mV), góp phần duy trì độ ổn định keo của hệ huyền phù. Mặc dù phương pháp khử hóa học sử dụng hệ GSH/BSA có ưu điểm là điều kiện phản ứng nhẹ (pH trung tính, nhiệt độ phòng), quy trình thực hiện không đòi hỏi thiết bị phức tạp và tạo được lớp áo protein sinh học thuận lợi cho ứng dụng y sinh, tuy nhiên tồn tại nhiều hạn chế đáng kể. Quá trình khử phụ thuộc chặt chẽ vào tỷ lệ mol và động học phản ứng giữa Na_2SeO_3 và GSH nên khó kiểm soát chính xác giai đoạn tạo mầm – phát triển hạt, dễ dẫn đến sai lệch kích thước giữa

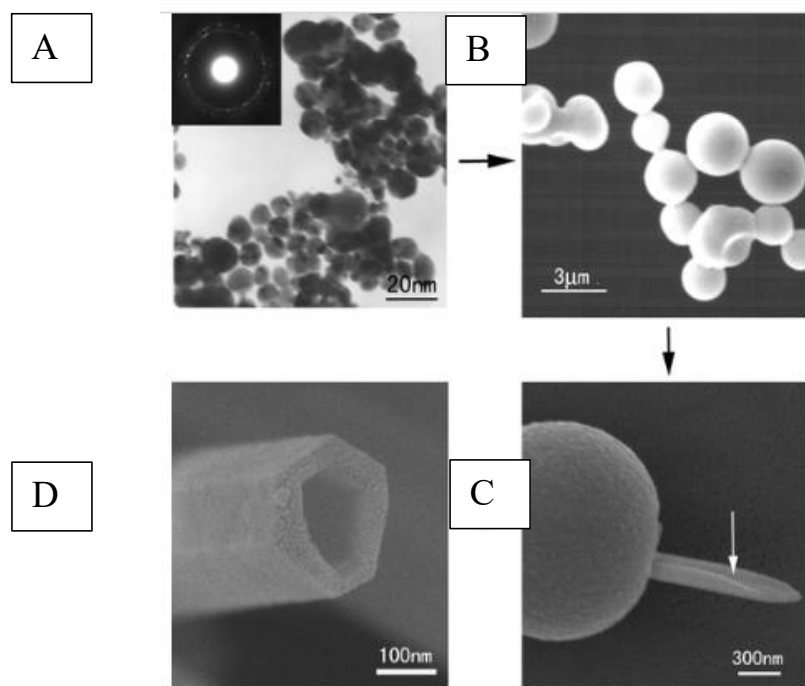
các mẻ tổng hợp. Ngoài ra, sự hiện diện của sản phẩm oxy hóa (GSSG), ion dư và protein tự do đòi hỏi quy trình tinh sạch kéo dài (ly tâm lặp lại nhiều lần), làm tăng thời gian xử lý, nguy cơ thất thoát vật liệu và kết tụ thứ cấp.

Trong các thí nghiệm trước đây, một phần dung dịch được chất đã được phối hợp với dung dịch Na_2SeO_3 , sau đó dung dịch AA được nhỏ giọt từ từ vào hỗn hợp dưới khuấy từ, và hỗn hợp được pha loãng bằng nước khử ion. Sau 30 phút phản ứng, hỗn hợp được thẩm tích bằng nước Milli-Q Plus trong 24 giờ (Pur-A-Tyzer™ Mega 3500 Dialysis Kit). Hàm lượng Se trong các mẫu SeNPs được xác định bằng phương pháp ICP-MS [61]. Kết quả cho thấy SeNPs thu được có hình thái dạng cầu, kích thước trung bình thường nằm trong khoảng 70–80 nm tùy hệ ổn định, với phân bố tương đối đồng đều khi điều kiện phản ứng được kiểm soát tốt. Mặc dù phương pháp này có ưu điểm là quy trình đơn giản, dễ thực hiện và thời gian phản ứng tương đối ngắn, nhưng vẫn tồn tại những hạn chế nhất định. Quá trình khử phụ thuộc mạnh vào nồng độ, tốc độ nhỏ giọt AA và điều kiện pH, do đó khó kiểm soát chính xác động học tạo mầm – phát triển hạt khi mở rộng quy mô. Ngoài ra, việc sử dụng tác nhân khử hóa học và chất ổn định hữu cơ có thể để lại tạp chất bề mặt, làm thay đổi đặc tính sinh học của hạt nano và đòi hỏi bước tinh sạch kéo dài.

Một nghiên cứu khác, SeNPs được tổng hợp trong hệ có mặt chitosan (CTS) hoặc chitooligosaccharide (COS) để cải thiện độ ổn định và chức năng của hạt nano. Na_2SeO_3 được dùng làm tiền chất Se^{4+} , sau đó được khử thành Se^0 ngay trong dung dịch chứa polymer CTS/COS, nơi các nhóm amino- và hydroxyl của CTS bám lên bề mặt SeNPs và đóng vai trò là chất ổn định để ngăn kết tụ, đồng thời tạo ra tương tác bền vững giữa SeNPs và CTS/COS [62]. Kết quả đặc trưng cho thấy các hạt SeNPs có hình thái dạng cầu quan sát qua TEM, với kích thước trung bình nằm trong khoảng 50–100 nm và phân bố tương đối đồng đều. Giá trị zeta dương do sự proton hóa nhóm amino ($-\text{NH}_3^+$) của CTS giúp tăng độ ổn định keo nhờ cơ chế đẩy tĩnh điện. Về mặt công nghệ, phương pháp này có ưu điểm là tạo được SeNPs ổn định sinh học ngay trong quá trình tổng hợp, tăng tính tương thích sinh học và tiềm năng ứng dụng được phẩm. Tuy nhiên, do vẫn dựa trên cơ chế khử hóa học nên quá trình hình thành hạt phụ thuộc mạnh vào nồng độ tiền chất, chất khử và đặc tính polymer, dẫn đến khó

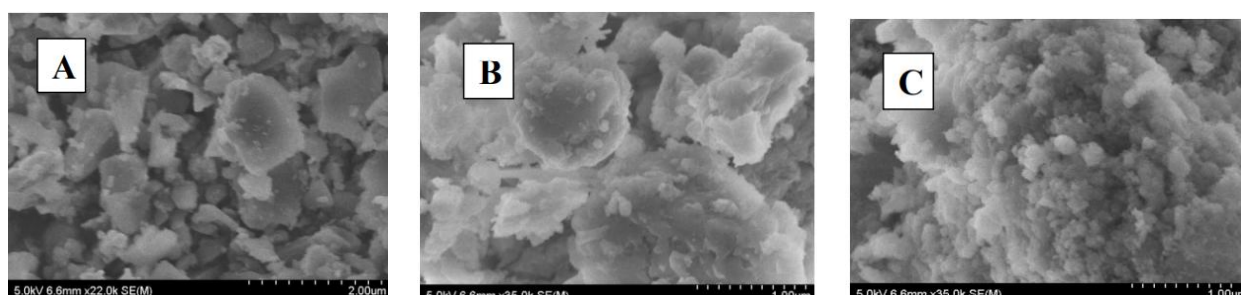
kiểm soát chính xác động học tạo mầm – phát triển hạt. Hệ phản ứng đa thành phần cũng làm tăng nguy cơ tồn dư tạp chất và yêu cầu các bước tinh sạch bổ sung.

Gần đây, một số nghiên cứu đã mô tả việc tổng hợp SeNPs bằng kỹ thuật thủy nhiệt mà không sử dụng bất kỳ polyme hay chất hoạt động bề mặt nào để ổn định. Quá trình tổng hợp dựa trên cơ chế tạo mầm – hòa tan – tái kết tinh. Cụ thể, Na_2SeO_3 , natri formate và natri hydroxide được cho vào nồi phản ứng autoclave phủ Teflon và nung ở 100°C trong 2–25 giờ. Kết quả SEM ở hình 1.4 cho thấy sau 2 giờ phản ứng thủy nhiệt, các hạt kích thước 10 nm đã hình thành; sau 8 giờ bắt đầu xuất hiện ống SeNPs, và đến 25 giờ thì chỉ còn lại cấu trúc ống, chứng tỏ thời gian nung giữ vai trò quyết định trong quá trình hình thành hình thái của SeNPs [12, 63]. Tuy nhiên, phương pháp này cũng tồn tại những hạn chế đáng kể. Quá trình yêu cầu thiết bị autoclave chịu áp suất và nhiệt độ cao, tiêu tốn năng lượng và khó quan sát trực tiếp động học phản ứng trong hệ kín. Thời gian xử lý kéo dài (đến 25 giờ) làm giảm hiệu suất công nghệ và khó mở rộng quy mô liên tục. Ngoài ra, do không sử dụng chất ổn định, các hạt sơ cấp có thể dễ kết tụ trong giai đoạn đầu nếu điều kiện không được kiểm soát nghiêm ngặt; việc chuyển pha hình thái theo thời gian cũng cho thấy hệ dễ biến đổi cấu trúc nếu điều kiện không đồng nhất.



Hình 1.4. Ảnh SEM của các sản phẩm SeNPs thu được từ quá trình thủy nhiệt tại các thời điểm khác nhau: (A) 2 giờ, (B) 4 giờ, (C) 8 giờ, (D) 25 giờ [63]

Phương pháp sol–gel được sử dụng để tổng hợp SeNPs thông qua quá trình chuyển đổi dung dịch sang trạng thái rắn dưới sự kiểm soát của cơ chế sol–gel [64]. Trong quy trình này, tiền chất Se được hòa tan trong dung môi, sau đó một tác nhân tạo gel (axit hoặc bazơ) được bổ sung nhằm khởi phát quá trình gel hóa. Các phản ứng thủy phân và đa ngưng tụ diễn ra, dẫn đến sự hình thành gel rắn. Khối gel này tiếp tục được làm khô và xử lý nhiệt để loại bỏ dung môi, từ đó thu được SeNPs. Một nghiên cứu tiêu biểu về ứng dụng phương pháp sol–gel trong tổng hợp SeNPs là công trình của Soumya Mukherjee và cộng sự [65]. Trong nghiên cứu này, SeO_2 được phân tán vào khung silica vô cơ (hình thành từ tiền chất tetraethoxysilane – TEOS) và trải qua quá trình gel hóa theo cơ chế sol–gel. Khối gel sau đó được khử bằng ba tác nhân khác nhau gồm hơi axetone, NaBH_4 và hydrazine ở khoảng 100°C . Phân tích nhiễu xạ tia X (XRD) cho thấy kích thước tinh thể của Se thu được nằm trong khoảng 33–43 nm, được tính toán dựa trên công thức Debye–Scherrer. Trong khi đó, ảnh FE-SEM (hình 1.5) ghi nhận hình thái hạt có cấu trúc đa giác, phân bố không đồng đều, và kích thước quan sát thay đổi theo tác nhân khử: nhỏ hơn $0,2\ \mu\text{m}$ đối với hơi axetone, xấp xỉ $0,1\ \mu\text{m}$ với hydrazine và hơi lớn hơn $0,1\ \mu\text{m}$ khi sử dụng NaBH_4 . Ưu điểm nổi bật của phương pháp sol–gel là khả năng kiểm soát kích thước, sự phân bố và hình thái hạt nano thông qua điều chỉnh các thông số như pH, nhiệt độ và nồng độ tác chất. Ngoài ra, phương pháp này còn cho phép thu được SeNPs có độ tinh khiết cao với khả năng điều chỉnh độ xốp, nhờ đó phù hợp cho nhiều ứng dụng trong xúc tác, dẫn truyền thuốc và xử lý môi trường. Tuy nhiên, quy trình sol–gel thường mất nhiều thời gian và đòi hỏi kiểm soát nghiêm ngặt để hạn chế hiện tượng kết tụ hạt.



Hình 1.5. Hình thái FE-SEM của vật liệu composite Se-Silica theo phương pháp Sol-Gel sử dụng ba chất khử khác nhau A) Hơi axeton B) Hydrazine và C) Natri Borohydride [65]

Mặc dù phương pháp hóa học đã được ứng dụng rộng rãi và cho thấy khả năng điều chỉnh kích thước, hình thái cũng như hiệu suất tạo hạt SeNPs tương đối tốt, song các quy trình này vẫn tồn tại nhiều hạn chế đáng lưu ý. Thứ nhất, việc sử dụng các tác nhân khử mạnh (như NaBH_4 , hydrazine) hoặc chất ổn định bổ sung đòi hỏi kiểm soát điều kiện phản ứng nghiêm ngặt và có thể làm phát sinh tạp chất ảnh hưởng đến độ tinh sạch của sản phẩm. Ngay cả khi sử dụng các chất khử “xanh” như axit ascorbic hay phycocyanin, quá trình vẫn cần nhiều bước xử lý sau tổng hợp (ly tâm lặp lại, khuếch tán qua màng bán thấm), dễ dẫn đến thất thoát mẫu hoặc biến đổi đặc tính hạt. Thứ hai, tính lặp lại giữa các mẻ tổng hợp còn hạn chế do sự nhạy cảm của hệ phản ứng với pH, tốc độ nhỏ giọt, nồng độ tác chất và yếu tố khuấy trộn. Bên cạnh đó, các quy trình như sol–gel hay thủy nhiệt mặc dù cải thiện khả năng kiểm soát hình thái nhưng lại yêu cầu thời gian phản ứng dài, điều kiện nhiệt độ – áp suất đặc thù và khó mở rộng quy mô. Những hạn chế này cho thấy phương pháp hóa học, dù hiệu quả và linh hoạt, vẫn chưa khắc phục triệt để các thách thức về độ tinh sạch, tính ổn định dài hạn và khả năng chuẩn hóa quy trình – các yếu tố then chốt khi hướng đến ứng dụng SeNPs trong y sinh, nơi tính an toàn và đồng nhất sản phẩm là yêu cầu bắt buộc.

1.2.2. Phương pháp sinh học

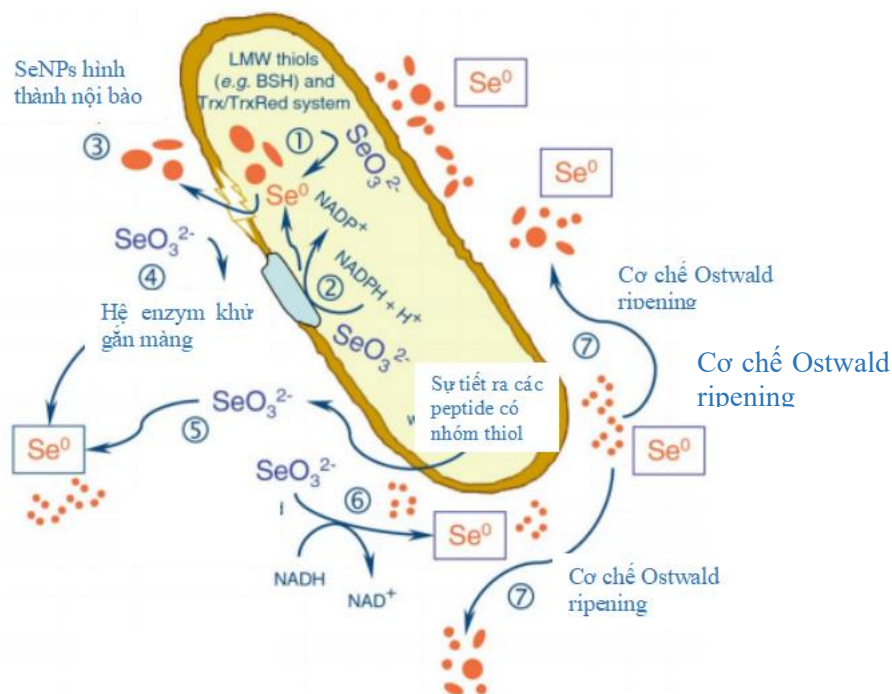
Phương pháp sinh học hay còn được gọi là tổng hợp xanh, là phương pháp chế tạo nano đã thu hút sự chú ý của các nhà nghiên cứu trong hai thập kỷ qua. Mặc dù các hạt SeNPs có nhiều ưu điểm hơn so với các hợp chất hữu cơ và vô cơ của Se, nhưng vấn đề chính của chúng là khả năng hấp thu kém trong tế bào. Do đó, việc tổng hợp SeNPs bằng con đường sinh học được cho là sẽ cải thiện tính tương thích sinh học và độ ổn định của chúng [66].

Các phương pháp trước đây thường yêu cầu các tác nhân khử và ổn định hóa học, vốn có thể gây độc và cản trở ứng dụng sinh học. Ngược lại, các chất chiết xuất sinh học từ thực vật và vi sinh vật được xem là lựa chọn ưu việt hơn vì chi phí thấp và không độc hại. Chúng vừa đóng vai trò là chất khử sinh học vừa là chất ổn định cho các hạt nano. Phương pháp khử sinh học, sử dụng các nguồn vật liệu tự nhiên như thực vật, vi khuẩn, nấm, tảo, protein và các loại chiết xuất có hoạt tính sinh học, đã

được chứng minh là một giải pháp hiệu quả để tạo ra các hạt SeNPs thân thiện với môi trường, có độ ổn định cao và mang nhiều đặc tính sinh học giá trị.

1.2.2.1. Tổng hợp dựa trên vi sinh vật

Việc ứng dụng vi sinh vật trong tổng hợp SeNPs là một cách tiếp cận thân thiện với môi trường, trong đó các vi khuẩn, nấm hoặc nấm men [39, 40, 67] đóng vai trò là tác nhân khử sinh học, xúc tiến quá trình chuyển đổi các ion Se (như selenit hoặc selenat) thành SeNPs ở trạng thái đơn chất. Gần đây một nghiên cứu cho thấy chủng vi khuẩn *SeITE01* được phân lập từ thân rễ cây *Astragalus* – một loài cây họ đậu có khả năng tích lũy Se trong đất ô nhiễm – có thể khử selenit và tạo ra các hạt Se^0 vô định hình dưới điều kiện hiếu khí [67]. Các hạt nano này được tìm thấy chủ yếu bên ngoài tế bào, trong khi một phần nhỏ Se nguyên tố hình thành bên trong tế bào. Phương pháp này có ưu điểm là không cần sử dụng hóa chất độc hại và có thể thực hiện trong điều kiện nhẹ, thường ở nhiệt độ phòng và áp suất khí quyển. Tuy nhiên, nhược điểm là thời gian phản ứng kéo dài, đồng thời cần quá trình tối ưu hóa kỹ lưỡng để thu được các đặc tính hạt nano như mong muốn [68]



Hình 1.6. Sự hình thành chậm của các hạt SeNPs bởi *Bacillus mycoides* *SeITE01* là hệ quả của quá trình khử selenit trong điều kiện hiếu khí [67]

Hình 1.6 minh họa cơ chế sinh học tạo hạt SeNPs bởi *Bacillus mycoides* *SeITE01* thông qua quá trình khử selenit (SeO_3^{2-}) trong điều kiện hiếu khí. Quá trình này diễn ra theo nhiều con đường khác nhau:

(1) Các ion selenit được vận chuyển vào tế bào và bị khử bởi hệ thiol trọng lượng phân tử thấp (LMW thiols, ví dụ BSH) cùng hệ Trx/TrxRed, sử dụng NADPH làm nguồn điện tử và tạo thành NADP^+ .

(2) Các enzym khử gắn màng (membrane reductases) xúc tác phản ứng khử SeO_3^{2-} ngay tại bề mặt tế bào.

(3) Một phần hạt Se^0 hình thành nội bào được giải phóng ra môi trường khi tế bào ly giải.

(4) Vi khuẩn tiết ra peptide chứa nhóm thiol, tham gia khử SeO_3^{2-} ngoài tế bào.

(5) Các protein ngoại bào được tiết ra cũng góp phần khử SeO_3^{2-} thành Se^0 với sự hỗ trợ của NADH/NAD^+ .

(6) Se^0 ngoại bào được tích lũy dần, tạo thành các hạt nano.

(7) Các hạt Se^0 nhỏ trải qua quá trình tái kết tinh theo cơ chế Ostwald (Ostwald ripening), tái tổ chức để hình thành hạt SeNPs có kích thước lớn và ổn định hơn.

Cơ chế này cho thấy *B. Mycoides SeITE01* có khả năng phối hợp nhiều con đường khử sinh học, bao gồm cả nội bào và ngoại bào, nhằm tạo ra các hạt SeNPs trong điều kiện nhẹ nhàng, thân thiện môi trường mà không cần hóa chất độc hại.

1.2.2.2. Phương pháp chiết xuất từ thực vật

Quá trình tổng hợp SeNPs bằng dịch chiết thực vật tận dụng các hợp chất có khả năng khử tự nhiên vốn hiện diện trong nguyên liệu thực vật. Một nghiên cứu gần đây đã chứng minh tiềm năng ứng dụng các SeNPs tổng hợp xanh như tác nhân kháng khuẩn trong đất [69]. Nhóm tác giả đã trộn dịch chiết của ba loài thực vật gồm *M. Emarginata* (sơ-ri), *A. Cepa* (hành tây) và *G. Amygdalinum* (boldo) làm chất khử với tiền chất sodium selenite (Na_2SeO_3). Kết quả cho thấy SeNPs tạo thành có hoạt tính ức chế và diệt khuẩn đối với vi khuẩn Gram dương. Các dịch chiết này giàu hợp chất hoạt tính sinh học như polyphenol và flavonoid, đóng vai trò quan trọng trong việc khử ion Se thành SeNPs dạng nguyên tố [70]. Trong số đó, táo là nguồn chất khử tự nhiên được sử dụng phổ biến nhờ tốc độ sinh trưởng nhanh, năng suất sinh khối cao

và chu kỳ nuôi cấy ngắn [71]. Dịch chiết từ vi tảo và rong biển có thể được khai thác cho quá trình tổng hợp xanh SeNPs, trong đó polysaccharide *Laminaria* còn có thể hoạt động như chất ổn định cho hạt [72]. Phương pháp này không đòi hỏi việc sử dụng hóa chất độc hại và có thể tiến hành trong điều kiện phản ứng nhẹ nhàng, qua đó trở thành một giải pháp thân thiện với môi trường [73]. Kích thước, hình dạng và độ bền của SeNPs có thể được kiểm soát bằng cách điều chỉnh các yếu tố như nồng độ dịch chiết, pH, nhiệt độ và thời gian phản ứng.

Một trong những ưu điểm quan trọng nhất của phương pháp tổng hợp xanh là khả năng hình thành một "lớp phủ sinh học" tự nhiên cho các hạt nano. Các hợp chất hoạt tính sinh học từ chiết xuất thực vật hoặc vi sinh vật không chỉ đóng vai trò là chất khử mà còn là tác nhân tạo lớp bao tự nhiên, giúp ổn định bề mặt hạt nano [66]. Lớp phủ này mang lại hai lợi ích chính: (i) ngăn ngừa sự kết tụ của các hạt, và (ii) tăng cường tính tương thích sinh học, giảm độc tính, đồng thời cải thiện sinh khả dụng [74]. Nhờ đó, phương pháp tổng hợp xanh tạo được lợi thế so với các phương pháp hóa học truyền thống vốn đòi hỏi nhiều bước chức năng hóa bề mặt sau tổng hợp, giúp tạo ra các hạt SeNPs thân thiện hơn với môi trường và phù hợp cho ứng dụng y sinh [75].

Tuy nhiên, chính sự đa dạng và phức tạp của các thành phần sinh học trong dịch chiết lại tạo nên hạn chế đáng kể cho phương pháp này. Sự biến thiên về thành phần hóa học giữa các nguồn nguyên liệu sinh học khác nhau, thậm chí giữa các lô mẫu cùng loài, khiến quá trình tổng hợp khó tái lập, dẫn đến sản phẩm không đồng nhất về kích thước, hình dạng và độ ổn định. Ngoài ra, việc kiểm soát các điều kiện phản ứng cũng bị giới hạn do tính nhạy cảm của các hợp chất tự nhiên, ảnh hưởng đến khả năng điều chỉnh chính xác đặc tính của hạt nano. Những yếu tố này khiến phương pháp tổng hợp xanh khó đáp ứng yêu cầu về độ ổn định lâu dài và khả năng kiểm soát cấu trúc khi hướng tới các ứng dụng y sinh cấp độ cao. Chính vì vậy, nhu cầu phát triển các phương pháp tổng hợp mới; đặc biệt là các kỹ thuật có khả năng kiểm soát tốt hơn quá trình khử và hình thành hạt trong môi trường tinh khiết, đồng thời đảm bảo tính ổn định cao và khả năng tái lập đang trở nên cấp thiết.

1.2.3. Phương pháp vật lý

Các phương pháp vật lý sử dụng năng lượng bên ngoài để phân tách vật liệu khối thành các hạt nano hoặc để thúc đẩy phản ứng hình thành hạt nano từ các tiền chất. Các kỹ thuật này thường không sử dụng hóa chất độc hại, đảm bảo độ tinh khiết cao của sản phẩm.

1.2.3.1. Phương pháp vi sóng

Cơ chế hình thành SeNPs trong phương pháp vi sóng bắt nguồn từ phản ứng khử hóa học các ion Se^{4+} hoặc Se^{6+} về trạng thái Se^0 , trong đó vi sóng đóng vai trò là nguồn cung cấp năng lượng nhằm gia tăng tốc độ và hiệu suất của quá trình. Khi dung dịch tiền chất chứa muối Se và tác nhân khử được chiếu xạ vi sóng, năng lượng điện từ được hấp thụ trực tiếp bởi các phân tử phân cực trong dung môi và các cấu tử phản ứng, tạo ra sự gia nhiệt thể tích nhanh và đồng đều thông qua cơ chế quay lưỡng cực và dẫn truyền ion. So với gia nhiệt truyền thống, cơ chế này làm giảm gradient nhiệt độ trong hệ phản ứng, rút ngắn thời gian xử lý và nâng cao hiệu quả chuyển hóa. Năng lượng nhiệt sinh ra cung cấp năng lượng hoạt hóa cho phản ứng khử, trong đó các ion Se hóa trị cao nhận electron từ các tác nhân khử như hydrazine hydrate, L-asparagine hoặc các hợp chất phenolic trong dịch chiết thực vật để tạo thành Se nguyên tố [76]. Sau khi hình thành, các nguyên tử Se^0 nhanh chóng tập hợp tạo thành các mầm tinh thể ban đầu, tiếp theo là quá trình phát triển hạt thông qua cơ chế kết tụ định hướng hoặc hợp nhất các tiểu phân nhỏ hơn. Đặc trưng gia nhiệt nhanh và đồng đều của vi sóng thúc đẩy đồng thời quá trình tạo mầm và phát triển tinh thể, qua đó ảnh hưởng trực tiếp đến kích thước, phân bố kích thước và hình thái của SeNPs. Để kiểm soát sự tăng trưởng hạt và hạn chế kết tụ thứ cấp, các chất ổn định như polyvinyl alcohol (PVA), sodium dodecyl sulfate (SDS), polyethylene glycol (PEG), cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) hoặc axit oleic thường được bổ sung vào hệ phản ứng. Các chất này hấp phụ lên bề mặt hạt nano, tạo hiệu ứng đẩy tĩnh điện hoặc cản trở không gian, góp phần duy trì độ phân tán và độ ổn định của hệ keo SeNPs.

Phương pháp tổng hợp SeNPs kết hợp với vi sóng mang lại nhiều ưu điểm nổi bật so với các kỹ thuật khác. Trước hết, tốc độ phản ứng diễn ra rất nhanh, thường chỉ

hoàn tất trong vài phút thay vì kéo dài nhiều giờ hoặc thậm chí nhiều ngày. Cơ chế gia nhiệt đồng đều của vi sóng giúp hạn chế sự hình thành gradient nhiệt và giảm hiện tượng kết tụ cục bộ, đồng thời tiết kiệm năng lượng nhờ hiệu suất truyền nhiệt cao khi năng lượng được hấp thụ trực tiếp bởi các phân tử tham gia phản ứng. Quá trình tạo mầm đồng nhất và nhanh chóng cũng tạo điều kiện kiểm soát tốt kích thước hạt, đảm bảo độ phân tán cao. Đặc biệt, phương pháp này còn thân thiện với môi trường khi có thể kết hợp với các dịch chiết sinh học và không đòi hỏi sử dụng dung môi hữu cơ độc hại.

Tuy nhiên, phương pháp cũng tồn tại một số hạn chế. Việc kiểm soát hình dạng hạt phức tạp còn khó khăn, sản phẩm thường thiên về dạng hình cầu. Ngoài ra, kỹ thuật này yêu cầu thiết bị chuyên dụng như lò phản ứng vi sóng dành riêng cho tổng hợp nano, và việc mở rộng quy mô sản xuất công nghiệp còn gặp trở ngại do thể tích gia nhiệt hiệu quả của vi sóng bị giới hạn.

Một nghiên cứu đã sử dụng dịch chiết từ quả *Coccinia grandis* để tổng hợp SeNPs kết hợp với vi sóng, thu được các hạt có kích thước 12–24 nm, hình cầu và thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cũng như kháng khuẩn mạnh mẽ [77]. Tương tự, dịch chiết vỏ hạt ca cao (*Theobroma cacao* L.) cũng được ứng dụng như chất khử và ổn định, cho phép tổng hợp các hạt cầu siêu nhỏ 1–3 nm với độ bền cao và khả năng chống oxy hóa vượt trội [78]. Một nghiên cứu khác đã sử dụng glucose như một chất khử sinh học kết hợp với vi sóng, thu được SeNPs ổn định có hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn và ít độc tính đối với tế bào người [79]. Ngoài ra, dịch nổi từ vi khuẩn *Nocardia concava* cũng đã được ứng dụng, tạo ra SeNPs có cấu trúc tinh thể cùng với hoạt tính sinh học cao [80]. Các kết quả này cho thấy phương pháp vi sóng, đặc biệt khi kết hợp với các chiết xuất sinh học, không chỉ rút ngắn thời gian phản ứng mà còn đảm bảo độ ổn định và tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong y sinh, dược phẩm và nông nghiệp bền vững. Mặc dù vậy, bên cạnh những ưu điểm nổi bật về thời gian phản ứng ngắn, hiệu suất tạo hạt cao và khả năng kiểm soát kích thước tương đối tốt, phương pháp vi sóng kết hợp chiết xuất sinh học vẫn tồn tại một số hạn chế nhất định. Thành phần hóa học của các dịch chiết thực vật hoặc vi sinh vật thường phức tạp và biến thiên theo nguồn nguyên liệu, mùa vụ và điều kiện chiết tách, dẫn đến khó

khăn trong việc tái lập kết quả và chuẩn hóa quy trình ở quy mô lớn. Ngoài ra, sự hiện diện của nhiều hợp chất hữu cơ có thể gây cản trở quá trình tinh sạch, ảnh hưởng đến độ tinh khiết bề mặt hạt nano và tính đồng nhất giữa các mẻ tổng hợp. Việc mở rộng quy mô sản xuất bằng hệ vi sóng cũng đòi hỏi thiết bị chuyên dụng và kiểm soát chặt chẽ phân bố năng lượng trong thể tích phản ứng, nếu không có thể dẫn đến hiện tượng quá nhiệt cục bộ và phân bố kích thước không đồng đều. Do đó, mặc dù có tiềm năng ứng dụng cao, phương pháp này vẫn cần được tối ưu thêm về tính lặp lại, khả năng mở rộng và kiểm soát cấu trúc để đáp ứng yêu cầu sản xuất thực tiễn.

1.2.3.2. Phương pháp laser

Phương pháp laser ablation trong dung dịch (Laser Ablation in Liquids, LAL) là một kỹ thuật vật lý tiên tiến cho phép tổng hợp hạt nano có độ tinh khiết cao mà không cần sử dụng thêm tác nhân khử hoặc chất ổn định hữu cơ. Trong quy trình này, Se được đặt trong môi trường lỏng (thường là nước khử ion, ethanol hoặc dung dịch có chất ổn định). Khi chiếu xạ bằng các xung laser cường độ cao, năng lượng photon tập trung tại bề mặt mục tiêu sẽ gây ra quá trình bốc hơi cục bộ và hình thành plasma. Vùng plasma chứa nguyên tử, ion Se sẽ nhanh chóng nguội đi khi tiếp xúc với dung môi lạnh, dẫn đến sự ngưng tụ và tạo mầm, hình thành các hạt SeNPs phân tán trong môi trường lỏng [81-83].

Nguyên lý và cơ chế phản ứng

- Cơ chế hình thành hạt SeNPs trong phương pháp chiếu xạ laser có thể được giải thích thông qua ba giai đoạn kế tiếp nhau. Trước hết, khi xung laser có mật độ năng lượng đủ lớn (trên $0,5 \text{ J/cm}^2$) tác động lên bề mặt vật liệu mục tiêu, năng lượng được hấp thụ tức thời, gây bốc hơi cục bộ và hình thành một vùng plasma chứa electron, ion và các cụm nguyên tử Se. Tiếp theo, vùng plasma này giãn nở nhanh vào môi trường dung môi xung quanh, kèm theo sự xuất hiện của sóng xung kích và bong bóng xâm thực; trong quá trình giãn nở, nhiệt độ và áp suất giảm đột ngột, tạo điều kiện thuận lợi cho sự ngưng tụ đồng thể của các cụm Se. Ở giai đoạn cuối, các cụm nguyên tử tiếp tục va chạm và kết hợp để hình thành hạt nano hoàn chỉnh, trong đó kích thước và hình thái hạt phụ thuộc đáng kể vào các thông số như bước sóng laser, năng lượng xung, thời gian chiếu xạ cũng như

bản chất của dung môi. Trong môi trường nước tinh khiết, SeNPs thường có dạng cầu tương đối đồng đều, trong khi sự hiện diện của polymer hoặc chất hoạt động bề mặt có thể định hướng quá trình tăng trưởng, dẫn đến sự hình thành cấu trúc dạng thanh hoặc các hình thái dị thường khác [82, 84].

Ưu điểm nổi bật của phương pháp LAL là khả năng tạo ra SeNPs “sạch” (không chứa tạp chất từ hóa chất khử hoặc ổn định), phù hợp cho các ứng dụng y sinh yêu cầu độ tinh khiết cao [81, 82]. Ngoài ra, LAL cho phép kiểm soát tương đối tốt về kích thước và phân bố hạt thông qua việc điều chỉnh thông số laser (bước sóng, độ rộng xung) và tính chất dung môi. Tuy nhiên, nhược điểm chính của phương pháp này là năng suất tổng hợp còn hạn chế so với các phương pháp hóa học truyền thống [83]

Một nghiên cứu năm 2022 đã báo cáo tổng hợp SeNPs bằng phương pháp bắn phá laser xung sử dụng laser Nd:YAG ở bước sóng 532 nm. Các hạt nano được lắng đọng trên các chất nền khác nhau (màng vàng kim loại, tấm silicon và thủy tinh) và được đặc trưng bằng kính hiển vi lực nguyên tử (AFM). Kích thước, hình dạng và mật độ hạt SeNPs phụ thuộc mạnh mẽ vào điều kiện thực nghiệm, đặc biệt là mật độ năng lượng, số xung laser và bản chất của chất nền. Chỉ cần vài xung laser (tối đa năm xung) là đủ để tạo ra một lượng hạt nano đáng kể trên bề mặt chất nền [81].

Một nghiên cứu khác năm 2013 đã tổng hợp thành công các SeNPs tinh khiết bằng phương pháp bắn phá laser xung trong chất lỏng (LP-PLA) trong nước khử ion. Laser excimer (248 nm) hoạt động ở mật độ năng lượng thấp ($F \sim 1 \text{ J/cm}^2$) được sử dụng để tạo ra các dung dịch keo SeNPs. Các hạt nano thu được có kích thước khoảng 60 nm và được đặc trưng bằng quang phổ UV-Vis, phổ Raman, tán xạ ánh sáng động (DLS) và kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng các hạt SeNPs có độ ổn định đáng kể trong nước [82].

Gần đây một nghiên cứu đã chế tạo hạt SeNPs bằng kỹ thuật laser femtosecond trong dung dịch. Nghiên cứu cho thấy thời gian xung siêu ngắn giúp kiểm soát tốt quá trình hình thành hạt, tạo SeNPs có phân bố kích thước hẹp, bề mặt sạch và độ tinh khiết cao. Các hạt thu được thể hiện tính ổn định vượt trội, hứa hẹn ứng dụng trong lĩnh vực y sinh [84].

Từ các kết quả nghiên cứu có thể nhận thấy phương pháp bắn phá laser xung, bao gồm cả LP-PLA và laser femtosecond, sở hữu nhiều ưu điểm nổi bật như khả năng tạo hạt nano có độ tinh khiết cao do không cần sử dụng tiền chất hóa học hay chất khử, hạn chế tối đa tạp chất bề mặt và nguy cơ nhiễm bẩn thứ cấp. Quá trình tổng hợp diễn ra nhanh, chỉ với số lượng xung laser hạn chế đã có thể tạo ra mật độ hạt đáng kể, đồng thời cho phép điều chỉnh kích thước, mật độ và hình thái hạt thông qua các thông số như bước sóng, mật độ năng lượng, thời gian xung và môi trường phản ứng. Đặc biệt, kỹ thuật laser femtosecond với thời gian xung siêu ngắn giúp kiểm soát tốt quá trình tạo mầm và tăng trưởng, tạo ra SeNPs có phân bố kích thước hẹp, bề mặt sạch và độ ổn định cao, rất phù hợp cho các ứng dụng yêu cầu độ tinh khiết nghiêm ngặt như y sinh. Tuy nhiên, phương pháp này cũng tồn tại những hạn chế đáng kể, bao gồm chi phí đầu tư thiết bị laser công suất cao và hệ quang học phức tạp, tiêu tốn năng lượng lớn và khó mở rộng quy mô sản xuất công nghiệp. Ngoài ra, kích thước và mật độ hạt phụ thuộc mạnh vào điều kiện thực nghiệm và bản chất chất nền, đòi hỏi kiểm soát chính xác các thông số vận hành; nếu không, sự dao động năng lượng hoặc phân bố chùm tia không đồng đều có thể dẫn đến sai khác đáng kể về hình thái và kích thước hạt giữa các mẻ tổng hợp.

1.3. Phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử

1.3.1. Khái niệm chiếu xạ và bức xạ ion hóa

Chiếu xạ là quá trình sử dụng bức xạ năng lượng cao, cụ thể là bức xạ ion hóa, làm nguồn năng lượng trong các quá trình công nghiệp và nghiên cứu khoa học. Bức xạ ion hóa được định nghĩa là dạng năng lượng có khả năng loại bỏ electron khỏi nguyên tử hoặc phân tử, dẫn đến sự hình thành các ion. Các loại bức xạ ion hóa chính thường được sử dụng bao gồm tia gamma (γ -ray), chùm tia điện tử (electron beam - EB) và tia X. Trong công nghệ bức xạ, nguồn bức xạ gamma thường phát ra từ các đồng vị phóng xạ như Co-60 hoặc Cs-137; chùm tia điện tử gia tốc được tạo ra từ các loại máy gia tốc điện tử; trong khi tia X được tạo ra khi electron năng lượng cao va chạm vào bia kim loại (thường là tungsten), tạo ra bức xạ hãm dưới dạng tia X với phổ năng lượng liên tục [85, 86]. mỗi loại mang những đặc tính riêng ảnh hưởng đến

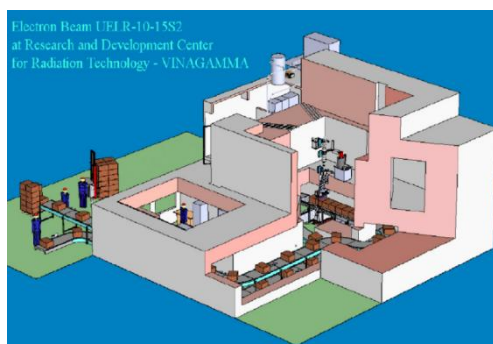
hiệu quả tạo gốc tự do và khả năng kiểm soát phản ứng. Tia gamma có ưu điểm là khả năng xuyên sâu lớn và phân bố liều đồng đều trong toàn bộ mẫu, phù hợp cho các hệ có thể tích lớn; tuy nhiên, nhược điểm lớn nhất là yêu cầu sử dụng nguồn phóng xạ Co-60 hoặc Cs-137, kéo theo chi phí vận hành, an toàn bức xạ và yêu cầu cấp phép nghiêm ngặt. Tia X được tạo ra từ máy gia tốc nên không cần nguồn phóng xạ, an toàn hơn và có thể điều chỉnh năng lượng, nhưng hiệu suất tạo gốc tự do thấp hơn so với EB và khả năng xuyên sâu kém hơn tia gamma.

Chùm tia điện tử thể hiện nhiều ưu điểm vượt trội trong tổng hợp vật liệu nano: hiệu suất bức xạ cao hơn về tạo gốc hydrat hóa ($\cdot\text{OH}$, e^-_{aq}), cho phép kích hoạt quá trình khử diễn ra nhanh và mạnh; có thể kiểm soát chính xác liều xạ; không sử dụng đồng vị phóng xạ; thời gian xử lý ngắn; và đặc biệt phù hợp cho các hệ dung dịch có độ dày mỏng hoặc trung bình. EB còn tạo điều kiện kiểm soát tốt hơn quá trình tạo mầm – phát triển hạt nhờ tốc độ tạo gốc cao, giúp thu được vật liệu nano có phân bố kích thước hẹp và độ ổn định tốt. Chính những ưu điểm này khiến EB trở thành lựa chọn tối ưu cho nghiên cứu này, đặc biệt khi mục tiêu là tổng hợp SeNPs tinh sạch, có tính ổn định cao, khả năng tái lập tốt và không cần sử dụng hóa chất khử độc hại.

1.3.2. Cấu tạo và nguyên lý hoạt động của máy gia tốc chùm tia điện tử

Máy gia tốc chùm tia điện tử là thiết bị tạo ra chùm tia điện tử năng lượng cao thông qua quá trình gia tốc các electron. Các electron được phát ra từ một nguồn (cathode), sau đó được gia tốc qua một điện trường mạnh và được định hướng thành một chùm tia hẹp bằng các trường điện từ. Năng lượng của chùm tia điện tử có thể được điều chỉnh thông qua điện áp gia tốc. Máy gia tốc electron thường hoạt động ở dải năng lượng từ 2–10 MeV

Có nhiều loại máy gia tốc điện tử, nhưng nói chung trong công nghệ bức xạ được chia thành 3 loại theo mức năng lượng thấp, trung bình, và cao như bảng 1.1



Hình 1.7. Sơ đồ bố trí máy gia tốc chùm tia điện tử UELR-10-15S2 tại Trung tâm VINAGAMMA [85]

Bảng 1.1. Các đặc trưng chủ yếu của 3 loại máy gia tốc điện tử

Các đặc trưng	Năng lượng của máy gia tốc điện tử		
	Thấp	Trung bình	Cao
Năng lượng, MeV	0,1 – 0,5	0,5 – 3,0	>3,0
Cường độ dòng	<1 A	<0,2 A	<5 mA
Công suất, kW	<300	<200	<50

Chiếu xạ gamma Co-60 và chiếu xạ chùm tia điện tử khác nhau cơ bản về bản chất tương tác vật chất – năng lượng và động học quá trình. Gamma Co-60 là bức xạ điện từ năng lượng cao (1,17 và 1,33 MeV), tương tác với môi trường chủ yếu thông qua hiệu ứng Compton, tạo electron thứ cấp phân bố tương đối đồng đều trong thể tích mẫu; do đó có độ xuyên sâu lớn và trường bức xạ đẳng hướng, phù hợp cho hệ vật liệu khối hoặc mật độ cao. Tuy nhiên, suất liều thấp (kGy/giờ) làm quá trình hình thành gốc tự do và electron hydrat hóa diễn ra chậm, trạng thái quá bão hòa tiền chất hình thành từ từ, dễ dẫn đến tăng trưởng hạt kéo dài và phân bố kích thước rộng.

Ngược lại, EB là dòng hạt mang điện có năng lượng xác định (thường 5–10 MeV trong công nghiệp), truyền năng lượng trực tiếp với mật độ ion hóa cao và suất liều rất lớn (kGy/giây). Điều này tạo ra nồng độ gốc khử tức thời cao (e^-_{aq} , $H^\bullet$), thúc đẩy quá trình tạo mầm đồng loạt và rút ngắn giai đoạn tăng trưởng, nhờ đó có thể kiểm soát tốt kích thước và độ đơn phân tán của hạt nano. EB có tính đơn hướng, có thể bật/tắt và điều chỉnh công suất tức thời, thuận lợi cho tối ưu hóa động học phản

ứng và tự động hóa quy trình. Tuy nhiên, độ xuyên sâu hạn chế hơn gamma, đòi hỏi tối ưu chiều dày lớp mẫu và hình học chiếu xạ.

Bảng 1.2. So sánh đặc trưng của nguồn gamma Co-60 với máy gia tốc điện tử

Các đặc trưng	Gamma Co-60	Máy gia tốc điện tử
Nguồn phát bức xạ	Đồng vị Co-60	Nguồn điện
Bức xạ	Sóng điện từ	Dạng hạt (electron)
Phát bức xạ	Đẳng hướng, liên tục, không quét được	Đơn hướng, tắt/mở, có thể quét (scan)
Độ xuyên sâu	Cao	Thấp
Cường độ	Giảm dần, phải nạp thêm nguồn theo chu kỳ	Không đổi, bảo hành theo chu kì
Suất liều	Thấp (<10 kGy/giờ)	Cao (~10 kGy/giây)
Vận hành	Đơn giản	Phức tạp

Vì vậy, về bản chất hóa học bức xạ, gamma phù hợp cho xử lý thể tích lớn và hệ vật liệu dày, trong khi EB ưu thế về kiểm soát động học khử, mật độ mầm tinh thể và khả năng mở rộng quy mô sản xuất nhanh đối với hệ dung dịch hoặc lớp mỏng, đặc biệt trong tổng hợp vật liệu nano.

1.3.3. Quá trình phát sinh gốc tự do và electron hydrat hóa trong dung dịch

Khi chùm tia điện tử năng lượng cao tương tác với vật chất (ví dụ: dung dịch tiền chất Se), năng lượng được truyền chủ yếu thông qua các va chạm không đàn hồi. Sự tương tác này gây ra sự ion hóa (loại bỏ electron khỏi nguyên tử hoặc phân tử) và kích thích (chuyển electron lên mức năng lượng cao hơn) trong môi trường [87].

Quá trình truyền năng lượng này diễn ra cực kỳ nhanh chóng, trong khoảng thời gian từ 10^{-18} đến 10^{-12} giây [88, 89]. Kết quả của các tương tác ban đầu này là sự hình thành các sản phẩm sơ cấp của quá trình phóng xạ, bao gồm các ion nước bị ion hóa (H_2O^+), các phân tử nước bị kích thích (H_2O^*), và các electron thứ cấp bị bắn ra. Việc hiểu rõ cơ chế truyền năng lượng từ chùm tia điện tử sang vật chất là nền tảng

để kiểm soát các phản ứng hóa học tiếp theo, vốn là yếu tố then chốt ảnh hưởng trực tiếp đến các bước khử và tạo mầm trong quá trình tổng hợp hạt nano .

Trong dung dịch nước, quá trình chiếu xạ chùm tia điện tử gây ra sự phân ly bức xạ của nước; do năng lượng từ bức xạ ion hóa, tạo ra các gốc hoạt động mạnh trong thời gian rất ngắn .

Trong quá trình chiếu xạ nước, các phân tử nước bị ion hóa và kích thích, tạo ra nhiều sản phẩm sơ cấp có hoạt tính hóa học cao. Trong đó, electron hydrat hóa (e^-_{aq}) là một tác nhân khử mạnh, được hình thành khi các electron thứ cấp bị bắn ra từ quá trình ion hóa nước chậm lại và bị các phân tử nước bao quanh. Bên cạnh đó gốc hydro ($H^\bullet$) cũng là một tác nhân khử quan trọng, được tạo ra từ sự phân ly của các phân tử nước bị kích thích hoặc từ phản ứng của electron với nước. Ngược lại, gốc hydroxyl ($\bullet OH$) là một tác nhân oxy hóa mạnh, được hình thành từ sự phân ly của các phân tử nước bị ion hóa hoặc bị kích thích. Ngoài các gốc tự do này, quá trình phân ly phóng xạ của nước còn tạo ra các sản phẩm phân tử như H_2 và H_2O_2 , tuy nhiên chúng thường được hình thành với hiệu suất thấp hơn so với các gốc tự do trong điều kiện chiếu xạ liều thấp.

Tóm tắt quá trình phân ly bức xạ của nước như sau [85]:

- Kích hoạt và ion hóa (10^{-16} s)



- Phản ứng ion phân tử (10^{-14} s)



- Phản ứng kích hoạt phân ly (10^{-13} s)



- Solvat hóa (10^{-11} s)

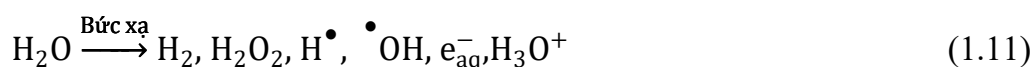


- Phản ứng tái kết hợp ($10^{-11} - 10^{-15}$ s)





- Phản ứng giữa các sản phẩm phân ly bức xạ của nước với chất tan (10^{-10} s)



Hiệu suất của các sản phẩm phóng xạ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm loại bức xạ (ví dụ, bức xạ LET thấp như chùm tia điện tử và tia gamma thường tạo ra năng suất gốc tự do cao hơn) và pH của môi trường. Sự hình thành các gốc tự do có tính khử mạnh (e_{aq}^- , $\text{H}^\bullet$) từ quá trình phân ly nước là cơ chế cốt lõi cho việc khử ion Se^{4+} thành Se nguyên tố.

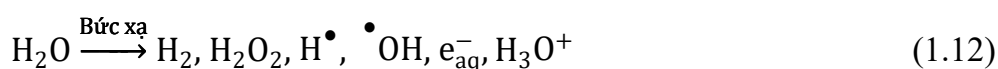
Cơ chế tạo vật liệu nano dưới tác động chiếu xạ chùm tia điện tử

Quá trình hình thành hạt SeNPs dưới tác động của chiếu xạ chùm tia điện tử là một chuỗi các phản ứng hóa học và vật lý phức tạp, bắt đầu từ sự tương tác của bức xạ với dung môi và tiền chất, dẫn đến sự hình thành và phát triển của các hạt nano.

➤ **Khử tiền chất Se:**

Ion selen (Se^{4+}), thường tồn tại dưới dạng selenite (SeO_3^{2-}) từ các tiền chất như axit selenous (H_2SeO_3) hoặc muối natri selenite (Na_2SeO_3), là nguyên liệu ban đầu cho quá trình tổng hợp SeNPs. Trong dung dịch, các ion Se^{4+} này bị khử thành Se nguyên tố (Se^0) bởi các gốc tự do có tính khử mạnh được sinh ra từ quá trình phóng xạ nước, chủ yếu là electron hydrat hóa (e_{aq}^-) và gốc Hydro ($\text{H}^\bullet$).

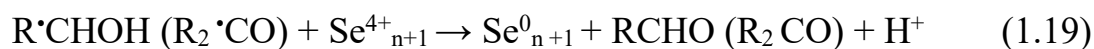
Các phản ứng hóa học cơ bản mô tả quá trình khử này được biểu diễn như sau:



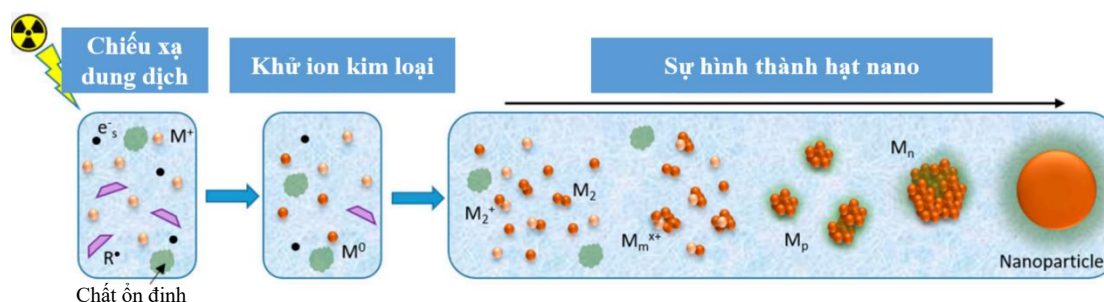
Trong đó: e_{aq}^- và $\text{H}^\bullet$ là tác nhân khử Se^{4+} thành Se^0



Gốc tự do $\cdot\text{OH}$ có tính oxy hóa sẽ chuyển thành gốc tự do có tính khử bằng việc thêm vào hệ chất bắt gốc tự do thường là các alcol (bậc 1 hoặc bậc 2) hoặc polymer tự nhiên:



Sự thay đổi màu sắc của dung dịch từ không màu hoặc vàng nhạt sang đỏ cam hoặc đỏ gạch là một dấu hiệu trực quan cho thấy sự hình thành SeNPs.



Hình 1.8 Mô tả quá trình hình thành nano kim loại bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử [86]

Quá trình hình thành hạt SeNPs có thể được mô tả theo cơ chế cổ điển gồm hai giai đoạn chính là tạo mầm và phát triển hạt (hình 1.8). Sau khi chiếu xạ, dung môi bị phân ly tạo ra các tác nhân khử mạnh như electron hydrat hóa và các gốc tự do. Các tác nhân này khử ion Se^{4+} thành Se^0 ; các nguyên tử Se sau đó kết hợp với nhau tạo thành các hạt mầm. Giai đoạn tạo mầm này giữ vai trò quyết định đối với số lượng hạt được sinh ra và có ảnh hưởng trực tiếp đến phân bố kích thước về sau. Sau khi các mầm ổn định được hình thành, chúng tiếp tục tăng trưởng thông qua nhiều cơ chế khác nhau. Trước hết là quá trình hợp nhất, trong đó các nguyên tử Se hoặc các cụm kích thước nhỏ tiếp tục hấp phụ lên bề mặt mầm, làm gia tăng kích thước hạt. Bên cạnh đó, các hạt nano nhỏ có thể va chạm và hợp nhất với nhau theo cơ chế kết tụ định hướng, tạo thành các hạt lớn hơn nhằm giảm năng lượng bề mặt. Đồng thời, quá trình phát triển hạt theo cơ chế Ostwald cũng có thể xảy ra, khi các hạt nhỏ có năng lượng bề mặt cao hơn bị hấp phụ lên bề mặt các hạt lớn hơn, dẫn đến sự gia tăng kích thước trung bình và thay đổi phân bố kích thước của hệ. Sự chi phối tương đối giữa các cơ chế này quyết định đặc trưng hình thái và độ đồng đều của SeNPs thu được.

1.3.4. Ưu điểm vượt trội của phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử

Phương pháp chiếu xạ được xem là một phương pháp hiệu quả để chế tạo SeNPs, khắc phục được nhiều nhược điểm của các phương pháp đã trình bày phía trên [85].

Điểm ưu việt nổi bật của kỹ thuật này là không cần sử dụng các tác nhân khử hóa học độc hại. Dưới tác dụng của bức xạ ion hóa, dung môi (thường là nước) xảy ra quá trình phân ly bức xạ tạo thành các gốc tự do có tính khử mạnh như e^-_{aq} và $H^\bullet$, trực tiếp tham gia khử các ion selen về trạng thái Se^0 . Nhờ đó, hệ phản ứng không tồn dư các hóa chất khử độc hại, góp phần nâng cao độ tinh khiết của sản phẩm và đặc biệt phù hợp cho các ứng dụng trong lĩnh vực y sinh và dược phẩm.

Một ưu điểm quan trọng khác của phương pháp EB là khả năng kiểm soát kích thước và phân bố kích thước hạt thông qua việc điều chỉnh liều xạ và suất liều bức xạ. Các thông số chiếu xạ ảnh hưởng trực tiếp đến tốc độ tạo mầm và tăng trưởng hạt, từ đó cho phép điều chỉnh tương quan giữa hai quá trình này nhằm thu được hệ hạt có kích thước mong muốn và độ phân bố hẹp. Do quá trình khử diễn ra đồng thời và đồng đều trong toàn bộ thể tích dung dịch được chiếu xạ, SeNPs hình thành có độ đồng nhất cao về kích thước và hình thái, hạn chế sự hình thành các vùng phản ứng cục bộ như trong phương pháp gia nhiệt truyền thống.

Bên cạnh đó, công nghệ chiếu xạ bằng máy gia tốc chùm tia điện tử có tốc độ xử lý nhanh, thời gian phản ứng chỉ từ vài giây đến vài phút, đồng thời có khả năng xử lý thể tích dung dịch lớn trong điều kiện liên tục. Điều này tạo tiền đề thuận lợi cho việc mở rộng quy mô sản xuất ở mức công nghiệp. Ngoài ra, quá trình tổng hợp có thể được thực hiện ở nhiệt độ phòng, giúp hạn chế sự phân hủy của các chất ổn định nhạy nhiệt và tiết kiệm năng lượng vận hành, qua đó nâng cao tính kinh tế và tính bền vững của quy trình công nghệ.

1.3.5. Ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến đặc tính của vật liệu SeNPs tổng hợp bằng chiếu xạ

1.3.5.1. Ảnh hưởng của liều xạ

Liều xạ hay còn gọi là liều hấp thụ: $D = dE/dm$ là năng lượng bức xạ được hấp thụ bởi một khối lượng đơn vị vật chất, đơn vị là Gray (Gy) [85]

Trong quá trình tổng hợp vật liệu nano bằng phương pháp chiếu xạ, liều xạ là thông số vật lý then chốt chi phối động học của phản ứng khử ion kim loại hoặc phi kim trong dung dịch thành dạng đơn chất. Thông số này xác định tổng lượng và tốc độ tạo thành các tác nhân khử như electron solvat hóa (e^-_{aq}), gốc hydro ($H^\bullet$), và gốc hydrat ($\cdot OH$), từ đó điều khiển cơ chế hình thành, kích thước và hình thái của SeNPs [90, 91].

Ở liều chiếu xạ thấp, năng lượng cung cấp cho hệ dung dịch không đủ lớn nên quá trình phân ly bức xạ của dung môi diễn ra hạn chế, dẫn đến sự hình thành các tác nhân khử như electron hydrat hóa và các gốc tự do với nồng độ thấp. Do đó, quá trình khử ion Se^{4+} thành Se^0 diễn ra chậm, thậm chí lượng tác nhân khử sinh ra có thể không đủ để chuyển hóa hoàn toàn Se^{4+} thành Se^0 , khiến một phần ion selen vẫn tồn tại trong dung dịch [92].

Liều bão hòa được định nghĩa là liều xạ tối thiểu cần thiết để chuyển hóa 100% ion tiền chất thành đơn chất. Việc xác định và sử dụng liều bão hòa là cần thiết để đảm bảo năng suất tối đa, tránh lãng phí năng lượng và hạn chế sự hình thành các sản phẩm phụ không mong muốn do chiếu xạ quá mức.

Khi liều xạ cao, mật độ gốc khử e^-_{aq} và $H^\bullet$ tăng mạnh, thúc đẩy quá trình tạo mầm diễn ra nhanh chóng, tạo ra nhiều hạt nhân nhỏ. Điều này thường dẫn đến SeNPs có kích thước nhỏ hơn, phân bố hẹp hơn, và độ ổn định keo tốt hơn. Khi liều chiếu xạ tăng vượt quá giá trị bão hòa, hiệu suất khử ion Se^{4+} thành Se^0 hầu như không tiếp tục tăng do quá trình khử đã đạt gần như hoàn toàn. Trong trường hợp này, năng lượng bức xạ cao không còn đóng góp đáng kể vào quá trình khử mà trở nên dư thừa và kém hiệu quả về mặt năng lượng. Đồng thời, liều xạ quá cao có thể gây ra sự phân cắt mạnh các mạch polymer được sử dụng làm chất ổn định, làm suy giảm khả năng bảo vệ bề mặt hạt nano và ảnh hưởng đến độ ổn định của hệ keo SeNPs [90]. Do đó, xác định liều xạ bão hòa là cần thiết nhằm đảm bảo quá trình khử diễn ra hiệu quả, tạo mầm và tăng trưởng hạt được kiểm soát, từ đó thu được SeNPs có kích thước nhỏ, phân bố đồng nhất và độ ổn định cao.

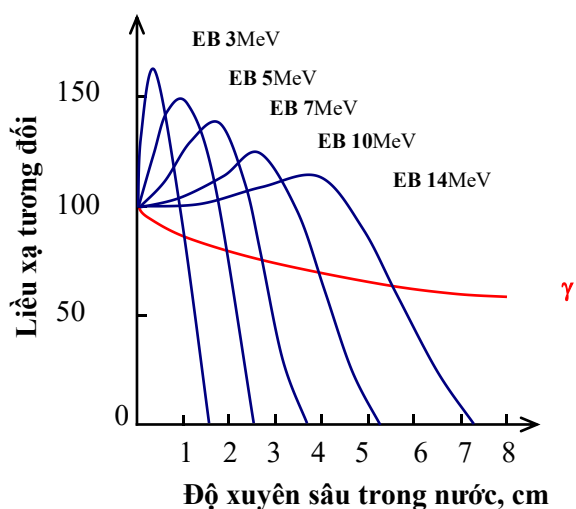
1.3.5.2. Ảnh hưởng của nồng độ tiền chất

Trong điều kiện chiếu xạ ở liều bão hòa và nồng độ chất ổn định được giữ không đổi, nồng độ ion Se^{4+} có ảnh hưởng đáng kể đến kích thước cũng như độ phân bố kích thước của các hạt SeNPs. Ở nồng độ thấp, số lượng hạt mầm hình thành trong dung dịch không lớn và khoảng cách trung bình giữa các hạt tương đối xa. Do đó, xác suất va chạm giữa các hạt nano giảm, làm hạn chế quá trình kết tụ hoặc kết dính thứ cấp, nhờ đó các hạt SeNPs thu được thường có kích thước nhỏ và phân bố kích thước tương đối đồng đều. Ngược lại, khi nồng độ Se^{4+} tăng cao trong khi nồng độ chất ổn định không thay đổi, lượng chất ổn định có thể không đủ để bao phủ hoàn toàn bề mặt của tất cả các hạt SeNPs mới hình thành. Đồng thời, mật độ hạt trong hệ tăng làm giảm khoảng cách giữa các hạt, dẫn đến xác suất va chạm và kết tụ tăng lên. Sự kết tụ này làm cho kích thước hạt trung bình tăng và phân bố kích thước trở nên rộng hơn, làm giảm độ đồng nhất của hệ nano thu được [13, 93] .

1.3.5.3. Ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch

Khi chùm tia điện tử năng lượng cao đi qua một môi trường dung môi, chúng tương tác với các nguyên tử và phân tử của dung môi, dẫn đến sự suy giảm năng lượng. Cơ chế chính của sự suy giảm năng lượng này là do các va chạm không đàn hồi, gây ra sự ion hóa và kích thích các phân tử dung môi [94]. Trong quá trình này, các electron thứ cấp và electron tán xạ ngược được tạo ra, đóng góp đáng kể vào tổng năng lượng được lắng đọng trong môi trường.

Độ xuyên sâu của chùm tia điện tử trong môi trường lỏng là có giới hạn (hình 1.9). Đối với các electron năng lượng thấp (dưới 500 eV), độ xuyên sâu trong nước là dưới 30 nm [95]. Electron năng lượng thấp (dưới 3,5 keV) có phạm vi xuyên sâu giới hạn khoảng 200 nm trong nước. Ngay cả các electron có năng lượng từ 300 eV đến 30 keV cũng chỉ có độ xuyên sâu xấp xỉ 10-300 nm trong nước lỏng [95]. Điều này khác biệt đáng kể so với tia gamma và tia X, vốn có thể xuyên sâu vài chục centimet trong nước [86].



Hình 1.9. Độ xuyên sâu của bức xạ chùm tia điện tử và tia gamma Co-60 [85]

Do chùm tia điện tử chỉ xuyên được một độ sâu hạn chế trong dung dịch, phần lớn năng lượng của chùm tia được hấp thu ngay tại các lớp dung dịch gần bề mặt thay vì phân bố đều trong toàn bộ thể tích. Sự không đồng đều về không gian trong việc truyền năng lượng này là một yếu tố quan trọng cần được xem xét khi mở rộng quy mô sản xuất, nhằm đảm bảo tính đồng nhất của sản phẩm.

Do cơ chế suy giảm năng lượng và độ xuyên sâu hạn chế, chùm tia điện tử tạo ra sự phân bố liều không đồng đều và phức tạp trong môi trường lỏng. Thông thường, đường cong liều xạ theo chiều sâu của chùm tia điện tử cho thấy liều xạ bề mặt cao, sau đó liều xạ tăng đến một cực đại tại một độ sâu nhất định ($z_{\max}$), và giảm nhanh chóng sau đó, cuối cùng ổn định ở một mức liều thấp do bức xạ hãm [94].

Sự phân bố liều xạ không đồng đều theo chiều sâu ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất khử Se^{4+} và độ đồng đều về kích thước hạt SeNPs. Các vùng dung dịch nhận được liều chiếu xạ cao hơn sẽ có hiệu suất khử Se^{4+} hiệu quả hơn và có thể tạo ra các hạt nano với đặc tính khác biệt so với các vùng nhận liều thấp hơn [96]. Điều này có thể dẫn đến sự hình thành các hạt nano có kích thước và hình thái không đồng nhất trong cùng một lô sản phẩm.

Chiều dày của lớp chất lỏng là một thông số quan trọng cần được kiểm soát cẩn thận trong chiếu xạ bằng chùm tia điện tử. Một chiều dày tối ưu đảm bảo rằng toàn bộ thể tích nhận được một liều lượng đủ và tương đối đồng đều để khử Se^{4+} hiệu quả và hình thành hạt đồng nhất. Các sai lệch so với chiều dày tối ưu này có thể dẫn đến quá

trình khử không hoàn toàn ở các lớp sâu hơn hoặc chiếu xạ quá mức ở các lớp nông hơn, dẫn đến SeNPs đa phân tán và không tối ưu.

1.3.5.4. Ảnh hưởng của chất ổn định

Chất ổn định là thường là các đại phân tử như polymer, polysaccharide, protein, hoặc các chất hoạt động bề mặt, được thêm vào trong quá trình hoặc sau quá trình tổng hợp hạt nano. Vai trò chính của chúng là hấp phụ lên bề mặt hạt nano, tạo ra một rào cản năng lượng để chống lại lực hút van der Waals giữa các hạt, từ đó ngăn chặn sự kết tụ [97]. Việc làm này không chỉ giúp duy trì trạng thái phân tán của các hạt trong dung môi mà còn là một công cụ hữu hiệu để kiểm soát kích thước, hình thái và các đặc tính bề mặt của sản phẩm nano cuối cùng. Trong các phương pháp tổng hợp xanh, các hợp chất có nguồn gốc sinh học như polyphenol, flavonoid, terpenoid, và alkaloid có trong chiết xuất thực vật có thể thực hiện đồng thời hai chức năng: (i) khử ion kim loại tiền chất và bao bọc, (ii) ổn định các hạt nano mới được hình thành [98].

Cơ chế ổn định hạt nano: tĩnh điện, không gian và phối hợp

Về cơ bản, có ba cơ chế chính mà qua đó các chất ổn định có thể duy trì sự phân tán của hệ keo nano.

➤ *Ổn định tĩnh điện:*

Các chất ổn định mang điện tích (như ion citrate, cetyltrimethylammonium chloride) hấp phụ lên bề mặt hạt nano, làm cho bề mặt trở nên tích điện. Khi các hạt mang gốc tích điện này tiến lại gần nhau, chúng sinh ra lực đẩy tĩnh điện chống lại lực hút van der Waals. Theo lý thuyết DLVO, hệ keo ổn định khi rào cản năng lượng của lực đẩy đủ lớn để ngăn hạt tiếp xúc và kết tụ. Mức độ ổn định được đánh giá qua thế zeta (ζ); khi $|\zeta| > 30$ mV, hệ được coi là bền vững [97, 99].

➤ *Ổn định không gian :*

Các polymer hoặc polysaccharide trung tính (như PVP, PEG, dextran) hấp phụ hoặc liên kết với bề mặt hạt, hình thành lớp bao phủ dày. Khi hai hạt tiến gần, các chuỗi polymer này chồng lấn, gây ra lực đẩy do giảm entropy và hiệu ứng thẩm thấu, giúp hạt tách rời nhau. Cơ chế này ít nhạy cảm với pH và cường độ ion, nên phù hợp cho các hệ sinh học hoặc môi trường có nồng độ muối cao [97, 99].

➤ *Ổn định tĩnh điện–không gian kết hợp:*

Đây là sự kết hợp giữa hai cơ chế trên, thường gặp khi các polymer hoặc protein mang điện tích (như CTS, BSA, GA) được sử dụng làm chất ổn định. Chúng vừa tạo lớp bao phủ vật lý, vừa mang điện tích bề mặt, cung cấp đồng thời lực đẩy tĩnh điện và cản trở không gian. Sự kết hợp này giúp tăng đáng kể độ bền keo, đặc biệt trong môi trường có biến thiên pH hoặc độ ion hóa cao, nơi một cơ chế đơn lẻ có thể kém hiệu quả [97, 99].

Phân loại chất ổn định

Các chất ổn định được sử dụng trong quá trình tổng hợp và phân tán các hạt SeNPs có thể được phân loại dựa trên bản chất hóa học của chúng. Nhìn chung, các chất này bao gồm polysaccharide tự nhiên, protein, polymer tổng hợp và các chất hoạt động bề mặt. Mỗi nhóm chất ổn định có đặc điểm cấu trúc và cơ chế ổn định khác nhau, từ đó ảnh hưởng đến kích thước, độ ổn định và khả năng ứng dụng sinh học của hệ hạt nano.

Nhóm polysaccharide là nhóm chất ổn định được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi nhất đối với SeNPs, chủ yếu nhờ nguồn gốc tự nhiên, khả năng tương thích sinh học cao, dễ phân hủy sinh học. Nhiều polysaccharide đã được sử dụng hiệu quả làm chất ổn định cho SeNPs, tiêu biểu như CTS và các dẫn xuất của nó như OCS, carboxymethyl chitosan [100], GA [101], dextran [100], lentinan [100], hyaluronic acid [102], alginate [103], và fucoidan [104]. Các polysaccharide này có thể ổn định hạt nano thông qua nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm ổn định không gian do cấu trúc polymer cồng kềnh (ví dụ, dextran trung hòa) hoặc ổn định tĩnh điện khi các nhóm chức mang điện tích tồn tại trên bề mặt phân tử (ví dụ, CTS mang điện tích dương).

Bên cạnh polysaccharide, protein cũng được sử dụng như các chất ổn định hiệu quả cho SeNPs. Các protein như bovine serum albumin (BSA) và caseinate (CN) có khả năng hấp phụ lên bề mặt hạt nano và tạo ra lớp bảo vệ ổn định thông qua cơ chế kết hợp giữa lực tĩnh điện và hiệu ứng cản trở không gian [105]. Việc sử dụng protein, đặc biệt là BSA, không chỉ giúp ổn định hạt mà còn có thể làm tăng tính tương thích sinh học, giảm sự nhận diện và bắt giữ của hệ thống miễn dịch, từ đó kéo dài thời gian lưu thông của hạt nano trong máu [96]

Ngoài các hợp chất tự nhiên, polymer tổng hợp cũng được sử dụng rộng rãi như chất ổn định trong các hệ nano. Các polymer này cho phép kiểm soát tốt hơn các đặc tính bề mặt và cấu trúc của hạt nano. Polyethylene glycol (PEG) là một trong những polymer phổ biến nhất, thường được sử dụng trong kỹ thuật “PEG hóa” để tạo lớp vỏ ưa nước trên bề mặt hạt nano, giúp giảm sự nhận diện của hệ miễn dịch và kéo dài thời gian bán thải của hạt trong cơ thể [100]. Các polymer khác như polyvinyl alcohol (PVA) và polyvinylpyrrolidone (PVP) cũng rất phổ biến trong việc ổn định các hệ keo nano [106].

Ngoài ra, các chất hoạt động bề mặt cũng có thể được sử dụng làm chất ổn định cho SeNPs. Đây là các phân tử lưỡng cực có cấu trúc gồm một đầu ưa nước và một đuôi kỵ nước, cho phép chúng hấp phụ lên bề mặt hạt nano và tạo ra lực đẩy tĩnh điện hoặc hiệu ứng cản trở không gian giữa các hạt. Một số chất hoạt động bề mặt thường được sử dụng bao gồm cetyltrimethylammonium chloride (CTAC) – chất hoạt động bề mặt cation [106] và sodium dodecyl sulfate (SDS) (anionic) [13]. Chúng có thể ổn định hạt nano thông qua cơ chế tĩnh điện hoặc không gian. Tuy nhiên, một nhược điểm lớn của nhiều chất hoạt động bề mặt tổng hợp là độc tính tiềm tàng đối với tế bào, điều này hạn chế ứng dụng của chúng trong lĩnh vực y sinh [106].

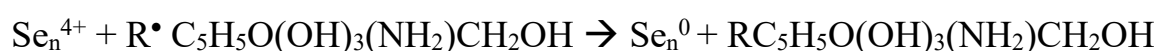
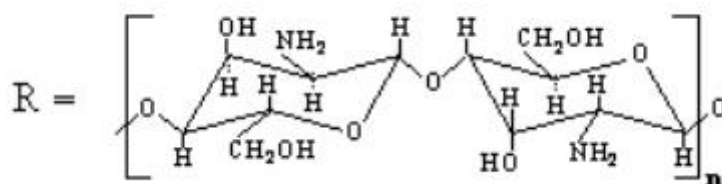
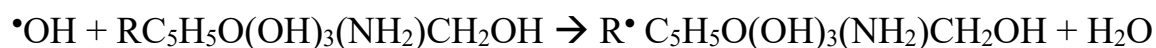
Cơ chế tương tác giữa chất ổn định và bề mặt hạt SeNPs

Oligochitosan và chitosan là các polyme tự nhiên có nguồn gốc từ chitin, cấu trúc mạch chính gồm các đơn vị β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose, mang nhiều nhóm chức $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, và $-\text{NHCOCH}_3$. Các nhóm chức này có ái lực cao với ion kim loại và nguyên tử phi kim như Se, giúp OCS/CTS vừa đóng vai trò chất khử yếu, vừa là chất ổn định bề mặt trong quá trình tổng hợp SeNPs [107, 108].

Khi dung dịch chứa ion selenite được chiếu xạ bằng chùm tia điện tử, các gốc tự do khử mạnh như e^-_{aq} và $\text{H}^\bullet$ được sinh ra. Các gốc này khử ion Se^{4+} thành Se đơn chất (Se^0). Trong môi trường có mặt OCS/CTS, các nhóm $-\text{NH}_2$ và $-\text{OH}$ trên chuỗi polyme tạo phức tạm thời với ion Se^{4+} thông qua liên kết phối trí hoặc tương tác tĩnh điện, giúp định hướng quá trình khử diễn ra cục bộ và hạn chế sự kết tụ.

Sau khi hạt nhân Se^0 hình thành, các nhóm chức của OCS/CTS hấp phụ lên bề mặt SeNPs thông qua liên kết hydro và tương tác tĩnh điện, tạo nên lớp vỏ polyme

bao quanh hạt nano. Cấu trúc mạng công kênh của CTS gây ra hiệu ứng ức chế không gian, ngăn các hạt tiến lại gần nhau, từ đó duy trì phân tán ổn định trong dung dịch. Ngoài ra, CTS và OCS có khả năng bắt gốc tự do $\cdot\text{OH}$, giúp giảm sự oxy hóa ngược Se^0 và kéo dài tuổi thọ hệ keo nano [85]



Trong hệ keo SeNPs được ổn định bởi OCS, các hạt SeNPs tồn tại ở trạng thái phân tán nhờ sự cân bằng giữa lực đẩy tĩnh điện và hiệu ứng cản trở không gian của mạch polymer. Tuy nhiên, khi chuyển từ dạng dung dịch sang dạng bột khô bằng phương pháp sấy phun, kích thước hạt quan sát được thường có xu hướng gia tăng. Hiện tượng này đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu gần đây và được lý giải bởi các biến đổi cấu trúc và tương tác xảy ra trong quá trình bay hơi nhanh của dung môi [109, 110].

Trong môi trường dung dịch, các mạch OCS tồn tại ở trạng thái trương nở và bao phủ bề mặt SeNPs, tạo nên lớp áo polymer có vai trò ổn định hệ phân tán. Khi quá trình sấy phun diễn ra, dung môi bị loại bỏ nhanh chóng làm suy giảm hiệu ứng solvate hóa, khiến các mạch polymer co lại và tái sắp xếp quanh bề mặt hạt. Sự thay đổi cấu hình này làm giảm khoảng cách giữa các hạt nano lân cận, từ đó thúc đẩy hiện tượng kết tụ ở mức độ nhẹ (soft aggregation), hình thành các cụm hạt được bao bọc trong một lớp polymer chung, dẫn đến sự gia tăng kích thước đặc trưng của hệ [109-112].

Bên cạnh đó, trong quá trình bay hơi, sự gia tăng nhiệt độ và nồng độ cục bộ của các cấu tử trong các giọt dung dịch đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy tương tác giữa các thành phần. Nhiệt độ cao có thể làm suy giảm tương tác giữa OCS và dung môi, đồng thời tăng cường tương tác giữa các mạch polymer. Khi nồng độ các cấu tử tăng nhanh, các hạt nano dễ dàng tiếp cận và liên kết với nhau thông qua mạng

lưới polymer đang co cụm. Do đó, sau khi sấy khô, hệ thu được không còn là các hạt phân tán riêng lẻ như trong dung dịch mà tồn tại dưới dạng các cụm hạt (clusters) được cố định trong ma trận polymer, dẫn đến sự gia tăng kích thước so với trạng thái ban đầu [111, 112].

1.3.6. Tổng quan tình hình nghiên cứu về phương pháp chiếu xạ

Đa số các nghiên cứu tổng hợp vật liệu SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ trên thế giới đều sử dụng nguồn chiếu xạ là tia gamma. Điển hình, Franco và cộng sự đã tổng hợp thành công hạt SeNPs hình cầu với kích thước trung bình vào khoảng 100 nm với hàm lượng Se tương đối cao bằng cách chiếu xạ tia gamma với liều xạ 25 kGy vào dung dịch chứa natri selenite 1mM trong môi trường Yeast Peptone Glucose (YPG, bao gồm 2% glucose, 2% peptone và 1% dịch chiết men pha loãng trong nước cất) [47]. Môi trường YPG cũng được Pereira và cộng sự sử dụng để tổng hợp các hạt SeNPs hình cầu có kích thước từ 100-200 nm. Họ nhận thấy so với selenite, SeNPs an toàn và ít độc hơn đối với tế bào *Saccharomyces cerevisiae*. Đồng thời, SeNPs có khả năng bảo vệ tế bào chống phơi nhiễm bức xạ ion hóa [113].

Trong khi đó, El Sayyad và cộng sự [114] tổng hợp các hạt SeNPs bằng chiếu xạ gamma sử dụng dịch lọc *Penicillium chrysogenum* (SeNPs-sinh học) và thuốc gentamicin (SeNPs-CN) như các chất ổn định khác nhau. Hạt SeNPs-sinh học thể hiện hấp thụ cực đại ở 435 nm trong khi SeNPs-CN cho thấy cực đại hấp thụ ở 350 nm. Dữ liệu thu được từ phân tích HRTEM, SEM/mapping và XRD đã xác nhận tính chất đơn phân tán và tinh thể của các mẫu thu được với đường kính trung bình là 33,84 nm và 22,37 nm đối với SeNPs-sinh học và SeNP-CN, tương ứng. Nhóm nghiên cứu cũng báo cáo rằng SeNPs-CN sở hữu tiềm năng kháng khuẩn tốt hơn so với SeNPs-sinh học trong việc chống lại tất cả các vi khuẩn gây UTI. Đáng chú ý, SeNPs-CN cho thấy khả năng kháng khuẩn *Candida albicans* với vùng ức chế được ghi nhận là 26 mm trong khi giá trị này là 23 mm đối với *Escherichia coli* và 20 mm đối với *Staphylococcus aureus*. Các nguồn chất ổn định khác nhau bao gồm CTS, sodium alginate (Alg), citrus pectin (CP) và dịch chiết bột cỏ cà ri lên men (AEFFP) cũng được nhóm nghiên cứu của El-Batal sử dụng trong việc tổng hợp hạt SeNPs

bằng chiếu xạ gamma. Kết quả cho thấy kích thước SeNPs chịu ảnh hưởng đáng kể bởi loại chất ổn định, nồng độ tiền chất, pH và liều gamma hấp thụ. Cụ thể, hạt SeNPs thu được khi sử dụng dịch chiết bột cỏ cà ri lên men (SeNP-AEFP) có kích thước nhỏ hơn và hiệu suất phản ứng là cao hơn so với các chất ổn định khác. Ngoài ra, SeNP-AEFP sở hữu hoạt tính chống oxy hóa và kháng ung thư cao hơn so với các hạt SeNPs khác [115].

Nhóm nghiên cứu của Guleria và cộng sự là một trong những nhóm tổng hợp vật liệu SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ. Đặc biệt, ngoài chiếu xạ gamma, nhóm còn sử dụng chiếu xạ chùm tia điện tử trong đó dung môi được sử dụng là chất lỏng ion (room temperature ionic liquid - RTIL). SeNPs được trích xuất từ RTIL cho thấy sự tập hợp của các đơn vị sơ cấp (dạng vảy và hình cầu) thành một cấu trúc nano xếp liên kết với nhau. Đáng chú ý, sự chuyển đổi pha vô định hình thành tinh thể của các SeNPs được phát hiện là chậm hơn nhiều (> 2 tháng) trong RTIL so với vài phút đến vài ngày như được báo cáo trong các nghiên cứu trước đó. Ngoài ra, suất liều được phát hiện là có tác động đáng kể đến hình thái của các hạt SeNPs. Liều tương đương của chiếu xạ tia gamma (suất liều thấp) tạo ra phần lớn các hạt hình cầu và ít liên kết với nhau hơn so với chiếu xạ chùm tia điện tử. Dựa vào kết quả thu được, nhóm nghiên cứu cho rằng RTIL đóng vai trò là dung môi, đồng thời là chất ổn định và nguồn cung cấp gốc tự do để khử ion Se [16]. Nhóm nghiên cứu này cũng đã khảo sát ảnh hưởng của sự kết hợp ion-cặp điện tử và nhóm chức -OH của RTIL đến kích thước và sự ổn định pha của các SeNPs khi được tổng hợp sử dụng bức xạ chùm tia điện tử. Các RTIL được sử dụng là 1-ethyl-3-methyl imidazolium boron tetrafluoride (EMIM BF₄), 1- (2-hydroxyethyl) -3-methyl imidazolium boron tetrafluoride (EOHMIM BF₄), và 1-ethyl-3-methyl imidazolium methane sulfonate (EMIM MS). Kích thước của SeNPs@EOHMIM BF₄ được tìm thấy là nhỏ nhất (~ 32 nm), tiếp theo là Se NPs @ EMIM BF₄ (~ 57 nm) và lớn nhất là SeNPs@EMIM MS (~ 60 nm). Tuy nhiên nghiên cứu về độ ổn định cho thấy mức độ thay đổi kích thước tăng theo chiều hướng ngược lại giữa các vật liệu. Bên cạnh đó, khảo sát hiệu quả chống ung thư trên các dòng tế bào ung thư phổi (A549) và tế bào ung thư ruột kết (INT407) đã chứng minh vai trò của kích thước hạt nano, trong đó SeNPs@EOHMIM BF₄ thể

hiện khả năng tiêu diệt tế bào ung thư cao nhất, tiếp theo là SeNPs@EMIM BF₄ và SeNPs@EMIM MS. Một điểm nổi bật quan trọng khác của nghiên cứu là việc tái sử dụng các RTIL đã sử dụng cho tổng hợp các đợt SeNPs tiếp theo [116].

Các nghiên cứu trong nước gồm có Nguyễn Quốc Hiến và các cộng sự (2018) đã tổng hợp (SeNPs có đường kính ~74 nm bằng cách chiếu tia gamma Co-60 vào dung dịch H₂SeO₃/dextran. SeNPs được đặc trưng bởi phổ UV-Vis và kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Ảnh hưởng của pH dung dịch H₂SeO₃/dextran trước khi chiếu xạ gamma lên kích thước của Se cũng đã được khảo sát. Bột SeNPs/dextran được thu bằng kỹ thuật sấy phun và độ tinh khiết đã được xác minh bằng phân tích tia X phân tán năng lượng (EDX). Kết quả nghiên cứu của nhóm cho thấy SeNPs/dextran với nồng độ 25-100 ppm thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao. Bột SeNPs/dextran chứa hàm lượng Se ~2,51% (% trọng lượng) có độ tinh khiết cao. Ảnh hưởng của việc khử trùng bằng tia gamma Co-60 ở liều 25 kGy lên các đặc tính của bột SeNPs/dextran cũng đã được kiểm tra [15].

Năm 2020, SeNPs với kích thước ~ 41,75 nm được tổng hợp bởi Nguyễn Ngọc Duy và các cộng sự bằng phương pháp chiếu xạ γ sử dụng OCS làm chất ổn định. SeNPs/OCS được đặc trưng bởi quang phổ UV-Vis và TEM. Bột SeNPs/OCS cũng được chuẩn bị bằng kỹ thuật sấy phun và độ tinh khiết đã được xác minh bằng phân tích tia X phân tán năng lượng. Kết quả EDX cho thấy dung dịch SeNPs /OCS có độ tinh khiết cao. Sự ổn định của dung dịch SeNPs/OC đã được nghiên cứu. Kết quả chỉ ra rằng dung dịch SeNPs/OCS có độ ổn định tốt sau 60 ngày bảo quản ở 4°C. Ở nhiệt độ thường, dung dịch SeNPs/OCS không ổn định và kết tụ sau khoảng 15 ngày. Các hạt SeNP/OCS này được nhận thấy là giúp phục hồi tổng số tế bào bạch cầu của những con chuột bị chiếu xạ tia γ [19].

Nhóm tác giả Nguyễn Thị Dung đã tổng hợp thành công SeNPs có đường kính từ 64,8 - 110,1 nm bằng chiếu xạ γ dung dịch chứa Se⁴⁺ và men β -glucan tan trong nước. Kích thước và sự phân bố kích thước của SeNPs được phân tích bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động. Kết quả phân tích mẫu nhiễu xạ tia X của nhóm đã xác nhận cấu trúc tinh thể của các hạt nano Se và quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier cho thấy β -glucan có thể tương tác với SeNP thông qua các liên kết không gian (Se...

O) tạo dung dịch đồng nhất trong 60 ngày mà không có bất kỳ kết tủa nào. Nhóm tác giả cũng tiến hành thử nghiệm *in vivo* trên chuột bị ức chế miễn dịch do cytoxan cho thấy rằng việc bổ sung hàng ngày SeNPs/ β -glucan ở nồng độ 6 mg/kg thể trọng của chuột thử nghiệm đã kích thích đáng kể việc tạo ra các yếu tố miễn dịch tế bào (tế bào bạch cầu, bạch cầu trung tính, tế bào lympho, B tế bào, tế bào CD4+, tế bào CD34+ và tế bào tiêu diệt tự nhiên) và chỉ số miễn dịch dịch thể (IgM, IgG, TNF- α , IFN- γ và IL-2) trong máu ngoại vi, tủy xương và lá lách của chuột bị ức chế miễn dịch. Các kết quả thu được của nhóm tác giả đã chỉ ra rằng SeNPs/ β -glucan tổng hợp bằng bức xạ có thể là một ứng cử viên như một tác nhân để ngăn ngừa ức chế miễn dịch trong hóa trị liệu [20].

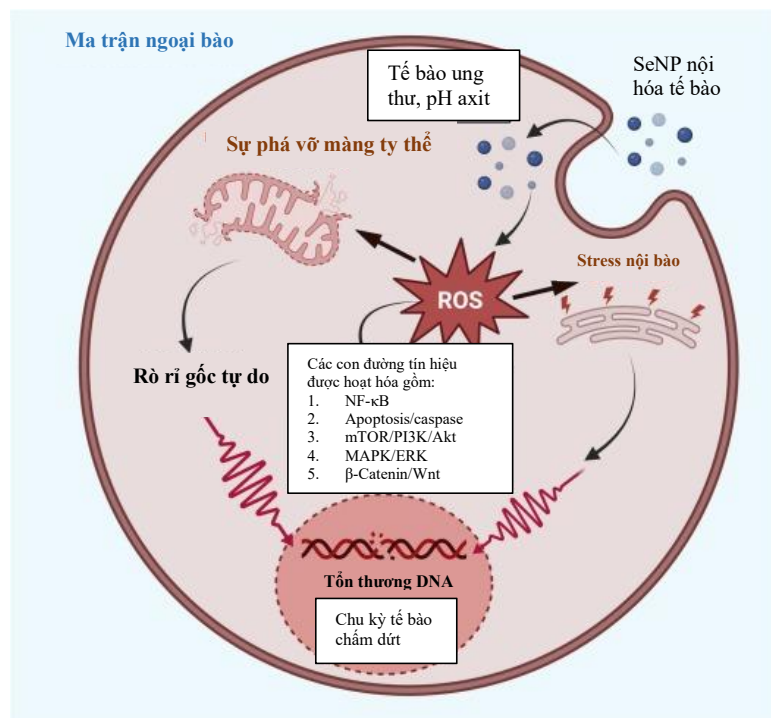
Mặc dù đã có nhiều kết quả khả quan, có thể nhận thấy một đặc điểm chung trong các công trình trên: phần lớn nghiên cứu tổng hợp SeNPs bằng phương pháp bức xạ đều sử dụng nguồn chiếu xạ gamma, chủ yếu từ Co-60. Trong khi đó các công trình nghiên cứu về phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử để chế tạo SeNPs còn hạn chế. Điều này cho thấy khoảng trống đáng kể trong nghiên cứu, bởi EB vốn được biết đến với nhiều ưu điểm vượt trội so với tia gamma như: suất liều cao, giúp quá trình khử diễn ra nhanh chóng trong thời gian ngắn; liều xạ có thể điều chỉnh tức thời, cho phép kiểm soát tốt quá trình tạo mầm và phát triển hạt; không sử dụng nguồn phóng xạ, an toàn hơn và thuận lợi cho vận hành; đồng thời phù hợp với quy mô công nghiệp nhờ khả năng chiếu liên tục. Khoảng trống này đặt ra nhu cầu cấp thiết về việc đánh giá hệ thống khả năng tạo SeNPs bằng chiếu xạ EB – một phương pháp tiên tiến nhưng chưa được khai thác đúng mức trong lĩnh vực tổng hợp SeNPs, qua đó mở ra hướng nghiên cứu mới với nhiều tiềm năng ứng dụng.

1.4. Ứng dụng SeNPs trong điều trị ung thư

1.4.1. Hoạt tính kháng ung thư của SeNPs

Các hợp chất chứa Se thể hiện hoạt tính kháng ung thư nhưng có liều điều trị hẹp, trong khi SeNPs có hiệu quả kháng ung thư cao hơn, sinh khả dụng tốt hơn và độc tính thấp hơn [42, 117, 118]. SeNPs thể hiện khả năng tiêu diệt chọn lọc tế bào ung thư nhờ đặc tính kích thích tạo ROS và sự nhạy cảm cao hơn của tế bào ung thư

đối với stress oxy hóa và rối loạn cân bằng thẩm thấu. So với các phương pháp hóa học và sinh học, phương pháp vật lý tổng hợp SeNPs có ưu điểm nhanh, kinh tế và thân thiện môi trường [26]. Ngoài ra, bảo quản SeNPs ở dạng rắn giúp hạn chế kết tụ và cho phép khử trùng bằng chiếu xạ mà không làm thay đổi kích thước hạt, mở ra tiềm năng ứng dụng trong y sinh học [15].



Hình 1.10. Mô tả cơ chế kháng ung thư của SeNPs [119]

Cơ chế giả định về hoạt tính kháng ung thư của SeNP được thể hiện như trong Hình 1.10. SeNPs được cho là nội hóa thông qua quá trình nội bào nhờ thụ thể trung gian. Các tế bào ung thư có môi trường axit với sự mất cân bằng oxy hóa khử. Môi trường vi mô này của các tế bào ung thư dẫn đến sự chuyển đổi chất oxy hóa của SeNPs, kích hoạt sự hình thành thêm các gốc tự do, một mặt gây ra sự phá vỡ màng ty thể gây rò rỉ protein ty thể (Mt) và mặt khác dẫn đến căng thẳng mạng lưới nội chất (ER). Tổn thương màng Mt dẫn đến rò rỉ các loại protein khác nhau và gây ra quá trình chết tế bào theo chương trình thông qua kích hoạt enzyme caspase.

Trạng thái căng thẳng tế bào này điều phối việc kích hoạt nhiều con đường phân tử bao gồm các con đường NFκB, PI3K/Akt/mTOR, Wnt/β-catenin, MAPK/Erk và con đường chết tế bào theo chương trình. Con đường NFκB kích thích tín hiệu viêm và stress oxy hóa, đồng thời phá vỡ cân bằng nội môi tế bào. Con đường

PI3K/Akt/mTOR, MAPK/Erk, NF κ B và Wnt/ β -catenin rất quan trọng trong việc truyền tín hiệu gây ung thư và sự điều tiết chúng bởi SeNPs làm suy giảm khả năng tăng sinh tế bào và cản trở quá trình truyền tín hiệu thúc đẩy tăng trưởng trong vùng lân cận vi môi trường khối u. Ngoài ra, SeNPs còn được ghi nhận có khả năng ức chế quá trình tạo mạch thông qua điều hòa các yếu tố tín hiệu liên quan, từ đó hạn chế sự hình thành mạch máu mới nuôi khối u và góp phần kìm hãm sự phát triển cũng như tăng sinh của tế bào ung thư. Sự kết hợp của các tác động gây rối loạn tế bào sẽ gây ra tổn thương DNA khiến chu kỳ tế bào bị ngừng lại, cuối cùng dẫn đến cái chết của tế bào [46, 47, 119, 120].

1.4.2. Mối liên hệ giữa đặc tính vật lý – hóa học của SeNPs và hoạt tính kháng ung thư

Hoạt tính kháng ung thư của SeNPs không chỉ phụ thuộc vào bản chất hóa học của Se mà còn chịu ảnh hưởng sâu sắc bởi các đặc tính vật lý và hóa học của chính hạt nano, bao gồm kích thước, hình thái, và tính chất bề mặt. Việc tối ưu hóa các đặc tính này là chìa khóa để nâng cao hiệu quả điều trị và giảm thiểu độc tính.

1.4.2.1. Ảnh hưởng của kích thước và hình thái hạt đến khả năng xâm nhập và ức chế tế bào ung thư

Kích thước và hình thái của SeNPs là hai yếu tố vật lý quan trọng quyết định khả năng tương tác của chúng với tế bào, từ đó ảnh hưởng đến khả năng xâm nhập, ức chế tế bào ung thư và hiệu quả điều trị.

➤ Kích thước hạt:

Kích thước SeNPs có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả ứng dụng sinh học của chúng. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng SeNPs có kích thước nhỏ hơn thường thể hiện hoạt tính sinh học cao hơn và độc tính thấp hơn so với các hạt lớn hơn [39]. Cụ thể, hạt có đường kính từ 5-200 nm đã được chứng minh là có hiệu quả cao trong việc loại bỏ các gốc tự do, một cơ chế quan trọng trong hoạt động chống ung thư của Se [121]. Đối với khả năng hấp thu vào tế bào ung thư, kích thước tối ưu đã được xác định cho tế bào HepG2 là 56 nm, cho thấy sự phụ thuộc chặt chẽ vào loại tế bào đích [122]. SeNPs với kích thước khoảng 30 nm đã chứng minh hoạt tính chống tăng sinh mạnh

mẽ trên dòng tế bào HepG-2 [123]. Trong bối cảnh công nghệ chế tạo bằng chiếu xạ, SeNPs có kích thước 92 nm đã được tổng hợp thành công khi sử dụng β -glucan làm chất ổn định. Ngoài ra, SeNPs có kích thước 16.704 nm đã cho thấy hiệu quả trong việc tương tác với màng tế bào nấm, gợi ý rằng kích thước nhỏ giúp chúng dễ dàng xuyên qua thành tế bào và màng tế bào chất [66]. Điều này đặc biệt quan trọng vì tế bào ung thư có kích thước và hình thái không đồng nhất, do đó, việc thiết kế SeNPs với kích thước phù hợp có thể tối ưu hóa khả năng nhắm mục tiêu và xâm nhập [124]. Hơn nữa, SeNPs với kích thước dưới 100 nm còn có khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa cao, mở ra tiềm năng cho các ứng dụng đường uống. Gần đây, SeNPs với kích thước trong khoảng 21,96 - 50,71 nm đã được chứng minh có tác dụng chống tăng sinh mạnh mẽ trên các dòng tế bào ung thư SW480 và HepG2, đồng thời thể hiện độc tính không đáng kể đối với tế bào HEK293 bình thường, củng cố thêm tầm quan trọng của việc kiểm soát kích thước hạt để đạt được hiệu quả và tính chọn lọc mong muốn [125].

➤ **Hình thái hạt:**

Không chỉ kích thước, hình dạng của hạt nano cũng là một yếu tố then chốt ảnh hưởng đến hiệu quả sinh học và tương tác của chúng với tế bào [126]. Các nghiên cứu đã so sánh hoạt tính của SeNPs hình cầu và hình que. Kết quả cho thấy nanorods có thể lưu thông trong máu lâu hơn và ít có xu hướng kết tụ hơn so với các hạt hình cầu, điều này có lợi cho việc phân phối thuốc trong cơ thể. Về mặt ức chế tế bào, nanorods đã được chứng minh là gây ra quá trình chết tế bào theo chương trình trong các tế bào glioblastoma hiệu quả hơn và tăng cường tác dụng sau 48 giờ mà không gây hoại tử. Ngược lại, việc sử dụng SeNPs hình cầu sau 48 giờ phơi nhiễm có thể gây ra hoại tử ở một số tế bào glioblastoma [126]. Tuy nhiên, một điểm đáng chú ý là SeNPs hình cầu lại được coi là có tính chọn lọc cao hơn do chúng ít ảnh hưởng đến sinh lý của các tế bào bình thường. SeNPs hình cầu với kích thước khoảng 30 nm đã được xác nhận thông qua các kỹ thuật hiển vi điện tử quét (SEM) và truyền qua (TEM) [123]. Ngoài ra, SeNPs hình que (nanorods) có kích thước 17-20 nm đã chứng minh đặc tính chống oxy hóa đáng kể, cho thấy các hình thái khác nhau có thể mang lại các lợi ích sinh học khác nhau [26]. Khả năng của SeNPs trong việc xuyên qua

thành tế bào và màng tế bào chất của nấm cũng được tăng cường nhờ tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích cao và kích thước nhỏ, một đặc tính chung của các loại vật liệu nano [127].

1.4.2.2. Vai trò của chất ổn định và bề mặt hạt trong hiệu quả hấp thu và chọn lọc tế bào ung thư

Để tối ưu hóa hoạt tính kháng ung thư của SeNPs, việc kiểm soát và biến đổi bề mặt hạt là vô cùng quan trọng. Các chất ổn định và chiến lược chức năng hóa bề mặt đóng vai trò then chốt trong việc cải thiện độ ổn định, khả năng hấp thu và tính chọn lọc của SeNPs đối với tế bào ung thư.

➤ **Chất ổn định:**

Chất ổn định là thành phần không thể thiếu trong quá trình tổng hợp SeNPs, giúp cải thiện độ ổn định keo và khả năng phân tán của chúng trong môi trường sinh lý, ngăn ngừa sự kết tụ và duy trì hoạt tính [118]. Nhiều loại polymer và biomolecule đã được nghiên cứu làm chất ổn định. Các polysaccharide tự nhiên như dextran, OCS, β -glucan, CTS và tinh bột, cùng với các protein như albumin huyết thanh bò (BSA), có khả năng tạo phức hợp ổn định với SeNPs thông qua liên kết hydro và tương tác tĩnh điện. Đặc biệt, β -glucan, một polysaccharide tự nhiên có trong nấm men và thực vật, đã được chứng minh là một chất ổn định mới đầy hứa hẹn. β -glucan không chỉ giúp ổn định SeNPs mà còn có tác dụng điều chỉnh phản ứng sinh học, tăng cường hoạt động của các đại thực bào và kích thích tăng tiết cytokines, góp phần tăng cường hệ miễn dịch và khả năng chống khối u. Các hợp chất phenolic như axit gallic, thymol, tannin, flavonoid và polyphenol cũng có thể đóng vai trò kép vừa là chất khử vừa là chất ổn định, đồng thời tăng cường hoạt tính kháng nấm và chống oxy hóa của SeNPs [66]. Ngoài ra, các peptide sinh học, chẳng hạn như peptide từ hạt óc chó, cũng đã được sử dụng để kiểm soát kích thước và ổn định SeNPs, mang lại một phương pháp tiếp cận thân thiện với môi trường [121]. Các polyme tổng hợp như polyvinylpyrrolidone (PVP), poly-L-lysine (PLL) và polyacrylic acid (PAA) cũng được sử dụng để ổn định bề mặt, tạo ra SeNPs mang điện tích khác nhau (trung tính, dương, âm), cho phép điều chỉnh tương tác với tế bào [128].

➤ **Bề mặt hạt và khả năng chọn lọc:**

Chức năng hóa bề mặt là một giải pháp quan trọng để khắc phục những hạn chế về độ ổn định và tăng cường đáng kể hoạt tính sinh học của SeNPs, đặc biệt là khả năng nhắm mục tiêu chọn lọc [129]. Việc liên hợp SeNPs với các phối tử đặc hiệu như axit folic (FA), peptide, kháng thể hoặc aptamer không chỉ dẫn đến sự tăng cường hấp thu vào tế bào thông qua cơ chế nội bào qua thụ thể mà còn định hướng các hạt nano đến các vị trí cụ thể trong cơ thể hoặc trên bề mặt tế bào ung thư, từ đó cải thiện hoạt tính sinh học [130]. Ví dụ, SeNPs biến đổi bằng axit ferulic (FA-SeNPs) đã cho thấy hiệu quả chống tăng sinh vượt trội trên tế bào ung thư vú 4T1, với chỉ số IC_{50} thấp hơn đáng kể (18 mg/mL) so với SeNPs thông thường (80 mg/mL). Điều này minh chứng cho vai trò quan trọng của việc chức năng hóa bề mặt trong việc tăng cường hiệu quả điều trị.

SeNPs được biết đến với khả năng ức chế tăng sinh chọn lọc, làm tổn thương các tế bào ung thư trong khi bảo vệ các mô khỏe mạnh [130]. Khả năng này được tăng cường thông qua việc điều chỉnh các đặc tính bề mặt. Chẳng hạn, SeNPs hình cầu được cho là chọn lọc hơn vì chúng ít ảnh hưởng đến sinh lý của các tế bào bình thường [126]. Ngược lại, SeNPs được chức năng hóa với poly-L-lysine (PLL) đã thể hiện độc tính tế bào và độc tính gen cao hơn trên các dòng tế bào ung thư biểu mô da, ung thư biểu mô tế bào vảy miệng và tế bào ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng so với SeNPs được phủ PAA và PVP, cho thấy rằng điện tích bề mặt và loại chất ổn định có thể ảnh hưởng đến mức độ độc tính và tính chọn lọc [128]. Capsaicin (Cap) khi được sử dụng làm chất biến đổi bề mặt cho SeNPs (Cap@SeNPs) cũng đã chứng minh hiệu quả chống tăng sinh đáng kể trên tế bào HepG2 so với SeNPs trần, thông qua việc nâng cao mức độ ROS, gây ngưng tụ nhân tế bào và ảnh hưởng đến tiềm năng màng ty thể, dẫn đến chết theo chương trình [131]. Hơn nữa, protein ENPP1 trên bề mặt tế bào ung thư đã được xác định là một mục tiêu tiềm năng cho việc thiết kế thuốc, vì nó tương đối đặc trưng cho ung thư và ít ảnh hưởng đến các mô khỏe mạnh, mở ra hướng đi mới cho việc chức năng hóa bề mặt SeNPs để nhắm mục tiêu cụ thể. Khả năng hấp phụ cao của SeNPs, do điện tích bề mặt có thể liên hợp với các nhóm tích điện âm hoặc dương, cũng là một lợi thế trong việc kết hợp chúng với các tác nhân trị liệu khác hoặc các phân tử nhắm mục tiêu [127].

1.4.3. Giới thiệu tế bào ung thư vú (MCF-7) và ung thư cổ tử cung (Hela)

1.4.3.1. Dòng tế bào ung thư vú MCF-7

Dòng tế bào MCF-7 là mô hình ung thư vú biểu mô người phụ thuộc hormone, được phân lập năm 1970 từ dịch màng phổi của bệnh nhân ung thư vú di căn và hiện được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu cơ chế sinh ung, sàng lọc thuốc và đánh giá các hệ vật liệu nano *in vitro* [132]. Về phân nhóm phân tử, MCF-7 thuộc phân nhóm luminal A, đặc trưng bởi biểu hiện cao thụ thể estrogen (ER α) và progesterone (PR), mức HER2 thấp/âm tính; do đó, dòng tế bào này duy trì đáp ứng sinh học rõ rệt với kích thích nội tiết và các tác nhân gây stress oxy hóa [133]. Ở mức độ tín hiệu nội bào, MCF-7 có hệ ty thể hoạt động ổn định, cùng sự tham gia của các trục PI3K/Akt và MAPK trong điều hòa tăng sinh và sống sót tế bào, đồng thời duy trì mức ROS nội sinh trung bình—tạo điều kiện thuận lợi để khảo sát cơ chế gây độc chọn lọc của hạt đông khô.

Trên nền tảng này, tác động sinh học của SeNPs có thể được đánh giá một cách hệ thống thông qua: (i) cảm ứng chết tế bào theo chu trình qua con đường nội sinh ty thể, biểu hiện qua sự suy giảm thế màng ty thể ($\Delta\Psi_m$), hoạt hóa caspase-9/7 và điều hòa tỷ lệ Bax/Bcl-2; (ii) ảnh hưởng đến tiến trình chu kỳ tế bào (bắt giữ pha G0/G1 hoặc G2/M); và (iii) gia tăng ROS nội bào vượt ngưỡng cân bằng oxy hóa–khử của tế bào ung thư, từ đó kích hoạt các cơ chế chết tế bào theo chương trình [134]. Nhờ đặc tính phụ thuộc ER cùng hồ sơ tín hiệu phân tử đã được đặc trưng sâu, MCF-7 được xem là mô hình phù hợp để làm sáng tỏ cơ chế tác động của SeNPs ở cả mức độ tế bào và phân tử, đồng thời cho phép so sánh hiệu quả sinh học với các hệ SeNPs chức năng hóa khác trong điều kiện *in vitro*.

1.4.3.2. Dòng ung thư cổ tử cung Hela

Dòng tế bào HeLa là mô hình ung thư cổ tử cung người được phân lập năm 1951 từ mô khối u biểu mô cổ tử cung của bệnh nhân Henrietta Lacks, được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu *in vitro* nhờ khả năng tăng sinh mạnh, tính ổn định nuôi cấy cao và hồ sơ sinh học phân tử đã được đặc trưng sâu [135]. HeLa có nguồn gốc từ khối u liên quan đến nhiễm Human papillomavirus (HPV-18), trong đó các oncoprotein E6 và E7 gây bất hoạt p53 và pRb (protein ức chế khối u), dẫn đến rối loạn kiểm soát

chu kỳ tế bào và thúc đẩy tăng sinh liên tục [136]. Đặc điểm này tạo nên một hệ mô hình ung thư có tốc độ phân bào cao, chuyển hóa mạnh và trạng thái oxy hóa–khử nội bào đặc trưng.

Trong các nghiên cứu về khả năng kháng ung thư của SeNPs, HeLa được lựa chọn chủ yếu như một hệ mô hình sinh học chuẩn để bước đầu đánh giá hoạt tính sinh học và cơ chế tác động của vật liệu SeNPs sau khi tổng hợp và đặc trưng cấu trúc–hóa lý. Với nền ROS nội sinh tương đối cao và sự hoạt hóa các trục tín hiệu sống sót như PI3K/Akt và MAPK, HeLa là hệ tế bào phù hợp để khảo sát khả năng gây stress oxy hóa của SeNPs, bao gồm các chỉ dấu như gia tăng ROS nội bào, suy giảm thế màng ty thể ($\Delta\Psi_m$) và cảm ứng chết theo chương trình theo con đường ty thể [134]. Do p53 bị bất hoạt bởi E6, mô hình này còn cho phép đánh giá hiệu quả gây độc tế bào của SeNPs theo cơ chế không phụ thuộc p53, qua đó cung cấp thêm dữ liệu về phổ tác dụng sinh học của vật liệu.

Tóm lại, việc lựa chọn MCF-7 và HeLa làm mô hình *in vitro* để đánh giá hoạt tính sinh học của SeNPs được xây dựng trên cơ sở khoa học rõ ràng và có tính bổ trợ lẫn nhau. MCF-7 đại diện cho ung thư biểu mô phụ thuộc hormone, có p53 chức năng và hệ tín hiệu nội bào được đặc trưng sâu, phù hợp để khảo sát cơ chế cảm ứng chết theo chương trình, điều hòa chu kỳ tế bào và đáp ứng stress oxy hóa theo hướng phụ thuộc p53. Ngược lại, HeLa là mô hình ung thư tăng sinh mạnh, trong đó p53 và pRb bị bất hoạt do nhiễm Human papillomavirus, cho phép đánh giá hiệu quả gây độc tế bào của SeNPs theo cơ chế không phụ thuộc p53, đặc biệt thông qua con đường stress oxy hóa và tổn thương ty thể. Sự kết hợp hai dòng tế bào có nền tảng phân tử khác biệt này giúp làm rõ phổ tác dụng sinh học của SeNPs, đồng thời tăng độ tin cậy và tính khái quát của kết quả thử nghiệm. Trong phạm vi nghiên cứu của luận án, MCF-7 và HeLa đóng vai trò là các hệ mô hình chuẩn nhằm minh chứng tiềm năng ứng dụng y sinh của vật liệu SeNPs sau khi đã được tổng hợp và đặc trưng đầy đủ về cấu trúc, kích thước, trạng thái oxy hóa và tính chất bề mặt.

Trong nghiên cứu đánh giá hoạt tính sinh học của SeNPs, việc lựa chọn các dòng tế bào ung thư ví dụ MCF-7 và ung thư cổ tử cung HeLa làm mô hình thử nghiệm *in vitro* mang ý nghĩa khoa học và thực tiễn quan trọng. Trước hết, đây là hai loại ung

thư phổ biến nhất ở phụ nữ với tỷ lệ tử vong cao [21], do đó việc nghiên cứu trên các dòng tế bào này góp phần định hướng phát triển các liệu pháp hỗ trợ điều trị hiệu quả và an toàn hơn cho những bệnh lý có gánh nặng xã hội lớn. Bên cạnh đó, hai dòng tế bào này có đặc điểm sinh học điển hình và được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu. Về mặt sinh học, tế bào HeLa là dòng tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung có khả năng tăng trưởng mạnh, ổn định và đã được chuẩn hóa rộng rãi trong các nghiên cứu về độc tính tế bào cũng như cơ chế tác động của thuốc, do đó việc sử dụng HeLa cho phép so sánh kết quả của luận án với các nghiên cứu quốc tế về vật liệu nano vô cơ và đánh giá hiệu quả ức chế sự phát triển tế bào ung thư của hệ SeNPs chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ EB [135]. Trong khi đó, dòng MCF-7 với đặc thù là ung thư biểu mô tuyến vú có thụ thể estrogen dương tính, được xem là mô hình phù hợp để nghiên cứu các tác nhân gây chết tế bào theo chương trình thông qua các con đường truyền tín hiệu nội bào mà selen nano thường tác động [137]. Ngoài ra, các nghiên cứu trước đây cho thấy tế bào ung thư vú và ung thư cổ tử cung thường có mức độ stress oxy hóa cao hơn so với tế bào bình thường, trong khi SeNPs đóng vai trò là tác nhân điều hòa trạng thái oxy hóa-khử, có khả năng xâm nhập vào tế bào ung thư thông qua cơ chế thực bào, gây mất cân bằng oxy hóa cục bộ, dẫn đến tổn thương DNA và kích hoạt quá trình chết theo chương trình [138]. Do đó, sự nhạy cảm của các dòng tế bào MCF-7 và HeLa đối với các hợp chất selen giúp làm nổi bật hoạt tính kháng ung thư tiềm năng của hệ SeNPs trong nghiên cứu.

1.4.4. Các chỉ tiêu kỹ thuật đánh giá hoạt tính kháng ung thư

Đánh giá hoạt tính kháng ung thư của vật liệu nano dựa trên các chỉ tiêu định lượng chuẩn, trong đó phổ biến nhất là chỉ số IC_{50} và hệ số chọn lọc (SI). Các thông số này phản ánh hiệu quả ức chế và tính đặc hiệu của vật liệu đối với tế bào ung thư so với tế bào bình thường.

Chỉ số IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%) biểu thị nồng độ cần thiết để ức chế 50% sự phát triển của tế bào ung thư trong thí nghiệm *in vitro*, là chỉ tiêu cơ bản trong sàng lọc thuốc chống ung thư [139]. Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (NCI) đã hiệu chỉnh chỉ số này thành GI_{50} (50% Growth Inhibition) nhằm phản ánh chính xác

hơn khả năng ức chế tăng sinh tế bào [140]. Ngoài ra, NCI còn sử dụng các chỉ số TGI (Total Growth Inhibition) và LC_{50} để lần lượt đánh giá hiệu ứng kìm hãm và gây chết tế bào [140]. Giá trị IC_{50} được xác định thông qua mô hình hồi quy logistic bốn tham số (4PL), trong đó IC_{50} tuyệt đối được xem là tiêu chí so sánh trực tiếp hiệu lực giữa các tác nhân khác nhau [139].

Hệ số chọn lọc (SI) phản ánh khả năng chọn lọc của vật liệu nano đối với tế bào ung thư, được tính bằng tỷ lệ giữa IC_{50} trên tế bào bình thường và IC_{50} trên tế bào ung thư [141]. Giá trị $SI > 1$ cho thấy tác nhân có tính đặc hiệu cao hơn với tế bào ung thư, và $SI > 3-4$ thường được xem là mức chọn lọc cao [142]. Theo tiêu chuẩn của NCI và Phòng thí nghiệm Đặc tính Nano, việc đánh giá SI cần đi kèm với phân tích đặc tính vật lý – hóa học của hạt nano (kích thước, hình thái, bề mặt, độ tinh khiết) nhằm bảo đảm tính chính xác và tái lập trong thử nghiệm tiền lâm sàng [143].

CHƯƠNG 2. ĐIỀU KIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất và thiết bị

2.1.1. Hóa chất

Bảng 2.1. Nguồn gốc hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên hóa chất	Hãng sản xuất, nhà cung cấp
1.	SeO ₂	Merck, Đức
2.	Chitosan có khối lượng phân tử Mw = 91,7 kDa, ĐDA ~ 92,3%	Công ty TNHH Oligo, 14 Trần Bình Trọng, Phường Tân Sơn, Thành phố Hồ Chí Minh
3.	Oligochitosan	Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ VINAGAMMA, KLPT trong khoảng 5.000 - 7.000 g/mol
4.	Gum arabic	Merck, Đức, KLPT trong khoảng 250.000 g/mol
5.	Ethanol tuyệt đối	Xilong, Trung Quốc
6.	DMEM-F12	Himedia, Ấn Độ
7.	DMEM-high glucose	Sigma-Aldrich, Mỹ
8.	RPMI-1640	Himedia, Ấn Độ
9.	Fetal Bovine Serum (FBS)	Sigma-Aldrich, Mỹ
10.	Bovine Calf Serum (BCS)	Sigma-Aldrich, Mỹ
11.	Trypsin	Sigma-Aldrich, Mỹ
12.	EDTA	Bio Basic, Canada
13.	Trypan Blue	Himedia, Ấn Độ
14.	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)	Sigma-Aldrich, Mỹ
15.	Lysis Buffer A, B	Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Phân tử và Môi trường

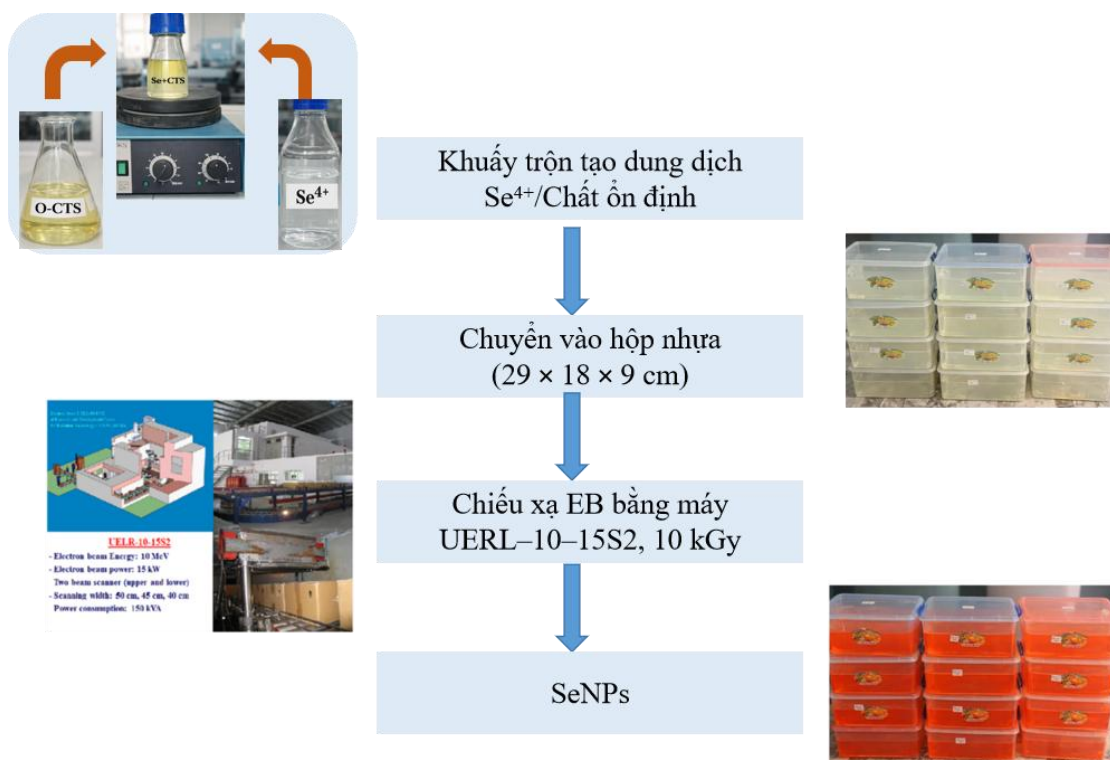
Các hóa chất khác, HCl, NaOH, KBr, KI, EDTA, H₂O₂,... Loại tinh khiết

2.1.2. Thiết bị

- Máy gia tốc chùm tia điện tử UERL – 10 – 15S2, (10 MeV, 15 kW) tại Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ (VINAGAMMA).
- Máy đo quang phổ tử ngoại khả kiến UV-2401PC, Shimadzu, Nhật.
- Máy đo phổ hồng ngoại FT-IR 8400S, Shimadzu, Nhật Bản.
- Kính hiển vi điện tử truyền qua TEM JEM1010, JEOL, Nhật Bản.
- Máy đo quang phổ tia X phân tán năng lượng JSM-6610 LA, JEOL, Nhật Bản.
- Máy đo nhiễu xạ XRD Siemens D5000, Đức, tại Phòng phân tích Hóa lý, Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng, Tp. HCM.
- Cân phân tích, Precisa, Thụy Sĩ.
- Tủ nuôi tế bào, Esco, Singapore.
- Máy đọc OD đĩa 96 giếng, Elisa multiskan Ascent.
- Kính hiển vi huỳnh quang, Nikon Eclipse Ti-U, Nhật

2.2. Phương pháp thực nghiệm

2.2.1. Chế tạo SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử



Hình 2.1. Sơ đồ qui trình chế tạo SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ EB

Chế tạo SeNPs được thực hiện bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử theo quy trình hình 2.1 như sau:

Trước hết, dung dịch tiền chất Se^{4+} được chuẩn bị bằng cách hòa tan một lượng thích hợp SeO_2 tinh khiết trong nước cất hai lần để thu được dung dịch có nồng độ 2,5 mM. Dung dịch được khuấy từ liên tục cho đến khi SeO_2 tan hoàn toàn, tạo dung dịch trong suốt. Đồng thời, dung dịch chất ổn định 1% (w/v) được chuẩn bị bằng cách hòa tan chất ổn định trong nước cất dưới khuấy từ nhẹ, có thể gia nhiệt nhẹ ($\approx 40\text{--}50\text{ }^\circ\text{C}$) để tăng khả năng hòa tan, sau đó để nguội về nhiệt độ phòng.

Dung dịch Se^{4+} 2,5 mM được thêm từ từ vào dung dịch chất ổn định 1% dưới điều kiện khuấy liên tục nhằm đảm bảo sự phân tán đồng đều của ion Se^{4+} trong môi trường polyme. Hỗn hợp sau phối trộn được tiếp tục khuấy trong 15–30 phút để đạt trạng thái đồng nhất. Vai trò của chất ổn định là bao bọc bề mặt, giúp hạn chế sự kết tụ của các hạt SeNPs hình thành sau chiếu xạ.

Dung dịch phản ứng được rót vào hộp nhựa ($29 \times 18 \times 9\text{ cm}$) có nắp đậy, điều chỉnh sao cho chiều dày lớp dung dịch đạt 2,5 cm nhằm đảm bảo sự phân bố liều đồng đều trong quá trình chiếu xạ. Mẫu được chiếu xạ trên máy gia tốc chùm tia điện tử UERL–10–15S2 với liều xạ tùy chọn ở nhiệt độ phòng. Sau chiếu xạ, sản phẩm SeNPs được đặc trưng bằng các phương pháp phân tích sau:

- Phổ hấp thụ UV-Vis: Được ghi trong khoảng 200–800 nm nhằm xác định đỉnh hấp thụ đặc trưng của SeNPs và đánh giá sự hình thành cũng như độ ổn định keo của hệ nano.

- Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM): Mẫu được nhỏ giọt lên lưới đồng phủ carbon, sấy khô ở nhiệt độ phòng trước khi quan sát để xác định hình thái, kích thước và phân bố kích thước hạt.

- Nhiễu xạ tia X (XRD): Mẫu sau khi sấy khô được phân tích để xác định cấu trúc tinh thể và pha của Se (vô định hình hoặc tinh thể).

- Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR): Được sử dụng để xác định các nhóm chức đặc trưng của chất ổn định và đánh giá tương tác giữa SeNPs và các nhóm chức trong chất ổn định.

2.2.2. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chế tạo dung dịch SeNPs/OCS bằng phương pháp chiếu xạ

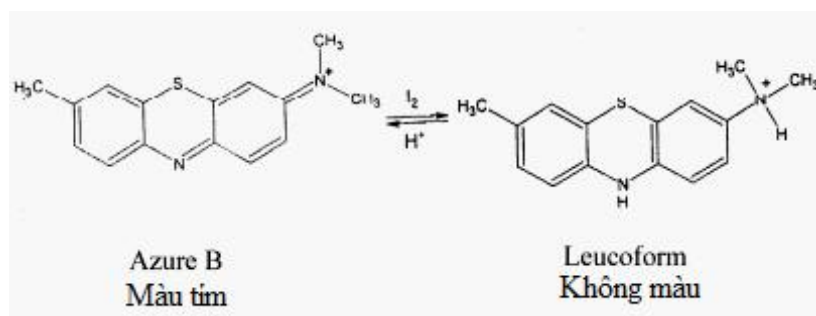
2.2.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của liều xạ đến đặc trưng của SeNPs

Chuẩn bị 4 mẫu dung dịch Se Se^{4+} 1,25 mM/OCS 1% (w/v) như sau: lấy 12,5 ml Se^{4+} 5 mM vào 10,0 ml OCS 5% (w/v) có KLPT ~ 5.000 g/mol, định mức đầy bằng nước đến thể tích 50 ml, khuấy đều ~ 10 phút. Đưa dung dịch Se^{4+} /OCS vào hộp nhựa. Mẫu được chiếu xạ trên máy gia tốc chùm tia điện tử ở các liều xạ khác nhau là $\sim 2,5$, 5, 10 và 15 kGy.

Mục đích của nghiên cứu này là xác định liều chuyển hóa bão hòa là liều xạ mà tại đó toàn bộ ion Se^{4+} chuyển hóa hoàn toàn thành Se^0 . Để xác định liều xạ bão hòa, đầu tiên dung dịch SeNPs sau khi chiếu xạ được ly tâm tốc độ cao (50.000 vòng/phút) để tách các hạt đông khô và phân tích hàm lượng ion Se^{4+} còn lại trong dung dịch sau ly tâm theo phương pháp của Methew [144]. Quy trình được tóm tắt như sau: Cân 1,190g NaHSeO_3 , sau đó cho vào 600 ml nước khử ion, khuấy đều cho đến khi tan hoàn toàn, sau đó định mức bằng nước cho tới thể tích 1000 ml để tạo dung dịch stock Se^{4+} 1000 $\mu\text{g/ml}$. Tiến hành dựng đường chuẩn: Lấy 1 thể tích chất chuẩn có chứa lần lượt 2, 4, 6, 8, 10 $\mu\text{g/ml}$ Se^{4+} cho vào bình định mức 10 ml, sau đó thêm vào 1 ml KI 2% và 1 ml HCl 2M. Lắc nhẹ cho đến khi hỗn hợp có màu vàng, thể hiện sự tạo thành Iod như theo phương trình sau:



Tiếp tục thêm tiếp 2 ml Azube B 0,1% và lắc đều sau đó định mức bằng nước đến thể tích 10 ml. Azube B màu tím sẽ phản ứng với Iod tạo thành Leucoform không màu theo phương trình sau (hình 2.2).



Hình 2.2. Sự chuyển hóa giữa dạng màu (Azure B) và dạng leuco không màu trong môi trường khử (I_2/H^+).

Hỗn hợp sau khi định mức được đo độ hấp thụ trên máy UV-Vis ở bước sóng 644 nm để lập đường chuẩn. Mẫu trắng sử dụng là nước cất thay cho dung dịch Se^{4+} chuẩn. Các mẫu sau chiếu xạ được lấy 1 lượng ~ 3 ml cho vào bình định mức 10 ml, sau đó bổ sung 0,5 ml NaOH 1M và 0,5 ml EDTA 0,2 M. Lắc đều và ly tâm để loại bỏ tủa. Dịch ly tâm được xác định hàm lượng Se^{4+} theo quy trình trên. Hàm lượng Se^{4+} trong mẫu sau chiếu xạ ở các liều xạ khác nhau được tính dựa trên đường chuẩn.

Hiệu suất chuyển hóa ion Se^{4+} thành Se^0 tại các liều xạ khác nhau được tính dựa trên sự chênh lệch giữa nồng độ Se^{4+} ban đầu và nồng độ Se^{4+} còn lại sau chiếu xạ, xác định theo đường chuẩn UV-Vis đã xây dựng. Cụ thể, hiệu suất phản ứng (H, %) được tính theo công thức:

$$H(\%) = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad (2.2)$$

trong đó, C_0 là nồng độ Se^{4+} ban đầu ($\mu\text{g/mL}$) và C_t là nồng độ Se^{4+} còn lại sau chiếu xạ ở liều tương ứng. Liều xạ được xem là liều chuyển hóa bão hòa khi giá trị C_t tiến về xấp xỉ 0 và hiệu suất đạt gần 100%, đồng thời không tăng đáng kể khi tiếp tục tăng liều chiếu. Việc xác định hiệu suất chuyển hóa cho phép đánh giá mức độ khử hoàn toàn của Se^{4+} cũng như tối ưu hóa liều xạ nhằm đảm bảo hiệu quả tổng hợp và tiết kiệm năng lượng chiếu xạ.

Bên cạnh việc xác định mức độ chuyển hóa hóa học, đặc trưng hình thái và kích thước hạt SeNPs được khảo sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM nhằm đánh giá hình dạng, mức độ kết tụ và sự phân bố kích thước hạt.

2.2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ muối Se^{4+} đến đặc trưng của dung dịch đông khô

Hòa tan SeO_2 bằng nước để tạo dung dịch gốc nồng độ tương ứng là Se^{4+} 5 mM và nồng độ OCS ban đầu là 5%. Từ dung dịch Se^{4+} 5 mM lấy các thể tích tương ứng là 6,25; 12,5 và 25 ml cho từ từ vào 10 ml dung dịch OCS 5%, định mức đến thể tích 50 ml bằng, khuấy đều ~ 10 phút. Các mẫu chuẩn bị ở trên tương ứng với nồng độ Se^{4+} là 0,625; 1,25; và 2,5 mM, và nồng độ OCS không đổi là 1% (w/v). Đưa dung dịch Se^{4+} /OCS vào hộp nhựa có kích thước 29 x 18 x 9 cm có nắp đậy sao cho bề dày của dung dịch là 2,5 cm, chiếu xạ tiến hành trên nguồn EB ở liều xạ tương ứng là 10

kGy.

Tương tự, sau khi chiếu xạ tiến hành tính toán hiệu suất chuyển hóa và xác định đặc trưng hình thái và kích thước hạt SeNPs được khảo sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM nhằm đánh giá hình dạng, mức độ kết tụ và sự phân bố kích thước hạt và chọn ra nồng độ Se^{4+} phù hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến đặc trưng của dung dịch đông khô

Tương tự, chuẩn bị mẫu tương ứng với nồng độ Se^{4+} là giá trị được lựa chọn ở nghiên cứu trên, và nồng độ OCS không đổi là 1%. Đưa dung dịch Se^{4+} /OCS vào hộp nhựa có kích thước 29 x 18 x 9 cm có nắp đậy sao cho bề dày của dung dịch tương ứng là 2; 2,5; 3 và 3,5 cm, chiếu xạ tiến hành trên nguồn EB ở liều xạ bão hòa tương ứng với nồng độ Se^{4+} .

Tương tự, sau khi chiếu xạ tiến hành tính toán hiệu suất chuyển hóa và xác định đặc trưng hình thái và kích thước hạt SeNPs được khảo sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM nhằm đánh giá hình dạng, mức độ kết tụ và sự phân bố kích thước hạt và chọn ra chiều dày dung dịch phù hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại tiền chất tạo Se^{4+} đến đặc trưng của SeNPs

Tương tự, chuẩn bị mẫu tương ứng với nồng độ Se^{4+} là giá trị được lựa chọn ở nghiên cứu trên từ SeO_2 và Na_2SeO_3 , và nồng độ OCS không đổi là 1% (w/v). Đưa dung dịch Se^{4+} /OCS vào hộp nhựa có kích thước 29 x 18 x 9 cm có nắp đậy sao cho bề dày của dung dịch (được lựa chọn từ nghiên cứu 2.2.2.3), chiếu xạ tiến hành trên nguồn EB ở liều xạ bão hòa tương ứng với nồng độ Se^{4+} .

Tương tự, sau khi chiếu xạ tiến hành tính toán hiệu suất chuyển hóa và xác định đặc trưng hình thái và kích thước hạt SeNPs được khảo sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM nhằm đánh giá hình dạng, mức độ kết tụ và sự phân bố kích thước hạt và chọn ra tiền chất tạo dung dịch Se^{4+} phù hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ổn định đến đặc trưng của SeNPs tổng hợp bằng phương pháp chiếu xạ EB.

2.2.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ chất ổn định OCS đến đặc trưng của SeNPs

Hòa tan SeO_2 bằng nước để tạo dung dịch gốc nồng độ tương ứng là Se^{4+} 5 mM và OCS 5% (w/v) . Từ dung dịch OCS 5% lấy các thể tích tương ứng là 5; 10 và 20 ml. Cho từ từ 12,5 ml Se^{4+} vào dung dịch OCS ở trên, định mức đầy bằng nước đến thể tích 50 ml, khuấy đều ~10 phút. Các mẫu chuẩn bị ở trên tương ứng với nồng độ OCS là 0,5; 1; và 2%, và nồng độ Se^{4+} không đổi là 1,25 mM. Đưa dung dịch Se^{4+} /OCS vào lọ thủy tinh loại 50 ml của hãng Schott, Đúc có nút vặn kín khí bằng nhựa hoặc trong các hộp nhựa sau đó chiếu xạ EB ở các liều xạ tương ứng là 10 kGy.

2.2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định GA đến đặc trưng của đông khô

Hòa tan SeO_2 bằng nước để tạo dung dịch gốc nồng độ tương ứng là Se^{4+} 5 mM và GA 5% (w/v) . Từ dung dịch GA 5% lấy các thể tích tương ứng là 5; 10 và 20 ml. Cho từ từ 12,5 ml Se^{4+} vào dung dịch GA ở trên, định mức đầy bằng nước đến thể tích 50 ml, khuấy đều ~10 phút. Các mẫu chuẩn bị ở trên tương ứng với nồng độ GA là 0,5; 1; và 2%, và nồng độ Se^{4+} không đổi là 1,25 mM. Đưa dung dịch Se^{4+} /GA trong các hộp nhựa sau đó chiếu xạ EB ở các liều xạ tương ứng là 10 kGy.

2.2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định CTS đến đặc trưng của đông khô

Hòa tan SeO_2 bằng nước để tạo dung dịch gốc nồng độ tương ứng là Se^{4+} 5 mM và CTS 5% (w/v) . Từ dung dịch CTS 5% lấy các thể tích tương ứng là 5; 10 và 20 ml. Cho từ từ 12,5 ml Se^{4+} vào dung dịch CTS ở trên, định mức đầy bằng nước đến thể tích 50 ml, khuấy đều ~10 phút. Các mẫu chuẩn bị ở trên tương ứng với nồng độ CTS là 0,5; 1; và 2%, và nồng độ Se^{4+} không đổi là 1,25 mM. Đưa dung dịch Se^{4+} /CTS trong các hộp nhựa sau đó chiếu xạ EB ở các liều xạ tương ứng là 10 kGy.

Sau khi chiếu xạ tiến hành xác định đặc trưng hình thái và kích thước hạt SeNPs được khảo sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM nhằm đánh giá hình dạng,

mức độ kết tụ và sự phân bố kích thước hạt và chọn ra nồng độ chất ổn định phù hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến độ ổn định của hạt và phân bố kích thước hạt tạo thành

Sau khi chiếu xạ, lấy 100 ml dung dịch SeNPs chia vào 2 bình thủy tinh. Bắt đầu quan sát khả năng sa lắng cũng như sự thay đổi về màu sắc của dung dịch trong quá trình bảo quản mẫu tại các thời điểm 0; 30; 60; 90 và 180 ngày ở nhiệt độ 5°C và nhiệt độ phòng (27°C)

- Xác định hình thái và kích thước hạt bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM)
- Đo quang phổ tử ngoại khả kiến (UV-Vis)

2.2.4. Các phương pháp phân tích đặc trưng tính chất của SeNPs

2.2.4.1. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier

Mẫu SeNP được sấy khô, nghiền nhỏ bằng cối nghiền bi (Fritsch, Đức) và rây qua rây 200 mesh. Cân khoảng 3-5 mg mẫu bột nano Se trộn cùng với 150 mg KBr trong cối mã nã, ép mỏng trên máy ép chuyên dụng trong thời gian khoảng 10 phút. Tiến hành đo phổ IR trên máy FT-IR 8400S, Shimadzu, Nhật Bản.

2.2.4.2. Phổ nhiễu xạ tia X

Mẫu OCS và SeNPs được sấy khô, nghiền mịn, ép thành tấm có bán kính 1 inch, đưa vào đo phổ XRD trên máy Advance 8-Bruker, Đức, vận hành ở điện thế 40 kV, cường độ dòng 40 mA bằng bức xạ của Cu K α [145].

2.2.4.3. Quang phổ tia X phân tán năng lượng

Hàm lượng Se trong bột SeNPs được đánh giá bằng quang phổ tia X phân tán năng lượng (EDX) trên máy JSM-6610 LA, JEOL, Nhật Bản.

2.2.4.4. Phân tích cấu trúc hình thái bằng kính hiển vi điện tử truyền qua

Dung dịch đông khô được chiếu xạ đến liều xạ chuyển hóa bão hòa. Nhỏ giọt dung dịch đông khô lên lưới đồng (300 mesh) đã phủ lớp carbon, làm khô tự nhiên, khoảng 15 phút, chụp ảnh TEM trên máy JEM1010, JEOL, Nhật bản với độ phân giải 3 Å, điện thế gia tốc 80 kV, phim âm bản FUJIFILM kích thước 8,2×11,8 cm [145].

Kích thước hạt trung bình và tần số phân bố kích thước hạt được xác định bằng

phương pháp đếm hạt từ ảnh TEM với tổng số hạt khoảng 500 với sự hỗ trợ của phần mềm Adobe Photoshop CC 2015 và thuật toán xử lý thống kê [146].

2.2.4.5. Tính toán kích thước hạt nano trung bình

Đường kính trung bình của hạt nano trong một mẫu được xác định theo công thức:

$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^k d_i n_i}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad (2.3)$$

Trong đó: d_i (nm) là giá trị đường kính đại diện của lớp kích thước thứ i

n_i là số hạt đếm được (tần số) thuộc lớp kích thước thứ i

k là tổng số lớp kích thước

- Ước lượng sai số của giá trị trung bình

Để đánh giá độ tin cậy của giá trị đường kính trung bình, sai số được ước lượng dựa trên sự phân tán của các giá trị đường kính trung bình thu được từ các ảnh TEM độc lập. Sai số ước lượng của giá trị trung bình được xác định theo phân bố t Student, phù hợp với trường hợp số mẫu nhỏ và phương sai chưa biết, theo công thức:

$$\Delta \bar{d} = t_{1-\alpha/2, n-1} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k (d_{tb,i} - \bar{d})^2}{n(n-1)}} \quad (2.4)$$

Trong đó: $d_{tb,i}$ (nm) là đường kính trung bình xác định từ ảnh TEM thứ i

$\bar{d}$ là giá trị đường kính trung bình của mẫu

n là số lượng ảnh TEM của một mẫu

$t_{1-\alpha/2, n-1}$: là hệ số phân bố t Student với bậc tự do $n - 1$, tương ứng

với mức tin cậy $1 - \alpha = 95\%$

Giá trị kích thước trung bình của mẫu được biểu diễn dưới dạng: $\bar{d} \pm \Delta \bar{d}$ (nm)

Trong đó $\Delta \bar{d}$ là sai số ước lượng của giá trị trung bình với mức tin cậy 95%.

2.2.4.6. Phương pháp so sánh sự khác biệt giữa hai giá trị trung bình bằng kiểm định Student (t-test)

Để đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai giá trị trung bình thu được từ hai mẫu độc lập, nghiên cứu sử dụng kiểm định Student (t-test) [147] hai mẫu với

giả thiết phương sai gần tương đương và phân bố xấp xỉ chuẩn. Trong đó, giả thuyết kiểm định được xác định như sau:

Trước hết, phương sai gộp của hai mẫu được tính theo công thức:

$$s_p^2 = \frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{n_1+n_2-2} \quad (2.5)$$

trong đó n_1, n_2 là kích thước mẫu và s_1^2, s_2^2 là phương sai mẫu của hai nhóm khảo sát. Giá trị thống kê kiểm định t được xác định như sau:

$$t_{tn} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{s_p \sqrt{\left(\frac{n_1+n_2}{n_1 n_2}\right)}} \quad (2.6)$$

với $\bar{X}_1, \bar{X}_2$ là giá trị trung bình của hai mẫu;

Giá trị t_{tn} sẽ được so sánh với giá trị tới hạn t_{lt} ($t_{1-\alpha/2, v}$) tra từ bảng phân bố Student bậc tự do: $v = n_1 + n_2 - 2$; ở với mức tin cậy $1 - \alpha = 95\%$. Quy tắc quyết định được sử dụng như sau:

- Nếu $t_{tn} \leq t_{lt}$ sự khác biệt giữa hai giá trị trung bình không có ý nghĩa thống kê.
- Nếu $t_{tn} > t_{lt}$ sự khác biệt giữa hai giá trị trung bình có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%.

2.2.4.7. Quang phổ tử ngoại khả kiến

Dung dịch đông khô sau chiếu xạ, để ổn định trong điều kiện bình thường, 16 giờ, pha loãng đến 0,1 mM (tính theo nồng độ ion selen ban đầu), dung môi là nước, đưa vào cuvet thạch anh có chiều dày 1 cm, ghi phổ trong dải bước sóng từ 800 – 200 nm, trên máy UV-2401PC, Shimadzu, Nhật.

Dựa trên kết quả cường độ hấp thụ (E) và bước sóng hấp thụ UV-vis cực đại (λ_{max}) của dung dịch đông khô để xác định liều xạ chuyển hóa bão hòa (D_{bh}) và suy đoán sự thay đổi kích thước hạt. Đối với dung dịch keo thì kích thước hạt có mối tương quan đến E và λ_{max} . Tại cùng một nồng độ của dung dịch keo nano kích thước hạt giảm thì E tăng và λ_{max} giảm [148].

2.2.5. Khảo sát quá trình chế tạo SeNPs dạng bột

2.2.5.1. Chế tạo SeNPs dạng bột bằng phương pháp sấy phun

Bột SeNPs được tạo ra bằng cách phun khô 200ml dung dịch SeNPs bằng máy sấy phun (Spray Dryer) ADL311, Yamato, Nhật Bản (hình 2.3) tại trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ, Tp.HCM với vòi phun kép 1A (đường kính trong: 406 μm , đường kính ngoài: 1270 μm). Các thông số quá trình sấy được sử dụng như sau: Nhiệt độ đầu vào: 140°C, tốc độ dòng bơm: 8 mL/phút, áp suất khí phun: 0,35 kg/cm², lưu lượng khí sấy khô: 400 m³/giờ.



Hình 2.3. Máy sấy phun ADL311, Yamato, Nhật Bản

2.2.5.2. Chế tạo SeNPs dạng bột bằng phương pháp sấy đông khô

Dung dịch SeNPs được sấy đông khô trên máy sấy TOPTPV-50F của hãng TOPTION- Shanghai, China, với các tính năng như sau: nhiệt độ bốc lạnh -75°C, tốc độ bơm 8 L/s, công suất nguồn điện 5,5 kW, diện tích sấy 0,69 m², khả năng thu nước 10 kg/24 h.

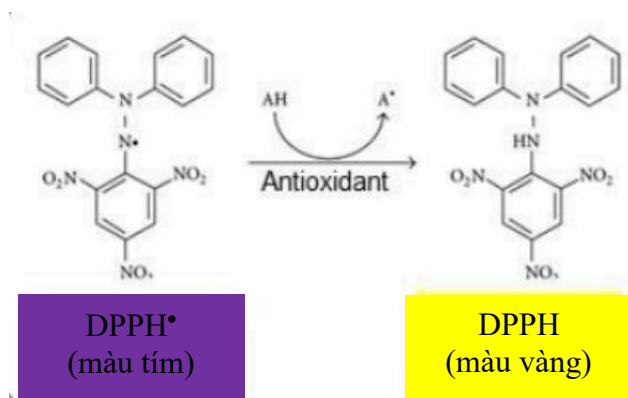


Hình 2.4. Máy sấy đông khô TOPTPV-50F, China

2.2.6. Đánh giá hoạt tính chống oxi hóa của SeNPs dạng dung dịch và dạng bột

Hoạt tính kháng oxi hóa được đánh giá bằng thuốc thử DPPH [149].

➤ Nguyên tắc



Hình 2.5. Mô tả nguyên tắc của phương pháp đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa bằng DPPH

1,1 Diphenyl 2- Picryl Hydrazyl (DPPH) là một gốc tự do, có 1 nguyên tử Nito còn e độc thân, bền và dễ tan trong lipid. Chất kháng gốc tự do (AH) cung cấp nguyên tử hidro mang electron độc thân ($H^\bullet$) cho $DPPH^\bullet$, dẫn đến sự chuyển tự dạng

gốc tự do DPPH[•] thành dạng không gốc tự do DPPH-H. Ở trạng thái gốc tự do DPPH[•] có màu tím và hấp thu bước sóng thích hợp. Khi nguyên tử H[•] được chuyển đến electron độc thân của DPPH[•], sự hấp thu bước sóng giảm tỉ lệ với sự tăng dạng không gốc tự do DPPH-H. Từ kết quả đo mật độ quang ở cùng bước sóng của DPPH[•] của giếng thử và DPPH[•] của giếng chứng có thể xác định khả năng kháng gốc tự do DPPH[•] của mẫu thử ở nồng độ khảo sát.

➤ Quy trình

Chuẩn bị dung dịch DPPH

- Hòa tan hoàn toàn 0,0138 g DPPH trong 20 mL ethanol thu được 20 mL dung dịch DPPH 1,75 mM. Dung dịch DPPH 1,75 mM được bảo quản ở 4°C trong điều kiện tránh ánh sáng. Khi sử dụng sẽ pha loãng DPPH 1,75mM thành 350 μ M.

Chuẩn bị dung dịch axit ascorbic

- Hòa tan hoàn toàn 0,017612 g axit ascorbic trong 1 mL nước cất thu được 1 mL dung dịch axit ascorbic 100 mM. Pha 100 μ L dung dịch axit ascorbic 100 mM với 900 μ L nước cất thu được 1 mL dung dịch axit ascorbic 10 mM. Dung dịch axit ascorbic 10 mM và 100 mM được bảo quản ở 4°C trong điều kiện tránh ánh sáng.

Chuẩn bị dung dịch SeNPs

- Cân khối lượng 0,048 g mỗi loại FDEB, SDEB. Hòa tan hoàn toàn 0,048 g các loại SeNPs trên vào 6 mL nước cất thu được 6 mL dung dịch SeNPs 80 μ g/mL.

- Pha loãng dung dịch SeNPs và axit ascorbic thành các nồng độ cần khảo sát theo bảng 2.2

- Thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hóa bằng thuốc thử DPPH được thử hiện trong các giếng của đĩa 96 giếng. Tổng thể tích phản ứng trong giếng là 240 μ L. Nồng độ cuối DPPH là 175 μ M.

- Nạp vào mỗi giếng thể tích phản ứng theo bảng 2.3

Bảng 2.2. Nồng độ khảo sát ($\mu\text{g/mL}$) của các mẫu thử

Mẫu thử	Nồng độ khảo sát ($\mu\text{g/mL}$)									
FDEB	40	30	25	20	10	5	2.5	1,25	0,625	
SDEB	40	30	25	20	10	5	2.5	1,25	0,625	
SEB	80	70	60	50	40	30	20	10	5	2,5
axit ascorbic	14,09	12,33	10,57	8,81	7,04	5,28	3,52	1,76	0,88	0,44

Bảng 2.3. Nồng độ các thành phần trong các mẫu

	Mẫu thử (μL) (sample)	Chứng trắng của mẫu thử (μL) (blank sample)	Mẫu đối chứng (μL) (control)	Chứng trắng của mẫu đối chứng (μL) (blank control)
SeNPs ở nồng độ cần khảo sát	120	120	0	0
H₂O	0	0	120	120
DPPH 350 μM	120	0	120	0
Ethanol	0	120	0	120

▪ Phản ứng xảy ra trong điều kiện tránh sáng, ủ ở 30°C, lắc rung 800 rpm trong 60 phút. Sau đó mật độ quang được đo ở bước sóng 492 nm. Phần trăm ức chế được tính theo công thức:

$$I\% = 100\% - \frac{(OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank sample}}) \times 100\%}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank control}}} \quad (2.7)$$

Toàn bộ quy trình được lặp lại độc lập 3 lần. Giá trị IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) là nồng độ của mẫu thử mà tại đó 50% DPPH• bị khử thành DPPH-H. Giá trị này được xác định

bằng bằng phần mềm GraphPad Prism dựa trên đường thẳng hồi quy tuyến tính giữa I% và nồng độ mẫu thử.

2.2.7. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư của SeNPs dạng dung dịch và dạng bột đối với 2 loại tế bào ung thư MCF-7 và HELA

Đánh giá hoạt tính kháng ung thư của SeNPs dạng dung dịch và dạng bột đối với 2 loại tế bào ung thư MCF-7 và HELA với các nội dung sau:

- Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào MCF-7 của SeNPs dạng dung dịch bằng thí nghiệm in vitro.
- Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào MCF-7 của SeNPs dạng bột bằng thí nghiệm in vitro
- Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào HELA của SeNPs dạng dung dịch bằng thí nghiệm in vitro
- Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào HELA của SeNPs dạng bột bằng thí nghiệm in vitro
- Tính toán nồng độ dung dịch và khối lượng bột SeNPs cần thiết để kháng tế bào ung thư MCF-7 và HELA
- Đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa của vật liệu SeNPs

Nguyên liệu được sử dụng gồm SeNPs dạng dung dịch và dạng bột. Mẫu SeNPs dạng dung dịch sử dụng chất ổn định là GA 1% (w/v). Mẫu được bảo quản ở dạng lỏng với nồng độ Se trong mẫu là 800 µg/mL ở nhiệt độ 5°C

Các mẫu SeNPs sử dụng chất ổn định là GA 1% (w/v). Các mẫu FDEB, SDEB được bảo quản dưới dạng rắn với hàm lượng Se trong mẫu là 10000 mg/kg ở nhiệt độ 5°C

Bảng 2.4. Đặc tính các mẫu SeNPs

Kí hiệu mẫu	Phương pháp tạo hạt	Phương pháp bảo quản	Trạng thái	Kích thước hạt
SEB	Chiếu xạ EB	Duy trì ở dạng dung dịch	Lỏng	~ 30 nm
FDEB	Chiếu xạ EB	Đông khô (Freeze drying)	Rắn	~ 50 nm
SDEB	Chiếu xạ EB	Sấy phun (Spray drying)	Rắn	~ 50 nm

Các dòng tế bào được sử dụng trong nghiên cứu và môi trường nuôi cấy được trình bày trong bảng 2.5. Môi trường nuôi cấy được bổ sung 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin và 250 ng/ml amphotericin B (Sigma-aldrich, Germany).

Bảng 2.5. Các dòng tế bào và môi trường nuôi cấy

Tên dòng tế bào	Loại tế bào	Môi trường nuôi cấy
MCF7 (ATCC HTB-22)	Ung thư vú người	DMEM high glucose bổ sung 10 %(v/v) FBS [132]
Hela (ATCC CCL-2)	Ung thư cổ tử cung người	DMEM high bổ sung 10 %(v/v) BCS [150]
BJ-5ta (ATCC CRL-4001)	Nguyên bào sợi người bình thường	DMEM high glucose bổ sung 10%(v/v) FBS [151]

2.2.7.1. Nuôi cấy tế bào

Để tăng trưởng bình thường, tế bào cần được nuôi cấy trong điều kiện mô phỏng với sinh lý cơ thể như pH=7,4; nhiệt độ 37°C và các chất dinh dưỡng cần thiết được bổ sung trực tiếp vào môi trường nuôi cấy. Nồng độ CO₂ chiếm 5% trong thành phần không khí duy trì để đảm bảo duy trì ổn định pH môi trường. Các tế bào bám dính khi đã bám dính trên bề mặt giá thể sẽ bắt đầu phân chia trong khi các tế bào huyền phù tăng sinh trực tiếp ở trạng thái lơ lửng trong môi trường .

➤ **Quy trình**

Các dòng tế bào được nuôi tăng sinh trong đĩa 60 mm². Các dòng này được nuôi trong môi trường thích hợp cho sự phát triển tăng sinh của từng loại tế bào (bảng 2.5). Điều kiện nuôi 37°C, 5% CO₂.

Môi trường nuôi cấy được thay mỗi 2-3 ngày. Khi tế bào nuôi đạt được mật độ 80-90 % bề mặt đĩa nuôi, tiến hành cấy chuyển tế bào theo quy trình bên dưới.

Quy trình cấy chuyển tế bào:

1. Lấy tế bào từ tủ nuôi và kiểm tra màu sắc và độ đục của môi trường cũng như mật độ tế bào.
2. Hút bỏ môi trường cũ.

3. Tráng bề mặt tế bào để loại bỏ hết huyết thanh còn sót lại bằng 1-2 ml dung dịch PBS.

4. Cho 300-500 μ l dung dịch Trypsin/EDTA lên bề mặt tế bào để tách tế bào bám dính khỏi bề mặt dụng cụ nuôi cấy.

5. Kiểm tra dưới kính hiển vi để đảm bảo tế bào đã tách hoàn toàn khỏi bề mặt nuôi cấy.

6. Bổ sung thể tích môi trường gấp 2 lần thể tích Trypsin/EDTA để bất hoạt Trypsin. Huyền phù đều dung dịch tế bào.

7. Hút bỏ hoặc chuyển 1/2 - 1/3 dịch tế bào sang dụng cụ nuôi cấy mới.

8. Tiếp tục nuôi tế bào trong tủ nuôi trong điều kiện nuôi 37 °C, 5% CO₂.

2.2.7.2. Thử nghiệm hoạt tính kháng ung thư

Hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào ung thư được đánh giá bằng phương pháp MTT [152].

Số lượng tế bào sống được đánh giá gián tiếp qua hoạt tính của enzyme dehydrogenase của ty thể. Ở tế bào sống bình thường hoạt tính của enzyme này tương đối hằng định, nghĩa là số lượng tế bào sống sẽ tương quan tuyến tính với hoạt tính của dehydrogenase. Hoạt tính enzyme này lại được phản ánh bởi khả năng chuyển MTT thành formazan của nó. MTT là một chất có thể đi qua màng tế bào và màng trong ti thể của tế bào sống nhờ nó tích điện dương và phần cấu trúc kỵ nước, sau đó được enzyme dehydrogenase ở ty thể khử thành vòng tetrazole và hình thành phân tử không tan trong nước màu xanh tím được gọi là formazan. Quần thể tế bào sau khi tiếp xúc với MTT trong thời gian thích hợp, sẽ được ly giải bởi buffer thích hợp để giải phóng tinh thể formazan, sau đó các tinh thể này sẽ được hòa tan nhờ dung môi DMSO và được đánh giá nồng độ thông qua đo mật độ quang ở bước sóng 550 nm. Tỷ lệ mật độ quang của giếng thử so với giếng chứng phản ánh số lượng tế bào còn sống trên tổng số tế bào ở nồng độ thuốc thử.

➤ **Quy trình MTT**

Trước tiên, tế bào bám dính được tách khỏi bề mặt nuôi cấy bằng 0,25% Trypsin/EDTA (Sigma-aldrich, Germany). Tế bào sau đó được ly tâm và huyền phù trong môi trường mới và xác định mật độ bằng buồng đếm tế bào.

Cách xác định và công thức tính mật độ

Mỗi buồng đếm được chia thành các lưới, chứa 9 ô vuông, mỗi vuông có cùng kích thước và chứa 10^{-4} ml dịch huyền phù tế bào. Dịch huyền phù được pha loãng a lần với PBS(-) và b lần dung dịch Tryphan blue (giúp nhuộm những tế bào sống) đến nồng độ thích hợp để số lượng tế bào đếm được trong một ô từ 20-100 tế bào. Số lượng tế bào (N) là tổng tế bào đếm được từ 8 ô trong buồng đếm dưới kính hiển vi có độ phóng đại x100.

Mật độ tế bào C (tế bào/ml) được xác định bởi công thức

$$C = (N/8) \times \text{hệ số pha loãng Tryphan blue (b)} \times \text{hệ số pha loãng PBS (a)} \times 10^4 \quad (2.8)$$

- Các dòng tế bào được thử nghiệm ở mật độ 10^4 tế bào/giếng vào các giếng của đĩa 96 giếng. Sau đó, các tế bào bám dính được ủ qua đêm để bám lên bề mặt giếng, trong khi các tế bào huyền phù được ủ trong 1 giờ để phục hồi.
- Với tế bào bám dính, môi trường được loại bỏ và thay thế bằng 90 μ L môi trường mới, trong khi với tế bào huyền phù môi trường được giữ nguyên đến bước tiếp theo.
- Sau đó 10 μ L của mẫu thử được cho vào mỗi giếng. Nồng độ cuối khảo sát của các mẫu thử trong bảng 2.6

Bảng 2.6. Nồng độ các mẫu SeNPs cần khảo sát

Nồng độ khảo sát của các loại SeNPs (μg/mL)												
0,31	0,62	1,25	2,5	5	7,5	10	15	20	30	40	80	100

- Giếng đối chứng chứa tế bào không xử lý mẫu thử mà được xử lý với 10 μ L PBS (dung dịch pha loãng các mẫu thử).
- Đối với thử nghiệm trên dòng tế bào dạng bám dính, giếng chứng trắng chứa 100 μ L môi trường không chứa tế bào. Đối với thử nghiệm trên dòng tế bào dạng huyền phù, ở mỗi nồng độ mẫu thử được bố trí giếng chứng trắng gồm môi trường và mẫu thử với nồng độ tương ứng.
- Các đĩa thử nghiệm 96 giếng được ủ ở 37°C trong vòng 48 giờ.
- Sau 48 giờ (hoặc 72 giờ) ủ với mẫu thử, các tế bào bám dính được loại bỏ môi trường cũ và thay bằng 95 μ L môi trường.

- Tiếp đến, mỗi giếng bổ sung 5 μ L MTT và ủ trong 4 giờ trong điều kiện tránh sáng.
- Sau đó, 60 μ L dung dịch ly giải (30% (w/v) SDS, HCl 0.03 N) và 90 μ L dung dịch DMSO (99.9% v/v) được thêm vào mỗi giếng để ly giải tế bào và hòa tan tinh thể formazan. Đã được lắc ở 800 rpm trong 10 phút trước khi đo mật độ quang ở bước sóng 550 nm.
- Phần trăm ức chế của tế bào bám dính ở mỗi nồng độ được xác định bởi công thức (2.7)

Toàn bộ quy trình sẽ được lặp lại độc lập ít nhất 3 lần. Giá trị IC_{50} (μ g/mL) là nồng độ của mẫu thử gây ra ức chế 50% sự tăng trưởng tế bào. Giá trị này được tính bằng phần mềm GraphPad Prism nội suy dựa trên đường cong đáp ứng thể hiện mối tương quan giữa I% và nồng độ mẫu thử.

Hệ số chọn lọc (SI – selectivity index) của mẫu thử được xác định bằng tỉ số giữa IC_{50} của dòng tế bào nguyên bào sợi bình thường và dòng tế bào ung thư.

2.2.7.3. Đánh giá hình thái học tế bào

Hình thái học tế bào khi được xử lý với mẫu thử được quan sát dưới kính hiển vi Nikon Eclipse TiU (Nikon, Japan) ở thời điểm 48 giờ và 72 h.

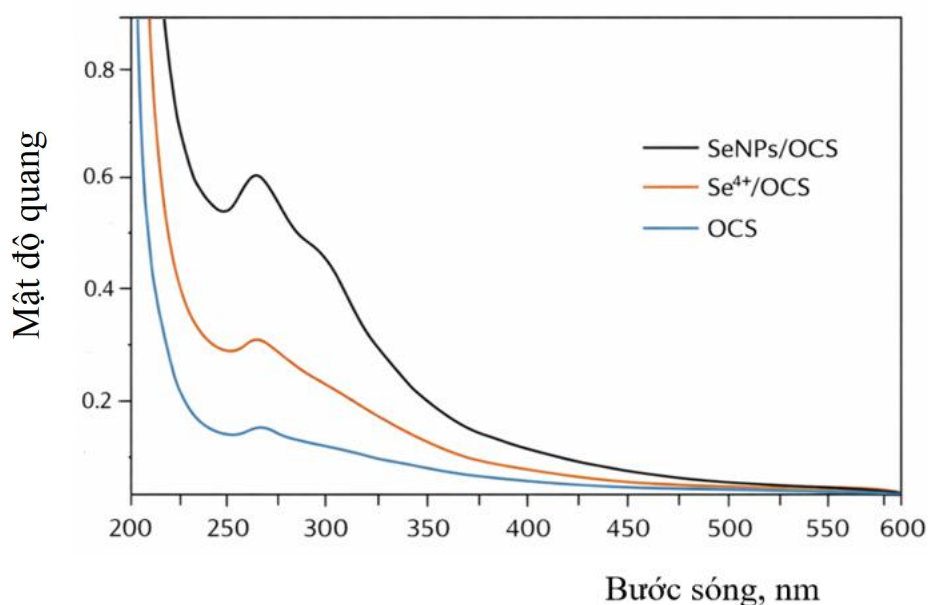
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc trưng của dung dịch SeNPs được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử dùng OCS làm chất ổn định

3.1.1. Phổ UV-Vis của dung dịch OCS, Se^{4+} /OCS và dung dịch SeNPs sử dụng OCS làm chất ổn định



Hình 3.1. (A) Dung dịch OCS 1%; (B) dung dịch Se^{4+} 2,5 mM/OCS 1%; (C) dung dịch SeNPs 2,5 mM/OCS 1%



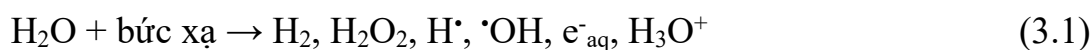
Hình 3.2. Phổ UV-Vis của OCS 1%; dung dịch Se^{4+} 2,5 mM/OCS 1% và dung dịch SeNPs 2,5 mM/OCS 1%

Kết quả phổ UV-Vis, màu sắc của dung dịch SeNPs được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ EB dùng OCS làm chất ổn định thể hiện trong hình 3.1 và 3.2, cho thấy

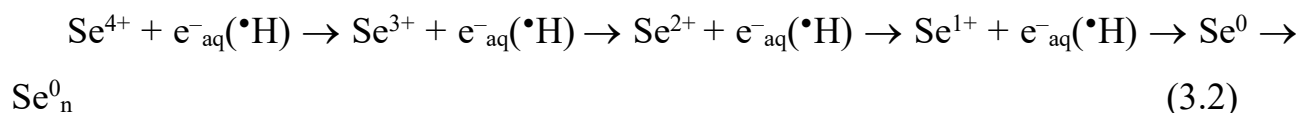
có sự thay đổi màu của dung dịch trước và sau chiếu xạ, từ màu vàng cam chuyển sang màu đỏ cam. Phổ UV-Vis cho thấy quang phổ ở cả 3 mẫu đều hấp thụ mạnh nhất trong vùng $\lambda_{\max}$ khoảng 265 – 266,5 nm với đỉnh đơn, hẹp. Sự tương đồng về vị trí đỉnh hấp thụ giữa các mẫu cho thấy tín hiệu hấp thụ chủ yếu bắt nguồn từ OCS, trong khi sự hiện diện của Se^{4+} hoặc SeNPs không làm thay đổi đáng kể vị trí đỉnh hấp thụ đặc trưng này. Trong cấu trúc của OCS tồn tại nhiều nhóm chức như $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ và đặc biệt là nhóm carbonyl ($\text{C}=\text{O}$) của nhóm carboxymethyl. Đỉnh hấp thụ trong vùng tử ngoại 260–280 nm thường được ghi nhận là đặc trưng cho các hợp chất chứa nhóm $\text{C}=\text{O}$, do đó đỉnh hấp thụ quan sát được tại khoảng 265 – 266,5 nm trong phổ UV-Vis của các mẫu nghiên cứu có thể được giải thích là do nhóm $\text{C}=\text{O}$ trong cấu trúc OCS. Bên cạnh đó, có thể nhận thấy cường độ hấp thụ của mẫu SeNPs/OCS sau chiếu xạ EB cao hơn so với hai mẫu OCS và Se^{4+} /OCS, mặc dù vị trí đỉnh hấp thụ gần như không thay đổi. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi sự biến đổi cấu trúc của OCS dưới tác động của bức xạ ion hóa. Trong quá trình chiếu xạ, các gốc tự do sinh ra từ sự phân ly nước có thể tấn công mạch polysaccharide của OCS, gây cắt mạch polymer và làm giảm khối lượng phân tử. Quá trình này đồng thời tạo ra nhiều đầu mạch mới chứa nhóm carbonyl hoặc carboxyl, sự gia tăng số lượng các nhóm chức này sau chiếu xạ dẫn đến cường độ hấp thụ của mẫu SeNPs/OCS tăng lên so với các mẫu chưa chiếu xạ.

Kết quả UV-Vis trong nghiên cứu này khá phù hợp với các nghiên cứu trước đây về SeNPs [13-15, 18], các hạt SeNPs có đường kính nhỏ hơn 100 nm không có đỉnh hấp thụ đặc trưng ($\lambda_{\max}$) trong vùng UV-Vis từ 200 đến 800 nm. Đỉnh hấp thụ chỉ xuất hiện với các hạt SeNPs có kích thước lớn hơn 100 nm [153, 154], cụ thể là, đỉnh hấp thụ xuất hiện ở bước sóng 550 và 680 nm đối với hạt SeNPs có kích thước lần lượt là 146 và 240 nm [14, 153, 154]

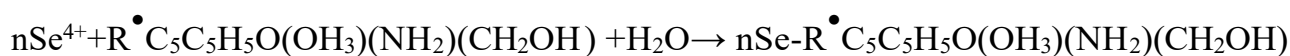
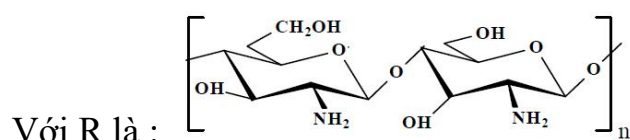
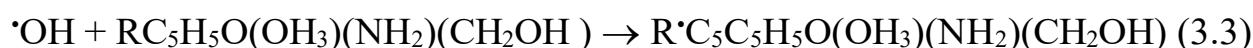
Qua sự thay đổi về màu sắc của dung dịch ion Se^{4+} trước và sau khi chiếu xạ cùng với phổ UV-Vis và ảnh TEM thu được có thể kết luận rằng quá trình khử ion Se^{4+} thành Se^0 đã diễn ra. Các nguyên tử Se vừa tạo thành nhanh chóng kết hợp với nhau để tạo thành cụm và tiếp tục phát triển thành hạt lớn hơn với cơ chế được đề nghị như sau:



e^-_{aq} và $\text{H}^\bullet$ có thể oxi hóa khử tương ứng là $E^\circ (\text{H}_2\text{O}/\text{e}^-_{\text{aq}}) = -2,87 \text{ V}$ và $E^\circ (\text{H}^+/\text{H}^\bullet) = -2,3 \text{ V}$ so với $E^\circ (\text{Se}^{4+}/\text{Se}) = +0,74 \text{ V}$ nên dễ dàng khử ion Se^{4+} thành Se nguyên tử (Se^0)

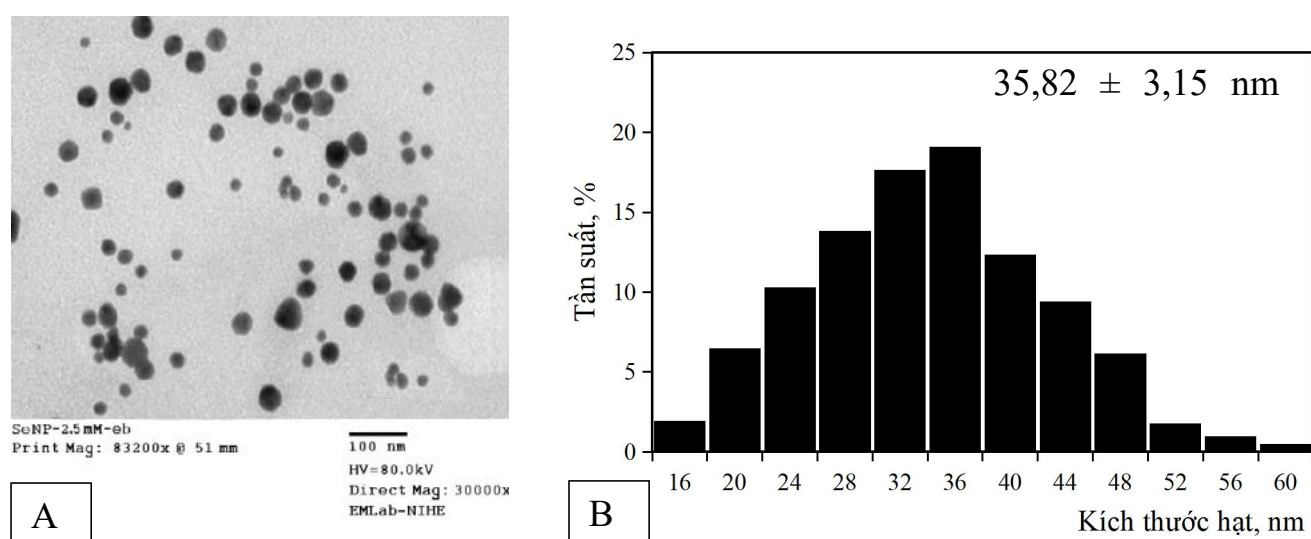


Tuy nhiên, trong môi trường nước, gốc tự do $\bullet\text{OH}$ cũng được sinh ra từ quá trình phân ly nước. Gốc này có tính oxi hóa mạnh, có thể oxy hóa hạt Se (Se^0_n) thành dạng cụm ion [15, 85] làm ảnh hưởng đến kích thước hạt SeNPs. Để hạn chế tạo thành kích thước hạt SeNPs lớn, OCS được sử dụng với vai trò đồng thời vừa là chất bắt gốc tự do vừa là chất ổn định kích thước hạt SeNPs.



Nhờ vậy, SeNPs được tạo thành trong dung dịch với kích thước nano và được bảo vệ bởi các nhóm chức trên mạch OCS.

3.1.2. Ảnh TEM và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS

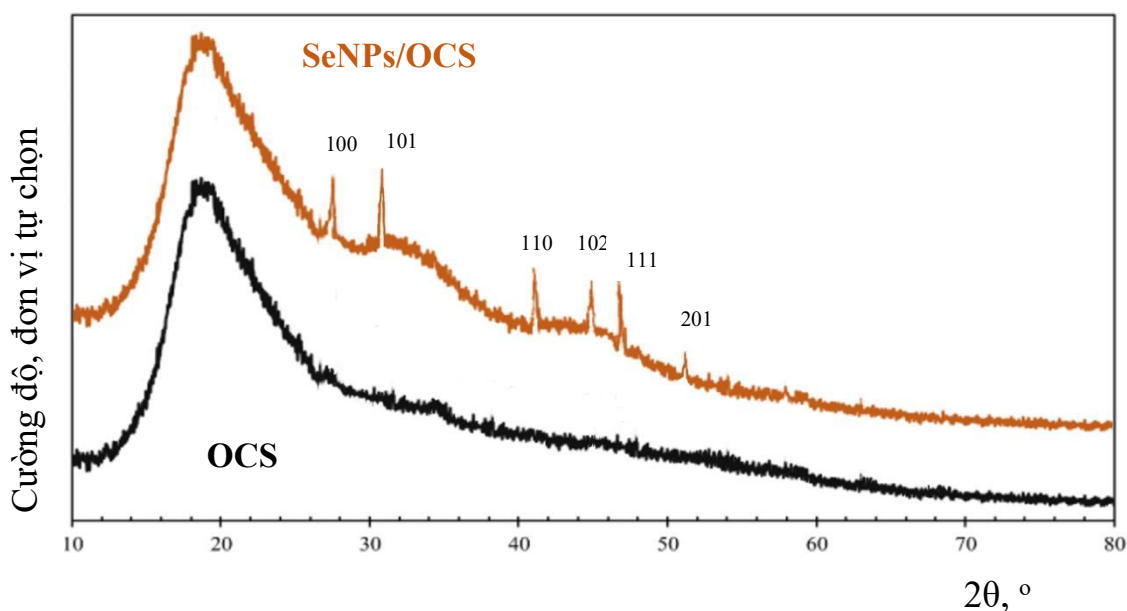


Hình 3.3. Ảnh TEM (A) và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS (B)

Ảnh TEM hình 3.3 (A) cho thấy các hạt SeNPs được hình thành có hình cầu và phân tán tương đối đồng đều khi sử dụng OCS làm chất ổn định. Không quan sát thấy sự kết tụ mạnh hay hình thành cấu trúc dạng chuỗi, điều này cho thấy OCS 1% (w/v) đóng vai trò ổn định tĩnh điện – không gian hiệu quả, nhờ các nhóm $-NH_2$ và $-OH$ tương tác với bề mặt hạt Se.

Phân bố kích thước hạt hình 3.3 (B) cho thấy kích thước trung bình đạt $35,82 \pm 3,15$ nm, với phân bố tương đối hẹp, tập trung chủ yếu trong khoảng 28–40 nm. Độ lệch chuẩn nhỏ phản ánh độ đơn phân tán khá tốt, chứng minh quá trình tạo mầm và tăng trưởng hạt diễn ra tương đối đồng thời.

3.1.3. Cấu trúc tinh thể của SeNPs/OCS



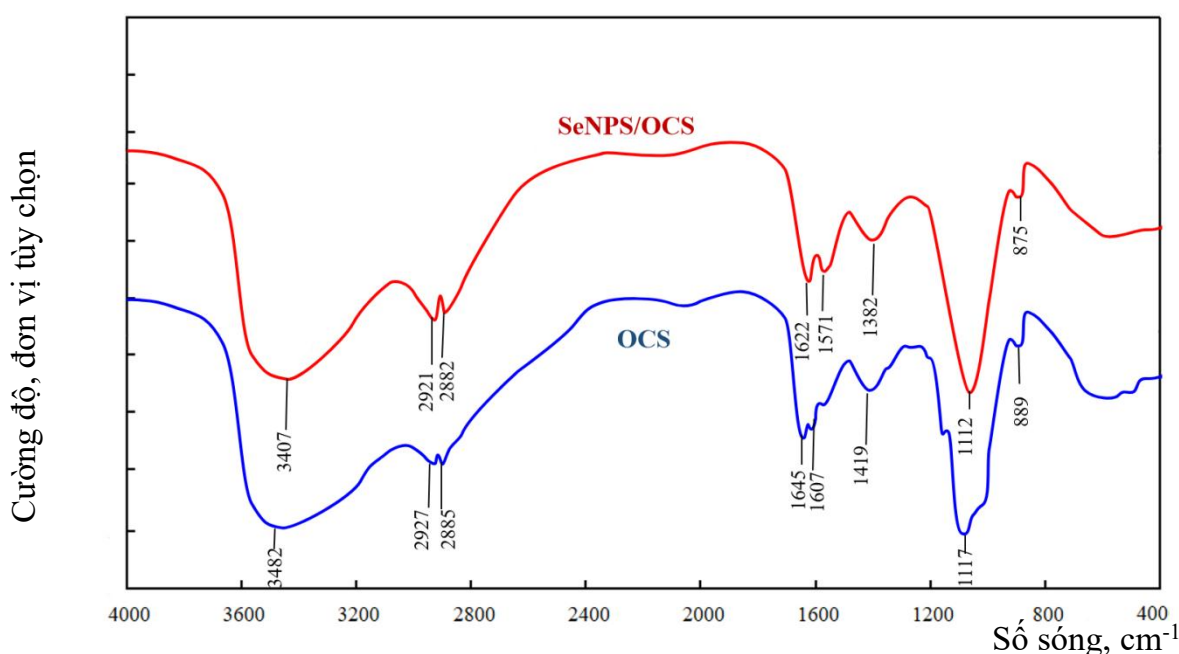
Hình 3.4. Giải đồ nhiễu xạ tia X của OCS và SeNPs/OCS

Bên cạnh việc đánh giá hình thái và phân bố kích thước bằng TEM, cấu trúc pha và mức độ kết tinh của vật liệu SeNPs/OCS tiếp tục được khảo sát bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD). Kết quả từ giản đồ XRD (hình 3.4) cho thấy, so với mẫu OCS ban đầu, giản đồ XRD của hệ sau phản ứng cho thấy sự xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của pha Se nguyên tố, chứng tỏ quá trình khử tiền chất dưới tác dụng của chùm tia điện tử đã hình thành Se^0 ở trạng thái kết tinh.

Trên phổ của mẫu OCS, xuất hiện một dải nhiễu xạ rộng tập trung quanh vùng $2\theta \approx 19-20^\circ$, đỉnh đặc trưng của OCS [155]. Khi SeNPs được hình thành trong hệ, bên cạnh tín hiệu nền của OCS, các đỉnh nhiễu xạ rõ ràng xuất hiện tại khoảng $2\theta \approx$

27,3°, 30,8°, 42,5°, 45,6°, 47,2° và 51,8°. Các đỉnh này lần lượt tương ứng với các mặt tinh thể (100), (101), (110), (102), (111) và (201) của tinh thể Se cấu trúc lục phương. Sự xuất hiện đồng thời của nhiều mặt tinh thể đặc trưng cho thấy Se⁰ không tồn tại ở dạng vô định hình mà đã kết tinh theo mạng tinh thể đặc trưng của Se bên nhiệt động ở điều kiện thường. Kalishwaralal và cộng sự (2018) [153] chế tạo SeNPs ổn định trong CTS cũng ghi nhận các góc 2θ thu được từ giản đồ XRD là 29,5°; 41,3°; 44°; 45,2°; và 46° tương ứng với mặt tâm thể (100), (110), (102) và (111) của SeNPs. Kết quả này phù hợp với các báo cáo trước đây về cấu trúc tinh thể lục phương của Se [153, 156]. Tuy nhiên, các đỉnh nhiễu xạ của SeNPs có cường độ tương đối thấp và độ rộng đáng kể so với vật liệu khối, điều này phản ánh kích thước miền tinh thể nhỏ và mức độ kết tinh chưa cao.

3.1.4. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier của SeNPs/OCS



Hình 3.5. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier của mẫu OCS và của SeNPs/OCS

Để chứng minh sự hình thành liên kết giữa chất ổn định OCS và hạt SeNPs, phổ hồng ngoại biến đổi Fourier của mẫu OCS và dung dịch SeNPs/OCS được ghi nhận trong vùng 400–4000 cm⁻¹ (Hình 3.5).

Phổ FTIR của OCS thể hiện nhiều dải hấp thụ đặc trưng cho các nhóm chức trong cấu trúc polysaccharide. Cụ thể, dải rộng tại 3482 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động hóa trị của nhóm hydroxyl (–OH) và dao động N–H của nhóm amin, phản ánh hệ

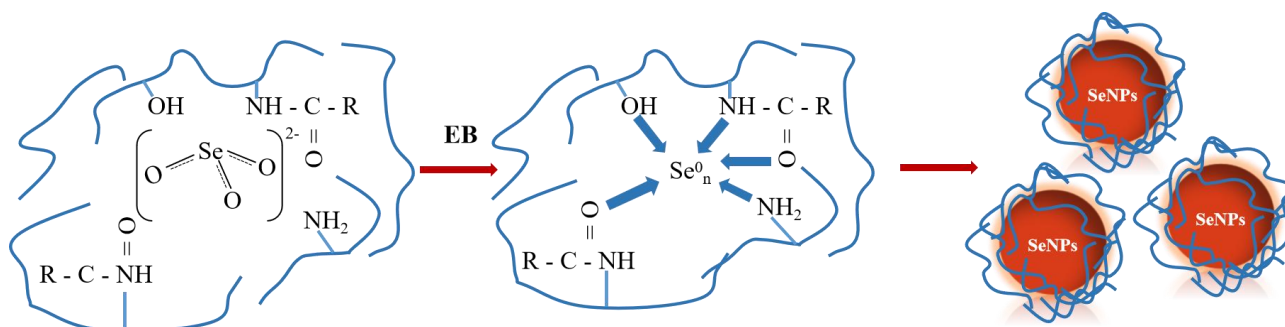
thông liên kết hydro mạnh trong cấu trúc OCS [157, 158]. Các đỉnh tại 2927 cm^{-1} và 2885 cm^{-1} tương ứng với dao động hóa trị bất đối xứng và đối xứng của nhóm $-\text{CH}_2$ [159]. Đỉnh tại 1645 cm^{-1} đặc trưng cho dao động kéo giãn của liên kết $\text{C}=\text{O}$ trong nhóm amido ($\text{CO}-\text{NH}$), trong khi đỉnh tại 1607 cm^{-1} liên quan đến dao động biến dạng của liên kết $\text{N}-\text{H}$ và dao động uốn của nhóm amin ($-\text{NH}_2$) [101, 157]. Đỉnh tại 1419 cm^{-1} thể hiện dao động cộng hưởng của liên kết $\text{C}-\text{N}$ và $\text{N}-\text{H}$, đặc trưng cho nhóm amine hoặc amide trên khung OCS [159]. Các dải hấp thụ tại 1117 cm^{-1} đặc trưng cho dao động kéo giãn của liên kết $\text{C}-\text{O}$ trong nhóm ($\text{R}-\text{OH}$) rượu bậc I và bậc II, đồng thời liên quan đến dao động của liên kết $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ trong vòng glucozit. Đỉnh tại 889 cm^{-1} biểu thị dao động đặc trưng của liên kết $\text{C}-\text{H}$ trong vòng Glucozit, xác nhận sự tồn tại của khung polysaccharide [158].

Phổ FTIR của hệ SeNPs/OCS cho thấy có sự thay đổi về cường độ và vị trí các đỉnh hấp thụ, chứng tỏ có sự tương tác giữa bề mặt hạt Se và các nhóm chức của OCS. Cụ thể, dải $-\text{OH}$ tại 3482 cm^{-1} dịch chuyển xuống 3407 cm^{-1} và giảm cường độ, chứng minh sự hình thành liên kết phối trí giữa nguyên tử Se và nguyên tử O trong nhóm hydroxyl ($\text{Se}-\text{O}$). Tương tự, các đỉnh $\text{C}=\text{O}$ và $\text{N}-\text{H}$ lần lượt dịch chuyển từ $1645 \rightarrow 1622\text{ cm}^{-1}$ và $1607 \rightarrow 1571\text{ cm}^{-1}$, phản ánh tương tác phối trí $\text{Se}-\text{N}$ và $\text{Se}-\text{O}$ giữa bề mặt hạt Se và các nhóm chức chứa nitơ và oxy của OCS [101, 157]. Bên cạnh đó, các đỉnh tại 1105 cm^{-1} và 1028 cm^{-1} cũng dịch chuyển nhẹ về vùng thấp hơn, chứng tỏ sự tham gia của các nhóm $-\text{OH}$ và $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ trong việc tạo liên kết với Se, góp phần ổn định hạt nano [160].

Trong hệ SeNPs/OCS, các nhóm chức của OCS như $-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_2$ hoặc $-\text{OH}$ đều chứa cặp electron tự do, có khả năng tương tác với bề mặt hạt Se. Se có cấu hình electron lớp ngoài cùng $4s^24p^4$, nên các nguyên tử Se thường tồn tại ở trạng thái orbital chưa bão hòa. Các cặp electron tự do từ nhóm chức của OCS có thể tương tác với những vị trí này trên bề mặt SeNPs, tạo nên tương tác phối trí hoặc hấp phụ bề mặt, giúp hình thành lớp polymer bao quanh hạt nano và góp phần ổn định hệ keo SeNPs trong dung dịch [101, 161].

Trong nghiên cứu sử dụng CTS làm tác nhân ổn định cho hệ SeNPs, sự thay đổi về vị trí và cường độ các dải hấp thụ đặc trưng đã được quan sát rõ rệt trên phổ FTIR

khi so sánh giữa CTS nguyên bản và vật liệu SeNPs/CTS. Cụ thể, các dải hấp thụ của CTS tại khoảng 3335 cm^{-1} và 1639 cm^{-1} có xu hướng dịch chuyển về phía số sóng thấp hơn, lần lượt xuống khoảng 3218 cm^{-1} và 1639 cm^{-1} sau khi hình thành hệ SeNPs/CTS. Đồng thời, cường độ các đỉnh hấp thụ tương ứng tăng lên khi có mặt SeNPs, cho thấy sự tương tác và hình thành liên kết giữa SeNPs với các nguyên tử oxy và nitơ thuộc nhóm chức $-\text{OH}$ và $-\text{NH}_2$ trong cấu trúc CTS [162]. Một số nghiên cứu trước đây đã báo cáo việc tổng hợp SeNPs thông qua con đường hóa học, trong đó axit ascorbic được lựa chọn làm tác nhân khử, còn CTS và dẫn xuất carboxymethyl-chitosan được sử dụng nhằm ổn định hệ keo. Kết quả phân tích phổ hồng ngoại cho thấy dải hấp thụ liên quan đến dao động kéo giãn của liên kết $\text{O}-\text{H}$ trong CTS, ban đầu xuất hiện ở vùng khoảng 3425 cm^{-1} , đã thay đổi vị trí và chuyển về giá trị thấp hơn, xấp xỉ 3414 cm^{-1} , khi SeNPs được tích hợp vào nền polymer. Sự thay đổi này phản ánh sự hình thành tương tác giữa các nhóm chức chứa oxy trên mạch CTS với bề mặt của các hạt SeNPs [163]



Hình 3.6. Mô tả cơ chế ổn định SeNPs khi sử dụng OCS

Dựa trên các kết quả thu được, có thể đề xuất một mô hình giải thích cơ chế ổn định của các hạt SeNPs trong môi trường OCS, được minh họa ở hình 3.6. Theo đó, các hạt SeNPs được bao bọc và duy trì trạng thái phân tán nhờ sự tương tác của các nhóm chức có mật độ điện tử cao, kết hợp với hiệu ứng phối trí không gian của mạch OCS.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của liều xạ đến hiệu suất khử và kích thước hạt tạo thành

3.2.1. Ảnh hưởng của liều xạ đến hiệu suất khử Se^{4+} thành SeNPs

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của liều xạ đến hiệu suất khử

Hàm lượng Se^{4+} ban đầu, ppm	Liều xạ, kGy	Hàm lượng Se^{4+} sau chiếu xạ, ppm	Hiệu suất khử, %
98,70	2,5	$85,60 \pm 2,94$	13,27
	5	$44,73 \pm 2,36$	54,68
	10	0	100
	15	0	100

Theo như cơ chế tạo SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ được đề nghị ở mục 1.3.4, các chất khử (e^-_{aq} và $\text{H}^\bullet$) được sinh ra trong quá trình xạ ly nước sẽ phản ứng với ion Se^{4+} để khử ion này thành dạng Se^0 và phát triển tiếp thành các hạt với kích thước nano. Nồng độ của các chất khử này phụ thuộc vào liều xạ, liều xạ càng cao thì lượng chất khử tạo ra càng nhiều. Sự ảnh hưởng của liều xạ đến hàm lượng Se^{4+} trước và sau khi chiếu xạ được thể hiện trong bảng 3.1. Kết quả cho thấy khi tăng liều xạ thì hàm lượng Se^{4+} sau chiếu xạ giảm. Khi được chiếu với liều xạ từ 10 kGy trở lên, Se^{4+} không hiện diện trong dung dịch sau khi chiếu xạ. Từ kết quả này có thể kết luận rằng liều chuyển hóa bão hòa của Se^{4+} 1,25 mM ($\sim 98,7$ ppm) là 10 kGy. Giá trị này cũng tương đối phù hợp với tính toán lý thuyết về hiệu suất khử Se^{4+} thành Se^0 bằng bức xạ, để khử hoàn toàn 1 mM Se^{4+} cần liều xạ 8 kGy [85].

Về mặt lý thuyết, liều xạ cần thiết để khử hoàn toàn (D_{bh}) 1 mol ion đơn hóa trị (như Ag^+) về trạng thái nguyên tử (Ag^0) được tính toán dựa trên năng suất bức xạ của các tác nhân khử (e^-_{aq} và $\text{H}^\bullet$) sinh ra từ quá trình xạ ly nước. Theo Remita và cộng sự, giá trị này tương đương 1,67 kGy cho 1 mM Ag^+ [92]. Đối với ion Se^{4+} , quá trình khử về Se nguyên tử (Se^0) cần cung cấp 4 electron cho mỗi ion. Như vậy, nồng độ Se^{4+} 1,25 mM trong nghiên cứu tương đương với nhu cầu cung cấp 5,0 mM đơn vị điện tử, dẫn đến liều bão hòa lý thuyết dự kiến là khoảng $5,0 \times 1,67 = 8,35$ kGy. Trong thực tế, liều bão hòa thường cao hơn giá trị lý thuyết do sự cạnh tranh gốc tự do của các thành phần trong hệ (chất ổn định, chất bắt gốc tự do). Nghiên cứu gần

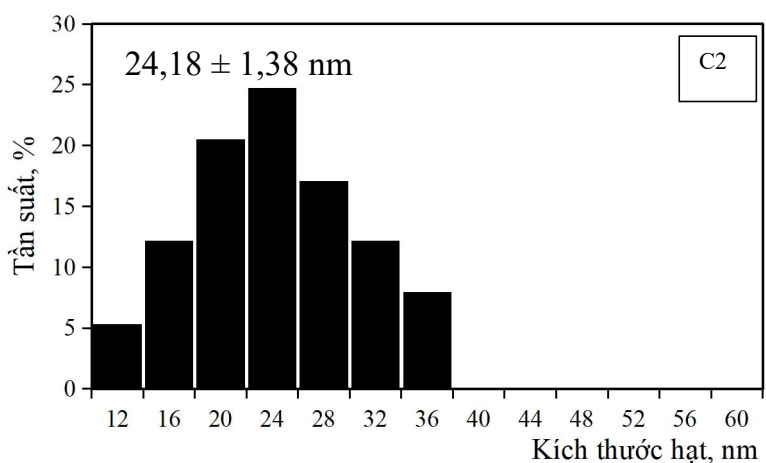
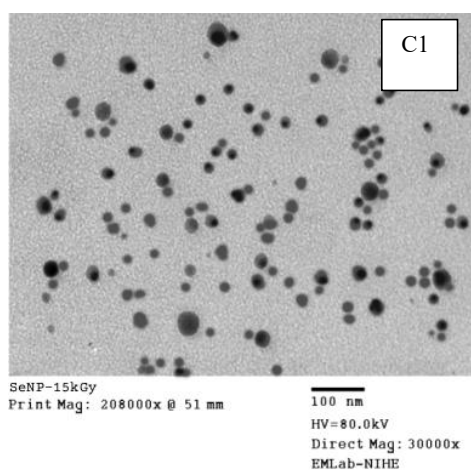
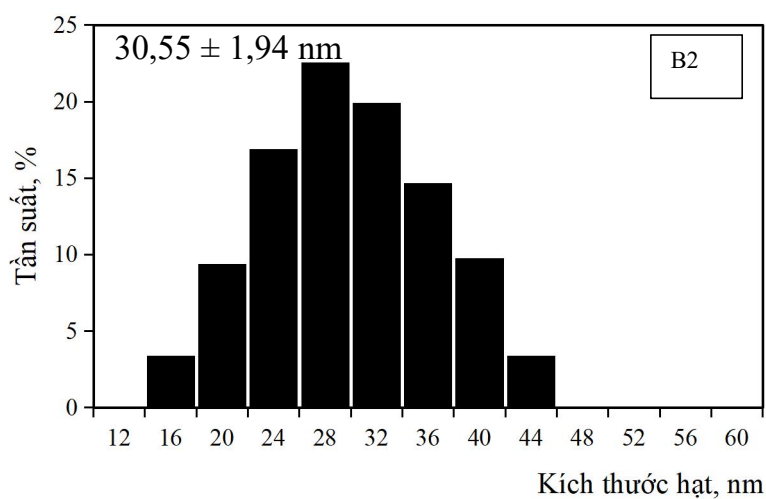
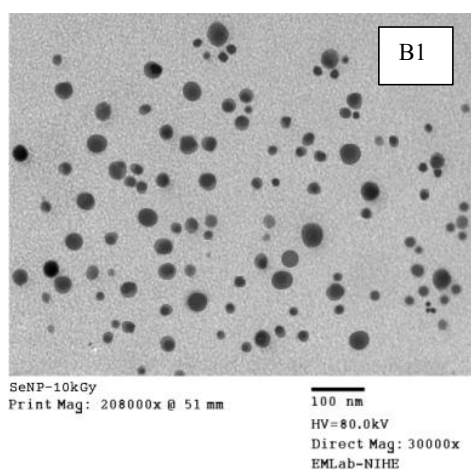
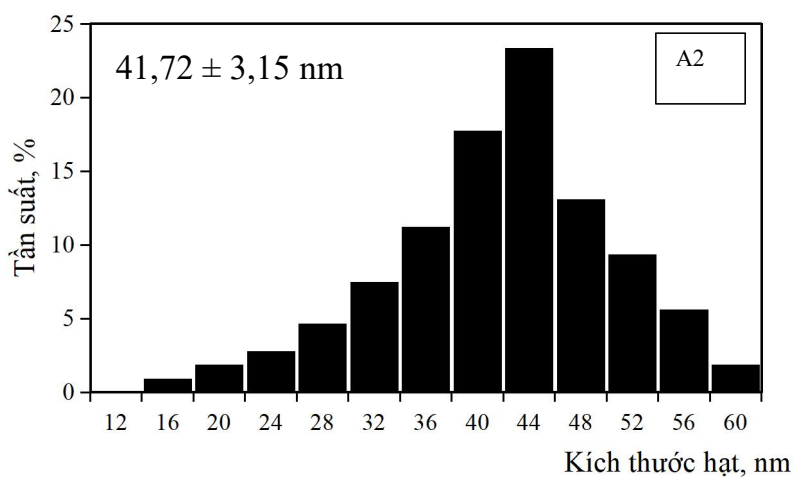
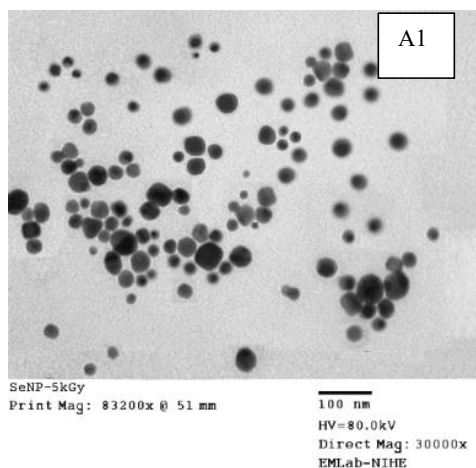
đây của N.T. Dung và cộng sự [20] đã xác lập quy luật tuyến tính giữa nồng độ Se^{4+} và liều bão hòa thực tế: nồng độ 1,0 mM cần 8 kGy và 1,5 mM cần 12 kGy. Theo quy luật này, với nồng độ 1,25 mM được lựa chọn trong luận án, mức liều 10 kGy chính là điểm bão hòa tối ưu và mang tính hệ thống.

3.2.2. Ảnh hưởng của liều xạ đến kích thước SeNPs

Ảnh TEM của hạt SeNPs thu được khi thay đổi liều xạ từ 5 kGy đến 15 kGy được thể hiện như trong Hình 3.7, cho thấy hạt SeNPs có dạng hình cầu. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của liều xạ đến kích thước và phân bố kích thước của các hạt SeNPs cho thấy sự phụ thuộc rõ rệt của đặc trưng hình thái hạt vào điều kiện chiếu xạ. Khi liều xạ tăng từ 5 lên 10 và 15 kGy, kích thước trung bình của SeNPs giảm lần lượt từ 41,72 nm xuống 30,55 nm và 24,18 nm, đồng thời độ lệch chuẩn giảm đáng kể từ 3,15 nm xuống 1,94 nm và 1,38 nm, phản ánh sự thu hẹp rõ rệt của phân bố kích thước hạt.

Sự thay đổi về kích thước hạt và phân bố kích thước hạt có thể đến từ sự khác biệt trong các quá trình tạo mầm và tăng trưởng của hạt. Ở liều xạ thấp (5 kGy), năng lượng cung cấp cho hệ dung dịch không đủ lớn nên quá trình phân ly bức xạ của dung môi diễn ra hạn chế, dẫn đến sự hình thành các tác nhân khử như electron hydrat hóa và các gốc tự do với nồng độ thấp. Do đó, quá trình khử ion Se^{4+} thành Se^0 diễn ra chậm, thậm chí lượng tác nhân khử sinh ra có thể không đủ để chuyển hóa hoàn toàn Se^{4+} thành Se^0 , khiến một phần ion Se vẫn tồn tại trong dung dịch.

Khi tăng liều chiếu xạ lên 10 kGy (liều bão hòa), mật độ e^-_{aq} và các gốc khử tăng lên đáng kể, thúc đẩy quá trình tạo mầm diễn ra mạnh hơn, làm giảm kích thước trung bình và thu hẹp phân bố kích thước hạt. Ở liều chiếu xạ cao hơn (15 kGy, vượt quá liều bão hòa), hiệu suất khử ion Se^{4+} thành Se^0 hầu như không tăng do quá trình khử đã đạt 100%. Trong trường hợp này, năng lượng bức xạ cao không còn đóng góp đáng kể vào quá trình khử mà trở nên dư thừa và kém hiệu quả về mặt năng lượng.



Hình 3.7. Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử với liều xạ khác nhau: 5 (A1, A2), 10 (B1, B2) và 15 kGy (C1, C2)

Đồng thời, liều xạ quá cao có thể gây ra sự phân cắt mạnh các mạch polymer được sử dụng làm chất ổn định, làm suy giảm khả năng bảo vệ bề mặt hạt nano và ảnh hưởng đến độ ổn định của hệ keo SeNPs. Tóm lại, để đảm bảo quá trình khử ion Se^{4+} diễn ra hoàn toàn đồng thời hạn chế tiêu tốn năng lượng không cần thiết và tránh ảnh hưởng bất lợi đến chất ổn định, liều xạ bão hòa được xem là điều kiện tối ưu cho quá trình tổng hợp hạt SeNPs.

Mặc dù nghiên cứu này cho thấy xu hướng kích thước SeNPs giảm khi tăng liều chiếu xạ, nhưng hiện chưa có công bố nào về SeNPs sử dụng phương pháp chiếu xạ mô tả rõ ràng mối quan hệ “liều xạ cao – hạt nhỏ, phân bố kích thước hẹp”. Tuy nhiên, xu hướng này đã được ghi nhận ở một số hệ kim loại khác, đặc biệt là bạc. Chẳng hạn, vài nghiên cứu về AgNPs tổng hợp bằng chiếu xạ [164, 165] cho thấy kích thước hạt giảm đáng kể khi tăng liều xạ, được giải thích bởi sự gia tăng mạnh mẽ mật độ mầm dẫn đến hạn chế quá trình tăng trưởng. Dẫn chứng này cho thấy rằng cơ chế tương tự hoàn toàn có thể xảy ra đối với SeNPs, và kết quả của nghiên cứu này cung cấp bằng chứng thực nghiệm đầu tiên cho xu hướng này trong hệ SeNPs.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ muối Se^{4+} đến đặc trưng của SeNPs

3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ muối Se^{4+} đến hiệu suất khử thành Se nguyên tố

Ảnh hưởng của nồng độ dung dịch muối Se^{4+} đến hiệu suất khử thành Se nguyên tố được nghiên cứu thông qua chiếu xạ chùm tia điện tử với liều xạ 10 kGy vào các mẫu chứa Se^{4+} với các nồng độ khác nhau lần lượt là 0,625; 1,25 và 2,5 mM (tương đương với 49,35; 98,7 và 197,4 ppm, tương ứng) trong sự có mặt của chất ổn định là OCS. Hiệu suất khử được thể hiện như trong Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ Se^{4+} ban đầu đến hiệu suất khử Se

Liều xạ, kGy	Hàm lượng Se^{4+} ban đầu, ppm	Hàm lượng Se^{4+} sau chiếu xạ, ppm	Hiệu suất khử, %
10	49,35	0	100
	98,70	0	100
	197,4	$98,96 \pm 2,94$	49,87

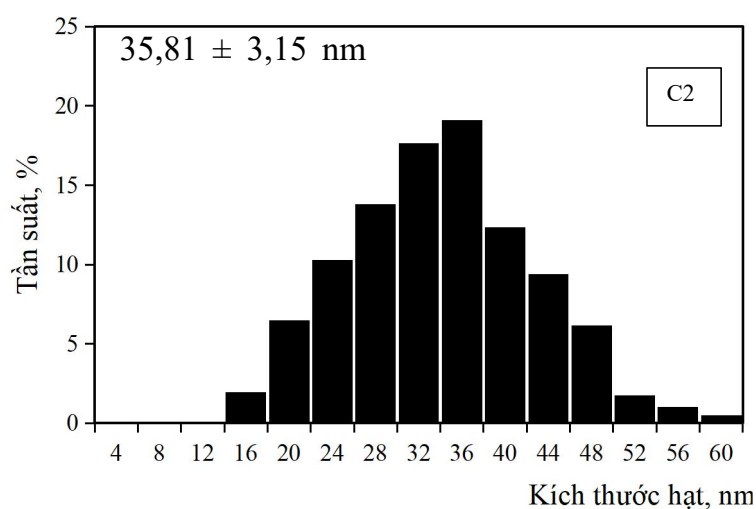
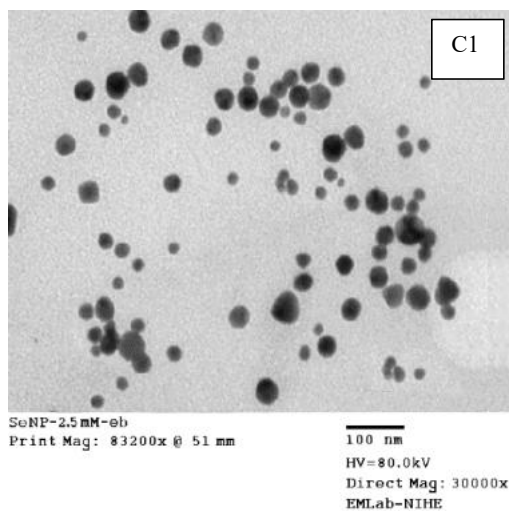
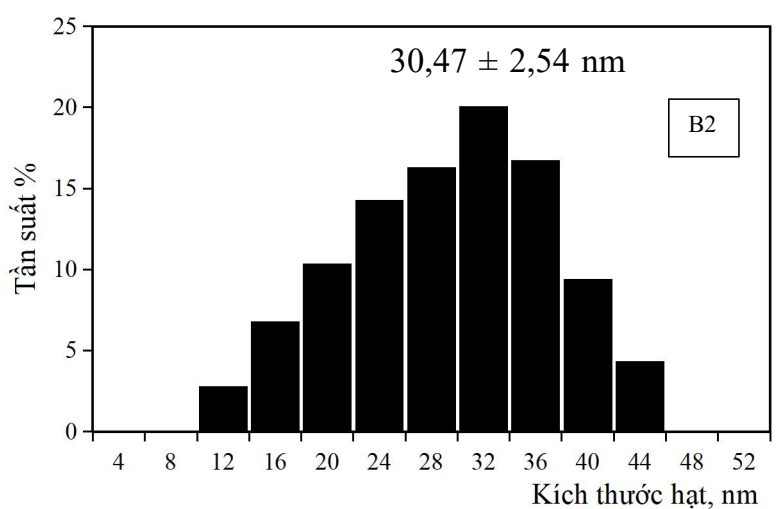
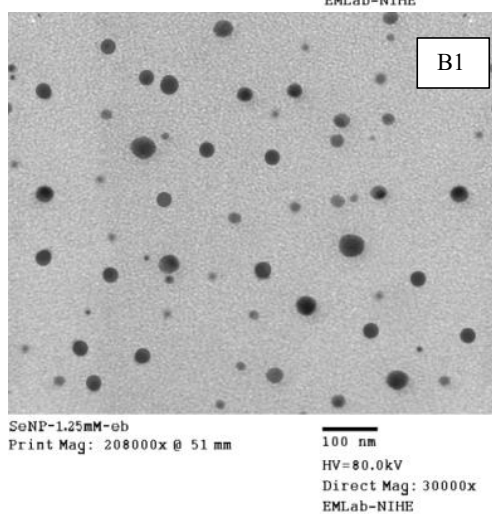
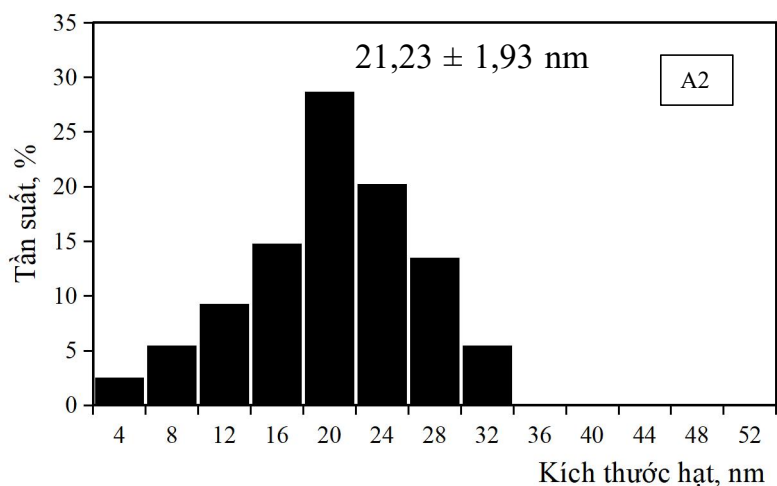
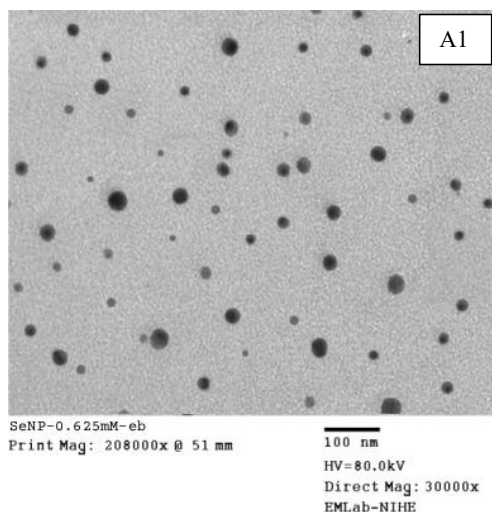
Kết quả bảng 3.2 cho thấy với cùng một liều xạ, nồng độ Se^{4+} ban đầu càng cao thì hiệu suất khử càng thấp. Cụ thể, khi tăng hàm lượng Se^{4+} từ 98,7 ppm đến 197,4 ppm thì hiệu suất khử giảm hơn 50%. Điều này có thể được giải thích là do khi lượng Se^{4+} càng nhiều thì năng lượng cần để khử hết Se^{4+} thành Se nguyên tố càng lớn. Do đó, khi tăng nồng độ tiền chất mà không thay đổi năng lượng cung cấp cho quá trình khử thì lượng tiền chất được khử sẽ giảm đi.

3.3.2. Ảnh hưởng của nồng độ Se^{4+} đến kích thước và phân bố hạt SeNPs

Bảng 3.3. Liều bão hòa (D_{bh}) và kích thước hạt trung bình (d_{tb}) của SeNPs ổn định trong OCS 1% ($M_w \sim 5.000$ g/mol) với nồng độ Se^{4+} khác nhau ở pH 7,5-8; chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử

STT	Se^{4+} (mM)	$\lambda_{\max}$	Liều bão hòa (D_{bh}), kGy	d_{tb} (nm)
1	0,625	263,6	5	$21,23 \pm 1,93$
2	1,25	264,7	10	$30,47 \pm 2,54$
3	2,5	265,8	20	$35,81 \pm 3,15$

Các kết quả TEM và phân bố kích thước hạt trong hình 3.8 cho thấy nồng độ tiền chất Se^{4+} là một yếu tố chi phối trực tiếp đến cơ chế tạo mầm, tăng trưởng và mức độ đồng đều kích thước của SeNPs trong việc tổng hợp SeNPs/OCS bằng chiếu xạ chùm tia điện tử. Khi nồng độ Se^{4+} tăng từ 0,625 lên 1,25 và 2,5 mM, kích thước trung bình của các SeNPs tăng tương ứng từ $21,23 \pm 1,93$ nm lên $30,47 \pm 2,54$ nm và $35,81 \pm 3,15$ nm, đồng thời phân bố kích thước hạt có xu hướng mở rộng rõ rệt, thể hiện qua sự gia tăng độ lệch chuẩn.



Hình 3.8. Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử với nồng độ Se^{4+} khác nhau: 0,625 (A1,A2); 1,25 (B1,B2) và 2,5 mM (C1,C2)

Trong điều kiện chiếu xạ tại liều bão hòa và khi nồng độ chất ổn định được giữ cố định, nồng độ ion Se^{4+} đóng vai trò quan trọng đối với kích thước và sự phân bố

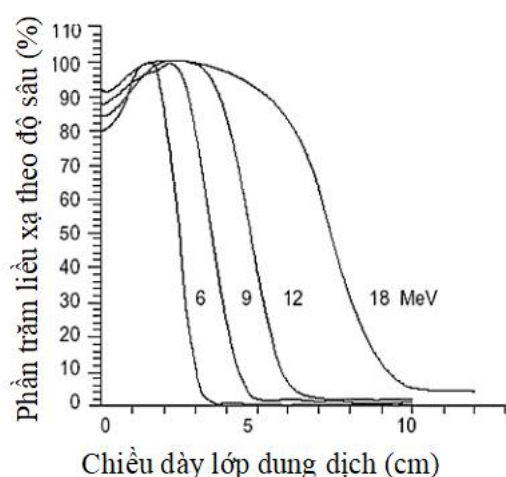
kích thước của các hạt SeNPs. Ở nồng độ Se^{4+} thấp (0,625 mM), số lượng hạt mầm hình thành trong hệ không nhiều, đồng thời khoảng cách trung bình giữa các hạt tương đối lớn. Điều này làm giảm khả năng va chạm giữa các hạt nano, qua đó hạn chế quá trình kết tụ hay kết dính thứ cấp, dẫn đến các hạt SeNPs thu được có kích thước nhỏ và phân bố kích thước tương đối đồng đều. Ngược lại, khi nồng độ Se^{4+} tăng trong khi lượng chất ổn định không thay đổi, lớp chất ổn định có thể không đủ để bao phủ hoàn toàn bề mặt các hạt mới sinh ra. Bên cạnh đó, mật độ hạt trong dung dịch tăng làm cho khoảng cách giữa các hạt giảm, khiến tần suất va chạm và khả năng kết tụ tăng lên. Hệ quả là kích thước trung bình của các hạt nano tăng và phân bố kích thước trở nên rộng hơn, làm giảm tính đồng nhất của hệ SeNPs thu được.

Từ các kết quả trên có thể thấy rằng khi nồng độ Se^{4+} tăng thì kích thước hạt SeNPs cũng tăng và phân bố kích thước trở nên rộng hơn. Ở nồng độ 0,625 mM, kích thước hạt nhỏ nhưng lượng hạt tạo thành còn hạn chế, trong khi ở 2,5 mM kích thước hạt to hơn và phân bố kích thước trở nên rộng hơn. Do đó, nồng độ $\text{Se}^{4+} = 1,25 \text{ mM}$ được lựa chọn là điều kiện phù hợp, vì cho kích thước hạt ở mức trung bình, phân bố tương đối đồng đều và đảm bảo sự ổn định của hệ SeNPs/OCS

Tang và cộng sự (2019) cũng chỉ ra xu hướng tương tự khi nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ Se^{4+} đến kích thước hạt của SeNPs. Kích thước hạt tăng từ 94,24 lên 151,90 và 173,20 nm khi nồng độ Se^{4+} tăng tương ứng từ 1,5 lên 3 và 6 mM [166].

3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến hiệu suất khử và kích thước hạt tạo thành

Một trong những đặc trưng được xem là hạn chế của nguồn chiếu xạ bằng máy gia tốc điện tử so với nguồn chiếu xạ gamma đó là độ xuyên sâu thấp. Hình 3.9 mô tả hình dạng chung của đường cong liều xạ - độ xuyên sâu của các chùm tia điện tử với năng lượng khác nhau bao gồm 6, 9, 12, 18 MeV [85, 167].



Hình 3.9. Các đường cong Percentage depth dose (PPD) trục trung tâm điển hình trong nước cho diện tích kích thước trường $10 \times 10 \text{ cm}^2$ và SSD (source to surface distance) là 100 cm đối với chùm electron có năng lượng 6, 9, 12 và 18 MeV [167]

Thông thường, các đường cong liều xạ - độ xuyên sâu trục trung tâm của chùm tia điện tử thể hiện liều lượng bề mặt cao và sau đó liều xạ tăng lên đến mức tối đa ở một độ sâu nhất định được gọi là độ sâu liều tối đa của chùm tia điện tử z_{max} . Qua khỏi z_{max} , liều xạ giảm nhanh chóng, sau đó giảm dần chỉ còn một thành phần liều nhỏ ở mức độ thấp được gọi là hiệu ứng hãm đuôi bremsstrahlung. Có thể thấy, đối với chùm tia điện tử có năng lượng là 9 MeV, liều xạ đạt 100% ở độ sâu khoảng 2.5 – 3 cm. Do đó, để có thể tối ưu hóa quá trình khử chiếu xạ, chiều dày lớp dung dịch đưa vào chiếu xạ cần phải được xác định.

3.4.1. Ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến hiệu suất khử Se^{4+}

Để khảo sát ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến hiệu suất khử Se^{4+} nồng độ 1,25 mM (tương đương 98,7 ppm) với chất ổn định là OCS được cho vào hộp nhựa có nắp đậy sao cho bề dày của dung dịch lần lượt là 2; 2,5; 3 và 3,5 cm. Các dung dịch được chiếu xạ ở liều xạ 10 kGy. Hàm lượng Se^{4+} sau chiếu xạ được xác định thông qua phương pháp so màu sử dụng thuốc thử Azure B và hiệu suất khử tương ứng được thể hiện như trong bảng 3.4.

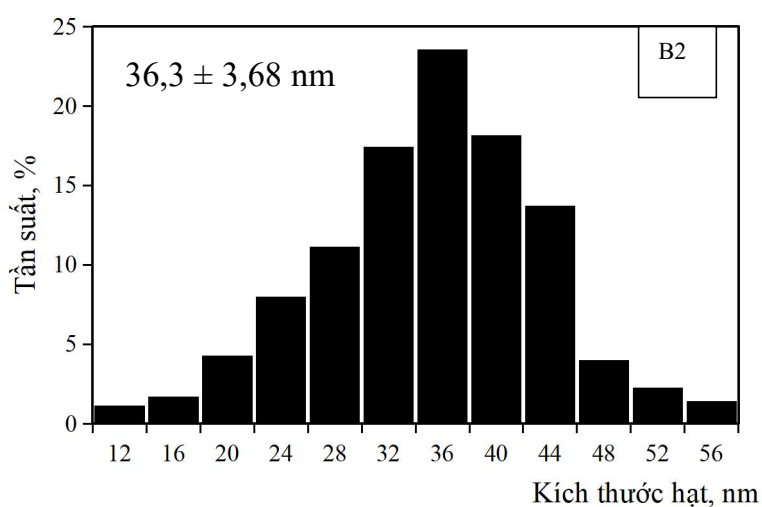
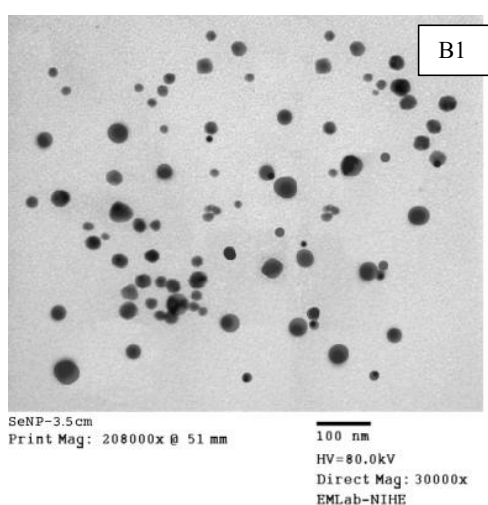
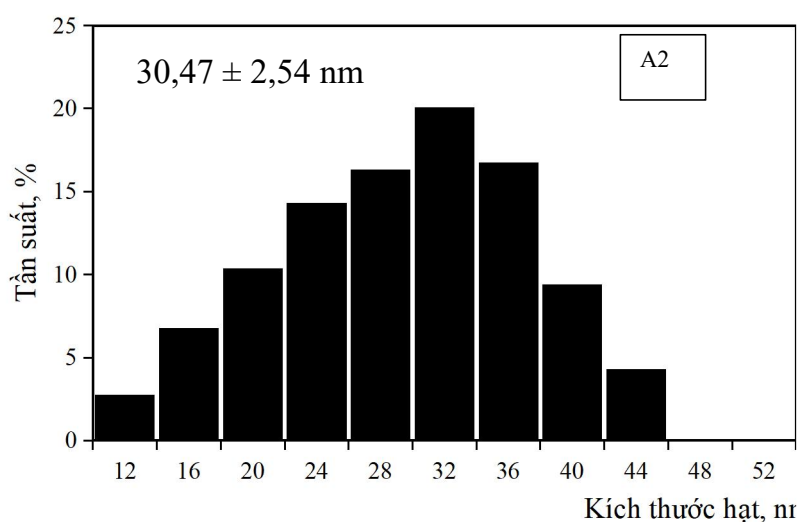
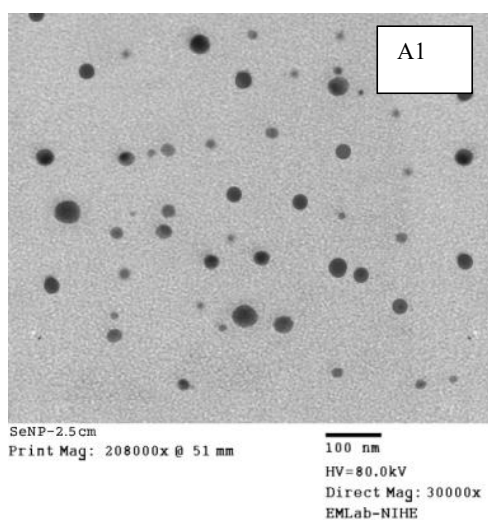
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến hiệu suất khử Se^{4+}

Năng lượng chùm tia, MeV	Hàm lượng Se^{4+} ban đầu, ppm	Chiều dày lớp dung dịch (cm)	Hàm lượng Se^{4+} sau chiếu xạ, ppm	Hiệu suất khử, %
10	98,70	2	0	100
		2,5	0	100
		3	$4,18 \pm 1,12$	95,76
		3,5	$9,32 \pm 1,40$	90,56

Có thể thấy, hiệu suất khử giảm dần khi chiều dày lớp dung dịch tăng lên. Cụ thể, hiệu suất khử giảm từ 100 % xuống 90,56 % khi chiều dày lớp dung dịch tăng từ 2,5 đến 3,5 cm. Kết quả cho thấy trong trường hợp này, 2,5 cm chính là độ sâu liệu tối đa của tia điện tử có năng lượng 10 MeV. Quan sát này tương đối phù hợp với kết quả mà Strydom và cộng sự đã công bố [167]. Do đó, chiều dày lớp dung dịch được chọn cho các nghiên cứu của đề tài là 2,5 cm.

3.4.2. Ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến kích thước hạt tạo thành

Kết quả trình bày trong Bảng 3.4 và Hình 3.10 cho thấy ảnh hưởng của chiều dày lớp dung dịch đến hiệu suất khử Se^{4+} cũng như kích thước và phân bố kích thước của các hạt SeNPs được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia electron. Khi chiều dày lớp dung dịch tăng từ 2,5 cm lên 3,5 cm (ở cùng năng lượng chùm tia 10 MeV và nồng độ Se^{4+} ban đầu 98,70 ppm), hiệu suất khử Se^{4+} giảm rõ rệt từ 100% xuống 90,56%, đồng thời kích thước trung bình của SeNPs tăng từ $30,47 \pm 2,54$ nm lên $36,3 \pm 3,68$ nm và phân bố kích thước hạt trở nên rộng hơn.



Hình 3.10. Ảnh TEM và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/OCS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử với chiều dày lớp dung dịch khác nhau: 2,5 (A1,A2) và 3,5 cm (B1,B2).

Sự thay đổi này phản ánh rõ ảnh hưởng của hiện tượng suy giảm năng lượng và mật độ liều hấp thụ của chùm electron khi xuyên sâu vào lớp dung dịch. Ở chiều dày lớp dung dịch nhỏ (2,5 cm), chùm tia electron vẫn duy trì được mật độ năng lượng cao và phân bố tương đối đồng đều trong toàn bộ thể tích dung dịch, tạo điều kiện cho quá trình phân ly nước sinh ra các tác nhân khử mạnh như electron hydrat hóa và gốc $\text{H}^\bullet$ với mật độ lớn. Nhờ đó, quá trình khử Se^{4+} sang Se^0 diễn ra nhanh và gần như hoàn toàn, dẫn đến sự hình thành nhiều hạt mầm trong thời gian ngắn, làm hạn chế giai đoạn tăng trưởng hạt và tạo ra các SeNPs có kích thước nhỏ hơn và phân bố kích thước hẹp. Ngược lại, khi chiều dày lớp dung dịch tăng lên 3,5 cm, chùm electron bị

suy giảm năng lượng đáng kể do các quá trình tán xạ và hấp thụ trong môi trường dung dịch, làm giảm mật độ liều thực tế tại các vùng sâu hơn. Hệ quả là số lượng các tác nhân khử sinh ra không còn đồng đều trong toàn bộ thể tích, dẫn đến quá trình khử Se^{4+} diễn ra chậm hơn và không đồng thời. Trong điều kiện này, số lượng tâm tạo mầm ban đầu giảm, trong khi các hạt đã hình thành có điều kiện tiếp tục tăng trưởng nhờ nguồn Se^0 còn dư, làm tăng kích thước trung bình và mở rộng phân bố kích thước hạt. Ngoài ra, sự không đồng nhất về mật độ hạt trong dung dịch dày hơn cũng làm tăng xác suất va chạm và kết tụ thứ cấp giữa các SeNPs, góp phần làm giảm độ đồng đều kích thước quan sát được trên ảnh TEM. Những kết quả này chứng tỏ rằng chiều dày lớp dung dịch ảnh hưởng mạnh đến động học tạo hạt thông qua việc điều chỉnh mật độ năng lượng bức xạ và sự phân bố không gian của các tác nhân khử, từ đó chi phối sự cân bằng giữa quá trình tạo mầm và tăng trưởng hạt. Do đó, việc lựa chọn chiều dày lớp dung dịch phù hợp là điều kiện then chốt để tối ưu hóa quá trình chế tạo SeNPs bằng chiếu xạ chùm tia electron nhằm thu được các hạt nano có kích thước nhỏ và phân bố kích thước hẹp.

Như vậy, tại điều kiện thực nghiệm, có thể kết luận rằng chiều dày lớp dung dịch 2,5 cm là giá trị phù hợp cho quá trình chế tạo SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia electron, vì tại chiều dày này chùm electron vẫn duy trì mật độ năng lượng cao và phân bố tương đối đồng đều trong toàn bộ thể tích dung dịch, đảm bảo hiệu suất khử Se^{4+} đạt 100% đồng thời tạo ra các hạt SeNPs có kích thước nhỏ hơn và phân bố kích thước hẹp, phù hợp cho các ứng dụng yêu cầu độ đồng nhất cao.

3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại tiền chất Se đến đặc trưng của SeNPs

3.5.1. Ảnh hưởng của loại tiền chất Se đến hiệu suất khử

Các tiền chất Se khác nhau bao gồm selen dioxide (SeO_2) và natri selenit (Na_2SeO_3) được sử dụng cho quá trình tổng hợp hạt SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử để khảo sát ảnh hưởng của loại tiền chất Se đến hiệu suất quá trình khử Se^{4+} thành Se nguyên tố. Khảo sát được thực hiện với hàm lượng Se^{4+} ban đầu là 1,25 mM (tương đương 98,7 ppm) và tiến hành chiếu xạ ở 10 kGy. Kết quả hàm lượng Se^{4+} sau chiếu xạ và hiệu suất khử tương ứng được thể hiện như trong

Bảng 3.5. Kết quả cho thấy khả năng khử (thể hiện thông qua hiệu suất phản ứng khử) không bị ảnh hưởng bởi loại tiền chất tạo Se^{4+} . Hiệu suất khử ở cùng liều xạ (cùng tạo ra một lượng chất khử như nhau) khi sử dụng các tiền chất tạo ion Se^{4+} khác nhau không có sự khác biệt đáng kể. Ở liều xạ bão hòa 10 kGy, hiệu suất khử đều đạt 100% với cả hai loại tiền chất. Điều này có thể là do tính tan tốt của cả hai loại tiền chất, SeO_2 và $\text{Na}_2\text{Se}_2\text{O}_3$ khi hòa tan vào nước đều tạo lượng tương đương ion Se^{4+} .

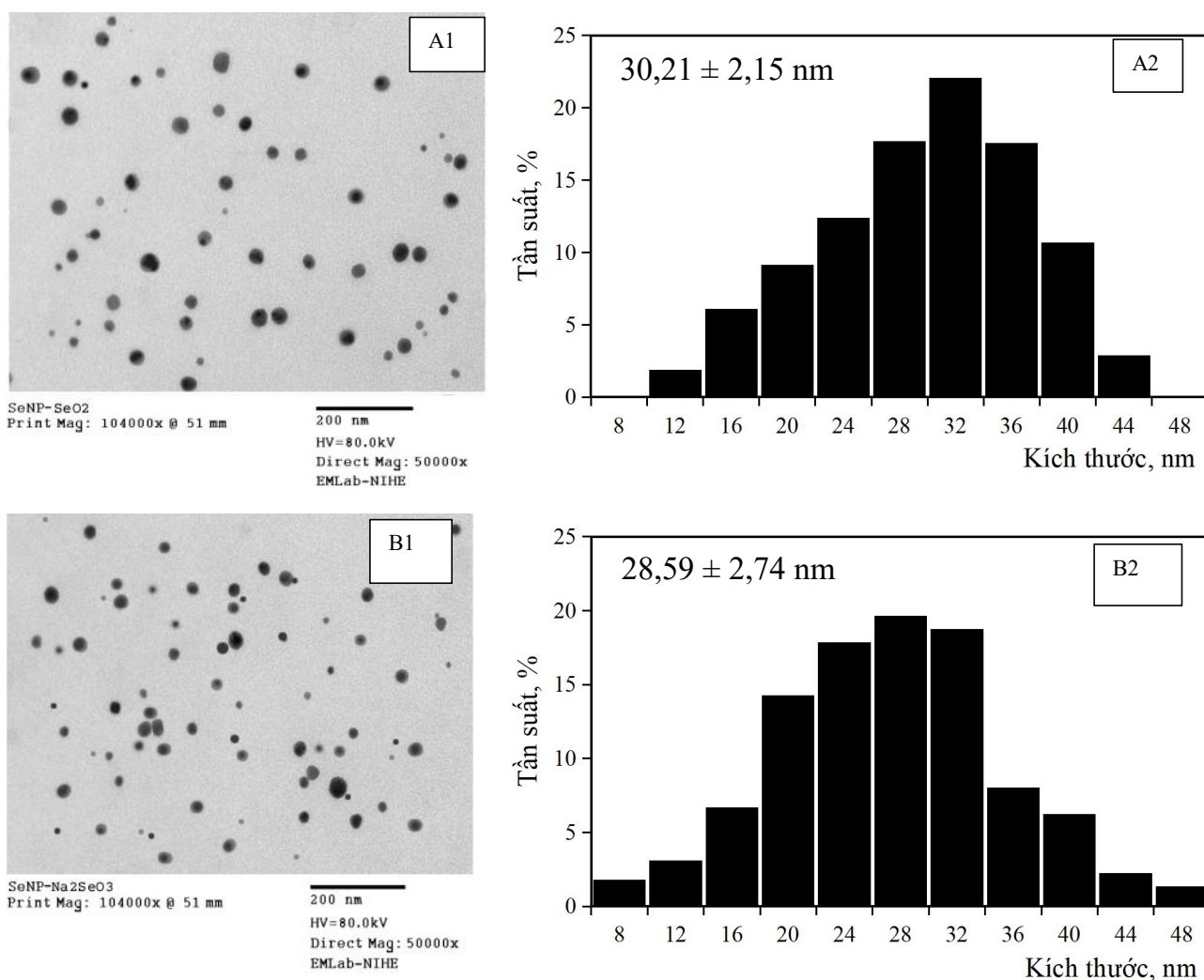
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của loại tiền chất đến hiệu suất khử

Hàm lượng Se^{4+} ban đầu, ppm	Loại ion tạo muối	Liều xạ, kGy	Hàm lượng Se^{4+} sau chiếu xạ, ppm	Hiệu suất khử, %
98,7	SeO_2	10	0	100
	Na_2SeO_3	10	0	100

3.5.2. Ảnh hưởng của loại tiền chất Se đến kích thước hạt tạo thành

Các muối tiền chất khác nhau có thể được sử dụng để thu được cùng một loại hạt nano. Tuy nhiên, các thuộc tính của hạt nano được tạo ra có thể bị ảnh hưởng bởi tiền chất đã chọn.

Ảnh TEM hình 3.11 (A1 và B1) cho thấy các hạt SeNPs trong cả hai hệ tiền chất đều có dạng hình cầu, phân tán tương đối tốt và không xuất hiện cấu trúc que, chuỗi hay kết tụ lớn. Điều này cho thấy trong điều kiện chiếu xạ chùm tia điện tử với sự có mặt của OCS 1%, quá trình tạo mầm và tăng trưởng tinh thể được kiểm soát chủ yếu bởi môi trường khử bức xạ và polymer ổn định, không phụ thuộc mạnh vào bản chất tiền chất (SeO_2 hay Na_2SeO_3). Mẫu sử dụng SeO_2 (A2) có kích thước trung bình $30,21 \pm 2,15$ nm, trong khi mẫu sử dụng Na_2SeO_3 (B2) đạt $28,59 \pm 2,74$ nm. Mặc dù độ chênh lệch chỉ khoảng 1,6 nm, phân bố kích thước của hệ Na_2SeO_3 có xu hướng lệch về vùng kích thước nhỏ hơn và số hạt trên 36 nm thấp hơn so với hệ SeO_2 , cho thấy mật độ tạo mầm ban đầu có thể cao hơn trong môi trường này.



Hình 3.11. Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch 1,25 mM/OCS 1% khi sử dụng các tiền chất Se khác nhau: SeO₂ (A1, A2) và Na₂SeO₃ (B1, B2)

Về bản chất hóa học, trong môi trường nước, SeO₂ và Na₂SeO₃ đều tồn tại ở trạng thái oxy hóa Se⁴⁺ và nhanh chóng thiết lập cân bằng thủy phân tạo thành các dạng anion như HSeO₃⁻ và SeO₃²⁻ tùy thuộc vào pH dung dịch. Mặc dù khác nhau về dạng tiền chất, cả SeO₂ hay Na₂SeO₃ trong môi trường nước đều nhanh chóng thiết lập cân bằng về cùng trạng thái Se⁴⁺, tồn tại chủ yếu dưới các dạng HSeO₃⁻/SeO₃²⁻. Dưới tác dụng của các tác nhân khử sinh ra từ quá trình chiếu xạ (e⁻_{aq} và •H), các tiểu phân này bị khử theo cùng một con đường phản ứng để tạo Se⁰. Do đó, cơ chế khử và bản chất các trung gian phản ứng trong hai hệ là tương đồng, điều này lý giải sự tương tự về hình thái hạt quan sát trên ảnh TEM.

Sự khác biệt nhẹ về kích thước trung bình không bắt nguồn từ bản chất hóa học của tiền chất, mà chủ yếu liên quan đến điều kiện vi hóa học ban đầu, đặc biệt là pH

dung dịch. Ở hệ SeO_2 ($\text{pH} \sim 6,5$), sự tích lũy H^+ trong quá trình khử có thể làm giảm tốc độ tạo mầm, dẫn đến tăng trưởng ưu thế trên số ít nhân tinh thể và kích thước hạt lớn hơn. Ngược lại, trong môi trường kiềm nhẹ của Na_2SeO_3 ($\text{pH} \sim 8$), OH^- trung hòa H^+ sinh ra, duy trì động học khử cao hơn và thúc đẩy hình thành nhiều mầm đồng thời, từ đó làm giảm kích thước trung bình. Đồng thời, ở $\text{pH} < 7$, sự proton hóa nhóm $-\text{NH}_2$ của OCS thành $-\text{NH}_3^+$ làm suy giảm khả năng phối trí và ổn định bề mặt Se^0 , góp phần ảnh hưởng đến quá trình tăng trưởng hạt.

Mặc dù cả hai tiền chất đều cung cấp Se^{4+} trong dung dịch và cho cơ chế khử tương tự, SeO_2 được lựa chọn vì SeO_2 hòa tan tạo Na_2SeO_3 mà không đưa thêm cation ngoại lai (Na^+) vào môi trường, qua đó hạn chế ảnh hưởng của lực ion đến thế zeta và độ ổn định keo của SeNPs. Đồng thời, môi trường acid nhẹ của SeO_2 thuận lợi cho việc kiểm soát động học khử dưới chiếu xạ, giúp hệ phản ứng đơn giản và dễ phân tích cơ chế hơn. Vì vậy, SeO_2 được ưu tiên lựa chọn để đảm bảo tính tái lập và phù hợp với định hướng nghiên cứu.

3.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ổn định đến đặc trưng của SeNPs.

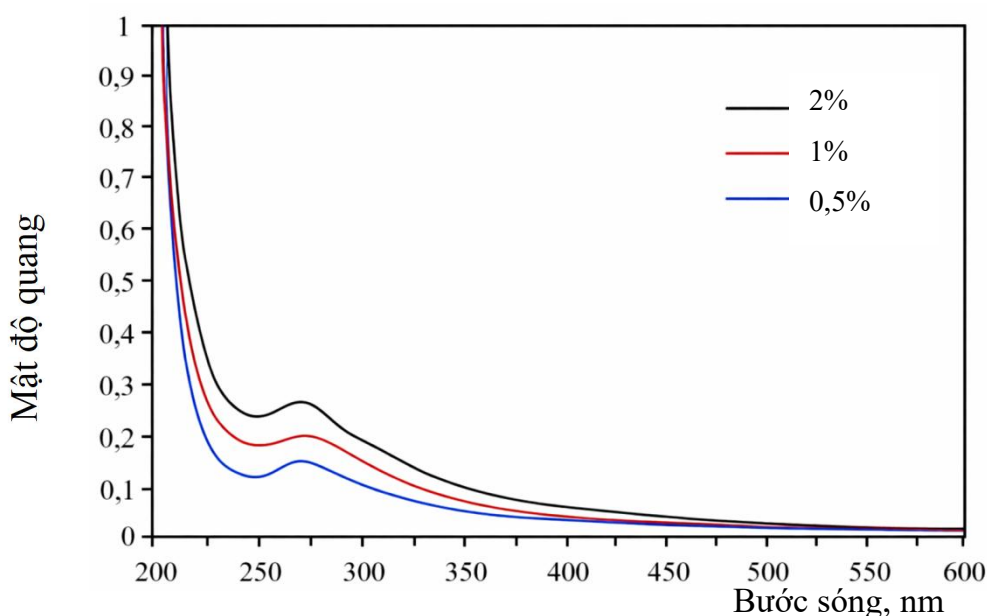
3.6.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định OCS đến kích thước SeNPs

Lựa chọn nồng độ chất ổn định thích hợp là rất quan trọng trong quá trình chế tạo dung dịch SeNPs. Gia tăng nồng độ chất ổn định sẽ tăng khả năng bảo vệ hạt SeNPs tránh khỏi quá trình va chạm dẫn đến sự tăng kích thước hạt. Do đó, SeNPs thu được sẽ có kích thước hạt nhỏ và độ ổn định tốt cũng như có độ phân tán hẹp [162, 163].

Kết quả UV-Vis bảng 3.6, hình 3.12 cho thấy dung dịch SeNPs/OCS xuất hiện dải hấp thụ đặc trưng trong vùng 260–270 nm, phù hợp với hấp thụ đặc trưng của SeNPs kích thước nhỏ trong môi trường nước như đã trình bày ở phần 3.1.1. Giá trị λ_{max} có xu hướng dịch nhẹ về phía bước sóng ngắn khi tăng nồng độ OCS từ 0,5% lên 2,0% (265,9 $\rightarrow$ 261,3 nm)

Bảng 3.6. $\lambda_{\max}$, OD và d_{tb} của dung dịch SeNPs 1,25 mM với nồng độ khác nhau của OCS có KLPT 5.000 g/mol, ở pH 7,5-8; chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử.

STT	OCS%	$\lambda_{\max}$	Liều bão hòa (D_{bh}), kGy	d_{tb} (nm) xác định bằng TEM
1	0,5	265,9	10	$42,58 \pm 3,61$
2	1,0	264,5	10	$30,53 \pm 2,09$
3	2,0	261,3	10	$29,1 \pm 1,92$



Hình 3.12. Phổ UV-Vis của SeNPs/OCS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử ở các nồng độ OCS khác nhau: 0,5; 1,0 và 2%

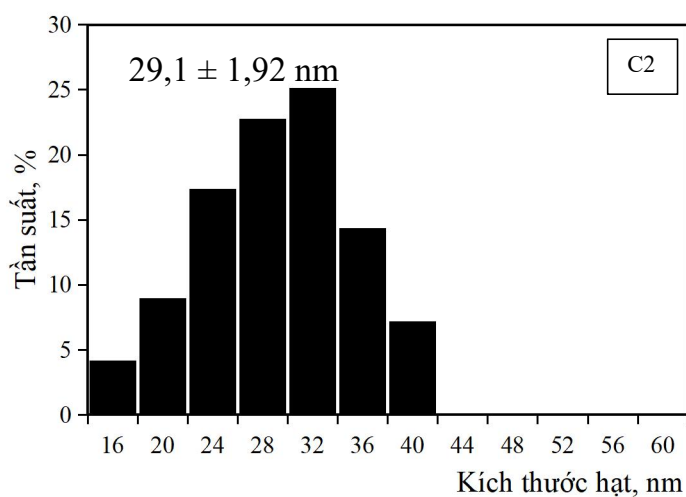
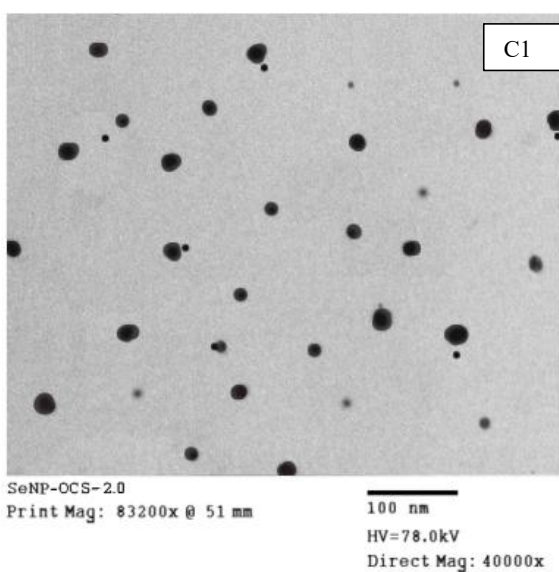
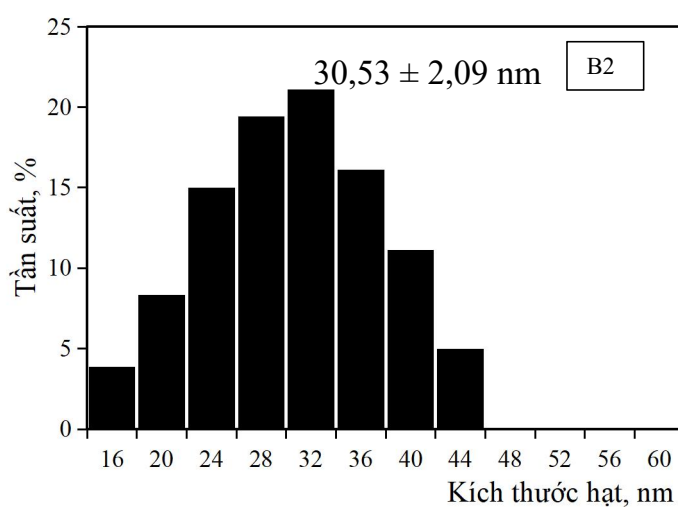
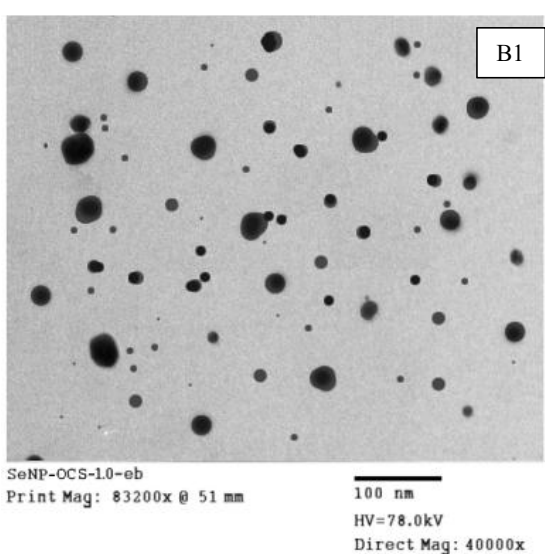
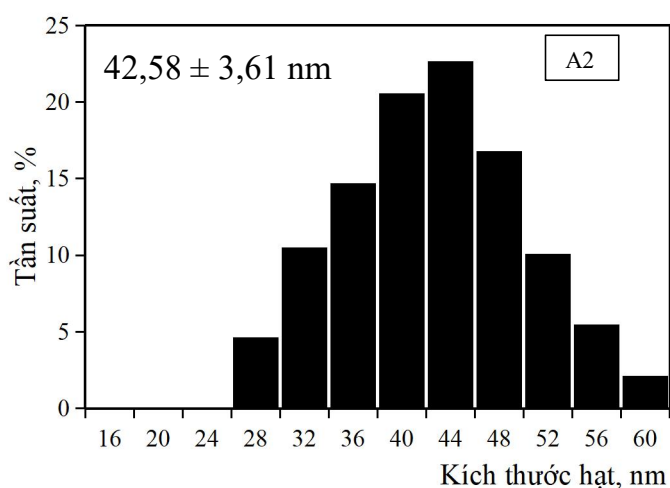
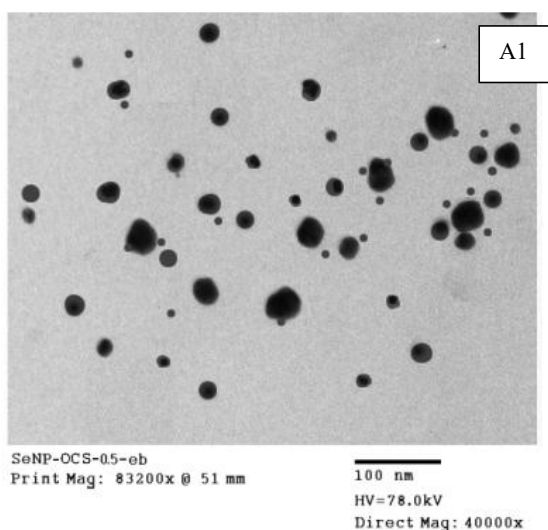
Quan sát hình 3.13, ở nồng độ OCS 0,5% (A1, A2), các hạt thu được có kích thước trung bình $42,58 \pm 3,61$ nm, phân bố tương đối rộng và xuất hiện một số hạt kích thước lớn trên 50 nm. Điều này cho thấy tại hàm lượng polymer thấp, mật độ các vị trí hấp phụ và che chắn bề mặt còn hạn chế, dẫn đến quá trình tăng trưởng thứ cấp và kết tụ cục bộ xảy ra dễ dàng hơn. Khi tăng nồng độ OCS lên 1,0% (B1, B2), kích thước trung bình giảm đáng kể xuống $30,53 \pm 2,09$ nm, đồng thời phân bố kích thước hẹp hơn, cho thấy mật độ tạo mầm cao hơn và quá trình ổn định không gian hiệu quả

hơn. Ở nồng độ OCS 2% (C1, C2), kích thước tiếp tục giảm nhẹ xuống $29,1 \pm 1,92$ nm, tuy nhiên mức độ giảm không còn lớn như giai đoạn 0,5% $\rightarrow$ 1,0%, cho thấy hệ đã tiến gần tới trạng thái bão hòa ổn định bề mặt; khi mật độ mầm đạt đủ cao, việc tăng thêm polymer chủ yếu cải thiện tính đồng nhất hơn là tiếp tục thu nhỏ kích thước.

Về cơ chế, trong hệ chiếu xạ, các tác nhân khử e^-_{aq} và $\cdot H$ tạo ra Se^0 nguyên tử, sau đó xảy ra quá trình kết tụ tạo mầm. OCS đóng vai trò vừa là chất hấp phụ bề mặt thông qua nhóm $-NH_2$ và $-OH$, vừa tạo hàng rào không gian hạn chế va chạm giữa các hạt. Ở nồng độ thấp, OCS không đủ bao phủ bề mặt Se^0 nên hạt tiếp tục tăng trưởng. Khi tăng nồng độ OCS, sự hấp phụ sớm lên mầm làm giảm năng lượng bề mặt, cố định kích thước nhỏ và thu hẹp phân bố. Sự thay đổi từ 42,58 nm xuống khoảng 29 nm tương ứng mức giảm gần 32%, cho thấy vai trò chi phối mạnh của nồng độ chất ổn định so với các yếu tố khác trong cùng điều kiện tiền chất và liều chiếu xạ.

Xu hướng này phù hợp với nhiều nghiên cứu tổng hợp SeNPs trong môi trường polymer hoặc polysaccharide, trong đó việc tăng hàm lượng chất ổn định như CTS, β -glucan hoặc GA đều dẫn đến giảm kích thước hạt và tăng độ đồng đều do tăng hiệu ứng che chắn không gian và lực đẩy tĩnh điện [160, 168]. Các nghiên cứu đó cũng ghi nhận rằng sau một ngưỡng nồng độ polymer nhất định, kích thước hạt không giảm đáng kể nữa mà hệ chuyển sang trạng thái ổn định động học, tương tự xu hướng quan sát trong hình 3.13 giữa 1% và 2% OCS.

Như vậy, kết quả này khẳng định nồng độ OCS là tham số điều khiển quan trọng trong chế tạo SeNPs bằng phương pháp chiếu xạ điện tử. Giá trị khoảng 1–2% cho thấy sự cân bằng tối ưu giữa mật độ tạo mầm và khả năng ổn định bề mặt, tạo ra các hạt SeNPs kích thước nhỏ (~ 29 – 31 nm) với phân bố hẹp, phù hợp cho các ứng dụng sinh học yêu cầu độ đồng nhất cao và độ bền keo tốt.



Hình 3.13. Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs 1,25 mM /OCS chế tạo bằng phương pháp chùm tia điện tử theo nồng độ OCS 0,5 (A1,A2); 1,0 (B1,B2) và 2% (C1,C2)

Xu hướng tăng nồng độ chất ổn định, nồng độ Se^{4+} không thay đổi, kích thước hạt SeNPs giảm cũng được ghi nhận trong công trình của một tác giả khi nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ CTS trong khoảng từ 0,01 đến 0,1% đến kích thước hạt SeNPs. Kết quả nhận thấy khi tăng nồng độ CTS từ 0,01 lên 0,1%, kích thước hạt giảm từ 60 nm xuống 10 nm [169]

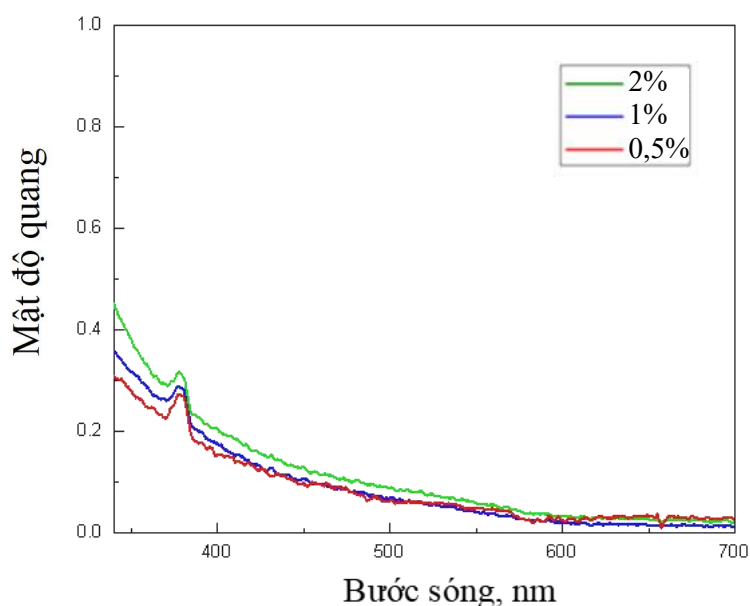
3.6.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định GA đến đặc trưng của SeNPs

Ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định GA đến kích thước hạt và độ ổn định kích thước hạt SeNPs được khảo sát với nồng độ Se^{4+} 1,25 mM, liều chiếu xạ 10 kGy và nồng độ GA thay đổi từ 0,5; 1,0 và 2,0%.

Bảng 3.7. $\lambda_{\max}$, OD và d_{tb} của dung dịch SeNPs 1,25 mM với nồng độ khác nhau của GA có KLPT 250.000 g/mol, ở pH 7; chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử.

STT	GA %	$\lambda_{\max}$	Liều bão hòa (D_{bh}), kGy	d_{tb} (nm) xác định bằng TEM
1	0,5	378,5	10	$37,43 \pm 2,53$
2	1,0	378,3	10	$27,13 \pm 1,51$
3	2,0	377,9	10	$26,55 \pm 1,30$

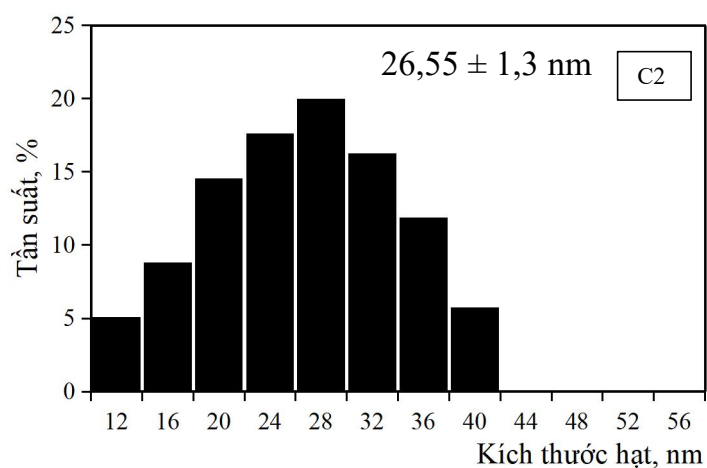
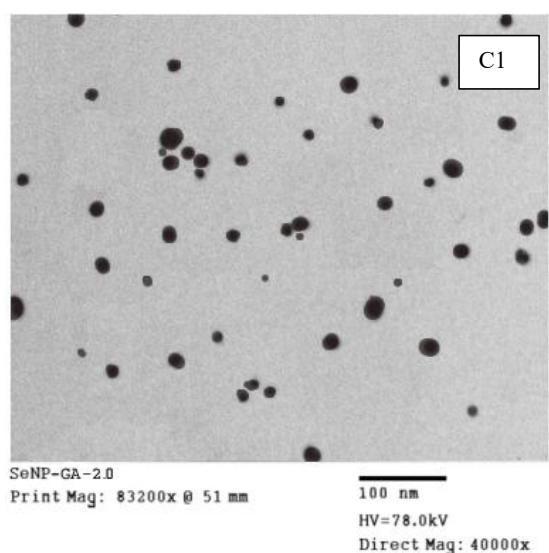
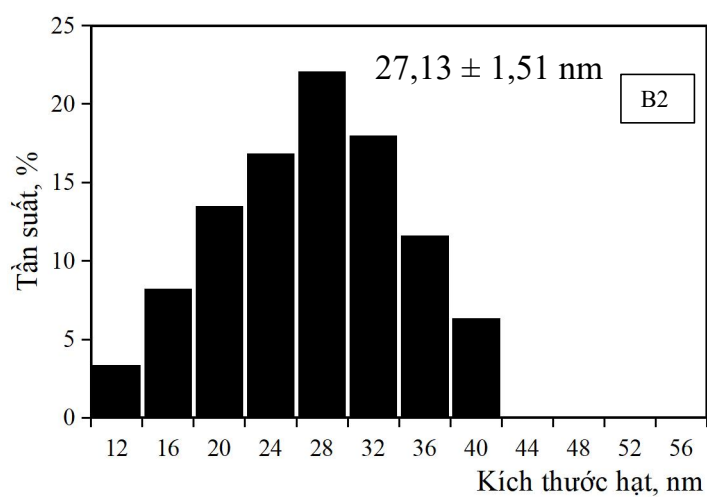
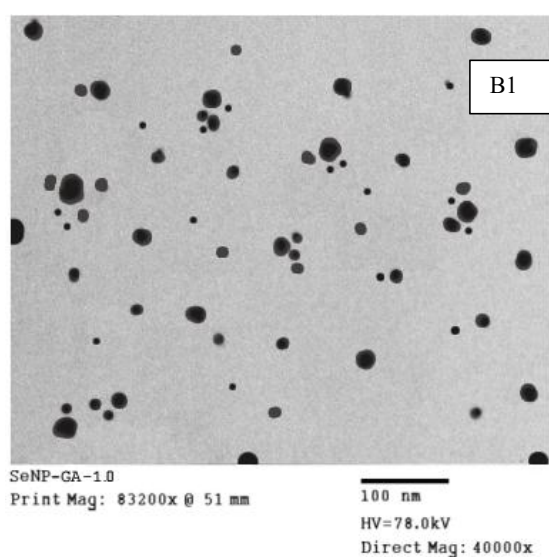
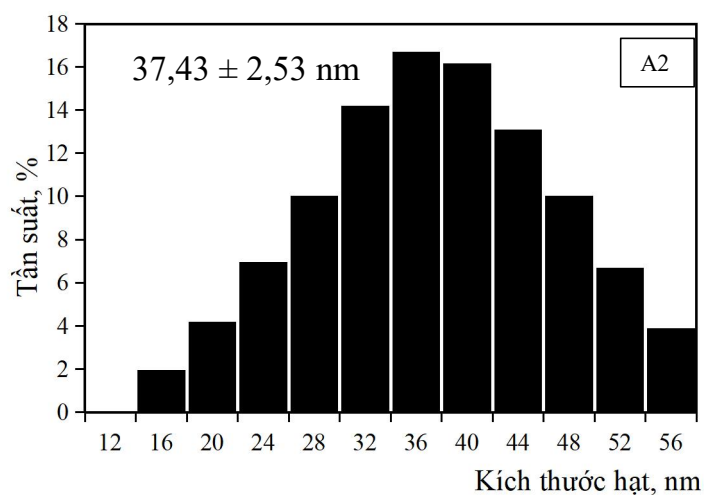
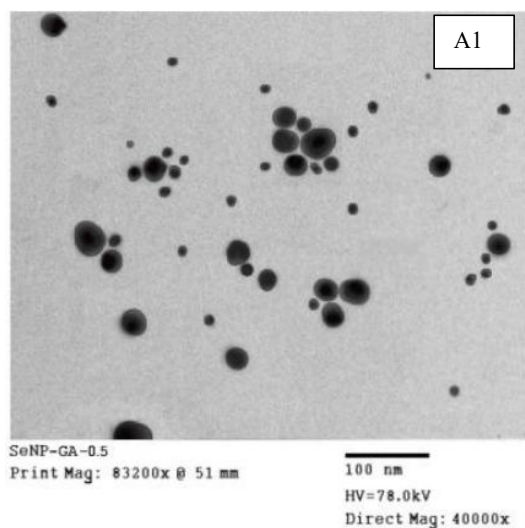
Kết quả phổ UV-Vis của dung dịch SeNPs/GA (bảng 3.7 và hình 3.14) cho thấy quang phổ ở cả 3 mẫu đều là đỉnh đơn, hẹp và đỉnh hấp thụ dao động tại $\lambda_{\max} \sim 377,9 - 378,5$ nm. Tương tự như trong trường hợp của OCS, các đỉnh này đều là đỉnh hấp thụ của chất ổn định GA. Như đã nói ở phần 3.1.1, selen ion và các hạt SeNPs có đường kính nhỏ hơn 100 nm không có đỉnh hấp thụ đặc trưng ($\lambda_{\max}$) trong vùng UV-Vis từ 200 đến 800 nm [153, 154]. Điều này chứng tỏ các hạt SeNPs ổn định bởi GA thu được có kích thước nhỏ hơn 100 nm.



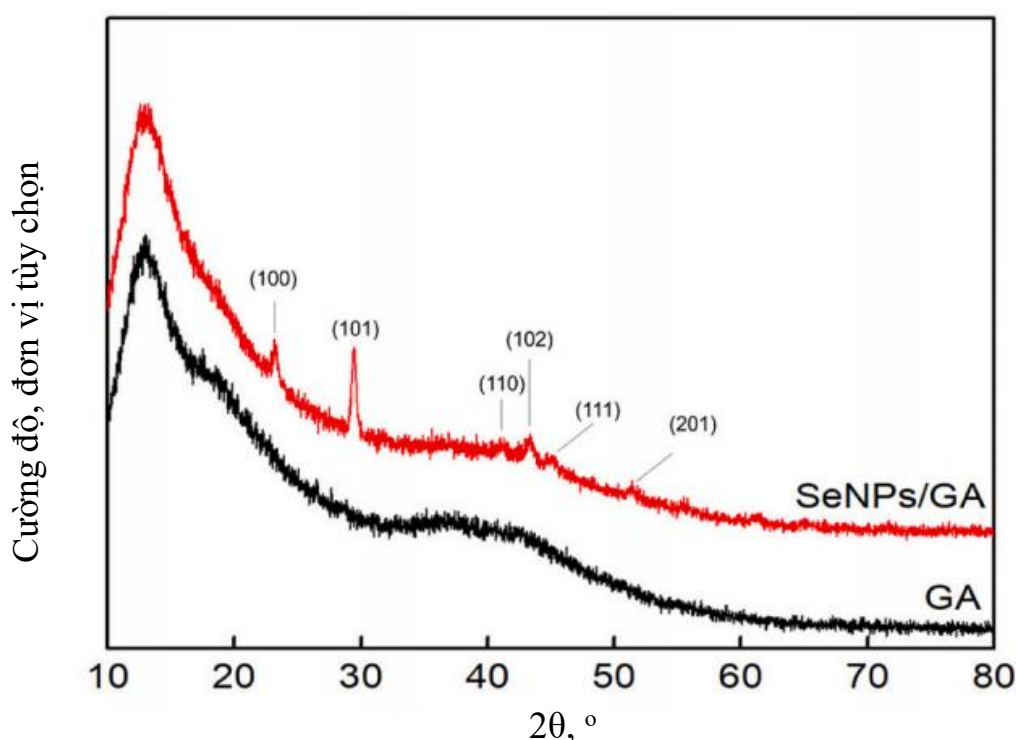
Hình 3.14. Phổ UV-Vis của dung dịch SeNPs/GA chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử ở các nồng độ GA khác nhau: 0,5; 1,0 và 2%.

Kết quả TEM trong Hình 3.15 cho thấy kích thước của hạt SeNPs trong tất cả các trường hợp đều nhỏ hơn 100 nm, khẳng định thêm các kết quả thu được từ phổ UV-Vis. Ngoài ra, tương tự như trường hợp OCS, kích thước hạt và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/GA giảm khi tăng nồng độ GA từ 0,5 lên 2%. Khi nồng độ GA tăng lên từ 0,5; 1,0 và 2%, kích thước hạt trung bình và sự phân bố kích thước hạt cũng giảm dần tương ứng là $37,57 \pm 2,52$; $27,35 \pm 2,13$; và $26,72 \pm 1,68$ nm.

Sự khác biệt về các đặc trưng của dung dịch SeNPs ở các nồng độ GA cũng được giải thích là do ở nồng độ GA thấp, không đủ để bảo vệ các hạt SeNPs được tạo ra từ quá trình khử ion Se^{4+} khỏi quá trình keo tụ, gây ra bởi chuyển động nhiệt, dẫn đến các hạt SeNPs kết hợp với nhau và tạo thành ở kích thước lớn. Khi tăng nồng độ GA từ 0,5% lên 1%, thì hiệu ứng bảo vệ tăng lên do hàm lượng chất ổn định tăng lên, kết quả là kích thước hạt SeNPs giảm đáng kể (từ 37,57 xuống 27,35 nm). Tiếp tục tăng nồng độ GA lên 2% thì kích thước hạt trung bình thay đổi không đáng kể. Điều này chứng tỏ ở nồng độ GA 1% là nồng độ phù hợp khi sử dụng GA làm chất ổn định dung dịch SeNPs tại nồng độ 1,25 mM.



Hình 3.15. Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs 1,25 mM /GA chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử theo nồng độ GA 0,5 (A1,A2); 1,0 (B1,B2) và 2% (C1,C2)



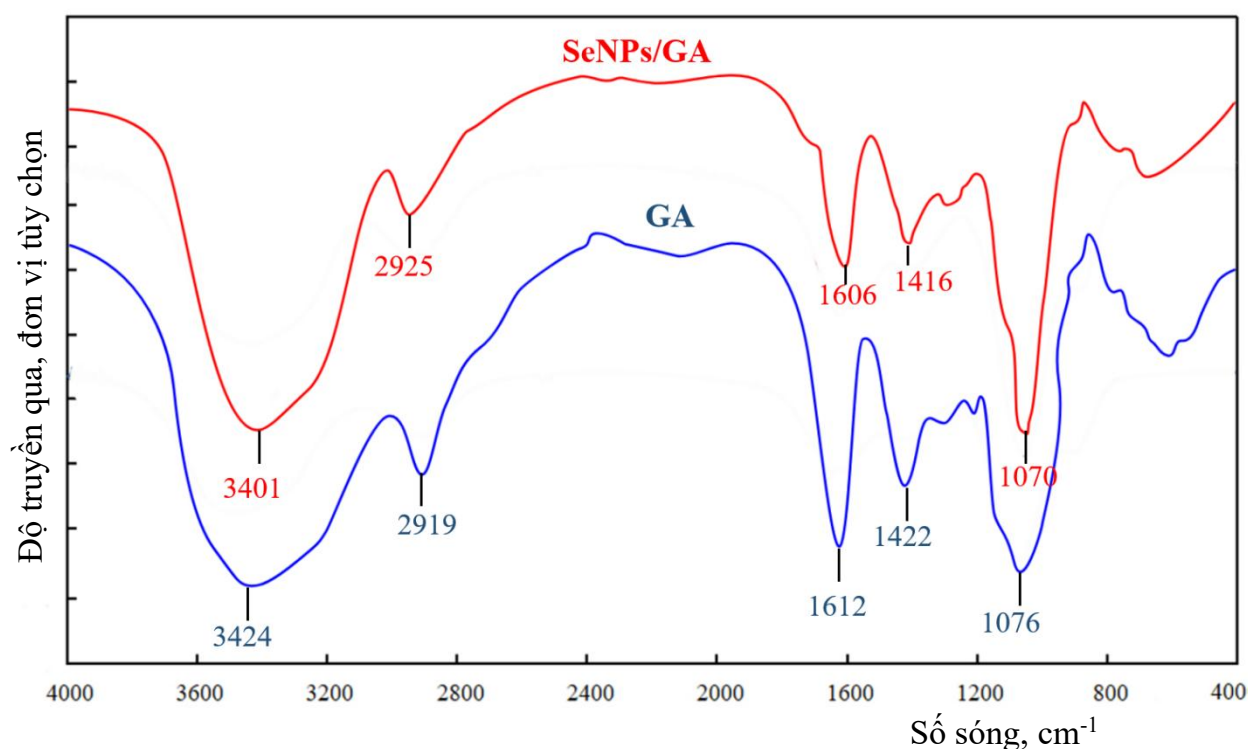
Hình 3.16. Giảm đồ nhiễu xạ tia X của SeNPs/GA

Cấu trúc tinh thể của các hạt SeNPs được bao phủ bởi GA được xác định thông qua phân tích nhiễu xạ tia X. Như thể hiện trong Hình 3.16, GA có bản chất vô định hình, thể hiện qua việc không xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng. Trong khi đó, phổ XRD của mẫu SeNPs/GA cho thấy sự xuất hiện của sáu đỉnh nhiễu xạ tại các góc 2θ lần lượt là 23° , $29,5^\circ$, $41,3^\circ$, $43,4^\circ$, $44,7^\circ$ và $51,4^\circ$. Các đỉnh này tương ứng với các mặt phẳng tinh thể (100), (101), (110), (102), (111) và (201), đặc trưng cho cấu trúc tinh thể lục giác của Se [161].

Để khẳng định sự hiện diện của GA trên bề mặt hạt SeNPs cũng như làm rõ tương tác giữa GA và SeNPs, phổ hồng ngoại FTIR đã được sử dụng. Phổ FTIR trong vùng số sóng từ $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ của GA và SeNPs/GA được thể hiện trong Hình 3.17. Trong phổ của GA, xuất hiện một số đỉnh đặc trưng cho các nhóm chức. Cụ thể, dải hấp thụ tại khoảng 3424 cm^{-1} tương ứng với dao động hóa trị của nhóm --OH , trong khi đỉnh tại 2919 cm^{-1} liên quan đến dao động đặc trưng của nhóm --CH [158].

Ngoài ra, các đỉnh tại 1612 cm^{-1} và 1422 cm^{-1} lần lượt được gán cho dao động đối xứng và bất đối xứng của nhóm cacboxylat COO^- [159]. Đỉnh tại 1076 cm^{-1} được cho là dao động kéo giãn của liên kết C–O trong nhóm hydroxyl [170]. Có thể nhận thấy rằng hai phổ FTIR của GA và SeNPs/GA có dạng tương tự nhau, với các đỉnh

chính gần trùng khớp, cho thấy khung cấu trúc chính của GA hầu như không bị thay đổi trong quá trình tổng hợp. Tuy nhiên, phổ FTIR của SeNPs/GA xuất hiện sự dịch chuyển vị trí của một số đỉnh so với GA, đáng chú ý là sự dịch chuyển từ 3424 xuống 3401 cm^{-1} của dải hấp thụ đặc trưng cho dao động —OH . Sự dịch chuyển này cho thấy có khả năng xảy ra tương tác giữa các nhóm —OH và —COOH của GA với bề mặt hạt SeNPs, qua đó góp phần ổn định hệ hạt nano [101].



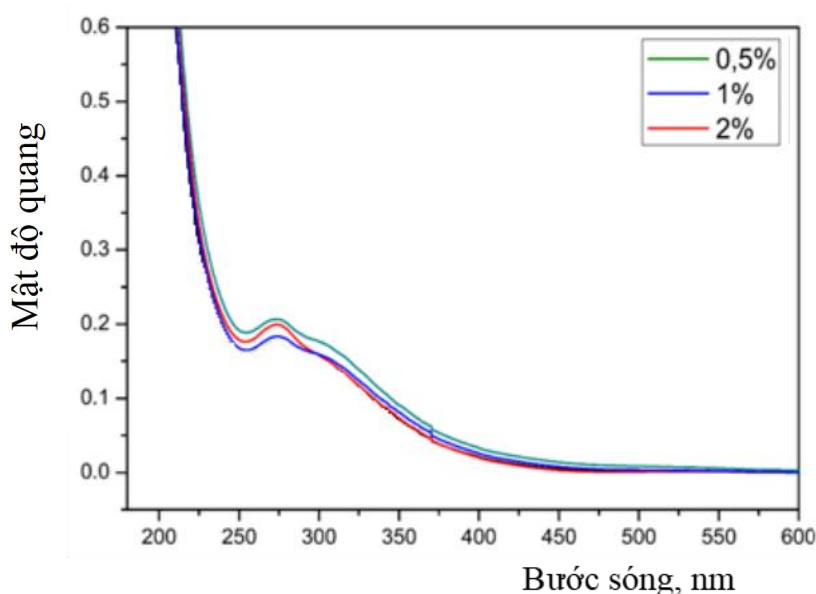
Hình 3.17 Phổ FTIR của mẫu GA và của SeNPs/GA

3.6.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định CTS đến kích thước hạt và độ ổn định kích thước hạt của SeNPs.

Ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định CTS đến kích thước hạt và độ ổn định kích thước hạt SeNPs được khảo sát với nồng độ Se^{4+} 1,25 mM, liều chiếu xạ 10 kGy và nồng độ CTS thay đổi từ 0,5; 1,0 và 2,0%.

Bảng 3.8. $\lambda_{\max}$, OD và d_{tb} của dung dịch SeNPs 1,25 mM với nồng độ khác nhau của CTS có KLPT 92.000 g/mol, ở pH 6,5; chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử.

STT	Chitosan %	$\lambda_{\max}$	Liều bão hòa (D_{bh}), kGy	d_{tb} (nm) xác định bằng TEM
1	0,5	275,2	10	$40,22 \pm 2,65$
2	1,0	273,4	10	$29,53 \pm 2,56$
3	2,0	271,9	10	$27,8 \pm 1,37$



Hình 3.18. Phổ UV-Vis của dung dịch SeNPs/CTS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử ở các nồng độ CTS khác nhau: 0,5; 1,0 và 2%

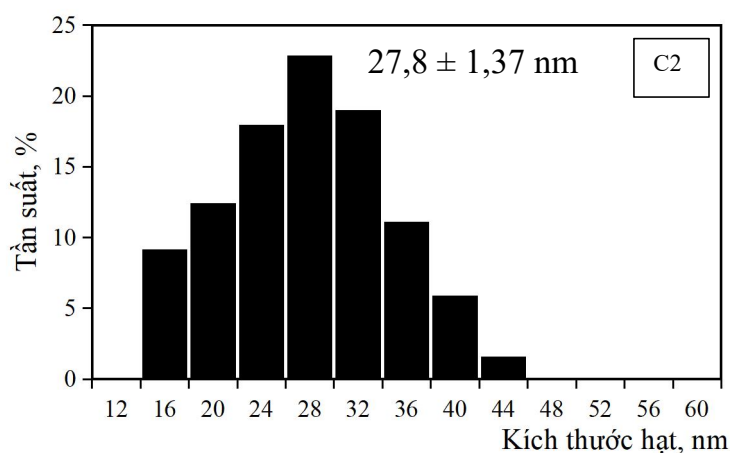
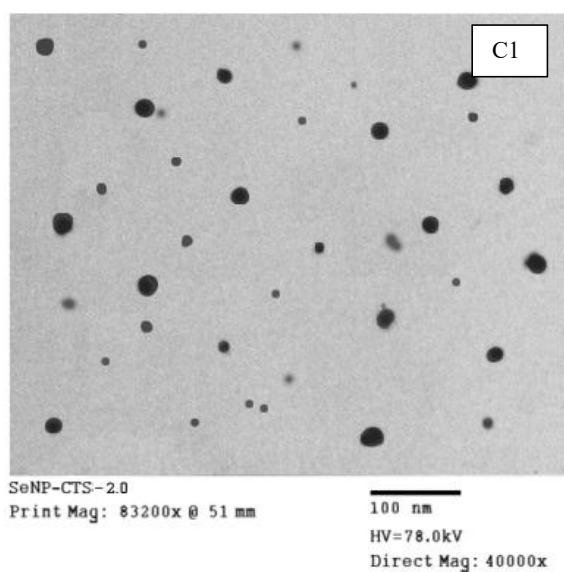
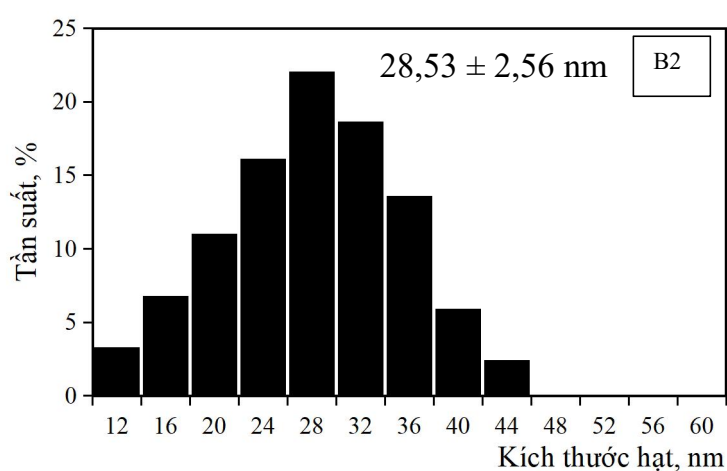
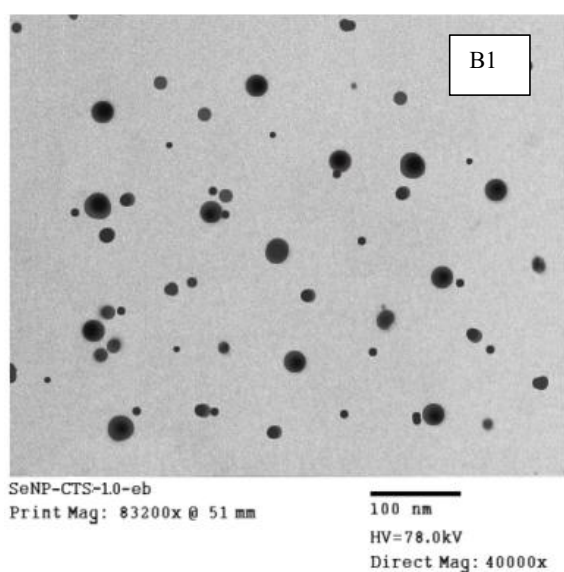
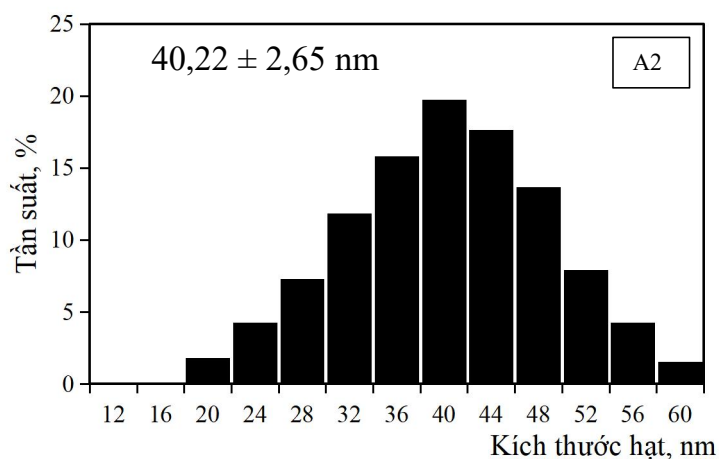
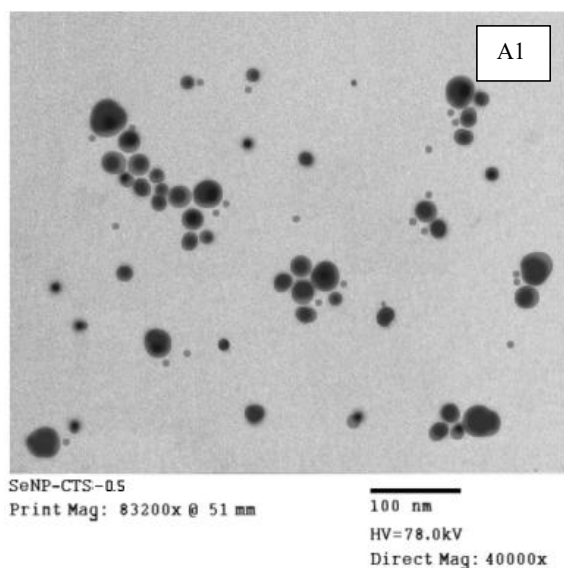
Xu hướng thay đổi kích thước hạt của hạt SeNPs tạo thành khi sử dụng nồng độ khác nhau của chất ổn định là CTS cũng tương tự như trường hợp của 2 chất ổn định trước. Kết quả Bảng 3.7, Hình 3.18 và 3.19 cho thấy kích thước hạt và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/CTS giảm khi tăng nồng độ CTS từ 0,5 lên 2%. Ở nồng độ thấp (0,5%), kích thước trung bình đạt khoảng $40,22 \pm 2,65$ nm, phổ phân bố rộng và xuất hiện nhiều cụm hạt nằm gần nhau, cho thấy quá trình sinh trưởng hạt vẫn tiếp diễn sau khi nhân mầm hình thành. Điều này phản ánh trạng thái ổn định

chưa hoàn chỉnh của hệ keo, trong đó lớp polymer hấp phụ trên bề mặt hạt còn thưa, chưa tạo được hàng rào cản trở hiệu quả đối với va chạm Brown và kết dính thứ cấp.

Khi tăng hàm lượng CTS lên 1,0%, kích thước giảm mạnh xuống khoảng $29,53 \pm 2,56$ nm và đường phân bố trở nên hẹp hơn đáng kể. Sự thay đổi này cho thấy mật độ chuỗi polymer trong môi trường đủ lớn để bao phủ nhanh bề mặt Se^0 ngay sau khi hình thành, làm gián đoạn cơ chế tăng trưởng thông qua kết tụ hạt sơ cấp. Đồng thời, sự hấp phụ đồng đều của các chuỗi CTS mang điện tích dương lên bề mặt hạt góp phần tăng lực đẩy tĩnh điện giữa các tiểu phân, từ đó hạn chế sự phát triển kích thước theo cơ chế kết dính.

Khi tiếp tục tăng nồng độ lên 2,0%, kích thước trung bình chỉ giảm nhẹ còn $27,8 \pm 1,37$ nm; sự cải thiện không còn đáng kể so với mức 1,0%. Điều này cho thấy hệ đã tiến gần đến trạng thái cân bằng động học, trong đó tốc độ hình thành nhân và tốc độ bị cố định bởi polymer đạt tương quan tối ưu. Nói cách khác, từ ngưỡng khoảng 1% CTS, bề mặt hạt gần như đã được bão hòa bởi polymer, nên việc bổ sung thêm chỉ làm tăng độ nhớt môi trường hơn là tiếp tục thu nhỏ hạt.

Từ các kết quả TEM và phân bố kích thước thu được, có thể khẳng định rằng dù sử dụng OCS, CTS hay GA làm chất ổn định, các hạt SeNPs hình thành đều có xu hướng mang dạng hình cầu và phân tán tương đối đồng đều trong môi trường nước. Sự khác biệt về kích thước trung bình giữa các hệ không quá lớn, song vẫn thể hiện một xu hướng nhất quán gắn với bản chất cấu trúc của polymer sử dụng. Cụ thể, khi xét theo chiều dài mạch và khối lượng phân tử tăng dần ($\text{OCS} < \text{CTS} < \text{GA}$), khả năng tạo lớp bao che chắn không gian quanh mầm Se^0 cũng thay đổi tương ứng. Polymer có kích thước phân tử lớn và cấu trúc cồng kềnh hơn sẽ tạo lớp hấp phụ dày hơn trên bề mặt hạt, làm tăng lực cản không gian và duy trì khoảng cách giữa các tiểu phân, từ đó hạn chế sự kết dính và phát triển thành hạt có kích thước lớn. Ngược lại, polymer mạch ngắn hơn tạo lớp bao mỏng hơn, hiệu ứng không gian yếu hơn nên mức độ kiểm soát tăng trưởng hạt thấp hơn đôi chút.



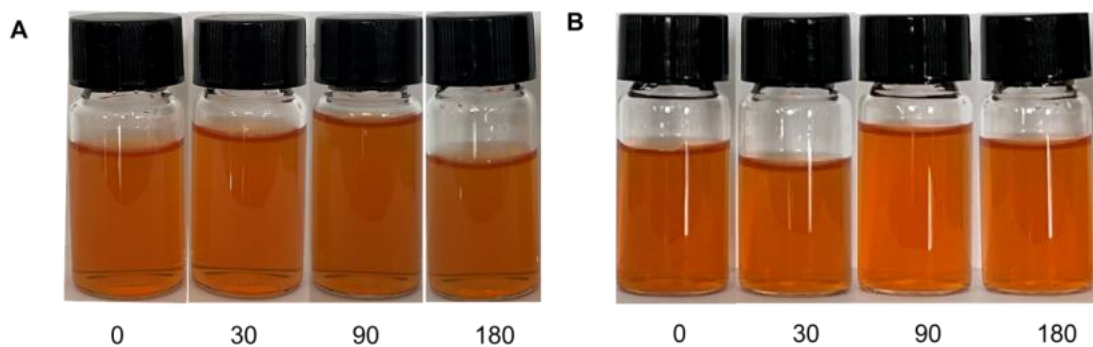
Hình 3.19. Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs 1,25 mM /CTS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử theo nồng độ CTS 0,5 (A1,A2); 1,0 (B1,B2) và 2% (C1,C2)

Như vậy, mặc dù cơ chế hình thành SeNPs trong hệ chiếu xạ là tương đồng, đặc trưng hình thái vẫn chịu ảnh hưởng bởi thông số cấu trúc của chất ổn định, đặc biệt là khối lượng phân tử và độ linh động chuỗi. Điều này cũng đã được báo cáo bởi Nguyễn Ngọc Duy và cộng sự khi nghiên cứu ảnh hưởng của khối lượng phân tử của chất ổn định CTS đến đặc trưng của hạt nano vàng [171].

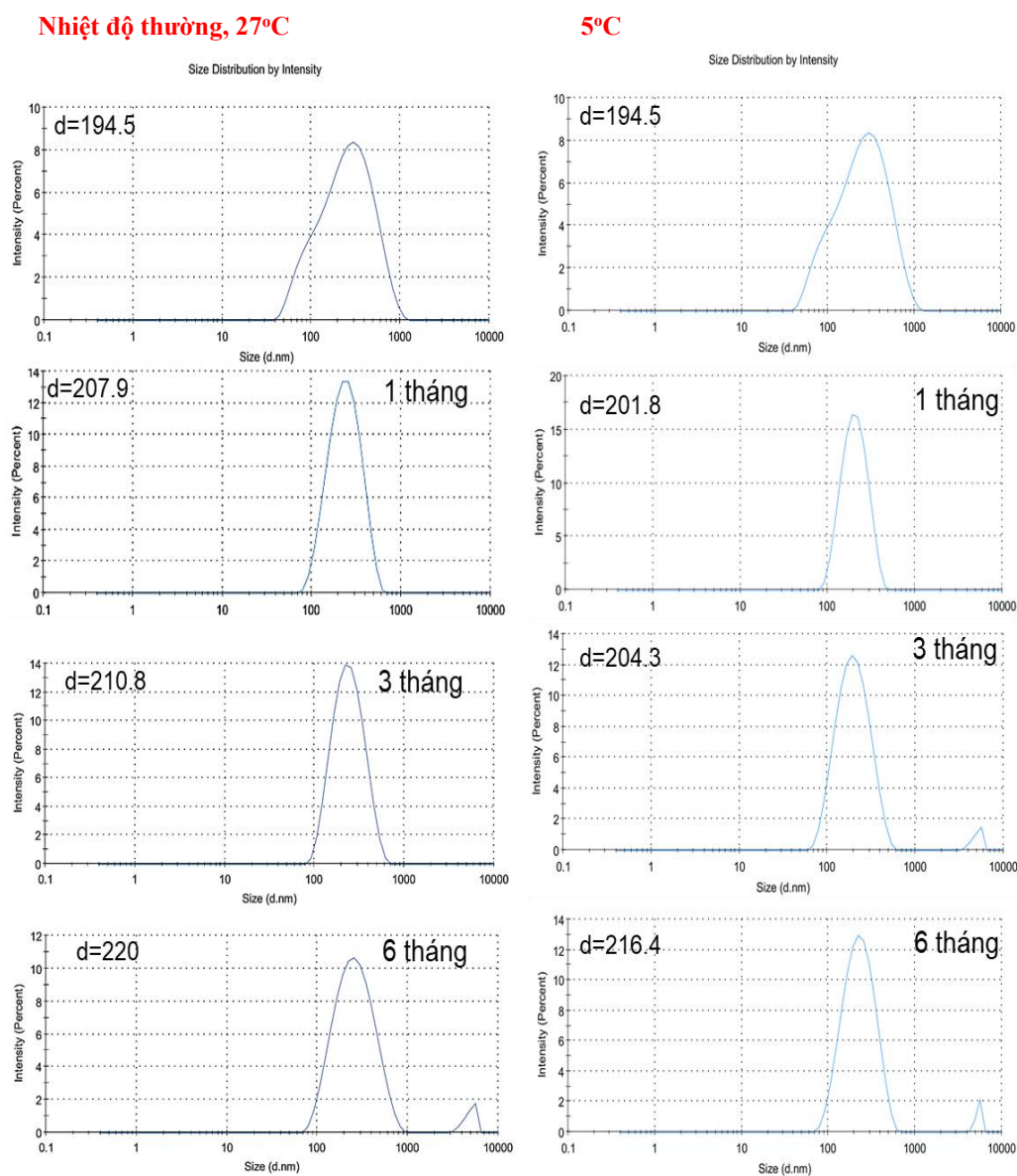
Trên cơ sở so sánh ba hệ ổn định, GA cho kích thước hạt nhỏ (~27 nm), phân bố hẹp và đạt trạng thái ổn định ở nồng độ khoảng 1%, thể hiện khả năng kiểm soát tăng trưởng hạt hiệu quả. Với cấu trúc polysaccharide phân nhánh và khối lượng phân tử lớn (~250.000 g/mol), GA tạo lớp bao che chắn không gian dày, nâng cao độ bền keo và tính tái lập của hệ. Kết quả XRD và FTIR đồng thời xác nhận sự hình thành Se tinh thể lục giác và tương tác bề mặt bền vững giữa GA và SeNPs.

Ngoài các ưu điểm về khả năng kiểm soát kích thước và độ ổn định của hệ keo, việc lựa chọn GA còn xuất phát từ định hướng ứng dụng sinh học của hệ SeNPs. Mục tiêu của nghiên cứu là phát triển vật liệu SeNPs phục vụ cho các ứng dụng tiềm năng trong hỗ trợ điều trị ung thư, do đó chất ổn định cần có tính tương thích sinh học và độ an toàn sinh học cao. GA là một polysaccharide tự nhiên đã được chứng minh có khả năng tương thích sinh học tốt và hoạt tính chống oxy hóa, phù hợp cho các hệ dẫn truyền hoặc vật liệu nano dùng trong y sinh học. Bên cạnh đó, GA tan tốt trong nước, giúp quá trình tổng hợp và phân tán hạt nano diễn ra trong môi trường nước trung tính, thuận lợi và an toàn hơn cho các ứng dụng sinh học. Ngược lại, CTS và OCS thường cần môi trường axit nhẹ để hòa tan hoàn toàn, điều này có thể làm giảm tính thuận lợi và độ an toàn khi định hướng sử dụng trong các hệ vật liệu phục vụ điều trị. Vì vậy, xét tổng thể cả về đặc trưng cấu trúc, khả năng ổn định hạt và mức độ phù hợp cho ứng dụng sinh học, GA được lựa chọn là chất ổn định tối ưu cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.7. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến kích thước và độ ổn định của SeNPs/GA



Hình 3.20. Sự thay đổi màu sắc của dung dịch SeNPs/GA bảo quản ở nhiệt độ thường 27°C (A) và 5°C (B) trong thời gian từ 0 đến 180 ngày.

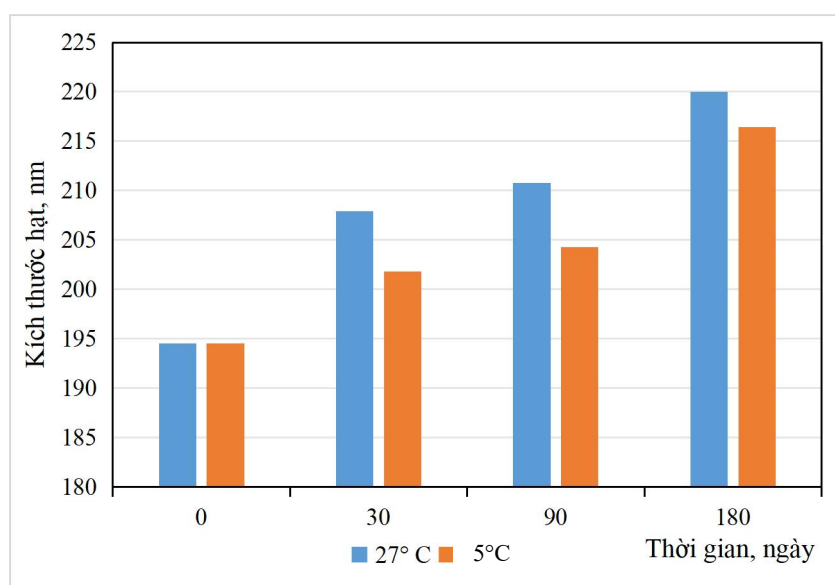


Hình 3.21. Kết quả DLS của SeNPs/GA theo thời gian khi được bảo quản ở nhiệt độ thường và nhiệt độ 5°C.

Độ bền của hệ keo SeNPs/GA sau chiếu xạ EB được đánh giá thông qua quan sát cảm quan kết hợp với phân tích kích thước thủy động học bằng DLS trong thời gian 180 ngày ở hai điều kiện: 27°C và 5°C.

Trước hết, kết quả hình 3.20 cho thấy dung dịch SeNPs/GA duy trì màu đỏ cam đặc trưng gần như không thay đổi trong suốt quá trình bảo quản ở cả hai chế độ nhiệt. Điều này cho thấy trạng thái phân tán của SeNPs vẫn được duy trì, không xuất hiện kết tủa vĩ mô hay chuyển pha rõ rệt. Màu sắc ổn định cũng phản ánh rằng cấu trúc điện tử bề mặt của hạt nano không bị biến đổi đáng kể, chứng tỏ GA tạo được lớp bao đủ bền để hạn chế quá trình oxy hóa hoặc tái kết tinh của Se^0 trong môi trường nước.

Tuy nhiên, phân tích DLS (hình 3.21 và 3.22) cho thấy có sự thay đổi nhất định về kích thước thủy động học theo thời gian. Ở 27°C, đường kính trung bình tăng từ khoảng 194,5 nm lên xấp xỉ 220 nm sau 6 tháng; trong khi đó ở 5°C, giá trị này tăng đến khoảng 216,4 nm. Mặc dù mức tăng không lớn (khoảng 10–13%), xu hướng gia tăng kích thước phản ánh quá trình tái phân bố kích thước ở cấp độ keo.



Hình 3.22. Kích thước SeNPs/GA theo thời gian khi bảo quản ở nhiệt độ phòng và 5°C.

Cần lưu ý rằng giá trị đo bằng DLS là kích thước thủy động học, bao gồm cả lõi SeNPs và lớp polymer hydrat hóa xung quanh. Sự tăng kích thước theo thời gian có thể xuất phát từ ba cơ chế đồng thời: (i) va chạm do chuyển động Brown, làm hình thành các cụm kết tập lỏng lẻo nhưng chưa đủ mạnh để tạo kết tủa; (ii) tái sắp xếp lớp

polymer hấp phụ, khi các chuỗi GA dần đạt trạng thái cấu hình ổn định hơn, dẫn đến thay đổi bán kính thủy động; (iii) hiện tượng kết tụ chậm đặc trưng của hệ keo nano trong môi trường nước.

So sánh hai điều kiện nhiệt độ cho thấy hệ bảo quản ở 27°C có mức tăng kích thước cao hơn so với 5°C. Điều này phù hợp với nguyên lý động học: khi nhiệt độ tăng, năng lượng dao động nhiệt của các hạt tăng lên, làm gia tăng xác suất va chạm hiệu quả giữa các tiểu phân. Ở nhiệt độ thấp hơn, động năng giảm, quá trình tiếp xúc và tái cấu trúc cụm hạt diễn ra chậm hơn, do đó hệ ổn định hơn về mặt kích thước.

Trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Ngọc Duy (2021) [172], SeNPs/OCS được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ Gamma Co-60 cũng được kiểm tra độ ổn định trong thời gian 60 ngày ở hai điều kiện 27°C và 4°C và kiểm tra kích thước hạt bằng phương pháp TEM. Kết quả ở 4 °C kích thước hạt chỉ tăng nhẹ từ $41,75 \pm 5,46$ nm lên $51,92 \pm 9,51$ nm sau 45 ngày, dung dịch vẫn giữ màu đỏ cam đặc trưng; tuy nhiên ở 27 °C hệ trở nên kém bền rõ rệt, kích thước tăng nhanh lên $115,09 \pm 16,48$ nm (15 ngày) và $125,75 \pm 22,88$ nm (30 ngày), kèm theo hiện tượng chuyển màu sang nâu đỏ và xuất hiện keo tụ sau khoảng 25 ngày, đến 45 ngày các hạt kết dính mạnh, khó xác định kích thước bằng TEM.

Tổng hợp các kết quả cho thấy cả hai hệ SeNPs/GA và SeNPs/OCS đều chịu ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản, nhưng mức độ nhạy cảm của SeNPs/OCS cao hơn rõ rệt, đặc biệt ở 27°C. Hệ SeNPs/GA không chỉ ổn định màu sắc lâu dài mà còn duy trì được kích thước hạt trong khoảng biến thiên hẹp hơn và không xảy ra keo tụ sau thời gian dài. Vì vậy, xét về độ ổn định keo, tính bền nhiệt và khả năng ứng dụng bảo quản dài hạn, GA là chất ổn định phù hợp và hiệu quả hơn so với OCS đối với hệ hạt SeNPs chế tạo bằng chiếu xạ.

3.8. Quy trình công nghệ chế tạo SeNPs dạng dung dịch bằng chiếu xạ EB ở điều kiện lựa chọn

Các kết quả nghiên cứu của các nội dung trên cho thấy rằng, điều kiện công nghệ phù hợp nhất để đạt được mục tiêu chế tạo được hạt SeNPs có kích thước nhỏ, nồng độ Se trong dung dịch vào khoảng 100-200 mg/l bao gồm:

- Nồng độ muối Se^{4+} : 1,25 mM
- Nồng độ chất ổn định : 1%
- Loại chất ổn định: gum arabic
- Liều xạ: 10 kGy
- Chiều dày lớp dung dịch: 2,5 cm

Từ đó, công nghệ chế tạo SeNPs dạng dung dịch có kích thước 20-80 nm, hàm lượng 100-200 mg/l, có độ ổn định kích thước hạt > 60 ngày ở 4°C được đề xuất như hình 3.23

Bước 1: Hòa tan

Nguyên liệu SeO_2 có độ sạch $\geq 99,8\%$ được hòa tan vào nước cất để tạo dung dịch Se^{4+} nồng độ 2,5 mM (cân 0,278 g SeO_2 hòa tan vào 1L nước). Nguyên liệu GA dạng bột (khối lượng phân tử khoảng 250 kDa) cũng được hòa tan vào nước cất để tạo dung dịch GA 2% (cân 20 g GA hòa tan vào 1L nước).

Bước 2: Trộn

Cho 25 ml dung dịch Se^{4+} nồng độ 2,5 mM vào 25 ml dung dịch GA 2% để thu được 50 ml dung dịch trước chiếu xạ chứa Se^{4+} nồng độ 1,25 mM và GA 1%

Bước 3: Khuấy đều

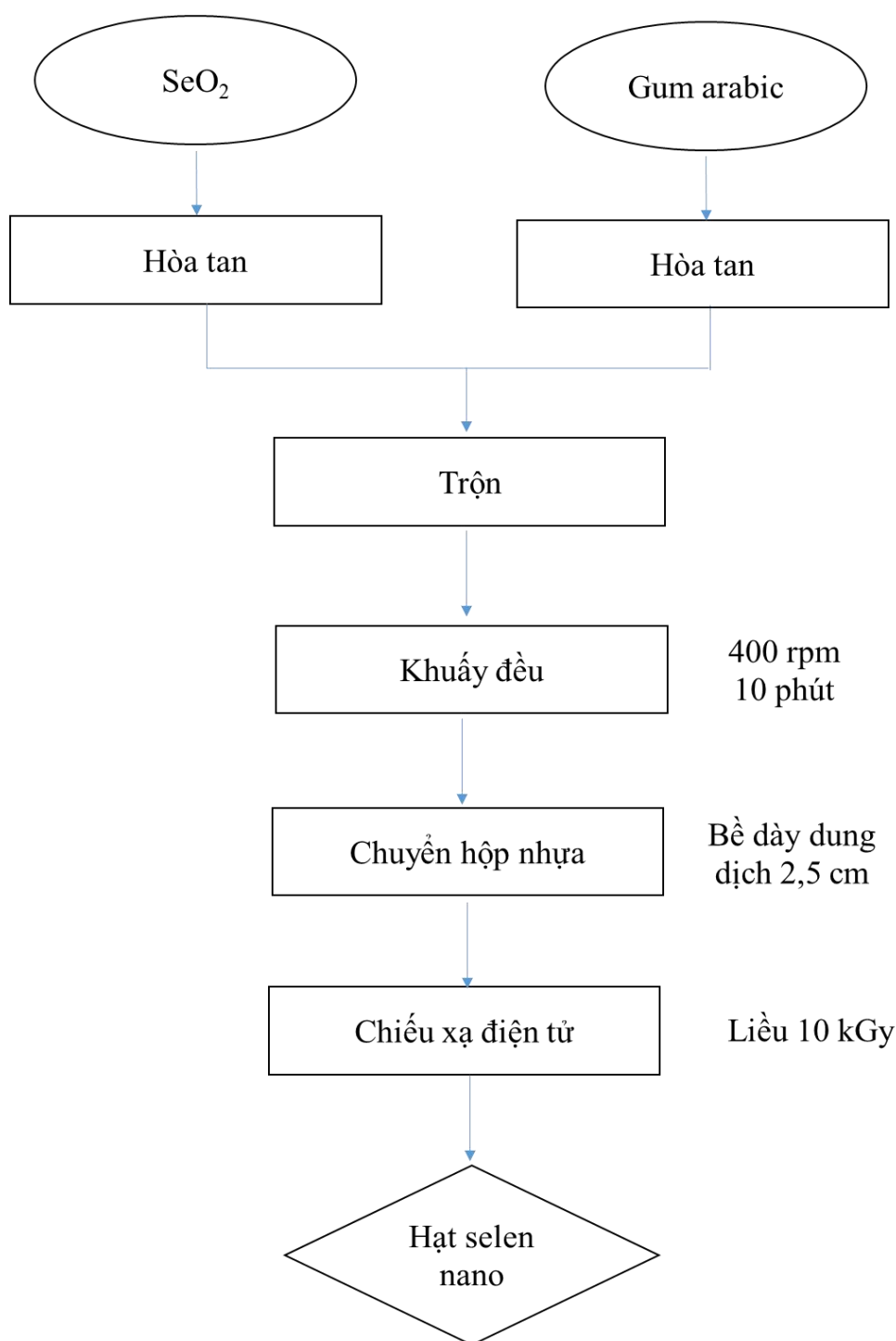
Hỗn hợp Se^{4+} trong dung dịch GA 1% thu được tiếp tục được khuấy ở tốc độ 400 rpm trong 10 phút.

Bước 4: Chuyển hộp nhựa

Dung dịch chất phản ứng sau khi khuấy đều đồng nhất trong suốt sẽ được chuyển vào hộp nhựa có kích thước 29 x 18 x 9 cm có nắp đậy sao cho bề dày của dung dịch là 2,5 cm.

Bước 5: Chiếu xạ điện tử

Hỗn hợp phản ứng được chiếu xạ trên máy gia tốc chùm tia điện tử UERL – 10 – 15S1 (năng lượng electron là 10 MeV, cường độ dòng 1,5 mA, công suất 15 kW) với liều xạ là 10 kGy. Dung dịch sau chiếu xạ thu được có màu cam đỏ chứng tỏ có sự hình thành hạt SeNPs.



Hình 3.23. Sơ đồ quy trình công nghệ chế tạo SeNPs dạng dung dịch

Công suất xử lý của máy chiếu xạ chùm tia điện tử UERL – 10 – 15S1 được tính theo công thức sau [85]:

$$Q(kg / h) = \frac{P(kW) \times 3600 \times f}{D(kGy)} \quad (3.4)$$

Trong đó. P là công suất của máy UERL – 10 – 15S1 (P=15 kW)

f là hệ số năng lượng bức xạ hiệu dụng của máy EB ($f=0,4$)

D là liều xạ

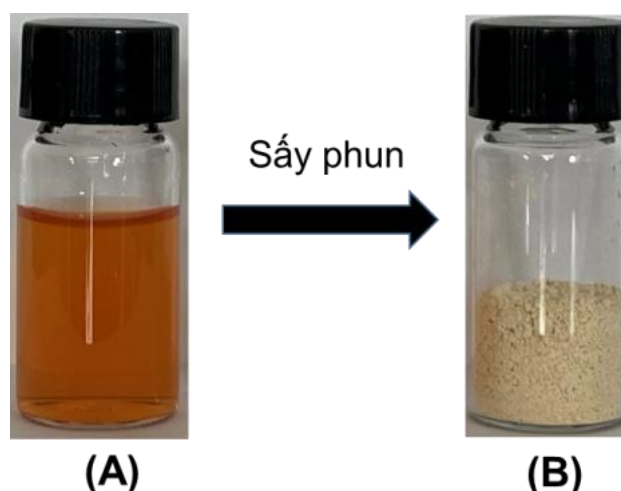
Như vậy, kết quả tính toán cho thấy công suất xử lý của máy chiếu xạ chùm tia điện tử UERL-10-15S1 đạt khoảng 2160 kg/h (tương đương khoảng 2,16 m³ dung dịch mỗi giờ nếu giả thiết khối lượng riêng của dung dịch xấp xỉ 1 kg/L). Giá trị này cho thấy công nghệ chiếu xạ chùm electron có khả năng xử lý dung dịch với lưu lượng lớn, phù hợp cho sản xuất dung dịch SeNPs ở quy mô bán công nghiệp và công nghiệp.

3.9. Khảo sát chế tạo SeNPs dạng bột

3.9.1. Chế tạo SeNPs dạng bột bằng phương pháp sấy phun

Với hàm lượng hạt SeNPs/GA trong dung dịch tương đối thấp (khoảng 1%), để có thể tiết kiệm thời gian sấy, công nghệ cô đặc (làm bay hơi nước) dung dịch Se được đề xuất trước khi tiến hành sấy phun. Trong thực tế có nhiều phương pháp để làm bay hơi nước ra khỏi dung dịch bao gồm : Cô đặc dưới áp suất khí quyển, cô đặc chân không, cô đặc bằng lạnh đông và cô đặc bằng thẩm thấu ngược. Nhằm đảm bảo đặc trưng của hạt SeNPs ít bị ảnh hưởng nhất bởi quá trình cô đặc cũng như dựa trên điều kiện công nghệ sẵn có, phương pháp cô đặc chân không được lựa chọn.

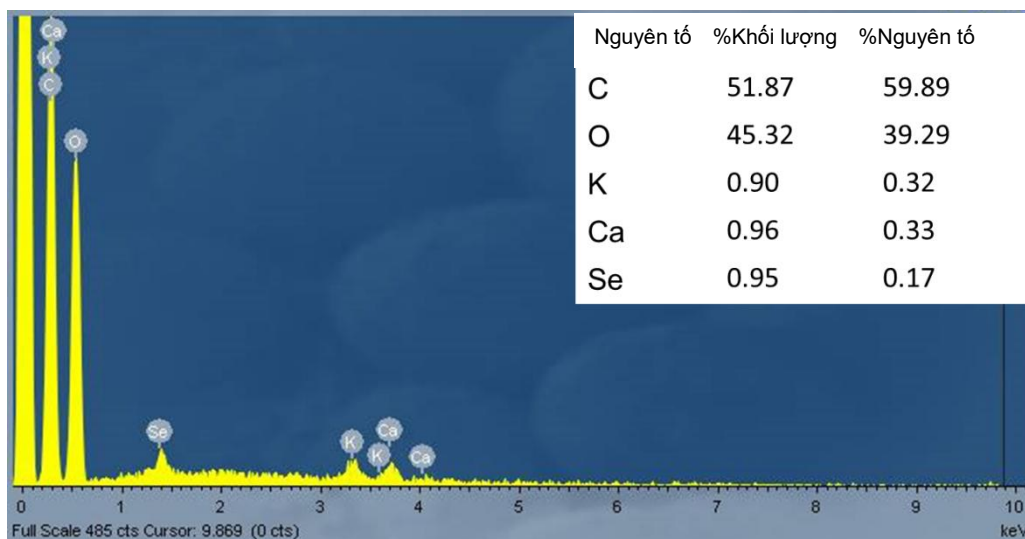
Dung dịch SeNPs/GA được cô đặc bằng thiết bị cô quay chân không ở nhiệt độ 45°C trong vòng 30 phút. Sau đó, dung dịch cô đặc được tiến hành sấy phun để thu được bột SeNPs/GA với các điều kiện sấy bao gồm nhiệt độ đầu vào: 140°C, tốc độ dòng bơm: 8 mL/phút, áp suất khí phun: 0,35 kg/cm², lưu lượng khí sấy khô: 400 m³/giờ để tạo thành dạng bột mịn có màu vàng nhạt như hình 3.24.



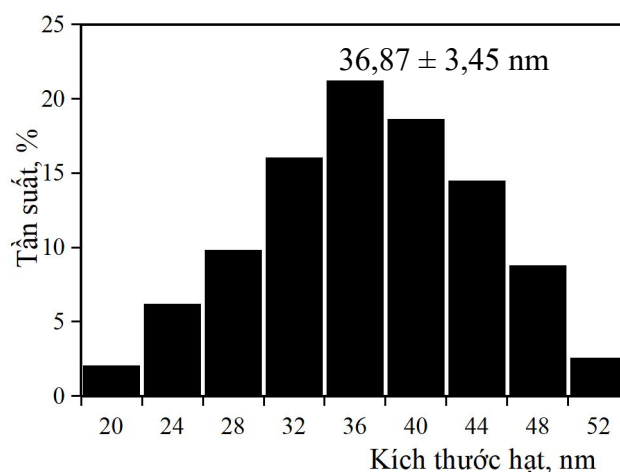
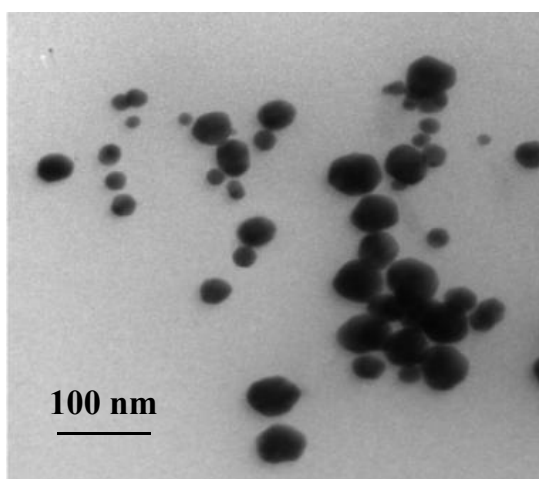
Hình 3.24. (A) Dung dịch SeNPs/GA, (B) SeNPs/GA dạng bột

Phổ EDX cho thấy bột SeNPs/GA có độ tinh khiết tương đối cao với sự hiện diện của các nguyên tố là Se (0,95%), cacbon (51,87%), oxy (45,32%) (Hình 3.25). Một nghiên cứu khi nghiên cứu chế tạo SeNPs/dextran dạng bột từ dung dịch SeNPs/dextran bằng phương pháp sấy phun cũng thu được kết quả tương tự [15]. SeNPs/dextran cũng có độ tinh khiết cao với kết quả phân tích EDX cho kết quả bột SeNPs/dextran chỉ gồm ba nguyên tố với các hàm lượng tương ứng là Se (2,51%), C (78,67%) và O (18,82%). Ngoài các nguyên tố nêu trên, phổ EDX của bột SeNPs/GA còn có sự hiện diện của các nguyên tố khoáng Ca (0,96%) và K (0,9%). Đây là các nguyên tố khoáng thường tìm thấy trong thành phần của GA [173].

Ảnh TEM và sự phân bố kích thước hạt của SeNPs/GA dạng bột trong hình 3.27 chỉ ra rằng kích thước hạt của SeNPs tăng từ khoảng 27 nm lên 37 nm khi dung dịch SeNPs/GA chuyển từ dạng dung dịch sang dạng bột. Sự tăng kích thước hạt SeNPs khi chuyển từ dạng dung dịch sang dạng bột cũng đã được báo cáo bởi Nguyễn Ngọc Duy rằng kích thước hạt (ước tính bằng hình ảnh TEM) của dung dịch SeNPs/OCS tăng nhẹ từ 41,8 nm lên 43,8 nm ở dạng bột thu được sau khi sấy phun [172]; kết quả phân tích DLS của tác giả Nguyễn Thị Dung cho thấy kích thước hạt và sự phân bố kích thước của dung dịch SeNPs/ β -glucan sau khi chuyển sang dạng bột tăng nhẹ từ 92 nm trong dung dịch ban đầu lên 95 nm bằng sấy đông khô, từ 117,6 lên 132,3 nm bằng sấy phun [20].



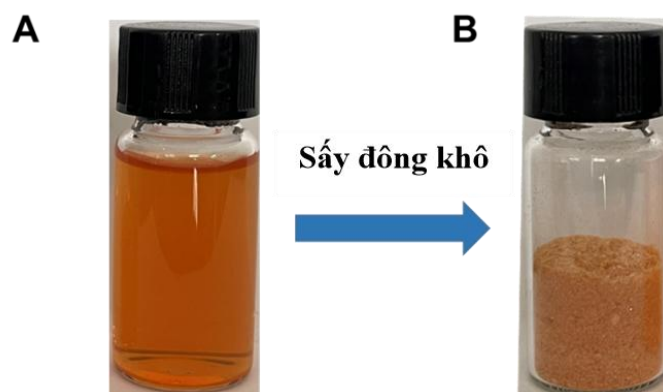
Hình 3.25. Phổ EDX của bột SeNPs/GA bằng phương pháp sấy phun.



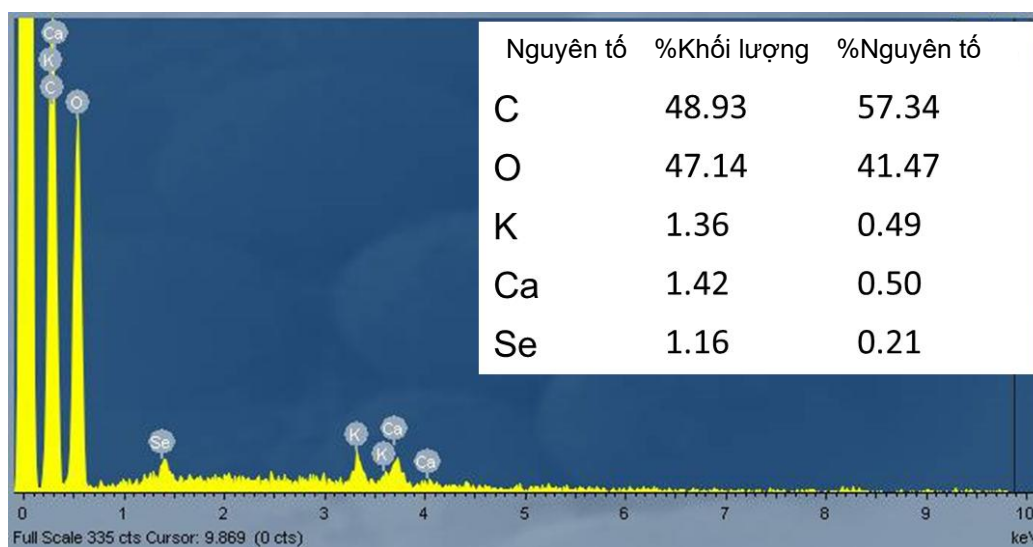
Hình 3.26. Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của bột SeNPs/GA sấy phun

3.9.2. Chế tạo SeNPs dạng bột bằng phương pháp sấy đông khô

Mẫu dung dịch được cấp đông bằng máy cấp đông trong khoảng 24 giờ và được sấy đông khô bởi thiết bị TOPTION TPV-50F ở nhiệt độ -40°C trong 48 giờ thu được bột có màu vàng cam như Hình 3.27. Phổ EDX của bột SeNPs/GA sấy đông khô (hình 3.28) có với sự hiện diện của các nguyên tố C (48,93%), O (47,14%), Se (1,16%), K (1,36%) và Ca (1,42%).



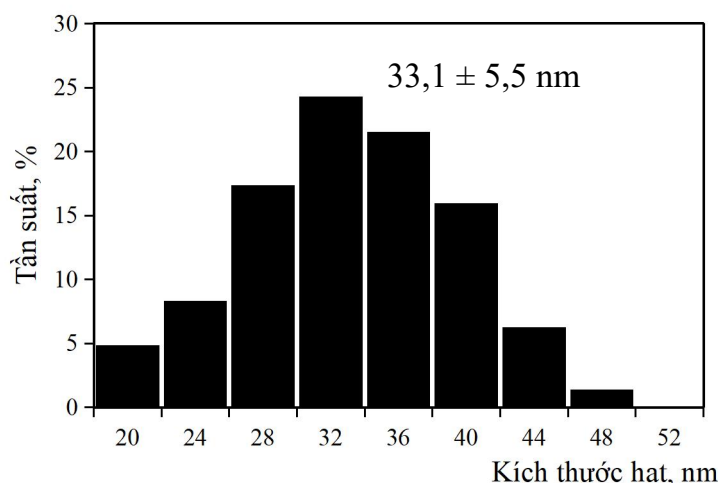
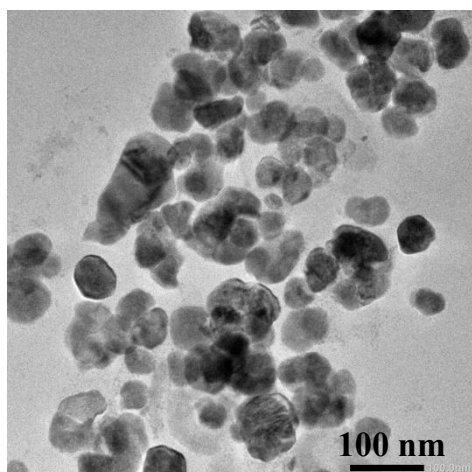
Hình 3.27. (A) Dung dịch SeNPs/GA sau chiếu xạ và (B) Bột SeNPs/GA sau khi sấy đông khô.



Hình 3.28. Phổ EDX của bột SeNPs/GA sấy đông khô

Ngoài ra, kết quả EDX cũng cho thấy hàm lượng Se trong bột SeNPs/GA thu được bằng phương pháp sấy đông khô (1,16%) là cao hơn so với phương pháp sấy phun (0,95%). Điều này có thể là do trong phương pháp sấy đông khô, khả năng nhiễm bẩn mẫu sấy là thấp hơn so với phương pháp sấy phun.

Ảnh TEM và sự phân bố kích thước hạt của SeNPs/GA dạng bột trong Hình 3.29 chỉ ra rằng kích thước hạt của SeNPs tăng từ khoảng 27 nm lên 33 nm khi dung dịch SeNPs/GA chuyển từ dạng dung dịch sang dạng bột. Sự tăng kích thước hạt SeNPs khi chuyển từ dạng dung dịch sang dạng bột cũng đã được báo cáo bởi Duy và cộng sự; Nguyễn Thị Dung và cộng sự [20, 172]



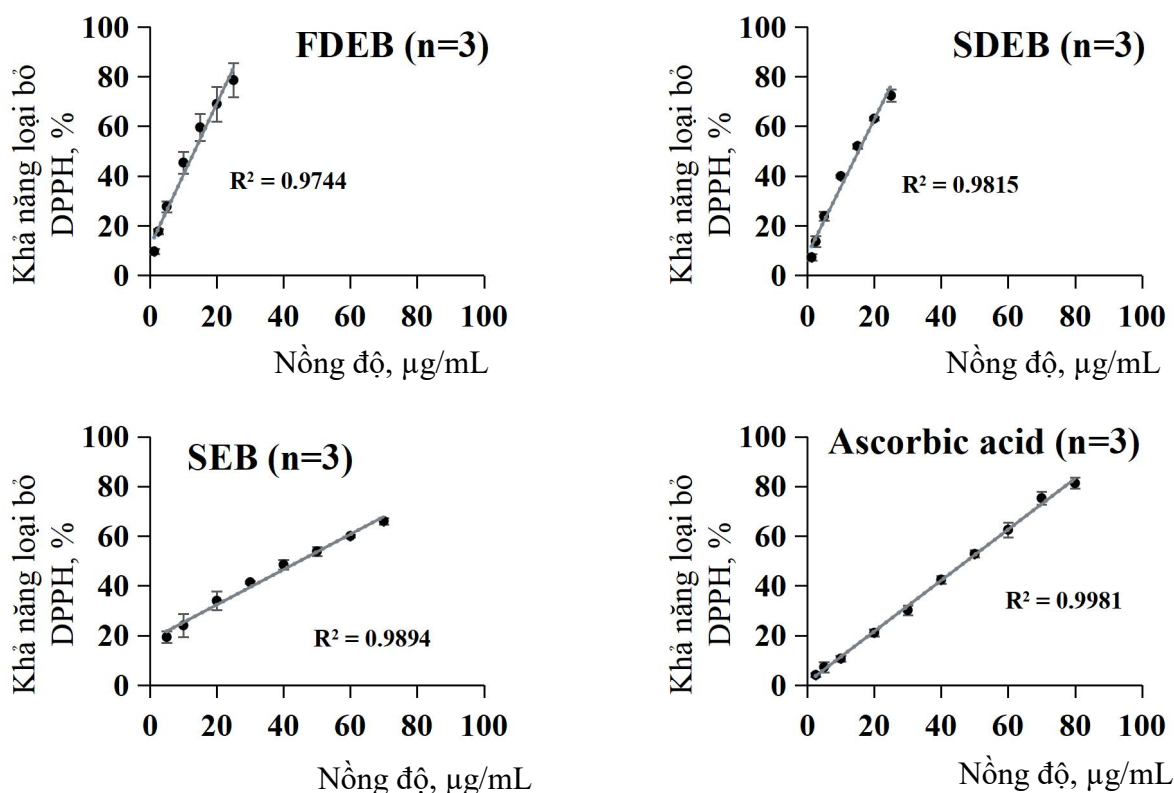
Hình 3.29. Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của bột SeNPs/GA sấy đông khô

Như vậy kết quả khảo sát cho thấy cả hai công nghệ sấy phun và sấy đông khô đều có thể chuyển hóa dung dịch SeNPs/GA thành dạng bột với độ tinh khiết cao và giữ nguyên hình thái hạt đặc trưng của SeNPs. Phân tích EDX ở cả hai phương pháp đều ghi nhận sự hiện diện của ba nguyên tố chính là C, O và Se, đồng thời phản ánh đặc trưng khoáng tự nhiên của GA qua sự xuất hiện của K và Ca [173]. Tuy nhiên, mẫu thu được bằng sấy đông khô có hàm lượng Se cao hơn, cho thấy nguy cơ nhiễm tạp thấp hơn so với sấy phun. Ảnh TEM cho thấy kích thước hạt SeNPs đều tăng khi chuyển từ dạng dung dịch sang dạng bột, phù hợp với các nghiên cứu trước đây.

3.10. Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của vật liệu SeNPs

Hoạt tính kháng oxy hóa của vật liệu SeNPs/GA được đánh giá bằng thuốc thử DPPH, dựa trên khả năng cho electron hoặc nguyên tử hydro của chất chống oxy hóa nhằm khử gốc tự do DPPH[•]. Khi phản ứng xảy ra, dung dịch DPPH chuyển từ màu tím đặc trưng sang vàng nhạt, tương ứng với sự suy giảm mật độ quang tại bước sóng 517 nm. Kết quả hình 3.30 cho thấy khả năng bắt giữ gốc DPPH của các mẫu SeNPs tăng theo nồng độ trong khoảng khảo sát và tuân theo xu hướng tuyến tính rõ rệt. Hệ số tương quan R^2 đạt giá trị cao (0,9744–0,9894) đối với các mẫu SeNPs và 0,9981 đối với axit ascorbic), chứng tỏ mô hình hồi quy tuyến tính phù hợp tốt với dữ liệu thực nghiệm và có thể sử dụng để xác định giá trị IC_{50} một cách đáng tin cậy. Giá trị IC_{50} được tính từ phương trình hồi quy, thể hiện nồng độ cần thiết để ức chế 50% gốc

tự do DPPH và được sử dụng làm chỉ tiêu định lượng để so sánh hiệu quả kháng oxy hóa giữa các mẫu.



Hình 3.30. Hoạt tính kháng gốc tự do DPPH của các mẫu thử SeNPs theo nồng độ.

Kết quả tính toán bảng 3.9 cho thấy các mẫu SeNPs dạng bột FDEB và SDEB có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh với giá trị IC_{50} lần lượt là $13,48 \pm 1,68 \mu\text{g/mL}$ và $15,35 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$. Trong khi đó, mẫu SeNPs dạng dung dịch (SEB) có IC_{50} cao hơn đáng kể ($44,91 \pm 1,47 \mu\text{g/mL}$), phản ánh hiệu lực bắt gốc tự do yếu hơn. So sánh với chất chuẩn axit ascorbic ($IC_{50} = 8,41 \pm 0,31 \mu\text{g/mL}$) cho thấy hoạt tính của FDEB và SDEB chỉ thấp hơn khoảng 1,6–1,8 lần, chứng minh rằng các vật liệu SeNPs dạng bột có khả năng kháng oxy hóa tương đối mạnh và tiệm cận với chất chống oxy hóa điển hình.

Bảng 3.9. Giá trị IC_{50} của các mẫu thử SeNPs và axit ascorbic

Mẫu thử	FDEB	SDEB	SEB	axit ascorbic
IC_{50} (μg/ml)	$13,48 \pm 1,68$	$15,35 \pm 0,18$	$44,91 \pm 1,47$	$8,41 \pm 0,31$

Phân tích thống kê bằng kiểm định t cho thấy sự khác biệt giữa hai mẫu FDEB và SDEB không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), cho thấy phương pháp xử lý bức xạ không làm thay đổi đáng kể bản chất hoạt tính kháng oxy hóa của vật liệu. Ngược lại, sự khác biệt giữa các mẫu dạng bột và mẫu dạng dung dịch có ý nghĩa thống kê rõ rệt ($p < 0,05$), chứng tỏ trạng thái tồn tại và mức độ phân tán của hạt nano ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả bắt gốc tự do.

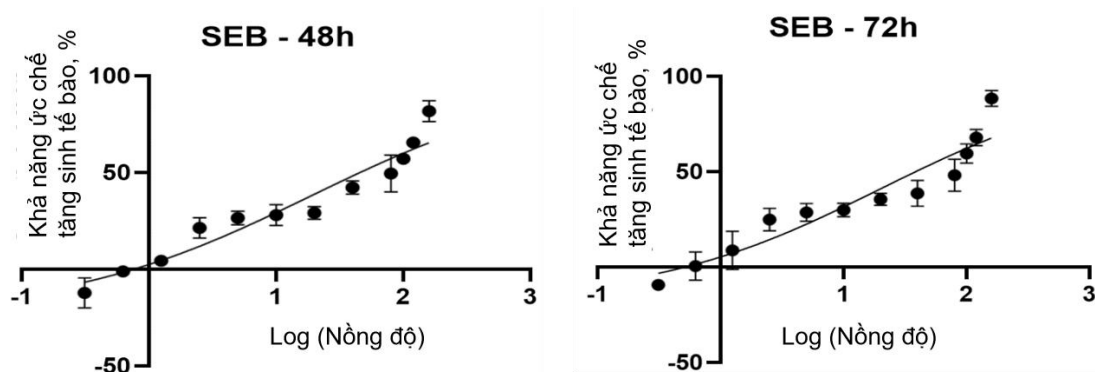
Về cơ chế, hoạt tính kháng oxy hóa của SeNPs có thể liên quan đến khả năng chuyển electron của lõi Se nguyên tố (Se^0) trên bề mặt hạt nano. Kích thước nano với tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích lớn tạo điều kiện tăng số lượng vị trí hoạt tính tiếp xúc với gốc tự do. Đối với mẫu dạng dung dịch, sự kết tụ hạt hoặc hiện tượng che chắn bề mặt bởi môi trường phân tán có thể làm giảm khả năng tiếp xúc trực tiếp giữa bề mặt SeNPs và DPPH $\cdot$, dẫn đến giảm hiệu suất khử gốc tự do. Ngoài ra, lớp ổn định GA có thể góp phần hỗ trợ cơ chế cho hydrogen hoặc tạo môi trường phân tán thuận lợi, qua đó nâng cao hiệu quả chống oxy hóa của vật liệu.

Kích thước được biết đến là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hoạt tính kháng oxy hóa, theo đó hạt SeNPs có kích thước càng nhỏ cho tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích cao hơn dẫn đến hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh trong nhiều nghiên cứu [15, 174]. Giá trị IC_{50} của các SeNPs trong nghiên cứu này cao hơn rất nhiều so với IC_{50} (1000-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) của SeNPs (kích thước trung bình 34.9nm) cũng sử dụng GA làm chất ổn định nhưng được tổng hợp bằng phương pháp hóa học được báo cáo bởi Kong và cộng sự [101]. Qua đó cho thấy, bên cạnh kích thước hạt thì phương pháp tổng hợp cũng ảnh hưởng đến hoạt tính kháng oxy hóa của hạt SeNPs và phương pháp vật lý cho thấy tiềm năng tổng hợp hạt SeNPs có khả năng loại bỏ gốc tự do cao hơn so với các phương pháp tổng hợp còn lại. Nghiên cứu của luận án này cho thấy việc tổng hợp bằng phương pháp vật lý đã cải thiện đáng kể hoạt tính kháng oxy hóa của hạt SeNPs sử dụng GA làm chất ổn định.

Năm 2018, sử dụng polysaccharides pectin (PEC) là chất ổn định bề mặt với tỷ lệ phối trộn $\text{Se}/\text{PEC} = 1:2$, nhà nghiên cứu đã tổng hợp được SeNPs có kích thước 41 nm nhưng giá trị IC_{50} trong thử nghiệm DPPH khoảng 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ [175]. Cùng năm, một nghiên cứu khác đã sử dụng CTS làm chất ổn định để tổng hợp hóa học các hạt

SeNPs có kích thước trung bình 50nm và giá trị IC_{50} khi đánh giá hoạt tính kháng gốc tự do DPPH trong khoảng 23-31 $\mu\text{g/ml}$ [163]. Tuy nhiên, việc sử dụng CTS làm chất ổn định gặp hạn chế khi phải bổ sung acid acetic để làm tăng tính tan trong nước. Các phân tích trên cho thấy, việc tổng hợp bằng phương pháp vật lý với GA làm chất ổn định bề mặt đã tạo ra những chế phẩm SeNPs có khả năng kháng oxi hóa mạnh và tiềm năng ứng dụng cao.

3.11. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào MCF-7 của SeNPs dạng dung dịch bằng thí nghiệm *in vitro*.

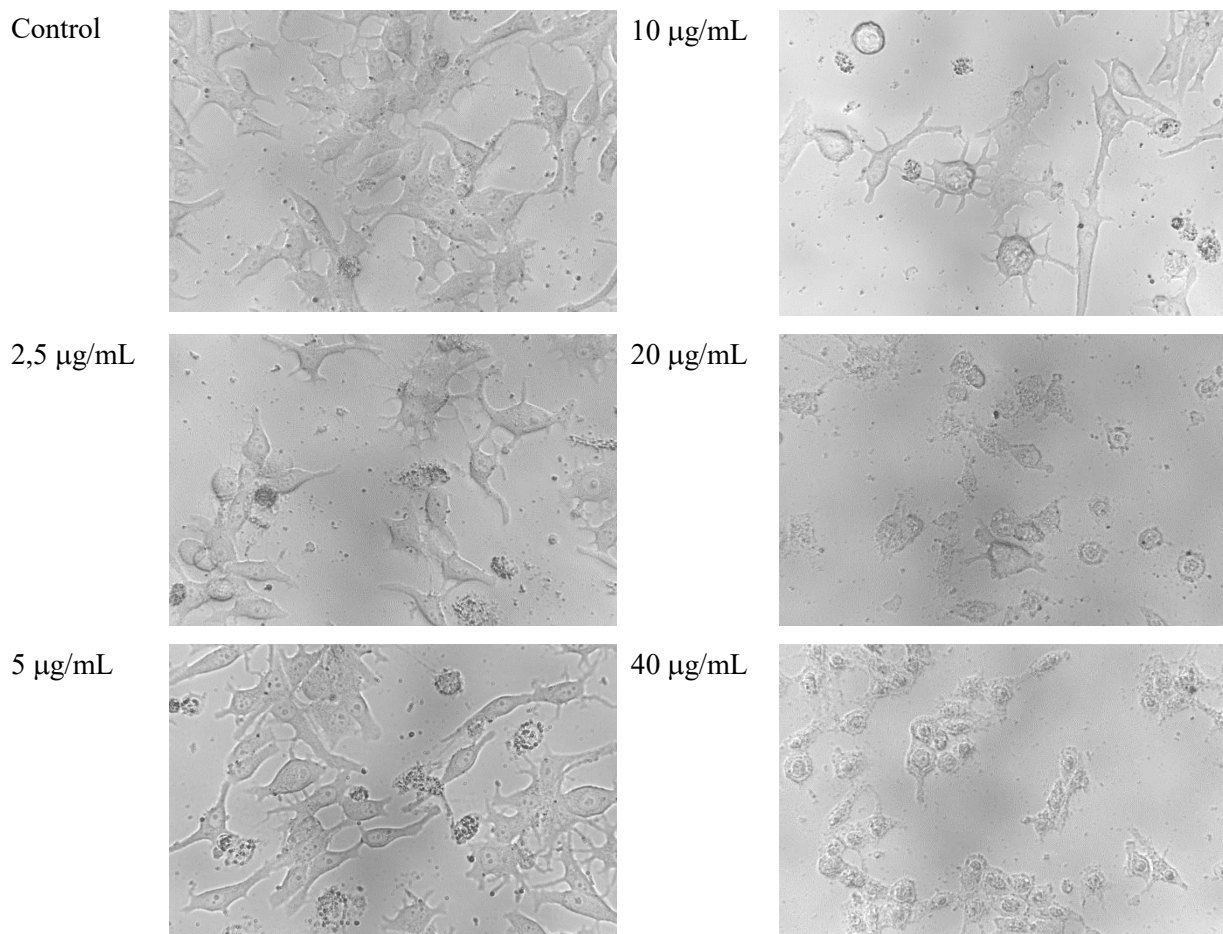


Hình 3.31. Tương quan giữa sự ức chế tăng trưởng theo nồng độ của mẫu SeNPs dạng dung dịch trên dòng tế ung thư vú MCF7 ở thời điểm khảo sát 48 giờ (A) và 72 giờ (B).

Phương pháp MTT được sử dụng để đánh giá hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của SeNPs dạng dung dịch (SEB) trên dòng tế bào ung thư vú MCF7. Hình 3.31 thể hiện tác động ức chế của SEB ở các nồng độ khác nhau đến tế bào MCF7 ở hai thời điểm khảo sát là 48 và 72 giờ. Kết quả cho thấy tác động ức chế tế bào ung thư tăng dần theo nồng độ.

Tuy nhiên, với cùng nồng độ, độc tính của SeNPs dạng dung dịch đến dòng tế bào MCF7 không thay đổi đáng kể theo thời gian qua hai thời điểm 48 và 72 giờ.

Hình 3.32 mô tả ảnh hưởng của các mẫu SeNPs dạng dung dịch đến hình thái tế bào MCF7 sau 48 giờ phơi nhiễm. Từ nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$ trở xuống, mẫu SeNPs không có tác động đáng kể đến hình thái tế bào MCF7. Từ nồng độ 40 $\mu\text{g/mL}$, các mẫu SeNPs tác động làm thay đổi hình dạng tế bào, tác động tăng dần theo nồng độ.



Hình 3.32. Tác động theo nồng độ của mẫu thử SeNPs dạng dung dịch đến hình thái tế bào ung thư vú MCF-7

Giá trị IC_{50} của các mẫu SeNPs dạng dung dịch (SEB) được xác định trên hai dòng tế bào ung thư vú MCF-7 và tế bào thường BJ-5ta tại hai thời điểm 48 và 72 giờ được trình bày trong bảng 3.10. Kết quả xử lý thống kê (trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, $n = 3$) cho thấy giá trị IC_{50} của SEB đối với dòng MCF-7 lần lượt là $52,55 \pm 19,13 \mu\text{g/mL}$ và $39,74 \pm 8,56 \mu\text{g/mL}$ tại các thời điểm 48 và 72 giờ. Sự giảm nhẹ giá trị IC_{50} theo thời gian cho thấy rằng hiệu quả ức chế tăng sinh tế bào MCF-7 của SEB có xu hướng tăng dần khi kéo dài thời gian tiếp xúc.

Bảng 3.10. Giá trị IC_{50} của các mẫu SeNPs dạng dung dịch trên dòng tế bào MCF7 và dòng tế bào BJ-5ta ở hai thời điểm khảo sát 48 giờ và 72 giờ

SEB	48 giờ	72 giờ
IC_{50} MCF7($\mu\text{g/mL}$)	$52,55 \pm 19,13$	$39,74 \pm 8,56$
IC_{50} BJ-5ta($\mu\text{g/mL}$)	$50,05 \pm 5,41$	$53,46 \pm 2,79$
Hệ số chọn lọc (SI)	0,95	1,35

Đối với dòng tế bào bình thường BJ-5ta, giá trị IC_{50} của mẫu SEB lần lượt là $50,05 \pm 5,41 \mu\text{g/mL}$ tại 48 giờ và $53,46 \pm 2,79 \mu\text{g/mL}$ tại 72 giờ. Kết quả xử lý thống kê (t-test, $p > 0,05$) cho thấy sự khác biệt giữa hai thời điểm không có ý nghĩa thống kê, chứng tỏ mức độ nhạy cảm của tế bào thường đối với SEB không thay đổi đáng kể khi kéo dài thời gian tiếp xúc. Điều này chứng tỏ rằng SEB duy trì mức độc tính tương đối ổn định trên tế bào bình thường trong khoảng thời gian khảo sát, không có xu hướng tăng độc theo thời gian như quan sát trên dòng tế bào ung thư MCF-7.

Hệ số chọn lọc SI được tính toán lần lượt là 0,95 và 1,35 tại 48 giờ và 72 giờ, đều nhỏ hơn 2, cho thấy mẫu SEB không thể hiện tính chọn lọc cao giữa tế bào ung thư và tế bào bình thường. Điều này hàm ý rằng ở dạng dung dịch, SeNPs chưa đạt được khả năng hướng đích chọn lọc rõ rệt đối với dòng tế bào ung thư MCF-7.

Bảng 3.11. Tác động ức chế tăng sinh tế bào của hạt SeNPs theo các phương pháp điều chế khác nhau đến dòng tế bào MCF7

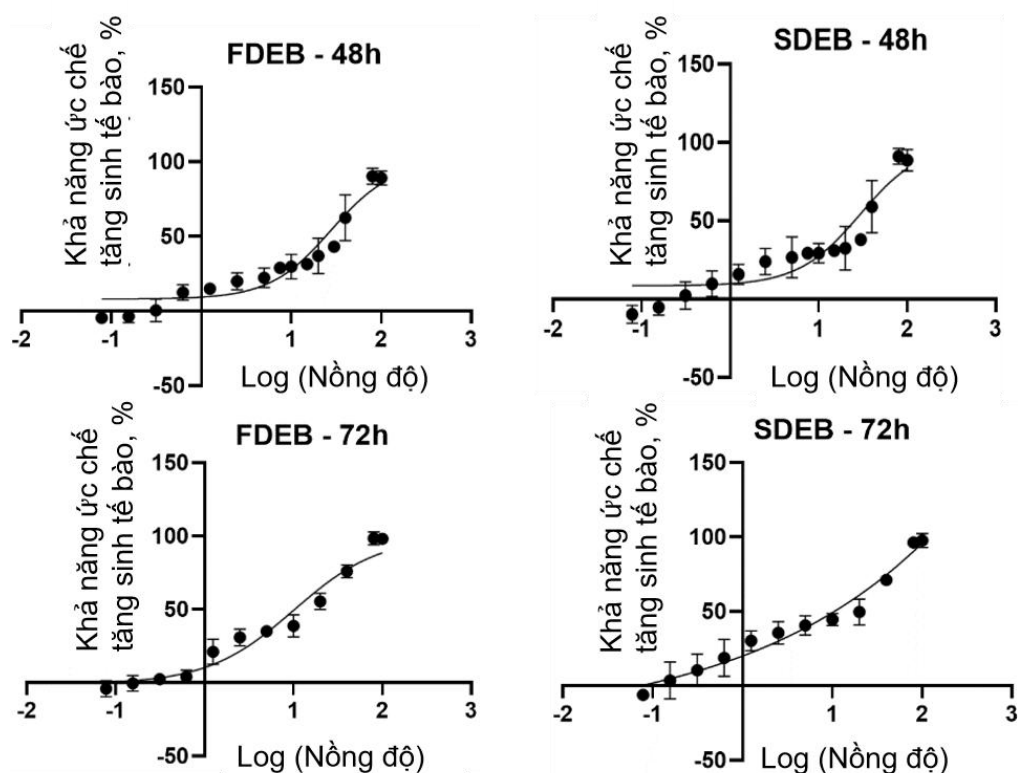
Phương pháp điều chế SeNPs	Kích thước hạt (nm)	Thế Zeta (mV)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Tài liệu tham khảo
Vật lý (laser ablation)	100 (70-120)	-15,5	5-10 (48 giờ)	[120]
Hóa học (Na_2SeO_3 , axit ascorbic, folic acid)	70 (40-90)	-45	2,5 (48 giờ)	[176]
Hóa học (Na_2SeO_3 , axit ascorbic, PHA)	100	+38	1,2 (72 giờ)	[177]
Hóa học (Na_2SeO_3 , axit ascorbic, PVP)	100	-7	4 (72 giờ)	
Hóa học (Na_2SeO_3 , axit ascorbic, TW80)	50	-8	3,9 (72 giờ)	
Sinh học (<i>Acinetobacter sp. SW30</i> , Na_2SeO_3)	94	+10	40-60 (24 giờ)	[178]
Hóa học (Na_2SeO_3 , NaBH_4)	97	-13	40-60 (24h)	

Giá trị IC_{50} của mẫu SeNPs dạng dung dịch trong nghiên cứu này lớn hơn so với trong các nghiên cứu khác mặc dù kích thước hạt nano tổng hợp được nhỏ hơn nhiều

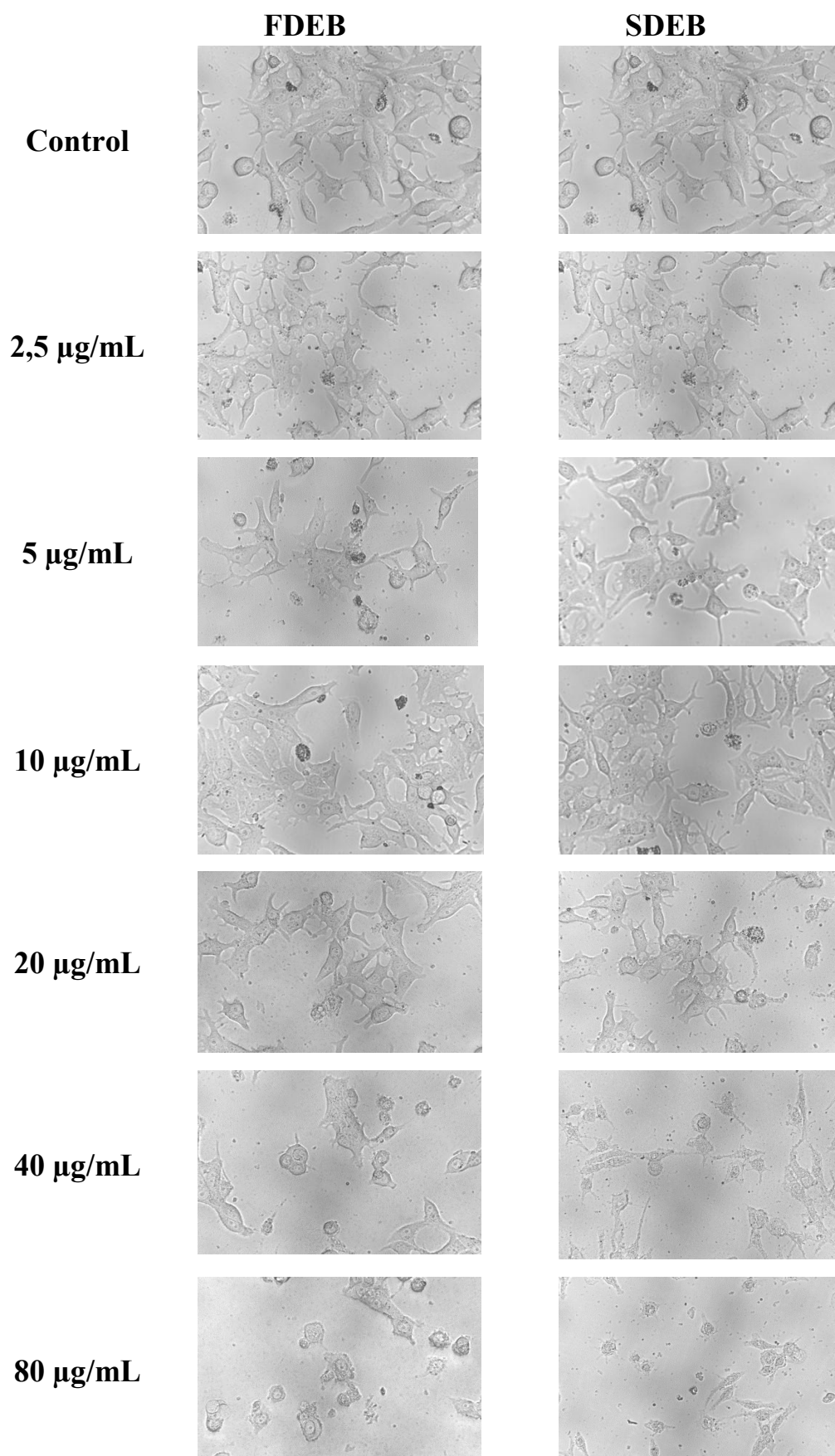
lần (bảng 3.10). Điều này có thể liên quan đến việc SeNPs được bảo quản dưới dạng lỏng theo thời gian sẽ dần kết tụ lại thành những hạt có kích thước lớn hơn [15] do đó bảo quản dưới dạng rắn cần được bổ sung vào quy trình điều chế hạt SeNPs như là một giải pháp phù hợp để duy trì kích thước hạt.

3.12. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào MCF-7 của SeNPs dạng bột bằng thí nghiệm *in vitro*

Hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào trên dòng tế bào MCF7 của các loại hạt SeNPs bảo quản dưới dạng bột được đánh giá bằng phương pháp MTT. Kết quả cho thấy tác động ức chế tế bào ung thư tăng dần theo nồng độ SeNPs (hình 3.33).



Hình 3.33. Tương quan giữa sự ức chế tăng trưởng và nồng độ của các mẫu SeNPs trên MCF7 ở thời điểm khảo sát 48 giờ (A,B) và 72 giờ (C, D).



Hình 3.34. Tác động theo nồng độ của các mẫu thử SeNPs dạng bột đến hình thái tế bào MCF7

Hình 3.34 thể hiện ảnh hưởng của các mẫu thử SeNPs đến hình thái tế bào MCF7 sau 48 giờ phơi nhiễm. Từ nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$ trở xuống, các hạt SeNPs không có tác động đáng kể đến hình thái tế bào MCF7. Từ nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$, các mẫu SeNPs tác động làm thay đổi hình dạng tế bào, màng tế bào nhăn mắt liên lục, tác động tăng dần theo nồng độ. Kết quả quan sát hình thái phù hợp với kết quả của thử nghiệm đo độc tính bằng phương pháp MTT. Các đặc điểm hình thái của tế bào dưới tác động của các mẫu SeNPs sẽ là cơ sở cho những nghiên cứu khảo sát cơ chế ức chế tăng sinh tế bào tiếp theo.

Mức độ ức chế tăng sinh tế bào của các chế phẩm SeNPs dạng bột (FDEB và SDEB) được xác định thông qua giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) là nồng độ mẫu thử gây ức chế 50% khả năng sống sót của tế bào ung thư MCF-7. Giá trị IC_{50} trung bình ($\pm$ độ lệch chuẩn, $n = 3$) của hai mẫu được trình bày trong bảng 3.12.

Bảng 3.12. Giá trị IC_{50} của các mẫu thử SeNPs dạng bột trên dòng tế bào MCF7 ở hai thời điểm khảo sát 48 và 72 giờ

<i>Mẫu thử</i>	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	48 giờ	72 giờ
FDEB	$27,70 \pm 8,00$	$13,23 \pm 2,73$
SDEB	$29,37 \pm 10,76$	$13,09 \pm 3,18$

Kết quả phân tích thống kê bằng kiểm định t độc lập cho thấy tại thời điểm 48 giờ, sự khác biệt giữa hai mẫu không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), chứng tỏ hiệu quả ức chế tăng sinh tế bào MCF-7 của FDEB và SDEB là không có sự khác biệt. Ở cả hai mẫu, giá trị IC_{50} đều giảm đáng kể khi thời gian xử lý tăng từ 48 lên 72 giờ, cho thấy hiệu quả ức chế tế bào tăng theo thời gian tiếp xúc. Cụ thể, giá trị IC_{50} của mẫu FDEB giảm từ $27,70 \pm 8,00$ $\mu\text{g/mL}$ (48 giờ) xuống $13,23 \pm 2,73$ $\mu\text{g/mL}$ (72 giờ), và mẫu SDEB giảm từ $29,37 \pm 10,76$ $\mu\text{g/mL}$ xuống $13,09 \pm 3,18$ $\mu\text{g/mL}$.

Kết quả này chứng tỏ sự ức chế tăng sinh tế bào MCF-7 của SeNPs phụ thuộc thời gian phơi nhiễm, hàm lượng Se chỉ cần tích tụ đến một ngưỡng nhất định sẽ ức

chế tăng sinh tế bào MCF-7 và phương pháp điều chế bột SeNPs (sấy phun hay sấy đông khô) không tạo ra khác biệt rõ rệt về cơ chế ức chế tăng sinh tế bào.

Bảng 3.13. Giá trị IC_{50} của các mẫu thử SeNPs dạng bột trên dòng tế bào BJ-5ta ở hai thời điểm khảo sát 48 và 72 giờ

<i>Mẫu thử</i>	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	48 giờ	72 giờ
FDEB	$22,57 \pm 2,59$	$11,02 \pm 6,08$
SDEB	$18,13 \pm 7,33$	$8,97 \pm 6,18$

Để đánh giá tác động chọn lọc của các mẫu thử SeNPs dạng bột, giá trị IC_{50} cũng được xác định cho dòng tế bào thường BJ-5ta. Kết quả cho thấy dòng tế bào thường BJ-5ta cũng chịu tác động mạnh bởi các mẫu SeNPs dạng bột theo thời gian, minh chứng là giá trị IC_{50} ở thời điểm 72 giờ giảm gần một nửa so với ở thời điểm 48 giờ (Bảng 3.13). Như vậy, các hạt SeNPs dạng bột sẽ tăng khả năng ức chế tăng sinh tế bào thường khi tiếp xúc trong thời gian dài.

Hệ số chọn lọc (SI) thường được sử dụng để đánh giá khả năng ức chế tăng sinh tế bào chọn lọc của một chất trên dòng tế bào ung thư so với dòng tế bào thường. Theo Tugba và cộng sự, $SI > 2$ cho thấy hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của các hợp chất chọn lọc trên dòng tế bào ung thư [179]. Giá trị SI của hai mẫu SeNPs dạng bột được trình bày trong Bảng 3.14, cho thấy ở cả hai thời điểm khảo sát, SI đều < 1 (FDEB: 0,81–0,83; SDEB: 0,62–0,69). Điều này chứng tỏ các mẫu SeNPs dạng bột không thể hiện hoạt tính chọn lọc đáng kể đối với dòng tế bào ung thư MCF-7, mà độc tính tác động tương đối trên cả tế bào ung thư và tế bào bình thường.

Kết quả này cho thấy rằng dạng bột của SeNPs, mặc dù có khả năng ức chế mạnh hơn theo thời gian, nhưng chưa đạt được tính hướng đích sinh học rõ rệt, cần được tiếp tục tối ưu về kích thước hạt, phân bố, cấu trúc bề mặt và khả năng dẫn thuốc để nâng cao hiệu quả chọn lọc trong ứng dụng y sinh học

Bảng 3.14. Hệ số chọn lọc của các mẫu thử SeNPs dạng bột

Mẫu thử	SI (48 giờ)	SI (72 giờ)
FDEB	0,81	0,83
SDEB	0,62	0,69

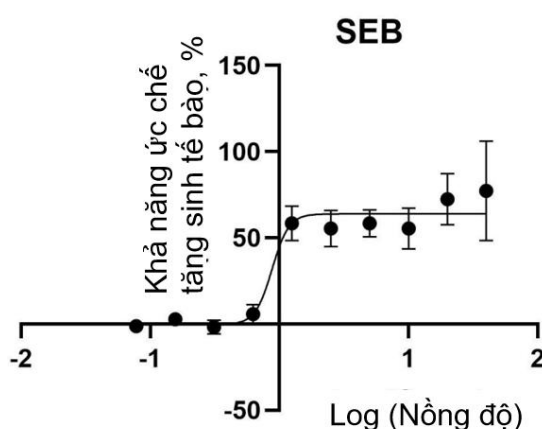
Bảng 3.15 tổng kết một số nghiên cứu ức chế tăng sinh tế bào ung thư vú MCF7 của các hạt nano kim loại khác. Nhìn chung, tác động ức chế tăng sinh tế bào của 2 mẫu FDEB, SDEB mạnh hơn so với các hạt nano chứa kim loại đồng (CuNPs) và bạc (AgNPs) được tổng hợp bằng phương pháp sinh học. Trong khi kích thước của hạt SeNPs trong nghiên cứu của luận án này không nhỏ hơn so với các hạt nano kim loại trên, độc tính trên tế bào ung thư mạnh hơn có lẽ đến từ việc sử dụng GA là chất ổn định bề mặt giúp tăng hấp thu vào tế bào hoặc cơ chế gây chết của các hạt SeNPs mạnh hơn các kim loại khác. Bên cạnh đó, các hạt CuNPs, AgNPs được điều chế bằng phương pháp hóa học cũng như các hạt nano chứa kim loại vàng (AuNPs) lại cho thấy hiệu quả ức chế tăng sinh tế bào trên dòng tế bào MCF7 mạnh hơn so với các hạt SeNPs trong nghiên cứu của luận án này. Dù vậy, các dạng hạt nano kim loại chứa Cu, Ag, Au có thể tạo ra các stress oxy hóa và tạo ra các gốc oxy hóa tự do (ROS- Reactive Oxygen Species) ức chế tăng sinh trên các tế bào thường. Trong khi đó, Se lại là nguyên tố tham gia cấu trúc các enzyme kháng oxy hóa duy trì thế oxy khử trong tế bào [26]. Các phân tích trên cho thấy, SeNPs vẫn giữ vị thế quan trọng trong việc ứng dụng nano trong điều trị ung thư vú, quan trọng là phát triển được các hạt SeNPs sao cho ở liều ức chế tế bào ung thư vú (MCF7) cũng là liều hỗ trợ khả năng kháng oxy hóa trong các tế bào thường.

Bảng 3.15. Tác động của các loại hạt nano đến dòng tế bào MCF7

Hạt nano	Phương pháp điều chế	Kích thước hạt (nm)	IC ₅₀ (µg/mL)	Tài liệu tham khảo
FDEB	Chùm tia điện tử/ đông khô (Freeze drying)	~ 30	13,23 ± 2,73 (72 giờ)	Nghiên cứu này
SDEB	Chùm tia điện tử / Sấy phun (Spray drying)	~ 30	13,09 ± 3,18 (72 giờ)	Nghiên cứu này
CuONPs	Sinh học (dịch chiết từ cây	33,2 ± 6,5	30-40 (72 giờ)	[180]

	<i>Annona muricata</i> , Cu(NO ₃) ₂)			
CuNPs	Hóa học (CuCl ₂ , PVP, NaBH ₄)	11-13	0,3-0,7	[181]
AgNPs	Hóa học (AgNO ₃ , sodium citrate)	13 (12-14)	9,86 (24 giờ)	[182]
AgNPs	Sinh học (dịch chiết từ vỏ quả cây <i>Tamarindus indica</i> , AgNO ₃)	20-52	20 (24 giờ)	[183]
AuNPs	Sinh học (HAuCl ₄ , acid lactic phân lập từ lactobacillus)	4-15	14,76 (48 giờ)	[184]
AuNPs	Hóa học (HAuCl ₄ , CTS, heat nhiệt)	3-10	14,7 (24 giờ) 5-10 (48 giờ)	[185]
AuNPs	Hóa học (HAuCl ₄ , Sodium citrate)	3-10	>30 (24 giờ)	

3.13. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào HELA của SeNPs dạng dung dịch bằng thí nghiệm *in vitro*

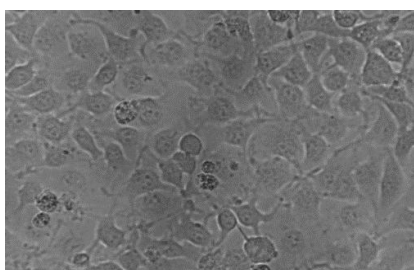


Hình 3.35. Tác động theo nồng độ của SeNPs dạng dung dịch đến dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela

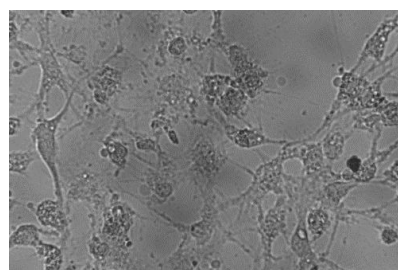
Hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào ung thư cổ tử cung của SeNPs dạng dung dịch cũng được đánh giá bằng phương pháp MTT. Kết quả cho thấy tác động ức chế tăng sinh tế bào bắt đầu từ nồng độ 0,625 $\mu\text{g/mL}$ và tăng dần theo nồng độ khảo sát (hình 3.35).

Ở độ phóng đại x400 dưới kính hiển vi quang học, hình thái học của tế bào Hela thay đổi theo nồng độ SeNPs (hình 3.36). Từ nồng độ 0,625 đến 10 $\mu\text{g/mL}$, bên trong tế bào xuất hiện nhiều bóng trắng nhỏ, màng tế bào mất liên tục. Tế bào Hela co tròn và chết đáng kể khi SeNPs có nồng độ từ 20 $\mu\text{g/mL}$ trở lên. Kết quả quan sát hình thái phù hợp với kết quả của thử nghiệm đo độc tính bằng phương pháp MTT. Các đặc điểm hình thái của cái chết tế bào dưới tác động của các mẫu SeNP sẽ là cơ sở cho những nghiên cứu khảo sát cơ chế ức chế tăng sinh tế bào tiếp theo.

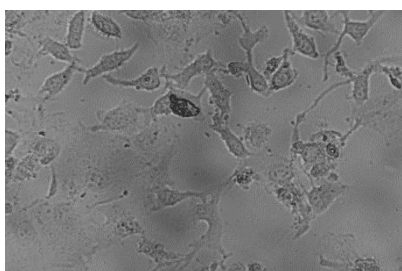
Control



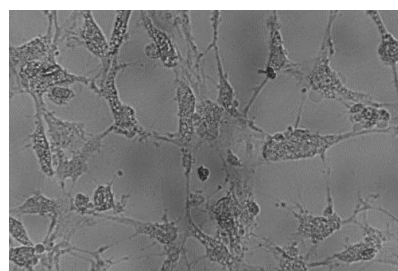
5 $\mu\text{g/mL}$



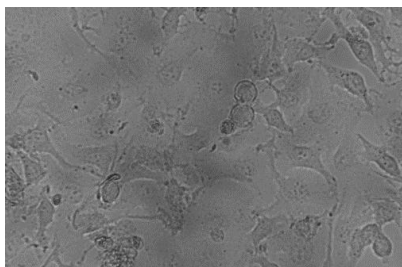
0,31 $\mu\text{g/mL}$



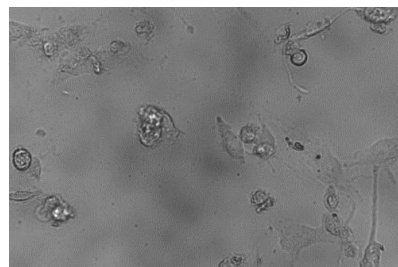
10 $\mu\text{g/mL}$

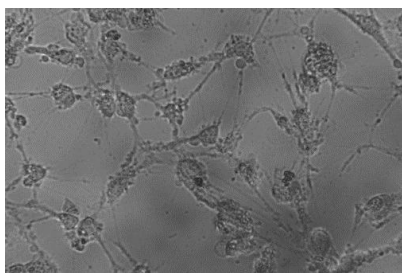
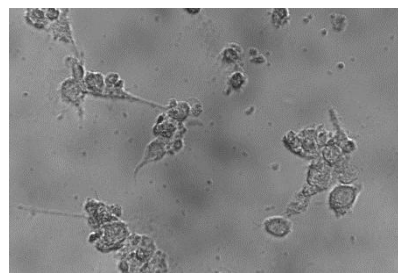
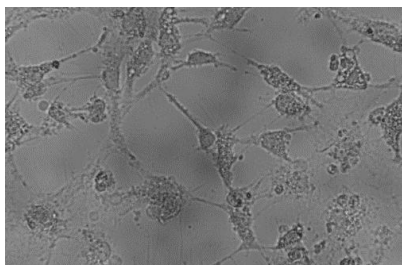


0,62 $\mu\text{g/mL}$



20 $\mu\text{g/mL}$



1,25 $\mu\text{g/mL}$ 40 $\mu\text{g/mL}$ 2,5 $\mu\text{g/mL}$ 

Hình 3.36. Tác động của SeNPs dạng dung dịch theo nồng độ đến hình thái tế bào ung thư cổ tử cung Hela.

Giá trị IC_{50} trung bình của SeNPs dạng dung dịch trên dòng tế bào Hela là 2,95 $\mu\text{g/mL}$ thấp hơn rất nhiều (khoảng 17 lần) so với dòng tế bào thường BJ-5ta 50,05 $\mu\text{g/mL}$ (bảng 3.16). Theo Indrayanto và cộng sự, giá trị $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{M}$ (tương ứng $< 7,9 \mu\text{g SeNPs/mL}$) gợi ý tiềm năng ức chế tăng sinh dòng tế bào ung thư của hợp chất [186]. Tác động chọn lọc của SeNPs dạng dung dịch được đánh giá dựa trên hệ số chọn lọc SI, tỷ số giữa IC_{50} của dòng tế bào BJ-5ta trên IC_{50} của dòng tế bào Hela. Với $\text{SI} = 17 > 2$, SeNPs dạng dung dịch thể hiện khả năng ức chế tăng sinh chọn lọc tế bào ung thư cổ tử cung Hela ở mức rất cao [179].

Bảng 3.16. Hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của SeNPs dạng dung dịch trên dòng tế bào ung thư Hela và tính chọn lọc trên dòng tế bào thường BJ-5ta

		SEB
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Hela	$2,95 \pm 3,48$
	Bj-5ta	$50,05 \pm 5,41$
SI		17,00

Bảng 3.17 tổng kết một số nghiên cứu *in vitro* khảo sát hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của các hạt SeNPs trên dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela. Giá trị IC_{50} của SeNPs dạng dung dịch trong nghiên cứu của nghiên cứu này thấp hơn so với hạt SeNPs được tổng hợp bằng phương pháp sinh học của Srivastava và cộng sự [187].

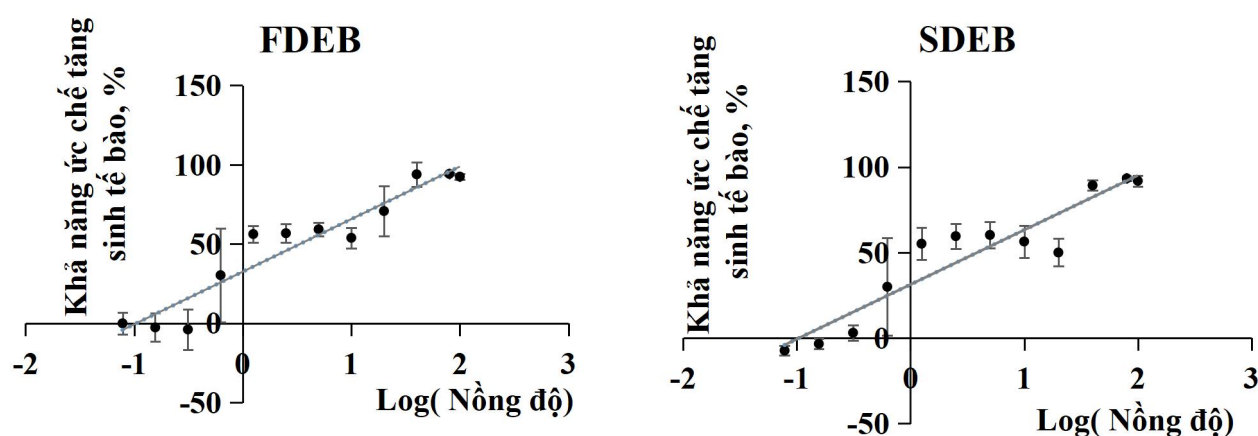
Kích thước nhỏ hơn từ phương pháp tổng hợp vật lý có thể đã làm tăng hiệu quả ức chế tăng sinh dòng tế bào Hela của SeNPs. Các chất ổn định bề mặt khác nhau cũng có thể ảnh hưởng đến hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào ung thư. Năm 2011, một nghiên cứu đã sử dụng axit sialic làm chất gắn bề mặt cho các hạt SeNPs làm tăng hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào Hela lên gấp 3 lần, thể hiện qua giá trị IC_{50} 72 giờ giữa có và không có axit siali lần lượt là 11,1 và 29,4 $\mu\text{g/mL}$ [188]. Sử dụng GA làm chất ổn định bề mặt trong nghiên cứu này đã cho thấy hiệu quả ức chế tế bào tăng đáng kể so với sử dụng axit siali. Hiệu quả này có thể liên quan đến việc GA giúp tăng hấp thu hạt SeNPs vào tế bào Hela. Như vậy, tổng hợp bằng phương pháp vật lý và ổn định bằng GA đã tạo ra chế phẩm SeNPs dạng dung dịch có tiềm năng ức chế tăng sinh tế bào chọn lọc trên dòng tế bào Hela.

Bảng 3.17. Các nghiên cứu *in vitro* đánh giá tác động của SeNPs trên dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela

Phương pháp điều chế (Vật liệu)	Kích thước (nm)	Hoạt tính ức chế IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Hiệu quả	Cơ chế tác động	Tài liệu tham khảo
Vật lý, GA	~ 30	$2,95 \pm 3,48$	SI phù hợp tiêu chuẩn NCI	Đang tìm hiểu	Nghiên cứu này
<i>Sinh học</i> (Na_2SeO_3 , <i>Idiomarina</i> sp. PR58-8)	150-350	10-20	ROS và chỉ số apoptotic tăng theo liều	Hoạt hóa con đường apoptosis phụ thuộc caspase	[187]
<i>Hóa học</i> (H_2SeO_3 , axit ascorbic, sialic acid)	50	11,1	Chết theo chương trình	Hoạt hóa caspase 3 và phân cắt PARP	[188]

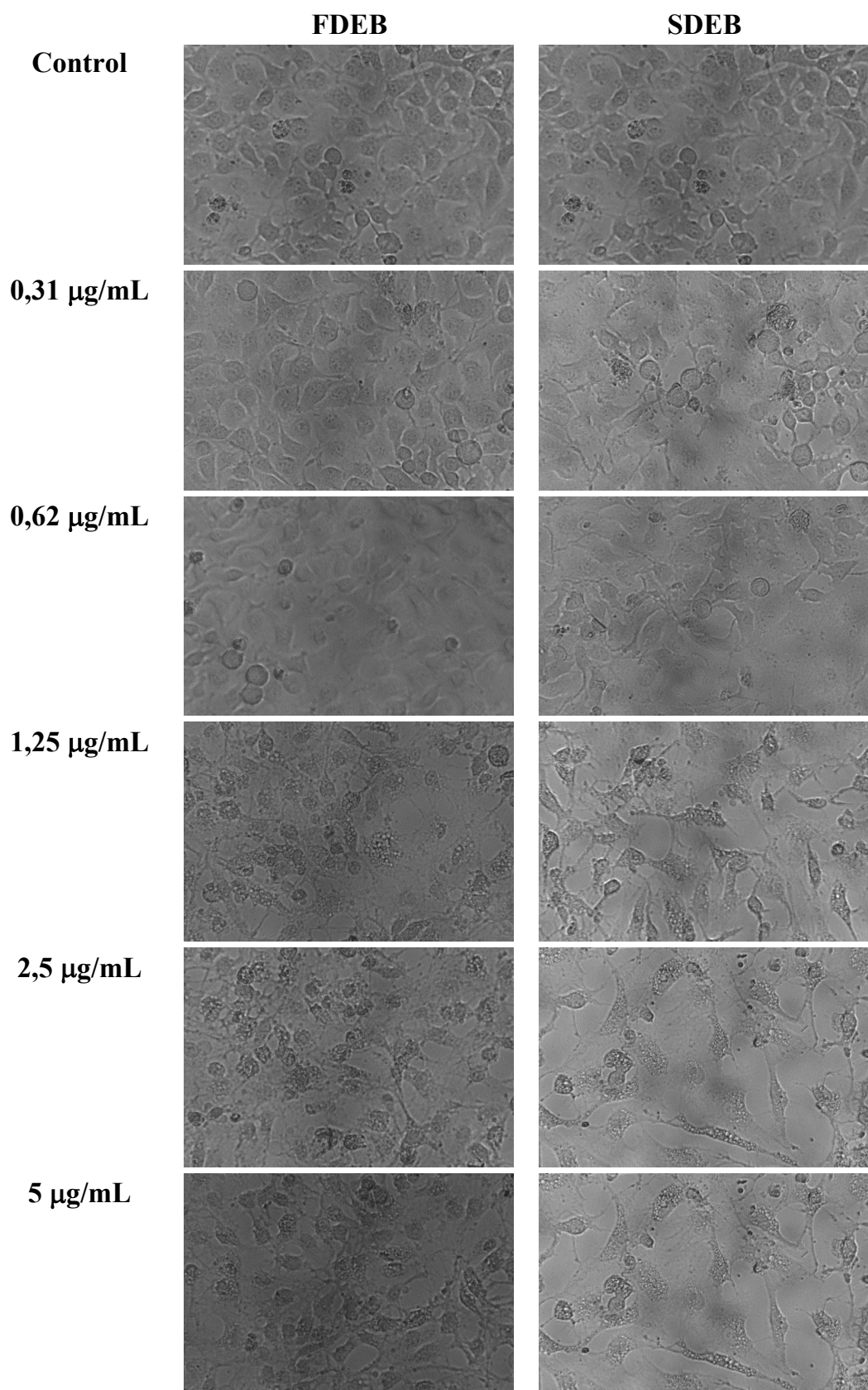
3.14. Nghiên cứu hoạt tính kháng ung thư đối với tế bào Hela của SeNPs dạng bột bằng thí nghiệm *in vitro*

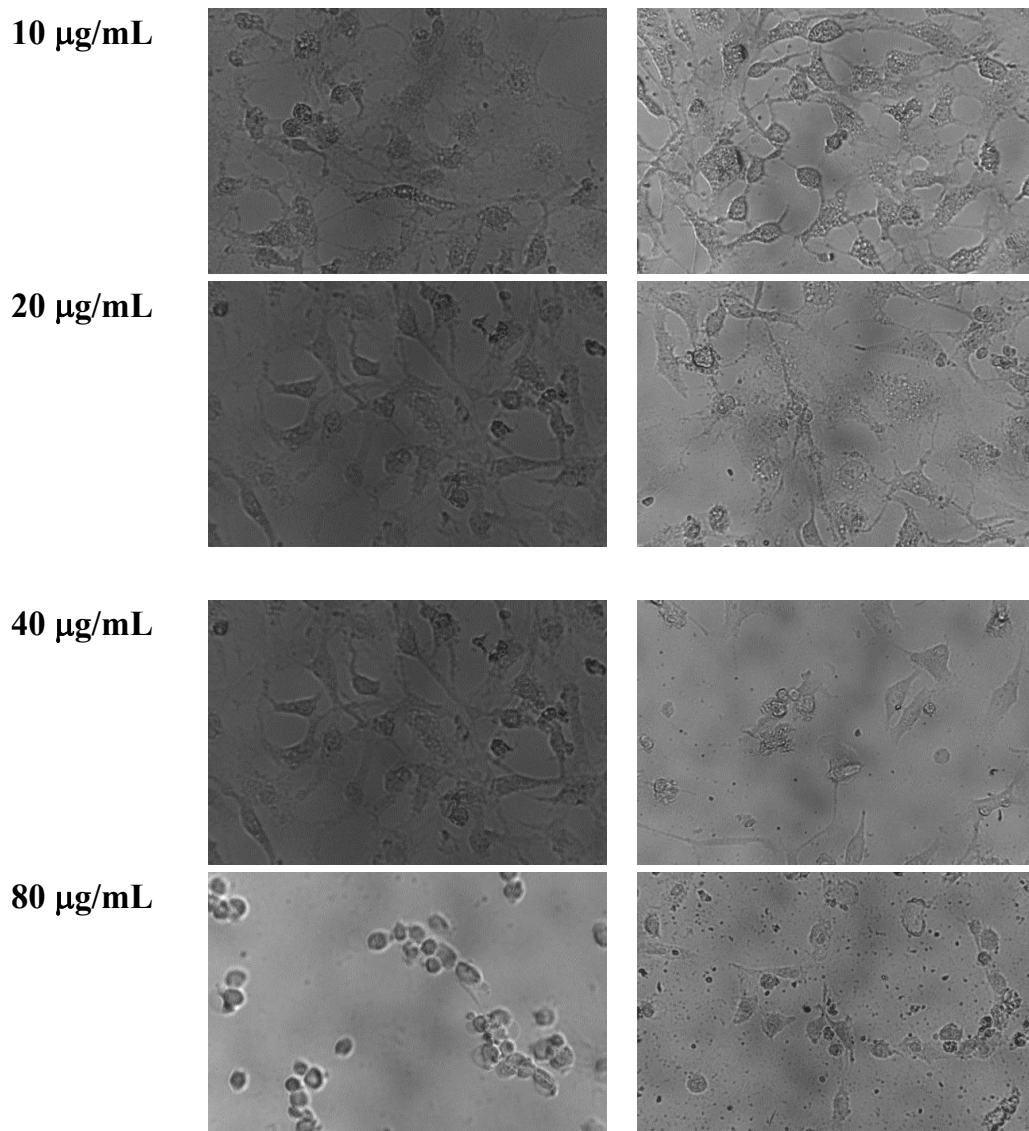
Phương pháp MTT được sử dụng để đánh giá khả năng kháng ung thư của các mẫu SeNPs dạng bột (sấy phun và sấy đông khô) được pha chế với nồng độ khác nhau (bảng 2.4). Kết quả cho thấy tác động ức chế tế bào ung thư Hela tăng dần theo nồng độ của các chế phẩm SeNPs dạng bột (hình 3.37). Các SeNPs có tác động ức chế tăng sinh tế bào bắt đầu từ nồng độ 0,625 $\mu\text{g/mL}$.



Hình 3.37. Tác động ức chế tăng sinh tế bào Hela theo nồng độ của các SeNPs dạng bột FDEB và SDEB.

Tác động của các mẫu SeNPs theo nồng độ đến dòng tế bào Hela cũng được khảo sát trên hình thái tế bào dưới kính hiển vi ở độ phóng đại x400 (hình 3.38). Từ nồng độ 1,25 đến 10 $\mu\text{g/mL}$, bên trong tế bào xuất hiện nhiều hạt nhỏ ở cả ba chế phẩm SeNPs dạng bột. Từ nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$, các mẫu SeNPs tác động làm hình thái tế bào co tròn. Kết quả quan sát hình thái phù hợp với kết quả của thử nghiệm đo độc tính bằng phương pháp MTT. Các đặc điểm hình thái của cái chết tế bào dưới tác động của các mẫu SeNP sẽ là cơ sở cho những nghiên cứu khảo sát cơ chế ức chế tăng sinh tế bào tiếp theo.





Hình 3.38. Tác động của các mẫu SeNPs theo nồng độ đến hình thái tế bào ung thư cổ tử cung Hela. Độ phóng đại x400.

Giá trị IC_{50} được xác định để đánh giá tiềm năng và so sánh hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của các mẫu SeNPs trên dòng tế bào ung thư Hela và được trình bày trong bảng 3.18.

Bảng 3.18. Hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của các SeNPs dạng bột trên dòng tế bào ung thư Hela và tính chọn lọc trên dòng tế bào thường BJ-5ta

		FDEB	SDEB
IC₅₀ (µg/mL)	Hela	2,78 ± 1,50	3,00 ± 2,15
	Bj-5ta	22,57 ± 2,59	18,13 ± 7,33
SI (hệ số chọn lọc)		8,12	6,04

Kết quả cho thấy cả hai mẫu FDEB và SDEB đều thể hiện khả năng ức chế tăng sinh tế bào ung thư rõ rệt, với giá trị IC_{50} ở mức thấp ($2,78\text{--}3,00\text{ }\mu\text{g/mL}$ đối với FDEB và $3,00\text{--}2,15\text{ }\mu\text{g/mL}$ đối với SDEB). Phân tích thống kê bằng kiểm định t độc lập ($p > 0,05$) cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai mẫu, chứng tỏ khả năng ức chế tăng sinh tế bào của hai chế phẩm SeNPs tương đương nhau trên dòng Hela.

Đối với dòng tế bào thường BJ-5ta, giá trị IC_{50} cao hơn đáng kể ($22,57 \pm 2,59\text{ }\mu\text{g/mL}$ đối với FDEB và $18,13 \pm 7,33\text{ }\mu\text{g/mL}$ đối với SDEB). Phép kiểm định ($p < 0,05$) khẳng định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm tế bào ung thư và tế bào thường, cho thấy các mẫu SeNPs có xu hướng tác động chọn lọc lên tế bào ung thư.

Bảng 3.19. Các nghiên cứu *in vitro* đánh giá tác động của SeNPs trên dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela

Phương pháp điều chế (Vật liệu)	Kích thước (nm)	Hoạt tính ức chế IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Hiệu quả	Tài liệu tham khảo
Chùm tia điện tử/ đông khô (Freeze drying)	~ 30	$2,78 \pm 1,50$	Có tính tiêu diệt chọn lọc đối với tế bào ung thư; đạt tiêu chuẩn của NIC (viện nghiên cứu ung thư Hoa Kỳ)	Nghiên cứu này
Chùm tia điện tử/ Sấy phun (Spray drying)	~ 30	$3,00 \pm 2,15$	Có tính tiêu diệt chọn lọc đối với tế bào ung thư; đạt tiêu chuẩn của NIC	Nghiên cứu này
Hóa học (SeO_2 , axit ascorbic)	133	3,16	Dừng phân bào	[189]
Sinh học (Na_2SeO_3 , <i>Idiomarina</i> sp. PR58-8)	150-350	10-20	ROS và chỉ số apoptotic tăng theo liều	[187]

Hệ số chọn lọc SI lần lượt là 8,12 đối với FDEB và 6,04 đối với SDEB, đều lớn hơn 2 - ngưỡng được xem là biểu hiện tính chọn lọc sinh học cao [186]. Điều này chứng tỏ cả hai mẫu SeNPs dạng bột có hoạt tính kháng ung thư chọn lọc rõ rệt, trong đó FDEB thể hiện mức độ chọn lọc mạnh hơn so với SDEB.

Kết quả này chứng minh rằng sự khác biệt về quy trình tổng hợp (FDEB so với SDEB) không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng kháng ung thư, nhưng có thể tác động đến tính chọn lọc sinh học của chế phẩm SeNPs

Bảng 3.19 tổng kết một số nghiên cứu *in vitro* khảo sát hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào của các hạt SeNPs trên dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela. So với hạt SeNPs được tổng hợp bằng phương pháp sinh học của Srivastava và cộng sự, các SeNPs dạng bột trong nghiên cứu này có tác động ức chế dòng tế bào Hela cao hơn [187]. Điều này có thể do sự cải thiện đáng kể kích thước của các hạt SeNPs khi được điều chế bằng phương pháp vật lý. Khi sử dụng axit sialic làm chất ổn định bề mặt, Zheng và cộng sự đã làm tăng đáng kể hoạt tính ức chế tăng sinh dòng tế bào Hela của các hạt SeNPs tổng hợp bằng phương pháp hóa học (IC_{50} 72 giờ của SeNPs có và không có gắn thêm axit sialic tương ứng là 11,1 và 29,4 $\mu\text{g/mL}$) [188]. So với axit sialic, việc sử dụng GA làm chất ổn định bề mặt trong nghiên cứu này đã cho thấy hiệu quả ức chế tăng sinh tế bào đáng kể. Hiệu quả này có thể liên quan đến việc GA giúp tăng hấp thu hạt SeNPs vào tế bào Hela. Trong nghiên cứu của Luo và cộng sự, hạt SeNPs tổng hợp bằng phương pháp hóa học ức chế tăng sinh tế bào đáng kể trên dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela (IC_{50} 24 h = 3,16 $\mu\text{g/mL}$), nhưng quá trình điều chế không sử dụng chất ổn định bề mặt nên hạt SeNPs phải được sử dụng ngay sau khi tổng hợp, dẫn đến giới hạn tiềm năng ứng dụng [189]. Các phân tích trên cho thấy việc tổng hợp bằng phương pháp vật lý ổn định bằng GA và bảo quản dưới dạng bột tạo ra nhiều ưu điểm để khai thác tiềm năng của các SeNPs trong lĩnh vực điều trị ung thư cổ tử cung.

KẾT LUẬN CHUNG

Kết luận

Nghiên cứu chế tạo thành công SeNPs kích thước hạt 26–35 nm, dạng hình cầu bằng chiếu xạ chùm tia điện tử từ dung dịch H_2SeO_3 , đồng thời nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố: nồng độ Se^{4+} , nồng độ của chất ổn định, bề dày lớp dung dịch, liều xạ, loại chất ổn định và chọn ra các thông số phù hợp để chế tạo SeNPs như sau: Nồng độ $\text{Se}^{4+} = 1,25 \text{ mM}$; Nồng độ chất ổn định = 1% (w/v) Gum arabic; liều xạ = 10 kGy; chiều dày dung dịch = 2,5 cm. Từ đó nghiên cứu đã đề xuất được quy trình tổng hợp hạt SeNPs dạng dung dịch.

Khả năng ổn định của OCS, CTS và GA được khảo sát trong cùng điều kiện chiếu xạ đã chọn. Tất cả các hệ đều tạo hạt SeNPs hình cầu với sự khác biệt kích thước không đáng kể. Khi khảo sát độ bền theo thời gian ở 5°C và 27°C , GA cho khả năng ổn định vượt trội ở cả hai điều kiện, duy trì tốt độ bền keo, màu sắc và kích thước hạt. Điều này khẳng định GA là chất ổn định hiệu quả nhất cho hệ SeNPs

SeNPs/GA dạng bột được chế tạo bằng phương pháp sấy phun và sấy đông khô đều giữ nguyên tính chất đặc trưng của SeNPs, sản phẩm có độ tinh khiết cao với các nguyên tố chính C, O và Se cùng hàm lượng khoáng tự nhiên K, Ca. Kích thước SeNPs sau khi sấy lớn hơn so với dạng dung dịch ban đầu, nhưng vẫn dưới 100 nm.

Hoạt tính chống oxy hoá và khả năng kháng ung thư trên các dòng tế bào (Hela, MCF7 và tế bào thường) cũng được khảo sát với SeNPs dạng dung dịch và dạng bột. Đặc biệt, SeNPs/GA dạng dung dịch có hiệu lực mạnh và tính chọn lọc cao trên tế bào HeLa ($\text{IC}_{50} = 2,95 \text{ }\mu\text{g/mL}$; $\text{SI} = 17$), vượt trội so với các dạng bột tuy nhiên lại không có tính chọn lọc trên tế bào MCF7. Quan sát hiển vi ghi nhận tế bào HeLa sau xử lý bị co tròn, mất bám dính và nhân cô đặc – đặc trưng của chết theo chương trình. Các kết quả này khẳng định tính ưu việt của SeNPs/GA chế tạo bằng chiếu xạ và tiềm năng ứng dụng trong điều trị ung thư cổ tử cung.

Các kết quả của nghiên cứu đã khẳng định phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử là phương pháp tiềm năng để chế tạo SeNPs sạch, có hoạt tính sinh học phù hợp cho các ứng dụng y sinh.

Kiến nghị

Thực hiện các thử nghiệm *in vivo* và đánh giá độc tính hệ thống để hoàn thiện hồ sơ sinh học của vật liệu SeNPs/GA và phát triển quy trình chế tạo SeNPs/GA ở quy mô pilot hướng tới thương mại hóa sản phẩm.

Tiếp tục nghiên cứu mở rộng hoạt tính kháng ung thư trên đa dạng các dòng tế bào ung thư người để khẳng định phổ tác dụng và tính chọn lọc ưu việt của hệ selen nano này.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Lần đầu tiên xây dựng và hoàn thiện quy trình chế tạo SeNPs sử dụng GA làm chất ổn định bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử, quy trình này tạo ra SeNPs có độ tinh khiết cao, kích thước đồng đều và phân bố kích thước hẹp, đồng thời không cần sử dụng thêm chất khử hóa học, qua đó góp phần phát triển phương pháp tổng hợp vật liệu nano theo hướng xanh và an toàn.

Làm sáng tỏ quá trình ổn định hạt SeNPs khi sử dụng các polymer sinh học (OCS, GA, CTS). Thông qua các phương pháp phân tích đặc trưng của vật liệu như FTIR, TEM, UV-Vis và khảo sát độ bền theo thời gian, luận án chỉ ra rằng GA thể hiện hiệu quả ổn định vượt trội, nhờ khả năng hình thành lớp vỏ polymer linh động bao quanh hạt nano, từ đó tăng cường độ bền keo và hạn chế hiện tượng kết tụ của hệ SeNPs.

Cung cấp bằng chứng khoa học mới về hoạt tính kháng ung thư chọn lọc của hệ vật liệu SeNPs/GA được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử. Kết quả cho thấy SeNPs/GA ức chế mạnh sự tăng sinh của dòng tế bào ung thư cổ tử cung HeLa, đồng thời thể hiện độ chọn lọc cao đối với tế bào ung thư so với tế bào bình thường ($SI = 17$). Phát hiện này góp phần khẳng định tiềm năng ứng dụng của SeNPs/GA như một tác nhân kháng ung thư an toàn và hiệu quả.

Bổ sung cơ sở khoa học cho việc ứng dụng công nghệ chiếu xạ chùm tia điện tử trong tổng hợp vật liệu nano, chứng minh rằng phương pháp này có nhiều ưu điểm nổi bật như quy trình sạch, không sử dụng hóa chất khử độc hại, khả năng kiểm soát tốt kích thước hạt và tiềm năng mở rộng quy mô sản xuất. Kết quả của luận án góp phần định hướng phát triển các công nghệ chế tạo vật liệu nano thân thiện môi trường phục vụ các ứng dụng y sinh.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ

Tạp chí quốc tế:

1. Khanh Le Van Vu, Ngoc Thi Thanh Tran, Duy Ngoc Nguyen, Linh Thi Truc Nguyen, Tuan Dinh Phan, *Application of electron beam irradiation for selenium nanoparticles production using gum Arabic as stabilizer*. Radiation Physics and Chemistry, 2023, **211**, 111061. (WoS/Scopus;SCIE JCR 2023 IF: 2.8/Q2)
<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2023.111061>
2. Kiet Vo Anh, Truong Thi Bich Ngoc, Tran Thi Thanh Ngoc, Nguyen Ngoc Duy, Dang Thi Phuong Thao, Tran Linh Thuoc, Phan Dinh Tuan, and Vu Le Van Khanh. *Therapeutic potential of electron beam and gamma irradiation synthesized selenium nanoparticles for health care*. Materials Research Express, 2023, **10(12)**, 125005. (WoS/Scopus;SCIE JCR 2023 IF: 2.3/Q2)
<https://doi.org/10.1088/2053-1591/ad135a>

Tạp chí trong nước:

3. Le Van Khanh, Vu, Tran Thi Thanh Ngoc, Nguyen Ngoc Duy, Nguyen Thi Truc Linh, Nguyen Thi Nhu Dung, and Phan Dinh Tuan. *Comparison of selenium nanoparticles produced by electron beam, gamma irradiation and their stability*. Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học - Tập 29, số 03/2023, 130-134

Hội nghị khoa học trong nước

4. Vũ Lê Vân Khánh, Trần Thanh Ngọc, Nguyễn Ngọc Duy, Nguyễn Thị Trúc Linh, Đặng thị Phương Thảo, Mai Thanh Tùng, Phan Đình Tuấn, *So sánh độ ổn định của hạt selen nano tạo thành bằng bức xạ chùm tia điện tử và bức xạ Gamma*, Hội nghị Khoa học và Công nghệ hạt nhân toàn quốc lần thứ 5, Nha Trang, 09-11/2023.
5. Vũ Lê Vân Khánh, Trần Thanh Ngọc, Nguyễn Ngọc Duy, Nguyễn Thị Trúc Linh, Đặng thị Phương Thảo, Mai Thanh Tùng, Phan Đình Tuấn, *Tổng hợp hạt selen nano bằng phương pháp chiếu xạ chùm tia điện tử sử dụng Gôm Arabic làm chất ổn định*, Hội nghị Khoa học và Công nghệ hạt nhân toàn quốc lần thứ 5, Nha Trang, 09-11/2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brown, K.M. and J.R. Arthur, *Selenium, selenoproteins and human health: a review*. Public Health Nutrition, 2001. **4**(2b): 593-539.
2. Baliga, M.S., et al., *Selenium and GPx-1 overexpression protect mammalian cells against UV-induced DNA damage*. Biological Trace Element Research, 2007. **115**(3): 227-241.
3. Chhabria, S. and K. Desai, *Selenium nanoparticles and their applications*. Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology, 2016. **20**: 1-32.
4. Pham-Huy, L.A., H. He, and C. Pham-Huy, *Free radicals, antioxidants in disease and health*. International Journal of Biomedical Science: IJBS, 2008. **4**(2): 89.
5. Sladkov, V., A. Bolyos, and F. David, *Modified Square-Wave Cathodic Stripping Voltammetry for Determination of Se (IV) at Trace and Ultratrace Levels*. Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis, 2002. **14**(2): 128-134.
6. Hoffmann, P.R. and M.J. Berry, *The influence of selenium on immune responses*. Molecular Nutrition & Food Research, 2008. **52**(11): 1273-1280.
7. Medhe, S., et al., *Combination and Nanotech Enhancement in Antibreast Cancer Efficacy: Dietary Chemopreventing Agent*. BioNanoScience, 2013. **3**.
8. Bai, K., et al., *Preparation and antioxidant properties of selenium nanoparticles-loaded chitosan microspheres*. International Journal of Nanomedicine, 2017: 4527-4539.
9. Forootanfar, H., et al., *Antioxidant and cytotoxic effect of biologically synthesized selenium nanoparticles in comparison to selenium dioxide*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2014. **28**(1): 75-79.
10. Yazdi, M.H., et al., *Effect of Oral Supplementation of Biogenic Selenium Nanoparticles on White Blood Cell Profile of BALB/c Mice and Mice Exposed to X-ray Radiation*. Avicenna Journal of Medical Biotechnology, 2013. **5**(3): 158-67.
11. Sadeghian, S., G.A. Kojouri, and A. Mohebbi, *Nanoparticles of selenium as species with stronger physiological effects in sheep in comparison with sodium selenite*. Biological Trace Element Research, 2012. **146**(3): 302-308.
12. Skalickova, S., et al., *Selenium nanoparticles as a nutritional supplement*. Nutrition, 2017. **33**: 83-90.
13. Lin, Z.-H. and C.C. Wang, *Evidence on the size-dependent absorption spectral evolution of selenium nanoparticles*. Materials Chemistry and Physics, 2005. **92**(2-3): 591-594.
14. Shah, C.P., et al., *Acrylonitrile-induced synthesis of polyvinyl alcohol-stabilized selenium nanoparticles*. Crystal Growth and Design, 2008. **8**(11): 4159-4164.
15. Hien, N.Q., et al., *Gamma Co-60 ray irradiation synthesis of dextran stabilized selenium nanoparticles and their antioxidant activity*. Materials Chemistry and Physics, 2018. **205**: 29-34.
16. Guleria, A., A. Singh, and S. Neogy, *Probing the phase transformation of Selenium nanoparticles synthesized in the host matrix of neat room temperature ionic liquid via radiation route*. Materials Chemistry and Physics, 2017. **202**.
17. Zhang, J.S., et al., *Biological effects of a nano red elemental selenium*. Biofactors, 2001. **15**(1): 27-38.

18. Duy, N.N., et al., *Nghiên cứu chế tạo nano selen/oligochitosan bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60 và khảo sát độ ổn định*, in *Thông tin Khoa học & Công nghệ hạt nhân - Viện Năng Lượng Nguyên Tử Việt Nam*. 2019. 45.
19. Duy, N.N., et al., *Study on the preparation of selenium nanoparticles by gamma Co-60 method and investigate the stability*. Nuclear Science and Technology, 2020. **10**: 26-31.
20. Dung, N.T., et al., *Radiation synthesis of selenium nanoparticles capped with β -Glucan and its immunostimulant activity in cytoxan-induced immunosuppressed mice*. Nanomaterials, 2021. **11**(9): 2439.
21. Cancer, I.A.f.R.o., *GLOBOCAN 2022: Vietnam Fact Sheet*. 2024, International Agency for Research on Cancer.
22. Lin, H., et al., *Dietary oligochitosan supplementation enhances immune status of broilers*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2007. **87**: 153-159.
23. Guan, G., et al., *Biological Effects and Applications of Chitosan and Chito-Oligosaccharides*. Front Physiol, 2019. **10**: 516.
24. Imura, S., et al., *Effects of grain refinement on surface enhancement of thin-film chlorine-doped crystalline selenium*. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 2017. **28**(10): 7064-7069.
25. Rumble, J.R., ed., *CRC Handbook of Chemistry and Physics* ed. 104. 2023, Boca Raton, FL: CRC Press.
26. Ferro, C., H.F. Florindo, and H.A. Santos, *Selenium nanoparticles for biomedical applications: from development and characterization to therapeutics*. Advanced Healthcare Materials, 2021. **10**(16): 2100598.
27. Sohwarz, K. and C.M. Foltz, *Factor 3 activity of selenium compounds*. Journal of Biological Chemistry, 1958. **233**: 245-251.
28. Weekley, C.M. and H.H. Harris, *Which form is that? The importance of selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease*. Chemical Society Reviews, 2013. **42**(23): 8870-8894.
29. Bansal, M. and N. Kaushal, *Selenium: A Potent Natural Antioxidant*, in *Oxidative Stress Mechanisms and their Modulation*. 2014, Springer. 147-164.
30. Alehagen, U. and J. Aaseth, *Selenium and coenzyme Q10 interrelationship in cardiovascular diseases—A clinician's point of view*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2015. **31**: 157-162.
31. Dunning, B.J., et al., *Selenium and coenzyme Q10 improve the systemic redox status while reducing cardiovascular mortality in elderly population-based individuals*. Free Radical Biology and Medicine, 2023. **204**: 207-214.
32. Túy, P., *Selen và sức khỏe con người*. KH&CN Trường Đại học Hòa Bình, 2023. **10**.
33. Dos Reis, A.R., et al., *Overview of selenium deficiency and toxicity worldwide: affected areas, selenium-related health issues, and case studies*, in *Selenium in plants: Molecular, physiological, ecological and evolutionary aspects*. 2017, Springer. 209-230.
34. Stoica, A.-I., et al., *Differential pulse cathodic stripping voltammetric determination of selenium in pharmaceutical products*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2002. **30**(4): 1425-1429.
35. Calik, A., et al., *Influence of dietary vitamin E and selenium supplementation on broilers subjected to heat stress, Part II: oxidative stress, immune response, gut integrity, and intestinal microbiota*. Poultry Science, 2022. **101**(6): 101858.

36. Xu, B., et al., *Selenium intake help prevent age-related cataract formation: Evidence from NHANES 2001–2008*. Frontiers in Nutrition, 2023. **10**: 1042893.
37. Rosen, B.P. and Z. Liu, *Transport pathways for arsenic and selenium: a minireview*. Environment International, 2009. **35**(3): 512-515.
38. Rayman, M.P., *Selenium and human health*. The Lancet, 2012. **379**(9822): 1256-1268.
39. Ullah, A., et al., *Biogenic selenium nanoparticles and their anticancer effects pertaining to probiotic bacteria—A review*. Antioxidants, 2022. **11**(10): 1916.
40. Zambonino, M., et al., *Biogenic selenium nanoparticles in biomedical sciences: properties, current trends, novel opportunities and emerging challenges in theranostic nanomedicine*. Nanomaterials, 2023. **13**(3): 424.
41. Guan, B., et al., *Selenium as a pleiotropic agent for medical discovery and drug delivery*. International Journal of Nanomedicine, 2018: 7473-7490.
42. Khurana, A., et al., *Therapeutic applications of selenium nanoparticles*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019. **111**: 802-812.
43. Pi, J., et al., *Macrophage-targeted isoniazid–selenium nanoparticles promote antimicrobial immunity and synergize bactericidal destruction of tuberculosis bacilli*. Angewandte chemie, 2020. **132**(8): 3252-3260.
44. Hu, Y., et al., *Selenium nanoparticles as new strategy to potentiate $\gamma\delta$ T cell anti-tumor cytotoxicity through upregulation of tubulin- α acetylation*. Biomaterials, 2019. **222**: 119397.
45. Karthik, K., et al., *A review on selenium nanoparticles and their biomedical applications*. Biomedical Technology, 2024. **6**: 61-74.
46. Oliveira, T.P.d.S., A.K.O. Lima, and L.A. Muehlmann, *An updated review of the antimicrobial potential of selenium nanoparticles and selenium-related toxicological issues*. Future Pharmacology, 2025. **5**(1): 3.
47. Sampath, S., et al., *Selenium nanoparticles: a comprehensive examination of synthesis techniques and their diverse applications in medical research and toxicology studies*. Molecules, 2024. **29**(4): 801.
48. Huy, H.T., *Giáo trình Hóa keo*. 2000: NXB Đại Học Quốc Gia TP.HCM.
49. Verwey, E.J.W. and J.T.G. Overbeek, *Theory of the stability of lyophobic colloids*. Journal of Colloid Science, 1955. **10**(2): 224-225.
50. Derjaguin, B.V., *Theory of the stability of strongly charged lyophobic sol and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes*. Acta Physicochimica URSS, 1941. **14**: 633.
51. Agmo Hernández, V., *An overview of surface forces and the DLVO theory*. ChemTexts, 2023. **9**(4): 10.
52. Ohshima, H., *DLVO theory of colloid stability*, in *Interface Science and Technology*. 2024, Elsevier. 217-244.
53. Thiện, V.T., et al., *Ứng dụng kỹ thuật điện cao áp tạo plasma trong dung dịch tổng hợp hạt nano selen và đánh giá khả năng kháng khuẩn của vật liệu*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới, 2025(33): 101-111.
54. Wadhwani, S.A., et al., *Biogenic selenium nanoparticles: current status and future prospects*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016. **100**(6): 2555-2566.
55. Qin, X., et al., *The synthesis of selenium nanoparticles and their applications in enhancing plant stress resistance: A Review*. Nanomaterials, 2025. **15**(4): 301.

56. Bartůňek, V., et al., *Preparation of amorphous antimicrobial selenium nanoparticles stabilized by odor suppressing surfactant polysorbate 20*. Materials Letters, 2015. **152**: 207-209.
57. Dwivedi, C., et al., *An organic acid-induced synthesis and characterization of selenium nanoparticles*. Journal of Nanotechnology, 2011. **2011**(1): 651971.
58. Yin, T., et al., *Sialic acid (SA)-modified selenium nanoparticles coated with a high blood–brain barrier permeability peptide-B6 peptide for potential use in Alzheimer's disease*. Acta Biomaterialia, 2015. **25**: 172-183.
59. Kumar, S., M.S. Tomar, and A. Acharya, *Carboxylic group-induced synthesis and characterization of selenium nanoparticles and its anti-tumor potential on Dalton's lymphoma cells*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015. **126**: 546-552.
60. Gangadevi, V., et al., *Selenium nanoparticles produce a beneficial effect in psoriasis by reducing epidermal hyperproliferation and inflammation*. Journal of Nanobiotechnology, 2021. **19**(1): 101.
61. Zhang, X., et al., *Preparation and characterization of selenium nanoparticles decorated by Spirulina platensis polysaccharide*. Journal of Food Biochemistry, 2020. **44**(9): e13363.
62. Bai, K., et al., *Selenium-Nanoparticles-Loaded Chitosan/Chitoooligosaccharide Microparticles and Their Antioxidant Potential: A Chemical and In Vivo Investigation*. Pharmaceutics, 2020. **12**(1): 43.
63. Xi, G., et al., *Nucleation– dissolution– recrystallization: a new growth mechanism for t-selenium nanotubes*. Crystal Growth & Design, 2006. **6**(2): 577-582.
64. Ruiz-Fresneda, M.A., et al., *Allotropy of selenium nanoparticles: Colourful transition, synthesis, and biotechnological applications*. Microbial Biotechnology, 2023. **16**(5): 877-892.
65. Mukherjee, S., *Development of Selenium-Silica Nanocomposites By Sol-Gel Process Utilizing Three Different Reducing Agents and Its Characterization*. The Journal of Engineering Research, 2023. **20**(2): 130-137.
66. Mikhailova, E.O., *Selenium nanoparticles: green synthesis and biomedical application*. Molecules, 2023. **28**(24): 8125.
67. Lampis, S., et al., *Delayed formation of zero-valent selenium nanoparticles by Bacillus mycoides SeITE01 as a consequence of selenite reduction under aerobic conditions*. Microbial Cell Factories, 2014. **13**(1): 35.
68. Ge, M., et al., *Reduction of selenite to selenium nanoparticles by highly selenite-tolerant bacteria isolated from seleniferous soil*. Journal of Hazardous Materials, 2024. **472**: 134491.
69. Fernández-Llamas, H., et al., *Biosynthesis of selenium nanoparticles by Azoarcus sp. CIB*. Microbial cell factories, 2016. **15**(1): 109.
70. Długosz, O., et al., *Bioactive selenium nanoparticles synthesized from propolis extract and quercetin based on natural deep eutectic solvents (NDES)*. Journal of Cluster Science, 2023. **34**(3): 1401-1412.
71. El-Refaey, A.A. and S.S. Salem, *Algae materials for bionanopesticides: nanoparticles and composites*, in *Algae Materials*. 2023, Elsevier. 219-230.
72. Yang, R., et al., *Construction and characterization of Laminaria polysaccharide functionalized selenium nanoparticles based on an activity-oriented approach*. Process Biochemistry, 2024. **147**: 544-553.
73. Banerjee, M. and V.D. Rajeswari, *Green synthesis of selenium nanoparticles using leaf extract of Moringa oleifera, their biological applications, and effects on the*

- growth of Phaseolus vulgaris*:- Agricultural synthetic biotechnology for sustainable nutrition. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2024. **55**: 102978.
74. Spyridopoulou, K., et al., *Anticancer activity of biogenic selenium nanoparticles: Apoptotic and immunogenic cell death markers in colon cancer cells*. Cancers, 2021. **13**(21): 5335.
 75. Akinyelu, J., et al., *Green Synthesis and Characterization of Selenium Nanoparticles from Khaya grandifoliola, and Assessment of their Antioxidant, Antidiabetic, Anticholinesterase, and Anticancer Potential*. Nanochemistry Research, 2025. **10**(3): 313-325.
 76. Amir Mohamed Abdelhamid, L.S.A., Hoda A. Fansa, Ahmed S.G. Srag El-Din., *Microwave-Assisted Synthesis of Selenium Nanoparticles: A Comprehensive Review on Optimizing Parameters for Enhanced Bioavailability and Therapeutic Potential*. Research Journal of Pharmacy and Technology, 2025. **18**(5): 2003-2009.
 77. Jeevanantham, V., et al., *Greener microwave synthesized Se nanospheres for antioxidant, cell viability, and antibacterial effect*. Journal of Materials Research, 2023. **38**(7): 1909-1918.
 78. Mellinas, C., A. Jiménez, and M.d.C. Garrigós, *Microwave-assisted green synthesis and antioxidant activity of selenium nanoparticles using Theobroma cacao L. bean shell extract*. Molecules, 2019. **24**(22): 4048.
 79. Tışlı, B., et al., *Microwave-Assisted Synthesis of Selenium Nanoparticles: Bioactivity Insights*. ChemistrySelect, 2024. **9**(43): e202404483.
 80. Ranjitha, V. and V. Ravishankar Rai, *Actinomycetes mediated microwave-assisted synthesis of nanoselenium and its biological activities*. Particulate Science and Technology, 2023. **41**(6): 904-914.
 81. Quintana, M., et al., *Synthesis of selenium nanoparticles by pulsed laser ablation*. Applied Surface Science, 2002. **195**(1-4): 175-186.
 82. Van Overschelde, O., G. Guisbiers, and R. Snyders, *Green synthesis of selenium nanoparticles by excimer pulsed laser ablation in water*. Apl Materials, 2013. **1**(4): 042114.
 83. Theerthagiri, J., et al., *Unraveling the fundamentals of pulsed laser-assisted synthesis of nanomaterials in liquids: Applications in energy and the environment*. Applied Physics Reviews, 2022. **9**(4).
 84. Tzeng, W.-Y., et al., *Selenium nanoparticle prepared by femtosecond laser-induced plasma shock wave*. Optics Express, 2020. **28**(1): 685-694.
 85. Hién, N.Q., *Công nghệ bức xạ biến tính vật liệu polyme*. 2017, VN: NXB ĐHQG TP.HCM. 161.
 86. Remita, H. and I. Lampre, *Synthesis of Metallic Nanostructures Using Ionizing Radiation and Their Applications*. Materials, 2024. **17**(2): 364.
 87. Jay-Gerin, J.-P., *Fundamentals of Water Radiolysis*. Encyclopedia, 2025. **5**(1): 38.
 88. Buxton, G., *The radiation chemistry of liquid water: principles and applications*, in *Charged particle and photon interactions with matter*. 2003, CRC Press. 338-370.
 89. Ashfaq, A., et al., *Polymerization Reactions and Modifications of Polymers by Ionizing Radiation*. Polymers, 2020. **12**(12): 2877.
 90. Belloni, J., et al., *Radiation chemistry from basics to applications in material and life sciences*. 2008, France: Editions EDP Sciences.
 91. Belloni, J., et al., *Radiation-induced synthesis of mono-and multi-metallic clusters and nanocolloids*. New Journal of Chemistry, 1998. **22**(11): 1239-1255.

92. Remita, S., et al., *Radiation induced synthesis of silver nanoshells formed onto organic micelles*. The European Physical Journal D-Atomic, Molecular, Optical and Plasma Physics, 2005. **34**(1): 231-233.
93. Alam, M.A., et al., *The effect of precursor concentration on the crystallinity synchronization of synthesized copper nanoparticles*. Journal of Crystal Growth, 2023. **621**: 127386.
94. Strydom, W., W. Parker, and M. Olivares, *Chapter 8 electron beams: physical and clinical aspects*. Radiation oncology physics: a handbook for teachers and students, 2006: 1-46.
95. Meesungnoen, J., et al., *Low-energy electron penetration range in liquid water*. Radiation research, 2002. **158**(5): 657-660.
96. Filipović, N., et al., *Comparative study of the antimicrobial activity of selenium nanoparticles with different surface chemistry and structure*. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021. **8**: 624621.
97. De Leersnyder, I., et al., *Revealing the importance of aging, environment, size and stabilization mechanisms on the stability of metal nanoparticles: A case study for silver nanoparticles in a minimally defined and complex undefined bacterial growth medium*. Nanomaterials, 2019. **9**(12): 1684.
98. El-Seedi, H.R., et al., *Updated review of metal nanoparticles fabricated by green chemistry using natural extracts: Biosynthesis, mechanisms, and applications*. Bioengineering, 2024. **11**(11): 1095.
99. Lourenco, C., et al., *Steric stabilization of nanoparticles: size and surface properties*. International Journal of Pharmaceutics, 1996. **138**(1): 1-12.
100. Zhou, F., et al., *The commonly used stabilizers for phytochemical-based nanoparticles: stabilization effects, mechanisms, and applications*. Nutrients, 2023. **15**(18): 3881.
101. Kong, H., et al., *Synthesis and antioxidant properties of gum arabic-stabilized selenium nanoparticles*. International Journal of Biological Macromolecules, 2014. **65**: 155-162.
102. Blinov, A.V., et al., *Study of stabilization of selenium nanoparticles by polysaccharides*. Journal of Hygienic Engineering and Design, 2021: 209-216.
103. Tran, T.H., et al. *Green Synthesis and Characterization of Selenium Nanoparticles Stabilized by Sodium Alginate under Cobalt-60 Gamma Rays*. in *Vietnam Conference on Nuclear Science and Technology VINANST-15. Agenda and Abstracts*. 2023.
104. Al Monla, R., et al., *Fucoidan and alginate from the brown algae Colpomenia sinuosa and their combination with vitamin C trigger apoptosis in colon cancer*. Molecules, 2022. **27**(2): 358.
105. Zewde, B., et al., *A review of stabilized silver nanoparticles—synthesis, biological properties, characterization, and potential areas of applications*. JSM Nanotechnology & Nanomedicine, 2016. **4**(1043): 1-14.
106. Blinova, A., et al., *Synthesis, characterization and potential antimicrobial activity of selenium nanoparticles stabilized with cetyltrimethylammonium chloride*. Nanomaterials, 2023. **13**(24): 3128.
107. Kumar, M.N.R., *A review of chitin and chitosan applications*. Reactive and Functional Polymers, 2000. **46**(1): 1-27.
108. Prashanth, K.H. and R. Tharanathan, *Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential—an overview*. Trends in Food Science & Technology, 2007. **18**(3): 117-131.

109. Vehring, R., *Pharmaceutical particle engineering via spray drying*. Pharmaceutical Research, 2008. **25**(5): 999-1022.
110. Fernández-Paz, E., et al., *Dry powders containing chitosan-based nanocapsules for pulmonary administration: Adjustment of spray-drying process and in vitro evaluation in A549 cells*. Powder Technology, 2022. **399**: 117149.
111. Kasapoğlu Khan, K., et al., *Effect of Spray Drying on Physicochemical Stability and Antioxidant Capacity of Rosa pimpinellifolia Fruit Extract-Loaded Liposomes Conjugated with Chitosan or Whey Protein During In Vitro Digestion*. Food and Bioprocess Technology, 2024. **17**: 3162-3176.
112. Chen, N., et al., *Spray drying strategies for the construction of drug-loaded particles: Insights into design principles and pharmaceutical applications*. Int J Pharm, 2025. **682**: 125917.
113. Pereira, A.G., et al., *Radiolytic synthesis and characterization of selenium nanoparticles: comparative biosafety evaluation with selenite and ionizing radiation*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022. **38**(2): 33.
114. El-Sayyad, G.S., et al., *Gentamicin-Assisted Mycogenic Selenium Nanoparticles Synthesized Under Gamma Irradiation for Robust Reluctance of Resistant Urinary Tract Infection-Causing Pathogens*. Biological Trace Element Research, 2020. **195**(1): 323-342.
115. El-Batal, A.I., et al., *Factorial design-optimized and gamma irradiation-assisted fabrication of selenium nanoparticles by chitosan and Pleurotus ostreatus fermented fenugreek for a vigorous in vitro effect against carcinoma cells*. International Journal of Biological Macromolecules, 2020. **156**: 1584-1599.
116. Guleria, A., et al., *Size Tuning, Phase Stabilization, and Anticancer Efficacy of Amorphous Selenium Nanoparticles: Effect of Ion-Pair Interaction, -OH Functionalization, and Reuse of RTILs as Host Matrix*. The Journal of Physical Chemistry C, 2021. **125**(25): 13933-13945.
117. Collery, P., *Strategies for the development of selenium-based anticancer drugs*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2018. **50**: 498-507.
118. Chen, W., H. Cheng, and W. Xia, *Progress in the surface functionalization of selenium nanoparticles and their potential application in cancer therapy*. Antioxidants, 2022. **11**(10): 1965.
119. Kudarha, R., et al., *Recent advancements in selenium nanoconstructs as a potential carrier in cancer therapy*. Nano-Structures & Nano-Objects, 2024. **40**: 101399.
120. Varlamova, E.G., et al., *Mechanisms of the cytotoxic effect of selenium nanoparticles in different human cancer cell lines*. International Journal of Molecular Sciences, 2021. **22**(15): 7798.
121. Liao, W., et al., *Novel walnut peptide-selenium hybrids with enhanced anticancer synergism: Facile synthesis and mechanistic investigation of anticancer activity*. International Journal of Nanomedicine, 2016: 1305-1321.
122. Xia, Y., et al., *Novel functionalized selenium nanoparticles for enhanced anti-hepatocarcinoma activity in vitro*. Nanoscale Research Letters, 2015. **10**(1): 349.
123. Nayak, V., et al., *Potentialities of selenium nanoparticles in biomedical science*. New Journal of Chemistry, 2021. **45**(6): 2849-2878.
124. Martinez-Esquivias, F., et al., *Anticancer activity of selenium nanoparticles in vitro studies*. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 2022. **22**(9): 1658-1673.

125. Yasir, R.M. and N.H. Zaki, *Antioxidant and Anticancer Activities of Bio-Synthesized Selenium Nanoparticles by Escherichia coli*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP, 2025. **26**(4): 1303.
126. Varlamova, E.G., et al., *Comparative study of the anticancer effects of selenium nanoparticles and selenium nanorods: regulation of Ca²⁺ signaling, ER stress and apoptosis*. Applied Sciences, 2023. **13**(19): 10763.
127. López-Gervacio, A.D.J., et al., *Selenium Nanoparticles (SeNPs) Inhibit the Growth and Proliferation of Reproductive Structures in Phytophthora capsici by Altering Cell Membrane Stability*. Agronomy, 2025. **15**(2): 490.
128. Galić, E., et al., *Impact of surface functionalization on the toxicity and antimicrobial effects of selenium nanoparticles considering different routes of entry*. Food and Chemical Toxicology, 2020. **144**: 111621.
129. Hu, R., et al., *The developments of surface-functionalized selenium nanoparticles and their applications in brain diseases therapy*. Biomimetics, 2023. **8**(2): 259.
130. Anjum, S., et al., *Selenium nanoparticles in cancer therapy: Unveiling cytotoxic mechanisms and therapeutic potential*. Cancer Reports, 2025. **8**(6): e70210.
131. Tang, E., et al., *Preparation, characterization, and anticancer effect of Capsaicin-functionalized selenium nanoparticles*. Frontiers in Nutrition, 2024. **11**: 1515657.
132. Comşa, Ş., A.M. Cîmpean, and M. Raica, *The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research*. Anticancer Res, 2015. **35**(6): 3147-54.
133. Holliday, D.L. and V. Speirs, *Choosing the right cell line for breast cancer research*. Breast Cancer Research, 2011. **13**(4): 215.
134. Huang, Y., et al., *Selective cellular uptake and induction of apoptosis of cancer-targeted selenium nanoparticles*. Biomaterials, 2013. **34**(29): 7106-16.
135. Masters, J.R., *HeLa cells 50 years on: the good, the bad and the ugly*. Nature Reviews Cancer, 2002. **2**(4): 315-9.
136. zur Hausen, H., *Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account*. Virology, 2009. **384**(2): 260-5.
137. Levenson, A.S. and V.C. Jordan, *MCF-7: the first hormone-responsive breast cancer cell line*. Cancer Research, 1997. **57**(15): 3071-8.
138. Vinceti, M., et al., *Selenium for preventing cancer*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2018. **1**(1): Cd005195.
139. Sebaugh, J., *Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation*. Pharmaceutical Statistics, 2011. **10**(2): 128-134.
140. Boyd, M.R., *The NCI human tumor cell line (60-cell) screen: concept, implementation, and applications*, in *Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval*, B.A.a.A. Teicher, Paul A., Editor. 2004, Humana Press: Totowa, NJ. 41-61.
141. Peña-Morán, O.A., et al., *Cytotoxicity, Post-Treatment Recovery, and Selectivity Analysis of Naturally Occurring Podophyllotoxins from Bursera fagaroides var. fagaroides on Breast Cancer Cell Lines*. Molecules, 2016. **21**(8): 1013.
142. Wu, X.-L., Liu Liu, Qing-Chuan Wang, Hai-Fang Wang, Xiang-Rong Zhao, Xu-Bin Lin, Wen-Jun Lv, Yin-Bo Niu, Ting-Li Lu, and Qi-Bing Mei, *Antitumor activity and mechanism study of riluzole and its derivatives*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR, 2020. **19**(3): 217.
143. Zamboni, W.C., Vladimir Torchilin, Anil K. Patri, Jeff Hrkach, Stephen Stern, Robert Lee, Andre Nel, Nicholas J. Panaro, and Piotr Grodzinski, *Best practices in*

- cancer nanotechnology: perspective from NCI nanotechnology alliance*. Clinical Cancer Research, 2012. **18**: 3229-3241.
144. Mathew, M. and B. Narayana, *An easy spectrophotometric determination of selenium using azure B as a chromogenic reagent*. Indian Journal of Chemical Technology, 2006. **13**: 455-458.
 145. Nguyễn, P.N., *Giáo trình kỹ thuật phân tích vật lý*. 2004, Hà Nội: NXB Khoa Học Kỹ Thuật.
 146. Long, C.T., *Giáo trình phương pháp thống kê trong thực nghiệm hóa học*. 2007, Giáo trình giảng dạy đại học, Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Đại Học Quốc Gia TP. HCM.
 147. Devore, J.L., *Probability and Statistics for Engineering and the Sciences*. 2015: Cengage Learning.
 148. Hiếu, T.T., *Phân tích trắc quang, phổ hấp thụ UV-Vis*. 2003: NXB Đại Học Quốc Gia Hà Nội.
 149. V. Bondet, W.B.-W., C. Berset *Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH.Free Radical Method*. Food Science and Technology, 1997. **30**(6): 609-615.
 150. Lucey, B.P., W.A. Nelson-Rees, and G.M. Hutchins, *Henrietta Lacks, HeLa cells, and cell culture contamination*. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2009. **133**(9): 1463-7.
 151. *Culture of Cancer stem cells*, in *Culture of animal cells: A manual of basic technique and specialized applications* R.I. Freshney, Editor. 2015, Wiley Blackwell. 583-587.
 152. Mosmann, T., *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. Journal of Immunological Methods, 1983. **65**(1-2): 55-63.
 153. Kalishwaralal, K., et al., *A novel biocompatible chitosan–Selenium nanoparticles (SeNPs) film with electrical conductivity for cardiac tissue engineering application*. Materials Science and Engineering: C, 2018. **92**: 151-160.
 154. Mohamed, A.A.-R., et al., *Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway*. Gene, 2021. **768**: 145288.
 155. Nguyen Ngoc Duy, D.V.P., Nguyen Tue Anh, Nguyen Quoc Hien, *Synergistic degradation to prepare oligochitosan by g-irradiation of chitosan solution in the presence of hydrogen peroxide*. Radiation Physics and Chemistry, 2011. **80**: 848-853.
 156. Monireh Kazemi, A.A., Zahra Sabouri, Saman Soleimanpour, *Green synthesis of colloidal selenium nanoparticles in starch solutions and investigation of their photocatalytic, antimicrobial, and cytotoxicity effects*. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2021. **44**(6): 1-11.
 157. Wanwen Chen, L.Y., Qixing Jiang, Wenshui Xia, *Effect of chitosan with different molecularweight on the stability, antioxidant and anticancer activities of well-dispersedselenium nanoparticles*. IET Nanobiotechnology, 2019. **13**(1): 1-99.
 158. Bashir, M. and S. Haripriya, *Assessment of physical and structural characteristics of almond gum*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **93**: 476-482.
 159. Ibekwe, C.A., et al., *Synthesis and characterization of chitosan/gum arabic nanoparticles for bone regeneration*. American Journal of Materials Science and Engineering, 2017. **5**(1): 28-36.

160. Song, X., et al., *Physicochemical stability and functional properties of selenium nanoparticles stabilized by chitosan, carrageenan, and gum Arabic*. Carbohydrate Polymers, 2021. **255**: 117379.
161. Lian, S., et al., *Characterization of biogenic selenium nanoparticles derived from cell-free extracts of a novel yeast Magnusiomyces ingens*. 3 Biotech, 2019. **9**(6): 221.
162. Zhang, C., et al., *Synthesis, characterization, and controlled release of selenium nanoparticles stabilized by chitosan of different molecular weights*. Carbohydrate Polymers, 2015. **134**: 158-166.
163. Chen, W., et al., *Synthesis and antioxidant properties of chitosan and carboxymethyl chitosan-stabilized selenium nanoparticles*. Carbohydrate Polymers, 2015. **132**: 574-581.
164. Saion, E., E. Gharibshahi, and K. Naghavi, *Size-controlled and optical properties of monodispersed silver nanoparticles synthesized by the radiolytic reduction method*. International Journal of Molecular Sciences, 2013. **14**(4): 7880-96.
165. Madhu Kumar, R., et al., *Gamma Radiation Assisted Biosynthesis Of Silver Nanoparticles And Their Characterization*. Advanced Materials Letters, 2015. **6**(12): 1088-1093.
166. Tang, S., et al., *Construction of arabinogalactans/selenium nanoparticles composites for enhancement of the antitumor activity*. International Journal of Biological Macromolecules, 2019. **128**: 444-451.
167. Podgorsak, E., *Electron beams: physical and clinical aspects*. Radiation Oncology Physics: A Handbook for Teachers and Students, IAEA, 2005: 273-299.
168. Abdelaziz, H.T.O., et al., *Selenium nanoparticle loaded on PVA/chitosan biofilm synthesized from orange peels: antimicrobial and antioxidant properties for plum preservation*. BMC Chem, 2025. **19**(1): 245.
169. Estevez, H., et al., *Effects of chitosan-stabilized selenium nanoparticles on cell proliferation, apoptosis and cell cycle pattern in HepG2 cells: comparison with other selenospecies*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014. **122**: 184-193.
170. Cai, C., et al., *Preparation and antimicrobial activity of thyme essential oil microcapsules prepared with gum arabic*. RSC advances, 2019. **9**(34): 19740-19747.
171. Nguyen, N.D., A.Q. Le, and Q.H. Nguyen, *Electron beam/ γ -ray irradiation synthesis of gold nanoparticles and investigation of antioxidant activity*. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology, 2014. **5**(4): 045002.
172. Nguyen, D.N., et al., *Preparation and Effect of Selenium Nanoparticles/Oligochitosan on the White Blood Cell Recovery of Mice Exposed to Gamma-Ray Radiation*. Journal of Chemistry, 2021. **2021**(1): 6635022.
173. Musa, H.H., A.A. Ahmed, and T.H. Musa, *Chemistry, biological, and pharmacological properties of gum Arabic*, in *Bioactive molecules in food*. 2018, Springer. 1-18.
174. Huang, B., et al., *Free radical scavenging efficiency of Nano-Se in vitro*. Free Radical Biology and Medicine, 2003. **35**(7): 805-813.
175. Qiu, W.-Y., et al., *Construction, stability, and enhanced antioxidant activity of pectin-decorated selenium nanoparticles*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2018. **170**: 692-700.
176. Pi, J., et al., *Pathway of cytotoxicity induced by folic acid modified selenium nanoparticles in MCF-7 cells*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013. **97**(3): 1051-1062.

177. Yang, Y., et al., *Functionalized selenium nanoparticles synergizes with metformin to treat breast cancer cells through regulation of selenoproteins*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021. **9**: 758482.
178. Wadhvani, S.A., et al., *Green synthesis of selenium nanoparticles using Acinetobacter sp. SW30: optimization, characterization and its anticancer activity in breast cancer cells*. *International Journal of Nanomedicine*, 2017: 6841-6855.
179. Artun, T., et al., *In vitro anticancer and cytotoxic activities of some plant extracts on HeLa and Vero cell lines*. *Journal of BU ON.: Official Journal of The Balkan Union of Oncology*, 2016. **21**(3): 720-725.
180. Mahmood, R.I., et al., *Biosynthesis of copper oxide nanoparticles mediated Annona muricata as cytotoxic and apoptosis inducer factor in breast cancer cell lines*. *Scientific Reports*, 2022. **12**(1): 16165.
181. Sharma, P., et al., *ROS-induced cytotoxicity of colloidal copper nanoparticles in MCF-7 human breast cancer cell line: an in vitro study*. *Journal of Nanoparticle Research*, 2020. **22**(8): 244.
182. Al-Khedhairi, A.A. and R. Wahab, *Silver nanoparticles: An instantaneous solution for anticancer activity against human liver (HepG2) and breast (MCF-7) cancer cells*. *Metals*, 2022. **12**(1): 148.
183. Gomathi, A., et al., *Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of Tamarindus indica on MCF-7 human breast cancer cell line*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2020. **55**: 101376.
184. Repotente Jr, E.C., et al., *Cytotoxic potential on human breast and lung cancer cells of the biosynthesized gold nanoparticles from the reduction of chloroauric acid by lactic acid isolated from Lactobacillus acidophilus*. *Frontiers in Materials*, 2022. **9**: 933749.
185. Martínez-Torres, A.C., et al., *Chitosan gold nanoparticles induce cell death in HeLa and MCF-7 cells through reactive oxygen species production*. *International Journal of Nanomedicine*, 2018: 3235-3250.
186. Indrayanto, G., G.S. Putra, and F. Suhud, *Profiles of drug substances, excipients and related methodology Validation of in-vitro bioassay methods: Application in herbal drug research*. Vol. 46. 2021: Elsevier. 273-307.
187. Srivastava, P. and M. Kowshik, *Anti-neoplastic selenium nanoparticles from Idiomarina sp. PR58-8*. *Enzyme and microbial technology*, 2016. **95**: 192-200.
188. Zheng, J.-S., et al., *Sialic acid surface decoration enhances cellular uptake and apoptosis-inducing activity of selenium nanoparticles*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2011. **83**(1): 183-187.
189. Luo, H., et al., *Selenium nanoparticles inhibit the growth of HeLa and MDA-MB-231 cells through induction of S phase arrest*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2012. **94**: 304-308.

PHỤ LỤC KẾT QUẢ

Phụ lục 1: Mẫu Selen nano dạng dung dịch và dạng bột

Phụ lục 2: Kết quả kiểm nghiệm hàm lượng Selen dạng dung dịch và dạng bột

Phụ lục 3: Đường chuẩn Se^{4+} trong phương pháp tính liều xạ bão hòa

Phụ lục 4: Bảng số liệu Thử nghiệm hoạt tính sinh học trên tế bào MCF-7 và Hela

Phụ lục 1: Mẫu Selen nano dạng dung dịch và dạng bột



Selen nano dạng dung dịch



Selen nano dạng bột

Phụ lục 2: Kết quả kiểm nghiệm hàm lượng Selen dạng dung dịch và dạng bột

 TỔNG CỤC TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG TRUNG TÂM KỸ THUẬT TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG 3 QUALITY ASSURANCE & TESTING CENTER 3 Head Office: 49 Pasteur, Dist. 1, HCMC, Vietnam Tel: (84-28) 3829 4274 Fax: (84-28) 3829 3012 E-mail: info@qatest3.com.vn Website: www.qatest3.com.vn Testing Complex: 6/7, road No.1, Bien Hoa 1 EZ, Dong Nai, Vietnam 63101, K1 road, Cat Lai EZ, Dist.2, HCMC, Vietnam 641 Le Hung Phung, Dist.5, HCMC, Vietnam										
KT3-03134AHO2/3	PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM TEST REPORT	08/07/2022 Trang 01/01								
1. Tên mẫu : MẪU 3: DUNG DỊCH SELEN NANO 2. Mô tả mẫu : Mẫu thử nghiệm do khách hàng lấy mẫu, tên mẫu và thông tin về mẫu do khách hàng cung cấp. Mẫu dạng lỏng, đựng trong chai thủy tinh. 3. Số lượng mẫu : 01 4. Ngày nhận mẫu : 21/06/2022 5. Thời gian thử nghiệm : 22/06/2022 – 08/07/2022 6. Nơi gửi mẫu : VIỆN NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG TÀI NGUYÊN THIÊN NHIÊN VẬT LIỆU VÀ MÔI TRƯỜNG 58/4 Trần Văn Dự, Phường 13, Quận Tân Bình, Thành phố Hồ Chí Minh 7. Kết quả thử nghiệm :										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tên chỉ tiêu</th> <th>Phương pháp thử</th> <th>Kết quả thử nghiệm</th> <th>Giới hạn phát hiện</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>7.1. Hàm lượng selen (Se), mg/L</td> <td>FAO JECFA Monographs 1 Vol 4, 2006 - Metallic Impurities - (ICP-AES) ^(*)</td> <td>166</td> <td>0,40</td> </tr> </tbody> </table>			Tên chỉ tiêu	Phương pháp thử	Kết quả thử nghiệm	Giới hạn phát hiện	7.1. Hàm lượng selen (Se), mg/L	FAO JECFA Monographs 1 Vol 4, 2006 - Metallic Impurities - (ICP-AES) ^(*)	166	0,40
Tên chỉ tiêu	Phương pháp thử	Kết quả thử nghiệm	Giới hạn phát hiện							
7.1. Hàm lượng selen (Se), mg/L	FAO JECFA Monographs 1 Vol 4, 2006 - Metallic Impurities - (ICP-AES) ^(*)	166	0,40							
Ghi chú: (*) Combined compendium of food additive specifications, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives										
TL. PHỤ TRÁCH PTN HÓA  Lê Thị Ngọc Phi		TL. GIÁM ĐỐC TRƯỞNG PHÒNG THỬ NGHIỆM  Ngô Quốc Việt								
1. Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến và không phải là giấy chứng nhận sản phẩm. Test results are valid for the sample submitted (sample(s) only), and this is not a certificate of product. 2. Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của đơn gửi mẫu. / Name of sample(s) and customer are written as customer's request. 3. Độ không đảm bảo đo mà nội dung được tính từ độ không đảm bảo đo chuẩn nhân với hệ số phủ k = 2, phản ánh chuẩn trung ứng với 95 % độ tin cậy. The reported expanded uncertainty of measurement is stated as the standard uncertainty of measurement multiplied by the coverage factor k = 2 at 95 % confidence level. 4. Không được trích sao một phần hoặc kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Kỹ thuật 3. This Test Report shall not be reproduced, except in full, without the written permission by Qatest 3. 5. Mọi thắc mắc về kết quả khách hàng tiến hành theo địa chỉ email: info@qatest3.com.vn và ng.vt@qatest3.com.vn để biết thêm thông tin. Please contact Qatest 3 at the email addresses info@qatest3.com.vn and ng.vt@qatest3.com.vn for further information about test report.										

1 lần sửa đổi: 1

BH15 (04/2020)

M03 – TTTN09

Selen nano dạng dung dịch



TỔNG CỤC TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG
TRUNG TÂM KỸ THUẬT TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG 3
QUALITY ASSURANCE & TESTING CENTER 3

Head Office: 49 Pasteur, Dist. 1, HCMC, Vietnam Tel: (84-28) 3829 4274 Fax: (84-28) 3829 3012 E-mail: info@quatest3.com.vn Website: www.quatest3.com.vn
Testing Complex No. 7, road No. 1, Bien Hoa 1 LZ, Dong Nai, Vietnam C5 lot, K1 road, Cat Lai LZ, Dist. 2, HCMC, Vietnam 64 Le Hong Phong, Dist. 5, HCMC, Vietnam

KT3-03134AHO2/2

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM
TEST REPORT

28/06/2022
Trang 01/01

- Tên mẫu : MẪU 2: BỘT SELEN NANO SẮY THĂNG HOA
- Mô tả mẫu : Mẫu thử nghiệm do khách hàng lấy mẫu, tên mẫu và thông tin về mẫu do khách hàng cung cấp.
Mẫu dạng bột, đựng trong ống nhựa.
- Số lượng mẫu : 01
- Ngày nhận mẫu : 21/06/2022
- Thời gian thử nghiệm : 22/06/2022 – 28/06/2022
- Nơi gửi mẫu : VIỆN NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG TÀI NGUYÊN THIÊN NHIÊN
VẬT LIỆU VÀ MÔI TRƯỜNG
58/4 Trần Văn Dự, Phường 13, Quận Tân Bình, Thành phố Hồ Chí Minh
- Kết quả thử nghiệm :

Tên chỉ tiêu	Phương pháp thử	Kết quả thử nghiệm	Giới hạn phát hiện
7.1. Hàm lượng selen (Se), mg/kg (mg/kg)	FAO JECFA Monographs 1 Vol 4, 2006 - Metallic Impurities - (ICP-AES) (*)	$1,08 \times 10^4$	0,40

Ghi chú:

(*) Combined compendium of food additive specifications, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

PHỤ TRÁCH PTN HÓA

Nguyễn Thành Bảo

TL. GIÁM ĐỐC
TRƯỞNG PHÒNG THỬ NGHIỆM



- Các kết quả thử nghiệm ghi trong phiếu này chỉ có giá trị đối với mẫu do khách hàng gửi đến và không phải là giấy chứng nhận sản phẩm.
Test results are valid for the namely submitted sample(s) only, and this is not a certificate of product.
- Tên mẫu, tên khách hàng được ghi theo yêu cầu của nơi gửi mẫu. / Name of sample(s) and customer are written as customer's request.
- Độ không đảm bảo do mở rộng được tính từ độ không đảm bảo đo chuẩn nhân với hệ số phủ k = 2, phần bỏ chuẩn tương ứng với 95 % độ tin cậy.
The reported expanded uncertainty of measurement is stated as the standard uncertainty of measurement multiplied by the coverage factor k = 2, at 95 % confidence level.
- Không được trích sao một phần phiếu kết quả thử nghiệm này nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Kỹ thuật 3.
This Test Report shall not be reproduced, except in full, without the written permission by Quatest 3.
- Mọi thắc mắc về kết quả khách hàng liên hệ theo địa chỉ dh.cs@quatest3.com.vn và rg.tn@quatest3.com.vn để biết thêm thông tin.
Please contact Quatest 3 at the email addresses dh.cs@quatest3.com.vn and rg.tn@quatest3.com.vn for further information about test report.

Lần sửa đổi: 1

BH15 (04/2020)

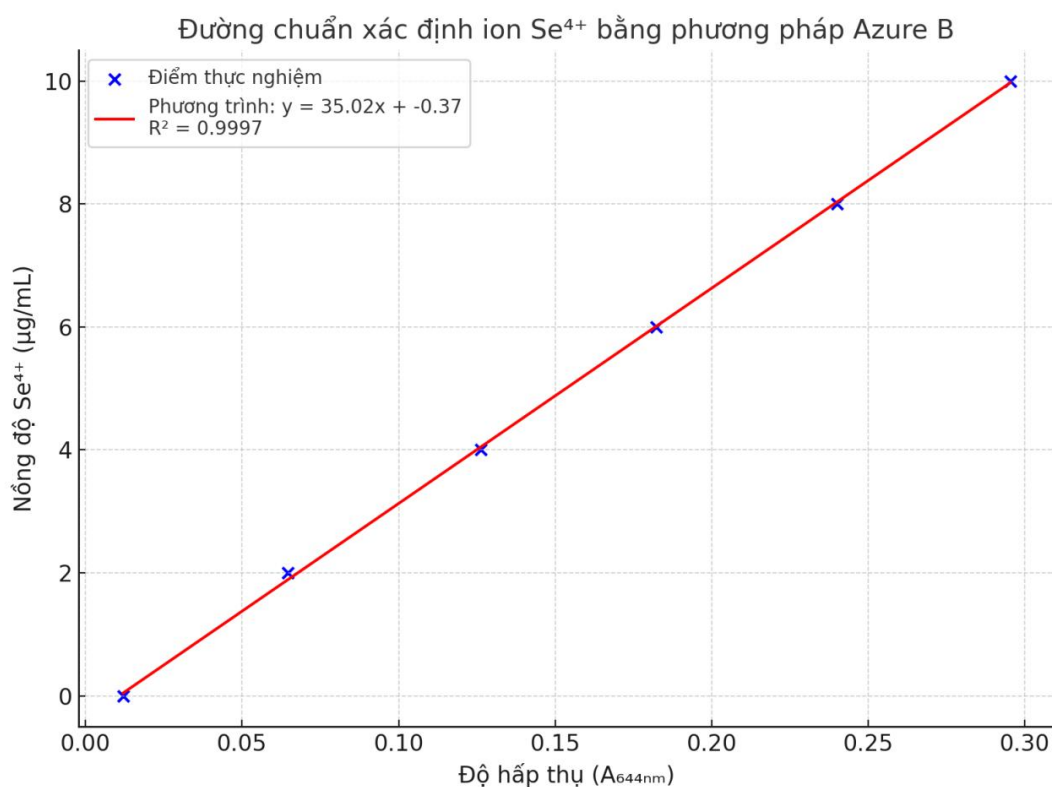
M03 – TTTN09

Selen nano dạng dung dịch

PL2.2/4PL

Phụ lục 3: Đường chuẩn Se^{4+} trong phương pháp tính liều xạ bão hòa

Nồng độ Se^{4+} chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình
0	0,011	0,012	0,013	0,012
2	0,066	0,059	0,072	0,066
4	0,124	0,131	0,124	0,126
6	0,186	0,181	0,18	0,182
8	0,242	0,242	0,241	0,242
10	0,301	0,293	0,292	0,295



Đường chuẩn xác định ion Se^{4+} bằng phương pháp Azure B có dạng:

$$y = 35,02 x - 0,37$$

$$R^2 = 0,9997$$

Trong đó:

y: Nồng độ Se^{4+} ($\mu\text{g/mL}$)

x: Độ hấp thụ tại 644 nm

Phụ lục 4: Bảng số liệu Thử nghiệm hoạt tính sinh học trên tế bào MCF-7 và Hela

A. SỐ LIỆU PHẦN TRĂM ỨC CHẾ MCF-7 THEO NỒNG ĐỘ

1. THỜI ĐIỂM KHẢO SÁT 48 giờ

Bảng số liệu phần trăm ức chế MCF7 theo nồng độ Selen nano dạng bột sấy đông khô (FDEB)

FDEB-48 giờ	I (%)						
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III	Lần IV	Lần V	Lần VI	Lần VII
0,078125				-3,15315	-5,43186	-5,17607	
0,15625				-3,33333	-7,85029	0,678829	
0,3125	9,24553	3,577183	10,84681	-8,55856	-5,83493	-5,11243	-0,94907
0,625	11,25164	20,49629	17,69743	8,948949	13,4357	5,430632	9,490668
1,25	12,51635	19,40058	17,0314	10,63063	16,16123	9,58846	18,57007
2,5	13,43218	21,49533	28,73454	23,84384	17,77351	12,94018	21,41727
5	26,75534	26,23268	31,25595	12,13213	21,22841	16,41918	22,04998
10	39,64239	40,1708	33,77735	21,8018	27,75432	21,00127	24,2012
20	52,52944	30,88946	55,42341	33,09309	29,28983	27,49258	29,51598
40	61,29525	55,62359	90,53283	38,67868	64,52975	66,35554	60,01265
80	85,91365	85,20786	99,00095	84,08408	92,16891	92,91472	92,40747
100				83,9039	89,86564	93,25414	

Bảng số liệu phần trăm ức chế MCF7 theo nồng độ Selen nano dạng bột sấy phun (SDEB)

SDEB-48 giờ	I (%)						
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III	Lần IV	Lần V	Lần VI	Lần VII
0,078125				-3,2566	-12,9061	-13,1947	
0,15625				-0,05615	-5,3926	-10,14	
0,3125	6,90583	8,386235	15,89317	-0,98259	-7,82942	-7,72168	1,518507
0,625	5,515695	7,818243	17,51313	24,53678	6,723827	1,654646	4,080987
1,25	18,60987	19,64584	26,2697	14,59854	7,987365	9,376326	13,88801
2,5	29,97758	25,86034	35,24518	25,43515	11,32671	13,91599	25,087
5	47,06278	27,02974	39,2732	28,41101	12,27437	16,03734	15,97596
10	30,38117	32,27531	36,16462	35,82257	20,39711	22,52864	26,85859
20	37,75785	13,16405	56,78634	38,68613	21,97653	27,32287	31,69883
40	55,40359	58,63682	93,16988	61,53846	44,13357	43,48748	56,18475
80	89,23767	85,16539	98,86165	96,57496	86,73285	91,81162	89,0541
100				92,13925	80,73105	92,78744	

Bảng số liệu phần trăm ức chế MCF7 theo nồng độ Selen nano dạng dung dịch

SEB-48 giờ	I (%)		
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III
0,3125	-20,5357	-10,8751	-5,25433
0,625	-3,29241	0,919467	-0,64282
1,25	3,989955	3,963221	5,226383
2,5	24,72098	24,35003	15,31582
5	25,33482	30,50095	23,92398
10	28,45982	33,16424	22,47065
20	31,75223	30,24731	25,4891
40	44,53125	44,00761	38,45724
80	54,7433	55,35828	38,45724
100	59,76563	56,0558	55,80046

2. THỜI ĐIỂM KHẢO SÁT 72 giờ

Bảng số liệu phần trăm ức chế MCF7 theo nồng độ Selen nano dạng bột sấy đông khô (FDEB)

FDEB-72 giờ	I (%)			
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III	Lần IV
0,078125	-5,21638	-11,513	0,913339	-0,83829
0,15625	5,911901	-4,94274	1,93288	-4,65116
0,3125	3,24575	4,64135	3,908241	-2,37966
0,625	8,809892	1,98915	6,839422	-1,13575
1,25	24,63292	13,50211	31,69074	14,7377
2,5	29,21175	27,26542	39,3373	27,63656
5	37,5966	32,24834	35,13169	35,2623
10	43,18006	42,9777	41,24894	27,58248
20	50,34776	52,46132	63,08411	55,46241
40	80,37094	72,63412	78,97196	71,87669
80	100,2318	92,24432	98,68309	102,6501
100	99,26584	92,60599	99,70263	100,7031

Bảng số liệu phần trăm ức chế MCF7 theo nồng độ Selen nano dạng bột sấy phun (SDEB)

SDEB-72 giờ	I (%)			
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III	Lần IV
0,078125	-2,91089	-10,6691	-5,26763	-5,21904
0,15625	0,534653	-11,9349	9,13339	16,76582
0,3125	0,772277	1,808318	22,25998	16,76582
0,625	15,88119	5,96745	35,68394	17,41482
1,25	31,84158	28,67189	38,19031	22,3364
2,5	34,85149	30,96243	46,43161	30,28664
5	39,28713	35,62387	50,04248	37,04705
10	47,0099	44,86639	47,83347	38,77772
20	56,9505	40,62688	57,30671	43,53705
40	70,21782	69,86136	73,40697	70,95727
80	97,74257	90,43601	98,0034	98,702
100	98,0198	91,68174	97,62107	103,0287

Bảng số liệu phần trăm ức chế MCF7 theo nồng độ Selen nano dạng dung dịch

SEB-72 giờ	I (%)		
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III
0,3125	-11,9969	-10,7016	-8,7156
0,625	-8,8923	-0,77709	2,873008
1,25	12,26524	18,47247	9,753742
2,5	22,5757	32,90409	25,20521
5	28,97662	34,05861	28,97151
10	29,39824	33,0373	32,01352
20	38,48218	35,56838	31,24095
40	41,01188	46,58082	36,60068
80	50,3258	53,17496	53,35587
100	57,07167	65,76377	61,27475

B. SỐ LIỆU PHẦN TRĂM ỨC CHẾ HELA THEO NỒNG ĐỘ

Bảng số liệu phần trăm ức chế Hela theo nồng độ Selen nano dạng bột sấy đông khô (FDEB)

FDEB-48 giờ	I (%)			
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III	Lần IV
0,078125	-1,34831	3,237564	-9,09419	7,170245
0,15625	-0,8427	0,278731	-15,3735	5,559816
0,3125	1,629213	-8,85506	-18,6756	10,3911
0,625	4,456929	5,102916	58,13786	53,60429
1,25	56,96629	49,22813	57,27174	61,57975
2,5	56,55431	48,8422	58,78744	63,03681
5	60,14981	53,21612	60,7362	62,96012
10	59,73783	46,01201	51,31721	58,51227
20	56,4794		68,31469	87,57669
40	86,70412		93,28762	101,8405
80	92,92135	94,81132	95,01985	94,13344
100	90,44944	91,55232	94,40635	93,55828

Bảng số liệu phần trăm ức chế Hela theo nồng độ Selen nano dạng bột sấy phun (SDEB)

SDEB-48 giờ	I (%)			
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III	Lần IV
0,078125	-8,7574	-5,7516	-10,7182	-4,10276
0,15625	-2,54438	-0,38955	-3,24792	-7,55368
0,3125	9,289941	3,597617	-1,02851	0,268405
0,625	7,376726	3,208066	51,69614	57,43865
1,25	57,55424	41,24656	59,49116	62,19325
2,5	59,21105	49,51879	66,74486	62,73006
5	59,96055	50,09166	68,63948	62,26994
10	58,57988	42,57562	62,84735	61,57975
20	55,85799		53,37423	40,72086
40	86,15385		92,20498	89,49387
80	92,2288	92,30064	95,09202	93,78834
100	91,95266	92,80477	95,30855	87,57669

Bảng số liệu phần trăm ức chế Hela theo nồng độ Selen nano dạng dung dịch

SEB-48 giờ	I (%)			
Nồng độ (µg/mL)	Lần I	Lần II	Lần III	Lần IV
0,078125	-0,86989	-2,35849	-0,53279	
0,15625	6,580938	-0,23585	2,008197	
0,3125	2,080182	-0,4717	-1,10656	-7,46939
0,625	6,996974	-0,37736		10,40816
1,25	59,53101	44,29245	62,54098	67,59184
2,5	57,63994	40,14151	63,19672	60,81633
5	64,48563	47,54717	58,09426	63,7551
10	62,15961	40,14151	52,2541	67,02041
20	79,61422	53,49057	87,82787	68,81633
40	95,83192	89,61321	89,68472	34,12245
80	97,560981	92,345684	95,612244	91,836736
100	98,214293	94,893626	97,142868	93,877557