

# NGHIÊN CỨU TÍNH KHÁNG KHUẨN E.COLI ATCC 25922 VÀ CHŨNG NẤM MỐC TRICHODERMA RECEIVE CPK 63 CỦA KẼM GLYCINATE

TS. Lê Văn Huỳnh, ThS, Ds. Võ Tứ Cường

Khoa Y Dược, Trường Đại học Thành Đông

## TÓM TẮT

*Kẽm là nguyên tố kim loại chuyển tiếp rất đặc biệt vì tính bền của nó khi ở trạng thái oxi hóa  $Zn^{+2}$ . Kẽm là một nguyên tố vi lượng thiết yếu cần cho sự sống của sinh vật. Kẽm giúp kiểm soát cân bằng nội mô, phát tín hiệu nội bào, hệ miễn dịch và tăng trưởng xương. Thiếu hụt kẽm làm giảm ăn, sinh trưởng kém, suy yếu hệ thống miễn dịch. Ion kẽm có khả năng tạo phức chất với nhiều chất hữu cơ như glycine. Những phức chất của kẽm với glycine khi được sử dụng với hàm lượng thích hợp thể hiện đặc tính kháng khuẩn và kháng nấm rất tốt. Nghiên cứu này cho thấy với nồng độ 0,02%  $Zn(gly)_2.H_2O$  đã có khả năng kháng khuẩn E. coli ATCC 25922 và chủng nấm mốc Trichoderma receive CPK 63 rất hiệu quả. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học cho việc ứng dụng vào thực tiễn cuộc sống.*

*Từ khóa: Phức hợp kẽm – glycine, tính kháng khuẩn, tính kháng nấm*

## ABSTRACT

*Zinc is a very special transition metal element because of its stability in the  $Zn+2$  oxidation state. Zinc is an essential trace element required for the survival of organisms. Zinc helps control homeostasis, intracellular signaling, the immune system, and bone growth. Zinc deficiency reduces appetite, poor growth and weakens the immune system. Zinc ions have the ability to form complexes with many organic substances such as glycine. Complexes of zinc with glycine used in appropriate concentrations show excellent antibacterial and antifungal properties. This study has showed that a concentration of 0.02%  $Zn(gly)_2.H_2O$  is effective against E. coli ATCC 25922 and the mold Trichoderma receive CPK 63. Research results are the scientific basis for its application in real life.*

**Keywords:** *Zinc - glycine complex, antibacterial, antifungal properties.*

## I. GIỚI THIỆU

Kẽm là nguyên tố kim loại chuyển tiếp, xếp ở vị trí thứ 30 trong bảng hệ thống tuần hoàn các nguyên tố hoá học, chiếm khoảng 0,0004% trọng lượng vỏ trái đất. Kẽm có 30 electron và khối lượng nguyên tử 65,38. Kẽm có một vỏ quỹ đạo electron được lấp đầy hoàn toàn và hai electron ở vỏ ngoài cùng. Vì vậy, kẽm là một kim loại rất đặc biệt vì tính bền của nó khi ở trạng thái oxi hóa  $Zn^{+2}$ .

Về mặt này, kẽm không phải là một chất oxi hóa hoặc một chất khử và không tham gia vào chức năng oxi hóa khử trong sinh lý con người. Qua các nghiên cứu của nhiều nhà khoa học trên thế giới, người ta đã biết được vai trò của kẽm là một dưỡng chất quan trọng được quan tâm của y tế cộng đồng và lâm sàng. Các chức năng và hoạt động của kẽm xuất hiện rộng khắp

trong giải phẫu học, sinh lý và chuyển hóa ở động vật có vú. Không thể nghi ngờ rằng có một cơ sở trong sinh học cơ bản cho tất cả những khía cạnh của kẽm trong sức khỏe con người.

Kẽm giúp kiểm soát cân bằng nội mô, phát tín hiệu nội bào, hệ miễn dịch và tăng trưởng xương. Những yếu tố bao gồm ion kẽm, các chất vận chuyển kẽm, các metallothionein, các metalloenzyme của kẽm. Thiếu hụt kẽm dẫn đến chậm tăng trưởng chiều cao, tăng đề kháng chống lại các bệnh nhiễm trùng khi có bổ sung kẽm.

Hóa học hữu cơ của kẽm trước tiên xoay quanh sự liên quan của kẽm với cấu hình và chức năng của một loạt các enzyme và một loạt các yếu tố phiên mã nhân tế bào khác nhau ngày càng được phát hiện thêm.

Kẽm là một thành phần thiết yếu của nhiều protein như: các metalloprotein kẽm và các metalloenzyme kẽm. Kẽm tạo thành một số muối và hợp chất. ZnO là một chất bột màu trắng, là oxit lưỡng tính, hầu như không tan trong nước nhưng hòa tan trong môi trường acid như acid chlohydric:  $ZnO + 2HCl \rightarrow ZnCl_2 + H_2O$ .  $ZnSO_4$  tạo những hạt màu xanh nước biển, rất dễ hòa tan trong nước, dùng để bổ sung kẽm vào cơ thể. Những hợp chất của kẽm với những dạng phân tử nhỏ acetate hoặc gluconate. Nó sẽ tạo phức chất với những chất tạo chelate như: acid ethylene diamine tetraacetic (EDTA). Những chelate với các amino acid dưới dạng bisglycinate, là những dạng vitamin bổ.

Kẽm là một nguyên tố vi lượng thiết yếu cần cho sự sống của sinh vật. Kẽm tác động tích cực đến khả năng tăng trưởng, thiếu hụt kẽm làm giảm ăn, sinh trưởng kém, suy yếu hệ thống miễn dịch.

Những phức chất của kẽm với glycine khi được sử dụng ở hàm lượng thích hợp thể hiện đặc tính kháng khuẩn và kháng nấm rất tốt.

Glycine là một aminoacid có 2 nhóm định chức, vừa thể hiện tính acid vừa thể hiện tính base, chúng có khả năng tạo phức với nhiều ion kim loại chuyển tiếp, một số phức tạo thành có hoạt tính sinh học kháng khuẩn, kháng nấm cao, đồng thời cũng có những phức có hoạt tính xúc tác, được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như: phân vi lượng, nông nghiệp, đặc biệt là trong y học. Tổng hợp phức chất của ion kim loại chuyển tiếp  $Zn^{2+}$  với glycine và bằng phương pháp hóa học, hóa lý xác định cấu tạo của phức chất và hoạt tính sinh học kháng khuẩn, kháng nấm.

Sự tạo phức của glycine với các ion kim loại chuyển tiếp được quyết định bởi hai nhóm chức - COOH và nhóm - NH<sub>2</sub>. Nguyên tử nitơ ở nhóm NH<sub>2</sub> có khả năng cho electron để tạo nên một liên kết cho nhận với ion kim loại. Trong khi đó ion H<sup>+</sup> cũng dễ dàng tách ra khỏi nhóm - COOH để tạo thành - COO<sup>-</sup>, nhóm này dễ dàng tạo thành một liên kết cộng hoá trị với ion kim loại chuyển tiếp thông qua nguyên tử oxi. Chính vì vậy mà các aminoacid có khả năng tạo phức chất vòng càng 5 cạnh bền với nhiều ion kim loại.

Trong bài báo này chúng tôi nghiên cứu tổng hợp phức chất của ion kim loại

chuyển tiếp  $Zn^{2+}$  với glycine ( $NH_2 - CH_2 - COOH$ ) và nghiên cứu khả năng kháng khuẩn và kháng nấm của chúng.

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các hóa chất được sử dụng để nghiên cứu có độ sạch PA của hãng Merck CHLB Đức có độ tinh khiết cao.

$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  là muối chứa ion kim loại tạo phức.

Glycine ( $NH_2 - CH_2 - COOH$ ) đóng vai trò là ligand tạo phức.

Phổ hấp thụ hồng ngoại của phức được đo trên máy Quang phổ hồng ngoại IMPAC 410 – Nicolet – Thụy Sĩ, thực nghiệm ở ngay điều kiện thường ( $25^\circ C$  và 1atm), mẫu được ép viên rắn với KBr.

Khảo sát tính kháng khuẩn, kháng nấm của các phức tạo bởi ion kim loại  $Zn^{2+}$  với glycine ở các nồng độ khác nhau từ  $0,01 \div 1,5\%$ .

Các chủng đem thử nghiệm là chủng vi khuẩn E.coli ATCC 25922 và chủng nấm mốc Trichoderma receive CPK 63.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

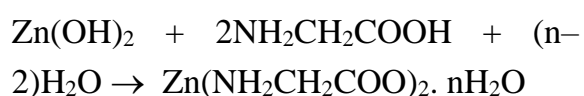
### 1. Tổng hợp phức $Zn(gly)$

Tổng hợp hidroxit kim loại  $Zn^{2+}$ : Cân một lượng chính xác muối  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  ứng với nồng độ 0,01mol kim loại, cho tác dụng với một lượng vừa đủ NaOH, thu được  $Zn(OH)_2$ . Lọc rửa kết tủa, sấy khô ở nhiệt độ  $50 - 60^\circ C$ .

Cho  $Zn(OH)_2$  vào cốc thủy tinh 100ml, thêm tiếp 0,02mol glycine, khuấy đều bằng máy khuấy từ ở nhiệt độ  $70^\circ C$ , đến khi dung dịch trong suốt.

Dung dịch có màu đặc trưng của ion kim loại. Cô cạn dung dịch đến khi còn 5 – 8ml thì ngưng gia nhiệt, thêm  $C_2H_5OH$  vào, khuấy nhẹ, thấy có kết tủa tách ra. Lọc, rửa kết tủa, sấy khô, sau đó cho vào bình hút ẩm. Phức thu được tan tốt trong nước, không tan trong cồn tuyệt đối, aceton, dietylê,  $CCl_4$  và  $CHCl_3$ .

Tổng hợp phức của ion  $Zn^{2+}$  với glycine theo phản ứng:



### 2. Nghiên cứu phức chất $Zn(gly)_2$ bằng phương pháp phổ hấp thụ hồng ngoại

Phức chất  $Zn(gly)_2$  đã tổng hợp và phối tử đều được ghi trên máy quang phổ hấp thụ hồng ngoại IMPAC 410 – Nicolet – Thụy Sĩ, mẫu được ép viên rắn với KBr.

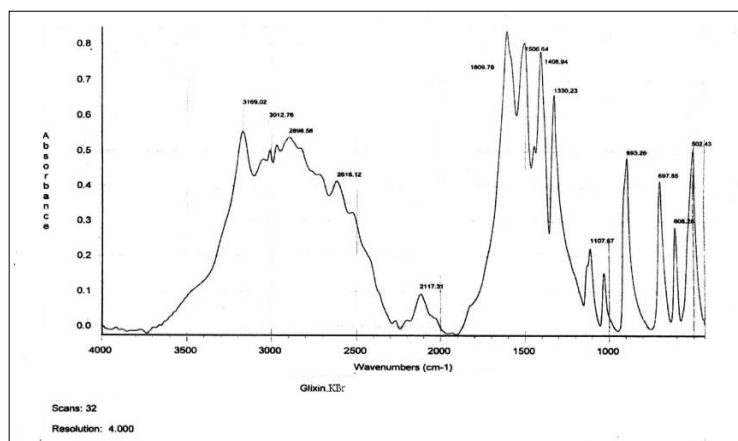
Dải phổ hấp thụ trong phổ hồng ngoại của mẫu phức chất, so sánh với phổ của glycine. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên bảng 1.

Phổ hấp thụ hồng ngoại của glycine có dải phổ hấp thụ rộng, cường độ trung bình trong vùng  $3200 \div 2900 \text{ cm}^{-1}$ . Dải có số sóng  $3169,02 \text{ cm}^{-1}$  được qui gán cho dao động hoá trị của nhóm  $NH_3^+$ , còn dải ở  $2898,58 \text{ cm}^{-1}$  ứng với dao động hoá trị của nhóm CH ( $\nu^{CH}$ ). Giá trị  $\nu^{NH_3^+}$  nằm ở vùng sóng thấp hơn nhiều so với vị trí chuẩn của  $\nu^{NH_2}$  ( $3400 \text{ cm}^{-1}$ ) là do có sự tương tác giữa nhóm  $NH_3^+$  và nhóm  $COO^-$  trong ion lưỡng cực glycine. Các dải hấp thụ ở  $1609,78 \text{ cm}^{-1}$  và  $1408,94 \text{ cm}^{-1}$  tương ứng với dao động

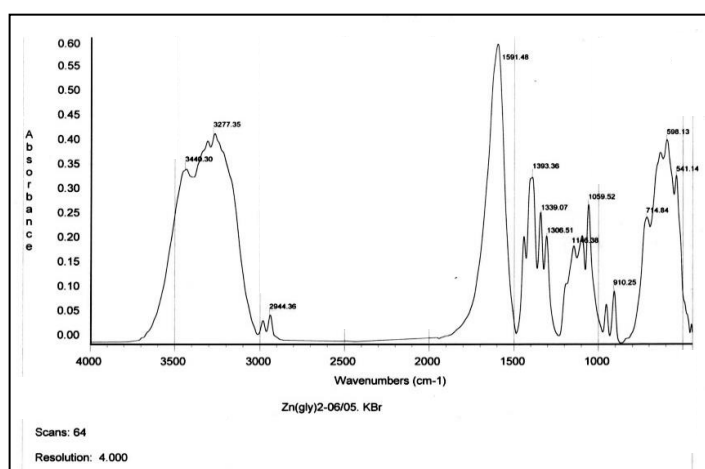
hoá trị bất đối xứng và đối xứng của nhóm  $\text{COO}^-$  (Hình 1)

**Bảng 1. Phổ hấp thụ hồng ngoại của glycine và của phức chất ( $\text{cm}^{-1}$ )**

STT	Hợp chất	$\nu_{\text{as}}^{\text{COO}^-}$	$\nu_{\text{s}}^{\text{COO}^-}$	$\nu_{\text{NH}_3^+}$	$\nu_{\text{NH}_2}$	$\nu_{\text{OH}}$
1	Glycine	1609,78	1408,94	3169,02	—	—
2	$\text{Zn}(\text{gly})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1591,48	1393,36	—	3277,35	3440,30



**Hình 1. Phổ hấp thụ hồng ngoại của glycine**



**Hình 2. Phổ hấp thụ hồng ngoại của phức  $\text{Zn}(\text{gly})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$**

So sánh phổ hấp thụ hồng ngoại của phức chất  $\text{Zn}(\text{gly})_2$  với phổ của glycine ở trạng thái tự do thì thấy rằng dải dao động bất đối xứng của nhóm  $\text{COO}^-$  ( $\nu_{\text{as}}^{\text{COO}^-}$ ) ở  $1609,78 \text{ cm}^{-1}$  trong glycine tự do dịch chuyển về vùng  $1568,90 \div 1602,96 \text{ cm}^{-1}$ ; còn dải dao động đối xứng của nhóm  $\text{COO}^-$  đối xứng  $\nu_{\text{s}}^{\text{COO}^-}$  ở  $1408,94 \text{ cm}^{-1}$  dịch chuyển về vùng  $1385,92 \div 1396,92$

$\text{cm}^{-1}$ . Điều này chứng tỏ liên kết phối trí giữa các ion kim loại với glycine đã được thực hiện qua nguyên tử oxi của nhóm cacboxyl, làm liên kết C – O bị yếu đi. Mặt khác, dải  $\nu_{\text{NH}_3^+}$  ở  $3169,02 \text{ cm}^{-1}$  của glycine tự do đã dịch chuyển về vùng có số sóng cao hơn  $3171 \div 3277 \text{ cm}^{-1}$  của phức chất  $\text{Zn}(\text{Gly})_2$ , đây là dải phổ dao động hoá trị của  $\text{NH}_2$  ( $\nu_{\text{NH}_2}$ ).

Tuy nhiên, các dải này lại nằm ở vùng có số sóng thấp hơn so với dải  $\nu^{\text{NH}_2}$  chuẩn ( $3400 \text{ cm}^{-1}$ ).

Kết quả này chứng tỏ đã có sự tạo thành liên kết giữa ion kim loại kẽm và nguyên tử nitơ của glycine. Liên kết cho nhận  $\text{Zn} \leftarrow \text{N}$  làm giảm mật độ electron giữa  $\text{N} - \text{H}$  và làm liên kết  $\text{N} - \text{H}$  yếu đi. Như vậy, glycine là phối tử hai càng, sự phối trí giữa glycine với ion  $\text{Zn}^{2+}$  được thực hiện qua nguyên tử oxi và nitơ, tạo thành vòng 5 cạnh tương đối bền.

Ngoài ra trên phổ hồng ngoại của phức chất  $\text{Zn}^{2+}$  với glycine còn xuất hiện dải hấp thụ ở khoảng  $3318,57 \div 3440,30 \text{ cm}^{-1}$ , đặc trưng cho dao động hoá trị của nhóm  $\text{OH}^-$  trong nước. Điều này chứng tỏ phức chất kẽm glycinate  $\text{Zn}(\text{gly})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  có chứa nước, được thể hiện trên hình 2.

### 3. Nghiên cứu tính kháng khuẩn và kháng nấm của phức $\text{Zn}(\text{gly})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ và glycine

Tiến hành nghiên cứu tính kháng khuẩn, kháng nấm của phức kẽm glycinate  $\text{Zn}(\text{Gly})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  và glycine ở các nồng độ khác nhau từ 0,01 đến 1,5%. Các phép thử được thực hiện ở điều kiện thường  $25^\circ\text{C}$  và 1atm.

Chủng vi khuẩn E.coli ATCC 25922 và chủng nấm mốc Trichoderma receive CPK 63 được đem ra nghiên cứu thử nghiệm.

Kết quả nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn chủng vi khuẩn E.coli ATCC 25922 và chủng nấm mốc Trichoderma receive CPK 63 của phức  $\text{Zn}(\text{gly})_2$  và glycine được thể hiện trên bảng 2.

Phức  $\text{Zn}(\text{gly})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  có khả năng kháng chủng vi khuẩn E.coli ATCC 25922 và chủng nấm mốc Trichoderma receive CPK 63 ở nồng độ 0,02% trở lên rất hiệu quả.

**Bảng 2: Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của phức  $\text{Zn}(\text{gly})_2$  và glycine**

Tên hoá chất	Nồng độ	Chủng loại khuẩn và nấm mốc	
		E.coli ATCC 25922	Trichoderma receive CPK 63
Zn(gly).H <sub>2</sub> O	1,50%	++++	++++
	1,00%	+++	+++
	0,05%	++	++
	0,02%	+	+
	0,01%	–	–
Glycine	1,50%	–	–
	1,00%	–	–
	0,05%	–	–
	0,02%	–	–
	0,01%	–	–

Ghi chú: Dấu “+” có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm;

Dấu “–” không có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm.

Bản thân glycine không có khả năng kháng chủng vi khuẩn E.coli ATCC 25922 và chủng nấm mốc Trichoderma

receive CPK 63.

Phức  $\text{Zn}(\text{gly})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  có khả năng kháng chủng vi khuẩn E.coli ATCC

25922 và chủng nấm mốc *Trichoderma receive* CPK 63 ở nồng độ 0,02% đã cho thấy hiệu quả.

Ở nồng độ phức  $Zn(gly)_2.H_2O$  0,05% thì khả năng kháng khuẩn, kháng nấm tốt hơn nhiều.

Phức  $Zn(Gly)_2.H_2O$  có khả năng kháng khuẩn và kháng nấm rất tốt là do phức chất này có khả năng ngăn cản và ức chế quá trình vận chuyển oxi tới các tế bào của vi khuẩn *E.coli* và nấm mốc, làm cho chúng không thể sinh trưởng và phát triển bình thường được, dẫn tới bị tiêu diệt.

Kết quả nghiên cứu đã mở ra triển vọng, ứng dụng phức kẽm glycinate  $Zn(Gly)_2.H_2O$  vào quá trình diệt những chủng loại vi khuẩn và nấm mốc có hại với nồng độ 0,02%.

#### IV. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp được phức kẽm glycinate  $Zn(gly)_2.H_2O$ .

Đã xác định được sự tạo phức giữa các ion kim loại  $Zn^{2+}$  với glycine bằng liên kết phối trí với glycine thông qua nguyên tử oxi và nitơ.

Nghiên cứu khả năng kháng chủng vi khuẩn *E.coli* ATCC 25922 và chủng nấm mốc *Trichoderma receive* CPK 63 của kẽm glycinate  $Zn(gly)_2.H_2O$  với nồng độ 0,02% có hiệu quả tiêu diệt vi khuẩn và nấm mốc rõ rệt.

Bản thân glycine không có khả năng kháng khuẩn và kháng nấm.

Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học cho việc ứng dụng phức chất  $Zn(gly)_2.H_2O$  vào trong các quá trình tiêu diệt những mầm bệnh gây hại rất hiệu quả.

#### TÀI LIỆU TRÍCH DẪN

- [1]. Phạm Ngọc Bùng (2018), *Hoá lý Dược*, NXB Y học.
- [2]. Lê Văn Huỳnh (2014), *Hoá học các nguyên tố*, NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- [3]. Lê Văn Huỳnh (2016), *Các quá trình hoá lý*, NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- [4]. Charles E. Mortimer und Ulrich Müller, "Chemie", 10. Aufl., Thieme, Stuttgart, S.523 (2010).
- [5]. Sanguinetti M, Posteraro B, Lass-Flörl C. Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. *Mycoses*. 2015; 58 (Suppl 2):2–13.
- [6]. Medici S, Peana M, Crisponi G, Nurchi GM, Lachowicz JI, Remelli M, et al. Silver coordination compounds: A new horizon in medicine *Coord Chem Rev*. 2016; 327–328:349–359.
- [7]. Rendošová M, Vargová Z, Kuchár J, Sabolová D, Levoča Š, Kudláčová J, et al. New silver complexes with bioactive glycine and nicotinamide

molecules—Characterization, DNA binding, antimicrobial and anticancer evaluation *J. Inorg. Biochem.* 2017; 168:1–12.

- [8]. Mujahid M, Trendafilova N, Arfa-Kia AF, Rosair G, Kavanagh K, Devereux M, et al. Novel silver(I) complexes of coumarin oxyacetate ligands and their phenanthroline adducts: Biological activity, structural and spectroscopic characterisation. *J Inorg Biochem.* 2016; 163:53–67.
- [9]. Dorobantu LS, Fallone C, Noble AJ, Veinot J, Ma G, Goss GG, et al. Toxicity of silver nanoparticles against bacteria, yeast, and algae. *J Nanopar Res.* 2015; 17:172.
- [10]. Ahmed S, Ahmad M, Swami BL, Ikram S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *J Adv Res.* 2016; 7:7–28.
- [11]. Chen W., Vermaak I., Viljoen A.. Camphor—A fumigant during the Black Death and a coveted fragrant wood in ancient Egypt and Babylon—A review. *Molecules.* 2013; 18:5434–5454.
- [12]. Justino GC, Pinheiro PF, Roseiro APS, Knittel ASO, Gonçalves J, Justino MC, et al. Camphor-based CCR5 blocker lead compounds—a computational and experimental approach. *RSC Adv.* 2016; 6:56249–56259.
- [13]. Cardoso JMS, Galvao AM, Guerreiro SI, Leitao JH, Suarez AC, Carvalho MFNN. Antibacterial activity of silver camphorimine coordination polymers. *Dalton Trans.* 2016; 45:7114–7123.
- [14]. Coutinho CP, Barreto C, Pereira L, Lito L, Cristino JM, Sá-Correia I. Incidence of *Burkholderia contaminans* at a cystic fibrosis centre with an unusually high representation of *Burkholderia cepacia* during 15 years of epidemiological surveillance. *J. Med Microbiol.* 2015; 64:927–935.