BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO **VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Nguyễn Thị Thanh Huyền

CHẾ TẠO VÀ NGHIÊN CỨU CÁC ĐẶC TRƯNG TÍNH CHẤT CỦA NANO Fe^0, Cu^0, Co^0, ĐỊNH HƯỚNG ỨNG DỤNG TRONG NÔNG NGHIỆP

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội – 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO **VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Nguyễn Thị Thanh Huyền

CHẾ TẠO VÀ NGHIÊN CỨU CÁC ĐẶC TRƯNG TÍNH CHẤT CỦA NANO Fe^0, Cu^0, Co^0, ĐỊNH HƯỚNG ỨNG DỤNG TRONG NÔNG NGHIỆP

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: HÓA VÔ CƠ

Mã số: 9440113

Xác nhận của học viện Khoa học và Công nghệ

Người hướng dẫn khoa học

PGS. TS. Hoàng Anh Sơn

Hà Nội – 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "Chế tạo và nghiên cứu các đặc trưng tính chất của nano Fe^0, Cu^0, Co^0, định hướng ứng dụng trong nông nghiệp" là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS. Hoàng Anh Sơn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Tác giả luận án

Nguyễn Thị Thanh Huyền

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc, sự cảm phục và kính trọng tới PGS.TS. Hoàng Anh Sơn là người Thầy đã tận tâm hướng dẫn khoa học, định hướng nghiên cứu, động viên khích lệ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình thực hiện luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Viện Kỹ thuật Nhiệt đới, Học viện Khoa học và Công nghệ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cùng các cán bộ trong Viện, Học viện đã quan tâm giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu thực hiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn tập thể cán bộ, nhân viên phòng Vật liệu xúc tác - Viện Khoa học Vật liệu đã luôn giúp đỡ, ủng hộ và tạo mọi điều kiện tốt nhất cũng như những đóng góp về chuyên môn cho tôi trong suốt quá trình thực hiện và thực hiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn Đảng ủy, Ban Giám hiệu Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì, lãnh đạo Khoa Công nghệ Hóa học và Môi trường cùng các đồng nghiệp trong Khoa đã tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc nhất đến gia đình, người thân và bạn bè đã luôn quan tâm, khích lệ, động viên và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian thực hiện luận án này.

Dù đã hết sức cố gắng, tuy nhiên nội dung của luận án không tránh khỏi những thiếu sót. Kính mong nhận được những ý kiến đóng góp quý báu từ phía Hội đồng, các thầy cô và các anh chị em đồng nghiệp để luận án của NCS được hoàn thiện hơn!

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Tác giả luận án

Nguyễn Thị Thanh Huyền

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN ..... **i**
LỜI CẢM ƠN ..... **ii**
DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT ..... **v**
DANH MỤC HÌNH ..... **vii**
MỞ ĐẦU **1**
1.1. Vật liệu nano kim loại **5**
1.1.1. Một số tính chất đặc trưng 5
1.1.2. Các phương pháp chế tạo 8
1.2. Ứng dụng của hạt nano kim loại trong lĩnh vực trồng trọt **12**
1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới 12
1.2.2. Tình hình nghiên cứu ở trong nước 16
1.2.3. Một số quan điểm về cơ chế tác dụng của nano kim loại siêu phân tán lên thực vật 20
CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU **25**
2.1. Hóa chất, vật tư và thiết bị **25**
2.1.1. Hóa chất: 25
2.1.2. Vật tư 25
2.1.3. Thiết bị 26
2.2. Chế tạo vật liệu nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 ..... **26**
2.2.1. Chế tạo tiền chất 26
2.2.2. Chế tạo các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 28
2.3. Phương pháp nghiên cứu đặc trưng tính chất của vật liệu và đánh giá tác động của hạt nano kim loại lên cây trồng **30**
2.3.1. Phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) 30
2.3.2. Phương pháp phổ huỳnh quang tia X (XRF) 31
2.3.3. Phương pháp phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) 31
2.3.4. Phương pháp hiển vi điện tử quét SEM 31
2.3.5. Phương pháp BET 31
2.3.6. Phương pháp xác định phân bố kích thước hạt (DLS) 32
2.3.7. Phương pháp đo phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến (UV-VIS) 32

2.3.8. Phương pháp phổ phát xạ nguyên tử Plasma (ICP) 33
2.3.9. Phương pháp xử lý hạt giống/ củ giống bằng hạt nano kim loại 33
2.3.10. Phương pháp đánh giá.....35
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....39
3.1. Chế tạo và đặc trưng tính chất của vật liệu nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 ...39
3.1.1. Nano kim loại Fe0.....39
3.1.2. Nano kim loại Cu^0.....46
3.1.3. Nano kim loại Co^0.....54
3.2. Chế tạo và đặc trưng tính chất dung dịch huyền phù của các hạt nano kim loại.....61
3.2.1. Dung dịch huyền phù nano kim loại Fe^0.....62
3.2.2. Dung dịch huyền phù nano kim loại Cu^0.....64
3.2.3. Dung dịch huyền phù nano kim loại Co^0.....65
3.3. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến cây ngô, cây gừng, cây lúa mì và lúa mạch. 68
3.3.1. Kết quả đối với cây ngô 68
3.3.2. Kết quả đối với cây gừng.....84
3.3.3. Kết quả đối với cây lúa mì, lúa mạch trong điều kiện khí hậu ôn đới.....90
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN 99
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....100
PHỤ LỤC.....109

DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tên đầy đủ
APX	Hoạt độ enzyme Ascorbate Peroxidase
ATP	Adenosin triphosphat
BET	The Brunauer Emmett and Teller
BNNPTNT	Bộ nông nghiệp phát triển nông thôn
CIMMYT	International Maize and Wheat Improvement Center (Trung tâm cải tiến ngô và lúa mì quốc tế)
CT	Công thức
DLS	Dynamic light scattering (Tán xạ ánh sáng động)
ĐC	Đối chứng
EDX	Energy-dispersive Xray-spectroscopy (Phổ tán sắc năng lượng tia X)
ICP	Inductively coupled plasma (Quang phổ phát xạ nguyên tử Plasma)
MC	Độ ẩm của hạt khi thu hoạch
NADP	Acceptor nicotinamid adenin dinucleotidphosphat
NSLT	Năng suất lý thuyết
NSTT	Năng suất thực thu
Nano Cu^0	Nano đồng hóa trị 0
Nano Fe^0	Nano sắt hóa trị 0
Nano Co^0	Nano coban hóa trị 0
P1	Khối lượng mẫu
P2	Khối lượng lõi
QCVN	Quy chuẩn Việt Nam

RC	Độ ẩm tiêu chuẩn hạt
S	Diện tích ô thí nghiệm
SEM	Scanning Electron Microscopy (Kính hiển vi điện tử quét)
SOD	Hoạt độ enzyme Superoxide dismutase
TLNM	Tỉ lệ nảy mầm
UV-VIS	Ultra Violet – Visible (Phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến)
XRD	X-Ray Diffraction (Nhiễu xạ tia X)
XRF	X-Ray Fluorescence (Huỳnh quang tia X)
WHO	World Health Organization (Tổ chức Y tế Thế giới)
FW	Khối lượng ngô trong 1 ô thí nghiệm

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Nguyên lý ăn mòn laser....8
Hình 1.2. Coenzym Fe-porphyrin 21
Hình 2.1. Sơ đồ quy trình chế tạo bột oxit kim loại....27
Hình 2.2. Thuyền sứ dùng để chứa tiền chất....28
Hình 2.3. Hệ thống thiết bị chế tạo hạt nano kim loại 29
Hình 2.4. Sơ đồ khối chế tạo nano kim loại theo nguyên lý khử bằng H_2....29
Hình 3.1. Giản đồ XRD của bột Fe_2O_3 39
Hình 3.2. Ảnh SEM của bột Fe_2O_3 39
Hình 3.3. Phân bố kích thước hạt của Fe_2O_3....40
Hình 3.4. Giản đồ XRD của các mẫu khử tại các nhiệt độ khác nhau....42
Hình 3.5. Giản đồ XRD của các mẫu khử ở 400^oC với các thời gian phản ứng khác nhau 43
Hình 3.6. Ảnh SEM của mẫu Fe^0 44
Hình 3.7. Phân bố kích thước hạt của mẫu nano Fe^0 chế tạo tại 400^oC 90 phút....44
Hình 3.8. Phân tích thành phần nguyên tố của mẫu nano Fe^0 sau phản ứng bằng phương pháp XRF 45
Hình 3.9. Kết quả đo diện tích bề mặt riêng BET của mẫu nano Fe^0 46
Hình 3.10. Giản đồ XRD của tiền chất CuO....47
Hình 3.11. Phân tích thành phần tiền chất CuO bằng phương pháp XRF 47
Hình 3.12. Ảnh SEM của bột CuO 48
Hình 3.13. Phân bố kích thước hạt của CuO....48
Hình 3.14. Giản đồ XRD của các mẫu khử ở nhiệt độ khác nhau 50
Hình 3.15. Giản đồ XRD của các mẫu khử với thời gian khác nhau....51
Hình 3.16. Phân tích thành phần nguyên tố sản phẩm nano Cu^0 52
bằng phương pháp XRF 52
Hình 3.17. Ảnh SEM của mẫu nano Cu^0 chế tạo được tại 400^oC 60 phút....53
Hình 3.18. Kết quả đo kích thước hạt trung bình của mẫu nano kim loại Cu^0 53
Hình 3.19. Giản đồ XRD của bột Co_3O_4....54
Hình 3.20. Ảnh SEM của bột Co_3O_4....54
Hình 3.21. Phân bố kích thước hạt của Co3O4....55
Hình 3.22. Giản đồ XRD của các mẫu khử tại các nhiệt độ khác nhau....57

Hình 3.23. Giản đồ XRD của các mẫu nano Co^0 chế tạo được tại 500°C với các thời gian phản ứng khác nhau.....58
Hình 3.24. Ảnh SEM của Co^0 tại các thời gian phản ứng khác nhau 59
Hình 3.25 . Phân bố kích thước hạt của mẫu nano Co^0 chế tạo tại 500°C, thời gian phản ứng 60 phút.....59
Hình 3.26. Phổ EDX của mẫu nano Co^0 chế tạo tại 500°C, thời gian phản ứng 60 phút60
Hình 3.27. Phân tích thành phần nguyên tố mẫu nano Co^0 sau phản ứng khử bằng phương pháp XRF 60
Hình 3.28. Kết quả đo diện tích bề mặt riêng BET của mẫu nano Co^0 61
Hình 3.29. Thế zeta của dung dịch nano Fe^0 3mg/l được rung siêu âm trong.....63
20 phút.....63
Hình 3.30. Thế zeta của dung dịch nano Fe^0 4mg/l được rung siêu âm trong 20 phút 63
Hình 3.31. Thế zeta của dung dịch nano Fe^0 5mg/l được rung siêu âm trong 20 phút 63
Hình 3.32. Thế zeta của dung dịch nano Cu^0 3mg/l được rung siêu âm trong 20 phút 64
Hình 3.33. Thế zeta của dung dịch nano Cu^0 4mg/l được rung siêu âm trong 20 phút 65
Hình 3.34. Thế zeta của dung dịch nano Cu^0 5mg/l được rung siêu âm trong 20 phút 65
Hình 3.35. Thế zeta của dung dịch nano Co^0 3mg/l được rung siêu âm trong 20 phút 66
Hình 3.36. Thế zeta của dung dịch nano Co^0 4mg/l được rung siêu âm trong 30 phút 67
Hình 3.37. Thế zeta của dung dịch nano Co0 4mg/l được rung siêu âm trong 30 phút 67
Hình 3.38. Trọng lượng tươi của cây ngô non 1 tuần tuổi.....69
Hình 3.39. Trọng lượng tươi của cây ngô non 2 tuần tuổi.....69
Hình 3.40. Trọng lượng tươi của cây ngô non 3 tuần tuổi.....70
Hình 3.41. Hình ảnh cây ngô sinh trưởng sau 3 tuần.....70
Hình 3.42. Hàm lượng diệp lục của cây ngô 3 tuần tuổi 71

Hình 3.43. Hàm lượng anthocyanin của cây ngô non.....72
Hình 3.44. Cây xử lý với nano Cu^0 và đối chứng trong điều kiện thường và điều kiện gây hạn nhân tạo.....74
Hình 3.45. Kết quả đo hoạt độ enzyme APX lá ngô (A) và SOD (B) 77
Hình 3.46. Bắp của cây ngô xử lý với nano Cu^0 và đối chứng.....79
Hình 3.47. Chiều cao trung bình của cây gừng trâu theo thời gian sau khi nảy mầm với củ gừng giống được xử lý bằng các nano kim loại với các hàm lượng khác nhau 85
Hình 3.48. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến sự phát triển chiều dài của cây con 91
Hình 3.49. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến sự phát triển của sợi nấm thực vật.....92
Hình 3.50. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến các chỉ tiêu cơ cấu cây trồng 94

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Số nguyên tử và năng lượng bề mặt của hạt nano hình cầu [5].....6
Bảng 2.1. Công thức thí nghiệm với cây ngô 35
Bảng 2.2. Công thức thí nghiệm với cây gừng 37
Bảng 2.3. Công thức thí nghiệm với cây lúa mì, lúa mạch.....38
Bảng 3.1. Thế zeta của nano Fe^0 ở các nồng độ và thời gian rung siêu âm khác nhau 62
Bảng 3.2. Thế zeta của nano Cu^0 ở các nồng độ và thời gian rung siêu âm khác nhau 64
Bảng 3.3. Thế zeta của nano Co^0 ở các nồng độ và thời gian rung siêu âm khác nhau 66
Bảng 3.4. Tỉ lệ nảy mầm của hạt giống 68
Bảng 3.5. Chiều dài rễ của cây ngô non sau 3 tuần 70
Bảng 3.6. Hàm lượng diệp lục và carotenoid của lá ngô xử lý nano Cu^0 trong điều thường và gây hạn nhân tạo ở ở thời điểm 7 ngày.....74
Bảng 3.7. Hàm lượng diệp lục và carotenoid của lá ngô xử lý nano Cu^0 trong điều thường và gây hạn nhân tạo ở ở thời điểm 14 ngày.....75
Bảng 3.8. Hàm lượng diệp lục và carotenoid của lá ngô xử lý nano Cu^0 trong điều thường và gây hạn nhân tạo ở ở thời điểm 21 ngày.....75
Bảng 3.9. Hàm lượng anthocyanin của lá ngô xử lý nano Cu^0 trong điều thường và gây hạn nhân tạo ở thời điểm 14 ngày và 21 ngày.....76
Bảng 3.10. Năng suất của cây ngô xử lý với nano Cu^0 và đối chứng trong điều kiện bình thường và gây hạn nhân tạo 78
Bảng 3.11. Kết quả theo dõi quá trình mọc của các thí nghiệm 80
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của xử lý bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến sự sinh trưởng của cây ngô giai đoạn trưởng thành.....80
Bảng 3.13. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của xử lý bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất.....82
Bảng 3.14. Hàm lượng tinh bột trong hạt ngô thành phẩm.....82
Bảng 3.15. Hàm lượng tồn dư kim loại trong hạt ngô thành phẩm 83
Bảng 3.16. Số nhánh trung bình của cây gừng trâu theo thời gian sau khi xử lý củ giống bằng các nano kim loại với các hàm lượng khác nhau 85

Bảng 3.17. Chiều dài và chiều rộng lá của cây gừng sau 8 tháng gieo trồng 86
Bảng 3.18. Ảnh hưởng của xử lý bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất 88
Bảng 3.19. Hàm lượng 6-gingerol và 6-shogaol có trong tinh dầu gừng 89
Bảng 3.20. Hàm lượng tồn dư kim loại (Cu^0, Fe^0, Co^0) trong củ gừng sau thu hoạch 90

MỞ ĐẦU

Ngành nông nghiệp hiện nay đang phải đối mặt với hàng loạt thách thức mang tính toàn cầu như: Dân số thế giới ngày càng tăng nhanh, diện tích đất trồng trọt ngày càng bị thu hẹp, các vấn đề về biến đổi khí hậu, hoặc về môi trường như tồn dư thuốc trừ sâu, phân bón... Do đó nhu cầu thay đổi phương thức canh tác truyền thống bằng những kĩ thuật nông nghiệp mới nhằm tiết kiệm chi phí, nâng cao năng suất, chất lượng cây trồng và an toàn với môi trường là rất cần thiết. Việc ứng dụng công nghệ nano trong ngành nông nghiệp hứa hẹn giải quyết được các vấn đề này.

Thật vậy, công nghệ nano ứng dụng cho nông nghiệp hiện nay chủ yếu đang được nghiên cứu ở 5 khía cạnh. Một là kích thích sinh trưởng thực vật. Hai là tăng năng suất cây trồng. Ba là bảo vệ thực vật. Bốn là cải thiện chất lượng đất. Năm là giám sát thông minh mầm bệnh và dư lượng thuốc trừ sâu.

Cùng với sự phát triển sôi động của công nghệ nano gần đây các nhà khoa học đã nghiên cứu ảnh hưởng của các nguyên tố vi lượng kích thước nano (<100nm) đối với cây trồng [1]. Ảnh hưởng của các hạt nano có thể thông qua các công đoạn như xử lý hạt giống trước khi gieo trồng, kết hợp trong phân bón lá, phân bón nhả chậm, thuốc diệt cỏ, thuốc trừ sâu…

Khi xử lý hạt giống bằng các nano kim loại, điển hình như nano đồng, sắt, coban... chúng có tác dụng tiêu diệt các vi sinh vật, bảo vệ hạt giống khỏi các tác nhân gây bệnh. Ngoài ra chúng còn tạo các điều kiện bất lợi đối với các vi sinh vật gây bệnh trong đất, đồng thời chúng được cây trồng hấp thụ với vai trò như các nguyên tố vi lượng kích thích quá trình sinh trưởng của cây [2]. Các nguyên tố vi lượng làm tăng độ ẩm xuyên qua lớp vỏ của hạt giống, kích hoạt các quá trình sinh hoá trong hạt giống, làm tăng khả năng sống, nảy mầm, sinh trưởng của các bộ phận trên mặt đất cũng như hệ thống rễ cây. Khả năng nảy mầm của hạt càng mạnh góp phần làm giảm lượng tiêu thụ chất dinh dưỡng dự phòng, tăng hô hấp của cây, cho phép hạt nảy mầm và đâm chồi ngay cả với một lượng nhỏ chất dinh dưỡng trong nội nhũ. Trong thực tế, từ trước đến nay người nông dân thường xử lý hạt giống bằng các loại thuốc bảo vệ thực vật. Trong thuốc bảo vệ thực vật thì kim loại thường ở dạng muối hoặc phức chelat để xử lý hạt giống, phun, bón. Tuy nhiên, hàm lượng độc tố của kim loại ở dạng muối hoặc phức chelat được chứng minh là lớn hơn 10 – 40 lần so với độc tố ở dạng hạt nano của các kim loại đó [3]. Việc sử dụng nano kim loại để xử lý hạt giống trước khi gieo trồng nhằm thay thế các biện pháp xử lý hạt giống thông thường hiện nay, góp phần nâng cao năng suất cây trồng và giảm thiểu ô nhiễm môi trường là biện pháp vô cùng cần thiết để phát triển một nền nông nghiệp sạch, an toàn và thân thiện với môi trường.

Nhóm các nguyên tố cung cấp chất dinh dưỡng thiết yếu cho cây trồng bao gồm: Nhóm các chất dinh dưỡng như Carbon, hydro, oxi thường được cây trồng hấp thu từ không khí. Nhóm các chất dinh dưỡng đa lượng như nitơ, phốt pho, kali, canxi, lưu huỳnh, magie thường được cây trồng lấy từ đất, phân bón và nước. Nhóm các chất dinh dưỡng vi lượng bao gồm sắt, đồng, coban, bo, clo, mangan, kẽm, niken, molybden. Trong các nguyên tố vi lượng thì đồng có ý nghĩa đặc thù quan trọng trong sự sống của thực vật và không thể thay thế bởi bất kì nguyên tố nào khác. Đồng thúc đẩy quá trình hình thành vitamin A trong hạt, đây là chất rắn cần thiết cho sự phát triển của hạt. Đồng là thành phần chính của các enzym tập trung ở rễ cây, tham gia vào quá trình chuyển hóa nitơ và quá trình oxi hóa xảy ra trong tế bào thực vật và nó nằm trong thành phần cơ bản của các men oxi hóa. Dưới tác dụng của đồng sự hô hấp của thực vật tăng lên mãnh liệt, tăng hàm lượng diệp lục và tính chống chịu của nó. Tiếp theo là sắt, sắt là chất xúc tác quan trọng trong quá trình sản xuất chất diệp lục giúp cho lá cây có màu xanh. Sắt ảnh hưởng đến nhiều quá trình tổng hợp và chuyển hóa của các hợp chất hữu cơ trong đó có sắc tố tế bào (xitocrôm) – tác nhân truyền, tham gia vào quá trình hô hấp và thậm chí đi vào trong thành phần của các men oxi hóa peroxide và các chất xúc tác. Ngoài ra nó còn là thành phần của phức sắt, hợp chất chức năng trong số các tác nhân truyền (vận chuyển) trong quá trình quang hợp, khử NO_3^- và SO_4^{2-}, đồng hóa nitơ và sinh tổng hợp clorophin. Coban thuộc nhóm siêu vi lượng, là thành phần xúc tác cho nhiều phản ứng sinh hóa của cây, liên quan đến quá trình khử nitrate và tổng hợp đạm. Coban là một thành phần trung tâm của vitamin cobalamin, hoặc vitamin B-12. Coban có tác động tích cực đến sự tích tụ chất diệp lục, tăng độ bền liên kết của phức chất diệp lục với protein và khả năng chống lại sự phá hủy chúng trong bóng tối. Như vậy trong những nguyên tố vi lượng cần thiết cho cây trồng thì sắt, đồng và coban là 3 nguyên tố không thể thiếu và có tầm quan trọng bậc nhất.

Mặt khác trong các loại cây lương thực ở nước ta thì cây ngô hiện là cây chủ lực chỉ sau cây lúa, các loại cây dược liệu thì có cây gừng hiện nay đang là loại cây có vai trò xóa đói giảm nghèo, mang lại hiệu quả kinh tế cao ở nhiều địa phương, đặc biệt là các tỉnh miền núi phía Bắc. Tuy nhiên sản xuất ngô và gừng hiện nay chủ yếu sử dụng các phương pháp canh tác truyền thống, phụ thuộc hoàn toàn vào điều kiện tự nhiên dẫn đến năng suất cây trồng chưa cao. Do vậy, ứng dụng khoa học công nghệ, lựa chọn mô hình canh tác thông minh kết hợp với sử dụng chế phẩm nano kim loại xử lý giống chính là giải pháp cốt lõi để tăng năng suất cho cây trồng.

Ngoài ra, để đánh giá tác động của việc sử dụng các hạt nano Fe^0, Cu^0, Co^0 ở các điều kiện khí hậu và thổ nhưỡng khác nhau, đề tài không chỉ nghiên cứu ảnh hưởng của hạt nano kim loại đến sinh trưởng phát triển của cây trồng ở vùng khí hậu

nhiệt đới mà còn nghiên cứu ảnh hưởng của hạt nano kim loại đến sự sinh trưởng phát triển của cây lúa mì, lúa mạch trồng ở vùng khí hậu ôn đới.

Chính vì vậy, việc lựa chọn hướng nghiên cứu chế tạo các nano hóa trị không của 3 kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 và khảo sát đánh giá tác động của chúng đối với sự sinh trưởng phát triển, tăng năng suất một số đối tượng cây trồng cụ thể là cây ngô, cây gừng trong điều kiện khí hậu nhiệt đới và cây lúa mì, lúa mạch trong điều kiện khí hậu ôn đới ở luận án của nghiên cứu sinh có tính mới cũng như cả ý nghĩa khoa học và giá trị thực tiễn ở trong nước và trên thế giới.

Xuất phát từ yêu cầu khoa học và thực tế trên, nghiên cứu sinh đã lựa chọn đề tài "Chế tạo và nghiên cứu các đặc trưng tính chất của nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0, định hướng ứng dụng trong nông nghiệp" làm luận án tiến sĩ của mình.

Mục tiêu nghiên cứu của luận án:

1. Chế tạo được các tinh thể nano kim loại Fe, Cu, Co hoá trị 0 (Fe^0, Cu^0, Co^0) có kích thước dưới 100nm bằng phương pháp khử bởi hydro mới sinh.

2. Tìm ra các điều kiện phù hợp để xử lý hạt giống ngô, lúa mì, lúa mạch/củ giống gừng trước khi gieo trồng bằng các nano kim loại hóa trị không (Fe^0, Cu^0, Co^0).

3. Đánh giá được khả năng kích thích sinh trưởng trong giai đoạn nảy mầm, phát triển thân, rễ, lá, khả năng tăng năng suất thu hoạch của các cây ngô, cây gừng, cây lúa mì, lúa mạch sau khi xử lý hạt giống bằng các nano Fe^0, Cu^0, Co^0 và cơ chế tác động của chúng.

Nội dung nghiên cứu của luận án

1. Nghiên cứu chế tạo và đặc trưng tính chất của các nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0.

2. Nghiên cứu chế tạo và đặc trưng hóa lý của dung dịch xử lý hạt giống trên cơ sở dung dịch huyền phù của các nano kim loại.

3. Khảo sát ảnh hưởng của các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến sinh trưởng phát triển, năng suất, chất lượng sản phẩm của cây ngô, cây gừng và cây lúa mì lúa mạch.

Cơ sở khoa học và thực tiễn của đề tài

1. Cơ sở khoa học: Chế tạo và nghiên cứu các đặc trưng tính chất của các nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0. Khảo sát đánh giá ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến cây ngô, gừng, lúa mì và lúa mạch.

2. Cơ sở thực tiễn: Góp phần ứng dụng khoa học công nghệ trong nông nghiệp để thay thế phương thức canh tác truyền thống nhằm tiết kiệm chi phí, tăng năng suất cây trồng và thân thiện với môi trường.

Những đóng góp mới của luận án

1. Phát triển và làm rõ được cơ sở lý thuyết, điều kiện tiến hành thực nghiệm đối với phương pháp chế tạo các tinh thể nano kim loại hóa trị không dạng bột (Fe^0, Cu^0, Co^0) từ các oxit, hydroxit tương ứng bằng phương pháp khử bởi hydro sinh ra từ phản ứng điện phân nước.

2. Đã thiết lập được các điều kiện chế tạo và thông số đặc trưng đối với dung dịch huyền phù của từng loại nano kim loại (Fe^0, Cu^0, Co^0) để xử lý hạt giống ngô, lúa mì, lúa mạch/củ giống gừng trước khi gieo trồng.

3. Đã chỉ ra cơ chế tác động và hoạt tính sinh học của nano kim loại đối với sự sinh trưởng phát triển của cây ngô qua việc khảo sát ảnh hưởng đối với các sắc tố như hàm lượng diệp lục, anthocyane. Làm rõ được cơ chế chống chịu hạn của cây ngô trên cơ sở tác động của hạt nano Cu^0 đến hoạt độ enzym (APX, SOD) của cây.

4. Đã chỉ ra rằng, xử lý giống bằng nano kim loại cho kết quả tích cực với nhiều đối tượng cây trồng ở các điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu khác nhau. Tuy nhiên, mỗi nano kim loại có tác động tích cực với từng đối tượng cây trồng. Ở điều kiện khí hậu nhiệt đới (Việt Nam), xử lý bằng nano Cu^0 với hàm lượng 80mg/ha cho năng suất ngô tăng 21,02%, nano Co^0 với hàm lượng 300mg/ha cho năng suất gừng tăng đến 45,02%. Ở điều kiện khí hậu ôn đới (Belarus), xử lý bằng nano Co^0 với hàm lượng 0,5mg/kg giống lúa mạch đã làm tăng trọng lượng bông lúa lên 1,2-1,5 lần so với đối chứng. Tính an toàn sinh học của quá trình xử lý giống bằng nano kim loại cũng đã được chứng minh thông qua đánh giá dư lượng của các nano kim loại trên các sản phẩm sau thu hoạch đều nằm dưới ngưỡng cho phép của tổ chức WHO.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Vật liệu nano kim loại

Khoa học nano là khoa học nghiên cứu vật chất ở kích thước cực kì nhỏ, kích thước nanomet (nm). Khi vật liệu ở kích thước nano thì tỉ lệ nguyên tử trên bề mặt tăng lên so với tổng số nguyên tử của vật liệu khối. Điều này làm cho các hạt nano có những tính chất đặc biệt mà trên vật liệu khối không có.

Công nghệ nano là các công nghệ liên quan đến việc thiết kế, phân tích, chế tạo, ứng dụng các cấu trúc, thiết bị và hệ thống bằng việc điều khiển hình dáng, kích thước ở quy mô nanomet.

Vật liệu nano là vật liệu có kích thước từ 1-100nm. Vật liệu nano có thể tồn tại ở các dạng trạng thái rắn, lỏng và khí.

Hạt nano kim loại là các hạt có kích thước nano được tạo thành từ các kim loại. Hạt nano kim loại có thể tồn tại dạng đơn chất hoặc trong môi trường dung dịch.

1.1.1. Một số tính chất đặc trưng

Vật liệu nano là vật liệu không thể thiếu trong ngành công nghiệp hiện đại, vì vậy vật liệu nano hiện nay đang được quan tâm rất nhiều, nó chiếm một ý nghĩa rất lớn đối với đời sống con người chính là nhờ vào các tính chất rất đặc biệt của chúng mà các vật liệu khối trước đó không có được.

Do hiệu ứng bề mặt và hiệu ứng kích thước làm cho tính chất của vật liệu nano và vật liệu khối có sự khác biệt đáng kể. So với vật liệu khối thì các hạt nano có khả năng thay đổi những tính chất vật lý như tính chất như điện, từ và quang học theo đường kính hạt. Mà nguyên nhân của nó là do các mức năng lượng khác nhau của các hạt nhỏ trong vật liệu khối. Vì vậy mà tính chất vật lý của các hạt nano được xác định bởi kích thước của các hạt [4].

1.1.1.1. Hiệu ứng bề mặt

Khi vật liệu có kích thước càng nhỏ thì tỉ số giữa nguyên tử trên bề mặt và tổng số nguyên tử tăng. Ví dụ, đối với vật liệu tạo thành từ các hạt nano hình cầu. Số nguyên tử trên bề mặt là n_s, tổng số nguyên tử là n. Khi đó ta có $n_s = 4n2/3$. Tỉ số giữa số nguyên tử trên bề mặt và tổng số nguyên tử sẽ là $f = n_s/n = 4/n1/3 = 4r_0/r$, với r_0 là bán kính của nguyên tử và r là bán kính của hạt nano. Vậy khi r giảm thì tỉ số f tăng lên.

Vì nguyên tử ở bên trong lòng vật liệu có tính chất khác biệt so với nguyên tử trên bề mặt do vậy khi kích thước vật liệu giảm thì hiệu ứng bề mặt tăng [4].

Khi kích thước của vật liệu giảm đến kích cỡ nano thì f tăng. Khi đó diện tích bề mặt so với thể tích của vật liệu trở nên lớn hơn và trạng thái năng lượng điện tử là rời rạc, do đó vật liệu nano có những tính chất quý về điện, quang, từ, hóa học... Vì

f tỉ lệ nghịch với r nên không có sự thay đổi đột biến về tính chất có liên quan đến hiệu ứng bề mặt khi có sự thay đổi về kích thước. Như vậy, hạt càng bé thì hiệu ứng càng lớn và ngược lại.

Một số giá trị điển hình của hạt nano hình cầu được thể hiện ở bảng 1.1. Nhìn vào thông số ở bảng 1.1 ta thấy nếu một hạt nano có đường kính 2 nm thì số nguyên tử mà hạt đó chứa là 250 nguyên tử, tỉ số *f* là 80 %, năng lượng bề mặt là 2,04×1012 và tỉ số năng lượng bề mặt trên năng lượng toàn phần là 35,3 %. Khi các giá trị vật lí giảm đi một nửa khi kích thước của hạt nano tăng gấp hai lần lên 5 nm.

Bảng 1.1. Số nguyên tử và năng lượng bề mặt của hạt nano hình cầu [5]

Đường kính hạt nano (nm)	**Số nguyên tử**	**Tỉ số nguyên tử trên bề mặt (%)**	**Năng lượng bề mặt (erg/mol)**	**Năng lượng bề mặt/Năng lượng tổng (%)**
10	30.000	20	4,08×1011	7,6
5	4.000	40	8,16×1011	14,3
2	250	80	2,04×1012	35,3
1	30	90	9,23×1012	82,2

Hiệu ứng bề mặt đóng một vai trò quan trọng đối với quá trình hoá học, đặc biệt trong các vật liệu xúc tác. Sự tiếp xúc giữa bề mặt các hạt và môi trường xung quanh tạo điều kiện cho hiệu ứng xúc tác hiệu quả. Hiệu ứng bề mặt có thể tác động đến tính chất vật lý và hoá học của vật liệu. Vật liệu khối cũng có hiệu ứng bề mặt, tuy nhiên hiệu ứng này khá nhỏ và thường bị bỏ qua.

1.1.1.2. Hiệu ứng kích thước

Nguyên nhân dẫn đến nhiều tính chất khác nhau giữa vật liệu nano và vật liệu khối là do hiệu ứng kích thước. Đối với một vật liệu, mỗi một tính chất của nó đều có một độ dài đặc trưng. Độ dài đặc trưng cho rất nhiều các tính chất của vật liệu đều có kích thước nano. Những tính chất vật lý ở vật liệu khối là do kích thước vật liệu lớn hơn nhiều lần độ dài đặc trưng này. Khi kích thước của vật liệu nhỏ lại bằng độ dài đặc trưng thì những tính chất vật lý đó lại bị thay đổi đột ngột, khác hẳn so với tính chất của vật liệu khối trước đó. Vì vậy, thường phải kể đến những tính chất đi kèm khi nói đến vật liệu nano.

1.1.1.3. Quang học và lượng tử

So với vật liệu khối, sự tương tác giữa vật liệu nano với ánh sáng có nhiều điểm khác biệt. Vật liệu nano có đường kính tương đương hoặc nhỏ hơn bước sóng ánh sáng. Ánh sáng với bước sóng thích hợp sẽ bị phân tán khi vật liệu có đường kính

gần với bước sóng ánh sáng và được bao bọc bởi chất nền với chỉ số khúc xạ khác nhau. Hiệu ứng này xảy ra được là do lớp dầu mỏng bị kéo căng qua bề mặt của nước hình thành các màu sắc khác nhau. Hiệu ứng này được sử dụng trong vật liệu quang học như tinh thể photon, mà được thiết kế với các pha có các chỉ số khúc xạ khác nhau, đường kính đặc trưng, cấu trúc như mong đợi để tạo ra sản phẩm mong muốn tương tác với ánh sáng. Ngược lại hiệu ứng này sẽ không xảy ra khi vật liệu có sự phân chia các pha nhỏ hơn đáng kể so với bước sóng ánh sáng. Khi đó hai pha thể hiện như một vật liệu riêng biệt có liên quan tới sự truyền ánh sáng. Vì vậy khi ta thêm những hạt nano dù được tạo thành từ những hạt mờ đục vào vật liệu trong suốt thì vật liệu vẫn trong suốt với ánh sáng [4,6].

Hạt nano bán dẫn và hạt nano kim loại tương tác với ánh sáng thông qua các cơ chế khác nhau. Hạt nano bán dẫn tương tác với ánh sáng theo hiệu ứng giam cầm lượng tử, còn hạt nano kim loại theo hiệu ứng cộng hưởng plasmon, xuất hiện từ đám mây điện tử [4].

1.1.1.4. Tính chất điện

Sự tán xạ của điện tử lên các sai hỏng trong mạng tinh thể và tán xạ với dao động nhiệt của nút mạng là nguyên nhân có điện trở của kim loại. Điện trở của kim loại nhỏ, hay tính dẫn điện của kim loại tốt là do mật độ điện tử tự do của kim loại cao.

Định luật Ohm: U = IR với U là điện trường, I là tập hợp các điện tử chuyển động trong kim loại, R là điện trở của kim loại cho thấy đường I-U là một đường tuyến tính. Hiệu ứng lượng tử do giam hãm sẽ làm rời rạc hóa cấu trúc vùng năng lượng khi kích kích thước của vật liệu giảm dần. Hệ quả của quá trình này là đường I-U không còn tuyến tính nữa mà đường I-U bị nhảy bậc, nguyên nhân là do xuất hiện hiệu ứng chắn Coulomb. Giá trị mỗi bậc sai khác nhau một lượng e/2C cho U và e/RC cho I, với e là điện tích của điện tử, C và R là điện dung và điện trở khoảng nối hạt nano với điện cực.

1.1.1.5. Tính chất từ

Nguyên nhân tính nghịch từ của kim loại khi ở trạng thái khối là do có sự bù trừ của cặp điện tử. Sự bù trừ sẽ không còn nữa khi kích thước vật liệu nhỏ lại và khi đó vật liệu có từ tính. Các kim loại chuyển tiếp và có từ tính như sắt, coban, niken khi ở kích thước nhỏ sẽ phá vỡ trật tự sắt từ điều đó dẫn đến kim loại chuyển sang trạng thái siêu thuận từ, khi ở trạng thái này nếu có từ trường thì vật liệu sẽ có từ tính mạnh. Và ngược lại nếu không có từ trường thì vật liệu không có từ tính tức là từ dư và lực kháng từ bằng không.

1.1.1.6. Tính chất nhiệt

Mức độ liên kết giữa các nguyên tử trong mạng tinh thể ảnh hưởng đến nhiệt độ nóng chảy Tm của vật liệu. Những nguyên tử lân cận có liên kết mạnh với mỗi một nguyên tử trong tinh thể gọi là số phối vị. Số phối vị của nguyên tử ở bên trong vật liệu sẽ lớn hơn số phối vị của các nguyên tử trên bề mặt của vật liệu, do vậy chúng dễ dàng tái sắp xếp để có thể ở trạng thái khác. Khi đó nhiệt độ nóng chảy Tm sẽ giảm khi kích thước của vật liệu giảm. Ví dụ, hạt Au có kích thước 2 nm có Tm = 500^{o}C, 6 nm có Tm = 950^{o}C [4].

1.1.2. Các phương pháp chế tạo

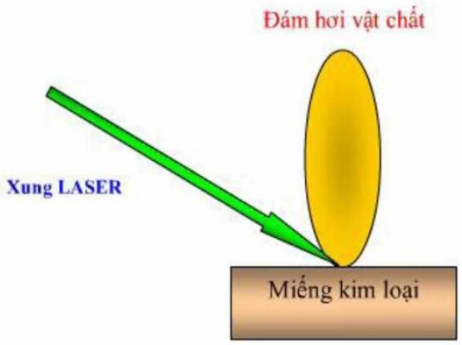
Các hạt nano đã được nghiên cứu chế tạo bằng nhiều phương pháp khác nhau. Những phương pháp này có thể được phân nhóm theo kích thước của vật liệu ban đầu và chia thành 2 nhóm chính bao gồm: Các phương pháp từ trên xuống và các phương pháp từ dưới lên.

1.1.2.1. Phương pháp từ trên xuống

Nguyên lý: Phương pháp từ trên xuống là phương pháp tạo hạt kích thước nano từ các hạt có kích thước lớn hơn.

a. Phương pháp ăn mòn laser

Bản chất của phương pháp là sử dụng một tia laser với cường độ và mức năng lượng trên vùng giới hạn của vật liệu để chiếu lên bề mặt vật liệu nhằm phá vỡ vật liệu. Khi đó vật liệu bị vỡ thành các mảnh nhỏ, các mảnh này thường là hỗn hợp các nguyên tử, phân tử và ion. Cường độ laser lớn sẽ làm cho vật liệu bị phá vỡ và dẫn đến sự phân tán hỗn hợp nguyên tử, phân tử và các ion (plasma) hoặc các đám hơi vật chất từ bề mặt của vật liệu (hình 1.1).



Hình 1.1. Nguyên lý ăn mòn laser

Nguyên nhân gây ra hiện tượng ăn mòn là do 2 quá trình. Quá trình thứ nhất là ăn mòn nhiệt tức là vật liệu được đốt nóng do sự hấp thụ photon và thứ hai ăn mòn quang hóa là hấp thụ photon để phá vỡ liên kết hóa học trong phân tử. Hai quá trình này không tách riêng rẽ mà có mối quan hệ chặt chẽ với nhau.

Phương pháp ăn mòn laser chế tạo ra hạt nano ổn định về hình dạng và kích thước tuy nhiên phương pháp này lại tốn nhiều chi phí và cần dùng chất hoạt động bề mặt để bảo vệ chúng.

b. Phương pháp nghiền cơ học

Đây là phương pháp sử dụng kỹ thuật nghiền và biến dạng để biến vật liệu khối thành vật liệu có kích thước nano. Phương pháp này có ưu điểm là đơn giản và khá hiệu quả, có thể tạo ra một lượng lớn vật liệu nano với nhiều loại vật liệu khác nhau và kích thước lớn. Tuy nhiên nó tạo ra vật liệu có kích thước và độ đồng nhất không cao vì khó kiểm soát sự phân bố kích thước hạt, dễ lẫn tạp chất từ vật liệu làm bi nghiền, cũng như tiêu hao năng lượng khá lớn, trang thiết bị phức tạp... chính vì vậy phương pháp này ít được sử dụng [7].

1.1.2.2. Phương pháp từ dưới lên

Nguyên lý: Vật liệu nano được hình thành từ các nguyên tử hoặc ion. Tức là ghép các nguyên tử và phân tử thông thường thành các vật liệu mới với kích thước nano. Phương pháp này rất hiệu quả bởi tính linh động và chất lượng của sản phẩm cuối cùng.

a. Phương pháp điện phân

Đây là phương pháp kết hợp giữa hóa học và vật lý. Nguyên lý của phương pháp là kết hợp điện phân và rung siêu âm để tạo hạt nano.

Thông thường khi dùng phương pháp điện phân chỉ có thể tạo được màng mỏng kim loại. Các nguyên tử kim loại sau khi được điện hóa sẽ tạo các hạt nano bám lên điện cực âm. Lúc này cho tác dụng một xung siêu âm đồng bộ với xung điện phân thì hạt nano kim loại sẽ rời khỏi điện cực và đi vào dung dịch [8,9,10].

Ví dụ, một số nghiên cứu đã thực hiện chế tạo nano kim loại dạng bột bằng phương pháp điện phân. Dung dịch điện phân thường là các muối của kim loại (ví dụ dung dịch $Cu(NO_3)_2$ 1M), điện cực dương anot là chính kim loại đó, điện cực âm catot thường là inox 304. Nguồn điện sử dụng là nguồn 1chiều công suất từ 50-200A, điện thế 15V, mật độ dòng catot từ 10-20A/dm^2.

Quá trình điện phân diễn ra sau 3-4h tiến hành tách kim loại bám trên catot, rửa sấy khô, nghiền.

Ưu điểm của phương pháp điện phân là có khả năng chế tạo kim loại đạt độ tinh khiết cao nhưng đòi hỏi thiết bị phức tạp, quá trình nghiền phải được nghiền trong môi trường khí trơ để tránh bị oxi hoá, giá thành chế tạo vật liệu cao.

b. Phương pháp sol-gel

Phương pháp sol-gel là một kĩ thuật hóa ướt được sử dụng rộng rãi để chế tạo vật liệu nano. Phương pháp này thường được dùng để tổng hợp các nano oxit kim loại.

Phương pháp dựa trên các phản ứng đa trùng ngưng từ các chất vô cơ, bao gồm 4 giai đoạn: Thủy phân, đa trùng ngưng, sấy và phân hủy nhiệt. Trước tiên tiền chất kim loại hoặc alcoxide được thủy phân với nước hoặc cồn. Tiếp theo là phản ứng đa trùng ngưng đồng thời giải phóng khỏi nước và cồn. Polyme vô cơ được tạo ra và lắng xuống dưới dạng kết tủa với độ phân tán có thể kiểm soát bởi thành phần dung dịch, pH và nhiệt độ. Sản phẩm được sấy khô và phân hủy nhiệt để loại bỏ tiền chất hữu cơ.

Phương pháp này có thể chế tạo được các vật liệu có hình dạng khác nhau, độ tinh khiết cao và khả năng thiêu kết ở nhiệt độ thấp. Có thể điều khiển được cấu trúc của vật liệu, tạo được hợp chất với độ pha tạp lớn, độ khuếch tán đồng đều.

c. Phương pháp kết tủa từ dung dịch keo

Ở phương pháp này, dung dịch sẽ xuất hiện các mầm kết tụ khi nồng độ của các chất đạt đến một trạng thái bão hoà tới hạn. Qua quá trình khuếch tán các mầm kết tụ đó sẽ được phát triển và trở thành hạt nano. Cần phân tách hai giai đoạn hình thành mầm và phát triển mầm để thu được hạt có độ đồng nhất cao. Trong quá trình mầm phát triển, cần hạn chế sự hình thành của những mầm mới.

Các phương pháp đồng kết tủa, nhũ tương, polyol, phân ly nhiệt đều là phương pháp kết tủa từ dung dịch. Phương pháp đồng kết tủa là một trong những phương pháp thường dùng để chế tạo nano oxit kim loại.

d. Phương pháp khử hóa học

Nguyên lý: Dùng tác nhân hóa học để khử ion kim loại thành kim loại. Tác nhân hóa học có thể ở trạng thái dung dịch hoặc ở trạng thái khí.

Đối với trường hợp tác nhân hóa học ở trạng thái dung dịch, ví dụ các tác nhân khử như citric acid, vitamin C, sodium borohydride ($NaBH_4$), ethanol, ethylene glycol để khử ion kim loại Ag^+, Au^+ thành Ag^0, Au^0 khi chúng ở trong các muối $HAuCl_4$, $AgNO_3$. Có thể sử dụng phương pháp tĩnh điện hoặc phương pháp bao bọc hoạt chất bề mặt để các hạt phân tán tốt trong dung môi mà không bị kết tụ. Trong hai phương pháp này thì phương pháp tĩnh điện đơn giản hơn tuy nhiên bị giới hạn bởi một số chất khử. Phương pháp bao bọc hoạt chất bề mặt phức tạp hơn nhưng hiệu quả tốt hơn. Với phương pháp dùng tác nhân hóa học ở dạng dung dịch ta sẽ thu được nano kim loại ở dạng dung dịch. Để thu được nano kim loại ở dạng bột cần tiến hành các bước tiếp theo là ly tâm, lọc, rửa, sấy khô và nghiền, trong quá trình sấy khô một số nano kim loại rất dễ bị oxi hóa thành oxit kim loại.

Đối với trường hợp tác nhân hóa học ở trạng thái khí, ta có thể sử dụng các tác nhân khử như CO, $H_{2...}$Bản chất của phương pháp là dùng dòng khí hydro hoặc các chất khử khác để khử các hydroxit hoặc oxit kim loại thành các phần tử kim loại tự do có kích thước nano dạng bột ở nhiệt độ dưới 500°C [11]. Do vậy, phương pháp

này còn có tên gọi là phương pháp hoàn nguyên. Quá trình khử sẽ được điều khiển thông qua các thông số về nhiệt độ, thời gian, lưu lượng tác nhân khử.

Ưu điểm của phương pháp là hạt nano kim loại chế tạo được có độ tinh khiết cao. Nhược điểm của phương pháp là ở giai đoạn phá hủy của quá trình khử các sản phẩm có thể bị đốt cháy, do vậy xuất hiện vấn đề phân tách các hạt nano và phần cháy của chúng.

Nhận xét :

Theo quan điểm của một số nhà khoa học trên thế giới. Hạt nano kim loại hóa trị 0 trong quá trình xử lý hạt giống sẽ giải phóng ra một năng lượng tác động lên tế bào thực vật, đến các enzym kích thích sự phát triển sinh trưởng, tăng khả năng chống chịu và tăng năng suất cây trồng. Năng lượng này được sinh ra trong quá trình hạt nano kim loại phân tán vào nước bằng rung siêu âm để tạo chất lỏng huyền phù [12]. Vì vậy hạt nano kim loại chế tạo ra bắt buộc phải ở dạng bột và có cấu trúc đơn tinh thể để giải phóng ra năng lượng trong quá trình xử lý hạt giống như sau:

$$M^0 + nH_2O = M(OH)_n + ne + nH^+ \qquad E = meV$$

Các hạt nano kim loại có thể được chế tạo bằng một số phương pháp như phương pháp điện phân, phương pháp nghiền cơ học, phương pháp sol-gel, phương pháp kết tủa từ dung dịch keo, phương pháp khử bởi tác nhân hóa học. Tuy nhiên có thể thấy phương pháp điện phân có khả năng chế tạo hạt nano kim loại đạt độ tinh khiết cao nhưng đòi hỏi thiết bị phức tạp, giá thành cao. Phương pháp nghiền cơ học có nhược điểm khó thu được các nano kim loại đơn tinh thể do bị oxi hóa nhanh, mạnh. Phương pháp sol-gel, kết tủa từ dung dịch keo, phương pháp khử bằng tác nhân hóa học với tác nhân khử ở trạng thái dung dịch lại thu được nano kim loại ở dạng dung dịch. Muốn thu được hạt nano kim loại ở dạng bột cần tiến hành những bước tiếp theo như ly tâm, sấy...

Với mục đích chế tạo hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, và Co^0 ở dạng bột có cấu trúc đơn tinh thể, trong các phương pháp trên thì phương pháp khử hóa học với tác nhân khử ở trạng thái khí là ưu việt hơn cả. Do vậy, trong khuôn khổ của luận án, phương pháp nghiên cứu chế tạo các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, và Co^0 được lựa chọn là phương pháp khử hóa học với tác nhân khử là khí hydro. Hydro được tạo ra từ phản ứng điện phân nước (hydro mới sinh) được sử dụng trực tiếp để tăng cường hiệu quả quá trình khử. Các tiền chất để làm nhiên liệu cho phản ứng khử là các oxit kim loại tương ứng được chế tạo đảm bảo đạt độ tinh khiết, và có kích thước nanomet. Hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, và Co^0 chế tạo được ở dạng bột và có kích thước phù hợp (từ 40 – 75 nm), độ tinh khiết và hiệu suất chế tạo cao. Đặc biệt là phương pháp này cho sản phẩm dễ dàng bảo quản sau khi chế tạo trong môi trường khí trơ hoặc chân không để tránh bị oxi hóa. Do đó đây là phương pháp có nhiều ưu điểm hơn cả.

Nguyên lý của phương pháp: Dùng khí hydro mới sinh từ phản ứng điện phân nước để khử oxit kim loại thành kim loại.

$$M_2O_n + nH_2 \xrightarrow{t^o} 2M + nH_2O$$ (M: là kim loại cần điều chế)

Theo lý thuyết cổ điển về quá trình luyện kim [11], nếu hai nguyên tố chỉ có khả năng tạo thành một hợp chất hóa học, thì sự phân ly của nó chỉ có duy nhất một trường hợp và hoàn toàn xác định được. Trường hợp hai nguyên tố tạo ra một số hợp chất hóa học thì sự phân ly của chúng rất phức tạp. Trong trường hợp này người ta cho rằng nên tuân theo nguyên tắc dãy các phép biến đổi [11], theo đó các phép biến đổi hóa học được thực hiện tuần tự, trải qua tất cả các hợp chất hóa học có thể tồn tại trong một hệ thống nhất định.

Ví dụ, theo nguyên tắc này sự phân ly của oxit sắt diễn ra liên tục theo từng lớp oxit:

$$Fe_2O_3 \rightarrow Fe_3O_4 \rightarrow FeO \rightarrow Fe$$

Chế tạo nano kim loại bằng phương pháp khử bởi hydro có khả năng tạo ra nano kim loại kích thước đa dạng. Kết quả của một số công trình cho thấy phương pháp khử bằng hydro mới sinh của phản ứng điện phân nước chế tạo ra nano kim loại đạt hiệu suất và độ tinh khiết cao [13].

1.2. Ứng dụng của hạt nano kim loại trong lĩnh vực trồng trọt

1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Với đặc tính lý hóa độc đáo như diện tích bề mặt lớn, kích thước và hình thái hạt dễ điều chỉnh, công nghệ nano đã mở ra một phạm vi ứng dụng mới trong lĩnh vực công nghệ sinh học và nông nghiệp [14]. Đã có rất nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy nhiều hạt nano kim loại có khả năng thúc đẩy tăng trưởng và phát triển của thực vật và đã được ứng dụng trong nông nghiệp, khi nghiên cứu để thay thế các chế phẩm nano thế hệ mới cho các thành phần vi lượng dưới dạng muối vô cơ hoặc phức chelat truyền thống. Kết quả cho thấy việc sử dụng trực tiếp muối kim loại hoặc phức chelat của chúng bị hạn chế bởi liều lượng tối đa cho phép và nếu sử dụng quá liều lượng sẽ gây ô nhiễm đất và môi trường [3]. Cùng với sự phát triển sôi động của công nghệ nano gần đây các nhà khoa học đã triển khai nghiên cứu và ứng dụng các nguyên tố vi lượng kích thước nano (<100nm) để đưa vào cây trồng [15,16,17]. Các hạt nano kim loại được đưa vào cây trồng chủ yếu theo ba con đường đó là thông qua xử lý hạt giống trước khi gieo trồng, thông qua phân bón được tổng hợp từ các hạt nano, hoặc thay thế thuốc bảo vệ thực vật, thuốc trừ sâu.

1.2.1.1. Hạt nano kim loại ứng dụng làm thuốc bảo vệ thực vật, phòng trừ sâu bệnh

Với mong muốn tăng năng suất nông nghiệp và giảm bớt thất thoát lương thực do côn trùng, nấm bệnh gây ra đã làm gia tăng việc sử dụng tràn lan các loại thuốc

trừ sâu, thuốc bảo vệ thực vật không an toàn. Điều đó ảnh hưởng đến sức khỏe của con người, vật nuôi và tình trạng gây ô nhiễm môi trường. Việc ứng dụng các hạt nano kim loại làm thuốc trừ sâu, thuốc bảo vệ thực vật là một biện pháp thay thế khả thi và không gây ảnh hưởng đến môi trường.

Khi tiến hành nghiên cứu về tác động của nano kim loại, oxit kim loại, các nhà khoa học đã chứng minh được nó có tác dụng diệt vi khuẩn và diệt nấm bệnh trên cây trồng [18]. Nguyên nhân là do các hạt nano kim loại trung hòa về điện, nên chúng phân bố đồng đều, tạo thành 1 lớp màng mỏng bao bọc lấy hạt giống, bảo vệ hạt giống chống lại các tác nhân gây bệnh. Ngoài ra các hạt nano kim loại bị oxy hoá trong đất, chúng tạo ra các điều kiện bất lợi cho các vi sinh vật gây bệnh và đồng thời chúng được cây trồng hấp thụ và sử dụng như các nguyên tố vi lượng trong quá trình sinh trưởng [19]. Ở thí nghiệm của mình, Maslobrod và các cộng sự chỉ ra hiệu ứng kích thích năng lượng nảy mầm và làm tăng tỷ lệ này mầm, khả năng sinh trưởng của các bộ phận dưới và trên mặt đất của cây giống với nồng độ cực thấp của các hạt nano bạc (dưới 10^{-8} mol/l) và đồng (10^{-17} mg/l). Bằng việc cho nhiễm nấm một số hạt giống rau và loại ngũ cốc, nhóm nghiên cứu này cũng đã chứng minh được khả năng diệt nấm của các hạt nano kim loại (bạc và đồng) [20]. Olaga Panyuta và cộng sự cũng đã chỉ ra được tác động tích cực của các nano kim loại Zn, Ag, Fe, Mn, Cu đã cải thiện được bệnh đốm mắt ở những cây lúa mì bị nhiễm bệnh [21]. Sau khi tiêu diệt các tác nhân nấm gây hại cho hạt giống các nano kim loại hoạt động như những nguyên tố vi lượng, cung cấp khoáng chất lâu dài cho thực vật, làm tăng khả năng thích nghi của các cá thể thực vật (tăng sản lượng và sức chống chịu tác động của môi trường). Nhờ áp dụng công nghệ xử lý hạt giống bằng nano kim loại, năng suất lúa mì có thể tăng lên 15%, khoai tây lên tới 30% hàm lượng dầu trong hướng dương, hạt cải dầu, mù tạc tăng đáng kể [22-25].

Sử dụng các hạt nano kim loại làm thuốc bảo vệ thực vật, thuốc trừ sâu không chỉ có hiệu quả trong việc bảo vệ cây trồng trên đồng ruộng mà còn trong quá trình bảo quản nông sản sau thu hoạch. Trong nghiên cứu của Bhneswar Baliyarsingh và cộng sự về đánh giá triển vọng của thuốc trừ sâu nano kim loại có nguồn gốc từ thực vật để bảo quản nông sản và chống lại sâu bệnh sau thu hoạch. Kết quả cho thấy rằng trong các loại nano kim loại thì nano Ag là kim loại có ưu điểm nhiều hơn cả. Các ion Ag được biết đến rộng rãi vì khả năng phản ứng cao trên màng tế bào. Các hạt nano Ag có thể xuyên qua lớp da bên ngoài của côn trùng và có thể di chuyển qua miệng, lông cứng, các đốt ở bụng, các lỗ thở và các đốt ở hậu môn. Các hạt nano Ag hoặc dạng oxit của nó ảnh hưởng nghịch đảo đến cơ chế chống oxy hóa và các enzyme giải độc có bên trong cơ thể côn trùng do đó gây chết tế bào [26]. Trong một số trường hợp, nano Ag có liên quan đến việc hạn chế chức năng của acetyl-choline esterase và

giải phóng gonadotrophin, dẫn đến mất khả năng phát triển trí tuệ và suy giảm khả năng sinh sản [27]. Nghiên cứu của Lade và cộng sự đã chỉ ra rằng nồng độ thuốc trừ sâu sinh học nano là một yếu tố quan trọng vì chúng ảnh hưởng đến hình thái và sinh lý của côn trùng, làm tổn thương đầu, bụng và vùng ngực của côn trùng [28].

1.2.1.2. Hạt nano kim loại ứng dụng làm phân bón

Phân bón nano là giải pháp thay thế tốt nhất cho phân bón hóa học truyền thống. Phân bón nano làm tăng hiệu quả sử dụng chất dinh dưỡng, giảm thiểu thất thoát chất dinh dưỡng trong quá trình bón phân, tăng khả năng nảy mầm của hạt, phân hủy lượng dư thuốc trừ sâu, cải thiện chất lượng đất và tăng hiệu quả sử dụng chất dinh dưỡng dẫn đến tăng năng suất cây trồng và thân thiện với môi trường [29,30].

Các loại hạt nano được sử dụng làm phân bón có thể được chia thành các loại có thành phần chính (N, P, K), thứ cấp (Ca, Mg, S) và các loại có nguyên tố vi lượng khác. Hạt nano kim loại Cu là nguyên tố cần thiết và không thể thiếu cho cây trồng, vai trò chống nấm của nó đã được nghiên cứu và áp dụng cho nhiều loại cây trồng như cây nho và các loại cây ăn quả khác [31,32]. Việc sử dụng phân bón lá có chứa nano kim loại Cu giúp cải thiện các quá trình trao đổi chất trong cây như tăng hàm lượng axit abscisic trong cà chua [33] hoặc cải thiện các quá trình quang hợp và tăng khả năng chống chịu các điều kiện bất lợi cho cây trồng [34]. Những tác động tiêu cực của môi trường như hạn hán, nhiễm mặn đều ảnh hưởng đến khả năng hấp thụ dinh dưỡng của cây trồng. Đây có thể là nhân tố chính dẫn đến giảm năng suất cây trồng. Trong nghiên cứu của Muhamad Mujtaba và các cộng sự ông đã chỉ ra rằng phân bón nano có thể xử lý các vấn đề chính của cây trồng như nhiễm mặn và hạn hán [35].

Nảy mầm là bước cơ bản trong đời sống của thực vật, nó là yếu tố quan trọng trong sự tồn tại và bảo tồn của các loại thực vật, vì nông nghiệp hiện đại cần sự nảy mầm nhanh chóng, mạnh mẽ để cây tăng trưởng và tăng năng suất cây trồng. Do đó, bất kì yếu tố nào ảnh hưởng đến sự nảy mầm chắc chắn sẽ ảnh hưởng đến sự phát triển tiếp theo của cây [36]. Trong nghiên cứu của Vanesa Santas Miguel về ứng dụng của hạt nano kim loại trong nông nghiệp, đánh giá về tác dụng của các hạt nano kim loại trong đó có các hạt nano kim loại là các nguyên tố thiết yếu như Cu, Fe, Ni, Zn và nhóm các kim loại không thiết yếu như Ag, Ti lên sự nảy mầm của cây thông qua phân bón lá. Kết quả cho thấy rằng tác dụng của hạt nano phụ thuộc vào nhiều yếu tố như liều lượng, thời gian xử lý, phương pháp ứng dụng, loại hạt nano và loại thực vật. Trong trường hợp với các hạt nano là các nguyên tố thiết yếu cho cây trồng thì nano Fe cho thấy kết quả tốt hơn trong việc cải thiện hấp thu chất dinh dưỡng, cải thiện khả năng nảy mầm. Hạt nano Cu và Zn chúng có thể có lợi ở nồng độ thấp, nhưng khi dùng dư thì có thể gây độc tính và ảnh hưởng tiêu cực đến sự nảy mầm.

Còn các hạt nano là các nguyên tố không thiết yếu, kết quả cho thấy cả hạt nano Ti và Ag đều hữu ích cho việc hấp thu chất dinh dưỡng tuy nhiên tác dụng của chúng còn phụ thuộc nhiều vào loại cây trồng, kích thước hạt và nồng độ [17].

Satdev và cộng sự đã nghiên cứu ảnh hưởng của nano ZnO đến sự sinh trưởng và năng suất của cây ngô ngọt. Các hạt nano ZnO được đưa vào cây ngô thông qua phân bón lá và xử lý hạt giống trước khi gieo trồng. Kết quả cho thấy rằng việc sử dụng phân bón lá với nano ZnO nồng độ 250ppm và xử lý hạt giống với nano ZnO nồng độ 1000ppm giúp tăng cường các đặc tính sinh trưởng và phát triển và dẫn đến tăng năng suất của cây ngô ngọt. Cụ thể là tốc độ nẩy mầm và chiều cao của cây ở các thời điểm đánh giá đều tốt hơn so với đối chứng. Năng suất thu hoạch cũng cao hơn 16,85% so với đối chứng [37].

1.2.1.3. Hạt nano kim loại ứng dụng để xử lý hạt giống trước khi gieo trồng

Hạt nano kim loại dùng để xử lý hạt giống trước khi gieo trồng đã được chứng minh có khả năng kháng bệnh, kích thích quá trình nẩy mầm và phát triển của cây con. Mầm bệnh tồn tại trong hạt làm giảm sức nảy mầm của hạt, làm hư bộ rễ và dẫn đến cây con bị chết. Khi gieo hạt bằng hạt bị nhiễm bệnh có thể lây lan bệnh sang cây khi sinh trưởng. Từ đó tạo sự lây nhiễm trên đồng ruộng. Ngoài ra khi xử lý hạt giống bằng các hạt nano kim loại chỉ cần hàm lượng kim loại rất nhỏ và không ảnh hưởng đến môi trường đất [38]. Do vậy việc xử lý hạt giống trước khi gieo trồng là rất cần thiết.

Thật vậy, trong nghiên cứu của Huanhuan Guo và các cộng sự. Ông đã chứng minh được ảnh hưởng của một số hạt nano kim loại đến sự nẩy mầm và phát triển của cây con. Mà nguyên nhân dẫn đến điều này là do hạt giống được xử lý bằng nano kim loại. Các nguyên tố vi lượng sẽ làm tăng độ ẩm xuyên qua lớp vỏ của hạt giống, phá vỡ trạng thái ngủ của hạt giống, kích hoạt các quá trình sinh hóa trong hạt giống, làm tăng khả năng sống, nẩy mầm, sinh trưởng của các bộ phận trên mặt đất cũng như hệ thống rễ cây. Cụ thể trong nghiên cứu này các hạt nano Ag tăng tỷ lệ nảy mầm nhiều hơn so với các hạt nano khác, trong khi các hạt nano Zn giúp tăng chiều dài rễ nhiều hơn. Hơn nữa, các hạt nano ở nồng độ thấp hơn có thể cải thiện tỷ lệ nảy mầm và chiều dài rễ của cây trồng ở mức độ lớn hơn so với các hạt ở nồng độ cao hơn. Khả năng nảy mầm của hạt càng mạnh góp phần làm giảm lượng tiêu thụ chất dinh dưỡng dự phòng, tăng hô hấp của cây, cho phép hạt nảy mầm và đâm chồi ngay cả với một lượng nhỏ chất dinh dưỡng trong nội nhũ [1]. Pratibha Acharya và cộng sự đã dùng hạt nano Ag để xử lý hạt giống dưa hấu trước khi gieo trồng. Và kết quả cũng cho thấy rằng tỉ lệ nảy mầm của cây con sau 14 ngày gieo cao hơn đáng kể so với hạt giống không được xử lý. Hàm lượng đường hòa tan (glucose và fructose) được tăng cường trong quá trình nẩy mầm sau 96 giờ. Từ đó dẫn đến cây sinh trưởng phát triển tốt hơn dẫn đến năng suất cao

hơn 31,6-35,6% so với đối chứng [39]. Trong nghiên cứu của mình Nirmal Singh và cộng sự đã chứng minh được rằng các hạt nano kim loại như Zn, Ag, Ti có tác động tích cực đến các thông số chất lượng hạt giống của nhiều loại cây trồng khác nhau như tăng tỉ lệ nẩy mầm, chiều dài cây con, trọng lượng khô của cây con và các chỉ số sức sống khác cũng như tác động của chúng đến môi trường [40].

1.2.2. Tình hình nghiên cứu ở trong nước

Cùng với sự phát triển của công nghệ nano trên thế giới, tại Việt Nam việc nghiên cứu và ứng dụng công nghệ nano trong nhiều lĩnh vực (y tế, sinh học, công nghiệp và nông nghiệp) cũng được đảng và nhà nước quan tâm, trong đó ngành nông nghiệp đặc biệt được chú trọng. Nhiều đề tài, dự án về ứng dụng của công nghệ nano trong lĩnh vực trồng trọt với sự giúp đỡ của chính phủ đã được các nhà khoa học triển khai trên địa bàn cả nước, đặc biệt là vùng sâu vùng xa, kinh tế khó khăn nhằm phát triển một nền nông nghiệp công nghệ cao, nâng cao năng suất cây trồng mang lại hiệu quả kinh tế cho người nông dân [41].

Công nghệ nano hiện nay được ứng dụng trong lĩnh vực nông nghiệp ở nước ta mang lại nhiều hiệu quả tích cực, góp phần hướng đến một nền nông nghiệp sạch, tiết kiệm chi phí, tăng năng suất, chất lượng cây trồng. Các nhà khoa học ở Việt Nam đã công bố nhiều kết quả nghiên cứu nhằm chứng minh hiệu quả của các hạt nano kim loại đối với sự tăng trưởng và phát triển của thực vật.

1.2.2.1. Hạt nano kim loại ứng dụng làm thuốc bảo vệ thực vật, phòng trừ sâu bệnh

Nhóm nghiên cứu của các tác giả Dương Tấn Nhựt, Hà Thị Mỹ Ngân và Nguyễn Tấn Mân đều chứng minh được tác dụng của hạt nano Ag đối với việc phòng trừ nấm bệnh, giúp tăng cường sinh trưởng và phát triển cho một số đối tượng cây trồng.

Cụ thể nhóm tác giả Hà Thị Mỹ Ngân đã chứng minh được rằng khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy các hạt nano Ag sẽ giúp hạn chế khí ethylene và hoạt độ enzyme thủy phân trong việc nhân giống cây hoa hồng (Rosa hybrida L. ‘baby love’) và hạn chế hiện tượng thủy tinh thể ở cây con hoa đồng tiền (Gerbera jamesonii). Hạt nano Co và Ag còn có tác động đối với sự khắc phục tình trạng rụng lá và tăng cường sinh trưởng của hoa hồng (Rosa hybrida L. ‘BabyLove’) cây con nuôi cấy trong ống nghiệm. Ngoài ra khi bổ sung hạt nano Fe vào môi trường nuôi cấy nhóm nghiên cứu còn đánh giá được khả năng sinh trưởng của rễ, hoạt tính enzym chống oxy hóa và khả năng hấp thụ khoáng của cây con cẩm chướng (Dianthus caryophyllus “Express golem”). Qua đó tăng cường khả năng chống chịu, nâng cao chất lượng cũng như tăng khả năng thích nghi ở giai đoạn vườn ươm. Từ đó dẫn đến gia tăng tỉ lệ sống của cây hoa hồng, đồng tiền, và cẩm chướng [42-45].

Nhóm tác giả Nguyễn Tấn Mân đã chứng minh các hạt nano Ag có khả năng đối kháng mạnh đối với nhiều loài vi nấm gây bệnh như nấm Puccinia spp. gây bệnh mụn cóc ở cây hoa cúc, nấm Plasmodiophora brassicae gây bệnh sưng rễ ở cây bắp cải [46,47]. Kết quả áp dụng nano Ag nồng độ thấp cho thấy hiệu quả kháng bệnh đốm nâu (Alternaria passiflorae) ở cây chanh dây, bệnh vàng lá (Fusarium spp.; Phytophothora spp) ở cây tiêu [48].

Nhóm nghiên cứu của GS.TS. Dương Tấn Nhựt đã chứng minh được hiệu quả của việc sử dụng các hạt nano Ag và nano Fe để làm chất khử trùng, chống nấm bệnh nhằm nâng cao hiệu quả sinh trưởng và phát triển của cây hoa cúc, hoa đồng tiền, cây dâu tây, và sâm ngọc linh [49-57].

1.2.2.2. Hạt nano kim loại ứng dụng làm phân bón

Theo kết quả nghiên cứu của các nhà khoa học, phân bón nano thay thế cho phân bón thông thường, vừa góp phần bảo vệ môi trường, không làm bạc màu đất đai, đặc biệt là giúp tăng năng suất mà giảm tối đa chi phí, hiệu quả kinh tế tăng. Hệ quả mang lại là sản phẩm nông nghiệp an toàn cho người sử dụng.

Cụ thể nhóm nghiên cứu của PGS. TS. Hà Phương Thư (Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) đã chế tạo ra một loại phân bón nano tích hợp mới có chứa các nguyên tố dinh dưỡng đa lượng và vi lượng như một số nano Ag, Fe, Cu, Co và Zn. Phân bón chế tạo được có dạng que và có kích thước nano với chiều rộng 20-30nm, chiều dài 80nm. Kết quả ứng dụng vào cho cây đinh lăng và măng tây cho thấy các chất dinh dưỡng nano đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy sinh trưởng và phát triển của cây. Cụ thể tăng số lượng cành, diện tích lá và tổng sinh khối tăng lên 50% so với đối chứng. Mà lượng phân bón sử dụng lại chỉ bằng 5% so với phân bón thông thường. Điều đó chứng tỏ rằng có thể giảm thiểu ô nhiễm môi trường một cách hiệu quả [58,59].

Nhóm nghiên cứu của GS.TS. Nguyễn Hoài Châu đã chế tạo ra phân bón nano và ứng dụng thử nghiệm cho cây đậu tương. Chế phẩm phân bón nano qua lá bao gồm nhiều nguyên tố vi lượng như Fe, Mg, Co, Cu, Zn… được tạo ra từ các phương pháp hóa học và vật lý với kích thước nano. Kết quả cho thấy, mặc dù điều kiện thời tiết không thuận lợi nhưng cây đậu tương vẫn sinh trưởng tốt, năng suất, chất lượng đậu tương tốt hơn so với những vụ mùa trước đây, trong khi thời gian thu hoạch được rút ngắn đáng kể, cây phát triển cao hơn so với cây đối chứng, tiết kiệm được hơn ½ các loại phân đạm, ka-li bón cho cây [60].

1.2.2.3. Hạt nano kim loại ứng dụng để xử lý hạt giống trước khi gieo trồng

Theo kết quả nghiên cứu của các nhà khoa học gần đây thì các hạt nano kim loại có tiềm năng ứng dụng to lớn trong việc xử lý các hạt giống trước khi gieo trồng.

Nhằm giúp cải thiện tốc độ nảy mầm, tăng khả năng sinh trưởng phát triển, từ đó dẫn đến chất lượng và năng suất thu hoạch tăng.

Khi nghiên cứu về ứng dụng của các hạt nano kim loại để xử lý hạt giống trước khi gieo trồng. Nhóm nghiên cứu của GS.TS. Nguyễn Hoài Châu đã thu được các kết quả như sau:

- Chế tạo được các hạt nano kim loại Fe, Cu, Co bằng phương pháp hóa học với natri borohydride $NaBH_4$ làm chất khử và carboxymethyl cellulose làm chất ổn định với kích thước hạt nằm trong khoảng từ 20 đến 60 nm [60].

Khi ứng dụng ba nano kim loại này vào xử lý hạt giống với cây đậu tương. Kết quả cho thấy: tỷ lệ nảy mầm của hạt đậu tương được xử lý bằng Cu, Co và Fe hóa trị 0 lần lượt là 65, 80 và 80%, trong khi tỷ lệ nảy mầm ở mẫu đối chứng là 55%. Chỉ số chất diệp lục tăng 7–15% và số lượng nốt sần tăng 20–49% so với mẫu đối chứng và năng suất cây đậu tương tăng tới 16% so với với mẫu đối chứng [60,61,62]. Ngoài ra khi nghiên cứu về ảnh hưởng của hạt nano kim loại Fe, Cu và Co đến sự phát triển của vi khuẩn cố định đạm Sinorhizobium fredii T14 và nốt sần ở rễ cây đậu tương cho thấy các hạt nano kim loại của cả ba kim loại được nghiên cứu ở nồng độ cực thấp 2ppm đã làm tăng đáng kể số lượng nốt sần hiệu quả trong rễ cây đậu tương DT26 từ đó tăng cường sự sinh trưởng và phát triển của cây [63, 64].

Với một nghiên cứu khác tác giả đã chứng minh ứng dụng của việc xử lý hạt giống đậu tương bằng các nano kim loại Fe, Cu, Co và ZnO đã giúp cây đậu tương ở giai đoạn sinh dưỡng sớm thích nghi với hạn hán một cách hiệu quả. Ngoài việc cải thiện hình thái chồi và rễ và các chỉ số chịu hạn, sự biểu hiện của các gen đánh dấu khả năng chịu hạn được thử nghiệm đã được tăng cường đáng kể trong điều kiện thiếu nước ở cây được xử lý bằng các hạt nano kim loại, so với cây đối chứng không được xử lý [65].

- Chế tạo được chế phẩm xử lý hạt giống trước khi gieo bao gồm bốn nhóm thành phần:

Một là các chất dinh dưỡng đa lượng và trung lượng như N, P,K, Ca, S. Hai là các chất kích thích sinh học bao gồm các nguyên tố vi lượng là các nano kim loại Fe, Cu, Co, Se, B và các hạt nano oxit kim loại ZnO, MnO_2, Mo_2O_3. Ba là các hợp chất có tác động tích cực lên hạt giống như auxin, axit giberelin, axit amin, axit humic và thứ tư là chất chống nấm [66].

Nghiên cứu của nhóm tác giả Lê Thị Thu Hiền và cộng sự về ảnh hưởng của hạt được xử lý bằng nano Co đến khả năng nảy mầm, sinh trưởng phát triển và năng suất, chất lượng của giống đậu tương DT12. Hạt giống đậu tương được xử lý ở 2 nồng độ khác nhau là 0,165mg/1kg hạt giống và 16,5mg/1kg hạt giống và 1 công thức đối chứng. Tỉ lệ nảy mầm, tốc độ tăng trưởng, năng suất và các thành phần dinh dưỡng

đậu tương được kiểm tra trong suốt mùa vụ. Kết quả cho thấy rằng ở nồng độ 0,165mg/1kg hạt giống nano Co làm tăng tỉ lệ nảy mầm, chiều cao cây, tổng số quả trên cây, số quả có 3 hạt và năng suất cây trồng so với nồng độ 16,5mg/1kg hạt giống và cả đối chứng. Tuy nhiên không có sự khác biệt đáng kể nào giữa các công thức về hàm lượng dinh dưỡng có trong hạt [70].

Ở Việt Nam, nổi bật có 2 nhóm nghiên cứu của các nhà khoa học Nguyễn Hoài Châu và Lê Thị Thu Hiền cùng nghiên cứu về ứng dụng của các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến đối tượng cây trồng là cây ngô. Kết quả thu được như sau:

* Nhóm nghiên cứu của GS.TS Nguyễn Hoài Châu khi ứng dụng vào cây ngô đã không sử dụng riêng các hạt nano kim loại Fe, Cu, Co mà sử dụng chế phẩm bao gồm tổ hợp nano Fe, Cu, Co, Zn, Mn, B, Mo, Se và nền (N, P, K, GA3, Axit amin và chất diệt nấm) để xử lý hạt giống ngô trước khi gieo trồng, kết hợp với phân bón lá bao gồm tổ hợp nano Fe, Cu, Co, Zn, Mn, B, Mo, Se và nền (N, P, K, GA3, Axit amin và chất phân tán). Các tiêu chí đánh giá ảnh hưởng bao gồm: khả năng sinh trưởng phát triển, khả năng chống chịu sâu bệnh, năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của cây ngô. Kết quả cho thấy việc xử lý hạt giống ngô bằng chế phẩm có hay không có kết hợp với phân bón lá đều cho năng suất khả quan, và tăng hơn đối chứng từ 12,8-14%.

* Nhóm nghiên cứu của tác giả Lê Thị Thu Hiền nghiên cứu tác dụng của hạt nano Cu dùng trong xử lý hạt giống đến sự nảy mầm, tăng trưởng và năng suất của cây ngô. Hạt nano Cu được nghiên cứu ở 3 công thức 20mg/1kg hạt giống, 1000mg/1kg hạt giống và công thức đối chứng với nước.

Kết quả cho thấy rằng hạt giống ngô được xử lý bằng nano Cu ở hàm lượng 20mg/1kg hạt giống thúc đẩy tỉ lệ nảy mầm cao nhất trong 3 công thức. Nano Cu ở hàm lượng 1000mg/1kg hạt giống không ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm của hạt ngô.

Đánh giá về khả năng sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây ngô cho thấy công thức có xử lý với nano Cu ở hàm lượng 20mg/1kg hạt giống làm tăng khả năng sinh trưởng phát triển của cây tốt nhất, từ đó dẫn đến năng suất cây ngô tăng tốt nhất. Còn ở hàm lượng 1000mg/1kg hạt giống gần như gây ảnh hưởng không đáng kể đến tỉ lệ nảy mầm, sinh trưởng và phát triển của cây.

Hàm lượng protein thô trong hạt ngô giao động từ 9,23 đến 9,85%. Theo thống kê hàm lượng protein thô trong hạt ở cả 3 công thức không có sự khác biệt lớn. Điều đó chứng tỏ việc sử dụng nano Cu để xử lý hạt giống trước khi gieo trồng không ảnh hưởng đến chất lượng hạt ngô thành phẩm.

Ở điều kiện tối ưu để xử lý hạt giống ngô thì hàm lượng nano Cu sử dụng cao gấp 5 lần hàm lượng nano Cu mà nghiên cứu sinh đã sử dụng trong luận án.

Nhận xét:

Tổng quan tình hình nghiên cứu trên thế giới và trong nước cho thấy hạt nano kim loại có tác dụng thúc đẩy sinh trưởng phát triển của cây trồng và đang rất được quan tâm trong lĩnh vực ứng dụng vào sản suất nông nghiệp.

Kết quả công bố của các tác giả trong nước về ứng dụng của các hạt nano kim loại Fe, Cu, Co để xử lý hạt giống đối với cây ngô cho thấy nhìn chung đều cho kết quả tích cực tuy nhiên các nghiên cứu mới chỉ đang dừng ở việc đánh giá một số chỉ tiêu ảnh hưởng như: Khả năng sinh trưởng phát triển, năng suất và hàm lượng tinh bột ở ngô thành phẩm. Vẫn còn nhiều vấn đề cần được nghiên cứu chuyên sâu, đánh giá tiếp tục để làm sáng tỏ cơ chế tác dụng của hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến cây ngô như: Đánh giá hàm lượng diệp lục, hàm lượng anthocyanin ở cây ngô trong giai đoạn cây ngô còn non. Đánh giá sự sinh trưởng phát triển, hàm lượng diệp lục, anthocyanin, hoạt độ enzym SOD và APX của cây ngô trong điều kiện thường và điều kiện gây hạn nhân tạo. Đánh giá khả năng chống chịu sâu bệnh. Đánh giá hàm lượng tồn dư kim loại, hàm lượng tinh bột trong ngô thành phẩm... Còn về ứng dụng của các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến đối tượng cây trồng là cây gừng, cây lúa mì và lúa mạch hiện tại ở trong nước chưa có nhóm nghiên cứu nào nghiên cứu về vấn đề này.

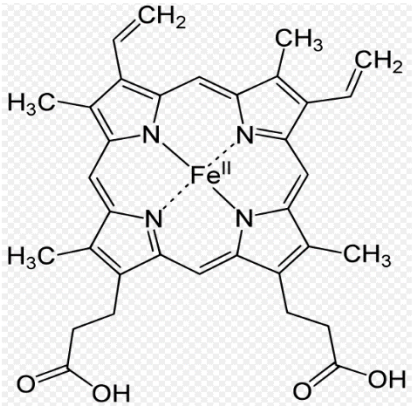
Chính vì vậy, việc lựa chọn hướng nghiên cứu sâu về hạt nano kim loại hóa trị không Fe^0, Cu^0, Co^0. Phương pháp và điều kiện để tổng hợp chúng. Các tính chất lý-hóa - sinh đặc trưng của chúng ở trạng thái kim loại cũng như khi chuyển hóa thành dung dịch giàu năng lượng. Khảo sát ảnh hưởng của chúng đối với sự sinh trưởng phát triển, năng suất của cây ngô, gừng, lúa mì và lúa mạch thông qua quá trình xử lý hạt giống/củ giống trước khi gieo trồng và chỉ sử dụng duy nhất một lần trong suốt vòng đời của cây trồng trong luận án của nghiên cứu sinh có tính mới và ý nghĩa khoa học cũng như giá trị thực tiễn ở cả trong nước và trên thế giới.

1.2.3. Một số quan điểm về cơ chế tác dụng của nano kim loại siêu phân tán lên thực vật

Cơ chế tác dụng của các hạt nano rất phức tạp bởi chúng tác động cùng một lúc lên nhiều đối tượng và nhiều quá trình diễn ra bên trong tế bào, tại trung tâm tế bào hoặc toàn bộ hệ thống, trong đó tâm hoạt động của các enzym có thể là đối tượng tác động của hạt nano. Có rất nhiều nghiên cứu của các nhà khoa học trên thế giới đã chứng minh được hiệu quả của việc ứng dụng của các hạt nano kim loại đối với cây trồng. Tuy nhiên đến nay cơ chế tác động của hạt nano kim loại siêu phân tán lên thực vật vẫn chưa có nghiên cứu nào công bố tường minh và vẫn đang còn nhiều tranh cãi.

Trong luận án này tôi giả thiết đối tượng hoạt động của các hạt nano là tâm hoạt động của các enzym.

Enzym là một đại phân tử có tác dụng làm chất xúc tác làm cho những phản ứng bất lợi có thể xảy ra. Enzym tham gia vào tất cả các hoạt động thiết yếu để duy trì sự sống như tổng hợp, phân giải, vận chuyển chất, đào thải độc và cung cấp năng lượng. Trong sinh vật bậc cao sắt là nguyên tố phổ biến nhất được tìm thấy trong thành phần coenzym. Coenzym có chức năng chính là hỗ trợ và tham gia cùng enzym trong quá trình xúc tác. Sắt có mặt trong các nhân dị vòng porphyrin như hemoglobin, clorophil, cytochrom, enzym v.v...(hình 1.3). Các coenzym Fe-porphyrin là những coenzym vô cùng quan trọng vì chúng có mặt trong thành phần của các enzym điều khiển quá trình hô hấp và vô số các quá trình khác trong cơ thể.



Hình 1.2. Coenzym Fe-porphyrin

Để có thể duy trì sự sống cho một cơ thể đòi hỏi phải liên tục cung cấp năng lượng cho nó từ bên ngoài. Động vật nhận năng lượng đó từ nguồn được lưu giữ dưới dạng năng lượng hóa học của các hợp chất có trong khẩu phần ăn. Còn đối với thực vật nguồn năng lượng cần thiết cho việc duy trì sự sống của thực vật phải được cấp liên tục từ một nguồn vô tận nào đó. Đối với mọi sinh vật sống đó là mặt trời. Để lấy được năng lượng từ mặt trời thì thực vật cần quá trình quang hợp. Chúng ta hãy xem xét vai trò của hemoglobin trong quá trình quang hợp trong tế bào thực vật. Được biết, hiệu quả vận chuyển ion phụ thuộc nhiều vào quá trình tổng hợp và thủy phân adenosin triphosphat (ATP) và quá trình vận chuyển electron – là những quá trình cơ bản trong hoạt động của tế bào thực vật và quá trình quang hợp.

ATP là phân tử mang năng lượng, có chức năng vận chuyển năng lượng đến các nơi cần thiết để tế bào sử dụng. Trong quá trình quang hợp, sau khi hấp thụ năng lượng photon các phân tử chlorophil được kích thích và chuyển một phần năng lượng đó thành năng lượng nhiệt và phần còn lại được sử dụng để tổng hợp và lưu giữ ATP. Tiếp đó, trong quá trình thủy phân ATP năng lượng lưu giữ được giải phóng ra để sử dụng cho các quá trình chuyển hóa hoặc tiêu hao cho việc vận chuyển ion [71]. Chlorophil trong trường hợp này có vai trò như một vật bán dẫn giúp vận chuyển điện

tử tự do qua các chất trung gian để đến vị trí tổng hợp ATP và trên mỗi đoạn đường đó điện tử tiêu hao một phần năng lượng của mình. Con đường mà điện tử di chuyển trong hệ quang hợp có thể hình dung như sau: sau khi rời khỏi phân tử chlorophil "a" điện tử đi đến phân tử nhận (acceptor, chứa nhóm quinon) rồi từ đó đến nguyên tử ferredoxin (protein chứa Fe^{3+}), tại đó sắt được khử về Fe^{2+} rồi sau đó lại được oxy hóa về Fe^{3+} để giải phóng điện tử, điện tử này tiếp tục được chuyển đến các tế bào sắc tố (cytocrom) chứa nhóm quinon có khả năng cho hoặc nhận điện tử [72,73]. Tại đây năng lượng của điện tử chủ yếu được lưu giữ lại trong phân tử ATP, phần còn lại được sử dụng để đưa điện tử đó quay trở lại chlorophil "a". Phân tử quinon trong tế bào sắc tố sau khi được nhận điện tử sẽ trở thành chất cho điện tử với năng lượng lớn hơn mà khả năng khử của nó còn có thể được sử dụng để vận chuyển proton. Sau khi rời khỏi hệ thu nhận photon (hệ quang hợp I) các điện tử tự do thông qua ferridin di chuyển đến acceptor nicotinamid adenin dinucleotidphosphat (NADP), sau đó nhận một cặp điện tử và một cặp proton từ môi trường xung quanh để khử về NADPH. Chất này được sử dụng để tổng hợp polysaccharid từ CO_2 trong các phản ứng quang hợp trong bóng tối. Như vậy chúng ta thấy rằng để có thể thực hiện phản ứng quang hợp đòi hỏi tế bào thực vật phải có một lượng năng lớn không những chỉ đủ cho việc hoạt hóa các quá trình nói trên mà còn phải đảm bảo nguồn năng lượng dự trữ đủ lớn.

Vậy nguồn năng lượng đó được lấy từ đâu? Chúng ta đều biết sự sống của cây là do nước và các lượng tử ánh sáng quyết định. Các quá trình sinh hóa khác nhau diễn ra trong tế bào dưới điều kiện phân tử nước hấp thụ 2 photon ánh sáng và giải phóng ra 2 điện tử [74]. Tế bào là một không gian được nạp đầy nước trong đó có các thành phần vật chất khác nhau, tham gia vào các quá trình lý hóa quan trọng bên trong tế bào. Dưới những điều kiện tự nhiên không thuận lợi tế bào có thể sử dụng hiệu ứng tiềm sinh (anabiotic) để làm chậm các quá trình này. Điều đó giải thích khả năng chống chịu thời tiết khô hạn cũng như lụt lội của một số loài thực vật. Kết quả thí nghiệm với hạt giống được xử lý nano trước khi gieo trồng trong điều kiện thời tiết khô hạn tại một số vùng đất của nước Nga đã cho thấy năng suất thu hoạch tăng 2 - 3 lần so với đối chứng [12].

Các hạt nano kim loại trong quá trình tạo dung dịch huyền phù bằng sóng siêu âm giải phóng ra một năng lượng E, với mỗi loại hạt nano kim loại sẽ có mức năng lượng giải phóng khác nhau [75].

$$M^0 + nH_2O = M(OH)_n + ne + nH^+ \rightarrow E = meV$$

Ví dụ đối với hạt nano kim loại sắt, người ta xác định được năng lượng giải phóng ra là khoảng 0,7 eV.

$$Fe^0 + H_2O = Fe(OH)_2 + 2e + 2H^+ \rightarrow \quad 0.7\ eV$$

Mặt khác, cơ chế xúc tác của hạt nano kim loại đối với tế bào thực vật trong quá trình xử lý hạt giống như đã dự đoán ở trên là do sự thúc đẩy các quá trình trao đổi chất bên trong tế bào, mô của thực vật, các enzym.... dưới tác động của nguồn năng lượng (E) được giải phóng ra từ quá trình tạo dung dịch huyền phù kim loại bằng sóng siêu âm. Vì vậy, hạt nano kim loại cần sử dụng bắt buộc phải ở dạng bột và có cấu trúc tinh thể.

Như vậy, từ những điều trình bày trên có thể suy ra rằng các điện tử tự do hoạt hóa trong hệ dung dịch siêu phân tán của các hạt nano kim loại chính là một nguồn năng lượng phụ có khả năng hỗ trợ quá trình vận chuyển điện tử trong các phản ứng quang hợp và hô hấp cuả tế bào. Trong quá trình phân tán bột nano kim loại trong nước bằng sóng siêu âm, một phần cấu trúc của phân tử nước bị phá hủy và hậu quả là trong hệ dung dịch siêu phân tán xuất hiện một lượng oxy và hydro nguyên tử. Các thành phần này có khả năng tham gia trực tiếp vào chuỗi vận chuyển các điện tử trong quá trình quang hợp và hô hấp của tế bào thực vật.

Trên cơ sở những kết quả nghiên cứu đã được công bố có thể liệt kê các yếu tố ảnh hưởng đến độc tính của các hạt nano trong các loài cây lương thực bao gồm: nồng độ, kích thước, độ ổn định, chất bảo vệ và tính chất lý hóa của hạt nano, loài cây, tuổi và giai đoạn phát triển cũng như môi trường dinh dưỡng [76]. Các hạt nano kim loại sắt hóa trị không hoàn toàn ức chế nảy mầm đối với cỏ raigras, lúa đại mạch và cây lanh tại nồng độ rất cao (2000 - 5000 mg/L), trong khi nano ZnO với nồng độ 1000 mg/L đã hủy diệt hầu hết các tế bào tại đỉnh rễ của cây cỏ này. Các hạt nano Cu bắt đầu ức chế quá trình phát triển của mầm lúa mỳ tại nồng độ ~200 mg/L [77]. Các số liệu trên là thuộc trường hợp nuôi cấy cây trong môi trường dung dịch chứa vật liệu nano. Đối với trường hợp nuôi trồng trong môi trường đất, thì để có thể khảo sát độc tính của các hạt nano kim loại đòi hỏi phải sử dụng nồng độ các hạt nano còn cao hơn nữa [78-80].

Qua khảo sát các kết quả nghiên cứu dẫn ra ở trên về độc tính tế bào của các hạt nano cho phép rút ra kết luận rằng hiện tượng độc tế bào và độc gen chỉ được phát hiện khi sử dụng liều lượng các hạt nano rất lớn, cỡ hàng gram trở lên cho một hecta. Các công trình nghiên cứu trên cũng cho thấy một số loài cây lương thực còn có khả năng phục hồi khỏi tác dụng gây độc của các hạt nano, nghĩa là độc tính của chúng mang tính tạm thời.

Tóm lại, từ các nghiên cứu trên có thể khẳng định rằng các nano kim loại siêu phân tán tạo một cơ chế mới kích thích sinh trưởng, tăng năng suất của các cây trồng nông nghiệp nói chung. Trong đó điển hình là các nano kim loại hóa trị 0 như nano Fe, nano Cu và nano Co. Chúng là một nguồn bổ trợ cung cấp cho tế bào các phân tử hydro và oxy, các điện tử tự do và các ion kim loại cần thiết cho việc duy trì quỹ năng

lượng của tế bào trong trường hợp các chức năng hoạt động của nó suy giảm, hoặc do tác động của các yếu tố viêm nhiễm, hoặc do thiếu các chất dinh dưỡng cần thiết. Ngoài ra, các nguyên tố vi lượng này còn tham gia trực tiếp vào quá trình hình thành các coenzym mà nếu như thiếu chúng thì quá trình tích lũy năng lượng trong tế bào không thể xảy ra.

CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất, vật tư và thiết bị

2.1.1. Hóa chất:

Các hóa chất được dùng trong nghiên cứu có độ tinh khiết cao, do hãng Merck của Đức sản xuất.

- Sắt nitrat $Fe(NO_3)_3.9H_2O$, độ tinh khiết 99%.
- Đồng sunfat $CuSO_4.5H_2O$, độ tinh khiết 99%.
- Coban nitrat $Co(NO_3)_2.6H_2O$, độ tinh khiết 99%.
- Natri hydroxit NaOH, độ tinh khiết 95%.
- Amoni hydroxit NH_4OH, độ tinh khiết 99%.

2.1.2. Vật tư

- **Hạt giống ngô**: Giống LVN10. Định mức gieo trồng 18kg/ha.

+ Nguồn gốc giống: Giống ngô lai LVN10 là giống lai đơn của Viện Nghiên cứu Ngô tạo ra từ các dòng tự phối DF1/DF2 được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn cho phép khu vực hóa và quy trình sản xuất hạt lai.

+ Một số đặc điểm đặc tính của giống: LVN10 chịu hạn, chịu phèn tốt, khả năng chống đổ khá, ít nhiễm các loại sâu bệnh.

- **Củ gừng giống**: Giống gừng trâu. Định mức gieo trồng 3 tấn/ha.

+ Nguồn gốc giống: Là giống truyền thống, trồng phổ biến của huyện Hà Quảng, Cao Bằng. Gừng có vỏ già, bóng và còn tươi, mẩy, có ít nhất 2 mắt mầm.

+ Một số đặc điểm, đặc tính của giống: Cây gừng thích hợp trồng ở các vùng nhiệt đới, nhiệt độ trung bình 20-28^oC, lượng mưa 1500-2500mm. Gừng không kén đất. Đất thích hợp trồng gừng là đất tơi xốp, giàu mùn, cao, thoát nước tốt. Thời gian sinh trưởng từ 8-10 tháng. Các bệnh hay gặp thường là bệnh cháy lá, thối nhũn, thối vàng.

- **Hạt giống lúa mì, lúa mạch**: Giống lúa mì mùa xuân Triticum aestivum L, và giống lúa mạch mùa xuân Hordeum vulgare L.

+ Nguồn gốc giống: Giống lúa mì, lúa mạch đều là giống lúa chín sớm của Belarus, được thương mại bởi hãng Evro-Semena, Belarus.

+ Hạt giống lúa mì, lúa mạch được gieo trồng trong điều kiện khí hậu ôn đới. Thời gian sinh trưởng của lúa mì, lúa mạch kéo dài 80-90 ngày.

- Phân bón: Bao gồm các loại phân vi sinh hữu cơ, phân đạm ure, lân supe, phân kali được sử dụng theo định mức truyền thống, phù hợp với từng đối tượng cây trồng.

2.1.3. Thiết bị

- Máy điện phân sinh khí Hydro (Mỹ, model HGH-300; Áp suất khí ra 0,4Mpa; Độ tinh khiết 99,999%; Áp suất điểm sương của khí -45^{o}C; Công suất sinh khí 300 cm^3/phút). Máy điện phân sinh khí có cấu tạo bao gồm: điện cực/bể điện phân có màng ngăn, nguồn điện, bộ điều chỉnh áp suất, bộ lọc, bộ tách ẩm, bộ hiển thị lưu lượng. Hệ thống dẫn khí H_2 có van an toàn, khí dẫn qua buồng phản ứng, phần dư và hơi nước sau phản ứng được dẫn ra ngoài cho sục qua bình nước để hạ nhiệt độ và đảm bảo an toàn cháy nổ.

- Lò ống có điều khiển nhiệt độ Nabertherm (Đức, model R 50/500/12; nhiệt độ tối đa 1200^{o}C; đường kính trong của ống gia nhiệt 40mm, buống phản ứng thạch anh đường kính ngoài 25mm, chiều dài 1000mm; hệ thống van dây dẫn khí đảm bảo an toàn cháy nổ).

- Máy rung siêu âm Elmasonic S60H (Tần số siêu âm 37 kHz; dạng sóng siêu âm: dạng sin tiêu chuẩn).

- Máy đo pH 7110

- Máy ly tâm lạnh tốc độ cao

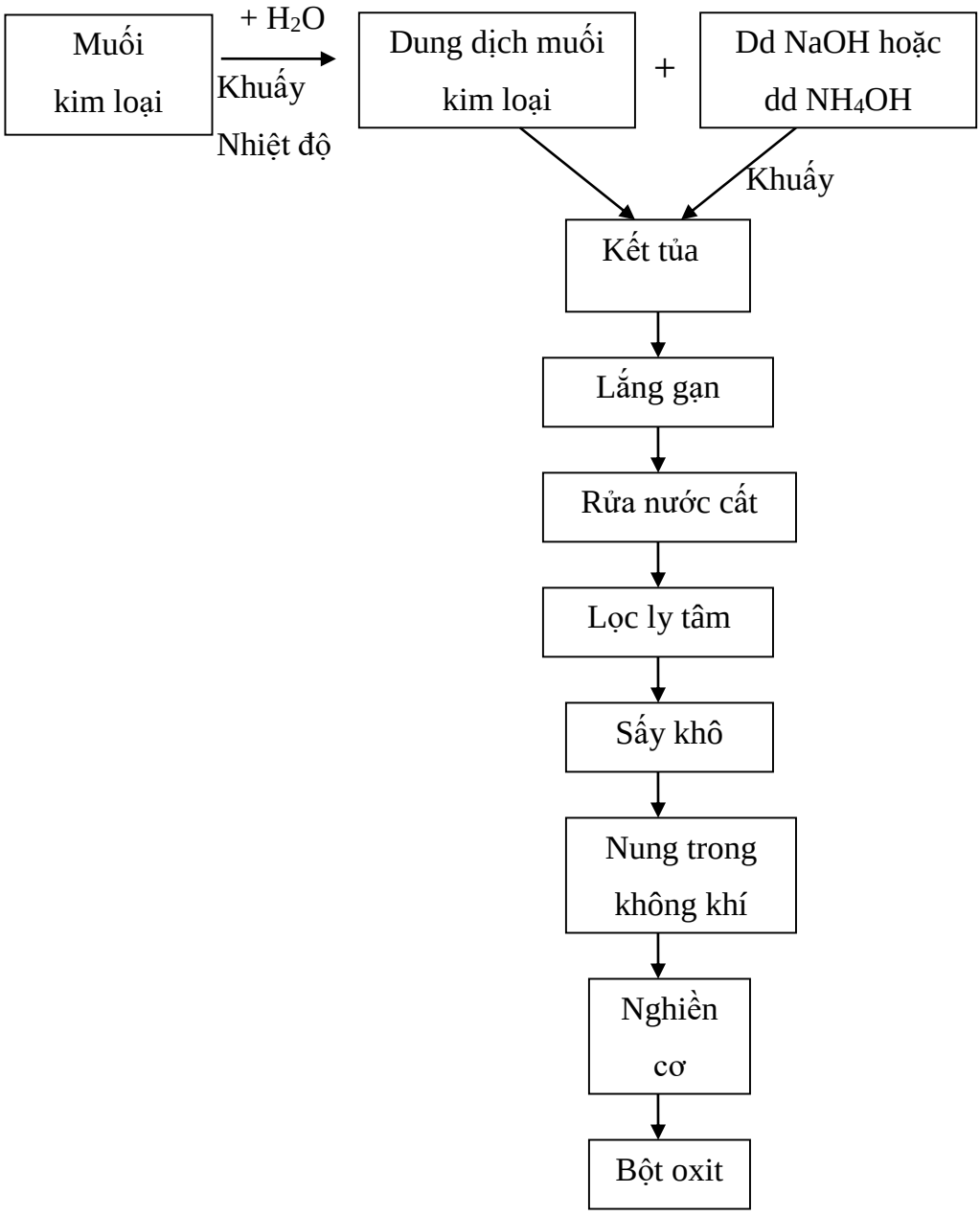
- Máy nghiền bi hành tinh Frichs (Đức)

2.2. Chế tạo vật liệu nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0

2.2.1. Chế tạo tiền chất

Tiền chất đưa vào chuyển hóa thành nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đi từ các chất đầu là: Fe_2O_3, CuO, Co_3O_4.

Quy trình chế tạo tiền chất: Đầu tiên, cho muối kim loại tương ứng ($Fe(NO_3)_3.9H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$, $Co(NO_3)_2.6H_2O$) vào nước cất, sau đó khuấy cho tan hết, ta được dung dịch muối kim loại. Nhỏ từ từ dung dịch NaOH hoặc dung dịch NH_4OH vào dung dịch muối kim loại để tạo sản phẩm kết tủa. Phần kết tủa thu được đem lắng gạn, rửa bằng nước cất nhiều lần để rửa hết các ion. Tiến hành lọc ly tâm sản phẩm thu được, đem sấy khô, rồi nung trong không khí sau đó đem nghiền mịn ta thu được sản phẩm cuối cùng là bột oxit. Sơ đồ quy trình chế tạo như hình 2.1.



Hình 2.1. Sơ đồ quy trình chế tạo bột oxit kim loại

2.2.1.1. Chế tạo tiền chất Fe_2O_3

Nhỏ từ từ từng giọt dung dịch NH_4OH 0,07M vào 740ml dd $Fe(NO_3)_3$ 0,1M. Khuấy bằng máy khuấy từ. Khi pH đạt 8-8.5 thì để lắng, lọc và rửa kết tủa nhiều lần để loại bỏ ion NO_3^- và NH_4^+. Sấy kết tủa ở 200°C trong vòng 5 giờ. Để nguội sau đó đem nghiền bi trong 2h thu được bột Fe_2O_3.

$$Fe^{3+} + 3OH^- \rightarrow Fe(OH)_3\downarrow$$

$$Fe(OH)_3 \xrightarrow{t^o} Fe_2O_3 + H_2O$$

2.2.1.2. Chế tạo tiền chất CuO.

Nhỏ từ từ dung dịch NaOH 1M vào 1 lit dung dịch $CuSO_4$ 2M và khuấy đều bằng máy khuấy từ. Khi pH đạt 8-8.5 thì để lắng, lọc và rửa kết tủa nhiều lần để loại bỏ ion SO_4^{2-} và Na^+. Sấy kết tủa ở 100^{o}C trong vòng 2 giờ rồi tiếp tục nung ở 400^{o}C trong 2 giờ nữa. Để nguội sau đó đem nghiền bi trong 2h thu được bột CuO.

$$Cu^{2+} + 2OH^- \rightarrow Cu(OH)_2\downarrow$$

$$Cu(OH)_2 \xrightarrow{t^o} CuO + H_2O$$

2.2.1.3. Chế tạo tiền chất Co_3O_4

Nhỏ từ từ dung dịch NH_4OH 0,4M vào 1 lit dung dịch $Co(NO_3)_2$ 0,1M và khuấy đều bằng máy khuấy từ. Khi pH đạt 8-8.5 thì để lắng, lọc và rửa kết tủa nhiều lần để loại bỏ ion NO_3^- và NH_4^+. Sấy kết tủa ở 100^{o}C trong vòng 3 giờ rồi tiếp tục nung ở 400^{o}C trong 2 giờ nữa. Để nguội sau đó đem nghiền bi trong 2h thu được bột Co_3O_4.

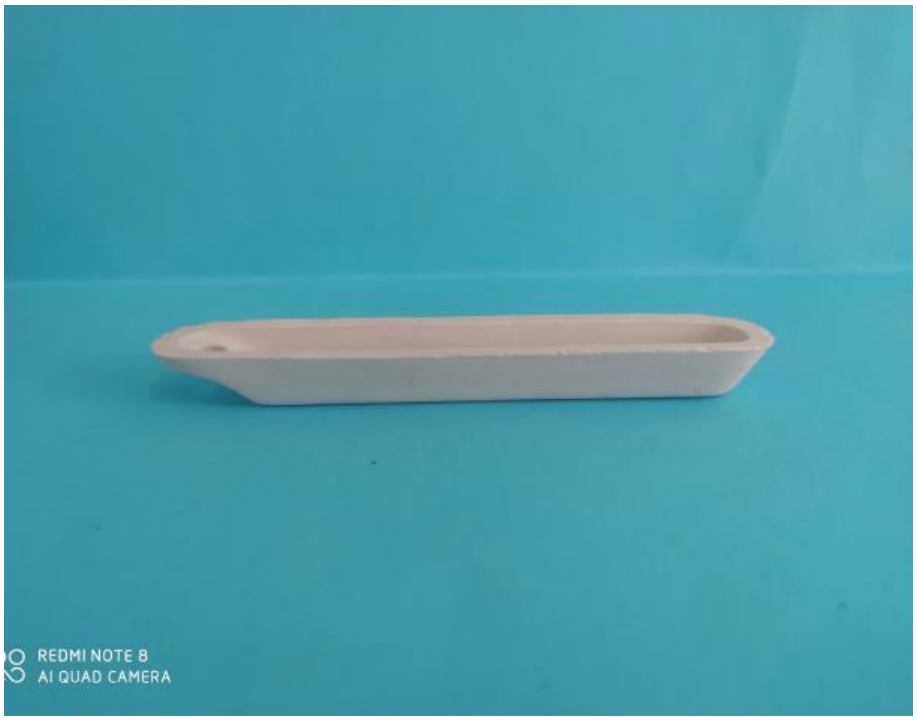
$$Co^{2+} + 2OH^- \rightarrow Co(OH)_2\downarrow$$

$$3Co(OH)_2 \rightarrow CoO \rightarrow Co_3O_4$$

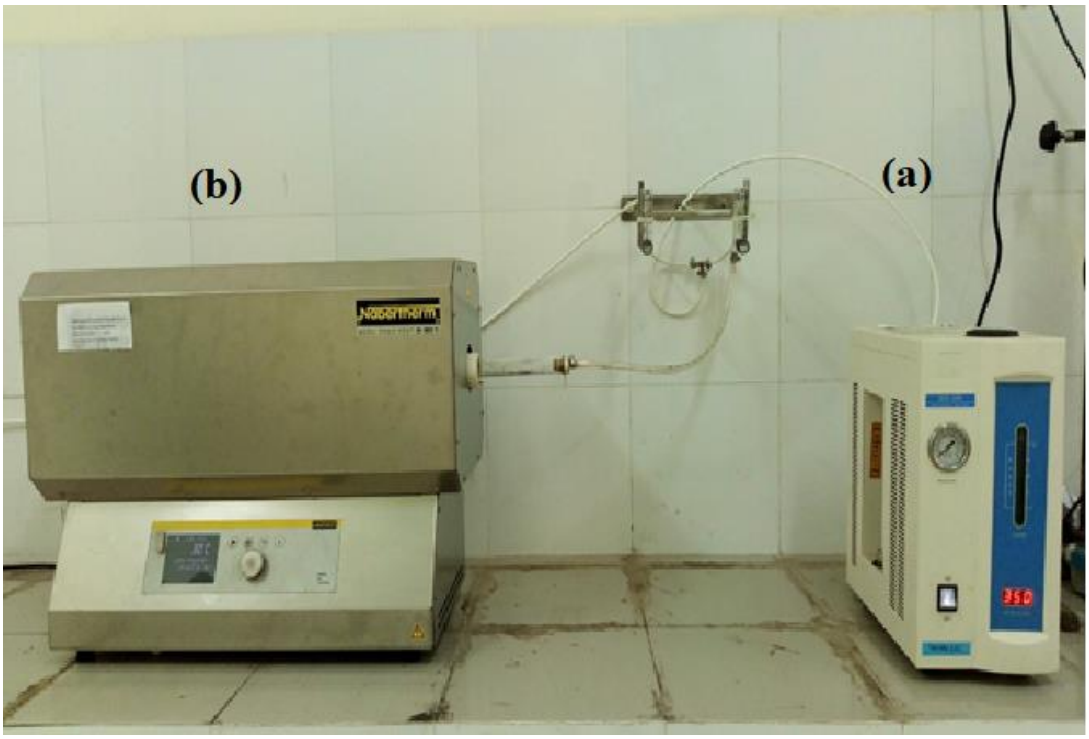
2.2.2. Chế tạo các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0

Hệ thiết bị chế tạo hạt nano kim loại bao gồm:

- Lò nung Nabertherm.
- Máy điện phân sinh khí hydro HGH-300.
- Tiền chất được đặt vào dụng cụ bằng sứ hình thuyền sau đó đưa vào khoảng giữa buồng phản ứng (mỗi thuyền chứa được khoảng 8g).



Hình 2.2. Thuyền sứ dùng để chứa tiền chất



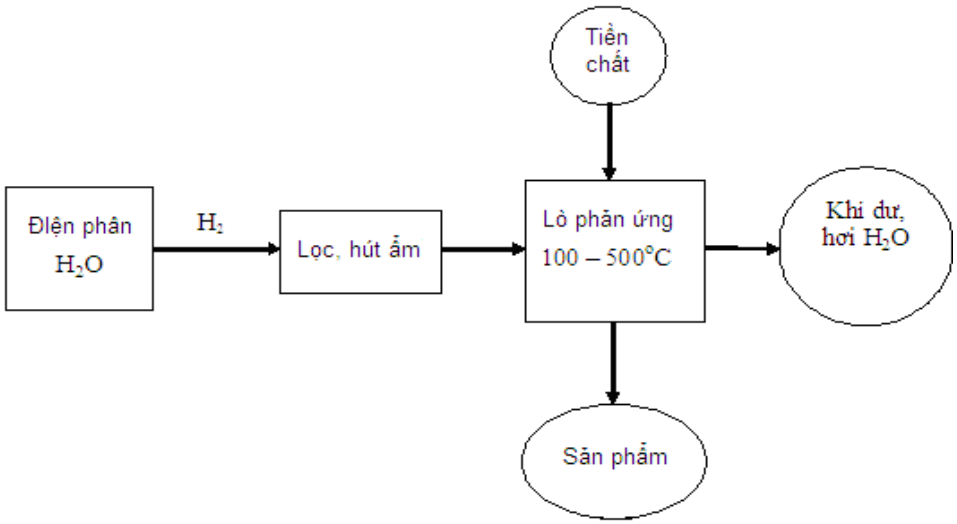
Hình 2.3. Hệ thống thiết bị chế tạo hạt nano kim loại

(a): Máy điện phân sinh khí hydro HGH-300

(b): Lò nung Nabertherm

Quy trình chế tạo hạt nano kim loại như sau:

Ban đầu, đưa tiền chất Fe_2O_3, CuO, Co_3O_4 vào thuyền sứ rồi đưa vào buồng phản ứng. Sau đó đưa buồng phản ứng vào lò nung. Lắp ống dẫn khí, van an toàn. Điện phân tạo dòng khí H_2 lưu lượng 300ml/phút. Gia nhiệt từ từ đến nhiệt độ thích hợp. Để lò nguội tự nhiên trong khi vẫn tiếp tục điện phân tạo dòng khí H_2 để bảo vệ mẫu. Sau khi lò nguội, lấy sản phẩm ra và bảo quản trong môi trường chân không.



Hình 2.4. Sơ đồ khối chế tạo nano kim loại theo nguyên lý khử bằng H_2

2.2.2.1. Chế tạo hạt nano Fe^0

Cho 3g bột Fe_2O_3 vào thuyền sứ rồi đưa vào buồng phản ứng bằng ống thạch anh. Sau đó lắp buồng phản ứng vào lò nung, lắp ống dẫn khí và van an toàn. Sử dụng máy điện phân khí H_2 lưu lượng 300ml/phút. Gia nhiệt và điều khiển nhiệt độ duy trì ở các khoảng nhiệt độ 200^{o}C, 300^{o}C, 400^{o}C và thời gian 60 phút. Sau đó tiếp tục khảo sát tiếp ở nhiệt độ 400^{o}C với các khoảng thời gian 30, 60, 90 phút. Kết thúc phản ứng để lò nguội tự nhiên trong khi vẫn tiếp tục thổi khí H_2 để bảo vệ mẫu. Sau đó lấy mẫu ra và bảo quản trong môi trường chân không.

Phản ứng hoàn nguyên tạo nano Fe^0: $Fe_2O_3 + 3H_2 \xrightarrow{t^o} 2Fe^0 + 3H_2O$

2.2.2.2. Chế tạo hạt nano Cu^0

Cho 3g bột CuO vào thuyền sứ rồi đưa vào buồng phản ứng bằng ống thạch anh. Sau đó lắp buồng phản ứng vào lò nung, lắp ống dẫn khí và van an toàn. Sử dụng máy điện phân khí H_2 lưu lượng 300ml/phút. Gia nhiệt và điều khiển nhiệt độ duy trì ở các khoảng nhiệt độ 300^{o}C, 350^{o}C, 400^{o}C và thời gian 60 phút. Sau đó tiếp tục khảo sát tiếp ở nhiệt độ 400^{o}C với các khoảng thời gian 30, 60, 90 phút. Kết thúc phản ứng để lò nguội tự nhiên trong khi vẫn tiếp tục thổi khí H_2 để bảo vệ mẫu. Sau đó lấy mẫu ra và bảo quản trong môi trường chân không.

Phản ứng hoàn nguyên tạo nano Cu^0: $CuO + H_2 \xrightarrow{t^o} Cu^0 + H_2O$

2.2.2.3. Chế tạo hạt nano Co^0

Cho 3g bột Co_3O_4 vào thuyền sứ rồi đưa vào buồng phản ứng bằng ống thạch anh. Sau đó lắp buồng phản ứng vào lò nung, lắp ống dẫn khí và van an toàn. Sử dụng máy điện phân khí H_2 lưu lượng 300ml/phút. Gia nhiệt và điều khiển nhiệt độ duy trì ở các khoảng nhiệt độ 200^{o}C, 300^{o}C, 400^{o}C, 500^{o}C và thời gian 60 phút. Sau đó tiếp tục khảo sát tiếp ở nhiệt độ 500^{o}C với các khoảng thời gian 30, 60, 90 phút. Kết thúc phản ứng để lò nguội tự nhiên trong khi vẫn tiếp tục thổi khí H_2 để bảo vệ mẫu. Sau đó lấy mẫu ra và bảo quản trong môi trường chân không.

Phản ứng hoàn nguyên tạo nano Co^0: $Co_3O_4 + 4H_2 \xrightarrow{t^o} 3Co^0 + 4H_2O$

2.3. Phương pháp nghiên cứu đặc trưng tính chất của vật liệu và đánh giá tác động của hạt nano kim loại lên cây trồng

2.3.1. Phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD)

Phương pháp nhiễu xạ tia X dựa trên cơ sở hiện tượng nhiễu xạ và giao thoa khi chiếu chùm tia X song song hẹp, đơn sắc lên tinh thể. Phương pháp này là một phương pháp phổ biến, đã và đang được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu nhằm xác định định tính pha tinh thể, xác định định lượng hàm lượng pha, các hằng số mạng, phân bố kích thước hạt và xây dựng lại cấu trúc tinh thể [81].

Các mẫu nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 trong đề tài được đo XRD trên máy D8 Advance -Bruker tại Khoa Hóa học Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội.

2.3.2. Phương pháp phổ huỳnh quang tia X (XRF)

Phổ huỳnh quang tia X là kĩ thuật quang phổ dựa vào việc ghi lại phổ phát xạ tia X thứ cấp được sinh ra bởi sự kích thích các điện tử của mẫu bằng nguồn phát tia X. Dựa vào định tính và định lượng của tia X thứ cấp để phân tích được thành phần, nồng độ của mẫu. Phương pháp XRF có độ chính xác cao, có khả năng phân tích được nhiều nguyên tố và không làm mẫu bị phá hủy. Phương pháp này được ứng dụng chủ yếu cho các mẫu chất rắn trong việc định tính định lượng nhanh chóng các nguyên tố, thành phần có trong mẫu [81].

Các mẫu nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 trong đề tài được phân tích XRF tại Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.3. Phương pháp phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX)

Phổ tán sắc năng lượng tia X thường được gọi là EDX, EDS hay XEDS tuy nhiên trong đề tài thống nhất gọi là phổ EDX. Phổ EDX là một kỹ thuật phân tích dùng để phân tích nguyên tố trong mẫu rắn. Phân tích phổ EDX sẽ thu được các pic đặc trưng cho các nguyên tố có trong vật liệu và cho các kết quả định lượng về nguyên tố cần phân tích (% trọng lượng và % nguyên tử) trong một vùng phổ phân tích [81].

Các mẫu nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 trong đề tài được phân tích EDX tại Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.4. Phương pháp hiển vi điện tử quét SEM

Kính hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscope –SEM) là 1 loại kính hiển vi điện tử có thể tạo ra ảnh với độ phân giải cao của bề mặt mẫu vật bằng cách dùng một chùm điện tử hẹp quét trên bề mặt mẫu. Ảnh đó khi đến màn huỳnh quang có thể đạt độ phóng đại theo yêu cầu. Chính nhờ khả năng phóng đại và tạo hình ảnh rõ nét, chi tiết nên cho phép kính hiển vi điện tử quét (SEM) được sử dụng để nghiên cứu bề mặt và hình dáng của vật liệu. Ảnh thu được cho biết các thông số đánh giá cấu trúc và bề mặt của mẫu vật liệu nghiên cứu [81].

Ảnh hiển vi điện tử quét SEM của các mẫu nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 trong đề tài được đo trên thiết bị Hitachi S-4800 tại Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.5. Phương pháp BET

Phương pháp BET (Brunauner – Emmett – Teller) là một phương pháp phổ biến để xác định diện tích bề mặt riêng của chất rắn. Tính toán diện tích bề mặt riêng dựa

vào đường đẳng nhiệt hấp phụ thông qua đo sự hấp sự hấp phụ của một số khí trơ có khả năng xâm nhập vào tất cả các mao quản của vật liệu, thường là dùng khí N_2 [82].

Trong đề tài này, phương pháp BET được thực hiện trên máy MicroActive TriStar II Plus 2.03 (Mỹ) tại Viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.6. Phương pháp xác định phân bố kích thước hạt (DLS)

Phương pháp xác định phân bố kích thước hạt hay còn gọi là phương pháp đo kích thước hạt DLS tán xạ ánh sáng động (Dynamic light scattering). Phương pháp này được dùng để nghiên cứu các thông số hạt dựa trên sự khuếch tán của các phân tử trong dung dịch.

Khi các hạt được phân tán trong chất lỏng chúng chuyển động ngẫu nhiên theo mọi hướng. Chuyển động của các hạt phân tán tạo ra sự thay đổi liên tục về khoảng cách của ánh sáng tán xạ theo thời gian, tín hiệu quang này được thu nhận và chuyển đổi thành thông tin về kích thước hạt và phân bố kích thước hạt trong dung dịch.

Các mẫu nano kim loại trong đề tài được xác định kích thước hạt trên máy Zeta-Nanosizer ZS tại Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Các dung dịch xử lý giống được xác định bởi các đặc trưng thế zeta trên máy đo Zeta-Nanosizer ZS tại Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.7. Phương pháp đo phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến (UV-VIS)

Một trong những phương pháp dùng để nghiên cứu tính chất quang của vật liệu rất hữu hiệu đó là sử dụng phép đo phổ hấp thụ UV – VIS. Phổ này được xác định dựa trên nguyên tắc các chất khác nhau có khả năng hấp thụ lượng ánh sáng cực đại khác nhau tại các bước sóng xác định tùy thuộc vào cấu trúc của từng chất. Phổ hấp thụ biểu thị mối quan hệ giữa cường độ hay hệ số hấp thụ ánh sáng của vật liệu với bước sóng ánh sáng chiếu vào vật liệu. Phổ hấp thụ UV – VIS của mỗi chất là khác nhau. Chính khả năng hấp thụ một cách chọn lọc bước sóng là cơ sở để ta xác định đặc tính của vật liệu. Phép đo phổ hấp thụ quang học cho ta rất nhiều thông tin về vật liệu như : độ rộng vùng cấm, dự đoán bước sóng huỳnh quang của vật liệu nếu vật liệu phát quang, hiệu ứng kích thước lượng tử, ước tính kích thước của các chấm lượng tử, các dịch chuyển quang học…

Việc xác định phổ hấp thụ dựa trên nguyên tắc: các bước sóng cực đại hấp thụ đặc trưng cho từng chất. Đây cũng là cơ sở của phép định tính. Độ hấp thụ các bức xạ phụ thuộc vào nồng độ của chất nghiên cứu trong dung dịch cần đo là cơ sở của phép định lượng.

Các nghiên cứu xác định hàm lượng diệp lục, hợp chất anthocyanin, hoạt độ enzyme được tiến hành tại Viện Di truyền Nông nghiệp Việt Nam.

2.3.8. Phương pháp phổ phát xạ nguyên tử Plasma (ICP)

Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử plasma kết hợp ICP-OES là phương pháp được sử dụng rộng rãi với độ chính xác cực cao, nhằm xác định nguyên tố của các chất mẫu phân tích. Ngoài ra định lượng nồng độ nguyên tố của mẫu cũng có thể dùng phương pháp này.

Dựa trên nguyên lý nguyên tử hay ion, khi bị kích thích hoặc các electron của một nguyên tử hay ion sẽ giải phóng năng lượng từ thấp hơn lên cao hơn sau đó trở về trạng thái ban đầu của chúng. Khi đó năng lượng phát ra dưới dạng photon với bước sóng đặc trưng cho các phần tử tương ứng của chúng.

Với trường hợp nhiều vật liệu có mặt thì sẽ có hiệu ứng tích lũy làm cho cường độ tín hiệu lớn. Tuy nhiên, nếu có rất ít vật liệu có mặt thì tín hiệu sẽ thấp. Vì vậy đường cong hiệu chuẩn được tạo ra để phân tích có nồng độ đã biết, theo đó cường độ tín hiệu thay đổi như là một hàm của nồng độ của vật liệu có mặt.

Khi đo cường độ từ một mẫu có nồng độ chưa biết, cường độ từ mẫu này có thể được so sánh với cường độ từ đường chuẩn, do đó có thể được sử dụng để xác định nồng độ của chất phân tích trong mẫu.

Phân tích hàm lượng kim loại tồn dư trong ngô thành phẩm được tiến hành tại Viện Di truyền Nông nghiệp Việt Nam.

2.3.9. Phương pháp xử lý hạt giống/ củ giống bằng hạt nano kim loại

2.3.9.1. Chế tạo dung dịch huyền phù nano kim loại

Dung dịch huyền phù được chế tạo như sau:

Hòa một lượng nano kim loại vào một thể tích nước cất (khử ion) theo nồng độ đã định, dùng để xử lý hạt giống. Đưa dung dịch vừa pha vào máy rung siêu âm bật ở chế độ liên tục, thời gian rung từ 10 đến 40 phút. Dưới tác động của sóng siêu âm các hạt nano kim loại tham gia vào phản ứng khử và được chuyển hóa thành dạng huyền phù trong môi trường nước.

2.3.9.2. Xử lý hạt giống/ củ giống bằng dung dịch huyền phù nano kim loại

Quy trình xử lý hạt giống/củ giống bằng dung dịch nano kim loại bao gồm các bước sau:

- Bước 1: Chuẩn bị dung dịch huyền phù nano kim loại.
- Bước 2: Rung siêu âm dung dịch huyền phù nano kim loại
- Bước 3: Xử lý hạt giống/củ giống

Đổ riêng từng loại dung dịch huyền phù vừa rung siêu âm vào chậu ngâm hạt giống/củ giống với thời gian phù hợp. Sau đó vớt hạt giống/củ giống để ráo nước và đưa đi gieo trồng.

Hạt giống/củ giống xử lý bằng nano kim loại nên đem đi ươm trồng ngay để đạt hiệu quả tốt nhất.

Căn cứ định lượng gieo hạt giống ngô trên một ha, tính toán khối lượng hạt giống/củ giống và nano kim loại cần thiết để xử lý theo từng công thức thí nghiệm.

a. Xử lý hạt giống ngô:

Tham khảo kết quả nghiên cứu sơ bộ trên cây ngô [82], hàm lượng nano kim loại sử dụng cho 1 ha ngô thường dưới 100 mg. Thông thường khi gieo trồng 01 ha cần 18-20 kg hạt giống, nghĩa là cần dưới 5 mg nano kim loại đẻ xử lý 01 kg hạt giống.

- Chuẩn bị các dung dịch huyền phù nano Fe^0, Cu^0, Co^0 ở các nồng độ 3mg/l, 4mg/l, 5mg/l.

- Ngâm ngô giống theo định lượng 1 lít dung dịch huyền phù nói trên ứng với 1 kg hạt giống trong 10 giờ.

- Trong quá trình ngâm xử lý giống cần khuấy, đảo để tạo sự đồng đều.

- Vớt hạt giống đã ngâm để ráo nước rồi đem gieo ngay trong khoảng 3-4 giờ.

b. Xử lý củ giống gừng:

Tham khảo kết quả nghiên cứu sơ bộ trên cây nghệ [83], loại cây có đặc điểm khá tương đồng với gừng, hàm lượng nano kim loại sử dụng cho 1 ha được lựa chọn từ 300 – 500 mg/ha, tương đương lượng gừng giống 3 tấn/ha.

- Chuẩn bị các dung dịch huyền phù nano Fe^0, Cu^0, Co^0 ở các nồng độ 0,3mg/l; 0,4mg/l; 0,5mg/l.

- Ngâm gừng giống theo định lượng 0,3mg/l/kg, 0,4mg/l/kg, 0,5mg/l/kg gừng giống trong 60 phút.

- Trong quá trình ngâm xử lý giống tránh khuấy trộn để không làm tổn thương mắt gừng giống.

- Vớt củ gừng giống đã ngâm để ráo nước và đem trồng ngay trong khoảng 3-4 giờ.

c. Xử lý hạt giống lúa mì, lúa mạch:

- Chuẩn bị các dung dịch huyền phù nano Fe^0, Cu^0, Co^0 ở các nồng độ 0,3mg/l, 0,4mg/l, 0,5mg/l.

- Ngâm hạt giống theo định lượng 1 lít dung dịch huyền phù nói trên ứng với 1 kg hạt giống trong 8-10 giờ.

- Trong quá trình ngâm xử lý giống cần khuấy, đảo để tạo sự đồng đều.

- Vớt hạt giống đã ngâm để ráo nước rồi đem gieo ngay trong khoảng 3-4 giờ.

2.3.10. Phương pháp đánh giá

2.3.10.1. Phương pháp đánh giá sự sinh trưởng phát triển của cây ngô

Tiến hành thí nghiệm trong nhà ươm tại Viện Di truyền Nông nghiệp Việt Nam nhằm xác định ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến khả năng sinh trưởng phát triển của rễ và thân của cây ngô.

Thí nghiệm gồm 11 công thức được thể hiện ở bảng 2.1 với 3 loại nano kim loại ở 3 hàm lượng khác nhau và 2 công thức đối chứng bao gồm: Công thức ĐC1 không xử lý tức là gieo hạt trực tiếp và công thức ĐC2 là xử lý với nước tương ứng.

Bảng 2.1. Công thức thí nghiệm với cây ngô

STT	Công thức
1	ĐC1 (Đối chứng, không xử lý)
2	ĐC2 (Đối chứng xử lý với nước)
3	Fe CT1 (nano Fe^0 nồng độ 5mg/l)
4	Fe CT2 (nano Fe^0 nồng độ 4mg/l)
5	Fe CT3 (nano Fe^0 nồng độ 3mg/l)
6	Cu CT1 (nano Cu^0 nồng độ 5mg/l)
7	Cu CT2 (nano Cu^0 nồng độ 4 mg/l)
8	Cu CT3 (nano Cu^0 nồng độ 3mg/l)
9	Co CT1 (nano Co^0 nồng độ 5mg/l)
10	Co CT2 (nano Co^0 nồng độ 4mg/l)
11	Co CT3 (nano Co^0 nồng độ 3mg/l)

- Ngô được trồng trong chậu plastic đường kính 20cm, cao 35cm. Mỗi công thức được trồng trong 3 chậu, mỗi chậu gieo 20 hạt.

- Mỗi ngày dùng bình phun tia nhỏ tưới lại 2 lần để giữ độ ẩm.

- Các chỉ tiêu theo dõi sinh trưởng, phát triển và năng suất được tiến hành theo hướng dẫn đánh giá và thu thập số liệu ở các thí nghiệm so sánh giống ngô của CIMMYT (CIMMYT 1985), Viện Nghiên cứu Ngô, Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống ngô (*QCVN 01-56:2011/BNNPTNT*) và Quy phạm khảo nghiệm phân bón *10TCN216-2003.*

+ Chỉ tiêu về thời gian sinh trưởng: Theo dõi ngày mọc, ngày trỗ cờ, tung phấn, phun râu, ngày chín sinh lý.

+ Các chỉ tiêu hình thái: Chiều cao cây, chiều cao đóng bắp, trạng thái cây, trạng thái bắp, độ bao bắp.

+ Chỉ tiêu về chống chịu: Mức độ chịu hạn, chỉ tiêu chống đổ, các bệnh về lá, sâu đục thân.

+ Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất: Chiều dài bắp, đường kính bắp, số hàng hạt trên bắp, số hạt/hàng, khối lượng 1000 hạt, tỷ lệ hạt/bắp khi thu hoạch. Năng suất thực thu (tạ/ha) ở độ ẩm 14 % được tính theo công thức:

$$\text{NSTT(tạ/ha)} = \frac{\text{FW x (P1 } - \text{ P2) x (100 } - \text{ MC) x 100}}{\text{S x P1 x (100 } - \text{ RC)}}$$

Trong đó: FW: Khối lượng ô (kg) MC: Độ ẩm hạt khi thu hoạch (%)

P1: Khối lượng mẫu (gam) P2: Khối lượng lõi (gam)

RC: Độ ẩm tiêu chuẩn hạt (14 %) S: Diện tích ô thí nghiệm (m^2)

+ Phương pháp đo hàm lượng diệp lục chlorophyll

Hàm lượng chlorophyll được đo ở các bước sóng 645 nm và 663 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Hàm lượng chlorophyll tổng số được tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng chlorophyll} = \frac{(20.2\text{xOD645} + 8.02\text{xOD663}) \times \text{dung tích chiết xuất (ml)}}{\text{Trọng lượng tươi của mẫu (mg)} \times 1000}$$

+ Phương pháp xác định hàm lượng anthocyane

Hàm lượng anthocyane được đo ở các bước sóng 530 nm và 657 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Hàm lượng anthocyanin được tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng anthocyanin} = \frac{(\text{OD530} - 0.25 \text{ x OD657}) \times \text{dung tích chiết xuất (ml)}}{\text{Trọng lượng tươi của mẫu (mg)} \times 1000}$$

+ Phương pháp đo hoạt độ enzyme

Hoạt độ enzyme Ascorbate Peroxidase (APX) được đo tại bước sóng 290 nm bằng máy quang phổ UV-Vis.

Hoạt độ enzyme Superoxide dismutase (SOD) được tính toán thông qua hệ thống xanthine - xanthine oxidase theo phương pháp của Beyer and Fridovich (1987).

2.3.10.2. Phương pháp đánh giá sự sinh trưởng phát triển của cây gừng

- Quy mô ô thí nghiệm

+ Định mức gieo trồng: Củ gừng giống gieo với mật độ định mức là 3 tấn/ha. Thí nghiệm gồm 10 công thức (3 loại nano kim loại ở 3 hàm lượng khác nhau 300mg, 400mg, 500mg trên khối lượng gừng giống cho 1ha và công thức không xử lý) được thể hiện ở bảng 2.2 mỗi công thức gieo làm 3 lần nhắc lại.

Bảng 2.2. Công thức thí nghiệm với cây gừng

STT	Công thức
1	CT1 (nano Cu^0 nồng độ 300mg/ha)
2	CT2 (nano Cu^0 nồng độ 400mg/ha)
3	CT3 (nano Cu^0 nồng độ 500mg/ha)
4	CT4 (nano Fe^0 nồng độ 300mg/ha)
5	CT5 (nano Fe^0 nồng độ 400mg/ha)
6	CT6 (nano Fe^0 nồng độ 500mg/ha)
7	CT7 (nano Co^0 nồng độ 300mg/ha)
8	CT8 (nano Co^0 nồng độ 400mg/ha)
9	CT9 (nano Co^0 nồng độ 500mg/ha)
10	ĐC1 (Đối chứng, không xử lý)

+ Bố trí thí nghiệm: mỗi ô thí nghiệm là $20m^2$; mật độ trồng 40x30 cm. Các thí nghiệm tiến hành trên thực địa tại huyện Hà Quảng, Cao Bằng.

- Các chỉ số sinh trưởng như chiều cao cây, số nhánh được theo dõi, đánh giá:

+ Số nhánh củ/cây, đường kính củ tươi, chiều dài củ, khối lượng củ tươi, tỷ lệ củ tươi/khô, năng suất lý thuyết (tấn tươi/ha), năng suất thực thu (tấn tươi/ha).

+ Hàm lượng hoạt chất (tinh dầu gừng).

+ Hàm lượng tồn dư các kim loại (Fe^0, Cu^0, Co^0) trong củ gừng sau thu hoạch được phân tích bằng phương pháp phổ phát xạ nguyên tử plasma (ICP).

2.3.8.3. Phương pháp đánh giá năng lượng nảy mầm, kiểm soát bệnh và năng suất của cây lúa mì, lúa mạch

- Các đặc tính gieo hạt của hạt được xác định theo các tiêu chuẩn hiện hành của Cộng hòa Belarus.

- Hạt giống sau khi ngâm được làm khô và để nảy mầm trong đĩa Petri trên giấy lọc được làm ẩm bằng nước cất trong máy điều nhiệt (thermostat) ở 21°C. Mỗi mẫu gồm 100 hạt được chọn và lặp lại bốn lần. Năng lượng nảy mầm và tỷ lệ nảy mầm lần lượt được xác định vào ngày thứ 3 và ngày thứ 7.Vào ngày thứ 7, chiều dài cây con, chiều dài rễ chính và khối lượng của chúng cũng được định lượng.

- Sự xâm nhập mầm bệnh của hạt ngũ cốc được tiến hành trong điều kiện phòng thí nghiệm bằng cách cho hạt nảy mầm trên thạch dinh dưỡng. Thành phần hóa học của thạch cũng giống như môi trường nuôi cấy. Một khối sợi nấm (đường kính 3 mm) của mầm bệnh được đặt ở trung tâm của đĩa Petri đường kính 5 cm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, với số lượng hạt bằng nhau, trên ba đĩa khác nhau. Các bệnh do nấm gây ra trên hạt nảy mầm và hạt không nảy mầm được biểu hiện dưới

dạng các đốm có hình dạng và màu sắc khác nhau, các mảng sợi nấm, biến dạng hoặc các bộ phận chết của cây con. Hạt giống bị nhiễm bệnh do nấm gây bệnh trên thực vật gây ra được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm hạt bị nhiễm trên tổng số lượng trong mẫu.

- Để phân tích năng suất cây trồng, cây được trồng trên các ô trồng tiêu chuẩn tại Viện Thực vật học Thực nghiệm thuộc Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia Belarus. Mùa sinh trưởng kéo dài lần lượt là 80 và 90 ngày đối với lúa mạch và lúa mì. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến sự hình thành năng suất hai loại cây ngũ cốc được nghiên cứu bằng cách định lượng các chỉ tiêu quan trọng của cây, bông lúa và hạt. Cơ cấu cây trồng được xác định trong giai đoạn chín ở mười cây của mỗi nhóm trong bốn lần nhắc lại. Các chỉ tiêu quan trọng của cây trồng bao gồm: (i) chiều cao cây; (ii) số lượng thân cây cho năng suất và không cho năng suất; (iii) khối lượng rơm rạ từ 10 cây; (iv) trọng lượng và số lượng hạt trong bông lúa; (v) khối lượng 1000 hạt.

Các công thức thí nghiệm được thể hiện ở bảng 2.3.

Bảng 2.3. Công thức thí nghiệm với cây lúa mì, lúa mạch

STT	**Công thức**
1	CuCT1 (nano Cu^0 nồng độ 0,3 mg/kg)
2	CuCT2 (nano Cu^0 nồng độ 0,4 mg/kg)
3	CuCT3 (nano Cu^0 nồng độ 0,5 mg/kg)
4	FeCT1 (nano Fe^0 nồng độ 0,3 mg/kg)
5	FeCT2 (nano Fe^0 nồng độ 0,4 mg/kg)
6	FeCT3 (nano Fe^0 nồng độ 0,5 mg/kg)
7	CoCT1 (nano Co^0 nồng độ 0,3 mg/kg)
8	CoCT2 (nano Co^0 nồng độ 0,4 mg/kg)
9	CoCT3 (nano Co^0 nồng độ 0,5 mg/kg)
10	ĐC1 (Đối chứng, xử lý với nước)

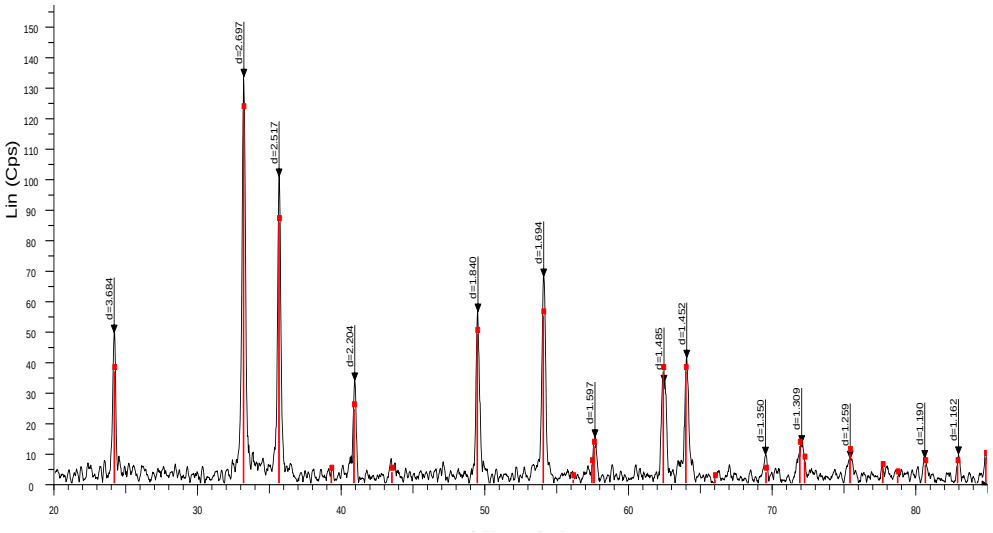
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chế tạo và đặc trưng tính chất của vật liệu nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0

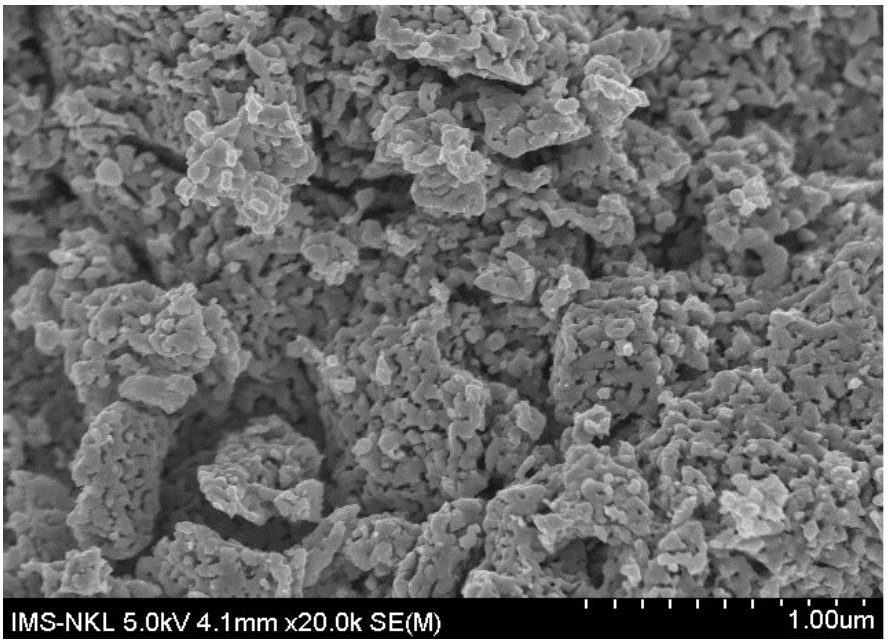
3.1.1. Nano kim loại Fe0

3.1.1.1. Đặc trưng tính chất của Fe_2O_3

Fe_2O_3 dạng bột được tổng hợp dùng làm tiền chất cho phản ứng hoàn nguyên Fe^0 có cấu trúc pha được thể hiện qua giản đồ XRD hình 3.1. Kết quả phân tích nhiễu xạ tia X cho thấy bột Fe_2O_3 tổng hợp được với các pic đặc trưng rất rõ ràng tương ứng với giá trị góc 2-theta là 24,3°; 33,1°; 35,6°; 40,9°; 49,5°; 51,1°; 62,4°; 64° và 72,1°. Đường nền thấp chứng tỏ độ tinh thể của oxit sắt cao.



Hình 3.1. Giản đồ XRD của bột Fe_2O_3

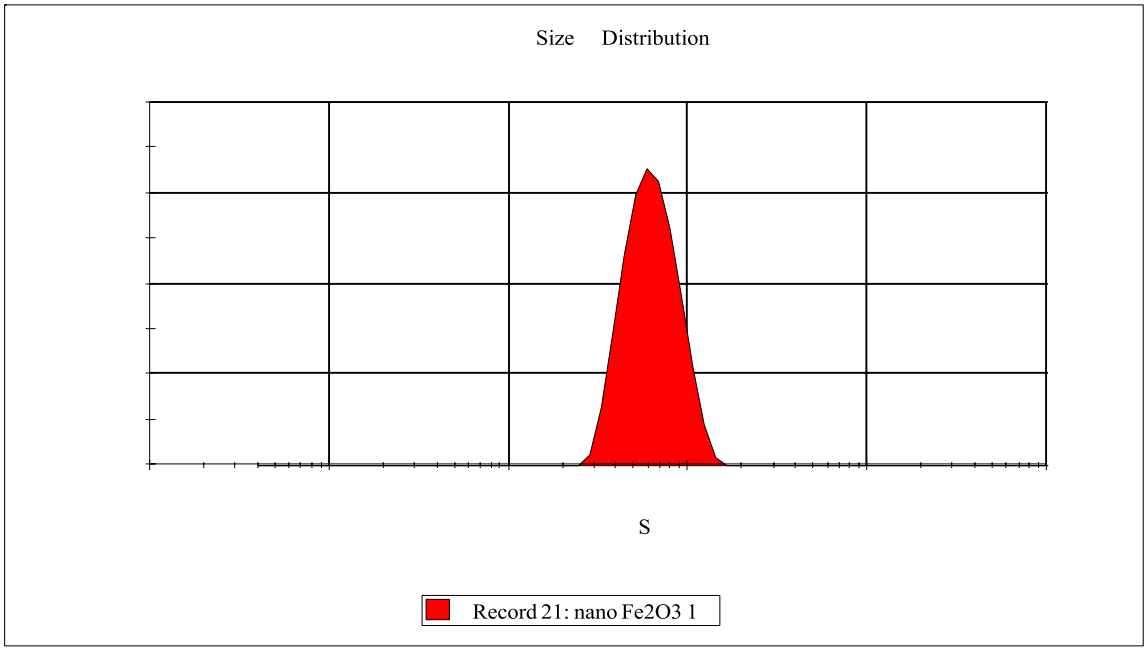


Hình 3.2. Ảnh SEM của bột Fe_2O_3

Hình dạng và kích thước của bột Fe_2O_3 được thể hiện qua hình 3.2. Ảnh SEM cho thấy hạt oxit sắt chế tạo được có kích thước tương đối đồng đều trong khoảng 50 -100 nm, có biên hạt tuy nhiên vẫn có hiện tượng kết dính thành những mảng, đám lớn hơn.

Bằng phương pháp nano Zeta xác định phân bố kích thước hạt của bột Fe_2O_3 cho thấy kích thước hạt trung bình của Fe_2O_3 là 88,51nm, trong đó hạt có kích thước 64,79 nm xuất hiện khá tập trung và tạo thành pic rõ rệt. Kết quả này khá tương đồng với kết quả đo SEM như trên hình 3.2.

			Size (d.nm):	% Intensity	Width (d.nm):
Z-Average (d.nm):	88.51	**Peak 1:**	64.79	100.0	21.57
PdI:	1.000	**Peak 2:**	0.000	0.0	0.000
Intercept:	0.245	**Peak 3:**	0.000	0.0	0.000



Hình 3.3. Phân bố kích thước hạt của Fe_2O_3

3.1.1.2. Đặc trưng tính chất của nano kim loại Fe^0

a. Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến cấu trúc và kích thước của hạt nano Fe^0

Kết quả nghiên cứu cấu trúc của vật liệu chế tạo được ở các điều kiện nhiệt độ phản ứng khác nhau bằng giản đồ XRD được thể hiện trong hình 3.4. Kết quả cho thấy rằng:

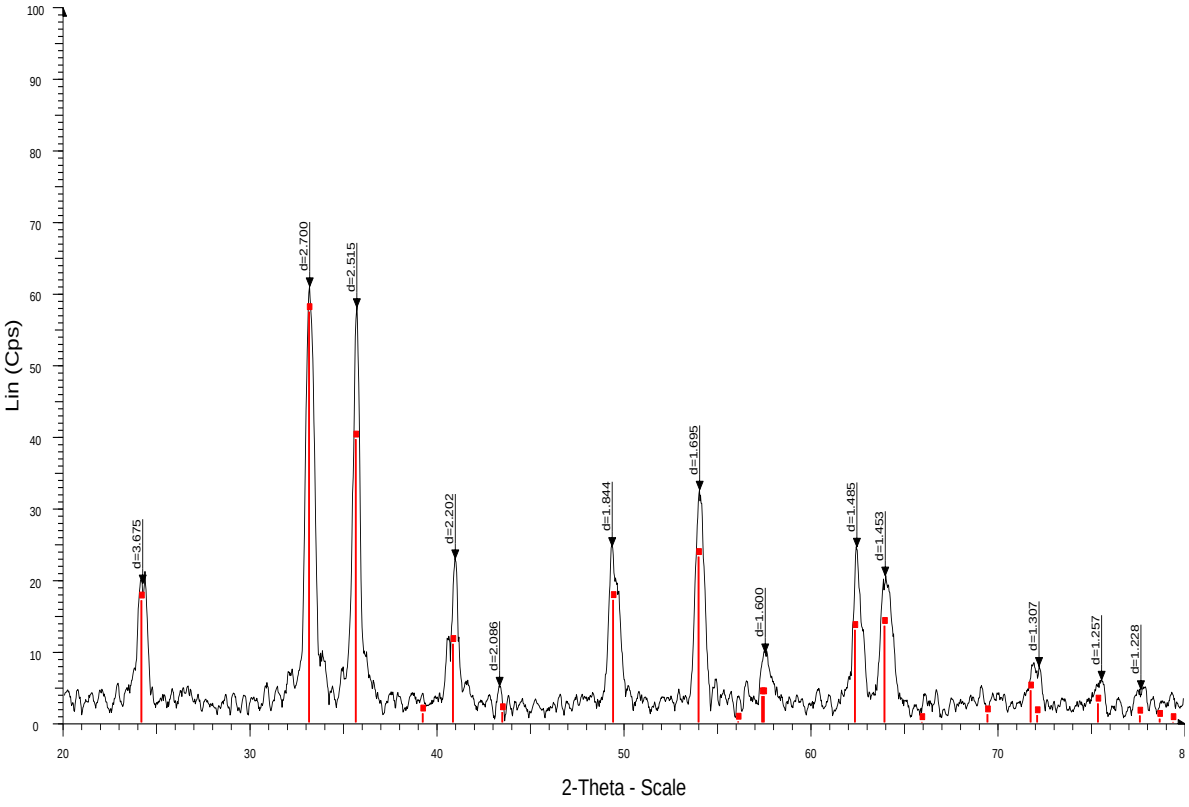
Khi khử mẫu ở 200^{o}C với thời gian phản ứng là 60 phút. Giản đồ XRD của mẫu cho thấy không tìm thấy các đỉnh nhiễu xạ rõ ràng khác ngoài các pic của Fe_2O_3.

Như vậy chưa hình thành tinh thể Fe^0, thành phần chủ yếu của vật liệu vẫn là Fe_2O_3 (*Hình 3.4a)*.

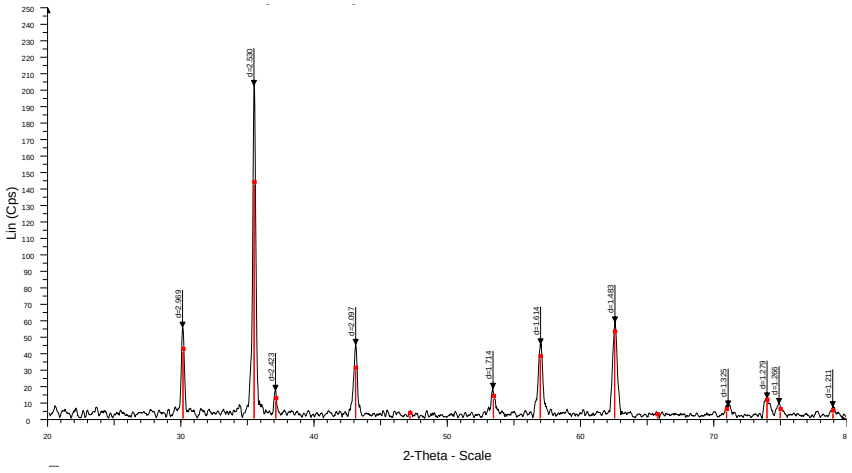
Mẫu khi khử ở 300^{o}C với thời gian 60 phút. Giản đồ XRD của mẫu cho thấy sản phẩm khử ở nhiệt độ này là hỗn hợp của Fe_3O_4 và Fe_2O_3. Sau khi tính toán bằng phần mềm phân tích phổ XRD match ta thấy vật liệu thu được có 77,2% là Fe_3O_4, vẫn còn 22,1% Fe_2O_3, và chỉ có 0,7% Fe^0 được tạo thành (*Hình 3.4b)*.

Mẫu khi khử ở 400^{o}C và thời gian 30 phút cho thấy khi đó vật liệu đã hình thành tinh thể Fe^0 tuy nhiên vẫn còn các đỉnh nhiễu xạ của Fe_3O_4 chưa bị khử hết (*Hình 3.4c)*.

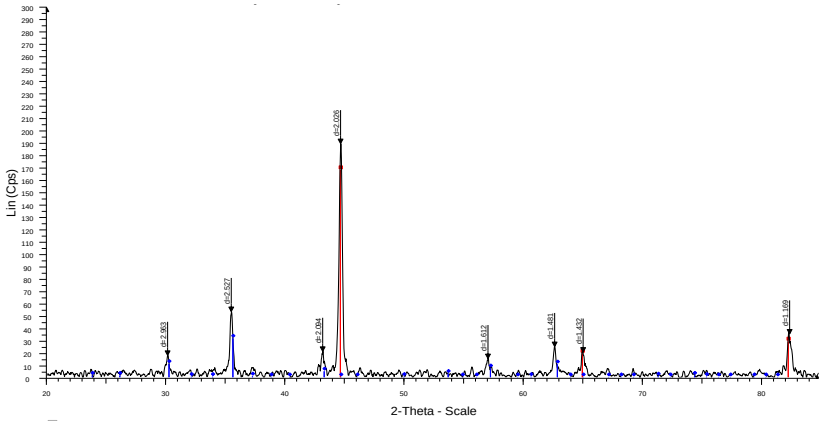
Còn khi khử mẫu ở 400^{o}C và thời gian 60 phút các đỉnh nhiễu xạ của Fe_3O_4 biến mất và chỉ còn tồn tại các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của tinh thể Fe^0 tương ứng với giá trị góc 2-theta là 44,5^o; 65^o và 82^o . Điều này chứng tỏ rằng quá trình khử bằng hydro của sắt (III) oxit đã hoàn thành và sản phẩm thu được là bột sắt nguyên chất (*Hình 3.4d*).



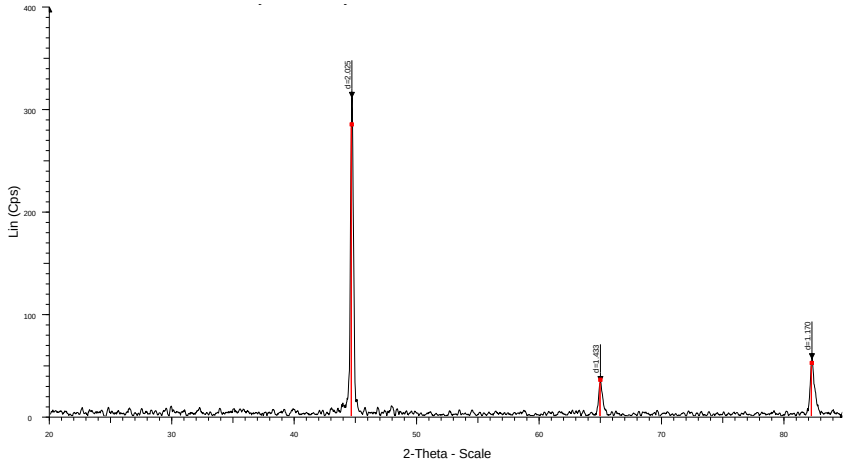
(a)



(b)



(c)



(d)

Hình 3.4. Giản đồ XRD của các mẫu khử tại các nhiệt độ khác nhau

(a): Tại 200^{o}C, 60 phút

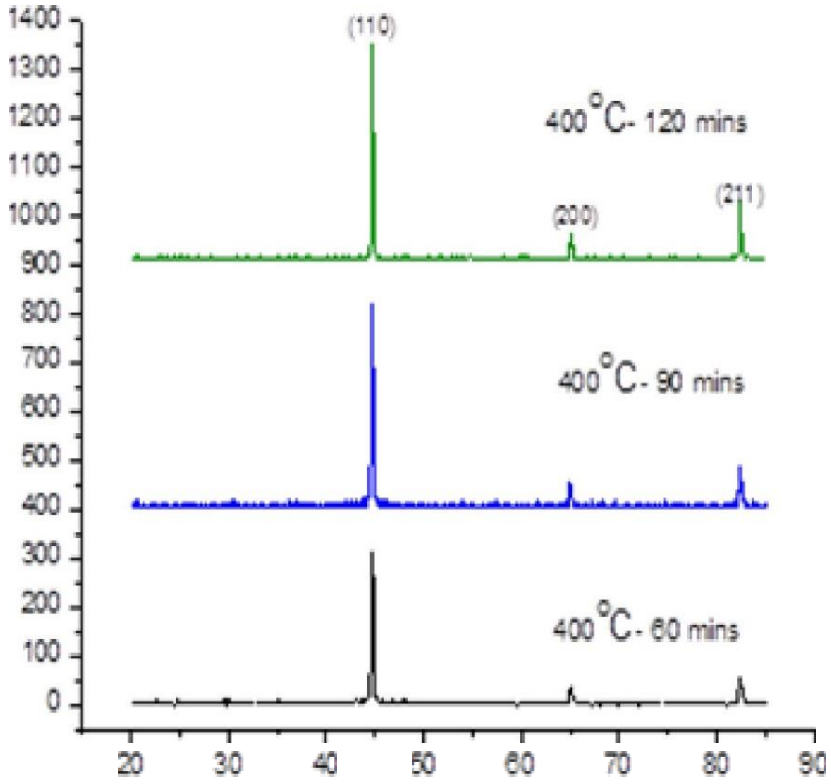
(b): Tại 300^{o}C, 60 phút

(c): Tại 400^{o}C, 30 phút

(d): Tại 400^{o}C, 60 phút

b. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến tính chất của vật liệu

Như đã khảo sát ở trên thì bột nano kim loại Fe^0 chỉ được tạo ra ở nhiệt độ không dưới 400^{o}C. Vậy để khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến tính chất của vật liệu ta sẽ chọn nhiệt độ phản ứng là 400^{o}C với các thời gian phản ứng là 60, 90 và 120 phút. Giản đồ XRD của các mẫu được khử với các thời gian khác nhau được thể hiện ở hình 3.5.

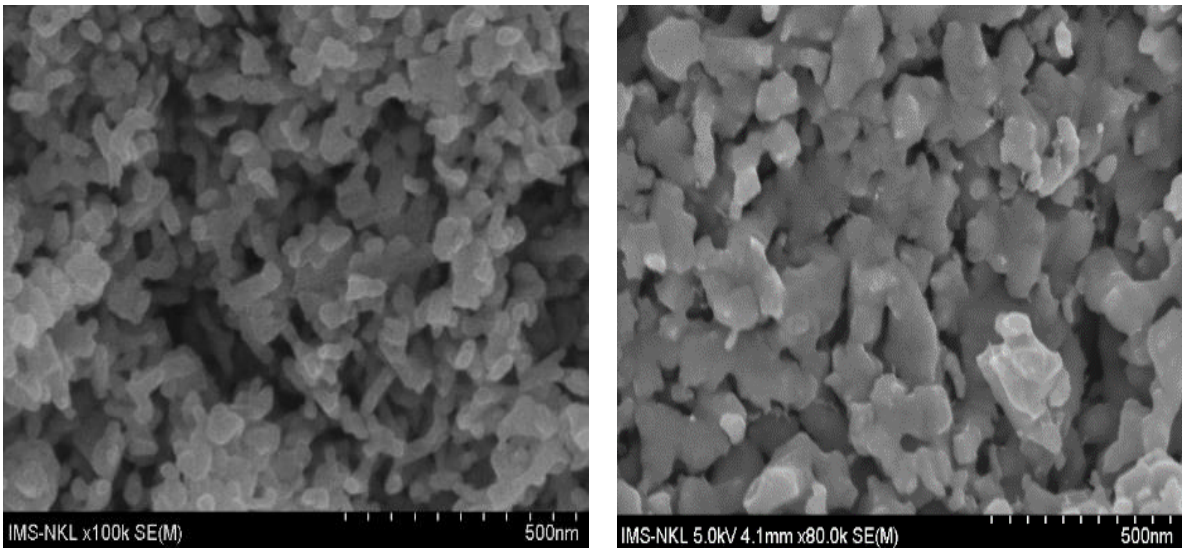


Hình 3.5. Giản đồ XRD của các mẫu khử ở 400^{o}C với các thời gian phản ứng khác nhau

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến quá trình hoàn nguyên của bột Fe_2O_3 ở nhiệt độ 400^{o}C tại các khoảng thời gian 60, 90 và 120 cho thấy:

Giản đồ XRD tại thời gian 60 phút đã xuất hiện các pic đặc trưng của Fe^0 ở các giá trị góc 2-theta là 44,5^o; 65^o và 82^o, tuy nhiên khi đó mầm tinh thể còn đang được hình thành, cường độ pic còn yếu.

Tiếp tục khảo sát ở nhiệt độ này với thời gian phản ứng 90 và 120 phút. Giản đồ XRD đều cho thấy có cấu trúc đơn tinh thể kim loại Fe^0 với các pic đặc trưng và cường độ pic lớn. Tuy nhiên, nghiên cứu ảnh SEM cho thấy Fe^0 chế tạo tại 400^{o}C thời gian phản ứng 90 phút có kích thước nhỏ và đồng đều hơn so với Fe^0 chế tạo tại thời gian phản ứng 120 phút như hình 3.6.

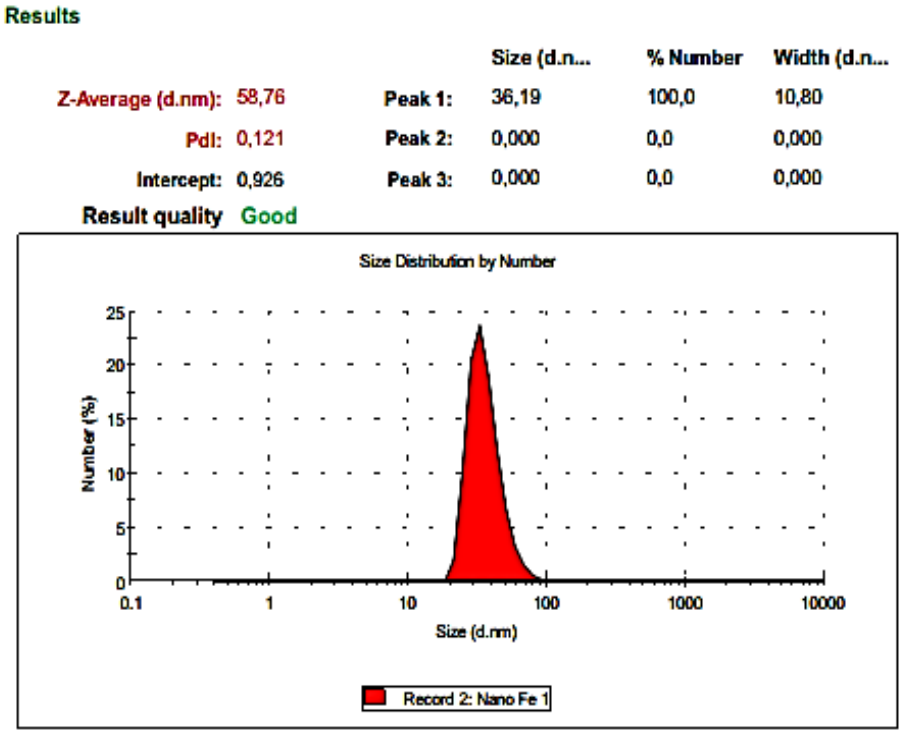


(a) (b)

Hình 3.6. Ảnh SEM của mẫu Fe^0

(a): Tại 400°C, 90 phút;

(b): Tại 400°C, 120 phút.

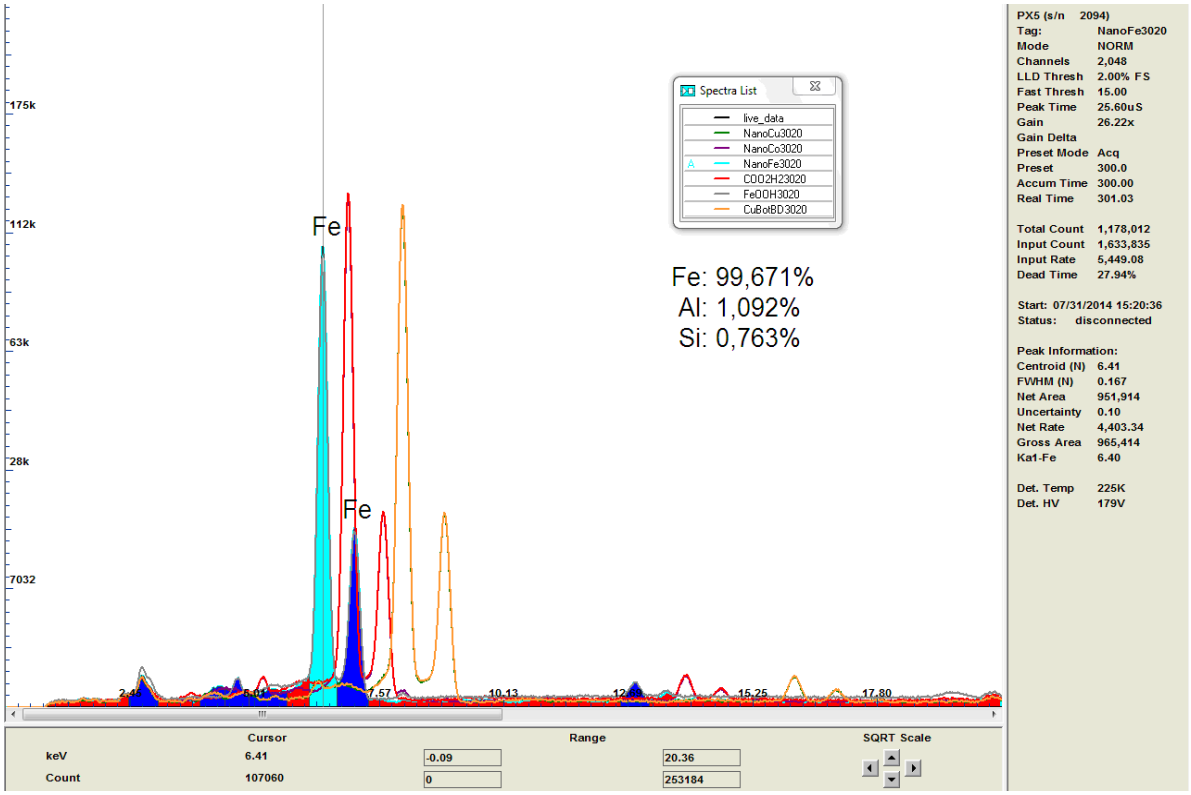


Hình 3.7. Phân bố kích thước hạt của mẫu nano Fe^0 chế tạo tại 400°C 90 phút

Ảnh SEM của vật liệu thể hiện ở hình 3.6 cho thấy vật liệu chế tạo được có dạng hình cầu, hơi dài và kích thước khá đồng đều, kích thước hạt vật liệu chế tạo được cỡ 30-70 nm. Xác định kích thước hạt trung bình trên máy Zetasizer- Nano

Series hình 3.7 cho thấy kích thước hạt trung bình đạt 58,76nm, trong đó các hạt có đường kính 36,19nm xuất hiện khá tập trung với số lượng lớn tạo thành pic rõ rệt.

Dựa vào phương trình Debye-Scherrer d = kλ/βcosθ, trong đó d là kích thước tinh thể, k là hệ số hình dạng k = 0,89 cho hình cầu, λ là bước sóng của máy XRD λ = 0,15418nm, β là độ rộng chân peak tại ½ chiều cao, ứng với mẫu Fe^0 tại nhiệt độ 400^o và thời gian phản ứng 90 phút ta có β = 0,252^o, θ là góc tương ứng của peak là 44,5^o ta tính được kích thước tương đối của hạt là 43,8 nm. Điều này phù hợp với kích thước hạt vật liệu đo được thể hiện trên ảnh SEM hình 3.6 và kích thước hạt đo trên máy Zeta size hình 3.7.

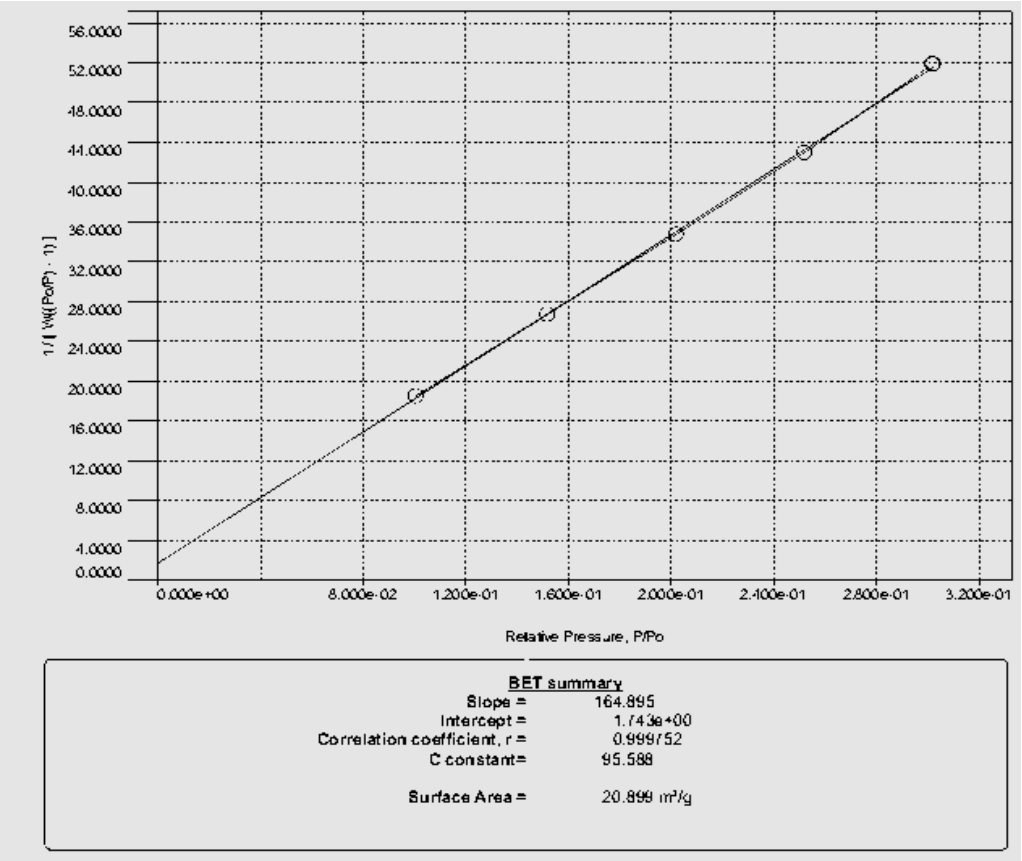


Hình 3.8. Phân tích thành phần nguyên tố của mẫu nano Fe^0 sau phản ứng bằng phương pháp XRF

Phân tích thành phần nguyên tố sau phản ứng khử bằng phương pháp XRF. Kết quả ở hình 3.8 cho thấy hàm lượng Fe chiếm 99,671 % khối lượng.

Diện tích bề mặt riêng được đo trên hệ Quantachrome Instruments version 3.0 (Hình 3.9) xác định được BET = 20,899m^2/g.

Diện tích bề mặt riêng của vật liệu được đo bằng phương pháp BET. Diện tích bề mặt riêng của tiền chất Fe_2O_3 là 2,576 m^2/g, của bột nano Fe^0 chế tạo được là 20,899 m^2/g, gấp hơn 8 lần so với tiền chất.



Hình 3.9. Kết quả đo diện tích bề mặt riêng BET của mẫu nano Fe^0

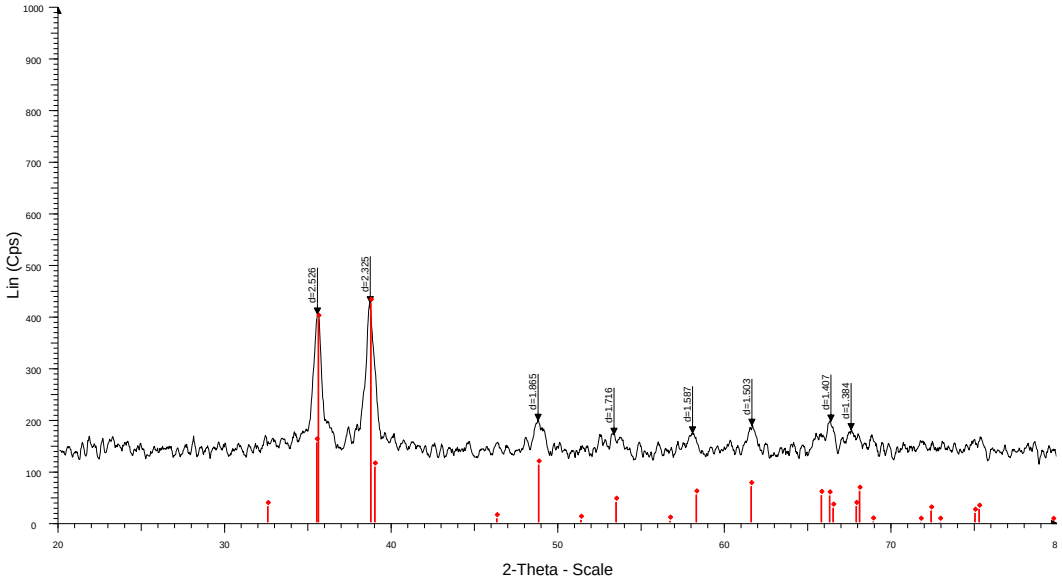
Nhận xét:

Bằng phương pháp khử bởi hydro mới sinh từ phản ứng điện phân nước với lưu lượng 300ml/phút đã chế tạo thành công bột nano kim loại sắt Fe^0 từ sắt (III) oxit Fe_2O_3 tại nhiệt độ phản ứng là 400^{o}C và thời gian phản ứng là 90 phút. Hạt nano Fe^0 nhận được có kích thước trung bình 58,76nm, độ sạch 99,67%.

3.1.2. Nano kim loại Cu^0

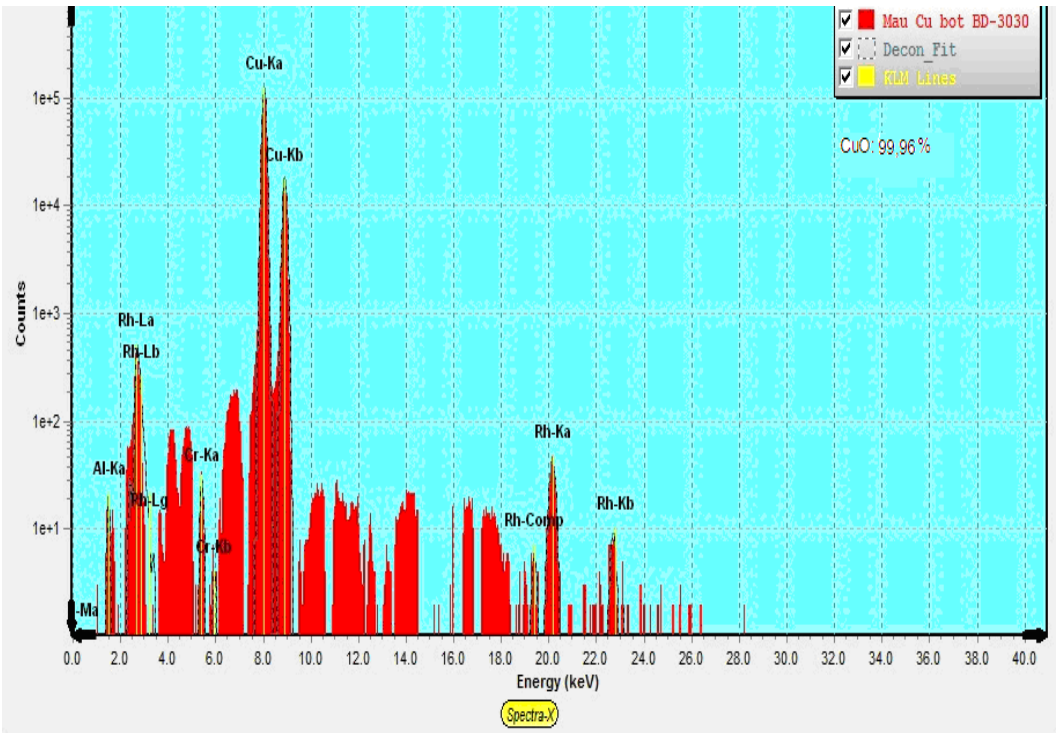
3.1.2.1. Đặc trưng tính chất của CuO

CuO dạng bột được tổng hợp dùng làm tiền chất cho phản ứng hoàn nguyên Cu^0 có cấu trúc pha được thể hiện qua giản đồ XRD hình 3.10. Kết quả phân tích nhiễu xạ tia X cho thấy bột CuO có cấu trúc tinh thể dạng Tenorite với các pic đặc trưng ở giá trị góc 2-theta là 35,45^o; 38,9^o; 48,82^o; 61,6^o; và 66,2^o.

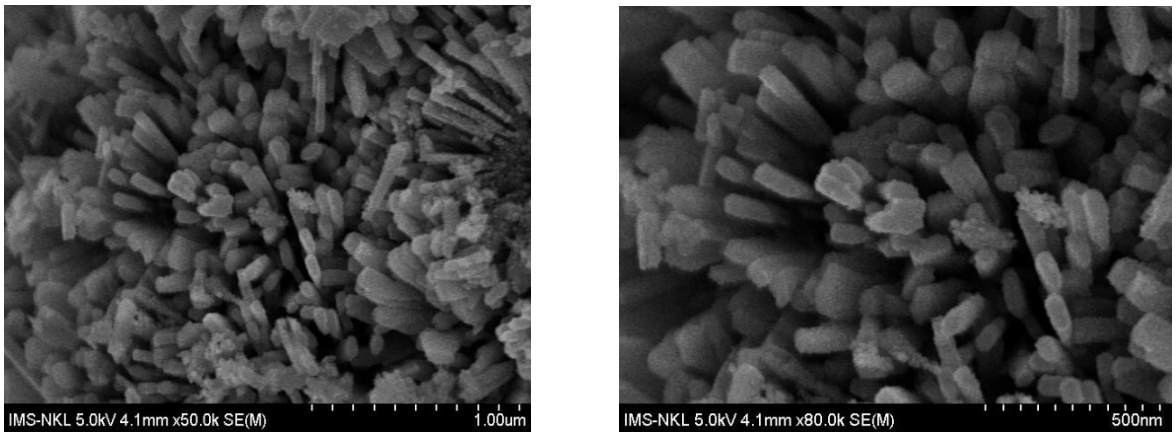


Hình 3.10. Giản đồ XRD của tiền chất CuO

Phân tích thành phần nguyên tố tiền chất CuO bằng phương pháp XRF. Kết quả thể hiện ở hình 3.11 cho thấy hàm lượng CuO chiếm 99,96% khối lượng.



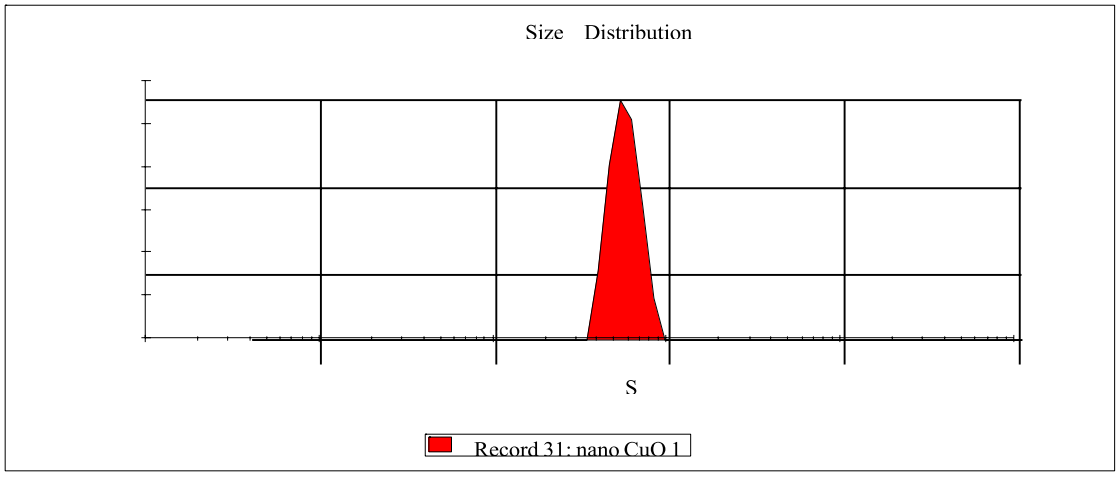
Hình 3.11. Phân tích thành phần tiền chất CuO bằng phương pháp XRF



Hình 3.12. Ảnh SEM của bột CuO

Hình 3.12. thể hiện hình ảnh SEM của mẫu CuO chế tạo được. Quan sát ảnh chụp SEM có thể thấy các thanh CuO với chiều dài khoảng 150 nm đạt độ đồng đều ở kích thước và hình dạng khá cao.

			Size (d.nm):	% Intensity	Width (d.nm):
Z-Average (d.nm):	81.17	**Peak 1:**	54.34	100.0	10.44
PdI:	1.000	**Peak 2:**	0.000	0.0	0.000
Intercept:	0.537	**Peak 3:**	0.000	0.0	0.000



Hình 3.13. Phân bố kích thước hạt của CuO

Bằng phương pháp nano zeta xác định phân bố kích thước hạt của bột CuO cho thấy kích thước hạt trung bình của CuO là 81,17nm như hình 3.13.

3.1.2.2. Đặc trưng tính chất của nano kim loại Cu^0

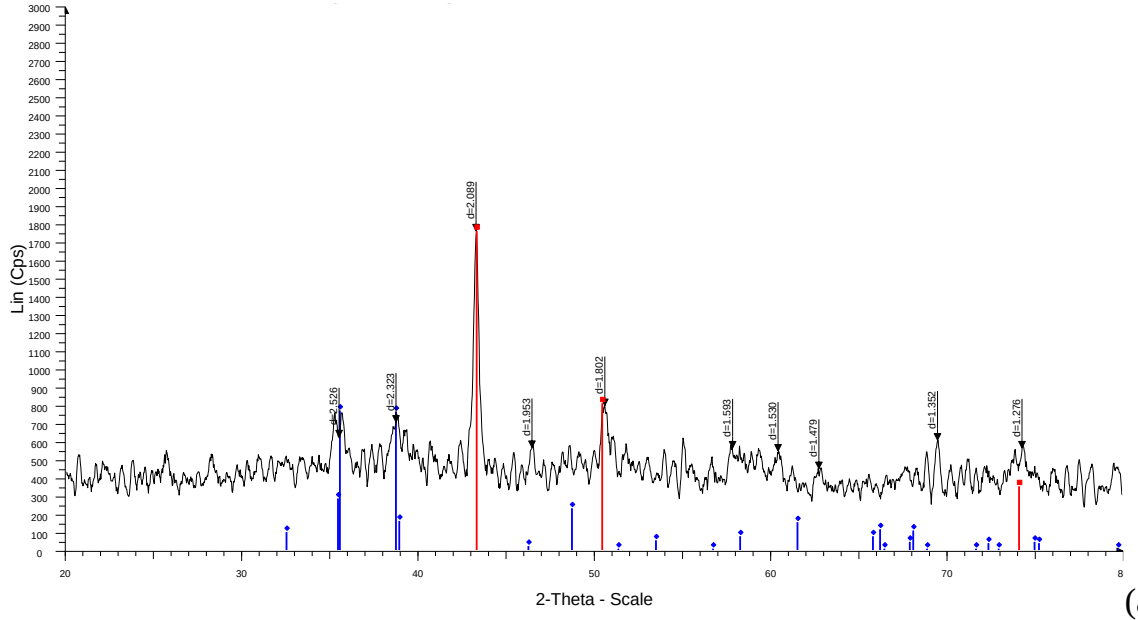
a. Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến cấu trúc và kích thước của hạt nano Cu^0

Kết quả nghiên cứu cấu trúc của vật liệu chế tạo được ở các điều kiện nhiệt độ phản ứng khác nhau bằng giản đồ XRD được thể hiện trong hình 3.14. Kết quả cho thấy rằng:

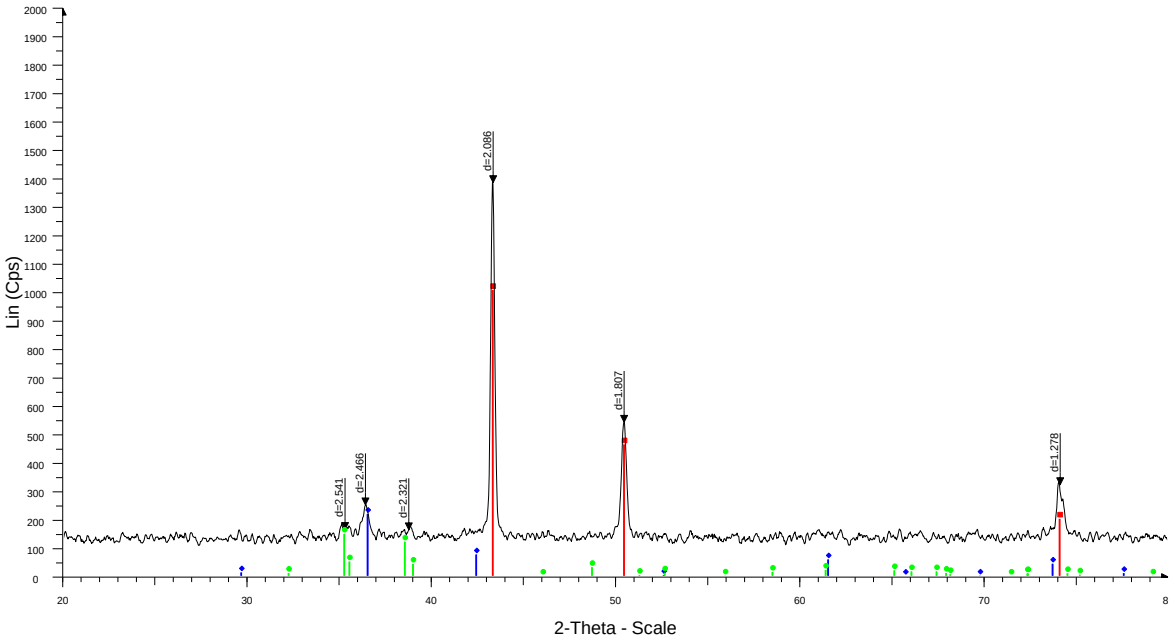
Giản đồ XRD của mẫu phản ứng khử ở nhiệt độ phản ứng là 300°C thời gian 60 phút chỉ có một lượng nhỏ kim loại Cu^0 được tạo thành. Còn lại sản phẩm chủ yếu vẫn là đồng oxit.

Khi khử mẫu ở nhiệt độ 350°C thời gian phản ứng 60 phút vật liệu đã hình thành tinh thể Cu^0 với các pic đặc trưng ở giá trị góc 2-theta là 43,38°; 50,48° và 74,18°. Tuy nhiên vẫn còn xuất hiện 1 pic đặc trưng của Cu_2O chưa bị khử hết.

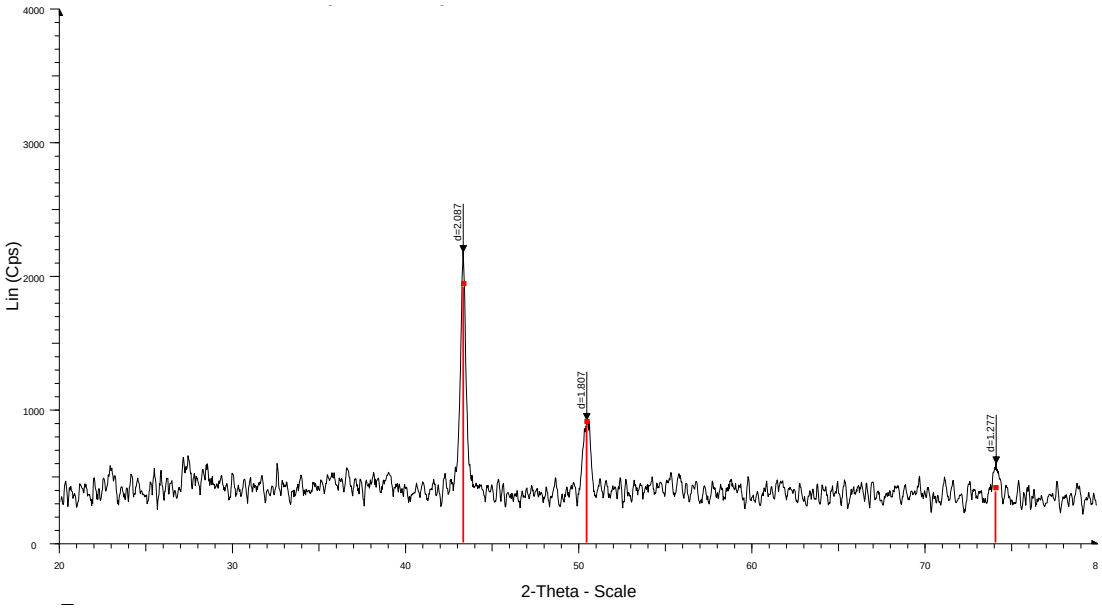
Khi khử mẫu ở nhiệt độ 400°C thời gian phản ứng 30 phút ta thấy đỉnh nhiễu xạ của Cu_2O đã biến mất và chỉ còn tồn tại các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của tinh thể Cu^0. Điều này chứng tỏ quá trình khử hydro của CuO đã hoàn thành và sản phẩm thu được là bột Cu nguyên chất.



(a)



(b)



(c)

Hình 3.14. Giản đồ XRD của các mẫu khử ở nhiệt độ khác nhau

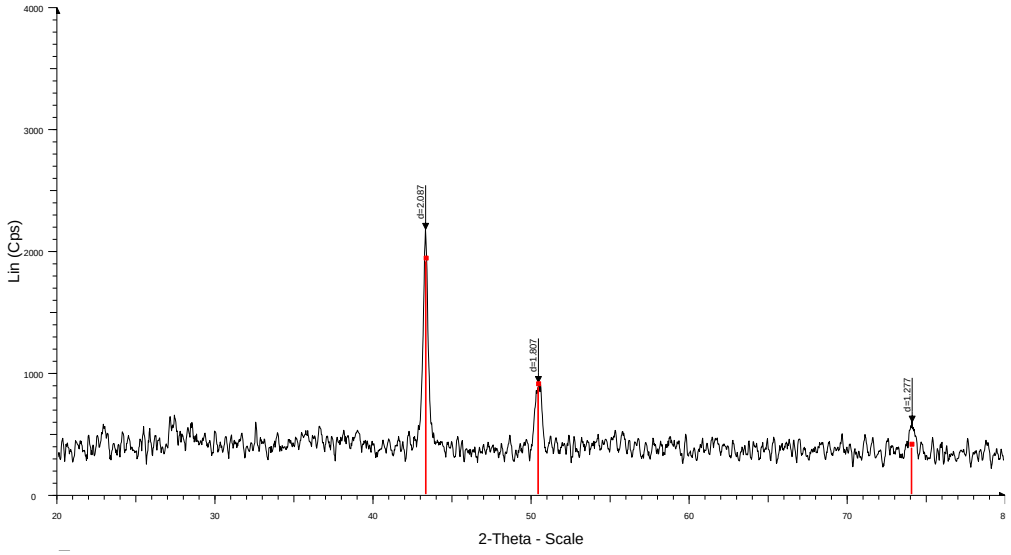
(a): Tại 300^{o}C, 60 phút

(b): Tại 350^{o}C, 60 phút

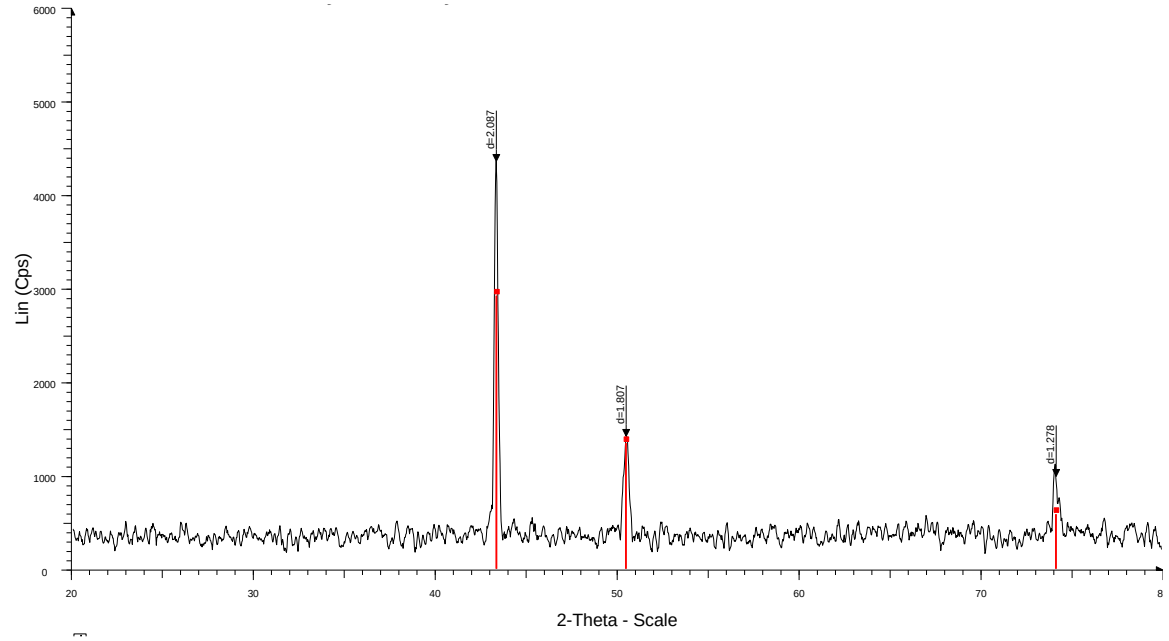
(c): Tại 400^{o}C, 30 phút.

b. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến tính chất của vật liệu

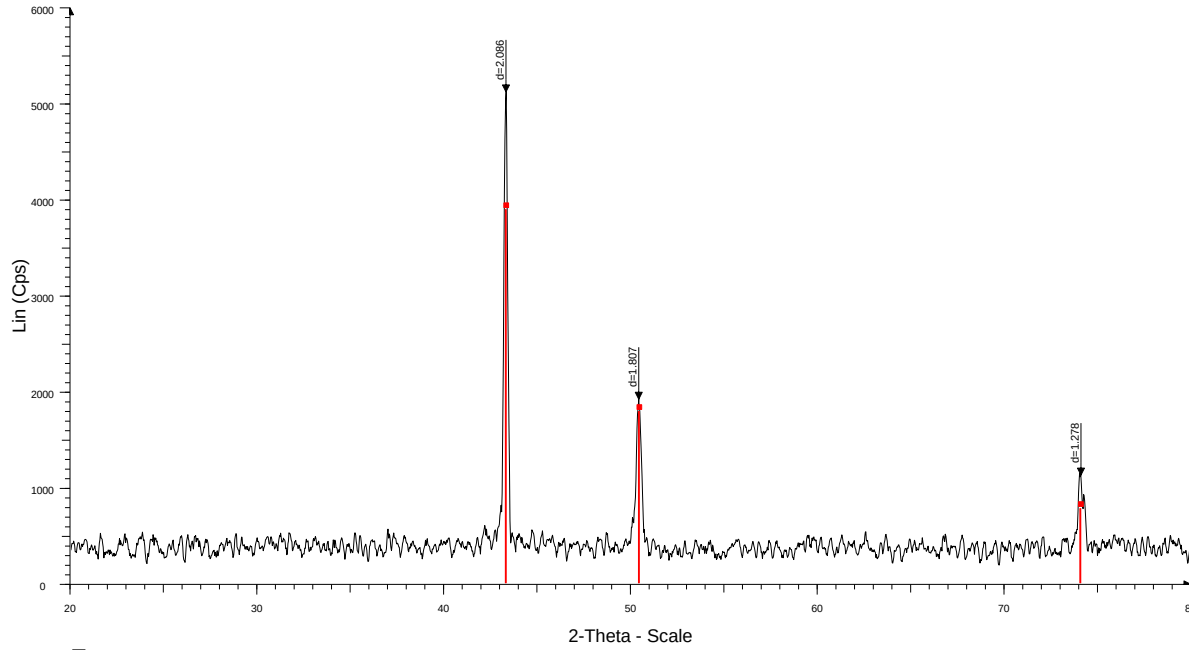
Như đã khảo sát ở trên thì bột nano kim loại Cu^0 bắt đầu được hình thành ở nhiệt độ không dưới 400^{o}C. Vậy để khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến tính chất của vật liệu ta sẽ chọn nhiệt độ phản ứng là 400^{o}C với các khoảng thời gian phản ứng là 30, 60 và 90 phút. Giản đồ XRD của các mẫu được khử trong các khoảng thời gian khác nhau được thể hiện ở hình 3.15.



(a)



(b)



(c)

Hình 3.15. Giản đồ XRD của các mẫu khử với thời gian khác nhau

(a): Tại 400^{o}C, 30 phút

(b): Tại 400^{o}C, 60 phút

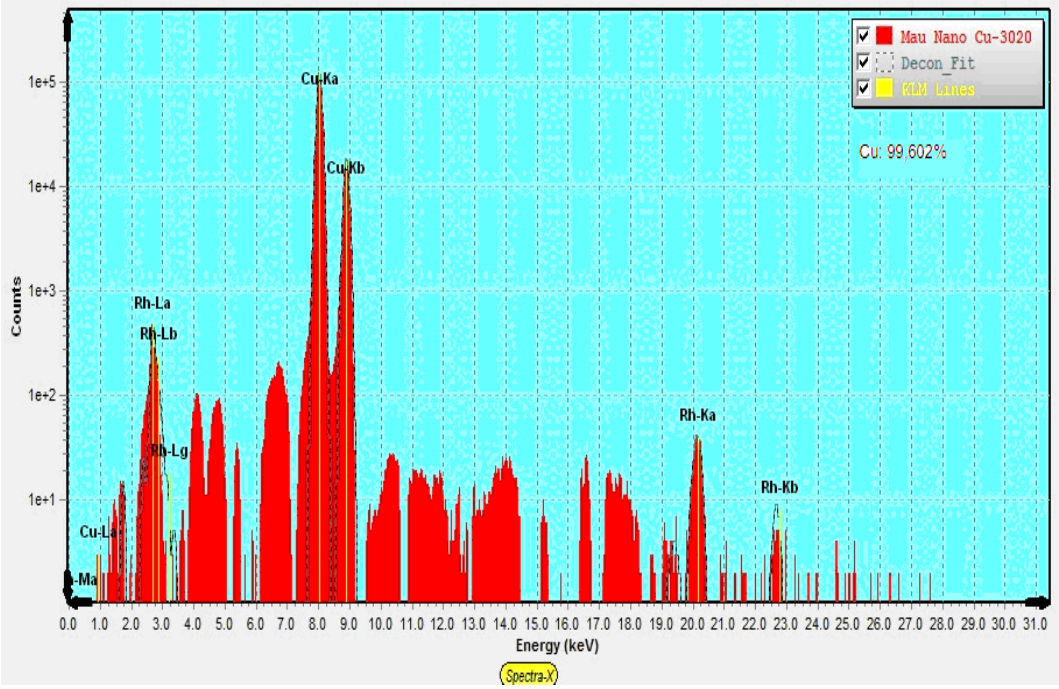
(c): Tại 400^{o}C, 90 phút.

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến quá trình hoàn nguyên của bột CuO ở nhiệt độ 400^{o}C tại các khoảng thời gian khác nhau ta thấy:

Giản đồ XRD tại thời gian 30 phút đã xuất hiện các pic đặc trưng của Cu^{0} tuy nhiên khi đó mầm tinh thể còn đang được hình thành, cường độ pic còn yếu.

Tiếp tục khảo sát tại nhiệt độ này với các khoảng thời gian 60 và 90 phút ta thấy giản đồ XRD đều cho thấy có cấu trúc đơn tinh thể kim loại Cu^0 với các pic đặc trưng và cường độ lớn.

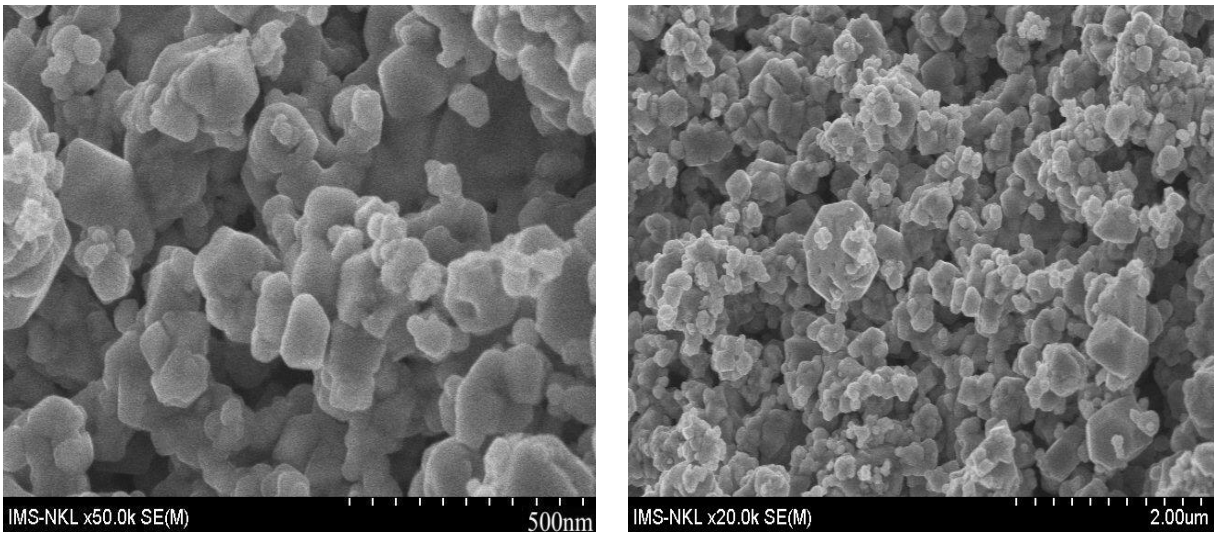
Phân tích thành phần nguyên tố sau phản ứng khử bằng phương pháp XRF hình 3.16 cho thấy hàm lượng Cu^o nung ở nhiệt độ 400^{o}C với thời gian 60 phút cho thấy hàm lượng Cu chiếm 99,602% khối lượng. Do vậy chúng tôi lựa chọn điều kiện tối ưu để hoàn nguyên CuO là nhiệt độ 400^{o}C với khoảng thời gian 60 phút để thuận lợi về mặt năng lượng.



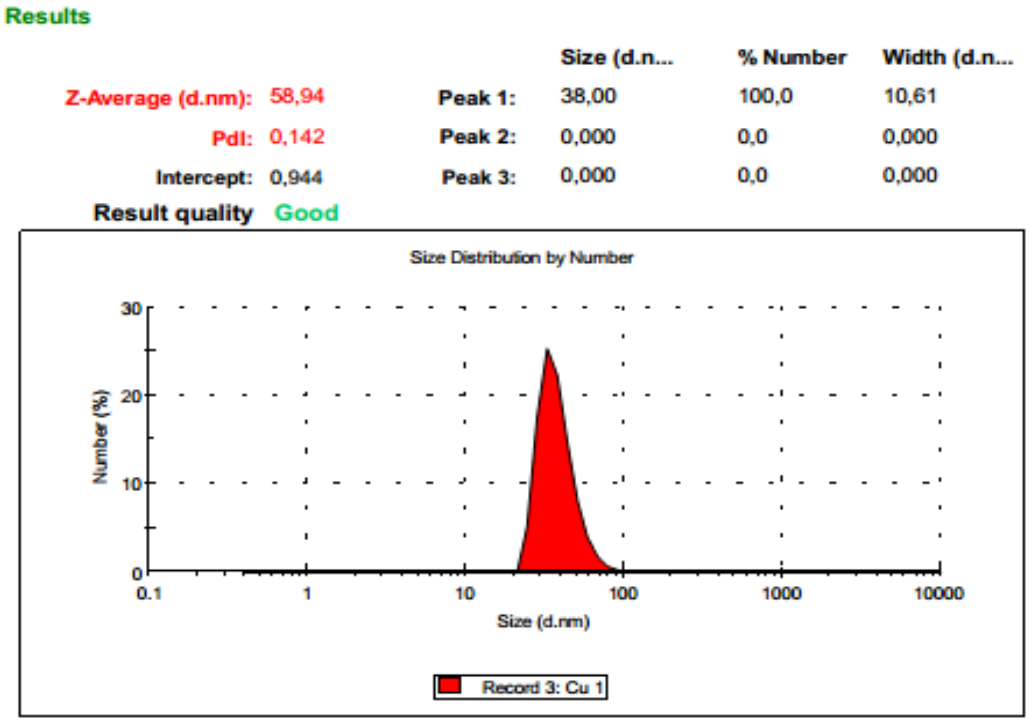
Hình 3.16. Phân tích thành phần nguyên tố sản phẩm nano Cu^0 bằng phương pháp XRF

Xác định hình thái học và kích thước hạt sản phẩm nano Cu chế tạo được dựa vào kết quả phân tích XRD theo phương trình Debye-Scherrer ($d = k\lambda/\beta\cos\theta$. Trong đó d là kích thước tinh thể; k là hệ số hình dạng = 0,9; bước sóng tia X là λ=1,54056 nm; β= 0,0149; vị trí xuất hiện peak nano đồng θ = 43,38, 50,48 và 74,18) ta tính được kích thước tương đối của hạt là 56,24 nm.

Ảnh SEM của sản phẩm nano Cu^0 chụp trên máy Hitachi S-4800 cho thấy vật liệu có cấu trúc khá xốp, kích thước hạt nằm trong khoảng 40 - 90 nm (hình 3.17). Điều này cũng phù hợp với kết quả nhận được khi phân tích trên máy đo Zetasizer độ bán rộng của pic cho thấy các hạt tập trung ở khoảng 40 - 75 nm và kích thước hạt trung bình đạt 58,94 nm, trong đó các hạt có đường kính 38 nm xuất hiện khá tập trung với số lượng lớn tạo thành pic rõ rệt (hình 3.18).



Hình 3.17. Ảnh SEM của mẫu nano Cu^0 chế tạo được tại 400^{o}C 60 phút



Hình 3.18. Kết quả đo kích thước hạt trung bình của mẫu nano kim loại Cu^0

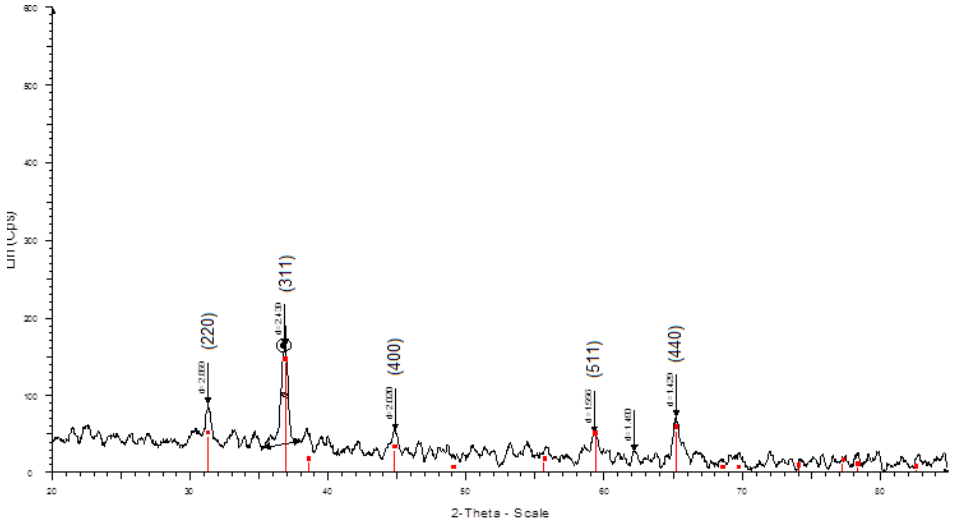
Nhận xét:

Bằng phương pháp khử bởi hydro mới sinh từ phản ứng điện phân nước. Đã chế tạo thành công bột nano kim loại Cu^0 từ đồng (II) oxit CuO tại nhiệt độ phản ứng là 400^{o}C, thời gian phản ứng là 60 phút và lưu lượng khí hydro 300ml/phút. Bột nano kim loại Cu^0 chế tạo được có kích thước trung bình 58,94nm, độ sạch 99,6%.

3.1.3. Nano kim loại Co^0

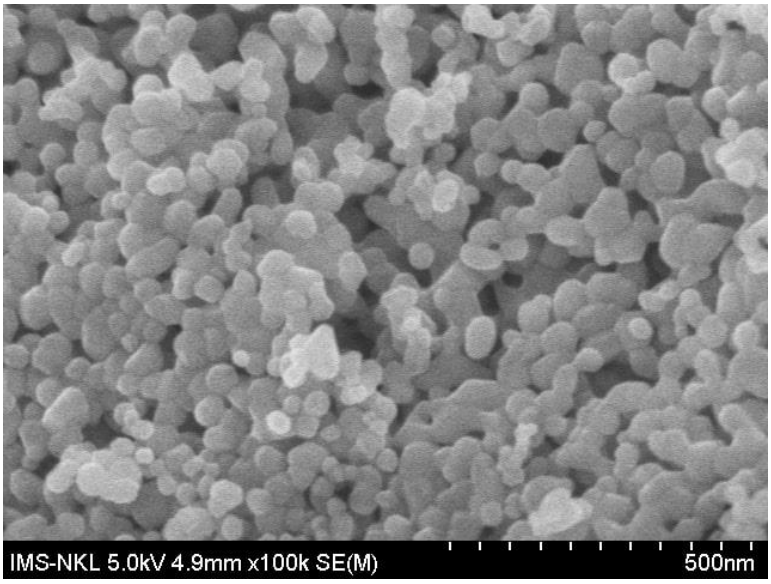
3.1.3.1. Đặc trưng tính chất của Co_3O_4

Co_3O_4 dạng bột được tổng hợp dùng làm tiền chất cho phản ứng hoàn nguyên có cấu trúc pha được thể hiện qua giản đồ XRD ở hình 3.19. Kết quả phân tích nhiễu xạ tia X cho thấy bột Co_3O_4 tổng hợp được với các pic đặc trưng rất rõ ràng ở các giá trị góc 2-theta là 31,2°; 36,8°; 44,8°; 59,2° và 65,1°.



Hình 3.19. Giản đồ XRD của bột Co_3O_4

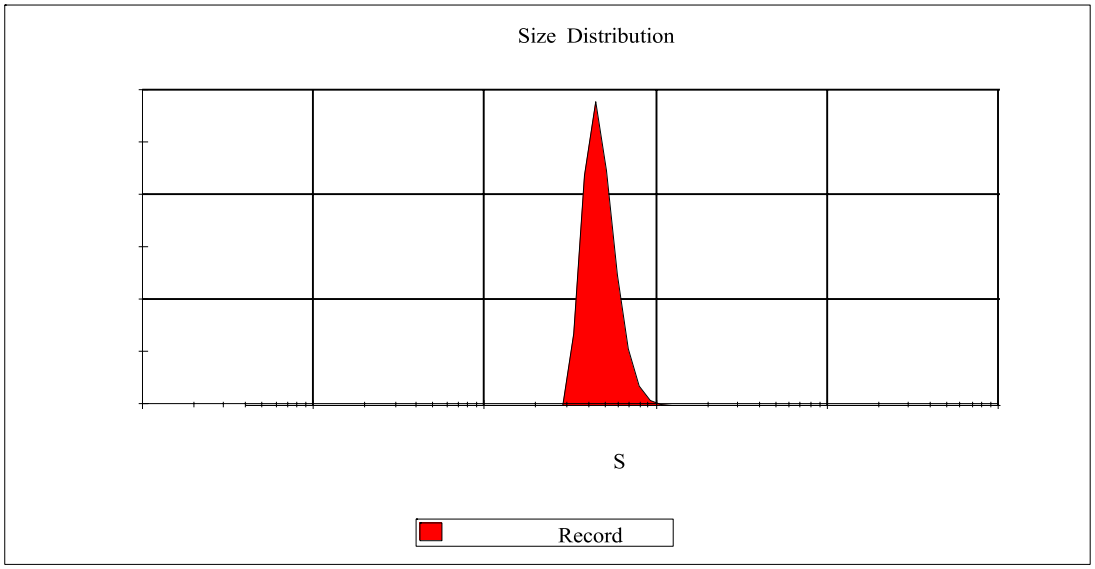
Hình dạng và kích thước hạt Co_3O_4 được thể hiện qua ảnh SEM hình 3.20. Quan sát ảnh SEM, ta thấy hạt Co_3O_4 có dạng cầu và kích thước hạt tương đối đồng đều trong khoảng 60-100nm.



Hình 3.20. Ảnh SEM của bột Co_3O_4

Phân bố kích thước hạt của Co_3O_4 được thể hiện trên hình 3.21. Có thể thấy, kích thước hạt trung bình của Co_3O_4 là 90,91nm. Kích thước hạt khá đồng đều và phù hợp với kết quả phân tích ảnh SEM của mẫu bột Co_3O_4.

			Size (d.nm):	% Number	Width (d.nm...
Z-Average (d.nm):	90.91	**Peak 1:**	47.37	100.0	10.47
PdI:	1.000	**Peak 2:**	0.000	0.0	0.000
Intercept:	0.429	**Peak 3:**	0.000	0.0	0.000



Hình 3.21. Phân bố kích thước hạt của Co3O4

3.1.3.2. Đặc trưng tính chất của nano kim loại Co^0

a. Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến cấu trúc và kích thước của hạt nano Co^0

Nghiên cứu cấu trúc của vật liệu chế tạo được ở các điều kiện nhiệt độ phản ứng khác nhau bằng phương pháp nhiễu xạ tia X. Kết quả được thể hiện qua giản đồ XRD ở hình 3.22 cho thấy rằng:

Mẫu khi khử ở 200°C, thời gian 60 phút tinh thể Co^0 đã bắt đầu hình thành. Tuy nhiên thành phần mẫu lúc này chủ yếu vẫn là Co_3O_4 (*Hình 3.22a).*

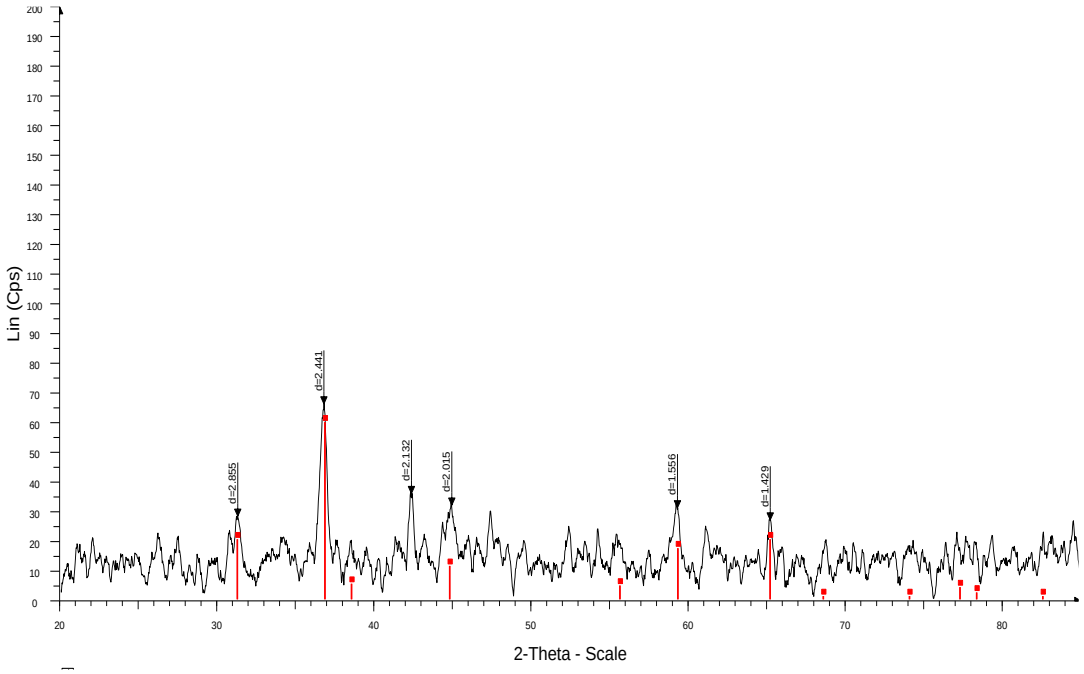
Mẫu khi khử ở 300°C và thời gian 60 phút cho thấy đã hình thành tinh thể α-Co^0 với các pic đặc trưng của α-Co^0 ứng với giá trị góc 2-theta là 41,5° ; 44,5° ; 47,5°; 75,8° (*Hình 3.22b)*. Khi ở dạng α-Co^0 sản phẩm thu được ở dạng bột màu đen, không bền với không khí khô, rất dễ cháy và khó bảo quản.

Mẫu khi khử ở 400°C và thời gian 60 phút cho thấy khi đó vật liệu đã bắt đầu hình thành tinh thể β-Co^0 với các pic đặc trưng của β-Co^0 ứng với giá trị góc 2-theta là là 44,1°; 75,8° tuy nhiên cường độ các pic còn yếu (*Hình 3.22c).*

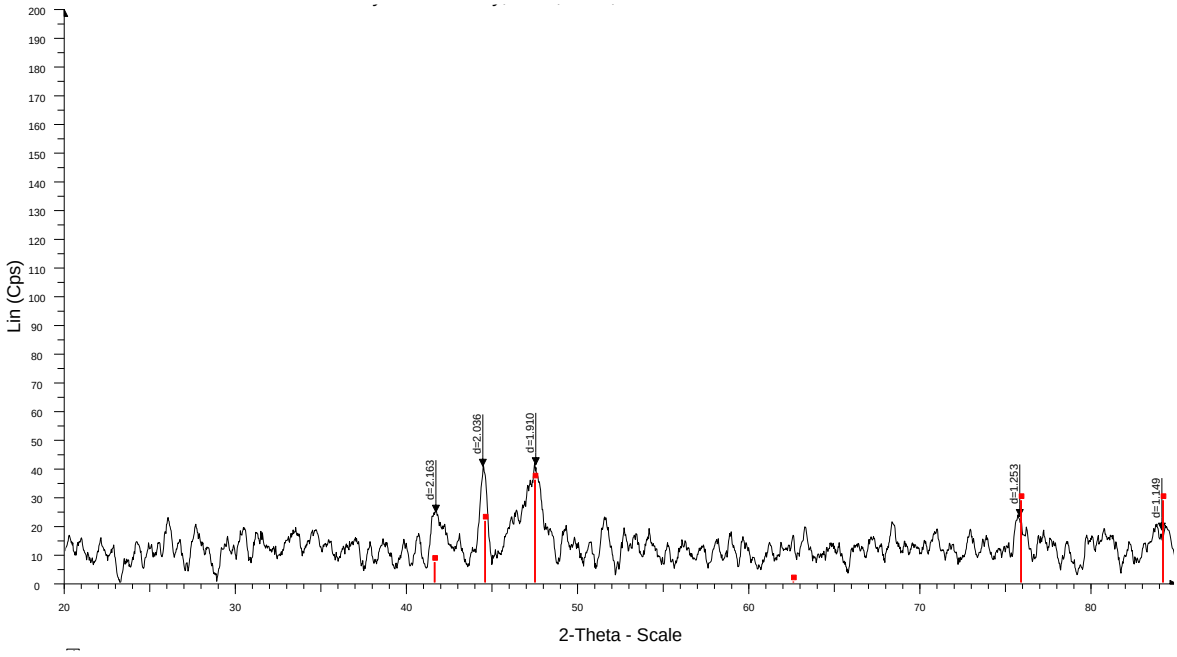
Mẫu khi khử ở 500°C và thời gian 30 phút tinh thể β-Co^0 đã được hình thành với các pic đặc trưng của Co^0 ứng với giá trị góc 2-theta là 44,1° ; 51,5° ; 75,8° (*Hình*

3.22d). Khi ở dạng β-Co^0 sản phẩm thu được ở dạng bột màu đen bền với không khí khô và dễ bảo quản hơn.

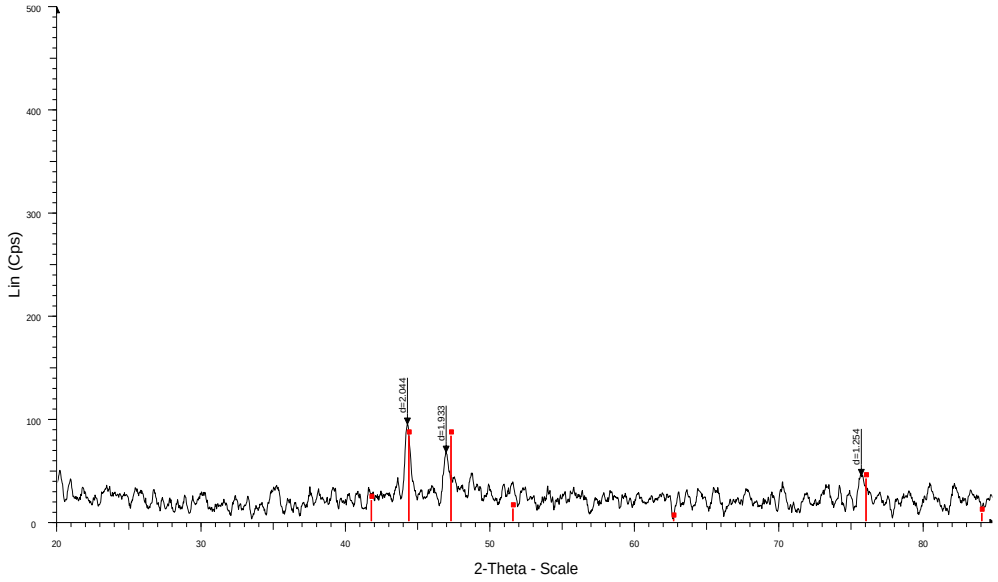
Vì vậy ta chọn nhiệt độ khử mẫu là 500^oC để tiếp tục khảo sát.



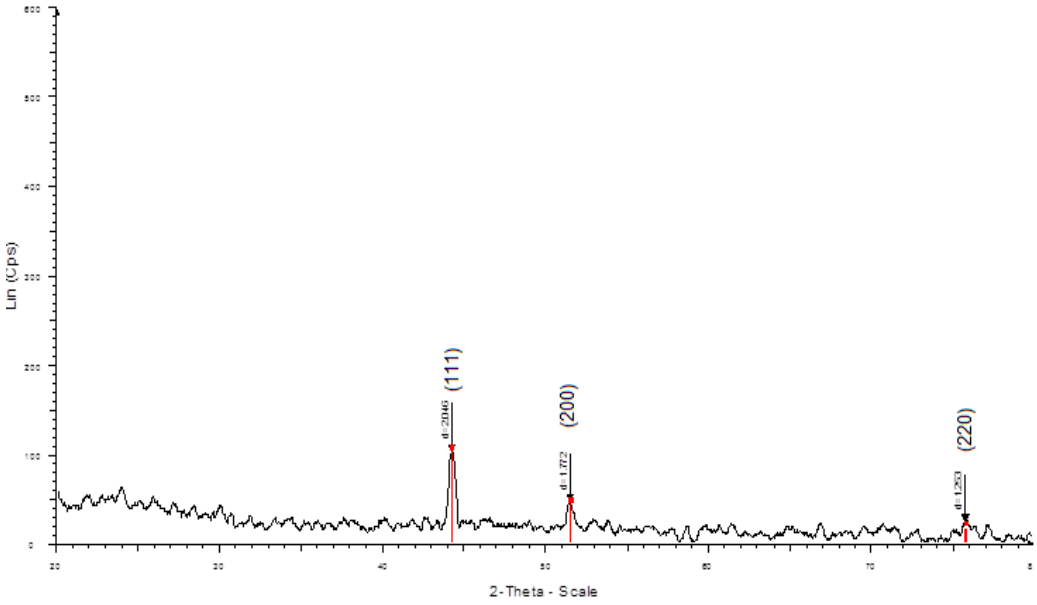
(a)



(b)



(c)



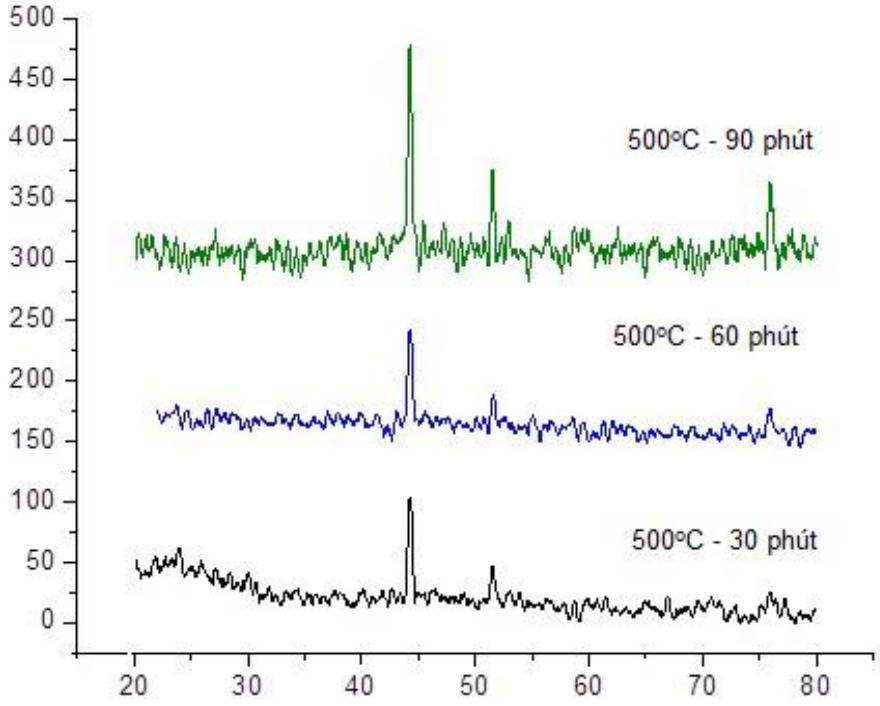
(d)

Hình 3.22. Giản đồ XRD của các mẫu khử tại các nhiệt độ khác nhau

(a): Tại 200^{o}C, 60 phút; (b): Tại 300^{o}C, 60 phút;
(c): Tại 400^{o}C, 60 phút; (d): Tại 500^{o}C, 30 phút.

b. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến tính chất của vật liệu

Để khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến tính chất của vật liệu ta sẽ chọn nhiệt độ phản ứng là 500^{o}C với các thời gian phản ứng là 30, 60 và 90 phút. Giản đồ XRD của các mẫu được khử với các thời gian khác nhau được thể hiện ở hình 3.23.



Hình 3.23. Giản đồ XRD của các mẫu nano Co^0 chế tạo được tại 500°C với các thời gian phản ứng khác nhau

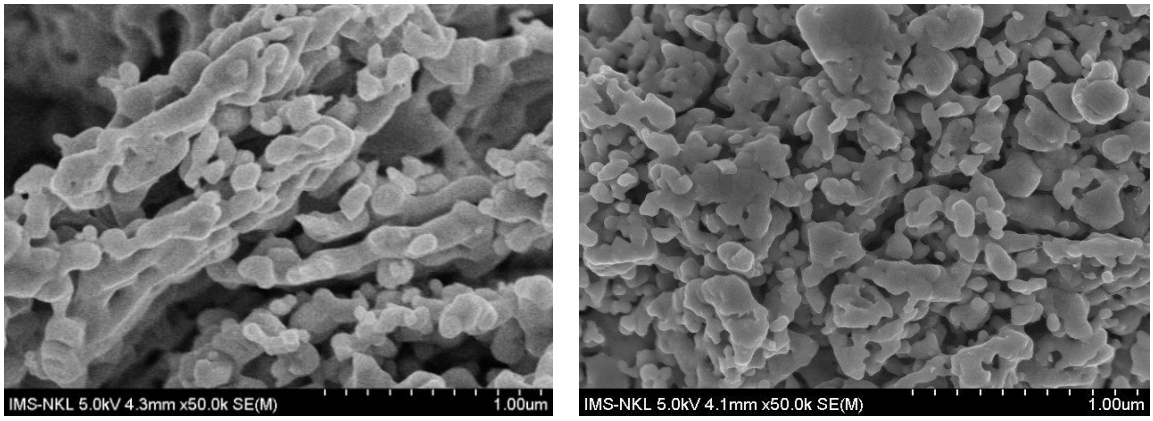
Khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến quá trình hoàn nguyên bột Co_3O_4 ở nhiệt độ 500°C tại các khoảng từ 30 – 90 phút cho thấy:

Giản đồ XRD (Hình 3.23) cho thấy ở nhiệt độ 500°C với thời gian 30 phút đã xuất hiện pic đặc trưng của Co^0 khi đó mầm tinh thể Co^0 đã được hình thành tuy nhiên cường độ pic còn yếu.

Với thời gian khử 60 phút và 90 phút, giản đồ XRD cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng đến cấu trúc và thành phần pha tinh thể. Khi tăng thời gian phản ứng tinh thể hình thành tốt hơn, cụ thể các đỉnh nhiễu xạ cao và sắc nét hơn. Vật liệu được hình thành có cấu trúc tinh thể kim loại coban với các pic đặc trưng ứng với góc 2-theta là 44,1°; 51,5°; 75,8°.

Nghiên cứu ảnh SEM cho thấy Co^0 chế tạo tại 500°C với thời gian phản ứng khử 60 phút có kích thước nhỏ và đồng đều hơn so với Co^0 nhận được với thời gian khử 90 phút (Hình 3.24).

Xác định hình thái học và kích thước hạt của sản phẩm nano Co^0 khử với thời gian 60 phút bằng phương pháp SEM cho thấy vật liệu chế tạo được khá xốp, kích thước nằm trong khoảng 50-95nm (hình 3.24a). Điều này cũng phù hợp với kết quả nhận được khi phân tích trên máy đo zeta sizer, độ rộng của pic cho thấy hạt tập chung ở 60-110nm và kích thước hạt trung bình là 71,75nm (hình 3.25).

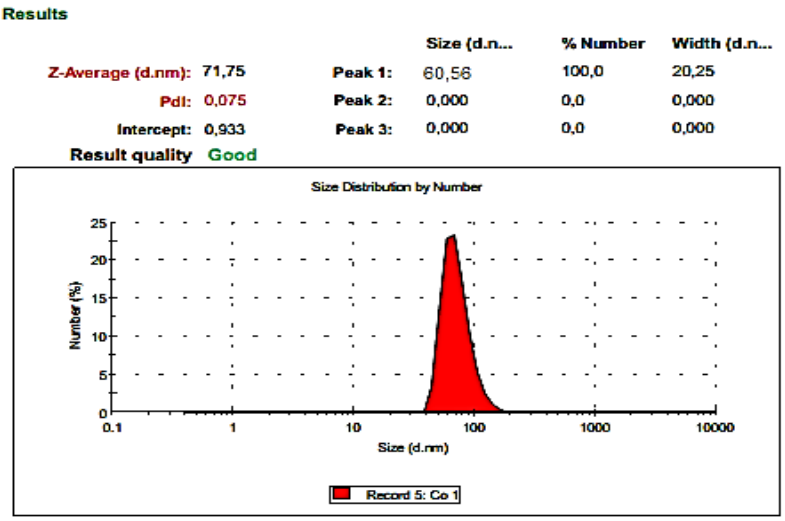


Hình 3.24. Ảnh SEM của Co^0 tại các thời gian phản ứng khác nhau

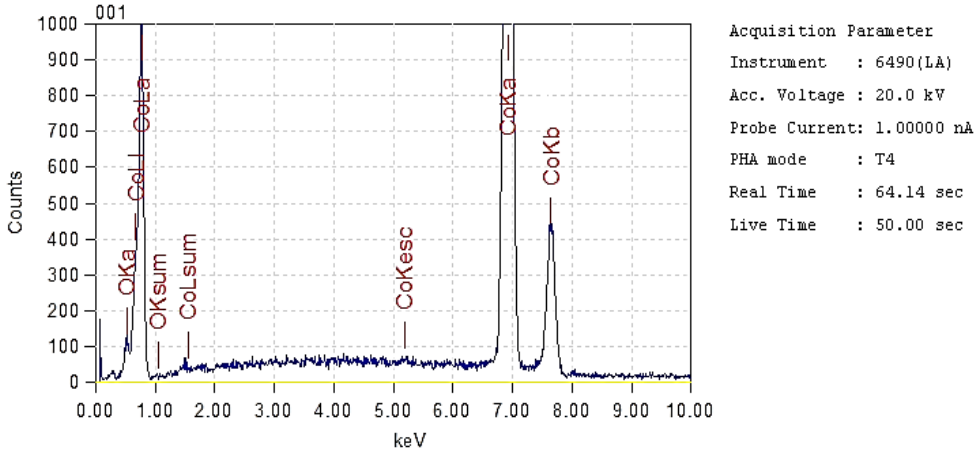
(a): tại 500°C, thời gian phản ứng 60 phút;

(b): tại 500°C, thời gian phản ứng 90 phút.

Phân tích độ tinh khiết của mẫu sản phẩm chế tạo được bằng phương pháp phân tích phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) kết quả thể hiện ở hình 3.26 và phương pháp XRF kết quả thể hiện ở hình 3.27 cho thấy rằng: Ở nhiệt độ 500°C sau 60 phút phản ứng, hạt nano Co^0 thu được có độ tinh khiết cao từ 98,91% đến 99,71%. Sau đó độ tinh khiết gần như không tăng khi nhiệt độ tăng do vậy điều kiện thích hợp cho phản ứng hoàn nguyên nano kim loại Co được lựa chọn là tại nhiệt độ 500°C, thời gian 60 phút.



Hình 3.25 . Phân bố kích thước hạt của mẫu nano Co^0 chế tạo tại 500°C, thời gian phản ứng 60 phút.



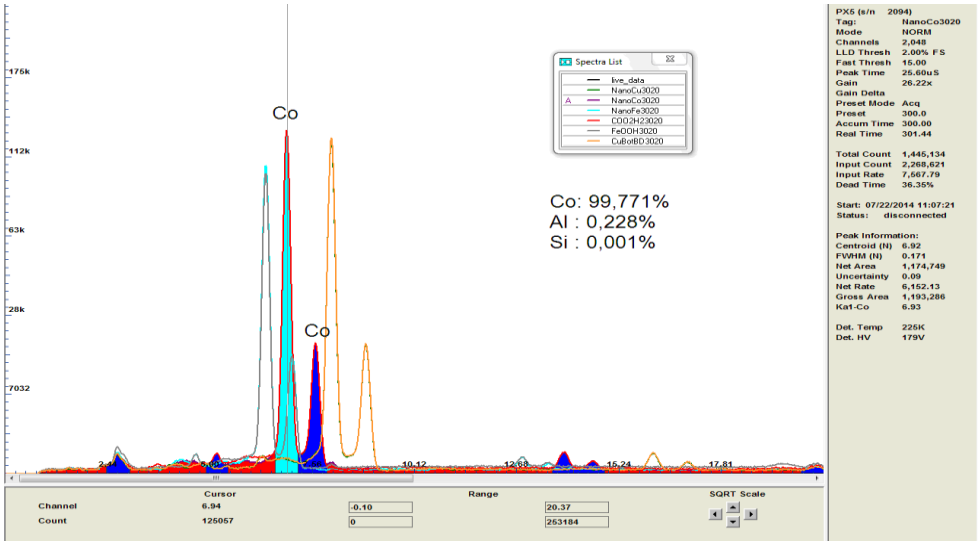
ZAF Method Standardless Quantitative Analysis

Fitting Coefficient : 0.1913

Element	(keV)	Mass%	Error%	Atom%	Compound	Mass%	Cation
K							
O K	0.525	0.86	0.09	3.09			1.0852
Co K	6.924	99.14	0.28	96.91			98.9148

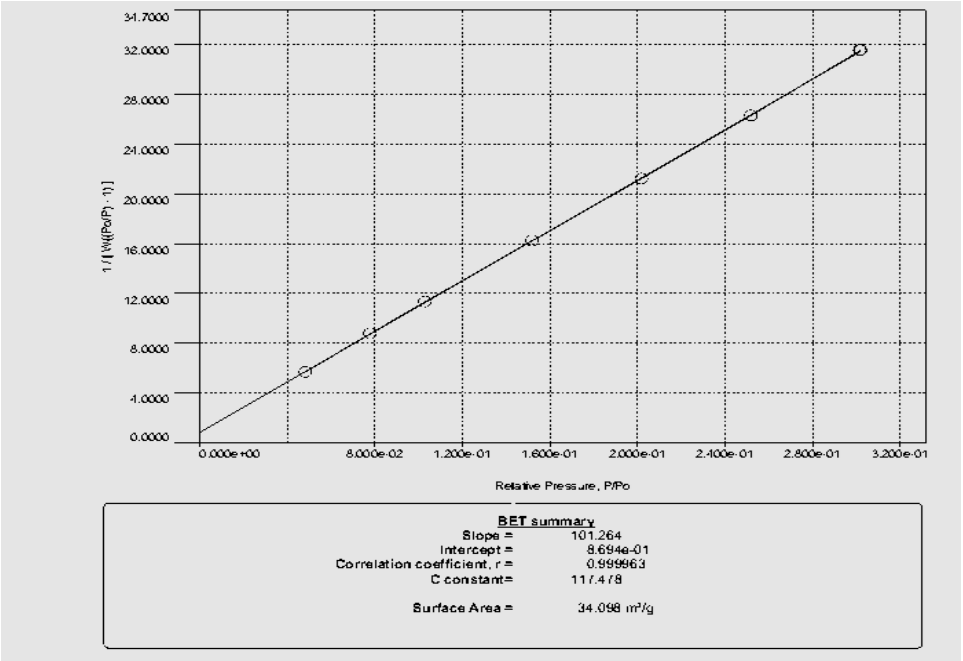
Hình 3.26. Phổ EDX của mẫu nano Co^0 chế tạo tại 500°C, thời gian phản ứng 60 phút

Phân tích thành phần nguyên tố sau phản ứng khử bằng phương pháp XRF (Hình 3.27) cho thấy hàm lượng Co chiếm 99,771% khối lượng.



Hình 3.27. Phân tích thành phần nguyên tố mẫu nano Co^0 sau phản ứng khử bằng phương pháp XRF

Diện tích bề mặt riêng của mẫu nano Co^0 được đo trên hệ Quantachrome Instruments version 3.0 xác định được BET = 34,098 m^2/g (Hình 3.28).



Hình 3.28. Kết quả đo diện tích bề mặt riêng BET của mẫu nano Co^0

Nhận xét:

Trên cơ sở phân tích kết quả XRD, EDX, XRF, BET và ảnh SEM cho thấy điều kiện tối ưu chế tạo vật liệu nano Co^0 là ở nhiệt độ 500^oC thời gian nung là 60 phút, lưu lượng khí hydro 300ml/phút. Vật liệu nano Co^0 thu được ở dạng bột màu đen, xốp có kích thước trung bình 71,75nm, độ sạch từ 98,91 đến 99,71% (theo EDX và XRF).

3.2. Chế tạo và đặc trưng tính chất dung dịch huyền phù của các hạt nano kim loại

Chế tạo dung dịch huyền phù là một khâu quan trọng trong việc xử lý hạt giống trước khi gieo trồng bằng các hạt nano kim loại. Các hạt nano kim loại trong quá trình tạo dung dịch huyền phù bằng sóng siêu âm sẽ xuất hiện các tác nhân có hoạt tính cao, có khả năng tham gia trực tiếp vào các phản ứng bên trong tế bào, hoặc làm chất xúc tác cho các phản ứng đó. Do vậy, việc chế tạo dung dịch huyền phù nano kim loại có độ ổn định là hết sức quan trọng. Việc kiểm soát tính ổn định của các dung dịch được thực hiện thông qua giá trị zeta của chúng. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc tăng thế năng lượng zeta làm tăng tính ổn định của dung dịch dẫn đến tăng cường khả năng hấp thụ của hạt nano kim loại đối với hạt giống/củ giống. Từ đó kích thích nẩy mầm, tăng cường sức đề kháng cho cây con, tăng khả năng sinh trưởng và phát triển cho cây trồng.

Đối với mỗi kim loại khác nhau, hàm lượng trong dung dịch khác nhau, thời gian rung siêu âm khác nhau vì vậy thế năng lượng zeta của chúng là khác nhau.

3.2.1. Dung dịch huyền phù nano kim loại Fe^0

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian rung siêu âm và hàm lượng hạt nano đến thế zeta của dung dịch huyền phù nano Fe^0.

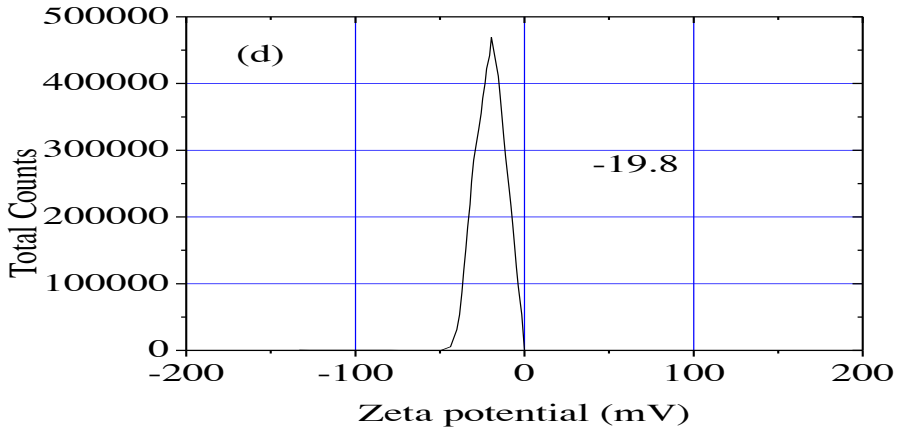
Từ sản phẩm nano Fe^0 điều chế được, tiến hành tạo dung dịch huyền phù nano Fe^0 ở các hàm lượng 3mg, 4mg và 5mg trong 1000ml nước khử ion (3mg/l, 4mg/l, 5mg/l). Rung siêu âm trong các khoảng thời gian 10; 20; 30; 40 phút.

Bảng 3.1. Thế zeta của nano Fe^0 ở các nồng độ và thời gian rung siêu âm khác nhau

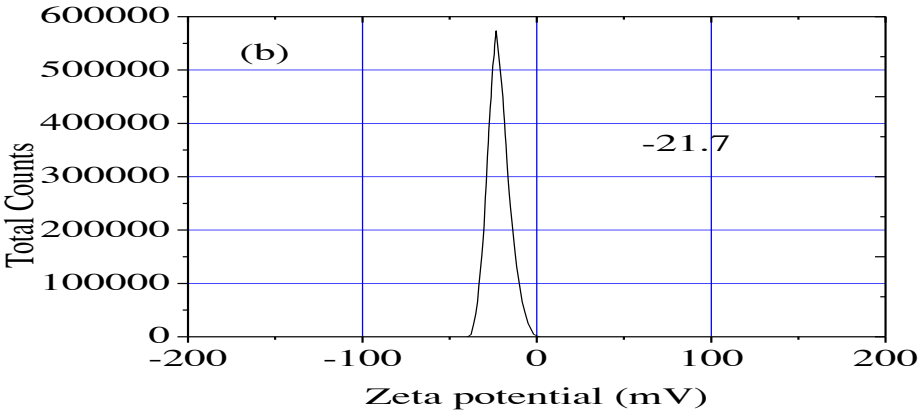
Thời gian rung (phút)	**Thế zeta(mV) (Fe 3mg/l)**	**Thế zeta(mV) (Fe 4mg/l)**	**Thế zeta(mV) (Fe 5mg/l)**
0	-13,2	-19,7	-20,5
10	-19,5	-21,7	-24,7
20	-19,8	-21,5	-25,0
30	-19,7	-21,6	-24,5
40	- 14,0	-18,3	-22,8

Ngay sau khi cho nano sắt vào nước thì đã có một phần sắt phản ứng với nước theo sơ đồ: $Fe \rightarrow Fe^{2+} + 2e$, trong dung dịch huyền phù đã tạo thành những hạt keo. Tuy nhiên đánh giá về giá trị tuyệt đối thế zeta của hỗn hợp khi chưa rung siêu âm tức là ở thời gian rung là 0 phút trong bảng trên. Khi đó thế zeta của hỗn hợp thấp hơn nhiều so với hỗn hợp khi đã được rung siêu âm. Điều đó cho thấy khi chưa rung siêu âm độ ổn định của hỗn hợp là thấp.

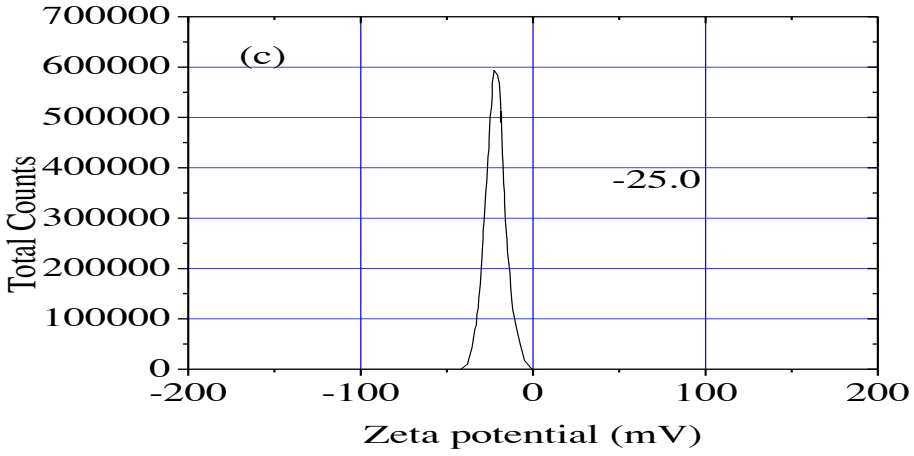
Đối với nano Fe^0 sau thời gian rung siêu âm từ 10 - 30 phút ở các nồng độ thì hầu như thế zeta của dung dịch thay đổi không đáng kể. Khi tăng thời gian rung siêu âm lên 40 phút thì giá trị tuyệt đối thế zeta ở các nồng độ đều giảm mạnh. Do vậy để tạo dung dịch huyền phù cho nano Fe^0 thời gian rung siêu âm thích hợp cho từng nồng độ 3mg/l, 4mg/l và 5mg/l lần lượt là 20 phút, 10 phút và 20 phút.



Hình 3.29. Thế zeta của dung dịch nano Fe^0 3mg/l được rung siêu âm trong 20 phút



Hình 3.30. Thế zeta của dung dịch nano Fe^0 4mg/l được rung siêu âm trong 20 phút



Hình 3.31. Thế zeta của dung dịch nano Fe^0 5mg/l được rung siêu âm trong 20 phút

3.2.2. Dung dịch huyền phù nano kim loại Cu^0

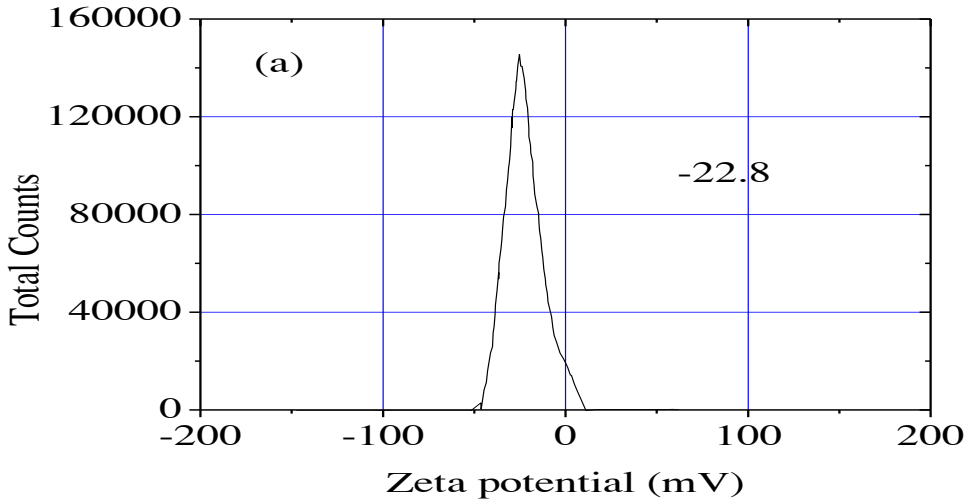
Khảo sát ảnh hưởng của thời gian rung siêu âm và hàm lượng hạt đến thế zeta của dung dịch huyền phù nano Cu^0.

Từ sản phẩm nano Cu^0 điều chế được, tiến hành tạo dung dịch huyền phù nano Cu^0 ở các hàm lượng 3mg, 4mg và 5mg trong 1000 ml nước khử ion (3mg/l, 4mg/l, 5mg/l). Rung siêu âm trong các khoảng thời gian 10; 20; 30; 40 phút.

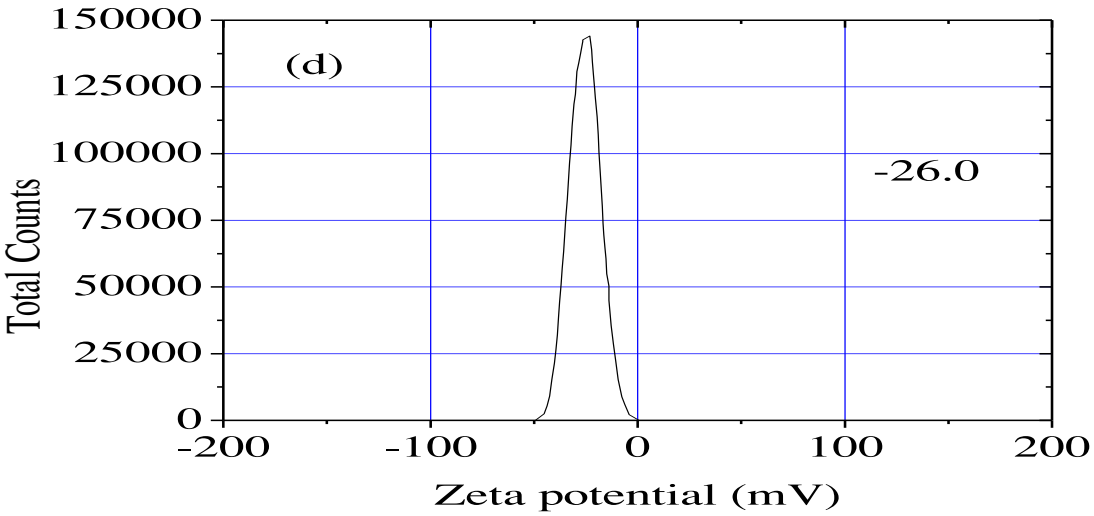
Bảng 3.2. Thế zeta của nano Cu^0 ở các nồng độ và thời gian rung siêu âm khác nhau

Thời gian rung (phút)	**Thế zeta(mV) (Cu 3mg/l)**	**Thế zeta(mV) (Cu 4mg/l)**	**Thế zeta(mV) (Cu 5mg/l)**
0 (không rung)	-18,7	-20,7	-21,2
10	-22,0	-24,1	-24,7
20	-22,8	-26,0	-26,3
30	-19,3	-25,2	-25,9
40	-19,5	-24,0	-25,8

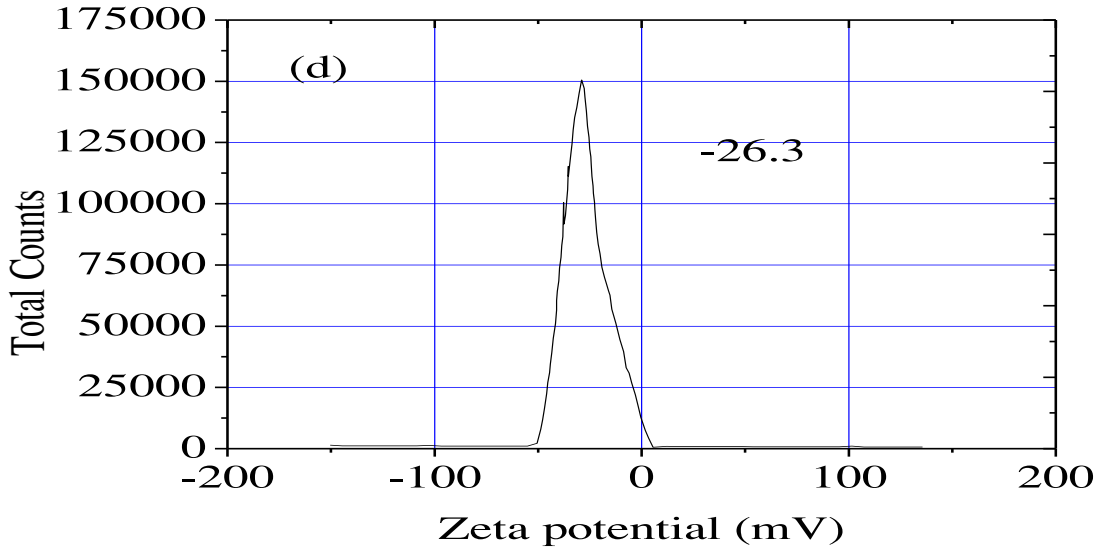
Dựa vào bảng 3.2. ta thấy giá trị tuyệt đối thế zeta ở thời gian rung siêu âm 20 phút là cao nhất ở các nồng độ. Do vậy đối với nano Cu^0 thời gian tối ưu được lựa chọn để tạo dung dịch huyền phù nano Cu^0 hàm lượng 3 mg/l, 4 mg/l, 5 mg/l là 20 phút.



Hình 3.32. Thế zeta của dung dịch nano Cu^0 3mg/l được rung siêu âm trong 20 phút



Hình 3.33. Thế zeta của dung dịch nano Cu^0 4mg/l được rung siêu âm trong 20 phút



Hình 3.34. Thế zeta của dung dịch nano Cu^0 5mg/l được rung siêu âm trong 20 phút

3.2.3. Dung dịch huyền phù nano kim loại Co^0

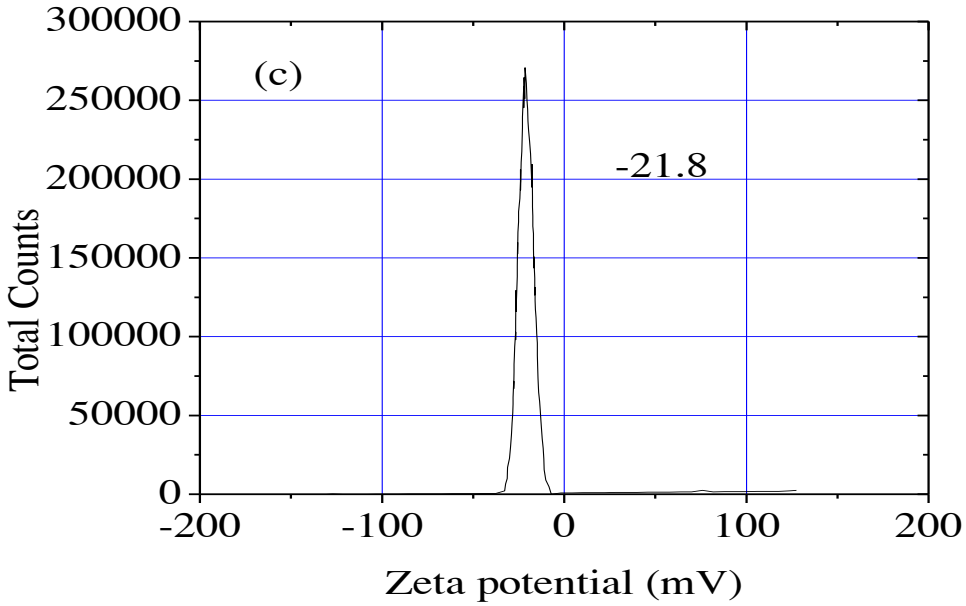
Khảo sát ảnh hưởng của thời gian rung siêu âm và hàm lượng hạt đến thế zeta của dung dịch huyền phù nano Co^0.

Từ sản phẩm nano Co^0 điều chế được, tiến hành tạo dung dịch huyền phù nano Co^0 ở các hàm lượng 3mg, 4mg và 5mg trong 1000 ml nước khử ion (3mg/l, 4mg/l, 5mg/l). Rung siêu âm trong các khoảng thời gian 10; 20; 30; 40 phút.

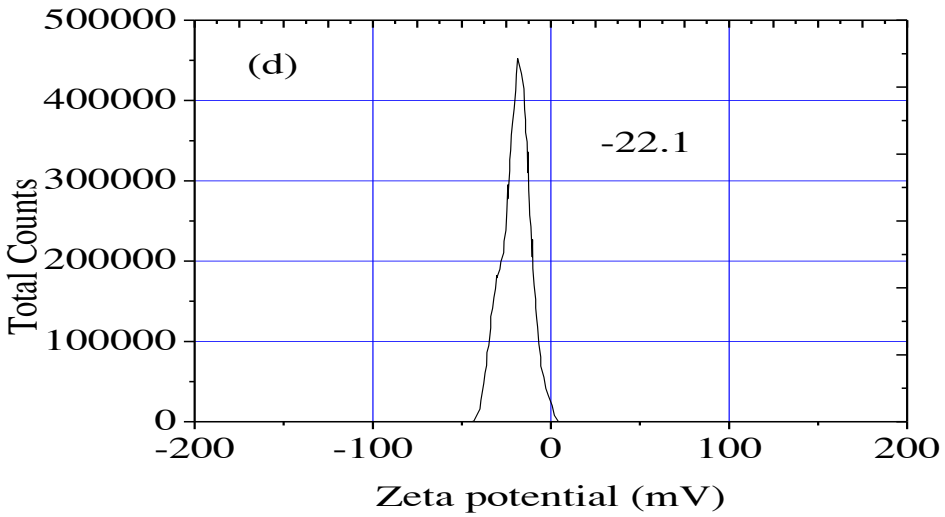
Bảng 3.3. Thế zeta của nano Co^0 ở các nồng độ và thời gian rung siêu âm khác nhau

Thời gian rung (phút)	**Thế zeta(mV) (Co 3mg/l)**	**Thế zeta(mV) (Co 4mg/l)**	**Thế zeta(mV) (Co 5mg/l)**
0 (không rung)	-16,2	-20,2	-21,2
10	-20,7	-21,6	-24,5
20	-21,8	-21,9	-24,8
30	-18,7	-22,1	-25,2
40	-17,5	-22,0	-24,6

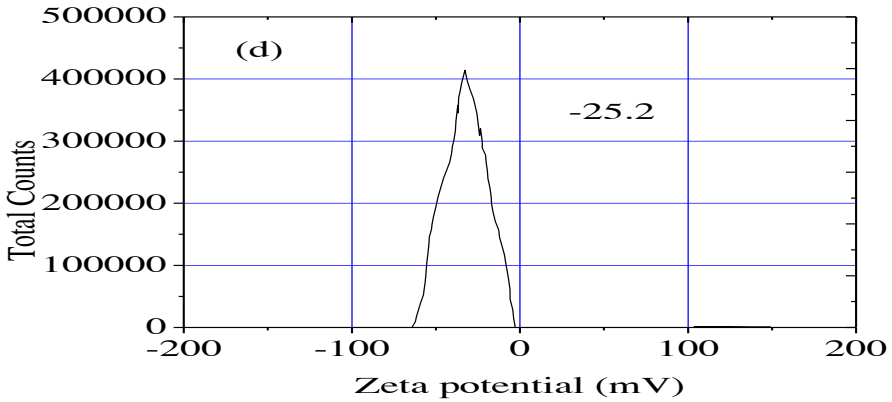
Dựa vào bảng 3.3. ta thấy thời gian tối ưu để tạo dung dịch huyền phù nano Co^0 hàm lượng 3mg/l, 4mg/l, 5mg/l tương ứng là 20 phút, 30 phút và 30 phút.



Hình 3.35. Thế zeta của dung dịch nano Co^0 3mg/l được rung siêu âm trong 20 phút



Hình 3.36. Thế zeta của dung dịch nano Co^0 4mg/l được rung siêu âm trong 30 phút



Hình 3.37. Thế zeta của dung dịch nano Co0 4mg/l được rung siêu âm trong 30 phút

Nhận xét:

Từ kết quả bảng 3.1; 3.2; 3.3 ta thấy: Khi không rung siêu âm thì giá trị tuyệt đối thế zeta của dung dịch các hạt nano Fe^0, Cu^0, Co^0 thấp và gần điểm không hơn nhiều so với dung dịch đã được rung siêu âm. Bằng mắt thường có thể thấy khi không rung siêu âm các hạt có khuynh hướng co cụm và dung dịch chưa tạo huyền phù. Vì vậy để chế tạo được dung dịch huyền phù nano kim loại có độ ổn định ta chọn các khoảng thời gian rung siêu âm của dung dịch các hạt nao kim loại cho giá trị tuyệt đối thế zeta là lớn nhất. Vậy thời gian rung siêu âm của các dung dịch huyền phù nano được lựa chọn là:

Nano Fe^0 với các nồng độ 3mg/l, 4mg/l và 5mg/l lần lượt là 20 phút, 10 phút và 20 phút.

Nano Cu^0 với các nồng độ 3mg/l, 4mg/l và 5mg/l đều là 20 phút.

Nano Co^0 với các nồng độ 3mg/l, 4mg/l và 5mg/l lần lượt là 20 phút, 30 phút và 30 phút.

3.3. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến cây ngô, cây gừng, cây lúa mì và lúa mạch.

3.3.1. Kết quả đối với cây ngô

Mục đích của nghiên cứu là đánh giá khả năng sinh trưởng, hàm lượng diệp lục chlorophyll, nhóm các hợp chất sinh học flavonoid trong đó có anthocyanin của cây ngô. Anthocyanin và hàm lượng diệp lục là những enzym kích thích sinh trưởng, phát triển của cây ngô. Để từ đó làm rõ cơ chế tác động của nano kim loại đối với từng loại tế bào thực vật. Ngoài ra còn để lựa chọn được loại hạt nano và hàm lượng tối ưu của nó ảnh hưởng tới khả năng chống chịu hạn, khả năng sinh trưởng phát triển và tăng năng suất tốt nhất cho cây ngô.

Tiến hành thí nghiệm theo 2 bước. Bước thứ nhất là làm trong phòng thí nghiệm. Bước thứ 2 là khảo nghiệm sản xuất tại đồng ruộng.

3.3.1.1. Đánh giá ảnh hưởng của việc xử lý hạt ngô giống bằng các nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 trong thí nghiệm qui mô nhà ươm

a. Ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt ngô

Tỉ lệ nảy mầm của các công thức được thống kê trong bảng 3.4. Kết quả cho thấy, các mẫu có xử lý hạt giống bằng nano Fe^0, Cu^0 đều có tỉ lệ nảy mầm cao hơn so với đối chứng. Trong đó 2 mẫu có xử lý bằng nano Cu^0 với định lượng 5 mg/l và 4 mg/l là có tỉ lệ nảy mầm cao nhất tương ứng đạt 88,3 và 93,3%. Ảnh hưởng của nano Co^0 đến quá trình nảy mầm không rõ rệt.

Bảng 3.4. Tỉ lệ nảy mầm của hạt giống

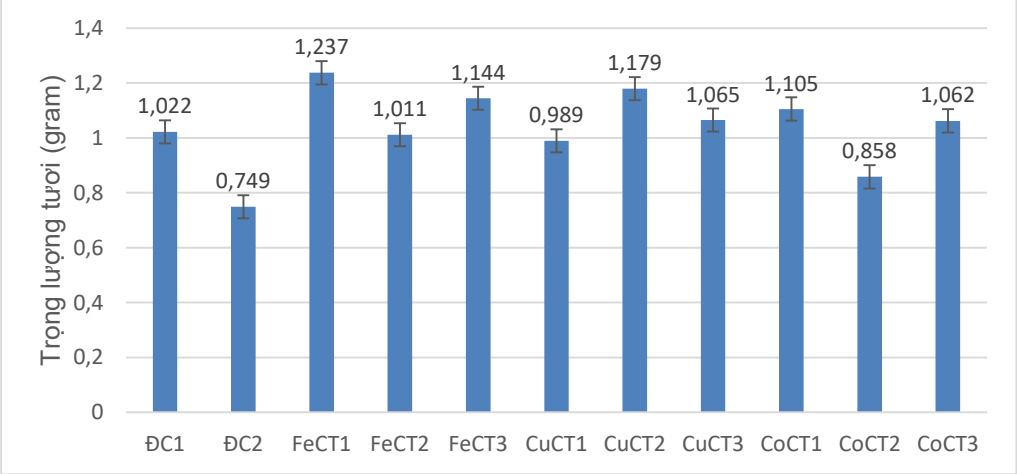
STT	Công thức	TLNM (%)
1	Fe CT1	83,3
2	Fe CT2	81,7
3	Fe CT3	80
4	Cu CT1	**88,3**
5	Cu CT2	**93,3**
6	CuCT3	76,5
7	Co CT1	68,3
8	Co CT2	73,3
9	Co CT3	78,3
10	ĐC1	75
11	ĐC2	76,3

b. Ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây ngô giai đoạn còn non

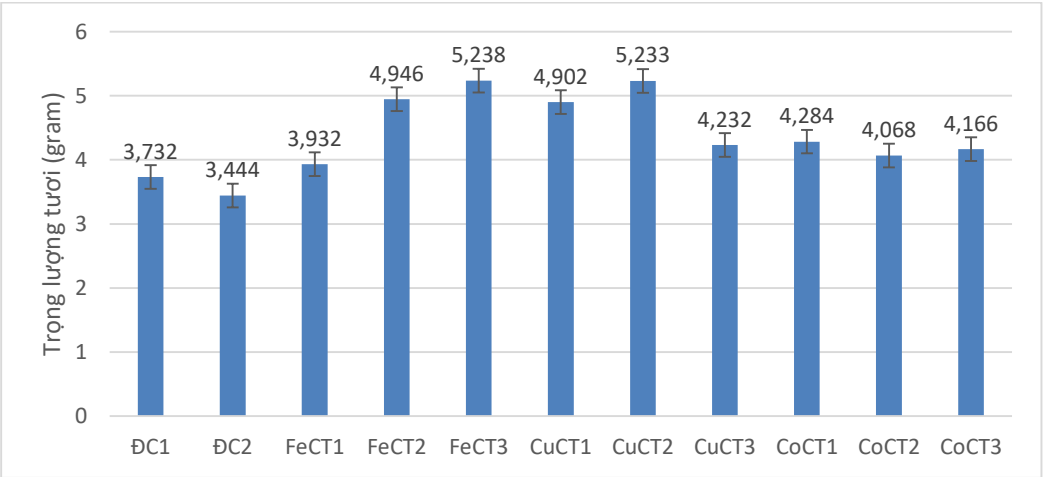
Kết quả đánh giá trọng lượng tươi của cây ngô ở các tuần tuổi thể hiện ở hình 3.38, 3.39, 3.40 cho thấy: Khi xử lý với các loại hạt nano kim loại ở các nồng độ khác nhau, cây ngô có biểu hiện sinh trưởng phát triển thay đổi ở giai đoạn đầu trong các tuần tuổi thứ nhất và thứ hai khá phức tạp. Ở tuần 1 và 2 nano Fe^0 tác động rất tốt. Tuy nhiên, sau 3 tuần tuổi là tuần cuối của giai đoạn cây còn non khi đó các cây xử lý với nano Cu^0 ở tất cả các công thức và nano Co^0 hàm lượng 5mg/l ở công thức CoCT1 cho kết quả tốt nhất.

Trong khi đó, kết quả đánh giá sự sinh trưởng của rễ các cây ngô non trong điều kiện xử lý với hạt nano kim loại thể hiện ở bảng 3.5 cho thấy:

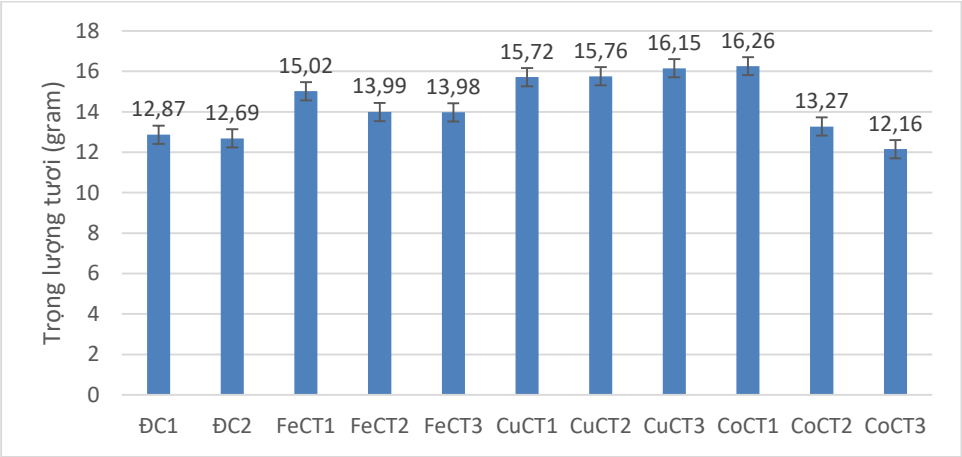
Ở nồng độ 4mg/l cho hiệu quả tốt ở cả 3 loại hạt nano, trong đó nano Fe^0 thể hiện khả năng kích thích sinh trưởng rễ tốt nhất.



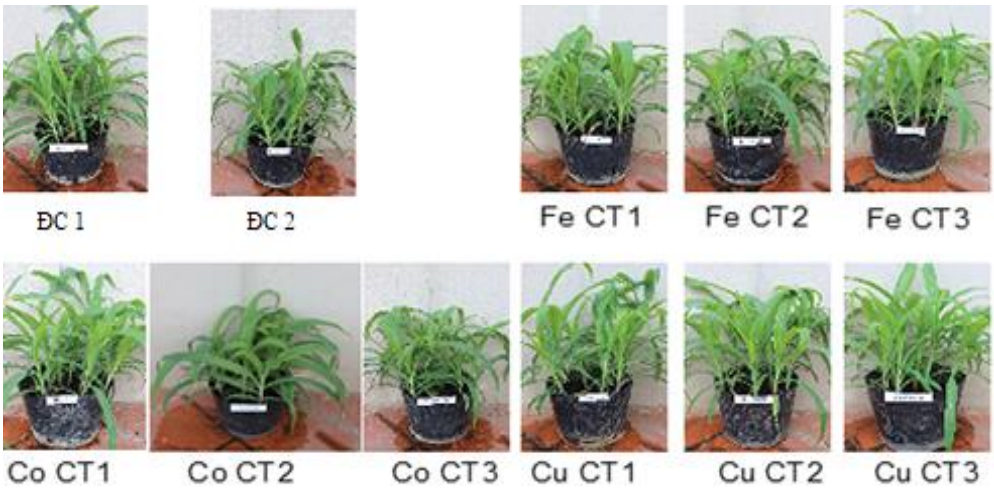
Hình 3.38. Trọng lượng tươi của cây ngô non 1 tuần tuổi



Hình 3.39. Trọng lượng tươi của cây ngô non 2 tuần tuổi



Hình 3.40. Trọng lượng tươi của cây ngô non 3 tuần tuổi



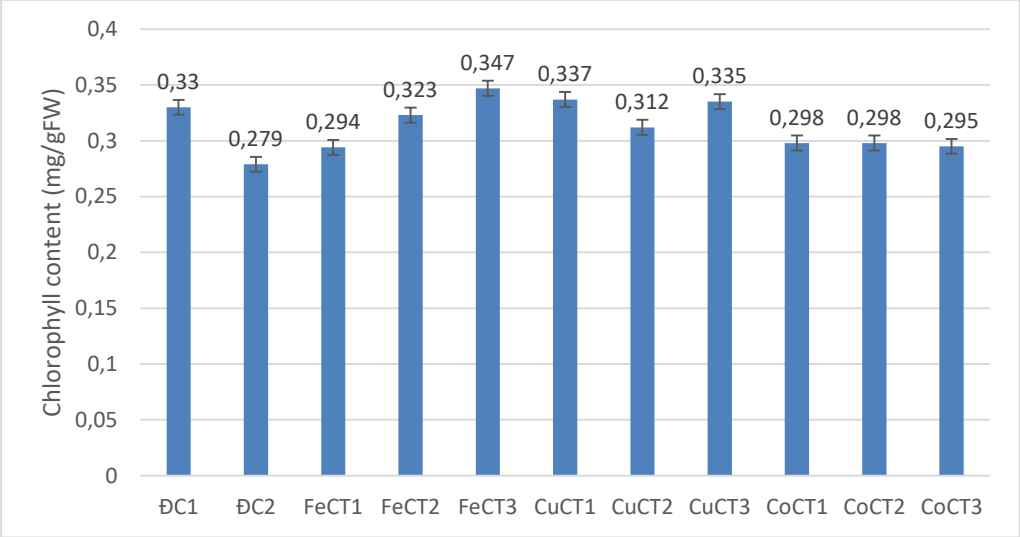
Hình 3.41. Hình ảnh cây ngô sinh trưởng sau 3 tuần

Bảng 3.5. Chiều dài rễ của cây ngô non sau 3 tuần

Công thức	Chiều dài rễ (cm)	Sai số chuẩn (SE)
ĐC 1	25	1,288
ĐC 2	31	2,015
Fe CT1	29,7	1,578
Fe CT2	**31,94**	0,745
Fe CT3	31,46	1,742
Cu CT1	30,62	1,530
Cu CT2	**30,7**	0,795
Cu CT3	25,3	1,293
Co CT1	31,34	1,049
Co CT2	**31,66**	1,932
Co CT3	25,9	0,647

c. Ảnh hưởng đến hàm lượng diệp lục, anthocyanin ở cây ngô giai đoạn cây non

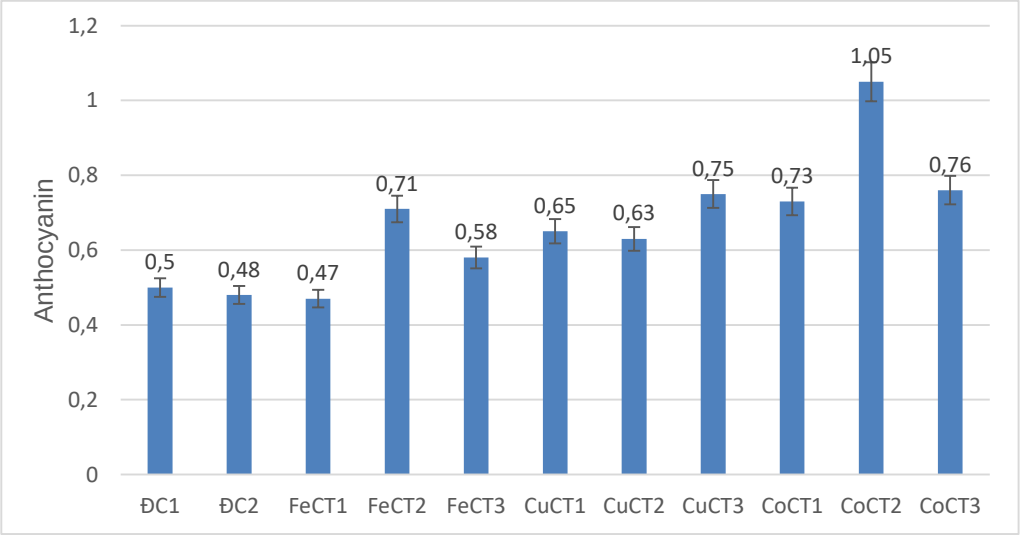
Kết quả phân tích hàm lượng diệp lục được thể hiện trong hình 3.42 cho thấy nano kim loại giúp tăng cường sinh tổng hợp diệp lục trong điều kiện bình thường ở cây ngô non. Bên cạnh đó, công thức xử lý với nano Fe^0 ở nồng độ 3mg/l thể hiện sự tăng cường cao nhất hàm lượng diệp lục ở cây ngô 3 tuần tuổi.



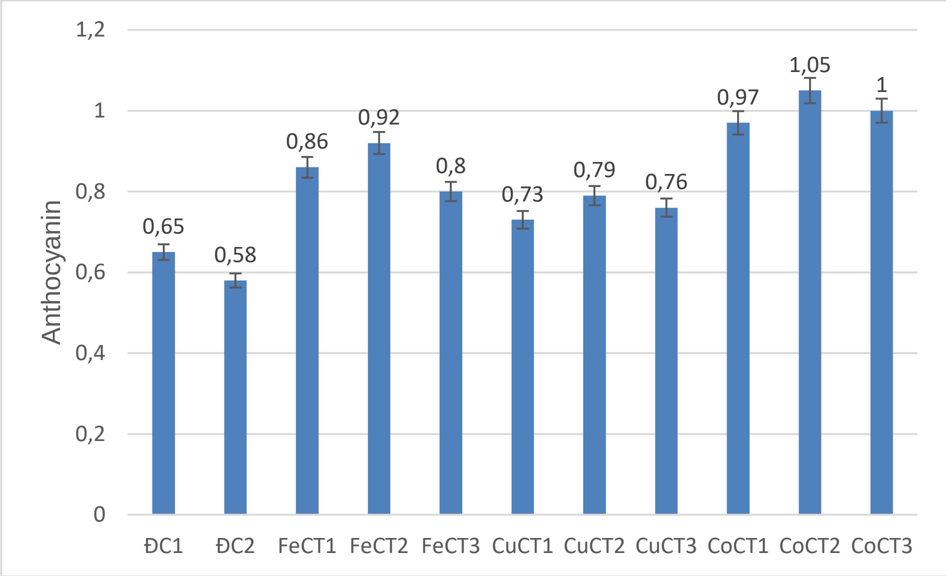
Hình 3.42. Hàm lượng diệp lục của cây ngô 3 tuần tuổi

Anthocyanin được biết đến là một trong những hợp chất thứ sinh quan trọng của thực vật tham gia vào khả năng chống chịu của thực vật với các điều kiện bất lợi sinh học và phi sinh học.

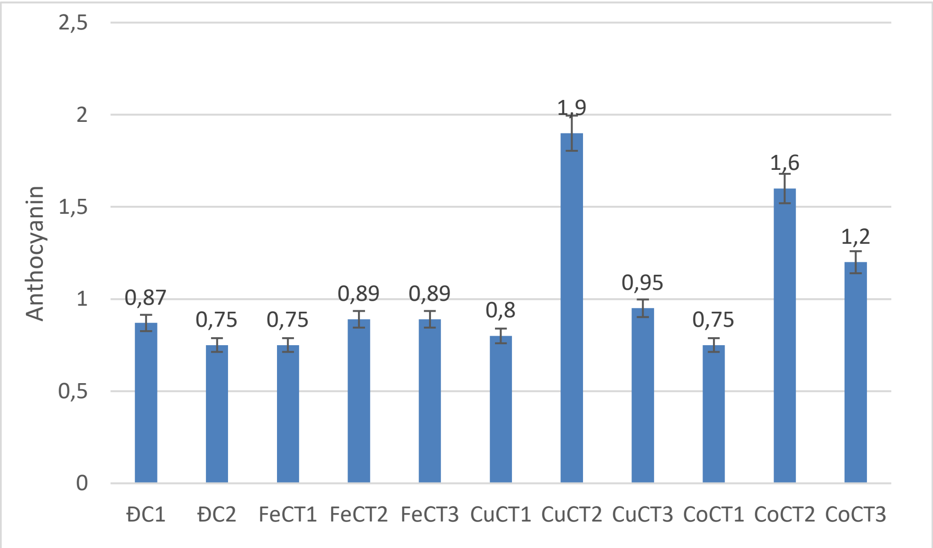
Tiến hành đo hàm lượng anthocyanin tích lũy trong các mẫu lá của các cây ngô xử lý bởi nano kim loại và cây đối chứng ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau, kết quả được thể hiện ở trong hình 3.43.



a. Hàm lượng anthocyanin cây ngô 1 tuần tuổi



b. Hàm lượng anthocyanin cây ngô 2 tuần tuổi



c. Hàm lượng anthocyanin cây ngô 3 tuần tuổi

Hình 3.43. Hàm lượng anthocyanin của cây ngô non

Các kết quả chỉ ra rằng cả 3 nano kim loại đều làm tăng khả năng sinh tổng hợp anthocyanin đối với cây ngô giai đoạn còn non. Ở tuần 1 và 2 nano Co^0 và nano Fe^0 cho thấy tác động rất tốt đến tăng cường hàm lượng anthocyanin của cây ngô. Tuy nhiên đến tuần thứ 3, là giai đoạn cuối của cây khô khi còn non thì nano Cu^0 với hàm lượng 4mg/l lại cho kết quả tốt nhất cụ thể nano Cu^0 và nano Co^0 ở nồng độ 4 mg/l thì lượng anthocyanin tăng lần lượt là 3,71 và 2,17 lần so với đối chứng. Điều đó cho thấy nano Cu^0 tác dụng chậm hơn nhưng lại mạnh hơn và xuyên suốt quá trình phát triển của cây ngô giai đoạn còn non.

Nhận xét:

Kết quả bước đầu đã đánh giá được sự sinh trưởng và phát triển của cây ngô khi được xử lý hạt giống bằng 3 loại nano Fe^0, Cu^0 và Co^0, qua đánh giá cho thấy hạt

giống được xử lý bằng hạt nano kim loại mọc nhanh và đều hơn trong đó sự tác động của nano Cu^0 và Co^0 là mạnh hơn nano Fe^0 trong sinh trưởng thân; ngược lại nano Fe^0 tăng cường sinh trưởng rễ tốt hơn hai loại nano còn lại.

Cả 3 nano kim loại đều làm tăng cường khả năng sinh tổng hợp chlorophyll và anthocyanin, trong đó, nano Fe^0 thể hiện vai trò tăng cường diệp lục cao nhất; ngược lại công thức xử lý với Cu^0 và Co^0 ở nồng độ 4mg/l cho kết quả tăng cường hàm lượng anthocyanin cao nhất.

Qua kết quả đánh giá ảnh hưởng của các nano kim loại tới tỷ lệ nảy mầm, khả năng sinh trưởng phát triển của cây ngô và khả năng tăng cường sinh tổng hợp anthocyanin. Nhận thấy, nano Cu^0 ở nồng độ 4mg/l cho kết quả tốt nhất. Do vậy, tôi tiếp tục tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của nano Cu^0 tới khả năng sinh trưởng của cây ngô trong điều kiện hạn nhân tạo.

Nghiên cứu của Adhikari [70] đã tiến hành kiểm tra giả thuyết hạt nano Cu^0 sẽ xâm nhập vào tế bào thực vật và chi phối sự phát triển của cây ngô, nghiên cứu dung dịch nuôi cấy để đánh giá ảnh hưởng của hạt nano Cu^0 (<50 nm) lên sự tăng trưởng và hoạt tính enzyme của ngô, đánh giá sự tích lũy sinh học của các hạt nano Cu^0 trong cây. Kết quả đã cho thấy các hạt nano Cu^0 có thể xâm nhập vào tế bào thực vật thông qua rễ và lá. Kết quả cũng cho thấy khi tăng nồng độ hạt nano Cu^0, sự tích lũy sinh học Cu^0 trong cây cũng tăng lên. Quan sát sự tích lũy hạt đồng trong tế bào bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử. Sự sinh trưởng của ngô tăng lên 51% so với cây đối chứng khi bổ sung nano đồng vào dung dịch nuôi cấy.

e. Đánh giá sự sinh trưởng của cây ngô khi xử lí với hạt nano Cu^0 ở điều kiện bình thường và điều kiện gây hạn nhân tạo

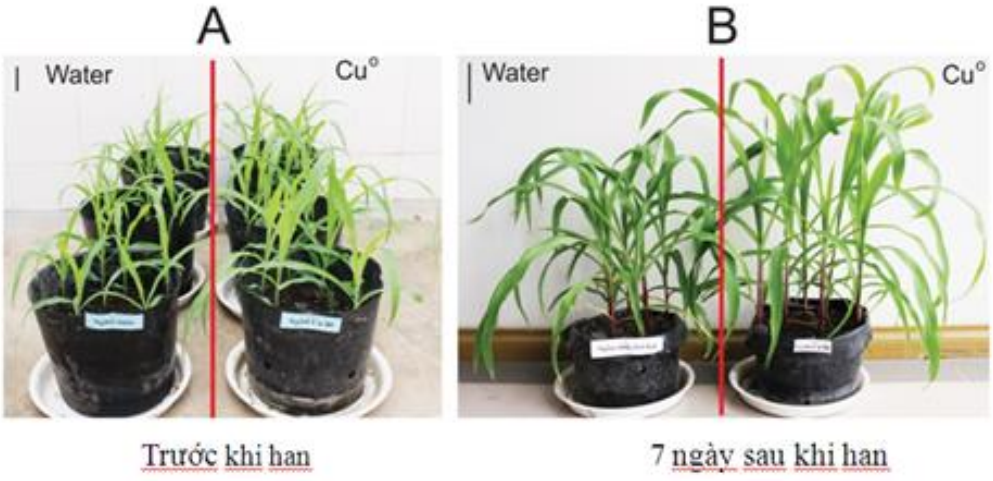
Từ kết quả thí nghiệm tiến hành với 3 loại nano Fe^0, Cu^0, Co^0 đã lựa chọn được nano Cu^0 với nồng độ 4 mg/l có ảnh hưởng tốt nhất đến sinh trưởng, phát triển của cây ngô trong giai đoạn cây con (1- 3 tuần tuổi). Từ đó, tiếp tục tiến hành làm thí nghiệm với công thức nano Cu^0 hàm lượng 4 mg/l ở điều kiện bình thường và điều kiện gây hạn nhân tạo nhằm đánh giá khả năng chống chịu của cây ngô.

Tiến hành gây hạn nhân tạo đối với cây ngô:

Hạn nhẹ khi không tưới nước 7 ngày, tương ứng với hàm lượng nước tương đối trong lá giảm từ 8-15%.

Hạn trung khi không tưới nước 14 ngày, tương ứng với hàm lượng nước tương đối trong lá giảm từ 15 – 30%.

Hạn nặng khi không tưới nước 21 ngày, tương ứng với hàm lượng nước tương đối trong lá giảm trên 30%.



Hình 3.44. Cây xử lý với nano Cu^0 và đối chứng trong điều kiện thường và điều kiện gây hạn nhân tạo

Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu sinh hóa ở thời điểm sau 7 ngày, 14 ngày và 21 ngày như sau:

+ Kết quả đánh giá hàm lượng diệp lục chlorophyll và carotenoid của lá ngô

Chất diệp lục là một họ các sắc tố tự nhiên có trong thực vật. Chất diệp lục hấp thụ năng lượng từ ánh sáng mặt trời và sử dụng năng lượng này để tổng hợp carbohydrate từ nước và cacbondioxit. Trong họ sắc tố diệp lục có một số loại sắc tố diệp lục trong đó có chlorophyll a là sắc tố quang hợp chính ở thực vật và chlorophyll b là sắc tố phụ thu năng lượng và truyền cho chlorophyll a. Carotenoid là một nhóm các sắc tố màu từ vàng đến đỏ.

Bảng 3.6. Hàm lượng diệp lục và carotenoid của lá ngô xử lý nano Cu^0 trong điều thường và gây hạn nhân tạo ở ở thời điểm 7 ngày

	Điều kiện	**Chl a (mg g-1DW)**	**Chl b (mg g-1DW)**	**Tổng Chl (mg g-1DW)**	**Tổng carotenoids (mg g-1DW)**
Đối chứng	Bình thường	22,40 ± 2,53	6,03 ± 3,19	32,45 ±4,46	4,88 ± 1,57
	Hạn	15,49 ± 2,51	2,84 ± 0,46	20,89 ± 3,27	3,96 ± 0,63
Cu	Bình thường	25,43 ± 2,08	6,09 ± 1,70	35,95 ± 1,86	6,25 ± 1,29
	Hạn	19,58 ± 1,88	4,52 ± 0,07	27,48 ± 2,21	4,93± 0,56

Bảng 3.7. Hàm lượng diệp lục và carotenoid của lá ngô xử lý nano Cu^0 trong điều thường và gây hạn nhân tạo ở ở thời điểm 14 ngày

	Điều kiện	**Chl a (mg g-1DW)**	**Chl b (mg g-1DW)**	**Tổng Chl (mg g-1DW)**	**Tổng carotenoids (mg g-1DW)**
Đối chứng	Bình thường	20,89 ±0,10	5,72 ± 0,44	30,37 ± 1,59	4,882 ± 0,30
	Hạn	12,23 ± 1,439	3,22 ± 0,27	17,62 ± 1,91	3,113 ± 0,27
Cu	Bình thường	23,17 ± 2,410	6,24 ± 0,89	33,60 ± 3,76	5,214 ± 0,31
	Hạn	18,32 ± 0,63	4,46 ± 0,60	25,98 ± 1,03	4,24 ± 0,16

Bảng 3.8. Hàm lượng diệp lục và carotenoid của lá ngô xử lý nano Cu^0 trong điều thường và gây hạn nhân tạo ở ở thời điểm 21 ngày

	Điều kiện	**Chl a (mg g-1DW)**	**Chl b (mg g-1DW)**	**Tổng Chl (mg g-1DW)**	**Tổng carotenoids (mg g-1DW)**
Đối chứng	Bình thường	23,64 ± 1,81	5,75 ± 0,49	33,52 ±2,57	4,45 ± 0,50
	Hạn	9,30 ± 0,79	2,63 ± 0,51	13,61 ±1,10	2,38 ± 0,22
Cu	Bình thường	24,200 ±1,61	5,80 ± 0,89	34,22 ±2,69	5,14 ± 1,04
	Hạn	17,53 ± 1,85	4,95 ± 1,6	25,66 ±3,64	3,29 ± 0,43

Cây ngô xử lý với nano Cu^0 có hàm lượng diệp lục và carotenoid cao hơn so với đối chứng trong điều kiện hạn tại các thời điểm 7, 14, 21 ngày sau hạn.

Kết quả chi tiết được thể hiện ở bảng 3.6 cho thấy, trong điều kiện hạn, ở thời điểm 7 ngày, hàm lượng chlorophyll a và chlorophyll b thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa điều kiện xử lý với nano Cu^0 và đối chứng. Kết quả khác biệt cũng được thể hiện đối với hàm lượng chlorophyll tổng số trong điều kiện hạn 7 ngày. Tại thời điểm 14 ngày sau khi xử lý hạn (bảng 3.7), sự thay đổi cũng được nhận thấy giữa cây ngô xử lý với nano Cu^0 và đối chứng tại hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll tổng số và carotenoid.

Tại thời điểm 21 ngày xử lý với hạn (bảng 3.8), ở điều kiện hạn cho thấy, cây ngô xử lý với nano Cu^0 có hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll tổng số và carotenoid cao hơn so với cây ngô đối chứng. Đặc biệt, tại điều kiện hạn ở cây đối chứng, hàm lượng chlorophyll a giảm còn 35% và hàm lượng chlorophyll tổng số giảm còn 40% so với điều kiện bình thường. Ngược lại, ở cây xử lý với nano Cu^0 hàm lượng chlorophyll a giảm còn 75% và hàm lượng chlorophyll tổng số giảm còn 75% so cới

cây ngô xử lý với hạt nano ở điều kiện không gây hạn. Kết quả này cho thấy rằng, xử lý với nano Cu^0 có thể giúp cây tăng cường bảo vệ sự phá hủy diệp lục gây ra bởi hạn, đặc biệt là sự bảo vệ của chlorophyll a.

Carotenoid được biết đến như là chất bảo vệ diệp lục. Kết quả ở trên cho thấy, hàm lượng Carotenoid ở cây đối chứng trong điều kiện hạn giảm 81, 64 và 53% tại các thời điểm tương ứng 7, 14 và 21 ngày xử lý hạn. Trong khi đó, cây xử với nano Cu^0 hàm lượng carotenoid giảm 79, 81 và 64% tại các thời điểm 7, 14 và 21 ngày xử lý hạn. Hàm lượng arotenoid cao ở cây xử lý với nano Cu^0 trong điều kiện hạn góp phần giúp cho cây bảo vệ sự phân hủy diệp lục gây ra bởi điều kiện khô hạn. Ngoài ra, hàm lượng chất diệp lục cao hơn ở cây ngô xử lý với nano Cu^0 cũng có thể góp phần vào sự suy giảm ít sinh khối so với đối chứng.

+ Kết quả đánh giá hàm lượng anthocyanin của lá ngô

Các nghiên cứu cũng chứng minh rằng, hàm lượng diệp lục là một trong những nhân tố quan trọng trong việc cấu thành năng suất cây trồng. Bên cạnh đó, các hợp chất thứ sinh flavonoid trong đó có anthocyanin thuộc nhóm flavonoid giữ một vai trò như là các chất bảo vệ của thực vật nhằm chống lại các điều kiện bất lợi của môi trường sống, bao gồm các yếu tố bất lợi sinh học và phi sinh học.

Bảng 3.9. Hàm lượng anthocyanin của lá ngô xử lý nano Cu^0 trong điều thường và gây hạn nhân tạo ở thời điểm 14 ngày và 21 ngày

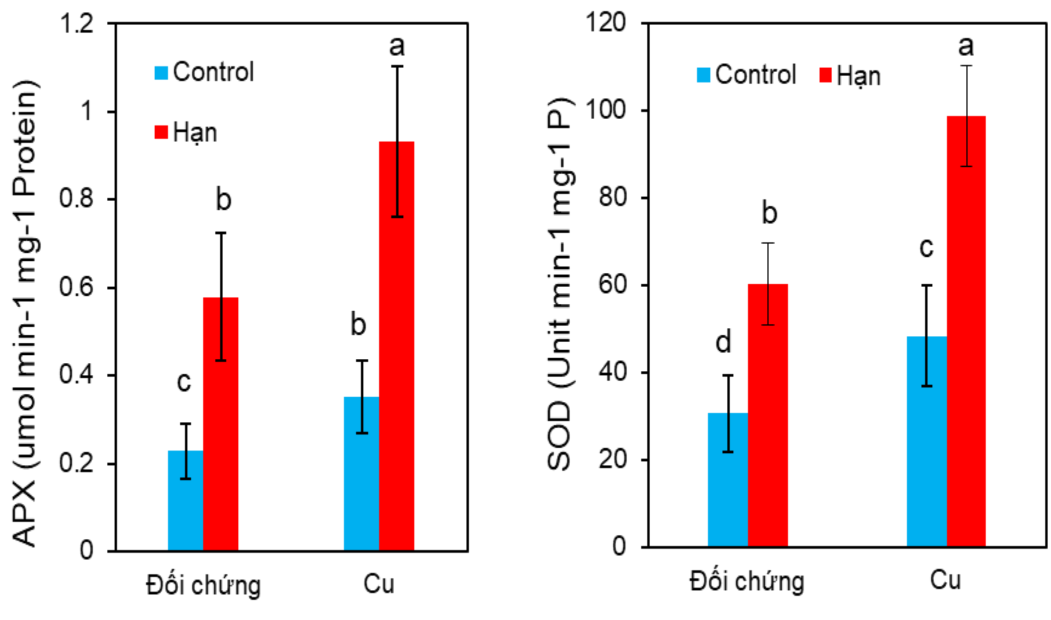
Công thức	**Điều kiện**	**Anthocyanin sau 14 ngày (mg g-1DW)**	**Anthocyanin sau 21 ngày (mg g-1DW)**
Đối chứng	Bình thường	17,905 ± 5,321	25,934 ± 5,776
	Hạn	26,493 ± 4,078	54,660 ± 3,883
Cu	Bình thường	23,627 ± 2,083	27,707 ± 4,643
	Hạn	30,651 ± 6,119	63,590 ± 4,950

Ở điều kiện sinh trưởng bình thường sau 14 ngày, cây xử lý với nano Cu^0 có hàm lượng anthocyanin cao hơn mẫu đối chứng ở mức có ý nghĩa (23,627 so với 17,905, cao hơn gần 23%). Hàm lượng anthocyanin của lá ngô sau 14 ngày hạn có sự khác biệt trong các nhóm. Hàm lượng anthocyanin ở cây xử lý với nano Cu^0 khi so sánh với mẫu đối chứng tương ứng ở điều kiện hạn với sự khác biệt có ý nghĩa thống

kê (30,651 so với 26,627, cao hơn 29,72%). Đánh giá sự tăng hàm lượng của anthocyanin gây ra bởi hạn cho thấy, cả hai nhóm xử lý với nano Cu^0 và đối chứng đều tăng hàm lượng anthocyanin so với các nhóm ở điều kiện thường, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê (bảng 3.10).

Tương tự, hàm lượng anthocyanin sau 21 ngày chịu hạn cũng có sự khác biệt giữa các nhóm công thức. Trong điều kiện bình thường không gây hạn, cây ngô xử lý với nano Cu và đối chứng cho hàm lượng anthocyanin tương đương (27,707 so với 25,934, khác biệt không có ý nghĩa thống kê). Ngược lại, trong điều kiện xử lý hạn 21 ngày, hàm lượng anthocyanin ở cây ngô xử lý với nano Cu^0 cao hơn đối chứng (16,33%) với mức khác biệt có ý nghĩa. Kết quả này chứng tỏ rằng, tăng cường hàm lượng anthocyanin là một trong những cơ chế thích nghi của cây đáp ứng với điều kiện khô hạn.

+ Ảnh hưởng đến hoạt độ enzyme SOD và APX lá ngô



A B

Hình 3.45. Kết quả đo hoạt độ enzyme APX lá ngô (A) và SOD (B)

(Chú thích: Các chữ cái a, b, c, và d có trong bảng là sự khác biệt giữa các công thức ở trong cùng một thời điểm với P-value < 0,05)

Kết quả đo hoạt độ enzyme của lá ngô trong điều kiện thường và điều kiện gây hạn nhân tạo thể hiện ở hình 3.45 cho thấy: Cây xử lý nano Cu^0 có hoạt độ enzyme SOD, APX cao hơn so với đối chứng, và sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê.

SOD là một enzyme đặc biệt ổn định có thể chuyển đổi các gốc superoxide phá hoại thành một dạng ít nguy hiểm hơn là hydrogen peroxide. Sự tăng cường hoạt động của SOD trong điều kiện khô hạn giúp cho cây ngô xử lý với nano Cu^0 giảm

hàm lượng superoxide tích lũy trong cây (hình 3.45 B), qua đó giúp cây thích ứng tốt hơn với điều kiện khô hạn.

Kết quả phân tích hoạt độ enzyme APX cũng cho thấy sự tăng cường hoạt độ enzyme trong điều kiện khô hạn, qua đó giúp cây giảm hàm lượng chất oxi hóa tự do trong cây. APX được biết đến là enzyme tham gia vào quá trình chuyển hóa hydrogen peroxide thành nước và oxi tiêu chuẩn. Tăng cường hoạt độ APX làm giảm hàm lượng hydrogen peroxide tích tụ (hình 3.45 A), qua đó giúp cây đáp ứng tốt hơn với hạn thông qua cơ chế giải độc gây ra bởi các chất oxi hóa tự do.

Cùng với sự tăng cường hàm lượng chất carotenoid (non-antioxidant), sự tăng cường hoạt động của các enzyme chống oxi hóa như SOD và APX giúp cho cây được bảo vệ tốt hơn trong điều kiện hạn, thể hiện bởi sự suy giảm, sự phân hủy diệp lục gây ra bởi hạn.

+ Ảnh hưởng đến các yếu tố cấu thành năng suất

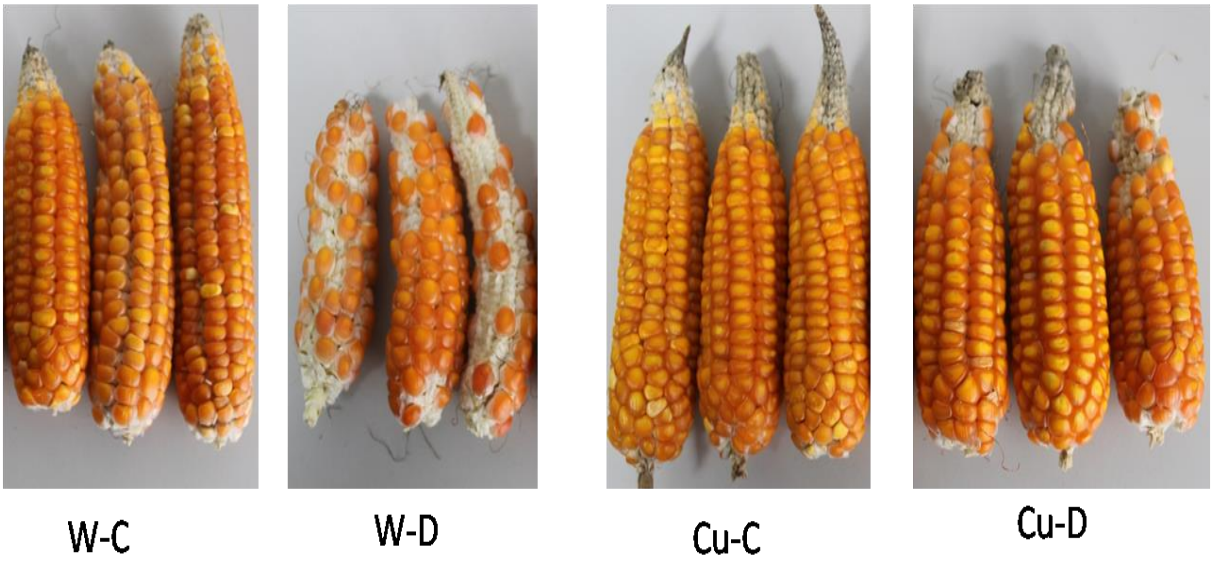
Bảng 3.10. Năng suất của cây ngô xử lý với nano Cu^0 và đối chứng trong điều kiện bình thường và gây hạn nhân tạo

Công thức	**Điều kiện**	**Tổng số hạt/cây (gram)**	**Khối lượng hạt/cây (gram)**
Đối chứng	Bình thường	213,667 ± 29,948	35,167 ± 3,032
	Hạn	71,000 ± 19,799	13,635 ± 4,137
Cu^0	Bình thường	216,333 ± 17,308	44,324 ± 3,629
	Hạn	152,667 ± 25,486	35,290 ± 4,7128

Sau khi xử lý hạn 21 ngày, tiến hành tưới nước trở lại và cây được tiếp tục sinh trưởng trong điều kiện bình thường cho đến khi thu hạt. Kết quả năng suất của cây ngô trong điều kiện bình thường và hạn được thể hiện tóm tắt trong bảng 3.10.

So sánh với cây không xử lý hạn, cây ngô xử lý với nano Cu^0 trong điều kiện xử lý hạn giảm 30% số hạt/cây và giảm 20% khối lượng hạt (năng suất hạt/cây). Trong khi đó, ở cây đối chứng trong điều kiện hạn cho thấy sự suy giảm 77% số hạt/cây và 61% năng suất hạt/cây.

Kết quả này cho thấy, tiềm năng của việc ứng dụng hạt nano Cu^0 trong việc duy trì năng suất cây ngô trong điều kiện hạn. Kết quả năng suất hạt cũng phù hợp với sự duy trì hàm lượng diệp lục cao hơn ở cây ngô xử lý với nano Cu^0 trong điều kiện hạn so với cây đối chứng tương ứng.



Hình 3.46. Bắp của cây ngô xử lý với nano Cu^0 và đối chứng

W-C: đối chứng ở điều kiện bình thường
W-D: đối chứng ở điều kiện hạn
Cu-C: mẫu xử lý nano đồng ở điều kiện bình thường
Cu-D: mẫu xử lý nano đồng ở điều kiện hạn.

3.3.1.2. Ảnh hưởng của xử lý bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến sự sinh trưởng của cây ngô qua kết quả thử nghiệm tại đồng ruộng

Mục đích thí nghiệm là để đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây ngô khi sử dụng các hạt nano kim loại để xử lý hạt giống. Thí nghiệm gồm 4 công thức (3 nano kim loại đưa vào xử lý giống được xác định cho hiệu quả tốt nhất là ở hàm lượng 4mg/kg hạt giống và 1 công thức đối chứng- không xử lý) mỗi công thức gieo trên diện tích 200m^2 và gieo làm 3 lần nhắc lại với mật độ gieo M2 là 65 x 23 (65.000 cây/ha) và mức phân bón P3 là 210 N – 80 P_2O_5 – 80 K_2O.

Các thí nghiệm được triển khai ở vùng đất bãi dốc tụ với đặc điểm đất thịt nhẹ tại xã Chiềng Sung, huyện Mai Sơn tỉnh Sơn La với giống ngô LVN10.

a. Ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây ngô giai đoạn còn non

Trong thời kỳ mọc, ở các công thức được xử lý thì cây ngô mọc nhanh và đều hơn. Nguyên nhân do tác động của hạt nano kích thích hoạt động của các enzym thúc đẩy quá trình hút nước của hạt giống, sự trao đổi chất trong hạt ở quá trình nảy mầm diễn ra mạnh vì vậy quá trình mọc của cây diễn ra nhanh hơn, trong 4 công thức thí

nghiệm thì công thức CT1 và CT3 mọc nhanh hơn 1,5 ngày; CT2 nhanh hơn 1,0 ngày (bảng 3.11).

Bảng 3.11. Kết quả theo dõi quá trình mọc của các thí nghiệm

TT	Công thức	Thời gian từ lúc gieo hạt đến lúc mọc (ngày)
1	CT1 (nano Cu^0 nồng độ 4mg/l)	4,0
2	CT2 (nano Fe^0 nồng độ 4mg/l)	4,5
3	CT3 (nano Co^0 nồng độ 4mg/l)	4,0
4	CT4 (Đối chứng)	5,5

Ở thời kỳ cây con, các công thức CT1, CT2, CT3 có biểu hiện rõ nét là khả năng vượt trội về sinh trưởng. Chiều cao cây ở giai đoạn này đồng đều hơn ở các công thức đối chứng, nguyên nhân do sự tác động của các hạt nano kim loại kích thích sự phát triển của bộ rễ và diệt trừ các loại nấm bệnh, vì vậy cây con sinh trưởng phát triển nhanh và đều hơn.

b. Ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây ngô giai đoạn cây trưởng thành

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của xử lý bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến sự sinh trưởng của cây ngô giai đoạn trưởng thành

TT	Công thức	Thời gian từ gieo đến (ngày)			Chiều cao (cm)	
		Tung phấn	Phun râu	Chín SL	Cây	Đóng bắp
1	CT1	59	61	110	214,3	111,0
2	CT2	59	61	110	215,6	111,7
3	CT3	59	61	110	214,7	112,3
4	CT4 (Đối chứng)	60	62	112	212,2	112,0

Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 3.12 cho thấy:

Chênh lệch về thời gian tung phấn và phun râu giữa các công thức có xử lý nano kim loại và công thức không xử lý là 1 ngày. Các số liệu đo đạc về chiều cao cây và chiều cao đóng bắp giữa các công thức được xử lý hạt giống bằng hạt nano kim loại không có sự khác biệt rõ rệt, điều này cho thấy khi sử dụng hạt nano kim

loại Fe^0, Co^0 và Cu^0 ở các nồng độ khác nhau không làm ảnh hưởng đến các giai đoạn sinh trưởng phát triển và đặc điểm nông sinh học của giống ngô LVN10.

c. Ảnh hưởng đến khả năng chống chịu hạn và khả năng chống chịu sâu bệnh của cây ngô

+ Khả năng chống chịu hạn

Các công thức được xử lý với hạt nano kim loại đều có khả năng giúp cho cây chịu hạn tốt hơn điều đó thể hiện qua điểm đánh giá mức độ héo lá ở các công thức có xử lý đều thấp hơn so với đối chứng. Trong đó công thức với nano Co^0 và Cu^0 biểu hiện chống hạn tốt nhất. Nguyên nhân có thể do càng tăng nồng độ xử lý thì càng tác dụng kích thích cho bộ rễ cây phát triển vì vậy quá trình hút nước của cây càng được tăng cường, khi gặp điều kiện hạn thì lượng nước được bổ sung tốt hơn làm tăng tính chịu hạn của cây. Trong 3 loại hạt nano thì nano Fe^0 không có tác dụng tới sự chịu hạn của cây thể hiện ở điểm đánh giá tương đương đối chứng.

+ Khả năng chống chịu sâu bệnh

Bệnh khô vằn: Hầu hết các công thức thí nghiệm đều nhiễm bệnh khô vằn ở mức trung bình , ở mức độ nhiễm này không ảnh hưởng tới năng suất của cây ngô nhưng cũng cần phải được tiếp tục theo dõi.

Bệnh đốm lá: Các công thức thí nghiệm đều bị nhiễm nhưng ở mức độ rất nhẹ với điểm trung bình là 1-2 trong đó 2 công thức nano Cu^0 bị nhiễm nhẹ nhất.

Bệnh gỉ sắt: Kết quả đánh giá cho thấy mức độ nhiễm bệnh gỉ sắt ở các công thức có xử lý nano Cu^0 nhiễm bệnh thấp hơn, công thức không xử lý nhiễm nặng nhất.

d. Ảnh hưởng đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của cây ngô

Kết quả nghiên cứu thể hiện ở bảng 3.13 cho thấy chiều dài bắp dao động từ 16,9- 17,6 cm trong đó công thức CT1 và CT2 có chiều dài bắp lớn nhất (17,6cm), CT4 có chiều dài ngắn nhất (16,9 cm). Đường kính bắp của các công thức dao động từ 5,0 – 5,3 cm và sự biến động về đường kính bắp giữa các công thức không lớn. Số hàng hạt/bắp của các công thức ít biến động và có giá trị trung bình từ 11,3 -12,4 hàng và sự chưa có khác biệt về số lượng hàng hạt giữa các công thức. Số hạt/hàng của các công thức dao động từ 31,6 -37,3 hạt trong khi đối chứng là 32,9 hạt.

Nhìn chung khi xử lý hạt giống bằng các nano kim loại, bắp ngô có xu thế tăng số hạt/hàng trong đó các công thức xử lý bằng nano Cu^0 có số hạt/hàng cao nhất. Các công thức xử lý hạt giống bằng nano Cu^0 có khối lượng 1000 hạt cao nhất đạt từ 323,8 -330,2 g, cao hơn đối chứng từ 1,7 -6,3g.

Bảng 3.13. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của xử lý bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất

TT	**Công thức**	**Chiều dài bắp** (cm)	**Đường kính bắp** (cm)	**Số hàng hạt/bắp** (hàng)	**Số hạt/hàng** (hạt)	**P 1000 hạt** (gram)	**NSTT** (tạ/ha)
1	CT1	17,6	5,1	11,9	37,3	330,2	74,66
2	CT2	17,6	5,2	12,4	35,3	325,5	68,68
3	CT3	17,4	5,1	12,0	31,6	329,3	66,63
4	CT4 (Đối chứng)	16,9	5,0	11,3	32,9	323,8	61,69

- *Năng suất:* Năng suất thực thu của các công thức thí nghiệm dao động từ 61,69 - 74,66 tạ/ha trong khi công thức đối chứng cho năng suất là 61,69 tạ/ha. Công thức CT1 cho năng suất cao nhất (74,66 tạ/ha) vượt công thức đối chứng là 21,02%. Kết quả phân tích thống kê cho thấy công thức CT1, CT2 cho năng suất cao hơn có ý nghĩa thống kê so với đối chứng.

3.3.1.3. Phân tích chất lượng ngô hạt thu hoạch và tồn dư hàm lượng các kim loại trong ngô hạt thành phẩm

a. Hàm lượng tinh bột ngô trong ngô thành phẩm

Kết quả phân tích hàm lượng tinh bột trong ngô thành phẩm của 03 công thức xử lý và 01 công thức đối chứng ở bảng 3.14 cho thấy hàm lượng tinh bột ở công thức xử lý với nano Co^0 đạt cao nhất là 33,37g/100g ngô hạt và cao hơn 22,68% so với đối chứng. Nano Fe^0 cũng cho hàm lượng tăng 19,19% so với đối chứng. Nano Cu^0 mặc dù hàm lượng tinh bột trong ngô thành phẩm không cao hơn so với đối chứng nhưng bù lại năng suất lại tăng vượt đối chứng 21,02%.

Bảng 3.14. Hàm lượng tinh bột trong hạt ngô thành phẩm

Công thức	Hàm lượng tinh bột (g/100g)
CT1 (Cu)	26,92
CT2 (Fe)	32,42
CT3 (Co)	33,37
CT4 (Đối chứng)	27,20

b. Hàm lượng tồn dư kim loại (Fe, Cu, Co) trong hạt ngô sau thu hoạch

Kết quả đánh giá hàm lượng tồn dư kim loại trong hạt ngô sau thu hoạch được thể hiện ở bảng 3.15 cho thấy:

Dư lượng kim loại Co ở các mẫu đều thấp hơn 1 mg/kg dưới ngưỡng phát hiện của phép đo. Dư lượng kim loại Cu ở các mẫu xử lý giống dao động từ 1,4 đến 2,7 mg/kg; Dư lượng kim loại Fe dao động từ 12,7 đến 16,8 mg/kg. Điều đó cho thấy quá trình xử lý hạt giống không làm thay đổi nhiều hàm lượng kim loại trong ngô thành phẩm, thậm chí có công thức còn giảm so với đối chứng. Trong đó việc xử lý hạt giống với nano Co^0 làm tăng hàm lượng tổng số của Fe^0 nhưng lại không ảnh hưởng đến hàm lượng Co^0 trong thành phẩm. Tuy nhiên, nồng độ kim loại trong tất cả các mẫu ngô đều thấp hơn nhiều giới hạn cho phép của Tổ chức Y tế Thế giới WHO [84].

Bảng 3.15. Hàm lượng tồn dư kim loại trong hạt ngô thành phẩm

Công thức xử lý	Nồng độ kim loại (mg/kg)		
	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Co (mg/kg)
CT1 (Cu)	1,4	14,6	< 1
CT2 (Fe)	2,7	12,7	< 1
CT3(Co)	1,7	16,8	< 1
CT4 (Đối chứng)	2,8	13,7	< 1
Giới hạn cho phép của WHO	73,3	425,5	50

Nhận xét:

Qua các thí nghiệm để đánh giá ảnh hưởng của việc xử lý hạt giống ngô trước khi gieo hạt bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 ta thấy hoạt tính hóa sinh của các hạt nano kim loại đã thúc đẩy các quá trình trao đổi chất bên trong tế bào, enzym dẫn đến cả 3 nano kim loại đều làm tăng cường khả năng sinh tổng hợp hàm lượng diệp lục chlorophyll và anthocyanin đối với cây ngô ở cả giai đoạn còn non. Và ở điều kiện gây hạn nhân tạo khi xử lý với nano Cu^0 kết quả cũng cho thấy làm tăng cường hàm lượng diệp lục và anthocyanin, ngoài ra còn gia tăng hoạt độ của enzyme SOD, và enzym APX từ đó giúp cây đáp ứng tốt hơn với hạn và dẫn đến năng suất cây trồng đối với cây có xử lý bằng 3 nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 cao hơn so với đối chứng, cụ thể công thức CT1 với nano Cu^0 ở 4mg cho năng suất cao nhất tăng hơn so

với đối chứng là 21,02%. Điều này cũng phù hợp với giả thiết ban đầu về cơ chế tác động của hạt nano kim loại siêu phân tán lên thực vật.

3.3.2. Kết quả đối với cây gừng

Mục đích của nghiên cứu là lựa chọn được loại hạt nano kim loại và nồng độ tối ưu của chúng để xử lý củ gừng giống nhằm tăng khả năng sinh trưởng, phát triển và năng suất thu hoạch của cây gừng.

3.3.2.1. Ảnh hưởng của việc xử lý củ gừng giống bằng nano kim loại Fe^o, Cu^0, Co^o đến thời gian sinh trưởng và các chỉ tiêu sinh trưởng của cây gừng trâu

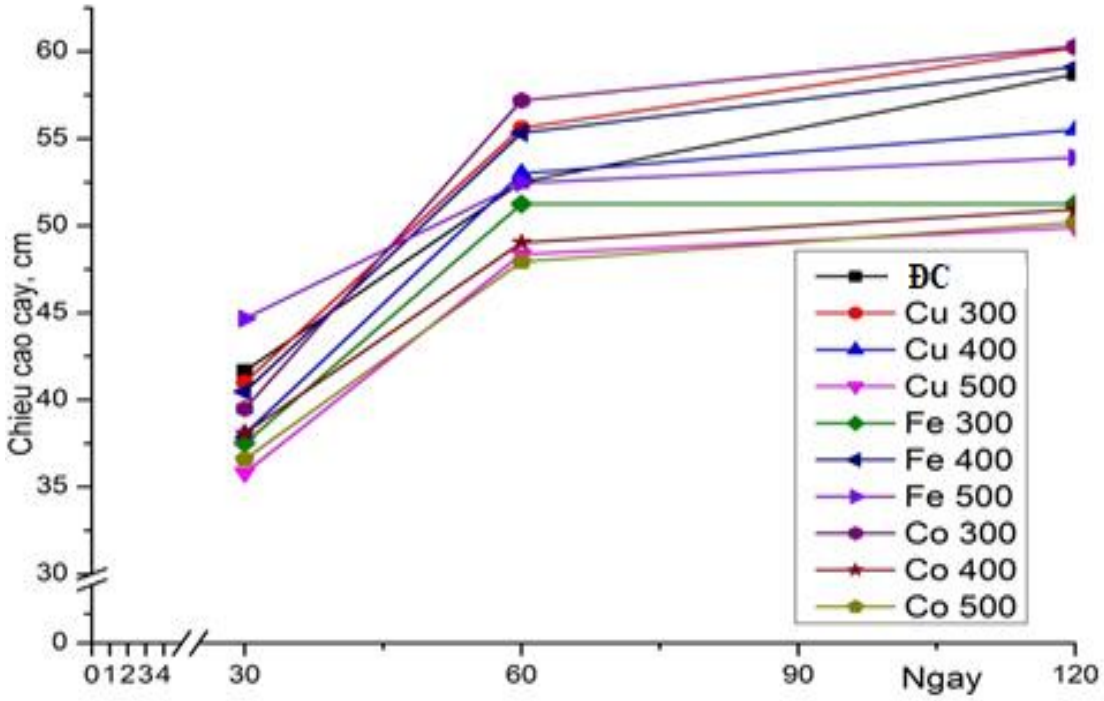
Sinh trưởng và phát triển là hai quá trình liên tiếp nhau của quá trình trao đổi chất. Sự biến đổi về số lượng ở rễ, thân, lá dẫn đến sự thay đổi về chất lượng ở hoa, quả, hạt và củ. Khả năng sinh trưởng tốt hay xấu phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: mùa vụ, điều kiện thời tiết, biện pháp kỹ thuật, giống... Thời gian sinh trưởng của gừng được tính từ khi trồng cho đến khi thu hoạch (từ tháng 04 đến tháng 10).

Thời kỳ đẻ nhánh là giai đoạn đầu tiên của chu trình sinh trưởng của cây gừng. Thời kỳ này được tính từ khi trồng đến khi lá nhô lên khỏi mặt đất. Đây là giai đoạn phân giải và tiêu hao năng lượng vật chất trong củ giống cung cấp cho quá trình đẻ nhánh của cây. Quá trình này phụ thuộc vào rất nhiều các yếu tố: nhiệt độ, ẩm độ, giống, biện pháp kỹ thuật...

a. Đánh giá ảnh hưởng của nano kim loại đến chiều cao cây gừng trâu

Tại thời điểm 30 ngày đầu tiên sau khi nảy mầm, chỉ có nhóm gừng được xử lý bằng nano Fe^0 với hàm lượng 500 mg/ha có chiều cao lớn hơn so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, vào ngày thứ 60 sau khi nảy mầm, tác dụng của các nano kim loại đến chiều cao trung bình của cây gừng đã cho thấy rõ rệt hơn khi nhóm được xử lý bằng nano Cu^0 hàm lượng 300 mg/ha, 400 mg/ha; nano Fe^0 hàm lượng 400 mg/ha và nano Co^0 hàm lượng 300 mg/ha có chiều cao cây vượt lên so với nhóm đối chứng (52,5±11,3), lần lượt là 55,6±9,6 cm, 53,0±9,0 cm, 55,3±14,2 cm và 57,2±8,9 cm.

Vào ngày thứ 120 sau khi nảy mầm, chiều cao trung bình của cây gừng ở các nhóm xử lý gừng giống bằng nano Cu^0 hàm lượng 300 mg/ha, Fe^0 400 mg/ha và Co^0 300 mg/ha vượt trội hơn so với nhóm đối chứng (58,7±10,3), lần lượt là 60,2±10,4 cm, 59,1±13,8 cm và 60,3±10,3 cm.



Hình 3.47. Chiều cao trung bình của cây gừng trâu theo thời gian sau khi nảy mầm với củ gừng giống được xử lý bằng các nano kim loại với các hàm lượng khác nhau

b. Đánh giá ảnh hưởng của nano kim loại đến khả năng đẻ nhánh

Bảng 3.16. Số nhánh trung bình của cây gừng trâu theo thời gian sau khi xử lý củ giống bằng các nano kim loại với các hàm lượng khác nhau

STT	Nano kim loại	Hàm lượng kim loại xử lý cho 1 ha (mg)	Số nhánh trung bình của cây gừng trâu		
			30 ngày	60 ngày	120 ngày
1	Cu^0	300	1.3±0.5	3.8±1.1	7.0±2.5
		400	1.5±0.6	4.0±0.8	6.6±2.5
		500	1.5±0.6	**4.6±1.2**	6.6±1.8
2	Fe^0	300	1.2±0.5	3.3±0.8	5.8±1.8
		400	1.3±0.4	3.7±1.0	6.7±2.3
		500	1.2±0.4	4.1±0.9	7.5±1.7
3	Co^0	300	1.3±0.5	4.1±1.4	**8.3±3.3**
		400	1.5±0.6	3.9±1.3	7.7±2.1
		500	1.5±0.5	4.2±1.3	6.4±2.2
4	ĐC		1.3±0.4	3.6±1.4	5.2±1.8

Cũng tương tự như chiều cao trung bình của cây gừng, vào ngày thứ 30 sau khi gieo trồng, cây gừng ở các nhóm không cho thấy sự khác biệt về số nhánh trung bình so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, ở các ngày theo dõi tiếp theo (sau 60 và 120 ngày sau khi nảy mầm), số nhánh cây gừng trung bình ở hầu hết các nhóm đều cho thấy nhiều hơn so với nhóm đối chứng không sử dụng nano kim loại để xử lý củ gừng giống trước khi gieo trồng (bảng 3.15).

c. Đánh giá ảnh hưởng của các nano kim loại đến chiều dài và chiều rộng của lá cây gừng

Sự tăng trưởng chiều dài và chiều rộng của lá gừng là một trong các yếu tố tạo điều kiện cho năng suất cao. Trên cơ sở đó tiến hành thống kê số cây sống, đo chiều dài và chiều rộng của phiến lá cho các công thức vào thời kỳ trồng sau 8 tháng. Vì lúc này gừng sinh trưởng và phát triển tương đối hoàn thiện, khả năng đẻ nhánh và khả năng sinh trưởng của lá đạt mức độ tối đa cho nên đo chiều dài và rộng của lá để tính trung bình là thời gian thích hợp nhất. Kết quả này là cơ sở để dự đoán năng suất trồng gừng khi chưa thu hoạch.

Các kết quả cho thấy việc xử lý củ giống bằng nano kim loại Fe^0 và Co^0 khiến lá gừng to hơn khoảng 10%, công thức Fe^0 400mg/ha và công thức Co^0 400mg/ha cho lá có kích thước lớn nhất so với đối chứng

Bảng 3.17. Chiều dài và chiều rộng lá của cây gừng sau 8 tháng gieo trồng

STT	Công thức	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)
1	Cu 300	14,63	1,89
2	Cu 400	14,27	1,81
3	Cu 500	14,37	1,91
4	Fe 300	16,03	1,96
5	Fe 400	**16,27**	**2,00**
6	Fe 500	15,34	1,97
7	Co 300	16,12	2,01
8	Co 400	**16,38**	**1,99**
9	Co 500	14,61	1,98
10	ĐC	14,29	1,84

3.3.2.2. Đánh giá ảnh hưởng của xử lý củ gừng giống bằng nano kim loại Fe^o, Cu^0, Co^o đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất gừng thu hoạch

a. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất gừng thu hoạch

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của xử lý củ gừng giống bằng các nano kim loại đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất gừng thu hoạch được thể hiện ở bảng 3.18. Kết quả thu được như sau:

Số nhánh củ/cây ở các nhóm thí nghiệm đều cao hơn nhóm đối chứng (ngoại trừ nhóm thí nghiệm sử dụng nano Fe^0 với hàm lượng 300 mg/ha để xử lý củ gừng giống). Trong đó, 3 nhóm có số nhánh củ/cây cao nhất là các nhóm có sử dụng nano Co^0 với hàm lượng 300 và 400 mg/ha với 7 nhánh củ/cây và nhóm Fe^0 500 mg/ha với 6 nhánh củ/cây.

Số nhánh củ/cây ở các nhóm thí nghiệm đều cao hơn nhóm đối chứng (ngoại trừ nhóm thí nghiệm sử dụng nano Fe^0 với hàm lượng 300 mg/ha để xử lý củ gừng giống). Trong đó, 3 nhóm có số nhánh củ/cây cao nhất là các nhóm có sử dụng nano Co^0 với hàm lượng 300 và 400 mg/ha với 7 nhánh củ/cây và nhóm Fe^0 500 mg/ha với 6 nhánh củ/cây.

Hai chỉ số đường kính củ tươi và chiều dài củ giữa các nhóm thí nghiệm là tương tự nhau, không có sự chênh lệch rõ rệt với đường kính củ tươi ở các nhóm dao động từ 3.6 – 4.3 cm và chiều dài dao động từ 21,4 – 25,1 cm.

Khối lượng củ tươi cân được ở 2 nhóm sử dụng nano Co^0 với hàm lượng 300 và 400 mg/ha gừng giống để xử lý củ gừng trước khi gieo trồng, đạt lần lượt là 604,1 và 565,3 g, bằng 1,6 và 1,5 lần tương ứng so với nhóm đối chứng (đạt 380,0 g). Trong khi đó, giá trị này ở nhóm còn lại có sử dụng nano Co^0 với hàm lượng 500 mg/ha lại cho giá trị thấp hơn so với nhóm đối chứng. Điều này chứng tỏ rằng Co^0 có tác dụng tích cực đối với năng suất cây gừng khi ở các hàm lượng thấp hơn. Ở các nhóm thí nghiệm sử dụng nano Fe^0, hàm lượng để xử lý gừng giống của kim loại này là 400 mg/ha, cho giá trị khối lượng củ tươi cao nhất trong 3 nhóm, bằng 1,4 lần so với nhóm đối chứng. Còn xử lý củ gừng giống ở hàm lượng nano Fe^0 là 500 mg/ha thì khối lượng củ gừng tươi thu được là 428,2 g bằng 1,1 lần so với nhóm đối chứng, còn với hàm lượng 300 mg/kg, khối lượng củ gừng tươi thu được đạt 340,7 g, thấp hơn so với nhóm đối chứng.

Tiếp theo, ở cả 3 nhóm có sử dụng nano Cu^0 với hàm lượng lần lượt là 300, 400 và 500 mg/ha gừng giống, khối lượng củ tươi đều cao hơn so với nhóm đối chứng, đạt các giá trị tương ứng lần lượt là 547,9; 450 và 514 g, bằng 1,4; 1,2 và 1,4 lần (tương ứng) so với nhóm đối chứng.

Tỷ lệ củ tươi/khô ở các nhóm có giá trị tương tự nhau, dao động từ 1,3 – 1,7, trong đó nhóm Fe^0 300 mg/ha có giá trị cao nhất đạt 1,7; tiếp theo là nhóm Co^0 500

mg/ha đạt 1,6. Các nhóm có tỷ lệ củ tươi/khô là 1,5 là các nhóm Cu^0 300 và 400 mg/ha và nhóm đối chứng.

Công thức tính năng suất lý thuyết (NSLT) và năng suất thực thu (NSTT) gừng như sau:

+ *Năng suất lý thuyết (tấn/ha):*

NSLT = Khối lượng củ/cây (g) × Mật độ (cây/ha)

+ *Năng suất thực thu (tấn/ha)*

$$\text{NSTT} = \frac{\text{Năng suất thực thu/sào}}{360\ \text{m}^2} \times 10.000$$

Đánh giá năng suất gừng thu hoạch cho thấy: Trong các nhóm xử lý bằng nano Cu^0, nhóm xử lý với hàm lượng 500 mg/ha cho năng suất cao nhất; đối với xử lý bởi nano Fe^0, nhóm cho năng suất cao nhất với hàm lượng 400 mg/ha; Xử lý bởi Co^0 hàm lượng 300 mg/ha cho năng suất cao nhất không chỉ trong nhóm này mà cao nhất khi so sánh tất cả các nhóm xử lý bởi nano kim loại khác nhau. Cụ thể:

Xử lý bằng nano Cu^0 hàm lượng 500 mg/ha cho năng suất cao vượt 14,2% so với đối chứng.

Gừng trâu xử lý bằng nano Fe^0 hàm lượng 400 mg/ha cho năng suất cao vượt 30,8% so với đối chứng

Xử lý bằng nano Co^0 hàm lượng 300 mg/ha cho năng suất cao nhất vượt 45,02% so với đối chứng .

Bảng 3.18. Ảnh hưởng của xử lý bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất

STT	Nano kim loại	Hàm lượng kim loại xử lý trên 1 ha (mg)	Số nhánh củ/cây	Đường kính củ tươi (cm)	Chiều dài củ (cm)	Khối lượng củ tươi (g)	Tỷ lệ củ tươi/khô	NSLT (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)
1	Cu^0	300	5	4,3	24,8	547,9	1,5	45,3	22.3
2		400	6	4,1	22,2	450,0	1,5	37,7	21.16
3		500	5	3,9	24,5	514,0	1,4	43,2	**24.1**
4	Fe^0	300	4	3,6	21,4	340,7	1,7	27,4	23.56
5		400	5	4,1	24,6	534,0	1,4	**44,9**	**27.6**
6		500	6	3,8	21,6	428,2	1,3	34,2	24.5
7	Co^0	300	7	3,9	25,1	604,1	1,3	**49,9**	**30.6**
8		400	7	3,8	24,7	565,3	1,3	47,2	27.76
9		500	5	3,8	21,7	350,3	1,6	28,7	23.8
10	ĐC	-	4	3,9	21,6	380,0	1,5	31,5	21.1

b. Chất lượng gừng thu hoạch

Củ gừng sau khi thu hoạch được xác định hàm lượng các hoạt chất 6-gingerol và 6-shogaol trong tinh dầu gừng và dư lượng các kim loại Fe^o, Cu^0, Co^o có trong củ gừng.

Kết quả xác định hàm lượng các hoạt chất 6-gingerol và 6-shogaol trong tinh dầu gừng được thể hiện ở bảng 3.19 như sau:

Hàm lượng 6-gingerol cao nhất thu được ở các nhóm lần lượt là Co^0 300mg/ha và 400 mg/ha, Fe^0 400 và 500 mg/ha. Ở các nhóm Cu^0 hàm lượng 6-gingerol tương đối đồng đều, dao động ở mức 3,41 – 3,53%, không có sự khác biệt với hàm lượng chất này so với nhóm đối chứng. Hàm lượng 6-shogaol cao nhất thu được từ mẫu gừng nhóm Fe^0 500 mg/ha, tiếp theo là Fe^0 400 mg/ha; Co^0 300 mg/ha. Hàm lượng hoạt chất này trong tinh dầu thu được từ các nhóm có sử dụng nano Cu^0 để xử lý củ gừng giống khá thấp, thấp hơn đến 1,7 – 3,8 lần so với nhóm đối chứng.

Bảng 3.19. Hàm lượng 6-gingerol và 6-shogaol có trong tinh dầu gừng

Nano kim loại	**Hàm lượng kim loại xử lý cho số gừng giống trên 1 ha (mg)**	**6-gingerol (%)**	**6-shogaol (%)**
Cu^0	300	3,41 ± 0,11	0,11±0,03
	400	3,45±0,13	0,09±0,01
	500	3,53±0,09	0,05±0,01
Fe^0	300	3,22±0,1	0,21±0,02
	400	5,24±0,25	0,41±0,03
	500	5,12±0,34	0,42±0,03
Co^0	300	6,01±0,29	0,40±0,01
	400	5,26±0,35	0,22±0,02
	500	4,19±0,26	0,15±0,01
Đối chứng	0	3,44±0,23	0,19±0,02

Để xác định hàm lượng tồn dư kim loại trong củ gừng sau thu hoạch. Ta phân tích ở các công thức với hàm lượng cao nhất là 500mg/ha. Kết quả thể hiện ở bảng 3.20 cho thấy: Hàm lượng Fe và Cu tồn dư trong củ gừng sau khi thu hoạch ở hai công thức xử lý với nano Cu^0 và Fe^0 đều thấp và thấp hơn so với đối chứng. Còn hàm

lượng Co ở cả hai mẫu đối chứng và có xử lý với nano Co^0 đều dưới ngưỡng phát hiện của phép đo. Điều đó cho thấy xử lý củ giống gừng bằng các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 với các hàm lượng rất nhỏ, tối đa là 500mg/ha hay 500mg hạt nano kim loại cho 3 tấn củ gừng giống không ảnh hưởng đến hàm lượng tồn dư kim loại trong củ gừng sau khi thu hoạch.

Bảng 3.20. Hàm lượng tồn dư kim loại (Cu^0, Fe^0, Co^0) trong củ gừng sau thu hoạch

Nano kim loại	**Hàm lượng kim loại xử lý cho số gừng giống trên 1 ha (mg)**	**Cu (mg/kg)**	**Fe (mg/kg)**	**Co (mg/kg)**
Cu^0	500	2,3	-	-
Fe^0	500	-	11,6	-
Co^0	500	-	-	< 1
Đối chứng	-	2,8	13,7	< 1

3.3.3. Kết quả đối với cây lúa mì, lúa mạch trong điều kiện khí hậu ôn đới

Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát ảnh hưởng của các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 đến sự sinh trưởng phát triển của cây lúa mì, lúa mạch ở vùng khí hậu ôn đới khi được xử lý hạt giống trước khi gieo trồng.

Thí nghiệm được tiến hành tại Viện Thực vật học Thực nghiệm thuộc Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia Belarus.

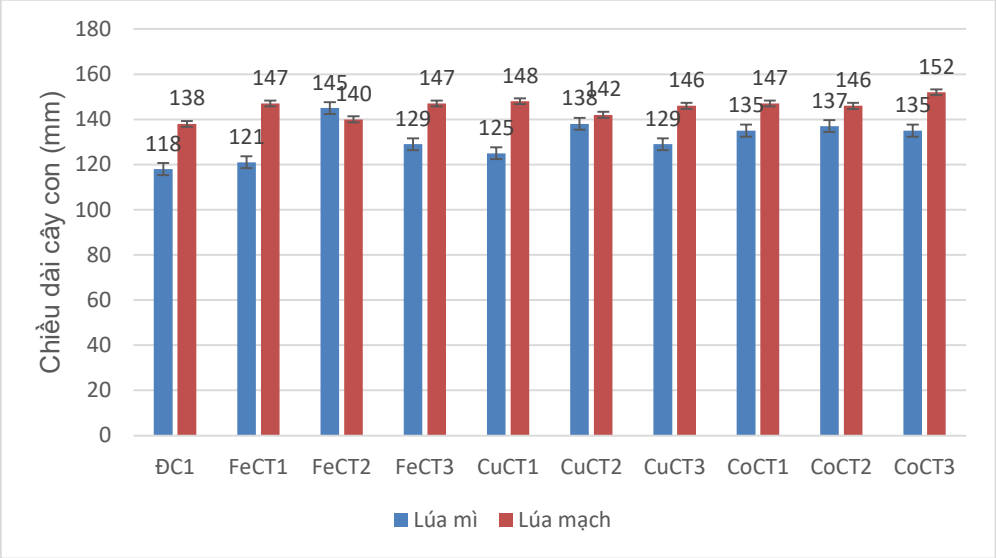
Để nghiên cứu hiệu quả của các hạt nano kim loại đến sinh trưởng của cây lúa mì, lúa mạch ta tiến hành hai thí nghiệm. Một là nghiên cứu sự nảy mầm và kiểm soát mầm bệnh được thử nghiệm trong phòng thí nghiệm. Thứ hai là nghiên cứu sự sinh trưởng phát triển của cây trồng bằng cách trồng cây trong vườn ươm.

3.3.3.1. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đối với sự phát triển của cây lúa mì, lúa mạch con

Xử lý hạt giống trước khi gieo trồng bằng các nano kim loại cho thấy sự thay đổi tích cực về các thông số hình thái trên cả lúa mì và lúa mạch. Đối với cây lúa mì chúng nhạy cảm hơn khi sử dụng các nano kim loại. Việc sử dụng các hạt nano kim loại Fe^o, Cu^0, Co^o để xử lý hạt giống trước khi gieo trồng đã làm tăng chiều dài của các bộ phận trên mặt đất của cây con ở mọi nồng độ (tăng từ 12 đến 22%), trong đó tốt nhất là công thức với nano Fe^0 ở nồng độ 0,4 mg/kg tăng 22%. Đối với cây lúa

mạch các hạt nano kim loại không tạo ra sự cải thiện đáng kể. Chiều cao của phần trên mặt đất tăng 6-9% so với mẫu đối chứng.

Đáng chú ý, các hạt nano Co^0 không gây ức chế đến sự phát triển của cây trồng. Dưới tác dụng của Co^0 (nồng độ từ 0,3 đến 0,5 mg/kg), lúa mì và lúa mạch cho thấy sự gia tăng chiều cao cây con lần lượt là 12-14% và 6-9%.



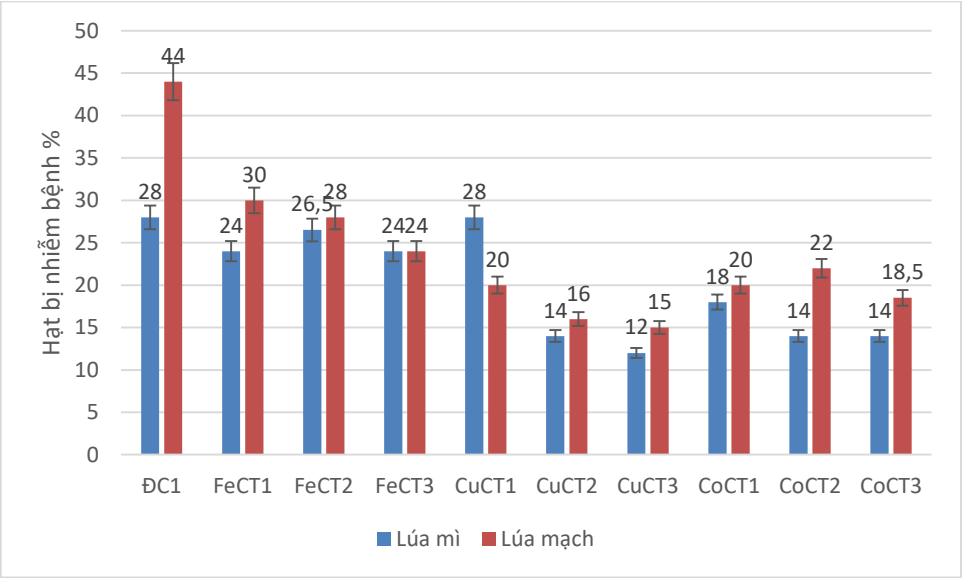
Hình 3.48. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến sự phát triển chiều dài của cây con

3.3.3.2. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến đặc tính kháng nấm của hạt giống lúa mì, lúa mạch

Nghiên cứu về đặc tính kháng nấm của các hạt nano kim loại đối với sự phát triển của nấm gây bệnh sợi nấm (Fusarium sp, Helminthosporium teres, Alternaria sp) gây thối rễ, đốm lá và bệnh xì, mủ.

Nấm Helminthosporium teres cho thấy độ nhạy cao với các nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0. Nấm Fusarium sp có khả năng chống lại các hạt nano kim loại. Hiệu quả ức chế nấm tối đa được chứng minh đối với nấm Helminthosporium teres được nuôi cấy trên môi trường có hạt nano Co^0. Ở điều kiện này đường kính của khuẩn giảm từ 36-53%. Các kim loại khác là Fe^0 và Co^0 cũng ức chế sự phát triển của nấm nhưng không quá 36%. Đối với nấm Alternaria sp các hạt nano công thức CoCT2 và CoCT3 và CuCT3 làm chậm sự phát triển của nấm bệnh từ 27-33% so với đối chứng. Tỉ lệ nhiễm bệnh khi không được xử lý đối với lúa mạch là 44% và lúa mì là 28%.

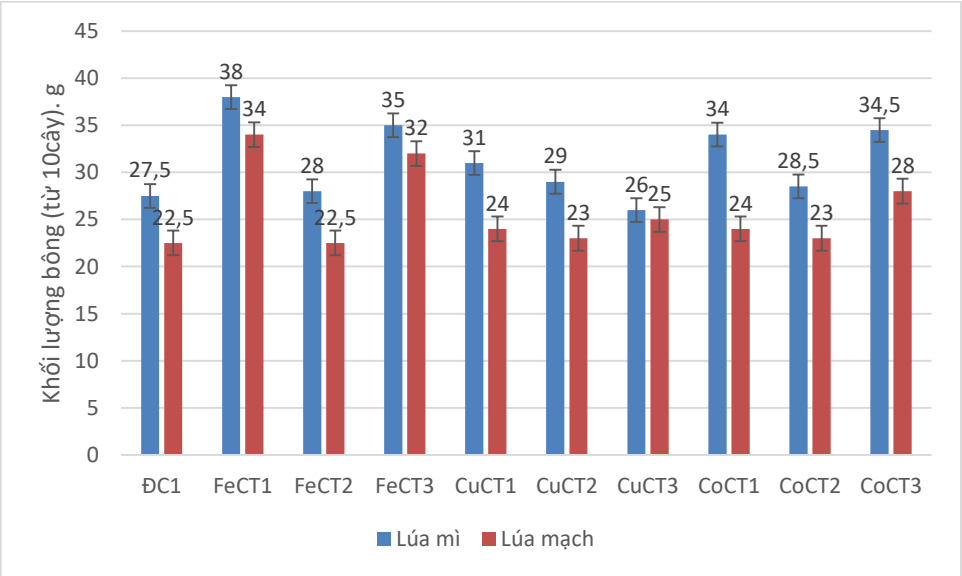
Đối với cây lúa mì, xử lý hạt giống trước khi gieo trồng bằng các hạt nano kim loại ở nồng độ trung bình và cao giúp giảm độ nhiễm bệnh từ 1,75 – 2 lần. Đối với cây lúa mạch số hạt nhiễm bệnh giảm 1,8 – 3,6 lần ở mọi điều kiện thí nghiệm. Các hạt nano Fe^0 không có tác động đáng kể đến sự lây nhiễm của hạt giống.



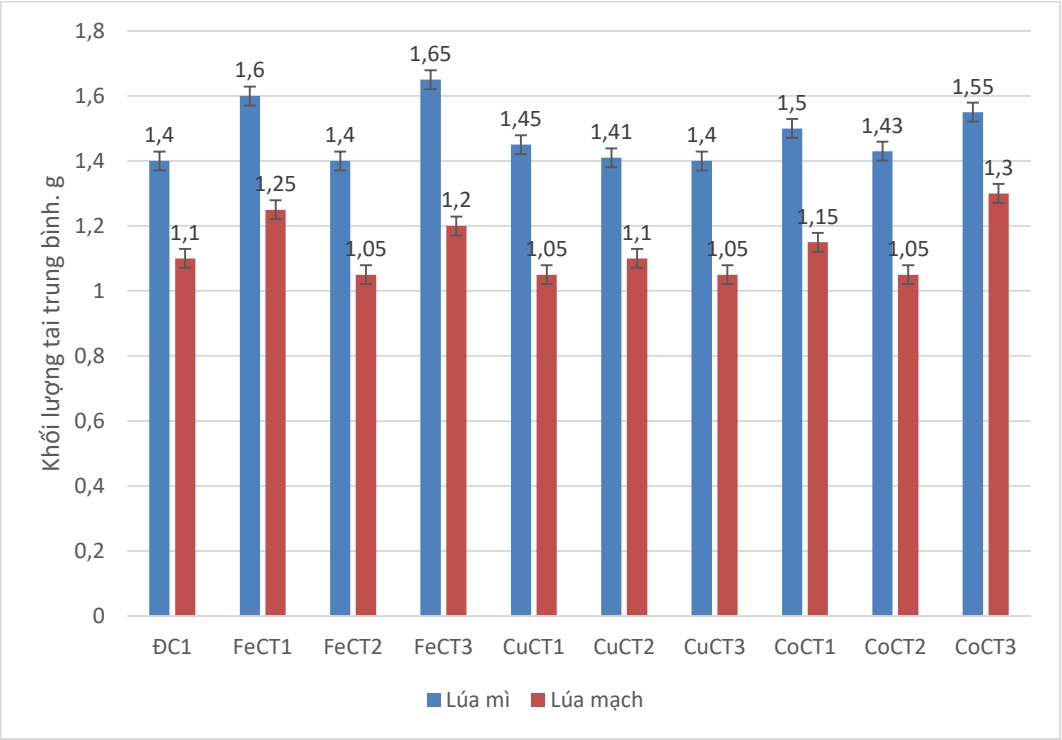
Hình 3.49. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến sự phát triển của sợi nấm thực vật

3.3.3.3. Ảnh hưởng của việc xử lý hạt giống trước khi gieo trồng đối với năng suất và các chỉ số về cấu trúc cây trồng

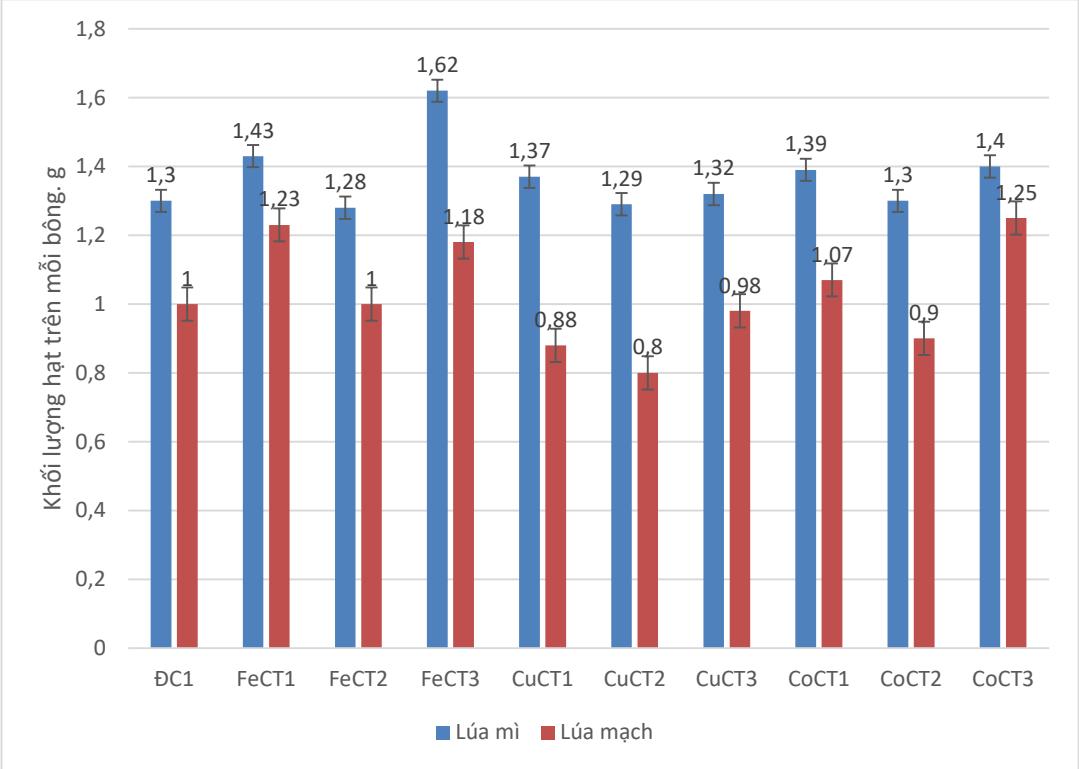
Để tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của việc xử lý hạt giống bằng các hạt nano kim loại đối với năng suất cây trồng. Ta tiến hành đánh giá các chỉ số về cấu trúc cây trồng đối với các cây lúa mì, lúa mạch được trồng trong vườn ươm. Với các công thức thí nghiệm như trên bảng 2.3. Tuy nhiên với các công thức CuCT1, FeCT1, CoCT1 ta khảo sát hàm lượng 0,25mg/kg thay cho 0,3mg/kg. Các kết quả thu được thể hiện ở hình 3.50.



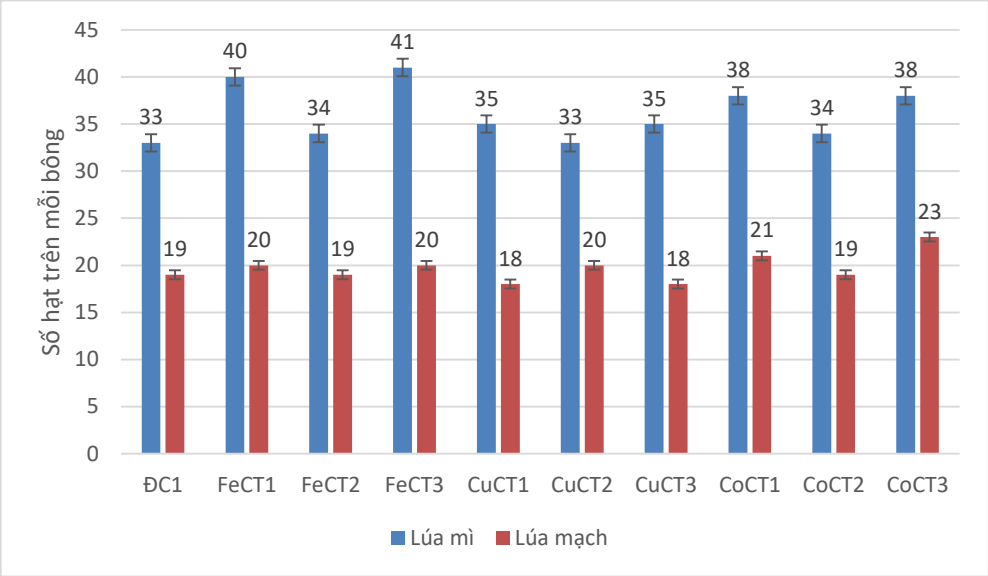
(a): Khối lượng bông trên 10 cây



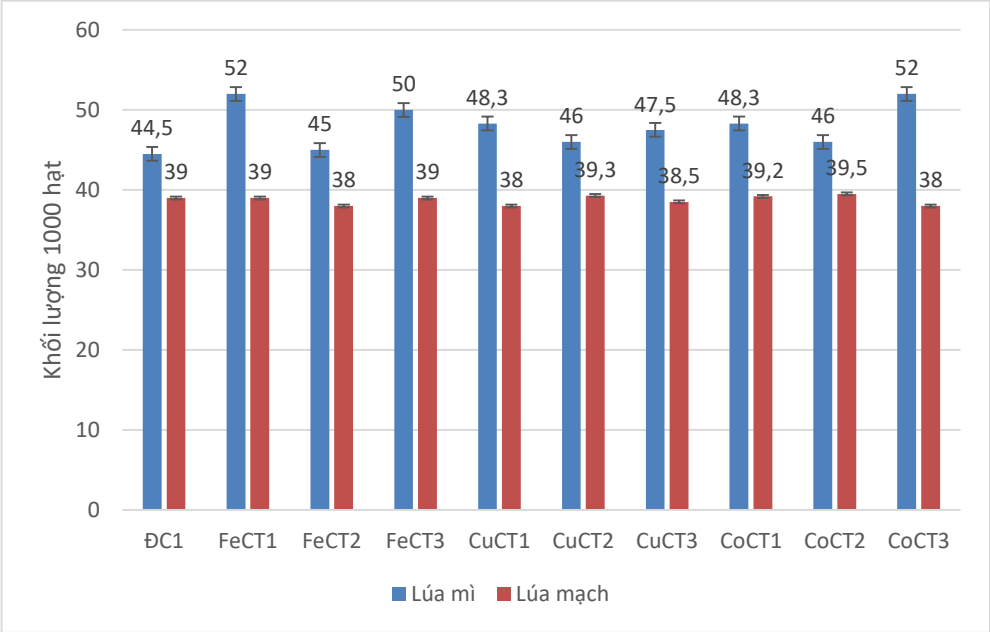
(b): Trọng lượng tai trung bình



(c): Khối lượng hạt trên mỗi bông



(d): Số hạt trên mỗi bông



(e): Khối lượng 1000 hạt

Hình 3.50. Ảnh hưởng của các hạt nano kim loại đến các chỉ tiêu cơ cấu cây trồng

(a): Khối lượng bông trên 10 cây (d): Số hạt trên mỗi bông

(b): Trọng lượng tai trung bình (e): Khối lượng 1000 hạt

(c): Khối lượng hạt trên mỗi bông

Kết quả của các nghiên cứu về mức độ ảnh hưởng của việc xử lý hạt giống trước khi gieo trồng đối với năng suất cây trồng được đo lường về chiều dài thân cây, số lượng thân cây cho năng suất, không năng suất và khối lượng rơm rạ. Các nghiên cứu cho thấy rằng chiều dài thân của cây lúa mì chỉ bị ảnh hưởng khi xử lý bởi các hạt nano sắt ở nồng độ 0,50 mg/kg hạt giống. Ở nhóm thí nghiệm này, chiều cao cây

tăng 5 cm so với mẫu đối chứng. Trong các điều kiện khác, các chênh lệch với các giá trị của nhóm đối chứng là không đáng kể. Nghiên cứu cũng ghi nhận rằng các hạt nano Fe^0 đã làm tăng số lượng thân cây cho năng suất ở cây lúa mì lên 1,3 lần. Ngược lại, khối lượng rơm ở lúa mạch tăng đáng kể. Tuy nhiên, chỉ có các hạt nano Fe^0 và Co^0 (ở cả 2 nồng độ 0,25 và 0,5 mg/kg) đã làm tăng khối lượng rơm. Ngược lại, các mẫu được xử lý bằng hạt nano Cu^0 không cải thiện trọng lượng rơm so với các cây không được xử lý.

Kết quả thí nghiệm cho thấy khối lượng các bông lúa từ 10 cây tăng lên từ 1,2–1,4 lần. Việc xử lý hạt lúa mì bằng nano Cu^0 ở nồng độ cao (công thức CuCT3) cho thấy không có sự khác biệt so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, sự gia tăng khối lượng bông lúa từ 10 cây lúa mì khi sử dụng hạt nano Cu^0 ở nồng độ 0,25 mg/kg hạt chỉ là do sự gia tăng số lượng thân cây cho năng suất. Ngoài ra, sự gia tăng khối lượng của bông lúa đã được phát hiện trong các nhóm xử lý khác. Ví dụ, với hạt nano Co^0 và Fe^0, khối lượng hạt thóc trên mỗi bông lúa tăng lên bằng cách tăng số lượng hạt trong bông. Khi so sánh, trọng lượng của 1000 hạt thực tế không thay đổi ở tất cả các nhóm và không khác biệt đáng kể so với đối chứng. Cuối cùng, ghi nhận rằng việc xử lý hạt lúa mạch giống trước khi gieo trồng bằng các hạt nano Fe^0 và Co^0 ở nồng độ 0,50 mg/kg hạt giống đã góp phần làm tăng trọng lượng bông lúa từ 10 cây lên 1,2–1,5 lần. Sự gia tăng không phải do số lượng hạt trong bông lúa, mà là do tăng kích thước hạt.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

*** Kết luận**

Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu của luận án, có thể rút ra một số kết luận như sau:

1. Bằng phương pháp khử bởi hydro mới sinh đã chế tạo thành công và khảo sát được các đặc tính hóa - lý của vật liệu nano Fe^0, Cu^0, Co^0. Trong đó:

- Chế tạo được nano Fe^0 từ Fe_2O_3 ở nhiệt độ phản ứng khử 400^{o}C, thời gian phản ứng là 90 phút, kích thước hạt trung bình 58,76nm, độ tinh khiết 99,67%.

- Chế tạo được nano Cu^0 từ CuO ở nhiệt độ phản ứng khử 400^{o}C, thời gian phản ứng là 60 phút, kích thước hạt trung bình 58,94nm, độ tinh khiết 99,60%.

- Chế tạo được nano Co^0 từ Co_3O_4 ở nhiệt độ phản ứng khử 500^{o}C, thời gian phản ứng là 60 phút, kích thước hạt trung bình 71,75nm, độ tinh khiết 99,71%.

2. Đã khảo sát được ảnh hưởng của hàm lượng các nano kim loại và thời gian siêu âm đến thế zeta của dung dịch xử lý hạt giống và đưa ra quy trình phù hợp xử lý mỗi loại giống khác nhau. Cụ thể:

- Dung dịch huyền phù nano Fe^0: Thời gian rung siêu âm thích hợp cho từng nồng độ 3mg/l, 4mg/l, 5mg/l lần lượt là 20, 10, 20 phút.

- Dung dịch huyền phù nano Cu^0: Thời gian rung siêu âm thích hợp cho từng nồng độ 3mg/l, 4mg/l, 5mg/l là 20 phút.

- Dung dịch huyền phù nano Co^0: Thời gian rung siêu âm thích hợp cho từng nồng độ 3mg/l, 4mg/l, 5mg/l lần lượt là 20, 30, 30 phút.

3. Đã nghiên cứu và đánh giá được khả năng kích thích sinh trưởng trong giai đoạn nẩy mầm, phát triển thân, rễ, lá, tăng năng suất của cây ngô, gừng, lúa mì và lúa mạch sau khi xử lý bởi các hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0. Cụ thể như sau:

+ Đối với cây ngô:

- Hạt giống được xử lý bằng hạt nano kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 giúp cây ngô mọc nhanh và đều hơn so với đối chứng, khả năng chống hạn của cây ngô tốt hơn.

- Làm rõ được cơ chế tác động của nano kim loại đối với sự sinh trưởng phát triển và khả năng chịu hạn của cây ngô, đặc biệt là khi xử lý bằng nano Cu^0. Xử lý hạt giống bằng nano Cu^0 nồng độ 4 mg/l cho năng suất cao nhất (đạt 74,66 tạ/ha), vượt so với đối chứng (61,69 tạ/ha) là 21,02 %.

- Vấn đề về chất lượng sản phẩm sau thu hoạch được đánh giá thông qua hàm lượng tinh bột ở ngô thành phẩm. Kết quả đối với hàm lượng tinh bột trong ngô cho thấy: Hàm lượng tinh bột ở công thức xử lý với nano Co^0, Fe^0 đều cao hơn so với đối

chứng. Nano Cu^0 mặc dù hàm lượng tinh bột trong ngô thành phẩm không cao hơn so với đối chứng nhưng bù lại năng suất lại tăng vượt đối chứng.

- Các vấn đề về môi trường và an toàn thực phẩm được đánh giá thông qua hàm lượng tồn dư kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 trong ngô thành phẩm.Kết quả cho thấy quá trình xử lý hạt giống không làm thay đổi nhiều hàm lượng kim loại trong ngô thành phẩm, thậm chí còn giảm so với đối chứng hoặc dưới ngưỡng phát hiện của phép đo. Nồng độ kim loại trong tất cả các mẫu ngô đều thấp hơn nhiều giới hạn cho phép của Tổ chức Y tế Thế giới WHO.

+ Đối với cây gừng:

Đối với củ giống được xử lý bằng hạt nano kim loại ta thấy cây gừng ở nhóm được xử lý bằng nano Fe^0 ra lá sớm hơn từ 3-4 ngày, đẻ nhánh sớm hơn 1-2 ngày so với đối chứng; xử lý bằng nano Co^0 ra lá sớm hơn từ 2-3 ngày, đẻ nhánh sớm hơn 1-2 ngày so với đối chứng. Đặc biệt, xử lý bằng nano Fe^0 rút ngắn được thời gian thu hoạch khoảng 5 ngày. Đánh giá năng suất gừng thu hoạch cho thấy:

- Xử lý bằng nano Cu^0 hàm lượng 500 mg/ha cho năng suất cao vượt 14,2% so với đối chứng.

- Gừng trâu xử lý bằng nano Fe^0 hàm lượng 400 mg/ha cho năng suất cao vượt 30,8% so với đối chứng

- Xử lý bằng nano Co^0 hàm lượng 300 mg/ha cho năng suất cao nhất vượt 45,02% so với đối chứng.

- Hàm lượng tồn dư kim loại Fe^0, Cu^0, Co^0 trong gừng sau thu hoạch cho thấy hàm lượng nano Fe^0, Cu^0 đều thấp và thấp hơn so với đối chứng. Còn hàm lượng nano Co^0 dưới ngưỡng phát hiện của phép đo.

- Vấn đề về chất lượng sản phẩm sau thu hoạch được đánh giá thông qua hàm lượng 6-gingerol và 6-shogaol có trong tinh dầu gừng. Kết quả cho thấy nhóm kết quả có sử dụng nano Cu^0 để xử lý củ giống gừng cho hàm lượng lượng 6-gingerol và 6-shogaol có trong tinh dầu gừng khá thấp, thấp hơn đến 1,7- 3,8 lần so với đối chứng. Còn nano Fe^0, Co^0 cho kết quả cao hơn so với đối chứng.

+ Đối với cây lúa mì, lúa mạch:

Phân tích cấu trúc cây trồng cho thấy rằng quá trình xử lý bằng hạt nano có tác dụng đáng kể đối với thân và hạt. Sự cải thiện đáng kể nhất là đối với hạt nano kim loại Fe^0 và Co^0. Các hạt nano kim loại này đã làm tăng khối lượng trung bình của thân cây lên 20-60%, khối lượng tai tăng lên 20-50%. Xử lý hạt giống bằng nano Co^0 hàm lượng 0,5mg/kg cho kết quả tốt nhất.

4. Thông qua kết quả khảo nghiệm với các đối tượng cây trồng khác nhau, ở các điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng khác nhau cho thấy: Mỗi loại cây trồng dù ở điều kiện khí

hậu, thổ nhưỡng nào cũng có thể gây ra tác động kích thích sinh trưởng phát triển bởi các nano kim loại sau khi xử lý hạt giống. Tuy nhiên mỗi loại hạt nano kim loại chỉ có thể có tác dụng tích cực với mỗi loại cây trồng nhất định, ở một hàm lượng nhất định.

*** Kiến nghị**

Đối với mỗi một loại hạt nano kim loại ứng với các nồng độ khác nhau có thể có tác động tích cực đến đối tượng cây trồng này nhưng lại là độc tính đối với đối tượng cây trồng khác. Do vậy cần mở rộng nghiên cứu thêm ứng dụng của các hạt nano kim loại với các nồng độ tương ứng khác đến các đối tượng cây trồng khác để định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyen Thi Thanh Huyen, Nguyen Hong Nhung, Le Thanh, Pham Duy Khanh, Tran Dai Lam and Hoang Anh Son, 2018, *Preparation and characterization of zerovalent iron nanoparticles*, Vietnam Journal of Chemistry, 56(2), 226-230.
2. Huyen Nguyen Thi Thanh, Son Hoang Anh, Nhung Hong Nguyen, Chi Que Tran, Dong Nguyen Van, Quy Vu Ngoc, 2018, *Research on the impact of nano metals particle in growth development and yield of maize*/ The 9th International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology (IWAMSN2018), 8-12 November, Ninh Binh City, Vietnam.
3. Nguyễn Thị Thanh Huyền, Nguyễn Hồng Nhung, Phạm Duy Khánh, Trần Quế Chi, Trần Thị Thanh Thảo, Hoàng Anh Sơn, 2019, *Chế tạo và nghiên cứu đặc trưng tính chất của hạt nano coban hóa trị không*. Tạp chí Hóa học, 57(4e1,2) 264-268.
4. Son Hoang Anh, Nhung Nguyen Hong, Chi Tran Que, Yen Hoang Quach Thi, Toan Nguyen Thi, Huong Tran Thi, Chan Do The, Sơn Le Phuc, Trung Nguyen Quoc, Son Vu Hong, Huyen Nguyen Thi Thanh and Chi Phan, 2016, *Preparation and study physicochemical characterization of zero – valent iron, copper and cobalt nanoparticles*. Proceedings The 8th International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology, 405-415.
5. Son A. Hoang, Hanh H. Cong, Shukanov V. P., Karytsko L. A., Poljanskaja S. N., Melnikava E. V., Mashkin I. A., Huyen T. Nguyen, Khanh D. Pham and Chi M. Phan, 2022, *Evaluation of metal nano-particles as growth promoters and fungi inhibitors for cereal crops*/ Chem. Biol. Technol. Agric. 9:12 https://doi.org/10.1186/s40538-021-00277-w
6. Hoàng Anh Sơn, Công Hồng Hạnh, Nguyễn Thị Thanh Huyền, Phạm Duy Khánh. Bằng độc quyền sáng chế số 31198 của Cục sở hữu trí tuệ thuộc Bộ Khoa học và Công nghệ, 2022, *Phương pháp xử lý củ gừng giống(zingiber officinale) bằng dung dịch nano kim loại coban hóa trị không (Co^0) để tăng năng suất thu hoạch*.
7. Hoàng Anh Sơn, Trần Quế Chi, Nguyễn Quốc Trung, Quách Thị Hoàng Yến, Nguyễn Thị Thanh Huyền, Đàm Văn Phú, Lê Trọng Hính, Vũ Ngọc Quý, 2017, *Ứng dụng hạt nano kim loại để xử lý hạt giống nhằm kích thích sinh trưởng và tăng năng suất thu hoạch của cây ngô*. Tạp chí Hóa học 55(3e12), 204-209, ISSN: 0866-7144.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Huanhuan Guo, Yong Liu, Jidai Chen, Yan Zhu, and Zihan Zhang, 2022, The Effects of Several Metal Nanoparticles on Seed Germination and Seedling Growth: A Meta-Analysis, *Coatings*, (12), 183, https://doi.org/10.3390/coatings12020183.
2. Wang Y., Deng C., Rawat S., Cota-Ruiz K., Medina-Velo I., Gardea-Torresdey JL., 2021, Evaluation of the effects of nanomaterials on rice (Oryza sativa L) responses: underlining the benefits of nanotechnology for agricultural applications. *ACS Agric Sci Technol*, (1), 44–54, https://doi.org/10.1021/acsagscitech.1c00030.
3. Глущенко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П, 2006, Сравнительная токсичность солей и наночастиц металлов и особенность их биологического действия, *материалы Международной научно-практической конференции «Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века»* – Москва. - С. 93 – 95.
4. Cao Minh Thi, Nguyễn Việt Long, Phạm Văn Việt, 2012, *Nano kim loại và oxit kim loại*, Nhà xuất bản Khoa học và Kĩ thuật.
5. Ivanova V.S., Oksogov A.A., 2002, *Nelineinaya dinamika deformiruemykh fraktallnyk structur i adaptationykh systemakh*. Ulan-Ude, S. 68-78.
6. Cao Minh Thi, Phạm Văn Việt, 2015, *Khoa học và ứng dụng công nghệ nano*. Nhà xuất bản Khoa học và Kĩ thuật.
7. Nguyễn Hoàng Hải, *Các hạt nano kim loại,* 2007, Trung tâm Khoa học Vật liệu, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.
8. Taeghwan Hyeon, Chemical, 2003, *Synthesis of magnetic nanoparticles, Chem*. Commun 927-934.
9. Nosang V.Myung., D.Y. Park., B.Y. Yoo., Paulo T.A., 2003, Sumodjo, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 265, pp 189-198.
10. Yundan Yua, b, Zhenlun Songa, n, Hongliang Geb, Guoying Weib, 2014, *Materials International* (24), 232–238.
11. Baikov A.A., Izbrannye trudy. M., 1961, *Metallurgizdat*, 239 s.
12. Pavlov G.V., Folmanis G.E., 1999, *Bioactivenost ultradispersnykh poroshkov*, Monographya, M, Issledovatelsky center problem kachestva podgotovky spesialistov, 78s.
13. Trần Quế Chi, Vũ Hồng Sơn, Lê Phúc Sơn, Nguyễn Quốc Trung, Đỗ Thế Chân, Trần Thị Hương, Quách Thị Hoàng Yến, Nguyễn Thị Toàn, Nguyễn Hồng Nhung, Bùi Quốc Nam, Hoàng Anh Sơn, 2014, Nghiên cứu chế tạo tinh thể

nano kim loại đồng sử dụng phương pháp khử đồng oxit bằng hydro nhằm ứng dụng trong nông nghiệp. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. Số (52), 682-687.

14. O.N.Severdiev., 2009, *Uchevnoie posovye: Nanotekhnology i nanomaterial*, Moskva izdatelstvo MGOU.
15. Elena Masarovicova, Katarina Kralova, 2013, Metal nanoparticles and plants, *Ecol Chem Eng S*, 20(1), 9-22, DOI: 10.2478/eces-2013-0001 https://www.researchgate.net/publication/303886923.
16. Sri Renukadevi Balusamy, Abhayraj S. Joshi., Haribalan Perumalsamy, Ivan Mijakovic, Priyanka Singh, 2023, Advancing sustainable agriculture: a critical review of smart and eco-friendly nanomaterial applications, *Journal of Nanobiotechnology*, https://doi.org/10.1186/s12951-023-02135-3.
17. Vanesa Sant´as-Miguel, Manuel Arias-Est´evez, Andr´es Rodríguez-Seijoa, Daniel Arenas-Lagoa, 2023, Use of metal nanoparticles in agriculture. A review on the effects on plant germination, *Environmental Pollution,* (334), journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol.
18. Manzoor R. Khan., Zaki A. Siddiqui., Xiangling Fang, 2022, Potential of metal and metal oxide nanoparticles in plant disease diagnostics and management: Recent advances and challenges. *Chemosphere*. Volume 297, 134114. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere, 134114.
19. Моргалёв Ю.Н., Хоч Н.С., Моргалёва Т.Г. и др., 2010, Биотестирование наноматериалов: о возможности транслокации наночастиц в пищевые сети, *Российские нанотехнологии*, 5 (11–12), 131–135.
20. Маслоброд С.Н., Миргород Ю.А., Бородина В.Г., Борщ Н.А., 2014, Влияние водных дисперсных систем с наночастицами серебра и меди на прорастание семян, *Электронная обработка материалов*, 50(4), 103112.
21. Olga Panyuta, 2016, The Effect of Pre-sowing Seed Treatment with Metal Nanoparticles on the Formation of the Defensive Reaction of Wheat Seedlings Infected with the Eyespot Causal Agent, *Nanoscale Research Letters*, 11:92 DOI 10.1186/s11671-016-1305-0.
22. Lee.W., An.Y., Yoon.H., Kweon.H., 2008, Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (Phaseolus radiatus) and wheat (Triticum aestivum): Plant uptake for water insoluble nanoparticles, *Environ Toxicol Chem*, (27), 1915–1921.
23. Зорин Е.В., 2009, *Особенности влияния предпосадочной обработки клубней картофеля ультрадисперсными порошками и солями железа и меди на их урожайные свойства*, Автореф, дис, канд, с,-х, н, М, 21 с.

24. Сушилина М.М., 2003, *Влияние предпосевной обработки семян ультрадисперсными порошками металлов на урожайность зеленой массы рапса и содержание в ней биологически активных веществ*. Автореф, дис, канд, с,-х, н, М, 21 с.
25. Паничкин Л.А., Райкова А.П., 2009, Использование нанопорошков металлов для предпосевной обработки семян с,-х, культур, *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*, (1), 59–65.
26. Bighneswar Baliyarsingh, Chandan Kumar Pradhan, 2023, *Prospects of plant-derived metallic nanopesticides against storage pests*, Department of Biotechnology, Odisha University of Technology and Research, Ghatikia, Bhubaneswar, 751029, Odisha, India, https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100687.
27. G. Benelli., 2018, Mode of action of nanoparticles against insects, *Environ, Sci, Pollut, Res*, (25), 12329–12341, https://doi.org/10.1007/s11356-018-1850-4.
28. B.D. Lade., D.P. Gogle., 2019, *Nano-biopesticides: synthesis and applications in plant safety, in: K. Abd-Elsalam, R. Prasad (Eds)*, Nanobiotechnology Appl. Plant Prot. Nanotechnol. Life Sci., Springer, pp. 169–189, https://doi.org/ 10.1007/978-3-030-13296-5-9.
29. S.Ali., Osama.M., Darwesh, Michael Kornaros, Rania Al,Tohamy, Alessandr o Manni, Abd El-Raheem.R,. El-Shanshoury , Metwally .A., Metwally, Tamer Elsamahy, Jianzhong Sun, 2021, *Chapter 27 - Nano-biofertilizers: Synthesis, advantages, and applications. Biofertilizers. Volume 1: Advances in Bio-Inoculants*, Pages 359-370.
30. Narasimhamurthy Konappa, Soumya Krishnamurthy, Udayashankar C, Arakere, Srinivas Chowdappa, Roshan Akbarbasha, Niranjana Siddapura Ramachandrappa, 2021, *A Smart Delivery System for Crop Improvement.* Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Pages 281-330.
31. Yruela, I., 2009, *Copper in plants: acquisition, transport and interactions*, Funct, Plant Biol, (36), 409–430. https://doi.org/10.1071/FP08288.
32. V´azquez-Blanco.R., Gonz´alez-Feijoo.R., Campillo-Cora.C., Fern´andez-Calvino.D., Arenas-Lago.D., 2023, Risk assessment and limiting soil factors for vine production Cu and Zn contents in vineyard soils in Galicia (rías baixas D.O.), *Agronomy* 13 (2), 309. https://doi.org/10.3390/agronomy13020309.
33. L´opez-Vargas.E.R., Ortega-Ortíz.H., Cadenas-Pliego.G., De Alba Romenus.K., Cabrera de la Fuente.M., Benavides-Mendoza.A., Ju´arez-Maldonado.A., 2018, Foliar Application of Copper Nanoparticles Increases

the Fruit Quality and the Content of Bioactive Compounds in Tomatoes. *Appl. Sci*, (8), 1020. https://doi.org/10.3390/a pp8071020.

34. Iqbal.S., Waheed.Z., Naseem.A., 2020, *Nanotechnology and abiotic stresses*. In: Javad, S. (Ed.), Nanoagronomy. Springer, Cham, pp. 37–52. https://doi.org/ 10.1007/978-3-030-41275-3_3.
35. Muhamad Mujtaba, Rahat Sharif, Qasid Ali, Raheela Rehman, Khalid Mahmood Khawar, 2021, *Biopolymer based nanofertilizers applications in abiotic stress (drought and salinity) control, A Smart Delivery System for Crop Improvement, Woodhead Publishing Series in Food Science*, Technology and Nutrition, Pages 85-110.
36. Khan.I., Awan.S.A., Rizwan.M., Hassan.Z.U.I., Akram.M.A., Tariq.R., Brestic.M., Xie.W., 2022, Nanoparticle's uptake and translocation mechanisms in plants via seed priming, foliar treatment, and root exposure: a review. *Environ, Sci, Pollut, Res*, (29), 89823–89833. https://doi.org/10.1007/s11356-022-23945-2.
37. Satdev, VJ Zinzala, Bharat N Chavda and Lokesh Kumar Saini, 2019, *Effect of nano ZnO on growth and yield of sweet corn under South Gujarat condition*, Research December, DOI: 10.22271/chemi.2020.v8.i1ad.8563.
38. Bhagat.Y., Gangadhara.K., Rabinal.C., Chaudhari.G., Ugale.P., 2015, Nanotechnol-ogy in agriculture: a review, *J Pure Appl Microbiol*, 9:737-47.
39. Pratibha Acharya, Guddadadarangavvanahally.K., Jayaprakasha, Kevin.M., Crosby John.L., Jifon Bhimanagouda.S., Patil, 2020, Nanoparticle-Mediated Seed priming improves Germination, Growth, Yield, and Quality of Watermelons (Citrullus lanatus) at multi-locations in texas, *Scientific RepoRtS*, 10:5037, https://doi.org/10.1038/s41598-020-61696-7.
40. Nirmal Singh, Axay Bhuker1, Jaison Jeevanadam, 2021, *Effects of metal nanoparticle-mediated treatment on seed quality parameters of different crops*, Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology https://doi.org/10.1007/s00210-021-02057-7.
41. Nguyễn Duy Hang, Nguyễn Tấn Mân, Nguyễn Minh Hiệp, Nguyễn Trọng Hoành Phong, 2018, Ứng dụng công nghệ nano trong nông nghiệp,*Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Khoa học và đời sống*, Số (7), Trang 43 – 45.
42. Hà Thị Mỹ Ngân, Trần Đào Hồng Trinh, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Thị Nhật Linh, Phan Lê Hà Nguyễn, Vũ Thị Hiền, Vũ Quốc Luận, Bùi Văn Lệ, Dương Tấn Nhựt, 2019, Hạn chế hiện tượng thủy tinh thể và gia tăng tỷ lệ sống của cây con hoa Đồng tiền (Gerbera jamesonii) nuôi cấy in vitro

trong môi trường có bổ sung nano bạc, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 17, (1), 115-124.

43. Hà Thị Mỹ Ngân, Hoàng Thanh Tùng, Ngô Đại Nghiệp, Bùi Văn Lệ, Dương Tấn Nhựt, 2019, Tác động của nano bạc lên sự hạn chế khí ethylene và hoạt độ enzyme thủy phân trong vi nhân giống cây hoa hồng (Rosa hybrida L. 'baby love'), *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 17, (3), 505-517.
44. Ha Thi My Ngan, Do Manh Cuong, Hoang Thanh Tung, Ngo Dai Nghiep, Bui Van Le, Duong Tan Nhut, 2020, The effect of cobalt and silver nanoparticles on overcoming leaf abscission and enhanced growth of rose (Rosa hybrida L. 'Baby Love') plantlets cultured in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 14, (2), 393-405.
45. Ha Thi My Ngan, Hoang Thanh Tung, Bui Van Le, Duong Tan Nhut, 2020, Evaluation of root growth, antioxidant enzyme activity and mineral absorbability of carnation (Dianthus caryophyllus "Express golem") plantlets cultured in two culture systems supplemented with iron nanoparticles, *Scientia Horticulturae*, 272 (109612), https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109612.
46. Duy Hang Nguyen, Tan Man Nguyen, Thi Sam Pham, Thi Thuy Tran, Thi Tam Tran, Trong Hoanh Phong Nguyen, Xuan Cuong Le, Huu Tu Le, Van Toan Le, Tuong Ly Lan Nguyen, 2018, Study on the effects of nano-silver synthesized by gamma radiation in combination with zinc-EDTA on chrysanthemum white rust caused by Puccinia spp. in chrysanthemum, *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 60, (1), pp.60-64.
47. Phạm Thị Lệ Hà, Nguyễn Tấn Mân, Lê Hải, Phạm Thị Sâm, Trần Thu Hồng, Trần Thị Tâm, 2013, Sử dụng keo bạc nano chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ kết hợp chitosan làm chất ổn định để ngăn ngừa bệnh sưng rễ trên cây bắp cải, *Hội nghị KH&CN hạt nhân lần thứ 1*.
48. Tan Man Nguyen, Hai Le, Huu Tu Le, Thu Hong Tran, Duy Hang Nguyen, Le Ha Pham Thi, Thi Thuy Tran, Thi Tam Tran, Trong Hoanh Phong Nguyen, Xuan Cuong Le, 2014, Preparation of silver nanoparticles by gamma irradiation method using chitosan as stabilizer, *Nuclear Science and Technology*, 4, (3), pp.43-46.
49. Nguyen Thi Nhat Linh, Hoang Thanh Tung, Vu Thi Hien, Vu Quoc Luan, Nguyen Phuc Huy, Nguyen Hoang Loc, Duong Tan Nhut, 2017, Effect of metal nanoparticles on the growth of Ngọc Linh ginseng (Panax Vietnamensis) lateral roots cultured in vitro, *Hue University Journal of Science: Natural Science*, 126, (1C), pp. 47-56.

50. Dương Tấn Nhựt, Dương Bảo Trinh, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Phúc Huy, Vũ Thị Hiền, Vũ Quốc Luận, Lê Thị Thu Hiền, Nguyễn Hoài Châu, 2018, Khảo sát nano bạc làm chất khử trùng mẫu mới trong nhân giống vô tính cây african violet (Saintpaulia ionantha H. WENDL), *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 16, (1), pp. 87-97.
51. Dương Tấn Nhựt, Hồ Thanh Tâm, Nguyễn Thị Thanh Hiền, Lê Kim Cương, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Phúc Huy, Vũ Thị Hiền, Trịnh Thị Hương, Nguyễn Hồng Hoàng, Nguyễn Xuân Tuấn, Nguyễn Thanh Sang, Nguyễn Việt Cường, Đỗ Mạnh Cường, Nguyễn Hoài Châu, Ngô Quốc Bưu, 2014, Khảo sát ảnh hưởng của nano bạc lên sự sinh trưởng và phát triển của cây cúc, dâu tây, đồng tiền nuôi cấy in vitro, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 12, (1), pp. 103-111.
52. Dương Tấn Nhựt, Hoàng Thanh Tùng, Lương Thiện Nghĩa, Nguyễn Duy Anh, Nguyễn Phúc Huy, Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Quốc Luận, Nguyễn Thị Hiền, 2017, Nano bạc trong khử trùng môi trường nuôi cấy in vitro cây hoa cúc (Chrysanthemum morifolium Ramat. cv. JIMBA), *Tạp chí Công Nghệ Sinh học*, 15, (2), pp. 1-9.
53. Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Việt Cường, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Thị Thanh Hiền, Đỗ Mạnh Cường, Vũ Thị Hiền, Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Phúc Huy, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Hoài Châu, Ngô Quốc Bưu, 2015, Nghiên cứu sự sinh trưởng và phát triển của cây cúc (Chrysanthemum spp.) in vitro trên môi trường có sử dụng nano sắt, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13, (7), pp. 1162- 1172.
54. Tung H.T., Bao H.G., Cuong D.M., Ngan H.T.M., Hien V.T., Luan V.Q., Phuong H.T.N., Nam N.B., Truong N.K., Hoang P.N.D., Nhut D.T, 2021, Silver nanoparticles as the sterilant in large-scale micropropagation of chrysanthemum, In Vitro, *Cellular & Developmental Biology - Plant*, 111, (1), pp. 1-10.
55. Tung H.T., Nam N.B., N.P.Huy, Luan V.Q., Hien V.T., Phuong T.T.B., Le D.T., Loc N.H., Nhut D.T., 2018, A system for large scale production of chrysanthemum using microponics with the supplement of silver nanoparticles under light-emitting diodes, *Scientia Horticulturae*, 232, (1), pp. 153-161.
56. Tung H.T., Phong T.H., Nguyen P.L.H., Nghia L.T., Ngan H.T.M., Cuong D.M., Bao H.G., Luan V.Q., Hien V.T., Nam N.B., Nhut D.T., 2020, Iron nanoparticles on growth and acclimatization of Chrysanthemum morifolium Ramat. cv." Jimba" in different culture systems, *Vietnam Journal of Biotechnology*, 18, (2), pp. 307-319.

57. Tung H.T., Thuong T.T., Luan V.Q., Hien V.T., Hieu T., Nam N.B., Phuong H.T.N., Khai H.D., Nhut D.T., 2021, Silver nanoparticles improved explant disinfection, in vitro growth, runner formation and limited ethylene accumulation during micropropagation of strawberry (Fragaria × ananassa), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 111, (1), pp. 1-11.
58. Thi Thu Huong Le , Thi Thu Trang Mai, Ke Son Phan , Thi Minh Nguyen, Thi Lan Anh Tran, Thi Nham Dong, Huu Chung Tran, Thi Thanh Hang Ngo, Phuong Ha Hoang, and Phuong Thu Ha, 2022, Novel Integrated Nanofertilizers for Improving the Growth of Polyscias fruticosa and Asparagus officinalis, *Journal of Nanomaterials Volume 2022*, Article ID 5791922, 10 pages https://doi.org/10.1155/2022/5791922.
59. Ke Son Phan, Hoai Thu Nguyen, Thi Thu Huong Le, Thi Tuyet Thuy Vu, Hai Doan Do, Thi Kim Oanh Vuong, Hoai Nam Nguyen, Chung Huu Tran, Thi Thanh Hang Ngo and Phuong Thu Ha, 2019, Fabrication and activity evaluation on Asparagus officinalis of hydroxyapatite based multimicronutrient nano systems, *Published 30 May 2019 Vietnam Academy of Science & Technology*, Doi 10.1088/2043-6254/ab21cc.
60. Quoc Buu Ngo, Trong Hien Dao, Hoai Chau Nguyen, Xuan Tin Tran, Tuong Van Nguyen, Thuy Duong Khuu and Thi Ha Huynh, 2014, Effects of nanocrystalline powders (Fe, Co and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese species DT-51),*Vietnam Academy of Science and Technology*, Adv, Nat, Sci.: Nanosci, Nanotechnol, 5 015016 7pp.
61. Trần Thị Trường, Nguyễn Đạt Thuần, Đào Trọng Hiền, Nguyễn Hoài Châu, Nguyễn Tường Vân, Trần Thị Thanh Thủy, 2019, Ảnh hưởng của xử lý hạt giống bằng nano kim loại sắt, đồng, coban đến sự sinh trưởng và phát triển của đậu tương, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* số (2).
62. Pham Thi Hoe, Nguyen Chi Mai, Le Quynh Lien, Ninh Khac Ban, Van Minh, Nguyen Hoai Chau, Quoc Buu Ngo, D.T. Hien., Nguyen Thi Hong Van, L.T.T.Hien., Tran My Linh, Germination responses of soybean seeds under Fe, ZnO, Cu and Co nanoparticle treatment, *International Journal of Agriculture and Biology*, 20, (7):1562-1568 (2018). DOI:10.17957/IJAB/15.0670.
63. Thao Phan, Dang Thi Nhung, Tran Thi Huong, Hieuan ng, Nguyen Hong Lien, Nguyen Vu Mai Linh, Dao Thi Hong Van, Nguyen Tuong Van and Nguyen Hoai Chau, 2020, Effects of metal nanoparticles of iron, copper and cobalt on the growth of nitrogen-fixing bacterium Sinorhizobium fredii T14 and

nodulation in soybean roots, V*ietnam Journal of Biotechnology*, 19, (4):725-733 DOI:10.15625/1811-4989/17107.

64. Nguyen Hoai Chau, Quang Ha Doan, Thi Hao Chu, Thi Thuy Nguyen, Hien Dao Trong and Quoc Buu Ngo, 2019, Effects of Different Nanoscale Microelement-Containing Formulations for Presowing Seed Treatment on Growth of Soybean Seedlings, *Journal of Chemistry*, Article ID 8060316, 8 pages https://doi.org/10.1155/2019/8060316.
65. Tran My Linh, Nguyen Chi Mai, Pham Thi Hoe, Le Quỳnh Lien, Ninh Khac Ban, Le Thi Thu Hien, Nguyen Hoai Chau, Nguyen Tuong Van, 2020, Metal-Based Nanoparticles Enhance Drought Tolerance in Soybean, *Journal of Nanomaterials*, (6), 1-13. DOI:10.1155/2020/4056563.
66. Nguyễn Hoài Châu, Ngô Quốc Bưu, Đào Trọng Hiền, 2021, *Chế phẩm xử lý hạt giống trong nước trước khi gieo*, Bằng độc quyền sáng chế số 28254 của Cục sở hữu trí tuệ.
67. Ngô Quang Vinh, Bùi Xuân Mạnh, Đinh Thị Hương, Lê Quý Kha, Nguyễn Hoài Châu, 2019, Ảnh hưởng của xử lý hạt giống và phun chế phẩm nano đến sinh trưởng, phát triển và năng suất cây ngô tại Long An, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* số 2(99).
68. Le Quy Kha, Ngo Quang Vinh, Nguyen Hoai Chau, Pham Vu Bao, 2019, The efficacy of micronano particles across NPK doses and densities on maize growth and yield in Vietnam, *Life ScienceS Agriculture*. Doi: 10.31276/VJSTE, 61, (3), 33-39.
69. Le Thi Thu Hien, Nguyen Tuong Van, 2018, Effects of nano copper used in seed treatment for germination, growth, and productivity of maize, *Academia Journal of Biology*, 40, (4), 91–101. https://doi.org/https://doi.org/10.15625/2615-9023/v40n4.13580.
70. Le Thi Thu Hien, Tran Thi Truong, 2019, Effects of seeds treated with cobalt nanoparticles on germination, growth, yield and quality of soybean cultivar DT12, Tạp chí sinh học, 41, (2), 61–70. https://doi.org/10.15625/08667160/v41n2.13722.
71. Klarkson D.T., 1978, *Transport ionov i struktura rastitelnoj kletki*. –M.: MIR, pp. 368.
72. Kirilov Yu.I., Kinkin.G.A., 1998, *Phiziologhia rastenii*. Kurgan Zaural'e, pp.310, 1998.
73. Lagendorf A.T., Uribe.E., 1967, Photophosphorylation and the chemiosmotic hypothesis Energy conversion by the photosynthetic apparatus, *Brookhaven Symposia in biology*, N19, 215-241.

74. Dilley R.A., Vernon.L.P., 1965, *Ion and water transport process related to light dependent shrinkage of spinach chloroplasts*, Arch, Biochem, Biophys, T111, 365-375.
75. Л.В.Коваленко., Г.Э.Фолманис., 2006, *Биологически активные нанопорошки железа*. Москва наука.
76. Dodds.J.J.A., Ellis.R. J., Cation stimulated adenosine triphosphatose activity in plant cell walls, *Biochem*, J, T, 101, 31-32,196.
77. Lin.D., Xing.B., 2008, Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles, *Environ Sci Technol*, 42:5580–5585.
78. El-Temsah YS., Joner EJ., 2010, Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil, *Environ Toxicol*, doi: 10.1002/tox.20610.
79. Shah V., Belozerova I., 2009, Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds, *Water Air Soil Pollut*, 197:143–148.
80. Doshi R., Braida W., Christodoulatos C., Wazne M., O'Connor G., 2008, Nano-aluminum: transport through sand columns and environmental effects on plants and soil communities, *Environ Res*, 106:296–303.
81. Phạm Ngọc Nguyên , 2004, *Giáo Trình Kỹ Thuật Phân Tích Vật Lý*, NXB Khoa Học và Kỹ Thuật, Hà Nội, trang 154 – 206.
82. Gennady Churilov, Ngo Quoc Buu, Nguyen Hoai Chau, 2012, Physiological and Biochemical Effects of Nanocrystalline Metals on maize plant, *Proceedings of 6th International Workshop on Advanced Materials Sicence and Nanotechnology Ha Long City*, 282-285.
83. Nguyễn Hồng Nhung, Hoàng Anh Sơn và cs, 2015, *Báo cáo kết quả "Nghiên cứu thử nghiệm, đánh giá tác động của các hạt nano kim loại Đồng, Cobal và Sắt đến quá trình sinh trưởng và năng suất thu hoạch của cây nghệ"*. Viện Khoa học vật liệu.
84. FAO/WHO, Codex Alimentarius Commission, 2001, *Food additives and contaminants. Joint FAO/WHO food standards programme*, ALINORM 01/12A:1-289.

PHỤ LỤC

1. Giản đồ XRD của mẫu khử ở 400^{o}C với thời gian phản ứng khử 60 phút.
2. Giản đồ XRD của mẫu khử ở 400^{o}C với thời gian phản ứng khử 90 phút.
3. Giản đồ XRD của mẫu khử ở 400^{o}C với thời gian phản ứng khử 120 phút.