

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Trần Ngọc Anh Minh

**ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG CỦA PLASMA LẠNH
ĐẾN MỘT GẠO (*SITOPHILUS ORYZAE*)
TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM**

TRẦN NGỌC ANH MINH

SINH HỌC THỰC NGHIỆM

2025

Thành phố Hồ Chí Minh – Năm 2025

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Trần Ngọc Anh Minh

**ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG CỦA PLASMA LẠNH
ĐẾN MỘT GẠO (*SITOPHILUS ORYZAE*)
TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS. TS. PHẠM HỮU THIÊN 

2. TS. NGUYỄN HOÀNG DŨNG 

Thành phố Hồ Chí Minh – Năm 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Tác giả luận văn**TRẦN NGỌC ANH MINH**

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến thầy PGS. TS. Phạm Hữu Thiện và thầy TS. Nguyễn Hoàng Dũng, là những người đã trực tiếp hướng dẫn và hỗ trợ tôi trong suốt quá trình thực hiện nghiên cứu. Sự định hướng và những trao đổi chuyên môn từ quý Thầy là vô cùng quý báu.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến thầy TS. Thân Quốc An Hạ cùng các Anh Chị đồng nghiệp tại phòng Công nghệ Plasma và Vật lý tính toán, những người đã luôn đồng hành và hỗ trợ tôi trong quá trình thí nghiệm, là một phần không thể thiếu để nghiên cứu được hoàn thành.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban Lãnh đạo Viện Khoa học Sự sống (tiền thân là Viện Sinh học Nhiệt đới); Viện Công nghệ Tiên tiến (tiền thân là Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng) – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện để quá trình học tập, trau dồi kiến thức cũng như thực hiện công việc chuyên môn của tôi được tiến hành thuận lợi.

Xin cảm ơn Học viện Khoa học và Công nghệ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đặc biệt là Ban Giám đốc, phòng Đào tạo, các phòng chức năng và quý Thầy Cô đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng, xin cảm ơn gia đình và bạn bè là những người đã luôn bên cạnh động viên và tạo điều kiện cho tôi trong suốt quá trình học tập.

Một lần nữa, xin chân thành cảm ơn!

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ	vi
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	vii
MỞ ĐẦU	1
Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	3
1.1. TỔNG QUAN NGŨ CỐC	3
1.2. TỔNG QUAN MỘT GẠO	3
1.2.1. Phân loại và đặc điểm hình thái.....	3
1.2.2. Vòng đời và ảnh hưởng của một gạo đến chất lượng gạo.....	4
1.3. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ MỘT GẠO VÀ CƠ CHẾ TÁC ĐỘNG	6
1.4. TỔNG QUAN PLASMA LẠNH.....	7
1.4.1. Khái niệm và phân loại.....	7
1.4.2. Cơ chế tác động của plasma lạnh đến côn trùng	9
1.5. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ PLASMA LẠNH TRONG XỬ LÝ CÔN TRÙNG	11
1.5.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới	11
1.5.2. Tình hình nghiên cứu trong nước	12
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	13
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	13
2.2. NGUYÊN VẬT LIỆU	13
2.2.1. Nguồn mẫu một gạo	13
2.2.2. Hóa chất	13
2.2.3. Dụng cụ và thiết bị	14
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	15
2.3.1. Nội dung 1: Chế tạo hệ thống tạo plasma lạnh phù hợp cho định hướng tiêu diệt côn trùng cho bảo quản nông sản	15
2.3.2. Nội dung 2: Phân tích một số đặc trưng lý hóa của hệ plasma lạnh	15

2.3.3. Nội dung 3: Khảo sát hiệu quả diệt một gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau của hệ plasma lạnh	16
2.3.4. Nội dung 4: Khảo sát ảnh hưởng của hệ plasma lạnh đến một số đáp ứng sinh hóa của một trưởng thành.....	18
2.3.5. Phương pháp xử lý số liệu.....	19
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	20
3.1. ĐẶC TRƯNG LÝ HÓA CỦA HỆ PLASMA LẠNH.....	20
3.2. HIỆU QUẢ DIỆT MỘT GẠO Ở CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN KHÁC NHAU CỦA HỆ PLASMA DBD KHÔNG KHÍ.....	24
3.3. TÁC ĐỘNG CỦA XỬ LÝ PLASMA LẠNH ĐẾN MỘT SỐ ĐÁP ỨNG SINH HÓA Ở MỘT GẠO TRƯỞNG THÀNH	30
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	37
KẾT LUẬN	37
KIẾN NGHỊ	38
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO	39
PHỤ LỤC.....	50

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Ký hiệu/ viết tắt/ thuật ngữ	Tiếng Anh	Tiếng Việt
Al ₂ O ₃ – NP	Al ₂ O ₃ – Nano particle	Hạt nano Al ₂ O ₃
CAT	Catalase	Enzyme catalase
DBD	Dielectric barrier discharge	Phóng điện rào cản điện môi
MDA	Malondialdehyde	Malondialdehyde
PBS	Phosphate – Buffered Saline	Đệm phosphate
RNS	Reactive nitrogen species	Các gốc nitrogen hoạt động
RONs	Reactive oxygen and nitrogen species	Các gốc oxygen và nitrogen hoạt động
ROS	Reactive oxygen species	Các gốc oxygen hoạt động
SOD	Superoxide dismutase	Enzyme superoxide dismutase
UV	Ultraviolet	Tia cực tím

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1. Các giai đoạn phát triển của <i>Sitophilus oryzae</i>	5
Hình 1.2. Hạt gạo bị đục khoét bởi một gạo	5
Hình 1.3. Cơ chế tác động của các thành phần sinh ra trong plasma đến tế bào	10
Hình 2. Sơ đồ hệ thống plasma DBD sử dụng không khí trong nghiên cứu đánh giá hiệu quả kiểm soát một gạo.....	15
Hình 3. 1. Đặc trưng điện học của hệ plasma DBD sử dụng trong nghiên cứu.....	20
Hình 3. 2. Buồng phóng plasma trong quá trình vận hành	21
Hình 3. 3. Nồng độ các hợp chất oxy hóa hình thành trong quá trình phóng điện plasma khuếch tán trong môi trường thạch KI – tinh bột theo thời gian hoạt hóa ...	21
Hình 3. 4. Sự thay đổi của nhiệt độ trong vùng xử lý plasma theo thời gian	23
Hình 3. 5. Tỷ lệ chết của <i>Sitophilus oryzae</i> ở các giai đoạn tiền trưởng thành sau xử lý plasma ở các khoảng thời gian khác nhau	25
Hình 3. 6. Hiệu quả ức chế của plasma lạnh trên đối tượng một trưởng thành được quan sát sau 24 giờ với thời gian xử lý plasma từ 0 đến 120 giây.....	26
Hình 3. 7. Hình thái một gạo (A) trước và (B) sau 24 xử lý plasma.	29
Hình 3. 8. Một số biểu hiện bất thường hành vi của một gạo quan sát thấy sau 5 – 10 phút xử lý plasma.	30
Hình 3. 9. Sự thay trọng lượng của một trưởng thành tại thời điểm trước và 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây.....	31
Hình 3. 10. Đường chuẩn (a) Albumin huyết thanh bò và (b) sự thay đổi nồng độ protein của một gạo trưởng thành ở thời điểm 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây.....	32
Hình 3. 11. (a) Đường chuẩn và (b) sự thay đổi nồng độ malondialdehyde của một gạo trưởng thành ở thời điểm 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây.....	32
Hình 3. 12. Sự thay đổi hoạt động enzyme superoxide dismutase của một gạo trưởng thành ở 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây.....	34
Hình 3. 13. Sự thay đổi hoạt động enzyme catalase của một gạo trưởng thành ở 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây.....	34

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1. Danh sách các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu.....	13
Bảng 2. Danh mục các dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu	14
Bảng 3. Danh mục các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu	14
Bảng 4. Các giai đoạn phát triển khác nhau của <i>S. oryzae</i> theo thời gian	17

MỞ ĐẦU

Gạo là một trong những loại ngũ cốc phổ biến nhất, được trồng trên hơn 158 triệu hecta đất trên toàn thế giới và là lương thực chính cho hơn một nửa dân số toàn cầu [1]. Trong đó Việt Nam được xem là quốc gia sản xuất và xuất khẩu gạo hàng đầu, nổi tiếng với nhiều sản phẩm chất lượng cao được ưa chuộng trên thị trường quốc tế. Tuy nhiên, sản xuất và bảo quản gạo vẫn phải đối mặt với nhiều thách thức, đặc biệt là vấn đề thất thoát sau thu hoạch do côn trùng gây hại.

Theo thống kê của Mesterházy và cộng sự, mỗi năm có tới 421 triệu tấn ngũ cốc trên toàn cầu bị thất thoát trong quá trình bảo quản, gây thiệt hại đáng kể về kinh tế và an ninh lương thực [2]. Trong số các loại côn trùng gây hại, mọt gạo (*Sitophilus oryzae* Linnaeus, 1763) được xem là tác nhân chính, không chỉ làm hao hụt tổng khối lượng mà còn ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng và thành phần dinh dưỡng hạt trong quá trình sinh trưởng và phát triển, qua đó làm giảm giá trị thương mại của sản phẩm. Cùng với sự bùng nổ dân số, việc phát triển nền nông nghiệp bền vững bao gồm cải thiện năng suất và giảm thiểu thất thoát nhằm đảm bảo nguồn cung cấp lương thực là một vấn đề mang tính cấp thiết.

Phương pháp kiểm soát mọt gạo truyền thống như sử dụng hóa chất mặc dù có hiệu quả cao và đơn giản, nhưng lại gây ra nhiều tác động tiêu cực đến môi trường, ảnh hưởng đến sức khỏe do tồn dư trong sản phẩm cũng như gia tăng khả năng kháng thuốc của côn trùng gây hại trong quá trình bảo quản. Do đó, việc tìm kiếm các giải pháp thay thế an toàn, hiệu quả và thân thiện với môi trường là một yêu cầu cấp bách trong lĩnh vực bảo quản sau thu hoạch. Trong bối cảnh đó, công nghệ plasma lạnh nổi lên như một giải pháp thay thế tiềm năng với tính an toàn, thân thiện cũng như khả năng áp dụng trên quy mô lớn. Một số nghiên cứu đã chứng minh hiệu quả kiểm soát nhiều loại côn trùng gây hại cũng như các tác động tích cực của công nghệ này đến tính chất hóa lý ngũ cốc. Tuy nhiên, các đánh giá sâu hơn về tác động của plasma lạnh đến mọt gạo, đặc biệt trên các giai đoạn phát triển ở các điều kiện vận hành plasma khác nhau cũng như đáp ứng sinh hóa của chúng còn khá hạn chế.

Trên cơ sở đó, nghiên cứu “Đánh giá tác động của plasma lạnh đến mọt gạo (*Sitophilus oryzae*) trong điều kiện phòng thí nghiệm” được thực hiện nhằm khảo sát khả năng kiểm soát mọt gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau cũng như làm rõ cơ chế tác động của plasma lạnh trên đối tượng mọt gạo trưởng thành, từ đó cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng công nghệ này trong bảo quản một cách hiệu quả, an toàn và thân thiện với môi trường.

Mục đích nghiên cứu

Đánh giá khả năng tiêu diệt mọt gạo ở các giai đoạn phát triển của plasma DBD sử dụng không khí cũng như tác động của điều kiện xử lý này đến một số đáp ứng sinh hóa của mọt gạo.

Nội dung nghiên cứu

- Nội dung 1: Xây dựng hệ thống plasma lạnh cho đánh giá hiệu quả diệt mọt.
- Nội dung 2: Phân tích một số đặc trưng lý hóa của hệ plasma lạnh.
- Nội dung 3: Khảo sát hiệu quả diệt mọt gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau của hệ plasma lạnh.
- Nội dung 4: Khảo sát ảnh hưởng của hệ plasma lạnh đến một số đáp ứng sinh hóa của mọt trưởng thành.

Những đóng góp của luận văn

Kết quả của đề tài cung cấp thông tin về:

- (1) Chế tạo hệ thống tạo plasma lạnh phù hợp cho định hướng tiêu diệt côn trùng cho bảo quản nông sản;
- (2) Tác động của thành phần và hàm lượng các chất sinh ra trong plasma lạnh đến hiệu quả tiêu diệt mọt gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau;
- (3) Hiểu được cơ chế gây chết ở mọt gạo khi tiếp xúc với plasma lạnh;
- (4) Là cơ sở để phát triển công nghệ xanh trong xử lý và bảo quản gạo và một số loại ngũ cốc khác trong quá trình bảo quản.

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. TỔNG QUAN NGŨ CỐC

Ngũ cốc là một nguồn lương thực quan trọng trong đời sống của con người, cung cấp dồi dào dinh dưỡng thiết yếu như carbohydrate, protein, vitamin và khoáng chất để duy trì năng lượng cũng như các chức năng sinh lý bình thường trong cơ thể. Bên cạnh đó, hoạt động sản xuất lương thực cũng đóng góp đáng kể vào sự ổn định xã hội và phát triển kinh tế. Trong đó, gạo, lúa mì và ngô là những loại ngũ cốc chính được sản xuất và tiêu thụ rộng rãi tại nhiều nơi trên thế giới. Gạo và lúa mì chủ yếu được trồng ở các nước đang phát triển ở Châu Á, trong khi ngô được trồng ở Châu Phi, Châu Á cũng như Nam và Trung Mỹ [3]. Tại Việt Nam, sản xuất lúa gạo được xem là nguồn thu nhập chính của nhiều hộ gia đình, với 7,3 triệu tấn được xuất khẩu vào năm 2022 [4].

Bên cạnh phát triển các chiến lược nâng cao sản lượng và chất lượng, thất thoát sau thu hoạch ở ngũ cốc cũng trở thành một vấn đề thu hút nhiều sự quan tâm. Do các hạn chế trong kỹ thuật và công tác bảo quản, tổn thất ở ngũ cốc có thể lên đến 15 – 25 % (2018) hay 421 triệu tấn (2020) trong suốt quá trình bảo quản [2, 5]. Có nhiều tác nhân gây ra sự thất thoát ngũ cốc có thể kể đến như sự phát triển của vi sinh vật (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp.) hay côn trùng thuộc các chi *Sitophilus*, *Rhyzopertha*, *Trogoderma*, *Sitotroga*, và *Tribolium*,... Trong đó một gạo (*Sitophilus oryzae*) thuộc chi *Sitophilus* được xem là tác nhân chủ yếu [6]. Ngoài các yếu tố môi trường như nhiệt độ và độ ẩm, các đặc tính của ngũ cốc sau thu hoạch cũng đóng góp vào sự phát triển của côn trùng gây hại, liên quan đến thành phần hóa học và tương tác của vi sinh vật. Ví dụ, hàm lượng dinh dưỡng cao như protein và chất béo làm cho hạt dễ bị tấn công hơn bởi các loài mọt hại [7]. Bên cạnh đó, sự hiện diện của các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi sẵn có ở gạo hoặc tổng hợp bởi vi sinh vật có thể được cảm nhận bởi nhiều loài côn trùng như *Sitophilus oryzae* hay *Rhyzopertha dominica*, dẫn đến sự định hướng và tấn công của chúng trên hạt trong quá trình lưu trữ [8, 9].

1.2. TỔNG QUAN MỘT GẠO

1.2.1. Phân loại và đặc điểm hình thái

Một gạo đặc biệt phổ biến ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và ẩm áp. Chúng có thể phát triển trên nhiều loại ngũ cốc và sản phẩm từ ngũ cốc nhưng chủ yếu là trên hạt gạo (*Oryza sativa*). Nhiệt độ tối ưu cho sự sinh trưởng và phát triển của một gạo nằm trong khoảng 25 – 35 °C ở độ ẩm 70 – 75 % [10, 11]. Một trưởng thành có thể bay ra các cánh đồng và tấn công lúa gạo trước khi thu hoạch hoặc lây

nhằm chéo trong kho chứa [12, 13]. Theo hệ thống NCBI taxonomy, một gạo được phân loại như sau:

Giới: Animalia

Ngành: Arthropoda

Lớp: Insecta

Bộ: Coleoptera

Họ: Curculionidae

Chi: *Sitophilus*

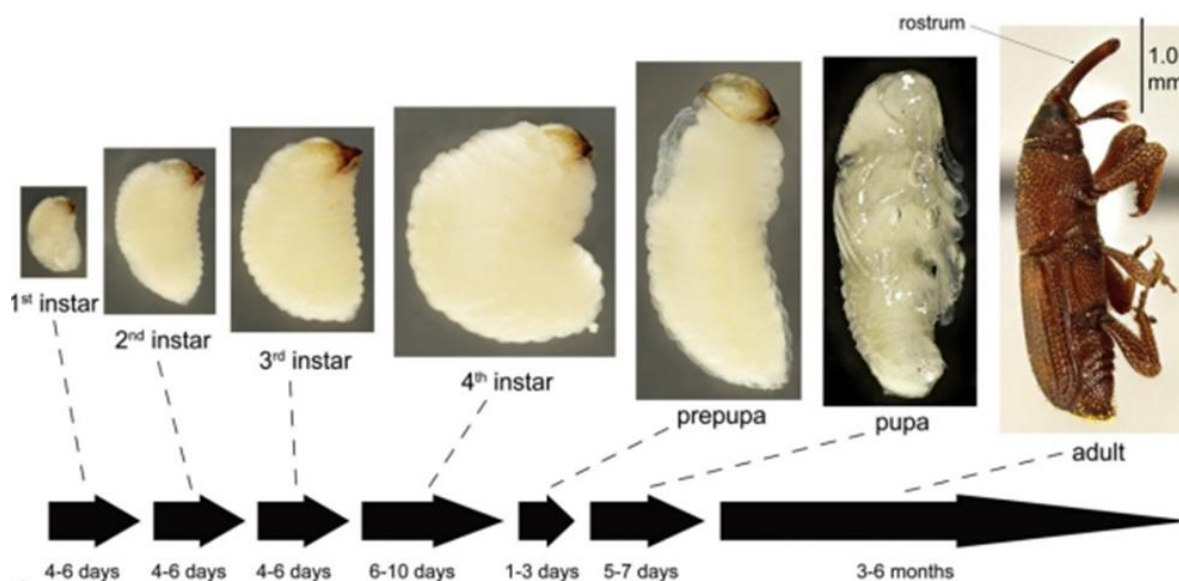
Loài: *Sitophilus oryzae*

Danh pháp hai phần: *Sitophilus oryzae* Linnaeus, 1763

Một gạo trưởng thành có thân dài 3,0 – 4,0 mm, bề ngang 1,0 – 2,0 mm với màu nâu xám hoặc đen, phần đầu có vòi kéo dài 1 mm, có miệng ở cuối vòi. Có một đôi râu hình dùi đục với ba đốt cuối phình to. Trên cánh cứng có đốm màu vàng nhạt hoặc cam, có nhiều lỗ nhỏ hình elip xếp theo các rãnh dọc, dưới cánh cứng có màng phát triển. Ấu trùng một có chiều dài trung bình từ 0,5 – 3,0 mm, có màu trắng đục đến vàng ngà tùy thuộc vào giai đoạn phát triển với đặc điểm chung là khả năng di chuyển hạn chế do chưa có sự phát triển đầy đủ của chi [14].

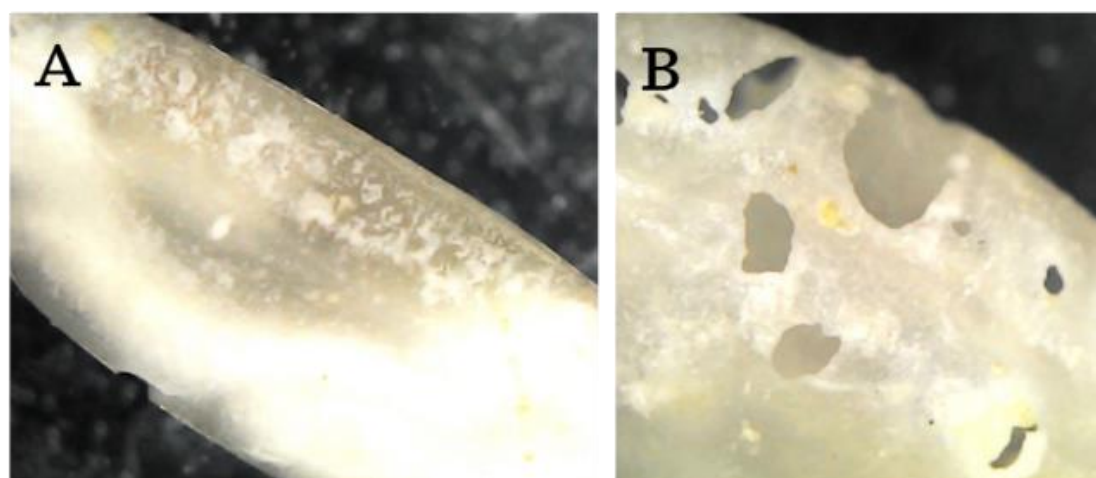
1.2.2. Vòng đời và ảnh hưởng của một gạo đến chất lượng gạo

Sitophilus oryzae trải qua các giai đoạn: Trứng, ấu trùng (gồm 4 giai đoạn nhỏ), tiền nhộng, nhộng và trưởng thành. Một trưởng thành sẽ bắt đầu giao phối sau khoảng 3,6 ngày chui ra khỏi hạt. Ban đầu, cá thể cái dùng vòi tạo một hố trên bề mặt hạt sau đó đẻ trứng và lấp lại bằng dịch tiết từ buồng trứng, dịch tiết này nhanh chóng đông lại để bảo vệ trứng bên trong. Trứng sẽ nở thành ấu trùng sau 1 đến 3 ngày tùy thuộc vào nhiệt độ môi trường. Ấu trùng trải qua bốn giai đoạn nhỏ, trong đó ấu trùng cấp 1, 2 và 3 chiếm thời gian trung bình 5 ngày, giai đoạn ấu trùng cấp 4 kéo dài hơn trong khoảng từ 6 đến 10 ngày. Giai đoạn tiền nhộng tiếp diễn với thời gian khá ngắn (1 đến 3 ngày) sau đó chuyển sang nhộng và trở thành cá thể hoàn chỉnh sau khoảng 33 ngày (xem hình 1.1). *Sitophilus oryzae* trưởng thành mới tiếp tục ở trong hạt cho đến khi lớp vỏ đủ cứng cáp sau đó mới thoát ra ngoài. Cả vòng đời của một gạo thường kéo dài trong khoảng 39 đến 114 ngày tùy thuộc vào nguồn thức ăn, độ ẩm và nhiệt độ môi trường. Tuổi thọ trung bình ở cá thể đực là 61 ngày trong khi với cá thể cái là 81 ngày với khoảng 54 trứng được đẻ trong suốt vòng đời của chúng [11].



Hình 1.1. Các giai đoạn phát triển của *Sitophilus oryzae* [14].

Một ở giai đoạn trưởng thành và chưa trưởng thành đục khoét cả bên trong và bên ngoài hạt, làm giảm đáng kể trọng lượng và giá trị dinh dưỡng, cũng như gây ô nhiễm bởi phân, kén và xác (hình 1.2). Bên cạnh đó, phần nội nhũ bị phá hủy bởi giai đoạn ấu trùng cũng gây ảnh hưởng đến tỉ lệ nảy mầm của hạt giống [15]. Ngoài ra, chúng còn là vật trung gian truyền bệnh và tạo điều kiện thuận lợi cho các loài côn trùng và nấm thứ cấp phát triển, gây khó khăn cho việc bảo quản ngũ cốc sau thu hoạch [16, 17]. Trung bình mỗi cá thể một trưởng thành với thời gian sống từ 4 – 5 tháng có thể tiêu thụ từ 10 – 25 g hạt, do đó, với tốc độ sinh sản nhanh chóng và khả năng gây nhiễm cao làm cho quá trình bảo quản các sản phẩm ngũ cốc và hạt giống sau thu hoạch trở nên khó khăn [18].



Hình 1.2. Hạt gạo bị đục khoét bởi một gạo: (A) hạt gạo có ấu trùng bên trong, (B) hạt gạo bị nhiễm nấm sau đục khoét bởi một

1.3. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ MỘT GẠO VÀ CƠ CHẾ TÁC ĐỘNG

Kiểm soát một gạo là một khía cạnh quan trọng trong việc duy trì chất lượng và ngăn ngừa thiệt hại kinh tế cho các sản phẩm ngũ cốc lưu trữ. Nhiều phương pháp khác nhau đã được nghiên cứu và sử dụng để quản lý loài một hại này, từ các giải pháp dựa trên thực vật đến các biện pháp can thiệp công nghệ tiên tiến. Trọng tâm là tìm ra các biện pháp kiểm soát hiệu quả, thân thiện với môi trường và bền vững để giảm thiểu tác động tiêu cực của chất hóa học tổng hợp đối với sức khỏe và môi trường.

- **Sử dụng hóa chất:** Đây là phương pháp khử trùng đơn giản và được sử dụng phổ biến tại các cơ sở lưu trữ như kho thóc, gạo hay nhà máy xay xát. Gạo thường được xử lý với các hóa chất dạng khí trong buồng kín như phosphine, methyl bromide. Tuy nhiên, các hóa chất này đã bắt đầu bị cấm sử dụng tại nhiều nước do các tác động tiêu cực đến môi trường và sức khỏe con người [19, 20]. Trong khi đó, một số loại thuốc trừ sâu tổng hợp như organophosphate, carbamate hay pyrethroid cũng là những loại thuốc phổ biến với tác động chủ yếu trên hệ thần kinh hay gây độc trên côn trùng [21, 22]. Tuy nhiên, hiệu quả của các loại thuốc trừ sâu tổng hợp cũng được báo cáo là ngày càng suy giảm do khả năng kháng thuốc ở nhiều loài côn trùng tăng cao, trong đó bao gồm một gạo. Sự phân bố của các chủng một kháng cũng có nguy cơ mở rộng qua nhiều vùng lãnh thổ thông qua hoạt động xuất nhập khẩu [23]. Gần đây, xử lý ozone đã được nghiên cứu và ứng dụng như một phương pháp tiềm năng nhờ tính hiệu quả và an toàn hơn so với các hóa chất truyền thống, tuy nhiên cần thời gian ủ dài để đạt hiệu quả tối ưu [24, 25].
- **Ứng dụng công nghệ nano:** Trong những năm gần đây, công nghệ nano đã nổi lên như một công cụ đầy hứa hẹn để kiểm soát các loài *Sitophilus* sp. Nhiều nghiên cứu đã khám phá hiệu quả của các hạt nano khác nhau, bao gồm kẽm, silica, bạc và các công thức nano dựa trên tinh dầu trong việc kiểm soát các loài gây hại này [26]. Các hạt nano mang lại những lợi thế như tăng độ ổn định, tăng cường hoạt động diệt côn trùng và tiềm năng quản lý dịch hại bền vững. Ví dụ, các hạt nano kẽm oxit, khi được sử dụng để cố định các enzyme chitinase, đã cho thấy hoạt động diệt côn trùng đáng kể đối với *Sitophilus zeamais* bằng cách phá vỡ các hoạt động của enzyme đường ruột, dẫn đến cái chết của côn trùng [27]. Tác động của hạt nano oxit nhôm (Al_2O_3 – NP) trên *S. oryzae* cũng đã được khảo sát với tỷ lệ tử vong tăng theo thời gian tiếp xúc với Al_2O_3 – NP. Hiệu quả tối ưu được báo cáo nằm ở mức 8 000

mg Al_2O_3 – NP/ kg hạt lúa mì sau 7 ngày tiếp xúc. Tuy nhiên, tính an toàn của các sản phẩm sau xử lý các hạt nano đối với sức khỏe con người vẫn cần được đánh giá thêm [28].

- Sử dụng các hợp chất từ thực vật dưới dạng tinh dầu hoặc bột cũng được nghiên cứu cho mục tiêu kiểm soát một gạo. Bột từ hạt thầu dầu (*R. communis*), hạt neem (*A. indica*), nghệ (*C. longa*) hay tinh dầu từ quế (*C. cassia*), tỏi (*A. sativum*), khuynh diệp (*E. camaldulensis*)... đã được báo cáo với khả năng diệt một cao. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn cần được đánh giá sâu hơn để hạn chế các ảnh hưởng đến mùi vị sản phẩm [29, 30].
- Sử dụng nhiệt: Nhiệt độ cao có thể gây chết hoặc có tác dụng xua đuổi một, được thể hiện rõ ràng nhất thông qua phương pháp phơi hoặc sấy lúa truyền thống trước khi xay xát. Từ đó, một số nghiên cứu tận dụng nhiệt từ mặt trời hay sóng radio tần số cao đã được nghiên cứu, với mức nhiệt giao động từ 40 – 49 °C để kiểm soát một. Mặc dù vậy, các mức nhiệt này không có tác dụng trong việc tiêu diệt một gạo, trong khi nhiệt độ quá cao làm giảm đáng kể độ ẩm hạt, gây ra tình trạng gãy/vỡ nội nhũ [31, 32].
- Chiếu xạ cũng được xem là một phương pháp thay thế khả dụng nhằm giảm thiểu sử dụng hóa chất độc hại trong xử lý côn trùng. Một số báo cáo cho thấy chiếu xạ gamma được xác định là có hiệu quả trong việc tiêu diệt một trưởng thành và ngăn chặn sự sinh sản của chúng mà không gây ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng gạo. Tuy nhiên, các kỹ thuật này đòi hỏi các thiết bị phức tạp, nguồn nhân lực có chuyên môn cũng như cần được trang bị bảo hộ nghiêm ngặt để đảm bảo hiệu quả cũng như tính an toàn [33-35].

1.4. TỔNG QUAN PLASMA LẠNH

1.4.1. Khái niệm và phân loại

Thuật ngữ 'plasma' đề cập đến một trạng thái của vật chất khi các khí bị ion hóa hoàn toàn hay một phần khi được cung cấp năng lượng thông qua nhiệt độ cao hay trường điện từ, với các sản phẩm bao gồm photon, ion và electron tự do cũng như các nguyên tử ở trạng thái cơ bản hoặc kích thích với điện tích trung hòa [36]. Plasma thường được phân loại là “plasma nóng” khi electron và các loại khí khác ở trạng thái cân bằng nhiệt động, và “plasma lạnh” hay “plasma không nhiệt” khi chúng tồn tại ở trạng thái không cân bằng. Trước đây plasma lạnh được tạo ra trong điều kiện áp suất thấp, yêu cầu thiết bị bổ sung trong quá trình vận hành làm giới hạn tiềm năng ứng dụng của công nghệ này. Tuy nhiên, những tiến bộ gần đây trong kỹ thuật plasma đã cho phép tạo ra plasma lạnh ở áp suất khí quyển, dẫn đến việc

tăng cường nghiên cứu về plasma lạnh trong nhiều lĩnh vực khoa học đời sống.

Có nhiều loại hệ thống tạo plasma lạnh khác nhau được sử dụng cho nhiều mục đích bao gồm corona plasma, plasma vi sóng, plasma tần số vô tuyến, plasma ghép cặp cảm ứng... Trong số đó, plasma phóng điện rào cản điện môi được sử dụng nhiều nhất trong các nghiên cứu xử lý thực phẩm. Hệ thống này thường được vận hành với nguồn điện áp cao để tạo ra dòng điện plasma giữa hai điện cực được ngăn cách bởi một lớp rào điện môi. Trong đó vật liệu điện môi (ví dụ như gốm, thủy tinh) đóng vai trò tạo ra rào cản cho quá trình phóng điện, đảm bảo quá trình tạo tia plasma đồng đều và dễ kiểm soát hơn. So với các hệ thống plasma khác, DBD được báo cáo với khả năng vận hành dễ dàng trong điều kiện áp suất khí quyển ở nhiệt độ tương đối thấp, một ưu điểm quan trọng trong xử lý các loại sản phẩm nhạy cảm với nhiệt. Bên cạnh đó, hệ thống này cũng cho thấy sự cân bằng tốt giữa tốc độ xử lý và hiệu quả tiết kiệm năng lượng, đồng thời thân thiện với môi trường, nhờ đó mở ra tiềm năng ứng dụng trên quy mô công nghiệp, đặc biệt là trong lĩnh vực xử lý thực phẩm và bảo quản nông sản sau thu hoạch [36, 37].

Ở trạng thái plasma, có nhiều phân tử được hình thành trong pha khí, chúng tương tác với nhau và với các phân tử khí xung quanh để kích hoạt các phản ứng dây chuyền, dẫn đến sự gia tăng nhanh chóng các gốc oxygen/ nitrogen hoạt động (ROS/ RNS) có thời gian tồn tại ngắn như gốc hydroxyl ($\bullet\text{OH}$), anion superoxide ($\bullet\text{O}_2^-$), peroxyxynitrite (ONOO^-), hay oxygen nguyên tử. Trong khi đó, một số ROS/ RNS có tính bền cao hơn như ozone, H_2O_2 , hay NO_2 cũng được phát hiện sau phóng điện plasma [38]. Nhóm các thành phần không bền tuy có thời gian tồn tại ngắn, ví dụ gốc $\bullet\text{OH}$ tồn tại trong khoảng 200 μs , tuy nhiên được chứng minh là có hiệu quả tác động cao đối với hệ thống sinh học [39, 40]. Bên cạnh đó, sự tương tác của các gốc không bền với các phân tử khí cũng giúp gia tăng thành phần và hàm lượng của RONS trong sản phẩm khí cuối cùng [41, 42].

Sự thay đổi về thành phần và hàm lượng các hợp chất sinh ra trong plasma phần lớn được quyết định bởi khí đầu vào cũng như cấu tạo của hệ plasma. Các loại khí đầu vào khác nhau, chẳng hạn như không khí, argon, nitrogen và oxygen, tạo ra các loại phản ứng riêng biệt. Ví dụ, cung cấp không khí cho hệ plasma sẽ tạo ra hỗn hợp các gốc tự do, bao gồm các photon UV, các loại nitrogen phản ứng và các loại oxygen phản ứng nhờ sự đa dạng trong thành phần ban đầu của không khí [43]. Trong khi đó, việc bổ sung các khí hiếm như argon hay helium được ghi nhận là giúp ổn định quá trình phóng điện plasma cũng như không làm tăng đáng kể nhiệt độ vận hành. Ngoài ra, với năng lượng ion hóa thấp, sự tương tác của khí hiếm ở trạng thái kích thích hay ion hóa với các phân tử khí oxygen và nitrogen được

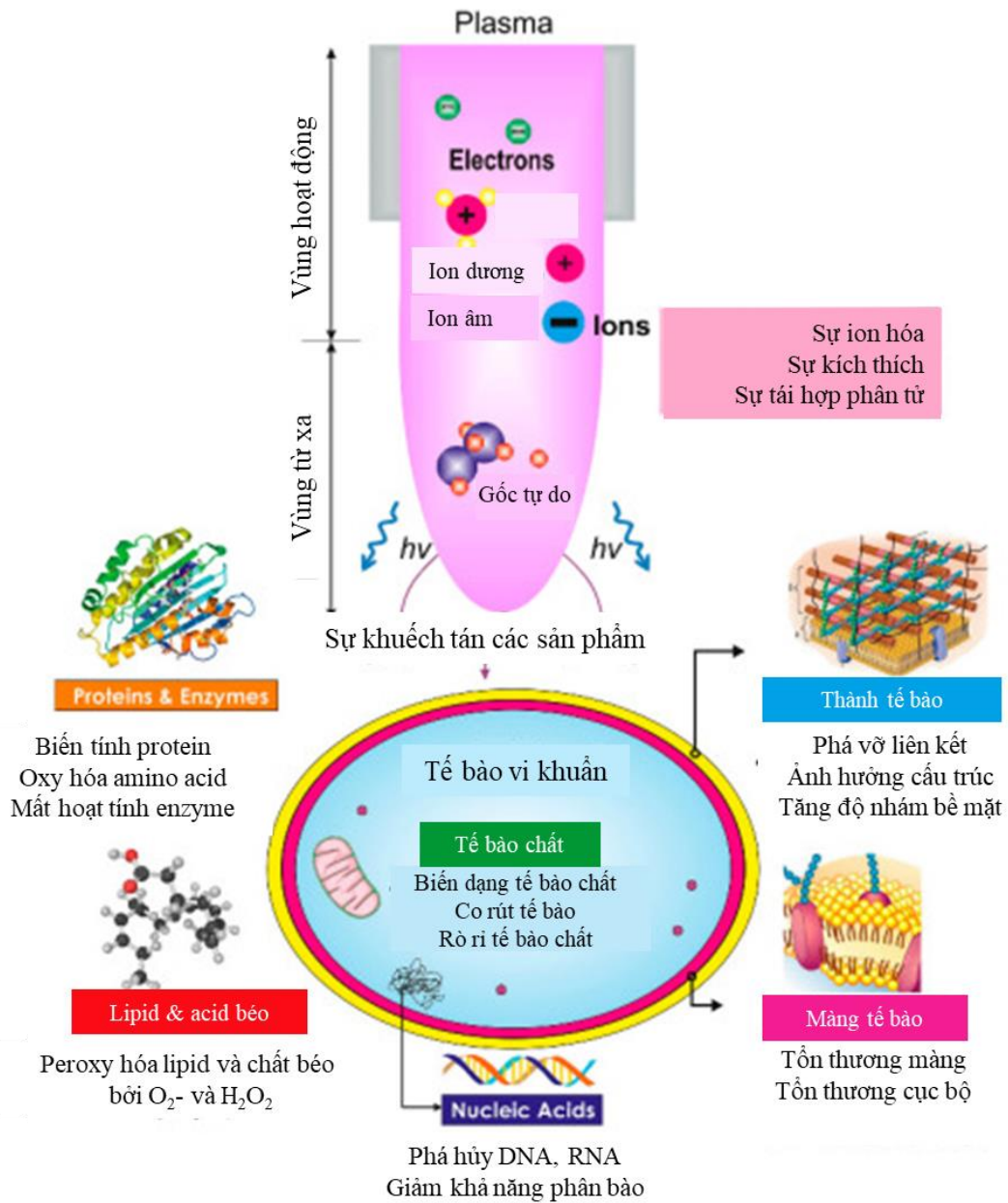
chứng minh là tạo ra nhiều RONS hơn [44, 45]. Bên cạnh loại khí đầu vào, kiểu phóng và cấu trúc hệ plasma bao gồm loại điện cực, khoảng cách điện cực, công suất máy, tần số hay mức điện áp cũng ảnh hưởng đáng kể đến nồng độ sản phẩm sau phóng điện [43, 46]. Do đó, tùy thuộc vào mục đích sử dụng cũng như đối tượng cần xử lý mà các thông số trên được thay đổi và khảo sát để tối ưu hóa các tác động mong muốn.

1.4.2. Cơ chế tác động của plasma lạnh đến côn trùng

Cơ chế tác động của plasma lạnh được đặc trưng bởi sự tấn công đồng thời của các sản phẩm hình thành trong quá trình phóng điện, bao gồm các hạt tích điện, tia UV và các gốc oxygen và nitrogen hoạt động lên các sinh vật mục tiêu. Tuy vậy, các thành phần tham gia tác động cũng thay đổi tùy thuộc vào phương thức xử lý, cụ thể xử lý plasma gián tiếp (sử dụng sản phẩm sau phóng plasma hoặc cách xa vùng phóng plasma) chủ yếu tác động bởi các thành phần bền, trong khi xử lý trực tiếp (trong vùng phóng plasma) có thêm sự hiện diện của các gốc tồn tại ngắn. Sự tác động của các thành phần tạo thành trong plasma có thể có cơ chế và mục tiêu tác động khác nhau trên sinh vật, có thể được khái quát như sau:

- Các hạt tích điện gây ra ứng suất tĩnh điện và phá hủy tế bào khi tích tụ trên bề mặt [47].
- ROS có thể gây ra sự phá hủy cấu trúc lớp biểu bì gây ra hiệu ứng mất nước trên côn trùng [48].
- Plasma cản trở quá trình hình thành phôi do sự tích tụ điện tích tĩnh điện bằng cách xuyên qua màng ngoài của trứng [48].
- Tia UV: Khả năng xuyên thấu cao của tia cực tím có thể gây ra các tổn thương bên trong mô, bao gồm gây biến tính các đại phân tử protein, lipid hay vật liệu di truyền như DNA, RNA, qua đó đóng góp vào hiệu quả diệt côn trùng [49].
- Stress oxy hóa: Hiện tượng xảy ra khi quá trình sản xuất và tích tụ các gốc oxygen hoạt động vượt quá khả năng đáp ứng của hệ thống trung hòa trong cơ thể. Đây được xem là tác động chủ yếu của plasma lạnh bởi sản phẩm khí chứa ROS hình thành trong môi trường plasma. Các gốc oxy hóa được chứng minh là có vai trò kép trong nhiều quá trình sinh lý của sinh vật. Ở nồng độ thấp, ROS hoạt động như một tín hiệu tế bào, kích thích phân chia, biệt hóa hay quá trình chết tế bào, tuy nhiên trong một số điều kiện stress, sự hình thành quá mức các gốc oxy hóa có thể gây tổn thương tế bào và mô, phá hủy

cấu trúc các đại phân tử sinh học hay thậm chí gây tử vong [50-52]. Nồng độ ROS trong tế bào được điều hòa chặt chẽ bởi hệ thống chống oxy hóa bao gồm flavonoids, vitamin E, vitamin C, hay nhờ hoạt động của các enzyme superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxidase [51]. Do đó, phân tích sự thay đổi nồng độ hay hoạt động của các yếu tố nêu trên có thể cung cấp thông tin tình trạng stress oxy hóa của đối tượng nghiên cứu.



Hình 1.3. Cơ chế tác động của các thành phần sinh ra trong plasma đến tế bào, với đại diện là tế bào vi khuẩn [53]

1.5. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ PLASMA LẠNH TRONG XỬ LÝ CÔN TRÙNG

1.5.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Trên thế giới, nghiên cứu đánh giá cơ chế ảnh hưởng của plasma lạnh đến côn trùng lần đầu tiên được thực hiện bởi Dohohue và cộng sự (2006). Các kết quả cho thấy tỷ lệ tử vong của 5 loại côn trùng khác nhau bao gồm *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *Frankliniella fusca* (Hinds), *Aedes albopictus* (Skuse), *Tetranychus urticae* (Koch) và *Blattella germanica* (L.) tăng dần khi kéo dài thời gian xử lý. Việc tiếp xúc với khí plasma tuy không ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc biểu bì của *M. persicae* và *Planococcus citri*. Tuy nhiên, những thay đổi trong hành vi của *B. germanica* sau khi tiếp xúc với plasma, bao gồm mất phản ứng với ánh sáng, co hay mất kiểm soát các chi cho thấy mục tiêu tác động của plasma ở côn trùng có thể là hệ thống thần kinh cơ [54]. Đây được xem là bước đệm cho nhiều nghiên cứu sau này với các đối tượng côn trùng hại được mở rộng hơn.

Năm 2014, khi khảo sát khả năng diệt sâu bướm *Plodia interpunctella* bằng hệ plasma jet thực hiện bởi Abd El – Aziz và cộng sự, tỉ lệ tử vong được ghi nhận là tăng tuyến tính với số xung và giảm khoảng cách từ đầu chiếu đến mẫu. Hệ plasma này cũng làm gián đoạn sự phát triển từ nhộng sang cá thể trưởng thành, đồng thời gây ra sự thay đổi trong hoạt động của các enzyme chống oxy hóa [55].

Cơ chế đáp ứng của côn trùng cũng được chứng minh rõ ràng hơn trong nghiên cứu của Ziuzina và cộng sự (2021), khi sử dụng plasma DBD áp suất khí quyển trên loài *Tribolium castaneum*, một sinh vật gây hại quan trọng trong quá trình lưu trữ ngũ cốc. Tỷ lệ tử vong từ 95 % đến 100 % đối với các giai đoạn trước trưởng thành có thể đạt được chỉ trong vài giây xử lý, nhưng cần thời gian tiếp xúc với plasma lâu hơn để tiêu diệt côn trùng trưởng thành. Xử lý bằng plasma lạnh cũng được ghi nhận là làm giảm tốc độ hô hấp và trọng lượng của côn trùng, đồng thời ảnh hưởng đến hệ thống đáp ứng stress oxy hóa [49].

Hiệu quả của công nghệ plasma lạnh trong việc kiểm soát một gạo lần đầu tiên được đánh giá bởi Kirk – Bradley và cộng sự (2024), sử dụng hệ thống plasma lạnh ở áp suất khí quyển với điện áp 80 kV và hỗn hợp khí O₂, CO₂, và N₂. Kết quả cho thấy tỷ lệ tử vong cao ở tất cả các giai đoạn phát triển của một chỉ sau 3 phút tiếp xúc với plasma, với sức đề kháng plasma tăng dần theo các giai đoạn trưởng thành [56].

1.5.2. Tình hình nghiên cứu trong nước

Tại Việt Nam, tác động của plasma đến một gạo được báo cáo lần đầu trong nghiên cứu của Than và cộng sự (2024) khi sử dụng hỗn hợp khí đầu vào khác nhau (argon/ không khí, helium/ không khí) kết hợp với thay đổi tần số của hệ thống (2,5 hoặc 7,5 kHz). Kết quả cho thấy công nghệ này có hiệu quả trong việc tiêu diệt một gạo, với tỷ lệ tử vong cao (60 – 100 %) ở thời gian xử lý từ 30 đến 120 giây. Việc sử dụng khí Ar và tần số cao cho hiệu quả diệt côn trùng tốt hơn, đạt 100 % tỷ lệ tử vong chỉ sau 1 giờ xử lý plasma 30 giây. Tuy nhiên, nghiên cứu sâu hơn về các đáp ứng sinh hóa của một gạo cũng như hiệu quả diệt ở các giai đoạn phát triển khác nhau còn khá hạn chế [57].

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

- Đối tượng nghiên cứu: *Sitophilus oryzae* được thu thập và nuôi nhân tạo trên gạo trắng thương phẩm OM5451 tại Tp. Hồ Chí Minh.
- Phạm vi nghiên cứu: Nghiên cứu đánh giá khả năng tiêu diệt mọt gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau của plasma DBD không khí được thiết kế tại Phòng Công nghệ plasma và Vật lý tính toán – Viện Công nghệ tiên tiến (trước đây là Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam), cũng như một số đáp ứng sinh hóa liên quan đến stress oxy hóa của mọt gạo trưởng thành 35 – 40 ngày tuổi sau xử lý.

2.2. NGUYÊN VẬT LIỆU

2.2.1. Nguồn mẫu mọt gạo

Mọt gạo trưởng thành được thu thập tại các cửa hàng gạo ở Quận 12, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2.2. Hóa chất

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu này được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Danh sách các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

Stt	Tên hóa chất	Hãng sản xuất	Độ tinh khiết
1	Biuret reagent	Sigma – Aldrich	
2	Bovine serum albumin (BSA)	Sigma – Aldrich	
3	Hydrogen peroxide (H ₂ O ₂)	Fisher	
4	Malondialdehyde (MDA)		> 95 %
5	Nitro blue tetrazolium (NBT)		> 95 %
6	Nước cất hai lần		
7	Potassium chloride (KCl)	Sigma – Aldrich	> 99 %
8	Potassium iodide (KI)	Fisher	> 99 %
9	Potassium phosphate monobasic (KH ₂ PO ₄)	Fisher	> 99 %
10	Sodium chloride (NaCl)	Sigma – Aldrich	> 99 %
11	Sodium phosphate dibasic (Na ₂ HPO ₄)	Sigma – Aldrich	> 99 %
12	Thiobarbituric acid (TBA)	Sigma – Aldrich	> 98 %
13	Trichloroacetic acid (TCA)	Sigma – Aldrich	> 99 %
14	Xanthine	Macklin	> 98 %
15	Xanthine oxidase	Yuanye Bio – Technology	

2.2.3. Dụng cụ và thiết bị

2.2.3.1. Dụng cụ

Các dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu này được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Danh mục các dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên dụng cụ	Hãng sản xuất	Xuất xứ
1	Bình định mức 50 mL, 100 mL	Duran	Đức
2	Bộ chày, cối sứ Ø 100 mm		
3	Cốc thủy tinh 250 mL	Duran	Đức
4	Đĩa petri Ø 100 mm	Steriplan	Đức
5	Eppendorf 2 mL	Biologix	Mỹ
6	Micropipet 1000 µL, 200 µL	Vitlab	Đức
7	Ống nghiệm Ø16 mm	Duran	Đức
8	Pipette 5 mL, 10 mL	Duran	Đức

2.2.3.2. Thiết bị

Một số thiết bị sử dụng trong nghiên cứu này được trình bày trong bảng 3.

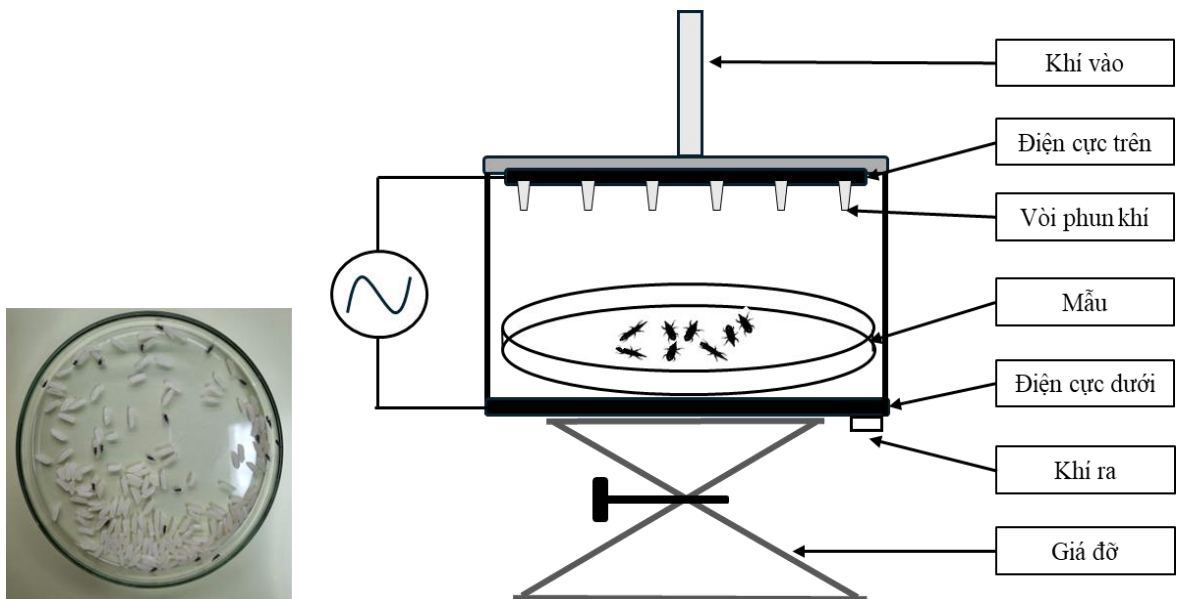
Bảng 3. Danh mục các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên thiết bị	Hãng sản xuất	Xuất xứ
1	Bể ổn nhiệt	GRANT	Anh
2	Cân phân tích 4 số (PA214)	Ohaus	Mỹ
3	Hệ plasma DBD		
4	Hệ thống điều chỉnh lưu lượng		
5	Kính hiển vi soi nổi	Olympus	Nhật Bản
6	Máy bơm không khí	Puma	Đài Loan
7	Máy đo dòng	Current Pearson Electronics	Mỹ
8	Máy đo NO ₂ AS8806	Barry Century	Trung Quốc
9	Máy đo O ₃	Horiba	Nhật Bản
10	Máy đo pH	Hanna	Ý
11	Máy đo quang phổ UV – Vis	Shimadzu	Nhật Bản
12	Máy hiện sóng GDS – 1102U	Instek	Đài Loan
13	Máy ly tâm Spindown	DLAB	Mỹ
14	Nhiệt kế hồng ngoại	Fluke	Trung Quốc
15	Que đo cao áp HVP – 28HF	Pintek	Đài Loan
16	Tủ sấy	Memmert	Đức

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Nội dung 1: Chế tạo hệ thống tạo plasma lạnh phù hợp cho định hướng tiêu diệt côn trùng cho bảo quản nông sản

Hệ thống plasma DBD sử dụng trong nghiên cứu này được chế tạo tại Phòng Công nghệ plasma và Vật lý tính toán – Viện Công nghệ tiên tiến, thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (trước đây là Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng), có cấu trúc bao gồm hai điện cực hình tròn làm bằng đồng. Một ống thạch anh hình trụ đường kính trong 12 cm, dài 2,5 cm được nối liền với điện cực trên làm buồng phóng điện plasma, trong khi điện cực dưới được tách rời đặt trên giá đỡ có thể thay đổi độ cao. Khi vận hành, mẫu được đặt trong đĩa petri thủy tinh ở trung tâm của điện cực dưới (đóng vai trò là điện môi) và điều chỉnh độ cao của giá đỡ, sao cho điện cực trên, mẫu, điện cực dưới kết hợp với ống thủy tinh để tạo thành buồng phóng điện plasma kín hoàn chỉnh. Hệ thống tạo plasma trong nghiên cứu này sử dụng nguồn điện cao áp xoay chiều 24 kV, tần số 7,5 kHz và công suất tiêu thụ 43 W được nối với hai điện cực. Để tạo tia plasma, không khí được dẫn vào buồng phóng với lưu lượng 2 L/ phút, với sơ đồ hệ thống được trình bày ở hình 2.



Hình 2. Sơ đồ hệ thống plasma DBD sử dụng không khí trong nghiên cứu đánh giá hiệu quả kiểm soát một gao

2.3.2. Nội dung 2: Phân tích một số đặc trưng lý hóa của hệ plasma lạnh

2.3.2.1. Đặc trưng điện học

Đặc trưng điện học bao gồm điện áp, dòng điện tức thời, tần số và công suất tiêu thụ ghi nhận bằng hệ thống phân tích với đầu dò điện áp cao HVP – 28HF

(Pintek, Đài Loan) kết hợp với máy đo dòng model 4100 (Current Pearson Electronics, Mỹ) và máy hiện sóng GDS – 1102U (Instek, Đài Loan).

2.3.2.2. Nồng độ các hợp chất tạo ra bởi plasma

Nồng độ các hợp chất sinh ra trong quá trình vận hành plasma ở nghiên cứu này bao gồm NO₂ và O₃. Nồng độ nitrogen dioxide được đánh giá sử dụng thiết bị đo cầm tay AS8806 (Barry Century, Trung Quốc). Trong khi đó lượng ozone tạo thành được phân tích với máy đo ozone không khí APOA – 370 (Horiba, Nhật Bản). Do điều kiện vận hành là cố định, bao gồm lưu lượng khí, công suất vận hành, cường độ dòng điện và tần số, các sản phẩm khí sinh ra trên một đơn vị thời gian là như nhau. Vì vậy lưu lượng NO₂ và O₃ sinh ra được phân tích sau mỗi phút phóng plasma và quy về đơn vị hàm lượng khí/ 2L/ phút.

2.3.2.3. Sự phân tán của các hợp chất oxy hóa trên mẫu

Sự phân tán của các hợp chất oxy hóa trên mẫu được thực hiện theo phương pháp khuếch tán thạch KI – tinh bột mô tả bởi Kawasaki và cộng sự, dựa trên phản ứng màu của iod với tinh bột khi KI bị oxy hóa giải phóng iod [58]. Bột thạch thương mại, kali iodua tinh khiết và tinh bột tan được hòa trong 100 mL nước cất để tạo ra nồng độ cuối là 0,5 % (khối lượng/ thể tích). Hỗn hợp này được hấp khử trùng và đổ vào các đĩa petri (15 mL/ đĩa), sau đó để nguội ở nhiệt độ phòng.

Các đĩa thạch KI – Tinh bột sau đó được đặt vào vùng phóng plasma giữa 2 điện cực với thời gian xử lý từ 0 đến 120 giây, sự hiện diện của các gốc oxy hóa sau đó được đánh giá dựa trên quan sát sự thay đổi màu sắc của thạch với máy ảnh kỹ thuật số Nikon Coolpix S9100.

2.3.2.4. Thay đổi nhiệt độ

Sự thay đổi nhiệt độ bề mặt vật chứa (đĩa petri thủy tinh) trong quá trình vận hành plasma, tương ứng với các mốc thời gian xử lý từ 0 – 120 giây được theo dõi bằng máy đo nhiệt độ hồng ngoại FLUKE – 572 – 2 (Fluke, Trung Quốc).

2.3.3. Nội dung 3: Khảo sát hiệu quả diệt một gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau của hệ plasma lạnh

2.3.3.1. Phương pháp tạo mẫu một ở các giai đoạn phát triển khác nhau

Phương pháp tạo mẫu một ở các giai đoạn sống được xây dựng dựa trên nghiên cứu của Mansoor-ul-Hasan và cộng sự. Một trường thành được thu thập ngẫu nhiên từ các cửa hàng gạo tại Quận 12, thành phố Hồ Chí Minh. Gạo trắng dùng làm thức ăn và nơi đẻ trứng cho một được sấy trước ở 70 °C trong 20 phút để

loại bỏ côn trùng nhiễm. Các cá thể trưởng thành sau đó được thêm vào 8 hộp nhựa trong suốt có lỗ thông khí (tương ứng với 8 giai đoạn phát triển) chứa 100 g gạo, điều kiện nuôi được kiểm soát như sau: Nhiệt độ 32 ± 2 °C, độ ẩm $70 \pm 5\%$ và chu kỳ sáng tối 12 sáng/ 12 tối. Sau 3 ngày, các cá thể mọc trưởng thành được loại bỏ khỏi hộp nuôi, gạo sau đó tiếp tục được bảo quản và côn trùng ở các giai đoạn phát triển được thu nhận ở các khoảng thời gian mô tả trong bảng 4, sử dụng kẹp để nhẹ nhàng tách hạt gạo [56].

Bảng 4. Các giai đoạn phát triển khác nhau của *S. oryzae* theo thời gian

Thời điểm thu nhận (ngày)	Giai đoạn phát triển
0,25	Trứng
03	Ấu trùng tuổi 1
06	Ấu trùng tuổi 2
10	Ấu trùng tuổi 3
19	Ấu trùng tuổi 4
21	Tiền nhộng
26	Nhộng
29 – 30	Mọt trưởng thành

2.3.3.2. Phương pháp đánh giá hiệu quả tiêu diệt mọt gạo

Phương pháp đánh giá hiệu quả diệt được xây dựng theo Ziuzina và cộng sự; Kirk–Bradley và cộng sự [49, 56]. Cụ thể, gạo chứa trứng và tất cả các giai đoạn phát triển còn hoạt động tích cực được thêm vào đĩa petri chứa 2 g gạo trắng nguyên hạt (10 cá thể/ đĩa), sau đó đặt vào vùng phóng điện giữa 2 điện cực với thời gian xử lý plasma 30 – 60 – 90 – 120 giây, côn trùng không tiếp xúc với khí plasma được sử dụng làm mẫu đối chứng. Tỷ lệ chết ở giai đoạn trứng được đánh giá sau 3 ngày xử lý, sử dụng nhíp và kim kẹp để nhẹ nhàng tách các hạt gạo, với sự hiện diện của ấu trùng tuổi 1 cho thấy trứng vẫn phát triển bình thường. Đối với giai đoạn nhộng, mẫu sau xử lý được ủ trong đĩa petri chứa gạo và đánh giá sau 4 ngày, nhộng được xem là bị tiêu diệt khi không lột xác để chuyển sang giai đoạn trưởng thành. Ở các giai đoạn phát triển còn lại, tỷ lệ chết được đánh giá tại thời điểm 24 giờ sau xử lý plasma bằng kính hiển vi soi nổi, côn trùng được xác định là đã chết khi không có phản ứng với các kích thích vật lý trong 5 phút quan sát. Tỷ lệ chết được xác định theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ chết (\%)} = \frac{\text{Số cá thể chết}}{\text{Tổng số mọt ban đầu}}$$

2.3.4. Nội dung 4: Khảo sát ảnh hưởng của hệ plasma lạnh đến một số đáp ứng sinh hóa của một trường thành

2.3.4.1. Chuẩn bị mẫu

Hệ thống sinh học cần thời gian để đáp ứng với các kích thích bên ngoài, tùy vào cường độ của yếu tố kích thích và tình trạng sinh lý của sinh vật. Các cá thể một trường thành sống sót sau 24 giờ ở thời gian xử lý plasma cho hiệu quả diệt 50 – 60 % được sử dụng cho các đánh giá sinh hóa. Một gạo trường thành được đồng hóa bằng cách nghiền nhuyễn các cá thể trong dung dịch đệm phosphate (PBS) đã ủ lạnh với tỉ lệ 20 cá thể/ mL PBS. Phần dịch đồng hóa sau đó được li tâm tốc độ 10000 vòng/ phút trong 10 phút ở 4 °C, phần dịch nổi được thu nhận và bảo quản lạnh cho đến khi tiến hành các đánh giá sinh hóa [59].

2.3.4.2. Các chỉ tiêu đánh giá

a. Sự thay đổi trọng lượng

Sự thay đổi trọng lượng của một trường thành được theo dõi tại thời điểm trước xử lý và sau 24h xử lý plasma được đánh giá bằng cân phân tích.

b. Hàm lượng protein tổng

Hàm lượng protein tổng số được xác định bằng phương pháp Biuret, dựa trên sự hình thành phức của ion Cu^{2+} với liên kết peptide của protein trong môi trường kiềm, với độ hấp thụ cực đại của sản phẩm màu đo được ở bước sóng 540 nm. Cụ thể, 2,5 mL dịch đồng hóa được trộn với 2,5 mL thuốc thử biuret và ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Sau đó, độ hấp thụ của phức chất màu được đo tại bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ UV – Vis (Shimadzu UV – 1800, Nhật Bản). Hàm lượng protein tổng trong dịch đồng hóa sau đó được xác định dựa trên đường chuẩn sử dụng BSA.

c. Hoạt động enzyme superoxide dismutase

Hoạt động của SOD được đánh giá bằng phương pháp mô tả bởi Wang và cộng sự (2018), dựa trên phản ứng khử nitro blue tetrazolium bởi gốc superoxide thành formazan (độ hấp thụ cực đại 560 nm). Khi có sự hiện diện của SOD, O_2^- được chuyển đổi thành H_2O_2 và O_2 , làm giảm lượng formazan sinh ra, do đó, một đơn vị hoạt động SOD trong thí nghiệm này được xác định là lượng enzyme ức chế tốc độ khử 50% NBT. Phản ứng được thực hiện bằng cách trộn (1) 400 μL dịch đồng hóa với (2) 100 μL dung dịch xanthine oxidase chứa BSA nồng độ 5 mg/ mL và xanthine oxidase 0,1 U/ mL và (3) 2500 μL dung dịch chứa 125 μM xanthine và 70 μM NBT. Dung dịch được ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút và hoạt động SOD

được tính toán dựa trên sự chênh lệch độ hấp phụ tại bước sóng 560 nm.

d. Hoạt động enzyme catalase

Hoạt động enzyme catalase được mô tả bởi Ziuzina và cộng sự [49], dựa trên tốc độ phân hủy của hydrogen peroxide. Theo đó, 3 mL dịch đồng hóa đã pha loãng trong PBS (0,05 M, pH 7,5) với tỉ lệ 1 : 100 được trộn với 1,5 mL H₂O₂ 1%. Độ hấp thụ cực đại sau đó được đo ở bước sóng 240 nm mỗi 30 giây trong vòng 10 phút. Hoạt động CAT được tính toán dựa trên công thức:

$$K = 1/300 \times \ln A_3/A_{10} \quad (1)$$

$$K_{\text{tổng/mL}} = K / \text{thể tích mẫu} \quad (2)$$

$$K / \text{mg} = K_{\text{tổng}} / \text{mg protein} \quad (3)$$

Với A₃ và A₁₀ là độ hấp thụ tại 3 phút và 10 phút

e. Nồng độ malondialdehyde

Trong nghiên cứu này, hàm lượng malondialdehyde được xác định như một dấu ấn quan trọng cho quá trình stress oxy hóa. Phương pháp được sử dụng dựa trên phản ứng giữa MDA và thiobarbituric acid trong môi trường acid và nhiệt độ cao, tạo thành phức hợp màu có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng 532 nm. Quy trình được thực hiện theo phương pháp của Ziuzina và cộng sự (2021), bao gồm các bước sau: (1) Trộn 1,5 mL trichloroacetic acid 30 % với 1,5 mL dịch đồng hóa, trộn kỹ và ly tâm ở tốc độ 15 000 vòng/ phút trong 10 phút ở 4 °C. (2) Lấy 2,5 mL dịch nổi sau ly tâm trộn với 2,5 mL thiobarbituric acid 0,8 %, ủ hỗn hợp trong 60 phút ở 98 °C, sau đó làm lạnh nhanh trong 5 phút. (3) Đo độ hấp thụ quang của phức hợp màu tại bước sóng 532 nm và xác định hàm lượng MDA bằng cách so sánh với đường chuẩn MDA đã được xây dựng trước đó.

2.3.5. Phương pháp xử lý số liệu

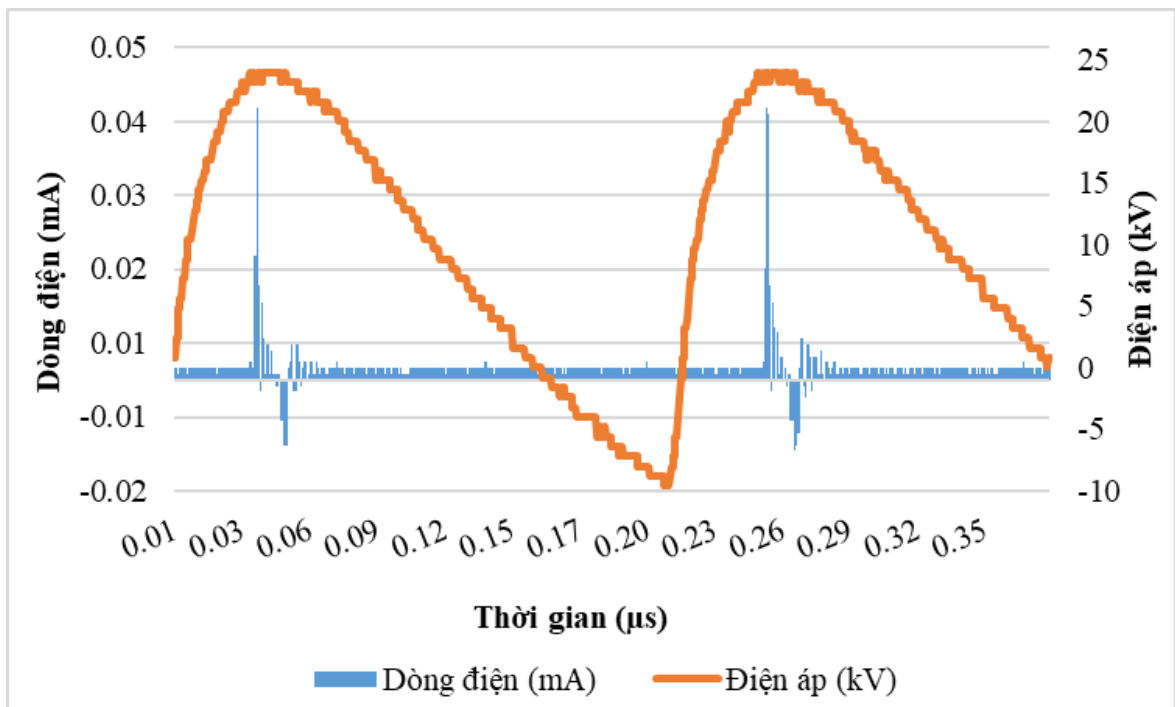
Số liệu được thu thập và thống kê với phần mềm MS Excel. Dữ liệu được trình bày ở dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn từ 3 lần lặp lại ở tất cả các thí nghiệm. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được phân tích với phần mềm IBM SPSS, phiên bản 26. Tỷ lệ tử vong giữa các nhóm được đánh giá thông qua phân tích ANOVA một yếu tố và kiểm định Tukey ($p < 0,05$). Trong khi sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về đáp sinh hóa giữa nhóm xử lý plasma và nhóm đối chứng được xác định thông qua phân tích Independent Samples T – test ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. ĐẶC TRƯNG LÝ HÓA CỦA HỆ PLASMA LẠNH

Trong nghiên cứu này, một số đặc tính lý hóa của hệ plasma DBD sử dụng không khí được xác định bao gồm đặc trưng điện học, nồng độ ozone, NO_2 và nhiệt độ, từ đó làm cơ sở để giải thích tác động của hệ đến côn trùng.

Đặc trưng điện học, bao gồm cường độ dòng điện và điện áp trong quá trình vận hành, cho thấy hệ plasma sử dụng nguồn điện cao áp cố định ở mức 24 kV và cường độ dòng điện mỗi xung đạt 0,04 mA, như được thể hiện trong Hình 3.1.



Hình 3. 1. Đặc trưng điện học của hệ plasma DBD sử dụng trong nghiên cứu

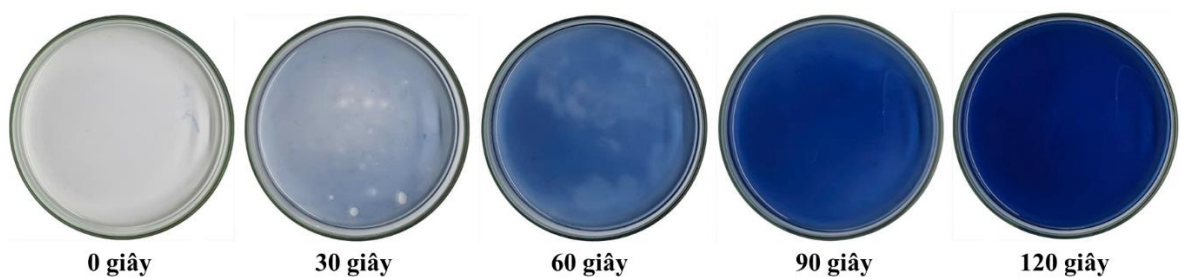
Do tần số cao, các tia plasma hình thành giữa hai điện cực được quan sát thấy ở dạng phóng điện giả đồng nhất với vô số sợi vi plasma hình thành trong thời gian ngắn ở mức micro giây (xem hình 3.2). Hiện tượng phóng điện trong vùng không khí giữa hai điện cực đã được chứng minh là dẫn đến sự hình thành các gốc oxygen/ nitrogen hoạt động, hạt mang điện, tia UV hay một số thành phần đặc trưng khác [60]. Trong nghiên cứu này, hàm lượng NO_2 và O_3 được ghi nhận nằm ở mức 43 ppm NO_2 / 2L/ phút và 29,9650 ppm O_3 / 2L/ phút, có sự tương đồng với hệ plasma DBD sử dụng không khí trước đó của nhóm [61]. So với một số hệ plasma DBD sử dụng trong thí nghiệm đánh giá tác động trên côn trùng khác, hệ plasma trong nghiên cứu này có cấu trúc tương đồng với điện tích điện cực lớn hơn. Cụ thể, hệ plasma DBD cho xử lý *T. castaneum* hay *S. oryzae* thực hiện lần lượt bởi Ziuzina

(2021) và Kirk-Bradley (2024) đều sử dụng điện cực nhôm với đường kính 1,5 cm [49, 56]. Trong khi đó, điện cực đồng sử dụng trong nghiên cứu này có đường kính lên đến 10 cm, giúp gia tăng đáng kể diện tích vùng xử lý mẫu. Việc gia tăng kích thước của điện cực đã được báo cáo với khả năng tạo ra vùng phóng plasma rộng hơn, tuy nhiên cũng làm gia tăng mức tiêu thụ điện năng của hệ thống [62, 63]. Đối với hệ plasma sử dụng trong nghiên cứu này, công suất tiêu thụ được ghi nhận ở mức 43 W trong thời gian vận hành 2 phút (thời gian xử lý cao nhất được sử dụng trong nghiên cứu), lượng điện tiêu thụ chỉ tương đương 0,001433 kWh (hay 5158,8 J), cho thấy khả năng tiết kiệm năng lượng cao.



Hình 3. 2. Buồng phóng plasma trong quá trình vận hành

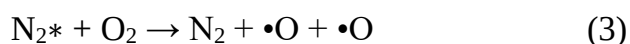
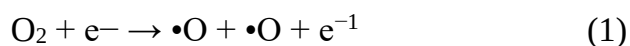
Các hợp chất khí sinh ra trong quá trình phóng điện plasma có sự phân tán đồng đều trên toàn bộ vùng xử lý và tiếp xúc với mẫu trước khi thoát ra ngoài theo đường dẫn khí ra. Ví dụ ở trường hợp của ROS, như được thể hiện ở hình 3.3 màu xanh đậm dần, đều màu trên bề mặt thạch KI – tinh bột cho thấy sự tăng dần nồng độ của ROS. Tuy hàm lượng ROS sinh ra trên một đơn vị (ppm/ 2L/ phút) là cố định, tuy nhiên, thời gian xử lý tăng dần giúp gia tăng thời gian tiếp xúc và tác động của các hợp chất này trên đối tượng khảo sát.



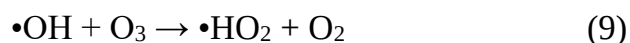
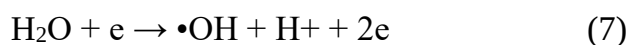
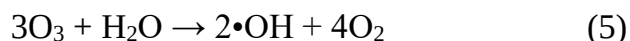
Hình 3. 3. Nồng độ các hợp chất oxy hóa hình thành trong quá trình phóng điện plasma khuếch tán trong môi trường thạch KI – tinh bột theo thời gian hoạt hóa

Các gốc oxygen hoạt động hình thành thông qua phóng điện plasma được xem là một thành phần quan trọng trong ứng dụng kiểm soát vi sinh và côn trùng gây hại. Bên cạnh hiệu quả về chi phí và tính sẵn có, việc sử dụng không khí cũng được báo cáo là tạo ra RONS cao hơn so với các khí đơn khác như He, Ar hay N₂ [38].

Với sự hiện diện của không khí trong vùng plasma, sự phân ly của oxygen thông qua va chạm electron diễn ra và tạo thành oxygen nguyên tử ($\bullet\text{O}$) (phản ứng (1)). Bên cạnh đó, sự va chạm của electron với nitrogen dẫn đến sự hình thành các phân tử nitrogen ở trạng thái kích thích (phản ứng (2)), các phân tử này sau đó phản ứng với oxygen tạo thành nguồn bổ sung của $\bullet\text{O}$ (phản ứng (3)), cuối cùng, oxy nguyên tử phản ứng với oxygen xung quanh để tạo thành ozone (phản ứng (4)).

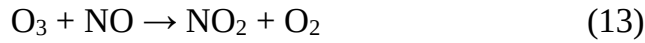


Ngoài ra, độ ẩm trong không khí cũng thúc đẩy sự hình thành nhiều thành phần khác như hydroxyl ($\bullet\text{OH}$), hydro peroxide (H_2O_2) và gốc hydroperoxyl ($\bullet\text{HO}_2$) (phản ứng 5 – 9), cũng được báo cáo là có khả năng ảnh hưởng đến hệ thống sinh học.

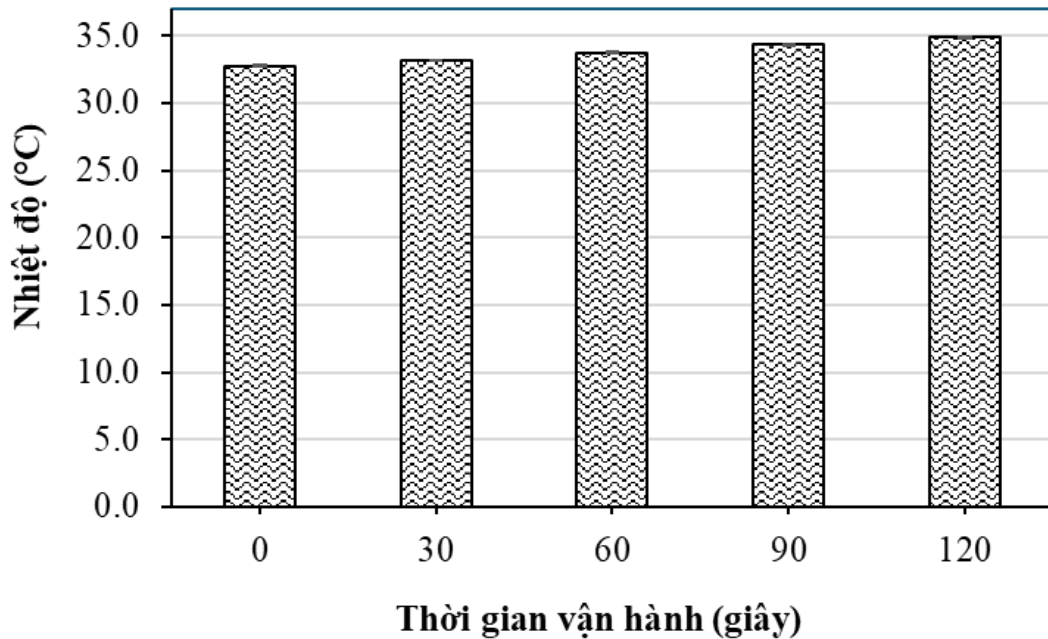


Bên cạnh ROS, RNS cũng được xem là một đặc trưng của các hệ plasma sử dụng không khí với sự hiện diện của N₂ lên đến 78%. Tuy nhiên trong pha khí, RNS dạng bền được quan sát thấy chủ yếu là NO₂ theo phản ứng (10) – (13). Mặc dù tác động của NO₂ trên côn trùng còn khá hạn chế, sự hiện diện của NO với thời gian tồn tại ngắn đã được chứng minh với hiệu quả tiêu diệt vi sinh vật phổ rộng, cũng như trên một số côn trùng chủ yếu bởi căng thẳng oxy hóa và căng thẳng nitrogen [64-66]. Tuy nhiên, tính chất không bền trong điều kiện khí quyển thông thường

cũng làm cho nghiên cứu sâu hơn về tác động của NO đến một gạo trong nghiên cứu này bị hạn chế.



Sự thay đổi nhiệt độ trong vùng phóng plasma được ghi nhận là tăng nhẹ trong quá trình vận hành (xem hình 3.4). Cụ thể, nhiệt độ tăng dần từ 32,7 °C (mẫu đối chứng) và đạt cao nhất ở sau 120 giây (34,8 °C), cao hơn 2 °C. Tuy nhiên, nhiệt độ này vẫn nằm trong khoảng thuận lợi cho sinh trưởng và phát triển ở một gạo. Do vậy, ngưỡng nhiệt độ trong quá trình vận hành của hệ plasma không được xem là yếu tố gây nhiễu trong nghiên cứu này.



Hình 3. 4. Sự thay đổi của nhiệt độ trong vùng xử lý plasma theo thời gian

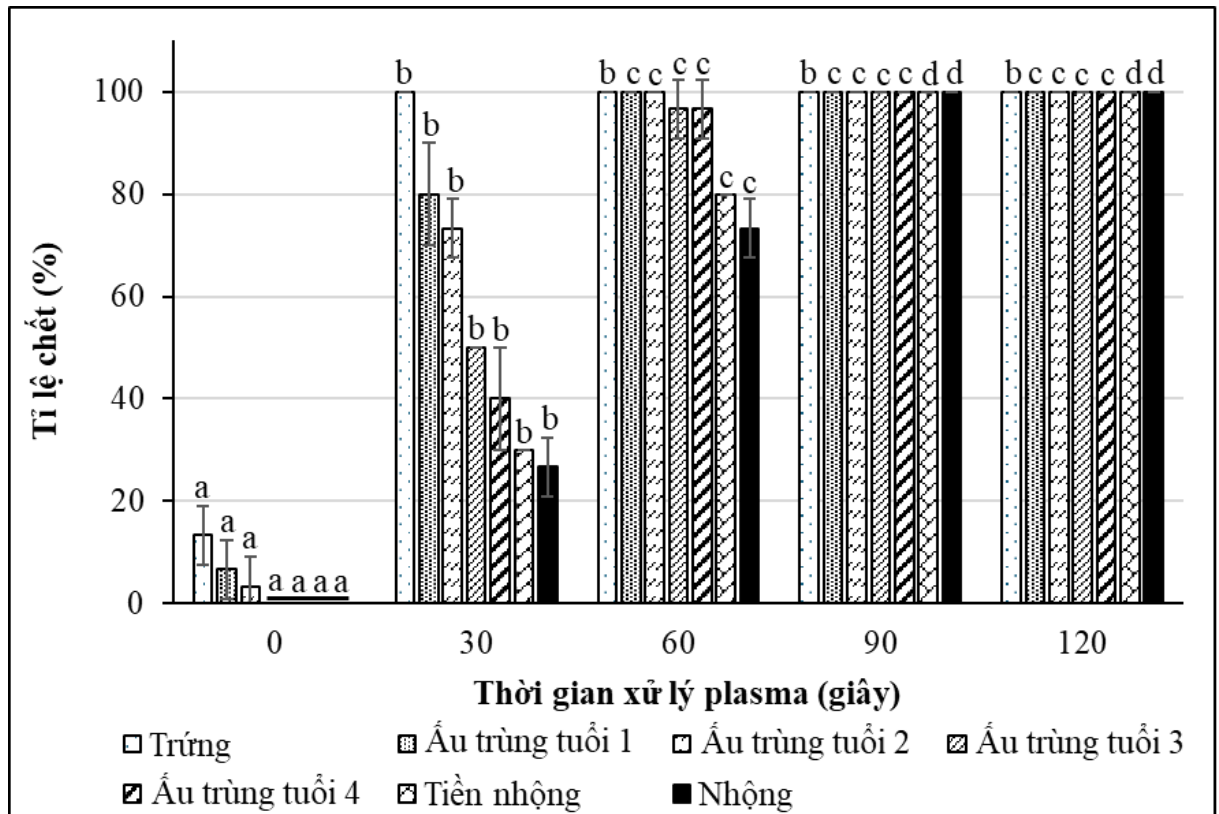
So với một số hệ plasma DBD khác, kết quả này có sự tương đồng với nhiệt độ gần ở mức nhiệt độ phòng và duy trì ổn định trong thời gian hoạt động [67, 68]. Trong khi đó, ở hệ plasma jet với nguồn điện 90 – 130 W, tần số 13,56 MHz, nhiệt độ được ghi nhận ở mức 70 °C khi sử dụng argon tinh khiết sau 10 – 15 phút vận hành. Khi sử dụng hỗn hợp Ar/ O₂ hoặc Ar/ N₂, nhiệt độ được duy trì ở mức thấp hơn trong khoảng 45 – 55 °C, cả hai ngưỡng nhiệt này đều làm ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sống của côn trùng sau xử lý [69].

Bên cạnh tác động đến côn trùng, nhiệt độ cũng được xem là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý của hệ plasma và được quyết định bởi nhiều yếu tố như độ ẩm, sự phân bố năng lượng điện tử hay quá trình va chạm của các nguyên tử. Sự hình thành ozone ghi nhận chủ yếu do quá trình phân ly oxygen bởi phóng điện plasma và sự cân bằng của phản ứng tạo ra ozone từ oxygen phụ thuộc vào nhiệt độ. Do đó, nhiệt độ vận hành quá cao sẽ dẫn đến sự đảo ngược từ ozone thành oxygen [67, 70]. Nhờ duy trì nhiệt độ gần với nhiệt độ phòng và bề mặt tiếp xúc lớn làm cho khả năng ứng dụng của các hệ plasma DBD được mở rộng hơn, đặc biệt đối với các loại thực phẩm tươi sống hay thực phẩm nhạy cảm nhiệt.

3.2. HIỆU QUẢ DIỆT MỘT GẠO Ở CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN KHÁC NHAU CỦA HỆ PLASMA DBD KHÔNG KHÍ

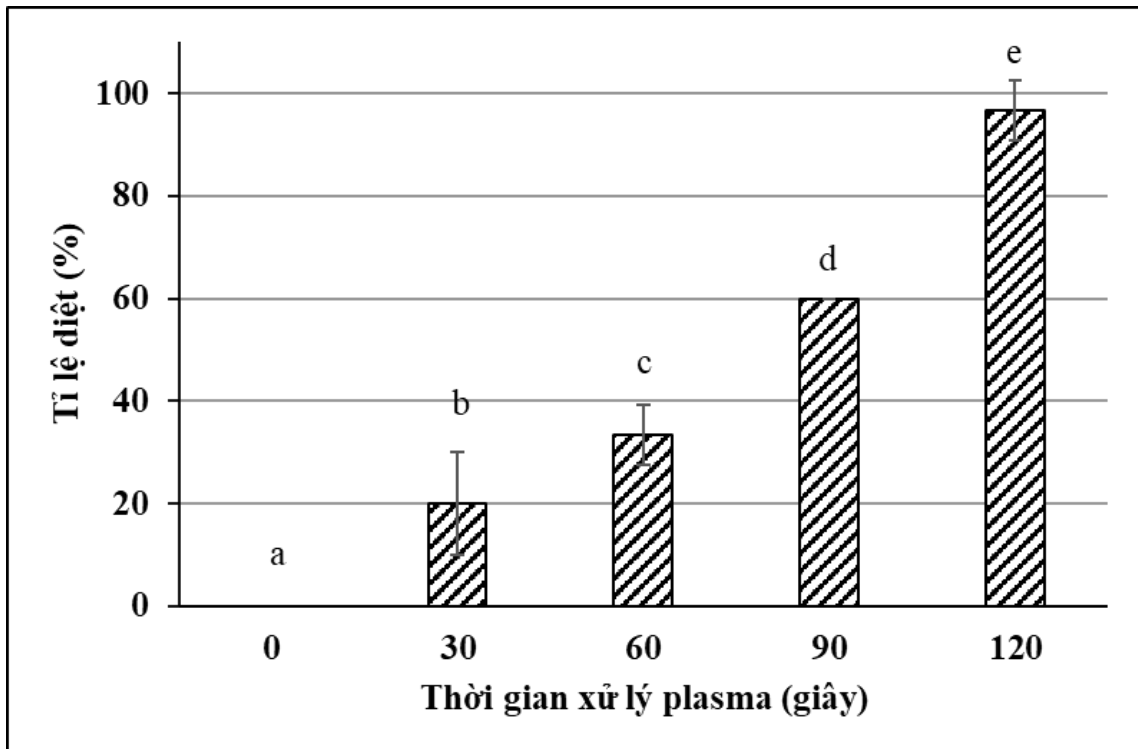
Hiệu quả kiểm soát một gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau của hệ plasma DBD không khí trong nghiên cứu này được đánh giá thông qua tỉ lệ chết, với kết quả được thể hiện ở hình 3.5. Nhìn chung, các giai đoạn phát triển khác nhau cho thấy sự nhạy cảm khác nhau đối với xử lý plasma lạnh, với sự đề kháng tăng dần ở các giai đoạn phát triển cao hơn.

Ở giai đoạn trứng, 30 giây tiếp xúc plasma dẫn đến ức chế hoàn toàn quá trình nở để khởi động vòng đời mới. Khả năng chống chịu của ấu trùng tuổi 1 và 2 được quan sát thấy là cao hơn so với trứng, đạt 75 – 80 % côn trùng chết ở mức xử lý 30 giây, tuy nhiên 100 % cá thể chết được ghi nhận chỉ sau 60 giây xử lý plasma. Ở ba giai đoạn phát triển này (trứng, ấu trùng tuổi 1 và 2), sự nhạy cảm với điều kiện môi trường cũng được ghi nhận với tỉ lệ chết tự nhiên cao hơn, giao động từ 6 – 14 % ở nhóm đối chứng. Tương tự đối với các quá trình phát triển kế tiếp, cần 90 giây tiếp xúc plasma để tiêu diệt hoàn toàn. Trong khi ở mức xử lý ngắn nhất, tỉ lệ chết của ấu trùng tuổi 3 và 4 chỉ nằm ở mức 40 – 50 %, và giai đoạn tiền nhộng, nhộng chỉ đạt 25 – 30%, thấp hơn đáng kể so với giai đoạn trứng.



Hình 3. 5. Tỷ lệ chết của *Sitophilus oryzae* ở các giai đoạn tiền trưởng thành sau xử lý plasma ở các khoảng thời gian khác nhau

Đối với *S. oryzae* trưởng thành, khả năng chịu đựng với plasma cao hơn đáng kể được quan sát thấy so với các giai đoạn phát triển trước đó, như được trình bày trong hình 3.6. Cụ thể, xử lý một trong 30 giây đạt hiệu quả diệt $20,0 \pm 10,0$ % và tăng dần khi kéo dài thời gian tiếp xúc plasma, lần lượt là $33,3 \pm 5,7$ % ở 60 giây và $60,0 \pm 0,0$ % ở 90 giây. Tại thời gian xử lý plasma cao nhất (120 giây), tỷ lệ diệt được cải thiện đáng kể ($96,7 \pm 5,7$ %), cao hơn từ 35 – 75 % so với các thời gian xử lý ngắn hơn. Ở cùng mức thời gian xử lý, tỷ lệ tử vong của một gạo trưởng thành nhìn chung đều thấp hơn so với các giai đoạn tiền trưởng thành từ 6 – 80 %. Ví dụ tại 30 giây xử lý plasma, tỷ lệ chết của trứng và nhộng nằm trong khoảng 26 – 100 %, trong khi ở một trưởng thành chỉ đạt 20 %, xu hướng tương tự cũng được quan sát thấy ở điều kiện xử lý plasma 60 và 90 giây.



Hình 3. 6. Hiệu quả ức chế của plasma lạnh trên đối tượng một trứng thành được quan sát sau 24 giờ với thời gian xử lý plasma từ 0 đến 120 giây

Sự đáp ứng ở các giai đoạn phát triển của côn trùng đối với plasma đã được báo cáo trong một số nghiên cứu trước đây. Khi sử dụng plasma DBD không khí để kiểm soát bọ bột đỏ (*Tribolium castaneum*), kết quả cho thấy trong khi tỉ lệ chết ở giai đoạn tiền trưởng thành bao gồm trứng, ấu trùng và nhộng đạt từ 95 – 100 % chỉ trong 30 giây xử lý, côn trùng trưởng thành cần trải qua thời gian tiếp xúc lên đến 10 phút để đạt được hiệu quả diệt hoàn toàn [49]. Tương tự, tác động của hệ plasma DBD điện áp cao với hỗn hợp khí đầu vào gồm 65 % O₂, 30 % CO₂ và 5 % N₂ đến các giai đoạn sống của một gạo cũng đã được báo cáo trong thí nghiệm của tác giả Krik – Bradley và cộng sự (2024). Ở giai đoạn tiền trưởng thành, trứng, ấu trùng và nhộng đạt tỉ lệ chết 100 % khi xử lý plasma trong 3 phút. Trong khi đó, cần 10 phút tiếp xúc với plasma để đạt tỉ lệ diệt tối đa đối với một gạo trưởng thành [56]. Việc kết hợp khí trơ như argon hay helium trong hỗn hợp khí đầu vào được quan sát thấy là giúp cải thiện đáng kể tỉ lệ diệt trên một trứng thành (100 % một chết sau 30 giây xử lý), như được báo cáo trong nghiên cứu của Than và cộng sự (2024). Theo đó, hỗn hợp Ar/ không khí cho thấy hiệu quả cao hơn so với He/ không khí, và việc tăng tần số dòng điện trong quá trình vận hành plasma cũng hỗ trợ cải thiện đáng kể hiệu ứng này.

Như vậy, việc sử dụng không khí trong nghiên cứu này cho thấy hiệu quả diệt cao ở thời gian tiếp xúc ngắn, ngay cả với một gao trưởng thành khi so sánh với các nghiên cứu sử dụng hỗn hợp khí khác. Hiệu quả này có thể được gây ra bởi sự tác động đồng thời của các tác nhân sinh ra trong plasma như ROS, RNS, UV, hay hạt tích điện đến côn trùng ở các giai đoạn sống khác nhau.

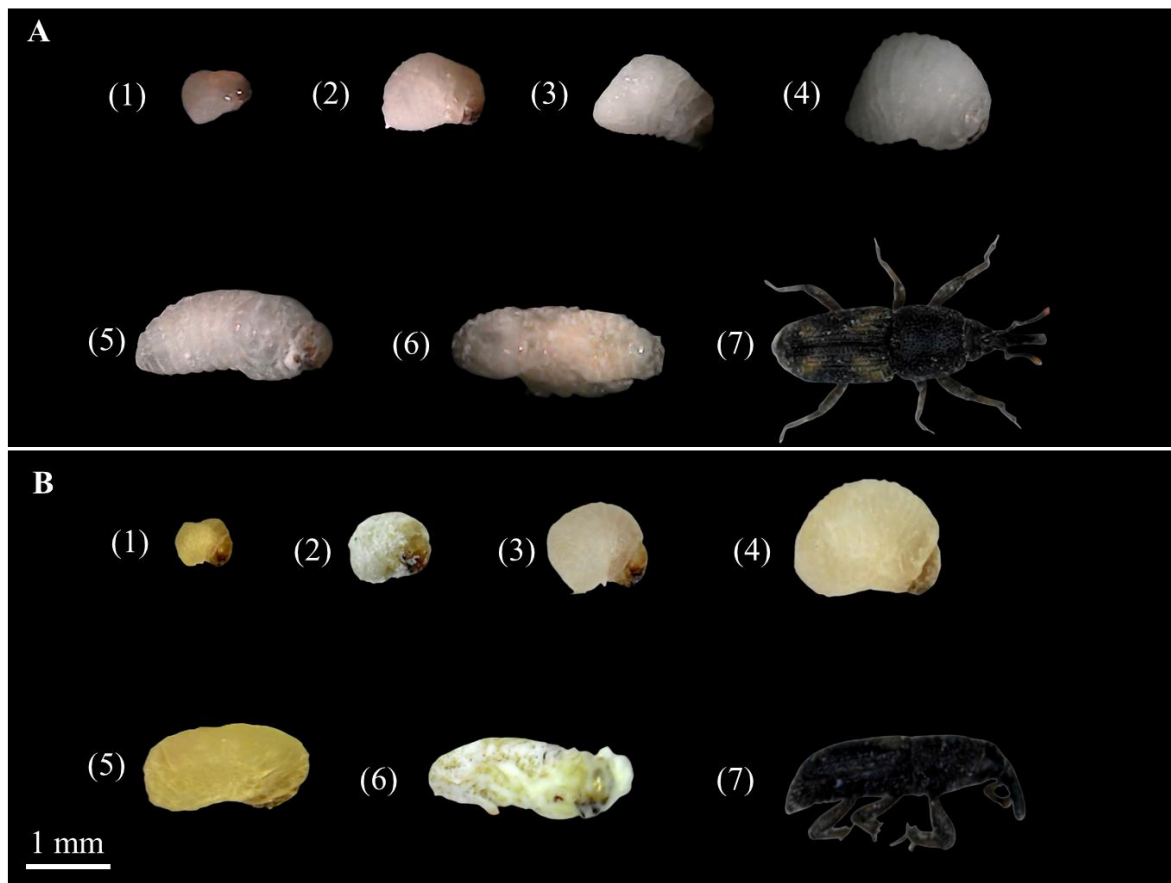
Ở giai đoạn trứng, sự phát triển của phôi với tốc độ phân chia và biệt hóa tế bào cao làm cho chúng nhạy cảm hơn với bức xạ so với các giai đoạn phát triển cao hơn. Trong nghiên cứu của Faruki và cộng sự, xử lý UV ức chế hoàn toàn trứng *T. castaneum* 3 ngày tuổi và được giải thích bởi tác dụng gây phá hủy mô bề mặt, qua đó gây tử vong ở giai đoạn phôi [71]. Sự hiện diện đồng thời của ROS và các hạt tích điện làm gia tăng đáng kể hiệu quả tác động của plasma thông qua tích tụ bề mặt hoặc khuếch tán qua các cấu trúc lỗ nhỏ trên vỏ, như được báo cáo bởi Ramanan và cộng sự [48]. Các tác nhân này gây ra sự phá hủy màng tế bào hay tạo ra sức căng bề mặt vượt quá độ bền của vỏ, từ đó gây ra hiện tượng ức chế. Xử lý trứng sâu bướm *Ectomyelois ceratoniae* với plasma trong 3 phút cũng cho thấy sự ức chế hoàn toàn quá trình nở của trứng, với các khuyết tật tăng trưởng và tổn thương được quan sát thấy ở phôi [72].

Một gao là côn trùng thuộc nhóm biến thái hoàn toàn, với sự khác biệt trong đặc điểm hình thái, sinh lý và cấu trúc giữa các giai đoạn phát triển [73, 74]. Điều này có thể giải thích cho tỉ lệ chết khác nhau ở các giai đoạn phát triển của một gao ở cùng thời gian xử lý trong nghiên cứu này. Ví dụ, lớp biểu bì cứng bên ngoài cấu thành chủ yếu bởi chitin, protein và sắc tố ở một gao trưởng thành có thể có tác dụng bảo vệ khỏi các căng thẳng phi sinh học, giúp chúng tồn tại trong điều kiện sống khắc nghiệt. Trong khi ở giai đoạn tiền trưởng thành, với sự phát triển chưa hoàn chỉnh dẫn đến khả năng chống chịu thấp hơn [75-77]. Mặc dù khả năng bảo vệ cao của lớp biểu bì trong điều kiện sống không thuận lợi, sự tiếp xúc với plasma có thể gây ra các tác động tiêu cực đến cấu trúc này thông qua phá vỡ liên kết C – H trong carbohydrate biểu bì bởi ROS, qua đó gây ra hiệu ứng mất nước và gây chết côn trùng [54, 78]. Bên cạnh đó, tốc độ hô hấp khác biệt trong các giai đoạn phát triển cũng có thể dẫn đến hiệu quả ức chế khác nhau của plasma khí, khi các sản phẩm sinh ra tấn công đến sinh vật đích chủ yếu thông qua hệ thống ống khí [49, 79, 80]. Ngoài việc gây tử vong, xử lý plasma cũng làm mất khả năng chuyển đổi từ nhộng thành cá thể trưởng thành, hoặc gây ra tình trạng dị dạng ở sâu bướm sau lột xác (*Plodia interpunctella*), đã được chỉ ra trong nghiên cứu của Abd et – aziz và cộng sự [55].

Cơ chế hoạt động của plasma trên một gạo ở các giai đoạn từ ấu trùng đến trưởng thành được mô tả là tương tự so với giai đoạn trứng, liên quan đến mất cân bằng ứng suất tĩnh điện do quá trình tích tụ của các hạt tích điện trên bề mặt tế bào, hay sự tương tác của UV và các gốc ROS với các đại phân tử sinh học, gây ra hàng loạt thay đổi tiêu cực trong sinh vật mục tiêu. Các đại phân tử sinh học như lipid, protein, axit nucleic và carbohydrate, có thể dễ dàng bị biến tính hay oxy hóa bởi chiếu xạ UV hay khi có sự hiện diện của gốc oxy hóa mạnh như ozone, từ đó gây ra tổn thương oxy hóa bao gồm ức chế enzyme, mất tính toàn vẹn màng tế bào hay phá hủy vật liệu di truyền và cuối cùng gây chết côn trùng [81, 82].

Hiệu quả ức chế cao nhờ cơ chế tác động đa dạng bởi các thành phần sinh ra trong plasma được minh chứng rõ hơn khi so sánh với phương pháp xử lý ozone hoặc UV riêng lẻ. Ví dụ, để đạt được hiệu quả diệt hoàn toàn, một gạo trưởng thành cần được tiếp xúc với ozone trong ít nhất 12 giờ ở nồng độ 200 ppm, trong khi giai đoạn trứng cần trải qua 24 giờ ử [83]. Hay với nghiên cứu của Srivastava và cộng sự (2021), để đạt được hiệu quả diệt 99 % tỉ lệ diệt ở các giai đoạn sống khác nhau của *S. oryzae*, cần kết hợp duy trì điều kiện xử lý ở mức độ ẩm 12,31 % và 1,93 g/ m³ ozone (tương ứng với 467 ppm) trong 5,86 giờ [25]. Trong khi ở nghiên cứu này, nồng độ ozone tạo thành chỉ đạt mức 29,9650 ppm O₃/ 2L/ phút, và côn trùng gần như bị tiêu diệt hoàn toàn (97 %) chỉ sau 2 phút xử lý.

So với giai đoạn trứng, sự biệt hóa để tạo nên các mô và cơ quan đa dạng cũng làm cho đáp ứng của các giai đoạn ấu trùng, nhộng và trưởng thành có một số điểm khác biệt. Sự thay đổi màu sắc của côn trùng sau xử lý plasma do melanin hóa hay sự đông máu do quá trình tập trung của các tế bào máu nhằm đáp ứng với stress oxy hóa của hệ thống miễn dịch cũng được ghi nhận trên ấu trùng *T. castaneum* và *D. melanogaster* [48, 84]. Hiệu ứng tương tự cũng được quan sát thấy ở ấu trùng một gạo sau tiếp xúc plasma, với sự thay đổi màu sắc toàn thân hoặc cục bộ đậm hơn ở hình 3.7 (B1 – B5).



Hình 3. 7. Hình thái một gạo (A) trước và (B) sau 24 xử lý plasma ở các giai đoạn: (1) ấu trùng tuổi 1, (2) ấu trùng tuổi 2, (3) ấu trùng tuổi 3, (4) ấu trùng tuổi 4, (5) tiền nhộng, (6) nhộng và (7) trưởng thành.

Hệ thống thần kinh, nội tiết và thần kinh cơ cũng được giả thuyết là bị ảnh hưởng ở điều kiện nồng độ các gốc oxygen hoạt động cao, như được báo cáo trong nghiên cứu của Donohue và cộng sự. Cụ thể, *B. germanica* sau xử lý plasma cho thấy sự thay đổi trong hoạt động, bao gồm mất khả năng phản ứng với ánh sáng cũng như rối loạn đáp ứng với các kích thích cơ học bên ngoài [54]. Trong trường hợp của *T. castaneum*, một số đặc điểm như cánh hơi mờ, chân co giật, phản ứng hạn chế, chuyển động chậm chạp cũng đã được ghi nhận sau tiếp xúc plasma [48]. Tương tự trong nghiên cứu này, các cá thể một trưởng thành được quan sát thấy với một số biểu hiện như xòe cánh, mất khả năng di chuyển có định hướng cũng như tốc độ di chuyển chậm sau từ 5 – 10 phút ngưng xử lý plasma, như được thể hiện trong hình 3.8.



Hình 3. 8. Một số biểu hiện bất thường hành vi của một gạo quan sát thấy sau 5 – 10 phút xử lý plasma.

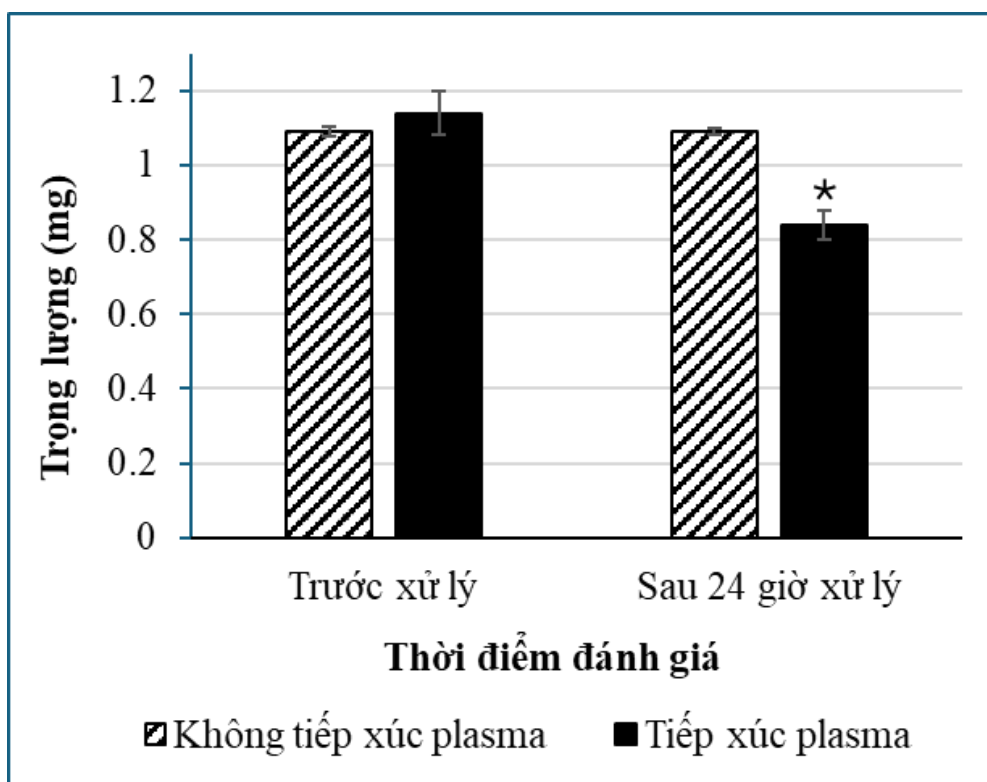
Có thể thấy sự khác biệt trong cấu trúc hình thái và đặc điểm sinh lý của các loài côn trùng khác nhau, cũng như điều kiện vận hành của hệ plasma ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả kiểm soát côn trùng. Việc sử dụng hệ plasma DBD với không khí làm khí đầu vào trong nghiên cứu này không chỉ chứng minh hiệu quả tiêu diệt một gạo cao ở tất cả các giai đoạn phát triển, mà còn cho thấy tiềm năng ứng dụng cao nhờ cấu trúc hệ plasma đơn giản và sự sẵn có của khí đầu vào.

3.3. TÁC ĐỘNG CỦA XỬ LÝ PLASMA LẠNH ĐẾN MỘT SỐ ĐÁP ỨNG SINH HÓA Ở MỘT GẠO TRƯỞNG THÀNH

Sự đáp ứng của sinh vật với các thay đổi trong môi trường sống là một yếu tố quan trọng cho sự tồn tại và phát triển, được thể hiện thông qua nhiều cơ chế như thay đổi hình thái, tập tính hay các hoạt động sinh hóa bên trong cơ thể [85]. Trong nghiên cứu này, sự thay đổi sinh hóa của một gạo trưởng thành khi xử lý với plasma lạnh dưới ngưỡng gây chết hoàn toàn, được đánh giá thông qua sự thay đổi trọng lượng, hàm lượng protein tổng, MDA và hoạt động của enzyme liên quan đến stress oxy hóa bao gồm SOD và CAT.

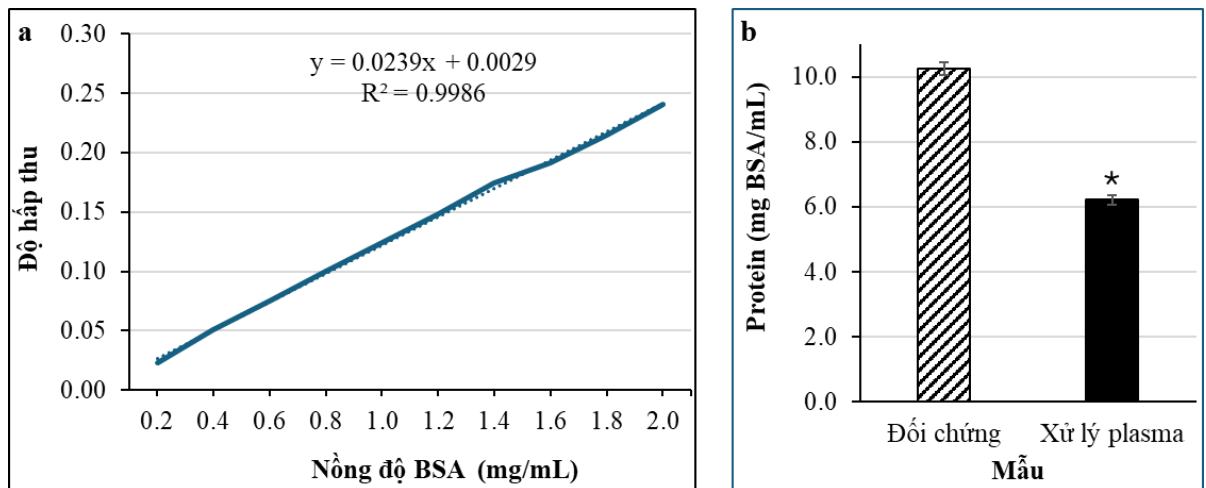
Như được trình bày trong hình 3.9, trọng lượng của một gạo được xử lý bằng plasma lạnh giảm đáng kể gần 30 % sau 24h xử lý so với mẫu đối chứng. Trong khi một gạo không được tiếp xúc plasma duy trì ổn định chỉ số này. Tác động tương tự của plasma lạnh đến trọng lượng côn trùng sau xử lý cũng được báo cáo trong một số nghiên cứu trước đó. Cụ thể, trên *T. castaneum* trưởng thành, khối lượng được ghi nhận là giảm 5 mg (12,5 %) so với trọng lượng trước khi xử lý và có sự tương quan với tốc độ hô hấp thấp hơn ở côn trùng tiếp xúc plasma [49]. Kết quả này cho thấy chiến lược chống chịu của côn trùng có thể liên quan đến sự điều chỉnh hô hấp nhằm giảm thiểu hấp thu các khí độc hại qua hệ thống ống khí. Ngoài ra, các tổn

thương hay sự mất nước sau tiếp xúc plasma cũng có thể ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất bình thường của côn trùng, trong đó bao gồm giảm tốc độ hô hấp, giảm khả năng tổng hợp protein do thiếu hụt năng lượng hay khả năng tiêu hóa bị suy yếu, từ đó gây giảm trọng lượng [86, 87]. Nghiên cứu Donohue và cộng sự cho thấy tỉ lệ giảm trọng lượng của *B. germanica* giao động trong khoảng 4 – 12 % sau 24h ở các thời gian xử lý plasma khác nhau, và trọng lượng bị hao hụt chủ yếu do lượng nước mất đi khi lớp carbohydrate biểu bì bị phá hủy [54].



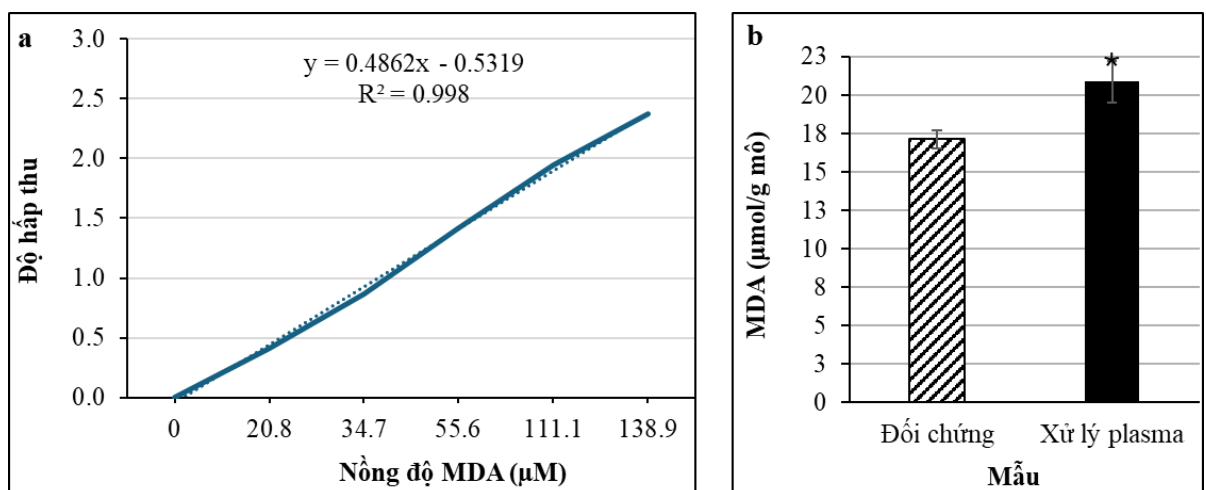
Hình 3. 9. Sự thay trọng lượng của một trưởng thành tại thời điểm trước và 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây. Dấu hoa thị (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$ bằng kiểm định Paired samples T – test.

Bên cạnh ảnh hưởng đến khối lượng, xử lý plasma lạnh cũng cho thấy các tác động tiêu cực đối với hàm lượng protein tổng cũng như tính toàn vẹn của tế bào một gao trưởng thành. Protein là một đại phân tử sinh học quan trọng đối với sinh vật bởi vai trò cấu trúc và chức năng của nó. Protein chủ yếu phân bố trong mô cơ, lớp biểu bì và huyết tương của côn trùng để thực hiện các vai trò thiết yếu từ cấu trúc, vận động, bảo vệ đến lưu trữ và vận chuyển [88-91]. Như được thể hiện trong hình 3.10, nhóm một gao trưởng thành được ghi nhận là có sự suy giảm đáng kể hàm lượng protein tổng sau xử lý plasma, nằm ở mức $6,2 \pm 0,1$ mg BSA/ mL, thấp hơn 40% so với mẫu đối chứng ($10,2 \pm 0,2$ mg BSA/ mL)



Hình 3. 10. Đường chuẩn (a) Albumin huyết thanh bò và (b) sự thay đổi nồng độ protein của một gạo trưởng thành ở thời điểm 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây. Dấu hoa thị (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Ở côn trùng, lipid cũng chiếm tỉ lệ cao trong trọng lượng cơ thể, dao động trong khoảng 12,7 % trọng lượng khô, thường được tìm thấy trong biểu bì, mô mỡ, ruột giữa và buồng trứng. Lipid đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ, dự trữ năng lượng, miễn dịch, sinh sản hay tín hiệu [92-94]. Trong nghiên cứu này, điều kiện stress oxy hóa dẫn đến sự hình thành của $20,26 \pm 1,12 \mu\text{L}$ MDA ở nhóm côn trùng tiếp xúc với plasma, cao hơn đáng kể (29 %) so với mẫu đối chứng, như được thể hiện trong hình 3.11.



Hình 3. 11. (a) Đường chuẩn và (b) sự thay đổi nồng độ malondialdehyde của một gạo trưởng thành ở thời điểm 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây. Dấu hoa thị (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

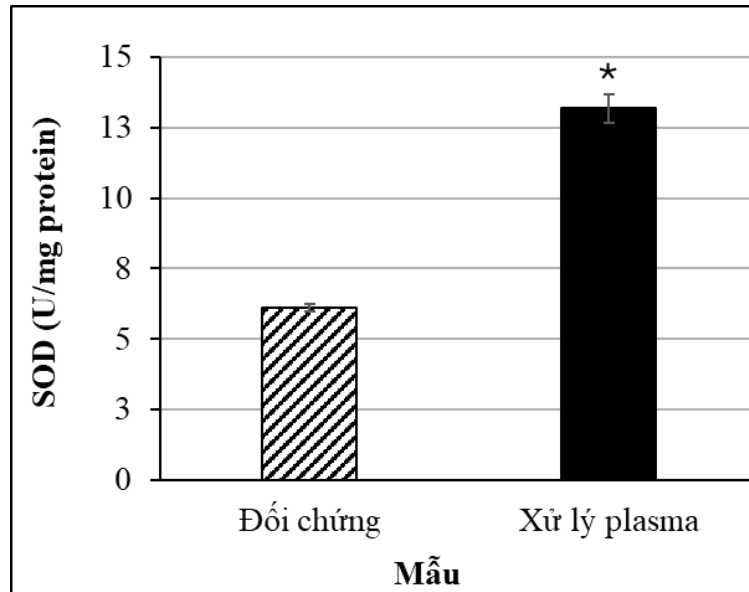
Như đã trình bày trước đó, nhiều thành phần tạo thành trong quá trình vận hành plasma có thể ảnh hưởng trực tiếp như ROS, UV hoặc gián tiếp như electron, hạt tích điện đến sinh vật. Trong đó, UV là một tác nhân có năng lượng xuyên thấu cao, được báo cáo với khả năng khử nhiễm nấm và côn trùng trên các loại nông sản khác nhau [95, 96]. Xử lý UV gây ra sự thay đổi cấu trúc thứ cấp, phá hủy các amino acid hay ảnh hưởng đến trạng thái propionyl hóa, glycosyl hóa hoặc phosphoryl hóa của protein tế bào, làm mất chức năng hay kết tủa protein [97, 98]. Bên cạnh UV, sự hiện diện của ROS với khả năng phản ứng cao với các đại phân tử sinh học cũng đóng góp đáng kể vào sự suy giảm protein. Theo đó, các gốc oxy tự do tấn công trực tiếp protein bằng cách oxy hóa các chuỗi bên axit amin cụ thể trong cấu trúc protein như cysteine, methionine, lysine, arginine, ... dẫn đến những biến đổi như carbonyl hóa, hình thành liên kết disulfide và những thay đổi trong cấu trúc, cuối cùng ảnh hưởng đến chức năng của protein và gây tổn thương tế bào [99-101].

Sự tích lũy và tấn công đồng thời của ROS ngoại sinh và nội sinh được thể hiện rõ ràng hơn thông qua hàm lượng MDA cao ở các mẫu xử lý plasma. Trong điều kiện stress oxy hóa, sự hình thành của hydroxyl và hydroperoxyl có thể gây tổn thương trực tiếp đến lipid. Trong đó, malondialdehyde, một sản phẩm phụ hình thành bởi quá trình peroxy hóa lipid khi các axit béo không bão hòa đa trong màng tế bào bị oxy hóa bởi các gốc tự do, được xem là một dấu chỉ sinh học quan trọng cho tình trạng tổn thương oxy hóa [102]. Bên cạnh đó, tia cực tím cũng gây ra sự gia tăng các nhóm methyl liên quan đến lipid, gây oxy hóa cũng như thay đổi trong thành phần lipid [98]. Các hạt tích điện hay UV cũng đóng góp vào hiện tượng này thông qua cảm ứng sự hình thành ROS nội sinh, từ đó gia tăng sự phá hủy các thành phần tế bào [103-105]. Ngoài ra, MDA cũng được báo cáo là có khả năng khuếch tán và phản ứng với các protein lân cận, từ đó dẫn đến các biến đổi trên chuỗi bên của protein, thay đổi cấu trúc cũng như biến tính protein và mất hoạt tính của enzyme [105].

Trong điều kiện plasma, sự hình thành trực tiếp của các gốc ROS ngoại sinh cũng như cảm ứng ROS nội sinh đòi hỏi sự đáp ứng của hệ thống enzyme chống oxy hóa – với vai trò duy trì cân bằng thể oxy hóa – khử nội môi nhằm đảm bảo hoạt động bình thường của các cơ quan cũng như ngăn ngừa tổn thương tế bào.

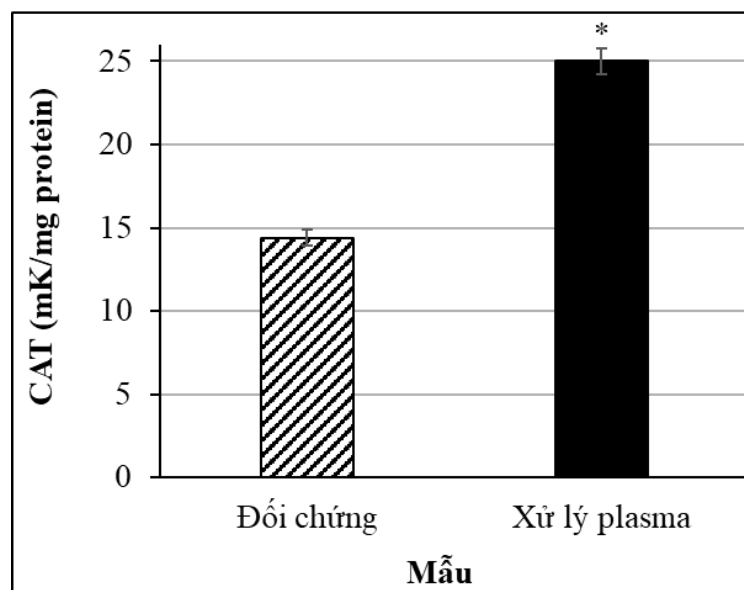
Trong nghiên cứu này, hoạt động CAT và SOD được ghi nhận là tăng đáng kể ở các cá thể trưởng thành sau tiếp xúc plasma, với hoạt động cao hơn được quan sát thấy ở SOD. Cụ thể sau 24 giờ xử lý plasma, hoạt động SOD được quan sát thấy

ở mức $13,0 \pm 0,5$ U/ mg protein, cao hơn đến 40 % so với côn trùng ở nhóm đối chứng, như được thể hiện trong hình 3.12.



Hình 3. 12. Sự thay đổi hoạt động enzyme superoxide dismutase của một gạo trưởng thành ở 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây. Dấu hoa thị (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0.05$.

Tương tự, hoạt động phân giải H_2O_2 bởi enzyme catalase trong mô cũng gia tăng đáng kể từ $14,40 \pm 0,46$ mK/ mg protein (mẫu đối chứng) lên $25,00 \pm 0,79$ mK/ mg protein ở các côn trùng có sự tiếp xúc với plasma, như được trình bày trong hình 3.13.



Hình 3. 13. Sự thay đổi hoạt động enzyme catalase của một gạo trưởng thành ở 24 giờ sau xử lý plasma 90 giây. Dấu hoa thị (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Các gốc oxygen phản ứng là một sản phẩm của quá trình trao đổi chất tế bào, đóng vai trò quan trọng trong điều hòa các quá trình sinh học. Tuy nhiên, do khả năng phản ứng cao, nồng độ ROS vượt ngưỡng trong điều kiện stress hoặc sự tiếp xúc ROS ngoại sinh gây ra các ảnh hưởng tiêu cực đến mô và tế bào. Do đó, cần có các cơ chế điều hòa để duy trì cân bằng thể oxy hóa – khử nội mô [106, 107]. Trong đó, SOD và CAT được xem là những enzyme đóng vai trò quan trọng trong hệ thống trung hòa các gốc oxy hóa thành các sản phẩm ít độc hại hơn ở nhiều loại côn trùng [91]. Superoxide dismutase là một trong những tuyến phòng thủ đầu tiên bên trong tế bào, xúc tác quá trình chuyển đổi các gốc O_2^- thành H_2O_2 và O_2 . Hydroperoxide sau đó tiếp tục được phân cắt thành hai phân tử nước và O_2 bởi hoạt động của enzyme CAT [108-110].

Cùng với nồng độ ozone tăng dần từ kết quả ở nội dung 1, sự gia tăng hoạt động của SOD và CAT ở một gáo trưởng thành trong nghiên cứu này cho thấy xử lý plasma lạnh gây ra stress oxy hóa thông qua sự hình thành ROS, UV và các yếu tố gây stress khác. Một số loại côn trùng khác như ong mật (*Apis mellifera*), sâu đục trái (*Helicoverpa armigera*) bướm đêm (*Tobacco cutworm*) hay muỗi culex (*Culex pipiens*) sau tiếp xúc ozone và UV liều cao cũng gây ra sự đáp ứng tương tự trong hoạt động enzyme superoxide dismutase, catalase, peroxidase hay glutathione S – transferase [111-114]. Trong trường hợp plasma lạnh, tác động gây stress oxy hóa trên côn trùng gồm thay đổi hàm lượng protein, MDA hay hoạt động enzyme chống oxy hóa cũng đã được báo cáo trên một số đối tượng như *T. castaneum*, *P. interpunctella*.

Trong nghiên cứu của Ziuzina và cộng sự, khi tăng dần thời gian xử lý *T. castaneum* với hệ plasma DBD không khí, lượng protein trong côn trùng giảm dần trong khi hàm lượng MDA tăng cao. Cụ thể, xử lý plasma 5 phút làm giảm 30% protein tổng và tăng 77% MDA so với mẫu đối chứng. Côn trùng tiếp xúc với plasma cũng làm tăng đáng kể hoạt động của GST, từ 0,2 nmol/ phút/ mg protein lên 0,8 nmol/ phút/ mg sau 4 phút xử lý, tuy nhiên kéo dài thời gian tiếp xúc plasma gây ra hiện tượng giảm hoạt động enzyme. Không có sự thay đổi đáng kể được quan sát thấy đối với hoạt động của SOD và CAT, với hai giả thuyết được đưa ra như sau: (1) SOD và CAT không có vai trò quan trọng trong hệ thống chống oxy hóa trên *T. castaneum*, hay (2) sự hình thành của ROS vượt quá khả năng đáp ứng của hệ thống enzyme trung hòa, gây ra sự biến tính và tổn thương không thể phục hồi trên các enzyme này. Luận điểm này được hỗ trợ thông qua nồng độ MDA cao vượt trội sau 5 phút xử lý và sự suy giảm hoạt động của GST [49]. Trên ấu trùng *P. interpunctella*, hàm lượng lipid peroxide và hoạt động của CAT, GST được ghi nhận

là tăng đáng kể trong khi GSH – Px không có sự thay đổi so với mẫu đối chứng. Trong khi đó, hàm lượng glutathione reduced và protein ở ấu trùng tiếp xúc với plasma jet áp suất khí quyển giảm đáng kể, là bằng chứng cho thấy xử lý plasma gây ra tình trạng stress oxy hóa vượt mức đáp ứng của côn trùng, gây ra sự phá hủy tế bào, biến tính protein và phá hủy mô, từ đó gây chết côn trùng [55]. Tương tự với nghiên cứu trước đó của nhóm trên một gạo trưởng thành, tiếp xúc với plasma DBD vận hành với hỗn hợp khí He/ không khí dẫn đến sự gia tăng hoạt động CAT sau 24h xử lý. Tuy nhiên sự suy giảm hoạt động SOD cũng được quan sát thấy và được giải thích thông qua sự hình thành các gốc tự do cao vượt ngưỡng đáp ứng khi có sự hiện diện của khí trơ helium, từ đó gây ra sự biến tính không phục hồi đối với enzyme này [57].

Từ các kết quả trên, sự đáp ứng của côn trùng được quan sát thấy với sự đa dạng tùy thuộc vào sự khác biệt loài và giai đoạn phát triển. Bên cạnh đó, thành phần và nồng độ các hợp chất sinh ra ở các hệ plasma với cấu trúc và điều kiện vận hành khác nhau cũng cho thấy tác động khác nhau đến đáp ứng sinh hóa của côn trùng, ngay cả khi xử lý trên cùng một đối tượng. Bên cạnh ảnh hưởng đến hệ thần kinh, xử lý plasma lạnh cũng gây ra tình trạng stress oxy hóa cao trên các loài côn trùng, như có thể thấy thông qua sự biến tính protein, sự hình thành các sản phẩm oxy hóa của lipid cũng như sự thay đổi hoạt động của các enzyme chống oxy hóa. Trong nghiên cứu này, với thời gian xử lý mở rộng, sự tiếp xúc của một gạo với các thành phần sinh ra trong plasma như ROS và UV cũng tăng dần, tương ứng với sự thay đổi trong tỉ lệ tử vong ở côn trùng. Việc sử dụng hệ plasma DBD không khí trong nghiên cứu này cũng được đánh giá với hiệu quả kiểm soát một gạo cao nhờ cơ chế tác động đa dạng, với 100 % côn trùng ở giai đoạn tiền trưởng thành bị tiêu diệt trong vòng 90 giây tiếp xúc, trong khi đó một gạo trưởng thành cần 120 giây xử lý để đạt tỉ lệ chết 97 %. Các đánh giá sinh hóa trên một trưởng thành sau xử lý plasma cho thấy sự suy giảm khối lượng, hàm lượng protein tổng cũng như tình trạng stress oxy hóa cao – như được chỉ ra bởi sự gia tăng hoạt động enzyme SOD và catalase cũng như nồng độ MDA ở các mẫu tiếp xúc plasma 90 giây.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu khảo sát khả năng kiểm soát mốc gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau bằng hệ thống plasma DBD sử dụng không khí, cũng như đáp ứng sinh hóa của mốc gạo trưởng thành sau xử lý plasma, một số kết quả được ghi nhận như sau:

- Đã chế tạo thành công hệ plasma DBD sử dụng không khí phù hợp cho mục tiêu kiểm soát *Sitophilus oryzae* với công suất tiêu thụ thấp. Bên cạnh đó, nồng độ O_3 và NO_2 tạo thành cũng như nhiệt độ trong quá trình vận hành cũng được phân tích.
- Sử dụng hệ plasma DBD không khí có hiệu quả kiểm soát mốc gạo cao ở tất cả các giai đoạn phát triển trong thời gian ngắn. Cơ chế tác động của plasma được giải thích thông qua thành phần đa dạng sinh ra trong quá trình phóng điện plasma ở nhiệt độ phòng.
- Các giai đoạn phát triển khác nhau cho thấy khả năng chống chịu khác nhau với plasma, cụ thể giai đoạn tiền trưởng thành cho thấy độ nhạy cảm cao hơn với tỉ lệ ức chế đạt 100% trong vòng 90 giây xử lý, trong khi đó, cần 120 giây để diệt hiệu quả mốc trưởng thành.
- Xử lý plasma tác động tiêu cực đến một số chỉ số sinh hóa của mốc gạo như trọng lượng, hàm lượng protein tổng và tính toàn vẹn của tế bào. Bên cạnh đó, phương pháp xử lý này cũng kích hoạt một hệ thống chống oxy hóa trên mốc trưởng thành, bao gồm gia tăng hoạt động của enzyme superoxide dismutase và catalase. Ngoài ra, mốc gạo sau xử lý plasma cũng cho thấy một số bất thường trong hoạt động, bao gồm phản ứng chậm với các kích thích, mở cánh, co chi hay màu sắc lớp biểu bì đậm hơn ở các giai đoạn ấu trùng và tiền nhộng.

KIẾN NGHỊ

Từ các kết quả thu được, một số kiến nghị được đề xuất như sau:

- Mở rộng thử nghiệm: Phân tích một số chỉ tiêu sinh hóa khác như carbonyl hóa protein, thành phần axit béo hay sự thay đổi hoạt động của glutathione S – transferase, hàm lượng glutathione... để hiểu rõ hơn đáp ứng của một gạo trưởng thành.
- Đánh giá tương tự trên các giai đoạn phát triển tiền trưởng thành để làm rõ đáp ứng theo giai đoạn cũng như tối ưu hóa quy trình.
- Phát triển các hệ thống plasma với các kiểu phóng khác nhau để so sánh hiệu quả tiêu diệt một gạo.
- Tiến hành đánh giá về thay đổi tính chất hóa lý của gạo sau xử lý plasma, làm cơ sở cho ứng dụng thực tiễn ở quy mô lớn hơn.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Singh S., Sharma D., Bhatia S., Singh A., 2017, Effect of various plant powders on rice weevil (*Sitophilus oryzae* Linn.) in stored wheat, *Journal of Environmental Biology*, 38(3), pp. 501.
2. Mesterházy Á., Oláh J., Popp J., 2020, Losses in the grain supply chain: Causes and solutions, *Sustainability*, 12(6), pp. 2342.
3. Zhao Y., Lv H., Li Y., 2023, Grain storage: Theory, technology and equipment, 12(20), pp. 3792.
4. Thiệp Đ.H., Dương P.B., 2023, Tổng quan về một số vấn đề lý luận và thực tiễn về sản xuất lúa gạo theo tiêu chuẩn chứng nhận, *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 21(6), tr. 771-782.
5. Manandhar A., Milindi P., Shah A., 2018, An overview of the post-harvest grain storage practices of smallholder farmers in developing countries, *Agriculture*, 8(4), pp. 57.
6. Kumar D., Kalita P., 2017, Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries, *Foods*, 6(1), pp. 8.
7. Kosewska O., Nietupski M., Koronkiewicz S., Przemieniecki S.W., 2024, The chemical grain composition of wheat and barley affects the development of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* F.) and the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.), *Journal of Plant Protection Research*, 64(3), pp. 275-287.
8. Cao Y., Hu Q., Huang L., Athanassiou C.G., Maggi F., D'Isita I., Liu Y., Pistillo O.M., Miao M., Germinara G.S., 2024, Attraction of *Sitophilus oryzae* (L.)(Coleoptera: Curculionidae) to the semiochemical volatiles of stored rice materials, *Journal of Pest Science*, 97(1), pp. 73-85.
9. Van Winkle T., Ponce M., Quellhorst H., Bruce A., Albin C.E., Kim T.N., Zhu K.Y., Morrison W.R., 2022, Microbial volatile organic compounds from tempered and incubated grain mediate attraction by a primary but not secondary stored product insect pest in wheat, *Journal of Chemical Ecology*, pp. 1-14.
10. Golić M.P., Andrić G., Jovičić I., Kljajić P., 2021, The effectiveness of low temperature (5° C) on *Sitophilus oryzae* (L.), *Sitophilus zeamais* (Motch.) and *Sitophilus granarius* (L.) in wheat grain: The impact of pre-acclimation, *Journal of Stored Products Research*, 90, pp. 101751.

11. Devi S.R., Thomas A., Rebijith K., Ramamurthy V., 2017, Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. ázeamais* (Coleoptera: Curculionidae), *Journal of Stored Products Research*, 73, pp. 135-141.
12. Buatone S., 2010, *Biological control of rice weevils (Sitophilus oryzae L.) in stored milled rice by the extracts of mintweed, kitchen mint and kaffir lime*, School of Biology. Institute of Science. Suranaree University of Technology.
13. Ashamo M.O., 2006, Relative susceptibility of some local and elite rice varieties to the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L.(Coleoptera: Curculionidae), *Journal of Food Agriculture and Environment*, 4(1), pp. 249.
14. Davis S.R., 2011, Rostrum structure and development in the rice weevil *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionoidea: Dryophthoridae), *Arthropod Structure & Development*, 40(6), pp. 549-558.
15. Payne T., 2002, Harvest and storage management of wheat, *Bread wheat Improvement and Production. FAO Plant Production and Protection Series*, 30.
16. Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Campbell J.F., 2017, Competition of three species of *Sitophilus* on rice and maize, *PLoS One*, 12(3), pp. e0173377.
17. Dal Bello G., Padin S., Lastra C.L., Fabrizio M., 2000, Laboratory evaluation of chemical-biological control of the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) in stored grains, *Journal of stored products research*, 37(1), pp. 77-84.
18. Doherty E.M., Sun Q., Wilson B.E., 2023, Stored rice varietal resistance towards *Sitophilus oryzae*, *Crop Protection*, 165, pp. 106162.
19. UNEP, *Fourth meeting of the parties to the Montreal protocol on substances that deplete the ozone layer. In: Program, U.N.E. (Ed.). 1992: Denmark, Copenhagen.*
20. Mansoor-ul-Hasan A.A., Jafir M., Javed M., Shehzad M., Chaudhary M.Z., Aftab M., 2017, Effect of temperature and relative humidity on development of *Sitophilus oryzae* L.(Coleoptera: Curculionidae), *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(6), pp. 85-90.
21. Arthur F.H., Campbell J.F., Toews M.D., 2014, Distribution, abundance, and seasonal patterns of stored product beetles in a commercial food storage facility, *Journal of Stored Products Research*, 56, pp. 21-32.
22. Sparks T.C., Nauen R., 2015, IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management, *Pesticide biochemistry and physiology*, 121, pp. 122-128.

23. Ribeiro B., Guedes R., Oliveira E., Santos J., 2003, Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), *Journal of Stored Products Research*, 39(1), pp. 21-31.
24. Amoah B.A., Mahroof R.M., 2020, Disinfestation of wheat infested with *Sitophilus oryzae* using ozone gas, *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 36(1), pp. 35-46.
25. Srivastava S., Mishra G., Mishra H.N., 2021, Vulnerability of different life stages of *Sitophilus oryzae* insects in stored rice grain to ozone treatment and its effect on physico-chemical properties in rice grain, *Food Frontiers*, 2(4), pp. 494-507.
26. Mohmed A., 2025, Role of nanoparticles in stored-product insect pest management: A review, *Sarhad Journal of Agriculture*, 41(1), pp. 176-183.
27. Dikbaş N., Ucar S., Tozlu G., Özer T.Ö., Kotan R., 2023, The effect of immobilized chitinase enzyme on the biocontrol of *Sitophilus zeamais*, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 47(2), pp. 170-177.
28. Ismail T., Salama M.A., El-Ebiary M., 2021, Entomotoxic effects of synthesized aluminum oxide nanoparticles against *Sitophilus oryzae* and their toxicological effects on albino rats, *Toxicology and Industrial Health*, 37(10), pp. 594-602.
29. Mehta V., Kumar S., 2020, Influence of different plant powders as grain protectants on *Sitophilus oryzae* (L.)(Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat, *Journal of Food Protection*, 83(12), pp. 2167-2172.
30. Mohammad M.Y., Haniffa H.M., Shakya A.K., Naik R.R., Sivarajan T., 2024, Evaluation of five medicinal plants for the management of *Sitophilus oryzae* in stored rice and identification of insecticidal compound, *Heliyon*, 10(10).
31. Fawki S., Fields P., Jian F., Yousery A., 2022, Control of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) in bags of wheat using solar radiation, *Journal of Stored Products Research*, 96, pp. 101941.
32. Zhou L., Wang S., 2016, Verification of radio frequency heating uniformity and *Sitophilus oryzae* control in rough, brown, and milled rice, *Journal of Stored Products Research*, 65, pp. 40-47.
33. Follett P.A., Snook K., Janson A., Antonio B., Haruki A., Okamura M., Bisel J., 2013, Irradiation quarantine treatment for control of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) in rice, *Journal of stored products research*, 52, pp. 63-67.

34. Sen D., Dey P., Pal K., Mondal R., Sain A., Roy N., 2016, Potency of UV irradiation in management of rice weevil, *Sitophilus oryzae* L., *JAST-A Revi. Multidiscip. Res. J*, 2(1), pp. 61-67.
35. Nasr M., Zinhoum R.A., Lotfy K., 2020, Efficacy of cold plasma against three of stored grain insects, *Int J Entomol Res*, 5, pp. 113-117.
36. Shalaby S., Nagatomi S., Powell E., 2013, Sterilization techniques for biotextiles for medical applications in *Biotextiles as Medical Implants* pp. 157-168.
37. Pankaj S.K., Keener K.M., 2017, Cold plasma: Background, applications and current trends, *Current Opinion in Food Science*, 16, pp. 49-52.
38. Sarinont T., Katayama R., Wada Y., Koga K., Shiratani M., 2017, Plant growth enhancement of seeds immersed in plasma activated water, *Mrs Advances*, 2(18), pp. 995-1000.
39. Klenivskyi M., Khun J., Thonová L., Vaňková E., Scholtz V., 2024, Portable and affordable cold air plasma source with optimized bactericidal effect, *Scientific Reports*, 14(1), pp. 15930.
40. Sklias K., Santos Sousa J., Girard P.-M., 2021, Role of short-and long-lived reactive species on the selectivity and anti-cancer action of plasma treatment in vitro, *Cancers*, 13(4), pp. 615.
41. Machala Z., Tarabová B., Sersenová D., Janda M., Hensel K., 2018, Chemical and antibacterial effects of plasma activated water: Correlation with gaseous and aqueous reactive oxygen and nitrogen species, plasma sources and air flow conditions, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 52(3), pp. 034002.
42. Kosumsupamala K., Thana P., Palee N., Lamasai K., Kuensaen C., Ngamjarurojana A., Yangkhamman P., Boonyawan D., 2022, Air to H₂-N₂ pulse plasma jet for in-vitro plant tissue culture process: source characteristics, *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 42(3), pp. 535-559.
43. Ramezan Y., Kamkari A., Lashkari A., Moradi D., Tabrizi A.N., 2024, A review on mechanisms and impacts of cold plasma treatment as a non-thermal technology on food pigments, *Food Science & Nutrition*, 12(3), pp. 1502-1527.
44. Gorbanev Y., Privat-Maldonado A., Bogaerts A., *Analysis of short-lived reactive species in plasma–air–water systems: The dos and the do nots*. 2018, ACS Publications.
45. Zhou C., Hu Y., Zhou Y., Yu H., Li B., Yang W., Zhai X., Wang X., Liu J., Wang J., 2024, Air and argon cold plasma effects on lipolytic enzymes

- inactivation, physicochemical properties and volatile profiles of lightly-milled rice, *Food Chemistry*, 445, pp. 1386-99.
46. Saman N.M., Ahmad M.H., Buntat Z., 2022, Experimental Analysis of Cold Plasma With Glow Discharge Mechanism Under a Variety of Input Parameters, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 50(7), pp. 2110-2125.
 47. Bourke P., Ziuzina D., Boehm D., Cullen P.J., Keener K., 2018, The potential of cold plasma for safe and sustainable food production, *Trends in biotechnology*, 36(6), pp. 615-626.
 48. Ramanan K.R., Sarumathi R., Mahendran R., 2018, Influence of cold plasma on mortality rate of different life stages of *Tribolium castaneum* on refined wheat flour, *Journal of Stored Products Research*, 77, pp. 126-134.
 49. Ziuzina D., Van Cleynebreugel R., Tersaruolo C., Bourke P., 2021, Cold plasma for insect pest control: *Tribolium castaneum* mortality and defense mechanisms in response to treatment, *Plasma Processes and Polymers*, 18(10), pp. 2000178.
 50. Ray P.D., Huang B.-W., Tsuji Y., 2012, Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling, *Cellular signalling*, 24(5), pp. 981-990.
 51. Wu H., Yin J.-J., Wamer W.G., Zeng M., Lo Y.M., 2014, Reactive oxygen species-related activities of nano-iron metal and nano-iron oxides, *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(1), pp. 86-94.
 52. Abdal Dayem A., Hossain M.K., Lee S.B., Kim K., Saha S.K., Yang G.-M., Choi H.Y., Cho S.-G., 2017, The role of reactive oxygen species (ROS) in the biological activities of metallic nanoparticles, *International journal of molecular sciences*, 18(1), pp. 120.
 53. Han I., Mumtaz S., Choi E.H., 2022, Nonthermal biocompatible plasma inactivation of coronavirus SARS-CoV-2: Prospects for future antiviral applications, *Viruses*, 14(12), pp. 2685.
 54. Donohue K.V., Bures B.L., Bourham M.A., Roe R.M., 2006, Mode of action of a novel nonchemical method of insect control: atmospheric pressure plasma discharge, *Journal of economic entomology*, 99(1), pp. 38-47.
 55. Abd El-Aziz M.F., Mahmoud E.A., Elaragi G.M., 2014, Non thermal plasma for control of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Journal of stored products research*, 59, pp. 215-221.

56. Kirk-Bradley N., Hujon S., Rohilla A., Burciaga M., Zhu-Salzman K., Moore J.M., 2024, Atmospheric cold plasma-induced mortality in *Sitophilus oryzae* (L.), *Crop Protection*, 181, pp. 106685.
57. Than H.A.Q., Tran M.A.N., Nguyen T.T., Pham T.H., Vu L.D., Khacef A., 2024, Control of *Sitophilus oryzae* (L.) using argon and helium atmospheric non-thermal plasma, *Journal of Stored Products Research*, 108, pp. 102394.
58. Kawasaki T., Kawano K., Mizoguchi H., Yano Y., Yamashita K., Sakai M., Shimizu T., Uchida G., Koga K., Shiratani M., 2014, Visualization of the distribution of oxidizing substances in an atmospheric pressure plasma jet, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 42(10), pp. 2482-2483.
59. Ziuzina D., Patil S., Cullen P.J., Keener K., Bourke P., 2014, Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh produce, *Food microbiology*, 42, pp. 109-116.
60. Morgan N., Elsabbagh M., Desoky S., Garamoon A., 2009, Deactivation of yeast by dielectric barrier discharge, *The European Physical Journal-Applied Physics*, 46(3), pp. 31001.
61. Than H.A.Q., Tran M.A.N., Nguyen D.K.V., Nguyen T.T., Pham T.H., 2025, Post-Germination Growth Stimulation in Mustard Greens (*Brassica juncea* L.) by Gaseous Products from Air Plasma Discharge, *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 45(1), pp. 313-324.
62. Abdollahzadeh M., Rodrigues F., Nunes-Pereira J., Pascoa J., Pires L., 2022, Parametric optimization of surface dielectric barrier discharge actuators for ice sensing application, *Sensors and Actuators A: Physical*, 335, pp. 113391.
63. Liu S., Zeng Y., Chi F., Li J., Xiao C., 2023, Influence of electrode on discharge property in dielectric barrier discharge of atmospheric pressure helium, *Vacuum*, 209, pp. 111793.
64. Hall J.R., Rouillard K.R., Suchyta D.J., Brown M.D., Ahonen M.J.R., Schoenfisch M.H., 2019, Mode of nitric oxide delivery affects antibacterial action, *ACS biomaterials science & engineering*, 6(1), pp. 433-441.
65. Liu Y.-B., 2013, Nitric oxide as a potent fumigant for postharvest pest control, *Journal of economic entomology*, 106(6), pp. 2267-2274.
66. Liu Y.-B., 2020, Comparison of efficacy of nitric oxide fumigation under nitrogen and carbon dioxide atmospheres in controlling granary weevil (*Sitophilus granaries*) and confused flour beetle (*Tribolium confusum*), *Journal of Stored Products Research*, 88, pp. 101672.

67. Milosavljević V., Cullen P.J., 2017, Spectroscopic investigation of a dielectric barrier discharge in modified atmosphere packaging, *The European Physical Journal Applied Physics*, 80(2), pp. 20801.
68. Boekema B., Vlig M., Guijt D., Hijnen K., Hofmann S., Smits P., Sobota A., Van Veldhuizen E., Bruggeman P., Middelkoop E., 2015, A new flexible DBD device for treating infected wounds: in vitro and ex vivo evaluation and comparison with a RF argon plasma jet, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 49(4), pp. 044001.
69. Carpen L., Chireceanu C., Teodorescu M., Chiriloaie A., Teodoru A., Dinescu G., 2019, The effect of argon/oxygen and argon/nitrogen atmospheric plasma jet on stored products pests, *Romanian Journal of Physics*, 64(503), pp. 1-11.
70. Cullen P.J., Misra N., Han L., Bourke P., Keener K., O'Donnell C., Moiseev T., Mosnier J.P., Milosavljević V., 2014, Inducing a dielectric barrier discharge plasma within a package, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 42(10), pp. 2368-2369.
71. Faruki S., Das D., Khan A., Khatun M., 2007, Effects of ultraviolet (254nm) irradiation on egg hatching and adult emergence of the flour beetles, *Tribolium castaneum*, *T. confusum* and the almond moth, *Cadra cautella*, *Journal of insect science*, 7(1), pp. 36.
72. Soufbaf M., Nohekhan M., Bakhtiari M., 2023, Inhibitory effects of cold atmospheric plasma on population growth of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) in laboratory, *Plos one*, 18(11), pp. e0294852.
73. Longstaff B.C., 1981, Biology of the grain pest species of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae): a critical review, *Protection Ecology*, 3(2), pp. 83-130.
74. Truman J.W., 2019, The evolution of insect metamorphosis, *Current Biology*, 29(23), pp. R1252-R1268.
75. Engl T., Eberl N., Gorse C., Krüger T., Schmidt T.H., Plarre R., Adler C., Kaltenpoth M., 2018, Ancient symbiosis confers desiccation resistance to stored grain pest beetles, *Molecular ecology*, 27(8), pp. 2095-2108.
76. Lacotte V., Dell'Aglia E., Peignier S., Benzaoui F., Heddi A., Rebollo R., Da Silva P., 2023, A comparative study revealed hyperspectral imaging as a potential standardized tool for the analysis of cuticle tanning over insect development, *Heliyon*, 9(3).

77. Noh M.Y., Muthukrishnan S., Kramer K.J., Arakane Y., 2016, Cuticle formation and pigmentation in beetles, *Current opinion in insect science*, 17, pp. 1-9.
78. Bures B.L., Donohue K.V., Roe R.M., Bourham M.A., 2006, Nonchemical dielectric barrier discharge treatment as a method of insect control, *IEEE transactions on plasma science*, 34(1), pp. 55-62.
79. Emekci M., Navarro S., Donahaye E., Rindner M., Azrieli A., 2002, Respiration of *Tribolium castaneum* (Herbst) at reduced oxygen concentrations, *Journal of Stored Products Research*, 38(5), pp. 413-425.
80. Singh N., Campbell A., Sinha R., 1976, An energy budget of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae), *Annals of the Entomological Society of America*, 69(3), pp. 503-512.
81. Iriti M., Faoro F., 2008, Oxidative stress, the paradigm of ozone toxicity in plants and animals, *Water, Air, and Soil Pollution*, 187, pp. 285-301.
82. Than H.A.Q., Nguyen T.T., Do N.K., Tran M.A.N., Pham T.H., 2024, Inactivation of *Diutina catenulata* isolated from Longan fruit using atmospheric pressure cold plasma DBD in argon, air, and argon-air mixture, *Food and Bioprocess Technology*, pp. 1-10.
83. Amoah B.A., Mahroof R.M., 2019, Ozone as a potential fumigant alternative for the management of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) in wheat, *Journal of Economic Entomology*, 112(4), pp. 1953-1963.
84. Ferreira M.I., Gomes J.G.L., Benilov M.S., Khadem M., 2016, Effects of nonthermal atmospheric-pressure plasma on *Drosophila* development, *Plasma Medicine*, 6(2), pp. 115-124.
85. 1966, chapter 18 - Adaption of Organism to Environment in *Abridged Science for High School Students* pp. 18-1-18-4.
86. Lu B., Ren Y., Du Y.-z., Fu Y., Gu J., 2009, Effect of ozone on respiration of adult *Sitophilus oryzae* (L.), *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.), *Journal of Insect Physiology*, 55(10), pp. 885-889.
87. Pimentel M.A.G., Faroni L.R.D.A., Tótola M.R., Guedes R.N.C., 2007, Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects, *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63(9), pp. 876-881.
88. Brogan E.N., Park Y.-L., Matak K.E., Jaczynski J., 2021, Characterization of protein in cricket (*Acheta domesticus*), locust (*Locusta migratoria*), and silk worm pupae (*Bombyx mori*) insect powders, *LWT*, 152, pp. 112314.

89. Willis J.H., Papandreou N.C., Iconomidou V.A., Hamodrakas S.J., 2012, Cuticular proteins in *Insect molecular biology and biochemistry* pp. 134-166.
90. Zhang X., Zhang T., Zhao Y., Jiang L., Sui X., 2024, Structural, extraction and safety aspects of novel alternative proteins from different sources, *Food Chemistry*, 436, pp. 137712.
91. Li C., Xu B., Wang Y., Yang Z., Yang W., 2014, Protein content in larval diet affects adult longevity and antioxidant gene expression in honey bee workers, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 151(1), pp. 19-26.
92. Singh N., Sinha R., 1977, Carbohydrate, lipid and protein in the developmental stages of *Sitophilus oryzae* and *S. granarius* (Coleoptera: Curculionidae), *Annals of the Entomological Society of America*, 70(1), pp. 107-111.
93. Toprak U., Hegedus D., Doğan C., Güney G., 2020, A journey into the world of insect lipid metabolism, *Archives of insect biochemistry and physiology*, 104(2), pp. e21682.
94. Wrońska A., Kaczmarek A., Boguś M., Kuna A., 2023, Lipids as a key element of insect defense systems. *Front Genet* 14: 1183659, *Frontiers in Genetics*, 14, pp. 1183659.
95. Dittgen C.L., da Silveira M.M., Kröning D.P., Ziegler V., de Oliveira M., Ferreira C.D., 2021, Chemical, physical, and sensory changes in rice subjected to UV-C radiation and its acceptability to rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.)(Coleoptera: Curculionidae) and humans, *Journal of Stored Products Research*, 90, pp. 101760.
96. Kondrateva N., Kasatkina N., Kuryleva A., Baturina K., Ilyasov I., Korepanov R. *Effect of treatment of seeds of grain crops by ultraviolet radiation before sowing.* in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020. IOP Publishing.
97. Espinoza J.H., Mercado-Uribe H., 2017, Visible light neutralizes the effect produced by ultraviolet radiation in proteins, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167, pp. 15-19.
98. Santos A.L., Moreirinha C., Lopes D., Esteves A.C., Henriques I., Almeida A., Domingues M.R.M., Delgadillo I., Correia A., Cunha Â., 2013, Effects of UV Radiation on the Lipids and Proteins of Bacteria Studied by Mid-Infrared Spectroscopy, *Environmental Science & Technology*, 47(12), pp. 6306-6315.

99. Milkovic L., Cipak Gasparovic A., Cindric M., Mouthuy P.-A., Zarkovic N., 2019, Short overview of ROS as cell function regulators and their implications in therapy concepts, *Cells*, 8(8), pp. 793.
100. Feng Y., Wang J., Hu H., Yang C., 2022, Effect of oxidative modification by reactive oxygen species (ROS) on the aggregation of whey protein concentrate (WPC), *Food Hydrocolloids*, 123, pp. 107189.
101. Khan A.H., Ma Y., Wu Y., Akbar A., Shaban M., Ullah A., Deng J., Khan A.S., Chi H., Zhu L., 2023, High-temperature stress suppresses allene oxide cyclase 2 and causes male sterility in cotton by disrupting jasmonic acid signaling, *The Crop Journal*, 11(1), pp. 33-45.
102. Ayala A., Muñoz M.F., Argüelles S., 2014, Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014(1), pp. 360438.
103. Andrés Juan C., Pérez de Lastra J.M., Plou Gasca F.J., Pérez-Lebeña E., 2021, The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies.
104. Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J., 2014, Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release, *Physiological reviews*, 94(3), pp. 909-950.
105. Huang Y., Sarkhel S., Roy A., Mohan A., 2024, Interrelationship of lipid aldehydes (MDA, 4-HNE, and 4-ONE) mediated protein oxidation in muscle foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(32), pp. 11809-11825.
106. de Almeida A.J.P.O., de Oliveira J.C.P.L., da Silva Pontes L.V., de Souza Júnior J.F., Gonçalves T.A.F., Dantas S.H., de Almeida Feitosa M.S., Silva A.O., de Medeiros I.A., 2022, ROS: Basic concepts, sources, cellular signaling, and its implications in aging pathways, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022(1), pp. 1225578.
107. Le Gal K., Schmidt E.E., Sayin V.I., 2021, Cellular redox homeostasis, *Antioxidants*, 10(9), pp. 1377.
108. Deisseroth A., Dounce A.L., 1970, Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role, *Physiological reviews*, 50(3), pp. 319-375.

109. Kangralkar V., Patil S.D., Bandivadekar R., 2010, Oxidative stress and diabetes: a review, *Int J Pharm Appl*, 1(1), pp. 38-45.
110. Lynch M., Kuramitsu H., 2000, Expression and role of superoxide dismutases (SOD) in pathogenic bacteria, *Microbes and infection*, 2(10), pp. 1245-1255.
111. Démares F., Gibert L., Lapeyre B., Creusot P., Renault D., Proffit M., 2024, Ozone exposure induces metabolic stress and olfactory memory disturbance in honey bees, *Chemosphere*, 346, pp. 140647.
112. Karthi S., Sankari R., Shivakumar M.S., 2014, Ultraviolet-B light induced oxidative stress: Effects on antioxidant response of *Spodoptera litura*, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 135, pp. 1-6.
113. Meng J.-Y., Zhang C.-Y., Zhu F., Wang X.-P., Lei C.-L., 2009, Ultraviolet light-induced oxidative stress: Effects on antioxidant response of *Helicoverpa armigera* adults, *Journal of Insect Physiology*, 55(6), pp. 588-592.
114. Salem H.H., Mohammed S.H., Eltaly R.I., Elqady E.M., El-Said E., Metwaly K.H., 2024, Effectiveness and biochemical impact of ozone gas and silica nanoparticles on *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), *Scientific Reports*, 14(1), pp. 19182.

PHỤ LỤC

Descriptives

						95% Confidence Interval for Mean			
				Std.		Lower	Upper		
N			Mean	Deviation	Std. Error	Bound	Bound	Minimum	Maximum
Trứng	0s	3	13.3333	5.77350	3.33333	-1.0088	27.6755	10.00	20.00
	30s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	60s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	90s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	120s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	Total	15	82.6667	35.94970	9.28217	62.7584	102.5749	10.00	100.00
Ấu trùng 1	0s	3	6.6667	5.77350	3.33333	-7.6755	21.0088	.00	10.00
	30s	3	80.0000	10.00000	5.77350	55.1586	104.8414	70.00	90.00
	60s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	90s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	120s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	Total	15	77.3333	37.69552	9.73294	56.4582	98.2084	.00	100.00
Ấu trùng 2	0s	3	3.3333	5.77350	3.33333	-11.0088	17.6755	.00	10.00
	30s	3	73.3333	5.77350	3.33333	58.9912	87.6755	70.00	80.00
	60s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	90s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	120s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	Total	15	75.3333	38.88934	10.04119	53.7971	96.8695	.00	100.00
Ấu trùng 3	0s	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	30s	3	50.0000	.00000	.00000	50.0000	50.0000	50.00	50.00
	60s	3	96.6667	5.77350	3.33333	82.3245	111.0088	90.00	100.00
	90s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	120s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	Total	15	69.3333	40.96456	10.57700	46.6479	92.0188	.00	100.00
Ấu trùng 4	0s	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	30s	3	40.0000	10.00000	5.77350	15.1586	64.8414	30.00	50.00
	60s	3	96.6667	5.77350	3.33333	82.3245	111.0088	90.00	100.00
	90s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	120s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	Total	15	67.3333	42.33652	10.93124	43.8881	90.7785	.00	100.00

Hình. Thống kê mô tả tỉ lệ chết của một gao ở các giai đoạn phát triển khác nhau (trứng - ấu trùng 4) theo thời gian xử lý plasma

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
Tiền nhộng	0s	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	30s	3	33.3333	5.77350	3.33333	18.9912	47.6755	30.00	40.00
	60s	3	76.6667	5.77350	3.33333	62.3245	91.0088	70.00	80.00
	90s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	120s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	Total	15	62.0000	40.91804	10.56499	39.3403	84.6597	.00	100.00
Nhộng	0s	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	30s	3	26.6667	5.77350	3.33333	12.3245	41.0088	20.00	30.00
	60s	3	73.3333	5.77350	3.33333	58.9912	87.6755	70.00	80.00
	90s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	120s	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
	Total	15	60.0000	41.74754	10.77917	36.8810	83.1190	.00	100.00
Trưởng thành	0s	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	30s	3	20.0000	10.00000	5.77350	-4.8414	44.8414	10.00	30.00
	60s	3	33.3333	5.77350	3.33333	18.9912	47.6755	30.00	40.00
	90s	3	60.0000	.00000	.00000	60.0000	60.0000	60.00	60.00
	120s	3	96.6667	5.77350	3.33333	82.3245	111.0088	90.00	100.00
	Total	15	42.0000	35.09172	9.06064	22.5669	61.4331	.00	100.00

Hình. (Tiếp theo) Thống kê mô tả tỉ lệ chết của một gao ở các giai đoạn phát triển khác nhau (tiền nhộng – trưởng thành) theo thời gian xử lý plasma

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Trứng	Between Groups	18026.667	4	4506.667	676.000	.000
	Within Groups	66.667	10	6.667		
	Total	18093.333	14			
Ấu trùng 1	Between Groups	19626.667	4	4906.667	184.000	.000
	Within Groups	266.667	10	26.667		
	Total	19893.333	14			
Ấu trùng 2	Between Groups	21040.000	4	5260.000	394.500	.000
	Within Groups	133.333	10	13.333		
	Total	21173.333	14			
Ấu trùng 3	Between Groups	23426.667	4	5856.667	878.500	.000
	Within Groups	66.667	10	6.667		
	Total	23493.333	14			
Ấu trùng 4	Between Groups	24826.667	4	6206.667	232.750	.000
	Within Groups	266.667	10	26.667		
	Total	25093.333	14			
Tiền nhộng	Between Groups	23306.667	4	5826.667	437.000	.000
	Within Groups	133.333	10	13.333		
	Total	23440.000	14			
Nhộng	Between Groups	24266.667	4	6066.667	455.000	.000
	Within Groups	133.333	10	13.333		
	Total	24400.000	14			
Trưởng thành	Between Groups	16906.667	4	4226.667	126.800	.000
	Within Groups	333.333	10	33.333		
	Total	17240.000	14			

Hình. Kết quả phân tích Anova một yếu tố về ảnh hưởng của thời gian xử lý plasma DBD không khí đến tỉ lệ chết của một gao ở các giai đoạn phát triển khác nhau

Trứng

Tukey HSD^a

		Subset for alpha = 0.05	
Thời gian xử lý	N	1	2
0s	3	13.3333	
30s	3		100.0000
60s	3		100.0000
90s	3		100.0000
120s	3		100.0000
Sig.		1.000	1.000

Hình. Kết quả kiểm định Tukey sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ chết giữa các thời gian xử lý plasma khác nhau ở giai đoạn trứng

Ấu trùng 1Tukey HSD^a

Time	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0s	3	6.6667		
30s	3		80.0000	
60s	3			100.0000
90s	3			100.0000
120s	3			100.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Hình. Kết quả kiểm Tukey sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ chết giữa các thời gian xử lý plasma khác nhau ở giai đoạn ấu trùng bậc 1

Ấu trùng 2Tukey HSD^a

Time	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0s	3	3.3333		
30s	3		73.3333	
60s	3			100.0000
90s	3			100.0000
120s	3			100.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Hình. Kết quả kiểm Tukey sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ chết giữa các thời gian xử lý plasma khác nhau ở giai đoạn ấu trùng bậc 2

Ấu trùng 3Tukey HSD^a

Time	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0s	3	.0000		
30s	3		50.0000	
60s	3			96.6667
90s	3			100.0000
120s	3			100.0000
Sig.		1.000	1.000	.539

Hình. Kết quả kiểm định Tukey sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ chết giữa các thời gian xử lý plasma khác nhau ở giai đoạn ấu trùng bậc 3

Ấu trùng 4

Tukey HSD^a

Time	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0s	3	.0000		
30s	3		40.0000	
60s	3			96.6667
90s	3			100.0000
120s	3			100.0000
Sig.		1.000	1.000	.928

Hình. Kết quả kiểm định Tukey sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ chết giữa các thời gian xử lý plasma khác nhau ở giai đoạn ấu trùng bậc 4

Tiền nhộng

Tukey HSD^a

Time	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0s	3	.0000			
30s	3		33.3333		
60s	3			76.6667	
90s	3				100.0000
120s	3				100.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Hình. Kết quả kiểm định Tukey sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ chết giữa các thời gian xử lý plasma khác nhau ở giai đoạn tiền nhộng

Nhộng

Tukey HSD^a

Time	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0s	3	.0000			
30s	3		26.6667		
60s	3			73.3333	
90s	3				100.0000
120s	3				100.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Hình. Kết quả kiểm định Tukey sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ chết giữa các thời gian xử lý plasma khác nhau ở giai đoạn nhộng

Trưởng thành

Tukey HSD^a

		Subset for alpha = 0.05			
Time	N	1	2	3	4
0s	3	.0000			
30s	3		20.0000		
60s	3		33.3333		
90s	3			60.0000	
120s	3				96.6667
Sig.		1.000	.102	1.000	1.000

Hình. Kết quả kiểm định Tukey sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ chết giữa các thời gian xử lý plasma khác nhau ở giai đoạn trưởng thành

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Ctrl_Truoc	1.1395	3	.05926	.03421
	Ctrl_Sau	1.1380	3	.05863	.03385
Pair 2	Plasma_Truoc	1.1395	3	.05926	.03421
	Plasma_Sau	.8418	3	.04079	.02355

Hình. Thống kê mô tả sự thay đổi trọng lượng theo cặp đối chứng và xử lý plasma trước và sau 24h xử lý

Group Statistics

	Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
MDA	Ctrl	3	17.1417	.57440	.33163
	Plasma	3	20.8821	1.33393	.77015
BSA	Ctrl	3	10.2441	.19892	.11485
	Plasma	3	6.2204	.14913	.08610
SOD	Ctrl	3	6.1121	.11867	.06851
	Plasma	3	13.1856	.51133	.29522
CAT	Ctrl	3	11.8022	.48960	.28267
	Plasma	3	24.1404	.47113	.27201

Hình. Thống kê mô tả cho từng chỉ tiêu (MDA, Protein, SOD, CAT) được chia theo hai nhóm đối chứng (Ctrl) và xử lý plasma (Plasma)

Paired Samples Test

Paired Differences

95% Confidence Interval of

the Difference

Sig.

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper	t	df	(2-tailed)
Pair 1	Ctrl_Truoc – Ctrl_Sau	.00157	.00064	.00037	-.00003	.00316	4.221	2	.052
Pair 2	Plasma_Truoc – Plasma_Sau	.29770	.03574	.02064	.20891	.38649	14.427	2	.005

Hình. Kết quả kiểm định Paired samples T – test sự thay đổi sự thay đổi trọng lượng theo cặp đối chứng và xử lý plasma trước và sau 24h xử lý

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Protein	Equal variances assumed	.120	.747	28.032	4	.000	4.02371	.14354	3.62518	4.42224
	Equal variances not assumed			28.032	3.708	.000	4.02371	.14354	3.61251	4.43490
MDA	Equal variances assumed	1.578	.277	-4.461	4	.011	-3.74038	.83851	-6.06846	-1.41230
	Equal variances not assumed			-4.461	2.717	.026	-3.74038	.83851	-6.57322	-.90754
SOD	Equal variances assumed	8.591	.043	-23.340	4	.000	-7.07350	.30306	-7.91494	-6.23207
	Equal variances not assumed			-23.340	2.215	.001	-7.07350	.30306	-8.26347	-5.88354
CAT	Equal variances assumed	.003	.962	-31.452	4	.000	-12.33819	.39229	-13.42736	-11.24902
	Equal variances not assumed			-31.452	3.994	.000	-12.33819	.39229	-13.42799	-11.24839

Hình. Kết quả kiểm định T – test mẫu độc lập trên các chỉ tiêu sinh hóa (Protein, MDA, SOD, CAT) của một gạo trưởng thành.