

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



LÊ THỊ ĐÀO

**NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG VỎ CÀ PHÊ ROBUSTA LÀM CHẤT
KHỬ VÀ CHẤT MANG ĐỂ CHẾ TẠO VẬT LIỆU TỔ HỢP NANO
GỐC ĐỒNG SỬ DỤNG LÀM CHẤT KHÁNG BỆNH THỰC VẬT**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Vật liệu cao phân tử và tổ hợp

Mã số: 9 44 01 25

Hà Nội - 2026

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS. Bùi Duy Du - Viện Công nghệ Tiên tiến, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
2. GS.TS. Nguyễn Quốc Hiến - Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam, Bộ Khoa học và Công nghệ

Phản biện 1: PGS.TS. Phạm Xuân Núi

Phản biện 2: PGS.TS. Trần Thị Ngọc Dung

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồigiờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Vật liệu nanocomposit có tiềm năng ứng dụng rộng rãi nhờ kết hợp ưu điểm của vật liệu nano và vật liệu nền. Trong đó, các hạt nano gốc Cu (Cu, Cu₂O, CuO) được quan tâm vì có hoạt tính kháng vi sinh vật gây hại cao, ít độc hơn dạng ion, đồng thời là vi chất dinh dưỡng thực vật. Hạt nano gốc Cu đã được chứng minh là có hiệu quả phòng trừ nhiều tác nhân gây bệnh như nấm, vi khuẩn và tuyến trùng. Tại khu vực cao nguyên miền Trung, lượng vỏ cà phê (VCP) phát thải từ quá trình canh tác ~275.000 tấn. VCP có thành phần hóa học chủ yếu là lignocellulose, giàu chất khử sinh học và các chất có hoạt tính sinh học khác nhưng chứa độc tố thực vật caffein có thể gây hoại tử và làm chết cây. Vì vậy, luận án đề xuất tận dụng VCP làm chất khử sinh học đồng thời làm chất mang để tổng hợp “xanh” vật liệu nano gốc Cu/VCP, định hướng sử dụng làm tác nhân kiểm soát bệnh hại và cung cấp dinh dưỡng thực vật theo định hướng mô hình kinh tế tuần hoàn. Quá trình tổng hợp còn có khả năng phân hủy độc tố caffein, tạo ra vật liệu nano sinh học, có thể thay thế thuốc BVTV tổng hợp hữu cơ.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

Mục tiêu của luận án là nghiên cứu tổng hợp vật liệu nano gốc Cu sử dụng chất khử và chất mang là VCP, định hướng ứng dụng trong nông nghiệp làm chất kiểm soát bệnh hại thực vật và cải tạo đất.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

Các nội dung nghiên cứu chính của luận án bao gồm: Xác định thành phần hóa học cơ bản của VCP Robusta. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng Cu, pH phản ứng đến kích thước hạt nano và đặc tính của vật liệu nano gốc Cu/VCP. Nghiên cứu hiệu lực kháng nấm *P. capsici*, *F. oxysporum* (*in vitro*) và tuyến trùng *M. incognita* (*in vitro* và *in vivo*) của vật liệu nano gốc Cu/VCP. Đánh giá độc tính nảy mầm trên hạt đậu xanh, độc cấp tính đường miệng và nhạy cảm da trên chuột của vật liệu nano gốc Cu/VCP.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Nano gốc Cu và ứng dụng trong nông nghiệp

Cu là kim loại có tính dẫn điện, dẫn nhiệt tốt và được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực vật liệu, điện tử và xúc tác, v.v. Hợp chất của Cu chủ yếu tồn tại ở các trạng thái oxy hoá 0, 1 và 2. Tùy điều kiện phản ứng như pH, nhiệt độ, chất khử và thời gian, Cu^{2+} có thể bị khử thành Cu^0 , Cu_2O , CuO hoặc hỗn hợp.

Thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) gốc Cu đã được sử dụng lâu đời để phòng trừ bệnh cây trồng, nhưng thường sử dụng với nồng độ cao, gây tích tụ Cu trong đất và nguy cơ ô nhiễm môi trường. Do đó, vật liệu nano gốc Cu được xem là giải pháp tiềm năng nhờ khả năng kháng vi sinh vật hiệu quả ở nồng độ thấp, diện tích bề mặt lớn và giải phóng ion chậm. Bên cạnh đó, Cu là vi chất dinh dưỡng thiết yếu, tham gia vào quang hợp và hoạt hóa enzyme của cây trồng. Nhiều nghiên cứu cho thấy nano gốc Cu ức chế hiệu quả nấm *Fusarium spp.*, *P. capsici*, *P. nicotianae* và tuyến trùng *Meloidogyne incognita*, *Pratylenchus spp.* gây hại thực vật với hiệu lực phụ thuộc vào kích thước, hình dạng và nồng độ hạt.

Trong bối cảnh thuốc BVTV hóa học vẫn được sử dụng phổ biến, gây tồn dư trong nông sản và ô nhiễm môi trường, việc phát triển vật liệu nano gốc Cu từ phụ phẩm VCP để tạo nanocomposit kiểm soát bệnh hại hiệu quả, đồng thời góp phần xử lý ô nhiễm, là hướng tiếp cận triển vọng cho nông nghiệp bền vững và kinh tế tuần hoàn.

1.2. Các phương pháp tổng hợp nano gốc Cu

Hiện nay, nano gốc Cu được tổng hợp chủ yếu bằng 03 phương pháp là hóa học, vật lý và sinh học. *Phương pháp hóa học* sử dụng các chất khử mạnh (NaBH_4 , N_2H_4) kết hợp sol-gel, thủy nhiệt hoặc lắng đọng điện hóa, cho hiệu suất cao và kiểm soát tốt kích thước hạt nhưng tiềm ẩn nguy cơ độc hại và ô nhiễm môi trường. *Phương pháp vật lý* như phun xạ, lắng đọng hơi, laser hay hồ quang tạo sản phẩm tinh khiết song đòi hỏi thiết bị đắt tiền và

tiêu tốn nhiều năng lượng. *Phương pháp sinh học (hóa học xanh)* dùng vi sinh vật, tảo, sinh vật thủy sinh hoặc dịch chiết thực vật làm chất khử và ổn định; các hợp chất sinh học như flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, aldehyde và keton có thể đồng thời đảm nhiệm cả hai vai trò. Nhờ thân thiện môi trường, quy trình đơn giản và tận dụng nguồn tự nhiên, phương pháp này đang được ưu tiên phát triển và dần thay thế phương pháp hóa học.

Trong tổng hợp nano, kích thước hạt phụ thuộc chủ yếu vào nồng độ tiền chất, chất khử và pH phản ứng. Nồng độ tiền chất cao làm hạt phát triển nhanh và có kích thước lớn hơn, trong khi nồng độ chất khử thấp khiến phản ứng chậm, tạo điều kiện cho các cụm nguyên tử lớn hình thành. pH ảnh hưởng đến thế oxy hóa khử của chất khử sinh học, môi trường kiềm làm giảm thế oxy hóa khử, tăng tốc độ phản ứng, tạo nhiều mầm tinh thể và hạt nhỏ; ngược lại, môi trường axit hoặc trung tính làm chậm tốc độ phản ứng, hạt dễ kết tụ và tăng kích thước. Do đó, đối với quá trình tổng hợp nano gốc Cu bằng phương pháp sinh học, việc điều chỉnh nồng độ tiền chất và pH là yếu tố then chốt để kiểm soát động học phản ứng và kích thước.

1.3. Tiềm năng ứng dụng VCP trong tổng hợp vật liệu nano

1.3.1. Phụ phẩm VCP trong ngành sản xuất cà phê

Việt Nam là một trong những quốc gia sản xuất cà phê hàng đầu thế giới với khoảng 730.000 ha canh tác, chủ yếu ở vùng cao nguyên miền Trung, tạo ra khoảng 275.000 tấn phụ phẩm VCP mỗi năm. VCP có thành phần hóa học đa dạng gồm chất hữu cơ, carbohydrate, protein, khoáng chất và các hợp chất hoạt tính sinh học, nên đã được nghiên cứu ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như năng lượng sinh học, vật liệu hấp phụ và nông nghiệp. Tuy nhiên, việc tái sử dụng VCP còn hạn chế do hàm lượng caffein cao (>1%), vì vậy cần nghiên cứu các biện pháp xử lý, loại bỏ độc tố này để sử dụng an toàn và hiệu quả trong nông nghiệp.

1.3.2. Tiềm năng ứng dụng VCP trong tổng hợp vật liệu nano

VCP chứa các hợp chất có tính khử, chủ yếu là polyphenol (PP) và đường khử (RS). PP có khả năng cho điện tử hoặc hydro để khử chất oxy hóa và chuyển thành cấu trúc quinon bền hơn, RS (glucose, fructose, arabinose) khử ion kim loại thông qua quá trình oxy hóa nhóm aldehyde hoặc ketone, đặc biệt trong môi trường kiềm và nhiệt độ cao. Trong điều kiện kiềm, lignin cũng tạo các gốc phenoxy có thể oxy hóa khử thấp, có thể tham gia khử Cu^{2+} . Nhờ hàm lượng lignocellulose cao, VCP còn đóng vai trò chất ổn định hạt nano. Các nhóm chức như hydroxyl, carboxyl, carbonyl, ether và aldehyde trong cellulose, lignin và hợp chất phenolic giúp hấp phụ, phối trí và neo giữ ion kim loại cũng như bề mặt hạt nano, hạn chế kết tụ và tăng độ ổn định. Do đó, VCP là nguồn sinh khối rẻ tiền, dồi dào, giàu lignocellulose và hoạt chất khử, có tiềm năng làm đồng thời chất khử và chất ổn định trong tổng hợp vật liệu nano gốc Cu.

1.3.3. Các phương pháp chiết xuất hoạt chất sinh học từ VCP

Nhiều phương pháp chiết xuất đã được nghiên cứu, từ các phương pháp truyền thống như ngâm chiết, bể nước và Soxhlet với ưu điểm thiết bị đơn giản, chi phí thấp nhưng thời gian chiết dài, tổn dung môi và hiệu suất chưa cao, đến các phương pháp hiện đại như chiết dung môi siêu tới hạn, hỗ trợ siêu âm, vi sóng và chiết lỏng có áp suất với hiệu suất cao và thời gian ngắn, song đòi hỏi thiết bị và chi phí đầu tư lớn. Gần đây, dung môi sâu eutectic được quan tâm nhờ tính thân thiện môi trường nhưng chi phí còn cao. Một phương pháp đơn giản, hiệu quả là chiết bằng dung dịch kiềm nhẹ, giúp hạn chế phân hủy các hợp chất PP, đồng thời hòa tan một phần lignin và có thể dùng trực tiếp cho phản ứng khử Cu^{2+} mà không cần điều chỉnh pH. Ngoài ra, một hướng tiếp cận mới là sử dụng trực tiếp VCP như nguồn chất khử sinh học, chất ổn định tự nhiên nhờ cấu trúc lignocellulose xốp còn giúp giảm hóa chất độc hại, tận dụng phụ phẩm nông nghiệp và phù hợp với định hướng kinh tế tuần hoàn, phát triển bền vững.

1.4. Cơ chế kháng bệnh hại thực vật và phân hủy caffein của hạt nano gốc Cu

1.4.1. Cơ chế kháng vi sinh vật và tuyến trùng của nano gốc Cu

Nano gốc Cu thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật và tuyến trùng phổ rộng nhờ cơ chế tác động đa mục tiêu chủ yếu là sự giải phóng ion $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ kết hợp với khả năng xúc tác tạo các loại oxy phản ứng (ROS), gây stress oxy hóa mạnh, dẫn đến peroxid hóa lipid màng, oxy hóa protein và tổn thương DNA/RNA, làm rối loạn cân bằng nội môi và gây chết tế bào. Đồng thời, nano gốc Cu có thể tương tác trực tiếp với màng hoặc thành tế bào vi sinh vật thông qua ái lực với các nhóm phosphat, thiol và protein bề mặt, làm thay đổi cấu trúc và tăng tính thấm của màng. Ion Cu xâm nhập nội bào còn làm ức chế các enzyme thiết yếu, gián đoạn quá trình trao đổi chất. Nano gốc Cu không chỉ gây chết ấu trùng mà còn ức chế sự nở trứng và làm gián đoạn chu kỳ sống, mang lại hiệu quả kiểm soát lâu dài.

1.4.2. Cơ chế phân hủy caffein của nano gốc Cu

Nano gốc Cu có khả năng xúc tác hiệu quả quá trình phân hủy caffein thông qua cơ chế tạo các ROS tương tự quá trình Fenton dị thể, dựa trên sự luân chuyển giữa các trạng thái oxy hóa $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$. Đáng chú ý, Cu_2O là chất bán dẫn có vùng cấm hẹp, hoạt động tốt dưới ánh sáng khả kiến, giúp nâng cao hiệu quả xúc tác quá trình phân hủy caffein và một số chất ô nhiễm hữu cơ khác.

1.5. Độc tính của nano gốc Cu

So với các muối Cu^{2+} , nano gốc Cu nhìn chung thể hiện độc tính thấp hơn đối với động vật và thực vật bậc cao, do tốc độ hòa tan và giải phóng ion Cu^{2+} chậm hơn. Các nghiên cứu độc tính cấp cho thấy liều gây tử vong 50% (LD_{50}) của nano gốc Cu cao hơn đáng kể so với ion Cu^{2+} . Trong môi trường đất, nano gốc Cu dần chuyển hóa thành Cu^{2+} , với thời gian tồn tại phụ thuộc vào kích thước hạt, pH, độ ẩm và hàm lượng chất hữu cơ. Ngoài ra, các hạt nano được tổng hợp theo phương pháp xanh, có lớp phủ hữu cơ từ sinh khối

thực vật, cho thấy tính tương thích sinh học cao hơn, nhờ hạn chế sự giải phóng đột ngột ion Cu^{2+} , tác nhân chính gây độc.

CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, NaOH, H_2SO_4 , HCl, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, KI, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, methanol (99,5%), ethanol (99,7%), hexane, NaClO_2 , NaClO, axit axetic (99%), natri kali tartrat, chất chỉ thị kali thiocyanat, tinh bột hòa tan, thuốc thử axit 3,5-Dinitrosalicylic (DNSA), chất chỉ thị tinh bột (1%), caffein, dichloromethan, D-glucose, thuốc thử Folin-Ciocalteu, axit gallic, giấy lọc định lượng Whatman, môi trường Potato Dextrose Agar (PDA). VCP Robusta, nấm *P. capsici*, *F. oxysporum*, tuyến trùng *Meloidogyne incognita*, hạt giống cà phê Robusta, hạt giống đậu xanh, chuột nhắt trắng.

2.2. Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị dịch chiết VCP

Ngâm 10 g VCP trong 100 mL metanol 80%, nghiền hỗn hợp và để ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Sau đó, lọc hỗn hợp, thu dịch lọc để phân tích tổng hàm lượng PP, RS và xác định thể oxy hóa khử (E_h).

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của pH và thời gian phản ứng đến hiệu suất chiết chất khử sinh học bằng kiểm trong VCP

Sử dụng dung dịch NaOH 2% để điều chỉnh pH ở các mức 8, 9 và 10, với thời gian 25, 30 và 35 phút và tỷ lệ rắn:lỏng là 1:1,5. Hỗn hợp được pha loãng 10 lần bằng nước, khuấy đều, lọc và thu dịch chiết để xác định hàm lượng PP, RS, lignin hòa tan và tính hiệu suất chiết.

2.2.3. Tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP

Bột VCP được làm ẩm và thêm 100 mL dung dịch CuSO_4 để đạt hàm lượng Cu trong vật liệu là 2%, 3%, 4% và 5% (w/w). Giá trị pH phản ứng được điều chỉnh bằng dung dịch NaOH 2% đến 8, 9 và 10. Hỗn hợp được trộn trong 30 phút để thực hiện phản ứng khử ion Cu^{2+} . Sau đó, sản phẩm được sấy ở 105°C để thu vật liệu dạng bột và xác định các tính chất

đặc trưng bằng phương pháp chụp ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM), phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX), phổ nhiễu xạ tia X (XRD), quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) và quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS).

2.2.4. Phương pháp thử nghiệm hiệu lực ức chế nấm *in vitro*

Nấm được cấy vào đĩa petri chứa môi trường PDA bổ sung vật liệu nano gốc Cu/VCP với hàm lượng 25, 35, 45 và 55 mg/L Cu hoặc VCP với hàm lượng 833, 1166, 1500 và 1833 mg/L. Nghiệm thức đối chứng sử dụng nước cất, mỗi nghiệm thức lặp lại ba lần, đo đường kính tản nấm khi nấm ở nghiệm thức đối chứng phủ kín đĩa. Hiệu lực ức chế nấm (HLUC) được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm sai số chuẩn (SE) và tính theo công thức (2.1).

$$\text{HLUC (\%)} = 100 \times \frac{D-d}{D} \quad (2.1)$$

Trong đó: D và d (mm) lần lượt là đường kính tản nấm ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức có xử lý.

2.2.5. Phương pháp thử nghiệm hiệu lực ức chế tuyến trùng

Trứng tuyến trùng phân lập từ rễ cà phê nhiễm bệnh, rửa sạch và áp trong đĩa petri có lưới lọc 25 μm để thu tuyến trùng giai đoạn 2 (J2). Hiệu quả *in vitro* ức chế tuyến trùng *M. incognita* được tiến hành bằng cách tiêm 1 mL nước cất chứa ~ 100 J2 vào đĩa petri có 9 mL dung dịch nano gốc Cu/VCP ở nồng độ 20, 25, 30 và 35 mg/L Cu, mẫu đối chứng chỉ chứa nước cất. Sau 48 giờ, số lượng J2 chết được xác định bằng kính hiển vi soi nổi. Thí nghiệm được lặp lại năm lần và tỷ lệ tử vong (PM) được tính theo công thức (2.2).

$$\text{PM (\%)} = 100 \times \frac{T_{\alpha}}{C_0} \quad (2.2)$$

Trong đó: T_{α} và C_0 lần lượt là số lượng J2 chết và J2 ban đầu.

Hiệu quả *in vivo* ức chế tuyến trùng *M. incognita* được tiến hành bằng cách tiêm 10 mL chứa 2.000 J2 vào vùng rễ khi cây đạt bốn cặp lá. Sau 02 ngày, tưới 30 mL dung dịch nano gốc Cu/VCP ở nồng độ 20, 25, 30 và 35 mg/L Cu vào đất quanh rễ. Đối chứng âm không lây nhiễm, đối chứng

duyên lầy nhiễm nhưng không xử lý. Sau 60 ngày, rễ và đất quanh rễ được thu thập để xác định mật độ tuyến trùng và số lượng u rễ bằng phương pháp nhuộm Baermann. Hiệu quả giảm tuyến trùng và u rễ được tính theo công thức (2.3).

$$\text{Hiệu quả giảm (\%)} = 100 \times \frac{C-T}{C} \quad (2.3)$$

Trong đó: C và T lần lượt là số lượng tuyến trùng/100g đất hoặc số lượng nốt sần/rễ ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức có xử lý.

2.2.6. Nghiên cứu độc tính của vật liệu nano gốc Cu/VCP

2.2.6.1. Phương pháp xác định độc tính đối với sự nảy mầm của thực vật của vật liệu nano gốc Cu/VCP

Đặt 15 hạt đậu xanh vào đĩa petri, bổ sung 20 mL dịch lọc nano gốc Cu/VCP (100 mg/L Cu) hoặc VCP (3.333 mg/L), đối chứng sử dụng nước khử ion. Sau 72 giờ, đếm số hạt nảy mầm và đo chiều dài rễ. Thí nghiệm được lặp lại ba lần, chỉ số nảy mầm (GI) được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm SE và tính theo công thức (2.4)

$$\text{GI (\%)} = 100 \times \frac{G \times L}{G_0 \times L_0} \quad (2.4)$$

Trong đó: G và G_0 lần lượt là số hạt nảy mầm ở đĩa xử lý và đĩa đối chứng, L và L_0 (cm) lần lượt là chiều dài rễ ở đĩa xử lý và đĩa đối chứng. GI trong khoảng 80%–100% cho thấy vật liệu không gây độc đối với thực vật, GI > 100% thể hiện khả năng kích thích sự nảy mầm của hạt giống.

2.2.6.2. Phương pháp xác định độc tính cấp đường miệng và nhạy cảm da trên chuột của vật liệu nano gốc Cu/VCP

Độc tính cấp đường miệng được thực hiện theo hướng dẫn OECD cho các thử nghiệm về hóa chất 423 nhằm xác định LD_{50} theo công thức (2.5). Độc tính nhạy cảm da trên chuột được xác định theo hướng dẫn OECD cho các thử nghiệm về hóa chất 406.

$$LD_{50} \text{ (mg/kg)} = 10^{(a+x)} \quad (2.5)$$

Trong đó: 10^a là nồng độ tại đó số lượng cá thể sống và cá thể chết sau thí nghiệm là 50%; $x = (Pa - 50)/(Pa - Pu)$ với Pa , Pu là tỷ lệ cận trên và cận dưới của nồng độ gây chết 50% số lượng cá thể thí nghiệm.

2.3. Các phương pháp và kỹ thuật sử dụng để nghiên cứu

Xác định hàm lượng PP theo phương pháp Folin-Ciocalteu. Mẫu được phản ứng với thuốc thử Folin-Ciocalteu và Na_2CO_3 6,75%, ủ tối 60 phút và đo độ hấp thụ bằng máy UV-Vis tại 765 nm. Hàm lượng PP (mg GAE/g) được tính từ đường chuẩn axit gallic (10–30 mg/L).

Xác định hàm lượng RS theo phương pháp DNSA. Mẫu phản ứng với thuốc thử DNSA trong môi trường kiềm ở 95°C trong 5 phút, đo độ hấp thụ bằng máy UV-Vis tại 540 nm. Hàm lượng RS (mg GE/g) được tính từ đường chuẩn D-glucose (0,2–1,0 g/L).

Xác định hàm lượng lignin tổng theo phương pháp axit sulfuric hai giai đoạn. Cân lượng lignin không hòa tan và tính theo công thức (2.6). Lượng lignin hòa tan được xác định bằng phổ UV-Vis tại 280 nm và tính theo công thức (2.7). Hàm lượng lignin tổng được tính theo công thức (2.8).

$$\text{Lignin không tan (\%)} = 100 \times \frac{m}{m_0} \quad (2.6)$$

$$\text{Lignin hòa tan (\%)} = 100 \times \frac{A}{110} \times \frac{\text{Độ pha loãng}}{m_0} \quad (2.7)$$

$$\text{Lignin tổng (\%)} = \text{Lignin không tan (\%)} + \text{lignin hòa tan (\%)} \quad (2.8)$$

Trong đó: m và m_0 (g) lần lượt là khối lượng của lignin không tan và VCP, A là độ hấp thụ ở 280 nm.

Xác định hàm lượng caffein theo phương pháp đo UV-Vis tại 275 nm sau khi chiết với dichloromethane. Hàm lượng caffein (%) được tính từ đường chuẩn caffein (10–50 mg/L). Hiệu suất phân hủy caffein (CE) được tính theo công thức (2.9).

$$\text{CE (\%)} = 100 \times \left(1 - \frac{m_1}{c \times \frac{m_0}{100}}\right) \quad (2.9)$$

Trong đó: m_1 và c (%) lần lượt là hàm lượng caffein trong mẫu và VCP, m_0 (g) là khối lượng VCP trong mẫu.

Xác định hàm lượng cellulose và holocellulose theo phương pháp tách holocellulose bằng NaClO_2 /axit axetic và xử lý kiềm NaOH 17,5%. Hàm lượng hemicellulose được tính từ hiệu số giữa holocellulose và cellulose.

Hàm lượng PP, RS, lignin tổng, caffein, cellulose, hemicellulose được trình bày dưới dạng trung bình \pm SD ($n = 3$).

Xác định E_h của dịch chiết VCP bằng phương pháp đo điện cực Ag/AgCl trên máy HI98120. Giá trị E_h được tính theo công thức (2.10).

$$E_h (\text{V}) = E_{\text{đo}} + 0,197 \quad (2.10)$$

Trong đó: $E_{\text{đo}}$ là thế oxy hóa khử được hiển thị bởi thiết bị (V).

Xác định kích thước hạt bằng phương pháp SEM ở điện áp gia tốc 10–15 kV, sử dụng phần mềm ImageJ để đo kích thước. Xác định thành phần nguyên tố bằng phương pháp SEM-EDX mapping. Xác định cấu trúc tinh thể và pha vật liệu bằng phương pháp XRD, sử dụng bức xạ $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) trong khoảng 2θ tại 10–80°. Xác định các nhóm chức đặc trưng bằng phương pháp FTIR trong dải 4000–400 cm^{-1} , mẫu được nén bằng KBr.

Xác định hàm lượng Cu bằng phương pháp AAS tại bước sóng 324,7 nm theo AOAC 965.09. Hàm lượng Cu^0 , CuO và Cu_2O được xác định thông qua các bước xử lý hóa học, chuẩn độ iodophor và tính theo công thức (2.11). Hiệu suất khử Cu^{2+} (RE) được tính theo công thức (2.12).

$$m_{\text{Cu}_2\text{O}} = m_{\text{Cu tổng}} - (m_{\text{Cu}^0} + m_{\text{CuO}}) \quad (2.11)$$

Hiệu suất khử Cu^{2+} (RE) được tính theo công thức (2.12):

$$\text{RE} (\%) = 100 \times \frac{m - m_{\text{Cu}^{2+}}}{m} \quad (2.12)$$

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Dữ liệu được phân tích phương sai bằng Microsoft Excel 2013 và xử lý thống kê bằng IRRISTAT 5.0. Dữ liệu PM được biến đổi arcsin trước khi phân tích thống kê, các giá trị 0% và 100% lần lượt được thay thế bằng $1/4n$ và $100 - 1/4n$, trong đó n là số J2 ban đầu.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VẬT LIỆU NANO GỐC Cu SỬ DỤNG VCP LÀM CHẤT KHỬ VÀ CHẤT ỔN ĐỊNH

3.1. Thành phần hóa học cơ bản của VCP

3.1.1. Thành phần hóa học cơ bản của VCP

Thành phần hóa học cơ bản của VCP Robusta thu thập tại Lâm Đồng (VCP LD) và Đắk Lắk (VCP ĐL) thể hiện trong Bảng 3.1 không có sự khác biệt đáng kể. Điều này có thể do điều kiện thổ nhưỡng và giống cà phê được trồng phổ biến tại hai khu vực là tương đồng. Nhìn chung, VCP Robusta chủ yếu bao gồm cellulose, hemicellulose, lignin, các chất khử sinh học và caffein, kết quả này phù hợp với các công bố trước đây.

Bảng 3.1. Thành phần hóa học cơ bản của VCP

Mẫu	PP (mg GAE/g)	RS (mg GE/g)	Lignin tổng (%)	Caffein (%)	Cellulose (%)	Hemicellulo se (%)
VCP LD	87,92 ± 0,32	83,42 ± 0,41	9,17 ± 0,11	1,13 ± 0,02	27,78 ± 0,13	3,98 ± 0,07
VCP ĐL	97,86 ± 0,44	87,62 ± 0,67	9,27 ± 0,06	1,15 ± 0,01	27,75 ± 0,13	3,96 ± 0,06

3.1.2. Ảnh hưởng của pH và thời gian đến hiệu suất chiết chất khử sinh học trong VCP bằng dung dịch kiềm

Hiệu suất chiết chất khử sinh học trong VCP ĐL bằng dung dịch kiềm nhẹ phụ thuộc vào thời gian và pH chiết được trình bày trong Bảng 3.2.

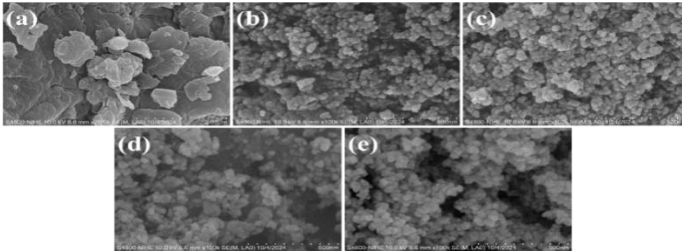
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của pH và thời gian đến hiệu suất chiết chất khử sinh học trong VCP

pH	Thời gian (phút)	Hiệu suất chiết (%)		
		Polyphenols	Đường khử	Lignin
8	30	77,75	85,31	33,54
9	30	81,46	85,47	38,18
10	30	82,67	85,38	39,23
9	10	72,35	75,71	29,83
9	20	77,65	81,08	35,03
9	40	83,12	86,04	39,77

Kết quả cho thấy thời gian chiết làm tăng hiệu suất chiết, tuy nhiên, sự khác biệt sau 30 và 35 phút là không đáng kể. Bên cạnh đó, hiệu suất chiết PP và lignin tăng theo pH, phù hợp với các nghiên cứu trước đây về chiết kiềm từ sinh khối thực vật, nhưng tăng không đáng kể ở pH 10. Do đó, thời gian chiết 30 phút ở pH 9 được lựa chọn để tổng hợp vật liệu nano gốc Cu.

3.2. Ảnh hưởng của hàm lượng Cu đến đặc tính của vật liệu nano gốc Cu/VCP

Ảnh SEM của VCP (Hình 3.1a) cho thấy cấu trúc vi sợi đặc trưng của cellulose với bề mặt gồ ghề và xốp, thuận lợi cho việc hấp phụ ion Cu^{2+} và ổn định các hạt nano. Hình 3.1b–e cho thấy nano gốc Cu thu được có dạng hình cầu, kích thước tăng tương ứng từ 40,4; 47,0; 52,2 và 62,6 nm khi hàm lượng Cu tăng từ 2%; 3%, 4% và 5%, chủ yếu nằm trong khoảng 40–60 nm, được biểu diễn bởi phương trình $y = 7,18x + 25,42$ ($R^2 = 0,978$).



Hình 3.3. Ảnh SEM của VCP LĐ (a) và vật liệu nano gốc Cu/VCP ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (b), 3% (c), 4% (d) và 5% (e)

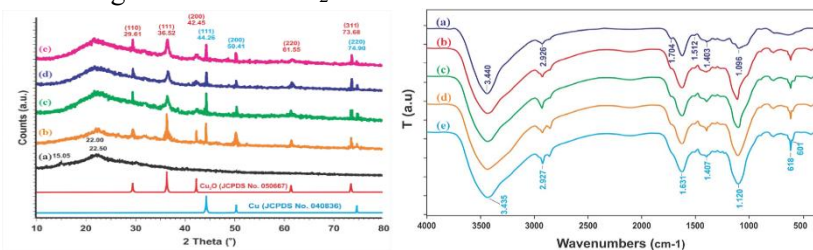
Kết quả trong Bảng 3.3 cho thấy VCP chủ yếu gồm C và O, cùng một lượng nhỏ các nguyên tố khoáng. Sau khi tổng hợp vật liệu nanocomposit, các nguyên tố của VCP vẫn được duy trì, đồng thời xuất hiện nguyên tố Cu với hàm lượng tăng tương ứng với lượng Cu ban đầu. Như vậy, quá trình khử và neo giữ nano gốc Cu trên chất ổn định VCP diễn ra hiệu quả.

Bảng 3.3. Thành phần các nguyên tố của VCP và vật liệu nano gốc Cu/VCP ở các hàm lượng Cu khác nhau

Nguyên tố	VCP	Vật liệu nano gốc Cu/VCP			
		2% Cu	3% Cu	4% Cu	5% Cu
C K	55,52	48,23	47,99	46,18	42,03
O K	42,18	46,34	44,76	44,93	47,55
Mg K	0,13	0,19	0,21	0,28	0,29
Al K	0,22	0,27	0,26	0,30	0,26
Si K	0,32	0,36	0,60	0,54	0,60
S K	0,10	0,91	1,46	1,98	2,48
K K	0,95	1,04	1,05	1,08	1,13
Ca K	0,58	0,64	0,62	0,65	0,64
Cu K	-	2,02	3,05	4,06	5,02

Giản đồ XRD của VCP (Hình 3.2a) thể hiện các đỉnh đặc trưng cho cellulose và lignin. Các mẫu nano gốc Cu/VCP (Hình 3.2b–e) xuất hiện các đỉnh đặc trưng của nano Cu (JCPDS số 040836) và Cu_2O (JCPDS số 050667), trong khi không quan sát thấy pha CuO do hàm lượng rất thấp, chứng tỏ nano Cu và Cu_2O được hình thành và phân tán trên nền VCP.

Phổ FTIR cho thấy hầu hết nhóm chức đặc trưng của VCP (Hình 3.2a) đều thể hiện trong vật liệu nano gốc Cu/VCP (Hình 3.2b–e). Đáng chú ý, sự dịch chuyển của đỉnh $-\text{OH}$ và biến mất đỉnh aldehyde cho thấy sự tương tác của chúng với nano Cu/ Cu_2O .



Hình 3.8 , 3.9. Giản đồ XRD (bên trái) và phổ FTIR (bên phải) của VCP (a) và vật liệu nano gốc Cu/VCP ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (b), 3% (c), 4% (d) và 5% (e)

Kết quả trong Bảng 3.4 cho thấy RE đạt > 97% và giảm không đáng kể khi tăng hàm lượng Cu, chứng tỏ chất khử sinh học trong VCP là chất khử hiệu quả. Vật liệu chủ yếu tồn tại dạng Cu_2O và Cu^0 , sự thay đổi nhỏ tỷ lệ $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Cu}$ là do nồng độ chất khử thay đổi khi tăng hàm lượng Cu^{2+} .

Bảng 3.5. Hàm lượng các loài Cu và hiệu suất khử Cu^{2+} phụ thuộc vào hàm lượng Cu

Nano gốc Cu/VCP	Hàm lượng Cu tổng (%)	Hàm lượng Cu^0 (%)	Hàm lượng Cu^+ (%)	Hàm lượng Cu^{2+} (%)	RE (%)
2% Cu	2,016 ± 0,063	0,512 ± 0,052	1,475 ± 0,037	0,029 ± 0,003	98,56
3% Cu	2,967 ± 0,056	0,767 ± 0,028	2,151 ± 0,033	0,049 ± 0,005	98,35
4% Cu	4,049 ± 0,045	1,064 ± 0,038	2,901 ± 0,032	0,084 ± 0,006	97,93
5% Cu	4,986 ± 0,09	1,357 ± 0,124	3,493 ± 0,06	0,136 ± 0,008	97,27

Khi hàm lượng Cu tăng từ 2% lên 5%, hàm lượng caffein giảm từ 0,048% xuống 0,036%, tương ứng với hiệu suất phân hủy tăng từ 95,5% lên 96,1% (Bảng 3.5). Xu hướng này cho thấy hàm lượng Cu cao làm tăng mật độ hạt nano, làm tăng khả năng tạo ROS, từ đó thúc đẩy quá trình phân hủy caffein theo cơ chế tương tự phản ứng Fenton.

Bảng 3.6. Hàm lượng và hiệu suất phân hủy caffein phụ thuộc vào hàm lượng Cu

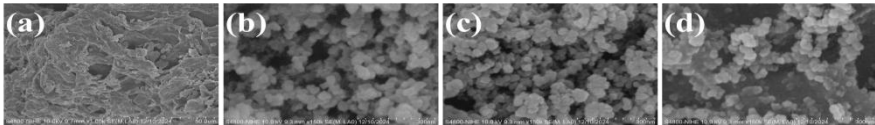
Mẫu	VCP	CE (%)			
		2% Cu	3% Cu	4% Cu	5% Cu
Hàm lượng caffein (%)	1,15	0,048 ± 0,002	0,045 ± 0,003	0,041 ± 0,004	0,036 ± 0,003
CE (%)	-	95,5	95,6	95,8	96,1

3.3. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến đặc tính của vật liệu nano gốc Cu/VCP

Vật liệu nano gốc Cu/VCP có pH thực tế là 6,8; 7,7 và 8,6, thấp hơn pH phản ứng do ion OH^- bị tiêu thụ trong quá trình hình thành Cu_2O . Các

giá trị pH này nhìn chung phù hợp cho ứng dụng trên cây trồng, trong đó pH 7,7 được đánh giá là phù hợp nhất do môi trường kiềm nhẹ giúp cải thiện pH đất và hạn chế mầm bệnh, đồng thời tránh nguy cơ gây cháy lá khi pH quá cao.

Ảnh SEM của VCP (Hình 3.3a) cho thấy cấu trúc tinh thể cellulose vi mô với chiều rộng khoảng 5–10 μm . Đối với vật liệu nano gốc Cu/VCP (Hình 3.3b–d), hạt nano phân bố kích thước tương đối hẹp trong khoảng 30–59 nm. Kích thước hạt giảm tương ứng từ 51,5; 47,3 và 43,2 nm khi pH phản ứng tăng từ 8, 9 và 10, phản ánh khả năng khử tăng của các tác nhân sinh học trong môi trường kiềm.



Hình 3.11. Ảnh SEM của VCP ĐL (a) và vật liệu nano gốc Cu/VCP ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (b), 9 (c), và 10 (d)

Ngoài ra, khi pH phản ứng tăng từ 8 lên 9 và 10, E_h của các chất khử sinh học trong VCP giảm từ $-0,025$ xuống $-0,081$ và $-0,140$ V, tức khả năng khử được tăng cường, dẫn đến hạt nano gốc Cu tạo thành có kích thước nhỏ hơn và phân bố đồng đều hơn.

Kết quả phân tích thành phần nguyên tố (Bảng 3.6) cho thấy VCP chủ yếu gồm C và O, trong khi vật liệu nano gốc Cu/VCP tổng hợp ở các pH phản ứng khác nhau còn chứa Cu với hàm lượng ổn định khoảng 3%, chứng tỏ quá trình tổng hợp không làm thay đổi đáng kể thành phần của VCP và cho phép hình thành nano gốc Cu/VCP ổn định.

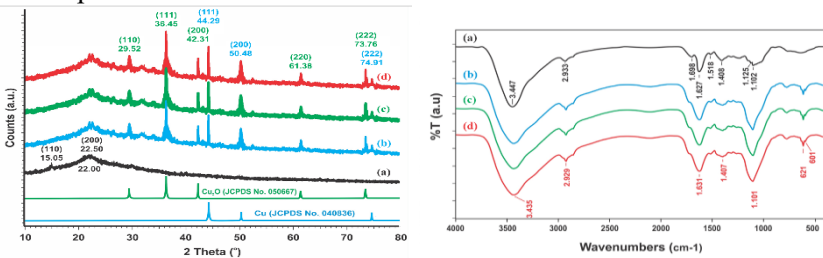
Bảng 3.8. Thành phần các nguyên tố của VCP và vật liệu nano gốc Cu/VCP ở các giá trị pH khác nhau

Nguyên tố	Trọng lượng (%)			
	VCP	pH		
		8	9	10
C K	55,54	47,78	48,05	47,67

Nguyên tố	Trọng lượng (%)			
	VCP	pH		
		8	9	10
O K	41,87	44,82	44,76	44,83
Mg K	0,17	0,17	0,21	0,18
Al K	0,25	0,25	0,26	0,29
Si K	0,38	0,50	0,60	0,54
S K	0,06	1,65	1,46	1,78
K K	1,25	1,11	1,05	1,08
Ca K	0,48	0,71	0,62	0,65
Cu K	-	3,01	2,99	2,98

Giản đồ XRD của VCP (Hình 3.4a) cho thấy các đỉnh đặc trưng của lignocellulose và SiO₂ vô định hình. Vật liệu nano gốc Cu/VCP (Hình 3.4b–d) đều xuất hiện các đỉnh đặc trưng cho Cu và Cu₂O, xác nhận sự hình thành của chúng và gắn trên VCP ở các giá trị pH khảo sát.

Phổ FTIR của VCP (Hình 3.4a) thể hiện các nhóm chức đặc trưng của lignocellulose như –OH, C–H, C=O, cấu trúc thơm của lignin và liên kết Si–O–Si. Đối với vật liệu nano gốc Cu/VCP (Hình 3.4b–d), các đỉnh đặc trưng của VCP vẫn được duy trì, đồng thời có sự dịch chuyển của đỉnh –OH về số sóng thấp hơn và biến mất của đỉnh carbonyl, cho thấy sự tương tác giữa các nhóm chức của VCP với các pha Cu và Cu₂O. Sự xuất hiện của các đỉnh Cu–O xác nhận sự hình thành các pha oxit đồng trong vật liệu nanocomposit.



Hình 3.15, 3.16. Giản đồ XRD (bên trái) và phổ FTIR (bên phải) của mẫu VCP (a) và nano gốc Cu/VCP ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (b), 9 (c) và 10 (d)

Kết quả trong Bảng 3.7 cho thấy RE tăng nhẹ khi tăng pH phản ứng, phản ánh khả năng khử tăng cường của các chất khử sinh học trong VCP. Đồng thời, hàm lượng Cu^0 tăng dần theo pH, cho thấy môi trường kiềm ưu tiên quá trình khử Cu^{2+} thành Cu^0 . Hàm lượng CuO luôn ở mức rất thấp, do đó không xuất hiện các đỉnh đặc trưng trên giản đồ XRD và phổ FTIR. Những kết quả này khẳng định ảnh hưởng của pH phản ứng đến hiệu suất khử và trạng thái oxy hóa của Cu trong vật liệu.

Bảng 3.9. Hàm lượng các loài Cu và hiệu suất khử Cu^{2+} phụ thuộc vào pH phản ứng

pH	Hàm lượng Cu tổng (%)	Hàm lượng Cu^0 (%)	Hàm lượng Cu^+ (%)	Hàm lượng Cu^{2+} (%)	RE (%)
8	3,010 ± 0,069	0,743 ± 0,081	2,219 ± 0,019	0,049 ± 0,002	98,37
9	2,993 ± 0,050	0,754 ± 0,063	2,203 ± 0,016	0,036 ± 0,003	98,80
10	2,981 ± 0,049	0,779 ± 0,061	2,179 ± 0,037	0,024 ± 0,003	99,19

Hàm lượng caffein trong vật liệu nano gốc Cu/VCP giảm khi pH phản ứng tăng, tương ứng với CE tăng từ 94,80% lên 97,03% (Bảng 3.8), liên quan đến kích thước hạt nano nhỏ hơn và khả năng tạo các ROS cao hơn.

Bảng 3.10. Hàm lượng và hiệu suất phân hủy caffein phụ thuộc vào pH phản ứng

Mẫu	VCP	CE (%)		
		pH 8	pH 9	pH 10
Hàm lượng caffein (%)	1,15	0,049 ± 0,002	0,042 ± 0,003	0,028 ± 0,003
CE (%)	-	94,80	95,54	97,03

3.4. Độ bền của vật liệu nano gốc Cu/VCP theo thời gian

Kết quả trong Hình 3.5 cho thấy kích thước hạt chỉ tăng nhẹ từ ~47 nm lên 48,6 nm, chứng tỏ vật liệu có độ ổn định cao và hầu như không bị kết tụ sau 12 tháng lưu trữ. Sự ổn định này liên quan đến trạng thái khô của vật liệu và vai trò ổn định của VCP, giúp duy trì cấu trúc và tính chất vật liệu

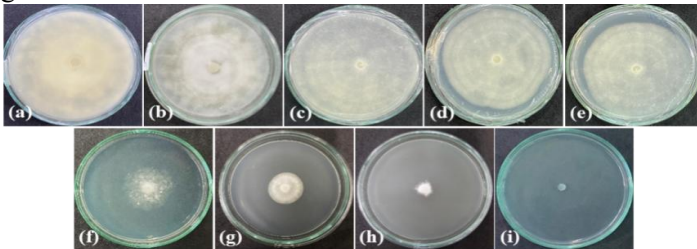
theo thời gian. Những đặc điểm này cho thấy nano gốc Cu/VCP có tiềm năng ứng dụng lâu dài trong kiểm soát bệnh hại và bổ sung vi lượng cho cây trồng.

CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU HIỆU LỰC KHÁNG NẤM, TUYẾN TRỪNG HẠI THỰC VẬT VÀ ĐỘC TÍNH CỦA VẬT LIỆU NANO GỐC Cu/VCP

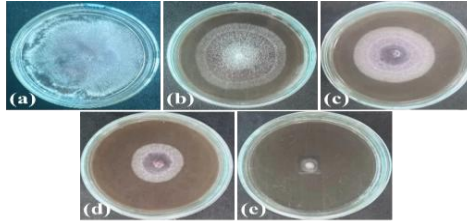
Chương này đánh giá hiệu quả kháng nấm *P. capsici*, *F. oxysporum* và tuyến trùng *M. incognita*, đồng thời khảo sát độc tính của vật liệu nano gốc Cu/VCP chứa 3% Cu (w/w), kích thước hạt khoảng 47 nm.

4.1. Hiệu lực *in vitro* kháng nấm của vật liệu nano gốc Cu/VCP

Tảo nấm ở nghiệm thức đối chứng lấp đầy đĩa petri sau 07 ngày (Hình 4.1 và Hình 4.2). VCP không thể hiện hoạt tính kháng nấm *P. capsici* ở nồng độ 833–1.167 mg/L và đạt HLUC thấp ở nồng độ 1.500–1.833 mg/L. HLUC của nano gốc Cu/VCP tăng theo hàm lượng Cu và đạt > 90% (gần như ức chế hoàn toàn) ở nồng độ 55 mg/L Cu. Nồng độ ức chế 50% (IC₅₀) đối với nấm *P. capsici* là 19,67 mg/L, được xác định từ phương trình: $y = 1,258x + 25,256$ ($R^2 = 0,9634$); đối với nấm *F. oxysporum* là 35,39 mg/L Cu, được xác định từ phương trình: $y = 1,977x - 19,962$ ($R^2 = 0,9838$). Hiệu quả này được cho là tác dụng cộng hợp của nano gốc Cu và các hoạt chất sinh học trong VCP.



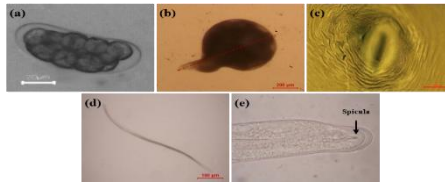
Hình 4.1. Sự phát triển của nấm *P. capsici* ở các nghiệm thức sau 07 ngày nuôi cấy: Đối chứng (a); VCP ở nồng độ 833 mg/L (b), 1167 mg/L (c), 1500 mg/L (d), 1833 mg/L (e); vật liệu nano gốc Cu/VCP ở nồng độ Cu 25 mg/L (f), 35 mg/L (g), 45 mg/L (h) và 55 mg/L (i)



Hình 4.3. Sự phát triển của nấm *F. oxysporum* ở các nghiệm thức sau 07 ngày nuôi cấy: Đối chứng (a); vật liệu nano gốc Cu/VCP ở nồng độ Cu 25 mg/L (b), 35 mg/L (c), 45 mg/L (d) và 55 mg/L (e)

4.2. Hiệu lực kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* của vật liệu nano gốc Cu/VCP

Hình thái tuyến trùng được quan sát bằng kính hiển vi soi nổi (Hình 4.3). Tuyến trùng cái có dạng hình quả lê, chiều dài ~ 570 μm , các đặc điểm tầng sinh môn và gai sinh dục của con đực đặc trưng cho tuyến trùng *M. incognita*.



Hình 4.5. Hình thái của tuyến trùng *Meloidogyne incognita*: Khối trứng (a), con cái (b), âm hộ và hậu môn (c), J2 chết (d) và gai sinh dục của con đực (e)

Kết quả *in vitro* kháng tuyến trùng *M. incognita* trong Bảng 4.1 cho thấy PM tăng theo nồng độ Cu, đạt 100% ở nồng độ 35 mg/L Cu. Nồng độ gây tử vong (LC_{50}) là 13,7 mg/L Cu, được xác định từ phương trình: $y = 2,990x + 9,144$ ($R^2 = 0,914$).

Bảng 4.3. Hiệu quả *in vitro* diệt tuyến trùng *Meloidogyne incognita* của vật liệu nano gốc Cu/VCP

Nghiệm thức	Số lượng J2 ban đầu	Số lượng J2 chết	PM (%)
Đối chứng	97,20 \pm 1,11	0,00 \pm 0,00	0,00 ^a

Nghiệm thức	Số lượng J2 ban đầu	Số lượng J2 chết	PM (%)
Nanocomposit (20 mg/L Cu)	101,80 ± 2,85	87,00 ± 1,67	85,46 ^b
Nanocomposit (25 mg/L Cu)	104,20 ± 1,59	95,80 ± 0,92	91,94 ^c
Nanocomposit (30 mg/L Cu)	101,80 ± 2,08	99,00 ± 2,76	97,25 ^d
Nanocomposit (35 mg/L Cu)	100,80 ± 1,43	100,80 ± 1,43	100,00 ^d

Kết quả *in vivo* kháng tuyến trùng *M. incognita* (Bảng 4.2) cho thấy vật liệu nano gốc Cu/VCP làm giảm đáng kể mật độ tuyến trùng trong đất và số u rễ, mặc dù hiệu quả thấp hơn so với *in vitro*. Sự khác biệt này liên quan đến khả năng tiếp xúc không đồng đều giữa vật liệu và tuyến trùng trong môi trường đất. Vật liệu nano gốc Cu/VCP có hiệu quả kiểm soát hoàn toàn tuyến trùng *M. incognita* ở nồng độ thấp là 35 mg/L Cu.

Bảng 4.4. Hiệu quả *in vivo* diệt tuyến trùng *Meloidogyne incognita* của vật liệu nano gốc Cu/VCP

Nghiệm thức	Số lượng J2/100g đất (hiệu quả giảm %)	Số lượng nốt sần/rễ (hiệu quả giảm %)
Đối chứng âm	0,0 ± 0,0 (0%)	0,0 ± 0,0 (0%)
Đối chứng dương	2331,0 ± 143,7 ^a (0%)	60,8 ± 3,4 ^a (0%)
Nanocomposit (20 mg/L Cu)	455,4 ± 37,9 ^b (80,5%)	11,3 ± 0,4 ^b (81,4%)
Nanocomposit (25 mg/L Cu)	323,6 ± 16,4 ^{bc} (86,1%)	4,9 ± 0,3 ^c (92,0%)
Nanocomposit (30 mg/L Cu)	189,0 ± 30,3 ^c (91,9%)	0,0 ± 0,0 ^d (100,0%)
Nanocomposit (35 mg/L Cu)	0,0 ± 0,0 ^d (100,0%)	0,0 ± 0,0 ^d (100,0%)
LSD _{0,05}	172,1	4,4

Qua các kết quả *in vitro* và *in vivo* cho thấy vật liệu có tiềm năng ứng dụng làm chất kiểm soát nấm và tuyến trùng hại thực vật ở nồng độ Cu dưới 100 mg/L, hầu như không gây ảnh hưởng đến tính chất và hệ vi sinh vật có lợi trong đất.

4.3. Độc tính của vật liệu nano gốc Cu/VCP đối với sự nảy mầm của hạt đậu xanh

Hình 4.4 cho thấy tỷ lệ nảy mầm ở nghiệm thức đối chứng đạt 80% với chiều dài rễ trung bình 2,98 cm (GI đạt 100%). Nghiệm thức VCP làm giảm tỷ lệ nảy mầm xuống 71,13% và chiều dài rễ còn 1,85 cm (GI đạt

55,12%). Trong khi đó, nghiệm thức nano gốc Cu/VCP (100 mg/L Cu) có tỷ lệ nảy mầm 88,87% và chiều dài rễ trung bình 2,79 cm (GI đạt 103,79%). Như vậy, nano gốc Cu/VCP không ảnh hưởng đến sinh trưởng ban đầu của đậu xanh.



Hình 4.8. Thí nghiệm nảy mầm của hạt đậu xanh sau 72 giờ ở các nghiệm thức: Đối chứng (a), VCP (b) và vật liệu nano gốc Cu/VCP (c)

4.4. Độc tính đường miệng và nhạy cảm da của vật liệu nano gốc Cu/VCP trên chuột

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp đường miệng của vật liệu nano gốc Cu/VCP trên chuột cho thấy sau 15 ngày theo dõi, chuột ở các lô thử nghiệm với liều 300 và 3.000 mg/kg thể trọng không xuất hiện triệu chứng bất thường và không có cá thể tử vong ($LD_{50} > 3.000$ mg/kg).

Trong thí nghiệm độc tính nhạy cảm da, các cá thể chuột không xuất hiện ban đỏ hay phù nề ở nhóm thử và nhóm chứng âm sau các lần phơi nhiễm và thử thách (tỷ lệ nhạy cảm đạt 0%). Trong khi đó, nhóm chứng dương xuất hiện phản ứng rõ rệt, cho thấy vật liệu nano gốc Cu/VCP không gây độc tính nhạy cảm da và có độ an toàn cao.

Nhìn chung, vật liệu nano gốc Cu/VCP được đánh giá là gần như không độc và an toàn khi sử dụng, cho thấy tiềm năng ứng dụng làm chất kiểm soát bệnh hại thực vật trong đất.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

VCP Robusta giàu chất khử sinh học và lignocellulose, phù hợp cho tổng hợp nano gốc Cu nhưng cần loại caffein để có thể ứng dụng nông nghiệp.

Vật liệu nanocomposit có hàm lượng Cu cao (2%–5%, w/w), RE đạt > 97%, phụ thuộc tỷ lệ nghịch với hàm lượng Cu và tỷ lệ thuận với pH phản ứng. Quy trình tổng hợp không cần tách riêng dung dịch chất khử trong VCP.

Kích thước hạt nano gốc Cu tăng từ 40,4–62,6 nm khi hàm lượng Cu tăng từ 2%–5%, và giảm từ 51,5–43,2 nm khi pH phản ứng tăng từ 8–10.

Hiệu suất khử Cu^{2+} và phân hủy caffein đạt mức cao (> 90%),

Nano gốc Cu thể hiện khả năng phân hủy hiệu quả độc tố caffein với hiệu suất trên 94%, phụ thuộc tỷ lệ thuận với hàm lượng Cu và pH phản ứng. Độ bền của vật liệu được chứng minh qua kích thước hạt hầu như không thay đổi sau 12 tháng lưu trữ.

Vật liệu nano gốc Cu/VCP đạt HLUC trên 90% đối với nấm *P. capsici* và *F. oxysporum* ở nồng độ 55 mg/L Cu trong thí nghiệm *in vitro*. Đồng thời đạt hiệu quả kiểm soát hoàn toàn tuyến trùng *M. incognita* ở nồng độ 35 mg/L trong thí nghiệm *in vitro* và *in vivo*.

Kết quả đánh giá độc tính cho thấy vật liệu nano gốc Cu/VCP ở nồng độ 100 mg/L Cu không gây ảnh hưởng đến sự nảy mầm và phát triển rễ của hạt đậu xanh trong thí nghiệm *in vitro* và được phân loại độc tính nhóm IV khi thử nghiệm trên chuột ($\text{LD}_{50} > 3.000$ mg/kg và không gây nhạy cảm da). Như vậy, vật liệu nano gốc Cu/VCP có tiềm năng ứng dụng làm tác nhân kiểm soát bệnh hại cây trồng trong môi trường đất, có thể thay thế thuốc bảo vệ thực vật tổng hợp hữu cơ, phù hợp với định hướng nông nghiệp bền vững và kinh tế tuần hoàn.

Kiến nghị

Khảo nghiệm diện hẹp, diện rộng hiệu lực phòng trừ bệnh của vật liệu nano gốc Cu/VCP trên các loại cây trồng, định hướng ứng dụng thực tiễn.

MỘT SỐ ĐIỂM MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đã xây dựng được quy trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP có hàm lượng Cu cao (2%–5%, w/w) trong môi trường kiềm sử dụng VCP đồng thời làm chất khử và chất ổn định để, không yêu cầu dung môi hữu cơ và không cần tách riêng dung dịch chất khử từ sinh khối.

2. Đã chứng minh quá trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP đồng thời xảy ra phản ứng phân hủy độc tố thực vật caffeine, tạo ra vật liệu phù hợp cho ứng dụng trên cây trồng.

3. Đã xây dựng được quy trình định lượng các loài Cu (Cu^0 , Cu_2O , CuO) trong vật liệu nano gốc Cu đơn giản, chi phí thấp với độ tin cậy cao.

4. Làm rõ hiệu lực kháng nấm *P. capsici* của vật liệu nano gốc Cu/VCP là kết quả của tác dụng kết hợp giữa các hạt nano gốc Cu và các hoạt chất sinh học có khả năng kháng vi sinh vật trong VCP.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Dao Thi Le**, Tho Phuoc Tran, Tuan Nghiem Anh Le, Quang Ngoc Tran, Hien Quoc Nguyen & Du Duy Bui, “Green synthesis of copper-based nanoparticles using coffee husk and investigation of its antifungal activity and phytotoxicity in vitro”. **Green Chemistry Letters and Reviews**, 17(1), 2432491, 2024. <https://doi.org/10.1080/17518253.2024.2432491>.

2. Du Duy Bui, **Dao Thi Le**, Tuan Nghiem Anh Le, Giang Ngoc Doan, Tho Phuoc Tran and Kien Trung Chu, “Effect of Cu²⁺ content on the size of copper-based nanoparticles deposited on coffee husk synthesized via green chemistry and its nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* on coffee plants”, **Materials Research Express**, 12(3), 035002, 2025. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/adbbc7>.

3. Du Duy Bui, Tuan Nghiem Anh Le, Giang Ngoc Doan, Thao Thi Thu Nguyen, **Dao Thi Le** and Quang Ngoc Tran, “Green synthesis of cuprous oxide nanoparticles using spent coffee grounds and its antifungal activity against *Phytophthora palmivora* in vitro”, **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, 16(4), 045006, 2025. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/ae0746>.

4. **Dao Thi Le**, Tho Phuoc Tran, Tuan Nghiem Anh Le, Giang Ngoc Doan, Ngoc Thanh Truong, Quang Ngoc Tran, Hien Quoc Nguyen, Du Duy Bui, “Synthesis of Cu-Cu₂O nanoparticles using coffee husk as reducing agent and stabilizer: Impact of reaction pH medium on particle size”, **Vietnam Journal of Chemistry** 63(6), 912-920, 2025. <https://doi.org/10.1002/vjch.70070>.