

**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**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội - 2026

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 GÓC
ĐỒNG SỬ DỤNG LÀM CHẤT KHÁNG BỆNH THỰC VẬT

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Vật liệu cao phân tử và tổ hợp

Mã số: 9440125

Xác nhận của Học viện

Khoa học và Công nghệ

Người hướng dẫn 1

(Ký, ghi rõ họ tên)

Người hướng dẫn 1

(Ký, ghi rõ họ tên)

TS Bùi Duy Du

GS.TS Nguyễn Quốc Hiến

Hà Nội - 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan, đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi dưới sự hướng dẫn của TS Bùi Duy Du và GS.TS. Nguyễn Quốc Hiến. Hầu hết các số liệu, kết quả trong luận án là nội dung từ các bài báo đã được xuất bản của tôi và các thành viên của tập thể khoa học. Các số liệu, kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận án là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận án

Lê Thị Đào

LỜI CẢM ƠN

Cùng với lòng kính trọng và lòng biết ơn sâu sắc, tôi xin gửi lời cảm ơn tới hai người Thầy của tôi là TS. Bùi Duy Du và GS.TS. Nguyễn Quốc Hiến đã tận tình hướng dẫn tôi thực hiện luận án tiến sĩ. Sự hỗ trợ, chỉ dẫn và phản hồi tận tụy từ các Thầy đã giúp tôi nâng cao kiến thức chuyên môn và kỹ năng học tập suốt đời, giúp tôi ngày càng vững bước hơn trên con đường nghiên cứu khoa học mà mình đã lựa chọn.

Qua đây, tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến các cán bộ nghiên cứu của Trung tâm Nghiên cứu Phát triển Vật liệu mới thuộc Viện Công nghệ Tiên tiến - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, các cán bộ nghiên cứu của Bộ môn Bảo vệ Thực vật thuộc Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam đã luôn giúp đỡ và dành những tình cảm tốt đẹp cho tôi trong suốt thời gian thực hiện luận án. Tôi cũng gửi lời cảm ơn sâu sắc đến TS. Lê Nghiêm Anh Tuấn, NCS. Trần Phước Thọ đã hỗ trợ tôi về chuyên môn cũng như biên soạn các tài liệu để hoàn thiện luận án này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới các Thầy, Cô Khoa Khoa học Vật liệu, Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Công nghệ Tiên tiến đã luôn quan tâm, giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi cho tôi học tập và nghiên cứu.

Đặc biệt, tôi xin gửi lời cảm ơn tới Chương trình Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (Nafosted) theo mã số NCUD.02-2023.28 đã hỗ trợ kinh phí để tôi thực hiện luận án này.

Nhân dịp này, tôi xin gửi lời cảm ơn tới những người thân trong gia đình: Ba, Mẹ, Chồng, Con đã luôn động viên hỗ trợ tôi về mọi mặt trong suốt thời gian qua.

Tác giả luận án

Lê Thị Đào

MỤC LỤC

| | Trang |
|---|-------|
| LỜI CAM ĐOAN | I |
| LỜI CẢM ƠN | II |
| MỤC LỤC..... | III |
| DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT..... | VIII |
| DANH MỤC CÁC BẢNG | X |
| DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ | XIII |
| MỞ ĐẦU | 1 |
| 1. Tính cấp thiết của luận án | 1 |
| 2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án..... | 2 |
| 3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án..... | 2 |
| 4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn..... | 2 |
| CHƯƠNG I. TỔNG QUAN | 4 |
| 1.1. Nano gốc Cu và ứng dụng trong nông nghiệp | 4 |
| 1.1.1. Kim loại Cu và các hợp chất của chúng | 4 |
| 1.1.2. Tiềm năng ứng dụng của vật liệu nano gốc Cu trong nông nghiệp..... | 5 |
| 1.2. Các phương pháp tổng hợp nano gốc Cu | 8 |
| 1.2.1. Phương pháp hoá học | 8 |
| 1.2.2. Phương pháp vật lý | 9 |
| 1.2.3. Phương pháp sinh học | 9 |
| 1.2.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kích thước hạt nano gốc Cu..... | 13 |
| 1.2.4.1. Ảnh hưởng của hàm lượng tiền chất Cu^{2+} đến kích thước hạt | 13 |
| 1.2.4.2. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến kích thước hạt | 14 |

| | |
|---|-----------|
| 1.3. Tiềm năng ứng dụng vỏ cà phê trong tổng hợp vật liệu nano | 16 |
| <i>1.3.1. Phụ phẩm vỏ cà phê trong ngành sản xuất cà phê</i> | <i>16</i> |
| <i>1.3.2. Tiềm năng ứng dụng vỏ cà phê trong tổng hợp vật liệu nano</i> | <i>18</i> |
| <i>1.3.3. Các phương pháp chiết xuất chất khử sinh học từ vỏ cà phê.....</i> | <i>20</i> |
| 1.4. Các tác nhân gây hại thực vật trong môi trường đất | 23 |
| 1.5. Cơ chế kháng bệnh hại thực vật và phân hủy caffein của hạt nano gốc Cu | 25 |
| <i>1.5.1. Cơ chế kháng khuẩn</i> | <i>25</i> |
| <i>1.5.2. Cơ chế kháng nấm</i> | <i>26</i> |
| <i>1.5.3. Cơ chế kháng tuyến trùng</i> | <i>28</i> |
| <i>1.5.4. Cơ chế phân hủy caffein</i> | <i>28</i> |
| 1.6. Độc tính của nano gốc Cu..... | 30 |
| <i>1.6.1. Độc tính đối với động, thực vật của nano gốc Cu</i> | <i>30</i> |
| <i>1.6.2. Độc tính của nano Cu đối với hệ vi sinh vật đất và chu trình sinh địa hóa</i> | <i>31</i> |
| CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU..... | 34 |
| 2.1. Nguyên liệu và hoá chất..... | 34 |
| 2.2. Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu | 34 |
| <i>2.2.1. Chuẩn bị dịch chiết vỏ cà phê.....</i> | <i>34</i> |
| <i>2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của pH và thời gian phản ứng đến hiệu suất phân tách chất khử sinh học trong vỏ cà phê</i> | <i>35</i> |
| <i>2.2.3. Tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê.....</i> | <i>35</i> |
| <i>2.2.4. Phương pháp thử nghiệm hiệu lực ức chế nấm in vitro</i> | <i>36</i> |
| <i>2.2.5. Phương pháp thử nghiệm hiệu lực ức chế tuyến trùng</i> | <i>37</i> |
| <i>2.2.6. Nghiên cứu độc tính của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê.....</i> | <i>38</i> |
| <i>2.2.6.1. Phương pháp xác định độc tính đối với sự nảy mầm của thực vật của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê.....</i> | <i>38</i> |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.6.2. Phương pháp xác định độc tính cấp đường miệng trên chuột của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 38 |
| 2.2.6.3. Phương pháp xác định độc tính nhạy cảm da trên chuột của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 39 |
| 2.3. Các phương pháp và kỹ thuật sử dụng để nghiên cứu | 40 |
| 2.3.1. Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol | 40 |
| 2.3.2. Phương pháp xác định hàm lượng đường khử | 40 |
| 2.3.3. Phương pháp xác định hàm lượng lignin..... | 41 |
| 2.3.4. Phương pháp xác định hàm lượng caffein | 41 |
| 2.3.5. Phương pháp xác định hàm lượng cellulose và hemicellulose | 42 |
| 2.3.6. Phương pháp xác định thế oxy hóa khử | 42 |
| 2.3.7. Phương pháp chụp ảnh kính hiển vi điện tử quét..... | 43 |
| 2.3.8. Phương pháp đo phổ tán xạ năng lượng tia X | 43 |
| 2.3.9. Phương pháp đo phổ nhiễu xạ tia X | 43 |
| 2.3.10. Phương pháp đo quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier | 44 |
| 2.3.11. Phương pháp đo quang phổ hấp thụ nguyên tử..... | 44 |
| 2.4. Phương pháp xử lý số liệu | 45 |
| CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VẬT LIỆU NANO GỐC CU SỬ DỤNG VỎ CÀ PHÊ LÀM CHẤT KHỬ VÀ CHẤT ỔN ĐỊNH | 46 |
| 3.1. Thành phần hóa học cơ bản của vỏ cà phê..... | 46 |
| 3.1.1. Thành phần hóa học cơ bản của vỏ cà phê | 46 |
| 3.1.2. Ảnh hưởng của pH và thời gian phản ứng đến hiệu suất phân tách chất khử sinh học trong vỏ cà phê | 48 |
| 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ Cu đến đặc tính của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê | 49 |
| 3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ Cu đến kích thước hạt nano gốc Cu | 49 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ Cu đến tính chất đặc trưng của vật liệu nanocomposite | 52 |
| 3.2.3. Ảnh hưởng của hàm lượng Cu đến hiệu suất khử Cu^{2+} và hiệu suất phân hủy caffein | 61 |
| 3.3. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến đặc tính của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 63 |
| 3.3.1. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến kích thước hạt nano gốc Cu | 63 |
| 3.3.2. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến tính chất đặc trưng của vật liệu nanocomposite | 66 |
| 3.3.3. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến hiệu suất khử Cu^{2+} và hiệu suất phân hủy caffein | 74 |
| 3.4. Độ bền của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê theo thời gian | 75 |
| 3.5. Nghiên cứu dung lượng khử Cu^{2+} của các chất khử sinh học trong vỏ cà phê | 77 |
| 3.6. Xây dựng quy trình sản xuất vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê | 78 |
| CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU HIỆU LỰC KHÁNG NẤM, TUYẾN TRÙNG HẠI THỰC VẬT VÀ ĐỘC TÍNH CỦA VẬT LIỆU NANO GỐC CU/VỎ CÀ PHÊ..... | 81 |
| 4.1. Hiệu lực <i>in vitro</i> kháng nấm <i>Phytophthora capsici</i> | 81 |
| 4.2. Hiệu lực <i>in vitro</i> kháng nấm <i>Fusarium oxysporum</i> | 84 |
| 4.3. Hiệu lực kháng tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> | 87 |
| 4.3.1. Hiệu lực <i>in vitro</i> kháng tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> | 88 |
| 4.3.2. Hiệu lực <i>in vivo</i> kháng tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> | 89 |
| 4.4. Độc tính của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê đối với sự nảy mầm của hạt đậu xanh | 92 |
| 4.5. Độc tính đường miệng của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên chuột..... | 93 |
| 4.6. Độc tính nhạy cảm da của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên chuột..... | 94 |

| | |
|---|------------|
| KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ | 97 |
| MỘT SỐ ĐIỂM MỚI CỦA LUẬN ÁN..... | 99 |
| DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ..... | 100 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO | 101 |
| PHỤ LỤC | 130 |

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

| Viết tắt | Đầy đủ (Tiếng Anh) | Ý nghĩa tiếng Việt |
|------------------|---|---|
| AAS | Atomic absorption spectroscopy | Quang phổ hấp thụ nguyên tử |
| AOAC | Association of official analytical chemists | Hiệp hội các nhà hoá học phân tích chính thức |
| ATP | Adenosine Triphosphate | Phân tử năng lượng của tế bào |
| BVTV | | Bảo vệ thực vật |
| CE | | Hiệu suất phân hủy caffein |
| Cfu | Colony forming unit | Đơn vị hình thành khuẩn lạc |
| CS | Chitosan | |
| DNA | DeoxyriboNucleic acid | |
| DNSA | Axits 3,5-dinitrosalicylic | |
| E ₀ | Standard electrode potential | Thế điện cực chuẩn |
| EC ₅₀ | Half maximal effective concentration | Nồng độ gây 50% hiệu quả |
| EDX | Energy-dispersive X-ray spectroscopy | Phổ tán xạ năng lượng tia X |
| E _h | Redox potential | Thế oxy hoá khử |
| Fcc | Face-centered cubic | Lập phương tâm mặt |
| FTIR | Fourier tranform infrared spectroscopy | Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier |
| GAE | Gallic acid equivalent | Axit Gallic Tương đương |
| GE | Glucose equivalent | Glucose tương đương |
| GI | Germination index | Chỉ số nảy mầm |
| HLUC | | Hiệu lực ức chế |
| IC ₅₀ | Half maximal inhibitory concentration | Nồng độ ức chế 50% |
| J2 | second-stage juvenile | Ấu trùng giai đoạn 2 của tuyến trùng |
| JCPDS | Joint committee on powder diffraction standards | Ủy ban về tiêu chuẩn nhiễu xạ bột |

| Viết tắt | Đầy đủ (Tiếng Anh) | Ý nghĩa tiếng Việt |
|------------------|--|---|
| LC ₅₀ | Median lethal concentration | Nồng độ gây chết 50% |
| LD ₅₀ | Median lethal dose | Liều lượng gây chết 50% |
| LSD | Least significant difference | Sai biệt nhỏ nhất có ý nghĩa |
| NADES | Natural deep eutectic solvent | Dung môi sâu tự nhiên |
| NHE | Normal hydrogen electrode | Điện cực hydro chuẩn |
| OECD | Organization for economic co-operation and development | Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế |
| PDA | Potato Dextrose Agar | Môi trường nuôi cấy vi sinh vật |
| PLE | Pressurized liquid extraction | Chiết lỏng có áp suất |
| PM | Percent mortality | Tỷ lệ tử vong |
| PP | Polyphenol(s) | |
| PVP | Poly(N-vinylpyrrolidone)/polyvinylpyrrolidone | |
| RE | | Hiệu suất khử Cu ²⁺ |
| RNA | Ribonucleic acid | |
| RNS | Reactive nitrogen species | |
| ROS | Reactive oxygen species | Các gốc Oxy hoá khử |
| RS | Reducing sugar | Đường khử |
| SD | Standard deviation | Độ lệch tiêu chuẩn |
| SE | Standard Error | Sai số chuẩn |
| SEM | Scanning electron microscope | Kính hiển vi điện tử quét |
| UV-Vis | Ultraviolet-Visible | Quang phổ hấp thụ vùng tử ngoại- khả kiến |
| VCP | Coffee husk | Vỏ cà phê |
| XRD | X-ray diffraction | Nhiều xạ tia X |

DANH MỤC CÁC BẢNG

| | Trang |
|--|-------|
| Bảng 1.1. Một số nghiên cứu về tổng hợp xanh vật liệu nano gốc Cu..... | 11 |
| Bảng 2.1. Định lượng hóa chất sử dụng để tổng hợp 100 g vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 36 |
| Bảng 3.1. Thành phần hóa học cơ bản của vỏ cà phê..... | 48 |
| Bảng 3.2. Ảnh hưởng của pH và thời gian đến hiệu suất chiết chất khử sinh học trong vỏ cà phê..... | 49 |
| Bảng 3.3. Thành phần các nguyên tố của vỏ cà phê và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau | 55 |
| Bảng 3.4. Các đỉnh phổ FTIR và sự phân bố nhóm chức của vỏ cà phê và vật liệu nano gốc Cu/vỏ và phê..... | 61 |
| Bảng 3.5. Hàm lượng Cu tổng, Cu ⁰ , Cu ⁺ , Cu ²⁺ và hiệu suất khử Cu ²⁺ phụ thuộc vào hàm lượng Cu | 62 |
| Bảng 3.6. Hàm lượng và hiệu suất phân hủy caffein phụ thuộc vào hàm lượng Cu | 63 |
| Bảng 3.7. Thế oxy hóa khử của chiết xuất vỏ cà phê ở các giá trị pH khác nhau.... | 66 |
| Bảng 3.8. Thành phần các nguyên tố của vỏ cà phê và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các giá trị pH khác nhau..... | 68 |
| Bảng 3.9. Hàm lượng Cu tổng, Cu ⁰ , Cu ⁺ , Cu ²⁺ và hiệu suất khử Cu ²⁺ phụ thuộc vào pH phản ứng | 75 |
| Bảng 3.10. Hàm lượng và hiệu suất phân hủy caffein phụ thuộc vào pH phản ứng | 75 |
| Bảng 3.11. Hàm lượng Cu tổng, Cu ⁰ , Cu ⁺ , Cu ²⁺ trong vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê sau 12 tháng lưu trữ..... | 76 |
| Bảng 3.12. Hàm lượng Cu tổng, Cu ⁰ , Cu ⁺ , Cu ²⁺ và hiệu suất khử Cu ²⁺ phụ thuộc vào hàm lượng Cu | 78 |

| | |
|---|-----|
| Bảng 4.1. Hiệu lực <i>in vitro</i> kháng nấm <i>Phytophthora capsici</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 83 |
| Bảng 4.2. Hiệu lực <i>in vitro</i> kháng nấm <i>Fusarium oxysporum</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 86 |
| Bảng 4.3. Hiệu quả <i>in vitro</i> diệt tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 88 |
| Bảng 4.4. Hiệu quả <i>in vivo</i> diệt tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 91 |
| Bảng 4.5. Ảnh hưởng <i>in vitro</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê đến sự nảy mầm và phát triển rễ của hạt đậu xanh..... | 93 |
| Bảng 4.6. Độc cấp tính cấp LD ₅₀ của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên chuột ... | 93 |
| Bảng 4.7. Tỷ lệ nhạy cảm của chuột với vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 94 |
| Bảng PL1. Dữ liệu phân bố kích thước hạt của nano gốc Cu/vỏ cà phê phụ thuộc vào hàm lượng Cu..... | 130 |
| Bảng PL2. Dữ liệu phân bố kích thước hạt của nano gốc Cu/vỏ cà phê phụ thuộc vào pH phản ứng..... | 132 |
| Bảng PL3. Dữ liệu phân bố kích thước hạt của nano gốc Cu/vỏ cà phê sau 12 tháng lưu trữ..... | 134 |
| Bảng PL4. Hiệu lực <i>in vitro</i> kháng nấm <i>Phytophthora capsici</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 134 |
| Bảng PL5. Hiệu lực <i>in vitro</i> kháng nấm <i>Fusarium oxysporum</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 135 |
| Bảng PL6. Hiệu quả <i>in vitro</i> diệt tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 136 |
| Bảng PL7. Hiệu quả <i>in vivo</i> diệt tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 137 |
| Bảng PL8. Ảnh hưởng <i>in vitro</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê đến sự nảy mầm và phát triển rễ của hạt đậu xanh..... | 138 |

Bảng PL9. Độc cấp tính cấp LD₅₀ của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên chuột139

Bảng PL10. Tỷ lệ nhạy cảm của chuột với vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê.....139

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

| | Trang |
|--|-------|
| Hình 1.1. Cơ chế hình thành hạt nano gốc Cu trong pháp tổng hợp theo cách tiếp cận từ dưới lên | 13 |
| Hình 1.2. Lưu trữ và đốt bỏ vỏ cà phê gây ô nhiễm nguồn nước và không khí..... | 18 |
| Hình 1.3. Ủ vỏ cà phê làm phân bón hữu cơ | 18 |
| Hình 1.4. Cơ chế kháng khuẩn của các hạt nano gốc Cu | 26 |
| Hình 1.5. Cơ chế kháng nấm của các hạt nano gốc Cu | 27 |
| Hình 1.6. Cơ chế phân hủy chất ô nhiễm caffein của hạt nano | 30 |
| Hình 2.1. Quy trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 35 |
| Hình 3.1. Đường chuẩn axit gallic (a), D-glucose (b) và caffein (c) | 47 |
| Hình 3.2. Ảnh chụp vỏ cà phê Lâm Đồng và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau | 49 |
| Hình 3.3. Ảnh SEM của vỏ cà phê (A), ảnh SEM và sơ đồ phân bố kích thước hạt của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (B, b), 3% (C, c), 4% (D, d) và 5% (E, e)..... | 51 |
| Hình 3.4. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của kích thước hạt nano gốc Cu vào hàm lượng Cu của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê | 52 |
| Hình 3.5. Phổ EDX của vỏ cà phê (a) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (b), 3% (c), 4% (d) và 5% (e)..... | 54 |
| Hình 3.6. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vỏ cà phê Lâm Đồng | 57 |
| Hình 3.7. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (2% Cu) | 58 |
| Hình 3.8. Giản đồ XRD của mẫu vỏ cà phê (a) và nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (b), 3% (c), 4% (d) và 5% (e)..... | 59 |

| | |
|--|----|
| Hình 3.9. Phổ FTIR của vỏ cà phê (a) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (b), 3% (c), 4% (d) và 5% (e)..... | 60 |
| Hình 3.10. Ảnh chụp vỏ cà phê Đắc Lắc và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau..... | 63 |
| Hình 3.11. Ảnh SEM của vỏ cà phê (A), ảnh SEM và sơ đồ phân bố kích thước hạt của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (B, b), 9 (C, c) và 10 (D, d) | 65 |
| Hình 3.12. Phổ EDX của vỏ cà phê (a) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (b), 9 (c) và 10 (d)..... | 68 |
| Hình 3.13. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vỏ cà phê Đắc Lắc..... | 70 |
| Hình 3.14. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (pH 9) | 72 |
| Hình 3.15. Biểu đồ XRD của mẫu vỏ cà phê (a) và nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (b), 9 (c) và 10 (d)..... | 73 |
| Hình 3.16. Phổ FTIR của vỏ cà phê (a) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (b), 9 (c) và 10 (d)..... | 74 |
| Hình 3.17. Ảnh SEM của các hạt nano gốc Cu/vỏ cà phê sau 12 tháng lưu trữ | 76 |
| Hình 3.18. Cơ chế khử và ổn định nano gốc Cu của VCP | 78 |
| Hình 3.19. Quy trình sản xuất vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê quy mô pilot | 79 |
| Hình 4.1. Sự phát triển của nấm <i>Phytophthora capsici</i> ở các nghiệm thức sau 07 ngày nuôi cấy: Đối chứng (a); vỏ cà phê ở nồng độ 833 mg/L (b), 1167 mg/L (c), 1500 mg/L (d), 1833 mg/L (e); vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở nồng độ Cu 25 mg/L (f), 35 mg/L (g), 45 mg/L (h) và 55 mg/L (i)..... | 82 |
| Hình 4.2. Mối quan hệ giữa nồng độ Cu và hiệu lực ức chế nấm <i>Phytophthora capsici</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 84 |
| Hình 4.3. Sự phát triển của nấm <i>Fusarium oxysporum</i> ở các nghiệm thức sau 07 ngày nuôi cấy: Đối chứng (a); vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở nồng độ Cu 25 mg/L (b), 35 mg/L (c), 45 mg/L (d) và 55 mg/L (e) | 85 |

| | |
|--|-----|
| Hình 4.4. Mối quan hệ giữa nồng độ Cu và hiệu lực ức chế nấm <i>Fusarium oxysporum</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê..... | 86 |
| Hình 4.5. Hình thái của tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> : Khôi trứng (a), con cái (b), âm hộ và hậu môn (c), J2 chết (d) và gai sinh dục của con đực (e) | 88 |
| Hình 4.6. Bố trí thí nghiệm kháng tuyến trùng <i>Meloidogyne incognita</i> của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên cây cà phê..... | 90 |
| Hình 4.7. Ảnh chụp cây cà phê và bộ rễ chớm nhiễm tuyến trùng | 91 |
| Hình 4.8. Thí nghiệm nảy mầm của hạt đậu xanh sau 72 giờ ở các nghiệm thức: Đối chứng (a), vỏ cà phê (b) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (c) | 92 |
| Hình 4.9. Các cá thể chuột sau 48 giờ bơi nước cất (a), vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (b) và 2,4-dinitrochlorobenzene (c)..... | 95 |
| Hình PL1. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (3% Cu)..... | 131 |
| Hình PL3. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (4% Cu)..... | 131 |
| Hình PL4. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (5% Cu)..... | 132 |
| Hình PL5. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (pH 8) | 133 |
| Hình PL6. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (pH 10)..... | 133 |

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Ngày nay, vật liệu nanocomposite có tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực do kết hợp được tính chất của vật liệu nano và vật liệu nền. Trong những năm gần đây, vật liệu nano trên cơ sở Cu (sau đây được gọi là nano gốc Cu) được nghiên cứu ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như: Quang điện tử, pin mặt trời, công nghiệp hóa học, cảm biến sinh học, pin Lithium ion, chất xúc tác quang hóa, v.v. Các hạt nano gốc Cu được quan tâm đặc biệt sử dụng trong lĩnh vực kháng bệnh gây hại trên thực vật do chúng cũng là vi chất dinh dưỡng cho sự tăng trưởng của cây trồng. Các hạt nano gốc Cu có hoạt lực cao trong việc phá hủy tế bào vi sinh vật gây hại, ít độc hơn dạng ion và đã được chứng minh có hiệu quả trong bảo vệ thực vật (BVTV) chống lại nhiều bệnh hại thực vật như nấm *Neoscytalidium dimidiatum*, *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp, vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) và tuyến trùng hại rễ *Meloidogyne* sp.

Vỏ cà phê (VCP) thải ra hàng năm tại các tỉnh cao nguyên miền Trung Việt Nam khoảng gần ~250.000 tấn, mặc dù VCP chứa một lượng lớn các hoạt chất sinh học có ích cho thực vật nhưng có độc tố là caffein với hàm lượng ~1% gây hoại tử và làm chết cây trồng. Mặc dù VCP đã được sử dụng rộng rãi làm chất đốt hoặc phân ủ, các phương thức này tạo ra sản phẩm có giá trị gia tăng thấp, chưa tương xứng với thành phần hóa học giàu tiềm năng của nguồn phụ phẩm nông nghiệp này. Xuất phát từ thực tiễn đó, luận án này đề xuất một hướng tiếp cận mới nhằm tận dụng VCP làm chất khử và chất ổn định để tổng hợp vật liệu nanocomposite trên cơ sở nano gốc đồng (Cu, Cu₂O, CuO). Vật liệu thu được không chỉ góp phần nâng cao giá trị sử dụng của phụ phẩm nông nghiệp mà còn thể hiện tiềm năng ứng dụng trong phòng trừ một số bệnh hại thực vật.

Vật liệu nano gốc Cu được tổng hợp xanh từ VCP của luận án được định hướng sử dụng làm phân bón vi lượng và chất kháng bệnh hại thực vật trong sản xuất nông nghiệp theo định hướng kinh tế tuần hoàn. Quá trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu dựa trên VCP (vật liệu nano gốc Cu/VCP) giúp phân hủy độc tố caffein gây hại cho thực vật nên là phương pháp tiếp cận hiệu quả để điều chế vật liệu sinh hoá nano

Cu/VCP tái sử dụng trong sản xuất nông nghiệp nhằm thay thế thuốc BVTV hoá học. Cơ chế khử Cu^{2+} và ổn định các hạt nano gốc Cu tạo thành bằng sinh khối VCP, hiệu suất phân hủy độc tố caffein do các hạt nano tạo thành trong quá trình tổng hợp vật liệu, hiệu lực kháng bệnh thực vật của vật liệu là các nội dung nghiên cứu mới cần tiến hành thực hiện.

Vì lý do trên, luận án này thực hiện đề tài: “**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**”.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

Mục tiêu của luận án là nghiên cứu tổng hợp xanh các hạt nano gốc Cu sử dụng chất khử và chất mang vỏ cà phê, tạo ra vật liệu ứng dụng trong nông nghiệp làm chất kháng bệnh hại thực vật, phân bón vi lượng và cải tạo đất.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

Luận án bao gồm các nội dung nghiên cứu sau:

- Xác định thành phần các chất khử sinh học (polyphenol, đường khử, lignin), và thành phần hoá học cơ bản (cellulose, hemicellulose) trong nguyên liệu VCP Robusta. Nghiên cứu hiệu suất chiết chất khử trong VCP phụ thuộc vào thời gian và pH.
- Nghiên cứu quy trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP, ảnh hưởng của tỷ lệ khối lượng Cu^{2+} :VCP, pH phản ứng đến kích thước hạt nano gốc Cu, các tính chất đặc trưng và xác định hàm lượng các dạng Cu trong vật liệu
- Nghiên cứu hiệu lực kháng nấm *in vitro* *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* và tuyến trùng rễ *Meloidogyne incognita* gây hại thực vật của vật liệu nano gốc Cu/VCP.
- Nghiên cứu độc tính thực vật đối với sự nảy mầm của hạt đậu xanh, độc tính cấp LD_{50} và nhạy cảm da trên chuột của vật liệu nano gốc Cu/VCP.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Ý nghĩa khoa học:

Xây dựng được quy trình tổng hợp xanh vật liệu nano gốc Cu/VCP có hàm lượng Cu cao từ 2%–5%, từ tiền chất CuSO_4 , sử dụng phụ phẩm nông nghiệp VCP

làm chất khử và chất mang mà không cần tách riêng chất khử. Cơ chế hình thành và ổn định các hạt nano gốc Cu trên sinh khối VCP cũng như kết quả nghiên cứu tính chất của vật liệu đóng góp vào dữ liệu khoa học trong việc tổng hợp xanh các hạt nano có nguồn gốc kim loại. Các nghiên cứu về hiệu quả kháng nấm, kháng tuyến trùng của vật liệu nano gốc Cu/VCP trong luận án này là những nghiên cứu mới có ý nghĩa định hướng sử dụng chúng để kháng bệnh hại thực vật, đáp ứng nền sản xuất nông nghiệp tuần hoàn.

Ý nghĩa thực tiễn:

Quy trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu sử dụng chất khử và chất mang là VCP góp phần xử lý nhanh phụ phẩm có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường so với các phương pháp xử lý truyền thống sử dụng làm chất đốt hoặc nguyên liệu ủ phân, tạo ra sản phẩm có hoạt tính kháng bệnh hại thực vật, có tiềm năng thay thế thuốc BVTV hoá học. Kết quả nghiên cứu của luận án tạo ra quy trình và sản phẩm có giá trị gia tăng, đáp ứng nền kinh tế tuần hoàn và tiết kiệm ngoại tệ nhập khẩu thuốc BVTV.

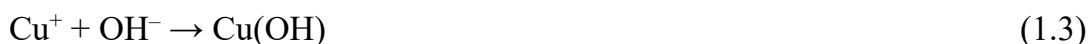
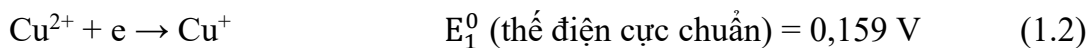
CHƯƠNG I. TỔNG QUAN

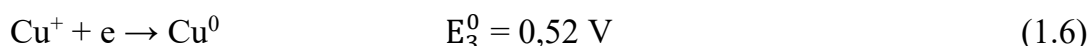
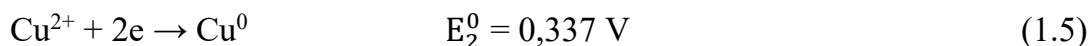
1.1. Nano gốc Cu và ứng dụng trong nông nghiệp

1.1.1. Kim loại Cu và các hợp chất của chúng

Đồng là một nguyên tố hóa học (ký hiệu Cu), có số hiệu nguyên tử bằng 29, nguyên tử khối bằng 64, với đặc tính mềm và khả năng dẫn nhiệt, dẫn điện cao. Cu được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như xây dựng, chế tạo vật liệu dẫn điện - dẫn nhiệt, cũng như trong các công nghệ liên quan đến quang xúc tác và quang điện tử [1]. Kim loại Cu có cấu trúc tinh thể lập phương tâm mặt (fcc), cấu hình electron [Ar] $3d^{10} 4s^1$, hợp chất của chúng có thể tồn tại sáu trạng thái oxy hóa khác nhau là -2, 0, 1, 2, 3, 4 nhưng chủ yếu là các trạng thái oxy hóa 0, 1 và 2. Kim loại Cu có 29 đồng vị, trong đó có 2 đồng vị bền là ^{63}Cu , ^{65}Cu và 1 đồng vị phóng xạ bền nhất ^{67}Cu [2].

Đồng (I) oxit (Cu_2O) là một trong hai dạng oxit của Cu (bao gồm Cu_2O và CuO) có màu đỏ, không tan trong nước, tan chậm trong dung dịch kiềm đặc và tan tốt trong dung dịch axit. Phân tử khối của Cu_2O là 143,09 g/mol, khối lượng riêng là $6,0 \text{ g/cm}^3$, nhiệt độ nóng chảy $1.235 \text{ }^\circ\text{C}$ và nhiệt độ sôi $1.800 \text{ }^\circ\text{C}$. Cu_2O có mạng tinh thể lập phương, thuộc nhóm đối xứng không gian $\text{Pn}\bar{3}\text{m}$ (224) với các thông số mạng $a = 4,27\text{Å}$, khoảng cách ngắn nhất $d_{\text{Cu}-\text{O}} = 1,84\text{Å}$, $d_{\text{O}-\text{O}} = 3,68\text{Å}$ và $d_{\text{Cu}-\text{Cu}} = 3,02\text{Å}$. Cu_2O có thể điều chế bằng phương pháp oxy hóa Cu^0 hoặc khử Cu^{2+} thành Cu^+ . Cu_2O có thể điều chế bằng phương pháp oxy hóa Cu bằng CO theo phản ứng (1.1) hoặc khử Cu^{2+} trong môi trường kiềm theo phản ứng (1.2)–(1.4) [3, 4]. Ngoài ra, Cu^{2+} còn có thể bị khử thành Cu kim loại theo phản ứng (1.5) và (1.6) [5]. Thế điện cực chuẩn của bán phản ứng càng nhỏ thì tính oxy hóa của chất oxy hóa càng lớn, do vậy, trong các phản ứng oxy hóa Cu^{2+} thì ưu tiên tạo thành Cu^+ (phương trình 1.2), tiếp theo đó là oxy hóa Cu^{2+} thành Cu kim loại (phương trình 1.5) và oxy hóa Cu^+ thành Cu kim loại (phương trình 1.6) [6, 7].





1.1.2. Tiềm năng ứng dụng của vật liệu nano gốc Cu trong nông nghiệp

Từ lâu, thuốc diệt nấm gốc Cu được sử dụng làm chất kháng vi sinh vật gây bệnh trên nhiều nhóm cây trồng như cây ăn quả, rau và ngũ cốc [8]. Tuy nhiên, phương pháp này phải sử dụng nồng độ hoạt chất ở mức độ cao dẫn đến sự tích tụ muối Cu trên đồng ruộng, có khả năng gây tồn dư Cu trong đất và ô nhiễm nước [9]. Theo báo cáo của cơ quan Bảo Vệ Môi Trường Hoa Kỳ, năm 2017, có khoảng 3–5 triệu pound thuốc BVTV gốc Cu được sản xuất và sử dụng tại quốc gia này [10]. Chính vì vậy, vật liệu nano gốc Cu được đánh giá là các hoá chất nông nghiệp tiềm năng nhờ hoạt động kháng khuẩn, kháng nấm cao. Theo báo cáo của Data Bridge Market Research (2024), “Global Agricultural Nanotechnology Market” thì thị trường nông nghiệp nano toàn cầu (bao gồm nano phân bón, nano thuốc BVTV, nano cảm biến phát hiện sớm mầm bệnh...) đạt 398,52 tỷ USD năm 2024 và dự báo đạt 965,78 tỷ USD vào năm 2032, tốc độ tăng trưởng khoảng 11,7%. Các loại vật liệu nano kim loại phổ biến bao gồm AgNPs (nano bạc), CuNPs, CuO-NPs (nano đồng), ZnO-NPs (nano kẽm oxit), Fe₂O₃/Fe₃O₄-NPs (nano sắt), TiO₂-NPs (nano titan), SiO₂-NPs (nano silica), composite nano kim loại, có tiềm năng ứng dụng mạnh mẽ trong nông nghiệp, giúp tăng năng suất và chất lượng nông sản, giảm sử dụng hóa chất độc hại, tăng khả năng chống chịu stress. Các nghiên cứu hiện nay cho thấy nanocomposite kim loại, đặc biệt là sản phẩm của tổng hợp xanh là xu hướng chủ đạo nhờ tính bền vững, hiệu quả cao và thân thiện môi trường.

Hạt nano Cu và Cu₂O có diện tích bề mặt lớn nên thể hiện các tính chất dẫn điện, dẫn nhiệt, kháng khuẩn cao hơn so với trạng thái vật liệu khối. Trong thời gian gần đây, chúng được quan tâm nghiên cứu ứng dụng trong các lĩnh vực như: Công nghiệp điện tử, xử lý môi trường và vật liệu kháng vi sinh vật [11, 12]. Các hạt nano gốc Cu đã được chứng minh là có tiềm năng đáng kể cho các ứng dụng nông nghiệp, đặc biệt là tăng năng suất cây trồng và kháng bệnh thực vật. Các ứng dụng chính của các hạt nano gốc Cu trong nông nghiệp bao gồm phân bón nano, chất kích thích nano và thuốc trừ sâu nano, đồng thời chúng còn cải thiện khả năng kháng bệnh và kích

thích nảy mầm hạt giống [8]. Các hạt nano gốc Cu có kích thước từ 53–608 nm được thử nghiệm trên dưa hấu đã kháng lại các loại bệnh trên rễ ở nồng độ hiệu quả là 100 mg/L [13]. Thuốc trừ sâu gốc Cu có hiệu quả chống lại nhiều loại vi khuẩn và nấm trên các loại cây trồng như cam, quýt, rau, lúa, ngũ cốc và cây ăn quả [14]. Theo công bố của Hans và cs (2013), hiệu quả kháng vi sinh vật của Cu kim loại và Cu₂O cao hơn rõ rệt so với CuO theo thứ tự Cu > Cu₂O > CuO. Cơ chế này liên quan đến sự hình thành lớp oxit trên bề mặt và khả năng giải phóng ion [15]. Ngoài ra, Cu còn được biết đến là một trong những vi chất dinh dưỡng thiết yếu cho sự phát triển của cây trồng, đóng vai trò quan trọng trong việc chống lại mầm bệnh [9]. Các hoạt động sinh lý của nguyên tố Cu trong thực vật bao gồm quang hợp, hoạt động của enzyme, phản ứng stress oxy hoá [8]. Do kích thước nhỏ và sự giải phóng ion chậm, các hạt nano gốc Cu dễ dàng được thực vật hấp thụ giúp kéo dài thời gian hiệu quả, tăng khả năng sinh học, giảm liều lượng sử dụng và giảm thiểu tác hại đến hệ vi sinh vật đất [8].

Cho đến nay, vật liệu nano gốc Cu được coi là một trong những vật liệu nano gốc kim loại tiềm năng và hiệu quả để ứng dụng kháng bệnh gây hại trên thực vật. Nano gốc Cu có khả năng kháng một số loại nấm trong đất, chẳng hạn ức chế nấm *F. kuroshium* trên 80% ở nồng độ 0,5–1 mg/mL, cao hơn so với sử dụng Cu(OH)₂ [16]. Các nghiên cứu về khả năng chống lại nấm *Fusarium* sp. của nano Cu phụ thuộc vào kích thước, nồng độ và hình dạng của chúng. Đối với nấm *F. oxysporum*, khi sử dụng nano Cu ở nồng độ 0,25 mg/mL đã ức chế > 90% trong khi đó cùng nồng độ thì muối Cu²⁺ chỉ ức chế được 5% [17]. Ngoài khả năng kháng lại nấm *Fusarium*, nano Cu còn được chứng minh là có khả năng chống lại nấm *P. capsici* [18], *P. nicotianae* gây bệnh đốm đen trên cây thuốc lá ở nồng độ 100 mg/L [19], kháng lại nấm *Phytophthora* spp. đạt hiệu quả 90%–100% ở nồng độ 10–30 ppm [20]. Guerrero và cs (2020) đã thử nghiệm các hạt nano CuO thương mại trên *P. capsici* và kết quả cho thấy hiệu quả kháng nấm đạt 100% sau 07 ngày ở nồng độ 500–1500 ppm, tuy nhiên, tác giả không nghiên cứu ở nồng độ thấp hơn [21]. Gần đây có nhiều nghiên cứu chứng minh các hạt nano Cu còn có khả năng kháng lại tuyến trùng hại rễ, chẳng hạn như nghiên cứu của Mohamed (2019) thì nồng độ nano Cu 0,2 g/L gây chết 100% tuyến trùng *M. incognita* [22]. Hạt nano Cu, CuFe, CuFe₂O₃ đều có khả năng chống lại tuyến trùng *Meloidogyne* spp. Đối với nano Cu thì EC₅₀ (nồng độ thuốc tại đó tạo

ra 50% tác dụng của thuốc) sau 24–72 giờ là 60–75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [23]. Du và cs (2017) nghiên cứu sử dụng nano CuCl/zeolite ở nồng độ Cu 20 ppm đã ức chế hoàn toàn tuyến trùng *Pratylenchus* spp. hại rễ cà phê [24]. Tỷ lệ tử vong của tuyến trùng tăng lên theo nồng độ và thời gian tiếp xúc với các hạt nano gốc Cu [25, 26].

Các nguyên cứu về độc tính của nano gốc Cu đã báo cáo rằng ở nồng độ dưới 100 mg/L, chúng không ảnh hưởng đến tính chất đất và quần thể vi sinh vật [27, 28]. Tương tự, Kumar và cs (2021) đã báo cáo rằng việc bón Cu ở nồng độ từ 2–109 mg/kg không gây tác động tiêu cực đến đất nông nghiệp. Với kích thước nhỏ, tốc độ giải phóng ion Cu chậm, việc ức chế nấm bệnh của các hạt nano gốc Cu có thể kéo dài và ít ảnh hưởng đến hệ sinh thái trong môi trường đất.

Theo hiểu biết của chúng tôi, tại Việt nam đã có một số công trình công bố về tổng hợp và ứng dụng vật liệu nano gốc Cu để kháng bệnh trong nông nghiệp. Bui Duy Du và cs (2017) đã tổng hợp dung dịch keo nano CuCl/chitosan với hàm lượng Cu là 5.000 ppm, kích thước hạt nano CuCl thu được là ~ 8 nm. Vật liệu nano CuCl ở nồng độ 50 ppm Cu, đạt hiệu quả 91% đối với nấm gây bệnh đạo ôn ở lúa, 78% đối với nấm gây bệnh đốm nâu trên cây thanh long và 68% đối với tuyến trùng gây bệnh trên cây hồ tiêu [29]. Tóm lại, các hạt nano gốc Cu ứng dụng trong nông nghiệp có độc tính sinh thái thấp, hiệu lực cao và liều sử dụng tối thiểu. Vật liệu này được kỳ vọng là một chiến lược thay thế tiềm năng thuốc BVTV truyền thống để tăng năng suất và kháng dịch bệnh trên cây trồng [10].

Việt Nam là một quốc gia có nền nông nghiệp lâu đời, chiếm một vị trí quan trọng trong nền kinh tế. Cùng với sự phát triển kinh tế, kỹ thuật, nông nghiệp đi vào sản xuất thâm canh thì việc sử dụng thuốc BVTV được xem là một trong những biện pháp chủ đạo nhằm phòng trừ sâu bệnh hại cây trồng. Từ những năm 50 của thế kỷ XIX, thuốc BVTV đã bắt đầu được sử dụng tại Việt Nam và tăng nhanh từ cuối những năm 1980 đến nay. Theo thống kê, năm 1991 có 77 loại hóa chất được phép sử dụng, đến năm 2018 có tới 785 loại thuốc trừ sâu, 617 loại thuốc diệt nấm và 230 loại thuốc diệt cỏ được phép sử dụng [30].

Hiện nay, thuốc BVTV có nguồn gốc hoá học vẫn là lựa chọn hàng đầu của người dân Việt Nam do chúng là tác nhân có thể dập tắt dịch hại trên diện rộng nhanh chóng. Tuy nhiên, chúng là những chất độc hại đối với các thiên địch, các loại sinh vật có ích trong môi trường đất và gây tác hại trực tiếp tới sức khỏe con người. Nhiều

nông hộ đã gia tăng sử dụng thuốc BVTV dẫn đến tình trạng lạm dụng thuốc, sử dụng thuốc không đúng cách, tăng nồng độ, liều lượng khi sử dụng [31]. Điều này dẫn đến tác hại do thuốc BVTV để lại dư lượng lớn trong nông sản cũng như trong môi trường gây ảnh hưởng tới sức khỏe con người, suy thoái môi trường đất và thiệt hại về kinh tế và không đáp ứng nhu cầu về chất lượng nông sản cho xuất khẩu.

Trên cơ sở các phân tích nêu trên, việc nghiên cứu sử dụng VCP như tác nhân khử đồng thời là chất mang để tổng hợp vật liệu nano gốc Cu hướng tới khả năng sản xuất ở quy mô lớn là có cơ sở khoa học và giá trị thực tiễn. Vật liệu tạo thành không chỉ có tiềm năng kháng bệnh hại mà còn có khả năng bổ sung dinh dưỡng vi lượng cho thực vật, được kỳ vọng sẽ thúc đẩy phát triển mô hình nông nghiệp tuần hoàn theo hướng bền vững và thân thiện với môi trường.

1.2. Các phương pháp tổng hợp nano gốc Cu

Có hai cách tiếp cận để tổng hợp các hạt nano gốc Cu, phương cách từ trên xuống là phân chia vật liệu khối thành kích thước nanomet và phương cách từ dưới lên là tập hợp các phân tử thành kích thước nanomet. Mỗi phương pháp đều có ưu điểm và nhược điểm riêng, nhưng phương pháp từ dưới lên phổ biến hơn vì nó tạo điều kiện thuận lợi cho việc kiểm soát hình dạng và kích thước của các hạt nano thu được [32]. Phương cách tổng hợp vật liệu nano Cu gốc theo cách tiếp cận từ dưới lên chủ yếu bao gồm các phương pháp hoá học, vật lý và sinh học.

1.2.1. Phương pháp hoá học

Nhiều kỹ thuật trong phương pháp hoá học đã được ứng dụng để tổng hợp các hạt nano gốc Cu là: Sol-gel, thủy nhiệt và lắng đọng điện hoá. Cho đến nay, việc sử dụng chất khử hoá học để tổng hợp nano gốc Cu là phương pháp được sử dụng phổ biến nhất. Các chất khử hoá học thường được sử dụng là borohydrit, hydrazin, axit ascorbic, v.v. [33]. Kỹ thuật sol-gel, thủy nhiệt và lắng đọng điện hoá được ưa chuộng vì chúng kiểm soát được hình thái và kích thước, phù hợp cho những ứng dụng cụ thể. Trong phương pháp này, tiền chất muối Cu được hoà tan trong các dung môi thích hợp tạo thành dung dịch, sau đó bổ sung tác nhân tạo gel chẳng hạn như tetraethyl orthosilicate, tạo thành mạng lưới 3 chiều của gel trong dung dịch chứa hợp chất Cu. Tiếp theo, gel được sấy khô để loại bỏ dung môi tạo thành ma trận gel xốp

chứa hạt nano Cu [34]. Kỹ thuật thủy nhiệt tổng hợp các hạt nano gốc Cu trong điều kiện nhiệt độ và áp suất cao. Phương pháp này sử dụng tiền chất Cu, chất khử và chất ổn định trong bình phản ứng chịu áp. Phương pháp lắng đọng điện hoá sử dụng pin hoá học với 2 điện cực làm việc (điện cực dương thường là carbon thủy tinh hoặc kim loại), điện cực âm được nhúng trong dung dịch điện phân chứa ion Cu^{2+} . Khi điện thế được áp dụng trên pin điện hoá, các ion Cu^{2+} trong dung dịch chất điện phân bị khử và lắng đọng trên bề mặt điện cực dưới dạng hạt nano gốc Cu [35].

1.2.2. Phương pháp vật lý

Phương pháp vật lý tổng hợp các hạt nano gốc Cu sử dụng nhiều kỹ thuật như phún xạ, lắng đọng hơi hoá học, lắng đọng hơi vật lý, phá huỷ bằng laser, lắng đọng laser xung và phóng điện hồ quang. Mỗi kỹ thuật có những ưu điểm và nhược điểm khác nhau. Phương pháp phún xạ sử dụng các ion năng lượng cao đẩy các nguyên tử Cu ra khỏi vật liệu khối, sau đó lắng đọng các hạt tạo thành có cấu trúc nano trên chất nền. Phương pháp này phù hợp để sản xuất màng mỏng và lớp phủ. Kỹ thuật laser sử dụng chùm laser năng lượng cao để làm bay hơi kim loại Cu và ngưng tụ thành các hạt nano [36]. Kỹ thuật phóng tia lửa điện giữa 2 điện cực Cu trong môi trường lỏng tạo ra các hạt nano Cu bay hơi và ngưng tụ trong chất lỏng [37]. Ngoài ra, kỹ thuật phóng điện hồ quang trong môi trường khí trơ giữa điện cực Cu cũng tạo ra sự bay hơi các hạt nano Cu từ điện cực cho phép chế tạo các hạt nano Cu có kích thước khác nhau [38].

1.2.3. Phương pháp sinh học

Việc tổng hợp các hạt nano gốc Cu bằng chất khử hóa học thường được sử dụng do hiệu suất cao, tuy nhiên sản phẩm thu được chứa dư lượng chất khử có hại [39]. Do vậy, việc sử dụng các chất khử và chất ổn định có nguồn gốc thực vật đang ngày càng được chú ý như một phương pháp xanh với tác động môi trường thấp và là xu hướng đang phát triển trong nghiên cứu gần đây [40]. Phương pháp sinh học tổng hợp các hạt nano gốc Cu còn sử dụng vi sinh vật như *Pseudomonas*, *Bacillus*, v.v., chúng tạo các enzyme khử Cu^{2+} tạo ra hạt nano. Quy trình tổng hợp nano gốc Cu sử dụng vi sinh vật gồm: Phân lập, lựa chọn và nuôi cấy vi sinh vật trong môi trường có bổ sung Cu^{2+} , sau đó thu hoạch và tinh chế các hạt nano gốc Cu [41].

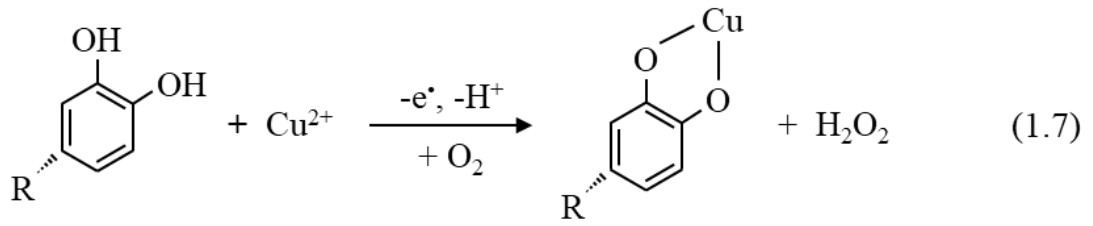
Enzyme của vi sinh vật có khả năng khử Cu^{2+} là các protein, đồng thời polyme ngoại bào của chúng đóng vai trò là chất ổn định [42]. Ngoài phương pháp sử dụng vi sinh vật, nhiều loại nấm men, tảo [43] và các loại thực vật thủy sinh như *Eichhornia crassipes* cũng hấp thụ ion kim loại như Cu^{2+} và khử chúng thành nano gốc kim loại [44]. Các hạt nano gốc Cu tổng hợp từ vi sinh vật, vi tảo, thực vật và nấm có tiềm năng trong các lĩnh vực y sinh với các tác dụng phụ tối thiểu do có độ tinh khiết cao [45]. Hiện nay, các phương pháp sử dụng chiết xuất thực vật làm chất khử và/hoặc chất ổn định trong quá trình tổng hợp các hạt nano gốc Cu đã được nhiều tác giả phát triển. Mohamed và cs (2020) đã tổng hợp các hạt nano gốc Cu có kích thước 78 nm bằng cách sử dụng chất khử là các hợp chất polyphenol (PP) từ chà là không hạt. Ramesh và cs (2012) sử dụng đường khử (RS) từ chiết xuất lá *Manihot esculenta* để tổng hợp các hạt nano Cu_2O có kích thước 50–80 nm [46]. Li et al. (2016) tổng hợp các hạt nano Cu_2O bằng cách sử dụng lignin làm chất khử và chất ổn định [47]. Tương tự, Leng và cs (2016) đã sử dụng lignin để khử CuSO_4 thành các hạt nano Cu gắn với graphene ở 300 °C [48]. Phương pháp sử dụng chất khử tự nhiên được chiết xuất từ *Seri pheidium quettense* hoặc chiết xuất lá *Ipomoea aquatica* để tổng hợp các hạt nano Ag cũng đã được nghiên cứu bởi Nasar và cs (2019) [49] và Khan và cs (2020) [50]. Ngoài ra, chiết xuất lá *Jatropha curcas* cũng được Khan et al. (2022) sử dụng để tổng hợp các hạt nano CuO có khả năng chống lại tuyến trùng *M. incognita* [26].

Phương pháp tổng hợp xanh các hạt nano gốc kim loại sử dụng chất khử có trong thực vật được quan tâm nghiên cứu do chúng không chứa thành phần độc hại. Phương pháp này giảm tiêu thụ dung môi, không sử dụng chất khử hoá học, tạo ra sản phẩm an toàn, đồng thời giảm thiểu ô nhiễm môi trường. Các chất khử sinh học trong thực vật bao gồm flavonoids, steroids, alkaloids, tannins, và saponins, v.v. [51], andehyt, xeton, PP, đồng thời chúng có thể đóng vai trò là chất ổn định [52]. Trong thời gian qua, đã có nhiều công trình nghiên cứu tổng hợp nano gốc Cu bằng các phương pháp khác nhau, đáp ứng nhu cầu ứng dụng. Hướng đến mục tiêu giảm chi phí sản xuất, cũng như góp phần bảo vệ môi trường, các phương pháp hoá học đang dần được thay thế bằng các phương pháp sinh học hoặc các phương pháp hoá học xanh. Một số nghiên cứu sử dụng chất khử từ thực vật để tổng hợp nano gốc Cu được liệt kê trong Bảng 1.1.

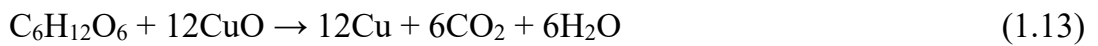
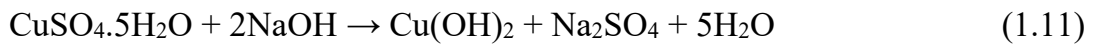
Bảng 1.1. Một số nghiên cứu về tổng hợp xanh vật liệu nano gốc Cu.

| Tiền chất | Chất khử | Chiết xuất thực vật | Điều kiện tổng hợp | Kích thước | Tài liệu tham khảo |
|---|---|--|--------------------|--------------|--------------------|
| CuSO ₄ | PP, RS | Chiết xuất lá móng, bạch đàn, ôi, xoan | 80 °C khuấy trộn | 7,52–73,8 nm | [53] |
| CuSO ₄ | PP, flavonoid | Chiết xuất cành và hoa kim ngân | gia nhiệt nhẹ | 2–4 nm | [54] |
| CuSO ₄ | Phenolic, PP và flavonoid | Chiết xuất lá cây hồ tiêu | 60–80 °C | 10–20 nm | [55] |
| CuSO ₄ (thu từ pin mặt trời thải bỏ) | Phenolic, flavonoid | Chiết xuất quả cây hồ tiêu | 70 °C | 26 nm | [56] |
| CuSO ₄ | Phenolic | Chiết xuất lá cây hương nhu | 80 °C | 122,7 nm | [57] |
| CuSO ₄ | Phenolic, tannin, Saponin, coumarin và alkaloid | Chiết xuất lá cây dầu mè | 90 °C | 5–10 nm | [26] |
| CuSO ₄ | Phenolic và flavonoid | Chiết xuất quả chà là khô không hạt | pH 6,8 và 80 °C | 78 nm | [58] |

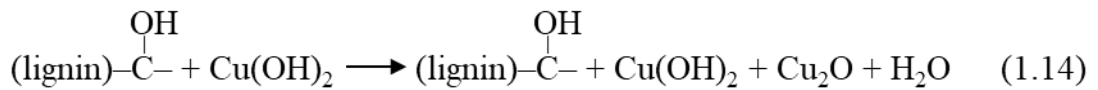
Các chất khử sinh học có trong thực vật như PP, RS và lignin rất có tiềm năng làm chất khử để tổng hợp các hạt nano kim loại, nano oxit kim loại theo phương pháp hóa học xanh. Do cấu tạo hóa học, PP dễ dàng nhường một điện tử hoặc nguyên tử hydro cho chất oxy hóa hoặc gốc tự do tạo thành gốc tự do ít ổn định hơn (hoạt động hơn) và tạo thành quinon [59, 60]. Cơ chế phản ứng khử Cu²⁺ của PP diễn ra theo phản ứng (1.7–1.9) [61, 62], các ion Cu⁺ tạo thành trong môi trường kiềm kết hợp với gia nhiệt sẽ tạo thành các hạt nano Cu₂O theo các phản ứng (1.3) và (1.4).



Cơ chế phản ứng khử của RS (ví dụ glucose) với Cu^{2+} xảy ra theo phản ứng (1.10), (1.3), (1.4) và (1.11) đến (1.13) [63, 64]:



Quá trình khử Cu^{2+} thành Cu_2O bởi lignin diễn ra thông qua quá trình oxy hóa các nhóm $-\text{OH}$ của lignin thành $\text{C}=\text{O}$ theo phản ứng (1.14) [47]:



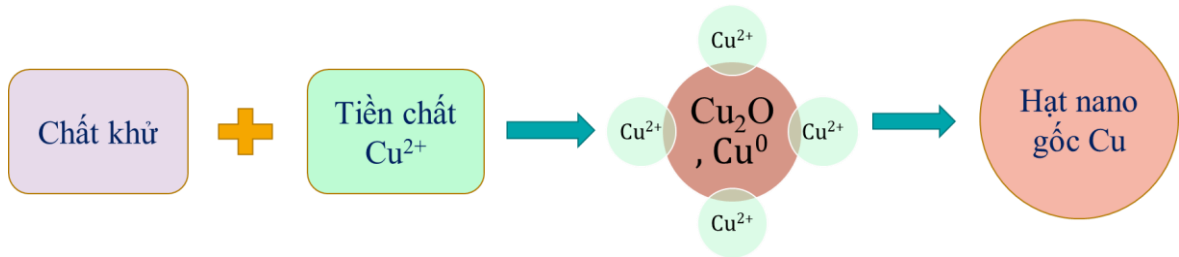
Thế oxy hóa của Cu^{2+} và thế khử của PP, lignin [65], RS [66] phụ thuộc vào nhiệt độ, pH môi trường và loại PP nên sản phẩm có thể tạo thành Cu^0 , Cu_2O , CuO hoặc hỗn hợp tùy vào điều kiện phản ứng.

Đối với việc điều chế các hạt nano Cu theo phương pháp từ dưới lên, ngoài việc sử dụng các dung dịch polyme để bảo vệ các hạt thì phương pháp sử dụng chất ổn định dạng rắn cũng đã được nghiên cứu. Chất mang dạng rắn đã được nghiên cứu bởi Zhan và cs (2021) khi kết tủa các hạt nano Cu_2O lên mao mạch của gỗ tạo ra gỗ kháng mối mọt [67]. Eivazihollagh và cs (2018) sử dụng cellulose làm chất mang gắn nano Cu, nano Cu_2O tạo ra màng kháng khuẩn [68]. Du và cs (2017) điều chế nano Cu_2O , nano CuCl sử dụng zeolite 4A làm chất mang tạo ra vật liệu kháng khuẩn, kháng tuyến trùng rễ [24, 69].

1.2.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kích thước hạt nano gốc Cu

1.2.4.1. Ảnh hưởng của hàm lượng tiền chất Cu^{2+} đến kích thước hạt

Trong phương pháp tổng hợp vật liệu nano theo cách tiếp cận từ dưới lên, các nguyên tử gốc Cu đầu tiên được hình thành, sau đó các ion Cu bám vào bề mặt để tạo thành các cụm và tiếp tục bị khử để tạo thành các hạt nano (Hình 1.1)



Hình 1.1. Cơ chế hình thành hạt nano gốc Cu trong pháp tổng hợp theo cách tiếp cận từ dưới lên

Kích thước của các hạt nano phụ thuộc vào nồng độ tiền chất và chất ổn định [6]. Theo đó, hàm lượng tiền chất Cu^{2+} càng cao thì kích thước của các hạt nano thu được càng lớn. Cơ chế này cũng đã được báo cáo bởi Du và cs (2008) khi tổng hợp các hạt nano Ag ổn định trong polyvinylpyrrolidone bằng chiếu xạ gamma Co-60 [70], Ngọc và cs (2021) khi tổng hợp các hạt nano Cu_2O -Cu bằng cách sử dụng N_2H_4 làm chất khử và ổn định trong dung dịch natri alginate [71]. Mặt khác, nồng độ chất khử cũng ảnh hưởng đến kích thước của các hạt nano được hình thành. Khi nồng độ chất khử thấp, phản ứng diễn ra chậm, dẫn đến sự hình thành các cụm lớn trước khi khử. Ngược lại, khi nồng độ chất khử cao, các cụm nhỏ hình thành và nhanh chóng bị khử thành nano [72, 73]. VCP là chất ổn định hiệu quả vì thành phần lignin có thể hình thành liên kết phối hợp với các ion kim loại bằng các nhóm chức hydroxyl, carboxyl, ether và lactone [74]. Tương tự như vậy, cellulose chứa các nhóm ether và hydroxyl có thể neo giữ các ion kim loại bằng các tương tác ion phân cực, sau đó ổn định nano hình thành bằng phản ứng khử [74-76]. Việc neo giữ các ion kim loại bởi các nhóm chức trong sinh khối VCP có tác dụng ngăn ngừa sự kết tụ, do đó tạo thành hình dạng rõ ràng và phân bố trong phạm vi kích thước hẹp của các hạt nano [77, 78].

1.2.4.2. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến kích thước hạt

Ngoài sự phụ thuộc vào nồng độ tiền chất, kích thước hạt nano cũng phụ thuộc vào thế oxy hóa khử của chất khử, chất khử càng mạnh thì hạt tạo thành có kích thước càng nhỏ. Thế oxy hóa khử của một số chất khử bị ảnh hưởng bởi độ pH của môi trường phản ứng. Đối với các phản ứng oxy hóa khử liên quan đến sự chuyển proton (loại bỏ hoặc kết hợp), thế oxy hóa khử của chất khử phụ thuộc pH theo phương trình (1.15) [79]:

$$E_p = E^0 - \frac{2.3RTm}{nF} pH \quad (1.15)$$

Trong đó: E_p (V) là thế điện cực ở một pH nhất định, E^0 (V) là thế ở điều kiện chuẩn, R ($J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$) là hằng số khí, T (K) là nhiệt độ, m là số proton, n là số electron, F ($C \cdot mol^{-1}$) là hằng số Faraday, và pH là giá trị pH của dung dịch. Sự phụ thuộc pH của thế oxy hóa khử cũng có thể được minh họa bằng sơ đồ Pourbaix, đặc biệt đối với các phản ứng oxy hóa liên quan đến OH^- và H^+ [80].

Thế oxy hóa khử đóng vai trò là thước đo khả năng oxy hóa (mất electron) hoặc khử (nhận electron) của một hệ thống hóa học hoặc sinh hóa [81]. Môi trường kiềm thúc đẩy sự hình thành các cấu trúc aldehyde mạch hở khi RS tham gia phản ứng, đồng thời làm giảm thế oxy hóa khử thông qua việc tăng nồng độ các chất khử hoạt tính [82]. Như vậy, thế oxy hóa khử của RS giảm (tức là khả năng khử tăng) khi pH tăng. Tuy nhiên, các nghiên cứu thực nghiệm về sự phụ thuộc của thế oxy hóa khử của RS vào pH vẫn còn hạn chế. Khi sử dụng các chất khử như D-xylose, L-arabinose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, D-galactose, L-sorbose, lactose hoặc maltose để khử ion Cu^{2+} , Singh và cs (1970) đã quan sát thấy tốc độ oxy hóa của RS tuân theo động học bậc nhất và không phụ thuộc vào nồng độ Cu^{2+} , có thể là do tốc độ oxy hóa của RS tương đương với tốc độ enol hóa của nó [83]. Trong môi trường kiềm, các loại RS như glucose và fructose trải qua quá trình enol hóa để tạo thành các chất trung gian enediol trước khi hình thành aldehyde. Tốc độ enol hóa của chúng tăng khi pH tăng [84], do đó làm giảm thế oxy hóa khử.

Thế oxy hóa khử của các chất khử sinh học có trong thực vật như PP và lignin cũng phụ thuộc vào pH. Zheng và cs (2008) đã báo cáo rằng PP ở dạng không phân ly, có thế oxy hóa khử cao hơn ion Cu^{2+} , điều này ngăn cản chúng khử Cu^{2+} trong môi trường axit và trung tính. Tuy nhiên, khi phân ly trong điều kiện kiềm, thế oxy

hóa khử của PP giảm xuống dưới thế oxy hóa khử của Cu^{2+} , cho phép quá trình khử ion Cu^{2+} xảy ra [85]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng việc tăng pH làm tăng quá trình khử proton của PP, do đó thúc đẩy quá trình khử các ion kim loại như Fe^{3+} và Cu^{2+} . Khi pH tăng, PP và lignin tiếp tục phân ly, tạo ra nhiều nhóm hydroxyl hơn đồng thời giảm enthalpy, do đó tăng cường khả năng khử và chống oxy hóa của chúng [86].

Tóm lại, các chất khử có nguồn gốc sinh học như PP và lignin thể hiện khả năng khử tăng cường ở pH cao do thế oxy hóa khử giảm. Trong quá trình tổng hợp hạt nano kim loại, kích thước hạt trung bình phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nồng độ tiền chất, loại và lượng chất ổn định, nhiệt độ, độ pH và loại chất khử. Hàm lượng tiền chất, nhiệt độ, độ pH và chất khử là những yếu tố quan trọng quyết định tốc độ phản ứng oxy hóa khử thông qua thế oxy hóa khử. Các chất khử mạnh, với thế oxy hóa khử thấp hơn, tạo ra các hạt nano có kích thước nhỏ hơn so với các chất khử yếu hơn [87]. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng các chất khử có thế oxy hóa khử thấp hơn dẫn đến sự hình thành các hạt nano nhỏ hơn và đơn phân tán trong quá trình tổng hợp nano Ag [88], nano Au [89] và nano Cu [90].

Ngoài ra, Baffoun và cs (2015) cũng cho rằng thế oxy hóa khử của glucose giảm từ -614 mV xuống -625 mV khi pH tăng từ 11,40 lên 12,46 [91]. Tương tự như vậy, Shenoy và Shetty (2014) đã chứng minh rằng trong môi trường kiềm giàu amoniac, thế oxy hóa khử của glucose giảm do sự tham gia của ion H^+ , dẫn đến các hạt nano Cu nhỏ hơn được tổng hợp thông qua quá trình khử [92]. Khi tổng hợp nano Ag thông qua phản ứng Tollens trong amoniac, Aragaw và cs (2022) cũng quan sát thấy rằng quá trình oxy hóa aldehyde và glucose giải phóng các ion H^+ , khiến thế oxy hóa khử của chất khử phụ thuộc vào pH. Kết luận của họ cho rằng pH và nhiệt độ càng cao thì thế oxy hóa khử càng thấp và càng đẩy nhanh quá trình khử [88, 93]. Hơn nữa, đối với chất khử PP có nguồn gốc từ thực vật, thế oxy hóa khử của cặp $\text{Ar-OH}/\text{Ar-O}^-$ (nhóm Ar là phenyl) thường nằm trong khoảng từ 0,3 V đến 0,8 V trong môi trường axit hoặc trung tính [66, 94]. Tuy nhiên, trong môi trường kiềm, PP tồn tại dưới dạng anion và thế oxy hóa khử của cặp $\text{Ar-O}^-/\text{Ar-O}^{2-}$ giảm đáng kể từ $-0,88$ V đến $-1,81$ V, do đó làm tăng cường tính khử của nó [95]. Thế oxy hóa khử thấp hơn làm tăng tốc độ phản ứng, tạo điều kiện cho quá trình hình thành hạt nhanh và hình thành một số lượng lớn các hạt nano có kích thước nhỏ. Ngược lại, khi chất khử

yếu và thế oxy hóa khử cao, tốc độ phản ứng chậm hơn dẫn đến sự kết tụ các hạt nano [96].

1.3. Tiềm năng ứng dụng vỏ cà phê trong tổng hợp vật liệu nano

Việc tận dụng phụ phẩm nông nghiệp trong tổng hợp vật liệu nano đang được quan tâm nghiên cứu do đây là nguồn nguyên liệu dồi dào, giá thành thấp nên giúp tiết kiệm được chi phí sản xuất, đồng thời góp phần xử lý ô nhiễm môi trường. Quá trình sử dụng sinh khối thực vật trong tổng hợp vật liệu nano không sử dụng các dung môi và hóa chất độc hại, tạo ra sản phẩm thân thiện với môi trường, mở rộng tiềm năng ứng dụng của vật liệu trong nhiều lĩnh vực của đời sống.

Trong các phương pháp tổng hợp vật liệu nano dựa trên nền tảng sinh học, dịch chiết thực vật đóng vai trò là môi trường phản ứng đa chức năng, vừa là tác nhân khử đồng thời là chất ổn định bề mặt cho sự hình thành hạt nano kim loại [97, 98]. Các phụ phẩm nông nghiệp như vỏ trái cây, rơm rạ, bã mía hoặc vỏ hạt chứa hàm lượng đáng kể các chất chuyển hóa thứ cấp, bao gồm PP, flavonoids, terpenoids, alkaloids và polysaccharides, có khả năng tham gia trực tiếp vào quá trình khử ion kim loại và kiểm soát sự phát triển của hạt nano [98]. Gần đây, việc nghiên cứu sử dụng sinh khối bã cà phê trong tổng hợp các hạt nano gốc kim loại cũng đã được nghiên cứu. Cụ thể, dịch chiết bã thải cà phê cũng được sử dụng để tổng hợp nano lưỡng kim FeO/ZnO [99], sử dụng dịch chiết và bã cà phê làm tác nhân khử trong tổng hợp nano Ag [100, 101]. Nhìn chung, số công trình nghiên cứu sử dụng sinh khối VCP trong tổng hợp vật liệu nano đang ở giai đoạn bắt đầu nghiên cứu.

1.3.1. Phụ phẩm vỏ cà phê trong ngành sản xuất cà phê

Việt Nam là một trong những quốc gia sản xuất cà phê hàng đầu thế giới, đặc biệt là cà phê vối (Robusta). Theo số liệu thống kê của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ, diện tích trồng cà phê tại Việt Nam đạt 600.000–700.000 ha trong thập kỷ qua. Cụ thể, trong niên vụ 2023–2024, tổng diện tích cà phê cả nước ước tính đạt 730.000 ha [102]. Năm 2024, Việt Nam xuất khẩu 1,32 triệu tấn cà phê, đóng góp kim ngạch xuất khẩu kỷ lục 5,48 tỷ USD [103]. Trong bối cảnh đó, các tỉnh cao nguyên miền Trung đóng vai trò là vùng nguyên liệu trọng yếu, chiếm tới 92% tổng diện tích và 90%–95% tổng sản lượng cà phê của cả nước [102].

Phương pháp chế biến cà phê hạt phổ biến đối với giống Robusta tại Việt Nam là chế biến khô, quả cà phê tươi được phơi nguyên quả cho đến khi đạt độ ẩm yêu cầu, sau đó mới được xay xát để thu nhân cà phê. Phần phụ phẩm tạo ra trong quá trình chế biến cà phê chiếm 30%–50% khối lượng quả ban đầu [104], trong đó VCP chiếm ~14% [105]. Với sản lượng xấp xỉ 1,96 triệu tấn cà phê nhân [106], ước tính phát sinh ~275.000 tấn VCP thải ra môi trường.

Thành phần các hoạt chất có trong VCP phụ thuộc vào giống, đất, chế độ canh tác đã được xác định như sau: 57,8% carbohydrat, 9,2% protein, 43% cellulose, 7% hemicellulose, 1,2% caffein, 12,59% axit chlorogenic, 4,5%–9% tannin [107]. VCP Robusta tại Việt Nam chứa hàm lượng chất hữu cơ 42,1% và các khoáng chất N_{ts} 2,5%; P_2O_5 0,23% và K_2O 3,15% [108], nên có tiềm năng sử dụng làm phân bón hữu cơ trong canh tác nông nghiệp. Có nhiều nghiên cứu sử dụng VCP trong một số lĩnh vực như sản xuất khí sinh học [109], ethanol [107], chất hấp phụ xianua [110], loại bỏ kim loại nặng [111] và thuốc nhuộm [112], làm nhiên liệu đốt, chiết xuất và thu hồi các hoạt chất sinh học, làm giá thể sản xuất nấm [113, 114], sử dụng làm phân ủ [115], v.v. Mặc dù nguồn sinh khối này rất dồi dào, việc tái sử dụng hiệu quả VCP trong thực tế vẫn còn hạn chế. Đáng chú ý, hàm lượng caffein và tannin cao có thể gây độc cho đất, ức chế sinh trưởng rễ và ảnh hưởng nghiêm trọng tới thủy sinh vật nếu thải trực tiếp ra môi trường [116]. Ô nhiễm gây ra bởi VCP chủ yếu là do hợp chất caffein, đây là tác nhân gây hoại tử rễ thực vật, ức chế sự sinh trưởng của tôm, cá và các sinh vật sống trong môi trường nước [117]. Caffein trong VCP nếu không được loại bỏ sẽ làm giảm sự phát triển của rễ bằng cách ức chế sản xuất protein. Ở nồng độ 100–1000 μM , caffein ức chế sự phát triển của cây Wisconsin Fast [118]. Hanafi và cs (2020) đã báo cáo rằng caffein ức chế sự phát triển của *Ipomoea aquatica* ở nồng độ 0,05%–0,35% (w/v) [119]. Hơn nữa, caffein cũng ức chế sự nảy mầm và kéo dài rễ ở các loại cây trồng như đậu nành, đậu phộng, cỏ linh lăng, cỏ ba lá trắng, lúa mì, ngô, lúa mạch đen, rau diếp, cà chua, v.v. [120]. Vì vậy, các nghiên cứu loại bỏ độc tố có trong VCP để sử dụng làm chất cải tạo đất, phân bón sinh học và chất kháng bệnh hại thực vật, tái sử dụng trong canh tác nông nghiệp có tiềm năng ứng dụng, cần được quan tâm nghiên cứu.

Tại Việt Nam, việc lưu trữ VCP và chưa có quy trình xử lý hiệu quả phụ phẩm này sau thu hoạch có thể gây ra những tác động ảnh hưởng đến môi trường như ô

nhiễm nguồn nước [121], việc đốt bỏ VCP còn gây ô nhiễm không khí [122] (Hình 1.2).



Hình 1.2. Lưu trữ và đốt bỏ vỏ cà phê gây ô nhiễm nguồn nước và không khí [121, 122]

Phương pháp sử dụng VCP hiện nay tại Việt Nam chủ yếu làm chất đốt trong các lò sấy cà phê hoặc làm phân ủ (Hình 1.3). Tuy nhiên, các phương pháp xử lý truyền thống này có hạn chế là mang lại giá trị gia tăng thấp, thời gian ủ phân kéo dài lên tới vài tháng, độ sụt giảm khối lượng cao (10–12 khối VCP chỉ tạo ra khoảng 2 khối phân ủ) [123].



Hình 1.3. Ủ vỏ cà phê làm phân bón hữu cơ [123]

1.3.2. Tiềm năng ứng dụng vỏ cà phê trong tổng hợp vật liệu nano

Việc sản xuất vật liệu nano từ phụ phẩm nông nghiệp đã được biết đến với nguồn cung cấp dồi dào, với các đặc tính tái tạo như một lựa chọn thay thế cho các vật liệu độc hại [124]. Phụ phẩm VCP được xem là nguyên liệu tiềm năng nhờ thành phần hóa thực vật phong phú, phù hợp cho tổng hợp nano gốc kim loại theo cơ chế sinh học [125]. Dịch chiết bã thải cà phê với các đặc tính hóa học tương tự VCP đã

được Fernandes và cs (2025) sử dụng để tổng hợp nano Fe ứng dụng để xử lý chất thải và cải tạo môi trường theo hướng bền vững [126]. Dịch chiết VCP Arabica [127], bã thải cà phê [101] đã được sử dụng vừa làm chất khử và chất ổn định để tổng hợp nano Ag, v.v.

Các hoạt chất có tính khử trong VCP chủ yếu là PP ~10,5% [128] và RS 12% [129]. Khi tham gia vào phản ứng khử ion kim loại, các PP dễ dàng nhường một điện tử hoặc nguyên tử hydro tạo thành gốc tự do ít ổn định hơn, cuối cùng chuyển thành semiquinon hoặc quinon [59, 60]. Khả năng khử của các loại RS như glucose, fructose, và arabinose có trong VCP liên quan đến nhóm aldehyde hoặc ketone ở dạng mạch hở [92, 130]. Trong môi trường kiềm, nhóm $-CHO$ của RS bị oxy hóa thành nhóm carboxylate ($-COO^-$), giải phóng điện tử để khử Cu^{2+} thành Cu^+ hoặc Cu^0 [92, 131]. Các loại RS như D-glucose, D-fructose, D-galactose và D-arabinose đã được nhiều tác giả sử dụng làm chất khử trong quá trình tổng hợp nano gốc Cu [92, 130]. Bên cạnh đó, sự hiện diện của lignin trong môi trường kiềm cũng thúc đẩy quá trình tạo ra các gốc phenoxy có thể oxy hóa khử thấp hơn [66, 132], nên lignin cũng tham gia khử ion Cu^{2+} thành các hạt nano gốc Cu. Sử dụng phương pháp nghiên cứu cyclic voltammetry cho thấy đỉnh catốt của lignin kiềm là $E_{pc} \approx 0,035$ V khi quét từ $-0,3$ đến $1,0$ V [133], và lignin kiềm đã được sử dụng để điều chế hạt nano Cu_2O [47, 134].

Trong điều chế các hạt nano kim loại, các chất ổn định như polyme hoặc chất hoạt động bề mặt được sử dụng nhằm hạn chế sự kết tụ dẫn đến làm tăng kích thước hạt. Nhiều chất ổn định dạng rắn được nghiên cứu và sử dụng trong tổng hợp các hạt nano gốc Cu đã được đề cập trong mục 1.2.3. Qua nghiên cứu tài liệu cho thấy, VCP có thành phần chủ yếu là cellulose và các polyme sinh học khác [107] nên ngoài tính khử, chúng còn có khả năng sử dụng làm chất mang để ổn định các hạt nano một cách hiệu quả trong tổng hợp vật liệu nano gốc kim loại.

Hàm lượng lignocellulose cao trong VCP có tiềm năng làm chất ổn định trong quá trình tổng hợp các hạt nano. Cơ chế ổn định này là do sự hấp phụ của nhóm aldehyde và nhóm carboxylic đầu cuối trên bề mặt hạt nano, trong khi nhóm ether và nhóm hydroxyl neo giữ các ion kim loại thông qua tương tác phối trí, từ đó hạn chế sự kết tụ [135]. Sự hiện diện của các nhóm chức hydroxyl ($-OH$), carboxyl ($-COOH$) và carbonyl ($C=O$) trong cấu trúc cellulose, lignin và các hợp chất phenolic mang lại tiềm năng lớn cho việc sử dụng VCP như chất khử và chất mang trong tổng hợp vật

liệu nano [116]. Trước đây, Chien và cs (2019) cũng sử dụng bã cà phê, một vật liệu có tính chất tương đương với VCP, làm chất khử và chất mang để tổng hợp nano Ag ở nồng độ thấp ~0,5% [100]. Các hợp chất PP chứa các nhóm phenolic hydroxyl nên có khả năng tạo phức với ion kim loại trước khi khử và ổn định hạt nano sau khi tạo thành [136]. Ngoài ra, các hợp chất PP cũng được chứng minh là có khả năng cải tạo, điều chỉnh pH đất, là tác nhân điều hòa sinh trưởng thực vật, kích thích phát triển rễ và kháng khuẩn gây hại cho cây trồng ở hàm lượng thích hợp [137, 138]. Ngoài ra, VCP còn chứa các thành phần khoáng chất là nguồn dinh dưỡng có thể tái sử dụng khi bón cho cây trồng.

Có thể thấy, VCP là nguồn sinh khối dồi dào, giá thành thấp, có thành phần chủ yếu là lignocellulose và các hoạt chất sinh học có tính khử như PP, RS và lignin nên có tiềm năng ứng dụng làm chất khử và chất ổn định trong quá trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu.

1.3.3. Các phương pháp chiết xuất chất khử sinh học từ vỏ cà phê

Để sử dụng các chất khử sinh học từ sinh khối thực vật, cần phải phân tách dạng liên kết giữa chúng với các hợp chất lignocellulose thành dạng dung dịch để thực hiện phản ứng khử. Cụ thể, việc tách hiệu quả các hợp chất có hoạt tính khử như PP, lignin và RS có trong VCP được xem là yếu tố quyết định hiệu suất tổng hợp hạt nano. RS là những hợp chất mono- và di-saccharide tan trong dung môi nước và hữu cơ nên quá trình chiết PP, chúng cũng được hòa tan [139]. Những nghiên cứu gần đây đã tập trung so sánh các phương pháp chiết xuất khác nhau nhằm tối ưu hóa khả năng thu hồi các hợp chất này.

Trong số đó, các phương pháp chiết xuất truyền thống như ngâm chiết từ lâu đã được sử dụng rộng rãi do ưu điểm về tính đơn giản và chi phí thấp [140]. Tuy vậy, hạn chế của nhóm phương pháp này là thời gian chiết kéo dài, đôi khi lên đến vài giờ hoặc vài ngày, trong khi hiệu suất thu hồi vẫn chưa cao do quá trình thẩm thấu của dung môi vào ma trận lignocellulose còn hạn chế. Một số dung môi và phương pháp phân tách PP đã được nghiên cứu.

Phương pháp chiết xuất bằng dung môi siêu tới hạn sử dụng CO₂ [141], đây là một kỹ thuật hiện đại dựa trên nguyên lý khai thác đặc tính hòa tan tối ưu của dung môi ở trạng thái siêu tới hạn (vượt ngưỡng nhiệt độ và áp suất tới hạn) [142]. Phương

pháp sử dụng dung môi siêu tới hạn nổi bật với khả năng chọn lọc cao thông qua việc điều chỉnh áp suất và nhiệt độ, đồng thời bảo vệ được các hợp chất nhạy cảm với nhiệt nhờ quy trình thực hiện ở nhiệt độ thấp. Nhược điểm của phương pháp này là hiệu suất chiết xuất toàn phần từ VCP thường thấp hơn so với các phương pháp dung môi thông thường như Soxhlet [141]. Hơn nữa, chi phí đầu tư thiết bị và vận hành cao cùng với độ phức tạp trong tối ưu hóa các thông số công nghệ (áp suất, nhiệt độ, lưu lượng, tỷ lệ dung môi phụ) là những thách thức cần được cân nhắc khi áp dụng phương pháp này.

Phương pháp chiết xuất bằng bể nước [143]: Sử dụng nhiệt từ bể nước để làm tăng độ hòa tan của các hợp chất hoạt tính sinh học trong dung môi. Quá trình chiết xuất diễn ra chủ yếu thông qua cơ chế khuếch tán, được thúc đẩy bởi gradient nồng độ và nhiệt độ. Ưu điểm chính của phương pháp này là thiết bị đơn giản, chi phí vận hành thấp và dễ dàng áp dụng ở quy mô phòng thí nghiệm lẫn sản xuất. Tuy nhiên, nhược điểm của nó là thời gian chiết xuất thường kéo dài, hiệu suất chiết có thể không cao bằng các phương pháp hiện đại và việc sử dụng nhiệt kéo dài có nguy cơ làm phân hủy hoặc biến tính một số hợp chất nhạy nhiệt [144, 145].

Quá trình phân tách PP từ sinh khối thực vật có thể kết hợp với các kỹ thuật như siêu âm [143]. Sóng siêu âm tần số cao tạo ra các bọt khí vi mô trong dung dịch, khi các bọt khí này vỡ ra sẽ tạo ra lực cơ học cục bộ rất mạnh, làm phá vỡ cấu trúc tế bào của nguyên liệu thực vật, từ đó giải phóng và tăng cường sự khuếch tán các hợp chất hoạt tính sinh học vào dung môi. Ưu điểm nổi bật của phương pháp này là thời gian chiết xuất ngắn hơn, hiệu suất chiết cao hơn, tiết kiệm dung môi và nhiệt độ vận hành thấp hơn, giúp bảo vệ tốt hơn các hợp chất nhạy nhiệt. Nhược điểm chính là chi phí đầu tư cho thiết bị siêu âm cao hơn và quy trình cần được tối ưu hóa cẩn thận về các thông số như tần số, công suất và thời gian [146, 147]. Khi chiết VCP với dung môi thường sử dụng trong định lượng PP là ethanol 80%, với tỷ lệ rắn:lỏng là 1:2 được Yang và cs (2024) công bố là đạt hiệu quả khá cao [148].

Phương pháp chiết xuất hỗ trợ vi sóng: Sử dụng sóng vi sóng để làm nóng dung môi và nguyên liệu một cách đồng đều và nhanh chóng, tăng cường sự xâm nhập của dung môi vào mẫu và giải phóng các hợp chất mục tiêu. Ưu điểm là thời gian chiết xuất rất ngắn (chỉ 1-5 phút), hiệu suất cao, tiết kiệm năng lượng và dung môi. Nhược điểm là nhiệt độ cao có thể làm phân hủy một số hợp chất nhạy nhiệt và

đòi hỏi thiết bị chuyên dụng. Khi chiết suất VCP sử dụng dung môi nước ở công suất 450–900 watt thu được 0,97–1,55 $\mu\text{g/mL}$ caffein và 82,25–155,91 $\mu\text{g/mL}$ PP [149].

Các dung môi hữu cơ thường được sử dụng trong nghiên cứu tách PP từ thực vật là methanol, ethanol, nước hoặc hỗn hợp ethanol:nước để khuếch tán, hòa tan các hợp chất vào dung môi dưới tác dụng của nhiệt và khuấy trộn. Ưu điểm là thiết bị đơn giản, chi phí thấp, dễ thực hiện. Tuy nhiên, nhược điểm là thời gian chiết xuất dài, hiệu suất thấp, tiêu tốn nhiều dung môi và có thể gây ô nhiễm môi trường [104, 141, 150]. Hàm lượng PP từ VCP đạt 28,98–29,38 mg CAE/g chất khô khi sử dụng hỗn hợp ethanol:nước (tỷ lệ 1:1) ở 60 °C trong 1 giờ [150].

Phương pháp chiết xuất bằng dung môi eutectic sâu [104]: Sử dụng hỗn hợp của chất nhận liên kết hydro (ví dụ choline chloride) và chất cho liên kết hydro (ví dụ proline, glycerol) để tạo thành dung môi eutectic sâu có khả năng hòa tan tốt các hợp chất phenolic. Ưu điểm của phương pháp này là thân thiện với môi trường, hiệu suất chiết xuất cao, có thể tái sử dụng và an toàn. Nhược điểm của nó là chi phí dung môi có thể cao [151]. Hiệu suất chiết PP từ VCP đạt 5,88 mg GAE/g khi sử dụng hệ dung môi choline chloride:proline, cao hơn đáng kể so với hệ dung môi choline chloride:glycerol (chỉ đạt 2,46 mg GAE/g) [152]. Phương pháp này cũng cho hiệu suất chiết caffein rất cao lên đến 3267,1 mg/kg khi sử dụng dung môi ion lỏng choline chloride:hexanoic acid, vượt trội so với phương pháp Soxhlet truyền thống với ethanol (823,9 mg/kg) [151].

Phương pháp chiết xuất lỏng có áp suất [104]: Sử dụng dung môi ở nhiệt độ và áp suất cao (trên điểm sôi thông thường), làm tăng độ hòa tan và tốc độ khuếch tán của dung môi vào mẫu để chiết xuất các hợp chất một cách nhanh chóng và hiệu quả. Ưu điểm của phương pháp này là thời gian ngắn, tiêu thụ dung môi ít, hiệu suất cao và tự động hóa được. Nhược điểm là chi phí thiết bị cao và cần kiểm soát chặt chẽ các thông số nhiệt độ, áp suất. Hiệu suất chiết PP khi áp dụng cho VCP với dung môi ethanol 50% ở 60 °C và 10 MPa đạt mức cao là 98,22 mg GAE/g [153].

Phương pháp sử dụng môi trường kiềm ở nồng độ thấp để chiết xuất các chất khử sinh học trong sinh khối thực vật đã được chứng minh tính hiệu quả và tiết kiệm chi phí. Liu và cs 2013 đã áp dụng phương pháp đơn giản và hiệu quả để chiết PP là thủy phân vỏ lựu trong dung dịch NaOH 0,5 mM ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ thu được 45,49 $\mu\text{g/mL}$ axit gallic và 23,24 $\mu\text{g/mL}$ axit ellagic [154]. García và cs (1985)

sử dụng các dung dịch kiềm loãng làm dung môi để chiết xuất PP từ bã cà phê. Kết quả cho thấy, hàm lượng PP thu được sau 10 phút chiết bằng Ca(OH)_2 10% và NH_4OH 3% lần lượt là 49,5 và 25,6 mg/g [155]. Trong điều kiện kiềm nhẹ, PP ít bị phân hủy, đồng thời dịch chiết cũng chứa một lượng lignin hòa tan nhất định [156]. Sự hiện diện của cả lignin và PP trong chiết xuất thực vật thúc đẩy sự hình thành các gốc phenoxy [66, 132], từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình khử ion Cu^{2+} thành các hạt nano gốc Cu.

Phản ứng khử của chất khử sinh học dựa trên PP để khử Cu^{2+} trong điều chế nano gốc Cu thường thực hiện trong môi trường kiềm vì chất khử có thể oxy hóa khử nhỏ [95]. Vì vậy, phương pháp tách chất khử từ sinh khối thực vật trong môi trường kiềm nồng độ thấp là phương pháp hữu ích để thực hiện phản ứng tổng hợp nano gốc Cu mà không cần phải điều chỉnh pH được lựa chọn để áp dụng thực hiện trong luận án này. Ngoài ra, việc chiết PP trong môi trường kiềm còn phân tách được một lượng lignin hòa tan vào dung dịch cũng có khả năng tham gia vào phản ứng khử Cu^{2+} [47, 134].

Bên cạnh việc sử dụng dịch chiết VCP làm chất khử, một hướng tiếp cận mới là sử dụng trực tiếp VCP làm chất ổn định để tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/sinh khối thực vật thông qua phương pháp tổng hợp xanh. Trong phương pháp này, VCP không chỉ đóng vai trò là nguồn cung cấp các hợp chất khử tự nhiên như PP, lignin và RS mà còn hoạt động đồng thời như chất mang, chất ổn định để neo giữ các hạt nano nhờ cấu trúc xộp của các hợp chất lignocellulose. Cách tiếp cận trong luận án này không chỉ đơn giản hóa quy trình tổng hợp nano gốc Cu, giảm thiểu việc sử dụng hóa chất độc hại mà còn tận dụng tối đa phụ phẩm nông nghiệp, góp phần thúc đẩy nền kinh tế tuần hoàn và phát triển bền vững.

1.4. Các tác nhân gây hại thực vật trong môi trường đất

Do đặc tính che khuất của môi trường đất, sự đa dạng sinh học phức tạp và khả năng tồn tại kéo dài của các cấu trúc nghỉ như bào tử hoặc trứng, các bệnh hại rễ và cổ rễ được xem là nhóm bệnh khó kiểm soát nhất trong sản xuất nông nghiệp [157]. Đáng chú ý, nhiều tác nhân gây hại khác nhau thường cùng tồn tại và tương tác trong cùng một hệ rễ, tạo nên các phức hợp bệnh hại với mức độ gây thiệt hại nghiêm trọng hơn nhiều so với tác động đơn lẻ của từng loài. Có nhiều đối tượng

gây bệnh hại thực vật trong đất như sâu, nấm, vi khuẩn, và tuyến trùng. Một số tác nhân gây hại phổ biến trong môi trường đất được quan tâm nghiên cứu trong luận án gồm nấm *P. capsici*, *F. oxysporum* và tuyến trùng nốt sùng *M. incognita*. Đây đều là những tác nhân có phổ ký chủ rộng, khả năng tồn tại bền vững trong đất và cơ chế xâm nhiễm tinh vi, gây tổn thất lớn đối với nhiều hệ thống cây trồng kinh tế quan trọng [158].

Nấm *P. capsici* là tác nhân gây bệnh thối rễ, lở cổ rễ và thối quả nghiêm trọng trên các cây họ cà và bầu bí. Loài nấm này có thành tế bào cấu tạo chủ yếu từ cellulose và β -glucan thay vì chitin, khiến chúng ít nhạy cảm với nhiều loại thuốc trừ nấm truyền thống [159]. Đặc điểm nổi bật của *P. capsici* là khả năng xâm nhiễm chủ động nhờ động bào tử có hai roi. Trong điều kiện đất ẩm hoặc ngập nước, các động bào tử này di chuyển linh hoạt trong pha nước của đất và định hướng chính xác về phía rễ cây để gây hại [160, 161].

Khác với *P. capsici*, nấm *F. oxysporum* là đại diện tiêu biểu của nhóm nấm thật gây bệnh héo rũ mạch dẫn. Đặc trưng bệnh học của loài này là khả năng xâm nhập chuyên biệt vào hệ thống mạch gỗ, nơi chúng sinh sản và phát tán theo dòng vận chuyển nước của cây [157]. Sau khi xâm nhập qua vùng chóp rễ hoặc rễ phụ, sợi nấm phát triển vào trụ giữa và hình thành các vi bào tử ngay trong lòng mạch dẫn. Sự tích tụ của bào tử, sợi nấm, cùng với phản ứng tự vệ của cây làm tắc nghẽn mạch gỗ, gây héo rũ [162]. Một trong những nguyên nhân khiến *F. oxysporum* đặc biệt khó kiểm soát là khả năng tồn tại lâu dài trong đất nhờ khả năng sinh bào tử, cho phép nấm sống sót nhiều năm trong điều kiện không có ký chủ [162].

Đối với tuyến trùng *M. incognita*, cơ chế ký sinh của chúng hoàn toàn khác, dựa trên khả năng tái tạo tế bào rễ cây. Ấu trùng giai đoạn 2 (J2) xâm nhập vào rễ và di chuyển đến vùng bó mạch, nơi chúng kích thích một nhóm tế bào biệt hóa thành các tế bào khổng lồ đa nhân có hoạt động chuyển hóa cao [163]. Các tế bào này đóng vai trò là nguồn cung cấp dinh dưỡng lâu dài cho tuyến trùng, đồng thời kéo theo sự tăng sinh và phì đại của mô xung quanh, hình thành các nốt sùng đặc trưng làm biến dạng cấu trúc rễ và cản trở vận chuyển nước, dinh dưỡng [164].

Trong điều kiện thực tế, các tác nhân gây hại trong đất hiếm khi tồn tại riêng lẻ. Sự tương tác giữa tuyến trùng nốt sùng và nấm gây bệnh, đặc biệt là *M. incognita* và *F. oxysporum*, thường tạo nên các phức hợp bệnh hại với tác động cộng hưởng rõ

rệt [165]. Tuyến trùng không chỉ gây tổn thương cơ học, tạo điều kiện cho nấm xâm nhập, mà còn làm thay đổi sinh lý và trạng thái miễn dịch của rễ cây. Các tế bào không lồ giàu dinh dưỡng và sự suy giảm phản ứng phòng vệ do nhiễm bệnh khiến cây trở nên miễn cảm hơn, thậm chí mất hoàn toàn tính kháng vốn có đối với bệnh héo rũ *Fusarium* [166].

Những đặc điểm trên cho thấy các tác nhân gây hại thực vật trong môi trường đất có cơ chế gây bệnh đa dạng, phức tạp và thường xuyên tương tác với nhau, đặt ra yêu cầu cấp thiết về các giải pháp kháng bệnh có phổ kháng rộng, cơ chế đa đích và phù hợp với hệ sinh thái đất. Đây chính là cơ sở khoa học để xem xét và phát triển các vật liệu chức năng mới, trong đó có vật liệu nano Cu, nhằm kháng hiệu quả các bệnh hại rễ thực vật trong canh tác nông nghiệp.

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

1.5.1. Cơ chế kháng khuẩn

Các hạt nano gốc Cu đã được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn mạnh mẽ đối với nhiều vi khuẩn Gram dương và Gram âm, bao gồm cả các chủng kháng thuốc [12, 167]. Cơ chế kháng khuẩn của nano gốc Cu bao gồm:

Giải phóng ion Cu^{2+} và sản sinh ROS: Ion Cu^{2+} được giải phóng từ các hạt nano xâm nhập vào tế bào vi khuẩn và tham gia vào phản ứng Fenton, tạo ra các ROS như $\cdot OH$, $O_2^{\cdot -}$, H_2O_2 gây stress oxy hóa, dẫn đến tổn thương lipid màng tế bào, protein và DNA [168]. Ngoài ra, chính bề mặt hạt nano có thể xúc tác tạo ROS dưới ánh sáng hoặc trong môi trường ẩm [169].

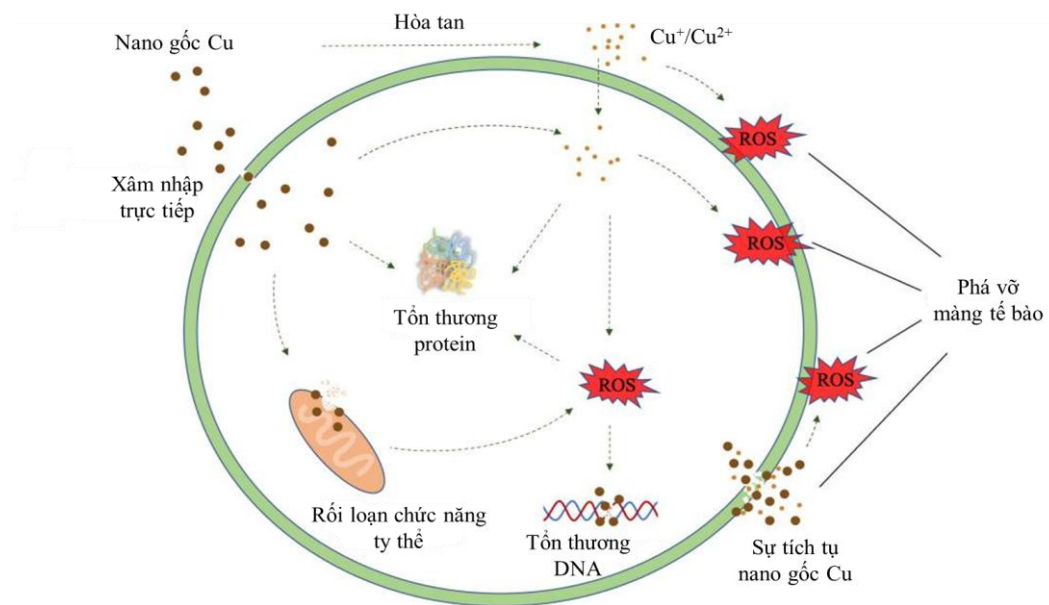
Phá vỡ màng tế bào: Các hạt nano Cu có ái lực cao với nhóm $-SH$ và nhóm phosphat trên màng tế bào vi khuẩn. Sự bám dính này làm thay đổi cấu trúc màng, tăng tính thấm, dẫn đến rò rỉ các ion và phân tử thiết yếu (K^+ , Ca^{2+} , axit nucleic, protein) và cuối cùng là gây chết tế bào [170]. Hình ảnh kính hiển vi điện tử cho thấy sự thô ráp, lõm thủng trên màng vi khuẩn sau khi tiếp xúc với nano gốc Cu [171].

Ức chế hoạt động enzyme: Ion Cu có khả năng liên kết với các trung tâm hoạt động của enzyme, đặc biệt là các enzyme chứa nhóm thiol, gây mất chức năng [172]. Nhiều enzyme quan trọng trong quá trình hô hấp tế bào và tổng hợp ATP bị vô hiệu hóa, dẫn đến thiếu năng lượng và ngừng trao đổi chất [173].

Tổn thương DNA: Ion Cu có thể tương tác với DNA, gây đứt gãy sợi đơn, đứt gãy sợi kép, hoặc hình thành các liên kết chéo, ngăn cản quá trình sao chép và phiên mã. ROS cũng gây tổn hại DNA bằng cách gây ra các biến đổi base, dẫn đến đột biến hoặc chết tế bào [174].

Can thiệp vào chuỗi vận chuyển electron: Nano Cu có thể ức chế các phức hệ protein trong màng ngoài của vi khuẩn Gram âm, làm gián đoạn chuỗi vận chuyển electron, giảm sản sinh ATP [175].

Những cơ chế này thường xảy ra đồng thời, tăng cường hiệu quả diệt khuẩn và giảm khả năng kháng thuốc của vi khuẩn.



Hình 1.4. Cơ chế kháng khuẩn của các hạt nano gốc Cu [176]

1.5.2. Cơ chế kháng nấm

Nano gốc Cu cũng thể hiện hoạt tính kháng mạnh đối với nhiều loài nấm gây bệnh thực vật. Tương tự như cơ chế kháng khuẩn, tác động chủ yếu liên quan đến giải phóng ion Cu^{2+} và sản sinh ROS, tuy nhiên cấu trúc thành tế bào nấm (chitin, glucan) có thể ảnh hưởng đến khả năng xâm nhập [177, 178]. Cơ chế kháng nấm của các hạt nano gốc Cu bao gồm:

Phá vỡ thành tế bào: Thành tế bào nấm chứa nhiều polysaccharit như chitin, glucan. Các hạt nano Cu có thể tích tụ trên bề mặt thành tế bào, gây ra những thay đổi về tính thấm, làm suy yếu cấu trúc và tạo điều kiện cho ion Cu xâm nhập vào bên

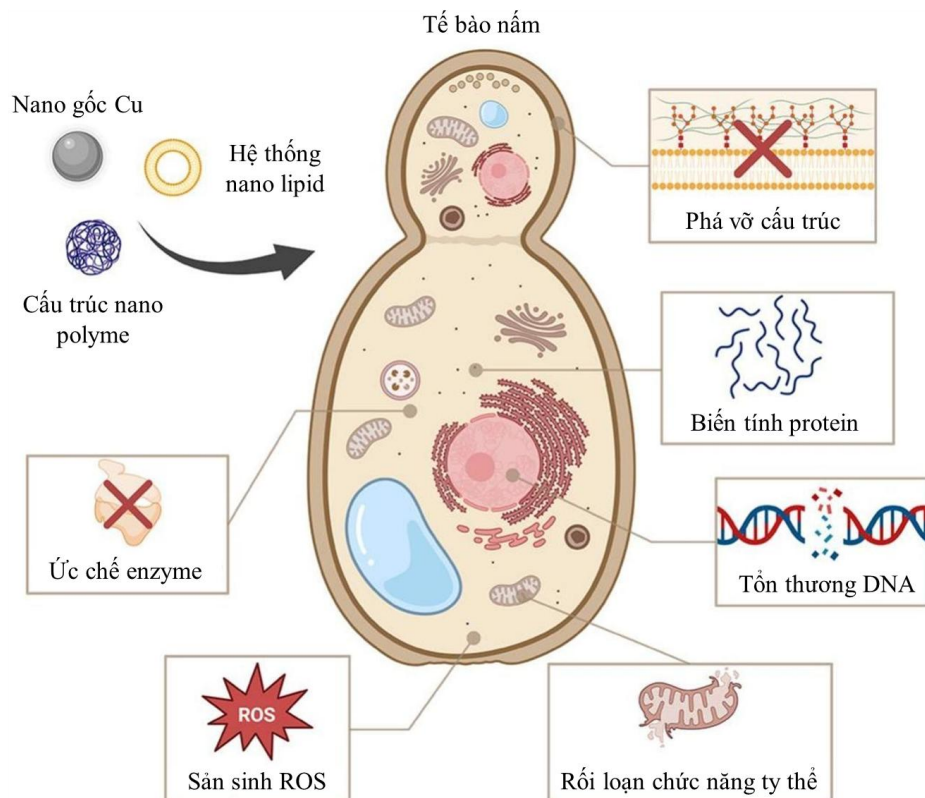
trong. Một số nghiên cứu cho thấy nano Cu gây biến dạng sợi nấm, làm co rút tế bào chất và tạo các hố lõm trên bề mặt [179].

Ức chế nảy mầm bào tử và phát triển sợi nấm: Ion Cu ức chế quá trình nảy mầm bào tử và làm tổn thương sợi nấm đang phát triển. Cơ chế chính bao gồm việc tạo ra các ROS gây stress oxy hóa, làm tổn hại đến màng tế bào và các bào quan, cuối cùng dẫn đến cái chết của tế bào nấm [179].

Stress oxy hóa: Tương tự vi khuẩn, ROS gây peroxid hóa lipid màng, oxy hóa protein và DNA, làm rối loạn cân bằng nội môi, hoạt hóa quá trình apoptosis (chết tế bào theo chương trình) ở nấm [180].

Tương tác với enzyme: Cu^{2+} ức chế các enzyme chủ chốt trong quá trình hô hấp, chẳng hạn succinate dehydrogenase, cytochrome c oxidase, làm giảm sản xuất ATP. Ngoài ra, Cu có thể ức chế hoạt động của enzyme chitin synthase, làm gián đoạn tổng hợp thành tế bào [178].

Tác động đến ty thể: Các hạt nano Cu được quan sát thấy xâm nhập vào tế bào nấm và tích lũy trong ty thể, gây rối loạn chức năng và phát tán cytochrome c, kích hoạt quá trình apoptosis [14].



Hình 1.5. Cơ chế kháng nấm của các hạt nano gốc Cu [179]

1.5.3. Cơ chế kháng tuyến trùng

Tuyến trùng là động vật đa bào bậc thấp, có kích thước lớn hơn nhiều so với vi khuẩn hay nấm, do đó cơ chế tác động của nano Cu lên đối tượng này phức tạp hơn, liên quan đến hệ thần kinh và tiêu hóa bao gồm:

Sản sinh ROS và gây stress oxy hóa: Đây được xem là cơ chế chủ yếu, các hạt nano gốc Cu xúc tác các phản ứng tạo ra các gốc tự do oxy hóa như gốc hydroxyl $\cdot\text{OH}$ và $\text{O}_2^{\cdot-}$. Các ROS này tấn công và phá vỡ cấu trúc màng tế bào, gây peroxid hóa lipid, tổn thương protein và DNA của tuyến trùng, dẫn đến rối loạn chức năng tế bào và gây chết [181].

Giải phóng ion $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$: Các ion được giải phóng xâm nhập vào cơ thể tuyến trùng, liên kết với các nhóm chức thiết yếu ($-\text{SH}$, $-\text{COOH}$) của enzyme và protein, làm biến tính chúng, từ đó phá hủy các quá trình trao đổi chất và sinh lý bình thường.

Tương tác và phá vỡ lớp vỏ ngoài: Lớp vỏ ngoài của tuyến trùng có thành phần protein và lipid, đóng vai trò là hàng rào bảo vệ. Các hạt nano với diện tích bề mặt lớn có thể bám dính trực tiếp lên lớp vỏ này, gây ra tổn thương cơ học, làm mất ổn định cấu trúc, tạo điều kiện cho ion Cu và ROS xâm nhập sâu hơn vào nội bào [182].

Ức chế sự nở trứng và phá vỡ chu kỳ sống: Nano gốc Cu không chỉ diệt ấu trùng mà còn ức chế đáng kể sự nở của trứng (giảm 57.5%) và làm gián đoạn chu kỳ sống của tuyến trùng cái, dẫn đến giảm số lượng u rết (giảm 89.6%). Điều này cho thấy tác động đa mục tiêu lên nhiều giai đoạn phát triển của tuyến trùng, mang lại hiệu quả quản lý lâu dài [181].

Tóm lại, cơ chế kháng vi sinh vật và tuyến trùng của nano gốc Cu là một quá trình đa mục tiêu, chủ yếu dựa trên khả năng giải phóng ion Cu và tạo ra các ROS, gây ra stress oxy hóa dẫn đến tổn thương màng tế bào, protein, DNA và các cấu trúc thiết yếu khác, cuối cùng làm gián đoạn quá trình trao đổi chất và tiêu diệt mầm bệnh, mở ra triển vọng ứng dụng rộng rãi trong nông nghiệp.

1.5.4. Cơ chế phân hủy caffein

Một số hạt nano quang xúc tác đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc phân hủy caffein, chẳng hạn như ZnO [183], Fe_2O_3 [184] và TiO_2 [185]. Cu_2O có năng lượng vùng cấm nhỏ, phản ứng ánh sáng khả kiến mạnh, vị trí dải dẫn phù hợp

và chi phí thấp, do đó có tiềm năng được sử dụng làm chất xúc tác quang để phân hủy các chất ô nhiễm trong môi trường [186]. Caffein là chất độc hại trong môi trường có trong VCP, nếu không được loại bỏ, sẽ làm giảm sự phát triển của rễ bằng cách ức chế sản xuất protein [187]. Ferguson và cs. (2015) đã xác nhận rằng ở nồng độ 100–1000 μmol , caffein ức chế sự phát triển của cây Wisconsin Fast Plant [118]. Hanafi và cs (2020) đã báo cáo rằng caffein ức chế sự phát triển của cây *Ipomoea aquatica* ở nồng độ 0,05–0,35% (w/v) [119]. Hơn nữa, caffein cũng ức chế sự nảy mầm và kéo dài rễ ở các loại cây trồng như đậu nành, đậu phộng, cỏ linh lăng, cỏ ba lá trắng, lúa mì, ngô, lúa mạch đen, rau diếp, cà chua, v.v. [120].

Các hạt nano lưỡng kim Fe/Cu có thể loại bỏ caffein với hiệu suất 86% [188]. Các hạt nano Cu được gắn vào than chì cacbon nitrua có thể loại bỏ 88% caffein [189]. Các hạt nano CuO được tẩm trên than hoạt tính có thể phân hủy khoảng 99% caffein ô nhiễm trong nước thải [190]. Tương tự, các hạt nano quang xúc tác như TiO_2 , AgFeO_2 và ZnO cũng có hiệu suất phân hủy caffein cao [183, 191, 192]. Thakur và cs (2021) đề xuất rằng cơ chế phân hủy caffein của các hạt nano ZnO là do sự sản sinh các gốc oxy phản ứng (ROS) như $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\bullet\text{OH}$ phân hủy caffein thành CO_2 và H_2O dưới ánh sáng mặt trời [183]. Ngoài cơ chế quang xúc tác, các hạt nano gốc Cu còn tạo ra ROS theo phản ứng kiểu Fenton (Fenton-like) dựa trên chu trình oxy hóa-khử $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ ngay cả trong điều kiện không có ánh sáng, phản ứng oxy hóa bề mặt và sự hòa tan một phần ion Cu^{2+} cũng góp phần hình thành các gốc $\bullet\text{OH}$, $\text{O}_2^{\bullet-}$ và H_2O_2 [193–195]. Quá trình phân hủy caffein diễn ra thông qua các con đường khử N-methyl và oxy hóa tuần tự, tạo thành CO_2 , H_2O và các chất trung gian chứa nitơ bao gồm theobromine, paraxanthine, theophylline, methylxanthine trước khi tiếp tục bị phân hủy thành xanthine, axit uric, allantoin và cuối cùng là các hợp chất nitơ vô cơ ($\text{NH}_3/\text{NO}_3^-$) [189, 196]. Nhìn chung, các hạt nano Cu, Ag và Fe đều có cơ chế phân hủy hợp chất hữu cơ giống Fenton vì chúng có thể oxy hóa khử thấp hơn cặp oxy hóa khử $\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ (1,77 V so với NHE) [197]. Các hạt nano Cu_2O là chất bán dẫn loại p có năng lượng vùng cấm nhỏ từ 2,1–2,17 V và hoạt động trong vùng ánh sáng khả kiến [198, 199], do đó nó có hiệu quả trong việc xúc tác quá trình phân hủy caffein và một số chất ô nhiễm hữu cơ khác.

Các nghiên cứu gần đây cũng cho thấy ngoài khả năng kháng vi sinh vật, các hạt nano gốc Cu còn có khả năng phân hủy caffein. Trong nghiên cứu của Aziz và cs (2020), các hạt nano Cu với hàm lượng 0,1-0,2 g/L đã loại bỏ trên 81% caffein trong thời gian 45 phút [188]. Một số hạt nano như ZnO, Cu/Fe cũng có hiệu quả trong việc phân hủy caffein [183]. Dựa trên các tài liệu trên, có thể dự đoán rằng việc sử dụng VCP để tổng hợp các hạt nano gốc Cu, các hạt nano này có khả năng phân hủy caffein có trong VCP và xúc tiến quá trình khoáng hóa chất hữu cơ. Cơ chế khử caffein trong môi trường của một số hạt nano được mô tả là quá trình tạo ra ROS. Các gốc tự do này phân hủy caffein thành H_2O , CO_2 và các hợp chất nitơ vô cơ (Hình 1.6).



Hình 1.6. Cơ chế phân hủy chất ô nhiễm caffein của hạt nano

Trong luận án này, VCP được sử dụng làm chất khử và chất ổn định để tổng hợp các hạt nano gốc Cu (mục tiêu là Cu kim loại và Cu_2O). Các hạt nano thu được xúc tác quá trình phân hủy caffein độc hại trong VCP, hướng đến ứng dụng vật liệu làm phân bón và chất kháng bệnh cây trồng trong môi trường đất.

1.6. Độc tính của nano gốc Cu

1.6.1. Độc tính đối với động, thực vật của nano gốc Cu

Một số công bố về độc tính của nano Cu và các hợp chất nano Cu trên động vật máu nóng cho thấy chúng có độ độc nhỏ hơn của các muối Cu^{2+} . Hiện nay, những nghiên cứu về độc tính của các hợp chất nano Cu trên cơ thể động vật còn khá hạn chế. Tác giả Zhen Chen và cs (2006) đã xác định được liều lượng gây chết 50% (LD_{50}) qua đường miệng trên chuột của ion Cu^{2+} là 119 mg/kg, của nano gốc Cu là 413 mg/kg cho thấy nano gốc Cu ít độc hơn ion Cu^{2+} ($CuCl_2$) [200]. Lee và cs (2016) đã xác định độc cấp tính LD_{50} của nano gốc Cu và ion Cu^{2+} ($CuCl_2$) qua đường miệng

trên thảo, kết quả nghiên cứu cho thấy khi thử nghiệm trên thảo đực thì giá trị LD₅₀ của nano gốc Cu là 1344 mg/kg và giá trị LD₅₀ của ion Cu²⁺ là 640 mg/kg. Thử nghiệm trên thảo cái cho thấy giá trị LD₅₀ của nano gốc Cu là 2411 mg/kg, trong khi đó giá trị LD₅₀ của ion Cu²⁺ là 571 mg/kg [201]. Một số nghiên cứu khác cũng cho thấy nano gốc Cu (Cu₂O, Cu₂O/zeolite) có độc tính cấp thấp hơn ion Cu²⁺ [69, 202, 203]. Bondarenko và cs (2013) chỉ ra rằng các hạt nano kim loại như nano Ag nano, nano CuO và nano ZnO có độc tính thấp hơn so với các muối kim loại của chúng, đặc biệt là đối với động vật giáp xác, cá. Do vậy, việc sử dụng vật liệu nano trong môi trường (đất, nước) sẽ an toàn hơn so với việc sử dụng muối kim loại của chúng.

Trong môi trường đất, các hạt nano Cu được chuyển đổi thành ion Cu²⁺ và thời gian tồn tại của chúng phụ thuộc vào kích thước hạt, độ ẩm, độ pH và hàm lượng hữu cơ trong đất [204]. Hơn nữa, Cu là một trong những nguyên tố vi lượng thiết yếu cho sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng vì nó tham gia vào nhiều quá trình sinh học và sinh lý quan trọng ở thực vật [205].

Việc sử dụng các hạt nano kim loại đã được nghiên cứu sử dụng để xử lý hạt giống nhằm kích thích sự nảy mầm và sinh trưởng của cây trồng. Zhao và cs (2021) [206] đã báo cáo rằng các hạt nano Cu, Fe và Zn ở nồng độ thấp là 2×10^{-4} mM, $1,8 \times 10^{-4}$ mM và $4,6 \times 10^{-5}$ mM đều có tác động tích cực đến sự nảy mầm và sinh trưởng của cà chua. Hien và Van [207] đã chứng minh rằng khi hạt ngô được xử lý bằng hạt nano Cu ở nồng độ 20 mg/kg thì chỉ số nảy mầm và các thông số sinh trưởng cao hơn so với mẫu đối chứng. Tuy nhiên, việc sử dụng hạt nano Cu ở nồng độ cao là 200–1000 mg/L để xử lý hạt giống *Phaseolus radiatus* L. và *Triticum aestivum* ssp., *Aestivum* làm giảm sự phát triển của cây con [208].

Nhìn chung, việc ứng dụng nano gốc Cu trong canh tác nông nghiệp đòi hỏi phải tìm ra ngưỡng nồng độ vừa hiệu quả, vừa an toàn với môi trường và sinh vật. Trong luận án này, nồng độ Cu được sử dụng ở mức thấp dưới 100 mg/L (hoặc mg/kg) được cho là khá an toàn, có khả năng kích thích sự nảy mầm và hỗ trợ sự sinh trưởng, phát triển của cây trồng.

1.6.2. Độc tính của nano Cu đối với hệ vi sinh vật đất và chu trình sinh địa hóa

Nguyên tố Cu có vai trò quan trọng đối với thực vật trong các hoạt động quang hợp, các hoạt động của enzyme, chức năng tế bào và khả năng hô hấp của ty thể phản

ứng với các stress, oxy hóa và chuyển hóa protein [209]. Việc sử dụng vật liệu nano gốc Cu trên thế giới năm 2014 là 570 tấn và được dự đoán tăng lên 1.600 tấn trong năm 2025. Trong đất, các hạt nano Cu bị chuyển hóa thành ion Cu^{2+} , thời gian tồn tại của nano Cu được nhiều tác giả nghiên cứu là từ 4-15 ngày tùy thuộc vào kích thước hạt, độ ẩm, pH và hàm lượng hữu cơ trong đất [204]. Các hạt nano Cu trong đất làm tăng khả năng phân hủy, khoáng hóa chất hữu cơ, xúc tiến hòa tan Fe trong đất.

Hệ vi sinh vật đất giữ vai trò quan trọng trong việc duy trì độ phì nhiêu, ổn định cấu trúc đất cũng như đảm bảo vận hành các chu trình dinh dưỡng quan trọng như nitơ, cacbon và phospho. Tuy nhiên, việc áp dụng các vật liệu nano kim loại, cụ thể là nano gốc Cu, vào môi trường đất có thể gây ra những tác động đáng kể đối với cộng đồng vi sinh vật vốn rất nhạy cảm này. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, tùy hàm lượng sử dụng, hạt nano gốc Cu gây suy giảm đáng kể tính đa dạng, tạo điều kiện cho những nhóm vi sinh vật có khả năng kháng kim loại phát triển, từ đó làm đơn giản hóa cấu trúc quần xã vi sinh vật đất [210]. Bên cạnh đó, ở một số liều lượng, nano gốc Cu còn làm giảm sinh khối cacbon của vi sinh vật, đồng thời ức chế hoạt tính các enzyme đất thiết yếu như dehydrogenase, urease và phosphatase, đặc biệt trong các loại đất có hàm lượng hữu cơ thấp và kết cấu thô [211]. Đất có hàm lượng hữu cơ cao làm giảm độc tính của nano Cu do tạo thành các liên kết. Ảnh hưởng của nano gốc Cu đến chức năng sinh học của đất biến đổi đáng kể theo nồng độ. Ở liều lượng Cu thấp, nhiều hoạt động vi sinh vật chỉ thay đổi nhẹ hoặc không đáng kể. Tuy nhiên, ở nồng độ Cu cao (100 mg/kg), ghi nhận sự suy giảm mạnh ở các quá trình như phản nitrat hóa (giảm 21%–42%), nitrat hóa (giảm 37%–54%) và hô hấp đất (giảm 36%–48%), trong đó phản nitrat hóa được xem là quá trình nhạy cảm nhất với nano gốc Cu trong nhiều loại đất [211]. Việc bón nano Cu trong đất với hàm lượng < 100 mg/kg thì không ảnh hưởng đến chu trình sinh hóa của cacbon và nitơ [27]. Theo nghiên cứu của Rippner và cs (2021), bón chất diệt khuẩn nano CuO vào đất ít tác động đến cộng đồng vi sinh vật so với xử lý đất bằng muối Cu^{2+} sau 70 ngày do quá trình hòa tan của nano Cu chậm hơn so với muối Cu^{2+} [16]. Việc xử lý các hạt nano gốc Cu ở nồng độ < 100 mg/kg đất hầu như không ảnh hưởng đến tính chất của đất và quần thể vi sinh vật sau thời gian 1–90 ngày.

Chu trình nitơ là một trong những chức năng sinh thái thiết yếu nhất của đất và cũng là quá trình chịu ảnh hưởng rõ rệt dưới tác động của nano gốc Cu. Phơi nhiễm

nano gốc Cu ở nồng độ tới 100 ppm ức chế hoạt động của vi khuẩn cố định đạm trong cây họ đậu [212]. Ở cấp độ phân tử, nano gốc Cu có thể làm giảm biểu hiện các gen liên quan đến cố định nitơ, đồng thời bất hoạt các gen chống oxy hóa của *Pseudomonas stutzeri*, dẫn tới suy giảm hình thành nốt sần và hiệu quả cố định N₂ [213].

Mặc dù mục tiêu ứng dụng nano Cu trong nông nghiệp là kháng nấm bệnh nhưng không gây tổn hại đến hệ vi sinh vật có lợi, tính chọn lọc này trên thực tế vẫn là thách thức lớn và phụ thuộc vào nồng độ cũng như phương pháp tổng hợp là những khoảng trống cần được nghiên cứu. Trong các thử nghiệm *in vitro*, nano gốc Cu thể hiện độc tính cao đối với nhiều loài nấm bệnh thực vật quan trọng như *F. oxysporum*, *P. cinnamomi* và *Alternaria alternata* [177]. Tuy nhiên, nhiều vi sinh vật có lợi như nấm đối kháng như *Trichoderma harzianum* và vi khuẩn cố định đạm *Rhizobium* vẫn bị ảnh hưởng khi áp dụng nano gốc Cu ở nồng độ cao [177]. Các hạt nano được tạo ra bằng phương pháp xanh (sử dụng dịch chiết thực vật) thường cho thấy tính tương thích sinh học tốt hơn, nhờ lớp vỏ hữu cơ giúp giảm tốc độ giải phóng ion Cu²⁺, yếu tố chính gây độc tính [41].

Như vậy, mặc dù nano gốc Cu có thể gây suy giảm đáng kể tính đa dạng và chức năng vi sinh vật ở nồng độ cao, nhưng ở ngưỡng thấp hơn 100 mg/kg không gây hại đối với hệ vi sinh vật đất cũng như các chu trình sinh địa hóa.

Nhận xét phần tổng quan:

Sinh khối VCP có tiềm năng sử dụng làm chất khử xanh (PP, RS, lignin) và làm chất ổn định (hợp chất lignocellulose) trong tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP. Loại vật liệu nano có nguồn gốc từ sinh khối thực vật có tiềm năng sử dụng làm chất kháng bệnh gây hại thực vật, ít độc hơn do tạo liên kết với hợp chất hữu cơ trong môi trường đất. Theo hiểu biết của chúng tôi, đến nay chưa có các nghiên cứu sử dụng VCP vừa làm chất khử và chất ổn định, không cần tách riêng dung dịch chất khử trong tổng hợp vật liệu nano gốc Cu với hàm lượng Cu cao từ 1%–3%, các nghiên cứu về hiệu quả kháng nấm *P. capsici*, *F. oxysporum* và tuyến trùng *M. incognita* của chúng cũng chưa được công bố.

CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hoá chất

Các hóa chất sử dụng trong thí nghiệm đều đạt tiêu chuẩn phân tích, bao gồm: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, NaOH, H_2SO_4 , HCl, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, KI, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, methanol (99,5%), ethanol (99,7%), hexane, NaClO_2 , NaClO, axit axetic (99%) (Xilong, Trung Quốc); natri kali tartrat, chất chỉ thị kali thiocyanat và tinh bột hòa tan (Xilong, Trung Quốc); thuốc thử axit 3,5-Dinitrosalicylic (DNSA), chất chỉ thị tinh bột (1%), caffein, dichloromethan, D-glucose và thuốc thử Folin-Ciocalteu (Merck, Đức); axit gallic (Biobasic, Canada), giấy lọc định lượng Whatman (Whatman, Anh); môi trường potato dextrose agar (PDA) (Himedia, Ấn Độ).

VCP Robusta được lấy từ khu vực cao nguyên miền Trung Việt Nam (Lâm Đồng, Đắk Lắk). Nấm *P. capsici*, *F. oxysporum* và tuyến trùng *M. incognita* được phân lập, định dạng và lưu trữ tại Bộ môn Bảo vệ Thực vật - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam. Hạt giống cà phê Robusta (Trung tâm Giống cây trồng Trung Cao Nguyên EAKMAT, Việt Nam). Hạt giống đậu xanh (Công ty TNHH Một thành viên Rang Dong Seeds, Việt Nam); Chuột nhắt trắng giống Swiss có trọng lượng từ 17–23 g được cung cấp bởi Viện Pasteur Nha Trang dùng để thực hiện thí nghiệm độc tính của vật liệu. Nước khử ion được sử dụng trong suốt quá trình thí nghiệm.

2.2. Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị dịch chiết vỏ cà phê

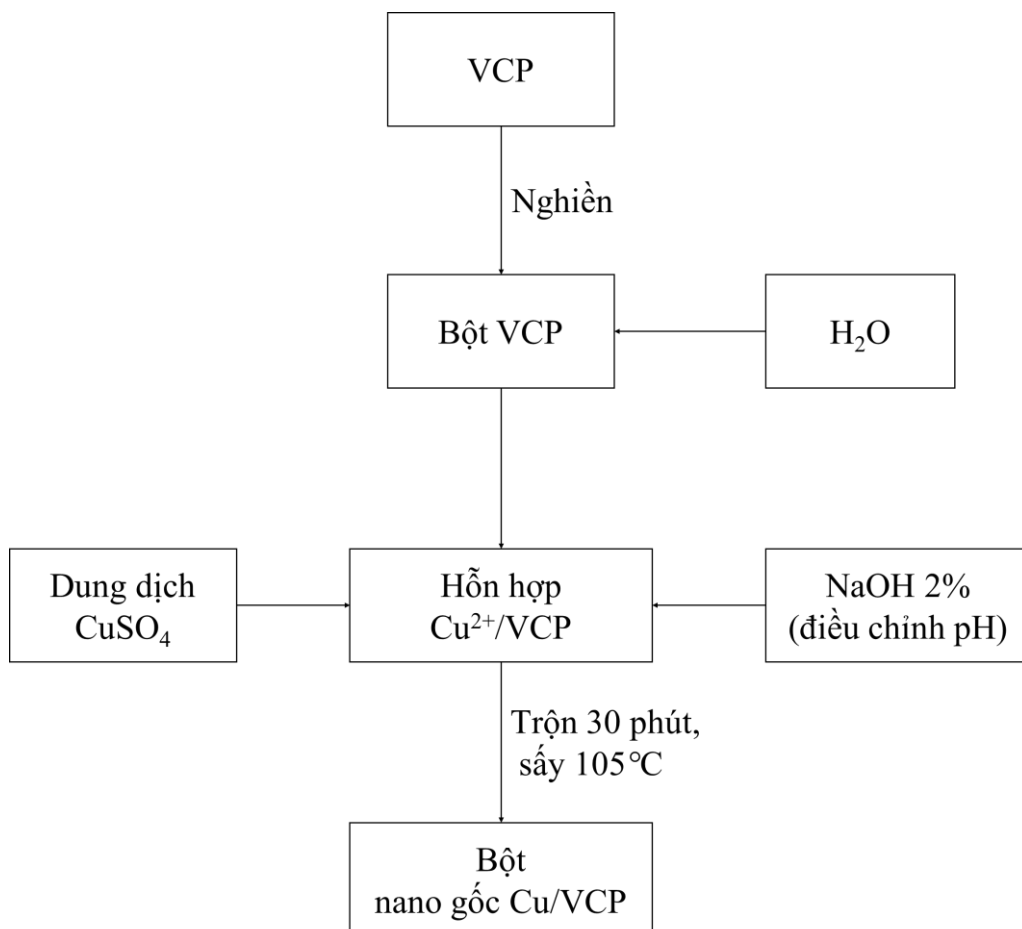
Ngâm 10 g VCP trong 100 mL metanol 80%, nghiền hỗn hợp trong máy đồng nhất, chuyển vào bình và để ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Sau đó, lọc hỗn hợp qua giấy lọc và dịch lọc thu được dùng để phân tích tổng hàm lượng PP và RS [214] và xác định thế oxy hóa khử (E_h).

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của pH và thời gian phản ứng đến hiệu suất phân tách chất khử sinh học trong vỏ cà phê

Quá trình phân tách chất khử sinh học trong VCP sử dụng dung dịch NaOH 2% để điều chỉnh pH đạt 8, 9 và 10, trong thời gian phản ứng là 10, 20, 30 và 40 phút. Tỷ lệ rắn:lỏng duy trì ở mức 1:1,5 (cùng điều kiện rắn:lỏng khi tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP ở mục 2.2.3). Ở mỗi mốc thời gian, phản ứng được dừng lại và hỗn hợp được pha loãng 10 lần với nước, khuấy đều, lọc trên phễu Buchner để thu dịch chiết và xác định hàm lượng PP, RS và lignin. Từ các dữ liệu thu được, hiệu suất chiết được tính toán nhằm đánh giá ảnh hưởng của pH và thời gian phản ứng đến khả năng thu hồi các chất khử sinh học trong VCP.

2.2.3. Tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

Quy trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP bằng phương pháp hóa học xanh được thực hiện theo quy trình trong Hình 2.1.



Hình 2.1. Quy trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

VCP sau khi nghiền mịn được làm ẩm bằng 50 mL nước, thêm 100 mL dung dịch CuSO_4 vào mẫu VCP trên và điều chỉnh pH bằng dung dịch NaOH 2%. Khuấy hỗn hợp và để ở nhiệt độ phòng trong 30 phút để thực hiện phản ứng khử Cu^{2+} thành nano gốc Cu. Sau đó, sản phẩm được sấy khô ở 105°C để thu được vật liệu nano gốc Cu/VCP. Xác định các tính chất đặc trưng của vật liệu 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). Định lượng hóa chất sử dụng cho việc tổng vật liệu nano gốc Cu/VCP với hàm lượng Cu (sử dụng VCP LĐ) và pH phản ứng (sử dụng VCP ĐL) khác nhau được trình bày trong Bảng 2.1.

Bảng 2.1. Định lượng hóa chất sử dụng để tổng hợp 100 g vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| STT | $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (g) | VCP (g) | pH | Hàm lượng Cu (%) |
|-----|---|---------|----|------------------|
| 1 | 8 | 92 | 9 | 2 |
| 2 | 12 | 88 | 9 | 3 |
| 3 | 16 | 84 | 9 | 4 |
| 4 | 20 | 80 | 9 | 5 |
| 5 | 12 | 88 | 8 | 3 |
| 6 | 12 | 88 | 9 | 3 |
| 7 | 12 | 88 | 10 | 3 |

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

Nghiên cứu hoạt tính kháng nấm *in vitro* được thực hiện theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Chuyển một phần nấm thuần vào tâm đĩa petri (90 mm) chứa 15–20 mL môi trường PDA đã khuếch tán vật liệu nano gốc Cu/VCP ở các nồng độ 25, 35, 45 và 55 mg/L Cu. Đĩa petri tương tự chứa VCP ở các hàm lượng 833, 1166, 1500 và 1833 mg/L (tương đương với hàm lượng VCP trong các mẫu nano gốc Cu/VCP ở trên). Đĩa đối chứng sử dụng nước cất. Tiến hành nuôi cấy ở cùng điều kiện nhiệt độ 28°C . Mỗi nồng độ khảo sát được lặp lại 03 lần và sử dụng thước kẹp điện tử để đo đường kính tản nấm. Sau khi nấm ở đĩa đối chứng phủ kín đĩa, đo đường

kính tán nằm ở các đĩa xử lý. Thí nghiệm được lặp lại ba lần, hiệu lực ức chế nấm (HLUC) được trình bày dưới dạng 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 tán nấm ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức có xử lý. Đường kính tán nấm được xác định là trung bình hai đường chéo vuông góc của tán nấm.

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

Hiệu quả *in vitro* ức chế tuyến trùng *M. incognita* được thực hiện theo phương pháp của Khan và cs (2022) [26]: Trứng *M. incognita* phân lập từ rễ cây cà phê bị nhiễm bệnh được rửa bằng nước cất và đặt vào đĩa petri chứa nước cất. Đặt một lớp lưới có đường kính lỗ 25 μm trên giấy lọc trong đĩa petri. Sau khi nở, tuyến trùng giai đoạn 2 (J2) được thu thập ở đáy đĩa petri. Hình thái của giun tròn được quan sát bằng kính hiển vi soi nổi Barska AY13180 (Barska, Hoa Kỳ). Tiêm 1 mL nước cất chứa ~100 J2 mới nở vào đĩa petri chứa 9 mL dung dịch nano gốc Cu/VCP ở các nồng độ 20, 25, 30 và 35 mg/L Cu. Mẫu đối chứng chỉ chứa nước cất. Sau 48 giờ ủ ở 28 °C, số lượng J2 chết được đếm bằng kính hiển vi nổi Barska AY13180 (Barska, Hoa Kỳ). Tuyến trùng được coi là chết nếu chúng không di chuyển và ở hình dạng thẳng. Thí nghiệm được lặp lại năm lần và tỷ lệ tử vong (PM) được tính bằng công thức (2.2):

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

Trong đó: T_a và C_0 lần lượt là số lượng J2 chết và J2 ban đầu.

Hiệu quả *in vivo* ức chế tuyến trùng *M. incognita* trên cây cà phê được thực hiện trong nhà lưới như sau [215]. Hạt giống cà phê Robusta sau khi khử trùng bằng NaClO được gieo trong chậu nhựa đường kính 25 \times 25 cm chứa khoảng 5 kg đất trồng. Độ ẩm của đất trong chậu được duy trì bằng cách tưới nước hàng ngày. Khi cây cà phê có bốn cặp lá (khoảng 5 tháng tuổi), tiến hành lây nhiễm bệnh bằng cách tiêm 10 mL dung dịch chứa 2.000 J2 vào ba lỗ xung quanh rễ. Sau 2 ngày lây nhiễm bệnh, 30 mL dung dịch nano gốc Cu/VCP ở các nồng độ 20, 25, 30 và 35 mg/L Cu được thêm vào vùng đất xung quanh rễ ở các nghiệm thức nghiên cứu. Đối chứng âm không lây nhiễm bệnh, đối chứng dương có lây nhiễm bệnh và xử lý bằng nước. Các

chậu được đặt trong nhà kính ở nhiệt độ 28–35 °C và độ ẩm 70%–80%. Sau 60 ngày, toàn bộ rễ và 100 g đất xung quanh rễ được thu thập để xác định số lượng tuyến trùng bằng phương pháp phễu Baermann và đếm số lượng u rễ. Hiệu quả giảm số lượng tuyến trùng/100g đất và số lượng nốt sần/rễ của vật liệu nano gốc Cu/VCP 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/vỏ cà phê

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

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp của Oktawan và Zaman (2018) [216] trên hạt đậu xanh. Lấy 15 hạt đậu xanh đã được khử trùng bằng NaClO đặt vào đĩa petri (đường kính 10 cm) có lót giấy lọc. Mỗi đĩa chứa 20 mL dung dịch lọc chứa nano gốc Cu/VCP ở nồng độ 100 mg/L Cu hoặc VCP ở nồng độ 3.333 mg/L. Nghiệm thức đối chứng sử dụng nước khử ion. Các đĩa petri được ủ trong bóng tối trong 72 giờ, sau đó đếm số hạt đậu xanh đã nảy mầm và đo chiều dài rễ bằng thước đo điện tử. Thí nghiệm được lặp lại ba lần, chỉ số nảy mầm (GI) được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm SE 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 có xử lý và đĩa đối chứng, L và L_0 (cm) lần lượt là chiều dài rễ trung bình ở đĩa có xử lý và đĩa đối chứng. Nếu $\text{GI} > 80\%$ – 100% có nghĩa là vật liệu không còn độc đối với thực vật và có thể được sử dụng để bón cho cây trồng; nếu $\text{GI} > 100\%$ có nghĩa là vật liệu có khả năng kích thích sự nảy mầm của hạt giống.

2.2.6.2. Phương pháp xác định độc tính cấp đường miệng trên chuột của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

Độc tính cấp đường miệng được thực hiện theo hướng dẫn OECD cho các thử nghiệm về hóa chất 423 nhằm xác định liều lượng gây độc cấp tính và tính toán liều

gây tử vong ở 50% (LD₅₀). Động vật được sử dụng trong thí nghiệm này là chuột. Thử nghiệm được thực hiện trên 03 nhóm chuột gồm 01 nhóm đối chứng và 02 nhóm thử, mỗi nhóm 06 con gồm 03 con đực và 03 con cái. Liều thử nghiệm là 300 mg/kg và 3.000 mg/kg khối lượng cơ thể chuột. Vật liệu nano gốc Cu/VCP được pha loãng và phân tán trong bằng nước cất để đạt nồng độ là 15 mg/mL và 150 mg/mL. Chuột được uống chất thử bằng kim cong chuyên dụng. Thể tích cho uống là 0,2 mL/10 g trọng lượng cơ thể chuột với nồng độ 15 mg/mL ở liều thử nghiệm 300 mg/kg và 0,3 mL/10 g trọng lượng cơ thể chuột với nồng độ 150 mg/mL ở liều thử nghiệm 3.000 mg/kg. Theo dõi tỷ lệ chết ở chuột trong vòng 15 ngày sau khi uống chất thử. Liều lượng LD₅₀ được xác định dựa trên phương pháp Behrens – Karber [217] theo công thức (2.5):

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

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.

2.2.6.3. Phương pháp xác định độc tính nhạy cảm da trên chuột của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

Độc tính nhạy cảm da trên chuột được xác định theo hướng dẫn OECD cho các thử nghiệm về hóa chất 406. Trước khi tiến hành thí nghiệm khoảng 24 giờ, cạo sạch lông ở vùng lưng của chuột với diện tích 1 cm². Thực hiện thử nghiệm trên 03 nhóm chuột gồm nhóm đối chứng âm và nhóm đối chứng dương (03 con chuột đực và 03 con chuột cái), nhóm thử nghiệm (10 con chuột đực và 10 con chuột cái). Nhóm thử nghiệm cho bôi vật liệu nano gốc Cu/VCP dạng bột nhão, nhóm đối chứng dương bôi 2,4-dinitrochlorobenzene với nồng độ 8 mg/mL (giai đoạn nhạy cảm) và 4 mg/mL (giai đoạn thử thách). Vật liệu nano gốc Cu/VCP được nghiền mịn (< 0,02 mm), thêm nước cất với tỷ lệ rắn:lỏng là 5:1 để tạo dạng bột nhão. Bôi 2 g chất thử/kg trọng lượng cơ thể chuột lên vùng da đã cạo lông. Các thời điểm bôi chất thử ở giai đoạn nhạy cảm là ngày 0, ngày 7 và ngày 14, thời điểm bôi chất thử ở giai đoạn thử thách là ngày 28. Theo dõi các biểu hiện phản ứng nhạy cảm da (ban đỏ, phù nề hoặc các thay đổi khác trên da) của chuột sau 24, 48 giờ bôi và đánh giá tỷ lệ nhạy cảm của chúng.

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

2.3.1. Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol

Xác định theo phương pháp của Neves và cs (2019) [218]. Hút chính xác 1 mL dung dịch mẫu cho vào ống nghiệm, thêm 3,0 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều trong 2 phút. Để yên ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Thêm 6,0 mL dung dịch Na_2CO_3 6,75% (pH ~10). Lắc đều trong 2 phút, ủ tối 60 phút ở nhiệt độ phòng. Chuẩn bị mẫu trắng để đo cùng. Độ hấp thụ của dung dịch sau phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm ở nhiệt độ phòng trên máy quang phổ UV-vis (V630, Jasco, Nhật Bản). Thí nghiệm được thực hiện ba lần và sử dụng GA để chuẩn hóa đường chuẩn. Hàm lượng PP (mg GAE/g) được tính dựa trên phương trình đường chuẩn GA và trình bày dưới dạng trung bình \pm SD.

Dụng đường chuẩn: Cân chính xác 10,0 mg acid gallic chuẩn, hòa tan trong nước khử ion để thu được 100 mL dung dịch chuẩn (có nồng độ 100 mg/L). Dùng dung dịch gốc này để pha thành các dung dịch có nồng độ là 10, 15, 20, 25 và 30 mg/L. Thực hiện phản ứng và đo độ hấp thụ tương tự như trên.

2.3.2. Phương pháp xác định hàm lượng đường khử

Phân tích theo phương pháp của Khatri và Chhetri (2020) [219]. Dựa trên sự phát hiện nhóm carbonyl (C=O) tự do của RS. Cụ thể, khi phản ứng với thuốc thử DNSA, quá trình oxy hoá nhóm chức andehyd trong glucose và nhóm chức xeton trong fructose được diễn ra. DNSA bị khử thành axit 3-amino 5-notrosalicylic có màu đỏ cam trong môi trường kiềm.

Tiến hành: Thuốc thử DNSA được chuẩn bị bằng cách hòa tan 1 g DNSA và 30 g kali natri tartrat trong 80 mL NaOH 0,5 N ở 45 °C, sau đó làm lạnh và pha loãng thành 100 mL bằng nước khử ion. Tiếp theo, 2 mL thuốc thử DNSA được thêm vào các ống nghiệm chứa 1 mL mẫu, hỗn hợp được ủ ở 95 °C trong 5 phút, sau đó thêm 7 mL nước khử ion. Độ hấp thụ được đo ở 540 nm bằng máy quang phổ UV-Vis (V630, Jasco, Nhật Bản) tại Viện Công nghệ Tiên tiến - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Thí nghiệm được lặp lại ba lần và sử dụng D-glucose để chuẩn hóa đường chuẩn. Hàm lượng RS (mg GE/g) được tính dựa trên phương trình đường chuẩn D-glucose và trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn (SD). *Dụng*

đường chuẩn: Cân chính xác 0,2 g D-glucose chuẩn, hòa tan trong nước khử ion để thu được 100 mL dung dịch chuẩn (có nồng độ 2 g/L). Dùng dung dịch gốc này để pha thành các dung dịch có nồng độ 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 và 1,0 g/L. Thực hiện phản ứng và đo độ hấp thụ tương tự như trên.

2.3.3. Phương pháp xác định hàm lượng lignin

Phân tích theo phương pháp của Carrier và cs (2011) [220]. Cụ thể, 1 g VCP được ngâm trong 15 mL H₂SO₄ 72% ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng với nước khử ion để giảm nồng độ H₂SO₄ xuống 3% và đun sôi trong 4 giờ, sau đó lọc và sấy khô ở 105 °C để thu được lignin không hòa tan. Hàm lượng lignin không hòa tan được tính theo công thức (2.6) [220]. Độ hấp thụ của dịch lọc được đo ở 280 nm bằng máy quang phổ UV-vis (V630, Jasco, Nhật Bản). Để xác định hàm lượng lignin hòa tan theo công thức (2.7) [221]. Tổng hàm lượng lignin trong VCP được tính theo công thức (2.8). Thí nghiệm được lặp lại ba lần và hàm lượng lignin tổng trình bày dưới dạng trung bình ± SD.

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

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

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

Trong đó: m và m₀ (g) lần lượt là khối lượng của lignin không hòa tan và VCP, A là độ hấp thụ ở 280 nm, 110 là độ hấp thụ của lignin hòa tan được đo bằng L/g/cm.

2.3.4. Phương pháp xác định hàm lượng caffein

Phân tích theo phương pháp của Ihsan và cs (2023) [222]. Cụ thể, 50 mg mẫu được hòa tan trong 100 mL nước khử ion, sau đó khuấy và đun nóng ở 90 °C trong 30 phút. Hỗn hợp được lọc vào bình định mức 100 mL và thêm nước khử ion đến vạch. 25 mL dịch lọc được chiết trong 25 mL dichloromethane, sau đó độ hấp thụ được đo ở 275 nm bằng phương pháp quang phổ UV-vis V630 (Jasco, Nhật Bản). Thí nghiệm được thực hiện ba lần và sử dụng caffein để chuẩn hóa đường chuẩn. Hàm lượng caffein (%) được tính dựa trên phương trình đường chuẩn caffein và trình bày dưới dạng trung bình ± SD.

Dựng đường chuẩn: Cân chính xác 10,0 mg caffein chuẩn, hòa tan trong nước khử ion để thu được 100 mL dung dịch chuẩn (có nồng độ 100 mg/L). Dùng dung

dịch gốc này để pha thành các dung dịch có nồng độ 10, 20, 30, 40 và 50 mg/L. Thực hiện phản ứng và đo độ hấp thụ tương tự như trên. Hiệu quả phân hủy caffein (CE) được tính theo công thức (2.9):

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

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

2.3.5. Phương pháp xác định hàm lượng cellulose và hemicellulose

Phân tích theo phương pháp của Nguyen và cs (2023) [116] và Timell (1961) [223]. Cụ thể, 2,5 g VCP được chiết ba lần bằng hexan và sau đó sấy khô để loại bỏ dung môi. Chất rắn còn lại được xử lý bằng NaClO_2 và axit axetic ở 80 °C trong 4 giờ, sau đó sấy khô để thu được holocellulose (cellulose và hemicellulose). Mẫu holocellulose được xử lý bằng 100 mL dung dịch NaOH 17,5% trong 30 phút, sau đó lọc và sấy khô ở 80 °C trong 24 giờ để thu được cellulose. Hàm lượng hemicellulose được tính toán dựa trên sự chênh lệch giữa hàm lượng holocellulose và cellulose. Thí nghiệm được lặp lại ba lần, hàm lượng cellulose và hemicellulose được trình bày dưới dạng trung bình \pm SD.

2.3.6. Phương pháp xác định thế oxy hóa khử

Thế E_h là thước đo xu hướng nhận hoặc nhường điện tử của một hệ, được đo trực tiếp bằng điện cực so sánh và điện cực chỉ thị. Sự chênh lệch điện thế giữa hai điện cực khi nhúng vào dung dịch tỷ lệ với hoạt độ của các cặp oxy hóa/khử có mặt.

Tiến hành: 100 g VCP được phân tán trong 300 mL nước, dung dịch NaOH 10% được sử dụng để điều chỉnh giá trị pH đạt 8, 9 và 10. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó lọc để thu được dịch chiết. 30 mL mẫu được chuyển vào cốc thủy tinh và E_h được đo bằng máy đo Milwaukee Hanna HI98120 (Hanna Instruments, Ý) được trang bị điện cực halogen tham chiếu Ag/AgCl (KCl bão hòa). E_h được tính theo công thức (2.10):

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

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

2.3.7. Phương pháp chụp ảnh kính hiển vi điện tử quét

Phương pháp SEM sử dụng chùm điện tử hẹp có năng lượng cao quét hệ thống trên bề mặt mẫu. Sự tương tác giữa chùm điện tử và mẫu tạo ra các tín hiệu thứ cấp, chủ yếu là điện tử thứ cấp. Đầu dò thu nhận các điện tử thứ cấp này để tái tạo hình ảnh bề mặt với độ phân giải cao, cho phép quan sát trực tiếp hình thái, kích thước hạt, độ xốp và sự phân bố của vật liệu.

Tiến hành: Mẫu bột được phân tán đều trên băng dẫn điện carbon hai mặt và cố định lên giá đỡ mẫu bằng đế nhôm. Mẫu được phủ một lớp kim loại mỏng bằng máy phủ màng để tăng độ dẫn điện bề mặt, ngăn ngừa hiệu ứng tích điện. Mẫu sau đó được đưa vào buồng chân không của máy SEM. Hình ảnh được chụp ở các độ phóng đại khác nhau (từ 1.000x đến 50.000x) tại điện áp gia tốc 10–15 kV trên máy S-4800 (Hitachi, Nhật Bản) tại Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Kích thước hạt được xác định từ ảnh SEM bằng phần mềm ImageJ 1.54 g.

2.3.8. Phương pháp đo phổ tán xạ năng lượng tia X

Phương pháp EDX dựa trên việc phân tích quang phổ tia X đặc trưng phát ra từ mẫu khi các nguyên tử bị kích thích bởi chùm điện tử năng lượng cao từ kính hiển vi điện tử. Mỗi nguyên tố phát ra tia X với năng lượng đặc trưng, cho phép định tính và định lượng các thành phần nguyên tố trong vật liệu dựa trên cường độ của các đỉnh phổ tương ứng.

Tiến hành: Phân tích EDX được thực hiện đồng thời trên cùng thiết bị tích hợp với máy SEM kết nối với thiết bị EDX JSM-7610 - JEOL JED 2300 (JEOL, Nhật Bản) tại Viện Khoa học Vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.9. Phương pháp đo phổ nhiễu xạ tia X

Phương pháp XRD dựa trên hiện tượng nhiễu xạ tia X khi chùm tia X đơn sắc chiếu vào mẫu để xác định tính chất tinh thể. Khi thỏa mãn điều kiện Bragg, các tia nhiễu xạ giao thoa tăng cường tạo ra các đỉnh nhiễu xạ ở các góc 2θ đặc trưng, cung cấp thông tin về các pha tinh thể, cấu trúc mạng tinh thể, kích thước hạt tinh thể và độ rối loạn mạng.

Tiến hành: Mẫu bột được nghiền mịn và trải phẳng đều trên đế và đặt vào máy D8 Advance (Bruker, Đức) tại Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, sử dụng bức xạ $K\alpha$ của Cu, $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$. Dữ liệu được quét trong khoảng góc 2θ từ 10° đến 80° với tốc độ quét $0.02^\circ/\text{giây}$.

2.3.10. Phương pháp đo quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier

Phương pháp FTIR dựa trên hiện tượng hấp thụ bức xạ hồng ngoại của vật liệu. Khi chiếu chùm tia hồng ngoại có bước sóng liên tục lên mẫu, các liên kết hóa học hoặc nhóm chức đặc trưng sẽ hấp thụ năng lượng ở các tần số cộng hưởng đặc trưng, làm dao động liên kết (giãn, uốn). Phổ hấp thụ thu được thể hiện sự hiện diện của các nhóm chức hữu cơ và vô cơ thông qua vị trí, cường độ và hình dạng của các đỉnh hấp thụ.

Tiến hành: Khoảng 2 mg mẫu bột được trộn đều với 200 mg bột KBr tinh khiết và ép thành viên nén trong môi trường chân không. Viên nén mẫu được đặt trong giá mẫu và đưa vào buồng đo của máy FTIR 8400S (Shimadzu, Nhật Bản). Phổ được ghi trong dải sóng từ 4000 đến 400 cm^{-1} tại Viện Công nghệ Tiên tiến - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.11. Phương pháp đo quang phổ hấp thụ nguyên tử

Phương pháp đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) dựa trên sự hấp thụ ánh sáng đơn sắc của nguyên tử Cu. Chùm bức xạ đặc trưng của nguyên tố Cu từ đèn catode rỗng được chiếu xuyên qua đám hơi nguyên tử. Cường độ bức xạ bị hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ nguyên tử Cu trong mẫu theo định luật Beer-Lambert.

Tiến hành: Cho 2 g mẫu vào bình phản ứng, thêm 15 mL HCl. Ngâm hỗn hợp trong 4 giờ, sau đó khuấy ở 100°C trong 60 phút và đun sôi cho đến khi khô. Để tránh sự can thiệp của Fe^{3+} trong quá trình xác định hàm lượng CuO, thêm 1 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ vào hỗn hợp để kết tủa Fe^{3+} trong môi trường axit [224]. Sau đó, thêm 5 mL HCl 0,001 M và lắc kỹ dung dịch trước khi chuyển vào bình định mức 50 mL. Thêm nước khử ion đến vạch và để hỗn hợp lắng trước khi lọc qua giấy lọc định lượng Whatman. Sau đó, xác định hàm lượng Cu không hòa tan [225] trên máy AA-7000 (Shimadzu, Nhật Bản) theo OAO 965.09, sử dụng ngọn lửa C_2H_2 và đo ở bước sóng 324,7 nm. Để xác định hàm lượng CuO, thêm 1 g KI vào 10 mL dung dịch đã

lọc có chứa Cu_2O và CuO [226] để khử CuO thành CuI và I_2 . Hỗn hợp được khuấy, lắc đều. Thêm 1 mL dung dịch hồ tinh bột 1%, chuẩn độ bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,02 M cho đến khi dung dịch chuyển sang màu nâu nhạt. Sau đó, thêm 1 mL dung dịch kali thiocyanat 1% và tiếp tục chuẩn độ cho đến khi hỗn hợp chuyển sang màu trắng. Từ đó tính được hàm lượng CuO theo công thức (2.11). Hàm lượng Cu_2O là hiệu số giữa hàm lượng Cu tổng với hàm lượng Cu^0 và CuO trong mẫu [83, 227]:

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

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 xử lý bằng phần mềm IRRISTAT 5.0 và Microsoft Excel 2013. Các giá trị trung bình được so sánh bằng cách sử dụng chênh lệch ít có ý nghĩa nhất ở mức xác suất 0,05. Giá trị nồng độ gây chết 50% (LC_{50}) được suy ra từ phương trình hồi quy bằng cách giải $y = 50$ trong phương trình hồi quy cho x . Dữ liệu PM được chuyển đổi thành arcsin trước khi phân tích thống kê. Các giá trị 0% được thay thế bằng $1/4n$ và các giá trị 100% được thay thế bằng $100-1/4n$, n là số J2 ban đầu và x là PM.

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

Chương này trình bày kết quả nghiên cứu về các điều kiện tổng hợp vật liệu, từ đó xây dựng quy trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP sử dụng sinh khối VCP làm chất khử và chất ổn định ở hàm lượng tiền chất và pH phản ứng thích hợp. Vai trò của các chất khử sinh học trong sinh khối VCP. Sự phụ thuộc của kích thước hạt vào nồng độ tiền chất và pH phản ứng, các dạng tồn tại của hạt nano Cu trong vật liệu và sự phân bố của chúng trên nền chất mang là VCP. Khả năng phân hủy độc tố caffeine trong quá trình tổng hợp vật liệu. Độ bền của vật liệu sau 12 tháng lưu trữ.

3.1. Thành phần hóa học cơ bản của vỏ cà phê

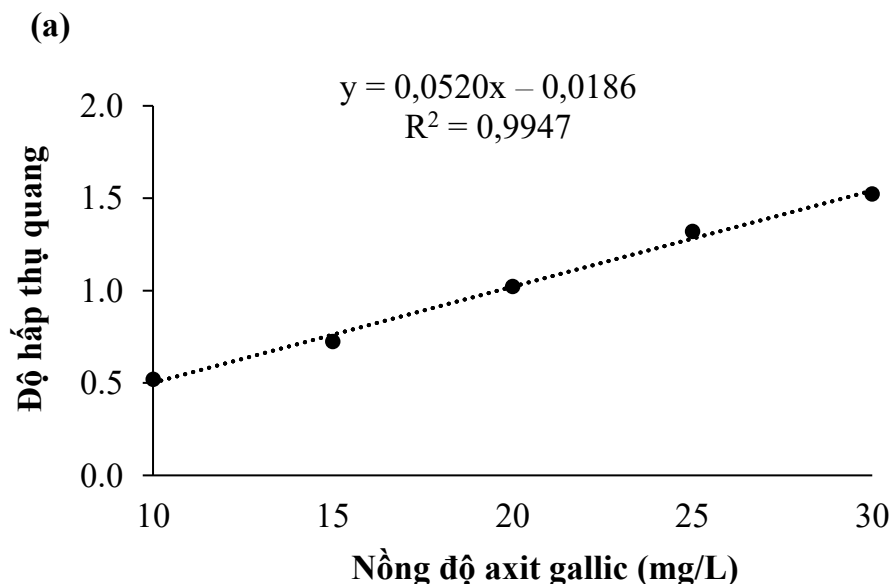
3.1.1. Thành phần hóa học cơ bản của vỏ cà phê

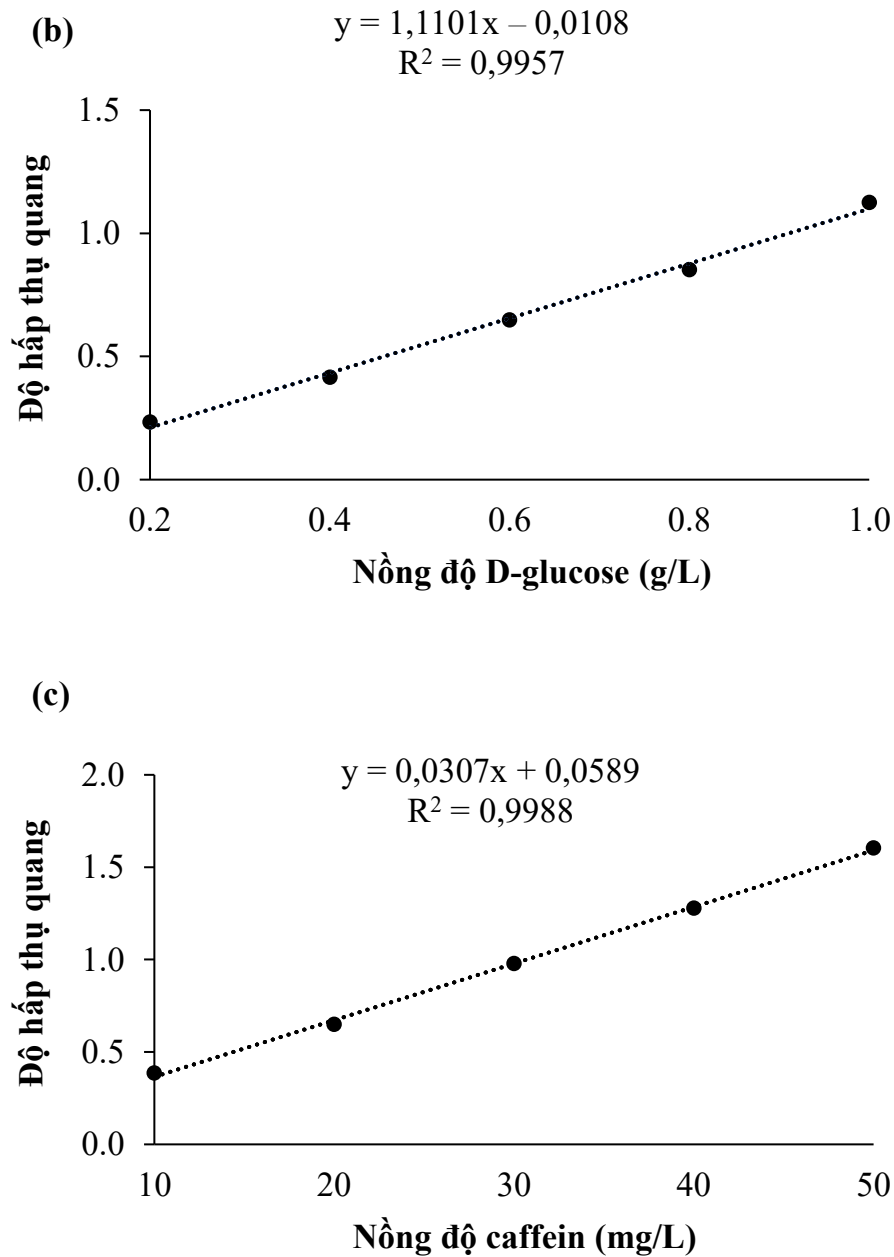
Hàm lượng PP, RS và caffeine của VCP được tính dựa trên phương trình hồi quy (3.1), (3.2) và (3.3) được thể hiện trong Hình 3.1.

$$y = 0,0520x - 0,0186 \quad (R^2 = 0,9947) \quad (3.1)$$

$$y = 1,1101x - 0,0108 \quad (R^2 = 0,9957) \quad (3.2)$$

$$y = 0,0307x + 0,0589 \quad (R^2 = 0,9988) \quad (3.3)$$





Hình 3.1. Đường chuẩn axit gallic (a), D-glucose (b) và caffein (c)

Thành phần hóa học cơ bản của hai mẫu VCP Robusta thu thập tại tỉnh Lâm Đồng (VCP-LĐ) và tỉnh Đắk Lắk (VCP-ĐL) trong Bảng 3.1. Kết quả cho thấy thành phần hóa học của VCP được thu thập tại hai địa điểm không khác biệt nhiều. Có thể giải thích kết quả này là do điều kiện thổ nhưỡng và giống cà phê được trồng phổ biến tại Lâm Đồng (Đắk Nông cũ) và Đắk Lắk là như nhau. Kết quả hàm lượng PP trong VCP là 87,92–97,86 mg GAE/g, gần với kết quả của Prihadi và cs. (2020) là 10,5% [128], nhưng nhỏ hơn nhiều so với kết quả của Neves và cs (2019) là 184,79–382,97 mg GAE/g [218] và Boadu và cs (2023) là 354,3 mg GAE/g [228]. Hàm lượng RS trong VCP được xác định là 83,42–87,62 mg GE/g, thấp hơn so với VCP lựa trong

nghiên cứu của Gouvea cs (2009) [107]. Kết quả trên cho thấy VCP Robusta chủ yếu bao gồm cellulose, lignin, hemicellulose và caffein. Hàm lượng caffein trong VCP của nghiên cứu này là 1,13%–1,15%, phù hợp với kết quả 1,1% do Tello và cs báo cáo (2011) [229]. Theo Gouvea và cs (2009), thành phần hóa học của VCP không chỉ phụ thuộc vào giống mà còn phụ thuộc vào điều kiện canh tác [107].

Bảng 3.1. Thành phần hóa học cơ bản của vỏ cà phê

| Mẫu | PP (mg GAE/g) | RS (mg GE/g) | Lignin tổng (%) | Caffein (%) | Cellulose (%) | Hemicellulose (%) |
|--------|------------------|-----------------|-----------------------|----------------|------------------|----------------------|
| VCP-LĐ | 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 phản ứng đến hiệu suất phân tách chất khử sinh học trong vỏ cà phê

Hiệu suất chiết PP, RS và lignin trong VCP (Đắc Lắc) phụ thuộc vào thời gian và pH được thể hiện trong Bảng 3.2. Thời gian chiết có ảnh hưởng đến hiệu suất phân tách các chất khử sinh học khỏi sinh khối VCP. Hiệu suất chiết tăng theo thời gian, tuy nhiên giữa hai mốc 30 và 40 phút thì hiệu suất tăng không nhiều. Vì vậy, có thể lựa chọn thời gian ủ là 30 phút để thực hiện phản ứng khử trong tổng hợp nano gốc Cu. Trong phương pháp chiết suất PP và lignin từ sinh khối thực vật, hiệu suất chiết tăng theo pH [230-232]. Tóm lại, với thời gian chiết kiềm ở pH 9 sau 30 phút, hiệu suất phân PP đạt 81,46%, RS đạt 85,47%, đồng thời thu được một phần lignin với hiệu suất đạt 38,18% cũng có thể tham gia phản ứng khử Cu^{2+} [132]. Ngoài ra, thời gian chiết các chất khử sinh học ngắn ~30 phút là phù hợp để ứng dụng sản xuất với quy mô công nghiệp.

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

| 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 |

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ Cu đến đặc tính của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

Ảnh chụp VCP LĐ và các vật liệu nano gốc Cu/VCP ở các hàm lượng Cu khác nhau được tổng hợp ở pH phản ứng ~9 trong Hình 3.2 cho thấy màu nâu của sản phẩm tăng dần khi hàm lượng Cu thay đổi từ 2%–5% (w/w).

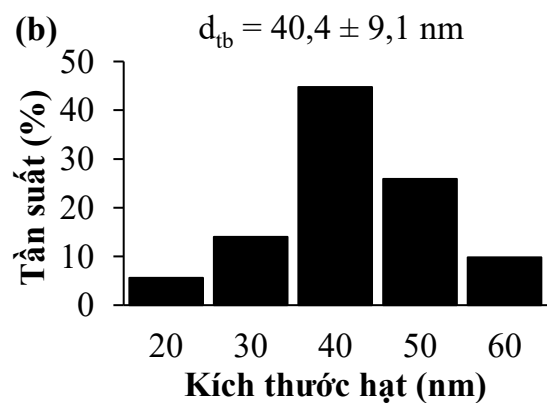
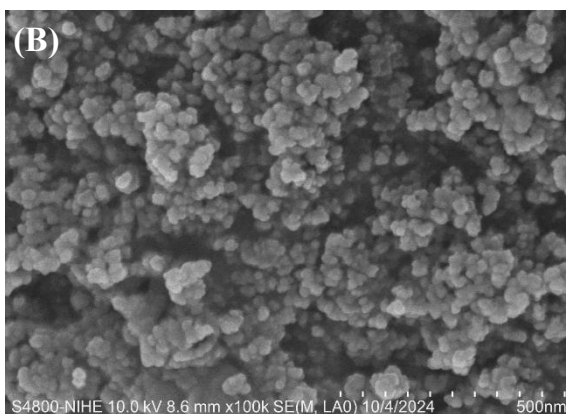
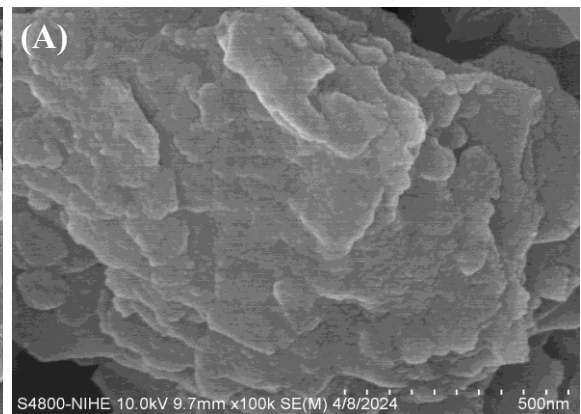
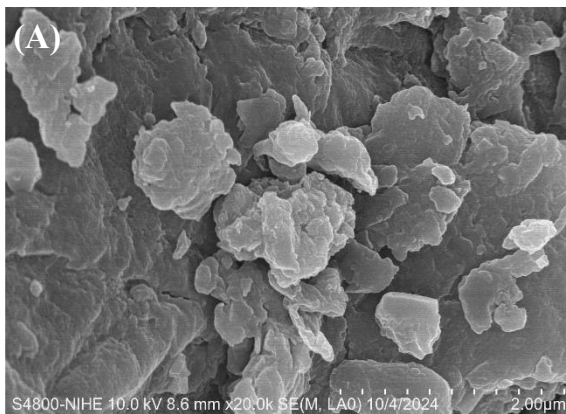


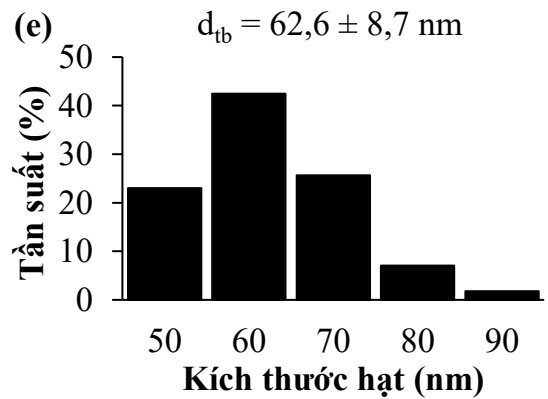
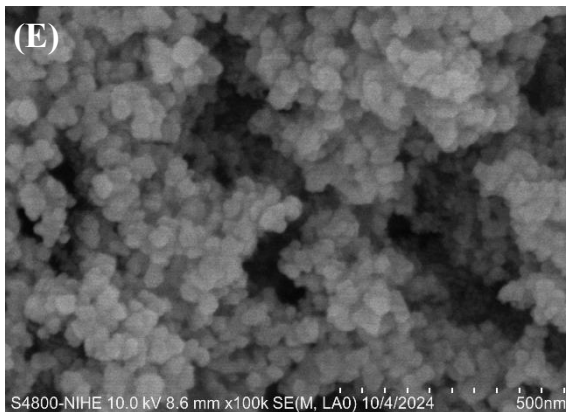
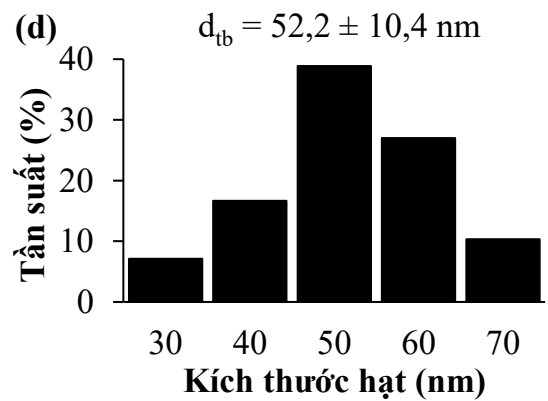
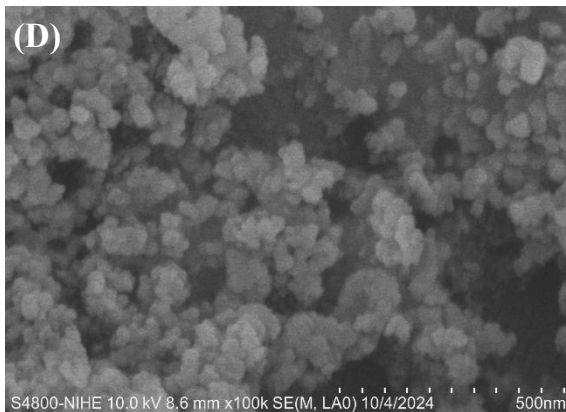
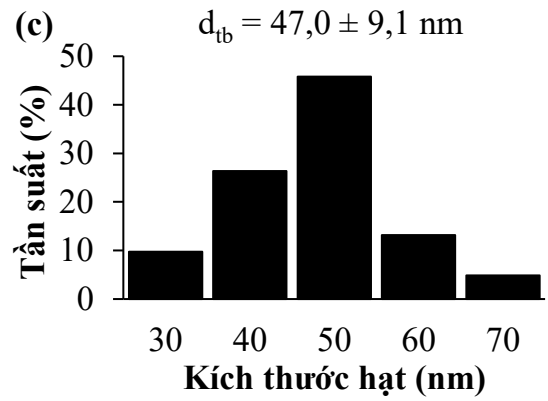
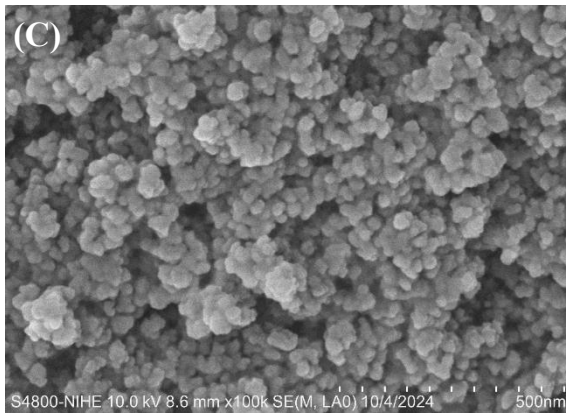
Hình 3.2. Ảnh chụp vỏ cà phê Lâm Đồng và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ Cu đến kích thước hạt nano gốc Cu

Hình ảnh SEM của VCP (Hình 3.3A) cho thấy cấu trúc của tinh thể cellulose tương tự như kết quả của Nguyen và cs (2023) [116]. Các hạt nano gốc Cu có dạng hình cầu và tương đối đồng nhất, kích thước trung bình tăng theo hàm lượng Cu (Hình 3.3B–E). Ở hàm lượng Cu là 2%, 3%, 4% và 5%, kích thước trung bình của các hạt nano lần lượt là 40,4, 47,0, 52,2 và 62,6 nm, chủ yếu phân bố trong phạm vi 40–60

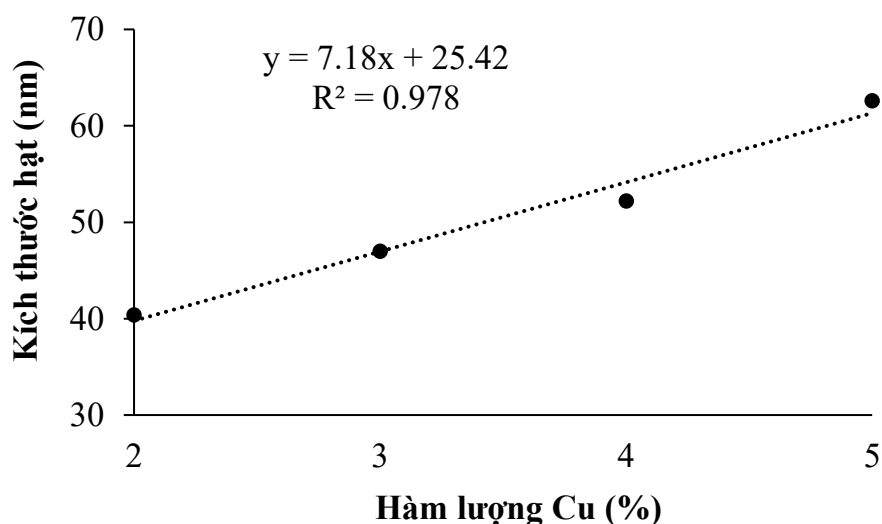
nm. Như vậy, hàm lượng Cu càng cao thì kích thước của các hạt nano gốc Cu thu được càng lớn. Trong quá trình tổng hợp nano từ dưới lên, các nguyên tử gốc Cu đầu tiên được hình thành, sau đó các ion Cu bám vào bề mặt để tạo thành các cụm và tiếp tục bị khử để tạo thành nano. Cơ chế này cũng đã được Du và cs (2008) chứng minh khi tổng hợp nano Ag ổn định trong polyvinylpyrrolidone bằng chiếu xạ gamma Co-60 [70] và Ngọc và cs (2021) khi tổng hợp nano Cu₂O-Cu sử dụng N₂H₄ làm chất khử và ổn định trong dung dịch natri alginate [71]. Mặt khác, khi hàm lượng Cu tăng, nồng độ chất khử giảm do hàm lượng VCP giảm. Nồng độ chất khử cũng ảnh hưởng đến kích thước của các hạt nano tạo thành. Ở nồng độ chất khử thấp, phản ứng diễn ra chậm, dẫn đến hình thành các cụm lớn trước khi khử. Ngược lại, ở nồng độ chất khử cao, các cụm nhỏ hình thành và nhanh chóng bị khử thành nano, phù hợp với một số báo cáo trước đây [72, 73].





Hình 3.3. Ảnh SEM của vỏ cà phê (A), ảnh SEM và sơ đồ phân bố kích thước hạt của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (B, b), 3% (C, c), 4% (D, d) và 5% (E, e)

Phương trình biểu diễn sự phụ thuộc của kích thước hạt nano gốc Cu vào hàm lượng Cu dựa trên kết quả trên là: $y = 7,18x + 25,42$ ($R^2 = 0,978$), trong đó x là hàm lượng Cu (%) và y là kích thước hạt nano gốc Cu (nm) (Hình 3.4).

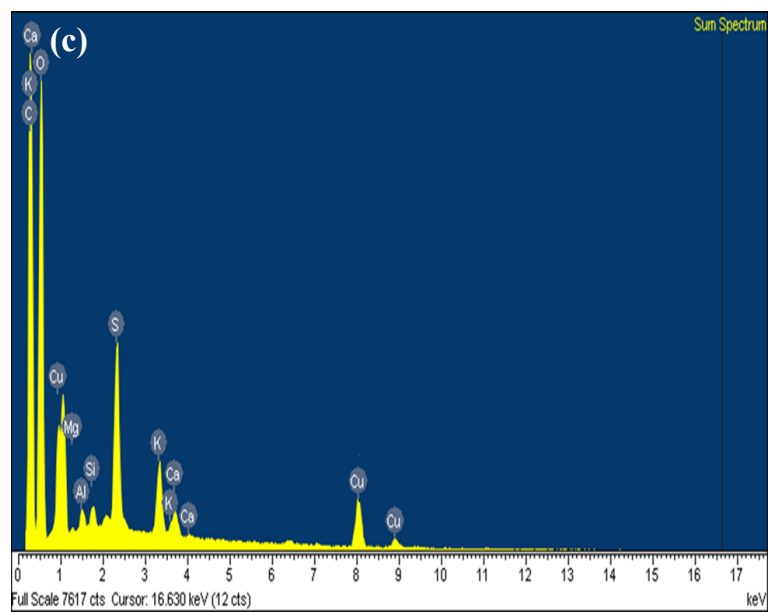
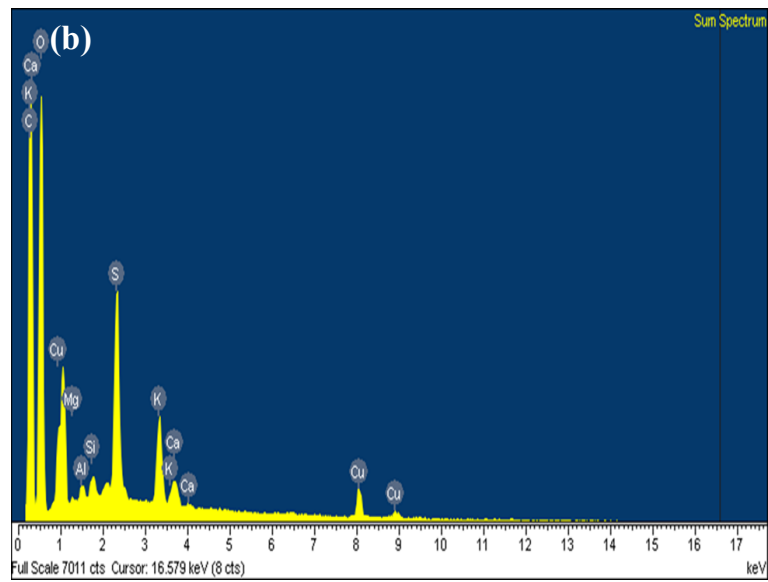
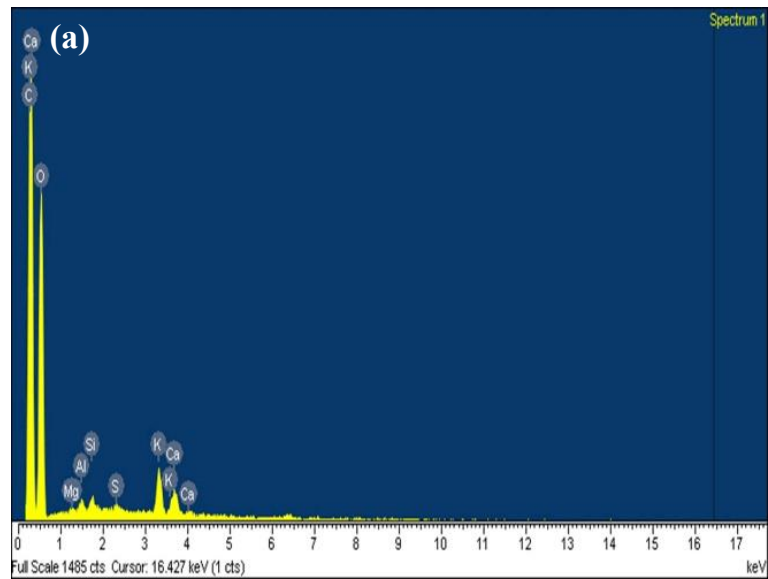


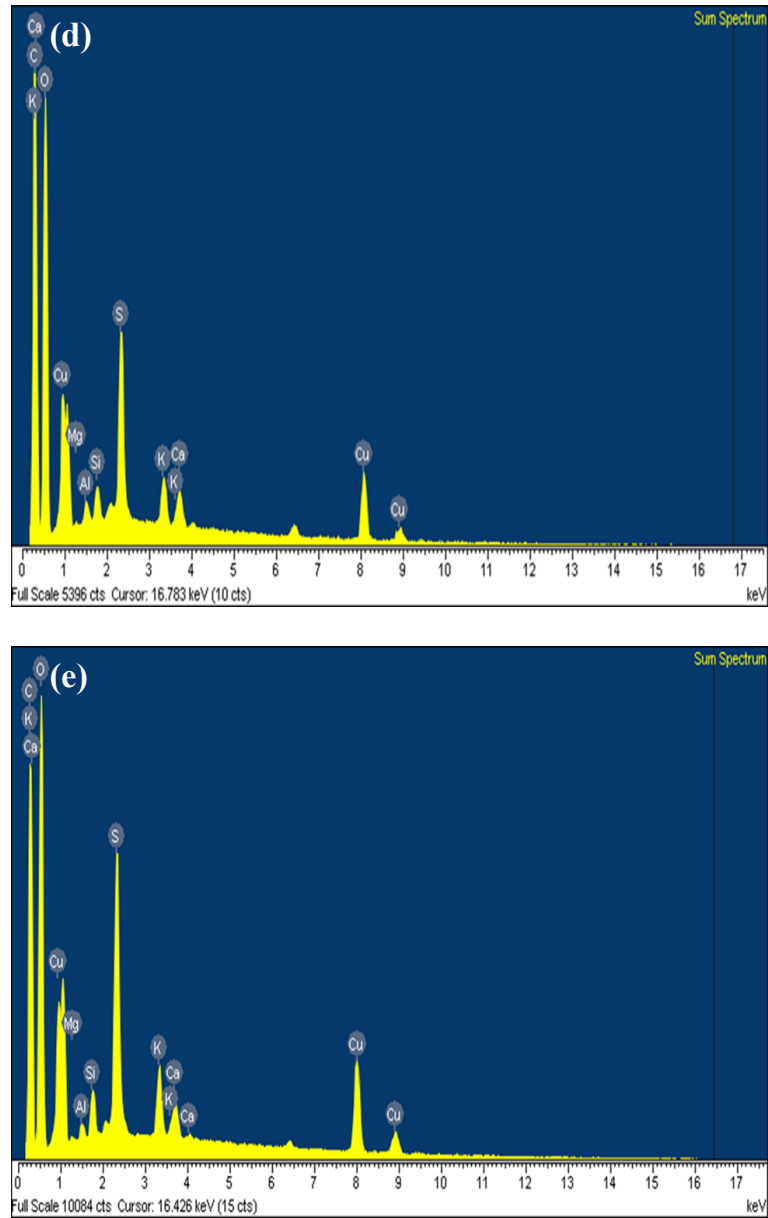
Hình 3.4. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của kích thước hạt nano gốc Cu vào hàm lượng Cu của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ Cu đến tính chất đặc trưng của vật liệu nanocomposite

Kết quả trên cho thấy VCP là chất ổn định hiệu quả do thành phần lignin có thể hình thành liên kết phối hợp với các ion kim loại bằng các nhóm chức hydroxyl, carboxyl, ether và lactone [74]. Tương tự như vậy, cellulose chứa các nhóm ether và hydroxyl có thể neo giữ các ion kim loại bằng các tương tác ion phân cực, sau đó ổn định các hạt nano hình thành bằng phản ứng khử [75, 76]. Các hợp chất lignocellulose có tác dụng ngăn ngừa sự kết tụ, do đó tạo thành hình dạng rõ ràng và phân bố trong phạm vi kích thước hẹp của các hạt nano [77].

Phổ EDX và thành phần nguyên tố của các mẫu nano gốc Cu/VCP ở các hàm lượng Cu khác nhau được trình bày trong Hình 3.5 và Bảng 3.3. Kết quả phân tích cho thấy các thành phần chính của VCP là C (55,52%) và O (42,18%), tạo nên từ cellulose, hemicellulose, lignin và các hợp chất hữu cơ khác. Ngoài ra, VCP còn chứa một lượng nhỏ các khoáng chất như Mg (0,13%), Al (0,22%), Si (0,32%), S (0,10%), K (0,95%) và Ca (0,58%), phù hợp với công bố của Nguyen và cs (2023) về thành phần của Robusta VCP tại Việt Nam [116]. Phổ EDX của vật liệu nano gốc Cu/VCP trong các Hình 3.5b–e cho thấy sự hiện diện của Cu với hàm lượng dao động từ 2,02%–5,02%, cùng với các nguyên tố có trong VCP.



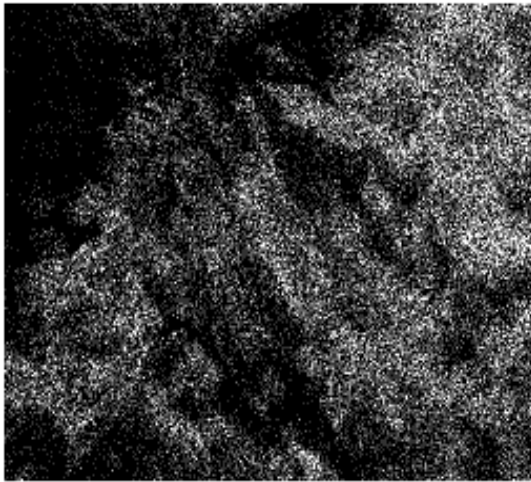


Hình 3.5. Phổ EDX của vỏ cà phê (a) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (b), 3% (c), 4% (d) và 5% (e)

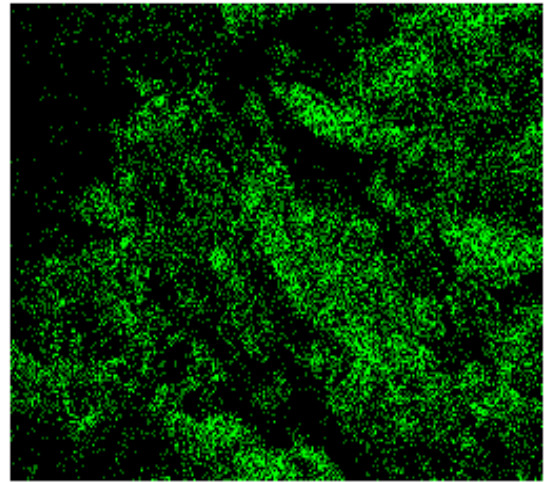
Bảng 3.3. Thành phần các nguyên tố của vỏ cà phê và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau

| 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 |

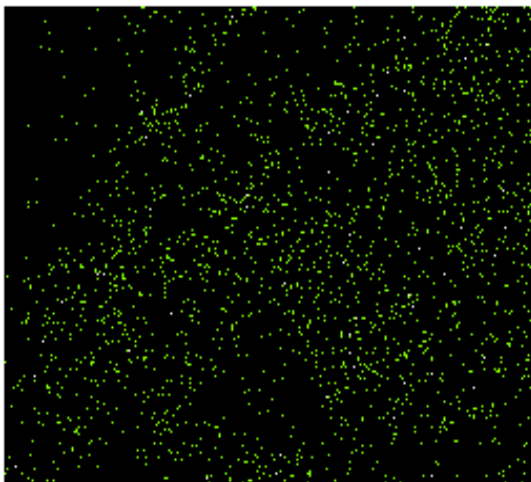
Bản đồ phân bố nguyên tố (SEM-EDX mapping) của VCP Lâm Đồng và vật liệu nano gốc Cu/VCP ở hàm lượng 2% Cu được thể hiện trong Hình 3.6 và Hình 3.7. Trong mẫu VCP, các nguyên tố C, O, Mg, Al, Si, S, K, Ca phân bố khá đồng đều do sinh khối thực vật là polyme sinh học liên tục, phù hợp với kết quả của [233]. Vật liệu nanocomposite gốc Cu/VCP với hàm lượng Cu từ 2% cho thấy các nguyên tố Cu tạo thành phân bố khá đồng đều với các nguyên tố khác của sinh khối trong vật liệu (bản đồ nguyên tố SEM-EDX mapping của vật liệu nano gốc Cu/VCP ở hàm lượng Cu từ 3–5% xem trong phần Phụ lục). Kết quả này chứng tỏ ở giai đoạn đầu các ion Cu^{2+} đã được hấp phụ hoặc tạo phức đồng đều lên các nhóm chức của hợp chất hữu cơ trong sinh khối, quá trình khử tạo ra hạt nano gốc Cu được giữ ổn định bằng những nhóm chức này.



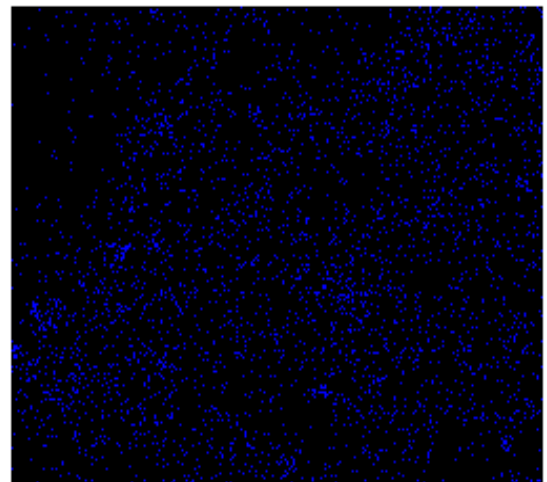
C Ka1_2



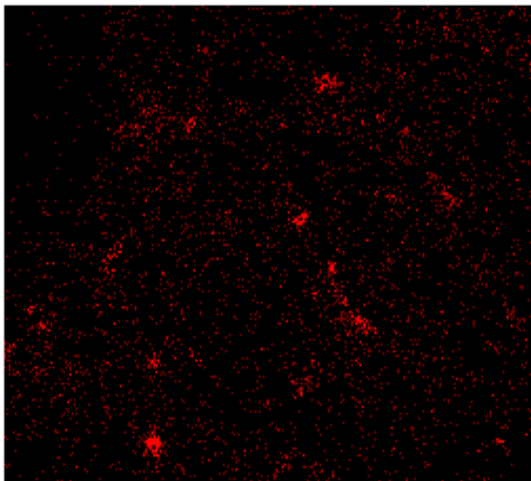
O Ka1



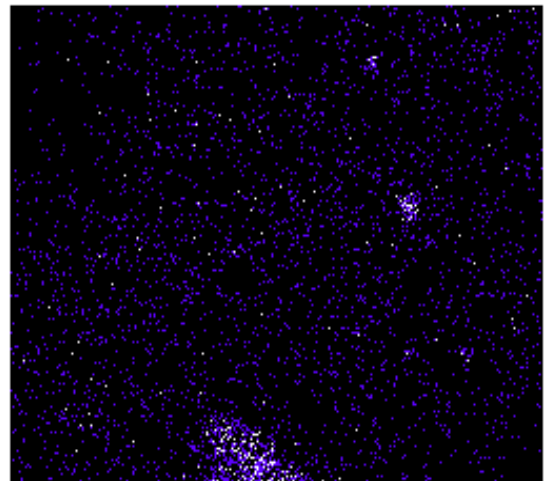
Mg Ka1_2



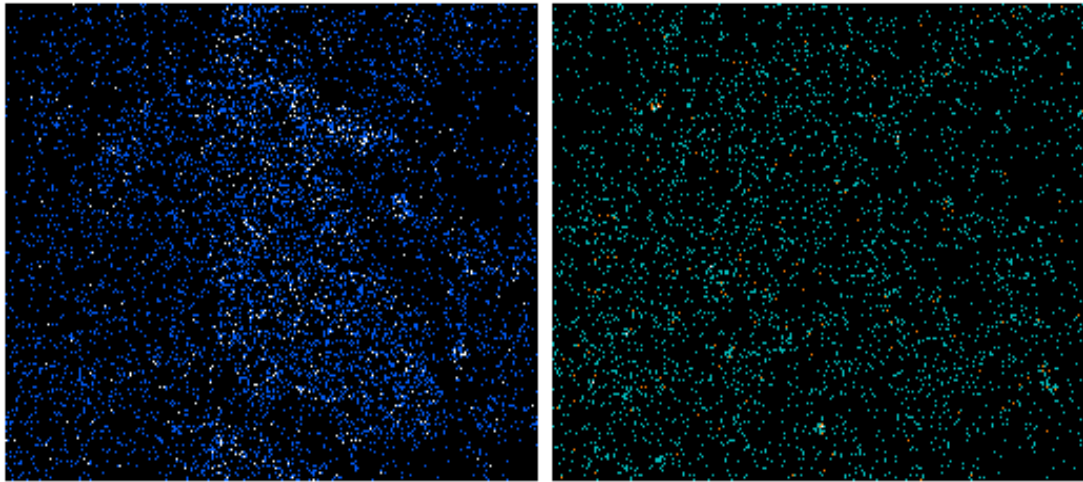
Al Ka1



Si Ka1

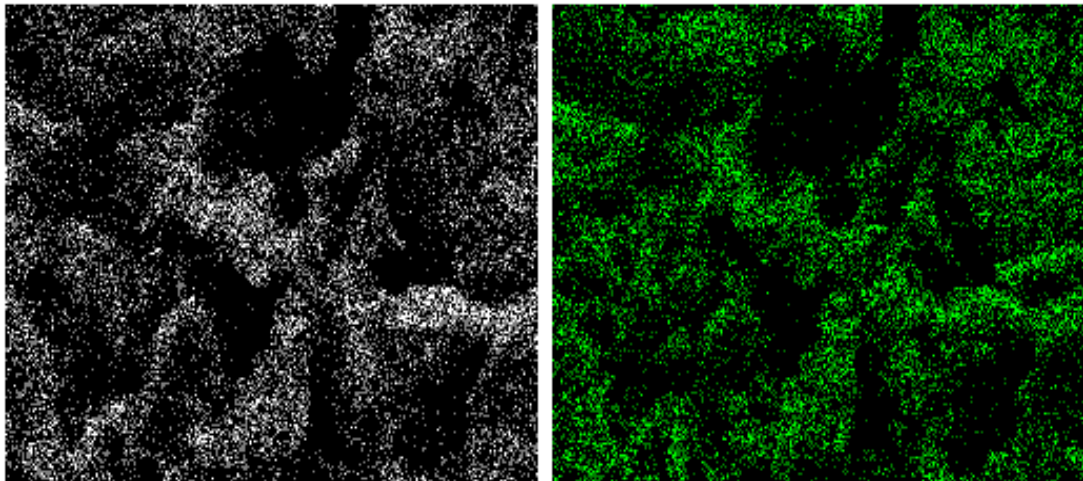


S Ka1



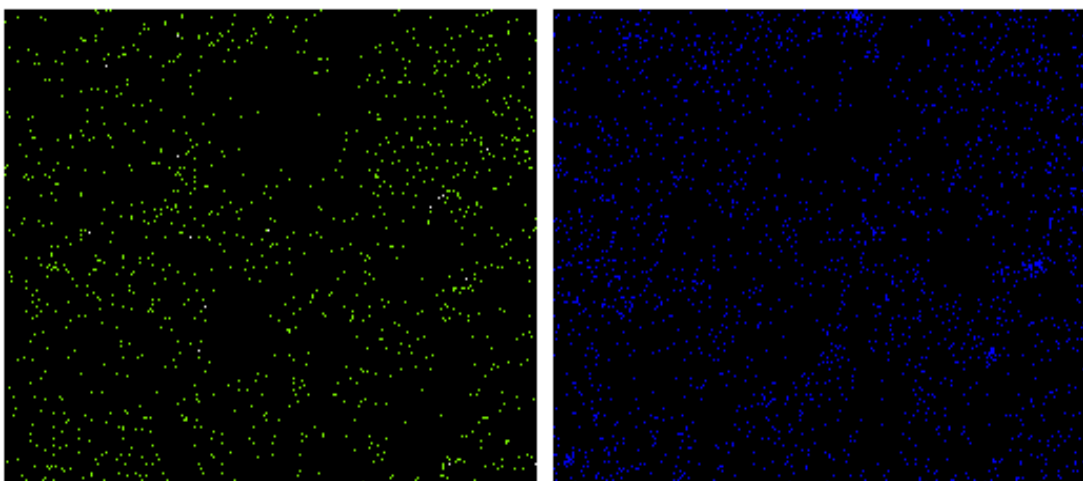
K Ka1

Ca Ka1

Hình 3.6. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vỏ cà phê Lâm Đồng

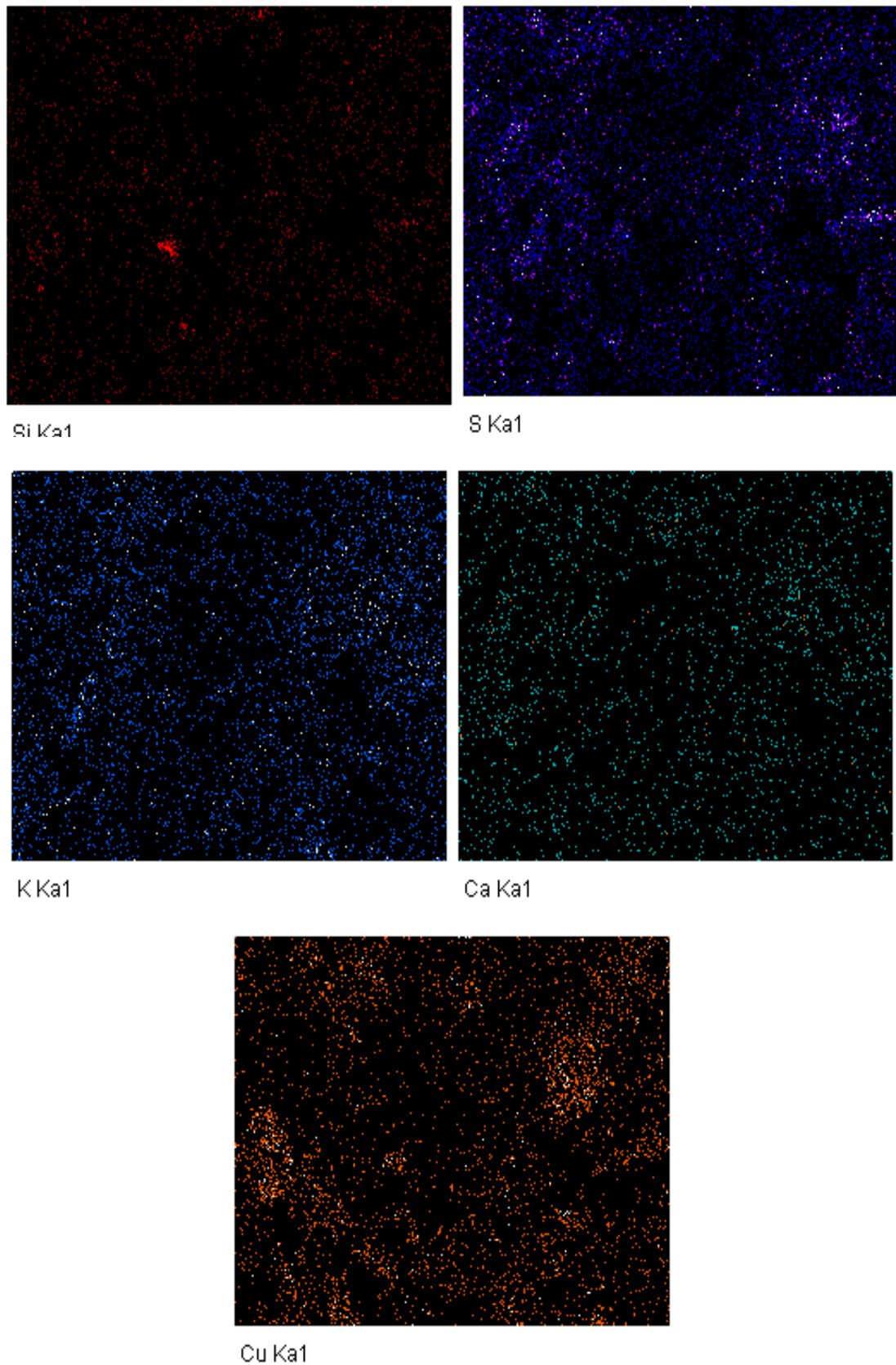
C Ka1_2

O Ka1



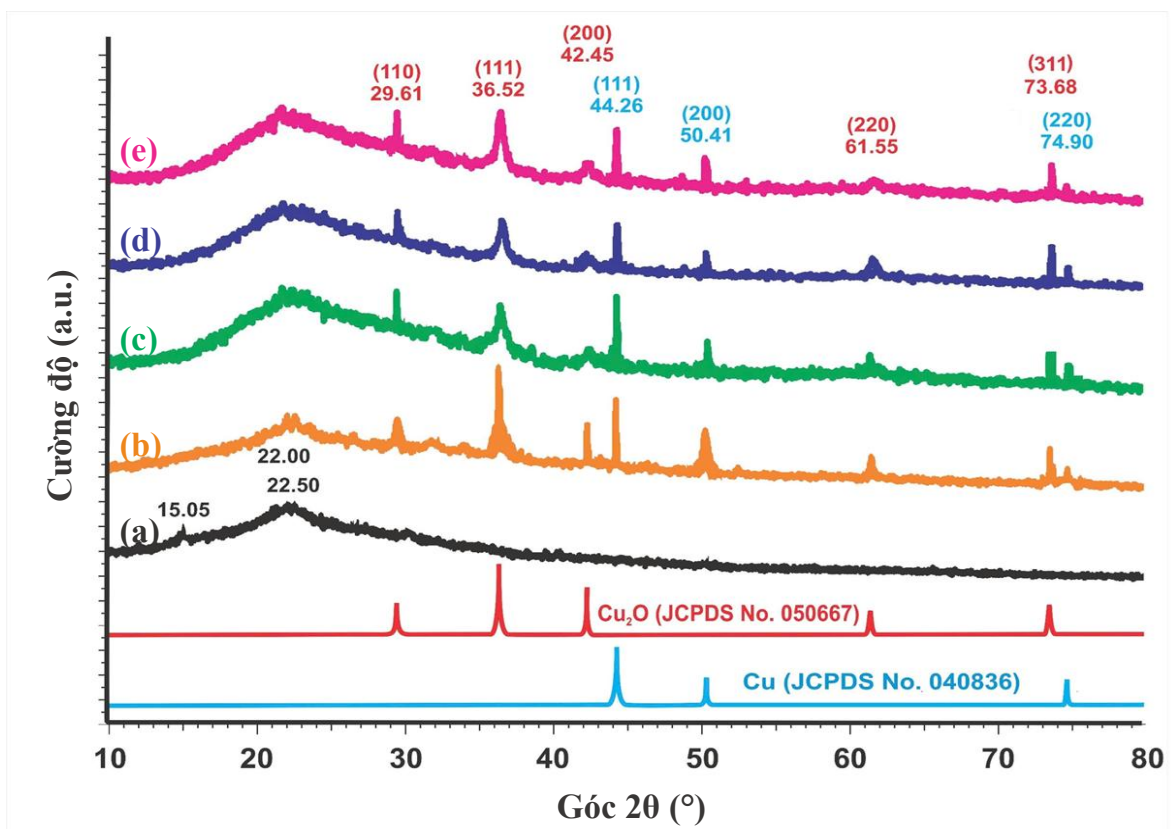
Mg Ka1_2

Al Ka1



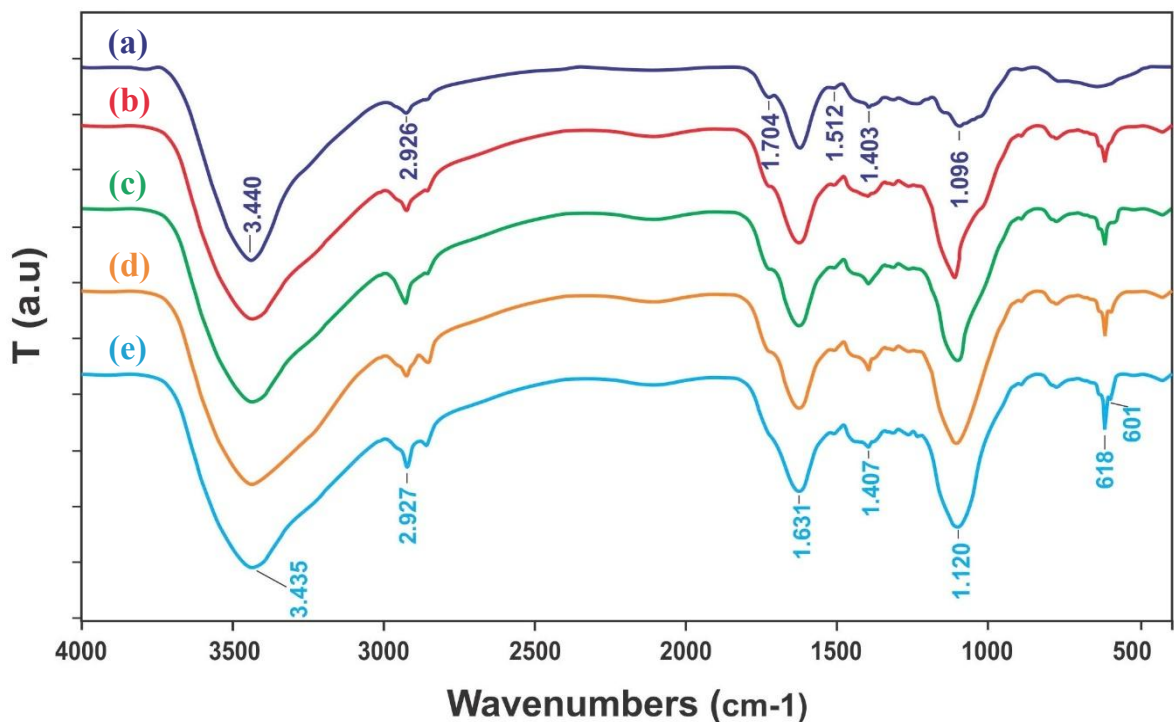
Hình 3.7. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (2% Cu)

Giản đồ XRD của VCP trong Hình 3.8a hiển thị các đỉnh đặc trưng tương ứng với cấu trúc tinh thể của cellulose và lignin. Cụ thể, một đỉnh cường độ thấp xuất hiện ở $2\theta \sim 15,05^\circ$, và một đỉnh rộng hơn, cường độ cao hơn được quan sát thấy tại $2\theta \sim 22,50^\circ$, tương ứng với các mặt phẳng nhiễu xạ (110) và (200) [110]. Ngoài ra, giản đồ XRD của VCP cũng thể hiện một đỉnh ở $2\theta \sim 22,00^\circ$, được cho là đặc trưng cho cấu trúc silica vô định hình [234]. Các giản đồ XRD của vật liệu nano gốc Cu/VCP trong Hình 3.8b–e cho thấy các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của nano Cu và Cu_2O . Đối với các hạt nano Cu, các đỉnh riêng biệt ở $2\theta \sim 44,26^\circ$, $50,41^\circ$ và $74,9^\circ$ tương ứng với các mặt phẳng (111), (200) và (222), phù hợp với JCPDS số 040836 [235]. Trong khi đó, các đỉnh liên quan đến nano Cu_2O xuất hiện ở $2\theta \sim 29,61^\circ$, $36,52^\circ$, $42,45^\circ$, $61,55^\circ$ và $73,68^\circ$, tương ứng với các mặt phẳng (110), (111), (200), (220) và (311), phù hợp với dữ liệu của JCPDS số 050667 [236]. Những kết quả này cho thấy sự hình thành của nano Cu và Cu_2O phân tán trên chất mang VCP. Mặt khác, giản đồ XRD không phát hiện thấy đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của CuO , có thể do hàm lượng của nó thấp (0,028%–0,134%).



Hình 3.8. Giản đồ XRD của mẫu vỏ cà phê (a) và nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (b), 3% (c), 4% (d) và 5% (e)

Phổ FTIR thể hiện các đỉnh đặc trưng cho liên kết và nhóm chức của VCP và vật liệu nano gốc Cu/VCP được thể hiện trong Hình 3.9 và Bảng 3.4. Kết quả chỉ ra rằng tất cả các đỉnh đặc trưng nhóm chức và liên kết của VCP đều xuất hiện trong vật liệu nano gốc Cu/VCP. Tuy nhiên, đỉnh ở 3440 cm^{-1} biểu thị dao động kéo giãn của -OH dịch chuyển sang số sóng thấp hơn ở 3435 cm^{-1} . Điều đó cho thấy có tương tác tĩnh điện giữa các nhóm -OH trong VCP với các hạt nano Cu và Cu_2O , dẫn đến làm giảm liên kết hydro trong phân tử [116]. Ngoài ra, đỉnh ở 1704 cm^{-1} biểu thị cho nhóm chức aldehyde đã bị biến mất do phản ứng của RS với ion Cu^{2+} [237]. Phổ FTIR của vật liệu nano gốc Cu/VCP còn xuất hiện một đỉnh đặc trưng cho liên kết Cu–O của CuO [238], mặc dù CuO không được phát hiện trong các mẫu XRD. Điều này có thể là do hàm lượng CuO trong mẫu rất thấp ($< 0,15\%$), dưới ngưỡng phát hiện khi đo XRD. Bên cạnh đó, tín hiệu có thể bị ảnh hưởng khi đo XRD do nền carbon có trong chất mang VCP, làm nhiễu và che lấp các đỉnh nhiễu xạ yếu của CuO [239, 240]. Trong khi đó, phương pháp đo phổ FTIR có độ nhạy cao đối với các liên kết hóa học đặc trưng và không phụ thuộc vào việc vật liệu có tạo đỉnh nhiễu xạ rõ hay không [241], do đó vẫn có thể ghi nhận các dao động đặc trưng của CuO ngay cả khi chúng chỉ tồn tại với hàm lượng rất thấp trên nền carbon.



Hình 3.9. Phổ FTIR của vỏ cà phê (a) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các hàm lượng Cu khác nhau: 2% (b), 3% (c), 4% (d) và 5% (e)

Bảng 3.4. Các đỉnh phổ FTIR và sự phân bố nhóm chức của vỏ cà phê và vật liệu nano gốc Cu/vỏ và phê

| Số sóng (cm^{-1}) | Nhóm chức | Tài liệu tham khảo |
|------------------------------|---|--------------------|
| 3435, 3440 | Các đỉnh rộng biểu thị nhóm O–H, điển hình của cellulose, hemicellulose và lignin | [116] |
| 2926, 2927 | Dao động kéo giãn đối xứng và bất đối xứng của C–H | [242] |
| 1704, 1631 | Nhóm C=O trong nhóm ketone và carbonyl | [237] |
| 1512, 1403 | Cấu trúc thơm của lignin | [237, 242] |
| 1096, 1120 | Nhóm Si–O–Si | [243] |
| 618, 601 | Liên kết Cu–O của phân tử Cu_2O | [238] |

3.2.3. Ảnh hưởng của hàm lượng Cu đến hiệu suất khử Cu^{2+} và hiệu suất phân hủy caffein

Hiệu suất khử Cu^{2+} và hàm lượng Cu, Cu_2O và CuO trong nano gốc Cu/VCP được thể hiện trong Bảng 3.5. Kết quả chứng minh rằng hàm lượng tiền chất Cu^{2+} ảnh hưởng nhẹ đến hiệu suất khử Cu^{2+} trong cùng điều kiện phản ứng. Khi hàm lượng Cu tăng từ 2% đến 5%, RE giảm từ 98,56% đến 97,27%, điều này có thể là do hàm lượng chất khử cao trong VCP.

Các tính toán từ kết quả trong Bảng 3.5 cũng cho thấy tiền chất CuSO_4 bị khử bởi các hợp chất sinh học trong VCP chủ yếu tạo thành nano Cu_2O với tỷ lệ 73,16%, 73,50%, 71,65% và 70,06% so với 25,40%, 24,85%, 26,28% và 27,22% đối với nano Cu^0 , tương ứng với nồng độ tiền chất Cu^{2+} là 2%, 3%, 4% và 5%. Trong môi trường kiềm, E^0 của cặp $\text{Cu}(\text{OH})_2/\text{Cu}$, $\text{Cu}(\text{OH})_2/\text{Cu}_2\text{O}$ và $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Cu}$ lần lượt là $-0,222$ V, $-0,08$ V và $-0,36$ V [244]. Do đó, quá trình khử Cu^{2+} thành Cu_2O bởi các chất khử sinh học trong VCP thuận lợi hơn về mặt nhiệt động học so với việc khử Cu^{2+} thành Cu^0 .

Có thể quan sát thấy tỷ lệ phần trăm giữa nano Cu_2O và Cu có một sự thay đổi nhỏ, có thể là do sự khác biệt về tỷ lệ tiền chất $\text{Cu}^{2+}/\text{VCP}$, dẫn đến sự thay đổi nồng độ chất khử giữa các mẫu hoặc hoạt động của một số chất chưa biết khác trong VCP ảnh hưởng đến quá trình khử. PP trong môi trường kiềm thể hiện thế oxy hóa

khử trong khoảng từ $-0,58$ V đến $-1,81$ V [66] và RS, chẳng hạn như glucose và fructose, có thể oxy hóa khử xấp xỉ $-0,74$ V và $-0,78$ V [131]. Các giá trị này thấp hơn thế oxy hóa khử của cặp Cu^{2+}/Cu ($0,342$ V), Cu^+/Cu ($0,521$ V) và $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ ($0,153$ V) [245], cho thấy rằng chất khử trong VCP có thể khử Cu^{2+} thành hỗn hợp Cu và Cu_2O . Ngoài ra, điều này có thể được giải thích bởi khả năng khử khác nhau của PP và RS. Nhìn chung, PP và RS có thể khử Cu^{2+} thành Cu [246, 247] hoặc Cu^+ [92, 248] tùy thuộc vào loại chất khử và điều kiện phản ứng. Ngoài ra, lignin trong VCP cũng có thể khử Cu^{2+} thành nano Cu và Cu_2O [47, 248]. Những kết quả này cho thấy VCP là chất khử CuSO_4 hiệu quả với $\text{RE} > 97\%$, dẫn đến sự hình thành các hạt nano gốc Cu lắng đọng trên bề mặt VCP.

Bảng 3.5. Hàm lượng Cu tổng, Cu^0 , Cu^+ , Cu^{2+} 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 | $2,016 \pm 0,063$ | $0,512 \pm 0,052$ | $1,475 \pm 0,037$ | $0,029 \pm 0,003$ | 98,56 |
| 3% Cu | $2,967 \pm 0,056$ | $0,767 \pm 0,028$ | $2,151 \pm 0,033$ | $0,049 \pm 0,005$ | 98,35 |
| 4% Cu | $4,049 \pm 0,045$ | $1,064 \pm 0,038$ | $2,901 \pm 0,032$ | $0,084 \pm 0,006$ | 97,93 |
| 5% Cu | $4,986 \pm 0,09$ | $1,357 \pm 0,124$ | $3,493 \pm 0,06$ | $0,136 \pm 0,008$ | 97,27 |

Hàm lượng caffein của nano gốc Cu/VCP ở nồng độ Cu 2%, 3%, 4% và 5% (Bảng 3.6) được xác định lần lượt là 0,048%, 0,045%, 0,041% và 0,036% (w/w), tương ứng với CE lần lượt là 95,5%, 95,6%, 95,8% và 96,1%. CE có xu hướng tăng theo hàm lượng Cu do hàm lượng hạt nano liên quan đến tốc độ hình thành ROS. Việc sử dụng hạt nano kim loại và oxit kim loại để phân hủy caffein đã được nghiên cứu. Ví dụ, hạt nano kim loại kép Fe/Cu có thể loại bỏ caffein với hiệu suất 86% trong 45 phút [188]. CE của hạt nano nitride cacbon Cu/graphite là 88% [189]. Hạt nano CuO/than hoạt tính đạt hiệu suất phân hủy caffein lên tới 99% trong 24 giờ [190]. Do đó, các hạt nano gốc Cu được tổng hợp trong nghiên cứu này cho thấy CE tương đối cao, có thể là do hàm lượng Cu cao trong nanocomposite dao động từ 2%–5%, cùng với sự hỗ trợ của nhiệt độ. Cơ chế phân hủy caffein của các hạt nano ZnO đã được đề xuất là do sản xuất ROS như $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$, phân hủy caffein thành CO_2 , H_2O

và khoáng chất chứa nito [183, 189, 196]. Sự phân hủy các hợp chất hữu cơ bởi các hạt nano Cu, Ag và Fe được đề xuất là có cơ chế tương tự như phản ứng Fenton [197].

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

| Mẫu | VCP | CE (%) | | | |
|------------------------|------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | 2% Cu | 3% Cu | 4% Cu | 5% Cu |
| Hàm lượng caffeine (%) | 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/vỏ cà phê

Hình 3.10 là ảnh chụp VCP ĐL và các vật liệu nano gốc Cu/VCP ở hàm lượng Cu ~3% (w/w) được tổng hợp ở các pH phản ứng khác nhau.



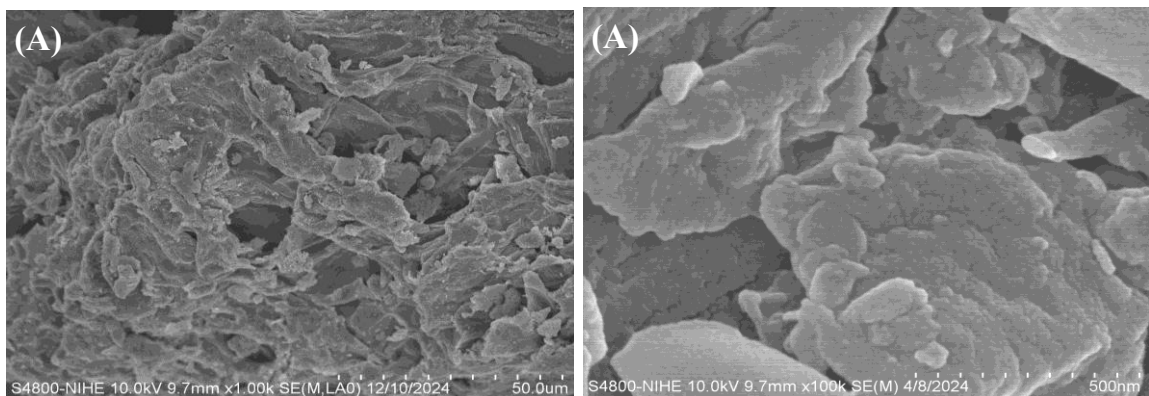
Hình 3.10. Ảnh chụp vỏ cà phê Đlak Lắc và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau

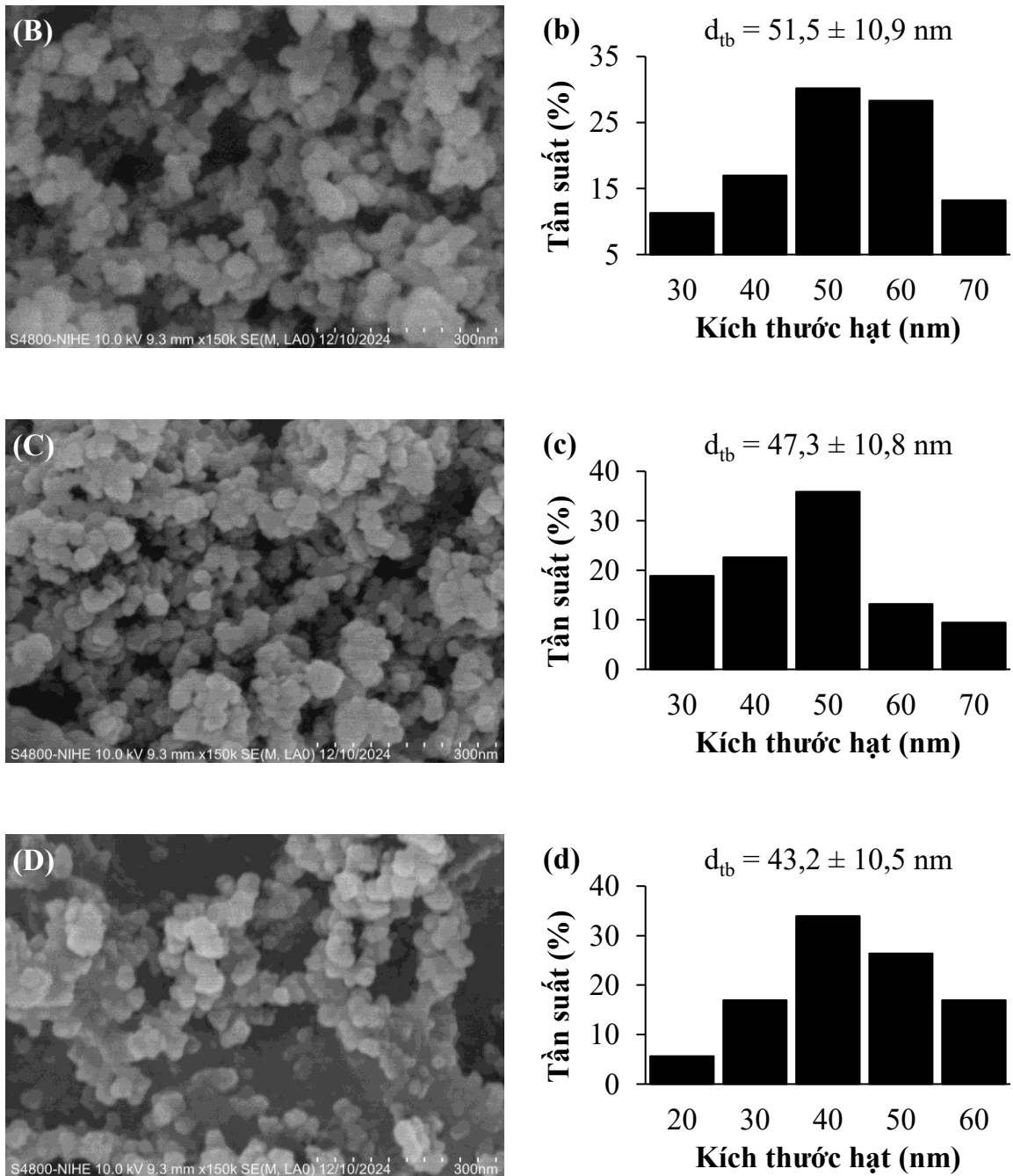
Vật liệu nano gốc Cu/VCP có giá trị pH thực tế đo được là 6,8; 7,7 và 8,6. Giá trị này thấp hơn so với giá trị pH phản ứng là do ion kiềm -OH bị tiêu thụ và chuyển thành Cu_2O . Các giá trị pH nhìn chung phù hợp để ứng dụng trên cây trồng. Lựa chọn phù hợp nhất cho việc ứng dụng làm chất kháng bệnh hại thực vật là pH 7,7 do ở kiềm nhẹ sẽ có lợi cho việc nâng cao pH đất và giảm thiểu bệnh hại. Nếu pH quá cao, vật liệu có thể bám lên lá non khi bón, gây cháy lá.

3.3.1. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến kích thước hạt nano gốc Cu

Ảnh SEM của VCP (Hình 3.11A) bao gồm các tinh thể cellulose vi mô được quan sát thấy có chiều rộng từ 5–10 μm , phù hợp với kết quả trong các nghiên cứu trước đây [110, 116]. Ảnh SEM (Hình 3.11B–D) và sơ đồ phân bố kích thước hạt

(Hình 3.11b–d) của vật liệu nano gốc Cu/VCP cho thấy kích thước trung bình của các hạt nano giảm từ 51,5 xuống 47,3 và 43,2 nm khi pH phản ứng tăng lần lượt từ 8 lên 9 và 10. Sự giảm kích thước này là do khả năng khử tăng cường của các tác nhân khử của VCP trong môi trường kiềm, do thế oxy hóa khử của chúng giảm. Nhìn chung, quá trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP trong môi trường kiềm sử dụng VCP làm chất khử và chất ổn định tạo ra các hạt nano có phân bố kích thước tương đối hẹp, dao động từ 30–68 nm, 28–70 nm và 20–59 nm ở pH tương ứng là 8, 9 và 10. Hàm lượng Cu thu được trong nghiên cứu này tương đối cao so với các phương pháp tổng hợp xanh khác sử dụng chiết xuất thực vật được báo cáo trong những năm gần đây. Duong và cs (2023) đã tổng hợp các hạt nano Cu/Cu₂O bằng cách sử dụng dung dịch CuSO₄ 10 mM và chiết xuất vỏ sầu riêng, tạo ra các hạt nano có kích thước 25–40 nm, với PP và RS đóng vai trò là chất khử chính [249]. Mohamed (2020) đã sử dụng chiết xuất quả chà là không hạt để khử 0,1 g CuSO₄ trong 110 mL dung dịch, tạo thành các hạt nano Cu/Cu₂O với kích thước hạt ~78 nm [58]. Ramesh và cs (2011) đã sử dụng chiết xuất lá lạc (*Arachis hypogaea* L.) để khử 0,665g Cu(CH₃COO)₂·H₂O trong 20 mL, tạo ra các hạt nano Cu₂O có kích thước 30–50 nm [91]. Nhìn chung, hầu hết các phương pháp tổng hợp nano gốc đồng dựa trên chiết xuất thực vật đều sử dụng nồng độ dung dịch muối Cu tương đối thấp và sử dụng phương pháp ly tâm để phân lập hạt nano. Ngược lại, phương pháp sử dụng VCP trực tiếp làm chất khử và chất ổn định cho phép tổng hợp đơn giản một bước vật liệu nano dạng bột có hàm lượng Cu cao, với các ứng dụng tiềm năng trong việc thúc đẩy sự phát triển của cây trồng và kháng mầm bệnh thực vật.





Hình 3.11. Ảnh SEM của vỏ cà phê (A), ảnh SEM và sơ đồ phân bố kích thước hạt của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (B, b), 9 (C, c) và 10 (D, d)

Khi độ pH tăng từ 8 đến 10, kích thước hạt giảm do E_h của các chất khử sinh học trong chiết xuất VCP giảm, cho thấy khả năng khử của chúng được tăng cường (Bảng 3.7). Cụ thể, ở các giá trị pH là 8, 9 và 10, E_h của chiết xuất VCP lần lượt là $-0,025$, $-0,081$ và $-0,140$ V. Baffoun và cs (2015) báo cáo rằng thế năng oxy hóa khử của glucose giảm từ -614 xuống -625 mV khi pH tăng từ 11,40 lên 12,46 [91]. Tương tự, Shenoy và Shetty (2014) đã chứng minh rằng trong môi trường kiềm giàu

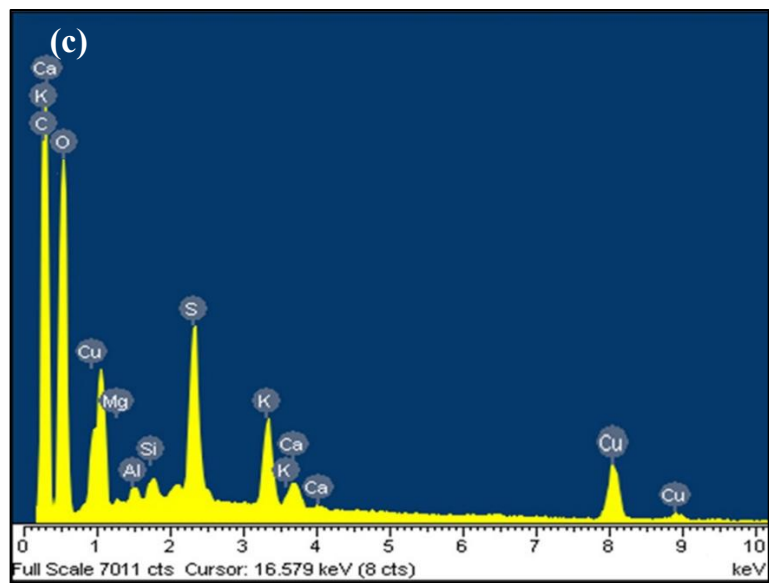
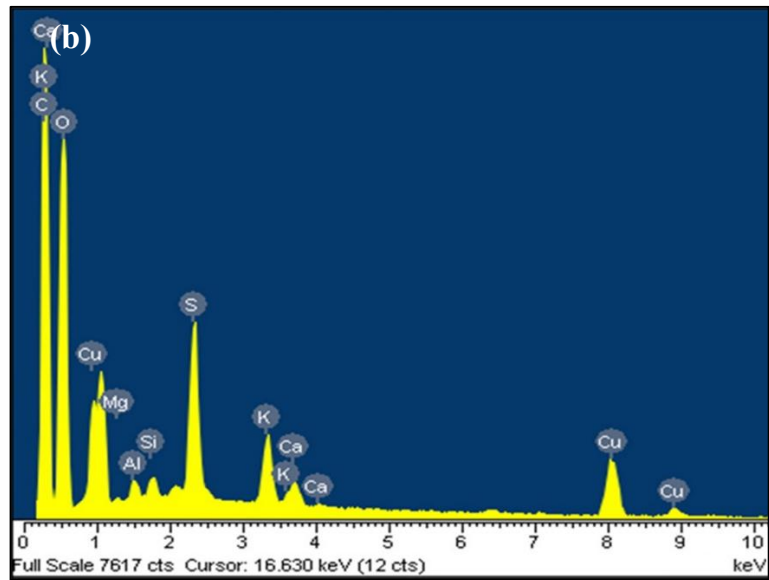
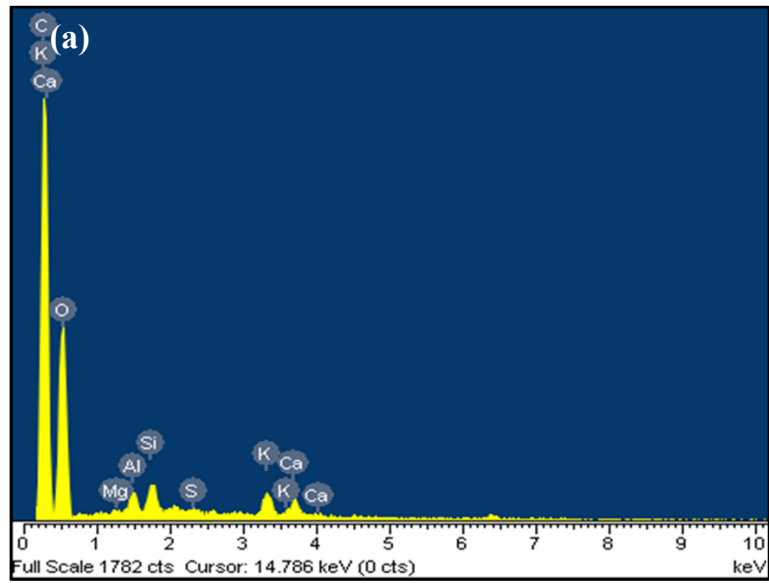
amoniac, thế năng oxy hóa khử của glucose giảm do sự tham gia của ion H^+ , dẫn đến việc tổng hợp các hạt nano Cu nhỏ hơn thông qua quá trình khử phức hợp $Cu(NH_3)_2^{2+}$ [92]. Aragaw và cs (2022) cũng quan sát thấy rằng quá trình oxy hóa aldehyd và glucose giải phóng các ion H^+ trong quá trình tổng hợp các hạt nano Ag thông qua phản ứng Tollens trong amoniac, khiến thế năng oxy hóa khử của các chất khử phụ thuộc vào pH. Nhóm tác giả đã kết luận rằng pH và nhiệt độ càng cao thì thế năng oxy hóa khử càng thấp và quá trình khử càng được đẩy nhanh [88]. Hơn nữa, đối với các chất khử PP và lignin có nguồn gốc thực vật, thế năng oxy hóa khử của cặp $Ar-OH(I)/Ar-O^-$ (Ar là nhóm phenyl) thường nằm trong khoảng từ 0,3 đến 0,8 V trong môi trường axit hoặc trung tính [66, 94]. Trong môi trường kiềm, PP và lignin tồn tại dưới dạng anion, và thế năng oxy hóa khử của cặp $Ar-O^-/Ar-O^{2-}$ giảm đáng kể xuống các giá trị từ $-0,88$ đến $-1,81$ V, do đó làm tăng cường khả năng khử của nó [66, 95]. Thế oxy hóa khử thấp hơn làm tăng tốc độ phản ứng, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tạo mầm nhanh chóng và hình thành một lượng lớn các nano có kích thước nhỏ. Ngược lại, khi chất khử yếu và thế oxy hóa khử cao, tốc độ phản ứng chậm hơn dẫn đến sự kết tụ hạt [88, 96]. Do đó, khi pH tăng từ 8 lên 10, thế oxy hóa khử của các chất khử sinh học trong VCP giảm, điều này có nghĩa là khả năng khử tăng lên, dẫn đến sự hình thành các hạt nano gốc Cu với kích thước nhỏ hơn.

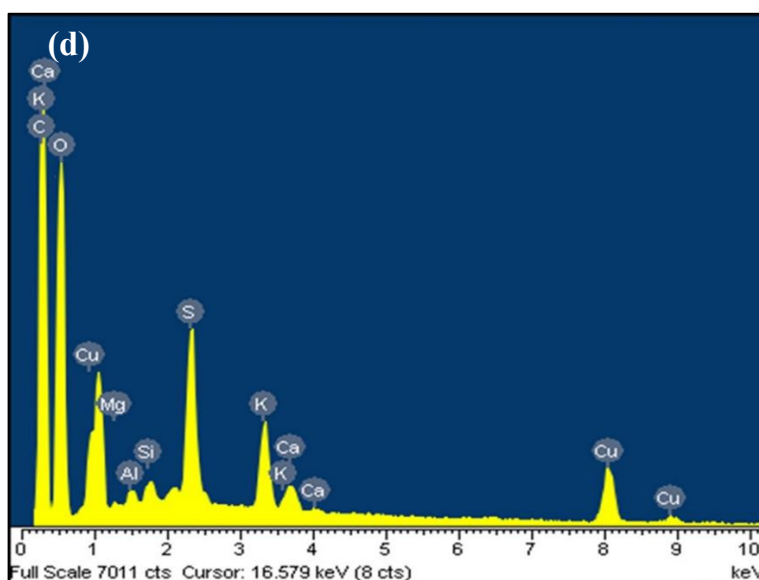
Bảng 3.7. Thế oxy hóa khử của chiết xuất vỏ cà phê ở các giá trị pH khác nhau

| pH phản ứng | 8 | 9 | 10 |
|-------------|----------|----------|----------|
| E_h (V) | $-0,025$ | $-0,081$ | $-0,140$ |

3.3.2. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến tính chất đặc trưng của vật liệu nanocomposite

Phổ EDX và các thành phần nguyên tố của VCP và vật liệu nano gốc Cu/VCP được trình bày trong Hình 3.12 và Bảng 3.8. Các nguyên tố chính trong VCP là C (55,54%) và O (41,87%), với một lượng nhỏ các nguyên tố khác như Mg, Al, Si, v.v. Ngoài các nguyên tố cơ bản của VCP, vật liệu nano gốc Cu/VCP còn chứa Cu với hàm lượng dao động từ 2,98% đến 3,01%.



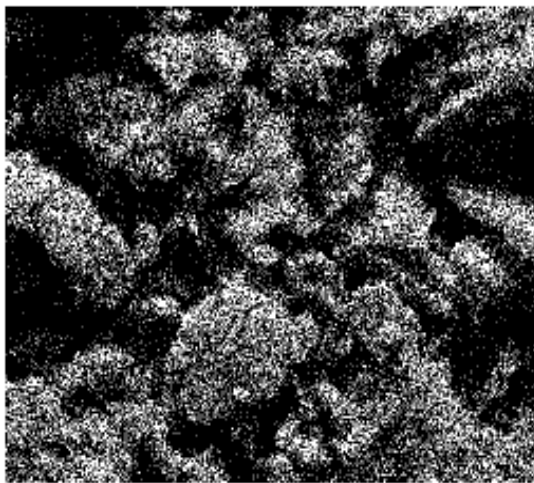


Hình 3.12. Phổ EDX của vỏ cà phê (a) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (b), 9 (c) và 10 (d)

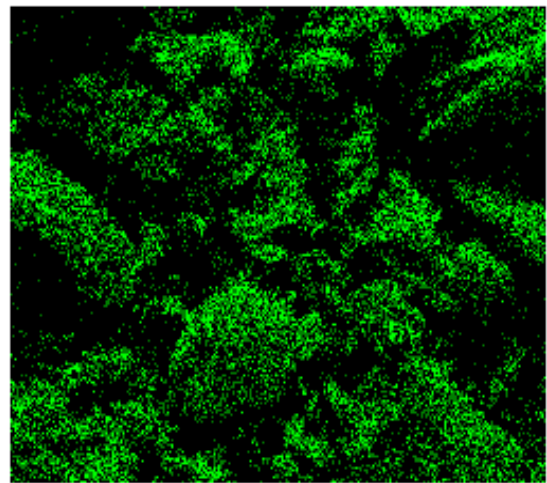
Bảng 3.8. Thành phần các nguyên tố của vỏ cà phê và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các giá trị pH khác nhau

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

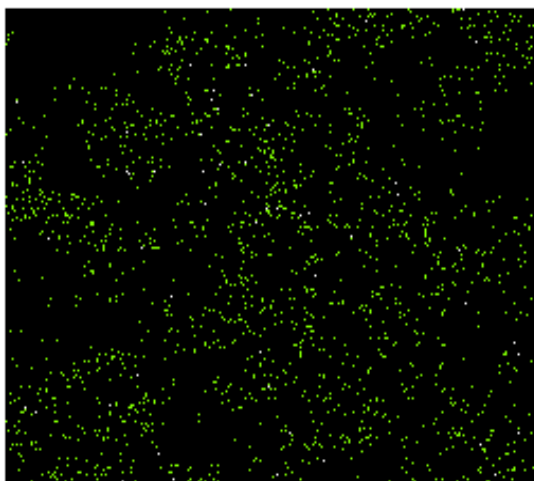
Bản đồ phân bố nguyên tố (SEM-EDX mapping) của VCP Đắc Lắc và vật liệu nano gốc Cu/VCP ở pH 9 được thể hiện trong Hình 3.13 và Hình 3.14. Bản đồ phân bố nguyên tố của VCP Đắc Lắc tương tự như của VCP Lâm Đồng, các nguyên tố C, O, Mg, Al, Si, S, K, Ca phân bố khá đồng đều. Ở cả 03 giá trị pH phản ứng, vật liệu nano gốc Cu/VCP cho thấy nguyên tố Cu phân bố khá đồng đều với các nguyên tố khác của VCP trong vật liệu (bản đồ nguyên tố SEM-EDX mapping của vật liệu nano gốc Cu/VCP ở pH 8 và 10 xem trong phần Phụ lục). Quy trình tổng hợp các hạt nano gốc Cu sử dụng VCP ở môi trường kiềm đã tạo ra vật liệu có sự phân bố đồng đều của hạt nano trong vật liệu.



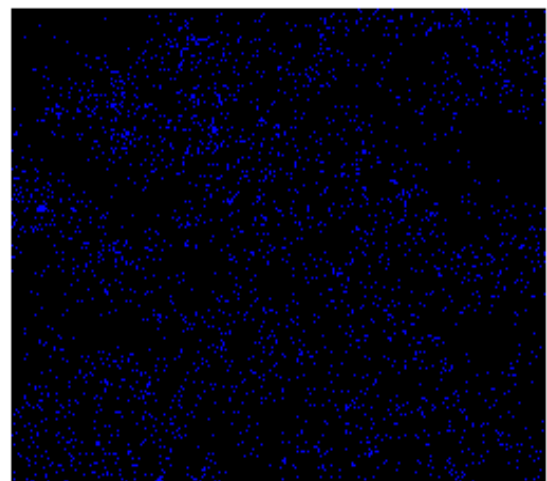
C Ka1_2



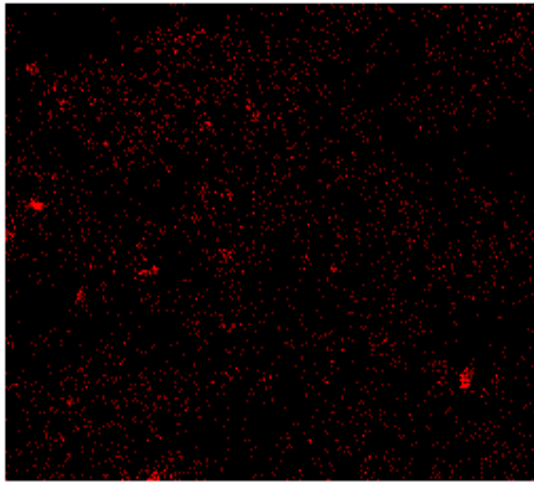
O Ka1



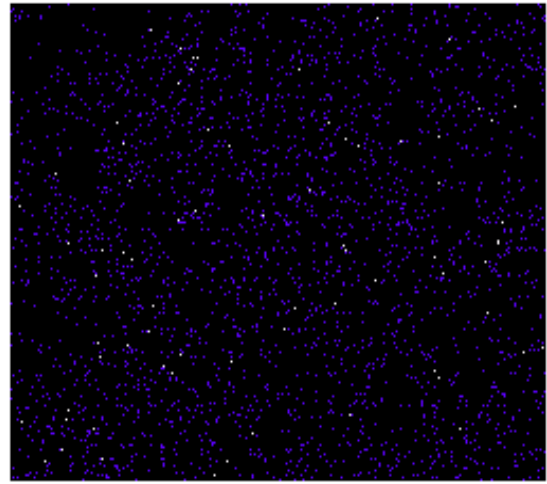
Mg Ka1_2



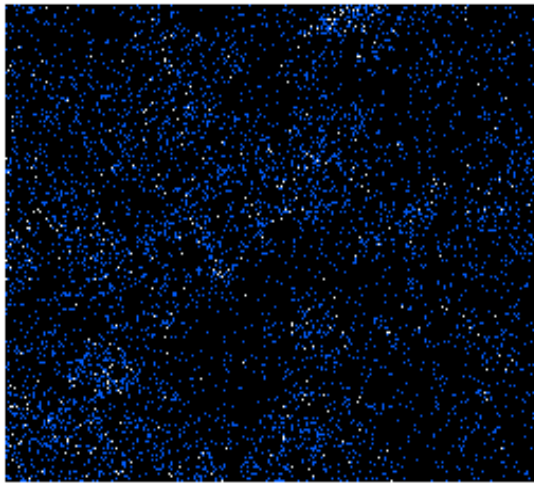
Al Ka1



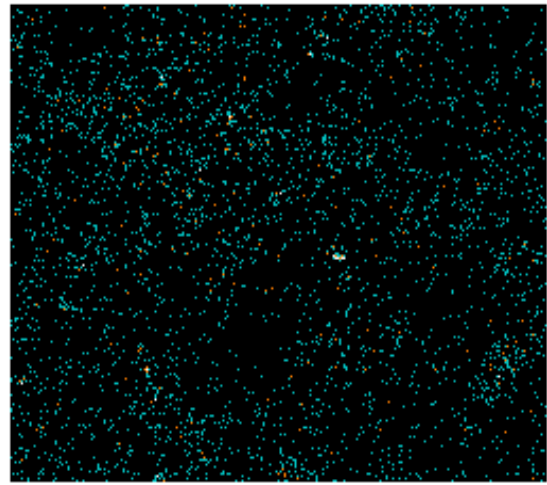
Si Ka1



S Ka1

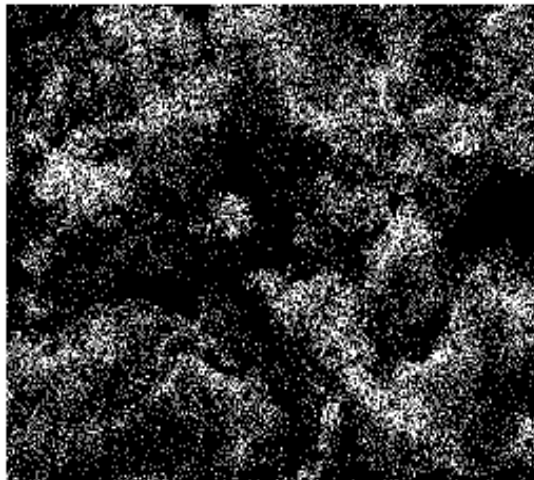


K Ka1

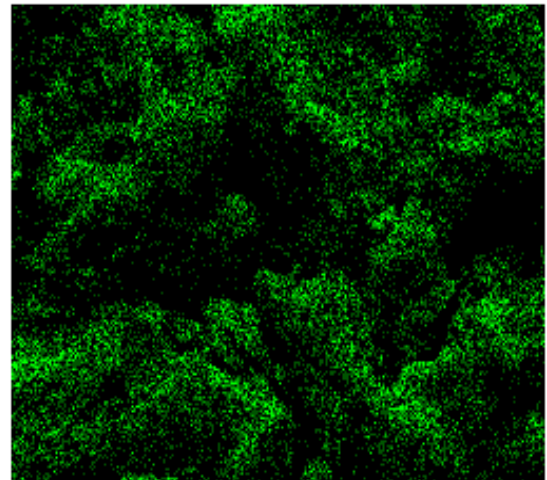


Ca Ka1

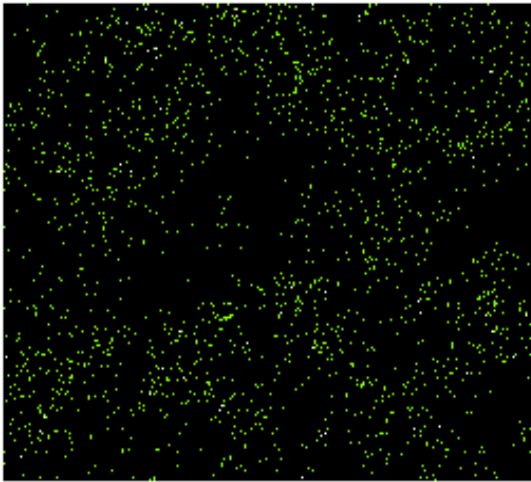
Hình 3.13. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vỏ cà phê Đắk Lắk



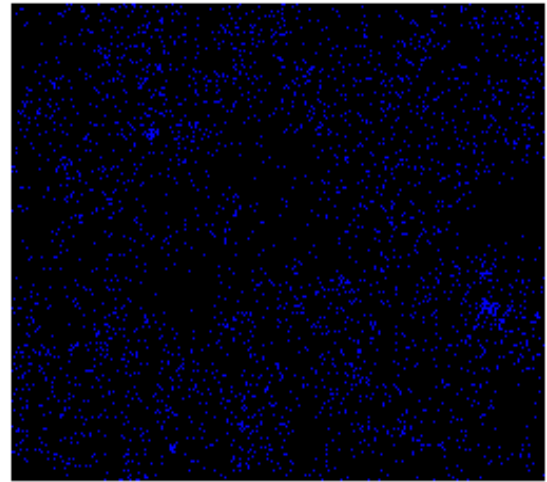
C Ka1_2



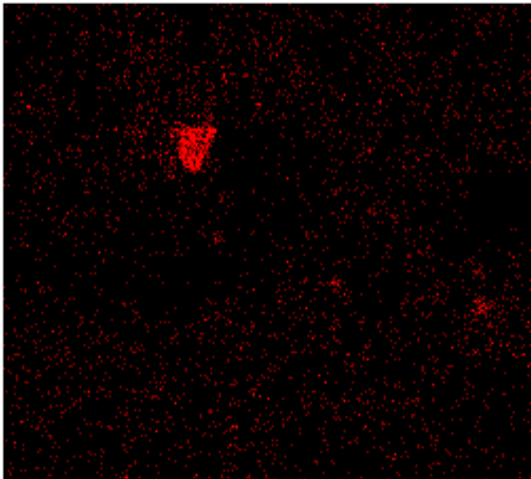
O Ka1



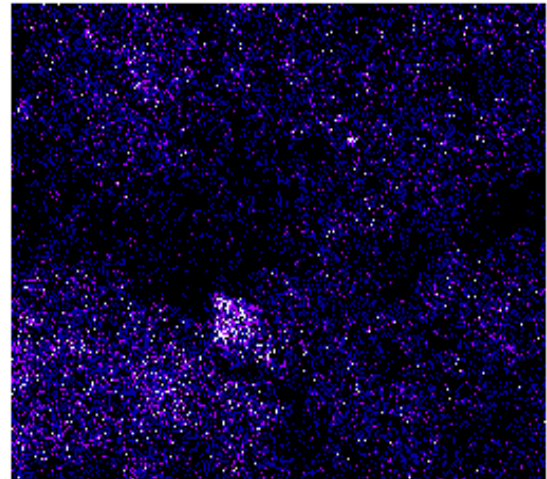
Mg Ka1_2



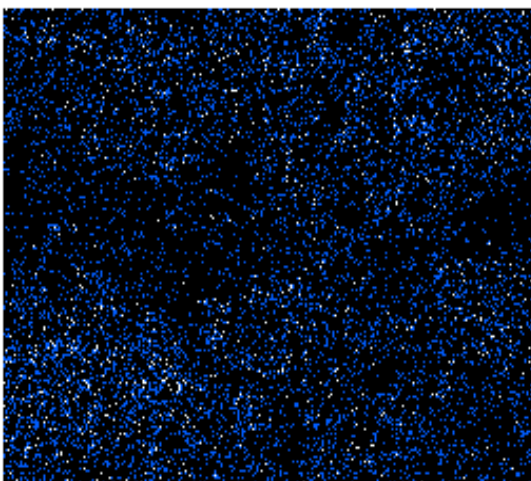
Al Ka1



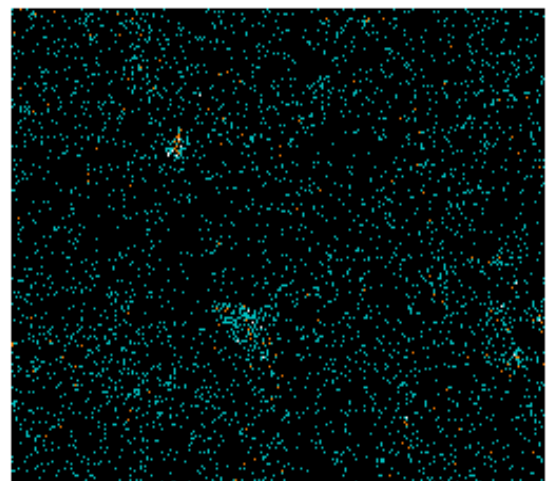
Si Ka1



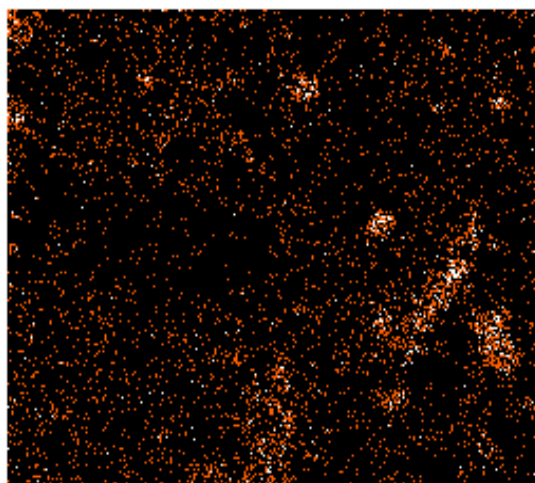
S Ka1



K Ka1



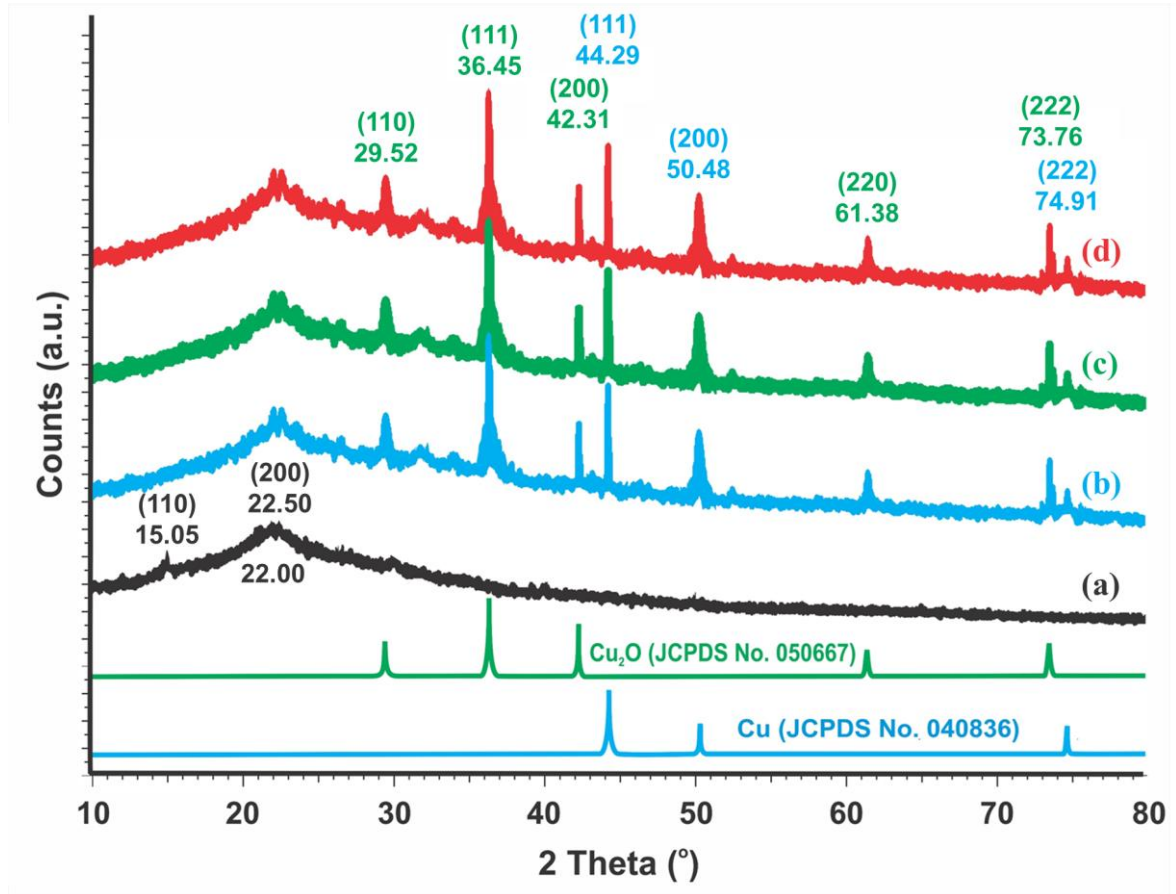
Ca Ka1



Cu Ka1

Hình 3.14. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (pH 9)

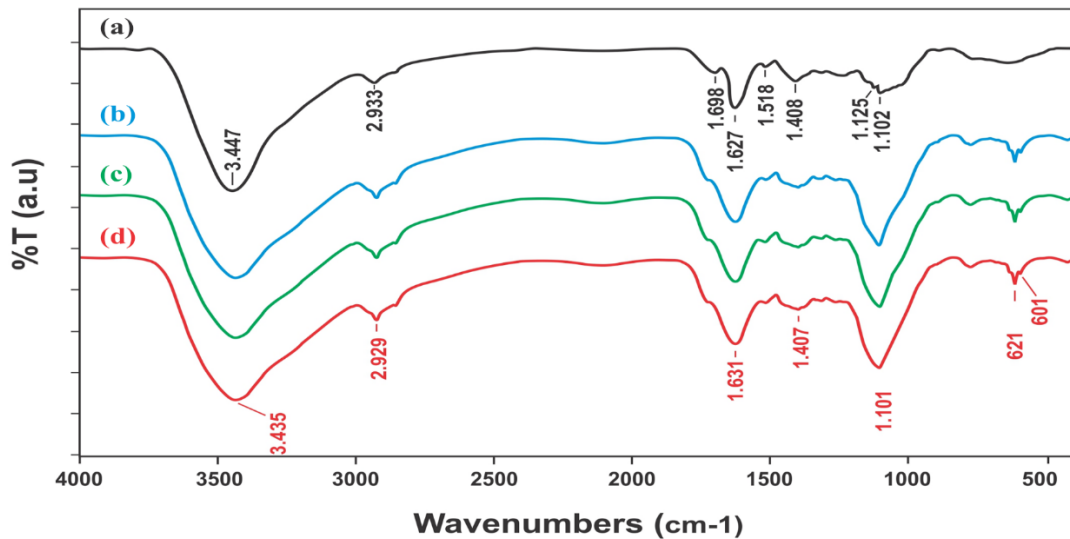
Giản đồ XRD của VCP và vật liệu nano gốc Cu/VCP ở các giá trị pH khác nhau được thể hiện trong Hình 3.15. Hình 3.15a thể hiện một đỉnh cường độ thấp ở $2\theta \sim 15,05^\circ$ và một đỉnh rộng và mạnh hơn ở $2\theta \sim 22,50^\circ$, tương ứng với các mặt phẳng nhiễu xạ (110) và (200) đặc trưng của cấu trúc tinh thể của lignocellulose [250, 251]. Ngoài ra, đỉnh ở $2\theta \sim 22,00^\circ$ được cho là do sự hiện diện của silica vô định hình trong cấu trúc thực vật [234, 252]. Hình 3.15b–d đều thể hiện các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của nano Cu^0 và Cu_2O . Cụ thể, các đỉnh ở $2\theta \sim 44,29^\circ$, $50,48^\circ$ và $74,91^\circ$ tương ứng với các mặt phẳng (111), (200) và (222) của Cu^0 theo dữ liệu JCPDS 040836 [235]. Các đỉnh ở $2\theta \sim 29,52^\circ$, $36,45^\circ$, $42,31^\circ$, $61,38^\circ$ và $73,76^\circ$ tương ứng với các mặt phẳng (110), (111), (200), (220) và (311) của Cu_2O , phù hợp với dữ liệu JCPDS 050667 của Cu_2O [236]. Những kết quả này đã xác nhận sự tổng hợp thành công các hạt nano Cu và Cu_2O trên chất nền VCP ở các giá trị pH kiềm khác nhau. Đáng chú ý, các giản đồ XRD của vật liệu nano gốc Cu/VCP được tổng hợp ở các giá trị pH khác nhau cũng không cho thấy sự xuất hiện đỉnh đặc trưng của CuO .



Hình 3.15. Giảm đồ XRD của mẫu vỏ cà phê (a) và nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (b), 9 (c) và 10 (d)

Phổ FTIR của VCP trong Hình 3.16a cho thấy các đỉnh đặc trưng tại 3447 và 3430 cm^{-1} (nhóm $-\text{OH}$ của cellulose, hemicellulose và lignin) [116], 2934 và 2933 cm^{-1} (dao động C–H kéo dài đối xứng và không đối xứng) [242], 1698 và 1627 cm^{-1} (nhóm C=O của ketone và nhóm carbonyl) [237], 1518 và 1408 cm^{-1} (cấu trúc thom của lignin) [237, 242], 1125 và 1102 cm^{-1} (nhóm Si–O–Si của SiO_2 trong VCP) [243].

Phổ FTIR của nano gốc Cu/VCP ở Hình 3.16b–d vẫn xuất hiện các đỉnh đặc trưng của VCP. Tuy nhiên, đỉnh ở 3447 cm^{-1} đối với nhóm $-\text{OH}$ chuyển sang số sóng thấp hơn là 3435 cm^{-1} , cho thấy tương tác tĩnh điện giữa các nhóm $-\text{OH}$ của VCP và Cu, Cu_2O và CuO , dẫn đến sự suy yếu của liên kết hydro nội phân tử. Đáng chú ý, đỉnh ở 1698 cm^{-1} , đặc trưng của nhóm andehit biến mất, có thể là do phản ứng của RS với các ion Cu^{2+} . Hơn nữa, các đỉnh mới xuất hiện ở 621 và 601 cm^{-1} , tương ứng với các liên kết Cu–O trong Cu_2O . Những kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây [253, 254].



Hình 3.16. Phổ FTIR của vỏ cà phê (a) và vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở các pH phản ứng khác nhau: 8 (b), 9 (c) và 10 (d)

3.3.3. Ảnh hưởng của pH phản ứng đến hiệu suất khử Cu^{2+} và hiệu suất phân hủy caffein

Kết quả trong Bảng 3.9 cho thấy RE tăng từ 98,37% ở giá trị pH là 8 lên 98,80% và 99,19% ở giá trị pH là 9 và 10 tương ứng. Như đã thảo luận ở trên, sự giảm thế oxy hóa khử của các chất khử trong VCP đã tăng cường khả năng khử, đẩy nhanh tốc độ và hiệu quả phản ứng. Kết quả nghiên cứu còn cho thấy rằng, khi độ pH tăng, hàm lượng Cu trong các vật liệu nano tổng hợp cũng tăng lên, với hàm lượng Cu^0 ở pH 8 là 0,743%, tăng lên 0,754% ở pH 9 và 0,779% ở pH 10. Mặt khác, hàm lượng Cu^0 có xu hướng tăng theo giá trị của pH phản ứng do thế oxy hóa khử của chất khử tăng, ưu tiên oxy hóa Cu^{2+} thành Cu^0 do cặp này có thế oxy hóa khử lớn. Thế oxy hóa khử chuẩn (E^0) của cặp $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ và $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^0$ lần lượt là 0,153 và 0,342 V [245]. Do đó, để quá trình khử Cu^{2+} thành Cu và Cu_2O diễn ra, các chất khử như RS và PP cần có thế năng oxy hóa khử thấp hơn so với cặp oxy hóa khử $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ và $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^0$. Quá trình khử Cu^{2+} thành Cu_2O có thể tiếp tục thành Cu^0 nếu chất khử còn lại có thế oxy hóa khử thấp hơn thế của cặp Cu^+/Cu^0 ($E^0 = 0,521$ V) [245]. Hàm lượng Cu^{2+} dưới dạng CuO trong các vật liệu thấp, dao động từ 0,024% đến 0,049%. Đây là lý do tại sao không quan sát thấy các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của CuO trong phổ XRD.

Bảng 3.9. Hàm lượng Cu tổng, Cu⁰, Cu⁺, Cu²⁺ và hiệu suất khử Cu²⁺ 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 các vật liệu gốc Cu/VCP (Bảng 3.10) có xu hướng giảm khi giá trị pH phản ứng tăng. Cụ thể, nồng độ caffein giảm xuống còn 0,049, 0,042 và 0,028% (w/w), tương ứng với CE là 94,80, 95,54 và 97,03% khi pH tăng lên 8, 9 và 10. Đáng chú ý, vật liệu nano gốc Cu/VCP được tổng hợp ở pH 10 cho thấy CE cao hơn đáng kể so với khi tổng hợp ở pH 8 và 9. Như vậy, trong quá trình điều chế vật liệu nano gốc Cu/VCP, giá trị pH cao hơn dẫn đến kích thước hạt nhỏ hơn, từ đó tăng cường sản xuất ROS và do đó cải thiện CE, như đã được chứng minh trong nghiên cứu này. Việc phân hủy caffein có trong VCP, một chất gây ô nhiễm môi trường có tác động độc hại đến thực vật, trong quá trình tổng hợp nano gốc Cu/VCP là rất quan trọng để nâng cao tiềm năng ứng dụng của nó như một loại phân bón và thuốc diệt nấm trong nông nghiệp.

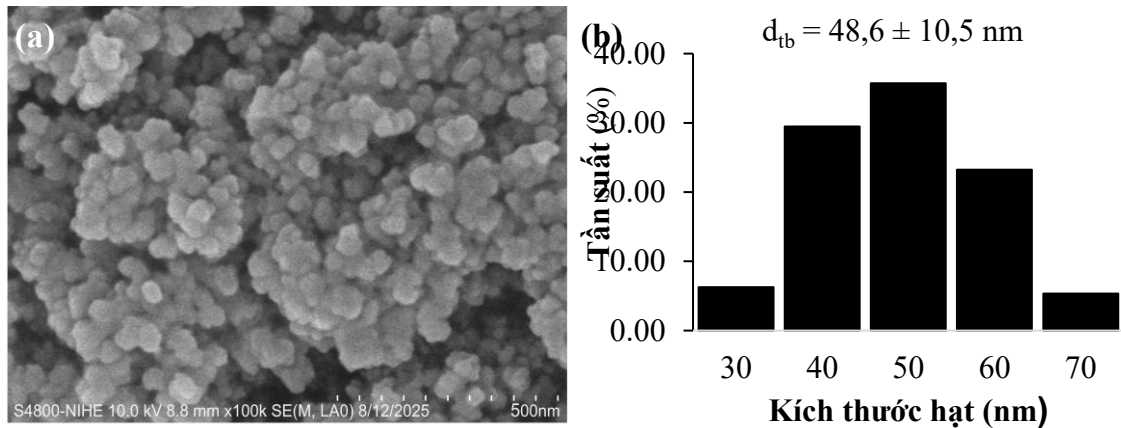
Bảng 3.10. Hàm lượng và hiệu suất phân hủy caffein phụ thuộc vào pH phản ứng

| 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/vỏ cà phê theo thời gian

Ở nội dung này, chúng tôi nghiên cứu độ bền của vật liệu nano gốc Cu/VCP theo thời gian bằng phương pháp xác định sự thay đổi kích thước hạt và hàm lượng Cu tổng, Cu⁰, Cu⁺, Cu²⁺ trong vật liệu sau 12 tháng lưu trữ. Kết quả đo kích thước hạt từ ảnh SEM trong Hình 3.17 cho thấy các hạt nano gốc Cu/VCP trong mẫu tổng

hợp (3% Cu ở pH 9), sau thời gian bảo quản 12 tháng thì kích thước hạt ban đầu từ ~47 nm tăng lên 48,6 nm. Như vậy, kích thước hạt của vật liệu nano gốc Cu/VCP hầu như không thay đổi theo thời gian. Điều này có thể được giải thích do vật liệu ở trạng thái khô (được sấy khô ở 105 °C trong 30 phút) nên không có hiện tượng sa lắng hay sự phân chia pha gây ra sự kết tụ tạo thành hạt nano có kích thước lớn.



Hình 3.17. Ảnh SEM của các hạt nano gốc Cu/vỏ cà phê sau 12 tháng lưu trữ

Kết quả phân tích thành phần Cu tổng, Cu⁰, Cu⁺, Cu²⁺ trong vật liệu sau 12 tháng lưu trữ so với mẫu ban đầu được trình bày trong Bảng 3.11. Hàm lượng Cu tổng, Cu⁰, Cu⁺, Cu²⁺ trong vật liệu hầu như không thay đổi, điều này có thể là do sai số phân tích. Theo tính toán của chúng tôi, khi hàm lượng Cu trong vật liệu từ 2%–5% thì mẫu vẫn còn dư chất khử nên khó bị oxy hóa. Kết quả này cũng chứng minh sinh khối VCP là vật liệu thích hợp, có khả năng ổn định và bảo vệ hạt nano gốc Cu. Mặt khác, trạng thái của vật liệu cũng được duy trì về kết cấu, màu sắc. Như vậy, nano gốc Cu/VCP là vật liệu có độ ổn định cao và có tiềm năng sử dụng làm chất kháng bệnh hại, đồng thời bổ sung dinh dưỡng vi lượng cho cây trồng.

Bảng 3.11. Hàm lượng Cu tổng, Cu⁰, Cu⁺, Cu²⁺ trong vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê sau 12 tháng lưu trữ

| Nano gốc Cu/VCP | Hàm lượng Cu tổng (%) | Hàm lượng Cu ⁰ (%) | Hàm lượng Cu ⁺ (%) | Hàm lượng Cu ²⁺ (%) |
|-----------------|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Ban đầu | 2,967 ± 0,056 | 0,767 ± 0,028 | 2,151 ± 0,033 | 0,049 ± 0,005 |
| Sau 12 tháng | 2,997 ± 0,073 | 0,76 ± 0,055 | 2,18 ± 0,024 | 0,057 ± 0,004 |

3.5. Nghiên cứu dung lượng khử Cu^{2+} của các chất khử sinh học trong vỏ cà phê

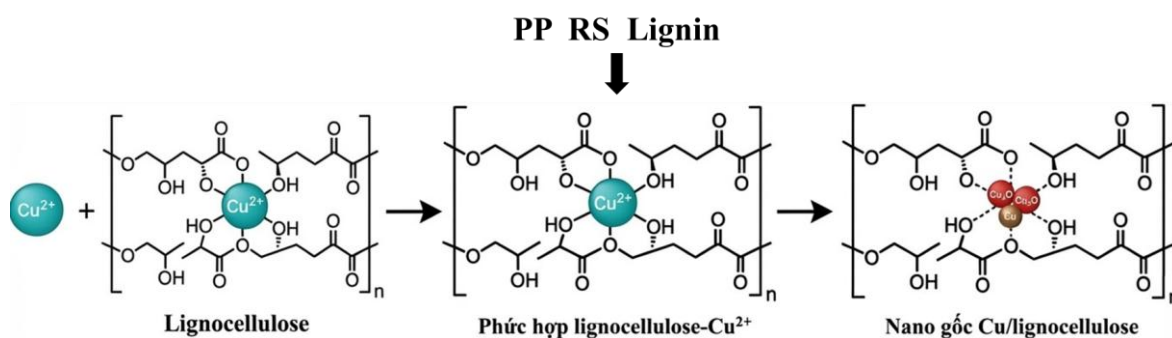
Lượng PP và RS chiết từ 100g VCP tại pH 9 sau thời gian 30 phút (kết quả trong Bảng 3.1) được tính toán tương đương với $\sim 51,7$ mmol axit gallic và $\sim 46,3$ mmol D-glucose. Theo phương trình tỷ lượng trao đổi 01 electron (1.7) và (1.11) thì có thể khử được ~ 98 mmol Cu^{2+} ($\sim 6,27$ g). Như vậy, theo lý thuyết thì 100 g VCP có thể khử được 6,27 g Cu^{2+} vì ngoài PP và RS, một số phân tử lignin hòa tan trong kiềm có thể oxy hóa khử nhỏ cũng có thể tham gia phản ứng khử. Tuy nhiên, phản ứng khử Cu^{2+} bằng chất khử sinh học có thể xảy ra phản ứng trao đổi 01 hoặc 02 electron. Thế oxy hóa khử của chất khử hoặc chất oxy hóa còn phụ thuộc vào hàm lượng các chất tham gia phản ứng nên hiệu suất phản ứng phụ thuộc vào điều kiện phản ứng nên cần phải tiến hành thực nghiệm.

Kết quả thực nghiệm xác định dung lượng khử của các chất khử sinh học trong VCP để khử Cu^{2+} để hiểu biết có thể tổng hợp được loại vật liệu nanocomposite có thể chứa hàm lượng Cu tối đa bao nhiêu với RE cao (giá định $\geq 97\%$) được thể hiện trong Bảng 3.12. Số liệu thực nghiệm cho thấy các chất khử sinh học trong VCP thể hiện khả năng khử Cu^{2+} hiệu quả với RE đạt từ 93,63% đến 97,09% trong khoảng hàm lượng Cu khảo sát từ 5,5% đến 7,0%. Ở mức nạp Cu 5,5%, hàm lượng Cu^{2+} chỉ chiếm 0,160% tương ứng với RE đạt 97,09%. Khi tăng hàm lượng Cu lên 6,0%–7,0%, hàm lượng Cu^{2+} dư tăng dần từ 0,183%–0,451% và RE giảm từ 96,91% xuống 93,63%. Xu hướng này cho thấy dung lượng khử của các chất khử sinh học trong VCP đang tiệm cận giới hạn bão hòa. Đáng chú ý, khi tăng hàm lượng Cu lên 7,0%, hàm lượng Cu^{2+} tăng đáng kể, tương ứng với RE đạt $< 95\%$, cho thấy khả năng khử của các chất khử sinh học trong VCP không đủ để khử hoàn toàn lượng Cu^{2+} ở nồng độ cao, hoặc có thể do khả năng hấp phụ và neo giữ các hạt nano của lignocellulose giảm do lượng VCP giảm. Ngoài ra, hàm lượng Cu^+ ở các mẫu đạt $\sim 65\%$ – 69% và giảm dần khi tăng hàm lượng Cu, cho thấy các chất khử sinh học trong VCP ưu tiên phản ứng khử Cu^{2+} thành Cu^+ (Cu_2O). Như vậy, VCP Robusta sử dụng trong luận án này sử dụng hiệu quả làm chất khử và chất ổn định trong tổng hợp nano gốc Cu khi hàm lượng Cu dao động trong khoảng 2,0%–5,5% (RE $> 97\%$).

Bảng 3.12. Hàm lượng Cu tổng, Cu⁰, Cu⁺, Cu²⁺ và hiệu suất khử Cu²⁺ 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 (%) |
|-----------------|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|
| 5,5% Cu | 5,500 ± 0,045 | 1,537 ± 0,041 | 3,803 ± 0,051 | 0,160 ± 0,003 | 97,09 |
| 6,0% Cu | 5,940 ± 0,012 | 1,687 ± 0,038 | 4,070 ± 0,055 | 0,183 ± 0,006 | 96,91 |
| 6,5% Cu | 6,565 ± 0,094 | 1,861 ± 0,170 | 4,409 ± 0,089 | 0,295 ± 0,010 | 95,51 |
| 7,0% Cu | 7,070 ± 0,091 | 2,011 ± 0,086 | 4,609 ± 0,024 | 0,451 ± 0,021 | 93,63 |

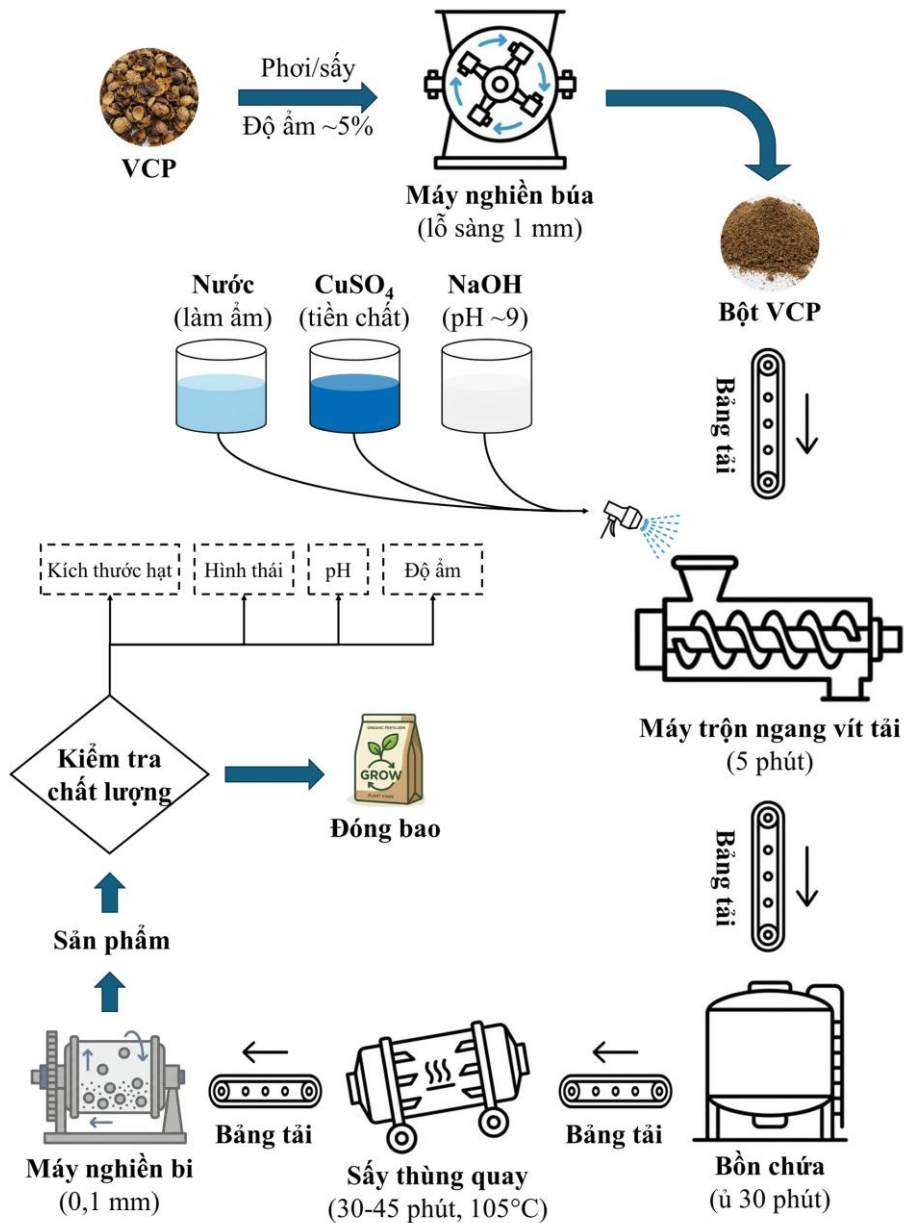
Cơ chế khử và ổn định nano gốc Cu của VCP được đề xuất dựa trên cấu trúc lignocellulose và sự hiện diện của các chất khử sinh học PP, RS và lignin (Hình 3.18). Trong giai đoạn đầu, Cu²⁺ được cố định thông qua tương tác phối trí với các nhóm chức -OH và -COO⁻ phân bố trên mạch lignocellulose, hình thành phức hợp lignocellulose-Cu²⁺. Tiếp theo, các hợp chất có hoạt tính khử sinh học trong VCP đóng vai trò là tác nhân khử Cu²⁺ thành các dạng Cu hóa trị thấp hơn, bao gồm Cu₂O và Cu⁰ ở kích thước nano. Các hạt nano gốc Cu sau khi hình thành được ổn định trong mạng lưới lignocellulose thông qua tương tác tĩnh điện và liên kết phối trí với các nhóm chức bề mặt, qua đó hạn chế hiện tượng kết tụ, đồng thời góp phần nâng cao độ bền cấu trúc và tính ổn định của hệ composite.



Hình 3.18. Cơ chế khử và ổn định nano gốc Cu của VCP

3.6. Xây dựng quy trình sản xuất vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

Dựa trên kết quả nghiên cứu, xác định pH phù hợp (pH ~9) để tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP có hoạt tính phù hợp cho ứng dụng nông nghiệp, một quy trình công nghệ trên thiết bị được đề xuất theo sơ đồ trong Hình 3.19.



Hình 3.19. Quy trình sản xuất vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê quy mô pilot

Chuẩn bị nguyên liệu VCP thô thông qua công đoạn phơi/sấy để đạt độ ẩm khoảng 5%, sau đó được nghiền mịn bằng máy nghiền búa với kích thước lỗ sàng 1 mm thu được bột VCP đồng nhất. Bột VCP được vận chuyển tự động bằng hệ thống băng tải vào máy trộn ngang dạng vít tải, tại đây các tác nhân phản ứng bao gồm nước làm ẩm, dung dịch CuSO₄ (tiền chất Cu²⁺) và dung dịch NaOH 2% (dùng để điều chỉnh pH phản ứng ~9) được định lượng chính xác và phun đồng bộ vào hỗn hợp. Quá trình trộn kéo dài 5 phút nhằm tạo hỗn hợp đồng nhất.

Hỗn hợp sau trộn được chuyển tiếp vào một bồn chứa liệu để thực hiện giai đoạn ủ phản ứng trong thời gian 30 phút, cho phép quá trình hấp phụ, khử và hình thành các hạt nano gốc Cu neo giữ trên chất ổn định VCP diễn ra hoàn toàn.

Tiếp theo, vật liệu được đưa vào hệ thống sấy thùng quay với tác nhân sấy là khí nóng ở nhiệt độ 105 °C trong khoảng thời gian từ 30 đến 45 phút để loại bỏ hoàn toàn lượng ẩm dư, độ ẩm sản phẩm cuối cùng $\leq 2\%$.

Sản phẩm khô được vận chuyển và lưu chứa tại bồn thành phẩm. Trước khi đóng gói, vật liệu Cu/VCP phải trải qua công đoạn kiểm soát chất lượng, bao gồm phân tích hình thái và kích thước hạt, đo pH, xác định độ ẩm và quan sát đặc tính màu sắc đặc trưng nhằm đảm bảo các tiêu chuẩn chất lượng và hoạt tính. Quy trình này được thiết kế với tính khả thi cao, có khả năng tự động hóa và mở rộng, tạo tiền đề cho việc sản xuất vật liệu phục vụ các thử nghiệm ứng dụng thực tiễn trong nông nghiệp.

Nhận xét về kết quả tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP bằng phương pháp hóa học xanh:

Đã nghiên cứu xây dựng quy trình tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP sử dụng sinh khối VCP làm chất khử và chất ổn định với hàm lượng Cu khá cao từ 2% đến 5% ở pH từ 8 đến 10, không phải tách dịch chiết chất khử sinh học ra khỏi hỗn hợp.

Đã chứng minh và xác định loại chất khử trong sinh khối VCP thực hiện phản ứng khử Cu^{2+} chủ yếu là PP, RS và lignin hòa tan trong dung dịch.

Hạt nano gốc Cu trong vật liệu chủ yếu là dạng Cu_2O và Cu^0 , kích thước hạt phụ thuộc tỷ lệ thuận với hàm lượng tiền chất CuSO_4 (tăng từ 40,4 đến 62,6 nm khi hàm lượng Cu tăng từ 2% đến 5%) và tỷ lệ nghịch với pH phản ứng (giảm từ 55,1 đến 43,2 nm khi pH phản ứng từ 8 đến 10). Quá trình phản ứng tổng hợp vật liệu nano gốc Cu/VCP đồng thời xảy ra quá trình phân hủy độc tố thực vật caffein với hiệu suất đạt trên 95,5%.

Vật liệu nano gốc Cu/VCP có độ ổn định cao sau 12 tháng lưu trữ, thể hiện qua kích thước hạt và hàm lượng Cu^0 , Cu^+ , Cu^{2+} thay đổi không đáng kể. VCP với hàm lượng lignocellulose cao chứa nhiều nhóm chức hoạt động là khuôn mẫu hữu hiệu để ổn định hạt nano gốc Cu nên có tiềm năng sử dụng làm chất mang trong tổng hợp hạt nano giàu điện tử.

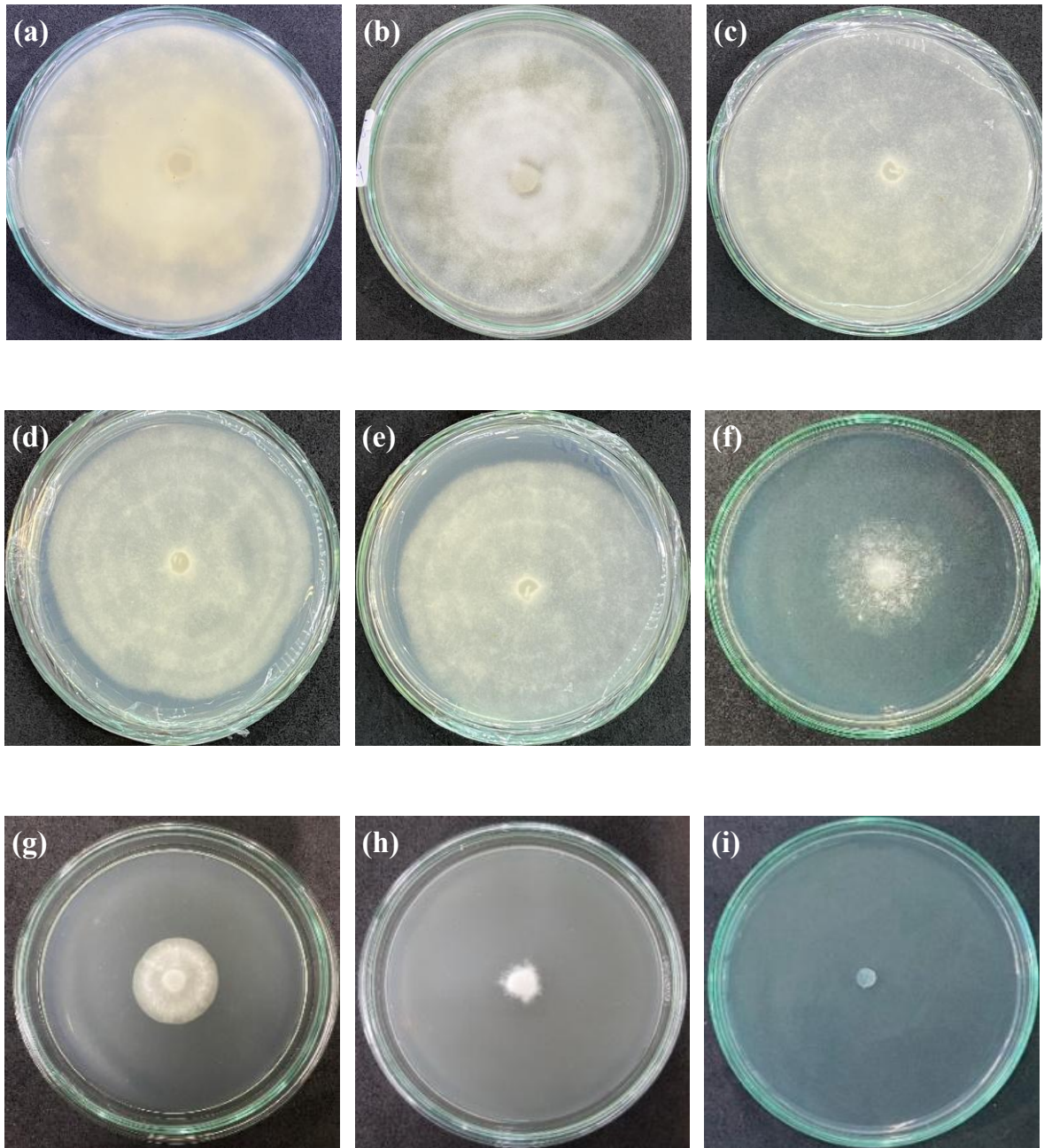
CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU HIỆU LỰC KHÁNG NẤM, TUYẾN TRÙNG HẠI THỰC VẬT VÀ ĐỘC TÍNH CỦA VẬT LIỆU NANO GỐC Cu/VỎ CÀ PHÊ

Chương này trình bày kết quả kháng nấm *P. capsici*, *F. oxysporum* và tuyến trùng *M. incognita* trên cây cà phê của vật liệu nano gốc Cu/VCP. Độc tính thực vật đối với sự nảy mầm của hạt đậu xanh, độc tính cấp LD₅₀ và nhạy cảm da trên chuột nhắt trắng cũng đã được nghiên cứu. Các kết quả này nhằm định hướng ứng dụng vật liệu làm chất kháng bệnh hại thực vật trong môi trường đất, thay thế các loại thuốc BVTV tổng hợp hữu cơ. Vật liệu nano gốc Cu/VCP có hàm lượng Cu 3% (w/w), kích thước hạt trung bình ~47 nm được sử dụng trong nghiên cứu.

4.1. Hiệu lực *in vitro* kháng nấm *Phytophthora capsici*

Kết quả thí nghiệm *in vitro* về hiệu lực kháng nấm *P. capsici* được thể hiện trong Hình 4.1 và Bảng 4.1. Kết quả cho thấy tản nấm trong nghiệm thức đối chứng đã lấp đầy đĩa petri sau 07 ngày ủ. Kết quả thể hiện trong Bảng 4.1 chỉ ra rằng nghiệm thức khuếch tán VCP ở nồng độ 833 và 1.167 mg/L không thể hiện bất kỳ hoạt tính kháng nấm nào, trong khi ở nồng độ cao hơn là 1.500 và 1.833 mg/L, hoạt tính kháng nấm thể hiện ở mức thấp lần lượt là 10,93% và 14,81%. Như đã biết, PP có hoạt tính kháng khuẩn đối với cả vi khuẩn gram dương và gram âm [255, 256]. Ngoài ra, PP còn cho thấy khả năng ức chế một số loại nấm như *Candida famata*, *Candida utilis*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* và *Candida neoformans* [257, 258]. Hợp chất PP trong mẫu VCP được sử dụng trong nghiên cứu này cũng có khả năng kháng nấm *P. capsici* nhưng cho hiệu quả thấp.

Đối với vật liệu nano gốc Cu/VCP, HLUC nấm *P. capsici* tăng theo hàm lượng Cu. Cụ thể, trong các nghiệm thức khuếch tán vật liệu nano gốc Cu/VCP ở nồng độ 25 và 35 mg/L Cu có HLUC tương đối cao, lần lượt là 58,22% và 65,33%. Khi hàm lượng Cu tăng lên 45 và 55 mg/L, HLUC đạt lần lượt là 85,22% và 93,52%. Như vậy, vật liệu nano gốc Cu/VCP có hiệu quả chống lại nấm *P. capsici* ở nồng độ 55 mg/L Cu, ức chế gần như hoàn toàn sự phát triển của nấm.



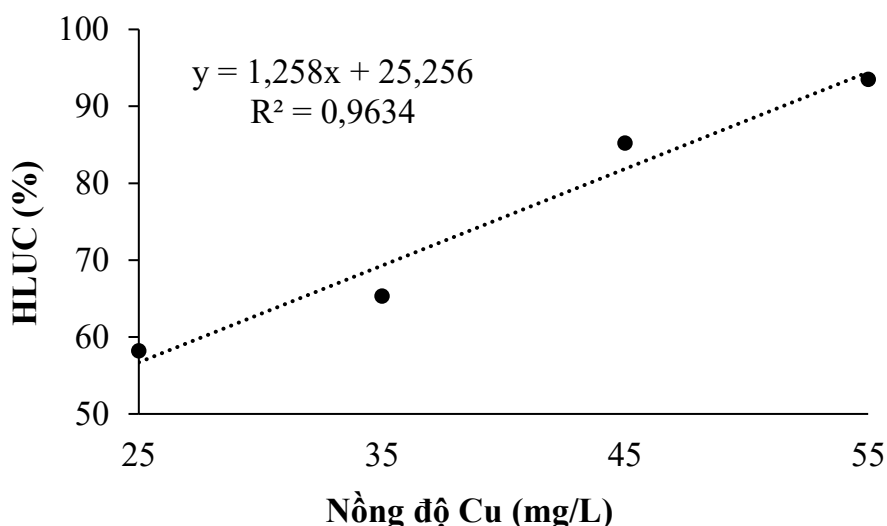
Hình 4.1. Sự phát triển của nấm *Phytophthora capsici* ở các nghiệm thức sau 07 ngày nuôi cấy: Đối chứng (a); vỏ cà phê ở nồng độ 833 mg/L (b), 1167 mg/L (c), 1500 mg/L (d), 1833 mg/L (e); vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở nồng độ Cu 25 mg/L (f), 35 mg/L (g), 45 mg/L (h) và 55 mg/L (i)

Bảng 4.1. Hiệu lực *in vitro* kháng nấm *Phytophthora capsici* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| Nghiệm thức | Đường kính tản nấm (cm) | HLUC (%) |
|------------------------------|--------------------------|----------|
| Mẫu đối chứng | 9,00 ± 0,00 ^a | 0,00 |
| VCP (833 mg/L) | 9,00 ± 0,00 ^a | 0,00 |
| VCP (1167 mg/L) | 9,00 ± 0,00 ^a | 0,00 |
| VCP (1500 mg/L) | 8,02 ± 0,34 ^b | 10,93 |
| VCP (1833 mg/L) | 7,67 ± 0,39 ^b | 14,81 |
| Nano gốc Cu/VCP (25 mg/L Cu) | 3,76 ± 0,34 ^c | 58,22 |
| Nano gốc Cu/VCP (35 mg/L Cu) | 3,12 ± 0,08 ^d | 65,33 |
| Nano gốc Cu/VCP (45 mg/L Cu) | 1,33 ± 0,17 ^e | 85,22 |
| nano gốc Cu/VCP (55 mg/L Cu) | 0,58 ± 0,21 ^f | 93,52 |
| LSD _{0,05} | 0,48 | |

Các giá trị trung bình trong một cột có cùng chữ cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$

Dựa trên kết quả trong Bảng 4.1, phương trình hồi quy về mối tương quan giữa HLUC và nồng độ Cu của vật liệu nano gốc Cu/VCP được suy ra là: $y = 1,258x + 25,256$ (Hình 4.2). Nồng độ ức chế 50% (IC₅₀) của vật liệu nano gốc Cu/VCP đối với nấm *P. capsici* được tính toán từ phương trình này là 19,67 mg/L Cu.



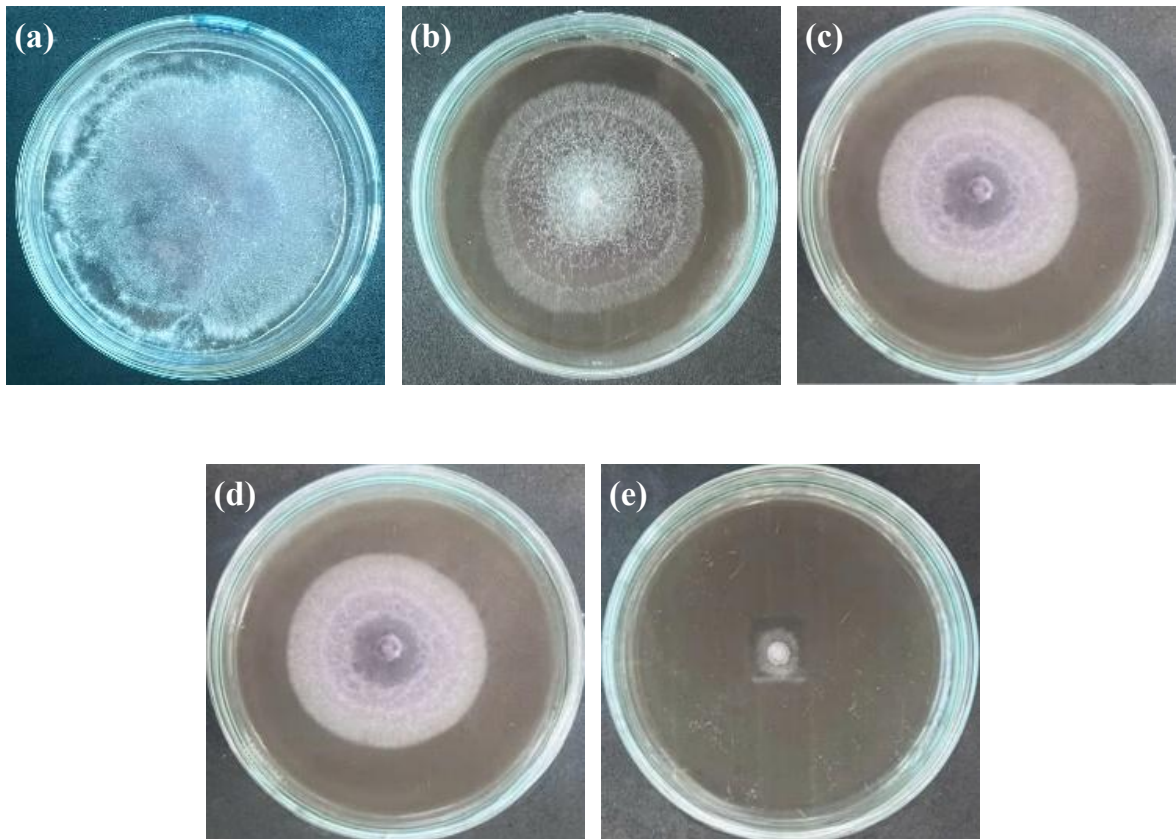
Hình 4.2. Mối quan hệ giữa nồng độ Cu và hiệu lực ức chế nấm *Phytophthora capsici* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

Trước đây, nhiều tác giả đã nghiên cứu sử dụng nano gốc Cu chống lại nấm *P. capsici*, *P. nicotianae*, *P. parasitica*, nồng độ hiệu quả của các hạt nano này là 30–150 ppm [18, 259]. Guerrero và cs (2020) đã thử nghiệm các hạt nano CuO thương mại chống lại nấm *P. capsici*. Kết quả cho thấy HLUC đạt 100% sau 07 ngày ở nồng độ 500–1500 ppm, tuy nhiên, các tác giả không nghiên cứu ở nồng độ thấp hơn [21]. Vật liệu nano gốc Cu/VCP trong nghiên cứu này đã ức chế hiệu quả nấm *P. capsici* ở nồng độ dưới 100 mg/L. Do đó, đây là vật liệu tiềm năng sử dụng làm tác nhân kháng bệnh thực vật trong môi trường đất vì nồng độ Cu dưới 100 mg/kg đất không ảnh hưởng đến tính chất đất và quần thể vi sinh vật [27, 28].

4.2. Hiệu lực *in vitro* kháng nấm *Fusarium oxysporum*

Kết quả thí nghiệm *in vitro* về hiệu quả kháng nấm *F. oxysporum* được thể hiện trong Hình 4.3 và Bảng 4.2. Kết quả ở Hình 4.3 cho thấy tản nấm ở nghiệm thức đối chứng đã lấp đầy đĩa petri sau 07 ngày ủ. Đối với vật liệu nano gốc Cu/VCP, HLUC nấm *F. oxysporum* tăng theo hàm lượng Cu. Cụ thể, trong các nghiệm thức khuếch tán vật liệu nano gốc Cu/VCP với nồng độ 20 và 30 mg/L Cu, HLUC đạt lần lượt là 32,22% và 46,61%. Khi nồng độ Cu tăng lên 40 và 50 mg/L, HLUC đạt lần lượt là 65,94% và 91,67%. Trong các nghiên cứu trước đây, Abbas và cs (2025) đã công bố nano Cu có kích thước 57,32 nm ở nồng độ 20–100 ppm cho thấy HLUC nấm *F. oxysporum* đạt 30,52%–80,12% [260]. Tương tự, Ashraf và cs (2021) cũng

công bố rằng nano Cu với kích thước trung bình là 25,09 nm đạt HLUC nấm *F. oxysporum* ~38 khi sử dụng ở nồng độ 50 $\mu\text{g/mL}$, còn khi sử dụng ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ thì HLUC đạt ~47% [261]. Có thể thấy, hiệu quả kháng nấm của vật liệu nano gốc Cu/VCP cao hơn các công bố trên, có thể là do tác dụng cộng hợp của các hợp chất sinh học có trong VCP cũng có hoạt tính kháng nấm (PP, tannin, v.v.) đã được chứng minh ở mục 4.1. Như vậy, vật liệu nano gốc Cu/VCP có hiệu quả chống lại nấm *F. oxysporum* ở nồng độ 55 mg/L Cu, ức chế gần như hoàn toàn sự phát triển của nấm.



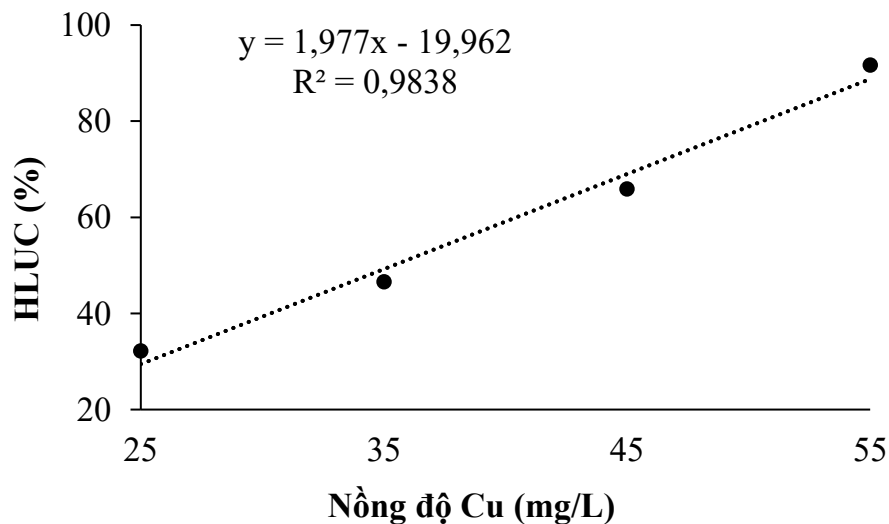
Hình 4.3. Sự phát triển của nấm *Fusarium oxysporum* ở các nghiệm thức sau 07 ngày nuôi cấy: Đối chứng (a); vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê ở nồng độ Cu 25 mg/L (b), 35 mg/L (c), 45 mg/L (d) và 55 mg/L (e)

Bảng 4.2. Hiệu lực *in vitro* kháng nấm *Fusarium oxysporum* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| Nghiệm thức | Đường kính tản nấm (cm) | HLUC (%) |
|------------------------------|--------------------------|----------|
| Đối chứng | 9,00 ± 0,00 ^a | 0,00 |
| Nano gốc Cu/VCP (25 mg/L Cu) | 6,10 ± 0,23 ^b | 32,22 |
| Nano gốc Cu/VCP (35 mg/L Cu) | 4,81 ± 0,12 ^c | 46,61 |
| Nano gốc Cu/VCP (45 mg/L Cu) | 3,07 ± 0,10 ^d | 65,94 |
| Nano gốc Cu/VCP (55 mg/L Cu) | 0,75 ± 0,17 ^e | 91,67 |
| LSD _{0,05} | 0,46 | |

Các giá trị trung bình trong một cột có cùng chữ cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$

Dựa vào kết quả nghiên cứu trong Bảng 4.2, phương trình hồi quy về mối tương quan giữa HLUC và nồng độ Cu của nano gốc Cu/VCP được suy ra là: $y = 1,977x - 19,962$ (Hình 4.4). IC₅₀ của vật liệu nano gốc Cu/VCP đối với nấm *F. oxysporum* được tính toán từ phương trình này là 35,39 mg/L Cu.



Hình 4.4. Mối quan hệ giữa nồng độ Cu và hiệu lực ức chế nấm *Fusarium oxysporum* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

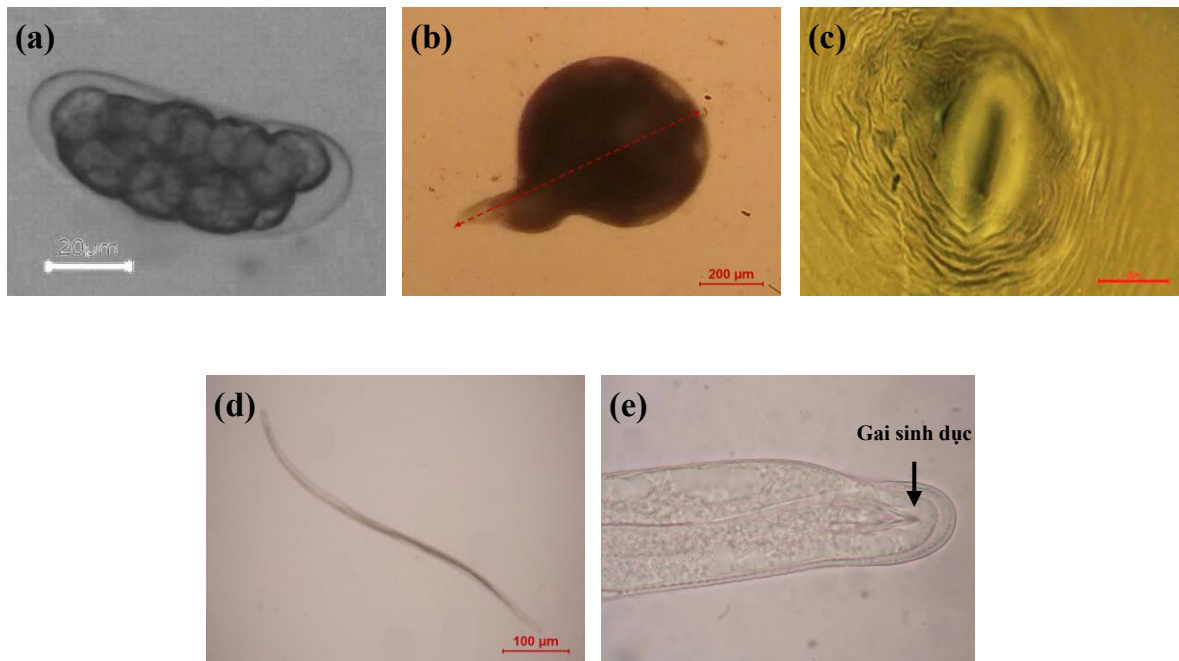
Trước đó, tác giả Trương Thị Hạnh và cs (2023) đã nghiên cứu sử dụng nano Cu-chitosan dạng keo để ức chế nấm *F. oxysporum* hại cây trồng nhiệt đới với hiệu

quả kháng nấm đạt 100% ở các nồng độ 80 ppm Cu [262]. Gaber và cs (2024) đã tổng hợp vật liệu nano ZnO-CuO bằng nấm mốc và sử dụng chúng để ức chế nấm *F. oxysporum* ở nồng độ 1000 µg/mL với HLUC đạt 88,9% [263]. Trong nghiên cứu của El-Abeid và cs (2023) về việc tổng hợp nano gốc Cu bằng chiết xuất lá *Zizyphus spina* khử muối Cu²⁺ cũng cho thấy tiềm năng kháng nấm *F. oxysporum* của loại vật liệu này. Cụ thể bệnh thối rễ do nấm *F. oxysporum* giảm đáng kể từ 72,0 đến 88,6% so với mức độ nghiêm trọng của bệnh là 80,5% ở nhóm đối chứng bị nhiễm [264].

Kết quả nghiên cứu về hiệu lực kháng nấm *F. oxysporum* trong luận án này cho thấy vật liệu nano gốc Cu/VCP đã ức chế hiệu quả nấm *F. oxysporum* ở nồng độ 50 mg/L, với giá trị IC₅₀ là 35,39 mg/L. Do đó, vật liệu nano gốc Cu/VCP có tiềm năng sử dụng làm tác nhân kháng bệnh thực vật trong môi trường đất khi sử dụng ở nồng độ Cu dưới 100 mg/L. Ở nồng độ sử dụng này không ảnh hưởng đến tính chất đất và quần thể vi sinh vật trong đất.

4.3. Hiệu lực kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita*

Hình thái của tuyến trùng *M. incognita* được quan sát bằng kính hiển vi soi nổi Barska AY13180 (Barska, Hoa Kỳ) được thể hiện trong Hình 4.5. Kết quả cho thấy tuyến trùng *M. incognita* cái có hình quả lê với chiều dài trung bình khoảng 570 µm. Tầng sinh môn có đặc điểm là các đường cong sắc nét và các mép nhăn đến hơi gợn sóng. Các đường gờ kéo dài từ lưng đến vùng đuôi, không có đường gờ ngang nào giữa âm hộ và hậu môn. Con đực có gai sinh dục ở phần đuôi. Các đặc điểm hình thái trên là đặc trưng của *M. incognita* [26].



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

4.3.1. Hiệu lực *in vitro* kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita*

Kết quả nghiên cứu hiệu quả gây tử vong tuyến trùng rễ *M. incognita* của vật liệu nano gốc Cu/VCP được thể hiện trong Bảng 4.3.

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

| Nghiệm thức | Số lượng J2 ban đầu | Số lượng J2 chết | PM (%) |
|------------------------------|---------------------|------------------|---------------------|
| Đối chứng | 97,20 ± 1,11 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ^a |
| Nano gốc Cu/VCP (20 mg/L Cu) | 101,80 ± 2,85 | 87,00 ± 1,67 | 85,46 ^b |
| Nano gốc Cu/VCP (25 mg/L Cu) | 104,20 ± 1,59 | 95,80 ± 0,92 | 91,94 ^c |
| Nano gốc Cu/VCP (30 mg/L Cu) | 101,80 ± 2,08 | 99,00 ± 2,76 | 97,25 ^d |
| Nano gốc Cu/VCP (35 mg/L Cu) | 100,80 ± 1,43 | 100,80 ± 1,43 | 100,00 ^d |
| LSD _{0,05} | - | - | 3,31 |

Các giá trị trung bình trong một cột có cùng chữ cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$

Nano gốc Cu/VCP chứa 3% Cu được chọn để thử nghiệm hiệu quả kháng tuyến trùng *M. incognita* vì hàm lượng Cu trong mẫu này phù hợp để sử dụng làm phân bón hữu cơ vi lượng. Kết quả của PM đối với *M. incognita* trong Bảng 4.3 cho thấy PM đối với *M. incognita* tăng theo nồng độ Cu trong nano gốc Cu/VCP. Đặc biệt, ở nồng độ Cu là 20, 25 và 30 mg/L, PM đạt lần lượt là 85,46%, 91,94% và 97,25%. Trong khi đó, hiệu lực kháng tuyến trùng của nano gốc Cu/VCP ở 35 mg/L Cu đạt 100% nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với ở 30 mg/L Cu.

Giá trị LC_{50} của vật liệu nano gốc Cu/VCP đối với tuyến trùng *M. incognita* là 13,7 mg/L Cu, được tính từ phương trình hồi quy: $y = 2,990x + 9,144$ ($R^2 = 0,914$). Do đó, nano gốc Cu/VCP thể hiện hoạt tính diệt tuyến trùng hiệu quả đối với *M. incognita* (PM > 85%) ở nồng độ 20–35 mg/L Cu. Vật liệu nano gốc Cu/VCP cho thấy hoạt tính diệt tuyến trùng *M. incognita* cao hơn so với nano Cu trong nghiên cứu của Mohamed và cs (2019) [22] với PM đạt 100% ở nồng độ 0,2 g/L. Điều này có thể là do sự kết hợp của các loại hạt nano gốc Cu với một số chất hoạt tính sinh học trong VCP có tác dụng cộng hợp hoặc hiệp đồng trong việc chống lại tuyến trùng. Hơn nữa, các hạt nano gốc Cu được sử dụng trong nghiên cứu này có kích thước trung bình ~47 nm, nhỏ hơn so với nano Cu có kích thước khoảng 100 nm trong nghiên cứu của Mohamed và cs (2019) [22], do đó làm tăng hoạt tính diệt tuyến trùng. Hợp chất nano gốc Cu/VCP trong nghiên cứu này có hiệu quả chống lại *M. incognita* ở nồng độ thấp so với chitosan (CS) ($LC_{50} = 251$ mg/L), phức hợp CS- Cu^{2+} ($LC_{50} = 88$ mg/L), và phức hợp nano S/CS- Cu^{2+} ($LC_{50} = 75$ mg/L) trong báo cáo trước đây của chúng tôi [215]. Cơ chế kháng tuyến trùng của nano gốc Cu đã được báo cáo bởi Kausar(2022), trong đó các hạt nano gốc Cu tấn công vào lớp biểu bì của tuyến trùng, gây tổn thương tế bào, tạo ra ROS và enzyme oxidase, phá vỡ DNA và RNA dẫn đến làm chết tuyến trùng gây hại [265].

4.3.2. Hiệu lực *in vivo* kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita*

Bố trí thí nghiệm *in vivo* được thể hiện trong Hình 4.6. Kết quả cho thấy tác dụng kháng tuyến trùng rễ *M. incognita* cũng tăng theo nồng độ Cu nhưng ở mức thấp hơn so với thí nghiệm *in vitro* (Bảng 4.4). Cụ thể, khi xử lý vật liệu nano gốc Cu/VCP ở nồng độ 20–35 mg/L Cu, số lượng tuyến trùng trong đất và số lượng u rễ giảm. Cụ thể, số lượng tuyến trùng/100 g đất và số lượng nốt sần/rễ giảm lần lượt là

80,5%–100% và 81,4%–100%. Điều này có được giải thích là do vật liệu chỉ được thêm vào xung quanh vùng rễ cây cà phê, nên có thể một số tuyến trùng không tiếp xúc được với các hạt nano. Đây là nguyên nhân dẫn đến tác dụng trong thí nghiệm *in vivo* nhỏ hơn so với thí nghiệm *in vitro*. Những kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Khan và cs (2022) về tác dụng kháng tuyến trùng *M. incognita* của nano CuO đối với cây đậu gà [26]. Theo Kumaret và cs (2021), các ion Cu^{2+} được cây hấp thụ trực tiếp dưới dạng vi chất dinh dưỡng [266]. Ngoài ra, sử dụng Cu ở nồng độ dưới 100 mg/L không ảnh hưởng đến tính chất đất và quần thể vi sinh vật có lợi cho đất [27, 28].



Hình 4.6. Bố trí thí nghiệm kháng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên cây cà phê

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

| Nghiệm thức | Số lượng giun tròn/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%) |
| Nano gốc Cu/VCP (20 mg/L Cu) | 455,4 ± 37,9 ^b (80,5%) | 11,3 ± 0,4 ^b (81,4%) |
| Nano gốc Cu/VCP (25 mg/L Cu) | 323,6 ± 16,4 ^{bc} (86,1%) | 4,9 ± 0,3 ^c (92,0%) |
| Nano gốc Cu/VCP (30 mg/L Cu) | 189,0 ± 30,3 ^c (91,9%) | 0,0 ± 0,0 ^d (100,0%) |
| Nano gốc Cu/VCP (35 mg/L Cu) | 0,0 ± 0,0 ^d (100,0%) | 0,0 ± 0,0 ^d (100,0%) |
| LSD _{0,05} | 172,13 | 4,36 |

Các giá trị trung bình trong một cột có cùng chữ cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$

Hình ảnh cây cà phê và bộ rễ mới bị nhiễm tuyến trùng được thể hiện trong Hình 4.7.



Hình 4.7. Ảnh chụp cây cà phê và bộ rễ chớm nhiễm tuyến trùng

4.4. Độc tính của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê đối với sự nảy mầm của hạt đậu xanh

Thí nghiệm *in vitro* về độc tính đối với sự nảy mầm hạt đậu xanh của vật liệu nano gốc Cu/VCP được trình bày trong Hình 4.8 và Bảng 4.5. Kết quả cho thấy, ở nghiệm thức đối chứng sử dụng nước khử ion, tỷ lệ nảy mầm của hạt đậu xanh là 80% và chiều dài rễ trung bình là 2,98 cm. Đối với nghiệm thức sử dụng VCP, tỷ lệ nảy mầm và chiều dài rễ trung bình đều giảm lần lượt là 71,13% và 1,85 cm. Đối với nghiệm thức xử lý với vật liệu nano gốc Cu/VCP, tỷ lệ nảy mầm và chiều dài rễ trung bình lần lượt là 88,87% và 2,79 cm. Các chỉ số GI lần lượt là 100%, 55,12% và 103,79% đối với nghiệm thức đối chứng, VCP và vật liệu nano gốc Cu/VCP.

Kết quả cho thấy VCP chứa caffein và hợp chất hữu cơ đã ảnh hưởng đến sự nảy mầm và sinh trưởng của cây như các nghiên cứu đã công bố trước đây [118, 119, 187]. Việc sử dụng vật liệu nano gốc kim loại để xử lý hạt giống nhằm kích thích nảy mầm và tăng trưởng thực vật cũng đã được nghiên cứu. Zhao và cs (2021) đã cho thấy rằng các hạt nano Cu, Fe và Zn ở nồng độ thấp lần lượt là 2×10^{-4} mM, $1,8 \times 10^{-4}$ mM và $4,6 \times 10^{-5}$ mM, đều có tác động tích cực đến sự nảy mầm và tăng trưởng ở cà chua [206]. Tác giả Hien và Van (2018) đã chứng minh rằng khi hạt ngô được xử lý bằng các hạt nano Cu ở nồng độ 20 mg/kg đất, chỉ số nảy mầm và các thông số tăng trưởng cao hơn so với mẫu đối chứng [207]. Tuy nhiên, việc sử dụng các hạt nano Cu ở nồng độ cao tới 200–1000 mg/L để xử lý hạt giống *Phaseolus radiatus* L. và *Triticum aestivum* đã làm giảm sự phát triển của cây con sau khi nảy mầm [208]. Như vậy, việc sử dụng nano gốc Cu/VCP ở nồng độ 100 mg/L Cu có tác dụng kích thích nảy mầm và không ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng, phát triển của đậu xanh.



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

Bảng 4.5. Ảnh hưởng *in vitro* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê đến sự nảy mầm và phát triển rễ của hạt đậu xanh

| Nghiệm thức | Chiều dài của rễ (cm) | Số hạt nảy mầm (hạt) | Tỷ lệ nảy mầm (%) | Chỉ số nảy mầm (%) |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------|--------------------|
| Đối chứng | 2,98 ± 0,31 ^{ns} | 12,00 ± 0,58 ^{ab} | 80,00 | 100,00 |
| VCP (3.333 mg/L) | 1,85 ± 0,54 ^{ns} | 10,67 ± 0,88 ^b | 71,13 | 55,12 |
| Nano gốc Cu/VCP (100 mg/L Cu) | 2,79 ± 0,41 ^{ns} | 13,33 ± 0,33 ^a | 88,87 | 103,79 |
| LSD _{0,05} | 1,99 | 2,92 | - | - |

Các giá trị trung bình trong một cột có cùng chữ cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$

4.5. Độc tính đường miệng của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên chuột

Thí nghiệm nghiên cứu độc tính cấp được nghiên cứu tại phòng thử nghiệm của Bộ môn Bảo vệ Thực vật - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam đối với mẫu nano gốc Cu/VCP (3% Cu). Kết quả thử nghiệm độc tính cấp đường miệng trên chuột được thể hiện trong Bảng 4.6.

Bảng 4.6. Độc cấp tính cấp LD₅₀ của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên chuột

| Nhóm | Liều dùng (mg/kg) | Số chuột sống/chết sau 15 ngày |
|------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Đối chứng | Nước cất | 6/0 |
| Thử nghiệm | Nano gốc Cu/VCP (300 mg/kg) | 6/0 |
| Thử nghiệm | Nano gốc Cu/VCP (3.000 mg/kg) | 6/0 |

Kết quả thí nghiệm cho thấy, sau 15 ngày uống thuốc, ở lô chuột đối chứng và lô chuột thử nghiệm có liều dùng từ 300 mg/kg tới 3.000 mg/kg cân nặng, chuột hoạt động đi lại và ăn uống bình thường, không có biểu hiện khó thở, đi ngoài phân khô, không bỏ ăn. Không có cá thể chuột nào chết trong thời gian theo dõi nên không xác định được LD₅₀. Do đó, LD₅₀ của vật liệu nano gốc Cu/VCP > 3.000 mg/kg, theo quy định về độ độc của thuốc BVTV, chúng thuộc nhóm IV (gần như không độc). Với liều lượng 3.000 mg/kg vật liệu nano gốc Cu thì tương ứng với 900 mg/kg về hàm

lượng Cu (vật liệu nano gốc Cu/VCP chứa 3% Cu). Như vậy, LD₅₀ của vật liệu nano gốc Cu/VCP có thể ở một giá trị lớn hơn 3000 mg/kg tức là lớn hơn 900 mg/kg Cu (chưa xác định được). Kết quả nghiên cứu này có sự tương đồng so với một số nghiên cứu như: Nghiên cứu của Tang và cs (2018) cho thấy các giá trị LD₅₀ của ion Cu (359,6 mg/kg) xếp loại độc tính của chúng vào nhóm 3: nguy hại trung bình. Giá trị LD₅₀ của các hạt nano Cu 30 nm, 50 nm và 80 nm lần lượt là 1022 mg/kg, 1750 mg/kg và 2075 mg/kg, xếp loại 4: nguy hại nhẹ. Ngược lại, giá trị LD₅₀ của các hạt vi mô Cu là > 5.000 mg/kg, xếp loại 5: gần như không độc. Tác giả Lee và cs (2016) đã báo cáo giá trị LD₅₀ của nano Cu là 1.344 mg/kg ở chuột đực và 2411 mg/kg ở chuột cái, trong khi đó với ion Cu²⁺ là 640 mg/kg đối với chuột đực và 571 mg/kg đối với chuột cái.

Như vậy vật liệu nano gốc Cu/VCP đã tổng hợp được xếp vào loại vật liệu gần như không có độc. Điều này có thể được giải thích là do tác dụng ổn định hạt nano tạo thành của các lignocellulose khiến chúng có độ bền cao khi đi vào cơ thể động vật.

4.6. Độc tính nhạy cảm da của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên chuột

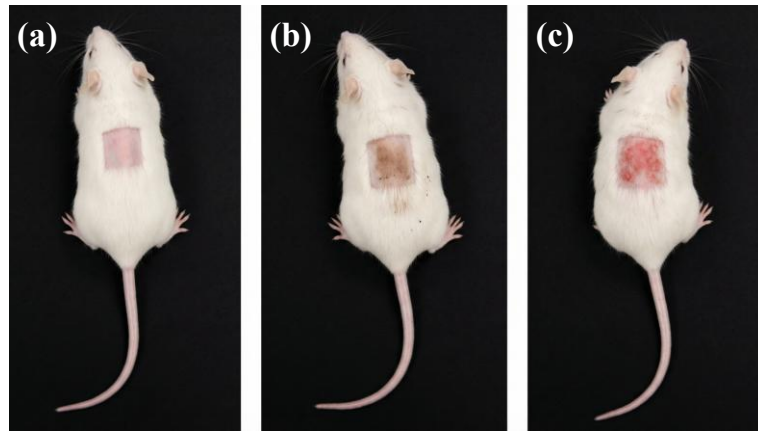
Tỷ lệ nhạy cảm da được trình bày trong Bảng 4.7. Kết quả không quan sát thấy ban đỏ, phù nề hoặc các thay đổi khác trên da ở nhóm chứng âm cũng như nhóm thử sau 03 lần phơi nhiễm ở giai đoạn nhạy cảm và 01 lần phơi nhiễm ở giai đoạn thử thách, kết quả này xác nhận tỷ lệ nhạy cảm là 0%.

Bảng 4.7. Tỷ lệ nhạy cảm của chuột với vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| Nhóm | Mẫu thử | Tỷ lệ nhạy cảm |
|------------------|---------------------------------|----------------|
| Nhóm thử | Nano gốc Cu/VCP (dạng bột nhão) | 0% |
| Nhóm chứng âm | Nước cất | 0% |
| Nhóm chứng dương | 2,4-dinitrochlorobenzene | 100% |

Phản ứng nhạy cảm da của chuột nhắt trắng, như trình bày trong Bảng 4.7 đã được quan sát và ghi lại sau 24 giờ và 48 giờ sau khi thử nghiệm. Nhóm thử nghiệm và nhóm đối chứng âm không có dấu hiệu ban đỏ, với tỷ lệ nhạy cảm là 0%, cho thấy

vật liệu nano gốc Cu/VCP là an toàn và không gây nhạy cảm cho da. Trong khi đó, nhóm chứng dương xuất hiện ban đỏ và tỷ lệ nhạy cảm đạt 100%.



Hình 4.9. Các cá thể chuột sau 48 giờ bôi nước cất (a), vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (b) và 2,4-dinitrochlorobenzene (c)

Dựa vào kết quả nghiên cứu độc tính đối với vật liệu nano gốc Cu/VCP, chúng tôi cho đây là vật liệu gần như không độc, không gây nhạy cảm da, do đó chúng có tiềm năng sử dụng, vừa bổ sung dinh dưỡng, vừa kháng một số bệnh thực vật trong đất mà vẫn an toàn cho cây trồng.

Nhận xét về kết quả thử nghiệm hiệu quả kháng nấm, tuyến trùng và độc tính của vật liệu nano gốc Cu/VCP:

Vật liệu nano gốc Cu/VCP có khả năng kháng nấm hại thực vật *P. capsici* và *F. oxysporum* với IC_{50} tương ứng là 19,67 và 35,39 mg/L Cu trong thí nghiệm *in vitro*. Hiệu quả kháng nấm *P. capsici* đã được chứng minh là có sự kết hợp của nano gốc Cu và các hoạt chất sinh học có hoạt tính kháng vi sinh vật trong VCP.

Vật liệu nano gốc Cu/VCP có khả năng kháng tuyến trùng *M. incognita* hại rễ cà phê, hiệu quả gây tử vong tuyến trùng đạt 100% ở nồng độ 35 mg/L Cu, với LC_{50} là 13,7 mg/L Cu trong thí nghiệm *in vitro*. Đối với thí nghiệm *in vivo* trên cây cà phê, vật liệu nano gốc Cu/VCP đã ức chế hoàn toàn số lượng tuyến trùng J2/100 g đất và số nốt sần/rễ ở nồng độ 35 mg/L Cu.

Kết quả đánh giá độc tính của vật liệu nano gốc Cu/VCP cho thấy chúng có khả năng kích thích sự nảy mầm và phát triển rễ của đậu xanh ở nồng độ Cu cao tới 100 mg/L. Trong khi VCP chưa xử lý do chứa độc tố caffein đã ức chế sự nảy mầm

phát phát triển rễ của hạt đậu xanh khi sử dụng ở liều lượng tương đương với vật liệu nanocomposite tính trên khối lượng VCP.

Vật liệu nano gốc Cu/VCP có độc tính $LD_{50} > 3.000$ mg/kg và không gây nhạy cảm da khi bôi vật liệu ở dạng bột nhão trên chuột nhắt trắng. Vật liệu thuộc độc tính nhóm IV (cẩn thận) đối với thuốc BVTV, được phân loại bởi Tổ chức Y tế thế giới.

Vật liệu nano gốc Cu/VCP có hiệu quả cao để kháng nấm *P. capsici*, *F. oxysporum* và tuyến trùng *M. incognita* gây hại thực vật trong môi trường đất, có khả năng thay thế các loại thuốc BVTV tổng hợp hữu cơ.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Luận án đã nghiên cứu và xây dựng quy trình tổng hợp xanh vật liệu nano gốc Cu/VCP dạng bột, sử dụng VCP làm chất khử và chất ổn định. Kích thước, hình thái hạt nano gốc Cu và các tính chất hóa lý đặc trưng của vật liệu đã được xác định. Hiệu lực kháng nấm, tuyến trùng gây hại thực vật và độc tính của vật liệu cũng đã được nghiên cứu nhằm định hướng sử dụng làm chất kháng bệnh hại cây trồng trong môi trường đất. Những kết luận chủ yếu của luận án được tổng kết như sau:

1. Kết quả xác định hàm lượng các thành phần hóa học cơ bản cho thấy VCP Robusta chứa chủ yếu là lignocellulose, ngoài ra, chúng còn là loại sinh khối giàu hàm lượng các chất khử sinh học nên là loại nguyên liệu tiềm năng làm chất khử và chất ổn định trong tổng hợp nano gốc Cu hoặc các hạt nano gốc kim loại khác. Tuy nhiên, VCP chứa độc tố thực vật caffein > 1% nên cần thiết phải loại bỏ trước khi áp dụng cho cây trồng.

2. Xây dựng quy trình tổng hợp xanh vật liệu nano gốc Cu/VCP với hàm lượng Cu khá cao từ 2% đến 5% (w/w), quá trình tổng hợp không cần tách riêng dung dịch chất khử từ VCP.

3. Kích thước hạt nano gốc Cu phụ thuộc tỷ lệ thuận vào hàm lượng Cu tiền chất, đồng nghĩa với phụ thuộc vào lượng chất khử sinh học và phụ thuộc tỷ lệ nghịch vào pH phản ứng.

4. Xây dựng quy trình định lượng Cu^0 , Cu^+ và Cu^{2+} trong vật liệu hiệu quả với chi phí thấp. Hạt nano gốc Cu chủ yếu là dạng Cu_2O , hành vi tác động của chất khử sinh học tới Cu^{2+} trong quá trình tổng hợp ở môi trường kiềm cũng đã được xác nhận. Hiệu suất khử Cu^{2+} của các chất khử sinh học có trong VCP đạt > 97%, phụ thuộc tỷ lệ nghịch với hàm lượng Cu và tỷ lệ thuận với pH phản ứng.

5. Các hạt nano gốc Cu giàu điện tử tương tác và ổn định trong sinh khối VCP chủ yếu do liên kết với nhóm $-\text{OH}$ của các hợp chất lignocellulose. Các hạt nano gốc Cu hình thành trong quá trình tổng hợp có khả năng phân hủy độc tố caffein với hiệu suất phân hủy đạt > 94% và phụ thuộc tỷ lệ thuận với hàm lượng Cu và pH phản ứng. Kích thước hạt nano và hàm lượng Cu^0 , Cu^+ và Cu^{2+} trong vật liệu hầu như không thay đổi sau 12 tháng lưu trữ.

6. Vật liệu nano gốc Cu/VCP thể hiện hiệu lực kháng nấm *P. capsici*, *F. oxysporum* cao ở nồng độ 55 mg/L Cu và kháng hoàn toàn tuyến trùng *M. incognita* ở nồng độ 35 mg/L Cu.

7. Thử nghiệm độc tính cho thấy vật liệu nano gốc Cu/VCP thuộc độc tính nhóm IV (cẩn thận). Ngoài ra, vật liệu không gây ảnh hưởng đến sự nảy mầm và phát triển rễ trong thí nghiệm trên hạt đậu xanh.

Kiến Nghị

Mặc dù kết quả nghiên cứu ban đầu trong luận án này đã chứng minh tính khoa học và hiệu quả khi áp dụng quy trình và sản phẩm nanocomposite tạo thành để sử dụng làm chất kháng bệnh hại cây trồng trong môi trường đất. Tuy nhiên, để áp dụng trong thực tiễn cần có những nghiên cứu tiếp theo như khảo nghiệm diện hẹp, diện rộng trên các tác nhân gây hại đã được nghiên cứu trong luận án cũng như các bệnh hại khác trên nhiều đối tượng cây trồng.

Mặt khác, cần đầu tư nghiên cứu quy trình sản xuất vật liệu ở quy mô pilot nhằm xác định các chế độ kỹ thuật, tiến đến sản xuất thử nghiệm ở quy mô lớn. Nhìn chung, còn nhiều khoảng trống về mặt khoa học và thực tiễn cần tiến hành thực hiện trong những nghiên cứu tiếp theo của luận án này.

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 caffein, tạo ra vật liệu phù hợp cho ứng dụng trên cây trồng.

3. Đã xây dựng được quy trình định lượng 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 *F. oxysporum* 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 CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ

1. **Le Thi Dao**, Tran Phuoc Tho, Le Nghiem Anh Tuan, Tran Ngoc Quang, Nguyen Quoc Hien, Bui Duy Du (2024) “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.
2. Bui Duy Du, **Le Thi Dao**, Le Nghiem Anh Tuan, Doan Ngoc Giang, Tran Phuoc Tho, Chu Trung Kien (2025) “Effect of Cu^{2+} 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.
3. **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 (2025) “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.
4. Bui, Du Duy, Tuan Nghiem Anh Le, Giang Ngoc Doan, Thao Thi Thu Nguyen, **Dao Thi Le**, and Ngoc Quang Tran. "Green synthesis of cuprous oxide nanoparticles using spent coffee ground and its antifungal activity against *Phytophthora palmivora in vitro*." Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology (2025).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Freudenberger J. and Warlimont H., 2018, *Copper and copper alloys*, in Springer Handbook of Materials Data, Springer, pp. 297-305.
2. Fernández-González D. and Verdeja L.F., 2023, *Copper overview: From the ore to the applications - A case study of the application of concentrated solar energy to the treatment of copper metallurgy slags*, in Copper - From the Mineral to the Final Application, IntechOpen, pp. 1-22.
3. Poizot P., Laruelle S., Grugeon S., Dupont L. Tarascon J., 2000, Nano-sized transition-metal oxides as negative-electrode materials for lithium-ion batteries, *Nature*. 407(6803), pp. 496-499.
4. Yu W., Xie H., Chen L. Li Y., 2010, Investigation on the thermal transport properties of ethylene glycol-based nanofluids containing copper nanoparticles, *Powder Technology*. 197(3), pp. 218-221.
5. Bondybey V. and English J., 1984, Structure of copper oxide (CuO_2) and its photochemistry in rare gas matrixes, *The Journal of Physical Chemistry*. 88(11), pp. 2247-2250.
6. Bard A.J., Faulkner L.R. White H.S., 2022, *Electrochemical methods: Fundamentals and applications*, John Wiley & Sons, 1104 pp.
7. Vanysek P., 2000, *Electrochemical series*, in CRC Handbook of Chemistry and Physics, CRC Press, pp. 8-33.
8. Su C., Chen A., Liang W., Xie W., Xu X., Zhan X., Zhang W. Peng C., 2024, Copper-based nanomaterials: Opportunities for sustainable agriculture, *Science of The Total Environment*. 926, 171948.
9. Ballabio C., Panagos P., Lugato E., Huang J.-H., Orgiazzi A., Jones A., Fernández-Ugalde O., Borrelli P. Montanarella L., 2018, Copper distribution in European topsoils: An assessment based on LUCAS soil survey, *Science of the Total Environment*. 636, pp. 282-298.
10. EPA, Pesticides industry sales and usage 2008–2012 market estimates, 2017.

11. Huang S., Wang L., Liu L., Hou Y. Li L., 2015, Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in China. A review, *Agronomy for Sustainable Development*. 35(2), pp. 369-400.
12. Rai M., Ingle A.P., Pandit R., Paralikar P., Shende S., Gupta I., Biswas J.K. da Silva S.S., 2018, Copper and copper nanoparticles: Role in management of insect-pests and pathogenic microbes, *Nanotechnology Reviews*. 7(4), pp. 303-315.
13. Borgatta J., Ma C., Hudson-Smith N., Elmer W., Plaza Perez C.D., De La Torre-Roche R., Zuverza-Mena N., Haynes C.L., White J.C. Hamers R.J., 2018, Copper based nanomaterials suppress root fungal disease in watermelon (*Citrullus lanatus*): Role of particle morphology, composition and dissolution behavior, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 6(11), pp. 14847-14856.
14. Datta Majumdar T., Ghosh C.K. Mukherjee A., 2021, Dual role of copper nanoparticles in bacterial leaf blight-infected rice: A therapeutic and metabolic approach, *ACS Agricultural Science & Technology*. 1(3), pp. 160-172.
15. Hans M., Erbe A., Mathews S., Chen Y., Solioz M., Mücklich F., 2013, Role of copper oxides in contact killing of bacteria, *Langmuir*. 29(52), pp. 16160-16166.
16. Rippner D.A., Margenot A.J., Fakra S.C., Aguilera L.A., Li C., Sohng J., Dynarski K.A., Waterhouse H., McElroy N. Wade J., 2021, Microbial response to copper oxide nanoparticles in soils is controlled by land use rather than copper fate, *Environmental Science: Nano*. 8(12), pp. 3560-3576.
17. Hermida-Montero L., Pariona N., Mtz-Enriquez A.I., Carrion G., Paraguay-Delgado F. Rosas-Saito G., 2019, Aqueous-phase synthesis of nanoparticles of copper/copper oxides and their antifungal effect against *Fusarium oxysporum*, *Journal of Hazardous Materials*. 380, 120850.
18. Pham N.-D., Duong M.-M., Le M.-V., Hoang H.A. Pham L.-K.-O., 2019, Preparation and characterization of antifungal colloidal copper nanoparticles and their antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and *Phytophthora capsici*, *Comptes Rendus. Chimie*. 22(11-12), pp. 786-793.
19. Kun S. and Wei D., 2022, Nonphytotoxic copper oxide nanoparticles are powerful “nanoweapons” that trigger resistance in tobacco against the soil-borne fungal

- pathogen *Phytophthora nicotianae*, *Journal of Integrative Agriculture*. 21(11), pp. 3245-3262.
20. Hao H.M., Van Du C., Dung D.T.N., Chuong C.X., Phong N.T.P., Tri N.H. Van P.T.B., 2018, Synthesis, characterization and evaluation of copper nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora* spp., *VNUHCM Journal of Natural Sciences*. 2(6), pp. 48-56.
 21. Guerrero J.J.G., Songkumarn P., Dalisay T.U., Pangga I.B. Organo N.D., 2020, Toxicity of CuO and ZnO nanoparticles and their bulk counterparts on selected soil-borne fungi, *Agriculture and Natural Resources*. 54(3), pp. 325-332.
 22. Mohamed E.A., Elsharabasy S.F. Abdulsamad D., 2019, Evaluation of *in vitro* nematicidal efficiency of copper nanoparticles against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*, *South Asian J Parasitol*. 2(1), pp. 1-6.
 23. Ch G., Ntalli N., Menkissoglu-Spiroudi U. Dendrinou-Samara C., 2019, Essential metal-based nanoparticles (copper/iron NPs) as potent nematicidal agents against *Meloidogyne* spp., *Journal of Nanotechnology Research*. 1(2), pp. 44-58.
 24. Du B.D., Tuan L.N.A., Hang N.D. Hien N.n.Q., 2017, Study on production of nano CuCl/zeolite with high concentration on large scale for using as nematocide against root-lesion nematode (*Pratylenchus* spp.) for plant, *Vietnam Journal of Chemistry*. 55, pp. 327-331.
 25. Soliman A.M., Abdallah E.A., Hafez E.E., Kadous E.A. Kassem F.A., 2022, Nematicidal activity of chemical and green biosynthesis of copper nanoparticles against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, *Alexandria Science Exchange Journal*. 43(4), pp. 583-591.
 26. Khan A., Bani Mfarrej M.F., Danish M., Shariq M., Khan M.F., Ansari M.S., Hashem M., Alamri S. Ahmad F., 2022, Synthesized copper oxide nanoparticles via the green route act as antagonists to pathogenic root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, *Green Chemistry Letters and Reviews*. 15(3), pp. 491-507.
 27. Shi J., Ye J., Fang H., Zhang S. Xu C., 2018, Effects of copper oxide nanoparticles on paddy soil properties and components, *Nanomaterials*. 8(10), 839.

28. Joško I., Oleszczuk P., Dobrzyńska J., Futa B., Joniec J. Dobrowolski R., 2019, Long-term effect of ZnO and CuO nanoparticles on soil microbial community in different types of soil, *Geoderma*. 352, pp. 204-212.
29. Du B.D., Dung L.T.K. Hien N.Q., 2017, Large-scale fabrication of colloidal nano-sized CuCl solution with high concentration for using as fungicide for plant, *Vietnam Journal of Chemistry*. 55(4), pp. 460-460.
30. Nam T.H. and Trang L.T.H., 2019, Phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến sự tuân thủ nguyên tắc trong sử dụng thuốc bảo vệ thực vật của nông hộ trồng rau tại huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng, *Tạp chí Khoa học Yersin*. 5, pp. 70-76.
31. Lê Quốc Tuấn, Phạm thị Bích Diễm, 2018, Đánh giá rủi ro thuốc bảo vệ thực vật thông qua chỉ số tác động môi trường trong canh tác lúa ở huyện Thoại Sơn - An Giang, *Tạp chí KHKT Nông Lâm Nghiệp*. 1, pp. 102-109.
32. Biswas A., Bayer I.S., Biris A.S., Wang T., Dervishi E. Faupel F., 2012, Advances in top-down and bottom-up surface nanofabrication: Techniques, applications & future prospects, *Advances in Colloid and Interface Science*. 170(1-2), pp. 2-27.
33. Khodashenas B. and Ghorbani H.R., 2014, Synthesis of copper nanoparticles: An overview of the various methods, *Korean Journal of Chemical Engineering*. 31(7), pp. 1105-1109.
34. Kayani Z.N., Umer M., Riaz S. Naseem S., 2015, Characterization of copper oxide nanoparticles fabricated by the sol-gel method, *Journal of Electronic Materials*. 44(10), pp. 3704-3709.
35. Zhou X., Harmer A., Heinig N. Leung K., 2004, Parametric study on electrochemical deposition of copper nanoparticles on an ultrathin polypyrrole film deposited on a gold film electrode, *Langmuir*. 20(12), pp. 5109-5113.
36. Yu J., Sun X., Tong X., Zhang J., Li J., Li S., Liu Y., Tsubaki N., Abe T. Sun J., 2021, Ultra-high thermal stability of sputtering reconstructed Cu-based catalysts, *Nature Communications*. 12(1), 7209.
37. Efimov A.A., Korniyushin D.V., Buchnev A.I., Kameneva E.I., Lizunova A.A., Arsenov P.V., Varfolomeev A.E., Pavzderin N.B., Nikonov A.V. Ivanov V.V., 2021, Fabrication of conductive and gas-sensing microstructures using focused

- deposition of copper nanoparticles synthesized by spark discharge, *Applied Sciences*. 11(13), 5791.
38. Tharchanaa S., Priyanka K., Preethi K. Shanmugavelayutham G., 2021, Facile synthesis of Cu and CuO nanoparticles from copper scrap using plasma arc discharge method and evaluation of antibacterial activity, *Materials Technology*. 36(2), pp. 97-104.
 39. Harish V., Ansari M.M., Tewari D., Gaur M., Yadav A.B., García-Betancourt M.-L., Abdel-Haleem F.M., Bechelany M. Barhoum A., 2022, Nanoparticle and nanostructure synthesis and controlled growth methods, *Nanomaterials*. 12(18), 3226.
 40. Vaidehi D., Bhuvaneshwari V., Bharathi D. Sheetal B.P., 2018, Antibacterial and photocatalytic activity of copper oxide nanoparticles synthesized using *Solanum lycopersicum* leaf extract, *Materials Research Express*. 5(8), 085403.
 41. Singh D., Jain D., Rajpurohit D., Jat G., Kushwaha H.S., Singh A., Mohanty S.R., Al-Sadoon M.K., Zaman W. Upadhyay S.K., 2023, Bacteria assisted green synthesis of copper oxide nanoparticles and their potential applications as antimicrobial agents and plant growth stimulants, *Frontiers in Chemistry*. 11, 1154128.
 42. Varshney R., Bhadauria S. Gaur M.S., 2012, A review: Biological synthesis of silver and copper nanoparticles, *Nano Biomedicine & Engineering*. 4(2), pp. 99-106.
 43. Molahalli V., Sharma A., Bijapur K., Soman G., Shetty A., Sirichandana B., Patel B.M., Chattham N. Hegde G., 2024, *Properties, synthesis, and characterization of Cu-based nanomaterials*, in *Copper-based nanomaterials in organic transformations*, ACS Publications, pp. 1-33.
 44. Lu D., Zelekew O.A., Abay A.K., Huang Q., Chen X. Zheng Y., 2019, Synthesis and photocatalytic activities of a CuO/TiO₂ composite catalyst using aquatic plants with accumulated copper as a template, *RSC Advances*. 9(4), pp. 2018-2025.
 45. Nasrollahzadeh M., Sajadi S.M., Sajjadi M. Issaabadi Z., 2019, Applications of nanotechnology in daily life, *Interface science and technology*. 28, pp. 113-143.

46. Ramesh C., Hariprasad M., Rangunathan V. Jayakumar N., 2012, A novel route for synthesis and characterization of green Cu₂O/PVA nano composites, *European Journal of Applied Engineering and Scientific Research*. 1(4), pp. 201-206.
47. Li P., Lv W. Ai S., 2016, Green and gentle synthesis of Cu₂O nanoparticles using lignin as reducing and capping reagent with antibacterial properties, *Journal of Experimental Nanoscience*. 11(1), pp. 18-27.
48. Leng W., Barnes H.M., Yan Q., Cai Z. Zhang J., 2016, Low temperature synthesis of graphene-encapsulated copper nanoparticles from kraft lignin, *Materials Letters*. 185, pp. 131-134.
49. Nasar M.Q., Zohra T., Khalil A.T., Saqib S., Ayaz M., Ahmad A. Shinwari Z.K., 2019, Seripheidium quettense mediated green synthesis of biogenic silver nanoparticles and their theranostic applications, *Green Chemistry Letters and Reviews*. 12(3), pp. 310-322.
50. Khan M.R., Hoque S.M., Hossain K.F.B., Siddique M.A.B., Uddin M.K. Rahman M.M., 2020, Green synthesis of silver nanoparticles using *Ipomoea aquatica* leaf extract and its cytotoxicity and antibacterial activity assay, *Green Chemistry Letters and Reviews*. 13(4), pp. 303-315.
51. Jadoun S., Arif R., Jangid N.K. Meena R.K., 2021, Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: A review, *Environmental Chemistry Letters*. 19(1), pp. 355-374.
52. Soltys L., Olkhovyy O., Tatarchuk T. Naushad M., 2021, Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles: Principles of green chemistry and raw materials, *Magnetochemistry*. 7(11), 145.
53. Sahu S., Magar S., Jena M., Hakeem H. Padhi A., 2024, Characterization of copper nanoparticles synthesized using the leaf extracts of *Lawsonia inermis*, *Eucalyptus globulus*, *Psidium guajava*, and *Azadirachta indica*, *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*. 27(11), pp. 493-504.
54. Yu W., Tang J., Gao C., Zheng X. Zhu P., 2025, Green synthesis of copper nanoparticles from the aqueous extract of *Lonicera japonica* Thunb and evaluation of its catalytic property and cytotoxicity and antimicrobial activity, *Nanomaterials*. 15(2), 91.

55. Shaji H., Kannan R., Harish S. Anita B., 2024, Green synthesis and characterization of CuO nanoparticles derived from *Pimenta dioica* and evaluating its activity against *Tobacco streak virus*, *Plant Science Today*. 11, 4606.
56. Shafiq A., Jeong U., Han Y., Kim Y., Lee J. Kim B.S., 2024, Green synthesis of copper oxide nanoparticles from waste solar panels using *Piper nigrum* fruit extract and their antibacterial activity, *Catalysts*. 14(8), 472.
57. Patel B., Channiwala M., Chaudhari S. Mandot A., 2016, Biosynthesis of copper nanoparticles; its characterization and efficacy against human pathogenic bacterium, *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 4(2), pp. 2163-2169.
58. Mohamed E.A., 2020, Green synthesis of copper & copper oxide nanoparticles using the extract of seedless dates, *Heliyon*. 6(1), e03123.
59. Cao H., Saroglu O., Karadag A., Diaconeasa Z., Zoccatelli G., Conte-Junior C.A., Gonzalez-Aguilar G.A., Ou J., Bai W. Zamarioli C.M., 2021, Available technologies on improving the stability of polyphenols in food processing, *Food Frontiers*. 2(2), pp. 109-139.
60. Tsao R., 2010, Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, *Nutrients*. 2(12), pp. 1231-1246.
61. Damaschin R.-P., Popa V.I. Volf I., 2018, A suitable method for polyphenols complexes with copper, *Bulletin of the Polytechnic Institute of Iași*. 64(3), pp. 19-29.
62. Farhan M. and Rizvi A., 2022, Understanding the prooxidant action of plant polyphenols in the cellular microenvironment of malignant cells: Role of copper and therapeutic implications, *Frontiers in Pharmacology*. 13, 929853.
63. Wang Y.-j. and Zhou K.-g., 2012, Effect of OH⁻ on morphology of Cu₂O particles prepared through reduction of Cu (II) by glucose, *Journal of Central South University*. 19(8), pp. 2125-2129.
64. Jolaei M.M., Montazer M., Rashidi A.-S. Moghadam M.B., 2015, Usage of alkaline glucose for synthesis copper nano particle on polyester fabric, *Ciência e Natura*. 37(1), pp. 63-70.

65. Sawant S.S., Bhagwat A.D. Mahajan C.M., 2016, Synthesis of cuprous oxide (Cu_2O) nanoparticles - A review, *Journal of Nano- and Electronic Physics*. 8(1), 01035.
66. Eslami S., Ebrahimzadeh M.A. Biparva P., 2018, Green synthesis of safe zero valent iron nanoparticles by *Myrtus communis* leaf extract as an effective agent for reducing excessive iron in iron-overloaded mice, a thalassemia model, *RSC advances*. 8(46), pp. 26144-26155.
67. Zhan K., Xia S., Lu Q., Cheng R., Jiang H., Yi T., Morrell J., Yang L., Xie L. Lei H., 2021, Superhydrophobic wood surface fabricated by Cu_2O nano-particles and stearic acid: its acid/alkali and wear resistance, *Holzforschung*. 75(10), pp. 917-931.
68. Eivazihollagh A., Norgren M., Dahlström C. Edlund H., 2018, Controlled synthesis of Cu and Cu_2O NPs and incorporation of octahedral Cu_2O NPs in cellulose II films, *Nanomaterials*. 8(4), 238.
69. Du B.D., Phu D.V., Quoc L.A. Hien N.Q., 2017, Synthesis and investigation of antimicrobial activity of Cu_2O nanoparticles/zeolite, *Journal of Nanoparticles*. 2017(1), 7056864.
70. Du B.D., Phu D.V., Duy N.N., Lan N.T.K., Lang V.T.K., Thanh N.V.K., Phong N.T.P. Hien N.Q., 2008, Preparation of colloidal silver nanoparticles in poly (N-vinylpyrrolidone) by γ -irradiation, *Journal of Experimental Nanoscience*. 3(3), pp. 207-213.
71. Ngoc D.T.B., Thach B.D., Tho T.P. Van Phu D., 2021, Effect of copper ions concentration on the particle size of alginate-stabilized Cu_2O -Cu nanocolloids and its antibacterial activity against rice bacterial leaf blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*), *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 12(1), 013001.
72. Janah I.M., Roto R. Siswanta D., 2022, Effect of ascorbic acid concentration on the stability of tartrate-capped silver nanoparticles, *Indonesian Journal of Chemistry*. 22(3), pp. 857-866.

73. Kim H.-s., Seo Y.S., Kim K., Han J.W., Park Y. Cho S., 2016, Concentration effect of reducing agents on green synthesis of gold nanoparticles: Size, morphology, and growth mechanism, *Nanoscale research letters*. 11(1), 230.
74. Garcia-Valls R. and Hatton T., 2003, Metal ion complexation with lignin derivatives, *Chemical Engineering Journal*. 94(2), pp. 99-105.
75. He J., Kunitake T. Nakao A., 2003, Facile in situ synthesis of noble metal nanoparticles in porous cellulose fibers, *Chemistry of Materials*. 15(23), pp. 4401-4406.
76. Maneerung T., Tokura S. Rujiravanit R., 2008, Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing, *Carbohydrate Polymers*. 72(1), pp. 43-51.
77. Dallas P., Sharma V.K. Zboril R., 2011, Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives, *Advances in Colloid and Interface Science*. 166(1-2), pp. 119-135.
78. Du C. and Xiao M., 2014, Cu₂O nanoparticles synthesis by microplasma, *Scientific Reports*. 4(1), 7339.
79. Streeter I., Leventis H.C., Wildgoose G.G., Pandurangappa M., Lawrence N.S., Jiang L., Jones T.G. Compton R.G., 2004, A sensitive reagentless pH probe with a ca. 120 mV/pH unit response, *Journal of Solid State Electrochemistry*. 8(10), pp. 718-721.
80. Pourbaix M., 1974, *Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions*, Pergamon Press, 644 pp.
81. Hayaloglu A., 2016, Cheese: Microbiology of cheese, *Reference Module in Food Science*. 1, pp. 1-11.
82. Kunz T., Lee E.-J., Schiwiek V., Seewald T. Methner F.-J., 2011, Glucose - A reducing sugar? Reducing properties of sugars in beverages and food, *BrewingScience*. 64(7/8), pp. 61-67.
83. Singh S.V., Saxena O. Singh M.P., 1970, Mechanism of copper (II) oxidation of reducing sugars. I. Kinetics and mechanism of oxidation of D-xylose, L-arabinose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, D-galactose, L-sorbose, lactose, maltose,

- cellobiose, and melibiose by copper (II) in alkaline medium, *Journal of the American Chemical Society*. 92(3), pp. 537-541.
84. Kim J.-S. and Lee Y.-S., 2008, Effect of reaction pH on enolization and racemization reactions of glucose and fructose on heating with amino acid enantiomers and formation of melanoidins as result of the Maillard reaction, *Food Chemistry*. 108(2), pp. 582-592.
85. Zheng L.-F., Dai F., Zhou B., Yang L. Liu Z.-L., 2008, Prooxidant activity of hydroxycinnamic acids on DNA damage in the presence of Cu (II) ions: Mechanism and structure-activity relationship, *Food and Chemical Toxicology*. 46(1), pp. 149-156.
86. Spiegel M., Cel K. Sroka Z., 2023, The mechanistic insights into the role of pH and solvent on antiradical and prooxidant properties of polyphenols - Nine compounds case study, *Food Chemistry*. 407, 134677.
87. Nair L.S. and Laurencin C.T., 2007, Silver nanoparticles: Synthesis and therapeutic applications, *Journal of Biomedical Nanotechnology*. 3(4), pp. 301-316.
88. Aragaw B.A., Alula M.T., Majoni S. King'onde C.K., 2022, *Chemical synthesis of silver nanoparticles*, in *Green Synthesis of Silver Nanomaterials*, Elsevier, pp. 21-53.
89. Bano A., Dawood A., Rida, Saira F., Malik A., Alkholief M., Ahmad H., Khan M.A., Ahmad Z. Bazighifan O., 2023, Enhancing catalytic activity of gold nanoparticles in a standard redox reaction by investigating the impact of AuNPs size, temperature and reductant concentrations, *Scientific Reports*. 13(1), 12359.
90. Demchenko V., Riabov S., Kobylinskyi S., Goncharenko L., Rybalchenko N., Kruk A., Moskalenko O. Shut M., 2020, Effect of the type of reducing agents of silver ions in interpolyelectrolyte-metal complexes on the structure, morphology and properties of silver-containing nanocomposites, *Scientific Reports*. 10(1), 7126.
91. Baffoun A., Hamdaoui M. Romdhani Z., 2015, Use of glucose as an ecofriendly reducing sugar in the application of sulphur dyes-comparative study with traditional reducing agent, *Indian Journal of Fibre & Textile Research (IJFTR)*. 40(1), pp. 57-61.

92. Shenoy U.S. and Shetty A.N., 2014, Simple glucose reduction route for one-step synthesis of copper nanofluids, *Applied Nanoscience*. 4(1), pp. 47-54.
93. Yassin M.T., Mostafa A.A.-F., Al-Askar A.A. Al-Otibi F.O., 2022, Facile green synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Origanum majorana* with potential bioactivity against multidrug resistant bacterial strains, *Crystals*. 12(5), 603.
94. Kumar K.M., Mandal B.K., Kumar K.S., Reddy P.S. Sreedhar B., 2013, Biobased green method to synthesise palladium and iron nanoparticles using *Terminalia chebula* aqueous extract, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 102, pp. 128-133.
95. Fu Y., Liu L., Yu H.-Z., Wang Y.-M. Guo Q.-X., 2005, Quantum-chemical predictions of absolute standard redox potentials of diverse organic molecules and free radicals in acetonitrile, *Journal of the American Chemical Society*. 127(19), pp. 7227-7234.
96. Bayda S., Adeel M., Tuccinardi T., Cordani M. Rizzolio F., 2019, The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine, *Molecules*. 25(1), 112.
97. Luque-Jacobo C.M., Cespedes-Loayza A.L., Echeagaray-Ugarte T.S., Cruz-Loayza J.L., Cruz I., de Carvalho J.C., Goyzueta-Mamani L.D., 2023, Biogenic synthesis of copper nanoparticles: A systematic review of their features and main applications, *Molecules*. 28(12) 4838.
98. Millavithanachchi S.S., Gunasena M.D.K.M., Galpaya G.D.C.P., Priyadarshana H.V.V., Indupama S.V.A.A., Induranga D.K.A., Kariyawasam W.A.C.N., Kaluthanthri D.V.S., Koswattage K.R, 2025, Green synthesis, optimization, and vharacterization of CuO nanoparticles using *Tithonia diversifolia* leaf extract, *Nanomaterials*. 15(15) 1203.
99. Reyes-Pérez J.A., Roa-Morales G., De Leon-Condes C.A., Balderas-Hernández P., 2023, Nanocomposites from spent coffee grounds and iron/zinc oxide: Green synthesis, characterization, and application in textile wastewater treatment. *Water Science & Technology*. 88(6) pp. 1547-1563.

100. Chien H.W., Kuo C.J., Kao L.H., Lin G.Y. Chen P.Y., 2019, Polysaccharidic spent coffee grounds for silver nanoparticle immobilization as a green and highly efficient biocide, *International Journal of Biological Macromolecules*. 140, pp. 168-176.
101. Zuorro A., Iannone A., Miglietta S., Lavecchia R., 2022, Green synthesis of silver nanoparticles using spent coffee ground extracts: Process modelling and optimization. *Nanomaterials*. 12(15) 2597.
102. USDA, Coffee Annual (Vietnam), 2025.
103. Investor T., 2025, *Vietnam's 2024 coffee export hits record high on surging prices, topping \$5 bln* (accessed December 7, 2025). <https://theinvestor.vn/vietnams-2024-coffee-export-hits-record-high-on-surging-prices-topping-5-bln-d14344.html>.
104. Ali M.A. and Bhowmik S., 2025, Bioactive compounds in coffee husk: Extraction, functional properties, applications, and sustainable approach in circular economy, *RSC Sustainability*. 3(10), pp. 4410-4425.
105. Montilla-Pérez J., Arcila-Pulgarin J., Aristizábal-Loaiza M., Montoya-Restrepo E.C., Puerta-Quintero G.I., Oliveros-Tascón C.E. Cadena-Gómez G., 2008, Caracterización de algunas propiedades físicas y factores de conversión del café durante el proceso de beneficio húmedo tradicional, *Cenicafé*. 59(2), pp. 120-142.
106. FAO, 2025, *Crops and livestock products* (accessed December 7, 2025). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>.
107. Gouvea B., Torres C., Franca A., Oliveira L. Oliveira E., 2009, Feasibility of ethanol production from coffee husks, *Biotechnology letters*. 31(9), pp. 1315-1319.
108. Bộ Nông nghiệp và Môi trường, 2018, *Giá trị của vỏ cà phê* (truy cập ngày 07/12/2025). <https://nongnghiepmoitruong.vn/gia-tri-cua-vo-ca-phe-d229843.html>.
109. Cruz R., 2014, *Coffee by-products: Sustainable agro-industrial recovery and impact on vegetables quality*, Ph.D. Universidade do Porto, Portugal.
110. Gebresemati M., Gabbiye N. Sahu O., 2017, Sorption of cyanide from aqueous medium by coffee husk: Response surface methodology, *Journal of Applied Research and Technology*. 15(1), pp. 27-35.

111. Oliveira W.E., Franca A.S., Oliveira L.S. Rocha S.D., 2008, Untreated coffee husks as biosorbents for the removal of heavy metals from aqueous solutions, *Journal of hazardous materials*. 152(3), pp. 1073-1081.
112. Ahalya N., Chandraprabha M., Kanamadi R. Ramachandra T., 2014, Adsorption of fast green on to coffee husk, *Journal of Chemical Engineering and Research*. 2(1), pp. 201-207.
113. Alemu F., 2015, Cultivation of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) on coffee husk at Dilla University, Ethiopia, *Journal of Food and Nutrition Sciences*. 3(2), pp. 63-70.
114. Leifa F., Soccol C. Pandey A., 2000, *Production of mushrooms on Brazilian coffee industry residues*, in *Coffee Biotechnology and Quality*, Springer, pp. 427-436.
115. Shemekite F., Gómez-Brandón M., Franke-Whittle I.H., Praehauser B., Insam H. Assefa F., 2014, Coffee husk composting: an investigation of the process using molecular and non-molecular tools, *Waste Management*. 34(3), pp. 642-652.
116. Nguyen D.V., Duong C.T.T., Vu C.N.M., Nguyen H.M., Pham T.T., Tran-Thuy T.-M. Nguyen L.Q., 2023, Data on chemical composition of coffee husks and lignin microparticles as their extracted product, *Data in Brief*. 51, 109781.
117. Muratova S.A., Papikhin R.V. Khoroshkova Y.V. *The effect of caffeine in a nutrient medium on rhizogenesis of the Rubus genus plants*. in *BIO Web of Conferences*. 2020. EDP Sciences.
118. Ferguson S., 2015, Effects of caffeine and vitamin E on Wisconsin Fast Plant, *Best Integrated Writing*. 2(1), 2.
119. Mohd Hanafi N.N., Nadhirah Azni N.A., Jahabar Maraikan H.H., Wan Mokhtar W.N.F.A., Nor Azam N.A. Kamarulzaman A.F.S., 2020, Studies on the effect of caffeine on the growth rate of ipomoea aquatic, *Gading Journal of Science and Technology*. 3(2), pp. 20-25.
120. Kitou M. and Yoshida S., 1997, Effect of coffee residue on the growth of several crop species, *Agricultural and Food Sciences*. 42(1), pp. 25-30.
121. Báo Sơn La, 2023, *Ô nhiễm môi trường từ cơ sở sơ chế, chế biến cà phê quy mô nhỏ lẻ* (truy cập ngày 20/01/2026). <https://baosonla.vn/phong-su/o-nhiem-moi-truong-tu-co-so-so-che-che-bien-ca-phe-quy-mo-nho-le-JzCWXeSIg.html>.

122. Báo Gia Lai, 2019, *Đốt vỏ cà phê bên đường ảnh hưởng đến an toàn giao thông* (truy cập ngày 20/01/2026). <https://baogialai.com.vn/dot-vo-ca-phe-ben-duong-anh-huong-den-an-toan-giao-thong-post1355.html>.
123. Báo Nông nghiệp & Môi trường, 2021, *Kinh tế tuần hoàn từ vỏ cà phê* (truy cập ngày 20/01/2026). <https://nongnghiepmoitruong.vn/kinh-te-tuan-hoan-tu-vo-ca-phe-d307463.html>.
124. Sharafinia S., Ebrahimi A., Rashidi A., 2024, *Synthesis of nanoparticles by agricultural waste*, in *Waste-Derived Nanoparticles*, Elsevier, pp. 203-218.
125. Cangussu L.B., Melo J.C., Franca A.S., Oliveira L.S., 2021, Chemical characterization of coffee husks, a by-product of coffee arabica production, *Foods*. 10(12) 3125.
126. Fernandes F., Freitas M., Pinho C., Oliveira A.I., Delerue-Matos C., Grosso C., 2025, Upcycling coffee waste into sustainable nano zerovalent iron for environmental contaminant remediation: Characterization, applicability and cytotoxicity, *Nanomaterials*. 15(23) 1788.
127. Kavin T., Murugaiyah V., Tan J.K., Kassim M.N.I., Ramakrishna S., Vigneswari S., 2025, Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles using Coffea arabica husk for enhanced antibacterial and anti-cancer applications, *Biomass and Bioenergy*. 194 107625.
128. Prihadi A.R., Maimulyanti A., Mellisani B. Nurhasanah, 2020, Antioxidant activity, tannin content and dietary fiber from coffee husk extract and potential for nutraceutical, *Rasayan Journal of Chemistry*. 13(2), pp. 955-959.
129. Adams M.R. and Dougan J., 1987, *Waste products*, in *Coffee*, Springer, pp. 257-291.
130. Fodor S., Baia L., Baán K., Kovács G., Pap Z. Hernadi K., 2021, The effect of the reducing sugars in the synthesis of visible-light-active copper(I) oxide photocatalyst, *Molecules*. 26(4), 1149.
131. El-Rafie M.H., Ahmed H.B. Zahran M.K., 2014, Facile precursor for synthesis of silver nanoparticles using alkali treated maize starch, *International Scholarly Research Notices*. 2014, 702396.

132. Wu G. and Heitz M., 1995, Catalytic mechanism of Cu^{2+} and Fe^{3+} in alkaline O_2 oxidation of lignin, *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 15(2), pp. 189-202.
133. Yao B., Kolla P., Koodali R., Wu C.-M. Smirnova A., 2016, Mechanism of alkaline lignin oxidation using laccase-methyl syringate mediator system, *International Journal of Chemistry*. 8(2), pp. 56-63.
134. Gazzurelli C., Carcelli M., Mazzeo P.P., Mucchino C., Pandolfi A., Migliori A., Pietarinen S., Leonardi G., Rogolino D. Pelagatti P., 2022, Exploiting the reducing properties of lignin for the development of an effective lignin@ Cu_2O pesticide, *Advanced Sustainable Systems*. 6(8), 2200108.
135. Pinto R.J.B., Neves M.C., Neto C.P. Trindade T., 2012, *Composites of Cellulose and Metal Nanoparticles*, InTech, 73-96 pp.
136. Guo Y., Sun Q., Wu F.G., Dai Y. Chen X., 2021, Polyphenol-containing nanoparticles: Synthesis, properties, and therapeutic delivery, *Advanced Materials*. 33(22), 2007356.
137. Ahmad U.M., Ji N., Li H., Wu Q., Song C., Liu Q., Ma D. Lu X., 2021, Can lignin be transformed into agrochemicals? Recent advances in the agricultural applications of lignin, *Industrial Crops and Products*. 170, pp. 113646.
138. Campobenedetto C., Mannino G., Beekwilder J., Contartese V., Karlova R. Berteza C.M., 2021, The application of a biostimulant based on tannins affects root architecture and improves tolerance to salinity in tomato plants, *Scientific Reports*. 11(1), pp. 354.
139. Dai J. and Mumper R.J., 2010, Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties, *Molecules*. 15(10), pp. 7313-7352.
140. Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A. Omar A.K., 2013, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of Food Engineering*. 117(4), pp. 426-436.
141. Andrade K.S., Goncalves R.T., Maraschin M., Ribeiro-do-Valle R.M., Martínez J. Ferreira S.R., 2012, Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and

- coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition, *Talanta*. 88, pp. 544-552.
142. Brunner G., 2013, *Gas extraction: An Introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes*, Springer Science & Business Media, 387 pp.
143. Silva M.d.O., Honfoga J.N.B., Medeiros L.L.d., Madruga M.S. Bezerra T.K.A., 2020, Obtaining bioactive compounds from the coffee husk (*Coffea arabica* L.) using different extraction methods, *Molecules*. 26(1), 46.
144. Wijngaard H., Hossain M.B., Rai D.K. Brunton N., 2012, Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin, *Food Research International*. 46(2), pp. 505-513.
145. Meregalli M.M., Puton B.M.S., Camera F.D.M., Amaral A.U., Zeni J., Cansian R.L., Mignoni M.L. Backes G.T., 2020, Conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of bioactive compounds from red araçá peel (*Psidium cattleianum* Sabine), *Arabian Journal of Chemistry*. 13(6), pp. 5800-5809.
146. Chemat F. and Khan M.K., 2011, Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction, *Ultrasonics Sonochemistry*. 18(4), pp. 813-835.
147. Vardanega R., Santos D.T. Meireles M.A.A., 2014, Intensification of bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation, *Pharmacognosy Reviews*. 8(16), 88.
148. Yang J., Li Y., Liu B., Wang K., Li H. Peng L., 2024, Carboxymethyl cellulose-based multifunctional film integrated with polyphenol-rich extract and carbon dots from coffee husk waste for active food packaging applications, *Food Chemistry*. 448, 139143.
149. Thaiphanit S., Wedprasert W. Srabua A., 2020, Conventional and microwave-assisted extraction for bioactive compounds from dried coffee cherry peel by-products and antioxidant activity of the aqueous extracts, *ScienceAsia*. 46S, pp. 12-18.
150. Strieder M.M., Pinas J.A.V., Ampese L.C., Costa J.M., Carneiro T.F. Rostagno M.A., 2023, Coffee biorefinery: The main trends associated with recovering

- valuable compounds from solid coffee residues, *Journal of Cleaner Production*. 415, 137716.
151. Roman-Montalvo D., Sánchez A., Lorenzana-Licea E., Dominguez Z. Matus M.H., 2024, Extraction of caffeine from coffee husk employing choline-based ionic liquids: Optimization of the process and theoretical study on solute-salts interactions, *Journal of Molecular Liquids*. 398, 124286.
 152. Maimulyanti A., Nurhidayati I., Mellisani B., Putri F.A.R., Puspita F. Prihadi A.R., 2023, Development of natural deep eutectic solvent (NADES) based on choline chloride as a green solvent to extract phenolic compound from coffee husk waste, *Arabian Journal of Chemistry*. 16(4), 104634.
 153. Costa A.J.N., Stevanato N., Raspe D.T., Cardozo-Filho L. da Silva C., 2024, Valorization of coffee bean husk via pressurized liquid extraction for production of physicochemical extract, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 99(4), pp. 788-796.
 154. Liu B., Li W., Hu L. Zhao J., 2013, Mild alkaline hydrolysis is an efficient and low-cost method for improving the free phenolic content and health benefit of pomegranate peel extract, *Journal of Food Processing and Preservation*. 37(5), pp. 694-700.
 155. Garcia L., Velez A. de Roza M., 1985, Extraction and quantification of polyphenols from coffee pulp, *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*. 35(3), pp. 491-495.
 156. Ares-Peón I.A., Garrote G., Domínguez H. Parajó J.C., 2016, Phenolics production from alkaline hydrolysis of autohydrolysis liquors, *CyTA-Journal of Food*. 14(2), pp. 255-265.
 157. Yadeta K.A., Thomma B.P.H.J., 2013, The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens. *Frontiers in Plant Science*. 4 97.
 158. Nazarov P.A., Baleev D.N., Ivanova M.I., Sokolova L.M., Karakozova M.V., 2020, Infectious plant diseases: Etiology, current status, problems and prospects in plant protection. *Acta naturae*. 12(3) 46.

159. Vijayakumar, S., Saraswathy, G. G., & Sakuntala, M., 2024, Transcriptomic analysis reveals pathogenicity mechanisms of *Phytophthora capsici* in black pepper. *Frontiers in Microbiology*. 15 1418816.
160. Jeon S., Krasnow C.S., Kirby C.K., Granke L.L., Hausbeck M.K., Zhang W., 2016, Transport and retention of *Phytophthora capsici* zoospores in saturated porous media, *Environmental Science & Technology*. 50(17) pp. 9270-9278.
161. Parada-Rojas C.H., Granke L.L., Naegele R.P., Hansen Z., Hausbeck M.K., Kousik C.S., McGrath M.T., Smart C.D., Quesada-Ocampo L.M., 2021, A diagnostic guide for *Phytophthora capsici* infecting vegetable crops, *Plant Health Progress*. 22(3) pp. 404-414.
162. Vieira J.B., Rocha L.D.S., Silva H.S.A., Laranjeira F.F., 2022, Survival mechanisms of *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* are affected by application of cabbage and cassava debris, *Revista Caatinga*. 35(3) pp. 586-594.
163. Niu Y., Xiao L., de Almeida-Engler J., Gheysen G., Peng D., Xiao X., Huang W., Wang G., Xiao Y., 2022, Morphological characterization reveals new insights into giant cell development of *Meloidogyne graminicola* on rice, *Planta*. 255(3) 70.
164. Rodiuc N., Vieira P., Banora M.Y., de Almeida Engler J., 2014, On the track of transfer cell formation by specialized plant-parasitic nematodes, *Frontiers in Plant Science*. 5 160.
165. Yaseen I., Mukhtar T., Kim H.T., Arshad B., 2024, Interactive effects of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* on okra cultivars, *Bragantia*. 83 e20230266.
166. Meena K.S., Ramyabharathi S.A., Raguchander T., Jonathan E.I., 2016, Interaction of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* in carnation and physiological changes induced in plants due to the interaction, *SAARC Journal of Agriculture*. 14(1): pp. 59-69.
167. Applerot G., Lipovsky A., Dror R., Perkas N., Nitzan Y., Lubart R. Gedanken A., 2009, Enhanced antibacterial activity of nanocrystalline ZnO due to increased ROS-mediated cell injury, *Advanced Functional Materials*. 19(6), pp. 842-852.

168. Bondarenko O., Ivask A., Käkänen A. Kahru A., 2012, Sub-toxic effects of CuO nanoparticles on bacteria: Kinetics, role of Cu ions and possible mechanisms of action, *Environmental Pollution*. 169, pp. 81-89.
169. Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.-C. Kahru A., 2008, Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*, *Chemosphere*. 71(7), pp. 1308-1316.
170. Ruparelia J.P., Chatterjee A.K., Dutttagupta S.P. Mukherji S., 2008, Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles, *Acta Biomaterialia*. 4(3), pp. 707-716.
171. Tamilvanan A., Balamurugan K., Ponappa K. Kumar B.M., 2014, Copper nanoparticles: synthetic strategies, properties and multifunctional application, *International Journal of Nanoscience*. 13(02), 1430001.
172. Crmarić D. and Bura-Nakić E., 2023, Interaction between Cu and thiols of biological and environmental importance: Case study using combined spectrophotometric/bathocuproine sulfonate disodium salt hydrate (BCS) assay, *Molecules*. 28(13), pp. 5065.
173. Ruiz L.M., Libedinsky A. Elorza A.A., 2021, Role of copper on mitochondrial function and metabolism, *Frontiers in Molecular Biosciences*. 8, 711227.
174. Cervantes-Cervantes M.P., Calderón-Salinas J.V., Albores A. Muñoz-Sánchez J.L., 2005, Copper increases the damage to DNA and proteins caused by reactive oxygen species, *Biological trace element research*. 103(3), pp. 229-248.
175. Chatterjee A.K., Chakraborty R. Basu T., 2014, Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles, *Nanotechnology*. 25(13), 135101.
176. Ma X., Zhou S., Xu X. Du Q., 2022, Copper-containing nanoparticles: Mechanism of antimicrobial effect and application in dentistry - A narrative review, *Frontiers in Surgery*. 9, 905892.
177. Banik S. and Pérez-de-Luque A., 2017, *In vitro* effects of copper nanoparticles on plant pathogens, beneficial microbes and crop plants, *Spanish Journal of Agricultural Research*. 15(2), pp. e1005-e1005.

178. Ingle A.P., Duran N. Rai M., 2014, Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: A review, *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98(3), pp. 1001-1009.
179. Rocha V., Carvalho D. das Neves J., 2025, Insights on nanomaterials-fungi interactions: Probing engineering principles for developing antifungal nanomedicines, *International Journal of Pharmaceutics*. 682, 125978.
180. Kasana R.C., Panwar N.R., Kaul R.K. Kumar P., 2017, Biosynthesis and effects of copper nanoparticles on plants, *Environmental Chemistry Letters*. 15(2), pp. 233-240.
181. Ghareeb R.Y., Abu-Serie M.M., Alrawiq H.S., Hamdy A., Kabeil S.S. Zaki S.A., 2025, Usage of copper nanoparticles as a nematicidal agent for root-knot nematodes in naturally infested open-field pepper, *AMB Express*. 15, 166.
182. Ulaş F., Yüksel E., Dinçer D., Dababat A. İmren M., 2025, Recent advances in plant-based green synthesis of nanoparticles: A sustainable approach for combating plant-parasitic nematodes, *Sustainability*. 17(9), 4152.
183. Thakur S., Neogi S. Ray A.K., 2021, Morphology-controlled synthesis of ZnO nanostructures for caffeine degradation and *Escherichia coli* inactivation in water, *Catalysts*. 11(1), 63.
184. Andrade M.B., Santos T.R.T., Guerra A.C.S., Silva M.F., Demiti G.M.M. Bergamasco R., 2022, Evaluation of magnetic nano adsorbent produced from graphene oxide with iron and cobalt nanoparticles for caffeine removal from aqueous medium, *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*. 170, 108694.
185. Ghosh M., Manoli K., Shen X., Wang J. Ray A.K., 2019, Solar photocatalytic degradation of caffeine with titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 377, pp. 1-7.
186. Su Q., Zuo C., Liu M. Tai X., 2023, A review on Cu₂O-based composites in photocatalysis: Synthesis, modification, and applications, *Molecules*. 28(14), 5576.
187. Batish D.R., Singh H.P., Kaur M., Kohli R.K. Yadav S.S., 2008, Caffeine affects adventitious rooting and causes biochemical changes in the hypocotyl cuttings of

- mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.), *Acta Physiologiae Plantarum*. 30(3), pp. 401-405.
188. Abdel-Aziz H.M., Farag R.S. Abdel-Gawad S.A., 2020, Removal of caffeine from aqueous solution by green approach using *Ficus Benjamina* zero-valent iron/copper nanoparticles, *Adsorption Science & Technology*. 38(9-10), pp. 325-343.
189. Pham T.H., Viet N.M., Hoai P.T.T., Tung N.H., Tran H.M., Mapari M. Kim T., 2023, Synthesis of solar-driven Cu-doped graphitic carbon nitride photocatalyst for enhanced removal of caffeine in wastewater, *Environmental Research*. 233, 116483.
190. Peternela J., Silva M.F., Vieira M.F., Bergamasco R. Vieira A.M.S., 2017, Synthesis and impregnation of copper oxide nanoparticles on activated carbon through green synthesis for water pollutant removal, *Materials Research*. 21, pp. e20160460.
191. León G.R., Aldás M.B., Guerrero V.H., Landázuri A.C. Almeida-Naranjo C.E., 2019, Caffeine and irgasan removal from water using bamboo, laurel and moringa residues impregnated with commercial TiO₂ nanoparticles, *MRS Advances*. 4(64), pp. 3553-3567.
192. Muthukumar H., Shanmugam M.K. Gummadi S.N., 2020, Caffeine degradation in synthetic coffee wastewater using silverferrite nanoparticles fabricated via green route using *Amaranthus blitum* leaf aqueous extract, *Journal of Water Process Engineering*. 36, 101382.
193. Angelé-Martínez C., Nguyen K.V.T., Ameer F.S., Anker J.N., Brumaghim J.L., 2017, Reactive oxygen species generation by copper (II) oxide nanoparticles determined by DNA damage assays and EPR spectroscopy, *Nanotoxicology*. 11(2), pp. 278-288.
194. Murugesan S., Balasubramanian S., Perumal E., 2025, Copper oxide nanoparticles induced reactive oxygen species generation: A systematic review and meta-analysis, *Chemico-Biological Interactions*. 405, 111311.
195. Shi M., Kwon H.S., Peng Z., Elder A. Yang H., 2012, Effects of surface chemistry on the generation of reactive oxygen species by copper nanoparticles, *ACS nano*. 6(3), pp. 2157-2164.

196. Ziylan-Yavas A., Ince N.H., Ozon E., Arslan E., Aviyente V., Savun-Hekimoğlu B., Erdinçler A., 2021, Oxidative decomposition and mineralization of caffeine by advanced oxidation processes: The effect of hybridization, *Ultrasonics sonochemistry*. 76, 105635.
197. He W., Zhou Y.-T., Wamer W.G., Boudreau M.D. Yin J.-J., 2012, Mechanisms of the pH dependent generation of hydroxyl radicals and oxygen induced by Ag nanoparticles, *Biomaterials*. 33(30), pp. 7547-7555.
198. Sawicka-Chudy P., Sibiński M., Wisz G., Rybak-Wilusz E. Cholewa M. *Numerical analysis and optimization of Cu₂O/TiO₂, CuO/TiO₂, heterojunction solar cells using SCAPS*. in *Journal of Physics: Conference Series*. 2018. IOP Publishing.
199. Balık M., Bulut V. Erdogan I.Y., 2019, Optical, structural and phase transition properties of Cu₂O, CuO and Cu₂O/CuO: Their photoelectrochemical sensor applications, *International Journal of Hydrogen Energy*. 44(34), pp. 18744-18755.
200. Chen Z., Meng H., Xing G., Chen C., Zhao Y., Jia G., Wang T., Yuan H., Ye C. Zhao F., 2006, Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*, *Toxicology Letters*. 163(2), pp. 109-120.
201. Lee I.-C., Ko J.-W., Park S.-H., Lim J.-O., Shin I.-S., Moon C., Kim S.-H., Heo J.-D. Kim J.-C., 2016, Comparative toxicity and biodistribution of copper nanoparticles and cupric ions in rats, *International journal of nanomedicine*. 11, pp. 2883-2900.
202. Senthil Kumar P., Senthamarai C. Durgadevi A., 2014, Adsorption kinetics, mechanism, isotherm, and thermodynamic analysis of copper ions onto the surface modified agricultural waste, *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 33(1), pp. 28-37.
203. Montazer M., Dastjerdi M., Azdaloo M. Rad M.M., 2015, Simultaneous synthesis and fabrication of nano Cu₂O on cellulosic fabric using copper sulfate and glucose in alkali media producing safe bio- and photoactive textiles without color change, *Cellulose*. 22(6), pp. 4049-4064.

204. Bakshi M. and Kumar A., 2021, Copper-based nanoparticles in the soil-plant environment: Assessing their applications, interactions, fate and toxicity, *Chemosphere*. 281, 130940.
205. Chen G., Li J., Han H., Du R. Wang X., 2022, Physiological and molecular mechanisms of plant responses to copper stress, *International Journal of Molecular Sciences*. 23(21), 12950.
206. Zhao X., Chen Y., Li H. Lu J., 2021, Influence of seed coating with copper, iron and zinc nanoparticles on growth and yield of tomato, *IET Nanobiotechnology*. 15(8), pp. 674-679.
207. Van N.T., 2018, Effects of nano copper used in seed treatment for germination, growth, and productivity of maize, *Journal of Biology/Tạp chí Sinh Học*. 40(4).
208. Lee W.M., An Y.J., Yoon H. Kweon H.S., 2008, Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): Plant agar test for water-insoluble nanoparticles, *Environmental toxicology and chemistry*. 27(9), pp. 1915-1921.
209. Pilon M., Abdel-Ghany S.E., Cohu C.M., Gogolin K.A. Ye H., 2006, Copper cofactor delivery in plant cells, *Current Opinion in Plant Biology*. 9(3), pp. 256-263.
210. Ma J., Chen Q.-L., O'Connor P. Sheng G.D., 2020, Does soil CuO nanoparticles pollution alter the gut microbiota and resistome of *Enchytraeus crypticus*?, *Environmental Pollution*. 256, 113463.
211. Simonin M., Cantarel A.A., Crouzet A., Gervaix J., Martins J.M. Richaume A., 2018, Negative effects of copper oxide nanoparticles on carbon and nitrogen cycle microbial activities in contrasting agricultural soils and in presence of plants, *Frontiers in Microbiology*. 9, 3102.
212. Tindwa H., Semu E. Msumali G.P., 2014, Effects of elevated copper levels on biological nitrogen fixation and occurrence of rhizobia in a Tanzanian coffee-cropped soil, *Journal of Agricultural Science and Applications*. 3(1), pp. 13-19.
213. Lu C., Hei R., Song X., Fan Z., Guo D., Luo J. Ma Y., 2023, Metal oxide nanoparticles inhibit nitrogen fixation and rhizosphere colonization by inducing

- ROS in associative nitrogen-fixing bacteria *Pseudomonas stutzeri* A1501, *Chemosphere*. 336, 139223.
214. Geremu M., Tola Y.B. Sualeh A., 2016, Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants, *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 3(1), 25.
215. Nguyen H.N., Tran P.T., Le N.A.T., Nguyen Q.H. Du Bui D., 2024, Synthesis of nano sulfur/chitosan-copper complex and its nematicidal effect against *Meloidogyne incognita* in vitro and on coffee pots, *The Plant Pathology Journal*. 40(3), 261.
216. Oktawan W. and Zaman B. *Use of a germination bioassay to test compost maturity in Tekelan Village*. in *E3S Web of Conferences*. 2018. EDP Sciences.
217. Đỗ Trung Đàm, 1996, Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, Nxb, *Y học*, pp. 12-55.
218. Neves J.V.G.d., Borges M.V., Silva D.d.M., Leite C.X.d.S., Santos M.R.C., Lima N.G.B.d., Lannes S.C.d.S. Silva M.V.d., 2019, Total phenolic content and primary antioxidant capacity of aqueous extracts of coffee husk: chemical evaluation and beverage development, *Food Science and Technology*. 39, pp. 348-353.
219. Khatri D. and Chhetri S.B.B., 2020, Reducing sugar, total phenolic content, and antioxidant potential of nepalese plants, *BioMed Research International*. 2020(1), 7296859.
220. Carrier M., Loppinet-Serani A., Denux D., Lasnier J.-M., Ham-Pichavant F., Cansell F. Aymonier C., 2011, Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass, *Biomass and Bioenergy*. 35(1), pp. 298-307.
221. Galiwango E., Rahman N., Al-Marzouqi A., Abu-Omar M. Khaleel A., 2018, Klason method: An effective method for isolation of lignin fractions from date palm biomass waste, *Chemical and Process Engineering Research*. 57, pp. 46-58.
222. Ihsan B., Shalas A., Elisabeth Y., Claudia L. Putri A., 2023, Determination of caffeine in robusta coffee beans with different roasting method using UV-Vis spectrophotometry, *Food Research*. 7(6), pp. 29-34.

223. Timell T., 1961, Isolation of galactoglucomannans from the wood of gymnosperms, *Tappi*. 44(2), pp. 88-96.
224. Bahgat N.T., Siddiqui A., Wilfert P., Korving L. van Loosdrecht M.C., 2024, FePO₄.2H₂O recovery from acidic phosphate-rich waste streams, *Water Research*. 260, 121905.
225. Nicholls D., 1974, Complexes and first-row transition elements, Red Globe Press, 215.
226. Brauer G., 2012, *Handbook of Preparative Inorganic Chemistry*, Elsevier, 1859 pp.
227. Hammock E.W. and Swift E.H., 1949, Iodometric determination of copper, *Analytical Chemistry*. 21(8), pp. 975-980.
228. Boadu V.G., Teye E., Amuah C.L., Lamptey F.P. Sam-Amoah L.K., 2023, Portable NIR spectroscopic application for coffee integrity and detection of adulteration with coffee husk, *Processes*. 11(4), 1140.
229. Tello J., Viguera M. Calvo L., 2011, Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. *Robusta*) husks using supercritical carbon dioxide, *The Journal of Supercritical Fluids*. 59, pp. 53-60.
230. Zohra R., Redha O. Eddine L., 2016, Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of leaf extract from *Phoenix Dactylifera* L. obtained by different pH of aqueous extraction, *Journal of Pharmacy Research*. 10(1), pp. 1-7.
231. Chok Y.X., Zulkornain A.S., Ya'akob H., Puzi N.S.M. Azelee N.I.W., 2024, Effect of alkaline concentration and temperature on lignin extraction from *Sugarcane bagasse*, *Journal of Bioprocessing and Biomass Technology*. 3(1), pp. 13-19.
232. Ghelichi S., Sørensen A.-D.M., Náthia-Neves G. Jacobsen C., 2024, pH-dependent extraction of antioxidant peptides from red seaweed *Palmaria palmata*: A sequential approach, *Marine Drugs*. 22(9), 413.
233. Ospina-Montoya V., Acelas N., Pérez S., Muñoz-Saldaña J., Porras J., Gallego J.L., Majia M.I., Hoyos L., Valencia S., Forgionny A., 2025, Synergistic adsorption and photocatalysis using coffee husk-derived ZnO/hydrochar for efficient caffeine removal, *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 13(5) 118306.

234. Ghani N., Saeed M.A. Hashim I.H., 2017, Thermoluminescence (TL) response of silica nanoparticles subjected to 50 Gy gamma irradiation, *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 13(3), pp. 178-180.
235. Raja M., Subha J., Ali F.B. Ryu S.H., 2008, Synthesis of copper nanoparticles by electroreduction process, *Materials and Manufacturing Processes*. 23(8), pp. 782-785.
236. Kouti M. and Matouri L., 2010, *Fabrication of nanosized cuprous oxide using fehling's solution*, *Scientia Iranica*, 17(1), pp. 73-78.
237. Amena B.T., Altenbach H., Tibba G.S. Hossain N., 2022, Physico-chemical characterization of alkali-treated Ethiopian Arabica coffee husk fiber for composite materials production, *Journal of Composites Science*. 6(8), 233.
238. Zhang Y.C., Tang J.Y., Wang G.L., Zhang M. Hu X.Y., 2006, Facile synthesis of submicron Cu₂O and CuO crystallites from a solid metallorganic molecular precursor, *Journal of Crystal Growth*. 294(2), pp. 278-282.
239. Gregory N.W., 1957, Elements of X-ray diffraction, *Journal of the American Chemical Society*. 79(7), pp. 1773-1774.
240. Gado W.S., Morshedy A.S., Masoud A.M., Taha E.H., El-Zahhar A.A., Alghamdi M.M., El Naggari A.M.A., El-Fawal E.M., 2025, Ultrasound-assisted synthesis of biomass-derived carbon-supported binary metal oxides for efficient adsorption of heavy metals from wastewater, *RSC advances*. 15(17), pp. 13662-13680.
241. Stuart B.H., 2004, *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
242. Poyilil S., Palatel A. Chandrasekharan M., 2022, Physico-chemical characterization study of coffee husk for feasibility assessment in fluidized bed gasification process, *Environmental Science and Pollution Research*. 29(34), pp. 51041-51053.
243. Ndung'u S.N., Nthiga E.W., Wanjau R.N. Ndiritu A.M., 2024, A cheaper and greener approach for the synthesis of highly pure silicon carbide composites using coffee husk wastes, *Journal of Applied Organometallic Chemistry*. 4(2), pp. 135-144.

244. Haynes W.M., 2016, *CRC Handbook Of Chemistry And Physics*, CRC Press, 2670 pp.
245. Chen K. and Xue D., 2014, Reaction route to the crystallization of copper oxides, *Applied Science and Convergence Technology*. 23(1), pp. 14-26.
246. Upadhyay L.S.B. and Kumar N., 2017, Green synthesis of copper nanoparticle using glucose and polyvinylpyrrolidone (PVP), *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*. 47(10), pp. 1436-1440.
247. Ansari Z., Singh P. Sen K., 2020, Facile synthesis of polyphenol mediated metal nanocomposites for selective sensing of methylmercury, *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 8(4), 03838.
248. Huo D. and Liu W., 2022, Controlled synthesis of Cu₂O nanorods in aqueous solution using gallic acid as both reductant and crystal growth modifier, *Catalysis Communications*. 170, 106494.
249. Duong N.L., Nguyen V.M., Tran T.A.N., Phan T.D.T., Tran T.B.Y., Do B.L., Phung Anh N., Nguyen T.A.T., Ho T.G.-T. Nguyen T., 2023, Durian shell-mediated simple green synthesis of nanocopper against plant pathogenic fungi, *ACS Omega*. 8(12), pp. 10968-10979.
250. Kabayo S.M., Kindala J.T., Nkanga C.I., Krause R.W. Taba K.M., 2019, Preparation and characterization of solid acid catalysts derived from coffee husks, *International Journal of Chemical Science*. 3(6), pp. 5-13.
251. Gonçalves B.M.M., Camillo M.d.O., Oliveira M.P., Carreira L.G., Moulin J.C., Fantuzzi Neto H., de Oliveira B.F., Pereira A.C. Monteiro S.N., 2021, Surface treatments of coffee husk fiber waste for effective incorporation into polymer biocomposites, *Polymers*. 13(19), 3428.
252. Nallathambi G., Ramachandran T., Rajendran V. Palanivelu R., 2011, Effect of silica nanoparticles and BTCA on physical properties of cotton fabrics, *Materials Research*. 14, pp. 552-559.
253. Jiang T., Wang Y., Meng D. Yu M., 2015, Facile synthesis and photocatalytic performance of self-assembly CuO microspheres, *Superlattices and Microstructures*. 85, pp. 1-6.

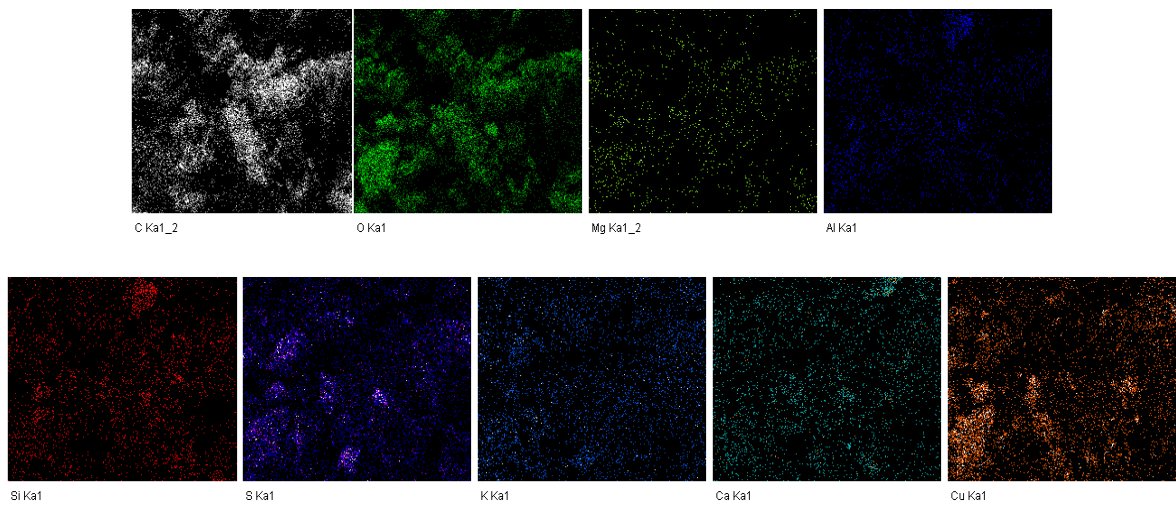
254. Su X., Zhao J., Bala H., Zhu Y., Gao Y., Ma S. Wang Z., 2007, Fast synthesis of stable cubic copper nanocages in the aqueous phase, *The Journal of Physical Chemistry C*. 111(40), pp. 14689-14693.
255. Miyasaki Y., Rabenstein J.D., Rhea J., Crouch M.-L., Mocek U.M., Kittell P.E., Morgan M.A., Nichols W.S., Van Benschoten M. Hardy W.D., 2013, Isolation and characterization of antimicrobial compounds in plant extracts against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *PloS One*. 8(4), e61594.
256. Pagliarulo C., De Vito V., Picariello G., Colicchio R., Pastore G., Salvatore P. Volpe M.G., 2016, Inhibitory effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) polyphenol extracts on the bacterial growth and survival of clinical isolates of pathogenic *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Food Chemistry*. 190, pp. 824-831.
257. Rangkadilok N., Tongchusak S., Boonhok R., Chaiyaraj S.C., Junyaprasert V.B., Buajeeb W., Akanimanee J., Raksasuk T., Suddhasthira T. Satayavivad J., 2012, *In vitro* antifungal activities of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed extract, *Fitoterapia*. 83(3), pp. 545-553.
258. Marinaş I.C., Chifiriuc C., Oprea E. Lazăr V., 2014, Antimicrobial and antioxidant activities of alcoholic extracts obtained from vegetative organs of *A. retroflexus*, *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology*. 73(1-2), pp. 35-42.
259. Sawake M.M., Moharil M.P., Ingle Y.V., Jadhav P.V., Ingle A.P., Khelurkar V.C., Paithankar D.H., Bathe G.A. Gade A.K., 2022, Management of Phytophthora parasitica causing gummosis in citrus using biogenic copper oxide nanoparticles, *Journal of Applied Microbiology*. 132(4), pp. 3142-3154.
260. Abbas N., Ahmed S., Ansari M., Alamri S., Alfagham A.T., 2025, Phytogenic synthesis of copper nanoparticles by using leaf extract of *Eucalyptus globulus* and its antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani*. *BMC Plant Biology*. 25(1), pp. 1-12.
261. Ashraf H., Anjum T., Riaz S., Ahmad I.S., Irudayaraj J., Javed S., Qaiser U. Naseem S., 2021, Inhibition mechanism of green-synthesized copper oxide nanoparticles from *Cassia fistula* towards *Fusarium oxysporum* by boosting growth

- and defense response in tomatoes, *Environmental Science: Nano*. 8(6), pp. 1729-1748.
262. Truong H.T., Nguyen L.C.T. Le L.Q., 2023, Synthesis and antifungal activity of copper nanoparticles against *Fusarium oxysporum* pathogen of plants, *Materials Research Express*. 10(6), 065001.
263. Gaber S.E., Hashem A.H., El-Sayyad G.S. Attia M.S., 2024, Antifungal activity of myco-synthesized bimetallic ZnO-CuO nanoparticles against fungal plant pathogen *Fusarium oxysporum*, *Biomass Conversion and Biorefinery*. 14(20), pp. 25395-25409.
264. El-Abeid S.E., Mosa M.A., El-Tabakh M.A., Saleh A.M., El-Khateeb M.A. Haridy M.S., 2024, Antifungal activity of copper oxide nanoparticles derived from *Zizyphus spina* leaf extract against *Fusarium* root rot disease in tomato plants, *Journal of Nanobiotechnology*. 22(1), 28.
265. Abd-Elsalam K.A., 2022, *Copper Nanostructures: Next-Generation of Agrochemicals for Sustainable Agroecosystems*, Elsevier, 790 pp.
266. Kumar V., Pandita S., Sidhu G.P.S., Sharma A., Khanna K., Kaur P., Bali A.S. Setia R., 2021, Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review, *Chemosphere*. 262, 127810.

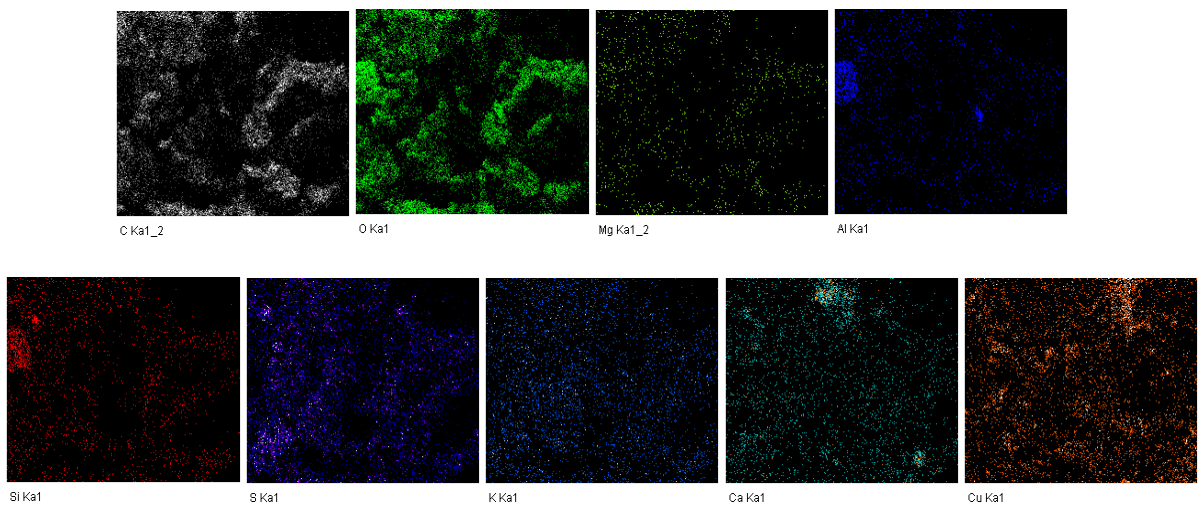
PHỤ LỤC

Bảng PL1. Dữ liệu phân bố kích thước hạt của nano gốc Cu/vỏ cà phê phụ thuộc vào hàm lượng Cu

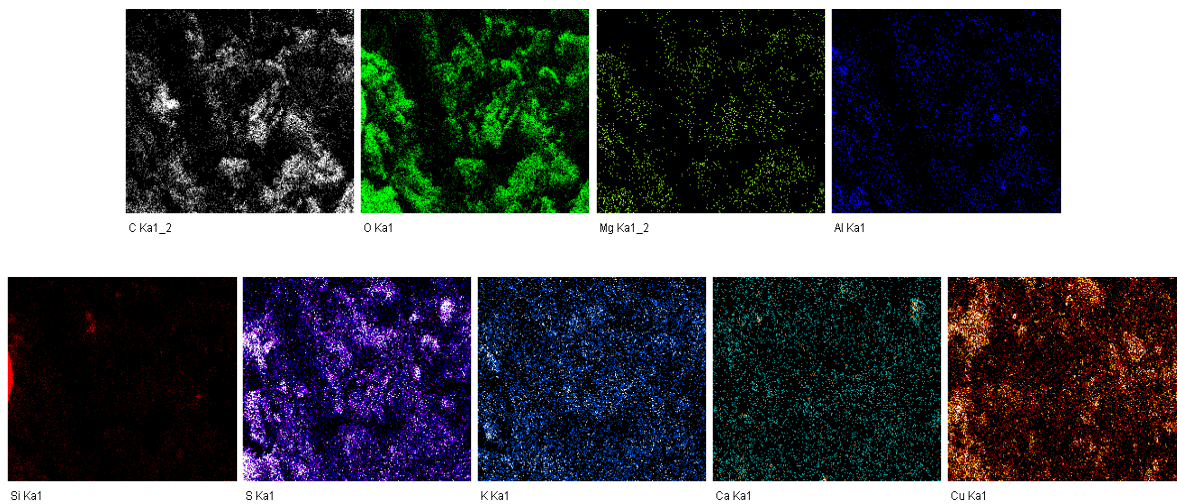
| Mẫu | Kích thước hạt đại diện (nm) | Khoảng kích thước hạt (nm) | Tần suất (%) |
|-------------------------|------------------------------|----------------------------|--------------|
| Nano gốc Cu/VCP (2% Cu) | 20 | 15–24 | 5,59 |
| | 30 | 25–34 | 13,99 |
| | 40 | 35–44 | 44,76 |
| | 50 | 45–54 | 25,87 |
| | 60 | 55–64 | 9,79 |
| Nano gốc Cu/VCP (3% Cu) | 30 | 25–34 | 9,73 |
| | 40 | 35–44 | 26,39 |
| | 50 | 45–54 | 45,83 |
| | 60 | 55–64 | 13,19 |
| | 70 | 65–74 | 4,86 |
| Nano gốc Cu/VCP (4% Cu) | 30 | 25–34 | 7,14 |
| | 40 | 35–44 | 16,67 |
| | 50 | 45–54 | 38,89 |
| | 60 | 55–64 | 26,98 |
| | 70 | 65–74 | 10,32 |
| Nano gốc Cu/VCP (5% Cu) | 50 | 45–54 | 23,01 |
| | 60 | 55–64 | 42,48 |
| | 70 | 65–74 | 25,66 |
| | 80 | 75–84 | 7,08 |
| | 90 | 85–94 | 1,77 |



Hình PL1. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (3% Cu)



Hình PL2. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (4% Cu)

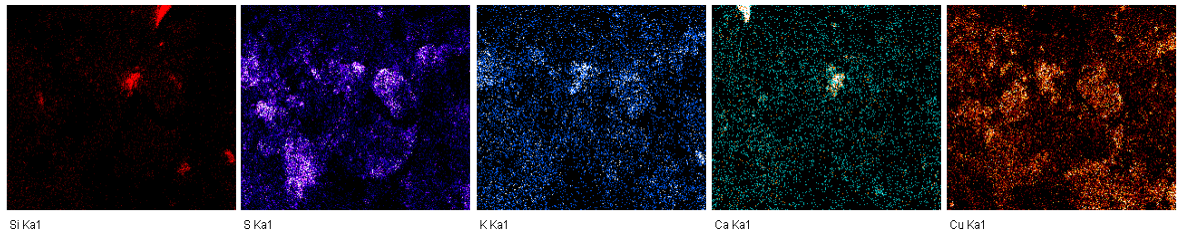
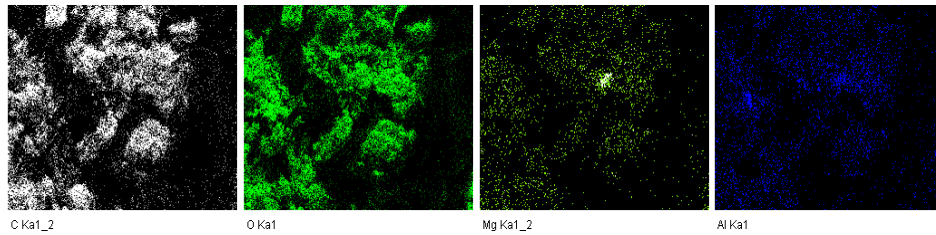


Hình PL3. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (5% Cu)

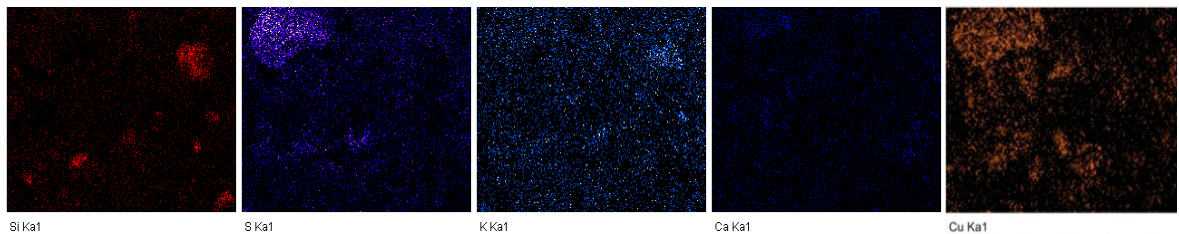
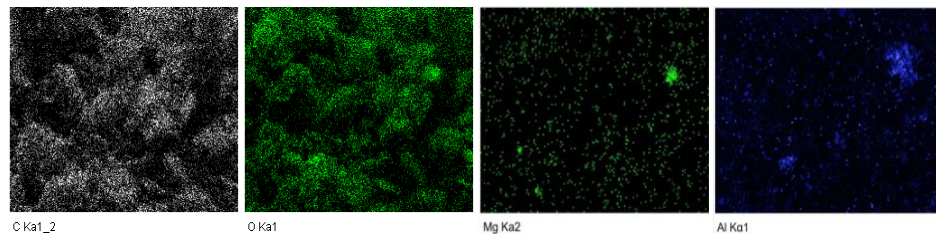
Bảng PL2. Dữ liệu phân bố kích thước hạt của nano gốc Cu/vỏ cà phê phụ thuộc vào pH phản ứng

| Mẫu | Kích thước hạt đại diện (nm) | Khoảng kích thước hạt (nm) | Tần suất (%) |
|------------------------|------------------------------|----------------------------|--------------|
| Nano gốc Cu/VCP (pH 8) | 30 | 25–34 | 11,32 |
| | 40 | 35–44 | 16,98 |
| | 50 | 45–54 | 30,19 |
| | 60 | 55–64 | 28,30 |
| | 70 | 65–74 | 13,21 |
| Nano gốc Cu/VCP (pH 9) | 30 | 25–34 | 18,87 |
| | 40 | 35–44 | 22,64 |
| | 50 | 45–54 | 35,85 |
| | 60 | 55–64 | 13,21 |
| | 70 | 65–74 | 9,43 |
| | 20 | 15–24 | 5,66 |

| | | | |
|----------------------------|----|-------|-------|
| Nano gốc Cu/VCP (pH 10) | 30 | 25–34 | 16,98 |
| | 40 | 35–44 | 33,96 |
| | 50 | 45–54 | 26,42 |
| | 60 | 55–64 | 16,98 |



Hình PL4. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (pH 8)



Hình PL5. Bản đồ phân bố các nguyên tố của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê (pH 10)

Bảng PL3. Dữ liệu phân bố kích thước hạt của nano gốc Cu/vỏ cà phê sau 12 tháng lưu trữ

| Kích thước hạt đại diện (nm) | Khoảng kích thước hạt (nm) | Tần suất (%) |
|------------------------------|----------------------------|--------------|
| 30 | 25–34 | 6,26 |
| 40 | 35–44 | 29,46 |
| 50 | 45–54 | 35,71 |
| 60 | 55–64 | 23,21 |
| 70 | 65–74 | 5,36 |

Bảng PL4. Hiệu lực *in vitro* kháng nấm *Phytophthora capsici* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| Nghiệm thức | LLL | Đường kính tản nấm (cm) |
|--------------------|-----|-------------------------|
| Đối chứng | 1 | 9,00 |
| | 2 | 9,00 |
| | 3 | 9,00 |
| VCP (833 mg/L) | 1 | 9,00 |
| | 2 | 9,00 |
| | 3 | 9,00 |
| VCP (1167 mg/L) | 1 | 9,00 |
| | 2 | 9,00 |
| | 3 | 9,00 |
| VCP (1500 mg/L) | 1 | 7,43 |
| | 2 | 8,61 |
| | 3 | 8,01 |
| VCP | 1 | 7,10 |

| Nghiệm thức | LLL | Đường kính tản nấm (cm) |
|---------------------------------|-----|-------------------------|
| (1833 mg/L) | 2 | 7,49 |
| | 3 | 8,41 |
| Nano gốc Cu/VCP (25 mg/L Cu) | 1 | 3,13 |
| | 2 | 4,29 |
| | 3 | 3,86 |
| Nano gốc Cu/VCP (35 mg/L Cu) | 1 | 2,97 |
| | 2 | 3,14 |
| | 3 | 3,25 |
| Nano gốc Cu/VCP (45 mg/L Cu) | 1 | 1,25 |
| | 2 | 1,65 |
| | 3 | 1,09 |
| Nano gốc Cu/VCP (55 mg/L Cu) | 1 | 0,93 |
| | 2 | 0,21 |
| | 3 | 0,61 |

Bảng PL5. Hiệu lực *in vitro* kháng nấm *Fusarium oxysporum* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| Nghiệm thức | LLL | Đường kính tản nấm (cm) |
|---------------------------------|-----|-------------------------|
| Đối chứng | 1 | 9,00 |
| | 2 | 9,00 |
| | 3 | 9,00 |
| Nano gốc Cu/VCP (25 mg/L Cu) | 1 | 5,70 |
| | 2 | 6,10 |
| | 3 | 6,50 |

| Nghiệm thức | LLL | Đường kính tản nảm (cm) |
|---------------------------------|-----|-------------------------|
| Nano gốc Cu/VCP (35 mg/L Cu) | 1 | 5,02 |
| | 2 | 4,81 |
| | 3 | 4,60 |
| Nano gốc Cu/VCP (45 mg/L Cu) | 1 | 2,90 |
| | 2 | 3,07 |
| | 3 | 3,24 |
| Nano gốc Cu/VCP (55 mg/L Cu) | 1 | 0,45 |
| | 2 | 0,75 |
| | 3 | 1,05 |

Bảng PL6. Hiệu quả *in vitro* diệt tuyến trùng *Meloidogyne incognita* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| Nghiệm thức | LLL | Số lượng J2 ban đầu | Số lượng J2 chết |
|---------------------------------|-----|---------------------|------------------|
| Đối chứng | 1 | 95 | 0 |
| | 2 | 95 | 0 |
| | 3 | 101 | 0 |
| Nano gốc Cu/VCP (20 mg/L Cu) | 1 | 97 | 0 |
| | 2 | 98 | 0 |
| | 3 | 93 | 85 |
| Nano gốc Cu/VCP (25 mg/L Cu) | 1 | 97 | 84 |
| | 2 | 107 | 92 |
| | 3 | 106 | 90 |
| Nano gốc Cu/VCP (30 mg/L Cu) | 1 | 106 | 84 |
| | 2 | 99 | 96 |

| Nghiệm thức | LLL | Số lượng J2 ban đầu | Số lượng J2 chết |
|---------------------------------|-----|---------------------|------------------|
| | 3 | 107 | 99 |
| Nano gốc Cu/VCP (35 mg/L Cu) | 1 | 107 | 96 |
| | 2 | 106 | 94 |
| | 3 | 102 | 94 |

Bảng PL7. Hiệu quả *in vivo* diệt tuyến trùng *Meloidogyne incognita* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| Nghiệm thức | LLL | Số lượng giun tròn/100g đất | Số lượng nốt sần/rễ |
|---------------------------------|-----|-----------------------------|---------------------|
| Đôi chứng âm | 1 | 0 | 0 |
| | 2 | 0 | 0 |
| | 3 | 0 | 0 |
| | 4 | 0 | 0 |
| | 5 | 0 | 0 |
| Đôi chứng dương | 1 | 1938 | 51,40 |
| | 2 | 2765 | 69,80 |
| | 3 | 2532 | 65,90 |
| | 4 | 2192 | 55,00 |
| | 5 | 2228 | 61,70 |
| Nano gốc Cu/VCP (20 mg/L Cu) | 1 | 369 | 10,10 |
| | 2 | 546 | 12,60 |
| | 3 | 545 | 11,70 |
| | 4 | 391 | 10,80 |
| | 5 | 426 | 11,20 |

| Nghiệm thức | LLL | Số lượng giun tròn/100g đất | Số lượng nốt sần/rễ |
|---------------------------------|-----|-----------------------------|---------------------|
| Nano gốc Cu/VCP (25 mg/L Cu) | 1 | 278 | 4,10 |
| | 2 | 366 | 5,50 |
| | 3 | 343 | 5,30 |
| | 4 | 293 | 4,50 |
| | 5 | 338 | 4,90 |
| Nano gốc Cu/VCP (30 mg/L Cu) | 1 | 112 | 0,00 |
| | 2 | 260 | 0,00 |
| | 3 | 255 | 0,00 |
| | 4 | 134 | 0,00 |
| | 5 | 184 | 0,00 |
| Nano gốc Cu/VCP (35 mg/L Cu) | 1 | 0 | 0,00 |
| | 2 | 0 | 0,00 |
| | 3 | 0 | 0,00 |
| | 4 | 0 | 0,00 |
| | 5 | 0 | 0,00 |

Bảng PL8. Ảnh hưởng *in vitro* của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê đến sự nảy mầm và phát triển rễ của hạt đậu xanh

| Nghiệm thức | LLL | Chiều dài của rễ (cm) | Số hạt nảy mầm (hạt) |
|-------------|-----|-----------------------|----------------------|
| Đối chứng | 1 | 2,60 | 13 |
| | 2 | 3,59 | 11 |
| | 3 | 2,76 | 12 |
| VCP | 1 | 2,84 | 9 |

| Nghiệm thức | LLL | Chiều dài của rễ (cm) | Số hạt nảy mầm (hạt) |
|----------------------------------|-----|-----------------------|----------------------|
| (3.333 mg/L) | 2 | 0,97 | 12 |
| | 3 | 1,74 | 11 |
| Nano gốc Cu/VCP (100 mg/L Cu) | 1 | 2,28 | 13 |
| | 2 | 3,60 | 13 |
| | 3 | 2,48 | 14 |

Bảng PL9. Độc cấp tính cấp LD₅₀ của vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê trên chuột

| Nhóm | LLL | Liều dùng (mg/kg) | Số chuột sống/chết sau 15 ngày |
|------------|-----|----------------------------------|--------------------------------|
| Đối chứng | 1 | Nước cất | 6/0 |
| | 2 | | 6/0 |
| | 3 | | 6/0 |
| Thử nghiệm | 1 | Nano gốc Cu/VCP (300 mg/kg) | 6/0 |
| | 2 | | 6/0 |
| | 3 | | 6/0 |
| Thử nghiệm | 1 | Nano gốc Cu/VCP (3.000 mg/kg) | 6/0 |
| | 2 | | 6/0 |
| | 3 | | 6/0 |

Bảng PL10. Tỷ lệ nhạy cảm của chuột với vật liệu nano gốc Cu/vỏ cà phê

| Động vật | | | Điểm phản ứng nhạy cảm da | | | | |
|----------|----|-------|---------------------------|----|--------|----|------|
| Nhóm | Số | Giống | 24 giờ | | 48 giờ | | Khác |
| Nhóm Thử | 1 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 |
| | 2 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 |

| Động vật | | | Điểm phản ứng nhạy cảm da | | | | | |
|----------|------------------|---|---------------------------|----|----|----|----|---|
| | 3 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 4 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 5 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 6 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 7 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 8 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 9 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 10 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 11 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 12 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 13 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 14 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 15 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 16 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 17 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 18 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 19 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | 20 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| | Nhóm chứng âm | 1 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 |
| | | 2 | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 |
| 3 | | ♂ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| 4 | | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |
| 5 | | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 | |

| Động vật | | | Điểm phản ứng nhạy cảm da | | | | |
|------------------------|---|---|---------------------------|----|----|----|---|
| | 6 | ♀ | E0 | O0 | E0 | O0 | 0 |
| Nhóm chứng dương | 1 | ♂ | E2 | O0 | E0 | O0 | 0 |
| | 2 | ♂ | E2 | O0 | E1 | O0 | 0 |
| | 3 | ♂ | E2 | O0 | E0 | O0 | 0 |
| | 4 | ♀ | E2 | O0 | E1 | O0 | 0 |
| | 5 | ♀ | E1 | O0 | E1 | O0 | 0 |
| | 6 | ♀ | E2 | O0 | E1 | O0 | 0 |

Ghi chú: E0 là không ban đỏ, E1 là ban đỏ nhẹ, E2 là ban đỏ phân biệt rõ, E3 là ban đỏ từ mức trung bình đến nặng, E4 là ban đỏ nặng (màu đỏ thẫm) đến tạo thành vẩy; O0 là không phù nề, O1 là phù nề nhẹ, O2 là phù nề trung bình (xác định được gờ của khu vực bị phù nề), O3 là phù nề nặng (cao khoảng 1 mm)