

Chế tạo chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan bằng phương pháp chiếu xạ ứng dụng làm phân bón kích kháng trên đậu nành

Trần Lê Trúc Hà^{1*}, Nguyễn Thanh Vũ², Trần Đức Trọng², Ngô Trần Vũ², Lê Quang Luân²

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Trung tâm công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

*tltha@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Trong nghiên cứu này, chế phẩm nano bạc gắn trên vi hạt silica ổn định trong oligochitosan (AgNPs/SiO₂/Oligochitosan) được chế tạo thành công bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma đồng thời đánh giá hiệu ứng kích kháng bệnh và thúc đẩy tăng trưởng trên cây đậu nành. Kết quả cho thấy vi hạt silica được chế tạo từ tro trấu bằng phương pháp sol - gel có hiệu suất chế tạo và độ tinh khiết cao đạt tương ứng là (10,7 và 98,34) %. Chitosan có khối lượng phân tử (Mw) khoảng 47,8 kDa được chế tạo thành công bằng phương pháp chiếu xạ kết hợp xử lý với 2 % H₂O₂ ở liều 15 kGy. Chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan được chế tạo thành công từ hỗn hợp 100 ppm AgNO₃, 2 % SiO₂ và 5 % chitosan Mw thấp bằng phương pháp chiếu xạ ở liều 4 kGy. Khi xử lý 0,4 % chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan không chỉ có tác dụng gia tăng tỷ lệ nảy mầm, giảm thời gian nảy mầm trung bình, tăng sinh khối và hoạt tính của chitinase của mầm đậu nành mà còn thúc đẩy tăng trưởng mà còn gia tăng kích kháng ở cây đậu nành 35 ngày tuổi một cách rõ rệt. Kết quả nghiên cứu cho thấy chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ có triển vọng ứng dụng trong sản xuất nông nghiệp công nghệ cao.

Nhận 09/04/2025

Được duyệt 17/06/2025

Công bố 28/06/2025

Từ khóa

chiếu xạ, chitinase, oligochitosan, nano bạc, vi hạt silica

© 2025 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Nano bạc (AgNPs) là một hoạt chất có đặc tính kháng khuẩn cao và nhiều nghiên cứu cũng cho thấy khi kích thước hạt càng nhỏ thì tính kháng khuẩn càng cao [1]. Ngoài khả năng kháng khuẩn, AgNPs cũng đã chứng minh được khả năng kháng nấm cao [1]. Thêm vào đó, AgNPs cũng tăng cường khả năng sinh trưởng và phát triển của cây trồng thông qua việc tăng cường hàm lượng chlorophyll, carbohydrate, protein và các enzyme kháng oxy hóa [2].

Silica (SiO₂) là thành phần chính trong vỏ trái đất, trong tự nhiên SiO₂ kết hợp các oxide khác như magie, nhôm,

canxi, sắt tạo thành khoáng silicat trộn lẫn trong đất đá. Trong nông nghiệp SiO₂ được biết đến với khả năng kích thích sinh trưởng, gia tăng tính kháng bệnh cho cây trồng hoặc làm chất mang giúp phân phối một cách có kiểm soát phân bón và hoạt chất tăng trưởng cho cây trồng. Hạt SiO₂ còn có khả năng rút ngắn thời gian nảy mầm cũng như làm tăng chiều dài, số lượng rễ ở bắp và tăng cường hoạt động của các enzyme như phenylalanine ammonia lyase, peroxidase và polyphenol oxidase giúp kháng lại các tác nhân gây bệnh như *Fusarium oxysporum* và *Aspergillus niger* trên cây bắp [3]. Hơn nữa SiO₂ còn thúc đẩy quá trình

hình thành các hợp chất thứ cấp có tác dụng tiêu diệt và ức chế quá trình xâm nhiễm của vi sinh vật gây hại như salicylic acid, jasmonic acid và ethylene [4]. Bên cạnh đó, Việt Nam là một nước chuyên canh, chế biến và xuất khẩu gạo với tổng sản lượng bình quân đạt mức 43,46 triệu tấn trong năm 2024 [5], song song với đó là lượng trấu phát sinh rất lớn (khoảng 4 % tổng sản lượng), trong đó hàm lượng SiO_2 chiếm từ (87-97) % tùy thuộc vào giống lúa, điều kiện khí hậu, đất đai của từng vùng miền [6]. Từ đó có thể thấy, việc tận thu được nguồn SiO_2 có trong vỏ trấu để ứng dụng trong nông nghiệp có ý nghĩa rất lớn đối với nước ta.

Chitosan (CTS) là một polymer có nguồn gốc tự nhiên, là sản phẩm của quá trình deacetyl hóa chitin (tách chiết từ vỏ tôm cua), CTS có cấu tạo từ các D-glucosamine và N-acetyl-D-Glucosamine liên kết với nhau bởi liên kết β -glucoside. CTS khối lượng phân tử cao thường khó hoà tan trong nước, chỉ tan trong môi trường acid nên chỉ được ứng dụng hạn chế trong nông nghiệp. Để tăng tính ứng dụng của CTS đã có nhiều nghiên cứu cắt mạch CTS tạo oligochitosan trong đó có thể kể đến các phương pháp như sử dụng tác nhân hóa học (hóa chất), tác nhân sinh học (enzyme) và tác nhân vật lý (vi sóng và bức xạ) [7, 8]. Trong đó cắt mạch bức xạ được xem là phương pháp an toàn, hiệu quả cao, không phát thải và dễ dàng triển khai sản xuất ở quy mô công nghiệp. Về hoạt tính, oligochitosan có tác dụng kích thích quá trình sinh trưởng của cây trồng, cải thiện khả năng ra hoa, đậu quả và tăng năng suất [9]. Bên cạnh đó, oligochitosan còn kích thích cây trồng tổng hợp các enzyme phytoalexin như phenylalanine ammonia lyase, peroxidases và chitinase giúp cây trồng có khả năng chống lại sự tấn công của vi sinh vật gây hại [10]. Hiện nay có nhiều phương pháp để chế tạo AgNPs, trong đó chế tạo AgNPs bằng phương pháp chiếu xạ có nhiều thuận lợi do phản ứng thực hiện trong điều kiện thường, hiệu suất tạo AgNPs cao, không sử dụng chất khử hóa học, không gây phát thải xanh như phương pháp sinh học và dễ dàng kiểm soát kích thước hạt nano thông qua điều chỉnh suất liều và nồng độ các chất phản ứng, có khả năng áp dụng sản xuất quy mô lớn và đáp ứng được yêu cầu sản xuất sạch [11]. Việc ứng dụng công nghệ bức xạ và tận dụng được nguồn phế phụ

phẩm sẵn có để chế tạo chế phẩm ba trong một gồm nano bạc gắn trên vi hạt silica ổn định trong oligochitosan hứa hẹn sẽ tạo ra một chế phẩm phân bón an toàn, hiệu quả cao và thân thiện với môi trường.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu

Trấu được thu nhận tại vùng trồng lúa Long An (Việt Nam), Chitosan ($M_w \sim 608,5$ kDa, Độ deacetyl ~ 80 %, Việt Nam), Hạt đậu nành giống HNDN 910 (Hoàng Nông, Việt Nam), Chitinase assay kit (Megazyme, Ireland), SiO_2 (Biosilico, Việt Nam) và các hóa chất khác như: KBr, HCl, NaOH, CH_3COOH , CH_3COONa , v.v. (Meck, Germany).

Nguồn xạ gamma Co-60 (GC 5000, BRIT, India) đặt tại Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh, suất liều 4,8 kGy/giờ.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chế tạo vi hạt SiO_2 từ trấu bằng phương pháp sol - gel

Trấu được ngâm 8 giờ trong HCl 11,1 % (tỷ lệ 1/10, w/v) sau đó rửa sạch và nung ở nhiệt độ 600 °C trong 4 giờ bằng lò nung (High temperature furnace, Nabertherm, Germany) để thu tro. Tro trấu sau đó được hòa tan trong NaOH 1 M để thu nhận dung dịch Na_2SiO_3 . Dung dịch Na_2SiO_3 sau đó được phân tán vào hệ dung dịch butanol/nước với tỉ lệ 1/1 đã bổ sung 2 % CTAB. Dung dịch HCl được nhỏ từ từ vào hệ dung dịch trên cho đến khi xuất hiện kết tủa dạng gel trắng (pH = 4). Kết tủa sau phản ứng được thu nhận bằng cách ly tâm 7 000 vòng/phút trong 10 phút và rửa bằng nước khử ion đến pH = 7. Phần tủa được sấy khô và nung ở 700 °C trong 4 giờ để thu nhận vi hạt SiO_2 .

2.2.2 Chế tạo chitosan khối lượng phân tử thấp chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60

Chitosan (CTS) có M_w khoảng 608,5 kDa được ngâm trương bão hoà trong dung dịch 2 % H_2O_2 với tỉ lệ 1/5 (w/v) và chiếu xạ ở liều xạ 15 kGy trên nguồn gamma Co-60 để chế tạo CTS M_w thấp.

2.2.3 Chế tạo chế phẩm nano bạc gắn trên vi hạt silica và ổn định trong oligochitosan bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60

Hoà tan 50 g CTS Mw thấp trong 750 mL acid lactic 2 %, bổ sung từ từ 0,17 g AgNO_3 vào dung dịch và khuấy đều tạo hỗn hợp CTS/ AgNO_3 . Sau đó, 20 g vi hạt SiO_2 được bổ sung vào dung dịch CTS/ AgNO_3 và thêm nước khử ion để thể tích cuối đạt 1 000 mL, tiến hành đồng hóa mẫu trong 30 phút để tạo hỗn hợp $\text{AgNO}_3/\text{SiO}_2/\text{chitosan}$ (1 mM AgNO_3 , 2 % SiO_2 và 5 % CTS) trước khi chiếu xạ ở liều 4 kGy tạo chế phẩm $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$.

2.2.4 Phương pháp xác định đặc trưng cấu trúc của các mẫu sau khi được chế tạo

Phổ tử ngoại – khả kiến (UV-vis): Bước sóng hấp thụ cực đại (λ_{max}) của mẫu CTS Mw thấp và $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$ được xác định trên máy Genesys 10S UV– Vis (Thermo Scientific, USA). Mẫu CTS Mw thấp sau chế tạo được hòa tan trong dung dịch 1 % acetic acid tạo dung dịch CTS 0,01 % và tiến hành đo ở (200–400) nm. Mẫu $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$ được pha loãng 20 lần và tiến hành đo ở (375–425) nm. Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR): Mẫu vi hạt SiO_2 hoặc CTS Mw thấp được nghiền mịn và trộn với KBr theo tỉ lệ 3 mg mẫu/100 mg KBr sau đó được nén bằng máy nén chuyên dụng để tạo dạng viên và tiến hành phân tích phổ FTIR trong khoảng số sóng từ (4000–500) cm^{-1} trên máy quang phổ hồng ngoại FTIR 4700 (Jasco, Japan).

Khối lượng phân tử của CTS Mw thấp hoặc oligochitosan được xác định bằng máy GPC Agilent e2965 (Water, Mỹ) với hệ dung môi $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ (nồng độ 0,25 M, tỷ lệ 1:1) và sử dụng Pullulan là mẫu chuẩn. Oligochitosan được thu nhận bằng cách ly tâm chế phẩm $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$ 15.000 vòng/phút trong 10 phút để thu nhận dịch nổi và phân tích Mw.

Phổ nhiễu xạ tia X (XRD): phổ XRD của mẫu SiO_2 (Hình 1b) hoặc $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$ (Hình 5b) được xác định trên hệ máy nhiễu xạ tia X D8 Advance Eco (Bruker, USA), sử dụng ống phát bức xạ $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$, $U = 40 \text{ kV}$, $I = 25 \text{ mA}$).

Xác định kích thước hạt: vi hạt SiO_2 sau chế tạo được

phân tán trong nước tạo dịch huyền phù 1 % và phân tích kích thước hạt trên máy nhiễu xạ laser LS I3 320 (Beckman Coulter, USA) và chụp ảnh SEM. Kích thước hạt AgNPs trong chế phẩm được tính toán dựa trên diện tích peak tại $38,1^\circ$ trên phổ nhiễu xạ tia X bằng công thức Debye-Scherrer trên phần mềm Diffraction Evolver 4.3.1 và chụp ảnh SEM.

Phân tích thành phần nguyên tố: vi hạt SiO_2 sau chế tạo được phân tích thành phần cấu tạo bằng phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) trên máy FE-SEM S4800 (Hitachi, Japan), Hình 3b. Chế phẩm $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$ được ly tâm 15 000 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ oligochitosan và AgNPs không gắn trên SiO_2 , phần tủa ($\text{AgNPs}/\text{SiO}_2$) được phân tích thành phần cấu tạo bằng EDX.

2.2.5 Đánh giá hiệu ứng kích kháng bệnh và tăng trưởng của chế phẩm $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$ trên hạt đậu nành

Các hạt đậu nành được khử trùng với cồn 70 % trước khi được ngâm trong chế phẩm $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$, dung dịch SiO_2 hoặc oligochitosan với nồng độ 0,4 % trong 30 phút. Sau đó, các hạt được đặt trong các khay nhựa có lót bông giữ ẩm và theo dõi quá trình nảy mầm. Mỗi nghiệm thức bao gồm 100 hạt và được lặp lại 3 lần. Đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng như: tỷ lệ nảy mầm, thời gian nảy mầm trung bình và sinh khối tươi của mầm đậu nành theo công thức được công bố bởi Ranal *et al.*, (2006) [12]. Đồng thời đánh giá hiệu ứng kích kháng bệnh thông qua hoạt tính chitinase.

2.2.6 Đánh giá hiệu ứng kích kháng bệnh và tăng trưởng của chế phẩm $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$ trên cây đậu nành con

Cây đậu nành 10 ngày tuổi được chia thành 4 lô thí nghiệm, mỗi lô gồm 5 chậu, mỗi chậu trồng 3 cây và được lặp lại 3 lần. Các cây đậu nành được để ổn định 24 giờ trong nhà lưới trước khi được phun chế phẩm $\text{AgNPs}/\text{SiO}_2/\text{Oligochitosan}$, vi hạt SiO_2 hoặc oligochitosan ướt đều mặt lá với nồng độ 0,4 % và tần suất 7 ngày/lần. Khi cây đậu nành được 35 ngày tuổi, tiến hành thu mẫu đánh giá chỉ tiêu sinh trưởng như chiều cao cây, chiều dài rễ, sinh khối tươi và sinh khối khô. Đồng thời,

đánh giá khả năng kích kháng bệnh thông qua hoạt tính chitinase ở rễ, thân và lá của cây đậu nành.

2.2.7 Phương pháp xác định hoạt tính chitinase

Chitinase từ các mẫu mầm đậu nành và các mẫu lá, thân, rễ của cây đậu nành 35 ngày tuổi được ly trích và thu nhận theo quy trình của Dinesh *et al.*, 2010 [13]. Sau đó, hoạt tính của chitinase xác định bằng chitinase assay kit.

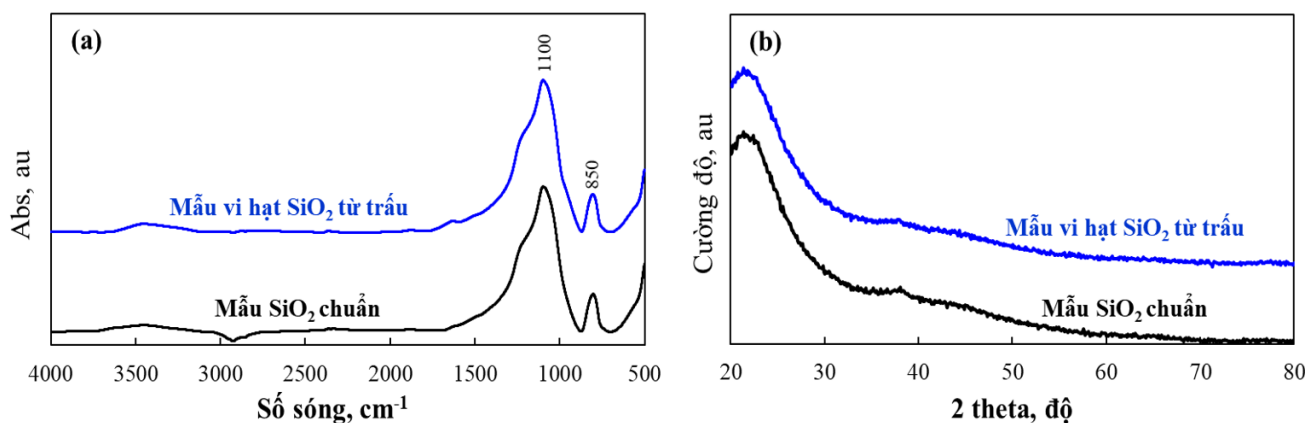
2.2.8 Xử lý số liệu và phân tích thống kê

Các mẫu thí nghiệm được lặp lại 3 lần lấy giá trị trung bình ($\pm$ SE), số liệu được tổng hợp trên phần mềm excel và được xử lý thống kê trên phần mềm IBM SPSS statistics 20.0 ($p < 0,05$).

3 Kết quả và Thảo luận

3.1 Chế tạo vi hạt silica từ trấu và các đặc trưng cấu trúc của vi hạt SiO₂ sau chế tạo

Trấu được biết đến là một phụ phẩm của ngành trồng lúa nước, có trữ lượng lớn và có hàm lượng SiO₂ cao.

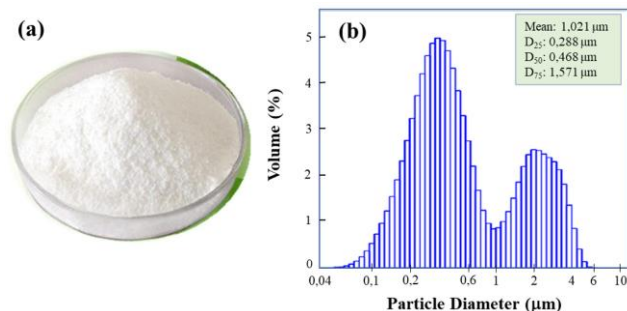


Hình 1 Đặc trưng cấu trúc của mẫu vi hạt SiO₂ chế tạo từ trấu bằng phương pháp sol – gel

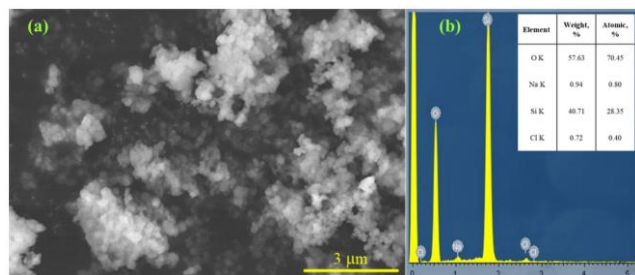
Kết quả phân bố kích thước hạt (Hình 2b) cho thấy, kích thước hạt trung bình của SiO₂ chế tạo từ trấu là 1,021 μm với phân bố kích thước hạt từ (40-6000) nm (trong đó giá trị D25, D50 và D75 là tỷ lệ phần trăm phân bố kích thước hạt. Như vậy giá trị D25: 0,288 μm có nghĩa là có số hạt có kích thước $\leq 0,288 \mu\text{m}$ chiếm 25 % trong tổng số các hạt). Trong đó, các hạt SiO₂ phân bố chủ yếu ở khoảng kích thước (200-600) nm và từ (2-4) μm . Ngoài ra, kết quả chụp ảnh bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (Hình 3a) cho thấy mẫu vi hạt SiO₂ có dạng hình cầu với kích thước giao động từ (65-230) nm và dạng kết cụm với kích thước từ (2-3) μm .

Trong nghiên cứu này vi hạt SiO₂ được chế tạo từ trấu bằng phương pháp sol - gel. Kết quả cho thấy hiệu suất chế tạo vi hạt SiO₂ (hình 2a) từ trấu đạt 10,7 %, đặc trưng cấu trúc và độ tinh khiết của vi hạt SiO₂ được trình bày ở các Hình 1-3.

Kết quả phổ FTIR (hình 1a) cho thấy, mẫu SiO₂ chế tạo từ trấu có sự xuất hiện hai đỉnh tại số sóng 850 và 1100 cm^{-1} đặc trưng cho liên kết đối xứng và bất đối xứng giữa nguyên tử Si và O (cần nổi đặc trưng cho sự hình thành của SiO₂). Ngoài ra, kết quả nhận được từ giản đồ XRD (hình 1b) cho thấy mẫu SiO₂ chế tạo từ trấu có đỉnh khoảng 24° đặc trưng cho cấu trúc SiO₂ vô định hình và không xuất hiện đỉnh mới khi so sánh với mẫu SiO₂ chuẩn, các kết quả phân tích đã nêu khá phù hợp với báo cáo của Saravanan và Dubey (2020) khi chế tạo nano SiO₂ bằng phương pháp sol – gel [14].

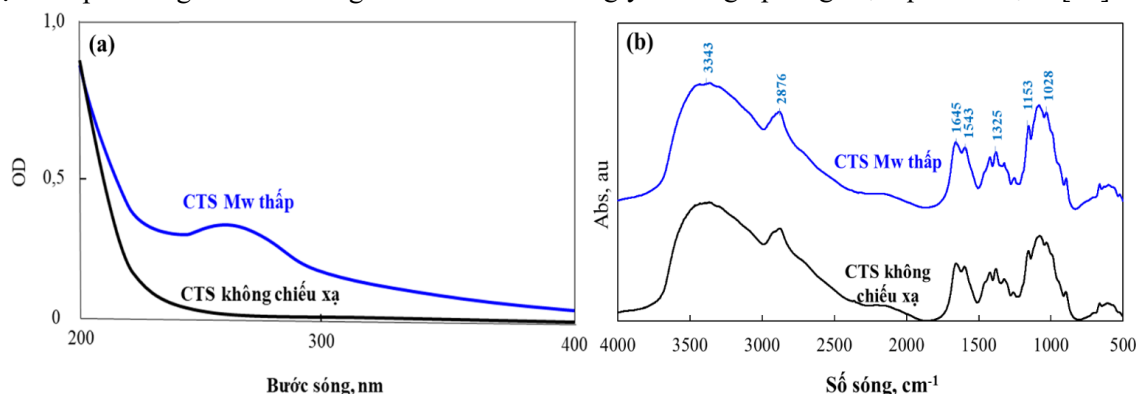


Hình 2 Kích thước vi hạt SiO₂ chế tạo từ trấu bằng phương pháp sol – gel



Hình 3 Thành phần cấu tạo của mẫu vi hạt SiO₂

chế tạo từ trấu bằng phương pháp sol – gel. Kết quả phổ tán xạ năng lượng tia X (hình 3b) cũng cho thấy mẫu vi hạt SiO₂ chế tạo từ trấu có thành phần gồm nguyên tử silic, oxy, natri và clo. Trong đó, nguyên tố silic và oxy chiếm đến 98,34 % (w/w) phần còn lại là muối NaCl với hàm lượng khoảng 1,66 %. Kết quả nhận được cho thấy vi hạt SiO₂ chế tạo bằng phương pháp sol – gel có độ tinh khiết cao (> 98 %), phù hợp để chế tạo chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan.



Hình 4 Đặc trưng cấu trúc của CTS Mw thấp chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ kết hợp xử lý H₂O₂

Kết quả phân tích phổ hồng ngoại nhận được từ hình 4b cho thấy các đỉnh sóng đặc trưng của CTS như (1625-1435) cm⁻¹ (nhóm C-H), (2900-3550) cm⁻¹ (liên kết N-H₂, OH-O) và không có sự khác biệt giữa CTS được chiếu xạ và CTS không được chiếu xạ, điều này chứng minh việc chiếu xạ sẽ không làm thay đổi các nhóm chức năng của CTS ban đầu.

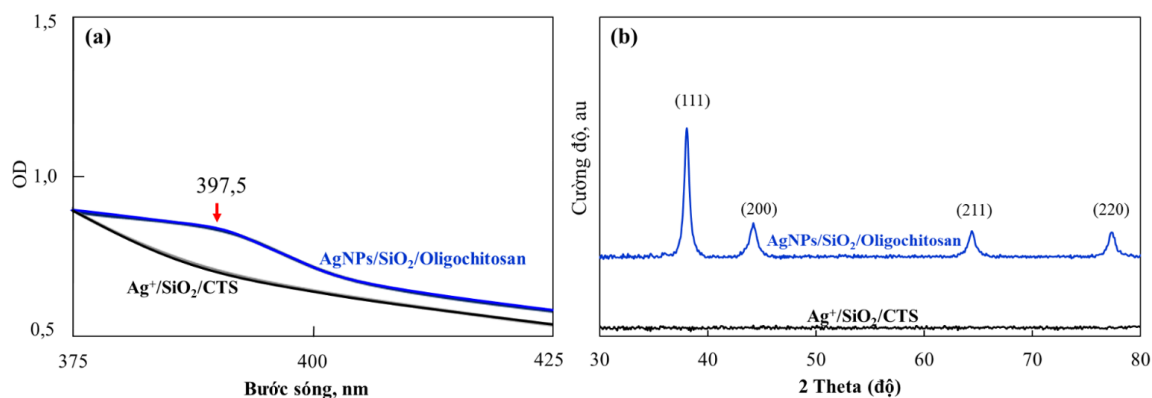
3.3 Chế tạo và các đặc trưng của mẫu AgNPs/SiO₂/Oligochitosan sau chế tạo

Kết quả phân tích UV – Vis (Hình 5a) của chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan cho thấy có sự xuất hiện của đỉnh mới ở bước sóng ~ 397,5 nm kết quả này được Phú và cộng sự (2015) [16] giải thích do hiệu ứng

3.2 Cắt mạch CTS bằng phương pháp chiếu xạ và đặc trưng cấu trúc của mẫu CTS sau chế tạo

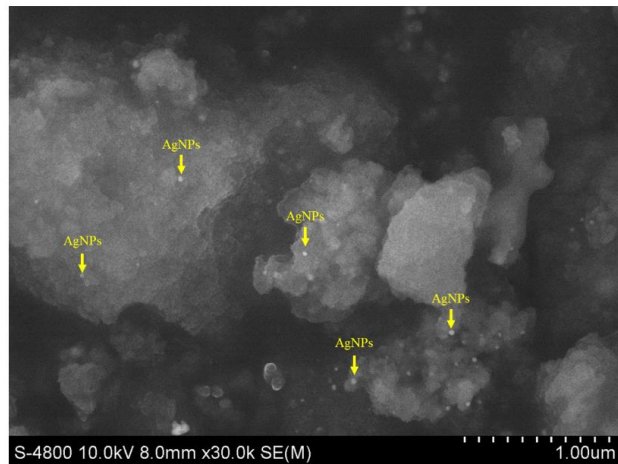
Kết quả nhận được từ phổ UV – Vis (Hình 4a) cho thấy sự xuất hiện đỉnh hấp thụ tại bước sóng 293 nm đặc trưng cho nhóm cacbonxyl (C – O) tại các vị trí carbon C1 – C4 khi CTS bị cắt mạch. Bên cạnh đó kết quả phân tích sắc ký gel thẩm qua cho thấy CTS được chiếu xạ kết hợp với 2 % H₂O₂ ở liều 15 kGy thì Mw của CTS giảm nhanh từ 608,5 kDa xuống còn 47,8 kDa với hiệu suất cắt mạch đạt khoảng 92,1 %, điều này cho thấy chiếu xạ tia gamma Co-60 kết hợp xử lý H₂O₂ có hiệu quả cao khi cắt mạch CTS. Nguyên nhân có thể là do cơ chế phân ly bức xạ của nước và H₂O₂ khi chiếu xạ tia gamma dẫn đến hình thành các gốc tự do hydroxyl (OH⁻) có tính oxy hóa mạnh, cùng với đó các gốc OH⁻ cũng là tác nhân bắt hydro và làm đứt các liên kết glycoside giúp tăng hiệu quả cắt mạch [15].

plasmon bề mặt của nano bạc hình thành trong quá trình chiếu xạ. Bên cạnh đó, kết quả nhận được từ phổ XRD (Hình 5b) cho thấy mẫu AgNPs/SiO₂/Oligochitosan có xuất hiện các đỉnh mới ở các mặt phẳng nhiễu xạ (111), (200), (211) và (220) đặc trưng cho sự hiện diện của nano bạc, kết quả này hoàn toàn phù hợp với công bố của Phú và cộng sự (2015) [16]. Đồng thời kết quả phân tích EDX cho thấy hàm lượng AgNPs trong mẫu AgNPs/SiO₂ chiếm 0,5 % (w/w) (tương ứng với 1 mM Ag⁺ ban đầu). Từ những kết quả trên có thể thấy toàn bộ lượng Ag⁺ đã được khử tạo thành AgNPs và gắn lên bề mặt của vi hạt SiO₂ (Hình 6).



Hình 5 Đặc trưng cấu trúc của mẫu AgNPs/SiO₂/Oligochitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ

Ngoài ra, dựa trên công thức Debye-Scherrer và kết quả phân tích diện tích đỉnh tại mặt phẳng (111) trên phổ XRD của chế phẩm (Hình 5b) có thể tính toán được kích thước trung bình của hạt nano bạc trong chế phẩm là khoảng 6,7 nm. Ngoài ra, kết quả phân tích Mw của oligochitosan trong chế phẩm cho thấy, CTS với Mw khoảng 47,8 kDa sau quá trình chiếu xạ tạo chế phẩm (4 kGy) đã giảm xuống còn khoảng 20,8 kDa kết quả này khá phù hợp với các công bố trước đây của [17].



Hình 6 Ảnh chụp SEM của mẫu AgNPs/SiO₂

3.4 Hiệu ứng kích kháng bệnh và tăng trưởng của chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan trên hạt đậu nành
 Kết quả nhận được từ Bảng 1 và Hình 7 cho thấy các hạt đậu nành sau khi xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan có tỷ lệ nảy mầm khá cao (đạt 80 %) trong khi tỷ lệ nảy mầm ở nghiệm thức đối chứng chỉ đạt 71,67 %. Bên cạnh đó, các hạt đậu nành được xử lý với oligochitosan cũng gia tăng tỷ lệ nảy mầm lên 77 %, trong khi tỷ lệ nảy mầm của các hạt đậu nành được xử lý với SiO₂ chỉ đạt 73,67 %. Ngoài ra, kết quả nhận được từ Bảng 1 cũng cho thấy thời gian nảy mầm trung bình của các hạt đậu nành được xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan được rút ngắn khá nhiều chỉ còn 29,07 giờ, trong khi thời gian nảy mầm trung bình của các hạt đậu nành ở nghiệm thức đối chứng lên đến 36,15 giờ. Thêm vào đó, kết quả nhận được từ Bảng 1 cũng cho thấy hiệu quả tăng cường tăng trưởng của chế phẩm trên mầm đậu nành. Cụ thể hạt đậu nành khi được xử lý với chế phẩm có sự gia tăng đáng kể về chiều dài mầm cũng như sinh khối tươi và sinh khối khô khi so sánh với nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức xử lý với vi hạt SiO₂.

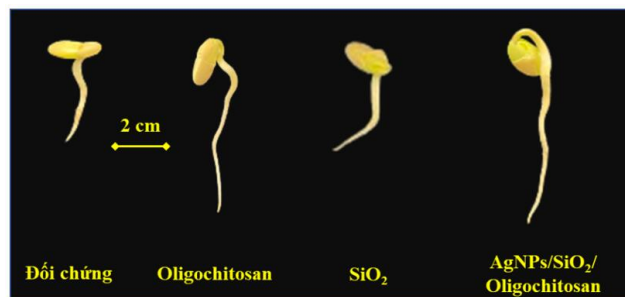
Bảng 1 Các chỉ tiêu sinh trưởng và hoạt tính chitinase của mầm đậu nành khi xử lý với chế phẩm khác nhau

Hoạt chất xử lý	Tỷ lệ nảy mầm, %	Thời gian nảy mầm, giờ	Chiều dài mầm, mm	Sinh khối tươi, mg/mầm	Sinh khối khô, mg/mầm	Hoạt tính chitinase, UI/mL
Nước (ĐC)	71,67 ^b ± 3,38	36,15 ^c ± 1,33	44,72 ^a ± 6,91	91,73 ^b ± 12,47	6,07 ^b ± 0,37	1,64 ^b ± 0,08
Vi hạt SiO ₂	73,67 ^{ab} ± 1,33	35,74 ^{bc} ± 1,29	45,06 ^a ± 4,03	96,93 ^b ± 3,2	6,4 ^b ± 0,69	1,67 ^b ± 0,13
Oligochitosan	77 ^{ab} ± 2,89	30,69 ^{ab} ± 1,28	59,4 ^a ± 4,74	104,87 ^{ab} ± 1,04	7,33 ^{ab} ± 0,37	2,12 ^a ± 0,08
AgNPs/SiO ₂ /Oligochitosan	80 ^a ± 0,58	29,07 ^a ± 2,23	62,23 ^a ± 4,02	128 ^a ± 6,48	8,73 ^a ± 0,29	1,99 ^a ± 0,07

Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

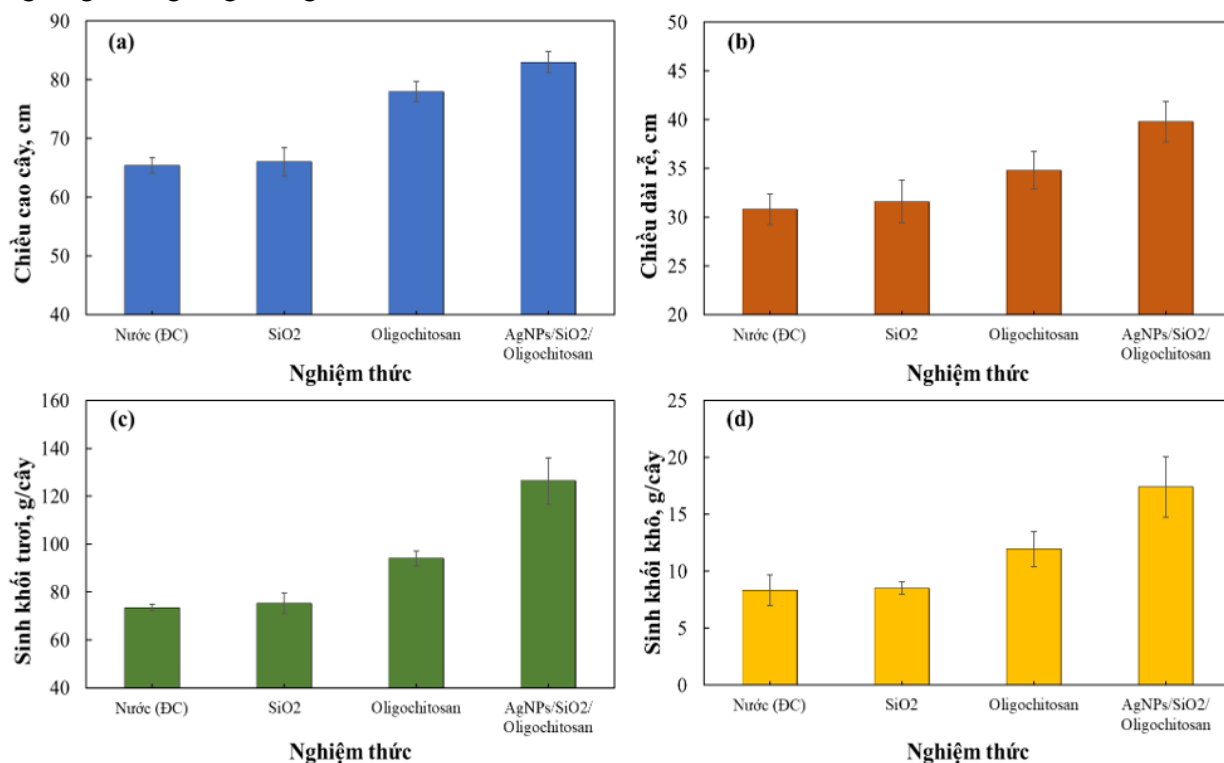
Chitinase là một enzyme phổ biến ở thực vật và thường được tìm thấy ở các bộ phận như rễ, thân, lá, củ, hoặc ở những mô bị tổn thương của thực vật. Chitinase đóng vai trò quan trọng trong nhiều quá trình sinh lý ở thực vật, như quá trình nảy mầm, quá trình sinh tổng hợp ethylene và trong việc phòng thủ của thực vật chống lại stress môi trường [18]. Kết quả nhận được từ Bảng 1 cho thấy, việc xử lý hạt đậu nành với chế phẩm còn làm gia tăng đáng kể hoạt tính chitinase có trong hạt đậu nành. Cụ thể, ở nghiệm thức xử lý với chế phẩm và oligochitosan hoạt tính chitinase cao hơn nghiệm thức đối chứng lần lượt là (29,3 và 21,3) %, trong khi nghiệm thức xử lý với vi hạt SiO_2 không có sự khác biệt so với nghiệm thức đối chứng. Hiệu quả tăng cường tăng trưởng và gia tăng hoạt tính chitinase của vi

hạt silica, oligochitosan hoặc AgNPs cũng đã được thể hiện trên giống cây trồng khác nhau [19].



Hình 7 Khả năng sinh trưởng của mầm đậu nành khi được xử lý với các hoạt chất khác nhau

3.5 Hiệu ứng kích kháng bệnh và tăng trưởng của chế phẩm AgNPs/ SiO_2 /Oligochitosan trên cây đậu nành 35 ngày tuổi



Hình 8 Các chỉ tiêu sinh trưởng của cây đậu nành ở giai đoạn 35 ngày tuổi

Kết quả nhận được từ Hình 8 và Hình 9 cho thấy khi xử lý với chế phẩm AgNPs/ SiO_2 /Oligochitosan hoặc oligochitosan ở giai đoạn cây con đã làm gia tăng đáng kể các chỉ tiêu sinh trưởng của đậu nành. Cụ thể các cây đậu nành ở các nghiệm thức xử lý phun với chế phẩm AgNPs/ SiO_2 /Oligochitosan có chỉ tiêu chiều cao cây (Hình 8a) và chiều dài rễ (Hình 8b) đạt (83,0 và 29,07)

cm; sinh khối tươi và sinh khối khô lần lượt đạt tương ứng là (128,0 và 8,73) g/cây. Trong khi đó chỉ tiêu sinh trưởng của cây đậu nành ở nghiệm thức đối chứng chỉ đạt (65,4 và 30,8) cm đối với chiều cao cây và chiều dài rễ; sinh khối tươi (Hình 8c) và sinh khối khô (Hình 8d) đạt (73,51 và 8,32) g/cây. Việc xử lý phun oligochitosan cũng làm gia tăng đáng kể các chỉ tiêu sinh trưởng của

cây đậu nành so với nghiệm thức đối chứng, tuy nhiên hiệu quả thấp hơn so với khi xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan. Đối với nghiệm thức xử lý

phun với SiO₂ thì chỉ tiêu sinh trưởng của đậu nành hầu như không có sự khác biệt so với nghiệm thức đối chứng.

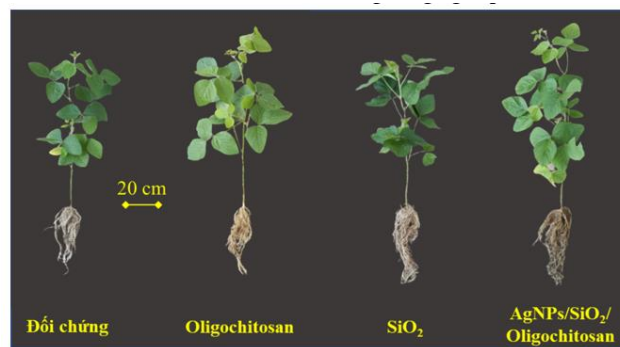
Bảng 2 Hoạt tính chitinase ở cây đậu nành 35 ngày

Hoạt chất xử lý	Hoạt tính chitinase, UI/mL		
	Rễ	Thân	Lá
Nước (ĐC)	0,58 ^b ± 0,02	0,61 ^c ± 0,01	0,75 ^d ± 0,02
Vi hạt SiO ₂	0,58 ^b ± 0,04	0,7 ^b ± 0,03	0,84 ^c ± 0,01
Oligochitosan	0,69 ^a ± 0,02	0,76 ^b ± 0,01	1,03 ^b ± 0,01
AgNPs/SiO ₂ /Oligochitosan	0,7 ^a ± 0,02	1,1 ^a ± 0,02	1,26 ^a ± 0,03

Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Đã có nhiều nghiên cứu cho thấy tác dụng thúc đẩy sự tăng trưởng và kích kháng của oligochitosan trên thực vật thông qua việc tăng cường hoạt động của các enzyme phytoalexin trong đó có chitinase. Bên cạnh đó, việc kết hợp chitosan với các hợp phần khác như SiO₂ và nano bạc làm gia tăng đáng kể hoạt tính của chitosan nhờ hiệu ứng cộng gộp. Trong nghiên cứu của Phu *et al.* (2017), việc sử dụng chế phẩm oligochitosan-nanosilica cho hiệu quả gia tăng năng suất ở đậu nành (17 %) cao hơn nghiệm thức chỉ sử dụng oligochitosan (10,5 %) khi so sánh với đối chứng không xử lý [20]. Tương tự như vậy, trong nghiên cứu [21] việc sử dụng chế phẩm oligochitosan-nanosilica cho hiệu quả gia tăng hoạt tính chitinase ($6,32 \times 10^{-3}$ UI/g) trên thanh long cao hơn khi so sánh với nghiệm thức chỉ sử dụng oligochitosan ($5,99 \times 10^{-3}$ UI/g) hoặc nano SiO₂ ($4,68 \times 10^{-3}$ UI/g). Thêm vào đó sự kết hợp của chitosan và nano bạc không chỉ làm tăng tính ổn định của hạt nano bạc trong chế phẩm mà còn gia tăng đáng kể hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của nano bạc [22].

Hiện nay, tác động của nano bạc đến môi trường và hệ sinh thái vẫn còn đang là một vấn đề gây tranh cãi. Tuy nhiên sử dụng AgNPs thay thế thuốc bảo vệ thực vật hoá học góp phần đáng kể trong việc giảm thiểu ô nhiễm môi trường, tăng khả năng sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây trồng cũng như chất lượng nông sản [23]. Từ những kết quả đó có thể thấy chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan là một chế phẩm an toàn hiệu quả cao hứa hẹn là giải pháp thay thế cho các loại phân bón, thuốc bảo vệ thực vật hoá học trong nông nghiệp.



Hình 9 Khả năng sinh trưởng của cây đậu nành khi được xử lý với các hoạt chất khác nhau ở giai đoạn 35 ngày tuổi

4 Kết luận

Đã chế tạo thành công chế phẩm phân bón lá ba trong một AgNPs/SiO₂/Oligochitosan bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60 với các hợp phần như SiO₂ chế tạo từ vỏ trấu, oligochitosan và nano bạc chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60. Chế phẩm chế tạo được có tác dụng thúc đẩy tăng trưởng và tăng cường hiệu ứng kích kháng bệnh thông qua gia tăng hoạt tính chitinase trên mầm đậu nành cũng như trên cây đậu nành 35 ngày tuổi. Từ đó cho thấy chế phẩm AgNPs/SiO₂/Oligochitosan có tiềm năng ứng dụng trong sản xuất nông nghiệp công nghệ cao.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại Học Nguyễn Tất Thành, Thành Phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số: 2025.01.91/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Yılmaz G. E., Göktürk L., Ovezova M., Yılmaz F., Kılıç S. and Denizli A. (2023). Antimicrobial Nanomaterials: A Review, *Hygiene*, 3(3), 269-290.
2. Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G., Saradhi, P. P., Khanna, P. K. and Arora, S. (2012). Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of Brassica juncea, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167, 2225-2233.
3. Suriyaprabha, R., Karunakaran, G., Kavitha, K., Yuvakkumar, R., Rajendran, V. and Kannan, N. (2014). Application of silica nanoparticles in maize to enhance fungal resistance. *IET Nanobiotechnol*, 8(3), 133-140.
4. Van, B. J., De Vleeschauwer, D. and Hofte, M. (2013). Towards establishing broad-spectrum disease resistance in plants: silicon leads the way. *Journal of Experimental Botany*, 64, 1281-129.
5. Cục thống kê (2025). Báo cáo tình hình kinh tế – xã hội quý IV và năm 2024.
6. Anggraini, L., Sutisna, N. A., Hernawan, R. (2022). Rice husk ash extraction applied for biosilica reinforced tire tread filler compound. *Materials Science Forum*, 1067, 85-90.
7. Benchamas, G., Huang, G., Huang, S. and Huang, H. (2021). Preparation and biological activities of chitosan oligosaccharides. *Trends in Food Science & Technology*, 107, 38-44.
8. Dung, P. D., Hung, L. T., Ngoc, L. S., Hien, H. D., Le, B. V., Thang, N. T., Phu, D. V., Duy, N. N. and Hien, N. Q. (2017). Induction of anthracnose disease resistance on chili fruit by treatment of oligochitosan-nanosilica hybrid material. *Agricultural Sciences*, 8, 1105-1113.
9. Lam, P. N. N., Nghi, T. D. T., Phat, D. Q., Tuyen, N. T. B., Tram, N. N. H., Hoang, X. L. T., Thao, N. P. (2023). Supporting functions of oligochitosan on soybean seed germination under normal and salinity stress conditions. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 21(3), 491-503.
10. Khan, W., Prithiviraj, B. and Smith, D. L. (2023). Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160(8), 859-863.
11. Li, T., Park, H. G. and Choi, S. H. (2007). γ -irradiation-induced preparation of Ag and Au nanoparticles and their characterizations. *Materials Chemistry and Physics*, 105, 325-330.
12. Ranal, M. A. and Santana, D. G. D. (2006). How and why to measure the germination process?. *Brazilian Journal of Botany*, 29(1), 1-11.
13. Dinesh, K. P., SantaRam, A. and Shivanna, M. B. (2010). Studies on the chitinase activity in coffee (*Coffea arabica* L.) genetic resources in India. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(4), 449-452.
14. Saravanan, S. and Dubey, R. S. (2020). Synthesis of SiO₂ nanoparticles by sol-gel method and their optical and structural properties. *Romanian Journal Of Information Science And Technology*, 23(1), 105-112.
15. Hiên, N. Q., Dữ, Đ. X., Phú, Đ. V., Quốc, L. A., Dũng, P. Đ. và Duy, N. N. (2016). Nghiên cứu chế tạo oligochitosan bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60 dung dịch chitosan-H₂O₂ và khảo sát hiệu ứng chống oxy hóa. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 54(1), 46-53.
16. Phú, Đ. V., Duy, N. N., Lan, N. T. K., Lăng, V. T. K., Hiên, N. Q. và Quốc, L. A. (2015). Nghiên cứu chế tạo bạc nano trên nền zeolite bằng phương pháp chiếu xạ ứng dụng làm tác nhân diệt khuẩn trong nhựa. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 2(7), 25-30.
17. 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. and Hien, N. Q. (2008). Preparation of colloidal silver nanoparticles in poly (N-vinylpyrrolidone) by γ -irradiation, *Journal of Experimental Nanoscience*, 3(3), 207-213.
18. Collinge, D. B., Kragh, K. M., Mikkelsen, J. D., Nielsen, K. K., Rasmussen, U. and Vad, K. (1993). Plant chitinase. *The Plant Journal*, 3(1), 31-40.

19. Behboudi, F., Sarvestani, Z. T., Kassaee, M. Z., Sanavi, S. A. M. M. and Sorooshzadeh, A. (2017). Phytotoxicity of Chitosan and SiO₂ Nanoparticles to Seed Germination of Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Barley (*Hordeum vulgare* L.) Plants. *Notulae Scientia Biologicae*, 9(2), 242-249.
20. Phu, D. V., Du, B. D., Tuan, L. N. A., Tam, H. V. and Hien, N. Q. (2017). Preparation and foliar application of oligochitosan-nanosilica on the enhancement of soybean seed yield. *International Journal of Environment Agriculture and Biotechnology (IJEAB)*, 2(1), 421-428.
21. Tuan, L. N. A., Du, B. D., Ha, L. D. T., Dzung, L. T. K., Phu, D. V. and Hien, N. Q. (2019). Induction of chitinase and brown spot disease resistance by oligochitosan and nano silica-oligochitosan in dragon fruit plants. *Agricultural Research*, 8(2), 184-190.
22. Nhien, L. T. A., Luong, N. D., Tien, L.T., Luan, L. Q. (2018). Radiation Synthesis of Silver Nanoparticles/Chitosan for Controlling Leaf Fall Disease on Rubber Trees Causing by *Corynespora cassiicola*. *Journal of Nanomaterials*, 2018,1-9.
23. Himanshu, J., Harish, C. J., Joydeep, D., Akil, A., Mohammed, B. A., Kaizar, H., Gaurav, P., Gaurav K. (2025). Advancing food safety with biogenic silver nanoparticles: Addressing antimicrobial resistance, sustainability, and commercial viability. *Food Chemistry: X*, 26:102298.

Preparation of AgNPs/SiO₂/Oligochitosan by Irradiation Method for Use as a Phytoalexin Stimulation Fertilizer in Soybean Plants

Tran Le Truc Ha^{1*}, Nguyen Thanh Vu², Tran Duc Trong², Ngo Tran Vu², Le Quang Luan²

¹Nguyen Tat Thanh University

²Biotechnology Center of Ho Chi Minh City

*tltha@ntt.edu.vn

Abstract In this study, a silver nanoparticles dopped on silica microparticles and stabilized in oligochitosan (AgNPs/SiO₂/Oligochitosan) was successfully prepared by γ -ray irradiation and evaluated its phytoalexin stimulation and growth promotion effects on soybean plants. The results showed that the efficiency and purity of silica microparticles synthesized from rice husk by sol - gel method were about 10.7 and 98.34 %, respectively. Chitosan with molecular weight (Mw) approximately 47.8 kDa was also successfully prepared by γ -ray irradiation combined with 2 % H₂O₂ at a dose of 15 kGy. The AgNPs/SiO₂/Oligochitosan product was successfully prepared from the mixture of 100 ppm AgNO₃, 2 % SiO₂ and 5 % low Mw chitosan by irradiation at 4 kGy. The treatment of AgNPs/SiO₂/Oligochitosan product at 0.4 % not only increased the germination rate, reduced the average germination time, increased the biomass and enhanced chitinase activity in soybean sprouts but also strongly promoted the growth and significantly the phytoalexin stimulation in 35-day-old soybean plants. The above results demonstrated that the AgNPs/SiO₂/Oligochitosan product prepared by γ -ray irradiation method has potential applications in high-tech agricultural production.

Keywords Chitinase, Oligochitosan, Silver nanoparticles, Silica microparticles, Radiation.

