

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO HỖN HỢP NANOGEL POLY(VINYL-PYRROLIDONE (PVP) VÀ LACTOGEL DÙNG LÀM CHẤT KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG CÂY TRỒNG

PHẠM THỊ THU HỒNG, ĐOÀN BÌNH, NGUYỄN THÀNH ĐƯỢC,
NGUYỄN NGỌC DUY VÀ NGUYỄN NGUYỆT DIỆU

*Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ
202A Đường 11, P. Linh Xuân, Q. Thủ Đức, Tp. HCM.
Email: hongphamkado@gmail.com*

Tóm tắt: Sử dụng chùm tia điện tử để chiếu xạ khâu mạch dung dịch Poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) ở nồng độ loãng nhằm chế tạo nanogel PVP tại liều hấp thụ 15 kGy. Nanogel PVP 0,5 % có kích thước hạt trung bình phân bố từ 50 - 100 nm. Hỗn hợp nanogel PVP/lactogel được phối trộn với nhau theo tỉ lệ 1:1 dùng làm chất kích thích sinh trưởng cây trồng. Kết quả xác định tỉ lệ nảy mầm của hạt cải ngọt theo dải nồng độ lactogel trong hỗn hợp nanogel PVP/lactogel từ 0, 20, 50, 80 và 100 ppm sau 48 giờ lần lượt là 56, 60, 67, 87 và 90 %. Sự sinh trưởng của cây cải ngọt được đánh giá qua các thông số sinh khối tươi/khô, chiều dài rễ, thân và lá của cây sau 25, 30 và 45 ngày.

Từ khóa: *Chất kích thích sinh trưởng, chiếu xạ, chùm tia điện tử, khâu mạch, nanogel, poly(vinyl pyrrolidone), lactogel.*

I. MỞ ĐẦU

Nanogel là một polime ở dạng gel có kích thước hạt trung bình nanomet. Ngày nay có thể chế tạo nanogel bằng một số phương pháp khác nhau, sử dụng bức xạ ion hóa làm tác nhân khơi mào cho quá trình khâu mạch nội phân tử của các polime để chế tạo nanogel là một trong những phương pháp đơn giản, tiết kiệm năng lượng và sản phẩm thu được có độ tinh khiết cao do không lẫn các tạp chất như monome, chất khơi mào, chất khâu mạch,... Do cấu trúc có kích thước nhỏ (≤ 100 nm), rất linh động và nhạy phản ứng nên nanogel được ứng dụng nhiều trong lĩnh vực sinh học và hóa học như làm chất mang-thải thuốc, bộ phận cảm biến, chất khơi mào phản ứng... [1, 2].

Hiện nay trên thế giới đã có một số công trình nghiên cứu chế tạo nanogel poli(acrilat) dùng làm chất mang flubiprofen ứng dụng trong điều trị mắt, hay tổng hợp các nanogel bằng kỹ thuật phân ly xung có chủ định hay áp dụng kỹ thuật chiếu xạ để khâu mạch nội phân tử các polime phân hủy sinh học như poly(vinyl alcohol) (PVA), poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) [2, 3] ứng dụng trong sinh học. Việt Nam đã có một số công trình nghiên cứu chế tạo thành công nano 'lông' dùng để chế tạo mực in, vi mạch, các linh kiện bán dẫn vào năm 2003 [4] hay chế tạo vật liệu nanocomposit từ poly(vinyl chloride) (PVC), cao su với cao lanh có cấu trúc nanomet (montmorillonite),... Cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào về chế tạo nanogel PVP bằng chùm tia điện tử kết hợp với hoạt chất sinh học dùng làm chất kích thích sinh trưởng ứng dụng trong nông nghiệp.

Bài báo tập trung nghiên cứu chiếu xạ dung dịch PVP ở nồng độ loãng bằng chùm tia điện tử để chế tạo nanogel PVP có kích thước hạt trung bình phân bố trong khoảng 50 - 100 nm sau đó kết hợp nanogel PVP với hoạt chất sinh học lactogel dùng làm chất kích thích sinh trưởng cây trồng.

II. THỰC NGHIỆM

1. Nguyên vật liệu

Poly(vinyl pyrrolidone) (PVP), n-ốc cất (Merck, Đức), lactogel (là một loại hoạt chất sinh học) do Công ty Ecotex Nhật Bản cung cấp. Đất sạch multi và hạt cải ngọt (HJ04) do Công ty TNHH GINO, Việt Nam cung cấp.

2. Phương pháp nghiên cứu

Quy trình chế tạo nanogel PVP

Dung dịch PVP 0,5 % (w/w): Cân 0,555g PVP cho vào cốc chứa sẵn 60 ml n-ớc cất, đun cách thủy hỗn hợp ở nhiệt độ 80 - 90 °C khoảng 3 - 4 giờ cho đến khi hỗn hợp đồng nhất, để nguội đến nhiệt độ phòng sau đó định mức đến 100 ml, lắc đều và lọc hỗn hợp qua phin lọc Sartorius 0,45 μm . Bơm khí nitơ vào hỗn hợp từ 15 - 20 phút để loại bỏ khí oxy và chiếu xạ hỗn hợp trên bằng chùm tia điện tử tại Công ty TNHH Sơn Sơn, Tp. HCM theo dải liều hấp thụ từ 6 - 50 kGy. Dung dịch PVP ở các nồng độ khác đ-ợc chuẩn bị theo quy trình t-ơng tự.

Quy trình phối trộn các hỗn hợp nanogel PVP/lactogel

Phối trộn dung dịch lactogel có nồng độ từ 0 - 100 ppm với nanogel PVP theo tỉ lệ 1:1, khuấy trộn hỗn hợp khoảng 30 phút cho đến khi đồng nhất. Hỗn hợp trên đ-ợc sử dụng nh- là chất kích thích sinh tr-ởng để ngâm hạt và phun cho cây trồng và đ-ợc bảo quản trong tủ mát ở nhiệt độ 4 - 7 °C và hạn sử dụng không quá 5 ngày.

Xác định các đặc tr-ng hóa lý của nanogel PVP và nanogel PVP/lactogel

2.3.1. Xác định độ nhớt t-ơng đối bằng cách đo độ nhớt các dung dịch trên máy AVS 470, SCHOT INSTRUMENT, Đức. Nhiệt độ phòng đo đặt tại 30 °C. Dung dịch đối chứng là n-ớc cất, mỗi mẫu đ-ợc đo lặp lại 10 lần và lấy giá trị trung bình.

2.3.2. Xác định trọng l-ợng phân tử trung bình trọng (M_w) của dung dịch PVP và nanogel PVP bằng phương pháp sắc ký thẩm thấu gel (GPC) trên máy Agilent 1100 Series, Hoa Kỳ tại Tr-ờng Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. Hồ Chí Minh.

2.3.3. Xác định kích th-ớc hạt dung dịch PVP, nanogel PVP và nanogel PVP/lactogel bằng phương pháp chụp ảnh SEM (Scanning Electron Microscope) trên máy Fe-SEM 4800, Hitachi, Nhật Bản tại Khu Công nghệ Cao Tp. Hồ Chí Minh.

Xác định tỷ lệ nảy mầm của hạt cải ngọt: Hạt cải ngọt đ-ợc rải đều trên mặt lớp giấy mềm đã đ-ợc tẩm -ớt cùng một l-ợng n-ớc sau đó phun hỗn hợp nanogel PVP/lactogel theo dải nồng độ 0, 20, 50, 80, 100 ppm. Số l-ợng hạt dùng cho mỗi lô thí nghiệm là 30 hạt. Đếm số hạt nảy mầm sau 48 và 60 giờ.

Quy trình khảo nghiệm nanogel PVP/lactogel trên cây cải ngọt ở qui mô phòng thí nghiệm

Nội dung khảo nghiệm

– Đất và địa điểm khảo nghiệm: Sử dụng đất sạch multi phối trộn với đất cát theo tỉ lệ 8:10 cho vào từng rổ nhựa có kích th-ớc 45 x 30 x 15 cm. Địa điểm khảo nghiệm tại Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ.

– Hạt giống: Hạt cải ngọt với giống cây cải ngọt có tên khoa học là *brassica integrifolia*

– Thời gian khảo nghiệm: Từ 01/2010 đến 02/2010.

Số l-ợng và phương pháp bố trí thí nghiệm

– Công thức dùng thí nghiệm:

- N-ớc (đối chứng)
- Dung dịch lactogel (HCSH)
- Dung dịch lactogel + PVP
- Dung dịch lactogel + nanogel PVP

– Tỉ lệ phối trộn PVP, nanogel PVP với lactogel là 1:1 và hàm l-ợng lactogel là 80 ppm.

– Các thí nghiệm đ-ợc bố trí theo kiểu: 3 rổ lặp lại và đ-ợc chia làm hai lô với mỗi lô t-ơng ứng với số lần phun/ngày nh- sau: 2 lần (sáng, chiều) công thức a đến d và 1 lần (sáng) đối với công thức b, d.

– Thời gian theo dõi: Sau 25, 30 và 45 ngày.

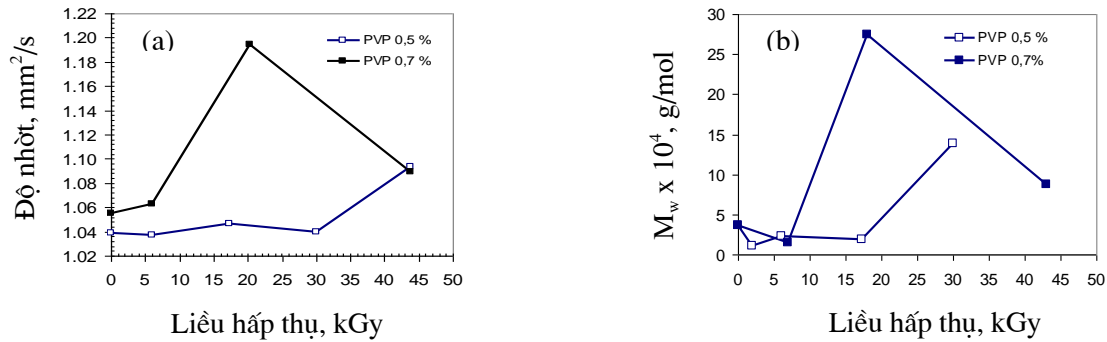
Chỉ tiêu theo dõi

- Sinh khối t-oi/khô, chiều dài rễ, thân và lá
- Hiệu quả sử dụng nanogel PVP/lactogel khảo nghiệm
- Các số liệu thu thập đ-ợc từ các thí nghiệm đ-ợc xử lý thống kê

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Đặc tr-ng hóa lý của nanogel PVP và nanogel PVP/lactogel

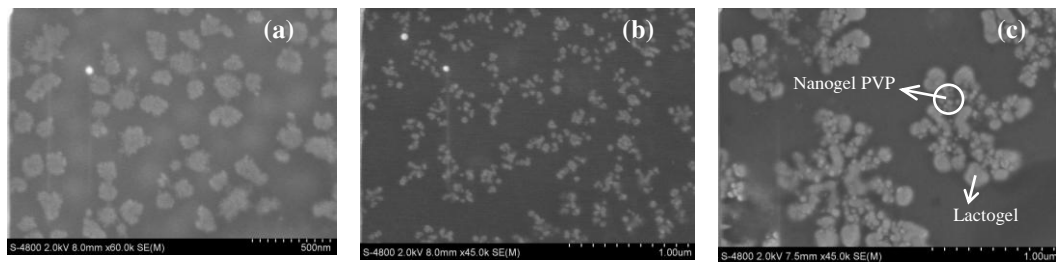
1.1. Tính chất nanogel PVP



Hình 1: Độ nhớt (a) và M_w (b) của dung dịch PVP ở nồng độ 0,5 và 0,7 % đ-ợc chiếu xạ EB theo dải liều hấp thụ.

Kết quả hình 1a cho thấy độ nhớt của dung dịch PVP 0,5 % ổn định trong dải liều từ 0 - 30 kGy và tăng ở liều xạ trên 30 kGy. Bên cạnh đó ở hình 1b, M_w dung dịch PVP 0,5 % hầu như không thay đổi ở dải liều 8 - 20 kGy sau đó tăng ở liều cao hơn 20 kGy. Như vậy trong khoảng liều từ 8 - 20 kGy và tại nồng độ dung dịch PVP 0,5 % xảy ra quá trình khâu mạch nội phân tử tạo nanogel PVP. Riêng đối với dung dịch PVP 0,7 %, độ nhớt và M_w đều tăng cao trong dải liều 8 - 20 kGy điều đó chứng tỏ xảy ra quá trình khâu mạch ngoại phân tử tạo gel và cắt mạch ở liều xạ trên 20 kGy do độ nhớt và M_w đều giảm. Nanogel PVP đ-ợc tạo ra từ dung dịch PVP 0,5 % chiếu xạ EB ở dải liều 8 - 20 kGy sẽ đ-ợc chọn cho các thí nghiệm, phân tích tiếp theo.

1.2. Sự phân bố kích thước hạt của nanogel PVP và nanogel PVP/lactogel



Hình 2: Ảnh SEM dung dịch PVP 0,5 %, 0 kGy (a); dung dịch PVP 0,5 %, 15 kGy (nanogel PVP) (b) và nanogel PVP/lactogel (c).

Dung dịch PVP 0,5 % sau chiếu xạ bằng chùm tia điện tử tại liều xạ 15 kGy đã tạo nanogel PVP có kích thước hạt trung bình phân bố trong khoảng từ 50 - 100 nm (hình 2b) và các nanogel phân bố t-ơng đối đều trong dung dịch. Ngoài ra từ kết quả hình 2c cho thấy nanogel PVP và lactogel có sự liên kết với nhau và phân bố đều trong hỗn hợp, chứng tỏ nanogel PVP mang hoạt chất lactogel và có thể giúp duy trì sự tồn tại của lactogel lâu hơn trên thân, lá cây sau khi phun do đó gia tăng hiệu quả sử dụng hỗn hợp trên cây trồng.

1.3. Độ ổn định của nanogel PVP

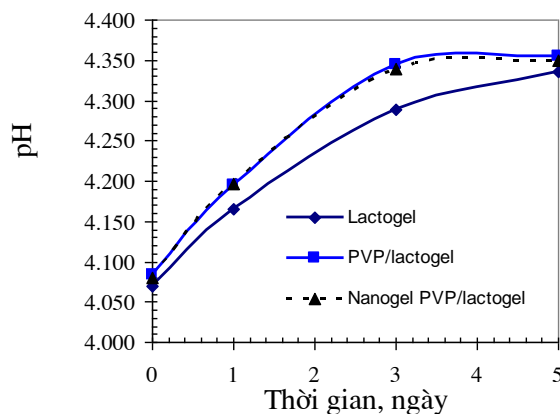
Kết quả bảng 1 cho thấy độ nhớt và mật độ quang của nanogel PVP thay đổi không đáng kể sau 3 tháng l-u mẫu. Như vậy trong khoảng thời gian l-u trên các hạt nanogel PVP ch-a

xảy ra quá trình kết tập lại với nhau mà phân bố t-ong đối ổn định trong dung dịch và kết quả này rất có ý nghĩa cho các ứng dụng của nanogel PVP.

Bảng 1: Độ nhớt và mật độ quang tại $\lambda_{\max} = 225 \text{ nm}$ của nanogel PVP theo thời gian l- u mẫu ở nhiệt độ phòng $30 \text{ }^\circ\text{C}$

TT	Nanogel PVP	Thời gian, tháng		
		0	1	3
1	Độ nhớt, mm^2/s	0,9956	1,0092	1,0018
2	Mật độ quang, A tại $\lambda_{\max} = 225 \text{ nm}$	2,7428	2,4171	2,4491

1.4. pH của lactogel và của các hỗn hợp chứa lactogel



Hình 3: Sự thay đổi pH của các dung dịch lactogel, PVP/lactogel và nanogel PVP/lactogel theo thời gian l- u mẫu tại nhiệt độ $4 - 7 \text{ }^\circ\text{C}$

Khảo sát sự thay đổi pH của các dung dịch chứa lactogel tr- ớc khi tiến hành các thử nghiệm là cần thiết. Kết quả từ hình 3 cho thấy pH của các dung dịch chứa lactogel tăng theo thời gian l- u nh- ng tăng không đáng kể và sau đó ổn định sau 3 ngày l- u mẫu đối với dung dịch PVP/lactogel, nanogel PVP/lactogel. Điều này chứng tỏ PVP và nanogel PVP đóng vai trò nh- là chất ổn định góp phần ổn định pH dung dịch lactogel hơn.

2. Kết quả thử nghiệm nanogel PVP/lactogel trên cây cải ngọt

2.1. Tỷ lệ nảy mầm của hạt cải ngọt sau 48 và 60 giờ

Bảng 2: Kết quả về tỷ lệ nảy mầm sau 48 và 60 giờ của hạt cải ngọt theo dải nồng độ lactogel: 0, 20, 50, 80, 100 ppm. Tỷ lệ nanogel PVP/lactogel là 1:1

TT	Nồng độ nanogel PVP/lactogel, ppm	Tỷ lệ nảy mầm, %	
		Sau 48 giờ	Sau 60 giờ
1	0	56	98
2	20	60	99
3	50	67	99
4	80	87	100
5	100	90	100

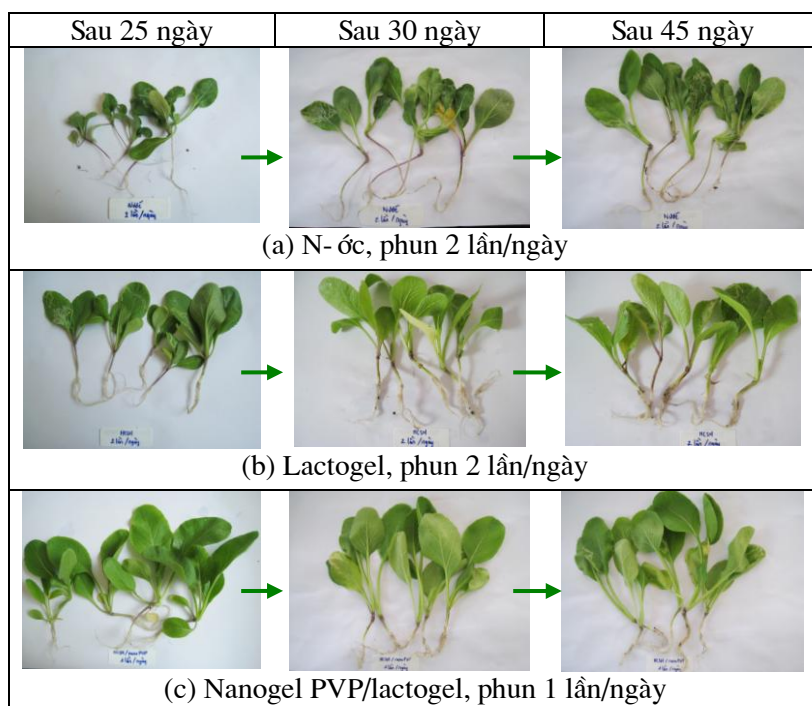
Tỷ lệ nảy mầm tăng theo nồng độ lactogel, ở nồng độ $\geq 80 \text{ ppm}$ số l- ợng hạt cải nảy mầm trên 80% sau 48 giờ cao hơn so với lô không có lactogel chỉ 56% và sau 60 giờ số l- ợng hạt của tất cả các lô thí nghiệm đều nảy mầm trên 98% (bảng 2). Kết quả trên chứng tỏ rằng hỗn hợp nanogel PVP/lactogel đã kích thích đáng kể sự nảy mầm nhanh của hạt cải ngọt và giúp gia tăng sự hình thành rễ đồng thời tăng c- ờng khả năng sinh tr- ờng của cây ở các giai đoạn phát triển tiếp theo.

2.2. Kết quả khảo nghiệm nanogel PVP/lactogel trên cây cải ngọt

Bảng 3: Hiệu quả sử dụng nanogel/lactogel ở nồng độ lactogel 80 ppm trên cây cải ngọt sau 25, 30, 45 ngày sinh tr-ởng

TT	Công thức thử nghiệm	Chế độ phun Số lần/ngày	Khối l-ợng t-ới, g	Khối lượng khô, g	Chiều dài rễ, cm	Chiều dài thân, cm	Chiều dài lá, cm
Sau 25 ngày							
1	PVP/lactogel	2	9,010	0,591	5,20	2,70	5,70
2	Nanogel PVP/lactogel	2	5,510	0,478	5,80	2,30	3,80
3	Nanogel PVP/lactogel	1	10,166	0,719	5,30	3,20	6,60
4	Lactogel	2	6,921	0,669	6,20	2,30	5,20
5	Lactogel	1	1,783	0,143	3,70	2,10	2,80
6	Nước	2	4,95	0,358	3,95	2,55	4,1
Sau 30 ngày							
1	PVP/lactogel	2	11,195	1,202	6,40	2,90	7,72
2	Nanogel PVP/lactogel	2	5,953	0,821	5,40	2,90	6,40
3	Nanogel PVP/lactogel	1	10,630	1,506	5,80	2,20	8,56
4	Lactogel	2	7,059	0,767	5,50	3,10	6,37
5	Lactogel	1	1,661	0,343	3,40	3,30	4,13
6	Nước	2	6,760	0,690	4,10	2,35	4,85
Sau 45 ngày							
1	PVP/lactogel	2	12,596	1,462	4,80	2,60	9,67
2	Nanogel PVP/lactogel	2	6,600	1,001	4,70	2,20	7,69
3	Nanogel PVP/lactogel	1	15,111	1,145	6,30	2,30	9,46
4	Lactogel	2	7,201	1,124	5,10	3,00	6,82
5	Lactogel	1	3,608	0,216	3,70	2,40	4,60
6	Nước	2	6,870	0,78	4,4	2,55	6,24

Kết quả thử nghiệm thu đ-ợc ở bảng 3, hình 5 chứng tỏ hỗn hợp chứa lactogel có tác dụng kích thích sinh tr-ởng tốt đối với cây cải ngọt, qua quan sát cây cải ngọt xanh tốt hơn và năng suất tăng rõ rệt. Đối với những cây cải ngọt đ-ợc phun nanogel PVP/lactogel mức độ tăng tr-ởng cao hơn so với cây chỉ phun lactogel là 31% và so với n-ớc là 50%. Nanogel PVP giúp tăng độ bám dính, độ ổn định và duy trì hoạt chất lactogel trên thân, rễ, lá cây cải ngọt.



Hình 5: □nh cây cải ngọt sau 25, 30, 45 ngày sinh tr-ởng theo các công thức và chế độ t-ới khác nhau: N-ớc, t-ới 2 lần/ngày (a), lactogel, t-ới 2 lần/ngày (b), nanogel PVP/lactogel, t-ới 1 lần/ngày (c)

IV. KẾT LUẬN

Vật liệu nanogel PVP đã được chế tạo bằng chùm tia điện tử có kích thước hạt trung bình phân bố trong khoảng từ 50 - 100 nm. Nanogel PVP kết hợp với hoạt chất sinh học lactogel đã có tác dụng tốt đối với cây trồng, gia tăng sự nảy mầm của hạt và sự hình thành rễ giúp cây phát triển tốt hơn. Mặt khác, hỗn hợp nanogel PVP/lactogel còn có tác dụng kích thích sinh trưởng cây cải ngọt và hỗn hợp này phân hủy sinh học nên rất thích hợp và có triển vọng lớn cho các ứng dụng trong nông nghiệp

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ulanski, P., J.M. Rosiak, "The use of radiation technique in the synthesis of polymeric nanogels", Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 151, 356-360, 1999.
- [2] Pignatello, R., et. al., "Flurbiprofen-loaded acrylate polymer nanosuspensions for ophthalmic application", Biomaterials, 23, 3247-3255, 2002.
- [3] Ulanski, P., et. al., "Synthesis of poly(acrylic acid) nanogels by preparative pulse radiolysis", Radiat. Phys. Chem., 63, 533-537, 2002.
- [4] Trần Văn Đắc, "Công nghệ nano - thách thức hay cơ hội", 4, 55-59, 2004.
- [5] Devine, D. M., S. M. Devery, et. al., "Multifunctional poly(vinylpyrrolidone) - poly(acrylic acid) copolymer hydrogels for biomedical applications", International Journal of Pharmaceutics, In press, 2006.
- [6] Jung-Chul An, "Synthesis, characterization, and kinetic studies of ionizing radiation-induced intra- and inter-crosslinking poly(vinyl pyrrolidone) nanohydrogels, Thesis of Doctor of Philosophy, 2007.
- [7] Mehrdad, H., A. Azadi, P. Rafiei, "Hydrogel nanoparticles in drug delivery", Advanced Drug Delivery Reviews, 60, 1638-1649, 2008.
- [8] J.J.Dibner, and J.D.Richards, "Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action" Poultry Science, 84, 634-643, 2005.
- [9] David F. Morais Neri, "Immobilization of β - galactosidase onto different water insoluble matrices", Doctor of Philosophy, 2008.
- [10] Andrea F. Daniel G. and Michael T., "Antimicrobial susceptibility of intestinal bacteria from Swiss poultry flocks before the ban of antimicrobial growth promoters", System. Appl. Microbiol, 24, 116-121, 2001.

STUDY ON PREPARATION OF A POLY (VINYL PYRROLIDONE) NANOGEL AND LACTOGEL MIXTURE USED AS PLANT GROWTH PROMOTER

Abstract: Dilute poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) solutions were EB-irradiated to produce PVP nanogels at an absorbed dose of 15 kGy. The particle size of 0.5 % PVP nanogel was distributed in a range of 50 - 100 nm. The mixture of PVP nanogel/lactogel at the ratio of 1:1 was used as plant growth promoter. It were showed that the germination rate of seeds of Chinese cabbage after 48 hours at various concentrations of lactogel from 0, 20, 50, 80 and 100 ppm were 56, 60, 67, 87 and 90 %, respectively. The growth of Chinese cabbage was evaluated on the basis of following parameters: fresh/dried biomass, root length, leaf length and stem length of the plant after 25, 30 and 45 days.

Keywords: Growth promoter, irradiation, electron beam (EB), crosslinking, nanogel, poly(vinyl pyrrolidone), lactogel.