

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN PHƯỚC NHÂN

NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP, ỨNG DỤNG
CHẤM LƯỢNG TỬ CARBON VÀ PHÂN BÓN
NANO PHOSPHORUS TỪ THAN BÙN
TẠI THÀNH PHỐ HUẾ

LUẬN ÁN TIẾN SỸ HÓA HỌC

HUẾ - NĂM 2026

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN PHƯỚC NHÂN

NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP, ỨNG DỤNG
CHẤM LƯỢNG TỬ CARBON VÀ PHÂN BÓN
NANO PHOSPHORUS TỪ THAN Bùn
TẠI THÀNH PHỐ HUẾ

Ngành: Hóa Lý thuyết và Hóa lý

Mã số: 9440119

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS. ĐINH QUANG KHIẾU

2. PGS.TS. NGUYỄN HẢI PHONG

HUẾ - NĂM 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án này là công trình nghiên cứu của tôi dưới sự hướng dẫn của GS.TS. Đinh Quang Khiếu và PGS.TS. Nguyễn Hải Phong. Các số liệu và kết quả nghiên cứu này là trung thực, chính xác, được các đồng tác giả cho phép sử dụng và chưa được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác.

Huế, ngày 3 tháng 6 năm 2026

Tác giả

Nguyễn Phước Nhân

LỜI CẢM ƠN

Trước tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến GS.TS. Đinh Quang Khiếu, PGS.TS. Nguyễn Hải Phong đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ cho tôi trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn quý Thầy/Cô Khoa Hóa học và Bộ môn Hóa lý - Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Huế đã hỗ trợ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian học tập và hoàn thành luận án.

Xin gửi lời cảm ơn đến Ban Giám hiệu, Phòng Đào tạo Sau đại học - Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và thực hiện luận án.

Cuối cùng, xin gửi lời cảm ơn đến gia đình, bạn bè và đồng nghiệp đã chia sẻ, động viên giúp đỡ tôi trong suốt thời gian học tập và nghiên cứu.

Huế, ngày 3 tháng 6 năm 2026

Tác giả

Nguyễn Phước Nhân

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	vi
DANH MỤC CÁC BẢNG	viii
DANH MỤC CÁC HÌNH	ix
DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ	xiv
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Than bùn	4
1.1.1. Tổng quan than bùn.....	4
1.1.2. Tính chất vật lý và hóa học của than bùn.....	6
1.1.3. Humic acid	6
1.1.4. Các ứng dụng của than bùn hiện nay	9
1.2. Carbon chấm lượng tử (CQDs) và ứng dụng phát triển điện cực để phân tích điện hóa.....	10
1.2.1. Nguyên lý phân tích điện hóa.....	10
1.2.2. Tổng hợp CQDs	11
1.2.3. Ứng dụng CQDs để phát triển điện cực phân tích Theophylline...	17
1.3. Tổng quan về phân bón nano.....	20
1.3.1. Khái niệm và đặc điểm.....	20
1.3.2. Phân lân nano	23
1.4. GIỚI THIỆU VỀ CÂY DƯA LƯỚI VÀ CÂY LẠC	40
1.4.1. Dưa lưới (<i>Cucumis melo</i> L.).....	40
1.4.2. Cây lạc hay đậu phộng (<i>Arachis hypogaea</i> L.).....	43

Chương 2 MỤC TIÊU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	47
.....	47
2.1. MỤC TIÊU	47
2.2. NỘI DUNG.....	47
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	47
2.3.1. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến	47
2.3.2. Hiển vi điện tử quét.....	49
2.3.3. Nhiễu xạ tia X	49
2.3.4. Đẳng nhiệt hấp phụ-giải hấp phụ nitrogen.....	50
2.3.5. Phổ tán sắc năng lượng tia X	51
2.3.6. Phổ tán xạ Raman.....	52
2.3.7. Hiển vi điện tử truyền qua.....	53
2.3.8. Quang phổ huỳnh quang	54
2.3.9. Phương pháp voltametry hòa tan	54
2.4. THỰC NGHIỆM	55
2.4.1. Hóa chất.....	55
2.4.2. Điều chế carbon chấm lượng tử từ than bùn và ứng dụng phát triển điện cực phân tích theophylline trong dược phẩm.....	58
2.4.3. Điều chế Hydroapatite Nanoparticles (HANPs), Humic Acid Extracts (HEs), Water Soluble Chitosan (WSC) và Phân bón nano-P và ứng dụng làm phân lân cho cây dưa lưới và cây lạc	59
Chương 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	65
3.1. Phương pháp xác định điện hóa 1,3-dimethylxanthine trong viên nén dược phẩm bằng điện cực carbon thủy tinh biến tính chấm lượng tử carbon có nguồn gốc từ than bùn	65
3.1.1. Đặc trưng của vật liệu	65
3.1.2. Xác định TPL bằng phương pháp voltammetry dùng điện cực biến tính bằng CQDs (CQDs/GCE)	70

3.2. Tổng hợp các Nano Hydroxyapatite/Chiết xuất Humic (Nano P/HEs) từ Than bùn và Xương bò làm Phân Lân Nano Hữu cơ	81
3.2.1. Hydroxyapatites (HAP) từ một số xương động vật	81
3.2.2. Tổng hợp nano hydroxyapatites (HANPs) từ xương bò	86
3.2.3. Đặc trưng hóa HANPs/WSC (hạt nano hydroxyapatite/Chitosan tan trong nước) và Phân bón Nano-P	89
3.3. Ứng dụng phân nano-P vào một số cây nông nghiệp	95
3.3.1. Ảnh hưởng của phân bón nano-P lên sự sinh trưởng và năng suất của dưa lưới.....	95
3.3.2. Ứng dụng phân lân vào cây lạc	100
KẾT LUẬN	106
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.....	108
TÀI LIỆU THAM KHẢO	109

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
HMA/AHM	Humic acid	Humic acid
FVA	Acid fulvic	Fulvic acid
HE	Dịch chiết than bùn	Humic extracts
HA	Apatite	Hydroxyapatite
HANP	Apatite kích thước nano	Hydroxyapatite nanoparticles
Nano-P	Phân lân nano hữu cơ	Organic Nano Phosphate Fertilizer
NPF	Phân lân nano hữu cơ	Nano phosphorus fertilizer
TG-DSC	Phân tích nhiệt vi sai quét	Thermal gravity-differential scanning calorimetry
BET	Branauer–Emmett–Teller	Brunauer-Emmett-Teller
EDX	Phổ tán xạ năng lượng tia X	Energy-dispersive X-ray spectrometry
I_p	Cường độ dòng đỉnh	Peak current
LOD	Giới hạn phát hiện	Limit of detection
TPL	Theophylline	Theophylline
CQDs	Chấm lượng tử carbon	Carbon Quantum Dots
GCE	Điện cực carbon thủy tinh	Glassy Carbon Electrode
Rev	Độ thu hồi	Recovery
RE	Sai số tương đối	Relative Error
RSD	Độ lệch chuẩn tương đối	Relative Standard Deviation

Viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
SD	Độ lệch chuẩn	Standard deviation
SEM	Hiển vi điện tử quét	Scanning Electron Microscopy
TEM	Hiển vi điện tử truyền qua	Transmission Electron Microscopy
v	Tốc độ quét thế	Sweep rate
WE	Điện cực làm việc	Working Electrode
XPS	Phổ quang điện tử tia X	X-ray Photoelectron Spectroscopy
XRD	Nhiễu xạ tia X	X-Ray Diffraction
ΔE	Biên độ xung	Pulse amplitude
CVs	Giản đồ Volt-ampe Chu kỳ	Cyclic Voltammograms
BR	Dung dịch đệm Britton-Robinson	Britton-Robinson buffer solution
DPV	Đường cong Volt-ampe Xung vi sai	Differential Pulse Voltammogram Theophylline
CV	Volt-ampe chu kỳ	Cyclic Voltammetry
LOQ	Giới hạn định lượng	Limit of Quantification
COQs	Chi phí chất lượng	Cost of Quality
HPLC	Sắc ký Lỏng Hiệu năng Cao	High-Performance Liquid Chromatography
FT-IR	Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier	Fourier-Transform Infrared Spectroscopy
GQDs	Chấm lượng tử Graphene	Graphene Quantum Dots
PL	Phát quang	Photoluminescence
HR-TEM	Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao	High-Resolution Transmission Electron Microscopy

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. So sánh phân bón truyền thống và phân bón nano.....	23
Bảng 2.1. Các hóa chất chính được sử dụng trong phần thực nghiệm.....	55
Bảng 3.1. So sánh các LOD của TPL tại các điện cực khác nhau.	76
Bảng 3.2. Giới hạn dung nạp ($C_{\text{chất gây nhiễu}} / \text{TPL}$) của tín hiệu phân tích TPL (2.0×10^{-5} mol/L) khi có mặt các chất gây nhiễu khác nhau (n=5)	78
Bảng 3.3. Độ thu hồi TPL trong các viên nén (số lần lặp lại thí nghiệm: 3). ..	80
Bảng 3.4. Phân tích hàm lượng một số chất độc hại trong dưa lưới.	97
Bảng 3.5. Thống kê mô tả hàm lượng một số chất hữu cơ và đặc điểm của cây dưa lưới	99
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của phân điều chế đến một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây	101
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của phân điều chế đến tình trạng sâu, bệnh	103
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của phân điều chế đến năng suất cây lạc	104

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Khảo sát mỏ than bùn tại phường Phong Quang, Tp Huế	6
Hình 1.2. Minh họa về một humic acid điển hình, có một loạt các thành phần như quinon, phenol, catechol và các nửa đường.....	9
Hình 1.3. Minh họa cấu trúc của CQDs	12
Hình 1.4. Một số phương pháp tổng hợp thủy nhiệt và vi sóng CQDs từ các nguồn hóa chất hay sinh khối tự nhiên	13
Hình 1.5. a,b) Ảnh TEM của GQD. c) Ảnh HRTEM của GQD (0,286 nm). d) Phân bố kích thước của GQD được phát hiện bởi DLS	14
Hình 1.6. a) Giản đồ XRD của GQD. b) Phổ XPS khảo sát của GQD. c) Phổ C1s độ phân giải cao của GQD. d) Phổ FTIR của GQD và humic acid	15
Hình 1.7. a Ảnh chụp humic acid (1) và GQD (2) được kích thích dưới ánh sáng UV 365 nm. b Phổ hấp thụ UV-Vis của humic acid (đen) và GQD (đỏ). c Phổ kích thích và phát xạ của GQD. $k_{ex} = 360$ nm; $k_{em} = 470$ nm. d Phổ phát xạ huỳnh quang của GQD khi bước sóng kích thích tăng từ 260 đến 560 nm	16
Hình 1.8. (A) Sự thay đổi giá trị pH 3, 5, 7, 9 và 11 tương ứng ở CV 6,5 μ M TP tại g-C ₃ N ₄ /GCE trong PBS 0,1 M (B) Mối liên hệ giữa pH và điện thế đỉnh ...	18
Hình 1.9. Cơ chế oxy hóa TPL tại điện cực g-C ₃ N ₄ /GCE	18
Hình 1.10. Cơ chế oxy hóa TPL tại điện cực biến tính bởi ZnO/MWC/NTs	19
Hình 1.11. Biểu đồ hiệu chuẩn quan sát được đối với TPL tại ZnO/MWC/NTs/CPE ở pH 5,6 chứa các nồng độ TPL(khác nhau (0,3-800 μ M)	19
Hình 1.12. Ứng dụng phân bón nano và lợi ích của chúng đối với cây trồng, bao gồm tăng cường hoạt động của vi sinh vật vùng rễ, tăng độ phì nhiêu của đất, hấp thụ chất dinh dưỡng nhanh chóng, giải phóng chất dinh dưỡng được kiểm soát và tăng khả năng chống chịu căng thẳng sinh học	21

Hình 1.13. Ảnh hưởng của NPF đến sự sinh trưởng của cây trồng [74].....	26
Hình 1.14. Tổng quan về sự phân bố của nHAP trong mô rễ của cây được xử lý bằng nHAP	32
Hình 1.15. Cơ chế hấp phụ giữ lại Pb của nHAP trong đất. Các vòng tròn màu xanh lá cây, xanh lam và cam lần lượt biểu thị các cơ chế tạo phức, trao đổi cation, hòa tan và kết tủa. Số lượng vòng tròn trên trục thời gian thể hiện mức độ hoạt động năng động của một cơ chế so với các cơ chế khác	37
Hình 1.16. Hình ảnh cây dưa lưới (<i>Cucumis melo</i> L.) tại Nhà vườn Vinh Hưng, xã Vinh Lộc, thành phố Huế	40
Hình 1.17. Hình ảnh cây đậu phộng được trồng tại xã Đan Điền, thành phố Huế	44
Hình 2.1. Sơ đồ biểu diễn nhiễu xạ tia X.	50
Hình 2.2. Nguyên tắc phát xạ tia X dùng trong phổ.....	52
Hình 3.1. Giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của (a) than bùn và (b) HMA và Phổ EDX của (c) than bùn và (d) HMA	66
Hình 3.2. Phổ Raman (a) và HMA (b)	66
Hình 3.3. (a) Ảnh chụp kỹ thuật số của các mẫu CQDs với các nồng độ HMA khác nhau: chiếu sáng bằng ánh sáng trắng (trên) và chiếu sáng bằng ánh sáng tử ngoại với bước sóng 254 nm(dưới), (b) Phổ quang phát quang (PL) của các dung dịch với nồng độ HMA khác nhau, (c) Phổ quang phát quang (PL) của các dung dịch HMA được kích thích bằng các bước sóng khác nhau, (d) Phổ tử ngoại-khả kiến (UV-Vis) của các dung dịch với nồng độ HMA khác nhau.....	67
Hình 3.4. Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) của CQDs với các độ phân giải khác nhau (CQDs-4) ở (a) 600 K và (b) 200 K..	68
Hình 3.5. Phổ EDX phân bố nguyên tử của CQDs-4: (a) Ảnh điện tử, (b) Nguyên tố C, (c) Nguyên tố O, (d) Nguyên tố Al, (e) Nguyên tố Si, (f) nguyên tố S, (g) Nguyên tố K; (h, i) Phổ XPS của CQDs-4 đối với nguyên tố C và O	69

- Hình 3.6.** (a) Giảm đồ CVs của 50 μM TPL tại QCDs/GCE và (b) Cường độ dòng đỉnh tại điện cực CQDs/GCE. (Tốc độ quét: 100 mV/s^{-1} ; dung dịch đệm BR 0.1 M pH=3) (Thanh sai số của ba phép đo) 71
- Hình 3.7.** (a) Giảm đồ CVs của 50 μM TPL tại điện cực CQDs-4/GCE trong dung dịch đệm BR (pH 2-9), (b) Biểu đồ cột của cường độ dòng đỉnh ở các giá trị pH khác nhau, (c) Đồ thị tuyến tính của thế điện đỉnh và pH..... 71
- Hình 3.8.** (a) Giảm đồ CV của 50 μM TPL trong dung dịch đệm 0.1 M BR (pH 2.0) với tốc độ quét từ $0.05 - 0.40 \text{ V.s}^{-1}$; (b) Đồ thị tuyến tính của cường độ dòng đỉnh, I_p , với căn bậc hai của tốc độ quét, $v^{1/2}$; (c) Đồ thị tuyến tính của cường độ thế đỉnh với logarit tự nhiên của tốc độ quét; (d) Phổ tử ngoại-khả kiến (UV-Vis) của 50 μM TPL trong dung dịch đệm 0.1 M BR ở pH=3 trước và sau quá trình điện phân..... 73
- Hình 3.9.** (a) Các đường cong DPV với các nồng độ TPL khác nhau (Nồng độ C_{TPL} từ 1,57 - 51,65 μM) tại điện cực CQDs-4/GCE trong dung dịch đệm 0,1 M BR (pH=3) và (b) đồ thị tuyến tính của cường độ dòng đỉnh với nồng độ TPL. 75
- Hình 3.10.** (a) Cường độ dòng đỉnh của 10 μM TPL trên các điện cực khác nhau (CQDs-4a, CQDs-4b, CQDs-4c/GCEs) trong dung dịch đệm 0,1 M BR ở pH 3 (ba phép đo liên tiếp); (b) Cường độ dòng đỉnh trung bình (I_p) của 2,5, 5, 10 và 20 μM TPL trong dung dịch đệm 0,1 M BR ở pH 3 (mười phép đo liên tiếp); (c) Cường độ dòng đỉnh (I_p) của 20 μM TPL trong dung dịch đệm 0,1 M BR ở pH 3 trong bảy ngày để kiểm tra độ ổn định dài hạn; (d) Cường độ dòng đỉnh của bảy điện cực CQDs-4/GCE được chế tạo theo cùng một quy trình. 77
- Hình 3.11.** Giảm đồ XRD của: a) Xương Trâu; b) Xương Lợn và c) Xương Dê nung ở nhiệt độ 300, 500, 650 $^{\circ}\text{C}$ 81
- Hình 3.12.** Giảm đồ phân tích nhiệt TG DSC của a) Xương trâu; b) Xương lợn; c) Xương dê..... 82

- Hình 3.13.** Ảnh SEM của than xương ở các nhiệt độ khác nhau 300°C, 500°C và 650 °C của a) *Xương trâu*; b) *Xương lợn*; c) *Xương dê*..... 84
- Hình 3.14.** Phổ EDX của than xương nung ở nhiệt độ 500 °C của; a) *Xương trâu*; b) *Xương lợn*; c) *Xương dê* 85
- Hình 3.15.** a) Giảm đồ TG/DSC; b) Giảm đồ nhiễu xạ tia X ; c) Đường đẳng nhiệt hấp phụ/giải hấp nitơ ; và d) Phổ EDX của xương bò..... 86
- Hình 3.16.** Quan sát SEM của: a) *Xương bò thô* ; và b) *Hydrochar xương bò* được nung ở 300 °C, c) 500 °C, d) 650 °C, và e) 800°C..... 88
- Trong các thử nghiệm ban đầu, nhiệt độ nung hydroxyapatite càng cao, khả năng hình thành huyền phù ổn định với các HEs (Humic Extracts) càng thấp. Thử nghiệm ban đầu cũng chỉ ra rằng phân bón nano-P được chế tạo từ xương bò nung ở 500 °C cho cây dưa lưới 30 ngày tuổi đã tăng cường cả chiều dài quả và chu vi quả nhiều hơn so với các phương pháp xử lý khác. Xương bò được nung ở 500 °C trong 3 giờ (HANPs), với diện tích bề mặt cao và kích thước xấp xỉ 10 x 50 nm, đã được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo..... 89
- Hình 3.17.** a) Mối quan hệ giữa lượng HANPs ban đầu và lượng HANPs phân tán (dispersed) trong WSC; b) Dung dịch chitosan tan trong nước (01) và huyền phù HANPs được ổn định bằng WSC (02); và c) Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) của HANPs được ổn định bằng WSC (100 mL dung dịch 20 g.L⁻¹), và hình ảnh thu nhỏ trình bày phân bố kích thước hạt HANPs trong HANPs được ổn định bằng WSC..... 89
- Hình 3.18.** a) Ảnh hưởng của pH lên sự lắng đọng của HEs (Chiết xuất Humic), b) Hỗn hợp HANPs và HEs (1); phần rắn tách ra từ HANPs/HEs sau 2 ngày (2), c) Hỗn hợp HANPs được ổn định bằng WSC và HEs với tỷ lệ thể tích 3/7 ở các mức pH khác nhau 91
- Hình 3.19.** Phổ nhiễu xạ tia X của: a) *Than bùn (peat)*, b) *HEs (Chiết xuất Humic)* và *HANPs* được ổn định bằng WSC/HEs (3/7) ở dạng huyền phù, c)

HEs và HANPs được ổn định bằng WSC/HEs (3/7) ở dạng rắn và d) Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) của HEs và HANPs được ổn định bằng WSC/HEs (3/7)	91
Hình 3.20. Phân tích X-quang tán sắc năng lượng - Lập bản đồ nguyên tố của vật liệu composite.....	93
Hình 3.21. Phổ XPS (XPS) ở độ phân giải năng lượng cao trên phân bón nano-P tại nhiệt độ phòng, hiển thị: a) Các đỉnh C 1s, b) O 1s, c) Ca 2p, d) P 2p, e) K 2p và các đỉnh phù hợp tương ứng.....	94
Hình 3.22. a) Cây dưa lưới (Cantaloupe plants) mọc từ hạt nảy mầm (germinating seeds) được 3 ngày tuổi, b) Sau 10 ngày, chúng được tách ra và trồng trong chậu nhựa, c) Cây dưa lưới sau khi loại bỏ quả, chỉ để lại một quả duy nhất, d) Cây dưa lưới sẵn sàng để thu hoạch được trồng theo công thức thông thường (regular formula) có áp dụng phân bón nano-P.....	96
Hình 3.23. Khảo sát ở điều kiện thực tế	100
Hình 3.24. Các giai đoạn sinh trưởng của cây.	101
Hình 3.25. Cây bị sâu bệnh	103
Hình 3.26. Lạc sau khi thu hoạch.....	104

DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 3.1. Cơ chế oxy hóa khả thi của TPL tại điện cực biến tính	74
---	----

ĐẶT VẤN ĐỀ

Than bùn là một loại trầm tích hữu cơ tích lũy tại tầng mặt đất, hình thành chủ yếu từ quá trình phân hủy không hoàn toàn của tàn dư thực vật dưới điều kiện yếm khí kéo dài. Loại vật chất này thường phân bố ở các hệ sinh thái ngập nước như đầm lầy, vùng đất trũng hay các bãi than bùn. Các mẫu than bùn có đặc trưng cấu trúc mềm, toi xốp và mịn; mức độ phân giải hữu cơ gia tăng theo độ sâu khai thác, phản ánh quá trình biến đổi vật chất hữu cơ dưới tác động của thời gian và môi trường khử oxy. Nhờ giàu thành phần hữu cơ (humic acid, fulvic acid, lignin, cellulose, phenolic...), than bùn từ lâu đã được sử dụng cho nhiều mục đích khác nhau, từ chất đốt, phân vi sinh cho đến nguyên liệu cho các sản phẩm sinh học và dược mỹ phẩm có giá trị.

Trong những năm gần đây, than bùn còn được xem là nguồn tiền chất tiềm năng để điều chế carbon chấm lượng tử (Carbon Quantum Dots - CQDs). Chấm lượng tử carbon (CQDs) là họ vật liệu nano carbon mới, có tiềm năng ứng dụng lớn trong nhiều lĩnh vực quan trọng do chúng không độc hại, tan trong nước, tương thích sinh học, có thể phát xạ ánh sáng trong vùng nhìn thấy và dễ tổng hợp [1]. CQDs có cấu trúc khá phức tạp gồm ba hợp phần chính: hệ đa vòng liên hợp PAHs (polyaromatic hydrocarbons), nhóm chức quang hoạt F (fluorophore) và các nhóm chức hữu cơ đơn giản như mạch hydrocarbon no, OH, -COOH, -CONH- hay -NH- [2].

P vừa là nguyên tố cần thiết đối với cây trồng, nhưng đồng thời lại là nguyên tố gây ô nhiễm nguồn nước mặt khi bị rửa trôi vào các thủy vực. Hầu hết (95-99%) lượng P trong đất nhiệt đới tồn tại dưới dạng P hữu cơ và vô cơ, chúng được giải phóng hòa tan vào dung dịch đất rất chậm [3]. 1-5% lượng P còn lại nằm ở các phức hợp hữu cơ khoáng khi các nhóm humic và fulvic liên kết chặt chẽ với các hợp chất sắt hoặc nhôm trong đất [4]. Động thái của nguyên

tố P trong đất phụ thuộc nhiều vào thành phần vô cơ và hữu cơ của đất như: pH của dung dịch đất; hàm lượng ôxít và hydrôxít Fe, Al, Ca và Mg; quá trình phân hủy các hợp chất hữu cơ trong đất... Trong đất, hàm lượng P tổng số thường chiếm khoảng 100-3.000 mg/kg đất, nhưng cây trồng chỉ hấp thu được một phần nhỏ lượng P vô cơ hòa tan trong dung dịch đất dưới dạng HPO_4^{2-} và HPO_4^- . Hơn nữa, khoảng 30% lượng P vô cơ bị cố định trong các đoàn lạp đất [5]. Do đó, hàm lượng P dễ tiêu trong tự nhiên không đáp ứng đủ nhu cầu của cây trồng và thường được bổ sung từ phân lân vô cơ. Tuy vậy, cây trồng cũng chỉ có thể hấp thu được khoảng 5-25% tổng lượng phân lân bón vào đất, một lượng lớn phân lân còn lại bị cố định trong đất [6]. Trong thâm canh cây trồng năng suất cao, nhu cầu phân bón P trong nền sản xuất nông nghiệp toàn cầu ngày càng tăng và được dự báo đạt đỉnh vào năm 2030 [7]. Trong khi đó, nguyên liệu khoáng để sản xuất phân lân lại là nguồn tài nguyên không thể tái tạo được và có thể bị cạn kiệt trong khoảng 50-100 năm tới [8]. Song song với than bùn, xương động vật cũng là một nguồn nguyên liệu đáng chú ý để sản xuất than xương (Bone Char - BC). Việc tận dụng xương động vật không chỉ góp phần giảm thiểu chất thải rắn từ ngành chế biến thực phẩm mà còn tạo ra vật liệu hữu ích cho môi trường. Trên thế giới, BC được quan tâm bởi khả năng ứng dụng trong nông nghiệp và xử lý ô nhiễm, đặc biệt như một nguồn phân bón phosphorus (P) sạch, có thể tái tạo, đồng thời có khả năng bất động các kim loại nặng như cadmium (Cd) trong đất. Do đó, các hướng tiếp cận mới như điều chỉnh tính chất hóa học của phân lân, sử dụng nano-P hay apatite kích thước nano đang được quan tâm nhằm nâng cao hiệu quả sử dụng P và giảm thiểu tác động môi trường.

Trong luận án này chúng tôi chọn đề tài: ***“Nghiên cứu tổng hợp, ứng dụng hàm lượng tử carbon và phân bón nano phosphorus từ than bùn tại thành phố Huế”***, mục tiêu đặt ra là phát triển hai hướng ứng dụng song song từ than bùn: (i) điều chế carbon chấm lượng tử (CQDs) cho các ứng dụng trong phân tích

điện hóa; và (ii) điều chế phân bón nano kết hợp dịch chiết than bùn với phosphorus dạng nano, ứng dụng cho cây dưa lưới và cây lạc. Nghiên cứu không chỉ góp phần khai thác hiệu quả nguồn tài nguyên tự nhiên sẵn có mà còn hướng đến các giải pháp bền vững trong nông nghiệp và kỹ thuật phân tích hiện đại.

Cấu trúc của Luận án gồm:

- Đặt vấn đề;
- Chương 1: Tổng quan tài liệu;
- Chương 2: Mục tiêu, nội dung và phương pháp nghiên cứu;
- Chương 3: Kết quả và thảo luận;
- Kết luận;
- Danh mục các công trình công bố liên quan đến luận án;
- Tài liệu tham khảo.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. THAN BÙN

1.1.1. Tổng quan than bùn

Than bùn là một loại trầm tích hữu cơ tích lũy ở tầng mặt đất, được hình thành chủ yếu từ quá trình phân hủy không hoàn toàn các tàn dư thực vật dưới điều kiện yếm khí kéo dài, thường gặp ở các hệ sinh thái ngập nước như đầm lầy, vùng đất trũng, hoặc bãi than bùn. Thành phần thực vật tham gia vào quá trình hình thành than bùn chủ yếu thuộc các họ như Pteridaceae (họ dương xỉ), Pinaceae (họ thông), Salicaceae (họ liễu), Poaceae (họ lúa), cùng với các loài đặc hữu vùng nhiệt đới như sen (*Nelumbo spp.*), súng (*Nymphaea spp.*), lau, sậy... Về mặt đặc tính vật lý, than bùn nổi bật với khả năng giữ ẩm cao và mức độ phân giải hữu cơ tương đối lớn. Độ ẩm trung bình của than bùn đạt khoảng 42,1%, trong khi chỉ số phân giải trung bình là 35,3%. Các mẫu than bùn thường có cấu trúc mềm, tơi xốp và mịn. Đáng chú ý, mức độ phân giải có xu hướng gia tăng theo độ sâu khai thác, phản ánh quá trình biến đổi vật chất hữu cơ dưới tác động của thời gian và điều kiện yếm khí [9, 10].

Về chất lượng: Nhìn chung các mỏ than bùn đầm lầy ven biển cổ có chất lượng khá tốt và không chênh lệch nhau nhiều lắm. Than bùn có độ tro tương đối thấp, chất bốc và nhiệt lượng cao, hàm lượng các độc tố thấp và thành phần có ích (humic acid, N, K và P) cao. Trong khi đó, loại than bùn đầm lầy ven biển mới có chất lượng thấp hơn do lẫn nhiều sét và cát và còn nhiều xác thực vật chưa phân hủy, ít có giá trị công nghiệp.

Về trữ lượng: Đất than bùn Việt Nam, xuất hiện khá nhiều nơi như đồng bằng sông Hồng, đồng bằng sông Mã, ven biển miền Trung, khu vực Tây Nguyên, Đông Nam bộ, và đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Phần lớn diện

tích này tập trung tại vùng U Minh khoảng 13000 ha, trong đó U Minh Thượng chiếm 3231 ha và U Minh Hạ chiếm 9436 ha [11].

Tại thành phố Huế thì than bùn phân bố từ phường Phong Điền ở phía Bắc đến xã Phú Lộc ở phía Nam, với các mỏ có trữ lượng lớn, chất lượng tốt và điều kiện khai thác thuận lợi tập trung ở khu vực xã Phong Chương, huyện Phong Điền. Trữ lượng các mỏ than bùn ở khu vực các tràm tại Phong Chương được đánh giá lên tới 5 triệu mét khối. Trên địa bàn thành phố có 03 khu mỏ than bùn đã được cấp phép khai thác với tổng diện tích: 149,01 ha; trữ lượng tài nguyên dự báo: 1.838.369 tấn. Gồm các mỏ than bùn khu vực Đức Tích - Triều Dương, xã Phong Hoà và xã Phong Hiền, huyện Phong Hiền (được cấp phép khai thác năm 2009); mỏ than bùn khu vực xã Phong Chương, huyện Phong Điền (được cấp phép khai thác năm 2014); mỏ than bùn khu vực xã Phong Chương, huyện Phong Điền và xã Quảng Thái, huyện Quảng Điền (được cấp phép khai thác năm 2022), mỏ có diện tích và trữ lượng lớn nhất là mỏ than bùn khu vực Đức Tích - Triều Dương với diện tích: 141,427 ha và trữ lượng: 1.732.451 tấn. [144]

Chất lượng than bùn Huế thuộc loại tốt, có những mỏ có độ mùn đạt trên 50% và hàm lượng humic acid đạt 30-40%. Hiện tại than bùn ở đây đang được khai thác để chế biến phân hữu cơ vi sinh. Than bùn của nước ta có những đặc tính rất đặc biệt: hàm lượng carbon lớn, lượng mùn cao, độ xốp cao, khả năng giữ nước và vi khoáng cao... Do đó, than bùn nước ta có thể được sử dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như: phân bón, nhiên liệu, hóa học... Tuy nhiên, việc khai thác và sử dụng không hiệu quả đất than bùn như hiện nay chẳng những không mang lại nhiều lợi ích về kinh tế mà còn làm tăng thêm nguy cơ ô nhiễm môi trường. Hơn nữa, việc khai thác than bùn tràn lan khiến cho các mỏ than bùn bị hư tổn, ảnh hưởng tới sinh thái, khí hậu, hệ thực vật, động vật...



Hình 1.1. Khảo sát mỏ than bùn tại phường Phong Quang, Tp Huế

1.1.2. Tính chất vật lý và hóa học của than bùn

Có độ toi xốp cao, cấu trúc lỏng lẻo và thành phần dạng sợi, có khả năng giữ độ ẩm cao khi trời nắng hoặc mưa. Tuy nhiên, trời mưa lớn có thể gây ra ngập úng. Than bùn sau khi được khai thác để sử dụng nhờ sự kết dính chặt sẽ bền hơn và khả năng chịu lực cao hơn. Tầng mặt đất than bùn thường có trọng lượng nặng hơn các lớp sâu bên dưới vì có pha lẫn với các khoáng chất hỗn tạp trong quá trình tích lũy tự nhiên.

Than bùn chứa khoảng 65% là các chất hữu cơ được phân hủy từ xác thực vật; Chứa humic acid và fulvic acid có vai trò quan trọng cho sự phát triển tốt của cây, humic acid và mùn tạo nên màu sắc đặc trưng từ nâu đậm đến đen cho than bùn. Thành phần hóa học của than mùn khá phong phú, gồm các nguyên tố khoáng khác nhau, thông thường là C, H, N, O, S. Ngoài ra, chứa các chất trung - vi lượng khác như: Fe, Si, Ca, Mg, K,...

Tùy vào mục đích sử dụng, than bùn được phân thành nhiều loại khác nhau tùy thuộc theo màu sắc, hàm lượng hữu cơ, độ ẩm.

1.1.3. Humic acid

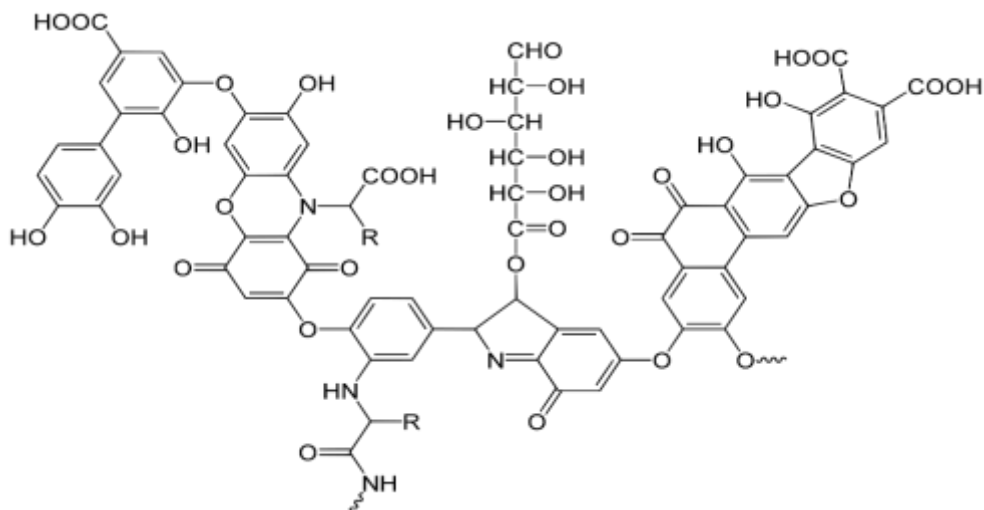
Humic acid là một thành phần chính của các chất mùn, đó là những hợp chất hữu cơ nền tảng cấu tạo nên đất màu mỡ, duy trì và tăng độ phì nhiêu cho đất. Bổ sung thêm humic acid giúp đất tăng khả năng giữ chất dinh dưỡng, giữ nước. Bên cạnh đó humic acid còn là nguồn thức ăn cho các sinh vật có lợi trong đất,

giúp đất phân giải các chất hữu cơ. Ngoài ra, humic acid còn giúp cải tạo độ mặn, phèn có trong đất. Nguồn cung cấp humic acid chủ yếu từ các mỏ than bùn. Ở trên thế giới, các sản phẩm humic acid và humate hiện đang được sản xuất với quy mô lớn tại nhiều quốc gia như Hoa Kỳ, Nga, Trung Quốc và một số nước khác. Cụ thể, sản phẩm: Humic acid 90% từ Mỹ có bột mịn màu nâu đen, không tan trong nước, kích thước hạt siêu mịn (pulversized <10 microns). Các thông số kỹ thuật chính bao gồm: độ tinh khiết $\geq 95\%$, hàm lượng chất hữu cơ $\geq 95\%$, hàm lượng humic acid $\geq 90\%$, pH = 10, và độ ẩm $\leq 5\%$. Trong khi đó, các sản phẩm Humic acid từ Trung Quốc được sản xuất với các mức hàm lượng humic khác nhau ($\geq 20\%$, $\geq 40\%$, $\geq 60\%$), đều có dạng bột mịn màu đen, không tan trong nước. Độ tinh khiết dao động từ 75-90%, hàm lượng humic acid từ 45-60%, pH trong khoảng 8-9, và độ ẩm $\leq 5\%$ [7]. Humic acid có thể tạo ra các phức với ion thường được tìm thấy trong môi trường tạo ra chất keo humic. Humic acid và fulvic acid (Fulvic acid là một thành phần của chất humic, đặc trưng bởi trọng lượng phân tử thấp và hàm lượng oxy cao hơn so với humic acid) thường được sử dụng như là một bổ sung đất nông nghiệp, và ít phổ biến hơn làm một bổ sung dinh dưỡng của con người. Fulvic acid, khi được sử dụng như một chất bổ sung dinh dưỡng cho đất, thường tồn tại ở dạng lỏng và đóng vai trò như một thành phần hoạt tính trong hệ keo khoáng. Bên cạnh đó, Fulvic acid là chất đa điện giải và là chất keo duy nhất dễ dàng khuếch tán qua màng tế bào trong khi tất cả các chất keo khác thì không. Các chất humic được hình thành bởi sự phân hủy sinh học các chất thực vật đã chết, chẳng hạn như lignin. Chúng có khả năng chịu đựng mạnh đối với phân hủy sinh học tiếp. Các thuộc tính chính xác và cấu trúc của một mẫu nhất định phụ thuộc vào nguồn nước hoặc đất và các điều kiện khai thác cụ thể. Tuy nhiên, các đặc tính trung bình của chất humic thu được từ các nguồn khác nhau thường có sự tương đồng đáng kể về mặt cấu trúc chức năng và thành phần hóa học. Các chất humic trong đất và trầm tích có thể được chia thành ba phần chính:

humic acid, fulvic acid, và humin. Humic acid và fulvic acid được chiết xuất từ đất và các nguồn khác dưới dạng hệ keo (colloidal sol) bằng cách sử dụng dung dịch base mạnh, điển hình là sodium hydroxide (NaOH) hoặc potassium hydroxide (KOH). Trong quá trình tách chiết, humic acid được kết tủa khỏi dung dịch ở pH = 1 (được điều chỉnh pH bằng HCl), trong khi fulvic acid vẫn tồn tại trong pha lỏng. Đây là sự phân biệt hoạt động giữa humic acid và fulvic acid. Humin không hòa tan trong kiềm loãng. Phần chất humic hòa tan trong ethanol thường được gọi là humic acid.

Các nhóm chức năng có đóng góp nhiều nhất cho điện tích bề mặt và độ hoạt hóa của các chất humic là nhóm phenolic và carboxylic. Humic acid hoạt động như các hỗn hợp của các diacid, với giá trị pK_1 khoảng 4 cho protonate hóa nhóm carboxyl và khoảng 8 cho protonat hóa nhóm phenolate. Có sự tương đồng tổng thể đáng kể giữa các humic acid riêng rẽ. Vì lý do này, các giá trị pK đo được của một mẫu đã cho nào đó là giá trị trung bình có liên quan tới các loại hợp thành (Hình 1.2).

Sự hiện diện của các nhóm carboxylate và phenolate tạo cho humic acid khả năng tạo các phức chất với các ion như Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} và Fe^{3+} . Nhiều humic acid có hai hoặc nhiều hơn các nhóm này, được sắp xếp sao cho nó cho phép sự hình thành các phức chất chelate. Sự hình thành các phức chất chelate là một khía cạnh quan trọng của vai trò sinh học của humic acid trong việc điều chỉnh tính sinh khả dụng của các ion kim loại.



Hình 1.2. Minh họa về một humic acid điển hình, có một loạt các thành phần như quinon, phenol, catechol và các nửa đường

1.1.4. Các ứng dụng của than bùn hiện nay

Hiện nay, than bùn có khá nhiều ứng dụng nhờ vào đặc tính của chúng. Một số ứng dụng của than bùn đang được sử dụng phổ biến hiện nay như sau:

Tại Châu Âu, than bùn được sử dụng để điều trị bệnh bằng liệu pháp tắm ngâm. Ngày nay, các nước trên thế giới cũng sử dụng phương pháp này để điều trị một số bệnh lý đơn giản. Bởi các chất khoáng có trong than bùn sẽ giúp kháng khuẩn, điều trị các bệnh lý về da rất tốt. Ngoài ra nó còn giúp thư giãn và giảm đau mỗi cơ khớp...

Than bùn thường được dùng để lọc nước. Ví dụ như xử lý nước thải sinh hoạt, nước thải bể phốt, nước thải sinh hoạt tại các hộ dân cư... Tùy thuộc theo cách sử dụng mà người ta sẽ chế biến than bùn theo nhiều dạng khác nhau (dạng sợi ống, bột, ép, mảnh...). Đặc biệt, khi than bùn được chế tạo thành than hoạt tính thì nó có thể hấp thụ các chất hữu cơ phân tử cực tốt. Thông qua đó lọc đi những thành phần cặn bã trong nước. Đây là giải pháp lọc nước tốt nhất hiện nay.

Chất humic là nguồn cung cấp năng lượng tốt cho các sinh vật có ích trong đất. Humic và các hợp chất không phải humic (hữu cơ) cung cấp năng

lượng và nhiều khoáng chất yêu cầu đối với vi sinh vật đất và động vật đất. Các sinh vật có lợi trong đất thiếu bộ máy quang hợp để thu năng lượng từ mặt trời do đó phải tồn tại nhờ carbon dư chứa các chất trên hoặc trong đất. Năng lượng được lưu trữ trong các liên kết carbon có chức năng cung cấp năng lượng cho các phản ứng trao đổi chất khác nhau bên trong các sinh vật này. Đất có lợi sinh vật (tảo, nấm men, vi khuẩn, tuyến trùng nấm, nấm rễ và động vật nhỏ) thực hiện nhiều chức năng có lợi ảnh hưởng đến độ phì nhiêu của đất và sức khoẻ thực vật.

Ví dụ, vi khuẩn tiết ra các acid hữu cơ hỗ trợ quá trình hòa tan các nguyên tố khoáng liên kết trong đất. Vi khuẩn cũng giải phóng polysaccharide phức tạp (hợp chất dựa trên đường) giúp tạo ra đất vụn (cốt liệu). Các mảnh vụn của đất tạo cho đất một cấu trúc mong muốn. Đất có lợi khác các vi sinh vật như Actinomyces giải phóng chất kháng sinh vào đất. Những loại thuốc kháng sinh này là được cây trồng để bảo vệ nó chống lại sâu bệnh. Thuốc kháng sinh cũng có chức năng tạo ra cân bằng sinh thái của các sinh vật đất trên bề mặt rễ (thân rễ) và trong đất gần rễ (sinh quyển). Nấm cũng thực hiện nhiều chức năng có lợi trong đất.

1.2. CARBON CHẤM LƯỢNG TỬ (CQDS) VÀ ỨNG DỤNG PHÁT TRIỂN ĐIỆN CỰC ĐỂ PHÂN TÍCH ĐIỆN HÓA

1.2.1. Nguyên lý phân tích điện hóa

Phân tích điện hóa là một trong những nhóm phương pháp phân tích hiện đại dựa trên việc đo các đại lượng điện như dòng điện, điện thế, điện tích hoặc độ dẫn phát sinh từ các quá trình oxi hóa – khử xảy ra tại bề mặt điện cực. Nhờ ưu điểm độ nhạy cao, thiết bị đơn giản, thời gian phân tích nhanh, chi phí thấp và khả năng ứng dụng trực tiếp cho nhiều loại mẫu thực, các phương pháp điện hóa đã được ứng dụng rộng rãi trong phân tích môi trường, thực phẩm, dược phẩm và sinh học. Trong hệ điện hóa thông thường, quá trình đo được thực hiện trong một tế bào điện hóa gồm ba điện cực: điện cực làm việc (working electrode), điện cực đối (counter electrode) và điện cực so sánh (reference

electrode). Điện cực làm việc là nơi xảy ra phản ứng điện hóa của chất phân tích, điện cực đối có nhiệm vụ hoàn thành mạch điện, trong khi điện cực so sánh duy trì một điện thế ổn định làm cơ sở cho việc kiểm soát và đo điện thế của hệ. Khi áp đặt một điện thế thích hợp lên điện cực làm việc, chất phân tích có thể bị oxi hóa hoặc khử, tạo ra dòng điện tỷ lệ với tốc độ phản ứng điện cực. Trong nhiều trường hợp, cường độ dòng điện thu được tỷ lệ thuận với nồng độ chất phân tích, cho phép ứng dụng trong định tính và định lượng [12].

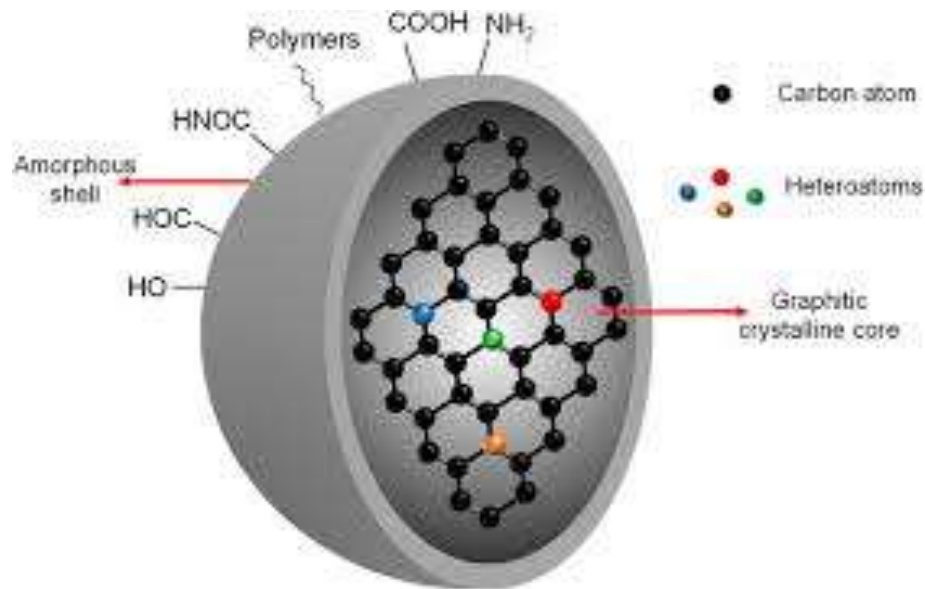
Đối với các hợp chất hữu cơ có hoạt tính điện hóa, phản ứng oxi hóa hoặc khử thường liên quan đến sự chuyển electron và proton. Do đó, tín hiệu điện hóa không chỉ phản ánh hàm lượng chất phân tích mà còn cung cấp thông tin về cơ chế phản ứng, số electron trao đổi, vai trò của proton và đặc tính động học của quá trình truyền electron. Đây là một ưu điểm nổi bật của các phương pháp điện hóa so với nhiều kỹ thuật phân tích khác.

Trong những năm gần đây, việc sử dụng các vật liệu nano và vật liệu chức năng để biến tính điện cực đã trở thành hướng nghiên cứu quan trọng nhằm nâng cao hiệu suất cảm biến điện hóa. Các vật liệu như graphene, graphene oxide khử (rGO), ống nano carbon, vật liệu khung cơ kim (MOFs), MXenes và các hạt nano kim loại có thể làm tăng diện tích bề mặt điện hóa hiệu dụng, cải thiện khả năng truyền electron và tăng cường sự hấp phụ của chất phân tích trên bề mặt điện cực. Nhờ đó, tín hiệu dòng điện được khuếch đại đáng kể, giới hạn phát hiện được hạ thấp và độ chọn lọc của phương pháp được cải thiện.

1.2.2. Tổng hợp CQDs

Carbon chấm lượng tử (CQDs) là các hạt nanocarbon có kích thước rất nhỏ (thường <10 nm), gồm lõi carbon graphit hoặc vô định hình và bề mặt giàu nhóm chức (-OH, -COOH, -C=O, -NH₂ [13] (Hình 1.3). CQDs được xem là thế hệ chấm lượng tử “xanh” thay thế cho các chấm lượng tử bán dẫn chứa kim

loại nặng (CdSe, CdS), nhờ: Huỳnh quang mạnh và bền vững, phụ thuộc bước sóng kích thích; Độc tính thấp, thân thiện môi trường, có thể chế tạo từ nguồn sinh khối tự nhiên; Dễ biến tính bề mặt, cho phép điều chỉnh tính chất quang và hóa; Ổn định cao trong dung dịch nước [13].

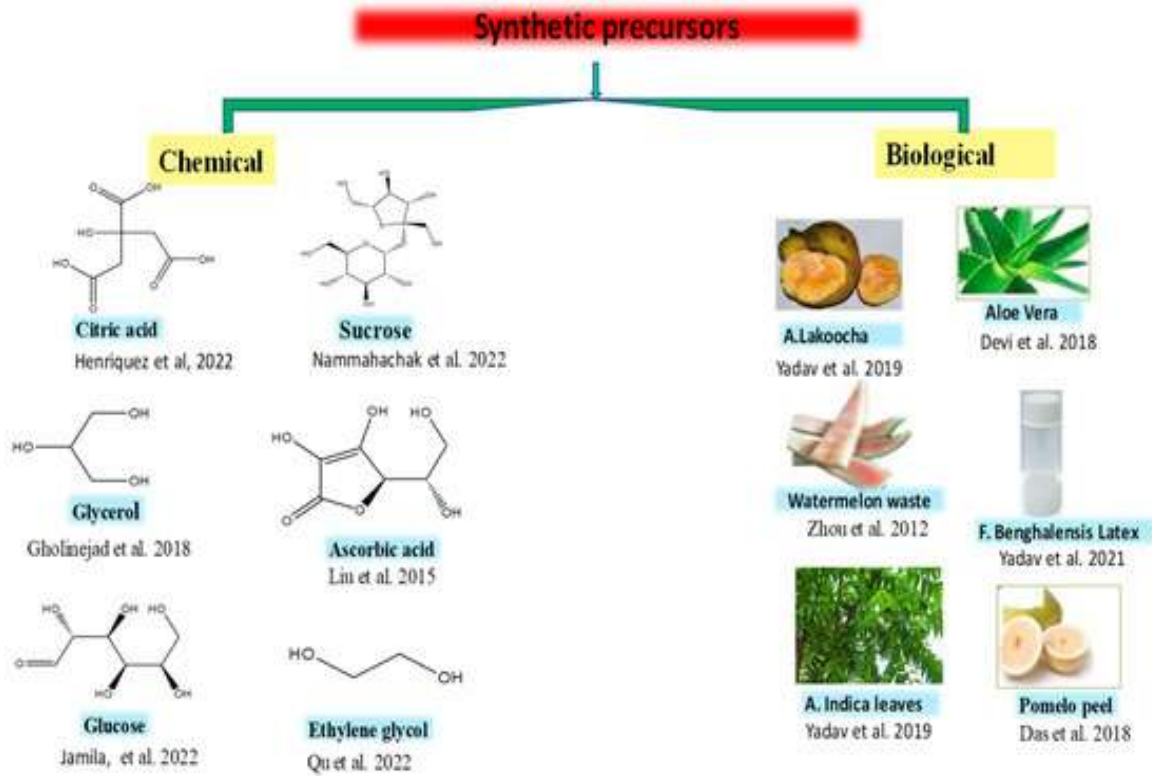


Hình 1.3. Minh họa cấu trúc của CQDs [14]

CQDs có thể được tổng hợp từ nhiều nguồn carbon như glucose, acid citric, cellulose, chitosan, than bùn, than sinh học... bằng các phương pháp chính [15]:

Trên xuống (Top-down): phá vỡ các cấu trúc carbon lớn (hồ quang, cắt laser, oxy hóa điện hóa)

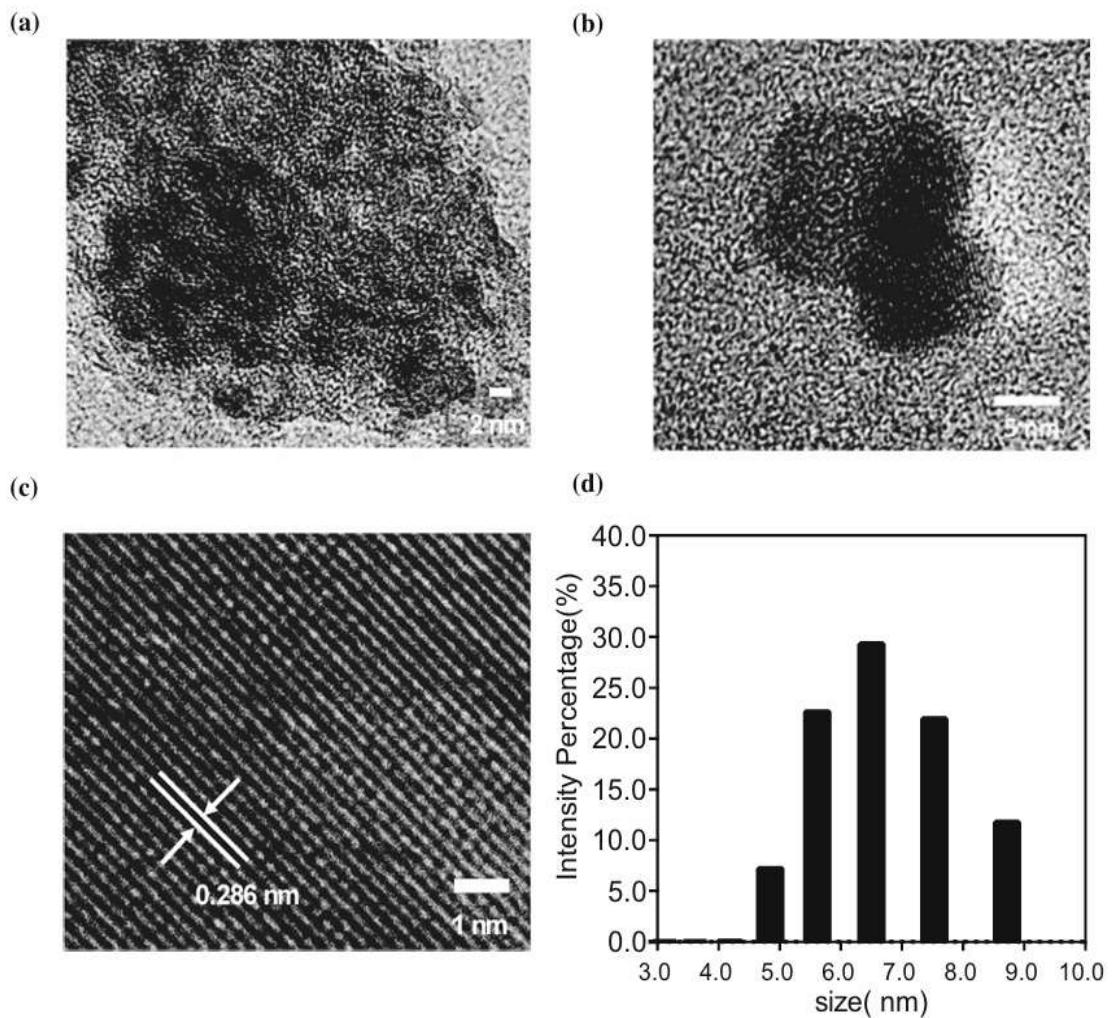
Dưới lên (Bottom-up): carbon hóa các tiền chất hữu cơ bằng xử lý nhiệt áp (thủy nhiệt, dung nhiệt), vi sóng, hoặc nhiệt phân. Trong đó, thủy nhiệt và vi sóng các nguồn carbon hydrate tự nhiên được sử dụng rộng rãi do đơn giản, chi phí thấp và thân thiện môi trường [15] xem hình 1.4.



Hình 1.4. Một số phương pháp tổng hợp thủy nhiệt và vi sóng CQDs từ các nguồn hóa chất hay sinh khối tự nhiên [15]

Một số phương pháp tổng hợp CQDs đã được công bố, chẳng hạn như nhiệt phân glycerol [16], carbon hóa thủy nhiệt chitosan [17], tổng hợp solvothermal từ dopamine hydrochloride [18], nhiệt phân bằng vi sóng từ nước cam và urê [19] và oxy hóa hóa học D-(+)-glucose [20].

Gần đây, Liu và cộng sự [21] đã công bố tổng hợp CQDs từ HMA. Hình 1.5 đã trình bày hình thái của GQDs được điều chế từ HMA. Các GQD cho thấy hình cầu với độ phân tán đơn tốt, có đường kính trong khoảng 3-10 nm. Trong khi đó, khoảng cách mạng của GQD được đo là khoảng 0,286 nm, cho thấy cấu trúc đặc trưng của cacbon graphit. Đường kính thủy động lực học được đo bằng DLS là $6,5 \pm 2,3$ nm (Hình 1.5 d), lớn hơn một chút so với đường kính đo được từ TEM.



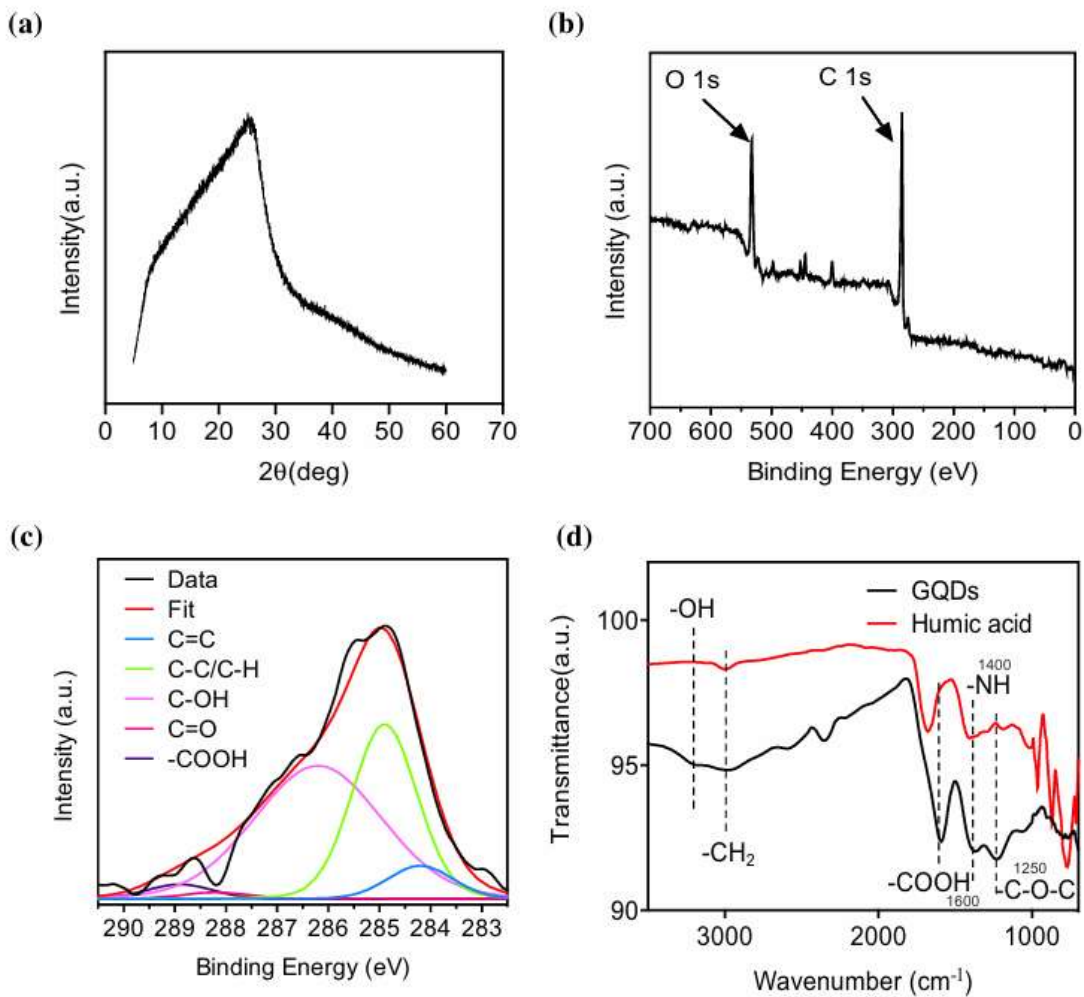
Hình 1.5. a,b) Ảnh TEM của GQD. c) Ảnh HRTEM của GQD (0,286 nm).

d) Phân bố kích thước của GQD được phát hiện bởi DLS [21]

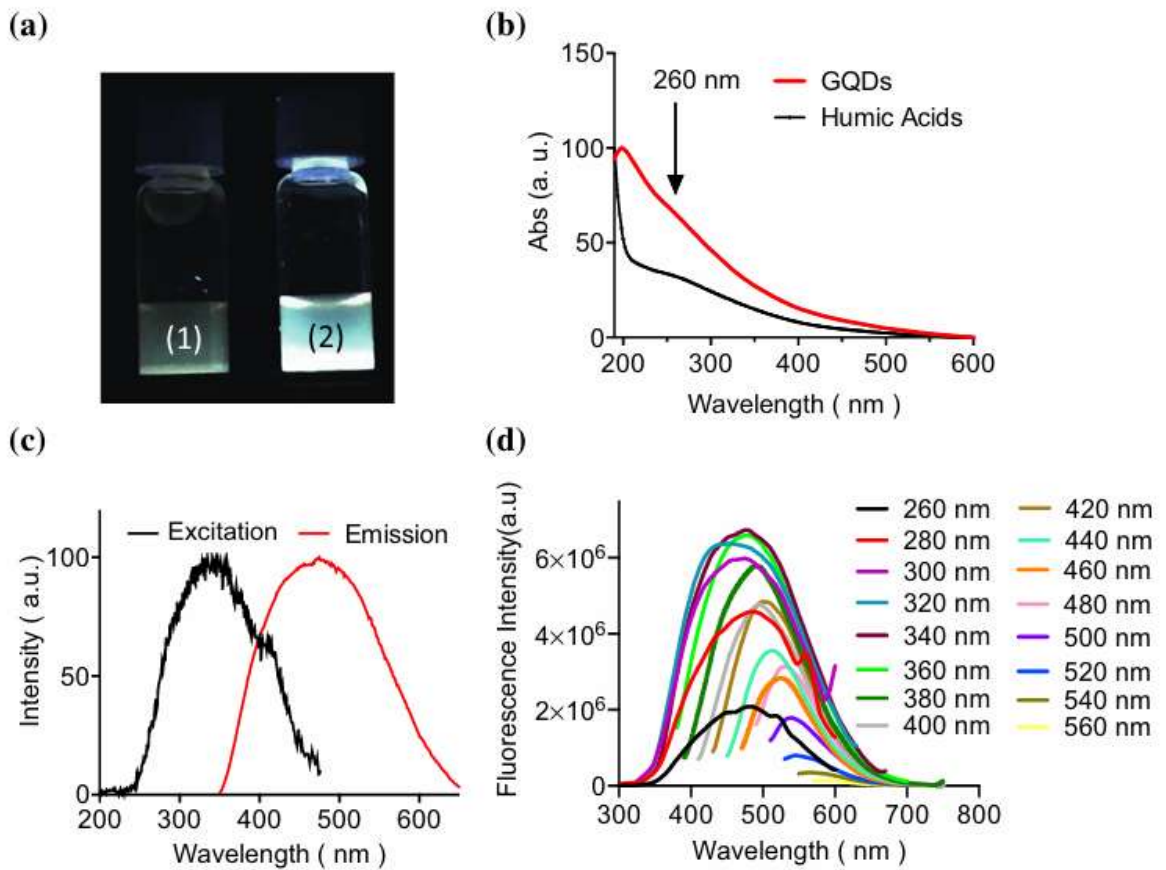
Nhiều xạ tia X (XRD) cũng được thực hiện để xác định đặc tính graphit của GQD (Hình 1.6a). Như thể hiện trong Hình 1.6a, có đỉnh rộng tâm tại theta của 25° , tương ứng với khoảng cách giữa các lớp là 0,286nm, và kết quả nhỏ hơn kết quả của graphit (002), do sự uốn cong giữa các lớp. Kết quả từ XPS cho thấy hai đỉnh chính ở 285,25 eV, 532,5 eV, lần lượt được quy cho C1s, O1s (Hình 1.6).

Tỷ lệ phần trăm nguyên tử của cacbon và oxy được tính toán lần lượt là khoảng 80% và 20%, đây là các nguyên tố chính trong GQD được điều chế. Phổ C1s của GQD (Hình 1.6c) cho thấy năm đỉnh ở 284,2 eV, 284,9 eV, 286,2 eV, 288,2 eV và 288,9 eV, cho thấy sự hiện diện của C = C, C-C/C-H, C-OH, C = O

và-COOH. Tất cả dữ liệu từ phân tích XPS này cho thấy các nguyên tử C và O là thành phần chính của GQD tổng hợp từ HMA. FTIR đã được sử dụng để chứng minh sự tồn tại của các nhóm chức khác nhau trên GQD. Hình 1.6d cho thấy các đỉnh ở 1250 cm^{-1} và 1400 cm^{-1} tương ứng của sự kéo dài liên kết C-O-C và N-H trong cấu trúc than chì. Sự hiện diện của các nhóm hydroxyl được chứng minh bằng diện tích đỉnh rộng ở 2970 cm^{-1} , và sự hiện diện của các nhóm carboxyl được thể hiện trong đỉnh sắc nét ở 1600 cm^{-1} . Bên cạnh các nhóm chức liên quan đến carbon, nhóm chức amin N-H cho thấy dao động kéo dài của amin N-H ở 3000-3500 cm^{-1} . Các nhóm chức này trên GQD cung cấp các vị trí phản ứng tiềm năng cho các biến đổi tiếp theo.



Hình 1.6. a) Giản đồ XRD của GQD. b) Phổ XPS khảo sát của GQD. c) Phổ C1s độ phân giải cao của GQD. d) Phổ FTIR của GQD và humic acid [21]



Hình 1.7. a Ảnh chụp humic acid (1) và GQD (2) được kích thích dưới ánh sáng UV 365 nm. b Phổ hấp thụ UV-Vis của humic acid (đen) và GQD (đỏ). c Phổ kích thích và phát xạ của GQD. $k_{ex} = 360$ nm; $k_{em} = 470$ nm. d Phổ phát xạ huỳnh quang của GQD khi bước sóng kích thích tăng từ 260 đến 560 nm[21]

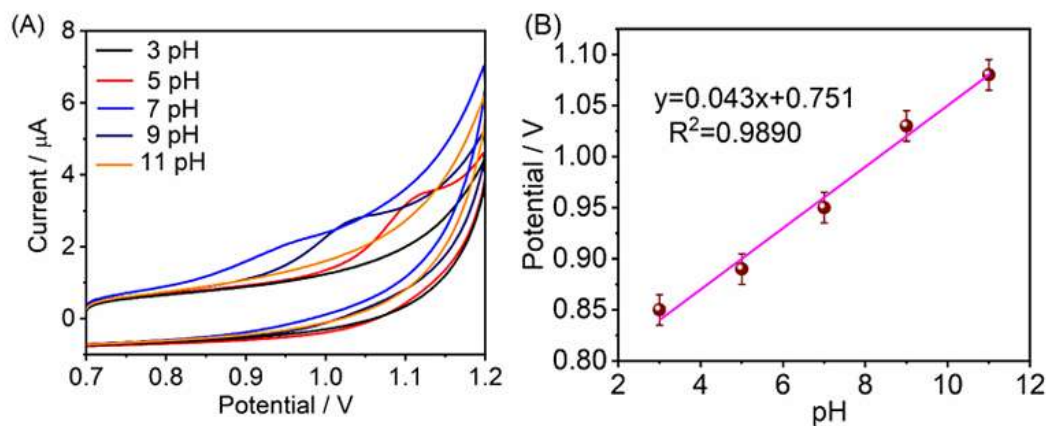
Họ cũng đã nghiên cứu tính chất huỳnh quang của GQD dưới sự chiếu xạ của tia cực tím (UV) 365 nm, GQD cho thấy huỳnh quang màu lục lam mạnh so với humic acid (Hình 1.7a), cho thấy sự hình thành của GQD huỳnh quang. Như thể hiện trong Hình 1.7b, phổ hấp thụ UV-Vis của dung dịch nước GQD cho thấy sự hấp thụ quang học điển hình trong vùng cực tím (UV) với sự mở rộng vào vùng khả kiến. Không có đỉnh rõ ràng nào ngoại trừ đỉnh gần 260 nm, tương ứng với sự chuyển điện tử p-đến p* của liên kết C = C thơm. Ngược lại, không có đỉnh hấp thụ rõ ràng nào đối với humic acid. Phổ kích thích và phát xạ của GQD được đo và minh họa trong Hình 1.7c. Phát xạ huỳnh quang mạnh

nhất ở 470 nm thu được khi bước sóng kích thích 360 nm. Tương tự như các chấm lượng tử graphene tương tự khác hoặc các chấm nano carbon, các GQD được phát triển ở đây cũng cho thấy sự phát xạ phụ thuộc vào kích thích (Hình 1.7d). Khi bước sóng kích thích tăng từ 260 lên 560 nm, bước sóng phát xạ tăng từ 440 lên 590 nm.

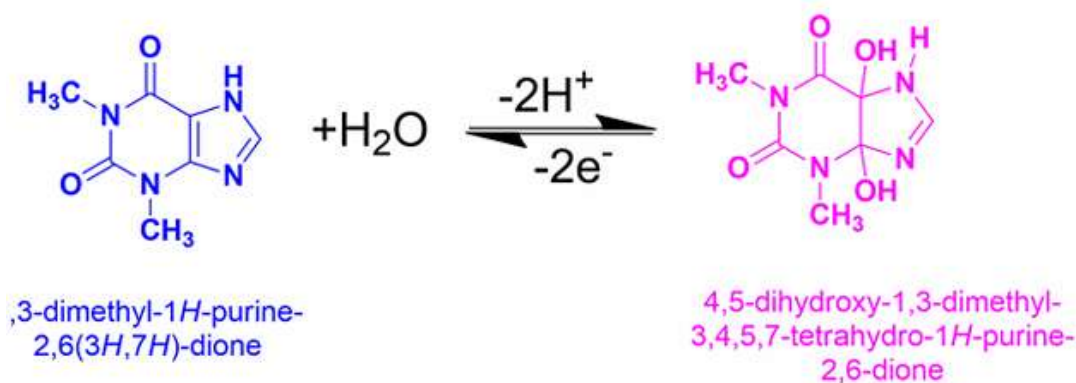
1.2.3. Ứng dụng CQDs để phát triển điện cực phân tích Theophylline

Theophylline là một dẫn xuất của xanthine, 1,3-dimethylxanthine (được biết đến với tên theophylline, TPL) được tìm thấy tự nhiên trong cà phê hoặc trà [22]. Dẫn xuất xanthine này đã được sử dụng rộng rãi để điều trị các bệnh về đường hô hấp như ngưng thở ở trẻ sơ sinh, khí phế thũng và hen phế quản [23]. Các liều lớn hơn 20 mg/mL được báo cáo là có độc tính và có thể gây ra những tác động nghiêm trọng như ngừng tim, nôn mửa và co giật [24]. Do đó, việc phát hiện nồng độ TPL trong các công thức bào chế thuốc và các mẫu khác bằng một kỹ thuật nhanh chóng, không tốn kém, có tính chọn lọc và độ nhạy cao là rất cần thiết. Cho đến nay, việc đo lường TPL trong huyết thanh thường được thực hiện bằng các kỹ thuật như LC/MS tứ cực ba lần [25], sắc ký lỏng hiệu năng cao [26], sắc ký lỏng-khối phổ [27] và các phương pháp điện hóa [28]. Trong số các kỹ thuật này, các phương pháp điện hóa có những lợi thế đáng kể, chủ yếu do tính đơn giản, độ nhạy, tính chọn lọc, hiệu quả về chi phí và thời gian phân tích tương đối ngắn so với các phương pháp khác [29]. Đối với phân tích điện hóa, việc biến tính điện cực - đòi hỏi phải lựa chọn vật liệu phù hợp để cải thiện hiệu suất phân tích - là rất quan trọng. Gần đây, nhiều vật liệu xốp đã được tổng hợp và sử dụng làm chất biến tính điện cực để phát hiện TPL, bao gồm ống nano carbon đa vách (MWNTs) trang trí hạt nano vàng [28], MWNTs/Au/poly-L-lysine [30] và hạt nano Sn(IV)-clinoptilolite [31]. Có rất ít nghiên cứu về việc sử dụng CQDs làm chất biến tính điện cực để xác định TPL.

Dhamodharan và cộng sự [32] sử dụng điện cực biến tính để phân tích g-C₃N₄/GCE. Họ đã nghiên cứu ảnh hưởng tốc độ quét, ảnh hưởng pH (Hình 1.8) để đề xuất cơ chế oxy hóa TPL liên quan đến sự trao đổi hai điện tử và hai proton tại điện cực (hình 1.8).



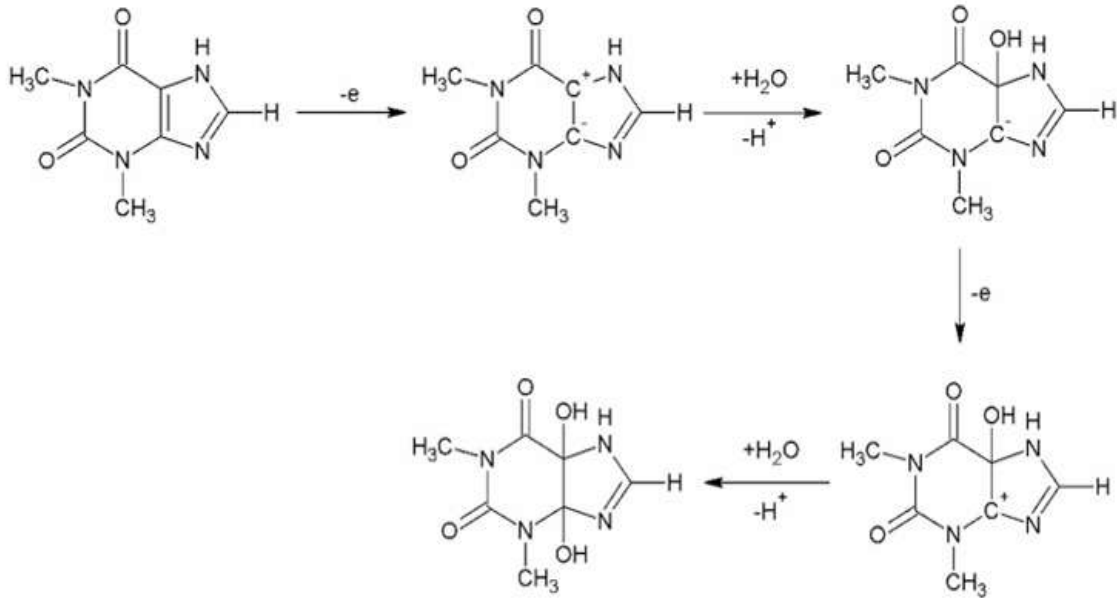
Hình 1.8. (A) Sự thay đổi giá trị pH 3, 5, 7, 9 và 11 tương ứng ở CV 6,5 μM TP tại g-C₃N₄/GCE trong PBS 0,1 M (B) Mối liên hệ giữa pH và điện thế đỉnh [32]



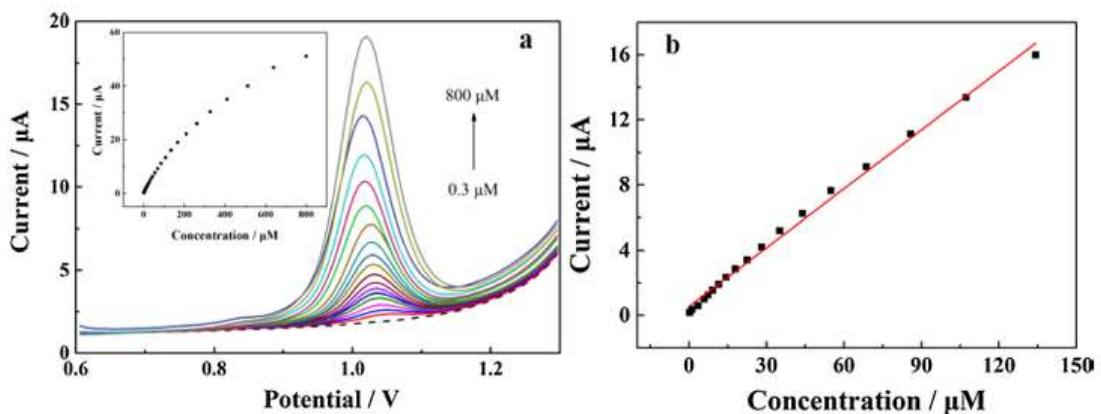
Hình 1.9. Cơ chế oxy hóa TPL tại điện cực g-C₃N₄/GCE [32]

Zhu và cộng sự [33] đã công bố sử dụng điện cực biến tính bằng ZnO/carbon đa tường (ZnO/MWC/NTs) có khả năng phát hiện TPL rất nhạy và độ chính xác cao. Trong quá trình oxy hóa TPL, hai nguyên tử cacbon trong liên kết đôi cacbon-cacbon dễ bị hình thành các gốc tự do khác nhau. Trong môi trường nước dễ xảy ra phản ứng ái nhân với các cation gốc tự do (các cacbon tích điện dương), dẫn đến quá trình oxy hóa tiếp theo và hình thành

các cấu trúc hydroxyl và dihydroxyl tương ứng [34]. Với tất cả các kết quả thực nghiệm trên, cơ chế phản ứng của TP trên điện cực có thể được biểu thị như sau [34].



Hình 1.10. Cơ chế oxy hóa TPL tại điện cực biến tính bởi ZnO/MWC/NTs



Hình 1.11. Biểu đồ hiệu chuẩn quan sát được đối với TPL tại ZnO/MWC/NTs/CPE ở pH 5,6 chứa các nồng độ TPL(khác nhau (0,3-800 µM)

Trong các điều kiện được tối ưu hóa, dòng điện cực đại voltammetry xung vi phân có mối quan hệ tuyến tính với nồng độ TPL trong khoảng $3,3 \times 10^{-7}$ - $1,3 \times 10^{-4}$ M. Giới hạn phát hiện là $8,3 \times 10^{-8}$ M (S/N = 3), và độ

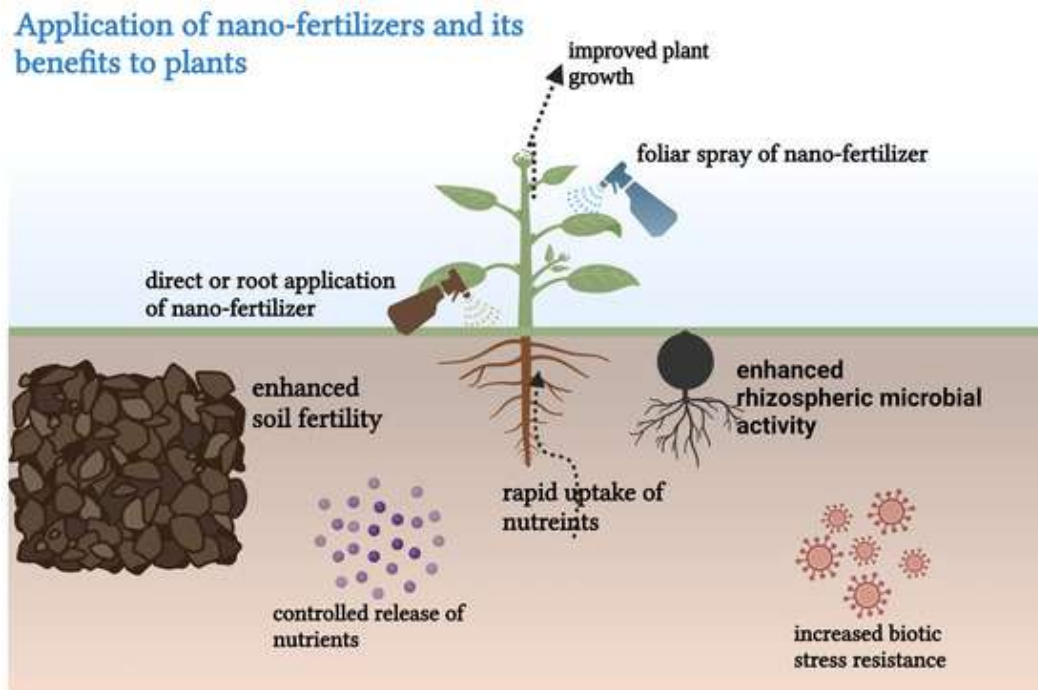
nhạy là $0,12048 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$. Humic acid (HMA) thường được hình thành thông qua quá trình phân hủy sinh địa hóa của thực vật và xác động vật. Do đó, cấu trúc cụ thể của HMA chưa được xác nhận do sự đa dạng của các con đường tạo mùn. Hầu hết HMA bao gồm các vòng thơm được thay thế bằng các nhóm chứa oxy, như aldehyde, carboxyl, phenolic, hydroxyl, ketone, alcohol và quinone [21]. Cả HMA và acid fulvic đều có thể là tiền chất để điều chế chấm lượng tử carbon (CQDs) [35]. Lĩnh vực hóa học phân tích đã tập trung vào CQDs nhờ các đặc tính phát quang của chúng [36]. Gần đây, CQDs đã thu hút sự quan tâm lớn trong việc phát triển các điện cực biến tính bằng vật liệu CQD để phân tích điện hóa. Các điện cực này đã tăng cường đáng kể tín hiệu điện hóa, ví dụ như điện cực biến tính bằng CQDs để xác định dopamine và acid uric [37], điện cực biến tính bằng CQDs/CuO để phát hiện dopamine và epinephrine [38]. Trong luận án này, điện cực carbon thủy tinh (GCEs) biến tính bằng CQDs được điều chế từ HMA dẫn xuất từ than bùn đã được phát triển. Điện cực điện hóa đã được áp dụng để phân tích TPL trong dạng thuốc viên sẽ được công bố.

1.3. TỔNG QUAN VỀ PHÂN BÓN NANO

1.3.1. Khái niệm và đặc điểm

Phân bón nano (nanofertilizers) là các chế phẩm cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng dưới dạng hạt hoặc cấu trúc có kích thước nano (thường $<100 \text{ nm}$), hoặc là hệ mang (nanocarrier) có khả năng giải phóng dinh dưỡng có kiểm soát [39, 40]. Với diện tích bề mặt riêng lớn, hoạt tính bề mặt cao và khả năng điều chỉnh cấu trúc, phân bón nano được kỳ vọng cải thiện hiệu quả sử dụng dinh dưỡng so với phân bón truyền thống, đồng thời giảm thất thoát và tác động tiêu cực đến môi trường [41, 42]. Hiệu quả của phân bón nano chịu ảnh hưởng rất lớn bởi phương pháp bón phân, phụ thuộc vào các yếu tố như tính chất nano, thành phần đất, điều kiện môi trường, hệ thống phân phối và loài thực vật [43].

Các nghiên cứu đã khám phá nhiều kỹ thuật bón phân khác nhau, bao gồm phun qua lá, bón qua đất hoặc rễ, và các phương pháp kết hợp, trên nhiều loại cây trồng [44]. Hình 1.12. bên dưới cho thấy các phương pháp bón phân nano khác nhau và lợi ích của chúng đối với cây trồng.



Hình 1.12. Ứng dụng phân bón nano và lợi ích của chúng đối với cây trồng, bao gồm tăng cường hoạt động của vi sinh vật vùng rễ, tăng độ phì nhiêu của đất, hấp thụ chất dinh dưỡng nhanh chóng, giải phóng chất dinh dưỡng được kiểm soát và tăng khả năng chống chịu căng thẳng sinh học [43]

Phân nano có thể được chia thành ba nhóm chính:

- Nano-dinh dưỡng trực tiếp: hạt nano chứa nguyên tố dinh dưỡng (ZnO , Fe_2O_3 , SiO_2 , nano-hydroxyapatite) [45].
- Phân bón tải nano: dinh dưỡng được gắn hoặc bao bọc trong chất mang nano (chitosan, polymer, silica, MOFs).
- Phân bón cải tiến bằng nano: phân bón thông thường được kết hợp hạt nano để tăng hòa tan, tăng hấp thụ hoặc điều chỉnh động học giải phóng [42].

Ưu điểm so với phân bón truyền thống

Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng phân bón nano có thể tăng năng suất nông học từ 10-80% so với các lựa chọn phân bón thông thường với liều lượng bón ít hơn [46]. Việc tối ưu hóa liều lượng phân bón nano là vô cùng quan trọng vì nó sẽ quyết định cả kết quả kinh tế và môi trường. Việc điều chỉnh liều lượng đã được chứng minh là làm tăng đáng kể hiệu quả hấp thụ chất dinh dưỡng và tăng năng suất cây trồng [47]. Ví dụ, kết quả từ các thí nghiệm trên cây ngô cho thấy việc hấp thụ tối ưu phân bón thông thường, kết hợp với phân bón nano, đã đạt được năng suất cao hơn so với phương pháp truyền thống trong khi giảm thiểu tổng lượng phân bón được sử dụng [48]. Tuy nhiên, việc bón phân nano đi kèm với những thách thức cần được cân nhắc kỹ lưỡng. Việc đánh giá độc tính tiềm ẩn của vật liệu nano và tác động lâu dài của chúng đối với hệ sinh thái đất là điều cần thiết [49]. Ngoài ra, một lĩnh vực nghiên cứu quan trọng vẫn là tiêu chuẩn hóa các phương pháp bón phân và tối ưu hóa liều lượng, có thể thay đổi tùy theo cây trồng và điều kiện môi trường [50]. Các phương pháp và liều lượng bón phân nano này có thể tối ưu ở các mức độ khác nhau tùy thuộc vào cây trồng, giai đoạn sinh trưởng, ứng dụng môi trường, đặc tính đất và các đặc điểm khác nhau [51]. Các nghiên cứu trong những năm gần đây đã chỉ ra rằng thời điểm và phương pháp bón phân nano có thể đóng vai trò quan trọng để đạt được hiệu quả tốt hơn [51]. Ngày nay, khi nông nghiệp bền vững đang ngày càng phát triển, việc bón phân nano đúng cách và liều lượng là rất quan trọng để sử dụng hiệu quả, giúp vượt qua những thách thức hiện tại trong lĩnh vực nông nghiệp. Tuy có nhiều ưu điểm, nanofertilizers vẫn gặp thách thức về chi phí sản xuất, nguy cơ tích lũy nano trong môi trường và thiếu chuẩn hóa quy định quản lý [42].

Bảng 1.1. So sánh phân bón truyền thống và phân bón nano

Tiêu chí	Phân bón truyền thống	Phân bón nano
Kích thước hạt	Micromet-milimet	<100 nm, diện tích bề mặt lớn [39, 40]
Cơ chế cung cấp dinh dưỡng	Giải phóng nhanh, phụ thuộc hòa tan trong đất	Giải phóng chậm, có kiểm soát; có thể gắn vào chất mang nano [40, 42]
Hiệu quả sử dụng dinh dưỡng (NUE*)	Thấp (30-50%), thất thoát lớn	Cao (60-90%), giảm thất thoát [46]
Thất thoát ra môi trường	Dễ gây ô nhiễm, phú dưỡng	Giảm đáng kể, thân thiện môi trường [48]
Tác động đến cây trồng	Dễ dư thừa/thiếu hụt cục bộ	Hấp thu hiệu quả, tăng sức đề kháng [45]
Ảnh hưởng môi trường	Gây ô nhiễm nguồn nước, phát thải khí	Giảm thiểu ô nhiễm; cần đánh giá độc tính nano [42]
Chi phí	Thấp, sản xuất hàng loạt	Cao do công nghệ nano [52]
Ví dụ điển hình	Urea, DAP, TSP, NPK	ZnO-NP, SiO ₂ -NP, nano-hydroxyapatite, chitosan-NPK nano-composites [45, 53]

* NUE = Nutrient Use Efficiency (hiệu quả sử dụng dinh dưỡng).

1.3.2. Phân lân nano

Một trong những thách thức lớn nhất đối với nền văn minh nhân loại là đảm bảo an ninh lương thực cho dân số toàn cầu và đạt được mục tiêu “xóa đói” trên toàn thế giới, phù hợp với các Mục tiêu Phát triển Bền vững của Liên Hợp Quốc. Dự kiến dân số thế giới sẽ đạt 10 tỷ người vào năm 2050, đồng nghĩa với việc sản lượng lương thực phải tăng đáng kể so với mức hiện nay.

Tuy nhiên, tốc độ tăng năng suất cây trồng hàng năm đã giảm dần trong vài thập kỷ qua [54], cho thấy nền nông nghiệp truyền thống đang thiếu tính bền vững. Phosphorus (P) là một trong những nguyên tố dinh dưỡng đa lượng quan trọng nhất đối với cây trồng, đóng vai trò thiết yếu trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây. Nhu cầu toàn cầu về phân bón chứa photpho đã lên tới 21,4 triệu tấn (tính theo P) vào năm 2022 [55], và quan trọng hơn, đây là một trong những yếu tố chính gây ra sự thiếu bền vững trong nông nghiệp. Cụ thể hơn, các phương pháp bổ sung photpho truyền thống trong nông nghiệp có hiệu suất rất thấp, thường gặp các vấn đề như khả năng hòa tan kém do bị kết tủa trong đất, hoặc thất thoát dinh dưỡng gây ra ô nhiễm môi trường nghiêm trọng [56, 57].

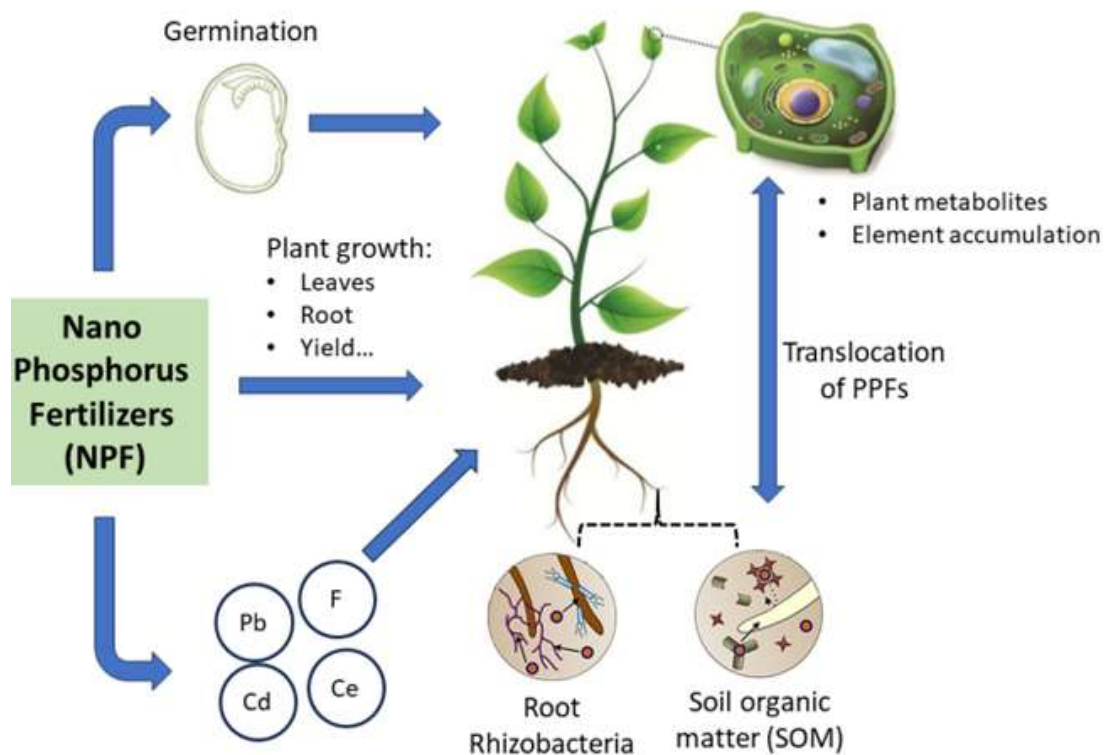
Trên thực tế, hiệu suất hấp thu và sử dụng của các loại phân bón P thông thường chỉ đạt khoảng 20% [58], gây ra sự lãng phí lớn nguồn tài nguyên khai thác quặng phosphate. Nguồn cung cấp P chính là từ khai thác đá phosphate [59] một tài nguyên hữu hạn do đó cần có những hướng tiếp cận đổi mới để nâng cao hiệu quả cung cấp và sử dụng P [56, 60]. Việc ứng dụng công nghệ nano đã mang lại những bước đột phá trong nhiều lĩnh vực của đời sống con người như y học, điện tử, và truyền thông; và hiện nay cũng đang được mở rộng mạnh mẽ trong nông nghiệp [61]. Sự phát triển này dựa trên nền tảng hiểu biết rằng vật liệu ở quy mô nano (< 100 nm) có những đặc tính hóa học, vật lý, và sinh học khác biệt so với vật liệu thông thường ở kích thước lớn hơn [62]. Trong số các ứng dụng đang phát triển mạnh của vật liệu nano trong nông nghiệp, các vật liệu nano chứa phosphorus (vật liệu P có kích thước nano, có hoặc không có chất mang) được gọi là phân bón nano phosphorous (Nano P fertilizers, viết tắt là NPF) đã nổi lên như một chiến lược đầy tiềm năng nhằm tăng cường sinh trưởng và năng suất cây trồng trong khi giảm đáng kể lượng đầu vào.

Thực tế, việc phát triển và ứng dụng thành công NPF, với các đặc tính lý-hóa đặc biệt và hoạt tính tăng cường, có thể đóng vai trò then chốt trong việc

giải quyết những hạn chế hiện tại của phân bón P. Việc triển khai các công nghệ tiên tiến này đòi hỏi phải hiểu rõ cơ chế hoạt động của NPF cũng như đánh giá đầy đủ các chi phí và rủi ro tiềm ẩn trước khi thay thế cho phân bón P truyền thống. Đáng chú ý, NPF mang lại nhiều lợi ích tiềm năng, bao gồm việc cải thiện đáng kể hiệu quả cung cấp và hấp thu dinh dưỡng - vốn đang ở mức thấp - đồng thời nâng cao năng suất cây trồng [45, 63]. Ngoài ra, NPF còn mở ra các chiến lược mới giúp cây trồng chống chịu tốt hơn trước các yếu tố gây stress môi trường như ô nhiễm kim loại nặng hoặc các stress phi sinh học khác [45, 63]. Các loại NPF thường được sử dụng được chia thành nhiều loại. Ví dụ, phân bón phosphate đá thương mại có thể được nghiền cơ học (ví dụ, nghiền bi) để thu được phân lân (nP) kích thước nano [64]. Ngoài ra, quá trình tổng hợp phân bón nano P đã được báo cáo bằng cách nạp P đá vào than sinh học [65] /zeolit [66] hoặc các loại vật liệu tương tự, sau đó được nghiền để tạo ra sản phẩm ở kích thước nano. Ngoài ra, nano-hydroxyapatite (nHAP) có thể được tạo ra bằng kỹ thuật hóa học ướt với canxi hydroxide ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) làm nguồn Ca và H_3PO_4 làm nguồn P [45, 67]. NPF có thể cố định Ca và P một cách hiệu quả, kiểm soát sự giải phóng của chúng dựa trên quá trình tổng hợp và điều kiện môi trường.

Ví dụ, NPF có thể giảm F hòa tan trong nước tới 88% [68]. Đáng chú ý, các tác giả cũng báo cáo sự giảm Pb không ổn định và tăng Pb dư trong đất từ 25 đến 61% [69, 70], cùng với sự cải thiện năng suất cây trồng. Điều này rất quan trọng vì một số loại phân bón P thông thường chứa hàm lượng flo (F) cao và có liên quan đến một vấn đề sức khỏe gọi là bệnh nhiễm fluor [71]. Ảnh hưởng của NPF đến việc cải thiện năng suất cây trồng. Việc sử dụng NPF làm phân bón có thể mang lại nhiều lợi ích độc đáo trong nông nghiệp thực vật (Hình 1.13). Như được mô tả dưới đây, những vật liệu này có thể được sử dụng để tăng cường sự nảy mầm, sinh khối, năng suất, sản xuất chất chuyển hóa thứ cấp và tăng cường dinh dưỡng sinh học cho cây trồng, cũng như giảm sự tích tụ các nguyên tố độc hại.

Sự nảy mầm của hạt được xử lý bằng NPF thường có tỷ lệ nảy mầm cao hơn, và cây con được tạo ra có sự phát triển rễ và chồi tốt hơn, có thể cải thiện sức khỏe và năng suất cây trồng. Ví dụ, Liu và Lal [72] đã nghiên cứu sự nảy mầm của hạt Glycine max khi có mặt nHAP (kích thước 10 ~ 40 nm) và cho thấy tỷ lệ nảy mầm tăng 20% so với phân bón P thông thường ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$). Hơn nữa, Bala và cộng sự [73] đã chứng minh rằng nHAP làm tăng tỷ lệ nảy mầm (100%) của đậu gà trồng trên cát so với đối chứng không có nHAP (88%), mặc dù không có P thông thường nào được so sánh.



Hình 1.13. Ảnh hưởng của NPF đến sự sinh trưởng của cây trồng [74]

Priyam và cộng sự [75] đã nghiên cứu sự nảy mầm của cây lúa giống bằng cách sử dụng bốn dạng hydroxyapatite (HAP) khác nhau, cụ thể là hình cầu (< 200 nm), hình que (~ 84 nm), hình kim (< 200 nm), hình tiểu cầu (~ 36 nm), và nano phosphorus (nP) hình cầu (~ 16 nm), và so sánh hiệu quả của chúng với ba nguồn P thông thường, bao gồm đá phosphate (RP), phosphoric acid (PA)

và di-ammonium phosphate (DAP). Đối với nP, tỷ lệ nảy mầm của hạt tăng lần lượt 118% và 217% so với RP và DAP. Hơn nữa, sự gia tăng tỷ lệ nảy mầm lần lượt là 154% và 238% đã được quan sát thấy ở nHAP so với RP và DAP. Điều quan trọng là không có sự khác biệt đáng kể nào giữa các kích thước và hình thái nHAP khác nhau. Một số cơ chế có thể giải thích sự gia tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt giống nhờ NPF, chẳng hạn như sự hấp thụ nước được tăng cường từ quá trình thâm nhập vỏ hạt được tạo điều kiện thuận lợi, kích thích các quá trình trao đổi chất của tế bào cùng với các hoạt động của enzyme như amylase được tăng cường [76, 77]. Ngoài ra, trong điều kiện được kiểm soát, NPF giải quyết vấn đề thiếu P trong đất chua và đất kiềm, thúc đẩy sự nảy mầm và sinh trưởng của hạt giống [78].

Phân bón NPF đã liên tục chứng minh sự cải thiện về tăng trưởng và năng suất cây trồng so với phân bón P thông thường trong cả thử nghiệm nhà kính và ngoài đồng ruộng [58, 66, 72, 75, 79, 80]. Năng suất cây trồng được cải thiện này đã được chứng minh với nhiều tiêu chí hình thái và kiểu hình khác nhau. Ví dụ, việc bón phân NPF đã làm tăng năng suất đậu nành [72] lên 20,4%, trong khi năng suất của rau diếp không phải cây họ đậu [58] tăng tới 31,1% so với P thông thường trong một nghiên cứu nhà kính. Ngoài năng suất cuối cùng, tốc độ tăng trưởng của cây trồng đã tăng 32,6% khi xử lý bằng NPF so với xử lý P thông thường [72]. Phân bón NPF đã được chứng minh là làm tăng cường sự hình thành rễ và chồi mạnh mẽ [75, 81]; Với điều kiện này, khả năng hấp thụ tổng thể các chất dinh dưỡng cần thiết cho cây trồng có thể được cải thiện. Sự hấp thụ chất dinh dưỡng tăng cường này dường như cũng liên quan đến việc giảm cố định P trong đất so với phân bón thông thường, dẫn đến tăng lượng phot pho dễ hấp thụ cho sự tăng trưởng và chuyển hóa [66, 79]. Quan trọng là, việc tăng cường hiệu quả hấp thụ P như vậy về mặt lý thuyết có thể giảm 40% liều lượng phân bón P khuyến nghị nếu áp dụng NPF thay vì các công thức P thông thường và được thực hiện ở mức tương đương trên nhiều loài cây trồng

trên đồng ruộng [82]. Các nghiên cứu đã báo cáo sự gia tăng tích lũy P trong mô thực vật trong quá trình bón NPF ở các chế độ kết tủa, đường bón và điều kiện đất khác nhau. Ví dụ, xử lý nHAP (~ 25 mg P/chậu) cho thấy hàm lượng P tăng lên ở lá non nhất đã phát triển hoàn toàn so với đối chứng (không bổ sung P) trong hệ thống thủy canh sau 48 giờ, mặc dù không có sự khác biệt so với nguồn P thông thường ở liều lượng tương tự [83]. Ngược lại, Taskin và cộng sự đã báo cáo rằng hàm lượng P trong chồi rau diếp đã tăng đáng kể 15,3% khi bón NPF so với công thức P thông thường [58]. Li và cộng sự đã nghiên cứu việc bón phân N-HAP và phân lân thông thường trên lá đậu nành và chứng minh rằng nHAP làm tăng hàm lượng P (orthophosphate) và Ca^{2+} lần lượt là 32,6% và 33,2% ở thân, 40,6% và 45,4% ở rễ, và 37,9% và 82,3% ở quả so với đối chứng không xử lý [84]. Các kết quả tương tự về việc tăng hàm lượng N-HAP và Ca đã được báo cáo đối với sự phát triển của cà chua với N-HAP, mặc dù một lần nữa, phân lân thông thường không được đưa vào để so sánh [75]. Hiểu biết còn hạn chế về cách P và các nguyên tố khác (ví dụ: canxi (Ca)) tích tụ trong cây trồng trong quá trình bón NPF. Vì Ca có mặt trong nHAP, nó có thể đóng vai trò là nguồn trực tiếp, dẫn đến tăng hàm lượng Ca trong mô thực vật. Ngược lại, sự tích tụ P tăng cường có thể là do đặc tính giải phóng chậm của NPF (ví dụ: nHAP), khi đó sự giải phóng chất dinh dưỡng phù hợp với nhu cầu P của cây trồng. Ngoài ra, diện tích bề mặt cao hơn của NPF, so với các công thức P thông thường, làm tăng khả năng hấp thụ của hệ thống rễ cây. Việc sử dụng NPF có thể làm giảm thiệt hại do một số tác nhân gây stress sinh học như nhiễm nấm [81]. Ví dụ, thực vật có khả năng tái tạo cấu trúc màng tế bào ở cấp độ phân tử; do đó, hàm lượng C18:3 trong rễ cà chua bị nhiễm nấm *Fusarium* được phát hiện tăng 28-31% khi xử lý bằng nHAP (200 nm) so với đối chứng thông thường, cho thấy khả năng phòng vệ được tăng cường đáng kể bởi nHAP chống lại nhiễm nấm [81]. Sự hiện diện của các chất chuyển hóa thực vật như phenolic cũng có thể đóng vai trò là một chỉ thị sinh học về việc

tiếp xúc với các tác nhân gây stress phi sinh học hoặc sinh học và có thể được kích thích để phản ứng phòng vệ [85]. Ví dụ, Ma và cộng sự. [81] đã báo cáo rằng xử lý nHAP qua lá (liều lượng, 9,3 và 46,5 mg/L) đã làm tăng tổng hàm lượng phenolic, hoạt tính phenylalanine ammonia-lyase và nồng độ acid salicylic trong các chồi bị nhiễm *Fusarium* lần lượt là 30-80%, 40-68% và 10-45%, một lần nữa làm nổi bật khả năng phòng vệ được tăng cường chống lại sự nhiễm nấm. Tóm lại, NPF có thể thúc đẩy sản xuất chất chuyển hóa thứ cấp của cây một cách độc đáo, tăng cường hiệu quả khả năng bảo vệ chống lại bệnh nấm ở cây so với phân bón P thông thường. Tiếp xúc với các nguyên tố ở mức độ độc hại, bao gồm F (flo), Pb (chì) và Cd (cadmi), có thể ảnh hưởng tiêu cực đến sự phát triển của cây trồng, với mức độ độc tính phụ thuộc vào cả loại nguyên tố, nồng độ, thời gian và điều kiện tiếp xúc, và loài thực vật liên quan. Các kim loại độc hại như Cd và Pb có thể gây ra tác động tiêu cực đến sự phát triển của lá và rễ, ức chế hoạt động của nhiều loại enzyme quan trọng, và cuối cùng dẫn đến giảm năng suất tổng thể của cây trồng [86, 87]. Các NPF đã được phát hiện có tác dụng trung gian sự sẵn có của các nguyên tố độc hại như F, Pb và Cd trong đất, do đó làm tăng sinh khối và năng suất thực vật [58, 65, 68, 69]. Ví dụ, Huang và cộng sự. [40] phát hiện ra rằng việc bổ sung nHAP (liều lượng 200 mg/L) làm tăng sinh khối của cây lúa giống so với đối chứng tiếp xúc với Cd (1-10 mg/L) trong hệ thống thủy canh. Trong đất, Gan và cộng sự đã báo cáo rằng việc bổ sung nHAP ngoại sinh (2% w/w) đã làm tăng sinh khối khô của thân lúa mì lên đến 11,5% và sinh khối khô của rễ lên đến 53% trong đất bị ô nhiễm F (200-1000 mg/kg) [68]. Điều này có thể là do khả năng làm giảm sinh khả dụng của F của nHAP bằng cách trung gian kết tủa CaF_2 , làm giảm thiểu tác động có hại của stress phi sinh học do tiếp xúc quá mức với F.

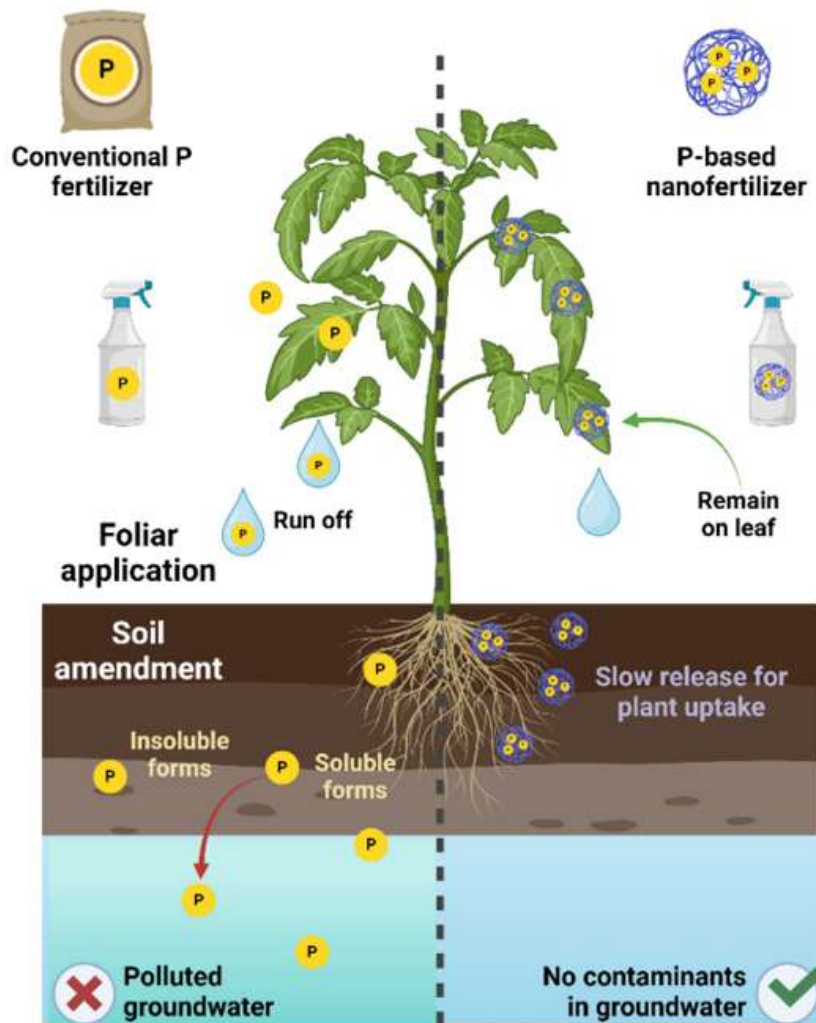
Nano-hydroxyapatite (nHAP) là một loại phân bón P tiềm năng nHAP đã thu hút sự chú ý đáng kể như một giải pháp thay thế tiềm năng cho phân bón P thông thường và đá photphat do tỷ lệ diện tích bề mặt trên thể tích cao, cho

phép giải phóng các ion hòa tan được kiểm soát tốt hơn. Cụ thể, không giống như các loại phân bón P thông thường như mono-ammonium phosphate (MAP), di-ammonium phosphate (DAP) và triple superphosphate (TSP), hòa tan rất nhanh và có thể gây phú dưỡng nước mặt, nHAP cung cấp tốc độ hòa tan và giải phóng chậm hơn nhiều và có thể điều chỉnh được, cung cấp P cho cây trồng theo một mốc thời gian phù hợp hơn với nhu cầu sinh lý và giảm nguy cơ ô nhiễm thứ cấp. Hơn nữa, nHAP khắc phục được nhược điểm kém hiệu quả của tốc độ hòa tan chậm của phân bón P dạng rắn (ví dụ: đá photphat). Hình 1.13 minh họa mối quan hệ giữa các loại phân lân khác nhau và làm nổi bật lợi ích cân bằng về mặt nông học và môi trường của nHAP. Do kích thước trung bình và tính di động (Hình 1.13), nHAP đã được nghiên cứu rộng rãi để thúc đẩy sự phát triển của cây trồng. Các nghiên cứu trước đây đã phát hiện ra rằng nHAP cải thiện khả năng nảy mầm, sinh khối, năng suất và thành phần dinh dưỡng (K, Mg, Ca, Zn) của cây trồng, có thể là do khả năng cung cấp lân cao hơn. Ví dụ, Liu và Lal đã thực hiện một nghiên cứu nhà kính kéo dài 20 tuần để điều tra hiệu quả bón phân của nHAP (đường kính 16 nm) và phân lân thông thường ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) trên đậu nành (liều bón, 21,8 mg/L P) [72]. Đậu nành được xử lý bằng nHAP cho thấy chiều cao cây tăng khoảng 30% so với phân lân thông thường. Hơn nữa, tốc độ sinh trưởng của cây và năng suất hạt lần lượt cao hơn khoảng 33% và khoảng 20% so với phân bón P thông thường. Sự tăng trưởng cao hơn này của cây có thể là do tính ổn định cao hơn của nHAP trong huyền phù hoặc do giảm ảnh hưởng của các yếu tố đất (ví dụ: độ pH, các ion đồng tồn tại hoặc chất rắn) và giảm khả năng rửa trôi (do độ nhớt cao hơn của nHAP do sự hiện diện của CMC đại phân tử), dẫn đến khả năng hấp thụ P của cây được cải thiện. Li và cộng sự đã tiến hành một nghiên cứu nhà kính kéo dài 28 ngày với nHAP hình kim (kích thước 100-200 nm) (liều lượng, 21,7 mg P/L) thông qua việc bón qua lá và/hoặc đất với đậu nành trong các điều kiện lượng mưa khác nhau [84]. Các tác giả cho rằng hàm lượng P trong thân, rễ và

quả tăng lần lượt khoảng 33%, ~ 41% và ~ 38%, so với phân bón P thông thường (TSP); hàm lượng Ca trong thân, rễ và quả tăng lần lượt khoảng 33%, ~ 45% và ~ 82%, cho thấy sự cải thiện trong quá trình tích lũy chất dinh dưỡng ở đậu nành được xử lý bằng nHAP. Ngoài đậu nành, nHAP cũng đã được đánh giá trên các loài cây trồng khác, bao gồm lúa Japonica [75], đậu đũa [67], lúa mạch [83], rau diếp [58], và ngô [88].

Sự gia tăng nồng độ diệp lục tố này có thể là do khả năng hấp thụ P được cải thiện, giúp tăng cường quá trình sinh tổng hợp diệp lục, thúc đẩy quá trình đồng hóa nitơ và tối ưu hóa hoạt động của enzyme liên quan đến quá trình sản xuất sắc tố quang hợp. Shylaja và cộng sự đã công bố rằng nHAP (kích thước 60 nm) đã cải thiện sự sinh trưởng và năng suất của đậu chù; trọng lượng tươi của quả được báo cáo là tăng khoảng 14% so với phân bón P thông thường (DAP) [67]. Tương tự, Priyam và cộng sự đã nghiên cứu bốn loại nHAP (dạng cầu kích thước nano, dạng que, dạng cầu và dạng kim) trên lúa và báo cáo rằng sinh khối, năng suất và hàm lượng P được cải thiện so với phân bón P thông thường (P đá, H_3PO_4 , DAP) ở liều lượng P tương tự (12,5 đến 1000 mg/L) trên ba loại đất (trung tính, ít calcium và nhiều calcium) trong một thí nghiệm trong phòng sinh trưởng [75]. Hơn nữa, nHAP dạng nano cầu (ở liều lượng 1000 mg/L) cho thấy sự thúc đẩy hấp thụ P cao nhất khi so sánh với các hạt dạng que hoặc dạng cầu, cho thấy hình thái nHAP rất quan trọng khi xét đến những lợi ích tích cực của việc tăng cường hấp thụ P. Cùng với hình thái, kích thước đóng một vai trò quan trọng vì nHAP đã phục hồi chức năng của bộ máy quang hợp lá lúa mạch ở những cây thiếu P trong vòng 48 giờ, trong khi không tìm thấy sự cải thiện nào như vậy ở HAP vi mô liều lượng tương tự [83]. Tuy nhiên, có những nghiên cứu đã công bố với kết quả khác nhau; ví dụ, McKnight và cộng sự [89] đã sử dụng nHAP (chiều rộng 23 nm và chiều dài 91,7 nm) trong một nghiên cứu về sự phát triển của đậu nành kéo dài 12 tuần trong điều kiện nhà kính và không tìm thấy tác động đáng kể của nHAP (15 đến 56,5 ppm P) đối với sinh khối hoặc năng

suất đậu nành so với đối chứng (không bổ sung P), cũng như không ảnh hưởng đến quần thể vi sinh vật đất. Kết quả tương tự về việc không cải thiện sinh khối rễ hoặc tổng sinh khối thực vật của nHAP đã được phát hiện khi so sánh với phân bón P thông thường ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) ở mức 95 mg/kg P cho rau muống [79]. Cơ chế tương tác được đề xuất giữa nHAP và rễ cây được minh họa trong Hình 1.14. Ban đầu, các hạt nHAP có xu hướng tập trung trên hoặc trong lớp biểu bì rễ, sau đó thâm nhập vào các lớp tế bào sâu hơn theo thời gian. Điều quan trọng là, một số quá trình hòa tan cũng có thể diễn ra ngoài cây, dẫn đến việc hấp thụ trực tiếp ion P theo các con đường thông thường.



Hình 1.14. Tổng quan về sự phân bố của nHAP trong mô rễ của cây được xử lý bằng nHAP [74]

Phân bón nano P dựa trên chất mang

Một chiến lược khác để cung cấp P trong nông nghiệp thực vật là sử dụng các chất mang mới. Phương pháp này mang lại nhiều khả năng, bao gồm các chất mang ở cấp độ nano hoặc không ở cấp độ nano (ví dụ: zeolit, chitosan) có thể cung cấp nguồn P ở cấp độ nano hoặc thông thường. Ví dụ, Rajonee và cộng sự [66] đã sử dụng các phương pháp hóa học ướt để tổng hợp phân bón nano chứa P sử dụng zeolite làm chất mang. Một nghiên cứu in vitro cho thấy phân bón nano giải phóng P liên tục và ổn định vào đất so với phân bón thông thường, TSP. Một nghiên cứu trong nhà kính với rau muống cho thấy lượng P hấp thụ của phân bón nano cao hơn 2,3 lần so với TSP thông thường. Một chiến lược khác liên quan đến việc sử dụng vật liệu nanocomposite polyme phân hủy sinh học (PNC); Sigmon và cộng sự. Các hạt nano canxi photphat (Ca-P NP) chứa polyhydroxyalkanoate (PHA) tổng hợp và đánh giá khả năng vận chuyển và mất P [90]. Các PNC tổng hợp dẫn đến giảm đáng kể quá trình rửa trôi P so với phân bón P thông thường (CaHPO_4), điều này có thể là do sự phân hủy sinh học có thể điều chỉnh của PHA, cuối cùng dẫn đến việc giải phóng có kiểm soát chất dinh dưỡng được nhúng. Điều quan trọng là, hiệu suất của cây trồng tương đương với CaHPO_4 , và việc giảm mất P có ý nghĩa đáng kể đối với nông nghiệp và môi trường.

Một nghiên cứu tiếp theo của Sigmon và cộng sự [91] đã sử dụng cùng một loại polyme phân hủy sinh học PHA để nhúng năm nguồn P khác nhau, bao gồm cả HAP vi mô và nano, monocalcium phosphate (MCP), dicalcium phosphate (DCP) và canxi pyrophosphate hạt nano (CAP). Trong số các nhóm xử lý đó, việc bổ sung PHA vào HAP, DCP và CAP (182 mg P/kg đất) đã có thể giảm thiểu lượng P mất đi khi đo bằng cách rửa trôi trong hệ thống đất có hoặc không có cây cà chua. Điều thú vị là việc bổ sung PHA không làm tăng hàm lượng P trong thân và rễ cây (trừ P trong rễ đối với xử lý CAP). Tuy nhiên, hàm lượng P sinh khả

dụng trong đất đã được cải thiện đáng kể đối với MCP, DCP và CAP. Sự cải thiện này tạo điều kiện cho cây hấp thụ P nhiều hơn.

Tripolyphosphate (TPP) là một hợp chất vô cơ chứa P, được sử dụng hạn chế làm nguồn P cho dinh dưỡng thực vật. Dimkpa và cộng sự đã sử dụng phương pháp tạo gel ion để phát triển phân bón nano TPP-chitosan và nghiên cứu khả năng rửa trôi P và hiệu suất của cây trồng so với MAP và TPP thông thường [92]. TPP-chitosan đã tăng năng suất hạt lúa mì lên 21% so với MAP. Hơn nữa, TPP chitosan đã giảm lượng P tích lũy rửa trôi lần lượt là 91% và 84% so với MAP và TPP, ở mức bón tương đương 100 mg P/kg đất. Cơ chế đằng sau sự rửa trôi giảm này được cho là giảm sự hòa tan ban đầu và giải phóng P kéo dài do sự xen kẽ mạnh mẽ của P với chitosan. Do đó, đạt được cấu hình P hòa tan giải phóng chậm, từ đó thúc đẩy khả năng hấp thụ P, tiếp theo là cây trồng hấp thụ chất dinh dưỡng tốt hơn. Tóm lại, nHAP cho thấy tiềm năng như một loại phân bón nano P, có khả năng cải thiện PUE của cây trồng bằng cách tạo điều kiện thuận lợi cho việc vận chuyển P đến các mô thực vật trên mặt đất.

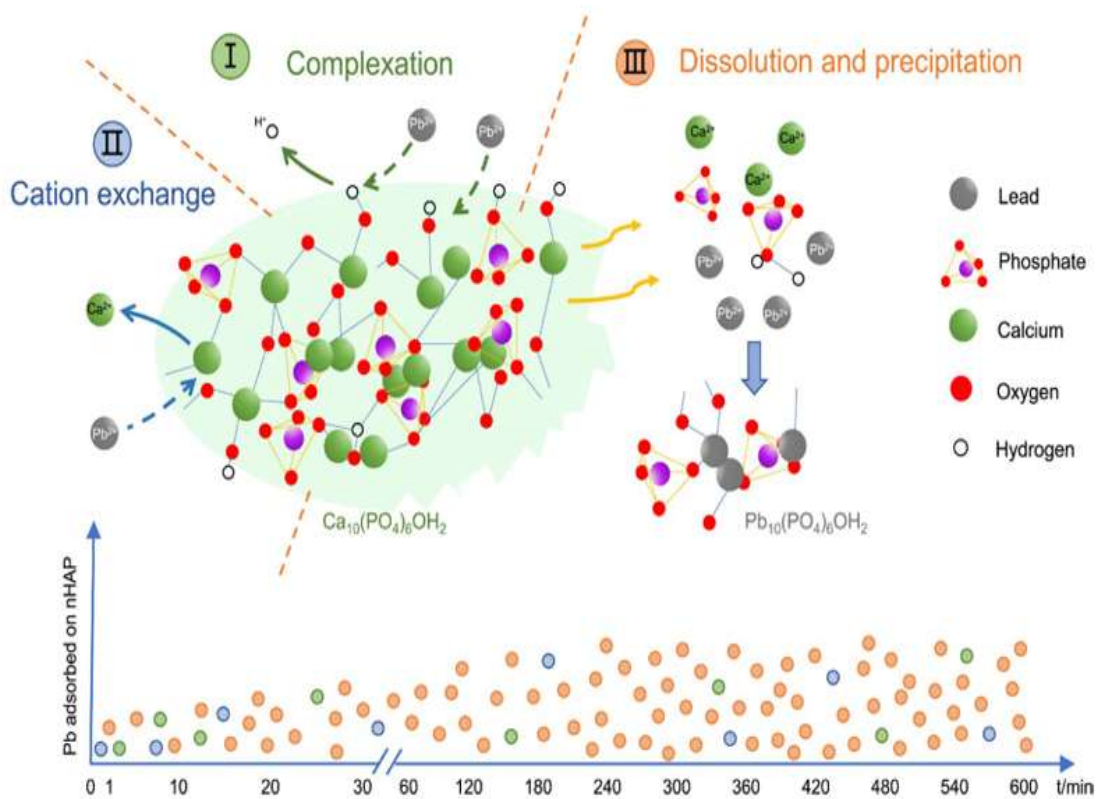
Các nghiên cứu đồng ruộng dài hạn trên nhiều loại cây trồng khác nhau, điều kiện môi trường và đất đai là rất cần thiết để hiểu đầy đủ về lợi ích nông học và môi trường của NPF so với phân bón P thông thường. Cơ chế và tác động của NPF trong đất Sự gia tăng dân số nhanh chóng và công nghiệp hóa đã tác động tiêu cực đến các quá trình sinh địa hóa của Trái đất và dẫn đến ô nhiễm đất với các nguyên tố độc hại, bao gồm kim loại nặng và phi kim loại như Cd, F, Pb và As [93]. Khi các nguyên tố này vượt quá một số ngưỡng nhất định trong đất, sự ức chế sinh trưởng của thực vật có thể xảy ra thông qua sự can thiệp vào các quá trình di truyền và chuyển hóa quan trọng, bao gồm biểu hiện gen, dịch mã RNA, sản xuất protein, hoạt động của enzyme và cân bằng nội môi chuyển hóa, gây ra stress oxy hóa [94, 95]. Ngoài ra, các nguyên tố độc hại này gây ra những rủi ro tiềm ẩn cho sức khỏe con người thông qua ô nhiễm

chuỗi thực phẩm. Các phương pháp khắc phục đất bị ô nhiễm kim loại nặng có thể được phân loại là tách cơ học, làm sạch hóa học, sửa chữa điện động học và cố định [96]. Trong số các lựa chọn này, công nghệ phục hồi cố định nổi bật nhờ những ưu điểm như chi phí thấp, thân thiện với môi trường và dễ vận hành [97], và điều quan trọng đối với cuộc thảo luận hiện tại là NPF có khả năng cố định các thành phần có hại đó trong đất nông nghiệp, do đó ngăn chặn sự di chuyển vào mô thực vật ăn được. NPF như nHAP đã chứng minh tiềm năng cố định kim loại nặng trong đất, mang lại khả năng phản ứng và hấp phụ cao hơn so với vật liệu khối tương tự [98-100]. Việc hấp phụ kim loại nặng như vậy sau đó làm giảm tác dụng ức chế của chúng đối với sự phát triển của cây. Ví dụ, việc sử dụng nHAP (60 nm) với liều lượng 5-30 g/kg trong đất bị ô nhiễm Cd (5-10 mg/kg) đã làm tăng hoạt động của các enzyme như SOD, CAT và POD trong lá cải thìa. Điều này đi kèm với việc giảm mức MDA và giảm hàm lượng Cd trong chồi từ khoảng 27 đến 62%, so với đối chứng chưa xử lý. Kết hợp lại, những tác động này dẫn đến sự gia tăng sinh khối thực vật từ khoảng 8 đến 20% [101]. Tương tự, việc bổ sung 2% nHAP khối lượng vào đất bị ô nhiễm fluor đã tăng cường cố định F bằng cách hình thành các hợp chất như CaF_2 và $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. So với đất chưa xử lý, việc bổ sung nHAP đã dẫn đến sự gia tăng đáng kể sinh khối khô của rễ lúa mì, dao động từ khoảng 8 đến 53% [68]. Việc bón 3 đến 5 tấn/ha nHAP (3 nm) trên đồng ruộng đã làm tăng hoạt động của enzyme urease, phosphatase và dehydrogenase trong đất so với đối chứng chưa xử lý trên đất bị ô nhiễm chất thải điện tử [102]. Ngoài ra, nHAP còn làm giảm hiệu quả nồng độ Pb, Cu, Cd và Zn trong đất mặt, đồng thời tăng sinh khối cây cỏ lúa mạch đen. Hơn nữa, nHAP có thể được bón chung với các chất cải tạo đất khác để giảm thiểu độc tính của kim loại nặng đối với sự phát triển của cây trồng. Ví dụ, khi 0,5% nHAP (kích thước 40 nm) được kết hợp với *Bacillus subtilis* trong đất bị ô nhiễm Cd, chất cải tạo đất này đã cải thiện độ

pH, hoạt động của urease và phosphatase kiềm, cũng như độ phong phú của vi sinh vật đất so với đất đối chứng (không bổ sung nHAP hoặc *B. subtilis*) [103].

Yang và cộng sự đã bón chung 8% (w/w) nHAP với than sinh học trong đất bị ô nhiễm Pb và báo cáo mức giảm Pb lần lượt là 62%, 87% và 77% trong bắp cải và rễ, thân và lá cải, tương ứng, so với đất đối chứng (không bổ sung than sinh học hoặc nHAP) [104]. Các cơ chế mà việc bổ sung NPF làm tăng đáng kể khả năng cố định kim loại nặng và các ion phi kim loại khác trong đất bao gồm tăng độ pH của đất, hấp phụ/kết tủa và biến đổi dịch tiết rễ cây. Tăng độ pH của đất, việc bổ sung NPF như nHAP trong đất dễ dàng giải phóng các ion $(\text{PO}_4)^{3-}$, sau đó phản ứng với các ion H^+ tạo ra $(\text{HPO}_4)^{2-}$ và $(\text{H}_2\text{PO}_4)^-$, dẫn đến làm tăng độ pH của đất [103, 105]. Sự gia tăng độ pH này làm tăng các vị trí hấp phụ tích điện âm trên các hạt keo đất và chất hữu cơ, tăng cường khả năng cố định các ion kim loại nặng, đặc biệt là trong đất có độ pH thấp. Ví dụ, kim loại nặng có thể ức chế hoạt động của enzyme bằng cách can thiệp vào phức hợp enzyme-cơ chất hoặc làm biến tính protein enzyme. Tuy nhiên, nHAP đã được chứng minh là làm tăng hoạt động của enzyme trong đất, chẳng hạn như urease, phosphatase acid và sucrose, để tăng cường sự đa dạng vi sinh vật đất, từ đó cải thiện kết quả cho cây trồng trên đất ô nhiễm [102]. Việc bổ sung 1,0% (w/w) nHAP vào đất ô nhiễm Cu (pH = 4,6) làm tăng ~ 33% độ pH của đất và giảm 72% hàm lượng Cu, cuối cùng dẫn đến sự cải thiện đáng kể sinh khối của *E. splendens* [106]. Hơn nữa, việc tăng độ pH của đất sau khi bổ sung NPF có thể tăng cường hoạt động của enzyme và vi sinh vật trong đất, từ đó thúc đẩy sự phát triển của cây trồng. Liên kết kim loại nặng trong đất bằng hấp phụ và kết tủa nHAP có hai vị trí canxi độc đáo (Ca(I), Ca(II)), một vị trí phosphate tứ diện và một vị trí anion cung cấp nhiều vị trí liên kết cho các ion kim loại [107]. Cấu trúc của nHAP cho phép các ion canxi trong mạng dễ dàng trao đổi với các ion hóa trị hai khác như Pd, Cd và Cu, tạo thành các hợp chất không hòa tan [108].

Ví dụ, sơ đồ biểu diễn cơ chế hấp phụ để giữ lại Pb bởi nHAP được cung cấp trong Hình 1.15. Trong điều kiện hấp phụ ban đầu, tương tác giữa Pd(II) và hydroxyapatite kích hoạt quá trình ion hóa của cả hai thực thể, gây ra sự hình thành các đồng kết tủa H_2PO_4 , đồng thời, một quá trình trao đổi cation diễn ra, trong đó Pd thay thế Ca trong cấu trúc.



Hình 1.15. Cơ chế hấp phụ giữ lại Pb của nHAP trong đất. Các vòng tròn màu xanh lá cây, xanh lam và cam lần lượt biểu thị các cơ chế tạo phức, trao đổi cation, hòa tan và kết tủa. Số lượng vòng tròn trên trục thời gian thể hiện mức độ hoạt động năng động của một cơ chế so với các cơ chế khác [109]

Trong bối cảnh này, HANPs (các hạt nano hydroxyapatite) một dạng cấu trúc nano của canxi photphat ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) đã nổi lên như một ứng cử viên đầy hứa hẹn cho các loại phân bón photpho thân thiện với môi trường. Mặc dù có những đặc điểm đầy hứa hẹn này, tính mới của nghiên cứu hiện tại nằm ở việc khắc phục các thách thức tổng hợp HANPs (hạt nano hydroxyapatite) với các

đặc tính hóa lý tùy chỉnh (kích thước hạt, độ kết tinh, điện tích bề mặt) nhằm tăng cường hiệu quả của chúng với vai trò là một loại phân bón. Các phương pháp tổng hợp hydroxyapatite thông thường có thể không hiệu quả về mặt chi phí hoặc không bền vững về mặt môi trường cho mục đích nông nghiệp. Do đó, việc phát triển phương pháp tổng hợp xanh (green synthesis), giá cả phải chăng, có khả năng mở rộng quy mô (scalable), và thân thiện với môi trường, được thiết kế đặc biệt cho mục đích nông nghiệp là rất quan trọng.

Thông thường, xương bò, hay xương động vật, chủ yếu chứa các vật liệu vô cơ, cụ thể là hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), calcium phosphate, và carbonate, vốn được xem rộng rãi là nguồn cung cấp P (phosphorus) [110, 111]. Việc sử dụng chúng [xương bò/xương động vật] làm phân bón P hoặc các vật liệu có lợi nói chung đều mang lại ý nghĩa cả về kinh tế và môi trường [112]. Chất hấp phụ Hydrochar đã được điều chế từ xương bò Bali (*Bos javanicus domesticus*) và đã cho thấy hiệu suất tốt trong việc hấp thụ methyl red từ dung dịch nước [113]; Các vật liệu sinh học composite đã được chế tạo từ hydroxyapatite và tricalcium phosphate có nguồn gốc tự nhiên, thu được từ các sản phẩm xương (bone products) [113], Các vật liệu dựa trên hydroxyapatite từ xương gà đã được sử dụng để chế tạo một cảm biến đo màu (colorimetric sensor) nhằm xác định acid uric (uric acid determination) [114].

Đất cần phải giàu các chất humic (humic substances), vốn giúp tăng cường các đặc tính xốp (porous properties) và khả năng di chuyển (mobility) của các nguyên tố đa lượng và vi lượng, đồng thời thúc đẩy khả năng giữ nước (water retention) và độ thoáng khí (air permeability). Một số nghiên cứu đã báo cáo rằng sự hiện diện của humic acid và fulvic acid có thể tạo điều kiện cho sự phân hủy của apatite thông qua việc hình thành các phức chất P-humic acid, làm cho P trở nên sẵn có hơn cho sự phát triển của cây trồng [115]. Ngoài ra, humic acid còn thúc đẩy hoạt động enzyme trong đất và ảnh hưởng tích cực đến sự nảy mầm của hạt giống cây trồng, tăng trưởng thân cây, năng suất cây

trồng và nhiều yếu tố khác.^[18] Humic acid và fulvic acid được cho là các chất nền tiềm năng để phát triển các loại phân bón P nhờ vào các đặc tính cấu trúc của chúng. Chitosan là một mucopolysaccharide có khả năng phân hủy sinh học (biodegradable), thu được thông qua quá trình khử acetyl (deacetylation) của chitin-là polyme sinh học phong phú thứ hai trên Trái Đất [116]. Các nhóm amin bậc một của chitosan truyền đạt những đặc tính vật liệu quan trọng. Rất rõ ràng là các đặc tính ưa hạt nhân của các nhóm amin tạo ra các liên kết thông qua các liên kết cộng hóa trị qua nhiều loại hóa học ghép nối [117]. Hơn nữa, chitosan tan trong nước (WSC) sở hữu các đặc tính liên kết kim loại [118] thông qua các cơ chế tạo phức càng cua [119]. Do đó, WSC được sử dụng để biến tính các khoáng chất vô cơ nhằm tăng cường khả năng di chuyển của chúng trong đất hoặc môi trường nước. Nhiều nghiên cứu đã báo cáo về việc điều chế các hỗn hợp calcium phosphate và chitosan dưới dạng bột, màng [116, 120], bột nhão [121], hoặc vi cầu [122].

Việc trộn lẫn đồng nhất phân bón photphat rắn và than bùn là phức tạp do sự tương tác hạn chế giữa các hạt nano hydroxyapatite) và các nền than bùn, khiến huyền phù này không ổn định. Theo hiểu biết của chúng tôi, có ít nghiên cứu được công bố về việc tạo ra hệ nhũ chất của HANPs và than bùn làm phân bón nano-P. Các phương pháp tự lắp ráp (self-assembly methods) lấy cảm hứng từ tự nhiên phụ thuộc vào sự tương tác giữa các thành phần hữu cơ (chiết xuất humic - HEs, bao gồm humic acid và acid fulvic) được chiết xuất từ than bùn tự nhiên và sự tổ chức của các thành phần hữu cơ/vô cơ (HANPs/WSC) để phát triển một cấu trúc phân cấp bậc cao hơn (higher-order hierarchical structure). Trong bối cảnh này, sự kết hợp của HANPs/WSC và HEs đã được nghiên cứu nhằm tạo thành một huyền phù ổn định (stable suspension) làm phân bón cho một số cây nông nghiệp.

1.4. GIỚI THIỆU VỀ CÂY DƯA LƯỚI VÀ CÂY LẠC

1.4.1. Dưa lưới (*Cucumis melo* L.)

Cây dưa lưới (Hình 1.16) thuộc họ Bầu bí (*Cucurbitaceae*) là rau ăn quả có thời gian sinh trưởng ngắn, trồng được nhiều vụ trong năm với năng suất khá cao. Dưa lưới có quả hình ôval, da quả màu xanh, khi chín thương phẩm ngả xanh màu vàng và có các đường gân trắng đan xen như lưới nên có tên gọi là vân lưới. Thịt của quả dưa vân lưới thường có màu vàng da cam nghiêng vàng đỏ. Có nhiều giống khác nhau cũng như nhiều loại kích cỡ khác nhau.



Hình 1.16. Hình ảnh cây dưa lưới (*Cucumis melo* L.) tại Nhà vườn Vinh Hưng, xã Vinh Lộc, thành phố Huế

Dưa lưới là cây trồng hấp thu rất tốt đối với phân lân, nhất là vào thời điểm cây ra hoa, kết trái thì với việc bón lân hợp lý giúp quả ra nhiều và nhanh lớn. Quả dưa lưới có trọng lượng trung bình từ 1,5 kg đến 3,5 kg. Dưa lưới có nguồn từ châu Phi và Ấn Độ. Người Ai Cập là người đầu tiên trồng giống cây này, ban đầu dưa lưới nhỏ và ít ngọt hơn, sau thời gian nó không ngừng phát triển cho đến nay trở thành loại trái to và ngọt. Dưa lưới sinh trưởng khỏe, khả năng phân nhánh nhiều và thích nghi tốt với những điều kiện nhiệt đới như ở Việt Nam. Thời gian từ khi gieo hạt cho đến khi thu hoạch tùy theo giống dưa.

Dưa lưới hiện nay đang được trồng phổ biến rộng rãi tại nhiều nước trên thế giới như Nhật Bản, Hàn Quốc,... Ở Việt Nam, dưa lưới mới được trồng một số năm gần đây tại các khu có áp dụng công nghệ cao như Thành phố Hồ Chí Minh, Bình Dương tuy nhiên chất lượng đặc biệt là độ ngọt vẫn chưa đáp ứng được nhu cầu của người dùng. Ở Thừa Thiên Huế thì được trồng tại huyện Phú Lộc (Nhà vườn Vinh Hưng), Thành phố Huế (Nông trại Hải Farm, Rom Farm).

Giá trị dinh dưỡng: Dưa lưới cung cấp rất nhiều tiền vitamin A (β -carotene), vitamin C, các loại dinh dưỡng như vitamin E và acid folic là những chất chống oxy hóa quan trọng trong quá trình biến dưỡng dinh dưỡng của con người. Là nguồn phong phú beta-carotene, acid folic, kali và vitamin C, vitamin A. Do chứa hàm lượng acid folic cao, rất có lợi cho phụ nữ mang thai, giúp cho bào thai khỏe mạnh, ngăn ngừa chứng loãng xương, giúp hạ huyết áp.

Bón phân: Các nước công nghệ cao thường khuyến cáo các loại phân chuyên dùng là hỗn hợp ít đạm, nhiều lân và kali cao. Ví dụ: phân N-P-K là 5-10-15 hoặc 10-15-20 nhằm giúp cây phát triển khỏe, ra nhiều hoa và trái có chất lượng. Đồng thời bón lót phân hữu cơ và bón thúc cả phân tổng hợp và hữu cơ khi cây bắt đầu leo/bò. Khuyến cáo các loại phân hữu cơ chế biến từ rong biển hoặc nhũ tương cá rất tốt cho dưa. Sản xuất công nghệ cao áp dụng bón phân theo nguồn nước (Fertigation) là cung cấp phân bón thông qua hệ thống tưới nhỏ giọt, dẫn phân bón đến trực tiếp vùng rễ hoạt động có thể tối đa hiệu quả sử dụng phân bón. Quá trình bón phân cho dưa lưới diễn ra ở 02 công đoạn bón lót và bón thúc, trước khi đặt cây mỗi ha 10 tấn phân hữu cơ + 100kg urê + 250kg super lân + 50kg KCl. Sau đó phủ màng nylon, đục lỗ và đặt cây, đặt mặt bầu ngang bằng với mặt luống. Bón thúc được thực hiện sau trồng 3 – 4 ngày hòa phân tưới: 10g urea + ngâm ít phân lân hoặc DAP pha loãng/10 lít nước, tưới nhiều lần cho dưa. Khi dưa có 4 – 5 lá chuẩn bị leo hoặc bò, vén màng phủ bón rải cách xa gốc 20cm, mỗi gốc từ 5 – 10g urê + 5 – 10g NPK 16-16-8, lấp đất phủ màng lại. Tiến hành cắm giàn và buộc ngọn dưa cho leo. Sau khi định quả khoảng 10 ngày bón nuôi quả bằng NPK dùng loại phân có tỷ lệ lân và kali cao. Mỗi gốc bón khoảng 10g, đào rãnh cách gốc 20cm hoặc khoét lỗ rồi lấp đất, phủ màng lại và tưới nước cho cây. Lúc này cũng có thể bón bổ sung phân hữu cơ giúp cho tăng năng suất và chất lượng quả.

*** Quy trình chăm sóc dưa lưới theo Tiêu chuẩn VietGAP:**

Quy trình này được chia thành các giai đoạn chính theo sự phát triển của cây, tập trung vào các yêu cầu về an toàn, kiểm soát và ghi chép của VietGAP.

Giai đoạn 1: Chuẩn bị và trồng (ngày 1 - 7 sau trồng)

Trước khi trồng, phải kiểm tra nguồn nước tưới để đảm bảo nước sạch và đã được kiểm nghiệm an toàn theo quy định.

Cây con được trồng vào giá thể sạch (thường là mụn dừa đã xử lý hoặc dung dịch thủy canh) trong nhà màng. Sau khi trồng, bắt đầu tưới dung dịch dinh dưỡng đầu tiên với nồng độ EC thấp để kích thích rễ phát triển và giúp cây phục hồi. Cây được cố định vào dây treo để đảm bảo thân thẳng. Trong giai đoạn này, việc quản lý dịch hại chủ yếu bằng các biện pháp vật lý như sử dụng bẫy dính côn trùng, giám sát hàng ngày, và tránh tuyệt đối việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật.

Giai đoạn 2: Phát triển thân lá (ngày 8 - 25 sau trồng)

Đây là giai đoạn cây sinh trưởng mạnh về thân lá. Lượng phân bón trong dung dịch tưới được tăng dần nồng độ (EC) và ưu tiên các loại phân có hàm lượng Đạm (N) cao để thúc đẩy sự phát triển. Tất cả các lần tưới và bón phân đều phải được ghi chép chi tiết (loại phân, liều lượng, thời gian, kết quả đo EC/pH).

Trong giai đoạn này, thực hiện cắt tỉa các nhánh chèo (nhánh phụ) từ gốc lên đến khoảng lá thứ 8-10 để tập trung dinh dưỡng nuôi thân chính. Dụng cụ cắt tỉa phải được sát khuẩn sau khi sử dụng để ngăn ngừa lây lan mầm bệnh. Cây được dẫn dây thường xuyên để đảm bảo sự phát triển thẳng đứng trong nhà màng.

Giai đoạn 3: Ra hoa và đậu quả (ngày 26 - 40 sau trồng)

Trước khi ra hoa, phải chuyển đổi công thức dinh dưỡng, giảm Đạm và tăng cường Lân (P) và Kali (K) để thúc đẩy quá trình ra hoa.

Khi hoa nở, tiến hành thụ phấn (bằng tay hoặc ong) và ghi lại chính xác ngày thụ phấn này, vì đây là căn cứ để xác định ngày thu hoạch. Sau khi hoa đậu quả, tiến hành tuyển chọn quả, chỉ giữ lại một quả duy nhất (thường ở vị trí lá 10-15) có hình dáng cân đối, loại bỏ các quả còn lại. Sau khi tuyển quả và cây đạt đủ số lá cần thiết, tiến hành bấm ngọn thân chính.

Giai đoạn 4: Nuôi quả và tạo lưới (ngày 41 - 65 sau trồng)

Tiếp tục chuyển đổi công thức dinh dưỡng sang phân bón có hàm lượng Kali (K) cao nhất để tối ưu hóa kích thước quả và độ ngọt (Brix). Việc kiểm soát EC vẫn rất quan trọng. Thực hiện tỉa lá già và lá bị bệnh để tăng cường độ thông thoáng và tập trung dinh dưỡng. Đây là giai đoạn nghiêm ngặt nhất về quản lý dịch hại. Áp dụng phương pháp IPM (Quản lý dịch hại tổng hợp). Nếu bắt buộc phải sử dụng thuốc BVTV, phải chọn loại thuốc có trong Danh mục cho phép và thời gian cách ly (PHI) ngắn. Phải ghi chép đầy đủ về tên thuốc, liều lượng, và ngày phun để tính toán chính xác thời gian cách ly trước thu hoạch.

Giai đoạn 5: Thu hoạch (ngày 66 - 75 tùy giống)

Khoảng 5-7 ngày trước ngày dự kiến thu hoạch, phải cắt hoàn toàn việc bón phân và giảm/cắt nước tưới để kích thích quả dưa tích lũy đường. Trước khi thu hoạch, phải kiểm tra độ ngọt (Brix) của mẫu ngẫu nhiên.

1.4.2. Cây lạc hay đậu phộng (*Arachis hypogaea* L.)

Cây lạc (Hình 1.17) là một loài cây thực phẩm thuộc họ đậu có nguồn gốc tại Trung và Nam Mỹ. Nó là loài cây thân thảo hàng năm có thể tăng chiều cao từ 30–50 cm. Lá mọc đối, kép hình lông chim với bốn lá chét, kích thước lá chét dài 1–7 cm và rộng 1–3 cm. Hoa dạng hoa đậu điển hình màu vàng có điểm gân đỏ, cuống hoa dài 2–4 cm. Sau khi thụ phấn, quả phát triển thành một dạng quả đậu dài 3–7 cm, chứa 1-4 hạt (ánh), và quả (củ) thường giấu xuống đất để phát triển.

Giá trị dinh dưỡng: Lượng chất béo trong hạt lạc nằm trong khoảng 44-56% và chất béo chủ yếu ở dạng đơn và đa chức, hầu hết trong đó là acid oleic (40-60%) và acid linoleic. Lạc là một nguồn giàu protein, chiếm khoảng 22-30% lượng calo, do đó lạc là một nguồn protein thực vật phong phú. Tinh bột chỉ chiếm 13-16% trong tổng lượng. Vitamin và chất khoáng thì rất phong phú, bao gồm: Biotin, đồng, niacin, folate, mangan, vitamin E, thiamin, phospho và magie.

Phân bón: Bón phân cho cây lạc (đậu phộng) là yếu tố kỹ thuật quan trọng để cây lạc cho năng suất cao. Để bón phân cho lạc, cần xác định thời kỳ bón thích hợp, lượng phân, dạng phân bón và cân đối các yếu tố dinh dưỡng để tạo điều kiện tốt nhất cho cây lạc hấp thu dinh dưỡng, sinh trưởng và phát triển, cho năng suất cao. Phân

chuồng là yếu tố kỹ thuật không thể thiếu để có được năng suất trong trồng lạc. Lượng dinh dưỡng nguyên chất bón cho 1 ha lạc dao động: 25-40 kg N, 50-80 kg P₂O₅, 60-90 kg K₂O. Ngoài ra cây lạc (đậu phộng) rất cần lân và vôi nhằm giúp cho nốt sần cố định đạm phát triển.



Hình 1.17. Hình ảnh cây đậu phộng được trồng tại xã Đan Điền, thành phố Huế

*** Quy trình chăm sóc cây lạc theo VietGAP:**

Giai đoạn 1: Chuẩn bị đất và gieo hạt (trước và sau gieo 7 ngày)

Trước khi gieo, phải kiểm tra chất lượng đất và đảm bảo đất tơi xốp, thoát nước tốt. VietGAP yêu cầu đất phải không bị ô nhiễm bởi kim loại nặng hoặc chất độc hại. Nguồn nước tưới phải là nước sạch và cần được kiểm nghiệm định kỳ.

Hạt giống phải là giống đã được công nhận và có nguồn gốc rõ ràng. Trước khi gieo, hạt giống phải được xử lý bằng thuốc trừ nấm (hoặc biện pháp sinh học) để phòng trừ bệnh hại ban đầu.

Sau khi gieo, tiến hành trồng dặm kịp thời nếu cây mọc không đều. Việc ghi chép ngày gieo hạt và tên giống là bắt buộc để theo dõi chu kỳ phát triển.

Giai đoạn 2: Cây con và phát triển thân lá (7 - 30 ngày sau gieo)

Đây là giai đoạn cây lạc sinh trưởng mạnh về thân, lá.

Tưới nước và Bón phân: Cần cung cấp đủ nước và dinh dưỡng cho cây, ưu tiên phân Đạm (N) để thúc đẩy thân lá phát triển và Lân (P) cho rễ. Phân bón phải là loại được phép sử dụng trong nông nghiệp. Tuyệt đối không sử dụng phân chuồng tươi. Lượng phân bón và thời điểm bón phải được ghi chép chi tiết vào nhật ký.

Xới xáo và làm cỏ: Tiến hành xới xáo lần 1 kết hợp làm cỏ để đất thoáng khí, giúp rễ phát triển và diệt cỏ dại cạnh tranh dinh dưỡng. Ưu tiên làm cỏ thủ công hoặc sử dụng các biện pháp vật lý, hạn chế dùng thuốc trừ cỏ.

Giai đoạn 3: Ra hoa và đâm tia (30 - 60 ngày sau gieo)

Đây là giai đoạn quyết định năng suất, khi cây lạc bắt đầu ra hoa và đâm tia (hay còn gọi là chân kim) xuống đất để tạo củ.

Bón thúc và Vun gốc: Đây là giai đoạn bón thúc quan trọng nhất. Tăng cường phân Kali (K) và đặc biệt là Canxi (Ca) (thường dưới dạng thạch cao) để giúp tia lạc đâm xuống đất dễ dàng và củ lạc chắc, mẩy, không bị lép. Việc bón Canxi thường được kết hợp với việc vun gốc (xới xáo lần 2) để tạo điều kiện cho tia lạc đâm sâu vào đất.

Quản lý Sâu bệnh: Tăng cường giám sát các loại bệnh như đốm lá, rỉ sắt và sâu ăn lá. Áp dụng phương pháp IPM (Quản lý dịch hại tổng hợp): Sử dụng các biện pháp sinh học, thủ công trước; Chỉ sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) khi dịch hại vượt ngưỡng kinh tế, phải chọn thuốc trong danh mục được phép sử dụng và có thời gian cách ly ngắn. Mọi thông tin về việc sử dụng thuốc BVTV phải được ghi chép đầy đủ: tên thuốc, nồng độ, liều lượng, ngày phun và thời gian cách ly.

Giai đoạn 4: Nuôi củ (60 ngày đến thu hoạch)

Dinh dưỡng và Nước: Giảm dần lượng nước và phân bón. Tập trung cung cấp nước đều đặn, không để đất quá khô hoặc quá ẩm. Tiếp tục bón bổ sung Kali và Canxi nếu cần thiết.

Kiểm soát Thuốc BVTV: Nghiêm cấm sử dụng thuốc BVTV trong giai đoạn này, đặc biệt là các loại có thời gian cách ly dài. Phải đảm bảo thời gian cách ly của lần phun cuối cùng đã hết trước ngày thu hoạch.

Kiểm tra độ chín: Xác định ngày thu hoạch bằng cách kiểm tra số lượng củ chín trên cây (thường khi khoảng 75-80% số củ đã già).

Giai đoạn 5: Thu hoạch và sau thu hoạch

Thu hoạch: Cần thu hoạch đúng thời điểm để đảm bảo năng suất và chất lượng.

Phơi sấy: Lạc thu hoạch được phơi hoặc sấy trong điều kiện vệ sinh, tránh tiếp xúc với đất hoặc các nguồn ô nhiễm khác. Cần đảm bảo độ ẩm của củ lạc đạt mức an toàn để bảo quản (thường dưới 10%).

Lưu trữ hồ sơ: Ghi chép đầy đủ về ngày thu hoạch, sản lượng, lô hàng và các hoạt động sau thu hoạch. Hồ sơ sản xuất phải được lưu trữ ít nhất 12 tháng để đảm bảo khả năng truy xuất nguồn gốc theo yêu cầu của VietGAP.

*** *Tính mới của Luận án***

(1) Nghiên cứu tổng hợp các vật liệu carbon quantum dot (CQDs) từ nguồn than bùn Huế. Trên cơ sở vật liệu CQD này, sẽ điều chế điện cực trên nền glassy carbon ứng dụng phân tích hiệu quả một dược chất có trên thị trường.

(2) Nghiên cứu điều chế hydroxyapatite nano từ xương động vật. Các vật liệu này kết hợp với dịch chiết humic từ than bùn và chitosan dạng hòa tan thành một phân bón phosphorus nano sử dụng cho cây dưa lưới và đậu phụng, đánh giá tính hiệu quả khi ứng dụng.

Chương 2

MỤC TIÊU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. MỤC TIÊU

Tổng hợp được một số vật liệu trên cơ sở than bùn thành phố Huế giá trị ứng dụng trong phân tích điện hóa và nông nghiệp

2.2. NỘI DUNG

- Nghiên cứu tổng hợp carbon chấm lượng tử từ than bùn tự nhiên và ứng dụng biến tính điện cực xác định Theophylline.

- Nghiên cứu tổng hợp hệ phân tán nano hữu cơ từ than bùn và xương động vật.

- Ứng dụng làm phân lân nano hữu cơ cho cây dưa lưới và cây lạc.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến

Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (Ultraviolet visible absorption spectroscopy - UV-Vis) dựa trên khả năng hấp thụ chọn lọc các bức xạ chiếu vào dung dịch chất phân tích trong một dung môi nhất định. Các bước sóng cực đại hấp thụ đặc trưng cho từng chất là cơ sở của việc phân tích định tính. Độ hấp thụ các bức xạ phụ thuộc vào nồng độ của chất nghiên cứu trong dung dịch và là cơ sở của phép phân tích định lượng. Khi một chùm tia đơn sắc, song song, có cường độ I_0 , chiếu thẳng góc lên bề dày của một môi trường hấp thụ, thì sau khi đi qua lớp chất hấp thụ này, cường độ của nó giảm còn I . Thực nghiệm cho thấy rằng sự liên hệ giữa I_0 và I được biểu diễn bởi phương trình định luật hấp thụ bức xạ Lambert - Beer:

$$\lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon.l.C \quad (2.1)$$

Đại lượng $\frac{I_0}{I}$ là độ hấp thụ, kí hiệu là A ($A = \lg \frac{I_0}{I}$) được gọi là mật độ quang, kí hiệu là D ($D = A = \lg \frac{I_0}{I}$; l là chiều dày của lớp chất hấp thụ (cm);

C là nồng độ của chất hấp thụ (mol/L) và ϵ là hệ số hấp thụ phân tử, đặc trưng cho cường độ hấp thụ của chất hấp thụ. Phương trình (2.1) cho thấy độ hấp thụ A tỉ lệ thuận với chiều dày, nồng độ và hệ số hấp thụ mol của chất hấp thụ.

Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (UV-Vis absorption spectroscopy) dựa trên nguyên lý các phân tử trong dung dịch có khả năng hấp thụ chọn lọc các bức xạ điện từ ở vùng tử ngoại và khả kiến. Mỗi chất có bước sóng hấp thụ cực đại đặc trưng, vì vậy có thể dùng để phân tích định tính. Mặt khác, độ hấp thụ của bức xạ phụ thuộc vào nồng độ của chất hấp thụ trong dung dịch, nên được ứng dụng cho phân tích định lượng. Khi một chùm tia đơn sắc, song song, có cường độ ban đầu I_0 chiếu vuông góc qua lớp dung dịch có bề dày l , cường độ sau khi truyền qua còn lại là I . Thực nghiệm cho thấy mối quan hệ giữa I_0 và I tuân theo định luật Lambert-Beer, được biểu diễn bởi phương trình:

$$A = \epsilon \cdot C \cdot l \quad (2.2)$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ (absorbance) hay mật độ quang (optical density);

ϵ là hệ số hấp thụ mol, đặc trưng cho khả năng hấp thụ của chất;

C là nồng độ (mol/L);

l là chiều dày lớp hấp thụ (cm).

Phương trình trên cho thấy rằng độ hấp thụ A tỉ lệ thuận với chiều dày của lớp dung dịch, nồng độ chất hấp thụ và hệ số hấp thụ mol, là cơ sở lý thuyết của các phép đo định lượng trong phổ UV-Vis.

Trong nghiên cứu này, phổ UV-Vis được sử dụng trên thiết bị Lambda 25 Spectrophotometer - Perkin Elmer, Nhật Bản tại Phòng thí nghiệm Hóa Phân tích, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

2.3.2. Hiển vi điện tử quét

Phương pháp hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscopy, SEM) là phương pháp được áp dụng rộng rãi để nghiên cứu bề mặt của vật liệu. Phương pháp này cho biết các thông tin về hình thái của bề mặt và kích thước hạt nhờ khả năng phóng đại thu được ảnh rõ nét và chi tiết.

Nguyên tắc của phương pháp là sử dụng chùm tia điện tử để tạo ảnh mẫu nghiên cứu. Ảnh đó đến màn huỳnh quang có thể đạt độ phóng đại theo yêu cầu. Chùm tia điện tử được tạo ra từ catot qua 2 tụ quang điện tử sẽ được hội tụ lên mẫu nghiên cứu. Khi chùm điện tử đập vào mẫu nghiên cứu sẽ phát ra các chùm điện tử phản xạ và điện tử truyền qua. Các điện tử phản xạ và truyền qua này được đi qua điện thế gia tốc vào phần thu và biến đổi thành tín hiệu ánh sáng, tín hiệu được khuếch đại đưa vào mạng lưới điều khiển tạo độ sáng trên màn ảnh. Mỗi điểm trên mẫu cho một điểm tương ứng trên màn ảnh.

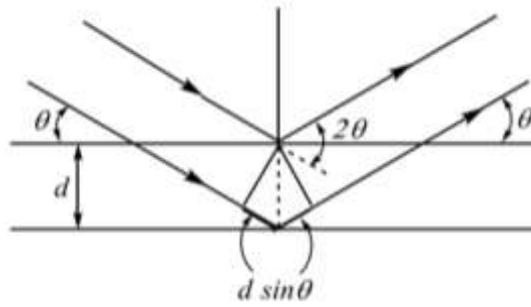
Trong luận án này, ảnh chụp SEM được thực hiện trên JMS-5300LV, Mỹ, tại Viện Khoa học Vật liệu, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.3. Nhiễu xạ tia X

Phương pháp nhiễu xạ tia X (X-ray diffraction, XRD) là một trong những phương pháp thường được sử dụng để nhận dạng cấu trúc và tinh thể của vật liệu. Tia X là một dạng bức xạ điện từ có bước sóng từ 0,01 đến 10 nm, tương ứng với tần số từ 30 petahertz đến 30 exahertz (3×10^{15} Hz - 3×10^{18} Hz) và năng lượng trong khoảng từ 100 eV đến 100 keV. Khi chùm tia X tới bề mặt tinh thể và đi sâu vào bên trong mạng lưới tinh thể thì mạng lưới này đóng vai trò như một cách tử nhiễu xạ đặc biệt. Các nguyên tử, ion bị kích thích bởi chùm tia X sẽ thành các tâm phát ra các tia phản xạ gọi là nhiễu xạ tia X. Hình 2.1 miêu tả mối liên hệ giữa khoảng cách giữa hai mặt phẳng song song kề nhau d_{hkl} , góc giữa chùm tia X với mặt phản xạ và bước sóng (λ) bằng phương trình Vulf-Bragg:

$$2d_{hkl} \cdot \sin\theta = n\lambda \quad (2.3)$$

Số nguyên n được gọi là bậc nhiễu xạ; giá trị của nó là 1 trong tính toán.



Hình 2.1. Sơ đồ biểu diễn nhiễu xạ tia X.

Phương trình Vulf-Bragg là phương trình cơ bản để nghiên cứu cấu trúc tinh thể. Căn cứ vào cực đại nhiễu xạ trên giản đồ (giá trị 2θ) có thể suy ra được khoảng cách d theo phương trình (2.3), so sánh giá trị d vừa tính được với giá trị d chuẩn sẽ xác định được thành phần cấu trúc mạng tinh thể vật liệu cần nghiên cứu. Do đó, phương pháp này được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu cấu trúc tinh thể của vật liệu.

Trong luận án này, giản đồ XRD được ghi trên máy Advance Bruker, Đức với nguồn bức xạ Cu- K_{α} ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), tại Khoa Vật lý, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng.

2.3.4. Đẳng nhiệt hấp phụ-giải hấp phụ nitrogen

Đẳng nhiệt hấp phụ/giải hấp phụ N_2 được sử dụng để xác định diện tích bề mặt, thể tích mao quản và sự phân bố mao quản và tính chất xốp của vật liệu.

Nguyên tắc của phương pháp: lượng khí bị hấp phụ được biểu diễn thông qua thể tích V là đại lượng đặc trưng cho số phân tử bị hấp phụ. Nó phụ thuộc vào áp suất cân bằng P , nhiệt độ, bản chất của chất khí và bản chất của vật liệu rắn. V là một hàm đồng biến với áp suất cân bằng. Khi áp suất tăng đến áp suất hơi bão hòa của chất khí bị hấp phụ tại một nhiệt độ đã cho thì mối quan hệ giữa $V - P$ được gọi là đẳng nhiệt hấp phụ. Khi áp suất đạt đến áp suất hơi bão hòa P_0 , người ta đo các giá trị thể tích khí hấp phụ ở các áp suất tương đối (P/P_0) giảm dần và nhận được đường “đẳng nhiệt giải hấp phụ”.

Từ lượng khí bị hấp phụ ở các áp suất tương đối khác nhau Brunauer, Emmett và Teller đã thiết lập ra phương trình BET, được dùng để xác định diện tích bề mặt riêng của các loại vật liệu. Phương trình BET được biểu diễn như sau:

$$\frac{P}{V(P_0-P)} = \frac{1}{V_m \cdot C} + \frac{C-1}{V_m \cdot C} \cdot \frac{P}{P_0} \quad (2.4)$$

Trong đó: P là áp suất cân bằng của chất bị hấp phụ, P₀ là áp suất hơi bão hoà của chất bị hấp phụ, C là hằng số BET, V là thể tích của khí hấp phụ tại P/P₀ (cm³/g), V_m là thể tích của lớp hấp phụ đơn phân tử tính cho một gam chất hấp phụ trong điều kiện tiêu chuẩn (cm³/g).

Khi thiết lập đồ thị $\frac{P}{V(P_0-P)}$ phụ thuộc vào $\frac{P}{P_0}$, ta sẽ nhận được một đoạn thẳng giá trị P/P₀ trong khoảng từ 0,05 đến 0,3. Từ hệ số góc của đường thẳng (tg α) và giao điểm của đường thẳng với trục tung cho phép xác định thể tích của lớp hấp phụ đơn lớp (lớp đơn phân tử) V_m và hằng số C.

Trong luận án này, đẳng nhiệt hấp phụ/khử hấp phụ N₂ ở 77 K thực hiện trên thiết bị TriStar II Plus, Micromeritics, Mỹ, tại Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.5. Phổ tán sắc năng lượng tia X

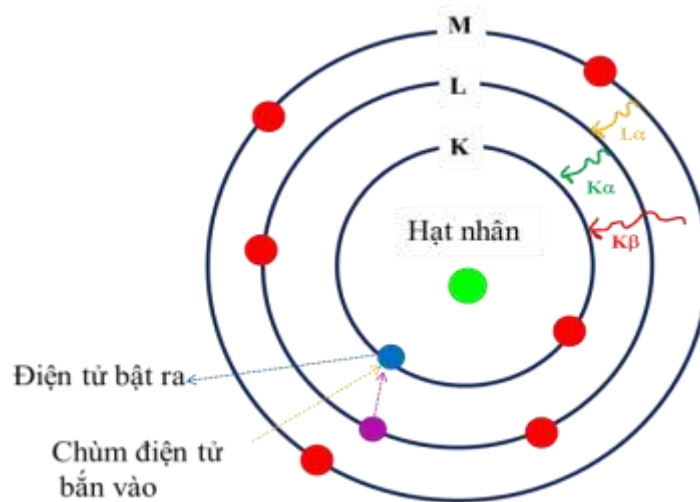
Phương pháp quang phổ tán xạ năng lượng tia X (Energy-dispersive X-rayspectroscopy-EDX) là kỹ thuật dùng để phân tích thành phần hóa học của mẫu rắn dựa vào việc ghi lại phổ tia X phát ra từ mẫu do tương tác với chùm điện tử có năng lượng cao trong các hiển vi điện tử quét. Bằng cách phân tích cường độ tia X sinh ra với năng lượng tia X của nguyên tố khi mẫu rắn được chiếu chùm điện tử từ thiết bị SEM. Số liệu thu được từ phép phân tích này được sử dụng để định danh và tính thành phần nguyên tố. Phổ của năng lượng với số đếm tương đối của tia X gọi là EDX cho phép định tính và định lượng các nguyên tố trong mẫu. Cường độ tia X đặc trưng đo được liên quan đến hàm lượng của các nguyên tố trên bề mặt vật liệu. Sự biến đổi cường độ tia X cho

thấy thành phần nguyên tố tương đối trên bề mặt. Bản đồ nguyên tố được ghi lại sử dụng hình ảnh, độ sáng tối của mỗi nguyên tố. Độ phân giải bề mặt có thể lên đến 1 nm. Bản đồ nguyên tố cho phép phát hiện đồng thời các nguyên tố tại cùng một thời điểm. Kết quả của bản đồ EDX bao gồm hình ảnh của từng nguyên tố định tính cùng với phổ định lượng. Hình 2.5 Cường độ của tia X phát ra từ mẫu có thể được đo bằng phổ kế tán xạ năng lượng.

Tần số (f) của tia X được xác định qua định luật Mosley như sau:

$$f = \nu = \frac{m_e q_e^4}{e_0^2 \cdot 8 \cdot h^3} \cdot \frac{3}{4} (Z - 1)^2 = (2,48 \times 10^5 \text{ Hz}) (Z - 1)^2 \quad (2.5)$$

Với m_e và q_e là khối lượng và điện tích của điện tử, h là hằng số Planck.



Hình 2.2. Nguyên tắc phát xạ tia X dùng trong phổ.

Trong luận án này, phổ EDX của vật liệu tổng hợp được ghi lại trên thiết bị Field Emission Scanning Electron Microscope S - 4800, tại Viện Khoa học Vật liệu, Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.6. Phổ tán xạ Raman

Phổ tán xạ Raman (Raman spectroscopy) được sử dụng trong vật lý chất rắn và hóa học để nghiên cứu cơ chế dao động đặc trưng của phân tử và nhóm nguyên tử trong vật liệu tổng hợp, hoặc dao động tập thể của mạng tinh thể chất rắn (phonon). Phổ Raman dựa trên sự tán xạ không đàn hồi của photon kích thích trên các dao động của mẫu cần phân tích. Phổ tán xạ Raman có các

thông số đặc trưng cơ bản gồm tần số, cường độ, độ khử cực và độ rộng vạch. Trong đó, cường độ và tần số là hai thông số quan trọng hơn cả. Mặt khác, độ dịch chuyển tần số đặc trưng còn cho phép xác định một nhóm chức hay một liên kết nào đó trong phân tử. Điều này đặc biệt quan trọng với các hợp chất hữu cơ.

Trong luận án này, phép đo phổ tán xạ Raman của các mẫu nghiên cứu được thực hiện trên thiết bị XPLORA, HORIBA, Nhật Bản, tại Khoa Vật lý, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng.

2.3.7. Hiển vi điện tử truyền qua

Phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (Transmission Electron Microscopy TEM) là phương pháp rất hiệu quả được sử dụng trong việc nghiên cứu đặc trưng bề mặt và cấu trúc của vật liệu. Thiết bị TEM chủ yếu bao gồm một cột kín được hút chân không từ 10^{-5} – 10^{-7} Torr hoặc cao hơn, chứa nguồn electron và tổ hợp thấu kính hội tụ, kính vật và kính phóng. Ưu điểm của phương pháp TEM là có thể dễ dàng đạt được độ phóng đại 400.000 lần với nhiều vật liệu và với các nguyên tử nó có thể đạt được độ phóng đại tới 15 triệu lần. TEM cho hình ảnh về cấu trúc vi mô bên trong mẫu vật rắn, khác hẳn với các kiểu kính hiển vi khác. Nói cách khác, TEM có khả năng tạo ra những bức ảnh thật của các cấu trúc nano với độ phân giải rất cao (tới cấp độ nguyên tử). Kỹ thuật chuẩn bị mẫu để ghi ảnh TEM bao gồm mẫu vật liệu chuẩn bị cho phương pháp TEM phải mỏng để cho phép electron có thể xuyên qua giống như tia sáng có thể xuyên qua vật thể trong hiển vi quang học, do đó việc chuẩn bị mẫu sẽ quyết định chất lượng của ảnh TEM. Thông thường, độ dày của mẫu phải xử lý mỏng dưới 150 nm, hay thậm chí thấp hơn 1 nm. Các mẫu được phân tán trong dung môi ethanol trong 1 phút bằng siêu âm. Sau đó dung dịch huyền phù được nhỏ lên lưới đồng rất mỏng và tiếp tục sấy khô bằng đèn hồng ngoại. Trong luận án này, ảnh TEM được ghi trên máy EOL EM - 2100F ở 100–200 kV tại Viện Khoa học Vật liệu, Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3.8. Quang phổ huỳnh quang

Quang phổ huỳnh quang (PL- Photoluminescence) là phương pháp hữu hiệu để xác định các mức năng lượng rời rạc và chất phát quang của vật liệu bán dẫn dựa trên phép đo cường độ huỳnh quang phát ra từ một chất hóa học khi nó được kích thích do hấp thụ bức xạ từ ngoại, khả kiến hoặc các bức xạ điện từ khác. Trong phương pháp này, cường độ huỳnh quang của chất thử được so sánh với cường độ huỳnh quang của chất chuẩn đo trong cùng điều kiện. Khi một chất hấp thụ photon (bức xạ điện từ) và sau đó tái phát ra photon. Theo cơ học lượng tử, điều này có thể được mô tả như một số kích thích về trạng thái năng lượng cao hơn và sau đó là trở lại trạng thái năng lượng thấp hơn cùng với sự phát xạ của một photon. Đây là một trong nhiều hình thức phát quang (ánh sáng phát xạ) và được phân biệt bởi photoexcitation (kích thích bởi các photon). Giai đoạn giữa sự hấp thụ và phát xạ thường rất ngắn, khoảng 10 ns. Nồng độ của dung dịch thử theo công thức sau:

$$C_X = (I_X \times C_S) / I_S \quad (2.6)$$

Trong đó: C_S và C_X lần lượt là nồng độ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử; I_X và I_S lần lượt là cường độ huỳnh quang của dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Khi cường độ huỳnh quang không thật sự tỷ lệ thuận với nồng độ, việc định lượng có thể được thực hiện dựa trên đồ thị chuẩn.

Trong luận án này, quang phổ huỳnh quang được ghi trên máy FP-8300 Jasco- Nhật Bản tại Khoa Vật lý, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng.

2.3.9. Phương pháp voltametry hòa tan

Trong thập niên 1980, thiết bị máy vi tính và phần mềm điều khiển đã được thương mại hóa rộng rãi và đến thập niên 1990 phương pháp voltametry hòa tan anode xung vi phân (DP-ASV) và voltametry hòa tan anode sóng vuông (SW-ASV) đã được một số quốc gia trên thế giới, chẳng hạn như Mỹ (USA) được xem là một trong những phương pháp phân tích tiêu chuẩn để xác định đồng thời một số kim loại như zinc (Zn), cadmium

(Cd) và lead (Pb) trong nước và nước thải. Phương pháp voltammetry hòa tan dùng để định tính và định lượng các hợp chất có nồng độ rất thấp. Phương pháp voltammetry hòa tan anode (ASV) bao gồm 2 giai đoạn: giai đoạn làm giàu và giai đoạn hòa tan.

Giai đoạn làm giàu: là giai đoạn tập trung chất cần phân tích trong dung dịch lên trên bề mặt điện cực làm việc (WE) ở một thế và thời gian xác định. Trong giai đoạn làm giàu, dung dịch được khuấy trộn đều bằng khuấy từ hoặc dùng điện cực rắn đĩa quay. Quá trình tập trung chất phân tích lên trên bề mặt WE có thể bằng hai cách: (1) Điện phân làm giàu - cách này thường được sử dụng để xác định trực tiếp các kim loại như Zn, Cd, Pb và một số chất hữu cơ, với các WE khác nhau. (2) Hấp phụ làm giàu- cách này thường được sử dụng để xác định trực tiếp các hợp chất vô cơ và hữu cơ. Các hợp chất vô cơ và hữu cơ có thể hấp phụ trực tiếp hoặc có thể tạo phức với ion kim loại rồi hấp phụ lên trên bề mặt WE.

Giai đoạn hòa tan: là giai đoạn hòa tan chất phân tích ra khỏi bề mặt điện cực làm việc bằng cách như sau: quét thế về phía dương hơn. Quá trình xảy ra trên điện cực ở giai đoạn này là quá trình ngược lại với giai đoạn làm giàu.

Trong luận án này, phương pháp CV được sử dụng để khảo sát tính chất điện hóa của các loại điện cực khác nhau. Kết hợp phương pháp voltammetry hòa tan anode (ASV) dùng kỹ thuật xung vi phân (DP) để xác PAR và COD, URI và HYP trên điện cực biến tính. Các phép đo điện hóa được thực hiện trên máy phân tích điện hóa CPA-HH5 (Việt Nam) với tế bào điện hóa bao gồm ba điện cực: điện cực carbon thủy tinh/điện cực carbon thủy tinh biến tính (điện cực làm việc, đường kính 2,8 mm), điện cực Ag/AgCl/KCl 3 M (điện cực so sánh) và điện cực dây bạch kim (điện cực đối) tại Phòng thí nghiệm Hóa lý, Trường Đại học Khoa học-Đại học Huế.

2.4. THỰC NGHIỆM

2.4.1. Hóa chất

Bảng 2.1. Các hóa chất chính được sử dụng trong phần thực nghiệm

Tên Hóa chất	Công thức phân tử	Độ tinh khiết/ Nồng độ	Nguồn gốc/ Hãng cung cấp
Chitosan thương mại	Polysaccharide	Mức độ Khử acetyl ~90%	Công ty Ca Mau Industry, Ltd. (Việt Nam)
Kali hydroxide (KOH)	KOH	85%	Hãng Merck (Đức)
Acid clohydric (HCl)	HCl	37%	Hãng Merck (Đức)
Acid lactic	C ₃ H ₆ O ₃	~90%	Hãng Merck (Đức)
1,3-dimethylxanthine (TPL)	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	>99%	Hãng Merck
Amoni nitrat	NH ₄ NO ₃	95%	Hãng Aldrich-Merck
Natri clorua	NaCl	>99%	Hãng Aldrich-Merck
Natri sulfat	Na ₂ SO ₄	99%	Hãng Aldrich-Merck
Kali nitrat	KNO ₃	99%	Hãng Aldrich-Merck
Nhôm sulfat ngậm nước	Al ₂ (SO ₄) ₃ ·18H ₂ O	99%	Hãng Aldrich-Merck
D-glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	>99%	Hãng Aldrich-Merck
Saccharine	C ₇ H ₅ NO ₃ S	98%	Hãng Aldrich-Merck
Natri benzoat	C ₆ H ₅ COONa	99%	Hãng Aldrich-Merck
Acid L-glutamic	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CH(NH ₂)CO ₂ H	98.5%	Hãng Aldrich-Merck
L-cysteine	HSCH ₂ CH(NH ₂)CO ₂ H	97%	Hãng Aldrich-Merck

Thiết bị và dụng cụ: Hệ thống ba điện cực bao gồm điện cực so sánh Ag/AgCl, điện cực phụ bằng dây Pt và điện cực làm việc bằng điện cực CQD tự chế. Tất cả các thế điện trong nghiên cứu này đều được đo so với Ag/AgCl

(3 M KCl); Máy quang phổ UV-Vis (Spectraro UV-2650, Labomed, USA); Hiển vi điện tử độ phân giải cao được thực hiện bằng kính hiển vi điện tử truyền qua JEM 1010 (JEOL, Nhật Bản; 80 kV); Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) được thực hiện trên máy quang phổ Spectrum 1000 Perkin-Elmer sử dụng viên nén KBr; Phổ quang phát quang (PL) được ghi lại bằng máy Horiba Fluorolog 3 FL3-22; Phổ Raman được lấy trên máy quang phổ Raman phân tán Senterra (Bruker) với bước sóng kích thích 532 nm; Phổ XPS được thực hiện bằng máy ESCA-3400 (Shimadzu) với bức xạ Mg K α ; Cân phân tích Precisa, Thụy Sĩ; Máy đo pH của hãng EcoSense, USA; Máy khuấy từ gia nhiệt Scilogex MS-H-S, USA; Máy ly tâm Hettich, Đức; Cốc thủy tinh, ống đong, bình tam giác, ống ly tâm, Lò nung.

Than bùn (Peat) được thu thập từ nhà máy sản xuất phân lân hữu cơ vi sinh Sông Hương thuộc Công ty Cổ phần Vật tư Nông nghiệp Huế, thời gian lấy mẫu tháng 11-2023 và tháng 2-2024, địa chỉ: Thôn Đức Phú, Xã Phong Hòa, Huyện Phong Điền (nay là Phường Phong Dinh, thành phố Huế). Than bùn đã được sàng để loại bỏ lá và rễ, làm cho nó sẵn sàng để sử dụng. Xương bò được lấy từ các cửa hàng bán thịt địa phương. Phần thịt và mỡ còn sót lại trên xương đã được loại bỏ, và sau đó chúng được rửa nhiều lần bằng nước máy ở nhiệt độ phòng. Sau đó, xương được đặt trong một phòng thông gió trong vài ngày để khử mùi.

Chitosan thương mại (Commercial chitosan) (Mức độ Khử acetyl ~90%) được cung cấp từ Công ty Ca Mau Industry, Ltd. tại Việt Nam. Kali hydroxide (KOH, 85%), acid clohydric (HCl, 37%), và acid lactic (C₃H₆O₃, ~90%) được mua từ hãng Merck tại Đức. Hạt giống dưa lưới (Cucumis melo L.), tên là Saket 70, được mua từ Công ty Đồng Tâm tại Việt Nam.

Mẫu than bùn sau khi lấy mẫu về được sàng để loại bỏ lá và rễ. Mẫu than bùn được sấy khô một phần trong lò ở 80°C trong 24 giờ, sau đó được nghiền bằng máy. Vật liệu thu được được sàng qua rây (400 μ m) và sẵn sàng để sử dụng. 1,3-dimethylxanthine (C₇H₈N₄O₂, > 99%, TPL) được mua từ Công ty

Merck. Dung dịch gốc TPL (1.0×10^{-2} M) được pha trong nước cất hai lần. Các hóa chất sau được mua từ Aldrich-Merck: dung dịch amoni nitrat (95%, NH_4NO_3), natri clorua (>99%, NaCl), natri sulfat (99%, Na_2SO_4), kali nitrat (99%, KNO_3), nhôm sulfat ngậm nước (99%, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$), D-glucose (>99%, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), saccharine (98%, $\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_3\text{S}$), natri benzoat (99%, $\text{C}_6\text{H}_5\text{COONa}$), acid L-glutamic (98.5%, $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$), L-cysteine (97%, $\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$). Dung dịch đệm Britton-Robinson được pha chế theo các phương pháp trước đây.

2.4.2. Điều chế carbon chứa lượng tử từ than bùn và ứng dụng phát triển điện cực phân tích theophylline trong dược phẩm

Điều chế carbon chứa lượng tử

Đầu tiên, 10g than bùn thô được phân tán đồng nhất trong 200mL dung dịch KOH (0.1 M KOH). Hỗn hợp thu được được tách bằng máy ly tâm thành hai phần: phần rắn chứa humin và các tạp chất vô cơ, và phần huyền phù chứa humic acid và acid fulvic. Huyền phù sau đó được acid hóa bằng dung dịch 0.5 M CH_3COOH cho đến khi $\text{pH} \leq 2$, lúc này các muối humate và fulvate được chuyển trở lại dạng acid ban đầu của chúng. HMA trong môi trường acid sẽ kết tụ và lắng xuống, trong khi acid fulvic vẫn tồn tại trong dung dịch do khả năng hòa tan trong môi trường acid. Rung siêu âm hỗn hợp ở các nhiệt độ khác nhau giúp tăng tốc quá trình đông tụ HMA. Sau đó, phần lắng được tách bằng máy ly tâm, sấy khô ở 80°C cho đến trọng lượng không đổi, và kết tủa được nghiền mịn để thu được sản phẩm HMA.

Vật liệu ban đầu được điều chế bằng HMA như mô tả ở trên. m gam (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, và 0.8 g) HMA được phân tán trong 50 mL H_2O bằng cách khuấy và siêu âm (tương ứng với 1, 2, 4, 8, và 16 g/L), sau đó hỗn hợp được chuyển vào nồi hấp bằng thép không gỉ lót Teflon 100 mL và đun nóng ở 180°C trong 10 giờ. Bình Teflon được để nguội tự nhiên đến nhiệt độ phòng. Dung dịch màu nâu được tách bằng máy ly tâm, và được bảo quản trong tủ

lạnh ở khoảng 5°C để phân tích tiếp theo. Các CQDs được ký hiệu là CQDs-1, CQDs-2, CQDs-4, CQDs-8 hoặc CQDs-16, tương ứng với nồng độ ban đầu là 1, 2, 4, 8, và 16 g/L. Ba lô CQDs-4 được điều chế bằng cùng một quy trình để đánh giá khả năng tái tạo của quá trình tổng hợp CQDs và được ký hiệu là CQDs-4a, CQDs-4b và CQDs-4c.

Điện cực carbon thủy tinh (GCE) được biến tính bằng CQDs đã được điều chế bằng cách sử dụng các nồng độ HMA khác nhau. Mười μL huyền phù được nhỏ lên bề mặt GCE và làm khô ở nhiệt độ phòng trong một giờ để sẵn sàng sử dụng. Cân 20 viên thuốc, tính khối lượng trung bình của các viên, và nghiền chúng thành bột mịn. Cân một lượng bột thuốc chính xác vào bình định mức 50 mL, thêm 30 mL nước cất, và siêu âm trong 15 phút để hòa tan hoàn toàn, sau đó pha loãng bằng nước cất đến vạch, lắc đều và lọc. Hút chính xác một thể tích dịch lọc và pha loãng thích hợp với dung dịch đệm BR (pH 3) trong pin điện hóa để thực hiện phân tích với các thông số DPV đã được tối ưu hóa.

2.4.3. Điều chế Hydroapatite Nanoparticles (HANPs), Humic Acid Extracts (HEs), Water Soluble Chitosan (WSC) và Phân bón nano-P và ứng dụng làm phân lân cho cây dưa lưới và cây lạc

2.4.3.1. Điều chế HANPs, HEs, WSC và Phân bón nano-P

Xương bò sạch được sấy khô qua đêm trong lò ở 80 °C. Xương khô, được nghiền thành kích thước hạt trong phạm vi vài trăm mm, được đặt trong một chén sứ có nắp đậy và được nung (calcined) trong 3 giờ ở các nhiệt độ khác nhau (300, 500, 650, và 800 °C). Chất rắn thu được đã được nghiền để lấy các bột mịn HANPs (ký hiệu là CB - xương bò ban đầu, CB-300, CB-500, CB-650, và CB-800, trong đó con số biểu thị nhiệt độ nung).

Các HEs (dịch chiết humic) đã được chiết xuất từ than bùn sử dụng một phương pháp chiết kiềm đã được điều chỉnh (modified alkali extraction method), như đã được mô tả bởi Zhang và cộng sự.^[26] Tóm tắt: 10 g than bùn thô được hòa tan trong 200 mL dung dịch KOH 0.1 M. Hỗn hợp được khuấy

bằng máy khuấy từ. Các HEs trong huyền phù đã được tách khỏi phần rắn (gồm humin và tạp chất vô cơ) bằng phương pháp ly tâm (centrifugation). Huyền phù này được ký hiệu là HEs.

WSC (Chitosan tan trong nước) đã được chuẩn bị theo hướng dẫn. Cân 2 g chitosan và sau đó thêm 2.5 mL acid lactic và 2.5 mL H₂O₂ (Hydrogen peroxide). Đưa tổng thể tích lên 100 mL. Khuấy trong 3 giờ và để yên trong 7 ngày để thu được WSC (Chitosan tan trong nước) ở nồng độ 20.000 ppm. Phân tán 4 gram HANPs và 30 mL acid citric 3% vào 70 mL WSC (20.000 ppm). Sau đó, khuấy trong 3 giờ ở 50 °C để tạo ra một huyền phù ổn định chứa HANPs trong WSC (WSC-stabilized HANPs). Để nghiên cứu độ hòa tan của HANPs trong WSC, thêm một lượng HANPs nằm trong khoảng từ 0.625 g đến 5 g vào 70 mL dung dịch chitosan (20 g/L và 30 mL acid citric 3%) và khuấy trong 3 giờ ở 50 °C. Sau khi gạn (decanting), lấy 90 mL và lọc bỏ các HANPs không hòa tan. Sấy khô dung dịch thu được ở 80 °C trong 24 giờ và nung (calcine) ở 900 °C trong 3 giờ. Cân và xác định lượng HANPs. Nồng độ HANPs trong huyền phù được xác định bằng tỷ lệ khối lượng HANPs trên khối lượng 90 mL huyền phù

Trộn WSC stabilized HANPs (hạt nano hydroxyapatite đã được ổn định bằng WSC) và HEs (chiết xuất humic) trong khi khuấy với tỷ lệ mong muốn và điều chỉnh pH đến 9 trong 1 giờ ở 50 °C để thu được huyền phù ổn định được gọi là phân bón nano-P.

2.4.3.2. Thử nghiệm phân bón nano-P trên cây dưa lưới

a) Thời gian thực hiện: 12/8/2024 đến 15/10/2024.

b) Diện tích: 500 m²/mô hình x 2 mô hình (01 mô hình thử nghiệm và 01 mô hình đối chứng).

c) Địa điểm: Nhà vườn Vinh Hưng, xã Vinh Lộc, thành phố Huế.

d) Quy trình thử nghiệm:

Trước khi sử dụng, các HANPs đã được ổn định bằng WSC (WSC-stabilized HANPs) và phân bón nano-P đã chuẩn bị như mô tả ở trên được pha loãng với nước theo tỷ lệ 1:10. Bốn phương pháp xử lý (500 cây cho mỗi phương pháp) đã được thực hiện trong mùa vụ năm 2024 dưới điều kiện nhà kính tại một trang trại tư nhân ở xã Vinh Lộc, thành phố Huế, Việt Nam, nhằm đánh giá ảnh hưởng của phân bón nano-P được đề xuất đối với sự sinh trưởng, năng suất và chất lượng quả của cây dưa lưới.

Các phương pháp xử lý này bao gồm: a) Phương pháp thông thường của người làm vườn (bao gồm phân bón đa lượng và vi lượng, đóng vai trò là nhóm đối chứng). b) Bón phân bằng phương pháp thông thường, được bổ sung thêm phân bón nano-P trong 62 ngày liên tục kể từ khi cây 3 ngày tuổi (lịch bón chi tiết: 0.4 L/cây/ngày trong 3 ngày; 0.5 L/cây/ngày trong 3 ngày tiếp theo; 0.7 L/cây/ngày trong 4 ngày tiếp theo; 1 L/cây/ngày trong 5 ngày; 1.2 L/cây/ngày trong 4 ngày; 1.5 L/cây/ngày trong 3 ngày; ngừng bón phân nano-P trong 1 ngày; 2 L/cây/ngày trong 15 ngày; 1.8 L/cây/ngày trong 3 ngày; 1.5 L/cây/ngày trong 3 ngày; 1.0 L/cây/ngày trong 15 ngày). c) Bón phân bằng phương pháp thông thường, được bổ sung thêm WSC-stabilized HANPs trong 62 ngày liên tục kể từ khi cây 3 ngày tuổi (quy trình bón phân chi tiết tương tự như mô tả trước đó). d) Một phương pháp xử lý tương tự, trong đó điểm khác biệt duy nhất là thay thế WSC-stabilized HANPs bằng HEs (chiết xuất humic). Quả dưa lưới (Cantaloupe fruits) đã được thu thập tại trang trại trong giai đoạn trưởng thành thương mại (commercial maturity stage) và được bảo quản qua

đêm ở 4 °C. Vỏ (peel) đã được loại bỏ thủ công bằng dao thép không gỉ, và hạt đã được tách ra. Một máy ly tâm (centrifuge) đã tách nước ép để đo tổng lượng đường (total sugar) sử dụng phương pháp NIFC.02.M.13 (HPLC-RID). Năng lượng (Energy) được xác định bằng cách sử dụng phương pháp NIFC.02.M.06. Thủy ngân (Hg) và Cadmium (Cd) được đo bằng phương pháp AOAC215.01 sử dụng ICP-MS (Model 7300, Perkin Elmer). Chlorpyrifos đã được phát hiện bằng cách sử dụng phương pháp NIFC04.M.022 với GC-MS (GC-MS/MS Agilent). 3 lần lặp lại (replicates) đã được thực hiện cho tất cả các phép xác định. Quả dưa lưới và sinh khối cây trồng (plant biomass) đã được thu thập ngẫu nhiên để tính toán trọng lượng trung bình của mỗi quả.

2.4.3.3. Thử nghiệm phân bón nano-P trên cây lạc

a) Thời gian thực hiện: 20/01/2025 đến 10/5/2025.

b) Diện tích: 500 m²/mô hình x 2 mô hình (01 mô hình thử nghiệm và 01 mô hình đối chứng).

c) Địa điểm: Hợp tác xã sản xuất và chế biến nông sản Quảng Phú, thôn Bác Vọng Đông, xã Quảng Phú, huyện Quảng Điền, Tp Huế.

d) Quy trình thử nghiệm:

Về mô hình sử dụng phân lân nano cho cây lạc: Lượng bón cân dựa trên quy trình hướng dẫn cho cây lạc (áp dụng theo lượng hướng dẫn: 30 - 40 kg N + 30 - 40 kg P₂O₅ + 10 -20 kg P-nano + 60 - 80 kg K₂O + 1 - 2 tấn phân hữu cơ sinh học + 500 kg vôi/ha).

Về Quy trình sử dụng phân lân nano vào thực hành sản xuất nông nghiệp tốt cho cây lạc như sau:

- Giai đoạn 1: Bón lót - Tạo nền tảng dinh dưỡng ban đầu

Đây là giai đoạn cực kỳ quan trọng, nhằm cung cấp dinh dưỡng ngay từ đầu để cây con có thể nảy mầm khỏe mạnh và phát triển bộ rễ vững chắc.

Lần 1: Đây là lần bón lót chính, được thực hiện trước khi gieo trồng. Chúng ta sử dụng hai loại phân chính để tạo nền đất giàu dinh dưỡng: Phân hữu

cơ NPK HC 20 TTH: Bón với liều lượng rất lớn, 1.000 kg/mô hình. Phân hữu cơ giúp cải tạo đất, làm đất tơi xốp, tạo môi trường thuận lợi cho vi sinh vật có lợi phát triển và cung cấp dinh dưỡng từ từ, lâu dài cho cây. Phân NPK 5:10:3: Bón với liều lượng 250 kg/mô hình. Loại phân này có hàm lượng lân (P) cao, rất cần thiết cho sự phát triển của bộ rễ, giúp cây bám đất tốt ngay từ đầu.

Lần 2: Khoảng gần một tháng sau lần bón đầu tiên, chúng ta tiếp tục bón lót bổ sung. Phân K₂O (KCl): Bón với liều lượng 28 kg/mô hình. Kali (K) trong giai đoạn này giúp cây con cứng cáp hơn, tăng khả năng chống chịu với các điều kiện bất lợi của môi trường.

- Giai đoạn 2: Bón thúc - Hỗ trợ cây sinh trưởng và tăng năng suất

Sau khi cây đã phát triển, quy trình chuyển sang bón thúc định kỳ để đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng ở từng giai đoạn quan trọng, từ sinh trưởng thân lá đến ra hoa, kết quả. Các lần bón được thực hiện cứ 10 ngày một lần, kết hợp cả bón gốc và phun lá.

+ Lần 1: Giai đoạn này cây bắt đầu phát triển thân lá. Phân lân Nano (phun 50 ml/m²) kết hợp với Phân K₂O (KCl) (80kg/mô hình) được bón. Kết quả là cây mọc nhanh hơn và lá có màu xanh sáng hơn, cho thấy cây đã hấp thụ dinh dưỡng hiệu quả.

+ Lần 2: 10 ngày sau tiếp tục bón kết hợp hai loại phân trên với liều lượng tương tự, phân lân Nano (phun 50 ml/m²). Sau lần bón này, cây có sự tăng trưởng rõ rệt, lá dày hơn, cho thấy cây đang tích lũy năng lượng mạnh mẽ.

+ Lần 3: 10 ngày sau tiếp tục bón với liều lượng tương tự, phân lân Nano (phun 50 ml/m²), lần bón này giúp cây phân nhánh mạnh hơn và thân cây trở nên cứng cáp. Điều này rất quan trọng để cây có thể chịu được trọng lượng của quả sau này.

+ Lần 4: Giai đoạn này cây chuẩn bị ra hoa, tiếp tục bón phân với liều lượng tương tự, phân lân Nano (phun 50 ml/m²). Việc tiếp tục bón phân giúp

cây ra hoa nhiều, chiều cao cây vượt trội. Đây là dấu hiệu cho một vụ mùa bội thu.

+ Lần 5: Giai đoạn cuối, cây đang hình thành củ lạc. phun phân lân Nano (phun 50 ml/m²), lần bón này tập trung vào việc giúp củ phát triển. Nhờ đó, hạt lạc to, vỏ cứng và quan trọng nhất là năng suất được dự đoán sẽ cao hơn.

- Quy trình theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển và chăm sóc cây: theo Tiêu chuẩn VietGAP, sổ ghi chép nhật ký chăm sóc theo quy trình đã công bố với các chỉ tiêu theo dõi như sau:

+ Theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của cây: Chiều cao, lá, hoa, cành cấp 1, cành cấp 2, chiều dài cành, nốt sần.

+ Theo dõi các chỉ tiêu sâu bệnh hại: Sâu khoang (*Spodoptera litura*), bệnh đốm lá (tỷ lệ bệnh), bệnh đốm lá (chỉ số bệnh).

+ Theo dõi các chỉ tiêu năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất: Số quả/cây, số quả chắc/cây, P 100 quả, năng suất lý thuyết, năng suất thực tế, hiệu quả kinh tế.

Chương 3

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH ĐIỆN HÓA 1,3-DIMETHYLXANTHINE TRONG VIÊN NÉN DƯỢC PHẨM BẰNG ĐIỆN CỰC CARBON THỦY TINH BIẾN TÍNH CHẤM LƯỢNG TỬ CARBON CÓ NGUỒN GỐC TỪ THAN BÙN

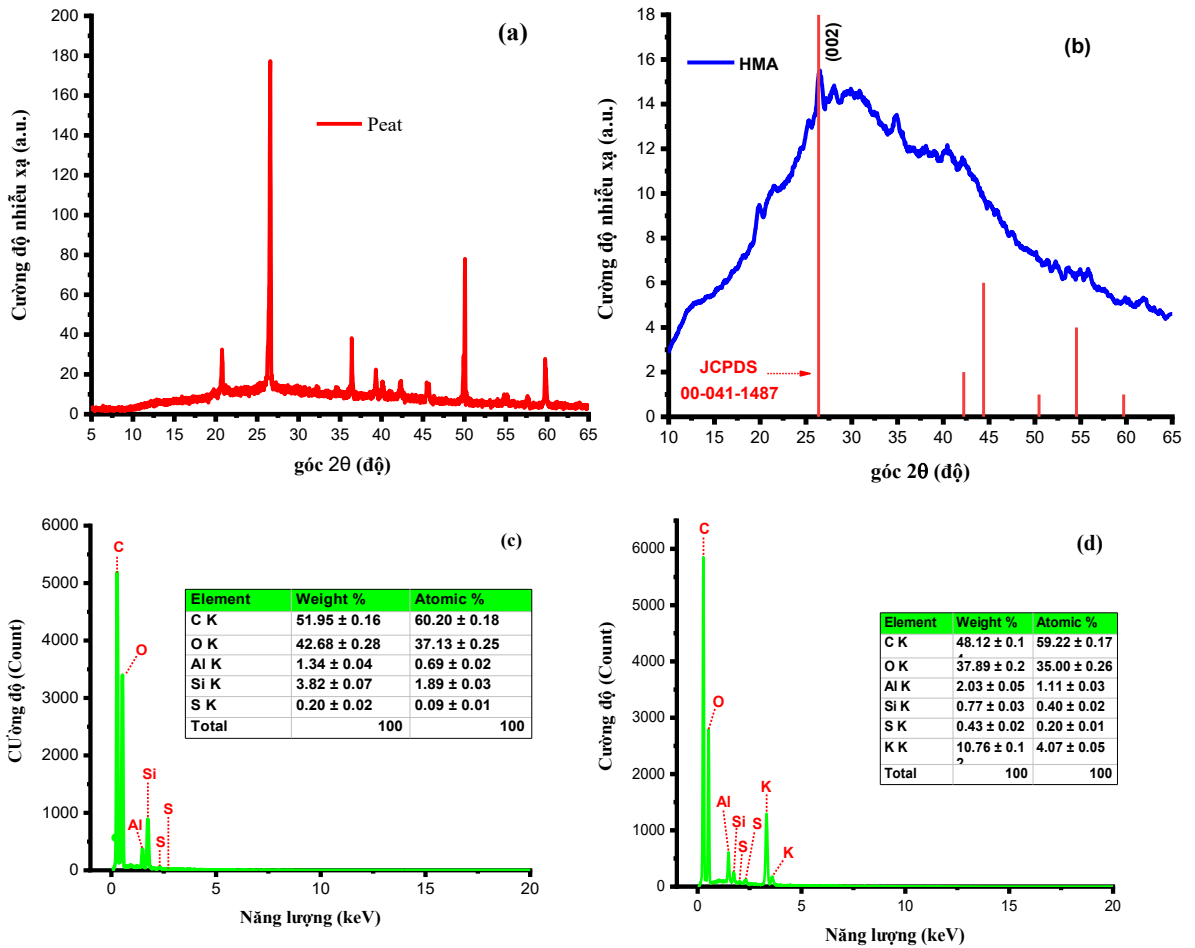
3.1.1. Đặc trưng của vật liệu

Hình 3.1a trình bày giản đồ tia X (XRD) của than bùn. Kết quả cho thấy các nhiễu xạ của SiO_2 (thạch anh) theo JCPDS số 5-0490. Vì cát tồn tại rất nhiều trong than bùn, thành phần chủ yếu bao gồm SiO_2 , kết quả XRD có thể liên quan đến sự hiện diện của oxide này. Không thấy nhiễu xạ của than bùn do dạng vô định hình của nó. Tuy nhiên, đối với HMA, một dải phổ rộng liên quan đến các hợp chất chứa carbon khác nhau. Đỉnh ở $26,5^\circ$ liên quan đến graphite theo JCPDS số 00-041-1487 (Hình 3.1 b) [123]. Phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) trong Hình 3.1 c-d cho thấy đỉnh chứa các nguyên tố chính là carbon, silic và một vài tạp chất (Al, S, K).

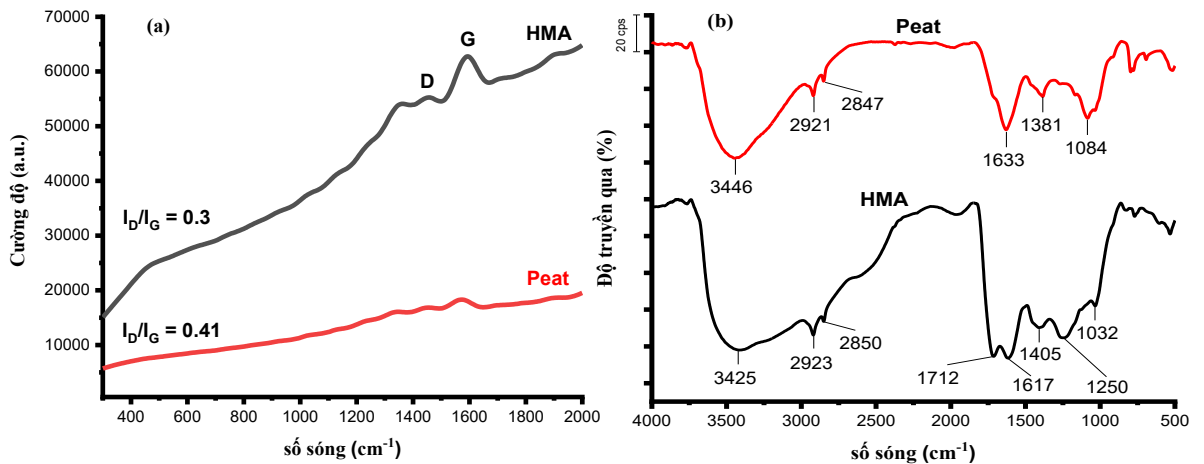
Phổ Raman của các mẫu than bùn và HMA (Hình 3.2a) cho thấy một dải đặc trưng D (disorder) ở 1365 cm^{-1} , được gán cho các khuyết tật cấu trúc, và một dải G (graphite) ở 1608 cm^{-1} , liên quan đến chế độ dao động tán xạ bậc một E_{2g} trong tấm graphite [124]. Tỷ lệ cường độ (I_D/I_G) xấp xỉ 0,3-0,41, cho thấy mẫu than bùn có cấu trúc carbon trong graphite tương đối phong phú.

Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) cho than bùn được mô tả trong Hình 3.2b. Phổ hồng ngoại của than bùn và HMA trông tương tự nhau. Các dao động trong vùng 3425 đến 3446 cm^{-1} là do các dao động hóa trị của nhóm O-H trong -COOH và các nhóm rượu và phenolic; các dao động hóa trị đối xứng và không đối xứng của C-H mạch dài trong hệ thống CH_2 được gán cho vùng $2847\text{-}2923\text{ cm}^{-1}$; và các dải hấp thụ ở $1712\text{-}1617\text{ cm}^{-1}$ được quy cho các dao động hóa trị của nhóm chức C=O của -COOH. Dải hấp thụ của chế độ dao động hóa trị Si-O trong SiO_2 đối với than

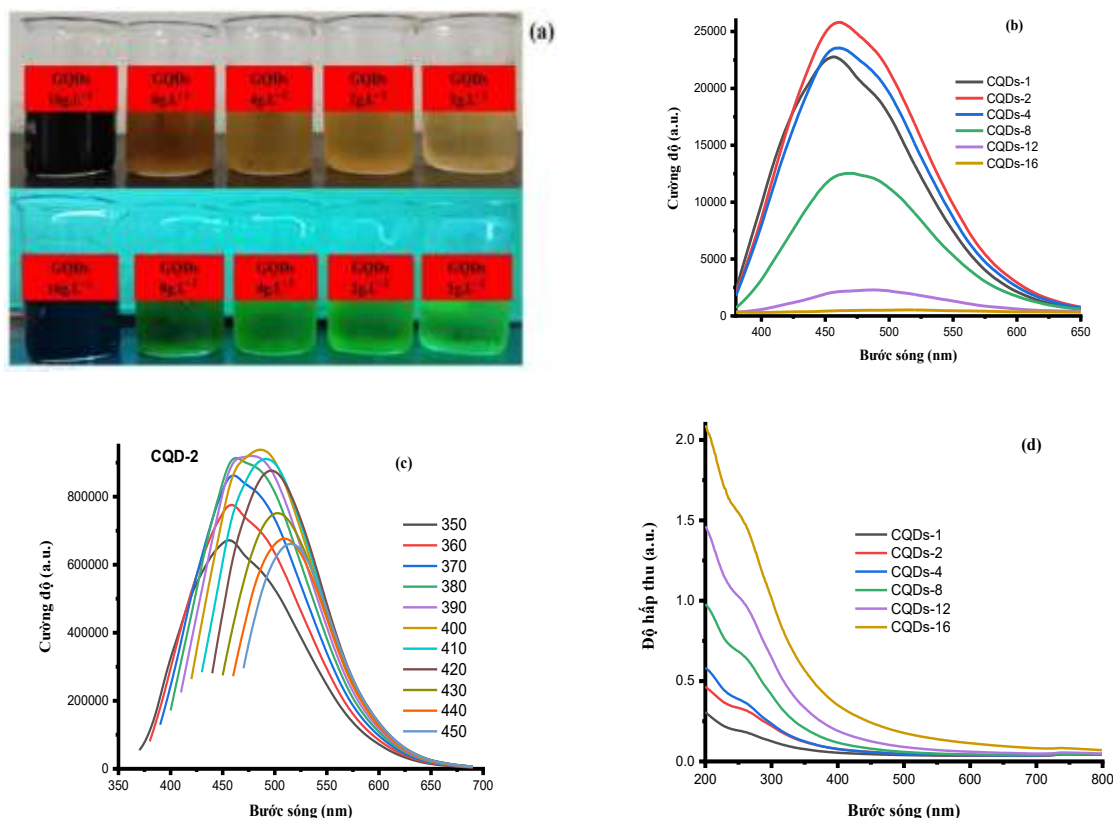
bùn xuất hiện ở khoảng 1084 cm^{-1} [125]. Sự biến mất các dải hấp thụ ở 1250 và 1032 cm^{-1} trong HMA do loại bỏ phần lớn SiO_2 [126, 127].



Hình 3.1. Giải đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của (a) than bùn và (b) HMA và Phổ EDX của (c) than bùn và (d) HMA



Hình 3.2. Phổ Raman (a) và HMA (b)

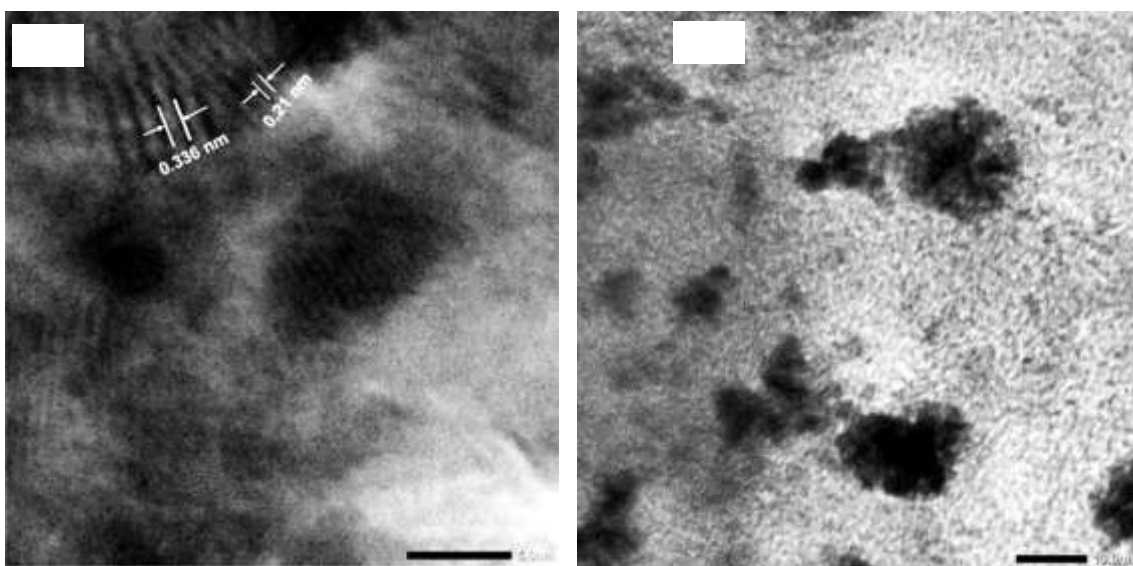


Hình 3.3. (a) Ảnh chụp kỹ thuật số của các mẫu CQDs với các nồng độ HMA khác nhau: chiếu sáng bằng ánh sáng trắng (trên) và chiếu sáng bằng ánh sáng tử ngoại với bước sóng 254 nm (dưới), (b) Phổ quang phát quang (PL) của các dung dịch với nồng độ HMA khác nhau, (c) Phổ quang phát quang (PL) của các dung dịch HMA được kích thích bằng các bước sóng khác nhau, (d) Phổ tử ngoại-khả kiến (UV-Vis) của các dung dịch với nồng độ HMA khác nhau.

Hình 3.3a cho thấy năm cốc có nồng độ HMA khác nhau, được chiếu sáng bằng ánh sáng trắng (Hình 3.3a). Chúng có màu nâu, là màu đặc trưng của các dung dịch chứa các chất humic acid [127]. Nồng độ HMA càng cao thì màu nâu càng sẫm. Khi các dung dịch này được chiếu sáng bằng tia tử ngoại (254 nm), màu sắc thay đổi thành màu xanh lục như thể hiện trong Hình 3.3a (Hình dưới). Hơn nữa, nồng độ HMA càng cao thì cường độ của đỉnh xanh lục càng lớn, đạt cực đại ở dung dịch 0,4 g/50 mL, và khi nồng độ HMA tăng thêm, cường độ của đỉnh xanh lục lại giảm. Từ đó, có thể kết luận rằng cường độ có liên quan trực tiếp đến nồng độ HMA (Hình 3.3b). Việc đo phổ PL đã được thực hiện với các bước sóng kích

thích khác nhau để giải thích thêm các đặc tính quang học của huyền phù GQDs. Như trình bày trong Hình 3.3c, cường độ của đỉnh PL tăng khi bước sóng tăng, đạt đỉnh ở 400 nm và sau đó giảm. Đỉnh phát xạ huỳnh quang vẫn dịch chuyển, cho thấy phổ PL tương tự như phổ PL phụ thuộc bước sóng kích thích điển hình của một số chấm lượng tử carbon [128].

Khi chiếu xạ bằng tia cực tím 254 nm, GQDs cho thấy huỳnh quang màu xanh lam mạnh so với phổ UV-Vis của các dung dịch CQD, như được trình bày trong Hình 3.3d. Đỉnh ở 270 nm được gán cho các chuyển dịch điện tử $n-\pi^*$ của liên kết C=O. Không có đỉnh nổi bật nào khác ngoại trừ đỉnh gần 260 nm tương ứng với chuyển dịch $\pi-\pi^*$ của các liên kết C=C thơm [21].

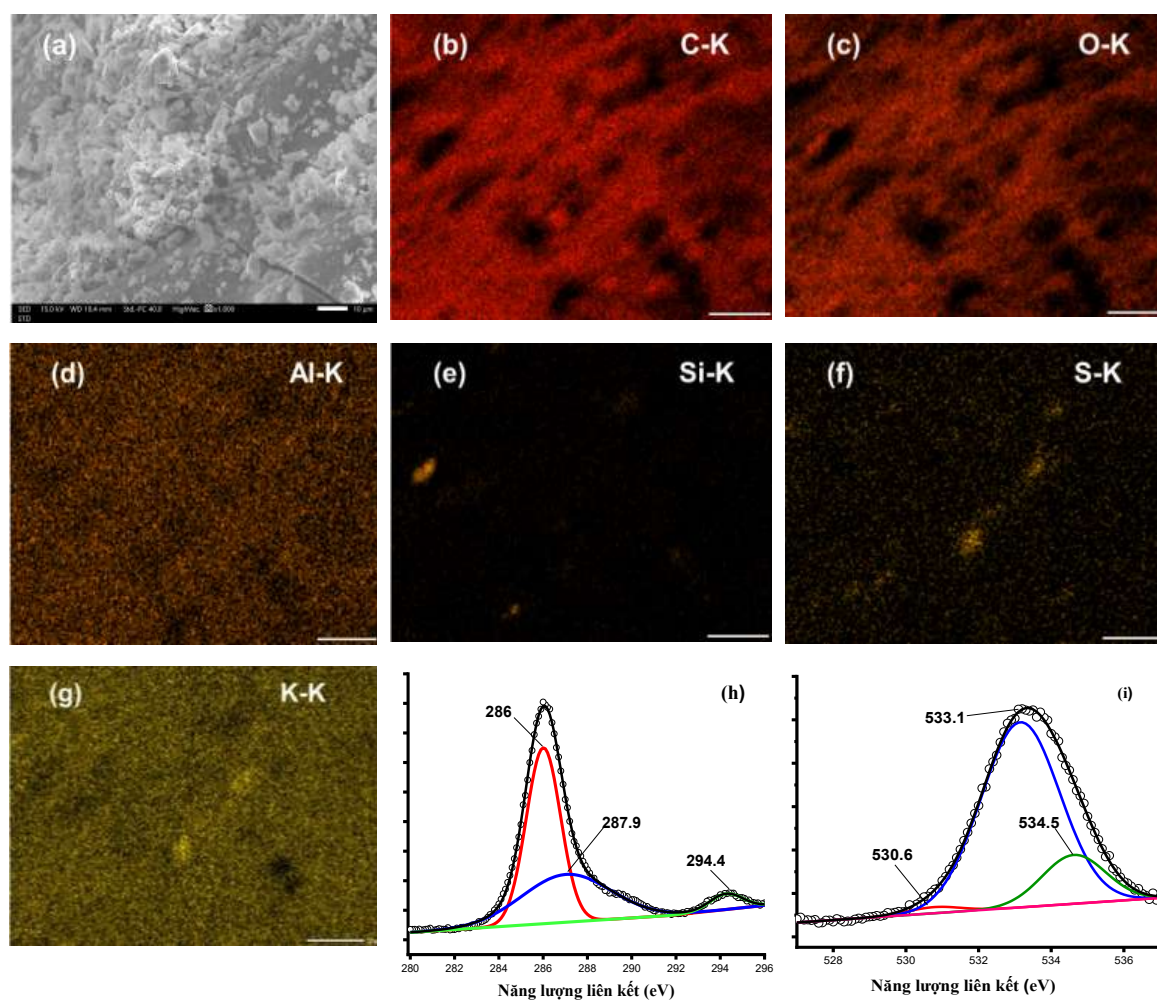


Hình 3.4. Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) của CQDs với các độ phân giải khác nhau (CQDs-4) ở (a) 600 K và (b) 200 K

Hình 3.4 a trình bày ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) của CQDs. Khoảng cách mạng tinh thể khoảng 0,21 nm và 0,336 nm, gần với khoảng cách của các mặt phẳng (100) và (002) của graphite [129, 130]. Hình thái của CQDs bao gồm các hạt hình cầu có kích thước từ 4-10 nm và có độ phân tán cao. Vì phổ Raman cho thấy sự hiện diện của graphite trong HMA, nên có thể các hạt nano này được tạo thành từ các nguyên tử carbon ở dạng cấu trúc được biết đến là graphite.

Phổ EDX phân bố các nguyên tố của CQDs-4 được thể hiện trong hình 3.5a-g. Tỷ lệ phần trăm nguyên tử lần lượt là 59,2% C, 35,0% O, 1,1% Al, 0,4% Si, 0,2% S và 4,1% K. Đúng như dự đoán, C và O là các thành phần chính, và một lượng nhỏ các nguyên tố khác có sẵn trong than bùn tự nhiên.

Phổ XPS C1s của HMA được tách thành ba đỉnh, tập trung ở 286, 287,9 và 299,4 eV, được gán cho các nhóm C-H/C-C, C-OH/C-O-C, và O-C=O tương ứng [130]. Phổ XPS O1s của CQDs được tách thành ba đỉnh nhỏ ở 530,6, 533,1 và 534,5 eV, tương ứng với C=O, O-H, và C-O [131]. HMA được điều chế từ than bùn tự nhiên có chứa một số tạp chất (Si, K) không có trong nghiên cứu này (Hình 5h-i).

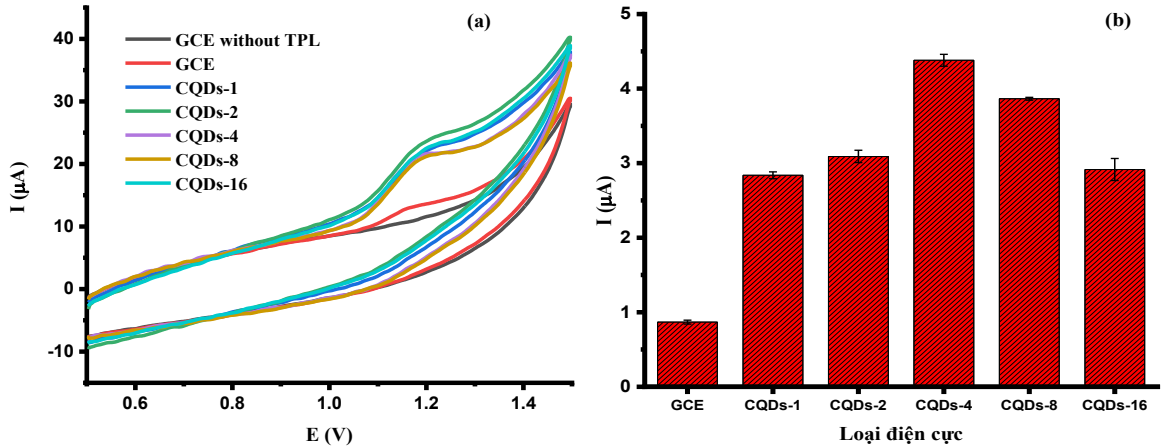


Hình 3.5. Phổ EDX phân bố nguyên tử của CQDs-4: (a) Ảnh điện tử, (b) Nguyên tố C, (c) Nguyên tố O, (d) Nguyên tố Al, (e) Nguyên tố Si, (f) nguyên tố S, (g) Nguyên tố K; (h, i) Phổ XPS của CQDs-4 đối với nguyên tố C và O

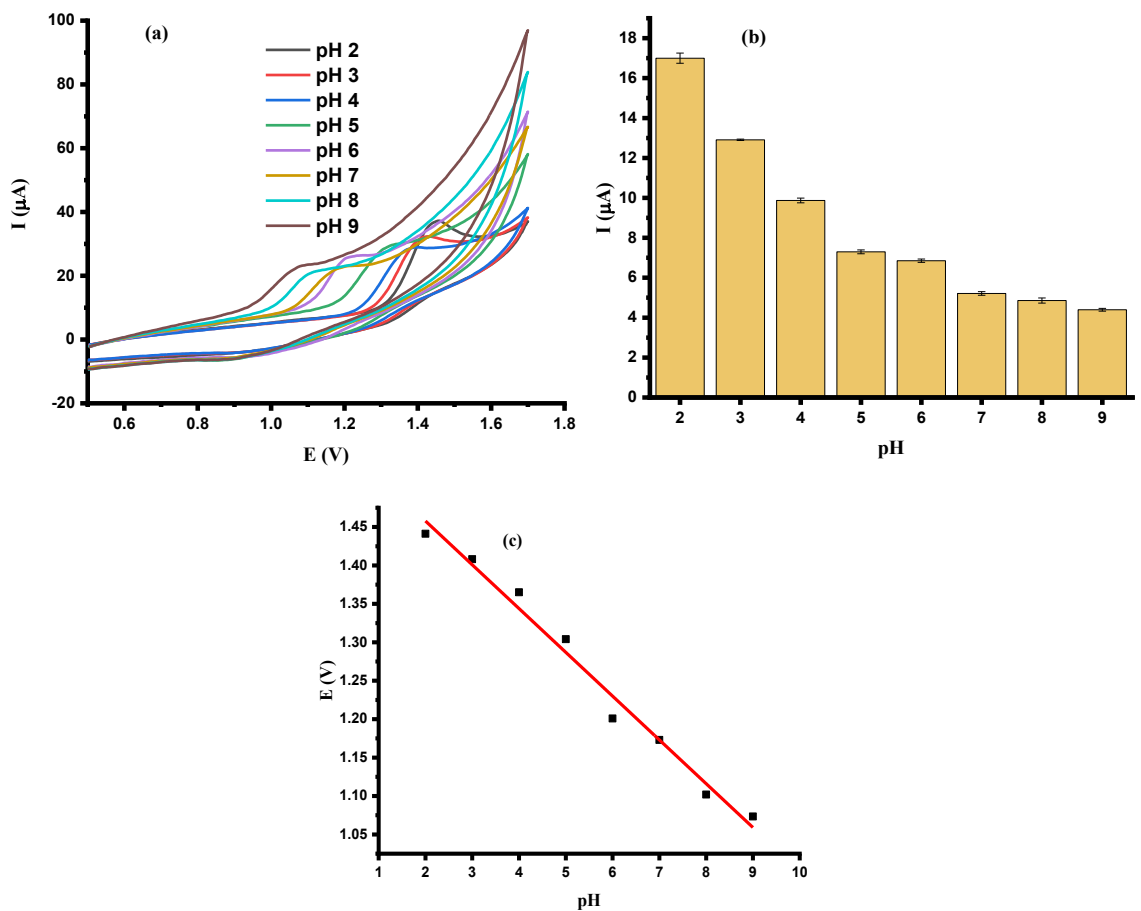
3.1.2. Xác định TPL bằng phương pháp voltammetry dùng điện cực biến tính bằng CQDs (CQDs/GCE)

3.1.2.1. Đặc trưng điện hóa của TPL tại các điện cực khác nhau

Giản đồ voltammetry vòng (CVs) của 50 μM TPL tại điện cực GCE và GCE biến tính được trình bày ở Hình 3.6. Tại GCE, một đỉnh oxy hóa tù của TPL tại 1,15 V với cường độ dòng đỉnh nhỏ đã được quan sát, nhưng trong trường hợp của CQDs-GCE, cường độ dòng đỉnh anode tăng lên đáng kể. Đáng chú ý, dòng đỉnh tăng khi hàm lượng CQD tăng, và đạt đỉnh tại CQDs-4; khi tăng hàm lượng CQD thêm nữa, dòng đỉnh lại giảm. Các nhóm chức chứa oxy làm vị trí xúc tác và hiệu ứng lượng tử của CQDs có thể đã góp phần tăng cường đáng kể quá trình truyền electron của TPL. Với sự gia tăng nồng độ CQD, I_p của TPL tăng, điều này có thể góp phần làm tăng các vị trí xúc tác điện và độ xốp của bề mặt điện cực, từ đó làm tăng diện tích bề mặt hiệu quả của điện cực đã biến tính. Tuy nhiên, việc tăng nồng độ CQDs vượt quá CQDs-4 đã gây ra sự sụt giảm cường độ của I_p do sự hình thành một lớp màng dày hơn, làm tăng điện trở của lớp biến tính chống lại quá trình truyền electron và quá trình chuyển khối của chất phân tích trở nên khó hơn. Không có tín hiệu điện hóa nào được quan sát trong đường cong CV của dung dịch không có TPL, cho thấy điện cực đã biến tính không hoạt động trong khoảng thế điện được nghiên cứu. Việc không có đỉnh khử ở lần quét cathode xác nhận rằng quá trình điện hóa là bất thuận nghịch. CQDs-4/GCE đã được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo do nó cho cường độ dòng đỉnh TPL cao nhất.



Hình 3.6. (a) Giản đồ CVs của 50 μM TPL tại QCDs/GCE và (b) Cường độ dòng đỉnh tại điện cực CQDs/GCE. (Tốc độ quét: 100 mV/s^{-1} ; dung dịch đệm BR 0.1 M pH=3) (Thanh sai số của ba phép đo)



Hình 3.7. (a) Giản đồ CVs của 50 μM TPL tại điện cực CQDs-4/GCE trong dung dịch đệm BR (pH 2-9), (b) Biểu đồ cột của cường độ dòng đỉnh ở các giá trị pH khác nhau, (c) Đồ thị tuyến tính của thế điện đỉnh và pH

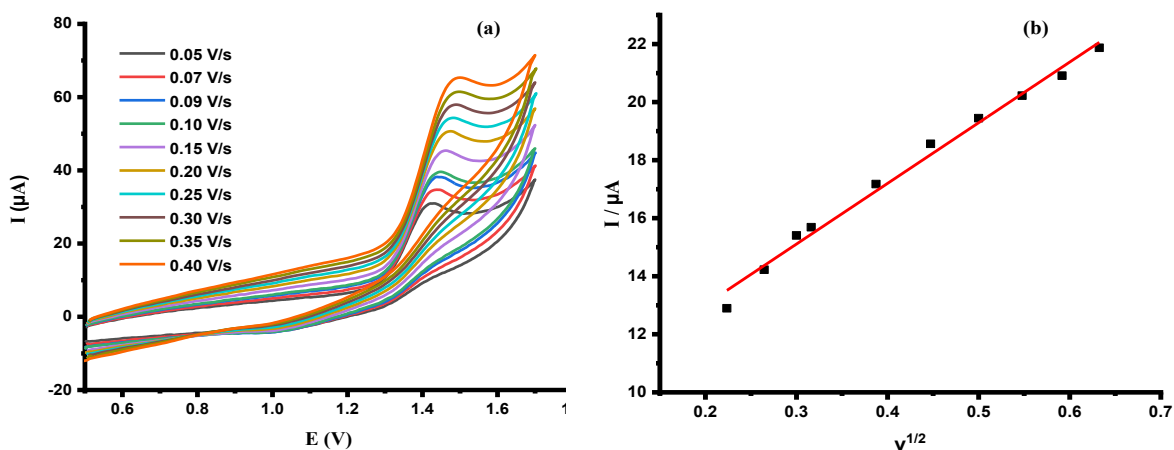
Tác động của pH lên tín hiệu điện hóa của 50 μM TPL đã được thực hiện trong khoảng pH từ 2 đến 9 trong dung dịch đệm BR bằng kỹ thuật voltammetry vòng ở tốc độ quét 100 mV/s^{-1} (Hình 3.7a). Cường độ dòng đỉnh giảm đều đặn khi pH tăng. Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của dòng điện đỉnh ở các giá trị pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 và 9 lần lượt là 0,2541, 0,0356, 0,1198, 0,0973, 0,0841, 0,0918, 0,1291 và 0,0709. Mặc dù cường độ dòng đỉnh cao nhất đạt được ở pH 2, nhưng độ ổn định dòng điện đỉnh tại pH=3 (RSD thấp nhất). Do đó, chúng tôi dùng dung dịch đệm BR với pH=3 để xác định TPL. Khi pH tăng, thế điện đỉnh giảm cho đến khi đạt 9,0. Điều này cho thấy các ion hydro có liên quan đến phản ứng điện cực. Mối quan hệ giữa thế điện đỉnh, E_p , và pH có thể được mô tả bằng phương trình:

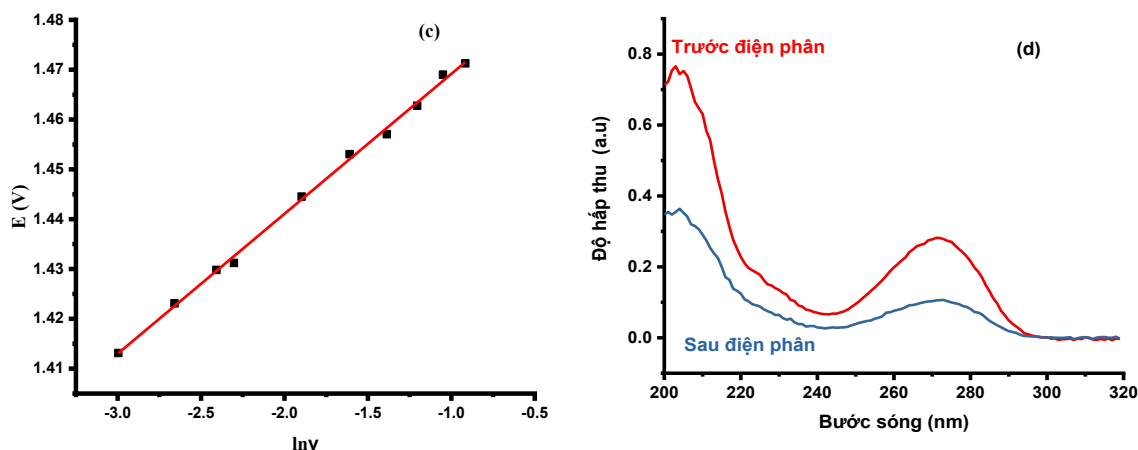
$$E_p (\text{V}) = (1,571 \pm 0,018) + (-0,057 \pm 0,003) \text{pH}, R^2 = 0,996.$$

Độ dốc là 0,057 trên mỗi đơn vị pH cho thấy sự tham gia bằng nhau của quá trình trao đổi ion electron/hydro trong phản ứng điện cực [132].

Hình 3.8a cho thấy ảnh hưởng của tốc độ quét (ν) lên cường độ dòng đỉnh và thế đỉnh của TPL. Người ta cho rằng quá trình được kiểm soát bằng hấp phụ khi đường thẳng của mối quan hệ tuyến tính của căn bậc hai tốc độ quét và dòng điện đỉnh đi qua gốc tọa độ và ngược lại [133], và phương trình hồi quy như sau:

$$I = (8,839 \pm 0,342) + (20,900 \pm 0,774) \nu^{1/2}, R^2 = 0,9957 \text{ (Hình 3.8b).}$$





Hình 3.8. (a) Giảm đồ CV của 50 μM TPL trong dung dịch đệm 0.1 M BR (pH 2.0) với tốc độ quét từ 0.05 - 0.40 V.s^{-1} ; (b) Đồ thị tuyến tính của cường độ dòng đỉnh, I_p , với căn bậc hai của tốc độ quét, $v^{1/2}$; (c) Đồ thị tuyến tính của cường độ thế đỉnh với logarit tự nhiên của tốc độ quét; (d) Phổ tử ngoại-khả kiến (UV-Vis) của 50 μM TPL trong dung dịch đệm 0.1 M BR ở pH=3 trước và sau quá trình điện phân

Đối với một quá trình điện cực bất thuận nghịch, theo Laviron [134], E_p được mô tả bằng biểu thức:

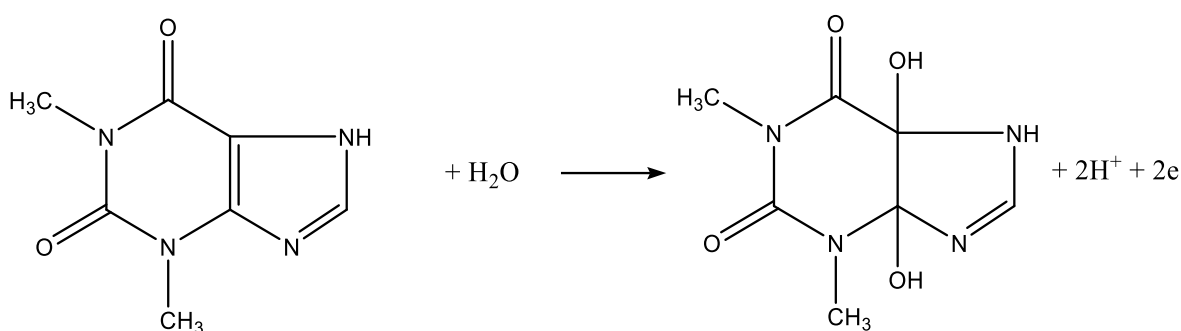
$$E_p = E^0 + \frac{RT}{\alpha nF} \ln \frac{\alpha n F k_s}{RT} + \frac{RT}{\alpha nF} \ln v$$

Trong đó: α là hệ số chuyển điện tích; k_s là hằng số tốc độ chuyển electron không đồng nhất của cặp oxy hóa-khử trên bề mặt; n là số electron chuyển; v là tốc độ quét (Vs^{-1}); và E^0 là thế điện oxy hóa-khử tiêu chuẩn, $T = 298 \text{ K}$, $R = 8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ và $F = 96480 \text{ C mol}^{-1}$.

Dữ liệu thực nghiệm của thế điện đỉnh và tốc độ quét được hồi quy theo phương trình của Laviron như sau: $E = (1,4970 \pm 8,5716\text{E}^{-4}) + (0,0280 \pm 4,3601\text{E}^{-4}) \ln v$; $R^2 = 0,973$.

Giá trị αn thu được từ hồi quy tuyến tính là 0,9137 (Hình 3.8c). Giá trị α được coi là 0,5 đối với hệ bất thuận nghịch [135]. Do đó, giá trị của n đối với quá trình oxy hóa electron của TPL là 1,874, xấp xỉ 2. Từ phân tích ảnh hưởng của pH và tốc độ quét, có thể kết luận rằng quá trình oxy hóa TPL tại điện cực biến tính liên quan đến số lượng proton và electron bằng nhau và bằng 2.

Ngoài ra, phổ UV-Vis của 50 μM TPL trong dung dịch đệm 0.1 M BR ở pH=3 trước và sau khi điện phân được thể hiện trong Hình 3.8d. Hai đỉnh hấp thụ được quan sát ở 203 nm và 272 nm trước khi điện phân. Sau khi điện phân trong 6 giờ, đỉnh hấp thụ tương đối yếu ở 272 nm biến mất, và đỉnh hấp thụ mạnh ở bước sóng ngắn vẫn được giữ lại, nhưng một sự dịch chuyển xanh nhẹ đến 201 nm đã được quan sát. Sự oxy hóa có thể dẫn đến sự phá hủy hệ liên kết liên hợp trong TPL. Một công bố trước đây cũng cho kết quả tương tự [136]. Sơ đồ 3.1 minh họa một cơ chế oxy hóa có thể có cho TPL, liên quan đến sự trao đổi hai electron và hai proton.

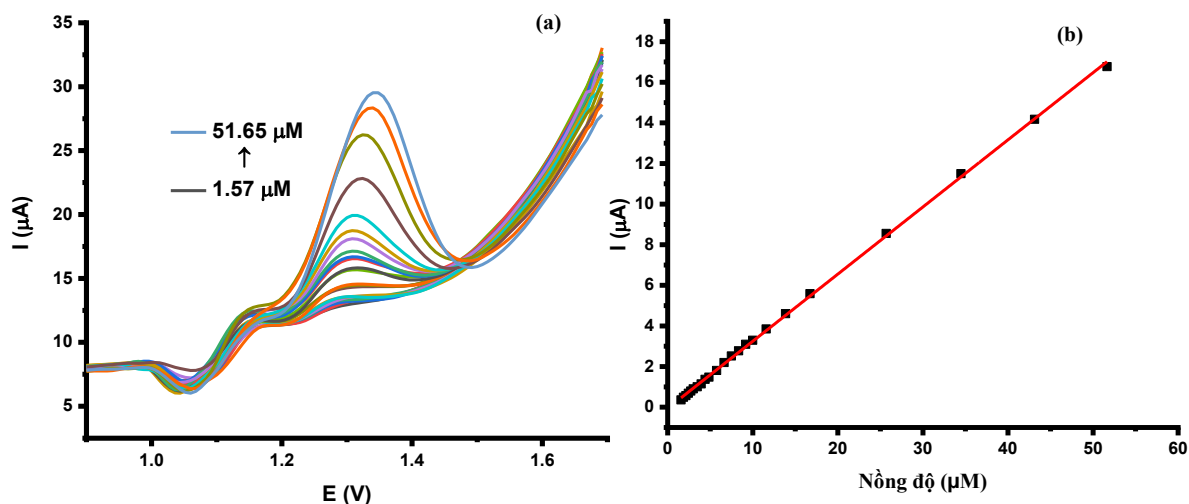


Sơ đồ 3.1. Cơ chế oxy hóa khả thi của TPL tại điện cực biến tính

a) Ảnh hưởng của thời gian tích lũy và thế tích lũy, biên độ xung và thế bước

Thế tích lũy (E_{acc}), thời gian tích lũy (t_{acc}), biên độ xung (E_{pulse}), và bước thế (E_{step}) ảnh hưởng đáng kể đến tín hiệu bóc tách (I_{pc}) và sự xuất hiện hoặc mất đi của các đỉnh bóc tách. Do đó, chúng cần được tối ưu hóa. Thời gian tích lũy 10 giây, biên độ xung 0,1 V, và bước thế 0,008 V là phù hợp để có được các tín hiệu điện hóa ổn định nhất.

b) Khoảng tuyến tính và giới hạn phát hiện (LOD)



Hình 3.9. (a) Các đường cong DPV với các nồng độ TPL khác nhau (Nồng độ C_{TPL} từ 1,57 - 51,65 μM) tại điện cực CQDs-4/GCE trong dung dịch đệm 0,1 M BR (pH=3) và (b) đồ thị tuyến tính của cường độ dòng đỉnh với nồng độ TPL.

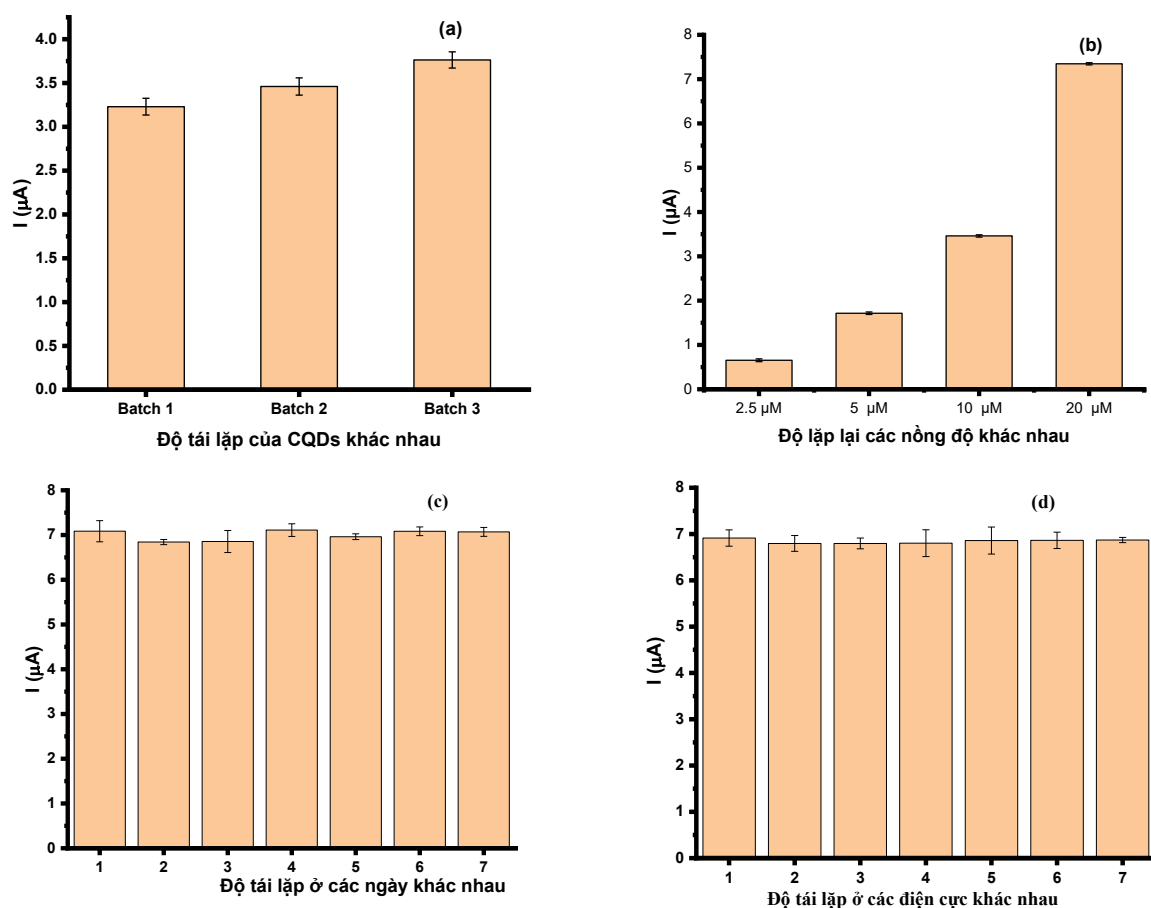
Trong nỗ lực phát triển một phương pháp voltammetry hiệu quả để xác định TPL trong thuốc, chúng tôi đã chọn phương pháp DPV vì nó cho các đỉnh sắc nét và rõ ràng hơn ở nồng độ TPL thấp so với các đỉnh được ghi lại bằng CV (Hình 3.9a). Dung dịch đệm BR ở pH 3,0 đã được sử dụng làm chất điện giải nền để định lượng. Các đường cong DPV được ghi lại với lượng TPL tăng dần cho thấy cường độ dòng đỉnh tăng tuyến tính khi nồng độ tăng. Đồ thị của I_p với nồng độ cho thấy mối quan hệ tuyến tính từ 1,57 đến 51,65 μM (Hình 3.9b). Phương trình tuyến tính là: $I_p = (-0,059 \pm 0,028) + (0,330 \pm 0,002) C_{TPL}$; $R^2 = 0,999$; ($r = 0,9992$, C_{TPL} tính bằng μM). Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) được tính bằng các phương trình sau: $\text{LOD} = 3 s/m$; $\text{LOQ} = 10 s/m$ (trong đó, s là độ dốc của phương trình hồi quy). LOD và LOQ được tính toán lần lượt là 0,93 μM và 3,07 μM . So sánh các LOD ở các điện cực khác nhau được thể hiện trong Bảng 3.1. Các LOD thu được bằng phương pháp hiện tại có thể so sánh với các giá trị được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây [124, 137, 138]. Các chất biến tính điện cực như poly (l-aspartic

acid)/ống nano carbon đa vách chức năng hóa [138], poly (4-amino-5-hydroxy-2,7-naphthalenedisulfonic acid) [139], và các chất khác được tổng hợp phức tạp hơn so với CQDs. Một số chất biến tính cần phải kết hợp với chất kết dính để tăng cường độ bám dính vào điện cực [140], trong khi việc sử dụng COQs không yêu cầu bất kỳ chất kết dính nào. Ngoài ra, nguồn than bùn rẻ hơn và thân thiện với môi trường hơn so với các hóa chất khác. Do đó, việc sử dụng các chấm lượng tử carbon (CQDs) có nguồn gốc từ HMA là một giải pháp sáng tạo và thể hiện ý thức về môi trường.

Bảng 3.1. So sánh các LOD của TPL tại các điện cực khác nhau.

Điện cực	Khoảng tuyến tính (μM)	LODs (μM)	Tài liệu tham khảo
Điện cực Carbon biến tính bằng hạt Nano CuO chế tạo từ dây đồng tái chế	4×10^{-3} - 70×10^{-3}	1.2×10^{-3}	[137]
Điện cực carbon biến tính vật liệu composite từ poly (l-aspartic acid)/ống nano carbon đa vách chức năng hóa.	0.1-50	0.02	[138]
Điện cực carbon biến tính mao quản lớn/nafiion.	0.8-180	0.37	[140]
Điện cực carbon thủy tinh biến tính bằng polymer in dấu phân tử poly(4-amino-5-hydroxy-2,7-naphthalenedisulfonic acid).	0.4-17	0.32	[46]
Điện cực in trên tấm lụa biến tính bằng vật liệu tổng hợp từ ống nano carbon đa vách-vàng-poly L-Lysine.	10-200	2	[30]
AuNP/Aptamer/GCE Điện cực carbon thủy tinh (GCE) biến tính bằng phức hợp hạt nano vàng (AuNP)/Aptamer.	2-50	1.2	[139]

Điện cực carbon thủy tinh (GCE) biến tính bằng poly (PABSA) (PABSA là viết tắt của 4-amino-5-hydroxy-2,7-naphthalenedisulfonic acid)	10-100	7.02	[141]
Điện cực carbon thủy tinh (GCE) biến tính bằng chấm lượng tử carbon (CQDs).	1.57 - 57.65	0.93	Kết quả nghiên cứu



Hình 3.10. (a) Cường độ dòng đỉnh của 10 μM TPL trên các điện cực khác nhau (CQDs-4a, CQDs-4b, CQDs-4c/GCEs) trong dung dịch đệm 0,1 M BR ở pH 3 (ba phép đo liên tiếp); (b) Cường độ dòng đỉnh trung bình (I_p) của 2,5, 5, 10 và 20 μM TPL trong dung dịch đệm 0,1 M BR ở pH 3 (mười phép đo liên tiếp); (c) Cường độ dòng đỉnh (I_p) của 20 μM TPL trong dung dịch đệm 0,1 M BR ở pH 3 trong bảy ngày để kiểm tra độ ổn định dài hạn; (d) Cường độ dòng đỉnh của bảy điện cực CQDs-4/GCE được chế tạo theo cùng một quy trình.

Khả năng tái lập của các lô CQDs khác nhau, độ lặp lại trong cùng một lần đo, độ lặp lại giữa các lần đo và độ tái lập là những đặc tính quan trọng của các điện cực biến tính. Khả năng tái lập giữa ba lô CQDs được trình bày trong Hình 3.10a. Độ lệch chuẩn tương đối (RSDs) của dòng điện đỉnh của các điện cực CQDs-4a, CQDs-4b và CQDs-4c/GCEs lần lượt là 2,95%, 2,85% và 2,47%. Tất cả các RSD đều dưới 5%, cho thấy quy trình tổng hợp CQD ổn định để biến tính điện cực. Cùng một điện cực CQDs/GCE đã được sử dụng cho mười lần đo liên tiếp ở nồng độ 2,5 và 20 μM (Hình 3.10b). Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) thấp của dòng điện đỉnh nhỏ hơn 5%. Ví dụ, 4,80% ở nồng độ 2,5 μM , 1,70% ở 5 μM , 0,76% ở 10 μM và 0,35% ở 20 μM ($n = 10$), cho thấy độ lặp lại trong cùng một lần đo tốt. Độ lặp lại giữa các lần đo của điện cực CQDs/GCE được đánh giá bằng cách ghi lại tín hiệu điện hóa mỗi ngày một lần với cùng một điện cực trong 7 ngày. Sau một lần đo, điện cực được bảo quản trong dung dịch đệm BR ở pH 3,0 trong 24 giờ tại 4°C. Cường độ của dòng điện đỉnh thay đổi không đáng kể, với RSD là 1,63%, cho thấy độ bền tốt của cảm biến (Hình 3.10c). Hơn nữa, trong cùng điều kiện chuẩn bị, đối với bảy điện cực CQDs/GCE, RSD của dòng điện đỉnh là 0,66%, cho thấy khả năng tái lập tốt (Hình 3.10d).

c) Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất gây nhiễu

Bảng 3.2. Giới hạn dung nạp ($C_{\text{chất gây nhiễu}}/\text{TPL}$) của tín hiệu phân tích TPL ($2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$) khi có mặt các chất gây nhiễu khác nhau ($n=5$)

Chất gây nhiễu	Giới hạn dung nạp ($C_{\text{chất gây nhiễu}}/\text{TPL}$)
NH_4NO_3	50
NaCl	40
Na_2SO_4	30
KNO_3	40
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	50
D-Glucose	50

Saccharine (Đường hóa học)	30
Sodium benzoate (Natri benzoate)	30
L-glutamic acid (Acid L-glutamic)	30
L-cysteine (Acid L-cystein)	10

Để ứng dụng thực tế phương pháp đề xuất, ảnh hưởng của các chất ngoại lai lên tín hiệu điện hóa đã được khảo sát. Dòng điện đỉnh của TPL với một lượng cố định là 2.0×10^{-5} mol/L, được thêm các chất gây nhiễu tiềm năng, đã được ghi lại trong cùng điều kiện thí nghiệm (Bảng 3.2). Các kết quả đã xác nhận tính chọn lọc chấp nhận được của phương pháp DPV hiện tại, dựa trên $RSD < \pm 10\%$ đối với dòng điện đỉnh anode của TPL.

d) Phân tích TPL trong thuốc

Ba loại thuốc chứa TPL được sử dụng áp dụng phương pháp phân tích. Điện cực CQDs/GCE được dùng để xác định TPL trong các mẫu thực tế (Bảng 3.3). Bảng cho thấy hàm lượng TPL trong các viên nén theophylline được phân tích bằng phương pháp DPV đề xuất lần lượt là 97,04 g, 96,88 g và 194,73g trên mỗi viên (hàm lượng công bố là 100g, 100g và 200g trên mỗi viên tương ứng). Hàm lượng TPL đã xác định phù hợp với hàm lượng công bố trong các công thức bào chế dược phẩm. Độ thu hồi được tính bằng cách thêm các nồng độ TPL khác nhau vào dung dịch của mẫu thực thông qua phương pháp thêm chuẩn. Tỷ lệ phần trăm thu hồi biến đổi từ 98,23% - 103,73%, so với LC-ESI-MS [142] (86,4% - 86,5%), HPLC [143] (98,3% - 103,7%), các phương pháp quang phổ [144] (99,91% - 101,19%) đã được thu được từ ba mẫu, cung cấp bằng chứng mạnh mẽ về độ chính xác của phương pháp DPV được đề xuất (xem Bảng 3.3).

Bảng 3.3. Độ thu hồi TPL trong các viên nén (số lần lặp lại thí nghiệm: 3).

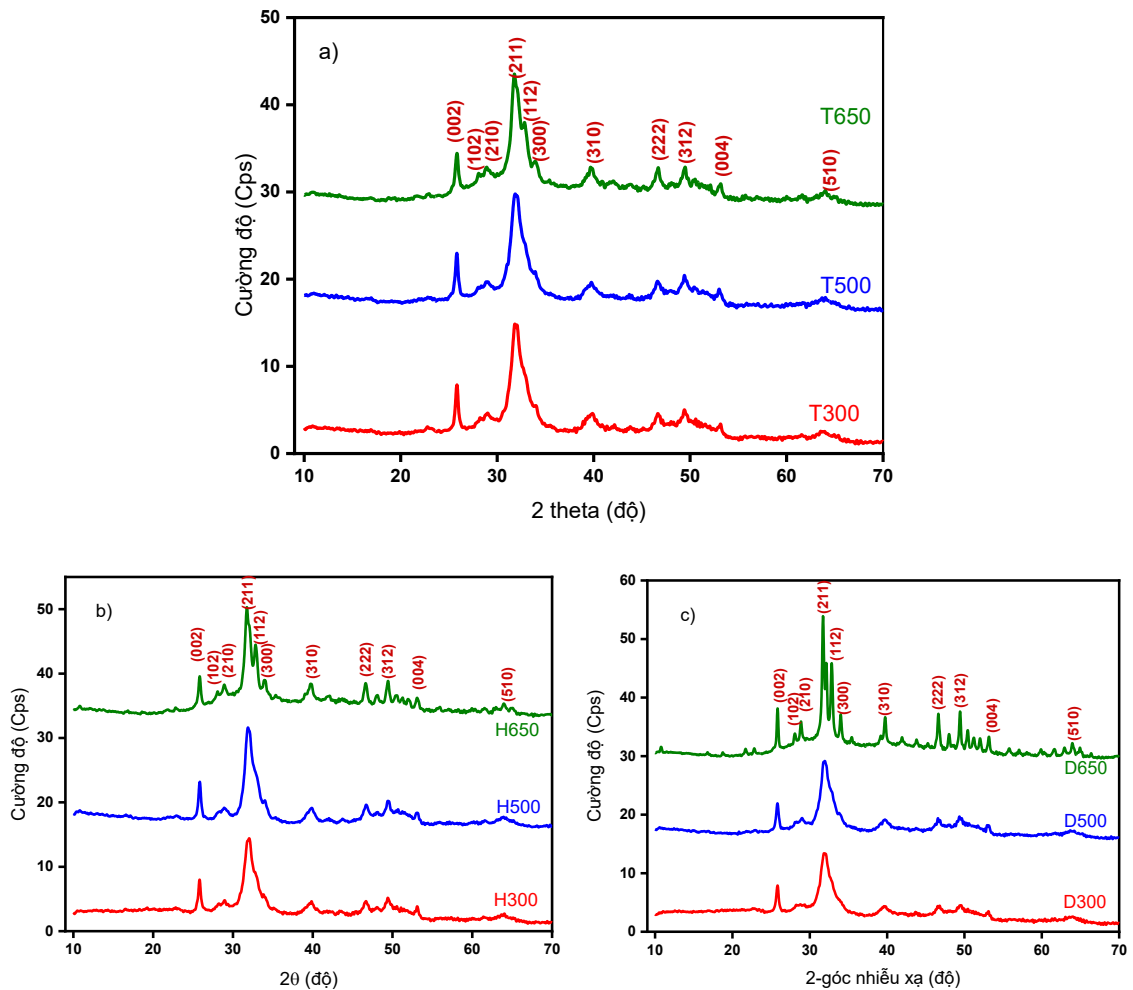
Mẫu	Ghi ở nhãn (mg/viên)	Tìm thấy \pm SD (mg/ tablet)	Thêm vào (μ g)	Tìm thấy \pm SD (μ g)	Độ thu hồi (%)
Theophylline (# 1)	100	97.04 \pm 1.24	3.60	3.54 \pm 0.02	98.32
Theophylline (# 2)	100	96.88 \pm 1.31	3.60	3.74 \pm 0.06	103.73
Theophylline (# 3)	200	194.73 \pm 0.65	3.60	3.54 \pm 0.04	98.23

Kết luận: Một phương pháp tổng hợp một lần đã được sử dụng thành công để điều chế các chấm lượng tử carbon (CQDs) từ nguyên liệu humic acid thô có nguồn gốc từ than bùn tự nhiên. Các CQDs này có thể được tạo ra bằng một quy trình thân thiện với môi trường. Các CQDs thu được thể hiện hành vi điện hóa tốt đối với quá trình oxy hóa theophylline. Nghiên cứu cũng đã khảo sát ảnh hưởng của tốc độ quét thế, pH và nồng độ. Quá trình oxy hóa theophylline là một quá trình bất thuận nghịch, liên quan đến việc trao đổi hai electron và hai proton. Các CQDs cho thấy hoạt tính xúc tác điện cho quá trình oxy hóa theophylline, được đặc trưng bằng sự gia tăng dòng điện đỉnh. Quan trọng hơn, phương pháp này có ứng dụng thực tiễn khi đã xác định thành công hàm lượng theophylline trong các công thức bào chế dược phẩm với độ thu hồi vượt trội, khẳng định độ tin cậy của nghiên cứu. Trong tương lai, chúng tôi sẽ nghiên cứu để kiểm soát hình thái và kích thước hạt của các CQDs có nguồn gốc từ humic acid nhằm phát triển các điện cực mong muốn để phát hiện một cách chọn lọc một số loại thuốc có vị trí điện hóa hoạt động trong môi trường sinh học như nước tiểu, huyết tương và huyết thanh người.

3.2. TỔNG HỢP CÁC NANO HYDROXYAPATITE/CHIẾT XUẤT HUMIC (NANO P/HES) TỪ THAN BÙN VÀ XƯƠNG BÒ LÀM PHÂN LÂN NANO HỮU CƠ

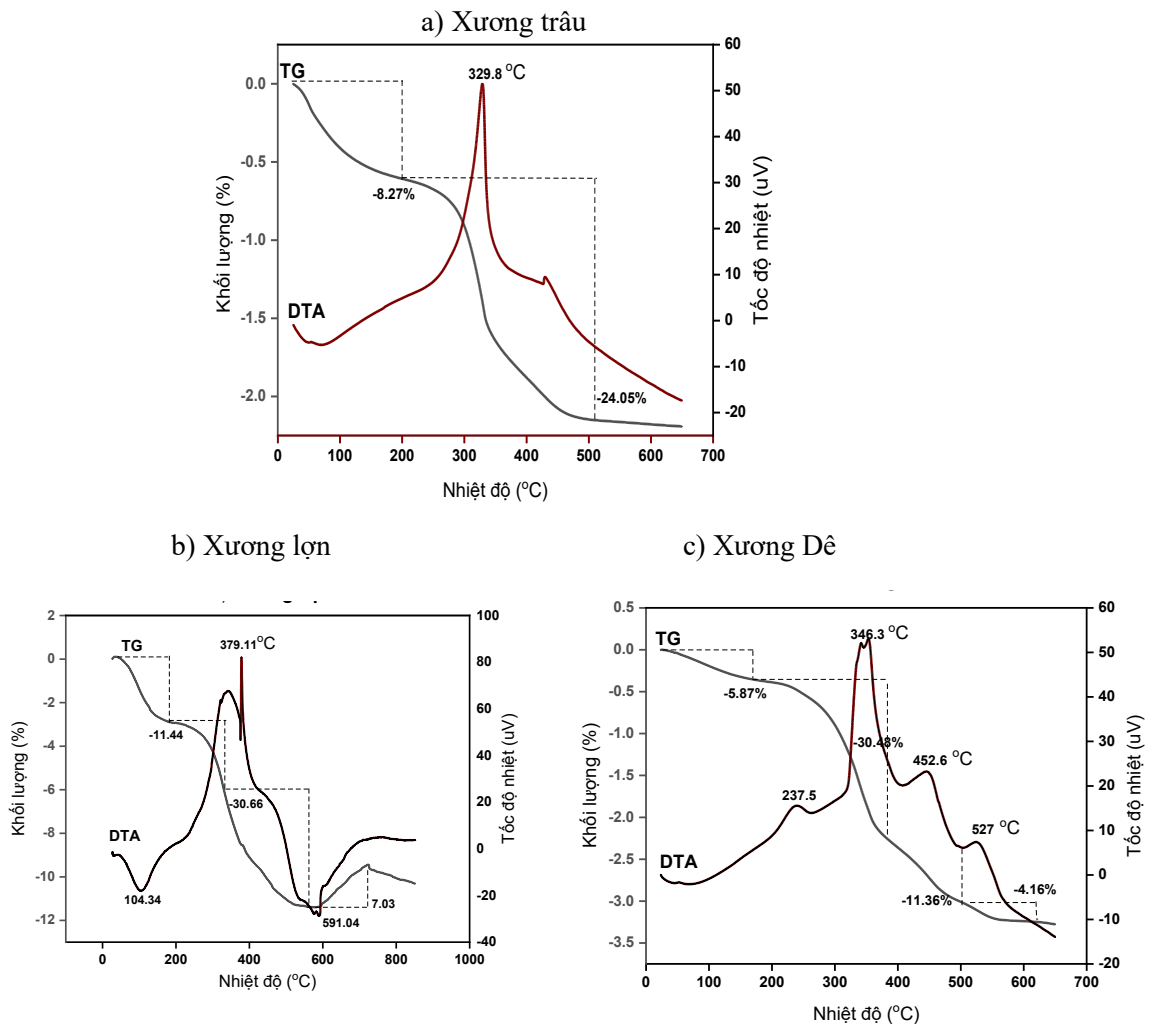
3.2.1. Hydroxyapatites (HAP) từ một số xương động vật

Hình 3.11 là giản đồ XRD của xương trâu thô (T) và than xương trâu (T300, T500, T650), than xương lợn (H), và than xương dê (D) nung ở các nhiệt độ (300, 500, 650 °C) có cấu trúc tinh thể lục giác và nhóm không gian P63/m của hydroxyapatite theo dữ liệu JCPDS (00-015-0876), không có pha tinh thể nào khác, ngoài phát hiện HAP cho thấy pha tinh thể chính trong xương là HAP với công thức chung là $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$.



Hình 3.11. Giản đồ XRD của: a) Xương Trâu; b) Xương Lợn và c) Xương Dê nung ở nhiệt độ 300, 500, 650 °C

Các đỉnh đặc trưng trở nên định hình và có độ lớn cao hơn do sự kết tinh khi nhiệt độ nung tăng lên. Từ hình 3.11 lấy đỉnh có cường độ lớn nhất ở giá trị 2θ là $31,6^\circ$, sử dụng phương trình Scherrer xác định kích thước tinh thể của HAP có trong xương trâu T300, T500, T650 lần lượt là 4,94; 4,98 và 5,21nm xương lợn H300, H500, H650 là 5,04; 5,23 và 5,56nm và dê D300, D500, D650 là 4,74; 4,88 và 5,92 nm.



Hình 3.12. *Giản đồ phân tích nhiệt TG DSC của a) Xương trâu; b) Xương lợn; c) Xương dê*

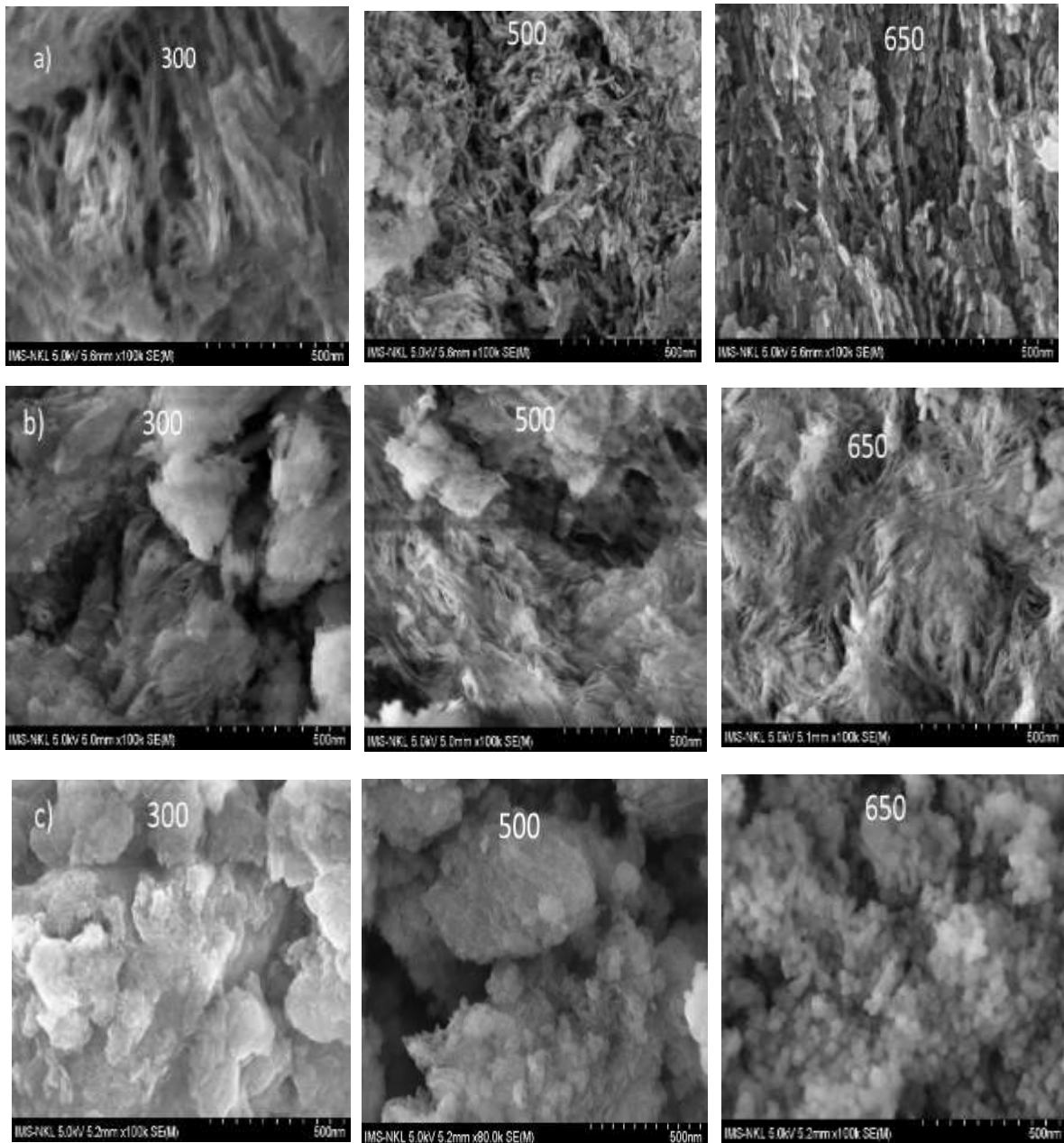
Hình 3.12 trình bày sơ đồ TG/DSC của một số loại xương. Hình 3.12a TG/DSC của xương trâu gồm ba giai đoạn phân hủy nhiệt chính được quan sát thấy: Đầu tiên là quá trình thu nhiệt, xảy ra ở nhiệt độ từ 25-250 °C tương ứng với quá trình giải hấp phụ nước khỏi bề mặt mẫu với sự giảm khối lượng

khoảng 8,27 %; khi nhiệt độ tăng từ 250-500 °C, khối lượng giảm đến 24,05 % và có peak tỏa nhiệt tại peak 329,8 °C là do sự phân hủy các chất hữu cơ như collagen... ; khi nhiệt độ lớn hơn 500 °C thì sự giảm khối lượng không đáng kể và được xem là HAP chiếm tỷ lệ 67,7%. Hình 3.12b TG/DSC của xương lợn gồm ba giai đoạn phân hủy nhiệt chính được quan sát thấy: Đầu tiên là quá trình thu nhiệt, xảy ra ở nhiệt độ từ 25-250 °C tương ứng với quá trình giải hấp phụ nước khỏi bề mặt mẫu với sự giảm khối lượng khoảng 11,44 %; khi nhiệt độ tăng từ 250-500 °C, khối lượng giảm đến 30,66 % và có peak tỏa nhiệt tại peak 379,11 °C là do sự phân hủy các chất hữu cơ như collagen... ; khi nhiệt độ lớn hơn 500 °C thì sự giảm khối lượng không đáng kể và được xem là HAP chiếm tỷ lệ 58 %. Tương tự thì kết quả nghiên cứu đối với xương dê thì HAP chiếm 48 %.

Trong nghiên cứu này đã điều chế lượng lớn 100 kg nguyên liệu xương các loại, nung tại 500°C trong ba giờ, và có hiệu suất điều chế thu được HAP của trâu là 70%, lợn là 55% và dê là 50%.

Các loại xương trâu nung ở 300 °C có hình thái sợi nano đường kính 10-20 nm. Khi nung ở nhiệt độ cao sợi xuất hiện càng rõ được cấu tạo từ các chuỗi các tấm nano có đường kính khoảng 50 nm. Các tấm nano này được quan sát rõ ở nhiệt độ nung 650°C (Hình 3.13a). Quá trình tách các hạt nano riêng rẽ không rõ ràng tại nhiệt độ 650°C (Hình 3.13a). Than xương dê cũng có cấu trúc các sợi nano, quá trình thiêu kết xảy ra ở nhiệt độ thấp so với xương trâu, mẫu nung 650 °C các sợi này đã chuyển thành các hạt nano apatite (Hình 3.13b). Hình thái của xương lợn khác với xương trâu, bò và dê, nó có sự kết tụ lớn và được tách ra thành các hạt hình cầu kích thước vài chục nanometer khi nung ở nhiệt độ 650 °C (Hình 3.13c). Xương các loại nung ở 500 °C được phân tích đặc trưng phổ EDX cho biết thành phần khối lượng, thành phần của nguyên tố được trình bày ở Hình 3.14. Các lợn, trâu, dê đều có các nguyên tố chính C,

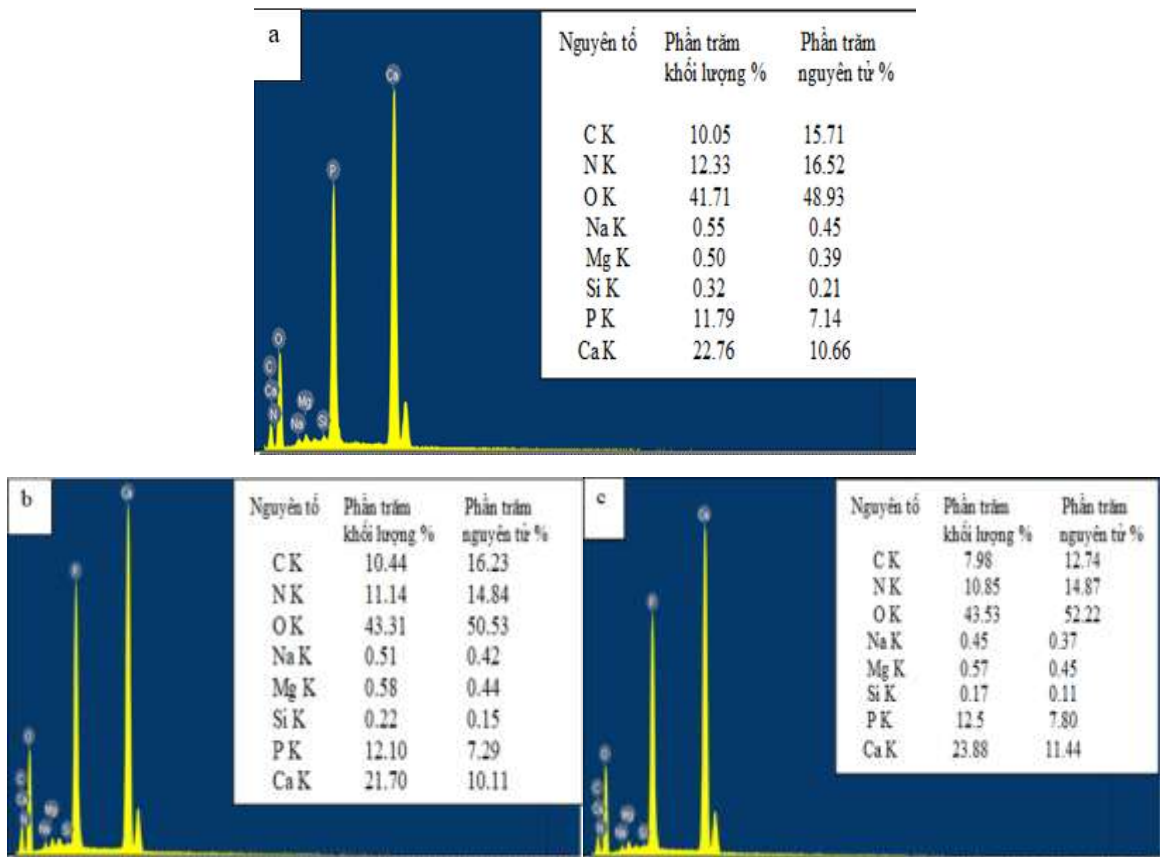
O, Mg, P và Ca... với tỷ lệ mol Ca/P thay đổi từ 1,39 -1,50 là nhỏ hơn công bố của Hydroxyapatite 1,67 [114].



Hình 3.13. Ảnh SEM của than xương ở các nhiệt độ khác nhau 300 °C, 500 °C và 650 °C của a) Xương trâu; b) Xương lợn; c) Xương dê

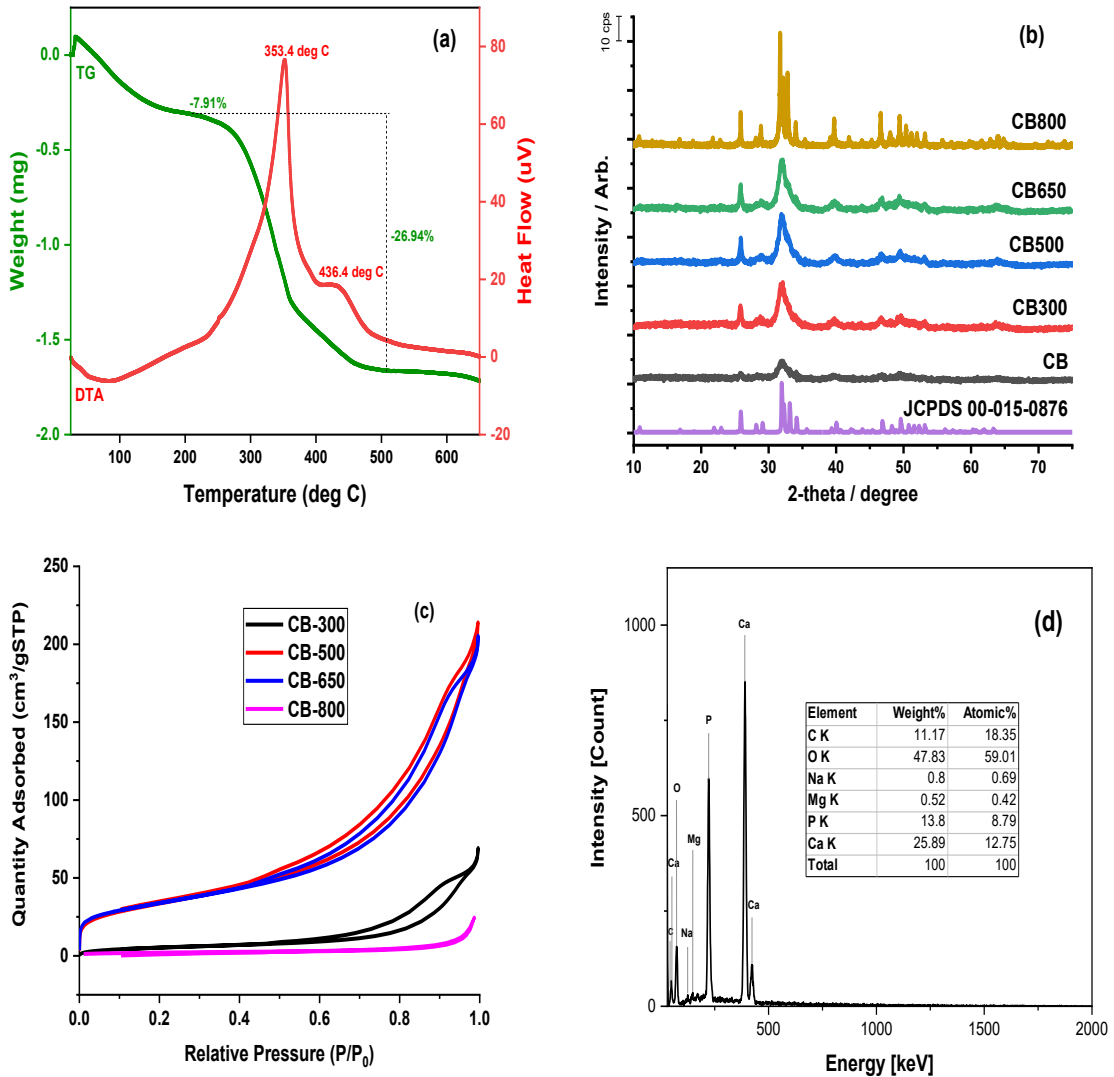
Nghiên cứu cho thấy đa số xương của các loại có pha tinh thể chính trong xương là HAP với công thức chung là $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$. Giản đồ phân tích nhiệt TG/DSC xác định thành phần HAP xương trâu cao nhất là 67%,

xương lợn là 58% và xương dê thấp nhất là 48%. Hình thái của HAP từ nguồn xương bò, trâu, dê là dạng sợi trong khi hình thái HAP từ xương lợn là hình cầu. Nhờ có nguồn photphorous trong HAP điều chế từ xương động vật thải ra có thể trở thành một nguồn phân bón photphorous xanh quan trọng cho cây trồng phục vụ cho hoạt động điều chế phân lân nano ứng dụng cho mục đích nông nghiệp. Trong phần nghiên cứu tiếp theo chúng tôi chỉ tập trung vào nghiên cứu xương bò, các xương khác dự đoán kết quả cũng tương tự.



Hình 3.14. Phổ EDX của than xương nung ở nhiệt độ 500 °C của; a) Xương trâu; b) Xương lợn; c) Xương dê

3.2.2. Tổng hợp nano hydroxyapatites (HANPs) từ xương bò



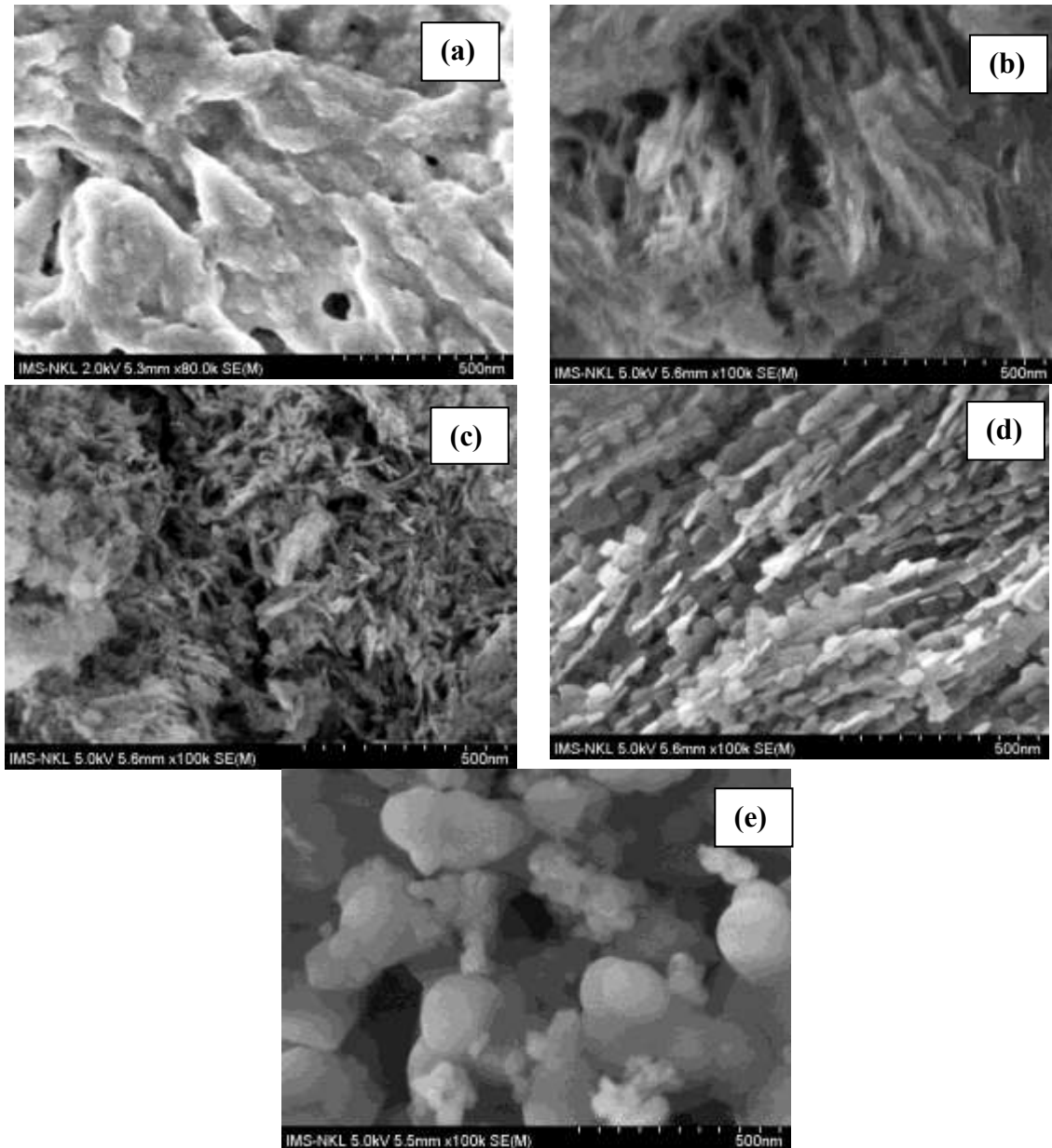
Hình 3.15. a) Giảm đồ TG/DSC; b) Giảm đồ nhiễu xạ tia X; c) Đường đẳng nhiệt hấp phụ/giải hấp nito; và d) Phổ EDX của xương bò.

Hình 3.15a trình giảm đồ TG/DSC của xương bò. Ba giai đoạn phân hủy nhiệt chính của xương bò đã được quan sát. Giai đoạn đầu tiên là một quá trình thu nhiệt xảy ra ở nhiệt độ 25-250 °C, tương ứng với sự giải hấp nước (water desorption) từ bề mặt mẫu, dẫn đến giảm khối lượng khoảng 7.91 %. Sự giảm khối lượng tiếp theo, khoảng 26.94 % trong phạm vi 250-500 °C, liên quan đến hai quá trình tỏa nhiệt tại 353.4°C và 436.4 °C, góp phần vào sự phân hủy chất hữu cơ, như collagen và có thể là các thành phần khác được tìm thấy trong xương. Phần dư khoảng 65.2%, được quy cho là hydroxyapatite. Các phổ

nhiều xạ tia X (XRD) của cả xương bò thô và xương bò được nung ở các nhiệt độ khác nhau đều thể hiện cấu trúc tinh thể lục giác và nhóm không gian P 63/m của hydroxyapatite, theo dữ liệu JCPDS (00-015-0876) (Hình 3.15b). Không có pha tinh thể nào khác ngoài hydroxyapatite được phát hiện, cho thấy pha tinh thể chính trong xương bò là hydroxyapatite với công thức chung $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Các đỉnh đặc trưng trở nên sắc nét và rõ rệt hơn khi nhiệt độ tăng. Từ Hình 3.15b, kích thước tinh thể (crystallite size) của hydroxyapatite được tính toán bằng phương trình Scherrer từ đỉnh mạnh nhất ở giá trị 2θ là 31.6° , cho kết quả kích thước là 4.6, 5.1, 5.2, 5.3, và 7.00 nm lần lượt cho xương bò thô và xương được nung ở 300, 500, 650, và 800°C . Hình 3.15c cho thấy đường đẳng nhiệt hấp phụ/giải hấp N_2 của hydroxyapatite thu được tuân theo đường đẳng nhiệt loại III (type III isotherm). Diện tích bề mặt tăng theo nhiệt độ và thay đổi nhẹ giữa 500-650 $^\circ\text{C}$ (19.7; 120.5; 119.7; và 7.5 m^2/g lần lượt tại nhiệt độ nung 300 $^\circ\text{C}$, 500 $^\circ\text{C}$, 650 $^\circ\text{C}$ và 800 $^\circ\text{C}$). Hình 3.15d minh họa phổ EDX của xương bò được nung ở 500 $^\circ\text{C}$, cho thấy tỷ lệ phần trăm nguyên tử của từng nguyên tố, trong đó tỷ lệ phần trăm đối với C, O, Na, Mg, P, và Ca lần lượt là 18.63%, 53.01%, 0.62%, 0.34%, 10.36.1%, và 17.05%. Tỷ lệ hợp thức Ca/P cho apatite là $10/6 \approx 1.66$. Tỷ lệ mol Ca/P được tìm thấy xấp xỉ 1.45%, điều này phù hợp với tài liệu khoa học [145, 146], Cho thấy rằng apatite hiện tại là một khoáng chất giàu P hoặc hydroxyapatite thiếu canxi với một cấu trúc lỏng lẻo do sự lệch lạc khỏi cấu trúc hợp thức, điều này được kỳ vọng sẽ thúc đẩy độ hòa tan của P nhằm tăng cường hiệu quả phân lân [112].

Hình 3.16 trình bày các quan sát SEM của xương bò thô và xương bò được nung ở 300, 500, 650, và 800 $^\circ\text{C}$. Hình thái của chúng khác nhau tùy thuộc vào nhiệt độ nung. Xương thô thể hiện hình thái bề mặt thô ráp, không đồng đều, và sự hiện diện của các lỗ xốp (pores) trên bề mặt có hình dạng không đồng nhất (Hình 3.16a). Xương bò được nung ở nhiệt độ thấp (300 và 500 $^\circ\text{C}$) cho thấy hình thái giống hình kim (needle-like morphology) chứa các hạt nano có kích thước xấp xỉ 5 x 50 nm (Hình 3.16b, c). Quá trình tổng hợp ở nhiệt độ thấp tạo ra các hạt nhỏ hơn, dài hơn và không đều với các ranh giới kém rõ ràng hơn. Sự chuyển đổi từ hình thái không đều sang đều đặn, cùng với sự tăng nhiệt độ

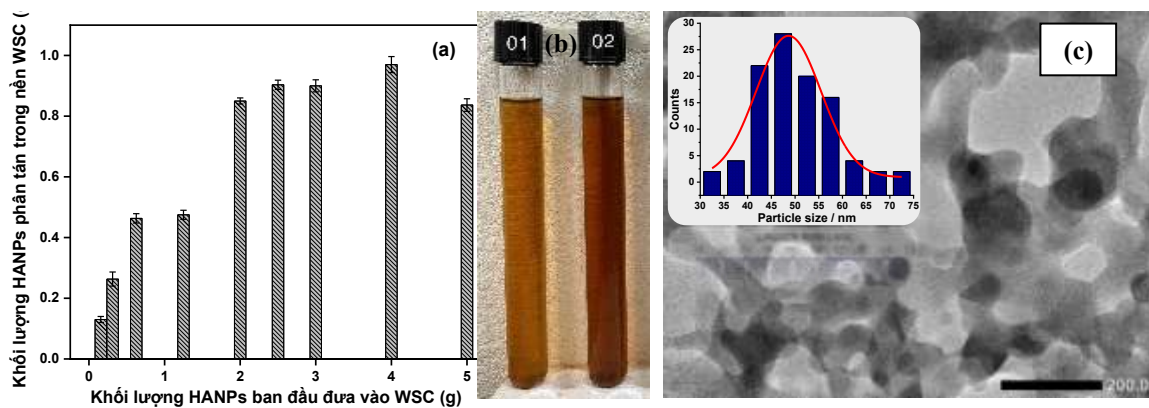
phản ứng, tương ứng với sự tăng độ kết tinh của các tinh thể hydroxyapatite thể hiện rõ trong phân tích XRD. Hình thái của xương bò được nung ở 650 °C bao gồm các đĩa hình lục giác với các ranh giới rõ rệt, kích thước khoảng 50 nm (Hình 3.16d). Tuy nhiên, ở nhiệt độ nung cao hơn là 800 °C, các hạt hydroxyapatite đã bị thiêu kết, trở nên không đều và lớn hơn, nằm trong khoảng từ 40 đến 400 nm (Hình 3.16e).



Hình 3.16. Quan sát SEM của: a) Xương bò thô ; và b) Hydrochar xương bò được nung ở 300 °C, c) 500 °C, d) 650 °C, và e) 800 °C

Trong các thử nghiệm ban đầu, nhiệt độ nung hydroxyapatite càng cao, khả năng hình thành huyền phù ổn định với các HEs (Humic Extracts) càng thấp. Thử nghiệm ban đầu cũng chỉ ra rằng phân bón nano-P được chế tạo từ xương bò nung ở 500 °C cho cây dưa lưới 30 ngày tuổi đã tăng cường cả chiều dài quả và chu vi quả nhiều hơn so với các phương pháp xử lý khác. Xương bò được nung ở 500 °C trong 3 giờ (HANPs), với diện tích bề mặt cao và kích thước xấp xỉ 10 x 50 nm, đã được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2.3. Đặc trưng hóa HANPs/WSC (hạt nano hydroxyapatite/Chitosan tan trong nước) và Phân bón Nano-P

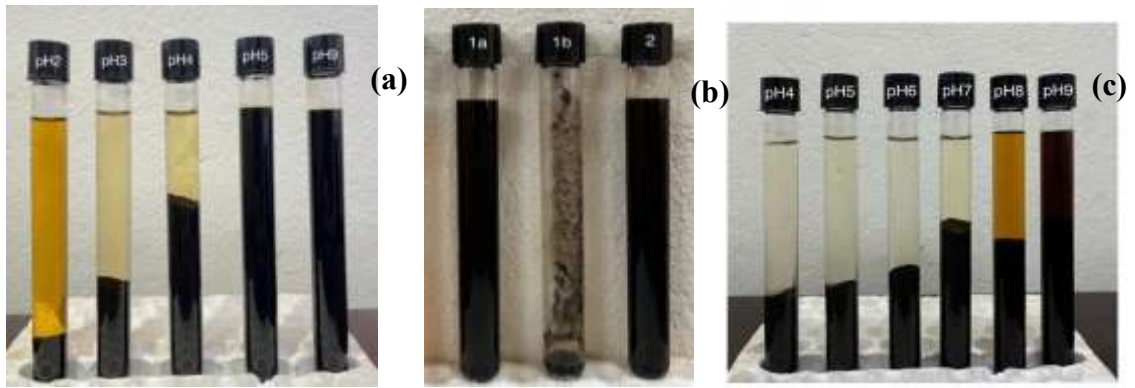


Hình 3.17. a) Mối quan hệ giữa lượng HANPs ban đầu và lượng HANPs phân tán (dispersed) trong WSC; b) Dung dịch chitosan tan trong nước (01) và huyền phù HANPs được ổn định bằng WSC (02); và c) Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) của HANPs được ổn định bằng WSC (100 mL dung dịch 20 g.L⁻¹), và hình ảnh thu nhỏ trình bày phân bố kích thước hạt HANPs trong HANPs được ổn định bằng WSC

Lượng HANPs phân tán trong WSC phụ thuộc đáng kể vào lượng HANPs ban đầu (Hình 3.17a). Hình 3.17b trình bày hình ảnh kỹ thuật số của WSC và HANPs được ổn định bằng WSC. WSC xuất hiện dưới dạng một dung dịch màu nâu nhạt trong suốt (xem ống (01) trong hình thu nhỏ). Các hạt nano HANPs được phân tán tốt (well dispersed) trong WSC (xem ống (02) trong hình thu nhỏ). Hỗn hợp HANPs và WSC ở 50 °C trở thành một dung dịch màu nâu sẫm hơn và trong suốt (transparent). Đáng chú ý, nó duy trì sự

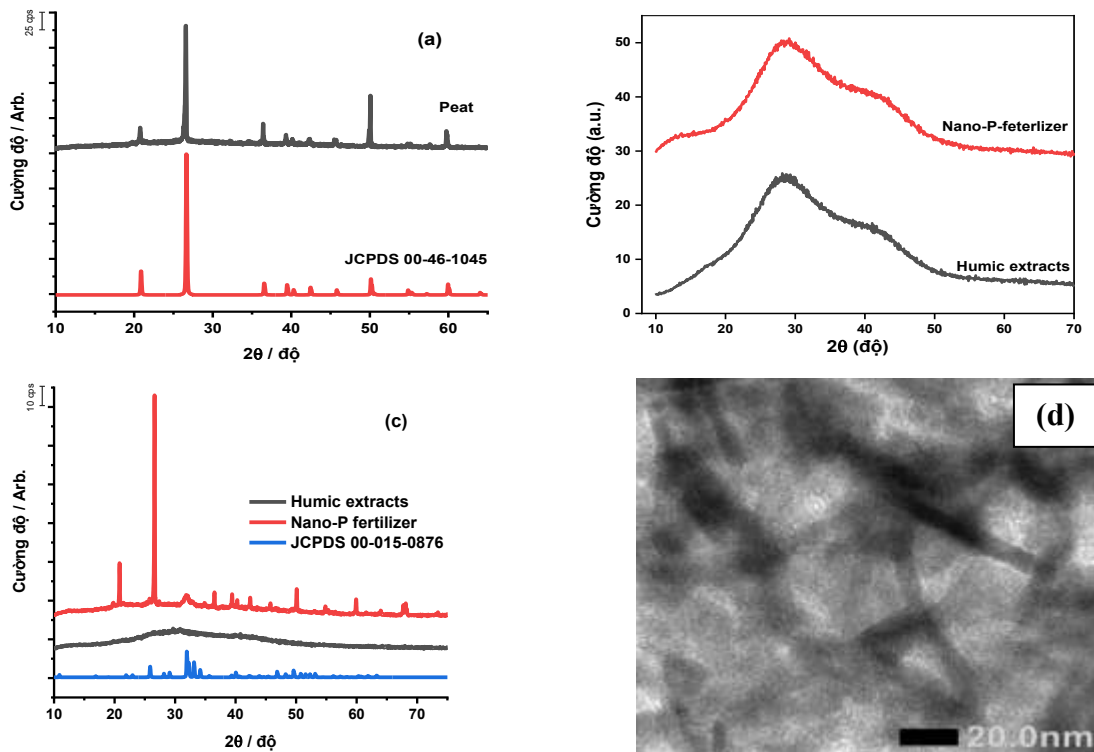
ổn định trong vài tháng (ống (02)). Nồng độ HANPs trong huyền phù tăng khi lượng HANPs ban đầu tăng, đạt đỉnh ở 4 g.L^{-1} , và sau đó giảm khi lượng HANPs tiếp tục tăng. Các nhóm amino bị proton hóa trên WSC liên kết với các nhóm anion của phosphate, dẫn đến việc mỗi HANPs được bao quanh bởi một lớp chitosan, điều này ngăn chặn chúng kết tụ. Tuy nhiên, ở nồng độ HANPs cao, HANPs hình thành các hạt kết khối nặng, dẫn đến lắng đọng. Hình 3.17c cho thấy ảnh HR-TEM của HANPs được ổn định bằng WSC, là một huyền phù HANPs được phủ WSC trên bề mặt. Các HANPs trong vật liệu composite bao gồm các tinh thể nano kích thước phân tán. Hình thu nhỏ của Hình 3.17c trình bày phân bố kích thước hạt dựa trên đo trong 100 hạt, cho thấy kích thước hạt trung bình là $49.7 \pm 7.2 \text{ nm}$."

Sự lắng đọng của huyền phù là rất quan trọng để sản xuất phân bón nano-P ở dạng huyền phù. Độ ổn định của huyền phù chủ yếu phụ thuộc vào pH của môi trường. Sự lắng đọng xảy ra ở pH thấp do sự hình thành humic acid không hòa tan. Đối với HEs (chiết xuất humic), sự lắng đọng xảy ra ở mức pH dưới 5, trong khi các huyền phù này duy trì gần như ổn định trong phạm vi pH từ 5–11 hoặc trong môi trường kiềm (Hình 3.18a). Do đó, HEs với pH bằng 6 được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo. Thách thức là phân tán HANPs đồng đều bên trong các nền humic. Người ta nhận thấy rằng huyền phù HANPs/HEs là không ổn định, với phần rắn tách ra khỏi HANPs/HEs trong vòng 2 ngày (Hình 3.18b (1a và 1b)). Ngược lại, hỗn hợp của HEs và HANPs được ổn định bằng WSC cho thấy một huyền phù màu đen duy trì ổn định trong vài tháng mà không có nhiều kết tủa (Hình 3.18b (2)). Điều này có khả năng là do chitosan tan trong nước hoạt động như một cầu nối (bridge) liên kết các phân tử hydroxyapatite với các chất humic thông qua liên kết hydrogen, $-\text{NH}_2-\text{OOC}$ và tương tác $\pi-\pi$, giúp cải thiện đáng kể độ ổn định của huyền phù.



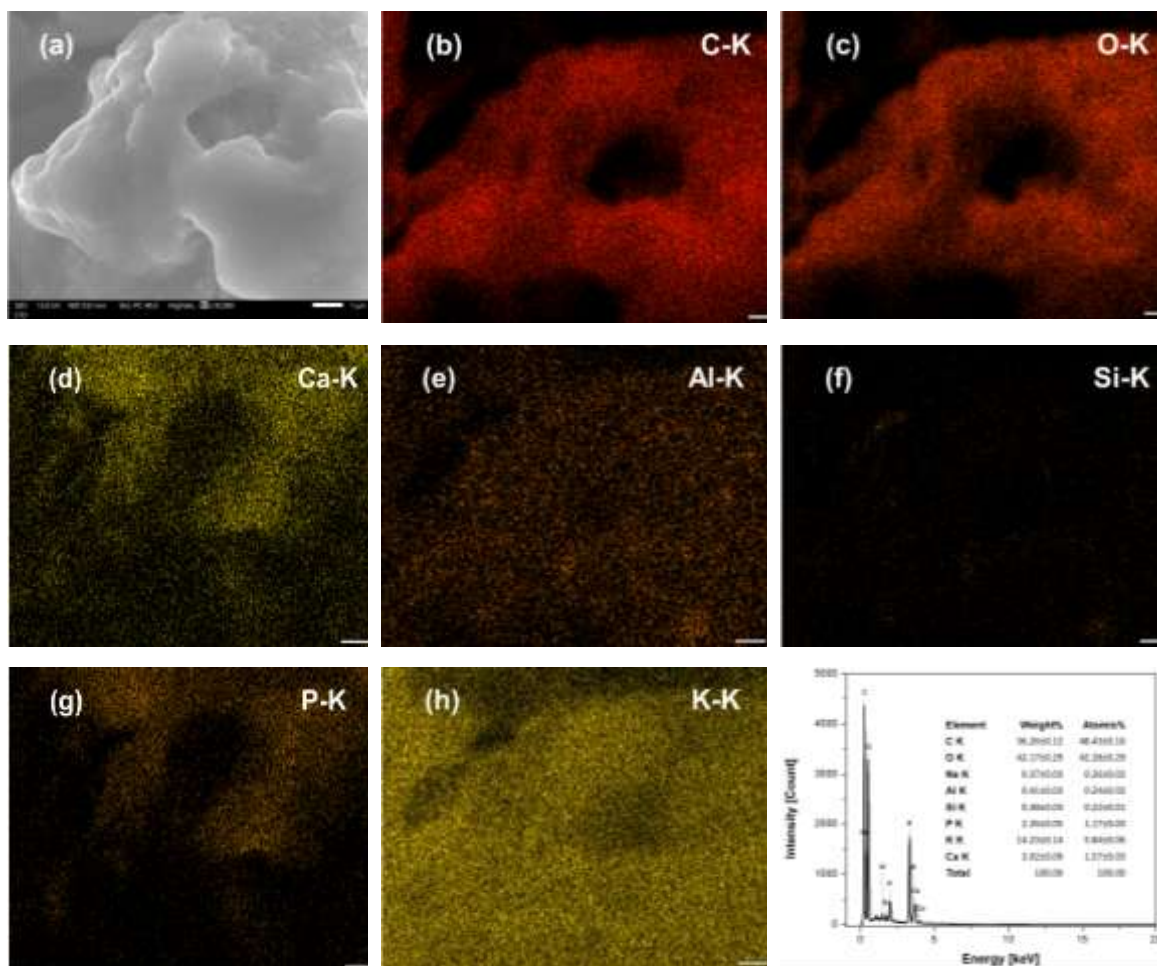
Hình 3.18. a) Ảnh hưởng của pH lên sự lắng đọng của HEs (Chiết xuất Humic), b) Hỗn hợp HANPs và HEs (1); phần rắn tách ra từ HANPs/HEs sau 2 ngày (2), c) Hỗn hợp HANPs được ổn định bằng WSC và HEs với tỷ lệ thể tích 3/7 ở các mức pH khác nhau

Một hỗn hợp HANPs được ổn định bằng WSC và HEs theo tỷ lệ thể tích 3/5 với các mức pH khác nhau đã được thực hiện. Các phân bón nano-P trở nên ổn định không có sự lắng đọng ở pH > 9, như thể hiện trong Hình 3.18c.



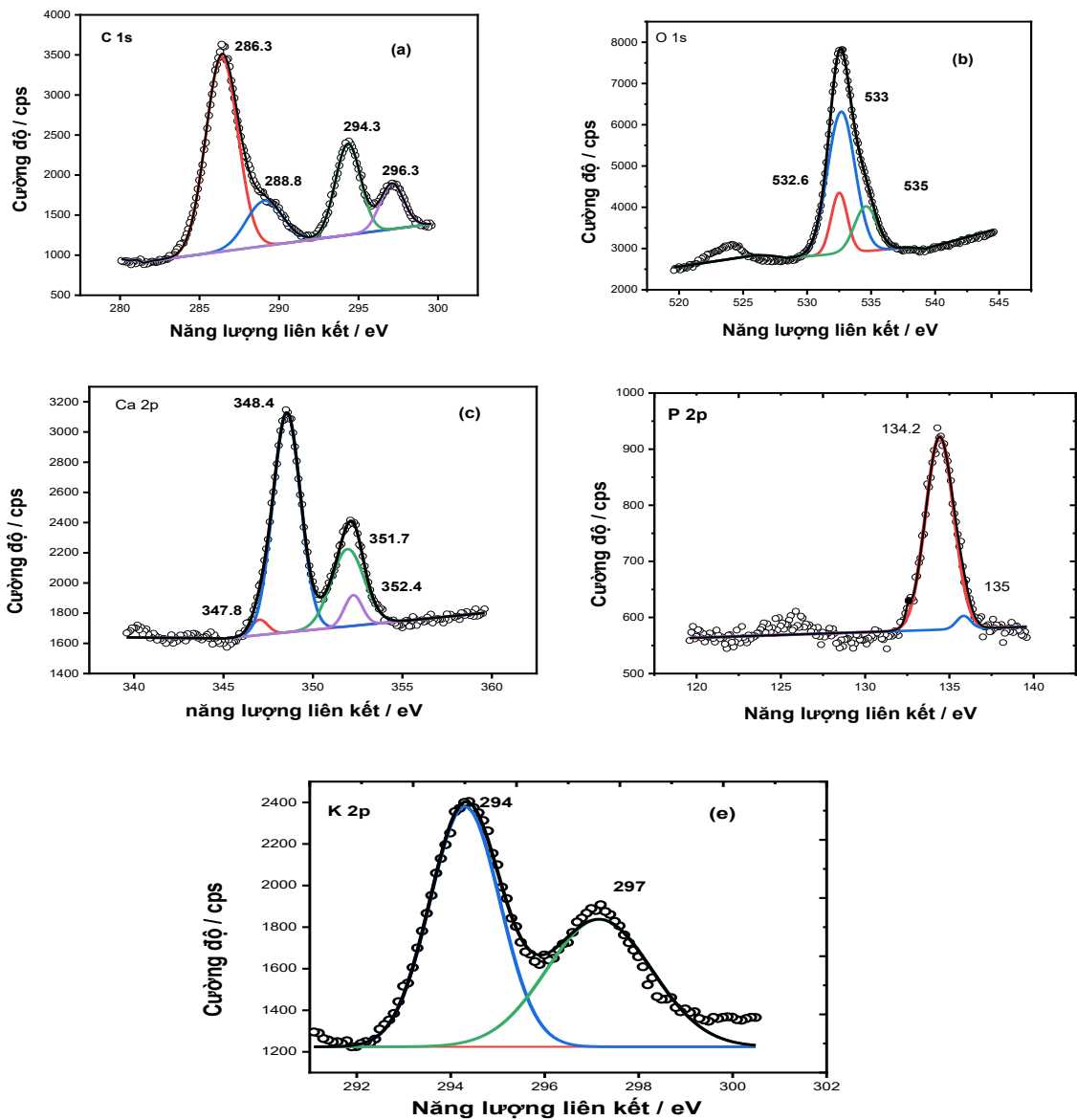
Hình 3.19. Phổ nhiễu xạ tia X của: a) Than bùn (peat), b) HEs (Chiết xuất Humic) và HANPs được ổn định bằng WSC/HEs (3/7) ở dạng huyền phù, c) HEs và HANPs được ổn định bằng WSC/HEs (3/7) ở dạng rắn và d) Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) của HEs và HANPs được ổn định bằng WSC/HEs (3/7)

Các phổ nhiễu xạ tia X của than bùn và các vật liệu dựa trên HE được trình bày trong Hình 3.19. Như có thể thấy, các mẫu nhiễu xạ của than bùn có các đỉnh đặc trưng của SiO₂ (quartz - thạch anh) tại các góc 2θ là 20.7; 26.6; 36.4; 39.3; 40.2; 42.3; 45.5; 50.0; 54.9; 57.6 và 59.6 °, được lập chỉ mục là (100), (101), (110), (102), (111), (200), (201), (112), (202), (210) và (211) theo JCPDS 00-46-1045 (Hình 3.19a). Quartz là thành phần chính thường cùng tồn tại (co-exists) với than bùn. Các phổ XRD của HEs và phân bón nano-P ở dạng huyền phù gần như giống hệt nhau (Hình 3.19b). Mỗi phổ XRD đều thể hiện hai đỉnh rộng nằm ở góc 2θ khoảng ~22 và ~42 độ, được gán cho các mặt nhiễu xạ (002) và (100) của cấu trúc graphit (JCPDS 00-056-0159). Các chất humic cũng được cấu tạo từ các lớp graphit. Do đó, phổ XRD giống hệt với phổ của than hoạt tính. Mặt khác, các phổ XRD của HEs và phân bón nano-P ở dạng rắn xuất hiện các đỉnh nằm ở 31.8; 39.3; 40.2; 42.4 và 49.8 °, thuộc các mặt nhiễu xạ (211), (212), (310), (302), (213) của hydroxyapatite, cho thấy sự hình thành vật liệu composite hydroxyapatite/chất humic (Hình 3.19c). Các đỉnh đặc trưng của quartz đã không được quan sát, cho thấy silica chủ yếu đã bị loại bỏ trong quá trình chuẩn bị HEs. Các nano hydroxyapatite với đường kính 5-30 nm đã phân tán tốt trong khuôn nền WSC, như thể hiện trong Hình 3.19d.



Hình 3.20. Phân tích X-quang tán sắc năng lượng - Lập bản đồ nguyên tố của vật liệu composite

Hình 3.20. Trình bày lập bản đồ EDX của vật liệu composite. Các nguyên tố chính, như kali, canxi, phot pho và carbon, đã được quan sát như dự kiến. Một số nguyên tố khác, như natri, nhôm và silica, có thể có sẵn trong than bùn hoặc xương bò. Nguyên tố nitơ cũng không được phát hiện, mặc dù nó có mặt trong các nhóm amin của WSC. Phân tích hóa học nguyên tố đã chứng minh rằng tỷ lệ mol Ca/P trong vật liệu composite là bằng 1.34. Giá trị này gần với thành phần ban đầu (initial composition) của nó (Ca/P=1.45). Hơn nữa, những hình ảnh này xác nhận rằng các nguyên tố có sự phân tán đồng nhất.



Hình 3.21. Phổ XPS (XPS) ở độ phân giải năng lượng cao trên phân bón nano-P tại nhiệt độ phòng, hiển thị: a) Các đỉnh C 1s, b) O 1s, c) Ca 2p, d) P 2p, e) K 2p và các đỉnh phù hợp tương ứng

Việc phù hợp phổ C 1s XPS độ phân giải cao (Hình 3.21a) trình bày bốn đỉnh trong HEs (Chiết xuất Humic), cụ thể là: Carbon lai hóa sp² trong C–C tại 286.3 eV, C–O tại 288.8 eV, C=O tại 294.3 eV, và các nhóm COO (carboxyl) tại 296.3 eV [147]. Trong Hình 3.21b, vùng O 1s đã được giải chấp với ba đỉnh tập trung tại 535 eV cho năng lượng uốn cong oxy từ các nhóm photphat (PO₄)₃ và nhóm OH⁻ của cấu trúc hydroxyapatite; tại 533 eV, được đóng góp bởi các

nguyên tử oxy của nước hấp phụ trên bề mặt hydroxyapatite và, tại năng lượng uôn cong 532.6 eV được đóng góp bởi các liên kết oxy với nguyên tử canxi trên lớp phủ [148, 149]. Đỉnh Ca $2p_{3/2}$ đã được phù hợp (fitted) với hai đỉnh như quan sát thấy trong Hình 3.21c: (i) tại 347.8 eV, được nhận dạng là các liên kết Ca đặc trưng của hydroxyapatite và sự liên kết canxi với carbonat do các loài carbon hấp phụ từ không khí; (ii) và tại 344.9 eV, được đóng góp bởi sự hiện diện của Ca kim loại (metallic Ca) trong cấu trúc bề mặt [148, 150]. Phổ P_{2p} (Hình 3.21d) đã được giải chập thành $P 2p_{3/2}$ và $P 2p_{1/2}$ tập trung lần lượt tại 134.2 eV và 135 eV, được quy cho là các liên kết P-O của hydroxyapatite [148]. Phổ K 2p trình bày một bộ đôi (doublet) điển hình với các năng lượng liên kết (binding energies) là 294 eV ($K2p_{3/2}$) và 297 eV ($K2p_{1/2}$), được gán cho K^+ (Hình 3.21e) [151]. Nguyên tố nitơ trong WSC không được tìm thấy trong phân tích EDX và XPS. Có thể là lượng nitơ quá nhỏ hoặc đã bị phân hủy do ảnh hưởng của chùm điện tử trong quá trình đo EDX hoặc XPS.

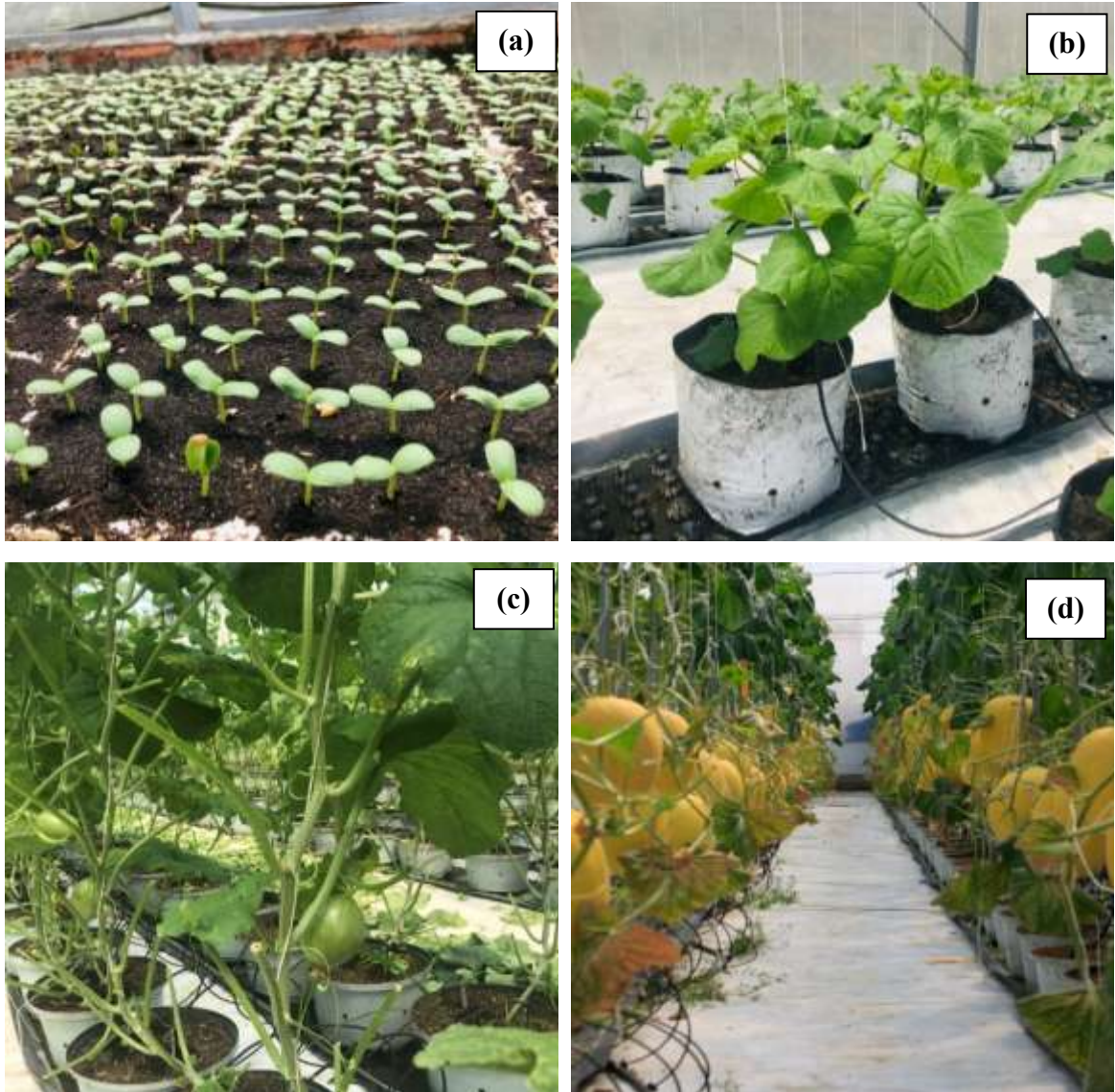
3.3. ỨNG DỤNG PHÂN NANO-P VÀO MỘT SỐ CÂY NÔNG NGHIỆP

3.3.1. Ảnh hưởng của phân bón nano-P lên sự sinh trưởng và năng suất của dưa lưới

Hạt giống dưa lưới đã nảy mầm trong 10 ngày (Hình 3.22a). Sau 10 ngày, các cây đã được tách ra và trồng trong các chậu nhựa riêng lẻ, mỗi chậu một cây (Hình 3.22b). Chúng ra hoa 10 đến 15 ngày sau khi tách và được thụ phấn (pollinated) vào ngày 19 đến 22; các quả được thiết lập thành công đã được loại bỏ vào ngày 25 đến 26, chỉ để lại một quả trên mỗi cây (Hình 3.22c). Quả dưa lưới đã sẵn sàng để thu hoạch (harvest) sau 70 đến 75 ngày (Hình 3.22d). Tất cả các loại phân bón ở dạng huyền phù được bón trực tiếp vào rễ cây thông qua một hệ thống tưới tự động. Các cây được bón phân khi chúng phát triển riêng biệt trong chậu.

Ảnh hưởng của phân bón nano-P lên trọng lượng quả, tổng lượng đường, và năng lượng trong quả đã được nghiên cứu. Chlorpyrifos là một loại thuốc trừ sâu organophosphate được sử dụng trên cây trồng. Vì hydroxyapatite nổi tiếng với khả năng cố định kim loại nặng mạnh mẽ như Hg và Cd, nên các chất này cũng là mối

quan tâm liên quan đến dư lượng trong dưa lưới. Các kết quả cho thấy chất này không được phát hiện trong dưa lưới ở cả các mẫu đối chứng và mẫu được xử lý bằng phân bón, cho thấy sản phẩm tiêu dùng là an toàn (Bảng 3.4).



Hình 3.22. a) Cây dưa lưới (*Cantaloupe plants*) mọc từ hạt nảy mầm (*germinating seeds*) được 3 ngày tuổi, b) Sau 10 ngày, chúng được tách ra và trồng trong chậu nhựa, c) Cây dưa lưới sau khi loại bỏ quả, chỉ để lại một quả duy nhất, d) Cây dưa lưới sẵn sàng để thu hoạch được trồng theo công thức thông thường (*regular formula*) có áp dụng phân bón nano-P

Bảng 3.4. Phân tích hàm lượng một số chất độc hại trong dưa lưới.

Phân bón	Tiêu chí	Đơn vị	Kết quả
Phân bón Nano-P (Nano-P-Fertilizer)	Cd (Cadmium)	mg/kg	Không phát hiện (LOD:4.0×10 ⁻³)
	Hg (Thủy ngân)	mg/kg	Không phát hiện (LOD:4.0×10 ⁻³)
	Chlorpyrifos	mg/kg	Không phát hiện (LOD:4.0×10 ⁻³)
Đối chứng	Cd (Cadmium)	mg/kg	Không phát hiện (LOD:4.0×10 ⁻³)
	Hg (Thủy ngân)	mg/kg	Không phát hiện (LOD:4.0×10 ⁻³)
	Chlorpyrifos	mg/kg	Không phát hiện (LOD:4.0×10 ⁻³)

LOD: Giới hạn phát hiện

Bảng 3.4 trình bày đặc trưng vật lý và hóa học (physical and chemical characterization) của dưa lưới sử dụng các loại phân bón khác nhau. Các biến độc lập (independent variables) bao gồm bốn phương pháp xử lý: phân bón trang trại thông thường (nhóm đối chứng), phân bón thông thường được bổ sung với HEs, HANPs/WSC, và phân bón nano-P. Các biến phụ thuộc là tổng lượng đường, năng lượng, sinh khối khô và khối lượng quả. Một phân tích phương sai một chiều (ANOVA) đã được thực hiện để đánh giá mối quan hệ giữa tổng lượng đường, năng lượng, sinh khối khô và khối lượng quả với các phương pháp xử lý khác nhau. Kết quả ANOVA là có ý nghĩa (significant): $F(3,36)=16.7, p<0.001$ cho mối quan hệ giữa trọng lượng quả và các phương pháp xử lý; $F(3,36)=108.7, p<0.001$ cho mối quan hệ giữa sinh khối khô và các phương pháp xử lý; $F(3,16)=449, p<0.001$ cho mối quan hệ giữa năng lượng và các phương pháp xử lý; và $F(3,16)=68.6, p<0.001$ cho mối quan hệ giữa tổng lượng đường và các phương pháp xử lý. Các thử nghiệm tiếp theo (thử nghiệm LSD) đã được tiến hành để đánh giá sự khác biệt cặp đôi giữa các giá trị trung bình. Kết quả chỉ ra rằng các cây được bổ sung phân bón nano-P, HANPs/WSC,

hoặc HEs đã tác động tích cực đáng kể đến hàm lượng đường, năng lượng, và trọng lượng quả so với việc bón phân thông thường. Đáng chú ý, trọng lượng quả trung bình (kg) với phân bón nano-P là 2.2 ± 0.4 , cao hơn khoảng 22% so với nhóm đối chứng là 1.8 ± 0.3 ($p < 0.001$). Có sự tăng đáng kể về trọng lượng quả đối với các cây được cung cấp HANPs/WSC (2.1 ± 0.2) hoặc HEs (2 ± 0.3). Điều thú vị là, việc áp dụng phân bón nano-P đã thúc đẩy tăng trưởng nhiều hơn so với HEs hoặc HANPs/WSC, được hỗ trợ bởi sinh khối khô cao nhất (phần trên mặt đất và rễ) so với các phương pháp khác (Bảng 3.4). Ví dụ, khối lượng sinh khối khô (grams) cho cây được xử lý bằng phân bón nano-P là 63.7 ± 6.7 , so với 56.7 ± 6.7 (HANPs/WSC, $p = 0.006$), 55.3 ± 10.2 (HEs, $p = 0.001$), và 46.9 ± 4.9 (control, $p < 0.001$). Tương tự, tổng lượng đường (g/100g) cao nhất trong xử lý phân bón nano-P là 7.89 ± 0.79 , so với 5.96 ± 0.51 cho nhóm đối chứng ($p < 0.001$), và 6.40 ± 0.69 cho mẫu HANPs/WSC ($p = 0.003$); 6.37 ± 0.65 cho mẫu HEs ($p = 0.002$). Ngoài ra, việc áp dụng phân bón nano-P đã mang lại quả dưa lưới với hàm lượng năng lượng (Kcal/100 g) cao hơn là 36.0 ± 3.6 , so với nhóm đối chứng (27.3 ± 2.3) và các loại phân bón riêng lẻ (28.6 ± 2.9 cho HEs và 28.9 ± 0.8 cho HANPs/WSC) (Bảng 3.4).

Cả HEs và HANPs/WSC đều ảnh hưởng tích cực đến các thông số tăng trưởng của cây. Tuy nhiên, sự kết hợp của hai thành phần này đã có tác dụng mạnh mẽ hơn. Do đó, nghiên cứu nhà kính kéo dài 75 ngày đã chứng minh rằng việc áp dụng phân bón nano-P như một loại phân bón P mới đã tăng tốc độ tăng trưởng và sản xuất sinh khối (biomass production) của dưa lưới. Thử nghiệm này chỉ ra rằng phân bón nano-P có thể đóng vai trò là một nguồn P hiệu quả tương tự như các loại phân bón P hòa tan thông thường, và cây trồng có thể hấp thụ các chất dinh dưỡng P từ công thức hạt nano. Dựa trên tài liệu khoa học, P từ HANPs không được hấp thụ trực tiếp dưới dạng các hạt nano nguyên vẹn (intact nanoparticles). Thay vào đó, cây trồng (và vi sinh vật) phụ thuộc vào sự hòa tan (solubilization) để giải phóng các ion photphat (PO_4^{3-}) trước khi hấp

thụ. Sự hòa tan P xảy ra thông qua các quá trình phi sinh học (abiotic) (ví dụ: bị điều khiển bởi pH) [152] hoặc các cơ chế sinh học [153]. Tuy nhiên, các nghiên cứu hệ thống chuyên sâu hơn (further systematic studies) là cần thiết để làm sáng tỏ cơ chế cây trồng hấp thụ HANPs như một nguồn dinh dưỡng. Thời gian lưu giữ của nanohydroxyapatite trong môi trường xốp (porous medium) có thể vượt quá thời gian lưu giữ của phosphate hòa tan, do đó cung cấp nhiều P hơn cho cây trồng so với phosphate hòa tan. Mặc dù HANPs có thể ít bị ảnh hưởng hơn bởi pH của dung dịch và duy trì sự ổn định tương đối trong nền humic, sẽ có nhiều P sẵn có hơn trong môi trường sinh trưởng để rễ cây hấp thụ khi sử dụng nanohydroxyapatite. Ngoài ra, các chất humic còn có chức năng là chất dinh dưỡng và chất mang P, giúp cải thiện cấu trúc đất.

Bảng 3.5. Thống kê mô tả hàm lượng một số chất hữu cơ và đặc điểm của cây dưa lưới

Phân bón	Tổng lượng đường (N=5)		Năng lượng (N=5)		Sinh khối khô (N=20)		Khối lượng quả (N=20)	
	M (mg/100g)	SD	M (Kcal/100g)	SD	M (g/cây)	SD	M (kg/quả)	SD
Nano-P	7.89	0.79	36.0	3.6	63.7	9.10	2.2	0.4
HEs	6.37	0.65	28.6	2.9	55.3	10.20	2.0	0.3
HANPs/WSC	6.40	0.69	28.9	0.8	56.7	6.70	2.1	0.2
CDối chứng	5.96	0.51	27.3	2.3	46.9	4.90	1.8	0.3

*SD: Độ lệch chuẩn

Phân bón Nano-P đã được phát triển, bao gồm HANPs (hạt nano hydroxyapatite) được ổn định bằng chitosan tan trong nước và các chất humic (humic substances) được chiết xuất từ than bùn. Các HANPs, với đường kính xấp xỉ 5-30 nm, được phân tán hiệu quả và bền vững trong chiết xuất humic bằng cách sử dụng chitosan tan trong nước như một chất tạo huyền phù. Loại

phân bón này cải thiện đáng kể chất lượng dưa lưới về mặt tổng lượng đường, trọng lượng quả và năng lượng so với các mẫu đối chứng. Việc sử dụng HANPs và HEs như một dạng phân bón phát pho mới có thể tăng cường năng suất cây trồng đồng thời giảm thiểu rủi ro phú dưỡng hóa nguồn nước. Cách tiếp cận này mở ra cánh cửa cho việc tạo ra phân bón nano vi oxide thông qua cầu nối chitosan liên kết các oxide này với các chất humic. Nghiên cứu trong tương lai nên tập trung vào các thử nghiệm thực địa dài hạn, cơ chế tương tác giữa HANPs và đất, cùng với ảnh hưởng của chúng đến hoạt động của vi sinh vật và enzyme.

3.3.2. Ứng dụng phân lân vào cây lạc

Phân bón nano điều chế đã ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây lạc gồm thời gian mọc mầm, cành cấp 1, ra hoa; thời gian sinh trưởng; sự phát triển của sâu bệnh và năng suất của cây lạc.



Hình 3.23. Khảo sát ở điều kiện thực tế

Ảnh hưởng của phân điều chế đến thời gian sinh trưởng



Hình 3.24. Các giai đoạn sinh trưởng của cây.

Cây lạc bón phân điều chế có sự thay đổi về thời gian sinh trưởng so với cây lạc đối chứng được trình bày Bảng 3.6. Thừa có dùng phân lân nano được kí hiệu TN, thừa đối chứng kí hiệu là ĐC

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của phân điều chế đến một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây

Chỉ tiêu	ĐC	TN	Giá trị kiểm định (T)	Bậc tự do (Df)	Giá trị p
Chiều cao	12,94 ± 0,56 cm	13,68 ± 0,62 cm	-0,88	358	0,381
Lá	5,04 ± 0,13	5,48 ± 0,14	-2,29	358	0,023
Hoa	3,24 ± 0,25	3,75 ± 0,28	-1,35	238	0,178
Cành cấp 1	3,03 ± 0,13	3,43 ± 0,14	-2,1	358	0,037
Cành cấp 2	1,00 ± 0,08	1,00 ± 0,1	-1,56	346,77	0,119
Chiều dài cành	7,26 ± 0,39 cm	7,73 ± 0,42 cm	-0,82	358	0,415
Nốt sần	30,73 ± 1,33	30,00 ± 1,44	0,37	28	0,712

Từ bảng 3.6 ta có thể thấy như sau: Cây lạc ở thửa thí nghiệm có chiều cao trung bình lớn ($13,68 \pm 0,62$ cm) so với cây lạc ở thửa đối chứng ($12,94 \pm 0,56$ cm), tuy nhiên không có sự khác biệt thống kê ($t(358) = -0.88, p = 0,381 > 0,05$). Điều đó cho thấy các chỉ tiêu này bị ảnh hưởng mạnh bởi điều kiện đất và giống đậu. Đối với chỉ tiêu chiều dài cành, cây được bón phân đạt trung bình $7,73 \pm 0,42$ cm, cao hơn không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($7,26 \pm 0,39$ cm) ($t(358) = -0.82, p = 0,415$). Theo Minh và cộng sự [26] thì chiều cao, chiều dài cành phụ thuộc chủ yếu vào loại giống đậu. Đối với chỉ tiêu số lá, cây được bón phân đạt trung bình $5,48 \pm 0,14$, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($5,04 \pm 0,13$) ($t(358) = -2,36, p = 0,023 < 0,05$). Điều này chứng tỏ rằng việc bổ sung dinh dưỡng giúp tăng cường sinh trưởng bộ lá, góp phần nâng cao khả năng quang hợp, cải thiện sự phát triển tổng thể của cây. Đối với chỉ tiêu số hoa, số hoa cũng tăng ở các thửa TN cho thấy hiệu quả nhưng không thấy sự khác biệt thống kê ($t(238) = -1,35, p = 0,178 > 0,05$). Đáng chú ý là, số cành cấp 1 ở cây được bón phân cũng tăng đáng kể có ý nghĩa thống kê, đạt $3,43 \pm 0,14$ so với $3,03 \pm 0,13$ ở đối chứng, ($t(358) = -2,1, p = 0,037 < 0,05$). Sự gia tăng này cho thấy phân bón không chỉ thúc đẩy phát triển sinh khối mà còn có tác dụng kích thích cây phân cành cấp 1, giúp bộ tán phát triển đều và mở rộng, có lợi cho khả năng hấp thu ánh sáng và trao đổi khí. Đối với chỉ tiêu số cành cấp 2, cây được bón phân đạt $1,00 \pm 0,1$ cao hơn so với đối chứng $1,00 \pm 0,08$, ($t(346) = -1,56, p = 0,119$) cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tương tự đối với chỉ tiêu số nốt sần, cây được sử dụng phân nano điều chế đạt $30,00 \pm 1,44$ không có sự khác biệt so với mẫu đối chứng $30,73 \pm 1,33$ ($t(28) = 0,37, p = 0,712 (p > 0,05)$), cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, số lượng nốt sần không hữu hiệu giảm từ 147 còn 137. Điều đó cho thấy khi sử dụng phân bón tuy số lượng nốt sần không cao nhưng

chất lượng hơn. Như vậy, khi bón phân nano điều chế đã ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây lạc là gia tăng số lá và số cành cấp 1 so với cây lạc khi không sử dụng phân (ĐC).

Ảnh hưởng của phân điều chế đến sâu bệnh của cây lạc. Cây lạc được cấp bệnh sâu khoang trên cây lạc ĐC và TN như Hình 3.25.



Hình 3.25. Cây bị sâu bệnh

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của phân điều chế đến tình trạng sâu, bệnh

Chỉ tiêu	ĐC	TN	t	Df	Giá trị p
Sâu	$6,34 \pm 0,36$	$4,67 \pm 0,22$	3,95	298,7	0,000
Bệnh	$5,93 \pm 0,83$	$4,97 \pm 0,62$	0,93	58	0,355

Bảng 3.7 thể hiện ảnh hưởng điều chế đến tình trạng sâu bệnh của cây lạc như sau: Đối với tình trạng sâu bệnh ở cây lạc ở thửa đối chứng ($6,34 \pm 0,22$) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với thửa thí nghiệm ($4,67 \pm 0,22$) với $t(298,7) = 3,95$, $p = 0,000 < 0,05$ cho thấy phân lân nano hữu cơ giúp giảm và ổn định tình trạng sâu hại. Đối với chỉ tiêu cây bị bệnh sử dụng phân bón ($4,97 \pm 0,62$) không khác biệt so với đối chứng đối chứng $5,93 \pm 0,83$ với $t(58) = 0,93$, $p = 0,355 > 0,05$.

Từ những kết quả trên, có thể kết luận rằng việc sử dụng phân lân hữu cơ, không chỉ có vai trò cung cấp dinh dưỡng đơn thuần mà còn có thể hỗ trợ cây trồng nâng cao sức đề kháng tự nhiên, giảm nguy cơ sâu. Điều này rất quan trọng trong bối cảnh hiện nay, khi nông nghiệp hướng đến giảm sử dụng thuốc BVTV hóa học, gia tăng sản xuất bền vững và an toàn sinh học cho con người và môi trường.

Ảnh hưởng của phân điều chế đến năng suất cây lạc

Cây lạc bón phân điều chế có sự thay đổi về năng suất đậu quả, số lượng quả chắc, khối lượng 100 hạt (P 100 hạt), số lượng quả khô so với cây lạc đối chứng được trình bày Bảng 3.8 và Hình 3.26 như sau:



Hình 3.26. Lạc sau khi thu hoạch.

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của phân điều chế đến năng suất cây lạc

Chỉ tiêu	ĐC	TN	t	Df	Giá trị p
Quả	14,93 ± 0,36	17,13 ± 0,41	-4,05	58	0,000
Quả chắc	13,07 ± 0,32	15,07 ± 0,38	-4,05	58	0,000
P 100 hạt	50,17 ± 0,30 g	57,53 ± 0,38 g	-15,08	58	0,000
Quả khô	11,4 ± 0,28	13,13 ± 0,29	-4,34	58	0,000

Từ Bảng 3.8, số quả trung bình/cây khi sử dụng phân bón đạt $17,13 \pm 0,36$, cao hơn đáng kể so với đối chứng $14,93 \pm 0,36$ ($t(58) = -4,05$, $p < 0,001$). Việc bón phân đã làm tăng năng suất của lạc lên 14,74 %. Số quả chắc $13,07 \pm 0,32$

ở đối chứng nhỏ hơn đáng kể so với thực nghiệm $15,07 \pm 0,38$ ($t(58) = -4,05$, $p < 0,001$). Khối lượng 100 hạt cao hơn có ý nghĩa thống kê từ $50,17 \pm 0,30$ ở lô đối chứng so với $57,53 \pm 0,38$ ở lô thí nghiệm ($t(58) = -15,08$ và $p < 0,001$), cho thấy tác động tích cực rõ rệt của phân bón đến khối lượng hạt hay là làm tăng kích thước hạt lạc. Số quả khô/cây cũng được cải thiện rõ rệt, có khác biệt thống kê từ $11,4 \pm 0,28$ lên $13,13 \pm 0,29$ ($t(58) = -4,34$ và $p < 0,001$). Điều này có nghĩa khi bón phân thì thời gian sinh trưởng của lạc ngắn hơn so với của lạc không bón phân. Do đó, việc bón phân cho cây lạc làm giảm thời gian vụ mùa.

Tóm lại, việc bón phân cho cây lạc đã tăng số quả, số quả chắc, khối lượng của lạc, số quả khô cho thấy vai trò quan trọng của việc bón phân điều chế đến năng suất của cây trồng và nên được xem xét là một biện pháp kỹ thuật quan trọng trong canh tác.

KẾT LUẬN

(i) Đã tổng hợp thành công chấm lượng tử carbon (CQDs) từ humic acid có nguồn gốc từ than bùn tự nhiên bằng phương pháp một nồi thân thiện với môi trường. Các CQDs thu được có kích thước nano đồng đều, phân tán tốt trong nước và mang nhiều nhóm chức chứa oxy trên bề mặt, tạo tiền đề thuận lợi cho các ứng dụng trong lĩnh vực điện hóa.

(ii) Đã ứng dụng thành công CQDs làm vật liệu biến tính điện cực để xác định theophylline bằng phương pháp điện hóa. Điện cực CQDs thể hiện hoạt tính xúc tác điện tốt đối với quá trình oxy hóa theophylline, làm tăng đáng kể cường độ dòng đỉnh so với điện cực nền. Nghiên cứu đã xác định quá trình oxy hóa theophylline là quá trình bất thuận nghịch có sự tham gia của hai electron và hai proton. Phương pháp được phát triển có khả năng ứng dụng thực tiễn trong phân tích dược phẩm với độ thu hồi cao và độ tin cậy tốt.

(iii) Đã điều chế thành công phân bón nano phospho (Nano-P) trên cơ sở các hạt nano hydroxyapatite (HANPs) có nguồn gốc từ xương động vật (bò, dê, trâu và heo), được ổn định bởi chitosan tan trong nước và các chất humic chiết xuất từ than bùn. Các HANPs có kích thước khoảng 5–30 nm, phân tán ổn định trong môi trường humic, tạo thành hệ phân bón nano có tiềm năng cung cấp phospho hiệu quả cho cây trồng, đồng thời góp phần giảm thất thoát dinh dưỡng và hạn chế nguy cơ phú dưỡng hóa nguồn nước.

(iv) Đã thử nghiệm thành công phân bón Nano-P trên cây dưa lưới và cây lạc tại thành phố Huế. Kết quả cho thấy Nano-P cải thiện đáng kể sinh trưởng, năng suất và chất lượng nông sản. Đối với cây dưa lưới, trọng lượng quả, hàm lượng đường tổng số và giá trị năng lượng đều tăng so với đối chứng. Đối với cây lạc, số quả, số quả chắc, khối lượng quả và năng suất thu hoạch được cải thiện rõ rệt. Những kết quả này khẳng định tiềm năng ứng dụng của

phân bón Nano-P trong sản xuất nông nghiệp theo hướng hiệu quả, an toàn và bền vững.

Nhìn chung, nghiên cứu đã chứng minh khả năng khai thác hiệu quả nguồn than bùn tự nhiên để chế tạo các vật liệu nano chức năng phục vụ cả lĩnh vực phân tích điện hóa và nông nghiệp công nghệ cao, góp phần nâng cao giá trị sử dụng của nguồn tài nguyên trong nước.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

I. Bài báo trong nước

1. **Nguyễn Phước Nhân**, Nguyễn Thị Hồng Gấm, Nguyễn Hà Trang, Đặng Thế Vũ, Trần Thanh Minh, Lê Trung Hiếu, Lê Thị Hòa (2024). Điều chế dịch chiết humic từ than bùn tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế*. Tập 26, số 2(13).

2. **Nguyễn Phước Nhân**, Hồ Văn Thành, Trần Thanh Minh, Nguyễn Ngọc Uyên Thư, Lê Trung Hiếu, Lê Lâm Sơn, Lê Thị Hòa (2025). Sản xuất hydroxyapatite từ nguồn xương động vật. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên*. Tập 134, Số 1C, 37-43.

II. Tạp chí quốc tế (SCIE)

1. **Nguyen Phuoc Nhan**, Dang Thi Ngoc Hoa, Le Van Thanh Son, Nguyen Quang Man, Nguyen Hai Phong, Le Lam Son, Ho Van Thanh, Tran Thi Xuan Phuong, Nguyen Trung Kien, Nguyen Chi Bao, Dao Ngoc Nhiem and Dinh Quang Khieu (2025). Electrochemical determination of 1,3-dimethylxanthine in pharmaceutical tablets using a peat-derived carbon quantum dots-modified glassy carbon electrode. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* (2025) 36:440 (SCIE, Q2, IF = 2,9).

2. **Nguyen Phuoc Nhan**, Le Thi Hoa, Nguyen Quang Man, TranThiXuanPhuong, NguyenChiBao, Le Van ThanhSon, Le Thi Hong Phong, Le Lam Son, NguyenHaiPhong, and Dinh Quang Khieu (2025). Synthesis of Hydroxyapatite Nanoparticles/Humic Extracts From Peat and Cow Bones as an Efficient Nano Phosphorus Fertilizer for the Enhanced Growth of Cantaloupe Plant (*Cucumismelo L.*). *ChemistrySelect* (SCIE, Q2, IF = 2).

III. Đăng ký sáng chế, giải pháp hữu ích: 01 Quyết định chấp nhận đơn hợp lệ số 31686/QĐ-SHTT ngày 22/3/2024 của Cục Sở hữu trí tuệ: “Quy trình sản xuất phân lân nano hữu cơ từ xương động vật và than bùn”

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. X. Dũng *et al.*, "PHƯƠNG PHÁP TỔNG QUÁT TỔNG HỢP CHẤM LƯỢNG TỬ CARBON PHA TẠP KIM LOẠI," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 200, no. 07, pp. 3-10, 2019.
- [2] Q.-B. Hoang, V.-T. Mai, D.-K. Nguyen, D. Truong, and X.-D. Mai, "Crosslinking induced photoluminescence quenching in polyvinyl alcohol-carbon quantum dot composite," *Materials Today Chemistry*, vol. 12, pp. 166-172, 2019.
- [3] M. Pérez Corona, I. Van der Klundert, and J. Verhoeven, "Availability of organic and inorganic phosphorus compounds as phosphorus sources for *Carex* species," *New Phytologist*, vol. 133, no. 2, pp. 225-231, 1996.
- [4] M. Sinha, "Organo-metallic phosphates: I. Interaction of phosphorus compounds with humic substances," *Plant and Soil*, vol. 35, no. 1, pp. 471-484, 1971.
- [5] E. Frossard, L. Condron, A. Oberson, S. Sinaj, and J. Fardeau, "Processes governing phosphorus availability in temperate soils," *Journal of environmental quality*, vol. 29, no. 1, pp. 15-23, 2000.
- [6] B. Murphy, "Soil organic matter and soil function—Review of the literature and underlying data. department of the environment," *Canberra, Australia*, 2014.
- [7] D. Cordell, J.-O. Drangert, and S. White, "The story of phosphorus: global food security and food for thought," *Global environmental change*, vol. 19, no. 2, pp. 292-305, 2009.
- [8] S. v. Kauwenbergh, M. Stewart, and R. Mikkelsen, "World reserves of phosphate rock... a dynamic and unfolding story," 2013.
- [9] N. Hobbs, "A note on the classification of peat," *Géotechnique*, vol. 37, no. 3, pp. 405-407, 1987.
- [10] M. Lourenco, J. M. Fitchett, and S. Woodborne, "Peat definitions: A critical review," *Progress in Physical Geography: Earth and Environment*, vol. 47, no. 4, pp. 506-520, 2023.
- [11] Q. P. Le and T. X. Le, "Management of peatland in the Mekong River Delta of Vietnam," in *Tropical Peatland Eco-management*: Springer, 2021, pp. 775-817.
- [12] D. B. Hibbert, "Introduction to electrochemistry [electronic resource]."
- [13] N. A. Pechnikova, K. Domvri, K. Porpodis, M. S. Istomina, A. V. Iaremenko, and A. V. Yaremenko, "Carbon quantum dots in biomedical applications: advances, challenges, and future prospects," *Aggregate*, vol. 6, no. 3, p. e707, 2025.
- [14] W. You *et al.*, "Fluorescent carbon quantum dots with controllable physicochemical properties fantastic for emerging applications: A review," *Carbon Neutralization*, vol. 3, no. 2, pp. 245-284, 2024.
- [15] P. K. Yadav, S. Chandra, V. Kumar, D. Kumar, and S. H. Hasan, "Carbon quantum dots: synthesis, structure, properties, and catalytic applications for organic synthesis," *Catalysts*, vol. 13, no. 2, p. 422, 2023.
- [16] C.-W. Lai, Y.-H. Hsiao, Y.-K. Peng, and P.-T. Chou, "Facile synthesis of highly emissive carbon dots from pyrolysis of glycerol; gram scale production of carbon dots/mSiO₂ for cell imaging and drug release," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 22, no. 29, pp. 14403-14409, 2012.

- [17] Y. Yang *et al.*, "One-step synthesis of amino-functionalized fluorescent carbon nanoparticles by hydrothermal carbonization of chitosan," *Chemical Communications*, vol. 48, no. 3, pp. 380-382, 2012.
- [18] J. He, J. Sun, J. Choi, C. Wang, and D. Su, "Synthesis of N-doped carbon quantum dots as lubricant additive to enhance the tribological behavior of MoS₂ nanofluid," *Friction*, vol. 11, no. 3, pp. 441-459, 2023.
- [19] G. Magdy, F. Belal, and H. Elmansi, "Rapid microwave-assisted synthesis of nitrogen-doped carbon quantum dots as fluorescent nanosensors for the spectrofluorimetric determination of palbociclib: Application for cellular imaging and selective probing in living cancer cells," *RSC advances*, vol. 13, no. 7, pp. 4156-4167, 2023.
- [20] M. Javed *et al.*, "Carbon quantum dots from glucose oxidation as a highly competent anode material for lithium and sodium-ion batteries," *Electrochimica Acta*, vol. 297, pp. 250-257, 2019.
- [21] X. Liu *et al.*, "One-pot synthesis of graphene quantum dots using humic acid and its application for copper (II) ion detection," *Journal of Materials Science*, vol. 56, no. 8, pp. 4991-5005, 2021.
- [22] L. Bartella, L. Di Donna, A. Napoli, C. Siciliano, G. Sindona, and F. Mazzotti, "A rapid method for the assay of methylxanthines alkaloids: Theobromine, theophylline and caffeine, in cocoa products and drugs by paper spray tandem mass spectrometry," *Food chemistry*, vol. 278, pp. 261-266, 2019.
- [23] M. Matera, C. Page, L. Calzetta, P. Rogliani, and M. Cazzola, "Pharmacology and therapeutics of bronchodilators revisited," *Pharmacological reviews*, vol. 72, no. 1, pp. 218-252, 2020.
- [24] G. Mahemuti, H. Zhang, J. Li, N. Tielwaerdi, and L. Ren, "Efficacy and side effects of intravenous theophylline in acute asthma: a systematic review and meta-analysis," *Drug design, development and therapy*, pp. 99-120, 2018.
- [25] A. S. Babu, B. Thippeswamy, A. Vinod, E. Ramakishore, S. Anand, and D. Senthil, "Determination of theophylline in rabbit plasma by triple quadrupole LC/MS," *Pharmaceutical methods*, vol. 2, no. 4, pp. 211-217, 2011.
- [26] K. Ma, H. Wang, M. Zhao, and J. Xing, "Purity determination and uncertainty evaluation of theophylline by mass balance method, high performance liquid chromatography and differential scanning calorimetry," *Analytica chimica acta*, vol. 650, no. 2, pp. 227-233, 2009.
- [27] H. Kanazawa, R. Atsumi, Y. Matsushima, and J. Kizu, "Determination of theophylline and its metabolites in biological samples by liquid chromatography–mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 870, no. 1-2, pp. 87-96, 2000.
- [28] W. da Silva, M. E. Ghica, and C. M. Brett, "Gold nanoparticle decorated multiwalled carbon nanotube modified electrodes for the electrochemical determination of theophylline," *Analytical methods*, vol. 10, no. 47, pp. 5634-5642, 2018.
- [29] S. J. Malode, N. P. Shetti, and S. T. Nandibewoor, "Voltammetric behavior of theophylline and its determination at multi-wall carbon nanotube paste electrode," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 97, pp. 1-6, 2012.
- [30] A. Peng *et al.*, "Electrochemical determination of theophylline pharmacokinetic under the effect of roxithromycin in rats by the MWNTs/Au/poly-L-lysine modified sensor," *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 12, no. 1, pp. 330-346, 2017.

- [31] T. Tamiji and A. Nezamzadeh-Ejehieh, "Electrocatalytic determination of Hg (II) by the modified carbon paste electrode with Sn (IV)-clinoptilolite nanoparticles," *Electrocatalysis*, vol. 10, no. 5, pp. 466-476, 2019.
- [32] A. Dhamodharan, K. Perumal, Y. Gao, and H. Pang, "Sensitive Detection of Theophylline Using a Modified Glassy Carbon Electrode with g-C₃N₄," *Chemistry Africa*, vol. 7, no. 9, pp. 5087-5096, 2024.
- [33] Y. Zhu, Y. Zhang, X. Hao, Q. Xia, and S. Zhang, "Highly sensitive detection of theophylline by differential pulse voltammetry using zinc oxide nanoparticles and multiwalled carbon nanotubes-modified carbon paste electrode," *Chemical Papers*, vol. 78, no. 14, pp. 7719-7728, 2024.
- [34] I. Chiarotto, L. Mattiello, F. Pandolfi, D. Rocco, M. Feroci, and R. Petrucci, "Electrochemical oxidation of theophylline in organic solvents: HPLC-PDA-ESI-MS/MS analysis of the oxidation products," *ChemElectroChem*, vol. 6, no. 17, pp. 4511-4521, 2019.
- [35] R. Souza da Costa, W. Ferreira da Cunha, N. Simenremis Pereira, and A. Marti Ceschin, "An alternative route to obtain carbon quantum dots from photoluminescent materials in peat," *Materials*, vol. 11, no. 9, p. 1492, 2018.
- [36] A. C. P. Afonso *et al.*, "An active surface preservation strategy for the rational development of carbon dots as pH-responsive fluorescent nanosensors," *Chemosensors*, vol. 9, no. 8, p. 191, 2021.
- [37] M. Algarra *et al.*, "Enhanced electrochemical response of carbon quantum dot modified electrodes," *Talanta*, vol. 178, pp. 679-685, 2018.
- [38] S. E. Elugoke, O. E. Fayemi, A. S. Adekunle, B. B. Mamba, T. T. Nkambule, and E. E. Ebenso, "Electrochemical sensor for the detection of dopamine using carbon quantum dots/copper oxide nanocomposite modified electrode," *FlatChem*, vol. 33, p. 100372, 2022.
- [39] G. Rameshaiah, J. Pallavi, and S. Shabnam, "Nano fertilizers and nano sensors—an attempt for developing smart agriculture," *Int J Eng Res Gen Sci*, vol. 3, no. 1, pp. 314-320, 2015.
- [40] M. Naderi and A. Danesh-Shahraki, "Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture," 2013.
- [41] R. Liu and R. Lal, "Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions," *Science of the total environment*, vol. 514, pp. 131-139, 2015.
- [42] C. O. Dimkpa and P. S. Bindraban, "Nanofertilizers: new products for the industry?," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 66, no. 26, pp. 6462-6473, 2017.
- [43] M. Kalwani, H. Chakdar, A. Srivastava, S. Pabbi, and P. Shukla, "Effects of nanofertilizers on soil and plant-associated microbial communities: Emerging trends and perspectives," *Chemosphere*, vol. 287, p. 132107, 2022.
- [44] A. Vasuki *et al.*, "Influence of irrigation methods and nano-fertilizers application on the yield of transplanted lowland rice (*Oryza sativa* L.) in periyar vaigai command area of Madurai," *Agricultural Science Digest*, vol. 44, no. 2, pp. 238-243, 2024.
- [45] N. Kottegoda, I. Munaweera, N. Madusanka, and V. Karunaratne, "A green slow-release fertilizer composition based on urea-modified hydroxyapatite nanoparticles encapsulated wood," *Current science*, pp. 73-78, 2011.
- [46] G. Abhiram, "Contributions of nano-nitrogen fertilizers to sustainable development goals: a comprehensive review," *Nitrogen*, vol. 4, no. 4, pp. 397-415, 2023.

- [47] J. S. Vadlamudi, S. Anitha, G. L. Sawargaonkar, and P. Prameela, "Effect of Combined Application of Non-Nano and Nano Fertilizers on the Growth, Yield and Oil Content of Sunflower under Semi-arid Conditions," *International Journal of Plant & Soil Science*, vol. 34, no. 24, pp. 1102-1111, 2022.
- [48] S. Zaki and R. Ahmed, "Response of maize cultivars to foliar application of organic and nano-compound NPK fertilizers," *SABRAO J. Breed. Genet.*, vol. 55, no. 6, pp. 2256-2268, 2023.
- [49] A. Szuplewska *et al.*, "Enhanced edible plant production using nano-manganese and nano-iron fertilizers: Current status, detection methods and risk assessment," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 199, p. 107745, 2023.
- [50] S. Faridvand, R. Amirnia, M. Tajbakhsh, H. A. El Enshasy, and R. Sayyed, "The effect of foliar application of magnetic water and nano-fertilizers on phytochemical and yield characteristics of fennel," *Horticulturae*, vol. 7, no. 11, p. 475, 2021.
- [51] N. Abou-Baker, M. Hussein, A. Zaky, and W. M. Hashesh, "Sugarcane Response to Two Different Application Methods of Nano-Iron and Nano-Zinc," *Sugar Tech*, vol. 27, no. 2, pp. 566-583, 2025.
- [52] P. Wang, E. Lombi, F.-J. Zhao, and P. M. Kopittke, "Nanotechnology: a new opportunity in plant sciences," *Trends in plant science*, vol. 21, no. 8, pp. 699-712, 2016.
- [53] P. Mahajan, S. Dhoke, and A. Khanna, "Effect of nano-ZnO particle suspension on growth of mung (*Vigna radiata*) and gram (*Cicer arietinum*) seedlings using plant agar method," *Journal of Nanotechnology*, vol. 2011, no. 1, p. 696535, 2011.
- [54] M. Kah, N. Tufenkji, and J. C. White, "Nano-enabled strategies to enhance crop nutrition and protection," *Nature nanotechnology*, vol. 14, no. 6, pp. 532-540, 2019.
- [55] R. Kirtikumar, R. Tejashree, and J. Sanjeevani, "An overview of the global fertilizer trends and India's position in 2020," *Mineral Economics*, vol. 34, no. 3, pp. 371-384, 2021.
- [56] P. S. Bindran, C. Dimkpa, L. Nagarajan, A. Roy, and R. Rabbinge, "Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants," *Biology and Fertility of Soils*, vol. 51, no. 8, pp. 897-911, 2015.
- [57] P. S. Bindran, C. O. Dimkpa, and R. Pandey, "Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health," *Biology and Fertility of Soils*, vol. 56, no. 3, pp. 299-317, 2020.
- [58] M. B. Taşkın, Ö. Şahin, H. Taskin, O. Atakol, A. Inal, and A. Gunes, "Effect of synthetic nano-hydroxyapatite as an alternative phosphorus source on growth and phosphorus nutrition of lettuce (*Lactuca sativa* L.) plant," *Journal of Plant Nutrition*, vol. 41, no. 9, pp. 1148-1154, 2018.
- [59] B. Geissler, L. Hermann, M. C. Mew, and G. Steiner, "Striving toward a circular economy for phosphorus: The role of phosphate rock mining," *Minerals*, vol. 8, no. 9, p. 395, 2018.
- [60] A. Waller *et al.*, "Modified biochars reduce leaching while maintaining bioavailability of phosphate to dragoon lettuce (*Lactuca sativa*) in potting tests," *ACS Agricultural Science & Technology*, vol. 3, no. 11, pp. 1103-1112, 2023.
- [61] S. Malik, K. Muhammad, and Y. Waheed, "Nanotechnology: a revolution in modern industry," *Molecules*, vol. 28, no. 2, p. 661, 2023.
- [62] L. Zhao, T. Bai, H. Wei, J. L. Gardea-Torresdey, A. Keller, and J. C. White, "Nanobiotechnology-based strategies for enhanced crop stress resilience," *Nature Food*, vol. 3, no. 10, pp. 829-836, 2022.

- [63] D. Montalvo, M. J. McLaughlin, and F. Degryse, "Efficacy of hydroxyapatite nanoparticles as phosphorus fertilizer in andisols and oxisols," *Soil Science Society of America Journal*, vol. 79, no. 2, pp. 551-558, 2015.
- [64] T. Yasmeen *et al.*, "Abandoned agriculture soil can be recultivated by promoting biological phosphorus fertility when amended with nano-rock phosphate and suitable bacterial inoculant," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 234, p. 113385, 2022.
- [65] P. Zhang *et al.*, "Preparation of ball-milled phosphorus-loaded biochar and its highly effective remediation for Cd-and Pb-contaminated alkaline soil," *Science of the Total Environment*, vol. 813, p. 152648, 2022.
- [66] A. A. Rajonee, S. Zaman, and S. M. I. Huq, "Preparation, characterization and evaluation of efficacy of phosphorus and potassium incorporated nano fertilizer," *Advances in Nanoparticles*, vol. 6, no. 02, p. 62, 2017.
- [67] S. Shylaja, Y. Prashanthi, and T. N. Rao, "Synthesis and evaluating the effects of nano hydroxyapatite on germination, growth and yield of cluster beans," *Materials Today: Proceedings*, vol. 64, pp. 917-921, 2022.
- [68] C.-d. Gan, Y.-b. Jia, and J.-y. Yang, "Remediation of fluoride contaminated soil with nano-hydroxyapatite amendment: Response of soil fluoride bioavailability and microbial communities," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 405, p. 124694, 2021.
- [69] L. Ding, J. Li, W. Liu, Q. Zuo, and S.-x. Liang, "Influence of nano-hydroxyapatite on the metal bioavailability, plant metal accumulation and root exudates of ryegrass for phytoremediation in lead-polluted soil," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 14, no. 5, p. 532, 2017.
- [70] J. Wan *et al.*, "Synthesis and evaluation of a new class of stabilized nano-chlorapatite for Pb immobilization in sediment," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 320, pp. 278-288, 2016.
- [71] Y.-q. Yu, S.-f. Cui, R.-j. Fan, Y.-z. Fu, Y.-l. Liao, and J.-y. Yang, "Distribution and superposed health risk assessment of fluorine co-effect in phosphorous chemical industrial and agricultural sources," *Environmental Pollution*, vol. 262, p. 114249, 2020.
- [72] R. Liu and R. Lal, "Synthetic apatite nanoparticles as a phosphorus fertilizer for soybean (*Glycine max*)," *Scientific reports*, vol. 4, no. 1, p. 5686, 2014.
- [73] N. Bala, A. Dey, S. Das, R. Basu, and P. Nandy, "Effect of hydroxyapatite nanorod on chickpea (*Cicer arietinum*) plant growth and its possible use as nano-fertilizer," *Iranian Journal of Plant Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 1061-1069, 2014.
- [74] P. Wang *et al.*, "Prospects of nano phosphorus fertilizers (NPFs) in plant-based agriculture: effects and mechanisms," *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 27, no. 3, p. 60, 2025.
- [75] A. Priyam, N. Yadav, P. M. Reddy, L. O. Afonso, A. G. Schultz, and P. P. Singh, "Uptake and benefits of biogenic phosphorus nanomaterials applied via fertigation to Japonica Rice (Taipei 309) in low-and high-calcareous soil conditions," *ACS Agricultural Science & Technology*, vol. 2, no. 3, pp. 462-476, 2022.
- [76] P. Das, C. R. Penton, P. Westerhoff, and F. Perreault, "Prospects of 2D graphene nanomaterials in plant-based agriculture and their fate in terrestrial soil: a critical review," *Environmental Science: Nano*, vol. 10, no. 11, pp. 2936-2956, 2023.
- [77] D. T. Donia and M. Carbone, "Seed priming with zinc oxide nanoparticles to enhance crop tolerance to environmental stresses," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 24, p. 17612, 2023.

- [78] A. Priyam, N. Yadav, P. M. Reddy, L. O. Afonso, A. G. Schultz, and P. P. Singh, "Fertilizing benefits of biogenic phosphorous nanonutrients on *Solanum lycopersicum* in soils with variable pH," *Heliyon*, vol. 8, no. 3, 2022.
- [79] S. Tang and X. Fei, "Refractory calcium phosphate-derived phosphorus fertilizer based on hydroxyapatite nanoparticles for nutrient delivery," *ACS Applied Nano Materials*, vol. 4, no. 2, pp. 1364-1376, 2021.
- [80] L. Xiong, P. Wang, M. N. Hunter, and P. M. Kopittke, "Bioavailability and movement of hydroxyapatite nanoparticles (HA-NPs) applied as a phosphorus fertiliser in soils," *Environmental Science: Nano*, vol. 5, no. 12, pp. 2888-2898, 2018.
- [81] C. Ma *et al.*, "Role of nanoscale hydroxyapatite in disease suppression of fusarium-infected tomato," *Environmental science & technology*, vol. 55, no. 20, pp. 13465-13476, 2021.
- [82] A. Dhansil, N. Zalawadia, B. S. Prajapat, and K. Yadav, "Effect of nano phosphatic fertilizer on nutrient content and uptake by pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) crop," *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, vol. 7, no. 12, pp. 2327-2337, 2018.
- [83] A. E. Szameitat *et al.*, "Unravelling the interactions between nano-hydroxyapatite and the roots of phosphorus deficient barley plants," *Environmental Science: Nano*, vol. 8, no. 2, pp. 444-459, 2021.
- [84] Q. Li, C. Ma, J. C. White, and B. Xing, "Effects of phosphorus ensembled nanomaterials on nutrient uptake and distribution in *Glycine Max* L. under simulated precipitation," *Agronomy*, vol. 11, no. 6, p. 1086, 2021.
- [85] C. Rice-Evans, "Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity," in *Antioxidant food supplements in human health*: Elsevier, 1999, pp. 239-253.
- [86] Y. Lai *et al.*, "Cadmium uptake by and translocation within rice (*Oryza sativa* L.) seedlings as affected by iron plaque and Fe₂O₃," *Pakistan Journal of Botany*, vol. 44, pp. 1557-1561, 2012.
- [87] X.-b. ZENG, L.-f. LI, and X.-r. MEI, "Heavy metal content in Chinese vegetable plantation land soils and related source analysis," *Agricultural Sciences in China*, vol. 7, no. 9, pp. 1115-1126, 2008.
- [88] H. Sajadinia, D. Ghazanfari, K. Naghavi, H. Naghavi, and B. Tahamipur, "A comparison of microwave and ultrasound routes to prepare nano-hydroxyapatite fertilizer improving morphological and physiological properties of maize (*Zea mays* L.)," *Heliyon*, vol. 7, no. 3, 2021.
- [89] M. M. McKnight, Z. Qu, J. K. Copeland, D. S. Guttman, and V. K. Walker, "A practical assessment of nano-phosphate on soybean (*Glycine max*) growth and microbiome establishment," *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, p. 9151, 2020.
- [90] L. R. Sigmon *et al.*, "Biodegradable polymer nanocomposites provide effective delivery and reduce phosphorus loss during plant growth," *ACS Agricultural Science & Technology*, vol. 1, no. 5, pp. 529-539, 2021.
- [91] L. R. Sigmon *et al.*, "Role of phosphorus type and biodegradable polymer on phosphorus fate and efficacy in a plant–soil system," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 71, no. 44, pp. 16493-16503, 2023.
- [92] C. O. Dimkpa, C. Deng, Y. Wang, I. O. Adisa, J. Zhou, and J. C. White, "Chitosan and zinc oxide nanoparticle-enhanced tripolyphosphate modulate phosphorus leaching in soil," *ACS Agricultural Science & Technology*, vol. 3, no. 6, pp. 487-498, 2023.

- [93] I. Suhani, S. Sahab, V. Srivastava, and R. P. Singh, "Impact of cadmium pollution on food safety and human health," *Current opinion in toxicology*, vol. 27, pp. 1-7, 2021.
- [94] C. Dimkpa, T. Weinand, and F. Asch, "Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions," *Plant, cell & environment*, vol. 32, no. 12, pp. 1682-1694, 2009.
- [95] S. A. Ghuge, G. C. Nikalje, U. S. Kadam, P. Suprasanna, and J. C. Hong, "Comprehensive mechanisms of heavy metal toxicity in plants, detoxification, and remediation," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 450, p. 131039, 2023.
- [96] P. Song, D. Xu, J. Yue, Y. Ma, S. Dong, and J. Feng, "Recent advances in soil remediation technology for heavy metal contaminated sites: A critical review," *Science of the Total Environment*, vol. 838, p. 156417, 2022.
- [97] V. D. Rajput *et al.*, "Nanotechnology in the restoration of polluted soil," *Nanomaterials*, vol. 12, no. 5, p. 769, 2022.
- [98] Y. Jin *et al.*, "Nano-hydroxyapatite immobilized lead and enhanced plant growth of ryegrass in a contaminated soil," *Ecological Engineering*, vol. 95, pp. 25-29, 2016.
- [99] L. Xu, X. Xing, J. Peng, and M. Ji, "Estimation of copper and cadmium bioavailability in contaminated soil remediated by different plants and micron hydroxyapatite," *Bioinorganic Chemistry and Applications*, vol. 2022, no. 1, p. 3565550, 2022.
- [100] Z. Li, M.-m. Zhou, and W. Lin, "The research of nanoparticle and microparticle hydroxyapatite amendment in multiple heavy metals contaminated soil remediation," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2014, no. 1, p. 168418, 2014.
- [101] Z. Li and J. Huang, "Effects of nanoparticle hydroxyapatite on growth and antioxidant system in pakchoi (*Brassica chinensis* L.) from cadmium-contaminated soil," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2014, no. 1, p. 470962, 2014.
- [102] L. Wei, S. Wang, Q. Zuo, S. Liang, S. Shen, and C. Zhao, "Nano-hydroxyapatite alleviates the detrimental effects of heavy metals on plant growth and soil microbes in e-waste-contaminated soil," *Environmental Science: Processes & Impacts*, vol. 18, no. 6, pp. 760-767, 2016.
- [103] W. Liu *et al.*, "Effects of *Bacillus subtilis* and nanohydroxyapatite on the metal accumulation and microbial diversity of rapeseed (*Brassica campestris* L.) for the remediation of cadmium-contaminated soil," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no. 25, pp. 25217-25226, 2018.
- [104] Z. Yang *et al.*, "Remediation of lead contaminated soil by biochar-supported nano-hydroxyapatite," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 132, pp. 224-230, 2016.
- [105] Y. Feng, J. Yang, W. Liu, Y. Yan, and Y. Wang, "Hydroxyapatite as a passivator for safe wheat production and its impacts on soil microbial communities in a Cd-contaminated alkaline soil," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 404, p. 124005, 2021.
- [106] W.-h. Zhang, R.-b. Sun, L. Xu, J.-n. Liang, T.-y. Wu, and J. Zhou, "Effects of micro-/nano-hydroxyapatite and phytoremediation on fungal community structure in copper contaminated soil," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 174, pp. 100-109, 2019.
- [107] D.-X. Guan, C. Ren, J. Wang, Y. Zhu, Z. Zhu, and W. Li, "Characterization of lead uptake by nano-sized hydroxyapatite: a molecular scale perspective," *ACS Earth and Space Chemistry*, vol. 2, no. 6, pp. 599-607, 2018.

- [108] R. Carrillo-Gonzalez, M. González-Chávez, G. O. Cazares, and J. L. Luna, "Trace element adsorption from acid mine drainage and mine residues on nanometric hydroxyapatite," *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 194, no. 4, p. 280, 2022.
- [109] C. Zhou *et al.*, "Insights into dynamic adsorption of lead by nano-hydroxyapatite prepared with two-stage ultrasound," *Chemosphere*, vol. 253, p. 126661, 2020.
- [110] Y. Kurnia and F. Agustin, "Studies on physical characteristics, mineral composition and nutritive value of bone meal and bone char produced from inedible cow bones," *Pakistan Journal of Nutrition*, vol. 16, no. 6, pp. 426-434, 2017.
- [111] B. Inam *et al.*, "Synthesis and Characterization of Poly (Ethylene Glycol) Dimethacrylate-Based Bionanocomposites with Hydroxyapatite from Rohu Fish (*Labeo rohita*) Bones," *Sains Malaysiana*, vol. 53, no. 11, pp. 3709-3719, 2024.
- [112] M. Guo *et al.*, "PA-assisted Amorphization of Bone Mineral for Improved Phosphorus Fertilizer Efficiency," *Advanced Agrochem*, 2025.
- [113] A. Sobczak-Kupiec, K. Pluta, D. Malina, and B. Tyliczszak, "Studies on bone-derived calcium phosphate materials," *Journal of Renewable Materials*, vol. 5, no. 3-4, pp. 180-188, 2017.
- [114] S. Ibrahim *et al.*, "From Waste to Sensor: Facile Synthesis of a Copper-Doped Hydroxyapatite Nanocomposite as a Colorimetric Sensing Platform for Uric Acid," *ChemistrySelect*, vol. 9, no. 31, p. e202402879, 2024.
- [115] I. S. Mosaad, E.-M. M. Selim, D. E. Gaafar, and M. A. Al-Anoos, "Effects of humic and fulvic acids on forage production and grain quality of triticale under various soil salinity levels," *Cereal Research Communications*, vol. 53, no. 3, pp. 1811-1829, 2025.
- [116] J. Pena, I. Izquierdo-Barba, M. García, and M. Vallet-Regí, "Room temperature synthesis of chitosan/apatite powders and coatings," *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 26, no. 16, pp. 3631-3638, 2006.
- [117] B. Krajewska, "Application of chitin-and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review," *Enzyme and microbial technology*, vol. 35, no. 2-3, pp. 126-139, 2004.
- [118] S. Shankar, S. Joshi, and R. K. Srivastava, "A review on heavy metal biosorption utilizing modified chitosan," *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 195, no. 11, p. 1350, 2023.
- [119] A.-H. Chen, C.-Y. Yang, C.-Y. Chen, C.-Y. Chen, and C.-W. Chen, "The chemically crosslinked metal-complexed chitosans for comparative adsorptions of Cu (II), Zn (II), Ni (II) and Pb (II) ions in aqueous medium," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 163, no. 2-3, pp. 1068-1075, 2009.
- [120] A. Yoshida, T. Miyazaki, E. Ishida, and M. Ashizuka, "Preparation of bioactive chitosan-hydroxyapatite nanocomposites for bone repair through mechanochemical reaction," *Materials transactions*, vol. 45, no. 4, pp. 994-998, 2004.
- [121] C. C. Lobo, J. C. Lerner, N. C. Bertola, and N. E. Zaritzky, "Synthesis and characterization of functional calcium-phosphate-chitosan adsorbents for fluoride removal from water," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 264, p. 130553, 2024.
- [122] M.-Y. Wu, S.-W. Huang, I.-F. Kao, and S.-K. Yen, "The preparation and characterization of chitosan/calcium phosphate composite microspheres for biomedical applications," *Polymers*, vol. 16, no. 2, p. 167, 2024.

- [123] A. L. Lone *et al.*, "Fabrication and structural analysis of CuO–NiO and MWCNTs@CuO–NiO hybrid nanostructures: versatile materials for environmental and biomedical remediation," *RSC advances*, vol. 15, no. 28, pp. 22311-22321, 2025.
- [124] Y. Dong, L. Wan, J. Cai, Q. Fang, Y. Chi, and G. Chen, "Natural carbon-based dots from humic substances. *Sci Rep* 5: 10037," ed, 2015.
- [125] H. Günzler and H.-U. Gremlich, "IR spectroscopy. An introduction," 2002.
- [126] V. A. Litvin, R. L. Galagan, and B. F. Minaev, "Kinetic and mechanism formation of silver nanoparticles coated by synthetic humic substances," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 414, pp. 234-243, 2012.
- [127] H. Li *et al.*, "Water-soluble fluorescent carbon quantum dots and photocatalyst design," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 49, no. 26, pp. 4430-4434, 2010.
- [128] Y. Sun, B. Zhou, and Y. Lin, "Collaboration &," *J Am Chem Soc*, vol. 128, no. 24, pp. 7756-7763, 2006.
- [129] D. Pan *et al.*, "Cutting sp² clusters in graphene sheets into colloidal graphene quantum dots with strong green fluorescence," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 22, no. 8, pp. 3314-3318, 2012.
- [130] W. Yang, A. Li, Q. Zhang, Z. Fei, and F. Liu, "Adsorption of 5-sodiosulfoisophthalic acids from aqueous solutions onto acrylic ester polymer YWB-7 resin," *Separation and purification technology*, vol. 46, no. 3, pp. 161-167, 2005.
- [131] J. Fan, A. Li, W. Yang, L. Yang, and Q. Zhang, "Adsorption of water-soluble dye X-BR onto styrene and acrylic ester resins," *Separation and purification technology*, vol. 51, no. 3, pp. 338-344, 2006.
- [132] R. N. Hegde, R. R. Hosamani, and S. T. Nandibewoor, "Electrochemical oxidation and determination of theophylline at a carbon paste electrode using cetyltrimethyl ammonium bromide as enhancing agent," *Analytical letters*, vol. 42, no. 16, pp. 2665-2682, 2009.
- [133] J. Soleymani *et al.*, "A new kinetic–mechanistic approach to elucidate electrooxidation of doxorubicin hydrochloride in unprocessed human fluids using magnetic graphene based nanocomposite modified glassy carbon electrode," *Materials science and engineering: C*, vol. 61, pp. 638-650, 2016.
- [134] E. Laviron, "Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem. 1974, 52, 395–402; b) E. Laviron," *J. Electroanal. Chem*, vol. 100, pp. 263-270, 1979.
- [135] A. J. Bard, L. R. Faulkner, and H. S. White, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons, 2022.
- [136] Y.-H. Zhu, Z.-L. Zhang, and D.-W. Pang, "Electrochemical oxidation of theophylline at multi-wall carbon nanotube modified glassy carbon electrodes," *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 581, no. 2, pp. 303-309, 2005.
- [137] A. Nassar, H. Salah, N. Hashem, M. Khodari, and H. Assaf, "Electrochemical sensor based on CuO nanoparticles fabricated from copper wire recycling-loaded carbon paste electrode for excellent detection of theophylline in pharmaceutical formulations," *Electrocatalysis*, vol. 13, no. 2, pp. 154-164, 2022.
- [138] B. Mekassa, M. Tessema, and B. S. Chandravanshi, "Simultaneous determination of caffeine and theophylline using square wave voltammetry at poly (L-aspartic acid)/functionalized multi-walled carbon nanotubes composite modified electrode," *Sensing and bio-sensing research*, vol. 16, pp. 46-54, 2017.

- [139] G.-C. Zhao and X. Yang, "A label-free electrochemical RNA aptamer for selective detection of theophylline," *Electrochemistry communications*, vol. 12, no. 2, pp. 300-302, 2010.
- [140] Y. Gao, H. Wang, and L. Guo, "Simultaneous determination of theophylline and caffeine by large mesoporous carbon/Nafion modified electrode," *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 706, pp. 7-12, 2013.
- [141] S. Jesny and K. Girish Kumar, "Non-enzymatic electrochemical sensor for the simultaneous determination of xanthine, its methyl derivatives theophylline and caffeine as well as its metabolite uric acid," *Electroanalysis*, vol. 29, no. 7, pp. 1828-1837, 2017.
- [142] C. Huck, W. Guggenbichler, and G. Bonn, "Analysis of caffeine, theobromine and theophylline in coffee by near infrared spectroscopy (NIRS) compared to high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to mass spectrometry," *Analytica chimica acta*, vol. 538, no. 1-2, pp. 195-203, 2005.
- [143] B. Srdjenovic, V. Djordjevic-Milic, N. Grujic, R. Injac, and Z. Lepojevic, "Simultaneous HPLC determination of caffeine, theobromine, and theophylline in food, drinks, and herbal products," *Journal of chromatographic science*, vol. 46, no. 2, pp. 144-149, 2008.
- [144] D. Singh and A. Sahu, "Spectrophotometric determination of caffeine and theophylline in pure alkaloids and its application in pharmaceutical formulations," *Analytical Biochemistry*, vol. 349, no. 2, pp. 176-180, 2006.
- [145] P. W. Brown and B. Constantz, *Hydroxyapatite and related materials*. CRC press Boca Raton, FL, USA:, 1994.
- [146] V. Orlovskii, V. Komlev, and S. Barinov, "Hydroxyapatite and hydroxyapatite-based ceramics," *Inorganic materials*, vol. 38, no. 10, pp. 973-984, 2002.
- [147] H. Shi *et al.*, "Characterization and phenanthrene sorption of organic matter fractions isolated from organic and mineral soils," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no. 16, pp. 15971-15979, 2018.
- [148] T. Hanawa and M. Ota, "Calcium phosphate naturally formed on titanium in electrolyte solution," *Biomaterials*, vol. 12, no. 8, pp. 767-774, 1991.
- [149] B. Demri and D. Muster, "XPS study of some calcium compounds," *Journal of materials processing technology*, vol. 55, no. 3-4, pp. 311-314, 1995.
- [150] S. Kačiulis, G. Mattogno, L. Pandolfi, M. Cavalli, G. Gnappi, and A. Montenero, "XPS study of apatite-based coatings prepared by sol-gel technique," *Applied Surface Science*, vol. 151, no. 1-2, pp. 1-5, 1999.
- [151] Z. Zhang *et al.*, "Solvent-assisted stepwise redox approach to generate zeolite NaA-supported K₂O as strong base catalyst for michael addition of ethyl acrylate with ethanol," *ACS omega*, vol. 3, no. 8, pp. 10188-10197, 2018.
- [152] M. Noruzi, P. Hadian, L. Soleimanpour, L. Ma'mani, and K. Shahbazi, "Hydroxyapatite nanoparticles: an alternative to conventional phosphorus fertilizers in acidic culture media," *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, vol. 10, no. 1, p. 71, 2023.
- [153] L. Pilotto *et al.*, "Phosphorus release from nano-hydroxyapatite derived from biowastes in the presence of phosphate-solubilizing bacteria: A soil column experiment," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 73, no. 7, pp. 3918-3929, 2025.