

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC VẬT LIỆU NANO BẠC LÊN SINH TRƯỞNG CỦA BÈO *LEMNA SP.*

Trần Thị Thu Hương^{1,2}, Đặng Đình Kim¹, Hà Phương Thư³, Hồ Tú Cường¹, Nguyễn Trung Kiên¹, Nguyễn Thị Thúy¹, Trần Thị Kim Hà², Trần Hồng Hà², Dương Thị Thủy¹

¹Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Mỏ Địa chất

³Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài: 16.3.2016

Ngày nhận đăng: 30.6.2016

TÓM TẮT

Công nghệ nano liên quan đến quá trình tổng hợp và ứng dụng của vật liệu có kích thước nanomet (nm). Ở tỷ lệ nano, vật liệu có tính năng ưu việt hơn vật liệu truyền thống như kích thước nhỏ hơn 100 nm, bề mặt lớn hơn khối lượng, có cấu trúc tinh thể, tiềm năng phản ứng cao, tạo ra hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt... Quá trình ứng dụng tiềm ẩn nhiều nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe và môi trường sống. Để đánh giá tính an toàn của vật liệu nano trong môi trường nước, thử nghiệm trên đối tượng thủy sinh được tiến hành nhằm khảo sát độc tính của vật liệu. Bèo tấm được sử dụng làm sinh vật mô hình do có nhiều đặc điểm ưu việt hơn nhiều loài khác như tăng trưởng nhanh, ít yêu cầu về dinh dưỡng và đất trồng, là nguồn nguyên liệu mới cho sản xuất khí đốt sinh học. Bèo tấm cũng được ứng dụng trong xử lý ô nhiễm môi trường nước do có khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng có nguồn gốc nitrogen và phosphorus. Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của vật liệu nano bạc lên sinh trưởng của bèo tấm (*Lemna sp.*). Vật liệu nano bạc được chế tạo bằng phương pháp khử hóa học và phương pháp điện hoá. Đặc tính của vật liệu được xác định bằng các phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM), hiển vi điện tử quét (SEM) và quang phổ tử ngoại khả kiến (UV-VIS). Khối lượng của bèo được so sánh giữa ngày đầu và nồng độ dung dịch bạc 1 và 5 ppm gây ức chế sinh trưởng bèo là lớn nhất.

Từ khóa: *Lemna sp.*, đặc tính, ảnh hưởng, ức chế tăng trưởng, hạt nano bạc

MỞ ĐẦU

Nano kim loại là vật liệu có nhiều đặc tính nổi trội như có kích thước nhỏ hơn 100 nm, có diện tích tiếp xúc bề mặt lớn so với khối lượng (Roduner *et al.*, 2006), tạo ra hiệu ứng cộng hưởng Plasmon bề mặt (Klaine *et al.*, 2008; Roduner *et al.*, 2006), khả năng bám dính tốt, và được ứng dụng trong nhiều ngành công nghiệp khác nhau như y tế, mỹ phẩm, điện tử, xúc tác hoá học, môi trường... (Klaine *et al.*, 2008). Vì có nhiều đặc điểm ưu việt và khả năng ứng dụng thực tế cao nên quá trình sản xuất vật liệu nano trên toàn cầu đã không ngừng tăng từ 2000 tấn năm 2004 và dự đoán từ năm 2011 đến 2020 sẽ lên đến 58.000 tấn (Gubbins *et al.*, 2011).

Sự gia tăng việc sử dụng vật liệu nano trong nhiều lĩnh vực cũng làm dấy lên nhiều lo ngại về nguy cơ tiềm ẩn của vật liệu đối với sức khỏe và môi trường sống, nhất là môi trường nước và các sinh vật thủy sinh. Theo một số báo cáo (Park *et al.*, 2010; Sankar *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2011) vật liệu nano bạc có khả năng diệt khuẩn cao, có thể diệt vi khuẩn

lam độc lên tới 89,7% chỉ sau 6 đến 10 ngày thử nghiệm. Mặc dù độc tính của vật liệu nano đã được nghiên cứu nhiều, nhưng đánh giá ảnh hưởng của vật liệu đến môi trường sau khi sử dụng vẫn còn khá khiêm tốn. Hơn nữa, những nghiên cứu đã tiến hành lại có rất ít các dữ liệu mô tả ảnh hưởng trong thực tế dưới dạng mô hình và nếu có thì thời gian theo dõi thực nghiệm lại ngắn không thể đánh giá quá trình ảnh hưởng của vật liệu một cách toàn vẹn (Gubbins *et al.*, 2011). Các thực vật nổi cũng như thực vật thủy sinh nói riêng là các sinh vật sản xuất sơ cấp, một nguồn thức ăn cho các loài cá, động vật có vú và chim. Ngoài ra, thực vật thủy sinh cũng tham gia vào các quá trình tự xử lý làm sạch nguồn nước một cách tự nhiên thông qua quá trình tuần hoàn sinh hoá các nguyên tố như N₂ và carbon. Vì vậy bất kỳ một ảnh hưởng bất lợi của vật liệu đến sinh trưởng và phát triển của thực vật thủy sinh đều có thể làm biến đổi hệ sinh thái thậm chí gây ra những nguy hiểm nghiêm trọng.

Bèo tấm (duckweeds, *lemnaceae*) là loại thực vật thủy sinh nổi, kích thước nhỏ, phân bố rộng ở

hiều vùng trên thế giới, sống trong nước ngọt. Họ Bèo tấm (*Lemnoideae*) có 37 loài thuộc 5 chi: *Spirodela*, *Landoltia*, *Lemna*, *Wolffiella* và *Wolffia*. Bèo tấm có cấu trúc cơ thể đơn giản gồm lá, thân có độ phân hóa thấp và rễ (*Spirodela*, *Landoltia*, *Lemna*) hoặc không có rễ (*Wolffiella* và *Wolffia*) (Cao *et al.*, 2015). Tốc độ phát triển của bèo tấm bị ảnh hưởng bởi các yếu tố: ánh sáng, nhiệt độ, pH và điều kiện dinh dưỡng. Bèo tấm có khả năng chống chịu pH trong khoảng rộng (3,0 - 10,0), nhiệt độ phát triển tối ưu là 20 - 30°C. Bèo tấm có thể phát triển trong điều kiện chiếu ánh sáng trực tiếp hay trong bóng râm. *Wolffia* ưa điều kiện tối còn *Lemna* lại ưa ánh sáng trực tiếp. Kích thước của bèo tấm khá nhỏ: lá có chiều rộng 1 - 3 mm, rễ ngắn hơn 10 mm, không có sự phân biệt rõ giữa lá và thân. Bèo tấm thuộc loại thực vật có tốc độ phát triển nhanh, tốc độ tăng trưởng sinh khối gấp đôi trong thời gian 2 - 3 ngày trong điều kiện tối ưu, thậm chí sau 50 ngày, bèo tấm có thể mọc kín 1 ha bề mặt nuôi trồng ban đầu chỉ 10 cm² và sau 60 ngày sẽ phủ kín diện tích lên tới 32 ha (FAO, 1999).

Trong nhiều năm vừa qua, việc phát triển các ngành nghề nhất là công nghiệp và nông nghiệp bền vững là một yêu cầu cấp thiết nhằm hạn chế những tác động của sự biến đổi khí hậu và tạo ra nhiều nguồn năng lượng mới thay thế năng lượng tự nhiên sắp cạn kiệt. Bên cạnh đó, việc lạm dụng quá mức phân bón và thuốc bảo vệ thực vật trong sản xuất nông nghiệp đã dẫn đến tình trạng ô nhiễm nguồn nước ngầm (FAO, 1999). Thực trạng thiếu nước sạch sinh hoạt đã và đang trực tiếp ảnh hưởng đến hơn 1 tỷ người trên toàn thế giới. Việc sử dụng một số loài thực vật thủy sinh có khả năng hấp thụ và chuyển hóa các chất trong nước thải được xem như là liệu pháp sinh học có nhiều hứa hẹn để giải quyết vấn đề ô nhiễm nước thải và tái sử dụng nguồn nước này (Muradov *et al.*, 2014). Bèo tấm đã được sử dụng nhiều như một đối tượng thực vật mô hình vì các điểm khác biệt của nó so với các đối tượng thực vật khác. Nó cũng là thực vật thủy sinh được sử dụng nhiều trong xử lý nước thải sinh hoạt, nước thải bị nhiễm kim loại nặng, chế biến sữa, xử lý bậc ba từ nước thải đã xử lý thứ cấp, từ các hồ sinh học ổn định và nước nuôi thủy sản do nó có khả năng sinh trưởng trong môi trường nước thiếu oxy và hấp thụ các chất dinh dưỡng cần thiết như PO₄³⁻ và NO₃⁻ (Appenroth *et al.*, 2014; FAO, 1999). Tất cả các loài bèo tấm đều có khả năng hấp thụ và tích lũy trong cơ thể một lượng rất cao các kim loại nặng như Cd, Cr, Pb... Theo công bố của FAO thì bèo tấm có khả năng hấp thụ được Cd, N, Cr, Zn, Sr, Co, Fe, Mn,

Cu, Pb, Al và thậm chí là Au (FAO, 1999). Khi nghiên cứu trên bèo *S. polyrhiza* bằng phương pháp cân khối lượng, các nhà khoa học đã chứng minh rằng bèo tấm là loài thực vật hạt kín có tốc độ sinh trưởng nhanh nhất so với tỷ lệ cơ thể (Kutschera *et al.*, 2015). Chu kỳ sinh trưởng nhanh, kích thước cơ thể nhỏ, cấu trúc đơn giản và việc dễ dàng đánh dấu phóng xạ trên toàn bộ cơ thể là những ưu điểm vượt trội của bèo tấm so với các thực vật thủy sinh khác (Lam *et al.*, 2014).

Mặc dù các nghiên cứu về nano phát triển mạnh trong những năm gần đây nhưng nghiên cứu về sự ảnh hưởng của nano lên thực vật thủy sinh vẫn còn hạn chế. Với những ưu điểm trong quá trình tăng trưởng của mình, bèo tấm được sử dụng như một chỉ thị sinh học để đánh giá độc tính của vật liệu, kiểm soát ảnh hưởng của vật liệu đến môi trường nước. Mục đích của nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng sinh trưởng của bèo tấm *Lemna* sp. dưới tác động của vật liệu nano Ag thu được từ phương pháp khử hóa học và điện hóa.

NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Môi trường nuôi cấy bèo tấm

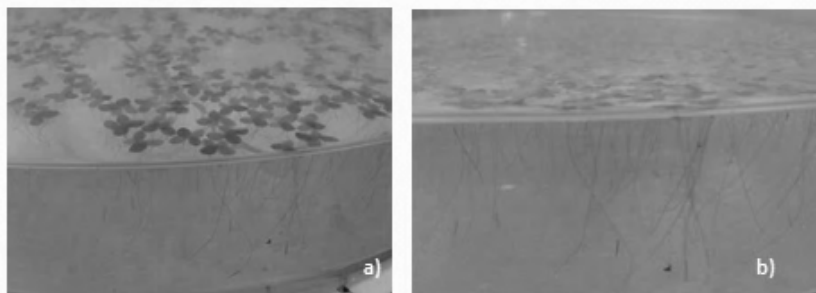
Bèo tấm được thu nhận từ một số ao hồ tại Hà Nội đưa về phòng thí nghiệm để lựa chọn các cánh bèo có kích thước và số lá đồng đều nhau. Các bèo tấm lựa chọn sẽ được nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng (ISO 20079, 2005) từ 10 - 14 ngày trước khi thử nghiệm với vật liệu nano. Môi trường nuôi bèo bao gồm các thành phần: KNO₃ 0,404 mg/l; KH₂PO₄ 0,106 mg/l; K₂HPO₄ 0,0728 mg/l; K₂SO₄ 0,0348 mg/l; MgSO₄.7H₂O 0,0992 mg/l; CaCl₂ 0,0222 mg/l; FeSO₄.7H₂O 0,0120 mg/l; H₃BO₃ 0,01144 mg/l; MnCl₂.4H₂O 0,000564 mg/l; ZnSO₄.7H₂O 0,00214 mg/l; (NH₄)Mo₇O₂₄.4H₂O 0,000086 mg/l; CuSO₄.5H₂O 0,00023 mg/l; CoCl₂.6H₂O 0,00108 mg/l. pH của môi trường nuôi được điều chỉnh đến 6,5 trước khi hấp thành trùng. Tất cả các thí nghiệm trong nghiên cứu đều sử dụng môi trường nuôi cấy này.

Điều chế nano Ag theo phương pháp khử hóa học

Trong nghiên cứu này, hoá chất sử dụng gồm bạc nitrate (AgNO₃, Merck), chất ổn định chitosan (Sigma - Aldrich) và chất khử NaBH₄ (Cica - Nhật Bản). Sử dụng nước deion để chuẩn bị các dung dịch AgNO₃ 0,93 mmol và NaBH₄ 15 mmol. Riêng dung dịch chitosan 500 ppm được pha bằng acetic

acid 10%. Khuấy đều dung dịch nitrat bạc (nồng độ thay đổi từ 50 - 300 ppm) với dung dịch chitosan (pH 5 - 6, nồng độ thay đổi từ 40 - 200 ppm) và nhỏ từ từ, đồng thời dung dịch NaBH_4 cho tới khi có màu vàng sẽ thu được dung dịch

nano bạc. Các tỷ lệ về nồng độ chất khử, chất ổn định, chất chống oxy hóa và nồng độ ion bạc sẽ được khảo sát nhằm thu được dung dịch nano bạc tốt nhất. Tỷ lệ nồng độ $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ khảo sát tăng dần từ 0,2 đến 1.



Hình 1. Hình ảnh bèo tấm được thu nhận cho các thí nghiệm; a) cánh bèo; b) rễ bèo.

Điều chế nano Ag theo phương pháp điện hoá

Nguyên liệu sử dụng trong phương pháp này là các điện cực bạc, nước deion và Polyvinylpyrrolidone (PVP) - K30 làm chất bảo vệ. Dung dịch nano bạc được chế tạo bằng phương pháp điện hoá dựa trên cơ sở hoà tan điện cực Anot tạo thành các ion Ag^+ , dưới tác dụng của dòng điện một chiều từ 3 - 12V, các ion này di chuyển sang điện cực Catot và hình thành nên các hạt nano Ag^0 có màu trắng. Khoảng cách giữa hai điện cực thay đổi từ 1 - 7 cm. Để hạn chế việc keo tụ của các hạt nano Ag^0 xảy ra, PVP - K30 đã được thêm vào với nồng độ từ 10 - 50 ppm. Sau thời gian phản ứng thay đổi từ 10 - 90 phút sẽ thu được nano bạc.

Xác định các đặc trưng của vật liệu

Hình thái học của mẫu vật liệu nano được chụp SEM, Tem bằng kính hiển vi điện tử quét phân giải cao FE SEM S4800 và EOL 1010 (Nhật Bản), ống phát tia Röntgen làm bằng Cu với bước sóng $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$, điện áp 30kV, cường độ 25 mA, góc quét 2θ thay đổi từ 10 đến 70° , tốc độ quét $2^\circ/\text{phút}$ tại nhiệt độ phòng (25°C), $d = 1\text{nm}$, $U = 0,5 - 30\text{kV}$ và một số phương pháp khác như phương pháp phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS)...

Đánh giá ảnh hưởng của các vật liệu lên sinh trưởng của bèo tấm

Để bèo tấm thích nghi với môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy trong phòng thí nghiệm, bèo tấm *Lemna* sp. được thu nhận từ tự nhiên và nuôi trong môi trường dinh dưỡng (ISO 20079, 2005), điều kiện nuôi như sau: nhiệt độ khoảng 25°C

$\pm 2^\circ\text{C}$, chu kỳ sáng : tối là 14 : 8 giờ với cường độ chiếu sáng 1000 lux. Để đánh giá độc tính của vật liệu nano bạc chế tạo bằng phương pháp khử và phương pháp điện hoá đến sinh trưởng của bèo *Lemna* sp., 6 cá thể bèo có 4 cánh bèo đã được bổ sung vào bình tam giác chứa 100 ml môi trường bèo (ISO 20079, 2005). Hai loại dung dịch nano bạc được bổ sung vào các bình tam giác có chứa bèo với dải nồng độ 0,01; 0,05; 0,1; 1 và 5 ppm. Bèo tấm *Lemna* sp. được nuôi ở điều kiện như đã trình bày ở trên. Độc tính của nano bạc đến sinh trưởng của bèo được theo dõi trong 7 ngày. Sinh trưởng của bèo đánh giá thông qua sự thay đổi về khối lượng bèo giữa ngày thí nghiệm cuối cùng so với ngày đầu tiên của thí nghiệm. Khả năng ức chế sinh trưởng được tính bằng công thức sau (Selvarani *et al.*, 2013):

Hiệu suất ức chế tăng trưởng của vật liệu đến bèo *Lemna* sp. (%) = $[(\text{sinh khối mẫu đối chứng} - \text{sinh khối mẫu thí nghiệm})/\text{sinh khối mẫu đối chứng}] \times 100$.

Phân tích thống kê số liệu

Tất cả các thí nghiệm đều được lặp lại ba lần và dữ liệu thu nhận được vẽ bằng phần mềm GraphPad Prism 6 (two-way ANOVA). Ý nghĩa thống kê được chấp nhận ở mức $p < 0,05$.

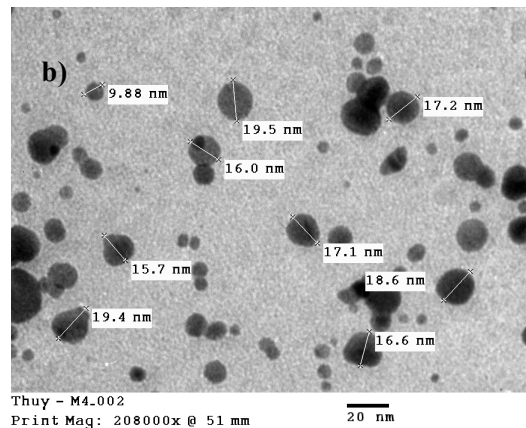
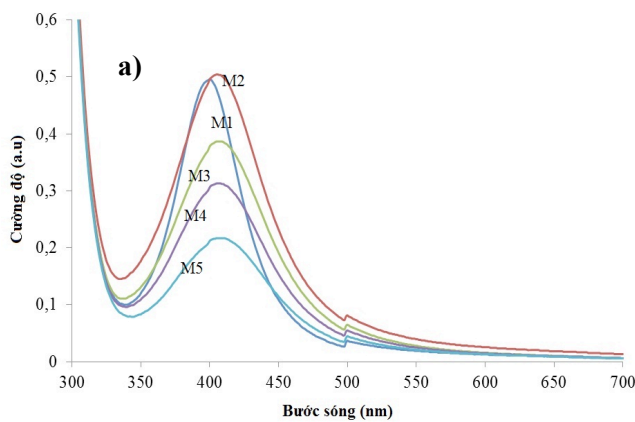
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc trưng của vật liệu nano bạc điều chế bằng phương pháp khử hoá học

Đặc trưng của các hạt nano bạc điều chế bằng

phương pháp khử thể hiện ở hình 2. NaBH_4 được sử dụng trong phương pháp này vì nó là chất khử mạnh có xu hướng tạo ra các hạt nano bạc kích thước nhỏ và đồng đều. Tỷ lệ nồng độ $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ có ảnh hưởng trực tiếp đến đặc trưng các hạt nano bạc khử được tạo thành. Tỷ lệ nồng độ $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ được khảo sát trong khoảng 1/1 - 1/5. Phổ UV-VIS với nồng độ $\text{NaBH}_4/\text{Ag}^+$ tăng dần tương ứng được trình bày ở hình 2a. Kết quả đo cho thấy, dung dịch nano bạc điều chế được có kích thước nanomet và hấp thụ ở bước sóng 390 - 410 nm. Đỉnh hấp thụ cực đại khá nhọn, độ bán rộng của

đỉnh hấp thụ tương đối hẹp với tỷ lệ $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ tăng dần từ tỷ lệ 1/1 đến 1/5. Tuy nhiên, với tỷ lệ nồng độ $\text{NaBH}_4/\text{Ag}^+$ là 1/5 (M5) cường độ đỉnh hấp thụ cực đại thấp và khá tù chứng tỏ hạt nano Ag có kích thước phân bố trong khoảng rộng. Kết quả đo TEM mẫu dung dịch nano bạc với tỷ lệ nồng độ $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ 1/4 được trình bày ở hình 2b cho thấy có sự xuất hiện của các hạt bạc kích thước nanomet và các hạt bạc có hình cầu. Với tỷ lệ nồng độ $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ là 1/4 các hạt nano bạc thu được có kích thước nhỏ hơn 20 nm; độ đồng đều của các hạt thu được cao, ít co cụm.



Hình 2. a) Phổ UV-VIS với tỷ lệ nồng độ $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ khác nhau: M1: $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+ = 1/1$; $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+ = 1/2$; $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+ = 1/3$; $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+ = 1/4$; $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+ = 1/5$; b) ảnh TEM của các hạt nano bạc được chế tạo với tỷ lệ $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+ = 1/4$.

Đặc trưng của vật liệu nano bạc điều chế bằng phương pháp điện hoá

Trong phương pháp này kích thước hạt nano hình thành phụ thuộc nhiều vào cách điều chỉnh điện áp của hệ được đặt. Lựa chọn điện áp đặt vào hệ từ 3 - 12 V, tiến hành phản ứng ở nhiệt độ phòng. Kết quả đo UV-VIS (Hình 3c) cho thấy dung dịch nano Ag điều chế được hấp thụ ở bước sóng khoảng 250 nm. Điều này có thể là do dung dịch nano Ag chế tạo được với các hạt có kích thước lớn, các hạt kết tụ lại với nhau nên không thể hiện đặc trưng phổ UV-VIS của dung dịch nano Ag. Đỉnh peak hấp thụ cực đại khá tù chứng tỏ hạt nano Ag có kích thước phân bố trong khoảng rộng. Các ảnh SEM và TEM (Hình 3a, b) của các mẫu nano Ag chế tạo được cho thấy có sự xuất hiện của các hạt bạc kích thước nanomet có hình cầu, kích thước hạt chủ yếu khoảng 30 - 80 nm; độ đồng đều của các hạt thu được nhỏ, đôi khi thấy có những đám lớn do sự co cụm của các hạt với nhau. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả đo phổ UV-VIS.

Để tăng độ đồng đều của các hạt nano, chống lại sự co cụm của các hạt, chúng tôi đã nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định. Với điện áp 9V, khoảng cách giữa 2 điện cực là 2 cm, khi hàm lượng PVP - K30 thay đổi từ 10 ppm đến 60 ppm, các kết quả ảnh SEM và TEM cho thấy dung dịch nano Ag điều chế được có các hạt kích thước đồng đều hơn. Khả năng ổn định của dung dịch nano Ag và độ đồng đều của kích thước các hạt nano tăng dần khi hàm lượng PVP tăng.

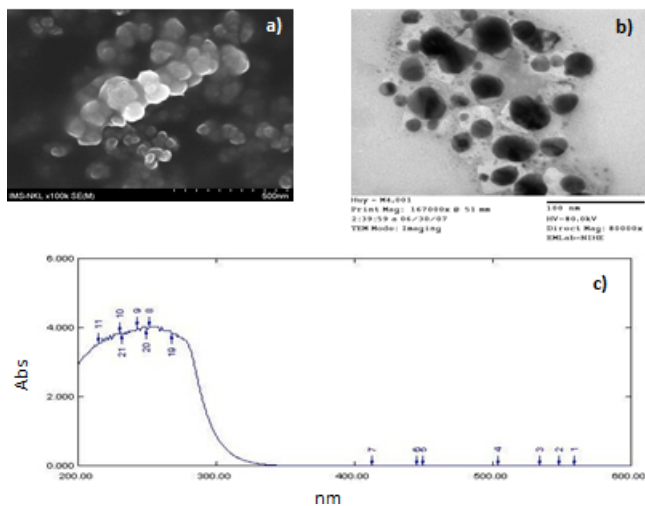
Ảnh hưởng của các vật liệu nano bạc đến sinh trưởng của bèo tấm *Lemna sp.*

Ảnh hưởng của các vật liệu nano bạc chế tạo bằng phương pháp khử hóa học

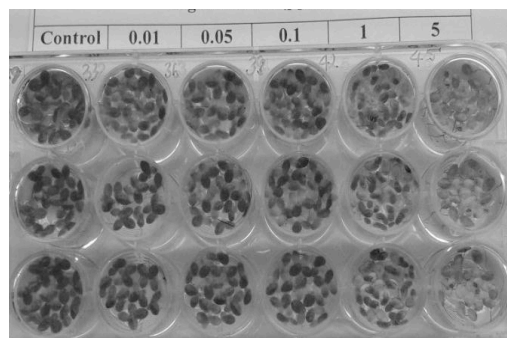
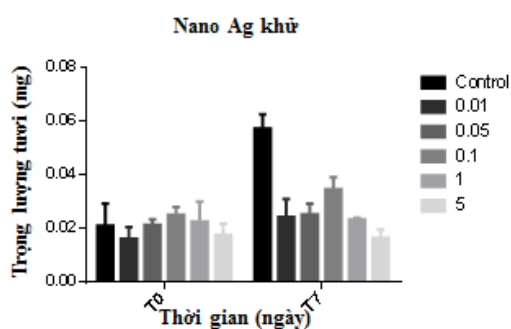
Sinh trưởng của bèo *Lemna sp.* dưới tác động của các nồng độ nano bạc khử được thể hiện trong hình 4. Sinh trưởng của bèo bị ức chế ở các nồng độ

dung dịch bạc khác nhau là khác nhau. Sinh trưởng của các cá thể bèo ở thời điểm ban đầu qua phép đo khối lượng đối với nano bạc khử là $0,021 \pm 0,005$

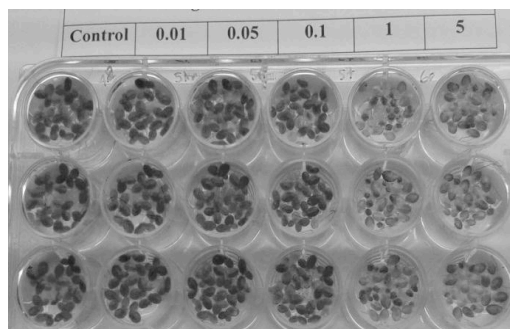
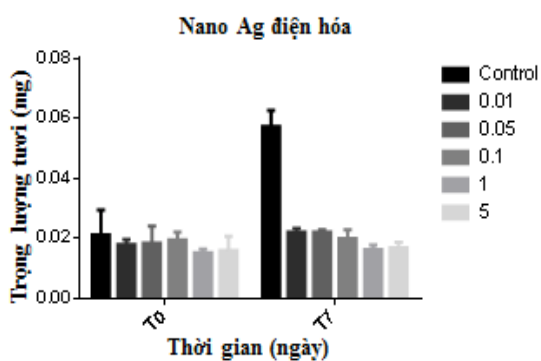
mg. Sau 7 ngày tiếp xúc với vật liệu (nồng độ thay đổi từ 0,01; 0,05; 0,1; 1 và 5 ppm) khối lượng của bèo thay đổi tương ứng là $0,025 \pm 0,007$ mg.



Hình 3. a, b) Ảnh SEM, TEM của các mẫu bạc điều chế bằng phương pháp điện hoá ở các điện áp khác nhau; c) Phổ UV-VIS của mẫu nano Ag điện hoá.



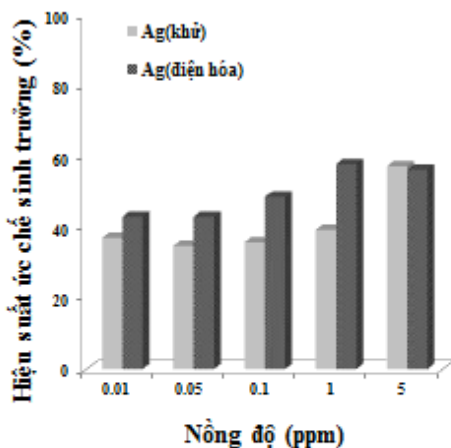
Hình 4. Sinh trưởng của bèo *Lemna* sp. ở các nồng độ dung dịch nano bạc khử khác nhau (0; 0,01; 0,05; 0,1; 1 và 5 ppm).



Hình 5. Sinh trưởng của bèo *Lemna* sp. ở các nồng độ dung dịch nano bạc điện hóa khác nhau (0; 0,01; 0,05; 0,1; 1 và 5 ppm).

Sinh trưởng của bèo *Lemna sp.* dưới tác động của nano bạc thu được bằng phương pháp điện hóa có nồng độ khác nhau được thể hiện trong hình 5. Khả năng ức chế của vật liệu nano bạc chế tạo bằng hai phương pháp khác nhau lên sinh trưởng của bèo cũng khác nhau. Ở thời điểm ban đầu khối lượng của bèo dưới tác dụng của nano bạc điện hóa là $0,0206 \pm 0,0049$ mg. Với nồng độ vật liệu thử nghiệm thay đổi từ 0,01; 0,05; 0,1; 1 và 5 ppm thì sau 7 ngày tiếp xúc khối lượng của bèo thay đổi là $0,0249 \pm 0,0067$ mg.

Hiệu suất ức chế sinh trưởng của vật liệu nano bạc đến bèo *Lemna sp.* sau 7 ngày được thể hiện trong hình 6. Đối với vật liệu nano bạc điện hoá hiệu suất ức chế > 40% quan sát được ở cả 5 nồng độ thử nghiệm sau 7 ngày. Vật liệu nano bạc khử thể hiện khả năng ức chế sinh trưởng đến bèo *Lemna sp.* thấp hơn, sau 7 ngày tiếp xúc với vật liệu hiệu suất ức chế được ghi nhận ở cả năm nồng độ thử nghiệm (0,01; 0,05; 0,1; 1 và 5 ppm) là > 30%.



Hình 6. Hiệu suất ức chế sinh trưởng của các nồng độ dung dịch bạc khử và bạc điện hóa (0,01; 0,05; 0,1; 1 và 5 ppm) sau 7 ngày thử nghiệm đối với bèo tấm *Lemna sp.*

So với mẫu đối chứng thì cả hai vật liệu đều ảnh hưởng đến sinh trưởng của bèo *Lemna sp.* Ở các mẫu thí nghiệm có bổ sung vật liệu nano bạc, khối lượng bèo sau 7 ngày thử nghiệm đều giảm, riêng mẫu đối chứng khối lượng tăng từ $0,0176 \pm 0,0027$ mg (ngày T0) lên $0,0387 \pm 0,0037$ mg (ngày T7). Ở nồng độ 1 và 5 ppm ức chế sinh trưởng vật liệu nano bạc đến bèo *Lemna sp.* là lớn nhất, cánh bèo trước và sau khi bổ sung vật liệu đều tách rời, số lượng cánh giảm, hầu hết rễ đều đứt hoặc tách khỏi thân hoặc chỉ còn lại những đoạn nhỏ. Đối với các nồng độ thấp hơn (0,01; 0,05 và 0,1 ppm) khả năng ảnh hưởng ít hơn.

Kết quả này phù hợp với công bố của một số tác giả gần đây (Oukarroum *et al.*, 2013; Cao *et al.*, 2015; Chokchai *et al.*, 2013; Gubbins *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2013). Theo Oukarroum và đồng tác giả (2013), sau 7 ngày tiếp xúc với vật liệu nano bạc ở các nồng độ từ 0; 0,01; 0,1; 1 và 10 ppm số lượng lá của bèo *Lemna gibba* đã giảm đáng kể, khả năng di chuyển của bèo cũng giảm, nhất là ở hai nồng độ 1 và 10 ppm. Điều này được giải thích do sự tích tụ của các hạt nano bạc trong tế bào thực vật thủy sinh với nồng độ vật liệu ngày càng tăng trong môi trường. Quá trình tích tụ liên quan chặt chẽ tới khả năng sinh oxy nội bào, với nồng độ 1 và 10 ppm quá trình sinh oxy nội bào đã được gia tăng đáng kể dẫn đến sự phá hủy tế bào thực vật. Nghiên cứu cũng chứng minh rằng sự tích tụ của vật liệu nano trong môi trường có thể là một nguồn gây độc tiềm tàng cho khả năng sinh trưởng và tồn tại của các thực vật thủy sinh. Gubbins *et al.*, 2011 tiến hành thí nghiệm với nồng độ nano bạc thấp hơn (5 mg/l) và thời gian thử nghiệm dài hơn (14 ngày) cũng cho kết quả tương tự. Kết quả chỉ ra rằng sự ức chế sinh trưởng đối với thực vật thủy sinh là rõ ràng. Có một sự liên quan tuyến tính giữa khả năng sinh trưởng của thực vật thủy sinh với kích thước và nồng độ của vật liệu nano bổ sung vào môi trường thử nghiệm. Khi các kích thước lớn (100 nm) thì sự ức chế cũng tăng dần từ thấp đến cao, nhất là với nồng độ 5 ppm và thời gian dài nhất (14 ngày) thì sự ảnh hưởng là rõ rệt nhất. Tuy vật liệu nano kim loại được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực nhưng tính an toàn của chúng đối với các sinh vật và môi trường vẫn cần được xem xét một cách cẩn thận nhằm đánh giá được khả năng sử dụng vật liệu nano của các ứng dụng trong tương lai.

KẾT LUẬN

Dung dịch nano bạc sử dụng trong nghiên cứu này được chế tạo bằng phương pháp khử hoá học và phương pháp điện hoá. Kết quả khảo sát vật liệu cho thấy các hạt nano đều có phổ đặc trưng. Vật liệu nano bạc chế tạo bằng phương pháp khử hoá học có kích thước đồng đều khoảng 10 nm với tỷ lệ nồng độ chất khử và tiền chất $\text{BH}_4^-/\text{Ag}^+$ là 0,3. Với điện áp 9V, khoảng cách giữa 2 điện cực là 2 cm, khi hàm lượng PVP - K30 thay đổi từ 10 ppm đến 60 ppm, các hạt nano bạc thu được bằng phương pháp điện hóa có dạng hình cầu, kích thước nanomet trong khoảng 30 - 80 nm; độ đồng đều thấp.

Cả hai loại vật liệu nano thử nghiệm đều ảnh

hưởng đến khả năng sinh trưởng của bèo *Lemna* sp. Với nồng độ vật liệu nano bạc bổ sung là 1 và 5 ppm thì sau 7 ngày thử nghiệm hầu hết bèo *Lemna* sp. đều suy giảm số lượng lá và khối lượng khô so với mẫu đối chứng, hiệu suất ức chế sinh trưởng là trên 40%. Ở các nồng độ thấp hơn (0,01; 0,05 và 0,1 ppm) khả năng ức chế của vật liệu thấp với 30% so với ngày đầu thử nghiệm.

Từ số liệu thực nghiệm cho thấy, vật liệu nano bạc có ảnh hưởng bất lợi đến sinh trưởng và phát triển của bèo tấm. Do đó việc sử dụng vật liệu nano bạc cần phải được cân nhắc khi ứng dụng thực tế hoặc cần nghiên cứu để tìm được dải nồng độ phù hợp có thể ứng dụng trong xử lý môi trường mà vẫn không ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của các thực vật khác.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hoàn thành trong khuôn khổ đề tài VAST0701/15-16. Tập thể tác giả chân thành cảm ơn Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tài trợ kinh phí thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdallah O, Lotfi B, Laura P, David D (2013) Silver nanoparticle toxicity effect on growth and cellular viability of the aquatic plant *Lemna gibba*. *Environ Toxicol and Chem* 32 (4): 902-907.

Appenroth KJ, Crawford DJ, Les DH (2015) After the genome sequencing of duckweed - how to proceed with research on the fastest growing angiosperm. *Plant Biol* 17: 1-4.

Cao HX, Vu GTH, Wang W, Messing J, Schubert I (2015) Chromatin organisation in duckweed interphase nuclei in relation to the nuclear DNA content. *Plant Biol* 17: 120-124.

Chokchai K, Supachai V (2013) Effects of nutrient media on vegetative growth of *Lemna minor* and *Landoltia punctata* during in vitro and ex vitro cultivation. *Maejo Int J Sci Technol* 7(01): 60-69.

FAO (1999) DUCKWEED: A tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment, *FAO Publications, Rome, Italy*.

Gubbins E, Lesley C, Jamie R (2011) Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environ Pollut* 159: 1551-1559.

Klaine SJ, Alvarez PJ, Batley GE, Fernandes TF, Handy

RD, Lyon DY, Lead JR (2008) Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environ Toxicol and Chem* 27(9): 1825-1851.

Kutschera U, Niklas KJ (2015) Darwin-Wallace Demons: survival of the fastest in populations of duckweeds and the evolutionary history of an enigmatic group of angiosperms. *Plant Biol* 17: 24-32.

Lam E, Appenroth KJ, Michael T, Mori K, Fakhoorian T (2014) Duckweed in bloom: the 2nd International Conference on Duckweed Research and Applications heralds the return of a plant model for plant biology. *Plant Mol Biol* 84: 737-742.

Ling L, Markus S, Meri T, Kari L, Eija S (2013) Behavior of titanium dioxide nanoparticles in *Lemna minor* growth test conditions. *Ecotoxicol and Environ Saf* 88: 89-94.

Muradov N, Taha M, Miranda AF, Kadali K, Gujar A, Rochfort S (2014) Dual application of duckweed and azolla plants for wastewater treatment and renewable fuels and petrochemicals production. *Biotechnol Biofuel* 7, p.30.

Park MH, Kim KH, Lee HH, Kim JS, Hwang SJ (2010) Selective inhibitory potential of silver nanoparticles on the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Biotechnol Lett* 32: 423-428.

Roduner E (2006) Size matters: why nanomaterials are different. *Chem Soc Rev* 35: 583-592.

Sandra MA, Augusto MD, David MF, Francisco P, Romeu AV, Amália SJ (2013) Studies on the toxicity of an aqueous suspension of C60 nanoparticles using a bacterium (*gen. Bacillus*) and an aquatic plant (*Lemna gibba*) as in vitro model systems. *Aquat Toxicol* 142-143: 347-354.

Sankar R, Prasath BB, Nandakumar R, Santhanam P, Shivashangari KS, Ravikumar V (2014) Growth inhibition of bloom forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by green route fabricated copper oxide nanoparticles. *Environ Sci Pollut Res* 21: 14232-14240.

Selvarani M, Prema P (2013) Evaluation of antibacterial efficacy of chemically synthesized copper and zerovalent iron nanoparticles. *Asian J Pharm Clin Res* 6(3): 223-227.

Tran TTH, Duong TT, Nguyen TK, Ho TK (2015) Ảnh hưởng của một số nano kim loại đến sinh trưởng của chủng vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* KG. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 53(6A): 50-57.

Wang Z, Li J, Zhao J, Xing B (2011) Toxicity and Internalization of CuO Nanoparticles to Prokaryotic Alga *Microcystis aeruginosa* as Affected by Dissolved Organic Matter. *Environ Sci Technol* 45: 6032-6040.

EFFECT OF ENGINEERED NANOPARTICLES ON GROWTH OF *LEMNA SP.*

Tran Thi Thu Huong^{1,2}, Dang Dinh Kim¹, Ha Phuong Thu³, Ho Tu Cuong¹, Nguyen Trung Kien¹, Nguyen Thi Thuy, Tran Thi Kim Ha², Tran Hong Ha², Duong Thi Thuy^{1,✉}

¹*Institute of Environmental Technology, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*Faculty of Environmental, Hanoi University of Mining and Geology*

³*Institute of Materials Science, Vietnam Academy of Science and Technology*

SUMMARY

Nanotechnology is the technology relating to the synthesis and application of materials with nanometer sizes (nm). At the nanoscale, materials will have special features than traditional materials because their specific size is smaller than 100 nm, larger surface to volume ratio, crystalline structure, high reactivity potential, creating the effect of resonance Plasmon surface... Materials application process also potential risks to health and the environment. To evaluate the safety of nanomaterial in water environment, the experiments on aquatic organisms should be carried out to test the toxicological effects of nanomaterial. Duckweed used as a model organism because of unique difference characteristics from other plants as they could provide a new material source for the production of fuel and biogas, rapidly grow in a short time that requires little soil and nutrition. Duckweed is aquatic plants are widely used in the treatment of water pollution because it has the ability to absorb the nutrients of nitrogen and phosphorus. The aim of this work was to evaluate the influence of silver nanoparticles on growth of *Lemna sp.* The silver nanoparticles were synthesized by electrochemical and reduction method. Characterizations of these nanoparticles were Transmission electron microscopy (TEM), Scanning Electron Microscope (SEM) and Ultraviolet-Visible (UV - VIS) methods. The weight of *Lemna sp.* was compared between the first day and the last day of the experiment period (7 th day of cultivation). The results showed that nano materials show growth inhibition against *Lemna sp.* At concentration of 1 and 5 ppm of silvernano solutions, a maximum anti-*Lemna sp.* activity was observed.

Keywords: *Lemna sp.*, characterization, effect, growth inhibition, silver nanoparticle

✉ Author for correspondence: E-mail: duongthuy0712@yahoo.com