



DOI:10.22144/ctujos.2026.046

CHẾ TẠO NHŨ TƯƠNG NANO DẦU NEEM KẾT HỢP NANO SILICA BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỂM ĐẢO PHA VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ KHÁNG NẤM *Pyricularia oryzae*

Phan Thị Kim Ngân*, Phạm Tiến Dũng, Nguyễn Đông Thức, Đặng Thị Như Quỳnh, Nguyễn Ngọc Quỳnh Anh, Ngô Hồng Loan, Lâm Hoàng Anh Thư, Hoàng Thùy Dương và Nguyễn Hữu Tuyền
 Trung tâm Nghiên cứu triển khai Khu Công nghệ cao, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): ptkngan199401@gmail.com

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 02/07/2025

Sửa bài (Revised): 22/07/2025

Duyệt đăng (Accepted): 30/01/2026

Title: Fabrication of neem oil nanoemulsion incorporated silica nanoparticles by emulsion phase inversion method and evaluation of antifungal activity against *Pyricularia oryzae*

Author(s): Phan Thi Kim Ngan*, Pham Tien Dung, Nguyen Dong Thuc, Dang Thi Nhu Quynh, Nguyen Ngoc Quynh Anh, Ngo Hong Loan, Lam Hoang Anh Thu, Hoang Thuy Duong and Nguyen Huu Tuyen

Affiliation(s): Research Laboratories of Saigon Hi-Tech Park, Viet Nam

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích tạo nhũ tương nano dầu neem bằng phương pháp điểm đảo pha, kết hợp với nano silica và xác định hiệu quả kháng *Pyricularia oryzae*. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo hệ nhũ đã được khảo sát như tỷ lệ dầu neem và chất hoạt động bề mặt, tỷ lệ chất hoạt động bề mặt, tỷ lệ dầu neem, tỷ lệ nano silica và chọn được tỷ lệ tối nhất ở điều kiện khảo sát đánh giá các chỉ tiêu hóa lý. Kết quả hệ nhũ tương tốt nhất với thành phần bao gồm 20% dầu neem, 20% Tween 80, 60% nước cất, 0,5% nano silica. Kết quả kích thước hạt trung bình, chỉ số đa phân tán, độ nhớt, độ đục, pH của hệ nhũ lần lượt là 154,8 nm, 0,233, 21,5 cP, 51,18 cm⁻¹, 6,2, ổn định ở nhiệt độ phòng sau 2 tháng bảo quản. Kết quả nhũ tương có hoạt tính kháng nấm tốt và hiệu quả ức chế đạt 80%; 78,26%; 76,02% ở nồng độ 10 µL/mL sau 3, 6, 9 ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhũ tương có tiềm năng thay thế thuốc diệt nấm tổng hợp hóa học.

Từ khóa: Dầu neem, điểm đảo pha, nano silica, nhũ tương nano

ABSTRACT

This study aimed to prepare a neem oil nanoemulsion using the emulsion phase inversion method, to incorporate silica nanoparticles, and to determine their antifungal efficacy against *Pyricularia oryzae*. We investigated the factors affecting nanoemulsion formation, including the neem oil to surfactant ratio, surfactant concentration, neem oil concentration, and silica nanoparticle content, and selected the best proportion under survey conditions to evaluate its physicochemical properties. The results showed that the best nanoemulsion had a composition of 20% neem oil, 20% Tween 80, 60% distilled water, and 0.5% silica nanoparticles. The results for the particle size, polydispersity index, viscosity, turbidity, and pH of the formulation were 154.8 nm, 0.233, 21.5 cP, 51.18 cm⁻¹, and 6.2, respectively, and the formulation remained stable after two months of storage at room temperature. The nanoemulsion exhibited good antifungal activity, with inhibition rates of 80%, 78.26%, and 76.02% at a concentration of 10 µL/mL after 3, 6, and 9 days, respectively. This study suggests that nanoemulsion could potentially replace synthetic chemical fungicides.

Keywords: Emulsion phase inversion, nanoemulsion, neem oil, silica nanoparticles

1. GIỚI THIỆU

Bệnh đạo ôn lúa do nấm *Pyricularia oryzae* (*Magnaporthe oryzae*), gây ra mối đe dọa đáng kể đối với sản xuất lúa gạo toàn cầu. Nấm có thể gây hại cho nhiều bộ phận của cây lúa, bao gồm cả lá và bông lúa, dẫn đến năng suất và chất lượng giảm đáng kể. Người ta ước tính rằng khoảng 5% sản lượng lúa hàng năm bị mất do bệnh này, tạo ra thách thức lớn đối với an ninh lương thực toàn cầu (Perumal et al., 2021; Savary et al., 2019). Việc sử dụng thuốc diệt nấm hóa học trong kiểm soát bệnh đạo ôn có thể gây ra vấn đề về môi trường và sức khỏe con người. Trên thực tế, nông dân thường có xu hướng sử dụng liều lượng cao để đạt hiệu quả nhanh chóng, điều này không chỉ tiêu diệt các loài côn trùng có lợi mà còn thúc đẩy sự phát triển của hiện tượng kháng thuốc ở nấm gây bệnh. Trước những thách thức đó, cùng với nhu cầu ngày càng cao của thị trường đối với sản phẩm nông nghiệp an toàn và định hướng phát triển nông nghiệp bền vững, việc chuyển đổi từ thuốc hóa học sang các chế phẩm sinh học có nguồn gốc tự nhiên, an toàn, hiệu quả và thân thiện với môi trường đang trở thành xu hướng tất yếu. Dầu neem thu được bằng phương pháp ép lạnh chứa một phức hợp các hợp chất hoạt tính, trong đó các limonoid như azadirachtin, nimbin và salannin là những thành phần chính (Kala et al., 2019). Azadirachtin được xem là hoạt chất quan trọng nhất, thể hiện cả khả năng kiểm soát côn trùng và có hoạt tính kháng nấm phổ rộng, hiệu quả trong việc ức chế nhiều loài nấm gây bệnh thực vật (Ramadhany et al., 2021). Tuy nhiên, việc ứng dụng dầu neem gặp một số hạn chế do tính kỵ nước, độ bay hơi và khả năng phân hủy quang học, làm giảm hiệu quả và độ bền của sản phẩm. Mặt khác, nano silica sở hữu độ xốp cao, kích thước hạt nhỏ và đồng đều, giúp tăng cường khả năng phân tán trong các hệ dung dịch (Azzahra et al., 2020; Khattak et al., 2023). Tính chất hóa học của nano silica thể hiện qua khả năng tương tác mạnh với các phân tử khác, đặc biệt là trong vai trò làm chất ổn định giao diện trong các hệ nhũ tương (Qu et al., 2022). Để khắc phục những nhược điểm này, các nghiên cứu đang được thực hiện nhằm tập trung phát triển các công thức chế tạo nhũ tương nano nhằm tăng cường độ ổn định, khả năng hòa tan và hiệu quả của dầu neem. Công nghệ nano và vi nhũ hóa hứa hẹn tối ưu hóa tiềm năng của dầu neem kết hợp với nano silica trong kiểm soát nấm bệnh, quản lý dịch hại tổng hợp và nông nghiệp hữu cơ, hướng tới nền nông nghiệp bền vững. Kết quả nghiên cứu do de Castro e Silva et al. (2019) đã chỉ ra rằng nhũ tương nano dầu neem, với kích thước hạt cực nhỏ, là một công cụ mạnh mẽ trong việc chống lại các bệnh nấm *Aspergillus flavus* và *Penicillium citrinum*. Cách

thức hoạt động của nhũ tương nano dầu neem là phá hủy màng tế bào nấm và phá vỡ quá trình phát triển của chúng (de Castro e Silva et al., 2019). Do tính an toàn và hiệu quả của nó, nhũ tương nano dầu neem kết hợp với nano silica có thể là một giải pháp thay thế đầy hứa hẹn cho các loại thuốc hóa học truyền thống, góp phần bảo vệ môi trường và an toàn cho người tiêu dùng. Phương pháp đảo pha (Emulsion phase inversion– EPI) là một phương pháp tạo nhũ tương nano năng lượng thấp dựa trên sự đảo pha của hệ ở nhiệt độ cố định, thường là nhiệt độ phòng. Sự đảo pha này được thực hiện nhờ sự thay đổi tỷ lệ thành phần pha dầu và nước trong hệ nhũ (Hien et al., 2021). Tại Việt Nam, việc thực hiện các nghiên cứu về nhũ tương nano từ dầu neem kết hợp với nano silica còn hạn chế và chưa được khai thác hiệu quả các ưu điểm cấu trúc xốp của nano silica trong việc tải lượng lớn hoạt chất azadirachtin. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm mục tiêu chế tạo nhũ tương nano dầu neem kết hợp với nano silica dựa trên các đặc tính hóa lý, đồng thời đánh giá hiệu quả kháng nấm *Pyricularia oryzae* (*P. oryzae*). Qua đó, kết quả nghiên cứu giúp hướng tới phát triển một chế phẩm sinh học an toàn, hiệu quả, góp phần bảo vệ môi trường, nâng cao chất lượng nông sản và thúc đẩy ứng dụng trong nông nghiệp hữu cơ, nông nghiệp bền vững.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Dầu neem được mua từ Trung tâm Thông tin ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ Ninh Thuận. Các chất nhũ hóa sử dụng Polyoxyethylene sorbitan monooleate (Tween 80), sorbitan oleate (Span 80) xuất xứ Xilong, Trung Quốc. Nano silica được cung cấp bởi công ty Biosilico, Việt Nam.

Chủng nấm *P. oryzae* được cung cấp từ Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Môi trường nuôi cấy PDA (Merck).

2.2. Đánh giá nguồn nguyên liệu dầu neem và nano silica

Dầu neem được đánh giá một số đặc tính cảm quan: màu sắc, mùi, trạng thái. Hàm lượng hoạt chất chính Azadirachtin đã được xác định, gửi mẫu tại Công ty Eurofins Sắc ký Hải Đăng.

Cảm quan nguyên liệu đã được đánh giá, bao gồm: màu sắc, trạng thái. Kích thước hạt nano silica được xác định bằng phương pháp DLS (Ibrahim et al., 2023).

2.3. Phương pháp chế tạo hệ nhũ tương dầu neem kết hợp nano silica bằng phương pháp điêm đảo pha

Hệ nhũ tương được tạo thành bằng phương pháp điêm đảo pha được công bố bởi Hien et al. (2021) có sửa đổi. Đầu tiên các chất hoạt động bề mặt gồm Tween 80, Span 80 và dầu neem được bổ sung theo tỷ lệ phần trăm thể tích ở Bảng 1, khuấy hỗn hợp với tốc độ 700 vòng/phút trong 30 phút bằng thiết bị máy khuấy đĩa để tạo thành hỗn hợp đồng nhất. Tiếp tục, nước cất được bổ sung vào hỗn hợp bằng cách nhỏ từng giọt vào pha phân tán vào hỗn hợp trên với tốc độ 0,5 - 1,0 mL/ phút và khuấy bằng máy khuấy đĩa ở tốc độ 800 vòng/phút để đủ 100% thành phần hệ nhũ, trong 20 phút. Quá trình được thực hiện ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp sau đó được bảo quản trong 24 giờ để ổn định trước khi tiến hành các phân tích tiếp theo.

2.3.1. Khảo sát tỷ lệ dầu neem và chất hoạt động bề mặt

Nồng độ pha dầu và chất hoạt động bề mặt trong hệ nhũ là hai trong số các yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hình thái nhũ tương và đặc tính của nhũ tương. Các tỷ lệ thành phần được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ các chất thành phần

Nghiệm thức	Tỷ lệ dầu neem:chất hoạt động bề mặt (%)
1	20:10
2	20:20
3	20:30

Trong đó chất hoạt động bề mặt bao gồm hỗn hợp Tween 80 và Span 80 có tỷ lệ thành phần thể tích tương ứng là (60:40 v/v). Nước cất được bổ sung đủ 100% vào hỗn hợp dầu neem và chất hoạt động bề mặt để tạo thành hệ nhũ tương hoàn chỉnh. Nghiệm thức 1, 2, 3 tương ứng với công thức CT1, CT2, CT3.

2.3.2. Khảo sát tỷ lệ chất hoạt động bề mặt

Chất hoạt động bề mặt làm giảm sức căng bề mặt của hệ thống dầu - nước và tác dụng đáng kể trong việc giảm kích thước giọt của hệ nhũ.

Thí nghiệm được thực hiện để khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ giữa hai chất nhũ hóa non-ionic có chỉ số HLB khác nhau: Tween 80 (HLB = 15,0) – Span 80 (HLB = 4,3) đến hiệu quả tạo hệ nhũ (Safaya & Rotliwala, 2022). Tỷ lệ chất hoạt động bề mặt Tween 80 và Span 80 trong các nghiệm thức thay đổi với tỷ lệ 1:0; 1:1; 0:1 tương ứng với công thức CT4, CT5, CT6.

2.3.3. Khảo sát nồng độ dầu neem trong hệ nhũ

Tỷ lệ chất hoạt động bề mặt tốt nhất ở điều kiện khảo sát trong thí nghiệm 2.3.2 được sử dụng để khảo sát nồng độ dầu neem thích hợp. Tỷ lệ dầu neem trong các nghiệm thức thay đổi với nồng độ 10%, 20% và 30% tương ứng với công thức CT7, CT8 và CT9.

2.3.4. Khảo sát nồng độ nano silica

Sau khi tối ưu thành phần, tỷ lệ dầu neem và chất hoạt động bề mặt. Việc khảo sát nồng độ nano silica tiếp tục được thực hiện để tạo hệ nhũ tốt nhất ở điều kiện khảo sát.

Sau khi chế tạo nhũ tương dầu neem, nano silica ở các nồng độ lần lượt là 0,5%, 1% và 2% (w/v) được bổ sung vào nhũ tương dầu neem, khuấy bằng máy khuấy đĩa tốc độ khuấy 800 vòng/phút trong 15 phút để tạo thành hệ nhũ nano hoàn chỉnh tương ứng với công thức CT10, CT11 và CT12.

Đánh giá các kết quả thí nghiệm: Hệ nhũ tương sau chế tạo được đánh giá theo các chỉ tiêu: tính chất cảm quan, độ đục mẫu, kích thước giọt và chỉ số đa phân tán. Sau đó hệ nhũ tương tốt nhất được chọn ở điều kiện khảo sát đánh giá tính chất hóa lý và đánh giá hiệu quả kháng nấm *P. oryzae*.

2.4. Đánh giá các tính chất của hệ nhũ tương dầu neem kết hợp nano silica

2.4.1. Đánh giá cảm quan

Hệ nhũ tương sau chế tạo được giữ ổn định ở nhiệt độ phòng trong thời gian lần lượt 24 giờ, 1 tuần và 2 tuần quan sát các điều kiện không ổn định như tạo kem, lắng, keo tụ, kết dính và tách pha. Việc quan sát được thực hiện bằng mắt về màu sắc, trạng thái, độ đồng đều của mẫu.

2.4.2. Xác định độ nhớt

Độ nhớt của chế phẩm được xác định bằng máy đo độ nhớt Brookfield ở nhiệt độ phòng. Phép đo được thực hiện 3 lần. Hỗn hợp nhũ hóa có độ nhớt càng cao thì khả năng phân tán của hỗn hợp này càng giảm (Ramadhany et al., 2021).

2.4.3. pH nhũ tương

Hệ nhũ tương được đo pH bằng máy đo pH (Horiba F71R – Nhật Bản).

2.4.4. Xác định độ đục

Hỗn hợp nhũ hóa được xác định độ đục thông qua việc xác định độ hấp thụ ở bước sóng 600 nm bằng máy đo quang phổ. Độ đục thu được bằng phương trình sau:

$$\text{Độ đục (cm}^{-1}\text{)} = \frac{2,303 \times \text{ABS}}{L} \text{ (Hien \& Dao, 2021)}$$

Trong đó: - ABS là độ hấp thụ được đo bằng máy đo quang phổ

- L (1 cm) là độ dài đường tán xạ

2.4.5. Đánh giá cấu trúc hạt và thế zeta

Đo tán xạ ánh sáng động học - Dynamic Light Scattering (DLS): phân bố kích thước hạt, chỉ số đa phân tán, thế zeta của nhũ tương được xác định bằng phương pháp DLS trên máy DLS-Horiba SZ-100 Nanoparticle Analyzer, Horiba, Nhật Bản. Mẫu nhũ tương nano được đánh giá lại sau hai tháng lưu trữ.

2.4.6. Đánh giá độ ổn định nhiệt động học

Mẫu được trữ trong cả 2 mức nhiệt độ nóng-lạnh tức là 4°C và 45°C, trong 48 giờ và 2 mức nhiệt độ đông băng - rã băng tức là -21°C và nhiệt độ phòng, trong 48 giờ. Sau đó, các công thức được ly tâm ở 3600 vòng trong 30 phút (Iqbal et al., 2019).

2.5. Đánh giá hiệu quả kháng nấm *P. oryzae* của hệ nhũ tương dầu neem kết hợp nano silica

Chung nấm *P. oryzae* được nuôi cấy trên môi trường PDA ở 30°C trong 72 giờ. Hệ nhũ tương ở các nồng độ khác nhau (10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312 µL/mL) được pha loãng với nước cất. Đối chứng âm là nước cất. Sau đó, 0,5 mL nhũ tương ở các nồng độ trên được trộn với 4,5 mL môi trường PDA. Sau đó, tảo nấm được đặt trên môi trường PDA. Các đĩa được ủ ở nhiệt độ phòng. Theo dõi sự phát triển của nấm và xác định tính hiệu quả dựa vào việc đo đường kính tán nấm sau các thời gian khác nhau. Hiệu quả ức chế nấm của nhũ tương được tính theo tỷ lệ phần trăm ức chế (PI):

$$PI (\%) = (DC - DT) / DC \times 100$$

Trong đó: - DC là đường kính của tán nấm trong đĩa đối chứng

- DT là đường kính của tán nấm trong đĩa hệ nhũ tương.

2.6. Xử lý số liệu

Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần và số liệu kết quả trung bình của các lần thí nghiệm, sự khác biệt giữa các số liệu thống kê được tính bằng phần mềm Excel 2016 và phần mềm SPSS Statistics 26.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá nguồn nguyên liệu dầu neem và nano silica

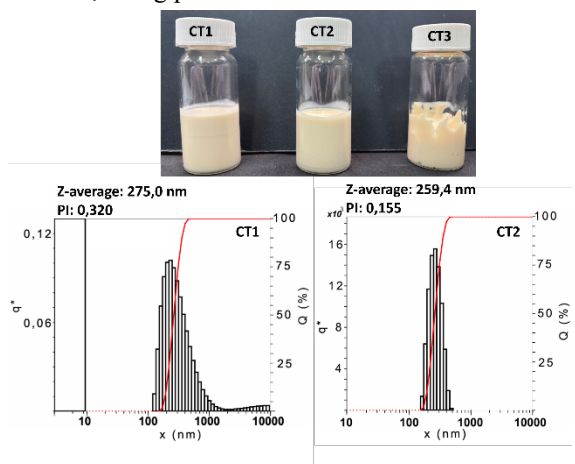
Dầu neem là chất lỏng có màu vàng nâu, có mùi hăng đặc trưng. Hàm lượng Azadirachtin đạt được 273 mg/kg.

Nano silica dạng bột màu trắng. Kết quả phân tích DLS cho thấy hạt nano silica có kích thước trung bình là 101,4 nm.

3.2. Kết quả khảo sát các thành phần để chế tạo hệ nhũ tương bằng phương pháp điểm đảo pha

3.2.1. Kết quả khảo sát tỷ lệ dầu neem và chất hoạt động bề mặt

Hình ảnh hệ nhũ tương tạo thành của các công thức được thể hiện ở Hình 1. Kết quả cảm quan cho thấy công thức CT3 sau khi chế tạo có trạng thái đặc sệt, các công thức CT1, CT2 màu trắng sữa, dung dịch dạng lỏng, nhũ tương đồng nhất. Mặt khác, CT1, CT2 có độ đục tương ứng là 284,72 cm⁻¹; 287,45 cm⁻¹ thấp hơn so với CT3, không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê (Bảng 2). Vì vậy, CT1, CT2 được đo kích thước hạt bằng phân tích DLS.



Hình 1. Kết quả hình ảnh các công thức CT1, CT2, CT3 sau chế tạo và kết quả phân tích DLS của CT1, CT2

Bảng 2. Kết quả độ đục của các công thức

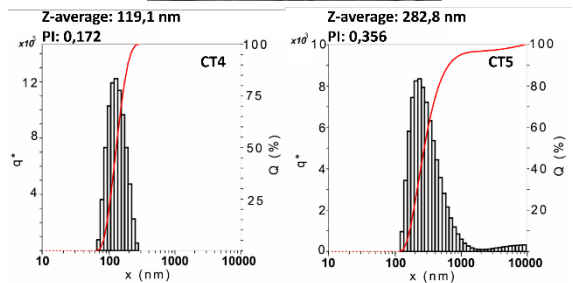
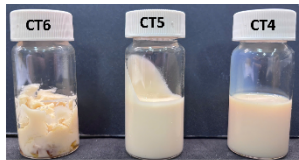
Công thức	Độ đục mẫu (cm ⁻¹)
CT1	284,72 ^a ± 0,06
CT2	287,45 ^a ± 0,02
CT3	377,86 ^b ± 0,02

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái khác nhau thì khác biệt qua phép kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa p < 0,05.

Kết quả cho thấy CT1, CT2 có kích thước hạt trung bình lần lượt là 275 nm và 259,4 nm, trong đó CT2 có kích thước nhỏ hơn so với CT1 và chỉ số đa phân tán đạt 0,155 < 0,3 cho thấy hệ ổn định hơn so với CT1. Vì vậy, tỷ lệ dầu neem và chất hoạt động bề mặt được chọn là (20:20) trong công thức CT2 để khảo sát tỷ lệ chất hoạt động bề mặt.

3.2.2. Kết quả khảo sát thành phần và tỷ lệ chất hoạt động bề mặt

Kết quả cảm quan cho thấy CT4, CT5 sau khi chế tạo có màu trắng sữa, dung dịch dạng lỏng, nhũ tương đồng nhất, công thức CT6 có trạng thái đặc sệt không bền vững khi tạo nhũ tương kiểu dầu/nước nên các công thức CT4, CT5 phù hợp tạo thành hệ nhũ tương (Hình 2). Vì vậy, các công thức CT4, CT5 tiến hành đo DLS.



Hình 2. Kết quả hình ảnh các công thức CT4, CT5, CT6 sau chế tạo và kết quả phân tích DLS của CT4, CT5

Nghiên cứu của Gharibzahedi and Sara Mohammadnab (2016) cho thấy việc phân tích tương quan cho các giá trị độ đục có liên quan với đường kính giọt của cùng một hệ nhũ. Điều này chứng minh rằng hệ nhũ tương chứa các giọt kích thước nhỏ có giá trị độ đục thấp (Gharibzahedi & Mohammadnabi, 2016). Vì vậy, trong nghiên cứu này, độ đục được sử dụng như một trong các thông số đo độ đục và đánh giá tính chất của hệ nhũ tạo thành.

Hệ nhũ tương tạo thành có trạng thái đục được đo độ đục ở bước sóng 600 nm sau 1 ngày chế tạo tại nhiệt độ phòng. Giá trị độ đục của các mẫu hệ nhũ tương ở công thức CT4 có độ đục mẫu thấp nhất là 14,84 cm⁻¹ trong 3 công thức CT4, CT5, CT6, giữa các công thức có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Bảng 3). Kết quả đo kích thước hạt bằng kỹ thuật DLS cho thấy công thức CT4 có kích thước hạt trung bình, chỉ số đa phân tán lần lượt là 119,1 nm và 0,172 thấp hơn so với công thức CT5.

Chỉ số đa phân tán (PDI) là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến các tính chất lý hóa và chức năng của nhũ tương như độ ổn định. Giá trị PDI cao hơn (> 0,7) chỉ ra mức độ đồng nhất thấp của nhũ tương với sự phân bố rộng rãi của kích thước hạt,

trong khi giá trị PDI thấp (< 0,3) chỉ ra nhũ tương phân tán đơn cực kỳ ổn định (McClements, 2012). Vì vậy, tỷ lệ thành phần chất hoạt động bề mặt Tween 80 và Span 80 cho thấy tỷ lệ 1:0 được xem là tỷ lệ tốt nhất ở điều kiện khảo sát trong công thức CT4 được cố định để khảo sát tỷ lệ dầu neem tiếp theo.

Bảng 3. Kết quả độ đục của các công thức

Công thức	Độ đục mẫu (cm ⁻¹)
CT4	14,84 ^a ± 0,001
CT5	207,27 ^b ± 0,03
CT6	365,58 ^c ± 0,004

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái khác nhau thì khác biệt qua phép kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa p < 0,05.

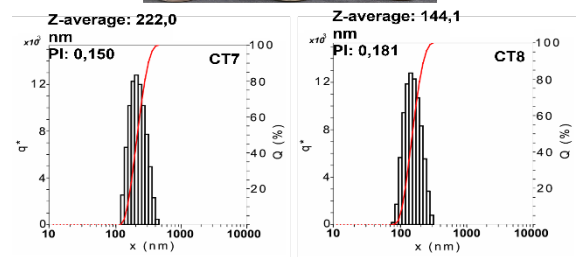
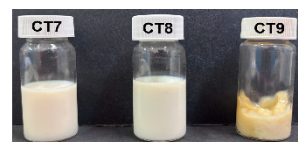
3.2.3. Kết quả khảo sát nồng độ dầu neem

Kết quả cảm quan cho thấy CT7 và CT8 sau khi chế tạo có màu trắng sữa, dung dịch dạng lỏng, nhũ tương đồng nhất, công thức CT9 có trạng thái đặc sệt màu vàng nên các công thức CT7, CT8 phù hợp tạo thành hệ nhũ tương (Hình 3). Vì vậy, các công thức CT7, CT8 tiến hành đo DLS. Kết quả đo độ đục mẫu CT7 có độ đục mẫu là 15,52 cm⁻¹ thấp hơn so với công thức CT8, CT9 (Bảng 4).

Bảng 4. Kết quả độ đục của các công thức

Công thức	Độ đục mẫu (cm ⁻¹)
CT7	15,52 ^a ± 0,005
CT8	18,59 ^a ± 0,003
CT9	46,06 ^b ± 0,002

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái khác nhau thì khác biệt qua phép kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa p < 0,05.



Hình 3. Kết quả hình ảnh các công thức CT7, CT8, CT9 sau chế tạo và kết quả phân tích DLS của CT7, CT8

Kết quả khảo sát tỷ lệ dầu neem ở nồng độ 10%, 20% và 30% cho thấy dầu neem ở nồng độ 20% trong công thức CT8 có giá trị kích thước hạt trung bình và

chỉ số đa phân tán PDI thấp hơn so với CT7 lần lượt là 144,1 nm và $0,181 < 0,3$ tạo hệ nhũ tương phân tán tốt và ổn định so với các công thức CT7, CT9 (Hình 3). Vì vậy, công thức CT8 nhũ tương nano là tỷ lệ tốt nhất ở điều kiện khảo sát bao gồm 20% dầu neem, 20% Tween 80, 60% nước cất trong tất cả các công thức khảo sát. Do đó, công thức CT8 được sử dụng để tối ưu nồng độ nano silica.

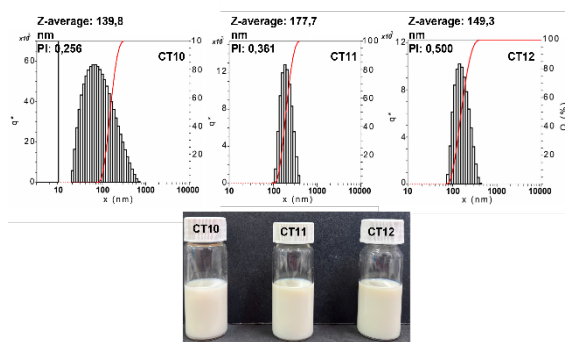
3.2.4. Kết quả khảo sát nồng độ nano silica

Kết quả cảm quan cho thấy CT10, CT11, CT12 sau khi chế tạo có màu trắng sữa, dung dịch dạng lỏng, nhũ tương đồng nhất. Kết quả đo độ đục của CT10 là $40,60 \text{ cm}^{-1}$ thấp nhất trong 3 công thức khảo sát và có sự khác biệt giữa các công thức (Bảng 5). Các công thức CT10, CT11, CT12 được chuẩn bị sau 1 ngày bảo quản ở nhiệt độ phòng cho thấy kích thước hạt của công thức CT10 là 139,8 nm và nhỏ hơn so với 2 công thức CT11, CT12 có nồng độ nano silica cao hơn (Hình 4). Chỉ số đa pha tán của công thức CT10 đạt $0,256 < 0,3$ cho thấy hệ ổn định hơn so với công thức CT11, CT12. Vì vậy, công thức CT10 nhũ tương nano được chọn để thực hiện tiếp các đánh giá tính chất hóa lý và hiệu quả kháng nấm *P. oryzae*.

Bảng 5. Kết quả đo độ đục của các công thức

Công thức	Độ đục mẫu (cm^{-1})
CT10	$40,60^a \pm 0,005$
CT11	$60,38^b \pm 0,007$
CT12	$85,98^c \pm 0,005$

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái khác nhau thì khác biệt qua phép kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.



Hình 4. Kết quả hình ảnh các công thức CT10, CT11, CT12 sau chế tạo và kết quả phân tích DLS của CT10, CT11, CT12

3.3. Kết quả đánh giá các tính chất của hệ nhũ tương dầu neem kết hợp nano silica

Công thức CT10 sau 2 tháng chế tạo, mẫu có màu trắng sữa, dung dịch lỏng, đồng nhất không bị tách lớp hay tạo kem. Kết quả đo độ nhớt cho thấy mẫu hệ

nhũ tương đạt $20,9 \text{ cP} \pm 0,1$ ở tốc độ 60 vòng/phút. Sau 2 tháng bảo quản, độ nhớt của mẫu tăng nhẹ $21,5 \text{ cP} \pm 0,06$. Sự gia tăng nhẹ về độ nhớt được cho là do thể tích dầu neem và chất hoạt động bề mặt ít hơn trong công thức. Theo kết quả này, các giọt dầu neem đã tăng cường các vùng giao diện, tạo thành các chất như azadiractin không tan trong nước ở dạng lỏng (Shafiq-un-Nabi et al., 2007).

Hệ nhũ tương thu được có độ pH là $6,1 \pm 0,1$, với giá trị pH này, hệ nhũ ổn định trong môi trường gần trung tính này liên kết giữa các giọt dầu trong quá trình phân tán. Kết quả đo pH ở nhiệt độ phòng là $6,2 \pm 0,06$ duy trì tính ổn định vật lý trong vòng 60 ngày.

Kết quả đo độ đục sau 1 ngày chế tạo là $40,60 \pm 0,005$. Sau 2 tháng bảo quản, nhũ tương có độ đục tăng lên đạt $51,18 \text{ cm}^{-1} \pm 0,002$. Do đó, kích thước hạt trung bình của hệ nhũ cũng tăng lên.

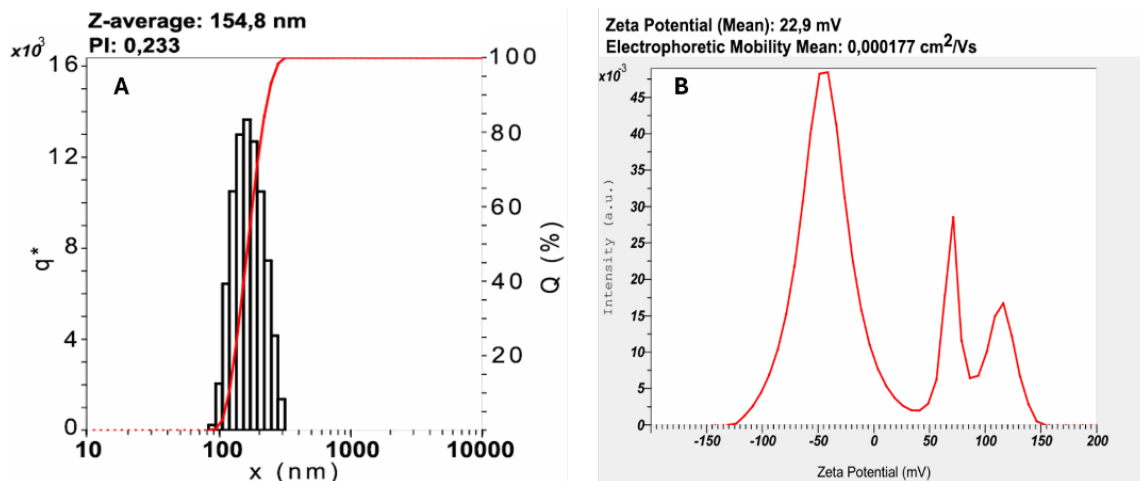
Về kích thước hạt trung bình của hệ nhũ tương nano đạt 139,8 nm, nhỏ hơn đáng kể so với kích thước 196 nm (Safaya & Rotliwala, 2022). Đồng thời, hệ nhũ tương cũng cho thấy độ đồng đều cao hơn, thể hiện qua chỉ số đa phân tán (PDI) là 0,256 so với khoảng PDI 0,428 được ghi nhận trong nghiên cứu (Safaya & Rotliwala, 2022). Sau 2 tháng bảo quản, kích thước hạt trung bình của hệ nhũ tăng nhẹ từ 139,8 nm lên đến 154,8 nm, cho thấy hiện tượng các hạt nano có xu hướng tự tập hợp lại, cho thấy sự ổn định của nhũ tương có bị giảm tuy nhiên vẫn khá ổn định khi chỉ số đa phân (PDI) là 0,233 nhỏ hơn 0,3, nhũ tương nano phân tán đơn có độ ổn định cao (Hình 5A). Kích thước hạt nhỏ có thể tăng theo thời gian thông qua phản ứng Ostwald-sự mất ổn định vật lý này gây tự tập hợp thành các hạt có kích thước lớn hơn. Kích thước hạt sau 2 tháng trong nghiên cứu này nhỏ hơn so với nghiên cứu Choupanian et al. (2017) cho thấy kích thước hạt trong các công thức bao gồm chất hoạt động bề mặt polysorbate, dao động đường kính từ $208 \pm 1,2$ (N-PolyS1) đến $253 \pm 1,6$ (N-PolyS2) nm (Choupanian et al., 2017).

Độ bền của nhũ tương được kiểm tra lại bằng phép đo thế zeta. Thế zeta thể hiện mức độ đẩy giữa các hạt tích điện cùng dấu gần nhau trong hệ phân tán. Thế zeta có giá trị $> +30 \text{ mV}$ hoặc $< -30 \text{ mV}$ được coi là rất ổn định trong môi trường phân tán (Forim et al., 2013). Đối với các phân tử và các hạt đủ nhỏ, thế zeta cao (âm hoặc dương) cho độ ổn định cao, hệ phân tán chống lại sự keo tụ. Kết quả nghiên cứu cho thấy độ bền thế zeta của mẫu hệ nhũ tương nano có giá trị 22,9 mV, điều đó cho thấy hệ nhũ tương có độ bền tương đối thấp (Hình 5B). Điện thế zeta 30 mV được xem tối ưu để ổn định tốt công thức nhũ tương nano (Honary & Zahir, 2013). Kết quả cho thấy độ

ổn định của công thức giảm dần sau hai tháng bảo quản.

Độ ổn định của nhũ tương nano được phân biệt với nhũ tương do độ ổn định động học cao hơn và ít tách pha hơn (Donsi & Ferrari, 2016). Nhũ tương nano ổn định về mặt vật lý ở nhiệt độ phòng mà không có sự tách pha trong khi nhũ tương không ổn định, việc duy trì kích thước của các giọt trong phạm vi nano có thể hoạt động như chất ổn định trong quá trình bảo quản. Sau khi ly tâm 3600 vòng trong 30 phút, nhũ tương nano là dung dịch đều ổn định và

đồng nhất, không tách pha, ở các nhiệt độ khác nhau 4°C và 45°C, -21°C trong 48 giờ. Niu et al. (2015) đã báo cáo rằng độ ổn định của nhũ tương có thể cải thiện khi điện tích bề mặt tăng lên, do lực tạo ra giữa các hạt chống lại quá trình kết bông và kết dính. Về độ ổn định, Qu et al. (2022) đã chứng minh rằng nano silica, nhờ hấp phụ lên giao diện dầu-nước, tạo ra một lớp bảo vệ ngăn chặn hiện tượng hợp nhất giọt dầu, kéo dài thời gian ổn định của nhũ tương lên đến 10 ngày trong điều kiện không có muối.



Hình 5. Kết quả phân bố kích thước hạt trung bình (A) và thế zeta của hệ nhũ tương (B) sau 2 tháng bảo quản

3.4. Kết quả đánh giá hiệu quả kháng nấm *Pyricularia oryzae*

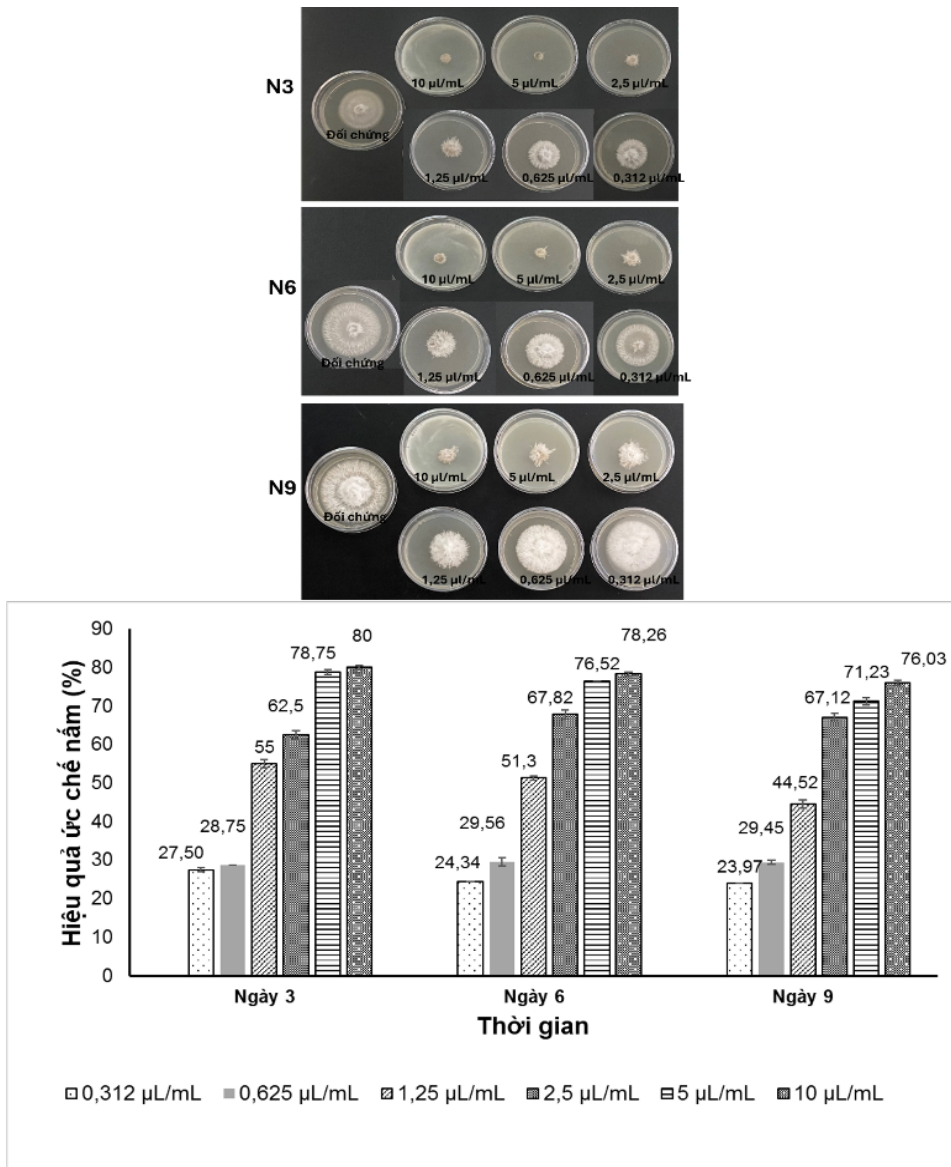
Kết quả hoạt tính kháng nấm *P. oryzae* trong điều kiện in-vitro được thể hiện trên Hình 6 và Bảng 6 cho thấy nhũ tương nano ở các nồng độ khảo sát từ 0,312 đến 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ đều cho khả năng ức chế với nấm *P. oryzae*. Đường kính tàn nấm ở nghiệm thức nhũ tương nano từ 5,33 đến 19,33 mm ở các nồng độ khảo sát từ 0,312 $\mu\text{L}/\text{mL}$ đến 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$, trong khi các mẫu đối chứng phát triển nhanh và đường kính tàn nấm là 26,67 mm sau 3 ngày. Kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nồng độ (giá trị $p < 0,05$) ở các nghiệm thức nhũ tương so với nghiệm thức đối chứng, tuy nhiên không có sự khác biệt thống kê giữa nồng độ 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$; giữa nồng độ 0,312 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và 0,625 $\mu\text{L}/\text{mL}$ sau 3 ngày. Tương tự, sau 6 ngày, đường kính tàn nấm ở các nồng độ khảo sát tăng lên đạt từ 8,33 đến 29 mm và có sự

khác biệt thống kê giữa các nồng độ (giá trị $p < 0,05$), ngoại trừ nồng độ 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ và 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Sau 9 ngày theo dõi, đường kính tàn nấm tăng lên đáng kể và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nồng độ (giá trị $p < 0,05$). Khi tăng nồng độ nhũ tương nano lên 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$, khả năng ức chế nấm đạt 80%, 78,26%, 76,03% sau 3, 6, 9 ngày theo dõi, tương tự ở nồng độ 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$, khả năng ức chế nấm đạt 78,75%, 76,52% và 71,23% sau 3, 6, 9 ngày. Trong khi nồng độ thấp nhất 0,312 $\mu\text{L}/\text{mL}$ hiệu quả ức chế nấm giảm xuống đạt 27,5%, 24,34% và 23,97% sau 3, 6, 9 ngày. Kết quả hiệu quả ức chế nấm cao hơn so với nghiên cứu Perumal et al. (2021) nhũ tương từ tinh dầu trà xanh ở nồng độ 6000 $\mu\text{L}/\text{L}$ đĩa petri có hiệu quả kháng nấm *Magnaporthe oryzae* là $58,82 \pm 1,2\%$. Kết quả nghiên cứu khác của Kalboush et al. (2025) cho thấy nhũ tương từ tinh dầu đinh hương có hiệu quả kháng nấm *P. oryzae* là 65,6% ở nồng độ 250 ppm và 500 ppm.

Bảng 6. Kết quả thử hoạt tính của nhũ tương đối với nấm *Pyricularia oryzae*

Nồng độ nhũ tương ($\mu\text{L/mL}$)	Đường kính phát triển của tảo nấm <i>P. oryzae</i> (mm)		
	Sau 3 ngày	Sau 6 ngày	Sau 9 ngày
Đối chứng	26,67 ^c \pm 0,58	38,33 ^f \pm 0,58	48,67 ^g \pm 0,58
0,312	19,33 ^d \pm 0,58	29,00 ^e \pm 0,00	37,00 ^f \pm 0,00
0,625	19,00 ^d \pm 0,58	27,00 ^d \pm 1,00	34,33 ^e \pm 0,58
1,25	12,00 ^c \pm 1,00	18,67 ^c \pm 0,58	27,00 ^d \pm 1,00
2,50	10,00 ^b \pm 1,00	12,33 ^b \pm 1,15	16,00 ^c \pm 1,00
5	5,67 ^a \pm 0,58	9,00 ^a \pm 0,00	14,00 ^b \pm 1,00
10	5,33 ^a \pm 0,58	8,33 ^a \pm 0,58	11,67 ^a \pm 1,52

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hoặc nhiều chữ cái khác nhau thì khác biệt qua phép kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.



Hình 6. Hiệu quả ức chế nấm *P. oryzae* của nhũ tương nano dầu neem kết hợp với nano silica

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, việc khảo sát các yếu tố tạo thành hệ nhũ tương từ nhũ tương dầu neem đã được thực hiện bằng phương pháp điểm đảo pha kết hợp với nano silica. Kết quả cho thấy một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo ra hệ nhũ tương như tỷ lệ dầu neem và chất hoạt động bề mặt, tỷ lệ chất hoạt động, tỷ lệ dầu neem và tỷ lệ nano silica. Hệ nhũ tương dầu neem kết hợp với nano silica ổn định đã được chế tạo và có tỷ lệ tốt nhất ở điều kiện khảo sát với thành phần tương ứng là 20% dầu neem, 20% Tween 80, 60% nước, 0,5% nano silica có kích thước hạt trung bình 154,8 nm và chỉ số đa phân tán là 0,233, có độ ổn định sau 2 tháng bảo quản. Hệ nhũ tương nano có hoạt tính tốt kháng nấm *P. oryzae* gây

bệnh đạo ôn trên cây lúa, có hiệu quả trên 70% ở nồng độ 5 µL/mL và 10 µL/mL sau 3, 6, 9 ngày theo dõi trong phòng thí nghiệm. Hệ nhũ tương nano có thể là một chế phẩm đầy hứa hẹn để chống lại bệnh đạo ôn trên cây lúa, thân thiện với môi trường, điều này góp phần giảm thiểu sự phụ thuộc vào thuốc bảo vệ thực vật hóa học, hướng tới một nền nông nghiệp xanh và bền vững.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ chương trình Khoa học và Công nghệ cấp Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh. Đề tài mã số: 94/2024/HĐ-QKHCN ngày 23/12/2024.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Azzahra, A. N., Yusefin, E. S., Salima, G., Mudita, M. M. W. M., Febriani, N. A., Nandiyanto, A. B. D. (2020). Review: Synthesis of Nanosilica Materials from Various Sources Using Various Methods. *Journal of Applied Science and Environmental Studies*, 3(4), 254-278.
- Choupanian, M., Omar, D., Basri, M., & Asib, N. (2017). Preparation and characterization of neem oil nanoemulsion formulations against *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum* adults. *Journal of Pesticide Science*, 42(4), 158-165. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D17-032>
- de Castro e Silva, P., Pereira, L. A. S., de Rezende, É. M., dos Reis, M. V., Lago, A. M. T., Carvalho, G. R., Paiva, R., Oliveira, J. E., & Marconcini, J. M. (2019). Production and efficacy of neem nanoemulsion in the control of *Aspergillus flavus* and *Penicillium citrinum* in soybean seeds. *European Journal of Plant Pathology*, 155(4), 1105-1116. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01838-4>
- Donsi, F., & Ferrari, G. (2016). Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of biotechnology*, 233, 106-120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005>
- Forim, M. R., Costa, E. S., da Silva, M. F. d. G. F., Fernandes, J. B., Mondego, J. M., & Boiça Junior, A. L. (2013). Development of a New Method To Prepare Nano-/microparticles Loaded with Extracts of *Azadirachta indica*, Their Characterization and Use in Controlling *Plutella xylostella*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(38), 9131-9139. <https://doi.org/10.1021/jf403187y>
- Gharibzahedi, S. M. T., & Mohammadnabi, S. (2016). Characterizing the novel surfactant-stabilized nanoemulsions of stinging nettle essential oil: Thermal behaviour, storage stability, antimicrobial activity and bioaccessibility. *Journal of Molecular Liquids*, 224, 1332-1340. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.10.120>
- Hien, L. T. M., & Dao, D. T. A. (2021). Black pepper essential oil nanoemulsions formulation using EPI and PIT methods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15216. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15216>
- Hien, L. T. M., Khoa, T. D., & Dao, D. T. A. (2021). Characterization of black pepper essential oil nanoemulsion fabricated by emulsion phase inversion method. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(1), e16207. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16207>
- Honary, S., & Zahir, F. (2013). Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems-a review (Part 1). *Tropical journal of pharmaceutical research*, 12(2), 255-264. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.19>
- İbrahim, A. P., Erdem, İ., & Gönen, M. (2023). Influence of silica nanoparticles on the stability of paraffin wax emulsion. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 41(5), 1029-1041.
- Iqbal, N., Kumar, N., Agrawal, A., & Kumar, J. (2019). Development of highly stabilized neem oil microemulsion system: A green approach. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 8 (3), 1507-1517. <https://doi.org/10.20959/wjpr20193-14435>
- Kala, S., Naik, S. N., Patanjali, P. K., & Sogan, N. (2019). Neem oil water dispersible tablet as effective larvicide, ovicide and oviposition deterrent against *Anopheles culicifacies*. *South African Journal of Botany*, 123, 387-392. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.03.033>

- Kalboush, Z. A., Mazrou, Y. S. A., Hassan, A. A., El Badeea, O. A., & Nehela, Y. (2025). Oil-in-water nano-emulsions boost rice innate immune response against *Pyricularia oryzae* via the induction of salicylic acid-mediated pathway and the enhancement of antioxidant machinery. *Plant Stress*, *16*, 100889. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.100889>
- McClements, D. J. (2012). Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft matter*, *8*(6), 1719-1729. <https://doi.org/10.1039/C2SM06903B>
- Niu, F., Zhou, J., Niu, D., Wang, C., Liu, Y., Su, Y., & Yang, Y. (2015). Synergistic effects of ovalbumin/gum arabic complexes on the stability of emulsions exposed to environmental stress. *Food Hydrocolloids*, *47*, 14-20. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.002>
- Perumal, A. B., Li, X., Su, Z., & He, Y. (2021). Preparation and characterization of a novel green tea essential oil nanoemulsion and its antifungal mechanism of action against *Magnaporthe oryzae*. *Ultrasonics Sonochemistry*, *76*, 105649. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105649>
- Qu, G., Su, J., Shi, T., Guo, R., & Peng, J. (2022). Effect evaluation of Nanosilica Particles on O/W emulsion properties. *Geofluids*, *2022*(1), 2339395. <https://doi.org/10.1155/2022/2339395>
- Ramadhany, P., Witono, J. R. B., & Rosaria, R. (2021). Neem-based oil-in-water (O/W) emulsion as a biopesticide. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *1053*(1), 012047. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1053/1/012047>
- Safaya, M., & Rotliwala, Y. (2022). Neem oil based nano-emulsion formulation by low energy phase inversion composition method: Characterization and antimicrobial activity. *Materials Today: Proceedings*, *57*, 1793-1797. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.12.478>
- Khattak, S., Gul, S., Sultana, S., Noor-ul-Amin. Safeena Khattak, Saeed Gul, Sabiha Sultana, & Noor-ul-Amin. (2023). Synthesis and characterization of nano-silica from locally available laterite clay. *Clay Minerals*, *58*, 408-414. <https://doi.org/10.1180/clm.2023.36>
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*, *3*(3), 430-439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
- Shafiq-un-Nabi, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ali, J., Baboota, S., Ahuja, A., Khar, R. K., & Ali, M. (2007). Formulation development and optimization using nanoemulsion technique: a technical note. *AAPS pharmscitech*, *8*, E12-E17. <https://doi.org/10.1208/pt0802028>